

論文の内容の要旨

氏名：山田 志保

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：ヒト化マウスを用いたステロイド抵抗性喘息モデルの作製

気管支喘息（以下喘息）は気道の慢性炎症疾患である。治療の第一選択は吸入ステロイドであり、患者の症状は大きく改善する一方で、高用量の吸入ステロイドにも関わらず反応性が乏しい重症 / 難治性患者が喘息患者の 5~10%ほど存在する。喘息難治化の原因は依然不明な点が多く、その原因解明や治療法の確立が課題として残っている。

喘息病態の解明にマウスモデルが汎用されてきたが、ヒトとマウスでは免疫細胞が発現する表面分子やサイトカインの相同性が低い分子も多く、マウスで得られた結果がそのままヒトに反映しないことも少なくない。この問題を解決するツールとしてヒト化マウスが広く用いられている。ヒト化マウスとはヒトの細胞や臓器を移植すると、マウスに生着させ、個体レベルでそれらの細胞や臓器の役割や機能を解析することができる動物モデルである。

本研究では、ヒト幹細胞移植によってヒト好酸球が分化可能な NOG hIL-3/GM-CSF/IL-5 Transgenic (Tg) マウス (Tri-Tg マウス) を用いて、ステロイド抵抗性（難治性）喘息モデルを作製すること、及びそのモデルを用いて難治化に関わる機序を解析することを試みた。

ヒト免疫細胞の応答を解析するために、8週齢の Tri-Tg マウスに 2.5Gy の放射線を照射し、翌日にヒト臍帯血由来 CD34 陽性幹細胞を移植し Tri-Tg ヒト化マウスを作製した。このマウスの末梢血中では約 55% がヒト CD45 陽性であり、B 細胞、好酸球、単球の順に多く、T 細胞やナチュラルキラー細胞もわずかに認めた。また、肺内のヒト CD45 陽性細胞は約 50% であり、そのうち好酸球、マスト細胞の分化を認め、T 細胞や ILC2 もわずかに認めた。以上から末梢血及び肺内で喘息の病態に関わるヒト免疫細胞が分化していることが確認された。

次に、気道上皮由来サイトカインのヒト IL (human interleukin) -33 及び hTSLP (human TSLP) を Tri-Tg ヒト化マウスへ経気道投与し、ステロイド抵抗性喘息モデル作製を試みた。Tri-Tg ヒト化マウスに対し、第 1~3 日に hIL-33 及び hTSLP を経気道投与し、第 0~3 日にデキサメタゾン (Dexamethasone : Dexa) を腹腔内投与した後、第 7 日に解析した。肺胞洗浄液中のヒト好酸球浸潤は PBS 群と比較し、hIL-33 投与群と hIL-33+hTSLP 投与群で有意に増加していた。この好酸球浸潤は hIL-33 投与群と比べ hIL-33+Dexa 投与群で有意に抑制されたが、hIL-33+hTSLP 投与群と hIL-33+hTSLP+Dexa 投与群では有意差を認めなかった。すなわち、hIL-33+hTSLP 経気道投与によってステロイド投与後も好酸球性気道炎症が残存したことから、Tri-Tg ヒト化マウスにおいてもステロイド抵抗性気管支喘息が誘導された。肺組織においても、炎症性細胞の浸潤は hIL-33 投与群と比較し hIL-33+Dexa 投与群では有意に抑制されたが、hIL-33+Dexa 投与群と比較し、hIL-33+hTSLP+Dexa 投与群では炎症性細胞の浸潤は抑制されなかった。粘液産生細胞過形成は hIL-33 投与群に比べて hIL-33+Dexa 投与群では抑制される傾向にあったが、hIL-33+hTSLP 投与群と hIL-33+hTSLP+Dexa 投与群の粘液産生細胞の過形成に顕著な変化は見られなかった。肺胞洗浄液中の hIL-5 はコントロール群と比較し hIL-33 投与群及び hIL-33+hTSLP 投与群で有意に上昇したが、hIL-33+hTSLP 投与群と比較し、hIL-33+hTSLP+Dexa 投与群では有意には抑制されなかった。

以上から IL-3/GM-CSF/IL-5 Tri-Tg ヒト化マウスを用いてヒト好酸球が気道に残存するステロイド抵抗性喘息モデルを世界で初めて作製することができた。また、ステロイド投与下でもヒト好酸球やヒトサイトカインの残存を認めたことから、これらを対象とした抗体医薬の臨床前モデルとしての使用にも応用できると考える。