

参考資料

研究の社会的背景

これまで、遺伝子組換え技術によって、ヒトの生理現象や疾患を再現できるモデル動物が作成され、様々な研究に用いられています。その一つに、遺伝子組換えにより免疫機能を喪失した「免疫不全マウス」があります。免疫機能のない動物は拒絶反応を起こさないため、個体間や異種間の細胞や組織の移植が可能です。現在ではさらに免疫不全マウスにヒトの細胞を移植することにより、ヒトの細胞や組織を保持する、いわゆる「Humanized mouse (ヒト化マウス)」の研究が急速に進められています。「ヒト化マウス」は、創薬のための研究材料としての利用のみならず、新薬の前臨床試験³⁾やヒト細胞の分化、機能解析等の基礎研究にも有用であり、医療革命の礎としての貢献が期待されています。

一方、ブタは、マウスよりも生理学的及び解剖学的にヒトとの類似性が高いため、ヒトの疾病や治療法の研究に適しています。そのため、「ヒト化マウス」の技術をブタに応用するため、その第一歩として免疫不全ブタの開発に取り組みました。

研究の経緯

マウスの場合、特定の遺伝子の機能を消失させた、いわゆる遺伝子ノックアウトマウスの作製には、「ES 細胞」⁴⁾という特殊な細胞が用いられます。まず ES 細胞に対して遺伝子組換えを行い、その後、組換えられた ES 細胞から個体が再生されます。しかしブタの場合、長年研究してきたにもかかわらず、実用的な ES 細胞はなく、遺伝子ノックアウトブタの作製はできませんでした。

一方、体細胞⁵⁾から個体を再生する「体細胞クローン技術」の開発が進められ、1996年には世界で初めて体細胞クローンヒツジの「ドリー」が誕生しました。その後、ヤギ、ウシ、マウスなどの体細胞クローンが誕生し、2000年には、体細胞クローンブタの作出に米国の研究グループと当方のグループ（論文としては世界初）が相次いで成功しました。そこで、この「体細胞クローン技術」と「遺伝子組換え技術」を組み合わせることにより、免疫関連の遺伝子の機能を消失させた、免疫不全ブタを開発することを目指しました。

研究の内容・意義

1. 遺伝子組換えにより、免疫機能に重要な役割を持つ「*IL2rg* 遺伝子」の機能を消失させたブタの培養細胞（体細胞）を作成しました。その後、得られた組換え細胞を用いて、体細胞クローン技術により遺伝子組換えブタを作出しました（図 1, 2）。
2. *IL2rg* 遺伝子は、性染色体⁶⁾の X 染色体上に位置します。そのため、機能を喪失した *IL2rg* 遺伝子を X 染色体上にもつ雄（性染色体：XY 型）は、免疫不全になりました。一方、雌（性染色体：XX 型）の場合は、片方の X 染色体上の *IL2rg* 遺伝子が機能を喪失しても、もう一方の X 染色体上が正常な *IL2rg* 遺伝子をもつ場合には機能が補われ、免疫不全にならず通常のブタと変わりませんでした。
3. 免疫不全のブタでは、免疫に必須な器官である胸腺が欠失していました（図 3）。また、免疫に関与するリンパ球のうち、T 細胞⁷⁾と NK 細胞⁸⁾を消失していました。またリンパ球の B 細胞⁹⁾は存在していましたが、抗体産生能¹⁰⁾は消失していました。

4. 免疫不全ブタは、およそ 2 か月以内で全てのブタが死亡するなど短命でした。そこで免疫不全ブタに正常な免疫機能を持つブタの骨髄¹¹⁾を移植したところ、免疫機能が回復し、また骨髄移植した 5 頭中 3 頭が 1 年以上生存しました。
5. 重度な複合型免疫不全マウスは既にヒト造血系モデルや免疫系モデル、ヒト肝臓モデル、ヒト感染症モデルなど多様なヒトモデルマウス作出に貢献しており、今回の免疫不全ブタはヒトの細胞や組織を移植した、新たな大型ヒトモデルブタ作出へ大きな一歩を踏み出した成果です。
6. また免疫不全ブタは、抗体医薬品開発への利用、再生医療における iPS 細胞由来のヒト培養細胞の長期安全性試験、実用的なヒト組織や臓器の再生に向けた最初の一歩としても、今後の活用が期待されます。

今後の研究展開

1. ヒト由来の細胞を移植するためには、今回の免疫不全ブタは重度な複合型免疫不全までは示していなかったことから、今後は更に免疫に関与する他の遺伝子「*Rag* 遺伝子」の機能喪失も必要と考えられます。そこで我々は、*Rag* 遺伝子の機能を喪失した免疫不全ブタの開発にも取り組んでいます。
2. 今後は 2 種類の免疫不全ブタを交配することにより、*IL2rg* 遺伝子と *Rag* 遺伝子両方の機能を喪失した重度な複合型免疫不全ブタを作成し、このブタにヒト由来の細胞を移植することで「Humanized pig (ヒト化ブタ)」の開発を目指します(図 4)。

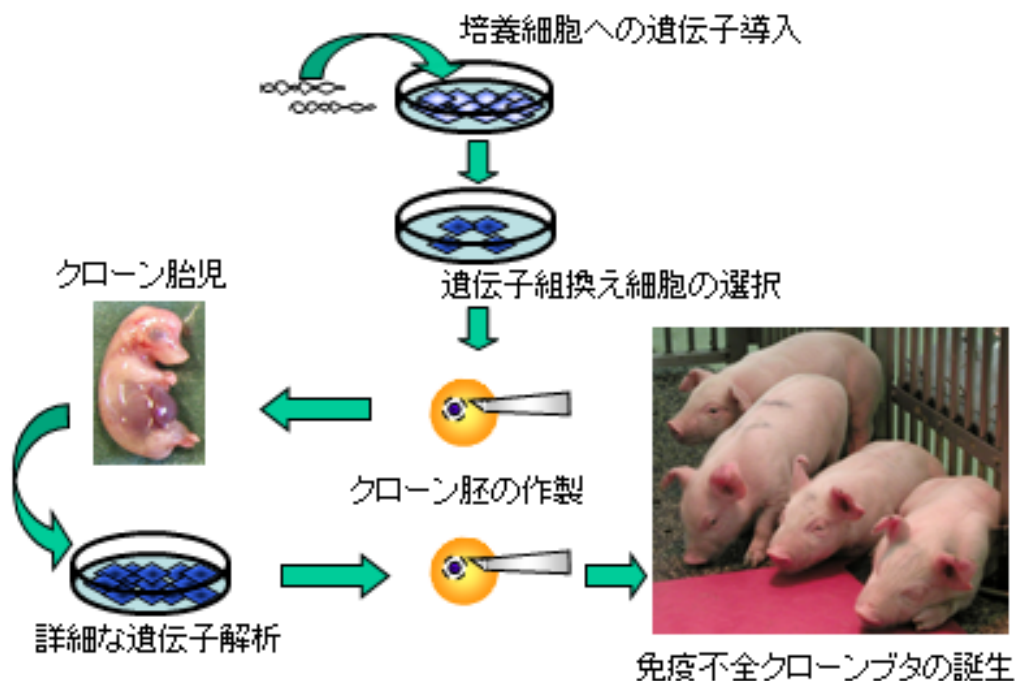


図 1 免疫不全クローンブタの作出方法



図2 クローンブタ(母ブタ)とその後代(子ブタ)

免疫不全ブタ

通常のブタ

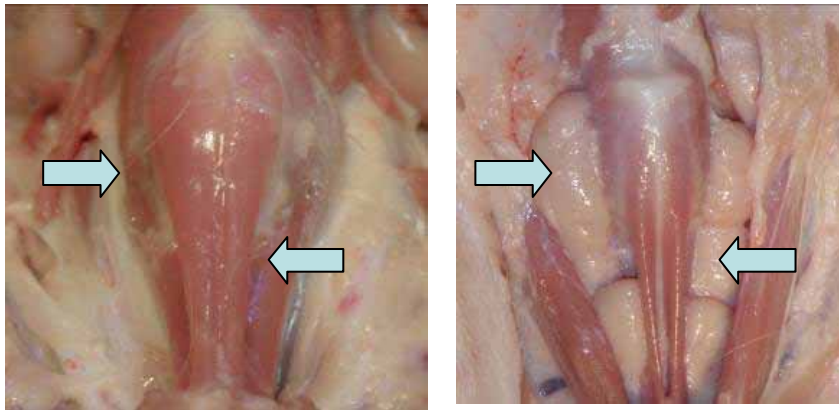


図3 免疫不全ブタにおける胸腺の状態。胸腺(矢印の部位)が欠失している。

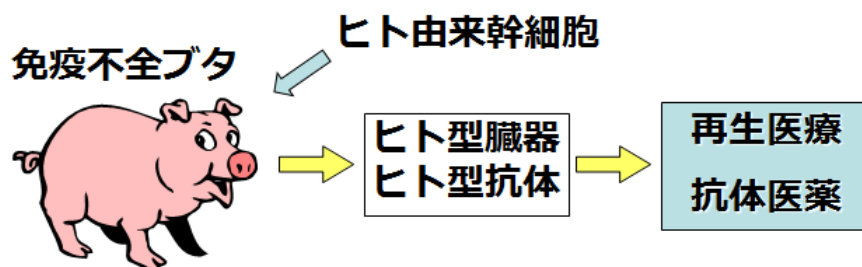


図4 研究成果の活用法

発表論文

Suzuki S, Iwamoto M, Saito Y, Fuchimoto D, Sembon S, Suzuki M, Mikawa S, Hashimoto M, Aoki Y, Najima Y, Takagi S, Suzuki N, Suzuki E, Kubo M, Mimuro J, Kashiwakura Y, Madoiwa S, Sakata Y, Perry A.C.F., Ishikawa F, Onishi A (2012) *Il2rg* Gene-Targeted Severe Combined Immunodeficiency Pigs. Cell Stem Cell 10: 1-6.

用語の解説

- 1) 胸腺：心臓の前面に位置する臓器で、リンパ球である T 細胞が発生する場。
- 2) リンパ球：白血球の一種で、免疫能を担当する細胞。T 細胞、B 細胞および NK 細胞が含まれる。
- 3) 前臨床試験：新薬開発の段階で、ヒトを対象とする臨床試験の前に行う試験。動物を用いて有効性・安全性を調べる。
- 4) ES 細胞（胚性幹細胞）：哺乳類の受精卵由来の細胞。体の全ての細胞になる能力を持つ。
- 5) 体細胞：動物の体を構成する細胞のうち、生殖細胞である精子あるいは卵子以外の細胞。
- 6) 性染色体：雌雄の性が分かれている生物において、性の決定と分化を遺伝的に制御している染色体。ブタなどのほ乳類には X 染色体と Y 染色体があり、雌は X 染色体を 2 本（XX 型）、雄では X 染色体と Y 染色体を 1 本ずつ（XY 型）を持っている。
- 7) T 細胞：胸腺で分化後、免疫応答の調節や発達に中心的役割を果たすリンパ球。
- 8) NK 細胞：骨髄で分化し、ある種のウイルス感染細胞や腫瘍細胞を認識し破壊する一群のリンパ球。
- 9) B 細胞：成体の骨髄で分化し、抗体を産生するリンパ球。
- 10) 抗体産生能：抗体である免疫グロブリンを産生する能力。
- 11) 骨髄：骨の中心部に存在する柔らかい海綿状の組織。赤血球、白血球及び血小板が作られる。