

過去お客様と情報交換を実施した際のQ & A集を作成しました。ご参照くださいますようお願い申し上げます。

NOG-EXLマウス

1	<p><ヒト化マウス作製/各系統共通>骨髄抑制について：X線照射ではなく、ケミカルでの骨髄抑制のほうが、造血幹細胞（HSC）/末梢血単核球細胞（PBMC）の移植率が良いという話を聞いたことがある。何か情報があるか？</p> <p>→実験動物中央研究所（CIEA）では、ケミカルでの骨髄抑制が良かったという経験は無く、放射線照射とブスルファンでの骨髄抑制で差はないと認識している。ブスルファンは溶解しにくく、結果として個体毎にばらついてしまうことがある。高溶解性ブスルフェンが使用され始めているが、論文の引用などはまだ例が少ないようです。</p> <p>→X線照射では、機器によって至適線量が異なる場合がある。Doseを振って、至適条件を見出して実験を進めることを推奨する。X線の場合、0.5Gy刻みでn=5以上でデータを取ることが望ましい。ブスルファン、ブスルフェンも指摘条件を探す必要がある。</p>
2	<p><ヒト化マウス/各系統共通>HSC/PBMCの移入経路は？</p> <p>→CIEAでは、尾静脈経由で実施する。</p>
3	<p><HSC移入ヒト化マウス/各系統共通>骨髄由来HSCと臍帯血由来HSCではどちらの移植率が高いか？</p> <p>→臍帯血の方が高移植率であると思われる。所属施設でヒト化する場合、HSCの由来よりも照射する放射線至適条件設定が重要。死亡例が出ない最大線量を照射するのが良い。</p>
4	<p><HSC移入ヒト化マウス/各系統共通>マウスは新生児と6-7週齢のどちらが効率が良いか？</p> <p>→差はないと思われる。CIEAでは、技術的な観点から通常6週齢を用いている（より汎用性のある方法で実施）。</p>
5	<p><HSC移入ヒト化マウス/各系統共通>インビボサイエンスのホームページ上の血球プロファイルは、造血幹細胞移入何週間後のデータか？</p> <p>→移入11週間後のデータ。7週齢のマウスにHSCを移入し、18週齢時にFACS解析したデータ。</p>
6	<p><HSC移入ヒト化マウス/各系統共通>同一ロットのHSCを二回に分けNOGマウスに移植できるか。(実験実施数ヶ月後に再実験するイメージ)</p> <p>→通常は、ドナー/Vialを1回で使い切りにしている。開封後のVialは再凍結不可である。</p> <p>→たまに3Vial程度のロットがあるが希れ。この場合は時間差の実験が可能。ミックスドナーであれば、同一ロットで対応が可能。</p>
7	<p><HSC移入ヒト化マウス/各系統共通>ミックスドナーでのヒト化マウス作製要望は多いか？</p> <p>→経験はあるが回数は少ない。</p>
8	<p><HSC移入ヒト化マウス/各系統共通>造血幹細胞増殖培地が販売されている。これを使って事前に造血幹細胞を増やし、移植するのは有効か？</p> <p>→この培地で増殖したHSCではマウスへの移植が成功しない。従って使用できないと考えらる。</p> <p>→マウスあたりのHSC移入細胞数をもっと減らすことができれば、1ロット当たりより数多くのヒト化マウスが作製可能になる。</p> <p>→CIEAでは、少ないHSC移入細胞数でヒト化マウスの作製が可能な新規系統を開発中。</p>
9	<p><ヒト化マウス/各系統共通>ヒト化マウスの作製にマウスの雌雄差はあるか？</p> <p>→基本的に無いと認識している。キメラ率が雌≧雄の傾向があるが、それよりもドナーの差による影響が大きい。</p>
10	<p><ヒト化マウス/各系統共通>ヒト化マウスの自社施設での作製を検討している。企業やCROでも作製・使用可能か？</p> <p>→HSC移入ヒト化マウス、PBMC移入ヒト化マウス、NK細胞移入ヒト化マウス等いずれも問題なく作製・使用可能です。</p>
11	<p><幼若マウスの使用、妊娠マウスの購入/各系統共通>幼若のNOGマウスに処置する必要がある。妊娠したNOGマウスを購入したいが可能か？</p> <p>→可能。妊娠NOGマウスは正式受注後にplug確認を実施している。妊娠2週目のお腹の膨らみの確認できた個体を納品する。あくまでも交配確認での実施となり、確実に妊娠していることを確認することができないことをご了承願います。</p>
12	<p><HSC移入ヒト化マウス供給/各系統共通>HSC移入後早期に納品してもらえるか？</p> <p>→可能。その場合、25%のヒトキメラ率は保証できない。なお、通常HSCを7週齢時に移入するので、8週齢以降であれば可能。</p>
13	<p><HSC移入ヒト化マウス/各系統共通>分化した各細胞がどの程度機能的なのか知りたい。</p> <p>→B細胞：機能的ではない。抗原特異的IgGは産生しない。必ずしも成熟したB細胞になっていない。</p> <p>→T細胞：マウス胸腺に拘束された（マウスMHCに拘束）T細胞が末梢に出現している。ヒトHLA拘束になっていない。（PBMCを移入したヒト化マウスの場合、ヒトHLAに拘束されたT細胞が生着している。）</p> <p>→担癌した場合：もっと複雑になる。T細胞が腫瘍と出会うことだけで拒絶が起きることもある。（アロ反応）</p> <p>→Treg：マーカーは出ているが、Tregをコントロールすることでの抗腫瘍評価は難しいと考えている</p>
14	<p><HSC移入ヒト化マウス/各系統共通>IgG抗体の産生が出来ないと聞いたがどうか？</p> <p>→IgG抗体の産生はできていない。</p>
15	<p><HSC移入ヒト化マウス・血小板分化/各系統共通>血小板の分化についてはどうか？</p> <p>→少ないが出現している。また、塩野義のムルプレタ投与で細胞数の増加を確認している。</p>

16	<p><HSC移入ヒト化マウス・血小板分化/各系統共通>血小板は移植後どの時点で出現するのか？</p> <p>→不明。T細胞の動向を中心にデータを採取しているので、移植12週間後のFACS解析データが中心となっている。</p> <p>→血小板はもっと早期に出現するのではないかと推測する。実中研では現在血小板ので詳細データは保有していない。</p>
17	<p><HSC移入ヒト化マウス・血小板分化/各系統共通>血小板が少ない理由について、マウスマクロファージが貪食するためとの説明があった。</p> <p>→仮説としての説明で、まだ証明できていない。</p> <p>→マウスマクロファージ量を減少させようとしているがうまくいかない。クロドロン酸投与は毒性が強く、至適濃度が設定できていない。</p>
18	<p><HSC移入ヒト化マウス・血小板分化/各系統共通>マウスの血小板を測定したことがあるか？</p> <p>→ホームページにマウスの背景データとして掲載している（生産委託先の日本クレアによる収集データ）。</p>
19	<p><HSC移入ヒト化マウス・血小板分化/各系統共通>マウスの血小板をヒトマクロファージが貪食していることはあるか？</p> <p>→恐らくあると思う。ただし証明できていない。</p>
20	<p><腫瘍の異種移植/各系統共通>NOGを使用しなくても、BALB/c-nuでも細胞数を増やせば移植が可能になるか？</p> <p>→移植は可能だが、患者由来新鮮組織等の移植率はNOGマウスの方が圧倒的に高い。</p> <p>→移植されたがん細胞の減少スピードを増殖スピードが上回れば理論的に移植は可能になる。但し、それは増殖が速い一部のがん細胞のみである場合があり、その他の細胞が同様に移植できるわけではない。PDX等をヌードマウスで継代すると、NOGマウスへの移植と異なり、早い段階で患者組織と全く異なった組織構造に変化してしまう可能性が高い。</p>
21	<p><iPS細胞の移植/各系統共通>iPS由来細胞は一度生着してしまえば、その後繰り返し移植が可能になるか？</p> <p>→通常は可能になる。</p>
22	<p><CAR-T細胞、CAR-NK細胞>CAR-T細胞を担癌したNOGマウスに移入し、抗腫瘍効果を見たいが可能か。</p> <p>→CAR-T細胞の場合、1ヶ月程度の短期間の評価であればNOGマウスで問題なく評価できる。</p> <p>長期間の場合は異種移植によるGVHDを発症することがあるので、マウスMHCクラス1およびクラス2をノックアウトしたNOG-ΔMHCが有用と思われる。</p> <p>→NOG-IL2が有用であったという文献もある。https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30622115/</p> <p>→CAR-NK細胞の移入試験ではNOG-IL15が有用と思われます。</p>
23	<p><HSC移入ヒト化マウス・赤血球分化/NOG-EXL>NOG-EXLではマクロファージによって、マウスの赤血球(RBC)が貪食されるとの説明があった。ヒト化NOG-EXLではRBCは末梢血に出現しないのか？</p> <p>→CIEAの研究者がトライしている。Epoを処置しても成熟RBCは出現しない。</p> <p>→未成熟なRBCの出現を確認している。造血幹細胞(HSC)から正常に分化成熟させることは成功していない。</p>
24	<p><HSC移入ヒト化NOG-EXLマウス>NOG-EXLでヒト化マウスを作製すると、マクロファージの過活性や貧血で死亡する個体が出現すると聞いたことがある。</p> <p>→現在も貧血を発症し死亡する個体が出現する。肝でクッパー細胞が赤血球を貪食していると推測している。</p>
25	<p><HSC移入ヒト化NOG-EXLマウス>NOG-EXLにHSCを移入するとミエロイド系の細胞が多く分化する。PBMCを移入した場合は、ミエロイド系の細胞が定着するか？</p> <p>→PBMC移入によるミエロイド系細胞の定着はほとんどない。表現型は従来のNOGマウスにPBMCを移入した場合と変わらない。</p>
26	<p><HSC移入ヒト化NOG-EXLマウス>NOG-EXLにHSCを移入した場合の、ミエロイド系細胞の出現率に個体差はあるか？</p> <p>→個体差はあると思われる。但し、HSCのロット差がより強く影響すると思われる。</p>
27	<p><HSC移入ヒト化NOG-EXLマウス>末梢血では、移入11週間後に成熟免疫細胞が観察される。その後いつまで維持されているか？</p> <p>→3~4ヶ月は維持できる。但し、キメラ率が上昇し貧血を発症することがあり、これが問題になる可能性がある。</p>
28	<p><NOG-ΔMHCとNOG-EXLマウス>NOG-ΔMHC×NOG-EXLを交配したマウスは使用できないか？</p> <p>→既にマウスはある。特性解析が終了していない。バリデーション、特性解析未了で良ければ準備可能。</p>
29	<p><HSC移入ヒト化NOG-EXLマウス>マクロファージや樹状細胞がきちんと機能していることを確認しているか？</p> <p>→マクロファージはかなりアクティブなことが分かっている（貪食能を有することで確認している）。</p> <p>→樹状細胞の抗原提示能力は低い。</p>
30	<p><腫瘍の異種移植/NOG-EXLマウス>血液がんPDXの移植に適したNOGマウス系統は？</p> <p>→移植する腫瘍が血液がんの場合、HSC移入時にミエロイド系細胞を分化するように遺伝子改変したNOG-EXL（ヒトIL-3およびGM-CSFを分泌するよう遺伝子改変したNOGマウス）が有用であったとする文献がある。（文献ではCMLを移植している） https://www.nature.com/articles/s41467-021-27928-8</p> <p>→AMLやCMLの移植では、NOG-EXLマウスが有用である可能性がある。</p>