

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 次世代がん医療創生研究事業  
(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution
- 研究開発課題名： (日本語) 腫瘍随伴マクロファージ(TAM)前駆細胞及び TAM に共通の分子標的探索  
(英語) Investigation of molecular target(s) commonly expressed on tumor-associated macrophages and their progenitors
- 研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人東京医科歯科大学難治疾患研究所 教授 樗木 俊聡  
所属 役職 氏名： (英語) Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University, Professor, Toshiaki Ohteki
- 実施期間： 平成 28 年 9 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 研究総括、候補分子スクリーニング、抗体評価  
開発課題名： (英語) Research summarization, Screening of targeting molecule(s) and evaluation of antibody
- 研究開発代表者 (日本語) 国立大学法人東京医科歯科大学難治疾患研究所 教授 樗木 俊聡  
所属 役職 氏名： (英語) Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University, Professor, Toshiaki Ohteki
- 分担研究 (日本語) ヒト化マウスを用いた *in vivo* 評価系の確立、抗体評価  
開発課題名： (英語) Establishment of *in vivo* evaluation system with humanized mice and antibody evaluation
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京医科歯科大学難治疾患研究所 非常勤講師 小内 伸幸  
所属 役職 氏名： (英語) Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University, Research Lecturer, Nobuyuki Onai

## II. 成果の概要（総括研究報告）

### 和文

樗木は、cMoP 以外の前駆細胞及び末梢血単球のマイクロアレイ解析を行い、mRNA 発現に基づき標的候補分子を複数抽出した。さらに追加配賦により BioLegend 社の LEGENDScreen™ Antibody Panels を購入し、cMoP 上に蛋白レベルで発現している候補分子のスクリーニングを行った。現在までに約 300 分子の半数の検討を終えており、次年度 6 月を目処にすべてのスクリーニングを終了予定である。

研究分担者小内（東京医科歯科大学、難治疾患研究所）は、*in vivo* 評価系の確立を目的としてヒト化マウスの実験系を立ち上げた。研究代表者樗木の研究室では、C57BL/6 (B6) バックグラウンドで NOD 型 Sirpa 変異を導入して CD47-SIRPA 結合を強化することによってヒト血液細胞やヒト腫瘍細胞生着効率を改善した BRGS マウス (B6.Rag2<sup>-/-</sup>γc<sup>-/-</sup>Sirpa<sup>NOD/NOD</sup>) が開発されたことに伴い、MTA を締結して同系統を導入済みであるが、昨年度は、さらにヒトミエロイド系細胞の分化に重要な複数のヒトサイトカイン遺伝子をノックインした MISTRG マウス (M-CSF<sup>hu</sup>, IL-3/GM-CSF<sup>hu</sup>, huSIRPA<sup>tg</sup>, TPO<sup>hu</sup>, Rag2<sup>-/-</sup>γc<sup>-/-</sup>) の導入に成功した。同 MISTRG マウスが *in vivo* 評価系に理想的と判断しヒト化マウスの構築を試みたが、以下の問題に直面した。一度の妊娠分娩で産仔数は平均 3-4 匹程度と少ないため多くのヒト化マウスを仕込むことが不可能であった。また、既報に従い新生児肝に臍帯血 CD34<sup>+</sup>細胞を移植しても頻繁に育児放棄するため、マウス用の巣箱を導入して外部からの過剰な刺激を与えない工夫をした。これらの検討結果を踏まえ、ヒト化マウスの構築を MISTRG マウスのみ依存するのはリスクがあると判断し、別系統 BRGS マウスにも臍帯血 CD34<sup>+</sup>細胞の移植を開始した。現在、経時的に生着率を観察している。

### 英文

Dr. Ohteki performed microarray analysis using progenitors including cMoP and monocytes, and based on the mRNA expression level, multiple candidate molecules were selected. Furthermore, using LEGENDScreen™ Antibody Panels (BioLegend), we are currently screening candidate molecules expressed on cMoP at a protein level. Of more than 300 molecules, we have finished the analysis of approximately half and will have done all by the end of June, 2017.

Dr. Onai of Meidcal Research Institute, Tokyo Medical and Dental University started to establish humanized mice for *in vivo* Ab evaluation. After the MTA conclusion, we previously adopted BRGS mice (B6.Rag2<sup>-/-</sup>γc<sup>-/-</sup>Sirpa<sup>NOD/NOD</sup>), which were improved with respect to the transplantation efficacy of human PB or human tumor cells. In addition, we have recently adopted MISTRG mice (M-CSF<sup>hu</sup>, IL-3/GM-CSF<sup>hu</sup>, huSIRPA<sup>tg</sup>, TPO<sup>hu</sup>, Rag2<sup>-/-</sup>γc<sup>-/-</sup>), in which genes encoding several human cytokines critical for myeloid cell differentiation are knocked-in. Based on the related papers, we decided to use MISTRG mice as the first choice and started to generate humanized mice by transplanting human CD34<sup>+</sup>UCB. However, we faced a couple of problems, e.g. low litter size (3-4 average) and frequent parental neglect after neonatal transplantation of human CD34<sup>+</sup>UCB. To improve these issues, a nest for neonatal care was set in the cage and establishment of humanized mice using BRGS mice has also been started. We are currently monitoring the progenies of transplanted human CD34<sup>+</sup>UCB.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 1件、国際誌 1件）

1. Kawamura S, Onai N, Miya F, Sato T, Tsunoda T, Kurabayashi K, Yotsumoto S, Kuroda S, Takenaka K, Akashi K and Ohteki T. Identification of a human clonogenic progenitor with strict monocyte differentiation potential – a counterpart of mouse cMoPs. *Immunity* 46, 835-48 (2017).
2. 樗木 俊聡. マクロファージ・樹状細胞の起源と多様性. *医学のあゆみ*. 2016, 259, 347-352.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表  
該当無し

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
該当無し

(4) 特許出願  
公開特許無し