

れた。さらに、免疫不全ラットの臓器をヒト化できるか確認するため、FSGラットにヒト肝細胞を移植した。肝細胞の増殖を阻害するレトロシリンでFSGラットを処置した後に、門脈経由でヒト肝細胞を移植した。すると、移植直後から経時的にラットの血中にヒトアルブミンが検出された。移植6週間後にFSGラットの肝臓を調べたところ、ヒト肝細胞が生着し、増殖していることが分かった¹³。以上のことから、免疫不全マウスより体の大きい免疫不全ラットにヒト細胞・組織を移植した‘ヒト化ラット’は、生理学的解析や移植実験に適していると考えられた(図2)。

●ユーザビリティの高い免疫不全ラットの開発

Prkdc 遺伝子を欠損したSCIDラットはF344ラットと比較して出産直後から体が小さく、性成熟期になると約3割程度の体重減少が見られた。SCIDラットの胎児(受精後14.5日目)を摘出し、胎児線維芽細胞(REF)を培養

すると、F344ラットのREFと比べて細胞増殖能力が低下していることが分かった。そこで、より体のサイズが大きく繁殖能力の高い免疫不全ラットの開発を目指し、CRISPR-Cas9を用いて *Il2rg* ノックアウトラットを新たに作製した。*Il2rg* ノックアウトラットはF344ラットより性成熟がやや遅く、10週齢から妊娠しやすくなるが、一度の出産で得られる産子の数は8匹前後で、繁殖能力に優れている。また、ヒトSCID患者の多くに突然変異が見られる *Rag2* 遺伝子に着目し、CRISPR-Cas9を用いて *Rag2* ノックアウトラットを作製した。*Rag2* ノックアウトラットはF344ラットとほとんど同じ体格をしており、*Prkdc* ノックアウトラットのような成長の遅延は見られなかった。さらに、*Il2rg* ノックアウトラットと *Rag2* ノックアウトラットを交配し、*Il2rg, Rag2* ダブルノックアウトラットを作製した。ダブルノックアウトラットもシングルノックアウトラット同様、発育不良を起こさず、性成熟はやや遅いが、一度の出

産で8匹前後の産子が安定して得られている。我々は重度の免疫不全を呈するが、利用者が飼育・繁殖しやすいユーザビリティの高い免疫不全ラットの開発に成功した。

また、免疫不全ラットは正常ラットに比べ微生物感染を起こしやすいため、厳格に管理されたSPF環境下で飼育・繁殖する必要がある。我々は免疫不全ラット専用の飼育室を用意し、個別換気ケージシステム(IVC)を用いて、開発した3系統のラットのコロニーを維持している。

●バイオリソースとしての免疫不全ラット

2002年から文部科学省が開始したナショナルバイオリソースプロジェクトは生命科学研究の基盤となるバイオリソースの収集・保存・提供を行うとともに、ゲノム情報などの解析や、保存技術などの開発を行っている。京都大学が中核機関として推進しているナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」(NBRP-Rat)は、これまで糖尿

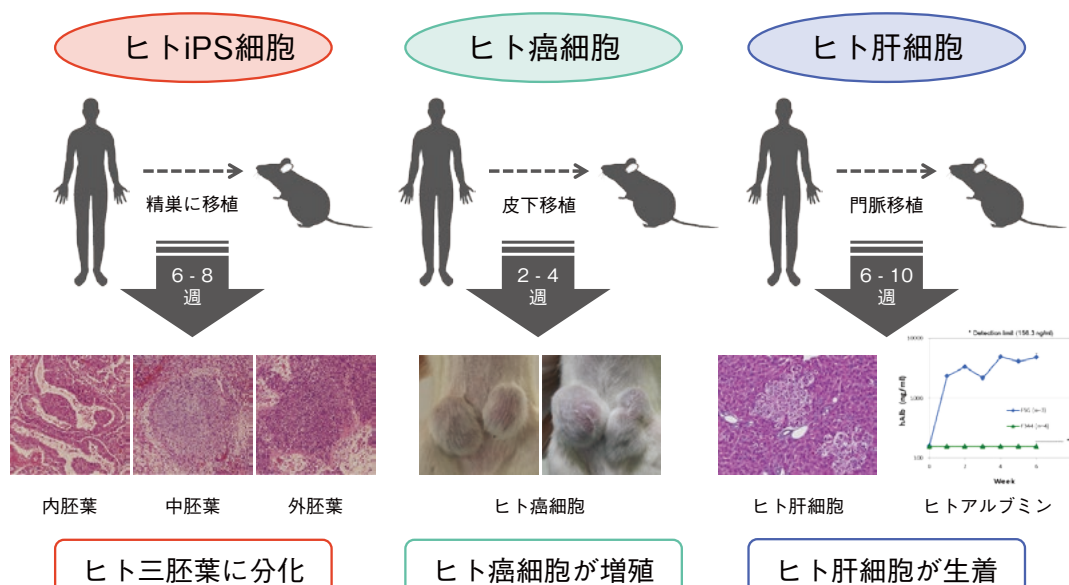


図2. 免疫不全ラットを用いたヒト化動物の開発
ヒト細胞や組織を免疫不全ラットに移植して、動物体内でヒト生理機能を調べることが可能になった。