(19)日本国特許庁(JP)

# (12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7404237号
(P7404237)

(45)発行日　令和5年12月25日(2023.12.25)

(24)登録日　令和5年12月15日(2023.12.15)

(51)国際特許分類

| | | FI | | |
|---|---|---|---|---|
| *A01K 67/027 (2006.01)* | | A01K | 67/027 | ZNA |
| *C12N 15/12 (2006.01)* | | C12N | 15/12 | |
| *G01N 33/53 (2006.01)* | | G01N | 33/53 | N |
| *G01N 33/574 (2006.01)* | | G01N | 33/574 | D |
| *C12N 15/24 (2006.01)* | | C12N | 15/24 | |

請求項の数　18　（全50頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2020-530435(P2020-530435)
(86)(22)出願日　平成30年8月9日(2018.8.9)
(65)公表番号　特表2021-500918(P2021-500918A)
(43)公表日　令和3年1月14日(2021.1.14)
(86)国際出願番号　PCT/US2018/046021
(87)国際公開番号　WO2019/032836
(87)国際公開日　平成31年2月14日(2019.2.14)
審査請求日　令和3年8月5日(2021.8.5)
(31)優先権主張番号　62/554,818
(32)優先日　平成29年9月6日(2017.9.6)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/543,218
(32)優先日　平成29年8月9日(2017.8.9)
最終頁に続く

(73)特許権者　398066918
ザ ジャクソン ラボラトリー
THE JACKSON LABORATORY
アメリカ合衆国 メイン州 バー ハーバー メイン ストリート ６００
(73)特許権者　505231659
ユニバーシティ オブ マサチューセッツ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２１０８， ボストン， ワン ベーコン ストリート， ３１スト フロア
(74)代理人　100078282
弁理士　山本 秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下 夏樹
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ヒトインターロイキン１５を発現する免疫不全マウス

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

ゲノムにヒトインターロイキン１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスであって、前記ｈｕ－ＩＬ－１５を発現し、前記マウスは、ＮＯＤ．Ｃｇ－Ｐｒｋｄｃ$^{ｓｃｉｄ}$ ＩＬ－２ｒｇ$^{ｔｍ１Ｗｊｌ}$／ＳｚＪバックグラウンドを有する、免疫不全マウス。

【請求項２】

機能的内在性マウスナチュラルキラー（ＮＫ）細胞が存在しない、請求項１に記載の免疫不全マウス。

【請求項３】

ヒト造血幹細胞、ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ヒトＮＫ細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、またはそれらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせをさらに含む、請求項１または請求項２に記載の免疫不全マウス。

【請求項４】

前記マウスがヒトＮＫ細胞を含み、前記ヒトＮＫ細胞は、前記マウスにおけるヒト造血幹細胞の分化によって、前記マウスで産生される、あるいは、前記ヒトＮＫ細胞は、ヒトＮＫ細胞を含有するＰＢＭＣの投与後に、前記マウスにおいて維持されるおよび／または産生される、請求項１～３のいずれか一項に記載の免疫不全マウス。

【請求項５】

ヒト腫瘍細胞を含むヒト異種移植片をさらに含む、請求項１～４のいずれか一項に記載

の免疫不全マウス。
【請求項６】
抗腫瘍活性を有する被検物質を同定する方法であって、
請求項１～４のいずれか一項に記載の免疫不全マウスを提供するステップ；
前記免疫不全マウスにヒト腫瘍細胞を投与するステップであって、ここで前記ヒト腫瘍細胞が、前記免疫不全マウスにおいて固形腫瘍または非固形腫瘍を形成する、ステップ；
前記免疫不全マウスに被検物質を投与するステップ；ならびに
前記被検物質への前記固形腫瘍または前記非固形腫瘍の反応をアッセイするステップであって、ここで前記腫瘍および／または前記腫瘍細胞に対する前記被検物質の阻害効果が、抗腫瘍活性を有するとして前記被検物質を同定する、ステップを含む、方法。
【請求項７】
前記反応を基準と比較して、前記ヒト腫瘍細胞に対する前記被検物質の効果を決定するステップをさらに含み、ここで前記ヒト腫瘍細胞に対する前記被検物質の阻害効果が、抗腫瘍活性を有するとして前記被検物質を同定する、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
前記被検物質が、免疫療法剤を含む、請求項６または７に記載の方法。
【請求項９】
前記被検物質が、免疫チェックポイント阻害剤である、請求項６～８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０】
前記免疫チェックポイント阻害剤が、ＰＤ－１阻害剤、ＰＤ－Ｌ１阻害剤、またはＣＴＬＡ－４阻害剤である、請求項９に記載の方法。
【請求項１１】
前記免疫チェックポイント阻害剤が、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、イピリムマブ、ニボルマブ、もしくはペンブロリズマブであるか、または、前記免疫チェックポイント阻害剤が、前述のいずれか１つの抗原結合断片を含む、請求項９または１０に記載の方法。
【請求項１２】
前記被検物質が、抗体を含む、請求項６～１１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３】
前記被検物質が、抗がん剤を含む、請求項６～１２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４】
遺伝子改変された免疫不全ヒト化マウスモデルの製造方法であって、
請求項１または請求項２に記載の免疫不全マウスを提供するステップ；および
ヒト造血幹細胞、ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ヒトＮＫ細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、またはそれらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせを、前記免疫不全マウスに投与するステップを含む、製造方法。
【請求項１５】
ヒト造血幹細胞、ヒトＰＢＭＣ、ヒトＮＫ細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、またはそれらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせを投与する前に、前記マウスのマウス造血細胞を減少させるために前記免疫不全マウスを前処置するステップをさらに含む、請求項１４に記載の製造方法。
【請求項１６】
前記マウスのマウス造血細胞を減少させるために前記免疫不全マウスを前処置するステップは、前記免疫不全マウスに高周波電磁放射線を照射すること、および／または、前記免疫不全マウスに放射線様作用薬を投与することを含む、請求項１５に記載の製造方法。
【請求項１７】
ヒト造血幹細胞、ヒトＰＢＭＣ、ヒトＮＫ細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、またはそれらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせを投与する前に、前記マウスのマウス造血幹細胞を減少させるための前処置を行わない、請求項１４に記載の製造方法。

【請求項１８】
前記免疫不全マウスに、ヒト腫瘍細胞を含むヒト異種移植片を投与するステップをさらに含む、請求項１４～１７のいずれか一項に記載の製造方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の参照
本出願は、２０１７年８月９日に出願された米国特許仮出願第６２／５４３，２１８号および２０１７年９月６日に出願された同第６２／５５４，８１８号の優先権を主張しており、その両方の全体の内容は、参照により本明細書に組み込まれている。
【０００２】
一般的な態様によれば、ＮＫ細胞媒介抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）の評価のためのモデルシステムのモデルとして、ならびに、ヒトナチュラルキラー（ＮＫ）および他のインターロイキン１５（ＩＬ－１５）依存性の細胞集団の機能および調節、およびヒトの免疫、がん、感染症、およびその他の分野の研究におけるプロセスのモデルとして、有用な免疫不全マウスが提供される。特定の態様によれば、ヒトインターロイキン１５を発現するように遺伝子改変された免疫不全マウスが提供され、マウスは機能的マウスナチュラルキラー細胞を有さないか、または産生せず、またマウスはヒトナチュラルキラー細胞を含むように改変される。
【背景技術】
【０００３】
ヒトナチュラルキラー（ＮＫ）および他のインターロイキン１５（ＩＬ－１５）依存性細胞集団の機能および調節、ならびにヒトの免疫、がん、感染症、およびその他の分野の研究におけるプロセスのマウスモデルについて、継続する必要性がある。ヒトＮＫ細胞は、生体内でのヒト腫瘍に対する抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を媒介する。しかしながら、ヒトＩＬ－１５の欠損により、がん免疫療法におけるヒトＮＫ細胞の生体内での役割を研究することは困難だった。ヒトＩＬ－１５は、成熟ヒト機能的ＮＫ細胞の生体内での発生と生存に必要であり、マウスＩＬ－１５は、ヒトＮＫ細胞の発生を支持しない。ＩＬ－１５は、骨髄間質細胞を含む複数の細胞型によって産生される。ＩＬ－１５分泌細胞がＩＬ－１５受容体アルファ（ＩＬ－１５ｒα）を発現すると、ＩＬ－１５の活性が増加することが報告されている。このＩＬ－１５：ＩＬ－１５ｒα複合体は、ＮＫ細胞および他のＩＬ－１５応答性細胞に交差提示される（ｔｒａｎｓｐｒｅｓｅｎｔｅｄ）。本明細書に示されるように、意外にも、ヒトＩＬ－１５を発現する免疫不全マウスは、ＩＬ－１５ｒαまたは任意の因子を供給する必要性なしに、ヒトＮＫ細胞発生を支持する。本発明のヒトＩＬ－１５を発現する免疫不全マウスは、ＮＫ細胞媒介ＡＤＣＣマウスの評価、ヒトナチュラルキラー（ＮＫ）および他のインターロイキン１５（ＩＬ－１５）依存性の細胞集団の機能および調節、ならびにヒトの免疫、がん、感染症、およびその他の分野の研究におけるプロセスのためのモデルシステムを提供する。
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００４】
そのゲノムにヒトインターロイキン１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスは、本発明の態様によって提供され、マウスはｈｕ－ＩＬ－１５を発現する。特定の態様によれば、そのゲノムに、ヒトインターロイキン－１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスは、機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とする。特定の態様によれば、そのゲノムに、ヒトインターロイキン－１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスは、機能的内在性ＩＬ－２ＲＧ遺伝子を欠くようにＩＬ－２ＲＧヌルであり、また機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とする。特定の態様によれば、そのゲノムに、ヒトインターロイキ

ン－１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスは、ヒト腫瘍細胞を含むヒト異種移植片をさらに含む。

【０００５】

そのゲノムに、ヒトインターロイキン１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全のＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスは、本発明の態様によって提供され、ＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスは、ｈｕ－ＩＬ－１５を発現する。特定の態様によれば、そのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全のＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスは、機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とする。特定の態様によれば、そのゲノムに、ヒトインターロイキン－１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全のＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスは、機能的内在性ＩＬ－２ＲＧ遺伝子を欠くようにＩＬ－２ＲＧヌルであり、また機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とする。特定の態様によれば、そのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全のＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスは、ヒト腫瘍細胞を含むヒト異種移植片をさらに含む。

【０００６】

そのゲノムにｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスは、本発明の態様によって提供され、マウスはｈｕ－ＩＬ－１５を発現し、マウスはヒト造血幹細胞、ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ヒトＮＫ細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、またはそれらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせをさらに含む。特定の態様によれば、そのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスは、機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とする。特定の態様によれば、そのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスは、機能的内在性ＩＬ－２ＲＧ遺伝子を欠くようにＩＬ－２ＲＧヌルであり、また機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とする。特定の態様によれば、そのゲノムにｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスが提供され、このマウスは、ｈｕ－ＩＬ－１５を発現し、マウスはヒト造血幹細胞、ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ヒトＮＫ細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、またはそれらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせを含み、またヒト腫瘍細胞を含むヒト異種移植片をさらに含む。

【０００７】

そのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全のＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスは、本発明の態様によって提供され、ＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスはｈｕ－ＩＬ－１５を発現し、およびマウスはヒト造血幹細胞、ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ヒトＮＫ細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、または、それらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせを含む。特定の態様によれば、そのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全のＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスは、機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とする。特定の態様によれば、そのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全のＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスは、機能的内在性ＩＬ－２ＲＧ遺伝子を欠くようにＩＬ－２ＲＧヌルであり、また機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とする。特定の態様によれば、そのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全のＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスは、ｈｕ－ＩＬ－１５を発現し、マウスはヒト造血幹細胞、ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ヒトＮＫ細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、または、それらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせを含み、および、マウスはヒト腫瘍細胞を含むヒト異種移植片をさらに含む。

【０００８】

そのゲノムにヒトインターロイキン１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスは、本発明の態様によって提供され

、マウスはｈｕ－ＩＬ－１５を発現し、およびマウスがさらにヒトＮＫ細胞系細胞および／またはヒトナチュラルキラー細胞を含み、ヒトナチュラルキラー細胞は、マウスにおけるヒト造血幹細胞の分化によって、および／または、ヒトナチュラルキラー細胞を含むＰＢＭＣの投与によって、および／または、精製ヒトＮＫ細胞の投与によって、マウスで産生される。特定の態様によれば、そのゲノムに、ヒトインターロイキン－１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスは、機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とする。特定の態様によれば、そのゲノムに、ヒトインターロイキン－１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスは、機能的内在性ＩＬ－２ＲＧ遺伝子を欠くようにＩＬ－２ＲＧヌルであり、また機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とする。特定の態様によれば、そのゲノムに、ヒトインターロイキン－１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスは、ｈｕ－ＩＬ－１５を発現し、マウスがさらにヒトＮＫ細胞系細胞および／またはヒトナチュラルキラー細胞を含み、ヒトナチュラルキラー細胞は、マウスにおけるヒト造血幹細胞の分化によって、および／または、ヒトナチュラルキラー細胞を含むＰＢＭＣの投与によって、および／または、精製ヒトＮＫ細胞の投与によって、マウスで産生され、および、マウスはヒト腫瘍細胞を含むヒト異種移植片をさらに含む。

【０００９】

そのゲノムにヒトインターロイキン１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全のＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスは、本発明の態様によって提供され、ＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスはｈｕ－ＩＬ－１５を発現し、マウスはさらに、ヒトＮＫ細胞系細胞および／またはヒトナチュラルキラー細胞を含み、ヒトナチュラルキラー細胞は、マウスにおけるヒト造血幹細胞の分化によって、および／または、ヒトナチュラルキラー細胞を含むＰＢＭＣの投与によって、および／または、精製ヒトＮＫ細胞の投与によって、マウスで産生される。特定の態様によれば、そのゲノムに、ヒトインターロイキン－１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全のＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスは、機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とする。特定の態様によれば、そのゲノムに、ヒトインターロイキン－１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全のＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスは、機能的内在性ＩＬ－２ＲＧ遺伝子を欠くようにＩＬ－２ＲＧヌルであり、また機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とする。特定の態様によれば、そのゲノムに、ヒトインターロイキン－１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全のＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスは、ｈｕ－ＩＬ－１５を発現し、マウスがさらにヒトＮＫ細胞系細胞および／またはヒトナチュラルキラー細胞を含み、ヒトナチュラルキラー細胞は、マウスにおけるヒト造血幹細胞の分化によって、および／または、ヒトナチュラルキラー細胞を含むＰＢＭＣの投与によって、および／または、精製ヒトＮＫ細胞の投与によって、マウスで産生され、および、マウスはヒト腫瘍細胞を含むヒト異種移植片をさらに含む。

【００１０】

被検物質の抗腫瘍活性を同定する方法は、本発明の態様によって提供され、この方法は、本発明の態様によって提供されるそのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスを提供することであって、マウスはｈｕ－ＩＬ－１５を発現する、提供すること；免疫不全マウスにヒト腫瘍細胞を投与することであって、ここでヒト腫瘍細胞が、遺伝子改変された免疫不全マウスにおいて固形腫瘍または非固形腫瘍を形成する、投与すること；免疫不全マウスに被検物質を投与すること；ならびに、被検物質への固形腫瘍または非固形腫瘍の反応をアッセイすることであって、ここで、腫瘍および／または腫瘍細胞に対する被検物質の阻害効果が、抗腫瘍活性を有するとして被検物質を同定する、アッセイすることを含む。特定の態様によれば、そのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変

された免疫不全マウスであって、ここでマウスはｈｕ－ＩＬ－１５を発現し、および機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とする。同定する方法は、免疫不全マウスにヒト腫瘍細胞を投与することであって、ヒト腫瘍細胞は、遺伝子改変された免疫不全マウスにおいて固形腫瘍または非固形腫瘍を形成する、投与すること；免疫不全マウスに被検物質を投与すること；ならびに、被検物質への固形腫瘍または非固形腫瘍の反応をアッセイすることであって、腫瘍および／または腫瘍細胞に対する被検物質の阻害効果が、抗腫瘍活性を有するとして被検物質を同定する、アッセイすることを含む。特定の態様によれば、そのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウス、マウスはｈｕ－ＩＬ－１５を発現し、機能的内在性ＩＬ－２ＲＧ遺伝子を欠くようにＩＬ－２ＲＧヌルであり、および機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とし、またこの方法は、免疫不全マウスにヒト腫瘍細胞を投与することであって、ヒト腫瘍細胞は、遺伝子改変された免疫不全マウスにおいて固形腫瘍または非固形腫瘍を形成する、投与すること；免疫不全マウスに被検物質を投与すること、および、被検物質への固形腫瘍または非固形腫瘍の反応をアッセイすることであって、腫瘍および／または腫瘍細胞に対する被検物質の阻害効果が、抗腫瘍活性を有するとして被検物質を同定する、アッセイすることを含む。特定の態様によれば、そのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスであって、マウスは、ｈｕ－ＩＬ－１５を発現し、機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とする、遺伝子改変されたＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスであり、および、マウスはさらに、ヒトＮＫ細胞系細胞および／またはヒトナチュラルキラー細胞を含み、ヒトナチュラルキラー細胞は、マウスにおけるヒト造血幹細胞の分化によって、および／または、ヒトナチュラルキラー細胞を含むＰＢＭＣの投与によって、および／または、精製ヒトＮＫ細胞の投与によって、マウスで産生される。方法は、免疫不全マウスにヒト腫瘍細胞を投与することであって、ここでヒト腫瘍細胞は、遺伝子改変された免疫不全マウスにおいて固形腫瘍または非固形腫瘍を形成する、投与すること；免疫不全マウスに被検物質を投与すること；ならびに、被検物質への固形腫瘍または非固形腫瘍の反応をアッセイすることであって、腫瘍および／または腫瘍細胞に対する被検物質の阻害効果が、抗腫瘍活性を有するとして被検物質を同定する、アッセイすることを含む。

【００１１】

特定の態様によれば、そのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスであって、マウスは、ｈｕ－ＩＬ－１５を発現し、マウスはｈｕ－ＩＬ－１５を発現し、機能的内在性ＩＬ－２ＲＧ遺伝子を欠くようにＩＬ－２ＲＧヌルであり、機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とし、マウスがさらにヒトＮＫ細胞系細胞および／またはヒトナチュラルキラー細胞を含み、ヒトナチュラルキラー細胞は、マウスにおけるヒト造血幹細胞の分化によって、および／または、ヒトナチュラルキラー細胞を含むＰＢＭＣの投与によって、および／または、精製ヒトＮＫ細胞の投与によって、マウスで産生される。方法は、免疫不全マウスにヒト腫瘍細胞を投与することであって、ここでヒト腫瘍細胞は、遺伝子改変された免疫不全マウスにおいて固形腫瘍または非固形腫瘍を形成する、投与すること；免疫不全マウスに被検物質を投与すること；ならびに、被検物質への固形腫瘍または非固形腫瘍の反応をアッセイすることであって、腫瘍および／または腫瘍細胞に対する被検物質の阻害効果が、抗腫瘍活性を有するとして被検物質を同定する、アッセイすることを含む。

【００１２】

特定の態様によれば、そのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスは、遺伝子改変されたＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスであり、マウスは、ｈｕ－ＩＬ－１５を発現し、機能的内在性ＩＬ－２ＲＧ遺伝子を欠くようにＩＬ－２ＲＧヌルであり、機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とし、マウスがさらにヒトＮＫ細胞系細胞および／またはヒトナチュラルキラー細胞を含み、ヒトナチュラルキラー細胞は、マウスにおけるヒト造血幹細胞の分化によって、および／または、ヒトナチュラルキラー細胞を含むＰＢＭＣの投与によって、および／また

は、精製ヒトＮＫ細胞の投与によって、マウスで産生される。方法は、免疫不全マウスにヒト腫瘍細胞を投与することであって、ヒト腫瘍細胞は、遺伝子改変された免疫不全マウスにおいて固形腫瘍または非固形腫瘍を形成する、投与すること；免疫不全マウスに被検物質を投与すること；ならびに、被検物質への固形腫瘍または非固形腫瘍の反応をアッセイすることであって、ここで腫瘍および／または腫瘍細胞に対する被検物質の阻害効果が、抗腫瘍活性を有するとして被検物質を同定する、アッセイすること、を含む。

【００１３】

特定の態様によれば、方法はさらに、反応を基準と比較して、ヒト腫瘍細胞に対する被検物質の効果を決定することを含み、ヒト腫瘍細胞に対する被検物質の阻害効果が、抗腫瘍活性を有するとして被検物質を同定する。

【００１４】

特定の態様によれば、被検物質は、免疫療法剤であるか、または、それを含む。

【００１５】

特定の態様によれば、被検物質は、免疫チェックポイント阻害剤であるか、または、それを含む。

【００１６】

特定の態様によれば、免疫チェックポイント阻害剤は、ＰＤ－１阻害剤、ＰＤ－Ｌ１阻害剤、またはＣＴＬＡ－４阻害剤であるか、それらを含む。

【００１７】

特定の態様によれば、免疫チェックポイント阻害剤は、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、イピリムマブ、ニボルマブ、もしくはペンブロリズマブである免疫チェックポイント阻害剤か、または、前述のいずれか１つの抗原結合断片を含む免疫チェックポイント阻害剤である。

【００１８】

特定の態様によれば、被検物質は、抗体であるか、または、それを含む。

【００１９】

特定の態様によれば、被検物質は、抗がん剤であるか、または、それを含む。

【００２０】

遺伝子改変された免疫不全ヒト化マウスモデルの製造方法は、本発明の態様によって提供され、この方法は、本発明の態様によって提供されるそのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスを提供することであって、マウスはｈｕ－ＩＬ－１５を発現する、提供すること；および、ヒト造血幹細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、ヒトＰＢＭＣ、精製ヒトＮＫ細胞または、それらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせを免疫不全マウスに投与すること、を含む。

【００２１】

遺伝子改変された免疫不全ヒト化マウスモデルの製造方法は、本発明の態様によって提供され、この方法は、そのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスを提供することを含み、マウスはｈｕ－ＩＬ－１５を発現し、および機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とする；および、方法は、造血幹細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、ヒトＰＢＭＣ、精製ヒトＮＫ細胞または、それらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせ、を免疫不全マウスに投与すること、を含む。特定の態様によれば、そのゲノムに、ヒトインターロイキン－１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスは、機能的内在性ＩＬ－２ＲＧ遺伝子を欠くようにＩＬ－２ＲＧヌルであり、および機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とし、および、方法は、造血幹細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、ヒトＰＢＭＣ、精製ヒトＮＫ細胞または、それらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせを免疫不全マウスに投与すること、を含む。

【００２２】

遺伝子改変された免疫不全ヒト化マウスモデルの製造方法は、本発明の態様によって提供され、この方法は、本発明の態様によって提供されるそのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５

をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変されたＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスを提供することであって、マウスは、ｈｕ－ＩＬ－１５を発現する、提供すること；および、造血幹細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、ヒトＰＢＭＣ、精製ヒトＮＫ細胞または、それらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせ、を遺伝子改変されたＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスに投与すること、を含む。態様によれば、免疫不全マウスは、ヒト造血幹細胞を投与する前に、マウスのマウス造血細胞を減少させるように前処置されている。マウスのマウス造血細胞を減少させるための免疫不全マウスの前処置は、遺伝子改変された免疫不全マウスに照射すること、および／または、遺伝子改変された免疫不全マウスに放射線様作用薬を投与すること、を含んでもよい。態様によれば、ヒト造血幹細胞を投与する前の、マウスのマウス造血細胞を減少させるための前処置は行わない。態様によれば、遺伝子改変された免疫不全ヒト化マウスモデルを作製する方法はさらに、ヒト腫瘍細胞を含むヒト異種移植片を免疫不全マウスに投与することを含む。

【００２３】

遺伝子改変された免疫不全ヒト化マウスモデルの製造方法は、本発明の態様によって提供され、この方法は、そのゲノムに、ｈｕ－ＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変されたＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスを提供することであって、遺伝子改変されたＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスは、ｈｕ－ＩＬ－１５を発現し、および機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とする、提供することを含み；および、方法は、ヒト造血幹細胞を、遺伝子改変されたＮＳＧ、ＮＲＧ、またはＮＯＧマウスに投与することを含む。特定の態様によれば、そのゲノムに、ヒトインターロイキン－１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変されたＮＳＧ、ＮＲＧ、またはＮＯＧマウスは、機能的内在性ＩＬ－２ＲＧ遺伝子を欠くようにＩＬ－２ＲＧヌルであり、および機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在を特徴とする；および、方法は、造血幹細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、ヒトＰＢＭＣ、精製ヒトＮＫ細胞または、それらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせ、を免疫不全マウスに投与すること、を含む。態様によれば、免疫不全マウスは、造血幹細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、ヒトＰＢＭＣ、精製ヒトＮＫ細胞または、それらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせを免疫不全マウスに投与する前に、マウスのマウス造血細胞を減少させるように前処置されている。マウスのマウス造血細胞を減少させるための免疫不全マウスの前処置は、遺伝子改変された免疫不全マウスに照射すること、および／または、遺伝子改変された免疫不全マウスに放射線様作用薬を投与すること、を含んでもよい。態様によれば、造血幹細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、ヒトＰＢＭＣ、精製ヒトＮＫ細胞または、それらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせを免疫不全マウスに投与する前の、マウスのマウス造血細胞を減少させるための前処置は行わない。態様によれば、遺伝子改変された免疫不全ヒト化マウスモデルを作製する方法はさらに、ヒト腫瘍細胞を含むヒト異種移植片を免疫不全マウスに投与することを含む。

特定の態様では、例えば以下の項目が提供される：

（項目１）

ゲノムにヒトインターロイキン１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスであって、前記ｈｕ－ＩＬ－１５を発現する、免疫不全マウス。

（項目２）

機能的内在性マウスナチュラルキラー（ＮＫ）細胞が存在しない、項目１に記載の免疫不全マウス。

（項目３）

機能的内在性ＩＬ－２ＲＧ遺伝子を欠くようにＩＬ－２ＲＧヌルであり、かつ機能的内在性マウスＮＫ細胞を欠く、項目１または２に記載の免疫不全マウス。

（項目４）

遺伝子改変されたＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスである、上記項目のいずれか一項に記載の免疫不全マウス。

（項目５）
ヒト造血幹細胞、ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ヒトＮＫ細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、またはそれらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせをさらに含む、上記項目のいずれか一項に記載の免疫不全マウス。
（項目６）
前記マウスがヒトナチュラルキラー細胞を含み、前記ヒトナチュラルキラー細胞は、前記マウスにおけるヒト造血幹細胞の分化によって、前記マウスで産生される、あるいは、前記ヒトナチュラルキラー細胞は、ヒトナチュラルキラー細胞を含有するＰＢＭＣの投与後に、前記マウスにおいて維持されるおよび／または産生される、上記項目のいずれか一項に記載の免疫不全マウス。
（項目７）
ヒト腫瘍細胞を含むヒト異種移植片をさらに含む、上記項目のいずれか一項に記載の免疫不全マウス。
（項目８）
被検物質の抗腫瘍活性を同定する方法であって、
項目１～６のいずれか一項に記載の免疫不全マウスを提供するステップ；
前記免疫不全マウスにヒト腫瘍細胞を投与するステップであって、ここで前記ヒト腫瘍細胞が、前記遺伝子改変された免疫不全マウスにおいて固形腫瘍または非固形腫瘍を形成する、ステップ；
前記免疫不全マウスに被検物質を投与するステップ；ならびに
前記被検物質への前記固形腫瘍または前記非固形腫瘍の反応をアッセイするステップであって、ここで前記腫瘍および／または前記腫瘍細胞に対する前記被検物質の阻害効果が、抗腫瘍活性を有するとして前記被検物質を同定する、ステップを含む、方法。
（項目９）
前記反応を基準と比較して、前記ヒト腫瘍細胞に対する前記被検物質の効果を決定するステップをさらに含み、ここで前記ヒト腫瘍細胞に対する前記被検物質の阻害効果が、抗腫瘍活性を有するとして前記被検物質を同定する、項目８に記載の方法。
（項目１０）
前記被検物質が、免疫療法剤を含む、項目８または９に記載の方法。
（項目１１）
前記被検物質が、免疫チェックポイント阻害剤である、項目８～１０のいずれか一項に記載の方法。
（項目１２）
前記免疫チェックポイント阻害剤が、ＰＤ－１阻害剤、ＰＤ－Ｌ１阻害剤、またはＣＴＬＡ－４阻害剤である、項目１１に記載の方法。
（項目１３）
前記免疫チェックポイント阻害剤が、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、イピリムマブ、ニボルマブ、もしくはペンブロリズマブであるか、または、前記免疫チェックポイント阻害剤が、前述のいずれか１つの抗原結合断片を含む、項目１１または１２に記載の方法。
（項目１４）
前記被検物質が、抗体を含む、項目８～１３のいずれか一項に記載の方法。
（項目１５）
前記被検物質が、抗がん剤を含む、項目８～１４のいずれか一項に記載の方法。
（項目１６）
遺伝子改変された免疫不全ヒト化マウスモデルの製造方法であって、
項目１～４のいずれか一項に記載の免疫不全マウスを提供するステップ；および
ヒト造血幹細胞、ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ヒトＮＫ細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、またはそれらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせを、前記免疫不全マウスに投与するステップを含む、製造方法。

（項目１７）
ヒト造血幹細胞、ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ヒトＮＫ細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、またはそれらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせを投与する前に、前記マウスのマウス造血細胞を減少させるために前記免疫不全マウスを前処置するステップをさらに含む、項目１６に記載の製造方法。
（項目１８）
前記マウスのマウス造血細胞を減少させるために前記免疫不全マウスを前処置するステップは、前記遺伝子改変された免疫不全マウスに照射すること、および／または、前記遺伝子改変された免疫不全マウスに放射線様作用薬を投与することを含む、項目１７に記載の製造方法。
（項目１９）
ヒト造血幹細胞、ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ヒトＮＫ細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、またはそれらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせを投与する前に、前記マウスのマウス造血幹細胞を減少させるための前処置を行わない、項目１８に記載の製造方法。
（項目２０）
前記免疫不全マウスに、ヒト腫瘍細胞を含むヒト異種移植片を投与するステップをさらに含む、項目１６～１９のいずれか一項に記載の製造方法。
（項目２１）
実質的に本明細書に記載されている、または示されている、遺伝子改変された免疫不全マウス。
（項目２２）
実質的に本明細書に記載されている、または示されている、遺伝子改変された免疫不全ヒト化マウスモデルの製造方法。
（項目２３）
実質的に本明細書に記載されている、または示されている、被検物質の抗腫瘍活性を同定する方法。
【図面の簡単な説明】
【００２４】
統計的有意性について分析された本明細書のすべての図において、＊はＰ＜０．０５を意味し、＊＊はＰ＜０．０１を意味し、＊＊＊はＰ＜０．００１を意味し、＊＊＊＊はＰ＜０．０００１を意味する。
【００２５】
【図１】図１は、ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）ヘミ接合体からの血清中のヒトＩＬ１５レベルを示すグラフである。
【００２６】
【図２】図２は、ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）ホモ接合体からの血清中のヒトＩＬ１５レベルを示すグラフである。
【００２７】
【図３】図３は、ＨＳＣ移植ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスが、ＨＳＣ移植ＮＳＧマウスと比較して、同様の生存率を有することを示すグラフである。本研究では、ＮＳＧまたはＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウス（６～８週齢）に、照射（２００ｃＧｙ）し、また、臍帯血に由来する１００，０００個のＣＤ３４＋ＨＳＣを静脈内（ＩＶ）注入した。マウスの両方のグループについて生存率をモニターした。
【００２８】
【図４】図４は、ＨＳＣ移植ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスが、血液中のＣＤ４５＋細胞の発生を促進したことを示すグラフである。本研究では、ＮＳＧまたはＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウス（６～８週齢）に、照射（２００ｃＧｙ）し、また、臍帯血に由来する１００，０００個のＣＤ３４＋ＨＳＣをＩＶに注入した。ヒトＣＤ４５＋細胞のレベルは、フローサイトメトリーにより末梢血中においてモニターした。
【００２９】

【図５】図５は、ＮＳＧマウスと比較したＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスにおける％ｈＣＤ４５移植を示すグラフである。
【００３０】
【図６】図６は、ＨＳＣ移植ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスが、血中のヒトＴ細胞と同様の発生を示すグラフである。本研究では、ＮＳＧまたはＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウス（６～８週齢）に、照射（２００ｃＧｙ）し、また、臍帯血に由来する１００，０００個のＣＤ３４＋ＨＳＣをＩＶに注入した。ヒトＣＤ３＋Ｔ細胞のレベルは、フローサイトメトリーにより末梢血中においてモニターした。
【００３１】
【図７】図７は、血球サブタイプのフローサイトメトリー分析の結果を示す。
【００３２】
【図８】図８は、ＨＳＣ移植ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスが、増加した血液中のヒトＮＫ細胞の発生を示すことを示すグラフである。本研究では、ＮＳＧまたはＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウス（６～８週齢）に、照射（２００ｃＧｙ）し、また、臍帯血に由来する１００，０００個のＣＤ３４＋ＨＳＣをＩＶに注入した。ヒトＣＤ５６＋／ＣＤ１６＋ＮＫ細胞のレベルは、フローサイトメトリーにより末梢血中においてモニターした。
【００３３】
【図９】図９は、移植されたＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスが、血中のヒトＢ細胞の割合が低いことを示すグラフである。本研究では、ＮＳＧまたはＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウス（６～８週齢）に、照射（２００ｃＧｙ）し、また、臍帯血に由来する１００，０００個のＣＤ３４＋ＨＳＣをＩＶに注入した。ヒトＣＤ２０＋Ｂ細胞のレベルは、フローサイトメトリーにより末梢血中においてモニターした。
【００３４】
【図１０】図１０は、ＨＳＣ移植ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスが、血中のヒト骨髄性細胞の同様の発生を示すグラフである。本研究では、ＮＳＧまたはＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウス（６～８週齢）に、照射（２００ｃＧｙ）し、また、臍帯血に由来する１００，０００個のＣＤ３４＋ＨＳＣをＩＶに注入した。ヒトＣＤ３３＋骨髄性細胞のレベルは、フローサイトメトリーにより末梢血中においてモニターした。
【００３５】
【図１１】図１１は、ＨＳＣ移植ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスが、血中に一定数のヒトＮＫ細胞を示すことを示すグラフである。本研究では、ＮＳＧまたはＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウス（６～８週齢）に、照射（２００ｃＧｙ）し、また、臍帯血に由来する１００，０００個のＣＤ３４＋ＨＳＣをＩＶに注入した。ヒトＣＤ５６＋／ＣＤ１６＋ＮＫ細胞の総細胞レベルは、フローサイトメトリーにより末梢血中においてモニターした。
【００３６】
【図１２Ａ】図１２Ａは、ＨＳＣ移植ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスからのヒトＮＫ細胞がより高いレベルのヒトグランザイムＢを発現することを示すグラフである。本研究では、ＮＳＧまたはＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウス（６～８週齢）に、照射（２００ｃＧｙ）し、また、臍帯血に由来する１００，０００個のＣＤ３４＋ＨＳＣをＩＶに注入した。注入後１６週間で、ヒトＣＤ５６＋／ＣＤ１６＋ＮＫ細胞を、フローサイトメトリーにより、血液および脾臓におけるグランザイムＢの発現について評価した。
【００３７】
【図１２Ｂ】図１２Ｂは、ＨＳＣ移植ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスからのヒトＮＫ細胞がより高いレベルのヒトグランザイムＢを発現することを示すグラフである。本研究では、ＮＳＧまたはＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウス（６～８週齢）に、照射（２００ｃＧｙ）し、また、臍帯血に由来する１００，０００個のＣＤ３４＋ＨＳＣをＩＶに注入した。注入後１６週間で、ヒトＣＤ５６＋／ＣＤ１６＋ＮＫ細胞を、フローサイトメトリーにより、血液および脾臓におけるグランザイムＢの発現について評価した。

【００３８】
【図１３Ａ】図１３Ａは、ＮＳＧマウスと比較したＮＳＧ－Ｔｇ（ＩＬ１５）マウスの血液および脾臓におけるパーフォリン陽性（パーフォリン＋）ＮＫ細胞の％を示すグラフである。
【００３９】
【図１３Ｂ】図１３Ｂは、ＮＳＧマウスと比較したＮＳＧ－Ｔｇ（ＩＬ１５）マウスの脾臓におけるパーフォリンの発現の増加を示すグラフである。
【００４０】
【図１４】図１４は、ＮＳＧ－Ｔｇ（ＩＬ１５）マウスおよびＮＳＧマウスの細胞を使用したフローサイトメトリーの結果を示す。
【００４１】
【図１５】図１５は、ＨＳＣ移植ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスのヒトＮＫ細胞がＮＫ感受性標的（Ｋ５６２細胞）を殺滅することを示すグラフである。この研究では、ヒトＮＫ細胞を、ＨＳＣ移植ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスの脾臓またはヒトＰＢＭＣのいずれかから濃縮し、標準$Ｃｒ^{51}$放出アッセイを使用して、Ｋ５６２標的細胞を溶解する能力を評価した。ＮＫ細胞とＫ５６２細胞を一緒に２０時間インキュベートし、$Ｃｒ^{51}$の放出を定量化した。
【発明を実施するための形態】
【００４２】
本明細書において使用される科学的および技術的用語は、当業者により一般に理解される意味を有することを意図している。このような用語は、例示的に以下を含む様々な標準的な参考文献における文脈中において定義され、また使用されているものが見出される：Ｊ．Ｓａｍｂｒｏｏｋ ａｎｄ Ｄ．Ｗ．Ｒｕｓｓｅｌｌ、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ；３ｒｄ Ｅｄ．、２００１；Ｆ．Ｍ．Ａｕｓｕｂｅｌ、Ｅｄ．、Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ；５ｔｈ Ｅｄ．、２００２；Ｂ．Ａｌｂｅｒｔｓら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ｏｆ ｔｈｅ Ｃｅｌｌ、４ｔｈ Ｅｄ．、Ｇａｒｌａｎｄ、２００２；Ｄ．Ｌ．Ｎｅｌｓｏｎ ａｎｄ Ｍ．Ｍ．Ｃｏｘ、Ｌｅｈｎｉｎｇｅｒ Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ｏｆ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、４ｔｈ Ｅｄ．、Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ＆Ｃｏｍｐａｎｙ、２００４；Ｅｎｇｅｌｋｅ、Ｄ．Ｒ．、ＲＮＡ Ｉｎｔｅｒｆｅｒｅｎｃｅ（ＲＮＡｉ）：Ｎｕｔｓ ａｎｄ Ｂｏｌｔｓ ｏｆ ＲＮＡｉ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、ＤＮＡ Ｐｒｅｓｓ ＬＬＣ、Ｅａｇｌｅｖｉｌｌｅ、ＰＡ、２００３；Ｈｅｒｄｅｗｉｊｎ、Ｐ．（Ｅｄ．）、Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ：Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ、２００４；Ａ．Ｎａｇｙ、Ｍ．Ｇｅｒｔｓｅｎｓｔｅｉｎ、Ｋ．Ｖｉｎｔｅｒｓｔｅｎ、Ｒ．Ｂｅｈｒｉｎｇｅｒ、Ｍａｎｉｐｕｌａｔｉｎｇ ｔｈｅ Ｍｏｕｓｅ Ｅｍｂｒｙｏ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、３ｒｄ ｅｄｉｔｉｏｎ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ；Ｄｅｃｅｍｂｅｒ １５、２００２、ＩＳＢＮ－１０：０８７９６９５９１９；Ｋｕｒｓａｄ Ｔｕｒｋｓｅｎ（Ｅｄ．）、Ｅｍｂｒｙｏｎｉｃ ｓｔｅｍ ｃｅｌｌｓ：ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ．２００２；１８５、Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ；Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ、ＩＳＢＮ：９７８０４７０１５１８０８；Ｃｈｕ、Ｅ．ａｎｄ Ｄｅｖｉｔａ、Ｖ．Ｔ．、Ｅｄｓ．、Ｐｈｙｓｉｃｉａｎｓ’ Ｃａｎｃｅｒ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒａｐｙ Ｄｒｕｇ Ｍａｎｕａｌ、Ｊｏｎｅｓ＆Ｂａｒｔｌｅｔｔ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ、２００５；Ｊ．Ｍ．Ｋｉｒｋｗｏｏｄら、Ｅｄｓ．、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ、４ｔｈ Ｅｄ．、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ Ｇｒｏｕｐ、２００１；Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒ

ｍａｃｙ、Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ&Ｗｉｌｋｉｎｓ、２１ｓｔ Ｅｄ.、２００５；Ｌ．Ｖ．Ａｌｌｅｎ、Ｊｒ．ら、Ａｎｓｅｌ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ、８ｔｈ Ｅｄ.、Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ、ＰＡ：Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ、Ｗｉｌｌｉａｍｓ&Ｗｉｌｋｉｎｓ、２００４；およびＬ．Ｂｒｕｎｔｏｎら、Ｇｏｏｄｍａｎ&Ｇｉｌｍａｎ’ｓ Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａｌ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ、ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ Ｐｒｏｆｅｓｓｉｏｎａｌ、１２ｔｈ Ｅｄ.、２０１１。

【００４３】

単数形の用語「ａ」、「ａｎ」および「ｔｈｅ」は、特に明記しない限り、または文脈が明確に他を示さない限りは、限定されることを意図せず、複数の指示対象を含む。

【００４４】

用語「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」は、例えば、要素Ａ、Ｂ、およびＣを含む群が、追加の要素も含むことができる、開放群（ｏｐｅｎ ｇｒｏｕｐ）を指す。用語「からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ ｏｆ）」は、例えば、要素Ａ、Ｂ、およびＣからなる群が、追加の要素を包含しない閉鎖群（ｃｌｏｓｅｄ ｇｒｏｕｐ）を指す。

【００４５】

本発明のマウスモデルは、ヒトＩＬ－１５を発現するように遺伝子改変された免疫不全マウスであり、また、本明細書では「免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウス」と呼ばれる。本明細書に記載の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスモデルは、ヒトＩＬ－１５を含むＮＫ細胞のｉｎ ｖｉｔｒｏ培養および組換え型ＩＬ－１５の繰り返しの生体内注入の必要性を排除することにより、ヒトＮＫ細胞媒介免疫療法の高スループット生体内試験のプラットフォームを提供する。

【００４６】

免疫不全Ｈｕ－ＩＬ－１５マウス

【００４７】

本発明の態様は、マウスのゲノムがヒトＩＬ－１５をコードする核酸を含むように遺伝子改変された免疫不全（ｈｕ－ＩＬ－１５マウス）に関し、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、ヒトＩＬ－１５を発現し、また、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、ヒト造血幹細胞を含む。本発明の態様は、マウスのゲノムがヒトＩＬ－１５をコードする核酸を含むように遺伝子改変された免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウス（ｈｕ－ＩＬ－１５マウス）に関し、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、ヒトＩＬ－１５を発現し、また、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、分化したヒト造血幹細胞、特にヒトＮＫ細胞を含む。

【００４８】

特定の態様において、ヒトＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列は、マウスの選択された細胞のゲノムに組み込まれる。例えば、ヒトＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列は、マウスの生殖系列細胞のゲノムに組み込まれ、それにより、ヒトＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列のマウスの子孫への遺伝が可能となる。

【００４９】

本明細書では、ヒトＩＬ－１５は配列番号１として同定され、またその機能的改変体は本発明において有用である。

【００５０】

本明細書でヒトＩＬ－１５に関して使用される用語「機能的改変体（ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ ｖａｒｉａｎｔ）」は、ヒトＩＬ－１５の生物活性を保持するタンパク質を指す。機能的改変体は、例えば、ヒトＩＬ－１５Ｒαに特異的に結合する能力を保持し、ヒトＮＫ細胞の活性化、増殖および発生を調節する配列番号１のヒトＩＬ－１５の改変体を包含する。

【００５１】

本発明の特定の態様は、そのゲノムが、配列番号１のアミノ酸配列を有するヒトＩＬ－１５、または、配列番号１で示されるアミノ酸配列と少なくとも約８５％、９０％、９１

％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、９９．４％、またはそれを超える配列同一性を有する機能的改変体をコードするヌクレオチド配列を含む免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに関する。

【００５２】

本発明の特定の態様によれば、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、配列番号１のアミノ酸配列を有するヒトＩＬ－１５、または、配列番号１で示されるアミノ酸配列と少なくとも約８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、９９．４％、またはそれを超える配列同一性を有する機能的改変体をコードするｍＲＮＡを発現する。

【００５３】

本発明の特定の態様によれば、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、配列番号１のアミノ酸配列を有するヒトタンパク質ＩＬ－１５、または、配列番号１で示されるアミノ酸配列と少なくとも約８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、９９．４％、またはそれを超える配列同一性を有する機能的改変体、を発現する。

【００５４】

本発明の態様による免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、そのゲノムに、プロモーターに操作可能に連結されたヒトＩＬ－１５をコードする核酸を含み、ヒトＩＬ－１５は、配列番号１のアミノ酸配列、または高度にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で配列番号２にハイブリダイズする核酸の相補体によってコードされるアミノ酸配列を含む。遺伝暗号の縮重性に起因して、代替の核酸配列がヒトＩＬ－１５およびその機能的改変体をコードし、このような代替の核酸を本明細書に記載される組成物および方法において使用してもよいことは、当業者によって理解されるであろう。

【００５５】

２つのアミノ酸配列または２つのヌクレオチド配列の同一性パーセントを決定するために、配列は、最適な比較目的で整列している（例えば、ギャップは、第一のアミノ酸またはヌクレオチド配列において、第二のアミノ酸またはヌクレオチド配列との最適な整列のために、整列ソフトウェアプログラムのデフォルトパラメーターを使用して導入することができる）。対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置のアミノ酸またはヌクレオチドが、次に比較される。第一の配列における位置が、第二の配列における相当する位置のものと同じアミノ酸またはヌクレオチドにより占められる場合に、その配列は、その位置で同一である。その２つの配列の間の同一性パーセントは、配列によって共有される同一の位置の数の関数である（すなわち、％同一性＝同一の整列位置の数÷整列位置の総数×１００％）。いくつかの態様において、この２つの配列は同じ長さを有する。

【００５６】

この２つの配列の間の同一性パーセントの決定は、数学アルゴリズムを使用して達成することができる。２つの配列の比較に利用される数学アルゴリズムの非限定例は、例えば、Ｋａｒｌｉｎ ａｎｄ Ａｌｔｓｃｈｕｌ，１９９３，ＰＮＡＳ ＵＳＡ ９０：５８７３－７７として修正された、Ｋａｒｌｉｎ ａｎｄ Ａｌｔｓｃｈｕｌ，１９９０，ＰＮＡＳ ＵＳＡ ８７：２２６４－６８のアルゴリズムである。このようなアルゴリズムは、Ａｌｔｓｃｈｕｌら、１９９０、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３のＮＢＬＡＳＴおよびＸＢＬＡＳＴのプログラムに組み入れられる。ＢＬＡＳＴのヌクレオチド検索は、本発明のヌクレオチド配列に相同なヌクレオチド配列を得るために、例えば、スコア＝１００、ワード長＝１２といったＮＢＬＡＳＴのヌクレオチドプログラムのパラメーターセットを用いて、実行され得る。ＢＬＡＳＴのタンパク質検索は、本発明のタンパク質分子に相同なアミノ酸配列を得るために、例えばスコア＝５０、ワード長＝３といったＸＢＬＡＳＴのプログラムのパラメーターセットを用いて、実行され得る。比較目的のためのギャップ付き整列を得るために、Ｇａｐｐｅｄ ＢＬＡＳＴが、Ａｌｔｓｃｈｕｌら、１９９７、Ｎｕｃｌｅｉｃ ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２５：３３８９－０２に記載されたように、利用され得る。あるいは、ＰＳＩ ＢＬＡＳＴは、分子間の距離関係を検出する繰り返し検

索を実行するために、使用され得る（同文献）。ＢＬＡＳＴ、Ｇａｐｐｅｄ ＢＬＡＳＴ、およびＰＳＩ Ｂｌａｓｔを利用する場合に、対応するプログラムの（例えば、ＸＢＬＡＳＴおよびＮＢＬＡＳＴの）デフォルトのパラメーターが使用される（例えば、ＮＣＢＩのウェブサイトを参照のこと）。別の好適な、配列を比較するために利用される数学アルゴリズムの非限定例は、Ｍｙｅｒｓ ａｎｄ Ｍｉｌｌｅｒ、１９８８、ＣＡＢＩＯＳ４：１１－１７のアルゴリズムである。このようなアルゴリズムは、ＧＣＧ配列整列ソフトウェアパッケージの部分である、ＡＬＩＧＮプログラム（バージョン２．０）に組み入れられる。アミノ酸配列を比較するためにＡＬＩＧＮプログラムを利用する場合に、ＰＡＭ１２０重量残基表（ｗｅｉｇｈｔ ｒｅｓｉｄｕｅ ｔａｂｌｅ）、１２のギャップ長ペナルティー、および４のギャップペナルティーを使用する。一連のソフトウェアプログラムであるＣｌｕｓｔａｌは、配列同一性パーセントを決定するための追加の方法を提供する。

【００５７】

２つの配列間の同一性パーセントは、ギャップを許容する、または許容しない上記のものと類似した技術を使用して決定される。同一性パーセントを計算することにおいて、完全な一致のみを通常計数する。

【００５８】

用語「ハイブリダイゼーション」および「ハイブリダイズする」は、相補的な核酸の対合および結合を指す。ハイブリダイゼーションは、核酸の相補性の程度、核酸の融解温度であるＴｍ、およびハイブリダイゼーション条件のストリンジェンシーなどの当該技術分野において周知である要因に依存して、２つの核酸間の種々の範囲で生じる。用語「ハイブリダイゼーション条件のストリンジェンシー」は、ホルムアミドおよびデンハルト溶液などの特定の一般的な添加物に関しては、ハイブリダイゼーション媒体の温度、イオン強度、および組成の条件を指す。明記された核酸に関連する特定のハイブリダイゼーション条件の決定は、例えば、Ｊ．Ｓａｍｂｒｏｏｋ ａｎｄ Ｄ．Ｗ．Ｒｕｓｓｅｌｌ、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ；３ｒｄ Ｅｄ．、２００１；およびＦ．Ｍ．Ａｕｓｕｂｅｌ、Ｅｄ．、Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ；５ｔｈ Ｅｄ．、２００２に記載されるように、慣用的であり、当該技術分野において周知である。高ストリンジェンシーハイブリダイゼーションの条件は、実質的に相補的な核酸のハイブリダイゼーションしか許容しない条件である。典型的に、約８５～１００％の相補性を有する核酸は、高度に相補的であると考えられ、高ストリンジェンシー条件下においてハイブリダイズする。中間のストリンジェンシー条件は、高い相補性の程度を有するものと同様に、約５０～８４％といった中間の相補性を有する核酸がハイブリダイズする条件により例示される。対照的に、低ストリンジェンシーハイブリダイゼーションの条件は、低い相補性の程度を有する核酸がハイブリダイズする条件である。

【００５９】

用語「特異的なハイブリダイゼーション」および「特異的にハイブリダイズする」は、試料中の標的核酸以外への核酸の実質的なハイブリダイゼーションのない、標的核酸への特定の核酸のハイブリダイゼーションを指す。

【００６０】

ハイブリダイゼーションおよび洗浄条件のストリンジェンシーは、当業者に周知であるように、プローブおよび標的のＴｍ、ならびに、ハイブリダイゼーションおよび洗浄条件のイオン強度を含む、いくつかの要因に依存する。ハイブリダイゼーションおよび望ましいハイブリダイゼーションのストリンジェンシーを達成するための条件は、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、２００１；およびＡｕｓｕｂｅｌ、Ｆ．ら、（Ｅｄｓ．）、Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｗｉｌｅｙ、２００２に記載されている。

【００６１】
変異は、部位特異的変異誘発およびＰＣＲ媒介の変異誘発等の標準的な分子生物学の技術を使用して導入され得る。当業者は、１またはそれを超えるアミノ酸変異が、ヒトＩＬ－１５の機能特性を変えることなく、導入され得ることを認識するだろう。ヒトＩＬ－１５をコードする１またはそれを超えるヌクレオチド配列は、例えば、特定のマウスのため、あるいは制限部位を追加するまたは削除するため、またはクローニングする、増幅する、および／または配列決定するのが困難な配列を変更するため等の便宜上のため、コドン使用を最適化するため、ヒトＩＬ－１５をコードする遺伝子および／またはｍＲＮＡから変更され得る。

【００６２】
保存的アミノ酸置換をヒトＩＬ－１５タンパク質で行い、機能的ヒトＩＬ－１５改変体を産生することができる。保存的なアミノ酸置換は、当該分野で認識される、１つのアミノ酸を、類似した特性を有する別のアミノ酸の代わりに用いることである。例えば、各アミノ酸は、以下の特徴のうち１またはそれを超える特徴を有するものとして記載され得る：正電気、負電気、脂肪族、芳香族、極性、疎水性、および親水性。保存的置換は、特定の構造的または機能的特性を有する１つのアミノ酸による、同じ特性を有する別のアミノ酸の置換である。酸性アミノ酸は、アスパラギン酸、グルタミン酸を含む；塩基性アミノ酸は、ヒスチジン、リジン、アルギニンを含む；脂肪族アミノ酸は、イソロイシン、ロイシン、およびバリンを含む；芳香族アミノ酸は、フェニルアラニン、チロシン、およびトリプトファンを含む；極性アミノ酸は、アスパラギン酸、グルタミン酸、ヒスチジン、リジン、アスパラギン、グルタミン、アルギニン、セリン、スレオニン、およびチロシンを含む；および、疎水性アミノ酸は、アラニン、システイン、フェニルアラニン、グリシン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、プロリン、バリン、およびトリプトファンを含む；および、保存的置換は、それぞれの群内のアミノ酸の間の置換を含む。アミノ酸は、立体効果または相対的サイズの点についても記載されることができ、例えば、アラニン、システイン、アスパラギン酸、グリシン、アスパラギン、プロリン、スレオニン、セリン、およびバリンは、すべて通常は小さいと考えられる。

【００６３】
用語「核酸」は、一本鎖、二本鎖、オリゴヌクレオチド、またはポリヌクレオチドを含むいずれかの形態において、１を超えるヌクレオチドを有するＲＮＡまたはＤＮＡ分子を指す。用語「ヌクレオチド配列」は、核酸におけるヌクレオチドの順序を指す。

【００６４】
ヒトＩＬ－１５およびその改変体をコードする核酸は、周知の方法論を使用して、組み換え的にまたは合成的に、単離または生成され得る。

【００６５】
免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスが、本発明の態様によって提供され、そのゲノムはヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体をコードするヌクレオチド配列を含む発現カセットを含み、マウスは、コードされたヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体を発現する。

【００６６】
用語「発現コンストラクト」および「発現カセット」は、本明細書において、所望のコード配列（例えば、ヒトＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列）を含有する、および作動可能に連結されたコード配列の発現のために必要であるまたは望ましい１またはそれを超える調節エレメントを含有する、二本鎖組換えヌクレオチド配列を指すものとして使用される。本明細書において使用される用語「調節エレメント」は、ヌクレオチド配列の発現のいくつかの態様を制御するヌクレオチド配列を指す。例示的な調節エレメントは、エンハンサー、内部リボソーム侵入部位（ＩＲＥＳ）、イントロン、複製開始点、ポリアデニル化シグナル（ｐＡ）、プロモーター、転写終結配列、および上流調節ドメイン（これらは、ヌクレオチド配列の複製、転写、ならびに、転写後プロセシングに寄与する）を例示的に含む。当業者は、単なる慣用的な実験による発現コンストラクトにおいて、これらおよび他の調節エレメントを選択すること、および使用することが可能である。発現コ

ンストラクトは、周知の方法論を使用して、組み換え的にまたは合成的に、生成され得る。
【００６７】
本明細書において使用される用語「操作可能に連結された」は、第二のヌクレオチド配列と機能的な関係にあるヌクレオチド配列を指す。
【００６８】
上述のとおり、発現カセットに包含される調節エレメントは、プロモーターであり得る。
【００６９】
本明細書において使用される用語「プロモーター」は、所望のアミノ酸をコードするヌクレオチド配列等の、転写されるコードヌクレオチド配列に操作可能に連結された調節ヌクレオチド配列を指す。プロモーターは、転写されるヌクレオチド配列の上流に一般的に位置し、ＲＮＡポリメラーゼおよび他の転写因子により特異的に結合するための部位を提供する。このように、本発明の特定の態様において、ヒトＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列が、プロモーターに操作可能に連結される。本発明の特定の態様において、プロモーターは、構成的プロモーターまたは誘導性プロモーターである。本発明の特定の態様において、プロモーターは、ユビキタスな、組織特異的な、または細胞型特異的な発現を提供する。
【００７０】
発現コンストラクトに含まれ得るユビキタスなプロモーターは、これらに限定されないが、３－ホスホグリセリン酸キナーゼ（ＰＧＫ－１）プロモーター、ベータ－アクチンプロモーター、ＲＯＳＡ２６プロモーター、熱ショックタンパク質７０（Ｈｓｐ７０）プロモーター、伸長因子１アルファ（ＥＦ１）をコードするＥＦ－１アルファ遺伝子プロモーター、真核生物翻訳開始因子４Ａ（ｅＩＦ－４Ａ１）プロモーター、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ（ＣＡＴ）プロモーター、およびサイトメガロウイルス（ＣＭＶ）プロモーター、を含む。
【００７１】
プロモーターは、例えば、構成的プロモーターであり得る。本発明の特定の態様において、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、そのゲノムに、構成的プロモーターに操作可能に連結されたヒトＩＬ－１５をコードするヌクレオチド配列を含む。特定の態様において、プロモーターは、宿主マウス（例えば、免疫不全マウス）において、遺伝子発現の駆動を可能とする。例えば、プロモーターはＣＡＧプロモーターであり得る。ＣＡＧプロモーターは、サイトメガロウイルス初期エンハンサーエレメント（「Ｃ」）、ニワトリベータアクチン遺伝子の第一エクソンおよび第一イントロン（「Ａ」）、およびウサギベータグロブリン遺伝子のスプライスアクセプター（「Ｇ」）を含む。ＣＡＧプロモーターは、周知であり、マウス細胞における強固な発現を示す（例えば、Ｊｕｎ－ｉｃｈｉら、１９８９、Ｇｅｎｅ、７９（２）：２６９を参照のこと）。ＣＡＧプロモーターは、例えばエクソンを取り除くように改変され得る。他のプロモーターは、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）前初期プロモーター及びシミアンウイルス４０（ＳＶ４０）初期プロモーターを含むマウスにおいて、遺伝子発現を強固に駆動することが知られており、これらはそれぞれ本発明の種々の実施形態で使用できる。
【００７２】
これらおよび他のプロモーターは、Ａｂｂｏｕｄら、２００３、Ｊ．Ｈｉｓｔｏｃｈｅｍ＆Ｃｙｔｏｃｈｅｍ．、５１（７）：９４１－４９；Ｓｃｈｏｒｐｐら、１９９６、Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．、２４（９）：１７８７－８８；ＭｃＢｕｒｎｅｙら、１９９４、Ｄｅｖｅｌ．Ｄｙｎａｍｉｃｓ、２００：２７８－９３；およびＭａｊｕｍｄｅｒら、１９９６、Ｂｌｏｏｄ、８７（８）：３２０３－１１において例示されるように、当該技術分野において公知である。
【００７３】
プロモーターに加えて、これらに限定されないが、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）初期エンハンサーエレメントおよびＳＶ４０エンハンサーエレメント等の、１またはそれを超えるエンハンサー配列を含むことができる。

【００７４】
本発明の種々の態様において、さらに含まれる配列としては、ベータグロビンイントロンまたは一般的なイントロン、転写終結配列、ならびに、これらに限定されないが、ＳＶ４０－ｐＡ、ベーターグロビン－ｐＡ、およびＡＡＴ－ｐＡ等のｍＲＮＡポリアデニル化（ｐＡ）配列等のイントロン配列が挙げられる。
【００７５】
本発明の種々の態様において、発現コンストラクトは、選択マーカー（例えば、カナマイシンまたはアンピシリン耐性遺伝子）および複製開始点等の細菌細胞において、増幅のために必要である配列を含む。
【００７６】
トランスジェニックコンストラクトにおいて遺伝子を設計する、およびプロモーターの位置決めをするための方法は、公知である（例えば、Ｈａｒｕｙａｍａら、２００９、Ｃｕｒｒ．Ｐｒｏｔｏｃ．Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ．、１９．１０を参照のこと）。
【００７７】
免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、本発明の態様によって提供され、そのゲノムはヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体をコードするヌクレオチド配列を含む発現カセットを含む。ここで、ヌクレオチド配列はプロモーターおよびポリアデニル化シグナルに操作可能に連結されており、マウスはコードされたヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体を発現する。
【００７８】
発現コンストラクトを受精マウス卵母細胞、着床前マウス胚、またはマウス幹細胞（胚性幹細胞または人工多能性幹細胞）へ導入して、周知の方法を使用して、遺伝子改変されたマウスを作製する。
【００７９】
発現コンストラクトのマウス着床前胚への導入方法においては、胚への注入前に発現コンストラクトを線形化し得る。
【００８０】
好ましくは、発現コンストラクトは、受精卵母細胞へ注入される。受精卵母細胞は、交配の次の日（交尾後０．５日）に過剰排卵するメスから収集され、そして発現コンストラクトを注入される。注入された卵母細胞は、一晩培養されたものであるかまたは交尾後０．５日の偽妊娠のメスの卵管へと直接移植されたものである。過剰排卵、卵母細胞の採取、発現コンストラクトの注入、および胚移植の方法は、当該技術分野において公知であり、例えば、Ｍａｎｉｐｕｌａｔｉｎｇ　ｔｈｅ　Ｍｏｕｓｅ　Ｅｍｂｒｙｏ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ、３ｒｄ　ｅｄｉｔｉｏｎ、Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓ；Ｄｅｃｅｍｂｅｒ　１５、２００２、ＩＳＢＮ－１０：０８７９６９５９１９に記載されている。子孫を、ヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体をコードする外因性ヌクレオチド配列の存在について、ＰＣＲ、サザンブロット、またはヌクレオチド配列決定等のようなＤＮＡ分析により、試験できる。外因性ヌクレオチド配列を保持するマウスを、タンパク質発現について、ＥＬＩＳＡまたはウェスタンブロット分析等により、試験できる。
【００８１】
あるいは、発現コンストラクトは、電気穿孔法、リン酸カルシウム沈殿、またはリポフェクション等の技術により、導入される。次に、細胞は、導入遺伝子の組み込みについて、ＰＣＲ、サザンブロット、またはヌクレオチド配列決定等のＤＮＡ分析により、スクリーニングされる。その正しい組み込みのある細胞は、ヒトＩＬ－１５、またはその機能的改変体のタンパク質分析による機能的発現について、例えば、ＥＬＩＳＡまたはウェスタンブロット分析を使用して、試験され得る。
【００８２】
胚性幹細胞は、特定の細胞系のために最適化された培地で成長する。通常、胚性幹細胞培地は、ダルベッコ変法イーグル培地（ＤＭＥＭ）中に、１５％のウシ胎仔血清（ＦＢＳ

）または合成もしくは半合成の同等物、２ｍＭのグルタミン、１ｍＭのピルビン酸ナトリウム、０．１ｍＭ非必須アミノ酸、５０Ｕ／ｍＬペニシリン、およびストレプトマイシン、０．１ｍＭの２－メルカプトエタノール、および１０００Ｕ／ｍＬのＬＩＦ（加えて、いくつかの細胞系については、化学的分化阻害剤）を含有する。詳細な説明は、当該技術分野において公知である（Ｔｒｅｍｍｌら、２００８、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｃｈａｐｔｅｒ １：Ｕｎｉｔ １Ｃ．４）。胚性幹細胞の分化の阻害剤のレビューについては、Ｂｕｅｈｒら、２００３、Ｇｅｎｅｓｉｓ ｏｆ ｅｍｂｒｙｏｎｉｃ ｓｔｅｍ ｃｅｌｌｓ、Ｐｈｉｌｏｓｏｐｈｉｃａｌ Ｔｒａｎｓａｃｔｉｏｎｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｒｏｙａｌ Ｓｏｃｉｅｔｙ Ｂ：Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ３５８：１３９７－１４０２を参照のこと。

【００８３】

発現コンストラクトを組み入れている選択細胞は、着床前胚に注入され得る。マイクロインジェクションについて、胚性幹細胞または人工多能性幹細胞は、トリプシンおよびＥＤＴＡの混合物を使用して単一細胞とされ、続いて胚性幹細胞培地中で再懸濁される。単一細胞群は、細く長いガラス針（２０～２５マイクロメーターの内径）を使用して選択され、マイクロマニピュレーターを備えた倒立顕微鏡を使用して、胚の透明帯を通して胚盤胞腔（割腔）の中へ導入される。幹細胞はまた、初期胚（例えば、２細胞、４細胞、８細胞、前桑実胚（ｐｒｅｍｏｒｕｌａ）、または桑実胚）にも注入され得る。注入は、透明帯におけるレーザーまたは圧力パルスのドリル開口により、補助され得る。胚盤胞または８細胞期胚毎に約９～１０個の選択された幹細胞（胚性幹細胞または人工多能性幹細胞）が、４細胞期胚毎に６～９個の幹細胞が、および２細胞期胚毎に約６個の幹細胞が注入される。幹細胞の導入に続いて、胚は、窒素中の５％$CO_2$、５％$O_2$、３７℃、数時間で回復することができ、または偽妊娠のレシピエントのメスに移植される前に一晩培養される。幹細胞注入のさらなる代替において、幹細胞は、桑実胚期胚と凝集され得る。これら全ての方法は、十分に確立されており、幹細胞キメラを産生するために使用され得る。より詳細な説明については、例えば、Ｍａｎｉｐｕｌａｔｉｎｇ ｔｈｅ Ｍｏｕｓｅ Ｅｍｂｒｙｏ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、３ｒｄ ｅｄｉｔｉｏｎ（Ｎａｇｙ、Ｇｅｒｔｓｅｎｓｔｅｉｎ、Ｖｉｎｔｅｒｓｔｅｎ、ａｎｄ Ｂｅｈｒｉｎｇｅｒ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｄｅｃｅｍｂｅｒ １５、２００２、ＩＳＢＮ－１０：０８７９６９５９１９；また、Ｎａｇｙら、１９９０、Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ １１０：８１５－８２１；Ｋｒａｕｓら、２０１０、Ｇｅｎｅｓｉｓ ４８：３９４－３９９；および米国特許第７，５７６，２５９号、同７，６５９，４４２号、および同７，２９４，７５４号）を参照のこと。

【００８４】

偽妊娠した胚レシピエントは、当該技術分野において公知の方法を使用して調製される。要約すると、６～８週齢の繁殖能力のあるメスのマウスが、精管切除されたか、または不妊のオスと交配し、外科的に導入された胚の支持を促すホルモン状態へ誘導する。交尾（ｃｏｉｔｕｍ）後２．５日（ｄｐｃ）に、幹細胞を含有する胚盤胞１５個までを、子宮－卵管接合点に非常に近い子宮角内へ導入する。初期胚および桑実胚について、かかる胚は、胚盤胞までｉｎ ｖｉｔｒｏで培養されるか、または胚のステージに従って０．５ｄｐｃまたは１．５ｄｐｃの偽妊娠のメスの卵管に植込まれるか、のいずれかである。植込まれた胚を由来とするキメラの仔は、植込まれた胚の年齢に依存して、移植の１６～２０日後に生まれる。キメラのオスは繁殖のために選択される。子孫は、毛色、および／またはＰＣＲ、サザンブロットまたはヌクレオチド配列決定等の遺伝子分析により、胚幹細胞ゲノムの伝達について分析され得る。タンパク質発現（例えば、ヒトＩＬ－１５、および／またはその機能的改変体の）は、タンパク質分析（ウェスタンブロット、ＥＬＩＳＡ）または他の機能的アッセイにより分析され得る。ｈｕ－ＩＬ－１５またはその機能的改変体をコードするヌクレオチド配列を発現する子孫を交配して、導入遺伝子に対してホモ接合性のマウスを作ることができる。トランスジェニックマウスを免疫不全マウスと交雑させて、ｈｕ－ＩＬ－１５またはその機能的改変体を発現する共通遺伝子系免疫不全系統を

作ることができる。
【００８５】
ｈｕ－ＩＬ－１５またはその機能的改変体をコードするヌクレオチド配列はまた、ＨｐｒｔまたはＲｏｓａ２６遺伝子座等の確実な発現をもたらすことが知られている幹細胞ゲノムの特異的遺伝子座への標的に標的化され得る。標的化されたトランスジェニックのため、標的化コンストラクトは、組み換えＤＮＡ技術を使用して作ることができる。標的化コンストラクトは、必要に応じて、内在性遺伝子標的に相同な５’および３’配列を含みうる。標的化コンストラクトは、必要に応じて、例えば、ネオマイシンリン酸転移酵素、ハイグロマイシン、もしくはピューロマイシンなどの選択マーカー、またはヒトＩＬ－１５をコードする核酸、およびポリアデニル化シグナルをさらに含む。遺伝子をコードするヌクレオチド配列の正確な転写および翻訳を確保するために、例えば、配列は、内在性遺伝子座とインフレームであるか、またはスプライス受容部位および内部リボソーム侵入部位（ＩＲＥＳ）の配列が含まれる。このような標的化コンストラクトは、幹細胞にトランスフェクトされ得る、また幹細胞は、ＰＣＲ、サザンブロット、またはヌクレオチド配列決定を使用して、相同な組換え事象を検出するためにスクリーニングされ得る。正確で相同な組換え事象を伴う細胞は、ＥＬＩＳＡまたはウェスタンブロット分析等のタンパク質分析により、導入遺伝子発現についてさらに分析することができる。所望であれば、選択マーカーは、幹細胞をＣｒｅリコンビナーゼで処理することにより、取り除くことができる。Ｃｒｅリコンビナーゼ処理後に、細胞は、遺伝子をコードするヌクレオチド配列の存在について分析される。正確なゲノム事象を伴う細胞は、上記のとおり、選択され、また着床前胚に注入され得る。キメラのオスは繁殖のために選択される。子孫は、毛色およびＰＣＲ、サザンブロット、またはヌクレオチド配列決定等の遺伝子分析により、胚幹細胞ゲノムの伝達を分析することができ、また、タンパク質分析（ウェスタンブロット、ＥＬＩＳＡ）または他の機能アッセイによる等、タンパク質発現について試験することができる。所望のＩＬ－１５またはその機能的ＩＬ－１５改変体タンパク質を発現する子孫を交配して、導入遺伝子に対してホモ接合性のマウスを作ることができる。トランスジェニックマウスを免疫不全マウスと交雑させて、導入遺伝子を有する共通遺伝子系免疫不全系統を作ることができる。
【００８６】
本発明の特定の実施形態は、実質的にすべてのその細胞にヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体をコードするヌクレオチド配列を含むトランスジェニックマウス、およびすべてではないが一部のその細胞にヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体をコードするヌクレオチド配列を含むトランスジェニックマウスを提供する。本発明の特定の態様では、ヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体をコードするヌクレオチド配列の１つまたは複数のコピー（コンカテマー等）は、トランスジェニックマウスの細胞のゲノムへと組み込むことができる。
【００８７】
種々の方法のいずれかを使用して、ヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体をコードするヌクレオチド配列をマウスに導入し、ヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体を発現するトランスジェニックマウスを作ることができる。このような技術は、当該技術分野において周知であり、これらに限定されないが、前核マイクロインジェクションおよび胚幹細胞の形質転換を含む。使用できるトランスジェニックマウスを生成するための方法としては、これらに限定されないが、Ｓｕｎｄｂｅｒｇ ａｎｄ Ｉｃｈｉｋｉ、（Ｅｄｓ．）、Ｇｅｎｅｔｉｃａｌｌｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ Ｍｉｃｅ Ｈａｎｄｂｏｏｋ、ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ、２００６；Ｈｏｆｋｅｒ ａｎｄ ｖａｎ Ｄｅｕｒｓｅｎ、（Ｅｄｓ．）、Ｔｒａｎｓｇｅｎｉｃ Ｍｏｕｓｅ Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ、Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ、２００２；Ｊｏｙｎｅｒ、Ｇｅｎｅ Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ、Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ、２０００；Ｍａｎｉｐｕｌａｔｉｎｇ ｔｈｅ Ｍｏｕｓｅ Ｅｍｂｒｙｏ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、３ ｅｄｉｔｉｏｎ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂ

ｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｄｅｃｅｍｂｅｒ １５、２００２、ＩＳＢＮ－１０：０８７９６９５９１９；Ｔｕｒｋｓｅｎ（Ｅｄ．）、Ｅｍｂｒｙｏｎｉｃ ｓｔｅｍ ｃｅｌｌｓ：ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ．２００２、１８５、Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ；Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ、ＩＳＢＮ：９７８０４７０１５１８０；Ｍｅｙｅｒら、ＰＮＡＳ ＵＳＡ、１０７（３４）：１５０２２－２６に記載されているものが挙げられる。

【００８８】

相同性に基づく組換え遺伝子改変戦略を使用して、「ノックイン」によって、免疫不全マウスを遺伝子改変し、ヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体をコードするヌクレオチド配列を免疫不全マウスのゲノムに導入することができる（例えば、ホーミングエンドヌクレアーゼ、インテグラーゼ、メガヌクレアーゼ、トランスポゾン、ジンクフィンガーヌクレアーゼ（ＺＦＮ）を使用したヌクレアーゼ媒介処理、転写活性化因子様（ＴＡＬ）、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（ＣＲＩＳＰＲ）－Ｃａｓ、またはショウジョウバエ組み換え関連タンパク質（ＤＲＡＰ）アプローチ）。例えば、Ｃｅｒｂｉｎｉら、ＰＬｏＳ Ｏｎｅ．２０１５；１０（１）：ｅ０１１６０３２；Ｓｈｅｎら、ＰＬｏＳ ＯＮＥ ８（１０）：ｅ７７６９６；およびＷａｎｇら、Ｐｒｏｔｅｉｎ＆Ｃｅｌｌ、Ｆｅｂｒｕａｒｙ ２０１６、Ｖｏｌｕｍｅ ７、Ｉｓｓｕｅ ２、ｐｐ １５２－１５６を参照のこと。

【００８９】

免疫不全

【００９０】

用語「免疫不全マウス」は、Ｔ細胞およびＢ細胞などの機能的免疫細胞の欠乏：ＤＮＡ修復欠陥；リンパ球上の抗原特異的受容体をコードする遺伝子の再配列の欠陥；およびＩｇＭ、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２ａ、ＩｇＧ２ｂ、ＩｇＧ３およびＩｇＡ等の免疫機能分子の欠乏のうちの１つまたはそれより多くを特徴とするマウスを指す。免疫不全マウスは、Ｒａｇ１およびＲａｇ２などの免疫機能に関係する遺伝子における１またはそれを超える欠損を特徴とする（Ｏｅｔｔｉｎｇｅｒ、Ｍ．Ａら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２４８：１５１７－１５２３、１９９０；およびＳｃｈａｔｚ、Ｄ．Ｇら、Ｃｅｌｌ、５９：１０３５－１０４８、１９８９）。免疫不全マウスは、これら、またはマウスにおいて異常な免疫機能をもたらす他の欠陥のいずれか、を有していてもよい。

【００９１】

特定の態様によれば、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、インターロイキン－２受容体γサブユニット（ＩＬ－２ＲＧ）をコードするその内在性遺伝子において欠陥を有し、そのことがマウスに欠陥のある内在性インターロイキン－２受容体γサブユニットおよび／または量を減じた内在性インターロイキン－２受容体γサブユニットの発現を引き起こすか、または、マウスは内在性インターロイキン－２受容体γサブユニットを全く発現しないであろう。ＩＩ２ｒｇ欠損の主な結果は、機能的内在性マウスＮＫ細胞の不在である。したがって、本発明の特定の態様によれば、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、マウスに機能的内在性マウスＮＫ細胞が存在しないように、ＩＩ２ｒｇ欠損を有する。特定のさらなる態様によれば、本発明の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、機能的内在性ＩＬ－２ＲＧ遺伝子を欠くようにＩＬ－２ＲＧヌルであり、また機能的内因性マウスＮＫ細胞を欠く。

【００９２】

さらなる態様によれば、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、ＤＮＡ依存性プロテインキナーゼ、触媒サブユニット（Ｐｒｋｄｃ）をコードするその内在性遺伝子において欠陥を有し、そのことがマウスに欠陥のある内在性ＤＮＡ依存性プロテインキナーゼ、触媒サブユニットおよび／または量を減じた内在性ＤＮＡ依存性プロテインキナーゼ、触媒サブユニットの発現を引き起こすか、または、マウスは内在性ＤＮＡ依存性プロテインキナーゼ、触媒サブユニットを全く発現しないであろう。本発明の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マ

ウスは、機能的内在性Ｐｒｋｄｃ遺伝子を欠くように必要に応じてＰｒｋｄｃヌルであり得る。

【００９３】

「内在性」は、本明細書において遺伝子およびそれらがコードするタンパク質に関して使用する場合、マウスのゲノム中に存在するそれらの天然遺伝子座における遺伝子を指す。

【００９４】

本発明の種々の態様において、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、ＩＬ－２ＲＧヌルおよび／またはＰｒｋｄｃヌルであり、かつ機能的内在性ＩＬ－２ＲＧおよびＰｒｋｄｃ遺伝子を欠く。本発明の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、Ｐｒｋｄｃノックアウトおよび／またはＩＬ－２ｒｇノックアウトを、必要に応じて含むことができる。本発明の種々の態様において、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、ＩＬ－２ｒｇを発現しないか、Ｐｒｋｄｃを発現しないか、またはＩＬ－２ｒｇおよびＰｒｋｄｃの両方を発現しない。

【００９５】

本発明の種々の態様において、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、重症複合型免疫不全を有する。用語「重症複合型免疫不全」または「ＳＣＩＤ」は、Ｔ細胞の不在およびＢ細胞機能の欠乏を特徴とする状態を指す。

【００９６】

一般的なＳＣＩＤの形態は以下を含む：ＩＬ－２ＲＧ遺伝子中のガンマ鎖遺伝子変異およびリンパ球表現型Ｔ（－）Ｂ（＋）ＮＫ（－）を特徴とするＸ連鎖ＳＣＩＤ；および常染色体劣性ＳＣＩＤ。常染色体劣性ＳＣＩＤは、Ｊａｋ３遺伝子変異およびリンパ球表現型Ｔ（－）Ｂ（＋）ＮＫ（－）、ＡＤＡ遺伝子変異およびリンパ球表現型Ｔ（－）Ｂ（－）ＮＫ（－）、ＩＬ－７Ｒアルファ鎖変異およびリンパ球表現型Ｔ（－）Ｂ（＋）ＮＫ（＋）、ＣＤ３デルタまたはイプシロン変異およびリンパ球表現型Ｔ（－）Ｂ（＋）ＮＫ（＋）、ＲＡＧ１／ＲＡＧ２変異およびリンパ球表現型Ｔ（－）Ｂ（－）ＮＫ（＋）、アルテミス遺伝子変異およびリンパ球表現型Ｔ（－）Ｂ（－）ＮＫ（＋）、およびＣＤ４５遺伝子変異およびリンパ球表現型Ｔ（－）Ｂ（＋）ＮＫ（＋）を特徴とする。

【００９７】

本発明の態様によれば、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、一般にｓｃｉｄ変異と呼ばれる重症複合型免疫不全変異（Ｐｒｋｄｃ$^{ｓｃｉｄ}$）を有する。ｓｃｉｄ変異は、Ｂｏｓｍａら、１９８９、Ｉｍｍｕｎｏｇｅｎｅｔｉｃｓ　２９：５４－５６に記載されるように周知であり、マウス１６番染色体に位置する。ｓｃｉｄ変異についてホモ接合性のマウスは、機能的Ｔ細胞およびＢ細胞の不在、リンパ球減少症、低グロブリン血症、および正常な造血微小環境を特徴とする。ｓｃｉｄ変異は、ＰＣＲまたはフローサイトメトリー等の周知の方法を使用して、ｓｃｉｄ変異についてのマーカーの検出により、検出され得る。

【００９８】

本発明の態様による免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、ＩＬ２受容体ガンマ鎖欠損を有する。用語「ＩＬ２受容体ガンマ鎖欠損」は、減少したＩＬ２受容体ガンマ鎖を指す。減少したＩＬ２受容体ガンマ鎖は、遺伝子欠失または変異に起因し得る。減少したＩＬ２受容体ガンマ鎖は、例えば、周知の方法を使用して、ＩＬ２受容体ガンマ鎖遺伝子欠失または変異の検出および／または減少したＩＬ２受容体ガンマ鎖の発現の検出により、検出され得る。

【００９９】

本発明の態様による免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、重症複合型免疫不全または重症複合型免疫不全と組み合わせたＩＬ２受容体ガンマ鎖欠損を有し、マウスのゲノムは、ヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体をコードするヌクレオチド配列を含む。

【０１００】

本発明の態様による免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、ｓｃｉｄ変異、またはｓｃｉｄ変異と組み合わされたＩＬ－２受容体ガンマ鎖欠損を有し、マウスのゲノムは、ヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体をコードするヌクレオチド配列を含む。

【０１０１】

本発明の種々の態様において、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、遺伝子改変されたＮＳＧマウス、遺伝子改変されたＮＲＧマウスまたは遺伝子改変されたＮＯＧマウスであり、遺伝子改変されたＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスのゲノムは、ヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体をコードするヌクレオチド配列を含む。

【０１０２】

用語「ＮＯＤ　ｓｃｉｄガンマ」、「ＮＯＤ－ｓｃｉｄ　ＩＬ２ｒｇ$^{ｎｕｌｌ}$」および「ＮＳＧ」は、Ｓｈｕｌｔｚ　ＬＤら、２００５、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ、１７４：６４７７－８９中で詳細に記載される周知の免疫不全マウス系統ＮＯＤ．Ｃｇ－Ｐｒｋｄｃ$^{ｓｃｉｄ}$ＩＬ－２ｒｇ$^{ｔｍ１Ｗｊｌ}$／ＳｚＪを指すように本明細書において交換可能に用いられる。ＮＳＧマウスは、ＮＯＤ／ＳｈｉＬｔＪバックグラウンド由来の複数の免疫不全、重症複合型免疫不全（ｓｃｉｄ）変異、およびインターロイキン－２受容体ガンマ鎖の完全なノックアウトを組み合わせる。その結果、ＮＳＧマウスは、成熟マウスＴ、Ｂ、およびＮＫ細胞を欠乏し、それらは複数のマウスサイトカインシグナル経路において欠損となる。ＮＳＧマウスは、マウスＩＬ－２Ｒ－γ（ガンマｃ）の発現の欠乏、検出可能なマウス血清免疫グロブリンはなく、マウス溶血性補体はなく、成熟マウスＴリンパ球はなく、および成熟マウスナチュラルキラー細胞はないことを特徴とする。

【０１０３】

ヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体を発現するＮＳＧマウスは、あるいは、「ＮＳＧ－ｈｕ－ＩＬ－１５」マウスまたは「ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）」マウスと呼ばれ、これは、遺伝子改変されたＮＳＧマウスのゲノムが、ＮＯＤ．Ｃｇ－Ｐｒｋｄｃ$^{ｓｃｉｄ}$ ＩＬ－２ｒｇ$^{ｔｍ１Ｗｊｌ}$／ＳｚＪバックグラウンド上に、ヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体をコードするヌクレオチド配列を含むことを示し、マウスはヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体を発現する。

【０１０４】

ＮＲＧマウスは、ＮＯＤ．Ｃｇ－Ｒａｇ１$^{ｔｍ１Ｍｏｍ}$ ＩＩ２ｒｇ$^{ｔｍ１Ｗｊｌ}$／ＳｚＪとして周知であり、Ｓｈｕｌｔｚ　ＬＤら、２００８　Ｃｌｉｎ　Ｅｘｐ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　１５４（２）：２７０－８４中に詳細に記載されている。ヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体を発現するＮＲＧマウスは、「ＮＲＧ－ｈｕ－ＩＬ－１５」マウスと呼ばれ、これは、遺伝子改変されたＮＲＧマウスのゲノムが、ＮＯＤ．Ｃｇ－Ｒａｇ１$^{ｔｍ１Ｍｏｍ}$ ＩＩ２ｒｇ$^{ｔｍ１Ｗｊｌ}$／ＳｚＪバックグラウンド上に、ヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体をコードするヌクレオチド配列を含むことを示し、マウスはヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体を発現する。ＮＲＧマウスは、マウスナチュラルキラー（ＮＫ）細胞の欠乏を特徴とする。

【０１０５】

ＮＯＧマウスは、ＮＯＤ．Ｃｇ－Ｐｒｋｄｃ$^{ｓｃｉｄ}$ ＩＩ２ｒｇ$^{ｔｍ１Ｓｕｇ}$／ＪｉｃＴａｃとして周知であり、Ｉｔｏ、Ｍら、Ｂｌｏｏｄ　１００、３１７５－３１８２（２００２）中に詳細に記載されている。ヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体を発現するＮＯＧマウスは、「ＮＯＧ－ｈｕ－ＩＬ－１５」マウスと呼ばれ、これは、遺伝子改変されたＮＯＧマウスのゲノムが、ＮＯＤ．Ｃｇ－Ｐｒｋｄｃ$^{ｓｃｉｄ}$ ＩＩ２ｒｇ$^{ｔｍ１Ｓｕｇ}$／ＪｉｃＴａｃバックグラウンド上で、ヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体をコードするヌクレオチド配列を含むことを示し、マウスは、ヒトＩＬ－１５またはその機能的改変体を発現する。ＮＯＧマウスは、マウスナチュラルキラー（ＮＫ）細胞の欠乏を特徴とする。

【０１０６】

異種移植片

【０１０７】

異種ＮＫ細胞、異種ＮＫ細胞を含む細胞集団または異種ＮＫ細胞の精製された集団に分化する異種細胞を、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与し、マウス内の異種細胞の分化により、マウス内で産生されたナチュラルキラー細胞を有する免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスを作る。マウス内でＮＫ細胞に分化する異種細胞には、異種造血幹細胞が含まれ

る。異種末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）は、異種ＮＫ細胞を含む細胞集団である。

【０１０８】

造血幹細胞異種移植片

本発明の種々の態様は、異種造血幹細胞（ＨＳＣ）を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与し、移植されたＨＳＣを有する免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスを作ることに関する。

【０１０９】

異種ＨＳＣは、本発明の態様にかかるヒトＨＳＣである。

【０１１０】

用語「異種ＨＳＣ」は、本明細書で使用する場合、ｃ－Ｋｉｔ受容体を発現する多能性幹細胞を指す。ｃ－Ｋｉｔ受容体を発現する多能性幹細胞の例としては、血球始原細胞としても公知の造血幹細胞が挙げられるが、これらに限定されない。Ｃ－Ｋｉｔ受容体は、当該技術分野において周知であり、例えばＶａｎｄｅｎｂａｒｋ ＧＲら、１９９２、Ｃｌｏｎｉｎｇ ａｎｄ ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ ｔｈｅ ｈｕｍａｎ ｃ－ｋｉｔ ｇｅｎｅ、Ｏｎｃｏｇｅｎｅ ７（７）：１２５９－６６；およびＥｄｌｉｎｇ ＣＥ、Ｈａｌｌｂｅｒｇ Ｂ、２００７、ｃ－Ｋｉｔ－ａ ｈｅｍａｔｏｐｏｉｅｔｉｃ ｃｅｌｌ ｅｓｓｅｎｔｉａｌ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｔｙｒｏｓｉｎｅ ｋｉｎａｓｅ、Ｉｎｔ．Ｊ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ．３９（１１）：１９９５－８に記載されている。

【０１１１】

異種ＨＳＣの単離、異種ＨＳＣの宿主マウスへの投与および宿主マウスにおけるその移植を評価する方法は、当該技術分野において周知である。

【０１１２】

免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与のための造血幹細胞は、臍帯血、骨髄、ＧＭ－ＣＳＦ－動員末梢血および胎仔肝臓等のＨＳＣを含有するいずれかの組織から得ることができるが、これらに限定されない。

【０１１３】

異種ＨＳＣは、心臓、肝臓および／または顔面静脈（これらに限定されない）中へなどの、種々の経路を介した投与により、新生仔マウス中へ投与することができる。異種ＨＳＣは、尾静脈、大腿骨の骨髄腔または脾臓中への投与（これらに限定されない）などの、種々の経路により、成体マウス中へ投与することができる。さらなる例において、異種ＨＳＣを含有する胎仔肝臓は、腎莢膜下に移植され得る。

【０１１４】

免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに異種ＨＳＣを投与することは、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに異種ＨＳＣを含む組成物を投与することを含むことができる。組成物はさらに、例えば、水、張度調節剤（例えば、塩化ナトリウム等の塩）、ｐＨ緩衝液（例えば、クエン酸）、および／または糖（例えば、グルコース）を含むことができる。

【０１１５】

免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおける異種造血幹細胞の移植は、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおける分化した異種造血細胞の存在を特徴とする。異種ＨＳＣの移植は、ＨＳＣ投与後の１またはそれを超える回数の時点で異種ＨＳＣを投与された動物における細胞のフローサイトメトリー分析（これに限定されない）等の、種々の方法のいずれかによって評価することができる。

【０１１６】

異種ＨＳＣの単離、異種ＨＳＣの宿主マウスへの投与の例示的な方法およびその移植の評価についての方法は、本明細書およびＴ．Ｐｅａｒｓｏｎら、Ｃｕｒｒ．Ｐｒｏｔｏｃ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．８１：１５．２１．１－１５．２１．２１、２００８；Ｉｔｏ、Ｍ．ら、Ｂｌｏｏｄ １００：３１７５－３１８２；Ｔｒａｇｇｉａｉ、Ｅ．ら、Ｓｃｉｅｎｃｅ ３０４：１０４－１０７；Ｉｓｈｉｋａｗａ、Ｆ．ら、Ｂｌｏｏｄ １０６：１５６５－１５７３；Ｓｈｕｌｔｚ、Ｌ．Ｄ．ら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１７４：６４７７－６

４８９；Ｈｏｌｙｏａｋｅ　ＴＬら、Ｅｘｐ　Ｈｅｍａｔｏｌ．、１９９９、２７（９）：１４１８－２７に記載されている。

【０１１７】

本発明の態様によれば、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与される異種ＨＳＣは、ＨＳＣが豊富な細胞集団を得るために、元の原材料から単離される。単離された異種ＨＳＣは、純粋であってもよいし、純粋でなくてもよい。態様によれば、異種ＨＳＣは、ＣＤ３４などの細胞マーカーの選択によって精製される。態様によれば、ＣＤ３４＋細胞が全細胞の１％未満を構成する細胞集団を使用することができるが、投与される異種ＨＳＣは、ＣＤ３４＋細胞が全細胞の約１～１００％を構成している細胞集団である。実施形態によれば、投与される異種ＨＳＣは、ＣＤ３４＋細胞が全細胞の約１～３％を占めるＴ細胞の枯渇した臍帯血細胞、ＣＤ３４＋細胞が全細胞の約５０％を占める系統の枯渇した臍帯血細胞、またはＣＤ３４＋細胞が全細胞の約９０％を占めるＣＤ３４＋陽性の選択された細胞である。

【０１１８】

投与される異種ＨＳＣの数は、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおける異種の造血および免疫系の生成に関して限定するものとはみなされない。単一の異種ＨＳＣは、宿主免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおいて造血および免疫系を生成することができる。したがって、投与される異種ＨＳＣの数は、レシピエントがマウスの場合に、より多くまたはより少ないものが使用され得るが、通常、$1\times10^{3}$～$1\times10^{6}$（１，０００～１，０００，０００）の範囲のＣＤ３４＋細胞である。

【０１１９】

したがって、本発明の態様による方法は、約$10^{3}$（１０００）～約$10^{6}$（１，０００，０００）、約$10^{3}$～約$10^{5}$、約$10^{4}$～約$10^{6}$、約$10^{5}$～約$10^{7}$、約$1\times10^{3}$～約$1\times10^{4}$、約$5\times10^{3}$～約$5\times10^{4}$、約$1\times10^{4}$～約$1\times10^{5}$、約$5\times10^{4}$～約$5\times10^{5}$、約$1\times10^{5}$～約$1\times10^{6}$、約$5\times10^{5}$～約$5\times10^{6}$、約$1\times10^{6}$～約$1\times10^{7}$、約$2\times10^{4}$～約$5\times10^{5}$、または約$5\times10^{4}$～約$2\times10^{5}$のヒト造血幹細胞などの異種ＨＳＣを免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与することを含むことができる。方法は、少なくとも約$1\times10^{2}$、約$2\times10^{2}$、約$3\times10^{2}$、約$4\times10^{2}$、約$5\times10^{2}$、約$6\times10^{2}$、約$7\times10^{2}$、約$8\times10^{2}$、約$9\times10^{2}$、約$1\times10^{3}$、約$2\times10^{3}$、約$3\times10^{3}$、約$4\times10^{3}$、約$5\times10^{3}$、約$6\times10^{3}$、約$7\times10^{3}$、約$8\times10^{3}$、約$9\times10^{3}$、約$1\times10^{4}$、約$2\times10^{4}$、約$3\times10^{4}$、約$4\times10^{4}$、約$5\times10^{4}$、約$6\times10^{4}$、約$7\times10^{4}$、約$8\times10^{4}$、約$9\times10^{4}$、約$1\times10^{5}$、約$2\times10^{5}$、約$3\times10^{5}$、約$4\times10^{5}$、約$5\times10^{5}$、約$6\times10^{5}$、約$7\times10^{5}$、約$8\times10^{5}$、約$9\times10^{5}$、約$1\times10^{6}$、約$2\times10^{6}$、約$3\times10^{6}$、約$4\times10^{6}$、約$5\times10^{6}$、約$6\times10^{6}$、約$7\times10^{6}$、約$8\times10^{6}$、約$9\times10^{6}$、または約$1\times10^{7}$のヒト造血幹細胞などの異種ＨＳＣを免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与することを含むことができる。方法は、約$1\times10^{2}$、約$2\times10^{2}$、約$3\times10^{2}$、約$4\times10^{2}$、約$5\times10^{2}$、約$6\times10^{2}$、約$7\times10^{2}$、約$8\times10^{2}$、約$9\times10^{2}$、約$1\times10^{3}$、約$2\times10^{3}$、約$3\times10^{3}$、約$4\times10^{3}$、約$5\times10^{3}$、約$6\times10^{3}$、約$7\times10^{3}$、約$8\times10^{3}$、約$9\times10^{3}$、約$1\times10^{4}$、約$2\times10^{4}$、約$3\times10^{4}$、約$4\times10^{4}$、約$5\times10^{4}$、約$6\times10^{4}$、約$7\times10^{4}$、約$8\times10^{4}$、約$9\times10^{4}$、約$1\times10^{5}$、約$2\times10^{5}$、約$3\times10^{5}$、約$4\times10^{5}$、約$5\times10^{5}$、約$6\times10^{5}$、約$7\times10^{5}$、約$8\times10^{5}$、約$9\times10^{5}$、約$1\times10^{6}$、約$2\times10^{6}$、約$3\times10^{6}$、約$4\times10^{6}$、約$5\times10^{6}$、約$6\times10^{6}$、約$7\times10^{6}$、約$8\times10^{6}$、約$9\times10^{6}$、または約$1\times10^{7}$のヒトＨＳＣなどの異種ＨＳＣを免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与することを含むことができる。当業者は、単なる慣用的な実験を使用して、特異的マウスに投与されるべき異種ＨＳＣ数を決定することができるだろう。

【０１２０】

いずれかの投与された非ＨＳＣの大部分が変性した時に、レシピエントの免疫不全ｈｕ

－ＩＬ－１５マウスにおいて、異種ＨＳＣおよび／または異種ＨＳＣから分化した細胞が検出された場合に、移植は成功である。分化した異種ＨＳＣ細胞の検出は、例えば、レシピエントの免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおける異種ＤＮＡの検出、または、無傷の異種ＨＳＣおよび異種ＨＳＣから分化した細胞の検出により、達成することができる。二次レシピエントへのＣＤ３４＋細胞の逐次移入および異種造血系の移植は、一次レシピエントにおけるＨＳＣの移植のさらなる試験である。移植は、異種ＨＳＣ投与後１０～１２週のレシピエント免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスの血液、脾臓、または骨髄における０．０５％またはそれを超える異種ＣＤ４５＋細胞として、フローサイトメトリーにより検出することができる。

【０１２１】

本発明の態様による免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおける異種造血幹細胞（ＨＳＣ）の移植は、例えば、高周波電磁放射線、通常はガンマ線を用いたレシピエント動物の致死線量以下の照射、またはブスルファンもしくはナイトロジェンマスタードなどの放射線様作用薬を用いた処置により、異種ＨＳＣ投与の前の、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスの「前処置」を含む。前処置は、宿主の造血細胞の数を減少させ、異種ＨＳＣの移植のための適切な微小環境要因を作りだす、および／または異種ＨＳＣの移植のための微小環境ニッチを作りだすと考えられる。前処置についての標準的な方法は、本明細書およびＪ．Ｈａｙａｋａｗａら、２００９、Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌｓ、２７（１）：１７５－１８２に記載されているように、当該技術分野において公知である。

【０１２２】

本発明の態様によって提供される方法は、異種ＨＳＣの投与前に免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスの「前処置」なしに、異種ＨＳＣの免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与を含む。本発明の態様によって提供される方法は、異種ＨＳＣの投与前に、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスの放射線または放射線様作用薬による「前処置」なしに、異種ＨＳＣの免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与を含む。

【０１２３】

本発明の種々の態様は、異種造血幹細胞（ＨＳＣ）を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与し、移植されたＨＳＣを有する免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスを作製することに関する。移植された異種ＨＳＣは、異種の免疫系またはその成分を有する免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスを作製するよう分化する。

【０１２４】

異種ＨＳＣの免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与は、マウスにおいて造血系統の分化した異種細胞の産生をもたらす。例えば、異種ＨＳＣの免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与は、異種ＣＤ３３＋骨髄性細胞、異種骨髄前駆体細胞、異種マスト細胞、異種骨髄樹状細胞、異種Ｂ細胞、異種Ｔ細胞、異種ヘルパーＴ細胞、異種細胞傷害性Ｔ細胞、および／または異種のＴｒｅｇ細胞などの、マウスによる異種の骨髄系統および異種のリンパ系統細胞の産生をもたらす。本発明の態様によれば、ヒトＨＳＣが免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへ投与され、それは、マウスが１またはそれを超える以下の細胞を含むように分化する：ヒトＣＤ３３$^{+}$骨髄性細胞、ヒト骨髄前駆体細胞、ヒトマスト細胞、ヒト骨髄樹状細胞、ヒトＢ細胞、ヒトＴ細胞、ヒトヘルパーＴ細胞、ヒト細胞傷害性Ｔ細胞、および／またはヒトＴｒｅｇ細胞。

【０１２５】

異種ＨＳＣの免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与は、フローサイトメトリーによって特徴付けられ得る、造血系統の分化した異種細胞の産生をもたらす。例えば、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへのヒトＨＳＣの投与は、フローサイトメトリーによって特徴付けられ得る造血系統の分化したヒト細胞の産生をもたらし、それはＣＤ４５$^{+}$、ＣＤ２０$^{+}$、ＣＤ２０$^{+}$ＣＤ４５$^{+}$、ＣＤ３$^{+}$、ＣＤ３$^{+}$ＣＤ４５$^{+}$、ＣＤ３３$^{+}$、ＣＤ３３$^{+}$ＣＤ４５$^{+}$、ＣＤ１４$^{+}$、ＣＤ１４$^{+}$ＣＤ４５$^{+}$、ＣＤ５６$^{+}$、およびＣＤ５６$^{+}$ＣＤ４５$^{+}$ヒト白血球のうちの１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、またはすべてから選択されるヒト白血球を含む。

【０１２６】
ヒトＨＳＣの免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与は、ヒトＮＫ細胞を含む、造血系統の分化したヒト細胞の産生をもたらす。
【０１２７】
末梢血単核細胞異種移植片
本発明の種々の態様は、異種末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与し、異種ＮＫ細胞を有する免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスを作製することに関する。
【０１２８】
異種ＰＢＭＣは、本発明の態様によるヒトＰＢＭＣである。
【０１２９】
本明細書で使用される用語「異種ＰＢＭＣ」は、末梢血から得られた細胞集団を指し、典型的には１～１０％の範囲のＮＫ細胞を自然に含むが、より多くても少なくてもよい。
【０１３０】
異種ＰＢＭＣの単離および宿主マウスへの該異種ＰＢＭＣの投与は、当該技術分野で周知である。
【０１３１】
免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへ投与するための異種ＰＢＭＣは、末梢血から得ることができる。
【０１３２】
異種ＰＢＭＣは、心臓、肝臓および／または顔面静脈中へなどの、種々の経路を介した投与により、新生仔マウス中へ投与することができるが、これらに限定されない。異種ＰＢＭＣは、尾静脈、大腿骨の骨髄腔または脾臓中への投与（これらに限定されない）などの、種々の経路により、成体マウス中へ投与することができる。さらなる例において、異種ＰＢＭＣを含有する胎仔肝臓は、腎莢膜下に移植され得る。
【０１３３】
免疫不全Ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに異種ＰＢＭＣを投与することは、免疫不全Ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに異種ＰＢＭＣを含む組成物を投与することを含むことができる。組成物はさらに、例えば、水、張度調節剤（例えば、塩化ナトリウム等の塩）、ｐＨ緩衝液（例えば、クエン酸）、および／または糖（例えば、グルコース）を含むことができる。
【０１３４】
免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおける異種ＰＢＭＣの移植は、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおける異種ナチュラルキラー細胞の存在を特徴とする。異種ナチュラルキラー細胞の存在は、ＰＢＭＣの投与後の１またはそれを超える回数の時点で、異種ＰＢＭＣを投与された動物における細胞のフローサイトメトリー分析（これに限定されない）等の、種々の方法のいずれかによって評価することができる。
【０１３５】
本発明の態様によれば、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与される異種ＰＢＭＣは、ＰＢＭＣおよび／またはＮＫ細胞が豊富な細胞集団を得るために、元の原材料から単離される。単離された異種ＰＢＭＣおよび／またはＮＫ細胞は、純粋であってもよいし、純粋でなくてもよい。態様によれば、異種ＰＢＭＣおよび／またはＮＫ細胞は、ＣＤ１６またはＣＤ５６などの細胞マーカーの選択によって精製される。態様によれば、ＣＤ１６＋および／またはＣＤ５６細胞が全細胞の１％未満を構成する細胞集団を使用することができるが、投与される異種ＰＢＭＣはＣＤ１６＋および／またはＣＤ５６＋細胞が全細胞の約１～１００％を構成している細胞集団である。実施形態によれば、投与される異種ＰＢＭＣは、ＣＤ１６＋および／またはＣＤ５６＋細胞が全細胞の約１～３％を占めるＴ細胞の枯渇した細胞、またはＣＤ１６＋および／またはＣＤ５６＋細胞が全細胞の約９０％を占める陽性選択細胞である。
【０１３６】
投与される異種ＰＢＭＣの数は、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおけるＮＫ細胞モ

デルの生成に関して限定するものとはみなされない。したがって、投与される異種ＰＢＭＣの数は、レシピエントがマウスの場合に、より多くまたはより少ないものが使用され得るが、通常、$1\times10^5$～$1\times10^8$の（１００，０００～１００，０００，０００）の範囲のＰＢＭＣ細胞である。

【０１３７】

したがって、本発明の態様による方法は、約$1\times10^5$～約$1\times10^8$（１００，０００～１００，０００，０００）ＰＢＭＣ、約$10^5$（１００，０００）～約$10^7$（１０，０００，０００）、約$1\times10^5$～約$1\times10^6$、約$5\times10^5$～約$5\times10^6$または約$1\times10^6$～約$1\times10^7$のヒトＰＢＭＣなどの異種ＰＢＭＣを免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与することを含むことができる。方法は、少なくとも約$1\times10^5$、約$2\times10^5$、約$3\times10^5$、約$4\times10^5$、約$5\times10^5$、約$6\times10^5$、約$7\times10^5$、約$8\times10^5$、約$9\times10^5$、約$1\times10^6$、約$2\times10^6$、約$3\times10^6$、約$4\times10^6$、約$5\times10^6$、約$6\times10^6$、約$7\times10^6$、約$8\times10^6$、約$9\times10^6$、約$1\times10^7$、約$2\times10^7$、約$3\times10^7$、約$4\times10^7$、約$5\times10^7$、約$6\times10^7$、約$7\times10^7$、約$8\times10^7$、約$9\times10^7$、または約$1\times10^8$のヒトＰＢＭＣなどの異種ＰＢＭＣを免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与することを含むことができる。当業者は、単なる慣用的な実験を使用して、特異的マウスに投与されるべき異種ＰＢＭＣ数を決定することができるだろう。

【０１３８】

いずれかの投与された非ＰＢＭＣの大部分が変性した時に、レシピエントの免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおいて、異種ＮＫ細胞が検出された場合に、移植は成功である。移植は、異種ＨＳＣ投与後１０～１２週のレシピエント免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスの血液または脾臓におけるにおける、０．０５％またはそれを超える異種ＣＤ１６＋および／またはＣＤ５６＋細胞として、フローサイトメトリーにより検出することができる。

【０１３９】

本発明の態様によれば免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおける異種ＰＢＭＣの移植は、例えば、高周波電磁放射線、通常はガンマ線を用いたレシピエント動物の致死線量以下の照射、またはブスルファンもしくはナイトロジェンマスタードなどの放射線様作用薬を用いた処置により、異種ＰＢＭＣ投与の前の、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスの「前処置」を含む。前処置は、宿主の造血細胞の数を減少させ、ＮＫ細胞の維持または産生のための適切な微小環境要因を作りだす、および／またはＮＫ細胞の維持または産生のための微小環境ニッチを作りだすと考えられる。前処置についての標準的な方法は、本明細書およびＪ．Ｈａｙａｋａｗａら、２００９、Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌｓ、２７（１）：１７５－１８２に記載されているように、当該技術分野において公知である。

【０１４０】

本発明の態様によって提供される方法は、異種ＰＢＭＣの投与前に免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスの「前処置」なしに、異種ＰＢＭＣの免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与を含む。本発明の態様によって提供される方法は、異種ＰＢＭＣの投与前に、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスの放射線または放射線様作用薬による「前処置」なしに、異種ＰＢＭＣの免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与を含む。

【０１４１】

本発明の種々の態様は、異種ＰＢＭＣを免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与し、異種ＮＫ細胞を有する免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスを作製することに関する。

【０１４２】

異種ＰＢＭＣの免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与は、マウスにおいて異種ナチュラルキラー細胞の維持および／または産生をもたらす。

【０１４３】

異種ＰＢＭＣの免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与は、フローサイトメトリーによって特徴付けられ得るマウスにおける異種ＰＢＭＣの維持および／または産生をもたらす。例えば、ヒトＰＢＭＣの免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与は、フローサイト

メトリーによって特徴付けられ得るマウスにおけるナチュラルキラー細胞の維持および／または産生をもたらし、ヒトＣＤ１６＋および／またはＣＤ５６＋ヒトＮＫ細胞を含む。

【０１４４】

ＮＫ細胞異種移植片

本発明の種々の態様は、精製異種ナチュラルキラー細胞（ＮＫ細胞）を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与し、異種ＮＫ細胞を有する免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスを作製することに関する。

【０１４５】

異種ＮＫ細胞は、本発明の態様によるヒトＮＫ細胞である。

【０１４６】

異種ＮＫ細胞の精製および宿主マウスへの異種ＮＫ細胞の投与は、当該技術分野で周知である。

【０１４７】

免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへ投与するための異種ＮＫ細胞は、末梢血から得ることができる。

【０１４８】

異種ＮＫ細胞は、心臓、肝臓および／または顔面静脈中へなどの、種々の経路を介した投与により、新生仔マウス中へ投与することができるが、これらに限定されない。異種ＮＫ細胞は、尾静脈、大腿骨の骨髄腔または脾臓中への投与（これらに限定されない）などの、種々の経路により、成体マウス中へ投与することができる。さらなる例において、異種ＮＫ細胞を含有する胎仔肝臓は、腎莢膜下に移植され得る。

【０１４９】

免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに異種ＮＫ細胞を投与することは、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに異種ＮＫ細胞を含む組成物を投与することを含むことができる。組成物はさらに、例えば、水、張度調節剤（例えば、塩化ナトリウム等の塩）、ｐＨ緩衝液（例えば、クエン酸）、および／または糖（例えば、グルコース）を含むことができる。

【０１５０】

免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおける異種ＮＫ細胞の移植は、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおける異種ナチュラルキラー細胞の存在を特徴とする。異種ナチュラルキラー細胞の存在は、ＮＫ細胞の投与後の１またはそれを超える回数の時点で、異種ＮＫ細胞を投与された動物における細胞のフローサイトメトリー分析（これに限定されない）等の、種々の方法のいずれかによって評価することができる。

【０１５１】

本発明の態様によれば、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与される精製異種ＮＫ細胞は、ＮＫ細胞が豊富な細胞集団を得るために、元の原材料から単離される。精製異種ＮＫ細胞は、純粋であってもよいし、純粋でなくてもよい。態様によれば、異種ＮＫ細胞は、ＣＤ１６またはＣＤ５６などの細胞マーカーの選択によって、および／またはＣＤ３＋細胞の除去によるＴ細胞の枯渇などの非ＮＫ細胞の枯渇によって、精製される。態様によれば、投与される精製異種ＮＫ細胞は、ＣＤ１６＋および／またはＣＤ５６＋細胞が全細胞の約２５～１００％を構成する細胞の集団である。実施形態によれば、投与される精製異種ＮＫ細胞は、ＣＤ１６＋および／またはＣＤ５６＋細胞が全細胞の約２５～１００％を占めるＴ細胞の枯渇した細胞、またはＣＤ１６＋および／またはＣＤ５６＋ＮＫ細胞が全細胞の約９０％以上を占める陽性選択細胞である。

【０１５２】

投与される精製異種ＮＫ細胞の数は、レシピエントがマウスの場合に、より多くまたはより少ないものが使用され得るが、通常、$1\times10^{5}$～$1\times10^{8}$（１００，０００～１００，０００，０００）の範囲の精製異種ＮＫ細胞細胞である。

【０１５３】

したがって、本発明の態様による方法は、約$1\times10^{5}$～約$1\times10^{8}$（１００，０００～１００，０００，０００）精製異種ＮＫ細胞、約$10^{5}$（１００，０００）～約$10^{7}$

（１０，０００，０００）、約１×１０$^{5}$～約１×１０$^{6}$、約５×１０$^{5}$～約５×１０$^{6}$または約１×１０$^{6}$～約１×１０$^{7}$の精製ヒトＮＫ細胞などの精製異種ＮＫ細胞を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与することを含むことができる。方法は、少なくとも約１×１０$^{5}$、約２×１０$^{5}$、約３×１０$^{5}$、約４×１０$^{5}$、約５×１０$^{5}$、約６×１０$^{5}$、約７×１０$^{5}$、約８×１０$^{5}$、約９×１０$^{5}$、約１×１０$^{6}$、約２×１０$^{6}$、約３×１０$^{6}$、約４×１０$^{6}$、約５×１０$^{6}$、約６×１０$^{6}$、約７×１０$^{6}$、約８×１０$^{6}$、約９×１０$^{6}$、約１×１０$^{7}$、約２×１０$^{7}$、約３×１０$^{7}$、約４×１０$^{7}$、約５×１０$^{7}$、約６×１０$^{7}$、約７×１０$^{7}$、約８×１０$^{7}$、約９×１０$^{7}$、または約１×１０$^{8}$の精製ヒトＮＫ細胞などの精製異種ＮＫ細胞を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与することを含むことができる。当業者は、単なる慣用的な実験を使用して、特異的マウスに投与されるべき精製異種ＮＫ細胞数を決定することができるだろう。

【０１５４】

成功した移植は、異種ＰＢＭＣ投与後１０～１２週のレシピエント免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスの血液または脾臓における、０．０５％またはそれを超える異種ＣＤ１６＋および／またはＣＤ５６＋細胞として、フローサイトメトリーにより検出することができる。

【０１５５】

本発明の態様によれば免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおける精製異種ＮＫ細胞の移植は、例えば、高周波電磁放射線、通常はガンマ線を用いたレシピエント動物の致死線量以下の照射、またはブスルファンもしくはナイトロジェンマスタードなどの放射線様作用薬を用いた処置により、精製異種ＮＫ細胞投与の前の、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスの「前処置」を含む。前処置は、宿主の造血細胞の数を減少させ、ＮＫ細胞の維持または産生のための適切な微小環境要因を作りだす、および／またはＮＫ細胞の維持または産生のための微小環境ニッチを作りだすと考えられる。前処置についての標準的な方法は、本明細書およびＪ．Ｈａｙａｋａｗａら、２００９、Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌｓ、２７（１）：１７５－１８２に記載されているように、当該技術分野において公知である。

【０１５６】

本発明の態様によって提供される方法は、精製異種ＮＫ細胞の投与前に免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスの「前処置」なしに、精製異種ＮＫ細胞の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与を含む。本発明の態様によって提供される方法は、精製異種ＮＫ細胞の投与前に、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスの放射線または放射線様作用薬による「前処置」なしに、精製異種ＮＫ細胞の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与を含む。

【０１５７】

本発明の種々の態様は、精製異種ＮＫ細胞を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与し、異種ＮＫ細胞を有する免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスを作製することに関する。本発明の種々の態様は、精製ヒトＮＫ細胞を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与し、ヒトＮＫ細胞を有する免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスを作製することに関する。

【０１５８】

精製異種ＮＫ細胞の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与は、マウスにおいて異種ナチュラルキラー細胞の維持および／または産生をもたらす。精製ヒトＮＫ細胞の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与は、マウスにおいてヒトナチュラルキラー細胞の維持および／または産生をもたらす。

【０１５９】

精製異種ＮＫ細胞の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与は、フローサイトメトリーによって特徴付けられ得るマウスにおける異種ＮＫ細胞の維持および／または産生をもたらす。例えば、ヒトＮＫ細胞の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与は、フローサイトメトリーによって特徴付けられ得るマウスにおけるナチュラルキラー細胞の維持および／または産生をもたらし、ヒトＣＤ１６＋および／またはＣＤ５６＋ヒトＮＫ細胞を含む。

【０１６０】

ＮＫ細胞系異種移植片

【０１６１】

本発明の種々の態様は、異種不死化ナチュラルキラー細胞（ＮＫ細胞系細胞）を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与し、異種ＮＫ細胞系細胞を有する免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスを作製することに関する。用語「不死化ＮＫ細胞系細胞」は、ヘイフリック限界として知られる、ＮＫ細胞が増殖能力を制限する細胞性制御から逃れることにより、１またはそれを超える変異によって無限に増殖するＮＫ細胞を意味する。

【０１６２】

異種ＮＫ細胞系細胞は、本発明の態様によるヒトＮＫ細胞系細胞である。

【０１６３】

ＮＫ細胞系細胞は、遺伝子操作された細胞系の細胞であり得る。ＮＫ細胞系細胞はキメラ抗原受容体（ＣＡＲ）を含むことができる。ＮＫ細胞系細胞は、ＮＫ－９２を含む治療用ＮＫ細胞系の細胞であるが、これに限定されない。ＮＫ細胞系細胞は、ＮＫ細胞系ＮＫ－９２、ＮＫ－ＹＳ、ＫＨＹＧ－１、ＮＫＬ、ＮＫＧ、ＳＮＫ－６またはＩＭＣ－１（これらの全ては、市販の、および／または公開された細胞リポジトリ供給源（ＡＴＣＣ（登録商標）など）から得ることができる）の細胞（これらに限定されない）を含む種々のＮＫ細胞系細胞のいずれかであり得る。Ｃｈｅｎ　ＩＭら、Ｌｅｕｋ　Ｒｅｓ（２００４）２８：２７５－８４；Ｃｈｅｎｇ　Ｍら、Ｃｅｌｌ　Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔ（２０１１）２０：１７３１－４６；Ｇｏｎｇ　ＪＨら、Ｌｅｕｋｅｍｉａ（１９９４）８：６５２－８；Ｎａｇａｔａ　Ｈら、Ｂｌｏｏｄ（２００１）９７：７０８－１３；Ｒｏｂｅｒｔｓｏｎ　ＭＪら、Ｅｘｐ　Ｈｅｍａｔｏｌ（１９９６）２４：４０６－１５；Ｔｓｕｃｈｉｙａｍａ　Ｊら、Ｂｌｏｏｄ（１９９８）９２：１３７４－８３；およびＹａｇｉｔａ　Ｍら、Ｌｅｕｋｅｍｉａ（２０００）１４：９２２－３０を参照のこと。

【０１６４】

異種ＮＫ細胞系細胞は、心臓、肝臓および／または顔面静脈中へなどの、種々の経路を介した投与により、新生仔マウス中へ投与することができるが、これらに限定されない。異種ＮＫ細胞系細胞は、尾静脈、大腿骨の骨髄腔または脾臓中への投与（これらに限定されない）などの、種々の経路により、成体マウス中へ投与することができる。さらなる例において、異種ＮＫ細胞系細胞を含有する胎仔肝臓は、腎莢膜下に移植され得る。

【０１６５】

免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに異種ＮＫ細胞系細胞を投与することは、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに異種ＮＫ細胞系細胞を含む組成物を投与することを含むことができる。組成物はさらに、例えば、水、張度調節剤（例えば、塩化ナトリウム等の塩）、ｐＨ緩衝液（例えば、クエン酸）、および／または糖（例えば、グルコース）を含むことができる。

【０１６６】

異種ＮＫ細胞系細胞の存在は、ＮＫ細胞系細胞の投与後の１またはそれを超える回数の時点で、異種ＮＫ細胞系細胞を投与された動物における細胞のフローサイトメトリー分析（これに限定されない）等の、種々の方法のいずれかによって評価することができる。

【０１６７】

異種ＮＫ細胞系細胞は、純粋であってもよいし、純粋でなくてもよい。実施形態によれば、投与されるＮＫ細胞系細胞は、投与される全細胞の約９０％またはそれを超えて、約９５％またはそれを超えて、約９９％またはそれを超えて、または１００％を占める。

【０１６８】

投与される異種ＮＫ細胞系細胞の数を限定するものとはみなされない。単一の異種ＮＫ細胞系細胞は増殖し、また機能の検出に十分なＮＫ細胞系細胞を産生することができる。したがって、投与される異種ＮＫ細胞系細胞の数は、レシピエントがマウスの場合に、より多くまたはより少ないものが使用され得るが、通常、$１\times１０^{3}$～$１\times１０^{6}$（１，０００～１，０００，０００）の範囲の異種ＮＫ細胞系細胞である。

【０１６９】

したがって、本発明の態様による方法は、約$10^3$（１０００）～約$10^6$（１，０００，０００）、約$10^3$～約$10^5$、約$10^4$～約$10^6$、約$10^5$～約$10^7$、約$1\times10^3$～約$1\times10^4$、約$5\times10^3$～約$5\times10^4$、約$1\times10^4$～約$1\times10^5$、約$5\times10^4$～約$5\times10^5$、約$1\times10^5$～約$1\times10^6$、約$5\times10^5$～約$5\times10^6$、約$1\times10^6$～約$1\times10^7$、約$2\times10^4$～約$5\times10^5$、または約$5\times10^4$～約$2\times10^5$のヒトＮＫ細胞系細胞などの異種ＮＫ細胞系細胞を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与することを含むことができる。方法は、少なくとも約$1\times10^2$、約$2\times10^2$、約$3\times10^2$、約$4\times10^2$、約$5\times10^2$、約$6\times10^2$、約$7\times10^2$、約$8\times10^2$、約$9\times10^2$、約$1\times10^3$、約$2\times10^3$、約$3\times10^3$、約$4\times10^3$、約$5\times10^3$、約$6\times10^3$、約$7\times10^3$、約$8\times10^3$、約$9\times10^3$、約$1\times10^4$、約$2\times10^4$、約$3\times10^4$、約$4\times10^4$、約$5\times10^4$、約$6\times10^4$、約$7\times10^4$、約$8\times10^4$、約$9\times10^4$、約$1\times10^5$、約$2\times10^5$、約$3\times10^5$、約$4\times10^5$、約$5\times10^5$、約$6\times10^5$、約$7\times10^5$、約$8\times10^5$、約$9\times10^5$、約$1\times10^6$、約$2\times10^6$、約$3\times10^6$、約$4\times10^6$、約$5\times10^6$、約$6\times10^6$、約$7\times10^6$、約$8\times10^6$、約$9\times10^6$、または約$1\times10^7$のヒトＮＫ細胞系細胞などの異種ＮＫ細胞系細胞を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与することを含むことができる。方法は、約$1\times10^2$、約$2\times10^2$、約$3\times10^2$、約$4\times10^2$、約$5\times10^2$、約$6\times10^2$、約$7\times10^2$、約$8\times10^2$、約$9\times10^2$、約$1\times10^3$、約$2\times10^3$、約$3\times10^3$、約$4\times10^3$、約$5\times10^3$、約$6\times10^3$、約$7\times10^3$、約$8\times10^3$、約$9\times10^3$、約$1\times10^4$、約$2\times10^4$、約$3\times10^4$、約$4\times10^4$、約$5\times10^4$、約$6\times10^4$、約$7\times10^4$、約$8\times10^4$、約$9\times10^4$、約$1\times10^5$、約$2\times10^5$、約$3\times10^5$、約$4\times10^5$、約$5\times10^5$、約$6\times10^5$、約$7\times10^5$、約$8\times10^5$、約$9\times10^5$、約$1\times10^6$、約$2\times10^6$、約$3\times10^6$、約$4\times10^6$、約$5\times10^6$、約$6\times10^6$、約$7\times10^6$、約$8\times10^6$、約$9\times10^6$、または約$1\times10^7$のヒトＮＫ細胞系細胞などの異種ＮＫ細胞系細胞を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与することを含むことができる。当業者は、単なる慣用的な実験を使用して、特異的マウスに投与されるべき異種ＨＳＣ数を決定することができるだろう。

【０１７０】

成功した移植は、異種投与後１０～１２週のレシピエント免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスの血液または脾臓における、０．０５％またはそれを超える異種ＮＫ細胞系細胞として、フローサイトメトリーにより検出することができる。

【０１７１】

本発明の態様によれば免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおける異種ＮＫ細胞系細胞の移植は、例えば、高周波電磁放射線、通常はガンマ線を用いたレシピエント動物の致死線量以下の照射、またはブスルファンもしくはナイトロジェンマスタードなどの放射線様作用薬を用いた処置により、異種ＮＫ細胞系細胞の投与前の、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスの「前処置」を含む。前処置は、宿主の造血細胞の数を減少させ、異種ＮＫ細胞系細胞の維持または産生のための適切な微小環境要因を作りだす、および／または異種ＮＫ細胞系細胞の維持または産生のための微小環境ニッチを作りだすと考えられる。前処置についての標準的な方法は、本明細書およびＪ．Ｈａｙａｋａｗａら、２００９、Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌｓ、２７（１）：１７５－１８２に記載されているように、当該技術分野において公知である。

【０１７２】

本発明の態様によって提供される方法は、異種ＮＫ細胞系細胞の投与前に免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスの「前処置」なしに、異種ＮＫ細胞系細胞の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与を含む。本発明の態様によって提供される方法は、異種ＮＫ細胞系細胞の投与前に、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスの放射線または放射線様作用薬による「前処置」なしに、異種ＮＫ細胞系細胞の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与を含む。

【０１７３】

本発明の種々の態様は、異種ＮＫ細胞系細胞を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与

し、異種ＮＫ細胞系細胞を有する免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスを作製することに関する。本発明の種々の態様は、ヒトＮＫ細胞系細胞を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与し、ヒトＮＫ細胞系細胞を有する免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスを作製することに関する。

【０１７４】

異種ＮＫ細胞系細胞の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与は、マウスにおいて異種ＮＫ細胞系細胞の維持および／または産生をもたらす。ヒトＮＫ細胞系細胞の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与は、マウスにおいてヒトＮＫ細胞系細胞の維持および／または産生をもたらす。

【０１７５】

異種ＮＫ細胞系細胞の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与は、フローサイトメトリーによって特徴付けられ得るマウスにおける異種ＮＫ細胞系細胞の維持および／または産生をもたらす。例えば、ヒトＮＫ細胞系細胞ＮＫ細胞の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへの投与は、フローサイトメトリーによって特徴付けられ得るマウスにおける異種ＮＫ細胞系細胞の維持および／または産生をもたらす。

【０１７６】

腫瘍異種移植片

【０１７７】

本発明の種々の態様は、異種腫瘍細胞を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与することに関する。

【０１７８】

本発明の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与される異種腫瘍細胞は、腫瘍細胞系の細胞および初代腫瘍細胞を含むが、これらに限定されず、種々の腫瘍細胞のいずれかであり得る。異種腫瘍細胞は、種々のいずれかの生物、好ましくはヒト、非ヒト霊長類、ラット、モルモット、ウサギ、ネコ、イヌ、ウマ、ウシ、ヤギ、ブタおよびヒツジを含む哺乳動物に由来し得る。

【０１７９】

本発明の特定の態様によれば、異種腫瘍細胞はヒト腫瘍細胞である。本発明の特定の態様によれば、ヒト腫瘍細胞は、血液サンプル、組織サンプル、またはヒト腫瘍の生検によって得られたサンプル（これらに限定されない）などヒトから得られたサンプル中に存在する。

【０１８０】

ヒトから得られた腫瘍細胞は、本発明の免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに直接投与することができ、または免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与する前にｉｎ　ｖｉｔｒｏで培養することができる。

【０１８１】

本明細書において使用される場合、用語「腫瘍」は、新生物発生前の過剰増殖、生体内原位置のがん、新生物、転移および固形ならびに非固形腫瘍（これらに限定されない）を含む制御されない成長を特徴とする細胞を指す。腫瘍の例としては、リンパ腫、白血病、扁平上皮がん、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、肺腺癌、肺扁平上皮癌、腹膜のがん、副腎がん、肛門がん、胆管がん、膀胱がん、脳がん、乳がん、トリプルネガティブ乳がん、中枢または末梢神経系がん、子宮頚がん（ｃｅｒｖｉｃａｌ　ｃａｎｃｅｒ）、結腸がん、結腸直腸がん、子宮内膜がん、食道がん、胆のうがん、胃腸がん、神経膠芽腫、頭頸部がん、腎がん、肝がん、上咽頭がん、鼻腔がん、口腔咽頭がん、口腔がん、骨肉腫、卵巣がん、膵がん、副甲状腺がん、下垂体がん、前立腺がん、網膜芽腫、肉腫、唾液腺がん、皮膚がん、小腸がん、胃がん、精巣がん、胸腺がん、甲状腺がん、子宮がん、膣がんおよび外陰がんを含むがんにより引き起こされるものであるが、これらに限定されない。

【０１８２】

腫瘍細胞を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスへ投与することは、当該技術分野において適切であると認識されているいずれかの方法であり得る。例えば、投与としては、皮下お

よび／または腹腔内への植込みなどの注入または植込みによるなど、器官、体腔、または血管中へ細胞を投与することを挙げることができる。腫瘍細胞は、腫瘤として、腫瘍細胞の塊として、または解離細胞として投与されてもよい。

【０１８３】

腫瘍細胞は、皮下注入、腹腔内注入または尾静脈への注入によるなど種々の経路で投与され得るが、これらに限定されない。

【０１８４】

異種腫瘍細胞の移植は、腫瘍形成の徴候についてマウスの目視検査などの種々の方法のうちいずれかにより評価され得るが、これらに限定されない。

【０１８５】

生存しているマウスの測定、生存しているマウスから切除した腫瘍の測定または生体内原位置の腫瘍もしくは死亡したマウスから切除した腫瘍の測定を含む種々の方法のうちいずれかを、異種腫瘍の成長を測定するために使用することができるが、これらに限定されない。測定値は、カリパスなどの測定器具、超音波検査、コンピューター断層撮影、陽電子断層撮影法、蛍光イメージング、生物発光イメージング、磁気共鳴イメージングおよびこれらのまたは他の腫瘍測定方法のいずれかの２またはそれを超える組み合わせ等の１またはそれを超えるイメージング技術を使用する測定を使用して、得ることができる。異種腫瘍細胞を担うマウスから得た試料中の腫瘍細胞の数は、腫瘍成長、特に非固形腫瘍について測定するために使用され得る。例えば、血液試料中の非固形腫瘍細胞の数を評価し、マウスにおける非固形腫瘍の成長の測定値を得ることができる。

【０１８６】

投与される腫瘍細胞の数は限定するものとはみなされない。単一の腫瘍細胞は、本明細書に記載される遺伝子改変された免疫不全動物において、検出可能な腫瘍に拡大増殖し得る。投与される腫瘍細胞の数は、より多いかまたはより少ないものが投与され得るが、通常１０００～１，０００，０００の範囲にある腫瘍細胞である。

【０１８７】

したがって、本発明の態様による方法は、約$10^2$（１００）～約$10^7$（１０，０００，０００）、約$10^3$～約$10^5$、約$10^4$～約$10^6$、約$10^5$～約$10^7$、約$1\times10^3$～約$1\times10^4$、約$5\times10^3$～約$5\times10^4$、約$1\times10^4$～約$1\times10^5$、約$5\times10^4$～約$5\times10^5$、約$1\times10^5$～約$1\times10^6$、約$5\times10^5$～約$5\times10^6$、約$1\times10^6$～約$1\times10^7$、約$2\times10^4$～約$5\times10^5$、または約$5\times10^4$～約$2\times10^5$のヒト腫瘍細胞などの異種腫瘍細胞を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与することを含むことができる。方法は、少なくとも約$1\times10^2$、約$2\times10^2$、約$3\times10^2$、約$4\times10^2$、約$5\times10^2$、約$6\times10^2$、約$7\times10^2$、約$8\times10^2$、約$9\times10^2$、約$1\times10^3$、約$2\times10^3$、約$3\times10^3$、約$4\times10^3$、約$5\times10^3$、約$6\times10^3$、約$7\times10^3$、約$8\times10^3$、約$9\times10^3$、約$1\times10^4$、約$2\times10^4$、約$3\times10^4$、約$4\times10^4$、約$5\times10^4$、約$6\times10^4$、約$7\times10^4$、約$8\times10^4$、約$9\times10^4$、約$1\times10^5$、約$2\times10^5$、約$3\times10^5$、約$4\times10^5$、約$5\times10^5$、約$6\times10^5$、約$7\times10^5$、約$8\times10^5$、約$9\times10^5$、約$1\times10^6$、約$2\times10^6$、約$3\times10^6$、約$4\times10^6$、約$5\times10^6$、約$6\times10^6$、約$7\times10^6$、約$8\times10^6$、約$9\times10^6$、または約$1\times10^7$のヒト腫瘍細胞などの異種腫瘍細胞を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与することを含むことができる。方法は、約$1\times10^2$、約$2\times10^2$、約$3\times10^2$、約$4\times10^2$、約$5\times10^2$、約$6\times10^2$、約$7\times10^2$、約$8\times10^2$、約$9\times10^2$、約$1\times10^3$、約$2\times10^3$、約$3\times10^3$、約$4\times10^3$、約$5\times10^3$、約$6\times10^3$、約$7\times10^3$、約$8\times10^3$、約$9\times10^3$、約$1\times10^4$、約$2\times10^4$、約$3\times10^4$、約$4\times10^4$、約$5\times10^4$、約$6\times10^4$、約$7\times10^4$、約$8\times10^4$、約$9\times10^4$、約$1\times10^5$、約$2\times10^5$、約$3\times10^5$、約$4\times10^5$、約$5\times10^5$、約$6\times10^5$、約$7\times10^5$、約$8\times10^5$、約$9\times10^5$、約$1\times10^6$、約$2\times10^6$、約$3\times10^6$、約$4\times10^6$、約$5\times10^6$、約$6\times10^6$、約$7\times10^6$、約$8\times10^6$、約$9\times10^6$、または約$1\times10^7$のヒト腫瘍細胞などの異種腫瘍細胞を

免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与することを含むことができる。当業者は、単なる慣用的な実験を使用して、特異的マウスに投与されるべき異種腫瘍細胞数を決定することができるだろう。

【０１８８】

本発明の態様によれば、異種腫瘍細胞、および異種ＨＳＣおよび／または異種ＰＢＭＣは、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与される。異種腫瘍細胞、および異種ＨＳＣおよび／または異種ＰＢＭＣは、同時にまたは異なる時間に投与され得る。

【０１８９】

本発明の態様によれば、異種腫瘍細胞は、投与されるＨＳＣおよび／または異種ＰＢＭＣと同じ種に由来する。態様によれば、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与される、腫瘍細胞、およびＨＳＣおよび／または異種ＰＢＭＣは、ヒト細胞である。

【０１９０】

本発明の態様によれば、投与されるＨＳＣおよび／または異種ＰＢＭＣならびに腫瘍細胞は、ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）が適合している（例えば、ＭＨＣクラスＩが適合している、および／またはＭＨＣクラスＩＩが適合している）。ＨＬＡ適合は、ＨＬＡ細胞表面タンパク質に対する移植片対移植片の免疫反応の可能性を減少させ得る。ＨＬＡに対する免疫反応は、異種免疫細胞が異種がん細胞を成功裏に標的化していることを誤って示唆し得る。

【０１９１】

投与されるＨＳＣおよび／または異種ＰＢＭＣ、ならびに投与される腫瘍細胞は、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、または２０の適合ＨＬＡ対立遺伝子を含むことができる。投与されるＨＳＣおよび／または異種ＰＢＭＣ、ならびに腫瘍細胞はＨＬＡ－Ａ、ＨＬＡ－Ｂ、ＨＬＡ－Ｃ、およびＨＬＡ－ＤＲＢ１の対立遺伝子から選択される、少なくとも２、３、４、５、６、７、または８の適合するＨＬＡ対立遺伝子を含むことができる。完全なＨＬＡ適合は、遺伝子操作なしにはほぼ不可能であり、完全なＨＬＡの適合は、不要であり得る。たとえば、対照実験では、任意のＨＬＡ媒介性の移植片対移植片の免疫反応を説明することができる。

【０１９２】

アッセイ方法

【０１９３】

本発明の態様によって提供される方法および免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、生体内でのヒトのがんに指向される物質の試験など種々の有用性を有する。

【０１９４】

本発明の態様による被検物質の抗腫瘍活性を同定するための方法は、以下を含む：免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスを提供すること；異種腫瘍細胞を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与することであって、異種腫瘍細胞は免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおいて固形または非固形腫瘍を形成する、投与すること；被検物質を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与すること；被検物質への異種の腫瘍および／または腫瘍細胞の反応をアッセイすることであって、腫瘍および／または腫瘍細胞に対する被検物質の阻害効果が、抗腫瘍活性を有するとして被検物質を同定する、アッセイすること。

【０１９５】

本発明の態様による被検物質の抗腫瘍活性を同定するための方法は、以下を含む：免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスを提供することであって、ここで免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、移植された異種ＨＳＣを有する、提供すること；免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに異種腫瘍細胞を投与することであって、ここで異種腫瘍細胞が、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおいて固形腫瘍または非固形腫瘍を形成する、投与すること；被検物質を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与すること；被検物質への異種の腫瘍および／または腫瘍細胞の反応をアッセイすることであって、腫瘍および／または腫瘍細胞に対する被検物質の阻害効果が、抗腫瘍活性を有するとして被検物質を同定する、アッセイするこ

と。

【０１９６】

本発明の態様による被検物質の抗腫瘍活性を同定するための方法は、以下を含む：免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスを提供することであって、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、移植されたヒトＨＳＣを有する、提供すること；免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにヒト腫瘍細胞を投与することであって、ヒト腫瘍細胞が、免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスにおいて固形腫瘍または非固形腫瘍を形成する、投与すること；被検物質を免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスに投与すること；被検物質へのヒト腫瘍細胞および／または腫瘍細胞の反応をアッセイすることであって、腫瘍および／または腫瘍細胞に対する被検物質の阻害効果が、抗腫瘍活性を有するとして被検物質を同定する、アッセイすること。

【０１９７】

本発明の態様による被検物質の抗腫瘍活性を同定するためのアッセイにおいて使用される免疫不全ｈｕ－ＩＬ－１５マウスは、ＮＳＧ－ｈｕ－ＩＬ－１５マウス、ＮＲＧ－ｈｕ－ＩＬ－１５マウスまたはＮＯＧ－ｈｕ－ＩＬ－１５マウスである。

【０１９８】

本明細書において使用される用語「阻害効果」は、腫瘍成長、腫瘍細胞の代謝および腫瘍細胞の分裂のうちの１またはそれより多くを阻害する被検物質の効果を指す。

【０１９９】

被検物質に対する異種の腫瘍および／または腫瘍細胞の反応をアッセイすることは、本発明の方法の態様にしたがって、反応を基準と比較して、異種腫瘍細胞に対する被検物質の効果を決定することを含み、異種腫瘍細胞に対する被検物質の阻害効果は、被検物質を抗腫瘍組成物として同定する。基準は、当該技術分野において周知であり、使用される基準は、任意の適切な基準であり得る。一例において、基準は、抗腫瘍効果を有することが知られた化合物である。さらなる例において、同等の異種腫瘍を処置しないことは、被検物質の効果の比較のための、処置なしでの腫瘍成長の基準レベルの指標を提供する。基準は、個別の同等のマウスにおいてまたは同等のマウスの集団において以前に決定され、かつアッセイ結果の想起および比較のための印刷物または電子媒体で保管される、予期される腫瘍成長の参照レベルであってもよい。

【０２００】

アッセイ結果は、被検物質が腫瘍に対して阻害効果を有するかどうか決定するために、様々な方法のいずれかによる統計分析を使用して分析することができ、それは、パラメトリックまたはノンパラメトリックな検定、分散分析、共分散分析、多変量ロジスティック回帰分析、フィッシャーの直接確率検定、カイ二乗検定、スチューデントＴ検定、マン－ホイットニー検定、ウィルコクソン符号順位検定、マクネマー検定、フリードマン検定およびペイジのＬ傾向検定により例示される。これらおよび他の統計検定は、Ｈｉｃｋｓ、ＣＭ、Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｆｏｒ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｔｈｅｒａｐｉｓｔｓ：Ａｐｐｌｉｅｄ Ｐｒｏｊｅｃｔ Ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ Ａｎａｌｙｓｉｓ、Ｃｈｕｒｃｈｉｌｌ Ｌｉｖｉｎｇｓｔｏｎｅ（ｐｕｂｌｉｓｈｅｒ）；５ｔｈ Ｅｄ.、２００９；およびＦｒｅｕｎｄ、ＲＪら、Ｓｔａｔｉｓｔｉｃａｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ；３ｒｄ Ｅｄ.、２０１０に詳細に記載されているように、当該技術分野において周知である。

【０２０１】

本発明の方法において使用される被検物質は、合成または天然に存在する化合物または合成または天然に存在する化合物の組み合わせ、小さな有機または無機分子、タンパク質、ペプチド、核酸、炭水化物、オリゴ糖、脂質もしくはこれらのいずれかの組み合わせを実例として含むいずれかの化学的実体であり得る。本発明の態様によれば、被検物質は免疫療法薬である。

【０２０２】

本発明の態様によれば、被検物質は抗がん剤である。本発明の態様によれば、被検物質は抗がん抗体またはその抗原結合断片などの抗がん免疫療法薬である。

【０２０３】
例えば、抗がん剤はＢｒｕｎｔｏｎら．（ｅｄｓ．）、Ｇｏｏｄｍａｎ ａｎｄ Ｇｉｌｍａｎ’ｓ Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａｌ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ、１２ｔｈ Ｅｄ．、Ｍａｃｍｉｌｌａｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．、２０１１に記載されている。
【０２０４】
抗がん剤は、アシビシン、アクラルビシン、アコダゾール、アクロニン、アドゼレシン、アルデスロイキン、アリトレチノイン、アロプリノール、アルトレタミン、アムボマイシン、アメタントロン、アミホスチン、アミノグルテチミド、アムサクリン、アナストロゾール、アントラマイシン、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、アスペルリン（ａｓｐｅｒｌｉｎ）、アザシチジン、アゼテパ、アゾトマイシン、バチマスタット、ベンゾデパ、ビカルタミド、ビスアントレン、ジメシル酸ビスナフィド（ｂｉｓｎａｆｉｄｅ ｄｉｍｅｓｙｌａｔｅ）、ビセレシン、ブレオマイシン、ブレキナル、ブロピリミン、ブスルファン、カクチノマイシン、カルステロン、カペシタビン、カラセミド、カルベチマー、カルボプラチン、カルムスチン、カルビシン、カルゼルシン、セデフィンゴール、セレコキシブ、クロラムブシル、シロレマイシン、シスプラチン、クラドリビン、コビメチニブ、メシル酸クリスナトール、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デシタビン、デキソルマプラチン、デザグアニン、メシル酸デザグアニン、ジアジクオン、ドセタキセル、ドキソルビシン、ドロロキシフェン、ドロモスタノロン、デュアゾマイシン、エダトレキサート、エフロルニチン、エルサミトルシン、エンロプラチン、エンプロマート、エピプロピジン、エピルビシン、エルブロゾール、エソルビシン、エストラムスチン、エタニダゾール、エトポシド、エトプリン、ファドロゾール、ファザラビン、フェンレチニド、フロクスウリジン、フルダラビン、フルオロウラシル、フルロシタビン、ホスキドン、フォストリエシン、フルベストラント、ゲムシタビン、ヒドロキシ尿素、イダルビシン、イホスファミド、イルモホシン、インターロイキンＩＩ（ＩＬ－２、組換えインターロイキンＩＩまたはｒＩＬ２を含む）、インターフェロンアルファ－２ａ、インターフェロンアルファ－２ｂ、インターフェロンアルファ－ｎ１、インターフェロンアルファ－ｎ３、インターフェロンベータ－Ｉａ、インターフェロンガンマ－Ｉｂ、イプロプラチン、イリノテカン、ランレオチド、レトロゾール、リュープロリド、リアロゾール、ロメトレキソール、ロムスチン、ロソキサントロン、マソプロコール、マイタンシン、塩酸メクロレタミン（ｍｅｃｈｌｏｒｅｔｈａｍｉｎｅ ｈｙｄｒｏｃｈｌｒｉｄｅ）、メゲストロール、酢酸メレンゲストロール、メルファラン、メノガリル、メルカプトプリン、メトトレキサート、メトプリン、メツレデパ、ミチンドミド、ミトカルシン、ミトクロミン、ミトギリン、ミトマルシン、マイトマイシン、ミトスペル、ミトタン、ミトキサントロン、ミコフェノール酸、ネララビン、ノコダゾール、ノガラマイシン、オルムナプラチン（ｏｒｍｎａｐｌａｔｉｎ）、オキシスラン、パクリタキセル、ペグアスパルガーゼ、ペリオマイシン（ｐｅｌｉｏｍｙｃｉｎ）、ペンタムスチン、ペプロマイシン、ペルホスファミド、ピポブロマン、ピポスルファン、ピロキサントロン塩酸塩、プリカマイシン、プロメスタン、ポルフィマー、ポルフィロマイシン、プレドニムスチン、プロカルバジン、ピューロマイシン、ピラゾフリン、リボプリン、ログレチミド、サフィンゴール、セムスチン、シムトラゼン、スパルホサート、スパルソマイシン、スピロゲルマニウム、スピロムスチン、スピロプラチン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、スロフェヌル、タリソマイシン、タモキシフェン、テコガラン（ｔｅｃｏｇａｌａｎ）、テガフール、テロキサントロン、テモポルフィン、テニポシド、テロキシロン、テストラクトン、チアミプリン、チオグアニン、チオテパ、チアゾフリン、チラパザミン、トポテカン、トレミフェン、トレストロン、トリシリビン、トリメトレキサート、トリプトレリン、ツブロゾール、ウラシルマスタード、ウレデパ、バプレオチド、ベムラフェニブ、ベルテポルフィン、ビンブラスチン、硫酸ビンクリスチン、ビンデシン、ビネピジン、ビングリシナート、ビンロイロシン、ビノレルビン、ビンロシジン、ビンゾリジン、ボロゾール、ゼニプラチン、ジノスタチン、ゾレドロネート、およびゾルビシンを実例

として含む。

【０２０５】

本発明の態様によれば、抗がん剤は抗がん抗体である。使用される抗がん抗体は、腫瘍、特にヒト腫瘍の少なくとも１つの型を阻害するのに有効ないずれかの抗体であり得る。抗がん抗体は、これらに限定されないが、３Ｆ８、８Ｈ９、アバゴボマブ（ａｂａｇｏｖｏｍａｂ）、アビツズマブ（ａｂｉｔｕｚｕｍａｂ）、アダリムマブ（ａｄｅｃａｔｕｍｕｍａｂ）、アデカツムマブ、アデュカヌマブ、アフツズマブ（ａｆｕｔｕｚｕｍａｂ）、アラシズマブペゴル（ａｌａｃｉｚｕｍａｂ　ｐｅｇｏｌ）、アレムツズマブ、アマツキシマブ、アナツモマブマフェナトクス（ａｎａｔｕｍｏｍａｂ　ｍａｆｅｎａｔｏｘ）、アネツマブラブタンシン、アポリズマブ、アルシツモマブ、アスクリンバクマブ、アテゾリズマブ、バビツキシマブ、ベリムマブ、ベバシズマブ、ビバツヅマブメルタンシン、ブレンツキシマブベドチン、ブロンチクツズマブ、カンツズマブメルタンシン、カンツズマブラブタンシン、カプロマブペンデチド、カツマキソマブ、セツキシマブ、シタツズマブボガトクス（ｃｉｔａｔｕｚｕｍａｂ　ｂｏｇａｔｏｘ）、シクスツムマブ、クリバツズマブテトラキセタン、コルツキシマブラブタンシン（ｃｏｌｔｕｘｉｍａｂ　ｒａｖｔａｎｓｉｎｅ）、コナツムマブ、ダセツズマブ、ダロツズマブ、デムシズマブ、デニンツズマブマホドチン、デパツキシズマブマホドチン、デュルバルマブ、ドゥシギツマブ、エドレコロマブ、エロツズマブ、エマクツズマブ、エミベツズマブ（ｅｍｉｂｅｔｕｚｕｍａｂ）、エノブリツズマブ（ｅｎｏｂｌｉｔｕｚｕｍａｂ）、エンホルツマブベドチン、エナバツズマブ、エプラツズマブ、エルツマキソマブ（ｅｒｔｕｍａｘｏｍａｂ）、エタラシズマブ、ファーレツズマブ、フィクラツズマブ、フィギツムマブ、フランボツマブ、フツキシマブ（ｆｕｔｕｘｉｍａｂ）、ガリキシマブ、ガニツマブ、ゲムツズマブ、ギレンツキシマブ、グレンバツムマブベドチン、イブリツモマブチウキセタン、イゴボマブ（ｉｇｏｖｏｍａｂ）、イマブ３６２（ｉｍａｂ３６２）、イマルマブ（ｉｍａｌｕｍａｂ）、イムガツズマブ、インダツキシマブラブタンシン（ｉｎｄａｔｕｘｉｍａｂ　ｒａｖｔａｎｓｉｎｅ）、インデュサツマブベドチン（ｉｎｄｕｓａｔｕｍａｂ　ｖｅｄｏｔｉｎ）、イネビリズマブ（ｉｎｅｂｉｌｉｚｕｍａｂ）、イノツズマブオゾガマイシン、インテツムマブ、イピリムマブ、イラツムマブ、イサツキシマブ、ラベツズマブ、レクサツムマブ、リファスツズマブベドチン、リンツズマブ、リリルマブ、ロルボツズマブメルタンシン、ルカツムマブ、ルミリキシマブ、ルムレツズマブ、マパツムマブ、マルジェツキシマブ（ｍａｒｇｅｔｕｘｉｍａｂ）、マツズマブ、ミラツズマブ、ミルベツキシマブソラブタンシン、ミツモマブ、モガムリズマブ、モキセツモマブパスドトクス、ナコロマブタフェナトクス（ｎａｃｏｌｏｍａｂ　ｔａｆｅｎａｔｏｘ）、ナプツモマブエスタフェナトクス、ナルナツマブ、ネシツムマブ、ネスバクマブ、ニモツズマブ、ニボルマブ、オカラツズマブ、オファツムマブ、オララツマブ、オナルツズマブ、オンツキシズマブ（ｏｎｔｕｘｉｚｕｍａｂ）、オレゴボマブ、オポルツズマブモナトクス（ｏｐｏｒｔｕｚｕｍａｂ　ｍｏｎａｔｏｘ）、オトレルツズマブ（ｏｔｌｅｒｔｕｚｕｍａｂ）、パニツムマブ、パンコマブ（ｐａｎｋｏｍａｂ）、パルサツズマブ（ｐａｒｓａｔｕｚｕｍａｂ）、パトリツマブ、ペンブロリズマブ、ペムツモマブ（ｐｅｍｔｕｍｏｍａｂ）、ペルツズマブ、ピディリズマブ、ピナツズマブベドチン（ｐｉｎａｔｕｚｕｍａｂ　ｖｅｄｏｔｉｎ）、ポラツズマブベドチン、プリツムマブ（ｐｒｉｔｕｍｕｍａｂ）、ラコツモマブ（ｒａｃｏｔｕｍｏｍａｂ）、ラドレツマブ（ｒａｄｒｅｔｕｍａｂ）、ラムシルマブ、リロツムマブ、リツキシマブ、ロバツムマブ、サシツズマブゴビデカン、サマリズマブ、セリバンツマブ（ｓｅｒｉｂａｎｔｕｍａｂ）、シブロツズマブ（ｓｉｂｒｏｔｕｚｕｍａｂ）、シルツキシマブ、ソフィツズマブベドチン、タカツズマブテトラキセタン、タレクスツマブ（ｔａｒｅｘｔｕｍａｂ）、テナツモマブ（ｔｅｎａｔｕｍｏｍａｂ）、テプロツムマブ、テツロマブ（ｔｅｔｕｌｏｍａｂ）、ティガツズマブ、トシツモマブ、トベツマブ、トラスツズマブ、トレメリムマブ、ツコツズマブセルモロイキン、ウブリツキシマブ、ウトミルマブ、バンドルツマブベドチン、バンチクツマブ、バヌシズマブ、バルリルマブ、ベセンクマブ、ボロシキシマブ、ボルセツズマブマホドチン、ボツムマブ、ザルツ

ムマブおよびザツキシマブ（ｚａｔｕｘｉｍａｂ）を含む。
【０２０６】
本発明の態様によれば、被検物質は、以下：１）表面抗原分類（ＣＤ）細胞表面分子などの細胞表面タンパク質、２）キナーゼなどの細胞内タンパク質、および３）脱落した細胞表面受容体（ｓｈｅｄ　ｃｅｌｌ－ｓｕｒｆａｃｅ　ｒｅｃｅｐｔｏｒ）または細胞表面受容体の可溶性リガンドなどの細胞外タンパク質、のうちの１またはそれより多くに特異的に結合するものである。
【０２０７】
本発明の態様によれば、被検物質は、白血球（例えば、リンパ球または骨髄系列白血球）により発現されるタンパク質に特異的に結合するものである。さらなる選択肢において、被検物質は、白血球のリガンドに特異的に結合するものである。またさらなる選択肢において、被検物質は、がん細胞によって発現される分子に特異的に結合するものである。
【０２０８】
本発明の態様によれば、被検物質は、化学療法剤または免疫療法剤である。本発明の態様によれば、被検物質は、ＰＤ－１、ＰＤ－Ｌ１、またはＣＴＬＡ－４に特異的に結合することができる。本発明の態様によれば、被検物質は、ＰＤ－１阻害剤、ＰＤ－Ｌ１阻害剤、またはＣＴＬＡ－４阻害剤などの免疫チェックポイント阻害剤であり得る。本発明の態様によれば、被検物質は、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、イピリムマブ、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、および前述のいずれか１つの抗原結合断片から選択される免疫チェックポイント阻害剤である。
【０２０９】
被検物質は、経口、直腸、口腔、鼻、筋肉内、膣、眼、耳、皮下、経皮、腫瘍内、静脈内、および腹腔内（これらに限定されない）などのいずれかの好適な経路により投与され得る。
【０２１０】
発明の組成物および方法の実施形態は、以下の実施例において説明する。これらの実施例は、説明の目的のために提供されるのであり、発明の組成物および方法の範囲を限定するとはみなされない。
【実施例】
【０２１１】
実施例
【０２１２】
ヒトＩＬ－１５トランスジェニックＮＳＧマウスの作出
【０２１３】
ＲＰ１１－６２０Ｆ３と呼ばれる、ヒトＩＬ１５遺伝子を含む約２００Ｋｂｐ　ＢＡＣは、Ｃｈｏｒｉ　ＢＡＣＰＡＣから購入した。ＮＳＧ胚の前核注入により、ヒトＩＬ１５遺伝子を子孫に伝達するトランスジェニックオス初代を産生した。ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）ヘミ接合体の子孫は、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）によって同定され、コロニーを拡大させた。ヒトＩＬ－１５レベルは、ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）ヘミ接合体上で最初に確認された。血漿は、５５日齢において、ヒトＩＬ－１５導入遺伝子についてヘミ接合の３匹のメスのマウス、および３匹のメスのＮＳＧ非トランスジェニックマウスから収集した。ＥＬＩＳＡアッセイでは、ＱｕａｎｔｉｋｉｎｅヒトＩＬ－１５　ＥＬＩＳＡキット（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、ミネソタ州ミネアポリス）を使用した。ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）ヘミ接合体は、生理学的レベルのヒトＩＬ－１５（７．１＋／－０．３ｐｇ／ｍｌ）を有したが、非トランスジェニックＮＳＧマウスは、予想通り、ヒトＩＬ－１５を欠き、トランスジェニック動物のヒトＩＬ－１５タンパク質の生産を実証された（図１）。
【０２１４】
その後の交雑および試験交配により、追加のＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）の子孫が生まれた。ヒトＩＬ－１５導入遺伝子をホモ接合性に固定するために遺伝的交雑が行われ

、Ｈｕ－ＩＬ１５トランスジェニックホモ接合体はよく生存し、ホモ接合体の交配で繁殖することが見出された。ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）コロニーは、同胞交配により高バリアマウス室で維持する。ヒトＩＬ１５導入遺伝子のホモ接合性の発現により、ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）ヘミ接合体と比較して、２倍高いレベルのヒトＩＬ－１５がもたらされる（図２）。マウスＩＬ－１５を遺伝子導入で過剰発現する免疫適格マウスは、Ｔ．Ａ．Ｆｅｈｎｉｇｅｒら、Ｆａｔａｌ ｌｅｕｋｅｍｉａ ｉｎ ｉｎｔｅｒｌｅｕｋｉｎ－１５ ｔｒａｎｓｇｅｎｉｃ ｍｉｃｅ、Ｂｌｏｏｄ ｃｅｌｌｓ、ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ＆ｄｉｓｅａｓｅｓ ２７、２２３－２３０（２００１）に記載されており、また、これらのマウスＩＬ－１５トランスジェニック動物は、６週齢までに始まるＴ－ＮＫ細胞の表現型を有する致命的なリンパ性白血病を発症する。対照的に、ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスは、内在性のマウスＴおよびＮＫ細胞を欠き、マウス白血病を発症しない。ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）ホモ接合性の繁殖ペアは、繁殖効率の低下によって引退する前に、６～９ヶ月間繁殖コロニーで日常的に維持され、白血病の証拠は見出されなかった。

【０２１５】

ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスは、ヒトＮＫ細胞の発生を支持する

【０２１６】

ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスが、ヒト造血幹細胞（ＨＳＣ）の移植後のヒトＮＫ細胞の発生を支持するかどうかを決定するために、８～１２週齢のＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスのグループと年齢および性別が一致したＮＳＧコントロールに、ヒトＨＳＣを移植した。要約すると、レシピエントマウスは、２００ｃＧｙ照射を受け、次に臍帯血から濃縮した$1\times10^{5}$ヒトＣＤ３４＋ＨＳＣを静脈内注入された。フローサイトメトリーを使用して、ヒトＮＫ細胞の発生および表現型をモニターした。ヒトＨＳＣが移植されたＮＳＧおよびＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスは、実験の過程にわたって同様の生存レベルを示す（図３）。ヒトＣＤ４５＋細胞のレベルは、フローサイトメトリーにより末梢血中においてモニターした。ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスは、図４に示すように、ＮＳＧマウスと比較して、血液中のＣＤ４５＋細胞の発生を促進した。ヒトＣＤ４５＋細胞のレベルによって決定すると、ヒト白血球の発生は、試験したすべての時点で、図５に示すように、ＨＳＣ注入後１２週間での代表的なデータから、ＮＳＧおよびＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスの末梢血において類似する。

【０２１７】

ヒトＣＤ３＋Ｔ細胞のレベルは、フローサイトメトリーにより末梢血中においてモニターした。ＨＳＣ移植ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスは、ＮＳＧマウスと比較して、血液中のヒトＴ細胞の類似する発生を示す。図６を参照のこと。

【０２１８】

ＨＳＣ移植ＮＳＧマウスと比較して、ＨＳＣ移植ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスは、ヒトＮＫ細胞の発生が著しく促進される。ＨＳＣ移植マウスからの末梢血は、指示された時点で回収され、図７に記載されているようにヒトＮＫ細胞が検出された。ＮＳＧマウスと比較して、ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスで試験したすべての時点で、ヒトＮＫ細胞が、有意に高いレベルで見つかった（図８）。

【０２１９】

ヒトＣＤ２０＋Ｂ細胞のレベルは、フローサイトメトリーにより末梢血中においてモニターした。移植されたＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスは、ＮＳＧマウスと比較して、より低い割合の血液中のヒトＢ細胞を示す。図９を参照のこと。

【０２２０】

ヒトＣＤ３３＋骨髄性細胞のレベルは、フローサイトメトリーにより末梢血中においてモニターした。ＨＳＣ移植ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスは、ＮＳＧマウスと比較して、血液中のヒト骨髄性細胞の類似した発生がある。図１０を参照のこと。

【０２２１】

ヒトＣＤ５６＋／ＣＤ１６＋ＮＫ細胞の総細胞レベルは、フローサイトメトリーにより

末梢血中においてモニターした。ＨＳＣ移植ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスは、ＮＳＧマウスと比較して、血液中のヒトＮＫ細胞数が一定であることを示す。図１１を参照のこと。

【０２２２】

ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスから回収されたヒトＮＫ細胞もまた機能的表現型を示す。図１２Ａおよび１２Ｂならびに図１３Ａおよび１３Ｂに示すように、ＮＳＧ－Ｔｇ（ＨｕＩＬ１５）マウスの血液および脾臓中の有意に高い割合のヒトＮＫ細胞は、細胞内グランザイムＢ（ＮＫ細胞の顆粒内で見られるセリンプロテアーゼ）および細胞内パーフォリン（細胞膜内の細孔形成に関与する糖タンパク質）を高レベルで発現する。図１２Ａの点線は、「アイソタイプコントロール」または「ＦＭＯ」（「ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｃｅ ｍｉｎｕｓ ｏｎｅ」コントロール）の曲線であり、これは、実線の陽性染色のカットオフのバックグラウンドレベルがどこにあるかを示す。図１３Ｂの「ＦＭＯ」というラベルの付いた線も同様である。

【０２２３】

ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスは、移植されたヒトＮＫ細胞を維持する。

【０２２４】

ヒトＨＳＣ移植後のヒトＮＫ細胞の発生を支持するヒトＩＬ－１５の要件に加えて、ヒトＮＫ細胞は生体内および$in\ vitro$での生存にヒトＩＬ－１５を必要とする。ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスが、ヒト末梢血の移植後のヒトＮＫ細胞の維持を支持するかどうかを決定するために、８～１２週齢のＮＳＧ－Ｔｇ（ＨｕＩＬ１５）マウスのグループと年齢および性別が一致したＮＳＧコントロールに、ＩＶで注入したヒト末梢血単核細胞（$1\times10^{7}$ＰＢＭＣ）を移植した。ＣＤ５６＋ヒトＮＫ細胞のレベルは、５日目に注入したマウスの末梢血で決定された。ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスは、ＮＳＧマウスと比較して、ヒトＰＢＭＣからのヒトＮＫ細胞の移植と生存の促進を支持する。図１４は、全ヒトＣＤ４５＋白血球の割合としてのヒトＣＤ５６＋ＣＤ３－細胞のパーセンテージを示す。ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスでは、ＮＳＧコントロールの１０％未満と比較して、５０％を超えるＮＫ細胞が残っていた。

【０２２５】

ＨＳＣ移植ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスからのヒトＮＫ細胞がＮＫ感受性標的（Ｋ５６２細胞）を殺滅するかどうかを決定するために、ヒトＮＫ細胞をＨＳＣ移植ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウスの脾臓またはヒトＰＢＭＣのいずれかから濃縮し、また標準的な$Cr^{51}$放出アッセイを使用して、Ｋ５６２標的細胞を溶解する能力を評価した。ＮＫ細胞およびＫ５６２細胞を一緒に２０時間インキュベートし、$Cr^{51}$の放出を定量化した。図１５は、ＨＳＣ移植ＮＳＧ－Ｔｇ（Ｈｕ－ＩＬ１５）マウス由来のヒトＮＫ細胞がＮＫ感受性標的（Ｋ５６２細胞）を殺滅することを示すグラフである。

【０２２６】

生体内ＡＤＣＣ（抗体依存性細胞媒介細胞傷害）アッセイ

【０２２７】

ＮＳＧ－ＩＬ１５マウスにヒトＣＤ３４＋ＨＳＣを移植した。発生中のヒトＮＫ細胞のＡＤＣＣ活性を評価するために、移植マウスおよびコントロールの未移植マウスに、ＮＫ細胞感受性Ｂ細胞腫瘍系（ＣＤ２０＋、ＤａｕｄｉまたはＲａｊｉ細胞）を皮下に注入した（５００万細胞）。腫瘍が触診できるようになった時、マウスを週に３回、１００ｕｇの抗ＣＤ２０抗体（リツキシマブ）で処置したか、または処置しないままとした。腫瘍サイズが$2000mm^{3}$に達するまで、腫瘍成長を週に２回モニターした。

【０２２８】

項目

【０２２９】

項目１．ゲノムにヒトインターロイキン１５（ｈｕ－ＩＬ－１５）をコードするヌクレオチド配列を含むように遺伝子改変された免疫不全マウスであって、ｈｕ－ＩＬ－１５を発現する、免疫不全マウス。

【０２３０】
項目２．機能的内在性マウスＮＫ細胞が存在しない、項目１に記載の免疫不全マウス。
【０２３１】
項目３．機能的内在性ＩＬ－２ＲＧ遺伝子を欠くようにＩＬ－２ＲＧヌルであり、かつ機能的内在性マウスＮＫ細胞を欠く、項目１または２に記載の免疫不全マウス。
【０２３２】
項目４．遺伝子改変されたＮＳＧ、ＮＲＧまたはＮＯＧマウスである、上記項目のいずれか一項目に記載の免疫不全マウス。
【０２３３】
項目５．ヒト造血幹細胞、ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ヒトＮＫ細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、またはそれらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせをさらに含む、上記項目のいずれか一項目に記載の免疫不全マウス。
【０２３４】
項目６．マウスがヒトナチュラルキラー細胞を含み、ヒトナチュラルキラー細胞は、マウスにおけるヒト造血幹細胞の分化によって、マウスで産生される、あるいは、ヒトナチュラルキラー細胞は、ヒトナチュラルキラー細胞を含有するＰＢＭＣの投与後に、マウスにおいて維持されるおよび／または産生される、上記項目のいずれか一項目に記載の免疫不全マウス。
【０２３５】
項目７．ヒト腫瘍細胞を含むヒト異種移植片をさらに含む、上記項目のいずれか一項目に記載の免疫不全マウス。
【０２３６】
項目８．被検物質の抗腫瘍活性を同定する方法であって、
項目１～６のいずれか一項目に記載の免疫不全マウスを提供するステップ；
免疫不全マウスにヒト腫瘍細胞を投与するステップであって、ここでヒト腫瘍細胞が、遺伝子改変された免疫不全マウスにおいて固形腫瘍または非固形腫瘍を形成する、ステップ；
免疫不全マウスに被検物質を投与するステップ；ならびに
被検物質への固形腫瘍または非固形腫瘍の反応をアッセイするステップであって、ここで腫瘍および／または腫瘍細胞に対する被検物質の阻害効果が、抗腫瘍活性を有するとして被検物質を同定する、ステップを含む、方法。
【０２３７】
項目９．反応を基準と比較して、ヒト腫瘍細胞に対する被検物質の効果を決定するステップをさらに含み、ここでヒト腫瘍細胞に対する被検物質の阻害効果が、抗腫瘍活性を有するとして被検物質を同定する、項目８に記載の方法。
【０２３８】
項目１０．被検物質が、免疫療法剤を含む、項目８または９に記載の方法。
【０２３９】
項目１１．被検物質が免疫チェックポイント阻害剤である、項目８～１０のいずれか一項目に記載の方法。
【０２４０】
項目１２．免疫チェックポイント阻害剤が、ＰＤ－１阻害剤、ＰＤ－Ｌ１阻害剤、またはＣＴＬＡ－４阻害剤である、項目１１に記載の方法。
【０２４１】
項目１３．免疫チェックポイント阻害剤が、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、イピリムマブ、ニボルマブ、もしくはペンブロリズマブであるか、または、免疫チェックポイント阻害剤が、前述のいずれか１つの抗原結合断片を含む、項目１１または１２に記載の方法。
【０２４２】
項目１４．被検物質が抗体を含む、項目８～１３のいずれか一項目に記載の方法。

【０２４３】
項目１５．被検物質が抗がん剤を含む、項目８～１４のいずれか一項目に記載の方法。
【０２４４】
項目１６．遺伝子改変された免疫不全ヒト化マウスモデルの製造方法であって、項目１～４のいずれか一項目に記載の免疫不全マウスを提供するステップ；および、ヒト造血幹細胞、ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ヒトＮＫ細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、またはそれらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせを、免疫不全マウスに投与するステップを含む、方法。
【０２４５】
項目１７．ヒト造血幹細胞、ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、ヒトＮＫ細胞、ヒトＮＫ細胞系細胞、またはそれらの任意の２もしくはそれを超える組み合わせを投与する前に、マウスのマウス造血細胞を減少させるための免疫不全マウスの前処置をさらに含む、項目１６に記載の方法。
【０２４６】
項目１８．マウスのマウス造血細胞を減少させるための免疫不全マウスの前処置は、遺伝子改変された免疫不全マウスに照射すること、および／または、遺伝子改変された免疫不全マウスに放射線様作用薬を投与することを含む、項目１７に記載の方法。
【０２４７】
項目１９．ヒト造血幹細胞を投与する前に、マウスのマウス造血細胞を減少させるための前処置を行わない、項目１８に記載の製造方法。
【０２４８】
項目２０．免疫不全マウスに、ヒト腫瘍細胞を含むヒト異種移植片を投与するステップをさらに含む、項目１６～１９のいずれか一項目に記載の製造方法。
【０２４９】
項目２１．実質的に本明細書に記載されている、または示されている、遺伝子改変された免疫不全マウス。
【０２５０】
項目２２．実質的に本明細書に記載されている、または示されている、遺伝子改変された免疫不全ヒト化マウスモデルの製造方法。
【０２５１】
項目２３．実質的に本明細書に記載されている、または示されている、被検物質の抗腫瘍活性を同定する方法。
【０２５２】
配列
【０２５３】
配列番号１　ヒトインターロイキン１５
【化１】

```
MRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFILGCFSAGLPKTEANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDA
TLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEK
NIKEFLQSFVHIVQMFINTS
```

【０２５４】
配列番号２　ヒトインターロイキン１５をコードする
【化２】

```
atgagaatttcgaaaccacatttgagaagtatttccatccagtgctacttgtgtttacttctaaacagtca
ttttctaactgaagctggcattcatgtcttcattttgggctgtttcagtgcagggcttcctaaaacagaag
ccaactgggtgaatgtaataagtgatttgaaaaaaattgaagatcttattcaatctatgcatattgatgct
actttatatacggaaagtgatgttcaccccagttgcaaagtaacagcaatgaagtgctttctcttggagtt
acaagttatttcacttgagtccggagatgcaagtattcatgatacagtagaaaatctgatcatcctagcaa
acaacagtttgtcttctaatgggaatgtaacagaatctggatgcaaagaatgtgaggaactggaggaaaaa
aatattaaagaatttttgcagagttttgtacatattgtccaaatgttcatcaacacttct
```

【０２５５】
個々の実施形態の文脈中に明確に記載された本発明のある特徴がさらに、単一の実施形態を組み合わせた場合に提供されてもよい、と理解されている。反対に、単一の実施形態の文脈中に簡潔に記載された本発明の種々の特徴がさらに、個々にまたはいずれかの好適な副次的な組み合わせの場合に提供されてもよい。
【０２５６】
本明細書中において言及される特許および刊行物が、それぞれ個別の刊行物が参照により組み込まれることが具体的かつ個別的に示されるのと同程度に、参照により本明細書に組み込まれる。
【０２５７】
本明細書に記載された組成物および方法は、現在好ましい実施形態を代表するものであり、本発明の範囲の制限として意図されていない。それらの変更および他の使用を、当業者は思い浮かぶだろう。このような変更および他の使用は、特許請求の範囲に記載されている本発明の範囲から逸脱することなく行うことができる。

【図面】

【図１】

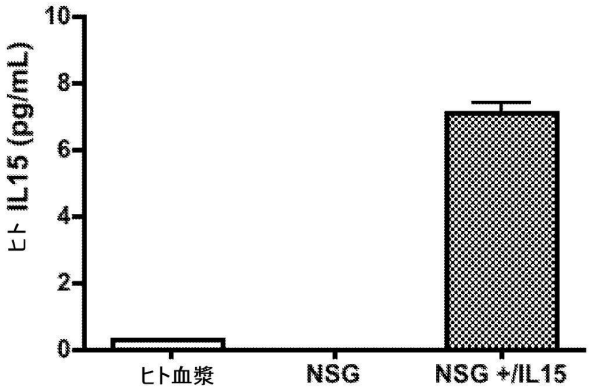



FIG. 1

【図２】

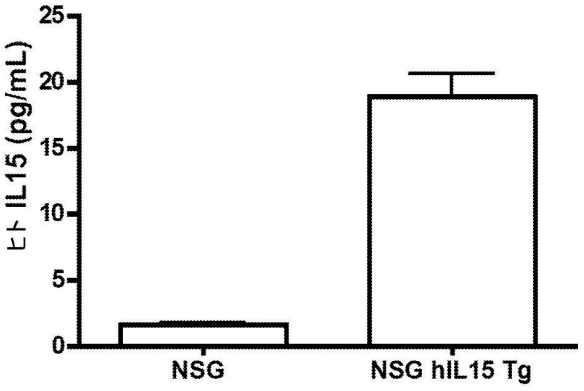



FIG. 2

【図３】

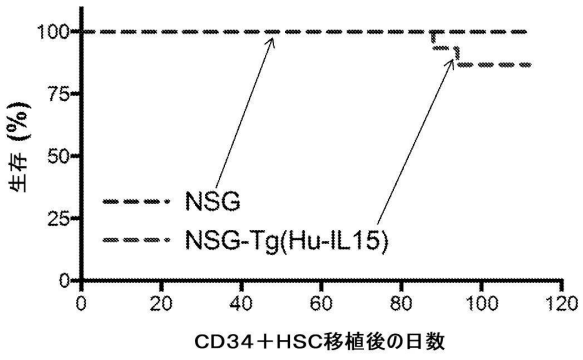



FIG. 3

【図４】

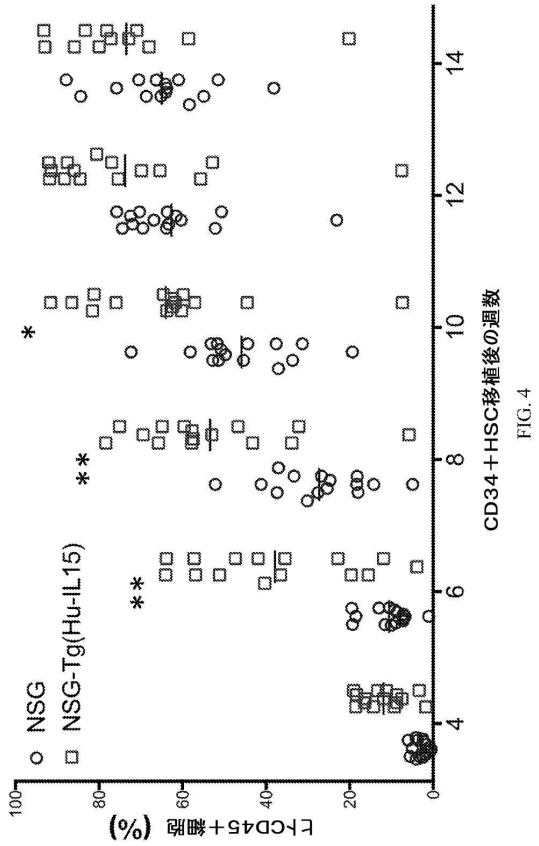



FIG. 4

【図５】

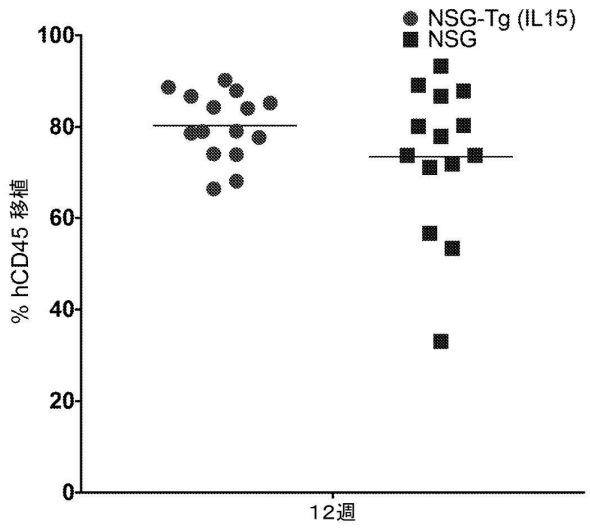



FIG. 5

【図６】

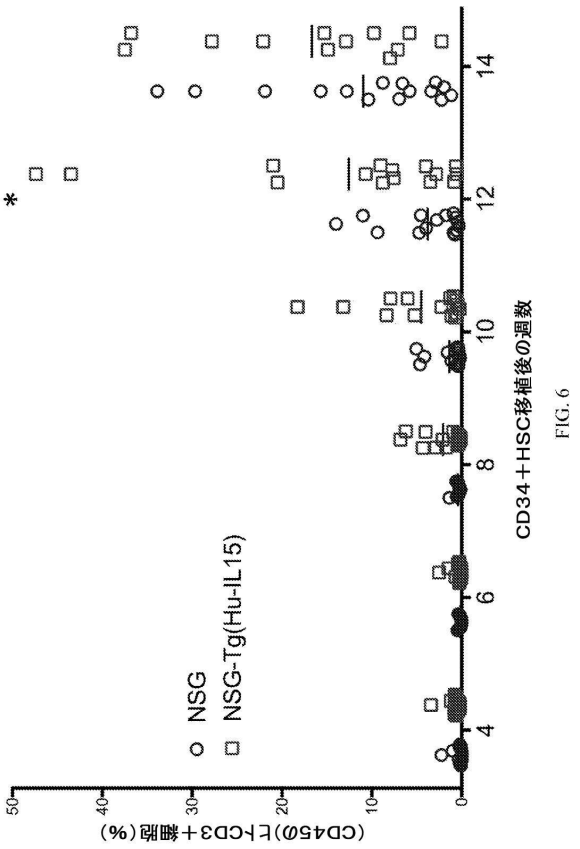



FIG. 6

【図７】

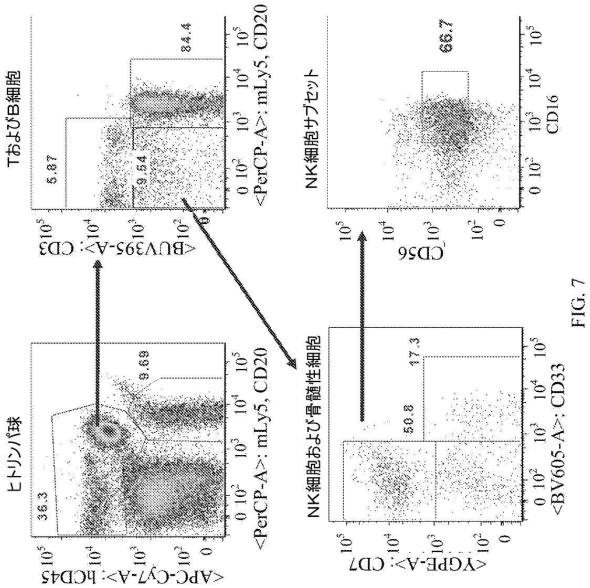



FIG. 7

【図８】

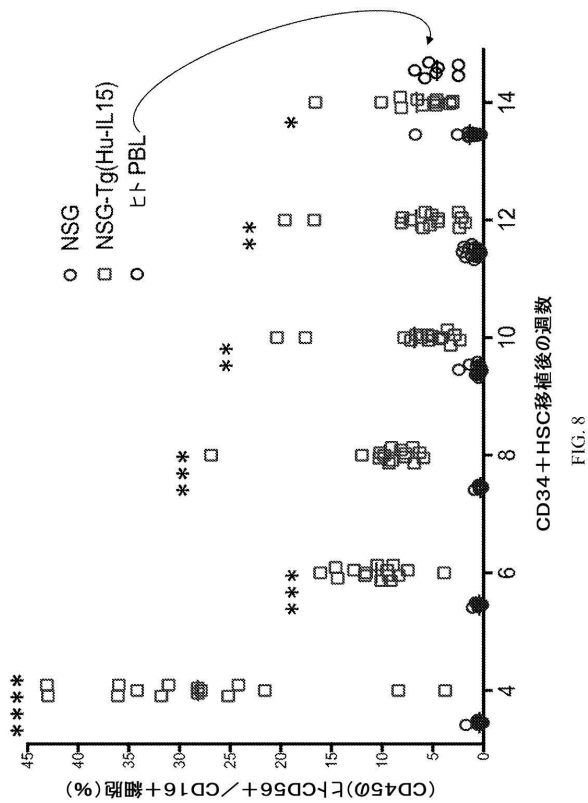



FIG. 8

【図９】

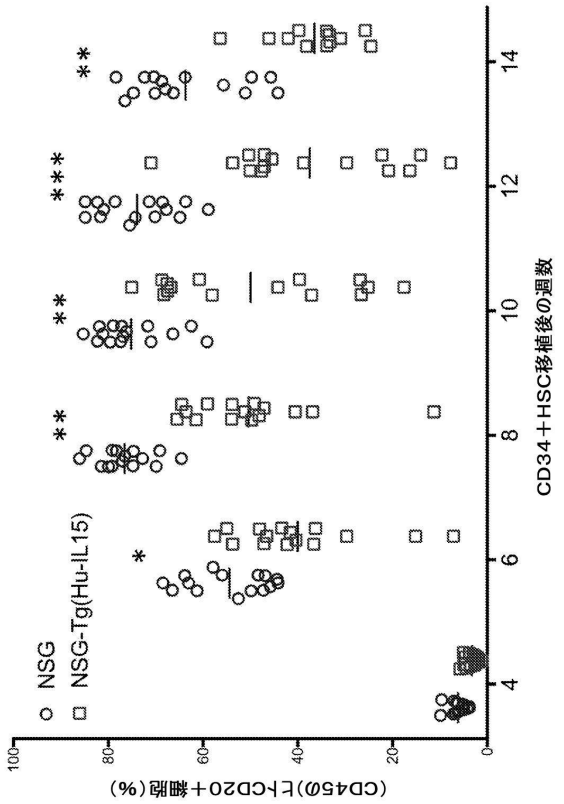



FIG. 9

【図１０】

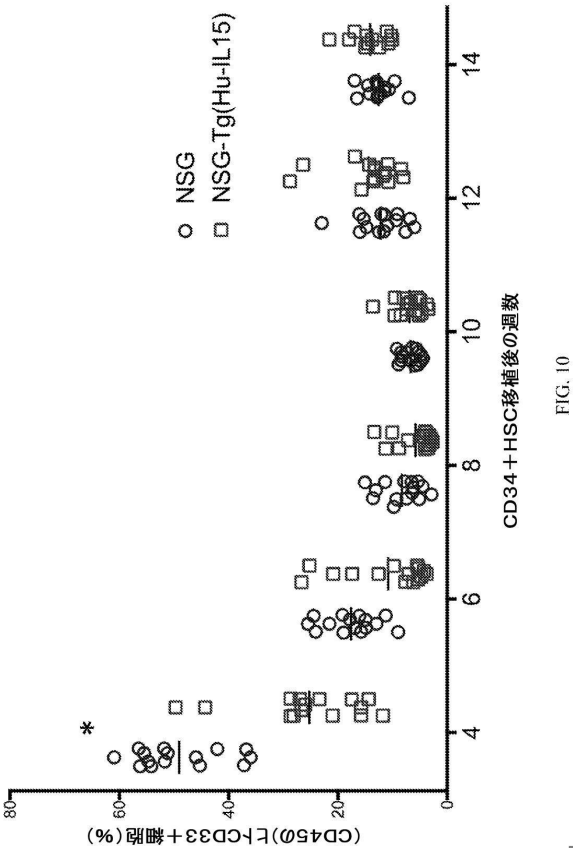



FIG. 10

【図１１】

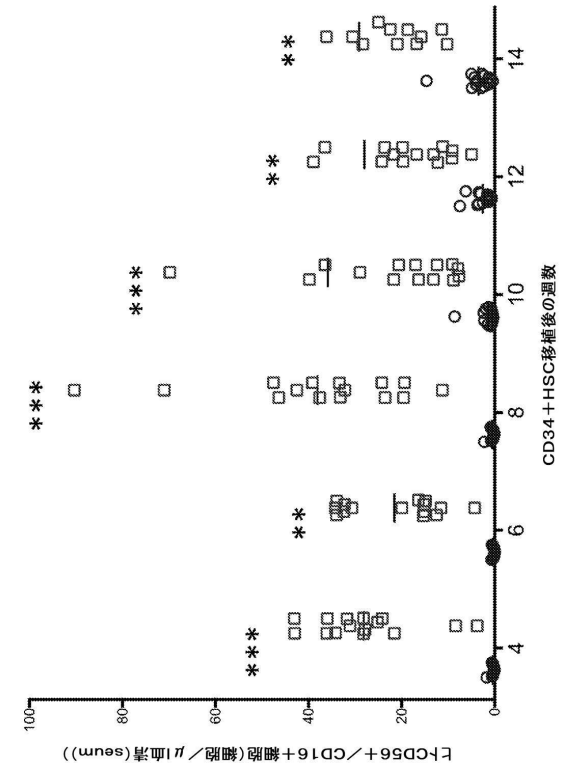



FIG. 11

【図１２Ａ】

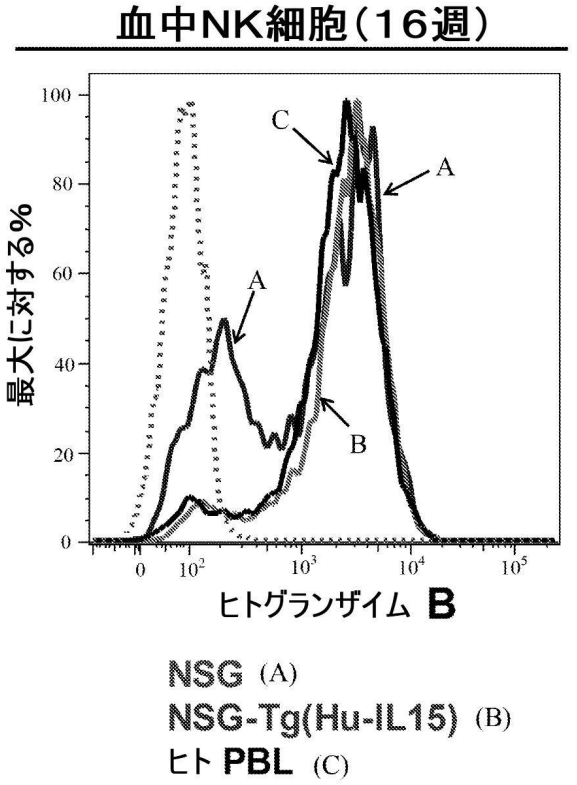



FIG. 12A

【図１２Ｂ】

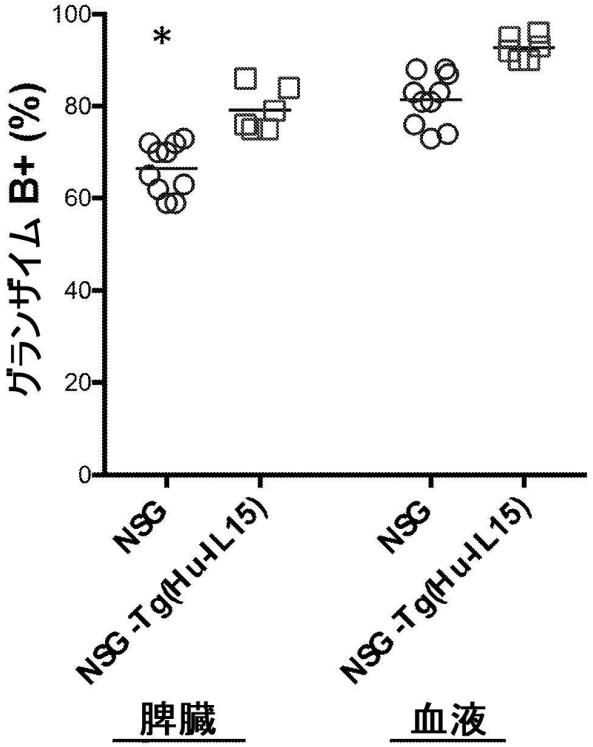



FIG. 12B

【図１３Ａ】

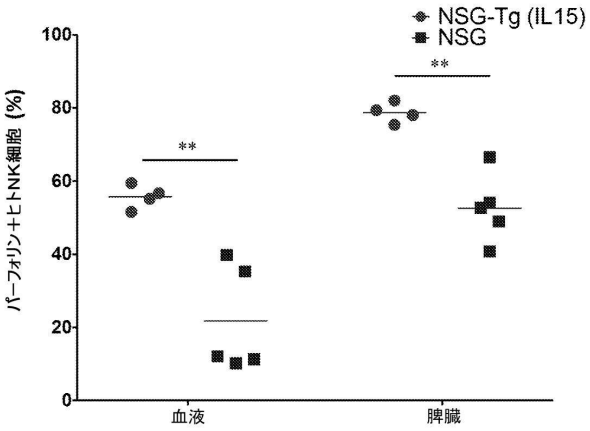



FIG. 13A

【図１３Ｂ】

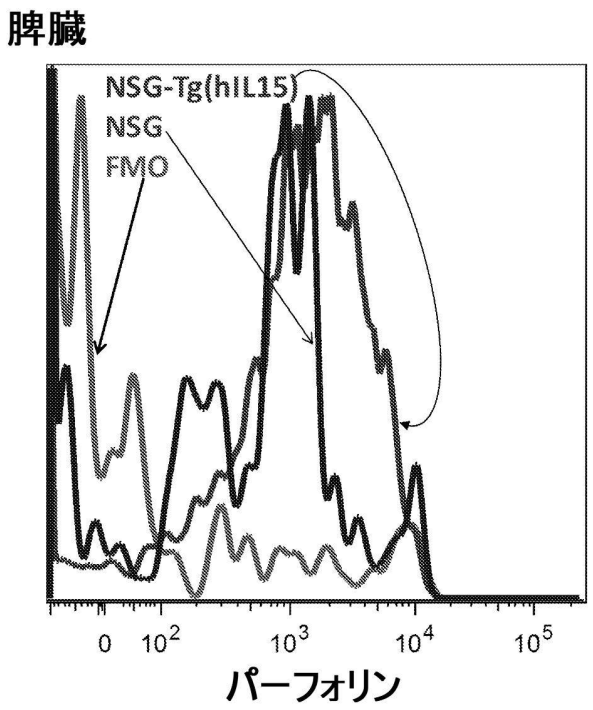



FIG. 13B

【図１４】

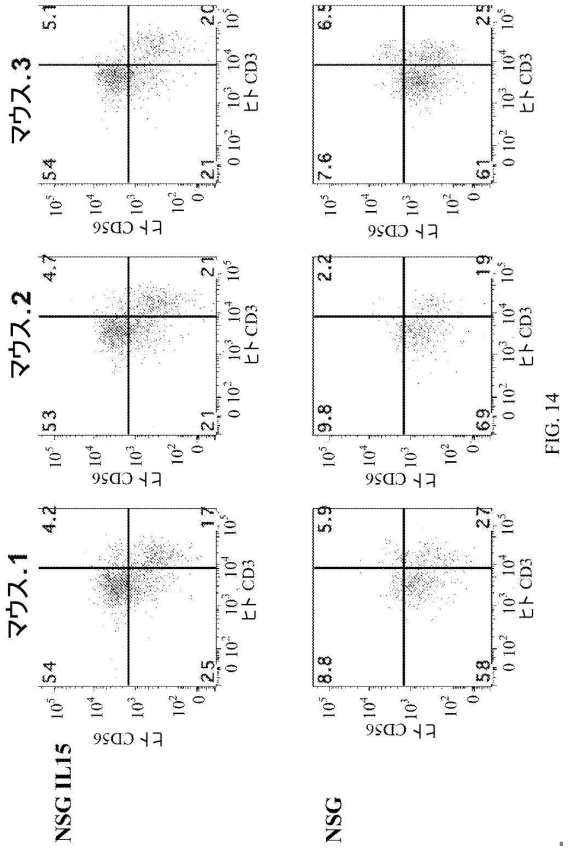



FIG. 14

【図１５】

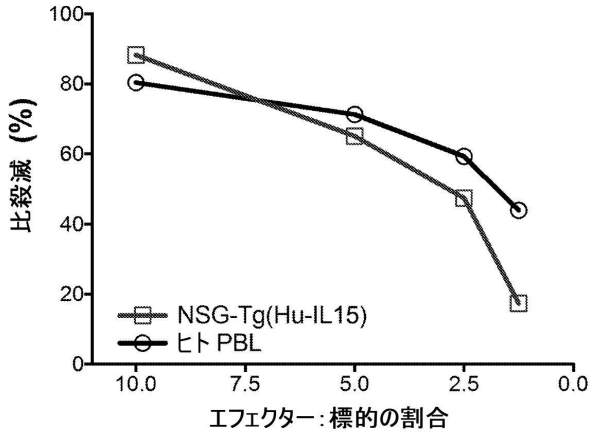



FIG. 15

【配列表】

0007404237000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類
*C12N 5/09 (2010.01)*
*C12N 5/0783(2010.01)*
*C12N 5/0786(2010.01)*
*C12N 15/13 (2006.01)*
*C07K 16/28 (2006.01)*
*C07K 16/18 (2006.01)*
*A61K 39/395 (2006.01)*
*A61P 37/04 (2006.01)*
*A61P 35/00 (2006.01)*
*A61K 45/00 (2006.01)*

FI
C12N 5/09
C12N 5/0783
C12N 5/0786
C12N 15/13
C07K 16/28
C07K 16/18
A61K 39/395 N
A61K 39/395 T
A61K 39/395 D
A61P 37/04
A61P 35/00
A61K 45/00

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(74)代理人 100181674
弁理士 飯田 貴敏
(74)代理人 100181641
弁理士 石川 大輔
(74)代理人 230113332
弁護士 山本 健策
(72)発明者 シュルツ， レオナルド ディー.
アメリカ合衆国 メイン ０４６０９， バー ハーバー， インディアン ポイント ロード ８０
(72)発明者 ブレーム， マイケル エー.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０１５７１， ダッドリー， ダッドリー オックスフォード ロード １０１
(72)発明者 グライナー， デール エル.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０１４５２， ハバードストン， マウント ジェファーソン ロード ９８
審査官 斉藤 貴子

(56)参考文献 国際公開第２０１６／１８９７９９（WO，A１）
国際公開第２０１６／１６８２１２（WO，A１）
特表２０１６－５３３１９２（ＪＰ，A）

(58)調査した分野 (Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ０１Ｋ
Ｃ１２Ｎ
Ｇ０１Ｎ
Ａ６１Ｋ
Ａ６１Ｐ
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）