KOSMOS
PROBLEMY NAUK BIOLOGICZNYCH

Tom 68 2019
Numer 3 (324)
Strony 375–387

Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika

PAULINA KOWALCZYK, DOMINIKA BIAŁA, MARIAN SZCZEPANIK, MONIKA MAJEWSKA-SZCZEPANIK

Uniwersytet Jagielloński - Collegium Medicum,
Wydział Nauk o Zdrowiu,
Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa,
Katedra Biologii Medycznej
Kopernika 7a, 31-034 Kraków
E-mail: pk.kowalczyk@cm-uj.krakow.pl
dominika.biala@uj.edu.pl
mmszczep@cyf-kr.edu.pl
monika.majewska-szczepanik@uj.edu.pl

MODELE MYSZY Z NIEDOBORAMI ODPORNOŚCI: CHARAKTERYSTYKA I ZASTOSOWANIE

WSTĘP

Mysz domowa (*Mus musculus*) jest najczęściej używanym gatunkiem zwierząt wykorzystywanych w doświadczalnych do celów naukowych (EUROPEAN COMMISSION 2013). Ludzie i myszy wykazują znaczne podobieństwo genetyczne, ponieważ około 95-98% genów człowieka ma swój mysi odpowiednik. Ponadto zaobserwowano, że myszy rozwijają wiele jednostek chorobowych podobnych do występujących u ludzi, o podobnym podłożu genetycznym, sprawiając tym samym, że badania z wykorzystaniem modeli mysich mogą dostarczyć cennych informacji na temat patomechanizmu różnych schorzeń u człowieka (WATERSTON i współaut. 2002).

Modele badań *in vivo* stanowią istotne narzędzie poznawcze pozwalające na charakterystykę zaburzeń odpowiedzi immunologicznej w różnych stanach patologicznych, a ponadto dają możliwość badania skomplikowanych i wzajemnie powiązanych układów immunoregulacyjnych, których w żaden sposób nie zastąpi model *in vitro*. Modele mysie znalazły szerokie zastosowanie w badaniach immunobiologicznych, ponieważ naukowcy mogą łatwo manipulować ich genomem. Daje to możliwość tworzenia u myszy modeli konkretnych chorób ludzi, jeżeli gen lub geny odpowiedzialne za ich rozwój są znane.

Przedstawiona praca ma na celu przybliżenie niektórych modeli myszy z niedoborami odporności, z uwzględnieniem genetyki, charakterystyki fenotypowej oraz ich zastosowania w badaniach naukowych.

ZMIENNOŚĆ W UKŁADZIE ODPORNOŚCIOWYM

Powszechnie stosowane szczepy myszy laboratoryjnych są zróżnicowane pod względem funkcjonowania układu odpornościowego. Związane jest to z występowaniem pewnych spontanicznych mutacji lub polimorfizmów. Dlatego ważna jest znajomość tła genetycznego szczepów rodzicielskich, które zostały użyte do wyprowadzenia nowych szczepów, w tym także szczepów genetycznie modyfikowanych.

Jednym z przykładów zróżnicowania szczepów pod względem funkcjonowania układu odpornościowego jest występowanie u myszy C3H/HeJ i C57BL/10ScCr mutacji w genie *Tlr4* kodującym białko TLR4 (ang. Toll-like receptor 4). Kodowane białko pełni funkcję receptora dla lipopolisacharydu (LPS), należy do grupy receptorów Toll-podobnych (ang. Toll-like receptors, TLR), wchodzącej w skład rodziny PRR (ang. pattern recognition receptors), wiążącej wzorce molekularne związane z patogenami. Pro-

Słowa kluczowe: układ odpornościowy, modele mysie, niedobór odporności

wadzi to do braku odpowiedzi na LPS, a tym samym do zwiększonej wrażliwości tych szczepów na zakażenia bakteriami Gram-ujemnymi (POLTORAK i współaut. 1998). Innym często pojawiającym się defektem jest mutacja (*Hc0*) utraty funkcji składowej C5 układu dopełniacza. U szczepów myszy, takich jak np. A/HeJ, AKR/J, DBA/2J, SWR/J, u których występuje wspomniany defekt, wykazano zwiększoną podatność na niektóre infekcje, w tym na zakażenia *Bacillus anthracis*, *Aspergillus fumigatus* i *Candida albicans* (NILSSON i MÜLLER-EBERHARD 1967). Z kolei u myszy szczepu C3H/HeJ, C57BL/6J i BALB/c stwierdzono obecność mutacji w genie *Slc11a1* (ang. solute carrier family 11 member 1) kodującym białko Nramp1 (ang. natural-resistance-associated macrophage protein 1), które reguluje aktywację makrofagów. Mutacje w tym genie warunkują podatność myszy na niektóre zakażenia, pośród których najbardziej charakterystyczne są infekcje wywołane przez *Mycobacterium, Salmonella* i *Leishmania.* W zależności od typu mutacji, może dochodzić do wzrostu (mutacja *Slc11a1s* u myszy BALB/c i C57BL/6J) lub spadku (mutacja *Slc11a1r* u myszy C3H/HeJ) wrażliwości na zakażenia (LOOMIS i współaut. 2014).

Wyróżnia się dwie główne populacje limfocytów pomocniczych Th1 i Th2. Limfocyty Th1 biorą udział w reakcjach odpowiedzi komórkowej i uczestniczą głównie w przebiegu zakażeń wirusowych i pierwotniaczych. Natomiast limfocyty Th2 ogrywają znaczącą rolę w odpowiedzi typu humoralnego. Obie populacje różnią się pod względem produkowanych cytokin. Limfocyty Th1 produkują głównie interleukinę 2 (IL-2) i interferon gamma (IFN-γ), natomiast Th2 interleukinę 4 (IL-4) i interleukinę 10 (IL-10) (ZHANG i współaut. 2014). Wykazano, że wykorzystywane w badaniach szczepy myszy laboratoryjnych charakteryzują się różnym stopniem nasilenia odpowiedzi zależnej od Th1 i Th2. Myszy C57BL/6 charakteryzują się odpowiedzią immunologiczną przesuniętą w kierunku odpowiedzi typu Th1, natomiast myszy BALB/c, A/J, DBA/2 w kierunku odpowiedzi Th2. Zróżnicowanie to ma wpływ na odmienną podatność tych szczepów na zakażenia, szczególnie związaną z drobnoustrojami wewnątrzkomórkowymi i pasożytami (MILLS i współaut. 2000). Znaczący wpływ na różnice w funkcjonowaniu układu odpornościowego ma główny uład zgodności tkankowej (H-2). Zwykle dany szczep ma określony haplotyp, czyli grupę alleli, które przekazywane są potomstwu wspólnie (Tabela 1). Zmienność między szczepami w obrębie głównego układu zgodności tkankowej wpływa na wrażliwość na infekcje, predyspozycje do występowania chorób autoimmunizacyjnych oraz ma znaczenie przy odrzucaniu przeszczepów (SELLERS i współaut. 2012).

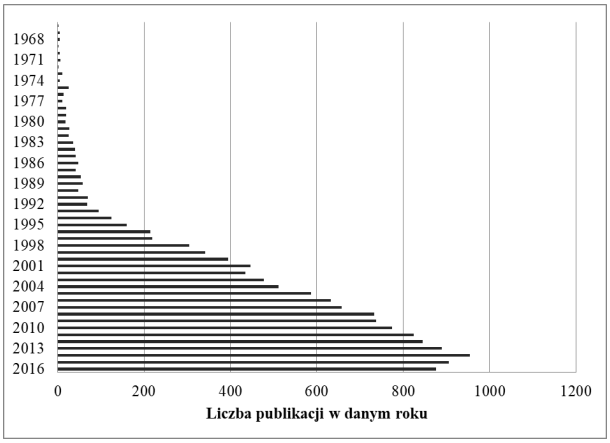
Tabela 1. Haplotypy H-2 różnych szczepów myszy laboratoryjnych

Haplotyp H-2	Szczep myszy
b	C57BL/6, C57BL/10
d	C.B-17, BALB/c, DBA/2
k	CBA/J, CBA/N, C3H/He
q	DBA/1, FVB/N

Opisane powyżej zmienności stanowią tylko niewielki fragment różnic genetycznych pomiędzy poszczególnymi szczepami myszy, które mogą wpływać na ich niejednorodność w obrębie funkcjonowania układu odpornościowego. Dlatego istotne jest, aby naukowcy zdawali sobie sprawę z występowania zmienności genetycznej w obrębie głównego układu zgodności tkankowej i świadomie podejmowali decyzję przy wyborze określonego modelu doświadczalnego, adekwatnie do postawionej hipotezy badawczej.

MODELE MYSZY Z NIEDOBORAMI ODPORNOŚCI

Niedobory odporności pojawiły się u różnych szczepów myszy naturalnie lub w wyniku zaplanowanej ingerencji człowieka. Defekty mogą dotyczyć każdej komponenty układu odpornościowego, a ich wpływ na funkcjonowanie może objawiać się począwszy od niewielkich nieprawidłowości o ma-



Ryc. 1. Graficzne zestawienie liczby publikacji powiązanych z mysimi modelami niedoborów odporności w danym roku. Dane uzyskano przeszukując bazę PubMed z zastosowaniem frazy „immune deficient mice".

łym znaczeniu dla dobrostanu zwierząt, aż po znaczne upośledzenie reakcji odpornościowych organizmu. Liczba prac naukowych poruszających zagadnienia związane z mysimi modelami niedoborów odporności z roku na rok znacząco wzrasta (Ryc. 1). Zwiększająca się liczba cytowań koreluje ze wzrastającą liczbą nowo odkrywanych czy tworzonych modeli badawczych. Obecnie dostępna jest bardzo duża liczba szczepów i podszczepów charakteryzujących się występowaniem różnych defektów immunologicznych. Zwierzęta te mają dobrze opisane wady występujące w obrębie genów kodujących m.in. białka głównego układu zgodności tkankowej, enzymy, cytokiny czy receptory.

MYSZY BEIGE

Nazwa mutacji (*bg*) pochodzi od koloru myszy, u których wystąpiła po raz pierwszy ta mutacja. Zwierzęta pochodziły od hodowcy Oak Ridge National Laboratory, a mutacja wystąpiła wskutek napromieniowania myszy (KELLEY 1957). Tło genetyczne stanowiły myszy aguti (A/-) czarne (B/-). Cechami charakterystycznymi ich wyglądu były: zmniejszona pigmentacja uszu i ogona oraz specyficzne beżowe umaszczenie, związane z występowaniem stref koloru w obrębie włosa (przy końcu jasny żółty pasek, środkowa część ciemnoszara, a u podstawy bardzo jasny szary) (WITHAM i LANE 1991). W hodowli The Jackson Laboratory mutacja *bgJ* pojawiła się spontanicznie we wsobnym szczepie C57BL/6J [non-agouti (a/a) czarny (B/B)] oraz mutacja *bg2J* w obrębie szczepu C3H/HeJ (WITHAM i LANE 1991). Mutacje te występują w genie *Lyst* (ang. lysosomal trafficking regulator), znajdującym się na chromosomie 13. W badaniach najczęściej stosowane są myszy z mutacją *bgJ*, która związana jest z delecją 3 par zasad, prowadzącą do braku izoleucyny w domenie WD40 białka LYST, co prawdopodobnie zaburza regulowany przez to białko proces transportu białek w endosomach (TRANTOW i współaut. 2009).

Homozygotyczne myszy beige fenotypowo przypominają chorobę Chédiaka-Higashiego, która u ludzi przebiega z upośledzeniem odporności, nawracającymi zakażeniami bakteryjnymi i częściowym albinizmem. Rozjaśnienie sierści i obniżona pigmentacja innych tkanek u tych zwierząt wynika ze zmniejszonej liczby i powiększenia granul melaniny, które mają tendencję do agregacji. Dodatkowo, u myszy beige w wielu komórkach (m.in. granulocytach, limfocytach, mastocytach, niektórych komórkach wątroby, nerek, układu nerwowego oraz trzustki) występują duże granule lizosomalne, których obecność może zaburzać funkcjonowanie tych komórek. Związane jest to z nieprawidłowym transportem wewnątrzkomórkowym „z" i „do" lizosomu (zaburzenie sortowania białek, takich jak elastaza, glukuronidaza i katepsyna G). Mutanty wykazują zaburzenia funkcjonowania limfocytów T CD8+ cytotoksycznych (Tc), niedobór komórek NK, upośledzenie aktywności przeciwbakteryjnej i chemotaksji granulocytów. Zaburzenie w funkcjonowaniu lizosomów prowadzi do zwiększonej podatności myszy na zakażenia bakteriami ropotwórczymi. Zwierzęta te mogą mieć wydłużony czas krzepnięcia z powodu zaburzeń w obrębie ziarnistości płytek krwi. Myszy z mutacją w genie *Lyst*, szczególnie C3H/HeJ-*bg2J/bg2J*, wraz z wiekiem rozwijają zaburzenia neurologiczne, które związane są z utratą komórek Purkinjego istoty białej móżdżku (SUNDBERG 1992).

Myszy beige dostępne są m.in. u hodowcy The Jackson Laboratory na podłożu genetycznym myszy C57BL/6J i C3H/HeJ. Ze względu na obraz fenotypowy, myszy beige stanowią dobre narzędzie do badań nie tylko nad chorobą Chédiaka-Higashiego, ale także w badaniach związanych z miażdżycą, defektami układu krzepnięcia, z chorobami nowotworowymi i z układem odpornościowym, w tym w badaniach nad modulacją aktywności układu odpornościowego w przebiegu chorób zakaźnych czy reakcji nadwrażliwości.

MYSZY NUDE

W 1966 r. FLANAGAN (Institute of Animal Genetics, Edinburgh) opisał fenotypowo unikatowego mutanta, bezwłosą mysz (ang. nude; nagi), u której mutacja powstała spontanicznie w kolonii niekrewniaczej myszy albinotycznych. Stwierdził on również, że zwierzęta te charakteryzują się większą śmiertelnością, mniejszą zdolnością do reprodukcji oraz wykazują podatność do rozwoju toksoplazmozy uogólnionej. W 1968 r. PANTELOURIS zaobserwował, że zwierzęta te nie posiadają grasicy. Podłoże genetyczne tego defektu stanowi mutacja zlokalizowana na chromosomie 11 w obrębie genu *Whn* [od 2000 r. nazwany *Foxn1* (KAESTNER i współaut. 2000)], kodującego czynnik transkrypcyjny należący do rodziny Forkhead/winged helix (NEHLS i współaut. 1994). Pierwotnie zaobserwowana spontaniczna mutacja nazwana $Foxn1^{nu}$ związana jest z delecją nukleotydu w genie, co prowadzi do przesunięcia ramki odczytu i w konsekwencji do utraty domeny wiążącej DNA w obrębie czynnika transkrypcyjnego. Opisano również 4 inne mutacje tego genu: $Foxn1^{nu\text{-}Bc}$, $Foxn1^{nu\text{-}str}$, $Foxn1^{nu\text{-}Y}$, $Foxn1^{nu\text{-}StL}$, które charakteryzują się podobnym fenotypem.

Myszy nude, z powodu braku grasicy, nie są w stanie wytwarzać dojrzałych limfocytów T, co w konsekwencji prowadzi do za-

burzenia odporności nabytej. Należy jednak zaznaczyć, że komórki prekursorowe wszystkich limfocytów i komórek, których proces różnicowania nie odbywa się w grasicy, są prawidłowe. Obecne u tych zwierząt limfocyty to głównie limfocyty B. Jednak w związku z brakiem limfocytów T CD4+ pomocniczych, komórki te słabo odpowiadają na antygeny grasiczo-zależne. W surowicy myszy nude poziom immunoglobulin IgG1, IgG2a, IgG2b i IgA jest obniżony, a IgM może być w normie lub nieco podwyższony. Zwierzęta te wykazują również znacznie podwyższony odsetek komórek NK, które dodatkowo charakteryzuje wzmożona aktywność, w porównaniu do komórek NK normalnych myszy. Funkcjonalnie dojrzałe limfocyty T, mające na swojej powierzchni antygeny Thy-1, CD3, CD4, CD8, pojawiają się u myszy nude wraz z wiekiem. Z tego też powodu myszy te są rzadziej używane w badaniach doświadczalnych niż myszy knock-out (KO), które charakteryzują się pełniejszym defektem układu odpornościowego.

Muszy nude utrzymuje się jako stada niekrewniacze (np. Crl:NU-*Foxn1nu*) lub szczepy wsobne (np. BALB/c-*Foxn1nu*). Homozygoty są bardzo wrażliwe na infekcje zarówno bakteryjne, jak i wirusowe. Opisywana mutacja nie powoduje skrócenia długości życia myszy, o ile przetrzymywane są w odpowiednio sterylnych warunkach. Wykazano, że myszy nude dożywają 10 tygodni, jeśli hodowane są w konwencjonalnych zwierzętarniach (HETHERINGTON i HEGAN 1975). Samice późno owulują, bo około 10 tygodnia życia, natomiast proces ten ulega zakończeniu około 4 miesiąca, dlatego do rozrodu stosuje się samice heterozygotyczne i samce homozygotyczne. Homozygotyczne potomstwo łatwo odróżnić już po 24 godzinach od narodzin ze względu na brak lub obecność słabo rozwiniętych, pofałdowanych wibrysów (MCDERMOTT-LANCASTER i współaut. 1987).

Myszy nude znajdują zastosowanie w onkologii, szczególnie w badaniu biologii guzów nowotworowych. Ponadto wykorzystywane są w dermatologii, oraz w transplantologii, a także w badaniach immunologicznych.

MYSZY XID

Pierwsze myszy szczepu XID (ang. X-linked immunodeficiency) zaobserwowano w hodowli The National Institutes of Health (NIH). W trakcie badań potomstwa linii CBA/N (podlinia CBA/H) stwierdzono brak syntezy immunoglobulin skierowanych przeciwko antygenom polisacharydowym. Dodatkowo, krzyżówka samicy, u której występował wspomniany defekt, z samcem z prawidłową odpowiedzią na antygeny wykazała, że wśród potomstwa defekt ten występuje tylko u samców (AMSBAUGH i współaut. 1972). Badania genetyczne dowiodły, że wada ta spowodowana jest mutacją typu *xid* w genie kinazy tyrozynowej Brutona (*Btk*), zlokalizowanym na chromosomie X. Białko kodowane przez ten gen odgrywa istotną rolę w procesie dojrzewania prekursorów limfocytów B oraz w aktywacji komórek tucznych. Mutacja zmiany sensu prowadzi do zamiany argininy na cysteinę w domenie PH kinazy, co prowadzi do zaburzenia aktywacji tego enzymu (RAWLINGS i współaut. 1993).

Mutacja w genie *BTK* prowadzi u ludzi do rozwoju choroby Brutona, zwanej inaczej agammaglobulinemią sprzężoną z chromosomem X. Pacjenci dotknięci tym defektem wykazują całkowity brak przeciwciał i znikomy odsetek limfocytów B w krążeniu, natomiast w szpiku kostnym stwierdza się zwiększoną liczbę komórek pre-B. Mutacja w genie *Btk* myszy prowadzi do mniejszego spadku liczby limfocytów B, w porównaniu do obserwowanego u ludzi. Zwierzęta XID wykazują znaczny niedobór limfocytów B1 (B1a i B1b) oraz obniżoną liczbę konwencjonalnych limfocytów B (B2) o około 50-60% względem myszy szczepu kontrolnego. Dodatkowo, obwodowe limfocyty B słabo odpowiadają na antygeny grasiczo-niezależne (TI-2, np. ficoll) oraz charakteryzują się większą śmiertelnością spowodowaną występowaniem w tych komórkach spontanicznej apoptozy. W związku z obserwowanymi zmianami w limfocytach B w surowicy krwi myszy XID stwierdza się niski poziom immunoglobulin IgM i IgG3 (CANCRO i współaut. 2001).

Myszy XID stosowane są głównie w badaniach nad rolą limfocytów B1 w procesach immunologicznych. Ze względu na podobieństwo fenotypowe do agammaglobulinemii Brutona, zwierzęta te służą również jako model doświadczalny tej jednostki chorobowej (POTIER i KUTKAT 1998).

MYSZY NOD

Myszy NOD (ang. non-obese diabetic) stanowią szczep uzyskany po raz pierwszy w 1974 r. w Japonii, z hodowli selekcyjnej myszy podatnych na rozwój katarakty, ze stada niekrewniaczego Jcl:ICR. Szczep wsobny NOD wyprowadzono z myszy nierozwijających katarakty, ale z podwyższonym poziomem glukozy na czczo. Pierwszy przypadek insulino-zależnej cukrzycy (ang. insulin-dependent diabetes mellitus, IDDM) rozwinął się w 20 pokoleniu kontrolnym (ang. non-obese non-diabetic, NON) u jednej z samic (MAKINO i współaut. 1980). Częstość występowania spontanicznej cukrzycy u myszy NOD szacuje

się na 60-80% u samic i 20-30% u samców (KIKUTANI i MAKINO 1992). Podatność na rozwój IDDM związana jest ze współwystępowaniem czynników genetycznych i środowiskowych. Do czynników środowiskowych możemy zaliczyć: warunki bytowania, stan zdrowia czy rodzaj stosowanej diety, dlatego myszy NOD utrzymywane w różnych zwierzętarniach mogą mieć różną podatność na IDDM. Wykazano, że zwierzęta przetrzymywane w bardziej sterylnych warunkach, pozbawione kontaktu z drobnoustrojami środowiska chorują dużo częściej, niż hodowane w sposób konwencjonalny (SINGH i RABINOVITCH 1993, BOWMAN i współaut. 1994). IDDM jest chorobą wielogenową; u myszy NOD zidentyfikowano ponad 20 loci (*Idd*) warunkujących podatność na rozwój cukrzycy. W loci *Idd1* znajduje się haplotyp H-2g7 głównego układu zgodności tkankowej klasy II, który znacząco wpływa na predyspozycję do wystąpienia IDDM (UNANUE 2014).

Cukrzyca u myszy NOD rozwija się zwykle pomiędzy 12-14 tygodniem życia, a w przypadku samców może wystąpić trochę później. Badania histologiczne pokazały, że naciek komórek jednojądrzastych wokół wysepek trzustkowych pojawia się już w 3-4 tygodniu życia, natomiast około 10 tygodnia dochodzi do ciężkiego zapalenia wysp trzustkowych. Większość komórek infiltrujących trzustkę stanowią limfocyty T CD4+, ale w nacieku występują również limfocyty T CD8+, komórki NK, limfocyty B i komórki dendrytyczne. Myszy NOD wykazują liczne zaburzenia funkcji układu odpornościowego, w tym zaburzenia dojrzewania i funkcjonowania makrofagów, niski poziom aktywności komórek NK i NKT, niedobór komórek regulatorowych oraz zaburzenia w układzie dopełniacza. IDDM powstaje w następstwie aktywacji autoreaktywnych limfocytów T CD4+ i CD8+, które odpowiadają za rozwój cukrzycy. Limfocyty rozpoznają liczne autoantygeny komórek β trzustki, w tym insulinę, proinsulinę, dekarboksylazę kwasu glutaminowego i fosfatazę I-A2. Warto zaznaczyć, że limfocyty B nie są w stanie przenieść choroby, jednak biorą udział w opisywanym procesie autoimmunizacyjnym poprzez produkcję autoprzeciwciał oraz prezentację antygenów autorekatywnym limfocytom T. Myszy NOD predysponowane są również do rozwoju innych chorób autoimmunizacyjnych, takich jak zapalenie tarczycy, obwodowa polineuropatia, zapalenie gruczołu krokowego u samców oraz zespół podobny do tocznia układowego (UNANUE 2014, ANDERSON i BLUESTONE 2005).

Myszy NOD wykorzystywane są jako model cukrzycy typu I oraz innych chorób autoimmunizacyjnych. Stosowane są głównie w badaniach nad mechanizmami immunologicznymi leżącymi u podstaw tych procesów patologicznych oraz w celu poszukiwania nowych metod terapii. Ponadto, szczep NOD często stanowi tło genetyczne do wyprowadzenia nowych, bardziej skomplikowanych modeli defektów odporności.

MSZY MOTHEATEN

Myszy motheaten po raz pierwszy pojawiły się w hodowli szczepu C57BL/6J (The Production Colony of The Jackson Laboratory) w 1965 r. Występująca u tych myszy spontaniczna autosomalnie recesywna mutacja *me* prowadzi do niedoboru odporności, rozległych stanów zapalnych oraz śmierci zwierząt w ciągu 2-4 tygodni od urodzenia (GREEN i SHULTZ 1975). Później odkryto mutację *motheaten viable* (*mev*) powodującą podobne objawy jak mutacja *me,* ale o łagodniejszym natężeniu, co wydłużało czas przeżycia tych zwierząt do 9-12 tygodni (SHULTZ i współaut. 1984). Cechą fenotypową obu mutantów *me* było przewlekłe zapalenie skóry, co skutkowało nierównomierną utratą futra. Nadawało to zwierzętom charakterystycznego wyglądu przerzedzenia futra (łysienie plackowate), stąd też wzięła się nazwa ang. moth-eaten – wyliniały, zjedzony przez mole. Badania genetyczne ujawniły, że obie mutacje występują na chromosomie 6 w genie *Ptpn6* (tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 6) kodującym enzym fosfatazę tyrozynową 1C (Shp1). W przypadku homozygoty z mutacją *me/me* dochodzi do całkowitego niedoboru tego białka, podczas gdy u myszy *mev/mev* występuje białko o zmniejszonej o ~80% aktywności katalitycznej (SHULTZ i współaut. 1997). Dotychczas odkryto jeszcze dwie mutacje w obrębie genu *Ptpn6* ($Ptpn6^{spin/spin}$, $Ptpn6^{meB2/meB2}$), które determinują pojawienie się łagodniejszej postaci opisywanego powyżej fenotypu (CROKER i współaut. 2011, NESTEROVITCH i współaut. 2011).

U zwierząt homozygotycznych *me/me* już pomiędzy 1-3 dniem życia pojawiają się nacieki neutrofilów w skórze. Zapalenie skóry prowadzące do łysienia plackowatego rozwija się nawet wtedy, gdy zwierzęta są hodowane w warunkach sterylnych. Bezpośrednią przyczyną śmierci zwierząt *me/me* jest zapalenie płuc przebiegające z akumulacją neutrofilów i makrofagów. Ponadto, mutacja *me* skutkuje zaburzeniem funkcji limfocytów B prowadząc do hipergammaglobulinemii, której następstwem jest powstawanie kompleksów immunologicznych odkładających się m.in. w płu-

cach, nerkach i grasicy. U zwierząt *me/me* zaobserwowano również wzrost poziomu przeciwciał przeciwjądrowych (ANA), m.in. anty-dsDNA. Zwierzęta z defektem białka Shp1 wykazują także obniżoną odpowiedź limfocytów B i T na mitogeny, brak aktywności limfocytów T CD8+ cytotoksycznych oraz zaburzone funkcjonowanie komórek NK. Całkowita liczba limfocytów B jest prawidłowa, przy jednoczesnym wzroście odsetka populacji limfocytów B1a. W wyniku licznych zaburzeń układu odpornościowego dochodzi do rozwoju uogólnionej choroby autoimmunizacyjnej. Istnieją badania wykazujące, że stan zapalny u myszy *me/me* wynika ze wzmożonego przekaźnictwa w obrębie szlaków sygnałowych aktywowanych przez integryny neutrofilów, natomiast uogólniona autoimmunizacja jest skutkiem nadmiernego przekaźnictwa sygnałów zależnych od białka adaptorowego MyD88 w komórkach dendrytycznych (ABRAM i współaut. 2013). Pomimo podwyższonej liczby komórek formujących kolonie dla szeregu erytrocytarnego (CFU-E) w śledzionie i zwiększonej wrażliwości tych komórek na erytropoetynę, zwierzęta te rozwijają anemię. Związane jest to prawdopodobnie z silnym stresem oksydacyjnym towarzyszącym stanowi zapalnemu, który prowadzi do oksydacji fosfolipidów błonowych erytrocytów, a w konsekwencji do ich hemolizy (LYONS i współaut. 2003).

Tylko 1/5 homozygot *me/me* przeżywa do momentu odstawienia od matek, natomiast pozostałe zwierzęta umierają przed ukończeniem 8 tygodnia. Średni czas przeżycia myszy C57BL/6J*me/me* wynosi 3,1 tygodnia, a C57BL/6J-*mev/mev* - 8,7. Zabiegi pielęgnacyjne czy utrzymywanie zwierząt w warunkach sterylnych nie powodują wydłużenia czasu ich przeżycia. Samce są bezpłodne z powodu deplecji komórek Leydiga, obniżonego poziomu testosteronu i nieprawidłowej spermatogenezy, w związku z czym rozmnażanie zwierząt homozygotycznych jest niemożliwe. Do rozrodu można stosować jedynie samce i samice heterozygotyczne (QUIMBY 1989). Myszy motheaten stanowią głównie narzędzie do badań oceniających rolę białka Shp1 w rozwoju i regulacji hematopoezy, układu odpornościowego, a także innych tkanek i narządów. Rzadziej stosowane są do badań związanych z chorobami autoimmunizacyjnymi, czy z apoptozą.

MYSZY SCID

Myszy z ciężkim złożonym niedoborem odporności (ang. severe combined immunodeficiency, SCID) pojawiły się w 1980 r. spontanicznie we wsobnym szczepie C.B-17 (C.BKa-Ighb/lcr) hodowanym w warunkach sterylnych. W jednym z miotów stwierdzono, że cztery na siedem myszy wykazuje brak immunoglobulin w surowicy. Selektywna hodowla ukierunkowana na tę cechę pozwoliła na wykazanie recesywnego sposobu jej dziedziczenia oraz wyprowadzenie nowego szczepu. Homozygoty z mutacją *scid* (C.B-17/Icr-*Prkdcscid/scid*) zostały określone jako koizogeniczna linia szczepu C.B-17 (BOSMA i współaut. 1989). Podłoże genetyczne stanowi mutacja zlokalizowana na chromosomie 16 w obrębie genu *Prkdc* (ang. protein kinase, DNA activated, catalytic polypeptide), kodującego podjednostkę katalityczną kinazy białkowej zależnej od DNA. Cząsteczka ta bierze udział w naprawie DNA przez niehomologiczne łączenie końców DNA oraz w zachodzącej fizjologicznie rekombinacji genów V(D)J prowadzącej do zwiększenia różnorodności receptorów limfocytów B i limfocytów T w układzie odpornościowym. Mutacja *scid* u zwierząt homozygotycznych prowadzi do upośledzenia zarówno odpowiedzi humoralnej, jak i komórkowej, co związane jest z brakiem dojrzałych limfocytów B i T. W wyniku zaburzenia rearanżacji genów kodujących receptory dla antygenów dochodzi do zahamowania rozwoju limfocytów na wczesnym etapie. Blokada ta nie jest kompletna. Wykazano, że u 2-23% dorosłych zwierząt (3-9 miesięcznych) można wykryć do kilku funkcjonalnych klonów limfocytów B i T (BOSMA 1992). U zwierząt immunokompetentnych całkowity poziom przeciwciał w surowicy wynosi około 2 g/dl. Natomiast u myszy o „nieszczelnym fenotypie”[1] stężenie immunoglobulin zwykle wynosi około 0,005-0,01 g/dl lub <1% poziomu u zwierząt z dzikim (kontrolnym) fenotypem. Dodatkowo, przeciwciała te są najczęściej mono- lub oligoklonalne, a ich wytwarzanie nie jest związane z odpowiedzią na antygen, ale raczej z niekontrolowaną produkcją klonu limfocytów B. W przeciwieństwie do odporności nabytej, odporność wrodzona ulega wzmocnieniu u myszy SCID. Mutacja nie wpływa na rozwój komórek NK, linii mieloidalnej oraz erytrocytarnej. Zwierzęta wykazują wyższą aktywność układu dopełniacza i komórek NK, ale posiadają normalnie funkcjonujące granulocyty i makrofagi. Dodatkowo, u tych zwierząt stwierdza się hipoplazję grasicy i małe węzły chłonne, w których brak jest centrów rozrodczych. W skórze brak jest komórek dendrytycznych o fenotypie

[1]ang. leaky phenotype – nieszczelny fenotyp; oznacza występowanie szczątkowych cech myszy typu dzikiego u mutantów

Thy-1+. Myszy SCID wykazują nadwrażliwość na promieniowanie γ i w związku z tym nie mogą być poddawane działaniu dużych dawek promieniowania przed przeszczepami, jak inne zwierzęta z niedoborem odporności (BOSMA i CARROLL 1991).

Ze względu na silnie upośledzone działanie układu odpornościowego zwierzęta te muszą być hodowane w ściśle kontrolowanych warunkach. Myszy utrzymywane w sposób konwencjonalny umierają z powodu infekcji oportunistycznych zwykle w ciągu 5-6 miesięcy, podczas gdy osobniki hodowane w warunkach sterylnych żyją 1-2 lat. U około 10% populacji może rozwinąć się chłoniak T-komórkowy. W celu monitorowania częstości występowania przypadków zwierząt o „nieszczelnym fenotypie" można przeprowadzać badanie poziomu immunoglobulin IgM i IgG (BOSMA 1992).

„Nieszczelny fenotyp" myszy SCID zależy od tła genetycznego szczepu lub stada, do którego został wprowadzony gen *Prkdc*^{scid}. W wyniku krzyżówki ze stadem Icr:Ha (ICR) uzyskano linię ICR-*scid*, jednak nie udało się wyeliminować zjawiska „nieszczelnego fenotypu", natomiast myszy te charakteryzują się większą wytrzymałością, są bardziej odporne od C.B-17-*scid*, ponadto są od nich większe i tańsze. Jednak wprowadzenie bardziej zróżnicowanego tła genetycznego może nieść za sobą większą zmienność w eksperymencie. Dopiero wprowadzenie mutacji *scid* do szczepu C3H/HeJ zmniejszyło częstość występowania "nieszczelnego fenotypu", ale spowodowało dodatkowe zmiany w układzie immunologicznym w postaci upośledzonej aktywności makrofagów. Kolejnym przykładem jest szczep NOD-*scid*, w którym jeszcze trwalszy fenotyp niesie za sobą dodatkowe upośledzenie odporności w postaci osłabionej aktywności komórek NK i komórek prezentujących antygen, zaburzonego rozwoju komórek linii mieloidalnej oraz braku aktywności układu dopełniacza. Warto zaznaczyć, że pomimo zastosowanego tła genetycznego myszy NOD, myszy NOD-*scid* nie rozwijają cukrzycy, natomiast często występują u nich chłoniaki i guzy grasicy (SHULTZ i współaut. 1995).

Myszy SCID, ze względu na swoją charakterystykę immunologiczną, łatwo przyjmują przyczepy obcych tkanek, w tym także przeszczepy ludzkich nowotworów, co czyni z nich dobry model badawczy do testowania nowych metod leczenia chorób nowotworowych. Stanowią ponadto użyteczne narzędzie do badań wirusologicznych i mechanizmów immunologicznych, a także wykorzystywane są do produkcji i badań nad przeciwciałami monoklonalnymi. W badaniach naukowych wykorzystywane są również myszy SCID-hu (humanizowane myszy SCID), z wszczepionymi ludzkimi komórkani układu odpornościowego. Myszy NOD-*scid*, ze względu na liczne wady odporności unikatowe dla tego szczepu, są doskonałymi biorcami przeszczepów ludzkich komórek krwiotwórczych, oraz modelem do badań nad zakażeniem wirusem HIV i terapią genową (LEBLOND i współaut. 1997).

MYSZY β2MKO

W 1990 r. w dwóch niezależnych pracach opisano otrzymanie homozygotycznych myszy transgenicznych pozbawionych genu β2m (KOLLER i współaut. 1990, ZIJLSTRA i współaut. 1990). Gen β2m koduje białko β2-mikroglobulinę, która jest konieczna do ekspresji i utrzymania stabilności cząsteczek głównego układu zgodności tkankowej klasy I (MHC I) w błonie powierzchniowej jądrzastych komórek somatycznych. Mutacja w obrębie genu β2m prowadzi do praktycznie całkowitego niedoboru cząsteczek MHC I (MAEDA i współaut. 2004).

Myszy pozbawione genu β2-mikroglobuliny mają znacząco zmniejszoną liczbę limfocytów T CD8+. Związane jest to z brakiem cząsteczek MHC I na komórkach nabłonka grasicy, odpowiedzialnych za selekcję pozytywną konieczną do ukierunkowanego rozwoju limfocytów TCRαβ+CD8+. Ponadto myszy β2mKO wykazują upośledzoną ekspresję cząsteczek CD1d należących do antygenów MHC I podobnych biorących udział w aktywacji komórek NKT, które wykazują działanie immunoregulacyjne m.in. w procesach autoimmunizacyjnych (MAEDA i współaut. 2004). Natomiast liczba limfocytów T wykazujących ekspresję TCRγδ+ w śledzionie i grasicy jest u nich taka sama jak w szczepie dzikim. Poza defektami związanymi z układem odpornościowym myszy pozbawione cząsteczek β2m cierpią na hemochromatozę. W wątrobie homozygotycznych zwierząt stwierdza się kilkakrotnie wyższy poziom żelaza niż u osobników heterozygotycznych. Wynika to z faktu, że białko HFE, odpowiadające za regulację gospodarki żelaza, wykazuje homologię z cząsteczkami MHC I i współtworzone jest przez β2m. Zaburzenia w obrębie tego białka sprzyjają gromadzeniu nadmiernej ilości żelaza w organizmie (DE SOUSA i współaut. 1994).

Myszy β2mKO wykorzystywane są głównie w badaniach oceniających wpływ niedoboru cząsteczek MHC I, limfocytów T CD8+ i NKT na procesy immunologiczne oraz jako model hemochromatozy w badaniach związanych z gospodarką żelaza. W poszukiwaniu modelu doświadczalnego,

który pozwoliłby na łatwiejsze przyjmowanie ksenoprzeszczepów, postanowiono usunąć gen β2m u mszy NOD-*scid* (KOLLET i współaut. 2000). Powstały szczep, w porównaniu do myszy NOD-*scid*, okazał się lepszym narzędziem do badań nad przeszczepami ludzkich komórek krwiotwórczych. Niestety zwierzęta te charakteryzują się mniejszą żywotnością niż szczep rodzicielski, spowodowaną wczesnym rozwojem grasiczaka oraz dotkliwym niedoborem odporności (MEYERROSE i współaut. 2003).

MYSZY RAG1KO /RAG2KO

Mutant Rag1KO został utworzony w laboratorium The Center of Cancer Research, MIT (MOMBAERTS i współaut. 1992), natomiast Rag2KO w Columbia University (SHINKAI i współaut. 1992). Oba szczepy stanowią zwierzęta knock-out, u których przy użyciu metod biologii molekularnej wyłączono gen odpowiednio dla rekombinazy RAG1 lub RAG2. Enzymy te odpowiedzialne są za rearanżację genów V(D)J dla białkowych łańcuchów wchodzących w skład immunoglobulin oraz receptorów antygenowych limfocytów T. Brak enzymów RAG prowadzi do całkowitego niedoboru dojrzałych limfocytów T i B u tych zwierząt (MOMBAERTS 1995, MOMBAERTS i współaut. 1994).

Myszy z delecją genu *Rag1* lub *Rag2* pozbawione są antygenowo-swoistej odpowiedzi immunologicznej, a swoim fenotypem przypominają opisane wcześniej myszy SCID. Myszy Rag1KO/Rag2KO, w porównaniu do myszy SCID, wykazują całkowity brak limfocytów B i T, brak zjawiska „nieszczelnego fenotypu", małą wrażliwość na promieniowanie γ i mniejszą predyspozycję do rozwoju chłoniaków. Brak rekombinazy prowadzi do zahamowania rozwoju limfocytów T w stadium tymocytów CD4-CD8- oraz limfocytów B na poziomie komórek proB B220+/CD43+ (MOMBAERTS 1995). Obwodowe węzły chłonne tych zwierząt są bardzo małe lub obserwuje się ich brak. Grasica jest mniejsza i zawiera ~10-100 razy mniej komórek w porównaniu do zwierząt heterozygotycznych oraz typu kontrolnego. Śledziona może mieć normalny rozmiar, ale tak jak grasica, wykazuje znaczny spadek liczby zasiedlających ją komórek. Badania oceniające odporność wrodzoną u myszy pozbawionych enzymów RAG wykazały prawidłowy rozwój komórek NK, które charakteryzują się wzmożoną aktywnością (MOMBAERTS i współaut. 1994), a także prawidłowe działanie makrofagów i komórek dendrytycznych oraz niezmienioną aktywność układu dopełniacza względem myszy kontrolnych.

Myszy Rag1KO/Rag2KO stanowią użyteczne narządzie do badania mechanizmów odporności wrodzonej. Wykorzystywane są również, jako biorcy różnych populacji limfocytów w badaniach oceniających funkcję przeszczepionych komórek. Wyłączenie genów *Rag1* i *Rag2* wprowadzono również do szczepu NOD, uzyskując w ten sposób znakomitego biorcę komórek hematopoetycznych człowieka. Ponadto, tak skonstruowane myszy znalazły zastosowanie w doświadczeniach oceniających procesy związane z zakażeniem wirusem HIV i z rozwojem cukrzycy typu pierwszego u myszy NOD (SHULTZ i współaut. 2000, BELIZARIO 2009).

MYSZY IL2RΓKO

W 1995 r. otrzymano myszy pozbawione alleli kodujących łańcuch γ (γc) receptora interleukiny 2 (IL-2Rγ). Defekt ten prowadzi do rozwoju ciężkiego złożonego niedoboru odporności związanego z chromosomem X. Łańcuch γ stanowi komponentę receptorw wielu cytokin, takich jak IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 i IL-21 (ROCHMAN i współaut. 2009), a jego brak prowadzi do zaburzenia szlaków sygnałowych związanych z tymi cytokinami.

Defekty związane z przekaźnictwem sygnałowym wymienionych cytokin prowadzą do zaburzeń rozwoju i funkcjonowania różnych populacji komórek odpornościowych. Mutacja w genie kodującym białko γc u ludzi prowadzi do ciężkiego złożonego niedoboru odporności związanego z chromosomem X (SCIDX1) (NOGUCHI i współaut. 1993). Myszy pozbawione łańcucha γc, podobnie jak pacjenci z SCIDX1, wykazują brak komórek NK i obniżoną liczbę limfocytów T. Porównując wpływ defektu białka γc na odpowiedź humoralną u myszy i ludzi można zauważyć odmienne fenotypy, ponieważ u myszy stwierdza się znacznie zmniejszoną liczbę limfocytów B, podczas gdy u ludzi liczba tych komórek jest podwyższona lub pozostaje w normie (OHBO i współaut. 1996).

Myszy IL2rγKO wykorzystywane są głównie w badaniach układu odpornościowego, związanych z dojrzewaniem limfocytów T i komórek NK, a także w badaniach odporności wrodzonej. Natomiast myszy z mutacją w obrębie γc w kombinacji z innymi defektami, takimi jak *scid* czy *Rag1/2null*, są szczególnie przydatne w badaniach związanych z przeszczepianiem komórek i tkanek pochodzących od człowieka.

W 2000 r. uzyskano szczep NSG (NOD-*scid*- γnull), natomiast w 2008 r. NRG (NOD*Ragnull*γnull), które stanowią unikatowe narzędzie do badań nad AIDS, biologią i leczeniem nowotworów i ksenoprzeszczepami (szczególnie komórek hematopoetycznych człowieka). Szersze zastosowanie myszy szczepu NRG w badaniach naukowych wynika z ich mniejszej wrażliwości na promieniowanie i z braku występowania „nieszczelne-

go fenotypu", w porównaniu do myszy NSG (SHULTZ i współaut. 2005, MARSDEN i ZACK 2007, PEARSON i współaut. 2008, ZHANG i współaut. 2008).

PODSUMOWANIE

Badania związane z niedoborami odporności mają historię tak długą, jak badania jej mechanizmów. Jednak dopiero odkrycie dwóch bardzo istotnych spontanicznych mutacji u myszy (nude i SCID) sprawiło, że powszechnie zaczęto wykorzystywać w badaniach naukowych myszy z niedoborami odporności. Początkowo stosowano jedynie szczepy, u których spontanicznie pojawiły się defekty, tj. nude, SCID, beige, XID. Dostarczyły one dużo cennych informacji o procesach biologicznych, jednak do prawdziwego przełomu doszło w 1989 r. wraz z otrzymaniem pierwszej myszy knock-out. Osiągnięcie to teoretycznie umożliwiło uzyskanie nieograniczonej liczby modeli, które znajdują za-

Tabela 2. Charakterystyka szczepów myszy niedoborami odporności

Szczep	Podłoże genetyczne	Defekty układu odporności	Przykłady zastosowania
Beige	*Lyst*^{bg}	zaburzenia przypominające chorobę Chédiaka-Higashiego defekt chemotaksji i aktywności przeciwbakteryjnej granulocytów spadek aktywności cytotoksycznej komórek NK zaburzenia funkcjonowania limfocytów T CD8+ cytotoksycznych wydłużony czas krzepnięcia z powodu zaburzeń w obrębie ziarnistości płytek krwi	badania nad chorobą Chédiaka-Higashiego badaniach związane z miażdżycą, defektami układu krzepnięcia, z chorobami nowotworowymi, z modulacją aktywności układu odpornościowego w przebiegu chorób zakaźnych oraz reakcji nadwrażliwości
Nude	*Foxn1*^{nu}	brak grasicy słaba odpowiedź na antygeny grasiczo-zależne brak dojrzałych limfocytów T w surowicy obniżony poziom immunoglobulin IgG1, IgG2a, IgG2b i IgA , a IgM w normie lub nieco podwyższony znacznie podwyższony odsetek i aktywność komórek NK funkcjonalnie dojrzałe limfocyty T pojawiają się wraz z wiekiem	zastosowanie w onkologii, szczególnie badania biologii guzów nowotworowych zastosowanie w dermatologii, w transplantologii, a także w badaniach immunologicznych
XID	*Btk*^{xid}	zaburzenia przypominające chorobę Brutona znaczny niedobór limfocytów B1 (B1a i B1b) oraz obniżona liczba limfocytów B (B2) o około 50-60% względem myszy szczepu kontrolnego w surowicy niski poziom immunoglobulin IgM i IgG3	badania nad rolą limfocytów B1 w procesach immunologicznych badania nad chorobą Brutona
NOD	wiele genów odpowiedzialnych za zaburzenia układu odpornościowego, szczególnie istotny unikatowy haplotyp H2g7	podatność na rozwój cukrzycy typu I oraz innych chorób autoimmunizacyjnych zaburzenia dojrzewania i funkcjonowania makrofagów, słaba aktywność komórek NK i NKT, niedobór komórek regulatorowych oraz zaburzenia w układzie dopełniacza	model cukrzycy typu I oraz innych chorób autoimmunizacyjnych stanowi tło genetyczne do wyprowadzenia nowych, bardziej złożonych modeli defektów odporności

Motheaten	*Ptpn6*^{me}	niedobór fosfatazy tyrozynowej 1C (Shp1) zapalenie skóry związane z naciekiem neutrofilów zaburzenie funkcji limfocytów B prowadzące do hipergammaglobulinemii z powstawaniem kompleksów immunologicznych odkładających się w różnych narządach podwyższony poziom przeciwciał przeciwjądrowych (ANA) obniżona odpowiedź limfocytów B i T na mitogeny brak aktywności limfocytów T CD8+ cytotoksycznych zaburzone funkcjonowanie komórek NK zwiększenie odsetka limfocytów B1a w wyniku licznych zaburzeń układu odpornościowego dochodzi do rozwoju uogólnionej choroby autoimmunizacyjnej anemia	badania oceniające rolę białka Shp1 w rozwoju i regulacji hematopoezy, układu odpornościowego, oraz innych tkanek i narządów badania związane z chorobami autoimmunizacyjnymi i apoptozą
SCID	*Prkdc*^{scid}	upośledzenie odpowiedzi humoralnej i komórkowej, związane z brakiem dojrzałych limfocytów B i T (wraz z wiekiem mogą pojawiać się funkcjonalne klony limfocytów T i B) hipoplazja grasicy i małe węzły chłonne wyższa aktywność układu dopełniacza i komórek NK funkcje układu odpornościowego mogą się różnić w zależności od tła genetycznego szczepu/ stada, do którego został wprowadzony gen *Prkdc*^{scid}	zastosowanie w transplantologii i onkologii w badaniach wirusologicznych w produkcji i badaniach związanych z przeciwciałami monoklonalnymi wykorzystywane do tworzenia myszy humanizowanych
β2mKO	Delecja genu *β2m*	niedobór cząsteczek MHC I zmniejszona liczba limfocytów T CD8+ upośledzona ekspresja cząsteczek CD1d występuje hemochromatoza	w badaniach wpływu niedoboru cząsteczek MHC I, limfocytów T CD8+ i NKT na procesy immunologiczne model hemochromatozy
Rag1KO /Rag-2KO	Delecja genu *Rag1/ Rag2*	fenotyp podobny do myszy SCID całkowity brak limfocytów B i T wyższa aktywność komórek NK, ale prawidłowa aktywność układu dopełniacza	w badaniach mechanizmów odporności wrodzonej biorcy różnych populacji limfocytów w badaniach oceniających funkcję przeszczepionych komórek w badaniach oceniających procesy związane z zakażeniem wirusem HIV

IL2γKO	Delecja genu *IL2rγ*	defekty związane z przekaźnictwem sygnałowym cytokin takich jak IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 i IL-21 brak komórek NK oraz obniżona liczba limfocytów T i B	w badaniach układu odpornościowego, związanych z dojrzewaniem limfocytów T i komórek NK, oraz w badaniach odporności wrodzonej w kombinacji z innymi defektami takimi jak *scid* czy *Rag1/2null*, szczególnie przydatne w badaniach związanych z przeszczepianiem komórek i tkanek pochodzących od człowieka

stosowanie m.in. w badaniach onkologicznych, transplantologicznych oraz immunologicznych. W Tabeli 2 przedstawiono krótką charakterystykę opisanych w pracy mysich modeli z niedoborami odporności.

Streszczenie

Najczęściej wykorzystywanym gatunkiem zwierząt do badań jest mysz domowa (*Mus musculus*). Wynika to, między innymi, z dużego podobieństwa genetycznego myszy i ludzi oraz ze stosunkowo łatwego sposobu manipulacji ich genomem. Odkrycie myszy z zaburzeniami funkcji układu odpornościowego przyniosło wartościowe narzędzie do badań. Natura wyprodukowała różne mutacje wpływające na układ odpornościowy myszy. Powszechnie stosowane szczepy, u których spontanicznie pojawiły się defekty, to myszy nude, SCID, beige, XID. Jednak dziedzina zajmująca się niedoborami odporności u myszy ogromnie rozwinęła się dopiero w ciągu ostatnich dwóch dekad. Wzrost ten wynika ze znaczącego postępu inżynierii genetycznej. Dostępnych jest już wiele genetycznie modyfikowanych szczepów myszy z niedoborami odporności, wykorzystywanych w badaniach immunobiologicznych, onkologicznych i transplantologicznych. Niniejsza praca ma na celu przybliżenie niektórych dostępnych szczepów myszy z defektami układu odpornościowego, z uwzględnieniem ich genetyki, charakterystyki fenotypowej oraz zastosowania w badaniach naukowych.

LITERATURA

Abram C. L., Roberge G. L., Pao L. I., Neel B. G., Lowell C. A., 2013. *Distinct roles for neutrophils and dendritic cells in inflammation and autoimmunity in motheaten mice.* Immunity 38, 489-501.

Amsbaugh D. F., Hansen C. T., Prescott B., Stashak P. W., Barthold D. R., Baker P. J., 1972. *Genetic control of the antibody response to type 3 pneumococcal polysaccharide in mice. I. Evidence that an X-linked gene plays a decisive role in determining responsiveness.* J. Exp. Med. 136, 931-949.

Anderson M. S., Bluestone J. A., 2005. *The NOD mouse: a model of immune dysregulation.* Ann. Rev. Immunol. 23, 447-485.

Belizario J. E., 2009. *Immunodeficient mouse models: an overwiew.* Open Immunol. J. 2, 79-85.

Bosma M. J., 1992. *B and T cell leakiness in the scid mouse mutant.* Immunodefic. Rev. 3, 261-276.

Bosma M. J., Carroll A. M., 1991. *The SCID mouse mutant: definition, characterization, and potential uses.* Ann. Rev. Immunol. 9, 323-350.

Bosma G. C., Davisson M. T., Ruetsch N. R., Sweet H. O., Shultz L. D., Bosma M. J., 1989. *The mouse mutation severe combined immune deficiency (scid) is on chromosome 16.* Immunogenetics 29, 54-57.

Bowman M. A., Leiter E. H., Atkinson M. A., 1994. *Prevention of diabetes in the NOD mouse: implications for therapeutic intervention in human disease.* Immunol. Today 15, 115-120.

Cancro M. P., Sah A. P., Levy S. L., Allman D. M., Schmidt M. R., Woodland R. T., 2001. *Xid mice reveal the interplay of homeostasis and Bruton's tyrosine kinase-mediated selection at multiple stages of B cell development.* Int. Immunol. 13, 1501-1514.

Croker B. A., Lewis R. S., Babon J. J., Mintern J. D., Jenne D. E. i współaut., 2011. *Neutrophils require SHP1 to regulate IL-1b production and prevent inflammatory skin disease.* J. Immunol. 186, 1131-1139.

De Sousa M., Reimão R., Lacerda R., Hugo P., Kaufmann S. H., Porto G., 1994. *Iron overload in beta 2-microglobulin-deficient mice.* Immunol. Lett. 39, 105-111.

European Commission, 2013. *Report from the commission to the council and the european parliament. Seventh Report on the Statistics on the Number of Animals used for Experimental and other Scientific Purposes in the Member States of the European Union.* http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A52013DC0859).

Flanagan S. P., 1966. *'Nude', a new hairless gene with pleiotropic effects in the mouse.* Genet. Res. 8, 295-309.

Green M. C., Shultz L. D., 1975. *Motheaten, an immunodeficient mutant of the mouse. I. Genetics and pathology.* J. Heredity 66, 250-258.

Hetherington C. M., Hegan M. A., 1975. *Breeding nude (nu/nu) mice.* Laborat. Anim. 9, 19-20.

Kaestner K. H., Knochel W., Martinez D. E., 2000. *Unified nomenclature for the winged helix/forkhead transcription factors.* Genes Develop. 14, 142-146.

Kelley E. M., 1957. *New mutants, beige, bg.* Mouse News Lett. 16, 36.

Kikutani H., Makino S., 1992. *The murine autoimmune diabetes model: NOD and related strains.* Adv. Immunol. 51, 285-322.

Koller B. H., Marrack P., Kappler J. W., Smithies O., 1990. *Normal development of mice deficient in beta2M, MHC class I proteins, and CD8+ T cells.* Science 248, 1227-1230.

KOLLET O., PELED A., BYK T., BEN-HUR H., GREINER D. i współaut., 2000. *Beta 2 microglobulin-deficient (B2m(null)) NOD/SCID mice are excellent recipients for studying human stem cell function.* Blood 95, 3102-3105.

LEBLOND V., AUTRAN B., CESBRON J. Y., 1997. *The SCID mouse mutant: definition and potential use as a model for immune and hematological disorders.* Hematol. Cell Therapy 39, 213-221.

LOOMIS W. P., JOHNSON M. L., BRASFIELD A., BLANC M. P., YI J., MILLER S. I., COOKSON B. T., HAJJAR A. M., 2014. *Temporal and anatomical host resistance to chronic Salmonella infection is quantitatively dictated by Nramp1 and influenced by host genetic background.* PLoS One 9, e11176.

LYONS B. L., LYNES M. A., BURZENSKI L., JOLIAT M. J., HADJOUT N., SHULTZ L. D., 2003. *Mechanisms of anemia in SHP-1 protein tyrosine phosphatase-deficient "viable motheaten" mice.* Exp. Hematol. 31, 234-243.

MAEDA M., SHADEO A., MACFADYEN A. M., TAKEI F., 2004. *CD1d-independent NKT cells in beta 2-microglobulin-deficient mice have hybrid phenotype and function of NK and T cells.* J. Immunol. 172, 6115-6122.

MAKINO S., KUNIMOTO K., MURAOKA Y., MIZUSHIMA Y., KATAGIRI K., TOCHINO Y., 1980. *Breeding of a non-obese, diabetic strain of mice.* Jikken dobutsu. Exp. Anim. 29, 1-13.

MARSDEN M. D., ZACK J. A., 2007. *Human immunodeficiency virus bearing a disrupted central DNA flap is pathogenic in vivo.* J. Virol. 81, 6146-6150.

MCDERMOTT-LANCASTER R. D., ITO T., KOHSAKA K., COLSTON M. J., 1987. *The nude mouse--characteristics, breeding and husbandry.* Int. J. Leprosy Other Mycobact. Diseases 55, 885-888.

MEYERROSE T. E., HERRBRICH P., HESS D. A., NOLTA J. A., 2003. *Immune-deficient mouse models for analysis of human stem cells.* Biotechniques 35, 1262-1272.

MILLS C. D., KINCAID K., ALT J. M., HEILMAN M. J., HILL A. M., 2000. *M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm.* J. Immunol. 164, 6166-6173.

MOMBAERTS P., 1995. *Lymphocyte Development and Function in T-Cell Receptor and RAG-1 Mutant Mice.* International Reviews of Immunology 13(1), 43-63.

MOMBAERTS P., IACOMINI J., JOHNSON R. S., HERRUP K., TONEGAWA S., PAPAIOANNOU V. E., 1992. *RAG-1-deficient mice have no mature B and T lymphocytes.* Cell 68, 869-877.

MOMBAERTS P., MIZOGUCHI E., LJUNGGREN H. G., IACOMINI J., ISHIKAWA H. i współaut., 1994. *Peripheral lymphoid development and function in TCR mutant mice.* Int. Immunol. 6, 1061-1070.

NEHLS M., PFEIFER D., SCHORPP M., HEDRICH H., BOEHM T., 1994. *New member of the winged-helix protein family disrupted in mouse and rat nude mutations.* Nature 372, 103-107.

NESTEROVITCH A. B., SZANTO S., GONDA A., BARDOS T., KIS-TOTH K. i współaut., 2011. *Spontaneous insertion of a b2 element in the ptpn6 gene drives a systemic autoinflammatory disease in mice resembling neutrophilic dermatosis in humans.* Am. J. Pathol. 178, 1701-1714.

NILSSON U. R., MÜLLER-EBERHARD H. J., 1967. *Deficiency of the fifth component of complement in mice with an inherited complement defect.* J. Exp. Med. 125, 1-16.

NOGUCHI M., YI H., ROSENBLATT H. M., FILIPOVICH A. H., ADELSTEIN S., MODI W. S. i współaut., 1993. *Interleukin-2 receptor gamma chain mutation results in X-linked severe combined immunodeficiency in humans.* Cell 73, 147-157.

OHBO K., SUDA T., HASHIYAMA M., MANTANI A., IKEBE M. i współaut., 1996. *Modulation of hematopoiesis in mice with a truncated mutant of the interleukin-2 receptor gamma chain.* Blood 87, 956-967.

PANTELOURIS E. M., 1968. *Absence of thymus in a mouse mutant.* Nature 217, 370-371.

PEARSON T., SHULTZ L. D., MILLER D., KING M., LANING J. i współaut., 2008. *Non-obese diabetic–recombination activating gene-1 (NOD–Rag 1 null) interleukin (IL)-2 receptor common gamma chain (IL 2 rγnull) null mice: a radioresistant model for human lymphohaematopoietic engraftment.* Clin. Exp. Immunol. 154, 270-284.

POLTORAK A., HE X., SMIRNOVA I., LIU M. Y., VAN HUFFEL C., DU X. i współaut., 1998. *Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene.* Science 282, 2085-2088.

POTIER M., KUTKAT L., 1998. *Inhibition of pristane-induced peritoneal plasmacytoma formation.* [W:] *Mechanisms of B cell neoplasia.* MELCHERS F., POTTER M. (red.). Springer, 352-354.

QUIMBY F. W., 1989. *Immunodeficient rodents. A guide to their immunobiology, husbandry, and use.* National Academy Press., Washington (DC), 64-67

RAWLINGS D. J., SAFFRAN D. C., TSUKADA S., LARGAESPADA D. A. i współaut., 1993. *Mutation of unique region of Bruton's tyrosine kinase in immunodeficient XID mice.* Science 261, 358-361.

ROCHMAN Y., SPOLSKI R., LEONARD W. J., 2009. *New insights into the regulation of T cells by gamma(c) family cytokines.* Nat. Rev. Immunol. 9, 480-490.

SELLERS R. S., CLIFFORD C. B., TREUTING P. M., BRAYTON C., 2012. *Immunological variation between inbred laboratory mouse strains: points to consider in phenotyping genetically immunomodified mice.* Veter. Pathol. 49, 32-43.

SHINKAI Y., RATHBUN G., LAM K. P., OLTZ E. M., STEWART V. i współaut., 1992. *RAG-2-deficient mice lack mature lymphocytes owing to inability to initiate V(D)J rearrangement.* Cell 68, 855-867.

SHULTZ L. D., COMAN D. R., BAILEY C. L., BEAMER W. G., SIDMAN C. L. 1984. *"Viable motheaten," a new allele at the motheaten locus. I. Pathology.* Am. J. Pathol. 116, 179-192.

SHULTZ L. D., SCHWEITZER P. A., CHRISTIANSON S. W., GOTT B., 1995. *Multiple defects in innate and adaptive immunologic function in NOD/LtSz-scid mice.* J. Immunol. 154, 180-191.

SHULTZ L. D., RAJAN T. V., GREINER D. L., 1997. *Severe defects in immunity and hematopoiesis caused by SHP-1 protein-tyrosine-phosphatase deficiency.* Trends Biotechnol. 15, 302-307.

SHULTZ L. D., LANG P. A., CHRISTIANSON S. W., GOTT B., LYONS B. i współaut., 2000. *NOD/LtSz-Rag1null mice: an immunodeficient and radioresistant model for engraftment of human hematolymphoid cells, HIV infection, and adoptive transfer of NOD mouse diabetogenic T cells.* J. Immunol. 164, 2496-14507.

SHULTZ L. D., LYONS B. L., BURZENSKI L. M., GOTT B., CHEN X. i współaut., 2005. *Human lym-*

phoid and myeloid cell development in NOD/LtSz-scid IL2R gamma null mice engrafted with mobilized human hemopoietic stem cells. J. Immunol. 174, 6477-6489.

SINGH B., RABINOVITCH A., 1993. *Influence of microbial agents on the development and prevention of autoimmune diabetes.* Autoimmunity 15, 209-213.

SUNDBERG J. P., 1992. *The beige (BGJ) mutation.* JAX website, https://www.jax.org/news-and--insights/1992/january/the-beige-mutation#).

TRANTOW C. M., MAO M., PETERSEN G. E., ALWARD E. M., ALWARD W. L. i współaut., 2009. *Lyst mutation in mice recapitulates iris defects of human exfoliation syndrome.* Invest. Ophthalmol. Visual Sci. 50, 1205-1214.

UNANUE E. R., 2014. *Antigen presentation in the autoimmune diabetes of the NOD mouse.* Ann. Rev. Immunol. 32, 579-608.

WATERSTON R. H., LINDBLAD-TOH K., BIRNEY E., ROGERS J. i współaut., 2002. *Mouse Genome Sequencing Consortium, Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome.* Nature 420, 520-562.

WITHAM B., LANE P. W., 1991. *Why C57BL/6J-bgJ mice are not beige.* JAX Notes 445, 4.

ZHANG B., DUAN Z., ZHAO Y., 2008. *Mouse models with human immunity and their application in biomedical research.* J. Cell. Mol. Med. 13, 1043-58.

ZIJLSTRA M., BIX M., SIMISTER N. E., LORING J. M. i współaut., 1990. *Beta 2-microglobulin deficient mice lack CD4-8+ cytolytic T cells.* Nature 344, 742-746.

ZHANG Y., ZHANG Y., GU W., HE L., SUN B., 2014. *Th1/Th2 cell's function in immune system.* Adv. Exp. Med. Biol. 841, 45-65.

KOSMOS Vol. 68, 3, 375–387, 2019

PAULINA KOWALCZYK, DOMINIKA BIAŁA, MARIAN SZCZEPANIK, MONIKA MAJEWSKA-SZCZEPANIK

Jagiellonian University - Collegium Medicum, Faculty of Health Sciences, Institute of Nursing and Midwifery, Department of Medical Biology, 7a Kopernika Str., 31-034 Kraków, E-mail: pk.kowalczyk@cm-uj.krakow.pl, dominika.biala@uj.edu.pl, mmszczep@cyf-kr.edu.pl, monika.majewska-szczepanik@uj.edu.pl

IMMUNODEFICIENT MOUSE MODELS: CHARACTERISTICS AND APPLICATIONS

Summary

The house mouse (*Mus musculus*) is the most common mammalian species used in scientific research. This is because the mouse and human are genetically similar and the mouse genome is easy to manipulate. The development of immunodeficient mice has provided a valuable tool for research. Nature has produced various mutations affecting the immune system of mice. Some of the most commonly used strains carrying spontaneous mutations are nude, SCID, beige, XID. Nevertheless, the field of immunodeficient mice models has grown immensely over the past two decades. This growth is in part due to the advances in genetic engineering. Many genetically modified strains of immunocompromised mice are now available for the study of immunobiology, oncology and transplantology. The purpose of this paper is to describe some of the available strains of mice with immune system defects including their genetics, phenotypic characteristics and their application in scientific research.

Keywords: immune system, mouse models, immunodeficiency