

論文の要旨

申請者 白石 美絵乃

研究論文題目

甲状腺ホルモン過剰が赤血球分化に及ぼす影響

1 目的

未治療甲状腺機能亢進症患者の約 20%に貧血を合併し、治療経過中ヘモグロビン濃度と甲状腺ホルモン濃度の逆相関を認める。対側疾患である甲状腺機能低下症でも貧血を認め、これは基礎研究で甲状腺ホルモン(トリヨードサイロニン;T3)は赤血球分化を促進することで説明されているのに対し、甲状腺機能亢進症における貧血の機序はまだ明らかではない。従来の研究では分化後期を誘導するエリスロポエチンが使用され、分化後期での T3 の作用を見ている一方、T3 の分化初期への作用はよく知られていなかった。最近我々は、アクチビン A+低酸素誘導性赤血球分化を T3 が抑制することを明らかにした。アクチビンと低酸素は分化初期で赤血球分化を誘導するが、アクチビン A もしくは低酸素単独での分化誘導時は T3 の分化抑制作用は見られなかった。そこで本研究では、同じく赤血球分化初期を誘導し得る Hemin を用いて T3 の作用を検討した。

2 対象並びに方法

赤血球分化の観察で頻用されるヒト白血病細胞の K562 細胞株を用いた。

A) K562 細胞における甲状腺ホルモン受容体発現

甲状腺ホルモン受容体 (TR α 、TR β)、レチノイド X 受容体 (RXR α) mRNA の K562 細胞への発現を確認した。

B) Hemin による K562 細胞の変化

Hemin 群と対照群で Benzidine 染色、細胞数あたりのヘモグロビン (Hb) アッセイ、CD71 及び CD235a の発現を比較した。 α -globin、 β -globin、赤血球分化関連転写因子 (GATA-1、GATA-2、NFE2) 及び、TR α 、TR β 、RXR α mRNA の発現変化を観察した。

C) T3 の Hemin 誘導性赤血球分化への影響

T3 が Hemin 誘導性分化に及ぼす影響を、Hb 量、Benzidine 染色、CD71 発現で解析した。対照群 (培養後 Hemin を添加)、低 T3 群 (T3 0.1 - 10 nM と培養後 Hemin を添加)、高 T3 群 (T3 100 nM と培養後 Hemin を添加) に分けて観察した。

D) T3 が mRNA の発現変化に及ぼす影響

Hemin 誘導性分化において、T3 による mRNA 発現変化を解析した。

3 成 績

A) K562 細胞における甲状腺ホルモン受容体発現

定常状態の K562 細胞に TR α 、TR β 、RXR α mRNA の発現を認めた。

B) Hemin による K562 細胞の変化

Hemin 添加で Benzidine 染色陽性率、Hb 量、CD71 発現は増加したが、CD235a はほとんど発現を認めず Hemin による有意な変化はなかった。Hemin を添加後、 α -globin、 β -globin、GATA-1、GATA-2、NFE2 mRNA の有意な増加と共に、TR α 、TR β 、RXR α mRNA の発現も増加した。

C) T3 の Hemin 誘導性赤血球分化への影響

Hb 量は低 T3 群で対照群より有意に増加したが、高 T3 群では有意な増加を認めなかった。CD71 の発現は低 T3 群 (0.1 nM) では対照群より有意に増加したが、高 T3 群では低 T3 群より有意に抑制された。Benzidine 陽性率は、低 T3 群、高 T3 群とも対照群と有意差はなかった。

D) T3 が mRNA の発現変化に及ぼす影響

α -globin mRNA は、低 T3 群では対照群より有意に増加したが、高 T3 群では増加を認めなかった。NFE2 は 3 群間で有意差はなかった。GATA1 は高 T3 群において、対照群と比較し有意に減少していた。GATA2 と RXR α mRNA は、高 T3 群では低 T3 群と比較して有意に抑制された。

4 考 察

Hemin は CD71、GATA1、GATA2、NFE2 発現を増加させるが、CD235a の発現を変化させず、K562 細胞の赤血球分化の初期において誘導作用を持つと考えられた。低濃度 T3 は K562 細胞の Hemin 誘導性赤血球分化を促進するが、高濃度 T3 は、低濃度 T3 の分化促進作用を消失させた。このことから、赤血球分化の初期のレベルでは低濃度 T3 は分化を促進させ、高濃度ではそれが消失すると考えられた。GATA2 mRNA は低 T3 群と比し高 T3 群では減少しており、T3 の赤血球分化への濃度に応じた作用には GATA2 が関連している可能性が考えられた。今回初めて Hemin 自体が TR α 、TR β 、RXR α の mRNA 発現を増加させることを発見した。

5 結 論

低濃度 T3 は K562 細胞の Hemin 誘導性赤血球分化を促進するが、高濃度 T3 は、低濃度 T3 の分化促進作用を消失させる。濃度に応じた T3 の作用には GATA2 が関連している可能性がある。Hemin 自体が TR α 、TR β 、RXR α の mRNA 発現を増加させる。