

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成26年4月21日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 防衛医学研究センター異常環境衛生研究部門
職 名 助教
研究代表者 山本 頼綱
勤務先所在地 〒359-8513
埼玉県所沢市並木3-2
電 話 番 号 (04)2995-1626
ファックス番号 (04)2991-1612
E - メ ー ル yoritsuna@gmail.com

下記により共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 13007)

1. 共同研究課題名	甲状腺ホルモンと造血の新展開～低酸素培養の意義			
2. 共同研究目的	甲状腺ホルモン過剰の造血/赤血球分化に対する新たな作用機構を、低酸素培養を用いて解明する			
3. 共同研究期間	平成 25年 4月 1日 ~ 平成 26年 3月 31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	年齢	所属部局等	職名等	役 割 分 担
(研究代表者) 山本 頼綱	42	防衛医科大学校 防衛医学研究センター	助教	研究の実施・解析全般
(分担研究者) 濱野 邦久	35	防衛医科大学校 総合臨床部	大学院	データ解析等の実施
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	細胞調節		氏 名 小島 至

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同研究計画

一般的に、甲状腺ホルモン(TH)は造血に「促進的」に働くと考えられ、不足の病態である甲状腺機能低下症と貧血の合併を説明するが、近年の報告では未治療バセドウ病患者の 22%に貧血が合併する(Andrew et al. Clin Endocrinology 2009)など、TH 過剰が造血に「抑制的」に働いている可能性も示唆されている。

生体における造血の場は骨髄であり、造血幹細胞は低酸素領域(1-3%)に局在する。周囲の低酸素は幹細胞ニッチとして、幹細胞の形質維持に多大な影響を与えている(Duohui et al. Hematologica 2012)。

TH が造血を促進的に制御するメカニズムは、TH 受容体(TR)を介する直接作用と、HIF (Hypoxia-inducible factor)を介した作用が同定されている。本研究では、造血幹細胞では生理的環境下で HIF の蓄積が生じていることに着目し、TH 作用の検証を低酸素培養により生体骨髄内環境を模擬して行い、真の TH の造血に対する影響を検証するものである。

[方法]ヒト白血病細胞株 K562 を低酸素培養し、様々な濃度で TH を負荷する。増殖や赤血球分化に与える影響をベンジジン染色やヘモグロビン定量、フローサイトメトリーを用いた表面抗原解析などで検証する。

7. 共同研究の成果

1)低酸素による影響

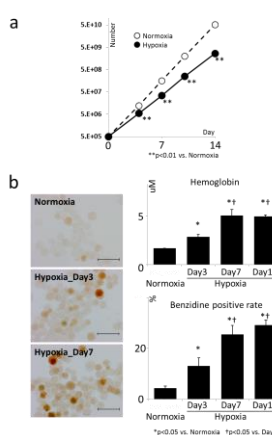
K562 細胞は 2%低酸素により増殖能が著明に低下した(図 1a)。経時的観察の結果、benzidine 染色(赤血球染色)やヘモグロビン(Hb)合成が低酸素曝露 7 日を最大として促進された(図 1b)。

2)甲状腺ホルモン(T3)による影響

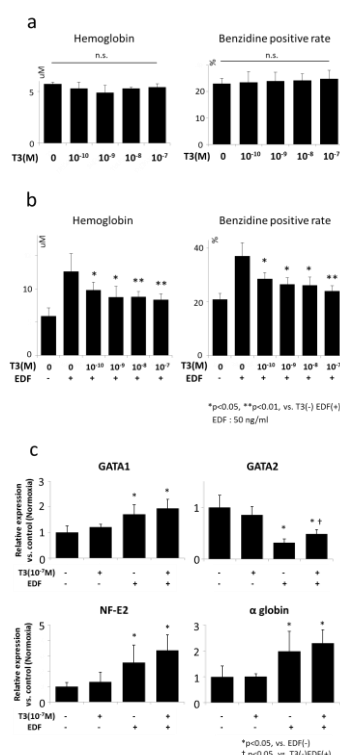
TH(Triiodothyronine;T3)を 100pM~100n の濃度で負荷し、同様に2%低酸素曝露 7 日目における benzidine 染色や Hb 合成能について検証したところ、T3 は低酸素による赤血球分化には影響しなかった(図 2a)。しかし、低酸素環境下において、アクチビン刺激による赤血球分化を濃度依存性に抑制した(図 2b)。また RT-PCR の結果、赤血球分化マーカーである GATA1 や NF-E2、また α グロビンは T3 による影響を受けていなかった。しかし、赤血球分化に伴って見られる GATA2 遺伝子の発現低下は、T3 過剰により有意に弱まっていた(図 2c)。

以上の結果は、T3 過剰が骨髄造血幹細胞に直接作用として、抑制的に働く可能性を示唆するものであった。

(図1)Effects of hypoxia on K562



(図2)Effects of triiodothyronine on K562 under hypoxia



8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究の担当教員の氏名の記載、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

【学会発表】

山本 頼綱, 白石 美絵乃, 上野山 真紀, 藤田 真敬, 立花 正一, 田中 祐司

長期的な甲状腺ホルモン過剰は赤血球分化を抑制する～骨髄内環境を模擬した低酸素環境下での検討
第 56 回日本甲状腺学会学術集会 2013 年 11 月 14 日～16 日 和歌山県民文化会館

【論文発表】

Yamamoto Y, Shiraishi M, Fujita M, Kojima I, Tanaka Y, Tachibana S.

Triiodothyronine suppresses activin-induced differentiation of erythroleukemia K562 cells under hypoxic conditions. Mol Cell Biochem (2014) 391:217-224