

## 赤血球脱核と形態維持における細胞内膜輸送系の役割

森脇健太

大阪大学大学院医学系研究科 細胞生物学

### 【研究の背景】

赤血球は酸素運搬という機能に特化するため、細胞内小器官を排除し、大量のヘモグロビンを産生する。そして、長期間全身を循環するに耐える膜安定性と変形能を獲得するために特徴的な細胞膜・細胞膜骨格構造を有している。更に、我々哺乳類の赤血球は最終分化段階で核を放出し、無核となる。これらの異常は貧血という時には致死的な病態を引き起こす。そのため、正常な赤血球がどのようにして産生・維持されているかを理解することは医学・生物学的に重要な課題である。

腸や腎臓等の上皮細胞の極性は上皮組織の構造と機能に必須である。その極性の形成維持には細胞内での方向性のある小胞輸送(極性輸送)が重要であり、我々はその分子機構並びに生理的・病理的意義の解析を行ってきた。その中で、小腸上皮細胞でアピカル面(管腔側)への極性輸送を司る分子として EHP1L1 を以前に同定した(Sato et al., 2007, Nakajo et al., 2016)。EHP1L1 は 4 つの異なるタンパク質又は脂質結合ドメインを有するアダプター分子であり、エンドソーム上で複数の分子と協調することによりアピカル面への小胞輸送を制御している。

EHP1L1 の個体における機能を調べるためにノックアウト(KO)マウスを作成したところ、予想外なことに胎生期後半から明らかな貧血を呈し、生後数時間以内に全て死亡した。

### 【目 的】

そこで本研究では、EHP1L1 がどのように赤血球造血に関与しているかを明らかにすることを目的とした

### 【方 法】

胎児における赤血球造血は肝臓で行われる。成熟赤血球は、造血幹細胞が赤血球系列へと分化した後、BFU-U、CFU-E、前赤芽球、塩基性赤芽球、多染性赤芽球、正染性赤芽球と分化し、最終的に核を放出することで形成される。Ter119、CD71、CD44、CD117 の発現と核の有無を指標として、各分化段階を同定し、赤血球分化における EHP1L1 の役割をフローサイトメーターで解析した。末梢血赤血球の形態観察のためにはメイ・ギムザ染色を行なった。胎児肝臓にてベルリン・ブルー染色を行い、鉄の沈着を調べた。胎児肝臓より初期赤芽球をセルソーターにて単離し、*in vitro* 培養で赤血球分化を誘導した。

### 【結 果】

赤芽球での EHP1L1 の発現を調べたところ、分化が進むにつれてその発現が上昇することが分かった。EHP1L1 がどの分化段階に関与するかを調べるために、コントロールマウスと EHP1L1 KO マウスの胎児肝臓での各分化段階の赤芽球の割合をフローサイトメーターで検討した。その結果、EHP1L1 を欠損しても、多染性赤芽球までの分化に異常は見られなかった。一方で、EHP1L1 KO マウスでは、正染性赤芽球の割合が増加し、逆に無核の赤血球の数が減少していた。そして、EHP1L1 KO マウスの末梢血では多数の有核赤血球が観察された。さらに、コントロールマウスと EHP1L1 KO マウス

の胎児肝臓から初期赤芽球を単離し、*in vitro* での分化後にそれぞれの脱核効率を調べたところ、EHBP1L1 KO 赤芽球の脱核効率がコントロールに比べ有意に低下していることが分かった。このことから、赤芽球そのものに発現する EHBP1L1 が脱核に重要であることが明らかとなった。また、EHBP1L1 KO マウスの末梢血で見られる無核の赤血球は、脱核はできていても形態異常を示しているものが多数観察された。このような異常形態を示す赤血球は溶血しやすいことが知られており、確かに EHBP1L1 KO マウスの胎児肝臓で鉄の沈着が見られた。以上の結果から、極性輸送制御分子 EHBP1L1 が赤血球の脱核とその形態の維持に非常に重要であることが分かった。

## 【考 察】

赤血球系細胞は非極性細胞であるが、脱核過程では核が片側に偏在することで核を押し出す方向に向かって極性が形成される。偏在した核は、アクチオシンを主成分とする収縮環が収縮して細胞膜がくびれることで除去される。この際、くびれが起こる場所に脂質膜を供給する必要がある。EHBP1L1 は小腸上皮細胞ではアピカル膜への膜輸送を制御する分子であることから、赤芽球の脱核過程においても膜供給を行うことで脱核に関与している可能性が考えられる。また赤血球の機能性細胞膜分子は、排出される核側ではなく、赤血球側に主に輸送される必要がある。非極性細胞での一過的な極性形成の場面でも EHBP1L1 が重要なことは、極性輸送機構の普遍性・共通性を示唆している。今後、EHBP1L1 がどのような分子と協調して脱核を制御しているのか、また EHBP1L1 によってどのような分子がどこに輸送されているのかなどを明らかにしていく必要がある。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

医療の現場で輸血は必要不可欠な処置であり、継続的に十分な輸血用赤血球を確保する必要がある。輸血用赤血球を供給している献血には、慈善性に頼るが故の安定性の面での問題、感染症のリスク、今後予想される少子高齢化による献血ドナーの減少といった問題点があり、新たな安定的血液供給システムの確立が社会的急務である。現在、献血に変わる次世代の安定的輸血用赤血球供給システムとして *in vitro* 分化・培養システムが試されているが、脱核の効率の低さが問題である。脱核のメカニズムが明らかとなれば、脱核を促進させる新たな手法を生み出すことが可能になると期待される。

また、EHBP1L1 KO 赤血球は形態異常を示し、溶血が亢進している。現在のところヒトの溶血性疾患で EHBP1L1 の変異は見つかっていないが、EHBP1L1 を切り口として赤血球における極性輸送の役割を分子レベルで明らかにすることができれば、貧血の新たな原因の解明につながる可能性がある。

## 【参考・引用文献】

NAKAJO, A., YOSHIMURA, S. I., TOGAWA, H., KUNII, M., IWANO, T., IZUMI, A., NOGUCHI, Y., WATANABE, A., GOTO, A., SATO, T. & HARADA, A. 2016. EHBP1L1 coordinates Rab8 and Bin1 to regulate apical-directed transport in polarized epithelial cells. *The Journal of cell biology*, 212, 297-306.

SATO, T., MUSHIAKE, S., KATO, Y., SATO, K., SATO, M., TAKEDA, N., OZONO, K., MIKI, K., KUBO, Y., TSUJI, A., HARADA, R. & HARADA, A. 2007. The Rab8 GTPase regulates apical protein localization in intestinal cells. *Nature*, 448, 366-9.