

特集：遺伝子発現制御から迫る生体内環境応答機構

巨核球分化過程におけるストレス応答とその調節機構

本 橋 ほづみ

bZip 型転写因子 p45-小 Maf ヘテロ二量体は、Maf 認識配列 (MARE) に結合し、巨核球分化後期における血小板関連遺伝子発現と胞体突起形成に重要な役割を果たしている。一方、酸化ストレス応答に必須の転写因子 Nrf2-小 Maf も MARE を介して機能する。我々は、生体防御遺伝子の制御において、p45 と Nrf2 が競合的に作用することを見いだした。幼若な巨核球では、Nrf2 が機能して細胞の生存と増殖に適した環境を維持しており、成熟巨核球では、p45 が Nrf2 の機能を競合的に抑制して酸化ストレスの蓄積を可能にし、血小板関連遺伝子群の発現を促進すると考えられる。Nrf2 から p45 へのスイッチングが、細胞の酸化ストレス応答様式を変化させ、増殖から終末分化への相変換をもたらすことが示唆される。

1. はじめに

血小板は止血機構に重要な細胞性血液成分であり、その減少や機能低下は出血傾向をもたらし、その機能亢進は血栓症を引き起こし、いずれも即時に致命的となる重篤な状態を招来しうるものである。また近年、炎症、免疫応答、がん細胞の転移、切除肝の再生など、多様な生命現象におけるその重要性が報告されている¹⁻⁵⁾。したがって、血小板の数と活性を適切な範囲で調節することは、生体にとって非常に重要である。

従来、血小板減少や機能低下に対しては、「いかに血小板を増やすか」という問題意識のもとに、巨核球分化と血小板産生機構の研究が進められてきた。一方、血小板機能亢進に対しては、「いかに血小板活性化を制御するか」という問題意識のもとに、循環器疾患の観点から研究が進められてきた。我々は、巨核球造血と血小板産生と血小板機能の制御を一貫する視点から捉え直し、そこに潜む新しい

制御機構とその破綻による病態の解明を目指して研究を進めている。

本稿の前半では、巨核球の分化と血小板産生を制御する転写因子について、巨核球・赤血球系前駆細胞 (MEP 細胞) から巨核球への分化の方向決定に重要な転写因子 c-Myb の役割を中心に概説し、後半では、転写因子 NF-E2 の機能を中心に、巨核球のストレス応答と血小板産生について、最近我々が得た知見を紹介する。

2. 巨核球分化と血小板形成

血小板は骨髓の巨核球から産生される無核の細胞であり、末梢血中での寿命は約 8~10 日程度である。核を持たない血小板は、遺伝子からの mRNA 合成、すなわち、転写は起こらない。しかし、ミトコンドリアやリボソームを有しておりタンパク質合成を行うとされており、最近では、一次転写産物として存在している IL-1 β の mRNA が、血小板が刺激を受けたあとにスプライシングを受けて mRNA として成熟し、タンパク質が合成されるという報告もなされている⁶⁾。したがって、血小板は、巨核球の細胞質の断片ではなく、それ自身が積極的に代謝を営んでいる“生きた”細胞である。実際、血小板中のミトコンドリアの膜電位は正常に保たれている⁷⁾。

血小板の膜には ADP、トロンボキサン A₂、コラーゲン、トロンビン、セロトニンなど、血小板凝集を引き起こ

東北大学大学院医学系研究科ラジオアイソトープセンター (〒980-8575 仙台市青葉区星陵町 2-1)

Transcriptional regulation of thrombogenesis and stress response of megakaryocytes

Hozumi Motohashi (Center for Radioisotope Science, Tohoku University Graduate School of Medicine, 2-1 Seiryomachi, Aoba-ku, Sendai 980-8575, Japan)

す物質に対する受容体が存在している。血小板の内部には、 α 顆粒、濃染顆粒が存在しており、その中にはさまざまな生理活性物質が包含されている(図1)。刺激に応じて血小板は凝集を起し、その形態は楕円状から突起を伸ばした不正形へと変化する。血小板には、このような形態の変化を可能とする細胞骨格が用意されているといえる。巨核球の分化後期は、こうした血小板の機能を実現するために、多くの因子を合成しなくてはならない。

巨核球は骨髓幹細胞からMEP細胞を経て分化する。幼弱な巨核球は増殖しつつ次第に多核化して、胞体に隔壁膜と呼ばれる多数の膜構造と、 α 顆粒、濃染顆粒などの顆粒を形成する。多核化して大型化した巨核球は、胞体突起形成と呼ばれる過程を経て血小板を産生し、自身は消失する(図2)。トロンボポエチンは、こうした巨核球の分化・成熟と血小板産生を促進する主要な液性因子であるとされているが、成熟巨核球から血小板が産生される終末分化段階は、必ずしもトロンボポエチンに依存しないことが報告されている⁸⁾。

これまで、巨核球は造血細胞の分化という視点から研究がなされており、血小板減少をもたらす血液疾患の診断と治療がその大きな課題となっている。血小板減少に対して、現在のところ、トロンボポエチンは自己抗体が産生されてしまうため、臨床的には使用されておらず、臨床の現

場では血小板輸血が行われている。しかし、赤血球製剤が採血後3週間使用可能であるのに対して、血小板製剤の有効期間は大変短く、採血後4日間のみである。また、長年にわたる使用により抗血小板抗体が産生され、血小板輸血に対して不応状態になることもある。こうしたことから、*in vivo*での血小板産生を促進すること、あるいは、*in vitro*で血小板産生技術を確立することは、社会的関心が高い重要な課題である。

一方、血小板は心・血管系という循環器疾患の視点から研究がなされており、血小板の活性化の制御ということが大きな課題となっている。血栓症をもたらす大きな要因である動脈硬化症には、これまでマクロファージと血管内皮が関与していることが報告されてきた。しかし、近年、活性化状態にある血小板が、血小板膜表面のP-セレクトリン依存的に血小板-白血球凝集体を形成し、それにより血管内皮と白血球の接着が促進され、動脈硬化巣の進展が助長されることが明らかになった⁹⁾。血栓症をはじめとする循環器疾患において、血小板活性化のコントロールの重要性が認識されつつある。

3. 巨核球分化と血小板形成に関与する転写因子

巨核球は、生体内における存在量が極めて少ないことから、生化学的な解析が難しい細胞系列の一つである。しか

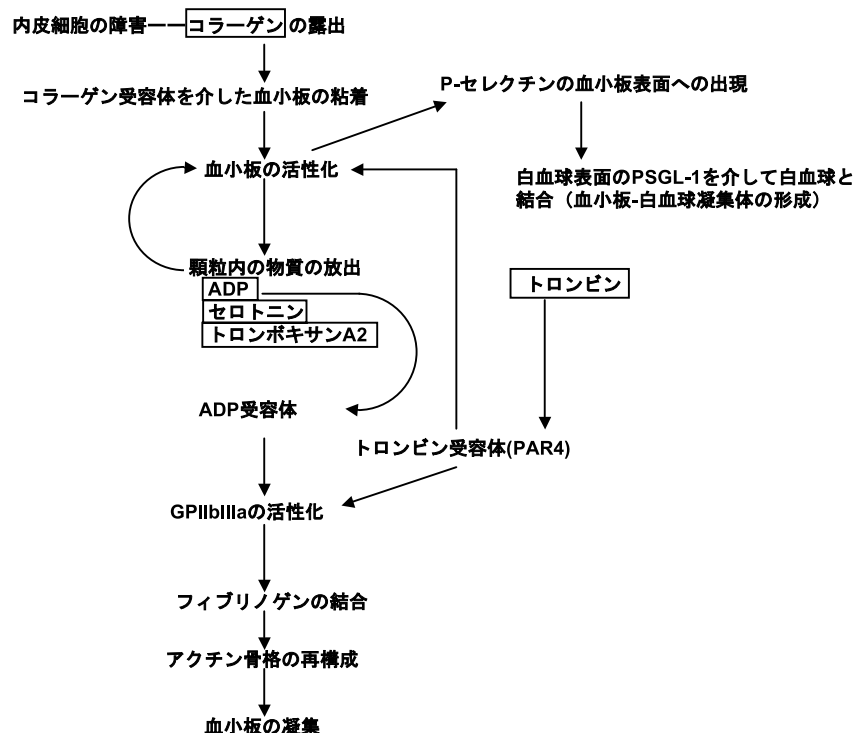


図1 血小板の活性化

血小板外からの物質（コラーゲンやトロンピン）、あるいは血小板内の顆粒に含まれている物質（ADP、セロトニン、トロンボキサンなど）の相乗的な作用により血小板の凝集が引き起こされる。PSGL-1; P-selectin glycoprotein ligand 1.

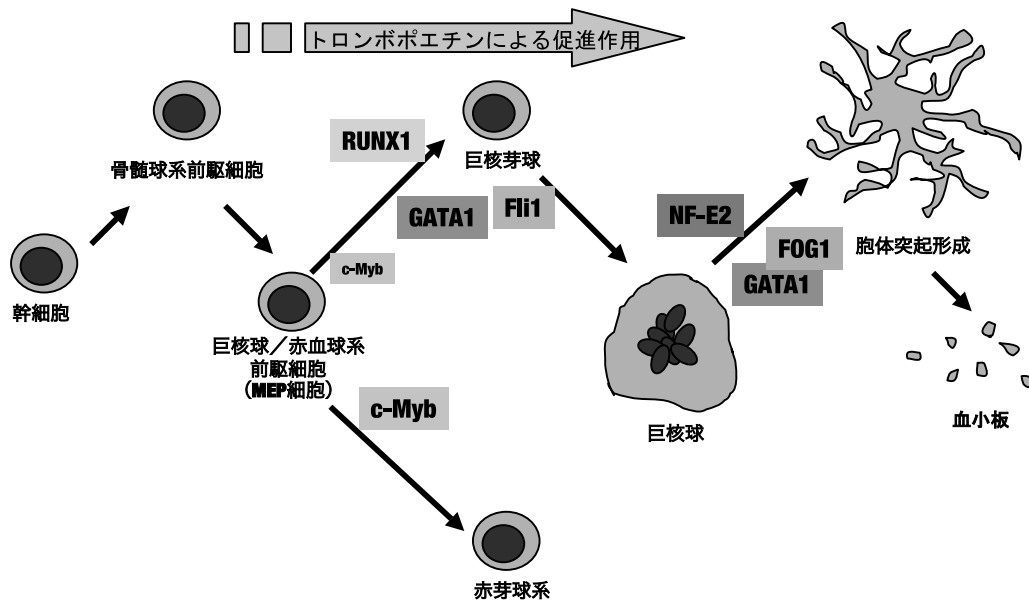


図2 巨核球の分化とその制御に関わる転写因子

巨核球/赤血球系前駆細胞以降の分化段階で、重要な役割を果たしている転写因子を示す。c-Myb の減少により、巨核球系への分化が促進される。

し、マウスの遺伝子操作技術の発達から、巨核球の分化と成熟に関与する転写因子が明らかになってきた (図2)。巨核球分化は大きく3段階に分けて理解することができる。第一段階は、MEP細胞が、赤芽球あるいは巨核芽球へと分化の方向を決定する分岐点である。第二段階は、巨核球の増殖と核内分裂による多核化、細胞体の大型化がみられる増殖・成熟期である。第三段階は、大型化した成熟巨核球が胞体突起形成を起こし血小板を産生する最終段階である。

第一段階で鍵となる転写因子はc-Mybである。MEP細胞においてc-Mybが巨核球系への分化を抑制し、赤血球系への分化を促進するということが、複数の研究グループから報告されている¹⁰⁻¹²⁾。第二段階では、GATA1, RUNX1, Fli1の重要性についての報告が数多くなされている。巨核球におけるこれらの因子の欠損により、いずれも末梢血中の血小板が減少し、骨髄では小型で幼若な巨核球の蓄積が認められる¹³⁻¹⁵⁾。第三段階の鍵因子は、NF-E2である¹⁶⁾。また、共役因子FOG1と結合できないGATA1変異体の解析から、GATA1もこの段階に関与することが示唆されている¹⁷⁾。

4. MEP細胞からのコミットメント

MEP細胞からの分化の方向性決定に重要な働きをするのは、c-Mybである。c-Myb遺伝子破壊マウスは貧血のため胎生15日までに致死となるが、胎児肝臓において巨核球やマクロファージの形成は認められる¹⁸⁾。これは、c-Mybが欠損していても、巨核球やマクロファージの分化には差

し支えないことを意味している。c-MybがMEP細胞における細胞の運命決定に重要であるということを強く示唆したのは、c-Mybの機能不全マウスの解析である¹⁰⁻¹²⁾。

我々は期せずして、あるトランスジーンの挿入変異による、MEP細胞におけるc-Myb遺伝子のノックダウンに成功した¹²⁾。同マウスの末梢血では血小板数が増加する一方、赤血球数が減少し、脾臓は腫大していた。詳しく調べると、c-Myb遺伝子の転写開始点上流約77 kbpにトランスジーンの挿入があり、MEP細胞におけるc-Mybの発現が著減していた (図3)。同マウスの骨髄細胞をコロニーアッセイにより調べると、赤血球系のコロニー数が減少しており、また、赤血球系分化マーカーの発現レベルも低下していた。一方、巨核球系のコロニー数は3倍近くに増加し、骨髄中の成熟巨核球が占める割合も増加していた。面白いことに、野生型マウスに比較して骨髄巨核球の染色体総数 (DNAプロイディー) は低下しており、2nから8nという若い巨核球が増加していることが明らかになった。このような巨核球造血の亢進と赤血球造血の抑制は、MEP細胞へc-Mybを導入してその発現量を増加させることにより回復した。このことから、正常なMEP細胞においてはc-Mybが巨核球への分化を抑制し、赤血球系への分化を促進する働きがあることが明らかになった。

我々の結果以外にも、c-Mybの機能障害を来す遺伝子改変マウスで、同様の貧血と血小板増加が観察されており^{10,11)}、c-MybはMEP細胞の巨核球への分化に対して抑制的に作用することがわかる。それでは、巨核球への分化に際して、c-Mybはどのような制御を受けて発現が抑制され

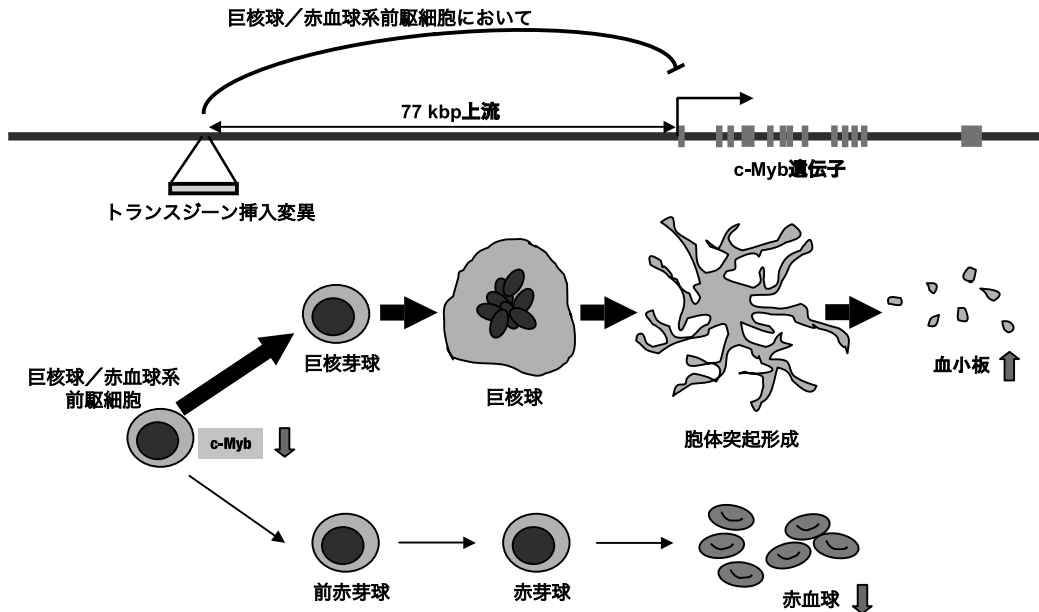


図3 トランスジーン挿入変異による *c-Myb* 遺伝子の発現抑制
c-Myb 遺伝子の転写開始点上流 77 kbp 付近へのトランスジーンの挿入により、巨核球/赤血球系前駆細胞において *c-Myb* 遺伝子発現が著減し、その結果、巨核球系細胞への分化が亢進した。

るのだろうか？ 一つの手がかりは、我々が得たトランスジェニックマウスにおけるトランスジーンの挿入部位である。*c-Myb* 遺伝子上流 77 kbp 付近に MEP 細胞における *c-Myb* の発現を維持するための制御領域が存在していると考えられる。巨核球分化の際は、その領域の機能が抑制されることで、*c-Myb* の発現が低下するのかもしれない。また、最近、マイクロ RNA *miR-150* が MEP 細胞から巨核球への分化を促進することが報告された¹⁹⁾。*miR-150* の標的は *c-Myb* であり、MEP 細胞において *miR-150* が発現することにより *c-Myb* の発現量が減少し、巨核球への分化が誘導されるというものである。転写レベル、あるいは転写後レベルのいずれにせよ、*c-Myb* が細胞系列の選択の鍵になっていることが明らかになった。これらの結果は、*c-Myb* の標的遺伝子が、巨核球と赤血球の分化の方向性決定の重要な鍵を握ることを示唆するものであり、巨核球の分化を促進して血小板産生を増加させるための有効な標的となることを期待させるものである。

5. 巨核球分化・血小板形成を支える生体内環境

以前より、巨核球分化と酸素分圧の関連が報告されている²⁰⁾。酸素分圧が高い環境のほうが、巨核球の分化・成熟・血小板形成が促進される、というものである。空気中酸素分圧は 20% であるが、生体内ではそれよりもはるかに低い濃度である。例えば、骨髄の平均的な酸素分圧は 5% 前後であるが、骨髄静脈洞に隣接する部位では 8%、肺では 16% といわれている。骨髄において、巨核球は静脈洞の壁に接する位置で成熟し血小板を放出することが、

最近の *in vivo* イメージング技術を駆使した研究により報告されている²¹⁾。また、肺の毛細血管において巨核球が血小板を放出するという報告もなされている²²⁾。つまり、巨核球が比較的酸素分圧の高い場所で分化成熟をとげるということであり、高い酸素分圧が巨核球の分化・成熟・血小板形成を促進するということに矛盾しない。

しかし、この分子機構についてはまだ明らかにされていない。酸素分圧の違いは、巨核球分化の複数の段階を作用点として、促進効果をもたらしていることが予想されている。高酸素分圧により、MEP 細胞からの巨核球系細胞の分化の促進が認められることから、MEP 細胞におけるコミットメントもその一つの作用点であることが示唆されている²⁰⁾。ここに *c-Myb* がどのように関係しているのか、興味をもたれるところである。一方、酸素分圧が低いと、胞体突起形成の抑制も観察されることから、巨核球の終末分化段階もまた一つの作用点と考えられる²⁰⁾。

我々は、巨核球分化が酸素により影響を受けるプロセスであることから、巨核球の分化はその酸化ストレス応答と関係していることを予想した。

6. CNC-小 Maf ヘテロ二量体による酸化ストレス応答と巨核球分化制御

Maf 群因子は、ニワトリのがんウイルスから発見されたがん遺伝子 *v-maf* の細胞性関連因子であり、転写活性化ドメインを有する大 Maf 群因子と、持たない小 Maf 群因子に大別される(図4)。Maf 群因子は、塩基性領域-ロイシンジッパー構造(bZip 構造)を有し、ホモ二量体を形

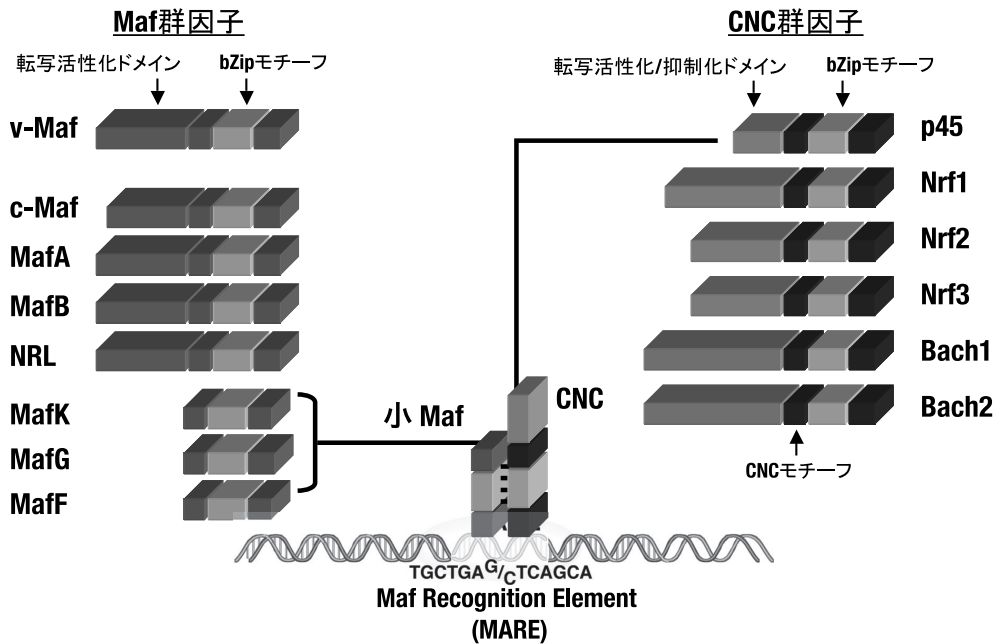


図4 Maf 群因子認識配列 (MARE) に結合する転写因子

Maf 群因子は、ニワトリのがん遺伝子として発見された *v-maf* の細胞性関連因子であり、転写活性化ドメインを持つ大 Maf 群因子と持たない小 Maf 群因子に大別される。Maf 群因子は bZip 構造を有しており、ホモ二量体を形成して MARE に結合する。小 Maf 群因子は、CNC 群因子とのヘテロ二量体としても MARE に結合する。

成して Maf 群因子認識配列 (Maf recognition element; MARE) に結合する。また、同じく bZip 構造を有する CNC 群因子は、小 Maf 群因子とヘテロ二量体を形成して MARE に結合し、転写を制御する。CNC 群因子としては NF-E2, Nrf1, Nrf2, Nrf3, Bach1, Bach2 があり、これらはいずれも細胞の機能的成熟と恒常性の維持に関わる機能を果たしていることが、遺伝子破壊マウスの表現型の解析から明らかにされている²³⁻²⁵⁾。

CNC 群因子で最初に同定された p45 は、小 Maf 群因子とヘテロ二量体を形成して、巨核球の成熟と血小板形成に必須の役割を果たしている。p45 欠損マウス、小 Maf 欠損マウスいずれにおいても、血小板減少による出血傾向が顕著で、骨髄や脾臓には大型の成熟した巨核球が蓄積している^{16, 26, 27)}。巨核球を調べると、胞体突起形成が起こらず、特に p45 欠損巨核球では α 顆粒や濃染顆粒の形成も障害されている。これらのことから、NF-E2 は巨核球の分化後期に重要であると考えられる。

一方、CNC 群因子である Nrf2 は、酸化ストレス応答の鍵因子である (伊東の項を参照)。Nrf2 欠損マウスが、酸化ストレス・親電子性ストレスに対する応答障害を呈することから、同因子がこれらのストレスに対する生体防御に必須の因子であることが明らかになった²⁸⁾。そして、通常状態では、Nrf2 は細胞質において Keap1-Cul3 複合体によりユビキチン化されプロテアソームで分解されているが、こうしたストレスが Keap1 により感知されると、そのユ

ビキチン化活性が停止して Nrf2 が安定化し、核へ移行して転写を強力に活性化することがわかった²⁹⁾。Keap1 の欠損マウスでは Nrf2 が恒常的に核に蓄積し、生体防御系遺伝子群の発現が常に高い状態になる³⁰⁾。Nrf2 と p45 の DNA 認識にかかわる塩基性領域は両因子間でよく保存されており、p45-小 Maf ヘテロ二量体 (NF-E2) と Nrf2-小 Maf ヘテロ二量体は、ほぼ同一の DNA 配列、Maf 群因子認識配列 (MARE) に結合する (図5)。したがって、標的遺伝子を共有することが推測される。しかし、これまでに、両者間で共通の標的遺伝子を制御するという報告はなされていない。

7. 巨核球における酸化ストレス応答

我々は、巨核球分化がその酸化ストレス応答と密接に関係すると予想し、巨核球では p45 が Nrf2 に代わって酸化ストレスに対する防御機構を制御しているという仮説をたてた。そこで、p45 欠損マウスの胎児肝臓からトロンボポエチン存在下に培養した巨核球を用いて、その遺伝子発現プロファイル調べた。血小板の膜タンパク質や、シグナル伝達因子、細胞骨格因子など、血小板の機能に関わる因子群 (血小板関連遺伝子群) の発現が大きく減少しており、これは期待通りであった (図6)。一方、Nrf2 の標的遺伝子として報告されているストレス応答、生体防御系遺伝子群の発現は、減少することを期待したが、逆に増加していた。核内の Nrf2 の蓄積量が増加している様子はな

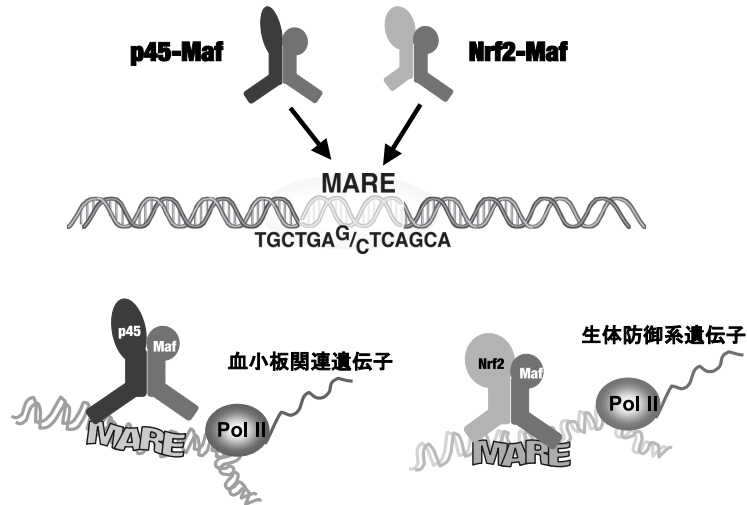


図5 転写因子 Nrf2 と p45 の結合配列と標的遺伝子群

Nrf2 も p45 も CNC 群因子に属し、いずれも小 Maf 群因子とヘテロ二量体を形成して Maf 群因子認識配列 (MARE) に結合する。Nrf2 は酸化ストレス応答に、p45 は巨核球分化と血小板産生に必須の役割を果たしている。

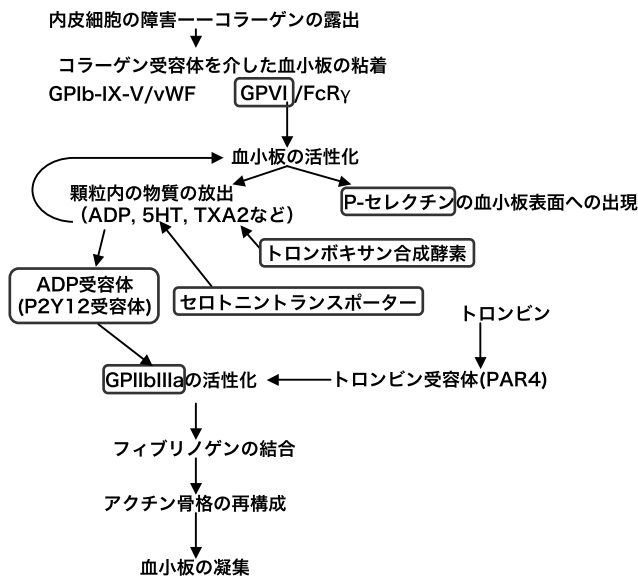


図6 NF-E2 機能障害により発現が低下する血小板関連因子 p45 遺伝子欠損マウス由来の巨核球において発現が減少している遺伝子で、特に血小板の活性化に関与するものを枠で囲い示した。

く、なんらかのストレスに応答して生体防御系遺伝子の発現が亢進しているわけではないと考えられた。そして、p45 欠損マウスの巨核球における活性酸素種のレベルを調べてみると、野生型の巨核球よりも低下していることがわかった。

そこで我々は、通常状態では p45 が Nrf2 の機能を抑制し、生体防御系遺伝子の発現を低いレベルに抑え、巨核球内の活性酸素種の蓄積を促進するという仮説を立てた。代

表的な Nrf2 の標的遺伝子 NAD(P)H:キノンオキシドレダクターゼ (*Nqo1*) 遺伝子の発現上昇と、巨核球の細胞内活性酸素種の減少が p45 欠損状態で観察されるが、これらはいずれも p45 と Nrf2 の二重欠損マウス由来の巨核球では認められなかった。このことから、p45 欠損状態におけるこれらの変化は、Nrf2 に依存することが明らかになった。つまり、p45 が *Nqo1* 遺伝子の発現を低いレベルに維持し、細胞内活性酸素種の蓄積を促進していると考えられる。また、クロマチン免疫沈降実験により、*Nqo1* 遺伝子のプロモーター近傍に存在する MARE 配列に結合する因子を調べたところ、野生型巨核球では p45 が結合し、p45 欠損マウスの巨核球では Nrf2 が結合することが確認された。これらの結果から、我々は p45 と Nrf2 は *Nqo1* という共通の標的遺伝子を競合的に制御し、通常は p45 が Nrf2 による強力な遺伝子発現を相対的に抑制することで、細胞内の活性酸素種の蓄積を促進していると結論づけた (図7)。

8. 巨核球の成熟における酸化ストレスの意義

それでは、巨核球が細胞内に活性酸素種を蓄積するということは、どのような意味を持つのであろうか？ 我々は細胞内活性酸素種の蓄積が多い巨核球と少ない巨核球を、フローサイトメトリーを使用して分画して採取し、それぞれの細胞集団の遺伝子発現を調べた。その結果、活性酸素種の蓄積が多い集団では、血小板関連遺伝子群の発現が顕著に高かった。また、巨核球分化・成熟との関係を調べるため、胎児肝臓からの巨核球初代培養で、培養1日目と3日目と得られる巨核球の細胞内活性酸素種の蓄積を比較し

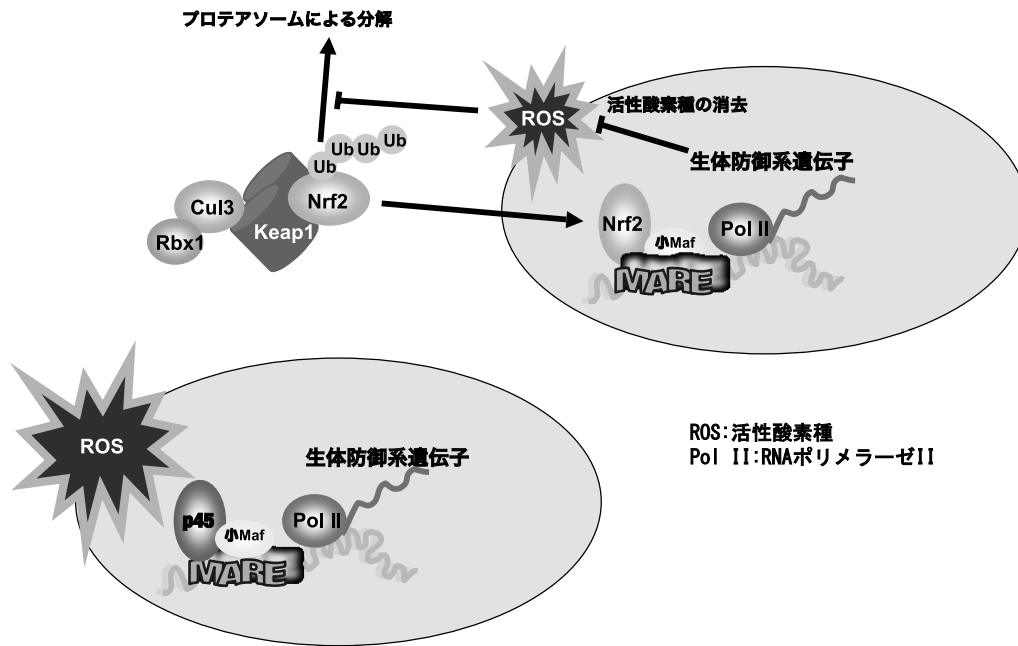


図7 Nrf2とp45による生体防御遺伝子制御システムの違い

Nrf2は酸化ストレスの存在により活性が増大し、その転写産物の機能により酸化ストレスが軽減されることから、酸化ストレスレベルを一定に維持するためのネガティブフィードバックが形成されている。一方、p45の活性は、酸化ストレスに影響されないと考えられるため、その増加を可能にすると考えられる。

たところ、培養3日目では活性酸素種の蓄積量が多い巨核球が増加しており、血小板関連遺伝子の発現も培養3日目のほうで顕著に高かった。したがって、細胞内活性酸素種の蓄積と巨核球の成熟、そして血小板関連遺伝子の発現レベルとが相関することが明らかになった。

次に、巨核球初代培養にラジカルスカベンジャーとしてN-アセチルシステインを添加したところ、血小板関連遺伝子の発現レベルがコントロールの細胞に比べて低下した。このことから、巨核球における血小板関連遺伝子の発現上昇に対して、酸化ストレスは促進的に作用することが示唆された。しかし、酸化ストレスの下流で機能し、遺伝子発現の促進をもたらすシグナル伝達系についてはまだ解明されていない。

最近、15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J_2 が巨核球内の活性酸素種のレベルを上昇させ、それを介して胞体突起形成を促進するという報告がなされた³¹⁾。そのほかに、ニコチン酸アミドが巨核球のDNAプロロイディーの増加と胞体突起形成を促進することも報告されている³²⁾。巨核球が骨髓静脈洞の壁に接しつつ分化成熟をとげることを考慮すれば、巨核球は流血中の様々な生理活性物質を敏感に感知できる環境に存在しているということになる。巨核球がこれらの生体内環境中の物質を感知して、血小板形成に何らかの変化をもたらすことがあるのか、興味をもたれるところである。過酸化脂質など酸化ストレスを与える物質への曝露により、巨核球における血小板関連因子の発現が上昇し、活

性化ポテンシャルの高い血小板が産生されるのかもしれない。また、活性酸素種依存的な胞体突起形成の促進は、トロンボポエチン非依存的に、血小板産生が促進される可能性を示唆するものである。

糖尿病、高コレステロール血症、高血圧、喫煙、高ホモシスチン血症などにおいて、血小板の凝集能の亢進が報告されている³³⁾。特に糖尿病では、血小板の産生と破壊がともに亢進していることが示唆されている³⁴⁾。これらの現象は、基本的には血小板の二次的な変化によるものと理解されており、血小板自身の性質の変化によるのかどうかは、まだ議論のあるところである。しかし、血小板自身の質的違いが、二次的な変化を増幅するということもありうるかもしれない。すなわち、巨核球の分化成熟環境が血小板産生にどのような影響を与えるのかという点について、今後検討する必要がある。

9. 巨核球におけるNrf2の役割

成熟巨核球において、Nrf2はp45によりその機能を抑制されているため、Nrf2欠損マウスの胎児肝臓から培養した巨核球では特に異常を認めない。しかし、胎児肝臓から得られる巨核球数が、野生型の半分程度に減少していた。我々は、Nrf2による細胞内酸化ストレスの除去は、幼若な巨核球の増殖を促進しているかもしれないと予想し、Nrf2が恒常的に活性化されたKeap1欠損マウスの巨核球初代培養を調べた。その結果、初代培養から得られる

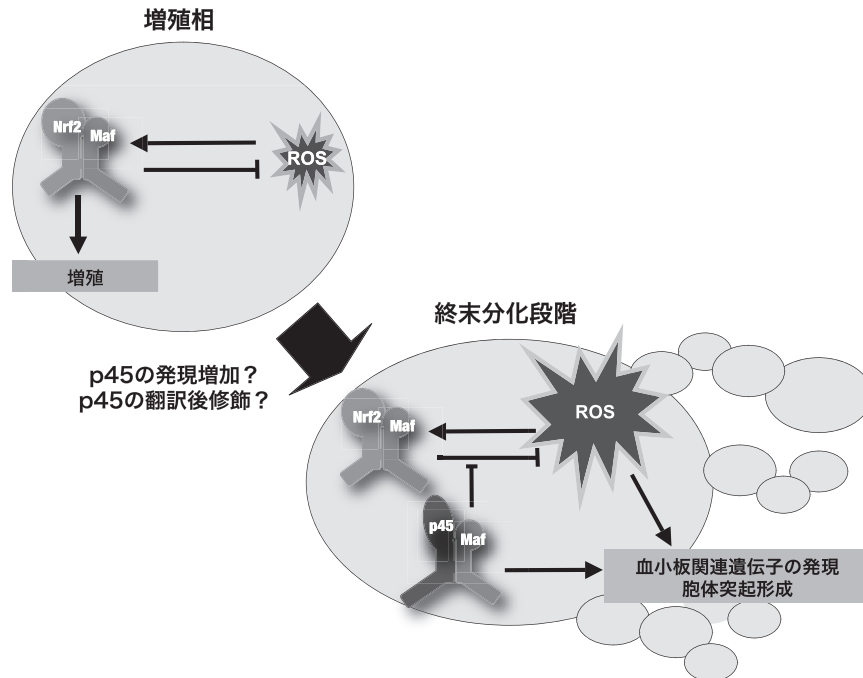


図8 巨核球分化における二つのフェーズ

増殖相においては、Nrf2が機能して、酸化ストレスレベルを低く維持して、細胞の生存と増殖を促進している。終末分化段階では、p45が機能して、酸化が蓄積しやすい環境を実現していると考えられる。酸化ストレスの増加は、p45による血小板関連因子の遺伝子発現に対して促進的に作用する。

巨核球の割合が2倍程度に増加していた。また、DNA含有量を調べたところ、DNAプロロイディーが2nと4nの間である細胞周期S期の巨核球の割合が、やはり2倍程度に増加していた。そして、Keap1欠損巨核球では細胞内の活性酸素種レベルが低下しており、血小板関連遺伝子の発現も低下していた。これは若い巨核球の割合の増加を反映するものと解釈できる。以上の結果から、Nrf2は幼若な巨核球の増殖を促進する働きがあるものと考えられる。これは、Nrf2ががん遺伝子として細胞の増殖と生存を支持するという最近の報告^{35, 36)}に矛盾しない。

Nrf2は細胞内の酸化ストレスにより活性化されて遺伝子発現を強力に誘導し、その結果発現する遺伝子群の作用により酸化ストレスの消去能が増大し、細胞内の酸化ストレスは一定の水準に保たれる、というネガティブフィードバックを形成している。これは、細胞が一定の細胞内環境を保ちつつ機能を維持する、あるいは増殖する場合に有利なシステムである。一方、p45は酸化ストレスの有無に関わらず、一定レベルの遺伝子発現を維持することで細胞内の酸化ストレスの増大を許し、その結果、巨核球の終末分化に適した細胞内環境へと移行させることが可能であると考えられる(図8)。

10. おわりに

成熟巨核球はNrf2に代えてp45を用いることで、酸化

ストレスを利用しやすい環境を実現している。細胞内活性酸素種の増加は、血小板の機能を支える血小板関連因子群の発現を亢進させ、血小板形成を促進することが示唆されている。糖尿病や高コレステロール血症で認められる血小板の凝集能の亢進が、血小板が形成された後のイベントだけで説明されるのか、あるいは巨核球から血小板が形成される時点からのイベントも関係するのかは、まだ不明である。しかしながら、巨核球が骨髄において血液中の過酸化脂質などの影響を受けやすい場に分布していることを考慮すると、酸化ストレスに曝された巨核球からは、血小板関連因子を多く有する血小板が産生され、活性化されやすい、あるいはひとたび活性化された場合に、より多くの生理活性物質を放出する、ということも起こりうると推測している。

巨核球は細胞の増殖と生存のフェーズにおいてNrf2を利用し、活性酸素種を蓄積して胞体突起形成を経て血小板形成に至るという細胞内環境のダイナミックな変化が必要なフェーズにおいてはp45を利用している(図8)。この二つのフェーズの移行のメカニズムについてまだ詳細は不明であるが、単純な仮説としては、分化にともなうp45の発現増加により、Nrf2に対する競合的抑制が可能になるものと考えられる。あるいは、p45への修飾などによる質的な転写活性化能の増強があるかもしれない。以前に、MAPキナーゼ、あるいはプロテインキナーゼAの活性化

によるリン酸化カスケードの下流において、p45の転写活性化能が増強されるという報告がなされている^{37,38)}。Nrf2からp45へのCNC群因子のスイッチング(CNC switching)が、巨核球分化における酸化ストレス応答様式を変化させ、増殖から終末分化への相変換をもたらし、血小板産生を促すと考えられる。

文 献

- Iannacone, M., Sitia, G., Isogawa, M., Marchese, P., Catro, M. G., Lowenstein, P.R., Chisari, F.V., Ruggeri, Z.M., & Guidotti, L.G. (2005) *Nat. Med.*, **11**, 1167-1169.
- Lang, P.A., Contaldo, C., Georgiev, P., Mohammad, E.-B., Recher, M., Kurrer, M., Cervantes-Barragan, L., Ludewig, B., Calzascia, T., Bolinger, B., Meckler, D., Odermatt, B., Bader, M., Graf, R., Clavien, P.-A., Hegazy, A.N., Lohning, M., Harris, N.L., Ohashi, P.S., Hengartner, H., Zinkernagel, R.M., & Lang, K.S. (2008) *Nat. Med.*, **14**, 756-761.
- Elzey, B.D., Tian, J., Jensen, R.J., Swanson, A.K., Lees, J.R., Lentz, S.R., Stein, C.S., Nieswandt, B., Wang, Y., Davidson, B.L., & Ratliff, T.L. (2003) *Immunity*, **19**, 9-19.
- Camerer, E., Qazi, A.A., Duong, D.N., Cornelissen, I., Advincula, R., & Coughlin, S.R. (2004) *Blood*, **104**, 397-401.
- Lesurtel, M., Graf, R., Aleil, B., Walther, D.J., Tian, Y., Jochum, W., Gachet, C., Bader, M., & Clavien, P.-A. (2006) *Science*, **312**, 104-107.
- Denis, M.M., Tolley, N.D., Bunting, M., Schwertz, H., Jiang, H., Lindemann, S., Yost, C.C., Rubner, F.J., Albertine, K.H., Swoboda, K.J., Fratto, C.M., Tolley, E., Kraiss, L.W., McIntyre, T.M., Zimmerman, G.A., & Weyrich, A.S. (2005) *Cell*, **122**, 379-391.
- Clarke, M.C., Savill, J., Jones, D.B., Noble, B.S., & Brown, S. B. (2003) *J. Cell Biol.*, **160**, 577-587.
- Kaushansky, K. (2008) *Blood*, **111**, 981-986.
- Huo, Y., Schober, A., Forlow, B., Smith, D.F., Hyman, M.C., Jung, S., Littman, D.R., Weber, C., & Ley, K. (2003) *Nat. Med.*, **9**, 61-67.
- Kaper, L.H., Boussouar, F., Ney, P.A., Jackson, C.W., Rehg, J. J., van Deursen, M., & Brindle, P.K. (2002) *Nature*, **419**, 738-743.
- Emambokus, N., Vegiopolus, A., Harman, B., Jenkinson, E., Anderson, G., & Frampton, J. (2003) *EMBO J.*, **22**, 4478-4488.
- Mukai, H.Y., Motohashi, H., Ohneda, O., Suzuki, N., Nagano, M., & Yamamoto, M. (2006) *Mol. Cell Biol.*, **26**, 7953-7965.
- Shivdasani, R.A., Fujiwara, Y., McDevitt, M.A., & Orkin, S.H. (1997) *EMBO J.*, **16**, 3965-3973.
- Ichikawa, M., Asai, T., Saito, T., Seo, S., Yamazaki, I., Yamagata, T., Mitani, K., Chiba, S., Ogawa, S., Kurokawa, M., & Hirai, H. (2004) *Nat. Med.*, **10**, 299-304.
- Hart, A., Melet, F., Grossfeld, P., Chien, K., Jones, C., Tunnicliffe, A., Favier, R., & Bernstein, A. (2000) *Immunity*, **13**, 167-177.
- Shivdasani, R.A., Rosenblatt, M.F., Zucker-Franklin, D., Jackson, C.W., Hunt, P., Saris, C.J., & Orkin, S.H. (1995) *Cell*, **81**, 695-704.
- Shimizu, R., Ohneda, K., Engel, J.D., Trainor, C.D., & Yamamoto, M. (2004) *Blood*, **103**, 2560-2567.
- Mucenski, M.L., McLain, K., Kier, A.B., Swederlow, S.H., Schreiner, C.M., Miller, T.A., Piertryga, D.W., Scott, W.J. Jr., & Potter, S.S. (1991) *Cell*, **65**, 677-689.
- Lu, J., Guo, S., Ebert, B.L., Zhang, H., Peng, X., Bosco, J., Pretz, J., Schlanger, R., Wang, J.Y., Mak, R.H., Dombkowski, D.M., Preffer, F.I., Scadden, D.T., & Golub, T.R. (2008) *Dev. Cell*, **14**, 843-853.
- Mostafa, S.S., Miller, W.M., & Paputsakis, E.T. (2000) *Br. J. Haematol.*, **111**, 879-889.
- Junt, T., Schulze, H., Chen, Z., Massberg, S., Goerge, T., Krueger, A., Wagner, D.D., Graf, T., Italiano, J.E. Jr., Shivdasani, R.A., & von Andrian, U.H. (2007) *Science*, **317**, 1767-1770.
- Zucker-Franklin, D. & Philipp, C.S. (2000) *Am. J. Pathol.*, **157**, 69-74.
- Motohashi, H., O'Connor, T., Katsuo, F., Engel, J.D., & Yamamoto, M. (2002) *Gene*, **294**, 1-12.
- Sun, J., Hoshino, H., Takaku, K., Nakajima, O., Muto, A., Suzuki, H., Tashiro, S., Takahashi, S., Shibahara, S., Alam, J., Taketo, M.M., Yamamoto, M., & Igarashi, K. (2002) *EMBO J.*, **21**, 5216-5224.
- Muto, A., Tashiro, S., Nakajima, O., Hoshino, H., Takahashi, S., Sakoda, E., Ikebe, D., Yamamoto, M., & Igarashi, K. (2004) *Nature*, **429**, 566-571.
- Shavit, J.A., Motohashi, H., Onodera, K., Akasaka, J., Yamamoto, M., & Engel, J.D. (1998) *Genes Dev.*, **12**, 2164-2174.
- Onodera, K., Shavit, J.A., Motohashi, H., Yamamoto, M., & Engel, J.D. (2000) *EMBO J.*, **19**, 1335-1345.
- Itoh, K., Chiba, T., Takahashi, S., Ishii, T., Igarashi, K., Katoh, Y., Oyake, T., Hayashi, N., Satoh, K., Hatakeyama, I., Yamamoto, M., & Nabeshima, Y. (1997) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **236**, 4184-4193.
- Kobayashi, A., Kang, M.I., Okawa, H., Ohtsui, M., Zenke, Y., Chiba, T., Igarashi, K., & Yamamoto, M. (2004) *Mol. Cell Biol.*, **24**, 7130-7139.
- Wakabayashi, N., Itoh, K., Wakabayashi, J., Motohashi, H., Noda, S., Takahashi, S., Imakado, S., Kotsuji, T., Otsuka, F., Roop, D.R., Harada, T., Engel, J.D., & Yamamoto, M. (2003) *Nat. Genet.*, **35**, 238-245.
- O'Brien, J.J., Spinelli, S.L., Tober, J., Blumberg, N., Francis, C.W., Taubman, M.B., Palis, J., Seweryniak, K.E., Gertz, J.M., & Phipps, R.P. (2008) *Blood*, **112**, 4051-4060.
- Giammona, L.M., Fuhrken, P.G., Papoutsakis, E.T., & Miller, W.M. (2006) *Br. J. Haematol.*, **135**, 554-566.
- Willoughby, S., Holmes, A., & Loscalzo, J. (2002) *Eur. J. Cardiovasc. Nursing*, **1**, 273-288.
- Vinik, A.I., Nolan, R., Erbas, T., Pittenger, G.L., & Park, T.S. (2001) *Diabetes Care*, **24**, 1476-1485.
- Padmanabhan, B., Tong, K.I., Ohta, T., Nakamura, Y., Scharlock, M., Ohtsui, M., Kang, M.I., Kobayashi, A., Yokoyama, S., & Yamamoto, M. (2006) *Mol. Cell*, **21**, 689-700.
- Shibata, T., Ohta, T., Tong, K.I., Kokubu, A., Odogawa, R., Tsuta, K., Asamura, H., Yamamoto, M., & Hirohashi, S. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 13568-13573.
- Casteel, D., Suhasini, M., Gudi, T., Naima, R., & Pilz, R.B. (1998) *Blood*, **91**, 3193-3201.
- Nagai, T., Igarashi, K., Akasaka, J., Furuyama, K., Fujita, H., Hayashi, N., Yamamoto, M., & Sassa, S. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 5358-5365.