



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Essential roles of cholesterol-binding membrane protein TSP02 in maturation and proliferation of erythroblasts in mice [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Benjaporn, KIATPAKDEE
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第14273号
Issue Date	2020-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/79701
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Benjaporn_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：Benjaporn Kiatpakdee

主査 教 授 稲 葉 睦

副査 教 授 木 村 和 弘

審査委員 副査 教 授 滝 口 満 喜

副査 准教授 市 居 修

副査 准教授 高 田 健 介

学位論文題名

Essential roles of cholesterol-binding membrane protein TSPO2 in maturation and proliferation of erythroblasts in mice

（マウス赤芽球の成熟と増殖におけるコレステロール結合蛋白質 TSPO2 の役割）

赤芽球系造血は赤芽球前駆細胞から十分な数の成熟赤血球を生産する生命維持に不可欠の過程である。形態で判別できる前赤芽球以降の成熟・増殖過程は赤芽球系最終分化と呼ばれ、ヘモグロビン合成、核の濃縮、脱核、細胞膜の再構成など、その間に生じる様々な形態変化や生化学的変化の仕組みが近年明らかにされている。しかし、赤芽球の成熟と増殖の制御に携わる要因や仕組みには依然として不明

が多い。

犬には未成熟な表現型の HK（高 K⁺濃度）型赤血球をもつ個体が存在する。この HK 型形質が TSP02 遺伝子（*TSP02*）の変異に起因すること、ならびに HK 型犬の骨髓赤芽球造血では後期赤芽球に形態異常が生じることが先に判明した。この知見は、コレステロール結合膜内在性タンパク質である TSP02 が赤芽球造血に何らかの役割をもつことを示している。本研究では、この TSP02 が赤芽球造血のどの段階で、どのような役割を果たすかを明らかにすることを目的とし、*in vivo* のモデルとしてマウス個体の骨髓赤芽球系細胞を、また *in vitro* のモデルとしてマウス ES 細胞由来赤芽球前駆細胞（MEDEP 細胞）を用い、それぞれの *Tspo2* をノックアウトして、その赤芽球系最終分化に対する影響を検討した。

Tspo2 ノックアウト（*Tspo2*^{-/-}）マウスの骨髓では、好塩基性赤芽球～正染性赤芽球に細胞質分裂異常による二核、あるいは多核の赤芽球の増加と脱核時の核サイズの増大が生じ、末梢血では軽度の代償性貧血が観察された。これらの異常は軽度ながら *Tspo2*^{+/-} マウスの骨髓でも認められ、TSP02 の発現低下は優性の影響をもつと考えられた。末梢血赤血球では Na,K-ATPase 含量の増加が見られ、犬の HK 型赤血球と同様、脱核後も幼弱な赤血球の性質を維持することが示された。

Tspo2^{-/-} MEDEP 細胞は、その自己複製に際して G₂/M 期での細胞周期停止とアポトーシスを伴う細胞質分裂異常と形態異常を呈し、細胞増殖は対照 MEDEP 細胞に比べて著しく低下していた。加えて *Tspo2*^{-/-} MEDEP 細胞では細胞内の非エステル型コレステロール、エステル型コレステロールがともに顕著に減少しており、

Tspo2 の破壊が赤芽球にコレステロール欠乏を生じることが示唆された。エリスロポエチンで赤芽球系分化を誘導した場合、*Tspo2*^{-/-}MEDEP 細胞ではアポトーシスによる細胞死が顕著で細胞増殖は対照細胞の約 50%に止まった。さらにヘモグロビン合成、ならびに成熟マーカー分子である CD44、CD71 と TER119 の発現動態に明確な遅滞が認められた。また、脱核に至るまでの過程で、細胞分裂回数は正常細胞と同等でありながら細胞周期の進行が遅れることを明らかにした。

以上のように、本学位論文研究は *Tspo2*^{-/-}マウスと *Tspo2*^{-/-}MEDEP 細胞がともに HK 型犬と同様に後期赤芽球の成熟と増殖の過程に異常を生じて未成熟な赤血球の生成につながることで、それが後期赤芽球における細胞質分裂と細胞周期の障害、ならびに成熟に伴う諸過程の遅れによることを明らかにした。これらの知見は、正常な赤芽球最終分化過程に TSP02 の機能が不可欠であることを明確に示すものである。造血が盛んなヒト慢性貧血患者に低コレステロール血症が頻発するなど、赤芽球造血におけるコレステロール供給の必然が指摘されているが、その具体は不明である。本研究では、上記の知見を踏まえ、TSP02 という膜蛋白質が、おそらくはコレステロールの細胞膜への供給を介して後期赤芽球の成熟と増殖を協調的、効果的に進行させるという仕組みを提示している。これは *Tspo2* ノックアウトによる具体的な赤芽球病態とあわせ、赤芽球系最終分化の分子機作の理解に新しい視点を拓く大きな貢献といえる。よって審査委員一同は、上記学位論文提出者 Benjaporn Kiatpakdee 氏の学位論文が北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。