

2015
July
特別号

Newsletter

自治医科大学 地域医療オープンラボ

生体二光子イメージングにより新たな血小板産生過程を明らかに ～インターロイキン1アルファにより制御される巨核球破裂型造血～

分子病態治療研究センター 分子病態研究部の西村智教授らは、京都大学 iPS 細胞研究所の江藤浩之教授との共同研究で、生体二光子イメージングにより新たな血小板産生過程を明らかにしました。その研究成果が Journal of Cell Biology 誌に原著論文として採択されましたので、西村教授に研究の意義と経緯を伺いました。

Q1. なぜ血小板数はいつもほぼ一定に保たれているのでしょうか？

その答えは必ずしも明らかではありません。

末梢血中の血小板数は厳密に制御されており、生理的にはほぼ変動せず一定に保たれています。一方、炎症時には急激な一過性の血小板数増加が認められ、血小板造血が促進されているとも考えられています。では、血小板はどのように骨髓巨核球からつくられ、造血はどのように制御されているのでしょうか。そして、どのように大量の血小板をつくりつづけているのでしょうか。巨核球からの血小板造血に関しては非常に長い議論があります。古典的に用いられている実験系である培養胎児巨核球を観察していると、非常に長い足をのぼしてその先端から血小板が放出される「proplatelet」という細胞形態が存在します。培養巨核球の観察から、多くの研究者はこの proplatelet が唯一の血小板造血の方法であると考えていました。一方、この形態で放出される血小板数には限りがあり、実際に生体維持に必要な血小板数を満たせない、という意見も存在していました。特に、炎症時の血小板の急激な増加を説明するには、本過程は不十分だったといえます。(図参照)

では、血小板の比較的短い寿命にもかかわらず、血小板が生理的に維持され、厳密に制御されるためには何が必要でしょうか。より効率的な血小板放出の過程があるのではないかと、また、それらを制御する因子が存在するのではないかと我々は考えました。培養巨核球細胞は非常に特殊であり生体を十分に再現していない可能性が高く、「生体で」血小板造血を評価する必要がある事は自明です。そこで、生体での血小板放出を顕微鏡観察により詳細に検討しました。

Q2. 血小板をつくる過程は生体ではっきりとみることはできるのでしょうか？

骨髓の二光子イメージングにより可能になりました。そして新しい放出過程（破裂型血小板造血）があることに気がきました。

我々は、生きたマウスをみるのに特化した顕微鏡技術開発を行っています。その過程で、従来は考えられなかった解像度（時間的にも空間的にも）で骨髓を観察できるようになりました。空間解像度 300nm、高速（秒30コマ）、マルチカラー（4色）、三次元かつ時間経過を追ったイメージングは、他に例をみないものです。特に、本手法（我々は「生体二光子イメージング」とよんでいます）では、血小板のひとつひとつが巨核球から放出される様をはっきりと追うことができます。骨髓血管中を流れる血小板と、新たに放出された血小板を区別することも可能になり、巨核球からの造血を明確に捉えられました。

そして、多くの観察を重ねるうちに、確かに proplatelet という造血過程は生体でも存在するものの、放出される血小板の時間あたりの数は非常に少なく、炎症時には別の過程が存在していると考えました。そして、実際に、新たな血小板産生の過程があることに気がきました。「巨核球が破裂して血小板を短時間にかつ大量につくる」「破裂型血小板造血」であり、我々は「Rupture」と名付けています。図には、二つの造血過程を生体および培養細胞でおみせしています。生体画像では、緑色が巨核球細胞と放出される血小板、赤が血流、青が核染色と骨梁です。実際には画像は三次元かつリアルタイムで記録されていますが、全部をお伝えすることが紙面では不可能なのが残念

です。定常状態では必ずしも多くない破裂型造血ですが、炎症時、あるいは、急激に血小板を除去した後は、一過性に増加していることがわかりました。生体での急速な血小板要求に対応する主要な血小板産生過程と考えられます。

Q3. では、どのようにしてこの破裂型造血は誘導されるのでしょうか？

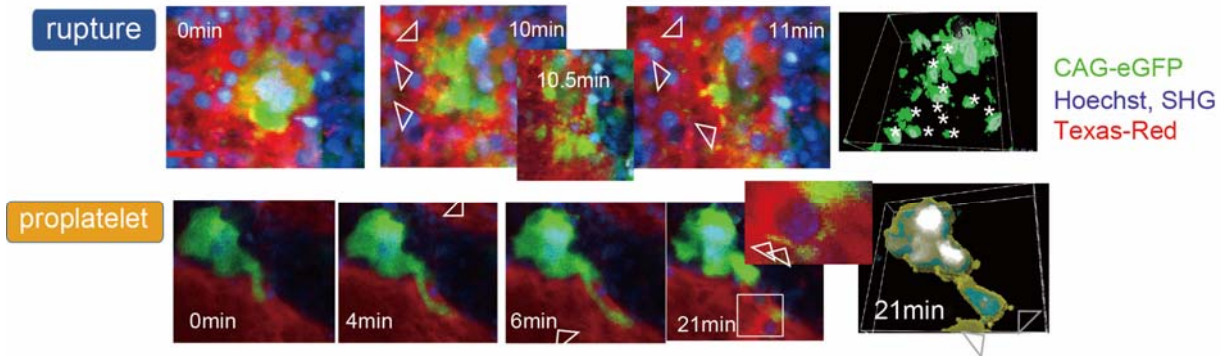
炎症性サイトカイン、特にインターロイキン1アルファが重要のようです

次の疑問はどのようにしてこの破裂が生じるか、でしょう。つまり、制御機構が知りたくなります。そこで、血小板を誘導した条件から多くの液性因子をスクリーニングし、最終的に培養巨核球を破裂させる一つの因子を同定しました。炎症性サイトカインとして知られるインターロイキン1アルファであり、培養巨核球に加えて、生体レベルでも巨核球を破裂型造血に導くことが明らかになっています。詳しい、分子メカニズムについては、シエマをごらんください。インターロイキン1アルファは、微小管バランスを変化させ、細胞膜の不安定性を高めることで、巨核球を破裂に導きます。典型的なアポトーシスとは異なった細胞過程ですが、Caspaseの活性化を伴っているのが特徴です。

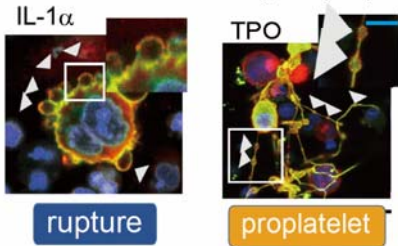
一般的な固定概念では、「骨のなかの血小板一個一個が見えるわけがない」のでしょう。しかし、進歩した光学技術を積極的に用いることで、世界にさきがけて骨髄中の造血過程を単一血小板レベルで観察することができました。その結果、いままで議論のあった血小板放出に関し、proplateletとは違うあらたな破裂型造血が存在していること、炎症時などの急性造血に用いられていること、制御にはインターロイキン1アルファが重要であることを明らかにしました。長い血小板放出に関する議論に対して明確な答えを導き出せたと確信しています。

さらに、バイオイメージングからはじまり最終的には分子細胞生物学につながる、研究のありかたの新しい一つの形を呈示できたのではないかと思います。今後は、血小板輸血に代わる新たな治療法のさきがけとなることも期待しています。

in vivo two photon visualization of bone marrow megakaryocytes



in vitro fetal liver megakaryocyte



identification of new type thrombopoiesis: RUPTURE

