

Title	Age-dependent amelioration of hypoplastic anemia in Ws/Ws rats with a small deletion at the kinase domain of c-kit
Author(s)	森本, 將弘
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/39037">http://hdl.handle.net/11094/39037</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	もりもとまさひろ 森本將弘
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 11775 号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科病理系専攻
学位論文名	Age-dependent amelioration of hypoplastic anemia in <u>Ws/Ws</u> rats with a small deletion at the kinase domain of c-kit (c-kit 遺伝子に小欠失を持つ <u>Ws/Ws</u> ラットにおける年令依存性貧血改善機構の解析)
論文審査委員	(主査) 教授 北村 幸彦  (副査) 教授 西宗 義武 教授 青笹 克之

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

我々はラットの毛色の変化を引き起こす Ws (White spotting) 遺伝子座を発見し、Ws 遺伝子座が c-kit レセプター・チロシンキナーゼをコードしていることを示した。Ws 突然変異遺伝子がコードする c-kit では、チロシンキナーゼ領域における4アミノ酸の欠失のために、チロシンキナーゼ活性が著明に低下する。Ws 突然変異遺伝子がホモになった Ws/Ws ラットは、メラノサイトとマスト細胞を欠損し、哺乳期では高度の貧血を示すが、睾丸でも卵巣でも生殖細胞はほぼ正常に分化する。さらにマウスで c-kit レセプター・チロシンキナーゼをコードする W 遺伝子座の突然変異遺伝子 W<sup>v</sup> がホモになった W<sup>v</sup>/W<sup>v</sup> マウスでは哺乳期から終生にわたり低形成貧血が持続するが、Ws/Ws ラットでは離乳後、著明な貧血の改善が起こる。本研究の目的は Ws/Ws ラットの貧血が年令依存的に改善する機構を調べることである。

#### 【方法】

Spleen colony-forming unit (CFU-S) の測定のためのレシピエントには6週令の正常対照 (+/+ ) ラットを用い9.0Gyの放射線照射を行った後、骨髓細胞を静脈内注射した。骨髓細胞移植後12日目にラットを殺して、脾臓を摘出し、Tellysenczky 液で固定後脾表面のコロニー数を算定するとともに、脾の最大縦断面の組織切片を作製し、その面で見られるコロニー数を算定した。Colony-forming unit erythroid (CFU-E), Burst-forming unit-erythroid (BFU-E) は通常の方法で測定した。エリスロポイエチン (EPO) 濃度は EPO radioimmunoassay キットを用いた。このキットはリコンビナント・ヒト EPO (rhEPO) でウサギを免疫した抗体を用いている。ラットに注射するための EPO は rhEPO を用いた。

#### 【結果】

Ws/Ws ラットの貧血は年令とともに改善した。網状赤血球は Ws/Ws ラットの方が +/+ ラットより常に多かったが、年令とともに減少した。Ws/Ws ラットでは CFU-S は貧血の改善にかかわらず出現せず、Ws/Ws ラットの貧血改善は CFU-S レベルの変化とは考えられなかった。また骨髓中の BFU-E の濃度にも変化はなく、BFU-E の増加の結果貧血が改善するわけでもなかった。CFU-E については、貧血の改善に一致して増加が見られ、Ws/Ws ラット骨髓中の CFU-E の濃度は +/+ ラットの骨髓中 CFU-E 濃度の3倍にまで上昇した。この CFU-E 濃度の上昇は血漿中の EPO 濃度の上昇により、もたらされると考えられた。

Ws/Ws ラットの貧血は完全には改善しないが、rhEPO の注射により、完全に治癒せしめることができた。

#### 【総括】

マウスの W<sup>v</sup> 突然変異遺伝子とラットの Ws 突然変異遺伝子は同程度に *c-kit* レセプター・チロシンキナーゼの活性を減弱させるが、細胞種により影響が異なる。マスト細胞欠損の程度は Ws/Ws ラットが強く、赤血球と生殖細胞への影響は W<sup>v</sup>/W<sup>v</sup> マウスの方が深刻である。

Ws/Ws ラットで貧血が改善するのは、ラットではマウスに比べ赤血球寿命が長いために、CFU-E の活動によって生産された赤血球が蓄積されやすく、その結果として貧血が改善し、血漿中の EPO 濃度を下げるため、CFU-E 表面の EPO レセプターの down regulation がおこらないためと考えられる。一方マウスでは EPO レセプターの down regulation がおこってしまい、高濃度の EPO に対しても CFU-E の反応が続かなくなるためと考えられた。

Ws/Ws ラットはマスト細胞・好塩基球の研究の材料として有用であるばかりでなく、低形成貧血のモデルとしても有用であると考えられた。

#### 論文審査の結果の要旨

ラットの Ws 突然変異遺伝子は *c-kit* レセプター・チロシンキナーゼに12塩基の欠失を持つ。ホモの Ws/Ws ラットはメラノサイト、マスト細胞の欠損、及び貧血を示す。マウスの *c-kit* (*W*) 遺伝子座に2個の突然変異遺伝子を持つ W<sup>v</sup>/W<sup>v</sup> マウスは成獣においても重篤な貧血を示すが、Ws/Ws ラットの貧血は加齢に伴って改善する。今回、森本将弘君は Ws/Ws ラットの年齢依存性の貧血改善の機構を検討した。Ws/Ws ラットの骨髓細胞は放射線照射を行ったラットの脾臓にコロニーを形成しなかった。また Ws/Ws ラットの骨髓での前期赤芽球前駆細胞 (BFU-E) の濃度は正常+/+と差はなかった。つまり Ws/Ws ラットの骨髓での赤芽球増加は後期赤芽球前駆細胞 (CFU-E) の濃度上昇の結果起こったものであった。さらに CFU-E の増加はエリスロポイエチン濃度上昇に反応したものであると考えられた。Ws/Ws ラットの成獣で見られる軽度の貧血は、比較的低濃度のエリスロポイエチン投与によって治癒させることができた。W<sup>v</sup>/W<sup>v</sup> マウスでは貧血を改善させるためには非常に高濃度のエリスロポイエチン投与が必要であるので、Ws/Ws ラットの CFU-E は W<sup>v</sup>/W<sup>v</sup> マウスの CFU-E に比較してエリスロポイエチンに対する反応性が良いと考えられた。本研究により Ws/Ws ラットの貧血改善機構の一端があきらかとなったので、これは学位論文に値するとおもわれる。