トピックス I. 赤血球の生理機能と産生調節

赤血球の生理機能と産生調節

要 旨

赤血球は、ヘモグロビンに結合した酸素を肺から末梢組織まで運搬する。赤血球が少なすぎると貧血を来し、多すぎると血栓症のリスクが増大する。このため、体内にはこれを適切な数に調節する仕組みが存在する。例えば、貧血状態では、腎臓における低酸素誘導因子 (hypoxia inducible factor : HIF) の発現、エリスロポエチン (erythropoietin : EPO) 産生、赤芽球前駆細胞におけるエリスロポエチン受容体からのシグナルを介して、赤血球造血が刺激される。この調節には多くの分子が関わっており、これらの異常は貧血や多血症を引き起こす。

[日内会誌 104 : 1367~1374, 2015]

Key words Bohr効果, 低酸素誘導因子, エリスロポエチン, エリスロポエチン受容体, 家族性赤血球増多症

川端 浩

高折 晃史

はじめに

20世紀初頭、Douglasらはコロラド州にあるロッキー山脈の名峰、パイクスピークの滞在者に異常な赤血球増多がみられることを報告した。その後、アンデス山脈などの他の高山の居住者や滞在者にも赤血球増多症がみられることが知られるようになった。例えば、アンデスのアイマラ地方では、健常男性のヘモグロビン (Hb) 値の平均が19.2 g/dlと高い¹⁾。これは、高山における少ない酸素に対する生体の適応現象と考えられる。

今日では、低酸素状態がいかにして赤血球造血を亢進させるかについて、かなり詳しい分子機構がわかっている。本稿では、低酸素誘導因子 (hypoxia inducible factor : HIF) からエリスロポエチン (erythropoietin : EPO)、EPO受容体

(EPO receptor : EPOR) を介する赤血球産生調節機構を中心に、赤血球の生理機能と産生調節、および様々な赤血球増多症の発症機序について概説する。

1. Hbによって酸素を運ぶ赤血球

赤血球は、機能が酸素の運搬に特化した細胞で、ほとんどの脊椎動物に存在する。魚類や両生類、爬虫類、鳥類の成熟赤血球は有核であるが、哺乳類では無核である。哺乳類の赤血球が核を失ったことによって、①表面積の大きい円盤状の形態をとることで効率的なガス交換が行える、②形態上の柔軟性によって毛細血管をスムーズに通過できる、③最大量のHbを包含できるといったメリットを得た。実際、ヒトの赤血球の内容物は、大部分がHbである。Hbは、4本

京都大学大学院医学研究科血液・腫瘍内科学

Anemia : From Basic Knowledge to Up-to-Date Treatment. Topics : I. Physiological function and regulated production of erythrocytes.

Hiroshi Kawabata and Akifumi Takaori-Kondo : Department of Hematology and Oncology, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Japan.

図1 酸素解離曲線のBohr効果

ヘモグロビンと酸素の親和性を示す酸素解離曲線は、pHや温度に影響されて変化する。すなわち、pHの低下や温度上昇はヘモグロビンの酸素解離曲線を右方に移動させ（破線）、逆にpHの上昇や温度低下は酸素解離曲線を左方に移動させる（点線）。

のグロビン鎖（ α と β が各2本）と、それぞれのグロビン鎖に1個ずつ結合したヘムでできている。ヘムには鉄が含まれており、これに酸素が結合することによって、赤血球は酸素を運搬することができる。赤血球が赤いのはヘムに含まれる酸化鉄の色による。

2. Hbと酸素の結合（Bohr効果）（図1）

Hbと酸素の親和性を示す酸素解離曲線は、Hbの種類によって多少異なる。胎児Hb（fetal hemoglobin：HbF）の酸素解離曲線は成人Hb（adult hemoglobin：HbA）より左方に移動しており、酸素親和性が高いため、母体から酸素を奪うのに都合がよい。生後は肺呼吸を始めるために、むしろ末梢組織に効率よく酸素を引き渡すことができるHbAの方が好都合となる。これが、生後まもなく起こるHbFからHbAへのスイッチングの理由である。

同じHbAであっても、酸素解離曲線はpHや温度に影響されて変化する（Bohr効果）。すなわち、pHの低下や温度上昇はHbの酸素解離曲線を

右方に移動させ、逆にpHの上昇や温度低下は酸素解離曲線を左方に移動させる。肺では血液中の二酸化炭素が減少するためにpHが高くなり、Hbは酸素と結合しやすくなる。一方、末梢組織では、血液中の二酸化炭素が増加してpHが酸性側に傾くために、酸素解離曲線が右方に移動してHbから酸素が解離しやすくなる²⁾。発熱時やアシドーシスでは動脈血酸素分圧 PaO_2 に比べて酸素飽和度 SpO_2 が低めに出るのはこのためである。

3. 赤血球の数は適切に調節されている

人体のあらゆる細胞は、ミトコンドリアにおける効率的なエネルギー産生、すなわち酸化的リン酸化のために酸素を必要としている。体内にはおよそ 2×10^{13} 個の赤血球が存在し、これが張り巡らされた血管網を駆け巡って、肺から体の隅々まで酸素を運搬している。赤血球が異常に減少すれば、体内の諸臓器や組織に十分な酸素が供給されず、貧血状態に陥る。逆に、赤血球が異常に増加すれば、血液は粘調となり、血栓症のリスクが増加する。このため、赤血球の数は適切に調節される必要がある。

成人の骨髄では1秒間におよそ200万個の赤血球がつくられている。赤血球は、造血幹細胞からburst-forming unit-erythroid (BFU-E)やcolony-forming unit-erythroid (CFU-E)などの赤芽球系前駆細胞、前赤芽球、赤芽球、さらに脱核を経て産生される（図2）。この間、1個のBFU-Eは、9～16回の細胞分裂によって $5 \times 10^2 \sim 10^4$ 個の成熟赤血球を作り出す³⁾。赤芽球系における最も重要な転写因子はGATA-1で、BFU-E以降の段階で高い発現がみられる。赤血球系細胞の分化・成熟過程の調節には、前期には赤血球系の造血因子であるEPO、後期にはHbの原材料になるトランスフェリン鉄が重要な役割を果たしている。

図2 造血幹細胞（HSC）から赤血球への分化過程

赤血球は、HSCから、colony-forming unit-granulocyte-macrophage-erythrocyte-megakaryocyte (CFU-GEMM), burst-forming unit-erythroid (BFU-E), CFU-erythroid (CFU-E) などを経て、前赤芽球、赤芽球、さらに脱核を経て産生される。転写因子は、HSCで重要な働きをするGATA-2から、BFU-E以降の段階で赤血球系造血に必須のGATA-1にスイッチングされる。赤血球系細胞の分化・成熟過程の調節には、前期には赤血球系の造血因子であるエリスロポエチン（EPO）とその受容体（EPOR）、後期にはヘモグロビンの原材料になるトランスフェリン鉄とその受容体（transferrin receptor 1：TfR1）が重要な役割を果たしている。TfR2は、赤芽球前駆細胞においてはEPORと複合体を形成し、EPORの細胞表面への輸送に関わるとともに、EPOに対する感受性に影響を与える。

SCF：stem cell factor, IL-3：interleukin 3, GM-CSF：granulocyte-monocyte colony stimulating factor.

4. EPOとEPO産生細胞

EPOはおおよそ34 kDの糖タンパクで、赤芽球系前駆細胞や、Hb合成を始める前の赤芽球に作用して赤血球造血を亢進させる。神経系の細胞に対しても細胞保護作用が認められている⁴⁾。血清中のEPO濃度は貧血や低酸素に応じて増加するが、特に再生不良性貧血の患者で異常な高値をとる⁵⁾。1970年代、宮家らは、大量の再生不良性貧血患者の尿を原材料として、世界で初めてヒトのEPOの純化に成功した⁶⁾。これが、その後のEPO遺伝子のクローニング、さらには遺伝子組み換えEPO製剤の臨床応用へとつながっていった⁷⁾。

成人では、主に腎臓の尿細管の間に存在する間葉系の細胞がEPOを産生する（図3）。これは、

CD73陽性で突起に富む線維芽細胞様の細胞で、その由来は神経堤細胞と考えられている^{8,9)}。肝臓や脳などでもEPOの発現が認められるが、これらの臓器におけるEPO産生能力は乏しく、腎臓でのEPO産生機能を代償できない。腎臓では尿細管で多くの酸素が必要とされており、これを毛細血管から供給される酸素で賄えない状態になると、EPO産生能を有する間葉系細胞にスイッチが入り、EPOの産生が増加する。

5. 低酸素によるEPOの発現誘導（図4）

生体には恒常性を維持する仕組みがあり、出血などで赤血球が減少する（すなわち貧血になる）と、赤血球の産生が亢進する。この反応は、低酸素で誘導されるHIFという転写因子による。

HIFには α サブユニットと β サブユニットがあり、これらが複合体を形成して標的遺伝子のエンハンサー領域に結合し、転写を促進する。 α

サブユニットにはHIF-1 α 、HIF-2 α 、HIF-3 α の3種類があり、それぞれ別の遺伝子からつくられる。このうち、腎臓におけるEPO産生に関わるのは主にHIF-2 α である¹⁰⁾。 β サブユニット (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator: ARNT) は共通で、核内に恒常的に発現している。

HIF- α の蛋白量は、細胞内の酸素状態によって大きく変化する。正常な酸素状態では、HIF α は、まずprolyl-4-hydroxylase domain (PHD) 蛋白によってプロリン残基が水酸化され、次いで von Hippel-Lindau (VHL) 蛋白とE3ユビキチンリガーゼの複合体によってユビキチン化されて、プロテアソームで分解される。このため、ほとんど蛋白発現がみられない。一方、低酸素状態ではPHD蛋白の機能が失われるため、HIF- α の分解が抑制されて蛋白発現が増加する。なお、PHD蛋白の中で、腎臓におけるEPO産生制

図3 腎臓の尿細管の間に存在するEPO産生細胞
線維芽細胞様の細胞で、低酸素状態に反応してEPOの
産生のスイッチが入る。

図4 腎臓におけるHIFを介したEPOの発現誘導

低酸素によって誘導される転写因子HIF-2 α は、正常な酸素状態ではprolyl-4-hydroxylase domain 2 (PHD2) 蛋白によってプロリン残基が水酸化され、次いで von Hippel-Lindau (VHL) 蛋白とE3ユビキチンリガーゼの複合体によってユビキチン化されて、プロテアソームで分解される。このため、ほとんど蛋白発現がみられない。一方、低酸素状態ではPHD2蛋白の機能が失われるため、HIF-2 α が分解されずに蛋白発現が増加する。HIF-2 α とaryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT) の複合体はEPO遺伝子の14 kb上流に位置する低酸素応答配列 (hypoxia response element: HRE) に結合し、EPOの転写を促進する。

図5 エリスロポエチン (EPO) とその受容体 (EPOR) からのシグナル伝達

赤芽球前駆細胞のEPORにEPOが結合すると、EPORの立体構造が変化し、結合しているJAK2が自己リン酸化する。リン酸化したJAK2はEPORのチロシン残基をリン酸化し、これがSTAT5のリン酸化を引き起こす。STAT5は核内に移行して、GATA-1などと協調して働き、BCL-XLなどのアポトーシスを抑制する遺伝子や赤血球分化に必要な遺伝子の発現を増加させる。

御に最も関わっているのはPHD2 (egl nine homolog 1 : EGLN1 と呼ばれる) である¹¹⁾。

低酸素状態では、HIF- α とARNTの複合体がEPO遺伝子のエンハンサー領域に存在する低酸素応答配列 (hypoxia response element : HRE) に結合する。腎臓においてはEPO遺伝子の5'側から14 kb上流に、肝臓においてはEPO遺伝子の3'側から4 kb下流にHREが存在し、これらにHIF複合体が結合するとEPOの転写が促進される。

6. EPORとSTAT5 (図5)

低酸素などによって腎臓から分泌されたEPOは、赤芽球前駆細胞のEPORに作用する。EPORは、ホモ二量体として細胞膜に存在している。EPOからEPORを介したシグナルには、JAK2/

STAT5を介した経路、PI3K/Aktを介した経路、MAPキナーゼを介した経路などがあるが、JAK2/STAT5を介した経路が特に重要である。EPORの細胞質側には、恒常的にJAK2が結合している。EPORにEPOが結合すると、EPORの立体構造が変化して、結合しているJAK2が自己リン酸化する。リン酸化したJAK2はEPORのチロシン残基をリン酸化し、これがSTAT5のリン酸化を引き起こす。STAT5は核内に移行して、GATA-1などと協調して転写因子として働く。EPORからのシグナルはアポトーシスを抑制し、赤血球分化に必要な遺伝子の発現を増加させる。赤白血病細胞株や、様々な腫瘍細胞においては増殖も促す。

7. HIF-EPO経路の異常による貧血と多血症

HIFからEPO、さらに赤芽球前駆細胞のEPORに至る経路は、体内の酸素状態に応じて赤血球産生を調節するために極めて重要なシステムである。このシステムの異常により、様々な貧血や多血症を生じる。

1) 腎性貧血

慢性腎臓病では、クレアチニン・クリアランスの低下にしたがって貧血が進行する。これは、腎臓において、体内の酸素需要に応じた十分なEPOが産生されないためである。慢性腎臓病においてEPOの産生が低下する機序としては、①尿細管における酸素の需要の低下、および ②EPO産生能を有する間質の細胞の減少 (筋線維芽細胞myofibroblastへの分化) が想定されている (トピックスVII参照)。

2) 低酸素による多血症

体内の酸素需要が高まれば、それだけ多くの赤血球が必要となる。心不全、肺気腫、動静脈シャント、睡眠時無呼吸症候群はいずれも腎組織の低酸素状態を引き起こし、EPOの産生を亢

表 家族性赤血球増多症

型	遺伝形式	染色体座	責任遺伝子	血清 EPO	臨床的特徴
1型	優性	19p	EPOR	低値	予後は良い
2型 (Chuvash型)	劣性	3p	VHL	高値	若年発症の心筋梗塞, 血栓症, 血管腫
3型	優性	1q	PHD2 (EGLN1)	赤血球増加にもかかわらず正常範囲	傍神経節腫の合併例あり
4型	優性	2p	HIF2A (EPAS1)	高値	血栓症の合併

これまでに報告されている4つの家族性赤血球増多症の責任遺伝子と臨床的特徴。

進させ、赤血球増多症の原因になる。冒頭で述べたように、標高の高い地域への滞在・居住者においても、大気中の酸素分圧が低いためにEPOの産生が亢進しており、赤血球数が増加する。

3) EPO産生腫瘍

EPO産生腫瘍による赤血球増多症が稀にみられる。様々ながんで報告されているが、腎臓がんや肝臓がんでの報告が多い。

4) 家族性赤血球増多症(familial erythrocytosis)(表)

これまでに4つの型が報告されている。1型はEPORの遺伝子異常によりEPOに対する反応性が亢進し、赤血球数が増加する¹²⁾。血清中のEPO濃度は低値を示す。赤血球が多いこと以外は健康上の問題はみられないようである¹³⁾。2型はロシアのボルガ川流域のトルコ系民族が住むChuvash地域に多くみられる。VHL遺伝子の変異が原因である。変異VHL蛋白はE3ユビキチンリガーゼやHIF-1と結合できないため、HIF α の分解が抑制されて、HIFの標的遺伝子であるEPO、グルコース輸送体、トランスフェリン、トランスフェリン受容体1 (transferrin receptor 1: TfR1)、VEGFなどの発現が増加している¹⁴⁾。Hb値は20 g/dlを超え、血圧が低めで、心筋梗塞や血栓症、脊髄の血管腫の頻度が高い¹⁵⁾。1型とは異なり、血清EPO濃度は増加している。

3型はPHD2 (EGLN1) 遺伝子の変異により生じる。PHD2蛋白の活性が低下しているためにHIF-2 α の分解が進まず、EPOの発現が相対的に増加し、赤血球増多症を来す¹⁶⁾。4型はHIF2A (EPAS1) 遺伝子の変異が原因で、変異HIF-2 α 蛋白が分解されないためにEPOの発現が亢進して赤血球増多症を来す¹⁷⁾。血清EPO濃度は増加する。

5) 真性多血症 (polycythemia vera)

造血幹細胞におけるJAK2遺伝子のV617F変異は、EPO受容体をはじめとした細胞増殖シグナルを恒常的に活性化して、赤血球、顆粒球、血小板の3系統の細胞の増加を引き起こす^{18~20)}。真性多血症のほか、原発性骨髄線維症や本態性血小板血症などの骨髄増殖性腫瘍でもしばしばこの変異がみられる。Budd-Chiari症候群などの深部静脈血栓症を合併しやすい。

8. ヘプシジンを介した鉄代謝と赤血球造血の相互制御 (図6)

赤血球内の蛋白の大部分はHbであり、赤血球造血の後半部分の成熟過程では、Hbの原材料になる鉄が重要な鍵を握っている。体内の鉄のおよそ3分の2は赤血球に存在し、大部分は網内系マクロファージを介してリサイクルされている。食物中から供給される鉄は1日1 mg程度である。血清中の鉄は主にトランスフェリンと結

図6 ヘプシジンを介した鉄代謝と赤血球造血の相互制御

網内系マクロファージと消化管から供給される鉄は、血清中では主にトランスフェリンと結合して存在し、トランスフェリン受容体1（transferrin receptor 1：TfR1）を介して赤芽球に取り込まれる。肝臓から分泌されるヘプシジンは、網内系からの鉄の供給と消化管からの鉄の吸収を抑制する。肝臓には鉄のセンサー（TfR2を含む複合体）があり、鉄を検知してヘプシジンを産生する（鉄の量を一定に保つためのフィードバック機構）。炎症性サイトカインのインターロイキン6（interleukin 6：IL-6）も、肝臓におけるヘプシジンの発現を増加させる。赤血球造血系はエリスロフェロンというヘプシジン抑制因子を分泌し、造血系が利用可能な鉄を増加させる。

合して存在し、TfR1を介して赤芽球に取り込まれる。体内の鉄が欠乏すると、Hbの合成が滞り、貧血を呈する（鉄欠乏性貧血、トピックスIII参照）。

網内系による鉄のリサイクルと消化管からの鉄の吸収を抑制するのが、肝臓から分泌されるヘプシジンである。ヘプシジンの産生は、肝臓に存在する鉄のセンサー（TfR2を含む複合体）によって調節されている。すなわち、鉄過剰状態ではヘプシジンを分泌して消化管からの鉄の吸収を抑制し、鉄欠乏状態ではヘプシジンの分泌を低下させて、消化管からの鉄の吸収を増加

させる。これは血清中の鉄の量を一定に保つためのフィードバック機構である。炎症性サイトカインのインターロイキン6（interleukin 6：IL-6）も肝臓におけるヘプシジンの発現を増加させ、造血系における鉄の利用障害を引き起こす（炎症性貧血）。

これとは別に、赤芽球はEPOや瀉血などの造血刺激に反応してエリスロフェロンというヘプシジン抑制因子を分泌する²¹⁾。これは、ヘプシジンの発現を低下させて、赤血球造血のために利用可能な鉄を増やす仕組みと考えられる。

おわりに

体内には赤血球数を適切に保つ仕組みが存在し、貧血は、腎臓の組織低酸素、HIFの発現、EPOの産生、赤芽球前駆細胞のEPORからJAK2/STAT5へのシグナルを介して、赤血球造血を促進する。その調節には多くの分子が関わっており、これらの異常は貧血や多血症を引き起こす。本項では触れなかったが、赤血球数は赤血球寿命の変化によっても大きく影響を受けることを忘れてはならない²²⁾。

赤血球は単に酸素を運ぶためだけの細胞と考えられてきたが、最近ではNO（一酸化窒素）産生を介した血流調節機構や、血栓形成における役割などについても多くの研究がなされている^{2, 23)}。また、誌面の都合上割愛したが、GATA-1、GATA-2をはじめとした転写因子の研究や、赤血球造血系におけるTfR2の役割など、多くの新発見がもたらされている^{24, 25)}。この分野の研究のさらなる発展を期待したい。

著者のCOI（conflicts of interest）開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文献

- 1) Beall CM, et al : Hemoglobin concentration of high-altitude Tibetans and Bolivian Aymara. *Am J Phys Anthropol* 106 : 385–400, 1998.
- 2) Jensen FB : Red blood cell ph, the Bohr effect, and other oxygenation-linked phenomena in blood O₂ and CO₂ transport. *Acta Physiol Scand* 182 : 215–227, 2004.
- 3) Hattangadi SM, et al : From stem cell to red cell : regulation of erythropoiesis at multiple levels by multiple proteins, RNAs, and chromatin modifications. *Blood* 118 : 6258–6268, 2011.
- 4) Sirén AL, et al : Erythropoietin prevents neuronal apoptosis after cerebral ischemia and metabolic stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 98 : 4044–4049, 2001.
- 5) 吉田彌太郎, 他 : 血中エリスロポエチン濃度測定の臨床的意義. *臨床血液* 34 : 895–903, 1993.
- 6) Miyake T, et al : Purification of human erythropoietin. *J Biol Chem* 252 : 5558–5564, 1977.
- 7) Lee-Huang S : Cloning and expression of human erythropoietin cDNA in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 81 : 2708–2712, 1984.
- 8) Obara N, et al : Repression via the GATA box is essential for tissue-specific erythropoietin gene expression. *Blood* 111 : 5223–5232, 2008.
- 9) Asada N, et al : Dysfunction of fibroblasts of extrarenal origin underlies renal fibrosis and renal anemia in mice. *J Clin Invest* 121 : 3981–3990, 2011.
- 10) Gruber M, et al : Acute postnatal ablation of Hif-2alpha results in anemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 104 : 2301–2306, 2007.
- 11) Minamishima YA, Kaelin WG Jr : Reactivation of hepatic EPO synthesis in mice after PHD loss. *Science* 329 : 407, 2010.
- 12) de la Chapelle A, et al : Familial erythrocytosis genetically linked to erythropoietin receptor gene. *Lancet* 341 : 82–84, 1993.
- 13) Juvonen E, et al : Autosomal dominant erythrocytosis caused by increased sensitivity to erythropoietin. *Blood* 78 : 3066–3069, 1991.
- 14) Ang SO, et al : Disruption of oxygen homeostasis underlies congenital Chuvash polycythemia. *Nat Genet* 32 : 614–621, 2002.
- 15) Sergeyeva A, et al : Congenital polycythemia in Chuvashia. *Blood* 89 : 2148–2154, 1997.
- 16) Percy MJ, et al : A family with erythrocytosis establishes a role for prolyl hydroxylase domain protein 2 in oxygen homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 103 : 654–659, 2006.
- 17) Percy MJ, et al : A gain-of-function mutation in the *HIF2a* gene in familial erythrocytosis. *N Engl J Med* 358 : 162–168, 2008.
- 18) Baxter EJ, et al : Acquired mutation of the tyrosine kinase *JAK2* in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 365 : 1054–1061, 2005.
- 19) Kralovics R, et al : A gain-of-function mutation of *JAK2* in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 352 : 1779–1790, 2005.
- 20) James C, et al : A unique clonal *JAK2* mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 434 : 1144–1148, 2005.
- 21) Kautz L, et al : Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nat Genet* 46 : 678–684, 2014.
- 22) 高桑雄一, 他 : Wonders of erythropoiesis ヒト赤血球の寿命を規定するメカニズム. *臨床血液* 55 : 643–650, 2014.
- 23) Cines DB, et al : Clot contraction : compression of erythrocytes into tightly packed polyhedra and redistribution of platelets and fibrin. *Blood* 123 : 1596–1603, 2014.
- 24) Moriguchi T, Yamamoto M : A regulatory network governing *GATA1* and *GATA2* gene transcription orchestrates erythroid lineage differentiation. *Int J Hematol* 100 : 417–424, 2014.
- 25) Nai A, et al : The second transferrin receptor regulates red blood cell production in mice. *Blood* 125 : 1170–1179, 2015.