

## 綜 説

# 造血幹細胞の増殖, 分化と造血因子

中 畑 龍 俊

信州大学医学部小児科学教室

## Proliferation and Differentiation of Hemopoietic Stem Cells and Growth Factors

Tatsutoshi NAKAHATA

Department of Pediatrics, Shinshu University School of Medicine

**Key words :** hemopoietic stem cells, differentiation, colony-stimulating factor (CSF), interleukin, clinical application

造血幹細胞, 分化, コロニー刺激因子, インターロイキン, 臨床応用

### はじめに

リンパ球など一部の細胞を除けば成熟した血球はすでに増殖能力を失い, 一定の寿命で崩壊している。この喪失を補うために骨髓では活発な造血が行われ, 恒常性が保たれている。赤血球を例にとりて考えてみても, 日々約 1,700 億個という膨大な数の赤血球が作られては崩壊している。顆粒球の turnover は赤血球よりもさらに短いことが知られており, このような膨大な血球を一生の間供給し続けるためには, 血球の源となる未分化な細胞のプールが必要であり, これが造血幹細胞と考えられる。造血幹細胞は自分より分化した細胞を産生する (differentiation) とともに自己と同じ能力を持つ細胞を複製する (self-renewal) ことによりそのプールの保ち, 一生血球を産生し続けることを可能にしている<sup>1)</sup>。現在, 赤血球, 好中球, 好酸球, 好塩基球, 血小板 (巨核球), 単球, マクロファージ, 肥満細胞, Tリンパ球, Bリンパ球, natural killer cell (NK 細胞), 破骨細胞など多くの細胞が造血幹細胞に由来することが証明されている。

造血幹細胞から各血球系への増殖, 分化の調節機構は近代生物学の中でも最も興味を持たれている分野の 1 つであり, 近年, これに関与する種々の造血因子の存在が次第に明らかにされつつある。造血因子として

はエリスロポエチン (EPO), colony stimulating factor (CSF) のほか, 各種 interleukin を含め 11 種類が現在までに見つかっており, いずれも純化, 遺伝子のクローニング, 遺伝子工学による大量の recombinant product の生産が可能となってきた。

本稿では造血幹細胞の増殖, 分化の調節機構, 造血因子について概説し, 最近注目されている造血因子の臨床応用についても触れてみたい。

### I 造血幹細胞の概要

造血幹細胞の存在を実験的に明らかにしたのは, 1961年カナダの Till と McCulloch<sup>2)</sup> により発表されたマウス脾コロニー法の成功であった。彼らは致死量放射線照射したマウスに同系健常マウス骨髓を移植すると, 8~14日後, 移植細胞数に比例して脾に赤芽球, 顆粒球, 巨核球およびこれらの細胞の混在したコロニーが形成されることを見出した。さらに, 染色体異常を有する骨髓細胞の移植により, 1つのコロニーは1つの細胞に由来することを明らかにした。形成された脾コロニーを取り出し, 別の被照射マウスに移植すると再び脾に3系統のコロニーが形成されることから, 脾にコロニーを形成する細胞は各血球系に分化する能力を持つとともに自己複製能を持つことが示され, この細胞は colony forming unit-spleen (CFU-S)

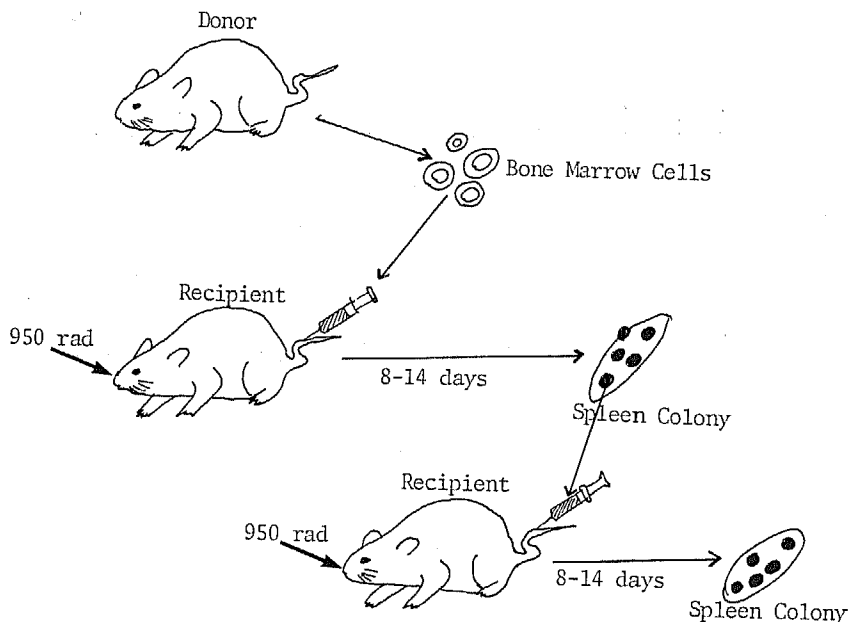


図1 Colony forming unit in spleen (CFU-S) の測定法

と呼ばれている (図1)。この CFU-S の発見はそれまで想像上の存在であった造血幹細胞の定量的アッセイを可能にし、血球分化、増殖機構の解明にとって画期的であったのみならず、種々の血液疾患の病因、病態解明への新しい方法論として大いに貢献するところとなった。

その後、骨髓細胞などを軟寒天やメチルセルロース中で後述する各種造血因子とともに培養し、コロニーを形成させることにより造血幹細胞を測定する *in vitro* の assay 法が確立された。顆粒球、マクロファージ系のコロニーを形成する細胞 CFU-C (CFU-gm, CFU-g, CFU-m)、赤芽球コロニー、バーストを形成する CFU-E, BFU-E、好酸球コロニー形成細胞 CFU-Eo、巨核球コロニー形成細胞 CFU-Meg などの培養が相次いで可能となったが、これらのコロニー形成細胞は、分化の方向がすでに決定されており、また自己複製能が低いことから造血幹細胞というよりは造血前駆細胞といえよう。さらに、好中球、好酸球、赤芽球、巨核球、マクロファージ、肥満細胞 (好塩基球) を含む混合コロニーの形成も可能となり<sup>3)</sup>、このコロニーを作る細胞は CFU-GEMM と呼ばれている<sup>4)</sup>。著者らは、マウス造血幹細胞の分化段階で CFU-GEMM よりも未分化を思われる細胞の培養に成功した<sup>5)</sup> (stem

cell colony 形成細胞: S-cell)。ヒトにおいても CFU-GEMM よりも未分化と考えられる造血幹細胞の培養が可能となった<sup>6)</sup>。

## II 造血幹細胞の自己複製と分化の調節機構

血球が一生の間、恒常的に産生し続けられるためには、造血幹細胞プールが恒常的に保たれる必要がある。この造血幹細胞の自己複製を統御している機構はいかなるものであろうか。Till ら<sup>7)</sup> は、脾コロニー中に含まれる CFU-S の数を個々のコロニーについて調べ、その頻度分布がポアソン分布には合致せず、ガンマ分布に近似していることを示した。さらに CFU-S の自己複製を “birth” 過程、分化して脾コロニー形成能を失うことを “death” 過程として、コンピューターを用いて birth-death モデルのシミュレーションを行うと、これもガンマ分布に近似した。このことから彼らは、造血幹細胞が自己複製するか、分化するかは stochastic (確立論的) な現象であると考えた。

われわれも stem cell colony 中の S-cell と CFU-GEMM の頻度分布を詳細に検討し、造血幹細胞の自己複製の stochastic branching model を提唱した<sup>8)</sup>。このように *in vivo* と *in vitro* のまったく異なる方法によってほぼ同様の結論が得られたことは、

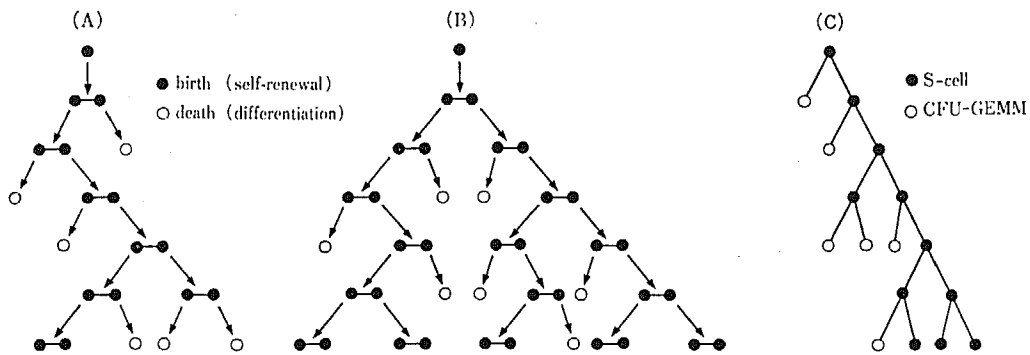


図2 造血幹細胞の自己複製と分化の stochastic model

(A), (B); Till ら<sup>7)</sup>: 6 世代経過した時の例。CFU-S は(A)では 2 個, (B)では 10 個になっている。  
(C); Nakahata ら<sup>8)</sup>: S-cell は 3 個, CFU-GEMM は 6 個になっている。

個々の造血幹細胞が自己複製するか分化するかの決定が stochastic な過程であることを強く示唆している。このモデルだと 1 つの造血幹細胞が自己複製するか分化するかは完全に確率だけの問題であり、外因的なファクターで簡単に幹細胞の数が変動することなく、一定の幹細胞プールを維持できると考えられる (図 2)。最近、T リンパ球<sup>9)</sup>や肥満細胞<sup>10)</sup>のように成熟した血球の一部は自己複製能を持つことが明らかになり、このような細胞の増殖機構も stochastic におこっていることを示す報告がみられる。

造血幹細胞から種々の血球系の終末細胞に分化していく機構についてはまだ充分に解明されておらず、種々のモデルが提唱されている。そのうちの 2 つは deterministic model といわれ骨髓微小環境 (HIM)<sup>11)</sup>や造血因子<sup>12)</sup>が造血幹細胞の分化方向を規定するとする説である。たとえば、出血などで貧血になればフィードバックで EPO 濃度が高まり、その結果、造血幹細胞の赤芽系への分化が誘導され、感染症になると顆粒球産生を刺激する造血因子 (後述する G-CSF, GM-CSF) の濃度が高まり、幹細胞の顆粒球への分化が誘導されるとする考え方である。これは一見合目的的にみえるが、赤血球や顆粒球の急激な変化に対応して造血幹細胞から各系統が誘導されるのでは時間がかかりすぎ、実際、EPO のレベルを上昇させても BFU-E が増加し、CFU-gm が減少することはない。一方、幹細胞分化とは幹細胞に内在する predetermined な形質の発現であり、幹細胞は一定の順序で血球系発現能力を失い、赤芽球系の発現能力は最後まで残るというモデルも提唱されている<sup>13)</sup>。

われわれは、メチルセルロース法で形成される混合コロニーを 1 つずつ取り出し、詳細に検討し、赤芽球と好酸球のみからなるコロニー<sup>14)</sup>、顆粒球—マクロファージ—巨核球からなるコロニー<sup>15)</sup>など、種々の血球の組合せからなる混合コロニーの存在に気づいた。このことは多分化能を持った造血幹細胞からの分化の過程はランダムに各血球系の発現能力を失っていくのではないかと想定させた。この idea を実証したのは造血幹細胞の単細胞培養法の開発であった。

Stem cell colony はマウス骨髓、脾細胞を poke-weed-mitogen 刺激脾細胞培養上清 (PWMSCM) 存在下で長期間培養することにより形成され、芽球のみからなるコロニーを replating すると構成細胞のほとんどが二次性コロニーを形成する<sup>5)</sup>。そこで、stem cell colony を構成する細胞を micromanipulator を用いて 1 個ずつ取り出し、再び PWMSCM 存在下で培養し形成されたコロニーを染色してその構成細胞について検討すると、各血球系の多彩な組合せで、個々のコロニーが構成されていることが解った<sup>16)</sup><sup>17)</sup>。現在までにわれわれの研究室で単細胞培養法によりえられた混合コロニーは、赤芽球、好中球、好酸球、マクロファージ、巨核球、肥満細胞の種々の組合せがみられ、合計 35 種類にも達している。これは 6 種類の細胞の理論的組合せ ( ${}_2C_0 + {}_2C_1 + {}_2C_2 + {}_2C_3 + {}_2C_4 + {}_2C_5 = 57$ ) の 6 割に達している。

ヒトにおいても、造血幹細胞の単細胞培養法が可能となっており<sup>18)</sup>、われわれはすでに 24 種類の混合コロニー形成に成功している<sup>19)</sup>。ヒト骨髓細胞を何ら処理することなく、播種細胞数を著減させて形成される

混合コロニーの種類も38に達しており20), これは *in vivo* にも造血幹細胞の分化が stochastic におこり, 各血球系発現能力をランダムに失うため, きわめて多種類の混合コロニー形成細胞が存在しうることを示唆している。

1 個の造血幹細胞を培養し, 2 個に分裂した時点で分離培養し, さらにそれぞれが1対の娘細胞に分裂した時点で, 再び micromanipulate し, 同一培養条件下で形成されるそれぞれのコロニーの血球系発現を調

べた21)22)。この実験により多能性造血幹細胞からの分化の過程は, ランダムに血球系発現能力を失っていくこと, 多能性造血幹細胞から直接1系統の血球系に限定された造血前駆細胞が生まれることもありうることを示された(図3)。このような造血幹細胞の娘細胞の連続的な植え換え実験はマウス21)においてもヒト22)においてもほぼ同様の結果であり, 造血幹細胞の分化の mechanism も stochastic な現象であることを強く示唆している。

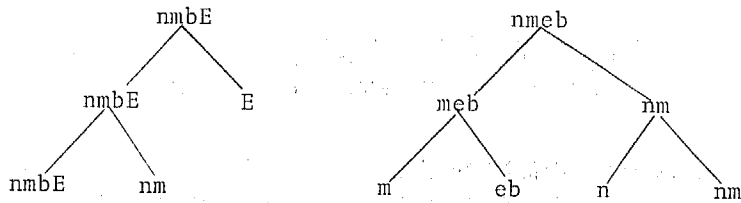


図3 ヒト造血幹細胞の連続的な植え換え実験  
n : 好中球, m : マクロファージ, e : 好酸球, b : 好塩基球, E : 赤芽球

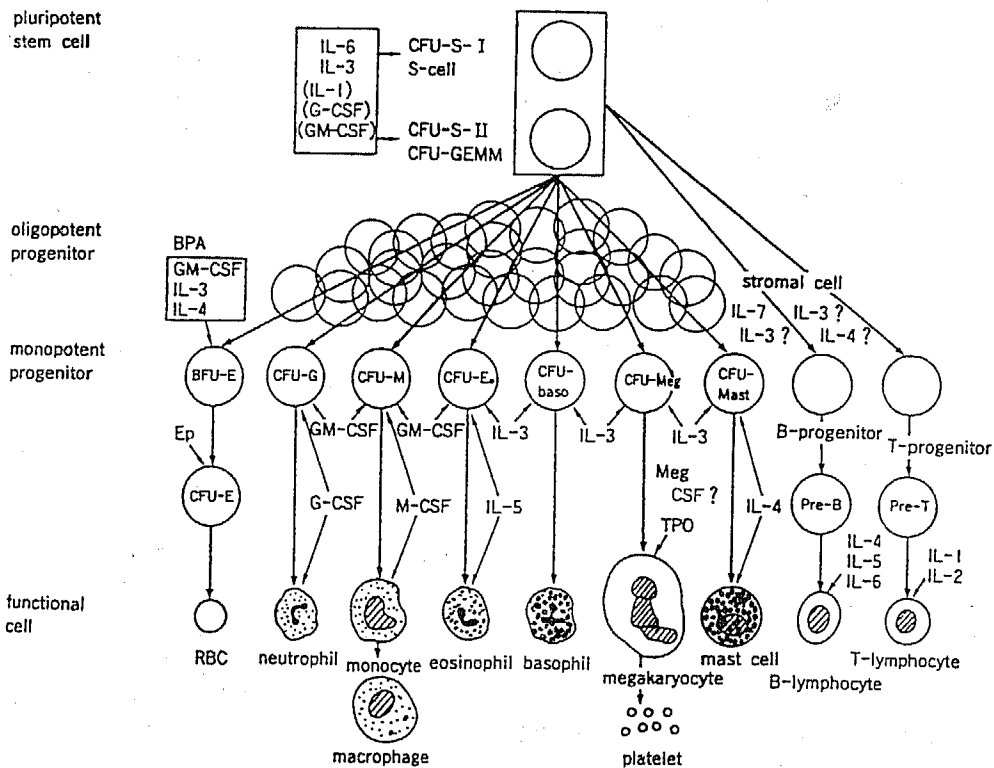


図4 造血幹細胞の分化モデル

### Ⅲ 造血因子の種類と作用

前項で述べたごとく造血幹細胞の自己複製や終末細胞までの分化の過程は stochastic に進行している可能性が高いと思われるが、細胞が増殖するためには種々の造血因子の存在が必要である。造血因子は造血幹細胞からの分化の過程を特定の血球系へ誘導する inductive factor として作用するのではなく、造血幹細胞や前駆細胞が保有する分化能を細胞増殖という形で発現可能にする permissive factor として働いていると考えることができる。

現在までに解っている造血因子としては表1に示す11種類であり、いずれも糖蛋白であり、純化され、それをコードする遺伝子がクローニングされている。最近では遺伝子工学により大量に産生されたリコンビナント標品を用いて *in vitro*, *in vivo* で、その作用の詳細な検討が可能となっている。造血幹細胞からの各血球系への分化の過程でそれぞれの造血因子のおもな作用点を図4に示した。以下各造血因子の *in vitro*, *in vivo* 造血作用について概説する。

#### A Interleukin

リンパ球の産生する液性因子はリンホカイン、単球

表1 おもな造血因子

	他 の 名 称	産 生 細 胞	作用する細胞系統
IL-1 $\alpha$	hemopoietin 1	マクロファージ 線維芽細胞	HSC, T, B, m
IL-2	TCGF	T	T, B
IL-3	HCGF, BPA, multi CSF, PSF MCGF	T 骨髄性白血病	n, m, e, HSC, mast, Meg, T?, B?
IL-4	TCGF-II BSF-1, BCGF-I MCGF-II	T	B, T, mast, HSC? m
IL-5	IgA-EF TRF, BCGF-II Eo-CSF	T	B, e, T
IL-6	HPGF BSF-2, IFN-2 26KD	T 線維芽細胞 グリア細胞	B, T, HSC?
IL-7	LP-1	Stroma Cell	Pre B
G-CSF		マクロファージ	n, HSC?
GM-CSF		T マクロファージ 線維芽細胞	n, m, e, HSC?
M-CSF	CSF-1	線維芽細胞	m
Ep		腎, 胎児肝	E, Meg?

n: 好中球, m: マクロファージ, e: 好酸球, Meg: 巨核球, mast: 肥満細胞  
T: Tリンパ球, B: Bリンパ球, HSC: 造血幹細胞, E: 赤芽球

表2 インターロイキンの種類とその性状

他 の 名 称	IL 1		IL 2		IL 3		IL 4		IL 5		IL 6		IL 7
	LAF	EP	OAF	TCGF	multi CSF, BPA, HCGF MCGF, PSF	BSF-1, BCGF-I TCGF-II MCGF-II BCDFg IgG1 誘導因子	TRF, BCGF-II Eo-CSF, BCDF $\mu$ IgA-EF, KHF	BSF-2, IFN- $\beta_2$ HPGF 26KD 蛋白	LP-1				
種	マウス	ヒト	マウス	ヒト	マウス	ヒト	マウス	ヒト	マウス	ヒト	マウス	ヒト	マウス
遺 伝 子 クローニング	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(分泌型 kD) 分子 量	(15~20) 17992	(15~20) 17500	(30) 16000	(15) 15420.5	(28) 15000	(18,23) 15000	(20) 14000	(20) 15000	(45) 12300	(40) 12840	(21) 20782.5	(25) 14900	
構成アミノ酸数 (シグナルペプ チド含)	270	271,269 ( $\alpha$ ), ( $\beta$ )	169	153	166	152	140	153	133	134	211	154	
構成アミノ酸数 (分泌型)	156	159,153 ( $\alpha$ ), ( $\beta$ )	149	133	140	133	120	129	112	112	187	129	
相 同 性	62%		63%		30%		50%		70%		42%		
おもな産生細胞	単球	マクロファージ	T細胞		T細胞 WEHI		T細胞 (肥満細胞株)		T細胞		T細胞 線維芽細胞 マクロファージ グリフ細胞		骨髄ストロ マ細胞
	線維芽細胞 グリフ細胞, 好中球 血管内皮細胞	線維芽細胞 グリフ細胞, 好中球 血管内皮細胞	T細胞		T細胞 WEHI		T細胞 (肥満細胞株)		T細胞		T細胞 線維芽細胞 マクロファージ グリフ細胞		骨髄ストロ マ細胞
作用する血液細胞	T細胞, B細胞	T細胞	T細胞		造血幹細胞		B細胞, T細胞		B細胞		B細胞		B前駆細胞
	マクロファージ NK細胞	B細胞	T細胞		T細胞, Pre B		造血前駆細胞 マクロファージ 肥満細胞		T細胞		T細胞		
染色体位置	造血幹細胞	NK細胞	NK細胞		好酸球, 肥満細胞		肥満細胞		好酸球		造血幹細胞		
	2 q	4 q	11		5 q		5 q		5 q		7		

—マクロファージの産生する液性因子はモノカインと呼ばれ、総称してサイトカインと呼ばれるようになった。サイトカインは、従来、その生物学的活性に基づいて命名されてきたため、種々の名称で呼ばれてきたが、いくつかの活性は同一の分子の作用であることが次第に明らかとなってきた。1979年、第2回リンホカインワークショップにおいて、1つの分子種によりいくつかの機能が発現することが明らかとなったサイトカインを interleukin という名称で統一し、順次、IL-1, IL-2, ……と命名していくことが提唱され、現在広く受け入れられるようになった。

現在、表2に示す7種類の分子が interleukin と呼ばれているが IL-7 は最近報告されたばかりであり<sup>23)</sup>、IL-7 として真に受け入れられるか否か検討が必要とされている。

全ての interleukin は糖蛋白であり、そのほとんどはヒト、マウスとも遺伝子がクローニングされた。いずれも約1,000塩基の mRNA から翻訳され、数カ所のN型糖鎖結合部とアミノ酸末端に疎水性アミノ酸配列を持つ1本の蛋白質である。分泌型蛋白の構成アミノ酸数は、最も多い IL-6 の184から最も少ない IL-5 の112の間にある。それぞれの interleukin について、マウスとヒトで相同性を検討すると、IL-3 以外は相同性が高く、遺伝子レベルでは70%以上の相同性が認められる。各 interleukin 間での相同性はほとんど認められないが、後述する G-CSF と IL-6 の間にはヒトにおいて25.7%の高い相同性が認められている。各 interleukin は染色体遺伝子の構造上いずれも4～5個のエクソンよりなり、アミノ酸に翻訳されるエクソン部分よりも転写開始点からその5'上流域に相同性の高い塩基配列が存在する。この領域は遺伝子発現の調節に重要なプロモーター領域と考えられ、interleukin 遺伝子の発現に共通な機序が推定されている。

Interleukin は広範な生物学的活性を有することが知られているが、本項では造血との関係のみにしぼって述べる。

## 1 IL-1

IL-1 はヒトにおいては IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  の2種類が存在し、両者はアミノ酸レベルで25%の相同性しかないが、ほとんど同様な生物活性を有しており、また、両者は同一のレセプターに結合することが報告されている。IL-1 は表2に示したような多種、多様な細胞

より産生されており、おそらく、生体の恒常性の維持に重要な役割を果たしていると考えられる。

IL-1 はきわめて広範な生物活性を有するが、そのうち造血との関係においては以下の3つの点で注目されている。

### a IL-1 による造血因子の産生

IL-1 はマクロファージ、血管内皮細胞、線維芽細胞、骨髄ストロマ細胞などに作用し、種々の造血因子の産生を高め、間接的に造血に関与していることが報告されている。特に骨髄ストロマ細胞は IL-1 刺激により G-CSF, GM-CSF, M-CSF, IL-6 を産生することから<sup>24)</sup>、*in vivo* では造血幹細胞の増殖、分化の場において、IL-1 がその調節に深く関与している可能性も示唆されている。一方、GM-CSF が逆に好中球からの IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  の産生を誘導することを mRNA レベルで証明した報告もみられ<sup>25)</sup>、各造血因子の産生に関しては複雑なネットワークの存在が想定される。

### b IL-1 の造血幹細胞に対する作用

Bartelmez と Stanley<sup>26)</sup> はヒト膀胱癌細胞株5,637の培養上清より純化した物質がマウスの未分化造血幹細胞の増殖を CSF-1 (マウス M-CSF), IL-3 と相乗的に支持することを見出し、新しい造血因子として hemopoietin 1 (H-1) と命名した。しかし、最近、この癌細胞株の培養上清中に大量に存在する IL-1 が H-1 活性の本体である可能性が示唆され、にわかに IL-1 の造血幹細胞に対する作用が注目されるようになった<sup>27)</sup>。

われわれの検討<sup>28)</sup>でも IL-1 は後述する IL-6 に比べると弱いが IL-3 の存在下で多数の芽球コロニーを誘導する作用を有しており、この作用は抗 IL-1 抗体で中和された。IL-1 はそれ自体には未分化な造血幹細胞の増殖を支持する作用はないが、いわゆる synergistic factor として働き、未分化な造血幹細胞の増殖にも関与していると考えられる。

### c IL-1 の *in vivo* における作用

マウスをモデルとした IL-1 の *in vivo* 投与の有用性が最近相次いで報告されている。Castelli ら<sup>29)</sup> はヒト IL-1 を抗癌剤投与後、放射線照射後のマウスに投与し、CFU-C の増加、骨髄、末梢白血球数の増加とともに生存率の著明な改善を報告している。また、5-fluorouracil (5-FU) 投与後のマウスにヒト IL-1, G-CSF を投与すると、両者の併用により末梢白血球数の回復期間がより短縮することが報告されている<sup>30)</sup>。このように IL-1 の臨床応用が期待される報告がみら

れるが、IL-1 は発熱物質そのものであることから、種々の副作用の問題もあり、慎重な検討が必要と思われる。

## 2 IL-2

IL-2 はT細胞を選択的に増殖させる因子として発見されたサイトカインであり、T細胞増殖因子 (TCGF) と呼ばれていた。1983年、Taniguchi ら<sup>31)</sup>により IL-2 遺伝子がクローニングされ、リコンビナント標品を用いた検討により、IL-2 は成熟T細胞の増殖のみならず、B細胞の増殖促進、未熟T細胞の分化、マクロファージの機能促進などの活性を有することが明らかとなっている。IL-2 には直接造血幹細胞に対する作用はないと考えられるが、T細胞を介する間接的な作用が報告されている。Burdach と Levitt<sup>32)</sup>は IL-2 レセプター陽性T細胞を介して IL-2 は赤芽球コロニー形成を抑制することを報告している。Minato ら<sup>33)</sup>は 5-FU 処理マウス脾細胞を IL-3 存在下で培養し得られた芽球コロニーを取り出し、マクロファージ存在下で IL-2 とともに培養することによりT細胞系列に属する large granular lymphocyte (LGL) クローンを培養することに成功している。このことは IL-2 が造血幹細胞から一部の LGL への分化に関与していることを示しており興味深い。LGL (NK細胞) は赤芽球造血に対して負の方向に調節していることを示唆する報告がみられ、この点においても IL-2 は造血に間接的に関与していると考えられる。

## 3 IL-3

マウス IL-3 の cDNA クローニングの成功から約2年経過し、1986年、ようやくヒト IL-3 の cDNA クローニングが成功した<sup>34)</sup>。ヒト IL-3 遺伝子は第5染色体長腕に存在している。5q には IL-3 のほか、GM-CSF、M-CSF、IL-5 遺伝子がクラスターを作って存在しており<sup>35)</sup>、M-CSF の受容体である癌遺伝子 *c-fms* も存在することから 5q- 症候群における MDS (骨髓異形成症候群) や白血病の発症との関係で注目されている。

### a IL-3 の *in vitro* 作用

IL-3 は multi-CSF と呼ばれるごとく、マウスにおいては多能性造血幹細胞や種々の前駆細胞に作用して、混合コロニー、芽球コロニーを含む種々のコロニー形成を支持することが解っている。ヒト IL-3 と 93% の相同性を有するギボン IL-3 を用いた検討では、IL-3 は顆粒球-マクロファージ (GM) コロニー、好酸球コロニー、巨核球コロニー、混合コロニー形成を

促進し、EPO 存在下で赤芽球バースト形成を促進することが報告されている<sup>36)</sup>。GM-CSF との作用の比較では IL-3 は GM-CSF に比し混合コロニー、芽球コロニー、巨核球コロニー、赤芽球バースト形成をより支持することが報告されている<sup>37)</sup>。しかし、Sonoda ら<sup>38)</sup>はヒト骨髓細胞よりT細胞、B細胞、マクロファージを除き、無血清下で培養すると、IL-3 のみでは少数の好酸球コロニーと芽球のクラスターしか形成されず、EPO や G-CSF のような lineage specific factor が存在しないと成熟細胞までは分化しないとしている。

IL-3 は未分化な造血幹細胞に作用し、その増殖を支持することから、造血幹細胞の増幅作用も期待されるが、この点に関しては否定的な報告が多い<sup>39)</sup>。

### b IL-3 の *in vivo* 作用

Kindler ら<sup>40)</sup>は皮下に植えた持続ポンプを用いて IL-3 を持続的に注射することにより、正常、放射線照射いづれのマウスにおいても BFU-E、CFU-gm、CFU-GEMMとも著増することを報告している。特に放射線照射マウスでその作用が著明なことから、IL-3 の臨床応用も期待される。また、GM-CSF や M-CSF と併用することにより IL-3 の投与量を減少させることができることから<sup>41)</sup>、最も有効な造血因子の組合せに関心が集まっている。すでに外国では IL-3 の臨床応用が開始されており、再生不良性貧血など多くの血液疾患に対する治療効果が期待されている。

## 4 IL-4

IL-4 は従来Bリンパ球に作用する因子として研究が進展してきたが、マウス、ヒトいづれにおいても IL-4 の cDNA がクローニングされた結果<sup>42)-44)</sup>、その作用はBリンパ球のみならず、Tリンパ球、肥満細胞、造血幹細胞などきわめて広範に及ぶことが明らかとなった。

IL-4 は休止期のB細胞に作用し、Ia 抗原の発現、細胞容積の増大をもたらし、抗 Ig 抗体による増殖刺激に対し反応しうるべく活性化する因子と考えられている。

IL-4 は IL-3 とともに肥満細胞の増殖に関与する造血因子と考えられる。われわれは、*in vitro* で肥満細胞コロニーを形成することに初めて成功し<sup>45)</sup>、さらに成熟組織肥満細胞 (CTMC) が *in vitro* で extensive に増殖できることを見出した<sup>46)47)</sup>。この CTMC の増殖は IL-3 のみではおこらず、IL-4 の存在が必要であることが明らかにされている<sup>48)</sup>。最近、Paul ら



49)のグループは IL-4 が肥満細胞の autocrine 増殖因子である可能性を示唆しており、今後の検討が待たれる。

IL-4 の造血幹細胞や前駆細胞に対する作用も注目されている。IL-4 自体には造血幹細胞、前駆細胞に対する直接的な作用はないと考えられるが、IL-3 存在下で著明に肥満細胞コロニー形成を増加させ、一方では著明に GM コロニー形成を抑制した<sup>50)</sup>。Rennick ら<sup>51)</sup>も IL-4 は IL-3 による GM コロニー形成、混合コロニー形成を抑制することを報告している。一方、IL-4 は G-CSF による好中球コロニー、EPO による赤芽球バースト、混合コロニー形成を促進することが報告されている<sup>52)</sup>。このような IL-4 の増殖刺激と抑制という二面的な作用は、今後、細胞の増殖、分化の調節機構を考える上から興味深い課題であろう。

#### 5 IL-5

IL-5 は T cell replacing factor (TRF) と呼ばれ、B細胞の抗体産生細胞への分化誘導に作用する因子とされてきた。IL-5 のB細胞に対する TRF 以外の作用としては、B細胞の増殖促進、IL-2 レセプターの発現、IgA 産生増強活性などが報告されている。IL-5 は未熟胸腺細胞にも作用し、IL-2 存在下で細胞障害性T細胞への分化を誘導する活性を有している。

IL-5 のもう1つの重要な作用は好酸球造血に対する作用である。IL-5 は好酸球コロニー形成を促進させるだけでなく、成熟好酸球の種々の機能を促進することが報告されている<sup>53)</sup>。

#### 6 IL-6

B細胞分化因子 (B cell stimulatory factor 2 : BSF-2) はB細胞の増殖、分化の後期に作用し、免疫グロブリン産生を誘導する因子と考えられている。1986年、ヒト BSF-2 をコードする cDNA がクローニングされた結果<sup>54)</sup>、BSF-2 は interferon  $\beta$ 2, 26kD 蛋白、ハイブリドーマ/プラスマサイトーマ増殖因子と同一の分子であることが明らかとなり IL-6 と呼称されるようになった。

IL-6 は種々の細胞で産生され、骨髓腫細胞の autocrine 増殖因子であるとの報告もみられる。

最近 Ikebuchi ら<sup>55)</sup>はマウス造血幹細胞に対して IL-6 は IL-3 と synergistic に作用することを報告した。IL-6 が存在すると芽球コロニーの出現時期が著明に早まることから、IL-6 の作用の1つの機序として、造血幹細胞の細胞周期に作用して Go 期を短縮すると考えた。一方、われわれの検討では<sup>28)</sup>、IL-6 は

正常および 5-FU 処理マウス脾細胞、骨髓細胞より、血清存在下では芽球コロニー形成を支持したが、無血清培養下ではコロニー形成はまったく認められなかった。さらに無血清培養下では、IL-3+IL-6 により IL-3 で形成される数倍のコロニー形成がみられた。一方、この相乗効果は赤芽球バースト、巨核球、肥満細胞コロニーなどある程度分化した前駆細胞に由来するコロニー形成に対してはまったくみられなかった。さらに微量の IL-3 との相乗効果の検討などにより、IL-6 は多能性造血幹細胞の IL-3 に対する感受性を高めるのではないかと考えた。

IL-6 は未分化な造血幹細胞に特異的に作用することから、骨髓移植、再生不良性貧血など臨床応用が期待されている。実際、われわれの行った骨髓移植マウスへの IL-6 の投与は有意に白血球や CFU-C の上昇を促進しており<sup>56)</sup>、*in vitro* で IL-3 と IL-6 で骨髓細胞を培養することにより、著明な造血幹細胞の増幅が観察されている。

#### 7 IL-7

最近、Namen ら<sup>23)</sup>は IL-7 の遺伝子のクローニングを報告した。この因子は従来、lymphopoietin-1 (LP-1) と呼ばれていた物質であり、未分化なB細胞の増殖を誘導する活性を有している。この因子は129個のアミノ酸からなり、分子量約 14.9kD の糖蛋白であり、骨髓ストロマ細胞が産生していることから造血幹細胞に対する新しい作用が期待されている。

#### B Colony Stimulating Factor (CSF)

CSF は *in vitro* colony 法により骨髓細胞よりコロニー形成を刺激する因子として、その存在が明らかにされた。この CSF には主として好中球と単球・マクロファージ系の両者に働く granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF)、好中球系のみ働く granulocyte CSF (G-CSF)、単球・マクロファージ系に働く macrophage CSF (M-CSF) の3種類が存在する。各 CSF の特性を表3にまとめた。

いずれの CSF もすでに臨床的に使用されており、その劇的な作用から大きなセンセーションをひきおこしている。

##### 1 GM-CSF

ヒト GM-CSF は分子量 22kD の糖蛋白で144個のアミノ酸より構成されている。すでに遺伝子工学的手法により、大量のリコンビナント標品が供給されている。GM-CSF はTリンパ球、内皮細胞、線維芽細胞

表3 CSF の 特 性

		産生細胞	分子量 native (kD)	蛋白 (kD)	cDNA より類推 アミノ酸 相同性	作用する 細胞系統	BPA 活性	<i>in vivo</i> 効 果	染色体局在
GM-CSF	ヒ ト	Tリンパ球 内皮細胞	22	14	144	好 中 球 マクロファ ージ 好 酸 球 造血幹細胞	+	+	5q 23-31
	マウス	線維芽細胞 マクロファ ージ	23	14	141		+	+	11
G-CSF	ヒ ト	マクロファ ージ	19	19	204 207	好 中 球  造血幹細胞	-	+	17q 11.2- q 21
	マウス		25	19	208		-	+	11
M-CSF (CSF-1)	ヒ ト	線維芽細胞	82	21	256 554	単 球  マクロファ ージ	-	+	5q 33.1
	マウス	マクロファ ージ	70, 45	14	552		-	+	

胞、マクロファージなど多くの細胞から産生される。Mosmann ら<sup>57)</sup>はヘルパーT細胞を機能的に2つの亜群に分類し、Th1はIL-2, IFN, IL-3, GM-CSFを産生し、Th2はIL-3, IL-4, IL-5, GM-CSFを産生することを報告している。

#### a GM-CSF の *in vitro* 作用

GM-CSF は好中球とマクロファージ系前駆細胞CFU-gm, CFU-g, CFU-mに作用し、好中球、マクロファージ、両者の混合したコロニーを形成させる。また、好酸球コロニー刺激作用(CSF-Eo活性)、赤芽球バースト刺激作用も有している<sup>58)</sup>。マウスでは多能性造血幹細胞の一部にも作用することが報告されている<sup>59)</sup>。さらに、分化した好中球やマクロファージに働いてそれらの機能を高める作用も報告され、その広範な作用が注目されている。

#### b GM-CSF の *in vivo* 作用

Groopman ら<sup>60)</sup>は白血球減少を伴った後天性免疫不全症候群患者にヒトGM-CSFを投与し、好中球や好酸球などの増加がおこることを報告した。同様の好中球増加促進効果は骨髓異形成症候群(MDS)、悪性腫瘍の化学療法後<sup>61)</sup>、同種骨髓移植後などつぎつぎに報告されており、今後、種々の疾患に対し臨床応用されていくものと考えられる。GM-CSFは好酸球増多など場合によっては不都合な点もあるが、後述するG-CSFと異なり、赤血球や血小板増多も時に期待されることから、今後その投与法の工夫により効果的な

使用が可能になるものと思われる。

#### 2 G-CSF

ヒトG-CSFは204, 207の2種類のアミノ酸残基よりなる前駆体の形で産生され、177, 174個のアミノ酸からなる成熟蛋白が作られる<sup>62)</sup>。G-CSFは生理的には単球や線維芽細胞により作られると考えられるが、数多くのG-CSF産生腫瘍も報告されている。

#### a G-CSF の *in vitro* 作用

G-CSFはCFU-gに作用し、好中球コロニーを形成させる。また、最近、IL-6と同様に未分化造血幹細胞にも作用することが明らかになり、注目されている<sup>63)64)</sup>。G-CSFはGM-CSF同様成熟好中球の機能を促進させる作用を持っており、さらに骨髓性白血病細胞の分化誘導作用も注目されている。

#### b G-CSF の *in vivo* 作用

ヒトG-CSFをマウスに投与すると濃度依存性に好中球数が増加し、CFU-gm, CFU-Sも増加することも報告されている<sup>65)</sup>。また、臨床的にも抗癌剤を投与した患者にG-CSFを投与し、好中球減少の期間を短縮することが報告されている<sup>66)</sup>。わが国においても、骨髓移植後、抗癌剤使用による好中球減少、慢性好中球減少症、周期性好中球減少症、再生不良性貧血など広範な疾患に対して臨床治験が進行中である。特に副作用はみられず、多くの疾患にきわめて有効な成績が集まりつつある。われわれもすでに6例の患者に投与し、慢性好中球減少症、骨髓移植後の症例などにはき

わめて有効であった。

### 3 M-CSF

ヒト M-CSF も G-CSF 同様 splicing の過程で 2 種類の mRNA が形成され、それに応じた 2 種類のサブタイプが存在している<sup>67)</sup>。M-CSF は線維芽細胞、マクロファージなどから産生される。

#### a M-CSF の *in vitro* 作用

M-CSF はマウスでは CFU-m に作用してマクロファージコロニーを形成させるが、ヒトにおいてはこの作用はきわめて弱い。M-CSF はおもに成熟単球、マクロファージを刺激して GM-CSF や G-CSF の産生を高めることが報告されている。

#### b M-CSF の *in vivo* 作用

ヒト M-CSF の臨床的検討はすでにヒト尿より精製された CSF-HU を用いて、骨髄移植、慢性好中球減少症<sup>68)</sup>、悪性腫瘍の化学療法後<sup>69)</sup>など数多くの疾患で検討され、その有効性が確認されている。しかし、M-CSF の作用はおもにマクロファージよりの G-CSF の産生を介する間接的な作用であることから、単球やマクロファージが減少している患者においては効果が少ないと考えられる。

### C その他の造血因子

#### 1 EPO

EPO は分子量 34,000 の糖蛋白であり、166 個のアミノ酸より構成されている。EPO はおもに腎で産生されるが、EPO の産生量を規定している因子は動脈血の酸素分圧と考えられる。たとえば貧血、心疾患、肺疾患、高地での生活などによって動脈血の酸素分圧が

低下すると、腎における産生が亢進し、これが後述するように赤芽球系前駆細胞を刺激し、赤血球産生が高まりホメオスタシスが保たれると考えられる。

#### a EPO の *in vitro* 作用

EPO は赤芽球系前駆細胞のうち CFU-E 中心に作用し、赤血球までの増殖、成熟の過程を刺激すると考えられている。最近、EPO は巨核球造血にも関しているとの報告もみられ、マウスでは弱い Meg-CSF 活性を有していると思われるが、ヒトでは証明されていない。

#### b EPO の *in vivo* 作用

EPO の臨床応用は、主要な成因を EPO の産生低下によると考えられる腎性貧血に対し最初に試みられ、EPO の投与が貧血の著明な改善をもたらすことが報告された<sup>70)</sup>。EPO は腎性貧血以外にも慢性炎症に伴う貧血、外科手術時の輸血量の減少、自己血の保存など幅広い分野で役立つものと思われる。

### ま と め

造血幹細胞の増殖、分化の調節機構とそれに関与する種々の造血因子について概説した。この分野は進歩がきわめて早く、また、種々の造血因子が続々と臨床の場で使用されつつあることから、臨床家にとってもますます目が離せない分野となってきた。

種々の血液疾患における造血幹細胞や造血因子についての検討が、臨床的にも多大な貢献をしているが、この分野に関しては紙面の関係で割愛した。

### 文 献

- 1) Ogawa, M., Porter, P.N. and Nakahata, T. : Renewal and commitment to differentiation of hemopoietic stem cells (An interpretive review). *Blood*, 61 : 823-829, 1983
- 2) Till, J.E. and McCulloch, E.A. : A direct measurement of the radiation sensitivity of normal bone marrow cells. *Radiat Res*, 14 : 213-222, 1961
- 3) Johnson, G.R. and Metcalf, D. : Pure and mixed erythroid colony formation *in vitro* stimulated by spleen conditioned medium with no detectable erythropoietin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 74 : 3879-3882, 1977
- 4) Fauser, A.A. and Messner, H.A. : Identification of megakaryocytes, macrophages, and eosinophils in colonies of human bone marrow containing neutrophilic granulocytes and erythroblasts. *Blood*, 53 : 1023-1027, 1979
- 5) Nakahata, T. and Ogawa, M. : Identification in culture of a class of hemopoietic colony-forming units with extensive capability to self-renew and generate multipotential hemopoietic colonies. *Proc Natl Acad Sci USA*, 79 : 3843-3847, 1982
- 6) Nakahata, T. and Ogawa, M. : Hemopoietic colony-forming cells in umbilical cord blood with extensive capability to generate mono- and multipotential hemopoietic progenitors.

- J Clin Invest, 70 : 1324-1328, 1982
- 7) Till, J.E., McCulloch, E.A. and Siminovitch, L. : A stochastic model of stem cell proliferation, based on the growth of spleen-colony forming cells. Proc Natl Acad Sci USA, 51 : 29-36, 1964
- 8) Nakahata, T., Gross, A.J. and Ogawa, M. : A stochastic model of self-renewal and commitment to differentiation of the primitive hemopoietic stem cells in culture. J Cell Physiol, 113 : 455-458, 1982
- 9) Wu, A.M. : Regulation of self-renewal of human T lymphocyte colony-forming units (TL-CFUs). J Cell Physiol, 117 : 101-108, 1983
- 10) Kobayashi, T. and Nakahata, T. : A stochastic model for mast cell proliferation in culture of murine peritoneal cells. J Cell Physiol, 138 : 24-28, 1989
- 11) Trentin, J.J. : Influence of hematopoietic organ stroma (Hematopoietic inductive micro-environments) on stem cell differentiation. In : Gordon, A.S. (ed.), Regulation of hamatopoiesis, pp.159-184, Appleton-Century-Crofts, New York, 1970
- 12) VanZant, G. and Goldwasser, E. : Competition between erythropoietin and colony stimulating factor for target cells in mouse marrow. Blood, 53 : 946-965, 1979
- 13) Johnson, G.R. : Is erythropoiesis an obligatory step in the commitment of multipotential hematopoietic stem cells? In : Braum, S.J., Ledney, G.D. and Kahn, A. (ed.), Experimental Hematology Today, pp.13-20, Springer-Verlag, New York, 1981
- 14) Nakahata, T., Spicer, S.S. and Ogawa, M. : Clonal origin of human erythro-eosinophilic colonies in culture. Blood, 59 : 857-864, 1982
- 15) Nakahata, T. and Ogawa, M. : Clonal origin of murine hemopoietic colonies with apparent restriction to granulocyte-macrophage-megakaryocyte (GMM) differentiation. J Cell Physiol, 111 : 239-246, 1982
- 16) Suda, T., Suda, J. and Ogawa, M. : Single-cell origin of mouse hemopoietic colonies expressing multiple lineages in various combinations. Proc Natl Acad Sci USA, 80 : 6689-6693, 1983
- 17) Nakahata, T. and Akabane T. : Multipotential hemopoietic colonies in single-cell cultures. Acta Haematol JPN, 47 : 236-243, 1984
- 18) Leary, A.G., Ogawa, M., Strauss, L.C. and Civin, C.I. : Single cell origin of multilineage colonies in culture : Evidence that differentiation of multipotent progenitors and restriction of proliferation potential of monopotent progenitors are stochastic process. J Clin Invest, 74 : 2193-2197, 1984
- 19) Nakahata, T., Tsuji, K., Ishiguro, A., Ando, O., Norose, N., Koike, K. and Akabane, T. : Single-cell origin of human mixed hemopoietic colonies expressing various combinations of cell lineages. Blood, 65 : 1010-1016, 1985
- 20) 安藤伯秋, 石黒 精, 小林敏美, 石井榮三郎, 辻浩一郎, 長沼邦明, 八木芳雄, 野呂瀬昇, 小池健一, 中畑龍俊, 赤羽太郎 : ヒト骨髓混合コロニーの heterogeneity に関する研究. 日血会誌, 49 : 639-646, 1987
- 21) Suda, J., Suda, T. and Ogawa, M. : Analysis of differentiation of mouse hemopoietic stem cells in culture by sequential replating of paired progenitors. Blood, 64 : 393-399, 1984
- 22) Tsuji, K. and Nakahata, T. : A Stochastic model for multipotent hemopoietic progenitor differentiation. J Cell Physiol, in press
- 23) Namen, A.E., Lupton, S., Hjerrild, K., Wignall, J., Mochizuki, D.Y., Schmierer, A. and Mosley, B. : Stimulation of B-cell progenitors by cloned murine interleukin-7. Nature, 333 : 571-573, 1988
- 24) Yang, Y.C., Tsai, S., Wong, G.G. and Clark, S. C. : Interleukin-1 regulation of hematopoietic growth factor production by human stromal fibroblasts. J Cell Physiol, 292-301, 1988
- 25) Lindeman, A., Riedel, D., Oster, W., Meuer, S.C., Blohm, D., Mertelsmann, R.H. and

- Herrmann, F. : Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor induces interleukin 1 production by human polymorphonuclear neutrophils. *J Immunol*, 140 : 837-839 : 1988
- 26) Bartelmez, S.H. and Stanley, E.R. : Synergism between hemopoietic growth factors (HGFs) detected by their effects on cells bearing receptors for a lineage specific HGF : Assay of hemopoietin-1. *J Cell Physiol*, 122 : 370-378, 1985
- 27) Mochizuki, D.Y., Eizenman, J.R., Conlon, P.J., Larsen A.D. and Tushinski, R.J. : Interleukin 1 regulates hemopoietic activity, a role previously ascribed to hemopoietin 1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 84 : 5267-5271, 1987
- 28) Koike, K., Nakahata, T., Takagi, M., Kobayashi, T., Ishiguro, A., Tsuji, K., Naganuma, K., Okano, A., Akiyama, Y. and Akabane, T. : Synergism of BSF-2/interleukin 6 and interleukin 3 on development of multi-potential hemopoietic progenitors in serum-free culture. *J Exp Med*, 168 : 879-890, 1988
- 29) Castelli, M.P., Black, P.L., Schneider, M., Pennington, R., Abe, F. and Talmadge, J.E. : Protective, restorative, and therapeutic properties of recombinant human IL-1 in rodent models. *J Immunol*, 140 : 3830-3837, 1988
- 30) Moore, M.A.S. and Warren, D.J. : Synergy of interleukin 1 and granulocyte colony stimulating factor : *in vivo* stimulation of stem-cell recovery and hematopoietic regeneration following 5-fluorouracil treatment of mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 84 : 7134-7138, 1987
- 31) Taniguchi, T., Matsui, H., Fujita, T., Takaoka, C., Kashima, N., Yoshimoto, R. and Hamuro, J. : Structure and expression of a cloned cDNA for human interleukin 2. *Nature*, 302 : 305-310, 1983
- 32) Burdach, S. and Levitt, L.J. : Receptor specific inhibition of bone marrow erythropoiesis by recombinant DNA-derived interleukin-2. *Blood*, 69 : 1368-1375, 1987
- 33) Minato, N., Hattori, M., Sudo, T., Kano, S., Miura, Y., Suda, J. and Suda, T. : Differentiation *in vitro* of T3<sup>+</sup> large granular lymphocytes with characteristic cytotoxic activity from an isolated hematopoietic progenitor colony. *J Exp Med*, 167 : 762-776, 1988
- 34) Yang, Y.C., Ciarletta, A.B., Tempel, P.A., Chung, M.P., Kovacic, S., Witek-Giannotti, J.S., Leary, A.C., Kriz, R., Donahue, R.E., Wong, G.G. and Clark, S.C. : Human IL-3 (multi-CSF) : Identification by expression cloning of a novel hematopoietic growth factor related to murine IL-3. *Cell*, 47 : 3-10, 1986
- 35) Beau, M.M.L., Epstein, N.D., O'Brien, S.J., Nienhuis, A.W., Yang, Y.C., Clark, S.C. and Rowley, J.D. : The interleukin 3 gene is located on human chromosome 5 and is deleted in myeloid leukemias with a deletion of 5q. *Proc Natl Acad Sci USA*, 84 : 5913-5917, 1987
- 36) Messner, H.A., Yamasaki, K., Jamal, N., Minden, M.M., Yang, Y.C., Wong, G.G. and Clark, S.C. : Growth of human hemopoietic colonies in response to gibbon interleukin 3 : Comparison with human recombinant granulocyte and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 84 : 6765-6769, 1987
- 37) Leary, A.G., Yang, Y.C., Clark, S.C., Gasson, J.C., Golde, D.W. and Ogawa, M. : Recombinant gibbon interleukin 3 supports formation of human multilineage colonies and blast cell colonies in culture : Comparison with recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood*, 70 : 1343-1348, 1987
- 38) Sonoda, Y., Yang, Y.C., Wong, G.G., Clark, S.C. and Ogawa, M. : Analysis in serum-free culture of the targets of recombinant human hemopoietic growth factors : Interleukin 3 and granulocyte/macrophage-colony-stimulating factor are specific for early developmental stages. *Proc Natl Acad Sci USA*, 85 : 4360-4364, 1988
- 39) Zipori, D. and Lee, F. : Introduction of interleukin-3 gene into stromal cells from the bone marrow alters hemopoietic differentiation but does not modify stem cell renewal. *Blood*, 71 : 586-596, 1988

- 40) Kindler, V., Thorens, B., Kossodo, S.D., Allet, B., Eliason, J.F., Thatcher, D., Farber, N. and Vassalli, P. : Stimulation of hematopoiesis *in vivo* by recombinant bacterial murine interleukin 3. Proc Natl Acad Sci USA, 83 : 1001-1005, 1986
- 41) Broxmeyer, H.E., Williams, D.E., Hangoc, G., Cooper, S., Gillis, S., Shadduck, R.K. and Bicknell, D.C. : Synergistic myelopoietic actions *in vivo* after administration to mice of combinations of purified natural murine colony-stimulating factor 1, recombinant murine interleukin 3, and recombinant murine granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. Proc Natl Acad Sci USA, 84 : 3871-3875, 1987
- 42) Noma, Y., Sideras, T., Naito, S., Bergstedt-Lindquist, S., Azuma, C., Stevenson, E., Tanabe, T., Kinishi, T., Matsuda, F., Yaoita, Y. and Honjo, T. : Cloning of cDNA encoding the murine IgG1 induction factor by a novel strategy using SP6 promoter. Nature, 319 : 640-646, 1986
- 43) Lee, F., Yokota, T., Otsuka, T., Meyerson, P., Villaret, D., Coffman, R., Mosmann, T., Rennick, D., Roehm, N., Smith, C., Zlotnick, A. and Arai, K. : Isolation of a mouse interleukin cDNA clone that expresses BSF-1 activities and T cell and mast cell stimulating activities. Proc Natl Acad Sci USA, 83 : 2061-2065, 1986
- 44) Yokota, T., Otsuka, T., Mosmann, T., Banchereau, J., DeFrance, T., Blanchard, D., DeVries, J.E., Lee, F. and Arai, K. : Isolation and characterization of a human interleukin cDNA clone, homologous to mouse B-cell stimulatory factor 1, that expresses B-cell- and T-cell-stimulating activities. Proc Natl Acad Sci USA, 83 : 5894-5898, 1986
- 45) Nakahata, T., Spicer, S.S., Cantey, J.R. and Ogawa, M. : Clonal assay of mouse mast cell colonies in methylcellulose culture. Blood, 60 : 352-361, 1982
- 46) Kobayashi, T., Nakano, T., Nakahata, T., Asai, H., Yagi, Y., Tsuji, K., Komiyama, A., Akabane, T., Kojima, S. and Kitamura, Y. : Formation of mast cell colonies in methylcellulose by mouse peritoneal cells and differentiation of these cloned cells in both the skin and the gastric mucosa of W/W<sup>v</sup> mice : evidence that a common precursor can give rise to both "connective tissue-type" and "mucosal" mast cells. J Immunol, 136 : 1378-1384, 1986
- 47) Nakahata, T., Kobayashi, T., Ishiguro, A., Tsuji, K., Naganuma, K., Ando, O., Yagi, Y., Tadokoro, K. and Akabane, T. : Extensive proliferation of mature connective-tissue type mast cells *in vitro*. Nature, 324 : 65-67, 1986
- 48) Hamaguchi, Y., Kanakura, Y., Fujita, J., Takeda, S., Nakano, T., Tarui, S., Honjo, T. and Kitamura, Y. : Interleukin 4 as an essential factor for *in vitro* clonal growth of murine connective tissue-type mast cells. J Exp Med, 165, 268-273, 1987
- 49) Brown, M.A., Pierce, J.H., Watson, C.J., Falco, J., Ihle, J.N. and Paul, W.E. : B cell stimulatory factor-1/interleukin 4 mRNA is expressed by normal and transformed mast cells. Cell, 50 : 809-818, 1987
- 50) 中畑龍俊 : IL-4 と造血. Medical Immunology, 15 : 275-281, 1988
- 51) Rennick, D., Yang, G., Muller-Sieburg, C., Smith, C., Arai, N., Takabe, Y. and Gammell, L. : Interleukin 4 (B-cell stimulatory factor 1) can enhance or antagonize the factor-dependent growth of hemopoietic progenitor cells. Proc Natl Acad Sci USA, 84 : 6889-6893, 1987
- 52) Peschel, C., Paul, W.E., Ohara, J. and Green, I. : Effects of B cell stimulatory factor-1/interleukin 4 on hematopoietic progenitor cells. Blood, 70 : 254-263, 1987
- 53) Sanderson, C.J., O'Garra, A. and Warren, D.J. : Eosinophil differentiation factor also has B-cell growth factor activity : Proposed name interleukin 4. Proc Natl Acad Sci USA, 83 : 4437-4440, 1986
- 54) Hirano, T., Yasukawa, K., Harada, H., Taga, T., Watanabe, Y., Matsuda, T., Kashiwamura, K., Koyama, K., Iwamatsu, A., Tsunasawa, S., Sakiyama, F., Matsui, H., Takahara, Y. and Kishimoto, T. : Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces

- B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*, 324 : 73-76, 1986
- 55) Ikebuchi, K., Wong, G.G., Clark, S.C., Ihle, J.N., Hirai, Y. and Ogawa, M. : Interleukin-6 enhancement of interleukin-3-dependent proliferation of multipotential hemopoietic progenitors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 84 : 9035-9039, 1987
  - 56) Okano, A., Suzuki, C., Takatsuki, F., Akiyama, Y., Koike, K., Nakahata, T., Hirano, T., Kishimoto, T., Ozawa, K. and Asano, S. : Accelerated recovery of hematopoiesis in bone marrow transplanted mice by human recombinant interleukin-6/B cell stimulatory factor-2 (IL-6/BSF-2). *Transplantation*, in press
  - 57) Mosmann, T.R., Cherwinski, H., Bond, M.W., Giedlin, M.A. and Coffman, R.L. : Two types of murine helper T cell clone ; 1. definition according to lymphokine activities and secreted protein. *J Immunol*, 136 : 2348-2357, 1986
  - 58) Sieff, C.A., Emerson, S.G., Donahue, R.E., Nathan, D.G., Wang, E.A., Wong, G.G. and Clark, S.C. : Human recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor : A multilineage hemopoietin. *Science*, 230 : 1171-1173, 1985
  - 59) Koike, K., Ogawa, M., Ihle, J.N., Miyake, T., Shimizu, T., Miyajima, A., Yokota, T. and Arai, K. : Recombinant murine granulocyte-macrophage (GM) colony-stimulating factor supports formation of GM and multipotential blast cell colonies in culture : Comparison with the effects of interleukin-3. *J Cell Physiol*, 131 : 458-464, 1987
  - 60) Groopman, J.E., Mitsuyasu, R.T., DeLeo, M.J., Oette, D.H. and Golde, D.W. : Effect of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on myelopoiesis in the acquired immunodeficiency syndrome. *New Engl J Med*, 317 : 593-598, 1987
  - 61) Vadhan-Raj, S., Buescher, S., LeMaistre, A., Keating, M., Walters, R., Ventura, C., Hittelman, W., Broxmeyer, H.E. and Gutterman, J.U. : Stimulation of hematopoiesis in patients with bone marrow failure and in patients with malignancy by recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood*, 72 : 134-141, 1988
  - 62) Nagata, S., Tsuchiya, M., Asano, S., Kajiro, Y., Yamazaki, T., Yamamoto, O., Hirata, Y., Kubota, N., Oheda, M., Nomura, H. and Ono, M. : Molecular cloning and expression of cDNA for human granulocyte colony-stimulating factor. *Nature*, 319 : 415-417, 1986
  - 63) Koike, K., Yasukohchi, S., Naganuma, K., Nakahata, T. and Akabane, T. : Direct effect of human granulocyte colony-stimulating factor on multipotential hemopoietic progenitors. *Exp Hematol*, 15 : 523, 1987
  - 64) Ikebuchi, K., Clark, S.C., Ihle, J.N., Souza, L.M. and Ogawa, M. : Granulocyte colony-stimulating factor enhances interleukin 3-dependent proliferation of multipotential hemopoietic progenitors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 85 : 3445-3449, 1988
  - 65) Shimamura, M., Kobayashi, Y., Yuo, A., Urabe, A., Okabe, T., Komatsu, Y., Itoh, S. and Takaku, F. : Effect of human recombinant granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic injury in mice induced by 5-fluorouracil. *Blood*, 69 : 353-355, 1987
  - 66) Nienhuis, A.W. : Hematopoietic growth factors : Biologic complexity and clinical promise. *New Eng J Med*, 318 : 916-918, 1988
  - 67) Wong, G.G., Tempel, P.A., Leary, A.C., Witeek-Giannotti, J.S., Yang, Y.-C., Ciarletta, A.R., Chung, M., Multha, P., Kirz, R., Kaufman, R.J., Ferenz, C.R., Sibley, B.S., Turner, K.J., Hewick, R.M., Clark, S.C., Yanai, N., Yokota, H., Yamada, M., Saito, M., Motoyoshi, K. and Takaku, F. : Human CSF-1 : Molecular Cloning and expression of 4-kb cDNA encoding the human urinary protein. *Science*, 240 : 5404-5408, 1987
  - 68) Komiyama, A., Ishiguro, A., Kubo, T., Matsuoka, T., Yasukohchi, S., Yasui, K., Yanagisawa, M., Yamada, S., Yamazaki, M. and Akabane, T. : Increases in neutrophil counts by purified human urinary colony-stimulating factor in chronic neutropenia of childhood. *Blood*, 71 : 41-45, 1988

- 69) Motoyoshi, K., Takaku, F., Maekawa, T., Miura, Y., Kimura, K., Furusawa, S., Hattori, M., Nomura, T., Mizoguchi, H., Ogawa, M., Kinugasa, K., Tominaga, T., Shimoyama, M., Deura, K., Ohta, K., Taguchi, T., Masaoka, T. and Kimura, I. : Protective effect of partially purified human urinary colony-stimulating factor on granulocytopenia after antitumor chemotherapy. *Exp Hematol*, 14 : 1069-1075, 1986
- 70) Eschbach, J.W., Egrie, J.C., Downing, M.R., Browne, J.K. and Adamson, J.W. : Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin : results of a combined phase I and II clinical trial. *N Eng J Med*, 316 : 73-78, 1987

(63. 12. 19 受稿)

---