血液幹細胞の臨床

自治医科大学内科

高久 史麿

CLINICAL SIGNIFICANCE OF HEMATOPOIETIC STEM CELLS

Fumimaro TAKAKU, MD

Department of Medicine, Jichi Medical School

概要 血液細胞の分化特に造血幹細胞に関する研究は近年著しい進歩をとげ、その知識は各種血液疾患の病態の理解の上で次第に不可欠なものになつてきている。本文においては造血幹細胞の分化の基礎的な問題について簡単に紹介すると同時に、この細胞の有している病態生理学的並びに臨床的意義に関して概説を加えた。なお本文の記載にさいしては幹細胞に関する臨床的な研究をひろくとりあげ、現在迄に発表されたこの問題に関する多くの研究者の成果を紹介すると共に、その中に著者らのグループが従来から行なつてきた幹細胞についての臨床的な研究の結果を随時とりいれた。赤血球系細胞の異常では、再生不良性貧血を中心とする骨髓の低形成による貧血症、或いは真性多血症の様な赤血球産生の増加の機序に造血幹細胞の異常が密接に関連している事が明らかになつている。一方、顆粒球系細胞においても白血病が造血幹細胞のレベルの異常である事が様々な研究の結果明らかになつた。さらに従来前白血病状態とよんでいる各種血液疾患においても、幹細胞に質的或いは量的な異常が存在し、その異常が以後の白血病の進展に密接に関連する事が明らかになつている。造血幹細胞は、各種血液疾患の病態生理に深い関連を有しており、その意味では幹細胞異常と呼ばれるべき一群の疾患群があると考えられる。幹細胞は又再生不良性貧血に対するアンドロゲン療法、或いは再生不良性貧血や白血病に対する骨髓移植に理論的な根拠を与えるものである。

I. はじめに

造血幹細胞 (hematopoietic stem cell) を中心とする血球の分化に関する基礎的、並びに臨床的研究は近年著しい進歩を遂げ、造血幹細胞とその分化に関する基礎的な知識を有していなければ、各種病的状態における血球産生の変動の機序を理解する事が、困難になつてきているといつても過言でないのが現状である。この問題に関する研究は現在もなお活発に進められ、新しい知見が次々に見出されている。本文では血液幹細胞の臨床的意義に関して概説するが、その前に幹細胞とその分化に関する基礎的な問題を簡単に紹介したい。

II. 造血幹細胞とその分化

血球の分化に関する研究の初期には、一種類の造血幹細胞のみが存在すると推定された事があつた。しかし、その後この問題に関する基礎的な研究の進展と共に、幹細胞自体にもいくつかの分化の段階のものがあることが判明し、現在では図1に示す如くリンパ球系並びに骨髓系細胞の両方に共通な全能性幹細胞 (totipotent stem cell) からリンパ球系幹細胞と骨髓系幹細胞が、又リンパ球系幹細胞からはT cell系およびB cell系のリンパ球が、骨髓系幹細胞からはおのおの赤血球系、顆粒球-マクロファージ系、好酸球系並びに巨核

図1. 造血細胞の分化

球-血小板系の幹細胞が分化すること^{1)~5)}、赤血球系幹細胞の中にもいくつかの分化の段階のものがある^{6)~9)}ことなどが明らかにされている。最近になって、さらに好塩基球も骨髓から由来する事が動物実験によつて証明されている¹⁰⁾。われわれは好塩基球数の著しい増加を示した白血病症例の末梢血を培養することによつて好塩基球コロニーをつくることに成功しており¹¹⁾、肥満細胞-好塩基球系細胞も個々の幹細胞を骨髓中に有すると考えられる。

血液幹細胞の存在を最初に証明したのはTill & McCullochである。彼らは大量照射マウスに同種マウスの骨髓細胞を移植し、移植されたマウスの脾臓中に多数のコロニーが見出されること、しかもおのおののコロニーは赤血球系細胞、顆粒球系細胞、巨核球系細胞、並びにこれらの細胞の混合したコロニーから成ること、したがつて個々のコロニーが各系統の血球に分化しうる多能性幹細胞から由来することを明らかにした¹²⁾。このコロニ

ーのもとになる細胞は、その測定方法からcolony forming unit in spleen (CFU-S) と呼ばれ、現在でも幹細胞を同定する有力な方法の一つとなっている。しかし最近では幹細胞の同定はもつぱら造血組織の in vitro 組織培養によつて行なわれるようになり、培養の結果生じた赤芽球、顆粒球-マクロファージ、好酸球^{13) 14)}、巨核球^{15) 16)}、T cell^{17) 18)}、およびB cell¹⁹⁾ からなるコロニーのもとになる各系統の幹細胞を図1に示す如く、おのおの赤血球系 (BFU-E, CFU-E)⁹⁾・顆粒球-マクロファージ系 (GM-CFU)¹⁾・好酸球系 (CFU-Eo)・巨核球系 (CFU-M)・T cell系 (CFU-T)・B cell系 (CFU-B) 幹細胞と呼び、このコロニー形成法によつてこれらの幹細胞の同定が可能となっている。さらに最近では実験動物、並びにヒトの造血細胞の培養によつて、各種血球が同一コロニー内に混在するmixed colonyの同定が可能となり^{20)~22)}、このmixed colonyのもとになる幹細胞CFU-mixは、上述のCFU-Sと同じく多能性幹細胞のレベルにあると考えられる様になっている。この他好塩基球のコロニーの形成に成功した事は上述の通りであるが、さらに急性白血病芽球や、多発性骨髓腫細胞など造血器腫瘍細胞からなるコロニーの形成にも成功している^{23) 24)}。したがつて現在では、組織培養法によつて殆ど全ての正常造血幹細胞および各種造血腫瘍系幹細胞の同定が可能になった。その結果造血幹細胞自体の様々な性質、幹細胞の分化を調節するburst promoting activity (BPA)^{25)~28)}、erythropoietin^{29)~31)}、granulopoietin (colony stimulating factor-CSF-)^{32) 33)}、thrombopoietin³⁴⁾などの調節因子の役割、などが次々に明らかになってきた。これらの問題は血球の分化の機序を学ぶ上でまことに興味深い課題であるが、紙数の関係もあるのでここでは主として造血幹細胞の病態生理学的並びに臨床的意義についてのべ

III. 造血幹細胞の病態生理学的並びに臨床的意義

ヒトの末梢血、あるいは骨髓細胞を用いて

CFU-C, BFU-E, CFU-Eなどを同定した結果、およびG6PDヘテロ接合体の血液疾患患者を対象として行なわれた各種血球G6PD isoenzymeに関する一連の検索の結果³⁵⁾などから、多くの血液疾患で造血幹細胞自体に異常のあることが証明されている。以下血液疾患を各系統の細胞別に分け、そのおのおのについて造血幹細胞の異常とその異常の病態生理学的、並びに臨床的な意義について述べる。

1. 赤血球系細胞の異常

1) 再生不良性貧血

i) 再生不良性貧血における幹細胞異常の病態生理^{36) 37)}

血液疾患の中で造血幹細胞の異常が最も早くから推定されていたのが再生不良性貧血である。再生不良性貧血では周知の如く各系統の細胞の低形成があり、その末期にはリンパ球数さえも減少すると報告されている。このような血液所見から容易に推定されることは、本疾患における多能性幹細胞(CFU-mix)の異常である。又末期にはリンパ球数も減少することは、幹細胞の異常がより未分化な、リンパ球も含めた全能性幹細胞(totipotent stem cell)にまで進んだためであると解釈される。

再生不良性貧血の患者の骨髓細胞を培養すると、その極期には赤芽球コロニー、GMコロニー共に殆ど認められず^{37) 38)}、CFU-E、GM-CFUの両者、ひいてはこれらの幹細胞よりも未分化な幹細胞に量的或いは質的な異常のある事が示唆される。事実最近では再生不良性貧血患者では末梢血液中のBFU-E並びにCFU-mixがともに減少することが報告されている^{40) 41)}。再生不良性貧血に対する組織適合性の一致した骨髓の移植が有効な事は周知であるが、この事も再生不良性貧血における幹細胞の異常の存在を示していると考えられる。

再生不良性貧血におけるこのような幹細胞の異常の機序として考えられることは、放射線あるいは薬物の幹細胞に対する直接的な障害である。放射線が幹細胞を障害することは既に数多くの動物

実験によつて明らかにされている。又数多くの抗癌薬、あるいは抗白血病薬が幹細胞の障害を介して骨髓の低形成をおこすことも周知である。しかし臨床的に2次性再生不良性貧血の原因として問題になった、クロラムフェニコールの様な抗生物質あるいは各種抗炎症鎮痛薬の常用量が、in vivoの条件下で造血幹細胞を直接障害するという証明はなされていない⁴²⁾。

一部の再生不良性貧血の患者で、患者骨髓中或いは末梢血液中の単核細胞が造血幹細胞に対して障害的に働くことが患者骨髓細胞或いは患者末梢血単核細胞を正常ヒト骨髓細胞に加え、その添加がGM或いは赤芽球コロニー形成を抑制する事によつて認められている^{43) 44)}。このin vitroの実験結果は、一部の再生不良性貧血の患者の発症に免疫学的な機序の関与することを示す所見として注目された。しかし再生不良性貧血の患者はしばしば過去に輸血を受けており、輸血による感作が単核細胞の添加による幹細胞数減少の原因であるとする意見もある⁴⁵⁾。この問題を明らかにするために、厚生省特発性造血障害研究班では8施設36例の再生不良性貧血患者を対象にしてその末梢血単核細胞の造血幹細胞に対する抑制効果を検討している⁴⁶⁾。その結果GMコロニーの形成に対しては検索した29例中11例、すなわち38%の症例でその様なsuppressor cellの存在が証明され、一方赤芽球コロニーの形成に対しては29例中9例28%、さらにGM-CFU並びにCFU-Eの両方に対して抑制的に働く単核細胞は15%に存在していた。このようなsuppressor cellの存在が証明された症例の中には過去に一度も輸血を受けたことのない症例が含まれており、又検索時既に完全寛解に近い状態にあつた症例では、いずれもこの様な単核細胞の存在が証明されなかつた。以上の事実からsuppressor cellの存在が一部の再生不良性貧血の患者で何らかの病態生理学的意義を有する事が推定される。しかし反面GM-CFUに対して抑制的であつた患者の単核細胞がCFU-Eに対して抑制的に働くとは限らず、GM-CFUとCFU-Eの両方に対して抑

制的に働く単核細胞はわずか15%の症例にしか証明されていない点は、この様なin vitroの方法によつて証明されたsuppressor cellに病態生理学的な意義をもたす事にはなお慎重でなければならない事を示しているといえよう。

上述の様なsuppressor cellの本体についても不明である。Tリンパ球とする報告が多いが、われわれは再生不良性貧血の患者の末梢血単核細胞群から単球を完全に取り除くとその抑制効果がなくなる事、さらに再生不良性貧血患者骨髓細胞から貪食細胞を取り除くとGM-コロニーの明らかな増加が認められ、この現象は正常或いは他の血液疾患ではみられないことから、再生不良性貧血にみられる幹細胞の減少に対する単球-マクロファージの関与を強く推定している⁴⁷⁾⁴⁸⁾が、同様な報告がNissenらによつてもなされている⁴⁹⁾。この様にsuppressor cellの本体およびその病態生理学的意義はなお不明であるが、再生不良性貧血患者の一部の症例で大量の副腎皮質ステロイド、免疫抑制薬、或いは抗リンパ球血清の投与が有効な事は数多く報告されており^{50)~53)}、再生不良性貧血におけるsuppressor cellの存在の有無と治療の有効性との相関を検索することは、本症の治療上重要な意義を有しているといえよう。

再生不良性貧血でも症例によつては幹細胞の異常ではなく、造血の微小環境に異常があるのではないかという推定が以前からなされている。又最近ではヒト骨髓細胞の培養によつて形成される主として線維芽細胞からなるコロニーの形成が、再生不良性貧血の患者では正常に比べて悪いことから、本貧血における造血微小環境の異常を推定する報告もなされている⁵⁴⁾。又一卵性双生児の患者に対する健常な兄弟の骨髓の移植が、必ずしも常に血液所見の軽快をもたらすとは限らないことも、すべての再生不良性貧血で幹細胞自体だけに異常があるのではないことを示す臨床的な事実であると考えられている。

ii) 再生不良性貧血における幹細胞異常の治療的意義

表1. 再生不良性貧血の病態生理

- 1) 造血幹細胞自体の異常
- 2) 造血幹細胞のまわりの異常
 - i) 造血微小環境の異常
 - ii) 免疫学的機序による異常

以上のような所見を総合するならば、再生不良性貧血にみられる幹細胞の異常には表1に示した如く、幹細胞自体に異常があつておこるもの以外に、幹細胞のまわりの造血の微小環境の異常、あるいは上述の如き免疫学的な機序によつて2次的に幹細胞が障害されるものなどがあることが推定される。骨髓移植は理論的には表1の中で、1)の幹細胞自体に異常がある症例に対してのみ適応があるはずであり、又免疫抑制薬や抗リンパ球血清は、2) ii) の免疫学的機序による症例に対して有効なはずである。今後各症例毎に、これらの機序のいずれによつて幹細胞の異常がおこつたかを明らかにすることが治療上重要になるであろう。

再生不良性貧血に対して、現在もつとも広く用いられている薬物はアンドロゲンである。アンドロゲンがEPO (erythropoietin)の産生を亢進させることは以前からよく知られていたが、最近ではアンドロゲンが造血幹細胞にも直接働き、赤血球系幹細胞の増加をもたらすことがin vivo並びにin vitroの実験によつて証明されている⁵⁵⁾。再生不良性貧血の患者に対してアンドロゲンを投与すると、数カ月ののちにその効果があらわれることが多い。造血幹細胞に異常がある本症では、アンドロゲンに対する反応にも時間がかかるのではないかと推定される。造血幹細胞自体には異常がない乳癌の患者や、腎性貧血の患者にアンドロゲンを投与した場合にはその造血反応がより速やかにおこってくるが、この事実も上述の推定を裏付けているといえるであろう。

一部の再生不良性貧血の患者は、アンドロゲンの投与によく反応して赤血球の増加を示し、アンドロゲンの減量による貧血の増強、増量による改善をくり返す事がある。この様な症例をアンドロゲン依存性androgen-dependentの症例とよんでい

るが⁵⁶⁾、アンドロゲン依存性の症例の赤血球系幹細胞のin vitroでのアンドロゲンに対する反応性が他の例よりも高いかどうかは本症の治療に関連した今後の興味ある検索の課題であろう。

重症再生不良性貧血に対する治療として、最近特に注目されているのは骨髓移植である。主としてHLA組織適合性が合致した兄弟の骨髓を移植するが、最近では骨髓移植を受けた非輸血重症再生不良性貧血患者の生存率は75%と対照重症例に比べて著しく良好⁵⁷⁾で、移植成功例は殆ど治療を要しないようになるまで回復する点が注目されている。わが国では兄弟数が少ないためもあつて適当な提供者をみつけることが困難であるが、組織適合性の合致した兄弟を有する重症再生不良性貧血の患者に遭遇した場合には骨髓移植を行なうことをまず最初に考えるべきであろう。骨髓移植が造血幹細胞自体の移植であることはすでに広く認められた所見であり、再生不良性貧血や急性白血病の患者に対する骨髓移植は、造血幹細胞の有している最も大きな治療的意義の一つであるといふことができるであろう。

2) 赤芽球癆

再生不良性貧血とは異なり、赤血球系細胞のみの低形成を特徴とする赤芽球癆pure red cell aplasia (PRCA) ではCFU-Eだけが著しく減少し、GM-CFUは通常正常範囲内にあり、治療によつて完全寛解に達するとCFU-Eの数も正常に復してくることが認められる⁵⁴⁾。

本症ではしばしば胸腺腫が合併し、胸腺腫の摘除によつて赤血球の産生が改善する場合のあること、ステロイド薬がしばしば有効なことなどもあつて、その発症に免疫学的な機序の関与する事が推定されていた。事実PRCAの病態に関連して、Krantzらは一部の症例で血清中に赤芽球に対して障害的に働く免疫グロブリンの存在する事を証明している^{58) 59)}。しかしPRCAではCFU-Eの減少が著しい事、Krantzらの報告した血清中の阻害因子がCFU-Eに対しても阻害的に働く可能性のある事から考えて、免疫学的機序による赤血球系幹細胞

の障害が本症の病態として推定される。最近本症の先天性型であるBlackfan-Diamond症候群の患者の末梢血単核細胞が、CFU-Eに対して障害的に働くことが報告されているが^{60) 61)}、この事も上述の推定を裏付けているといえるであろう。PRCAにおけるBFU-Eについての検索は未だなされていない。しかし上述の一連の事実から考えて、恐らくこの疾患の患者では赤血球系の幹細胞に異常があり、その原因として特異な免疫グロブリンの存在、あるいは細胞性免疫の機序が関与しているのであろうと考えられる。

3) 鉄芽球性貧血

CFU-Eの低下は再生不良性貧血、PRCAの他に鉄芽球性貧血(sideroblastic anemia (SA))においても認められている。SAにおける赤血球系幹細胞の障害に関しては、Hutchesonらは5例の原発性primary acquired SA (PASA) の患者の末梢血液中のBFU-Eを検索し、その中の2例において著しいBFU-Eの低下を認めたと報告している⁶²⁾。われわれは4例のPASAおよびrefractory anemia with excess of myeloblast (RAEM)⁶⁴⁾、或いは赤白血病に合併した2次性SA 3例、計7例の患者のCFU-Eを検索し、いずれも著しく低下していることを証明している⁶³⁾。興味ある事実として原発性、2次性を問わず、SA患者の骨髓の培養によつてわずかながら形成された赤芽球コロニーの鉄染色を行なつてみると、コロニー中の赤芽球には環状鉄芽球が全く認められず、一方1～数個の赤芽球の塊まりであるクラスターを形成している赤芽球には、環状鉄芽球あるいは粗大鉄顆粒が認められた点があげられる。なおGM-CFUはPASAでは中程度減少から増加迄様々であつたが、RAEMや赤白血病に伴う2次性SAではいずれも著しく減少していた。

以上の事実から、SAでは原発性、2次性を問わず正常な赤芽球になるCFU-Eと鉄芽球になる異常なCFU-Eの2種類の幹細胞があり、SA患者の骨髓を培養すると、わずかに残存している正常なCFU-Eからはコロニーができるが、環状鉄芽球

を作る 異常なCFU-Eはin vitroの条件下ではコロニーにまで発育しえずクラスターに迄しかならないのではないかと推定される。PrchalらはG6PDヘテロ接合体のPASA患者を検索し、患者の末梢血の血球は赤血球、顆粒球、血小板、リンパ球を問わず、全て同一のG6PD isoenzymeを有していることから、この疾患では最も未分化な造血幹細胞に異常があることを推定している⁶⁴⁾。以上の文献の事実並びにわれわれの検索の結果を総合するならば、原発性・2次性SAのいずれもその異常は多能性幹細胞(CFU-mix)のレベルで存在するが、その異常はPASAの場合にはその表現が主として赤血球系幹細胞にあらわれるのに対して2次性のSA、特に骨髄の増殖性疾患に合併したSAでは、その異常が赤血球、顆粒球の両方の系の幹細胞にあらわれ、そのためGM-CFUの低下や顆粒球の異常が認められる様になるのではないかと考えられる。

臨床的には鉄芽球性貧血では骨髄は赤芽球過形成を示す事が多い。したがってこの貧血症の患者の異常なCFU-Eは、生体内の条件では赤芽球に迄は分化成熟し、かつ増殖しうるのであらうと考えられる。それ以上の段階への成熟が困難な事は本症における無効造血の存在からも明らかである。

4) その他の貧血症

CFU-Eの低下は発作性夜間血色素尿症(paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH))の患者でも認められている³⁷⁾。又2次性貧血症としてしばしば遭遇する腎性貧血は、腎の障害によるEPOの産生低下が主要な原因であることは周知である。又最近腎性貧血患者の血清中に増加しているspermineがCFU-Eに対し阻害的に働らく事が証明され⁶⁵⁾、尿毒症患者にみられる赤血球産生障害の機序の一つとして注目されている。又慢性関節リウマチ、あるいはエリテマトーデスなどの患者にしばしば認められる貧血の中には、何らかの免疫学的な機序によつて赤血球系幹細胞が障害され、その結果として赤血球産生の低下による貧血症が

おこつてくる可能性が考えられる。事実われわれは、慢性関節リウマチの患者のリンパ球が赤血球系幹細胞を障害することを示唆する結果を得ている⁶⁶⁾。

5) 真性多血症

真性多血症患者の骨髄細胞を培養すると、一般に赤芽球コロニーが増加し、又顆粒球数の多い症例ではGMコロニーも増加している事が認められる^{37) 67) ~70)}。本症患者のCFU-Eに関して最も注目される事は、正常骨髄細胞ではEPOの存在なしには赤芽球コロニーの形成が認められないのに反して、真性多血症の患者ではEPOの存在なしに赤芽球コロニーの形成が認められる点である⁷¹⁾。しかし真性多血症患者の骨髄細胞でもその培地内にEPOを添加すると、添加量の増加に平行して赤芽球コロニーの数がさらに増加することが認められる。この事から、この疾患ではEPO依存性の有無によつてわけられる2種類の赤血球系幹細胞の存在する事が推定された。しかし培地内に抗EPO抗体を添加すると赤芽球コロニーが全く出来なくなる⁷¹⁾事から、最近では真性多血症患者のCFU-EはEPOに対する感受性が異常に高く、そのため培地内に血清などの形で混入した微量のEPOに反応して、外からのEPO添加がなくても赤芽球コロニーをつくりうるのではないかと考えられる様になつている。

G6PDヘテロ接合体の真性多血症患者の末梢血を調べてみると、赤血球、顆粒球、血小板はいずれも同一のG6PD isoenzymeを有していると報告されている⁷²⁾。この事実から、真性多血症は1個の多能性造血幹細胞の異常から始まり、臨床的にその存在が発見された時には異常な幹細胞のクローンから由来した血球が末梢血液中で大勢を占める様になつていたと考えられる。さらにG6PDヘテロ接合体患者の骨髄細胞を培養し、各赤血球コロニーのG6PD isoenzymeを調べたPrchalらの検索の結果では、各コロニーを形成する赤芽球は一種類のisoenzymeを有しており、培地内のEPOの濃度が低い時には全てのコロニーが末梢血の血球と

同じG6PD isoenzymeを有しているが、添加するEPOの濃度をさらに増加させると、異なつたG6PD isoenzymeを有する正常CFU-E由来と考えられる赤芽球コロニーが、少数ながら出現することが認められている⁷³⁾。

真性多血症は後天性疾患であり、当然正常な赤血球系幹細胞のクローンが残存しているはずである。その事が高濃度のEPO下で、わずかに認められた他のコロニーとは異なつたisoenzymeを有する赤芽球コロニーの出現として示されたのであろう。この正常CFU-E由来と考えられる赤芽球コロニーが、同一症例で病気の進行に伴つて次第に減少していく事が報告されており興味深い⁷⁴⁾。真性多血症患者の生体内には、EPOに対する反応性が異なる2種類のCFU-Eがあり、真性多血症患者の様に血清EPOが低い状態の時には、EPOに対する感受性が高い異常なクローンのCFU-Eからの赤血球系細胞の分化が行なわれているのであろう。なお2次性多血症は、EPO産生腫瘍によると考えられる症例を含めて、その殆どすべてが血清EPO値の異常な高値によつておこつてきたものである⁷⁵⁾。

2. 顆粒球系細胞の異常

1) 急性白血球

i) 急性白血病における幹細胞異常の病態生理

顆粒球系細胞の異常の中で、造血幹細胞との関連でその病態生理が最も注目されているのは白血病である。急性骨髄性白血病 (acute myelogenous leukemia (AML))患者の骨髄細胞を培養し、GM-CFUあるいはCFU-Eの変化をみると、白血病芽球が増加する増悪期には全ての症例でいずれも著しく減少している事が認められる^{76)~80)}。急性白血病患者の骨髄細胞を培養すると、少数の細胞からなるクラスターの出現を認めることがあり、症例によつてはその数の著しい場合があるが、その多くは白血病芽球が集合或いは増殖して出来たものと推定される。

急性白血病の患者が通常の治療によつて完全寛

解に到達すると、GM-CFUあるいはCFU-Eが共に正常値に復し、その後白血病に対する地固め、強化療法を行なうと、その度毎にこれらの幹細胞の数が減少し、再び自然にもとの値に迄回復する事がくり返し認められる⁸¹⁾。経過の観察中白血病が増悪するとGM-CFUの数が再び減少するが、その際末梢血の変化に先立つてコロニー数が減少する場合があるため、GMコロニー数の算定は、もしも簡便に行なわれる様になれば白血病的悪化を事前に知る臨床的な方法となる可能性が考えられる。

急性白血病では、末梢血で白血病芽球と成熟顆粒球のみが混在する白血球裂孔 (hiatus leucemicus) が認められる事、又強力な化学療法によつて患者が完全寛解に達すると、正常と殆ど区別つかない血液像を呈し、極期にみられた染色体の異常もしばしば消失することなどから、急性白血病は多能性幹細胞のレベルでおこつており、患者の骨髄中には白血病化した幹細胞と正常な幹細胞の両者が共存していることが考えられる。恐らく増悪期には白血病性幹細胞のプールが増大し、それに伴つて正常幹細胞のプールが減少するのであろう。白血病の増悪に伴う正常幹細胞プールの減少の機序の一つとして、白血病性細胞が正常な幹細胞の分化・成熟を直接阻害することをわれわれはin vitroの実験において証明している^{82)~83)}。われわれは又骨髄中の芽球の%が40%以上の患者ではGMコロニーの形成が殆ど認められなくなる事をみているが、このことから、白血病芽球による正常幹細胞の障害が生体内においても何らかの病態生理学的意義を有しているのではないかと考えられる。

ii) 白血病における造血幹細胞異常の治療的意義

急性白血病患者の末梢血或いは骨髄の細胞をPHA刺激ヒトリンパ球培養上清と共に培養する事によつて、白血病芽球からなるコロニーの出来ることが著者らの所を含めたいくつかの研究グループから報告されている^{22) 35) 84)~86)}。通常白血

病芽球の比率の高い末梢血、骨髓細胞を血漿塊中で、上記PHA刺激末梢血培養上清と共に培養すると、培地中に入れた白血病細胞の数と形成される白血病性コロニーの数との間に原点を通る直線関係が認められ、このことから1個の白血病芽球コロニーが1個の白血病性幹細胞から由来すると考えられる。

白血病性幹細胞の同定は白血病の病態の解明ばかりでなく、治療の上からも極めて重要な意義を有している。例えば患者の抗白血病薬に対する臨床的効果を決定するのは、正常幹細胞と白血病性幹細胞の両者の間の薬物感受性に対する相違である。したがって正常の幹細胞よりも白血病性幹細胞をより強く障害する薬物を、個々の白血病症例において同定する事がもつとも望ましいと考えられる。事実Buick⁸⁷⁾らは白血病性幹細胞のadriamycin, 或いはdaunomycinなどの抗白血病薬に対する感受性が正常の幹細胞と異なることを認めているが、われわれも上記薬物の他cytosine arabinoside, vincristine, methotrexateでも同様な現象のみられる事を確認している。これらの薬物に対する感受性は、個々の症例の白血病性幹細胞によつて異なっていると推測される。将来白血病性幹細胞の薬物に対する感受性を、簡単かつ迅速に測定する事が出来るようになったならば、個々の白血病患者に遭遇した場合、症例毎により特異性の高い治療を行なうことができるようになるであろう。

急性白血病の幹細胞が条件によつて成熟顆粒球に迄分化しうるかどうかは、白血病の治療に関連した重要な問題である。マウス白血病のM₁細胞やヒト白血病細胞由来のHL 60やK562が、in vitroの条件下で分化しうる事が報告されている^{88)~92)}。又小動物の腹腔内のdiffusion chamberの中という条件下で、白血病細胞が成熟したという報告もなされている。臨床的にも白血病性細胞からの由来を思わせる様な、異常な形態を示す成熟顆粒球が出現する様な希な症例に遭遇する場合がある。しかしin vitroやin vivoの条件下で一見

分化した様にみえても、その細胞が白血病性幹細胞由来であるかぎり、その腫瘍としての性質は潜在的な形ででもうけつがれており、条件次第では再び明らかな芽球化を示してくると思われる。したがってCSFなどによつて白血病性幹細胞に正常の分化をおこさせる様な治療法は現段階では考えられず、以下述べる骨髓の移植がより現実的な治療法であるといえよう。

急性白血病における造血幹細胞異常の治療的意義として特に注目されるのは骨髓移植で、この治療法が積極的に行なわれる様になつてきている事は周知である。特に良好な成績をあげているのはシアトルのED Thomasらのグループで、彼らは従来の如く再発をくり返した白血病症例に対してではなくて、急性骨髓性白血病の場合には第1回目、急性リンパ性白血病の場合には第2回目以後の完全寛解期に同胞の骨髓細胞を移植し、極めて良好な結果が得られたと報告している⁹³⁾。特に骨髓性白血病の場合には48例中の31例(65%)が2~4年生存し、さらに被移植患者の年齢が30才以下で、完全寛解期に骨髓移植を受けた急性骨髓性白血病患者の75%が2年以上生存していると報告しているが⁹⁴⁾、この値は従来の化学療法に比べてはるかに良い値である。したがってHLA組織適合性が合致した兄弟がいる急性白血病の患者に対しては、骨髓移植を積極的に考えるべきであろう。

適当な骨髓提供者のいない患者の場合でも骨髓移植の適応が全くないとはいえない。なぜならば完全寛解期に入つた患者の骨髓細胞を凍結保存し、増悪期に強力な化学療法のもとに凍結保存した自己の骨髓を移入することが試みられているからである。正常な幹細胞が長期の凍結保存に耐えうることは、既に証明されている^{95) 96)}。この際完全寛解期においても、なお残存している白血病幹細胞を何らかの方法で分離、或いは死滅させることが行なわれるようになったならば、骨髓の凍結保存はより大きな臨床的意義を有するようになるであろう。又同時に白血病性幹細胞が特定の凍結保存に対してどの様な感受性を有しているかを検

索することは、極めて重要なかつ興味ある研究であろう。

2) 慢性骨髄性白血病

i) 慢性骨髄性白血病における幹細胞の変動

慢性骨髄性白血病 (chronic myelogenous leukemia (CML)) は染色体マーカーである Ph^1 を有しており、このマーカーが白血球系細胞ばかりでなく赤血球並びに血小板系の幼若細胞、さらにマクロファージにも認められる^{97) 98)} ことから、本症では造血幹細胞に異常のあることが以前から考えられていた。最近の Fialkow らによる G6PD ヘテロ接合体の患者の検索では、赤血球・顆粒球・血小板並びに B cell が同一の isoenzyme を有する異常なクローンから由来することが証明されており⁹⁹⁾、恐らく慢性骨髄性白血病ではリンパ球を含めた全能性幹細胞のレベルで白血病化がおこっていると考えられる。

上述の様な考えを支持するもう一つの根拠として、CML が急性転化をおこした場合にリンパ球の性質を多く有する芽球が出現してくる事実があげられる^{100) ~ 103)}。特に最近急性転化例の約 1/3 の症例で芽球中に高い terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) 活性が証明されることが注目されている。TdT は従来 T リンパ球系の幼若細胞に特有であるとされていた酵素であり¹⁰⁴⁾、急性転化時にこの酵素の活性が証明されるようになったのは、白血病化に伴ってより未分化な造血幹細胞の性質の一部が表現される様になつたためではないかと考えられる。

CML における異常な幹細胞は急性白血病の場合と異なり、in vivo 並びに in vitro の状態でいずれも分化成熟する事が可能である⁸⁰⁾。又 CML では GM-CFU が骨髄で正常の 10 倍、末梢血では 2000 倍にも増加している事が報告されているが、われわれは CFU-E も同時に正常より増加している事を認めている^{37) 80) 105) ~ 107)}。CML は他の悪性腫瘍と同様に後天的におこってくる疾患であり、当然急性白血病の場合と同じように正常幹細胞のクローンと白血病化した幹細胞のクローンの両方が存

在するはずである。しかし CML では抗白血病薬による治療によつて白血球数が正常化し、貧血が改善しても通常 Ph^1 染色体が陽性で、好中球アルカリフォスファターゼの値も低いままである。又上述の G6PD ヘテロ接合体の患者の末梢血球 G6PD isoenzyme の検索の結果から考えて、病期の如何に拘わらず末梢血液中に存在する血液細胞は殆ど全て異常な幹細胞のクローンから由来していると考えられる。CML における残存正常幹細胞の割合に関して、Fialkow らは 5 例の G6PD ヘテロ接合体 CML 患者の骨髄細胞から GM コロニーをつくり、各コロニーの G6PD isoenzyme を検索した結果、1306 個の 1 種類の G6PD isoenzyme のコロニーと 2 個の他種類の isoenzyme のコロニーを認めたと報告している¹⁰⁸⁾。従つて CML の場合には急性白血病に比べて異常な幹細胞のプールが非常に大きく正常のプールは極めてわずかであり、それだけ治療が困難である。又真性多血症の場合と同じ様に経過が長びくにつれて、正常の幹細胞のプールが次第に減少する事が推定される。

ii) 幹細胞からみた慢性骨髄性白血病の治療

CML の患者で一時的にせよ Ph^1 染色体が消失し、又アルカリフォスファターゼが正常化する様な完全寛解に到達する症例は極めてわずかであり、通常強力な治療を受けた患者にだけみられる事が報告されている^{109) ~ 111)}。通常われわれは CML の患者に対してはアルキル化薬の少量投与を行ない、やがて患者が急性転化をおこして死亡するのを座視している様な状態であるが、上述の如く、CML では正常な造血幹細胞に比べて白血病性幹細胞のプールが著しく大きいので、CML の患者で急性白血病にみる様な完全寛解を得るためには急性白血病よりも、より強力な治療をする必要があるのではないかと考えられる。又 CML の患者に対する骨髄移植も十分に考慮すべきであろう。上述の如く、CML では異常な幹細胞から由来した GM-CFU と CFU-E が共に正常よりも増加している。脾臓も血球の産生に参加しているし、末梢血液中に多数の GM-CFU が存在している。

したがってこの疾患では異常な造血幹細胞の数が全身的に著しく増大していると考えられ、その体内からの除去は極めて強力な化学療法と骨髄移植の組み合わせ以外の方法では非常に困難であろう。

自己骨髄の移植の臨床的応用に 関してはCMLは極めて有望である。CML患者の末梢血中に多数のGM-CFUの存在することが証明されているので、慢性期の末梢血白血球を保存し、患者が急性転化をおこした時に強力な化学療法のあとに保存した慢性期の白血球を輸血し、造血能の回復をはかることが可能である。しかしその場合には本来の同種骨髄移植の場合と異なり、完全な寛解は望めえず、ただ急性転化時の患者の状態を元の慢性期の状態にもどすだけの意味しかないであろう。

3. その他の顆粒球系疾患

i) 骨髄線維症

造血幹細胞の病態生理に関連して興味あるものの一つに骨髄線維症がある。骨髄線維症は以前から骨髄中における線維芽細胞の異常かつ自律性の増殖によつておこつてくると考えられていた。しかしG6PDヘテロ接合体の骨髄線維症患者を使った検索の結果、本症の患者でも赤血球、白血球、血小板がいずれも異常なクローンから由来する同一のisoenzymeを有することが証明されている¹¹²⁾。逆に患者骨髄から培養した線維芽細胞は2種類のG6PD isoenzymeを有することから、骨髄線維症は白血病の場合と同じように、その異常が多能性造血幹細胞のレベルでおこつていていると考えられる。骨髄線維症の患者ではしばしば末梢血液中にGM-CFUが増加しているが¹¹³⁾、末梢血液における幹細胞の増加が、本症患者にみられる髄外造血の主要な原因であろう。本症において何故骨髄の線維化がおこるかその機序は不明であるが、近年血小板系細胞中の線維細胞を増殖させる因子すなわちfibroblast growth factor (FGF)に類似した性質をもつ増殖促進因子、すなわち血小板由来成長因子 (PDGF)¹¹⁴⁾の存在が血小板と動脈硬化の進展とに関連して注目されている¹¹⁵⁾。骨髄線維症にみられる骨髄の線維化の機序として、この

FGFの骨髄線維芽細胞に対する作用が推定されている¹¹⁶⁾事は興味深い。

ii) 前白血病状態

いわゆる前白血病状態として再生不良性貧血、鉄芽球性貧血、発作性夜間血色素尿症などがあげられているが、これらの疾患ではいずれも造血幹細胞に異常がみとめられることは上述の幹細胞の白血病化を示唆する所見として極めて興味深い。

これらの疾患よりも、より白血病に近いと考えられるmyelodysplasia特にrefractory anemia with excess of myeloblast (RAEM)における幹細胞の異常の検索については前述の通りであるが、前白血病状態として知られているRAEMでCFU-E, GM-CFUが共に著しく減少している事は病態生理学的にも又診断的にも重要な意義を有していると考えられる。

RAEMと類似した血液像を呈する疾患に、慢性骨髄単球性白血病 (chronic myelomonocytic leukemia (CMMoL)) がある。CMMoLは末梢血液中で単球が、又骨髄中では芽球の%が高く、かつ慢性に経過する疾患であるが、われわれはCMMoLの患者骨髄細胞の培養ではGM-コロニーが正常の場合よりもおこれて出現することを認めている¹¹⁷⁾。CMMoLでも他の白血病の場合と同じ様に幹細胞に異常があり、その表現形としてこのようなコロニー形成の異常パターンを示してくるのであろう。

以上の様な事実からGM-CFUに明らかな量的或いは質的な異常を認める患者に遭遇した場合には、その血液像の如何を問わず前白血病状態である可能性を考え、患者の経過を注意深く追う必要があるであろう。上述の如く、同じ様に鉄芽球性貧血の血液像を呈しながらPASAの場合にはGM-CFUの減少が明らかでないのに対し、前白血病状態と考えられるRAEMではGM-CFUの減少が著しく、しかも白血病になる頻度はRAEMの方がPASAに比べて著しく高い。このこともGM-CFUの減少と前白血病状態とを関連づける考えを支持する所見であるといえよう。

iii) 好中球減少症および増加症

ヒトおよびgray collie犬にみられる周期性好中球減少症(cyclic neutropenia)が、生体内における顆粒球産生の調節機構を研究するための疾患として注目されている^{118) 119)}。イヌのcyclic neutropeniaでは顆粒球だけでなく、他の血球の産生も周期的に変化し、骨髓移植によつて好中球減少症の改善が認められる¹²⁰⁾ことから、周期的な変化は造血幹細胞の異常によつておこつたものであると考えられている。ヒトのcyclic neutropeniaに関しては血中および尿中のCSFのレベルが末梢血液中の単球の数の変動とほぼ平行して、周期的に変動することが報告されている¹²¹⁾。又cyclic neutropeniaの患者では、骨髓中のGM-CFUの数やDNA合成能が好中球の変動に逆比例して変化することも報告されている¹²²⁾。しかしわれわれが以前経験した症例の観察では、好中球のサイクルに伴うGM-CFUの変動はわずかで、GM-CFUコロニーの形成に対する阻害因子が周期的に変動していた¹²³⁾ことから、cyclic neutropeniaの病態の多様性が推定される。

先天性好中球減少症における顆粒球生成の状態についての検索の結果は様々で、たとえばYamamoto Jewの先天性好中球減少症ではGM-CFUは増加し¹²⁴⁾、小児の遺伝性顆粒球減少症(Kostmann syndrome)ではGM-CFUが正常であつたと報告されている¹²⁵⁾。好中球減少の機序としてはCSF産生の欠如、幹細胞自体の異常、無効顆粒球産生の様な顆粒球成熟の異常、顆粒球破壊の亢進、顆粒球分布の異常、これらの組合せなどが考えられており、又in vivoでの顆粒球の産生とin vitroでの培養条件下でのGMコロニーの形成とが異なつた態度をとる事も示されている。この様に各種好中球の減少の機序については不明な点が少ないが、今後幹細胞とCSFの両者を検索する事によつてその病態がより明らかになつてくるであろう。

好中球増加症の中では肺癌その他の悪性腫瘍に伴う好中球増加症が問題になつている^{126)~128)}。この場合成熟好中球の異常増加が特徴的で、腫瘍

組織からCSF活性が証明される事が多く、又ヌードマウスに移植するとそのマウスに好中球増加のおこる事から、CSF産生腫瘍ではないかと考えられている。

4. その他の血球系の異常

血小板血症は血小板の異常増殖と増殖した血小板の機能異常による出血傾向を主な病態とする疾患であるが、この疾患の場合にも恐らく他の系統の血球の異常増殖の場合と同じように多能性造血幹細胞に異常があり、その表現形として血小板の異常な産生がおこつてくるのであろうと推定される。しかし未だヒトの巨核球系幹細胞の同定は極めて限られた施設でしか行なわれておらず¹²⁹⁾、したがつて血小板血症において増加している血小板が正常なクローンから由来する血小板の異常な増加であるのか、あるいは異常な血小板系幹細胞から由来したものであるのかその本態はなお不明である。

この他最近ではT、Bリンパ球系コロニーの形成も行なわれるようになっており、免疫不全状態におけるこれらのコロニーの動態が問題になつているが紙数の関係上省略したい。

IV. 終わりに

以上造血幹細胞に関する現在までの知見の概要を述べると共に造血幹細胞の異常の病態生理学的、あるいは治療的な意義につき各系統の血球毎にその概略を述べた。造血幹細胞の臨床的な意義については現在でも、なお多くの新しい事が見出されている。紙数の関係もあり、十分に述べる事ができなかつたが、造血幹細胞についてはすでに数多くの本、reviewもあるので興味のある方は文献欄に紹介した論文を参照されたい。なお本総説では従来のように自分達の仕事を紹介するというよりも、この問題についてのレビューを行ない、私共の仕事は文献引用のかたちで随時紹介した。

文 献

- 1) Metcalf D: Hemopoietic Colonies. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1977.
- 2) Golde DW, et al: Hematopoietic Cell Differ-

- entiation. Academic Press, New York, 1978.
- 3) Nowell PC, et al: Evidence for the existence of multipotential lymphohemopoietic stem cells in adult rat. *J Cell Physiol* 75: 151, 1970.
 - 4) Abramson J, et al: The identification in adult bone marrow of pluripotent and restricted stem cells of myeloid and lymphoid systems. *J Exp Med* 145: 1567, 1977.
 - 5) 高久史麿: 血球生成の調節とその異常, 血液の病態生化学. 高久史麿, 水上茂樹編, 朝倉書店, 東京, 1979, p 1.
 - 6) Murphy MJ Jr, Ed: *In Vitro Aspects of Erythropoiesis*. Springer-Verlag, New York, 1978.
 - 7) Axelrad AA, et al: Properties of cells that produce erythrocytic colonies in vitro. In Robinson WA: *Hemopoiesis in Culture*. Washington, DC, US Government Printing Office, 1974.
 - 8) Iscove NN and Sieber F: Erythroid progenitors in mouse bone marrow detected by macroscopic colony formation in culture. *Exp Heat* 3: 23, 1975.
 - 9) Heath DS, et al: Separation of the erythropoietin-responsive progenitors BFU-E and CFU-E in mouse bone marrow by unit gravity sedimentation. *Blood* 47: 777, 1976.
 - 10) Kitamura Y, et al: Local control of mast cell differentiation in mice. *Exp Hemat Today*, 1979. Springer-Verlag, New York, 1979, p 45.
 - 11)* 溝口秀昭, 他: ヒト好塩基球産生に関する研究 (1) 好塩基球コロニー形成細胞について. *日血会誌*, 43: 158, 1980.
 - 12) Till JE and McCulloch EA: A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Rad Res* 12: 213, 1961.
 - 13) Iscove NN, et al: Colony formation by normal and leukemic human marrow cells in culture: Effect of conditioned medium from human leukocytes. *Blood* 37: 1, 1971.
 - 14) Metcalf D, et al: Formation of eosinophilic-like granulocytic colonies by mouse bone marrow cells in vitro. *J Cell Physiol* 84: 275, 1974.
 - 15) Nakeff A, et al: Megakaryocytes in agar cultures of mouse bone marrow. *Ser Haemat* 8: 4, 1975.
 - 16)* Mizoguchi H, et al: An improved plasma culture system for the production of megakaryocyte colonies in vitro. *Exp Hemat* 7: 345, 1979.
 - 17) Srendi B, et al: Development of colonies in vitro of mitogen-stimulated mouse T-lymphocytes. *Nature* 259: 130, 1976.
 - 18) Rozenszajn LA, et al: Clonal proliferation of PHA-stimulated human lymphocytes in soft agar culture. *Immunology* 29: 1041, 1975.
 - 19) Metcalf D, et al: Growth of B-lymphocyte colonies in vitro from mouse lymphoid organs. *Nature* 255: 630, 1975.
 - 20) Johnson GR and Metcalf D: Pure and mixed erythroid colony formation in vitro stimulated by spleen conditioned medium with no detectable erythropoietin. *Proc Natl Acad Sci* 74: 3879, 1977.
 - 21) Hara J and Ogawa M: Murine hemopoietic colonies in culture containing normoblasts, macrophages, and megakaryocytes. *Amer J Haematol* 4: 23, 1978.
 - 22) Fauser AA and Messner HA: Identification of megakaryocytes, macrophages and eosinophils in colonies of human bone marrow containing neutrophilic granulocytes and erythroblasts. *Blood* 53: 1023, 1979.
 - 23) Minden MD, et al: Separation of blast cell and T-lymphocyte progenitors in the blood of patients with acute myeloblastic leukemia. *Blood* 54: 186, 1979.
 - 24) Park CH, et al: Mouse myeloma tumor stem cells: A primary culture assay. *J Natl Cancer Inst* 46: 411, 1971.
 - 25) Iscove NN: Erythropoietin-independent stimulation of early erythropoiesis in adult marrow cultures by conditioned media from lectin-stimulated mouse spleen cells. *Ref 2) p 37*, 1978.
 - 26) Iscove NN and Guilbert LJ: Erythropoietin independence of early erythropoiesis and a two-regulator model of proliferative control in the hemopoietic system. *Ref 5) p 3*, 1978.
 - 27) Wagemaker G: Cellular and soluble factors influencing the differentiation of primitive erythroid progenitor cells (BFU-E) in vitro. *Ref 5) p 44*, 1978.
 - 28) Cline MJ and Golde DW: Cellular interections in hematopoiesis. *Nature* 277: 177, 1979.
 - 29) Krantz SB and Jacobson LO: *Erythropoietin and Regulation of Erythropoiesis*. Univ Chicago Press, 1970.
 - 30) Gordon AS: Erythropoietin. *Vit Horm* 31: 105, 1973.
 - 31)* Nakao K, et al Eds: *Erythropoiesis*. Univ of Tokyo Press, 東京, 1975.

- 32) 高久史麿：顆粒球産生の調節：特にコロニー産生刺激因子 (CSF) の病態生理学的意義。医学のあゆみ 95：41, 1975.
- 33) Brennan JK, et al: Chemical mediators of granulopoiesis: A review. *Exp Hemat* 8: 441, 1980.
- 34)* 溝口秀昭：トロンボエチン。医学のあゆみ 114：517, 1980.
- 35) Fialkow PJ: Clonal and stem cell origin of blood cell neoplasmas. In *Contemporary Hematology/Oncology*. Vol 1: 1, LoBue J, et al Eds. Plenum, New York, 1980.
- 36) 高久史麿：造血幹細胞の変動：再生不良性貧血，日比野進，高久史麿編，医学書院，東京，1979，p 41.
- 37) 高久史麿：造血幹細胞の臨床。臨床血液 21：125, 1980.
- 38) Kurnick JE, et al: In vitro granulocytic colony-forming potential of bone marrow from patients with granulocytopenia and aplastic anemia. *Proc Soc Exp Biol Med* 137: 917, 1971.
- 39)* Mizoguchi H, et al: CFU-E and CFU-C in various hematological disorders. *Hematologica* 63: 444, 1976.
- 40) Hansi W, et al: Erythroid colony forming cells in aplastic anemia. *Brit J Haemat* 37: 483, 1977.
- 41) Hara H, et al: Pluripotent hemopoietic precursors in vitro (CFU mix) in aplastic anemia. *Exp Hemat* 8: 1165, 1980.
- 42) 高久史麿：薬剤起因性二次性再生不良性貧血，再生不良性貧血，日比野進，高久史麿編，医学書院，東京，1979，p 99.
- 43) Ascensão J, et al: Aplastic anemia: Evidence for an immunological mechanism. *Lancet* 1: 669, 1976.
- 44) Hoffman R, et al: Suppression of erythroid-colony formation by lymphocytes from patients with aplastic anemia. *New Eng J Med* 296: 10, 1977.
- 45) Singer JW, et al: Effect of peripheral blood lymphocytes from patients with aplastic anemia on granulocytic colony growth from HLA-matched and -mismatched marrow: Effect of transfusion sensitization. *Blood* 52: 37, 1978.
- 46) Takaku F, et al: Effect of peripheral blood mononuclear cells from aplastic anemia patients on the granulocyte-macrophage and erythroid colony formation from normal human bone marrow in vitro-A cooperative work. *Blood* 55: 937, 1980.
- 47)* Suda T, et al: Enhancement of granulocytic colony formation by deletion of phagocytic cells in the bone marrow of patients with aplastic anemia. *Exp Haemat* 8: 659, 1980.
- 48) Takaku F, et al: Suppressive effect of the phagocytic cells in the peripheral blood and the bone marrow of the patients with aplastic anemia on in vitro colony formation. *Exp Hemat* 8 (Suppl 7): 88, 1980.
- 49) Nissen C, et al: Peripheral blood cells from patients with aplastic anemia in partial remission suppress growth of their own bone marrow precursors in culture. *Brit J Haemat* 45: 233, 1980.
- 50) Speck B, et al: Treatment of aplastic anemia by antilymphocyte globulin with or without allogenic bone marrow infusion. *Lancet* 2: 1145, 1977.
- 51) Amare M, et al: Aplastic anemia associated with bone marrow suppressor T cell hyperactivity. Successful treatment with antithymocyte globulin. *Clin Res* 25: 333A, 1977.
- 52) Bacigalupo A, et al: Bolus methylprednisolone in severe aplastic anemia. *New Eng J Med* 300: 501, 1979.
- 53) Baran DT, et al: Recovery from aplastic anemia after treatment with cyclophosphamide. *New Eng J Med* 295: 1522, 1976.
- 54) Wiktor-Jedrzejczak W, et al: Aplastic anemia with marrow defective in formation of fibroblastoid colonies. *Exp Hemat* 8 (Suppl 7): 89, 1980.
- 55) Shahidi NT: Androgens and erythropoiesis. *New Eng J Med* 289: 72, 1973.
- 56) Azen EA and Shahidi NT: Androgen dependency in acquired aplastic anemia. *Amer J Med* 63: 320, 1977.
- 57) Storb R, et al: Marrow transplantation in thirty "untransfused" patients with severe aplastic anemia. *Ann Int Med* 92: 30, 1980.
- 58) Krantz SB and Kao V: Studies on red cell aplasia I. Demonstration of a plasma inhibitor to heme synthesis and an antibody to erythroblastic nuclei. *Proc Natl Acad Sci* 58: 493, 1967.
- 59) Krantz SB, et al: Studies on pure red cell aplasia. V. Presence of erythroblast cytotoxicity in globulin fraction of plasma. *J Clin Invest* 53: 324, 1973.
- 60) Hoffman R, et al: Diamond-Blackfan syn-

- drome: Lymphocyte-mediated suppression of erythropoiesis. *Science* 193: 899, 1976.
- 61) Nathan DG, et al: Erythroid precursors in congenital hypoplastic (Diamond-Blackfan) anemia. *J Clin Invest* 61: 489, 1978.
 - 62) Hutcheson JR, et al: Idopathic sideroblastic anemia: Presence of sideroblastic changes in the erythropoietic precursors cultured from peripheral blood. *Exp Hemat* 7: 328, 1979.
 - 63) Takaku F, et al: Erythroid precursor cells in primary acquired and secondary sideroblastic anemia. *Exp Hemat* 8(Suppl 8): 225, 1980.
 - 64) Prchal JT, et al: A common progenitor for human myeloid and lymphoid cells. *Nature* 274: 590, 1978.
 - 65) Radtke HW: Characterization of an inhibitor of erythropoiesis in chronic renal failure: In vitro studies in fetal mouse liver cell culture. *Exp Hemat* 8(Suppl 8): 298, 1980.
 - 66)* 杉本正邦, 他: 膠原病の貧血: 慢性関節リウマチ患者骨髓赤芽球のヘム合成とそれにおよぼす antithymocyte globulin の影響. 第8回日本臨床免疫学会総会, 1980, 東京.
 - 67) 溝口秀昭, 高久史磨: 赤血球増多症: 真性赤血球増多症の病態生理, 特に血液幹細胞の動態. *臨床血液* 15: 237, 1974.
 - 68) Kimura H, et al: Erythroid colony formation in vitro in bone marrow cells of polycythemia vera. *Acta Hemat Jap* 41: 679, 1978.
 - 69) Moore MAS: In vitro studies in the myeloid leukemia. In *Advances in Acute Leukemia*. Cleton FJ, et al Eds. North Holland, Amsterdam, 1975, p 161.
 - 70) Zanjani ED, et al: Erythroid colony formation by polycythemia vera bone marrow. In vitro dependence on erythropoietin. *J Clin Invest* 59: 841, 1977.
 - 71) Prchal JD and Axelrad AA: Bone marrow responses in polycythemia vera. *New Eng J Med* 290: 1382, 1974.
 - 72) Adamson JW, et al: Polycythemia vera: Stem cell and probable clonal origin of the disease. *New Engl J Med* 295: 913, 1976.
 - 73) Prchal JF and Adamson JW: Polycythemia vera: The in vitro response of normal and abnormal stem cell lines to erythropoietin. *J Clin Invest* 61: 1044, 1978.
 - 74) Adamson JW: Polycythemia vera. The use of cell markers in studies of hematopoietic regulation. 18th Cong Int Society Hematology, Montreal, 1980.
 - 75) Balcerzak SP and Bromberg PA: Secondary polycythemia. In *Polycythemia*: Berlin NI, et al Eds, Grune & Stratton, New York, 1976, p 19.
 - 76) Senn JS, et al: Comparison of colony-forming ability of normal and leukemic human marrow in cell culture. *Lancet* 2: 597, 1967.
 - 77) Iscove NN, et al: Colony formation by normal and leukemic human marrow cells in culture. *Blood* 37: 1, 1971.
 - 78) Robinson WA and Pike BL: Colony growth of human bone marrow cells in vitro. In *Hematopoietic Cellular Proliferation*. Stohlman F Jr, Ed, Grune & Stratton, New York, 1970, p 249.
 - 79) Brown CH and Carbone PP: In vitro growth of normal and leukemic human bone marrow. *J Natl Cancer Inst* 46: 989, 1971.
 - 80) Moore MAS, et al: In vitro colony formation by normal and leukemic human hematopoietic cells: Characterization of colony-forming cells. *J Natl Cancer Inst* 50: 603, 1973.
 - 81)* Kubota K, et al: Serial studies on in vitro colony formation in patients with acute leukemia in relation to the maintenance of remission. *Amer J Haemat* 5: 285, 1978.
 - 82)* Chiyoda S, et al: Influence of leukaemic cells on the colony formation of human bone marrow cells in vitro. *Brit J Cancer* 31: 355, 1975.
 - 83)* Chiyoda S, et al: Influence of leukemic cells on the colony formation of human bone marrow cells in vitro. II. Suppressive effects of leukemic cell extracts. *Brit J Cancer* 33: 379, 1976.
 - 84) Minden MD, et al: Proliferative state of blast cell progenitors in acute myeloblastic leukemia. *Blood* 52: 592, 1978.
 - 85) Park CH, et al: Prediction of chemotherapy response in human leukemia using an in vitro chemotherapy sensitivity test on leukemic colony-forming cells. *Blood* 55: 595, 1980.
 - 86) Park CH, et al: Improved growth of in vitro colonies in human acute leukemia with feeding culture method. *Cancer Res* 37: 4595, 1977.
 - 87) Buick RN, et al: Cytotoxicity of adriamycin and daunorubicin for normal and leukemia progenitor cells of man. *J Natl Cancer Inst* 62: 349, 1979.
 - 88) Ichikawa Y: Differentiation of a cell line of myeloid leukemia. *J Cell Physiol* 74: 223,

- 1969.
- 89) Gallagher R, et al: Characterization of the continuous differentiating myeloid cell line (HL-60) from a patient with acute promyelocytic leukemia. *Blood* 54: 713, 1979.
 - 90) Koefler HP and Golde D: Acute myelogenous leukemia: A human cell line responsive to colony stimulating activity. *Science* 200: 1153, 1978.
 - 91) Anderson LC, et al: Induction of erythroid differentiation in the human leukemia cell line K562. *Nature* 278: 364, 1979.
 - 92) Koefler HP and Golde DW: Human myeloid leukemia cell line. *Blood* 56: 344, 1980.
 - 93) Thomas ED, et al: Marrow transplantation for acute nonlymphoblastic leukemia in first remission. *New Eng J Med* 301: 597, 1979.
 - 94) Thomas ED: Bone marrow transplantation in acute leukemia. 18th Int Congress Hematology, Montreal, 1980.
 - 95) Schaefer UW and Dicke KA: Preservation of haemopoietic stem cells. Transplantation potential and CFU-C activity of frozen marrow tested in mice, monkey and man. Cryoconservation des cellules normales et neoplastiques. Colloque Inserm, Villejuif, 1975, p 63.
 - 96)* 佐々木秀樹, 他: ヒト骨髓細胞凍結保存の血液幹細胞に与える影響. *日血会誌* 42: 414, 1979.
 - 97) Whang J, et al: The distribution of the Philadelphia chromosome in patients with chronic myelogenous leukemia. *Blood* 22: 664, 1963.
 - 98) Golde DW, et al: The Philadelphia chromosome in human macrophages. *Blood* 49: 367, 1977.
 - 99) Fialkow PJ, et al: Chronic myelocytic leukemia. Origin of some lymphocytes from leukemic stem cells. *J Clin Invest* 62: 815, 1978.
 - 100) McCaffrey R, et al: Terminal deoxynucleotidyl transferase activity in human leukemic cells and in normal human thymocytes. *New Eng J Med* 292: 775, 1975.
 - 101)* Sakamoto S, et al: Enzyme markers and cellular origin of human leukemia. *Acta Haemat Jap* 42: 918, 1979.
 - 102) Janossy G, et al: Blast crisis of chronic myeloid leukemia. II. Cell surface marker analysis of lymphoid and myeloid cases. *Brit J Haematol* 34: 179, 1976.
 - 103) Hoffbrand AV, et al: Biochemical markers in leukemia and lymphoma. In *Strategies in Clinical Hematology*, Gross R, Hellriegel KP, Eds, Springer-Verlag, New York, 1979, p 25.
 - 104) Bollum FJ: Terminal deoxynucleotidyl transferase: Biological studies. In *Advances in Enzymology*. Meister A, Ed, Vol 47, Wiley, New York, 1978, p 347.
 - 105) Goldman JM, et al: In vitro colony-forming cells and colony stimulating factor in chronic granulocytic leukemia. *Brit J Cancer* 30: 1, 1974.
 - 106) Moberg C, et al: Granulopoiesis in chronic myeloid leukemia. I. In vitro cloning of blood and bone marrow cells in agar culture. *Scand J Haemat* 12: 381, 1974.
 - 107)* 溝口秀昭, 他: 造血幹細胞. 内野治人, 柴田昭編, 慢性骨髓性白血病, 医歯薬出版, 東京, 1979, p 72.
 - 108) Singer JW, et al: Chronic myelocytic leukemia(CML): Failure to detect residual normal committed stem cells in vitro. *Blood* 53: 264, 1979.
 - 109) Smalley RV, et al: Chronic granulocytic leukemia: Cytogenetic conversion of the bone marrow with cycle-specific chemotherapy. *Blood* 50: 107, 1977.
 - 110) Cunningham I, et al: Result of treatment of Ph⁺ chronic myelogenous leukemia with an intensive treatment regimen (L-5 protocol). *Blood* 53: 375, 1979.
 - 111) Sharp JG, et al: Karyotypic conversion in Ph⁺-positive chronic myeloid leukemia with combination chemotherapy. *Lancet* 1: 1370, 1979.
 - 112) Jacobson RJ, et al: Agnogenic myeloid metaplasia: A clonal proliferation of hemopoietic stem cells with secondary myelofibrosis. *Blood* 51: 189, 1978.
 - 113) Chervenick PA: Increase in circulating stem cells in patients with myelofibrosis. *Blood* 41: 67, 1973.
 - 114) Antoniades HN and Scher CD: Radioimmunoassay of a human growth factor for Balb/c-3T3 cells: Derivation from platelets. *Proc Natl Acad Sci* 74: 1973, 1977.
 - 115) Ross R, et al: A platelet-dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells in vitro. *Proc Natl Acad Sci* 71: 1207, 1974.
 - 116) Castro-Malaspina H, et al: Effects of blood and marrow cells from normal donors and patients with myeloproliferative disorders in marrow fibroblast growth. 18th Int Congress

- Hematology, Montreal, 1980.
- 117)* 片山俊夫, 他: Chronic myelomonocytic leukemia と考えられる症例のコロニー形成能. 第22回臨床血液学会総会, 東京, 1980.
 - 118) Patt HM, et al: Cyclic neutropoiesis in grey collie dogs: A stem-cell problem. Blood 42: 873, 1973.
 - 119) Golde DW and Cline MJ: Regulation of granulopoiesis. New Eng J Med 291: 1388, 1974.
 - 120) Dale DC and Goaw RG Jr: Transplantation of allogenic bone marrow in canine cyclic neutropenia. Science 183: 83, 1974.
 - 121) Moore MAS, et al: Monocyte production of colony stimulating factor in familial cyclic neutropenia. Brit J Haemat 27: 47, 1974.
 - 122) Greenberg PL and Schrier SL: Granulopoiesis in neutropenic disorders. Blood 41: 753, 1973.
 - 123)* Mizoguchi H, et al: Colony-forming cells in culture and colony-stimulating activity of the urine and the serum in a case of cyclic neutropenia. Tohoku J exp Med 119: 317, 1976.
 - 124) Unitz U and Sachs L: Normal granulocyte colony-forming cells in the bone marrow of Yemenite Jews with genetic neutropenia. Blood 41: 745, 1973.
 - 125) L'Esperance P, et al: Congenital neutropenia: In vitro growth of colonies mimicking the disease. Proc Natl Acad Sci 70: 669, 1973.
 - 126) Asano S, et al: Demonstration of granulopoietic factor(s) in the plasma of nude mice transplanted with a human lung cancer and in the tumor tissue. Blood 49: 845, 1977.
 - 127) Kimura N, et al: An established lung cancer cell line producing colony-stimulating activity. Proc Japan Acad Sci 54B: 548, 1968.
 - 128)* Suda T, et al: A case of lung cancer associated with granulocytosis and production of the colony stimulating activity from the tumor. Brit J Cancer 41: 980, 1980.
 - 129) Vainchenker W, et al: Megakaryocyte colony formation from human bone marrow precursors. Blood 54: 940, 1979.

* 印は著者のグループの仕事である。