

ず、これらの分化抗原は成体マウス造血幹細胞のネガティブマーカーとして用いられる。これに対し、T細胞関連抗原であるThy-1は成体マウス造血幹細胞にも弱く発現されており、Thy-1弱陽性分画は成体マウス造血幹細胞分画として用いられる³⁾。このほか、成体マウス造血幹細胞のポジティブマーカーとしては、Sca (stem cell antigen)-1, SCF (stem cell factor) の受容体であるc-Kitなどが用いられるが、最近成体マウス骨髄中には、c-Kitを発現しない造血幹細胞も存在することが報告された。また、ミトコンドリアを染色するとされるrhodamin 123はday12-CFU-Sでは強く染色されるが、造血幹細胞は弱陽性とされている。

胎仔マウス造血幹細胞の細胞表面マーカーの発現は、成体マウスのそれとはやや異なっている。最近、成体マウス造血幹細胞はCD34を発現していないか、あるいは発現しているとしても極めて弱いことが明らかとなったが⁴⁾、胎仔あるいは新生仔マウス造血幹細胞はCD34を発現している。また、胎仔マウス造血幹細胞は、成体マウス造血幹細胞には発現されていないMac-1を発現していることなども報告されている。

2) ヒト造血幹細胞の細胞表面形質 前述のように、成体マウスの造血幹細胞はCD34をほとんど発現していないが、CD34は従来よりヒト造血幹細胞のポジティブマーカーとしては臨床的にはよく用いられてきた。これまでのところ、異種移植によるアッセイ法で検討する限り、CD34を発現するヒト造血幹細胞が存在することは間違いないが、CD34陰性細胞中にはより未分化な造血幹細胞が存在する可能性が示唆されている。このほか、ヒト造血幹細胞のポジティブマーカーとしてはThy-1, c-Kit, Flk-2/Flt-3などが報告されている。

■文献

- 1) Lemischka IR, Raulet DH and Mulligan RC : Developmental potential and dynamic behavior of hematopoietic stem cells. *Cell*, 45 : 917, 1986.
- 2) Ogawa M : Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells. *Blood*, 81 : 2844, 1993.
- 3) Spangrude GJ, Heimfeld S and Weissman IL : Purification and characterization of mouse hematopoietic stem cells. *Science*, 241 : 58, 1988.
- 4) Osawa M *et al* : Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD34-low/negative hematopoietic stem cell. *Science*, 273 : 242, 1996.

5 造血幹細胞ならびにサイトカインの基礎と応用

辻 浩一郎

A 血液細胞の産生

1. 造血幹細胞 / 前駆細胞の分化・増殖

血液中には、形態と機能を異にする種々の血球が存在するが、それらはいずれも固有の寿命で崩壊している。この膨大な数の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、これらの細胞を造血幹細胞と呼ぶ。この造血幹細胞をレシピエントに移植し、その体内、主には骨髄に新たな造血を再構築し、長期にわたり維持することが、造血幹細胞移植の目的といえる。

こうした造血幹細胞の能力は「長期造血再構築能」と呼ばれる。この造血幹細胞の長期造血再構築能は、造血幹細胞が、細胞分裂により自己と同じ能力を有する細胞を複製する能力(自己複製能)と、すべての成熟血球を産生する能力(多分化能)、という2つの能力を併せ持つことにより、可能となっていると考えられている。

図1は、造血幹細胞から成熟血球が産生される過程を示している。恒常状態では多くの造血幹細胞は静止期にあり、必要に応じて細胞周期に入り、細胞分裂する。造血幹細胞は細胞分裂すると、その娘細胞は自己複製して再び造血幹細胞となるか、あるいは分化して多能性造血前駆細胞となる。多能性造血前駆細胞は、すでに分化することが運命づけられた細胞で、多分化能は有しているが、自己複製能は持たないことより、造血幹細胞とは区別される。

造血幹細胞由来の多能性造血前駆細胞は、細胞

分裂を繰り返しながら次第にその多分化能を失い、数種類の血球系への分化能のみを有する寡能性造血前駆細胞を経て、単一の血球系への分化を運命づけられた単能性造血前駆細胞となり、最終的にはリンパ球を含むすべての成熟血球を産生する。ただし、移植後の免疫機構の再構築が、造血機構のそれよりかなり遅れることから明らかにように、リンパ球の分化成熟過程は、他の血液細胞とは異なっており、必ずしも十分に解明されているわけではない。

特に、多能性造血前駆細胞からリンパ球が産生される初期分化の過程は不明な点が多く、T細胞とB細胞に共通な前駆細胞の存在も想定されている(したがって、図1についても、T細胞とB細胞の分化に関してはあえて詳述しなかった)。ただいづれにしても、このリンパ球を含む血液細胞の産生過程は、サイトカインと呼ばれる種々の細胞から産生される液性因子と、血液細胞を取り囲む造血微小環境により制御されている。

2. 造血支持組織

1) 造血微小環境

骨髄における造血支持組織は、静脈洞系の発達した血管系と、網状の間質構造により、構成されている。骨髄の血管系の経路は、栄養動脈→毛細血管→静脈洞→中心静脈洞→栄養静脈からなり、毛細血管と静脈洞が連続的な閉鎖血管系を形成する。静脈洞で仕切られた造血実質は、間質(ストローマ)細胞とこれを支持する細胞外マトリックス(extracellular matrix; ECM)からなり、造血微小環境を形成する。造血微小環境は造血細胞を定着させ、いわゆる「造血の場」を提供し、造血細胞は造血微小環境において効率的に増殖分化する。

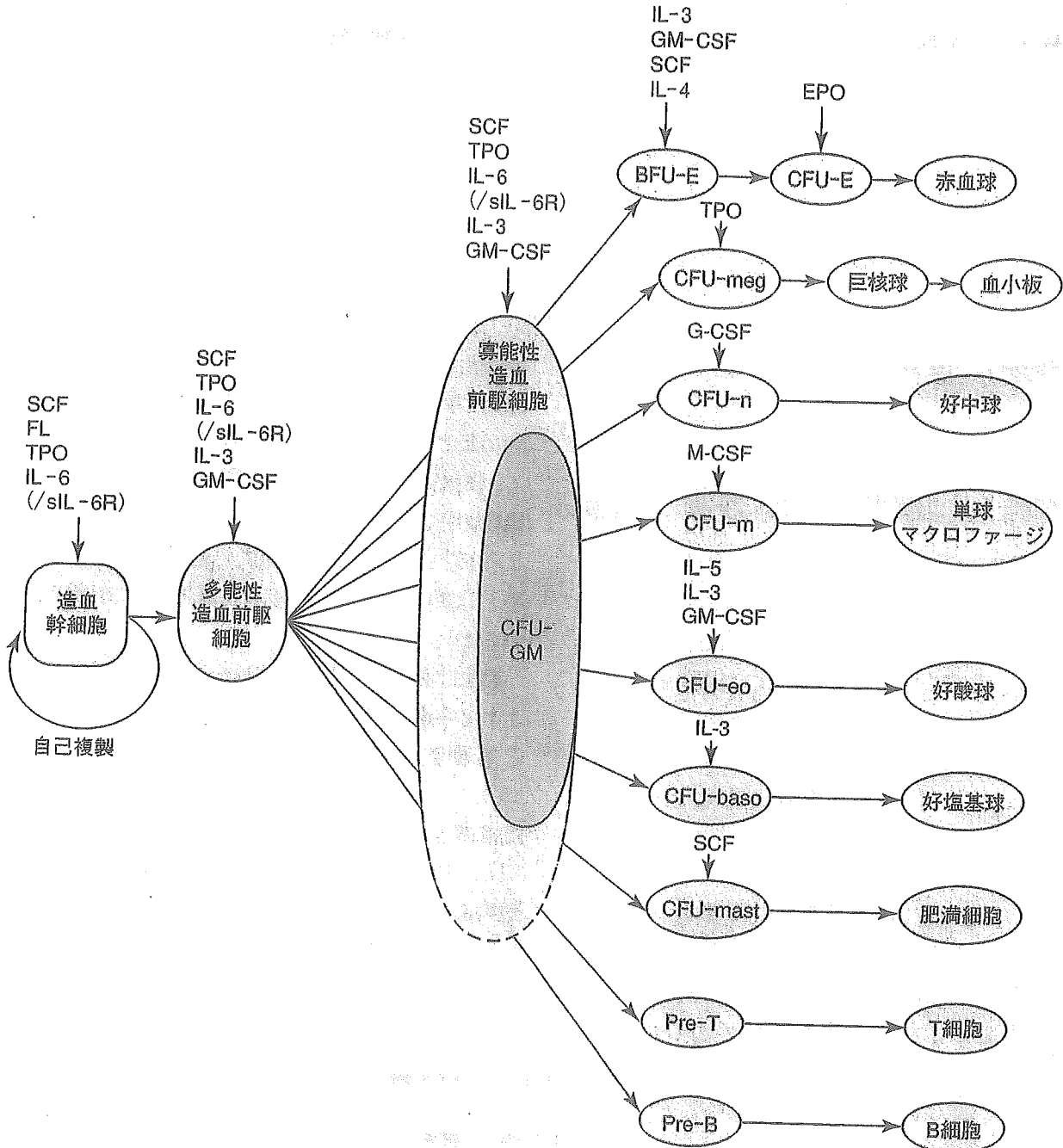


図1 造血幹細胞からの血液細胞の産生

造血幹細胞は、細胞分裂により自己複製して再び造血幹細胞になるか、あるいは分化して多能性造血前駆細胞になる。多能性造血前駆細胞は、細胞分裂を繰り返しながら次第に多分化能を失い、寡能性造血前駆細胞を経て、単能性造血前駆細胞となり、最終的に成熟血球を産生する。こうした過程の多くは種々のサイトカインにより制御されている。

2) ストローマ細胞

ストローマ細胞は、線維芽細胞、マクロファージ、前脂肪細胞、内皮細胞などからなる⁴⁾。ストローマ細胞は、種々のサイトカインやケモカイン、ECMを産生するばかりでなく、その細胞表面にVCAM (vascular cellular adhesion mole-

cule) -1, ICAM (intercellular adhesion molecule) -1のような接着分子、あるいはSCF (stem cell factor; 幹細胞因子), M-CSF (macrophage colony-stimulating factor; マクロファージ・コロニー刺激因子)などの膜結合型サイトカインを発現し、これらを介する細胞間相互作用によって

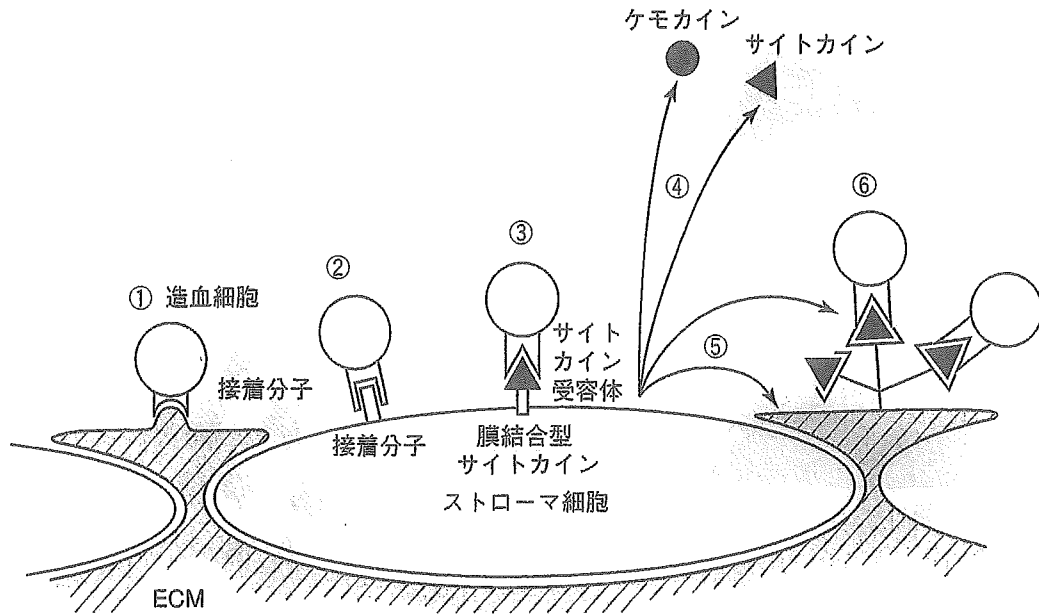


図2 造血微小環境と造血細胞

- ① ECM による造血細胞の接着
- ② ストローマ細胞上の接着分子による造血細胞の接着
- ③ ストローマ細胞上の膜結合型サイトカインによる造血細胞の接着
- ④ ストローマ細胞によるサイトカイン、ケモカインの産生
- ⑤ ストローマ細胞による ECM の産生
- ⑥ ECM に捕捉されたサイトカインによる造血細胞の分化増殖の制御

も、造血幹細胞 / 前駆細胞の増殖分化を制御している (図2)。

3) ECM

ストローマ細胞により産生される、フィブロネクチン、ヘモネクチン、プロテオグリカン、トロポスポンジン、テネイシン、コラーゲン、ラミニンなど、ECM はストローマ細胞間の結合に関与し、造血微小環境の立体構造を維持する一方、接着分子を介する造血細胞の骨髄への定着、造血細胞とストローマ細胞の接着にも作用し、その分化増殖にも関与している。さらに、ECM は、サイトカインを捕捉し、その作用を増強している (図2)。

4) ケモカイン

特定の細胞の遊走活性を促進するケモカインは、GVHD を含む種々の炎症あるいは免疫反応において重要な役割を担っているが、ストローマから産生されるケモカインは造血にも関与してい

る。特に、SDF (stroma cell-derived factor) -I は、その受容体である CXCR4 を発現する造血細胞に作用し、移植造血幹細胞の骨髄への定着、あるいは骨髄造血幹細胞の末梢血中への動員に関与していることが示されている¹⁾。

B 造血幹細胞

1. 造血幹細胞の動態

1) 造血幹細胞の活性化

1986年、Lemischka ら²⁾は、レトロウイルスの組み込み部位をマーカーとするマウス造血幹細胞の移植実験を行った。彼らは、放射線照射されたマウスに、マーカーを付けた造血幹細胞を移植し、末梢血球のDNAを解析することによりそのクローン性を検討した。その結果、少なくとも移植後の造血回復期においては、造血幹細胞のプール

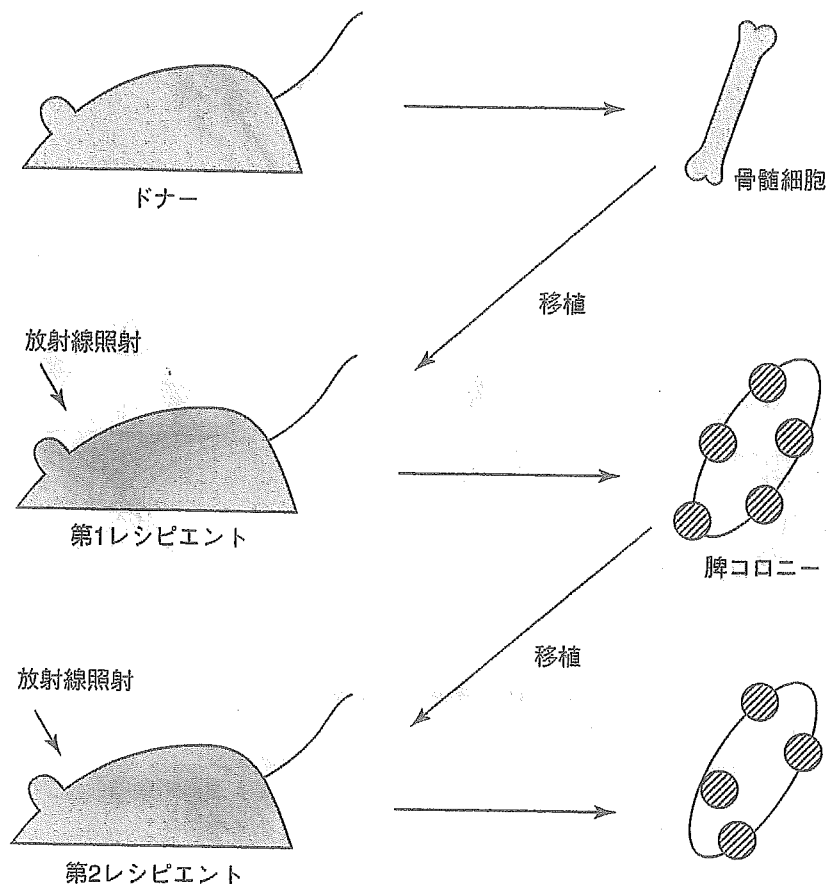


図3 マウスCFU-Sの自己複製

マウス骨髓細胞を放射線照射されたレシピエントに移植すると、脾臓に脾コロニーが形成される。その1個の脾コロニーをもう一度移植すると、再び脾コロニーが形成される。

が平均的に使われているのではなく、一部のクローンが消退を繰り返していることを示した。さらに彼らは、移植を受けたマウスの骨髓を二次移植すると、最初のレシピエントマウスでは、造血に関与しなかったクローンが、二次移植されたマウスの造血を支持し得ることを示した。

以上の結果は、静止期にある造血幹細胞は必要に応じて活性化され、造血に関与することを示している。造血幹細胞の活性化の機序については、十分に解明されているわけではないが、少なくともその一部は、複数のサイトカインの協同作用により制御されている(「C. サイトカイン」の項参照)。

2) 造血幹細胞の自己複製

造血幹細胞の自己複製という概念は、主に、1961年に、TillとMcCullochにより報告されたマウス脾コロニーの実験から形成された³⁾。彼ら

は、致死量放射線照射したマウスに、同系マウス骨髓を移植すると、10日後にはレシピエントマウスの脾臓に、移植細胞数に比例して赤芽球、顆粒球、巨核球およびこれらの細胞の混在した脾コロニーが形成されることを見いだした(図3)。また、放射線により惹起された種々の染色体異常を有する骨髓細胞を移植しても、1つのコロニーからは、同一の染色体異常しか検出されないことより、個々の脾コロニーは、それぞれ1個の細胞に由来することが明らかとなり、この細胞は、脾コロニー形成細胞(spleen colony-forming unit; CFU-S)と命名された。さらに、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、再び脾臓に3系統の血球細胞からなるコロニーが形成されることから(図3)、CFU-Sは各血球系に分化する能力とともに、自己複製する能力も有することが示され、CFU-Sは造血幹細胞

であると推測された。

それでは造血幹細胞が細胞分裂する際、自己複製するか、多能性造血前駆細胞に分化するかはどのように制御されているのであろうか。Tillら⁴⁾は、脾コロニー中に含まれるCFU-Sの出現頻度を解析し、その分布が、ガンマ分布に一致することより、造血幹細胞が自己複製するか、分化するかは、個々の分裂ではまったくat randomに起こるが、全体としては、ある確率(彼らの計算によれば、造血幹細胞が自己複製する確率は0.6と算出された)で規定される現象であるとするstochastic modelを提唱した。

一方、自己複製という概念を疑問視する見解もある。脾コロニーを経時的に観察してみると、8日目に認められたコロニーが、12日目には消失していたり、8日目には認められなかったコロニーが、12日目には出現していたりというような現象がみられることより、8日目に観察されたコロニーを形成する細胞(day 8-CFU-S)と、12日目に観察されるコロニーを形成する細胞(day 12-CFU-S)は、必ずしも一致しないことがわかってきた⁵⁾。

このことより、造血幹細胞も決して均一な細胞集団ではなく、階層性を有しているのではないかと考えられるようになってきた。つまり、長期造血再構築能という機能からみれば、確かに造血幹細胞は自己複製しているかのごとくみえるとしても、厳密には、造血幹細胞といえども、細胞分裂すればそれなりの分化するのであるが、十分な階層性ゆえに、一生にわたる造血を維持し得るとの考えである。

さらに最近では、CFU-Sの自己複製能には限界があり、必ずしも長期造血再構築能を保持しておらず、その意味において、造血幹細胞と呼べないのではないかとする研究者も多い。

このように、造血幹細胞の性状については未解決な点が数多く残されており、その解明には、造血幹細胞の動態の分子基盤の解析が必要と思われる。

3) 造血幹細胞の多分化能

造血幹細胞が、リンパ球を含むすべての血液細胞に分化し得ることは、何らかのマーカーを有するマウス造血幹細胞の移植実験から証明される。

例えば、放射線照射により誘導された染色体異常を有する造血幹細胞を移植されたマウスでは、リンパ球を含むすべての血球細胞で、同一の染色体異常が認められるし⁶⁾、前述の、Lemischkaらの遺伝子工学的なマーカーを用いた移植実験でも、同様の結果が示されている⁷⁾。

また、脾コロニー中には、血液細胞ばかりではなく、リンパ球も存在することが報告されている。*in vitro*の実験においても、単細胞培養法によりリンパ球を含むすべての血球細胞に分化し得る造血細胞の存在が証明されている⁷⁾。さらに最近では、1個の造血幹細胞を移植することにより、すべての血球系細胞が再構築されることも確認されている⁸⁾。

2. 造血幹細胞 / 前駆細胞の評価法

(表1)

1) *in vitro* 法

a. *in vitro* コロニー形成法

造血細胞を、メチルセルロースなどの半固形培地中で、種々のサイトカインとともに培養すると、1個の細胞に由来する細胞集団が、コロニーとして観察される。

このコロニーの構成細胞を調べることにより、そのコロニーの起源となった細胞[コロニー形成細胞(colony-forming unit; CFU, またはcolony forming cell; CFC)]の性質を解析する方法を、*in vitro* コロニー形成法という。

コロニーを構成する細胞が、単一の血球系細胞からなる場合は、単能性造血前駆細胞に由来するコロニーと推定される。

例えば、好中球のみからなるコロニー(好中球コロニー)を形成した細胞は、CFU-n(neutrophil colony-forming unit)と呼ばれ、好中球系前駆細胞であると考えられる(図1)。同様に、好酸球、好塩基球、単球・マクロファージ、巨核球、肥満

表1 造血幹細胞 / 前駆細胞の評価法

マウス	ヒト
<i>in vitro</i> 法	
<ul style="list-style-type: none"> • <i>in vitro</i> コロニー形成法 芽球コロニー形成法 • LTC-IC 測定法 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>in vitro</i> コロニー形成法 芽球コロニー形成法 • LTC-IC 測定法
<i>in vitro</i> 法	
<ul style="list-style-type: none"> • 脾コロニー形成法 • 造血再構築能評価法 同系マウス間移植法 	<ul style="list-style-type: none"> • 造血再構築能評価法 large animal への移植 (ヒツジ胎仔など) 免疫不全マウスへの移植 (SCID マウス, NOD/SCID マウスなど)

細胞のみからなるコロニーは、おのおの好酸球コロニー、好塩基球コロニー、単球・マクロファージコロニー、巨核球コロニー、肥満細胞コロニーと呼ばれ、その前駆細胞を、CFU-eo (eosinophil colony-forming unit), CFU-baso (basophil colony-forming unit), CFU-m (macrophage colony-forming unit), CFU-meg (megakaryocyte colony-forming unit), CFU-mast (mast cell colony-forming unit) と称する。ただし、ヒト肥満細胞の培養には、液体培養のような長期培養が必要なため、ヒト CFU-mast は、コロニー形成法のような短期培養では同定が困難である。

また、赤血球系細胞のみからなるコロニーについては、その大きさと形状から、複数のサブコロニーから構成される赤芽球バースト(図4)と、赤芽球コロニーに分類される。それぞれの起源となった細胞は、BFU-E (erythroid burst-forming unit), CFU-E (erythroid colony-forming unit) と呼ばれ、前者は、後者と比べて、より未分化な前駆細胞と考えられている。

形成されるコロニーの中には、2種類以上の血球系細胞から構成されるもの(混合コロニー)があり、その起源となった細胞は、複数の血球系への分化能を有する寡能性、または、多能性造血前駆細胞であると考えられる。その中でも特に、好中球、好酸球、好塩基球、肥満細胞などの顆粒球系細胞と、マクロファージ・単球系細胞を含む GM (granuloid-macrophage) コロニー (図5)を



図4 赤芽球バースト
赤血球系細胞のみから構成される数個のサブコロニーからなるコロニーで、BFU-E に由来する。

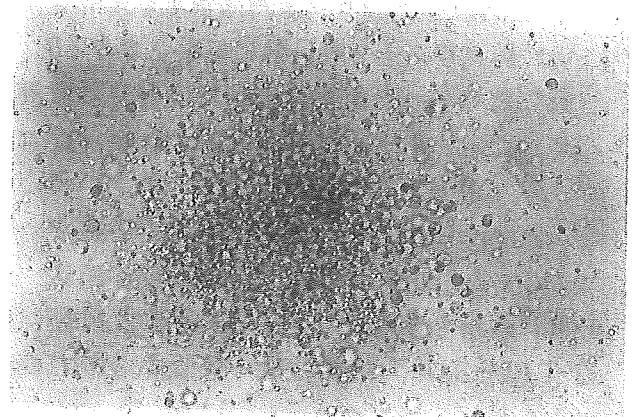


図5 GM コロニー
顆粒球系細胞と単球・マクロファージ系細胞から構成されるコロニーで、CFU-GM に由来する。

形成した前駆細胞は、CFU-GM, 顆粒球系, 単球・マクロファージ系, 赤血球系, 巨核球系細胞など、すべての血球系細胞を含む GEMM (granuloid-erythroid-macrophage-megakaryocyte) コロニー (図6) の起源となった多能性造血前駆細胞は、CFU-GEMM と呼ばれる。

いずれにしても、それぞれのコロニーを構成する血球細胞の組み合わせとその比率は、多様性に富んでおり、このことは多能性造血前駆細胞から各血球系細胞への分化が、at random に起こっていることを示唆している(「C-2. 血液細胞の分化・成熟に関するサイトカイン」の項参照)。

芽球コロニー形成細胞 (CFU-blast : blast cell colony-forming unit) は、現在のところコロニー形成法で確認できる最も未分化な CFC といえ

があることは、前述の通りであるし、もちろん、ヒトにおいてこれに相当する評価法はない。

少なくとも現時点で信頼できる長期造血再構築能の評価法としては、移植系以外にはなく、ヒトの場合は、当然のことながら異種移植によらざるを得ない。そこで異種移植に伴う移植免疫反応を克服するために、ヒツジ胎仔や免疫不全 SCID (severe combined immuno-deficiency) マウスなどへの移植が試みられてきた^{10,11)}。

しかし、これらの方法には、繁雑な処置が必要である、生着率が低いなどの問題点があり、実用性という点では満足すべきものではなかった。ところが、最近新たに開発された NOD (nonobese diabetic) /SCID マウスは、成熟リンパ球欠損、マクロファージの活性低下、補体活性の低下、NK 細胞活性の低下などの特徴を有し、ヒトサイトカインの投与などの処置を必要とせず、ヒト造血幹細胞が安定して生着することが明らかとなった¹²⁾。こうした NOD/SCID、あるいは SCID マウスの骨髄に生着可能なヒト細胞は、SRC (SCID mouse-repopulating cell) と呼ばれ、造血幹細胞に相当する細胞と考えられている。

3. 造血幹細胞の細胞表面形質

前述の移植系による造血幹細胞の評価法の確立と、発現されている細胞表面マーカーにより細胞分取を可能にした蛍光活性化細胞分取装置 (fluorescence activated cell sorter ; FACS) の導入により、造血幹細胞の細胞表面マーカーが明らかになってきた。

1) マウス造血幹細胞の細胞表面形質

成体マウス造血幹細胞には、単球/マクロファージ、顆粒球、B 細胞、T 細胞、赤芽球の分化抗原である Mac-1, Gr-1, B220, CD4, CD8, TER119 などは発現されておらず、これらの分化抗原は、成体マウス造血幹細胞のネガティブマーカーとして用いられる。これに対し、T 細胞関連抗原である Thy-1 は、成体マウス造血幹細胞にも弱く発現されており、Thy-1 弱陽性分

図 6 GEMM コロニー

顆粒球系, 単球・マクロファージ系細胞, 赤血球系細胞, 巨核球系細胞から構成されるコロニーで, CFU-GEMM に由来する。

る⁹⁾。芽球コロニーは未分化な芽球細胞から構成され、これらの芽球細胞を二次培養すると、再び多数の芽球コロニーや混合コロニーが形成される。ヒトにおいても、芽球コロニーの形成は可能であるが、培養条件が難しく、マウスの芽球コロニー形成法ほど一般的でない。

b. long-term culture-initiating cell (LTC-IC) 測定法

造血細胞を骨髄ストローマ細胞上で培養すると、造血前駆細胞に由来すると考えられる血液細胞の増殖が、最初の 1~2 週間は認められるが、その後は次第に消失してしまう。ところが、培養後 5 週間以上経過しても培養細胞中に CFC が認められることがあり、この CFC は、より未分化な造血細胞に由来すると考えられ、この造血細胞を LTC-IC と呼ぶ。LTC-IC は、限界希釈法を応用することにより、定量的に測定することが可能であり、特に、ヒトにおいては、造血幹細胞の測定法の代替法としてよく用いられる。

2) *in vivo* 法

in vitro 法はいずれも、あくまで造血前駆細胞の評価法であって、長期造血再構築能を評価しているわけではなく、その意味では造血幹細胞の評価法の代替法にすぎない。*in vivo* 法としては、マウスにおいては、前述の脾コロニー形成法が歴史적으로よく用いられてきたが、CFU-S が必ずしも造血幹細胞を反映するものではない、との考え

画は、成体マウス造血幹細胞分画として用いられる¹³⁾。

このほか、成体マウス造血幹細胞のポジティブマーカーとしては、Sca (stem cell antigen) -1¹³⁾, SCFの受容体であるc-Kit¹⁴⁾などが用いられるが、最近、成体マウス骨髄中には、c-Kitを発現しない造血幹細胞も存在することが報告された¹⁵⁾。また、ミトコンドリアを染色するとされるRhodamin 123は、CFU-Sでは強く染色されるが、造血幹細胞は弱陽性とされている¹⁶⁾。

胎仔マウス造血幹細胞の細胞表面マーカーの発現は、成体マウスのそれとはやや異なっている。

最近、成体マウス造血幹細胞は、ヒト造血幹細胞/前駆細胞のマーカーとしてよく用いられるCD34を発現していないか、あるいは発現しているとしても極めて弱いことが明らかとなったが¹⁷⁾、胎仔あるいは新生仔マウス造血幹細胞は、CD34を発現している¹⁷⁾。また、胎仔マウス造血幹細胞は、成体マウス造血幹細胞には発現されていないMac-1を発現していることなども報告されている¹⁸⁾。

2) ヒト造血幹細胞の細胞表面形質

前述のように、成体マウスの造血幹細胞はCD34をほとんど発現していないが、CD34は、従来より、ヒト造血幹細胞のポジティブマーカーとしては、臨床的にはよく用いられてきた。これまでのところ、異種移植によるアッセイ法で検討する限り、CD34を発現するヒト造血幹細胞が存在することは、間違いないが¹⁹⁾、CD34-細胞中には、より未分化な造血幹細胞が存在する可能性が示唆されている²⁰⁾。このほか、ヒト造血幹細胞のポジティブマーカーとしては、Thy-1²¹⁾、c-Kit²²⁾、Flk2/Flt3²³⁾などが報告されている。

ヒト胎生期造血に由来する臍帯血中の造血幹細胞と成人骨髄中の造血幹細胞では、接着分子、ケモカイン受容体の発現に差違があり、そのため移植後の骨髄へのhomingの能力が異なる可能性が示されている¹⁾。このように、マウスの解析からも明らかのように、造血幹細胞の性状は個体の発達とともに変化すると予想される²⁴⁾。したがって、

臍帯血移植実施にあたっては、臍帯血造血幹細胞は従来の骨髄造血幹細胞とは異なる性状を有する可能性が十分に考慮されねばならない。

C サイトカイン

サイトカインは、マクロファージ、リンパ球、ストローマ細胞など様々な細胞から産生され、標的細胞の細胞表面に発現している受容体と結合することにより、その細胞内シグナルを活性化し、生物活性を発揮する。

1. サイトカインの生物活性

1つのサイトカインが担う機能は、必ずしも単一ではなく、標的細胞の種類や分化段階により多様な活性を示す(サイトカインの作用の多様性)。一方、1つの標的細胞に対して、異なるサイトカインが同一の機能を発揮することがある(サイトカインの作用の重複性)。

例えば、一部の好酸球系前駆細胞に対して、インターロイキン(interleukin; IL)-3、顆粒球・マクロファージコロニー刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; GM-CSF)、IL-5は、同様にその増殖・分化を誘導する。この現象は、IL-3、GM-CSF、IL-5の受容体が、それぞれのサイトカインに特異的に結合する α 鎖と、3つの受容体に共通のシグナル伝達分子である β 鎖から構成されていることで説明される²⁵⁾。つまり、好酸球系前駆細胞はこの3種類のサイトカイン受容体の α 鎖を発現しているために、IL-3、GM-CSF、IL-5のいずれの刺激に対しても反応するが、その刺激は、同一のシグナル伝達分子である β 鎖を介して伝えられるので、結果的に同様の作用を及ぼすものと考えられる(図7)。

このように同一のシグナル伝達分子を共有する受容体としては、gp130を共有するIL-6、IL-11、LIF(leukemia inhibitory factor)、オンコスタチンMの受容体、同じくシグナル伝達分子とし

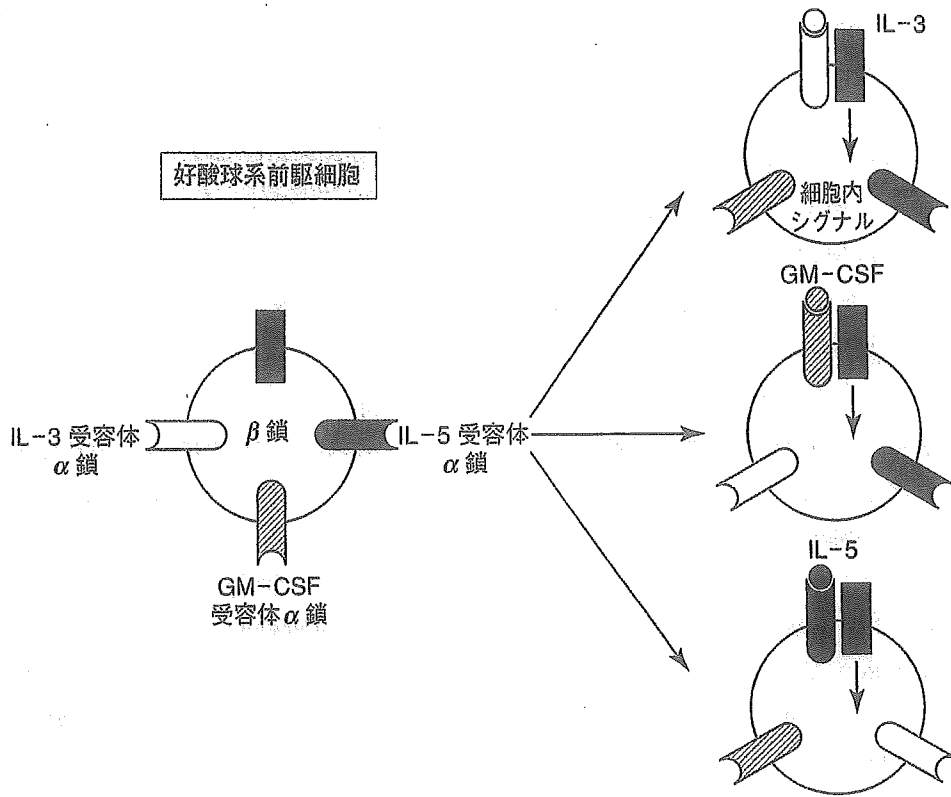


図7 IL-3, GM-CSF, IL-5の好酸球系前駆細胞に対する作用

一部の好酸球系前駆細胞はIL-3, GM-CSF, IL-5受容体の α 鎖をいずれも発現しているために, IL-3, GM-CSF, IL-5のいずれの刺激に対しても反応するが, その刺激は共通のシグナル伝達分子である β 鎖を介して伝えられるので, 結果的に同様の作用を及ぼす。

て γ 鎖を共有するIL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15の受容体などが知られている²⁵⁾。

また, 1つのサイトカインだけでは発揮されず, 複数のサイトカインの組み合わせによりはじめて活性が発揮される場合がある(サイトカインの協同作用)。特に, 未分化な造血細胞に対する作用にはそうした協同作用によるものが多い。

こうしたサイトカインの作用の多様性・重複性や協同作用により, 血液細胞の分化・成熟は極めて複雑に統御されていると考えられ, この複雑さがその統御機構の柔軟性を保証しているともいえる。

2. 血液細胞の分化・成熟に関与するサイトカイン

図1にも示したように, 血液細胞の分化・成熟には多数のサイトカインが関与しているが, それらは標的細胞の分化・成熟段階により, late-

acting factor と intermediate-acting factor, early-acting factor に分類されることが多い²⁶⁾。

late-acting factor とは, 特定の血球系に特異的に作用し, その最終的な分化・成熟を誘導するサイトカインで, 赤血球系細胞に作用するエリスロポエチン(erythropoietin; EPO), 好中球系に作用する顆粒球コロニー刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor; G-CSF), 単球・マクロファージ系に作用するM-CSF, 巨核球系に作用するトロンボポエチン(thrombopoietin; TPO), 好酸球系に作用するIL-5などがこれにあたる。

これに対し, IL-3, GM-CSFなどは, 主に多能性造血前駆細胞から寡能性前駆細胞に作用し, intermediate-acting factor と呼ばれる。さらに, SCF, Flk2/Flt3 リガンド (FL: Flk2/Flt3 ligand) は, より未分化な段階, おそらくは造血幹細胞レベルに作用するという点で, early-acting factor に分類される。

こういった分類は, 簡便で非常に理解されやす

いが、前述のように、実際にはサイトカインの作用には多様性があるために、3者の機能の区別が困難なことも少なくない。

例えば、TPOは、確かに巨核球の成熟に極めて重要なサイトカインであるが、造血幹細胞や多能性造血前駆細胞にも作用することがわかってきた²⁷⁾。また、IL-3は、多能性造血前駆細胞ばかりでなく、赤芽球系前駆細胞、マクロファージ・顆粒球系前駆細胞、さらには前述のように好酸球系前駆細胞にも作用し、好酸球の成熟も誘導できることが示されている。

一方、造血に対して抑制的に作用するサイトカインも存在する。インターフェロン(interferon; IFN) γ 、腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor; TNF) α 、腫瘍化増殖因子(transforming growth factor; TGF) β がこれにあたるが、特に、GVHD発症時の造血抑制にはこれらの炎症性サイトカインが強く関与している。

3. 血液細胞の分化モデル

多能性造血前駆細胞から単能性造血前駆細胞への分化が、どのように制御されているかについては、これまでもいくつかのモデルが提唱されてきた。その1つは、サイトカインを含む外的要因が、多能性造血前駆細胞の分化方向を規定するとするモデルで、deterministic modelと呼ばれる²⁸⁾。しかし、造血細胞へのサイトカイン受容体遺伝子の導入実験や、サイトカイン受容体遺伝子のトランスジェニックマウスの解析において、このモデルに否定的な結果が示されている。

Pharrら²⁹⁾は、芽球コロニー構成細胞に活性化したEPO受容体およびM-CSF受容体遺伝子を導入して、多能性造血前駆細胞からの血球分化の方向が、EPOやM-CSFによって変わるかどうか検討した結果、EPOやM-CSFは、その分化には何ら影響しないことを報告した。

また、Nishijimaらは、ヒトGM-CSF受容体の α 鎖と β 鎖を発現するトランスジェニックマウスを作製し、このマウスの骨髓細胞を、ヒトGM-CSF存在下で培養したところ、顆粒球・マ

クロファージコロニーばかりでなく、好酸球コロニー、巨核球コロニー、肥満細胞コロニー、赤芽球バースト、混合コロニー、芽球コロニーなどが多数形成された³⁰⁾。また、ヒトGM-CSFとマウスIL-3により形成される芽球コロニー間で、分化能に差違はみられなかった。同様の結果は、マウスIL-5受容体 α 鎖遺伝子³¹⁾やヒトG-CSF受容体遺伝子³²⁾のトランスジェニックマウスの解析からも得られている。

以上の結果は、多能性造血前駆細胞の分化は、特定のサイトカインにより特定の方向へ誘導されるものではないことを示している。このことは、前述のような人為的に加工された細胞ばかりでなく、TPOの造血細胞に対する作用の解析の結果からも支持される。TPOは、巨核球系前駆細胞ばかりでなく、多能性造血前駆細胞にも作用することはすでに述べたが、その際、TPOは、多能性造血前駆細胞から巨核球系前駆細胞への分化のみを誘導するのではなく、赤芽球系前駆細胞や顆粒球・マクロファージ系前駆細胞への分化も支持することが示されている²⁷⁾(図8)。

それでは、多能性造血前駆細胞の分化は、どのように進んでいくのであろうか。1個の多能性造血前駆細胞に由来する2対の孫娘細胞から形成される4個のコロニー中の構成細胞を解析してみると³³⁾、例えば、図9に示したように、第3世代の4個の孫娘細胞がそれぞれマクロファージ(m)コロニー、好酸球・好塩基球(eb)コロニー、好中球(n)コロニー、好中球・マクロファージ(nm)コロニーを形成するような場合が認められる。これは、第1世代の多能性造血前駆細胞(nmcb)は、分裂ごとにat randomに、その血球系への分化能力を失っていったことを示しており、このことより、多能性造血前駆細胞から各血球系への分化は、ある確率で惹起されるstochasticな現象であると考えられる。しかし、そのstochastismを支持する分子基盤は、いまだ不明であり、今後、造血細胞の分化における転写因子の発現や、その制御機構などの解析により、明らかにされてくるものと期待される。

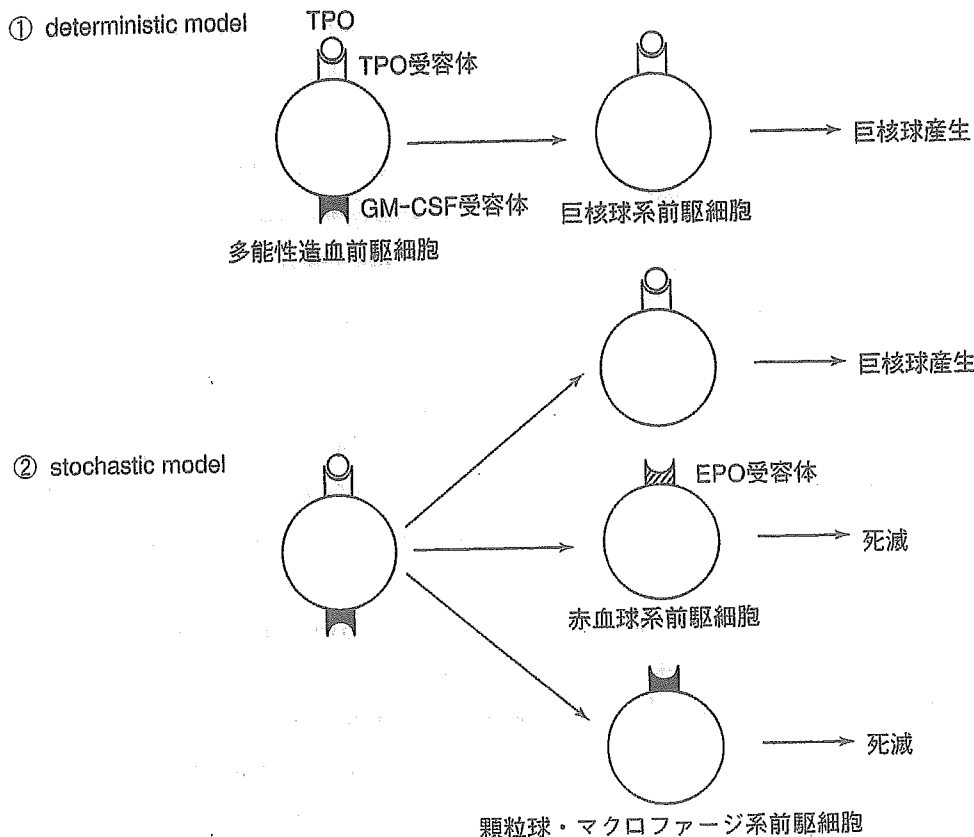


図8 TPOの多能性造血前駆細胞に及ぼす影響

TPO存在下で多能性造血前駆細胞を培養すると、最終的には巨核球のみが産生されてくる。この現象は、一見、TPO受容体を発現する多能性造血前駆細胞がTPO刺激によりやはりTPO受容体を発現する巨核球系前駆細胞に分化し、さらに巨核球まで成熟したようにみえる(deterministic model)。しかし、TPOにより形成される芽球コロニーを種々のサイトカイン存在下で二次培養してみると、巨核球コロニーばかりでなく、赤芽球バースト、顆粒球・マクロファージコロニーが多数形成されることより、TPO刺激により多能性造血前駆細胞は、巨核球系前駆細胞ばかりでなく、EPO受容体を発現する赤血球系前駆細胞やGM-CSF受容体を発現する顆粒球・マクロファージ系前駆細胞にも分化するが、後者ではそれ以後の成熟に必要なEPOやGM-CSFの刺激がないため維持されず、結果的に巨核球系前駆細胞のみが巨核球へと成熟すると考えられる(stochastic model)。

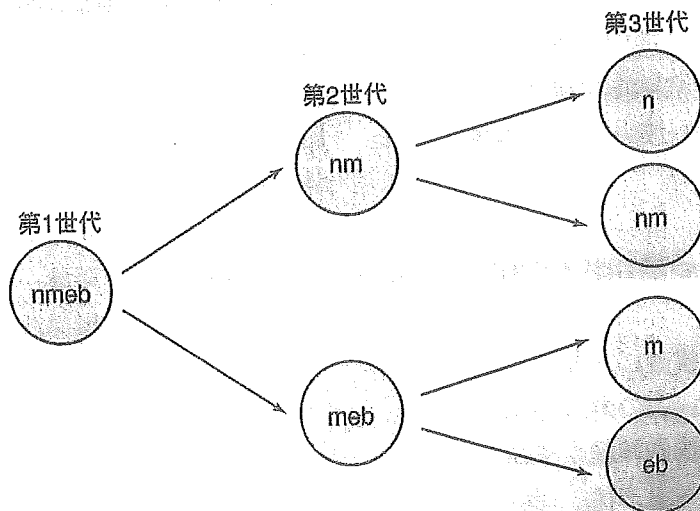


図9 ヒト多能性造血前駆細胞の孫娘細胞培養実験

4個の孫娘細胞がそれぞれマクロファージ(m)コロニー、好酸球・好塩基球(eb)コロニー、好中球(n)コロニー、好中球・マクロファージ(nm)コロニーを形成したとすると、図に示したような系統図ができる。

4. サイトカインの臨床応用

1) 造血因子としてのサイトカイン

これまで多くのサイトカインについて、その臨床応用が検討されてきたが、現在、実際に臨床の場で造血因子として汎用されているサイトカインは、EPOとG-CSFである。両者は、その標的細胞がおのおの、赤血球系細胞と好中球系細胞と特異性が高いため、その有効性ははっきりしており、他の血球系細胞への影響が少ないことが、臨床応用を可能にしたといえる。

a. EPO

EPOは、造血因子としては最も早くより、多くの貧血患者に臨床応用されてきた。特に、腎性貧血や未熟児貧血には有効性が高く、再生不良性貧血や骨髄異形成症候群に伴う貧血の一部にも、有効であることが報告されている。

b. G-CSF

速やかな好中球増加が認められることより、種々の悪性腫瘍や白血病の化学療法後の好中球減少時の感染症の治療に用いられる。感染症に対する予防効果についても、一定の評価を得ており、造血幹細胞移植後のG-CSF投与により、好中球減少期間が短縮する(その詳細は「I-8. 無菌管理と感染対策」の項参照)。

また、再生不良性貧血や先天性好中球減少症にも投与され、多くの症例で、好中球が増加することが認められている。ただし、一部の症例においては、骨髄異形成症候群や急性骨髄性白血病への移行が報告されており³⁴⁾、使用に際しては、慎重な経過観察が必要とされる。

2) サイトカインによる造血幹細胞の末梢血への動員

種々のサイトカインの投与により、末梢血中に造血幹細胞が動員される。この動員された造血幹細胞を利用して、末梢血造血幹細胞移植が実施される〔詳細は「I-12. 造血幹細胞の採取、調整、移植(同種および自家) — ②末梢血」項参照〕。

3) 造血幹細胞 / 前駆細胞の体外増幅

最近の造血幹細胞移植療法の発展により、その適応となる対象者は次第に拡大されてきたが、これに伴い、造血幹細胞移植の適応がありながら、十分量の移植造血幹細胞数が確保できないために、造血幹細胞移植が受けられない場合が増加してきた。

例えば、①体格の小さな女性や小児から移植造血幹細胞を採取する場合、②放射線療法、化学療法により造血能の低下した患者から自己造血幹細胞を採取する場合、③あるいは臍帯血移植のように、採取可能な造血幹細胞数に限界がある場合、などがあげられる。こうした問題を解決するために、ヒト造血幹細胞を体外増幅しようという試みが行われるようになってきた。もし、ヒト造血幹細胞の体外増幅が可能となれば、造血幹細胞移植に必要な採取造血幹細胞数を減少させることができ、通常の造血幹細胞移植における造血幹細胞の確保自体をも容易にし、ドナーの安全性の向上にもつながると考えられる。しかし実際には、ヒト造血幹細胞のみを増幅することは極めて困難であり、これまでに考案されてきた増幅法は、造血幹細胞 / 前駆細胞の増幅法といえる。ただし、現実の造血幹細胞移植を考えれば、造血幹細胞だけでなく、造血前駆細胞を増幅することも、短期的な造血回復のためには重要であるともいえる。

従来の造血幹細胞 / 前駆細胞の体外増幅法の多くは、種々のサイトカインの組み合わせた培養法で、特に、early-acting cytokineであるSCF, FL, TPO, IL-6またはIL-6/可溶性IL-6受容体複合体などをキー・サイトカインとしている³⁵⁾。しかし、こうしたサイトカインによる造血幹細胞による増幅には、限界があるとの考えもあり、ストローマを用いた増幅法なども考案されている。

●文献

- 1) Peled A, Petit I, Kollet O, et al : Dependence of human stem cell engraftment and repopulation of NOD/SCID mice on CXCR4. *Science* 283 : 845, 1999
- 2) Lemischka IR, Raulet DH, Mulligan RC : Developmental potential and dynamic behavior of hematopoietic stem cells. *Cell* 45 : 917, 1986
- 3) Till JE, McCulloch EA : A direct measurement of the radiation sensitivity of normal bone marrow cells. *Radiat Res* 14 : 213, 1961
- 4) Till JE, McCulloch EA, 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, 1964
- 5) Magli MC, Iscove NN, Odartchenko N : Transient nature of early haematopoietic spleen colonies. *Nature* 295 : 527, 1982
- 6) Abramson S, Miller RG, Phillips RA : The identification in adult bone marrow of pluripotent and restricted stem cells of myeloid and lymphoid systems. *J Exp Med* 145 : 1567, 1977
- 7) Hirayama F, Shih J-P, Awgulewitsch A, et al : Clonal proliferation of murine lymphohematopoietic progenitors in culture. *Proc Natl Acad Sci USA* 89 : 5907, 1992
- 8) Osawa M, Hanada K, Hamada H, et al : Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD34-low/negative hematopoietic stem cell. *Science* 273 : 242, 1996
- 9) Nakahata T, 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, 1982
- 10) Zanjani ED, Pallavicini MG, Ascensao JL, et al : Engraftment and long-term expression of human fetal hematopoietic stem cells in sheep following transplantation in utero. *J Clin Invest* 89 : 1178, 1992
- 11) Lapidot T, Pflumio F, Doedens M, et al : Cytokine stimulation of multilineage hematopoiesis from immature human cells engrafted in SCID mice. *Science* 255 : 1137, 1992
- 12) Shultz L, Schweitzer P, Christianson S, et al : Multiple defects in innate and adaptive immunological function in NOD/LtSz-scid mice. *J Immunol* 154 : 180, 1995
- 13) Spangrude GJ, Heimfeld S, Weissman IL : Purification and characterization of mouse hematopoietic stem cells. *Science* 241 : 58, 1988
- 14) Okada S, Nakauchi H, Nagayoshi K, et al : In vivo and in vitro stem cell function of c-kit and Sca-1-positive murine hematopoietic cells. *Blood* 80 : 3044, 1992
- 15) Ortiz M, Wine JW, Lohrey N, et al : Functional characterization of a novel hematopoietic stem cells and its place in the c-Kit maturation pathway in bone marrow development. *Immunity* 10 : 173, 1999
- 16) Ploemacher RE, Brons RHC : Separation of CFU-S from primitive cells responsible for reconstitution of the bone marrow hematopoietic stem cell compartment following irradiation : evidence for a pre-CFU-S cell. *Exp Hematol* 17 : 263, 1989
- 17) Matsuoka S, Ebihara Y, Tsuji K, et al : CD34 expression on long-term repopulating hematopoietic stem cells changes during developmental stages. *Blood* 15 : 419, 2001
- 18) Morrison SJ, Hemmati HD, Wandycz AM, et al : The purification and characterization of fetal liver hematopoietic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 92 : 10302, 1995
- 19) Ueda T, Yoshino H, Tsuji K, et al : Hematopoietic repopulating ability of cord blood CD34+ cells in NOD/Shi-scid mice. *Stem Cells* 18 : 204, 2000
- 20) Goodell MA : Dye efflux studies suggest that hematopoietic stem cells expressing low or undetectable levels of CD34 antigen exist in multiple species. *Nat Med* 3 : 1337, 1997
- 21) Baum CM, Weissman IV, Tsukamoto AS, et al : Isolation of a candidate human hematopoietic stem-cell population. *Proc Natl Acad Sci USA* 89 : 2804, 1992
- 22) Gunji Y, Nakamura M, Osawa H, et al : Human primitive hematopoietic progenitor cells are more enriched in KIT^{low} cells than in KIT^{high} cells. *Blood* 82 : 3283, 1993
- 23) Ebihara Y, Wada M, Tsuji K, et al : Reconstitution of human hematopoiesis in NOD/SCID mice by clonal cells expanded from single CD34+CD38- cells expressing Flk2/Flt3. *Br J Haematol*, in press
- 24) Ueda T, Yoshida M, Tsuji K, et al : Hematopoietic capability of CD34⁺ cord blood cells : A comparison with CD34⁺ adult bone marrow cells. *Int J Hematol* 73 : 457, 2001
- 25) Kishimoto T, Taga T, Akira S : Cytokine signal transduction. *Cell* 76 : 253, 1994
- 26) Ogawa M : Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells. *Blood* 81 : 2844, 1993
- 27) Yoshida M, Tsuji K, Ebihara Y, et al : Thrombopoietin alone stimulates the early proliferation and survival of human erythroid, myeloid and multipotential progenitors in serum-free culture. *Br J Haematol* 98 : 254, 1997
- 28) VanZant G, Goldwasser E : Competition between erythropoietin and colony stimulating factor for target cells in mouse marrow. *Blood* 53 : 946, 1979
- 29) Pharr PM, Ogawa M, Hofbauer A, et al : Expression of an activated erythropoietin or a colony-stimulating factor 1 receptor by pluripotent progenitors enhances colony formation but dose not induce differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 91 : 7482, 1994
- 30) Nishijima I, Nakahata T, Hirabayashi Y, et al : A human

- GM-CSF receptor expressed in transgenic mice stimulates proliferation and differentiation of hemopoietic progenitors to all lineages in response to human GM-CSF. *Mol Biol Cell* 6 : 497, 1995
- 31) Takagi M, Hara T, Ichihara M, et al : Multi-colony stimulating activity of interleukin 5 (IL-5) on hemato-poietic progenitors from transgenic mice that express IL-5 receptor a subunit constitutively. *J Exp Med* 181 : 889, 1995
- 32) Yang FC, Watanabe S, Tsuji K, et al : Human G-CSF stimulates the development of primitive multipotential progenitors of human G-CSF receptor-transgenic mice, but dose not affect their commitment *in vitro* and *in vivo*. *Blood* 92 : 4632, 1998
- 33) Tsuji K, Nakahata T : Stochastic model for multipotent hemopoietic progenitor differentiation. *J Cell Physiol* 139 : 647, 1989
- 34) Kojima S, Tsuchida M, Matsuyama T : Myelodysplasia and leukemia after treatment of aplastic anemia with granulocyte colony stimulating factor. *N Engl J Med* 326 : 1294, 1992
- 35) Ueda T, Tsuji K, Yoshino H, et al : Expansion of human NOD/SCID-repopulating cells by stem cell factor, Flk2/Flt3 ligand, thrombopoietin, IL-6 and soluble IL-6 receptor. *J Clin Invest* 105 : 1013, 2000

1. 造血幹細胞と造血支持組織

a. 造血幹細胞

血液中には形態と機能を異にする種々の血球が存在するが、この膨大な数の血球を一生の間供給し続けているのが、造血幹細胞と呼ばれる極めて少数からなる細胞集団である。造血幹細胞は、細胞分裂により自己と同じ能力を有する造血幹細胞を複製する能力(自己複製能)と、全ての成熟血球を産生する能力(多分化能)という二つの能力を併せ持つことにより、我々の一生にわたる血球産生を可能にしていると考えられている。

1) 造血幹細胞からの血液の分化(図1)

恒常状態では多くの造血幹細胞は静止期にあり、必要に応じて細胞周期に入り細胞分裂する。造血幹細胞は細

胞分裂すると、その娘細胞は自己複製して再び造血幹細胞となるか、あるいは分化して多能性造血前駆細胞となる。多能性造血前駆細胞は既に分化することが運命づけられた細胞で、多分化能は有しているが自己複製能は持たないことより、造血幹細胞とは区別される。

造血幹細胞由来の多能性造血前駆細胞は、細胞分裂を繰り返しながら次第にその多分化能を失い、数種類の血球系への分化能のみを有する寡能性造血前駆細胞を経て、単一の血球系への分化を運命付けられた単能性造血前駆細胞となり、最終的にはリンパ球を含む全ての成熟血球を産生する。ただし、多能性造血前駆細胞からリンパ球が産生される初期分化の過程は不明な点が多く、T細胞とB細胞に共通な前駆細胞の存在も想定されている。ただいずれにしても、このリンパ球を含む血液細胞の産生過程は、種々の細胞から産生されるサイトカインと呼ばれる液性因子と、血液細胞を取り囲む造血微小環境により、極めて精緻に制御されている。

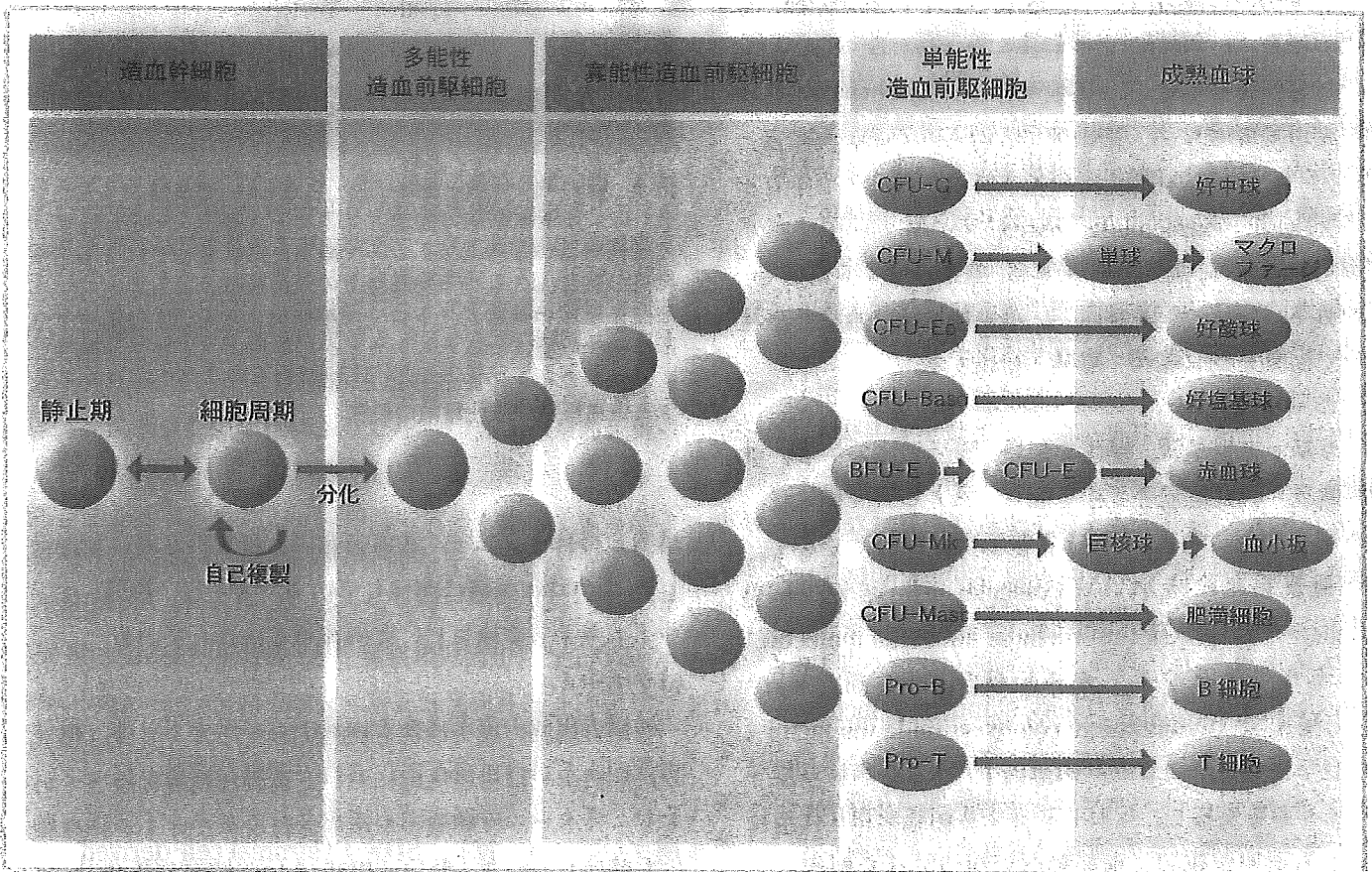


図1 造血幹細胞からの血液細胞の産生 造血幹細胞は、細胞分裂により自己複製して再び造血幹細胞になるか、あるいは分化して多能性造血前駆細胞になる。多能性造血前駆細胞は、細胞分裂を繰り返しながら次第に多分化能を失い、寡能性造血前駆細胞を経て、単能性造血前駆細胞となり、最終的に成熟血球を産生する。CFU-G (granulocyte colony-forming unit) : 顆粒球系前駆細胞 CFU-M (macrophage colony-forming unit) : 単球・マクロファージ系前駆細胞, CFU-Eo (eosinophil colony-forming unit) : 好酸球系前駆細胞, CFU-Baso (basophil colony-forming unit) : 好塩基球系前駆細胞, BFU-E (erythroid burst-forming unit) : 未分化赤血球系前駆細胞, CFU-E (erythroid colony-forming unit) : 分化赤血球系前駆細胞 CFU-Mk (megakaryocyte colony-forming unit) : 巨核球系前駆細胞, CFU-Mast (mast cell colony-forming unit) : 肥満細胞前駆細胞, Pro-B (B cell progenitor) : Bリンパ球系前駆細胞, Pro-T (T cell progenitor) : Tリンパ球系前駆細胞

2) ヒト造血幹細胞の細胞表面マーカー

従来より CD34 が未分化なヒト造血細胞のマーカーとしては臨床的にもよく用いられてきたが(図2), ヒト CD34+細胞分画には, 造血幹細胞ばかりでなく造血前駆細胞も含まれる. そのため, 造血前駆細胞に発現されている CD33 や CD38 が, 造血幹細胞のネガティブマーカーとして用いられる. 最近, 成体マウスの造血幹細胞は CD34 をほとんど発現していないことが報告されたが, これまでのところ, CD34 を発現しないヒト造血幹細胞が存在することは間違いない. ただし, CD34-細胞中により未分化な造血幹細胞が存在する可能性も示唆されている. この他, ヒト造血幹細胞のマーカーとしては Thy-1, c-Kit, Flk-2/Flt-3 などが報告されている.



図2 臍帯血から分離された CD34 陽性細胞 (池淵研二博士撮影)

b. 造血支持組織

1) 造血微小環境(図3)

骨髄における造血支持組織は, 静脈洞系の発達した血管系と網状の間質構造により構成されている. 骨髄の血管系の経路は, 栄養動脈→毛細血管→静脈洞→中心静脈洞→栄養静脈からなり, 毛細血管と静脈洞が連続的な閉鎖血管系を形成する. 静脈洞で仕切られた造血実質は, 間質(ストローマ)細胞とこれを支持する細胞外マトリックス(ECM: extracellular matrix) から成り, 造血微小環境を形成する. 造血微小環境は, 造血細胞を定着させ, いわゆる「造血の場」を提供し, 造血細胞は造血微小環境において効率的に維持・増殖・分化する.

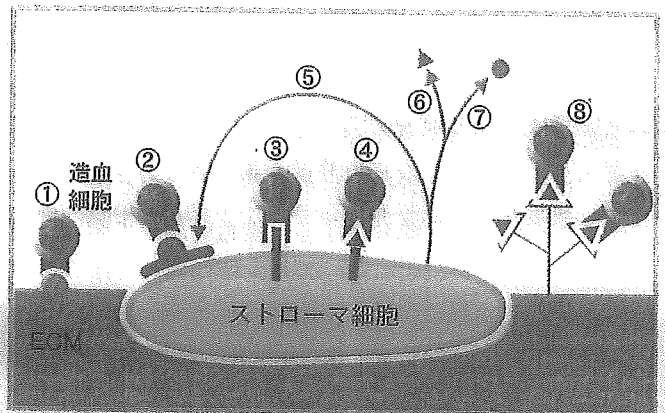


図3 造血微小環境と造血細胞 ①ECM (細胞外マトリックス) による造血細胞の接着②ストローマ細胞上のECMによる造血細胞の接着③ストローマ細胞上の接着分子による造血細胞の接着④ストローマ細胞上の膜結合型サイトカインによる造血細胞の接着⑤ストローマ細胞によるECMの産生⑥ストローマ細胞によるサイトカインの産生⑦ストローマ細胞によるケモカインの産生⑧ECMに捕捉されたサイトカインによる造血細胞の分化増殖の制御

a) ストローマ細胞

ストローマ細胞は, 線維芽細胞, マクロファージ, 前脂肪細胞, 内皮細胞などから成る. ストローマ細胞は, 種々のサイトカイン, ECMを産生するばかりでなく, その細胞表面には VCAM (vascular cellular adhesion molecule)-1, ICAM (intercellular adhesion molecule) 1のような接着分子, あるいは SCF (stem cell factor), M-CSF (macrophage colony-stimulating factor: マクロファージ・コロニー刺激因子) などの膜結合型サイトカインを発現し, これらを介する細胞間相互作用によっても造血幹細胞/前駆細胞の増殖分化を制御している.

b) ECM

ストローマ細胞により産生される, フィブロネクチン, ヘモネクチン, プロテオグリカン, トロンボスポンジン, テネイシン, コラーゲン, ラミニンなどECMはストローマ細胞間の結合に関与し, 造血微小環境の立体

構造を維持する一方, 造血細胞の骨髄への定着にも作用し, その分化増殖に関与している. さらに, ECMは, サイトカインを補足し, その作用を増強している.

c) ケモカイン

特定の細胞の遊走活性を促進するケモカインは, 種々の炎症あるいは免疫反応において重要な役割を担っているが, ストローマ細胞から産生されるケモカインは造血にも関与している. 特に, SDF-1 (stromal cell-derived factor-1) は, その受容体である CXCR4 を発現する造血細胞に作用し, 造血細胞の骨髄への定着, あるいは骨髄からの遊離を制御していることが示されている.

2) サイトカイン

サイトカインは, マクロファージ, リンパ球, ストロー

マ細胞など様々な細胞から産生され、血液細胞の維持・増殖・分化・成熟などに関与している。上述のケモカインもサイトカインの一種といえる。

サイトカインは、標的細胞の細胞表面に発現している受容体と結合することにより、その細胞内シグナルを活性化し、生物活性を発揮するが、標的細胞の分化段階により、late-acting factor, intermediate-acting factor, early-acting factor に分類されることが多い。late-acting factor とは、特定の血球系に特異的に作用し、その最終的な分化・成熟を誘導するサイトカインで、赤血球系細胞に作用する EPO (erythropoietin), 好中球系細胞に作用する G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor: 顆粒球コロニー刺激因子), 単球・マクロファージ系細胞に作用する M-CSF, 巨核球系細胞に作用する TPO (thrombopoietin), 好酸球系細胞に作用する interleukin (IL)-5 などがこれにあたる。これに対し、IL-3, GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) などは、主に多能性造血前駆細胞から寡能性前駆細胞に作用し、intermediate-acting factor と呼ばれる。さらに、c-Kit のリガンドである SCF, Flk2/Flt3 リガンド (FL: Flk2/Flt3 ligand) などはより未分化な段階、おそらくは造血幹細胞レベルに作用するというので、early-acting factor に分類される。こういった分類は簡便であるが、実際には3者の機能の区別が困難なことも少なくない。例えば、TPO は確かに巨核球の成熟に極めて重要なサイトカインであるが、造血幹細胞や多能性造血前駆細胞にも作用する。また、IL-3 は多能性造血前駆細胞ばかりでなく、赤芽球系前駆細胞、マクロファージ・顆粒球系前駆細胞、さらには好酸球系前駆細胞にも作用し、好酸球の成熟も誘導できる。

一方、造血に対して抑制的に作用するサイトカインも存在する。IFN (interferon: インターフェロン)- γ , TNF (tumor necrosis factor: 腫瘍壊死因子)- α , TGF (transforming growth factor: 形質転換成長因子)- β がこれにあたる。

(辻 浩一郎)

文 献

- 1) Kishimoto, T. et al.: Cytokine signal transduction. Cell 1994, 76: 253-262)
- 2) Ogawa, M.: Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells. Blood 1993, 81: 2844-2853

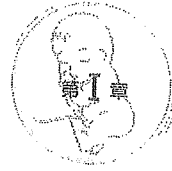
2. 染色体技術と血液疾患の解析

a. 染色体研究の歴史と分染法の開発

1953年 Watson & Click によって DNA の二重らせん構造が発見され、その後半世紀を経た 2003年4月14日、ヒトゲノム塩基配列の完全解読の宣言が日、米、英、独、仏、中国の6カ国のゲノム解析コンソーシアムによって同時に発表された。一方、Tjio & Levan により胎児肺細胞の分裂像からヒトの染色体の正しい数が $2n = 46$ と報告されたのは 1956年であり、DNA 二重らせん構造発見の3年後である¹⁾。それ以前はヒト体細胞の染色体数は 37~48の間であると考えられていた。ヒト染色体の正しい数と形がわかると、染色体研究は核型進化、生殖、発生、分化、老化などの生命現象とともに、染色体異常症や癌などのヒトの病気の多くの分野と強い関わりをもって発展を遂げた。短期間のうちに Down 症の染色体異常 (Lejeune et al., 1959), PHA 刺激によるリンパ球培養技術の開発 (Moorhead et al., 1960), さらに造血器腫瘍では慢性骨髄性白血病 (CML, chronic myelogenous leukemia) における Ph¹ 染色体 (現在は Ph 染色体という) の発見 (Nowell & Hungerford, 1960) などの報告が相次いだ。

Caspersson らによりキナクリンマスタード (Quinacrine Mustard) による Q 分染法が開発されたことで (1968), 染色体を縞模様に乗め分ける分染法が導入され個々の染色体が識別できるようになった。これにより数の異常に加えて部分的に生じた染色体構造異常を同定することができるようになり、ヒト染色体研究に飛躍的な発展がもたらされた²⁾。引き続き、分染パターンに基づく染色体バンドの命名、記載法が "Standard in Human Cytogenetics" として標準化され (1971), さらに染色体異常の記載法が統一され、"An International System for Human Chromosome Nomenclature (1978) [略称 ISCN1978]" としてまとめられた。この記載法はその後に3回の改訂を経て、ISCN (1995) が上梓され、現在これがヒト染色体記載の標準的規約となっており、蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH, fluorescence *in situ* hybridization) で得られる所見の命名法も追加されている³⁾ (図1)。

染色体研究は、一方で分染機構や構造の解析、さら



小児白血病

東京大学医科学研究所附属病院 小児細胞移植科 辻浩一郎

白血病が血液のがんであり、患った患者さんの健康や、ときにはその生命までも蝕む病気であることは、大人（成人）も子供（小児）もわかりありません。しかし、同じ白血病といっても、成人と小児では、薬の効き具合や治りやすさなど、多くの点で違いがあります。そのため、治療方針や造血幹細胞移植に対する考え方も、成人と小児の白血病では必ずしも同じではありません。

それでは、成人の白血病と小児の白血病の患者さんは、いったい何歳から分けられるのでしょうか。

実をいいますと、成人と小児の白血病がどうしてそのように違っているのか、その原因についてもまだよくわかっていません。そのため、成人と小児の白血病の患者さんを区別することも、実際にはなかなか難しく、成人と小児の境界にある、い

いわゆる思春期の白血病患者さんの治療は、内科で行われたり、小児科で行われたりして、それぞれの診療科の治療方針で実施されているのが実情です。しかし、内科、小児科、いずれの医療者も、こういった時期の患者さんに対する治療も一致させる必要を強く感じていますので、将来的には、思春期の白血病患者さんにも、一定の治療方針で治療されるようになると思います。

小児白血病の特徴

仮に小児白血病の患者さんの年齢を十六歳未満としますと、現在一年間に、わが国で新たに小児白血病を発症する患者さんの数は一〇〇〇人近くおられ、その発生率は年間小児一〇万人に三人前後と推定されています。これは、小児がんの患者さん全体の四〇〜四五割にあたり、成人白血病の患者さんの数が成人がんの患者さんの一〇割にも満たないことを考えますと、小児においては、白血病は発生頻度の高いがんであるといえます。

小児において、白血病がほかのがんに比べて発生しやすい理由としては、染色体異常などの先天異常の存在が考えられています。実際、21番染色体に異常があるタ

(1) 染色体

生物の細胞の核の中には遺伝子が存在します。遺伝子には、生物が生きていくため、あるいは子孫を残していくために必要な遺伝情報が、DNAにより保存されており、それらはつながつて、いくつかの糸のようなまとまりを形成しています。このまとまりを染色体とよびます。人の場合は、男女の性別を決定する一対の性染色体を含む二三対の染色体、合計四六本の染色体を有し、性染色体以外の二二対の染色体には1番から22番まで番号が付けられています。