

アレルギー性炎症における好酸球の増多機構とその役割に関する研究

石原 研治

The Roles of Eosinophils in Allergic Inflammation

Kenji ISHIHARA

*Laboratory of Pathophysiological Biochemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences,
Tohoku University, 6-3 Aramaki Aoba, Aoba-ku, Sendai 980-8578, Japan*

(Received June 8, 2005)

Eosinophils are one of the cells that play a critical role in the pathogenesis of allergic diseases. The increase in the number of eosinophils in such diseases is regulated by interleukin-5 (IL-5). The author have prepared recombinant rat IL-5 using a baculovirus expression system and examined its biological activities in rat eosinophils. It was demonstrated that recombinant rat IL-5 prolongs the survival of mature eosinophils and differentiates immature eosinophils into mature eosinophils, suggesting that rat IL-5 is a factor for eosinophilia in rats. Recombinant rat eosinophil-associated ribonuclease (Ear)-1 and Ear-2 were also prepared. Eosinophil granule proteins are thought to cause tissue damage due to their cytotoxic activity, but using recombinant rat Ear-1 and Ear-2, it was found that rat Ear-1 and Ear-2 have strong RNase A activity and bactericidal activity, suggesting that these proteins play critical roles in host defense. Finally, the important role of acetylation of histones was clarified in the differentiation of HL-60 clone 15 cells into eosinophils using the histone deacetylase inhibitors sodium *n*-butyrate, apicidin, and trichostatin A. These findings would be useful for further investigations of the role of eosinophils in allergic inflammation.

Key words—eosinophils; interleukin-5; histone deacetylase inhibitor

1. はじめに

気管支喘息、アトピー性皮膚炎あるいはアレルギー性鼻炎などのアレルギー性疾患は、その難治性と近年の環境の変化に伴う患者数の増加によって社会的な問題になっている。このようなアレルギー性疾患では、白血球の1つである好酸球が骨髄、末梢血及び炎症部位で増加し、炎症部位に浸潤した好酸球は細胞内顆粒中に存在する塩基性蛋白質を放出すること¹⁾及びそれらの顆粒蛋白質が種々の細胞を傷害する活性を持つこと²⁾が報告されて以来、特に気管支喘息においては、炎症局所への好酸球の集積が病態の悪化に深く関与すると言う理論が確立された。マウスやヒトの系を用いた解析結果から、interleukin-5 (IL-5) は好酸球前駆細胞を成熟好酸球に分化・増殖させる作用^{3,4)}及び成熟好酸球の生存

を延長させる作用^{5,6)}を持つため、IL-5 が好酸球数の増加に重要な役割を果たしていると考えられているが、その詳細は明らかではない。一方、気管支喘息を始めとするアレルギー性疾患や炎症病態モデル動物として用いられている動物種ラットにおいては、IL-5 の標品化が行われていなかったため、ラット IL-5 がラット好酸球に対してどのような生物活性を示すか明らかではなく、ラット好酸球とラット IL-5 の関係はマウス及びヒトの解析結果から推定せざるを得なかった。そこで、筆者はまず recombinant ラット IL-5 を調製し、その生物活性を解析することにより、ラットにおいても IL-5 が好酸球増多を誘導する因子として作用することを示した。⁷⁻⁹⁾ ついで、ラット好酸球顆粒蛋白質である eosinophil-associated ribonuclease (Ear)-1 及び Ear-2 の recombinant 体を調製し、その生物活性を解析することによりラット Ear-1 及び Ear-2 が強い ribonuclease (RNase) 活性と大腸菌に対する殺菌活性を持つことを示した。^{10,11)} さらに、好酸球への分化モデルとして広く利用されている HL-60 clone

東北大学大学院薬学研究科機能分子生化学分野 (〒980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3)

e-mail: ishihara@mail.pharm.tohoku.ac.jp

本総説は、平成 16 年度日本薬学会東北支部奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

15 細胞が sodium *n*-butyrate により好酸球に分化する機序が明らかにされていなかったため、その機序を詳細に解析し sodium *n*-butyrate がヒストン脱アセチル化酵素を持続的に抑制し、ヒストンをアセチル化状態に保つためであることを明らかにした。^{12,13)}

2. Recombinant ラット Interleukin-5 の調製及びラット好酸球増多因子としての生物活性の解析

IL-5 は、分子量約 13 kDa のポリペプチドが 2 量体を形成するサイトカインであり、活性化されたタイプ 2 ヘルパー T 細胞、肥満細胞及び好酸球によって産生され、マウス B 細胞の増殖を誘導する因子 (B-cell growth factor II: BCGF-II),¹⁴⁾ マウス B 細胞を抗体産生細胞へ分化させる因子 (T-cell replacing factor: TRF),¹⁵⁾ 及びマウス好酸球前駆細胞を成熟好酸球へ分化させる因子 (eosinophil differentiation factor: EDF)³⁾ として報告された。1986 年、Kinashi らによって TRF の cDNA がクローニングされ、これらの因子が同一蛋白質であることが明らかになり IL-5 と命名された。¹⁶⁾ ラット IL-5 は、1991 年にその cDNA がクローニングされ、マウス及びヒトの IL-5 とアミノ酸レベルでそれぞれ 92% 及び 67% の相同性を持つこと¹⁷⁾ が明らかにされ、IL-5 依存性マウス B 細胞株 T88-M 細胞にラット IL-5 cDNA を発現させるとこれらの細胞が増殖することから、ラット IL-5 は BCGF-II 活性を持つこと¹⁷⁾ が示されていた。しかし、ラット IL-5 が好酸球に対してどのような作用を示すかは

明らかにされていなかったため、筆者は recombinant ラット IL-5 を調製し、ラット好酸球に対する生物活性を解析した。ラット IL-5 cDNA はアスカリス抗原で感作したラットの腹腔浸潤細胞よりクローニングし、バキュロウイルス発現系を用いてカイコ幼虫の体液中に recombinant ラット IL-5 を発現させて精製した。⁷⁾ Recombinant ラット IL-5 は *in vitro* においてラット成熟好酸球の生存を延長させる作用を持つこと、及びラット骨髄好酸球前駆細胞を成熟好酸球に分化させる作用を持つこと^{7,8)} が明らかになった (Figs. 1 and 2)。また、*in vivo* において recombinant ラット IL-5 をラット尾静脈から 12 時間おきに 6 日間投与すると、末梢血中及び骨髄中の好酸球数の割合が有意に増加すること⁸⁾ が明らかになった (Fig. 2)。さらに、recombinant ラット IL-5 による成熟好酸球の生存延長作用を解析した結果、recombinant ラット IL-5 による生存延長活性は、チロシンキナーゼ阻害薬によって抑制されるものの ERK の上流 MEK の阻害薬 PD98059 では抑制されず、Jak2 阻害薬 AG490, actinomycin D 及び cycloheximide によって抑制されること⁹⁾ が明らかになった (Fig. 3)。好酸球の生存を延長するサイトカインには IL-5 以外に IL-3¹⁸⁾ 及び GM-CSF¹⁹⁾ があるが、これらはそれぞれの受容体を介して Jak2-Stat5 経路,^{9,19)} ERK MAP キナーゼ経路,^{9,19)} p38 MAP キナーゼ経路,²⁰⁾ NF- κ B 経路²⁰⁾ 及び PI-3K 経路¹⁹⁾ などを活性化することが報告されている。GM-CSF による生存延長作用も PD98059

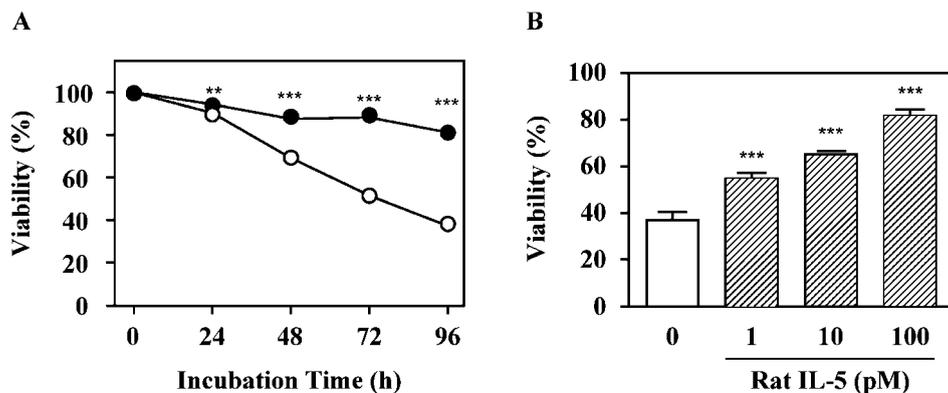


Fig. 1. Effects of Recombinant Rat IL-5 on the Viability of Rat Eosinophils

(A) Rat eosinophils were incubated at 37°C for the periods indicated in medium containing 100 pM recombinant rat IL-5 (closed circles) or vehicle (open circles). (B) Rat eosinophils were incubated at 37°C for 96 h in medium containing the indicated concentrations of recombinant rat IL-5. The viability of eosinophils was determined by the ability to exclude Trypan blue dye. Values are the means from 5 samples with S.E. shown by vertical bars. Statistical significance: (A) ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. corresponding control, (B) *** $p < 0.001$ vs. vehicle control. The detail of this data is described in Ref. (7) by Ishihara et al.

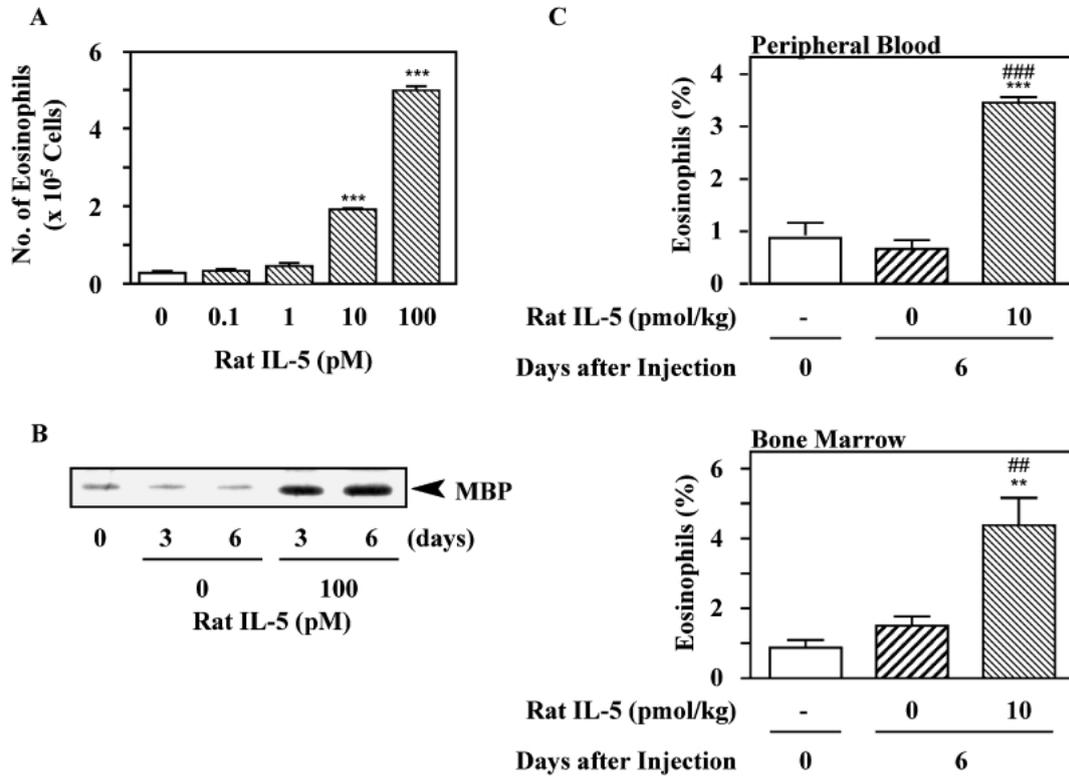


Fig. 2. Effects of Recombinant Rat IL-5 on the Generation of Rat Eosinophils

(A) Rat bone marrow cells were incubated at 37°C for 6 days in medium containing the indicated concentrations of recombinant rat IL-5. After incubation, number of eosinophils was calculated as follows: total number of eosinophils = (number of total cells) × (percent of eosinophils) × 0.01. Values are the means from 6 samples with S.E. shown by vertical bars. (B) Rat bone marrow cells were incubated at 37°C for the periods indicated in medium containing 100 pM recombinant rat IL-5. The cells were lysed and MBP contents in 1 × 10⁵ cells were detected by immunoblotting. (C) Recombinant rat IL-5 was injected intravenously at a dose of 10 pmol/kg at intervals of 12 h for 6 days, and the number of eosinophils in peripheral blood cells and in bone marrow cells were counted 12 h after the last injection of recombinant rat IL-5. Values are the means from 5–6 rats with S.E. shown by vertical bars. Statistical significance: (A) ****p* < 0.001 vs. vehicle control, (C) ***p* < 0.01, ****p* < 0.001 vs. before injection (day 0), #*p* < 0.01, ##*p* < 0.001 vs. corresponding 6 day control. The detail of this data is described in Ref. (8) by Ishihara et al.

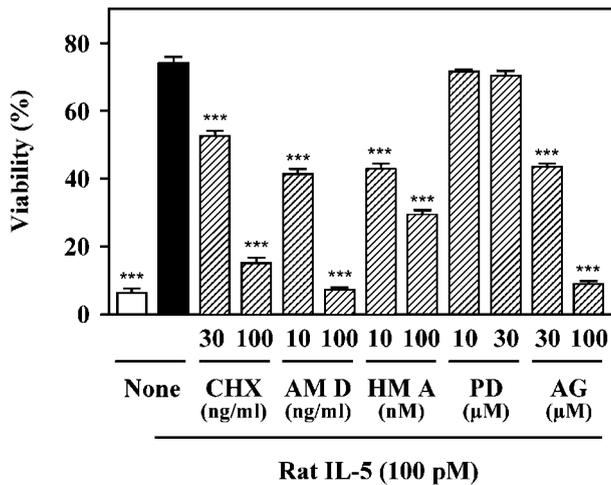


Fig. 3. Effects of Various Regents on IL-5-induced Prolongation of Eosinophil Survival

Eosinophils were incubated at 37°C for 96 h in medium with or without 100 pM recombinant rat IL-5 and the indicated concentration of cycloheximide (CHX), actinomycin D (AM D), herbimycin A (HM A), PD98059 (PD) or AG490 (AG). The viability of eosinophils was determined by the ability to exclude Trypan blue dye. Values are the means from 5 samples with S.E. shown by vertical bars. Statistical significance: ****p* < 0.001 vs. 100 pM IL-5. The detail of this data is described in Ref. (9) by Ishihara et al.

や PI-3K 阻害薬 wortmannin や LY294002 では抑制されず, AG490 によって抑制されることが報告されている¹⁹⁾ため, 好酸球の生存延長には Jak2-Stat5 経路が重要な役割を果たしており, この経路を介した蛋白質の *de novo* 合成により生存を延長していると考えられる. 本研究では, ラット IL-5 がラット好酸球に対して好酸球生存延長活性及び EDF 活性を持つことを示した.

3. Recombinant ラット Eosinophil-associated Ribonucleases の調製及びその生物活性の解析

好酸球は細胞内に primary granule, secondary granule, small granule 及び lipid body などの顆粒を持ち, secondary granule は MBP が含まれる crystalloid core と ECP, EDN 及び EPO が含まれる matrix によって構成されている.^{21–24)} ECP 及び EDN は RNase 活性を持つことから RNase A スーパーファミリーに属する.²⁵⁾ 現在, ヒト RNase A スーパーファミリーは RNase 1–8 まで報告されて

おり、RNase 2 及び RNase 3 はそれぞれ EDN 及び ECP である。²⁵⁻²⁷⁾ RNase A スーパーファミリーは立体構造に必要な 6-8 個のシステイン残基及び触媒部位となる 2 個のヒスチジン残基と 1 個のリシン残基が保存されている²⁵⁾が、ECP 及び EDN は好酸球の特異的に発現している RNase であることから eosinophil ribonuclease と呼ばれる。²⁸⁾ 霊長類では 1 あるいは 2 種類同定され ECP あるいは EDN と命名されているが、齧歯類ではマウスで 13 種類、^{29,30)} ラットで 8 種類^{10,29-31)} 存在し Ear と呼ばれている。本研究では、当教室の Nittoh ら^{10,31)} によりクローニングされたラット Ear-1 及び Ear-2 の recombinant 体を調製してその生物活性を解析した。その結果、これらの蛋白質は強い RNase 活性

と殺菌活性を持つこと¹⁰⁾が明らかになった (Figs. 4 and 5)。Eosinophil ribonuclease は種を超えて広く保存されているものの、生物進化論的な解析から祖先遺伝子がそれぞれの動物種の中で独自の進化を遂げたものであること²⁹⁾が明らかにされているため、eosinophil ribonuclease はそれぞれの動物種において必要な遺伝子であり、生体防御などの重要な役割を果たしていると考えられる。

4. Sodium *n*-Butyrate による HL-60 Clone 15 細胞の好酸球分化誘導機序の解析

IL-3, IL-5 及び GM-CSF による成熟好酸球に対する作用は生存延長作用だけではなく多岐に渡り、p38 MAP キナーゼ経路や NF- κ B 経路を活性化させることにより ICAM-1, CD11b 及び CD18 の発現

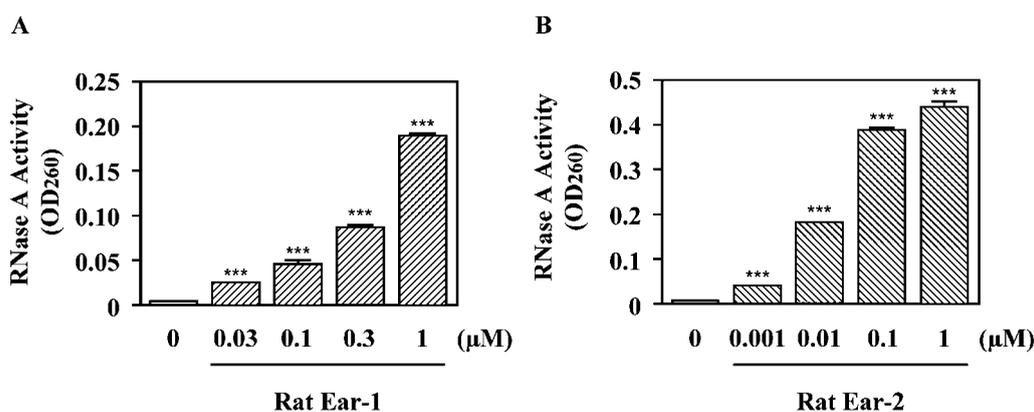


Fig. 4. Ribonuclease A Activity of Recombinant Rat Ear-1 and Ear-2

Yeast tRNA (20 μg) was incubated for 10 min at 37°C in the presence of the indicated concentrations of recombinant rat Ear-1 (A) or recombinant rat Ear-2 (B). Values are the means from 3 samples with S.E. shown by vertical bars. Statistical significance: *** $p < 0.001$ vs. corresponding control. The detail of this data is described in Ref. (11) by Ishihara et al.

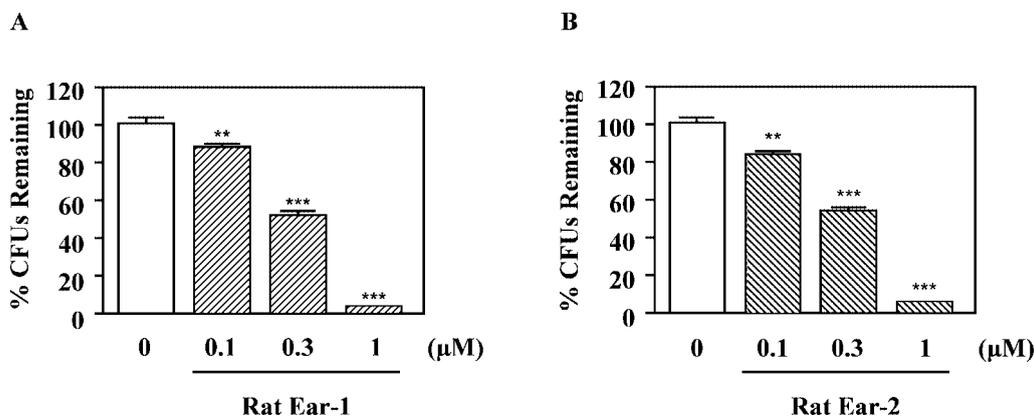


Fig. 5. Effects of Recombinant Rat Ear-1 and Ear-2 on the Growth of *E. coli*

E. coli (LE392) were incubated for 2 h at 37°C in the presence of the indicated concentrations of recombinant rat Ear-1 (A) or recombinant rat Ear-2 (B). Colony-forming units of *E. coli* remaining after exposure to Ear protein were then determined. Values are the means from 5 samples with S.E. shown by vertical bars. Statistical significance: ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. corresponding control. The detail of this data is described in Ref. (11) by Ishihara et al.

を誘導し、炎症局所の血管内皮細胞への接着や炎症部位への浸潤に関与している。²⁰⁾ また、これらのサイトカインは、FcγRII³²⁾ や CD30L³³⁾ などの発現誘導作用も持ち、成熟好酸球に対する IL-3、IL-5 及び GM-CSF の作用は共通のシグナル伝達経路の活性化や生物活性の重複と言ったように類似している点が多い。しかし、好酸球の分化に対するこれら 3 つのサイトカインの作用は異なっている。好酸球は、CD34⁺ 骨髄幹細胞からさらに分化した CD34⁻CD33⁺ 前駆細胞が IL-5 によって選択的に分化・増殖して産生される。³⁴⁾ しかし、この細胞に IL-3 が作用すると好酸球だけではなく好中球やマクロファージも産生される。³⁴⁾ また、IL-5 による MBP の発現は成熟好酸球への分化段階でのみ起こり、成熟好酸球を IL-5 で刺激しても誘導されない。³⁵⁾ したがって、IL-5 や IL-3 が成熟好酸球で認められるようなシグナル伝達経路を活性化したのではこのような異種細胞への分化は起こらないはずであり、好酸球への分化における IL-5 のシグナル伝達経路は IL-3 や GM-CSF によるシグナル伝達経路とは異なり、IL-5 によるシグナル伝達経路は CD34⁻CD33⁺ 前駆細胞と成熟好酸球との間の分化段階においても異なる可能性がある。しかし、生体内にわずかしか存在しない CD34⁻CD33⁺ 前駆細胞を用いて詳細な解析を行うことは困難であるため、筆者は好酸球性白血病細胞株 HL-60 clone 15 細胞を用いて分化機構を解析した。¹³⁾ HL-60 clone 15 細胞は、前骨髄球性白血病細胞株 HL-60 細胞をアルカリ条件下で 2 ヶ月間培養して樹立された細胞株であり、sodium

n-butyrate により好酸球に分化する細胞である。この細胞は 1984 年に樹立されて以来、好酸球の研究には広く用いられてきたがその分化機序は不明であった。Sodium *n*-butyrate は、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) を阻害する作用を持ち、ヒストンアセチル化酵素 (HAT) によってアセチル化されたヒストンの脱アセチル化を抑制することが報告されている³⁶⁾ ため、HL-60 clone 15 細胞の好酸球への分化機序の解析には sodium *n*-butyrate 以外に他の HDAC 阻害薬として apicidin 及び TSA を用いて作用を比較検討した。^{12,13)} その結果、Table 1 に示すように、(1) sodium *n*-butyrate 及び apicidin は持続的に HDAC を阻害することによって好酸球への分化を誘導するのに対して、TSA による HDAC 阻害作用は一過的であり、好酸球への分化を誘導しなかった。(2) TSA を細胞培養系に繰り返し添加して HDAC 阻害作用を持続させると好酸球への分化が誘導され、細胞を sodium *n*-butyrate や apicidin 存在下で短時間培養して HDAC を一過的に阻害すると好酸球への分化が抑制された。(3) 好酸球の分化に関与する転写因子 C/EBP の DNA 結合活性は sodium *n*-butyrate や apicidin で持続し、TSA による C/EBP の活性化は一過的であった。したがって、sodium *n*-butyrate による HL-60 clone 15 細胞の好酸球への分化誘導作用は、sodium *n*-butyrate が持続的に HDAC を阻害する結果、細胞内で HAT 活性が持続するためであると考えられる。

5. おわりに

本研究では、アレルギー性疾患における好酸球の

Table 1. Summary of the Effects of HDAC Inhibitors on HL-60 Clone 15 Cells

	HDAC inhibitors					
	Apicidin		TSA		Sodium <i>n</i> -butyrate	
	Single	Withdrawal	Single	Repeated	Single	Withdrawal
Differentiation into eosinophils	Yes	No	No	Yes	Yes	No
Change of intracellular structure	+	-	-	+	+	-
Expression of integrin β7	+	-	-	+	+	-
Expression of MBP	+	-	-	+	+	-
Suppression of cell proliferation	+	-	-	+	+	-
Activation of C/EBP	+	ND	-	ND	+	ND
Acetylation of histones	Continuous	Transient	Transient	Continuous	Continuous	Transient

HL-60 clone 15 cells were incubated for 6 days by single application of 100 nM apicidin, 30 nM TSA or 500 μM sodium *n*-butyrate (single), by pulse-stimulation with 100 nM apicidin or 500 μM sodium *n*-butyrate for 24 h of the beginning (withdrawal), or by repeated treatment with 30 nM TSA up to 5 times at an interval of 12 h (repeated). + indicates induction of eosinophilic differentiation and - indicates no induction. ND: not determined. The detail of this summary is described in Ref. (13) by Ishihara et al.

増多機構とその役割について解析することを目的として、recombinant ラット IL-5 を調製しその生物活性を解析した。その結果ラットは IL-5 が関与する好酸球増多を伴うアレルギー性炎症のモデル動物として活用できる動物種であることが明らかになり、今後、ラットを実験動物として活用することにより、IL-5 による好酸球増多機構や好酸球のアレルギー性炎症における関与について詳細な解析が行えると思われる。また、ラット好酸球顆粒蛋白質である Ear-1 及び Ear-2 の recombinant 体を作製し、ラット Ear-1 及び Ear-2 が強い殺菌活性及び RNase A 活性を持つことを明らかにし、炎症部位に浸潤した好酸球の役割について考察する上で重要な知見を得た。さらに、sodium *n*-butyrate による HL-60 clone 15 細胞の好酸球への分化機序を明らかにし、好酸球分化機構を解明する上で重要な知見を得た。

謝辞 本研究は、東北大学大学院薬学研究科機能分子生化学分野において行われたものであり、終始御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜りました東北大学大学院薬学研究科機能分子生化学分野教授 大内和雄先生に謹んで感謝の意を表します。また、貴重な御助言や御指導を頂きました助教授 平澤典保先生始め機能分子生化学分野の皆様深く感謝致します。最後に、好酸球分化誘導と HDAC 阻害薬との研究に関しましては、韓国 Sungkyunkwan 大学大学院薬学研究科 Dr. HONG JangJa 及び Prof. ZEE OkPyo との共同研究であり、お二人の御協力と御支援に対しまして心から感謝致します。

REFERENCES

- 1) Corrigan C. J., Kay A. B., *Immunol. Today*, **13**, 501–507 (1992).
- 2) Gleich G. J., Frigas E., Loegering D. A., Wasom D. L., Steinmuller D., *J. Immunol.*, **123**, 2925–2927 (1979).
- 3) Sanderson C. J., O'Garra A., Warren D. J., Klaus G. G., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **83**, 437–440 (1986).
- 4) Yamaguchi Y., Suda T., Suda J., Eguchi M., Miura Y., Harada N., Tominaga A., Takatsu K., *J. Exp. Med.*, **167**, 43–56 (1988).
- 5) Yamaguchi Y., Hayashi Y., Sugama Y., Miura Y., Kasahara T., Kitamura S., Torisu M., Mita S., Tominaga A., Takatsu K., *J. Exp. Med.*, **167**, 1737–1742 (1988).
- 6) Yamaguchi Y., Suda T., Ohta S., Tominaga K., Miura Y., Kasahara T., *Blood*, **78**, 2542–2547 (1991).
- 7) Ishihara K., Satoh I., Nittoh T., Kanaya T., Okazaki H., Suzuki T., Koyama T., Sakamoto T., Ide T., Ohuchi K., *Biochim. Biophys. Acta*, **1451**, 48–58 (1999).
- 8) Ishihara K., Satoh I., Mue S., Ohuchi K., *Biochim. Biophys. Acta*, **1501**, 25–32 (2000).
- 9) Ishihara K., Satoh I., Mue S., Ohuchi K., *Biochim. Biophys. Acta*, **1536**, 73–84 (2001).
- 10) Nakajima M., Hirakata M., Nittoh T., Ishihara K., Ohuchi K., *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **125**, 241–249 (2001).
- 11) Ishihara K., Asai K., Nakajima M., Mue S., Ohuchi K., *Biochim. Biophys. Acta*, **1638**, 164–172 (2003).
- 12) Hong J., Ishihara K., Yamaki K., Hiraizumi K., Ohno T., Ahn J. W., Zee O., Ohuchi K., *Cancer Lett.*, **189**, 197–206 (2003).
- 13) Ishihara K., Hong J., Zee O., Ohuchi K., *Br. J. Pharmacol.*, **142**, 1020–1030 (2004).
- 14) Swain S. L., Dutton R. W., *J. Exp. Med.*, **156**, 1821–1834 (1982).
- 15) Takatsu K., Harada N., Hara Y., Takahama Y., Yamada G., Dobashi K., Hamaoka T., *J. Immunol.*, **134**, 382–389 (1985).
- 16) Kinashi T., Harada N., Severinson E., Tanabe T., Sideras P., Konishi M., Azuma C., Tominaga A., Bergstedt-Lindqvist S., Takahashi M., Matsuda Y., Yaoita K., Takatsu K., Honjo T., *Nature*, **324**, 70–73 (1986).
- 17) Uberla K., Li W. Q., Qin Z. H., Richter G., Raabe T., Diamantstein T., Blankenstein T., *Cytokine*, **3**, 72–81 (1991).
- 18) Rothenberg M. E., Owen Jr. W. F., Silberstein D. S., Woods J., Soberman R. J., Austen K. F., Stevens R. L., *J. Clin. Invest.*, **81**, 1986–1992 (1988).
- 19) Miike S., Nakao A., Hiraguri M., Kurasawa K., Saito Y., Iwamoto I., *J. Leukoc. Biol.*, **65**, 700–706 (1999).
- 20) Wong C. K., Ip W. K., Lam C. W., *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **29**, 133–147 (2003).
- 21) Gleich G. J., Loegering D. A., Maldonado J. E., *J. Exp. Med.*, **137**, 1459–1471 (1973).
- 22) Olsson I., Venge P., *Blood*, **44**, 235–246

- (1974).
- 23) Durack D. T., Sumi S. M., Klebanoff S. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **76**, 1443–1447 (1979).
- 24) Olsen R. L., Little C., *Biochem. J.*, **209**, 781–787 (1983).
- 25) Sorrentino S., *Cell. Mol. Life Sci.*, **54**, 785–794 (1998).
- 26) Zhang J., Dyer K. D., Rosenberg H. F., *Nucleic Acids Res.*, **31**, 602–607 (2003).
- 27) Zhang J., Dyer K. D., Rosenberg H. F., *Nucleic Acids Res.*, **30**, 1169–1175 (2002).
- 28) Rosenberg H. F., *Cell. Mol. Life Sci.*, **54**, 795–803 (1998).
- 29) Zhang J., Dyer K. D., Rosenberg H. F., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **97**, 4701–4706 (2000).
- 30) Cormier S. A., Larson K. A., Yuan S., Mitchell T. L., Lindenberger K., Carrigan P., Lee N. A., Lee J. J., *Mamm. Genome*, **12**, 352–361 (2001).
- 31) Nittoh T., Hirakata M., Mue S., Ohuchi K., *Biochim. Biophys. Acta*, **1351**, 42–46 (1997).
- 32) Koenderman L., Hermans S. W., Capel P. J., van de Winkel J. G., *Blood*, **81**, 2413–2419 (1993).
- 33) Pinto A., Aldinucci D., Gloghini A., Zagonel V., Degan M., Improta S., Juzbasic S., Todesco M., Perin V., Gattei V., Herrmann F., Gruss H. J., Carbone A., *Blood*, **88**, 3299–3305 (1996).
- 34) Ema H., Suda T., Nagayoshi K., Miura Y., Civin C.I., Nakauchi H., *Blood*, **76**, 1956–1961 (1990).
- 35) Gruart V., Truong M. J., Plumas J., Zandecki M., Kusnierz J. P., Prin L., Vinatier D., Capron A., Capron M., *Blood*, **79**, 2592–2597 (1992).
- 36) de Ruijter A. J., van Gennip A. H., Caron H. N., Kemp S., van Kuilenburg A.B., *Biochem. J.*, **370**, 737–749 (2003).