

借

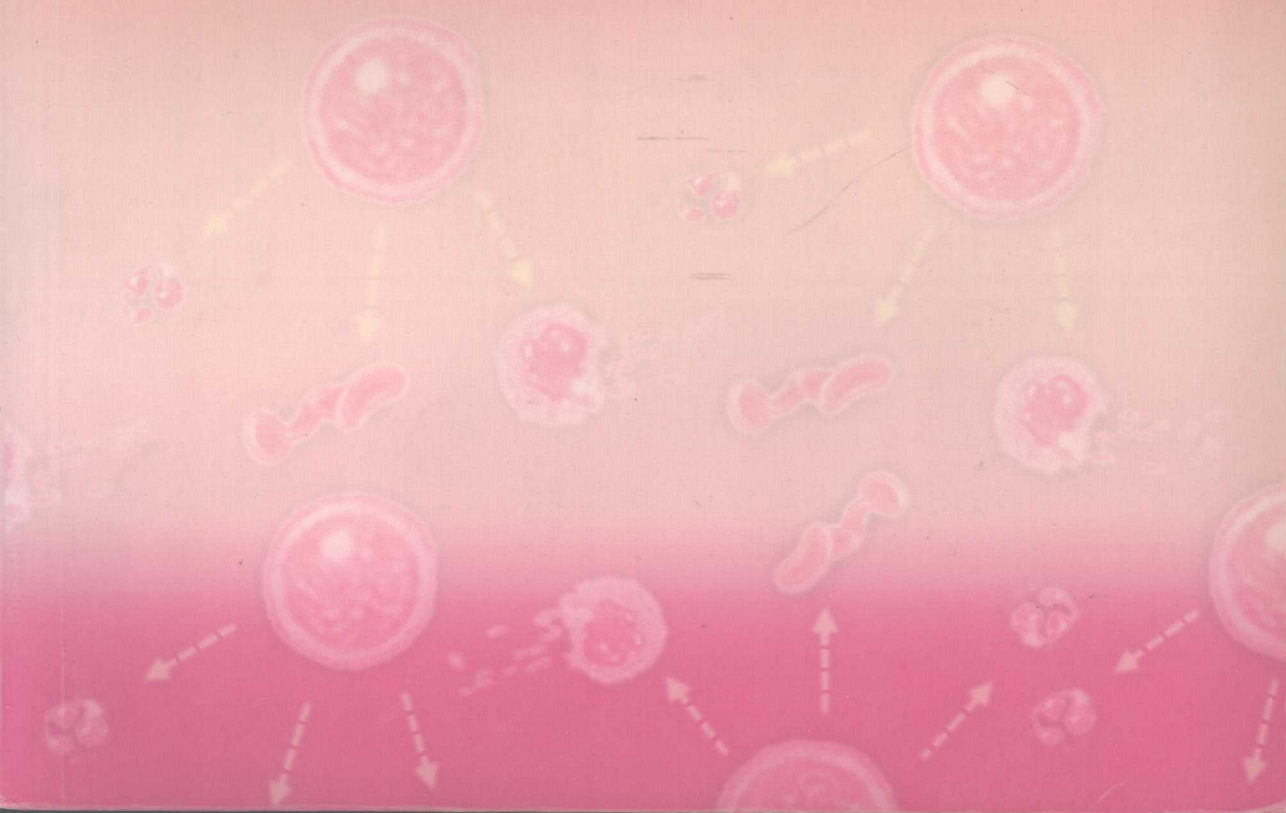


ZAOXUE SHENGLIXUE

造血生理学

王绮如 谭孟群 程腊梅 主编

中南大学出版社



造血生理学

主编:王绮如 谭孟群 程腊梅

编者:(按姓氏笔画为序)

万伍卿 王绮如 何 群

汪保和 马丽霞 孙小娟

程腊梅 周小莹 黄艳红

谭孟群

中南大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

造血生理学/王绮如,谭孟群,程腊梅主编. —长沙:

中南大学出版社,2005.4

ISBN 7-81105-057-9

I. 造... II. ①王... ②谭... ③程 III. 造血系统 -
人体生理学 IV. R331.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 032121 号

造血生理学

主编 王绮如 谭孟群 程腊梅

☐责任编辑 李 娟 谢新元

☐责任印制 汤庶平

☐出版发行 中南大学出版社

社址:长沙市麓山南路 邮编:410083

发行科电话:0731-8876770

传真:0731-8710482

☐印 装 长沙华裕印务有限公司

☐开 本 730 × 960 1/16 ☐印张 19.5 ☐字数 345 千字

☐版 次 2005 年 5 月第 1 版 ☐2005 年 5 月第 1 次印刷

☐书 号 ISBN 7-81105-057-9/R · 006

☐定 价 35.00 元

图书出现印装问题,请与经销商调换

内容提要

本书全面系统地阐述了造血的生理过程并介绍了造血细胞的检测技术。全书共 11 章, 包括造血生理的发展史, 造血干细胞生物学, 白细胞、红细胞及血小板的生成与调节和造血因子、造血微环境、胚胎造血、基因治疗以及造血实验技术。

本书内容新颖、详实。既有深入的理论阐述, 又有较强的临床实用性和指导性, 可供血液学临床医生、研究人员、研究生、高年级本科生以及相关生物学、免疫学和肿瘤学人员参考。

献小保 露丽昌 味科玉
珍鲜黄 莹小周 琳徽路
微益郭

环赠出学大南中

前 言

造血生理学是一门富有朝气的年轻的新兴学科,包括造血细胞的发生与发育、增殖分化与凋亡、迁移与归巢以及造血微环境的调控作用。

1961年Till及McCulloch建立了小鼠多能造血干细胞CFU-S测定方法,自此开辟了用实验方法研究造血干细胞的实验技术。相继一系列造血祖细胞体外培养取得成功,加速了对造血干、祖细胞特征及血细胞生成动力过程的认识。随着学科交叉渗透,在造血干、祖细胞增殖分化调控研究中发现了一大类造血细胞生长因子,包括正性调节因子和负性调节因子。正、负两类造血因子的协调配合,对造血的生理调控具有普遍意义。造血微环境是造血细胞赖以生存和发育的场所。造血微环境通过直接与造血细胞接触或释放多种细胞因子,调节造血细胞的生理活动,维持机体造血的稳定性。近年来,许多血液学研究工作者正在不断探索建立体外造血微环境以模拟体内造血,进一步探索造血的生理机制,并寻求在体外大量扩增造血干细胞。

1997年,我们编写了《造血生理学与造血细胞检测技术》一书,比较详细地阐述了造血生理学的理论与检测技术。近几年来,上述领域的研究迅速发展,为反映造血生理的新进展,我们在原《造血生理学与造血细胞检测技术》一书的基础上进行修订,更名为《造血生理学》。本书的特点是在系统介绍造血过程基本知识的基础上,紧跟国际前沿的研究热点,反映当前新进展,并紧密联系临床,适用于广大临床血液学、实验血液学和相关的研究人员、研究生及高年级本科生学习参考。

本书编写过程中,得到中南大学领导及研究生院领导的关心和支持,在此表示衷心感谢。

我们热诚希望广大读者对本书的缺点和不足给予批评、指正。

编者 2005年4月

目 录

第一章 绪 论	(1)
第一节 造血生理发展史	(1)
第二节 造血细胞的发育	(3)
第三节 造血细胞的增殖、分化及调节	(4)
第二章 造血干细胞	(10)
第一节 造血干细胞的基本特征	(11)
第二节 造血干细胞自我更新的分子机制	(14)
第三节 造血干细胞的表面标志	(20)
第四节 造血干细胞的分离纯化	(23)
第五节 造血干细胞的检测方法	(24)
第六节 造血干细胞的临床应用	(27)
第三章 白细胞的结构、功能、生成与调节	(33)
第一节 白细胞的结构与功能	(33)
第二节 白细胞的生成过程与体内分布	(44)
第三节 粒单系祖细胞及淋巴系祖细胞的测定方法	(50)
第四节 CFU-GM 与 CFU-S 特性的比较	(52)
第五节 白细胞生成的调节	(54)
第四章 红细胞的结构、功能、生成与调节	(64)
第一节 红细胞的结构与功能	(64)
第二节 红细胞的生成	(71)
第三节 红细胞生成的调节	(74)
第四节 促红细胞生成素及其受体	(78)

第五章 血小板的结构、功能、生成与调节	(85)
第一节 血小板的形态、结构与功能	(85)
第二节 血小板的生成	(99)
第三节 血小板生成的调节	(103)
第四节 巨核细胞生成与临床	(107)
第六章 造血因子	(112)
第一节 造血生长因子	(112)
第二节 造血抑制因子	(126)
第三节 造血生长因子受体	(130)
第四节 造血生长因子与受体的信号转导	(133)
第七章 造血微环境	(141)
第一节 造血微环境的结构	(141)
第二节 造血微环境对造血的调节	(147)
第三节 造血微环境的主要研究方法	(158)
第八章 胚胎造血	(175)
第一节 卵黄囊造血	(176)
第二节 胎肝造血	(181)
第三节 骨髓造血	(186)
第四节 胸腺与脾脏	(187)
第五节 胚胎干细胞向造血干细胞分化的研究进展	(187)
第九章 造血干细胞移植	(197)
第一节 异基因造血干细胞移植	(198)
第二节 自体造血干细胞移植	(215)
第三节 各种造血干细胞移植方式的优缺点	(217)
第十章 基因治疗	(224)
第一节 概 述	(224)
第二节 基因转移系统	(226)

第三节	血液系统疾病的基因治疗	(232)
第四节	相关疾病的基因治疗	(236)
第五节	基因治疗存在的问题及展望	(239)
第十一章	造血生理实验技术	(249)
第一节	造血细胞体外培养实验室的建立	(249)
第二节	清 洗	(251)
第三节	灭菌消毒	(253)
第四节	基础实验	(256)
第五节	体外培养造血祖细胞的常用试剂制备	(263)
第六节	造血祖细胞检测	(266)
第七节	骨髓基质细胞培养技术	(285)
第八节	长期骨髓培养	(288)
索 引		(290)
英文缩略词		(301)

第一章 绪论

第一节 造血生理发展史

血液是引人注目而且是容易观察到的身体构成成分。我国古代对血液的功能早有认识,汉代经典医书《内经》上说,血液是维持生命活动的要素,其中的《素问·五脏生成篇》说:“肝受血而能视,足受血而能步,掌受血而能握,指受血而能摄。”《灵枢·平人绝谷篇》说:“血脉和利,精神乃居。”说明血液供应充足,神志活动才能正常。古人正是借这种对血液的生成、运行、分布和功能认识,来指导医疗实践的。

19世纪末,随着西医学的传入,我国在20世纪初开始有了我国人血液生理常数的报道及ABO血型的调查报告。抗日战争期间,易见龙教授创建了我国第一个血库“昆明血库”,为抗日救亡做出了重要贡献^[1]。至50年代初,我国成立输血及血液研究所,归属中国医学科学院,先后完成了我国健康人血液调查10余项指标;ABO血型调查以及我国健康人骨髓象调查;并确定了我国正常成人骨髓象标准;观察了不同海拔高度、季节、职业和操作技术对血液数值的影响。60年代初,我国开始了实验血液学方面的研究工作,探讨神经-体液因素对血细胞活动的调节^[2]。由于“文化大革命”,此项研究工作中断。

细胞形态学分析是血液学研究中最基本的实验技术。造血细胞在分化至原始细胞阶段,即原始红细胞(pronormoblast)、原粒细胞(myeloblast)、原单核细胞(monoblast)、原巨核细胞(megakaryoblast)及原淋巴细胞(lymphoblast)时才出现形态上的特征。在这一分化阶段以前的造血干细胞及各级造血祖细胞其形态与小淋巴细胞类似,不能从形态上加以辨认,因而早期的实验血液学只限于骨髓中原始幼稚细胞增殖、成熟和释放过程的研究。一般说来,一个原血细胞经过4~5次的分裂,生成许多成熟血细胞。对终末血细胞动力学的研究表明,一个健康成年人每天生成大约 11.5×10^{10} 个中性粒细胞, 20×10^{10} 个红细胞和 2×10^{10} 个血小板。这么大的终末血细胞的产生应来源于较原血细胞更为原始的造血细胞。

早在1774年,人们就提出了造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)的

概念,在经历两个多世纪的探索中,先后提出过造血细胞发生的一元论、二元论和三元论学说。至20世纪中期,由于放射生物学的问世,极大地推动了实验血液学的发展。1961年,加拿大学者Till和McCulloch^[3]发现受致死量放射线照射小鼠移植骨髓细胞后,脾脏上生成肉眼可见的脾集落(colony forming unit-spleen, CFU-S),组成脾集落的细胞有红细胞系、粒细胞系、巨噬系或巨核细胞系,并进一步通过实验证实一个CFU-S来源于一个细胞。将形成脾集落的细胞再注入受致死量放射线照射小鼠,在受体鼠脾脏上还可以再产生CFU-S,并使小鼠存活。这些实验表明,生成脾集落的原始造血细胞符合造血干细胞的基本特征,即具有自我更新能力和多向分化潜能,并在一定的程度上可使受致死量照射小鼠造血恢复。近几十年来,人们普遍认为CFU-S是一类造血干细胞。因此,CFU-S的发现在实验血液学的研究史上是一个重要的里程碑。

随着实验血液学技术的发展,CFU-S是否能真正代表造血干细胞受到质疑。造血干细胞必须具有自我更新能力、多向分化能力和长期重建造血的能力,而CFU-S不能重建造血或只能重建短期造血。那么真正的造血干细胞是什么?目前为止,应用体外检测的方法仍不能确定。近年来,对造血干、祖细胞表面标志的研究极大地推进了造血干、祖细胞的分离、纯化及鉴定。CD34表面抗原在造血干细胞为强阳性,早期造血祖细胞仍为阳性,并持续至晚期造血祖细胞。CD34抗原的表达随着造血细胞的分化成熟而减弱。目前,应用综合多种抗原的表达来分离造血细胞可以高度富集造血干细胞和早期造血细胞。早期造血细胞可在体外检测,因此,检测早期造血祖细胞如LTCIC、HPP-CFC等的数量,亦可在一定程度上间接反映造血干细胞的水平。但是造血干细胞的检测仍需用是否能够重建长期造血的事实来证明。

在建立了CFU-S的检测方法之后,在1965年、1971年、1977年、1979年先后分别建立了CFU-GM、CFU-E、CFU-GEMM及CFU-HPP造血集落的检测方法。近年来,血液学工作者建立了更为原始的造血祖细胞集落CFU-BL、LTCIC等的检测方法,以及造血干细胞或造血重建细胞(severe combined immunodeficiency disease-repopulating cell, SRC)的检测方法。这样,人们对造血干、祖细胞的研究更是大大地迈进了一步。至今,造血干、祖细胞培养方法的研究仍然方兴未艾,在Dexter建立的体外液体培养体系的基础上,所建立的以造血基质细胞层特别是内皮细胞层联合细胞因子的体外扩增体系,能使早期造血细胞及造血重建细胞显著扩增^[4,5]。这一进展将使目前已经开展的脐带血干细胞移植、外周血或骨髓干细胞移植具有更加广泛的临床应用价值。

随着分子生物学、现代免疫学、细胞生物学的发展以及这些学科先进实验

技术在实验血液学中的应用,使当今实验血液学特别是造血生理学有了飞跃的发展。近10年来,不仅发现了一批造血刺激因子和造血抑制因子,对这些刺激因子和抑制因子对造血细胞的生物学行为的调节作用进行了研究^[6-9],而且已经能够重组这些因子,并应用于临床,产生满意的效果。

近年来,应用造血基质细胞联合造血因子体外培养造血细胞,可以明显扩增SRC,若辅以基因转染技术对体外造血微环境进行更合理的优化处理,以及对造血干细胞自我更新分子机制的进一步了解,将有可能使血液学研究工作者们能够在更高一层的水平上驾驭体外造血这一具有辉煌前景的造血工程。

1998年,Thomson向全世界宣告人类胚胎干细胞建系成功^[10]。我国中南大学卢光琇教授以及中山大学黄绍良教授亦相继建立了人类胚胎干细胞系^[11,12],Thomson实验室于2001年报道成功地诱导了人类胚胎干细胞向造血细胞的分化^[13],这一研究成果向人们展示应用来源于人胚胎干细胞的造血干细胞重建患者造血将为期不远。

第二节 造血细胞的发育

造血细胞是由受精卵发育形成的中胚层进一步分化形成的。造血是以造血干细胞为主体的造血系统,它包括造血干细胞及造血祖细胞的自我更新、增殖及分化形成成熟血细胞的过程(图1-1)。

成体动物和人类的造血组织主要是在骨髓,但造血起源于何处仍有争论。近20年来,人们普遍认为卵黄囊是胚胎时期首次造血的部位。近年来的研究发现中胚层起源的主动脉、性腺细胞和中肾(aortic-gonal-mesonephros, AGM)造血区或造血发育区。将在建立循环前的这一区域的细胞进行培养,可获得具有长期重建造血能力的细胞,而同样条件下培养的卵黄囊细胞则不具有造血重建能力^[14]。因此,人们提出AGM区是永久造血区,这一区域产生的造血干细胞迁移至卵黄囊、肝脏、骨髓等组织。而卵黄囊原始造血的造血细胞可能发生程序性死亡。由此,人们认为卵黄囊造血是第一次造血,造血细胞在卵黄囊增殖分化,而AGM区是永久造血区,产生的造血干、祖细胞在胎肝、骨髓中进一步分化与增殖。胚胎期卵黄囊造血、胎肝造血和骨髓造血的特点将在胚胎造血章节中详述。

小鼠及人类胚胎干细胞的建系极大地推动了造血细胞发生与发育的研究。1998年,Choi^[15]等报道了造血细胞与内皮细胞来源于共同的祖细胞,成血成血管细胞(hemangioblast)。2003年Fehling等^[16]观察了从胚胎干细胞向造血细胞

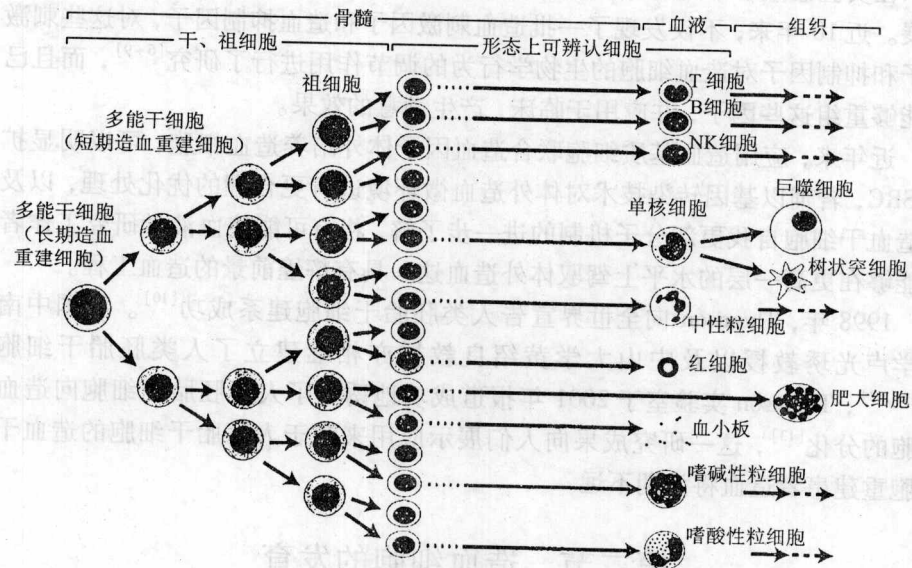


图 1-1 造血干细胞分化图

的体外发育过程,认为造血干细胞经过前中胚层、前成血成血管阶段和成血成血管阶段产生。产生的造血干细胞最终主要定位于骨髓,经各级造血祖细胞发育生成形态上可以辨认的早期幼稚细胞,最终成熟为终末血细胞。

第三节 造血细胞的增殖、分化及调节

造血干细胞是一类成体干细胞,机体内含造血干细胞的数量很少,在骨髓中,大约 $1 \times 10^4 \sim 1.5 \times 10^4$ 个有核细胞中含有一个造血干细胞,造血干细胞增殖分化的基本特征是具有自我更新能力与多向分化潜能。在正常情况下,进入细胞周期的造血干细胞进行不对称有丝分裂,即一个造血干细胞产生的两个子代细胞中,一个分化为造血祖细胞,另一个则仍然保持造血干细胞的特征。细胞分裂后产生的子代细胞仍能保持亲代细胞特征的能力称为自我更新能力。造血干细胞的这种不对称有丝分裂的方式保证了机体内造血干细胞数量相对恒定。不论这种不对称有丝分裂进行多少次,造血干细胞的数量仍是恒定的。造血干细胞分裂后为什么其中一个子代细胞仍然维持干细胞特征,而另一个子代

细胞则分化为造血祖细胞呢? 早在 1978 年 Schofield^[17] 就提出了壁龛 (niche) 学说(图 1-2)。这一学说认为造血干细胞存在于由造血基质细胞组成的壁龛之中。组成壁龛的基质细胞及其分泌的细胞因子以及细胞外基质维持了壁龛内细胞的干细胞特性。

由基质细胞产生的细胞因子, 包括造血刺激因子和造血抑制因子, 能明显地影响 HSC 的增殖与分化。其中重要的包括 SCF 和 TGF- β 。TGF- β 能使 HSC 及早期 HPC 处于 G₀ 期, 从而可逆性地阻断 HSC/HPC 对造血刺激因子的反应。造血微环境中的 TGF- β 高浓度区可能是保存 HSC 的“壁龛”。SCF 通过调节细胞的周期状态使部分 HSC/HPC 获得对造血刺激因子产生反应的能力。由于基质细胞产生的 SCF 有膜结合型和游离型两种形式, 膜结合型的 SCF 存在于基质细胞表面, 因而具有定位 HSC 并改变其细胞周期的双重作用。造血微环境中的 SCF 高浓度区可理解为造血壁龛, 存在于该区的 HSC/HPC 对造血刺激因子产生增殖分化反应。对于 HSC 的不对称性有丝分裂学说可以从整体来理解。如图 1-3 所示, HSC 的分裂的两种模式在人体内可能都是存在的。

“壁龛”的概念是一个功能性的结构概念。这一学说认为组成壁龛的基质细胞除产生造血调节因子以外, 还具有各种细胞因子的受体, 因此, 基质细胞表面还能结合或聚集细胞因子, 形成不同细胞因子的不同浓度分布区。基质细胞表面的黏附也可通过表达于造血干、祖细胞表面的特异或非特异配体的结合将其黏附在基质细胞表面, 可以想象黏附在基质细胞表面的 HSC 或早期 HPC 很容易受到局部高浓度细胞因子的调节。近年来, 研究者们认为这种能够黏附

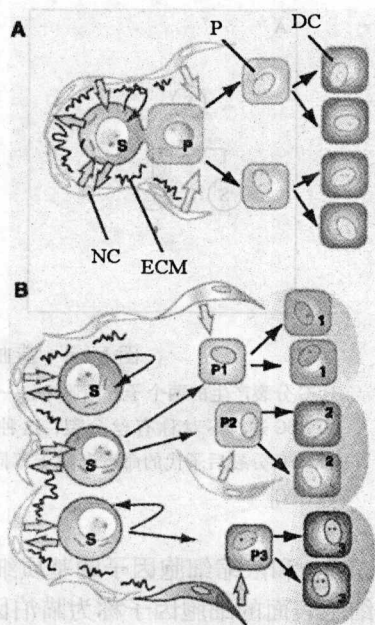


图 1-2 干细胞壁龛

- A. 单个造血干细胞壁龛:产生的另一个子代造血祖细胞可接受环境刺激进行分化。
B. 多个造血干细胞壁龛:另一半子代造血祖细胞的分化决定于它们所接触因子。
S:造血干细胞; P:造血祖细胞; DC:分化细胞; NC:壁龛细胞; ECM:细胞外基质; 宽箭头:信号刺激。

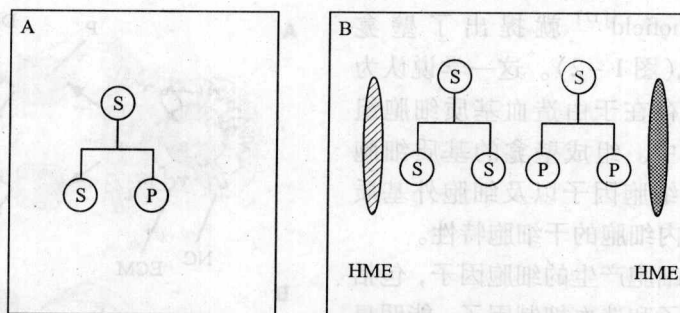


图 1-3 造血干细胞有丝分裂模式

HSC 分裂产生的两个子代细胞中,一个分化为早期 HPC,另一个仍保持 HSC 特征。

A. HSC 进行不对称有丝分裂,这种有丝分裂是通过细胞内源性机制调控的。

B. HSC 分裂后子代的命运有赖于不同的局部微环境。HME: 造血微环境;S: HSC;

P: HPC

HSC、HPC 和浓缩细胞因子的基质细胞组成的局部区域组成了“壁龛”。存在于基质细胞表面的细胞因子称为锚泊因子(anchor factors)。当机体造血需求增加时,如失血等情况下,或由于其他原因使造血处于高分化压力的条件下,机体的或局部的造血刺激因子浓度增加,刺激更多的 HSC 或使 HSC 更快的进入细胞周期,以适应机体的需要。同时机体也发动调控机制保护 HSC 免于耗竭,保证 HSC 池的恒定。也就是说,机体通过精细的网络调控,既保证机体需要的血细胞数量,又保证具有自我更新能力的 HSC 群体的恒定,其中应该包括造血刺激因子的数量、强度与造血抑制因子之间的相对平衡。然而,在长期的分化压力下,超越了机体的保护机制时,将最终使 HSC 池减少,导致造血功能低下。

造血干细胞分裂产生的两个细胞中的另一个离开壁龛分化为造血祖细胞。造血祖细胞则进行对称性有丝分裂,其自我更新能力下降,早期造血祖细胞的自我更新能力高于较晚期造血祖细胞的自我更新能力。晚期造血祖细胞全部进行对称性有丝分裂时,则全部丧失自我更新能力。早期造血祖细胞仍具有一定的自我更新能力和多向分化潜能,可称为系非特异性造血祖细胞,系非特异性造血祖细胞进一步分化定向为系特异性造血祖细胞,如红细胞系祖细胞、粒-单系祖细胞、巨核细胞系祖细胞和淋巴系祖细胞等。由系特异性祖细胞最终分化生成终末血细胞。一个早期造血祖细胞增殖分化产生的细胞相当多,假定以一个早期造血祖细胞分裂 20 次计算,所产生的细胞数可以达到 100 万个。造血干细胞分裂的结果,造血干细胞数量不变,而造血祖细胞分裂的结果使细胞

数量大大增加的同时,细胞分化,这一造血祖细胞亦将最终消失。因此,在进行造血细胞移植以重建造血时,移植的细胞中,必需含有足够数量的造血干细胞,才能保证移植受体重建造血。

细胞分化是指细胞在形态结构、生理功能和生物化学特征方面发生改变的过程。细胞分化的实现主要是由于基因表达的改变,从而使细胞的形态与功能发生改变。如 GATA-1 是红细胞系与巨核细胞系发育所必需^[18,19], PU.1 为髓系发育必需^[19], E2A 为 B 淋巴细胞发育所必需^[20]等。模拟体内情况,外源性加入细胞因子可促使造血细胞在体外培养条件下分化。例如,用 Dexter 体外液体培养体系培养骨髓细胞时,外源性加入促红细胞生成素,即可纠正由于培养环境缺乏红细胞系刺激因子,因而红细胞系细胞停留在早期红系祖细胞 BFU-E 阶段而不能进一步分化为晚期红细胞系祖细胞 CFU-E 的情况^[21]。同样,外源性加入粒单系集落刺激因子(GM-CSF),可使粒单系祖细胞分化。

造血细胞增殖分化的调控将在各章节中详细介绍。

(王绮如)

参考文献

- 1 陈孟勤. 中国生理学史. 北京:北京医科大学出版社,2001.329~331.
- 2 陈孟勤. 中国生理学史. 北京:北京医科大学出版社,2001.438~441.
- 3 Till JE, McCulloch EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res*, 1961, 14:213.
- 4 Li W, Johnson SA, Shelley WC, *et al.* Primary endothelial cells isolated from the yolk sac and para-aortic splanchnopleura support the expansion of adult marrow stem cells in vitro. *Blood*, 2003, 102:4345~4353.
- 5 Chute JP, Saini AA, Chute DJ, *et al.* Ex vivo culture with human brain endothelial cells increases the SCID-repopulating capacity of adult human bone marrow. *Blood*, 2002, 100(13):4433~4439.
- 6 Smith SL, Kiss J, Siatskas C, *et al.* Enhanced effect of vascular endothelial growth factor, thrombopoietin peptide agonist, SCF, and Flt3-L on LTC-IC and reporter gene transduction from umbilical cord blood CD34⁺ cells. *Transfusion*, 2004, 44(3):438~449.
- 7 Li WM, Huang WQ, Huang YH, *et al.* Positive and negative hematopoietic cytokines produced by bone marrow endothelial cells. *Cytokine*, 2000, 12(7):

- 1017 ~ 1023.
- 8 程腊梅, 王绮如. 骨髓内皮细胞产生造血抑制因子. 中国实验血液学杂志, 2002, 10:485 ~ 491.
 - 9 Huang WQ, Wang QR. Bone marrow endothelial cells secrete thymosin beta4 and AcSDKP. *Exp Hematol*, 2001, 29:12 ~ 18.
 - 10 Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, *et al*. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 1998, 282(5391):1145 ~ 1147.
 - 11 Xie CQ, Lin G, Lu GX. Preliminary study on human fibroblasts as feeder layer for human embryonic stem cells culture in vitro. *Chinese Science Bulletin*, 2003, 48:354 ~ 357.
 - 12 何志旭, 黄绍良, 李予, 等. 人胚胎干细胞系的初步建立. 中华医学杂志; 2002, 82:1314 ~ 1318.
 - 13 Kaufman DS, Hanson ET, Lewis RL, *et al*. Hematopoietic colony-forming cells derived from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(19):10716 ~ 10721.
 - 14 Cunano A, Dieterlen-Lievre F, Godin I. The splanchnopleura/AGM region is the prime site for the generation of multipotent hemopoietic precursors, in the mouse embryo. *Vaccine*, 2000, 18(16):1621 ~ 1623.
 - 15 Choi K, Kennedy M, Kazarov A, *et al*. A common precursor for hematopoietic and endothelial cells. *Development*, 1998, 125(4):725 ~ 732.
 - 16 Fehling HJ, Lacaud G, Kubo A, *et al*. Tracking mesoderm induction and its specification to the hemangioblast during embryonic stem cell differentiation. *Development*, 2003, 130:4217 ~ 4227.
 - 17 Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells*, 1978, 4(1 ~ 2):7 ~ 25.
 - 18 Iwasaki H, Mizuno S, Wells RA, *et al*. GATA-1 converts lymphoid and myelomonocytic progenitors into the megakaryocyte/erythrocyte lineages. *Immunity*, 2003, 19(3):451 ~ 462.
 - 19 Rekhtman N, Choe KS, Matushansky I, *et al*. PU. 1 and pRB interact and cooperate to repress GATA-1 and block erythroid differentiation. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(21):7460 ~ 7474.
 - 20 Zhuang Y, Jackson A, Pan L, *et al*. Regulation of E2A gene expression in B-lymphocyte development. *Mol Immunol*, 2004, 40(16):1165 ~ 1177.

- 21 Mayani H, Guilbert LJ, Janowska-Wieczorek A. Modulation of erythropoiesis and myelopoiesis by exogenous erythropoietin in human long-term marrow cultures. *Exp Hematol*, 1990, 18(3):174~179.