

Hematopoetik Büyüme Faktörleri ve Megakaryositopoesis

Bemin KULALI¹, Ayla SÖNMEZDAĞ²

ÖZET

Olgunlaşmamış hematopoetik progenitör (öncü) hücrelerin devamlılığı, differansiyasyonu ve proliferasyonu hematopoetik growth faktörler denilen glikoprotein yapısındaki maddeler tarafından yapılır. Megakaryositopoezin regülasyonu son yıllarda aydınlatılmaya başlanmıştır. Trombopoesisin regülasyonunda growth faktörlerin önemli bir rol oynadığı hakkında çok az bir şüphe vardır. Biz yazımızda, eski literatürlerin ışığında, bu konuyu destekleyen ve desteklemeyen en yeni literatürleri karşılaştırmalı olarak birleştirdik.

Anahtar Kelimeler: Hematopoetik Büyüme faktörleri, megakaryositopoezis.

SUMMARY

HEMATOPOIETIC GROWTH FACTORS AND MEGAKARYOCYTOPOESIS

The proliferation, differentiation and survival of immature hematopoietic progenitor cells is sustained by a family of glycoproteins, the hematopoietic growth factors. The regulation of megakaryocytopoiesis has only recently begun to be clarified. There is little doubt that growth factors must play an important role in the regulation of thrombopoiesis. In our paper we have compounded comparative the most recently supporting and denying aspects on this subject in the light of the previous literature.

Key Words: Hematopoietic growth factors, megakaryocytopoiesis

Büyüme faktörleri hücrelerin proliferasyon ve diferansiyasyonuna neden olan hormon benzeri biolojik olarak aktif polipeptidlerdir. Büyüme faktörleri hormonlarda olduğu gibi bir doku veya hücreden salgılanıp diğer doku yada hücreye düzenleyici sinyaller götürür. Fakat klasik hormon tanımına uymazlar. Büyüme faktörleri genellikle farklı özel sekretuar organlar tarafından üretilmeyip çeşitli fonksyonları olan hücre yada organlar tarafından üretilirler. Büyüme faktörleri kan yoluyla taşınmak yerine hedef hücreye çok yakın mesafede üretilip lokal bir difüzyon yolu ile taşınırlar. Sadece hipotalamustan salgılanlığı bilinen somatostatinin daha sonraları beynin diğer bölgelerinde, sindirim kanalı ve pankreasta da üretiliği ve kan dolaşımı yerine lokal difüzyon yolu ile etkili olduğu bulunmuştur. Bu nedenle büyume faktörlerini poli-

peptid hormonların bir alt sınıfı olarak düşünmek doğru olacaktır.

Büyüme faktörlerinin etki gösterebilmesi için hedef hücre yüzeyindeki spesifik reseptöre bağlanıp hücre proliferasyonunun başlaması için genleri kodlaması gereklidir. Büyüme faktörlerinin bir kısmı bizzat kodlanır. Bir kısmı da uygun reseptörlere bağlanıp klonlar meydana getirirler. Genlerdeki bu klonların bir çoğu farmakolojik miktarlarda büyume faktörünü sentez etmeye muktedirler.

Büyüme Faktörlerinin Sınıflandırılması

Görevlerine göre sınıflandırma:

- 1- Embriyogeneziste:
 - Epidermal GF
 - Somatomedin
 - Sinir BF

¹ Araş. Gör. Dr., Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, MANİSA

² Prof. Dr., Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, MANİSA

2- Erişkinde hücre populasyonu yapanlar:

- Koloni stimulan F
- İnterlökinler
- İnflamasyonda monosit/makrofaj BF
- Yaralanmalarda trombosit kökenli BF
- Arteriosklerozda endotel kökenli BF

3- Tümörlerde görülen Tümör büyümeye faktörü

Yapılarına göre sınıflandırma:

1-Nörotrop büyümeye faktörü (NGF): Bu faktör farenin parotisinden izole edilmiştir. Omurgalılarda embriyo ve yeni doğanda sempatik ve duyusal sinir sisteminde aşırı gelişme yaparlar. Adrenal medulla kromaffin hüreleri ve Schwann hücrelerinde de bol miktarda NGFye rastlanmıştır. Beyindeki bazal çekirdekler ve asetil kolin enzim düzeyleri NGF tarafından düzenlenir.

2-Epidermal büyümeye faktörleri (EGF): Farenin submaksiller bezinden izole edilmiştir. Epitel ve fibroblastlarda artmaya neden olurlar. Bunlara mitojenler de denir.

3-Mezodermal kökenli hücre tiplerinin mitojenleri:

- Trombosit kökenli büyümeye faktörü (PDGF)

Etkilediği hücreler:

- + Fibroblastlar
- + Glia hücreleri
- + Arteriyel düz kas hücreleri
- + Endotel hücreleridir.

-Fibroblast Büyümeye Faktörü: Damar endotelinde proliferasyon yaparlar. Doku vaskularizasyonunda etkilidirler.

4-İnsülin benzeri büyümeye faktörü: İki türdür

- IGF I (Somatomedin)
- IGF II

Bunlar hücre proliferasyonu, inkorporesyon ve insülin benzeri etki yaparlar. IGF I Growth Hormon etkisi ile karaciğerde sentez edilir.

5-Hematopoetik büyümeye faktörleri: Farmakolojik yaklaşımında hematopoetik büyümeye faktörleri şöyle sınıflandırılır:

-İnterferonlar: Görevleri

- 1-Lenfosit proliferasyonunu azaltır.
- 2-Hipersensitiviteyi azaltır.
- 3-Sitolitik T lenfositlerinin etkinliğini artırır.
- 4-NK hücrelerin etkinliğini artırırlar.
- 5-Lenfositlerdeki ve kanser hücrelerindeki HLA antijenlerinin expresyonunu artırırlar.

-Timosin: Timus epitel hücreleri tarafından salınır. T lenfositlerinin proliferasyonunda, farklılaşmasında ve fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol alırlar.

-Dializable Transfer Faktör (TFd): İnsan lökositlerinin dondurulup çözülmesiyle elde edilen bir ekstredir. Hücresel immüniteyi bir kişiden diğerine iletebilen ufak moleküllü bir RNA kompleksidir.

- Immunglobulinler
- Hematopoetik büyümeye faktörleri

Hematopoetik Büyümeye Faktörleri

Olgunlaşmamış hematopoetik progenitor (öncü) hücrelerin devamlılığı, diferansiyasyonu ve proliferasyonu hematopoetik Growth Faktörler denilen glikoprotein yapısındaki maddeler tarafından yapılır (1). İlk olarak 1960'lı yıllarda in vitro çalışmalarında koloni stümlü edici özellikleri fark edilmiş ve bugüne kadar çeşitli çalışmalar bu konuda yoğunlaştırlıdır. Başlangıçta in vitro ortam şartlarında fare kemik iliğindeki kültürlerde granülosit ve makrofaj kolonilerinin oluşumunu stümlü eden faktörün kaynakları olarak kullanılmışlardır. Sonraları 1970 yılına kadar insan hematopoetik hücreleri için semisolid kültür teknolojisi geliştirilmiş ve insanda CSF'ler idatifiye edilmiştir. Çoğunun in vitro hematopoetik koloni oluşumunu etkilediği ispatlanmış olan IL-1-IL-6 İnterlökinlerde olduğu gibi günümüzde CSF'ler klone edilmiş durumdadırlar. Hematopoetik büyümeye faktörlerinin etkisi hedef hücre yüzeyindeki reseptörlere yüksek afinite ile bağlanmasıyla olur. Hayatta kalma, çoğalma, farklılaşma, olgunlaşma ve fonksiyonel aktivitede artma gibi etkiler ortaya çıkar. Bu cevapların ortaya çıkması için faktörün reseptörlere bağlanma oranının en az %10 olması gereklidir. Nötrofiller, eozinofiller, monositler gibi olgun hücreler daha fazla reseptör içerirler. Pek çok hücre tipi aynı anda birden fazla büyümeye faktörü için reseptör içerir. Günümüzde bol miktarda saflaştırılan G-CSF, GM-CSF, Epo, IL 6, IL 3, IL 1 gibi büyümeye faktörleri klinik kullanım için önemlidir (Tablo I).

Monositlerden üretilen IL 1/TNF yada endotoksin indüksiyonla kemik iliğindeki makrofaj, endotelial hücreler, retiküler fibroblastik hücreler gibi hücrelerden M-CSF, GM-CSF, G-CSF ve IL 6 üretilir. Antijenik ve IL 1'nin stümlü etkileri T hücreleri IL 3, GM-CSF ve IL 5 üretirler. Genelde IL 3 ve GM-CSF bütün progenitor hücrelerin yaşama, üreme ve farklılaşmasını stümlü eder. Stem hücreler diğer 3 interlökin (IL 1, IL 4, IL 6) tarafından da stümlü edilir. Fakat bu faktörlerin etkisi indirekt olabilir ya da diğer sitokinlerin varlığını gerektirebilir (1). Diğer yandan G-CSF, M-CSF, IL 5 Epo daha çok sırasıyla olgun

TABLO 1. İnsan hematopoetik büyümeye faktörleri

Faktör	Biolojik Progenitörler	Aktiviteleri
		Olgun hücreler
IL 3	Bütün CFC	eo, b
GM-CSF	Bütün CFC	n, mo, eo
G-CSF	CFU-G	n
M-CSF	CFU-M	m
Epo	BFU-E, CFU-E	eb
IL 5	CFU-Eo	-
IL 6	Blast CFC	-
IL 4	Epo, G-CSF ve M-CSF ile sinerjis.	-
IL 9	BFU-E	-
IL 11	IL 3 ile sinerjis.	-

granülosit, monosit, eozinofil ve eritroid progenitor hücrelerin gelişmesini ve farklılaşmasını stimüle eder.

MEGAKARYOSİTOPOEZİS

Megakaryositopoezin regulasyonu son yıllarda aydınlatılmaya başlamıştır. Kemik iliğinde bulunan olgunlaşmış megakaryositlerin ve CFU-Meg'lerin sayıca az olması, Megakaryosit koloni testlerinin zor olması ve trombosit üretimindeki değişiklikler karışıklığa neden olur. Megakaryositopoezis sadece megakaryositik seriden sorumlu olan progenitörlere bağlı olarak düzenlenmektedir. Bu progenitörler IL 3, GM-CSF, IL 1 ve trombopoetinden karşılıklı olarak etkileşirler.

Megakaryosit progenitörleri: Ana kemik iliği hücreleri yani stem cells hem lenfoid hem de myeloid serisi oluşturmak üzere farklılaşırken aynı zamanda kendi kendilerini de replikasyona uğratır. Myeloid oluşumun ilk adımında kendi kendini yenileme yeteneği olan bir progenitor meydana gelir ve muhtemelen lenfoid hücreler dışındaki diğer kan hücreleri bu progenitörden oluşur. Bu myeloid ana hücredir (CFU-S). Bu hücre hem kendi kendini replike eder hem de ya fagositopoez ya eozinofilopoez ya da eritropoez, bazofilopoez ve megakaryositopoezden sorumlu progenitörlere farklılaşır. Yeni bilgilere göre E/b/Meg oluşumuna farklılaşma tek bir progenitörden olmaktadır. Böylece eritrosit, mast hücreleri ve megakaryositler meydana gelir. Eritroid ve megakaryositik progenitörlerden menşeyi alan kolonilerin in vitro kültürleri ve insan eritrolökemia hücreleri incelenmiştir. Çalışmalar kemik iliği hücre kültürlerinde Epo varlığında eritroid kolonilerin megakaryositlerle karışık olduğunu göstermektedir (2,3). Yapısal olarak eritroid fenotipte olan insan eritrolökemia hücreleri eğer γ-amino levulinik asit ile enkübe edilirse eritroid olurlar. Fakat alçak doz forbol myristat asetata maruz bırakılırsa megakaryositik fenotipi ifade ederler (1).

E/b/Meg progenitorinden megakaryosit farklılaşması BFUMeg oluşumu ile başlar. Uygun büyümeye faktörlerinden menşeyi almışsa kültürde BFU-Meg az da olsa bölünür. *In vivo* BFU-Meg CFU-Meg'e olgunlaşır.

Megakaryosit Gelişimi: Megakaryosit oluşumu ilk olarak asetilkolin esteraz pozitif bir hücrenin gelişimi ile başlayabilir. Bu hücre muhtemelen bir megakaryoblasta analogtur. Williams ve Levin (4) megakaryositik gelişimin birkaç sitolojik özelliğini göstermişlerdir. Megakaryoblast 8N hücresi üretmeye başlayarak endoreduplikasyona uğrar. Kromozomal reduplikasyon sonucu 16N ve 32N taşıyan megakaryoblastlar meydana gelir. Populasyonda sık görülen ploidy sayısı 16N'dır. Herbir megakaryosit içerisinde DNA oluşumu hücrenin stoplazmik volümü ve stoplazmadan menşeyi alan parçacıkların büyüklüğüyle bağlantılıdır (5,6). DNA'nın endoreduplikasyon prosesi megakaryositlerin olgunlaşma döneminde sonlanır. Bu da sitotoksik ajana karşı duyarlılığın olgunlaşmış prekürsörler yerine erken megakaryosit prekürsörlerin de daha fazla olmasının nedenidir. Yüksek ploidyli hücre bölmeleri megakaryositlerden türeyen trombosit üretiminin artmasına neden olurken düşük ploidyli hücre bölmeleri megakaryosit havuzunu yeniden doldurur (7,8). Büyüme faktörlerinin trombosit üretimindeki etkileri endoreduplikasyona etkileri ile olur.

Megakaryosit olgunlaşmasının sitolojik özellikleri:

- 1. evre (Megakaryoblast):** Nukleus yoğun, stoplazma bazofilik boyanır ve elektron mikroskopta az granül görülür.
- 2. evre (Promegakaryosit):** Nukleus at nali şeklinde, stoplazma yer yer pembe boyanır ve granül sayısı artmaya başlar.
- 3. evre (Granüler megakaryosit):** Nukleus çok loblu, stoplazma daha fazla pembe boyanır ve granül sayısı çok artar.
- 4. evre (Mature megakaryosit):** Nukleus yoğun fakat çok fazla loblu, stoplazma tamamıyla eozinofilik boyanır ve granüller içinde trombosit alanları organize olur (1).

Megakaryositler endotel hücrelerine sıkı bir bağlanıda büyür ve gelişirler. Megakaryositler endotel hücreleri arasındaki açıklıklardan sinüzoidal kana doğru stoplazmik uzantılar çıkarır. Burada sıkışarak ayrılan parçalar dolaşımındaki trombositleri oluşturur. Bu nedenle megakaryositler hiçbir zaman kemik iliğini terketmezler.

Trombositopeninin ayırcı tanısında ilk önce trombosit morfolojisi değerlendirilir. Bu durumda megakaryositopoezis hızlanır ve dolaşımındaki

trombosit miktarı artar. Genç trombositler yaşlılardan daha büyüktürler. Trombosit yıkımının artmasına sekonder gelişen trombositopenide trombosit miktarı artmıştır. Trombosit üretiminin azalmasına bağlı trombositopeni normal trombosit büyülüğu ile birliktedir. Trombopoiesis artın yada artmasın hiposplenizmili hastaların kanlarında büyük trombositler vardır. Wiskott-Aldrich ve Bernard-Soulier sendromundaki gibi primer trombosit fonksiyon bozukluğu olan hastalarda trombosit büyülüğu trombosit üretimi ile ilişkili değildir.

Büyüme Faktörleri ve Megakaryositopesis

Megakaryositopesisin büyümeye faktörlerinden etkilendiği bilinen bir gerçekdir. Koloni stimüle eden etki genellikle Meg-CSA olarak tanımlanır ve aktiviteteye katkıda bulunan faktörlerin tanımlanması çalışmaları devam etmektedir. Normal insan plazmasında eğer Meg-CSA varsa çok az miktaradır. Bu aktivite aplesili hastalara ilik transplantasyonunu takiben hemen artmaya başlar ve 3 hafta sonra pik yapar. Transplantasyondan 30 gün sonra aktivite seviyesi normal seviyeye iner (1). Büyüme faktörlerinin megakaryosit koloni oluşumunu desteklemesine T hücrelerinden salgılanan maddeler önemli katkıda bulunurlar. T hücrelerinin GM-CSF ve IL 3'ü birlikte salgıladığı gösterilmiştir. Recombinant sıçan GM-CSF megakaryositlerin koloni oluşturmasını teşvik eder, megakaryosit progenitorlerinin proliferasyonunu artırır ve megakaryosit büyülüğünü artırır (9). Straneva ve arkadaşları (10) GM-CSF' ye yapısal özellikleri yönünden trombopoiesis stimüle eden faktör demişlerdir. Fakat yaşayan farelere in vivo olarak GM-CSF uygulandığında dolaşındaki trombositlere etkisini gösteterememişlerdir. Son zamanlarda GM-CSF'ye ilaveten IL 3'ün de megakaryosit koloni oluşumuna yardım ettiği gösterilmiştir (11).

Long ve arkadaşları (12) koloni oluşumunun indüklenmemesinde gerekli IL 3 yada GM-CSF ile uyumlu ikinci sinerjistik bir faktörün varlığını kanıtlamışlardır. Long ve arkadaşları in vitro GM-CSF ve IL 3 pozitif sinerjizmini denememişlerdir. Bu sinerjizm in vivo Donahue ve arkadaşları (13) tarafından gösterilmiştir. Bunlar maymunların IL 3 ile öntedavisini takiben düşük doz GM-CSF uygulamasının trombosit üretiminde çok fazla bir artışa neden olduğunu göstermişler. Bu nedenle hematologlar refrakter trombositopenili hastaların tedavisinde IL 3 ve GM-CSF kombinasyonundan kaçınılmaktadırlar. Stahl ve arkadaşları (11) IL 3'ün megakaryosit koloni sıklığını GM-CSF'ye oranla daha fazla artırdığını bulmuşlardır. Aynı çalışmada

GM-CSF tek başına uygulandığında trombosit üretiminde belirgin bir artış olmadığını fakat IL 3'ten sonra GM-CSF uygulandığında trombopoiesisin arttığını göstermişlerdir. Ericson Miller ve arkadaşları (14) 1993 yılında yaptıkları çalışmalarında Aplastik anemili hastaların idrarlarından megakaryosit koloni stimülasyon aktivitesi olan bir sitokin saflaştırılmıştır ve buna Meg-CSF adını vermişlerdir. Saflaştırılan Meg-CSF'nin GM-CSF, M-CSF, G-CSF, IL 3 yada IL 1,2,3,6, 9,11 olmadığını göstermişlerdir.

Kobayashi ve arkadaşları (15) 1993 yılında yaptıkları çalışmalarında IL 11'in megakaryoblastik hücre serisinde otokrin growth faktör gibi etki yaptığınu bulmuşlardır. Yine aynı yılda Neben ve arkadaşları (16) normal ve splenektomili farelerde insan IL 11'in megakaryositopesisi ve dolaşındaki trombositleri artttardığını göstermişlerdir.

Eritropoetin ve Megakaryositopezis

Eritropoetin (Epo) düzeyinin artığı bir çok durumda trombositosis sıkılıkla görülür. Fakat trombosit üretiminde Epo'nun fizyolojik rolünü bulmak için yapılan çalışmalar sonuçsuz kalmıştır. Megakaryositlerde Epo için yüksek affinitesi olan bağlayıcı noktalar bulunmuştur (Trombositlerde bulunamamıştır). Rekombinant Epo'nun yüksek konsantrasyonu serum free kültürlerde hem ACHE hücrelerde hem de megakaryosit büyülüğünde artmayı, eritroid ve megakaryosit kolonilerinin karışımını ve megakaryosit koloni oluşumunu teşvik eder. Bununla beraber Epo'nun megakaryosit koloni oluşumuna etkisi tartışmalıdır. In vivo çalışmalar kemirgenlerde yalnızca çok yüksek Epo dozunun trombosit üretimini artttardığını göstermiştir. Tsukada ve arkadaşları (2) 1992'de yaptıkları çalışmalarında serum free kültürlerde insan Epo'sunun megakaryosit koloni stimulan aktivitesi yoktur demişlerdir. Çalışmalarında insan IL 1+insan IL 6+insan Epo ihtiyaca eden kültürler gibi insan Epo, insan IL 3 ve insan GM-CSF'si ihtiyaca eden kültürlerde megakaryosit koloni oluşumunu stimüle edici etkinin yetersiz kaldığını göstermişlerdir. Onların bulgularına göre growth faktör içeren serum, megakaryosit prekürsörlerinin farklılaşması ve çoğalmasında insan Epo'su ile sinerjiktir ve bu faktör IL 1, IL 3, IL 4, IL 6, G-CSF ve GM-CSF'den farklıdır.

Trombopoetin

Trombopoetin ACHE basamağı ve progenitor farklılaşmayı artırıp, BFU-Meg ve CFU-Meg'i üreme fazına yönetirler. Trombopoetin 30 yıldan fazla bilinen bir faktördür. Mc Donald (17) trombopoetinin biolojisini, saflaştırılmasını ve

karakterini ortaya koyan ilk araştırmacıdır. Trombopoetin *in vitro* megakaryositlerin ploiditesini artırırlar. Trombopoetin stimüle edilmiş epidermal hücrelerden salınır ve bu mekanizma ile inflamasyon trombositose neden olur. Bütün bu çalışmalara rağmen trombopoetinin doğal olarak eldesi zordur.

Son zamanlarda IL 6'nın trombopoetin benzeri aktivitesi olduğu ve bu aktivitenin IL 1 tarafından artırıldığı bulunmuştur (18). IL 6, ACHE aktivitesinde artmaya neden olur. IL 6 kemik iliği kültürlerinde IL 3 varlığında megakaryosit kolonilerinin sayısını artırır. IL 6 ve onun reseptörlerinin insan megakaryositlerinde belirgin olarak gösterilmesi IL 6'nın bu hücrelerde otokrin rol oynayabileceğini ortaya koymustur. Serum free kültürlerde IL 6, IL 3 ile birlikte megakaryosit koloni oluşumunu arttırır. Fakat hiçbir tek başına aktif değildir. Hideo Inoue 1993 (19) yılında yaptıkları çalışmalarında IL 6 ile

IL 3 ya da Epo kombinasyonu sinerjistik olarak ve IL 3 yada Epo yalnız kullanıldığında total megakaryosit sayısının artmasına yardım etmeksızın megakaryosit gelişimini artırdığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada IL 6, IL 3 yada Epo tarafından indukte edilen megakaryosit çapını ve DNA içeriğini belirgin olarak artırdığını ve megakaryositlerin gelişim formasyonuna geçiş zamanlarını hızla kısaltıklarını belirtmişler. Yazlarında IL 3 ve Epo'nun megakaryositofoesisin erken dönemini, IL 6'nın ise geç dönemini başlıca etkilediğini ve her faktörün *in vivo* trombosit üretimini artırdığını yazmışlardır.

Gördüğü gibi megakaryosit gelişiminde sitokinlerin etkileşimi gerçekten karmaşıktır. Hiçbir megakaryosit için spesifik değildir. Eğer megakaryosite spesifik growth faktör varsa henüz bulunamamıştır. Çalışmalar bu yönde devam etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Sieff, C., Nathan, D.G.: The anatomy and physiology of hematopoiesis, Osaki, F., Nathan, D.G. eds, Hematology of Infancy and Childhood 4. edition Volume 1, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1993: 168-194
2. Tsukada, J., Misago, M., Kikuchi, M.: Interaction between recombinant human erythropoietin and serum factor(s) on murine megakaryocyte colony formation. *Blood*, 80(1):37-45, 1992.
3. An, E., Ogata, K., Kuriya, S.: IL 6 and erythropoietin act as directly potentiators and inducers of *in vitro* cytoplasmic process formation on purified mouse megakaryocytes. *Exp Hematol* 22 (2): 149-56, 1994.
4. Williams, N., Levin, R.F.: The origin, development and regulation of megakaryocytes. *Br J Haematol* 52:173, 1982.
5. Jackson, C.W.: Cholinesterase as a possible marker for early cells of the megakaryocytic series. *Blood* 42:413, 1973.
6. Nakeff, A., Floech, D.P.: Separation of megakaryocytes from mouse bone marrow by density gradient centrifugation *Blood* 48:133, 1976.
7. Mayer, M., Schoefer, J.: Identification of young megakaryocytes by immunofluorescence and cytophotometry. *Blood* 37:265, 1978.
8. Williams, N., Eger, R.R.: Two factor requirement for murine megakaryocyte colony formation. *J Cell Physiol* 110:101, 1982.
9. Takahashi, T., Tsuyuoka, R., Ueda, Y.: Megakaryocyte potentiating activity of IL 1, IL 6 and GM-CSF as evaluated by their action on *in vitro* human megakaryocytic colonies. *Br J Haematol* 78:480-487, 1991.
10. Straneva, J.E., Briddell, R.A.: Effects of thrombocytopoiesis-stimulating factor on terminal cytoplasmic maturation of human megakaryocytes. *Exp Hematol* 17:1122, 1989.
11. Stahl, C.P., Winton, E., Monroe, M.: Differential effects of sequential, simultaneous and single agent IL 3 and GM-CSF on megakaryocyte maturation and platelet response in primates. *Blood* 80(10):2479-2485, 1992.
12. Long, M.W., Hutchinson, R.J.: Synergistic regulation of human megakaryocyte development. *J Clin Invest* 82:1779, 1988.
13. Donahue, R.E., Seehra, A.: Human IL-3 and GM-CSF act synergistically in stimulating hematopoiesis in primates. *Science* 241:1820, 1988.
14. Ericson-Miller, C.L., Parchment, H.R., Murphy, M.J.: Megakaryocyte colony-stimulating factor (Meg-CSF) is a unique cytokine specific for the megakaryocyte lineage. *Br J Haematol*. 84(2):197-203, 1993.
15. Kobayashi, S., Teramura, M., Sugawara, I.: IL-11 acts as an autocrine growth factor for human megakaryoblastic cell lines. *Blood* 81(4): 889-893, 1993.
16. Neben, T.Y., Loebelenz, J., Hayes, L.: Recombinant human IL-11 stimulates megakaryocytopoiesis and increases peripheral platelets in normal and splenectomized mice. *Blood* 81(4):901-908, 1993.
17. McDonald, T.P.: Thrombopoietin: its biology, purification and characterization. *Exp Hematol* 16:201, 1988.
18. Ishibashi, T., Asano, S.: IL 6 and Thrombocytopoiesis. *Res Immunol* 143(7): 752-54, 1992.
19. Inoue, H., Ishii, H., Tsutsumi, M.: Growth factor-induced process formation of megakaryocytes derived from CFU-MK. *Br J Haematol* 85:260-269, 1993