

만성 골수성 백혈병 환자에 있어서 질병의 시기에 따른 c-fms의 표현양상

가톨릭대학교 의학부 내과학교실 혈액종양학과 및 임상병리학교실*

박종원 · 양일호 · 한치화 · 이종욱
민우성 · 김춘추 · 김원일* · 김동집

= Abstract =

Expression of c-fms in Each Stage of Chronic Myelogenous Leukemia

Chong Won Park, M.D., Il Ho Yang, M.S., Chong Wook Lee, M.D., Chi Wha Han, M.D.,
Woo Sung Min, M.D., Chun Choo Kim, M.D., Won Il Kim*, M.D. and Dong Jip Kim, M.D.

*Division of Hematology-Oncology, Department of Internal Medicine,
Department of Clinical Pathology*, Catholic University Medical College, Seoul, Korea*

The cellular transforming activity of c-fms is mediated by either over expression or activating mutation of c-fms proto-oncogene. To assess whether over expression of c-fms in chronic myelogenous leukemia(CML) cells is concerned with the development of blastic crisis, twenty five cases of CML(15 in chronic, 10 in blastic crisis) were analyzed by cytoplasmic RNA dot blotting method using c-fms RNA probes. There was no statistical difference in the frequency of c-fms expression between chronic and blastic phase($p>0.05$). But two Patients in blastic crisis showed strong hybridization signals compared with other hybridization signals of CML. As a control experiment, expression of c-fms was also studied in patients with acute myelogenous (11) and lymphocytic(11) leukemia. hybridization signals were found in two patients with ALL (8.2%) and eight patients with AML(72.7%).

Therefore, we suggest that at least, in few cases of CML, overexpression of c-fms seems to be related with the transformation of CML from chronic phase to blastic crisis and expression of c-fms may be a useful molecular marker of AML.

서 론

c-fms는 monocyte-colony stimulating factor (M-CSF 또는 CSF-1) 수용체의 유전자로 사람의 5번

염색체의 장완(G33.3)에 위치한다¹⁻³⁾. M-CSF 수용체는 단구계열(monocytic series)의 세포들과 태반의 영양아세포(trophoblast) 및 용모성 상피암 유래의 BeWo 세포주에서 발견된다⁴⁻⁸⁾. M-CSF는 M-CSF 수용체와 결합하여 단구계열 세포들의 증식과 분화를 촉진시킬 뿐만 아니라 이미 분화가 완료된 성숙단구(monocyte)의 각종 기능들도 강화시킨다⁹⁻¹⁴⁾. c-fms의 형질전환능력(transforming potential)은 c-fms 유전자의 돌연변이나 과도한 전사(transcrip-

*본 논문은 대한 암 연구 재단 연구지원비와 1990년 가톨릭 중앙의료원 학술 연구보조연구비의 일부 및 김후금 암 연구기금으로 이루어짐

tion)에 의해 "protein tyrosine kinase" 활성이 M-CSF의 존재와 무관하게 지속적으로 증가하므로서 나타난다고 하며 이러한 기전이 골수성 백혈병의 발병 과정에서 관여할 것으로 추측된다¹⁵⁻²⁰.

만성 골수성 백혈병은 만성기로 부터 시작되어 가속기를 거쳐 급성기로 전환되는 독특한 병의 경과를 보인다. Philadelphia 염색체(22 q-)가 양성인 만성 골수성 백혈병 세포들은 만성기에 정상적인 분화능력을 갖고 과도한 증식만을 하지만, 급성기 또는 가속기에는 분화되지 않은 미성숙 백혈병 세포들의 지나친 증식으로 급성 백혈병과 매우 유사한 양상을 보인다.

따라서 이와 같은 만성기로 부터 급성기로의 형전환이 c-fms의 표현 정도와 연관성이 있는지 여부를 확인하고자 각각의 병기(病期)에 있는 만성 골수성 백혈병 환자들을 대상으로 RNA dot blot 검사를 시행하여 흥미있는 몇가지 결과를 얻어 이를 보고한다.

연구대상 및 방법

1) 연구대상

가톨릭의대 부속 성모병원에서 입원하여 골수검사를 통해 확인된 만성 골수성 백혈병 환자 25명(만성기 15명, 급성기 10명)을 대상으로 하였다. 대조군으로는 급성 골수성 백혈병과 급성 임파구성 백혈병으로 진단된 환자들 중 각각 11명씩을 선정하였으며 이들은 모두 진단당시 "full blown" 상태의 급성 백혈병 소견을 보였다.

2) 연구방법

(1) 백혈병 세포의 분리: 진단시 채취된 골수로 부터 Ficoll-Hypaque gradient(비중 1,097) 방법으로 단핵세포(mononuclear cell)들을 분리한 후 다음 실험때 까지 본 교실의 고유한 방법에 따라 액체질소에 냉동보관하였다²¹.

L₁₂₁₀과 BeWo 세포주는 각각 10% fetal calf serum이 포함된 RPMI1640 배양액과 Waymouth MB 752/1 배양액에서 5% CO₂, 37°C 조건으로 증식 배양한 후 사용하였다²².

(2) Cytoplasmic RNA의 분리 및 dot blotting: 냉동보관되었던 세포들을 급속해동(thawing)시킨 후 RPMI1640 배양액으로 2회 세척하여 사용하

였으며, cytoplasmic RNA는 White등(1982)의 방법에 따라 다음과 같이 분리하였다.

2 × 10⁶개의 세포들을 Eppendorf 튜브에 넣고 45 μl의 "차가운(0°C) RNA lysis buffer[0.14 M NaCl, 10 mM Tris(pH 8.5), 1.5 mM MgCl₂]"와 2 μl의 2 mM vanadyl complex, 그리고 2.5 μl의 차가운 10% NP-40를 섞은 다음 얼음속에서 10분간 방치하였다. 이를 다시 40°C에서 5분동안 원심분리(12,000 × g)한 다음 상층액을 얻어 새로운 Eppendorf 튜브로 옮긴 후, 20 μl의 formaldehyde와 30 μl의 20 × SSC넣어 65°C에서 15분간 처리한 즉시 얼음에 식혀서 -70°C보관하였다²³.

보관되었던 100 μl의 cytoplasmic RNA 용액을 dot blot kit(Minifold SRC-96, Schleicher & Schuell)를 사용하여 nitrocellulose 용지에 blotting시킨 후 80°C의 drying vacuum oven에서 2 시간동안 baking시켜 교잡에 사용하였다.

(3) c-fms probe의 준비: c-fms의 probe로는 RNA transcription vector의 SP6 RNA polymerase promoter의 downstream 위치에 사람의 c-fms cDNA가 클로닝되어 있는 c-fms Amprobe (Amersham, Cat.No. RPN 1326)를 α-³²P-dUTP와 SP6 RNA polymerase로 high specific activity의 single stranded RNA probe를 만들어 사용하였다²⁴.

대조교잡(control hybridization) 시험을 위한 probe로는 사람의 β-actin gene probe(Clontech., Cat. No. 9800-1)를 "random priming방법"으로 labelling하여 사용하였다²⁵.

(4) 교잡 및 자가방사사진술(autoradiography): 5 × SSPE와 50% deionized formamide, 5 × Denhardt 용액, 0.5% SDS 그리고 95°C에서 5분간 변성시킨 calf thymus DNA를 100 mg/ml 농도로 섞은 10 ml의 용액내에서 42°C로 1시간 동안 전교잡(prehybridization)을 시행하였으며, 동일한 용액에 c-fms probe 6 μl를 넣어 42°C로 16시간동안 교잡을 실시하였다.

1차적 세척(washing)은 55°C에서 2 × SSPE-0.1% SDS 용액으로 15분간 2회, 1 × SSPE-0.1% SDS 용액으로 30분간 2회를 실시하였다, 2차로 RNase A가 10 mg/ml 농도로 섞인 2 × SSPE 용액으로 37°C

에서 15분간 세척을 한 후 추가로 $2 \times \text{SSPE}$ 로 세척한 다음 -70°C 에서 12시간동안 자가방사사진술을 시행하였다²⁵⁾.

결 과

1) 각종대조군에서의 c-fms mRNA 표현

만성 골수성 백혈병 세포의 c-fms mRNA 표현 정도를 측정하기 위한 양성 및 음성대조 세포로 BeWo와 L_{1210} 세포주를 각각 1×10^5 세포로부터 1.25×10^4

세포까지 2배씩 연속희석한 결과 BeWo 세포는 농도에 비례하여 모두 교잡음영을 보였으나, L_{1210} 은 1×10^5 세포 농도에서도 교잡음영이 발견되지 않았다 (Fig. 1-A).

또한 질병대조군인 급성 임파구성과 골수성 백혈병 환자 각각 11명과 정상인(11명)의 경우에 정상인은 모두가(100%), 급성 골수성 백혈병은 8명이(72.7%), 그리고 급성 임파구성 백혈병은 2명이(18.2%) 교잡음영을 보였다(Table 2).

Fig. 1. Cytoplasmic RNA dot blot analysis of c-fms mRNA in mononuclear cells prepared from patients with chronic myelogenous leukemia. Both L_{1210} (negative control) and BeWo (positive control) cells, serially diluted from 1×10^5 to 1.25×10^4 and blotted on a nitrocellulose paper, were hybridized with the human c-fms RNA probe (A). 2×10^6 mononuclear cells obtained from each patient with CML were blotted and hybridized with the same RNA probe. Among fifteen patients in chronic phase of CML, seven cases showed positive hybridization signals (B). But five among ten patients in blastic crisis revealed to be positive (C). Hybridization signal of each CML sample against β -actin cDNA probe showed almost equal degree of intensity (not illustrated).

Table 1. Expression of c-fms in mononuclear cells from patients with chronic myelogenous leukemia

Chronic phase (n=15)		Blastic crisis (n=10)	
No.	mRNA of c-fms	No.	mRNA of c-fms
1	+	1	-
2	-	2	-
3	-	3	+++
4	++	4	+
5	++	5	+
6	+	6	+
7	++	7(lymphocytic)	+++
8	++	8	-
9	+	9(lymphocytic)	-
10	-	10	-
11	-		
12	-		
13	-		
14	-		
15	-		

*Data from figure 1.

- , no detectable signal
- + , detectable but less intense signal for 12 hour exposure
- ++ , intense signal for 12 hour exposure
- +++ , more intense signal for 12 hour exposure

2) 만성 골수성 백혈병 환자의 c-fms mRNA 표현

만성 골수성 백혈병 환자의 c-fms mRNA 표현 양상을 분석한 결과 만성기 환자 15명중 7명이(46.7%), 그리고 급성기 환자 10명중 5명(50%) 교잡음영을 나타냈다(Table 1). 따라서 만성기와 급성기 사이의 c-fms mRNA 표현 빈도는 통계적인 차이가 없었으나 (p>0.05), 급성기 환자들중 증례 3(골수성)과 증례 7(임파구성)은 다른 환자들에 비해 매우 강한 교잡음영을 보였다(Fig. 1-B & C).

고 찰

v-fms의 세포내 상동유전자인 c-fms는 조혈성장

Table 2. Expression of c-fms by AML and ALL cells

No.	FAB classification	mRNA of c-fms
AML 1	M ₁	++
2	M ₁	+
3	M ₁	++
4	M ₂	-
5	M ₂	-
6	M ₃	-
7	M ₃	+
8	M ₆	++
9	M ₄	+++
10	M ₄	+++
11	M ₄	+++
ALL 1		-
2		-
3		-
4		-
5		-
6		-
7		++
8		++
9		-
10		-
11		-

* Mononuclear cells isolated from peripheral blood of normal persons(11) also showed detectable signals(+).

인자인 granulocyte/monocyte-colony stimulating factor(GM-CSF), IL-3, 및 IL-4 및 IL-5의 유전자들과 platelet derived growth factor(PDGF)의 β수용체 유전자와 함께 5번 염색체의 장완에 매우 인접하여 있다²⁻⁴⁾. c-fms의 최종 생성물은 972개의 아미노산으로 구성된 당 단백질로서 세포막에 존재하며 M-CSF의 수용체 기능을 한다^{26,30)}.

c-fms 수용체는 정상적으로 단구계열의 세포와 태반의 영양세포에서 발견되지만, 골수골수성 백혈병 세포 유래인 HL-60 세포를 TPA(12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate)나 비타민 D₃로 분화 자극하여 얻은 단구와 용모성 상피암 세포주에서도 발견된다^{6,27)}. 정상인의 말초 또는 골수혈액내에도 단구가 존재하므로 Ficoll-Hypaque로 분리된 단핵세포를 역시 c-fms mRNA를 표현한다^{28,29)}. 그러나 이들 약재

로 분화유도 되지 않은 HL-60 세포뿐 아니라 임파구 계열의 세포와 임파구성 백혈병 세포들은 c-fms mRNA를 표현하지 않는다고 하지만²⁹⁾, 음성대조세포로 사용된 HL-60 세포들이 비록 그 강도는 약해도 c-fms mRNA를 표현하고 있어 배양된 HL-60 세포들 중 일부가 이미 단구로 분화되었을 것으로 추측할 수 있으며 향 후 이에 대한 구체적인 연구가 필요하다고 생각된다.

급성 임파구성 백혈병 환자들 중 2명이 c-fms mRNA를 표현한 점으로 미루어 이들은 형태학적으로만 임파구형 미성숙 세포이며 실제로는 단구에 고유한 유전적 기능을 내포하는 양면성의 백혈병, 소위 "hybrid leukemia" 또는 "biphenotypic leukemia"일 것으로 생각된다. 급성 골수성 백혈병 환자들에 있어서 c-fms mRNA의 표현결과는 Dubreuil등 (1988)이 보고한 바와 같이 급성 임파구성 백혈병과 감별할 수 있는 매우 유용한 "molecular marker"임이 재확인되었고, 급성 골수성 백혈병의 French-American-British(FAB)아형 분류중 단구성 미성숙 세포계열인 M₄나 M₆에 매우 강한 c-fms mRNA가 표현되었다²⁹⁾. 또한 임파구성 급성기의 만성 골수성 백혈병 환자 2명중 1명이 교잡음영을 보여 단순한 형태학적 관찰만으로는 백혈병 발생의 기원을 예측하기가 불가능함을 알 수 있었다.

비록 c-fms만이 단독으로 활성화되어 암이 발생하는 것은 아니지만, 적어도 c-fms가 관련된 세포형질 전환은 다음의 몇가지 기전들을 통하여 나타난다고 한다.

우선 v-fms는 c-fms와 구조적인 차이가 있어 그 생성물인 v-fms당 단백질이 M-CSF의 존재와 무관하게 지속적인 protein tyrosine kinase 활성을 보여 다양한 형질전환을 일으킨다^{16,18)}. 그러므로 proto-oncogene인 c-fms가 형질전환을 위한 암유전자로 작용하기 위해서는 돌연변이에 의한 활성화가 선행되어야 할 것이나 현재까지 골수성 백혈병 특히 단구계열 백혈병의 발생과정에 관여할 가능성이 있는 c-fms의 돌연변이가 골수성 백혈병 세포에서 발견된 예는 거의 없다^{18,20,30,31)}.

현재 c-fms의 과다한 표현만으로도 M-CSF에 대한 의존도가 없어지는 등의 세포형질 전환이 가능하므로¹⁸⁾ 만성 골수성 백혈병의 급성기에 있어서 미성숙

세포들의 과다한 증식이 c-fms mRNA의 표현 빈도와 관련이 있는지 여부를 검사하였으나 만성기와 비교해서 통계적으로 의미있는 차이가 없었다. 그러나 급성기 환자들중 2명이 매우 많은 양의 c-fms mRNA를 표현하고 있어 급성기 환자들중 일부는 c-fms의 과다한 표현기전이 관여할 것으로 생각된다.

덧붙여서 정상단구의 분화 성장과정 뿐만 아니라 급성 골수성 백혈병 세포에 있어서도 자신의 M-CSF와 c-fms가 모두 표현되는 "autocrine" 기전이 밝혀진 바 있음으로 만성 골수성 백혈병의 급성기에는 이와 동일한 현상이 존재할 것으로 기대된다^{16,17,32~34)}. 이미 M-CSF보다 상위의 조절모세포에 작용하는 GM-CSF와 그 수용체의 cDNA 염기배열이 알려져 있으므로 또 다른 종류의 "autocrine" 기전이 있는지를 확인해 보아야 할 것이다^{35,36)}.

결 론

만성 골수성 백혈병이 만성기에서 급성기로 형질전환될 때 c-fms mRNA의 표현빈도가 증가하는지를 확인할 목적으로 25명의 만성 골수성 백혈병 환자들(만성기15명, 급성기10명)을 RNA dot blot 검사법으로 c-fms mRNA가 표현되는 양상을 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) c-fms mRNA의 교잡음영은 만성기 15명중 7명이(47%), 급성기 10명중 5명에서(50%)나타났으며, 이 두 군간의 통계적 차이는 없었다($p > 0.05$). 급성기 만성 골수성 백혈병 환자 10명중 2예는 다른 교잡음영에 비해 매우 강하게 표현되었다.

2) 질병대조군으로 사용된 급성 임파구성 백혈병 환자 11명중 2명이(18.2%) 그리고 급성 골수성 백혈병 환자 11명중 8명이(72.7%) c-fms mRNA 교잡음영을 보였다.

이상의 결과로 미루어 만성 골수성 백혈병이 급성기로 형질전환될 때 적어도 일부의 환자들에 있어서는 c-fms mRNA가 과다하게 표현되는 기전이 관여할 가능성이 있으며, 급성 백혈병에 있어서 c-fms mRNA 표현은 골수성과 임파구성을 구별할 수 있는 유익한 "molecular marker"라고 생각된다.

REFERENCES

- 1) Sherr CJ, Rottenmiller CW, Sacca R, Roussel MF, Look AT, Stanley ER: *The c-fms proto-oncogene product is related to the receptor for the mononuclear phagocyte growth factor CSF-1. Cell* **41**: 665-676, 1985
- 2) Roussel MF, Sherr CJ, Barker PE, Ruddle FH: *Molecular cloning of the c-fms locus and its assignment to human chromosome 5. J Virol* **48**: 770-773, 1983
- 3) Groffen J, Heisterkamp N, Spurr N, Dana S, Wasmuth JJ, Stephenson JR: *Chromosomal localization of the human c-fms oncogene. Nucleic Acids Res* **11**: 6331-6339, 1983
- 4) Roberts WM, Look T, Roussel MF, Sherr CJ: *Tandem Linkage of human CSF-1 receptor(c-fms) and PDGF receptor genes. Cell* **55**: 655-661, 1988
- 5) Byrne PV, Guilbert J, Stanley ER: *Distribution of cells bearing receptors for a colony-stimulating factor(CSF-1) in murine tissues. J Cell Biol* **91**: 848-853, 1981
- 6) Sariban Em Mitchell T, Kufe DW: *Expression of the c-fms proto-oncogene during human monocytic differentiation. Nature* **316**: 64-66, 1985
- 7) Muller R, Slamon DJ, Adamson ED, Tremblay JM, Muller D, Cline MJ, Verma IM: *Transcription of c-onc genes c-ras^{K1} and c-fms during mouse development. Mol Cell Biol* **3**: 1062-1065, 1983
- 8) Muller R, Tremblay JM, Adamson ED, Verma IM: *Tissue and cell type specific expression of two human c-onc genes. Nature* **404**: 454-456, 1983
- 9) Kawasaki ES, Ladner MB, Wang AM, Van Arsdell J, Warren MK, Coyne MY, Boosman a, Stanley ER, Ralph P, Mark DF: *Molecular cloning of a complementary DNA encoding human macrophage-specific colony-stimulating factor (CSF-1). Science* **230**: 291-296, 1985
- 10) Stanley ER, Guilbert LJ, Tushinski RJ, Bartelmez SH: *CSF-1: A mononuclear phagocyte lineage-specific hemopoietic growth factor. J Cell Biochem* **21**: 151-159, 1983
- 11) Karbassi A, Becker JM, Foster JS, Moore RN: *Enhanced killing of Candida albicans by murine macrophages treated with macrophage colony stimulating factor: Evidence for augmented expression of mannose receptors. J Immunol* **139**: 417-421, 1987
- 12) Lee MT, Warren MK: *CSF-1-induced resistance to viral infection on murine macrophages. J Immunol* **138**: 3019-3022, 1987
- 13) Wing EJ, Waheed A, Shaddock RK, Nagle LS, Stephenson K: *Effect of colony stimulating factor on murine macrophages. Induction of anti-tumor activity. J Clin Invest* **69**: 270-276, 1982
- 14) Rulph P, Nakoinz I: *Stimulation of macrophage tumoricidal activity by the growth and differentiation factor CSF-1. Cell Immunol* **105**: 270-279, 1987
- 15) Wheeler EF, Rottenmiller CW, Look AT, Sherr CJ: *The v-fms oncogene induces factor independence and tumorigenicity in CSF-1 dependent macrophage cell line. Nature* **324**: 377-380, 1986
- 16) Roussel MF, Dull TJ, Rottenmiller CW, Ralph P, Ullrich A, Sherr CJ: *Transforming potential of the c-fms proto-oncogene(CSF-1 receptor). Nature* **325**: 549-552, 1987
- 17) Rambaldi A, Wakamiya N, Vellenga E, Horiguchi J, Warren MK, Kufe D, Griffin JD: *Expression of the macrophage colony-stimulating factor and c-fms genes in human acute myeloblastic leukemia cells. J Clin Invest* **81**: 1030-1035, 1988
- 18) Kato J-Y, Roussel MF, Ashmun RA, Sherr CJ: *Transduction of human colony-stimulating factor-1(CSF-1) receptor into interleukin-3-dependent mouse myeloid cells induces both CSF-1-dependent and factor-independent growth. Mol Cell Biol* **9**: 4069-4077, 1989
- 19) Woolford J, McAuliffe A, Rohrschneider LR: *Activation of the feline c-fms Proto-oncogene: Multiple alterations are required to generate a fully transformed phenotype. Cell* **55**: 965-977, 1988
- 20) Roussel MF, Downing Jr, Rottenmiller CW, Sherr CJ: *A point mutation in the extracellular domain of the human CSF-1 receptor(c-fms proto-oncogene product) activates its transforming potential. Cell* **55**: 979-988, 1988
- 21) 김동집, 김춘추, 박종원, 민우성, 한치화, 김학기, 한경자, 김원일: 난치성 악성 종양의 치료를 위한 자가골수이식. 대한의학협회지 **31**: 318-330, 1988
- 22) 김병인, 남궁성은: Tamoxifen과 medroxyprogesterone acetate가 부인암세포주들의 성장에 미치는 영향. 가톨릭대학 의학부 논문집 **42**: 318-330, 1988
- 23) White BA, Bancroft FC: *Cytoplasmic dot hybridization J Biol Chem* **267**: 8569-8572, 1982

- 24) Melton DA, Krieg PA: *Efficient in vitro synthesis of biologically active RNA and RNA hybridization probes from plasmids containing a bacteriophage SP6 promoter. Nucl Acids Res* **12**: 7035-7056, 1984
- 25) Maniatis T, Fritsch EF, Sambrook J: *Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor, NY, Cold Spring Harbor Laboratory, 1982*
- 26) Coussens L, Beveren CV, Smith D, Chen E, Mitchell RL, Isacke CM, Verma IM, Ullrich A: *Structural alteration of viral homologue of receptor proto-oncogene fms at carboxyl terminus. Nature* **320**: 277-280, 1986
- 27) Rettenmier CW, Sacca R, Furman WL, Roussel MF, Holt JT, Nienhuis AW, Stanley ER, Sherr CJ: *Expression of the human c-fms proto-oncogene product (colony-stimulating factor-1 receptor) on peripheral blood mononuclear cells and choriocarcinoma cell lines. J Clin Invest* **77**: 1740-1746, 1986
- 28) Nienhuis AW, Bunn HF, Turner PH, Gopal TV, Nash WG, O'Brien SJ, Sherr CJ: *Expression of the human c-fms proto-oncogene in hematopoietic cells and its deletion in the 5 q-syndrome. Cell* **42**: 421-428, 1985
- 29) Dubreuil P, Torres H, Courcoul M-A, Birg F, Mannoni P: *c-fms expression is a molecular marker of human acute myeloid leukemias. Blood* **72**: 1081-1085, 1988
- 30) Sherr CJ: *Colony-Stimulating Factor-1 Receptor. Blood* **75**: 1-12, 1990
- 31) Ridge SAM, Wordwood M, Oscier D, Jacobs A, Padua RA: *FMS mutations in myelodysplastic, leukemic, and normal subjects. Proc Natl Acad Sci USA* **87**: 1377-1380, 1990
- 32) Horiguchi J, Warren MK, Ralph P, Kufe D: *Expression of the macrophage specific colony-stimulating factor(CSF-1). Biochem Biophys Res Commun* **141**: 924-930, 1986
- 33) Rambalidi A, Young DC, Griffin JD: *Expression of the M-CSF(CSF-1) gene by human monocytes. Blood* **69**: 1409-1413, 1987
- 34) Horiguchi J, Warren MK, Kufe D: *Expression of the macrophage-specific colony-stimulating factor in human monocytes treated with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. Blood* **69**: 1259-1261, 1987
- 35) Kaushansky K, O'Hara PJ, Berkner K, Segal GM, Hagen FS, Adamson JW: *Genomic cloning, characterization, and multilineage growth-promoting activity of human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. Proc Natl Acad Sci USA* **83**: 3101-3105, 1986
- 36) Gearing DP, King Ja, Glough NM, Nicola NA: *Expression cloning of a receptor for human granulocyte-macrophage colony stimulating factor. EMBO J* **8**: 366-3676, 1989