소아과 : 제 45 권 제 8 호 2002년

□ 의학강좌 □

재생불량성빈혈의 면역학적 발병기전

전남대학교 의과대학 소아과학교실, 조혈모세포이식센터

국 훈

Aplastic Anemia : Its Immune Pathophysiology

Hoon Kook, M.D.

Department of Pediatrics, Blood and Marrow Transplantation Center, Chonnam National University Medical School, Gwangju, Korea

서 론

재생불량성빈혈은 골수에서 조혈세포가 감소함으로써 범혈구감소증을 초래하는 매우 드문 질환으로 대부분의 환자에서는 질병의 원인이 밝혀지지 않은 특발성 혹은 일차성이다[1]. 과거에 골수이식을 통해 재생불량성빈혈의 성공적인 완치가 가능하게 됨으로써 조혈모세포의 결핍이 병인으로 대두되었으나, 그 후에 항흉선세포 글로불린(ATG)과 cyclosporine A(CsA) 등의 면역억제치료를 통해 많은 환자에서 혈액학적 호전이 관찰되므로 조혈장애에 면역학적 기전이 관여할 것임을 시사하였다[1, 2]. 재생불량성빈혈은 이 질환 자체가 매우 중하고, 알기 어려울 뿐만 아니라, 이 질환을 이해함으로써 면역계가 어떻게 조혈모세포의 기능에 영향을 주는 지를 이해할 수 있으므로 많은 연구가 시도되고 있다. 재생불량성빈혈은 소수의 T-세포 클론이 심하게 장기-특성 파괴를 초래하는 사람의 여러 자가면역질환과 임상적, 역학적 특징과 병태생리학적 기전이 유사하다. 따라서 면역-매개 골수부전 증후군을 이해하게 되면 다른 자가면역질환, 감염질환 및 장기 이식 등의 기전에도 적용될 수 있다[1, 2]. 하지만 재생불량성빈혈은 혈액과 골수세포의 수가 매우 감소하므로 실험실에서 연구하기가 본질적으로 어려운 질환이다.

면역-매개성 재생불량성빈혈

대부분의 이차성 재생불량성빈혈은 병태생리학적으로 T-세포에 매개되는, 골수 조혈세포에 대한 장기-특화성 파괴에 의한다[3]. 각각의 환자에서 비정상적인 면역반응은 때로는 어떠한 바이러스 감염, 약물, 혹은 화학 물질에 노출과 연관되어 있을 수 있다. 그 외의 다른 기전인, 예를 들어 조혈모세포에 직접 독성, 혹은 골수기질세포의 결핍 혹은 조혈 성장인자 기능의 결핍 등에 대한 증거는 명확하지 않다. 게다가, 임상 경과가 다양하고, 치료에 대한 반응 또한 다양한 것도 조혈모세포 파괴의 양적 정도와 면역 반응의 질적 변이로 설명할 수 있다[1].

면역계가 조혈세포를 효율적으로 파괴시킬 수 있다는 것은 동물실험에서 "runt disease" 또는 인간에서 수혈에 의한 이식편대 숙주반응에서 명백히 관찰할 수 있는데, 타인에 반응하는 소수의 T-세포가 치명적인 재생불량성빈혈을 초래한다[4]. 많은 실험실 소견이 후천성 재생불량성빈혈에서 림프구가 조혈세포의 파괴에 관여한다고 보고하고 있다. 초창기 병합-배양 및 제거 실험에서는 환자의 혈액이나 골수의 단핵구들이 정상 골수세포의 조혈 집락의 형성을 억제하였고, 환자 시료에서 T-림프구를 제거하였더니 환자 골수에 의한 시험관내 집락 형성의 억제를 개선시켰다[5-7]. 환자의 혈액과 골수에는 CD4/CD8 비의 역전과 함께[8], HLA-DR[9], CD25[10]과 CD28-CD57+이 발현된[11] 활성화된 세포독성 림프구들의 수가 증가되었고, 이 세포들의 수와 활동성이 ATG로 성공적인 치료 후에는 감소되었다[12].

환자 세포 배양의 상청액에서 조혈기능을 억제하는 성분 중 하나로 interferon-γ가 증명되었고, 대량 배양 혹은 클론한 T-세포가 실험실에서 조혈 집락세포

를 억제하는 interferon-γ와 tumor necrosis factor(TNF) 두 가지 싸이토카인을 과생산하였다[13-15]. 상기 두 가지 싸이토카인과 interleukin-2의 과생성과 T-세포의 면역표현형 검사로 보아 Th1-형 T-세포 반응이 활성화됨을 알 수 있었다[16]. 환자의 시료에서 세포내 interferon-γ의 발현을 유세포 분석하면 면역억제 요법의 반응과 상관관계를 볼 수 있고, 재발을 예견할 수 있었다[17]. 또한 interferon-γ의 전령 RNA가 대부분 환자의 골수에서 검출되었다[18-20]. 동물실험에서는 타인에 반응하는 림프구를 주입한 후 발생하는 골수부전이 interferon-γ에 대한 단클론 항체로 처치하면 예방할 수 있었다[21].

조직 배양에서는 interferon-γ와 TNF가 전기 혹은 후기 조혈전구 혹은 모세포의 증식을 억제한다[15]. 이러한 억제는 두 싸이토카인을 배양세포에 첨가하는 것 보다 골수 미세환경에서 분비될 때 훨씬 강하였다[22]. Interferon-γ와 TNF는 유사분열환에 대한 영향으로 조혈 억제를 초래하나, 직접 세포 사멸도 중요 기전이다. 두 싸이토카인 모두 CD34 세포에 Fas수용체의 발현을 유도하는데[23], 이 수용체가 리간드에 의해 활성화되면 세포고사(apoptosis)를 초래한다[24, 25]. 재생불량성빈혈 환자의 조혈세포들은 Fas수용체를 표현하고[26], 골수에는 고사를 일으킨 세포가 많이 관찰된다[26]. Fas리간드, interferon-γ, TNF의 결합으로 시작되는 경로를 통한 신호전달에 의해 기능적으로 중요한 유전자들이 활성화함으로써 조혈세포의 세포주기와 생존을 가능케 한다.

이상의 연구 결과로 재생불량성빈혈이 세포독성 림프구에 매개되는 조혈세포를 매우 선택적으로 공격하는 질환임을 암시하였지만, 이러한 병적인 면역 반응을 초래하는 항원들의 성상에 대하여는 잘 알려져 있지 않으므로 대부분의 실험 결과는 간접 소견일 뿐이다. 게다가 현재의 실험 결과의 대부분이 질환의 활성도를 잘 반영하지 못하고, 치료의 효과를 예측할 수 있는 소견도 전무한 실정이다. 또한 이 질환이 매우 이질적이며 질환 외적인 요인에 의하여 영향을 받으므로 검사 소견의 해석도 어려울 때가 많다. 따라서 표적(자가)항원을 알아내는 것이 이 질환의 병태생리를 이해하고 이상적인 치료 방침을 세우는 데 필수적일 것이다.

표적으로서 조혈세포

다계열 조혈전구세포와 모세포가 골수부전 증후군에서 면역학적 공격의 세포 표적이다. 재생불량성빈혈 환자에서 CD34세포[27]와 시험관 내에서 측정할 수 있는 가장 미성숙 세포인 장기 집락형성세포(LTC-IC)가 매우 감소함을 보고하였다[28, 29]. 앞서 언급한 바와 같이 재생불량성빈혈 환자의 CD34세포에는 Fas의 발현이 증가하고[26], 고사된 세포가 많이 발견된다[25]. 표적 항원이 조기 조혈세포에 표현되어 있을 가능성이 높지만, 전구세포가 기능 연구에서 표적 혹은 유도자로 사용되기는 매우 소수이고, HLA-일치 대조군을 찾기가 어렵다는 기술적 문제 때문에 직접 전구세포를 공격하는 세포독성을 연구하기가 매우 어렵다. 또한 표적 항원의 특징을 알기가 쉽지 않은데 이론적으로 병을 유발하는 항원은 관용(tolerance)의 와해를 초래하거나, 특정한 정상적인 조혈 항원과 교차 반응을 초래하는 이질 단백일 수 있다. 하지만, 교차 반응을 하는 항원은 화학적 변형, 약물과 결합 혹은 이론적으로는 돌연변이된 유전자에 의하여 생성될 수도 있고, 항원전파(antigenic spread) 과정을 통하여 또 다른 보다 흔한 항원결정부(epitoph) 혹은 새로운 항원이 인식되어 특정 T-세포를 끌어들일 수 있어, 항원의 스펙트럼이 질환의 경과에 따라 변할 수도 있다[3].

골수부전증후군에서 효과기세포(effector cell)

재생불량성빈혈 환자에서 병인 림프구의 특징을 더 잘 알아 보고자 시행된 연구들에 의하면, 특수 T-세포들은 HLA-DR, CD25, 그리고 CD69 등과 같은 활동성 표지자를 표현하거나 interferon-γ를 분비한다[9, 10, 17]. 항원-특이성 T-세포 수용체(T cell receptor, TCR)와 병행자극 신호에 의하여 효과기세포는 비활성화된 혹은 기억세포로부터 분화하는데 이때 CD45 동형변환 및 CD28의 소실이 동반된다. 그리하여 효과기세포 표현형을 가진 세포독성 T 세포는 CD45RA, CD11b, CD57을 과표현하면서, granzyme B나 perforin 등의 세포독성 과립을 함유하게 된다[11, 30]. 이상의 성숙 효과기세포 내에 조혈 억제를 초래하는 T-세포가 있을 가능성이 높다. 질병을 일으키는 자가면

역성 클론을 정상 T-세포 혹은 감염 등 이차반응을 일으키는 클론과 감별을 위해 활동성 혹은 효과기 표면 표지자와 T-세포 수용체 분석을 병합하는 것이 유용할 것을 시사하였다.

T-세포 수용체의 분자생물학적 분석

T-세포 수용체의 분석은 자가 면역질환의 연구에 많이 사용되고 있다. TCR은 α와β사슬로 구성된 헤테로다이머로서 각각의 사슬은 재배열된 V(D)J 분절과 Constant 부분으로 암호가 쓰여져 있다. 이 V, D, J-부분의 재배열이 항원 인식의 다양성과 미세한 특이성을 나타내며 이는 주로 Vβ CDR3 영역(complementarity determining region 3 domain)에 의하여 수행된다. TCR Vβ 사슬의 CDR3는 non-germline 암호화된 과변이 지역으로 적절한 HLA 상황에서 펩타이드를 인식한다. 재배열 도중에 전이효소에 의해 다양한 Vβ-Dβ 혹은 Dβ-Jβ 접합점에 뉴클레오타이드를 삽입 혹은 제거시켜 각각 Vβ 사슬내의 CDR3 사이에 6-8 아미노산 차이를 초래하여 특정한 고유의 서열을 만든다[31]. 이 과정을 통하여 특정 클론이 무제한으로 항원에 의한 팽창을 초래한다. 클론성 혹은 소수클론성 팽창은 재결합된 CDR3 증폭 PCR 산물의 정상적 Gaussian 크기 분포의 편향화를 초래하는데(CDR3 skewing), 이 CDR3 증폭 PCR 산물의 크기 분포를 분자생물학적으로 분석하는 것을 CDR3 spectratyping이라 한다[32, 33].

어떤 TCR Vβ CDR3 부위의 특이한 서열(signature clonotype)이 자가 면역 질환 혹은 어떤 바이러스 질환의 분자생물학적 표지자로 사용될 수 있으며, 병태생리학적 과정에 연관된 항원에 따른 분류에도 도움을 줄 수 있다. 특별히 면역학적으로 매개되는 재생불량성빈혈에서도 Vβ CDR3와 clonotype(Immunoscope)을 이용하면 골수부전질환의 특정 아형을 감별하고, 흔하게 질병을 초래하는 항원의 인식에 사용할 수 있을 것이다.

Vβ CDR3 spectratyping

TCR 레파토리의 분석은 자가면역 질환과 바이러스 감염에 있어서 면역 기전의 연구에 사용되어 왔다. 동물 모델에서 뿐 아니라 환자에서 특정 CDR3 Vβ TCR 클론의 팽창이 다발성 경화증, 제1형 당뇨병, 류마치성 관절염, 원발성 담즙성 간경변, 건선, 혹은 이식편대 숙주반응이 있는 경우에도 관찰되었다[34-36].

재생불량성빈혈에서도 TCR Vβ 레파토리 분석이 이루어 졌다[37-41]. 한 연구에서는 광범위한 정상적 Vβ 분포 양상에 선택적 CDR3 사용을 암시하는 몇 개의 Vβ 아형의 과표현이 관찰되었으나, 편향이 특정 Vβ에만 국한되지는 않았다[37]. 또 다른 보고에서는 편향의 증가가 관찰되었는데, 예를 들어 HLA-DRB1*1501을 공유하는 불응성 CsA-의존성 재생불량성빈혈 환자에서 유의하게 편향된 CDR3 크기 분포가 관찰되었다[38]. 이들 5명의 환자 중에서 Vβ15 CDR3 서열이 우세한 클론임을 보여주었다. Vβ가 동일한 각각의 helper와[42], cytotoxic[43] T-세포 클론을 생성하였고, 이들이 기능적으로 조혈 표적세포에 특이함이 밝혀졌다. 본 저자는 CDR3 spectratyping으로 재생불량성빈혈 환자의 진단 당시와 면역억제 치료 후에 총 림프구에서 T-세포 반응의 다양성 정도를 관찰하였고, TCR 스펙트럼의 특징적 변화를 연구하였다[39]. 새로 진단된 재생불량성빈혈 환자에서 일정한 Vβ계 내에서 소수클론성 T-세포 증식을 의미하는 Vβ CDR3 크기 분포 편향의 평균 빈도는 대조군에 비해 유의하게 증가하였다(44±33% vs 9±9%; P=0.0001; Fig. 1). HLA-DR2를 가진 환자에서는 더욱 편향된 Vβ 레파토리를 보였다. 각각의 Vβ 아군 분석에서는 모든 재생불량성빈혈 환자의 50% 이상에서 Vβ15, 16, 21, 24의 소수클론성 양상을 보였고, HLA-DR*1501을 가진 환자의 70% 이상에서 Vβ15, 16, 24의 특이적, 일견 비무작위 편향 소견을 보였다. 하지만, 특이하고, 일정한 CDR3 편향 양상을 보이지 않고, 심한 편향이 여러 Vβ아군 내에서 보인 소견으로 보아 이 방법을 총 T-세포군에 적용하여서는 자가면역 T-세포 클론을 인식하기에 충분치 못함을 시사하였다[39]. 따라서, Vβ CDR3 편향을 CD4와 CD8 세포에서 분리하여 분석하는 방법 혹은 T-세포 감축에 의한 소수클론성을 배제할 수 있는 더욱 섬세한 방법이 필요할 것이다.

TCR Vβ typing

CD8세포 반응은 HLA class I, 그리고 CD4세포 반응은 HLA class II로 서로 다른 상황 설정에 따르

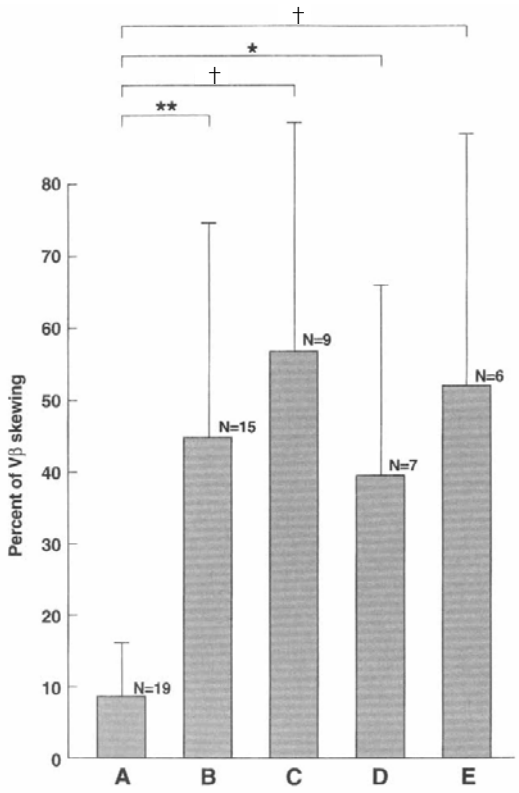

Fig. 1. Skewing of Vβ repertoire in aplastic anemia(AA), described in percent of skewing among 21 Vβ subfamilies(mean±SD). (A) Healthy controls. (B) New AA. (C) Patients with AA with HLA-DR2. (D) Patients with AA with HLA-A2. (E) Patients with PNH/AA. $^{*}P<.05$; $^{\dagger}P<.01$(Adapted from Kook H, Risitano AM, Zeng W, et al. Blood 2002;99:3668-3675).

므로, CD4 및 CD8 세포들은 각각 다른 Vβ 사용 양상을 보일 수 있으므로, 이들을 동시에 분석한다면 클론성 분포의 질환 특이 변화를 인식하지 못할 수 있다. 따라서 과팽창된 Vβ아군을 먼저 밝히면 분자생물학적인 추후 분석이 필요한 Vβ아군을 선택할 수 있을 것이다. 따라서 먼저 각각의 Vβ아군에 특이한 항체를 이용하여 총 림프구 풀에 각각의 Vβ아군의 기여 정도를 알아보았다[41]. 유세포 분석을 통하여 각각의 Vβ아군의 팽창 정도와, Vβ편향의 전체적 정도를 관찰하였다. CD4 및 CD8 세포 모두에서 Vβ 분포의 변화가 대조군에서는 낮은 데 비해 재생불량성빈혈 환자에서는(N=23) 여러 서로 다른 Vβ아군에서 대조군의 평균보다 2SD 이상 증가한 경우인 일견 무작위 과표현이 존재하였다. 각 환자마다 22 Vβ아군 중 평균 10%에서 팽창이 있었다. 또한 CD28-CD57+ 효과기세포에서 더욱 명백한 Vβ 분포가 발견되었다[41]. 하지만 어떤 HLA와 연관된 특정 Vβ아군의 팽창은 관찰되지 않았다. 팽창된 CD4 Vβ아군의 CDR3 spectratyping에서는 다클론성 CDR3 크기 분포를 보였는데 비해 팽창된 CD8 Vβ계에서는 특정 T-세포 클론의 비무작위 팽창을 의미하는 심한 편향을 보였다(Fig. 2)[41]. 이 외에도 총 T-세포 레파토리에 대한 각각의 Vβ아군의 기여를 관찰하는 유세포 분석이외의 방법으로는 Vβ microarray 방법도 사용할 수 있다.

질환 특이 클론에 대한 탐색

팽창된 Vβ아군의 CDR3 증폭 산물을 *E. coli*에 subcloning한 후 20개의 무작위 선택된 클론에서 각각의 염기서열의 빈도를 알아보았다. 정상 대조군에서는 동일한 염기서열은 CDR3 클론의 평균 16±3%에서 관찰되었으나, 한 환자에서는 20개의 Vβ7 클론 중 12에서 특이한 CDR3 염기서열(Vβ7J2.1C1)이 관찰되었다. 또 다른 환자에서는 Vβ13아군의 20 중 15 클론에서 동일한 CDR3 염기서열(Vβ13J1.1C2)이 관찰되었다[40]. 하지만 CD4 세포 내에서 팽창된 Vβ아군에는 CDR3 증폭 양상에 소수클론성 편향 양상이 거의 보이지 않는다. 따라서, 소수클론성으로 분배되고, 수적으로 팽창된 CD8 세포 내에서 Vβ아군이 클론성 CDR3 특이 염기서열의 cloning에 사용될 수 있다.

Cloning을 위한 Vβ아군의 선택에는 활성화된 림프구나 혹은 성숙 효과기 표현형을 가진 세포를 추출이 더욱 유용할 수 있다.

결 론

면역학적으로 매개되는 재생불량성 빈혈의 병태생리를 이해하는데 가장 중요한 부분은 병적인 면역 반응을 일으키는 항원(들)의 성상을 파악하는 것이다. 그러나, 이러한 항원을 찾는 것은 자가반응성 T-세포를 cloning하여야 하므로 매우 어려워 현재까지의 세포학적 혹은 혈청학적 방법으로는 성공하지 못하였다. 분자생물학적 방법으로 특이한 Vβ CDR3 염기서열의 존재를 바탕으로 T-세포 클론을 찾아내고 정량분석을 통해 병적인 면역 반응을 연구해 보았다. 하지만 클론의 표현형을 단순한 분석으로는 유전적, 그리고

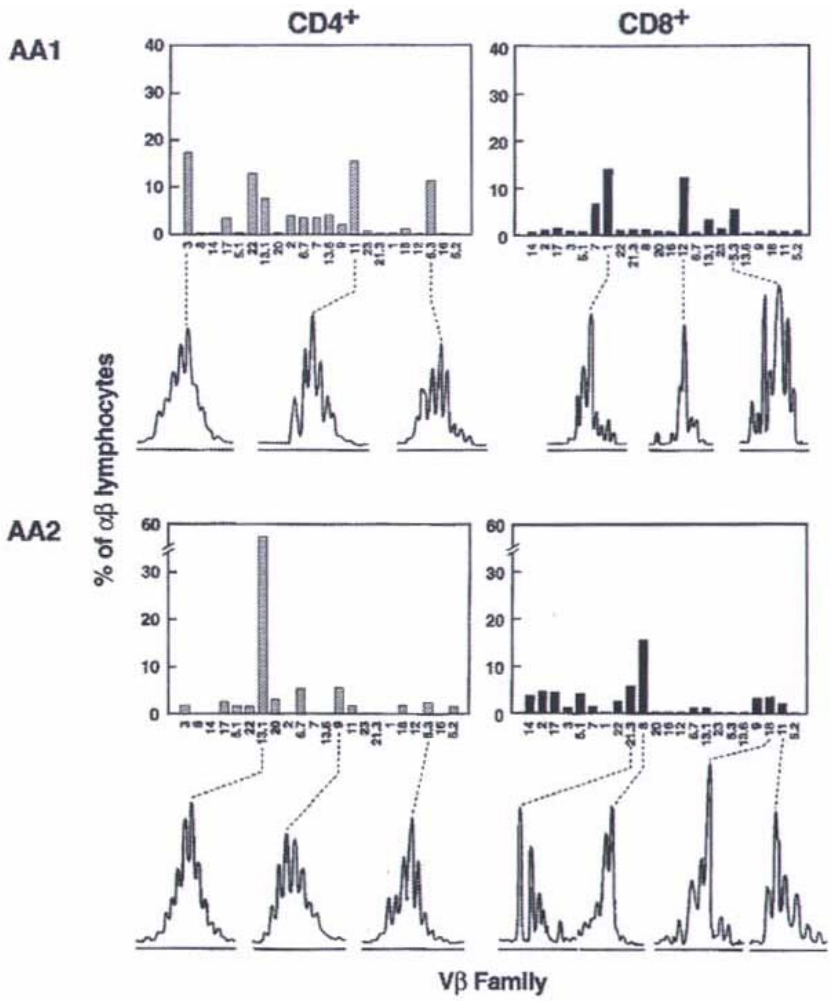

Fig. 2. TCR-Vβ CDR3 size distribution analysis of expanded Vβ families in AA. Two representative examples(patients AA1 and AA2) are shown(of 20 performed). Columns represent percentages of lymphocytes belonging to a particular Vβ family as indicated on the x-axis. For overexpanded families, the results of the Vβ CDR3 size distribution analysis are depicted below each panel. For the spectrograms, the x-axis represents size of the PCR amplification products fragments as determined by using fluorescent sequencing technique(Adapted from Risitano AM, Kook H, Zeng W, et al. Blood 2002;100:178-83).

임상적 다양한 상황에서의 면역 반응을 초래하는 재생불량성빈혈의 복잡한 성상을 이해하기엔 불충분하다. 따라서 Vβ와 CDR3 레파토리를 CD4 및 CD8 세포 각각, 그리고 활성화 혹은 효과기세포에서 분석하였다. 진성으로 팽창되어 따라서 면역학적으로 우세한 클론을 구분하기 위하여 팽창된 Vβ아군으로부터 Vβ 분포를 알아보았고, CDR3 염기서열을 클론하였다. 발견된 클론성 염기서열은 결국 병적 면역반응의 강도를 정량하는 분자생물학적 방법이 될 수 있을 것이다. 비슷한 임상적 특징을 갖는 환자에서 동일한 항원을 의미하는 clonotype 공유가 관찰되었으므로 clonotype의 지속여부 및 양상을 보면 면역-매개성 골수부전 증후군의 분류 및 유발하는 경로를 이해하는 데 도움을 줄 것이다.

참 고 문 헌

1) Young NS. Acquired aplastic anemia. Ann Intern

Med 2002;136:536-46.
2) Young NS, Barrett AJ. The treatment of severe acquired aplastic anemia. Blood 1995;85:3367-77.
3) Young NS, Maciejewski JP. The pathophysiology of acquired aplastic anemia. N Eng J Med 1997; 335:1365-72.
4) Anderson KC, Weinstein HJ. Transfusion-associated graft-versus-host disease. N Eng J Med 1990:323:315-21.
5) Kagan WA, Ascensao JA, Pahwa RN, Hansen JA, Goldstein G, Valera EB, et al. Aplastic anemia : presence in human bone marrow of cells that suppress myelopoiesis. Proc Natl Acad Sci USA 1976;73:2890-4.
6) Hoffman R, Zanjani ED, Lutton JD, Zalusky R, Wasserman LR. Suppression of erythroid-colony formation by lymphocytes from patients with aplastic anemia. N Engl J Med 1977;296:10-3.
7) Takaku F, Suda T, Mizoguchi H, Miura Y, Uchino H, Nagai K, et al. Effect of peripheral blood mononuclear cells from aplastic anemia patients on the granulocyte-macrophage and erythroid colony formation in samples from normal human bone marrow in vitro - a cooperative work. Blood 1980;55:937-43.
8) Zoumbos NC, Ferris WO, Hsu SM, Goodman S, Griffith P, Sharrow SO, et al. Analysis of lymphocyte subsets in patients with aplastic anaemia. Br J Haematol 1984;58:95-105.
9) Maciejewski JP, Hibbs JR, Anderson S, Katevas P, Young NS. Bone marrow and peripheral blood lymphocyte phenotype in patients with bone marrow failure. Exp Hematol 1994;22:1102-10.
10) Zoumbos NC, Gascon P, Djeu JY, Trost SR, Young NS. Circulating activated suppressor T lymphocytes in aplastic anemia. N Engl J Med 1985;312:257-65.
11) Kook H, Zeng W, Guibin C, Kirby M, Young NS, Maciejewski JP. Increased cytotoxic T cells with effector phenotype in aplastic anemia and myelodysplasia. Exp Hematol 2001;29:1270-7.
12) Platanias L, Gascon P, Bielory L, Griffith P, Nienhuis A, Young N. Lymphocyte phenotype and lymphokines following anti-thymocyte globulin therapy in patients with aplastic anaemia. Br J Haematol 1987;66:437-43.
13) Zoumbos NC, Gascon P, Djeu JY, Young NS. Interferon is a mediator of hematopoietic suppression in aplastic anemia in vitro and possibly in vivo. Proc Natl Acad Sci USA 1985;82:188-92.
14) Tong J, Bacigalupo A, Piaggio G, Figari O, Sogno G, Marmont A. In vitro response of T cells from aplastic anemia patients to antilymphocyte globulin and phytohemagglutinin : colony-stimulating activity and lymphokine production. Exp Hematol 1991;19:312-6.
15) Selleri C, Sato T, Anderson S, Young NS, Maciejewski JP. Interferon-γ and tumor necrosis factor-α suppress both early and late stages of hematopoiesis and induce programmed cell death. J Cell Physiol 1995;165:538-46.
16) Tsuda H, Yamasaki H. Type I and type II T-cell profiles in aplastic anemia and refractory anemia. Am J Hematol 2000;64:271-4.
17) Sloand EM, Maciejewski JP, Kirby M, Kim S, Young NS. Bone marrow and peripheral blood lymphocytes of patients with severe aplastic anemia contain IFN-γ detectable by flow cytometric analysis. Blood 1997;90(Suppl 1):20b
18) Nakao S, Yamaguchi M, Shiobara S, Yokoi T, Miyawaki T, Taniguchi T, et al. Interferon-γ gene expression in unstimulated bone marrow mononuclear cells predicts a good response to cyclosporine therapy in aplastic anemia. Blood 1992;79:2532-5.
19) Nistico A, Young NS. γ-Interferon gene expression in the bone marrow of patients with aplastic anemia. Ann Intern Med 1994;120:463-9.
20) 국 훈, 이현철, 김형준, 김근모, 정익주, 서순팔 등. 재생불량성 빈혈 환자의 골수에서 Interferon-γ와 Tumor Necrosis Factor-α 유전자의 발현에 관한 연구. 대한BRM학회지 1997;7:41-53.
21) Wolk A, Simon-Stoos K, Nami I, Concannon J, Mawe J, Tanawattanacharoen P, et al. A mouse model of immune-mediated aplastic anemia. Blood 1998;92(Suppl 1)158a-9a.
22) Selleri C, Maciejewski JP, Sato T, Young NS. Interferon-γ constitutively expressed in the stromal microenvironment of human marrow cultures mediates potent hematopoietic inhibition. Blood 1996;87:4149-57.
23) Maciejewski JP, Selleri C, Anderson S, Young NS. Fas antigen expression on CD34+ human marrow cells is induced by interferon-γ and tumor necrosis factor-α and potentiates cytokine-mediated hematopoietic suppression in vitro. Blood 1995;85:3183-90.
24) Nagafuji K, Shibuya T, Harada M, Mizuno S, Takenaka K, Miyamoto T, et al. Functional expression of Fas antigen(CD95) on hematopoietic progenitor cells. Blood 1995;86:883-9.
25) Philpott NJ, Scopes J, Marsh JC, Gordon-Smith EC, Gibson FM. Increased apoptosis in aplastic anemia bone marrow progenitor cells : possible pathophysiologic significance. Exp Hematol 1995; 23:1642-8.

26) Maciejewski JP, Selleri C, Sato T, Anderson S, Young NS. Increased expression of Fas antigen on bone marrow CD34+ cells of patients with aplastic anaemia. Br J Haematol 1995;91:245-52.
27) Maciejewski JP, Anderson S, Katevas P, Young NS. Phenotypic and functional analysis of bone marrow progenitor cell compartment in bone marrow failure. Br J Haematol 1994;87:227-34.
28) Maciejewski JP, Selleri C, Sato T, Anderson S, Young NS. A severe and consistent deficit in marrow and circulating primitive hematopoietic cells(long-term culture-initiating cells) in acquired aplastic anemia. Blood 1996;88:1983-91.
29) Maciejewski JP, Kim S, Sloand E, Selleri C, Young NS. Sustained long-term hematologic recovery despite a marked quantitative defect in the stem cell compartment of patients with aplastic anemia after immunosuppressive therapy. Am J Hematol 2000;65:123-31.
30) Hamann D, Baars PA, Rep MH, Hooibrink B, Kerkhof-Garde SR, Klein MR, et al. Phenotypic and functional separation of memory and effector human CD8+ T cells. J Exp Med 1997;186:1407-18.
31) Moss PA, Rosenberg WM, Bell JI. The human T cell receptor in health and disease. Annu Rev Immunol 1992;10:71-96.
32) Gorski J, Yassai M, Zhu X, Kissela B, Kissela B, Keever C, et al. Circulating T cell repertoire complexity in normal individuals and bone marrow recipients analyzed by CDR3 size spectratyping. Correlation with immune status. J Immunol 1994;152:5109-19.
33) Pannetier C, Even J, Kourilsky P. T-cell repertoire diversity and clonal expansions in normal and clinical samples. Immunol Today 1995;16:176-81.
34) Hong J, Zang YC, Tejada-Simon MV, Kozovska M, Li S, Singh RA, et al. A common TCR V-D-J sequence in V beta 13.1 T cells recognizing an immunodominant peptide of myelin basic protein in multiple sclerosis. J Immunol 1999;163:3530-8.
35) Mima T, Ohshima S, Sasai M, Nishioka K, Shimizu M, Murata N, et al. Dominant and shared T cell receptor beta chain variable regions of T cells inducing synovial hyperplasia in rheumatoid arthritis. Biochem Biophys Res Commun 1999;263:172-80.
36) Epperson DE, Margolis DA, McOlash L, Janczak T, Barrett AJ. In vitro T-cell receptor V beta repertoire analysis may identify which T-cell V beta families mediate graft-versus-leukaemia and graft-versus-host responses after human leucocyte antigen-matched sibling stem cell transplantation. Br J Haematol 2001;114:57-62.
37) Manz CY, Dietrich PY, Schnuriger V, Nissen C, Wodnar-Filipowicz A. T-cell receptor beta chain variability in bone marrow and peripheral blood in severe acquired aplastic anemia. Blood Cells Mol Dis 1997;23:110-22.
38) Zeng W, Nakao S, Takamatsu H, Yachie A, Takami A, Kondo Y, et al. Characterization of T-cell repertoire of the bone marrow in immune-mediated aplastic anemia : evidence for the involvement of antigen-driven T-cell response in cyclosporine-dependent aplastic anemia. Blood 1999;93:3008-16.
39) Kook H, Risitano AM, Zeng W, Wlodarski M, Lottemann C, Nakamura R, et al. Changes in T-cell receptor VB repertoire in aplastic anemia : effects of different immunosuppressive regimens. Blood 2002;99:3668-75.
40) Zeng W, Maciejewski JP, Chen G, Young NS. Limited heterogeneity of T cell receptor BV usage in aplastic anemia. J Clin Invest 2001;108:765-73.
41) Risitano AM, Kook H, Zeng W, Chen G, Young NS, Maciejewski JP. Oligoclonal and polyclonal CD4 and CD8 lymphocytes in aplastic anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria measured by Vβ CDR3 spectratyping and flow cytometry. Blood 2002;100:178-83.
42) Nakao S, Takamatsu H, Yachie A, Itoh T, Yamaguchi M, Ueda M, et al. Establishment of a CD4+ T cell clone recognizing autologous hematopoietic progenitor cells from a patient with immune-mediated aplastic anemia. Exp Hematol 1995;23:433-8.
43) Nakao S, Takami A, Takamatsu H, Zeng W, Sugimori N, Yamazaki H, et al. Isolation of a T-cell clone showing HLA-DRB1*0405-restricted cytotoxicity for hematopoietic cells in a patient with aplastic anemia. Blood 1997;89:3691-9.