

表 6 A 「C2F8-CP」 で発現亢進の見られた遺伝子群

	gene name	Identified seq. Position	Accession No.	Clone No.	E value
1	β -actin	262-589	AB004047	D3	e-117
2	90kD heat-shock protein (HSP90)	916-1240	M16660	B9, D12	0.0 8e-62
3	MHC protein	463-710	M24194	E6	e-128
5	α enolase like 1	14-391	U88968	E1	0.0
6	neuroleukin gene	270-687	X16539	G6	e-113
7	elongation factor 2	616-884	Z11692	A3,A7,A11, B7,B8,F8, F12,G8,H10	e-140
				C1	3e-95
				E10,G1	0.0
				H1	e-110
8	polyadenylate binding protein	550-789	Z48501	E4	e-132

表 6 B 「CP-C2F8」 で発現亢進の見られた遺伝子群

	gene name	Identified seq. Position	Accession No.	Clone No.	E value
1	pre-B cell stimulating factor	2859-3010	L36011	E8	6e-75
2	defensin	33-451	M23281	E12, F3	1.00E-26
3	eosinophil derived neurotoxin	469-595	M24157	A10	9e-65
4	MHC protein	753-869	M24194	G1	8e-59
5	neutrophil elastase	126-360	M27783	E5	e-129
6	creatine kinase		NM001824.1	B5	e-109
7	myosin light chain 3	22-176	NM000258.1	D7	2e-68
8	myosin-binding protein C	3102-3299	NM002465.1	C6	e-102
9	calcium-binding protein A9	12-164	NM002965.1	B6	3e-80
				A7,C9,D1	e-105
				A4,B11,C4, C8,C11,E1, E4,F4,F9,H1	e-120
				E2	4e-51
10	brain acid-soluble protein 1 (BASP1)	1032-1188	NM006317	D2	1e-82
	Noval sequence	78bp 48bp 108bp			B3 E6 G5

表 7 A [K.N/meg crisis -CP]で発現亢進の見られた遺伝子群

	gene name	Identified seq. Position	Accession No.	Clone No.
1	BAC clone 13d21	144-252	A34087	E2
2	KIAA0420	2303-2489	AB007880	F5
3	KIAA0422	4694-5040	AB007882	D12
4	KIAA0473	4629-5036	AB007942	A2, A9, B7, B11, C10, C12, D2, D10, F7, G3, H7, H10
5	DJ0811N16	48165-48477	AC004897	H6
6	Mut S homolog 5 gene	24958-25088	AF129756	B12, E5
7	Human platelet glycoprotein IIb	1007-(1084)	J02764	D11
8	Human platelet glycoprotein IIIa	4229-4355	M35999	D5
9	caldesmon	1447-(1772)	M64110	B4
10	endogenous retrovirus type C	(7149)-7284	M74509	A7
11	immunophilin	520-697	M88279	B5, H9
12	tissue inhibitor of metalloproteinase-3	(416)-728	U14394	F2
13	multimerin	2012-2355	U27109	E7, H4
15	membrane glycoprotein Ib-alpha gene	4873-5119	W22403	B1
16	fibroblast tropomyosin TM30	507-763	X05276	F12
17	thrombospondin	4336-4606 4630-4673	X14787	A8, E4, G7
		3258-3620		F3
		4294-4572		F11
18	elongation factor 2	2244-2457	X51466	H11
19	erythrocyte plasma membrane glycoprotein	1524-1842	X64594	A1, A3, A4, A6, A7, A11, A12, B6, B8, B10, C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, C11, D3, D4, D6, D8, D9, E8, E9, E11, F8, F10, G2, G5, G6, G8, G9, H1, H2, H3, H5, H8
21	myosin light chain kinase	1722-2030	X85337	E1
22	membrane transport protein	2771-3104	Z32684	D1
	novel gene			F6

表 7 B [CP - K.N/Meg crisis]で発現亢進の見られた遺伝子群

	gene name	Identified seq. position	Accession No.	Clone No.
1	1-8D gene from interferon-inducible gene family	411-681	X57351	A7
2	calcium binding protein A9	(158)-408	X06233	A8, C8, D4, D6, D9, E2
3	protein tyrosine phosphatase	1455-1593	X54134	B1
4	α 1-antitrypsin	(176)-368	K01396	B2
5	growth factor-inducible gene 2A9	176-314	M14300	B3
6	clone UWGC y14c057	60-237	S42653	B3
7	defensin	71-353	M26602	B8
8	epidermal surface antigen, flotillin 2 (TLOT2)	423-736	M60922	B6
9	fgr proto-oncogene	744-921	M19722	C6
10	cathepsin S-cystein proteinase	1016-1159	S39127	D8
11	lysozyme	976-1046	M19045	E2
		55-244		E5
12	G-CSFR-1	499-830	M59818	E3

表 8 A 複数検体で検出された遺伝子群：「急性期－慢性期」

細胞株名 (芽球の性質) 検出された遺伝子名	TNCC-S (myeloid)	KU812 (myeloid)	TK91 (myeloid)	YS-1 (B cell)	K562 (erythroid)	C2F8 (erythroid/Megk)	K.N. (Megk)	検体数
β -actin			1			1		2
elongation factor 2	20	12	20	9		13	1	6
endogenous retrovirus type E (HERV-E)	16				1		1	3
translation initiation factor (INT6)		1						1
HSP 90	5	11		1	2	2		5
immunophilin	1						1	2
HLA-B associated transcript (BAT)	BAT2	BAT3						2
LDH-B		1			1			2
guanine nucleotide binding protein (MHC protein)		1	1	1		1		4
cMYC	8	1			1			3
proteasome activator subunit 3 (macropain)		1			1			2
合計クローン数	51	28	24	11	11	17	3	

表 8 B 複数検体で検出された遺伝子群：「慢性期－急性期」

細胞株名 (芽球の性質) 検出された遺伝子名	TNCC-S (myeloid)	KU812 (myeloid)	TK91 (myeloid)	YS-1 (B cell)	K562 (erythroid)	C2F8 (erythroid/Megk)	K.N. (Megk)	検体数
azurocidin				1	1			2
α antitrypsin					2		1	2
β -actin					1			1
calcium-binding protein A9	11	14	12	17	12	15	6	7
TYRO protein tyrosine kinase	1				1			2
defensin	1		2	2		2	1	5
eosinophil derived neurotoxin			1			1		2
cathepsin S cystein proteinase					1		1	2
G-CSFR 1	5	3			5		1	4
translation initiation factor 2	1							1
lactoferrin	20	2	3	1	10			5
lipocalin (oncogene 24P3)	4		1	3	2			4
lysozyme			1				2	2
guanine nucleotide binding protein (MHC protein)						1		1
neutrophil elastase 2		1	5	4	1	1		5
proteinase 3 (myeloblastin, medullasin)	1	1	1					3
neutrophil cytosol factor 1	12				1			2
TNF super family member 3	2	1						2
合計クローン数	58	22	26	28	37	20	12	

表 9 A [細胞株 : OHN] - [nlBM] で発現亢進の見られた遺伝子群

	Gene name	Identified sequence position	Accession No.	E value	Clone No.
1	NRAMP2 gene for natural resistance-associated macrophage protein 2	40301-40670	AB015355	E-133	H5
2	Chromosome 16 BAC clone CIT987SK-A-10F4	143430-143526	AC004158	6E-27	A7
3	Chromosome 17, clone hCIT.131_K_11	33794-33760	AC005288	8E-16	C7
4	Chromosome 11p14.4 PAC clone pDJ606K4, complete sequence	32473-32614	AC005684	1E-52	D12
5	12p13.3 PAC RPC15-940J5 (Roswell Park Cancer Institute Human PAC Library)	69020-68854	AC006064	6E-64	D10
6	26S proteasome subunit 9 mRNA	181-48	AF001212	1E-58	B10
7	Chromosome 14 DNA sequence BAC R-643C12 of RPC1-11 library	187758-187817	AL049778	2E-15	F11,D8
8	Genomic DNA of 8p11.2 senescence gene, segment 1/19	34966-34803	AP000065	6E-44	F6
9	β -actin(ACTB)	2241-2028	M10277	E-104	H10
10	Defensin 1	77-272	M26602	4E-99	G11
11	Eosinophil-derived neurotoxin	598-473	M28129	2E-48	A2,A4
12	Low density lipoprotein receptor-related protein 7 (LRP7) mRNA, and translated products.	2402-2532	NM002335	1E-38	C5
13	S100 calcium-binding protein A9	392-549	NM002965	7E-64	G3
14	Cardiac myosin binding protein-C (MyBP-C) gene	8405-8245	U91629	5E-73	H6
15	Ig kappa JC region	1249-1546	X67858	E-129	D5,G9
16	arrestin (partial)	695-536	Z11501	5E-27	E4
17	Inter-Alpha-Trypsin Inhibitor Heavy Chain LIKE gene	49541-49603	Z98046	2E-20	E12
	Novel sequence (Arabidopsis thaliana DNA chromosome 4, BAC clone F24G24.)	85081-85063	ATF24G24	1.4	C4

表 9 B [nlBM] - [細胞株 : OHN] で発現亢進の見られた遺伝子群

	Gene name	Identified sequence position	Accession No.	E value	Clone No.
1	Xp22 BAC GS-619J3 (Genome Systems Human BAC library)	94665-94797	AC004103	2E-38	A12
2	PAC clone DJ0747G18 from 7q22-31.1	119496-119378	AC004876	2E-20	A3
3	DNA sequence from clone 38C16 on chromosome 6q22.33-24.1	52030-51859	AL035604	1E-56	A7
4	Macaca nemestrina carbonic anhydrase I	18-278	L25082	6E-92	E3
5	S100 calcium-binding protein A9	392-549	NM002965	7E-64	B7,C12,D11, E9,E11
6	Defensin 1	498-155	M26602	E-152	C5
7	Nonspecific cross-reacting antigen (NCA)	2111-2287	M33326	3E-77	E7
8	Lactoferrin	1579-1405	M93150	9E-63	D4,D12
9	Rearranged immunoglobulin lambda light chain	754-488	X57823	E-113	G5

平成11年度：厚生科学研究費補助金
(ヒトゲノム・遺伝子治療研究事業)
分担研究報告書

representational difference analysis法を用いた
血液腫瘍進展増悪因子遺伝子の研究
(H10-ゲノム-007)

分担研究者： 澤 田 賢 一
(北海道大学・医学部第二内科)

研究要旨

本研究の目的は骨髄異形成症候群(MDS)における病勢増悪因子遺伝子を単離することである。我々は、これまでに、MDSはコロニー分析により、①増殖型=白血病移行死と、②非増殖型=骨髄不全死に大きく分類できること、また、増殖型においてはサイトカインのひとつであるstem cell factor(SCF)が病勢進展に大きな役割を果たしていることを明らかにしてきた。しかし、SCFの病勢進展における機序の詳細については不明であり、病勢増悪因子遺伝子の単離における大きな障害となっていた。

今年度は、SCFが標的とする細胞内情報伝達分子を明らかにすることによって、病勢増悪因子遺伝子を単離するための分子細胞生物学的指標を得ることを目的とした。その結果、1)SCFはヒト造血前駆細胞のFas/Fas-Lシステムによって誘導される細胞死を抑制すること、2)この生存シグナル伝達経路はsrc family kinaseを介するAKT活性化に依存していることを明らかにした。本知見をもとに、MDSや白血病における病勢増悪の細胞内情報伝達経路が明らかにされ、責任遺伝子の同定が促進されると考えられる。

A. 研究目的

本研究の目的は骨髄異形成症候群(MDS)における病勢増悪因子遺伝子を単離することである。これを目的として、MDSの病勢進展において最も重要な役割を果たす細胞内分子の生物学的意義と責任分子の変異を明らかにすることに重点を絞って検討を進めた。MDSは多能性幹細胞の腫瘍性疾患であり、異常細胞の多段階発癌による白血病移行と無効造血による骨髄不全死を特徴とする。我々は、その病態の本質は「細胞死の制御機構の異常に基づく」と推論した。すなわち、細胞死からの逸脱は、異常増殖=白血病死、細胞死の促進=骨髄不全死となる。作業仮説を「両者に共通する細胞内情報伝達経路が存在する」とした。ヒトの生理的な造血制御には、血球の過剰産生を抑制するためのFas/Fas-Lシステムが重要な役割を果たしている。これまでの研究から、MDS芽球の増殖には、SCFが決定的な役割を果た

していることを明らかにしてきたが、SCFは芽球(造血幹細胞)のFas/Fas-Lシステムによる細胞死(apoptosis)に拮抗する。この現象を分子細胞生物学的に解明するためには、分化段階が均一で純度の高い造血幹細胞が必要である。さらに、 10^7 個から 10^8 個レベルの均質な細胞が必要であり、正常なヒト造血前駆細胞を得ることが困難であったことから、これまでは主に株化細胞が研究に用いられてきた。

本研究では、我々が開発したヒトCD34陽性細胞の大量純化法をもとに、赤芽球系前駆細胞(CFU-E)への系特異的分化・増殖誘導を行ない、これをモデルとして正常人の造血前駆細胞におけるSCFシグナル伝達機構を解析する。本研究における当方の分担は、ヒト造血幹細胞の増殖と細胞死におけるSCFの細胞内情報伝達分子を同定し、MDSの病勢進展における責任遺伝子とその変異を明らかにすることである。

B. 研究方法

顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)を投与した健康人末梢血から、新たに開発した大量純化システム(Cytotherapy 1:319, 1999)を用いて CD34+細胞を純化し、凍結・保存して以後の検討に用いた。純化ヒト CD34+細胞を EPO, SCF 及び IL-3 とともに液体培養し、赤芽球系への分化・増殖誘導を行った。7日目に細胞を回収し CFU-E に相当する細胞を得た (Day7 細胞)。コロニー形成法と液体培養には無血清培地を用い、免疫沈降・ゲル電気泳動・western blotting は既報 (BLOOD, 94 : 1568, 1999) のごとく行った。DNA 断片化は Cell Death Detection ELISA™, を用いた。Caspase 8 および Caspase 3 活性にはそれぞれ FLICE/Caspase-8 Colorimetric Protease Assay Kit と CPP32/Caspase 3 Colorimetric Protease Assay Kit (MBL, Nagoya) を用いた。

C. 研究成果

SCF は生理的濃度で抗 Fas 抗体(CH11)による赤芽球コロニー形成抑制を濃度依存性に解除した。その効果は、生理的濃度の 1ng/mL から認められた。SCF による CH11 誘導コロニー形成抑制の解除が、SCF による細胞表面の Fas (CD95) の down regulation によるものではないことを示すため、Day7 細胞を EPO または EPO+SCF と 6 時間培養し、前後の表面形質を検討した。Fas の発現に変化を認めなかった。SCF による CH11 誘導赤芽球コロニー形成抑制の解除が apoptosis の抑制に起因すると推定して以下の検討を行った。CH11 による DNA 断片化は時間依存性であり、培養 6 時間後から認められた。SCF はこの増加を部分的に抑制した。また、Caspase 8 と caspase3 の活性上昇は培養 4 時間後から認められ、SCF による部分的抑制が認められた。SCF による生存シグナルを検討するため種々の阻害剤を用いて検討した。その結果、Src family kinase の特異的拮抗剤 PP2 によって、CH11 によるコロニー形成能抑制に拮抗する SCF の効果が完全に抑制された。一方、PP2 もしくはその非活性型 analog PP3 は EPO もしくは EPO+SCF で誘導した赤芽球

コロニー形成を抑制しなかった。非活性型 analog PP3 にこの働きを認めなかった。PP2 は SCF による CH11 誘導 DNA 断片化の解除を完全に阻止した。Day7 細胞を SCF を除いた EPO 含有無血清培地で 12 時間培養し、SCF/EPO による Src family kinase (Lyn) のリン酸化と enolase 活性を測定した。SCF で処理 12 分後に enolase 活性の上昇を認めた。SCF+EPO による enolase 活性の上昇はより顕著であった。SCF で処理 12 分後に enolase 活性の上昇を認めた。SCF+EPO による enolase 活性の上昇はより顕著であった。SCF は、AKT のリン酸化を誘導したが、PP2 によって enolase 活性の上昇が阻害されるとともに、AKT リン酸化が阻害された。

D. 考察と結論

正常造血は、Fas/Fas-L システムなどの death domain を介する造血抑制と EPO, SCF などの造血因子による造血刺激の拮抗の上に成り立っていることを明らかにした。この機構の破綻によって MDS などの白血病化や造血不全の病態が形成されると考えられる。細胞の生と死のシグナルの解析には、その機構に本来異常を持たない正常なヒト造血前駆細胞を用いることが理想的であるが、希少な細胞であるため、このような研究は阻まれてきた。本研究では、in vitro で増殖・分化誘導したヒト赤芽球系前駆細胞を用いて、Fas を介した細胞死とその SCF による拮抗メカニズムについて検討を進めた。本研究で、SCF は CH11 によって誘導されるアポトーシスを解除すること、さらにこの解除は細胞表面上の現象ではなく、src family kinase から AKT を介する細胞内情報伝達経路に依存していることを示した。本研究の結果をもとに、今後、src family kinase および AKT の上流分子である phosphatidylinositide 3-OH kinase (PI-3K) やその脱リン酸化酵素である phosphatase and tensin homology deleted on chromosome ten (PTEN) などに焦点を絞ることで、MDS や白血病において最も病因的意義が高い責任遺伝子の変異や同定が容易になるものと考えられる。

E. 研究発表

(1) 論文発表

- 1) Oda,A. Sawada,K.: Signal transduction in primary cultured human erythroid cells. J Hematotherapy & Stem Cell Res (in press)
- 2) Nishio,M. Koizumi,K. Endo,T. Takahima,H. Haseyama,Y. Fujimoto,K. Yamamoto,S. Kobayashi,H. Koike,T. Sawada,K.: Effective high dose chemotherapy combined with CD34+ - selected autologous peripheral blood stem cell transplantation in a patient with cutaneous CD30-negative large T cell lymphoma. Bone Marrow Transplant (in press)
- 3) Tsutsumi,A. Ichikawa,K. Matsuura,E. Sawada,K. Koike,T.: Heterogeneous behavior of anti- β 2-glycoprotein I antibodies on various commercially available enzyme immunoassay plates coated with β 2-glycoprotein I. J of Rheumatology (in press)
- 4) Sawada,K. Koizumi,K. Tarumi,T. Takano,H. Ieko,M. Katagiri,E. Nishio,M. Fukada,Y. Yasukouchi,T. Yamaguchi,M. Koike,T.: Role of physiological concentrations of stem cell factor in leukemic type growth of myelodysplastic CD34+ cells. Leukemia Res 23:1-11, 1999
- 5) Ieko,M. Ichikawa,K. Triplett,D.A. Matsuura,E. Atsumi,T. Sawada,K. Koike,T.: β 2-glycoprotein I is necessary to inhibit protein C activity by monoclonal anticardiolipin antibodies. Arthritis and Rheumatism 42:167-174, 1999
- 6) Nishio,H. Suda,T. Sawada,K. Miyamoto,T. Koike,T. Yamaguchi,Y.: Molecular cloning of cDNA encoding human Rab3D whose expression is upregulated with myeloid differentiation. Biochimica et Biophysica Acta 1444:283-290, 1999
- 7) Tarumi,T. Sawada,K. Koizumi,K. Takano,H. Fukada,Y. Nishio,M. Fujie,T. Ohnishi,K. Kohno,M. Sato,N. Sekiguchi,S. Koike,T.: A pilot study of a response oriented chemotherapeutic regimen combined with autologous peripheral blood progenitor cell transplantation in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. Leukemia & Lymphoma 34:361-371, 1999
- 8) Haseyama,Y. Sawada,K. Oda,A. Koizumi,K. Takano,H. Tarumi,T. Nishio,M. Handa,M. Ikeda,Y. Koike,T.: Phosphatidylinositol 3-kinase is involved in the protection of primary cultured human erythroid precursor cells from apoptosis. Blood 94:1568-1577, 1999
- 9) Ieko,M. Sawada,K. Koike,T. Notoya,A. Mukai,M. Kohno,M. Wada,N. Itoh,T. Yoshioka,N.: The putative mechanism of thrombosis in antiphospholipid syndrome: Impairment of the protein C and the fibrinolytic systems by monoclonal anticardiolipin antibodies. Sem Thrombos Hemostas 25:503-507, 1999
- 10) Koizumi,K. Sawada,K. Sato,N. Yamaguchi,M. Nishio,M. Tarumi,T. Takano,H. Fukada,Y. Ieko,M. Yasukouchi,T. Sekiguchi,S. Koike,T.: Large scale purification of human blood CD34+ cells using a nylon-fiber syringe system and immunomagnetic microspheres. Cytotherapy 1:319-327, 1999
- 11) Namba,Y. Koizumi,H. Nakamura,H. Tarumi,T. Sawada,K. Ohkawara,A.: Specific cutaneous lesions of the scalp in myelodysplastic syndrome with deletion of 20q. J of Dermatology 26:220-224, 1999
- 12) Hashimoto,H. Sawada,K. Koizumi,K. Nishio,M. Tarumi,T. Takano,H. Nishio,H. Endo,T. Takashima,H. Kobayashi,H. Koike,T.: Effective high dose chemotherapy combined with total body irradiation (TBI) following CD34+-selected autologous

peripheral blood stem cell transplantation in a patient with subcutaneous panniculitic T-cell lymphoma (SPTCL) that transformed into leukemia at first relapse. Bone Marrow Transplant 24:1369-1371, 1999

(2) 学会発表

招請講演

- 1) Sawada, K.: Altered responses of purified blast cells from the myelodysplastic syndromes to stem cell factor in vitro: comparison with normal blast cells. Biweekly Hematology/Oncology Laboratory Research Seminar, Nashville, TN, USA, December 9, 1999
- 2) 澤田賢一: 「HIV 感染症、医療現場における感染予防と対策を中心として」、函館脳神経外科病院院内勉強会、函館、1999.5.21
- 3) 澤田賢一: 教育講演、「HIV 感染症の医療現場における感染予防と対策について」、第4回職業感染対策研究会、札幌、1999.6.25
- 4) 澤田賢一: 「自己末梢血幹細胞移植の応用」、第1回 TENC TOPICS IN RHEUMATOLOGY '99、札幌、1999.8.28
- 5) 澤田賢一: 自家末梢血幹細胞移植の新展開、日本医師会生涯教育講座、小樽、1999.11.11
- 3) 澤田賢一、長谷山美仁、小田淳、小泉和輝、高野弥奈、西尾充史、半田誠、池田康夫、小池隆夫: PI-3K 経路はヒト赤芽球系前駆細胞のアポトーシス抑制に関与する、第61回日本血液学会総会、東京、1999.4.19-4.21 (日血会誌 69:58, 41, 1999)
- 4) 高野弥奈、澤田賢一、深田嘉一、小泉和輝、西尾仁、西尾充史、遠藤知之、高島英典、橋本英明、小池隆夫: 赤芽球の分化する過程における表面形質の経時的変化、第61回日本血液学会総会、東京、1999.4.19-4.21 (日血会誌 69:198, 567, 1999)
- 5) 小泉和輝、澤田賢一、遠藤知之、高島英典、橋本英明、西尾充史、西尾仁、高野弥奈、安河内太郎、佐藤典宏、関口定美、小池隆夫: 自家末梢血 CD34 陽性細胞選択移植を施行した悪性リンパ腫の3症例、第61回日本血液学会総会、東京、1999.4.19-4.21 (日血会誌 69:216, 636, 1999)
- 6) Nishio, M. Sawada, K., Tarumi, T. Koizumi, K. Ohnishi, K. Kohno, M. Sato, N. Sekiguchi, S. Koike, T: Response oriented chemotherapeutic regimen with APBSCT in aggressive non-Hodgkin's lymphoma (NHL). 第61回日本血液学会総会 (アジア血液セッション)、東京、1999.4.19-4.21 (日血会誌 69:274, 862, 1999)
- 7) 遠藤知之、澤田賢一、高島英典、橋本英明、西尾充史、西尾仁、高野弥奈、小泉和輝、小池隆夫、今野孝彦、下山則彦: 慢性関節リウマチの経過中に発症した follicular dendritic cell sarcoma の一例、第34回日本血液学会総会北海道地方会、旭川、1999.4.24
- 8) 熊野弘毅、清水紀宏、近藤洋子、佐々木基、藤井

一般発表

- 1) Nishio, M. Oda, A. Koizumi, K. Satoh, I. Haseyama, Y. Endo, T. Takashima, H. Hashimoto, T. Fujihara, M. Ikebuchi, K. Ikeda, H. Koike, T. Sawada, K.: Stem cell factor prevents Fas-mediated apoptosis of primary cultured human erythroid precursor cells. 41th Annual Meeting of American Society of Hematology, New Orleans, USA, December 3-7, 1999 (Blood abs 94:1173, 1999)
- 2) Koizumi, K. Nishio, M. Hashimoto, H. Endo, T. Takashima, H. Haseyama, Y. Sato, N. Yasukouchi, T. Koike, T. Sawada, K.: Large

- 聰、岡本洋、北畠顕、藤田美惲、澤田賢二、小池隆夫：心嚢液貯留で発症した好酸球性心筋炎の一例、第211回日本内科学会北海道地方会、札幌、1999.6.12
- 9) 橋本英明、澤田賢二、西尾充史、藤本勝也、山本聡、遠藤知之、高島英典、長谷山美仁、小泉和輝、小池隆夫：急性転化時、12トリソミーを認めた atypical CML (aCML) に対してインターフェロン α が有効と考えられた一例、第211回日本内科学会北海道地方会、札幌、1999.6.12
- 10) 小泉和輝、西尾充史、澤田賢二、小池隆夫：筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 様運動神経障害を呈した AIDS の1症例、第4回北海道 HIV 臨床カンファレンス、札幌、1999.9.4
- 11) 山本聡、藤本勝也、遠藤知之、高島英典、橋本英明、長谷山美仁、西尾充史、小泉和輝、澤田賢二、小池隆夫：シクロスポリンにより輸血依存性を脱した難治性特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) の一症例、第41回日本臨床血液学会北海道地方会、札幌、1999.10.9
- 12) 西尾充史、澤田賢二、小泉和輝、遠藤知之、高島英典、橋本英明、長谷山美仁、小池隆夫、小林仁：自家末梢血幹細胞移植 (APBSCT) を施行した皮膚 CD30⁺ large T-cell lymphoma の二例、第41回日本臨床血液学会総会、秋田、1999.10.13-15 (臨床血液 40:1020, 550, 1999)
- 13) 遠藤知之、澤田賢二、藤本勝也、山本聡、高島英典、橋本英明、長谷山美仁、西尾充史、小泉和輝、小池隆夫：移植前 HBs 抗体陽性で PBSCT 後に B 型肝炎を発症した多発性骨髄腫の三例、第41回日本臨床血液学会総会、秋田、1999.10.13-15 (臨床血液 40:743, 199, 1999)
- 14) 橋本英明、澤田賢二、遠藤知之、高島英典、長谷山美仁、藤本勝也、山本聡、西尾充史、小泉和輝、小池隆夫：特徴的な臨床経過を認めた atypical CML の三症例、第41回日本臨床血液学会総会、秋田、1999.10.13-15 (臨床血液 40:812, 520, 1999)
- 15) 小野太祐、藤本勝也、山本聡、遠藤知之、高島英典、長谷山美仁、西尾充史、小泉和輝、澤田賢二、小池隆夫：初診時に高拍出性心不全を合併した多発性骨髄腫 (MM) の一例、第213回日本内科学会北海道地方会、札幌、1999.11.16
- 16) 澤田賢二、今村雅寛、菊田英明、佐藤直樹、佐川正、石倉浩、平山妙子、千葉仁志、荻野修、櫻井恒太郎、小池隆夫：エイズ治療の北海道ブロック拠点病院としての診療体制の立ち上げ：診療の連携強化とその要因、第13回日本エイズ学会学術集会・総会、東京、1999.12.3-4 (日本エイズ学会誌、1:249, 034, 1999)
- 17) 西尾充史、小泉和輝、藤本勝也、山本聡、遠藤知之、高島英典、橋本英明、長谷山美仁、澤田賢二、小池隆夫：CD34 陽性細胞選択自家 PBSCT (CD34⁺ APBSCT) におけるサイトメガロウイルス (CMV) antigenemia の検討、第22回日本造血細胞移植学会総会、広島、1999.12.16-17

G. 私的所有権の取得状況

1. 特許取得・実用新案登録・その他
現在のところ、取得なし。

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
下記の「(1)論文発表」をご参照ください。

F. 研究発表

(1) 論文発表

- 1) Iijima Y, Ito T, Oikawa T, Eguchi M, Eguchi-Ishimae M, Kamada N, Kishi K, Asano S, Sakaki Y, Sato Y: A new *ETV6(TEL)* partner gene, *ARG*(*ABL* related gene or *ABL2*) identified in a AML-M3 cell line with the t(1;12)(q25;p13) translocation. *Blood* 95:2126-2131, 2000
- 2) Takami Y, Nakazato H, Oikawa T, Tojo A, Asano S, Sato Y: Identification of a novel partner gene of *CAN* from the K562 cell line. *Blood* 94:supp1 (part 2):186b, 1999
- 3) Eguchi M, Eguchi-Ishimae M, Tojo A, Suzuki K, Morishita K, Sato Y, Kudo S, Tanaka K, Nagamura F, Asano S, Kamada N: Fusion of the *ETV6* to neutrophin-3 receptor *TrkC* in acute myeloid leukemia with t(12;15)(p13;q25). *Blood* 93:1355-1363, 1999.
- 4) Oda, A. Sawada K.: Signal transduction in primary cultured human erythroid cells. *J Hematotherapy & Stem Cell Res* (in press)
- 5) Nishio, M. Koizumi, K. Endo, T. Takahima, H. Haseyama, Y. Fujimoto, K. Yamamoto, S. Kobayashi, H. Koike, T. Sawada K.: Effective high dose chemotherapy combined with CD34+ -selected autologous peripheral blood stem cell transplantation in a patient with cutaneous CD30-negative large T cell lymphoma. *Bone Marrow Transplant* (in press)
- 6) Tsutsumi, A. Ichikawa, K. Matsuura, E. Sawada K., Koike, T.: Heterogeneous behavior of anti- α_2 -glycoprotein I antibodies on various commercially available enzyme immunoassay plates coated with α_2 -glycoprotein I. *J of Rheumatology* (in press)
- 7) Sawada K., Koizumi, K. Tarumi, T. Takano, H. Ieko, M. Katagiri, E. Nishio, M. Fukada, Y. Yasukouchi, T. Yamaguchi, M. Koike, T.: Role of physiological concentrations of stem cell factor in leukemic type growth of myelodysplastic CD34+ cells. *Leukemia Res* 23:1-11, 1999
- 8) Ieko, M. Ichikawa, K. Triplett, D.A. Matsuura, E. Atsumi, T. Sawada K., Koike, T.: α_2 -glycoprotein I is necessary to inhibit protein C activity by monoclonal anticardiolipin antibodies. *Arthritis and Rheumatism* 42:167-174, 1999
- 9) Nishio, H. Suda, T. Sawada K., Miyamoto, T. Koike, T. Yamaguchi, Y.: Molecular cloning of cDNA encoding human Rab3D whose expression is upregulated with myeloid differentiation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1444:283-290, 1999
- 10) Tarumi, T. Sawada K., Koizumi, K. Takano, H. Fukada, Y. Nishio, M. Fujie, T. Ohnishi, K. Kohno, M. Sato, N. Sekiguchi, S. Koike, T.: A pilot study of a response oriented chemotherapeutic regimen combined with autologous peripheral blood progenitor cell transplantation in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia & Lymphoma* 34:361-371, 1999
- 11) Haseyama, Y. Sawada K., Oda, A. Koizumi, K. Takano, H. Tarumi, T. Nishio, M. Handa, M. Ikeda, Y. Koike, T.: Phosphatidylinositol 3-kinase is involved in the protection of primary cultured human erythroid precursor cells from apoptosis. *Blood* 94:1568-1577, 1999
- 12) Ieko, M. Sawada K., Koike, T. Notoya, A. Mukai, M. Kohno, M. Wada, N. Itoh, T. Yoshioka, N.: The putative mechanism of thrombosis in antiphospholipid syndrome: Impairment of the protein C and the fibrinolytic systems by monoclonal anticardiolipin antibodies. *Sem Thrombos Hemostas* 25:503-507, 1999
- 13) Koizumi, K. Sawada K., Sato, N. Yamaguchi, M. Nishio, M. Tarumi, T. Takano, H. Fukada, Y. Ieko, M. Yasukouchi, T. Sekiguchi, S. Koike, T.: Large scale purification of human blood CD34+ cells using a nylon-fiber syringe system and immunomagnetic microspheres. *Cytherapy* 1:319-327, 1999

- 14) Namba, Y. Koizumi, H. Nakamura, H. Tarumi, T. Sawada, K. Ohkawara, A.: Specific cutaneous lesions of the scalp in myelodysplastic syndrome with deletion of 20q. J of Dermatology 26:220-224, 1999
 - 15) Hashimoto, H. Sawada, K. Koizumi, K. Nishio, M. Tarumi, T. Takano, H. Nishio, H. Endo, T. Takashima, H. Kobayashi, H. Koike, T.: Effective high dose chemotherapy combined with total body irradiation (TBI) following CD34⁺-selected autologous peripheral blood stem cell transplantation in a patient with subcutaneous panniculitic T-cell lymphoma (SPTCL) that transformed into leukemia at first relapse. Bone Marrow Transplant 24:1369-1371, 1999
-