

平成18年度

政策創薬総合研究
重点研究報告書（I）

目 次

課題番号		
KH11001	バイオフィotonicsを利用した細胞組織障害を視る、測る、解析する技術の開発	川西 徹 …… 1
KH11002	成長制御機構の解明と成長障害治療法の開発	緒方 勤 …… 16
KH12072	変異を克服した画期的抗ウイルス薬の開発	野口博司 …… 21
KH21004	動脈硬化症と血栓症にかかわるスフィンゴシン1-リン酸 (S1P) 受容体 (S1P3) の拮抗薬の開発	望月直樹 …… 30
KH21005	遺伝子改変動物を用いた病態関連因子の解明と創薬への応用に関する研究	田上昭人 …… 40
KH21006	病態時の侵害情報伝達に関与するプリン受容体の機能解明	井上和秀 …… 100
KH21007	蛋白立体構造異常を原因とするコンフォメーション病に対する病態解明と創薬探索システムの確立	桃井 隆 …… 126
KH21008	高密度CGHアレイを用いた新規白血病・リンパ腫治療薬の標的分子の探索	小川誠司 …… 144
KH21009	脂質代謝・機能の解明とその抗微生物薬開発への応用	花田賢太郎 …… 154
KH21010	繊維芽細胞の放出するmacrophage活性化因子とJAG1蛋白の関連と臓器繊維化の機序解明	香坂隆夫 …… 168
KH21011	血管におけるレクチンを介する生体防御システムの解明と創薬への応用	若宮伸隆 …… 181
KH21012	コネキシン遺伝子の癌抑制機能の網羅的解析；癌予防および治療への応用	矢野友啓 …… 196
KH21013	免疫グロブリン大量静注療法的作用機序解明と新しい治療標的分子の探索	阿部 淳 …… 208
KH21014	受精および初期胚発生における糖鎖の役割解析とその応用に関する研究	藤本純一郎 …… 221
KH21015	細胞内エネルギー代謝制御分子の機能発現機構の解明と新規治療薬への応用	江崎 治 …… 235
KH21018	アルツハイマー病における新規創薬ターゲット検索のための、APP細胞内ドメインの機能解析	中山耕造 …… 247
KH21019	創薬への応用を目標としたB細胞の分化・増殖・細胞死の制御機構解明に関する研究	上出利光 …… 262
KH21021	エンドトキシン認識・刺激伝達機構の解明と医療への応用に関する研究	西島正弘 …… 286
KH21022	ウイルスRNA結合ペプチドを用いたC型肝炎治療薬の開発	鈴木哲朗 …… 300
KH21023	末梢血幹細胞の分化増殖機構の解明と創薬への応用に関する研究	葛西正孝 …… 310
KH21101	DNAマイクロアレイによる多発性硬化症の迅速診断法の樹立に関する研究	佐藤準一 …… 318

KH22073	機能性精神疾患のハイスループットSNPs解析と機能解析による創薬標的分子の解明	功刀 浩 …… 344
KH31024	超難溶性薬物の効率的製剤化に非晶質の特異性を活用する技術とその評価法の確立	吉岡澄江 …… 358
KH31025	生薬及び漢方処方of科学的品質保証に関する研究	合田幸広 …… 373
KH31026	食中毒細菌の新規迅速検査法の開発とその評価法に関する研究	工藤由起子 …… 390
KH31027	ハイスループット・ヒト型遺伝毒性試験系の構築	能美健彦 …… 402
KH31028	ヒト肝細胞で置換された肝臓を持つマウスの医薬品開発への利用ー非拘束マウスの胆汁採取分析技術の確立ー	吉里勝利 …… 417
KH31029	高度分析評価技術を応用した医薬品製剤開発および製造工程管理手法の研究	檜山行雄 …… 435
KH31030	患者個別化薬物治療のための遺伝子タイピング法及びメタボロミクス的手法の開発に関する研究	斎藤嘉朗 …… 449
KH31031	細胞医療に用いられる細胞組織利用医薬品の品質・安全性評価技術の開発	山口照英 …… 466
KH31032	医薬品等の有効性・安全性を保証するための分析・解析技術の評価と標準化に関する研究	林 讓 …… 481
KH31034	プロテオミクス及び構造生物学的アプローチ等を用いたバイオ医薬品の特性解析・品質評価技術の開発	川崎ナナ …… 494
KH31035	生物由来製品のウイルス安全性に関する基盤研究	内田恵理子 …… 509
KH31036	臨床薬理学的視点による薬効ゲノム情報活用のための基盤研究	東 純一 …… 525
KH32074	IT技術を用いた低コストかつ高品質な大規模臨床試験実施基盤の構築	永井洋士 …… 537
KH41037	抗フリーラジカル療法を目指した基盤研究と創薬への応用	網脇祥子 …… 551
KH41038	ボツリヌス神経毒素有効成分を利用したジストニア・痙縮等の治療法の確立と筋萎縮性側索硬化症に対するdrug delivery systemの開発	梶 龍兒 …… 566
KH42075	熱帯病・寄生虫症に対する稀少疾病治療薬の輸入・保管・治療体制の開発研究	名和行文 …… 576

高密度CGHアレイを用いた新規白血病・リンパ腫治療薬の標的分子の探索

所 属 東京大学大学院21世紀COEプログラム

研究者 小川 誠司

研究期間 平成16年4月ー平成19年3月

研究要旨 造血器腫瘍の新規分子標的薬開発のためのターゲット分子を同定する目的で、種々の病型を含む造血器腫瘍1250検体について、Affymetrix® GeneChip®と我々が独自に開発したCNAG/AsCNAR softwareを用いて高精度の網羅的ゲノムコピー数異常/アレル不均衡の解析を行い、病型特異的なゲノム異常とその標的遺伝子(ないしその候補)を多数同定した。以上の研究を通じて、造血器腫瘍に対する分子治療薬・診断システム開発のための重要な知的基盤の構築に成功した。

A. 研究目的

造血器腫瘍の治癒率向上のためには、慢性骨髄性白血病(CML)に対するイマチニブや急性前骨髄性白血病に対するレチノイン酸に代表されるような、疾患の原因分子に対して特異的に作用する薬剤の開発が有効かつ重要である。

造血器腫瘍の発症に関しては、染色体転座、遺伝子の点突然変異、遺伝子増幅あるいは、遺伝子の欠失などのゲノムの異常、またメチル化などのエピジェネティックな変化が、その腫瘍化に関与することが知られているが、主要な染色体転座を除いて、従来有効な標的遺伝子同定の手段がなく、その具体的な標的遺伝子についての知見は極めて限られている。

本研究事業では、造血器腫瘍ゲノムに生ずるコピー数の変化・メチル化に着目し、マイクロアレイ技術を駆使して造血器腫瘍ゲノムに生ずるゲノムコピー数の変化、メチル化の異常を網羅的に探索し、これらの異常の標的となる遺伝子を同定することにより、分子標的薬・診断システム開発のための知的基盤を構築することが目的である。

B. 研究方法

1) BACアレイの作成とアレイCGH(小川、杉田) RPCI BACクローンを96穴プレート上で微量調整後、DOP PCR法により非反復配列を増幅し、得られた増幅産物をスライドガラス上にスポットすることにより、BACアレイを作成した。

Human 1Mアレイは、約3200個のBACクローンをを用いて全ゲノムを平均1Mbの解像度で解析することを可能にするアレイである。健常男性由来のゲノムDNAおよび造血器腫瘍ゲノムDNAをrandom priming法により、それぞれCy3、Cy5でラベルしたのち、human Cot1 DNAとともにHuman 1Mアレイ上でcomparative genomic hybridizationを行った。Affymetrix 428スキャナーを用いて、シグナルの検出を行ったのち、Cy3/Cy5シグナル比を解析することにより、3200個の遺伝子座についてコピー数の変化を探索した。

2) SNPアレイを用いたアレル特異的コピー数解析システム(CNAG/AsCNAR)の開発(小川)

Affymetrix社のSNPアレイ(GeneChip)は、大規模SNPタイピング用に開発されたアレイで、数百万個のSNP特異的プローブを用いて5万個ー50万個のSNPタイピングを高速に行うことが可能となっているが、我々は同アレイにおけるシグナルの定量性を利用して、ゲノムコピー数の定量を行うことが理論的には可能である。我々は、実験条件の微妙な相違から生ずるアレイシグナルのひずみを補正すると同時に、SNP特異的シグナルに生じた微妙な変化を高精度に検出することにより、同アレイを用いて、腫瘍ゲノムに生ずるアレル特異的なゲノムコピー数の変化を鋭敏に定量することを可能にする種々のアルゴリズムを開発し、これを用いて多数の造血器腫瘍検体の解析を行った。

2) CNAG/AsCNAR を用いた造血器腫瘍検体 1250 例の molecular allelokaryotyping (小川、千葉、竹内、小林)

種々の病型を含む造血器腫瘍検体について、ゲノム DNA を抽出し、特定の制限酵素で消化した後、アダプター-PCR により 2kb 以下の短い制限酵素断片を特異的に増幅する(Whole genome selection assay)。増幅した DNA を、断片化し biotin ラベルを施した上で、GeneChip 上で 16 時間 48 度でハイブリダイゼーションを行い、プローブに結合した標的 DNA 断片を avidine-PE を用いて染色したのち、専用スキャナーで特異的なシグナルを検出した。得られたアレイデータをもとに、上述の CNAG/AsCNAR プログラムによりゲノムワイドなコピー数解析を行った。解析に用いた腫瘍検体の病型毎の検体数を以下に示した。

病型	検体数
急性骨髄性白血病(AML)	144
急性リンパ性白血病(ALL)	80
急性リンパ性白血病(小児)	470
骨髄異形成症候群(MDS)	153
骨髄増殖性疾患(MPD)	53
慢性リンパ性白血病(CLL)	56
慢性骨髄性白血病(CML)	30
非ホジキンリンパ腫(NHL)	150
成人 T 細胞白血病	102
JMML	12
計	1250

3) 造血器腫瘍における新規標的分子の同定 (小川)

2) の解析結果に基づいて、複数の試料で認められる異常について、標的遺伝子の候補となる遺伝子について、その発現の異常を RT-PCR 法を用いて解析するとともに、dHPLC 法/direct sequencing 法により変異解析を行った。同定された変異分子については、3T3 細胞でのトランスフォーメーションアッセイ等により機能的評価を行った。

4) タイリングアレイを用いた腫瘍ゲノムの網羅的メチル化解析 (小川)

腫瘍検体よりゲノム DNA を抽出後、4ug の DNA を超音波破碎により 400bp 程度に断片化し、抗メチル化シトシン抗体と抗免疫グロブリン F を用いて免疫沈降した。沈降産物をを

Sequenase と ampliAq により増幅し、得られた増幅産物をラベル化した後、タイリングアレイ上で 16 時間ハイブリダイズさせることにより、沈降物中のメチル化 DNA を同定した。

5) リンパ系腫瘍における Notch 関連遺伝子の変異解析(千葉)

急性 T リンパ球性白血病(T-ALL) (47 例) および非ホジキンリンパ腫(NHL) (102 例) についてゲノム DNA を抽出し、PCR/SSCP 法により Notch1 および Notch2 遺伝子について変異解析を行った。また、同定された Notch2 変異については、当該変異を有する Notch2 分子の機能をレポーターアッセイにより検討した。

6) MDS における AML1/Evi-1 および TEL の解析 (三谷)

MDS における標的遺伝子の一つである AML1/Evi-1 について、同融合遺伝子のノックインマウスを作成し、造血組織への影響を検討した。また、MDS 40 検体について TEL 遺伝子の変異解析を行うとともに、MDS でしばしば高発現する TEL アイソフォームの機能解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、ヒトゲノム遺伝子解析に関する倫理指針、疫学研究に関する倫理指針および臨床研究に関する倫理指針に基づき、班員の所属する研究施設が設置する倫理委員会の承認を得て行われた。

C. 結果

1) BAC アレイを用いた MDS および CML のゲノムコピー数の解析

我々が独自に開発した 3200 個の BAC プローブを搭載した Human IM アレイを用いたアレイ CGH により 62 例 MDS、および 40 例の CML 検体におけるゲノムコピー数異常の網羅的な解析を行った。アレイの性能は良好で、1 プローブレベルでの 1 アレルの変異を検出することが可能であり、MDS, CML に特徴的のコピー数の異常が多数同定された。

2) Affymetrix® GeneChip®を用いた造血器腫瘍の molecular allelo-karyotyping

本研究において、我々は SNP アレイによるゲノムコピー数を高精度かつアレル特異的に解析することを可能とするアルゴリズム CNAG/AsCNAR を開発し、これを用いて 1250 検体の造血器腫瘍

試料について、ゲノムコピー数およびアレル不均衡の網羅的解析を行った。

解析の結果、極めて多数のゲノムコピー数の異常を同定し、これをもとに各造血器腫瘍におけるゲノムコピー数異常の genome imbalance マップを作成した。染色体分析においても同定可能な染色体バンドレベルでの異常に加えて、従来のシステムでは同定不能な微小な領域の異常が多数同定され、腫瘍のタイプによって特異的に異常が集積する領域が明らかとなった。また、造血器腫瘍では、しばしばコピー数変化は認めないにもかかわらず、アレル構成が片親由来のアレルのみとなっている領域、すなわち UPD が高頻度に認められることが明らかとなった。とくに、リンパ腫においては、全症例の 80-90% において、mitotic recombination によると考えられる UPD が生じており、これらのアレルの異常がリンパ腫の発症に関与している可能性が示唆される。UPD は急性白血病の約 40%、MDS の約 30% の症例で観察され、従来の報告の約 2 倍の頻度となっている。これは、我々の開発したアルゴリズムによって高感度にこれらの異常を捕らえることができるようになった結果である。

1250 例の解析結果全てについて記載することは、不可能であるが、これらの解析から、未だ同定されていなかった新たな異常が見いだされる。例えば、小児 ALL においては、9p13 に存在する PAX5 遺伝子が種々の遺伝子と融合遺伝子を形成することが明らかとなった。さらに、PAX5 の標的遺伝子の一つである CD19 遺伝子のプロモーターを用いた転写アッセイにおいて、これらの転座で形成される融合遺伝子産物は、ドミナントネガティブに PAX5 の転写能を抑制することが示された。

その他、MDS や悪性リンパ腫についても、これまでに報告されていない新たな標的遺伝子が同定された。MDS でしばしば点突然変異を来す MDS-A (lab name) では、特定のドメインに変異が集中しており、変異アレルはつねに UPD を生じて重複することが明らかとなった。本変異分子は in vitro で NIH3T3 細胞を強くトランスフォームすることから、MDS とくに高リスクの RAEB、CMMOL の発症に重要な役割を担う新たな標的分子であることが示された。

3) 網羅的 DNA メチル化解析システムの確立

断片化したゲノム DNA を、抗メチル化シトシン

抗体で沈降後、sequenase/PCR により増幅したメチル化 DNA 断片は、タイピングアレイにより高感度に検出された。マイクロアレイによる検出結果は、Bisulfite sequencing により高い再現性をもって確認された。

4) リンパ系腫瘍における Notch 関連遺伝子の変異解析(千葉)

近年海外のグループにより小児 T リンパ性白血病で Notch1 遺伝子が高頻度に活性化型変異が生じていることが報告されたが、千葉らは、成人 T リンパ性白血病においても、Notch1 遺伝子変異が比較的高頻度に認められることを示し、さらに、そのホモログである Notch2 遺伝子が活性化型 B リンパ球タイプの非ホジキンリンパ腫の 5% に生じていることを見いだした。これらの症例では、しばしば変異アレルの増加が認められた。

5) MDS における AML1/Evi-1 および TEL の解析

三谷らは、MDS 由来 AML の一部で認められる AML1/Evi-1 融合遺伝子のノックインマウスが、中枢神経系の出血及び成体型造血の欠如のため胎生致死となること、またその胎仔肝の造血前駆細胞は高い自己複製能を有する一方、成体型造血、特に赤芽球系細胞への著しい分化障害を示すことを示した。一方、MDS では TEL の発現の低下ないし機能的にドミナントネガティブとなるアイソフォームの発現がしばしば亢進していることを示し、TEL の機能的な障害が MDS の病態に関与している可能性を示した。

D. 考察

本申請では、当初、造血器腫瘍におけるゲノム異常の網羅的解析の方法として、BAC アレイを用いたアレイ CGH を用いることを計画し、3200 個の BAC クローンを搭載した Human 1M アレイの開発を行い、腫瘍試料の解析を開始した。本アレイは、1Mbp の平均解像度で、ゲノムコピー数の変化を検出することが可能な優れたアレイであったが、研究開始後まもなく、Affymetrix® 社より、5 万から 50 万個の SNP 特異的なプローブが基盤上に化学合成された GeneChip® が開発されたことから、当初の計画を変更し、同アレイを用いた造血器腫瘍の分子標的の探索を行うこととした。同アレイでは、理論的には極めて高い解像度でゲノムコピー数の変化を検出することが可能であるが、アレイ解析に先立つ PCR

増幅によるひずみが生ずるために、S/N 比の低下が生ずることが欠点であった。我々は、独自のデータ解析アルゴリズム CNAG を考案し、このひずみを除去することにより、同アレイを用いた高精度のゲノムコピー数解析システムを構築した。本システムでは、SNP 特異的なプローブが用いられていることにより、自己正常対照が得られる場合には、アレル特異的にゲノムコピー数の変化を解析することが可能である。さらに、研究の最終年度には、自己正常対照に依存することなく、アレル特異的なゲノムコピー数解析を可能とするアルゴリズム AsCNAR を開発した。CNAG/AsCNAR を用いることにより、SNP アレイの性能を最大限に利用することが可能となり、実際、同アルゴリズムを用いることにより、臨床試料のようにしばしば高度の正常細胞の混入を認める腫瘍試料についても、高感度にアレルの不均衡やコピー数の変化を検出することが可能となり、これらのプログラムは世界的にも広く用いられるようになりつつある。

CNAG/AsCNAR アルゴリズムを用いた SNP アレイ解析は極めて高いスループットを有し、研究期間の 3 年間で、計 1250 検体におよぶ造血器腫瘍の解析を行った。解析の結果、各病型を特徴づける極めて多数のゲノム異常と標的遺伝子の候補が同定された。小児 ALL において種々の遺伝子と融合遺伝子を形成する PAX5 は B 細胞の分化に必須の転写因子であるから、小児 ALL では PAX5 融合遺伝子の形成によって PAX5 の機能が不活化される結果、ALL の発症が誘導される可能性が示唆される。また、骨髄異形性症候群で認められる MDS-A の変異は、強力に繊維芽細胞のトランスフォーメーションを誘導し、現時点での知見によれば、チロシンキナーゼ経路を活性化することにより、腫瘍化に関与することが推測される。

本研究では、ゲノム網羅的なメチル化の解析がもう一つの大きな課題であったが、我々は抗メチル化シトシン抗体を用いた免疫沈降とタイリングアレイ上でのハイブリダイゼーションを組み合わせた高感度なメチル化 DNA 解析システムを構築することができた。沈降したメチル化 DNA 断片の検出に用いるアレイとしては、目的に応じて、既知の遺伝子のプロモーター領域の 10kb をタイリングしたプロモーターアレイ、21 番 22 番の全非反復配列、ENCODE 領域をタイリ

ングした ENCODE アレイ、および全ゲノムのタイリングアレイ等を用いることが可能である。今後、本法とプロモーターアレイを用いて、多数の造血器腫瘍検体について網羅的なメチル化解析を行い、新規標的遺伝子の探索を行う予定である。

千葉らは活性化型 B 細胞タイプの非ホジキンリンパ腫の一部で、Notch2 遺伝子の活性化型変異が生じていることを見いだした。変異アレルはしばしばアレル数の増加を来しており変異とコピー数の上昇により活性化を受けていることを見いだした。Notch の情報伝達系は、 γ secretase 阻害剤により強力な抑制されることが既に知られてらいる。従って今後 γ secretase 阻害剤が Notch2 変異を有する悪性リンパ腫に対する新たな分子標的治療薬剤として有用である可能性が推察される。MDS における標的分子である AML1/Evi-1 および TEL 遺伝子についても、三谷らがマウスモデルも含めた詳細な検討を行った。

E. 結論

- (1) 3200 個の BAC プローブを用いて平均解像度 1Mbp で腫瘍ゲノムに生ずるコピー数変化を検出することが可能な BAC アレイ Human 1M アレイを独自に開発し、これを用いて MDS および CML のゲノムのゲノム異常を明らかにした。
- (2) Affymetrix®社の SNP アレイを用いて、高度の正常細胞の混入を有する腫瘍試料について、自己正常対照に依存することなく、アレル特異的なゲノムコピー数を高精度に解析することを可能とするプログラム CNAG/AsCNAR を開発した。
- (3) CNAG/AsCNAR を用いた高密度 SNP アレイ解析により種々の病型を含む計 1250 例の造血器腫瘍試料の molecular allelotyping を行うことにより、造血器腫瘍で病型特異的に認められるゲノムの異常の網羅的探索をおこない、小児 ALL おける PAX5、MDS における MDS-A 遺伝子、その他の新規標的遺伝子、およびその候補を多数同定した。
- (4) 抗メチル化シトシン抗体とタイリングアレイを用いたゲノム網羅的なメチル化 DNA 解析システムを構築した。
- (5) MDS では TEL 遺伝子の発現低下、ドミナントネガティブタイプのアイソフォームが高頻度にもとめられ、TEL の機能的活性の低下が MDS の

発症に関与している可能性が示唆された。

(6)非ホジキンリンパ腫(活性化 B 細胞型)の一部において、Notch2 が標的分子となっており、点変異および遺伝子増幅により活性化されていることを明らかにした。

(7)以上、多数の造血器腫瘍検体について、ゲノムコピー数の異常およびアレル不均衡の異常を最先端のマイクロアレイ技術を用いて網羅的に解析することにより、新たな分子標的薬剤ないし分子診断技術開発の知的基盤の構築が達成された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Sanada M, Uike N, Ohyashiki K, Ozawa K, Lili W, Hangaishi A, Kanda Y, Chiba S, Kurokawa M, Omine M, Mitani K, Ogawa S. Unbalanced translocation der(1;7)(q10;p10) defines a unique clinicopathological subgroup of myeloid neoplasms. *Leukemia*. 2007.
2. Jacobs S, Thompson ER, Nannya Y, Yamamoto G, Pillai R, Ogawa S, Bailey DK, Campbell IG. Genome-wide, high-resolution detection of copy number, loss of heterozygosity, and genotypes from formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissue using microarrays. *Cancer Res*. 67:2544-2551, 2007
3. Suzuki T, Yokoyama Y, Kumano K, Takanashi M, Kozuma S, Takato T, Nakahata T, Nishikawa M, Sakano S, Kurokawa M, Ogawa S, Chiba S. Highly efficient ex vivo expansion of human hematopoietic stem cells using Delta1-Fc chimeric protein. *Stem Cells*. 24:2456-2465, 2006
4. Nakagawa M, Ichikawa M, Kumano K, Goyama S, Kawazu M, Asai T, Ogawa S, Kurokawa M, Chiba S. AML1/Runx1 rescues Notch1-null mutation-induced deficiency of para-aortic splanchnopleural hematopoiesis. *Blood*. 108:3329-3334, 2006.
5. Hosoya N, Sanada M, Nannya Y, Nakazaki K, Wang L, Hangaishi A, Kurokawa M, Chiba S, Ogawa S. Genomewide screening of DNA copy number changes in chronic myelogenous leukemia with the use of high-resolution array-based comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer*. 45:482-494, 2006.
6. Nakamura Y, Yamagata T, Maki K, Sasaki K, Kitabayashi I, Mitani K. TEL/ETV6 binds to corepressor KAP1 via the HLH domain. *Int J Hematol*. 84: 377-380, 2006.
7. Yamagata T, Maki K, Waga K, Mitani K. TEL/ETV6 induces apoptosis in 32D cells through p53-dependent pathways. *Biochem Biophys Res Commun*. 347:517-526, 2006.
8. Tokita K, Maki K, Tadokoro J, Nakamura Y, Arai Y, Sasaki K, Eguchi-Ishimae M, Eguchi M, Mitani K. Chronic idiopathic myelofibrosis expressing a novel

type of TEL-PDGFRB chimaera responded to imatinib mesylate therapy. *Leukemia* 21:190-192, 2006.

9. Nitta E, Izutsu K, Yamaguchi Y, Imai Y, Ogawa S, Chiba S, Kurokawa M, Hirai H. Oligomerization of Evi-1 regulated by the PR domain contributes to recruitment of corepressor CtBP. *Oncogene*. 24:6165-6173, 2005.

10. Nannya Y, Sanada M, Nakazaki K, Hosoya N, Wang L, Hangaishi A, Kurokawa M, Chiba S, Bailey DK, Kennedy GC, Ogawa S. A robust algorithm for copy number detection using high-density oligonucleotide single nucleotide polymorphism genotyping arrays. *Cancer Res*. 65:6071-6079, 2005.

11. Lee SY, Kumano K, Masuda S, Hangaishi A, Takita J, Nakazaki K, Kurokawa M, Hayashi Y, Ogawa S, Chiba S. Mutations of the Notch1 gene in T-cell acute lymphoblastic leukemia: analysis in adults and children. *Leukemia*. 19:1841-1843, 2005.

12. Hosoya N, Qiao Y, Hangaishi A, Wang L, Nannya Y, Sanada M, Kurokawa M, Chiba S, Hirai H, Ogawa S. Identification of a SRC-like tyrosine kinase gene, FRK, fused with ETV6 in a patient with acute myelogenous leukemia carrying a t(6;12)(q21;p13) translocation. *Genes Chromosomes Cancer*. 42:269-279, 2005.

13. Takahashi W, Sasaki K, Komatsu N, Mitani K. TEL/ETV6 accelerates erythroid differentiation and inhibits megakaryocytic maturation in a human leukemia cell line UT-7/GM. *Cancer Sci* 96: 340-348, 2005

14. Nakamura F, Nakamura Y, Maki K, Sato Y, Mitani K. Cloning and characterization of a novel chimeric gene *TEL/PTPRR* in acute myelogenous leukemia with inv(12)(p13q13). *Cancer Res* 65: 6612-6621, 2005

15. Maki K, Yamagata T, Asai T, Yamazaki I, Oda H, Hirai H, Mitani K. Dysplastic definitive hemato-poiesis in *AML1/Evi-1* knock-in embryos. *Blood* 106: 2147-2155, 2005

2. 学会発表

1. Sanada M, Nanya Y, Nakazaki K, Wang L, Hosoya N, Hangaishi A, Kurokawa M, Baily DK, Kennedy GC, Chiba S, Omine M, Ogawa S. Genome-wide high-resolution analysis of DNA copy number changes in Myelodysplastic syndromes using BAC-CGH array and oligonucleotide SNP genotyping array. Human Genome Meeting 2005. (HGM2005 Programme and Abstract book,83).

2. Nanya Y, Sanada M, Nakazaki K, Kanai K, Hosoya N, Wang L, Hangaishi A, Kurokawa M, Chiba S, Omata M, Baily .DK, Kennedy GC, Ogawa S. (2005). Development of a robust algorithm for genetic alterations in cancer genomes using Affymetrix SNP-genotyping microarrays with its applications to large-scale copy number/LOH/allelic imbalance mapping of

cancer genomes. The 55th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics. (Abstracts ASHG 55th Annual Meeting, 80)

3. Sanada M, Nanya Y, Nakazaki K, Yamamoto G, Hosoya H, Wang L, Hangaishi A, Kurokawa M, Chiba S, Ogawa S. (2005). Genome-wide analysis of copy number analysis of Myelodysplastic syndromes using high-density SNP-genotyping microarrays. The 47th Annual Meeting of the American Society of Hematology. (Blood. 106, Abstract #3240)

4. Nakazaki K, Nannya Y, Sanada M, Yamamoto G, Aoyama C, Nakamura F, Hosoya N, Wang L, Hangaishi A, Kurokawa M, Chiba S, Ogawa S. (2005). Genome-Wide Analysis of Copy Number Alterations/LOH/Allelic Imbalances in Non-Hodgkin Lymphoma Using Ultrahigh-Density SNP-Genotyping Microarrays with the Robust CNAG Algorithms. (Blood106, Abstract #420)

5. Nannya Y, Sanada M, Nakazaki K, Hosoya N, Wang L, Hangaishi A, Chiba S, Baily DK, Kennedy GC, Ogawa S. Copy number detection algorithm using oligonucleotide SNPs genotyping array, Human Genome Meeting 2005. (HGM2005 Programme and Abstract book,264).

1. 真田 昌、山本 豪、南谷 泰仁、中崎 久美、王 莉莉、加藤 元博、細谷 紀子、半下石 明、千葉 滋、黒川 峰夫、小川 誠司 高密度 SNP アレイを用いた骨髄異形成症候群・骨髄増殖性疾患の網羅的なアレル不均衡/LOH の解析 一般口演 O-717 (第 64 回日本癌学会総会記事 p447)

2. 山本 豪、南谷 泰仁、真田 昌、中崎 久美、王 莉莉、半下石 明、細谷 紀子、千葉 滋、黒川 峰夫、小川 誠司 高密度オリゴアレイを用いた成人白血病における UPD の網羅的解析 一般口演 O-718 (第 64 回日本癌学会総会記事 p448)

3. 中崎 久美、真田 昌、南谷 泰仁、山本 豪、細谷 紀子、王 莉莉、半下石 明 1、黒川 峰夫、千葉 滋、小川 誠司 高密度オリゴヌクレオチドアレイを用いた慢性リンパ球性白血病の網羅的なゲノム解析 一般口演 O-715 (第 64 回日本癌学会総会記事 p447)

4. 南谷 泰仁、真田 昌、中崎 久美、山本 豪、王 莉莉、細谷 紀子、半下石 明、千葉 滋、黒川 峰夫、小川 誠司 小児急性リンパ性白血病の網羅的ゲノム解析 一般口演 O-714 (第 64 回日本癌学会総会記事 p447).

5. 加藤 元博、真田 昌、滝田 順子、山本 豪、南谷 泰仁、陳 玉彦、細谷 紀子、半下石 明、五十嵐 隆、小川 誠司、林 泰秀 超高密度オリゴヌクレオチドアレイを用いた若年性骨髄単球性白血病(JMML)の解析 一般口演 O-722 (第 64 回日本癌学会総会記事 p449)

6. 中崎久美, 南谷泰仁, 真田昌, 細谷紀子, 王莉莉, 半下石明, 黒川峰夫, 千葉滋,

BaileyDione K, KennedyGiulia C, 小川誠司. 高密度オリゴヌクレオチドアレイを用いたリンパ系腫瘍の網羅的なゲノム解析. 第 67 回日本血液学会総会・第 47 回日本臨床血液学会総会. (日本血液学会・日本臨床血液学会回総会プログラム・抄録集 67 回 47 回, 759, 2005).

G. 知的財産権の出願・登録状況

Affymetrix GeneChip を用いた悪性腫瘍における網羅的なゲノムコピー数/LOH 解析プログラム (CNAG) の開発

平成18年度

政策創薬総合研究
重点研究報告書(Ⅰ)

平成19年7月31日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号
共同ビル(小伝馬町駅前)4F
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社