

次にnot otherwise categorized群について検討を行った。この疾患群では種々の遺伝子変異が認められ、染色体異常の有無で比較をすると、染色体正常核型群では、既報の通り、*FLT3*、*NPM1*、*CEBPA*遺伝子変異が高頻度に認められた。また、染色体異常を有する群では様々な遺伝子変異が認められたが、染色体正常症例で多くみられた*CEBPA*遺伝子変異は少数しか認められなかった。not otherwise categorized群全体で予後について検討を行ったところ、*C/EBPA*遺伝子変異が予後良好因子として、*FLT3*-internal tandem duplication(ITD)変異が予後不良因子として抽出された(図2)。

また、いずれの遺伝子変異も有しない症例群の子後の細分化が可能な遺伝子変異は認められなかった。

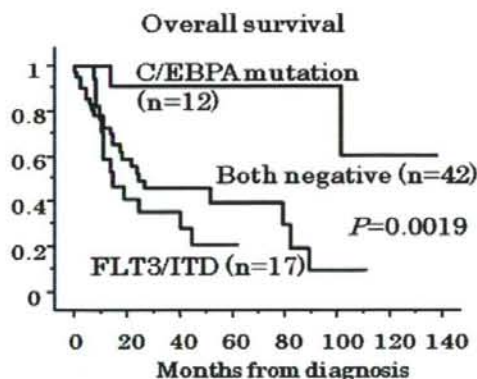


図2.AML-NOC患者における、*CEBPA*遺伝子変異を有する症例群、*FLT3/ITD*変異を有する症例群、いずれの遺伝子変異も有しない症例群での全生存率(OS)曲線

Multilineage dysplasia群について、染色体異常別に見た、遺伝子変異の有無について検討を行った。

まず、染色体複雑核型の症例群では10例中8例で*TP53*遺伝子変異がみとめられた。今回、検討した150例全体で見ても*TP53*遺伝子変異を有する12例中9例はAML-MLDに分類され、その内8例が染色体複雑核型であった。一方、染色体複雑核型を有する17例中10例はAML-MLDに分類されるとともに、9例に*TP53*遺伝子変異を認めた。このように*TP53*遺伝子変異と染色体複雑核型を有する症例はAML-MLD群に特徴的に存在した。また、このような症例群は、予後不良であるAML-MLD群においても有意に低い寛解導入率(25%, $p=0.03$)と生存率($p=0.0016$)を示

した。

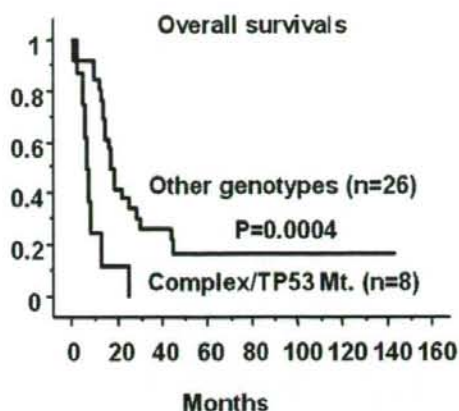


図3.AML-MLD患者における、染色体複雑核型かつ*TP53*遺伝子変異を有する群とそれ以外の症例群での全生存率(OS)曲線

また、AMLで予後中間群とされている染色体正常核型AMLにおいてもMLD群とNOC群では存在する遺伝子異常に相違が認められ、*NPM1*遺伝子変異はMLD群に有意に高頻度に認められた(56%, 25%, $p=0.027$)。予後について検討を行ったところ、MLD群は有意に低い生存率($p=0.02$)を示した。

D. 健康危険情報
該当無し。

E. 研究発表

1. 論文発表

- Sato T, Toki T, Kanazaki R, Xu G, Terui K, Kanegane H, Miura M, Adachi S, Migita M, Morinaga S, Nakano T, Endo M, Kojima S, Kiyoi H, Mano H, Ito E. Functional analysis of JAK3 mutations in transient myeloproliferative disorder and acute megakaryoblastic leukaemia accompanying Down syndrome. *Br J Haematol*.141:681-688,2008.
- Murata M, Ishikawa Y, Ohashi H, Terakura S, Ozeki K, Kiyoi H, Naoe T. Donor cell leukemia after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: a case report and literature review. *Int J Hematol*.88:111-115, 2008.
- Narimatsu H, Iino M, Ichihashi T, Yokozawa T, Hayakawa M, Kiyoi H, Takeo T, Sawamoto A, Iida H, Tsuzuki M, Yanada M, Naoe T, Suzuki R, Sugiura I. Clinical significance of minimal residual disease in patients with t(8;21) acute myeloid leukemia in Japan. *Int J*

Hematol.88:154-158,2008.

4. Gotoh M, Sasaki Y, Iguchi T, Fujimoto H, Kodama A, Kiyoi H, Naoe T, Ohyashiki K. Karyotypically independent clones with del(11q) and trisomy 10 in acute myeloid leukemia: trisomy 10 may appear as an additional change. **Int J Hematol.**88:123-124,2008.
5. Iwasaki T, Katsumi A, Kiyoi H, Tanizaki R, Ishikawa Y, Ozeki K, Kobayashi M, Abe A, Matsushita T, Watanabe T, Amano M, Kojima T, Kaibuchi K, Naoe T. Prognostic implication and biological roles of RhoH in acute myeloid leukaemia. **Eur J Haematol.**81:454-460,2008.
6. Ishida H, Isami S, Matsumura T, Umehara H, Yamashita Y, Kajita J, Fuse E, Kiyoi H, Naoe T, Akinaga S, Shiotsu Y, Arai H. Novel and orally active 5-(1,3,4-oxadiazol-2-yl)pyrimidine derivatives as selective FLT3 inhibitors. **Bioorg Med Chem Lett.**18:5472-5477,2008.
7. Tanizaki R, Katsumi A, Kiyoi H, Kunishima S, Iwasaki T, Ishikawa Y, Kobayashi M, Abe A, Matsushita T, Watanabe T, Kojima T, Kaibuchi K, Kojima S, Naoe T. Mutational analysis of SOS1 gene in acute myeloid leukemia. **Int J Hematol.**88:460-462,2008.
8. Abe A, Minami Y, Hayakawa F, Kitamura K, Nomura Y, Murata M, Katsumi A, Kiyoi H, Jamieson CH, Wang JY, Naoe T. Retention but significant reduction of BCR-ABL transcript in hematopoietic stem cells in chronic myelogenous leukemia after imatinib therapy. **Int J Hematol.**88:471-475,2008.
9. Ishikawa Y, Xu J, Sakashita G, Urano T, Suzuki T, Tomita A, Kiyoi H, Nakamura S, Naoe T. Abnormal cytoplasmic dyslocalisation and/or reduction of nucleophosmin protein level rarely occurs in myelodysplastic syndromes. **Leuk Lymphoma.**49:2359-2364,2008.
2. 学会発表
1. Abe A, Kiyoi H, et al. Retention but Significant Reduction of BCR-ABL Transcript in Hematopoietic Stem Cells in Chronic Myelogenous Leukemia after Imatinib Therapy. The American Society of Hematology 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
9. Sugimoto T, Kiyoi H, et al. Relationship between the American Society of Hematology 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
2. Minami Y, Kiyoi H, et al. Treatment with Hsp90 Inhibitor, 17-AAG Overcomes Resistance to Small Molecule FLT3-Inhibitors in FLT3/ITD-Positive Leukemia Cells Harboring N676K-Mutation. The American Society of Hematology 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
3. Wakita A, Kiyoi H, et al. A Randomized Trial Comparing Individualized Vs. Non-Individualized Treatment for Elderly Acute Myeloid Leukemia: JALSG GML200 Study. The American Society of Hematology 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
4. Ishikawa Y, Kiyoi H, et al. The Genotype Consisting of Complex Karyotype and TP53 Gene Mutation Is Specific to Acute Myeloid Leukemia with Multilineage Dysplasia. The American Society of Hematology 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
5. Katsumi A, Kiyoi H, et al. Prognostic Implication and Biological Roles of RhoH in Acute Myeloid Leukemia. The American Society of Hematology 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
6. Shiotsu Y, Kiyoi H, et al. KW-2449, a Novel Multi-Kinase Inhibitor, Suppresses the Growth of Imatinib-Resistant Ph+ Leukemia Including BCR-ABL/T315I Both in Vitro and in Vivo. The American Society of Hematology 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
7. Ohtake S, Kiyoi H, et al. Updated Results of JALSG AML201 Study Comparing Intensified Daunorubicin with Idarubicin in Patients with De Novo Acute Myeloid Leukemia: Effect of Hematopoietic Stem Cell Transplantation. The American Society of Hematology 50th Annual Meeting. Dec 2008, San Francisco USA.
8. Miyawak S, Kiyoi H, et al. Long-Term Follow-up of the Randomized JALSG AML 201 Study Comparing High Dose Ara-C Therapy with Conventional Consolidation Therapy in Adult Acute Myeloid Leukemia (AML). The Effect of Post-Translational Modification of CD20 Protein and the Responsiveness to Rituximab Treatment. The American Society of

Hematology 50th Annual Meeting, Dec
2008, San Francisco USA.

発明者：太田義久、金井文彦、奈良真二、神田
裕、梅原浩司、塩津行正、直江知樹、清井仁
登録日：2008年12月30日

F. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. 特許取得

米国特許第7,470,717号

発明の名称：Indazole Derivatives

2. 実用新案登録
該当無し。

3. その他
該当無し。

「塗抹検体からのDNA抽出」

分担研究者 小林 幸夫 国立がんセンター 中央病院 臨床検査部

研究要旨

パラフィン包埋標本と骨髄の塗抹標本からのDNA抽出を試みた。パラフィン包埋標本はエタノール固定検体をマーカー染色後、必要細胞を顕微鏡で確認下マイクロダイセクションを行いPCR反応液に100細胞を捕捉してproteinase処理を行いその失活後、高精度高感度polymerase酵素でPCRを行ったところ200bp程度の塩基配列決定が可能であった。

骨髄塗抹標本はカルノワ固定標本を用いた。直接PCR反応液を滴下させ、ピペットで細胞を剥離してPCRチューブに移して以降のDNA抽出操作を行い、同様にPCR産物を得られた。微量検体でも十分塩基配列決定が可能であることがわかったが、通常保存されているのはギムザ染色による標本である点が異なるがメタノール固定であることを考えると十分使用可能であると考えられる。

A. 研究目的

すべての施設で確実に保存されている白血病検体は骨髄あるいは末梢血の塗抹標本である。この検体から材料が採取可能であれば、たとえばある遺伝子の変異の有無による予後の解析などレトロスペクティブの解析が可能となる。骨髄、末梢血塗抹標本は比較的保管されていることが多いので、これらの検体を用いて、DNA抽出、塩基配列決定が可能であるかどうかを検討した。微量検体からの抽出の可否を判断するためにエタノール固定のホジキンリンパ腫のサンプルからホジキン細胞をmicrodissection法で切り出した細胞を用いた。また、塗抹標本からの抽出することの可否を判断するためにカルノワ固定された骨髄塗抹標本で検討した。

B. 研究方法

1. 4 μ mホルマリン固定パラフィン包埋組織スライドホルマリン固定パラフィン包埋組織スライドからのDNA抽出とPCR。

組織部分を滅菌した葉匙により鈍的に剥離し、0.1M NaOH 100 μ lと共に1.5ml マイクロチューブに分注した。よく混和した後にヒートブロックで100 $^{\circ}$ C、20分間インキュベートした。室温で15分冷却した後、4 $^{\circ}$ Cで保存した。この原液を0.5 μ lに滅菌蒸留水18.6 μ l、10x PCR Buffer(100mM Tris-HCl, 500M KCl) 2.5 μ l、250mM Mg 溶液0.15 μ l、dNTP混合液(dATP, dCTP, dGTP, dTTPを各2.5 mM) 0.5 μ l、20mM プライマー2.5 μ l、DNA polymeraseとしてEx Taq HS (Takara)0.25 μ lを加えて、DNA混合液の総量を5 μ lとした。Tyrosine hydroxylase 遺伝子 (TH01), Von

Willebrand factor 遺伝子 (vWA), D5S818 遺伝子 (D5S818)のPCRをPCRは通常法で行った。

コントロールとして同一症例の凍結組織から抽出したDNAを使用した。

吸光度によって抽出・増幅DNA量を測定した。Bioanalyzerを用いて電気泳動を行い (DNA 500 LabChip (Agilent Technologies)) を使用した。ChipにGel-dye mix, DNA Marker, DNA Ladderを注入後、各wellに各DNA増幅産物を1 μ l注入した。Chipを1分間攪拌した後、Agilent 2100 bioanalyzer (Agilent Technologies)により泳動した。

2. マイクロダイセクションによるシングルセルからのDNA抽出とPCR

Leica社製のmicro-dissectionシステムを用いた。ダイセクションした切片がcapに付着したままにならないように注意して、1 \times Phusion HF Reaction Buffer 25 μ l bufferを入れたtube底に落とした。Tris buffer 0.5 μ lにproteinase K (20mg/ml)を最終濃度0.2mg/mlとなるように加え、混和した。60 $^{\circ}$ Cで一晩incubationした後、98 $^{\circ}$ C、10分でproteinase Kを失活させた。

1.5ml tubeに溶液を全量移し、16,000 \times g、2分、遠心した。上清をPCRサンプルとしてPhusion DNA polymeraseを用いてTNF関連遺伝子のPCR、塩基配列決定を行った。

3. カルノワ固定骨髄からのDNA抽出, PCR

QIAGEN QIAamp DNA Mini Kitを用いた。Buffer ATL 90 μ lを塗抹部分にのせ、平型のチ

ップ先で剥離し、1.5ml tube へ入れることを3回繰り返した。85℃で10分間インキュベートした後、室温に戻し、Proteinase Kを30μl 加え、56℃で1時間～インキュベートを行った。Buffer AL 300μl 加え、vortex で十分に混和して、70℃で10分間インキュベートした。100% EtOH 300μl 加え、vortex で十分に混和した。QIAamp Mini Spin Column にサンプルを半量ずつ載せ、洗浄後、抽出buffer 150μl で抽出する。

C. 研究結果

ホルマリン固定パラフィン包埋組織スライドより抽出したDNAでは凍結組織から抽出したDNAと比較し、OD値で確認する限り不純物が含まれていることが明らかであったが、DNA抽出、塩基配列検出は可能であった。

マイクロダイセクションによる 100 個程度の細胞からも 10 回程度の PCR が可能な DNA が抽出でき、200bps ごとに計 2kbps が判読できた。より高精度で高感度である Phusion DNA polymerase によることが大きいと考えられる。

適切な DNA 抽出キットの選択によって骨髄塗抹標本 1 枚から DNA は 5μg 抽出された。この量は現在知られている一回に必要な DNA の量を 10-50ng とすると、理論上 1000 回分以上の量であるので、包括的に塩基配列決定が可能な用量である。

通常保存されているのはギムザ染色による標本であり、固定はメタノール単独である。カルノワ固定(メタノール+酢酸)では DNA がいったん酸性液に触れるので、不安定であるといわれている。一方、ギムザ染色では残るので赤血球膜などが以後の酵素反応を阻害する可能性と、経時変化を受けやすいといわれているがFISH法でも十分可能であることから推察すると DNA は安定と考えられる。現在、通常の標本での DNA 収率、安定性を検討中である。

D. 健康危険情報

該当無し。

E. 研究発表

1. 論文発表

1. Maeshima A, Kobayashi Y, et al. Diffuse large B-cell lymphoma after transformation from low-grade follicular lymphoma: morphological, immunohistochemical and FISH analyses. **Cancer Science** 2008, 99:1760-8.
2. Sentani K, Kobayashi Y, et al. Follicular lymphoma of the duodenum: clinicopathologic

analysis of 26 cases. **Jpn J Clin Oncol** 2008, 38:547-52.

3. Ono M, Kobayashi Y et al. Nocardia exalbida brain abscess in a patient with follicular lymphoma. **Int J Hematol** 2008, 88: 95-100.
4. Maruyama D, Kobayashi Y, et al. Stromal Cells in Bone Marrow Play Important Roles in Pro-Inflammatory Cytokine Secretion Causing Fever Following Bortezomib Administration in Patients with Multiple Myeloma. **Int J Hematol**. 2008, 88: 396-402.
5. Yokoyama H, Kobayashi Y, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient with B-cell lymphoma during rituximab-containing chemotherapy: case report and review of the literature. **Int J Hematol**. 2008, 88:443-7.
6. Ogawa Y, Kobayashi Y, et al. Phase I and II pharmacokinetic and pharmacodynamic study of the proteasome inhibitor bortezomib in Japanese patients with relapsed or refractory multiple myeloma. **Cancer Sci**. 2008 99:140-4.
7. Maeshima AM, Kobayashi Y, et al. Histological and immunophenotypic changes in 59 cases of B-cell non-Hodgkin's lymphoma after rituximab therapy. **Cancer Sci** (in press)

2. 学会発表

50th American Society of Hematology

1. Kato M, Kobayashi Y, et al. Genome-Wide Analysis of B Cell Non-Hodgkin's Lymphoma Disclosed Frequent Involvement of Genes in NFκB Pathway.
2. Tobinai K, Kobayashi Y, et al. Phase I and Pharmacokinetic Study of Inotuzumab Ozogamicin (CMC-544) as a Single Agent in Japanese Patients with Follicular Lymphoma Pretreated with Rituximab.

F. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得
該当無し。
2. 実用新案登録
該当無し。
3. その他
該当無し。

「Major *bcr-abl* mRNA定量におけるTMA法(Amp-CML)とRealtime quantitative PCRの相関」
分担研究者 矢ヶ崎史治 埼玉医科大学国際医療センター 造血器腫瘍科 講師

研究要旨

慢性期CMLでは、イマチニブによりMajor *bcr-abl* mRNAの3Log減少（Major Molecular Response到達）が認められた場合、予後良好である事がIRIS研究から報告されている。日本ではTMA法を用いたRNA定量法であるAmp-CMLが保険適用を受けJALSG,CML207研究のプライマリエンドポイントの評価に採用されているが、海外で得られた知見と比較するには、Amp-CMLと海外の検査法との相関を明らかにする必要がある。今回我々はイマチニブ治療中の患者末梢血を用いて、Amp-CML、ヨーロッパ標準法、およびGAPDHを内部標準としたIn-house RQ-PCR法によりMajor *bcr-abl* mRNA 定量を行い、相関性を検討した。その結果、Amp-CMLと他法との相関は、MMRの指標となるEAC法(FusionQuant@M-BCR)で0.1%、In-houseRQ-PCR法で100copies/ μ gRNAまで良好な相関を示し、Amp-CML法で100copies/ μ g RNA以下をMMR到達の判断に用いて良いと考えられた。

A. 研究目的

慢性骨髄性白血病(CML)はイマチニブにより、投与開始後12ヶ月で69%がCCRに到達し、Major *bcr-abl* mRNA定量を用いたモニタリングにより、CCR到達例の59%で、腫瘍量が治療開始時の1/1000以下に達するMajor Molecular Response (以下MMR)が得られる。IRIS研究によれば治療開始後18ヶ月でMMRに到達した際の60ヶ月でのPFSは100%であり、MMR到達は治療目標の一つとして提唱されている。IRIS研究では、各検査施設において治療前患者30例の*bcr-abl*/*bcr*比を求め、その中央値を治療前基準値と定めて、基準値より1/1000に達したものをMMRと定義したが、現在は標準検体を用いた各検査施設間での測定値の補正を行い、どの施設の検査結果でもMMRが0.1%と表現できるようになっている。日本では*bcr-abl*定量法としてAmp-CML法が保険適用を受け、CML207研究でも主要評価項目であるMMRの評価に採用された。しかし、Amp-CML法を分子生物学的効果判定に用いるためにはヨーロッパ標準法(FusionQuant@M-BCR)やGAPDHを内部標準としたRQ-PCR（以下in-house RQ-PCR）との相関を明らかにする必要がある。今回我々はRNA保存がAmp-CMLの測定結果に与える影響とCML患者末梢血でのAmp-CML、in-house RQ-PCR、およびFusionQuant@M-BCRの測定結果を比較することにより、MMR評価におけるAmp-CMLの信頼性を検討した。

B. 研究方法

対象はCMLと診断されイマチニブによる治療

中の患者62名より採取した末梢血64検体および健常者末梢血50検体で、患者検体を用いた研究の遂行にあたっては、患者からのインフォームドコンセントを得た。測定には、Amp-CML、In-house RQ-PCR、FusionQuant@M-BCRを用い、マニュアルに基づき実施した。また保存検体を用いた後方視的解析の可能性を検討するために一部の検体で抽出直後と約1年後の保存検体(-80℃)を用いてAmp-CMLの測定結果を比較した。

C. 研究結果

Amp-CML、in-house RQ-PCR、およびFusionQuant@M-BCRの測定値は3法間全てで良好な相関（相関係数： $R > 0.97$ 、 $P < 0.01$ ）を示しAmp-CMLで100copies/ μ g RNA以下をMMR到達の指標とするべきと考えられた。また凍結RNA 19検体では抽出1週間以内と1年後のAmp-CMLによる測定結果は良好な相関（ $R > 0.93$ 、 $P < 0.01$ ）を示し、約1年間のRNA凍結保存は検査結果に影響を与えないことが示された。

D. 健康危険情報:該当無し。

E. 研究発表:該当無し。

1. 論文発表

1. Yanada M, Sugiura I, Takeuchi J, Akiyama H, Maruta A, Ueda Y, Usui N, Yagasaki E, Yujiri T, Takeuchi M, Nishii K, Kimura Y, Miyawaki S, Narimatsu H, Miyazaki Y, Ohtake S, Jinnai I, Matsuo K, Naoe T, Ohno R. Prospective monitoring of BCR-ABL1 transcript levels in

patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia undergoing imatinib-combined chemotherapy. **Br J Haematol.** 143: 503-510, 2008.

2. 矢ヶ崎 史治、丹羽 敏博、阿部 亜紀、石川 真穂、加藤 千明、小倉 健二、佐々木 宏、許 泰一、陣内 逸郎、別所 正美、宮村 耕一 Major bcr-abl mRNA定量におけるTMA法 (Amp-CML) と Realtime quantitative PCRの相関 臨床血液 (in press)

2. 学会発表:該当無し。

F. 知的財産権の出願・登録状況:該当無し。

1. 特許取得
該当無し。

2. 実用新案登録
該当無し。

3. その他
該当無し。

「検体由来白血病細胞上の治療関連分子の選択」
分担研究者 竹下明裕 浜松医科大学医学部 臨床検査医学 准教授

研究要旨

標的分子は最近の分子標的治療の進歩とともに大きくクローズアップされ、予後に直結したのも多い。検体を収集し予後因子を解析していく上で、治療の標的となる分子の選択は重要であるが、1つの腫瘍に関しても複数の分子標的が存在する。今回B細胞性腫瘍治療薬である、非抱合型抗CD20抗体であるrituximabと化学療法剤抱合型抗CD22抗体であるinotuzumab ozogamicinの2つの薬剤をモデルとして、標的分子を介した薬剤効果の面から検討を加えた。その結果、後者では細胞表面CD20の発現量や補体抑制因子であるCD55等の標的分子は重要であることが示された。これらの結果は、両分子標的薬のレジメを考える上でも重要であり、細胞回転や細胞の大きさとも深い関わりを保有していた。今後は分子標的薬ががん治療の主体となってくると予想されるが、直接的標的分子のみならず、殺細胞効果に関わる分子の解析も重要である。

A. 研究目的

近年、がんの薬物治療は急速に発展しつつあるが、従来の化学療法に加えて抗体療法や細胞内のシグナル伝達に関わる分子標的療法の開発が盛んである。がん細胞における標的分子の発現の有無や発現量、そして標的分子の変異等により薬剤効果が直接影響されることから、予後に大きく関わる可能性が示唆されている。これらの標的分子を検体収集から得られたがん細胞上で検討することは、薬剤開発から治療方法の選択にいたるまで、有益性が高いと思われる。

B細胞性の造血器腫瘍に関する研究は最近急速に進歩している。なかでも、抗CD20抗体であるrituximabはB細胞性リンパ腫や慢性リンパ性白血病等に有効であり、直接作用、補体依存性細胞障害作用(CDC)そしてNK細胞等を介した細胞障害作用(ADCC)が主たる作用機序として考えられる。これらの作用機序を考える上でCD20に加えてCD55やCD59は重要である。事実rituximabの薬剤耐性機序として、CD20の発現量の減少、CD55とCD59の発現量の増加が報告されている。また、これらの分子の発現を調節する薬剤の報告もある。

Inotuzumab ozogamicin (IO)はcalicheamicin抱合型の抗ヒトCD22ヒト化抗体である。CD22はB細胞上に幅広く分布するが、幹細胞、顆粒球、巨核球細胞上には発現が認められず、抗体が結合すると細胞内に内在化するという特徴を有する。このため抗がん剤や毒素を抱合させ、標的細胞内にこれらを送り込むことが可能である。IOはrituximabと異なった分子標的を持つことから、rituximabに耐性となったB細胞腫瘍にも有効と

思われ、期待されている。

今回新規抗体IOの標的分子への影響に関して、rituximabとの併用の面から検討した。また *in vitro* の薬剤効果に関し、これらの標的分子の量的変化が与える影響を調べた。

B. 研究方法

細胞としてはCD20とCD22陽性のB細胞腫瘍細胞株 daudi 細胞と Raji 細胞を親株として用いた。またこれらの2種類の細胞に多剤薬剤耐性遺伝子であるMRD1を導入した daudi/MDR細胞と Raji/MDR細胞を作成し、使用した。一方、本研究に関して承諾の得られた患者のB細胞をFicoll密度勾配を利用して濃縮し、使用した。標的分子としては、CD20、CD22、CD55、CD59等を、定量的RT-PCR法、蛍光顕微鏡、flow cytometryを使用し、解析した。細胞はrituximab、IOまたは両者と一定時間培養され、その後12-72時間解析された。蛍光標識されたこれらの分子に対する抗体を使用するとともに、IO、gemtuzumab ozogamicin (GO)、calicheamicinそして非抱合型抗CD22ヒト化抗体(GS/44)は米国Wyeth社より提供を受けた。抗原の発現量に加えて *in vitro* の薬剤効果として viable cell count や apoptosis 等の直接作用、CDC や ADCC 効果を観察した。また症例由来細胞を扱う上で、本研究は本学の倫理審査委員会の承認をえた。

C. 研究結果

蛍光顕微鏡下の観察およびflow cytometryではDaudi細胞とRaji細胞においてはIOと培養することで、CD20の発現量の増加と、CD22とCD55の

発現量の低下を認めた。CD59の発現量には変化を認めなかった。Daudi/MDR細胞とRaji/MDR細胞ではこれらの変化は認められなかった。CD20の発現の増加はRT-PCRでは有意差が認められなかった。位相差顕微鏡下の観察においてはIO投与後6-12時間で細胞の大きさが増大し、flow cytometry上でもforward scatterの増大が認められた。Rituximabとの培養ではこれら抗原量の変化は認められなかった。またcalicheamicinを抱合していない抗CD22抗体(G5/44)ではこれらの変化は認められなかった。同様にGOとの反応でも有意な変化を認めなかった。患者由来のB細胞を使用した検討でも同様の結果を得た。CD59発現量が減少している事例も14例中6例に認めた。

in vitroにてrituximabとIOの併用効果を観察した。これら2剤を同時に反応させ、その後の直接効果、CDC、ADCC効果をみた。CDCとADCC効果に関してはrituximab単独に比較して、同時併用群では増強効果は認められなかった。また直接効果ではIO単独に比較して、rituximabの併用効果は認められなかった。IOを12時間前に反応させた群においてはdirect effectおよびCDCが増強していた。Rituximabを先行して反応させた群では併用群と比較して有意差は認められなかった。G5/44抗体ではこれらの変化は認められなかった。抗C3抗体を使用して細胞表面吸着C3量を検討したところ、IOとの反応によりその吸着量の増加を認めた。患者検体を使用した実験でも同様の結果が得られた。

以上より、IOによりB腫瘍細胞のCD20の発現は維持または増加していた。これはIOの先行投与によってもrituximabの標的は一定時間維持されることを意味し、併用の有用性が推測された。IOとの反応により、CD55とCD59の発現の減少が認められたが、これらの抗原が補体反応の抑制因子であることから、CDC反応が増強されることが予想される。事実IOの先行反応により12時間後のrituximabのin vitro CDC作用は増強された。このように直接の標的分子以外でもその作用過程上重要な分子は薬剤効果に重要であり、予後因子となりうる。

本研究の主幹である検体収集事業を遂行し、優れた臨床研究を発信していく上ではエビデンス上重要な分子を含むことは重要である。新規分子標的薬が次々と開発する現在、過去の報告から予後因子を抽出することは困難である。分子標的治療ががん薬物療法の主幹になろうとする現在、既報にとらわれず、臨床研究レジメに採用される薬剤の特異的な分子や作用機序を包含させる必要があることを示した。そのためには、検体を収集し一連の予後因子を平面的に

抽出するのではなく、今後標的とされる分子や、その分子に関連してその発現量が変化する分子にも着目して検討をしていく必要がある。

D. 健康危険情報

該当無し。

E. 研究発表

1. 論文発表

1. Takeshita A, Asai T, Murakami M, Fujihara H, Ishizuka T, Nakai S, Yamada C, Suzumura T, Uchiyama Y, Maekawa M, Shigeno K, Washiyama N, Yamashita K, Unno N, Shinjo K. Effective Blood Utilization via System for Massive Blood Transfusion, including Cardiovascular Operation in Local Areas. **Jpn J Transfusion Cell Therapy** in press.
2. Takeshita A, Yamakage N, Shinjo K, Ono T, Hirano I, Nakamura S, Shigeno K, Tobita T, Maekawa M, Kiyoi H, Naoe T, Ohnishi K, Sugimoto Y, Ohno R. CMC-544 (inotuzumab ozogamicin), an anti-CD22 immuno-conjugate of calicheamicin, alters the levels of target molecules of malignant B-cells. **Leukemia**, in press.

2. 学会発表

1. Wakita A, Ohtake S, Takada S, Yagasaki F, Komatsu H, Miyazaki Y, Kubo K, Kimura Y, Takeshita A, Adachi A, Kiyoi H, Yamaguchi T, Yoshida M, Ohnishi K, Miyawaki S, Naoe T, Ueda R, Ohno R. A Randomized Trial Comparing Individualized Vs. Non-Individualized Treatment for Elderly Acute Myeloid Leukemia: JALSG GML200 Study. **Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)**, Nov 2008; 112: 2961.
2. Fujihara H, Takeshita A, Uchiyama Y, Suzumura T, Yamada C, Nakai S, Shinjo K. The Usefulness of the Expected Elevation Value of Serum Albumin Before Replacement Therapy. **Transfusion (AABB Annual Meeting Abstracts)** Sep 2008; 48: 74A

F. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

該当無し。

2. 実用新案登録

該当無し。

3. その他
特記事項なし

「検体収集より得られた白血病細胞を用いての新規ABLチロシンキナーゼ阻害剤の耐性化機構」
分担研究者 田内哲三 東京医科大学内科第一講座 准教授

研究要旨：検体収集システムより得られた臨床検体を用いて、分子標的薬剤の耐性化機構の解析を行うことは、細胞株から得られない未知の耐性化機構を明らかにする上で重要である。本研究では新規ABLキナーゼ阻害剤(Dasatinib、Nilotinib)耐性細胞株を樹立し、プロテインアレイシステムを用いて未知の耐性化機序を明らかにした。さらにDasatinib、Nilotinib耐性症例より得られた臨床検体を用いて、解析を行った。Dasatinib高度耐性細胞株ではユビクチン-プロテアソームの活性化によってBCR-ABL蛋白発現量が減少しておりLckの発現上昇が確認された。一方、Dasatinib、Nilotinib耐性症例より得られた臨床検体ではT315I、F359VのBCR-ABL遺伝子変異が認められた。臨床的にはBCR-ABL遺伝子変異は耐性化機序の一部であり、臨床検体を用いての詳細な解析が必要と考えられる。

A. 研究目的

イマチニブ療法によるCMLの治療成績は慢性期では大部分の症例に効果が得られるが、年平均2%は急性期へと進展し、効果の喪失を加えると年平均4%は増悪する。また分子寛解に関してはほとんどの症例に微小残存病変(minimal residual disease: MRD)が認められる。イマチニブ治療中のCML症例のPCRデータを解析し、分子的応答の速度論が造血細胞分化の4-COMPARTMENT MODELにより説明可能という仮説をもとに、慢性期CMLのイマチニブ療法における白血病細胞数をBCR-ABL mRNAよりイマチニブ耐性化の算定がなされた。耐性細胞は2年以内に慢性期早期 12%、慢性期後期 32%、移行期 62%で変異が検出されると推定されている。実際に、分子寛解後にイマチニブ投与を中止した場合、ほとんどの症例で再発が見られているため、分子寛解が得られてもイマチニブ継続投与が必要とされる。

これに対し、次世代型ABLキナーゼ阻害剤の開発が進み、平成21年1月21日に本邦においてNilotinib及びDasatinibの製造承認が下された。イマチニブとABLの結合様式はhelix-Cによる比較的大きな結合ポケットを必要とするが、NilotinibはABLとの結合様式を適正化することによってABLに対する親和性がイマチニブよりも向上しているため、基本的薬理作用はイマチニブを強化しT315I変異以外はカバーできる薬剤としてとらえることができる。これに対しDasatinibはSRC-familyチロシンキナーゼとABLチロシンキナ

ーゼを抑制し、イマチニブより300倍以上強力にBCR-ABLチロシンキナーゼ活性を抑制する。しかもT315Iを除くBCR-ABL変異に対しても有効である。Dasatinibの特徴はSRCキナーゼ阻害剤に特有な、少ないcontact pointにてキナーゼドメインと結合することができることに起因しており、イマチニブの延長線上にない薬理学的特性を有する。本研究では次世代ABLキナーゼ阻害剤の耐性化機序を白血病細胞株及び検体収集より得られた白血病細胞を用いて検討した。

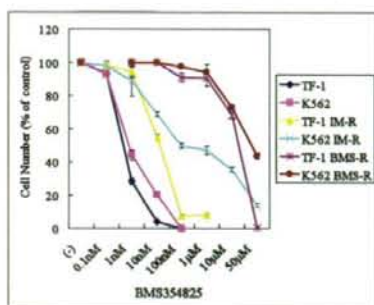
B. 研究方法

BCR-ABL 陽性白血病細胞株、K562 をイマチニブまたは Dasatinib 長期間暴露により耐性細胞株を樹立した。耐性細胞株はプロテインアレイシステム、及び免疫プロットにて解析した。さらに Dasatinib 耐性症例より得られた白血病細胞との差異についても検証した。

C. 研究結果

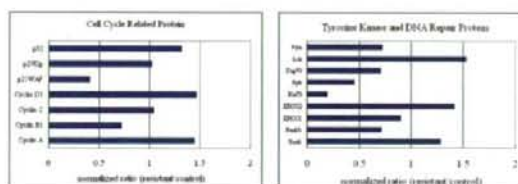
Dasatinib耐性細胞株(K562-BMSR, TF-1-BMSR)及びイマチニブ耐性細胞株(K562-IMR, TF-1-IMR)を樹立した。これらの細胞株ではBCR-ABLキナーゼドメインの遺伝子変異は確認されなかった。

耐性株における、細胞増殖抑制効果



Dasatinib耐性細胞株(K562-BMSR, TF-1-BMSR)では Dasatinib 20μMにても増殖抑制を認めず、臨床上、Cmaxを大幅にうわまわっており、高度耐性を示した。プロテインアレイによる細胞内分子の発現パターンを耐性株を用いて解析した。

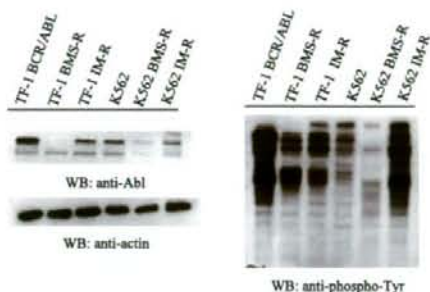
ダサチニブ耐性細胞によるプロテインアレイ解析



Dasatinib耐性株において細胞周期関連分子p53, Cyclin A, CyclinDの発現上昇、p21の発現低下が確認された。チロシンキナーゼ及びDNA修復関連分子ではLck, XRCC2, Rad1の発現増加が認められた。

次に免疫プロットにて細胞内情報伝達分子の解析を行った。

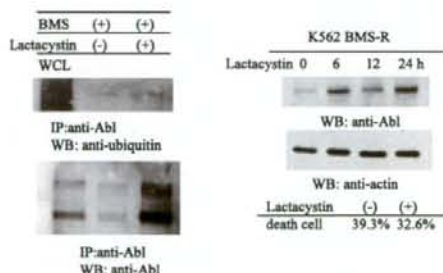
耐性株における、細胞内シグナル解析



Dasatinib耐性細胞株ではBCR-ABL蛋白の発現の低下が確認された。

さらにDasatinib耐性細胞株におけるBCR-ABL蛋白発現の低下のメカニズムについて解析した。Dasatinib耐性細胞株におけるBCR-ABLはユビクチンと共沈降され、さらにプロテアソーム阻害剤であるLactastatinにて処理を行うとBCR-ABL蛋白発現の回復が認められた。このことからDasatinib耐性細胞株におけるBCR-ABL蛋白の発現の低下にはユビクチン-プロテアソームpathwayの関与が示された。

Lactacystin投与によるBCR/ABL蛋白の変化



検体収集によりDasatinib耐性症例から得られた白血病細胞について解析を行った。2症例の検体収集から得られた白血病細胞のBCR-ABLキナーゼドメインの遺伝子変異はT315I, F359Vが確認された。細胞内分子解析を試みたが細胞数が不足しており、十分な結果が得られなかった。臨床的にはBCR-ABL遺伝子変異は耐性化機序の一部であり、臨床検体を用いての詳細な解析が必要と考えられる。

D. 健康危険情報

特になし。

E. 研究発表

1. 論文発表

1. Okabe S, Tauchi T, Ohyashiki K. Characteristics of dasatinib- and imatinib-resistant chronic myelogenous leukemia cells. **Clin Cancer Res.** 14・6181-6186, 2008.
2. Kanda Y, Okamoto S, Tauchi T, et al. Multicenter prospective trial evaluating the tolerability of imatinib for Japanese patients with chronic myelogenous leukemia in the chronic phase: does body weight matter? **Int J Hematol.** 83・835-839, 2008.
3. Kiguchi T, Tauchi T, et al. Compliance with taking imatinib mesylate in patients with chronic myeloid leukemia in the chronic phase. **Leuk Res.** 2008 Jun 2. [Epub ahead of print]
4. Akahane D, Ito Y, Sumi M, Tauchi T, et al. Relapse of chronic myeloid leukemia-chronic phase 14 years after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Int J Hematol.** 88・119-120, 2008.
5. Akahane D, Tauchi T, et al. Activity of a novel Aurora kinase inhibitor against the T315I mutant form of BCR-ABL: in vitro and in vivo studies. **Cancer Sci.** 99・1251-1257, 2008.
6. Ohyashiki K, Kiguchi T, Tauchi T, et al. Leukocytosis is linked to thrombosis at diagnosis, while JAK2 V617F mutation is associated with thrombosis during the course of essential thrombocythemia. **Int J Hematol.** 87・446-448, 2008.
7. Yokoyama T, Miyazawa K, Naito M, Tauchi T, et al. Vitamin K2 induces autophagy and apoptosis simultaneously in leukemia cells. **Autophagy.** 4・629-640, 2008.

2. 学会発表

1. Tauchi T, Akahane D, Okabe S, Ashihara E, Kimura S, Maekawa T, Ohyashiki K. Combined effects of novel heat shock protein 90 inhibitor NVP-AUY922 and nilotinib against mutant forms of BCR-ABL. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2008 ; 112:724.
2. Okabe S, Tauchi T, Kimura S, Maekawa T, Ohyashiki K. The efficacy of histone deac

etylase inhibitor, vorinostat against BCR-ABL positive leukemia cells include ABL kinase domain mutation in monotherapy and in combination with dasatinib. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2008; 112:3194.

3. Okabe S, Tauchi T, Kimura S, Maekawa T, Ohyashiki K. The analysis of HDAC inhibitor, vorinostat efficacy against wild type and BCR-ABL mutant positive leukemia cells in monotherapy and in combination with a pan-aurora kinase inhibitor, MK-0457. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2008; 112:5025.
4. 田内哲三、赤羽大悟、岡部聖一、大屋敷一馬. T315I変異型BCR-ABLに対するMK-0457及びDasatinib併用効果の検討. 第70回日本血液学会総会、京都.
5. 岡部聖一、田内哲三、大屋敷純子、大屋敷一馬. BCR-ABL陽性細胞株に対するオーロラキナーゼ阻害剤MK-0457、HDAC阻害剤(Vorinostat)の有効性の検討. 第70回日本血液学会総会、京都.
6. 神田善伸、岡本真一郎、田内哲三、木崎昌弘、猪口孝一、矢部麻里子、横山建次、伊藤良和、木村之彦、東原正明、別所正美、安藤潔、千葉滋、黒川峰夫、押味和夫、檀和夫、大屋敷一馬、池田康夫. 本邦の慢性骨髄性白血病患者に対するイマチニブ1日400mg投与の安全性、有効性を評価する多施設共同臨床試験. 第70回日本血液学会総会、京都.
7. 北原俊彦、木口亨、田内哲三、伊藤良和、宮澤啓介、木村之彦、大屋敷一馬. 慢性骨髄性白血病におけるイマチニブ服薬コンプライアンス:当科における52症例の検討. 第70回日本血液学会総会、京都.
8. 赤羽大悟、後藤守孝、豊武寿理、藤本博昭、田内哲三、木村之彦、大屋敷一馬. 同種骨髄移植を施行しえた血友病A合併のT細胞性急性リンパ性白血病. 第70回日本血液学会総会、京都.

F. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. 特許取得
特になし

2. 実用新案登録
特になし

3. その他
特になし

「染色体のセントラルレビュー」

分担研究者 滝 智彦 京都府立医科大学大学院医学研究科分子病態検査医学 講師

研究要旨

2008年に行われたWHO分類の改訂にみられるように、白血病における染色体異常の診断の重要性は益々高まっている。昨年度の本研究ではJALSG AML-97臨床試験登録症例の染色体レビューを行い、新規の染色体異常を含む染色体異常の正確な頻度を明らかにした。今年度は昨年度の解析で明らかにした染色体異常と臨床像、特に予後との関係について検討を行った。その結果、これまでの海外の臨床試験での解析結果とは必ずしも一致しない染色体異常と予後との関係が明らかになった。他の臨床試験の結果に頼るのではなく、独自の研究の中の症例における染色体異常と予後との関係を解析することにより予後因子を明らかにすることが重要であると思われた。今後は染色体異常単独でなく、さまざまな遺伝子異常の組み合わせと臨床像との関係の検討が必要であるが、そのための基礎となる染色体異常の正確な診断が重要である。

A. 研究目的

急性骨髄性白血病(AML)にみられる染色体異常は、従来用いられていたFAB分類と強く関連し、2008年に改訂されたWHO分類第4版では、さらに多くの特異的染色体異常がその分類のために採用されている。これらの染色体異常の種類と予後との関係はこれまで海外のいくつかの大規模研究によって検討されてきたが、その評価は必ずしも一定でない。National Comprehensive Cancer Network (NCCN)やBritish Society for Haematology (BSH)などの代表的なガイドラインでも、同じ染色体異常が異なるリスクとして扱われていることが少なくない。かつて予後不良であったt(15;17)を有する急性前骨髄球性白血病が、オールトランスレチノイン酸(ATRA)の登場によって予後良好の白血病に劇的に変化したように、染色体異常と予後との関係は治療の内容により大きく変化する。したがって、他の研究で示された染色体異常と予後との関係が、自分たちの臨床試験でも同様に得られるとは限らない。一方、近年の薬理遺伝学の進歩により、同じ抗がん剤であっても、遺伝的背景によりその効果や副作用の発生しやすさが異なることが明らかになってきた。外国の研究で示された染色体異常と臨床像との関係が日本人にも当てはまるかどうかは、やはり本邦での臨床試験の中での解析でしか明らかにすることはできない。

昨年度の本研究では、JALSG AML-97臨床試験に登録された症例の染色体検査結果のセントラルレビューを行い、その結果明らかになった問題点と染色体異常の特徴について検討した。本年度はその結果を基にした臨床像との比較を行い、特に、染色体異常と予後との関係について検討した。

B. 研究方法

JALSG AML-97登録症例809例のうち、最終的に予後解析が可能だった症例は788例であった。その中で、染色体小委員会によるセントラルレビューが行われた641例について、染色体異常と臨床像との関係を検討した。尚、新たに染色体レビューを行うことができた症例が加わったことと、本臨床試験の対象症例に合致しない症例が解析対象からはずれたことなどにより、以下の染色体異常ごとの症例数は昨年度の報告書の数字と若干異なる。

C. 研究結果

641例のうち、染色体分析が成功しなかった18例を除いた623例(97.2%)の核型が決定でき、そのうちの355例(55.4%)に染色体異常を認めた。

一般的に予後良好群に分類されるt(8;21) (112例)とinv(16) (27例)の寛解率 (89.3%と100%)、5年全生存率(OS) (64.7%と71.5%)、5年無病生存率(DFS) (47.1%と41.5%)は、従来の報告と同様に良好の傾向であった。しかし、報告によりその意義についての評価が分かれる11q23転座(40例)は、中間群とされる正常核型(268例)に比べて寛解率 (75.0% vs. 84.3%)、OS (39.5% vs. 46.7%)、DFS (29.6% vs. 38.0%)とも低い傾向であった。11q23転座は、BSHガイドラインではすべて中間群とされているが、NCCNガイドラインではt(9;11)のみが中間群、その他の11q23異常は不良群とされている。今回の解析では、t(9;11) (9例)は寛解率 (88.9%)、OS (62.5%)、DFS (50.0%)とも良好で、少ない症例数ではあるが、これらの成績はt(8;21)、inv(16)に匹敵するものであった。一方、その他の11q23異常の中ではt(6;11) (9例)の寛解率

(55.6%)、OS (0%)、DFS (0%)が他の11q23異常に比べても低い傾向だった。t(6;11)以外ではdel(11)(q23)の寛解率 (50%)、OS (33.3%)、DFS (0%)が低く、del(11)(q23)の中にはt(6;11)が多く含まれているといわれていることを反映していると考えられた。一方で、11q23転座におけるキメラ遺伝子の違いを染色体レベルで正確に区別することは困難であり、今後はRT-PCR法によるキメラ遺伝子解析を併用したさらに正確な診断が必要である。

その他の特異的な染色体異常として、t(9;22) (8例)、11p15転座 (7例)、t(6;9) (4例)、t(10;11)(p12-14;q21) (4例)、t(16;21)(p11;q22) (4例)などがみられた。これらの症例の多くは従来の報告と同様に予後不良であったが、症例数が少なくその正確な意義についてはさらに症例の蓄積が必要である。

一方、-5/5q-、-7/7q-のような欠失型の異常や、+8のような過剰型の異常の予後因子としての扱いはガイドラインや報告により様々である。これらの異常のそれぞれの頻度はそれほど多くはなく、また他の染色体異常が合併していることが多いため、その臨床的意義の解析は必ずしも容易ではない。

近年、予後良好群に分類されるt(8;21)とinv(16)の中でも、KIT遺伝子の変異を有する症例は予後不良であることや、AMLの約40%を占める正常核型では、FLT3、NPM1、CEBPAの変異の有無によって予後が異なることが報告されている。このように今後は染色体異常単独でなく、さまざまな遺伝子異常の組み合わせと予後をはじめとする臨床像との関係の検討が必要であるが、そのための基礎となる染色体異常の正確な診断が重要である。

D. 健康危険情報

該当無し。

E. 研究発表

1. 論文発表

Kitoh T, Taki T, Hayashi Y, Nakamura K, Iri no T, Osaka M. Transient abnormal myelopoiesis in a newborn with Down syndrome followed by an acute myeloid leukemia: identification of the same structural chromosomal abnormality at both stage of TAM and leukemia. **Cancer Genet Cytogenet** 188: 99-102, 2009.

Ohnishi H, Taki T, Yoshino H, Takita J, Ida K, Ishii M, Nishida K, Hayashi Y, Taniwaki M, Bessho F, Watanabe T. Complex t(1;22;11)(q44;q13;q23) translocation causing MLL-p300 fusion gene in therapy-related acute myeloid leukemia. **Eur J Haematol** 81: 475-480, 2008.

Sawada T, Nishiyama C, Kishi T, Sasazuki T, Komazawa-Sakon S, Xue X, Piao JH, Ogata

H, Nakayama J, Taki T, Hayashi Y, Watanabe M, Yagita H, Okumura K, Nakano H. Fusion of OTT to BSAC results in aberrant up-regulation of transcriptional activity. **J Biol Chem** 283: 26820-26828, 2008.

Taketani T, Taki T, Sako M, Ishii T, Hayashi Y. HLXB9-ETV6 fusion gene in an acute megakaryoblastic leukemia patient and expression of the HLXB9 gene in leukemia and normal B cell lines. **Cancer Genet Cytogenet** 186: 115-119, 2008.

Hiwatari M, Ono R, Taki T, Hishiya A, Ishii E, Kitamura T, Hayashi Y, Nosaka T. Novel gain-of-function mutation in the extracellular domain of the PDGFRA gene in infant acute lymphoblastic leukemia with t(4;11)(q21;q23). **Leukemia** 22: 2279-2280, 2008

Hidaka T, Nakahata S, Hatakeyama K, Hamasaki M, Yamashita K, Kohno T, Arai Y, Taki T, Nishida K, Okayama A, Asada Y, Yamaguchi R, Tsubouchi H, Yokota J, Taniwaki M, Higashi Y, Morishita K. Down-regulation of TCF8 is involved in the leukemogenesis of adult T-cell leukemia/lymphoma. **Blood** 112: 383-393, 2008.

Tanaka R, Kuroda J, Stevenson W, Ashihara E, Ishikawa T, Taki T, Kobayashi Y, Kamitsujii Y, Kawata E, Takeuchi M, Murotani Y, Yokota A, Hirai M, Majima S, Taniwaki M, Maezawa T, Kimura S. Fully automated and super-rapid system for the detection of JAK2V617F mutation. **Leuk Res** 32: 1462-1467, 2008.

Chinen Y, Taki T, Nishida K, Shimizu D, Okuda T, Yoshida N, Kobayashi C, Koike K, Tsuchida M, Hayashi Y, Taniwaki M. Identification of the novel AML1 fusion partner gene, LAF4, a fusion partner of MLL, in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia with t(2;21)(q11;q22) by bubble PCR method for cDNA. **Oncogene** 27: 2249-2256, 2008.

2. 学会発表

滝 智彦, 谷脇雅史, 西田一弘, 本田純久, 宮崎泰司, 大竹茂樹, 竹内 仁, 三浦偉久男, 陣内逸郎, 大屋敷一馬, 坂巻 壽, 宮脇修一, 大野竜三, 直江知樹. JALSG AML97登録症例における染色体異常と臨床像. 第70回日本血液学会総会, 京都, 2009年10月10~12日

知念良顕, 滝 智彦, 山下美穂子, 堤 康彦, 古林 勉, 古林 覚, 大城宗生, 松本洋典, 黒田純也, 堀池重夫, 西田一弘, 大野博文,

鶴池直邦, 谷脇雅史. t(8;19)(p11;p13)を有する急性骨髄性白血病におけるMOZの新規転座相手遺伝子の同定. 第70回日本血液学会総会, 京都, 2009年10月10~12日

堤 康彦, 古林 勉, 大城宗生, 山下美穂子, 松本洋典, 黒田純也, 滝 智彦, 堀池重夫, 島崎千尋, 横田昇平, 谷脇雅史. トリソミー8 (47,XX,+8)が出現し、ダサチニブが有効であったイマチニブ耐性慢性骨髄性白血病. 第70回日本血液学会総会, 京都, 2009年10月10~12日

滝田順子, 加藤元博, 陳 玉彦, 大木健太郎, 山本 豪, 真田 昌, 南谷泰仁, 滝 智彦, 五十嵐隆, 林 泰秀, 小川誠司. 超高密度SNPアレイを用いたMLL再構成陽性小児白血病におけるmolecular allelo-karyotyping. 第70回日本血液学会総会, 京都, 2009年10月10~12日

古林 勉, 堀池重夫, 大城宗生, 山本未央, 佐々木奈々, 山下美穂子, 滝 智彦, 松本洋典, 黒田純也, 島崎千尋, 谷脇雅史. BCR-ABLキナーゼドメイン変異を有するイマチニブ抵抗性CML-CP症例に対するダサチニブの治療経験. 第70回日本血液学会総会, 京都, 2009年10月10~12日

山下美穂子, 山本未央, 佐々木奈々, 大城宗生, 堤 康彦, 藤本佳子, 古林 勉, 谷口享子, 内山人二, 松本洋典, 黒田純也, 滝 智彦, 堀池重夫, 島崎千尋, 谷脇雅史. 再発性急性骨髄性白血病で認められたt(8;17)(q24;q11.2)のゲノムアレイとFISH解析. 第70回日本血液学会総会, 京都, 2009年10月10~12日

Yoshiaki Chinen, Tomohiko Taki, Mihiko Yamashita, Yasuhiko Tsutsumi, Tsutomu Kobayashi, Satoru Kobayashi, Yosuke Matsumoto, Junya Kuroda, Sigeo Horiike, Kazuhiro Nishida, Hirofumi Ohno, Naokuni Uike, Masafumi Taniwaki. Cloning of novel fusion partner gene of MOZ in therapy-related AML with t(8;19)(p11;p13) by bubble PCR method for cDNA. 第67回日本癌学会総会, 名古屋, 2008年10月28~30日

Myoung-ja Park, Tomohiko Taki, Keizo Horibe, Yasuhide Hayashi. PTEN mutations in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia and T-cell non-Hodgkin s lymphoma. 第67回日本癌学会総会, 名古屋, 2008年10月28~30日

2. 実用新案登録
該当無し。

3. その他

F. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
該当無し。

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yamada Y, Ito K, Watanabe Y, Nosaka K, Horikawa K, Hidaka M, Kawano F, Sasaki Y, Mitsuya H, Asou N.	Allogeneic bone marrow transplantation after l-asparaginase-induced pancreatitis in a patient with acute lymphoblastic leukemia.	Leuk Res	32	1944-1946	2008
Tatetsu H, Matsuno F, Takatsu N, Miyake H, Hoshino K, Nosaka K, Horikawa K, Hata H, Mitsuya H and Asou N.	Treatment of therapy-related acute myeloid leukemia occurring in elderly non-Hodgkin lymphoma patients with low-dose cytarabine, aclarubicin and granulocyte colony-stimulating factor.	Leuk Res	33	197-200	2009
Jo A, Tsukimoto I, Ishii E, Asou N, Mitani S, Shimada A, Takashi Igarashi T, Hayashi Y and Nanri T, Iwanaga E, Fujie S, Yamada Y, Horikawa K, Mitsuya H and Asou N.	Age-associated difference in gene expression of pediatric acute myelomonocytic lineage leukemia (FAB M4 and M5 subtypes) and its correlation with prognosis.	Br J Haematol	144	917-929	2009
Yamada Y, Horikawa K, Mitsuya H and Asou N.	Micafungin-induced immune hemolysis attacks.	Int J Hematol		in press	2009
Iwanaga E, Nanri T, Matsuno N, Kawakita T, Mitsuya H, and Asou N.	A JAK2-V617F activating mutation in addition to K11 and FLT3 mutations is associated with clinical outcome in patients with t(8;21)(q22;q22) acute myeloid leukemia	Haematologica		in press	2009
Ishikawa Y, Xu J, Sakashita G, Urano T, Suzuki T, Tomita A, Kiyoi H, Nakamura S, Naoe T, Abe A, Minami Y, Hayakawa F, Kitamura K, Nomura Y, Murata M, Katsumi A, Kiyoi H, Jamieson CH, Wang JY, Naoe T.	Abnormal cytoplasmic dyslocalisation and/or reduction of nucleophosmin protein level rarely occurs in myelodysplastic syndromes Retention but significant reduction of BCR-ABL transcript in hematopoietic stem cells in chronic myelogenous leukemia after imatinib therapy.	Leuk Lymphoma	49	2359-2364	2008
		Int J Hematol	88	471-475	2008

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tanizaki R, Katsumi A, Kiyoi H Kunishima S, Iwasaki T, Ishikawa Y, Kobayashi M, Abe A, Matsushita T, Watanabe T, Kojima T, Kaibuchi K, Kojima S Ishida H, Isami S, Matsumura T, Umehara H, Yamashita Y, Kajita J, Fuse E, Kiyoi H, Naoe T, Akinaga S, Shiotsu Y, Arai H, Iwasaki T, Katsumi A, Kiyoi H Tanizaki R, Ishikawa Y, Ozeki K, Kobayashi M, Abe A, Matsushita T, Watanabe T, Amano M, Kojima T, Kaibuchi K, Naoe T Maeshima A, Omatsu M, Nomoto J, Maruyama D, Kim S-W, Watanabe T, Kobayashi Y. Sentan Ki, Maeshima AM Nomoto J, Maruyama D, Kim S- W, Watanabe T, Kobayashi Y. Ono M, Kobayashi Y, Shbata T, Maruyama D, Kim S-W, Watanabe T, Mikami Y, Tobina Maruyama D, Watanabe T, Heike Y, Nagase K, Takahashi N, Yamasaki S, Waki F, Yokoyama H, Kim SW, Kobayashi Y Yokoyama H, Watanabe T, Maruyama D, Kim SW, Kobayashi Y, Tobinai K	Mutational analysis of SOS1 gene in acute myeloid leukemia. Novel and orally active 5-(1,3,4-oxadiazol-2- yl)pyrimidine derivatives as selective FLT3 inhibitors. Bioorg Med Chem Lett. Prognostic implication and biological roles of RhoH in acute myeloid leukaemia. Diffuse large B-cell lymphoma after transformation from low-grade follicular lymphoma: morphological, immunohistochemical and FISH analyses Follicular lymphoma of the duodenum: clinicopathologic analysis of 26 cases. Nocardia exalbida brain abscess in a patient with follicular lymphoma. Stromal Cells in Bone Marrow Play Important Roles in Pro-Inflammatory Cytokine Secretion Causing Fever Following Bortezomib Administration in Patients with Multiple Myeloma Progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient with B-cell lymphoma during rituximab-containing chemotherapy: case report and review of the literature	Int J Hematol Bioorg Med Chem Lett Eur J Haematol. Cancer Sci Jpn J Clin Oncol Int J Hematol Int J Hematol Int J Hematol	88 18 81 99 38 88 88 88	460-462 5472-5477 454-460 1760-8 547-52 95-100 396-402 443-7	2008 2008 2008 2008 2008 2008 2008 2008