

明らかな形態異常がないことから、診断は全例がMDS-Uであった。骨髄不全の免疫病態を反映するPNH型血球の増加は、13q-単独異常の16例では全例、付加的染色体異常を伴う6例では50%に認められた。免疫抑制療法は単独陽性例14例、付加的異常を伴う例の5例で施行され、有効率はそれぞれ100%、40%であり、各々の10年生存率は83%、67%であった。7例を対象としてSNPアレイを行ったところ、13q13.3から13q14.3にかけて共通欠失領域があることが明らかになった。

#### D. 考察

13q-は2008年のWHO分類において、白血病への移行リスクが中間に位置する中間リスクと定義されている。このため、この染色体異常が検出されると、免疫抑制療法ではなく、脱メチル化薬や、非血縁ドナーからの骨髄移植などの侵襲性の強い治療がわが国でも行われてきた。今回の解析により、13q-陽性骨髄不全、特に単独陽性骨髄不全には前白血病としての性格は全くなく、実態は再生不良性貧血であることが明らかになった。また、単独陽性例では、PNH型血球の増加が例外なくみられることから、13q-陽性造血幹細胞と、PIGA変異造血幹細胞との間には、免疫病態による骨髄不全において生存優位性の獲得に至る何らかの共通機構が存在すると考えられる。このメカニズムが明らかになれば、再生不良性貧血における造血抑制機序を解明できる可能性がある。

#### E. 結論

13q-を伴う骨髄不全は、免疫病態による良性の骨髄不全であり、MDSとしてではなく再生不良性貧血として扱うべきである。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Ohata K, Iwaki N, Kotani T, Kondo Y, Yamazaki H, Nakao S: An Epstein-Barr virus-associated leukemic lymphoma in a patient

treated with rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine for hepatitis-associated aplastic anemia. *Acta Haematol* 2011;127 (96-99)

- 2) Katagiri T, Sato-Otsubo A, Kashiwase K, Morishima S, Sato Y, Mori Y, Kato M, Sanada M, Morishima Y, Hosokawa K, Sasaki Y, Ohtake S, Ogawa S, Nakao S: Frequent loss of HLA alleles associated with copy number-neutral 6pLOH in acquired aplastic anemia. *Blood*. 2011; 118 (6601-6609)
- 3) Takamatsu H, Yagasaki H, Takahashi Y, Hama A, Saikawa Y, Yachie A, Koizumi S, Kojima S, Nakao S: Aplastic anemia successfully treated with rituximab: the possible role of aplastic anemia-associated autoantibodies as a marker for response. *Eur J Haematol*. 2011; 86 (541-545)

##### 2. 学会発表

- 1) Kohei Hosokawa, Takamasa Katagiri, Naomi Sugimori, Ken Ishiyama, Yumi Sasaki, Yu Seiki, Aiko Sato-Otsubo, Masashi Sanada, MD, Seishi Ogawa, and Shinji Nakao: Bone marrow failure with 13q deletion: A distinct clinicopathological entity with immune pathophysiology. Session Type: Poster Session, #3420: The American Society of Hematology 53rd Annual Meeting, December 12, 2011. San Diego, California, USA.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得  
なし。
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## SMMA 法による骨髄異形成症候群の DNA メチル化度の評価

分担研究者 大屋敷一馬 東京医科大学 内科学第 1 講座 教授

### 研究要旨

蛍光標識 MBD2 と 1 分子蛍光分析システムによる全ゲノム DNA メチル化解析が可能な Single Molecule methylation assay (SMMA) 法を開発し、骨髄異形成症候群 (MDS) 患者における臨床応用に向け、血球細胞における脱メチル化度の評価を試みた。MDS 患者では脱メチル化薬治療前より全血細胞の DNA メチル化状態がみられ、これは顆粒球分画の DNA 脱メチル化度と深く関係していた。一方、リンパ球分画では健常者と MDS 患者でのメチル化度に差はなく、この違いが MDS 患者の血液細胞のメチル化状態の特徴的な変化と考えられた。

### A. 研究目的

脱メチル化薬の臨床応用により骨髄異形成症候群 (MDS) の治療戦略が大きく変貌しつつある。そこで、MDS 患者の血球分画における DNA メチル化度を検証することにより、脱メチル化薬の効果予測の臨床的な実用化を目指して本研究を行った。

### B. 研究方法

メチル化 DNA と結合する methylation binding domain-1 (MBD2) を蛍光色素 TAMRA で標識し、1 分子蛍光分析システム (MF20) を用いて、拡散分光を測定することにより DNA メチル化状態を半定量的に検出する Single molecule methylation assay (SMMA) 法を用いた (本事業平成 21 年度報告書)。健常者および MDS 患者より同意を得て、末梢血を採取し、全血細胞、顆粒球分画、リ

ンパ球分画より、それぞれの DNA を抽出し SMMA 法により、メチル化度を半定量的に測定した。

### C. 研究結果

全血細胞 (EDTA 採血) では健常者比 MDS 患者では明らかな低メチル化状態であった (図 1)。この変化は顆粒球 DNA でも同様な傾向がみられ、全血による DNA でのメチル化状態は MDS 患者血球のメチル化度を反映することが示唆された (図 2)。

図 1 : SMMA 法により全血細胞 DNA のメチル化度。MDS 患者では明らかな脱メチル化状態がみられる。

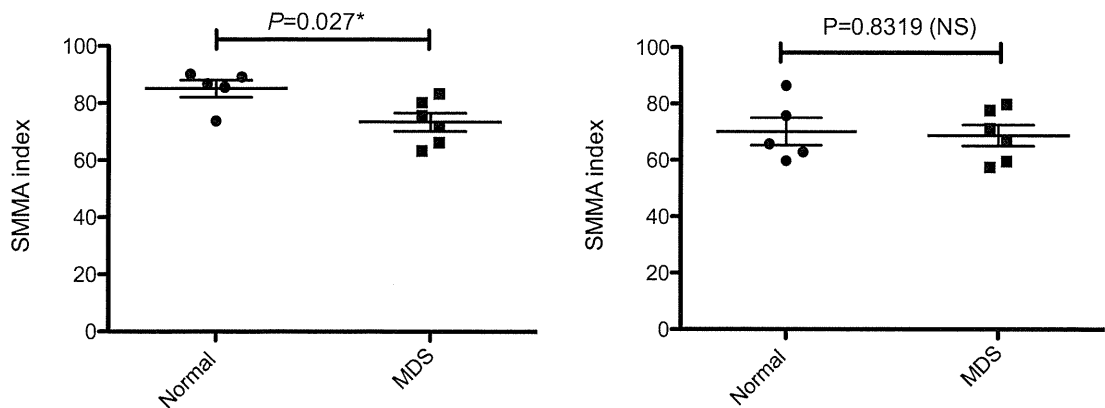
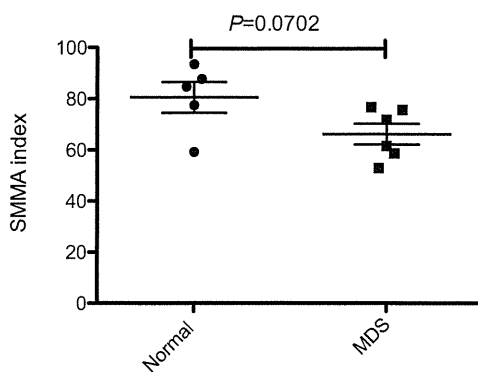


図 2 : SMMA 法により顆粒球分画 DNA のメチル化度



一方、リンパ球分画の DNA では健常者と MDS 患者のメチル化度に有意な差は見られない (図 3)。

図 3 : SMMA 法によりリンパ球 DNA のメチル化度

また、脱メチル化薬であるアザシチジン投与前後の末梢血 DNA メチル化の変化を検討したところ、無効例の 1 例ではアザシチジン投与前後における脱メチル化度は極めて軽微であった。

#### D. 考察

全血細胞を用いた SMMA 法による脱メチル化状態の解析は MDS 細胞そのもののメチル化度を反映すると共に、脱メチル化薬の有効性についての情報をもたらすものと考えられる。

#### E. 結論

ゲノムワイドな DNA メチル化測定法により脱メチル化薬の有効例の適切な選別が可能になるものと考えられる。今後は臨床レベルでの応用を目指して、脱メチル化薬の適切な使用法に有用な検査となるものと考えられる。

F. 健康危険情報：なし。

#### G 研究発表

##### 1. 論文発表

I. Umezu T, Ohyashiki K, Ohyashiki JH:  
Single molecular methylation assay: A  
new technology for quantifying global  
DNA methylation by fluorescence  
correlation spectroscopy, *Analytical  
Biochemistry*, 2011, 415(2):145-150.

H. 知的財産権の出願・登録状況：  
特願 2010-167412

## 骨髄異形成症候群の遺伝子解析を目的とした検体集積に関する研究

分担研究者 高折 晃史 京都大学医学研究科血液・腫瘍内科学 教授

### 研究要旨

本研究は、2005年8月より厚生労働科学研究費補助金・難治性疾患克服研究事業「骨髄異形成症候群に対する病態解明・治療法の開発に関する研究班」によって行われてきた検体集積事業を発展的に継続するものであり、各種遺伝子研究のために臨床情報を付帯した質の高い検体を提供することを目的としている。研究班引き継ぎに伴い改訂された研究実施計画の倫理委員会承認を受けて、2010年4月から2011年末までに骨髄細胞62検体が集積された。これらの検体の一部を用いてゲノムDNAの高密度SNPアレイ解析が行われ、その結果は検体提供施設にフィードバックされている。

### A. 研究目的

骨髄異形成症候群（不応性貧血、MDS）は難治性の造血障害であり、しばしば白血病へと移行し、一般的には予後不良である。唯一治療が期待できる治療法は造血幹細胞移植であるが、その適応は限られている。MDSは様々な機序により多彩な病態を呈する疾患群であり、原因とされる遺伝子異常も多様である。したがって、その治療成績の改善には、その多様な分子病態を明らかとし、個々の病態に則した治療法の確立が求められる。このような背景のもと、2005年8月より厚生労働科学研究費補助金・難治性疾患克服研究事業「骨髄異形成症候群に対する病態解明・治療法の開発に関する研究班（班長 三谷絹子）」によって、MDSの検体集積事業ならびに遺伝子解析研究が開始された。本研究は、この研究を発展的に引き継ぎ、詳細な臨床情報を伴った質の高い検体を集積し、これらの検体と臨床情報を研究者に広く提供することで、MDSに対する遺伝子解析研究の推進をはかることを目的としている。

### B. 研究方法

「特発性造血障害に関する調査研究班」お

よび「不応性貧血の治療率向上を目指した分子・免疫病態研究班」参加施設より、MDSの骨髄検体を集積する。具体的には、診療上の目的で骨髄穿刺を行った際に採取した骨髄液の一部を、検体集積施設（獨協医科大学内科学（血液）、および京都大学血液・腫瘍内科）に送付していただき、検体集積施設では単核球分離後DNAおよびRNAを抽出し、残りの細胞は凍結保存する。これらの試料は「造血器腫瘍における遺伝子異常の網羅的解析」、「骨髄異形成症候群の分子病態の解析と層別化治療の確立」、「骨髄異形成症候群のSPARK発現ネットワーク解析」、「骨髄不全症候群の酸化ストレス系遺伝子発現ネットワーク解析」、その他当班で行われる各種遺伝子解析研究に提供される。

（倫理面への配慮）

検体集積事業と遺伝子解析研究はヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に基づいて行われる。すなわち、各施設の倫理審査委員会での承認の後、文書によるインフォームドコンセントを得るとともに、検体提供施設において連結可能匿名化を行う。検体集積事業ならびに遺伝子解析研究において、検体集積施設、個別遺伝子解析研究実施施設のい

ずれにおいても、検体と患者名の照合は不可能である。

### C. 研究結果

本年度は、引き継いだ前研究を継続・発展させるために研究計画書を大幅に改訂し、主要な研究参加各施設において倫理委員会の承認を得た。この間、平成 22 年 4 月から平成 23 年末までに、骨髄液 62 検体の提供があった。これを含めて、これまでに集積された検体数は合計 175 となっている。これらの検体からは DNA および RNA が抽出され、残った細胞は細胞保存液中で凍結保存された。抽出された DNA の一部は、高密度 SNP アレイ解析(東京大学小川誠司准教授)に用いられ、その結果は各検体提供施設に報告された。同解析によって、UPD などの染色体 G-バンド法ではみつからなかったゲノム上の異常が多数見つかりました。これによって、MDS と再生不良性貧血などの非腫瘍性血液疾患との鑑別や、MDS 患者の予後を推定する上で、高密度 SNP アレイ解析の有用性があらためて示された。

### D. 考察

検体集積事業が新研究班に引き継がれて 2 年目になり、検体の集積は比較的順調に進んでいる。一方で、本事業に関するいくつかの課題も存在する。本研究実施計画の改訂のたびに各参加施設における倫理委員会承認に多くの時間と労力が費やされている点、体細胞における変異を確認するための germline control の問題、一部の患者検体について十分な追跡情報が得られていない点などである。こういった点を考慮して、今後の研究実施計画の改訂を行っていく予定である。

### E. 結論

本年度も MDS の各種遺伝子解析研究の基盤となる検体集積事業を継続して行っている。

本研究を介した高密度 SNP アレイ解析は臨床現場に有用なゲノム異常の情報を提供している。今後は多様な個別研究への検体供与を予定している。

### F. 健康危険情報

該当なし。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

● Sato T, Ichinohe T, Kanda J, Yamashita K, Kondo T, Ishikawa T, Uchiyama T, Takaori-Kondo A.; Clinical significance of subcategory and severity of chronic graft-versus-host disease evaluated by National Institutes of Health consensus criteria. *Int J Hematol.* 2011 Apr;93(4):532-41.

● Hirai M, Kadowaki N, Kitawaki T, Fujita H, Takaori-Kondo A, Fukui R, Miyake K, Maeda T, Kamihira S, Miyachi Y, Uchiyama T. Bortezomib suppresses function and survival of plasmacytoid dendritic cells by targeting intracellular trafficking of Toll-like receptors and endoplasmic reticulum homeostasis. *Blood.* 2011 Jan 13;117(2):500-9.

#### 2. 学会発表

● Uchiyama T, Kawabata H, Kanda J, Tomosugi N, Sakamoto S, Mizumoto C, Takaori-Kondo A. Serum levels of GDF15 in various hematological disorders. 第 73 回日本血液学会学術集会, 名古屋. 10 月 14-16 日, 2011..

### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

- |      |        |
|------|--------|
| 1.   | 特許取得   |
| 該当なし |        |
| 2.   | 実用新案登録 |
| 該当なし |        |
| 3.   | その他    |
| 該当なし |        |

## 不応性貧血の治癒率向上を目指した分子・免疫病態研究

分担研究者 稲葉 俊哉 広島大学原爆放射線医科学研究所 教授

### 研究要旨

MDSはゲノム異常の蓄積に加え、エピゲノムの異常がその発症に寄与していると考えられ、アザシチジン(5-aza)などDNA脱メチル化剤が有効である。われわれは昨年度、パイロットスタディとして、高速並列シーケンサ(次世代シーケンサ)を用いて、5-azaがK562白血病細胞株を赤芽球系へ分化誘導する現象を解析し、標的因子の同定を試みた。その結果、K562細胞は5-aza処理によりヘモグロビンの蛋白量が5~10倍程度増加したが、それはヘモグロビン遺伝子やヘム合成蛋白質遺伝子の転写量の増加によるものではなく、むしろヘモグロビンmRNAの翻訳効率の増加に由来すると考えられた。今年度は、翻訳効率を増加させる蛋白質候補として、翻訳伸長因子eEF1aと翻訳開始因子eIF2Bを見いだした。さらにRNA干渉法による発現抑制や、レトロウイルスによる過剰発現により、これらの因子の関与を確認した。

### A. 研究目的

MDSは高齢者に多いことや造血前駆細胞の分化異常が前景に出ること、アザシチジン(5-aza)などDNA脱メチル化剤の有効性が報告されることなどから、ゲノム異常の蓄積に加えて、エピゲノムレベルの異常がその発症に寄与していると考えられている。しかし、これまで効率的なエピゲノム状態の解析方法がなく、研究は進んでいない。5-azaは、近年MDS患者の生存期間を有意に延長することが報告されているが、従来の抗白血病剤とは異なり、寛解に入ることと生存期間の延長にはあまり相関がなく、むしろ輸血依存性の離脱など、症状の改善が予後を改善すると考えられている。したがって、貧血改善は治療上重要な指標であるが、輸血依存性が改善する理由は不明である。

近年高速並列(次世代)シーケンサが登場し、ゲノムワイドなエピゲノム解析が可能となった。本研究の目的は、MDSのエピゲノム異常やエピゲノム調整薬が奏功するメカニズムを、高速並列シーケンサを用いて解析することである。

### B. 研究方法

細胞から抽出したゲノムDNAを破碎後、GST-MBP(メチル化シトシン結合蛋白質)によりメチル化DNAを単離した。同時にmRNAを分離してcDNAを合成し、いずれもイルミナ社製の高速並列シーケンサにより配列を決定した。得られた多数の配列を、コンピュータ上でゲノムシーケンス上に貼付け、網羅的DNAメチル化解析やトランスクリプトーム解析を行った。また、得られた遺伝子が真に標的遺伝子であるかどうかを確認するために、RNA干渉法を用いた遺伝子発現の抑制実験やレトロウイルスを用いた過剰発現実験をおこなった。

### C. 研究結果

K562細胞を5-aza存在下に培養すると、ペレットが明瞭に赤くなり、細胞内ヘモグロビンタンパク量が5~10倍程度に増加した。しかし、各種ヘモグロビンやヘム合成酵素のmRNA発現量には変化がないか、むしろ減少した。5-aza処理により、多くのメチル化部位は顕著に脱メチル化されていた。しかし、ヘモグロビン遺伝子やヘム合成酵素のプロモータ領域は最初からメチル化さ

れていないか、メチル化されていても 5-aza による顕著な脱メチル化は見いだせないかであった。

ヘモグロビンの mRNA 上昇なしにタンパク量が著増していることから、翻訳効率の上昇を考えた。多数のサブユニットが存在する elongation factor のなかに、5-aza によりメチル化が解除され、mRNA および蛋白質発現レベルが数倍に上昇するメンバーとして eEF1a を見いだした。また、脱リン酸化により活性化する翻訳開始因子 eIF2B が、5-aza 処理により脱リン酸化することを見いだした。これらの因子を RNA 干渉法で発現抑制したところ、ヘモグロビンの合成増加の抑制が観察され、翻訳効率の亢進が赤芽球系への分化を促進することを裏付けることができた。一方、レトロウイルスによる過剰発現では、顕著なヘモグロビン合成亢進は認められず、これらの翻訳因子の活性化のみでは赤芽球系への分化は促進されず、ほかの因子との協働が必要であることが示唆された。

#### D. 考察

ゲノムワイドに脱メチル化をもたらす 5-aza のような薬剤が、赤芽球系への分化を促進したり、MDS に寛解をもたらすなど、細胞を「特定の方向」へ分化させる作用を持つメカニズムは全く不明である。そこで、昨年度は、MBP 法によるメチル化部位の同定をおこなった。MBP 法はバイサルファイト法と比較して感度や定量性に劣るものの、圧倒的に低コストであり、必要検体量が少ないという利点がある。さらにトランスクリプトーム解析と併用して、裏付けのある良質なデータが得られた。その結果は、翻訳効率の亢進と言う、非常に意外なものであった。

今年度の実験の主目的は、これらの解析を促進し、具体的な翻訳因子の同定と、細胞レベルの遺伝子発現の制御による裏付けを得ることであった。その結果、発現抑制では、ヘモグロビンの合成増加の抑制が観察され、翻訳効率の亢進が赤芽球系への分化を促進することが裏付けられた。一方、過剰発現では、顕著なヘモグロビン合成亢

進は認められず、赤芽球系への分化は、ほかの因子との協働が必要であることが示唆された。

来年度はより生理的な実験系を用いて解析を進め、エピゲノム制御と細胞分化の関連を解明していく予定である。

#### E. 結論

高速並列シーケンサを用いたエピゲノム解析システムにより得られた 5-aza の標的因子候補となるふたつの翻訳関連因子が、赤芽球系への分化促進に関与することを確認した。

#### F. 健康危険情報 該当なし

#### G. 研究発表

##### 論文発表

1. Jin L, Tabe Y, Kimura S, Zhou Y, Kuroda J, Asou H, Inaba T, Konopleva M, Andreeff M, Miida T. Antiproliferative and proapoptotic activity of GUT-70 mediated through potent inhibition of Hsp90 in mantle cell lymphoma. **Br. J. Cancer** 104: 91-100, 2011
2. Ozaki Y, Matsui H, Nagamachi A, Asou H, Aki D, Inaba T. The dynactin complex maintains the integrity of metaphasic centrosomes to ensure transition to anaphase. **J. Biol. Chem** 286: 5589-5598, 2011
3. Jiang Q, Quaynor B, Sun A, Li Q, Matsui H, Honda H, Inaba T, Sprecher E, Uitto J. The Samd9L Gene: Transcriptional Regulation and Tissue-Specific Expression in Mouse Development. **J Invest Dermatol** 131: 1428-1434, 2011
4. Hiraga N, Imamura M, Abe H, Hayes CN, Kono T, Onishi M, Tsuge M, Takahashi S, Ochi H, Iwao E, Kamiya N, Yamada I, Tateno C, Yoshizato K, Matsui H, Kanai A, Inaba T, Tanaka S, Chayama K. Rapid emergence of telaprevir resistant hepatitis C virus strain from wildtype clone in vivo. **Hepatology** 54: 781-788, 2011

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 なし



## 骨髄異形成症候群における 20q 欠失領域の解析

分担研究者 泉二 登志子 東京女子医科大学血液内科 教授

### 研究要旨

骨髄異形成症候群で見られる染色体異常の一つ 20 番染色体長腕（20q）欠失における約 7.2Mb の共通欠失領域上に存在する遺伝子につき、その異常を次世代シーケンサーなどで検討した。その結果 *NCOA3* 遺伝子にアミノ酸置換を伴う 1 塩基置換が複数の症例、およそ 10% の頻度で検出された。

### A. 研究目的

骨髄異形成症候群（MDS）に比較的高頻度に見られる染色体異常である 20 番染色体長腕欠失（20q-）の分子病態解明を目指す。CGH アレイ法により共通欠失領域を決定したのち共通欠失領域内に存在する疾患関連遺伝子候補（群）を同定する。さらにそれらの遺伝子異常の臨床的、生物学的意義を明らかにし、治療標的としての可能性を追求する。

### B. 研究方法

- 1) CGH アレイ法で決定された共通欠失領域内に存在する遺伝子のうち、がん抑制遺伝子としての機能が推定されている遺伝子、細胞周期関連する遺伝子など 32 遺伝子を選択し、それらの遺伝子変異の有無を、MDS 5 症例の臨床検体を用いて、次世代シーケンサー SOLiD により網羅的解析を行った。
- 2) 得られた結果はサンガー法により検証し、その中でフレームシフト、

スプライシングの異常、アミノ酸置換を引きおこし、遺伝子の機能に影響を与える可能性が示唆され、意義のある変異と考えられるものについて、さらに 20 番染色体に異常を持つ MDS 30 症例で変異の有無を検討した。

（倫理面への配慮）

当該研究の実施については、学内倫理委員会の承認を得たうえで、臨床検体を利用する際は、書面での同意を得ている。臨床検体提供は個人の自由意志に基づくものであり、提供の有無により診療上何ら不利益を受けないことを確認している。同意については、随時撤回できることを説明している。患者の個人情報 は匿名化され性別、年齢のみが記録されている。

### C. 研究結果

- 1) 1 塩基置換が 2812 か所、塩基挿入/欠失は 340 か所が検出された。その中でアミノ酸置換を伴い、かつ既

知の一塩基多型でない変異が *STK4/MST1* 遺伝子 (R117Q) および *NCOA3* 遺伝子 (P467Q) で認められた。

2) 20 番染色体の異常を伴う MDS 30 症例において、上記 2 つの遺伝子の全コーディング領域の塩基配列を決定したところ 2 症例で新たな *NCOA3* 遺伝子変異 (R353L, R1163W) が発見された。

#### D. 考察

20 番染色体異常をもつ複数の MDS 症例において、およそ 10% の頻度で、アミノ酸置換を伴う *NCOA3* 遺伝子変異が複数症例 (およそ 10% の頻度) で変異が検出された。*NCOA3* 遺伝子は転写制御因子としての機能を持つことが示されている。正常造血ならびに血液腫瘍におけるその役割は明らかにされていないが、ある種の固形がんとの関連が報告されている。今後その異常の MDS における臨床的、生物学的意義について検討を行う。

#### E. 結論

共通欠失領域に存在する 32 の遺伝子中で、アミノ酸置換を伴う *NCOA3* 遺伝子変異が複数症例で検出された。変異の頻度はおよそ 10% の頻度でその意義が示唆される。今後さらに臨床的、生物学的意義について検討を行う。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

論文発表

1. Okada M, Suto Y, Hirai M, Shiseki M, Usami A, Okajima K, Teramura M, Mori N, Motoji T. Microarray CGH analyses of chromosomal 20q deletions in patients with hematopoietic malignancies. *Cancer Genet.* 205 (1-2): 18-24, 2012.

2. Tanaka N, Wang YH, Shiseki M, Takanashi M, Motoji T. Inhibition of PRAME expression causes cell cycle arrest and apoptosis in leukemic cells. *Leuk Res.* 35(9): 1219-25, 2011.

3. Mori N, Inoue K, Okada M, Motoji T. Absence of Mutations on the SNF5 Gene in Hematological Neoplasms with Chromosome 22 Abnormalities. *Acta Haematol.* 126(2): 69-75, 2011.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

## 異形成を伴う白血病からの新規 *RUNX1* アンチセンスキメラの同定

分担研究者 三谷 絹子 獨協医科大学 内科学（血液・腫瘍） 教授

### 研究要旨

*RUNX1* 遺伝子の点突然変異による機能的失活は、骨髄異形成症候群 (MDS) の重要な発症機構である。今回 t(7;21) (q11.2;q22) を唯一の染色体異常として保有する異形成を伴う急性骨髄性白血病の症例から、3' RACE 法を用いて新規 *RUNX1* アンチセンスキメラ遺伝子 *RUNX1-antisense UPK3B-DTX2* を同定した。さらに、遺伝子特異的 RT-PCR 法により、白血病細胞で 4 種類のアイソフォームが発現していることを確認した。*UPK3B* 遺伝子と *DTX2* 遺伝子は 7q11.2 上の近傍に存在し、*RUNX1* 遺伝子と head-to-head で結合していた。*RUNX1* はエクソン 6 までを、*DTX2* はエクソン 9 あるいは 10 までを含み、介在する *UPK3B* 遺伝子由来の配列は短かった。従って、このキメラ遺伝子よりは、長い *DTX2* のアンチセンス配列が転写され、短縮型の *RUNX1* 蛋白が発現することになる。野生型 *RUNX1* に対するドミナント・ネガティブ効果と *DTX2* mRNA に対するアンチセンス効果が、t(7;21) (q11.2;q22) 型白血病の発症機構であると推測される。

### A. 研究目的

*RUNX1* は Runt ファミリーに属する転写制御因子であり、造血幹細胞を負に制御するとともに、各系統の血球分化にも重要な役割を担う。de novo 骨髄異形成症候群 (MDS) では約 1 割程度の症例に *RUNX1* 遺伝子の変異が観察されるが、治療関連 MDS ではさらに高頻度に変異が出現する。変異は N 末の DNA 結合領域を中心にマップされるが、ほぼ全長に認められる。変異には、機能失活型と機能獲得型がある。*RUNX1* 変異陽性例は予後が不良であることが知られている。本年度は、*RUNX1* 変異型 MDS の病後期の分子病態の一旦を明らかにすることを目的として、異形成を伴う急性骨髄性白血病 (AML) 症例より、新規の *RUNX1* キメラ遺伝子の同定を試みた。

### B. 研究方法

症例：2007 年 5 月に異形成を伴う AML と診断され 82 歳の女性。胃がんを合併していた。骨髄中の芽球比率は 41% であり、多核赤芽球、脱顆粒好中球、小型巨核球等の異形成が観察された。骨髄中の腫瘍細胞の表面マーカーは、CD13、CD33、CD34 及び HLA-DR が陽性であり、核型は 46, XX, t(7;21) (q11.2;q22) [20] であった。唯一の染色体異常である t(7;21) (q11.2;q22) は、これまでに報告のない異常である。

FISH 解析：*RUNX1* ゲノムプローブ (*RUNX1* SpectrumGreen Probe: Abbott Molecular Illinois, YR9 及び Y133) を用いて診断時の骨髄有核細胞の間期核 FISH を施行した。

3' RACE と遺伝子特異的 PCR：骨髄有核細

胞より全 RNA を抽出した。cDNA を合成した後、*RUNX1* のエクソン特異的プライマーを用いて 3' RACE を施行した。PCR 産物を切り出して TOP0 ベクター (Invitrogen) にクローニングし、シーケンス解析を行った。さらに、同定されたキメラの相手遺伝子 *DTX2* と *RUNX1* の特異的プライマーを用いて遺伝子特異的 PCR を施行し、白血病細胞における発現を確認した。

### C. 研究結果

*RUNX1* 遺伝子のほぼ全長をカバーする *RUNX1* SpectrumGreen Probe を用いた FISH 解析で、スプリットシグナルが観察された。さらに、*RUNX1* 遺伝子の転座切断点近傍をカバーする YR9 及び Y133 を用いた FISH 解析も施行した。YR9 ではスプリットシグナルが観察されたが、Y133 では観察されなかったことから、*RUNX1* 遺伝子内の切断点はイントロン 6 あるいは 7 に存在すると考えられた。

3' RACE により、*RUNX1-antisense UPK3B-DTX2* キメラ mRNA を同定した。これは、*RUNX1* 遺伝子のエクソン 6 に 1632 塩基のシーケンスが繋がっているものであり、7q11.2 に存在する *DTX2* 遺伝子のエクソン 10 までの塩基配列が逆向きに *RUNX1* に結合していた。そして、*RUNX1* と *DTX2* の結合部位には、*DTX2* の近傍に位置する *UPK3B* のエクソン 2 の短い塩基配列が、*RUNX1* に対して逆方向に、*DTX2* に対して順方向に介在していた。

遺伝子特異的 PCR 法では 4 種類のアイソフォームが同定された。1 つは 3' RACE で同定されたものであった。残りの 3 つは、*DTX2* のエ

クソン9を欠くものであり、その中の1つはUPK3Bのエクソン2も存在しなかった。RUNX1及びUPK3BのC末端を含む相補的なキメラmRNAは検出されなかった。

#### D. 考察

t(7;21)(q11.2;q22)を保有する異形成を伴うAMLの症例から、新規キメラ遺伝子RUNX1-antisense UPK3B-DTX2を同定した。このキメラは、RUNX1アンチセンス型キメラの考えられる。DTX2はDTXファミリーに属し、E3ユビキチンリガーゼとして機能すると考えられる。その生物学的機能は不明であり、その発現レベルの低下がどのような機序で白血病化を誘導するののかも不明である。

#### E. 結論

t(7;21)(q11.2;q22)を保有する異形成を伴うAMLの症例から、新規キメラ遺伝子RUNX1-antisense UPK3B-DTX2を同定した。このキメラ遺伝子は、主に2つの機序で、MDSを白血病へ進展させる可能性がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

Maki K, Mitani K. Dysregulated gene and microRNA expression of MDS. JSH International Symposium 2011 in Nagasaki, Program and Abstract Book:39, 2011.

Maki K, Sugita F, Nakamura Y, Sasaki K, Mitani K. Dysregulated gene expression in megakaryocyte-erythroid progenitors in MDS patients. 第73回日本血液学会総会(名古屋)臨床血液 52:314, 2011.

Maki K, Yamagata T, Sugita F, Nakamura Y, Sasaki K, Mitani K. Aberrant Expression of MIR9 Represents a Distinct Entity with Poor Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. 第53回米国血液学会(San Diego) Blood 118, Fifty-third annual meeting program and abstracts: 1086, 2011.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

##### 2. 実用新案登録

##### 3. その他

いずれも予定なし

初めての例である。この新規遺伝子は2つの機能を有していると考えられる。1つは、RUNX1aとほぼ同様の構造を持った短縮型RUNX1を発現することであり、もう1つはDTX2の長いアンチセンス鎖を転写することである。前者は野生型RUNX1蛋白の機能をドミナント・ネガティブに抑制すると考えられる。後者は、DTX2 mRNAを破壊する、あるいは、翻訳を抑制することにより、その蛋白発現を負に制御すると

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

骨髄異形成症候群患者のゲノム異常、エピゲノム異常を解析するための検体収集システムの構築

分担研究者 千葉 滋

筑波大学医学医療系 教授

### 研究要旨

不応性貧血をはじめとする骨髄異形成症候群(MDS)には、ゲノム異常およびエピゲノム異常が蓄積している。これらの異常の解明のためには、効率的に多数の検体を収集して核酸を抽出・保管し、研究に供しやすい体制を構築する必要がある。本研究費補助金により「骨髄異形成症候群に対する検体集積事業ならびに遺伝子解析研究」が行なわれ一定の成果が挙げられてきたが、これをさらに充実させるためには、臨床研究グループと連携し、臨床データや治療法などのそろった多数の検体をスピーディに収集する必要がある。

我が国最大の造血器腫瘍臨床研究グループである日本成人白血病研究グループ(JALSG)は、MDS患者約400名を対象とする群間治療研究(JALSG MDS211試験)を計画しており、近々研究が開始される。その中で、報告者はプロトコール委員として本試験に付随する検体研究計画を担当している。

そこで、「骨髄異形成症候群に対する検体集積事業ならびに遺伝子解析研究」、および「JALSG MDS211試験」の双方に対して両者を一体化させる計画の実現を働きかけ、原則同意を得た後、具体的な研究計画作成を行なった。双方の研究計画書には両者の合同事業であることを明記し、JALSG MDS211試験に付随して収集される検体は、当試験に参加しない患者由来の検体とほぼ同じ方法で、同じ検査会社により収集、核酸調整、定量、DNA増幅が行なわれたのち、同社が連携する会社で保管することになる。調整されたDNAのうち一定量は、研究代表者である東京大学・小川誠司研究室に配送され、ゲノム解析が行なわれる。また、残検体については、本研究班、連携する「特発性造血障害調査研究班」、および「JALSG」のいずれかに参加する研究者からの申請を、本研究班とJALSGとで組織する審査委員会を審査し、承認後に保管会社から送付されるシステムとなる。

JALSG MDS211試験参加者の大多数、また当試験に参加しない患者からも多数の検体を収集することで、3年程度で世界的にも有数の整備されたMDS検体保存システムが構築されると期待される。

## A. 研究目的

本研究補助金事業を、我が国最大の造血器腫瘍臨床研究グループである日本成人白血病研究グループ (JALSG) と連携させ、一体的に臨床情報の整備された高品質かつ多数検体を、スピーディに収集するシステムを構築する。

## B. 研究方法

本研究費補助金による「骨髄異形成症候群に対する検体集積事業ならびに遺伝子解析研究」と、JALSG における新規治療研究である MDS211 試験とを統合する原案を作成した。これを、本研究事業分担研究者、JALSG MDS211 試験プロトコル委員会委員、JALSG 常設委員会である検体保存委員会委員に送付し、2011年8-12月の間メール上で議論を行った。原案の改訂作業を繰り返し、方針について方向を決定した。さらに、検体回収・核酸調整・保管を一括して行なうことのできる業者を選定し、作業手順書を作成させた。(本研究における倫理面への配慮)

JALSG MDS211 試験、本研究費補助金による検体集積事業のいずれも中央施設での倫理委員会で承認を受けた後、参加各施設の倫理委員会で審査される。承認を受けた後に JALSG MDS211 試験あるいは検体集積事業に参加できる。

## C. 研究結果

JALSG MDS211 試験は「骨髄異形成症候群に対する検体集積事業ならびに遺伝子解析研究」との合同研究であること、また「骨髄異形成症候群に対する検体集積事業ならびに遺伝子解析研究」は JALSG MDS211 試験との合同事業であることを双方の研究計画書に明記することが決定した。すなわち、JALSG MDS211 試験の研究課題名を「高リスク成人骨髄異形成症候群を対象としたアザンチジン投与方法に関する臨床第Ⅲ相試験 -検体集積事業に基づく遺伝子解析研究を含む-JALSG MDS211 Study および厚生労働科学研究費補助金による検体集積事業との合同研究」とし、これまでの検体集積事業の課題名を「骨髄異形成症候群に対する検体集積事業ならびに遺伝子解析研究-JALSG MDS211 Study との合同研究-」とすることについて合意され、研究計画書を作成している。

これらの研究計画書の中では、統一的なプラットフォームを利用して検体収集・核酸抽出・

保存が行なわれるように配慮している。

## D. 考察

本研究事業は多数の検体収集を目的の一つに掲げている。今回の JALSG との一体化は、この目的のために極めて重要なステップになる。一方、わが国最大の白血病研究グループである JALSG にとっても、本研究事業との連携によってより質の高い解析が可能になる。

## E. 結論

「骨髄異形成症候群に対する検体集積事業ならびに遺伝子解析研究」と JALSG MDS211 試験とを共同事業として一体的に運用するプラットフォームを完成した。

## G. 研究発表

### (1) 論文発表

1. Nishikii H, Nakamura N, Kondo Y, Okoshi Y, Suzukawa K, Hasegawa Y, Yokoyama Y, Sakata-Yanagimoto S, Enami T, Noguchi M, Chiba S. Treatment outcome of adult Burkitt lymphoma in Japanese patients with modified LMB protocol: a single center retrospective analysis. *J Clin Exp Hematol* 51(2):109-114, Nov, 2011
2. Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, Nowak D, Nagata Y, Yamamoto R, Sato Y, Sato-Otsubo A, Kon A, Nagasaki M, Chalkidis G, Suzuki Y, Shiosaka M, Kawahata R, Yamaguchi T, Otsu M, Obara N, Sakata-Yanagimoto M, Ishiyama K, Mori H, Nolte F, Hofmann WK, Miyawaki S, Sugano S, Haferlach C, Koefler HP, Shih LY, Haferlach T, Chiba S, Nakauchi H, Miyano S, Ogawa S. Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. *Nature* 478(7367):64-9, Oct 6, 2011
3. Feng L, Eisenstat DD, Chiba S, Ishizaki Y, Gan L, Shibasaki K. Brn-3b inhibits generation of amacrine cells by binding to and negatively regulating DLX1/2 in developing retina. *Neuroscience* 195:9-20, 2011
4. Kusakabe M, Hasegawa K, Hamada M, Nakamura M, Ohsumi T, Suzuki H, Mai TT, Kudo T, Uchida K, Ninomiya H, Chiba S, Takahashi S. c-Maf plays a crucial role for the definitive

- erythropoiesis that accompanies erythroblastic island formation in the fetal liver. *Blood* 118(5):1374-85, Aug 4, 2011
5. Sakurai N, Maeda M, Li M, Lee S-UK, Ishikawa Y, Williams JC, Wang L, Su L, Saito TI, Chiba S, Casola S, Yagita H, Teruya-Feldstein J, Tsuzuki S, Bhatia R, Maeda T. Notch-dependent and -independent regulation of mature B cell lineage fate and humoral immune response by the LRF transcription factor homodimer. *J Clin Invest*, 121(7):2583-98, Jul 1, 2011
  6. Kozuma Y, Sawahata Y, Takei Y, Chiba S, Ninomiya H. Procoagulant properties of microparticles released from red blood cells in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 152(2):631-639, May, 2011
  7. Yoshida C, Komeno T, Hori M, Kimura T, Fujii M, Okoshi Y, Suzukawa K, Chiba S, Hasegawa Y, Mukai HY, Ito T, Shimizu S, Kamoshita M, Kudo D, Shinagawa A, Chikatsu N, Monma Y, Watanabe N, Kojima H. Adherence to the standard dose of imatinib, rather than dose adjustment based on its plasma concentration, is critical to achieve a deep molecular response in patients with chronic myeloid leukemia. *Int J Hematol* 93(5):618-623, May, 2011
- (2)学会発表
1. 鎌田勇平、坂田-柳元麻実子、真田 昌、松原亜以子、榎並輝和、鈴川和己、栗田尚樹、錦井秀和、横山泰久、大越 靖、長谷川雄一、小川誠司、千葉 滋. 多発性骨髄腫における SNP アレイを用いた網羅的ゲノム異常の解析. 第 73 回 日本血液学会総会 2011 年 10 月 16 日(名古屋)
  2. 坂田-柳元麻実子、榎並輝和、武藤秀治、山田桃子、小川誠司、千葉 滋. ヒト造血細胞および白血病細胞におけるハイドロキシメチルシトシンの評価. 第 73 回 日本血液学会総会 2011 年 10 月 15 日(名古屋)
  3. 三宅康行、坂田-柳元麻実子、加藤貴康、武藤秀治、横山泰久、錦井秀和、後藤典子、千葉 滋. 第 73 回 日本血液学会総会 2011 年 10 月 15 日(名古屋)
  4. 坂本竜弘、小原 直、福田匡芳、松原理絵、越野繭子、栗田尚樹、錦井秀和、横山泰久、坂田-柳元麻実子、大越 靖、鈴川和己、長谷川雄一、千葉 滋. 第 73 回 日本血液学会総会 2011 年 10 月 14 日(名古屋)
  5. 福田匡芳、栗田 尚樹、坂本 竜弘、錦井秀和、横山 泰久、坂田 麻実子、小原直、大越 靖、鈴川和己、長谷川 雄一、千葉 滋. 第 73 回 日本血液学会総会 2011 年 10 月 14 日(名古屋)
  6. 鎌田勇平、坂田-柳元麻実子、真田 昌、松原亜以子、榎並輝和、鈴川和己、栗田尚樹、錦井秀和、横山泰久、大越 靖、長谷川雄一、小川誠司、千葉 滋. 多発性骨髄腫における SNP アレイを用いた網羅的ゲノム異常の解析. 第 70 回 日本癌学会総会 2011 年 10 月 14 日(名古屋)
  7. 吉田健一、真田 昌、白石友一、永田安伸、昆 彩奈、松原亜以子、菅野純夫、高折晃史、宮脇修一、千葉 滋、宮野 悟、小川誠司. エクソンシーケンスにより明らかになった MDS および関連骨髄性腫瘍で高頻度に異常をきたしている新たに発見された遺伝子経路. 第 70 回 日本癌学会総会 2011 年 10 月 5 日(名古屋)
  8. 坂田-柳元麻実子、榎並輝和、武藤秀治、山田桃子、小川誠司、千葉 滋. Evaluation of 5-hydroxymethylcytosine in blood cells from normal subjects and MDS/leukemia patients. 第 2 回 JSH 国際シンポジウム 2011 年 4 月 23 日(長崎)
  9. 小原 直、佐藤晶子、千葉 滋、二宮治彦. Detection of CD55- and CD59-negative immature reticulocytes may improves sensitivity/specificity to identify a minor population of PNH-type cells in patients with myelodysplastic syndrome/aplastic anemia. 第 2 回 JSH 国際シンポジウム 2011 年 4 月 23 日(長崎)
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし

### III. 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

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
千葉 滋	顆粒球減少症（無顆粒球症）	山口徹、北原光夫、福井次矢	「今日の治療指針2011」	医学書院	東京	2011	608-610
千葉 滋	5q-症候群とmiRNA, p53の異常：動物モデルでの解析	高久史麿,小澤敬也坂田洋一、金倉讓,小島勢二	「Annual Review 血液2011」	中外医学社	東京	2011	55-59
千葉 滋	鑑別診断。「再生不良性貧血」	小澤敬也	最新医学別冊；新しい診断と治療の ABC[72]；血液8	最新医学社	東京	2011	95-100

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, Nowak D, Nagata Y, Yamamoto R, Sato Y, Sato-Otsubo A, Kon A, Nagasaki M, Chalkidis G, Suzuki Y, Shiosaka M, Kawahata R, Yamaguchi T, Otsu M, Obara N, Sakata-Yanagimoto M, Ishiyama K, Mori H, Nolte F, Hofmann WK, Miyawaki S, Sugano S, Haferlach C, Koeffler HP, Shih LY, Haferlach T, Chiba S, Nakauchi H, Miyano S, Ogawa S	Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia.	Nature	478	64-69	2011
Takita J, Yoshida K, Sanada M, Nishimura R, Okubo J, Motomura A, Hiwatari M, Oki K, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S	Novel splicing-factor mutations in juvenile myelomonocytic leukemia.	Leukemia	Feb 20		2012

Chisako Iriyama, Akihiro Tomita, Hideaki Hoshino, Mizuho Adachi-Shirahata, Yoko Furukawa-Hibi, Kiyofumi Yamada, Hitoshi Kiyoi, Tomoki Naoe	Using peripheral blood circulating DNAs to detect CpG global methylation status and genetic mutations in patients with myelodysplastic syndrome	Biochemical and Biophysical Research Communications	419	662-669	2012
Emi Goto, Akihiro Tomita, Fumihiko Hayakawa, Akihide Atsumi, Hitoshi Kiyoi and Tomoki Naoe	Missense mutations in <i>PML-RARA</i> are critical for the lack of responsiveness to arsenic trioxide treatment	blood	118	1600-1609	2011
Akihiro Tomita, Yukari Shirasugi, Takahiko Ito, Hisashi Tsurumi, Tomoki Naoe	Extravascular hemolytic attack after eculizumab therapy for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	Annals of Hematology			2011
Ohata K, Iwaki N, Kotani T, Kondo Y, Yamazaki H, Nakao S	An Epstein-Barr virus-associated leukemic lymphoma in a patient treated with rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine for hepatitis-associated aplastic anemia	Acta Haematologica	127	96-9	2011
Katagiri T, Sato-Otsubo A, Kashiwase K, Morishima S, Sato Y, Mori Y, Kato M, Sanada M, Morishima Y, Hosokawa K, Sasaki Y, Ohtake S, Ogawa S, Nakao S	Frequent loss of HLA alleles associated with copy number-neutral 6pLOH in acquired aplastic anemia	Blood	118	6601-9	2011
Takamatsu H, Yagasaki H, Takahashi Y, Hama A, Saikawa Y, Yachie A, Koizumi S, Kojima S, Nakao S	Aplastic anemia successfully treated with rituximab: the possible role of aplastic anemia-associated autoantibodies as a marker for response	Eur J Haematol	86	541-5.	2011
Umezu T, Ohyashiki K, et al.	Single molecular methylation assay: A new technology for quantifying global DNA methylation by fluorescence correlation spectroscopy	Analytical Biochemistry	415	145-1502	2011
Mallo M, Ohyashiki K, et al.	Impact of adjunct cytogenetic abnormalities for prognostic stratification in patients with myelodysplastic syndrome and deletion 5q	Leukemia	25	110-120	2011
Uchida T, Ohyashiki K, et al.	Japanese phase I/II study of azacytidine in patients with myelodysplastic syndromes	Cancer Science	93	1680-1686	2011
Sato T, Ichinohe T, Kanda J, Yamashita K, Kondo T, Ishikawa T, Uchiyama T, Takaori-Kondo A.	Clinical significance of subcategory and severity of chronic graft-versus-host disease evaluated by National Institutes of Health consensus criteria.	Int J Hematol	93(4)	532-41	2011

Hirai M, Kadowaki N, Kitawaki T, Fujita H, Takaori-Kondo A, Fukui R, Miyake K, Maeda T, Kamihira S, Miyachi Y, Uchiyama T.	Bortezomib suppresses function and survival of plasmacytoid dendritic cells by targeting intracellular trafficking of Toll-like receptors and endoplasmic reticulum homeostasis.	Blood	117(2)	500-9	2011
Nishinaka Y, Arai T, Adachi S, Takaori-Kondo A, Yamashita K.	Singlet oxygen is essential for neutrophil extracellular trap formation.	Biochem Biophys Res Commun	413(1)	75-9	2011
Jin L, Tabe Y, Kimura S, Zhou Y, Kuroda J, Asou H, Inaba T, Konopleva M, Andreeff M, Miida T.	Antiproliferative and proapoptotic activity of GUT-70 mediated through potent inhibition of Hsp90 in mantle cell lymphoma.	Br. J. Cancer	104	91-100	2011
Ozaki Y, Matsui H, Nagamachi A, Asou H, Akai D, Inaba T.	The dynactin complex maintains the integrity of metaphasic centrosomes to ensure transition to anaphase.	J. Biol. Chem	286	5589-5598	2011
Jiang, Q., Quaynor, B., Sun, A., Li, Q., Matsui, H., Honda, H., Inaba, T., Sprecher, E., Uitto, J.	The Samd9L Gene: Transcriptional Regulation and Tissue-Specific Expression in Mouse Development.	J Invest Dermatol	131	1428-1434	2011
Hiraga N, Imamura M, Abe H, Hayes CN, Kono T, Onishi M, Tsuge M, Takahashi S, Ochi H, Iwao E, Kamiya N, Yamada I, Tateno C, Yoshizato K, Matsui H, Kanai A, Inaba T, Tanaka S, Chayama K.	Rapid emergence of telaprevir resistant hepatitis C virus strain from wildtype clone in vivo.	Hepatology	54	781-788	2011
Okada M, Suto Y, Hirai M, Shiseki M, Usami A, Okajima K, Teramura M, Mori N, Motoji T.	Microarray CGH analyses of chromosomal 20q deletions in patients with hematopoietic malignancies.	Cancer Genet.	205(1-2)	18-24	2012
Tanaka N, Wang YH, Shiseki M, Takanashi M, Motoji T.	Inhibition of PRAME expression causes cell cycle arrest and apoptosis in leukemic cells.	Leuk Res.	35(9)	1219-25	2011
Mori N, Inoue K, Okada M, Motoji T.	Absence of Mutations on the SNF5 Gene in Hematological Neoplasms with Chromosome 22 Abnormalities.	Acta Haematol.	126(2)	69-75	2011

牧 和宏、三谷絹子	骨髄異形成症候群（MDS）関連遺伝子	血液フロンティア	21	109-116	2011
中村由香、三谷絹子	MDS/AMLにおけるDNAメチル化異常の意義	血液フロンティア	21	31-36	2011
Nishikii H, Nakamura N, Kondo Y, Okoshi Y, Suzukawa K, Hasegawa Y, Yokoyama Y, Sakata-Yanagimoto M, Enami T, Noguchi M, Chiba S.	Treatment outcome of adult Burkitt lymphoma in Japanese patients with modified LMB protocol: a single center retrospective analysis.	J Clin Exp Hematol	51	109-114	2011
Kusakabe M, Hasegawa K, Hamada M, Nakamura M, Ohsumi T, Suzuki H, Mai TT, Kudo T, Uchida K, Ninomiya H, Chiba S, Takahashi S.	c-Maf plays a crucial role for the definitive erythropoiesis that accompanies erythroblastic island formation in the fetal liver.	Blood	118	1374-85	2011
Kozuma Y, Sawahata Y, Takei Y, Chiba S, Ninomiya H.	Procoagulant properties of microparticles released from red blood cells in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria.	Br J Haematol	152	631-639	2011