

Li-Fraumeni症候群とその類縁症候群の実態調査について

研究分担者 船戸道徳 岐阜大学医学部附属病院小児科 臨床講師

研究要旨

Li-Fraumeni症候群は家族性腫瘍症候群の一つで希少な難治性疾患である。本研究の目的は実態調査によりこのLi-Fraumeni症候群やその類縁症候群であるLi-Fraumeni様症候群のQOLや予後を改善することにある。全国2826診療科を対象にアンケートによる調査を行い、Li-Fraumeni症候群20家系とLi-Fraumeni様症候群17家系が判明した。このうちのLi-Fraumeni症候群2家系とLi-Fraumeni様症候群5家系の詳細な解析により家族内での高い悪性腫瘍の発症リスクと極めて予後不良であることを確認した。また、患者家族の支援体制の整備を目指して遺伝に関する専門医と癌治療の専門カウンセラーの有無を調査した。双方が在籍すると答えた施設は都道府県がん診療連携拠点病院においてもわずか34%の施設であった。今後さらに本研究を進め、悪性腫瘍の発症予防法や治療法の確立、さらには患者家族の支援体制の整備が必要であると考えられた。

共同研究者

松井永子 岐阜大学医学部附属病院小児科・講師
近藤直実 岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学・教授

A. 研究目的

本邦では現在、約2人に1人が悪性腫瘍に罹患し3人に1人が悪性腫瘍で亡くなっているが、このうち、遺伝による家族性腫瘍の頻度は約5%と推定されている。2007年策定の「がん対策推進基本計画」①がんによる死亡者数の減少と②すべてのがん患者及びその家族の苦痛の軽減並びに療養生活の質の維持向上に向けて、家族性腫瘍の患者はその治療法や患者家族の支援体制などがいまだ十分に整備されているとは言えない。本研究の目的はこの家族性腫瘍症候群の中の一つであるLi-Fraumeni症候群やLi-Fraumeni様症候群の実態調査を通してQOLや予後を改善することにある。

B. 研究方法

① 本邦におけるLi-Fraumeni症候群及びLi-Fraumeni様症候群の実態調査

小児科専門医施設の517小児科と都道府県がん診療連携拠点病院51施設及び地域がん診療連携拠点病院338施設のLi-Fraumeni症候群関連悪性

腫瘍（肉腫、乳癌、脳腫瘍、副腎皮質癌、白血病）を治療すると考えられる2309診療科（内科、外科、整形外科、脳神経外科、血液内科、内分泌内科、乳腺外科など）を対象に調査用紙を送付し、これまでに診断したLi-Fraumeni症候群及びLi-Fraumeni様症候群の有無をアンケート形式で実態調査を行う。

さらに、これまでにLi-Fraumeni症候群及びLi-Fraumeni様症候群の診療を行った経験を有する施設には、引き続き、二次調査用紙を用いてアンケート形式で詳細な患者経過を調査する。

② 患者家族の支援体制の調査

支援体制の調査として、まずは本症候群の実態調査とともに上記の全2826診療科を対象に遺伝に関する専門医の有無と癌治療の専門カウンセラーの有無をアンケート調査する。さらに、現在までにLi-Fraumeni症候群及びLi-Fraumeni様症候群の診療を行った経験を有する施設を対象に行われる二次調査にて本症候群の患者のカウンセリングの状況を調査する。

（倫理面への配慮）

本研究は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（文部科学省、厚生労働省、経済産業省）等の規定に基づき、岐阜大学の倫理審査

委員会の審査を受けて行われる。研究対象者には、患者本人と代諾者へ説明文及び同意文書を用いて、本研究の目的・方法・利益・不利益について直接説明し、同意書にて同意を得る。患者本人が16歳以下である場合は、代諾者からも同意書を取得する。また、研究に参加する患者に対しては、個人の人権を擁護し、個人情報に厳重に保護され、連結可能匿名化にて研究を行う。

C. 研究結果

①Li-Fraumeni症候群及びLi-Fraumeni様症候群の実態調査

2011年10月から11月の期間に小児科専門医施設と都道府県がん診療連携拠点病院及び地域がん診療連携拠点病院の全2826診療科を対象にアンケート調査を行った。結果、1435診療科（回答率50.8%）より回答があり、現在までにLi-Fraumeni症候群20家系とLi-Fraumeni様症候群17家系（ともに疑いを含む）が診断されていた。診断したことがあると回答した24施設中小児科専門医施設は9施設で、都道府県がん診療連携拠点病院は12施設、地域がん診療連携拠点病院9施設であった。また、病院機能別にみると13施設は大学病院であり、その他には国立病院機構3施設、県立がんセンター3施設やこども病院1施設が含まれていた。診療科別では小児科（小児血液腫瘍科を含む）が9診療科、整形外科（骨軟部腫瘍科を含む）が6診療科、乳腺内分泌科が4診療科、脳神経外科が3診療科、血液内科1診療科であった。

二次調査については、2011年11月から調査を開始し2012年2月29日までに24施設中15施設（回答率62.5%）から回答があり、診断違いや精神的疾患の合併等により同意が得られなかった3家系を除いて、これまでにLi-Fraumeni症候群2家系とLi-Fraumeni様症候群5家系の患者経過をまとめることが出来た。（図1）

まず、発端者の発癌年齢は1～20歳までと広範囲であったが、癌種については3例が副腎皮質癌で、4例が肉腫であった。家族歴においてもLi-Fraumeni症候群関連悪性腫瘍の発症が目立ったが、胃癌や大腸癌、肝臓癌なども認められた。悪性腫瘍の発症が3世代にわたる2家系では表現促進現象が認められた。予後については発端者7例のうち5例がすでに死亡していた。また、5年以上生存したのは1例で複数の悪性腫瘍を発症していた。

TP53遺伝子の解析についてはLi-Fraumeni症候群1家系とLi-Fraumeni様症候群4家系で異常が認められ、いずれもDNA結合サイトの異常であった。生存している2例はいずれもスプライス変異であった。

また、発端者の悪性腫瘍がLi-Fraumeni症候群関連悪性腫瘍（肉腫、乳癌、脳腫瘍、副腎皮質癌、または白血病）でないために診断基準を満たしていないが多発性に悪性腫瘍を認める3家系が報告された。さらに二次癌や重複癌によりTP53遺伝子解析が行われ、うち1家系でTP53遺伝子変異のキャリアーが判明した。（図2）

図1 Li-Fraumeni症候群及びその類縁症候群の実態調査

診断	年齢	生死	性別	家族歴	初発癌	発癌年齢	二次癌	遺伝子解析	遺伝	癌治療	
1	LFS	3	死亡	男	父方祖母・乳癌、父・平滑筋肉腫、父の姉・乳癌	横紋筋肉腫	1	なし	未施行	なし	なし
2	LFS	5	死亡	女	母方祖父・胃癌(41)、胆管癌(77)、母・脳腫瘍(37)、母の姉・白血病(13)、母の妹・大腸癌(21)	線維肉腫	3	なし	p.Arg280Ile	主治医	なし
3	LFL	4	死亡	女	母方祖母・乳癌(48*)、母・乳癌(35*)、兄・髄芽腫(9*)	副腎皮質癌	2	なし	なし	主治医	主治医
4	LFL	21	死亡	女	母・乳癌(38*)、姉・骨肉腫(17*)	副腎皮質癌	20	なし	p.Leu194Pro	専門医	なし
5	LFL	3	生存	男	父方祖母・乳癌(55)、兄・肝芽腫(2)	副腎皮質癌	3	なし	c.375+2G>A	専門医・主治医	なし
6	LFL	21	死亡	女	父方祖父・胃癌(50)、父方祖母・肝臓癌(68)、父・胃癌(44)	エナメル上皮肉腫	10	あり	p.Gly245Ser (ALL)	専門医・主治医	主治医
7	LFL	19	生存	女	父方祖父・肺癌(70)、父方祖母・乳癌(45)、母方祖父・肺癌(70)、母方祖母・子宮頸癌(56)	骨肉腫	15	なし	G>A in intron6	なし	主治医

家族歴()内は診断時年齢 *は死亡時年齢

LFS:Li-Fraumeni症候群 LFL:Li-Fraumeni様症候群 遺伝: 遺伝カウンセリング 癌治療: 癌治療のカウンセリング ALL: 急性リンパ性白血病

図2 実態調査で判明したその他の症例一覧

診断	年齢	生死	性別	家族歴	初発癌	発癌年齢	二次癌	遺伝子解析	遺伝	癌治療
8 (LFS)	44	死亡	男	父・胃癌(45*)、母・乳癌(42*)、兄・肺癌(33*)	胃癌	44	なし	p. Arg273His	なし	主治医
9 (LFL)		死亡	男	父・骨肉腫(60*)、兄・肝臓癌と大腸癌(53*)、姉・乳癌と骨腫瘍(51*)	肺癌	40	あり(大腸癌、脳腫瘍)	未施行	なし	不明
10 (LFL)	44	生存	女	父・咽頭癌(64)、弟・原発不明癌(20)	大腸癌	33	あり (神経膠腫、子宮頸癌)	未施行	専門医	主治医
11	16	死亡	男	父・骨肉腫(26)、妹・変異キャリアー	骨肉腫	9	あり(肺癌)	c.16bpdup in exon8	主治医	主治医
12	9	生存	女	父方祖父・大腸癌(55)	骨肉腫 肝臓癌	8	なし	あり	専門医	なし

家族歴()内は診断時年齢 *は死亡時年齢

LFS:Li-Fraumeni症候群 LFL:Li-Fraumeni様症候群 遺伝:遺伝カウンセリング 癌治療:癌治療のカウンセリング

②患者家族の支援体制の調査

本症候群の実態調査とともに上記の全2826診療科を対象に遺伝に関する専門医の有無と癌治療の専門カウンセラーの有無についてアンケート調査を行った。遺伝に関する専門医と癌治療の専門カウンセラーが存在すると答えた施設は、小児科専門医施設ではそれぞれ27.3%と13.5%、都道府県がん診療連携拠点病院では62.0%と56.0%、地域がん診療連携拠点病院では14.2%と36.2%の結果であった。遺伝専門医と癌治療の専門カウンセラーがともに存在する施設は小児科専門医施設で16施設(7.7%)、都道府県がん診療連携拠点病院で17施設(34.0%)、地域がん診療連携拠点病院では30施設(9.5%)であった。

また、二次調査にてLi-Fraumeni症候群2家系とLi-Fraumeni様症候群5家系の患者経過の中で遺伝についてのカウンセリングが行われたのは5例で、癌治療についてのカウンセリングが行われたのは3例であった。遺伝についてのカウンセリングでは遺伝に関する専門医が行うケースもみられたが、癌治療についてはすべて主治医により行われていた。(図1)

D. 考察

今回、1990年にLi-Fraumeni症候群が報告されて以来約20年間に、本邦で診断されたLi-Fraumeni症候群及びLi-Fraumeni様症候群の全国実態調査を施行した。結果、Li-Fraumeni症候群20家系とLi-Fraumeni様症候群17家系(ともに疑いを含む)が判明した。診断したことがあると回答した24施設中21施設が大学病院及び国立病院機構等のTP53遺伝子の解析等を含めた検査が

可能と考えられる施設であったため、本症候群の診断システムの問題や認知度等により実際には診断に至っていない本症候群がさらに存在する可能性も考えられた。また、二次調査でまとめることが可能であったLi-Fraumeni症候群2家系とLi-Fraumeni様症候群5家系の家族内解析により、44.4%が40歳までに悪性腫瘍を発症し、88.9%が70歳までに悪性腫瘍を発症していた。このことはこれまでの報告と同様に本症候群では高い悪性腫瘍の発症リスクがあることを示していると考えられた。

患者支援体制においては、本症候群では少なくとも遺伝的側面と癌治療の側面の2方向からの支援が必要となるが、整備された体制があると考えられる都道府県がん診療連携拠点病院においても遺伝専門医と癌治療の専門カウンセラーの両方が配置されているのはわずか34.0%であった。また、実際の診療ではこれらの支援の中心を主治医が行っていることも判明し、主治医の負担が考えられた。今回の調査では実際に本症候群の2例において精神的疾患の合併のあることが判明しており、あらためて両方向からのカウンセリングシステムの迅速な整備の必要性を痛感した。

E. 結論

①Li-Fraumeni症候群2家系とLi-Fraumeni様症候群5家系を解析し、高い悪性腫瘍の発症リスクと極めて予後不良であることを確認した。

②本邦においてLi-Fraumeni症候群の患者支援体制が整っている施設はわずかであった。

③今後さらに研究を進め、悪性腫瘍の発症予防法や治療法の確立、さらには患者支援システムの整備が必要であると痛感した。

3. その他
該当なし

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Funato M., Fukao T, Sasai H, Hori T, Terazawa D, Kubota K, Ozeki M, Orii K, Kaneko H, Kondo N. Successful treatment of pediatric immune thrombocytopenic purpura associated with ulcerative colitis. *Pediatr Int.* 2011 3:771-773.
2. Funato M., Kaneko H, Kubota K, Ozeki M, Kanda K, Orii K, Kato Z, Fukao T, Kondo N. Pediatric acute lymphoblastic leukemia mimicking Henoch-Schönlein purpura. *Pediatr Int.* 2011 53:766-768.
3. Kato Z, Sasai H, Funato M., Asano T, Kondo N. Acute cerebellitis associated with rotavirus infection. *World J Pediatr.* 2011 in press.
4. Funato M., Kaneko H, Ohkusu K, Sasai H, Kubota K, Ohnishi H, Kato Z, Fukao T, Kondo N. Refractory chronic pleurisy caused by *Helicobacter equorum*-like bacterium in a patient with X-linked agammaglobulinemia. *J Clin Microbiol.* 2011 49:3432-3435.
5. An Y, Ohnishi H, Matsui E, Funato M., Kato Z, Teramoto T, Kaneko H, Kimura T, Kubota K, Kasahara K, Kondo N. Genetic variations in MyD88 adaptor-like are associated with atopic dermatitis. *Int J Mol Med.* 2011 27:795-801.

2. 学会発表

該当なし

H. 知的所有権の出願・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

本邦の小児血液・固形腫瘍登録からみた Li-Fraumeni 症候群とその類縁症候群の実態

研究分担者 鶴澤正仁 愛知医科大学医学部小児科 教授

研究要旨

本研究の目的は、本邦の小児血液・固形腫瘍疾患登録に基づいて、Li-Fraumeni 症候群とその類縁症候群の実態調査をすることである。2008 年から 2010 年の 3 年間に日本小児血液学会に登録された血液腫瘍 3,271 例、日本小児がん学会に登録された固形腫瘍 2,664 例の中で基礎疾患ありと登録された血液腫瘍は 188 例(5.7%)、固形腫瘍は 130 例(4.8%)であった。

基礎疾患ありと登録された血液・固形腫瘍で Li-Fraumeni 症候群は固形腫瘍の 2 例のみで血液腫瘍には 1 例も認められなかった。Li-Fraumeni 症候群の 2 例は 1 例が骨肉腫（2008 年登録）、他の 1 例は骨肉腫と肝細胞がんの同時多発がん（2010 年登録）で、両者とも患者本人から TP53 遺伝子変異が確認されていた。家族歴では前者に悪性腫瘍の好発傾向が認められたが、後者には悪性腫瘍の好発傾向は認めなかった。また 2 例の間に血縁関係は認められなかった。さらに Li-Fraumeni 類縁症候群で報告されている稀な腫瘍として副腎皮質がんと乳がんの発生を調査した結果、前者が 10 例、後者が 2 例登録されていたが基礎疾患を有する例は認められなかった。

共同研究者
該当なし

A. 研究目的

本研究の目的は、本邦の小児血液・固形腫瘍登録に基づいて、Li-Fraumeni 症候群とその類縁症候群の頻度などを明らかにすることにある。

B. 研究方法

2008 年から 2010 年の 3 年間に日本小児血液学会および日本小児がん学会に登録された小児血液腫瘍および小児固形腫瘍のデータベースから基礎疾患を有する症例を選別して基礎疾患の病名を調査すると共に、Li-Fraumeni 症候群とその類縁症候群で報告されている腫瘍の頻度を調査した。

C. 研究結果

2008 年から 2010 年の 3 年間に日本小児血液学会に登録された血液腫瘍は 2008 年 1,116 例、2009 年 1,081 例、2010 年 1,074 例の計 3,271 例、一方、日本小児がん学会に登録された固形腫瘍は 2008 年 873 例、2009 年 924 例、2010 年 867 例の計

2,664 例であった。これらの中で基礎疾患ありと登録された血液腫瘍はダウン症 TAM を除くと 2008 年 60 例、2009 年 66 例、2010 年 62 例の計 188 例(5.7%)、固形腫瘍は 2008 年 36 例、2009 年 44 例、2010 年 50 例の計 130 例(4.8%)であった。

基礎疾患ありと登録された血液・固形腫瘍で Li-Fraumeni 症候群は固形腫瘍の 2 例のみで血液腫瘍には 1 例も認められなかった。Li-Fraumeni 症候群の 2 例は 1 例が骨肉腫（2008 年に三重県から登録）、他の 1 例は骨肉腫と肝細胞がんの同時多発がん（2010 年に東京都から登録）であった。両者とも患者本人から TP53 遺伝子変異が確認されていた。家族歴では前者に悪性腫瘍の好発傾向が認められたが、後者には悪性腫瘍の好発傾向は認めなかった。また 2 例の間に血縁関係は認められなかった。

さらに Li-Fraumeni 類縁症候群で報告されている稀な腫瘍として副腎皮質がんと乳がんの発生を調査した結果、3 年間で、前者が 10 例、後者が 2 例登録されていたが基礎疾患を有する例は認められなかった。

D. 考察

本邦の Li-Fraumeni 症候群の発生頻度は極めて低いが、家族歴が明らかでない場合も存在するために、今後は Li-Fraumeni 類縁症候群に関連が高い稀な腫瘍（副腎皮質がんと乳がん）に関しては遺伝子解析を施設に依頼するなどの方策を検討する必要があると思われる。

E. 結論

2008 年から 2010 年の 3 年間に日本小児血液学会および日本小児がん学会に登録された小児血液腫瘍および小児固形腫瘍を調査した結果、2 例の Li-Fraumeni 症候群が確認された。今後は Li-Fraumeni 類縁症候群で報告されている腫瘍に関して家族歴と遺伝子検査の調査依頼を施設に依頼するなどの 2 次調査が必要と思われる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tsurusawa M. Standard therapy and current research topics for childhood/adolescent acute lymphoblastic leukemia. *Rinsho Ketsueki*. 2011 52: 1585-93.
2. Iwamoto S, Tsurusawa M, et al. Flow cytometric analysis of de novo acute lymphoblastic leukemia in childhood: report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Int J Hematol*. 2011 94:185-92.
3. Sekimizu M, Tsurusawa M, et al. Chromosome abnormalities in advanced stage T-cell lymphoblastic lymphoma of children and adolescents: a report from Japanese Paediatric Leukaemia/Lymphoma Study Group (JPLSG) and review of the literature. *Br J Haematol*. 2011 154:612-7.
4. Shima H, Tsurusawa M, et al. Distinct impact of imatinib on growth at prepubertal and pubertal ages of children with chronic myeloid leukemia. *J Pediatr*. 2011 159:676-81.
5. Taga T, Tsurusawa M, et al. Continuous and high-dose cytarabine combined chemotherapy in children with down syndrome and acute

myeloid leukemia: Report from the Japanese children's cancer and leukemia study group (JCCLSG) AML 9805 down study. *Pediatr Blood Cancer*. 2011 57:36-40.

6. Shimomura Y, Tsurusawa M, et al. Assessment of late cardiotoxicity of pirarubicin (THP) in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2011 57:461-6.

7. Ohta H, Tsurusawa M, et al. Flow cytometric analysis of de novo acute myeloid leukemia in childhood: report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Int J Hematol*. 2011 93:135-7.

2. 学会発表

該当なし

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

Li-Fraumeni様症候群より同定されたスプライス変異p53の機能解析

研究分担者 水谷修紀 東京医科歯科大学発生発達病態学分野 教授

研究要旨

骨肉腫を発症した Li-Fraumeni 様症候群患者より生殖細胞系列においてイントロン 6 のスプライスドナー部位でヘテロ接合性変異を認め、この結果 6 アミノ酸がエクソン 5 と 6 の間に挿入される p53 をコードする新規スプライス変異を同定した。細胞生物学的検討により、この変異は p53 の機能的喪失がおり、ハプロ不全の状態となることが明らかとなった。Li-Fraumeni 症候群は通常、生殖細胞系列における遺伝子変異の優性阻害効果により発症するが、本症例の検討から機能的喪失型変異によるハプロ不全はより軽微な表現型となる Li-Fraumeni 様症候群を発症する可能性が示唆された。

共同研究者

該当なし

A. 研究目的

骨肉腫を発症した Li-Fraumeni 様症候群患者よりスプライスドナー部位でのヘテロ接合性変異により、6 アミノ酸がエクソン 5 と 6 の間に挿入される新規スプライス変異を同定した。この変異により p53 に与える影響を検討する。

B. 研究方法

スプライス変異を持つ p53 遺伝子を RT-PCR を用いてクローニングし、p53 欠損細胞に導入し、その機能を p53 下流遺伝子 p21、puma などの発現を見ることにより検討した。また p53 野生型細胞に導入し優性阻害効果を検討した。患者末梢血より EB ウイルスを用いて細胞株を樹立し、その p53 依存の細胞周期調節機構、アポトーシス誘導機構を検討した。また変異 p53 の野生型 p53 への結合能を免疫沈降法を用いて検討した。

（倫理面への配慮）

倫理委員会の承認を得た上で Li-Fraumeni 様症候群患者の患者から同意を得て研究は行われた。また遺伝子検査はヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針(13年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)に基づき行われた。

C. 研究結果

骨肉腫を発症した女兒、家族歴より Li-Fraumeni 様症候群を疑い骨腫瘍、口腔粘膜細胞および血液細胞を用いて、TP53 遺伝子配列検索を行ったところ、生殖細胞系列において、イントロン 6 のスプライスドナー部位でヘテロ接合性変異を認めた。この結果 6 アミノ酸がエクソン 5 と 6 の間に挿入される p53 をコードすることが明らかとなった。

RT-PCR を用いて変異 p53 をクローニングし、p53 欠損細胞 H1299 に導入し、その機能を p53 下流遺伝子 p21、puma などの発現を見ることにより検討した。その結果この変異 p53 は p21、puma の誘導能はなく、機能的に障害があると考えられた。またこの結果は p53 結合コンセンサス配列をもつルシフェラーゼレポーターベクターを用いた解析からも再確認できた。次にこの機能喪失型変異が優性阻害効果を持つかどうか p53 野生型細胞 MCF7 に導入して、放射線を用いて DNA 損傷を与え、その効果を p53 下流遺伝子 p21、puma などの発現により確認した。この結果、同定された新規スプライス変異は優性阻害効果を持たないことが明らかとなった。

p53 は 4 量体を形成し機能することが知られている。同定された変異 p53 の野生型 p53 への結合能を免疫沈降法を用いて検討した。その結果、変異 p53 は野生型 p53 に結合できることが明らかとなった。

患者末梢血より、EB ウイルスを用いて細胞株

を樹立し、その p53 依存の細胞周期調節機構、アポトーシス誘導機構を検討した。興味深いことに放射線障害による DNA 損傷後の細胞周期調節機構は障害されていたが、アポトーシス誘導能は保たれていた。同時に放射線による p53 下流遺伝子の発現を検討した。5Gy 高線量および 0.5Gy で検討を行った。5Gy および 0.5Gy による DNA 損傷後、スプライス変異を持つ細胞株は優性阻害効果により発症した典型的 Li-Fraumeni 症候群より樹立した細胞株と同程度に細胞周期調節にかかわる p21 においてその誘導障害がより顕著であった。しかしアポトーシスにかかわる puma の発現は 0.5Gy では puma の誘導は野生に比較し軽度障害されているのみであったが 5Gy の高線量照射では puma の誘導は野生型、および Li-Fraumeni 症候群患者由来細胞株の中間を示した。

手術標本より得られた DNA を用いて p53 遺伝子の状態を検討したところ、野生型アレルの欠失が認められた。

D. 考察

骨肉腫を発症した Li-Fraumeni 様症候群患者より新規スプライス変異を同定した。この変異により p53 の機能は喪失するが優性阻害効果はなくハプロ不全の状態となることが示唆された。また、腫瘍細胞は野生型のアレルを欠失していた。これらのことから腫瘍の発症には残存する野生型 p53 の機能の不活化が必要だったと推測される。本スプライス変異をもつ p53 は DNA 損傷後 p21 の誘導は障害され、また細胞周期調節機構の異常を伴っていた。一方 puma の誘導能はある程度保たれ、正常のアポトーシス誘導能を有していた。

通常 Li-Fraumeni 症候群は機能喪失型変異の優性阻害効果により発症するとされる。本症例以外にも過去にいくつかのスプライス変異による Li-Fraumeni 症候群、Li-Fraumeni 様症候群の発症が報告されている。そのすべてで機能解析が行われているわけではないが、そのいくつかでは発症した腫瘍での野生型 p53 の不活化が報告され、ハプロ不全であった可能性が示唆される。ノックアウトマウスを用いた検討からも p53 のヘテロ欠損マウスはホモ欠損マウスより弱い表現型ではあるが腫瘍発症の頻度が上昇することが知られている。また野生型 p53 を 1 アレル余分に発

現した super p53 マウスは腫瘍発症に抵抗性なることが報告されている。これらの結果から変異による機能阻害だけでなく、p53 の量的な調節も腫瘍発症の感受性を決める上で重要なことが明らかとなった。野生型 p53 の阻害効果と、Li-Fraumeni 症候群の腫瘍発症の表現型との関係は依然として明らかになっていない部分もある。Li-Fraumeni 様症候群では p53 の解析に至っていない例も多数あると考えられる。今後、表現型と p53 の機能障害の程度との関係を明らかにしていく必要があると考えられる。

E. 結論

p53 のスプライス変異により機能的喪失型変異によるハプロ不全になる例があることが明らかとなった。この結果、より軽微な表現型となる Li-Fraumeni 様症候群を発症する可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Honda F, Hane Y, Toma T, Yachie A, Kim ES, Lee SK, Takagi M, Mizutani S, Morio T. Transducible form of p47phox and p67phox compensate for defective NADPH oxidase activity in neutrophils of patients with chronic granulomatous disease. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 417:162-8.
2. Nakamura K, Du L, Tunuguntla R, Fike F, Cavalieri S, Morio T, Mizutani S, Brusco A, Gatti RA. Functional characterization and targeted correction of ATM mutations identified in Japanese patients with ataxia-telangiectasia. *Hum Mutat.* 2012 33:198-208.
3. Atsumi Y, Fujimori H, Fukuda H, Inase A, Shinohe K, Yoshioka Y, Shikanai M, Ichijima Y, Unno J, Mizutani S, Tsuchiya N, Hippo Y, Nakagama H, Masutani M, Teraoka H, Yoshioka K. Onset of quiescence following p53 mediated down-regulation of H2AX in normal cells. *PLoS One.* 2011 6:e23432.
4. Takagi M, Shinoda K, Piao J, Mitsuiki N, Takagi M, Matsuda K, Muramatsu H, Doisaki S, Nagasawa M, Morio T, Kasahara Y, Koike K,

Kojima S, Takao A, Mizutani S. Autoimmune lymphoproliferative syndrome-like disease with somatic KRAS mutation. Blood. 2011 117:2887-90.

2. 学会発表

Li-Fraumeni 様症候群より同定されたスプライス変異 p53 の機能解析 高木正稔、櫻井直人、朴今夏、中谷中、西岡淳二、岩本彰太郎、駒田美弘、水谷修紀 第 56 回日本人類遺伝学会・第 11 回東アジア人類遺伝学会共同大会 2011.11-9-12 幕張

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

若年発症多重癌に關与する TP53 遺伝子変異の研究

研究分担者 小島勢二 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 教授

研究要旨

小児期に多重癌がみられたり、化学療法後や造血幹細胞移植後早期に二次癌が見られたという報告が散見される。今回我々は若年発症の MDS-RAEB に対する同種移植約 4 年後に脂肪肉腫を発症した特異な症例を経験した。本疾患発症に TP53 遺伝子変異の關与が考えられ、解析を行ったところ、RAEB 期の骨髓、脂肪肉腫それぞれで TP53 陽性細胞を同定し、レーザーマイクロダイゼクションで切り出し抽出した DNA から TP53 変異が認められた。TP53 変異は小児がん領域において稀とされてきたが、cancer susceptibility（癌の罹患しやすさ）という観点からも重要な役割を担っていることが予測され、今後多重癌、二次癌など多数例での検討が必要と考えられた。

共同研究者

嶋田 明 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学

A. 研究目的

小児期に多重がんがみられたり、化学療法後や造血幹細胞移植後早期に二次癌がみられたという報告が散見される。今回我々は若年発症の MDS-RAEB に対する同種移植後約 4 年後脂肪肉腫を発症した特異な症例を経験した。本疾患発症に TP53 遺伝子変異の關与が考えられ、解析を行った。

B. 研究方法

MDS-RAEB の骨髓細胞、ならびに脂肪肉腫の腫瘍組織から DNA を抽出し、p53 遺伝子の exon 2-10 まで常法通り PCR とダイレクトシーケンスを行った。また p53 の免疫染色を行い、レーザーマイクロダイゼクション (Lazer microdissection, LMD) にて陽性細胞を切り出し、DNA 抽出、PCR、ダイレクトシーケンスを行った。脂肪肉腫については FSIH にて MDM2 の増幅を検討した。

(倫理面への配慮)

本人ならびに、両親より遺伝子解析について同意を得た。

C. 研究結果

MDS-RAEB の骨髓血単核細胞から抽出した DNA、脂肪肉腫の凍結細胞から抽出した DNA から TP53 変異を同定できなかったが、p53 陽性細胞のみをレーザーマイクロダイゼクションで切り出し、抽出した DNA からは TP53 変異がみられた。しかし移植後 GVHD の確認で行われた直腸生検、口腔粘膜生検標本より同様に p53 陽性細胞をレーザーマイクロダイゼクションで切り出し、抽出した DNA からは変異は検出されなかった。

D. 考案

従来化学療法後や造血幹細胞移植後の多重癌、二次癌の発症に關しては、化学療法剤、放射線照射などの影響が大きいと考えられてきた。一方多重癌、二次癌を合併しやすい疾患として、TP53 胚細胞変異を特徴とする Li-Fraumeni 症候群が有名である。今回我々は従来の方法では TP53 変異の検出が困難な若年発症、多重癌症例において、LMD にて切り出した p53 陽性細胞より変異を検出した。しかもこの変異部位は異なっていた。以上のことから従来の方法では TP53 変異は検出できず、多重癌、二次癌患者の中には TP53 変異の起こりやすい集団が存在する可能性が示唆された。現在のところ多重癌、二次癌に關する分子遺伝学的検索は行われておらず、今後の解析が重要と考えられた。

E. 結論

若年発症多重癌症例において、従来の方法では検出できない *TP53* 遺伝子異常を検出した。今後は症例を集積して、*TP53* 胚細胞変異以外の癌に罹患しやすい集団の解明が重要である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

現在作成中

2. 学会発表

川島希ら、骨髄異形成症候群に対する同種移植後に発症した腹部脂肪肉腫の1例 2011年小児血液がん学会

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

染色体脆弱症候群のリンパ腫にみられたp53遺伝子変異

研究分担者 金子英雄 国立病院機構長良医療センター臨床研究部 部長

研究要旨

Li-Fraumeni症候群は、p53遺伝子のgermlineでの遺伝子変異が病因である。高率な癌腫の発症が特徴であり、癌腫の種類としては肉腫の頻度が高い。Li-Fraumeni症候群は、その病態から染色体脆弱症候群、遺伝性高発癌症候群、遺伝子修復異常症にも分類される。このなかには、Bloom症候群や毛細血管拡張性運動失調症なども含まれている。これらの疾患では、白血病・リンパ腫発症の頻度が高い。本研究では、染色体脆弱症候群(Bloom症候群2例、毛細血管拡張性運動失調症1例)の3例に発症したdiffuse large B細胞リンパ腫について、p53遺伝子変異について解析した。原発部位には変異を認めなかったがBloom症候群の1例の再発部位にp53遺伝子の9bpの欠失を認めた。p53遺伝子変異はB細胞リンパ腫の発症よりもその進展に、関与している可能性が示唆された。

共同研究者
該当なし

A. 研究目的

Li-Fraumeni症候群は、p53遺伝子のgermlineの遺伝子変異が病因である。その特徴は、高率な癌腫の合併である。今までの報告では、Li-Fraumeni症候群に合併する癌腫の種類としては、乳癌、脳腫瘍、骨肉腫、副腎皮質癌などの、固形腫瘍が主なものである。Li-Fraumeni症候群は、その病態から染色体脆弱症候群、遺伝性高発癌症候群、遺伝子修復異常症にも分類される。このなかには、Bloom症候群や毛細血管拡張性運動失調症などが含まれている。Bloom症候群、毛細血管拡張性運動失調症に合併する癌腫としては、リンパ腫、白血病の頻度が高い。本研究では、Bloom症候群、毛細血管拡張性運動失調症に合併したdiffuse large B細胞リンパ腫のp53遺伝子変異について検討し、その発症、進展に及ぼすp53遺伝子変異の影響について考察した。

B. 研究方法

Bloom症候群の兄妹例、毛細血管拡張性運動失調症の1症例に発症したB細胞リンパ腫を用

いて解析を行った。組織型は、いずれもdiffuse large B細胞リンパ腫であった。腫瘍組織からDNAを抽出し、PCRでエクソン5~9を増幅したのち、ダイレクトシーケンシング法により、塩基配列を決定した。PCRは下記のプライマーを用いた。

Exon	Sense	Anti-sense
5	TTCCTCTTCCTGCAGTACTC	CAGCTGCTCACCATCGCTAT
6	CACTGATTGCTCTTAGGTCT	AGTTGCAAACCAGACCTCAG
7	GTGTTATCTCCTAGGTTGGC	CAAGTGGCTCCTGACCTGGA
8	CCTATCCTGAGTAGTGGTAA	TCCTGCTTGCTTACCTCGCT
9	TTGCCTCTTTCCTAGCACTG	CCCAAGACTTCGTACCTGAA

(倫理面への配慮)

遺伝子変異に関しては「先天性免疫不全症の原因遺伝子同定および病態形成機序の解明」として、倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

症例1) Bloom症候群。21歳男性。咽頭部に腫瘍が発生した。腫瘍は外科的に切除され、放射線治療を受けた。しかし、5か月後に大腸のリンパ節に再発した。化学療法を施行したが、強い骨髄抑制が認められた。大腸の切除と放射線治療が施行されたが、完全寛解には至らなかった。23歳に腹腔内出血のため死亡された。

表 染色体脆弱症候群に発症した B 細胞リンパ腫の p53 遺伝子変異

	Bloom症候群(症例1)		Bloom症候群(症例2)	毛細血管拡張性運動失調症(症例3)
	初発	再発		
発生部位	鼻咽頭	大腸	小腸	頸部
p53遺伝子	Wild type	9bpの欠失 CTCACCATC	Wild type	Wild type

症例 2) Bloom 症候群。25 歳女性。急性腹症にて発症した。検査の結果、小腸のリンパ腫が指摘された。外科的処置がなされ、通常のプロトコールの半量で化学療法が行われた。治療後 17 年経ているが、寛解を維持している。

症例 3) 毛細血管拡張性運動失調症。12 歳男性。頸部リンパ節腫脹を指摘された。リンパ節生検を施行したところ B 細胞リンパ腫の病理所見であった。急性白血病のプロトコールの半量で治療し、完全寛解を得るも 20 歳の時に肺炎にて死亡した。

摘出されたリンパ腫の組織から DNA を抽出し、p53 遺伝子変異を解析した結果を上表に示す。原発部位では、p53 遺伝子変異は認められなかったが、Bloom 症候群の症例 1 の大腸の再発部位に、p53 遺伝子エクソン 7 の 9bp の遺伝子変異が存在した。c-myc や bcl-2 の遺伝子発現についても検索したが、これらの遺伝子の高発現は認められなかった。

D. 考察

今回検討した、Bloom症候群、毛細血管拡張性運動失調症は、Li-Fraumeni症候群と同様に、染色体脆弱症候群に分類されるが、そこに発症する癌腫は、Li-Fraumeni症候群とは異なり、白血病・リンパ腫の発症が多い。今回検討した3症例とも、diffuse large B細胞リンパ腫であった。3症例とも原発部位のリンパ腫にはp53遺伝子変異を認めなかったが、Bloom症候群の1例の再発部位に、p53 遺伝子変異を認めた。再発したリンパ腫に対して化学療法を行うも、寛解導入できなかつた。p53 遺伝子変異により、より強い増殖能を獲得した可能性が推測される。リンパ腫におけるp53遺伝子変異は、リンパ腫のそのものの発症よりも、その進展により関与している可能性が示唆された。

E. 結論

p53 遺伝子変異が、Bloom症候群に発症した B 細胞リンパ腫の再発部位に認められた。原発部位には同変異が認められていないため、一旦発症したリンパ腫に加わった変異と考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Morita H, Kaneko H, Ohnishi H, Kato Z, Kubota K, Yamamoto T, Matsui E, Teramoto T, Fukao T, Kasahara K, Kondo N. Structural property of soybean protein P34 and specific IgE response to recombinant P34 in patients with soybean allergy. *Int J Mol Med*. 2012 29:153-8.
- Ohnishi H, Miyata R, Suzuki T, Nose T, Kubota K, Kato Z, Kaneko H, Kondo N. A rapid screening method to detect autosomal-dominant ectodermal dysplasia with immune deficiency syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 129:578-80.
- Funato M, Fukao T, Sasai H, Hori T, Terazawa D, Kubota K, Ozeki M, Orii K, Kaneko H, Kondo N. Successful treatment of pediatric immune thrombocytopenic purpura associated with ulcerative colitis. *Pediatr Int*. 2011 53:771-3.
- Funato M, Kaneko H, Kubota K, Ozeki M, Kanda K, Orii K, Kato Z, Fukao T, Kondo N. Pediatric acute lymphoblastic leukemia mimicking Henoch-Schönlein purpura. *Pediatr Int*. 2011 53:766-8.
- Funato M, Kaneko H, Ohkusu K, Sasai H, Kubota K, Ohnishi H, Kato Z, Fukao T, Kondo N. Refractory chronic pleurisy caused by *Helicobacter equorum*-like bacterium in a

patient with X-linked agammaglobulinemia. J Clin Microbiol. 2011 49:3432-5.

6. Kaneko H, Fukao T, Kasahara K, Yamada T, Kondo N. Augmented cell death with Bloom syndrome helicase deficiency. Mol Med Report. 2011 4:607-9.

7. An Y, Ohnishi H, Matsui E, Funato M, Kato Z, Teramoto T, Kaneko H, Kimura T, Kubota K, Kasahara K, Kondo N. Genetic variations in MyD88 adaptor-like are associated with atopic dermatitis. Int J Mol Med. 2011 27:795-801.

8. Morita H, Kaneko H, Ohnishi H, Kato Z, Kondo N. Antigen-specific immune response to endotoxin-free recombinant P34. Allergy. 2011 66:985-6.

2. 学会発表

1. Kaneko H, Ohnishi H, Morita H, Yamamoto T, Kubota K, Teramoto T, Kato Z, Matsui E, Kato H, Nakano T, Kondo N. Development of enzymatically digested peptides for immunomodulation therapy in patients with cow's milk allergy. 16th Asia Pacific Association of Pediatric Allergy, Respiratory and Immunology Oct 28~30, 2011 Fukuoka, Japan

2. Kaneko H, Ohnishi H, Funato M, Kondo N Pathogenesis and clinical feature of primary antibody deficiencies The 7th Congress of Asian Society for Pediatric Research April 30 ~May 3, 2011 Denver, Colorado, USA

H. 知的所有権の出願・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

iPS 細胞技術を用いた Li-Fraumeni 症候群の病態解明に向けた研究

研究分担者 長船健二 京都大学 iPS 細胞研究所 准教授

研究要旨

Li-Fraumeni症候群は家族性腫瘍症候群の一つに分類される極めて予後不良の難治性疾患である。診断基準はすでに定義されており、原因の多くもTP53遺伝子の異常と判明しているが、悪性腫瘍の発症機序は不明であるため、その治療法もいまだに確立されていない。本研究では、病態解明と治療法開発を目指して、Li-Fraumeni様症候群の患者体細胞より疾患特異的iPS細胞を樹立した。「Li-Fraumeni様症候群」特異的iPS細胞（人工多能性幹細胞）は、ヒトES細胞（胚性幹細胞）と同様の未分化マーカー遺伝子の発現と三胚葉成分への多分化能を示した。今後、本症例およびその家系において悪性腫瘍を発生した罹患細胞種である血液細胞や肝細胞への分化誘導系を用いて、本疾患における発癌機構の解明や発癌物質のスクリーニング系開発研究への発展を目指す。

共同研究者
該当なし

A. 研究目的

Li-Fraumeni 症候群は家族性に癌を多発する遺伝症候群の一つで、常染色体優性遺伝の形式をとる。古典的な Li-Fraumeni 症候群とその類縁症候群である Li-Fraumeni 様症候群の二つの病型が知られている。

本症候群の原因については現在までに約 70% の Li-Fraumeni 症候群と約 20% の Li-Fraumeni 様症候群の患者において体細胞の TP53 遺伝子の異常が報告されている。しかしながら、これまでにその発癌メカニズムは解明されておらず、さらに臨床現場では常に薬剤耐性や二次癌等の問題を抱えるため、患者の生命予後も極めて不良である。

一方、難治性疾患の患者体細胞から疾患の発症に関与する遺伝情報を有する疾患特異的 iPS 細胞を樹立し、試験管内で罹患細胞種に分化誘導することによって病態を模倣する系を構築し、詳しい病態解析や治療薬探索を行う疾患モデル作製研究(Disease modeling)が盛んに行われている。そして、2008 年の筋萎縮性側索硬化症(Amyotrophic lateral sclerosis: ALS)の報告に始まり、現在までに多数の難治性疾患からの iPS 細胞樹立が既に報告されている。

本研究の目的は、Li-Fraumeni 症候群または

Li-Fraumeni 様症候群から樹立した疾患特異的 iPS 細胞を用いて同疾患に対する新規の試験管内疾患モデルを作製し、病態解明や治療法開発に繋げることである。

B. 研究方法

岐阜大学医学部附属病院にて診療を受けている Li-Fraumeni 様症候群の患者から同意取得後に皮膚生検を行う。そして、皮膚塊を培養し増殖させた線維芽細胞にエピゾーマルベクターによる初期化誘導 6 因子(OCT3/4, SOX2, KLF4, L-MYC, LIN28, p53shRNA)の遺伝子導入にて疾患特異的 iPS 細胞を樹立する。

さらに、樹立された iPS 細胞を、本症例およびその家族が悪性腫瘍を発症した血液、脳、肝臓などの臓器の構成細胞種へ分化誘導することにより、病態を模倣する試験管内疾患モデルの作製を行う。

（倫理面への配慮）

本研究は、京都大学大学院医学研究科・医学部および岐阜大学大学院医学研究科・医学部の「医の倫理委員会」にて承認された研究計画に基づき、匿名化の実施および遺伝情報を厳密に管理することによって、患者個人情報の漏洩によるプライバシー侵害の防止を徹底して行う。

C. 研究結果

Li-Fraumeni 様症候群患者 1 例（23 歳、女性、10 歳時に Ameloblastic fibrosarcoma、16 歳時に Acute lymphoblastic leukemia の既往有、父が Meningioma、祖父が Gastric cancer、祖母が Hepatic cancer の家族歴有、本人に TP53 遺伝子の G245S の変異同定済）から同意の元に上腕内側より皮膚組織を採取、培養を開始し、皮膚線維芽細胞を増殖させストックを作製した。また、一部の皮膚線維芽細胞にエピゾーマルベクターによる初期化誘導 6 因子(OCT3/4, SOX2, KLF4, L-MYC, LIN28, p53shRNA)の遺伝子導入を行い、iPS 細胞株を樹立した。次に、PCR 法によりエピゾーマルベクターの染色体への組み込みが否定されたクローンを選別した。そして、ヒト ES 細胞と同様の未分化マーカーの発現、および、胚様体、奇形腫形成による多分化能の確認を行った。さらに、Li-Fraumeni 様症候群由来 iPS 細胞が肝臓などの内胚葉性器官を派生させる胚体内胚葉に分化誘導可能であることを確認した。

D. 考察

Li-Fraumeni 様症候群の患者体細胞から、6 因子の遺伝子導入によって、疾患特異的 iPS 細胞樹立が可能であることが判明した。また、Li-Fraumeni 様症候群特異的 iPS 細胞は、試験管内で胚体内胚葉に分化誘導可能であるため、本症例の家系において悪性腫瘍を発症した罹患細胞種の一つである肝細胞への分化誘導を行うことによって、発癌機構の解析に使用可能な系の開発が期待される。

E. 結論

Li-Fraumeni 様症候群の疾患特異的 iPS 細胞は樹立可能であり、樹立された iPS 細胞は同疾患に対する試験管内疾患モデル作製に使用可能である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

長船健二、山中伸弥：人工多能性幹（iPS）

細胞の樹立とその臨床応用；最新内科学（西村書店）印刷中。

2. 学会発表

該当なし

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

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
<u>Funato M.</u> , Fukao T, Sasai H, Hori T, Terazawa D, Kubota K, Ozeki M, Orii K, <u>Kaneko H.</u> Kondo N.	Successful treatment of pediatric immune thrombocytopenic purpura associated with ulcerative colitis.	Pediatr Int.	53(5)	771-773	2011
<u>Funato M.</u> , <u>Kaneko H.</u> , Kubota K, Ozeki M, Kanda K, Orii K, Kato Z, Fukao T, Kondo N.	Pediatric acute lymphoblastic leukemia mimicking Henoch-Schönlein purpura.	Pediatr Int.	53(5)	766-768	2011
Kato Z, Sasai H, <u>Funato M.</u> , Asano T, Kondo N.	Acute cerebellitis associated with rotavirus infection.	World J Pediatr.			in press
<u>Funato M.</u> , <u>Kaneko H.</u> , Ohkusu K, Sasai H, Kubota K, Ohnishi H, Kato Z, Fukao T, Kondo N.	Refractory chronic pleurisy caused by Helicobacter equorum-like bacterium in a patient with X-linked agammaglobulinemia.	J Clin Microbiol.	49(9)	3432-3435	2011
An Y, Ohnishi H, Matsui E, <u>Funato M.</u> , Kato Z, Teramoto T, <u>Kaneko H.</u> , Kimura T, Kubota K, Kasahara K, Kondo N.	Genetic variations in MyD88 adaptor-like are associated with atopic dermatitis.	Int J Mol Med.	27(6)	795-801	2011
<u>Tsurusawa M.</u>	Standard therapy and current research topics for childhood/adolescent acute lymphoblastic leukemia.	Rinsho Ketsueki.	52(10)	1585-1593	2011
Iwamoto S, Deguchi T, Ohta H, Kiyokawa N, <u>Tsurusawa M.</u> , Yamada T, Takase K, Fujimoto J, Hanada R, Hori H, Horibe K, Komada Y.	Flow cytometric analysis of de novo acute lymphoblastic leukemia in childhood: report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group.	Int J Hematol.	94(2)	185-192	2011

Sekimizu M, Sunami S, Nakazawa A, Hayashi Y, Okimoto Y, Saito AM, Horibe K, <u>Tsurusawa M</u> , Mori T.	Chromosome abnormalities in advanced stage T-cell lymphoblastic lymphoma of children and adolescents: a report from Japanese Paediatric Leukaemia/Lymphoma Study Group (JPLSG) and review of the literature.	Br J Haematol.	154(5)	612-617	2011
Shima H, Tokuyama M, Tanizawa A, Tono C, Hamamoto K, Muramatsu H, Watanabe A, Hotta N, Ito M, Kurosawa H, Kato K, <u>Tsurusawa M</u> , Horibe K, Shimada H.	Distinct impact of imatinib on growth at prepubertal and pubertal ages of children with chronic myeloid leukemia.	J Pediatr.	159(4)	676-681	2011
Taga T, Shimomura Y, Horikoshi Y, Ogawa A, Itoh M, Okada M, Ueyama J, Higa T, Watanabe A, Kanegane H, Iwai A, Saiwakawa Y, Kogawa K, Yamanaka J, <u>Tsurusawa M</u> .	Continuous and high-dose cytarabine combined chemotherapy in children with down syndrome and acute myeloid leukemia: Report from the Japanese children's cancer and leukemia study group (JCCLSG) AML 9805 down study.	Pediatr Blood Cancer.	57(1)	36-40	2011
Shimomura Y, Baba R, Watanabe A, Horikoshi Y, Asami K, Hyakuna N, Iwai A, Matsushita T, Yamaji K, Hori T, <u>Tsurusawa M</u> .	Assessment of late cardiotoxicity of pirarubicin (THP) in children with acute lymphoblastic leukemia.	Pediatr Blood Cancer.	57(3)	461-466	2011
Ohta H, Iwamoto S, Kiyokawa N, <u>Tsurusawa M</u> , Deguchi T, Takase K, Fujimoto J, Horibe K, Komada Y.	Flow cytometric analysis of de novo acute myeloid leukemia in childhood: report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group.	Int J Hematol.	93(1)	135-137	2011

Honda F, Hane Y, Toma T, Yachie A, Kim ES, Lee SK, Takagi M, <u>Mizutani S</u> , Morio T.	Transducible form of p47phox and p67phox compensate for defective NADPH oxidase activity in neutrophils of patients with chronic granulomatous disease.	Biochem Biophys Res Commun.			in press
Nakamura K, Du L, Tunuguntla R, Fike F, Cavalieri S, Morio T, <u>Mizutani S</u> , Brusco A, Gatti RA.	Functional characterization and targeted correction of ATM mutations identified in Japanese patients with ataxia-telangiectasia.	Hum Mutat.			in press
Atsumi Y, Fujimori H, Fukuda H, Inase A, Shinohe K, Yoshioka Y, Shikanai M, Ichijima Y, Unno J, <u>Mizutani S</u> , Tsuchiya N, Hippo Y, Nakagama H, Masutani M, Teraoka H, Yoshioka K.	Onset of quiescence following p53 mediated down-regulation of H2AX in normal cells.	PLoS One.	6(8)	e23432	2011
Takagi M, Shinoda K, Piao J, Mitsuiki N, Takagi M, Matsuda K, Muramatsu H, Doisaki S, Nagasawa M, Morio T, Kasahara Y, Koike K, Kojima S, Takao A, <u>Mizutani S</u> .	Autoimmune lymphoproliferative syndrome-like disease with somatic KRAS mutation.	Blood.	117(10)	2887-2890	2011
<u>Kaneko H</u> , Fukao T, Kasahara K, Yamada T, Kondo N.	Augmented cell death with Bloom syndrome helicase deficiency.	Mol Med Report.	4(4)	607-609	2011