

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）
分担研究報告書

稀少小児遺伝性血液疾患の迅速な原因究明及び診断・治療法の開発に関する研究

先天性好中球減少症の遺伝子解析

研究分担者 小池 健一（信州大学医学部小児医学 教授）

研究要旨： 末梢血あるいは骨髓細胞を用いて、家族性および弧発性のsevere congenital neutropenia (SCN) と cyclic neutropenia (CN) の9例において、neutrophil elastase (Ela2) 遺伝子異常をdirect sequencingにより解析した。その結果、3例のfamilial SCN (P13L, R52P, S97L), 2例のfamilial CN (W212stop, P110L), および 1例のsporadic SCN (V72M) において、Ela2遺伝子のheterozygous変異が検出された。このうち、W212stop は新規の遺伝子変異であった。しかし、残りの3例では既知の遺伝子異常は認められなかった。

A. 研究目的

家族性および弧発性の severe congenital neutropenia (SCN) と cyclic neutropenia (CN) における遺伝子異常の種類と頻度を明らかにする。

B. 研究方法

家族性および弧発性の SCN と CN の 9 例の末梢血あるいは骨髓細胞を用いて、neutrophil elastase (Ela2) 遺伝子異常を direct sequencing により解析した。

(倫理面への配慮)

この研究計画は信州大学医学部倫理委員会で認可され、患者本人あるいは両親から informed consent を得て行なった。

C. 研究結果

3 例の familial SCN (P13L, R52P, S97L), 2 例の familial CN (W212stop, P110L), および 1 例の sporadic SCN (V72M) において、Ela2 遺伝子の heterozygous 変異が検出された。このうち、W212stop は新規の遺伝子変異であった。しかし、残りの 3 例では既知の遺伝子異常は認められなかった。

D. 考察と結論

先天性好中球減少症の 1/3 の例では既知の遺伝子異常は認められず、新規の遺伝子異常の存在が示唆された。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Matsuda K, Yoshida N, Koike K, et al. Long-term hematological improvement after non-intensive or no chemotherapy in juvenile myelomonocytic leukemia and poor correlation with adult myelodysplasia spliceosome-related mutations. Br J Haematol, in press.
- 2) Higuchi K, Nakazawa Y, Sakata N, Takizawa M, Ohso K, Tanaka M, Yanagisawa R, Koike K. Telecommunication system for children undergoing stem cell transplantation. Pediatr Int., in press.
- 3) Saito S, Matsuda K, Taira C, Sano K, Tanaka-Yanagisawa M, Yanagisawa R, Nakazawa Y, Sakashita K, Shiohara M, Koike K. Genetic analysis of TP53 in childhood myelodysplastic syndrome and

- juvenile myelomonocytic leukemia. *Leuk Res.*, 2011 35(12):1578-84.
- 4) Mukai S, Hidaka Y, Hirota-Kawadobora M, Matsuda K, Fujihara N, Takezawa Y, Kubota S, Koike K, Honda T, Yamauchi K. Factor H gene variants in Japanese: Its relation to atypical hemolytic uremic syndrome. *Mol Immunol.* 2011 49(1-2):48-55.
 - 5) Hirabayashi K, Shiohara M, Takahashi D, Saito S, Tanaka M, Yanagisawa R, Sakashita K, Nakamura T, Ishii E, Koike K. Retrospective analysis of risk factors for development of liver dysfunction in transient leukemia of Down syndrome. *Leuk Lymphoma.* 2011 [Epub ahead of print]
 - 6) Shigemura T, Yamazaki T, Hara Y, Ou JN, Stevens AM, Ochs HD, Koike K, Agematsu K. Monitoring serum IL-18 levels is useful for treatment of a patient with systemic juvenile idiopathic arthritis complicated by macrophage activation syndrome. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2011 9(1):15.
 - 7) 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. Autoimmune lymphoproliferative syndrome-like disease with somatic KRAS mutation. *Blood*, in press
 - 8) Baba A, Ishida T, Okada M, Akazawa Y, Hirabayashi K, Saida K, Sakaguchi K, Koike K. Right-to-left shunting in the ductus arteriosus is induced readily by intense crying and rapid postural change in neonates with meconium-stained amniotic fluid. *Pediatr Crit Care Med.* 2011 [Epub ahead of print]
 - 9) Matsuda K, Nakazawa Y, Yanagisawa R, Honda T, Ishii E, Koike K. Detection of T-cell receptor gene rearrangement in children with Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis using the BIOMED-2 multiplex polymerase chain reaction combined with GeneScan analysis. *Clin Chim Acta.* 2011 412(17-18):1554-8.
 - 10) Yanagisawa R, Katsuyama Y, Shigemura T, Saito S, Tanaka M, Nakazawa Y, Sakashita K, Shiohara M, Koike K. Engraftment syndrome, but not acute graft-versus-host disease, younger age, CYP3A5 or MDR1 polymorphisms, increases tacrolimus clearance in pediatric hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 2011 46, 90-97.
 - 11) Yanagisawa R, Matsuda K, Sakashita K, Nakazawa Y, Tanaka M, Saito S, Yoshikawa K, Kamijo T, Shiohara M, Koike K. Disappearance of minimal residual disease after the early withdrawal of immunosuppressants in a patient with juvenile myelomonocytic leukemia. *Pediatr Blood Cancer.* 2011 56:501-2
 - 12) Higuchi T, Fukuyama T, Misawa Y, Inaba Y, Ichikawa M, Koike K. Reflex seizures induced by micturition and defecation, successfully treated with clobazam and phenytoin. *Epileptic Disord.* 2011 13(2):166-71.
- ## 2. 学会発表
- 1) Al Kzayer, Sakashita K, Koike K, et al. FTA cards for genetic evaluation of childhood ALL in Iraq. 52:1055, 2011. 第73回日本血液学会学術集会 2011年10月14日～16日
 - 2) Sakashita K, Koike K, et al. 小児同種造血幹細胞移植後再発の予後に関する検討. 52:1337, 2011. 第73回日本血液学会学術集会 2011年10月14日～16日
 - 3) Shiohara M, Koike K, et al. Two cases of childhood CML whose therapy were changed

from imatinib to nilotinib. 52:1131, 2011
(巻が不明です) 第 73 回日本血液学会学術集会
2011 年 10 月 14 日～16 日

- 4) 小池健一。チェルノブイリ原発事故と福島第一
原発事故 -人体への影響- : 第 53 回日本小児
血液・がん学会学術集会 2011 年 11 月 25 日
～27 日。199, 2011 (巻が不明です)
- 5) 柳沢俊光、小池健一他。T 細胞性悪性リンパ腫
再発に対してネララビント臍帯血移植を併用
した 1 例 : 第 53 回日本小児血液・がん学会学
術集会 2011 年 11 月 25 日～27 日。206, 2011
(巻が不明です)
- 6) 重村倫成、中沢洋三、小池健一他。PiggyBac
トランスポゾン法を用いて遺伝子修復した X
連鎖慢性肉芽腫症患者 T 細胞からの iPS 細胞
の樹立 : 第 53 回日本小児血液・がん学会学術
集会 2011 年 11 月 25 日～27 日。220, 2011

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）
分担研究報告書

稀少小児遺伝性血液疾患の迅速な原因究明及び診断・治療法の開発に関する研究

CDA の臨床データ解析

研究分担者 真部 淳（聖路加国際病院小児科 医長）

研究要旨： 本研究の目的はCongenital dyserythropoietic anemia(CDA：先天性赤血球産生異常性貧血)の疾患像を明らかにすることである。CDAは先天性の赤血球系細胞の形成異常により、慢性貧血、無効造血および続発性ヘモクロマトーシスを伴う疾患である。平成21年度に全国の小児科専門医研修施設（520施設）等を対象に2000年1月以降の症例を調査したところ17例のCDA症例が把握された（回答率69%）。それらの症例を対象として二次調査と遺伝子検索を行った。10例の検体が集まり、1例でCDAN1変異が、また1例でSEC23Bの変異が見つかった。残りの8例について、次世代シーケンサーを用いて新規遺伝子探索を行う予定である。併せてCDAの診療ガイドラインを作成中である。

A. 研究目的

Congenital dyserythropoietic anemia (CDA) は先天的に赤血球系細胞に形成異常があり、慢性の不応性貧血、無効造血および続発性ヘモクロマトーシスを伴う稀な疾患群である。我が国ではこれまでCDAの実態が十分把握されておらず、本研究により我が国におけるCDAの実態を明らかにし最終的に効果的診断法や治療ガイドラインを作成することを目的とする。

B. 研究方法

従来行われている日本小児血液学会疾患登録、中央診断事業をもとに、我が国におけるCDAの把握ならびに診断を行う。診断を行うための診断基準、中央形態診断、遺伝子診断のシステムを構築する。疾患の把握は、過去に行われた全国調査を参考に、疑い症例を含みアンケート方式で行う。診断基準については既存のものを参考にすが、軽症で診断基準に合致しないものも存在する可能性があるため、独自のものを作成する。調査は血液専門医だけでなく一般小児科医にも協力してもらう。

(倫理面への配慮)

本研究で行われる臨床試験は、

- ① ヘルシンキ宣言に則り、患者の利益を最優先に考えて実施する。
- ② 調査フィールドとなる各施設における倫理委員会で承認を得て実施する。
- ③ 患者および家族に対して面談・介入開始時に統一した説明文を用いて文書による同意を得る。同意説明文では、調査を行う目的、介入・面談の内容、協力者に起こりうる利益・不利益について、未成年者の場合には年齢に応じた説明をする。
- ④ 協力によって得られたデータは、個人情報保護を厳重に行い、研究目的以外には利用しないことを文書による同意を得て実施する。

C. 研究結果

小児血液学会において多賀崇が以前おこなったCDAの全国調査ならびに今回の調査で新たに調査されたCDAとその疑い症例を対象として2次調査と中央遺伝子診断を開始した。現在までに10例の検体が集まり、1例でCDAN1の変異が、1例でSEC23Bの変異が見つかった。それ以外の8例について次世

代シンクエンサーを用いて新規遺伝子探索を行う予定である。また、本疾患の診療ガイドラインを作成中である。

D. 考察

わが国でもCDA患者が一定数存在することが明らかになったが、諸外国に比べ稀な疾患なのか、軽症例が多く見逃されているのかなははまだに不明である。遺伝子解析を進めるとともにスクリーニングする集団を広げていき、実態を明らかにする必要がある。

E. 結論

わが国のCDAの実態の正確な把握をし、よりよい治療法を開発するため、今度も調査、研究が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hasegawa D, Manabe A, Ohara A, Kikuchi A, Koh K, Kiyokawa N, Fukushima T, Ishida Y, Saito T, Hanada R, Tsuchida M: The Utility of Performing the Initial Lumbar Puncture on Day 8 in Remission Induction Therapy for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: TCCSG L99-15 Study. *Pediatr Blood Cancer*, 58:23-30, 2012
- 2) 中川真智子、草川功、平田倫生、斉藤怜、笠井恵美、長谷川大輔、真部淳、細谷亮太：生後早期に少量シタラビン（Ara-C）療法を施行した一過性骨髄増殖症（TAM）の1例。日本周産期・新生児医学会雑誌 47:161-164, 2011
- 3) 濱 麻人, 吉見 礼美, 坂口 大俊, 土居崎 小夜子, 村松 秀城, 嶋田 明, 高橋 義行, 野沢 和江, 伊藤 雅文, 土田 昌宏, 真部 淳, 小原 明, 小島 勢二：小児再生不良性貧血の骨髄像：140例のセントラルレビューによる検討。臨床血液 52:653-658, 2011
- 4) 吉田奈央、平林真介、渡辺静、在家裕司、土田昌宏、吉見礼美、増永敦子、大塚欣敏、伊藤雅

文、小島勢二、中畑龍俊、真部淳。若年性骨髄単球性白血病 75 例の予後：小児血液学会 MDS 委員会中央診断登録例の検討。臨床血液, in press

- 5) Inukai T, Kiyokawa N, Campana D, Coustan-Smith E, Kikuchi A, Kobayashi M, Takahashi H, Koh K, Manabe A, Kumagai M, Ikuta K, Hayashi Y, Tsuchida M, Sugita K, Ohara A: Clinical significance of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: Results of the Tokyo Children's Cancer Study Group Study L99-15. *Br J Haematol*, in press
- 6) Shiba N, Hasegawa D, Park M-j, Murata C, Matsubara A, Ogawa C, Yagasaki H,, Manabe A, Arakawa H, Ogawa S, Hayashi Y: *CBL* mutation in familial platelet disorder with propensity to acute myeloid leukemia (FPD/AML) patient in a Japanese pedigree with *RUNX1* Mutation. *Blood*, in press
- 7) TanakaY, Manabe A, Nakadate H, Kondoh K, Nakamura K, Koh K, Utano T, Kikuchi A, Komiyama T: Inosine triphosphate pyrophosphatase enzyme activity affects 6-mercaptopurine toxicity during maintenance therapy for acute lymphoblastic leukemia in Japanese children. *Leukemia Res*, in press

2. 学会発表

- 1) Manabe A, Kawasaki H, Chin M, Sato A, Matsumoto K, Watanabe T, Kajiwara M, Shimada H, Kato I, Kodama Y, Sato N, Kudo K, Kikuta A, Oda M, Watanabe T, Saito A, Tsurusawa M, Horibe K: A brief use of imatinib immediately before hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in children with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia (Ph+ALL):

Results of the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG) study Ph+ALL04. Blood, Suppl, 2011 (アメリカ血液学会、San Diego, 2011年12月)

- 2) Hasegawa D, Chen X-j, Hirabayashi S, Ishida Y, Watanabe S, Zaike Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Hama A, Kojima S, Ito M, Nakahata T, Manabe A: Clinical characteristics and treatment outcome of refractory cytopenia of childhood: A prospective registration through the Japanese Society of Pediatric Hematology. Blood, Suppl, 2011 (アメリカ血液学会、San Diego, 2011年12月)

G. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) 骨髄異形成症候群 MDS。日本小児血液学会(編集) 小児白血病・リンパ腫の診療ガイドライン 2011年版(第2版)、p66-72、2011、金原出版(東京)

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）
分担研究報告書

稀少小児遺伝性血液疾患の迅速な原因究明及び診断・治療法の開発に関する研究

Shwachman-Diamond 症候群の原因究明及び診断・治療法の開発

研究分担者 渡邊 健一郎（京都大学発達小児科学 講師）

研究要旨： Shwachman-Diamond症候群は、骨髄不全と膵外分泌不全を主徴とする先天性骨髄不全症候群である。本症候群症例で90%にSBDS遺伝子両アリル変異が認められることが報告されているが、SBDS遺伝子変異を認めない症例について新たな疾患関連遺伝子は未だ同定されていない。昨年度「Shwachman-Diamond症候群の効果的診断法に関する研究」班で初めての全国調査を行い、本邦での同疾患の実態を明らかにした。今年度、同疾患が疑われた症例2例について、当施設で遺伝子解析を行った。その結果、両症例ともSBDS遺伝子の両アリル変異を認め、診断を確定することができた。今後も、本疾患が疑われる症例について遺伝子解析を行い、SBDS遺伝子変異を認めない症例を見出し、新たな遺伝子変異を同定し、病態の解明を行っていく。

A. 研究目的

Shwachman-Diamond 症候群では、90%の症例で SBDS 遺伝子の両アリル変異が認められると報告されているが、新たな疾患関連遺伝子は同定されていない。新規遺伝子同定のため、本疾患が疑われる症例について SBDS 遺伝子解析を行い、同遺伝子の変異が同定されない症例を把握する。

B. 研究方法

Shwachman-Diamond 症候群が疑われる症例から、同意を得て、末梢血単核球を分離し、DNA を抽出した。ダイレクトシーケンス法を用いて SBDS 遺伝子の塩基配列を決定した。Compound heterozygote であった場合には、両親の SBDS 遺伝子のシーケンスを行い、両親がそれぞれの変異アリルをもつことを確認した。

（倫理面への配慮）

本研究は、ヘルシンキ宣言に従い、京都大学医学部医の倫理委員会の承認を得ている。検体採取の際には、十分な説明を行い、文書による同意を得ている。遺伝子解析については、ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針に従っている。

C. 研究結果

今年度は、本疾患の臨床診断例2例についてSBDS遺伝子解析を行った。1例は183-184TA>CT/258T>C と common mutation の compound heterozygoteであった。両親の解析で、それぞれが258T>C、183-184TA>CTのheterozygoteであることを確認した。2例目は258+2T>C/97A>Gのcompound heterozygoteであった。両親が、それぞれ258+2T>Cのヘテロ、97A>Gのヘテロであることを確認した。

D. 考察

今回解析した新規症例 2 例は典型例であり、SBDS 遺伝子解析により確定診断し得た。258T>C、183-184TA>CT は common mutation であるが、97A>G は稀な変異である。SBDS はリボソームの生成に関与すると考えられており、本症候群で SBDS を認められない症例では同じリボソーム生成過程に関連する遺伝子に異常があることが想定されている。今後も本症候群疑い例について、SBDS 遺伝子解析を行い、診断を行っていくと共に SBDS に変異を認めない症例について、新規遺伝子の検索を行う。

E. 結論

典型例については SBDS 遺伝子解析で診断を確定できることが示唆された。今後臨床診断例、疑い例について遺伝子解析を行い、SBDS 遺伝子変異が認められなかった症例について、SBDS に関連するリボソーム生成に関わる遺伝子を含め、全エクソーム解析で解析を行い、新規遺伝子を同定する。

F. 研究発表

1. 論文発表

Morishima T, Watanabe K, et al. Neutrophil differentiation from human-induced pluripotent stem cells. *J Cell Physiol* 2011; 226(5):1283-91.

2. 学会発表

Morishima T, Watanabe K, et al. Reduced production of mature neutrophils from induced pluripotent stem cells derived from a severe congenital neutropenia patient with HAX1 gene deficiency. 53rd ASH annual meeting and exposition, 2011.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）
分担研究報告書

稀少小児遺伝性血液疾患の迅速な原因究明及び診断・治療法の開発に関する研究

CD3 抗原発現低下を伴う複合免疫不全症の 1 例

研究分担者 金兼 弘和 （富山大学附属病院小児科 講師）

研究要旨： 反復性呼吸器感染を主訴に同定された複合免疫不全症の患者で CD3 抗原の発現低下を認めた。兄は Evans 症候群と診断され、リンパ節腫脹、脾腫も認め、脾摘後に肺炎球菌による髄膜炎、敗血症を発症し死亡した。兄も患者と同様に CD3 抗原の発現低下を認めた。T 細胞レセプターまたは CD3 複合体構成成分の異常が考えられ、各構成成分の遺伝子解析を行ったが、変異は同定されていない。常染色体劣性の遺伝形式が考えられ、今後は網羅的遺伝子解析によって患者の原因を明らかとする。

A. 研究目的

本研究ではさまざま稀少遺伝性血液疾患の原因究明を主たる目的とするが、分類不能な遺伝性血液疾患も含まれる。当科で経験した CD3 抗原発現低下を伴う複合免疫不全症の患者についてこれまで T 細胞レセプター (TCR) ならびに CD3 複合体構成成分について遺伝子解析を行ってきたが、未だ変異は同定できていない。Evans 症候群で死亡した兄も同疾患であったと考えられ、常染色体劣性の先天性疾患と思われる。本研究では網羅的遺伝子解析によって本疾患の原因遺伝子の同定を試みる。

B. 研究方法

症例は 24 歳男性。生後 3 カ月から反復性呼吸器感染症を繰り返し、抗菌薬、免疫グロブリン投与にて加療を受けていた。10 歳時に精査のため当院に紹介となった。リンパ節腫脹はないが、肝臓を 4cm、脾臓を 4cm 触知した。血液検査でリンパ球数の軽度低下 (1,230/ μ l) を認めた。IgM は正常であったが、IgG ならびに IgA の低値を認め、IgG サブクラスでは IgG2 の低値を認めた。

兄は生後 1 か月時に溶血性貧血、血小板減少を認め、Evans 症候群と診断された。その後リンパ節腫大、脾腫が顕著となり、脾摘が行われた。2 歳 7 か

月時に肺炎球菌性髄膜炎、敗血症を発症し、死亡した。

免疫学的検査としてリンパ球サブセットならびに抗 CD3 抗体、抗 CD2 抗体、PHA、スーパー抗原 (TSST-1) に対するリンパ球増殖反応を調べた。

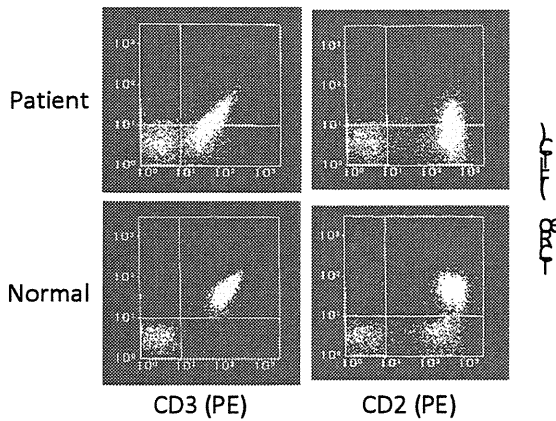
(倫理面への配慮)

本研究はヒト検体を用いて解析を行うものであり、検体量および採取時の苦痛には十分な配慮を行った。遺伝子解析については各種指針を遵守して、患者個人情報保護について十分な配慮を行った。

C. 研究結果

リンパ球サブセットでは CD3 67.0%, CD4 47.2%, CD8 21.0%, CD16 12.4%, CD20 7.2% とほぼ正常であったが、2 カラー解析で見ると T 細胞における TCR α/β の発現が正常対照に比べて低下していた (図 1)。

図1 リンパ球における2カラー解析



F. 研究発表

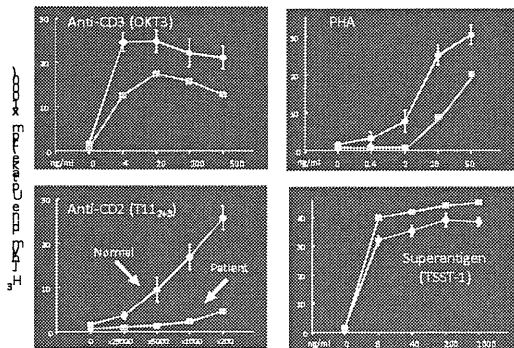
1. 論文発表
なし

2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

リンパ球増殖反応を調べるとスーパー抗原に対する反応は正常と同程度であったが、抗 CD3 抗体、抗 CD2 抗体、PHA に対する反応は正常に比べて低反応であった (図 2)。

図2 各刺激に対するリンパ球増殖反応



D. 考察

TCR/CD3 複合体を介する刺激の低下が認められ、これら複合体を構成する成分の欠損が考えられた。しかし TCR α/β を始めとする構成成分に遺伝子変異は同定されず、これらに直接会合する分子や下流シグナル分子の異常が想定される。

E. 結論

兄においても T 細胞における CD3 抗原の発現低下が認められ、同疾患であった可能性が高い。よって常染色体劣性形式を有する新たな複合免疫不全症である可能性があり、今後は whole exome sequencing などの網羅的遺伝子解析によって、本疾患の原因遺伝子の同定を行う予定である。

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）
分担研究報告書

稀少小児遺伝性血液疾患の迅速な原因究明及び診断・治療法の開発に関する研究

遺伝性鉄芽球性貧血の原因遺伝子の同定

研究分担者 張替 秀郎（東北大学大学院医学系研究科血液・免疫病学分野 教授）

研究要旨： 遺伝性鉄芽球性貧血はミトコンドリアにおける鉄の代謝に関わる遺伝子の先天的異常により発症する難治性の貧血であり、骨髄における環状鉄芽球の出現を特徴とする。本邦の遺伝性鉄芽球性貧血症例について遺伝子解析を行ったところ、XLSA10例、PMPS1例、原因遺伝子不明7例に分類された。現在、原因遺伝子が同定できていない症例について全エクソンシーケンスにより、原因遺伝子の同定を試みている。

A. 研究目的

鉄芽球性貧血(sideroblastic anemia)は骨髄に環状鉄芽球が出現することを特徴とする難治性貧血であり、遺伝性鉄芽球性貧血と後天性鉄芽球性貧血の2つに大きく分類される。

遺伝性鉄芽球性貧血はミトコンドリアにおける鉄の代謝に関わる遺伝子の先天的異常により発症する。このうち、もっとも頻度が高い遺伝性鉄芽球性貧血は、赤芽球におけるヘム生合成系の初発酵素である赤芽球特異的アミノレブリン酸合成酵素(erythroid-specific 5-aminolevulinate synthase:ALAS2)遺伝子の変異によるX連鎖性鉄芽球性貧血(X-linked Sideroblastic Anemia: XLSA)であるとされている。この他にも遺伝性鉄芽球性貧血の原因遺伝子は複数報告されており、またその症状も貧血以外の臓器障害を呈する鉄芽球性貧血も存在するなど、その原因・症状は多様である。本研究の目的は、遺伝性鉄芽球性貧血の調査研究班で把握した遺伝性鉄芽球性貧血症例のうち、原因遺伝子が不明の症例を抽出し、新規遺伝子変異を同定することである。

B. 研究方法

「遺伝性鉄芽球性貧血の診断分類と治療法の確立に関する研究」班で得られた18症例の遺伝性鉄芽

球性貧血症例の遺伝子変異を解析し、変異遺伝子が認められなかった症例のうち、家族の検体が得られた症例について、東京大学小川誠司博士と共同で全エクソンシーケンスを行った。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析は各施設の倫理委員会で承認された上で、患者本人もしくは保護者への説明・同意の取得がなされたのち、施行される。

C. 研究結果

18例の遺伝性鉄芽球性貧血のうち、10例でALAS2遺伝子の変異が確認された。残り8例のうち検体が得られた4例においては既報告の遺伝性鉄芽球性貧血の原因遺伝子に変異が認められなかった。現在、原因遺伝子の変異が認められなかった4家系13検体について、全エクソン解析を行っている。

D. 考察

原因遺伝子が不明の症例については、原因遺伝子のエクソン以外の遺伝子の未だに明らかにされていない転写調節領域に変異を有する可能性、新たな原因遺伝子の変異が発症に関わっている可能性がある。これらの可能性について、全エクソン解析や、責任遺伝子のプロモーター・エンハンサー領域の解析が

必要と思われる。

E. 結論

本邦において18例の遺伝性鉄芽球性貧血を確認し得た。原因遺伝子として*ALAS2*が最も多いことが明らかとなったが、原因遺伝子が同定できない症例も複数存在し、これらの症例については今後のさらなる解析を予定している。

F. 研究発表

1. 論文発表

The carboxyl-terminal region of erythroid-specific 5-aminolevulinate synthase acts as an intrinsic modifier for its catalytic activity and protein stability. Kadirvell S, Furuyama K, Harigae H, Kiriko K, Tamai Y, Ishida Y, Shibahara S. *Exp Hematol. in press*

2. 学会発表

Charateristics of sideroblastic anemia in Japan - from the analysis of multicenter study

日本における鉄芽球性貧血の疫学調査---多施設共同後方視的研究

大場 理恵, 古山 和道, 真部 淳, 伊藤 悦朗, 小島 勢二, 小澤 敬也, 張替 秀郎. 第73回日本血液学会総会(平成23年10月14日—16日)

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）
総括研究報告書

稀少小児遺伝性血液疾患の迅速な原因究明及び診断・治療法の開発に関する研究

先天性顆粒放出異常症の遺伝子異常の探索的研究

研究分担者 石井 榮一（愛媛大学大学院医学系研究科小児科学 教授）

研究要旨： 先天性顆粒放出異常症は家族性血球貪食性リンパ組織球症（FHL）、Chediak-Higashi 症候群、Griscelli 症候群、Hermansly-Pudlak 症候群などが含まれ、いずれもリンパ球の分泌顆粒の放出に関わる遺伝子異常が同定されつつある。これまでの解析では日本では FHL と Chediak-Higashi 症候群が存在し、そのうち FHL の約 10% および Chediak-Higashi 症候群の約 1/3 が遺伝子異常不明であった。今後は遺伝子異常不明例における新規遺伝子の同定を行い、その全容を明らかにする必要がある。

A. 研究目的

先天性顆粒放出異常症は家族性血球貪食性リンパ組織球症（FHL）、Chediak-Higashi 症候群、Griscelli 症候群、Hermansly-Pudlak 症候群などが含まれ、いずれもリンパ球の分泌顆粒の放出に関わる遺伝子異常が同定されつつあるが、日本における実態は不明である。本研究の目的は、これら先天性顆粒放出異常症の遺伝子異常の解明を行い、その病態を明らかにすることである。

B. 研究方法

小児白血病リンパ腫研究グループ（JPLSG）および小児血液・がん学会に登録された症例を中心に、先天性顆粒放出異常症の既知および未知の遺伝子異常の解明を行いその病態を明らかにする。具体的には各症例の既知の遺伝子（FHL では *PRF1*, *UNC13D*, *STXBP2*, Chediak-Higashi 症候群では *LYST*）の遺伝子異常の有無を解析する。遺伝子異常が同定されなかった患者では、次世代シーケンサーを用いた全エクソンシーケンスを行い新規の原因遺伝子の探索を行う。

（倫理面への配慮）

本研究事業で行われる研究は、ヘルシンキ宣言お

よび個人情報保護法に則り、ヒトゲノム遺伝子解析倫理委員会の承認を得て実施する。患者及び患者家族に対しては説明文を用いて文書による同意を得る。

C. 研究結果

先天性顆粒放出異常症のうち FHL の日本における各亜型の頻度を解析した。その結果、FHL2 54%, FHL3 34%, FHL4 0%, FHL5 6%, non-FHL2/3/4/5 6% であった。顆粒放出解析ならびに CTL 活性の結果からは未知の遺伝子異常による FHL が約 10% 存在する可能性が示唆された。これらの遺伝子異常不明例は新規遺伝子の同定を行う予定である。さらに Chediak-Higashi 症候群、Griscelli 症候群、Hermansky-Pudlak 症候群の全国調査を行い、Chediak-Higashi 症候群 14 例の存在が確認された。Chediak-Higashi 症候群は、血球貪食症候群をきたす症例は少なく、長期生存例では消化管合併症および中枢神経合併症が多いことが明らかになった。LYST 遺伝子異常は 1/3 の症例では明らかではなく、LYST 以外の遺伝子異常の存在が推測された。以上より日本における顆粒放出異常症の実態と問題点が明らかになった。今後は未知遺伝子の同定を進め、全体像を明らかにする予定である。

D. 考察

先天性顆粒放出異常症の日本における実態解明を行い、FHL と Chediak-Higashi 症候群の実態が明らかとなった。その多くは遺伝子異常が同定されたものの、FHL の約 10%、Chediak-Higashi 症候群の約 1/3 が遺伝子異常不明であり今後の新規遺伝子の同定が必要と考えられた。

E. 結論

先天性顆粒放出異常症の日本における実態が初めて明らかになった。またその多くで遺伝子異常およびリンパ球機能の異常も解析された。今後は新規遺伝子を同定し、その病態を明らかにする必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Matsuda K, Nakazawa Y, Yanagisawa R, Honda T, Ishii E, Koike K (2011) Detection of T-cell receptor gene rearrangement in children with Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis using the IOMED-2 multiplex polymerase chain reaction combined with GeneScan analysis. **Clin Chim Acta** (in press)
- 2) Murata Y, Yasumi T, Shirakawa R, Izawa K, Sakai H, Abe J, Tanaka N, Kawai T, Oshima K, Saito M, Nishikomori R, Ohara O, Ishii E, Nakahata T, Horiuchi H, Heike T (2011) Rapid diagnosis of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 3 (FHL3) by flow cytometric detection of intraplatelet Munc13-4 protein. **Blood** (in press)
- 3) Yanagimachi M, Goto H, Miyamae T, Kadota K, Imagawa T, Mori M, Sato H, Yanagisawa R, Kaneko T, Morita S, Ishii E, Yokota S (2011) Association of *IRF5* polymorphisms with susceptibility to hemophagocytic lymphohistiocytosis in children. **J Clin Immunol** (in press)
- 4) Asano T, Kogawa K, Morimoto A, Ishida Y,

Suzuki N, Ohga S, Kudo K, Ohta S, Wakiguchi H, Tabuchi K, Kato S, Ishii E (2011) Hemophagocytic lymphohistiocytosis after hematopoietic stem cell transplantation in children: a nationwide survey in Japan. **Ped Blood Cancer** (in press)

2. 学会発表

- 1) Nakazawa Y, Matsuda K, Yanagisawa R, Ishii E (2011) Monitoring of T-cell receptor gene rearrangement in children treated with HLH-2004 for Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. 27th Annual Meeting of Histiocyte Society, October, Vienna, Austria,
- 2) Yanagimachi M, Goto H, Miyamae T, Kadota K, Imagawa T, Mori M, Sato H, Yanagisawa R, Kaneko T, Morita S, Ishii E, Yokota S (2011) Association of *IRF5* polymorphisms with susceptibility to hemophagocytic lymphohistiocytosis. . 第 73 回日本血液学会、10 月、名古屋
- 3) Ohga S, Nishi M, Nishimura R, Suzuki N, Okamura T, Yano J, Adachi S, Sato E, Kanai R, Sawada A, Ishii E (2011) Unrelated cord blood transplantation for familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL). 第 73 回日本血液学会、10 月、名古屋
- 4) 西眞範、西村良成、鈴木信寛、岡村隆行、矢野潤、足立壮一、八角高裕、佐藤恵美子、金井理恵、藤田直人、澤田明久、石井榮一、大賀正一 (2011) 家族性血球貪食性リンパ組織球症 (FHL) に対する前処置軽減非血縁臍帯血移植 (RIC-UCBT) 第 53 回日本小児血液・がん学会、11 月、前橋
- 5) 石井榮一、鈴木信寛、前田美穂、石田也寸志、金兼弘和、岡村隆行、鬼頭敏幸、太田茂、森本哲、浅野健、大賀正一、脇口宏、永井功造 (2011) 日本における Chediak-Higashi 症候群の疫

学とその臨床像、第 53 回日本小児血液・がん
学会、11 月、前橋

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）
分担研究報告書

稀少小児遺伝性血液疾患の迅速な原因究明及び診断・治療法の開発に関する研究

毛細血管拡張性運動失調症類縁疾患の責任遺伝子の同定

研究分担者 水谷 修紀（東京医科歯科大学発生発達病態学 教授）

研究要旨： 毛細血管拡張性運動失調症(AT)は免疫不全、小脳性運動失調、毛細血管拡張を主症状と常染色体劣性疾患で、高頻度に悪性腫瘍を合併する。類縁疾患としてNijmegen断裂症候群(NBS)、毛細血管拡張性運動失調症様疾患 (ATLD)などが知られるが、分類されていない、また遺伝的背景のはっきりしない疾患が存在する。本研究では次世代シーケンサーを用いた網羅的全エクソン解析の手法を用い、これら疾患の責任遺伝子を明らかにする。

A. 研究目的

毛細血管拡張性運動失調症(AT)は免疫不全、小脳性運動失調、毛細血管拡張を主症状と常染色体劣性疾患で、高頻度に悪性腫瘍を合併する。類縁疾患としてNijmegen断裂症候群(NBS)、毛細血管拡張性運動失調症様疾患 (ATLD)などが知られるが、分類されていない、また遺伝的背景のはっきりしない疾患が存在する。本研究では次世代シーケンサーを用いた網羅的全エクソン解析の手法を用い、これら疾患の責任遺伝子を明らかにする。

B. 研究方法

AT様の臨床症状を呈しATM蛋白質発現が正常にみられる症例を中心に、末梢血およびEBウイルスを用いて不死化した細胞株、活性化T細胞などよりゲノムDNAを抽出し、次世代シーケンサーを用いた網羅的全エクソン解析を行う。ATを始めとしたDNA損傷応答に関わる遺伝子以上によって発症する疾患は常染色体劣性遺伝形質を取る例が多く、網羅的全エクソン解析により同定される数多くの塩基多型にのうち、同一遺伝子上に同定される塩基多型を中心に、機能的な意義を検討する。

（倫理面への配慮）

臨床検体の遺伝子及びゲノム解析については3省庁の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」「臨床研究に関する倫理指針」に沿って行うと

もに施設の遺伝子解析に関する倫理委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

10例のAT様疾患患者からゲノムDNAを抽出した。

D. 考察

現時点ではいまだゲノム解析は行えていないが、2012年には次世代シーケンサーを用いた網羅的全エクソン解析を行い、同一遺伝子上に同定される塩基多型を中心に、サンガー法を用いて再評価し、機能的な意義を検討する。

E. 結論

10例のAT様疾患患者からゲノムDNAを抽出した。

F. 研究発表

1. 論文発表

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.

2. 学会発表

海外

- 1) T-Cell Development Failure At beta-Selection Checkpoint and TCR alpha/delta Locus Break Formation Associated with Chromosome 14 Translocation in Ataxia-Telangiectasia Mutated Deficient Mice. Isoda T, Takagi M, Piao J, Nakagama S, Sato M, Masuda K, Ikawa T, Azuma M, Morio T, Kawamoto H, Mizutani S. the 53rd ASH(The American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition (Oral) 2011 Dec. 12, SanDiego. CA
- 2) ASH Abstract Achievement Award. Outstanding Abstract Achievement Award, Minority Graduate Student Abstract Achievement Award, Minority Medical Student Award Program, and National Marrow Donor Program. the 53rd ASH Annual Meeting in San Diego, CA, December 10-13, 2011

国内

- 1) 遺伝性毛細血管拡張性小脳失調症の Double Negative 期における T リンパ球分化異常と発がんメカニズムの関係 The association between T-cell development failure and tumorigenesis in double negative phase of Ataxia Telangiectasia (AT) : 磯田健志、高木正稔、朴今花、増田喬子、伊川友活、東みゆき、森尾友宏、河本宏、水谷修紀. 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会 口演 2011 年 11 月 25 日 群馬
- 2) ATM 欠損 T 細胞分化における T 細胞受容体遺伝子転座をもつ白血病リンパ腫の発症機構: 磯田健志、高木正稔、河本宏、水谷修紀. 平成 23 年度第 2 回 JPLSG 全体会議・合同班会議 口演 2011 年 11 月 4 日 名古屋
- 3) T-cell development failure in Ataxia Telangiectasia (AT). Isoda T, Takagi T, Piao

J, Masuda K, Ikawa T, Azuma M, Morio T, Kawamoto H, Mizutani S. 第 73 回日本血液学会学術集会 口演 2011 年 10 月 16 日 名古屋

- 4) 毛細血管拡張性小脳失調症 (Ataxia Telangiectasia) における T 細胞分化異常の解析: 磯田健志、高木正稔、森尾友宏、水谷修紀. 第 39 回日本臨床免疫学会総会 MWS ワークショップ 口演 2011 年 9 月 15 日 新宿

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）
分担研究報告書

稀少小児遺伝性血液疾患の迅速な原因究明及び診断・治療法の開発に関する研究

ダウン症候群でみられる一過性骨髄異常増殖症の網羅的遺伝子解析に関する研究

研究分担者 林 泰秀（群馬県立小児医療センター 院長）

研究要旨： ダウン症候群では新生児期に一過性に白血病様芽球が末梢血中に増加することがあり、一過性骨髄異常増殖症(transient abnormal myelopoiesis, TAM)と呼ばれている。最近の多数例の検討で、TAMの死亡例が20～30%みられることが報告された。平成21年度からTAM班の研究によりTAMの登録と重症例に対する観察研究が始まり、重症例の抽出と病態解明のために、マーカー、染色体、GATA1、網羅的ゲノムアレイによる解析と次世代シーケンサーによる解析を開始し、TAMに関連する遺伝子の異常が把握できるようになった。GATA1遺伝子について、昨年度はGATA1の高発現と低発現変異群に分類すると低発現変異群が高率に白血病化することを明らかにした。今年度は2種類のGATA1内部欠失変異（GATA1ID）を6例のTAM患者で見出した。多くのGATA1変異は第2エクソンに存在するが、これらの症例では第3エクソンに存在し、alternative splicingが生じていた。その結果、43(GATA1 ID type-1)あるいは15アミノ酸の内部欠損（GATA1 ID type-2）が生じていた。興味深いことに、これらのGATA1変異蛋白はいずれも、正常な赤血球造血に不可欠なGATA1のRB結合モチーフを欠いていた。またTAMの次世代シーケンサーによる解析では、変異数は1.5個と比較的少なく、これまで考えられていたtrisomy 21に加えて、GATA1遺伝子変異が起こることによりTAMを発症するというモデルを裏付ける結果となった。今回の結果は、TAM発症の仕組みの解明に重要な示唆を与えると思われる。登録が開始された多数の症例の保存細胞の次世代シーケンサーによる解析は、TAMでみられる高サイトカイン血症や肝線維症の機序やTAMの分子機構およびモザイク型ダウン症候群や正常児に発生したTAMの機序の解明に役立つ。また、TAMから白血病に進展する機序も明らかになり、ひいては成人のがんの発生と進展機構の解明にも貢献すると思われる。

A. 研究目的

ダウン症候群では新生児期に一過性に白血病様芽球が末梢血中に増加することがあり、一過性骨髄異常増殖症(transient abnormal myelopoiesis, TAM)と呼ばれている。その頻度は約10%（100人/年）とされている。近年の多数例の検討で、死亡例が20～30%みられることが判明した。これまでのTAM班の活動により、TAMの登録システムを立ち上げて全数把握ができるようになり、検体保存ができるようになったので、これまでの検体とこの保存検体を用いて次世代シーケンサーにより発症、進展に関する遺伝子の探索をする

ことが研究の目的である。

B. 研究方法

1) 細胞保存

マーカー解析後の余剰検体の細胞を保存するために国立成育医療研究センター内に TAM 患児の末梢血由来の余剰検体の保管システムを構築した。これまでの成育の検体保存システムと可能なかぎり統一した手順を採用することにより効率良い検体保存システムを目指して作成した。

2) 病態解析

① 染色体・遺伝子解析

TAMの経過後に発症した染色体異常を有する急性巨核芽球性白血病 (AMKL) 症例と骨髄異形成症候群 (MDS) 症例の各1例のDNAを用いて、Affymetrix社のGenome-Wide Human SNP Array 6.0によりゲノムコピー数の増減を検討した。コピー数の変化が生じている部位に存在する遺伝子と融合する遺伝子を、cDNAバブルPCR法、inverse PCR法などを用いて同定を試みる。

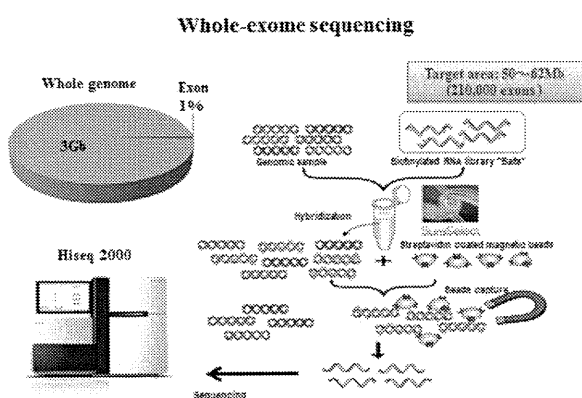
② GATA1 遺伝子等の解析

これまでに全国から集められた100例以上のTAMの臨床検体の遺伝子解析を行った。末梢血からDNAおよびRNAを抽出し、TAMのほとんどの症例で遺伝子変異が検出されるGATA1遺伝子を解析した。

③ 網羅的ゲノム解析 (図1)

TAM 11例およびAMKL 5例のDNAを用いて、ヒト全エクソン領域をターゲットとするビオチン化されたcRNA (Agilent社 SureSelect®)を用いて濃縮したのち、高速シーケンサー (illumina社 GA IIx, HiSeq 2000) で解析を行った。寛解期に採取した末梢血由来のDNAを自己正常検体として、TAMあるいはAMKLにおける腫瘍細胞特異的な変異を検出した。

(図1)



(倫理面への配慮)

本研究事業で行われる臨床試験は、日本小児血液学会臨床研究審査委員会の承認の後、各施設の倫理委員会の承認を得て実施している。本研究で行うゲノム解析は、政府の定める各種倫理指針に準拠し、参加研究施設の倫理委員会の審査・承認を得て行われた。またJPLSGのもとで行なわれる観察研究は、文書による説

明同意を行い、同意の得られた症例のみが観察研究の対象となる。また、連結可能匿名化により、症例の登録・追跡調査を行うことにより、対象症例の個人情報外部に流出する危険を限りなくゼロにする配慮をしている。

C. 研究結果

1) 細胞保存

検体保存は、患者ひとりにつき末梢血由来のTAM芽球検体を最大5本保存し、検査後の検体は-80℃で凍結、液体窒素タンクで保管した。検体1個につき個別の保存用匿名化番号(乱数)を発行し、登録研究の登録番号、検査施設整理番号とは異なる独自の番号で管理し、保存用匿名化番号は、検体保存施設である国立成育医療研究センター研究所で発行し、検査担当施設に事前に送付され、検査担当施設で検体チューブに添付し、検体の保存用匿名化番号、種類、量、保管場所等は専用の検体情報シートにて管理した。検査担当施設に、一定数の検体が集まった時点で、検体と情報を記入した検体情報シートを検体保存施設に送付する予定である。

2) 病態解析

① GATA1 遺伝子の解析

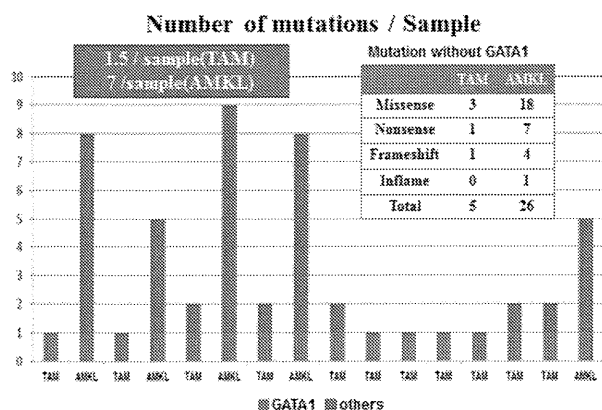
2003年から2010年までに106例のTAMの臨床検体を収集し、GATA1遺伝子の解析を行った。GATA1変異はそのうち99例に検出された。GATA1 cDNAの解析では、ほとんどがN末端の83アミノ酸を欠いたGATA1蛋白(GATA1s)のみが発現する変異であった。しかし、6例のTAM患者で、129塩基あるいは45塩基がin frameで欠失し、84番目のメチオニンを含む43(GATA1 ID type-1)あるいは15アミノ酸の内部欠損(GATA1 ID type-2)蛋白が発現していると推定された。Western blot解析により、GATA1 ID type 1変異をもつ2例のTAM細胞で、GATA1 ID蛋白の発現を確認することができた。次に、genomic DNAの解析から、これらの症例では、2から21塩基の挿入あるいは欠失が第3エクソンに存在することが明らかになった。

② 次世代シーケンサーによる解析 (図2)

TAMでは症例あたり平均して1.5個、AMKLでは平

均して7個のsomatic mutationが同定された。AMKLではこれまでにGATA1変異に加えてこれまでも報告があったTP53遺伝子のなど変異も同定されたが、多くはAMKLで報告のない遺伝子変異だった。

(図2)



D. 考察

これまでの保存検体を用いて遺伝子解析を行ってきたが、三年間のTAM研究班の活動によりTAMの全国レベルでの検体保存ができるようになり、今後の遺伝子解析に使えるようになった。

次世代シーケンサーの解析では、somatic mutationの候補が変異数は1.5個とAMKL検体に比べて少なく、これまで考えられていた trisomy 21 (first event) に加えて、GATA1 遺伝子変異が起こる (second hit) ことにより TAM を発症し、TAM における GATA1 遺伝子異常に加えていくつかの遺伝子変異が蓄積して AMKL を発症するというダウン症候群における TAM、AMKL 発症のモデルを裏付けるものであると考えられた。一方、AMKL では GATA1 遺伝子変異に加えていくつかの変異が同定された。今後さらに複数例で同様の解析を行って、この傾向がみられるか検討する必要がある。また、GATA1 遺伝子以外に同定された変異遺伝子については TAM、AMKL の発症にどのように関与しているか、あるいは複数例での頻度や複数症例で共通する遺伝子変異があるかなど、さらに詳細な検討の必要があると考えられた。

GATA1 遺伝子の解析では、GATA1s と IDs に共通して欠損している GATA1 の領域には、正常な赤血球造血に不可欠な GATA1 の RB 結合モチーフを含まれ

ていた。RB との結合が失われることが TAM の発症に重要であることが示唆された。

検体保存では、TAM の登録システムの末梢血の細胞表面マーカーの余剰分を検体保存を行うことにより、これらの研究が推進されることが期待される。現在、この細胞保存システムを利用して次世代シーケンサーを用いて解析しており、TAM でみられる高サイトカイン血症や肝線維症の機序や TAM の分子機構およびモザイク型ダウン症候群や正常児に発生した TAM の機序の解明に役立ち、TAM から白血病に進展する機序も明らかになり、ひいては成人のがんの発生と進展機構の解明にも貢献すると思われる。

E. 結論

今年度はこれまでの検体を用いてGATA1と次世代シーケンサーによる解析を行い、候補遺伝子が抽出されてきたので、Sanger sequencingでvalidationを行っているところである。さらに細胞保存を利用した基盤研究施設での次世代シーケンサーの解析も始まっており、近い将来、TAMの病態の解明が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yokoyama T, Toki T, Aoki Y, MJ Park, Kanno Y, Takahara T, Yamazaki Y, Ito E, Hayashi Y, Nakamura T. Identification of TRIB1 R107L gain-of-function mutation in human acute megakaryocytic leukemia. Blood (in press)
- 2) Shiba N, Hasegawa D, Park MJ, Murata C, Matsubara A, Ogawa C, Manabe A, Arakawa H, Ogawa S, Hayashi Y. CBL mutation in chronic myelomonocytic leukemia secondary to familial platelet disorder with propensity to develop acute myeloid leukemia(FPD/AML). Blood (in press)
- 3) Shiba N, Park MJ, Taki T, Takita J, Hiwatari M, Kanazawa T, Sotomatsu M, Ishii E, Arakawa H, Ogawa S, Hayashi Y. CBL