

「RAS 関連自己免疫性リンパ球増殖症候群様疾患(RALD)の実態調査および病態病因解析に関する研究」

—若年性骨髄単球性白血病および類縁疾患における網羅的ゲノム解析—

研究分担者 滝田 順子

(東京大学医学部附属病院・無菌治療部・講師)

研究要旨： 自己免疫性リンパ球増殖症候群(ALPS)は、アポトーシスの障害によりリンパ球の増殖を来し、肝脾腫、リンパ節腫脹、自己免疫疾患を来す難治性の疾患である。一方、RAS変異を造血細胞に有し、ALPSおよび若年性骨髄単球性白血病(JMML)類似の症状を呈する疾患群は、RAS associated ALPS like disease (RALD)と呼ばれる。RALDはALPSと異なり、FAS経路の異常はみられないが、臨床的にJMMLやALPSとオーバーラップする点が多く、これらの鑑別は困難なことが多い。そこで本年度は、ALPS、RALDおよびJMMLの分子病態を解明するために、JMML類似の造血器疾患28検体につき、Affymetrix® GeneChip® 250K NspIアレイおよびAgilent 社DNA microarrayを用いて、腫瘍細胞に生じているゲノムコピー数の変化について高精度な網羅的解析を行った。その結果、全体として、JMMLおよび類縁疾患でゲノムコピー数の変化は少ない傾向にあり、ゲノムコピー数の変化そのものの発がんへの関与は低いものと思われた。また、7番染色体以外にも12番染色体短腕のヘテロヘ都合性の消失(LOH)が複数の症例間で重複した変異として検出され、これらに領域に存在する遺伝子が分子病態に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

自己免疫性リンパ球増殖症候群 Autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS) は、細胞死(アポトーシス)の障害により、リンパ球の異常増殖、肝脾腫、リンパ節腫脹、自己免疫疾患など多彩な症状を呈する難治性疾患である。原因として、FAS経路、FASL、CASPASE-10の異常が判明している。ALPS および若年性骨髄単球性白血病(JMML)類似の症状を呈する RAS

associated ALPS like disease (RALD)は、ALPSと異なり FAS 経路の異常はみられないが、臨床的に若年性骨髄単球性白血病(JMML)や ALPS とオーバーラップする点が多く、これらの鑑別は困難なことが多い。またこれらの疾患の分子病態の相違は十分解明されていない。そこで、本年度は、ALPS、RALD および JMML の分子病態を解明するために、JMML 類似の造血器疾患28検体を用いて、Affymetrix® GeneChip® 250K NspI アレイお

よび Agilent 社 DNA microarray による詳細なゲノムコピー数の解析を行った。

B. 研究方法

材料としては、JMML 類似の臨床症状を呈する症例の骨髄より抽出した DNA と RNA を用いた。GenChip 250K/500K アレイの Output を CNAG/AsCNAR を用いて、平均解像度 24kb~6kb でゲノム全域にわたる網羅的なゲノムコピー数の解析を行った。この手法により従来解析技術では網羅的な検出が困難であったコピー数の減少を伴わないヘテロ接合性の消失、すなわち uniparental disomy (UPD) の検出を行うことができる。UPD は増幅や欠失と同様にがん関連遺伝子と協調して発がんに関与することが知られている。Human genome 24 array は、DNA の増幅を行うことなく、コピー数の異常を高解像度で解析できるツールであり、236,000 以上のコード領域および非コード領域をカバーしている。両社のアレイを組み合わせて各疾患の標的分子の同定を試みた。

(倫理面への配慮)

本研究で行った臨床検体を用いた実験は、東京大学の倫理審査委員会で審査され、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (2003 年 3 月)」を遵守することを条件に承認された。検体提供者への人権擁護、個人情報保護に細心の注意を払って本研究を実施した。

C. 研究結果

解析した 28 検体のうち、17 検体で何らかのゲノムコピー数の変化を検出したが、11 例では明らかなゲノムコピー数の異常は検出されなかった。ゲノムコピー数の異常個所としては、全体として 11 か所であり、他の造血器腫瘍と比べて著しく少ない傾向にあった。3 例で染色体 7 番の微細欠失および UPD を検出した。このうち 1 例の 7 番の微細欠失は、Affymetrix® GeneChip® 250K NspI アレイでは検出不能であったが、Agilent 社 DNA microarray により検出が可

能であった。7 番染色体の共通欠失領域内には唯一 FLJ45974 遺伝子が存在することが判明した。また、7 番染色体以外に重複したゲノムコピー数の異常としては 12 番染色体短腕(12p)の Loss of heterozygosity(LOH)が見出された。2 例の LOH のうち 1 例はコピー数の異常を伴わない LOH、いわゆる UPD であった。12p の共通欠失領域内には複数の遺伝子が存在することが明らかとなったが、アポトーシス関連遺伝子である BCL2L14 および RNA スプライシング関連分子である DDX47 が存在することが明らかとなった。

D. 考察

今回の網羅的ゲノムコピー数の解析により、JMML および類似の造血器疾患では、ゲノムコピー数の異常が他の造血器腫瘍と比べて、著しく少ない傾向であった。これは過去の報告とも合致しており、この群の特徴の一つと言える。11 例では、何のゲノムコピー数の異常も検出されなかったが、これらの腫瘍に関しては、正常細胞の混入による偽陰性の可能性も考えられた。7 番染色体の微細欠失に関しては、1 例において Affymetrix® GeneChip®アレイでは検出不能であった欠失が、Agilent 社 DNA microarray では検出可能であったことから、詳細なゲノムコピー数の解析には、異なる手法のアレイを組み合わせることが有用と考えられた。7 番染色体の共通欠失領域内には唯一、non-coding RNA をコードする FLJ45974 が存在することから、この遺伝子が、一部の JMML および類縁疾患の発症に関与している可能性が示唆された。さらに、2 例に重複していた 12p の共通 LOH 領域内にアポトーシス関連遺伝子である BCL2L14 および RNA スプライシング関連分子である DDX47 が存在することが明らかとなり、これらの遺伝子の病態への関与も示唆された。

E. 結論

JMML および類縁疾患において、ゲノムコピー数の頻度は低い傾向にあり、pinpoint な遺伝子変異もしくはエピジェネティックな変化が発症に関与している可能性が示唆

された。また 7 番染色体に存在する FLJ45974、および 12p の共通 LOH 領域内に存在する BCL2L14 および DDX47 が候補標的分子である可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Miura K, Sekine T, Takahashi K, Takita J, Harita Y, Ohki K, Park M-J, Hayashi Y, Tajima A, Ishihara M, Hisano M, Murai M, Igarashi T. Mutational analyses of the ATP6V1B1 and ATP6V0A4 genes in patients with primary distal renal tubular acidosis. *Nephrol Dial Transplant*. 2013 Aug;28(8):2123-30.
2. Nishimura R, Takita J, Sato-Otsubo A, Kato M, Koh K, Hanada R, Tanaka Y, Kato K, Maeda D, Fukayama M, Sanada M, Hayashi Y, Ogawa S. Characterization of genetic lesions in rhabdomyosarcoma using a high-density single nucleotide polymorphism array. *Cancer Science* 2013 Jul;104(7):856-64.
3. Tumurkhuu M, Saitoh M, Takita J, Mizuno M, Mizuguchi M. A novel SOS1 mutation in Costello/CFC syndrome affects signaling in both RAS and PI3K pathways. *J Recept Signal Transduct*. 2013 Apr;33(2):124-8.
4. Shinohara M, Saitoh M, Nishizawa D, Ikeda K, Hirose S, Takanashi J, Takita J, Kikuchi K, Kubota M, Yamanaka G, Shiihara T, Kumakura A, Kikuchi M, Toyoshima M, Goto T, Yamanouchi H, Mizuguchi M. ADORA2A polymorphism predisposes children to encephalopathy with febrile status epilepticus. *Neurology* 2013 Apr 23;80(17):1571-6.
5. Kato M, Yasui N, Seki M, Kishimoto H, Sato-Otsubo A, Hasegawa D, Kiyokawa N, Hanada R, Ogawa S, Manabe A, Takita J, Koh K. Aggressive transformation of juvenile myelomonocytic leukemia associated with duplication of oncogenic KRAS in consequence of acquired uniparental disomy. *J Pediatr*. 2013 Jun;162(6):1285-8
6. Mori M, Hiwatari M, Takita J, Ida K, Kawaguchi H. Successful syngeneic PBSC transplantation for a patient with refractory Evans syndrome. *Bone Marrow Transplant*. 48: 312-13, 2012
7. Kato M, Shiozawa R, Koh K, Nagatoshi Y, Takita J, Ida K, Kikuchi A, Hanada R. The Effect of the Order of Total Body Irradiation and Chemotherapy on Graft-Versus-Host Disease. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2014 Jan;36(1):e9-e12.
8. Kato M, Horikoshi Y, Okamoto Y, Takahashi Y, Hasegawa D, Koh K, Takita J, Inoue M, Kigasawa H, Ogawa A, Sasahara Y, Kawa K, Yabe H, Sakamaki H, Suzuki R, Kato K. Second allogeneic hematopoietic SCT for relapsed ALL in children. *Bone Marrow Transplant*. 47:1307-11, 2012
9. 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*. 26:1879-81, 2012
10. Okubo J, Takita J, Chen Y, Oki K, Nishimura R, Kato M, Sanada M, Hiwatari M, Hayashi Y, Igarashi T, Ogawa S. Aberrant activation of ALK kinase by a novel truncated form ALK protein in neuroblastoma. *Oncogene*. 31:4667-76, 2012
11. Shiba N, Park MJ, Taki T, Takita J, Hiwatari M, Kanazawa T, Sotomatsu M, Ishii E, Arakawa H, Ogawa S, Hayashi Y: CBL mutations in infant acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 156:672-4, 2012
12. Miura K, Sekine T, Takamizawa M, Terashima H, Furuya A, Koh K, Takita J, Ida K, Igarashi T. Early occurrence of nephrotic syndrome associated with cord blood stem cell transplantation. *Clin Exp Nephrol*. 16:180-2, 2012
13. 苗代 有鈴, 三浦 健一郎, 張田 豊, 本村 あい, 樋渡 光輝, 滝田 順子, 井田 孔明, 宇於崎 宏, 五十嵐 隆: 骨髄移植後血栓性微小血管症の 1 例. 日本小児腎不全学会雑誌 32: 195-197, 2012
14. 設楽 佳彦, 井田 孔明, 細井 洋平, 大久保 淳, 伊藤 直樹, 五石 圭司, 滝田

- 順子, 菊地 陽, 五十嵐 隆: 一般小児病棟でターミナルケアを行った新生児頭蓋内未熟奇形腫の1例. 日本小児科学会雑誌 116 巻:1886-1891, 2012
15. 滝田 順子: 小児血液・がんにおける分子標的療法. 日本小児血液・がん学会雑誌. 49:429-430, 2012
 16. 滝田 順子: 神経芽腫における ALK pathway の解析とその阻害剤. 日本小児血液・がん学会雑誌. 49:431-437, 2012
 17. 滝田 順子: 【造血器腫瘍の新たな分子病態とその臨床的意義】 白血病、MDS における IDH1/2 変異の分子病態と臨床的意義(解説/特集). 血液内科 (2185-582X)64 巻 2 号 Page133-138(2012.02)
2. 学会発表
1. Hiwatari M, Takita J, Nishimura R, Okubo J, Oki K, and Ogawa S. Mutational analysis for IDH1 and IDH2 in pediatric leukemia. AACR Annual Meeting 2012
 2. Nishimura R, Takita J, Yoshida K, Shiraishi Y, Hoshino N, Sanada M, Hayashi Y, Miyano S, Igarashi T, Ogawa S: Whole-exome sequencing of advanced neuroblastomas. Advances Neuroblastoma Research Conference, Toront, June 18 - 21, 2012
 3. Nishimura R, Takita J, Yoshida K, Shiraishi Y, Okubo J, Hoshino N, Sanada M, Hayashi Y, Miyano S, Igarashi T, Ogawa S: Whole-exome sequencing of advanced neuroblastomas using next-generation sequencer. The 8th Congress of Asian Society for Pediatric Research, May 17-19, 2012, Seoul
 4. Hoshino N, Takita J, Okubo J, Nishimura R, Igarashi T, Ogawa S: Genetic alterations of RET proto-oncogene in neuroblastoma. The 8th Congress of Asian Society for Pediatric Research, May 17 -19, 2012, Seoul
 5. 半谷 まゆみ, 渡邊 健太郎, 塩澤 亮輔, 樋渡 光輝, 滝田 順子, 井田 孔明: 多発骨病変を呈し診断に難渋した再発 ALL の1例, 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012 年 4 月 20 日~22 日
 6. 藤野 修平, 三浦 健一郎, 張田 豊, 磯島 豪, 竹内 正人, 木村 有希, 滝田 順子, 北中 幸子, 五十嵐 隆: 体重増加不良を契機に診断した先天性腎性尿崩症の1例, 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012 年 4 月 20 日~22 日
 7. 苗代 有鈴, 樋渡 光輝, 塩澤 亮輔, 本村 あい, 滝田 順子, 井田 孔明, 川嶋 寛, 赤羽 正章, 河野 博隆, 高澤 豊, 五十嵐 隆: Kasabach-Merritt syndrome を呈した Kaposiform hemangioendothelioma の1例, 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012 年 4 月 20 日~22 日
 8. 樋渡 光輝, 滝田 順子, 井田 孔明, 杉山 正彦, 岩中 督, 三上 信太郎, 椎名 秀一郎, 高澤 豊, 五十嵐 隆: 初発時に肝転移を認めた腎細胞癌 stage 4 の1例, 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012 年 4 月 20 日~22 日
 9. 塩澤 亮輔, 本村 あい, 樋渡 光輝, 滝田 順子, 井田 孔明, 五十嵐 隆: 造血幹細胞移植を併用した大量化学療法により寛解を維持している胸膜肺芽腫の2例, 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012 年 4 月 20 日~22 日
 10. 本村 あい, 樋渡 光輝, 竹内 正人, 滝田 順子, 井田 孔明, 五十嵐 隆: Francisella Philomiragia による肝脾膿瘍のため死亡した慢性肉芽腫症の10歳男児例, 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012 年 4 月 20 日~22 日
 11. 星野 論子, 滝田 順子, 西村 力, 大久保 淳, 真田 昌, 白石 友一, 林 泰秀, 宮野 悟, 小川 誠司, 五十嵐 隆: 神経芽腫におけるポリコーム群たんぱくの網羅的ゲノム解析, 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012 年 4 月 20 日~22 日
 12. 大久保 淳, 滝田 順子, 西村 力, 星野 論子, 吉田 健一, 白石 友一, 林 泰秀, 宮野 悟, 小川 誠司, 五十嵐 隆: 次世代シーケンサーを用いた Ewing 肉腫

- のエクソーム解析, 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012 年 4 月 20 日~22 日
13. 西村 力, 滝田 順子, 吉田 健一, 白石 友一, 大久保 淳, 真田 昌, 林 泰秀, 宮野 悟, 小川 誠司, 五十嵐 隆: 次世代シーケンサを用いた神経芽腫のエクソーム解析, 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012 年 4 月 20 日~22 日
 14. 滝田 順子, 西村 力, 大久保 淳, 吉田 健一, 星野 倫子, 真田 昌, 林 泰秀, 宮野 悟, 小川 誠司, 五十嵐 隆: 先端ゲノムスキニングを用いた難治性小児固形腫瘍における標的分子の探索, 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012 年 4 月 20 日~22 日
 15. 中田 雄一郎, 長町 安希子, 上田 健, 山崎 憲政, 仙谷 和弘, 稲葉 俊哉, 滝田 順子, 小川 誠司, 本田 浩章: 活性化 ALK は増幅した MYCN と協調して神経芽腫細胞腫瘍発症に関与する. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012 年 9 月 19 日~21 日
 16. 倉田 盛人, 後飯 塚僚, 北村 大介, 滝田 順子, 林泰秀, 北川 昌伸, 中村 卓郎: BLNK 欠損 preB-ALL と B 細胞分化における C/Ebpb の働き. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012 年 9 月 19 日~21 日
 17. 星野 倫子, 西村 力, 奥野 友介, 樋渡 光輝, 永田安伸, 吉田 健一, 真田 昌, 白石 友一, 宮野 悟, 林泰秀, 小川 誠司, 滝田 順子: 神経芽腫におけるエピジェネスティック関連遺伝子の網羅的ゲノム解析. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012 年 9 月 19 日~21 日
 18. 柴 徳生, 吉田 健一, 奥野 友介, 白石 友一, 田中洋子, 永田安伸, 滝田 順子, 荒川 浩一, 伊藤 悦朗, 真田 昌, 宮野 悟, 小川 誠司, 林泰秀: 全エクソーム解析による小児急性骨髄性白血病の新規発症原因遺伝子変異の同定. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012 年 9 月 19 日~21 日
 19. 大西 伸幸, サンペトラオルデア, 杉原 英志, 清水孝恒, 滝田 順子, 小川 誠司, 佐谷 秀行: 神経幹細胞を用いたマウス脳腫瘍モデルにおける活性化型 ALK 誘導発がんメカニズム. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012 年 9 月 19 日~21 日
 20. 関 正史, 西村 力, 奥野 友介, 白石 友一, 千葉 健一, 田中 洋子, 吉田 健一, 真田 昌, 林 泰秀, 宮野悟, 小川 誠司, 滝田 順子: 次世代シーケンサーによる再発肺芽腫のエクソーム解析. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012 年 9 月 19 日~21 日
 21. 西村 力, 吉田 健一, 白石友一, 奥野 友介, 千葉健一, 田中 洋子, 佐藤 悠佑, 真田 昌, 林 泰秀, 宮野悟, 小川 誠司, 滝田 順子: SNP アレイとエクソーム解析を用いた横紋筋肉腫の初発・再発/転移巣のクローン比較. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012 年 9 月 19 日~21 日
 22. 樋渡 光輝, 西村 力, 吉田 健一, 白石 友一, 奥野友介, 大久保 淳, 永田 安伸, 五十嵐 隆, 宮野 悟, 林泰秀, 小川 誠司, 滝田 順子: 次世代シーケンサーを用いたユーイング肉腫発生の分子生物学的検討. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012 年 9 月 19 日~21 日
 23. 中澤 温子, 大喜多 肇, 田中 祐吉, 中川原 章, 滝田 順子, 家原 知子, 田尻 達郎, 池田 均, 秦 順一: 神経芽腫における ALK 発現と国際神経芽腫病理分類との関連. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012 年 9 月 19 日~21 日
 24. 加藤 啓輔, 吉見 愛, 中尾 賭 朋平, 小林 千恵, 滝田 順子, 柏井 良文, 清河 信敬, 小池 和俊, 土田 昌宏: 骨髄球系抗原陽性 T 細胞型急性リンパ性白血病より樹立された細胞株 ICH-TALL-1 ならびに ICH-TALL-2 の解析, 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012 年 11 月 30 日~12 月 2 日
 25. 関 正史, 西村 力, 星野 子, 奥野 友介, 白石 友一, 吉田 健一, 千葉 健一,

- 田中 陽子, 真田 昌, 加藤 啓輔, 土田 昌宏, 宮野 悟, 林 泰秀, 小川 誠司, 滝田 順子: 先端的ゲノム解析技術を用いた胸膜肺芽腫における発症分子機構の解明, 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012 年 11 月 30 日～12 月 2 日
26. 柴 徳生, 吉田 健一, 奥野 友介, 白石 友一, 加藤元博, 大木 健太郎, 朴 明子, 金澤 崇, 工藤 寿子, 滝田 順子, 加藤 啓輔, 荒川 浩一, 伊藤 悦朗, 花田 良二, 真田 昌, 小川 誠司, 林 泰秀: 全エクソーム解析による小児急性骨髄性白血病の新規発症原因遺伝子変異の同定, 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012 年 11 月 30 日～12 月 2 日
27. 半谷 まゆみ, 渡邊 健太郎, 塩澤 亮輔, 樋渡 光輝, 滝田 順子, 井田 孔明: 多発骨病変を呈し診断に難渋した再発急性リンパ性白血病の一例, 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012 年 11 月 30 日～12 月 2 日
28. 安井 直子, 康 勝好, 関 正史, 加藤 元博, 滝田 順子, 佐藤 亜以子, 小川 誠司, 磯部 清孝, 森 麻希子, 秋山 康介, 荒川 ゆうき, 林 真由美, 岸本 宏志, 清河信敬, 花田 良二: AML に急性転化し死亡した K-RAS 変異を伴う JMML の一例, 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012 年 11 月 30 日～12 月 2 日
29. 鈴木 完, 塩澤 亮輔, 滝田 順子, 工藤 宏樹, 小西健一郎, 魚谷 千都絵, 石丸 哲也, 寺脇 幹, 吉村 眞, 杉山 正彦, 小室 広昭, 岩中 督: 再発巣摘出, 術後化学療法, 自己末梢血幹細胞移植を経て再々発なく経過している胸膜肺芽腫の 1 例, 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012 年 11 月 30 日～12 月 2 日
30. 星野 論子, 西村 力, 奥野 友介, 永田 安伸, 吉田健一, 真田 昌, 白石 友一, 林 泰秀, 宮野 悟, 岩中督, 小川 誠司, 滝田 順子: 神経芽腫におけるエピジェネティック関連遺伝子の網羅的ゲノム解析, 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012 年 11 月 30 日～12 月 2 日
31. 関 正史, 西村 力, 星野 論子, 島村 徹平, 宮野 悟, 永江 弦太, 油谷 浩幸, 林 泰秀, 小川 誠司, 滝田 順子: 神経芽腫における網羅的メチル解析, 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012 年 11 月 30 日～12 月 2 日
32. 塩澤 亮輔, 中野 克俊, 滝澤 慶一, 半谷 まゆみ, 柿本 優, 渡邊 健太郎, 樋渡 光輝, 滝田 順子, 井田 孔明: 当院で経験した再発 T-ALL の 5 例, 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012 年 11 月 30 日～12 月 2 日
33. 樋渡 光輝, 柿本 優, 太田 英仁, 塩澤 亮輔, 渡邊健太郎, 滝田 順子, 井田 孔明: 消化管 GVHD に対して経口ベクロメタゾン製剤を投与した骨髄異形成症候群の 1 例, 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012 年 11 月 30 日～12 月 2 日
34. 渡邊 健太郎, 塩澤 亮輔, 樋渡 光輝, 滝田 順子, 杉山 正彦, 絹谷 清剛, 井田 孔明, 岩中 督: 集学的治療に抵抗性で胆癌状態のまま小康状態を保っている進行神経芽腫の 2 例, 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012 年 11 月 30 日～12 月 2 日
35. 滝澤 慶一, 塩澤 亮輔, 渡邊 健太郎, 樋渡 光輝, 滝田 順子, 井田 孔明: 経過に相違を示した 3 例から考察する Kaposiform hemangioendothelioma の治療戦略, 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012 年 11 月 30 日～12 月 2 日
36. 西村 力, 吉田 健一, 白石 友一, 奥野 友介, 星野論子, 関 正史, 真田 昌, 林 泰秀, 宮野 悟, 小川 誠司, 滝田 順子: 次世代シーケンサーと SNP アレイを用いた横紋筋肉腫 3 例における初発/再発・転移巣の比較, 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012 年 11 月 30 日～12 月 2 日
37. 高橋 寛吉, 加藤 元博, 関 正史, 磯部

清孝, 安井直子, 森 麻希子, 秋山 康介, 康 勝好, 岸本 宏志, 内田 広夫, 滝田 順子, 佐藤 亜以子, 小川 誠司, 花田 良二: FGFR1 および PRDM14 の増幅を認めた rhabfoif rhabdorjyosarcoma の一例, 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012 年 11 月 30 日~12 月 2 日

38. 才田 謙, 松岡 大輔, 塚原 孝典, 野田 俊輔, 日高 義彦, 上條 祐司, 三浦 健一郎, 滝田 順子, 五十嵐 隆, 小池 健一: CLCN5 遺伝子変異を認めた同一家系内の Dent 病の 2 例. 第 47 回日本小児腎臓病学会学術集会, 東京, 2012 年 6 月 29 日~6 月 30 日.
39. 金子 英雄 内田 靖, 大西 秀典, 深尾 敏幸, 谷内江 昭宏, 清河 信敬, 滝田 順子, 山崎 直也, 田内 久道, 近藤 直実: 本邦における Bloom 症候群の実態調査. 第 49 回日本小児アレルギー学会, 大阪, 2012 年 9 月 15 日~9 月 16 日.
40. 三浦 健一郎, 張田 豊, 高橋 和浩, 滝田 順子, 五十嵐 隆: 染色体劣性遠位尿管性アシドーシスの臨床像と遺伝子変異の解析. 第 55 回日本腎臓学会学術集会, 横浜, 2012 年 6 月 1 日~6 月 3 日
41. 倉田 盛人, 菅野 陽平, 高原 智子, 後飯塚 僚, 北村 大介, 滝田 順子, 林 泰秀, 北川 昌伸, 中村 卓郎; preB 細胞性リンパ性白血病(preB-ALL)発症における BLNK と C/EBP β の協調作用. 第 101 回日本病理学会総会, 東京, 2012 年 4 月 26 日~4 月 28 日.

3. 講演

1. 滝田順子: 神経芽腫における標的分子の同定とその臨床応用. 中日国交正常化 40 周年記念小児科研究会, 6 月 14 日, 北京
2. 滝田順子: 次世代シーケンサーを用いた小児固形腫瘍における標的分子の探索. 第 23 回小児固形腫瘍研究会, 10 月 12 日, 京都

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
無し
2. 実用新案登録
無し
3. その他
無し

「RAS 関連自己免疫性リンパ球増殖症候群様疾患(RALD)の実態調査および病態病因解析に関する研究」

—RAS による *Cdkn2a* 遺伝子発現調節メカニズムに関する研究—

研究分担者 杉本 昌隆

(国立長寿医療研究センター老化細胞研究プロジェクトチーム・プロジェクトリーダー)

研究要旨： RASシグナルの亢進は、正常細胞においては*Cdkn2a*遺伝子の発現を誘導することにより細胞増殖に対して反作用を示す。昨年度行った解析から、RALDにおいてはRASシグナルの亢進とともに*Cdkn2a*遺伝子の発現が亢進していることが示された。本研究ではRALDの原因となる分子機構を理解することを目的として、RASシグナルによる*Cdkn2a*遺伝子の発現調節機構の解析を行い、RASシグナルによる新たな*Cdkn2a*遺伝子発現調節経路が存在することを明らかにした。

A. 研究目的

自己免疫性リンパ球増殖症候群（ALPS）類縁疾患として、研究代表者らにより近年RAS 関連自己免疫性リンパ球増殖症候群様疾患（RALD）が発見された。RALD ではKRAS 遺伝子の変異が認められており、この変異に起因したRAS シグナル経路の亢進が病態を引き起こすと考えられる。ヒトを含む哺乳動物においては、RAS などの癌遺伝子が異常に活性化すると、細胞周期チェックポイント機構の働きにより細胞老化または細胞死が誘導される等、生体にとって潜在的に危険な細胞を排除するメカニズムが活性化される。異常な増殖シグナルを感知してチェックポイントを活性化させるためには、*Cdkn2a* 遺伝子座にコードされるINK4a と ARF タンパク質が不可欠な役割を持つ。昨年度我々は、RALD 検体の解析を行い、*Cdkn2a* 遺伝子の発現が亢進していることを見出した。近年 *Cdkn2a* 遺伝子の発現には、クロマチンレベルの構造変化を介し

た転写制御とともに、転写後発現調節機構も重要な役割を持つことが報告されている。我々は RAS などを介した *Cdkn2a* 遺伝子の発現に RNA 結合タンパク質 HuR が関与することを示唆する結果を得ている。HuR は数多くの細胞増殖制御タンパク質の発現を制御しており、様々な癌においてその発現の亢進が認められている。

本研究では、RALD 発症メカニズムを分子レベルで理解することを目的とし、マウス細胞を用いて *Cdkn2a* 遺伝子に関わる RNA 制御機構の解析を行った。

B. 研究方法

野生型マウスより胚性線維芽細胞（MEF）を調製し、活性化型 RAS 遺伝子をウイルスにより導入した。またウイルスベクターを用いた short hairpin RNA 発現系を作製し、HuR のノックダウンを行った。これらの細胞を用いて生化学的解析を行った。

(倫理面への配慮)

実験上必要とされる遺伝子サンプル、動物の取り扱いは「生物の多様性に関する条約のバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書」に基づく「遺伝子組み換え生物等の使用等の規則による生物多様性の確保に関する法律」を遵守して行った。

C. 研究結果

MEF をモデルとして、細胞老化に伴う *Cdkn2a* 遺伝子の発現と HuR の関連について解析を行った。既に他のグループから報告があるように、細胞老化とともに HuR の発現は低下する傾向にある。そこで RALD で見られるような活性化型 RAS を MEF に導入したときの HuR の発現を解析した結果、HuR は ARF タンパク質の誘導とともに低下する傾向にあった (図 1)。

次に HuR の発現低下が *Cdkn2a* 遺伝子の発現に対しどのような影響を持つかを調べるために、RNAi を用いて MEF において HuR の発現阻害を行った。その結果、HuR 非存在下においては ARF タンパク質の発現に著しい上昇が見られた (図 2)。またこのような条件下においては、早期に細胞老化 (増殖停止、細胞の扁平化、SA- β Gal 活性の上昇) が誘導されることがわかった (図 3)。しかしながらこのときの ARF mRNA 量には有意な変化は見られなかったことから、HuR による ARF タンパク質発現制御は、転写後調節を介しているものと考えられる (図 4)。実際にこれらの細胞をショ糖密度勾配による分画を行い ARF mRNA の分布を測定したところ、HuR 非存在下においては明らかにポリソーム画分に ARF mRNA 量の増加が見られた (データ省略)。

以上の結果から、HuR は ARF タンパク質の発現を抑制することにより、細胞の増殖性を維持している可能性が考えられた。この可能性について検証するために、ARF 遺伝子もしくはその下流の p53 遺伝子を欠損した MEF を調整し、同様に HuR ノックダウン実験を行った。野生型 MEF においては HuR ノックダウンにより細胞老化が早期に誘導されたが、ARF 遺伝子もしくは p53 遺

伝子を欠損した MEF においては、細胞増殖の停止や細胞老化に特徴的な変化 (形態変化、SA- β Gal) は認められなかった (図 5)。したがって HuR 非存在下による細胞老化の誘導は ARF タンパク質の発現に依存する現象であると考えられる。

図 1. RASによるARFタンパク質の誘導とHuRタンパク質の発現低下。MEFに活性化型RASを導入し、上記タンパク質の発現をイムノブロッティングにより評価した。Lamin A/Cはローディングコントロールとして使用した。

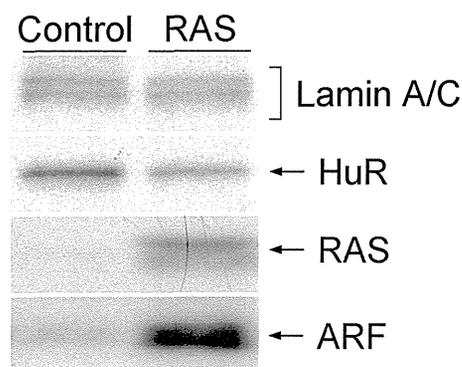


図 2. HuR発現阻害によりARFタンパク質は増加する。MEFにHuR RNAiウイルスベクターを感染し、上記タンパク質の発現をイムノブロッティングにより評価した。 α Tubulinはローディングコントロールとして使用した。

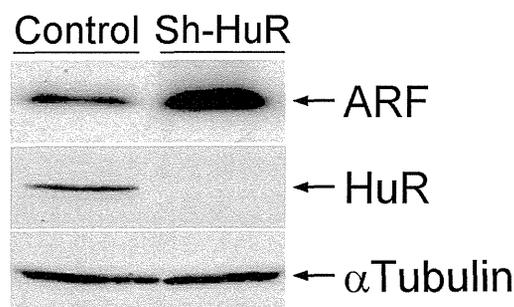


図 3. 野生型MEFにおいてHuRの発現を阻害すると細胞老化が誘導される。

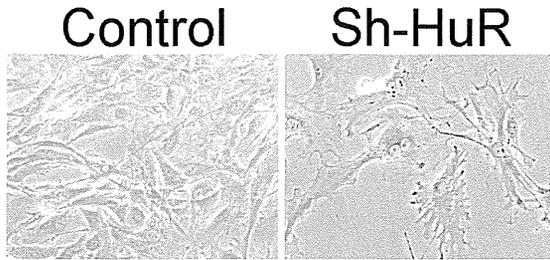


図4. HuRはARF mRNAの転写に影響を与えない。HuRの発現を阻害したMEFにおいてARF mRNAの量をリアルタイムPCR法により測定した。

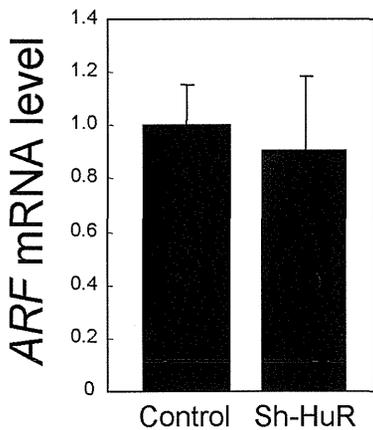
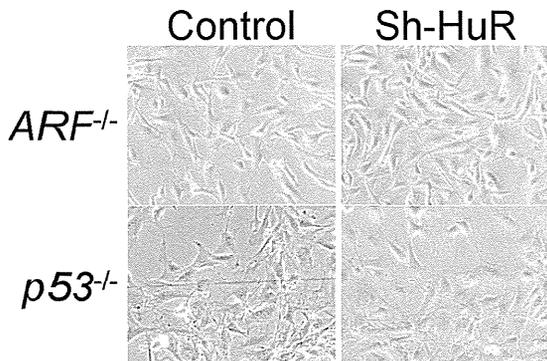


図5. HuR発現阻害はARF-p53経路依存的な細胞老化を誘導する。ARF（上段）もしくはp53（下段）ノックアウトMEFにおいてHuRの発現を阻害した。図3の野生型MEFで見られたような細胞老化に特徴的な形態的变化は見られない。



D. 考察

Cdkn2a 遺伝子の発現は極めて複雑である。本研究および他のグループの報告から、この遺伝子座の調節には RNA 結合タンパク質 HuR を介した転写後発現調節機構が深く関与することが明らかになった。MEF において活性化型 RAS を導入すると、ARF タンパク質および INK4a タンパク質の発現上昇とともに HuR タンパク質の発現低下が認められた。この細胞では HuR の発現阻害により ARF タンパク質に依存した細胞老化が誘導されることから、RAS による細胞老化誘導に HuR の活性変化（発現低下を含む）による *Cdkn2a* 遺伝子座の転写後調節が貢献していることが考えられる。

昨年度の我々の解析により、RALD においては RAS に活性化変異により、増殖シグナルの亢進が確認された。またこれらのサンプルでは過剰な増殖シグナルに対するは反作用として、*Cdkn2a* 遺伝子の発現が亢進していた。我々は本年度、RAS シグナルによる *Cdkn2a* 遺伝子の発現調節に、HuR を介した転写後発現調節機構が関与する可能性を見出した。RALD においてもこの様な発現調節機構が関与するの点については非常に興味深い。RNA の翻訳制御は、細胞のストレス応答において重要な役割を果たしている。しかしながら転写後調節については、従来の網羅的遺伝子発現プロファイリング法では解析が困難であるためにその役割が過小に評価され、見逃している部分も多いと思われるため、より注意深い観察が必要とされる。

また RAS 癌遺伝子は *Cdkn2a* 遺伝子に依存した細胞老化を誘導する。細胞老化のマーカーとして簡便な SA- β Gal 染色が汎用されているが、RALD においても RAS の活性化型変異と *Cdkn2a* 遺伝子の上昇が見られるため、SA- β Gal がマーカーとして利用可能であるかも知れない。

E. 結論

RAS による *Cdkn2a* 遺伝子の発現変化には、従来から知られていた転写制御だけでなく、HuR などの RNA 結合タンパク質を介した転写後発現調節機構も重要な役割を持

つ。RALD においてもこのような転写後発現制御機構が病態の発症に関与する可能性が考えられる。

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kawagishi, H., Hashimoto, M., Nakamura, H., Tsugawa, T., Watanabe, A., Kontoyiannis, D. L., and Sugimoto, M. HuR maintains replicative lifespan by suppressing ARF tumor suppressor. *Mol. Cell. Biol.* 2013 May;33(10):1886-900

2. 学会発表

1. Sugimoto, M., Kawagishi, H., Tsugawa, T., and Hashimoto, M. HuR maintains replicative lifespan by repressing ARF tumor suppressor. Keystone Symposia Aging and Diseases of Aging, October, 2012
2. 杉本昌隆、川岸裕幸、津川貴行、中村英亮 RNA 結合タンパク質 HuR は癌抑制タンパク質 ARF を抑制することにより細胞の分裂寿命を維持する 日本基礎老化学会第 35 回大会, 2012 年 7 月
3. Tsugawa, T., Michihiro, H., Kawagishi, H., and Sugimoto, M. HuR regulates senescence-associated secretory phenotype through DNA damage response pathway. 第 35 回大会 日本分子生物学会年会 (ワークショップ) 福岡, 2012 年 12 月

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

「RAS 関連自己免疫性リンパ球増殖症候群様疾患(RALD)の実態調査および病態病因解析に関する研究」

—皮膚粘膜カンジダ症候群の経過中に Evans 症候群と心嚢液貯留を認めた症例の遺伝子解析—

研究分担者 林泰秀、朴明子、加藤政彦

(群馬県立小児医療センター)

研究要旨 皮膚粘膜カンジダ症候群の経過中にEvans症候群と心嚢液貯留を認めた症例を経験し、*AIRE*, *CARD9*, *CLEC7A*, *IL2RA*, *FAS*, *NRAS*, *KRAS*, *STAT1*等遺伝子解析を行い *STAT1*のみにエクソン14のP.T385Mの変異がみられた。この変異はDNA-binding domainの変異でSTAT1蛋白の恒常的リン酸化がみられ、gain of functionの変異と思われた。さらにAML99の157例の*RAS*遺伝子を解析し、29例に変異がみられた。*RAS*遺伝子陽性例は晩期再発例に高頻度 ($p=0.02$) であったが、生存率では陰性例と有意差がみられなかった。今後AMLで*RAS*変異のみられる患者における*RAS*遺伝子の胚細胞変異やモザイク例の検討が必要と思われた。増殖や悪化性における*RAS*遺伝子変異の意義は今後の検討課題である。

A. 研究目的

自己免疫性リンパ増殖症 (Autoimmune lympho-proliferative syndrome, ALPS) は FAS 依存のアポトーシス経路の障害で、リンパ増殖症を呈し、リンパ節腫脹、脾腫などを特徴とし、自己免疫疾患を合併する症候群である。RAS-MAPK 経路の異常が病態の中心にあると考えられ、RAS、PTPN11、NF1 や CBL などの遺伝子異常が認められる。また RAS-MAPK 経路の胚細胞変異は Cardio-facio-cutaneous (CFC) 症候群、Costello 症候群などを発症することが知られている。また、NRAS、KRAS 変異のある ALPS 類似の病態が RAS associated ALPS like disease (RALD) という新しい疾患概念として提唱されている

我々はこれらを疑わせる症例を経験し詳細な解析を行い、*STAT1* 遺伝子の変異をみいだしたので報告する。

さらに、小児急性骨髄性白血病 (AML) の AML99 プロトコール登録症例における RAS 遺伝子の解析を行ったので RAS 遺伝子変異の臨床的意義についても報告する。

B. 研究方法

<本症例の遺伝子解析>

本症例の末梢血により DNA を抽出し、*AIRE*, *CARD9*, *CLEC7A*, *IL2RA*, *FAS*, *NRAS*, *KRAS*, *STAT1* 遺伝子にプライマーを作成し、PCR で増幅して直接塩基決定法にて検

索した。

らべて有意差がみられなかった。

<リン酸化の解析>

STAT1 のリン酸化の解析を行った。

<AML99 症例の RAS 遺伝子の解析>

AML99 登録 157 例において RAS 遺伝子にプライマーを作成し、PCR で増幅して直接塩基決定法にて変異解析を行った。

<症例と臨床経過>

症例は皮膚粘膜カンジダ症候群と診断した 12 歳の男児で、ステロイド投与により、フェリチンは低下傾向となり、血小板低下は改善し、外来経過観察となった。その後も発熱を契機に、血小板低下と貧血、心嚢液貯留を認めたが、増悪と軽快を繰り返している。現在は溶血性貧血と血小板低下、心嚢液貯留を認めている。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析にあたっては、三省合同のゲノム指針に則り、患者又は両親から同意を得、当センターの倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

- ・遺伝子解析: *AIRE*, *CARD9*, *CLEC7A*, *IL2RA*, *FAS*, *NRAS*, *KRAS*, *STAT1* 遺伝子の解析で変異は認められなかった。
- ・慢性非悪性リンパ増殖症はなかった。
- ・STAT1 の解析でエクソン 14 の c.1153C>T の変異がみられ、これは DNA-binding domain の変異で、これにより STAT1 の恒常的リン酸化がみられた。
- ・AML99 157 例中 29 例 (18.5%) に RAS 遺伝子の変異がみられ、NRAS 18 例 (62%)、KRAS 11 例 (38%) であった。RAS 遺伝子陽性例は M4 と M5 で高頻度であり (p=0.02)、晩期再発例に高頻度 (p=0.02) であったが、生存率では RAS 陰性例とく

D. 考察

溶血性貧血、免疫性血小板減少症、心嚢液貯留、肝腫大、低身長、ばち指等がみられ、慢性皮膚粘膜カンジダ症の臨床診断であったが、種々の遺伝子検査の結果等からは ALPS の診断に一致しなかったが、STAT1 の変異がみられ、この変異は DNA-binding domain の変異で、恒常的リン酸化がみられた。

AML99 の 157 例の解析で 29 例に RAS 遺伝子変異がみられた。RAS 遺伝子陽性例は晩期再発例に高頻度 (p=0.02) であったが、生存率では陰性例とく比べて有意差がみられなかった。今後 AML で RAS 変異のみられる患者における RAS 遺伝子の胚細胞変異やモザイクの検討が必要と思われた。また増殖や悪化性における RAS 遺伝子変異の意義は、今後の検討課題である。

E. 結論

皮膚粘膜カンジダ症候群の経過中に Evans 症候群と心嚢液貯留を認めた一例を経験し、STAT1 の変異がみられ、恒常的リン酸化がみられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Toki T, Kanezaki R, Kobayashi E, Kaneko H, Suzuki M, Wang R, Terui K, Kanegane H, Maeda M, Endo M, Mizuochi T, Adachi S, Hayashi Y, Yamamoto M, Shimizu R, Ito E. Naturally occurring oncogenic GATA1 mutants with internal deletions in transient abnormal myelopoiesis in Down syndrome. *Blood* 2013 Apr 18;121(16):3181-4
2. Sano H, Shimada A, Taki T, Murata C, Park MJ, Sotomatsu M, Tabuchi K, Tawa A, Kobayashi R, Horibe K, Tsuchida M, Hanada R, Tsukimoto I, Hayashi Y. RAS mutations are frequent in FAB type M4 and M5 of acute myeloid leukemia, and related to late relapse: a study of the

- Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *Int J Hematol.* 95 : 509-515, 2012
3. Wakai K, Sano H, Shimada A, Shiozawa Y, Park MJ, Sotomatsu M, Yanagisawa R, Koike K, Kozawa K, Ryo A, Tsukagoshi H, Kimura H, Hayashi Y. Cytomegalovirus Retinitis During Maintenance Therapy for T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol.* 35 : 162-163, 2013
 4. Gruber TA, Larson Gedman A, Zhang J, Koss CS, Marada S, Ta HQ, Chen SC, Su X, Ogden SK, Dang J, Wu G, Gupta V, Andersson AK, Pounds S, Shi L, Easton J, Barbato MI, Mulder HL, Manne J, Wang J, Rusch M, Ranade S, Ganti R, Parker M, Ma J, Radtke I, Ding L, Cazzaniga G, Biondi A, Kornblau SM, Ravandi F, Kantarjian H, Nimer SD, Döhner K, Döhner H, Ley TJ, Ballerini P, Shurtleff S, Tomizawa D, Adachi S, Hayashi Y, Tawa A, Shih LY, Liang DC, Rubnitz JE, Pui CH, Mardis ER, Wilson RK, Downing JR. An Inv(16)(p13.3q24.3)-Encoded CBFA2T3- GLIS2 Fusion Protein Defines an Aggressive Subtype of Pediatric Acute Megakaryoblastic Leukemia. *Cancer Cell.* 22 : 683-697, 2012
 5. Shimada A, Taki T, Koga D, Tabuchi K, Tawa A, Hanada R, Tsuchida M, Horibe K, Tsukimoto I, Adachi S, Kojima S, Hayashi Y. High WT1 mRNA expression after induction chemotherapy and FLT3-ITD have prognostic impact in pediatric acute myeloid leukemia: a study of the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *Int J Hematol.* 96 : 469-476, 2012
 6. Doisaki S, Muramatsu H, Shimada A, Takahashi Y, Mori-Ezaki M, Sato M, Kawaguchi H, Kinoshita A, Sotomatsu M, Hayashi Y, Furukawa-Hibi Y, Yamada K, Hoshino H, Kiyoi H, Yoshida N, Sakaguchi H, Narita A, Wang X, Ismael O, Xu Y, Nishio N, Tanaka M, Hama A, Koike K, Kojima S. Somatic mosaicism for oncogenic NRAS mutations in juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood.* 120 : 1485-1488, 2012
 7. Yamada Y, Kato M, Toki F, Watanabe M, Nishi A, Matsushita I, Hirato J, Hayashi Y. Eosinophilic gastrointestinal disorder in an infant with feeding dysfunction. *Int Arch Allergy Immunol.* 158 Suppl 1:83-86, 2012
 8. Kato M, Ishioka T, Kita H, Kozawa K, Hayashi Y, Kimura H. Eosinophil granular proteins damage bronchial epithelial cells infected with respiratory syncytial virus. *Int Arch Allergy Immunol.* 158 Suppl 1:11-18, 2012
 9. Kawashima N, Shimada A, Taketani T, Hayashi Y, Yoshida N, Matsumoto K, Takahashi Y, Kojima S, Kato K. Childhood acute myeloid leukemia with bone marrow eosinophilia caused by t(16;21)(q24;q22). *Int J Hematol.* 95 : 577-580, 2012
 10. 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.* 26 : 1879-1898, 2012
 11. Yokoyama T, Toki T, Aoki Y, Kanezaki R, Park MJ, 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* 119 : 2608-2611, 2012
 12. Okubo J, Takita J, Chen Y, Oki K, Nishimura R, Kato M, Sanada M, Hiwatari M, Hayashi Y, Igarashi T, Ogawa S. Aberrant activation of ALK kinase by a novel truncated form ALK protein in neuroblastoma. *Oncogene.* 31 : 4667-4676, 2012
 13. 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. *Blood.* 119 : 2612-2614, 2012
 14. 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. *Brit J Haematol* 156 :
358-365, 2012

15. Shiba N, Taki T, Park MJ, Shimada A, Sotomatsu M, Adachi S, Tawa A, Horibe K, Tsuchida M, Hanada R, Tsukimoto I, Arakawa H, Hayashi Y. DNMT3A mutations are rare in childhood acute myeloid leukaemia, myelodysplastic syndromes and juvenile myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol* 156 : 413-414, 2012
16. Shiba N, Park MJ, Taki T, Takita J, Hiwatari M, Kanazawa T, Sotomatsu M, Ishii E, Arakawa H, Ogawa S, Hayashi Y. CBL mutations in infant acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 156 : 672-674, 2012

2. 学会発表

1. 櫻井信晴, 加藤政彦, 朴 明子, 山田佳之, 丸山健一, 林 泰秀, 吉橋博史, 竹崎俊一郎, 山田雅文, 金兼弘和. 慢性粘膜皮膚カンジダ症の2例, 前橋, 2012.7.14
2. 滝田順子, 西村 力, 大久保純, 吉田健一, 星野諭子, 真田 昌, 林泰秀, 宮野 悟, 小川誠司, 五十嵐隆. 先端的ゲノムスキニングを用いた難治性小児固形腫瘍における標的分子の探索. 第115回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012.4.21
3. 西村 力, 滝田順子, 吉田健一, 白石友一, 大久保純, 真田 昌, 林泰秀, 宮野 悟, 小川誠司, 五十嵐隆. 次世代シーケンサーを用いた神経芽腫のエクソーム解析. 第115回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012.4.21
4. 大久保純, 滝田順子, 西村 力, 星野諭子, 吉田健一, 白石友一, 林泰秀, 宮野 悟, 小川誠司, 五十嵐隆. 次世代シーケンサーを用いたEwing肉腫のエクソーム解析. 第115回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012.4.21
5. 柴 徳生, 市川 仁, 滝 智彦, 朴明子, 嶋田 明, 田渕 健, 荒川浩一, 足立壮一, 堀部敬三, 林 泰秀. 発現アレイを用いた小児急性骨髄性白血病における、NUP98-NSD1 融合遺伝子の解析. 第115回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012.4.21
6. 大木健太郎, 大喜多肇, 清河信敬, 朴 明子, 康 勝好, 花田良二, 真部 淳, 菊地 陽, 小原 明, 林泰秀. TCCSG の小児 B 前駆細胞型急性リンパ性白血病における CRLF2 と IKZF1、JAK 遺伝子解析. 第115回日本小児科学会学術集会, 福岡, 2012.4.21
7. 大木健太郎, 奥野はるな, 柴 徳生, 金澤 崇, 朴 明子, 外松 学, 神谷尚宏, 小川千登世, 林 泰秀. 第2再発時に初めてMLL-AF4陽性となったB前駆型急性リンパ性白血病1例におけるクローン構造の検討. 第8回来た関東小児がんセミナー, 高崎, 2012.5.19
8. 朴 明子, 林 泰秀. TAM に合併する肝機能障害について. 第48回日本周産期・新生児医学会学術集会, さいたま, 2012.7.8
9. 三谷幸代, 城 青衣, 嶋田 明, 柴徳生, 林 泰秀, 市川 仁. 2 遺伝子の発現に基づく高リスク小児急性骨髄性白血病の同定. 第71回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012.9.19
10. 倉田盛人, 後飯塚僚, 北村大介, 滝田順子, 林 泰秀, 北川正伸, 中村卓郎. BLNK 欠損 preB-ALL と B 細胞分化における C/Ebpb の働き. 第71回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012.9.20
11. 星野諭子, 西村 力, 奥野友介, 樋渡光輝, 永田安伸, 吉田健一, 真田昌, 白石友一, 宮野 悟, 林 泰秀, 小川誠司, 滝田順子. 神経芽腫におけるエピジェネティック関連遺伝子の網羅的ゲノム解析. 第71回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012.9.20
12. 柴 徳生, 吉田健一, 奥野友介, 白石友一, 田中洋子, 永田安伸, 滝田

- 順子, 荒川浩一, 伊藤悦朗, 真田昌, 宮野 悟, 小川誠司, 林 泰秀. 全エクソーム解析による小児急性骨髄性白血病の新規発症原因遺伝子変異の同定, 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012.9.21
13. 関 正史, 西村 力, 奥野友介, 白石友一, 千葉健一, 田中洋子, 吉田健一, 真田 昌, 林 泰秀, 宮野悟, 小川誠司, 滝田順子. 次世代シーケンサーによる再発肺芽腫のエクソーム解析. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012.9.21
 14. Kiyokawa N, Matsumoto K, Iijima K, Hasegawa D, Oboki K, Kobayashi K, Okita H, Takada S, Asahara H, Mori T, Fukushima T, Saito M, Koh K, Hanada R, Tsuchida M, Manabe A, Kikuchi A, Saito H, Fujimoto J, Hayashi Y, Ohara A. Fusion gene-specific signature of microRNA expression in childhood ALL. 第 74 回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.19
 15. Iijima K, Hasegawa D, Kiyokawa N, Kobayashi K, Okita H, Miharuru M, Mori, T, Kikuchi A, Fujimoto J, Hayashi Y, Ohara A. Gene expression profile related to prognosis of childhood ALL without fusion genes. 第 74 回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.19
 16. Park MJ, Oda M, Kobayashi R, Suzuki N, Hara J, Horibe K, Hayashi Y. IL-7R gene mutations in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia. 第 74 回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.19
 17. Oki K, Okita H, Kobayashi K, Shiba N, Park MJ, Sotomatsu M, Fukushima T, Koh K, Hanada R, Manabe A, Kikuchi A, Tsuchida M, Ohara A, Kiyokawa N, Hayashi Y. Analysis of CRLF2 and IKZF1, JAK, IL7R genes in pediatric B-precursor ALL treated on TCCSG protocol. 第 74 回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.19
 18. Shimada A, Olfat I, Xu Y, Goto A, Nagai T, Narita A, Sakaguchi H, Doisaki S, Muramatsu H, Hama A, Takahashi Y, Yamada Y, Hayashi Y, Ogawa S. JAK2 V617F mutation in pediatric myeloproliferative neoplasm. 第 74 回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.20
 19. Shiba N, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Tanaka H, Chiba K, Nagata Y, Ohki K, Kato M, Park MJ, Takita J, Kanazawa T, Kudo K, Arakawa H, Ito E, Sanada M, Miyano S, Ogawa S, Hayashi Y. Whole exome resequencing reveals novel gene mutations in pediatric AML. 第 74 回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.20
 20. Okuno Y, Shiba N, Shiraishi Y, Yoshida K, Nagata Y, Sato Y, Ohki K, Kato M, Park MJ, Kanazawa T, Kudo K, Chiba K, Tanaka H, Ito E, Takita J, Sanada M, Hayashi Y, Miyano S, Ogawa S. Clonal architecture and evolution of pediatric AML. 第 74 回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.20
 21. Takahashi H, Koh K, Kato M, Fukushima T, Inukai T, Kiyokawa N, Taki T, Saito M, Kajiwara M, Ogawa C, Maeda M, Manabe A, Kikuchi A, Hayashi Y, Hanada R, Tsuchida M, Ohara A. Characteristics and prognostic impacts of structural chromosomal abnormalities in childhood ALL. 第 74 回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.21
 22. Shiba N, Ichikawa H, Taki T, Park MJ, Jo A, Mitani S, Shimada A, Sotomatsu M, Arakawa H, Tabuchi K, Adachi S, Tawa A, Horibe K, Tsuchida M, Hanada R, Tsukimoto I, Hayashi Y. NUP98-NSD1 related gene expression signature is associated with a poor prognosis in pediatric AML. 第 74 回日本血液学会学術集会, 京都, 2012.10.21
 23. 大木健太郎, 柴 徳生, 新井 心, 朴明子, 外松 学, 清河信敬, 林 泰秀. 小児 B 前駆細胞型急性リンパ性白血病における clonal evolution の解析. 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012.11.30
 24. 関 正史, 西村 力, 星野倫子, 奥野友介, 白石友一, 吉田健一, 千葉健一, 田中陽子, 真田 昌, 加藤啓輔, 土田昌宏, 宮野 悟, 林 泰秀, 小川誠司. 滝田順子. 先端ゲノム解析技術を用いた胸膜肺芽腫における発症分子機構

- の解明. 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012.11.30
25. 朴 明子, 大木健太郎, 新井 心, 外松 学, 清河信敬, 小田 慈, 堀部敬三, 林 泰秀. MLPA 法を用いた T-ALL 遺伝子異常についての解析. 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012.11.30
 26. 西 眞範, 磯村直子, 野村優子, 柳井文男, 犬飼岳史, 渡辺 新, 林 泰秀. t(17;19)(q22;p13.3)を含む染色体異常を呈した T 細胞性急性リンパ性白血病の 1 例. 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012.11.30
 27. 柴 徳生, 吉田健一, 奥野友介, 白石友一, 加藤元博, 大木健太郎, 朴 明子, 金澤 崇, 工藤寿子, 滝田順子, 加藤啓輔, 荒川浩一, 伊藤悦朗, 花田良二, 真田 昌, 小川誠司, 林 泰秀. 全エクソーム解析による小児急性骨髄性白血病の新規発症原因遺伝子変異の同定. 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012.12.1
 28. 柴 徳生, 大木健太郎, 朴 明子, 市川 仁, 足立壮一, 外松 学, 荒川浩一, 田渕 健, 多和昭雄, 堀部敬三, 土田昌宏, 花田良二, 月本一郎, 林 泰秀. 小児急性骨髄性白血病における GATA2 遺伝子変異同定. 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012.12.1
 29. 出口隆生, 村松秀城, 林 泰秀, 菊地陽, 駒田美弘. TAM 芽球における CD117 発現と末梢血中芽球割合の相関. 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012.12.2
 30. 村松秀城, 菊地 陽, 林 泰秀, 川村眞智子, 小島勢二, 矢部みはる, 磯山恵一, 滝 智彦, 辻浩一郎, 土田昌宏, 真田 昌. ダウン症候群に合併した一過性骨髄異常増殖症に対する少量シタラビン療法による腫瘍崩壊症候群. 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012.12.2
 31. 嶋田 明, Ismael Olfa, 徐 銀嶺, 後藤綾, 永井智子, 成田 敦, 坂口大俊, 土居崎小夜子, 村松秀城, 濱 麻人, 高橋義行, 山田佳之, 林 泰秀, 小島勢二. 小児骨髄増殖疾患における JAK2V617F 遺伝子変異. 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会, 横浜, 2012.12.2
 32. Shiba N, Ichikawa H, Taki T, MJ Park, Jo A, Mitani S, Kobayashi T, Shimada A, Sotomatsu M, Arakawa H, Adachi S, Tawa A, Horibe K, Tsuchida M, Hanada R, Tsukimoto I, Hayashi Y. NUP98-NSD1 related gene expression signature is strongly associated with a poor prognosis in pediatric acute myeloid leukemia. 54rd Annual Meeting of the American Society of Hematology, Atlanta, December 8, 2012
 33. Shiba N, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Nagata Y, Ohki K, Kato M, MJ Park, Takita J, Kanazawa T, Kudo K, Ito E, Sanada M, Miyano S, Ogawa S, Hayashi Y. Whole exome sequencing reveals spectrum of gene mutations in pediatric AML. 54rd Annual Meeting of the American Society of Hematology, Atlanta, December 9, 2012
 34. Shiba N, Ohki K, MJ Park, Adachi S, Kobayashi M, Kinoshita A, Sotomatsu M, Arakawa H, Tawa A, Horibe K, Tsukimoto I, Hayashi Y. GATA2 mutations in pediatric acute myeloid leukemia: a study of the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. 54rd Annual Meeting of the American Society of Hematology, Atlanta, December 9, 2012
- 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

IV. 研究成果に関する刊行の一覧表

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	巻号	ページ	出版年
Takagi M, Sato M, Piao J, Miyamoto S, Isoda T, Kitagawa M, Honda H, Mizutani S.	ATM-dependent DNA damage-response pathway as a determinant in Chronic Myelogenous Leukemia.	DNA Repair	12(7)	500-7	2013
Takagi M, Piao J, Lin L, Kawaguchi H, Imai C, Ogawa A, Watanabe A, Akiyama K, Kobayashi C, Mori M, Ko K, Sugimoto M, Mizutani S.	Autoimmunity and persistent RAS-mutated clones long after the spontaneous regression of JMML	Leukemia	27(9)	1926-8	2013
Piao J, Sakurai N, Iwamoto S, Nishioka J, Nakatani K, Komada Y, Mizutani S, Takagi M	Functional studies of a novel germline p53 splicing mutation identified in a patient with Li-Fraumeni-like syndrome.	Mol Carcinog.	52(10)	770-6	2013
Unno J, Takagi M, Piao J, Sugimoto M, Honda F, Maeda D, Masutani M, Kiyono T, Watanabe F, Morio T, Teraoka H, Mizutani S.	Artemis-dependent DNA double-strand break formation at stalled replication forks.	Cancer Sci.	104(6)	703-10	2013
Tamaichi H, Sato M, Porter AC, Shimizu T, Mizutani S, Takagi M.	Ataxia telangiectasia mutated-dependent regulation of topoisomerase II alpha expression and sensitivity to topoisomerase II inhibitor	Cancer Sci.	104(2)	178-84	2013
Machida S, Tomizawa D, Tamaichi H, Okawa T, Endo A, Imai K, Nagasawa M, Morio T, Mizutani S, Takagi M.	Successful treatment of diffuse large B cell lymphoma in a patient with ataxia telangiectasia using rituximab.	J Pediatr Hematol Oncol.	35(6)	482-5	2013
Nagasawa M, Ohkawa T, Endo A, Mitsuki N, Ono T, Aoki Y, Isoda T, Tomizawa D, Takagi M, Kajiwara M, Morio T, Mizutani S.	Early coagulation disorder after allogeneic stem cell transplantation is a strong prognostic factor for transplantation-related mortality.	Int J Hematol	98(5)	533-42	2013
Mizutani S, Takagi M.	XCIND as a genetic disease of X-irradiation hypersensitivity and cancer susceptibility.	Int J Hematol.	97(1)	37-42	2013

Isoda T, Mitsui N, Ohkawa T, Kaneko S, Endo A, Ono T, Aoki Y, Tomizawa D, Kajiwar M, Araki S, Nagasawa M, Morio T, Takagi M, Mizutani S.	Irreversible leukoencephalopathy after reduced-intensity stem cell transplantation in adyskeratosis congenita patient with TINF2 mutation.	J Pediatr Hematol Oncol	35(4)	e178-82	2013
Tomizawa D, Tawa A, Watanabe T, Saito AM, Kudo K, Taga T, Iwamoto S, Shimada A, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Takahashi H, Nakayama H, Kiyokawa	Appropriate dose reduction in induction therapy is essential for the treatment of infants with acute myeloid leukemia: a report from the Japanese Pediatric Leu	Int J Hematol.	98(5)	578-88	2013
Horibe K, Saito AM, Takimoto T, Tsuchida M, Manabe A, Shima M, Ohara A, Mizutani S.	Incidence and survival rates of hematological malignancies in Japanese children and adolescents (2006-2010): based on registry data from the Japanese Society of Pediatric Hematology.	Int J Hematol.	98(1)	74-88	2013
Shimizu K, Yamagata K, Kurokawa M, Mizutani S, Tsunematsu Y, Kitabayashi I	Roles of AML1/RUNX1 in T-cell malignancy induced by loss of p53.	Cancer Sci.	104(8)	1033-8	2013
Hosokawa S, Haraguchi G, Sasaki A, Arai H, Muto S, Itai A, Doi S, Mizutani S, Isobe M.	Pathophysiological roles of nuclear factor kappaB (NF-kB) in pulmonary arterial hypertension: effects of synthetic selective NF-kB inhibitor IMD-0354.	Cardiovasc Res.	99(1)	35-43	2013
Takizawa F, Mizutani S, Otagawa Y, Sawada N.	Glucose-independent persistence of PAI-1 gene expression and H3K4 tri-methylation in type 1 diabetic mouse endothelium: implication in metabolic memory.	Biochem Biophys Res Commun.	433(1)	66-72	2013
Mizutani S.	Guest editorial: recent advances in the genetic basis of childhood hemato-oncological diseases.	Int J Hematol.	97(1)	1-2	2013
Urayama KY, Chokkalingam AP, Manabe A, Mizutani S.	Current evidence for an inherited genetic basis of childhood acute lymphoblastic leukemia.	Int J Hematol	97(1)	3-19	2013
Matsubara Y, Ono M, Miyai K, Takizawa F, Takasawa K, Onishi T, Kashimada K, Mizutani S.	Longitudinal analysis of growth and body composition of Japanese 21-OHD patients in childhood.	Endocr J	60(2)	149-54	2013