

ていた。この結果は、コヒーシンを構成するどの分子が障害されても、共通の機序で TAM から真の白血病である DS-AMKL に進展することを示唆している。また、CTCF はジンクフィンガー型蛋白で、コヒーシと一緒に遺伝子発現の制御に関わっている。CTCF の変異を含めると DS-AMKL の 65% に変異が検出された。

一方、non-DS-AMKL では、コヒーシン、*EZH2*、*GATA1* などの変異は DS-AMKL より少なく、逆に non-DS-AMK でよく認められる *CBFA2T3/GLIS2* や *OTT/MAL* キメラ遺伝子は、TAM と DS-AMKL には 1 例も検出されなかった。この結果より、DS-AMKL と non-DS-AMKL は遺伝学的に異なった疾患群であることが改めて確認された。

3. TAM から AMKL への進行のメカニズムを解明。

次世代シーケンサーを用いて、変異部分の遺伝子配列を何千回も読みこむことで、DS-AMKL の症例で、既に知られていた *GATA1* 遺伝子変異と他の経路の遺伝子変異(コヒーシン、*CTCF*、*EZH2* およびチロシンキナーゼ/*RAS*)の遺伝子変異を持っている腫瘍細胞の割合を計算・比較した。その結果、*GATA1* 変異を有する腫瘍細胞の割合はコヒーシン/*CTCF* あるいは *EZH2* 変異を有する腫瘍細胞の割合と同程度であったが、チロシンキナーゼ/*RAS* 変異を有する腫瘍細胞の割合は低いことがわかった。これは、コヒーシン/*CTCF* および *EZH2* の変異は、DS-AMKL 発症早期に獲得された、DS-AMKL 発症に関わる重要な遺伝子であり、チロシンキナーゼ/*RAS* 変異はその後の腫瘍の進展に関与していることを示唆している(図4)。

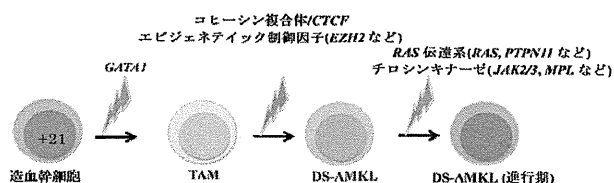


図4. DS-AMKL の多段階発症のモデル

ダウン症の急性巨核芽球性白血病の発症過程において、最初に21トリソミーを持った造血幹細胞に*GATA1* 変異が起こってTAMが発症する。その後、いったんは寛解したTAMの腫瘍細胞にコヒーシンとCTCFの変異およびエピゲノムの制御因子などの遺伝子変異が起こって白血病(DS-AMKL)へ進展し、さらにRAS伝達系やチロシンキナーゼの変異が生じて白血病が進行する。

D. 考察

TAM では *GATA1* 変異以外に繰り返し(高頻度)に認められる遺伝子変異は検出されず、TAM はダウン症候群の特徴である 21 トリソミーと *GATA1* 遺伝子の変異によって起こっている疾患であることが示唆された。

DS-AMKL は、TAM にコヒーシン/*CTCF* および *EZH2* の変異が生じて発症し、チロシンキナーゼ/*RAS* 変異はその後の腫瘍の進展に関与していると示唆される。

E. 結論

今回の成果によって、TAM および DS-AMKL の発症メカニズムの解明が大きく前進した。新規の遺伝子異常が判明したことで、これらの遺伝子を標的にした新たな治療法の開発が期待できる。また、さらに多くの DS-AMKL の解析をすることにより、再発する可能性の高いハイリスクの患者を予測できるようになることが期待される。さらに、この研究成果は、ダウン症に限らず、全ての白血病の発症機構の解明と治療法の開発に役立つことが期待される。

F. 健康危険情報

該当せず。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yoshida K, Toki T, Okuno Y, Kanezaki R, Shiraishi Y, Sanada M, Park M, Terui K, Kon A, Nagata Y, Sato-Otsubo A, Sato Y, Wang R, Shiba N, Chiba K, Tanaka H, Hama A, Muramatsu H, Hasegawa D, Nakamura K, Kanegane H, Tsukamoto K, Adachi S, Kawakami K, Kato K, Nishimura R, Izraeli S, Hayashi Y, Miyano S, Kojima S, Ito E and Seishi Ogawa S. Landscape of gene mutations in Down syndrome-related myeloid disorders. *Nature Genetics* 45 : 1293–1299, 2013
2. Shiba N, Ohki K, Park MJ, Sotomatsu M, Kudo K, Ito E, Sako M, Arakawa H, Hayashi Y. SETBP1 mutations in juvenile myelomonocytic leukaemia and myelodysplastic syndrome but not in paediatric acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol.* (in press)
3. Katayama K, Asano K, Ohkuma H, Terui K, Sasaki S, Sato T, Ito E, Komori T. A case of pediatric optic pathway oligodendroglioma presenting widespread invasion and dissemination in the cerebrospinal fluid. *Brain Tumor Pathol.* 2013 (in press)
4. Takata K, Sato Y, Nakamura N, Tokunaka M, Miki Y, Yukie Kikuti Y, Igarashi K, Ito E, Harigae H, Kato S, Hayashi E, Oka T, Hoshii Y, Tari A, Okada H, Mohamad AA, Maeda Y, Tanimoto M, Kinoshita T, Yoshino T. Duodenal follicular lymphoma lacks AID but expresses BACH2 and has memory B-cell characteristics. *Mod Pathol* 26 : 22-31, 2013
5. 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* 121 : 3181-3184, 2013
6. Saida S, Watanabe K, Sato-Otsubo A, Terui K, Yoshida K, Okuno Y, Toki T, Wang R, Shiraishi Y, Miyano S, Kato I, Morishima T, Fujino H, Umeda K, Hiramatsu H, Adachi S, Ito E, Ogawa S, Ito M, Nakahata T, Heike T. Clonal selection in xenografted TAM recapitulates the evolutionary process of

myeloid leukemia in Down syndrome. Blood 2013; 121(21): 4377-87.

7. Ohba R, Furuyama K, Yoshida K, Fujiwara T, Fukuhara N, Onishi Y, Manabe A, Ito E, Ozawa K, Kojima S, Ogawa S, Harigae H. Clinical and genetic characteristics of congenital sideroblastic anemia: comparison with myelodysplastic syndrome with ring sideroblast (MDS-RS). Ann Hematol 92 : 1-9, 2013
8. Takahashi Y, Muramatsu H, Sakata N, Hyakuna N, Hamamoto K, Kobayashi R, Ito E, Yagasaki H, Ohara A, Kikuchi A, Morimoto A, Yabe H, Kudo K, Watanabe K, Ohga S, Kojima S. Rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine as first-line therapy for children with acquired aplastic anemia. Blood 121 : 862-863, 2013.

2. 学会発表

1. 伊藤 悦朗. 次世代シーケンサーを用いた Down 症候群の TAM と急性巨核球性白血病の全エクソン解 (シンポジウム 次世代シーケンサーによる小児血液、腫瘍性疾患における研究の進展). 第 55 回日本小児血液・がん学会学術集会 (2013 年 11 月 29 日-12 月 1 日、福岡)
2. Kenichi Yoshida, Tsutomu Toki, Myoung-ja Park, Yusuke Okuno, Yuichi Shiraishi, Masashi Sanada, Ayana Kon, Yasunobu Nagata, Aiko Sato-Otsubo, Yusuke Sato, RuNan Wang, Kiminori Terui, Rika Kanezaki, Norio Shiba, Kenichi Chiba, Hiroko Tanaka, Asahito Hama, Hideki Muramatsu, Daisuke Hasegawa, Kazuhiro Nakamura, Hirokazu Kanegane, Keiko Tsukamoto, Souichi Adachi, Kiyoshi Kawakami, Seiji Kojima, Shai Izraeli, Satoru Miyano, Yasuhide Hayashi, Etsuro Ito, PhD² and Seishi Ogawa. Genetic basis of myeloid leukemogenesis in Down syndrome. 第 75 回日本血液学会学術集会 (2013 年 10 月 11 日-13 日、札幌)

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 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。

一過性骨髄異常増殖症の病態解明と診断・治療法の確立に関する研究
次世代シーケンサーによるエクソーム解析、全ゲノム解析

研究分担者 小川誠司 京都大学医学系研究科 腫瘍生物学講座 教授

研究要旨:一過性骨髄異常増殖症(TAM)は、ダウン症候群児の一部にみられる新生児期に未熟な巨核芽球が末梢血あるいは肝臓内に増加する病態であり、多くの症例では自然寛解がみられるが、寛解が得られた TAM 症例も約 20~30%が 4 歳までに急性巨核芽球性白血病(AMKL)に移行する。TAM ではほぼ全例で *GATA1* 遺伝子に変異がみられ、また、*GATA1* 遺伝子変異に加えていくつかの遺伝子の変異が蓄積することで、AMKL を発症すると考えられているが、両疾患でどのような遺伝子変異が起こっているかの全貌はわかっていなかった。本研究では、次世代シーケンサーを用いて、TAM、AMKL 検体の網羅的な変異解析を行い、TAM においては *GATA1* 遺伝子変異が 21 trisomy 以外の主な遺伝子異常であり、AMKL においては *GATA1* 遺伝子変異以外にもコヒーシ複合体を構成する遺伝子などの変異が高頻度起こっていることが示された。

A. 研究目的

一過性骨髄異常増殖症(TAM, transient abnormal myelopoiesis)は、ダウン症候群児の 5~10%にみられる新生児期に未熟な巨核芽球が末梢血中あるいは肝臓内に増加する類白血病反応であり、ほぼ全例で *GATA1* 遺伝子変異が起こっていることが知られている。また、*GATA1* 変異に加えていくつかの遺伝子の変異が蓄積することで、TAM が急性巨核芽球性白血病(AMKL, acute megakaryoblastic leukemia)に移行すると考えられている。今回我々は TAM および AMKL の分子病態を明らかにするために、次世代シーケンサーを用いて網羅的な遺伝子変異の解析を行った。

B. 研究方法

TAM 15 症例および AMKL 14 症例の 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、次世代シーケンサー(illumina 社 GA IIx, HiSeq 2000)で解析を行った。腫瘍比率が低い検体を解析から除くため、Sanger 法で *GATA1* 遺伝子変異が確認できた DNA のみを次世代シーケンサーでの解析対象とした。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。

(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、京都大学および分担研究者の前所属機関である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

全エクソンシーケンスの結果、TAM (N=15) では従来から知られていた *GATA1* 遺伝子変異が全ての症例に同定され、次世代シーケンサーによる全エクソンシーケンスの高い感度が示された。一方、他の遺伝子では 1 症例あたりのアミノ酸置換を伴う変異の数が 1 症例あたり 0.7 個と少なく、TAM は *GATA1* 遺伝子の変異と trisomy 21 のみによって発症している可能性が高いことを報告した。一方、DS-AMKL (N=14) では、1 症例あたり 5.8 個のアミノ酸置換を伴う変異が同定された(図 1)。

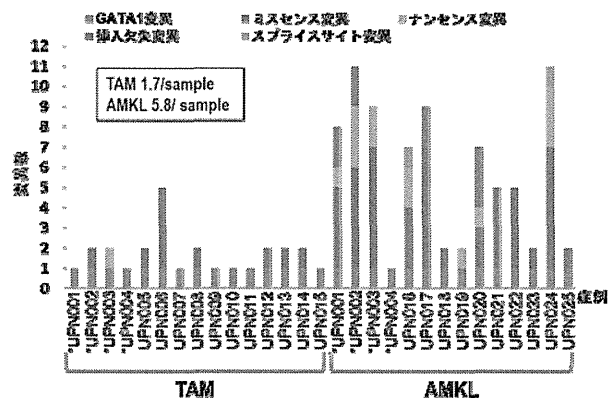


図 1 29 例の TAM、AMKL の全エクソンシーケンスによって同定された変異の個数

TAM では 1 症例あたりの平均の変異の数は 1.7 個と少なく、一方 AMKL では 1 症例あたり 5.8 個とより多くの変異が検出された。

DS-AMKL では、多くの遺伝子が複数の症例で高頻度に変異が認められ、DS-AMKL の発症に関わる重要な遺伝子であることが示唆された(表 1)。

遺伝子	染色体	変異のタイプ	アミノ酸の変化	塩基の変化	検体番号
CTCF	Chr16	Splice site	p.G318_splice	c.953-2A>G	016
CTCF	Chr16	Frameshift	p.T317fs	c.951_952insCA	020
DCAF7	Chr17	Missense	p.L340F	c.C1018T	001
DCAF7	Chr17	Missense	p.L340F	c.C1018T	003
EZH2	Chr7	Frameshift	p.705_711del	c.2114_2133del	001
EZH2	Chr7	Missense	p.R25Q	c.G74A	002
KANSL1	Chr17	Frameshift	p.R720fs	c.2159_2160insCG	020
KANSL1	Chr17	Nonsense	p.R462X	c.C1384T	024
NRAS	Chr1	Missense	p.G12S	c.G34A	001
NRAS	Chr1	Missense	p.Y64C	c.A191G	001
NRAS	Chr1	Missense	p.G12A	c.G35C	003
RAD21	Chr8	Nonsense	p.R139X	c.A415T	001
RAD21	Chr8	Frameshift	p.374_375del	c.1120_1124del	002
RAD21	Chr8	Missense	p.L611R	c.T1832G	018
RAD21	Chr8	Nonsense	p.R65X	c.C193T	024
STAG2	ChrX	Nonsense	p.R604X	c.C1810T	003
STAG2	ChrX	Nonsense	p.R216X	c.C646T	019
STAG2	ChrX	Frameshift	p.N863fs	c.2588_2589insT	020
TP53	Chr17	Nonsense	p.E68X	c.G202T	002
TP53	Chr17	NonFrameshift	p.25_30del	c.73_90del	002

表1 14症例のDS-AMKLで複数の変異が認められた遺伝子

TP53遺伝子以外はこれまでAMKLで変異の報告がない遺伝子であった。赤字はコヒーシン複合体を構成する遺伝子 (RAD21、STAG2)。

さらに、これらの遺伝子を41例のTAM、49例のDS-AMKL、19例のnon-DS-AMKL (非ダウン症児に合併するAMKL) について遺伝子変異を検索した。その結果、注目すべき所見としてはRAD21、STAG2などのコヒーシン複合体関係の遺伝子変異・欠失が53%と高頻度にみられ、これらは変異・欠失のある症例では完全に排他的にみられていて、DS-AMKLの発症に強く関わっていることが示唆された(図2)。さらにCTCF遺伝子(20%)、EZH2(45%)などのエピゲノム制御因子、RASやチロシンキナーゼ(TK)などのシグナル伝達分子の変異が高頻度に認められた。

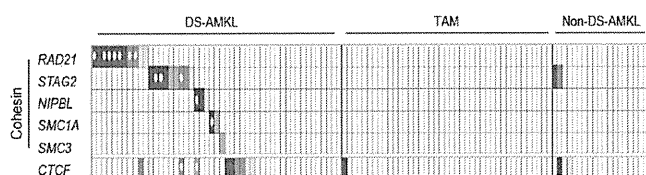


図2 コヒーシン複合体/CTCFの遺伝子異常
コヒーシンの5つの遺伝子に同定された変異は、変異がみられた症例では完全に重複なく「排他的」に生じていた。この結果は、コヒーシンを構成する分子が障害されても、共通の機序でTAMから真の白血病であるDS-AMKLに進展することを示唆していた。また、CTCFはジンクフィンガー型蛋白で、コヒーシンと一緒に遺伝子発現の制御に関わっていることが知られ、CTCFの変異を含めるとDS-AMKLの65%に変異が検出された。

コヒーシン複合体を構成する遺伝子、CTCF、EZH2などのエピゲノムの制御因子の変異はGATA1遺伝子と同一患者において同程度の変異アレル頻度で認められたことから、DS-AMKL発症の初期に獲得された変異と考えられた。一方、RASやTKの遺伝子変異はGATA1の遺伝子変異より同

一患者において低いアレル頻度で認められ、より後期に獲得されたDS-AMKLの進行に伴う遺伝子変異であると考えられた(図3)。

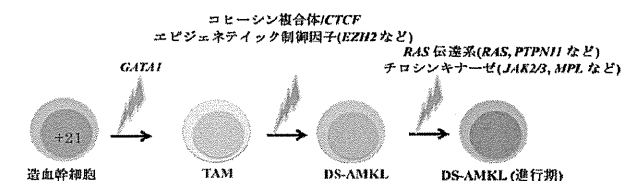


図3 DS-AMKLの多段階発症のモデル

ダウン症の急性巨核芽球性白血病の発症過程において、最初に21トリソミーを持った造血幹細胞にGATA1変異が起こってTAMが発症する。その後、いったん寛解したTAMの腫瘍細胞にコヒーシンとCTCFの変異およびエピゲノムの制御因子などの遺伝子変異が起こって白血病(DS-AMKL)へ進展し、さらにRAS伝達系やチロシンキナーゼの変異が生じて白血病が進行する。

さらに、同一患者のTAM、DS-AMKL検体の全ゲノムシーケンスを行った結果、DS-AMKLはTAM時期に存在している複数のクローンの一つが新たな変異を獲得してAMKLを発症していることが明らかになった。

D. 考察

次世代シーケンサーを用いた全エクソンシーケンスは従来の方法に比べて格段に効率よく網羅的に全遺伝子の遺伝子解析が可能であり、TAM、DS-AMKLにおいても、はじめて遺伝子変異の全貌を知ることが可能となり、TAMはtrisomy 21とGATA1遺伝子変異によっておこっていて、DS-AMKLではコヒーシン複合体関係の遺伝子の変異などが発症に関わっていることが示され、Down症候群児がTAM、AMKLを発症する遺伝学的背景が明らかになった。今後は同定された遺伝子変異と予後の関係や治療標的としての可能性について検討が必要であると考えられる。

E. 結論

本研究による次世代シーケンサーを用いたTAM、DS-AMKLの解析により、効率的に多くの新規の遺伝子変異が同定することができた。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sakata-Yanagimoto M, Enami T, Yoshida K, Shiraishi Y, Ishii R, Miyake Y, Muto H, Tsuyama N, Sato-Otsubo A, Okuno Y, Sakata S, Kamada Y, Nakamoto-Matsubara R, Tran NB, Izutsu K, Sato Y, Ohta Y, Furuta J, Shimizu S, Komeno T, Sato Y, Ito T, Noguchi M, Noguchi E, Sanada M, Chiba K, Tanaka H,

- Suzukawa K, Nanmoku T, Hasegawa Y, Nureki O, Miyano S, Nakamura N, Takeuchi K, Ogawa S, Chiba S. Somatic RHOA mutation in angioimmunoblastic T cell lymphoma. *Nat Genet.* 2014;46(2):171-5/.
2. Lin TL, Nagata Y, Kao HW, Sanada M, Okuno Y, Huang CF, Liang DC, Kuo MC, Lai CL, Lee EH, Shih YS, Tanaka H, Shiraishi Y, Chiba K, Lin TH, Wu JH, Miyano S, Ogawa S, Shih LY. Clonal leukemic evolution in myelodysplastic syndromes with TET2 and IDH1/2 mutations. *Natmatologica.* 2014;99(1):28-36.
3. Hosono N, Makishima H, Jerez A, Yoshida K, Przychodzen B, McMahan S, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Sanada M, Gomez-Segui I, Verma AK, McDevitt MA, Sekeres MA, Ogawa S, Maciejewski JP. Recurrent genetic defects on chromosome 7q in myeloid neoplasms. *Leukemia.* 2014.
4. Becker H, Yoshida K, Blagitko-Dorfs N, Claus R, Pantic M, Abdelkarim M, Niemöller C, Greil C, Hackanson B, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Döhner K, Schnittger S, Henneke P, Niemeyer C, Flotho C, Pfeifer D, Ogawa S, Lübbert M. Tracing the development of acute myeloid leukemia in CBL-syndrome. *Blood* 2014.
5. Y Yoshida K, Toki T, Okuno Y, Kanezaki R, Shiraishi Y, Sato-Otsubo A, Sanada M, Park MJ, Terui K, Suzuki H, Kon A, Nagata Y, Sato Y, Wang R, Shiba N, Chiba K, Tanaka H, Hama A, Muramatsu H, Hasegawa D, Nakamura K, Kanegane H, Tsukamoto K, Adachi S, Kawakami K, Kato K, Nishimura R, Izraeli S, Hayashi Y, Miyano S, Kojima S, Ito E, Ogawa S. The landscape of somatic mutations in Down syndrome-related myeloid disorders. *Nat Genet.* 2013;45(11):1293-1299.
6. Yoshida K, Sanada M, Ogawa S. Deep sequencing in cancer research. *Jpn J Clin Oncol.* 2013;43(2):110-115.
7. Yin D, Ogawa S, Kawamata N, Leiter A, Ham M, Li D, Doan NB, Said JW, Black KL, Phillip Koefler H. miR-34a functions as a tumor suppressor modulating EGFR in glioblastoma multiforme. *Oncogene.* 2013;32(9):1155-1163.
8. Terao C, Yoshifuji H, Kimura A, Matsumura T, Ohmura K, Takahashi M, Shimizu M, Kawaguchi T, Chen Z, Naruse TK, Sato-Otsubo A, Ebana Y, Maejima Y, Kinoshita H, Murakami K, Kawabata D, Wada Y, Narita I, Tazaki J, Kawaguchi Y, Yamanaka H, Yurugi K, Miura Y, Maekawa T, Ogawa S, Komuro I, Nagai R, Yamada R, Tabara Y, Isobe M, Mimori T, Matsuda F. Two susceptibility loci to Takayasu arteritis reveal a synergistic role of the IL12B and HLA-B regions in a Japanese population. *Am J Hum Genet.* 2013;93(2):289-297.
9. Taketani T, Takita J, Ueyama J, Kanai R, Kumori K, Maruyama R, Hayashi K, Ogawa S, Fukuda S, Yamaguchi S. Ectopic Neuroblastoma in Monozygotic Twins With Different Ages of Onset: Possible Twin-to-Twin Metastasis In Utero With Distinct Genetic Alterations After Birth. *Journal of pediatric hematology/oncology.* 2013.
10. Takada M, Higuchi T, Tozuka K, Takei H, Haruta M, Watanabe J, Kasai F, Inoue K, Kurosumi M, Miyazaki M, Sato-Otsubo A, Ogawa S, Kaneko Y. Alterations of the genes involved in the PI3K and estrogen-receptor pathways influence outcome in human epidermal growth factor receptor 2-positive and hormone receptor-positive breast cancer patients treated with trastuzumab-containing neoadjuvant chemotherapy. *BMC cancer.* 2013;13:241.
11. Shiraishi Y, Sato Y, Chiba K, Okuno Y, Nagata Y, Yoshida K, Shiba N, Hayashi Y, Kume H, Homma Y, Sanada M, Ogawa S, Miyano S. An empirical Bayesian framework for somatic mutation detection from cancer genome sequencing data. *Nucleic Acids Res.* 2013;41(4):e89.
12. Sato Y, Yoshizato T, Shiraishi Y, Maekawa S, Okuno Y, Kamura T, Shimamura T, Sato-Otsubo A, Nagae G, Suzuki H, Nagata Y, Yoshida K, Kon A, Suzuki Y, Chiba K, Tanaka H, Niida A, Fujimoto A, Tsunoda T, Morikawa T, Maeda D, Kume H, Sugano S, Fukayama M, Aburatani H, Sanada M, Miyano S, Homma Y, Ogawa S. Integrated molecular analysis of clear-cell renal cell carcinoma. *Nat Genet.* 2013;45(8):860-867.
13. Sakaguchi H, Okuno Y, Muramatsu H, Yoshida K, Shiraishi Y, Takahashi M, Kon A, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Makishima H, Wang X, Xu Y, Doisaki S, Hama A, Nakanishi K, Takahashi Y, Yoshida N, Maciejewski JP, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Exome sequencing identifies secondary mutations of SETBP1 and JAK3 in juvenile myelomonocytic leukemia. *Nat Genet.* 2013;45(8):937-941.
14. Saida S, Watanabe K, Sato-Otsubo A, Terui K, Yoshida K, Okuno Y, Toki T, Wang R, Shiraishi Y, Miyano S, Kato I, Morishima T, Fujino H, Umeda K, Hiramatsu H, Adachi S, Ito E, Ogawa S, Ito M, Nakahata T, Heike T. Clonal selection in xenografted TAM recapitulates the evolutionary process of myeloid leukemia in Down syndrome. *Blood.* 2013;121(21):4377-4387.
15. Ohba R, Furuyama K, Yoshida K, Fujiwara T, Fukuhara N, Onishi Y, Manabe A, Ito E, Ozawa K, Kojima S, Ogawa S, Harigae H. Clinical and genetic characteristics of congenital sideroblastic anemia: comparison with myelodysplastic syndrome with ring sideroblast (MDS-RS). *Ann Hematol.* 2013;92(1):1-9.
16. 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 Sci.* 2013;104(7):856-864.
17. Ninomiya H, Kato M, Sanada M, Takeuchi K, Inamura K, Motoi N, Nagano H, Nomura K, Sakao Y, Okumura S, Mano H, Ogawa S, Ishikawa Y. Allelotypes of lung adenocarcinomas featuring ALK fusion demonstrate fewer onco- and suppressor gene changes. *BMC cancer.* 2013;13(1):8.

18. Muto T, Sashida G, Oshima M, Wendt GR, Mochizuki-Kashio M, Nagata Y, Sanada M, Miyagi S, Saraya A, Kamio A, Nagae G, Nakaseko C, Yokote K, Shimoda K, Koseki H, Suzuki Y, Sugano S, Aburatani H, Ogawa S, Iwama A. Concurrent loss of Ezh2 and Tet2 cooperates in the pathogenesis of myelodysplastic disorders. *J Exp Med.* 2013;210(12):2627-2639.
19. Makishima H, Yoshida K, Nguyen N, Przychodzen B, Sanada M, Okuno Y, Ng KP, Gudmundsson KO, Vishwakarma BA, Jerez A, Gomez-Segui I, Takahashi M, Shiraishi Y, Nagata Y, Guinta K, Mori H, Sekeres MA, Chiba K, Tanaka H, Muramatsu H, Sakaguchi H, Paquette RL, McDevitt MA, Kojima S, Sauntharajah Y, Miyano S, Shih LY, Du Y, Ogawa S, Maciejewski JP. Somatic SETBP1 mutations in myeloid malignancies. *Nat Genet.* 2013;45(8):942-946.
20. Mae S, Shono A, Shiota F, Yasuno T, Kajiwara M, Gotoda-Nishimura N, Arai S, Sato-Otsubo A, Toyoda T, Takahashi K, Nakayama N, Cowan CA, Aoi T, Ogawa S, McMahon AP, Yamanaka S, Osafune K. Monitoring and robust induction of nephrogenic intermediate mesoderm from human pluripotent stem cells. *Nat Commun.* 2013;4:1367.
21. Lee DH, Amanat S, Goff C, Weiss LM, Said JW, Doan NB, Sato-Otsubo A, Ogawa S, Forscher C, Koeffler HP. Overexpression of miR-26a-2 in human liposarcoma is correlated with poor patient survival. *Oncogenesis.* 2013;2:e47.
22. Kunishima S, Okuno Y, Yoshida K, Shiraishi Y, Sanada M, Muramatsu H, Chiba K, Tanaka H, Miyazaki K, Sakai M, Ohtake M, Kobayashi R, Iguchi A, Niimi G, Otsu M, Takahashi Y, Miyano S, Saito H, Kojima S, Ogawa S. ACTN1 Mutations Cause Congenital Macrothrombocytopenia. *Am J Hum Genet.* 2013;92(3):431-438.
23. Kunishima S, Imai T, Kobayashi R, Kato M, Ogawa S, Saito H. Bernard-Soulier syndrome caused by a hemizygous GPIIb/IIIa mutation and 22q11.2 deletion. *Pediatr Int.* 2013;55(4):434-437.
24. Kon S, Minegishi N, Tanabe K, Watanabe T, Funaki T, Wong WF, Sakamoto D, Higuchi Y, Kiyonari H, Asano K, Iwakura Y, Fukumoto M, Osato M, Sanada M, Ogawa S, Nakamura T, Satake M. Smad1 deficiency perturbs receptor trafficking and predisposes mice to myelodysplasia. *The Journal of clinical investigation.* 2013;123(3):1123-1137.
25. Kon A, Shih LY, Minamino M, Sanada M, Shiraishi Y, Nagata Y, Yoshida K, Okuno Y, Bando M, Nakato R, Ishikawa S, Sato-Otsubo A, Nagae G, Nishimoto A, Haferlach C, Nowak D, Sato Y, Alpermann T, Nagasaki M, Shimamura T, Tanaka H, Chiba K, Yamamoto R, Yamaguchi T, Otsu M, Obara N, Sakata-Yanagimoto M, Nakamaki T, Ishiyama K, Nolte F, Hofmann WK, Miyawaki S, Chiba S, Mori H, Nakauchi H, Koeffler HP, Aburatani H, Haferlach T, Shirahige K, Miyano S, Ogawa S. Recurrent mutations in multiple components of the cohesin complex in myeloid neoplasms. *Nat Genet.* 2013;45(10):1232-1237.
26. Kitamura K, Yoshida K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Furukawa K, Miyano S, Ogawa S, Kunishima S. Normal neutrophil myosin IIA localization in an immunofluorescence analysis can rule out MYH9 disorders. *J Thromb Haemost.* 2013;11(11):2071-2073.
27. Kawamata N, Moreilhon C, Saitoh T, Karasawa M, Bernstein BK, Sato-Otsubo A, Ogawa S, Raynaud S, Koeffler HP. Genetic differences between Asian and Caucasian chronic lymphocytic leukemia. *International journal of oncology.* 2013;43(2):561-565.
28. 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 due to acquired uniparental disomy. *J Pediatr.* 2013;162(6):1285-1288, 1288 e1281.
29. Hira A, Yabe H, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Nakamura J, Kojima S, Ogawa S, Matsuo K, Takata M, Yabe M. Variant ALDH2 is associated with accelerated progression of bone marrow failure in Japanese Fanconi anemia patients. *Blood.* 2013.
30. Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, Okuno Y, Bacher U, Nagae G, Schnittger S, Sanada M, Kon A, Alpermann T, Yoshida K, Roller A, Nadarajah N, Shiraishi Y, Shiozawa Y, Chiba K, Tanaka H, Koeffler HP, Klein HU, Dugas M, Aburatani H, Kohlmann A, Miyano S, Haferlach C, Kern W, Ogawa S. Landscape of Genetic Lesions in 944 Patients with Myelodysplastic Syndromes. *Leukemia.* 2013.
31. Gomez-Segui I, Makishima H, Jerez A, Yoshida K, Przychodzen B, Miyano S, Shiraishi Y, Hussein-zadeh HD, Guinta K, Clemente M, Hosono N, McDevitt MA, Moliterno AR, Sekeres MA, Ogawa S, Maciejewski JP. Novel recurrent mutations in the RAS-like GTP-binding gene RIT1 in myeloid malignancies. *Leukemia.* 2013;27(9):1943-1946.
32. Damm F, Chesnais V, Nagata Y, Yoshida K, Scourzic L, Okuno Y, Itzykson R, Sanada M, Shiraishi Y, Gelsi-Boyer V, Renneville A, Miyano S, Mori H, Shih LY, Park S, Dreyfus F, Guerci-Bresler A, Solary E, Rose C, Cheze S, Prebet T, Vey N, Legentil M, Duffourd Y, de Botton S, Preudhomme C, Birnbaum D, Bernard OA, Ogawa S, Fontenay M, Kosmider O. BCOR and BCORL1 mutations in myelodysplastic syndromes and related disorders. *Blood.* 2013;122(18):3169-3177.
33. Asanuma S, Yamagishi M, Kawanami K, Nakano K, Sato-Otsubo A, Muto S, Sanada M, Yamochi T, Kobayashi S, Utsunomiya A, Iwanaga M, Yamaguchi K, Uchimaru K, Ogawa S, Watanabe T. Adult T-cell leukemia cells are characterized by abnormalities of Helios expression that promote T cell growth. *Cancer Sci.* 2013;104(8):1097-1106.

2. 学会発表

1. Kenichi Yoshida, Tsutomu Toki, Myoung-ja Park, Yusuke Okuno, Yuichi Shiraishi, Masashi Sanada, Ayana Kon, Yasunobu Nagata, Aiko Sato-Otsubo, Yusuke Sato, RuNan Wang, Kiminori Terui, Rika Kanezaki, Norio Shiba, Kenichi Chiba, Hiroko Tanaka, Asahito Hama, Hideki Muramatsu, Daisuke Hasegawa, Kazuhiro Nakamura, Hirokazu Kanegane, Keiko Tsukamoto, Souichi Adachi, Kiyoshi Kawakami, Seiji Kojima, Shai Izraeli, Satoru Miyano, Yasuhide Hayashi, Etsuro Ito and Seishi Ogawa. Genetic basis of myeloid leukemogenesis in Down syndrome. The 18th Congress of European Hematology Association (EHA) (Oral, Best abstract) 2013/6/15 Stockholm (Sweden)

2. Kenichi Yoshida, Tsutomu Toki, Myoung-ja Park, Yusuke Okuno, Yuichi Shiraishi, Masashi Sanada, Ayana Kon, Yasunobu Nagata, Aiko Sato-Otsubo, Yusuke Sato, RuNan Wang, Kiminori Terui, Rika Kanezaki, Norio Shiba, Kenichi Chiba, Hiroko Tanaka, Asahito Hama, Daisuke Hasegawa, Kazuhiro Nakamura, Hirokazu Kanegane, Keiko Tsukamoto, Souichi Adachi, Satoru Miyano, Seiji Kojima, Shai Izraeli, Yasuhide Hayashi, Etsuro Ito and Seishi Ogawa. Genetic Basis of Myeloid Proliferation Related to Down Syndrome, 2012 American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting and Exposition (Oral, ASH Outstanding Abstract Achievement Award) 2012/12/10 Atlanta (U.S.A.)

3. Kenichi Yoshida, Tsutomu Toki, Myoung-ja Park, Yusuke Okuno, Yuichi Shiraishi, Masashi Sanada, Ayana Kon, Yasunobu Nagata, Aiko Sato-Otsubo, Yusuke Sato, RuNan Wang, Kiminori Terui, Rika Kanezaki, Norio Shiba, Kenichi Chiba, Hiroko Tanaka, Asahito Hama, Hideki Muramatsu, Daisuke Hasegawa, Kazuhiro Nakamura, Hirokazu Kanegane, Keiko Tsukamoto, Souichi Adachi, Kiyoshi Kawakami, Seiji Kojima, Shai Izraeli, Satoru Miyano, Yasuhide Hayashi, Etsuro Ito and Seishi Ogawa. Genetic basis of myeloid leukemogenesis in Down syndrome. American Association for Cancer Research (AACR) Annual (Poster) Meeting 2013/4/9 Washington, DC (U.S.A)

4. 吉田健一、小川誠司、國島伸治 血小板異常症 第116回日本小児科学会学術集会 2013/4/19 広島

5. Kenichi Yoshida, Tsutomu Toki, Myoung-ja Park, Yusuke Okuno, Yuichi Shiraishi, Masashi Sanada, Ayana Kon, Yasunobu Nagata, Aiko Sato-Otsubo, Yusuke Sato, RuNan Wang, Kiminori Terui, Rika Kanezaki, Norio Shiba, Kenichi Chiba, Hiroko Tanaka, Asahito Hama, Hideki Muramatsu, Daisuke Hasegawa, Kazuhiro Nakamura, Hirokazu Kanegane, Keiko Tsukamoto, Souichi Adachi, Kiyoshi Kawakami, Seiji Kojima, Shai Izraeli, Satoru Miyano, Yasuhide Hayashi, Etsuro Ito and Seishi Ogawa. Genetic basis of myeloid leukemogenesis in Down syndrome. 第75回日本血液学会学術集会 2013/10/11 札幌

6. Seishi Ogawa. Genetic analysis of myeloid neoplasms in childhood. Cambridge Research Institute Annual International Symposium 2012/11/2 Cambridge (UK)

7. Seishi Ogawa, Genetic analysis of Down Syndrome-related myeloid neoplasms. 日仏がんワーク ショップ 2013/11/22, Toulouse (France)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

細胞表面マーカー解析と細胞保存

研究分担者 大喜多 肇 国立成育医療研究センター研究所 室長

研究要旨:一過性骨髄異常増殖症(TAM)の余剰細胞の保存を実施した。フローサイトメトリーによる細胞表面マーカー解析をマルチカラーで行い、芽球検出のために有用な骨髄、末梢血のマーカー解析項目の選定を進めた。通常の骨髄細胞では発現を認めない抗原が複数検出され、組み合わせることによって、正常の骨髄幹/前駆細胞との鑑別に有用と考えられた。前方視的登録システムと連携したマーカー解析・細胞保存を行うことにより、層別化や治療法開発のための研究への貢献が期待される。

A. 研究目的

ダウン症候群の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疾患があり、一過性骨髄異常増殖症(transient abnormal myelopoiesis, TAM)と呼ばれている。その頻度はダウン症候群患児のおよそ10%(100人/年)といわれているが、正確な数の把握はなされていない。TAMの多くの症例では染色体は正常であるが、GATA1遺伝子の変異が同定されており、この変異はTAM発症に関係していると考えられている。これまで、無治療経過観察のみで芽球は自然に消失し、比較的予後良好であると考えられていたが、近年臓器障害のために早期死亡する症例が約30%みられることが報告されている。こういった重症例に対して少量シタラビンによる化学療法の有効性も示されつつあり、前方視的試験により国内のTAM症例の重症度の診断と予後を正確に把握する必要性が高まっている。一方、芽球が自然に消失する症例でも、その20-30%は、3年以内に急性巨核芽球性白血病を発症すると報告されているが、事前に予測する方法や予防法は確立していない。

TAMは新生児期に発症するため、これまで新生児施設で診断、治療する事が多く、また予後良好と考えられていたため登録もされず、本邦における全数把握もされていない。また自然治癒する例と、難治例の鑑別が困難であり、難治例に対する標準的治療も確立していない。

従来より欧米ではTAMは解決すべき大きな問題とされていたが、米国のCOGグループとヨーロッパのI-BFMグループが検討を報告した。また我が国においても未熟児、新生児学会において血液と新生児の医師が合同でシンポジウムを開催し協議の場が設けられた。本邦の後方的視的解析では妊娠在胎週数、血清ビリルビン値等が予後不良因子であるとされた。本研究では、細胞表面マーカー解析によりTAMの芽球検出のために有用な骨髄、末梢血のマーカー解析項目の選定を進めるとともに、全数把握、検査値や臨床データから重症例の抽出と標準的治療を目指す前方視的登録システムの中で、将来の研究に資するために検査後の余剰検体を保存するシステムを立ち上げるこ

とを目的とする。

B. 研究方法

TAMを含め、血液系疾患が疑われて、中央診断として送付されてきた末梢血、骨髄液検体に対して、白血球のマーカー解析の発現状況を全血法により蛍光染色し、溶血後、Beckman-Coulter社のフローサイトメトリーGallios(3レーザー・10カラー)を用いて解析し、10カラー(CD45-gating+9カラー)を行なった。(倫理面への配慮)

患児検体の解析にあたっては、患児の保護者・親権者に説明の上、検査施設に検体を送付して検査を行なうことの同意を取得した上で行なった。当該施設における血液疾患罹患患児のマーカー検査の実施については倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

当研究班では、検体保存センターとしての役割を担当している。TAMのマーカー中央診断施設である三重大学において処理され、送付されてきた余剰細胞の凍結検体80症例分を、検体保存センターとして保存した。

新規TAM患児2例の末梢血および骨髄液の白血球マーカー解析を行なった。これまでの検討において、TAMの芽球に特徴的なマーカー所見として、骨髄球系のCD33に加えて、CD7, CD117, CD34, CD244, CD56の発現を明らかにしており、CD41, CD42bの巨核球・血小板系抗原およびCD36, CD61の関連抗原発現の状況は多様で、必ずしも陽性でない症例も認められることを報告している。今年度は、特にTAMの芽球の新規マーカーとして着目しているCD244の発現が特徴的であることを確認した他、同芽球において、CD123, CD262の発現が特徴的であることを見いだした。また、CD95が弱陽性であった。一方、造血幹細胞や、種々のがん幹細胞のマーカーと考えられているCD133は、TAMの芽球には発現を認めなかった。

D. 考察

TAM患児の白血球では、巨核球・血小板抗原やCD7の発現を認める異常な細胞の出現が知られてい

る。しかしながら多数例による体系的解析の報告は少なく、その詳細は明らかになっていない。

今回の検討では、これまでにTAM芽球の新たなマーカーの一つとして見いだしたCD244の発現が特徴的であることを、症例を追加して確認した。CD244は一般にはNK細胞、細胞傷害性T、単球のマーカーとされているが、われわれはこれまで、同抗原が大部分の急性骨髄性白血病(AML)や、骨髄の非腫瘍性骨髄系細胞の一部、培養系で分化した未分化な骨髄球系細胞にも陽性であることを示しており、未分化な骨髄球にも発現している可能性を明らかにしている。TAM芽球におけるCD244の発現は、未分化な骨髄球系細胞としての特徴を示していると考えられる。一方、今年度TAM芽球における発現を明らかにしたCD123は、未分化な造血系細胞の分化・増殖を誘導するサイトカインであるIL3に対する受容体である。白血病の芽球では発現を認める場合があるが、正常の骨髄細胞ではほとんど発現が検出されることはない。今後、TAMの細胞起原と考えられる未分化な骨髄球系細胞におけるCD123の発現について検討を進め、TAM芽球におけるその発現が、正常細胞起原の特性を反映したものなのか、あるいは、正常の未分化な骨髄球系細胞とTAMの芽球との間に、CD123の量的ないし質的な発現の差が存在するのか検討するとともに、そのMRDマーカーあるいは予後予測因子としての意義について解析を進める。また、CD95やCD262はアポトーシスに関連する分子であり、その発現の意義についても、今後検討する予定である。

E. 結論

TAM芽球の詳細な細胞表面マーカー解析を行い、新たな特徴的な細胞表面マーカーを見いだした。今後、正常細胞におけるその発現との比較を進め、TAM芽球における発現の機能的な意義について検討を進め、病態との関連について解析を行なうとともに、重症例や将来的に白血病に移行する症例の鑑別マーカーとしての可能性についても検討を進める。

F. 健康危険情報

分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hiura H, Toyoda M, Okae H, Sakurai M, Miyauchi N, Sato A, Kiyokawa N, Okita H, Miyagawa Y, Akutsu H, Nishino K, Umezawa A, Arima T. Stability of genomic imprinting in human induced pluripotent stem cells. *BMC Genet.* 2013 Apr;14:32.
2. Ueno H, Okita H, Akimoto S, Kobayashi K, Nakabayashi K, Hata K, Fujimoto J, Hata J, Fukuzawa M, Kiyokawa N. DNA methylation profile distinguishes clear cell sarcoma of the

kidney from other pediatric renal tumors. *PLoS One.* 2013 Apr;8(4):e62233.

3. Iwao T, Toyota M, Miyagawa Y, Okita H, Kiyokawa N, Akutsu H, Umezawa A, Nagata K, Matsunaga T. Differentiation of Human Induced Pluripotent Stem Cells into Functional Enterocyte-Like Cells Using a Simple Method. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2013 Jul, in press
4. Nakamura H, Liao H, Minami K, Toyoda M, Akutsu H, Miyagawa Y, Okita H, Kiyokawa N, Umezawa A, Imadome KI, Inoue N, Fujiwara S. Human cytomegalovirus induces apoptosis in neural stem/progenitor cells derived from induced pluripotent stem cells by generating mitochondrial dysfunction and endoplasmic reticulum stress. *Herpesviridae.* 2013 Oct 21;4(1):2
5. Yamazoe T, Shiraki N, Toyoda M, Kiyokawa N, Okita H, Miyagawa Y, Akutsu H, Umezawa A, Sasaki Y, Kume K, Kume S. A synthetic nanofibrillar matrix promotes in vitro hepatic differentiation of embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells. *J Cell Sci.* 2013 Dec 1;126(Pt 23):5391-9.
6. Kiyokawa N, Iijima K, Tomita O, Miharuru M, Hasegawa D, Kobayashi K, Okita H, Kajiwara M, Shimada H, Inukai T, Makimoto A, Fukushima T, Nanmoku T, Koh K, Manabe A, Kikuchi A, Sugita K, Fujimoto J, Hayashi Y, Ohara A. Significance of CD66c expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res.* 2014 Jan;38(1):42-8.
7. Kondo Y, Iwao T, Nakamura K, Sasaki T, Takahashi S, Kamada N, Matsubara T, Gonzalez FJ, Akutsu H, Miyagawa Y, Okita H, Kiyokawa N, Toyoda M, Umezawa A, Nagata K, Matsunaga T, Ohmori S. An Efficient Method for Differentiation of Human Induced Pluripotent Stem Cells into Hepatocyte-Like Cells Retaining Drug Metabolizing Activity. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2013 Dec 10. [Epub ahead of print]
8. Tomita O, Iijima K, Ishibashi T, Osumi T, Kobayashi K, Okita H, Saito M, Mori T, Shimizu T, Kiyokawa N. Sensitivity of SNX2-ABL1 toward tyrosine kinase inhibitors distinct from that of BCR-ABL1. *Leuk Res.* 2013 Dec 1. [Epub ahead of print]
2. 学会発表
1. Iijima K, Hasegawa D, Kiyokawa N, Kobayashi K, Okita H, Mori T, Fukushima T, Saito M, Koh K, Hanada R, Tsuchida M, Manabe A, Kikuchi A, Fujimoto J, Hayashi Y, Ohara A. Low expression of tumor suppressor genes were related to poor outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia without fusion genes Ninth AACR/JCA Joint Conference: Breakthroughs in Basic and Translational Cancer Research. February 21-25, 2013. Hyatt Regency Maui. Maui, HI

2. 上野瞳, 大喜多肇, 藤本純一郎, 秦順一, 清河信敬. 腎ラブドイド腫瘍における RASSF1A promoter の DNA hypermethylation. 第 102 回日本病理学会総会, 札幌, 6 月 6 日~8 日, 2013
3. H. Okita, A. Nakazawa, Y. Tanaka, H. Hojo, C. Okamatsu, T. Takimoto, T. Kamijo, T. Fukushima, T. Tajiri, H. Ikeda, A. Nakagawara. Composite Neuroblastoma with Histologically and Biologically Distinct Components: A Report from Japan Neuroblastoma Study Group (JNBSG). 45th Congress of the International Society of Paediatric Oncology, Hong Kong, China, September 25th-28th, 2013
4. Y. Kaneko, H. Okita, M. Haruta, Y. Tanaka, H. Horie, S. Hinotsu, T. Koshinaga, M. Fukuzawa. GENETIC AND PATHOLOGICAL ANALYSES OF BILATERAL OR FAMILIAL WILMS TUMORS INDICATE THE INHERITANCE MODE OF WT1 GERMLINE MUTATION AND RESPONSE TO CHEMOTHERAPY. 45th Congress of the International Society of Paediatric Oncology, Hong Kong, China, September 25th-28th, 2013
5. 大喜多肇. 小児腎腫瘍の組織像と遺伝子異常. 第 55 回日本小児血液・がん学会学術集会, 福岡, 11 月 29 日~12 月 1 日, 2013
6. 大木健太郎, 朴明子, 原勇介, 柴徳生, 大喜多肇, 小林健一郎, 外松学, 福島敬, 康勝好, 花田良二, 真部淳, 菊地陽, 土田昌宏, 小原明, 清河信敬, 林泰秀. 小児 B 前駆細胞型 ALL における EBF1-PDGFRB 融合遺伝子の解析: TCCSG-ALL 研究. 第 55 回日本小児血液・がん学会学術集会, 福岡, 11 月 29 日~12 月 1 日, 2013
7. 上野瞳, 大喜多肇, 中林一彦, 泰健一郎, 藤本純一郎, 秦順一, 清河信敬. 小児腎腫瘍における DNA メチル化解析. 第 55 回日本小児血液・がん学会学術集会, 福岡, 11 月 29 日~12 月 1 日, 2013
8. 北側孝雄, 大喜多肇, 星田尚司, 赤田倫治, 中村和行. 酵母を用いた Ewing 肉腫癌遺伝子の変異探索. 第 36 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 3 日~6 日, 2013

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

異種移植モデルを用いた一過性骨髄異常増殖症の病態に関する研究

研究分担者 渡邊 健一郎 京都大学大学院発達小児科学 講師

研究要旨: Down 症候群に伴う一過性骨髄増殖症(TAM; transient abnormal myelopoiesis)は、多くは自然消退するが、約 20%が後に急性巨核芽球性白血病を発症し、白血病発症機構を解明する上で重要な病態である。TAM 細胞は培養、維持することが困難であり、実験手法には限界があった。我々は、高度免疫不全 NOG マウスに TAM 細胞を移植し、一部の症例で生着を得、TAM 異種移植モデルを作製した。さらに継代可能であった TAM 細胞について DNA コピー数解析を始めとする詳細なクローン解析を行い、TAM では遺伝的多様なクローンが存在し、そこからクローン選択により白血病が発症することを示した。本実験系は前白血病から白血病へ進展過程を生体内で前方視的に再現し得るモデルであり、白血病発症機構の解明に有用であると考えられた。

A. 研究目的

Down 症候群に伴う一過性骨髄増殖症(TAM; transient abnormal myelopoiesis)は、白血病発症機構を解明する上で重要な病態であるが、TAM細胞は長期に培養、維持することが困難で、患者細胞を用いた研究には限界があった。そのため、高度免疫不全 NOGマウスにTAM細胞を移植し、TAM異種移植モデルを作製し、TAMの病態解析を行うことを目的とした。

B. 研究方法

TAM患者の末梢血から芽球を含む単核球分画を分離し、NOGマウスへ尾静脈から移植した。レシピエントマウスから骨髄を採取し、形態、表面抗原、GATA-1変異について解析し、生着を評価した。生着を得た場合には、マウス骨髄細胞を別のマウスに移植し、継代移植を行った。TAM細胞のゲノム構造異常をみるため、DNAコピー数解析、染色体分析を行った。また、TAM細胞のマイナークローンの検出には、認められたゲノム異常、GATA-1変異に特異的なPCRを用いた。

(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に関する倫理指針に従っている。

C. 研究結果

TAM 患者11 例中3 例でNOGマウス骨髄への長期の生着を確認した。生着した細胞は、患者でみられる芽球と同様の形態的・遺伝的特徴を有しており、TAMの異種移植モデルが確立された。

次に生着した3 例について、TAM細胞の自己複製能を評価する目的で1代目から2代目マウスへの継代移植を行った。3例中1 例で継代が可能であり、さらに8代目まで継代可能であった。これら自己複製能を有する細胞には何らかの付加的なゲノム構造の変化が

起きているのではないかと考え、多数のマウスで継代移植を行い、生着したTAM細胞についてDNAコピー数解析を行った。患者検体では、21トリソミー以外の染色体異常やDNAコピー数異常は認めず、単一のGATA-1遺伝子異常(c.38_39delAG)が検出された。一方、本症例の多数のレシピエントマウスにおける解析では、生着したTAM細胞に、患者検体には見られなかったGATA-1変異(c.1A>G)と、多様なDNAコピー数異常(16q部分欠失, 1q増幅, 3q欠失)が観察され、多様な自己複製能を示した。TAMは通常21トリソミー以外の染色体異常を伴わず、ML-DSでは高頻度に付加的染色体異常を伴うことが報告されており、マウス内で観察されたコピー数異常はML-DSに特徴的なものであった。また本症例は後にML-DSを発症した。

これら異常を有するクローンは複数の1代目レシピエントマウスで再現性をもって観察され、もともとのTAM患者検体に潜在している可能性が示唆された。そこで全ゲノム解析により切断点の同定が可能であった異常クローン(16q部分欠失)について、切断点特異的PCRを施行し、このクローンが患者検体中にマイナークローンとして既に存在していたことを証明した。また、新たにマウス内で観察されたGATA-1異常クローン(c.1A>G)について、制限酵素による配列特異的なPCR産物の切断とDNAシーケンシングにより、患者検体中に存在していたことを証明した。

D. 考察

本実験系は前白血病から白血病への進展過程を生体内で再現し得るモデルで、TAMに遺伝的多様性があり、初期段階に不規則に起こるクローン選択が白血病発症に重要である可能性が示唆された。また、のちにML-DSへ進展したTAM患者でのみ、NOGマウスでの継代移植が可能であった点からは、本実験系が白血病発症の予測因子となり得る可能性も示唆された。

E. 結論

TAM細胞を長期に生体内で維持できる異種移植モ

デルを確立した。さらに、継代移植と詳細なクローン解析により、TAMでは遺伝的多様なクローンが存在し、その中からクローンが選択され白血病が発症することが示唆された。本実験系は前白血病から白血病へ進展過程を生体内で前方視的に再現し得るモデルであり、白血病発症機構の解明に有用であると考えられた。

F. 健康危険情報

(分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表

Saida S, Watanabe K, Sato-Otsubo A, Terui K, Yoshida K, Okuno Y *et al.* Clonal selection in xenografted TAM recapitulates the evolutionary process of myeloid leukemia in Down syndrome. *Blood* 2013; **121**(21): 4377-4387.

2. 学会発表

「TAM異種移植モデルを用いたDown症候群における白血病発症メカニズムの解明」

京都大学小児科 才田聡、渡邊健一郎、他

第75回日本血液学会学術集会 2013年10月11日

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 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

iPS細胞を用いたダウン症候群の造血障害に関する研究

研究分担者 望月 慎史 東京大学医科学研究所 幹細胞治療研究センター
幹細胞プロセッシング分野 特任助教

研究要旨:

樹立されたダウン症候群患者由来 iPS 細胞(DS-iPS 細胞)を造血/血液細胞へ分化誘導し、その分化過程を細胞生物学及び分子生物学的に解析した。DS-iPS 細胞では健常人由来 iPS 細胞に比して造血が亢進していた。また、DS-iPS 細胞由来造血細胞では 21 番染色体上の RUNX1 の発現が亢進していた。この結果は、DS 患者の造血障害には RUNX1 の発現亢進が関与している可能性を示唆しており、これを標的とする治療法の可能性が示された。

A. 研究目的

樹立されたダウン症候群患者由来 iPS 細胞を造血/血液細胞へ分化誘導し、その分化過程を細胞生物学及び分子生物学的に解析することにより、ダウン症患者における骨髄不全及び造血異常の病因・病態を明らかにする。また一過性以上骨髄増殖症(TAM)患者から iPS 細胞を樹立し、その造血/血液細胞への分化誘導法を開発し、その分化過程を細胞生物学及び分子生物学的に解析することにより TAM の病因・病態を明らかにする。

その結果に基づき、その新規治療法を開発する。

B. 研究方法

(1) ダウン症患者由来 iPS 細胞から造血/血液細胞への分化の解析

ダウン症患者由来 iPS 細胞を造血/血液細胞へ分化誘導し、その分化過程を、細胞生物学方法(種々の分化マーカーの発現や機能解析等)及び分子生物学的方法(発現遺伝子解析等)で追跡し、ヒト ES 細胞、あるいは健常人から樹立されたヒト iPS 細胞の分化と比較検討する。

(2)ダウン症・TAM 患者の血液/骨髄細胞からの iPS 細胞の樹立

①倫理審査委員会への申請

本研究計画について、東京大学医科学研究所倫理審査委員会の承認を得る。

②CBMFS 患者由来 iPS 細胞の樹立

山中らの方法を用いて、ダウン症・TAM 患者由来血液/骨髄細胞から iPS 細胞を樹立する。

(3) ダウン症・TAM 患者由来 iPS 細胞から造血/血液細胞への分化の解析

ダウン症・TAM 患者由来 iPS 細胞を造血/血液細胞へ分化誘導し、その分化過程を、細胞生物学方法(種々

の分化マーカーの発現や機能解析等)及び分子生物学的方法(発現遺伝子解析等)で追跡し、ヒト ES 細胞、あるいは健常人から樹立されたヒト iPS 細胞の分化と比較検討する。

(4) ダウン症・TAM の新規治療薬のスクリーニング
患者 iPS 細胞から造血細胞への分化系に種々の薬剤を添加し、ヒト ES 細胞あるいは健常人由来ヒト iPS 細胞の分化を、細胞生物学及び分子生物学的指標として、CBMFS 由来 iPS 細胞を正常分化に誘導する新規治療薬をスクリーニングする。

C. 研究結果

①DS-iPS 細胞及び健常人由来 iPS 細胞を、AGM-S3 細胞と共培養した後、血液細胞コロニー法を用いて、その造血/血液細胞への分化能を比較検討した。その結果、DS-iPS 細胞からの分化誘導系においては、健常人由来 iPS 細胞からの分化誘導系と比較べて、全血球系において造血が亢進していることが明らかとなった。また、分化誘導された赤血球の解析から、二次造血、特に成人型造血の亢進が明らかとなった。

②DS-iPS 細胞と健常人由来 iPS 細胞から造血/血液細胞への分化過程における遺伝子発現をマイクロアレイで解析したところ、21 番染色体上の RUNX1 の発現が亢進しており、このことはリアルタイム PCR 法による解析でも確認された。

D. 考察

以上の結果は、ダウン症候群患者の造血障害には、21 番染色体トリソミーによる RUNX1 の発現亢進が深く関与している可能性を示唆しており、これを標的とするダウン症候群及び TAM における造血障害に対する新規治療法の可能性が示された。

E. 結論

ダウン症候群患者由来 iPS 細胞(DS-iPS 細胞)を造血/

血液細胞へ分化誘導し、その分化過程を細胞生物学及び分子生物学的に解析した。DS-iPS細胞では健常人由来iPS細胞に比して造血が亢進していた。また、DS-iPS細胞由来造血細胞では21番染色体上のRUNX1の発現が亢進していた。この結果は、DS患者の造血障害にはRUNX1の発現亢進が関与している可能性を示唆しており、これを標的とする治療法の可能性が示された。

F. 健康危険情報

(分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ebihara Y, Yamamoto S, Mochizuki S, et al. Pneumothorax in an early phase after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Hematology reports 2013;5:34-5.
2. Hiramoto T, Ebihara Y, Mizoguchi Y, et al. Wnt3a stimulates maturation of impaired neutrophils developed from severe congenital neutropenia patient-derived pluripotent stem cells. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2013;110:3023-8.
3. Konuma T, Kato S, Ooi J, et al. Single-Unit Cord Blood Transplantation after Granulocyte Colony-Stimulating Factor-Combined Myeloablative Conditioning for Myeloid Malignancies Not in Remission. Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation 2013.
4. Konuma T, Kato S, Ooi J, et al. The effect of ABO blood group incompatibility on the outcome of single-unit cord blood transplantation following myeloablative conditioning. Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation 2013.
5. Yamamoto S, Ebihara Y, Mochizuki S, et al. Quantitative polymerase chain reaction detection of CEP110-FGFR1 fusion gene in a patient with 8p11 myeloproliferative syndrome. Leukemia & lymphoma 2013;54:2068-9.

2. 学会発表

本邦におけるホ・ルテソ・ミフ・併用化学療法を行った小児再発難治性急性リンパ・性白血病 24 例の後方視的検討A Retrospective Study of 24 patients in Refractory Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia with Bortezomib Combined Chemotherapy in Japan
望月 慎史、小川 千登世、佐野 秀樹ほか
第 55 回日本小児血液・がん学会学術集会、平成 25 年 11 月 29 日(金)～12 月 1 日(日)、福岡県福岡市・ヒルトン福岡シーホーク

H. 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

新生児の症例登録システムの確立とその解析に関する研究

研究代表者又は研究分担者 田村正徳 埼玉医科大学総合医療センター センター長

研究要旨:新生児期に発見されたダウン症の一過性骨髄異常増殖症(transient abnormal myelopoiesis, 以下 TAM)症例について新生児科医師からの登録システムを確立することを目的に、日本未熟児新生児医学会のサーベイランス事業を通して新生児科医師からの実態を調査した。その結果、他施設の小児血液専門医へのコンサルトが22%あり、小児血液分野からの調査のみではこれらの症例は脱落すると考えられた。小児血液分野と新生児分野が共同した継続的な登録システムの構築と初期診療ガイドラインの作成が急務である。

A. 研究目的

新生児期に発見されたダウン症の一過性骨髄異常増殖症(transient abnormal myelopoiesis, 以下 TAM)症例について新生児科医師からの登録システムを確立すること。

B. 研究方法

2010年3月より開始された日本未熟児新生児医学会のTAMのサーベイランス事業のデータを用いて、新生児科医師からの報告の実態を調査し、小児血液専門医の関与を調べる。

(倫理面への配慮)

研究分担者で日本未熟児新生児学会の倫理委員会委員長田村正徳が学会理事会で提案して承認を受けて学会のサーベイランス事業として実施した。調査対象は匿名化され、患者が同定されるような情報は集めていない。

C. 研究結果

55施設から74例の報告があった。うち複数例の報告のあった施設は、6例の報告1施設、4例の報告1施設、3例の報告3施設、2例の報告が5施設だった。二次調査が終了したのは71例中63例であり残りは追跡調査中である。死亡例は11例で、うち日齢0に死亡した4例は全例全身浮腫を伴っていた。他施設の小児血液専門医へのコンサルトは63例中14例(22%)あり、小児血液分野のみの調査では脱落すると考えられた。

D. 考察

TAMは血液疾患ではあるが新生児科医が対応することが多い境界領域の疾患と言える。小児血液疾患を診療する施設はかなり集約化が進んでいるが、新生児施設は地域周産期センターまで入れると600施設を超える。早急に新生児医と血液専門医が連携するためのルール作りとネットワークの構築が必要であると考えられた。

E. 結論

今後は経済的な裏付けも含め、小児血液分野と新生児分野が共同して継続的な登録システムの構築することと初期診療ガイドラインの作成することが急務である。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
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
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

疫学研究用登録システムの確立と統計解析に関する研究

研究分担者 齋藤明子 独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター 臨床疫学研究室 室長

研究要旨:Down 症候群の新生児期に多く見られる一過性骨髄増殖症(TAM)は、従来自然軽快する予後良好な病態と考えられていたが、近年はその 2-3 割に早期死亡が見られるとの報告がなされ、稀少疾患群であることも考え合わせ、発生率、診療実態、病態、臨床経過等を網羅的に把握することで医療の質向上に役立てる努力が必要であると考えられることから、疫学的情報を収集する為の体制整備、システム構築、及び研究より得られるデータの質確保を目的とした実務・運用・研究を実施してきた。更に、標準化・効率化を図るための研究活動も担当している。今後も継続して当該領域のデータ管理の基盤整備に努める。

A. 研究目的

小児造血器腫瘍性疾患の病態解明を目的とした各種研究、新治療法・標準的治療法開発を目的とした臨床研究、及び疫学研究は、当該領域の診療の質を向上させる上で必要不可欠である。この実現を目的として 2003 年に日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)が発足し、その後一過性骨髄異常増殖症(transient abnormal myelopoiesis; TAM)治療研究委員会が組織された。Down 症候群の新生児期に多く見られる一過性骨髄増殖症(TAM)は、従来自然軽快する予後良好な病態と考えられていたが、近年はその 2-3 割に早期死亡が見られるとの報告がなされ、稀少疾患群であることも考え合わせ、発生率、診療実態、病態、臨床経過等を網羅的に把握することで医療の質向上に役立てる努力が必要であると考えられることから、疫学的情報を収集する為のシステム構築、及び研究より得られるデータの質確保を目的として、TAM 治療研究委員会による臨床研究が計画され、本分担研究者は、研究支援の実務と行うと共に、研究遂行の為の基盤・システム整備活動を行うこととなった。

B. 研究方法

1. 独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター内に、特定非営利活動法人臨床研究支援機構(NPO OSCRC) データセンター(OSCRTC)を設置し、名古屋医療センター臨床研究センター臨床研究企画室 臨床疫学研究室と共同で、臨床研究の質確保を担当した。NPO OSCRC でデータマネージャーを雇用し実務を担当させると共に、同職員は臨床疫学研究室の客員研究員として、臨床研究の質向上の為の方法論の研究を行うことで双方向性の教育・育成を図った。これら一連の活動を通して、データセンターとしての標準化・効率化を図った。このシステムを用いて、JPLSG TAM 観察研究のデータ管理を行った。

2. データ管理部門として、患者の個人情報及び診

療情報の保護に関するポリシーを遵守した活動を行うとともに、関係者への個人情報保護に関する啓蒙をはかった。

(倫理面への配慮)

JPLSG の個人情報保護ポリシー及び独立行政法人国立病院機構名古屋医療センターの個人情報保護についてを遵守して研究支援を遂行している。

C. 研究結果

1. 臨床研究の質確保

TAM 観察研究開始に先立ち、実施計画書/同意説明文書作成支援、データ管理計画作成、登録受付番号発行システム確立、臨床研究開始説明会などを実施している。又、収集したデータを入力する為のデータベースの構築による研究の進捗管理や督促機能を装備したシステムを整備・運用すると共に、安全性情報管理業務を継続中である。今年度 TAM 観察研究に関する中間解析(予備解析)を実施し、研究代表者に提出した。

同時並行的に、質管理に関する研究、システム開発に関する各種研究を実施した。具体的には、臨床研究と疫学研究の情報統合とこれを担保するためのシステム(IT)側からの対応。これに伴う、人的・経済的負担の軽減に関する学会発表を行ってきた(後述の学会発表の項参照)。

2. 個人情報保護ポリシーの遵守

患者の個人情報及び診療情報の漏洩、混交、紛失、盗用などを防ぐ為、B. 研究方法 の 2 に示す各種基準、ガイドラインに従い実務を適切に行った。

3. JPLSG の各種委員会の効率的かつ円滑な連携の為のシステム整備

JPLSG DC は、監査委員会への資料提供や監査同行業務をサポートしている。これらの活動を通して、データの質を維持したまま、効率的な運営を実施する為の具体的な提案を行ってきた。

4. 臨床研究デザインの工夫及び疫学研究の開発

当該グループは研究開始当初より、臨床研究への症例登録手続きに先立ち、JPLSG登録を行ってきた。これは主として、研究グループが診断技術向上と標準化を目指した中央診断施設への一貫した検体搬送システムを確立する意図に基づいていた。JPLSG登録症例の中には、臨床研究の候補者であっても細かい対象に関する規定への抵触などの理由で臨床研究に参加しない症例が存在する。臨床研究不参加症例のその後の治療内容と臨床効果を把握することが出来れば、臨床研究に参加し、厳密な管理の下で規定の治療を受けた患者から得られた臨床研究結果の一般化の妥当性評価が可能となる。この点に着目し、当該領域の患者を網羅的に把握できる前向きコホート研究のシステムを確立するための実施計画書を作成し、日本小児血液・がん学会の倫理審査承認を取得して運用を開始している。研究代表者施設の倫理審査委員会の承認取得後、2014年1月末現在までにJPLSG参加146施設からの臨床研究審査委員会の承認が得られている。

D. 考察

稀少な小児造血器疾患領域の診療の質向上を目指した病態研究や治療開発研究は、将来ある小児の福祉向上に必要不可欠であるが、市場が小さく、極めて困難であることも事実である。登録、中央診断・検査、症例経過報告などの手順を、簡便かつ標準化すること、及び希少疾患の全容を把握することも目指し、JPLSG疫学研究と TAM 治療研究を平行して管理している。患者リクルートや長期フォローアップとの連携が整理できる可能性があり有望であると考えている。被験者を危険に晒すことなく、データの質を落とさない範囲で業務の簡略化・標準化が図れるよう、今後も引き続き地道な努力を払う予定である。

E. 結論

臨床疫学研究室は JPLSG のデータセンター機能を有する OSCR DC と共同で JPLSG が企画・実施している各種臨床研究の質管理の実務・研究を担当している。臨床研究支援体制整備は開発途上であるが、効率化・標準化を図るための地道な努力を継続して行っていく予定である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Asai D, Imamura T, Suenobu S, Saito AM, Hasegawa D, Hashii Y, Matsumoto K, Kawasaki H, Hori H, Iguchi A, Kosaka Y, Kato K, Horibe K, Yumura-Yagi K, Hara J, Oda M. IKZF1 deletion is associated with a poor outcome in pediatric B cell precursor acute lymphoblastic leukemia in Japan. *Cancer Medicine*. 2013 Jun;2(3):412-9.

2. 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, Koh K, Kigasawa H, Kosaka Y, Miyachi H, Horibe K, Nakahata T, Adachi S. Excess treatment reduction including anthracyclines results in higher incidence of relapse in core binding factor acute myeloid leukemia in children. *Leukemia*. 2013 May 16. doi: 10.1038/leu.2013.153..
 3. 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*. 2013 Jul;98(1):74-88. doi: 10.1007/s12185-013-1364-2. Epub 2013 May 24.
 4. Yoshida Y, Yoshida Y, Motoyoshi T, Saito M, Saito AM, Hayase T. Study of Perception Gaps in Pharmaceutical Terms and Related Issues between Laypeople and Medical Practitioners. *Nihon Eiseigaku Zasshi*. 2013;68(2):126-37.
 5. Yamashita Y, Shimada A, Yamada T, Yamaji K, Hori T, Tsurusawa M, Watanabe A, Kikuta A, Asami K, Saito AM, Horibe K. IKZF1 and CRLF2 gene alterations correlate with poor prognosis in Japanese BCR-ABL1-negative high-risk B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2013 Oct;60(10):1587-92. doi: 10.1002/pbc.24571. Epub 2013 Jun 27.
 6. 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 N, Isoyama K, Mizutani S, Hara J, Horibe K, Nakahata T, Adachi S. Appropriate dose reduction in induction therapy is essential for the treatment of infants with acute myeloid leukemia: a report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Int J Hematol*. 2013 Sep 26.
 7. Tanabe H, Sahashi K, Kitano T, Tomita Y, Saito AM, Hirose H. Effects of oral propranolol on circumscribed choroidal hemangioma: a pilot study. *JAMA Ophthalmol*.;131(12) 1617-22.2013
- ##### 2. 学会発表
1. 齋藤俊樹、齋藤明子、近藤修平、堀部敬三「オンライン電子的収集システムによる疾患登録データと臨床研究データの統合」2013年11月8日 第67回国立病院総合医学会(金沢)
 2. 齋藤明子、西岡絵美子、永井かおり、齋藤俊樹、近藤修平、堀部敬三「EDC への重篤な有害事象(SAE)の検討・施設周知機能実装によるSAE報告管理コストの削減」2013年11月22日 第33回医療情報学連合大会(第14回日本医療情報学会学術大会)(神戸)
 3. 齋藤 明子、永井 かおり、西岡 絵美子、齋藤 俊樹、近藤 修平、堀部 敬三「症例同定機能の

実装による重複登録候補抽出と長期フォローアップを可能にした疾患登録システム」2013年11月22日 第33回医療情報学連合大会(第14回日本医療情報学会学術大会)(神戸)

4. 齋藤 俊樹、齋藤 明子、近藤 修平、堀部 敬三「DISC SDTM 形式へ予めマッピングした eCRF によるデータ収集」2013年11月22日 第33回医療情報学連合大会(第14回日本医療情報学会学術大会)(神戸)
5. 齋藤 俊樹、齋藤 明子、近藤 修平、堀部 敬三「スキーマレスデータベース採用による1サーバー複数試験の連続稼働」2013年11月22日 第33回医療情報学連合大会(第14回日本医療情報学会学術大会)(神戸)
6. 近藤修平、齋藤俊樹、齋藤明子、堀部敬三「スキーマレスデータベース採用による1サーバー複数試験の連続稼働」2014年3月14日 日本臨床試験研究会第5回学術集会(東京)
7. 永井かおり、齋藤俊樹、齋藤明子、近藤修平、堀部敬三「CDISC SDTM 形式へあらかじめマッピングした eCRF によるデータ収集」2014年3月14日 日本臨床試験研究会第5回学術集会(東京)
8. 西岡絵美子、齋藤明子、永井かおり、近藤修平、堀部敬三、齋藤俊樹「症例同定機能等の実装により重複登録防止と長期フォローアップを可能にした疾患登録システム」2014年3月14日 日本臨床試験研究会第5回学術集会(東京)
9. 佐藤則子、永井かおり、西岡絵美子、三和郁子、生越由枝、染谷こころ、丹羽奈巳、中村真知、長谷川裕子、鳥居薫、齋藤俊樹、近藤修平、齋藤明子、堀部敬三「EDC への重篤な有害事象(SAE)の検討・施設周知機能実装による SAE 報告管理コストの削減」2014年3月14日 日本臨床試験研究会第5回学術集会(東京)
10. 中村和美、傍島秀晃、伊藤定信、平野隆司、目黒文江、福田祐介、稲吉美由紀、近藤直樹、石山薫、小松原一雄、佐藤栄梨、麻生嶋和子、齋藤俊樹、齋藤明子、堀部敬三「ICH-GCP 準拠臨床研究に必要な施設訪問モニタリング支援体制の構築」2014年3月14日 日本臨床試験研究会第5回学術集会(東京)
11. 齋藤明子、傍島秀晃、中村和美、伊藤定信、平野隆司、齋藤俊樹、堀部敬三「サンプリング SDV(Source document verification)」2014年3月14日 日本臨床試験研究会第5回学術集会(東京)

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当無し

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

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
Park MJ, Sotomatsu M, Ohki K, Arai K, Maruyama K, Kobayashi T, Nishi A, Sameshima K, Takagi T, Hayashi Y.	Liver disease is frequently observed in Down syndrome patients with transient abnormal myelopoiesis.	Int J Hematol	99	154-161	2014
Yoshida K, Toki T, Okuno Y, Kanezaki R, Shiraishi Y, Sato-Otsubo A, Sanada M, Park MJ, Terui K, Suzuki H, Kon A, Nagata Y, Sato Y, Wang R, Shiba N, Chiba K, Tanaka H, Hama A, Muramatsu H, Hasegawa D, Nakamura K, Kanegane H, Tsukamoto K, Adachi S, Kawakami K, Kato K, Nishimura R, Izraeli S, Hayashi Y, Miyano S, Kojima S, Ito E, Ogawa S.	The landscape of somatic mutations in Down syndrome-related myeloid disorders.	Nat Genet	45	1293-1299	2013
Shiba N, Ichikawa H, Taki T, Park MJ, 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 gene fusion and its related gene expression signature are strongly associated with a poor prognosis in pediatric acute myeloid leukemia.	Genes Chromosomes Cancer	52	683-693	2013