

201331012A

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

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

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小島 勢二

平成 26 (2014) 年 3 月

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

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

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小島 勢二

平成 26 (2014) 年 3 月

目 次

I. 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 (研究総括、中央診断、データ管理)	1	
名古屋大学大学院医学系研究科 小児科学		小島 勢二
II. 分担研究報告書		
若年性骨髄単球性白血病における全エクソーム解析	9	
名古屋大学大学院医学系研究科 小児科学		小島 勢二
Fanconi 貧血の診断・遺伝子解析・治療法の開発に関する研究	13	
東海大学医学部基盤診療学系 臨床検査学		矢部 みはる
ファンconi貧血の遺伝子解析	16	
京都大学放射線生物研究センター DNA 損傷シグナル研究分野		高田 穰
Diamond-Blackfan 貧血の網羅的遺伝子解析に関する研究	19	
弘前大学大学院医学研究科 小児科学		伊藤 悦郎
血管基底膜異常による先天性溶血性貧血の新規病型の同定	23	
東京女子医科大学大学院 輸血・細胞プロセッシング科		菅野 仁
九州大学大学院医学研究院 周産期小児医療学		大賀 正一
先天性角化不全症における新規遺伝子の変異の探索	26	
日本医科大学 血液内科		山口 博樹
先天性好中球減少症の遺伝子解析	29	
広島大学大学院医歯薬保健学研究院 小児科学		小林 正夫
信州大学医学部 小児医学		小池 健一
Congenital dyserythropoietic anemia(CDA)の臨床データ解析	32	
聖路加国際病院 小児科		真部 淳
Shwachman-Diamond 症候群の原因究明及び診断・治療法の開発	34	
京都大学大学院医学研究科 発達小児科学		渡邊 健一郎

分類不能血液疾患の原因究明ならびに治療法の確立 富山大学附属病院 小児科	金兼 弘和	36
遺伝性鉄芽球性貧血の新規変異遺伝子の同定 東北大学大学院医学系研究科 血液・免疫病学分野	張替 秀郎	39
先天性顆粒放出異常症の遺伝子異常の探索的研究 愛媛大学大学院医学系研究科 小児科学	石井 榮一	42
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 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 発生発達病態学	水谷 修紀	45
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 群馬県立小児医療センター 弘前大学大学院医学研究科 小児科学	林 泰秀 伊藤 悦郎	47
先天性血小板減少症の遺伝子解析 名古屋医療センター臨床研究センター 高度診断研究部	國島 伸治	57
先天性造血不全症の表現型と遺伝子型に関する研究 九州大学大学院医学研究院 周産期小児医療学	大賀 正一	62
小児血液疾患登録による稀少小児遺伝性血液疾患のデータベース構築 東邦大学医療センター大森病院 輸血部	小原 明	65
次世代シーケンサーを用いた稀少小児遺伝性血液疾患の原因遺伝子探索 京都大学大学院医学研究科 腫瘍生物学講座	小川 誠司	68
III. 研究成果の刊行に関する一覧表		77
IV. 研究成果の刊行物・別冊		81

I . 総括研究報告

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
研究代表者 小島勢二 名古屋大学大学院医学系研究科 小児科学 教授

研究要旨

稀少小児遺伝性血液疾患については、ここ数年、原因遺伝子の解明がすすみ、遺伝子診断に基づく正確な診断が可能となってきたが、未だに原因遺伝子が不明の症例も多い。本研究班は、遺伝性血液疾患のうち、Fanconi 貧血(FA)、先天性赤芽球ろう(DBA)、先天性角化不全症(DKC)、遺伝性鉄芽球性貧血(SA)、先天性好中球減少症(SCN)、先天性顆粒放出異常症(HLH)、毛細血管拡張性小脳失調症(AT)、一過性骨髄異常増殖症(TAM)、Congenital dyserythropoietic anemia(CDA)、Shwachman-Diamond syndrome(SBDS)、先天性血小板減少症、先天性溶血性貧血、先天性免疫・骨髄不全症、若年型骨髄単球性白血病(JMML)の各疾患研究班と次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子解析を担当する東大がんゲノムプロジェクト/京都大学医学系研究科腫瘍生物学(小川研)、東大医科研ヒトゲノム解析センター(宮野研)から構成されている。これまでに、399 症例の全エクソンシーケンスを終了した。その内訳は、先天性血小板減少症 53 例、DBA 70 例、溶血性貧血 46 例、FA 77 例、DKC 30 例、分類不能疾患 43 例、CDA 14 例、遺伝性鉄芽球性貧血 12 例、AT 10 例、HLH 6 例、JMML13 例、TAM25 例である。現在までに、先天性血小板減少症班 (ACTIN1)、DBA 班 (RPS27, RPL27)、TAM/AMKL 班(RAD21, STAG2, NIPBL, SMC1A, SAC)、JMML 班(SETBP1)で新規責任遺伝子の発見を論文化し、さらに 7 疾患について候補遺伝子の機能解析をおこなっている。また、20%の症例では、既知の責任遺伝子の同定が可能であった。これらの結果に基づき、195 の遺伝子パネルを作成し、小児遺伝性血液疾患に対するターゲットシーケンスによる遺伝子診断システムを確立しその有用性を検討中である。

研究分担者

矢部 みはる	東海大学医学部基盤診療学系臨床検査学	准教授
高田 穰	京都大学放射線生物研究センター	教授
伊藤 悦朗	弘前大学大学院医学研究科小児科学	教授
菅野 仁	東京女子医科大学輸血・細胞プロセッシング科	教授
山口 博樹	日本医科大学血液内科	講師
小林 正夫	広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科学	教授
小池 健一	信州大学医学部小児医学	教授
真部 淳	聖路加国際病院小児科	医長
渡邊 健一郎	京都大学大学院医学研究科発達小児科学	講師
金兼 弘和	富山大学附属病院小児科	講師
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
石井 榮一	愛媛大学大学院医学系研究科小児科学	教授
水谷 修紀	東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野	教授
林 泰秀	群馬県立小児医療センター	院長
國島 伸二	名古屋医療センター臨床研究センター高度診断研究部	室長
大賀 正一	九州大学大学院医学研究院周産期小児医療学	教授
小原 明	東邦大学医療センター大森病院輸血部	教授
小川 誠司	京都大学大学院医学研究科腫瘍生物学講座	教授
宮野 悟	東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター	教授

A. 研究目的

稀少小児遺伝性血液疾患については、ここ数年、原因遺伝子の解明がすすみ、遺伝子診断に基づく正確な診断が可能となってきたが、未だに原因遺伝子が不明の症例も多い。代表的な遺伝性造血障害である先天性赤芽球ろうや先天性角化不全症においては、臨床的に診断された症例のなかで原因遺伝子が同定されるのは半数にすぎない。

Fanconi 貧血にいたっては、技術的な制約から、わが国においては遺伝子診断されている症例は少数にすぎない。

本研究班は、遺伝性血液疾患のうち、**Fanconi 貧血(FA)**、**先天性赤芽球ろう(DBA)**、**先天性角化不全症(DKC)**、**遺伝性鉄芽球性貧血(SA)**、**先天性好中球減少症(SCN)**、**先天性顆粒放出異常症(HLH)**、**毛細血管拡張性小脳失調症(AT)**、**一過性骨髄異常増殖症(TAM)**、**Congenital dyserythropoietic anemia(CDA)**、**Shwachman-Diamond syndrome(SBDS)**、**先天性血小板減少症**、**先天性溶血性貧血**、**先天性免疫・骨髄不全症**、**若年型骨髄単球性白血病(JMML)**の各疾患について、新規原因遺伝子の発見を目的とする。さらに、次世代シーケンサー技術が稀少小児遺伝性血液疾患の確定診断に果たす役割を検討し、全国を網羅する診断システムの構築を目指す。また、遺伝子解析の結果を含め、共通のデータベースをもちいた疾患登録システムを構築する。

B. 研究方法

本研究班は **DKC**、**DBA**、**SA**、**SCN**、**HLH**、**AT**、**FA**、**CDA**、**SBDS**、**TAM**、**JMML**、**先天性血小板減少症**、**先天性溶血性貧血**、**先天性免疫・骨髄不全症**と **14**の疾患を担当する **18**施設と次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子解析を担当する東大がんゲノムプロジェクト/京都大学医学系研究科腫瘍生物学(小川研)と東大医科研ヒトゲノム解析センター(宮野研)から構成されている。日本小児血液・がん学会の中央診断で上記疾患が疑われた場合は、各疾患担当施設でサンガ

一法による既知の遺伝子診断をおこなう。既知の遺伝子変異が確定できない場合には、各疾患担当施設は、遺伝子診断が確定してない検体から抽出した **DNA** を小川研に送付し、小川研はそれらを集中的にリシーケンスする。すなわち、各症例より抽出したゲノム **DNA** を超音波破碎により断片化し、試料を識別する **6**塩基の **Barcode** 配列を付与したのち、**12** 試料を混合し、常法に従って液相ハイブリダイゼーションにより全エクソン配列を濃縮する。得られた混合試料を **Illumina** 社 **HiSeq2000** シーケンサーにより平均読み取り深度 **x200** を目標として全エクソン配列の解析を行う。アミノ酸置換を生じる翻訳領域の一塩基変異(**single nucleotide variants; SNVs**)および欠失・挿入配列から **SNP** データベースおよび **1000personal genome** データベースに登録済みの **SNP** を除去したのち、家族内罹患患者と陰性コントロール(非罹患同胞や両親)の全エクソン解析データとを比較検討することにより、責任変異の候補となる **SNV** 原因遺伝子の候補を絞り込み、必要に応じて全ゲノムリシーケンスを併用しつつ、機能的な推定と併せて、新規原因遺伝子を同定する。小川研の高速リシーケンスと東大医科研スーパーコンピュータを用いた解析パイプラインを構築し、小川研で開発した生殖細胞変異絞り込み解析ソフトを用いて、原因遺伝子を探索する。患者本人と両親の検体をセットで解析(トリオ解析)することで候補遺伝子を効率的に絞り込む。エクソーム解析で絞られた新規候補遺伝子につき、ひき続き各疾患担当施設がサンガー法でバリデーションをおこなう。さらに、有望な遺伝子については、次世代シーケンサーを用いてターゲットシーケンスをおこない、多数例における検討をおこなう。各疾患担当施設は同定された遺伝子の機能解析を細胞レベル、あるいはゼブラフィッシュ等の実験動物を用いておこなう。収集された症例の臨床情報や同定された新規原因遺伝子の情報は、データベースとして構築し、各疾患の診断システムの構築および治療ガイドラインの作成に役立てる。

(倫理面への配慮)

日本小児がん・血液学会としておこなう疾患登録事業は、疫学研究倫理指針に準拠した臨床研究として、すでに学会倫理審査委員会で承認されている。調査にあたっては個人情報の守秘を厳守しデータの取り扱いに注意する。中央診断事業についても患者検体の匿名化を図る。検体の採取にあたっては患者および家族から事前に十分な説明をおこない文書による同意を得る。各疾患の遺伝子解析についてはヒトゲノム遺伝子解析研究指針にしたがい、患者および家族に事前に十分な説明をおこない、文書による同意を得たのち連結可能匿名検体として研究を遂行する。患者および家族に対して不利益が生じる場合には、いつでも同意の撤回は可能である。サンガー法による既知の遺伝子解析や次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子解析については、東京大学、京都大学、名古屋大学をはじめ各疾患の遺伝子診断を担当する施設で倫理委員会での承認を得ることを前提とする。また、マウスモデルによる遺伝子組み換え実験をおこなう場合は、当該施設の倫理委員会の承認を得た後に、カルタヘナ議定書および関連する政省令、告示に準拠しておこなう。

C. 研究結果

本研究班の発足時に保有していた責任遺伝子が不明なサンプルに研究期間内に発症した新規症例を加えてこれまでに399症例の全エクソンシーケンスを終了した。その内訳は、先天性血小板減少症 53 例、DBA 70 例、溶血性貧血 46 例、FA 77 例、DKC 30 例、分類不能疾患 43 例、CDA 14 例、遺伝性鉄芽球性貧血 12 例、AT 10 例、HLH 6 例、JMML13 例、TAM/AMKL 25 例である。全エクソンシーケンスでは症例あたり平均 20,000 個のヒトゲノムレファレンス配列と異なる塩基配列がみつき、このうち dbSNP131、in-house SNP データにあるものを SNP として除き、最終的に症例あたり 300 個の候補となる変異が同定された。これらのなかから家系の情報、遺伝形式などを考慮して候補遺伝子の絞り込みを

行った。下記に、これまで得られたおもな研究成果を示す。

既知の原因遺伝子に異常を認めない優性遺伝の先天性巨大血小板性血小板減少症 13 家系のうち 6 家系において新規 ACTN1 遺伝子変異を同定した。変異型 ACTN1 蛋白は正常なアクチン繊維形成に影響を与え、巨核球からの胞体突起形成を阻害した (Am J Hum Genet 2013)。優性遺伝を示す先天性巨大血小板減少症の 1 家系において GFI1B 遺伝子変異を同定した。最近、本変異が血小板減少を呈する Gray platelet syndrome の原因遺伝子であることがオランダの施設から報告された (N Engl J Med 2014)。

DBA では、原因遺伝子の同定されていない 70 例に対して、全エクソン解析を行い既知のリボソームタンパク遺伝子の変異を 22 例に検出した。さらに、新規原因遺伝子である RPS27 および RPL27 を各 1 例に見出した。これらの遺伝子は既知の原因遺伝子と同様に、ゼブラフィッシュにおいて同遺伝子をノックダウンすると、赤血球造血の障害が起こることが確認された (論文投稿中)。

FA では、臨床診断が確定した 68 症例例にエクソン解析をおこない、41 例で両アレルの変異が確定し、片アレルの変異が判明したのも 17 例あった。変異遺伝子の内訳としては FANCA (41.1%) が最も多く、次に FANCG(29.4%)の頻度が高かった。わが国では初となる、FANCM、FANCP、FANCF 変異も検出された (Blood 2013)。このほか、1 例において、従来 FA と密接な関連が指摘されており、しかも患者における変異が同定されていないことから、FA 関連遺伝子とされてきた遺伝子に両アレル変異が発見され新規遺伝子候補として検討中である。

ダウン症候群では、5~10%の新生児に一過性に白血病様芽球が増加する病態 (TAM) を発症する。TAM は、一旦は自然寛解を示すが、3 年以内に 20~30%の症例が急性巨核芽球性白血病を発症する。この白血化メカニズムは不明であったが、今回の研究において、高頻度にコヒーシ複合体

(RAD21、STAG2、NIPBL、SMC1A、SAC3)、CTCF、EZH2 などのエピゲノムの制御遺伝子や RAS/チロシンキナーゼなどのシグナル伝達系分子をコードする遺伝子群に変異が存在することを明らかにした (Nat Genet2013)。

JMML はヌーナン症候群などの遺伝背景をもつ乳児期特有の予後不良な骨髄増殖性疾患である。これまでの研究で、本症の成因に RAS シグナル遺伝子変異の関与が明らかにされていたが、本研究では、これらの RAS 経路に属する遺伝子変異のほか、セカンドヒットとして、SETBP1 や JAK3 遺伝子に変異がみられることを発見した。セカンドヒットは患児の予後不良因子であった。新規に発見された SETBP1 変異は成人骨髄増殖性疾患においても予後不良因子であった (Nat Genet2013)。

既知の遺伝子変異を認めない 30 例 DKC 及び不全型 DKC に対してエクソーム解析をおこなったところ 7 例に既知の遺伝子変異が発見された。そのうち 3 例から検出された RTEL1 変異は、最重症型 DKC である Hoyeraal-Hreidarsson 症候群の原因遺伝子であることが他施設から報告された。(AM J Hum Genet2013)

このほか、CDA 班、SA 班、先天性溶血性貧血班の各班において、有望な新規候補遺伝子の機能解析を進めており、さらなる成果の上積みが期待される。

D. 考察

日本小児血液・がん学会の中央診断、各疾患担当施設による既知の遺伝子診断、さらに、次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子解析を担当する施設を有機的に結合することで、極めて効率的に、稀少小児遺伝性血液疾患の検体収集、新規候補遺伝子の同定、遺伝子の機能解析を遂行することが可能であった。実際、すでに、4 疾患につき新規責任遺伝子の発見を論文化し、さらに 7 疾患について候補遺伝子の機能解析をおこなっている。

また、サンガー法による従来の方法では変異遺伝子を発見できなかった検体から、約 20% の症例で既知の変異遺伝子が発見できたことは、エクソーム解析の結果が極めて正確で、臨床診断に十分応用できることを示している。とりわけ代表的な先天性骨髄不全症である FA は現時点でも 16 の遺伝子異常が知られており、それぞれの遺伝子も巨大であるので、遺伝子診断の実施が困難であったが、今回、次世代シーケンサーによるエクソーム解析の結果、わが国における本症の分子疫学情報を明らかにすることが可能であった。今回の解析結果に基づき、小児遺伝性血液疾患の診断に有用な 195 遺伝子からなる遺伝子パネルを作成した。今後はこの遺伝子パネルによるターゲットシーケンスによる遺伝子診断システムを確立し、その有用性を検討する予定である。

E. 結論

原因遺伝子が同定されていない 399 例の小児遺伝性血液疾患を対象に、次世代シーケンサーによる全エクソーム解析をおこない、これまでに 4 疾患について新規原因遺伝子を発見し報告した。さらに 7 疾患について機能解析を含め候補遺伝子を検討中である。

また、20% の症例では、既知の責任遺伝子の同定が可能であった。これらの結果に基づき、195 の遺伝子パネルを作成し、ターゲットシーケンスによる遺伝子診断システムを確立した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Asai D, Osone S, Imamura T, Sakaguchi H, Nishio N, Kuroda H, Kojima S, Hosoi H. Response to the article by Linnankivi et al., entitled 'Cerebroretinal microangiopathy with calcifications and cyst, Revesz syndrome and aplastic anemia'. Bone

- Marrow Transplant. 2013 Jan;48(1):154.
- 2) Fujino H, Doisaki S, Park YD, Hama A, Muramatsu H, Kojima S, Sumimoto S. Congenital dyserythropoietic anemia type 1 with a novel mutation in the CDAN1 gene previously diagnosed as congenital hemolytic anemia. *Int J Hematol.* 2013 May;97(5):650-653.
 - 3) Jeong DC, Chung NG, Cho B, Zou Y, Ruan M, Takahashi Y, Muramatsu H, Ohara A, Kosaka Y, Yang W, Kim HK, Zhu X, Kojima S. Long-term outcome after immunosuppressive therapy with horse or rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine for severe aplastic anemia in children. *Haematologica.* 2013 Nov 8. [Epub ahead of print]
 - 4) Kikuchi A, Yabe H, Kato K, Koh K, Inagaki J, Sasahara Y, Suzuki R, Yoshida N, Kudo K, Kobayashi R, Tabuchi K, Kawa K, Kojima S. Long-term outcome of childhood aplastic anemia patients who underwent allogeneic hematopoietic SCT from an HLA-matched sibling donor in Japan. *Bone Marrow Transplant.* 2013 May;48(5):657-660.
 - 5) Kumaki S, Sasahara Y, Kamachi Y, Muramatsu H, Morio T, Goi K, Sugita K, Urabe T, Takada H, Kojima S, Tsuchiya S, Hara T. B-cell function after unrelated umbilical cord blood transplantation using a minimal-intensity conditioning regimen in patients with X-SCID. *Int J Hematol.* 2013 Sep;98(3):355-360.
 - 6) 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 Aug;45(8):942-946.
 - 7) Okuno Y, Murakoshi A, Negita M, Akane K, Kojima S, Suzuki H. CD8+ CD122+ regulatory T cells contain clonally expanded cells with identical CDR3 sequences of the T-cell receptor beta-chain. *Immunology.* 2013 Jul;139(3):309-317.
 - 8) Sakaguchi H, Nakanishi K, Kojima S. Inherited bone marrow failure syndromes in 2012. *Int J Hematol.* 2013 Jan;97(1):20-29.
 - 9) 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 Aug;45(8):937-941.
 - 10) 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, Japan Childhood Aplastic Anemia Study G. Rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine as first-line therapy for children with acquired aplastic anemia. *Blood.* 2013 Jan 31;121(5):862-863.
 - 11) Yoshimi A, Kamachi Y, Imai K, Watanabe N, Nakadate H, Kanazawa T, Ozono S, Kobayashi R, Yoshida M, Kobayashi C,

Hama A, Muramatsu H, Sasahara Y, Jakob M, Morio T, Ehl S, Manabe A, Niemeyer C, Kojima S. Wiskott-Aldrich syndrome presenting with a clinical picture mimicking juvenile myelomonocytic leukaemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2013 May;60(5):836-841.

12) Ismael O, Shimada A, Elmahdi S, Elshazley M, Muramatsu H, Hama A, Takahashi Y, Yamada M, Yamashita Y, Horide K, Kojima S. RUNX1 mutation associated with clonal evolution in relapsed pediatric acute myeloid leukemia with t(16;21)(p11;q22). *Int J Hematol*. 2013 Dec 28. [Epub ahead of print]

13) Yagasaki H, Shichino H, Ohara A, Kobayashi R, Yabe H, Ohga S, Hamamoto K, Ohtsuka Y, Shimada H, Inoue M, Muramatsu H, Takahashi Y, Kojima S. Immunosuppressive therapy with horse anti-thymocyte globulin and cyclosporine as treatment for fulminant aplastic anemia in children. *Ann Hematol*. 2013 Dec 14. [Epub ahead of print]

2. 学会発表 海外

1) Kojima S. The Asia Pacific prospective randomised study of standard vs low dose rabbit ATG in aplastic anemia. 39th Annual Meeting of the EBMT. Apr. 8, 2013. London, UK.

2) Muramatsu H, Sakaguchi H, Xu Y, Yoshida K, Okuno Y, Hama A, Takahashi Y, Makishima H, Maciejewski J.P, Ogawa S, Kojima S. Clinical and genetic characterization of 17 Juvenile myelomonocytic leukemia patients with c-CBL mutations. The 12th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes.

May.10, 2013. Berlin, Germany.

3) Hama A. Morphological differentiation of bone marrow failure syndromes in children according to 2008 WHO classification. The 12th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes. May.10, 2013. Berlin, Germany.

4) Muramatsu H. Sequential gain of SETBP1 mutations in severe aplastic anemia evolving into acute myeloid leukemia with monosomy 7. The 12th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes. May.10, 2013. Berlin, Germany.

5) Sakaguchi H, Muramatsu H, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Makishima H, Wang X, Xu Y, Doisak Si, Hama A, Nakanishi K, Takahashi Y, Yoshida N, Maciejewski JP, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Molecular Spectrum of Juvenile Myelomonocytic Leukemia Identified by Whole exome sequencing. The 18th Congress of EHA. Jun.14, 2013. Stockholm, Sweden.

6) Kojima S. Aplastic Anemia : Therapeutic updated in HSCT. 2013 International Forum on Bone Marrow Failure. Aug.16, 2013. Tianjin, China.

7) Kojima S. Alternative Donor Transplant for Aplastic Anemia. The 3rd International Annual Updates on Breakthroughs in Hematology. Aug.29, 2013. Bangkok, Thailand.

8) Kojima S. Haploidentical vs Matched Unrelated Donor Transplant. The 3rd International Annual Updates on Breakthroughs in Hematology. Aug.29, 2013. Bangkok, Thailand.

9) Kojima S. Reports from APBMT Working Group. 18th APBMT 2013. Nov.1, 2013. Ho Chi Minh, Vietnam.

- 10) Kojima S. Clonal Evolution from Aplastic Anemia to Myelodysplastic Syndrome with Monosomy7. 7th International Congress on Shwachman-Diamond Syndrome. Nov. 3-6, 2013. Toronto, Canada.
- 11) Muramatsu H, Sakaguchi H, Wang X, Yoshida K, Okuno Y, Sanada M, Xu Y, Doisaki S, Narita A, Kawashima N, Hama A, Takahashi Y, Yoshida N, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Makishima H, Maciejewski J.P, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Clinical and Genetic Characterization Of Patients With C-CBL Mutated Juvenile Myelomonocytic Leukemia By Whole-Exome/Deep Sequencing. The 55th ASH Annual Meeting and Exposition. Dec.7, 2013. New Orleans, USA.
- 12) Kawashima N, Narita A, Wang X, Xu Y, Sakaguchi H, Doisaki S, Muramatsu H, Hama A, Nakanishi K, Takahashi Y, Kojima S. ALDH2 Polymorphism In Japanese Children With Acquired Aplastic Anemia. The 55th ASH Annual Meeting and Exposition. Dec.7, 2013. New Orleans, USA.
- 13) Sakaguchi H, Muramatsu H, Wang X, Xu Y, Hibi Y, Kawashima N, Narita A, Doisaki S, Yoshida N, Hama A, Takahashi Y, Makishima H, Yamada K, Maciejewski JP, Kojima S. Aberrant DNA Methylation Is Associated With Poor Outcomes In Juvenile Myelomonocytic Leukemia. The 55th ASH Annual Meeting and Exposition. Dec.7, 2013. New Orleans, USA.
- 人、中西 康詞、高橋 義行、土田 昌宏、小林 良二、伊藤 悦朗、矢部 普正、大賀 正一、小原 明、長谷川 大輔、真部 淳、伊藤 雅文、小島 勢二. Telomere length as a predictor for the immunosuppressive therapy in acquired aplastic anemia. 第 75 回日本血液学会学術集会. 2013 年 10 月 12 日. 札幌.
- 3) 川島 希、成田 敦、王 希楠、徐 銀燕、坂口 大俊、土居崎 小夜子、村松 秀城、濱 麻人、中西 康詞、高橋 義行、小島 勢二. ALDH2 polymorphism in Japanese children with acquired aplastic anemia. 第 75 回日本血液学会学術集会. 2013 年 10 月 12 日. 札幌.
- 4) Hama A, Manabe A, Hasegawa D, Nozawa K, Doisaki S, Sakaguchi H, Muramatsu H, Takahashi Y, Ito M, Ohara A, Kojima S. Central review of morphology in childhood aplastic anemia and myelodysplastic syndrome – summary of 800 cases –. 第 55 回日本小児血液・がん学会学術集会. 2013 年 11 月 29 日. 福岡.
- 5) 成田 敦、村松 秀城、川島 希、王 希楠、坂口 大俊、土居崎 小夜子、中西 康詞、濱 麻人、高橋 義行、小島 勢二. 小児再生不良性貧血から PNH への移行. Evolution to PNH in children with aplastic anemia. 第 55 回日本小児血液・がん学会学術集会. 2013 年 12 月 1 日. 福岡.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

国内

- 1) 小島 勢二. 先天性血液疾患の病態研究に関する最近の進歩. 第 116 回日本小児科学会学術集会. 2013 年 4 月 19 日. 広島.
- 2) 坂口 大俊、西尾 信博、川島 希、王 希楠、成田 敦、土居崎 小夜子、村松 秀城、濱 麻

Ⅱ. 分担研究報告

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

若年性骨髄単球性白血病における全エクソーム解析

研究分担者 小島勢二（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 教授）

研究協力者 村松秀城（名古屋大学医学部附属病院小児科 助教）

研究要旨： 年性骨髄単球性白血病（Juvenile Myelomonocytic Leukemia; JMML）は、年少児に発症する顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）への高感受性を特徴とする骨髄異型性症候群（MDS）/骨髄増殖性疾患（MPN）である。80%以上の症例で、RAS 経路に関連する遺伝子群（*NF1*、*NRAS*、*KRAS*、*PTPN11*、*CBL*）の遺伝子変異が報告されているが、残り 20%の症例では原因となる遺伝子変異が同定されておらず、次世代シーケンサーによる網羅的な遺伝子解析が待たれていた。全エクソーム解析およびターゲットディープシーケンス解析により、*SETBP1* と *JAK3* 遺伝子変異がセカンドヒットとして JMML の腫瘍の進展に関与している可能性が明らかとなった。

A. 研究目的

若年性骨髄単球性白血病（Juvenile Myelomonocytic Leukemia; JMML）は、年少児に発症する顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）への高感受性を特徴とする骨髄異型性症候群（MDS）/骨髄増殖性疾患（MPN）である。80%以上の症例で、RAS 経路に関連する遺伝子群（*NF1*、*NRAS*、*KRAS*、*PTPN11*、*CBL*）の遺伝子変異が報告されているが、約 20%の症例では原因となる遺伝子変異は不明であった。JMML の分子遺伝学的発症機構の全容を明らかにすることを目的として、次世代シーケンサーによる網羅的な遺伝子解析を行った。

B. 研究方法

13 例の JMML 症例に対し、骨髄 DNA および CD3 陽性 T 細胞 DNA の全エクソーム解析を行い、生殖細胞系列変異および体細胞変異の網羅的解析を行った。また、全エクソーム解析の結果を確認するため、既知の RAS 経路各遺伝子および新規に変異が同定された各遺伝子に対するターゲ

ットディープシーケンス解析を 92 例の JMML 患者検体を用いて行った。

（倫理面への配慮）

本研究で行った臨床検体を用いた遺伝子解析研究は、名古屋大学医学部倫理委員会で審査され、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

13 例の JMML 症例の骨髄 DNA および CD3 陽性 T 細胞 DNA の全エクソーム解析を行い、生殖細胞系列変異および体細胞変異の網羅的解析を行った。全エクソーム解析で同定された体細胞変異数は JMML 1 症例あたりわずか 0.8 個であり、これは他の様々な腫瘍において全エクソーム解析で同定される体細胞変異数と比較してはるかに少数であった（図 1）。13 例のうち、RAS 経路遺伝子変異が 12 例（生殖細胞系列変異 6 例、体細胞変異 6 例）で確認されるとともに、これまでに報告のない 3 遺伝子（*SETBP1* (p.Asp868Asn)、*JAK3* (p.Arg657Gln)、*SH3BP1* (p.Ser277Leu)

の体細胞変異が4例から検出された。

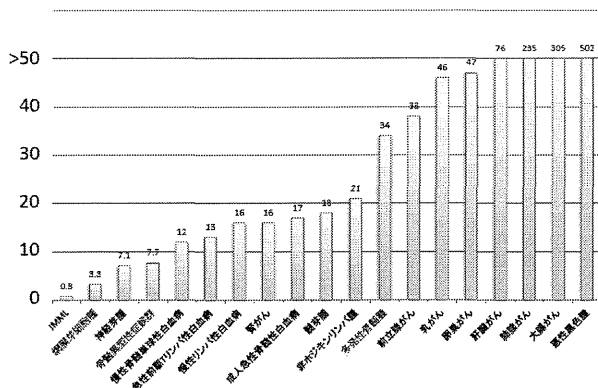


図1. JMMLと各種腫瘍における体細胞遺伝子変異数の比較

全エクソーム解析の結果を確認するため、既知の RAS 経路各遺伝子および新規に変異が同定された各遺伝子に対するターゲットディープシーケンシング解析を 92 例の JMML 患者検体を用いて行った。すなわち、各遺伝子のエクソン領域を増幅する NotI アダプタを付与した PCR プライマーを設計し、PCR 増幅・NotI 制限酵素処理・ライゲーション・超音波処理を経て次世代シーケンサーによる解析を行い、それぞれの PCR 産物の配列を 1,000 回以上読むことに成功した。92 例のうち、RAS 経路の遺伝子変異は 82 例 (89%) に同定され (*PTPN11* (n=39)、*NF1* (n=9)、*NRAS* (n=15)、*KRAS* (n=13)、*c-CBL* (n=14))、ほとんどの症例で相互排他的 (mutual exclusive) であった。これまでの報告と同様に、*CBL* と *NF1* は両アリルに変異が認められることが多かったが、*PTPN11*、*NRAS*、*KRAS* は片アリル変異例がほとんどであった。RAS 経路の遺伝子変異を認められなかった 10 症例については全ゲノム解析 (n=2) ないし全エクソーム解析 (n=8) を行ったが、これらの症例では RAS 経路遺伝子変異は同定されなかった。また、新たに同定された体細胞性遺伝子変異のうち、*SETBP1* 変異 (n=7) および *JAK3* 変異 (n=11) は、16 症例で変異を認めた。これらの変異は、*NRAS*・*KRAS*・*CBL* 変異 JMML と比較して、*PTPN11*・*NF1* 変異 JMML により集積していた。*SETBP1* 変異はいずれも SKI ドメインのヘテロ変異であった。

上記ディープシーケンシングにおいて変異アリルと正常アリルが読まれる割合を計算することで、高い確度でそれぞれの遺伝子変異ごとに変異アリル頻度を算出することが可能であった。RAS 経路遺伝子と新たに同定された *SETBP1* ないし *JAK3* とを同時に有する JMML 症例において、それぞれの遺伝子変異アリル頻度を比較すると、ほとんどの症例で *SETBP1* および *JAK3* 遺伝子のほうが低い変異アリル頻度であった。

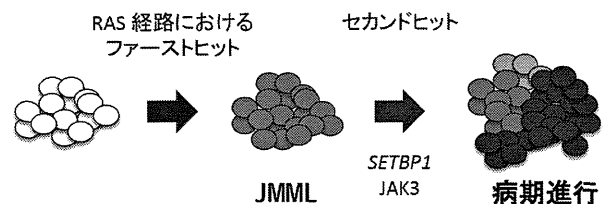


図2. JMMLにおける SETBP1 / JAK3 変異の意義

実際に、これらの遺伝子変異を有する症例 (n=16) は、有さない症例 (n=76) と比較して 5 年全生存率は低い傾向にあり (Hazard ratio = 1.90, 95% confidence interval (CI) = 0.87-4.19, p=0.10)、5 年無移植生存率は有意に低かった (Hazard ratio = 2.18, 95% confidence interval (CI) = 1.18-4.02, p=0.007) (図3)。

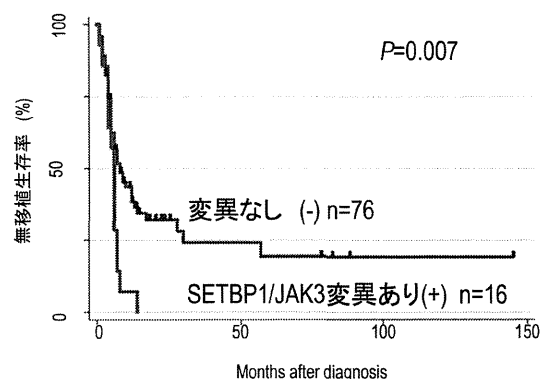


図3. SETBP1、JAK3 遺伝子変異が JMML 患者の予後に与える影響

D. 考察

今回の全エクソーム解析・ターゲットシーケンシングによる網羅的な解析により、JMML に認められる遺伝子変異の数は他の悪性腫瘍と比較して

非常に少ないということが明らかとなった。JMML が腫瘍発生のよいモデル疾患となりうると考えられる。一方、*SETBP1*、*JAK3* 変異の有無が予後不良症例と関連することが判明し、実臨床においても治療方針を決定するに際して有用な情報を提供することが可能となった。また、今後の JMML に対する分子学的標的療法を開発する上でも重要な情報が得られたと考えられる。

E. 結論

次世代シーケンサーを用いた全エクソーム解析ならびにターゲットシーケンスを行い、JMML の約 90% に RAS 経路遺伝子変異が同定されたとともに、予後不良と関連する secondary mutation として、*SETBP1* および *JAK3* 変異が認められ、JMML 発症の遺伝学的背景が明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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 Aug;45(8):942-946.
- 2) 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 Aug;45(8):937-941.

- 3) 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 Nov;45(11):1293-1299.

2. 学会発表

海外

- 1) Muramatsu H, Sakaguchi H, Xu Y, Yoshida K, Okuno Y, Hama A, Takahashi Y, Makishima H, Maciejewski J.P, Ogawa S, Kojima S. Clinical and genetic characterization of 17 Juvenile myelomonocytic leukemia patients with c-CBL mutations. The 12th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes. May.10, 2013. Berlin, Germany.
- 2) Muramatsu H. Sequential gain of SETBP1 mutations in severe aplastic anemia evolving into acute myeloid leukemia with monosomy 7. The 12th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes. May.10, 2013. Berlin, Germany.
- 3) Sakaguchi H, Muramatsu H, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, 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. Molecular Spectrum of Juvenile Myelomonocytic Leukemia Identified by Whole exome sequencing. The 18th Congress of EHA. Jun.14, 2013.

Stockholm, Sweden.

- 4) Muramatsu H, Sakaguchi H, Wang X, Yoshida K, Okuno Y, Sanada M, Xu Y, Doisaki S, Narita A, Kawashima N, Hama A, Takahashi Y, Yoshida N, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Makishima H, Maciejewski J.P, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Clinical and Genetic Characterization Of Patients With C-CBL Mutated Juvenile Myelomonocytic Leukemia By Whole-Exome/Deep Sequencing. The 55th ASH Annual Meeting and Exposition. Dec.7, 2013. New Orleans, USA.
- 5) Sakaguchi H, Muramatsu H, Wang X, Xu Y, Hibi Y, Kawashima N, Narita A, Doisaki S, Yoshida N, Hama A, Takahashi Y, Makishima H, Yamada K, Maciejewski JP, Kojima S. Aberrant DNA Methylation Is Associated With Poor Outcomes In Juvenile Myelomonocytic Leukemia. The 55th ASH Annual Meeting and Exposition. Dec.7, 2013. New Orleans, USA.

国内

- 1) 村松 秀城、坂口 大俊、王 希楠、吉田 健一、奥野 友介、徐 銀燕、土居崎 小夜子、成田 敦、川島 希、中西 康詞、濱 麻人、高橋 義行、小川 誠 司、小島 勢二。Clinical characterization of 17 Juvenile myelomonocytic leukemia patients with c-CBL mutations. 第 75 回日本血液学会学術集会. 2013 年 10 月 13 日. 札幌.
- 2) Sakaguchi H, Muramatsu H, Wang X, Xu Y, Hibi Y, Kawashima N, Narita A, Doisaki S, Yoshida N, Hama A, Nakanishi K, Takahashi Y, Makishima H, Maciejewski JP, Yamada K, Kojima S. Aberrant DNA methylation is associated with poor outcomes in juvenile myelomonocytic leukemia. 第 55 回日本小児血液・がん学会学術集会. 2013 年 11 月 29 日. 福岡.

- 3) Wang X, Muramatsu H, Sakaguchi H, Xu Y, Kawashima N, Narita A, Doisaki S, elmadi S, Nakanishi K, Hama A, Takahashi Y, Kojima S. Somatic mosaicism of Ras Pathway gene mutation in juvenile myelomonocytic leukemia. 第 55 回日本小児血液・がん学会学術集会. 2013 年 11 月 29 日. 福岡.
- 4) 村松 秀城. 若年性骨髄単球性白血病における全エクソーム解析. Exome sequencing in juvenile myelomonocytic leukemia. 第 55 回日本小児血液・がん学会学術集会. 2013 年 12 月 1 日. 福岡.
- 5) 村松 秀城、小島 勢二. 網羅的遺伝子変異解析を行った若年性骨髄単球性白血病に対する同種移植の成績. 第 36 回日本造血細胞移植学会総会. 2014 年 3 月 8 日. 沖縄.

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

分担研究項目：Fanconi 貧血の診断・遺伝子解析・治療法の開発に関する研究
研究分担者 矢部みはる（東海大学医学部基盤診療学系臨床検査学 准教授）

研究要旨： 次世代シーケンスによるエクソーム解析50例を加えて東海大学における総計80例の日本人FAの解析を行った。FANCA、FANCGに加えて国内で認められていなかったFA原因遺伝子も複数同定された。既知遺伝子が全く検出されなかった症例は新規遺伝子である可能性もあり、引き続き解析を行っている。

acetaldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) の遺伝子型の解析では骨髄不全との強い相関が証明された。骨髄形成症候群、急性骨髄性白血病に進展した症例の造血細胞移植の検討も行った。

A. 研究目的

Fanconi 貧血(FA)は種々の身体異常と小児期に発症する骨髄不全、白血化や高発がんを特徴とする遺伝性疾患で、現時点で 16 の遺伝子異常が報告されているが、日本での遺伝子群の疫学や臨床像の実態は明らかではない。次世代シーケンサーによるエクソームを行い、日本人の FA 遺伝子群の疫学解析を行う。骨髄不全、骨髄異形成症候群や急性白血病に至る病態解明と治療法の開発についても検討する。

B. 研究方法

東海大学の既知の遺伝子が同定されない FA 各種サンプル（末梢血リンパ球、骨髄および皮膚線維芽細胞、骨髄細胞）を東京大学（現京都大学）小川誠司研究室に送付し、次世代シーケンサーを用いたエクソーム解析を行う。同定された候補遺伝子については京都大学高田穰研究室でバリデーションを行いさらに、新規遺伝子であることが確定した遺伝子については機能解析を行う。東海大学にて、Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)法にて FANCA の変異検出例と合わせて、臨床症状を照合し、日本人の FA 遺伝子群の疫学解析を試みる。

京都大学放射線生物研究センター高田穰研究室との共同研究で、すでに FA の分子診断が確定された症例でアセトアルデヒドの分解酵素である ALDH2 遺伝子型の検討を Taqman PCR 法により行う。ALDH2 遺伝子型と造血機能、身体異常等の関連性につき検討する。

治療法に関しては骨髄形成症候群や急性骨髄性白血病に進展した造血細胞移植についても検討を加える。

（倫理面への配慮）

「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」および「臨床研究に関する倫理指針」を順守し、研究対象者に対する人権擁護を基本とし、インフォームドコンセントに基づいた科学的にも倫理的にも妥当な研究の計画を実施している。説明同意書には検体の使用および保存中止請求書類も加え、遺伝子カウンセリングの体制も整えている。また、平易な文面で記載された小児用の説明書も作成し、家族だけではなく患児の理解や同意を得る努力を継続して行っている。

C. 研究結果

次世代シーケンスによるエクソーム解析 50 例を加えて東海大学では総計 80 例の日本人 FA の

解析を行った。FA 遺伝子のゲノムシーケンスより、35 例の FANCA と 20 例の FANCG 遺伝子の変異を京都大学放射線生物研究センターの高田穰研究室にて同定した。FANCD1、FANCE、FANCP も各 1 例確認され、片アレルではあるが、FANCI、FANCM の症例も確認され検討中である。既知遺伝子が全く検出されなかった 6 例を含め、引き続き解析を行っている。MLPA 法を用いた 61 症例の検討では、36 例が FANCA シーケンスで A 群と断定され、そのうちの 24 例が A 群 MLPA 法にて片アレルまたは両アレルの検出が可能であった (66%)。

京都大学放射線生物研究センターの高田穰研究室にて解析を行った日本人 FA 患者 75 人におけるアルデヒド代謝に関わる重要な酵素である ALDH2 遺伝子型の分布は、健常日本人の分布と差を認めず、骨髄不全は AA 群、GA 群、GG 群の順に早く発症し、有意差を認めた。

骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病に進展した 33 症例の全体の移植後 3 年生存率は約 68% であったが、白血病 10 症例の移植後 3 年生存率は 30% 以下で極めて不良であった。

D. 考察

FA の発症頻度や遺伝子変異は民族差がみられ、日本人におけるデータの集積が必要である。今回のエクソーム解析等を用いた FA の遺伝子解析は日本における FA の疫学の基盤になると推測される。MLPA 法による解析は線維芽細胞での検出も良好であり、既知の変異のみが対象となるものの、約 40% の症例 (A 群では 66%) で FANCA の少なくとも片アレルが検出され、極めて有用と考えられた。ALDH2 遺伝子の解析からは FA の病態の一部が解明されつつあり、治療につながるものが期待される。FA に対する本邦での fludarabine を前処置に用いた造血細胞移植の成績は良好であるが、骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病に進展した症例では白血病に移行する前に移植を施行することが重要で、今後白血化症例の治療法の検討も必要である。

E. 結論

稀少遺伝性疾患である FA の遺伝子解析においては、小川誠司研究室のエクソーム解析を介して、京都大学放射線生物研究センターの高田穰研究室等との共同研究により日本人 FA 患者の原因遺伝子の種類や頻度、遺伝子異常と臨床病態との関連が明らかになりつつある。ALDH2 などの FA 原因遺伝子とは異なる新しい視点からも解析が進められている。更に、骨髄不全だけではなく、免疫不全症や固形がんなどの病型も加えた FA 症例の解析も検討している。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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 and Yabe M. Variant ALDH2 is associated with accelerated progression of bone marrow failure in Japanese Fanconi anemia patients. *Blood*. 2013; 122: 3206-3209.
- 2) 矢部みはる 遺伝性骨髄不全症候群における遺伝子解析と倫理的諸問題 日本小児血液・がん学会雑誌 2013 : 50 : 418-420.
- 3) 山下孝之、矢部みはる 先天性骨髄不全症血液病学 (第 2 版) 中外医学社 2013 : 349-353

2. 学会発表

- 1) Yabe M, Yabe H, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Takakura H, Ohtsubo K, Okuya M, Fukumura A, Arakawa S, Masukawa M, Gondo K, Tsuchida F, Sugimoto T and Kato S. Frequent chromosomal instability in somatic and tumor cells after hematopoietic cell transplantation. 39th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. April 2013, London, UK.
- 2) Yabe M, Hira A, Yabe H, Yoshida K, Ogawa S, Kojima S, Matsuo K and Takata M.

Clinical interaction between Japanese Fanconi anemia patients and aldehydemetabolism. 第75回日本血液学会学術集会2013年10月 札幌

- 3) Yabe M, Matsushita H, Kinoshita A, Tokumasu M, Shimada A, Taki T, Hayashi Y, Tomizawa D, Taga T, Tawa A, Adachi S, Miyachi H. Detection of the KIT mutation and treatment response of acute myeloid leukemia associated with mastocytosis: A retrospective study of JPLSG-AML05 第55回日本小児血液・がん学会学術集会 2013年12月 福岡

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし