

201438062A

厚生労働科学研究委託費
革新的がん医療実用化研究事業

(委託業務題目)

小児白血病におけるバイオマーカーによる早期診断技術の
確立と実用化に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 吉田 健一

平成27(2015)年 3月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託事業（革新的がん医療実用化研究事業）による委託業務として、国立大学法人 京都大学が実施した平成26年度「小児白血病におけるバイオマーカーによる早期診断技術の確立と実用化に関する研究」の成果を取りまとめたものです。

厚生労働科学研究委託費
革新的がん医療実用化研究事業

(委託業務題目)

小児白血病におけるバイオマーカーによる早期診断技術の
確立と実用化に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者

眞田 昌 (平成26年4月1日～9月30日)
吉田 健一 (平成26年10月1日～平成27年3月31日)

平成27(2015)年 3月

目 次

I. 委託業務成果報告（総括）	
小児白血病におけるバイオマーカーによる早期診断技術の確立と実用化に関する研究 真田 昌、吉田 健一	1
II. 委託業務成果報告（業務項目）	
1. 難治性白血病におけるバイオマーカーの同定と実用化 真田 昌	8
2. 小児リンパ性腫瘍の分子発現に基づく予後層別化法の開発 清河 信敬	10
3. 小児ALLの網羅的遺伝子解析研究による新規予後不良因子の同定と治療開始 早期の層別化の検討に関する研究 今村 俊彦	15
4. 欠失型および複雑型染色体異常の評価法および診断法の開発 滝 智彦	16
5. 白血病のキャンサーパネルの確立に関する研究 嶋田 明	18
6. 次世代シーケンサーを用いた超高感度微小残存白血病の検出 加藤 元博	20
7. MicroRNAを標的としたMRD測定系の開発と白血病制御に関する基盤技術の開発 発に関する研究 平松 英文	23
8. 小児AMLにおけるRNAシーケンスによるリスク層別化技術の精度向上 柴 徳生	24
III. 学会等発表実績	25
IV. 研究成果の刊行物・別刷	32

厚生労働科学研究委託費委託業務成果報告
(総括)

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（総括）

小児白血病におけるバイオマーカーによる早期診断技術の
確立と実用化に関する研究

業務主任者又は担当責任者

眞田 昌 京都大学医学研究科（平成26年4月1日～9月30日）
吉田健一 京都大学医学研究科（平成26年10月1日～27年3月31日）

研究要旨

小児白血病診療における実用性の高いバイオマーカー診断技術の確立を目指して、既知のバイオマーカーの実用化へ向けた検討と網羅的な解析による新規バイオマーカーの探索研究を進めており、各研究計画の基盤となる成果を上げている。

A. 研究目的

小児白血病の治療成績は、過去40年間で著しい改善を遂げたが、約20%は再発し、造血幹細胞移植による救済が困難な症例も少なくない。更には、生命予後の改善により二次がんを含む晩発性副作用も問題視されており、現行の予後予測因子による層別化では、治療成績の更なる改善と副作用の軽減という、相反する2つの大きな課題を解決するには不十分であり、また現行の化学療法での治療強化の限界も存在する。

本研究は日本小児がん研究グループ（JCCG）の白血病研究の一環として、日本小児白血病リンパ腫研究グループ JPLSG および傘下のグループに属する豊富な臨床検体と臨床情報データベースを活用し、最新の

研究成果をもとに協調をして、次世代のバイオマーカーを用いた早期診断技術の確立を目指す。

B. 研究方法

既に有用性が確立されている、もしくは強く期待されるバイオマーカーにおける新たな遺伝子解析技術の応用を含む実用化へ向けた検討を推し進めるとともに、網羅的な遺伝子解析手法を用いた、既存のマーカーでは層別化不能な症例における新規バイオマーカーの探索と再発危険群を早期に捕捉可能な診断技術の確立を目指した研究を進める。

① 実用化を目指した分子診断技術の確立
白血病診療において、染色体分析結果は最も重要な予後指標であるが、現在の標準

法である G 分染法の検出感度や評価の問題が指摘されており、ゲノムアレイなどを用いて、より精度の高い診断法の確立を目指した検討を行った（滝）。治療経過中における微小残存病変(MRD)の評価は有用な予後指標であると認識され、治療反応性の評価に基づく治療選択等に活用されているが、次世代シーケンス技術を使用した測定方法について、SNP をマーカーとした基礎検討を行った（加藤・真田）。血中 microRNA 測定は低侵襲性に経時的な評価が可能なバイオマーカーとして注目をされているが、白血病細胞特異的な発現がある microRNA を用いた MRD 評価系としての有用性について、基礎検討を行った（平松）。遺伝子発現プロファイルに基づき、様々なチロシンキナーゼ関連融合遺伝子を高頻度に観察される小児 ALL を亜分類されるが、簡便かつ迅速な、実用的な診断技術の確立する目的に、遺伝子発現解析ならびに FACS 解析による検討を行った（清河）。近年の遺伝子解析研究により、白血病細胞にしばしば観察される体細胞変異遺伝子が明らかとなり、予後との関連が示されつつある。既知の変異遺伝子などを対象に分子診断用白血病パネルを作成し、多数の遺伝子セットでの臨床検体を用いた解析を行った（嶋田・真田）。チロシンキナーゼ関連融合遺伝子の検出は、予後予測に有用なマーカーであるとともに、分子標的薬剤の適応を考える上で重要な指標となると期待される。そこで、チロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) が有効と考えられる *PDGFRB*, *ABL1*, *JAK2* 再構成を検出可能な FISH 法の確立を目指した検討を行った（今村）。

② 網羅的な分子診断マーカーの探索

明らかな予後不良マーカーを有さない再発例で、経時的な検体採取されている症例を対象に、全エクソンならびに変異遺伝子の deep sequence による valiant allele 頻度解析を行い、クローンの経時的推移を詳細に解析した（真田）。融合遺伝子は、診断・治療における重要な分子マーカーと期待されるため、AML 例の RNA シーケンスによる網羅的な融合遺伝子の探索・同定を行った（柴・真田）。

（倫理面への配慮）

小児白血病治療研究グループの専門委員会等による審査・承認の上、各研究機関における倫理委員会の審査・承認の上で、研究を開始・実施している。臨床検体は匿名化を行い、個人情報の保護を十分に配慮しながら、研究は進められている。

C. 研究結果

チロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) の有効性が期待される症例の多くは、発現アレイにおいて Ph 陽性 ALL に類似したプロファイルを呈し、予後不良であることが知られているが、この亜群を簡便に同定する方法を確立するために、亜群を特徴づける遺伝子変化を特定した（清河）。更に、TKI が有効と考えられる *PDGFRB*, *ABL1*, *JAK2* 再構成陽性例を検出する FISH 法を用いたスクリーニング系を確立した（今村）。微小残存病変 (MRD) による治療反応性評価は、有用性の高いバイオマーカーであるが、次世代シーケンス技術を活用した 1 塩基変異による評価方法を検討し、MRD の評価に用いられている 10^{-4} までは高い定量性をもって検出可能であり、また定性的には 10^{-6} までの

検出も可能であった(加藤)。高精度の染色体診断法開発に向け、造血器腫瘍細胞株 8 株における SKY 法とゲノムアレイ法の比較検討を行った(滝)。

探索的な検討では、小児 AML47 例の RNA シーケンスを行い、染色体分析では同定されなかった多数の融合遺伝子が同定され、現在、評価中である(柴)。明らかな予後不良因子を有さないにも関わらず再発を認めた B-ALL 症例において、継時的にサンプリングされた検体の全エクソン解析により再発に至る腫瘍クローンの推移を明らかにした(真田)。既に白血病で報告のある遺伝子等からなる遺伝子セットを用いた次世代シーケンサーによるターゲットシーケンスを小児白血病検体に対して行い、比較的簡便かつ正確に、限られた時間内に検出・評価が可能であり、実用性が期待できる変異解析方法と考えられた。(嶋田)。

D. 考察

小児白血病診療における新規バイオマーカー診断技術の確立を目指して、各班員が各々の課題について、実用化を目指した検討を行った。各研究課題は成果が期待できるものであるが、次年度以降、有用性ならびに実用性が期待できる診断技術を絞り、重点的に進めていく必要があると考える。

E. 結論

小児白血病診療における実用性の高いバイオマーカー診断技術の確立を目指して、既知のバイオマーカーの実用化へ向けた検討と網羅的な解析による新規バイオマーカーの探索研究を進めており、各研究計画の基盤となる成果を上げており、概ね順調な

進捗状況にあると考える。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① Madan V, Kanojia D, Li J, Okamoto R, Sato-Otsubo A, Kohlmann A, Sanada M, Grossmann V, Sundaresan J, Shiraishi Y, Satoru M, Thol F, Ganser A, Yang H, Haferlach T, Ogawa S, Koeffler HP. Aberrant splicing of U12-type introns is the hallmark of ZRSR2 mutant myelodysplastic syndrome. *Nature Commun.* 14;6:6042, 2015
- ② Nowak D, Liem NL, Mossner M, Klaumünzer M, Papa RA, Nowak V, Jann JC, Akagi T, Kawamata N, Okamoto R, Thoennissen NH, Kato M, Sanada M, Hofmann WK, Ogawa S, Marshall GM, Lock RB, Koeffler HP. Variegated clonality and rapid emergence of new molecular lesions in xenografts of acute lymphoblastic leukemia are associated with drug resistance. *Exp Hematol.* 43(1):32-43.e35, 2015
- ③ Sato Y, Maekawa S, Ishii R, Sanada M, Morikawa T, Shiraishi Y, Yoshida K, Nagata Y, Sato-Otsubo A, Yoshizato T, Suzuki H, Shiozawa Y, Kataoka K, Kon A, Aoki K, Chiba K, Tanaka H, Kume H, Miyano S, Fukayama M, Nureki O, Homma Y, Ogawa S. Recurrent somatic mutations underlie corticotropin-independent Cushing's syndrome. *Science.* 344(6186):917-20, 2014
- ④ Kobayashi K, Mitsui K, Ichikawa H, Nakabayashi K, Matsuoka M, Kojima Y, Takahashi H, Iijima K, Ootsubo K, Oboki K, Okita H, Yasuda H, Sakamoto, Hata K, Yoshida T, Matsumoto K, Kiyokawa N,

- Ohara A. ATF7IP as a novel PDGFRB fusion partner in acute lymphoblastic leukemia in children. *Br J Haematol*. 2014 Jun;165(6):836-41.
- ⑤ Yano M, Imamura T, Asai D, Moriya-Saito A, Suenobu SI, Hasegawa D, Deguchi T, Hashii Y, Kawasaki H, Hori H, Kosaka Y, Kato K, Horibe K, Yumura-Yagi K, Hara J, Matsumoto K, Kiyokawa N, Oda M, Sato A; for the Japan Association of Childhood Leukemia Study (JACLS). An overall characterization of pediatric acute lymphoblastic leukemia with 2 overexpression. *Genes Chromosomes Cancer*. 2014 Oct;53(10):815-23.
- ⑥ Kato M, Manabe A, Koh K, Inukai T, Kiyokawa N, Fukushima T, Goto H, Hasegawa D, Ogawa C, Koike K, Ota S, Noguchi Y, Kikuchi A, Tsuchida M, Ohara A. Treatment outcomes of adolescent acute lymphoblastic leukemia treated on Tokyo Children's Cancer Study Group (TCCSG) clinical trials. *Int J Hematol*. 2014 Aug;100(2):180-7.
- ⑦ Kobayashi K, Miyagawa N, Mitsui K, Matsuoka M, Kojima Y, Takahashi H, Ootsubo K, Nagai J, Ueno H, Ishibashi T, Sultana S, Okada Y, Akimoto S, Okita H, Matsumoto K, Goto H, Kiyokawa N, Ohara A. TKI dasatinib monotherapy for a patient with Ph-like ALL bearing ATF7IP/PDGFRB translocation. *Pediatr Blood Cancer*. 2014 Nov 14. [Epub ahead of print].
- ⑧ 清河信敬. 小児 Ph-like 急性リンパ芽球性白血病の臨床的および細胞遺伝学的特徴 (総説). *血液内科*. 2014 Aug;68(2):274-8.
- ⑨ Kawashima-Goto S, Imamura T, Seki M, Kato M, Yoshida K, Sugimoto A, Kaneda D, Fujiki A, Miyachi M, Nakatani T, Osone S, Ishida H, Taki T, Takita J, Shiraichi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Hosoi H. Identification of a homozygous JAK3 V674A mutation caused by acquired uniparental disomy in a relapsed early T-cell precursor ALL patient. *Int J Hematol*. 2014 Epub ahead of print
- ⑩ Chinen Y, Taki T, Tsutsumi Y, Kobayashi S, Matsumoto Y, Sakamoto N, Kuroda J, Horiike S, Nishida K, Ohno H, Uike N, Taniwaki M. The leucine twenty homeobox (LEUTX) gene, which lacks a histone acetyltransferase domain, is fused to KAT6A in therapy-related AML with t(8;19)(p11;q13). *Genes Chromosomes Cancer* 53: 299-308, 2014
- ⑪ Kobayashi S, Taki T, Nagoshi H, Chinen Y, Yokokawa Y, Kanegane H, Matsumoto Y, Kuroda J, Horiike S, Nishida K, Taniwaki M. Identification of novel fusion genes with 28S ribosomal DNA in hematologic malignancies. *Int J Oncol* 44: 1193-1198, 2014
- ⑫ Chinen Y, Sakamoto N, Nagoshi H, Taki T, Maegawa S, Tatekawa S, Tsukamoto T, Mizutani S, Shimura Y, Yamamoto-Sugitani M, Kobayashi T, Matsumoto Y, Horiike S, Kuroda J, Taniwaki M. 8q24 amplified segments involve novel fusion genes between NSMCE2 and long

- noncoding RNAs in acute myelogenous leukemia. *J Hematol Oncol* 7: 68, 2014
- ⑬ Kawamura M, Taki T, Kaku H, Ohki K, Hayashi Y. Identification of SPAG9 as a novel JAK2 fusion partner gene in paediatric acute lymphoblastic leukemia with t(9;17)(p24;q21). *Genes Chromosomes Cancer* in press
- ⑭ Seki M, Yoshida K, Shiraishi Y, Shimamura T, Sato Y, Nishimura R, Okuno Y, Chiba K, Tanaka H, Kato K, Kato M, Hanada R, Nomura Y, Park MJ, Ishida T, Oka A, Igarashi T, Miyano S, Hayashi Y, Ogawa S, Takita J. Biallelic DICER1 mutations in sporadic pleuropulmonary blastoma. *Cancer Res* 74:2742-9, 2014
2. 学会発表
- ① Iijima K, Kiyokawa N, Nakabayashi K, Ichikawa H, Osumi T, Yoshihara H, Ohki K, Kato M, Fukushima T, Shimada H, Mori T, Kinoshita A, Matsumoto K, Koh K, Kikuchi A, Hayashi Y, Manabe A, Ohara A. Investigation of Ph-like ALL by Gene Set Enrichment Analysis and Identification of Their Specific Expression Genes. The 19th Congress of the European Hematology Association. Milan, Italy, 12 - 15 June, 2014.
- ② Ohki K, Park M, Hara Y, Shiba N, Kiyokawa N, Fukushima T, Koh K, Manabe A, Ohara A, Hayashi Y. Genetic Abnormalities and Prognosis in Pediatric B-precursor Acute Lymphoblastic Leukemia Treated On Tokyo Children's Cancer Study Group Protocol. 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, CA, USA. December 6-9, 2014. .
- ③ Fukano R, Sunami S, Sekimizu M, Takimoto T, Mori T, Mitsui T, Mori T, Saito AM, Watanabe T, Ohshima K, Fujimoto J, Nakazawa A, Kiyokawa N, Kobayashi R, Horibe K, Tsurusawa M. The Clinical Features and Prognosis of Early T-Cell Precursor Subtype of Lymphoblastic Lymphoma in the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group ALB-NHL03 Study. 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, CA, USA. December 6-9, 2014.
- ④ 清河信敬. 小児急性白血病の immunophenotyping-中央診断と MRD モニタリング. (シンポジウム 6. 臨床検査におけるフローサイト活用の可能性). 第 61 回日本臨床検査医学会学術集会, 福岡, 11 月 23 日~12 月 25 日, 2014.
- ⑤ Iijima K, Kiyokawa N, Ueno H, Yoshihara H, Hasegawa D, Ohki K, Kato M, Fukushima T, Koh K, Hayashi Y, Manabe A, Ohara A. Gene expression and DNA methylation related to prognosis of childhood ALL without fusion genes. 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 10 月 31 日~11 月 2 日, 2014.
- ⑥ Ohki K, Ohkita H, Kobayashi K, Shiba N, Park M, Sotoatsu M, Fukushima T, Koh K, Hanada R, Manabe A, Kikuchi A, Tsutida M, Ohara A, Kiyokawa N, Hayashi Y. Analysis of iAMP21 and ERG genes in pediatric B-precursor ALL treated on TCCSG protocol. 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 10 月 31 日~11 月 2 日, 2014.
- ⑦ Kato K, Yamashita Y, Yoshimi A, Nakao T, Kobayashi C, Fukushima T, Koike K, Kiyokawa N, Horibe K, Tsuchida M. Molecular analysis of recurrent childhood acute lymphoblastic leukemia. 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 10 月 31 日~11 月 2 日, 2014.
- ⑧ Sano H, Ohki K, Park M, Shiba N, Hara Y, Sotomatsu M, Tomizawa D, Taga T, Kiyokawa N, Tawa A, Horibe K, Adachi S, Hayashi Y. CSF3R and CALR mutations and cytogenetic findings in pediatric myeloid malignancies. 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 10 月 31 日~11 月 2 日, 2014.

- ⑨ 石橋武士, 上野瞳, 小林健一郎, 大喜多肇, 清河信敬. Ph-like 関連新規キメラ遺伝子 ATF71P-PDGFRB はマウス Ba/F3 細胞に IL-3h 非依存性の増殖能を誘導する. 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 10 月 31 日 ~ 11 月 2 日, 2014.
- ⑩ Keino D, Nakano M, Kakuage S, Morimoto M, Tsuzuki Y, Kondoh K, Mori T, Goto H, Kiyokawa N, Kinoshita A. Decision making by drug susceptibility test and MRD monitoring for acute undifferentiated leukemia. 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 10 月 31 日 ~ 11 月 2 日, 2014.
- ⑪ Yano M, Imamura T, Asai D, Kiyokawa N, Nakabayashi K, Matsumoto K, Deguchi T, Hashii Y, Honda Y, Hasegawa D, Sasahara Y, Ishii M, Kato K, Kosaka Y, Hori H, Yumura-Yagi K, Hara J, Oda M, Horibe K, Ichikawa H, Sato A. Messenger RNA sequencing in pediatric B cell precursor acute lymphoblastic leukemia with IKZF1 deletion. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11 月 28 日 ~ 30 日, 2014.
- ⑫ Kobayashi K, Sara S, Ishibashi T, Ueno H, Okita H, Iijima K, Mitsui K, Matsuoka M, Kojima Y, Takahashi H, Miyagawa N, Goto H, Nagai J, Matsumoto K, Kiyokawa N, Ohara A. Companion diagnostics for a patient with Ph-like ALL bearing the PDGFRB fusion gene and response to second-generation TKI dasatinib 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11 月 28 日 ~ 30 日, 2014.
- ⑬ Suzuki R, Fukushima T, Fukushima H, Tanaka Y, Kobayashi C, Koike K, Manabe A, Noguchi E, Kiyokawa N, Sumazaki R. Polymorphism of MRP4 is associated with toxicity of maintenance chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11 月 28 日 ~ 30 日, 2014.
- ⑭ Ishibashi T, Ueno H, Kiyokawa N. Effects of ATF71P-PDGFRB, a novel Ph-like ALL-related chimeric molecule, on cell proliferation and stimulating intracellular signal transduction. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11 月 28 日 ~ 30 日, 2014.
- ⑮ 嶋晴子, 清河信敬, 谷澤昭彦, 黒澤秀光, 渡辺輝浩, 伊藤正樹, 遠野千佳子, 湯坐有希, 村松秀城, 堀田紀子, 岡田正樹, 嶋田博之. 小児慢性期 CML における治療反応性予測因子としての細胞表面マーカー解析. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11 月 28 日 ~ 30 日, 2014.
- ⑯ 大隅朋生, 塩田曜子, 清谷知賀子, 寺島慶太, 山崎文登, 増澤亜紀, 中澤温子, 清河信敬, 松本公一, 森鉄也. 標準 LMB 化学療法により治療された成熟 B 細胞性リンパ腫 10 例の検討. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11 月 28 日 ~ 30 日, 2014.
- ⑰ 飯島一智, 富田理, 石橋武士, 増澤亜紀, 大隅朋生, 森鉄也, 清河信敬. SNX2-ABL1 の機能解析とチロシンキナーゼ阻害剤抵抗性機序の解明. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11 月 28 日 ~ 30 日, 2014.
- ⑱ 松岡正樹, 三井一賢, 羽賀洋一, 小嶋晴子, 高橋浩之, 小原明, 小林健一郎, 清河信敬, 宮川直将, 後藤裕明. AML 型の再寛解導入療法が奏功した ATF71P/PDGFRB 融合遺伝子を伴う Ph-like ALL の一例. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11 月 28 日 ~ 30 日, 2014.
- ⑲ 出口隆生, 富澤大輔, 清河信敬, 堀部敬三, 駒田美弘. 乳児白血症における免疫学的表現型と臨床像の関係. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11 月 28 日 ~ 30 日, 2014.
- ⑳ 牛腸義宏, 清河信敬, 市川仁, 中林一彦, 上野瞳, 大隅朋生, 石橋武士, 寺田和樹, 大保木啓介, 坂本裕美, 塩田曜子, 今井雅子, 野口靖, 外山大輔, 秦健一郎, 吉田輝彦, 松本健治, 福島敬, 康勝好, 真部淳, 小原明. B 前駆細胞性急性リンパ芽球性白血病の新規融合遺伝子 EP300-

- ZNF384 - 新たなサブグループ第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11 月 28 日~30 日, 2014.
- 21 石丸紗恵, 齋藤雄弥, 横川裕一, 加藤元博, 清河信敬, 滝智彦, 金子隆, 湯坐有希. 低二倍体の急性リンパ芽球性白血病の 3 症例第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11 月 28 日~30 日, 2014.
- 22 渡邊大輔, 渡邊敦, 柚津晋平, 大城浩子, 赤羽弘資, 古市嘉行, 合井久美子, 清河信敬, 松本健治, 犬飼岳史, 杉田完爾. PAX5-ZNF521 融合遺伝子を認めた B 前駆細胞型急性リンパ性白血病(BCP-ALL)の 1 例第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11 月 28 日~30 日, 2014.
- 23 犬飼岳史, 滝智彦, 根本 篤, 赤羽弘資, 合井久美子, 黒田 格, 廣瀬衣子, 阿部正子, 加賀美恵子, 杉田完爾: 卵巣胚細胞腫から発症した急性骨髄性白血病のゲノム解析. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会. 2014 年 11 月 28 日
- 24 石丸紗恵, 齋藤雄弥, 横川裕一, 加藤元博, 清河信敬, 滝智彦, 金子隆, 湯坐有希: 低二倍体の急性リンパ芽球性白血病の 3 症例. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会. 2014 年 11 月 29 日
- 25 川村眞智子, 賀来秀文, 滝智彦, 大木健太郎, 林 泰秀: t(9;17)(p24;q21) をもつ思春期急性リンパ性白血病における新規 JAK2 融合遺伝子の同定. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会. 2014 年 11 月 30 日
- 26 Kato M, Manabe A, Ishimaru S, Tomizawa D, Hasegawa D, Inukai T, Arakawa Y, Aoki T, Okuya M, Kaizu K, Kato K, Taneyama Y, Koh K, Tsuchida M, Ohara A. Long-term outcome of six months maintenance chemotherapy for ALL in children: An extended follow up study of TCCSG L92-13. 56th Annual meeting of American Society of Hematology, 2014
- 27 Seki M, Yoshida K, Shiraichi Y, Chiba K, Tanaka H, Kato M, Hanada R, Miyano S, Hayashi Y, Ogawa S, Takita J. Whole exome and transcriptome analyses in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia 56th Annual meeting of American Society of Hematology, 2014
- 28 Seki M, Kato M, Ohyama R, Yoshida K, Sato Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Arakawa Y, Kishimoto H, Sanada M, Miyano S, Oka A, Hanada R, Ogawa S, Koh K, Takita J. Integrative genome analysis of T cell acute lymphoblastic leukemia with subsequent development of Langerhans cell histiocytosis 第 76 回日本血液学会
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
特になし

厚生労働科学研究委託費委託業務成果報告
(業務項目)

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
小児白血病におけるバイオマーカーによる早期診断技術の
確立と実用化に関する研究
委託業務成果報告

「難治性白血病におけるバイオマーカーの同定と実用化」

業務主任者又は担当責任者

眞田 昌 京都大学医学研究科腫瘍生物学講座
(独) 国立病院機構名古屋医療センター

研究要旨

再発小児 ALL における、再発に至るクローンの変化・推移を明らかとし、診療上、有用な新規マーカーの探索を目指すことを目的に、4 例の B-ALL 再発例について、初発時・再発時・寛解期検体を用いた全エクソン解析を行った。初発時と再発時の白血病クローンの遺伝学的な差異が明らかとなった。今後、継時的な検体の詳細な解析により、再発に至るクローンの変化がより明らかとなり、早期診断技術の確立に重要な知見が得られることが期待をされる。

A. 研究目的

小児 ALL の約 20%は再発し、再発率の低下と再発例に対する有効な治療法の確立が求められる。現行のリスク分類にて高リスクと判断される症例に対しては、積極的かつ強力な治療が行われているが、症例数では最も多い標準群からの再発については、再発リスクを評価できていない。本研究では、継時的に検体が採取・保存されている再発 ALL について、詳細な遺伝子解析を行うことにより、再発に至るクローンの変化・推移を明らかとし、診療上、有用な新規マーカーの探索を目指す。

B. 研究方法

初発時・寛解期・再発時の骨髓検体含め経時的な検体が保存されている試料から DNA

を抽出し、アジレント社 SureSelect と イルミナ社のシーケンサーを用いた、全エクソン解析による網羅的な遺伝子変異解析を行った。

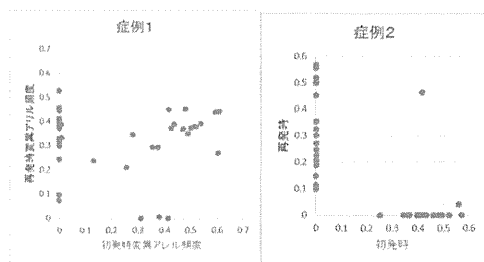
(倫理面への配慮)

JACLS (日本小児白血病研究会) の運営委員会による承認ならびに、検体提供施設ならびに京都大学医学研究科および名古屋医療センターにおける倫理審査委員会による審査・承認の上で行っている。

C. 研究結果

再発小児 B-ALL 症例 (n=4) の初発時・寛解期・再発時検体由来の DNA について全エクソン解析を行った。合計 106 個 (5~28 個/検体) のアミノ酸置換を伴う遺伝子変異が観察をされた。図・症例 1 に示すように、

初発時の白血病クローンが新たな変異を獲得し、再発に至ったと考えられる症例がある一方、初発時とは共通性の乏しい白血病クローンからの再発例も認められた(図・症例2)。



D. 考察

小児ALLの再発においても、初発時の白血病クローンからの変化が認められ、今後、更に症例数を増やし、臨床経過との関係なども明らかとする予定である。現在、継時的な検体を用いて、クローンの変化を詳細に解析中である。現行のMRDマーカーが感度以下の完全寛解期検体や初発時検体において、再発クローンが検出可能か明らかとすることにより、再発を早期に予知可能か、検討を行う。

E. 結論

再発小児B-ALL症例の初発時・寛解期・再発時検体由来のDNAについて全エクソン解析を行い、初発時と再発時の白血病クローンの遺伝学的な差異が明らかとなった。今後、継時的な検体の詳細な解析により、再発に至るクローンの変化がより明らかとなり、早期診断技術の確立に重要な知見が得られることが期待をされる。

F. 健康危険情報

該当せず。

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① Madan V, Kanojia D, Li J, Okamoto R, Sato-Otsubo A, Kohlmann A, Sanada M, Grossmann V, Sundaresan J, Shiraishi Y, Satoru M, Thol F, Ganser A, Yang H, Haferlach T, Ogawa S, Koefler HP. Aberrant splicing of U12-type introns is the hallmark of ZRSR2 mutant myelodysplastic syndrome. *Nature Commun.* 14;6:6042, 2015
- ② Nowak D, Liem NL, Mossner M, Klaumünzer M, Papa RA, Nowak V, Jann JC, Akagi T, Kawamata N, Okamoto R, Thoennissen NH, Kato M, Sanada M, Hofmann WK, Ogawa S, Marshall GM, Lock RB, Koefler HP. Variegated clonality and rapid emergence of new molecular lesions in xenografts of acute lymphoblastic leukemia are associated with drug resistance. *Exp Hematol.* 43(1):32-43.e35, 2015
- ③ Sato Y, Maekawa S, Ishii R, Sanada M, Morikawa T, Shiraishi Y, Yoshida K, Nagata Y, Sato-Otsubo A, Yoshizato T, Suzuki H, Shiozawa Y, Kataoka K, Kon A, Aoki K, Chiba K, Tanaka H, Kume H, Miyano S, Fukayama M, Nureki O, Homma Y, Ogawa S. Recurrent somatic mutations underlie corticotropin-independent Cushing's syndrome. *Science.* 344(6186):917-20, 2014

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

小児リンパ性腫瘍の分子発現に基づく予後層別化法の開発

清河 信敬 (独)国立成育医療研究センター研究所 小児血液・腫瘍研究部長

研究要旨： 小児の B 前駆細胞性急性リンパ芽球性白血病 (BCP-ALL) の新たな予後不良亜群である Ph-like ALL について、マイクロアレイ解析により、特徴的な発現を示す遺伝子群を同定した。その多くは、Ph1 ALL で特徴的な発現を示す遺伝子群と共通していたが、*CRLF2* のように Ph-like ALL にのみ、高発現している遺伝子も含まれていた。今後、さらに遺伝子を絞り込み、Ph-like ALL を判定可能な遺伝子セットの同定を目指す。

A. 研究目的

小児白血病の治療成績は、過去 40 年間で著しい改善を遂げ、特に急性リンパ芽球性白血病 (ALL) は、約 80%が治癒するとされる。しかし、残りの約 20%は再発し、造血幹細胞移植による救済が困難な症例も少なくないことから、再発率の低下と再発例に対する有効な治療法の確立が求められる。また、生命予後の改善により二次がんを含む晩発性副作用も問題視されている。現行のリスク分類において高リスクと判断される症例については、積極的かつ強力な治療が行われているが、一部の症例では、それでも十分な治療効果が得られない場合がある。一方、症例数では最も多い標準群からの再発については、再発リスクを評価できていないことになる。従って、現行の予後予測因子による層別化では、治療成績の一層の改善と副作用の軽減という、相反する 2 つの大きな課題を解決するには不十分であり、また現行の化学療法での治療強化の限界も存在する。そこで、本分担研究では、再発症例や高リスクと判断される症例について、その遺伝子あるいはタンパクレベルでの分子発現の特徴を明らかにし、これらの症例を診断時に予測可能な新規マーカーとなり得る分子発現の様式を探索・同定し、その診断的有用性について検討する。

B 前駆細胞性(BCP)-ALL は、小児がんで最も頻度が高い疾患であるが、多様な亜群を含んでおり、予後と強い相関を示す染色体の数的異常や種々のキメラ遺伝子が明らかにされている。中でも、*BCR-ABL1* 陽性 (Ph1) -ALL は全体の 5%程度を占め、著しく予後不良な難治性亜群であるが、融合遺伝子がコードする *BCR-ABL1* 蛋白がチロシンキナーゼ

(TK) として恒常的に活性化して病態に関与することが明らかになっている。しかし、近年臨床応用された TK 抑制剤 (TKI) により治療成績が劇的に改善しつつある。一方、BCP-ALL の約 1/3 は、B-others と総称される既知の遺伝子異常が検出されない症例群であるが、多様な亜群を含むと考えられ、その中に著しく予後不良な症例が存在するため、その層別化法開発がかいほつできれば、ALL 全体の QOL 向上に寄与することが期待される。これに対し、欧米において、近年、網羅的遺伝子発現プロファイリングにより、B-others の中の予後不良の症例の一部は、Ph1-ALL と類似した遺伝子プロファイルを示すことから、“Ph-like ALL” と呼ばれて注目を集めている。特に、多様な新規 TK 関連キメラを発現することが示され、TKI が有効な症例が存在することが明らかにされた。そこで、今年度は、“Ph-like ALL” の分子特性について解析を行ない、その層別化に有用と考える候補分子の探索を行なった。

B. 研究方法

1. 網羅的発現遺伝子解析：白血病細胞検体から total RNA を miRNeasy kit (Qiagen 社) で抽出し、各 50 ng を用いて WT-Ovation Pico RNA Amplification System (NuGen 社) により cDNA を合成、増幅し、Biotin 標識した後、Affimetrix 社 GeneChip Human Genome U133 Plus 2.0 Array により網羅的遺伝子発現を行った。得られたデータは解析ソフト GeneSpring (Agilent 社) を用いて解析した。チロシンキナーゼ関連キメラ遺伝子の検出は、すでに得られている塩基配列情報に基づいてプライマーを設計し、RT-PCR と direct sequencing によって行なった。

2. 細胞マーカー解析：骨髓液あるいは末梢血液について、FITC, PE, ECD, PC5.5, PC7, APC, APC-Alexa-700, APC-Alexa-750, Pacific-Blue, Krome-Orange の 10 種類の異なる蛍光色素で標識した単クローン性抗体のセットによる全血法の蛍光染色を行った。溶血後、FCM (Gallios, Beckman-Coulter 社) を用いて 10 カラー解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究で行った臨床検体を用いた研究は、関連法規を遵守し、倫理委員会ならびに実施機関長の承認を経た上で、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実施した。

C. 研究結果

1. Ph-like ALL の遺伝子発現解析：われわれは、先行研究において、本邦においても Ph-like ALL に相当する症例が存在し、海外の報告と同様に予後不良であることを明らかにしている。また、Ph-like ALL の同定法として Gene Set Enrichment analysis (GSEA) を応用することで、個々の症例の診断が可能であることを示した。そこで、今年度は、先行研究で解析を行なった東京小児がん研究グループ (TCCSG) の第 16 次治療研究 (L04/06-16、2004~2007) に登録された BCP-ALL235 例 (うち B-others 154 例) のマイクロアレイデータを用いて、Ph1/Ph-like ALL と非 Ph-like ALL の比較において、発現に有意な差を認める遺伝子について検討を行った。

B-others と診断された 154 例を、Ph-like (14 例) と非 Ph-like (140) にわけ、Ph1 ALL 9 例を加えた 3 群間で、発現に差がある遺伝子を抽出した。まず、 $p < 0.05$ で 2 倍以上の発現の差がある遺伝子について解析を行なった。Ph1 ALL と非 Ph-like 群の比較において、発現に差を認めた遺伝子は、高発現 2,662、低発現 3,561 であった。一方、Ph-like ALL と非 Ph-like 群の比較において発現に差を認めた遺伝子は、高発現 435、低発現 984 であった。このうち、Ph1 ALL と Ph-like ALL で共通して、非 Ph-like の B-others に対して発現に差を認めた遺伝子は、高発現 307、低発現 364 であった。そこで、さらに条件を厳しく設定して絞り込みを行ない、発現の差が 3 倍以上である遺伝子を抽出したところ、高発現 33 遺伝子、低発現 32 遺伝子が同定された。

Ph1 ALL と Ph-like ALL で共通して非 Ph-

like に対して高発現を認めた遺伝子には Synaptic vesicle glycoprotein 2C, Enamelin, neurexin 3, Myosin IB, S100 calcium binding protein Z, Wingless-type MMTV integration site family member 9A, Semaphorin 6A, Interleukin 2 receptor α (CD25) 等が、低発現遺伝子には Spermatogenesis associated 6, G protein-coupled receptor, family C, group 5, member B, Neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 4-like, Hepatoma-derived growth factor, related protein 3 等が含まれていた。

一方、Ph-like のみで、非 Ph-like に対して発現に差を認めた遺伝子に着目すると、高発現遺伝子の中には、Down syndrome critical region gene 6、Cytokine receptor-like factor 2 (CRLF2)、LIM domain binding 3 等が、また低発現遺伝子の中には、ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 4、Notch homolog 3、Cyclin A1 等が含まれていた。

以上の結果について検証する目的で、小児白血病研究会 (JACLS) の IKZF1 遺伝子欠損が確認されている BCP-ALL 18 例と TCCSG L07-1602 研究登録症例 18 例の計 36 例について、新たにマイクロアレイ解析を行なった。GSEA 解析を行なったところ、この中に Ph-like と判定される症例が含まれており、このうち一部の症例では Ph-like 関連のキメラの存在が確認された。遺伝子発現プロファイルについて解析を行なったところ、上記と同様な遺伝子発現の特徴を認めたが、症例数が少ない関係で、発現の差の程度は異なっていた。

2. Ph-like ALL の細胞マーカー解析：われわれは、先行研究において、Ph-like ALL は、表面マーカーの特徴も Ph1 ALL に類似しており、CD66c 陽性例の割合が高いことが特徴的で、骨髓系抗原や CD27、T 細胞抗原を発現する症例が比較的多いことを明らかにしている。そこで、今年度は、さらに Ph-like ALL の細胞マーカーの特徴に関して検討を行った。

まず、TCCSG L07-1602 のうち、Ph-like ALL と判定された症例について、そのマーカー所見の特徴について検討した所、上記に示した細胞マーカーの特徴が確認された。また、CRLF2 の発現について検討したところ、BCP-ALL 全体の 2-3% に陽性であることを確認した。CRLF2 タンパク陽性例では、ほぼ確実に、*P2RY8-CRLF2* あるいは *IgH@-CRLF2* いずれかの *CRLF2* 関連のキメラ遺伝子が認められた。しかし、*CRLF2* 関連のキメラ遺伝子陽性例についてマイクロアレイによ

る発現解析を行ない、そのプロファイルについて検討したところ、少数の症例については必ずしも Ph-like のパターンを示さないことが明らかになった。

上記 1. の遺伝子発現解析によって同定された、Ph1 ALL および Ph-like ALL に特徴的な発現遺伝子のうち、マーカー解析が可能な Semaphorin 6A と CD25 について、BCP-ALL における発現を検討した。約 200 例の BCP-ALL の解析の結果、いずれの抗原も、陽性症例は非常に少なく、数%以下であった。CD25 については、明らかに陽性と判定できる症例を経験したが、Semaphorin 6A については、弱陽性か非特異的な結合か判断が難しい場合がほとんどであった。

Ph-like ALL の機能的な細胞マーカー解析として、抗リン酸化特異的抗体を用いたフローサイトメトリー法の、臨床応用に向けた検討に着手した。今年度は、CML の急性転化細胞株や、Ph1 ALL 細胞株を用いて、リン酸化チロシン、リン酸化 STAT5、リン酸化 CRKL、リン酸化 MAP キナーゼ、リン酸化 AKT 等の検出条件を設定し、TKI 転化によるリン酸化の抑制を検出可能であることを確認した。しかし、全般に臨床検体の場合には、細胞株と比較してリン酸化の程度が低いと考えられることから、さらに、至適な条件の検討が必要と考えられた。

D. 考察

1. Ph-like ALL の遺伝子発現解析：今回の検討で、Ph-like ALL に特徴的な遺伝子発現プロファイルが明らかになった。その多くは、Ph1 ALL の特徴と共通していたが、*CRLF2* のように Ph-like ALL にのみ、高発現している遺伝子も含まれていた。今後、診断法としての臨床応用を目指すためには、さらに遺伝子を絞り込み、Ph-like ALL を判定可能な遺伝子セットを同定する必要がある。また、マイクロアレイによる検出では、臨床検査としてコスト的にも、時間的にも、現実的ではないので、今後、Multiplex PCR などの方法で、迅速かつ合理的なコストで診断可能な検査法の確立についても検討を進める。

2. Ph-like ALL の細胞マーカー解析：フローサイトメトリー法による細胞マーカー解析は、簡便で迅速に結果を得られることから、適切なマーカーが同定されれば、非常に有用な診断ツールとなり得る可能性を持っている。

しかし、現状では、細胞マーカーの特徴から、Ph-like ALL をある程度絞り込むことは可能であるが、確実に診断可能なマーカーは *CRLF2* のみであり、*CRLF2* 陽性であっても、一部の症例は Ph-like の形質を示さない場合があることが明らかになった。遺伝子発現解析から同定された CD25 や、Semaphorin 6A に、Ph-like ALL の新たなバイオマーカーとしての期待がもたれるが、適切なカットオフ値の設定も含め、今後さらに検討が必要である。また、細胞内リン酸化タンパクのフローサイトメトリー法による検出も、Ph-like ALL を機能的に判定できる可能性があることから、その診断法として期待がもたれるが、臨床検査として応用するには、さらに条件検討を要する。

E. 結論

小児 ALL の新たな予後不良亜群である Ph-like ALL について、特徴的な発現を示す伝子群が明らかになり、その多くは、Ph1 ALL の特徴と共通するものの、*CRLF2* のように Ph-like ALL にのみ特徴的な発現遺伝子も存在することが明らかになった。今後、今回得られた知見をもとに、診断法への応用を目指して、さらに検討を進める。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kobayashi K, Mitsui K, Ichikawa H, Nakabayashi K, Matsuoka M, Kojima Y, Takahashi H, Iijima K, Ootsubo K, Oboki K, Okita H, Yasuda H, Sakamoto, Hata K, Yoshida T, Matsumoto K, Kiyokawa N, Ohara A. ATF7IP as a novel PDGFRB fusion partner in acute lymphoblastic leukemia in children. *Br J Haematol.* 2014 Jun;165(6):836-41. doi: 10.1111/bjh.12834.
- 2) Yano M, Imamura T, Asai D, Moriya-Saito A, Suenobu SI, Hasegawa D, Deguchi T, Hashii Y, Kawasaki H, Hori H, Kosaka Y, Kato K, Horibe K, Yumura-Yagi K, Hara J, Matsumoto K, Kiyokawa N, Oda M, Sato A; for the Japan Association of Childhood Leukemia Study (JACLS). An overall characterization of pediatric acute lymphoblastic leukemia with 2 overexpression. *Genes Chromosomes Cancer.* 2014 Oct;53(10):815-23. doi: 10.1002/gcc.22190. Epub 2014 Jun 17.
- 3) Kato M, Manabe A, Koh K, Inukai T, Kiyokawa N, Fukushima T, Goto H, Hasegawa D, Ogawa C, Koike K, Ota S, Noguchi Y, Kikuchi A, Tsuchida M, Ohara A. Treatment outcomes of adolescent acute lymphoblastic leukemia treated on Tokyo Children's Cancer Study Group (TCCSG) clinical trials. *Int J Hematol.* 2014 Aug;100(2):180-7. doi: 10.1007/s12185-014-1622-y. Epub 2014 Jun 18.
- 4) Kobayashi K, Miyagawa N, Mitsui K, Matsuoka

M, Kojima Y, Takahashi H, Ootsubo K, Nagai J, Ueno H, Ishibashi T, Sultana S, Okada Y, Akimoto S, Okita H, Matsumoto K, Goto H, Kiyokawa N, Ohara A. TKI dasatinib monotherapy for a patient with Ph-like ALL bearing ATF7IP/PDGFRB translocation. *Pediatr Blood Cancer*. 2014 Nov 14. doi: 10.1002/pbc.25327. [Epub ahead of print].

5) 清河信敬. 小児 Ph-like 急性リンパ芽球性白血病的臨床的および細胞遺伝学的特徴 (総説). *血液内科*. 2014 Aug;68(2):274-8.

2. 学会発表

1) Iijima K, Kiyokawa N, Nakabayashi K, Ichikawa H, Osumi T, Yoshihara H, Ohki K, Kato M, Fukushima T, Shimada H, Mori T, Kinoshita A, Matsumoto K, Koh K, Kikuchi A, Hayashi Y, Manabe A, Ohara A. Investigation of Ph-like ALL by Gene Set Enrichment Analysis and Identification of Their Specific Expression Genes. The 19th Congress of the European Hematology Association. Milan, Italy, 12 - 15 June, 2014.

2) Ohki K, Park M, Hara Y, Shiba N, Kiyokawa N, Fukushima T, Koh K, Manabe A, Ohara A, Hayashi Y. Genetic Abnormalities and Prognosis in Pediatric B-precursor Acute Lymphoblastic Leukemia Treated On Tokyo Children's Cancer Study Group Protocol. 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, CA, USA. December 6-9, 2014.

3) Fukano R, Sunami S, Sekimizu M, Takimoto T, Mori T, Mitsui T, Mori T, Saito AM, Watanabe T, Ohshima K, Fujimoto J, Nakazawa A, Kiyokawa N, Kobayashi R, Horibe K, Tsurusawa M. The Clinical Features and Prognosis of Early T-Cell Precursor Subtype of Lymphoblastic Lymphoma in the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group ALB-NHL03 Study. 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, CA, USA. December 6-9, 2014.

4) 清河信敬. 小児急性白血病の immunophenotyping-中央診断と MRD モニタリング. (シンポジウム 6. 臨床検査におけるフローサイト活用の可能性). 第 61 回日本臨床検査医学会学術集会, 福岡, 11 月 23 日~12 月 25 日, 2014.

5) Iijima K, Kiyokawa N, Ueno H, Yoshihara H, Hasegawa D, Ohki K, Kato M, Fukushima T, Koh K, Hayashi Y, Manabe A, Ohara A. Gene expression and DNA methylation related to prognosis of childhood ALL without fusion genes. 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 10 月 31 日~11 月 2 日, 2014.

6) Ohki K, Ohkita H, Kobayashi K, Shiba N, Park M, Sotoatsu M, Fukushima T, Koh K, Hanada R, Manabe A, Kikuchi A, Tsutida M, Ohara A, Kiyokawa N, Hayashi Y. Analysis of iAMP21 and ERG genes in pediatric B-precursor ALL treated on TCCSG protocol. 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 10 月 31 日~11 月 2 日, 2014.

7) Kato K, Yamashita Y, Yoshimi A, Nakao T,

Kobayashi C, Fukushima T, Koike K, Kiyokawa N, Horibe K, Tsuchida M. Molecular analysis of recurrent childhood acute lymphoblastic leukemia. 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 10 月 31 日~11 月 2 日, 2014.

8) Sano H, Ohki K, Park M, Shiba N, Hara Y, Sotomatsu M, Tomizawa D, Taga T, Kiyokawa N, Tawa A, Horibe K, Adachi S, Hayashi Y. CSF3R and CALR mutations and cytogenetic findings in pediatric myeloid malignancies. 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 10 月 31 日~11 月 2 日, 2014.

9) 石橋武士, 上野瞳, 小林健一郎, 大喜多肇, 清河信敬. Ph-like 関連新規キメラ遺伝子 ATF71P-PDGFRB はマウス Ba/F3 細胞に IL-3h 非依存性の増殖能を誘導する. 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 10 月 31 日~11 月 2 日, 2014.

10) Keino D, Nakano M, Kakuage S, Morimoto M, Tsuzuki Y, Kondoh K, Mori T, Goto H, Kiyokawa N, Kinoshita A. Decision making by drug susceptibility test and MRD monitoring for acute undifferentiated leukemia. 第 76 回日本血液学会学術集会, 大阪, 10 月 31 日~11 月 2 日, 2014.

11) Yano M, Imamura T, Asai D, Kiyokawa N, Nakabayashi K, Matsumoto K, Deguchi T, Hashii Y, Honda Y, Hasegawa D, Sasahara Y, Ishii M, Kato K, Kosaka Y, Hori H, Yumura-Yagi K, Hara J, Oda M, Horibe K, Ichikawa H, Sato A. Messenger RNA sequencing in pediatric B cell precursor acute lymphoblastic leukemia with IKZF1 deletion. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11 月 28 日~30 日, 2014.

12) Kobayashi K, Sara S, Ishibashi T, Ueno H, Okita H, Iijima K, Mitsui K, Matsuoka M, Kojima Y, Takahashi H, Miyagawa N, Goto H, Nagai J, Matsumoto K, Kiyokawa N, Ohara A. Companion diagnostics for a patient with Ph-like ALL bearing the PDGFRB fusion gene and response to second-generation TKI dasatinib. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11 月 28 日~30 日, 2014.

13) Suzuki R, Fukushima T, Fukushima H, Tanaka Y, Kobayashi C, Koike K, Manabe A, Noguchi E, Kiyokawa N, Sumazaki R. Polymorphism of MRP4 is associated with toxicity of maintenance chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11 月 28 日~30 日, 2014.

14) Ishibashi T, Ueno H, Kiyokawa N. Effects of ATF7IP-PDGFRB, a novel Ph-like ALL-related chimeric molecule, on cell proliferation and stimulating intracellular signal transduction. 第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11 月 28 日~30 日, 2014.

15) 嶋晴子, 清河信敬, 谷澤昭彦, 黒澤秀光, 渡辺輝浩, 伊藤正樹, 遠野千佳子, 湯坐有希, 村松秀城, 堀田紀子, 岡田正樹, 嶋田博之. 小児慢性期 CML における治療反応性予測因子としての細胞表面マーカー解析. 第 56 回日本小児

血液・がん学会学術集会, 岡山, 11月28日～30日, 2014.

16) 大隅朋生, 塩田曜子, 清谷知賀子, 寺島慶太, 山崎文登, 増澤亜紀, 中澤温子, 清河信敬, 松本公一, 森鉄也. 標準LMB化学療法により治療された成熟B細胞性リンパ腫10例の検討. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11月28日～30日, 2014.

17) 飯島一智, 富田理, 石橋武士, 増澤亜紀, 大隅朋生, 森鉄也, 清河信敬. SNX2-ABL1の機能解析とチロシンキナーゼ阻害剤抵抗性機序の解明. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11月28日～30日, 2014.

18) 松岡正樹, 三井一賢, 羽賀洋一, 小嶋靖子, 高橋浩之, 小原明, 小林健一郎, 清河信敬, 宮川直将, 後藤裕明. AML型の再寛解導入療法が奏功したATF71P/PDGFRB融合遺伝子を伴うPh-like ALLの一例. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11月28日～30日, 2014.

19) 出口隆生, 富澤大輔, 清河信敬, 堀部敬三, 駒田美弘. 乳児白血病における免疫学的表現型と臨床像の関係. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11月28日～30日, 2014.

20) 牛腸義宏, 清河信敬, 市川仁, 中林一彦, 上野瞳, 大隅朋生, 石橋武士, 寺田和樹, 大保木啓介, 坂本裕美, 塩田曜子, 今井雅子, 野口靖, 外山大輔, 秦健一郎, 吉田輝彦, 松本健治, 福島敬, 康勝好, 真部淳, 小原明. B前駆細胞性急性リンパ芽球性白血病の新規融合遺伝子EP300-ZNF384 - 新たなサブグループ. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11月28日～30日, 2014.

21) 石丸紗恵, 斎藤雄弥, 横川裕一, 加藤元博, 清河信敬, 滝智彦, 金子隆, 湯坐有希. 低二倍体の急性リンパ芽球性白血病の3症例. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11月28日～30日, 2014.

22) 渡邊大輔, 渡邊敦, 杣津晋平, 大城浩子, 赤羽弘資, 古市嘉行, 合井久美子, 清河信敬, 松本健治, 犬飼岳史, 杉田完爾. PAX5-ZNF521融合遺伝子を認めたB前駆細胞型急性リンパ性白血病(BCP-ALL)の1例. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会, 岡山, 11月28日～30日, 2014.

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