

(平成 23 年度研究報告書)

課題番号 1 1 小児白血病の原因究明に向けた基盤的研究

水谷 修紀 東京医科歯科大学小児科

## 研究の分類・属性

基礎系

## 研究の概要

小児白血病は遺伝的要因と環境要因が第一ヒットとして胎児期あるいは生後の造血幹細胞／前駆細胞に作用する中で白血病前駆細胞として誕生し、付加的な遺伝子異常を獲得する中で白血病幹細胞が進化を遂げる結果生じる。本研究においては6名の班員がこの過程の中の各段階を分担する。発がん傾向の強い遺伝病を手がかりに小児白血病の原因究明を行う。ヒトでは解析できない胎児期の事象についてマウスモデルにおいて検証し、遺伝的要因や環境要因を同定する。これは将来遺伝因子や環境因子に対する対策の開発や排除に向けた社会的、行政的取り組みの基盤作りに役立つ。小児白血病幹細胞の性質について免疫不全マウスを用いて解析する。細胞周期、造血、浸潤の微小環境という多面的な側面から分析し、小児難治性白血病発症をきたす幹細胞分画の同定、微小環境への浸潤能の評価や理論的な治療法の構築が可能になる。胎児や成体の造血発生を視野に入れ、その臨床的多様性と分子病態の特徴を発見することにより白血病の層別化の精度を向上させ、従来の研究では明らかにできなかったリスク分類を可能にする。本研究班では上記の各段階に研究者を配置し、全体の研究によって予後因子の究明（短期的）、動物モデルによる基盤研究と新規治療法開発（中長期的）、遺伝的、環境的リスク因子の究明（長期的）を目指し、小児白血病の予防と新規治療法開発により患者の救命／QOL向上に資する。全ての班員は所属施設の倫理委員会の承認を受け、臨床研究、ゲノム解析ならびに関連する他の倫理指針に準拠して研究を実施する。

## 平成 23 年度研究経費

11,565 千円

## 研究班の組織

水谷 修紀 東京医科歯科大学教授 小児白血病の発生要因に関する基盤的研究

石川 文彦	理化学研究所ユニットリーダー	乳児白血病幹細胞の同定および幹細胞性質の解析
中畑 龍俊	京都大学iPS細胞研究所・特定拠点教授	in vivo model を用いた小児難治性白血病、骨髄異形成症候群における病態解析及び治療法の開発に関する研究
市川 仁	国立がん研究センター研究所 ユニット長	小児AMLの多様性の生物学的背景に関する解析と診療応用
林 泰秀	群馬県立小児医療センター 院長	小児白血病の遺伝子解析とその臨床への応用
青木 洋子	東北大学 准教授	先天奇形症候群に合併する腫瘍の発生メカニズムの解明

## 研究の目的と到達目標及び実績要点

小児白血病は胎児期に1st hitを受け、付加的遺伝子異常を獲得して発病に至る(M. Greaves 2005)。疾患の発生には遺伝的要因と環境要因が複雑に絡んでいる。この複雑な要因を解明するためには下記の要点が重要である。

- 1 小児白血病発症要因における遺伝的／発生学的要因の解明
- 2 ヒト白血病化マウスの確立による病態解明
- 3 小児白血病の細胞生物学的特徴と臨床的意義の解明

全期間

(目的と到達目標)：

### 1 小児白血病発症要因における遺伝的／発生学的要因の解明：

胎生期における発がん要因としてゲノム異常や環境要因に着目した研究を行う。特にゲノムの監視機構に着目し、遺伝的負荷を持つマウスモデルを用いて転座の発生機構や転座に起因する分子病態を利用した治療法の解明を行う。奇形とがん発生の関係に関するメカニズムを先天性奇形症候群の臨床例を用いて研究を行う。これにより胎生期の発がん要因としての遺伝的／環境要因を解明する。基礎生物学の側面から損傷修復機構や発がん機構を利用した新規治療法の開発にも努める。

### 2 ヒト白血病化マウスの確立による病態解明：

超免疫不全マウスの造血系ヒト化モデルを作成する。これにより予後不良な白血病における白血病幹細胞に着目した病態解明と創薬の実現を図る。

### 3 小児白血病の細胞生物学的特徴と臨床的意義の解明：

小児白血病の遺伝子発現プロファイル解析により、臨床的多様性に寄与している分子群を同定する。このような事象を検証し、新しい分子標的薬の開発に努める。小児白血病の臨床検体において変異の解析を行ない、発症、進展に関する遺伝子を抽出し、治療方針の策定に寄与する。

第2年次

(到達目標)

### 1 小児白血病発症要因における遺伝的／発生学的要因の解明：

高発がん遺伝病マウスモデルを使って染色体転座の機構を明らかにする。易発癌性を示す奇形症候群 (RAS/MAPK 症候群) の新規遺伝子を明らかにし、腫瘍合併頻度や腫瘍合併メカニズムを明らかにする。

### 2 ヒト白血病化マウスの確立による病態解明：

ヒト白血病化マウスにおいて白血病における染色体転座毎の白血病幹細胞と階層性を明らかにする。同実験系を用いて白血病幹細胞をめぐる骨髄内微小環境のみならず髄外微小環境を含めた病態の発症機構、薬剤耐性発症機構を解析し、新規の治療基盤技術開発を目指す。

### 3 小児白血病の細胞生物学的特徴と臨床的意義の解明:

造血細胞における遺伝子発現を解析し、予後不良と相関する新規遺伝子 PPRG1 を見出したので、その詳細な検討を行う。LEF1 遺伝子や Interleukin-7 受容体 (IL-7R) の変異と臨床像の関係を検討する。さらに SNP アレイを用いて T-ALL と T-NHL の発症と進展に関与する新規遺伝子探索を行う。

(年次評価時点の実績要点)

#### 1 小児白血病発症要因における遺伝的/発生的要因の解明:

ゲノム不安定性疾患モデル動物である ATM 欠損マウス T 細胞における染色体転座の発症機構を解析し、胸腺分化過程の極めて限られた段階 (Double Negative 3 期) で発生する事を世界で始めて明らかにした。臨床的にコストロ症候群が疑われた症例で高頻度 (21/32) に 4 種類の HRAS 遺伝子変異を同定した。変異の機能的な検討を行い K117R、A146T 変異ではコドン 12, 13 の変異に比べ、下流の分子の転写活性の上昇は軽度でることやその変異すべてで細胞老化が引き起こされることが判明した。細胞老化が、コストロ症候群の一部の臨床症状の病因に関与している可能性が示唆された。

#### 2 ヒト白血病化マウスの確立による病態解明:

MLLAF-9 では、CD34-CD19+ のみに白血病形成能を有する細胞が存在した。MLL-AF4 では、CD34+CD38+CD19+, CD34-CD19+ の二つの白血病細胞分画に白血病形成能が存在する、明確な違いが確認され、またこの二つの細胞分画では、IGH rearrangement パターンから類似したものであることが確認された CD34+CD38- については、MLL-AF9 では、すべて正常造血幹細胞であることが示唆された。一方、MLL-AF4 では、特に CD19 陽性のものが白血病細胞であることが分かった。

小児 ALL 患者の白血病細胞を免疫不全マウスに投与し、肝脾腫などの髄外浸潤を含めたヒト白血病を再構築させた。胆管周囲に増殖している細胞は CXCR4 を発現しており、リガンドである SDF-1 (CXCL12) は胆管上皮細胞で強く発現していることから、肝臓の胆管上皮細胞が白血病髄外微小環境として SDF-1/CXCR4 axis を介して白血病細胞の増殖を支持している可能性が示された。この白血病化 NOG マウスに CXCR4/SDF-1 axis 阻害薬である AMD3100 を投与すると、肝臓での ALL 細胞の再増加を防ぐとともに、全身性の白血病再発を防ぎ、白血病 NOG マウスの生命予後をも有意に改善したことから、新たな治療戦略となる可能性を示した。

#### 3 小児白血病の細胞生物学的特徴と臨床的意義の解明:

造血細胞における遺伝子発現により予後不良と相関する新規遺伝子 PPRG1 と EVI1 を見出した。EVI1 と PPRG1 の発現は相互排他的で、PPRG1 は MLL 転座以外の小児 AML において予後不良と相関し、EVI1 と PPRG1 の組合せが、従来中間リスク群とされて来た症例のリスク分類において極めてよい予後マーカーとなることを示した。

LEF1 遺伝子の異常は、138 例中 15 例 (10.9%) に認められた。LEF1 遺伝子異常は、初発時の白血球数、性別、縦隔腫瘍、中枢神経浸潤との相関は認めず、10 歳未満の年少児に多い傾向にあった。また、LEF1 遺伝子異常は、T cell の分化の

過程において cortical stage までの未熟な T-ALL に多く認められた。LEF1 遺伝子異常と予後については、有意な相関を認めなかった。JACLS の T-ALL 55 例と T-NHL 14 例について IL-7R 遺伝子の解析を行った。5.8% (4/69 例) に IL-7R 遺伝子の異常を認めた。

## 研究成果と考察

### 第2年次評価時点

#### 1 小児白血病発症要因における遺伝的/発生学的要因の解明

ゲノムの不安定性は遺伝的に決定づけられている可能性がある。その代表は毛細血管拡張性小脳失調症(AT)であり、本疾患では高頻度に T 細胞抗原受容体 (TCR) 関連領域の染色体転座を有する末梢血 T リンパ球、白血病リンパ腫がみられる。そこで ATM<sup>-/-</sup>マウスの T 細胞分化段階における転座発生の好発期をとらえる試みを行った。ATM<sup>-/-</sup>マウスの Double Negative (DN) 期 T 細胞の *in vivo*, *in vitro* の解析から、DN3a (細胞内 TCRB 陰性) から DN3b 期 (細胞内 TCRB 陽性) への移行不良を確認した。移行不良の原因は、ATM 欠損による胸腺ストローマの障害でも DN3 からの分化プログラムの障害でもなく、TCR β 鎖再構成異常と結論付けられた。さらに、ATM<sup>-/-</sup>リンパ腫で好発する 14 番染色体転座を *in vitro* の分化誘導系を用いて TCRD 鎖上流、下流のプロンプを用いて FISH 法による解析を実施した。DN2-3a では、TCRD 鎖の切断を約 5% に、DN3b-4 では染色体転座を約 10% に検出でき、DN3a-3b の移行期に染色体転座を生じることが示された。転座発生の時期を絞り込む事に成功し、これをヒトで *in vitro* モデル化できれば、創薬スクリーニングアッセイ系に利用できる事がわかった。

先天奇形症候群の一つであるコストロ症候群で同定される変異の約 95% は HRAS の 12、13 番目のグリシンに集中するが、変異ごとの機能的な相違と臨床像との関連は未だ明らかでない。今回、臨床的にコストロ症候群が疑われた 32 例の 21 例に 4 種類の HRAS 遺伝子変異を同定した。HRAS 変異体 9 種類を培養細胞に導入し、RAS-RAF binding assay を行ったところ、Ala146Val 変異では RAF と結合した RAS の増加は Gly12Ser 等と比べ軽度であった。また RAS シグナル下流の転写活性を 2 種類調べたところ、Lys117Arg、Ala146Val 変異では Gly12Ser 等と比べ転写活性の上昇は軽度であった。これらの結果から、Lys117Arg および Ala146Val を持つコストロ症候群患者の臨床症状が典型例に比べやや軽度であるのは、変異体のシグナル伝達経路下流への影響が弱いためである可能性が示唆された。また、ヒト線維芽細胞にコストロ症候群で同定された変異を導入し細胞老化が起こるかを検証したところ、9 種類の変異すべてで細胞老化が引き起こされた。細胞老化が、コストロ症候群の一部の臨床症状の病因に関与している可能性が示唆された。

#### 2 ヒト白血病化マウスの確立による病態解明

MLL 再構成陽性の乳児 ALL (MLL-AF4 : 12 例、MLL-ENL : 7 例、MLL-AF9 : 4 例) の白血病細胞における CD34、CD38 の表面抗原の解析を行い、MLL-AF4 では CD34+CD38+ 分画と CD34- 分画の両者が見られる検体が多く、MLL-ENL 症例においては CD34+CD38+ 細胞優位な症例と CD34(-) 細胞優位な症例とに分かれ、MLL-AF9 症例においては解析した症例すべてにおいて CD34- 分画が 95% 以上という結果を得た。これらの MLL 再構成陽性の乳児 ALL の患者検体を用い、CD34+CD38+CD19+、CD34-CD19+ 細胞を新生仔超免疫不全マウスに移植した。MLL-AF9 症例については、CD34-CD19+ 分画が leukemia-initiating cells であることが確認された。MLL-AF4、MLL-ENL については、CD34+CD38+、CD34(-) 細胞、両者に白血病形成能が存在することが明らかになった。MLL 再構成という遺伝子異常に伴う特徴を見出し、治療標的を同

定する目的で、CD34、CD38 という表面抗原の発現から得られるサブセットごとの遺伝子発現解析を進めている。既に作成したヒト白血病マウスモデルを用い、白血病細胞の髄外浸潤について検討した。その結果前処置なしで、患者由来白血病細胞がマウス末梢血・骨髄の9割以上を占拠し、臓器腫大（脾臓・肝臓など）、中枢神経浸潤を伴うマウスを反復して作り出すことが可能であり、治療前後の各段階で各臓器における白血病細胞の前処置の影響を受けない段階的、病理解析が可能となった。さらに肝臓の胆管上皮細胞が CXCR4/SDF-1 axis を介して白血病微小環境として白血病細胞を支持している可能性が示唆された。化学療法後には静止期にいる細胞が肝臓内微小環境に残存し、再発に寄与していることがわかった。また、CXCR4/SDF-1 axis を阻害することで化学療法後の再発を防ぎ、白血病化マウスの生命予後を有意に改善することを示した。このように治療モデルの作成に成功した意義は大きい。

### 3 小児白血病の細胞生物学的特徴と臨床的意義の解明

AML99 研究の 130 症例の遺伝子発現プロファイル解析を行い、小児 AML がその遺伝子発現パターンに基づいて t(8;21)、inv(16)、t(15;17)、FAB-M0/M1/M2、FAB-M4/M5、FAB-M7 の 6 つのサブタイプに分かれることを示すとともに、遺伝子発現データを用いてこれら 6 つのサブタイプに分類・診断するアルゴリズムを作成した。しかし、成人で予後と相関するとされる *BAALC*、*ERG*、*MNI* 遺伝子の高発現は予後との相関を示さなかった。一方、*EVII* 遺伝子は FAB-M4/M5、FAB-M7 サブタイプに高発現症例が見られ、FAB-M4/M5 サブタイプ、特に 11q23 転座症例においてその高発現が予後不良と強い相関を示した。また、新規予後不良相関遺伝子として、FAB-M0/M1/M2、FAB-M4/M5 サブタイプにおいて予後と相関する遺伝子 *PPRGI* (poor prognosis-related gene 1) を見出した。*EVII* 遺伝子と *PPRGI* 遺伝子の発現は相互排他的で、t(8;21)、inv(16)、t(15;17)、M7 以外の症例において、どちらも低発現の症例の 4-year EFS が 75% (20 症例) なのに対し、どちらかを高発現している症例の 4-year EFS は 26% (31 症例) と極めて予後不良であった。かくて、小児 AML においても遺伝子発現に基づくリスク分類が非常に有効である可能性を示すとともに、サブタイプごとにリスク評価を行う必要があることが考えられた。

T-ALL 55 例と T-NHL14 例について IL-7R 遺伝子の解析を行った。5.8% (4/64 例) に IL-7R 遺伝子の変異を認めた。遺伝子異常は exon 6 におけるフレームシフトを伴う挿入欠失変異であった。これまでに IL-7R 遺伝子で報告されている exon 5 における S185C の変異は認めなかった。IL-7R 遺伝子変異を認めた 3/4 例に NOTCH1 遺伝子の変異、1/4 例に FBWX7 遺伝子の変異を同時に認めた。T-ALL と T-NHL 69 例の臨床像の検討では、IL-7R 遺伝子異常を認めた症例はすべて T-ALL で、年齢中央値 10.7 歳、男児例であり、再発を認めなかった。年齢・性別・縦隔腫瘍の有無について解析を行ったが、IL-7R 遺伝子異常と統計的に有意な相関は認めなかった。T-ALL においては臨床像と遺伝子変異の間にはまだ一定の関係を見いだすに至っていないので、更なる検討を進めたい。

### 倫理面への配慮

臨床サンプルを使用する研究においては、JPLSG をはじめとする臨床研究グループと各施設並びに JPLSG の倫理委員会あるいは小児血液学会臨床研究審査委員会で承認を受け、収集されたものを用いる。遺伝子解析に関わるものは 3 省庁の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に準拠して行う。それ以外のもは臨床研究に関する倫理指針に準拠して実施する。動物実験に関しては、動物愛護の精神に基づき、各施設の動物実験倫理規定に従って行う。匿名化された検体およびその派生物（細胞、DNA、RNA）は、各研究者の所属する施設の施錠可能な冷蔵・冷凍庫で保

存される。実験動物の取り扱いについては動物愛護に十分配慮し、カルタヘナ条約に沿って実験を行う。

## 本研究に関連する、本研究期間中の主な発表論文等

平成 23 年度

1. Honda F, Kano H, Kanegane H, Nonoyama S, Kim ES, Lee SK, Takagi M, Mizutani S, Morio T.  
The kinase Btk negatively regulates the production of reactive oxygen species and stimulation-induced apoptosis in human neutrophils. *Nat Immunol.* 13(4):369-78. 2012
2. Fumiko Honda F, Yumiko Hane Y, Tomoko Toma T, Akihiro Yachie A, Eun-Sung Kim, Sang-Kyou Lee, Takagi M, Mizutani S, Morio T Transducible form of p47phox and p67phox compensate for defective NADPH oxidase activity in neutrophils of patients with chronic granulomatous disease *BBRC* 417(1):162-8. 2012
3. Nakamura K, Du L, Tunuguntla R, Fike F, Cavalieri S, Morio T, Mizutani S, Brusco A, Gatti RA. Functional characterization and targeted correction of ATM mutations identified in Japanese patients with ataxia-telangiectasia. *Hum Mutat.* 33(1):198-208 2012
4. Atsumi Y, Fujimori H, Fukuda H, Inase A, Shinohe K, Yoshioka Y, Shikanai M, Ichijima Y, Unno J, Mizutani S, Tsuchiya N, Hippo Y, Nakagama H, Masutani M, Teraoka H, Yoshioka K. Onset of quiescence following p53 mediated down-regulation of H2AX in normal cells. *PLoS One.* 6(8):e23432. 2011
5. Takagi M, Shinoda K, Piao J, Mitsuiki N, Takagi M, Matsuda K, Muramatsu H, Doisaki S, Nagasawa M, Morio T, Kasahara Y, Koike K, Kojima S, Takao A, Mizutani S. Autoimmune lymphoproliferative syndrome-like disease with somatic KRAS mutation. *Blood.* 117(10): 2887-90. 2011
6. Takagi S, Saito Y, Hijikata A, Tanaka S, Watanabe T, Hasegawa T, Mochizuki S, Kunisawa J, Kiyono H, Koseki H, Ohara O, Saito T, Taniguchi S, Shultz LD, Ishikawa F. Membrane-bound human SCF/KL promotes in vivo human hematopoietic engraftment and myeloid differentiation. **Blood** in press
7. Ohtake A, \*Aoki Y, Saito Y, Niihori T, Shibuya A, Kure S, Matsubara Y. Non-Hodgkin lymphoma in a patient with cardio-facio-cutaneous syndrome. *J Pediatr Hematol Oncol, J Pediatr Hematol Oncol.* 33(8):e342-6. 2011
8. \*Niihori T, \*Aoki Y, Okamoto N, Kurosawa K, Ohashi H, Mizuno S, Kawame H, Inazawa J, Ohura T, Arai H, Nabatame S, Kikuchi K, Kuroki Y, Miura M, Tanaka T, Ohtake A, Omori I, Ihara K, Mabe H, Watanabe K, Niihori S, Okano E, Numabe H, Matsubara Y. HRAS mutants identified in Costello syndrome patients can induce cellular senescence: possible implications for the pathogenesis of Costello syndrome. *J Hum Genet.* 56(10):707-15, 2011
9. Allanson JE, Annerén G, Aoki Y, Armour CM, Bondeson ML, Cave H, Gripp KW, Kerr B, Nystrom AM, Sol-Church K, Verloes A, Zenker M. Cardio-facio-cutaneous syndrome: does genotype predict phenotype? *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 157(2): 129-35, 2011

10. Morishima T., Watanabe K., Niwa A., Fujino H., Matsubara H., Adachi S., Suemori H., Nakahata T., Heike T.: Neutrophil differentiation from human-induced pluripotent stem cells. *J. Cell. Physiol.* 226(5): 1283–1291, 2011
11. Kamio T., Ito E., Ohara A., Kosaka Y., Tsuchida M., Yagasaki H., Mugishima H., Yabe H., Morimoto A., Ohga S., Muramatsu H., Hama A., Kaneko T., Nagasawa M., Kikuta A., Osugi Y., Bessho F., Nakahata T., Tsukimoto I., Kojima S.: Relapse of aplastic anemia in children after immunosuppressive therapy: a report from the Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group. *Haematologica* 96: 814–819, 2011.
12. Yoshida N., Yagasaki H., Hama A., Takahashi Y., Kosaka Y., Kobayashi R., Yabe H., Kaneko T., Tsuchida M., Ohara A., Nakahata T., Kojima S.: Predicting response to immunosuppressive therapy in childhood aplastic anemia. *Haematologica* 96: 771–774, 2011.
13. Niwa A., Heike T., Umeda K., Oshima K., Kato I., Sakai H., Suemori H., Nakahata T., Saito M.: A novel serum-free monolayer culture for orderly hematopoietic differentiation of human pluripotent cells via mesodermal progenitors. *PLoS ONE*; 6(7):e22261. 2011
14. Kato I, Niwa A, Heike T, Fujino H, Saito MK, Umeda K., Hiramatsu H., Ito M., Morita M., Nishinaka Y., Adachi S., Ishikawa F., Nakahata T.: Identification of Hepatic Niche Harboring Human Acute Lymphoblastic Leukemic Cells via the SDF-1/CXCR4 Axis. *PLoS ONE*; 6(11): e27042. 2011
15. Konuma T, Nakamura S, Miyagi S, Negishi M, Chiba T, Oguro H, Yuan J, Mochizuki-Kashio M, Ichikawa H, Miyoshi H, Vidal M, Iwama A Forced expression of the histone demethylase Fbxl10 maintains self-renewing hematopoietic stem cells. *Exp Hematol* 39, 697–709. 2011
16. Yuan J, Takeuchi M, Negishi M, Oguro H, Ichikawa H, Iwama A. Bmi1 is essential for leukemic reprogramming of myeloid progenitor cells. *Leukemia* 25, 1335–1343. 2011
17. Inukai T, Kiyokawa N, Campana D, Coustan-Smith E, Kikuchi A, Kobayashi M, Takahashi H, Koh K, Manabe A, Kumagai M, Ikuta K, Hayashi Y, Tsuchida M, Sugita K, Ohara A. Clinical significance of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: Results of the Tokyo Children’s Cancer Study Group Study L99–15. *Br J Haematol* 156(3):358–65, 2012
18. Shiba N, Taki T, Park MJ, Shimada A, Sotomatsu M, Adachi S, Tawa A, Horibe K, Tsuchida M, Hanada R, Tsukimoto I, Arakawa H, Hayashi Y. DNMT3A mutations are rare in childhood acute myeloid leukaemia, myelodysplastic syndromes and juvenile myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol* 156(3):413–4. 2012
19. Shiba N, Park MJ, Taki T, Takita J, Hiwatari M, Kanazawa T, Sotomatsu M, Ishii E, Arakawa H, Ogawa S, Hayashi Y. CBL mutations in infant acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 156(5):672–4. 2012
20. Takita J, Chen Y, Okubo J, Sanada M, Adachi M, Ohki K, Nishimura R, Hanada R, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S. Aberrations of NEGR1 on 1p31 and MYEOV on 11q13 in neuroblastoma. *Cancer Sci* 102: 1645–1650, 2011
21. Shiba N, Taki T, Park MJ, Nagasawa M, Kanazawa T, Takita J, Ohnishi H, Sotomatsu M, Arakawa H, Hayashi Y. CBL mutation in childhood therapy-related leukemia. *Leukemia* 25: 1356–1358, 2011

22. Sekimizu M, Sunami S, Nakazawa A, Hayashi Y, Okimoto Y, Saito AM, Horibe K, Tsurusawa M, Mori T. Chromosome abnormalities in advanced stage T-cell lymphoblastic lymphoma of children and adolescents: a report from Japanese Paediatric Leukaemia/Lymphoma Study Group (JPLSG) and review of the literature. *Br J Haematol.* 154: 612-617, 2011
23. Oki K, Takita J, Hiwatari M, Nishimura R, Sanada M, Okubo J, Adachi M, Sotomatsu M, Kikuchi A, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S. IDH1 and IDH2 mutations are rare in pediatric myeloid malignancies. *Leukemia* 25: 382-384, 2011
24. Ogawa S, Takita J, Sanada M, Hayashi Y. Oncogenic mutations of ALK in neuroblastoma. *Cancer Science* 102 : 302-308, 2011

平成22年度

1. Sato M, Takagi M, Mizutani S. Irradiation-induced p53 expression is attenuated in cells with NQO1 C465T polymorphism. *J Med Dent Sci.* 57(2):139-45. 2010
2. Sun J, Oma Y, Harata M, Kono K, Shima H, Kinomura A, Ikura T, Suzuki H, Mizutani S, Kanaar R, Tashiro S. ATM modulates the loading of recombination proteins onto a chromosomal translocation breakpoint hotspot. *PLoS One.* 5(10):e13554. 2010
3. Kawagishi H, Nakamura H, Maruyama M, Mizutani S, Sugimoto K, Takagi M, Sugimoto M. ARF suppresses tumor angiogenesis through translational control of VEGFA mRNA. *Cancer Res.* 70(11): 4749-58. 2010
4. Nagasawa M, Mitsuiki N, Ono T, Takagi M, Oda H, Yasuhara M, Mizutani S. Pharmacokinetic monitoring is still required for intravenous busulfan in SCT for small children. *Int J Hematol.* 91(4): 728-30. 2010
5. Ichijima Y, Yoshioka K, Yoshioka Y, Shinohe K, Fujimori H, Unno J, Takagi M, Goto H, Inagaki M, Mizutani S, Teraoka H. DNA lesions induced by replication stress trigger mitotic aberration and tetraploidy development. *PLoS One.* 5(1): e8821. 2010
6. Oba D, Hayashi M, Minamitani M, Hamano S, Uchisaka N, Kikuchi A, Kishimoto H, Takagi M, Morio T, Mizutani S. Autopsy study of cerebellar degeneration in siblings with ataxia-telangiectasia-like disorder. *Acta Neuropathol.* 119(4):513-20. 2010
7. Kobayashi T, \*Aoki Y, Niihori T, Cavé H, Verloes A, Okamoto N, Kawame H, Fujiwara I, Takada F, Ohata T, Sakazume S, Ando T, Nakagawa N, Lapunzina P, Meneses AG, Gillessen-Kaesbach G, Wieczorek D, Kurosawa K, Mizuno S, Ohashi H, David A, Philip N, Guliyeva A, Narumi Y, Kure S, Tsuchiya S, Matsubara Y. Molecular and clinical analysis of RAF1 in Noonan syndrome and related disorders: dephosphorylation of serine 259 as the essential mechanism for mutant activation. *Human Mut.* 31(3): 284-294. 2010
8. Komatsuzaki S, \*Aoki Y, Niihori T, Okamoto N, Hennekam RCM, Hopman S, Ohashi H, Mizuno S, Watanabe Y, Kamasaki H, Kondo I, Moriyama N, Kurosawa K, Kawame H, Imaizumi M, Rikiishi T, Tsuchiya S, Kure S, Matsubara Y. SHOC2 mutation analysis in Noonan-like syndrome and hematologic malignancies. *J Hum Genet* 55(12): 801-9 2010



9. Shultz LD, Saito Y, Najima Y, Tanaka S, Ochi T, Tomizawa M, Doi T, Sone A, Suzuki N, Fujiwara H, Yasukawa M, Ishikawa F. Generation of functional human T-cell subsets with HLA-restricted immune responses in HLA class I expressing NOD/SCID/IL2r $\gamma$ <sup>null</sup> humanized mice. *PNAS* 107-29:13022-13027, 2010
10. Suzuki N., Yumura-Yagi K., Yoshisa M., Hara J., Nishimura S., Kudoh T., Tawa A., Usami I., Tanizawa A., Hori H., Ito Y., Miyaji R., Oda M., Kato K., Hamamoto K., Osugi Y., Hashii Y., Nakahata T., Horibe K. : Outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia with induction failure treated by the Japan Association of Childhood Leukemia Study (JACLS) ALL F-protocol. *Pediatric Blood Cancer*. 54(1):71-78, 2010.
11. Kato I., Umeda K., Awaya T., Yui Y., Niwa A., Fujino H., Matsubara H., Watanabe K., Heike T., Adachi N., Endo H., Mizukami T., Nunoi H., Nakahata T., Adachi S. : Successful treatment of refractory donor lymphocyte infusion-induced immune-mediated pancytopenia by Rituximab. *Pediatr. Blood Cancer* 54: 329-331, 2010.
12. Takeuchi M., Kimura S., Kuroda J., Ashihara E., Kawatani M., Osada H., Umezawa K., Yasui E. Imoto M., Tsuruo T., Yokota A., Tanaka R., Nagao R., Nakahata T., Fujiyama Y., Maekawa T. : Glyoxalase-I is a novel target against Bcr-Abl+ leukemic cells acquiring stem-like characteristics in a hypoxic environment. *Cell Death Diff.* 17:1211-1220, 2010.
13. Mizushima Y., Taki T., Shimada A., Yui Y., Hiraumi Y., Matsubara H., Watanabe M., Watanabe K., Kamitsuji Y., Hayashi Y., Tsukimoto I., Kobayashi R., Horibe K., Tawa A., Nakahata T., Adachi S. : Prognostic significance of the BAALC isoform pattern and CEBPA mutations in pediatric acute myeloid leukemia with normal karyotype: a study by the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *Int. J. Hematol.* 91:831-837, 2010.
14. Matsuda K., Taira C., Sakashita K., Saito S., Yanagisawa MT., Yanagisawa R., Yozo Nakazawa Y., Shiohara M., Fukushima K., Oda M., Honda T., Nakahata T., Koike K. : Long-term survival after non-intensive chemotherapy in some juvenile myelomonocytic leukemia patients with CBL mutations, and the possible presence of normal individuals with the mutations. *Blood* 115:5429-5431, 2010.
15. Nakayama R, Mitani S, Nakagawa T, Hasegawa T, Kawai A, Morioka H, Yabe H, Toyama Y, Ogose A, Toguchida J, Nakayama T, Yoshida T, Ichikawa H. Gene expression profiling of synovial sarcoma: distinct signature of poorly differentiated type. *Am J Surg Pathol* 34, 1599-1607. 2011
16. Sugawara T, Oguro H, Negishi M, Morita Y, Ichikawa H, Iseki T, Yokosuka O, Nakauchi H, Iwama A FET family proto-oncogene Fus contributes to the self-renewal of hematopoietic stem cells. *Exp Hematol* 38, 696-706. 2010
17. Yamamoto T, Morita S, Go R, Obata M, Katsuragi Y, Fujita Y, Maeda Y, Yokoyama M, Aoyagi Y, Ichikawa H, Mishima Y, Kominami R. Clonally expanding thymocytes having lineage capability in gamma-ray-induced mouse atrophic thymus. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 77, 235-243. 2010

18. Kawamura M, Kaku H, Ito T, Funata N, Taki T, Shimada A, Hayashi Y. FLT3-internal tandem duplication, CD56 expression, and obstructive jaundice due to granulocytic sarcoma at relapse in a pediatric patient with t(8;21) acute myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 203: 292-296, 2010
19. Seki M, Kimura H, Mori A, Shimada A, Yamada Y, Maruyama K, Hayashi Y, Agematsu K, Morio T, Yachie A, Kato M. Prominent eosinophilia but less eosinophil activation in a patient with Omenn syndrome. *Pediatr Int* 52 : e196-199, 2010
20. Taketani T, Taki T, Nakamura T, Kobayashi Y, Ito E, Fukuda S, Yamaguchi S, Hayashi Y. High frequencies of simultaneous FLT3-ITD, WT1 and KIT mutations in hematological malignancies with NUP98-fusion genes. *Leukemia* 24: 1975-1977, 2010
21. Shiba N, Kanazawa T, Park MJ, Okuno H, Tamura K, Tsukada S, Hayashi Y, Arakawa H. NOTCH1 mutation in a female with myeloid/NK cell precursor acute leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 55 : 1406-1409, 2010
22. Kanazaki R, Toki T, Terui K, Xu G, Wang R, Shimada A, Hama A, Kanegane H, Kawakami K, Endo M, Hasegawa D, Kogawa K, Adachi S, Ikeda Y, Iwamoto S, Taga T, Kosaka Y, Kojima S, Hayashi Y, Ito E. Down syndrome and GATA1 mutations in transient abnormal myeloproliferative disorder: mutation classes correlate with progression to myeloid leukemia. *Blood* 116: 4631-4638, 2010
23. Mizushima Y, Taki T, Shimada A, Yui Y, Hiraumi Y, Matsubara H, Watanabe M, Watanabe K, Kamitsuji Y, Hayashi Y, Tsukimoto I, Kobayashi R, Horibe K, Tawa A, Nakahata T, Adachi S. Prognostic significance of the BAALC isoform pattern and CEBPA mutations in pediatric acute myeloid leukemia with normal karyotype: a study by the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *Int J Hematol* 91: 831-837, 2010
24. Komeno Y, Kitaura J, Watanabe-Okochi N, Kato N, Oki T, Nakahara F, Harada Y, Harada H, Shinkura R, Nagaoka H, Hayashi Y, Honjo T, Kitamura T. AID-induced T-lymphoma or B-leukemia/lymphoma in a mouse BMT model. *Leukemia* 24 : 1018-1024, 2010
25. Tsuchida M, Ohara A, Manabe A, Kumagai M, Shimada H, Kikuchi A, Mori T, Saito M, Akiyama M, Fukushima T, Koike K, Shiobara M, Ogawa C, Kanazawa T, Noguchi Y, Oota S, Okimoto Y, Yabe H, Kajiwara M, Tomizawa D, Ko K, Sugita K, Kaneko T, Maeda M, Inukai T, Goto H, Takahashi H, Isoyama K, Hayashi Y, Hosoya R, Hanada R; Tokyo Children's Cancer Study Group. Long-term results of Tokyo Children's Cancer Study Group trials for childhood acute lymphoblastic leukemia, 1984-1999. *Leukemia* 24: 383-396, 2010
26. Shiba N, Kato M, Park MJ, Sanada M, Ito E, Fukushima K, Sako M, Arakawa H, Ogawa S, Hayashi Y. CBL mutations in juvenile myelomonocytic leukemia and pediatric myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 24: 1090-1092, 2010

(学会発表)

平成 23 年

1. Takagi M, Mizutan S. ATM prevent blastic crisis in chronic myeloid leukemia (CML) 第70回日本癌学会学術総会 2011.10.3-5 名古屋
2. 町田静香、富澤大輔、高木正稔、金子節子、金親あや乃、原田浩之、大川哲平、遠藤明史、梶原道子、長澤正之、森尾友宏、水谷修紀 毛細血管拡張性運動失調症の女兒に発症した diffuse large B-cell lymphoma にたいする rituximab 併用化学療法の経験 第53回日本小児血液・がん学会学術集会 2011.11.25-27 前橋
3. 白血病キメラ遺伝子の迅速スクリーニングを可能とする新規検査手法の評価について  
高木正稔、佐藤正樹、阿部友照、渡辺英俊、穴口嵩記、瀬川雄司、安田章夫、水谷修紀  
第53回日本小児血液・がん学会学術集会 2011.11.25-27 前橋
4. Tetsuya Niihori, Yoko Aoki, Yoichi Matsubara. HRAS mutants identified in Costello syndrome patients can induce cellular senescence: possible implications for the pathogenesis of Costello syndrome. International meeting on genetic syndromes of the Ras/MAPK pathway. July 29, 2011 – July 31, 2011 The Westin O’ Hare, Chicago, IL, United States
5. Yuka Saito, Yoko Aoki, Tetsuya Niihori, Akira Ohtake, Atsushi Shibuya, Kazuhito Sekiguchi, So-ichi Suenobu, Taturu Izumi, Hideki Muramatsu, Seiji Kojima, Shigeo Kure, Shigeru Tsuchiya, Yoichi Matsubara Hematologic abnormalities associated with patients with cardio-facio-cutaneous syndrome. International meeting on genetic syndromes of the Ras/MAPK pathway. July 29, 2011 – July 31, 2011 The Westin O’ Hare, Chicago, IL, United States
6. 中畑龍俊：特別講演、小児疾患における iPS 細胞の応用. 第53回日本小児血液・がん学会学術集会 2011年11月25～27日(25日) ベイシア文化ホール(前橋市)
7. 中畑龍俊：教育講演、疾患特異的 iPS 細胞を用いた今後の医療. 第28回日本医学会総会 2011年9月17-18日(18日) 東京国際展示場
8. Tatsutoshi Nakahata: Various clinical applications of human induced pluripotent stem cells. (Keynote Lecture) 2011 International Symposium on Recent Advances in Pluripotent Stem Cells & 7<sup>th</sup> Annual Meeting of Taiwan Society for Stem Cell Research. 2011年10月1-2日(1日) Taipei Medical University(Taiwan)
9. 清河信敬, 山田浩之, 康 勝好, 福島 敬, 真部 淳, 菊地 陽, 熊谷昌明, 小原 明, 林 泰秀, 土田昌宏. 10 カラーフローサイトメトリー解析による小児白血病のマーカー診断. 第114回日本小児科学会学術集会, 東京, 2011.8.13
10. 朴 明子, 清河信敬, 小田 慈, 真部 淳, 小原 明, 花田良二, 土田昌宏, 小川誠司, 堀部敬三, 林 泰秀. 小児 T 細胞性急性リンパ性白血病における LEF1 遺伝子の異常と臨床像について. 第70回日本癌学会学術総会, 名古屋, 2011.10.4

平成22年度

1. Shuki Mizutani. Regulation of DNA damage response network and clinico-pathological features in childhood genetic diseases. 第33回分子生物学会年会第83回日本生化学会大会 合同大会 シンポジウム 2010年12月10日 神戸
2. 高木正稔, 篠田邦大, 満生紀子, 朴 今花, 高木真理, 松田和之, 村松秀城, 土居崎小夜子, 長澤正之, 森尾友宏, 小池健一, 小島勢二, 高尾明, 水谷修紀. KRAS 変異自己免疫性リンパ球増殖症候群. 第52回日本小児血液

学会・第26回日本小児がん学会総会 2010年12月17-19日 大阪

3. Mizoguchi Y, Tsumura M, Okada S, Sakai H, Nishikomori R, Yasunaga S, Ohtsubo M, Murata T, Obata H, Yasumi T, Heike T, Nakahata T, Takihara Y, Kobayashi M: A novel Mutation K673R in STAT1 impaired the STAT1 signal transduction in a dominant-Negative manner identified in a Japanese boy with MSMD. 52<sup>nd</sup> Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY of HEMATOLOGY, December4-7, 2010, Orland, Florida
4. Kato I, Niwa A, Saito M, Fujino H, Saida S, Hiramatsu H, Oshima K, Ito M, Adachi S, Heike T, Nakahata T: Establishment of a novel CNS infiltrated xenograft model through engraftment of patient-derived acute lymphoblastic leukemic cell into NOD/SCID/ $\gamma c^{null}$  mouse. 52<sup>nd</sup> Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY of HEMATOLOGY, December4-7, 2010, Orland, Florida
5. 朴 明子, 加藤元博, 清河信敬, 滝田順子, 真田 昌, 小川誠司, 林 泰秀. 小児 T 細胞性急性リンパ性白血病における網羅的ゲノム解析. 第 113 回日本小児科学会学術集会, 岩手, 2010. 4. 24.
6. 朴 明子, 加藤元博, 清河信敬, 滝田順子, 小川誠司, 林 泰秀. 小児 T 細胞性造血器腫瘍における LEF1 遺伝子の異常. 第 69 回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010. 9. 23. 朴 明子, 清河信敬, 加藤元博, 鈴木信寛, 小田 慈, 原 純一, 小林良二, 小川誠司, 堀部敬三, 林 泰秀. T 細胞性急性リンパ性白血病における LEF1 遺伝子異常の解析. 第 52 回日本小児血液学会総会・第 26 回日本小児がん学会学術集会, 大阪, 2010. 12. 19.
7. 市川 仁「小児 AML の多様性と発生母地」(第 72 回日本血液学会学術集会シンポジウム)
8. 青木洋子、新堀哲也、松原洋一「RAS シグナル伝達異常と先天奇形症候群」第 113 回日本小児科学会学術集会
9. Komatsuzaki, Y. Aoki, T. Niihori, N. Okamoto, R. CM. Hennekam, S. Hopman, H. Ohashi, S. Mizuno, Y. Watanabe, H. Kamasaki, I. Kondo, N. Moriyama, K. Kurosawa, H. Kawame, M. Imaizumi, T. Rikiishi, S. Tsuchiya, S. Kure, Y. Matsubara *SHOC2* mutation analysis in Noonan-like syndrome and hematologic malignancies. 第 60 回アメリカ人類遺伝学会

(書籍) 水谷修紀 Annual Review 血液 2012, 中外出版

Ras Associated ALPS like Disease (2012)

(知的財産権) 核酸は胆振大ゼーション用のマイクロ流路、マイクロチップ、カラムおよび装置と核酸ハイブリダイゼーション法 (特願 2011-016212) 水谷修紀