

令和 4 年 6 月 30 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08848

研究課題名（和文）変異型CALRのホモ多量体化を標的とした治療概念の確立

研究課題名（英文）Establishment of therapeutic concept targeting homomultimerized mutant CALR

研究代表者

荒木 真理人（ARAKI, MARITO）

順天堂大学・大学院医学研究科・客員教授

研究者番号：80613843

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：フィラデルフィア染色体陰性の骨髄増殖性腫瘍の発症原因分子である変異型CALRについて、フレームシフト変異によりカルボキシル末端に付加された、腫瘍原性を有するドメインの解析を行った。その結果、野生型CALRに存在しないこのドメインを介した新たな分子間相互作用を見出し、相互作用に参与するアミノ酸残基を同定するとともに、相互作用の意義を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、変異型CALRに腫瘍原性を付与するドメインの有する機能が明らかになったことから、CALR遺伝子変異を有するMPN患者に対する有効な治療薬の開発に資する情報が取得できたことは大変意義深いと考えられる。さらに、変異型分子シャペロンによる受容体活性化という、生物学的にユニークな現象の分子メカニズムの一端が明らかにされたことから、この知見に基づいて、これまで未知となっている生命現象の解明が期待される。

研究成果の概要（英文）：We studied an oncogenic domain that is generated by the frameshift mutation on the carboxyl-terminal of mutant CALR, a causal factor of Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. As a result, we found a new intramolecular interaction mediated by this domain that does not exist in wild-type CALR, identified amino acid residues involved in the interaction, and clarified the significance of the interaction in the oncogenic capacity of mutant CALR.

研究分野：血液内科

キーワード：骨髄増殖性腫瘍 calreticulin トロンボポエチン JAK2 分子シャペロン 受容体 2量体

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

フィラデルフィア染色体陰性の骨髄増殖性腫瘍(以下 MPN と略する)は、造血幹細胞に生じた体細胞変異により、赤血球や血小板の異常な増加、あるいは骨髄の線維化を呈する造血器腫瘍である。MPN の予後は一般に良好であるが、QOL の著しい低下を招く脳梗塞や心筋梗塞の発症リスクが高い。さらに、MPN には、初診時から骨髄の線維化が見られる原発性骨髄線維症や、病型移行により後に骨髄線維症を発症する症例が含まれており、これらの予後は不良である。骨髄線維症を発症すると、脾腫の進行、貧血による輸血依存、その他の全身症状の悪化が進み、QOL が著しく低下するばかりでなく、高率に予後不良の急性白血病を発症する。MPN の根本的な治療法としては、造血幹細胞移植があるが、治療関連死のリスクや移植不適応症例が多いことなどから、実際に移植の行われる症例はごくわずかである。また、最近開発された JAK2 阻害薬による治療も、JAK2 阻害薬に腫瘍細胞への選択性がないことなどから、全身症状の改善は認められるが、寛解には至らない。これらのことから、MPN 発症メカニズムの解明による有効な治療戦略の確立が求められている。

研究代表者らはこれまでに、MPN 患者で見出される分子シャペロンをコードしている *calreticulin* (*CALR*) 遺伝子の変異に着目し、変異型遺伝子から作られる変異型 CALR が、トロンボポエチン (TPO) 受容体 MPL に特異的に結合し、受容体下流のシグナル伝達系を恒常的に活性化することで、細胞の腫瘍化を引き起こしていることを明らかにしている (Blood. 127;1307-1316, 2016)。さらに解析を進め、最近、変異型 CALR 同士が、分子間相互作用することでホモ多量体を形成し、複数の MPL 分子と同時に相互作用することで、受容体の活性化を引き起こす可能性を明らかにした (Leukemia. 1:122-131, 2019)。しかし、MPN 発症原因分子である変異型 CALR のホモ多量体化がどのような分子メカニズムにより生じているのか、そしてそれがどのようにして制御されているのか、については未だ明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究では、MPN の新規治療法の開発に資する、「変異型 CALR の会合による TPO 受容体の恒常的な活性化」について、その詳細な分子基盤を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 変異型 CALR のホモ多量体化におけるシステイン残基の関与の解明

これまでに申請者らは、フレームシフト変異によって変異型 CALR のカルボキシル末端に新たに付加された配列 (図 1) が、変異型 CALR の腫瘍原性に必要なホモ多量体化を担っていることを明らかにしている (Leukemia. 1:122-131, 2019)。MPN 患者で見出される、*CALR* 遺伝子のフレームシフト変異は、その全てが最終エクソンの限局した領域に生じる +1 フレームシフト変異である。そのため MPN 患者で見出される全ての変異型 CALR では、カルボキシル末端に共通した 36 アミノ酸の配列が見出される。この配列には、システイン残基が 2 つ含まれているが (図 1)、野生型 CALR のカルボキシル末端にはシステイン残基が存在しないこと、CALR のホモ多量体化が変異型で特異的に観察されることなどから、変異型 CALR に特異的に存在するカルボキシル末端のシステイン残基のホモ多量体化への関与について、詳細な解析を行った。

MPN 患者で見出される *CALR* 遺伝子のフレームシフト変異は、欠失あるいは挿入される塩基の長さや配列、位置の違いから 50 種類以上存在する。一方で、全てが +1 フレームシフト変異であることや、変異の位置が限局されていることから、変異型 CALR は、そのアミノ酸配列の特徴から、1 型 (type 1) と 2 型 (type 2) の 2 つに大別される。本研究では、1 型の代表として、*CALR* 遺伝子変異の中で最も頻度の高い 52 塩基欠失型 (del52) を、2 型の代表として、変異頻度が 2 番目に高い 5 塩基挿入型 (ins5) を解析した (図 1)。なお、変異型 CALR のカルボキシル末端のシステイン残基は、CALR del52 では上述の 2 箇所 (C400, C404) であるが、CALR ins5 では 3 箇所 (C386, C419, C423) である (図 1)。

まず、システイン残基を介して変異型 CALR がホモ多量体化していることを明らかにするために、CALR del52 あるいは CALR ins5 を発現させた UT-7/TPO 細胞 (Blood. 127;1307-1316, 2016) から細胞抽出液を調製し、システイン残基間のジスルフィド結合を維持した非還元条件と、結合を壊した還元条件で、SDS-PAGE 電気泳動後、タンパク質を PVDF 膜に転写してから、イムノブロット法を用いて変異型 CALR の大きさを解析した。

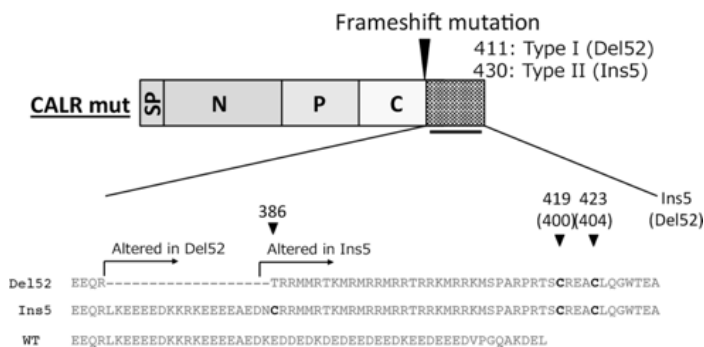


図 1

(2) 変異型 CALR のホモ多量体化を担うシステイン残基の同定

続いて、変異型 CALR のホモ多量体化に関与するシステイン残基を同定するために、システイン残基(C)をアラニン残基(A)に置換した cDNA を overlap-PCR 法により作製した上で、レトロウイルスベクター pMSCV-IRES-GFP にクローニングした。配列をサンガーシーケンスで確認してから、ベクターを MD2G プラスミドと共に platGP 細胞にトランスフェクションして、ウイルスを作製、UT-7/TPO 細胞に感染、GFP 陽性の細胞をセルソーターで分取し、細胞株を樹立した。樹立した細胞から細胞抽出液を調製し、非還元条件あるいは還元条件で SDS-PAGE 電気泳動後、(1)と同様に解析を実施した。

(3) システイン残基を介したホモ多量体化の変異型 CALR の腫瘍原性に対する意義

(2)で樹立した細胞株を用いて、変異型 CALR のシステイン改変体の腫瘍原性について解析を行なった。UT-7/TPO 細胞は、内在性に MPL を発現して TPO 依存性に増殖するが、変異型 CALR を発現すると、TPO 非存在下においても変異型 CALR による MPL の活性化が生じるため(Blood. 127;1307-1316, 2016)、変異型 CALR に依存して腫瘍性に細胞増殖する。(2)で樹立した細胞株を TPO 不含 10%FCS/IMDM 培地で培養し、生細胞数測定試薬の還元により生成されるホルマザンの吸光度を測定することで、細胞増殖能を評価した。

(4) STAT5 レポーターアッセイを用いた変異型 CALR の MPL 活性化能の評価

(3)では、システイン残基を介した変異型 CALR のホモ多量体化を障害した際の、変異型 CALR の腫瘍原性を、UT-7/TPO 細胞の増殖を指標に評価した。しかし一部の变異型 CALR は、システイン残基の改変により、細胞内での発現量が著しく低下したため、腫瘍原性の有無を明確に示すことができなかった。そこで、MPL の活性化状態をより鋭敏に評価できる、STAT5 レポーターアッセイ系(Leukemia. 1:122-131, 2019)を用いて、評価を行なった。具体的には、pcDNA3.1neo ベクターの CMV プロモーター下流に MPL や変異型 CALR を挿入した発現ベクターと、STAT5 レポーター pGL4.52 と内部標準ベクター pRL-TK を、lipofectamine 2000 を用いて HEK293T 細胞に導入してから一晩培養したのち、細胞抽出液中のレポーター分子ルシフェラーゼの活性を評価することで、MPL の活性化状態を評価した。

4. 研究成果

(1) 変異型 CALR のホモ多量体化におけるシステイン残基の関与

野生型と変異型の CALR を発現する UT-7/TPO 細胞から調製した細胞抽出液を、還元あるいは非還元条件で電気泳動し、イムノブロット解析を行なったところ、図 2 で示す通り、非還元条件(non-reducing gel)では、野生型 CALR では 2 量体あるいはそれ以上の複合体と考えられる分子量のバンドは確認できなかったが、CALR del152 と CALR ins5 では、2 量体あるいは 3 量体以上の複合体が観察された(図 2 中アスタリスク)。特に、CALR ins5 では、2 量体と考えられる分子がその大半を占めていた。一方で、還元条件で泳動すると、いずれのバンドも消失したことから、これらの変異型 CALR に特異的な高分子量のタンパク質は、システイン残基を介した多量体であることが強く示唆された。

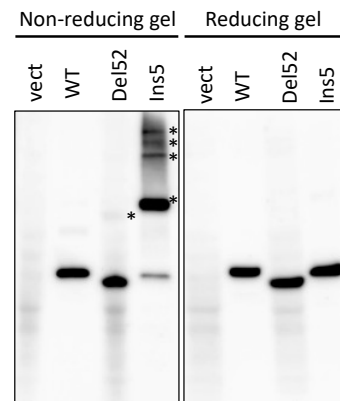


図 2

(2) 変異型 CALR のホモ多量体化を担うシステイン残基の同定

変異型 CALR のカルボキシル末端のシステイン残基をアラニン残基に置換した変異体を発現する UT-7/TPO 細胞の細胞抽出液を(1)と同様に解析したところ、CALR del152 では、システイン残基を 1 つだけ残した改変体(C400A あるいは C404A)では、多量体形成が促進した(図 3 左)。一方で、いずれのシステイン残基も改変した C400A/C404A では、多量体形成が消失した。これらのことは、CALR del152 では、通常は C400 と C404 は分子間ではなく、分子内で架橋しており、腫瘍原性に必要なホモ多量体化は、分子間の疎水結合によって生じている可能性が示唆された。

CALR ins5 では、3 つのシステイン残基のいずれか 1 つに変異を入れても(C386A、C419A、C423A)、2 量体の形成が確認された(図 3 右)。また、システインを 1 つだけ残した改変体(C386A/C419A、C386/C423A、C419A/C423A)では、C386A を含む改変体では 2 量体形成が著しく阻害

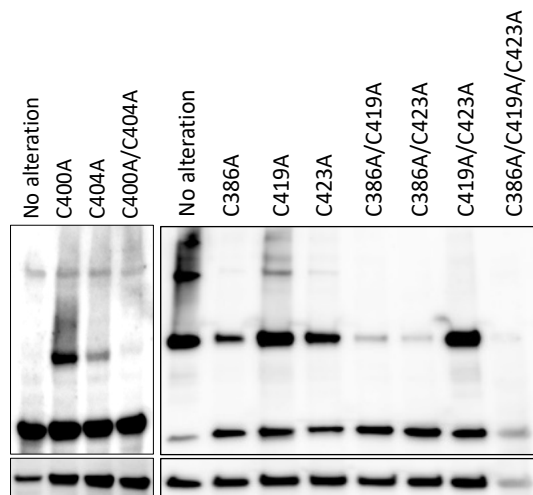


図 3

されたのに対して、C386 が残存する改変体では 2 量体形成が維持された(図 3 右)。これらのことから、CALR ins5 は C386 を介して 2 量体化していることが明らかとなり、このシステイン残基が CALR del152 に存在しないことから、システイン残基を介した 2 量体の量が CALR del152 と CALR ins5 で大きく異なる原因が明らかになった。

(3) システイン残基を介したホモ多量体化の変異型 CALR の腫瘍原性に対する意義

システイン残基を改変した変異型 CALR の腫瘍原性を評価するために、改変体を発現させた UT-7/TPO 細胞の TPO 非依存性の細胞増殖能を評価したところ、空ベクターでは細胞が増殖しなかったのに対して、CALR del152 あるいは、そのシステイン残基改変体は、いずれも腫瘍性に増殖した(図 4 左)。これらのことは、システイン残基を介した 2 量体化は、CALR del152 の腫瘍原性に不要であることが示された。

一方で、CALR ins5 では、システイン残基を改変すると、腫瘍原性の減弱や喪失が見られた(図 4 右)。システイン残基を 2 つ同時に破壊した C419A/C423A や C386A/C423A では、腫瘍原性に大きな影響が見られなかったものの、いずれか 1 つだけ破壊すると(C386A、C419A、C423A)、腫瘍原性の低下が顕著だった。これは、複数のシステイン残基が残ることで、腫瘍原性を低下されるような新たな複合体が形成されている可能性を示唆している。さらに、3 つのシステイン残基を全て破壊すると、変異型 CALR 依存性の細胞増殖が見出されなかった。

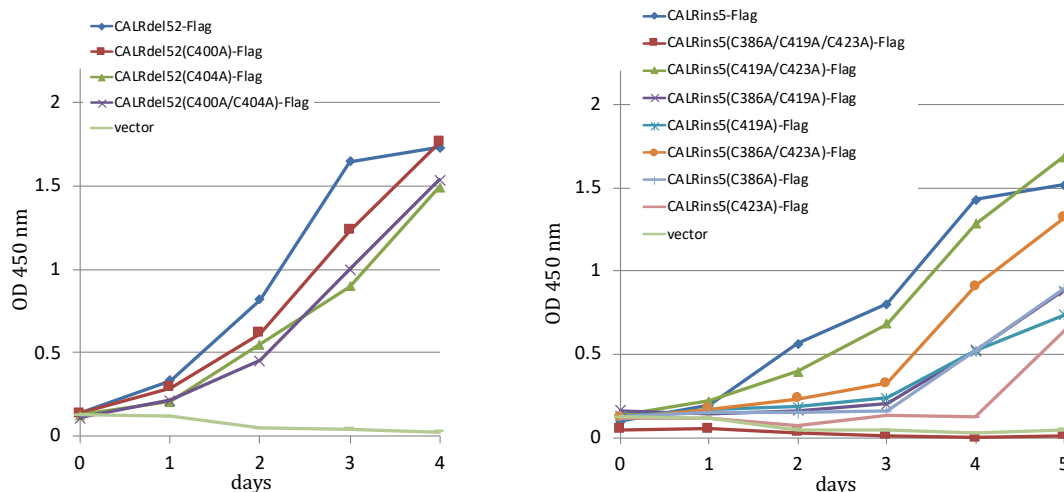


図 4

(4) STAT5 レポーターアッセイを用いた変異型 CALR の MPL 活性化能の評価

(3) の結果から、システイン残基を介した 2 量体化の意義が、CALR del152 と CALR ins5 で異なることが示唆された。特に CALR ins5 では、全てのシステイン残基を破壊した C386A/C419A/C423A の腫瘍原性が消失していた。一方で、(2) の解析では、この改変体の細胞内での発現は著しく低下していたことから(図 3)、CALR ins5 におけるシステイン残基を介した 2 量体化の喪失が、細胞内におけるタンパク質の安定性を低下させた結果、発現量が減少して腫瘍原性を喪失したことが疑われた。そこで、一過性に大量の CALR を発現して、その MPL 活性化能を評価できる STAT5 レポーター系を用いて、CALR ins5 (C386A/C419A/C423A) を評価した。その結果、カルボキシル末端のシステイン残基を破壊した CALR ins5 は、発現量を増やすと、CALR ins5 と同程度の MPL 活性化能を示した(図 5)。これらのことから、CALR ins5 においても、システイン残基を介した 2 量体化は、MPL の活性化には不要であることが明らかになった。一方で、CALR ins5 においては、細胞内におけるタンパク質の安定化に寄与することが示唆された。

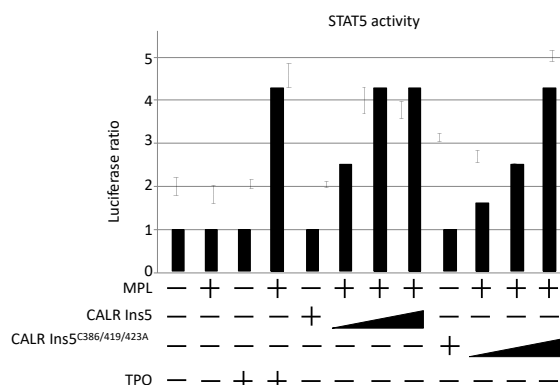


図 5

なお、カルボキシル末端のシステイン残基を破壊した変異型 CALR は、グリセロール密度勾配遠心解析により、ホモ多量体形成していることが明らかになってきており(データ未掲載)、変異型 CALR では、システイン残基を介さない疎水結合によると考えられるホモ多量体化が、細胞の腫瘍化を引き起こしていると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Edahiro Yoko, Araki Marito, Komatsu Norio	4. 巻 111
2. 論文標題 Mechanism underlying the development of myeloproliferative neoplasms through mutant calreticulin	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2682 ~ 2688
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14503	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Morishita Soji, Yasuda Hajime, Yamawaki Saya, Kawaji Hideya, Itoh Masayoshi, Edahiro Yoko, Imai Misa, Kogo Yasushi, Tsuneda Satoshi, Ohsaka Akimichi, Hayashizaki Yoshihide, Ito Masafumi, Araki Marito, Komatsu Norio	4. 巻 112
2. 論文標題 CREB3L1 overexpression as a potential diagnostic marker of Philadelphia chromosome?negative myeloproliferative neoplasms	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 884 ~ 892
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14763	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 ARAKI Marito	4. 巻 31
2. 論文標題 Thrombocytosis caused by abnormal molecular chaperone	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Thrombosis and Hemostasis	6. 最初と最後の頁 491 ~ 497
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2491/jjsth.31.491	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 荒木 真理人	4. 巻 61
2. 論文標題 変異型calreticulinによる骨髄増殖性腫瘍発症の分子基盤	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 臨床血液	6. 最初と最後の頁 937 ~ 944
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11406/rinketsu.61.937	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 増淵菜弥, 荒木真理人, 小松則夫	4. 巻 82
2. 論文標題 MPNにおけるcalreticulin遺伝子変異の意義	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 血液内科	6. 最初と最後の頁 339 ~ 346
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masubuchi, N. Araki, M. Yang, Y. Hayashi, E. Imai, M. Edahiro, Y. Hironaka, Y. Mizukami, Y. Kihara, Y. Takei, H. Nudejima, M. Koike, M. Ohsaka, A. Komatsu, N.	4. 巻 34
2. 論文標題 Mutant calreticulin interacts with MPL in the secretion pathway for activation on the cell surface	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Leukemia	6. 最初と最後の頁 499 ~ 509
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41375-019-0564-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Araki, M. Komatsu, N.	4. 巻 111
2. 論文標題 The role of calreticulin mutations in myeloproliferative neoplasms	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Hematol.	6. 最初と最後の頁 200 ~ 205
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-019-02800-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Inano, T. Araki, M. Morishita, S. Imai, M. Yasuda, H. Nitta, H. Ito, M. Edahiro, Y. Ochiai, T. Misawa, K. Fukuda, Y. Ohsaka, A. Komatsu, N.	4. 巻 187
2. 論文標題 JAK2 exon 12 mutation in myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm with ring sideroblasts and thrombocytosis: Not an exclusive mutation to polycythaemia vera	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 British Journal of Haematology	6. 最初と最後の頁 e27 ~ e31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/bjh.16146	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fukuda, Y. Araki, M. Yamamoto, K. Morishita, S. Inano, T. Misawa, K. Ochiai, T. Edahiro, Y. Imai, M. Yasuda, H. Gotoh, A. Ohsaka, A. Komatsu, N.	4. 巻 104
2. 論文標題 Evidence for prevention of renal dysfunction associated with primary myelofibrosis by cytoreductive therapy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Haematologica	6. 最初と最後の頁 e506 ~ e509
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3324/haematol.2018.208876	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Edahiro, Y. Araki, M. Inano, T. Ito, M. Morishita, S. Misawa, K. Fukuda, Y. Imai, M. Ohsaka, A. Komatsu, N.	4. 巻 102
2. 論文標題 Clinical and molecular features of patients with prefibrotic primary myelofibrosis previously diagnosed as having essential thrombocythemia in Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Haematology	6. 最初と最後の頁 516 ~ 520
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ejh.13236	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 奥田真帆, 荒木真理人, 小松則夫	4. 巻 79
2. 論文標題 MPNのゲノム解析研究の進歩	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 血液内科	6. 最初と最後の頁 556 ~ 564
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 荒木真理人, 森下総司, 小松則夫	4. 巻 63
2. 論文標題 骨髄増殖性腫瘍の遺伝子異常	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床検査	6. 最初と最後の頁 790 ~ 796
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yasuda Shunichiro, Aoyama Satoru, Yoshimoto Ryoto, Li Huixin, Watanabe Daisuke, Akiyama Hiroki, Yamamoto Kouhei, Fujiwara Takeo, Najima Yuho, Doki Noriko, Sakaida Emiko, Edahiro Yoko, Imai Misa, Araki Marito, Komatsu Norio, Miura Osamu, Kawamata Norihiko	4. 巻 114
2. 論文標題 MPL overexpression induces a high level of mutant-CALR/MPL complex: a novel mechanism of ruxolitinib resistance in myeloproliferative neoplasms with CALR mutations	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Hematology	6. 最初と最後の頁 424 ~ 440
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-021-03180-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Inano Tadaaki, Araki Marito, Morishita Soji, Imai Misa, Kihara Yoshihiko, Okuda Maho, Yang Yinjie, Ito Masafumi, Osaga Satoshi, Mano Hiroyuki, Edahiro Yoko, Ochiai Tomonori, Misawa Kyohei, Fukuda Yasutaka, Ando Jun, Komatsu Norio	4. 巻 11
2. 論文標題 Cell-autonomous megakaryopoiesis associated with polyclonal hematopoiesis in triple-negative essential thrombocythemia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 17702
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-97106-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Morishita Soji, Ochiai Tomonori, Misawa Kyohei, Osaga Satoshi, Inano Tadaaki, Fukuda Yasutaka, Edahiro Yoko, Ohsaka Akimichi, Araki Marito, Komatsu Norio	4. 巻 113
2. 論文標題 Clinical impacts of the mutational spectrum in Japanese patients with primary myelofibrosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Hematology	6. 最初と最後の頁 500 ~ 507
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-020-03054-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計25件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Kihara Y, Araki M, Imai M, Mori Y, Horino M, Ogata T, Yoshikawa S, Taguchi T, Masubuchi N, Mabuchi Y, Yang Y, Fukuda Y, Morishita S, Suzuki T, Dohmae N, Shimonaka M, Akazawa C, Ohsaka A, Komatsu N.
2. 発表標題 Therapeutic potential of an antibody targeting the cleaved form of mutant calreticulin in myeloproliferative neoplasms
3. 学会等名 62nd Annual Meeting & Exposition of American Society of Hematology (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Inano T, Araki M, Morishita S, Imai M, Kihara Y, Okuda M, Ito M, Osaga S, Yang Y, Edahiro Y, Ochiai T, Misawa K, Fukuda Y, Ohsaka A, Komatsu N.
2. 発表標題 Concomitant occurrence of polyclonal hematopoiesis and cell-autonomous megakaryopoiesis in triple-negative essential thrombocythemia
3. 学会等名 62nd Annual Meeting & Exposition of American Society of Hematology (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Morishita S, Yasuda H, Yamawaki S, Kawaji H, Itoh M, Edahiro Y, Imai M, Kogo Y, Tsuneda S, Akimichi Ohsaka, Hayashizaki Y, Araki M, Komatsu N.
2. 発表標題 CREB3L1 Overexpression Can Reliably Discriminate Ph-MPNs from Reactive Cases
3. 学会等名 62nd Annual Meeting & Exposition of American Society of Hematology (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yasuda S, Aoyama S, Yoshimoto R, Watanabe D, Akiyama H, Yamamoto K, Fujiwara T, Sakaida E, Edahiro Y, Imai M, Araki M, Komatsu N, Kawamata N.
2. 発表標題 MPL Overexpression Induces a High Level of Mutant-Calr/MPL Complex: A Novel Mechanism of Ruxolitinib Resistance in Myeloproliferative Neoplasms with Calr Mutations
3. 学会等名 62nd Annual Meeting & Exposition of American Society of Hematology (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kihara Y, Araki M, Imai M, Fukuda Y, Mori Y, Taguchi T, Masubuchi N, Mabuchi Y, Yang Y, Mizukami Y, Morishita S, Akazawa C, Ohsaka A, Komatsu N.
2. 発表標題 Therapeutic potential of myeloproliferative neoplasms by antibody targeting mutant calreticulin
3. 学会等名 第82回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shioiri K, Araki M, Kitazawa S, Masubuchi N, Morishita S, Imai M, Ohsaka A, Komatsu N.
2. 発表標題 Analysis of behavior of erythropoietin receptor on the cell surface in JAK2 mutant cells
3. 学会等名 第82回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Morishita S, Yasuda H, Yamawaki S, Kawaji H, Itoh M, Edahiro Y, Imai M, Kogo Y, Tsuneda S, Ohsaka A, Hayashizaki Y, Araki M, Komatsu N.
2. 発表標題 CREB3L1 overexpression as a novel diagnostic marker of myeloproliferative neoplasms
3. 学会等名 第82回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Moriyama M, Akahane D, Moriya S, Imai M, Araki M, Komatsu N, Miyazawa K, Gotoh A.
2. 発表標題 Targeting ER stress enhances inhibitory effect of ruxolitinib in mutated-CALR transfected cells
3. 学会等名 第82回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yasuda S, Aoyama S, Yoshimoto R, Watanabe D, Yamamoto K, Fujiwara T, Edahiro Y, Imai M, Araki M, Komatsu N, Miura O, Kawamata N.
2. 発表標題 Overexpression of MPL causes ruxolitinib-resistance in MPN with CALR frame-shift mutations.
3. 学会等名 第82回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Araki M, Komatsu N.
2. 発表標題 Targeting calreticulin neoantigen for the treatment of myeloproliferative neoplasms
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 荒木真理人, 稲野資明, 森下総司, 木原慶彦, 奥田真帆, 楊印杰, 今井美沙, 枝廣陽子, 伊藤雅文, 大佐賀智, 落合友則, 三澤恭平, 大坂顯通, 小松則夫.
2. 発表標題 典型的なドライバー遺伝子変異の見いだされない本態性血小板血症の特徴
3. 学会等名 第30回日本サイトメトリー学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Marito Araki
2. 発表標題 The molecular mechanism underlying the development of myeloproliferative neoplasms by mutant calreticulin
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Marito Araki, Norio Komatsu
2. 発表標題 Oncogenic activation of thrombopoietin receptor by mutant calreticulin on cell surface
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 荒木真理人、楊印杰、増淵菜弥、林英里奈、水上喜久、木原慶彦、今井美沙、弘中由美、櫛島麻衣、枝廣陽子、大坂顯通、小松則夫
2. 発表標題 calreticulin変異による骨髄増殖性腫瘍発症の分子メカニズム
3. 学会等名 第29回日本サイトメトリー学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shunichiro Yasuda, Satoru Aoyama, Ryoto Yoshimoto, Watanabe Daisuke, Hiroki Akiyama, Yoshihiro Umezawa, Ayako Nogami, Kouhei Yamamoto, Takeo Fujiwara, Yoko Edahiro Marito Araki, Norio Komatsu, Tetsuya Fukuda, Ayako Arai, Osamu Miura, Norihiko Kawamata
2. 発表標題 Overexpression of MPL Causes Ruxolitinib-Resistance in Myeloproliferative Neoplasms with Calreticulin Frame-Shift Mutations
3. 学会等名 61th Annual Meeting & Exposition of American Society of Hematology（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Soji Morishita, Tomonori Ochiai, Kyohei Misawa, Tadaaki Inano, Yasutaka Fukuda, Yasumitsu Kurokawa, Yoko Edahiro, Marito Araki, Akimichi Ohsaka, Norio Komatsu
2. 発表標題 Mutations in epigenetic and splicing related genes among Japanese overt and prefibrotic primary myelofibrosis using target sequencing
3. 学会等名 The 10th JSH International Symposium（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nami Masubuchi, Marito Araki, Yinjie Yang, Erina Hayashi, Misa Imai, Yoko Edahiro, Yumi Hironaka, Yoshihisa Mizukami, Yoshihiko Kihara, Masato Koike, Akimichi Ohsaka, Norio Komatsu
2. 発表標題 Mutant calreticulin interacts with MPL in the secretion pathway for the activation on cell surface.
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshihisa Mizukami, Marito Araki, Misa Imai, Erina Hayashi, Nami Masubuchi, Yinjie Yang, Yoshihiko Kihara, Yumi Hironaka, Akimichi Ohsaka, Norio Komatsu
2. 発表標題 Mutant specific sequence promotes accumulation of mutant CALR in the Golgi apparatus
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tadaaki Inano, Marito Araki, Soji Morishita, Tomonori Ochiai, Kyohei Misawa, Yasutaka Fukuda, Naoko Midorikawa, Mai Nudejima, Masafumi Ito, Satoshi Osaga, Yoko Edahiro, Misa Imai, Teppei Taguchi, Maho Okuda, Akimichi Ohsaka, Norio Komatsu
2. 発表標題 Distinctive clinical and molecular features in absolute triple-negative essential thrombocythemia
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Misa Imai, Yasutaka Fukuda, Teppei Taguchi, Kyohei Misawa, Honglian Tong, Kimi Araki, Motomi Osato, Akimichi Ohsaka, Marito Araki, Norio Komatsu
2. 発表標題 Establishment of a mouse model for mutant CALR myeloproliferative neoplasms
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 増淵菜弥、荒木真理人、木原慶彦、楊印杰、今井美沙、水上喜久、林英里奈、弘中由美、竹井拓、枝廣陽子、大坂顯通、小松則夫
2. 発表標題 分泌経路における変異型分子シャペロンとサイトカイン受容体の会合による細胞の腫瘍化
3. 学会等名 第29回日本サイトメトリー学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水上喜久、荒木真理人、今井美沙、林英里奈、増淵菜弥、楊印杰、木原慶彦、弘中由美、大坂顯通、小松則夫
2. 発表標題 変異型特異的配列による変異型CALRの細胞内局在の規定
3. 学会等名 第29回日本サイトメトリー学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Satoko Ogata, Marito Araki, Yoshihiko Kihara, Maho Okuda, Soji Morishita, Misa Imai, Nami Masubuchi, Yousuke Mori, Yinjie Yang, Syunpei Yoshikawa, Tomonori Ochiai, Shuichi Shirane, Yoko Edahiro, Jun Ando, Norio Komatsu
2. 発表標題 Quantitative measurement of mutant calreticulin in specimens of myeloproliferative neoplasm patients
3. 学会等名 第83回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiromi Watari, Hiromu Kageyama, Hiroya Nakajima, Kako Onodera, PJ Foces, Nami Masubuchi, Takashi Matsui, Yoshio Kodera, Tomohisa Ogawa, Makoto Hirayama, Kanji Hori, Takeshi Yokoyama, Douglas Freymann, Norio Komatsu, Marito Araki, Yoshikazu Tanaka, Ryuichi Sakai
2. 発表標題 On the mechanism of sugar-chain mediated activation of thrombopoietin receptor (MPL)
3. 学会等名 第83回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中良和、影山大夢、辺ひろみ、増淵菜弥、中島寛也、小野寺かこ、松井崇、小寺義男、小川智久、横山武司、小松則夫、荒木真理人、酒井隆一
2. 発表標題 海洋天然物由来の新規生理活性タンパク質の構造機能解析
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 抗切断型変異CALR - CD3 二重特異性抗体及び医薬組成物	発明者 小松則夫、荒木真理人、木原慶彦、石田陽治、ほか	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/31355	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 切断型の変異型Calreticulinに結合する抗体、及び骨髄増殖性腫瘍の診断、予防又は治療薬	発明者 荒木真理人、小松則夫、木原慶彦	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/008434	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 多血症治療薬	発明者 張黎臨、野村富美子、荒木真理人、小松則夫	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/033561	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	小松 則夫 (KOMATSU NORIO) (50186798)	順天堂大学・医学部・特任教授 (32620)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------