

令和 2 年 6 月 25 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04211

研究課題名(和文) 家族内発症例の遺伝的要因の同定を基盤とした骨髄増殖性腫瘍発症機序の解明

研究課題名(英文) Clarification of the pathogenesis of myeloproliferative neoplasms based on the identification of genetic factors in familial cases

研究代表者

小松 則夫 (Komatsu, Norio)

順天堂大学・医学部・教授

研究者番号：50186798

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：フィラデルフィア染色体陰性骨髄増殖性腫瘍(MPN)は、末梢血の血球の増加を特徴とする血液のがんである。MPN患者の多くが、JAK2V617F遺伝子変異を有しており、この変異が病気の発症を規定していると考えられている。これまでマウスや、細胞株を用いた解析がされてきたが、JAK2V617F遺伝子変異がMPNで見いだされる末梢血の血球の増加を、単独で引き起こすか否かは明らかでなかった。本研究では、健康人由来のiPS細胞を用いて、JAK2V617F遺伝子変異を導入すると、MPN患者において観察される現象が生じることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

健康人から作ったiPS細胞にJAK2V617F変異を導入したところ、骨髄増殖性腫瘍患者でみられる造血能の亢進を、iPS細胞でも観察することができ、このiPS細胞を用いてJAK2V617F遺伝子の役割を解析することに成功した。このことから、今後はこのiPS細胞を用いて、新たな治療法の開発や病態解明がすすめられることから、その学術的意義、社会的意義は大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：Philadelphia negative myeloproliferative neoplasms (MPN) are clonal disorders characterized by an overproduction of terminally differentiated hematopoietic cells. A majority of patients with MPN harbor JAK2V617F mutation, which is thought as a driver gene mutation. Despite of several studies using mouse models and cell lines that link the JAK2V617F mutation and MPN, it was ambiguous whether JAK2V617F mutation alone was sufficient for the presentation of MPN phenotypes such as overproduction of terminally differentiated hematopoietic cells. In this study, we employed iPS cells derived from a healthy donor, introduced JAK2V617F mutation into these iPS cells, and demonstrated that the JAK2V617F alone was sufficient to induce MPN phenotypes in vitro.

研究分野：骨髄増殖性腫瘍

キーワード：骨髄増殖性腫瘍 iPS細胞 JAK2V617F変異 CRISPR/Cas9

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) フィラデルフィア染色体陰性骨髄増殖性腫瘍(myeloproliferative neoplasms; MPN)は、造血幹細胞に体細胞変異が生じることにより、一系統以上の骨髄系細胞のクローナルな増殖をきたす血液疾患である。MPNは、真性赤血球増加症(polycythemia vera: PV)、本態性血小板血症(essential thrombocythemia: ET)、原発性骨髄線維症(primary myelofibrosis: PMF)などに分類され、日本では高齢者を中心に、年間2000人を超える新規発症者がいる。MPNの予後は一般に良好であるが、脳梗塞や心筋梗塞の発症リスクが高い。さらに、特定疾患に指定されている難病のPMFを発症、あるいはPVやETから二次性骨髄線維症に病型移行すると、全身症状の悪化が進み、QOLが著しく低下する上、高率に予後不良の急性白血病を発症する。このため、PMF患者の生存期間中央値は3.8年と極めて短い。MPNに対する根本的な治療法は、治療関連死のリスクを伴う造血幹細胞移植に限られるが、MPN患者は高齢者が多いことなどから、移植適応症例はごく少数である。これらのことから、MPN発症メカニズムの解明による、MPNの早期診断と有効な治療戦略の確立が求められている。

(2) MPN患者では、欧米と同様に日本においても、サイトカインシグナル伝達に關与するJAK2、MPL、CALR遺伝子の変異が、相互排他的に見出される(Shirane S, et al. Haematologica, 2015)。これらの遺伝子変異は、サイトカインシグナル伝達系の機能を亢進させることが明らかにされており、モデル動物を用いた解析から、細胞の腫瘍化を引き起こすドライバー遺伝子変異であることが定義づけられている。さらに、最近の解析から、エピゲノム制御因子の異常により、造血幹細胞の自己複製能が亢進し、ドライバー遺伝子変異と協調してMPNの発症を引き起こしていることが明らかになってきた(Ortmann CA, et al. N Engl J Med. 2015)。

(3) 申請者は、これまでに1500以上のMPN(疑いを含む)症例を解析する中で、家族内でMPNを頻発する極めて稀な4家系を見出した。これらの家族性症例において、胚細胞系列に発病因子は見出されなかったことから、発病因子以外の異なる遺伝的要素(プレ因子)が胚細胞を経て引き継がれ、その結果、発病因子を誘発し、MPNを発症していることが示唆された。

2. 研究の目的

(1) 本研究課題では、試験管内でMPNの発症を再現できる実験系(MPNモデル系)を構築し、MPN発症にプレ因子が必要であるのか、あるいは発病因子だけが必要であるかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 全ゲノム解析によるプレ因子候補の探索

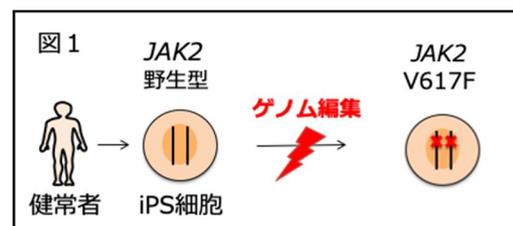
家族性MPN患者と非発症者の末梢血細胞からゲノムDNAを抽出し、高速シーケンサーを用いて全ゲノム配列を決定した上で、発症者と非発症者の配列を比較し、プレ因子の候補を探索した。

(2) iPS細胞株を用いた試験管内病態モデルの構築

家族性MPN患者の末梢白血球と非発症者のCD3細胞に初期化因子(Oct3/4, Sox2, Klf4, L-Myc, LIN28, EBNA-1, shp53)を発現するエピソーマルベクターをエレクトロポレーション法により一過性に導入し、マウス胚性線維芽細胞上においてbFGF存在下で培養し(Okita K, et al. Stem Cells. 2013)、iPS細胞株を樹立した。次に、PCR法により、初期化因子がゲノム上に挿入されていないiPS細胞株をスクリーニングした上で、未分化マーカーの発現を間接免疫蛍光染色法とRT-PCR法により確認した。家族性MPN患者由来のiPS細胞については、患者が有しているJAK2V617F変異が存在することを、ABC-PCR法(Morishita S, et al. PLOS ONE. 2015)を用いて確認した。続いて、iPS細胞をマウスC3H10T1/2細胞上においてVEGF含有培地で2週間培養し、内部に血液前駆細胞を多く含む嚢胞状のiPS-Sacを形成させた。iPS-Sacに含まれるCD34とCD43陽性の血球幹・前駆細胞を、フローサイトメーターを用いて計数し、血球幹・前駆細胞の誘導効率を求めた。iPS-SacからCD34陽性造血幹・前駆細胞を抗体ビーズを用いて精製してから、異なる量のサイトカインを含む分化培地(Takei H, et al. Br J Haematol. 2018)で1週間培養した。得られた血球細胞を系譜特異的な表面抗原マーカーCD235aとCD42bで染色し、血球分化能を評価した。また、コラーゲン培地を用いた分化誘導を行い、赤芽球系と巨核球系コロニーの形成能を評価した。

(3) 試験管内病態モデルを用いた変異遺伝子の機能解明

健常者由来のiPS細胞株に、CRISPR/Cas9ゲノム編集技術を用いて発病因子であるJAK2V617F変異を導入し、試験管内病態モデルにおける影響を検討した(図1)。具体的には、JAK2V617F変異の存在するexon14付近の塩基配列を切断するgRNA/Cas9発現ベクターを構築した。また、ゲノム編集に成功したクローンを選択する薬剤耐性カセットとしてピューロマイ



イシン耐性遺伝子を挿入した JAK2V617F 遺伝子のドナーベクターを構築した。この際、ピューロマイシン耐性遺伝子は、piggyBac transposase で除去可能な構造にした。これら 2 つのベクターをエレクロポレーション法によって iPS 細胞に導入し、ピューロマイシンによるセレクションを行い、得られたクローンに、piggyBac トランスポターゼ処理を行うことで、変異と同時に挿入されたピューロマイシン耐性遺伝子を除去した。最終的に得られた iPS クローンを、サンガーシークエンス法により JAK2V617F 変異の導入を確認した。

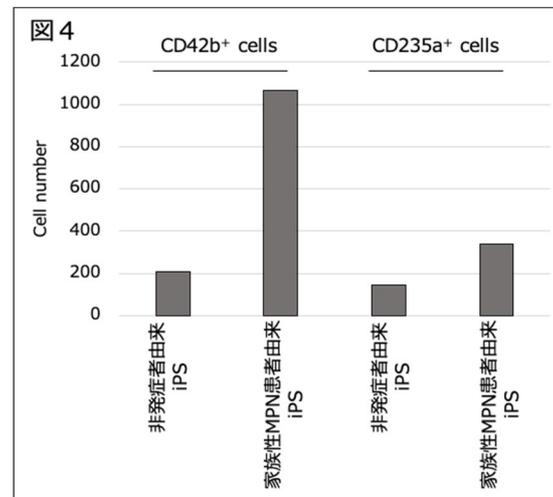
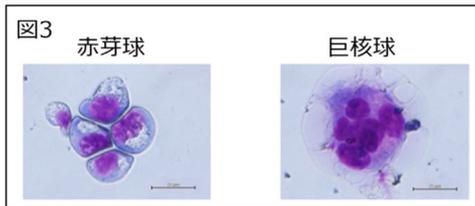
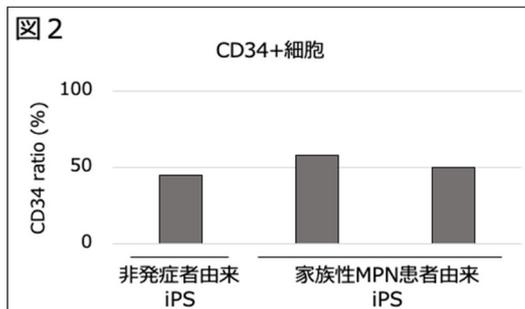
4. 研究成果

(1) 全ゲノム解析によるプレ因子候補の探索

MPN 多発家系における MPN 患者の CD3 陽性細胞と末梢白血球、非発症者の末梢白血球からゲノム DNA を精製し、全ゲノム配列を決定、配列比較を行うことで、MPN 発症者に特異的に見いだされるゲノム異常の探索を行った。多数の 1 塩基多型が見いだされ、発症者に特異的なものを同定することはできなかった。

(2) 試験管内 MPN モデル系の構築

家族性 MPN 患者細胞と非発症者の末梢血から樹立した iPS 細胞株から形成させた iPS-Sac では、CD34 を発現する血球幹・前駆細胞の誘導効率はクローン間によって差があるものの、家族性と非発症者とで大きな差は認めなかった(図 2)。続いて、CD34 陽性血球幹・前駆細胞の血球分化を誘導し、フローサイトメトリーを用いて赤芽球系と巨核球系への分化(図 3)を行ったところ、家族性 MPN 患者細胞由来の iPS から得られた細胞には、サイトカイン非依存性の血球分化が見いだされた(図 4)。さらに、CD34 陽性血球幹・前駆細胞のコロニー形成能を調べたところ、MPN 患者由来の細胞ではトロンボポエチン非依存的に誘導される巨核球系コロニーが見られた

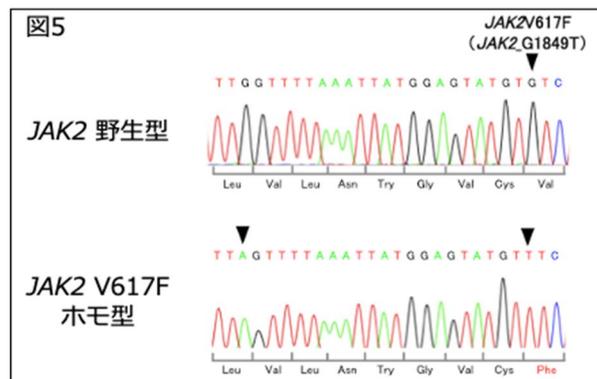


が、非発症者由来の細胞ではサイトカイン非依存的なコロニー形成はみられなかった。これらの実験結果により、MPN の病態を試験管内で再現するモデル系の構築に成功した。なお解析に用いた iPS 細胞株や患者末梢血から得られたゲノム DNA の網羅的遺伝子変異解析を行ったところ、MPN において散発的に見出されるエピゲノム制御因子やスプライシング因子の遺伝子変異は見いだされなかった。

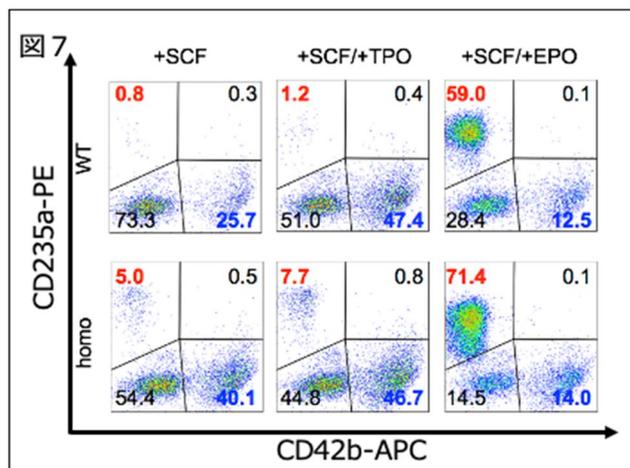
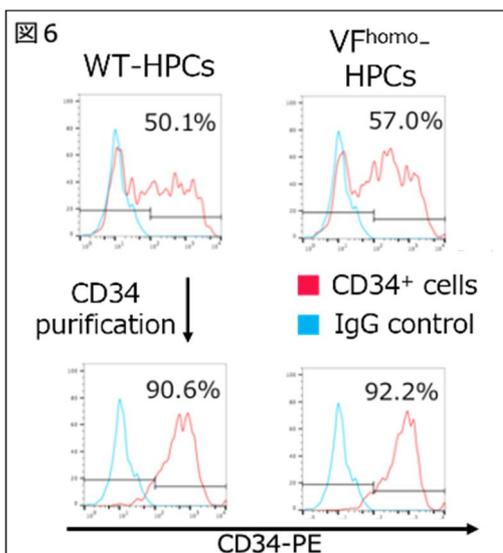
(3) 試験管内病態モデルを用いた変異遺伝子の機能解明

プレ因子が見いだされず、発病因子を有する iPS 細胞から誘導した造血幹・前駆細胞が、サイトカイン非依存性の血球分化を呈したことから、発病因子単独で MPN 表現型が生じることが予想された。そこで、健常者由来の iPS 細胞株に、ゲノム編集により JAK2V617F 変異を導入し、サンガーシークエンス法で確認して(図 5)

JAK2V617F ホモ接合型の iPS 細胞株を樹立した。多能性マーカーの発現を確認した後、試験管内において造血幹・前駆細胞への分化を誘導したところ、ゲノム編集の前後で誘導効率に差は見られなかった(図 6)。続いて、CD34 陽性造血幹・前駆細胞を分取し、分化培地を用いて赤血球や巨核球への分化誘導を行い、赤芽球マーカー CD235a や巨核球マーカー CD42b で標識される細胞数をフローサイトメーターで計測した。その結果、JAK2V617F 変異遺伝子を



有する幹・前駆細胞は、正常な細胞に比べて、エリスロポエチンやトロンボポエチンを含まない培地において、赤芽球や巨核球への分化が亢進していることが明らかになった（図 7）。すなわち、MPN の表現型は、少なくとも試験管内では、発症因子により出現することが示された。



JAK2V617F 遺伝子変異は上述した PV、ET、PMF の三疾患で見られるものの、同一の変異が、これら 3 疾患の異なる病型をどのようにして引き起こすかは未だ明らかでない。今後は、本研究で構築した試験管内病態モデル系を用いて、疾患発症メカニズムが解明されることが、大いに期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Araki Marito, Yang Yinjie, Imai Misa, Mizukami Yoshihisa, Kihara Yoshihiko, Sunami Yoshitaka, Masubuchi Nami, Eda Hiro Yoko, Hironaka Yumi, Osaga Satoshi, Ohsaka Akimichi, Komatsu Norio	4. 巻 33
2. 論文標題 Homomultimerization of mutant calreticulin is a prerequisite for MPL binding and activation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Leukemia	6. 最初と最後の頁 122 ~ 131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41375-018-0181-2	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 Takei H, Eda Hiro Y, Mano S, Masubuchi N, Mizukami Y, Imai M, Morishita S, Misawa K, Ochiai T, Tsuneda S, Endo H, Nakamura S, Eto K, Ohsaka A, Araki M, Komatsu N.	4. 巻 181
2. 論文標題 Skewed megakaryopoiesis in human induced pluripotent stem cell-derived haematopoietic progenitor cells harbouring calreticulin mutations.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Br J Haematol.	6. 最初と最後の頁 791-802
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/bjh.15266.	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 Ochiai T, Yasuda H, Araki M, Misawa K, Morishita S, Nudgejima M, Hironaka Y, Shirane S, Eda Hiro Y, Gotoh A, Ohsaka A, Komatsu N.	4. 巻 100
2. 論文標題 The 2014 BCSH criteria and the 2016 WHO criteria for essential thrombocythemia: A comparison in a large-scale cohort.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Eur J Haematol.	6. 最初と最後の頁 544-549
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ejh.13041	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 Misawa K, Yasuda H, Araki M, Ochiai T, Morishita S, Shirane S, Eda Hiro Y, Gotoh A, Ohsaka A, Komatsu N.	4. 巻 107
2. 論文標題 Mutational subtypes of JAK2 and CALR correlate with different clinical features in Japanese patients with myeloproliferative neoplasms.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Hematol.	6. 最初と最後の頁 673-680
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-018-2421-7	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, Ando J, Suzuki T, Fukumura Y, Masuda A, Sakayori S, Takeda J, Maruyama Y, Makino S, Itakura A, Komatsu N.	4. 巻 57
2. 論文標題 Multiple Placental Infarcts in a Pregnant Woman with Essential Thrombocythemia.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Internal Medicine.	6. 最初と最後の頁 3647-3650
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine	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 Imai M, Araki M, Komatsu N.	4. 巻 105
2. 論文標題 Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Int J Hematol.	6. 最初と最後の頁 743-747
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-017-2246-9	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 Araki M, Komatsu N.	4. 巻 108
2. 論文標題 Novel molecular mechanism of cellular transformation by a mutant molecular chaperone in myeloproliferative neoplasms.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 1907-1912
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13327	査読の有無 無
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 Oritani K, Ohishi K, Okamoto S, Kirito K, Komatsu N, Tauchi T, Handa H, Saito S, Takenaka K, Shimoda K, Okada H, Amagasaki T, Wakase S, Shimozuma K, Akashi K.	4. 巻 34
2. 論文標題 Effect of ruxolitinib therapy on the quality-of-life of Japanese patients with myelofibrosis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Curr Med Res Opin.	6. 最初と最後の頁 531-537
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/03007995	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 Ochiai T, Yasuda H, Araki M, Misawa K, Morishita S, Nudejima M, Hironaka Y, Shirane S, Edahiro Y, Gotoh A, Ohsaka A, Komatsu N.	4. 巻 100
2. 論文標題 The 2014 BCSH criteria and the 2016 WHO criteria for essential thrombocythemia: a comparison in a large-scale cohort.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Eur J Haematol.	6. 最初と最後の頁 544-549
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ejh.13041	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 Misawa K, Yasuda H, Araki M, Ochiai T, Morishita S, Shirane S, Edahiro Y, Gotoh A, Ohsaka A, Komatsu N.	4. 巻 107
2. 論文標題 Mutational subtypes of JAK2 and CALR correlate with different clinical features in Japanese patients with myeloproliferative neoplasms.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Hematol.	6. 最初と最後の頁 673-680
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-018-2421-7	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 Kirito K, Okamoto S, Ohishi K, Tauchi T, Handa H, Saito S, Takenaka K, Shimoda K, Oritani K, Akashi K, Okada H, Amagasaki T, Suzuki K, Yonezu T, Komatsu N.	4. 巻 107
2. 論文標題 Evaluation of the dose and efficacy of ruxolitinib in Japanese patients with myelofibrosis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Hematol.	6. 最初と最後の頁 92-97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-017-2332-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 Ueda K, Ikeda K, Ikezoe T, Harada-Shirado K, Ogawa K, Hashimoto Y, Sano T, Ohkawara H, Kimura S, Shichishima-Nakamura A, Nakamura Y, Shikama Y, Mori T, Mason PJ, Bessler M, Morishita S, Komatsu N, Shide K, Shimoda K, Koide S, Aoyama K, Oshima M, Iwama A, Takeishi Y.	4. 巻 1
2. 論文標題 Hmga2 collaborates with JAK2V617F in the development of myeloproliferative neoplasms.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Blood Adv.	6. 最初と最後の頁 1001-1015
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/bloodadvances.2017004457	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 Misawa K, Yasuda H, Araki M, Ochiai T, Morishita S, Nudejima M, Hironaka Y, Shirane S, Edahiro Y, Gotoh A, Ohsaka A, Komatsu N.	4. 巻 92
2. 論文標題 The 2016 WHO diagnostic criteria for polycythemia vera renders an accurate diagnosis to a broader range of patients including masked polycythemia vera: Comparison with the 2008 WHO diagnostic criteria.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Am J Hematol.	6. 最初と最後の頁 E128-E130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ajh.24752	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 Komatsu N, Kirito K, Shimoda K, Ishikawa T, Ohishi K, Ohyashiki K, Takahashi N, Okada H, Amagasaki T, Yonezu T, Akashi K.	4. 巻 105
2. 論文標題 Assessing the safety and efficacy of ruxolitinib in a multicenter, open-label study in Japanese patients with myelofibrosis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Int J Hematol.	6. 最初と最後の頁 309-317
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 1007/s12185-016-2130-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 Harrison CN, Koschmieder S, Foltz L, Guglielmelli P, Flindt T, Koehler M, Mathias J, Komatsu N, Boothroyd RN, Spierer A, Perez Ronco J, Taylor-Stokes G, Waller J, Mesa RA.	4. 巻 96
2. 論文標題 The impact of myeloproliferative neoplasms (MPNs) on patient quality of life and productivity: results from the international MPN Landmark survey.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Ann Hematol.	6. 最初と最後の頁 1653-1665
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00277-017-3082-y	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 -

〔学会発表〕 計23件(うち招待講演 0件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Takei H, Edahiro Y, Li L, Mizukami Y, Imai M, Morishita S, Ohsaka A, Araki M, Komatsu N.
2. 発表標題 The Zygosity of JAK2V617F Determines the Disease Entities of Myeloproliferative Neoplasms By Modulating Erythropoiesis but Not Megakaryopoiesis.
3. 学会等名 ASH 60th Annual Meeting and Exposition (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Edahiro Y, Mano S, Takei H, Li L, Morishita S, Gotoh A, Tsuneda S, Ohsaka A, Araki M, Komatsu N.
2. 発表標題 Copy number of JAK2V617F modulates human hematopoietic cell differentiation.
3. 学会等名 8th International Conference on Myeloproliferative Neoplasms (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Araki M, Masubuchi N, Hayashi E, Yang Y, Imai M, Kihara Y, Mizukami Y, Hironaka Y, Edahiro Y, Ohsaka A, Komatsu N.
2. 発表標題 Boarding on the secretary pathway is required for the oncogenic property of mutant calreticulin.
3. 学会等名 23rd Congress of the European Hematology Association (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北澤爽汰, 荒木真理人, 森下総司, 楊印杰, 今井美沙, 大坂顯通, 小松則夫.
2. 発表標題 受容体活性化において野生型JAK2は変異型JAK2を抑制しているようである.
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福田泰隆, 荒木真理人, 山本紘司, 森下総司, 稲野資明, 三澤恭平, 落合友則, 枝廣陽子, 今井美沙, 後藤明彦, 大坂顯通, 小松則夫.
2. 発表標題 細胞減少療法はPMF患者における腎機能の悪化を防止する.
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹井拓, 枝廣陽子, 李麗華, 水上喜久, 森下総司, 大坂顯通, 荒木真理人, 小松則夫.
2. 発表標題 JAK2V617F変異アレル数はヒト血球分化を変化させる.
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森下総司, 落合友則, 三澤恭平, 稲野資明, 棚島麻衣, 大坂顕道, 小松則夫.
2. 発表標題 ターゲット遺伝子シーケンスパネルによる原発性骨髄線維症の遺伝子変異解析.
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 荒木真理人, 楊印杰, 今井美沙, 水上喜久, 木原慶彦, 角南義孝, 増淵菜弥, 枝廣陽子, 弘中由美, 大佐賀智, 大坂顯通, 小松則夫.
2. 発表標題 変異型 CALRの多量体化は MPLとの結合と活性化に必須である.
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 稲野資明, 荒木真理人, 福田泰隆, 森下総司, 落合友則, 三澤恭平, 伊藤雅文, 山本紘司, 楊印杰, 田口鉄平, 枝廣陽子, 今井美沙, 後藤明彦, 大坂顯通, 小松則夫.
2. 発表標題 トリプルネガティブ本態性血小板血症症例の臨床像と遺伝子変異.
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安田峻一郎, 青山慧, 渡邊大介, 荒木真理人, 小松則夫, 三浦修, 川又紀彦.
2. 発表標題 UT-7/EpoおよびK562に対するCRISPR/Cas9法を用いたCALRおよびJAK2V617F変異の導入.
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takei H, Mano S, Masubuchi N, Mizukami Y, Morishita S, Imai M, Edahiro Y, Hironaka Y, Nudejima M, Tsuneda S, Endo H, Nakamura S, Eto K, Ohsaka A, Araki M, Komatsu N.
2. 発表標題 Establishment of an in vitro model for the skewed megakaryopoiesis by calreticulin mutation in human cells.
3. 学会等名 22nd Congress of the European Hematology Association (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Masubuchi N, Araki M, Hayashi E, Yang Y, Imai M, Kihara Y, Mizukami Y, Hironaka Y, Takei H, Edahiro Y, Ohsaka A, Komatsu N.
2. 発表標題 Localization of Mutant Calreticulin in the Golgi Apparatus Is Required for Its Oncogenic Capacity.
3. 学会等名 59th Annual Meeting of the American Society of Hematology and Exposition (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 眞野修一, 竹井拓, 森下総司, 水上喜久, 増淵菜弥, 弘中由美, 棚島麻衣, 常田聡, 大坂顯通, 荒木真理人, 小松則夫.
2. 発表標題 家族性骨髄増殖性腫瘍患者からの iPS細胞株の樹立.
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 林英里奈, 荒木真理人, 増淵菜弥, 水上喜久, 楊印杰, 今井美沙, 弘中由美, 竹井拓, 木原慶彦, 枝廣陽子, 大坂顯通, 小松則夫.
2. 発表標題 骨髓増殖性腫瘍に見出される変異型 CALR 蛋白質の細胞内局在.
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 野口雅章, 小松則夫, 小池道明, 木崎昌弘, 片山直之, 土橋史明, 薄井紀子, 桐戸敬太.
2. 発表標題 Clinical Performance Study of a novel JAK2V617F mutation quantitative kits for patients with Ph-MPN.
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 木原慶彦, 荒木真理人, 楊印杰, 今井美沙, 増淵菜弥, 水上喜久, 弘中由美, 竹井拓, 枝廣陽子, 大坂顯通, 小松則夫.
2. 発表標題 変異型 CALR タンパク質の発現を制御するメカニズム.
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 筒井深雪, 後藤明彦, 森下総司, 荒木真理人, 福田泰隆, 新田英昭, 安藤純, 小松則夫.
2. 発表標題 BCR-JAK2 陽性骨髓増殖性腫瘍.
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 竹井拓, 眞野修一, 増淵菜弥, 水上喜久, 今井美沙, 森下総司, 枝廣陽子, 弘中由美, 棚島麻衣, 常田聡, 遠藤大, 中村壮, 江藤浩之, 大坂顯通, 荒木真理人, 小松則夫.
2. 発表標題 カルレチキュリン変異を有する血球前駆細胞は巨核球への分化偏向性を有する.
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 竹井拓, 眞野修一, 増淵菜弥, 水上喜久, 今井美沙, 森下総司, 枝廣陽子, 弘中由美, 棚島麻衣, 遠藤大, 中村壮, 江藤浩之, 大坂顯通, 荒木真理人, 小松則夫.
2. 発表標題 変異型 CALR による巨核球分化偏向性は GATA2 の発現亢進と関連している.
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 崎山祐未, 安藤美樹, 村越勇人, 安藤純, 大坂顯通, 小松則夫, 滝口雅文, 中内啓光.
2. 発表標題 iPS 細胞由来若返りCTL 治療のためのCD8b の役割.
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 横溝智雅, 渡邊直紀, 森誠一, 高久智生, 大里元美, 小松則夫.
2. 発表標題 マウス胎仔における造血幹細胞依存性および非依存性の血球系譜の発生起源.
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Masubuchi N, Araki M, Hayashi E, Yang Y, Imai M, Mizukami Y, Hironaka Y, Takei H, Morishita S, Kihara Y, Edahiro Y, Ohsaka A, Komatsu N.
2. 発表標題 Engagement of mutant calreticulin and MPL in a cellular compartment is required for MPL activation.
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Araki M, Komatsu N.
2. 発表標題 変異型CALRの細胞内コンパートメントへの局在がトロンボポエチン受容体の活性化に必要である.
3. 学会等名 第76回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計7件

1. 著者名 木崎昌弘、田丸淳一、朝長万左男、小松則夫、吉岡智子、高橋直人、枝廣陽子、幣光太郎、下田和哉、水木満佐央、金倉讓、宮本敏浩、桐戸敬太、宮崎泰司、長谷川大輔、真部淳、南谷泰仁、麻生範雄、清井仁、佐々木伸也	4. 発行年 2019年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 527
3. 書名 WHO分類改定第4版による白血病・リンパ系腫瘍の病態学	

1. 著者名 直江知樹、小松則夫、宮崎泰司、中村栄男、飯田真介、大島孝一、木下朝博、吉野正	4. 発行年 2018年
2. 出版社 医薬ジャーナル社	5. 総ページ数 463
3. 書名 WHO血液腫瘍分類 WHO分類2017をうまく活用するために	

1. 著者名 小松則夫	4. 発行年 2017年
2. 出版社 最新医学社	5. 総ページ数 8
3. 書名 インターフェロンの復活.	

1. 著者名 小松則夫.	4. 発行年 2017年
2. 出版社 医薬ジャーナル社	5. 総ページ数 5
3. 書名 骨髄線維症 (MF) ~分子病態の解明から新規治療薬の開発まで~ 序 ~骨髄線維症の現状と展望~	

1. 著者名 小松則夫, 桐戸敬太, 荒木真理人	4. 発行年 2017年
2. 出版社 最新医学社	5. 総ページ数 14
3. 書名 これからの骨髄増殖性腫瘍の基礎研究と臨床のゴール.	

1. 著者名 小松則夫.	4. 発行年 2017年
2. 出版社 日本医事新報社	5. 総ページ数 2
3. 書名 真性赤血球増加症 専門家による 私の治療.	

1. 著者名 小松則夫.	4. 発行年 2017年
2. 出版社 日本医事新報社	5. 総ページ数 2
3. 書名 本態性血小板血症 専門家による 私の治療.	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 骨髄増殖性腫瘍の診断	発明者 森下総司, 小松則夫, 他	権利者 順天堂大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-078074	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔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	森下 総司 (Morishita Soji) (10635866)	順天堂大学・医学部・助教 (32620)	
研究分担者	荒木 真理人 (Araki Marito) (80613843)	順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・先任准教授 (32620)	