

綜 説

血液腫瘍における遺伝子変異

牧島 秀樹¹⁾²⁾

- 1) クリーブランドクリニックトーシックがんセンター
2) 信州大学医学部内科学第二講座

Genetic Mutations in Hematological Malignancy

Hideki MAKISHIMA

- 1) *Taussig Cancer Institution, Cleveland Clinic*
2) *The Second Department of Internal Medicine, Shinshu University School of Medicine*

Key words: genetic mutation, MDS, AML, hematological malignancy
遺伝子変異, 骨髄異形成症候群, 急性骨髄性白血病, 血液腫瘍

I はじめに

近年の科学技術の発達により、遺伝子シーケンス技術はその処理能力を飛躍的に増大させてきた。現在、コンピューター処理能力に伴う制限はあるものの、次世代シーケンサーにより、2週間程度かければ、ヒトの全ゲノムがシーケンスできるようになった。また、全世界の複数の研究施設が、遺伝子学的多型を示す、ゲノム上の一塩基遺伝子多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) や染色体のコピー数多型 (copy number variation, CNV) の頻度を一般に公開するようになり、加えてあらゆる腫瘍における遺伝子変異とフュージョン遺伝子のリストに、誰でもアクセスできるようになった。このような情報環境の変化に伴い、インターネットにより、日常的に、自分のラップトップを使い、様々な遺伝子異常の情報を机上で検索することができる。そこで、この綜説では、最近になって明らかになってきた、腫瘍における遺伝子変異を理解するうえで有用と思われる、いくつかの概念について(血液腫瘍を例にとって)説明する。というのは、単に遺伝子に異常があるということと、それが病態に関わるということとの間には、埋めなければならない、いわゆるギャップがあるからである。ここで示すどの概念をとっても、腫瘍における遺伝子異常がなぜ、また、どのようにして病態に関わるのかを述べた論文や

連絡先: 牧島 秀樹

E-mail: makishimah@gmail.com

報告に、頻繁に使われている。

II Homozygous 変異と Heterozygous 変異

Homo sapiens において、男性における性染色体以外では、常に相同の2本の染色体が存在する。そのため、遺伝子変異を述べる際には、常に、接合状態 (zygosity) がついてまわる。両方の対立遺伝子 (allele) が変異していれば同型接合性 (homozygous)、片方のalleleのみが変異していれば異型接合性 (heterozygous)。また、変異していないalleleが欠失していれば半接合性 (hemizygous) と呼ばれる。また、その遺伝子の両方の allele が欠失していれば、同型接合型欠失 (homozygous deletion, null) になる。骨髄腫瘍において homozygous deletion の最も有名な例は、*CDKN2A* で、この遺伝子異常は、シーケンスによらず、SNPアレイや比較ゲノムハイブリダイゼーション (comparative genomic hybridization, CGH) などの、高分解能の染色体分析により明らかにされる¹⁾。Homozygous deletion のシーケンスの結果は、サンプルに混入している正常細胞により、野生型 (wild-type) となるからである。

通常、サンガー sequencing を用いると、heterozygous なら、double band になり、homozygous なら、変異型 (mutant) のみの結果が得られる。しかし、両方の allele の結果が混在しているからといって、heterozygous とは言えない。Homozygous 変異のクローンが50%あり、wild-type のクローンが50%あ

れば、両方の allele が同程度に認められるからである。これらを区別するには、変異のある座位 (locus) の zygosity を何らかの方法 (SNP アレイなど) で確認することが必要である。

変異が homozygous となる 1 つの理由は、その変異が腫瘍細胞にとって有利に働くためであり、heterozygous 変異が存在する染色体が 2 倍となり、wild-type の allele が失われる。結果、染色体数は正常でしかも、ヘテロ接合性消失 (loss of heterozygosity, LOH) を認め、別名で片親性ダイソミー (uniparental disomy, UPD) と呼ばれる¹⁾。この場合、変異が 2 倍になるのみでなく、wild-type の allele が消失することが重要であることがわかっている。これは、たとえば、*CBL* 変異の場合、homozygous の変異がある細胞に、wild-type の遺伝子を発現させると、変異の効果に基づく細胞増殖が低下する、という実験によって確認されている²⁾。*CBL* 変異は、世界に先駆けて、SNP アレイを用いた本邦 (東京大学の小川研) からの重要な報告によって、その全貌が明らかにされた³⁾。興味深いことに、ほとんどの *CBL* 変異が homozygous の形式をとる。また、同様の病態は、wild-type 遺伝子の locus が、欠失することでも達成され (hemizygous)、*CBL* 変異もしばしば、hemizygous の形式をとる⁴⁾。前述したとおり、この場合、単に、変異の allele が増加することのみならず、wild-type が消失することが、病態により深く関わっていることが推察される。一方、同様に、*RUNX1* の homozygous 変異も、時に、UPD に伴って認められる。しかしながら、興味深いことに *RUNX1* 変異は、ときに heterozygous の形式をとるのみならず、三染色体性 (trisomy) にも認められることがある。この場合、常に LOH を伴っているとは限らない。第 21 番染色体の trisomy では、3 本あるうち 2 本の allele に変異が認められ、UPD のように wild-type の allele が消失することなく単純に変異のある染色体が 2 倍になっている⁵⁾。つまり、細胞の生存のために、*CBL* 変異にとっては wild-type は邪魔であり、*RUNX1* 変異では必ずしも wild-type の有無は重要ではない。*CBL* は機能獲得性 (gain of function)、*RUNX1* は機能喪失性 (loss of function) の変異と考えられている (後述)。

UPD と homozygous 変異に関しては、以下に述べる、活性化型変異 (activated mutation=gain of function mutation) と loss of function 変異との関連から

いっても興味もたれる。真性多血症 (polycythemia vera, PV) に認められる activated *JAK2* 変異は、ほとんどの場合に、homozygous の形式をとる⁶⁾。この場合、変異が増えることで、細胞増殖に有利となる。しかし、activated 変異であっても、必ずしも変異体が多いほうが、細胞増殖に有利に働くわけではない。activated 変異と考えられる *IDH1/2* 変異の場合、常に heterozygous の変異である。その証拠に、この locus に UPD や deletion が起こることは稀である。

III Activated 変異と Loss of Function 変異

最もよく知られた activated mutation の代表例は、前述した、PV に認められる *JAK2* 変異である。この変異は、PV の原因遺伝子変異として、診断基準にも含まれている。Loss of function 変異の代表例は *TP53*、*CDKN2A*、*TET2* 変異などである。Activated 変異は、wild-type の本来の機能を増加させる方向にはたらくもので、通常、癌遺伝子 (oncogene) と呼ばれる。SNP アレイにより、その遺伝子が含まれる locus が、trisomy などにより増幅していることが多い。あるいは、発現アレイにおいて、メッセンジャー RNA (mRNA) の発現増加が示される。一方、loss of function 変異は、癌抑制遺伝子 (tumor suppressor gene) に認められ、高頻度に、染色体の欠失と遺伝子発現の減少が認められる。遺伝子変異とそれに伴う機能の変化を考える際に重要なことは、第一に、変異の起きる場所が、ある特定のアミノ酸に集中しているかどうかである。*IDH1/2*、*KRAS/NRAS*、*JAK2*、*KIT* などでは、90% 以上の変異が、限られたアミノ酸に集中しており、本来の遺伝子の機能を増加させる働きをする。第二に重要な点は、ストップコドンに伴うナンセンス (nonsense) 変異や、変異以降アミノ酸配列が変化するフレームシフト (frameshift) 変異を認めるかどうかである。変異の生じる場所が、遺伝子上の全体にわたり、また、nonsense・frameshift 変異を認めた場合、その遺伝子変異は、loss of function である。これらのことは、機能を確認する前から明らかで、例外はほとんどない。つまり、遺伝子異常を認めた際に、それが遺伝子のどの場所に起きているのか、あるいは、どのタイプ (遺伝子変異を認めた部分のみのアミノ酸が置き換わるミスセンス (missense)・nonsense・frameshift) なのかを知ることが、病態を理解するうえで不可欠なのである (図 1)。

最近明らかとなった activated 変異の例は、顆粒リ

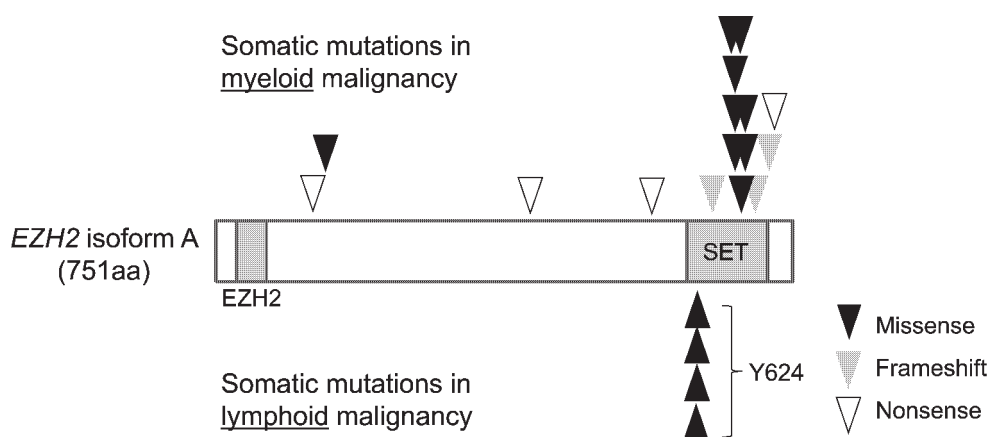


図1 *EZH2* における, Loss of function 変異と Activated 変異
 骨髄系腫瘍では, 上半分に示すように, 遺伝子全体にわたって, missense, frameshift, nonsense 変異を認め, これらは loss of function 変異である。リンパ系腫瘍では, 下半分に示すごとく, activated 変異が Y624 に集中して認められる。

リンパ球性白血病 (large granular lymphocytic leukemia, LGLL) における *STAT3* の変異である⁷⁾⁸⁾。長らく反応性疾患と考えられていた本疾患の一部は, 次世代シーケンスにより, *STAT3* の activated 変異がその病態に関与することが複数の施設より示された。90% 以上の変異は, Src homology2ドメインに集中しており, *STAT3* の機能を増加させると考えられている。*STAT3* はそれまで, LGLL において, 重要な働きをしていることは, 十数年来示されており⁹⁾, ここに, activated 変異が報告されたことで, その妥当性が再確認され, さらに, *STAT3* 阻害薬が, 新しい治療方法として, 大変注目されている。

驚くべきことに, 血液腫瘍において, 1つの遺伝子が, activated変異とloss of function変異の両方を示す例がある。*EZH2*は, ヒストンH3のLysine (K) 27のアセチル化酵素である。まずはじめに, 固形腫瘍において, *EZH2* の増幅が報告され, 次にB細胞リンパ腫において変異がY641のアミノ酸に集中して認められた¹⁰⁾。B細胞リンパ腫では, H3K27のメチル化亢進が示され, activated 変異と考えられ, ほとんどがheterozygous 変異である。一方, 骨髄異形成症候群 (myelodysplastic syndrome, MDS), 急性骨髄性白血病 (acute myeloid leukemia, AML) など骨髄性腫瘍では, 変異は遺伝子全体に認められるものの, 同様のアミノ酸には, ほとんど変異が認められず, のみならずH3K27のメチル化は低下している¹¹⁾¹²⁾。骨髄系腫瘍では, *EZH2* の変異は, 頻繁に, homozygous, hemizygous を来す¹³⁾。これは, 1つの遺伝子が, その変異のタイプにより, 腫瘍の lineage に影響する,

非常に明確な例である (図1)。現在では, そのほかの遺伝子でも, 類似の重要な発見がされている (*GFI1* 遺伝子など)¹⁴⁾。

IV 先天性疾患 (Congenital disease) における生殖細胞系 (Germline) 変異と血液腫瘍における体細胞系 (Somatic) 変異

この概念は, germline 変異と somatic 変異を理解するうえで, 非常に興味深い。まず, 血液腫瘍において最も有名な例は *RUNX1* 変異である。家族性のAMLに認められる *RUNX1* 変異は, germline の変異である¹⁵⁾。 *RUNX1* は同時に, somatic 変異として, 骨髄腫瘍で一般的に認められる。また, *NF1*, *KRAS*, *NRAS*, *PTPN11*, *CBL* は, 若年性骨髄単球性白血病 (juvenile myelomonocytic leukemia, JMML) や若年性骨髄単球性白血病 (chronic myelomonocytic leukemia, CMML) において頻度の高いRASパスウェイの activation を来す somatic の変異を起こす^{16)–18)}。同時にこれらの, RAS パスウェイの遺伝子群は, germline の変異により Noonan 症候群などの先天異常を起こす¹⁹⁾。そして, これらの先天異常の症例に, JMML を認めるのである。このような, germline と somatic の変異のオーバーラップは, 多岐に渡り, 本来, 先天異常に認められていた異常がAMLに認められたり (*WT1* など), 最初にAMLで発見された遺伝子変異が後に先天異常を説明する例 (Kabuki症候群における *MLL2* 変異) など, 枚挙にいとまがない。最近では, スプライソソーム関連遺伝子の1つとして, 以前より, 網膜色素変性症 (retinitis

pigmentosa) において germline 変異が報告されていた *PRPF8* 遺伝子が、MDS において、somatic に変異していることが明らかになった²⁰⁾。

この理論が応用され、2012年には、新たに、*SETBP1* の変異が発見された。まずはじめに、2009年に、次世代シーケンスにより、非常にまれな先天異常である Schinzel-Giedion 症候群において、*SETBP1* の germline 変異が原因であると明らかにされた²¹⁾。2012年暮れに、我々を含め複数の施設（日本、イタリア、アメリカ）より、同時に、非定型性慢性骨髄性白血病 atypical chronic myeloid leukemia (aCML), CMML, JMML, MDS から派生した二次性 AML において高頻度に、somatic 変異が報告された²²⁾²³⁾。驚くことに、germline の変異と somatic の変異は、95% の確率で一致して、限られたアミノ酸に集中していた。特に、骨髄腫瘍では、-7/del7q と関係し予後不良因子であり、機能解析により、activated 変異と考えられている。我々の施設では、この遺伝子異常に関して世界で最も症例を蓄積しており、下流のパスウェイを制御することにより有効な治療法を検索している。

V 相互排他的 (Mutually Exclusive) と同時発生相乗的 (Concomitantly Synergetic)

以前より、成人の MDS においては、複数の遺伝子に変異が認められることは報告されていた。また、コア結合因子 (core binding factor) 白血病の発症には、フュージョン遺伝子に加えて付加的な遺伝子異常が必要であることも知られていた。次世代シーケンスの時代に入ってから、ほとんどの腫瘍において複数の遺

伝子異常が認められるようになった。血液腫瘍においては、1 症例につき MDS では平均7.7, 成人 AML では17, CMML では12個の変異が認められる²⁴⁾。特に MDS の場合は、蓄積変異というものがあって、単一遺伝子の変異によって起こる先天異常や CML などとは異なり、通常、複数の変異が認められる。これらは、1つの腫瘍細胞に同時に変異を起こすことによって、お互いに相加的あるいは相乗的に腫瘍化に有利に働くからと考えられている (concomitantly synergetic)。一方、同じパスウェイを構成する遺伝子群である、RAS 変異に注目すると、例えば、CMML, JMML において、*KRAS*, *NRAS*, *PTPN11*, *CBL*, *NFI* 遺伝子は 1 例につき 1 つの他の遺伝子のみ変異し、同様のパスウェイを構成する遺伝子は変異しない (mutually exclusive) (図 2)³⁾¹⁷⁾。これらの代表例として、コヘシン変異、スプライソソーム関連遺伝子変異などがある²⁵⁾。この現象がおきる理由は、① 1 つの変異が、発症に十分であること (RAS パスウェイ)、② 同じパスウェイの中の複数遺伝子に変異がおきると逆に腫瘍化に不利に働く (スプライソソーム) ことの 2 つの可能性が考えられている。

VI 先祖型 (Ancestral) 変異と獲得型 (Acquired) 変異

前述した、concomitantly synergetic のパターンを呈する遺伝子変異を説明する際、同時に理解すべきは、それらの変異が発症時に起きるか、あるいは、MDS から二次性に AML を発症する経過中に起きるかの違いである。より初期の MDS 発症時に起こる変異は、一般に ancestral 変異とも呼ばれ、単独ではさほど進

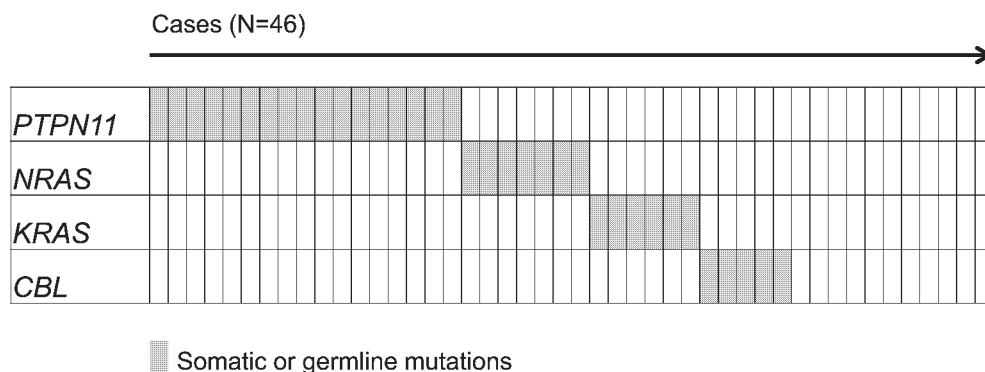


図2 JMML における Mutually exclusive タイプの遺伝子変異
RAS パスウェイに属する *PTPN11*, *NRAS*, *KRAS*, *CBL* 遺伝子は、JMML において高頻度に遺伝子変異を来す。これらは、それぞれの症例において、お互いに排他的に認められる (mutually exclusive)。

行性の病状を来さない。代表的なものは、*TET2*、スプライソソーム関連遺伝子、*ASXL1*変異などである。一方、白血病化に伴って変異する遺伝子には *RUNX1*、*RAS*、*SETBP1* などがあり、二次性に獲得されることから acquired 変異と称される。しかし、この分類は絶対ではなく、*TET2* やスプライソソーム変異が、経過中の後半に認められることももちろんある。

次世代 sequence により定量的にシーケンスすると、ancestral 変異のアレルは有意に acquired 変異と比較し、増加していることが確認できる。また、臨床経過のなかで複数のタイムポイント、例えば MDS、二次性 AML の両時期で sequence を行うと、ancestral 変異は両方の検体において陽性となるが、acquired 変異は白血化した検体のみ認められる。これらの所見から、変異が起こる時間軸が明らかになるだけでなく、acquired 変異は ancestral の変異のサブクローンに起こるということが、例外なく示されている²⁶⁾。

また、さらに、興味深いのは、治療上、これらの変異の情報がますます重要視されつつあることである。例えば、初期治療が不応性となる場合、acquired 変異の存在が疑われることは、もちろん重要である。さらに、現在では、その際に根治を目指すには、ancestral 変異をターゲットとした治療ももちろん必要と考えられている。これは、治療後再発時には、ancestral 変異は必ず認められ、acquired 変異は消失したり、他の acquired 変異に置き換わることが認められているからである。つまり、新しい acquired 変異が加えられたからといって、ancestral の遺伝子変異に対する治療は中止できないのではないか、と推測されている。しかし、依然、分子生物学的ターゲット治療はまだ、発展途上にあり、临床上、どのような治療が最適であるかは、まさに現在、最も注目されているテーマである。

Ⅶ 合成致死性 (Synthetic lethality) と Loss of function 変異

この考え方は、遺伝子変異を治療の分子標的として捉える際に、有用である。この概念を説明する前に、遺伝子変異に基づく、従来の治療 target の考え方について確認する。① activated 変異を対象に、この oncogene を阻害する薬剤を候補として検討する。あるいは、② loss of function 変異に対して、この tumor suppressor gene を活性化させる、あるいは下流で活性化されるパスウェイを抑制する。これらが、これま

での方針であった。

しかしながら、最近になって、loss of function 変異に対して、その遺伝子を阻害することが試みられている。これは、動物実験において、変異のある遺伝子を両方のアレルからノックアウトすると、胎生死亡となる現象に基づいている。現在精力的に研究が進められているのが、スプライソソーム関連遺伝子の変異である。代表的な変異遺伝子である *SF3B1* は、2011年に環状鉄芽球を伴う不応性貧血 (refractory anemia with ring sideroblasts) と慢性リンパ性白血病 (chronic lymphocytic leukemia) において全世界で同時に報告された²⁷⁾⁻²⁹⁾。根拠になるのは、*SF3B1* の null マウスは生まれてこないとする報告で³⁰⁾、heterozygous 変異のある腫瘍細胞に対して、さらに機能を阻害することにより、mutant と wild-type の間で治療反応性に差が認められるという、synthetic lethality の考え方である。新しい治療ターゲットを検索する方法として有望視されている。

Ⅷ 5q- Syndrome と 5q 欠失を伴う他疾患

Ebertらによる *RPS14* の発見³¹⁾と Starczynowskiらによる *miRNA145* と *146a* の 5q- syndrome における役割の報告³²⁾は、複数のフォローアップの論文によりよく知られるところとなっている。これらの遺伝子は、ハプロ不全 (haploinsufficiency) により、低発現を呈することにより、病態に関与する。しかしながら遺伝子変異の頻度はきわめて低い。

これに加えて、第 5 染色体に関しては、SNP アレイにより、これまで、分裂中期の染色体分析 (metaphase cytogenetics) では発見できなかった新しい疾患概念が明らかとなった。まず、SNP-A により、第 5 染色体の欠失が、予後良好な短い欠失 (テロメア、セントロメアを含まない) と予後不良な長い欠失 (テロメア、セントロメアを含む) に分類されたのである³³⁾。これにより、*RPS14* と miRNA をはじめとする、短い欠失に含まれる遺伝子群の発現低下が、5q-syndrome を説明し、それ以外の 5q の欠失を伴う AML などの予後不良な骨髄腫瘍を、テロメア、セントロメア側 (外側) にある遺伝子群の発現低下によって説明しようとする概念である (図 3)。この話題には、追加があり、ごく少数例であるが、短い欠失を伴う、予後不良な AML の存在も認められた。しかし、驚くことに、この、少数例では、テロメア側にある遺伝子 *MAML1* (5q35.3)、*NPM1* (5q35.1) が、loss of

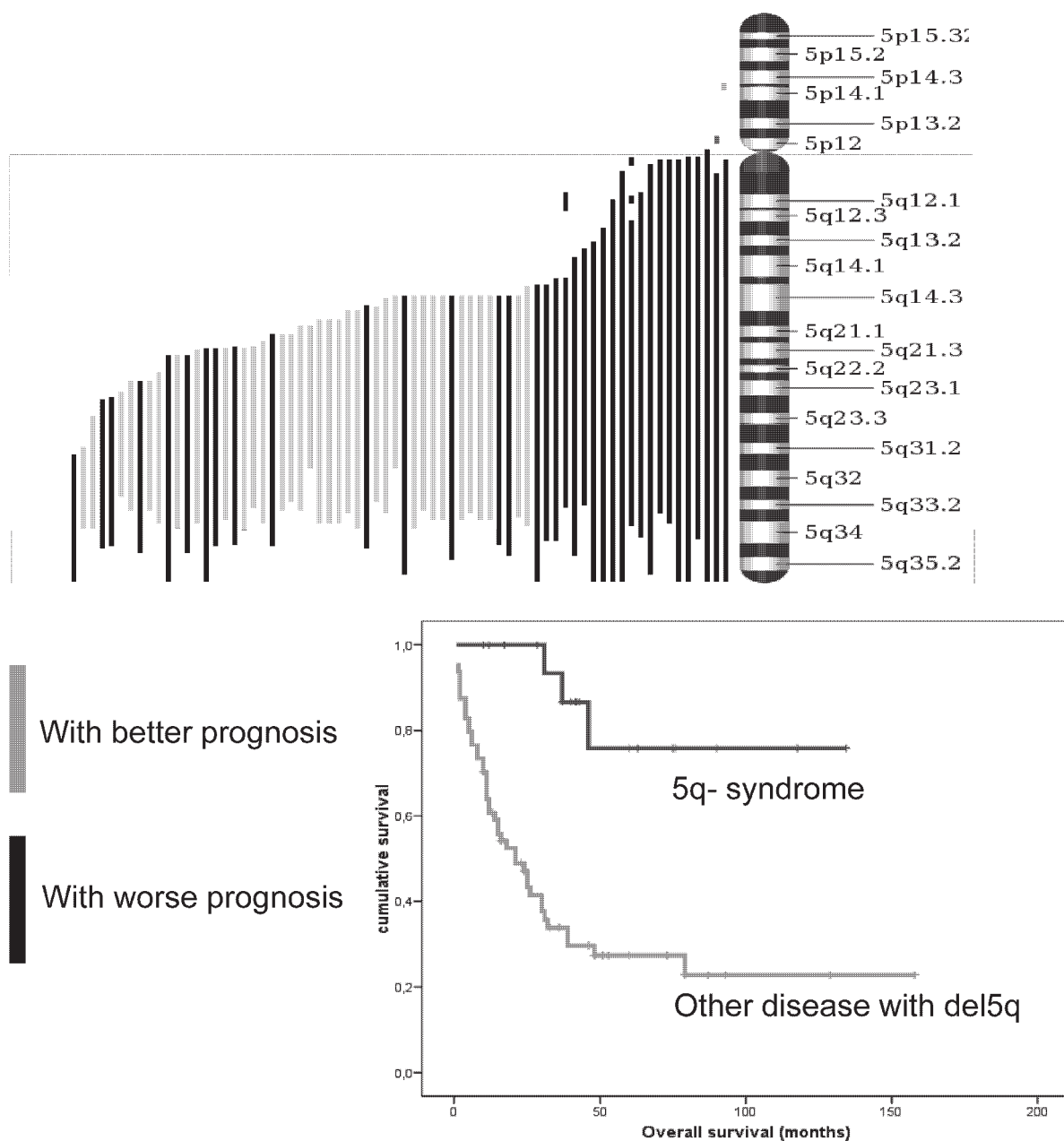


図3 SNPアレイによる5q欠失の分類

5番染色体の左に並んだ縦の線は、SNPアレイにより認められた5q欠失であり、予後不良な症例は黒、予後良好な症例を灰色で示す。これにより、骨髄腫瘍に認められる5q欠失は、予後の違いにより、短いタイプと長いタイプに分類される。5qのセントロメア・テロメア側の灰色と破線で示された長四角部分には、予後不良な症例のみ欠失を認め、予後に関係する重要な遺伝子の存在が疑われる。

function 変異を起こしていたのである。これはまさに、機能喪失型変異と染色体欠失のオーバーラップの典型例である。さらに、我々の施設では、これらの症例を蓄積することにより、セントロメア側にも新規の遺伝子変異を発見している。これらの所見をみても、染色体の欠失による、haploinsufficiencyとheterozygousのloss of function 変異はほぼ、同義と考えて差し支えない。以上より、長い5qの欠失を伴う予後不良な

疾患を説明するのは、これらの遺伝子の低発現と考えられる。この概念は、予後との関連からしても、非常に重要である。現在我々は、さらに、7番染色体に関しても、同様の検索方法を用いて、重要な遺伝子群を同定している³⁴⁾。

IX X染色体と遺伝子変異

最後に、すこし、ショッキングな(?)概念を説明

する。いまだ、有効な治療法が確立されていない CMML が男性に多いことはよく知られている。男性の血液細胞は X 染色体を 1 本のみ有するため、遺伝学的に、男性に頻度の高い疾患を X 染色体上の遺伝子によって説明しようとするのがかねてより 1 つのトレンドとなっていた。我々は、CMML において、X 染色体上にある *UTX* 遺伝子の loss of function の遺伝子異常を発見し、報告した³⁵⁾。また最近では、*PHF6* 遺伝子が、AML において、loss of function の変異を起こすことが報告された³⁶⁾。興味深いことに、*PHF6* は生来、男性において、女性に比較して、平均の遺伝子発現が低下している。また、*PHF6* 変異も、優位に男性に多く認められる。*PHF6* や *UTX* の機能低下が骨髄腫瘍発症の男性における優位性を全て証明できるかはまだ不明であるが、疾患頻度の性差を考える際に、常に、X 染色体上の遺伝子を候補として考えることは、一般的に妥当と考えられている。

X おわりに

以上、主に、血液腫瘍における遺伝子変異に関して、いくつかの概念を述べた。腫瘍関連遺伝子の普遍性からしても、これらの考え方は、血液腫瘍のみならず、固形腫瘍、あるいは、これまで、良性疾患と考えられている、例えば、自己免疫疾患などにおいても、例えば遺伝子変異が認められた際に（実際我々の研究室ではすでに発見されているが）、将来的に、その病態を理解する上で、必ず役に立つはずである。また、今回論じた、SNP アレイや次世代シーケンサーのような新しい方法が使えるようになると、いつでも必ず新しい知見がえられ、さらに詳しい病態が明らかとなっていく。そして、その際、最も望まれるのが、これらの新知見が、患者さんの予後改善につながることであり、現在の私の関心は、まさにそこにある。

文 献

- 1) Makishima H, Maciejewski JP: Pathogenesis and consequences of uniparental disomy in cancer. *Clin Cancer Res* 17: 3913-3923, 2011
- 2) Makishima H, Sugimoto Y, Szpurka H, Clemente MJ, Ng KP, Muramatsu H, O'Keefe C, Sauntharajah Y, Maciejewski JP: CBL mutation-related patterns of phosphorylation and sensitivity to tyrosine kinase inhibitors. *Leukemia* 26: 1547-1554, 2012
- 3) Sanada M, Suzuki T, Shih LY, Otsu M, Kato M, Yamazaki S, Tamura A, Honda H, Sakata-Yanagimoto M, Kumano K, Oda H, Yamagata T, Takita J, Gotoh N, Nakazaki K, Kawamata N, Onodera M, Nobuyoshi M, Hayashi Y, Harada H, Kurokawa M, Chiba S, Mori H, Ozawa K, Omine M, Hirai H, Nakauchi H, Koeffler HP, Ogawa S: Gain-of-function of mutated C-CBL tumour suppressor in myeloid neoplasms. *Nature* 460: 904-908, 2009
- 4) Makishima H, Cazzoli H, Szpurka H, Dunbar A, Tiu R, Huh J, Muramatsu H, O'Keefe C, Hsi E, Paquette RL, Kojima S, List AF, Sekeres MA, McDevitt MA, Maciejewski JP: Mutations of e3 ubiquitin ligase cbl family members constitute a novel common pathogenic lesion in myeloid malignancies. *J Clin Oncol* 27: 6109-6116, 2009
- 5) Preudhomme C, Warot-Loze D, Roumier C, Grardel-Duflos N, Garand R, Lai JL, Dastugue N, Macintyre E, Denis C, Bauters F, Kerckaert JP, Cosson A, Fenaux P: High incidence of biallelic point mutations in the Runt domain of the AML1/PEBP2 alpha B gene in Mo acute myeloid leukemia and in myeloid malignancies with acquired trisomy 21. *Blood* 96: 2862-2869, 2000
- 6) Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg JR, Tichelli A, Cazzola M, Skoda RC: A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 352: 1779-1790, 2005
- 7) Koskela HL, Eldfors S, Ellonen P, van Adrichem AJ, Kuusanmaki H, Andersson EI, Lagstrom S, Clemente MJ, Olson T, Jalkanen SE, Majumder MM, Almusa H, Edgren H, Lepisto M, Mattila P, Guinta K, Koistinen P, Kuittinen T, Penttinen K, Parsons A, Knowles J, Saarela J, Wennerberg K, Kallioniemi O, Porkka K, Loughran TP Jr., Heckman CA, Maciejewski JP, Mustjoki S: Somatic STAT3 mutations in large granular lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 366: 1905-1913, 2012
- 8) Jerez A, Clemente MJ, Makishima H, Koskela H, Leblanc F, Peng Ng K, Olson T, Przychodzen B, Afable M,

- Gomez-Segui I, Guinta K, Durkin L, Hsi ED, McGraw K, Zhang D, Wlodarski MW, Porkka K, Sekeres MA, List A, Mustjoki S, Loughran TP, Maciejewski JP : STAT3 mutations unify the pathogenesis of chronic lymphoproliferative disorders of NK cells and T-cell large granular lymphocyte leukemia. *Blood* 120 : 3048-3057, 2012
- 9) Epling-Burnette PK, Liu JH, Catlett-Falcone R, Turkson J, Oshiro M, Kothapalli R, Li Y, Wang JM, Yang-Yen HF, Karras J, Jove R, Loughran TP Jr. : Inhibition of STAT3 signaling leads to apoptosis of leukemic large granular lymphocytes and decreased Mcl-1 expression. *J Clin Invest* 107 : 351-362, 2001
- 10) Morin RD, Johnson NA, Severson TM, Mungall AJ, An J, Goya R, Paul JE, Boyle M, Woolcock BW, Kuchenbauer F, Yap D, Humphries RK, Griffith OL, Shah S, Zhu H, Kimbara M, Shashkin P, Charlot JF, Tcherpakov M, Corbett R, Tam A, Varhol R, Smailus D, Moksa M, Zhao Y, Delaney A, Qian H, Birol I, Schein J, Moore R, Holt R, Horsman DE, Connors JM, Jones S, Aparicio S, Hirst M, Gascoyne RD, Marra MA : Somatic mutations altering EZH2 (Tyr641) in follicular and diffuse large B-cell lymphomas of germinal-center origin. *Nat Genet* 42 : 181-185, 2010
- 11) Ernst T, Chase AJ, Score J, Hidalgo-Curtis CE, Bryant C, Jones AV, Waghorn K, Zoi K, Ross FM, Reiter A, Hochhaus A, Drexler HG, Duncombe A, Cervantes F, Oscier D, Boulwood J, Grand FH, Cross NC : Inactivating mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myeloid disorders. *Nat Genet* 42 : 722-726, 2010
- 12) Nikoloski G, Langemeijer SM, Kuiper RP, Knops R, Massop M, Tonnissen ER, van der Heijden A, Scheele TN, Vandenbergh P, de Witte T, van der Reijden BA, Jansen JH : Somatic mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet* 42 : 665-667, 2010
- 13) Makishima H, Jankowska AM, Tiu RV, Szpurka H, Sugimoto Y, Hu Z, Sauntharajah Y, Guinta K, Keddache MA, Putnam P, Sekeres MA, Moliterno AR, List AF, McDevitt MA, Maciejewski JP : Novel homo- and hemizygous mutations in EZH2 in myeloid malignancies. *Leukemia* 24 : 1799-1804, 2010
- 14) Person RE, Li FQ, Duan Z, Benson KF, Wechsler J, Papadaki HA, Eliopoulos G, Kaufman C, Bertolone SJ, Nakamoto B, Papayannopoulou T, Grimes HL, Horwitz M : Mutations in proto-oncogene GF11 cause human neutropenia and target ELA2. *Nat Genet* 34 : 308-312, 2003
- 15) Walker LC, Stevens J, Campbell H, Corbett R, Spearing R, Heaton D, Macdonald DH, Morris CM, Ganly P : A novel inherited mutation of the transcription factor RUNX1 causes thrombocytopenia and may predispose to acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 117 : 878-881, 2002
- 16) Loh ML, Sakai DS, Flotho C, Kang M, Fliegau M, Archambeault S, Mullighan CG, Chen L, Bergstraesser E, Bueso-Ramos CE, Emanuel PD, Hasle H, Issa JP, van den Heuvel-Eibrink MM, Locatelli F, Stary J, Trebo M, Wlodarski M, Zecca M, Shannon KM, Niemeyer CM : Mutations in CBL occur frequently in juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood* 114 : 1859-1863, 2009
- 17) Muramatsu H, Makishima H, Jankowska AM, Cazzolli H, O'Keefe C, Yoshida N, Xu Y, Nishio N, Hama A, Yagasaki H, Takahashi Y, Kato K, Manabe A, Kojima S, Maciejewski JP : Mutations of an E3 ubiquitin ligase c-Cbl but not TET2 mutations are pathogenic in juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood* 115 : 1969-1975, 2010
- 18) Matsuda K, Taira C, Sakashita K, Saito S, Tanaka-Yanagisawa M, Yanagisawa R, Nakazawa Y, Shiohara M, Fukushima K, Oda M, Honda T, Nakahata T, Koike K : Long-term survival after nonintensive chemotherapy in some juvenile myelomonocytic leukemia patients with CBL mutations, and the possible presence of healthy persons with the mutations. *Blood* 115 : 5429-5431, 2010
- 19) Niemeyer CM, Kang MW, Shin DH, Furlan I, Erlacher M, Bunin NJ, Bunda S, Finklestein JZ, Sakamoto KM, Gorr TA, Mehta P, Schmid I, Kropshofer G, Corbacioglu S, Lang PJ, Klein C, Schlegel PG, Heinzmann A, Schneider M, Stary J, van den Heuvel-Eibrink MM, Hasle H, Locatelli F, Sakai D, Archambeault S, Chen L, Russell RC, Sybingco SS, Ohh M, Braun BS, Flotho C, Loh ML : Germline CBL mutations cause developmental abnormalities and predispose to juvenile myelomonocytic leukemia. *Nat Genet* 42 : 794-800, 2010
- 20) Makishima H, Visconte V, Sakaguchi H, Jankowska AM, Abu Kar S, Jerez A, Przychodzen B, Bupathi M, Guinta

- K, Afable MG, Sekeres MA, Padgett RA, Tiu RV, Maciejewski JP : Mutations in the spliceosome machinery, a novel and ubiquitous pathway in leukemogenesis. *Blood* 119 : 3203-3210, 2012
- 21) Hoischen A, van Bon BW, Gilissen C, Arts P, van Lier B, Steehouwer M, de Vries P, de Reuver R, Wieskamp N, Mortier G, Devriendt K, Amorim MZ, Revencu N, Kidd A, Barbosa M, Turner A, Smith J, Oley C, Henderson A, Hayes IM, Thompson EM, Brunner HG, de Vries BB, Veltman JA : De novo mutations of SETBP1 cause Schinzel-Giedion syndrome. *Nat Genet* 42 : 483-485, 2010
- 22) Piazza R, Valletta S, Winkelmann N, Redaelli S, Spinelli R, Pirola A, Antolini L, Mologni L, Donadoni C, Papaemmanuil E, Schnittger S, Kim DW, Boultonwood J, Rossi F, Gaipa G, De Martini GP, di Celle PF, Jang HG, Fantin V, Bignell GR, Magistroni V, Haferlach T, Pogliani EM, Campbell PJ, Chase AJ, Tapper WJ, Cross NC, Gambacorti-Passerini C : Recurrent SETBP1 mutations in atypical chronic myeloid leukemia. *Nat Genet* 45 : 18-24, 2013
- 23) Makishima H, Yoshida K, Nguyen N, Sanada M, Okuno Y, Ng KP, Przychodzen BP, Gudmundsson KO, Vishwakarma BA, Jerez A, Ines Gomez-Segui I, Takahashi M, Shiraishi Y, Nagata Y, Guinta KM, Mori H, Sekeres MA, Chiba K, Muramatsu H, Sakaguchi H, Paquette R, McDevitt MA, Kojima S, Saunthararajah Y, Miyano S, Shih LY, Du Y, Ogawa S, Maciejewski JP : Somatic mutations in Schinzel-Giedion syndrome gene *SETBP1* determine Progression in myeloid malignancies. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 120 : 2, 2012
- 24) Muramatsu H, Okuno Y, Sakaguchi H, Yoshida K, Shiraishi Y, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Makishima H, Wang X, Xu Y, Doisaki S, Hama A, Nakanishi K, Takahashi Y, Yoshida N, Maciejewski JP, Miyano S, Ogawa S, Maciejewski JP : Whole exome analysis reveals spectrum of gene mutations in juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 120 : 170, 2012
- 25) Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, Nowak D, Nagata Y, Yamamoto R, Sato Y, Sato-Otsubo A, Kon A, Nagasaki M, Chalkidis G, Suzuki Y, Shiosaka M, Kawahata R, Yamaguchi T, Otsu M, Obara N, Sakata-Yanagimoto M, Ishiyama K, Mori H, Nolte F, Hofmann WK, Miyawaki S, Sugano S, Haferlach C, Koeffler HP, Shih LY, Haferlach T, Chiba S, Nakauchi H, Miyano S, Ogawa S : Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. *Nature* 478 : 64-69, 2011
- 26) Welch JS, Ley TJ, Link DC, Miller CA, Larson DE, Koboldt DC, Wartman LD, Lamprecht TL, Liu F, Xia J, Kandoth C, Fulton RS, McLellan MD, Dooling DJ, Wallis JW, Chen K, Harris CC, Schmidt HK, Kalicki-Veizer JM, Lu C, Zhang Q, Lin L, O'Laughlin MD, McMichael JF, Delehaunty KD, Fulton LA, Magrini VJ, McGrath SD, Demeter RT, Vickery TL, Hundal J, Cook LL, Swift GW, Reed JP, Alldredge PA, Wylie TN, Walker JR, Watson MA, Heath SE, Shannon WD, Varghese N, Nagarajan R, Payton JE, Baty JD, Kulkarni S, Klco JM, Tomasson MH, Westervelt P, Walter MJ, Graubert TA, Dpersio JF, Ding L, Mardis ER, Wilson RK : The origin and evolution of mutations in acute myeloid leukemia. *Cell* 150 : 264-278, 2012
- 27) Papaemmanuil E, Cazzola M, Boultonwood J, Malcovati L, Vyas P, Bowen D, Pellagatti A, Wainscoat JS, Hellstrom-Lindberg E, Gambacorti-Passerini C, Godfrey AL, Rapado I, Cvejic A, Rance R, McGee C, Ellis P, Mudie LJ, Stephens PJ, McLaren S, Massie CE, Tarpey PS, Varela I, Nik-Zainal S, Davies HR, Shlien A, Jones D, Raine K, Hinton J, Butler AP, Teague JW, Baxter EJ, Score J, Galli A, Della Porta MG, Travaglino E, Groves M, Tauro S, Munshi NC, Anderson KC, El-Naggar A, Fischer A, Mustonen V, Warren AJ, Cross NC, Green AR, Futreal PA, Stratton MR, Campbell PJ : Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N Engl J Med* 365 : 1384-1395, 2011
- 28) Visconte V, Makishima H, Jankowska A, Szpurka H, Traina F, Jerez A, O'Keefe C, Rogers HJ, Sekeres MA, Maciejewski JP, Tiu RV : SF3B1, a splicing factor is frequently mutated in refractory anemia with ring sideroblasts. *Leukemia* 26 : 542-545, 2012
- 29) Quesada V, Conde L, Villamor N, Ordonez GR, Jares P, Bassaganyas L, Ramsay AJ, Bea S, Pinyol M, Martinez-Trillos A, Lopez-Guerra M, Colomer D, Navarro A, Baumann T, Aymerich M, Rozman M, Delgado J, Gine E,

- Hernandez JM, Gonzalez-Diaz M, Puente DA, Velasco G, Freije JM, Tubio JM, Royo R, Gelpi JL, Orozco M, Pisano DG, Zamora J, Vazquez M, Valencia A, Himmelbauer H, Bayes M, Heath S, Gut M, Gut I, Estivill X, Lopez-Guillermo A, Puente XS, Campo E, Lopez-Otin C : Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia. *Nat Genet* 44 : 47-52, 2011
- 30) Isono K, Abe K, Tomaru Y, Okazaki Y, Hayashizaki Y, Koseki H : Molecular cloning, genetic mapping, and expression of the mouse Sf3b1 (SAP155) gene for the U2 snRNP component of spliceosome. *Mamm Genome* 12 : 192-198, 2001
- 31) Ebert BL, Pretz J, Bosco J, Chang CY, Tamayo P, Galili N, Raza A, Root DE, Attar E, Ellis SR, Golub TR : Identification of RPS14 as a 5q- syndrome gene by RNA interference screen. *Nature* 451 : 335-339, 2008
- 32) Starczynowski DT, Kuchenbauer F, Argiropoulos B, Sung S, Morin R, Muranyi A, Hirst M, Hogge D, Marra M, Wells RA, Buckstein R, Lam W, Humphries RK, Karsan A : Identification of miR-145 and miR-146a as mediators of the 5q- syndrome phenotype. *Nat Med* 16 : 49-58, 2010
- 33) Jerez A, Gondek LP, Jankowska AM, Makishima H, Przychodzen B, Tiu RV, O'Keefe CL, Mohamedali AM, Batista D, Sekeres MA, McDevitt MA, Mufti GJ, Maciejewski JP : Topography, clinical, and genomic correlates of 5q myeloid malignancies revisited. *J Clin Oncol* 30 : 1343-1349, 2012
- 34) Jerez A, Sugimoto Y, Makishima H, Verma A, Jankowska AM, Przychodzen B, Visconte V, Tiu RV, O'Keefe CL, Mohamedali AM, Kulasekararaj AG, Pellagatti A, McGraw K, Muramatsu H, Moliterno AR, Sekeres MA, McDevitt MA, Kojima S, List A, Boultonwood J, Mufti GJ, Maciejewski JP : Loss of heterozygosity in 7q myeloid disorders : clinical associations and genomic pathogenesis. *Blood* 119 : 6109-6117, 2012
- 35) Jankowska AM, Makishima H, Tiu RV, Szpurka H, Huang Y, Traina F, Visconte V, Sugimoto Y, Prince C, O'Keefe C, Hsi ED, List A, Sekeres MA, Rao A, McDevitt MA, Maciejewski JP : Mutational spectrum analysis of chronic myelomonocytic leukemia includes genes associated with epigenetic regulation : UTX, EZH2, and DNMT3A. *Blood* 118 : 3932-3941, 2011
- 36) Van Vlierberghe P, Patel J, Abdel-Wahab O, Lobry C, Hedvat CV, Balbin M, Nicolas C, Payer AR, Fernandez HF, Tallman MS, Paietta E, Melnick A, Vandenberghe P, Speleman F, Aifantis I, Cools J, Levine R, Ferrando A : PHF6 mutations in adult acute myeloid leukemia. *Leukemia* 25 : 130-134, 2011

(H 25. 3. 4 受稿)