

多発性骨髄腫患者における
Single nucleotide polymorphism genotyping
microarray analysis を用いた
網羅的ゲノム異常の解析

2 0 1 3

筑波大学大学院博士課程人間総合科学研究科

鎌田 勇平

筑 波 大 学

博 士 （ 医 学 ） 学 位 論 文

多発性骨髄腫患者における
Single nucleotide polymorphism genotyping
microarray analysis を用いた
網羅的ゲノム異常の解析

2 0 1 3

筑波大学大学院博士課程人間総合科学研究科

鎌田 勇平

< 目次 >

●	第 1 章 序論	
	1-1 研究の背景	2
	1-2 研究の目的	4
●	第 2 章 材料と方法	
	2-1 患者の骨髓検体	5
	2-2 細胞株	6
	2-3 DNA の抽出	6
	2-4 SNP array	7
	2-5 臨床情報と統計解析	7
	2-6 seizure related 6 homolog (mouse)-like (<i>SEZ6L</i>)遺伝子の変異解析	9
●	第 3 章 結果	
	3-1 G-band 法による核型解析と FISH 検査	10
	3-2 SNP array による総染色体数の解析	10
	3-3 SNP array による染色体数異常の解析	13
	3-4 片親ダイソミー(Uniparental disomy, UPD)の頻度	13
	3-5 変異集積部位の解析と <i>SEZ6L</i> のミスセンス変異の同定	14
	3-6 孤発性の増幅と欠失	16
	3-7 染色体数の異常と予後解析	20
●	第 4 章 考察	
	4-1 骨髓腫における染色体数増減の頻度について	23
	4-2 各染色体数異常が骨髓腫の予後に与える影響についての検証	23
	4-3 骨髓腫の病態に関わる候補遺伝子について	25
●	第 5 章 結語	30
●	第 6 章 謝辞	31
●	第 7 章 参考文献	32
●	略称・略語一覧	36

第1章 序論

1-1 研究の背景

多発性骨髄腫は、悪性化した形質細胞が単クローン性に増殖する造血器腫瘍であり、腫瘍細胞が分泌するサイトカインや単クローン性に産生する免疫グロブリン(M タンパク)の影響により、特徴的な臓器障害や免疫機能障害、骨破壊病変を臨床像として呈する。また、初発時の病期分類としては 1975 年提唱の Durie-Salmon 分類と 2005 年提唱の国際病期分類システム(International Staging System, ISS)が用いられてきた。前者は血中 M タンパク量・ヘモグロビン値・カルシウム値・骨病変の有無・腎病変の有無で分類するのに対し、後者はより簡便で血中 $\beta 2$ ミクログロブリンとアルブミン値で判定できる。しかしながら、これらの病期分類は腫瘍量の反映が関与していると考えられ、より明確な予後因子の検索が望まれるようになってきた[1]。骨髄腫細胞は部分的に骨髄に病巣を形成するため、通常の骨髄染色体検査(G-band 法)では腫瘍細胞より正常血液細胞が多いことが影響し、約 60-70%の患者は正常核型を示す[2, 3]。しかし、臨床検査として汎用されている細胞間期核蛍光 in situ ハイブリダイゼーション法(FISH 法)によって、これまでに骨髄腫の病態に関与していると思われる染色体異常が徐々に同定され、[4-6]さらに FISH 検査によって、約 80%の骨髄腫患者に染色体異常が存在することが明らかになってきた[2, 6, 7]。

染色体の異常については、約半分の骨髄腫患者が高倍体(hyperdiploid, HD)核型であり、奇数番号(3, 5, 7, 9, 11, 15, 19, 21 番)の染色体の増加しやすい傾向がある[8-10]. 残りの症例は非高倍体(non-hyperdiploid, NHD)核型を示し、8, 13, 14, 16 番染色体の欠失が高頻度に認められる[2]. NHD では免疫グロブリン重鎖(IgH)と 4p16 (fibroblast growth factor receptor 3; *FGFR3*), 4p16.3 (multiple myeloma SET domain or Wolf-Hirschhorn syndrome candidate1; *MMSET*), 6p21 (cyclin D3; *CCND3*), 11q13 (cyclin D1; *CCND1*), 16q23 (musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog; *MAF*)を含む転座が高頻度に認められる. 骨髄腫においては 7p13 (tumor protein 53, *TP53*), 13q14 (retinoblastoma 1, *RBI*)の欠失は予後不良因子と予測されている[11, 12]. 13 番染色体長腕欠失は HD の約 30-35%に NHD の 85%に認められている[2].

現在では array CGH 法(Comparative Genomic Hybridization 法), SNP array 法(Single nucleotide polymorphism genotyping microarray 法), 次世代型シーケンス法など遺伝子解析技術の進歩に伴い、ゲノム上の異常を網羅的に解析できるようになった. 本論文で用いた SNP array は、癌におけるゲノムコピー数変化の異常をより詳細に検出できる. コピー数異常部位の変異解析を行うことにより、腫瘍化に関わると思われる未知の遺伝子異常を検出できる[13-15]. これまでに骨髄腫患者の SNP array データと臨床情報を同時に解析す

ることによって、1 番染色体長腕の増幅、1 番染色体短腕と 17 番染色体短腕の欠失(loss of heterozygosity, LOH)は予後不良因子であることが明らかとなっている[9, 16].

1-2 研究の目的

本研究では、多発性骨髄腫におけるより詳細な遺伝子異常を同定するために、骨髄腫検体の全染色体の増幅・欠失の変化についてより高解像度の SNP array を用いて解析し、骨髄腫の病態に関わっている新規遺伝子異常を同定すること、さらに、SNP array のデータと患者の臨床情報を同時に統計的解析することにより、骨髄腫の予後に影響を与える可能性のある染色体異常・遺伝子異常を検証することを目的とする。

第2章 材料と方法

2-1 患者の骨髄検体

筑波大学附属病院にて1992年3月から2010年12月までの間に多発性骨髄腫と診断された39名の患者の骨髄検体を用いた。32名は初発症例であり、残り7名は再発症例であった。顕鏡下の計測にて形質細胞は有核細胞の4%から83% (平均33%)であった。39名の患者の臨床情報の要約を表1に示した。この研究は筑波大学附属病院の倫理委員会の指針に則って適切に行われた。

表1. 39名の多発性骨髄腫患者の臨床情報

Parameter at diagnosis		No. of patients (%)
Median age, y		61.9 (34 - 85)
Sex	Male	20 (51.2)
	Female	19 (48.7)
Subtype	IgG λ/κ	16 (41.0) / 12 (30.7)
	IgA λ/κ	4 (10.2) / 0
	IgD λ/κ	0 / 2 (5.1)
	BJP λ/κ	3 (7.6) / 1 (2.5)
	Others (IgM-κ)	1 (2.5)
Clinical Stage (ISS)	1	10 (25.6)
	2	10 (25.6)
	3	13 (33.3)
	ND	6 (15.3)
FISH Analysis	Del(13q) (n = 12)	7 (58.3)
	Del (17p13) / TP53 (n = 12)	4 (33.3)
	Del(13q) and Del(17p13) (n=12)	2 (16.6)
Karyotype (G-band)	Normal	29 (74.3)
	Hyperdiploid	4 (10.3)
	Non-hyperdiploid	4 (10.3)
	ND	2 (5.1)

BJP, Bence-Jones protein; ISS, International Staging System; ND, not determined.

2-2 細胞株

AMO1, FR4, oda, JJN3, KMS-11, KMS-12PE, NCU-MM1, NOP1, SK-MM-1, U266, XG7 の 11 種類のヒト骨髄腫細胞株を名古屋市立大学医学部の飯田先生より提供して頂いた。すべての細胞株は 10%ウシ胎児血清(Fetal Calf Serum; FCS), 1%ペニシリン/ストレプトマイシン溶液添加 Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 medium (Sigma-Aldrich Japan,Tokyo Japan)を用いて 5% CO₂, 37℃の条件下で培養した。

2-3 DNA の抽出

細胞株については 1×10^6 個の細胞より DNA を抽出した。患者の骨髄より分離した単核球は解析まで-80℃で保管した。7名の患者については CD138 マイクロビーズとマグネットカラム(Miltenyi Biotec, Tokyo, Japan)を用いて CD138 陽性細胞を MACS 分離したのち保管した。DNA 抽出は PureGene Kit (Qiagen, Tokyo, Japan)を用いた。抽出の手順としては, 500 μ l の Lysis buffer で細胞を十分に溶解した後, 150 μ l の Protein precipitation solution を混和しタンパク質を沈殿させ, 15000 回転, 5 分間遠心分離した。650 μ l のイソプロパノールへ上清を添加し転倒混和にて DNA を析出させた後, 15000 回転, 10 分間遠心, 続いて 70%エタノールリンスの後, ペレットを風乾させ, 100-200

μ l の純水へ 100ng/ μ l 前後の濃度となるように溶解した。なお、全ての操作は室温で行い、抽出した DNA は解析まで-20℃で保管した。

2-4 SNP array

DNA 検体は 250K GeneChip SNP genotyping microarray (Affymetrix, Tokyo, Japan)にて解析した[14]。得られた array データは、Copy Number Analyzer for GeneChips (CNAG)ソフトウェアを用いてアレル別染色体数の解析を行った (<http://www.genome.umin.jp>)[17]。International System for Human Cytogenetic Nomenclature 2009 に従い、染色体数 47 本から 57 本を HD、それ以外を NHD と定義した[18]。

2-5 臨床情報と統計解析

血液検査, G-band 法による核型検査, 13q14.3 [D13S319] 欠失と 17p13 欠失に対する FISH 検査, 全生存期間(overall survival, OS)に関する情報は診療記録を後方視的に参照した。すべての G-band 法による核型検査, 各種 FISH 検査は SRL 社(Tokyo, Japan)へ外部委託されており, 13q14.3 欠失, 17p13 欠失の cut-off 値はそれぞれ 5.0%, 2.0%であった。SNP array のデータと臨床情報の統計解析は Statistical Product for Service and Solution (SPSS) version 18.0

software (IBM Corporation, Tokyo, Japan)を用いて行った. 検定方法として生存曲線は Kaplan-Meier 法にて算出し, p 値が 0.05 以下のとき比較群間の有意差があると判断した. 患者の平均観察期間は 52.3 カ月であった(3.0 カ月~201.3 カ月).

2-6 seizure related 6 homolog (mouse)-like (*SEZ6L*)遺伝子の変異解析

すべての骨髓腫細胞株と骨髓中の形質細胞が80%以上の8名の患者を対象とし、ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Tokyo, Japan)を用いて *SEL6L* の全エクソンの変異解析を行った。シーケンスに用いたプライマーは既報を参照した(表 2)[19]。すべてのシーケンスデータは National Center for Biotechnology Information (NCBI) Reference Sequence (RefSeq) database に公開されている *SEZ6L* の配列情報と比較した。

表 2. *SEZ6L* シーケンス用のプライマー一覧 (文献 18 より引用)

No. of exon	Forward primer	Reverse primer
exon1	5'-TCCGCGCCCCCTGCAG-3'	5'-TGCCTGAGTCGCCCTGGTCA-3'
exon2	5'-TCCCCAACTAACTGGTGTC-3'	5'-GTTTCAGGATGGCTTCAGGA-3'
exon3	5'-CATCCAA-GTTGTCTTTGGTGTC-3'	5'-CCTCTGTGAGGTACTCTCCT-3'
exon4	5'-CCTCTCTGTCTGCTTCTGC-3'	5'-GCAAACGCCTATGTTTCATCAG-3'
exon5	5'-GACTGAGTCTGCCTCTGCAT-3'	5'-ATCAGGTTTGGTCCGGCTGA-3'
exon6	5'-ATTGCCACCCACCCCTTTCT-3'	5'-GGTTGGGTGTGGACCTTCAG-3'
exon7	5'-CAGGAAGATCTGTCACTGTC-3'	5'-CCACAAGAGAAAGGGAAGCT-3'
exon8	5'-CTGCATCATCTGAACTGCTG-3'	5'-TGGGAAGAGCGTTGTGGATC-3'
exon9	5'-TTAGCCGCTATGCCACATTG-3'	5'-GGCCACCCATTTTAAACACT-3'
exon10	5'-GCCCATTTCTCTATTTACATG-3'	5'-CTAGAGGAAACCACCTTAAC-3'
exon11	5'-TTCCCCCATCTAAGACTGAC-3'	5'-CCTAGAGGAAGGAAACAAGAC-3'
exon12	5'-GTCCTCTTGGTCTGGTTTCAT-3'	5'-AGTGAATCTGCTTCTACCTAC-3'
exon13	5'-CATCAGAGCTCCTTCTGGCT-3'	5'-TGGACCCTGTGTGGTGAGTA-3'
exon14	5'-CTTCACCAAAGCATGGCATG-3'	5'-CTTTGGCAGTCTGAAGGTAG-3'
exon15	5'-AAATGAGGACCTCACTGGCT-3'	5'-TGGGTGCTTGGCAGTCATCT-3'
exon16	5'-CTAGCTGGGGAGAAGTAACT-3'	5'-TGGGAAGAGACGAGAGAGAC-3'
exon17	5'-AGCGTTTGACAAATCCGTGC-3'	5'-CACAAGTCCCCTTCTCAAGT-3'

第3章 結果

3-1 G-band 法による核型解析と FISH 検査

診療記録より 37 名の患者の G-band 法による核型解析の結果が得られた。8 名(20.6%)に核型異常が認められ, 残り 29 名(74.3%)は正常核型であった。13q14.3 欠失, 17p13 欠失の FISH 検査の結果は 12 名が利用可能であり, 13q14.3 欠失は 7 名(58.3%), 17p13 欠失は 4 名(33.3%)に認められ, 2 名は両方の欠失を持っていた(表 1)。これらすべての異常は SNP array にて検出可能であった。

3-2 SNP array による総染色体数の解析

SNP array によって検出された染色体コピー数の変化を表 3 と図 1 へ示した。39 名の患者のうち, 23 名(59%)が HD であり, 16 名(41%)が NHD であった。

表 3. 39 名の多発性骨髄腫患者の染色体数変化のまとめ

MM patients					
Deletions (%)		Gains (%)		UPD (%)	
Ch	HD/NHD/All	Ch	HD/NHD/All	Ch	HD/NHD/All
1p	13.0 / 12.5 / 12.8	1q	52.1 / 50.0 / 51.2	1p	4.3 / 12.5 / 7.6
6q	8.6 / 18.7 / 12.8	3q	43.4 / 12.5 / 30.7	1q	0.0 / 18.7 / 7.6
8p	26.0 / 37.5 / 30.7	5*	43.7 / 0.0 / 25.6	2p	17.3 / 18.7 / 18.2
9p	0.0 / 12.5 / 5.1	6p	34.7 / 0.0 / 20.5	2q	8.6 / 12.5 / 10.2
11q	0.0 / 25.0 / 10.2	7q	43.4 / 12.5 / 30.7	6q	8.6 / 6.2 / 7.6
13q	26.0 / 56.2 / 38.4	9q	60.3 / 12.5 / 41.0	8q	8.6 / 12.5 / 10.2
16q	8.6 / 25.0 / 15.3	11q	65.2 / 0.0 / 38.4	9p	13.0 / 6.2 / 10.2
22q	13.0 / 18.7 / 15.3	15*	54.5 / 6.2 / 41.4	13q	4.3 / 12.5 / 7.6
		18*	21.7 / 0.0 / 12.8	16q	4.3 / 12.5 / 7.6
		19p	69.5 / 12.5 / 46.1	22q	8.6 / 6.2 / 7.6
		19q	47.8 / 0.0 / 25.6		
		21q	17.3 / 0.0 / 10.2		

* indicates gain of both chromosomal arms.

Ch, chromosome; HD, hyperdiploid; NHD, non-hyperdiploid.

3-3 SNP array による染色体数異常の解析

ほとんどの HD では染色体の片腕もしくは全体の増幅が認められたが、NHD では少数例であった。既報の通り奇数番号の染色体増幅が頻回に認められた(表 3) [10]。HD の 50%以上に 1 番染色体長腕, 9 番染色体長腕, 11 番染色体長腕, 15 番染色体, 19 番染色体短腕の増幅が認められた。また, 1 番染色体長腕の増幅は NHD の 50%に認められた。染色体の片腕の欠失については 1 番染色体短腕, 8 番染色体短腕, 13 番染色体長腕, 22 番染色体長腕に高頻度であり, HD, NHD のそれぞれ 10%ほどに認められた。特に 6 番, 11 番, 16 番染色体の長腕欠失は NHD の 50%以上に認められた(表 3)。

3-4 片親ダイソミー(Uniparental disomy, UPD)の頻度

UPD は片親由来のアレルのみで染色体が形成される異常であり, 染色体コピー数は一見正常な LOH と定義されている [10, 20]。多症例で同じ場所に集中, もしくは欠失部位と重なっている UPD は, 腫瘍化と関連のある遺伝子部位に存在している可能性がある。本解析では NHD と HD との間で UPD の頻度に差は見られなかった。39 症例のうち 17 症例(43.5%)において UPD があり, 2 つ以上の UPD があった症例は 10 症例(25.6%)であった。特に 2 症例は 10 個以上の UPD を持っていた。2 つ以上の UPD があった症例のうち, 7 症例におい

て 2 番染色体短腕内に UPD を認めた(18.2%, 表 3).

3-5 変異集積部位の解析と *SEZ6L* のミスセンス変異の同定

10 症例以上において増幅, 欠失, UPD が重なっている小さな領域を 4 か所同定した. 16q21 上の cadherin 11 (*CDH11*), 19q12 上の HERV-K_19q12 provirus Rec protein, 22q11.22 上の immunoglobulin lambda constant 1 (*IGLC1*)と 22q12.1 上の myosin XVIIIIB (*MYO18B*)と *SEZ6L* である. これらの中で, 22q12.1 (22 番染色体; 24,650,773-25,107,435, 456 kbp)は欠失と UPD の両方を含んでいた(図 2a). 全症例で予後解析をしたが, 同部位の異常は有意な影響を及ぼさなかった. しかしながら, 同部位の異常がある HD 症例と異常がない HD 症例と比較したところ, 異常を有する症例は有意差を持って予後不良であった($p=0.040$; 図 2d). この異常が集積した 22q12.1 上の小領域には *MYO18B* と *SEZ6L* の 2 つの遺伝子が含まれていた. 両方の遺伝子ともに腫瘍抑制遺伝子と考えられており, 肺癌, 胃癌, 悪性黒色腫にて同遺伝子の変異, 欠失, プロモーター領域の高メチル化が報告されている[19, 21-23]. 今回, 異常集積部位に全長が含まれていた *SEZ6L* を解析対象とすることとし, 全エクソンの直接シーケンスを行った. その結果, 骨髓腫細胞株である NOP1 においてエクソン 2 の 563 番目の塩基がグアニンからアデニンへ, 187 番目のアミノ酸

がアルギニン(R)からグルタミン(Q)へ変化するミスセンス変異(G563A)を同定した(図 2b).

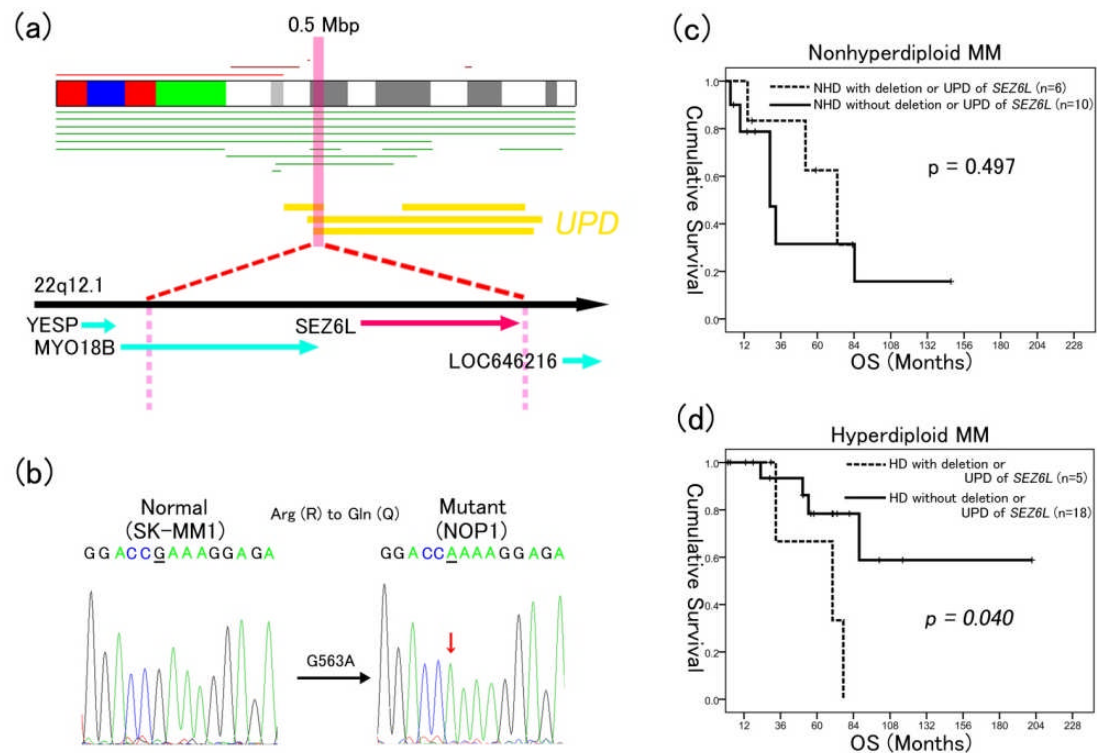


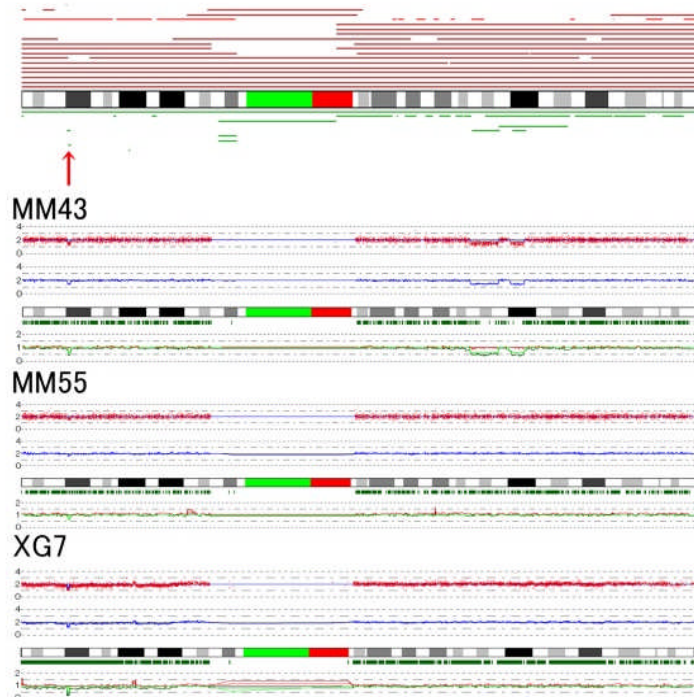
図 2. *SEZ6L* の変異解析と予後解析

(a) UPD は黄色で、22q12.1 上の小さな異常重複部位は薄い桃色で示した. (b) NOP1 に同定された *SEZ6L* の exon2 のミスセンス変異(G563A). 変異部位は赤矢印で示した.
(c) 22q12.1 の LOH・UPD が NHD の予後に与える影響. (d) 同じく HD に与える影響. 同部位の異常がある HD は予後不良の傾向があった($p=0.040$).

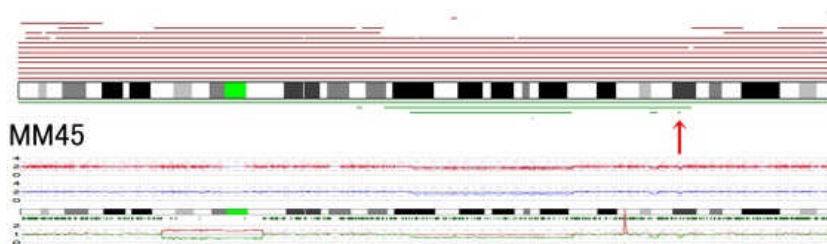
3-6 孤発性の増幅と欠失

SNP array 解析によって、孤発性の 9 遺伝子の増幅と 17 遺伝子の欠失を同定した. *c-myc* 遺伝子を除いては、これまで多発性骨髄腫で孤発性の増幅や欠失の報告はないものであった(表 4) [24]. 孤発性の遺伝子欠失を持つ症例はすべて NHD であった. 17 個の欠失した遺伝子のうち, protein phosphatase 2, regulatory subunit B, beta (*PPP2R2B*) (1 症例), protein tyrosine phosphatase, receptor type, D (*PTPRD*) (2 症例), discs, large homolog 2 (*DLG2*) (1 症例), breast cancer cell protein 2 (*BRCC2*) (1 症例), protein tyrosine phosphatase, receptor type, T (*PTPRT*) (1 症例)は腫瘍抑制遺伝子と考えられている(図 3) [25-30]. 注目すべきことに, *PTPRD* の孤発性の欠失を含む 9p23 から 9q34.3 の領域の欠失は 2 症例と 1 つの骨髄腫細胞株で同定された(図 3).

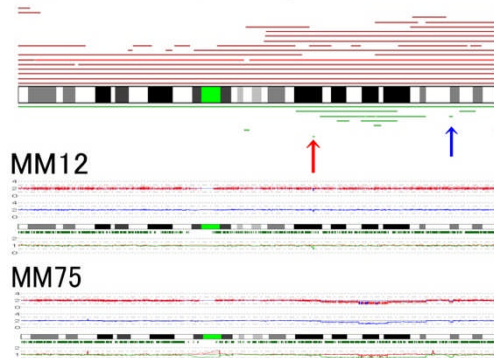
(a) PTPRD ; 9p23



(b) PPP2R2B ; 5q32



(c) DLG2 ; 11q14.1 and BRCC2 ; 11q24.1



(d) PTPRT ; 20q13.2

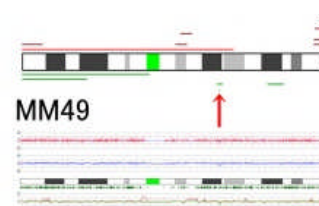


図 3. 遺伝子の単独欠失部位

RTRPD, *PPP2R2B*, *DLG2*, *PTPRT* 欠失部位は赤矢印で, *BRCC2* 欠失部位は青矢印示してある.

表 4. (a) 単独欠失遺伝子の一覧

Locus (size)	Gene		Case (n)
2p11.2 (0.5Mbp)	<i>IgK</i>	immunoglobulin k light chain	2
4q22.1 (0.5Mbp)	<i>TIGD2</i>	tigger transposable element derived 2	1
4q22.3 (0.8Mbp)	<i>GRID2</i>	glutamate receptor, ionotropic, delta 2	1
5q13.2 (0.3Mbp)	<i>MAP1B</i>	microtubule-associated protein 1B	1
5q32 (0.6Mbp)	<i>PPP2R2B*</i>	protein phosphatase 2, regulatory subunit B, beta	1
6p22.3 (0.2Mbp)	<i>KIF13A</i>	kinesin family member 13A	1
6q16.1 (0.1Mbp)	<i>EPHA7</i>	ephrin receptor EphA7	1
6q25.5 (0.8Mbp)	<i>ARID1B</i>	AT rich interactive domain 1B	1
9p23 (0.4Mbp)	<i>PTPRD*</i>	protein tyrosine phosphatase, receptor type, D	2
10q21.3 (0.2Mbp)	<i>CTNNA3</i>	catenin, alpha 3	1
11q14.1 (1.4Mbp)	<i>DLG2*</i>	discs, large homolog 2 (chapsyn-110)	1
11q24.1 (1.0Mbp)	<i>BRCC2*</i>	breast cancer cell protein 2	1
12p12.1 (0.1Mbp)	<i>SOX5</i>	SRY (sex determining region Y)-box 5	1
14q32.33 (0.1Mbp)	<i>IGHA1</i>	immunoglobulin heavy constant alpha 1	5
15q14 (0.3Mbp)	<i>RASGRP1</i>	RAS guanyl releasing protein 1	2
19q13.31 (0.1Mbp)	<i>PSG9</i>	pregnancy specific beta-1-glycoprotein 9	1
20q12 (0.1Mbp)	<i>PTPRT*</i>	protein tyrosine phosphatase, receptor type, T	1

* Gene that is a tumor suppressor gene or considered to be a tumor suppressor gene.

(b) 単独増幅遺伝子の一覧

Locus (size)	Gene		Case (n)
4p16.1 (0.4Mbp)	<i>WDR1</i>	WD repeat domain 1	1
7q36.1 (0.1Mbp)	<i>ATP6V0E2</i>	ATPase, H ⁺ transporting V0 subunit e2	1
7q36.2 (0.2Mbp)	<i>DPF6</i>	dipeptidyl Peptidase Four (IV) family	1
8p23.2 (2.2Mbp)	<i>CSMD1</i>	CUB and Sushi multiple domains 1	gain 4 loss 4
8q24.21 (0.4Mbp)	<i>MYC</i> **	v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog	1
8q24.33 (0.7Mbp)	<i>KHDRBS3</i>	KH domain containing, RNA binding, signal	2
10p11.23 (0.1Mbp)	<i>LYZL2</i>	lysozyme-like 2	1
12q14.1 (0.6Mbp)	<i>FAM19A2</i>	family with sequence similarity 19 (chemokine (C-C motif)-like), member A	2
16q23.1 (0.5Mbp)	<i>ADAMTS18</i>	a disintegrin-like and metalloprotease	2
17q12 (0.03Mbp)	<i>CCL4R</i>	chemokine (C-C motif) ligand 4 precursor	8

** Gene that is an oncogene or considered to be an oncogene.

3-7 染色体数の異常と予後解析

染色体のコピー数異常が全生存に与える影響を Kaplan-Meier 法にて評価し表 5 に示した. NHD は HD と比較し有意差を持って予後不良であった(中央生存期間, 52.2 vs 87.7 カ月; $p = 0.039$; 表 5, 図 4a). また, 13 番染色体長腕欠失を持つ症例も生存期間が短かった(中央生存期間, 54.4 vs 87.7 カ月; $p = 0.049$; 表 5, 図 4b). ところが, 13 番染色体欠失を持つ NHD は他の NHD と比較し生存期間が短い傾向があったが有意差はなかった(中央生存期間, 28.9 vs 84.3 カ月; $p = 0.099$; 表 5, 図 4d). 13 番染色体欠失の有無は HD 症例のみの比較においても生存期間に有意な影響を与えなかった(表 5, 図 4d). 1 番染色体長腕の増幅がある症例はない症例と比較し有意に予後不良であった(中央生存期間, 24.3 vs 84.3 カ月; $p = 0.013$; 表 5, 図 4c). 注目すべきことに, NHD 症例においては 1 番染色体増幅を伴わない限り, HD との生存期間に有意差は生じなかった(図 4c). その他, 15 番, 19 番染色体長腕の増幅のある症例では有意差はなかったが, 生存期間が良好な傾向があった(それぞれ $p = 0.058$, $p = 0.065$; 図 4e, 4f). 6 番染色体短腕増幅と 18 番染色体増幅は HD 症例のみに認められたが, 予後への影響は無かった(それぞれ $p = 0.538$, $p = 0.550$; 表 5). UPD を持つ症例とそうでない症例, 各 UPD の有無で予後を比較したがいずれも生存期間への有意な影響は無かった.

表 5. 染色体数異常の頻度と予後への影響

Copy number abnormality	Cases, n (%)	Prognosis	<i>p</i> value
1q+	20 (51.2)	-	0.082
3q+	12 (30.7)	-	0.893
5q+	10 (25.6)	-	0.716
6p+	8 (20.5)	-	0.538
7q+	12 (30.7)	-	0.618
9q+	16 (41.0)	-	0.223
11q+	15 (38.4)	-	0.365
15q+	15 (38.4)	-	0.058
ch 18+	5 (12.8)	-	0.550
19q+	17 (43.5)	-	0.065
del(8p)	11 (30.7)	-	0.155
del(13q)	15 (38.4)	poor	0.049*
del(16q)	6 (15.3)	-	0.190
del(17p)	5 (12.8)	-	0.118
del(22q)	6 (15.3)	-	0.217
All UPDs	17 (43.5)	-	0.193
NHD vs HD	16 (41.0)	poor	0.039*
NHD with 1q+ vs NHD without 1q+	8 (50.0)	poor	0.013*
HD with 1q+ vs HD without 1q+	12 (52.1)	-	0.965
NHD with del(13q) vs NHD without del(13q)	9 (56.2)	-	0.099
HD with del(13q) vs HD without del(13q)	6 (26.0)	-	0.542
Deletion and UPD of <i>SEZ6L</i> (22q12.1)	11 (30.7)	-	0.254
HD with deletion or UPD of <i>SEZ6L</i> ^(a)	5 (27.7)	poor	0.040*
NHD with deletion or UPD of <i>SEZ6L</i> ^(b)	6 (37.5)	-	0.497

*indicates significant *p* value ($p < 0.05$).

+ indicates gain of chromosome.

(a) Compared with HD without deletion or UPD of *SEZ6L*.

(b) Compared with NHD without deletion or UPD of *SEZ6L*.

Abbreviations: ch, chromosome; del, deletion of chromosome; UPD, uniparental disomy; NHD, non-hyperdiploid; HD, hyperdiploid; *SEZ6L*, seizure related 6 homolog (mouse)-like.

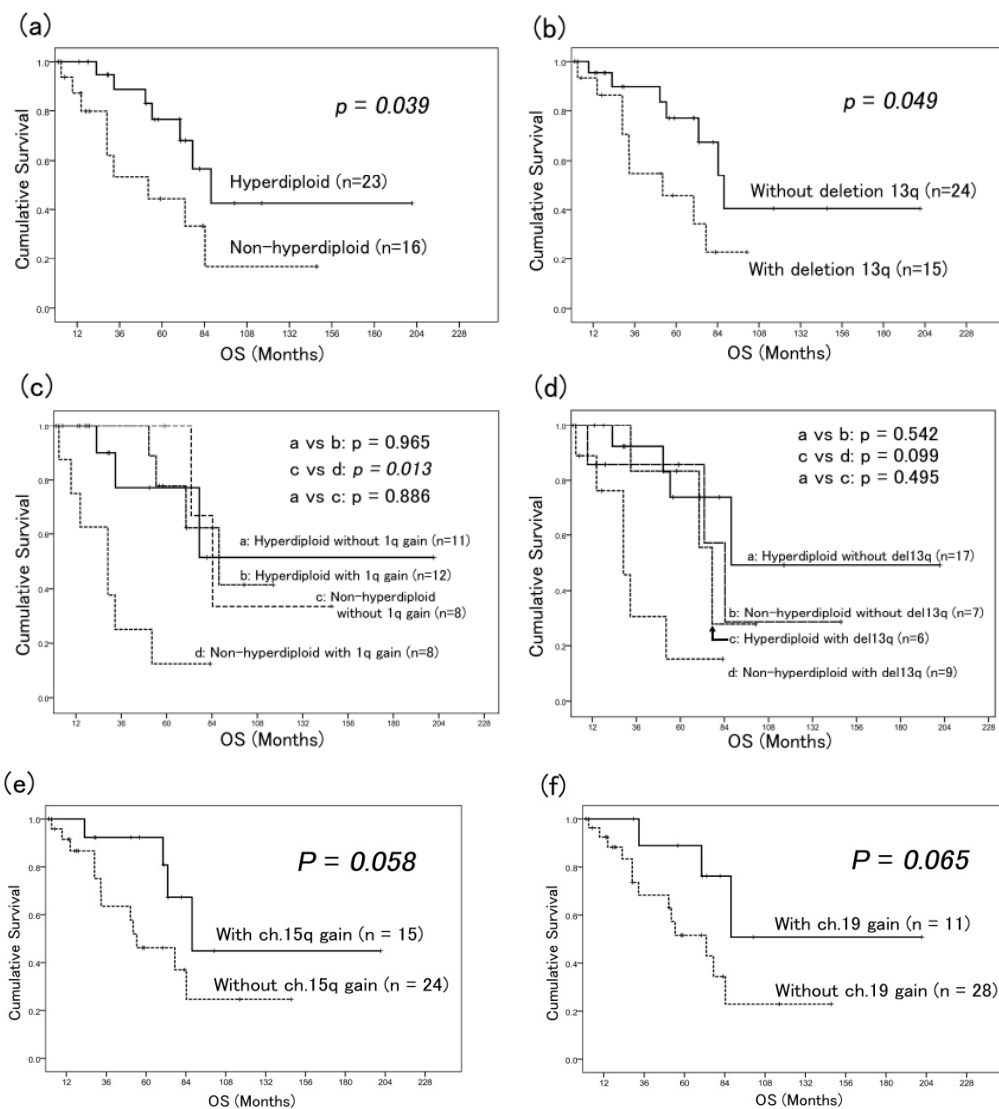


図 4. 各種染色体数異常の予後解析

(a) HD と NHD, (b) 13 番染色体長腕欠失, (c) diploid 別の 1 番染色体増幅, (d) diploid 別の 13 番染色体長腕欠失, (e) 15 番染色体長腕増幅, (f) 19 番染色体増幅をそれぞれ比較した。

第4章 考察

4-1 骨髄腫における染色体数増減の頻度について

39 人の多発性骨髄腫患者と 11 種類の骨髄腫細胞株に対し、250k SNP array を行った。3 番，11 番染色体の長腕増幅，5 番，21 番染色体の増幅，8 番染色体短腕の欠失，22 番染色体の欠失の頻度については，これまでの SNP array を用いた報告とほぼ同じ頻度であった。一方で，1 番染色体長腕の増幅，1 番染色体短腕，6 番染色体長腕，13 番染色体長腕，16 番染色体長腕の欠失については本報告にて低い傾向があった[9, 10].

4-2 各染色体数異常が骨髄腫の予後に与える影響についての検証

今回の解析では，HD は NHD と比較し予後良好であった。FISH 法や CGH array を用いたこれまでの報告においても NHD は予後不良な傾向を示していた[31]。ところが，我々の解析では NHD における 1 番染色体長腕の増幅の頻度が予想外に高いことが分かった。NHD において 1 番染色体長腕増幅がある症例と無い症例を比較すると，増幅症例の方が予後不良であることは知られているが，NHD において 1 番染色体長腕増幅がない症例と，1 番染色体長腕増幅を持つ HD，もしくは持たない HD との比較についてははこれまでに報告が無かった。我々の解析において，1 番染色体増幅を伴う NHD 症例が予後不良であ

るのは同様であったが、NHD に 1 番染色体長腕増幅が伴わない限りその予後は他の HD と同等である可能性が示された(図 4c).

多くの染色体数の異常の頻度が同定され、その中でも、13 番染色体長腕の欠失は最も頻度が高く(38.4%), 続いて 8 番染色体短腕欠失(30.7%)であった(表 3). このように多くのゲノムコピー数異常が同定されたが、生存に有意な影響を与えた異常は 13 番染色体長腕欠失と 1 番染色体長腕増幅だけであり、いずれも予後不良因子であった. 13 番染色体長腕欠失については通常の遺伝学的検査によって最初に骨髄腫における予後不良因子と報告された異常であったが[12, 32], その後のいくつかの報告においては、同部位の異常が骨髄腫において必ずしも予後不良な影響を与えないことが示され[31, 33, 34], 13 番染色体長腕の異常が骨髄腫患者の予後に与える影響については意見が分かれている[35]. 我々の解析群では 13 番染色体欠失は NHD により多く認められており、このことが影響を与えた可能性がある(NHD 56.2%, HD 26.0%).

4-3 骨髄腫の病態に関わる候補遺伝子について

異常のある遺伝子の候補を挙げるために、大きさが 3 百万塩基(3.0Mbp)以下、含まれている遺伝子数 10 個以下の小さな増幅、欠失部位を同定し、その中に含まれている遺伝子を調べた(表 6). その中でも、本解析で同定された 1p32.3 の小さな欠失領域には、*CDKN2C* と Fas-associated factor 1 (*FAF1*)が含まれていた. これまでの SNP array の報告では、1 番染色体短腕の欠失は骨髄腫患者の 20%から 30%に認められており予後不良因子と予想されている[9, 36]. 我々の解析群では 2 名の HD, 1 名の NHD が 1p32 欠失を持っていた. 2 名の HD のうち 1 名は 1p32.3 に 2Mbp のごく小さな欠失があり、その中には *CDKN2C* と *FAF1* のみが含まれていた. その他の候補遺伝子を含む領域としては 2 症例で認められた *CDKN2A* と *CDKN2B*を含む 9p21.3 の欠失があり、そのうち 1 名は 0.2Mbp のかなり小さい領域の欠失であった(表 6a).

表 6. (a) 小欠損領域と含まれている遺伝子の一覧

loss locus (size)	gene (n)	Candidate gene		Case (n)
1p32.3 (1.5Mbp)	4	<i>FAF1</i>	FAS-associated factor 1 isoform a	2
		<i>CDKN2C</i>	cyclin-dependent kinase inhibitor 2C	
5q13.3 (1.2Mbp)	2	<i>POLK</i>	polymerase (DNA directed) kappa	2
		<i>IQGAP2</i>	IQ motif containing GTPase activating protein 2	
9q21.3 (0.2Mbp)	3	<i>CDKN2A</i>	cyclin-dependent kinase inhibitor 2A	2
		<i>CDKN2B</i>	cyclin-dependent kinase inhibitor 2B	
10p14 (1.0Mbp)	2	<i>CUGBP2</i>	CUG triplet repeat, RNA binding protein 2	2

表 6. (b) 小増幅領域と含まれている遺伝子の一覧

Gain locus (size)	gene (n)	Candidate gene		Case (n)
1q32.1 (0.2Mbp)	4	<i>CSRPI</i>	cysteine and glycine-rich protein 1	18
6q25.3 (0.4Mbp)	3	<i>IGF2R</i>	insulin-like growth factor 2 receptor	2
6q27 (0.3Mbp)	3	<i>MLLT4</i>	mixed-lineage leukemia translocated to, 4	3
10q24.1 (0.1Mbp)	4	<i>BLNK</i>	B-cell linker	2
		<i>DNTT</i>	deoxynucleotidyltransferase, terminal	
10q26.3 (0.2Mbp)	3	<i>SYCE1</i>	synaptonemal complex central element protein 1	4
12p13.33 (0.9Mbp)	7	<i>WNT5B</i>	wingless-type MMTV integration site family, member 5B	4
		<i>RAB6IP2</i>	RAB6-interacting protein 2 isoform epsilon	

1 番染色体長腕増幅はほとんどの症例が長腕全体の増幅であったが、その中でも 1q21.1-21.2 が多発性骨髄腫の病態に関わっているのではないかと予測されている[37]。1q21.2 に位置する CDC28 protein kinase regulatory subunit 1B (*CKS1B*)はcyclin 依存性リン酸化酵素阻害タンパクである *p27Kip1* をユビキチン化し分解する働きを持ち[38]、骨髄腫の病態に関わっていると考えられている遺伝子である[37, 39]。本解析では 1 症例が 1q21.1 に 1.2Mbp の小さな増幅を持つ症例があり、そこには B 細胞性腫瘍に関わる B-cell CLL/lymphoma 9(*Bcl9*)を含めた 13 遺伝子が存在した[40]。

9p23 上にある *PTPRD* を含む小領域の欠失が NHD の 2 症例と AMO1 と XG7 の 2 つの細胞株にて認められた(図 3)。重要なことにこの 4 検体のうち 3 検体が *PTPRD* の単独欠失であった。*PTPRD* については欠失、変異、プロモーター領域の高メチル化といった異常が、悪性黒色腫、肺がん、胃がん、大腸がん、髄芽腫といった様々な悪性腫瘍で報告されている一方で[27, 41-43]、これまでにこの遺伝子の異常が骨髄腫の病態に関わっているという報告は無い。

PTPRD は signal transducer and activator of transcription 3 (*STAT3*)を脱リン酸化しその働きを抑えることで細胞増殖を抑制する働きがある[44]。また *STAT3* は骨髄腫細胞の生存と増殖にとっても重要な役割があるインターロイキン 6(*IL-6*)のシグナル伝達経路の一部であり[45, 46]、*PTPRD* の欠失は他の悪性腫

瘍と同様に骨髄腫の病態に関わっている可能性がある。 *PTPRD* のほかに 16 個の遺伝子の単独欠失が見つかり、それは全て NHD に認められた。これまでの報告で、fragile histidine triad (*FHIT*), WW domain-containing oxidoreductase (*WWOX*)のプロモーター領域のメチル化, deleted in colorectal carcinoma (*DCC*)の欠失は骨髄腫患者にて予後不良因子とされており、骨髄腫細胞株で認められたこれらの遺伝子の欠失についても意義がある可能性が示唆された[16, 47, 48]。

一方で遺伝子の単独増幅は 9 遺伝子で認められた(表 5b)。その中でも、*c-myc* と *PVT-1* は骨髄腫の進展に関連があると考えられている[49, 50]。これらの 8q24 に存在する遺伝子は骨髄腫を含む B 細胞性悪性腫瘍にて、免疫グロブリン領域を含む転座の標的となっている。本解析では 1 症例(MM57)に 8q24 の小さな単独増幅が認められ、さらに 7 つの細胞株(JJN3, KMS11, KMS12-PE, Oda, NCU-MM1, SK-MM1, XG 7)にて 4 コピー以上の増幅が認められた。

2011 年に 38 名の骨髄腫患者の全ゲノムシーケンスの報告が発表された[51]。今回の SNP array 解析にて欠失や増幅が同定された遺伝子の多くが、この全ゲノムシーケンスにおいて変異や欠失が同定された遺伝子の中に含まれていた。同報告では *PTPRD* の欠失(1 症例), Eph receptor A7 (*EPHA7*)の変異(2 症例), *DGL2* の変異(1 症例)が認められており、これらの遺伝子の単独欠

失が我々の SNP array 解析でも同定されている．しかしながら，*PPP2R2B*,
BRCC2, *PTPRT* の欠失については本解析で検出できたが，この全ゲノムシー
クエンスでは検出されていなかった．このように，SNP array による網羅的か
つ詳細な染色体解析は，多発性骨髄腫の病態をより基礎的な遺伝子レベルから
解明していく上で非常に有用であると思われる．

第5章 結語

我々の解析では、NHD、13 番染色体長腕欠失、NHD における 1 番染色体長腕増幅症例は多発性骨髄腫における予後不良因子であった。一方で、新たに指摘し得た点として、NHD 症例であっても 1 番染色体長腕の増幅がない症例は予後不良ではなかった。さらに 17 個の単独遺伝子欠失と 9 個の単独遺伝子増幅が同定できた。欠失部位のうち 5 つは腫瘍抑制因子であり、多発性骨髄腫の病態に関わっている可能性が示唆された。また、異常集積部位に位置する *SEZ6L* の変異解析にてミスセンス変異を同定できた。このように本解析で同定された異常は多発性骨髄腫の病態に関わっている可能性があり、今後、症例数の蓄積と、次世代シーケンサーを用いた変異解析や骨髄腫細胞株などにおける候補遺伝子の発現解析・機能解析を進めていくことを検討している。

このように SNP array による全染色体の詳細な解析は多発性骨髄腫における病因や病気の進行を理解するうえで重要な情報をもたらさるものである。

第6章 謝辞

本研究を遂行するに当たり骨髓腫細胞株を提供して頂いた，名古屋市立大学大学院 医学研究科 腫瘍・免疫内科学 飯田真介 先生，SNP array と CNAG による解析法を御指導・御助言いただいた京都大学大学院医学研究科 腫瘍生物学講座（前 東京大学 キャンサーボード がんゲノミクスプロジェクト）小川誠司 先生，真田昌 先生へ心より感謝の意を表する．筑波大学における患者臨床情報をまとめてくださった筑波大学大学院 人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻 榎並輝和 先生，実験からデータ解析、論文作成に至るまで御指導頂いた筑波大学医学医療系血液内科教授 千葉滋 先生(指導教員)，同准教授 坂田(柳元)麻実子 先生へ改めて心より感謝の意を表する．また，その他ご協力を頂いた多くの方々へ心より感謝の意を表する．

第 7 章 参考文献

1. Hari, P.N., et al., *Is the International Staging System superior to the Durie-Salmon staging system? A comparison in multiple myeloma patients undergoing autologous transplant*. Leukemia, 2009. **23**(8): p. 1528-34.
2. Magrangeas, F., et al., *Genetic heterogeneity in multiple myeloma*. Leukemia, 2005. **19**(2): p. 191-4.
3. Berry, N.K., et al., *Genomic profiling of plasma cell disorders in a clinical setting: integration of microarray and FISH, after CD138 selection of bone marrow*. J Clin Pathol, 2013.
4. Chng, W.J., et al., *Genetic events in the pathogenesis of multiple myeloma*. Best Pract Res Clin Haematol, 2007. **20**(4): p. 571-96.
5. Largo, C., et al., *Multiple myeloma primary cells show a highly rearranged unbalanced genome with amplifications and homozygous deletions irrespective of the presence of immunoglobulin-related chromosome translocations*. Haematologica, 2007. **92**(6): p. 795-802.
6. Flactif, M., et al., *Interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) as a powerful tool for the detection of aneuploidy in multiple myeloma*. Leukemia, 1995. **9**(12): p. 2109-14.
7. Chang, H., et al., *Frequent monoallelic loss of D13S319 in multiple myeloma patients shown by interphase fluorescence in situ hybridization*. Leukemia, 1999. **13**(1): p. 105-9.
8. Bergsagel, P.L. and W.M. Kuehl, *Molecular pathogenesis and a consequent classification of multiple myeloma*. J Clin Oncol, 2005. **23**(26): p. 6333-8.
9. Walker, B.A., et al., *A compendium of myeloma-associated chromosomal copy number abnormalities and their prognostic value*, in *Blood*. 2010. p. e56-65.
10. Walker, B.A., et al., *Integration of global SNP-based mapping and expression arrays reveals key regions, mechanisms, and genes important in the pathogenesis of multiple myeloma*. Blood, 2006. **108**(5): p. 1733-43.
11. Fonseca, R., et al., *Clinical and biologic implications of recurrent genomic aberrations in myeloma*. Blood, 2003. **101**(11): p. 4569-75.
12. Zojer, N., et al., *Deletion of 13q14 remains an independent adverse prognostic variable in multiple myeloma despite its frequent detection by interphase fluorescence in situ hybridization*. Blood, 2000. **95**(6): p. 1925-30.
13. Chen, Y., et al., *Oncogenic mutations of ALK kinase in neuroblastoma*. Nature, 2008. **455**(7215): p. 971-4.

14. Kato, M., et al., *Frequent inactivation of A20 in B-cell lymphomas*. Nature, 2009. **459**(7247): p. 712-6.
15. Sanada, M., et al., *Gain-of-function of mutated C-CBL tumour suppressor in myeloid neoplasms*. Nature, 2009. **460**(7257): p. 904-8.
16. Jenner, M.W., et al., *Gene mapping and expression analysis of 16q loss of heterozygosity identifies WWOX and CYLD as being important in determining clinical outcome in multiple myeloma*. Blood, 2007. **110**(9): p. 3291-300.
17. Nannya, Y., et al., *A robust algorithm for copy number detection using high-density oligonucleotide single nucleotide polymorphism genotyping arrays*. Cancer Res, 2005. **65**(14): p. 6071-9.
18. Shaffer, L.G., *An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2009)*. 2009.
19. Nishioka, M., et al., *Identification of a 428-kb homozygously deleted region disrupting the SEZ6L gene at 22q12.1 in a lung cancer cell line*. Oncogene, 2000. **19**(54): p. 6251-60.
20. Tuna, M., S. Knuutila, and G.B. Mills, *Uniparental disomy in cancer*. Trends Mol Med, 2009. **15**(3): p. 120-8.
21. Gorlov, I.P., et al., *Seizure 6-like (SEZ6L) gene and risk for lung cancer*. Cancer Res, 2007. **67**(17): p. 8406-11.
22. Kang, G.H., et al., *DNA methylation profiles of gastric carcinoma characterized by quantitative DNA methylation analysis*. Lab Invest, 2008. **88**(2): p. 161-70.
23. Bleeker, F.E., et al., *Mutational profiling of cancer candidate genes in glioblastoma, melanoma and pancreatic carcinoma reveals a snapshot of their genomic landscapes*. Hum Mutat, 2009. **30**(2): p. E451-9.
24. Bakkus, M.H., et al., *Amplification of the c-myc and the pvt-like region in human multiple myeloma*. Oncogene, 1990. **5**(9): p. 1359-64.
25. Broustas, C.G., et al., *The proapoptotic molecule BLID interacts with Bcl-XL and its downregulation in breast cancer correlates with poor disease-free and overall survival*. Clin Cancer Res, 2010. **16**(11): p. 2939-48.
26. Sahab, Z.J., et al., *Tumor Suppressor RARRES1 Regulates DLG2, PP2A, VCP, EB1, and Ankrd26*. J Cancer, 2010. **1**: p. 14-22.
27. Tada, M., et al., *Prognostic significance of genetic alterations detected by high-density single nucleotide polymorphism array in gastric cancer*. Cancer Sci, 2010. **101**(5): p. 1261-9.

28. Vazquez, A., et al., *A genetic variant in a PP2A regulatory subunit encoded by the PPP2R2B gene associates with altered breast cancer risk and recurrence*. Int J Cancer, 2010.
29. Zhao, Y., et al., *Identification and functional characterization of paxillin as a target of protein tyrosine phosphatase receptor T*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(6): p. 2592-7.
30. Cavalli, L.R., et al., *Frequent Loss of the BLID Gene in Early-Onset Breast Cancer*. Cytogenet Genome Res, 2011. **135**(1): p. 19-24.
31. Smadja, N.V., et al., *Hypodiploidy is a major prognostic factor in multiple myeloma*. Blood, 2001. **98**(7): p. 2229-38.
32. Seong, C., et al., *Prognostic value of cytogenetics in multiple myeloma*. Br J Haematol, 1998. **101**(1): p. 189-94.
33. Dewald, G.W., et al., *Relationship of patient survival and chromosome anomalies detected in metaphase and/or interphase cells at diagnosis of myeloma*. Blood, 2005. **106**(10): p. 3553-8.
34. Fassas, A.B., et al., *Both hypodiploidy and deletion of chromosome 13 independently confer poor prognosis in multiple myeloma*. Br J Haematol, 2002. **118**(4): p. 1041-7.
35. Fonseca, R., et al., *Genetics and cytogenetics of multiple myeloma: a workshop report*. Cancer Res, 2004. **64**(4): p. 1546-58.
36. Leone, P.E., et al., *Deletions of CDKN2C in multiple myeloma: biological and clinical implications*. Clin Cancer Res, 2008. **14**(19): p. 6033-41.
37. Fonseca, R., et al., *Prognostic value of chromosome 1q21 gain by fluorescent in situ hybridization and increase CKS1B expression in myeloma*. Leukemia, 2006. **20**(11): p. 2034-40.
38. Zhan, F., et al., *CKS1B, overexpressed in aggressive disease, regulates multiple myeloma growth and survival through SKP2- and p27Kip1-dependent and -independent mechanisms*. Blood, 2007. **109**(11): p. 4995-5001.
39. Shaughnessy, J., *Amplification and overexpression of CKS1B at chromosome band 1q21 is associated with reduced levels of p27Kip1 and an aggressive clinical course in multiple myeloma*. Hematology, 2005. **10 Suppl 1**: p. 117-26.
40. Willis, T.G., et al., *Molecular cloning of translocation t(1;14)(q21;q32) defines a novel gene (BCL9) at chromosome 1q21*. Blood, 1998. **91**(6): p. 1873-81.
41. Mokarram, P., et al., *Distinct high-profile methylated genes in colorectal*

- cancer*. PLoS One, 2009. **4**(9): p. e7012.
42. Stark, M. and N. Hayward, *Genome-wide loss of heterozygosity and copy number analysis in melanoma using high-density single-nucleotide polymorphism arrays*. Cancer Res, 2007. **67**(6): p. 2632-42.
 43. Kohno, T., et al., *A catalog of genes homozygously deleted in human lung cancer and the candidacy of PTPRD as a tumor suppressor gene*. Genes Chromosomes Cancer, 2010. **49**(4): p. 342-52.
 44. Chan, T.A. and A. Heguy, *The protein tyrosine phosphatase receptor D, a broadly inactivated tumor suppressor regulating STAT function*. Cell Cycle, 2009. **8**(19): p. 3063-4.
 45. Bommert, K., R.C. Bargou, and T. Stuhmer, *Signalling and survival pathways in multiple myeloma*. Eur J Cancer, 2006. **42**(11): p. 1574-80.
 46. French, J.D., R.C. Tschumper, and D.F. Jelinek, *Analysis of IL-6-mediated growth control of myeloma cells using a gp130 chimeric receptor approach*. Leukemia, 2002. **16**(6): p. 1189-96.
 47. Takada, S., et al., *Methylation status of fragile histidine triad (FHIT) gene and its clinical impact on prognosis of patients with multiple myeloma*. Eur J Haematol, 2005. **75**(6): p. 505-10.
 48. de Carvalho, F., et al., *TGFbetaR2 aberrant methylation is a potential prognostic marker and therapeutic target in multiple myeloma*. Int J Cancer, 2009. **125**(8): p. 1985-91.
 49. Siwarski, D., et al., *Structure and expression of the c-Myc/Pvt 1 megagene locus*. Curr Top Microbiol Immunol, 1997. **224**: p. 67-72.
 50. Janz, S., *Myc translocations in B cell and plasma cell neoplasms*. DNA Repair (Amst), 2006. **5**(9-10): p. 1213-24.
 51. Chapman, M.A., et al., *Initial genome sequencing and analysis of multiple myeloma*. Nature, 2011. **471**(7339): p. 467-72.

(略語一覧；アルファベット順，遺伝子名は除く)

array CGH 法	アレイ化 Comparative Genomic Hybridization 法
BJP	Bence-Jones protein
Ch	chromosome
CNAG	Copy Number Analyzer for GeneChips
D13S319	(FISH における 13q14.3 欠失の場所を示す)
del	deletion
FCS	Fetal Calf Serum；ウシ胎児血清
FISH 法	細胞間期核蛍光 in situ ハイブリダイゼーション法
HD	hyperdiploid；高倍体
IgH	免疫グロブリン重鎖
ISS	International Staging System
LOH	loss of heterozygosity
NCBI	National Center for Biotechnology Information
ND	not determined.
NHD	non-hyperdiploid；非高倍体
OS	overall survival；全生存期間
RefSeq	Reference Sequence
RMPI	Roswell Park Memorial Institute
SNP array 法	Single nucleotide polymorphism genotyping microarray 法
SPSS	Statistical Product for Service and Solution
UPD	Uni-parental disomy；片親ダイソミー

(略語一覧；遺伝子名，アルファベット順，本文中に記載がある遺伝子のみ抜粋)

<i>Bcl9</i>	B-cell CLL/lymphoma 9
<i>CCND1</i>	cyclin D1
<i>CCND3</i>	cyclin D3
<i>CDH11</i>	cadherin 11
<i>CDKN2A</i>	cyclin-dependent kinase inhibitor 2A
<i>CDKN2B</i>	cyclin-dependent kinase inhibitor 2B
<i>CDKN2C</i>	cyclin-dependent kinase inhibitor 2C
<i>CKS1B</i>	CDC28 protein kinase regulatory subunit 1B
<i>DCC</i>	deleted in colorectal carcinoma
<i>DLG2</i>	discs large homolog 2
<i>EPHA7</i>	Eph receptor A7
<i>FAF1</i>	Fas-associated factor 1
<i>FGFR3</i>	fibroblast growth factor receptor 3
<i>FHIT</i>	fragile histidine triad
<i>IGLC1</i>	immunoglobulin lambda constant 1
<i>IL-6</i>	interleukin-6
<i>MAF</i>	musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog
<i>MMSET</i>	multiple myeloma SET domain or Wolf-Hirschhorn syndrome candidate1
<i>MYO18B</i>	myosin XVIIIIB
<i>PPP2R2B</i>	protein phosphatase 2, regulatory subunit B, beta
<i>PTPRD</i>	protein tyrosine phosphatase, receptor type, D
<i>PTPRT</i>	protein tyrosine phosphatase, receptor type, T
<i>RB1</i>	retinoblastoma 1
<i>SEZ6L</i>	seizure related 6 homolog (mouse)-like
<i>STAT3</i>	signal transducer and activator of transcription 3
<i>TP53</i>	tumor protein 53
<i>WWOX</i>	WW domain-containing oxidoreductase