

Chédiak-Higashi 症候群発症メカニズムに関する検討

葛西宏威 (山梨大学大学院医学工学総合研究部微生物学)

森本美智子 (山梨大学大学院医学工学総合研究部微生物学)

伊藤正彦 (山梨大学大学院医学工学総合研究部微生物学)

田辺文憲 (山梨大学大学院医学工学総合研究部人間科学・基礎看護学)

【研究要旨】

Chédiak-Higashi 症候群 (CHS) は白子症を伴う原発性免疫不全症であり、好中球やマクロファージの殺菌能低下と Natural Killer 活性の低下を特徴とする。この疾患の責任遺伝子である *chs1* cDNA は全長13kbと長大で、その詳細な機能についてはまだ明らかではない。また、これまでにCHS患者のCHS1の変異についての情報も十分とはいえない状況である。我々は、これまでにCHS患者2例について患者由来の細胞株よりRT-PCRによりCHS1のcDNA断片を増幅し、増幅された断片をTAクローニングした後、全長の塩基配列を決定し、今回さらにCHS4症例について患者末梢血よりmRNAを抽出し、先述した2例と同様の手法でCHS1全長の塩基配列を決定したので報告する。さらに、分子生物学的な手法を用い、PKCの機能調節という観点からも解析を行った。

A. 研究目的

Chédiak-Higashi 症候群 (CHS) の責任遺伝子 *chs1* は13kbpに及ぶmRNAにコードされる、アミノ酸3801残基からなる巨大な分子である。Chédiak-Higashi 症候群の病態を完全に理解し治療を施すためには、遺伝子の変異と病状の関係を明らかにする事が重要かつ必須であると考えられる。しかしながら、世界的に発症例が少ないこと、また、原因遺伝子が巨大で解析困難であることが原因となって、これまで十分な情報が蓄積しているとは言い難い状況である。

本研究は、遺伝子治療の基盤としての病態の分子メカニズムの解明、また薬剤による治療の可能性の検討を目的とする。前者については原因遺伝子の変異を明らかにし、モデル動物である beige マウスおよび患者由来の細胞株を用い細胞内の分子動態を明らかにする。得られた知見を病態と比較検討を行う事により遺伝子変異と分子・細胞レベルの異常の関係を明確にし、ひいては病態との関係を考察していきたい。一方、後者については、我々のこれまでの研究により、CHSの病態がPKCsのカルパイン感受性の異常亢進によるもので

あり、細胞レベルの異常表現型はカルパイン阻害剤であるE-64-dの培養系への添加によって正常型に回復しうることを明らかにしてきた。本研究では、マウスに経口投与することによりE-64-dの治療薬としての可能性を検討した。

また、このような情報の蓄積はよりの確な対処治療や、根治を目指した治療法の道を拓くものであると期待している。

B. 研究方法

a) 責任遺伝子 *chs1* の変異の検討

日本国内における Chédiak-Higashi 症候群患者末梢血及び樹立された細胞株を用いて全解析を行う。患者に研究が行われることとその内容を、口頭及び文書で説明しインフォームド・コンセントが得られた患者由来の細胞株からmRNAを抽出しcDNAを作成する。PCR法により責任遺伝子である *chs1* cDNAを増殖し単離する。得られた遺伝子断片の全塩基配列を決定し、突然変異を同定する。同定された変異箇所について genomic DNAをPCR法により増幅し臨床症状と突然変異の相関について検討する。

b) PKCの細胞内局在の検討

Beige 及びC57BL/6マウス由来の胎児線維芽細胞を、抗PKC α 抗体で免疫組織染色し、細胞内局在を検討した。次に、ヒト293T細胞にCHS1 knock-down用にデザインしたRNAi発現ベクターpL6W-CHS1を、PKC-DsRed融合蛋白発現ベクターpDsRed-PKCとともに遺伝子導入し、CHS1 knock-downのPKCの細胞内局在に与える影響を検討した。pL6W-CHS1にはEGFPの発現ユニットが組み込まれており、遺伝子導入細胞は緑色蛍光により判別。非導入細胞と比較した。

C) カルパイン阻害剤E-64-d経口投与による治療の検討

Beige およびC57BL マウス (8~12週齢) に連日、E-64-d (12.5mg/kg/day) を経口投与後、チオグリコレートを腹腔内投与し、16-20時間後に多核白血球 (PMN) を回収した。調整した細胞について、それぞれ、①ConACap形成率②Elastase 活性③CathepsinG 活性の測定を行った。

(倫理面での配慮)

研究計画は山梨大学医学部倫理委員会で審査承認を受けるとともに、検体提供について協力していただく各施設の倫理委員会でも審査承認を受けることとする。また、参加希望者には十分に説明し、インフォームドコンセントを得て研究に参加してもらう。

C. 研究結果

a) chs1 変異の検討

本年度は新たに4検体の提供を受け解析を行った。RT-PCR法によりCHS1をコードする全領域を増幅した。うち1検体について全長の配列を決定し、3検体についてcDNA 7100bpまでの領域の配列を明らかにした。全長を決定した1検体については3830番目のTの一塩基欠損が見られ、1214番目のLeu以降が欠損するという欠損変異であることが明らかとなった(図1)。その他、10箇所のアミノ酸置換変異が検出された。現在、変異箇所についてゲノム解析を行っ

ている。

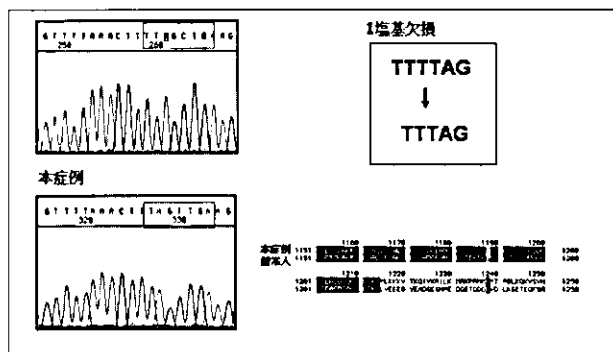


図1

b) PKCの細胞内局在の検討

C57BL/6マウス由来線維芽細胞において、PKCは細胞質内に広く分布しており典型的な細胞内局在を示した(図2 A-c)。一方、beige由来線維芽細胞中では小胞内に強い局在を示した(図2 A-a,b)。細胞内のPKC活性を測定した結果、膜分画、細胞質分画いずれにおいてもC57BL由来細胞に比べ beige 由来細胞中では活性の低下が見られた。またこの活性の低下はPMA等の刺激に非依存性であった(図2 B)。また、CHS1 knock-down細胞でも同様の蛍光が観察された。しかし、同一サンプル内のpL6

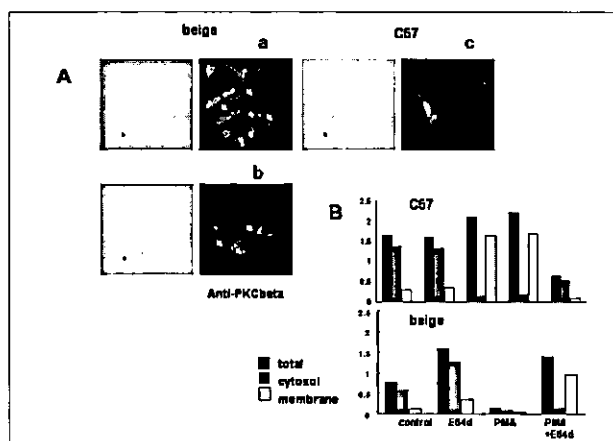


図2

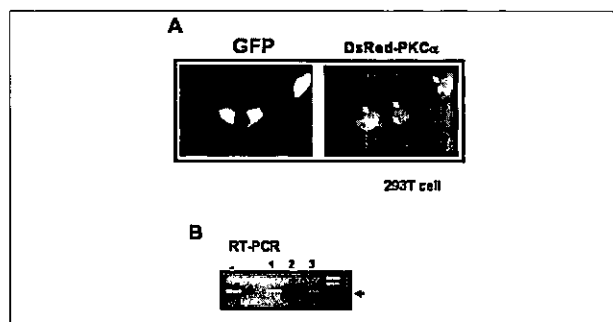


図3

W-CHS1非導入細胞においては正常な局在を示した(図3)。

C) E-64-dの治療薬としての可能性の検討

まず、E-64-d経口投与(12mg/kg/day)した野生型及び beige マウス腹腔よりPMNを回収し、表現型を比較した。Beige マウスの細胞では微小管機能異常により Con A cap 形成率が増加していることがわかっているが、投与後3日目において、E-64-d経口投与群の beige マウスにおける Con A cap 形成率は16.5±1.4%まで回復していた(C57BL:12.9±1.2% beige control 群:28.8±1.1%)。同様に Elastase 活性は、30.7±5.3(C57BL:38.7±2.1% beige control 群:14.1±0.5%)まで、Cathepsin G活性は0.23±0.01(C57BL:0.2±0.02% beige control 群:0.08±0.03%)まで、回復した(表1)。

表1 Effect of Oral Administration of E64d on Mouse PMN

mouse	adminstration	Con A cap(%)	Elastase	Cathepsin G
C57BL/6	control	12.9±1.2	38.7±2.1	0.20±0.02
	E64d	12.2±1.5	36.7±1.8	0.20±0.01
Beige	control	28.8±1.1	14.1±0.5	0.08±0.03
	E64d	16.5±1.4	30.7±5.3	0.23±0.01

E64d:12 mg/kg, Mice
Elastase:Fluorescence, Cathepsin G:absorbance

D. 考 察

本年度は新たに4症例のcDNA単離に成功した。全長解析に成功した1症例については分子内の欠損をとまなうような変異は検出できなかった。今後は、アミノ酸置換を確認できた領域について、ゲノムの構造を明らかにするとともに、遺伝子発現系へ変異cDNAを組み込み、変異の持つ意味を解析して行きたい。また、これまでの解析から、

CHS由来の細胞におけるPKCの蛋白分解感受性の異常亢進を見出してきた。PKCは活性化から活性発揮の過程で細胞質から細胞膜近傍に局在を移し、その後核近傍領域へ局在することが報告されている。本年度の成果は線維芽細胞内においてはCHS1の機能不全によって恒常的なPKC活性化が引き起こされている可能性を示唆するものであった。我々はこれまでにCHSの細胞レベルの異常表現型は sphingomyelinase の活性の異常亢進が原因であることを見出してきた。今後は、CHS1と sphingomyelinase の活性制御にともなうPKC活性の制御を結ぶ分子を同定しさらなる分子機序を明らかにして行きたい。E-64-dの経口投与は細胞レベルの表現型を回復し、in vitro において殺菌能についても回復を見た。このことは、E-64-dの治療薬としての有効性を示唆するものであり、今後はin vitroにおける黄色ブドウ球菌やカンジダなどに対する殺菌能やin vivoでの感染実験を行い、その有効性を立証して行きたい。

E. 結 論

1. 新規症例について1215番アミノ酸以降の欠損変異であることがわかり、現在ゲノム解析を行っている。
2. beige由来線維芽細胞中では、PKC局在に異常が見られ刺激非依存的なPKC活性の低下が見られた。
3. PKC分解阻害剤であるE-64-dの経口投与によってCon A capなど細胞レベルの表現型の回復が見られた。

WHIM症候群におけるCXCR 4 遺伝子変異に関する研究

小林 陽之助 (関西医科大学小児科教授)
谷内 昇一郎 (関西医科大学小児科)
藤井 喜充 (関西医科大学小児科)
蓮井 正史 (関西医科大学小児科)
辻 章志 (関西医科大学小児科)
畑 埜 泰子 (関西医科大学小児科)
伊藤 太一 (関西医科大学小児科)
榎 田 緑 (関西医大臨床検査学)

【研究要旨】

目的：WHIM症候群（先天性免疫不全症）の責任遺伝子がケモカインレセプター（CXCR 4）であることが明らかになった。今回の研究目的は、本疾患でのCXCR4変異蛋白の機能を解明することである。

症例：11歳の2卵性双胎姉妹。8歳時に本疾患と診断した。家族歴に特記すべきことはない。

方法：白血球からDNAとRNAとを抽出し、CXCR 4領域のプライマーを用いて、PCR法とRT-PCR法とでそれぞれ増幅し、ダイレクトシーケンス法によりCXCR 4領域のDNAとmRNAとの遺伝子変異とを解析した。CXCR 4の抗原、アポトーシス、運動能（F-actin）はフローサイトメトリーで測定した。

結果：姉、妹および父でCXCR 4領域の334番目（1000C-T）がヘテロに変異し、ストップコドンとなっていた。母と兄とでは変異を認めなかった。CXCR 4領域のmRNAの解析では、姉と妹とで同じ部位でヘテロに変異を認めたが、父では認めなかった。父方祖母、祖父ともに、DNA、mRNAに変異は認めなかった。CXCR 4抗体を使用した免疫沈降法では、白血球内のCXCR 4蛋白は姉と妹とで、兄と正常人とに比し、分子量が5kdほど小さい変異蛋白が認められた。白血球膜上のCXCR 4の発現は、対照と比較して差はなかった。患者の好中球ではSDF-1（CXCR 4の走化因子）に対して、アポトーシスの遅延と走化能の亢進が認められたが、リンパ球（CD3）では正常人と差はなかった。

結論：本家系で父のCXCR 4のコドン334番目（1000C-T）で体細胞の突然変異が起こり、その変異遺伝子が患児に遺伝したためWHIM症候群が発症したと考えられた。変異遺伝子は変異蛋白を産生し、その蛋白がWHIM症候群での好中球の異常と関わることが示唆された。

A. 研究目的

ミエロカテキシスはZuelzer¹⁾らが1964年に最初に報告し、白血球減少を伴った慢性好中球減少と骨髓好中球の特徴的な形態異常とが特徴である。別名WHIM (wart, hypogammaglobulinemia, immunodeficiency, myelokathexis) syndrome といわれ、疣贅（いぼ）、低ガンマグロブリン血

症、免疫不全、好中球減少を特徴とする²⁾。我々は、本疾患の好中球減少と形態異常とが骨髓好中球のアポトーシスの異常によることを明らかにした³⁾。しかしそのアポトーシスの異常の原因、あるいはその責任遺伝子は不明であった。2003年にHernandezらがWHIM症候群の責任遺伝子がケモカインレセプターの一つであるCXCR 4であるこ

とを明らかにした⁴⁾。CXCR 4 はストローマ細胞由来因子 1 (stromal cell-derived factor1:SDF-1) のレセプターであり、CD34細胞、B前駆細胞、成熟T細胞、B細胞、単球に発現している。またこれら細胞はSDF-1 に対して走化能を持っている^{5), 6), 7), 8)}。またCXCR 4 はCD 4 リンパ球におけるHIVの co-receptor となることが知られている⁹⁾。CXCR 4 やSDF-1 のノックアウトマウスでは胎児で死亡し、小脳形成の異常、腸管膜動脈の異常および造血機能の異常が認められた。Tリンパ球の形成には異常なく、Bリンパ球と骨髄系細胞の形成低下が認められた^{10), 11)}。このようにCXCR 4 は生体内で多彩な機能を有することが考えられるが、細胞内での明確な機序は不明である。本研究の目的は、先天性免疫不全症であるWHIM症候群における責任遺伝子 (CXCR4) の役割を明らかにし、その病態を解明することである。

B. 研究方法

1) 症 例

症例は2卵性双胎の11歳の姉妹で、第1子には心疾患、第2子には1型糖尿病がある。双方とも生後6か月から反復性の呼吸器感染があり、2才時に骨髄検査からミエロカテキシスと診断した。8歳から下肢に疣贅を認めている。どちらもST (スルファメトキサゾール・トリメトプリム) 合剤の予防内服で感染は殆ど認められていない。家族歴として特記すべことなく、易感染性は認めていない。血液検査を表1に示した。白血球減少を伴った好中球減少を認め、IgGはやや低値で、CD19細胞の減少を認める。リンパ球の幼若化は正常である。以上から第1子、第2子ともWHIM症候群と診断した。

2) DNAの解析

表1 検査所見

		第1子	第2子
WBC	/ μ l	1,300	700
Neutro	(%)	18	24
Lympho	(%)	76	69
IgG	mg/dl	79	579
IgA	mg/dl	3	22
IgM	mg/dl	50	46
CD3	(%)	63	75
CD4	(%)	47	59
CD8	(%)	27	18
CD19	(%)	4	5

EDTA加末梢血からデキストラン沈降法で白血球を分離し、DNAを抽出、CXCR 4 の全領域をCXCR 4 のプライマーを用いてPCR法で増幅し、PRISM3100 (Applied Biosystems, CA, USA) シークエンサーでダイレクトシークエンス法により解析した。プライマーのデザインを表2に示した。

表2 CXCR4のプライマーデザイン

Exon 1	
CXCR4-1 primer:	5'-GCT CGG AGC GTG TTT TTA-3'
CXCR4-7 primer:	5'-ACC TCC AAT GTC CTG GC-3'
Exon2	
CXCR4-2 primer:	5'-ATG TCC ATT CCT TTG CCT CT-3'
CXCR4-3 primer:	5'-CCT ATG CAA GGC AGT CCA TGT-3'
CXCR4-4 primer:	5'-GGT AGC GGT CCA GAC TGA TGA-3'
CXCR4-5 primer:	5'-GCT GTC ACA CTC CAA GGG CC-3'
CXCR4-6 primer:	5'-AGC TGG AGT GAA AAC TTG AAG-3'
CXCR4-8 primer:	5'-TGG TCT TGA GGG CCT TGC GC-3'

3) RNAの解析

EDTA加末梢血からデキストラン沈降法で白血球を分離し、RNAを抽出し、CXCR 4 の全領域をCXCR 4 のプライマーを用いてRT-PCRで増幅、ダイレクトシークエンス法により解析した。

4) 免疫沈降法

デキストラン沈降法で白血球を分離し、1% Nonidet P-40で細胞を溶解し、溶出物を抗CXCR4 抗体 12G5 ((DakoCytomation, Glostrup, Denmark) で免疫沈降した。免疫沈降したものをProtein G-Sepharose 4 Fast Flow beads (Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Sweden,) でカップリングさせ、12%のSDSで泳動した。さらにニトロセルローズ膜に移動させ、抗CXCR4 抗体44716 (DakoCytomation) に反応させ、ペルオキシダーゼ標識ヤギ抗マウス IgG 抗体で染色し、ケミルミネッセンス (Boehringer Mannheim GmbH, Germany) で増幅して同定した。

5) CXCR 4 の発現

比重遠心法で分離した好中球を10%FCS加RPMI培養液で16時間培養して洗浄後、FITC標識CXCR4抗体 (DakoCytomation) を加えてフローサイトメトリーで解析した。比重遠心法で分離した分離したリンパ球をTGF β 1 (0.25ng/ml : PeproTech EC LTD, London, UK) とともに10%FCS加RPMI培養液で48時間培養し、FITC標識CXCR4抗体とPE標識CD3 (Coulter Corporation, Miami,

USA) 抗体で二重染色し、表面抗原をフローサイメトリー (EPICS-C;Coulter Corp, Hialeah, FL) で解析した。

6) アポトーシスの測定

比重遠心法で分離した好中球とリンパ球に annexin V-FITC apoptosis detection kit (BioVision Research Products Mountain View, CA)で染色して、フローサイメトリー (EPICS-C;Coulter Corp, Hialeah, FL)で解析した。T細胞はCD3で gate して測定した。

7) F-actin

比重遠心法で分離した好中球とリンパ球に分離し、培養し、SDF-1を加え、パラホルムアルデヒドで固定後、FITC-phalloidin(2 μg/ml, Molecular Probe Inc.,Eugene, OR)染色して、フローサイメトリーで解析した。好中球はCD16, リンパ球はCD3で gate し、gate した細胞内のF-actin をフローサイメトリーで解析した。Intracellular F-actin (IF) は以下のように表した。IF=MFI(SDF-1刺激)/MHF(無刺激)

(倫理面への配慮)

本研究は関西医科大学倫理委員会の許可をうけ、倫理面での問題、とくに遺伝子検査では、プライバシーを保護し十分な配慮がされていると判断された。

C. 研究結果

患者2名、兄、父および母でCXCR4領域におけるDNA、mRNAの遺伝子変異を調べた。DNAでは、母と兄とは正常に比べ、この領域では異常を認めなかった。患者2名と父とにヘテロにコドン334でCGAがTGAに変異しストップコドンとなっていた(図1B)。次にRT-PCRによるCXCR4領域のm-RNAの変異については、患者にのみヘテロでDNAの異常が認められた(図1D)。父は正常であった(図1C)。これらのmRNAとDNAとの変異は口腔粘膜細胞にも同様に認められた。父方祖父母もCXCR4領域のmRNAとDNAとは正常であった。

抗CXCR4抗体による免疫沈降法で患者2名とも、父、兄に比べ、やや低いところでbandが出

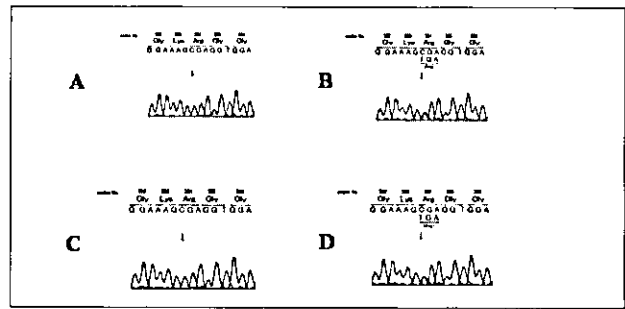


図1 患者2名、父、母、兄、父方祖父、父方祖母のDNAとmRNAとをCXCR4領域のprimerで増幅し、シーケンサーで解析した。DNAでは患者2名と父にヘテロにコドン334のTGAがストップコドンとなっている(B)。それ以外はCXCR4領域で遺伝子変異は認められなかった(A)。mRNAでは患者のみにヘテロにコドン334のTGAがストップコドンとなっている(D)。それ以外はCXCR4領域で遺伝子変異は認められなかった(C)。

現し、変異蛋白が出現していることが明らかであった(図2A)。

CXCR4の表面抗原では、リンパ球、好中球ともに分離直後では細胞表面に出現していないが、培養すると弱いながらも発現した(図2B)。患者2名の好中球を10%FCS加RPMIとともに培養し、CXCR4の発現をみると、対照と同様にその発現が認められた(図2B)。またリンパ球をTGF-β1とともに培養すると、48時間後に対照と同様、弱いながらもCXCR4の発現が認められた。また細胞内のCXCR4抗原もCD3細胞で培養しなくても認められた。患者好中球にSDF-1を加え、培養するとSDF-1を加えない好中球に比べ、著明にアポトーシスが抑制されたが、対照は変化を

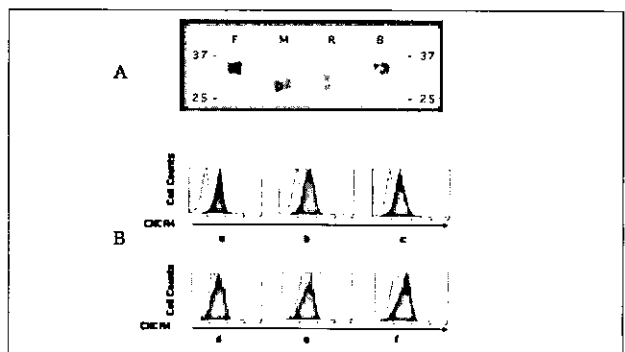


図2 A デキストラン沈降法で患者2名と兄、母から白血球を分離し、1% Nonidet P-40 で細胞を溶解し、容出物を抗CXCR4抗体(12G5)で免疫沈降した。免疫沈降したものをProtein G-Sepharose 4 beadsでカップリングさせ、12%のSDSで泳動した。さらにニトロセルロース膜に移動させ、抗CXCR4抗体(44716)に反応させ、ペルオキシダーゼ標識ヤギ抗マウスIgG抗体で染色し、ケミルミネッセンスで増幅し、同定した。Fは父、患者2名はMとR、Bは兄である。2B:患者2名と正常大人から好中球と単核球を分離し、好中球は16時間、単核球は24時間培養した。その後好中球はFITC標識CXCR4抗体を加え、また単核球はFITC標識CXCR4抗体とPE標識CD3抗体とを加え、フローサイトメトリーで解析した。患者2名の好中球(PMN: polymorphonuclear cells)のCXCR4の発現(a,b)は、コントロールと同様に認められた(c)。単核球をCD3でgateし、そのCD3陽性細胞のCXCR4の発現も、患者2名(d,e)もコントロール同様(c)に弱いながらも認められた。

認めなかった(図4 A)。CD3リンパ球では患者・対照ともアポトーシスの変化は認めなかった。好中球・リンパ球を12時間・24時間培養すると、好中球ではSDF-1に対するIntracellular F-actinは患者2名とも対照と比べ、著明に亢進していた(図4 B)。CD3リンパ球では対照と差を認めなかった。

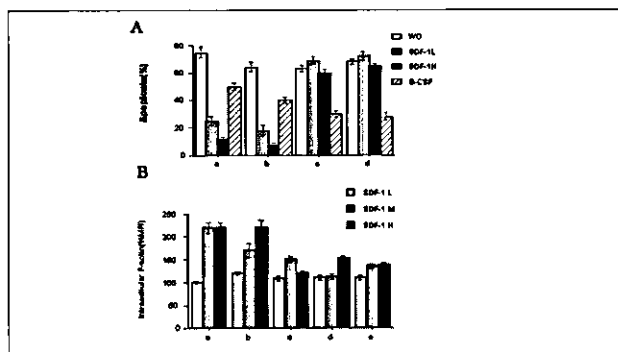


図3 A 患者好中球にSDF-1を加え、16時間培養し、annexin V-FITC apoptosis detection kitで染色して、フローサイメトリーで解析した。a, b: 患者 c, d: 対照
WO: 無刺激 SDF-1L: 20ng/ml SDF-1H: 200ng/ml G-CSF: 100 ng/ml 3 B: 好中球を12時間培養し、SDF-1で刺激し、1分後パラホルムアルデヒドで固定した。さらに、FITC-phalloidinで染色して、フローサイメトリーで解析した。好中球はCD16, リンパ球はCD3でgateし、gateした細胞内のF-actinをフローサイメトリーで解析した。Intracellular F-actin (IF)は以下に表した。IF=MF(SDF-1刺激)/MHF(無刺激) a, b: 患者 c, d, e: 対照
SDF-1L: 0.2ng/ml SDF-1H: 2ng/ml SDF-1H: 200ng/ml

D. 考 察

WHIM症候群における分子遺伝学的検討は、Nature Genetics に報告されたのみであり、さらなる詳細な検討すなわち変異遺伝子の発現機構の検討はまだない。今回我々はその発現機序を1家系で明らかにした。

WHIM症候群では骨髄からの好中球の放出障害が考えられ³⁾、T、Bリンパ球機能障害が症例によって存在する。反復感染症は著明ではなく、経口抗生物質に反応し、炎症時には骨髄からの好中球の放出も良好であるが、致死的な場合もある。痒や低ガンマグロブリン血症は患者によって認められ、遺伝的多様性が考えられる。Hernandezらは7家系18名のWHIM症候群の患者のsampleからポジショナルクローニングすることによってその責任遺伝子が2q21のCXCR4遺伝子であり、CXCR4レセプターの細胞内domainのC末端に変異を認めることを明らかにした⁴⁾。今回我々の患者はCXCR4遺伝子の334番目でヘテロにCGA

がTGAに変異していた。その変異は本患者も含め、4家系に334番目の変異が認められ、342番目、343番目がそれぞれ1家系ずつ、また他の1家系はCXCR4遺伝子領域に異常を認めていない⁴⁾。われわれの症例では痒や、低ガンマグロブリン血症が双方に認められ、細胞性免疫機能は障害されていない。WHIM症候群のなかでは1番多いタイプのものである。症状の多様性は、CXCR4の細胞内domainの場所によるかもしれない。

患者2名にm-RNAの変異がbiallelicに発現していた。また父ではDNAの変異は患者と同様に認められるが、m-RNAは正常であった。また父方の両親も検索したが、m-RNA, DNAともに正常であった。従って、本患者は父が somatic mutation を起こし、モザイクでヘテロに変異遺伝子が患者に伝わったものと考えられる。またCXCR4領域では imprinting しない領域であることが理解できる。

患者のCXCR4の細胞内蛋白では、免疫沈降法で正常より分子量が5kdほど少ないバンドが認められ、変異遺伝子からの変異m-RNAが変異蛋白を合成したものと考えられた。患者では異常なm-RNAと正常なm-RNAとがbiallelicに発現されており、何らかの機序で正常な蛋白の合成が抑えられ、細胞内domainの欠如した変異蛋白が合成されていることが想像できる。あるいは抗CXCR4抗体がより変異蛋白と免疫沈降を起こしやすいのかもしれない。

GulinoらはWHIM症候群でSDF-1に対する走化能の亢進が、WHIM症候群での骨髄の特徴的な成熟好中球の増加と好中球減少症を引き起すと推察している¹²⁾。我々も同様にF-actinでSDF-1への好中球の反応性の亢進を認め、さらに好中球のアポトーシスでもSDF-1による著明な抑制が認められた。WHIM症候群での骨髄好中球の停滞は、骨髄好中球がアポトーシスをおこすことなく生存し、成熟した骨髄がさらに骨髄外に出られないことによって生じることが推察される。

以上のことから、WHIM症候群では変異CXCR4遺伝子が変異CXCR4蛋白を産生し、それらがSDF-1にする骨髄好中球のアポトーシスの

抑制と走化能の亢進を引き起し、骨髓好中球の停滞とそれに伴う好中球減少を生じることが示唆された。

参考文献

- 1) Zuelzer WW. "Myelokathexis"-A new form of chronic granulocytopenia. *N Engl J Med.* 1964 ; 270:699-704.
- 2) Taniuchi S, Yamamoto A, Fujiwara T, Hasui M, Tsuji T, Kobayashi Y. Dizygotic twin sisters with myelokathexis: Mechanism of its neutropenia. *Am J Hematol.* 1999 ; 62 : 106-111.
- 3) Wetzler M, Talpaz M, Kleinerman ES, King A, Huh YO, Gutterman JU, Kurzrock R. A new familial immunodeficiency disorder characterized by severe neutropenia, a defective marrow release mechanism, and hypogammaglobulinemia. *Am J Med.* 1990; 89: 663-72.
- 4) Hernandez PA, Gorlin RJ, Lukens JN, Taniuchi S, Bohinjec J, Francois F, Klotman ME, Diaz GA. Mutations in the chemokine receptor gene CXCR4 are associated with WHIM syndrome, a combined immunodeficiency disease. *Nat Genet.* 2003; 34: 70-4.
- 5) Aiuti A, Webb IJ, Bleul C, Springer T, Gutierrez-Ramos JC. The chemokine SDF-1 is a chemoattractant for human CD34⁺ hematopoietic progenitor cells and provides a new mechanism to explain the mobilization of CD34⁺ progenitors to peripheral blood. *J Exp Med.* 1997; 185: 111-20.
- 6) Bleul CC, Wu L, Hoxie JA, Springer TA, Mackay CR. The HIV coreceptors CXCR4 and CCR5 are differentially expressed and regulated on human T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 ; 94: 1925-30.
- 7) Bleul CC, Schultze JL, Springer TA. B lymphocyte chemotaxis regulated in association with microanatomic localization, differentiation state, and B cell receptor engagement. *J Exp Med.* 1998; 187: 753-62.
- 8) D'Apuzzo M, Rolink A, Loetscher M, Hoxie JA, Clark-Lewis I, Melchers F, Baggiolini M, Moser B. The chemokine SDF-1, stromal cell-derived factor 1, attracts early stage B cell precursors via the chemokine receptor CXCR4. *Eur J Immunol.* 1997; 27: 1788-93.
- 9) Bleul CC, Farzan M, Choe H, Parolin C, Clark-Lewis I, Sodroski J, Springer TA. The lymphocyte chemoattractant SDF-1 is a ligand for LESTR/fusin and blocks HIV-1 entry. *Nature* 1996; 382: 829-33.
- 10) Ma Q, Jones D, Borghesani PR, Segal RA, Nagasawa T, Kishimoto T, Bronson RT, Springer TA. Impaired B-lymphopoiesis, myelopoiesis, and derailed cerebellar neuron migration in CXCR4- and SDF-1-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998; 95: 9448-53.
- 11) Nagasawa T, S. Hirota, K. Tachibana, N. Takakura, S. Nishikawa, Y. Kitamura, N. Yoshida, H. Kikutani, T. Kishimoto. 1996. Defects of B-cell lymphopoiesis and bone-marrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF-1. *Nature.* 1996; 382: 635-638.
- 12) Gulino V, Moratto D, Sozzani S, Cavadini P, Otero K, Tassone L, et al. Altered leukocyte response to CXCL12 in patients with Warts Hypogammaglobulinemia, Infections, Myelokathexis (WHIM) syndrome. *Blood* 2004 ; 104 : 444-452.
- 13) Ma Q, Jones D, Springer TA. The chemokine receptor CXCR4 is required for the retention of B lineage and granulocytic precursors within the bone marrow microenvironment. *Immunity* 1999; 10: 463-71.
- 14) Nagase H, Miyamasu M, Yamaguchi M,

Imanishi M, Tsuno NH, Matsushima K, Yamamoto K, Morita Y, Hirai K. Cytokine-mediated regulation of CXCR4 expression in human neutrophils. *J Leukoc Biol.* 2002; 71: 711-7.

15) Franitza S, Kollet O, Brill A, Vaday GG,

Petit I, Lapidot T, Alon R, Lider O. TGF-beta 1 enhances SDF-1 alpha-induced chemotaxis and homing of naive T cells by up-regulating CXCR4 expression and downstream cytoskeletal effector molecules. *Eur J Immunol.* 2002; 32: 193-202.

IV 研究成果の刊行に関する一覧

研究成果の刊行に関する一覧

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
宮脇利男、 二谷 武	免疫不全症候群の疾患分類。		内科診療Q & A 39号	六法出版社	東京	2004	186-187
有賀 正	検査編、A. 血液検査。DNA診断。	五十嵐隆、大岡恵一、高橋孝雄	今日の小児診断指針 第4版	医学書院	東京	2004	489-495
近藤直実	小児の気管支喘息。	山口 徹、北原光夫	今日の治療指針 46	医学書院	東京	2004	943-946
近藤直実、 金子英雄	ADAM33—喘息感受性遺伝子。	工藤翔二、土屋了介、金沢 実、大田 健	Annual Review 2004 呼吸器	中外医学社	東京	2004	78-81
近藤直実	アレルギー性疾患の検査法ⅣⅣ型アレルギーの検査法。	福田 健	総合アレルギー学	南山堂	東京	2004	191-195
近藤直実	喘息性気管支炎。疾患・症状別	水谷 裕、黒川 清	今日の治療と看護 改訂第2版。小児(気管支)喘息	南江堂	東京	2004	1362-1363
金子英雄、 深尾敏幸、 近藤直実	免疫グロブリンサブクラス欠損症モデルマウス。	秦 順一	ヒト患者モデル	文光堂	東京	2004	45-51
近藤直実	吸入ステロイド薬と他の抗喘息薬とのコンビネーションと問題。	西間三弊	小児気管喘息のマネジメント—吸入ステロイド薬の使い方—	医薬ジャーナル社	大阪	2004	54-62
近藤直実	気管支喘息の発症と衛生仮説。	松野莊平、江頭洋祐	呼吸器 CURE and CARE 17	帝人ファーマ株式会社	東京	2004	
近藤直実	小児喘息の管理と治療 抗アレルギー薬。	宮本昭正	EBMに基づいた喘息治療ガイドライン	協和企画	東京	2004	159-170
高木純一 布井博幸	多臓器不全(MOD)	市川光太郎	内科医・小児科研修医のための小児救急医療治療ガイドライン	診断と治療社	東京	2004	75-78
原 寿郎	学校伝染病と対策	山口 徹、北原光夫	今日の治療指針2005年版	医学書院	東京	2005	
原 寿郎	小児の成長、小児の発達		標準小児科学 第6版	医学書院	東京	(in press)	
原 寿郎	新生児・小児科疾患 小児の成長と発達	原 寿郎	看護のための最新医学講座改訂 第2版 第14巻	中山書店			
大賀正一、 古賀友紀、 原 寿郎	Blackfan-Diamond 症候群の病態と治療	高久史麿、溝口秀昭、坂田洋一、金倉 譲、小島勢二	Annual Review 血液 2005	中外医学社	東京	2005	
大野拓郎、 古野憲司、 池田和幸、 原 寿郎	川崎病		日本臨牀「免疫症候群(下)」			(in press)	
河野雅之、 齊藤 隆、 小原 収	免疫疾患のプロテオーム解析：免疫不全症を例として	戸田年総	「遺伝子医学」MOOK 2号 「疾患プロテオミクスの最前線」	メディカルドゥ	大阪	2005	
峯岸克行	6章 免疫と疾患 4節 免疫不全症	鳥山 一	キーワードで理解する免疫学イラストマップ	羊土社	東京	2004	204-213

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ye F., Foell D., Hirono K., Vogl T., Futatani T., Rui C., Yu X., Watanabe S., Watanabe K., Uese K., Hashimoto I., Roth J., Ichida F., and Miyawaki T.	Neutrophil-derived S100A12 is profoundly upregulated in the early stage of acute Kawasaki disease.	Am J Cardiol	94	840-844	2004
Watanabe D., Ezoe S., Fujimoto M., Kimura A., Saito Y., Nagai H., Tachibana I., Matsumura I., Tanaka T., Kanegane H., Miyawaki T., Emi M., Kanakura Y., Kawase I., Naka T., and Kishimoto T.	Suppressor of cytokine signalling-1 gene silencing in acute myeloid leukaemia and human haematopoietic cell lines.	Brit J Haematol	126	726-735	2004
Ogawa J., Sasahara A., Yoshida T., Sira M. M., Futatani T., Kanegane H., and Miyawaki T.	Role of transforming growth factor- β in breast milk for initiation of IgA production in newborn infants.	Early Hum Dev	77	67-75	2004
Horiuchi K., Ariga T., Fujioka H., Kawashima K., Yamamoto Y., Ikawa H., Sakiyama Y., and Sugihara T.	Treacher Collins syndrome with craniosynostosis, choanal atresia and esophageal regurgitation caused by a novel nonsense mutation in the <i>TCOF1</i> .	Am J Med Genet	128A	173-175	2004
Chien YH., Hwu WL., Ariga T., Chang KW., Yang YH., Lin KH., and Chiang BL.	Molecular diagnosis of Wiskott-Aldrich syndrome in Taiwan.	J Microbiol Immunol Infect	37	276-281	2004
Ariga T., Nakajima M., Yoshida J., Yamato K., Nagatoshi Y., Yanai F., Caviles AP, Nelson DL, and Sakiyama Y.	Confirming or excluding the diagnosis of Wiskott-Aldrich syndrome in children with thrombocytopenia of an unknown etiology.	J Pediat Yol rioroma Oncol	26	435-440	2004
Ariga T.	Gene therapy for primary immunodeficiency diseases; recent progress and misgivings.	Curr Phram Design	(in press)		
Foucault C., Lepidi H., Poujet-Abadie F., Granel B., Foblot F., Ariga T., and Raoult D.	Q fever and lymphadenopathy: report of four new cases and review.	Eur J Clin Microbiol Infect Dis	23	759-764	2004
Yoshinari M., Kunishima S., Miyabayashi S., Saito H., and Tsuchiya S.	A unique immunofluorescence method promotes accurate diagnosis in MYH9 disorders: a case report	Int J Hematol	80	332-335	2004
Fujiwara T., Yamada M., Miyamura K., Tomiya Y., Ishizawa K., Harigae H., Kameoka J., Minegishi M., Tsuchiya S., and Sasaki T.	Fludarabine- and cyclophosphamide-based nonmyeloablative conditioning regimen for transplantation of chronic granulomatous disease: possible correlation with prolonged pure red cell aplasia	Int J Hematol	79	293-297	2004
Jo E-K., Kook H., Uchiyama T., Hakozaiki I., Kim Y-O., Song C-H., Park J-K., Kanegane H., Tsuchiya S., and Kumaki S.	Characterization of a novel nonsense mutation in the IL-7 receptor α gene in a Korean patient with severe combined immunodeficiency.	Int J Hematol	80	332-335	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Jo EK., Kumaki S., Wei D., Tsuchiya S., Kanegane H., Song CH., Noh HY., Kim YO., Kim SY., Chung HY., Kim YH., and Kook H.	X-linked severe combined immunodeficiency syndrome: the first Korean case with γ c chain gene mutation and subsequent genetic counseling.	J Korean Med Sci	19	123-126	2004
Dupre L., Trifari S., Follenzi A., Marangoni F., Lain de Lera T., Bernad A., Martino S., Tsuchiya S., Bordignon C., Naldini L., Aiuti A., and Roncarolo MG.	Lentiviral vector-mediated gene transfer in T cells from Wiskott-Aldrich syndrome patients leads to functional correction	Mol Ther	10	903-915	2004
Uchiyama T., Kumaki S., Fujiwara M., Nishida Y., Hakozaki I., Imai K., Du W., Yoshinari M., Sasahara Y., and Tsuchiya S.	A novel JAK3 mutation in a Japanese patient with severe combined immunodeficiency.	Pediatr Int	(in press)		
Kano H., Ito Y., Matsuoka K., Nakajima T., Iwata T., Kohsaka T., Saito H., and Abe J.	Critical role of T cell migration in bacterial superantigen-mediated shock in mice.	Clin Immunol	110	159-171	2004
Imai K., Morio T., Zhu Y., Jin Y., Itoh S., Kajiwara M., Yata JI., Mizutani S., Ochs HD., and Nonoyama S.	Clinical course of patients with WASP gene mutations.	Blood	103	456-464	2004
Nagasawa M., Itoh S., Sawada Y., Morio T., Nonoyama S., and Mizutani S.	Coagulopathy in a patient with X-linked hyper-IgM syndrome who developed Kaposi's sarcoma.	Am J Hematol	75	116-117	2004
Nagasawa M., Tomizawa D., Tsuji Y., Kajiwara M., Morio T., Nonoyama S., Asada M., and Mizutani S.	Pancytopenia presenting with monosomy 7 which disappeared after immunosuppressive therapy.	Leuk Res	28	315-319	2004
Tomizawa D., Imai K., Ito S., Kajiwara M., Minegishi Y., Nagasawa M., Morio T., Nonoyama S., and Mizutani S.	Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for seven children with X-linked hyper-IgM syndrome: a single center experience.	Am J Hematol	76	33-39	2004
Sato K., Kinoshita M., Motegi A., Habu Y., Takayama E., Nonoyama S., Hiraide H., and Seki S.	Critical role of the liver CD8(+) CD122(+) T cells in the generalized Shwartzman reaction of mice.	Eur J Immunol	35	593-602	2005
Kubo T., Kobayashi O., Nozaki M., Kurokawa T., Tamura K., and Nonoyama S.	Successful thyrotropin-releasing hormone therapy for emotional incontinence and amnesia resulting from mumps encephalitis.	Pediatr Infect Dis J.	23	1175-1176	2004
Nagasawa M., Zhu Y., Isoda T., Tomizawa D., Itoh S., Kajiwara M., Morio T., Nonoyama S., Shimizu N., and Mizutani S.	Analysis of serum soluble CD40 ligand (sCD40L) in the patients undergoing allogeneic stem cell transplantation: platelet is a major source of serum sCD40L.	Eur J Haematol	74	54-60	2005
Imai, K., Zhu Y., Revy P., Morio T., Mizutani S., Fischer A., Nonoyama S., and Durandy A.	Analysis of class switch recombination and somatic hypermutation in patients affected with autosomal dominant hyper-IgM syndrome type 2	Clin. Immunol	(in press)		

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Takshita S., Kawamura Y., Takabayashi H., Yoshida N, and <u>Nonoyama. S.</u>	Imbalance in the production between vascular endothelial growth factor and endostatin in Kawasaki disease.	Clin Exp Immunol	139	575-579	2005
Matsuzaki S., Shinozaki K., Kobayashi N., and <u>Agematsu K.</u>	Polarization of Th1/Th2 gene expression in subpopulations of human CD45RO ⁺ CD4 ⁺ T lymphocytes distinguished by CD62L.	Allergy	(in press)		
Yasui K., Kobayasi N., Yamazaki T., and <u>Agematsu K.</u>	Thalidomide as an immunotherapeutic agent: the effects on neutrophil-mediated inflammation.	Curr Pharm Design	(in press)		
Shi Y., <u>Agematsu K.</u> , Okubo, Yoshio Y., Uehara Y., and Sugane K.	Regulation of aged humoral immune defense against pneumococcal bacteria by immunoglobulin M memory B cell.	J Immunol	(in press)		
Ishiai M., Kimura M., <u>Agematsu K.</u> , Matsushita N., Takeda S., Jean-Marie Buerstedde., and Takata M.	DNA crosslink repair protein SNM1A interacts with PIAS1 in nuclear focus formation.	Mol Cell Biol	24	10733-10741	2004
Kaneko,H., Fukao, T., and <u>Kondo, N.</u>	The function of RecQ helicase gene family (especially BLM) in DNA recombination and joining.	Adv Biophys	38	45-64	2004
Yoshikawa K., Matsui E., Inoue R., Kaneko H., Teramoto T., Aoki M., Kasahara K., Shinoda S., Fukutomi O., and <u>Kondo N.</u>	Urinary leukotriene E4 and 11-dehydro-thromboxane B2 excretion in children with bronchial asthma.	Allergology Int	53	127-134	2004
<u>Kondo N.</u> , Matsui E., Kaneko H., Kato Z., Teramoto T., Shikano H., Aoki M., Onishi H., Tatebayashi K., Omoya K., Kondo M., Matsukuma E., Kasahara K., and Morimoto N.	Genetic defects in downregulation of IgE production and a new genetic classification of atopy..	Allergology Int	53	77-85	2004
Nagase T., Shimozawa N., Takemoto Y., Suzuki Y., Komori M., and <u>Kondo N.</u>	Peroxisomal localization in the developing mouse cerebellum : Implications for neuronal abnormalities related to deficiencies in peroxisomes.	Biochem Bioph Acta	1671	26-33	2004
Yamamoto Y.,Kato Z., Matsukuma E., Li A., Omoya K., Hashimoto K., Ohnishi H., and <u>Kondo N.</u>	Generation of highly stable IL-18 based on a ligand-receptor complex structure.	Biochem Biophys Res Commun	317	181-186	2004
<u>Kondo N.</u> , Matsui E., Kaneko H., Aoki M., Kato Z., Fukao T., Kasahara K., and Morimoto N.	RNA editing of interleukin-12 receptor beta2, 2451 C-to-U (Ala 604 Val) conversion, associated with atopy.	Clin Exp Allergy	34	363-368	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Asano T, Kaneko H, Terada T, Kasahara Y, Fukao T, Kasahara K, and <u>Kondo N.</u>	Molecular analysis of B-cell differentiation in selective or partial IgA deficiency.	Clin Exp Immunol	136	284-290	2004
Nagao-Watanabe M, Fukao T, Matsui E, Kaneko H, Inoue R, Kawamoto N, Kasahara K, Nagai M, Ichiki Y, Kitajima Y, and <u>Kondo N.</u>	Identification of somatic and germline mosaicism for a keratin 5 mutation in epidermolysis bullosa simplex in a family of which the proband was previously regarded as a sporadic case.	Clin Genet	66	236-238	2004
Kaneko H., and <u>Kondo N.</u>	Clinical features of Bloom syndrome and function of the causative gene, BLM helicase.	Expert Rev Mol Diagn	4	393-401	2004
Tomatsu S., Orii KO., Bi Y., Gutierrez MA., Nishioka T., Yamaguchi S., <u>Kondo N.</u> , Orii T., Noguchi A., and Sly WS.	General implications for CpG hot spot mutations: methylation patterns of the human iduronate-2-sulfatase gene locus.	Hum Mutat	23	590-598	2004
Tomatsu S., Filocamo M., Orii KO., Sly WS., Gutierrez MA., Nishioka T., Serrato OP., Di Natale. P., Montano AM., Yamaguchi S., <u>Kondo N.</u> , Orii T., and Noguchi A.	Mucopolysaccharidosis IVA (Morquio A): identification of novel common mutations in the N-acetylgalactosamine-6-sulfate sulfatase (GALNS) gene in Italian patients.	Hum Mutat	24	187-188	2004
Shimozawa N., Tsukamoto T., Nagase T., Takemoto Y., Koyama N., Suzuki Y., Komori M., Osumi T., Jeannette G., Wanders R.J., and <u>Kondo N.</u>	Identification of a new complementation group of the peroxisome biogenesis disorders and PEX14 as the mutated gene.	Hum Mutat	23	552-558	2004
Kaneko H, Isogai K, Fukao T, Matsui E, Kasahara K, <u>Yachie A.</u> , Seki H, Koizumi S, Arai M, Utunomiya J, Miki Y, and <u>Kondo N.</u>	Relatively common mutations of the Bloom syndrome gene in the Japanese population.	Int J Mol Med	14	439-442	2004
Jiang M., Tsukahara H., Ohshima Y., Zou C., Ohta N., Sato S., Todoroki Y., Hiraoka M., Nambu M., Tanaka T., Yamaguchi E., <u>Kondo N.</u> , and Mayumi M.	Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism in patients with bronchial asthma.	Int Med J	11	119-123	2004
Fukao T., Chen P., Ren J., Kaneko H., Zhang G.X., Kondo M., Yamamoto K., Furuichi T., Takeda S., <u>Kondo, N.</u> , and Lavin M.F.	Disruption of the BLM gene in ATM-null DT40 cells does not exacerbate either phenotype.	Oncogene	26	1498-1506	2004
Zhang G-X, Fukao T, Rolland M-O, Zobot M-T, Renom G, Touma E, Kondo M, Matsuo N, and <u>Kondo N.</u>	The mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase (T2) deficiency: T2-deficient patients with mild mutation(s) were previously misinterpreted as normal by the coupled assay with tiglyl-CoA.	Pediatr Res	56	60-64	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tomatsu S., Okamura K., Taketani T., Orii KO., Nishioka T., Gutierrez MA., Velez-Castrillon S., Fachel AA., Grubb JH., Cooper A., Thornley M., Wraith E., Barrera LA., Giugliani R., Schwartz IV., Frenking GS., Beck M., Kircher SG., Paschke E., Yamaguchi S., Ullrich K., Isogai K., Suzuki Y., Orii T., <u>Kondo N.</u> , Creer M., and Noguchi A.	Development and testing of new screening method for keratan sulfate in mucopolysaccharidosis IVA.	Pediatr Res	56	592-597	2004
Fukao T, Shintaku H, Kusubae R, Zhang GX, Nakamura K, Kondo M, and <u>Kondo N.</u>	Patients homozygous for the T435N mutation of succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT) do not show permanent ketosis.	Pediatr Res	56	858-863	2004
Omoya K., Kato Z., Matsukuma E., Li A., Hashimoto K., Yamamoto Y., Ohnishi H., and <u>Kondo N.</u>	Systematic optimization of active protein expression using GFP as a folding reporter.	Protein Expr Purif	36	327-332	2004
Kato Z., Okuda M., Okumura Y., Arai T., Teramoto T., Nishimura M., Kaneko H., and <u>Kondo N.</u>	Oral administration of the thyrotropin-releasing hormone analogue, taltireline hydrate, in spinal muscular atrophy	J Child Neurololgy	(in press)		
Longo N., Fukao T., Singh R., Pasquali M., Barrios RG., <u>Kondo N.</u> , and Gibson KM.	Succinyl-CoA:3-keto acid transferase (SCOT) deficiency in a new patient homozygous for an R217X mutation.	J Inherit Metab Dis	(in press)		
Kondo M., Suzuki K., Inoue R., Sakaguchi H., Matsukuma E., Kato Z., Kaneko H., Fukao T., and <u>Kondo N.</u>	Characterization of T-cell clones specific to ovomucoid from patients with egg-white allergy.	J Invest Allergol Clin Immunol	(in press)		
Hashimoto K., Kato Z., Nagase T., Shimozawa N., Kuwata K., Omoya K., Li A., Matsukuma E., Yamamoto Y., Ohnishi H., Tochio H., Shirakawa M., Suzuki Y., Wanders RA., and <u>Kondo N.</u>	Molecular mechanism of a temperature-sensitive phenotype in peroxisomal biogenesis disorder.	Pediatr Res	(in press)		
Hasui M., Sasaki M., Tsuji S., Yamamoto A., Takaya J., Taniuchi S., Izumi H., Hagihara H., Daito M., and <u>Kobayashi Y.</u>	Dental infections as a cause of persist fever in a patient with chronic granulomatous disease.	Clin Pediatr	43	171-173	2004
Tanaka S., Teraguchi M., Hasui M., Taniuchi S., Ikemoto Y., and <u>Kobayashi Y.</u>	Idiopathic CD4 ⁺ T-lymphocytopenia in a boy with Down syndrome. Report of a patient and a review of the literature.	Eur J Pediatr	163	122-123	2004
Kawada J., Kimura H., Ito Y., Ando Y., Tanaka-Kitajima N., Hayakawa M., <u>Nunoi H.</u> , Endo F., and Morishima T.	Evaluation of systemic inflammatory responses in neonates with herpes simplex virus infection.	J Infect Dis	190	494-498	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nunoi H., Ishibashi F., Mizukami T., and Hidaka F.	Clinical evaluation of interferon-gamma treatment to chronic granulomatous disease patients with splice site mutations.	Jpn J Infect Dis	57	S25-S26	2004
Takada H., Kanegane H., Nomura A., Yamamoto K., Ihara K., Takahashi Y., Tsukada S., Miyawaki T., and Hara T	Female agammaglobulinemia due to the Bruton tyrosine kinase deficiency caused by extremely skewed X-chromosome inactivation.	Blood	103	185-187	2004
Takada H., Ohga S., Mizuno Y., Nomura A., and Hara T.	Increased IL-16 levels in hemophagocytic lymphohistiocytosis.	J Pediatr Hematol Oncol	26	567-573	2004
Nomura A., Takada H., Ohga S., Ishii N., Inoue T., and Hara T.	T-cell-depleted CD34 ⁺ cell transplantation from an HLA-mismatched donor in a low birth weight infant with X-linked severe combined immunodeficiency.	J Pediatric Hematol Oncol	(in press)		
Ohga S., Nomura A., Takada H., Tanaka T., Furuno K., Takahata Y., Kinukawa N., Imai S., and Hara T	Dominant expression of interleukin-10 and transforming growth factor- β genes in activated T-cells of chronic active Epstein-Barr virus infection.	J Med Virol	74	449-458	2004
Yamamoto K., Ishii E., Sako M., Ohga S., Furuno K., Suzuki N., Ueda I., Imayoshi M., Yamamoto S., Morimoto A., Takada H., Hara T., Imashuku S., Sasazuki T., and Yasukawa M	Identification of novel MUNC13-4 mutations in familial haemophagocytic lymphohistiocytosis and functional analysis of MUNC13-4-deficient cytotoxic T lymphocytes.	J Med Genet	41	763-767	2004
Nagatomo T., Ohga S., Takada H., Nomura A., Hikino S., Imura M., Ohshima K., and Hara T.	Microarray analysis of human milk cells: persistent high expression of osteopontin during the lactation period.	Clin Exp Immunol	138	47-53	2004
Furuno K., Yuge T., Kusahara K., Takada H., Nishio H., Khajoe V., Ohno T., and Hara T.	CD25 ⁺ CD4 ⁺ regulatory T cells in patients with Kawasaki disease.	J Pediatr	145	385-390	2004
Kimura J., Takada H., Nomura A., Ohno T., Mizuno Y., Saito M., Kusahara K., and Hara T.	Th1 and Th2 cytokine production is suppressed at the level of transcriptional regulation in Kawasaki disease.	Clin Exp Immunol	137	444-449	2004
Takahata Y., Nomura A., Takada H., Ohga S., Furuno K., Hikino S., Nakayama H., Sakaguchi S., and Hara T.	Human cord blood CD25 ⁺ CD4 ⁺ T cells: a novel immunoregulatory population with naive phenotype.	Exp Hematol	32	622-629	2004
Koga Y., Matsuzaki A., Suminoe A., Hattori H., and Hara T.	Neutrophil-derived TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL): a novel mechanism of anti-tumor effect by neutrophils.	Cancer Res	64	1037-1043	2004
Torisu H., Kusahara K., Kira R., Bassuny WM., Sakai Y., Sanefuji M., Takemoto M., and Hara T.	Functional MxA promoter polymorphism associated with subacute sclerosing panencephalitis in Japan.	Neurol	62	457-460	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sasaki Y., Ihara K., Matsuura N., Kohno H., Nagafuchi S., Kuromaru R., Kusuhara K., Takeya R., Hoey T., Sumimoto H., and Hara T.	Identification of a novel type 1 diabetes susceptibility gene, T-bet.	Hum Genet	115	177-184	2004
Tanaka S., Tajiri T., Noguchi S., Shono K., Ihara K., Hara T., and Suita S.	Clinical significance of a highly sensitive analysis for gene dosage and the expression level of MYCN in neuroblastoma.	J Pediatr Surg	39	63-68	2004
Miyako K., Kohno H., Ihara K., Kuromaru R., Matsuura N., and Hara T.	Association study of human Mut T homologue 1 gene polymorphisms with type 1 diabetes mellitus.	Endocr J	51	493-498	2004
Miyako K., Kuromaru R., Kohno H., and Hara T.	Improved diabetes control by using 'close adjustment algorithms'.	Pediatr Int	(in press)		
Yamamoto J., Ihara K., Nakayama H., Hikino S., Satoh K., Kubo N., Iida T., Fujii Y., and Hara T.	Characteristic expression of aryl hydrocarbon receptor repressor gene in human tissues: organ-specific distribution and variable induction patterns in mononuclear cells.	Life Sci	74	1039-1049	2004
Kariyazono H., Ohno T., Khajooe V., Ihara K., Kusuhara K., Kinukawa N., Mizuno Y., and Hara T.	Association of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptor gene polymorphisms with coronary artery lesions of Kawasaki disease.	Pediatr Res	56	953-959	2004
Nakayama H., Ihara K., Hikino S., Yamamoto J., Nagatomo T., Takemoto M., and Hara T.	Thrombocytosis in preterm infants: A possible involvement of thrombopoietin receptor gene expression.	J Mol Med	(in press)		
Koga Y., Matsuzaki A., Suminoe A., Hattori H., Kanemitsu S., and Hara T.	Differential mRNA expression of glucocorticoid receptor alpha and beta is responsible for glucocorticoid sensitivity of acute lymphoblastic leukemia in children.	Pediatr Blood Cancer	(in press)		
Suminoe A., Matsuzaki A., Hattori H., Koga Y., Kinukawa N., Ishii E., and Hara T.	mRNA expression of apoptosis-associated genes in infant acute lymphoblastic leukemia: low Fas expression is an independent predictor for poor prognosis.	Leukemia	18	365-368	2004
Suita S., Tajiri T., Takamatsu H., Mizote H., Nagasaki A., Inomata Y., Hara T., Okamura J., Miyazaki S., Kawakami K., Eguchi H., and Tsuneyoshi M.	Improved survival outcome for hepatoblastoma based on an optimal chemotherapeutic regimen-A report from the study group for pediatric solid malignant tumors in the Kyushu area.	J Pediatr Surg	39	195-198	2004
Takada H., Saito Y., Nomura A., Ohga S., Kuwano K., Nakashima N., Aishima S., Tsuru N., and Hara T.	Bronchiolitis obliterans organizing pneumonia as an initial manifestation in a girl with systemic lupus erythematosus.	Pediatr Pulm	(in press)		
Toubo T., Suga N., Ohga S., Nomura A., Onoe Y., Takada H., Morihana E., and Hara T.	Successful unrelated cord blood transplantation for Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disease with hemophagocytic syndrome.	Int J Hematol	80	458-462	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sanefuji M., Ohga S., Kira R., Yoshiura T., and <u>Hara T.</u>	Moyamoya syndrome in a splenectomized patient with β -thalassemia intermedia	J Child Neurol	(in press)		
Kusuhara K., Nomura A., Nakao F., and <u>Hara T.</u>	Tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome with a novel mutation in the TNFRSF1A gene in a Japanese family.	Eur J Pediatr	163	30-32	2004
Furuno K., Ohno T., Masuda M., and <u>Hara T.</u>	Asthma-like attacks resulting from isolated congenital left pulmonary artery agenesis with right main bronchus stenosis.	Review Series Pediatr	(in press)		
Matsuda S., Miwa Y., Hirata Y., Minowa A., Tanaka J., Nishida E., and <u>Koyasu S.</u>	Negative feedback loop in T cell activation through MAPK-catalyzed threonine phosphorylation of LAT.	EMBO J	23	2577-2585	2004
Kuroyama H., Ikeda T., Kasai M., Yamasaki S., Tatsumi M., Utsuyama M., <u>Saito T.</u> , and Hirokawa K.	Identification of a novel isoform of ZAP-70, truncated ZAP kinase.	Biochem Biophys Res Commun	315	935-941	2004
Yamasaki S., Ishikawa E., Kohno M. and <u>Saito T.</u>	The quantity and duration of FcR γ signals determines mast cell degranulation and survival.	Blood	103	3093-3101	2004
Ishizuka M., Toyama Y., Watanabe H., Fujiki Y., Takeuchi A., Yamasaki S., Yuasa S., Miyazaki M., Nakajima N., Taki S. and <u>Saito T.</u>	Overexpression of human acyl CoA thioesterase upregulates peroxisome biogenesis.	Exp Cell Res	297	127-141	2004
Tomassini B., Malisan F., Franchi L., Nicolo C., Breacalvo G., <u>Saito T.</u> , and Testi R.	Calnexin suppresses GD3 synthase-induced apoptosis.	FASEB J	18	1553-1555	2004
Ishikawa, S., Arase, N., Suenaga, T., Saita, Y., Noda, M., Kuriyama, T., Arase, H. and <u>Saito, T.</u>	Involvement of FcR γ in signal transduction of osteoclast-associated receptor (OSCAR).	Int Immunol	16	1019-1025	2004
Tamura T., Ariga H., Kinashi T., Uehara S., Kikuchi T., Nakada M., Tokunaga T., Xu W., Kariyone A., <u>Saito T.</u> , Kitamura T., Maxwell G., Takaki S., Takatsu K.	The role of antigenic peptide in CD4 ⁺ T helper phenotype development in a T cell receptor transgenic model.	Int Immunol	16	1691-1699	2004
Nakatsu F., Okada M., Mori F., Kumazawa N., Iwasa H., Zhu G., Kasagi Y., Kamiya H., Harada A., Nishimura K., Takeuchi A., Miyazaki T., Watanabe M., Yuasa S., Manabe T., Wakabayashi K., Kaneko S., <u>Saito T.</u> , and Ohno H.	Defective function of GABA-containing synaptic vesicles in mice lacking the AP-3B clathrin adaptor	J Cell Biol	167	293-302	2004
Shiratori I., Ogasawara K., <u>Saito T.</u> , and Lanier L. L.	Activation of natural killer cells and dendritic cells upon recognition of a novel CD99-like ligand by paired immunoglobulin-like type 2 receptor.	J Exp Med	199	525-533	2004

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sakurai D., Yamasaki S., Arase K., Park S. Y., Arase H., Konno, A. and <u>Saito T.</u>	FcεRIγ-immunoreceptor tyrosine-based activation motif is differentially required for mast cell function in vivo.	J Immunol	172	2374-2381	2004
Ohtsuka M., Arase H., Takeuchi A., Yamasaki S., Shiina R., Suenaga T., Sakurai D., Yokosuka T., Arase N., Iwashima M., Kitamura T., Moriya H., and <u>Saito T.</u>	NFAM1, a new ITAM+ surface molecule that regulates development and signaling of B lymphocytes.	Proc Natl Acad Sci USA	101	8126-8131	2004
Yamasaki S., and <u>Saito T.</u>	Inhibitory adaptors in lymphocytes.	Semin Immunol	16	421-427	2004
Kohno M., Yamasaki S., Tybulewicz VL., and <u>Saito T.</u>	Rapid and large amount of autocrine IL-3 production is responsible for mast cell survival by IgE in the absence of antigen.	Blood	(in press)		
Suzuki N., Suzuki S. and <u>Saito T.</u>	IRAKs: key regulatory kinases of innate immunity.	Curr Med Chem	(in press)		
Takahashi S., Kataoka H., Hara S., Yokosuka T., Takase K., Yamasaki S., Saito Y. and <u>Saito T.</u>	In vivo overexpression of CTLA-4 suppresses lymphoproliferative diseases and thymic negative selection.	Eur J Immunol	(in press)		
Hara H., Bakai C., Wada T., Bouchard D., Rottapel R., <u>Saito T.</u> , and Penninger J. M.	The molecular adapter Carma1 controls entry of IKK into the central immune synapse.	J Exp Med	200	1167-1177	2004
Zhi CL., Migita M., Hayakawa J., and <u>Fukunaga Y.</u>	Establishment of modified retroviral vector targeting X-linked severe combined immunodeficiency	J Nippon Med Sch	71	51-56	2004
Yang PT., Kasai H., Zhao LJ., Xiao WG., Tanabe F., and <u>Ito M.</u>	Increased CCR4 expression on circulating CD4+ T cells in ankylosing spondylitis, rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus.	Clin Exp Immunol	138	342-347	2004
Kasai H., He LM., Kawamura M., Yang PT., Deng XW., Munkanta M., Yamashita A., Terunuma H., HIRAMA M., Horiuchi I., Natori T., Koga T., Amano Y., Yamaguchi N., and <u>Ito M.</u>	IL-12 production induced by Agaricus blazei Fraction H (ABH) involves Toll-like receptor (TLR).	Evid Based Complement Alternat Med	(in press)		
Kawamura M., Kasai H., He LM., Deng XW., Yamashita A., Terunuma H., Horiuchi I., Tanabe F., and <u>Ito M.</u>	Antithetical effects of hemicellulase-treated Agaricus blazei on maturation of murine bone marrow-derived dendritic cells.	Immunology	(in press)		
Nishikomori R., Akutagawa H., Maruyama K., Nakata-Hizume M., Ohmori K., Mizuno K., <u>Yachie A.</u> , Yasumi T., Kusunoki T., Heike T., and Nakahata T.	X-linked ectodermal dysplasia and immunodeficiency caused by reversion mosaicism of NEMO reveals a critical role for NEMO in human T-cell development and/or survival.	Blood	103	4565-4572	2004