

200923003A-B

厚生労働科学研究費補助金
子ども家庭総合研究事業

小児難治性先天異常症に対する幹細胞遺伝子細胞
治療法の開発と臨床応用に関する研究

(H19-子ども一般-003)

平成19年度～21年度 総合研究報告書

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小野寺 雅史

平成22年(2010)年 3月

厚生労働科学研究費補助金
子ども家庭総合研究事業

小児難治性先天異常症に対する幹細胞遺伝子細胞
治療法の開発と臨床応用に関する研究

(H19-子ども-一般-003)

平成19年度～21年度 総合研究報告書

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小野寺 雅史

平成22年(2010)年 3月

子ども家庭総合研究事業 (H19-子ども-一般-003)

「小児難治性先天異常症に対する幹細胞遺伝子細胞治療法の開発と臨床応用」

目 次

■総合研究報告 (平成 19 年度～21 年度)	研究代表者 小野寺 雅史 …	3
■平成 21 年度総括・分担研究報告		
I. 総括研究報告	研究代表者 小野寺 雅史 …	15
II. 研究分担報告		
1. 遺伝子治療臨床研究に必要な予備実験の実施	清河 信敬 …	21
2. 先天異常症に対する遺伝子・細胞治療法の開発と臨床応用における 遺伝子検出システムの確立に関する研究	梨井 康 …	24
3. ライソゾーム病に対する肝細胞遺伝子治療の可能性について	奥山 虎之 …	30
4. フローサイトメトリー法による CGD 病型診断	小林 信一 …	33
5. 遺伝子治療臨床研究における倫理性に関する検討	掛江 直子 …	38
6. 炎症性腸疾患を合併した X-連鎖慢性肉芽腫症に対する臍帯血移植実施の経験	有賀 正 …	40
7. 日本の慢性肉芽腫症の死亡原因の検討	布井 博幸 …	44
8. 挿入発癌リスクフリー非組込み型ベクター用組織特異的プロモータの検討	久米 晃啓 …	48
9. 先天性免疫不全症の遺伝子・細胞治療における移植細胞の 生着制御に関する研究	大津 真 …	50
10. 遺伝子治療臨床研究実施に関する法律、契約、対外交渉の実施	藤本純一郎 …	53
11. 慢性肉芽腫症に対する幹細胞遺伝子治療に関する研究	岡田真由美 …	55
12. レトロウイルスベクターの挿入部位が周囲遺伝子に与える影響	小野寺雅史 …	58
III. 資料		
1) 遺伝子治療臨床研究実施計画書		
2) 同意書・同意説明書		
3) 生物多様性評価書		
4) 慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療の実績一覧		
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表		
V. 研究成果の刊行物・別刷		

綜合研究報告

厚生労働科学研究費補助金(子ども家庭総合研究事業)
総合研究報告書

小児難治性先天異常症に対する幹細胞遺伝子細胞治療法の開発と臨床応用に関する研究

研究者代表者 小野寺雅史
国立成育医療センター研究所・成育遺伝研究部・部長

研究要旨

本研究の目的は、原発性免疫不全症の中で最も頻度の高い慢性肉芽腫症(CGD)に対する造血幹細胞遺伝子治療を行うことで、我が国における小児難治性疾患に対する遺伝子細胞治療の実施体制を構築することにある。本研究では研究期間内に、基礎的研究として、1) 標的となるヒト造血幹細胞への遺伝子導入法の確立、2) 慢性肉芽腫症造血幹細胞の特性の解明、3) gp91phoxの抗原性についての研究、4) ベクター挿入部位近傍遺伝子の発現異常による造血系への影響、5) 新規ベクターの開発、6) 代謝性疾患に対する遺伝子細胞治療の検討、などを行い、臨床研究としては、1) CGDに関する造血幹細胞移植に関する情報、2) 国立成育医療センターを含む我が国のCGDに関する状況、3) 諸外国のCGDに対する遺伝子治療臨床研究の情報などが得られ、4) 実際に遺伝子治療臨床研究を行うための実施計画書が作成された。

今後はこれらの結果を基に、米国国立衛生研究のMalech博士より供与されるMFGSベクターを用いた遺伝子治療臨床研究を慢性肉芽腫症に対して行う予定である。

清河信敬	国立成育医療センター発生分化研究部・部長
梨井康	国立成育医療センター移植免疫研究室・室長
奥山虎之	国立成育医療センター臨床検査部・部長
小林 信一	国立成育医療センター膠原病感染症科・医長
掛江直子	国立成育医療センター成育保健政策科学研究室・室長
有賀正	北海道大学大学院医学研究科小児科学分野・教授
布井博幸	宮崎大学医学部生殖発達学講座小児科分野・教授
久米晃啓	自治医科大学准教授
大津真	東京大学医科学研究所・助手
藤本純一郎	国立成育医療センター研究所・副所長
岡田真由美	都立東大和療育センター小児科・医師

A. 研究目的

ヒトゲノム計画が終了し、今後はその遺伝情報を基に疾患に対する新たな治療法の開発が望まれるところであるが、「疾患の治療を目的に遺伝子又は遺伝子を導入した細胞を人の体内に投与」する遺伝子治療はその最たる候補で、特に、遺伝子異常が直接疾患の発症に結びつく小児難治性先天性疾患に対する遺伝子治療は、患者細胞への機能遺伝子の導入が疾患の治癒に結びつくことから、開始当初より最も広く研究されている分野である。事実、欧米を中心に行われているアデノシン・デアミナーゼ(ADA)欠損症やX連鎖重症複合免疫不全症(X-SCID)に対する造血幹細胞遺伝子治療では、造血幹細胞移植が行えない症例に対し、根治療法とよべる程の治療成績を上げており、また、2009年末に報告された副腎白質ジストロフィー(ALD)に対する遺伝子治療の有効性は、現在までの原発性免疫不全症に限定された有効性を神経、代謝系疾患にも拡大した感があり、今後、新たな系統の疾患がその治療の対象となることを予感させる。ただ、我が国の現状を考えると、確かに2004年、2名のADA欠損症に対して造血幹細胞遺伝子治療が行われ、その有効性は確認されているものの、臨床用ベクターの製造や安全性評価など遺伝子治療をサポートするインフラは十分に整備されておらず、その実施に際しては欧米の研究機関や企業にほぼ全面的な頼らざるを得ない状況になっている。

これらのことから、本研究では原発性免疫不全症の中で最も頻度の高い慢性肉芽腫症 (chronic granulomatous disease: CGD) に対する造血幹細胞遺伝子を国立成育医療センターが中心となって行うことで、遺伝子治療を行う際の問題点を洗い出し、その解決策を見いだすことで、我が国における小児難治性疾患に対する遺伝子細胞治療の実施体制を構築することにある。

B. 研究方法と結果

本研究では、造血幹細胞遺伝子治療を行う際の安全性、有効性に関する研究 (前臨床研究) と実際の遺伝子治療臨床研究に向けた疫学、書類作成に関する研究 (臨床研究) に大別し、各研究者が各々の専門性を活かした研究を分担して行った。

1. 前臨床研究

1) 遺伝子治療臨床研究で使用される遺伝子導入法の確立

- ・骨髄、末梢血、臍帯血由来 CD34 陽性細胞の未熟性を NOG マウスへの移植にて検討したところ、臍帯血、骨髄、末梢血の順で高い生着率が見られた。
- ・遺伝子導入効率を増加させるフィブロネクチン (レトロネクチン) の作用機序をインテグリンの機序から解析したところ、VLA4、VLA5 が協調して作用していることが示され、これらインテグリンの発現増加には stem cell factor (SCF) と thrombopoietin (TPO) で適当であることがわかった。
- ・ヒト CD34 陽性細胞を用いた small scale での遺伝子導入をレトロネクチン固層化バッグや上記サイトカインを含む複数の培養条件を検討し、最終的に 30~50% 程度の遺伝子導入効率を確保する培養バッグを用いた完全閉鎖系の遺伝子導入法を確立した。

2) 慢性肉芽腫症患者における骨髄造血の評価

- ・CGD 原因遺伝子である *cybb* 遺伝子欠損マウス (CGDKO マウス) に正常マウス骨髄細胞を移植したところ、これら細胞は CGDKO マウスの骨髄に生着し、骨髄造血を再構築した。
- ・レトロウイルスベクターを用いて *cybb* 遺伝子を導入した CGD マウス骨髄の活性酸素能は一定の閾値をもって陽性群と陰性群に分かれた。
- ・CGD 遺伝子治療では、患者体内で *cybb* 遺伝子導入 (*gp91phox* 発現) 細胞が排除される可能性は少ないが、*gp91phox* の一定の発現を担保する強力なプロモーターの使用が必要と考えられた。

3) 抗ヒト *gp91phox* 抗体の検出法の確立

- ・CGD 患者血清に存在する可能性のある抗ヒト *gp91phox* 抗体を検出するため、*gp91phox* の細胞外ドメイン等のリコンビナントタンパクをカイコ蛹にて作製した。
- ・これらリコンビナントタンパクを 96 well プレートに固層化し、市販の抗 *gp91phox* 抗体 (CL-5、SANTA CRUZ) を用いてその検出を確認した。
- ・今後、これら ELISA プレートを用いて患者血清中の抗 *gp91phox* 抗体を測定する。

4) 染色体へのベクター挿入が造血系腫瘍を発症する機序の研究

- ・レトロウイルスベクターが宿主細胞に感染した際、挿入部位を同定する linear amplification mediated PCR (LAM-PCR) 法を確立した。
- ・緑色蛍光色素タンパク質 (EGFP) 発現レトロウイルスベクターを感染した ES 細胞より遺伝子組換えマウスを作出し、B6 マウスと交配することで染色体上に 1 コピーのプロウイルスを有する遺伝子組換えマウスラインを樹立した。
- ・この中でリンパ腫を発症したマウスを解析したところ、プロウイルスはドーパミン受容体 3 (D3) の近傍に挿入され、リンパ腫において高発現していた。ただ、正常マウス骨髄に D3 を強制発現させてもリンパ腫は発症せず、抗アポトーシス遺伝子の *Bcl-xL* を共発現させたときにリンパ腫は発症した。
- ・レトロウイルスベクターによる造血系異常は、単にレトロウイルスベクターの挿入によるだけでなく、この染色体挿入がなんらかの二次的な遺伝子変化をもたらし、それが原因で腫瘍が発症すると思われる。

5) 内在遺伝子の発現に影響を与えない新規ウイルスベクターの開発研究

- ・血友病第 IX 遺伝子発現アデノ随伴ウイルス (AAV) を AAV 由来 Rep 遺伝子を共発現させたところ、AAVS1 領域に挿入されたウイルスは 58 クローン中 6 クローンであり、使用しない場合はその挿入部位はランダムであった。
- ・ヒト第 19 番染色体長腕端部の AAVS1 領域から insulator 活性を有する 0.3kb の断片をクローニングし、自己不活性型 (SIN) レトロウイルスベクターに挿入して、その insulator 効果を解析したところ、insulator を逆向きに発現カセットに挿入する方法が最も効率的であることがわかった。
- ・AAV の至適組織プロモーターを決定するために、筋組織における筋クレアチンキナーゼ (MCK) プロモーター活性を、サイトメガロウイルスプロモーター (CMV) を対照に比較したところ、同程度の発現量が得られた。

6) 先天性代謝異常症への遺伝子細胞治療法の開発

- ・ライソゾーム病に対する遺伝子細胞治療法を確立するため、生後 3 ヶ月のムコ多糖類モデルラット MPR ラットに同月齢の正常ラット肝臓を移植した。
- ・移植後、尿中ウロン酸値の減少と肝臓アリルスルファターゼ β 活性値の正常化が認められた。
- ・ただ、脳、脾臓、腎臓のアリルスルファターゼ β 活性は低値のままであった。

2. 臨床研究

1) 我が国で行われた ADA 欠損症造血幹細胞遺伝子治療の現状

- ・2004年に北海道大学で行われた2名のADA欠損症患者に対する遺伝子治療臨床研究の現状が報告され、現時点でガンマグロブリンの補充は必要であるものの、PEG-ADAの投与を必要とせず、患者は通常の日常生活を送っている。
- ・T細胞の活性化等免疫系の回復も確認され、また、特異的な遺伝子部位に挿入したプロウイルスを有する造血幹細胞のクローナルな増加は認めていない。

2) 興味ある慢性肉芽腫症症例の紹介

- ・X-CGD患者においてgp91phox陽性の細胞群を有する患者が2名存在することが報告された。これら細胞群の割合は抗体(7D5)を用いた測定で1.9%と5.9%であり、活性酸素による測定で0.9%と3.7%であり、遺伝子解析上、これら細胞は正常なcybb遺伝子を有していた。以上のことから、一部の患者では正常遺伝子を有する細胞がモザイク状態で混在することがわかった。
- ・重度の炎症性腸炎を有するX-CGD患者への臍帯血を用いた造血幹細胞移植の有効性が報告された。特に、重度の炎症性腸炎は前処置を行った段階から改善したことから、CGDで見られる炎症性腸炎に免疫系が深く関与していることが推察された

3) 慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞移植の検討

- ・我が国において造血幹細胞移植が行われた34例中32例に関する詳細に情報が提示され、その結果からCGDに対する移植ガイドライン(2008)が作成された。
- ・同時に、造血幹細胞移植を受けた後、亡くなられた患者7名に関する死因が検討された。
- ・上記の結果から、移植の適応とならない症例が検討され、これら症例に対する遺伝子治療の適応ガイドラインが作成された。

4) 国立成育医療センターにおける慢性肉芽腫症例の follow up

- ・1988年から2008年までの21年間に国立成育医療センター(国立小児病院を含む)で加療されたCGD患者34名の病例等がまとめられた。
- ・そのうちgp91phox欠損は78%を占め、移植例は5名に実施されている。

5) 諸外国における慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞遺伝治療の現状

- ・ブスルファンを用いた2000年以降のCGDに対する造血幹細胞遺伝子治療の現状を収集した。
- ・現在まで、米国で3名、英国で4名、ドイツ・スウェーデンで4名、韓国で2名の合計13名である。

- ・使用したベクターは MoMLV 系の MFGSgp91 と SFFV 由来の SF71gp91 であり、感染症を対象としていない韓国例を除き、ほぼ全例で感染症の治癒など治療効果を確認している。
- ・有害事象は SF71gp91 を使用した 2 例であり、MDS 等の造血系異常を発症している。

6) 米国国立衛生研究所・国立アレルギー感染症研究所との共同研究

- ・今回の遺伝子治療臨床研究において MFGSgp91 ベクターを使用するため、同ベクターの開発者である NIH Malech 博士らと共同研究を行っている。
- ・臨床応用に際し、MFGSgp91 ベクターの quality control(QC)に関する書類ならびに実際に NIH で行われた遺伝子治療臨床研究用のプロトコルを入手した。
- ・次期遺伝子治療で使用される臨床用ベクターの共同開発も行っている。

7) 慢性肉芽腫症遺伝子治療臨床研究実施に向けた準備状況

- ・X-CGD 遺伝子治療臨床研究の実施に必要な「遺伝子治療実施計画書」ならびに「第一種使用規程承認申請書」を作成し、平成 22 年 1 月 22 日に国立成育医療センター・政策医療企画課に提出した。
- ・遺伝子治療臨床研究において使用する遺伝子導入室を研究所内に整備し、バイオ安全キャビネット、インキュベータ、CD34 陽性細胞分取装置、フローサイトメトリー、ディープフリーザー、液体窒素タンク等の機器整備を行った。
- ・本遺伝子治療臨床研究を審議するため、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に基づき国立成育医療センター内に遺伝子治療倫理委員会を設置した。

8) 遺伝子治療臨床研究における倫理面の配慮

- ・実施したアンケート調査等は連結可能な匿名化による管理を行い、個人情報保護法を遵守し、同時、臨床研究に関する倫理指針、疫学研究に関する倫理指針を遵守した。
- ・動物実験に関しては、3R の原則を遵守し、動物愛護に心がけ、遺伝子組換え実験に関しては、遺伝子組換え実件の規則に関わる法律、省令、告示を遵守した。
- ・遺伝子治療臨床研究に関しては、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に基づき準備を進めている。

C. 考察

本研究は、平成 18 年度 厚生労働科学科研究費補助金 子ども家庭総合研究事業「難治性先天異常症の克服に向けた包括的遺伝子医療体制の確立に関する研究」(H18-子ども-プロ-009)で検討された我が国における遺伝子治療臨床研究の実施可能性に基づき、平成 19 年度から 3 年間に間に慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞遺伝子治療を行い、その過程を通して小児難治性先天異常症に対する遺伝子細胞治療をサポートするインフラを構築することを目的としていた。この目的達成のため、臨床用ベクターを Grez 博士らが開発し、遺伝子治療臨床研究において一定の治療成績を収めてきた SF71gp91 とし、遺伝子導入法の検討ならびにその結果に基づく実施計画書の作成を行ってきたが、研究中期にさしかかったところで、SF71gp91 にて治療を受けた 3 名の患者のうち 2 名において造血系異常(MDS 発症等)の有害事象の報告を受けた。確かに、治療を受けた患者の全ては肝膿瘍や感染性脊椎炎が治癒し、明らかに遺伝子治療の治療効果を確認できる状態であったが、造血系異常が重篤な有害事象と考えられたため、それまで作成していた実施計画書の大幅な変更を余儀なくされた(尚、造血系異常を呈した 2 名の患者は、1 名は感染症で死亡し、1 名は幹細胞移植にて生存している)。このため、SF71gp91 に代わる臨床用ベクターを模索していたところ、NIH の Malech 博士が MFGSgp91 を用いて CGD に対して同様の遺伝子治療を行っていることがわかった。SF71gp91 と MFGSgp91 の違いは、spleen focus forming virus (SFFV) 由来の SF71gp91 が Molony murine leukemia virus (MoMLV) 由来の MFGSgp91 より promoter/ enhancer 活性が強く、内部に腫瘍遺伝子を有していることである。事実、現時点まで MFGSgp91 を用いた CGD 遺伝子治療において造血系異常等の有害事象を発症していない。これらの点を鑑み、平成 20 年 3 月に米国 NIH にて Malech 博士と会合し、本遺伝子治療臨床研究において MFGSgp91 を使用できる共同研究を締結した。この共同研究の下に、上記に示した遺伝子導入等の前臨床研究を行い、Malech 博士から送られた臨床用ベクターの Quality control (QC) を基に遺伝子治療実施計画書を改訂した。そして、遺伝子実施に必要なと思われる全ての事項を準備し、平成 22 年 1 月 22 日に当センターの政策医療企画課に書類を提出し、実質的な審議が

開始された。今後は、当実施計画書は当センター内の遺伝子治療倫理委員会にて審議され、同委員会で審議された後、審議の場が厚生労働省・厚生科学審議会・遺伝子治療臨床研究作業委員会に移り、そこでの審議の末、最終的な実施了承を厚生労働大臣より得た後、CGD に対する造血幹細胞遺伝子治療を開始したと考えている。

この 3 年間の研究機関に前臨床ならびに臨床研究を通して、遺伝子治療に関する多くの知見を得ることができた。特に、当初考えられたいたレトロウイルスベクターによる白血病の発症機序が、単に宿主染色体への挿入による近傍遺伝子の異常発現によるのではなく、固形腫瘍同様 second hit としての他の遺伝子異常を必要とすることは極めて大きくと言わざるを得ない。これは、現在、レトロウイルスの危険性から遺伝子治療全体の流れとして promoter/ enhancer 活性が弱い、あるいは遺伝子の挿入部位がレトロウイルスのように promoter 領域に集中せず、ゲノム全体に挿入するレンチウイルスへと移行する傾向に何らかの示唆を与えているように思われる。確かに、これらレンチウイルスベクターを使用することでベクター自体の安全性は増強するかもしれないが、腫瘍の発症が使用するベクター型式、培養条件、染色体の挿入したプロウイルス数とその場所、さらには治療を受ける患者の状態に大きく左右されることが考えられ、染色体挿入ベクターを使用している限りその危険性を回避できないことを示していると思われる。同時に、安全性の評価として動物実験の必要性は否定できないが、そこから得られた実験結果は臨床研究のそれと大きく乖離している場合が多く、動物実験の結果を単純にヒト臨床研究に外挿できないことを鑑み、最終的にはヒトのデータはヒトから得られることを銘記し、今後も患者の risk/ benefit balance を十分に勘案して遺伝子治療を実施していくことが重要であり、そこから得られた臨床結果を積み重ねることで新たな治療法の開発に結びつくと考えられた。

D. 結論

小児難治性先天異常症の根治的治療法としての幹細胞遺伝子細胞療法に関し、慢性肉芽腫症をその対象疾患として、前臨床研究及び臨床研究を行った。その結果、

1. 基礎的研究として

標的となるヒト造血幹細胞への遺伝子導入法の確立、慢性肉芽腫症造血幹細胞の特性の解明、抗 gp91phox 抗体検出系の道筋、ベクター挿入部位近傍遺伝子の発現異常による造血系への影響、などの知見が得られた。

2. 臨床研究として

CGD に関する造血幹細胞移植に関する情報、国立成育医療センターを含む我が国の CGD に関する状況、諸外国の CGD に対する遺伝子治療臨床研究の情報などが得られ、遺伝子治療臨床研究の実施計画書が作成された。

今後はこれらの結果を基に、Malech 博士より供与される MFGS ベクターを用いた CGD に対する遺伝子治療臨床研究を行う予定である。

E. 健康危険情報

ドイツ・フランクフルト大学の Grez 博士が開発し、ドイツ、スイスで行われた 4 例の SF71gp91 ベクターによる慢性肉芽腫症遺伝子治療において、2例に7-モノソミーの染色体異常を伴った骨髄異形成症候群が発症し、他の 2 例において造血系異常は認めないが単クローン性の細胞増殖を認めている。その他、英国、米国、韓国で行われた遺伝子治療臨床研究において有害事象は発症していない。

F. 研究発表

別シート

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

研究成果の刊行に関する一覧表

研究者名	発表者氏名 (3名まで)	論文タイトル名	発表誌名	巻号 ページ	出版年
小野寺雅史	Maruyama H, Watanabe S, Kimura T, et al.	Granulocyte colony-stimulating factor prevents progression of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats.	Circulation J.	71(1): 138-143	2007
	Onodera M	Gene and cell therapy for relapsed leukemia after allo-stem cell transplantation.	Gene Therapy.	2007 (21 st Century's Center of Excellence Program of Japanese Ministry of Education and Science): 286-295,	2007
	Hamanaka S, Nabekura T, Otsu M, et al.	Stable transgene expression in mice generated from retrovirally transduced embryonic stem cells.	Mol Ther.	15(3): 560-565	2007
	Seki T, Namba T, Mochizuki H, et al.	Clustering, migration and neurite formation of neural precursor cells in the adult rat hippocampus.	J Comp Neurol.	502(2): 275-290	2007
	Nishinakamura H, Minoda Y, Saeki K, et al.	An RNA binding protein aCP-1 is involved in the STAT3-mediated suppression of NF- κ B transcriptional activity.	Int Immunol.	19(5): 609-619	2007
	Namba T, Mochizuki H, Onodera M, et al.	Postnatal neurogenesis in hippocampal slice cultures: Early in vitro labeling of neural precursor cells leads to efficient neuronal production.	J Neurosci Res.	85(8): 1704-1712	2007
	Oka N, Soeda A, Inagaki A, et al.	VEGF promotes tumorigenesis and angiogenesis of human glioblastoma stem cells.	BBRC	360(3): 553-559	2007
	Chiba T, Zheng YW, Kita K, et al.	Enhanced Self-Renewal Capability in Hepatic Stem/Progenitor Cells Drives Cancer Initiation.	Gastroenterology.	133(3): 937-950	2007
	Nabekura T, Nagasawa T, Nakauchi H, et al.	An Immunotherapy Approach with Dendritic Cells Genetically Modified to Express the Tumor-Associated Antigen, HER2.	Cancer Immunol Immunoter.	57(5): 611-622	2008

	Matsunari H, Onodera M, Tada N, et al.	Transgenic-cloned pigs systemically expressing red fluorescent protein, Kusabira-Orange.	Cloning Stem Cells.	10(3): 313-323	2008
	Sanuki S, Hamanaka S, Kaneko S, et al.	A new red fluorescent protein that allows efficient marking of murine hematopoietic stem cells.	J Gene Med.	10(9): 965-971	2008
	Kamiya A, Kakinuma S, Onodera M, et al.	Prospero-related homeobox 1 and liver receptor homolog 1 coordinately regulate long-term proliferation of murine fetal hepatoblasts.	Hepatology.	48(1): 252-264	2008
	Onodera M.	Gene and cell therapy for relapsed leukemia after allo-stem cell transplantation.	Front Biosci.	13: 3408-3414	2008
	小野寺雅史	造血幹細胞遺伝子治療の将来的展望	最新医学	63: 2318-2323	2008
	Fujisawa Y, Nabekura T, Nakao T, et al.	The induction of tumor-specific CD4+ T cells via major histocompatibility complex class II is required to gain optimal anti-tumor immunity against B16 melanoma cell line in tumor immunotherapy using dendritic cells.	Exp Dermatol.	18(4): 396-403	2009
	Tamase A, Muraguchi T, Naka K, et al.	Identification of tumor-initiating cells in a highly aggressive brain tumor using promoter activity of nucleostemin.	PNAS.	106(40): 17163-17168	2009
	Okabe M, Otsu M, Ahn DH, et al.	Definitive proof for direct reprogramming of hematopoietic cells to pluripotency.	Blood.	114(9): 1764-1767	2009
	Miyamoto N, Tanaka R, Zhang N, et al.	Crucial role for pCREB signaling in the differentiation and survival of neural progenitors under chronic cerebral hypoperfusion.	Neuroscience.	162(2): 525-536	2009
	Fujisawa Y, Nabekura T, Nakao T, et al.	The induction of tumor-specific CD4+ T cells via major histocompatibility complex class II is required to gain optimal anti-tumor immunity against B16 melanoma cell line in tumor immunotherapy using dendritic cells.	Exp Dermatol.	18(4): 396-403	2009
	小野寺雅史	造血幹細胞を標的とした遺伝子治療の開発	ゲノム医学	9(3): 191-194	2009
	小野寺雅史	小児における遺伝子治療	小児科	50(7): 828-833	2009
清河 信敬	Suzuki K, Kiyokawa N, Taguchi T, et al.	Characterization of monocyte-macrophage-lineage cells induced from CD34+ bone marrow cells in vitro.	Int J Hematol.	85(5): 384-389	2007
	Taguchi T, Takenouchi H, Shiozawa Y, et al.	Interleukin-7 contributes to human pro-B-cell development in a mouse stromal cell-dependent culture system.	Exp Hematol.	35(9): 1398-1407	2007
	Sato B, Katagiri YU, Miyado K, et al.	A novel monoclonal anti-SSEA-4 antibody, 6E2, preferentially stained interfaces between blastomeres of mouse preimplantation embryos.	Biochem Biophys Res Commun Hematol.	364(4): 838-843	2007
	Saito Y, Miyagawa Y, Onda K, et al.	B-cell-activating factor inhibits CD20-mediated and B-cell receptor-mediated apoptosis in human B cells.	Immunology.	125(12): 570-590	2008

	Shiozawa Y, Takenouchi H, Taguchi T, et al.	Human Osteoblasts Support Hematopoietic Cell Development in vitro.	Acta Haematologica.	120(3): 134-145	2008
	Katagiri YU, Sato B, Miyado K, et al.	Functional significance of stage-specific embryonic antigens in the development of preimplantation embryos. T	Trends in Glycoscience and Glycotechnology.	20: 131-139	2008
	Katagiri YU, Sato B, Miyagawa Y, et al.	The detergent-insoluble microdomains, rafts, can be used as an effective immunogen.	Glycoconjugate J	25(6): 495-501	2008
	Horiuchi Y, Onodera M, Miyagawa Y, et al.	Kinetics and Effect of Integrin Expression on Human CD34(+) Cells during Murine Leukemia Virus-Derived Retroviral Transduction with Recombinant Fibronectin for Stem Cell Gene Therapy.	Hum Gene Ther.	20(7): 777-873	2009
	Miyagawa Y, Kiyokawa N, Ochiai N, et al.	Ex vivo expanded cord blood CD4 T lymphocytes exhibit distinct expression profile of cytokine-related genes from those of peripheral blood origin. Immunology.	Immunology.	128(3): 405-419	2009
梨井 康	Kitazawa Y, Fujino M, Sakai T, et al.	Foxp3-expressing regulatory T-cells expanded with CD28 superagonist antibody prevent rat cardiac allograft rejection.	J Heart Lung Transplant.	27(4): 362-371	2008
	Funeshima-Fuji N, Fujino M, et al.	Survival of skin allografts is prolonged in mice with a dominant-negative H-Ras.	Transpl Immunol.	18(4): 302-306	2008
	Azuma H, Isaka Y, Li X-K, et al.	CD28 antibody induces donor-specific tolerance in rat renal allografts.	Am J Transplant.	8(10): 2004-2014	2008
	Pan XC, Deng YB, Sugawara Y, et al.	Immunological behavior of enhanced green fluorescent protein (EGFP) as a minor histocompatibility antigen with a special reference to skin isograft and specific regulation of local graft-versus-host reaction (GvHR).	Immunol Lett.	123(2) : 103-113	2009
	Xie L, Li X-K*, Funeshima-Fuji N, et al.	Amelioration of experimental autoimmune encephalomyelitis by curcumin treatment through inhibition of IL-17 production.	Int Immunopharmacol.	9(5) : 575-581	2009
	Kitazawa Y, Fujino M, Li X-K*, et al.	Superagonist CD28 antibody preferentially expanded Foxp3-expressing nTreg cells and prevented graft-versus-host diseases.	Cell Transplant.	118(5) : 627-637	2009
	Tsuji A.B, Morita M, Li X-K*, et al.	¹⁸ F-FDG PET for the Semiquantitative Evaluation of Acute Allograft Rejection and the Immunosuppression Therapy Efficacy in Liver Transplantation Rat Models.	J Nucl Med	50(5): 827-830	2009
	Funeshima-Fuji N, Fujino M, Xie L, et al.	Prolongation of rat major histocompatibility complex-compatible cardiac allograft survival during pregnancy.	J Heart Lung Transplant	28(2): 176-182	2009
	Morita M, Fujino M, Jiang GP, et al.	D1/B7-H1 interaction contribute to the spontaneous acceptance of mouse liver allograft.	Am J Transplant.	10(1): 40-46	2010

奥山 虎之	Hayashi S, Mizuno S, Okuyama T et al.	The CASK gene harbored in a deletion detected by array-CGH as a potential candidate for a gene causative of X-linked dominant mental retardation.	Am J Med Genet A.	15:146A (16): 2145-2151	2008
	Sugawara K, Saito S, Ohno K, et al.	Structural study on mutant alpha-L-iduronidases: insight into mucopolysaccharidosis type I.	J Hum Genet.	53(5): 467-474	2008
	Okuyama T, Tanaka A, Suzuki Y, et al.	Japan Elaprase((R)) Treatment (JET) study: Idursulfase enzyme replacement therapy in a adult patients with attenuated Hunter syndrome (Mucopolysaccharidosis II, MPS II).	Mol Genet Metab.	99: 18-25	2010
小林 信一	Kobayashi S, Murayama S, Takanashi S, et al.	Clinical features and prognosis of 23 patients with chronic granulomatous disease (CGD) followed by a single hospital in Japan for 21 years.	Eur J Pediatr. Clinical.	167(12): 1389-1394	2008
有賀 正	Sato T, Kobayashi R, Toita N, et al.	Stem cell transplantation in primary immunodeficiency disease patients.	Pediatr Int.	49(6): 795-800	2007
	Kobayashi R, Kaneda M, Sato T, et al.	Evaluation of risk factors for invasive fungal infection after allogeneic stem cell transplantation in pediatric patients.	J Pediatr Hematol Oncol.	29(11): 786-791	2007
	Toita N, Hatano N, Ono S, et al.	Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphoma in a patient with DNA ligase IV (LIG4) syndrome.	Am J Med Genet. Part A	143A: 742-745	2007
	有賀 正	神経疾患に対する遺伝子治療の可能性-現状と問題点-	発達障害研究	29: 36-39	2007
	有賀 正	原発性免疫不全症に対する遺伝子治療について	北海道日独協会会報	24: 46-50	2007
	有賀 正	原発性免疫不全症とリバーゼン; 適応の破綻とその修復のモデルとして	J Adaptation Med (適応医学)	11: 27-33	2007
	Suzuki Y, Kobayashi R, Iguchi A, et al.	The syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone associated with SCT: clinical differences following SCT using cord blood and BM/peripheral blood.	Bone Marrow Transplant.	42(11): 743-748	2008
	Kida M, Fujioka H, Kosaka Y, et al.	The first confirmed case with C3 deficiency caused by compound heterozygous mutations in the C3 gene: a new aspect of pathogenesis for C3 deficiency.	Blood Cell Mol Dis.	40(3): 410-413	2008
	有賀 正	アデノシンデアミナーゼ欠損症・プリンヌクレオチドホスホリラーゼ欠損症	小児内科増刊号: 小児疾患診療のための病態生理1	40: 1318-1321	2008
	有賀 正	Wiskott-Aldrich 症候群	アレルギー・免疫。特集; 原発性免疫不全症。	15: 80-87	2008

	Maekawa K, Yamada M, Okura Y, et al.	X-linked agammaglobulin-emia in a 10-year-old boy with a novel non-invariant splice-site mutation in <i>Btk</i> gene.	Blood Cell Mol. Dis.		in press
布井 博幸	布井博幸	慢性肉芽腫症研究の新展開	日本臨床免疫学会雑誌	30: 1-10	2007
	布井博幸	好中球機能の分子機構に関する最近の展開	血液フロンティア	7: 695-705	2007
	Uezono S, Sato Y, Hara S, et al.	Outcome of ANCA-Associated primary Renal Vasculitis in Miyazaki Prefecture.	Intern Med.	46(12): 815-822	2007
	高木純一, 布井博幸, 他	迅速測定系BNP値の異常高値(2000pg/mL以上)をみとめた ASD-PDA complex の新生児例	別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ 循環器症候群(第2版) 1	4: 429-431	2007
	Kuribayashi F, Tsuruta S, Yamazaki T, et al.	Cell adhesion markedly increases lucigenin-enhanced chemiluminescence of the phagocyte NADPH oxidase.	Genes Cells.	13(12): 1249-1256	2008
	Ikeda T, Kanmura K, Kodama Y, et al.	Segawa disease with a novel heterozygous mutation in exon 5 of the GCH-1 gene (E183K).	Brain Dev.	31(2): 173-175	2008
	Gono T, Yazaki M, Agematsu K, et al.	Adult onset X-linked chronic granulomatous disease in a woman patient caused by a de novo mutation in paternal-origin CYBB gene and skewed inactivation of normal maternal X chromosome.	Intern Med.	47(11): 1053-1056	2008
	Hasegawa D, Fukushima M, Hosokawa Y, et al.	Successful treatment of chronic granulomatous disease with fludarabine-based reduced-intensity conditioning and unrelated bone marrow transplantation.	Int J Hematol.	87(1): 88-90	2008
	Moritake H, Ikeda T, Manabe A, et al.	Cytomegalovirus infection mimicking juvenile myelomonocytic leukemia showing hypersensitivity to granulocyte-macrophage colony stimulating factor.	Pediatr Blood Cancer.	53(7): 1324-1326	2009
	Kawachi S, Luong ST, Shigematsu M, et al.	Risk parameters of fulminant acute respiratory distress syndrome and avian influenza (H5N1) infection in Vietnamese children.	J Infect Dis	200(4): 510-515	2009
	Kato I, Umeda K, Awaya T, et al.	Successful treatment of refractory donor lymphocyte infusion-induced immune-mediated pancytopenia with rituximab.	Pediatr Blood Cancer.	54(2): 329-331	2010
久米 晃啓	Liu Y, Okada T, Nomoto T, et al.	Promoter effects of adeno-associated viral vector for transgene expression in the cochlea in vivo.	Exp Mol med.	39: 170-175	2007
	Hayakawa H, Hayakawa M, Kume A, et al.	Soluble ST2 blocks IL-33 signaling in allergic airway inflammation.	J Biol Chem.	282: 26369-26380	2007
	Ito T, Okada T, Mimuro J, et al.	Adenoassociated virus-mediated prostacyclin synthase expression prevents pulmonary arterial hypertension in rats.	Hypertension	50: 531-536	2007

	Ito T, Okada T, Miyashita H, et al.	Interleukin-10 expression mediated by an adeno-associated virus vector prevents monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats.	Circ Res.	101: 734-741,	2007
	Liu Y, Okada T, Shimazaki K, et al.	Protection against aminoglycoside-induced ototoxicity by regulated AAV vector-mediated GDNF gene transfer into the cochlea.	Mol Ther.	16(3): 474-480	2008
	Nonaka-Sarukawa M, Okada T, Ito T, et al.	Adeno-associated virus vector-mediated systemic interleukin-10 expression ameliorates hypertensive organ damage in Dahl salt-sensitive rats.	J Gene Med.	10(4): 368-374	2008
	Ozawa K, Sato K, Oh I, Ozaki K, et al.	Cell and gene therapy using mesenchymal stem cells (MSCs).	J Autoimmun.	30(3): 121-127	2008
	Kawaguchi H, Okamoto S, Sikdar D, et al.	Genomic organization of regions that regulate chicken glycine decarboxylase gene transcription: physiological and pathological conditions.	Gene.	432(1-2) : 7-18	2009
	Nomoto T, Okada T, Shimazaki K, et al.	Systemic delivery of IL-10 by an AAV-vector presents vascular remodeling and end-organ damage in stroke-prone spontaneously hypertensive rat.	Gene Ther.	16(3): 383-391	2009
	Uchibori R, Okada T, Ito T,	Retroviral vector-producing mesenchymal stem cells for targeted suicide cancer gene therapy.	J Gene Med.	11(5): 373-381	2009
大津 真	Hamanaka S, Nabekura T, Otsu M, et al.	Stable transgene expression in mice generated from retrovirally transduced embryonic stem cells.	Mol Ther.	15(3): 560-565	2007
	Sanada M, Suzuki T, Shih LY, et al	Gain-of-function of mutated C-CBL tumour suppressor in myeloid neoplasms.	Nature	460(7257) 904-908	2009
	Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, et al.	CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity.	Nat Med	15(8): 914-920	2009
	Ogaeri T, Eto K, Otsu M, et al.	The actin polymerization regulator WAVE2 is required for early bone marrow repopulation by hematopoietic stem cells.	Stem Cells	27 (5): 1120-1129	2009
	Sogo T, Kawahara M, Ueda H, et al.	T cell growth control using hapten-specific antibody/interleukin-2 receptor chimera.	Cytokine.	46(1): 127136	2009
藤本純一郎	Nakata Y, Kondoh K, Fukushima, et al.	Mutated D4-guanine diphosphate-dissociation inhibitor is found in human leukemic cells and promotes leukemic cell invasion.	Exp Hematol.	36(1): 37-50	2008
	Kikuchi A, Mori T, Fujimoto J, Kumagai M,	Outcome of childhood B-cell non-Hodgkin's lymphoma and B-cell acute lymphoblastic leukemia treated with the Tokyo Children's Cancer Study Group NHL B 9604 protocol	Leukemia and Lymphoma.	49(4): 757-762	2008
	Miyagawa Y, Okita H, Nakajima H, et al.	Inducible expression of chimeric EWS/ETS proteins confers Ewing's family tumor-like phenotypes to human mesenchymal progenitor cells.	Mol. Cell Biol.	28(7): 2125-2137	2008

	Tsuji Y, Kogawa K, Imai K, et al.	Evans syndrome in a patient with Langerhans cell histiocytosis: possible pathogenesis of autoimmunity in LCH.	Int. J. Hematol.	87(1): 75-77	2008
	Nonomura C, Kikuchi J, Kiyokawa N, et al.	CD43, but not P-selectin glycoprotein ligand-1, functions as an E-selectin counter-receptor in human pre-B-cell leukemia NALL-1.	Cancer Res.	68(3): 790-799	2008
	Yang L, Fujimoto J, Qiu D, et al.	Childhood cancer in Japan: focusing on trend in mortality from 1970 to 2006.	Ann Oncol.	20(1): 166-174	2008
	藤本純一郎, 堀江 弘	小児腫瘍のグループスタディーと病理.	病理と臨床	26(9): 969-974	2008
	Yang L, Fujimoto J, Qiu D, et al.	Trends in cancer mortality in Japanese adolescents and young adults aged 15 to 29 years, 1970-2006.	Ann Oncol.	20(4): 758-766	2009
岡田真由美	岡田真由美, 奥山虎之	慢性肉芽腫症の遺伝子治療への取り組み	臨床検査	51(10)	2007

