

201128042B

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

細網異形成症の診断と治療に関する調査研究

平成22年度～23年度 総合研究報告書

研究代表者 野々山 恵章

平成24(2012)年3月

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

細網異形成症の診断と治療に関する調査研究

目 次

I. 総合研究報告	
細網異形成症の診断と治療に関する調査研究	1
野々山恵章	
（資料）細網異形成症診断基準	7
（資料）細網異形成症治療指針	8
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	11
III. 研究成果の刊行物・別冊	20

# I 総合研究報告

# 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

## 総合研究報告書

### 細網異形成症の診断と治療に関する調査研究

研究代表者 野々山 恵章 防衛医科大学校小児科学講座 教授

#### 研究要旨

細網異形成症の診断と治療法を確立し、患者の救命および長期予後を改善することを目的として、平成22年度、23年度の2年間で以下の研究を行った。研究分担者の尽力により、予定していた研究内容はほぼ完遂することができた。

#### <疫学調査>

インターネットを活用した中央診断システムPIDJによる疫学調査を行い、新規患者を見出した。

#### <診断方法確立、診断基準作製>

原因遺伝子であるAK2のWestern blot, 免疫蛍光染色, real time PCR, DNA解析法による診断法を確立し、診断基準を作製した。

AK2モノクローナル抗体を作製した。ELISA, FACSを用いた迅速診断法の開発を行なった。

#### <スクリーニング法開発>

新生児乾燥濾紙血を用いたTREC<sub>s</sub>およびKRECの測定によるスクリーニング法を確立した。

#### <病態解析>

難聴、骨髄不全、免疫不全発症機序の解析を行うため、内耳細胞の免疫染色、骨髄不全患者のコロニー解析、テロメア解析、AK2遺伝子解析を行なった。

AK2ノックアウトマウスを作製し、解析を行った。AK2欠損によりなぜ分化障害が起きるか、生化学的解析を行った。

#### <患者由来iPS細胞作製>

患者由来のfibroblastsからiPS細胞を作製した。これを用い、血液免疫系細胞への分化実験を行い、AK2欠損によりもたらされる分化障害をin vitroで再現した。

さらにiPS細胞を用いた遺伝子治療の基盤研究として、正常AK2を組み込んだレトロウイルスベクターを作製し、患者由来iPS細胞に導入し、in vitroで血液免疫系細胞の分化が正常化することを確認した。

#### <治療指針の作成>

造血幹細胞移植成績調査を行い、その結果をもとに、治療指針を作製した。

#### <患者会での啓発>

患者会のホームページを開設し、拡充した。患者会で説明会を行った。

## 研究分担者

### 今井 耕輔

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科  
小児・周産期地域医療学講座、准教授

### 中畑 龍俊

京都大学iPS細胞研究所、臨床応用研究部  
門・疾患再現研究分野、副所長

### 森尾 友宏

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科  
発生発達病態学分野、准教授

### 小原 收

財団法人かずさDNA研究所、ヒトゲノム研究  
部、副所長  
理化学研究所、免疫・アレルギー科学総合研  
究センター、免疫ゲノミクス研究グループ、グ  
ループディレクター

### 小島 勢二

名古屋大学大学院医学系研究科小児科、教  
授

### 山口 博樹

日本医科大学第三内科血液内科、講師

### 塩谷 彰浩

防衛医科大学校耳鼻咽喉科学講座、教授

## A. 研究の目的

細網異形成症は骨髄系細胞、リンパ系細胞、内耳細胞など多系統の細胞分化障害を来す難病である。ほとんどが1歳以下に感染症で死亡する重篤な疾患であるが、早期診断を行えば造血幹細胞移植により根治できる疾患であり、早期診断、早期治療が患者の予後改善に重要である。新生児スクリーニングも有効である。将来的な遺伝子

治療の良い適応でもある。

本疾患は症状が多彩であるため、多くの患者が診断されず見逃されている。したがって、疫学的調査の重要な対象疾患となる。また、典型例では多系統の細胞分化障害を呈するが、一部の系統のみが障害される軽症例の存在も示唆される。

そこで、細網異形成症の診断基準、診断法、スクリーニング法の確立、至適造血幹細胞移植法の確立、iPS細胞を用いた病態解析と、遺伝子治療などの新規治療法開発基盤研究を行い、早期発見、早期治療により本疾患を根治し、もって患者に益することを目的とした。

## B. 研究方法

今回の研究では、申請者が構築したインターネットを活かした先天性免疫不全症の中央診断・登録・遺伝子解析システムPIDJ((Nature Immunology 2008, Nucleic Acid Res. 2009)を細網異形成症に応用して疫学調査、軽症例、非典型例を含めた実態把握を行った。

さらに、申請者が確立した、原因遺伝子AK2のポリクローナル抗体を用いたウェスタンブロット法によるタンパク発現解析、遺伝子解析法により、確定診断を行った。T細胞新生能のマーカーであるTREC<sub>s</sub>測定による新生児スクリーニング法の導入、新規に作製したモノクローナル抗体を用いたFACS解析による迅速診断の開発を行った。

病態解析のため、患者血球系の免疫染色、コロニーアッセイの検討を行った。世界で初めてAK2ノックアウトマウスを作製したので、血液系、内耳細胞を含めた、全臓器の異常の解析を行った。

また、すでに樹立した細網異形成症患者由来fibroblastsから、iPS細胞を作製した。iPS細胞を血液幹細胞に分化させ、さらに血液幹細胞から各血液免疫系細胞の分化異常をin vitroで解析し

た。これにより分化実験が繰り返し、かつ条件を変えて行うことが可能になった。さらに新規作製したレトロウイルスベクターを用い、正常 AK2 遺伝子を患者由来 iPS 細胞に導入し、コロニーアッセイなどによりヒト免疫系・血液系の再構築評価を行い、遺伝子治療の基盤研究とした。

造血幹細胞移植による治療成績の国内および国際調査を行い、前年度に作製した治療ガイドラインの有効性の検証を行った。

#### (倫理面への配慮)

本研究については、先天性免疫不全症に関わる遺伝子解析研究や TREC<sub>s</sub> 解析、患者検体を用いる臨床研究などについて、所属する施設の倫理委員会の承認を得た。遺伝子解析、in vitro における患者由来の血液材料の使用については、患者ないし親権者に研究目的に使用することを文書で説明し、インフォームドコンセントを十分に得た上で研究を行った。動物実験は各施設の実験動物倫理委員会の策定規約に従って動物愛護を配慮して実施した。各実験施設の規約を遵守し、人畜共通感染症の発生、伝播を防止した。

### C. 研究結果

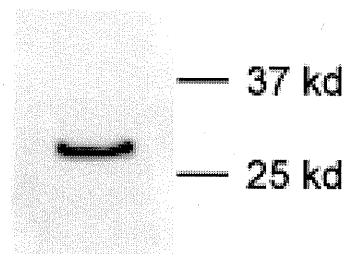
#### 1. 診断法確立

##### 1) AK2 タンパク異常解析

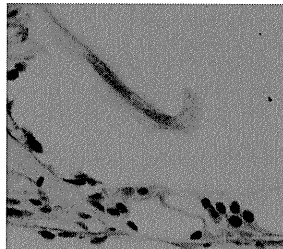
Western blot 法による AK2 タンパクの測定法を確立し、患者では AK2 タンパクが陰性であること、コントロールとして用いた AK1 は陽性であることを確認した。マウスを用いて内耳細胞で AK2 タンパクが発現していることを同様に確認した(図 1)。また、免疫組織化学により有毛細胞およびらせん神経節細胞に存在することが示された(図 2-1, 2)。

抗 AK2 モノクローナル抗体を複数作製し、FACS 解析に適した抗体をスクリーニングした。

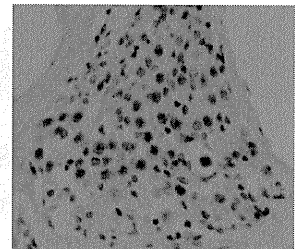
(図 1)



(図 2-1)



(図 2-2)



#### 2) AK2 遺伝子解析

AK2 遺伝子診断法を確立した。患者細胞から RNA を抽出し cDNA に変換し、cDNA の AK2 遺伝子変異を解析した。さらに、病理標本、乾燥濾紙血、保存臍帯などから genomic DNA を抽出し、全ての exon の AK2 遺伝子をシーケンスし解析する方法も確立した。

血液・免疫・内耳細胞サブセットの AK2 遺伝子発現量を評価するために、リアルタイム PCR により mRNA 発現を定量的に測定する方法を確立した。

#### 2. 診断基準作製

診断基準案を作製し一般に啓発した。(別掲)

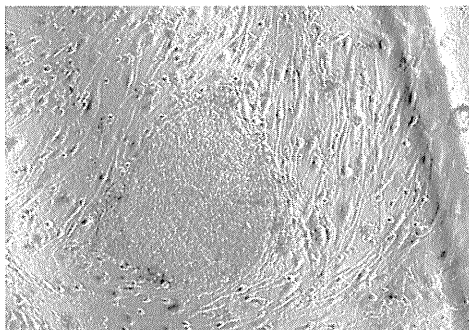
#### 3. 病態解明および新規治療開発

患者骨髄血液幹細胞を用い、コロニー解析を行い、骨髄系細胞の分化が障害されていること、単球系への分化は起きることを示した。

患者から Fibroblasts を作製し、これを用いて iPS 細胞を作製した。AK2 欠損により細胞自身がアポトーシスに陥りやすいことから、AK2 遺伝子を一過性に Fibroblasts に発現させる方法で、iPS 細

胞樹立ができた(図3)。

(図3)



樹立した患者由来 iPS 細胞を用い、血液幹細胞に分化させた上で、コロニーアッセイを行った。骨髄系細胞への分化は、患者で好中球減少が見られることと一致して、低下していた。さらに赤血球系細胞への分化も障害されていた。これは、患者では中等度の貧血が見られることと一致しているが、これまでに見過ごされていた障害であり、AK2 が赤血球系の分化にも関与していることが明らかになった。

患者由来 iPS 細胞に AK2 遺伝子をレトロウイルスベクターで導入し、造血幹細胞に分化させ、分化障害が回復するか検討した。正常 AK2 導入により、骨髄系、赤血球系の分化障害は改善した。

AK2 ノックアウトマウスを作製した。胎生致死であったため、ヒトとマウスで AK2 への細胞の生存の依存度、また各種組織における AK2 の依存度の違いが示された。なお、胎児造血は障害されていた。

なぜ AK2 欠損により T 細胞、好中球、内耳細胞の分化障害が起きるか、生化学的な異常を検討し、AK2 欠損によるエネルギー補充の欠損が分化障害、さらにはアポトーシスを起こしていると考えられた。

#### 4. 治療指針の作製

細網異形成症を含む重症複合型免疫不全症

の造血幹細胞移植による予後調査を行い、その結果、前処置を軽減しても生着すること、非血縁臍帯血移植の成績が良いこと、感染症がコントロール出来ている状態で移植することで成績が良くなることが判明した。昨年度作製した治療指針案についてその検証を行った。(別掲)

#### 5. 疫学調査など実態把握の方法の構築

##### 1) PIDJ による疫学調査

先天性免疫不全症の中央診断登録データベースである PIDJ を利用し、新規症例を見出した。AK2 の遺伝子解析、western blot による AK2 タンパク低下により、確定診断した。骨髄移植後の根治した患者も見いだした。また、20年前に細網異形成症疑いとして新生児期に死亡した患者の病理標本から、患者家族から遺伝子解析の同意を得た上で遺伝子診断を行った。

##### 2) 先天性難聴、先天性骨髄不全の疫学調査

先天性難聴のデータベース、先天性骨髄不全のデータベースを利用し、AK2 変異の有無の解析を行ったが、今回の研究では見出されなかった。

##### 3) スクリーニング法の開発

T 細胞新生能のマーカーである TREC を新生児濾紙血で測定する方法及び B 細胞新生能のマーカーで KREC を確立した。実際に本症患者で TREC を測定し、測定感度以下であることを示し、本症を新生児スクリーニングできることを示した。

##### 4) 新規原因遺伝子同定

AK2 正常の細網異形成症例を PIDJ 登録例から見出した。AK2 以外の新規原因遺伝子同定を次世代シーケンサーを用いた Exome 解析によ

り行った。複数の候補が見出された。

## 5) 患者会での啓発

患者会ホームページを立ち上げた。勉強会を行い、患者啓発に努めた。日本の患者会が国際患者会である IPOPI の会員となることに尽力し、認定された。

## D. 考察

### 1. 学術的意義

#### 1) 病態解析の意義

細網異形成症原因遺伝子 AK2 の機能解析は、骨髄系細胞、免疫系細胞、内耳細胞の分化機構の解明につながり、学術的意義が大きい。遺伝子機能を解析することにより、多系統の細胞分化異常がなぜ AK2 という一分子でもたらされるのか解明され、細胞分化とアポトーシスの関連に新規知見をもたらし、基礎科学への貢献が大きい。

また、細網異形成症は、幹細胞から多系統への細胞の分化障害による疾患であるため、疾患特異的 iPS 細胞による病態解析と再生医療による治療に最も適した疾患である。本疾患の iPS 細胞による病態解析と新規遺伝子治療開発は学術的な意義が大きい。

#### 2) 疫学解析の意義

PIDJ (Primary Immunodeficiency Database in Japan) は、インターネットを活用した免疫不全症の中央診断登録体制である。全国の一般医が、免疫不全症疑い症例の臨床症状、検査データを相談フォームに入力し専門医にコンサルトする。専門医は臨床データをもとに、送付検体を用い FACS 解析、遺伝子解析を行い、その結果から確定診断し、一般医にアドバイスをする。検体は保存する。これにより患者登録、診断、専門医に

よる助言、FACS 解析、検体保存が一举に出来るシステムである。PIDJ は臨床医学と基礎医学、一般医と専門医を統合するシステムとして評価され、Nature Immunology に紹介された。PIDJ システムにより疫学調査し、本症の診断、治療、予後解析に有効活用できた。

### 2. 国際的意義

細網異形成症の治療として、患者 iPS 細胞に正常遺伝子を導入する治療法は、国際的に脚光を浴びている。しかし、細網異形成症からの iPS 細胞樹立は、アポトーシスに陥りやすいという問題があり、これまで成功していない。今回、患者 iPS 細胞化を実施できたこと、さらに血液免疫系細胞への分化実験を行い障害部位を同定できたこと、さらに正常 AK2 遺伝子を導入して正常分化が得られたことは、国際的な意義が大きい。

### 3. 社会的意義

細網異形成性症の診断基準、病態解明、スクリーニング法の開発、根治治療法の開発は、難病を新しい医学で診断治療することを社会に示すことになり、医学の発展が患者に還元されるという大きなインパクトを与える。患者会の期待も大きい。本疾患の社会的な認知も進む。特に、難病を新生児期にスクリーニングして早期診断し、造血幹細胞移植による早期治療で根治することが出来るため、難病の早期診断、早期治療の効果を示す事になり、社会的意義が大きい。

また、疾患特異的 iPS 細胞による病態解明法、遺伝子治療と再生医療を結びつける治療法は、新規な方法として、次世代医療のモデルとなり、社会的成果が大きい。

本研究で得られた成果をもとにして、他の難病に対する疾患特異的 iPS 細胞を用いた病態解析、遺伝子治療、再生医療への応用が期待できる。ま



た、PIDJ というインターネットを用いた先天性免疫不全症の中央診断登録システムが成功している。他の難病に今回の成果を応用することで広く難病の診断・治療に貢献できる。

## E. 結論

細網異形成症の原因遺伝子である AK2 のタンパク発現、遺伝子発現、遺伝子変異解析による確定診断法を確立できた。これにより診断指針を作製できた。また、PIDJ 登録システムを用いて、新規患者を見いだすことが出来た。患者由来 iPS 細胞を樹立し、血液免疫系細胞の分化異常と、正常 AK2 遺伝子導入による分化の正常化を示すことが出来た。将来的な iPS 細胞を用いた病態解析、遺伝子治療への応用の基礎的かつ重要なデータを示すことが出来た。また、患者の状況を把握し、これにより治療指針が作製できた。2 年間という機関ではあったが、スクリーニング、診断、治療、病態解析、遺伝子治療の開発など、十分な成果を上げることが出来た。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

巻末別紙参照。

### 2. 学会発表

巻末別紙参照。

## G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特になし。

○ 参 考 资 料

# 細網異形成症診断基準

平成 22 年 2 月 1 日作成

I)-V) 全てを満たす場合に細網異形成症と診断する。

## I) 臨床所見

易感染性を認めること。

感音性難聴を認めること。

## II) 免疫・血液障害

a) 末梢血で好中球減少を認めること。単球は正常であること。

b) 末梢血単核球の FACS 解析で T 細胞および NK 細胞の減少を認めること。B 細胞数は正常であること。

c) 骨髄検査で骨髄系細胞の減少を認めること。単球系の減少は認めないこと。

d) コロニー解析で骨髄系細胞の分化障害を認めること。単球系細胞の分化障害は認めないこと。

## III) 聴力障害

聴力検査で感音性難聴があること。

## IV) AK2 タンパク異常解析

Western blot 等で AK2 タンパク発現低下を認めること。

## V) AK2 遺伝子診断

遺伝子解析で AK2 変異を認めること。

# 細網異形成症治療指針

平成 23 年 12 月 1 日改訂

## I) 感染症治療

本症は好中球減少、T 細胞減少、低 $\gamma$ グロブリン血症があるため、重篤な感染症を起こしやすい。そのため、以下の様に感染症治療を十分に行う。また、細網異形成症を疑った場合は、無菌室入室、アイソレーター使用など無菌管理を行う。

### 1) 細菌感染症

骨髄移植後生着までの好中球減少期の発熱に対しては血液培養後直ちにセフェム系もしくはカルバペネム系抗生剤を投与する。血液培養にてグラム陽性球菌が検出された場合は症状に応じてバンコマイシンの投与も検討する。また ST 合剤の投与はニューモシスチス肺炎及び肺炎連鎖球菌感染予防のため投与する。

### 2) 真菌感染症

Candida 感染に対しては、micafungin、フルコナゾールを投与する。深在性 Aspergillus 症およびフルコナゾール耐性の Candida 症に対してはアムホテリシン B、イトラコナゾール、リポゾーマルアンホテリシン B、ボリコナゾール、等を適宜投与する。

発熱時は常に真菌感染症を疑い $\beta$ -D グルカン、アスペルギルス抗原検査等を必要に応じて施行する。

### 3) ウイルス感染症

サイトメガロウイルス感染症に対しては定期的（毎週）な抗原血症もしくはウイルス血症の有無を検査し、陽性の場合にはガンシクロビルの投与を行う。本剤は副作用としての好中球減少に注意し、耐性出現の場合はフォスカビルの投与も考慮する。

EB ウイルス感染症に対しては rituximab の投与を考慮する。

単純ヘルペスウイルス（HSV）及び水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）に対してはアシクロビルの予防的及び治療的投与を行う。

### 4) G-CSF

好中球増加を期待して使用する。

## 5) 低ガンマグロブリン血症

静注様  $\gamma$  グロブリン製剤の定期的投与を行う。

## II) 造血幹細胞移植

本症は、造血幹細胞移植により根治が期待できる一方、施行しなかった場合生後 1 年以内に死亡する。

造血幹細胞移植の絶対適応である。診断が付き次第、早期に造血幹細胞移植を行う。

### 1) ドナーの選択

移植細胞源は、血縁 HLA 一致ドナーが存在する場合を除き、非血縁臍帯血とする。この理由は緊急を要するため、移植の準備に数ヶ月を要する骨髄バンクを介しての移植は適さないことと、国内重症複合型免疫不全症の造血幹細胞移植症例の集計で非血縁臍帯血移植の粗生存率が非血縁者間骨髄移植および血縁者間 HLA 不一致骨髄移植に比べて良好であったことである。

また HLA 不一致非血縁者間臍帯血移植においては生着不全や GVHD の頻度が高まることが予想されるため、血清学的に HLA-A, B, DR が 2 座不一致までに限りドナーとして選定することも認められる。

移植細胞数の最低数は  $2 \times 10^5/\text{kg}$  とし、CD34 陽性細胞が多く含まれる臍帯血を選択する。ドナーの性別や血液型は問わない。

### 2) 移植前処置

感染症が顕著である場合は前処置を行わない。前処置を行う場合は、骨髄非破壊的前処置として実績のある (a), (b) いずれかを推奨する。

#### (a) フルダラビンとメルファランによる臍帯血移植前処置

day -7、-6、-5、-4、-3	: フルダラビン	1 時間点滴静注	25 mg/m <sup>2</sup> /日
day -4、-3	: メルファラン	30 分点滴静注	70 mg/m <sup>2</sup> /日

10Kg未満では、体表面積 1m<sup>2</sup>あたりの投与量  $\div 30 \times$  体重 (kg) で計算する。

#### (b) フルダラビンとブスルファンによる臍帯血移植前処置

day -7、-6、-5、-4、-3、-2	: フルダラビン	1 時間点滴静注	30 mg/m <sup>2</sup> /日
day -3、-2	: ブスルファン	2 時間点滴静注	1mg/kg $\times$ 4/日

10Kg未満では、体表面積 1m<sup>2</sup>あたりの投与量÷30×体重 (kg) で計算する。

### 3) GVHD 予防

day -1 から	: タクロリムス	持続点滴静注	0.02 mg/kg/日
day 1	: メトトレキサート	静注	10 mg/m <sup>2</sup> /日
day 3、6	: メトトレキサート	静注	7 mg/m <sup>2</sup> /日

タクロリムス血中濃度は5-12ng/mLに維持し15ng/mLを超えないようにする。  
なおタクロリムスは内服が可能となった時点で1日点滴量の3-5倍量を分2で内服とする。

またメトトレキサートについて、day 1においては一回最大10 mg/bodyとし、day 3、6においては一回最大7 mg/bodyとする。

### III) 聴力障害

補聴器による聴覚障害の治療を行う。造血幹細胞移植により難聴が改善した症例が存在するため、移植後に定期的に聴力検査を行う。

## II 研究成果の刊行に関する一覧表

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
水谷修紀、高木正稔、森尾友宏	RALD:ALPSとJIMMLの交差点にある新たな疾患	高久史磨、小澤敬也、坂田洋一、金倉譲、小島勢二 編	ALD Annual Review 2012	中外医学社	東京都	2012	131-139
森尾友宏	オーメン症候群、イヴェマルク症候群、ディ・ジョージ症候群	福井次矢、辻省次 編	症候群ハンドブック	中山書店	東京都	2011	630,645, 646
山口博樹	病理・病態生理:病因と病型分類	小澤敬也	新しい診断と治療のABC 72「再生不良性貧血」	最新医学社	大阪	2011	39-44
山口博樹, 檀和夫.	骨髄不全症に対する蛋白同化ステロイドホルモンテロメレース活性化作用.	高久史磨、小澤敬也、坂田洋一、金倉譲、小島勢二 編	Annual Review 血液	中外医学社	東京都	2011	48-54

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Honda F, Kano H, Kanegane H, Nonoyama S, Kim ES, Lee SK, Takagi M, Mizutani S, Morio T.	Btk negatively regulates ROS production and stimulation-induced apoptosis in human neutrophils.	Nat Immunol.		In press	2012
Chida A, Shintani M, Nakayama T, Furutani Y, Hayama E, Inai K, Saji T, Nonoyama S, Nakanishi T.	Missense mutations of BMPR1B (ALK6) gene in childhood idiopathic pulmonary arterial hypertension (IPAH.)	Circ J.		In press	2012
Jang SH, Lim JW, Morio T, Kim H.	Lycopene inhibits Helicobacter pylori-induced ATM/ATR-dependent DNA damage response in gastric epithelial AGS cells.	Free Radical Biol Med.	52	607-615	2012
Sato R, Iizumi S, Kim E-S, Honda F, Lee S-K, Adachi N, Koyama H, Mizutani S, Morio T.	Impaired cell adhesion, apoptosis, and signaling in WASP-gene disrupted Nalm-6 pre-B cells and recovery of cell adhesion using a transducible form of WASp.	Int J Hematol.		In press	2012



Kuramitsu M, Sato-Otsubo A, Morio T, Takagi M, Toki T, Terui K, RuNan W, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Kitoh T, Goi K, Kudo K, Matsubayashi T, Mizue N, Ozeki M, Masumi A, Momose H, Takizawa K, Mizukami T, Yamaguchi K, Ogawa S, Ito E.	Extensive gene deletions in Japanese patients with Diamond-Blackfan anemia.	Blood		In press	2012
Uchida Y, Matsubara K, Morio T, Kasawaki Y, Iwata A, Yura K, Kamimura K, Nigami H, Fukawara T.	Acute cerebellitis and concurrent encephalitis associated with parvovirus B19 infection.	Pediatr Infect Dis J.		In press	2012
Lee SW, Kim JH, Park MC, Park YB, Chae WJ, Morio T, Lee DH, Yang SH, Lee SK, Lee SK, Lee SK.	Alleviation of rheumatoid arthritis by cell-transducible methotrexate upon transcutaneous delivery.	Biomaterials	33	1563-1572	2012
Honda F, Hane Y, Toma T, Yachie A, Kim E-S, Lee S-K, Takagi M, Mizutani S, Morio T.	Transducible form of p47phox and p67phox compensate for defective NADPH oxidase activity in neutrophils of patients with chronic granulomatous disease.	Biochem Biophys Res Comm.	417	162-168	2012
Nakamura K, Du L, Tunuguntla R, Fike F, Cavalieri S, Morio T, Mizutani S, Brusco A, Gatti RA.	Functional characterization and targeted correction of ATM mutations identified in Japanese patients with ataxia-telangiectasia.	Hum Mutat.	33	198-208	2012
Uchida Y, Matsubara K, Wada T, Oishi K, Morio T, Takada H, Iwata A, Yura K, Kamimura K, Nigami H, Fukuya T.	Recurrent bacterial meningitis by three different pathogens in an isolated asplenic child.	J Infect Chemother.		In press	2012
Kobayashi D, Kogawa K, Imai K, Tanaka T, Sada A, Nonoyama S.	Hyper-eosinophilia in granular acute B-cell lymphoblastic leukemia with myeloid antigen expression.	Pediatr Int.		In press	2012
Ma CS, Avery DT, Chan A, Batten M, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Arkwright PD, Minegishi Y, Nonoyama S, French MA, Choo S, Peake J, Wong M, Cook MC, Fulcher DA, Casanova JL, Deenick EK, Tangye SG.	Functional STAT3 deficiency compromises IL-12-dependent generation of human T follicular helper cells.	Blood		In press	2011
Yang X, Kanegane H, Nishida N, Imamura T, Hamamoto K, Miyashita R, Imai K, Nonoyama S, Sanayama K, Yamaide A, Kato F, Nagai K, Ishii E, Zelm M, Latour S, Zhao X, Miyawaki T.	Clinical and genetic characteristics of XIAP deficiency in Japan.	J Clin Immunol.		In press	2011

Asai E, Wada T, Sakakibara Y, Toga A, Toma T, Shimizu T, Nampoothiri S, Imai K, Nonoyama S, Morio T, Muramatsu H, Kamachi Y, Ohara O, Yachie A.	Analysis of mutations and recombination activity in RAG-deficient patients.	Clin Immunol.	138	172-177	2011
Kanai T, Ishiwata T, Kobayashi T, Sato H, Takizawa M, Kawamura Y, Tsujimoto H, Nakatani K, Ishibashi N, Nishiyama M, Hatai Y, Asano Y, Kobayashi T, Takeshita S, Nonoyama S.	Ulinastatin, a urinary trypsin inhibitor, for the initial treatment of patients with Kawasaki disease: a retrospective study.	Circulation	124	2822	2011
Kobayashi D, Kogawa K, Imai K, Tanaka T, Hiroi S, Satoh H, Tanaka-Taya K, Nonoyama S.	Quantification of human herpesvirus-6 (HHV-6) DNA in a cord blood transplant recipient with chromosomal integration of HHV-6.	Transpl Infect Dis.	13	650	2011
Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chapel H, Conley ME, Cunningham-Rundles C, Etzioni A, Fischer A, Franco JL, Geha RS, Hammarström L, Nonoyama S, Notarangelo LD, Ochs HD, Puck JM, Roifman C, Seger R, Tang MLK.	Primary Immunodeficiency Diseases: an update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency.	Front Immun.	2	54	2011
Ishimura M, Takada H, Doi T, Imai K, Sasahara Y, Kanegane H, Nishikomori R, Morio T, Heike T, Kobayashi M, Ariga T, Tsuchiya S, Nonoyama S, Miyawaki T, Hara T.	Nationwide Survey of Patients with Primary Immunodeficiency Diseases in Japan.	J Clin Immunol.	31	968	2011
Matsumoto H, Hatanaka D, Ogura Y, Chida A, Nakamura Y, Nonoyama S.	Severe human herpesvirus 6 associated encephalopathy in three children: Analysis of cytokine profiles and the carnitine palmitoyltransferase 2 gene.	Pediatr Infect Dis J.	30	999	2011
Nakagawa N, Imai K, Kanegane H, Sato H, Yamada M, Kondoh K, Okada S, Kobayashi M, Agematsu K, Takada H, Mitsui N, Oshima K, Ohara O, Suri D, Rawat A, Singh S, Pan-Hammarstrom Q, Hammarstrom L, Reichenbach J, Seger R, Ariga T, Hara T, Miyawaki T, Nonoyama S.	Quantification of $\kappa$ -deleting recombination excision circles in Guthrie cards for the identification of early B-cell maturation defects.	J Allergy Clin Immunol.	128	223	2011
Saito M, Nagasawa M, Takada H, Hara T, Tsuchiya S, Agematsu K, Yamada M, Kawamura N, Ariga T, Tsuge I, Nonoyama S, Karasuyama H, Minegishi Y.	Defective IL-10 signaling in hyper-IgE syndrome results in impaired generation of tolerogenic dendritic cells and induced regulatory T cells.	J Exp Med.	208	235	2011

Takizawa M, Ishiwata T, Kawamura Y, Kanai T, Kurokawa T, Nishiyama M, Ishida H, Asano Y, Nonoyama S.	Contribution of Sarcoplasmic Reticulum Ca <sup>2+</sup> Release and Ca <sup>2+</sup> Transporters on Sarcolemmal Channels to Ca <sup>2+</sup> Transient in Fetal Mouse Heart.	Pediatr Res.	69	306	2011
Zhao M, Kanegane H, Kobayashi C, Nakazawa Y, Ishii E, Kasai M, Terui K, Gocho Y, Imai K, Kiyasu J, Nonoyama S, Miyawaki T.	Early and rapid detection of X-linked lymphoproliferative syndrome with SH2D1A mutations by flow cytometry.	Cytometry B Clin Cytom.	80	8-13	2011
Asai E, Wada T, Sakakibara Y, Toga A, Toma T, Shimizu T, Nampoothiri S, Imai K, Nonoyama S, Morio T, Muramatsu H, Kamachi Y, Ohara O, Yachie A.	Analysis of mutations and recombination activity in RAG-deficient patients.	Clin Immunol.	138	172	2011
Tanaka N, Nishikomori R, Saito M, Izawa K, Sakuma M, Morimoto T, Kambe N, Watanabe S, Oshima K, Ohara O, Goldbach-Mansky R, Aksentijevich I, Arostegui J. I, Yague Jm Joost F, van Gijn M.E, SaintBasile G, Pontillo A, Kawai T, Yasumi T, Nakahata T, Horiuchi H, Heike T.	High incidence of NLRP3 somatic mosaicism in chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome patients; the results of an international multicenter collaborative study.	Arthritis Rheum.	63	3625	2011
Yahata N, Asai M, Kitaoka S, Takahashi K, Asaka I, Hioki H, Kaneko T, Maruyama K, Saido T.C, Nakahata T, Asada T, Yamanaka S, Iwata N, Inoue H.	Anti-Ab Drug Screening Platform Using Human iPS Cell-Derived Neurons for the Treatment of Alzheimer's Disease.	PLoS ONE	6	e25788	2011
Murata Y, Yasumi T, Shirakawa R, Izawa K, Sakai H, Abe J, Tanaka N, Kawai T, Oshima K, Saito M, Nishikomori R, Ohara O, Ishii E, Nakahata T, Horiuchi H, Heike T.	Rapid diagnosis of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 3 (FHL3) by flow cytometric detection of intraplatelet Munc 13-4 protein.	Blood	118	1225	2011
Niwa A, Heike T, Umeda K, Oshima K, Kato I, Sakai H, Suemori H, Nakahata T, Saito M.	A novel serum-free monolayer culture for orderly hematopoietic differentiation of human pluripotent cells via mesodermal progenitors.	PloS ONE	6	e22261	2011
Heike T, Saito M, Nishikomori R, Yasumi T, Nakahata T.	Autoinflammatory diseases—a new entity of inflammation.	Inflammation and Regeneration	31	125	2011
Morishima T, Watanabe K, Niwa A, Fujino H, Matsubara H, Adachi S, Suemori H, Nakahata T, Heike T.	Neutrophil differentiation from human-induced pluripotent stem cells.	J. Cell. Physiol.	226	1283	2011

Imadome K, Yajima M, Arai A, Nakazawa A, Kawano F, Ichikawa S, Shimizu N, Yamamoto N, Morio T, Ohga S, Nakamura H, Ito M, Miura O, Komano J, Fujiwara S.	Novel Mouse Xenograft Models Reveal a Critical Role of CD4+ T Cells in the Proliferation of EBV-Infected T and NK Cells.	Plos Pathogens.	7(10)	e1002326	2011
Kato K, Kojima Y, Kobayashi C, Mitsui K, Nakajima-Yamaguchi , Kudo K, Yanai T, Yoshimi A, Nakao T, Morio T, Kasahara M, Koike K, Tsuchida M.	Successful allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for chronic granulomatous disease with inflammatory complications and severe infection.	Int J Hematol.	94	479-482	2011
Morio T, Atsuta Y, Tomizawa D, Nagamura-Inoue T, Kato K, Ariga T, Kawa K, Koike K, Tauchi H, Kajiwara M, Hara T, Kato S.	Outcome of unrelated umbilical cord blood transplantation in 88patients with primary immunodeficiency in Japan.	Br J Haematol.	154	363-372	2011
Watanabe N, Takahashi Y, Matsumoto K, Hama A, Muramatsu H, Doisaki S, Horibe K, Kato K, Kojima S.	Prognostic factors for outcomes of pediatric patients with refractory or relapsed acute leukemia undergoing allogeneic progenitor cell transplantation.	Biol Blood Marrow Transplant	17	516-523	2011
Sakaguchi H, Takahashi Y, Watanabe N, Doisaki S, Muramatsu H, Hama A, Shimada A, Yagasaki H, Kudo K, Kojima S.	Incidence, clinical features, and risk factors of idiopathic pneumonia syndrome following hematopoietic stem cell transplantation in children.	Pediatr Blood Cancer		In press	2011
Narita A, Muramatsu H, Takahashi Y, Sakaguchi H, Doisaki S, Nishio N, Hama A, Shimada A, Ito M, Kojima S.	Autoimmune-like hepatitis following unrelated BMT successfully treated with rituximab.	Bone Marrow Transplantat		In press	2011
Okura Y, Yamada M, Kobayashi I, Santisteban I, Arredondo-Santisteban G, Kato Z, Iguchi A, Yoshida M, Ohara O, Nakagawa N, Imai K, Hershfield MS, Ariga T.	ADA-SCID with 'WAZA-ARI' mutations that synergistically abolished ADA protein stability	Br J Haematol.	153	675-676	2011
Hoshina T, Takada H, Sasaki-Mihara Y, Kusuhara K, Ohshima K, Okada S, Kobayashi M, Ohara O, Hara T.	Clinical and host genetic characteristics of Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases in Japan.	J Clin Immunol.	31	309-314	2011
Ohta H, Miyashita E, Hirata I, Matsumura R, Yoshida H, Hashii Y, Higashiura T, Yasumi T, Murata Y, Heike T, Yang X, Kanegane H, Ohara O, Ozono K.	Hematopoietic stem cell transplantation with reduced intensity conditioning from a family haploidentical donor in an infant with familial hemophagocytic lymphohistocytosis.	Int J Hematol.	94	285-290	2011