

201219003B

厚生労働科学研究費補助金

成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業

小児先天性・難治性疾患に対する
遺伝子・細胞治療の開発と実施

平成22～24年度総合研究報告書

平成25年（2013年）3月

研究代表者

小 野 寺 雅 史

平成 22-24 年度厚生労働科学研究費補助金
成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業

小児先天性・難治性疾患に対する遺伝子・細胞治療の開発と実施

目 次

I. 総合研究報告書	研究代表者 小野寺雅史 …	1
II. 研究成果の刊行に関する一覧表……………		7
III. 資 料……………		19

I. 総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）
総合研究報告書

小児先天性・難治性疾患に対する遺伝子・細胞治療の開発と実施に関する研究

研究代表者 小野寺雅史 国立成育医療センター研究所 成育遺伝研究部部长

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、前臨床研究として、1) モデルマウス等を用いた CGD 病態解明、2) 新規ベクターの構築、3) 新規インスレーター機能解析、4) 次世代シーケンサーを用いた挿入部位の網羅的解析、臨床研究として、1) CGD の病態解析、2) 遺伝性疾患に対する遺伝子診断の倫理性の検討、3) 遺伝子治療のための環境整備、4) 遺伝子治療のデータ管理体制の構築等を行った。同時に海外の遺伝子治療の現状調査し、日本の問題点を整理した。

なお、CGD に対する遺伝子治療臨床研究は、厚生労働大臣により平成 25 年 6 月 14 日付で了承され、現在、対象患者を選定中である。

研究分担者・所属機関名・職名

河合 利尚
国立成育医療 C 成育遺伝研究部・室長
中林 一彦
国立成育医療 C 周産期病態研究部・室長
奥山 虎之
国立成育医療 C 臨床検査部・部長
瀧本 哲也
国立成育医療 C 臨床研究 C・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
自治医科大学病分子態治療研究 C 遺伝子治
療研究部・准教授
大津 真
東京大学医科学研究所幹細胞治療研究 C・特
任准教授
福島 敬
筑波大学人間総合科学研究科小児内科学分
野・准教授
岡田真由美
東京都立東大和療育 C 小児科・医長

子治療が行われ、造血幹細胞移植が行えない患者に対し、根治療法と呼べるほどの有効な治療成績を上げている。一方、我が国の現状を鑑みたとき、ウイルスベクター開発など遺伝子治療に関わる優れた技術は有するものの、これら技術を臨床の場で応用する機関が欠如しているため、遺伝子治療臨床研究が遅々として進まず、欧米に対し大きな遅れを取っている。本研究では小児難治性遺伝性疾患に対する我が国独自の遺伝子治療を推進するため、実施に遺伝子治療臨床研究を実施し、そこで生ずる問題を解決することで我が国における遺伝子治療実施を支援するプラットフォームを構築する。

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（CGD）を対象とし、米国国立衛生研究所 Malech 博士との共同研究を行うことで、CGD に対する造血幹細胞遺伝子治療を行う。これは、小児難治性遺伝性疾患である原発性免疫不全症の唯一の根治療法が HLA の一致した造血幹細胞移植であるが、HLA が一致する確率はおよそ 30%であり、たとえ HLA 一致の幹細胞移植が行われても遷延する重度感染症により死亡する例も多く、これら難治性疾患に対して造血幹細胞移植に代わる安全で有効な治療法が求められているためである。なお、本研究において特に重要と捉えている点は全国規模の遺伝子治療に関するネ

A. 研究目的

現在、欧米を中心に原発性免疫不全症等の小児難治性遺伝性疾患に対する造血幹細胞遺伝

ットワーク体制であり、学閥等にとらわれない国立病院が中心となってその職責を遂行することは理想的と考える。

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. 前臨床研究疾患

- 1) モデルマウスならびに患者 iPS 細胞を用いた CGD 病態解明
 - CYBB 遺伝子 (gp91phox) 欠損マウス (CGD マウス) の造血幹細胞を採取し、その骨髓再建能を正常マウスと比較・検討したところ、その両者に有意な差を認めなかった。
 - レトロウイルスベクター感染によるサイトカイン/ケモカイン産生の変動を測定したところ複数のサイトカイン/ケモカインに変動が見られ、このうち IL-1 α および IL-1 β に着目し、骨髓造血能に与える影響を解析している。
 - CGD 患者より iPS 細胞を樹立し、フィーダー細胞上での培養することで血球系の分化・誘導し、その機能を解析したところ、CGD 患者由来 iPS 細胞は健常人由来 iPS 細胞と同様未分化維持培養が可能であり、G-CSF 存在下で誘導した好中球は活性酸素産生能の欠如や NET 形成能で健常人 iPS 細胞と比較して低下していた。
- 2) レトロウイルスベクター以外の新規ベクターの構築
 - 染色体非組み込みタイプベクターである AAV ベクターを用いてフェニルケトン尿症に対する遺伝子治療の基礎的研究を行った。肝臓に直接ベクターを投与したところ投与後 1 週間目から現れ、血中 Phe がほぼ正常域 (< 2mg/dl) に保たれた。一方、骨格筋を標的した場合は治療域までには低下せず、治療効果を認めなかった。
 - マウス PKH 遺伝子のアミノ酸配列は保ったまま、そのコード領域 1362 塩基のうち 282 塩基に変異を入れた人工 PKH 遺伝子 (野生型との相当率 79%) を合成し、ヒト細胞株にて遺伝子発現率を解析したところ、最大で 5.5 倍の増加率を認めた。

- 非ウイルスベクターの開発としてミニサークル DNA (MC07.CMV-luc) を hydrodynamics- based transfection 法によりマウス生体に導入し、導入遺伝子の発現を生体イメージング装置で画像解析した。ヒト腎由来 HEK293 細胞にミニサークル DNA を in vitro transfection でルシフェラーゼ発現ベクターを導入し、ルシフェラーゼ活性はホタル由来の方がコメルキムシ由来ルシフェラーゼより 5~10 倍高かった。また、IVIS によるイメージングのシグナル強度と摘出肝臓におけるルシフェラーゼ活性は相関していた。
- 3) 新規インスレーター同定ならびにその機能解析
 - 新規同定インスレーターは C57BL/6 系統の 9.5 日胚で高メチル化し、JF1 系統の 9.5 日胚で低メチル状態の 1.8kb 長の *Ccnblip1* である。
 - この配列を Luc 発現ベクターに挿入し、Cos7 にてレポーター・アッセイを行ったところ、エンハンサー活性とその遮断効果が確認されたが、HL-60 細胞を用いたマウスレトロウイルスベクター (MoMLV) の系では、そのインスレーター活性は認めたものの cHS4 より低値であった。
- 4) 次世代シーケンサーを用いた遺伝子挿入部位の網羅的解析
 - 治療ベクターの染色体挿入部位を網羅的に解析するために、特定ゲノム部位濃縮ライブラリー作製系・データ解析系の構築とウイルスベクター配列を標的とするカスタム SureSelect ベイトライブラリーをデザインした。
 - 標的遺伝子である *IHH* 遺伝子エクソンには多数 (平均約 1000 リード) の配列が貼り付いているのに対し、対象遺伝子ではない *CCDC108* 遺伝子領域に張り付いた配列はほぼ 0 に近かったことから、SureSelect DNA キャプチャー法の特異性は高く、ベクター挿入部位解析へ応用が可能であると判断した。
 - ウイルスベクター配列を標的とするカスタム SureSelect ベイトライブラリーをデザインとして、MPSV 由来 LTR (444bp) と MoMLV 由来 LTR (589bp) を標的としたベイトライブラリーを作製した。

2. 臨床研究

1) 特異的 CGD 症例の報告

- ・ 生後 7 か月でアスペルギルス肺炎の発症と生後 10 日目で肝膿瘍を発症した兄弟例で、兄は腋窩リンパ節炎、肺炎 (BCG 菌、アスペルギルス) にて各種抗菌剤、抗真菌剤を使用した改善せず、死亡した。弟は生後 10 日目に多発性肝膿瘍に罹患したが、抗菌剤・抗真菌剤にて感染症をコントロールし、造血幹細胞移植の準備を進めている。
- ・ CGD 患者において腸炎症状が乏しく、大腸ファイバー等にてアフタ部位の確認と粘膜下層を中心に表層近傍に至るリンパ濾胞様の炎症性細胞集簇を認めた CGD 腸炎と診断した 3 例を経験した。治療としては全例ペンタサを使用している。

2) CGD 腸炎に対するサリドマイドの有効性

- ・ CGD 患者単球の LPS 刺激による caspase-1 の活性化と活性化 caspase-1 依存性 IL-1 β の産生は健常人と同程度であり、サリドマイドはその反応を阻害することはなかった。同様に、LPS の刺激による TNF α 、IL-6、IL-8 などの炎症性サイトカイン産生に関してもサリドマイドは抑制しなかった。一方、単球を TNF α にて刺激した際の NF- κ B シグナルに対してサリドマイドは濃度依存的に抑制した。
- ・ 難治性のステロイド依存性腸炎を併発していた CGD 患者に対しサリドマイド治療を行ったところ、血便の消失、貧血の改善、2kg 体重増加を認め、小児潰瘍性大腸炎活動指数 (PUCAI) は 45 から 20 へ改善した。内視鏡所見でも腸管粘膜の炎症像は軽快した。

3) CGD における病態解析

- ・ 本邦 CGD 患者 166 名のうち遺伝子解析が終了した 82 名で遺伝子変異と臨床症状の関連を解析した。最も多い変異はナンセンス変異で、c676C>T や c271C>T は世界と共通していた。欠損変異は 11 家系 12 患者、スプライス変異は日本では 9 家系 15 患者であり、ミスセンス変異は 120 変異 247 家系と同一変異も多い。挿入変異は日本では 6 家系 7 患者で、世界的にみても頻度は少なく、プロモーター変異が 1 例であった。
- ・ CGD 腸炎 3 名について血清サイトカイン

の濃度測定を行い、病態との関連を検討した。CGD 腸炎の診断時には IL-1 β 、IL-18、IFN γ 、TNF- α 、IL-6、IL-12 が健常者と比較して有意に上昇し、治療前後でも指標になっていた。

- ・ 北海道原発性免疫不全症患者データベース (PIDH) の集計結果を解析し、CGD の予後、それに関連する要因について検討した。登録されている CGD 14 例中 9 例が生存、5 例が死亡であった。6 例で造血幹細胞移植が実施され、5 例が生存している。死因の多くは真菌感染症などの制御不能な感染症であった。
- ### 4) 造血幹細胞遺伝子治療における前処置の選択について
- ・ 多くの造血幹細胞遺伝子治療においてはブスルファン (ブスルフェクス®) が使用されている。CGD 幹細胞移植におけるブスルファンのメリットとデメリットを検討した。
 - ・ 現在、我が国では 296 例の原発性免疫不全症に対して移植が行われ、そのうち 22 症例の CGD が登録されている (日本造血細胞移植学会の報告による)。
 - ・ ブスルファンに関しては、経口 Bu と静注 Bu 間に有効性や二次性悪性腫瘍の発症率に有意な差を認めていない。
- ### 5) 遺伝子疾患に対する遺伝子診断の倫理的配慮に関する研究
- ・ 2011 年 2 月に日本医学会から発表された遺伝学的検査・診断に関するガイドライン (医学会ガイドライン) をもとに、小児を対象とした遺伝学的検査の実施に当たって留意すべき課題を抽出した。
 - ・ 医学会ガイドラインでは「小児の遺伝子検査」の実施上の注意点として「未成年者など同意能力がない者を対象とする遺伝学的検査」という項目を設定し、1) 小児に対して遺伝学的検査を行う場合は、代諾者へのインフォームド・コンセントのほか可能な限り本人の了解 (インフォームド・アセント) を取ること、2) 成年以降に発症する疾患の発症前診断については、原則として本人の同意のもとに行うとしている。
 - ・ その問題点としては、1) 同意能力のある年齢を具体的に定めていない、2) 小児期に代諾された遺伝学的検査を成年に達した本人に対して結果を開示する際の基準が

明確ではないなどが指摘されている。

- ・ このため、1) 遺伝学的検査の同意は、20歳未満であれば代諾者から受けるが、加えて16歳以上の対象者であれば、本人からの署名による同意（インフォームド・アセント）を取ることで、2) 小児期に代諾により実施された遺伝学的検査については、対象者が20歳以上になったとき、その結果の開示に関しての妥当性を検討すること。また、開示の際には適切な遺伝カウンセリングの提供の考慮することが上げられた。
- ・
- 6) 当研究センター内の実施に関する環境整備
 - ・ 主任研究者の小野寺（当センター研究所・成育遺伝研究部部長）が病院免疫科の医長を、分担研究者の河合（同研究部室長）が同免疫科の医員を併任し、これら患者の外来診察ならびに入院診療に積極的に関わっている。
 - ・ 遺伝子治療に関連する医師、病棟・外来看護師、薬剤部、臨床検査部などのco-medicalとの相互連携の下、遺伝子治療準備委員会を立ち上げた。
 - ・ 病院における詳細な手順として、以下のSOPを作成した。1) 自家末梢血幹細胞採取の手順、2) 病棟管理の手順、3) 患者排泄物の処理手順、その他、入院後の被験者への説明の際に用いる「入院のしおり」や、「遺伝子治療パンフレット」などを作成した。
 - ・ 研究所5階に細胞調製室を設置し、臍帯血由来CD34陽性細胞を用いた遺伝子導入を行い、その工程をSOPとしてまとめた。
- 7) 遺伝子治療臨床研究における臨床データ管理に関する研究
 - ・ 遺伝子治療臨床研究の実施計画書作成にあっては、国が定める法律あるいは指針を遵守し、対象疾患や被験者の選定、実施の可能性、同意の取得、有効性や安全性の評価、有害事象への対応などに留意してCase Report Form（CRF）を作成した。
 - ・ 患者データに遺伝子解析結果のため、組織的安全管理措置（国立成育医療研究センターの保有個人情報管理規定など）のもとで、人的安全管理措置（データ管理業務担当者との個人情報非開示契約の締結、個人情報の取扱いにかかわる教育など）、物理的安全管理措置（二重ロックのデータセンター

内イントラネット、入退室管理、無停電装置設置など）、技術的安全管理措置（システムのファイアウォールによる保護、ユーザー認証、不正ソフトウェア対策、データの定期的バックアップなど）を講じた。

C. 考察

平成18年より始まった「小児先天性・難治性疾患に対する遺伝子・細胞治療の開発研究」であるが、今年で7年目となる。初年度は、遺伝子治療の有効性と安全性の観点から実態調査が行われ、feasibility studyとして「慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療は安全性で克服する課題はあるものの、その利益は危険性を十分に上回る」と結論付け、ドイツ Grez 博士との共同研究の下、SFFVgp91 ベクターを用いた遺伝子治療臨床研究を計画した。これは、この段階ですでに治療を受けていた2名のCGD患者において肝膿瘍や肺膿瘍が軽快したとの報告を受けたためである。実際に成育医療センターにお招きした Grez 博士のご講演を拝聴したときの興奮を今でも覚えている。それは、およそ造血幹細胞移植以外根治療法のないCGD患者において、難治性感染症が移植以外の方法で治癒したのを目の当たりにしたからである。ただ、治療後複数年を経て、1名の患者が造血系異常を伴う感染症にて死亡し、また、次の患者にも造血系異常が発症したとの報告を受けた。確かに当該遺伝子治療は劇的な治療効果はあるものの造血系異常という重大な有害事象が発症する危険性があるため、倫理性の面から実施は困難で、研究途中でSFFVgp91 ベクターを用いた遺伝子治療臨床研究の継続を断念せざるを得なかった。ただ、幸運なことに、同時期、同様に慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞遺伝子治療を行っていた米国国立衛生研究所 Malech 博士と共同研究が可能となり、彼らが使用している MoMLV 由来 MFGSgp91phox を用いた遺伝子治療臨床研究に実施計画書を変更することができた。なお、これらベクターの違いは、SFFVgp91 ベクターがそれ自体にがん原遺伝子をもつSFFV由来のベクターであり、MoMLVとの活性の違いが50~100倍程度強力であることである。全面的な実施計画書の変更の後、平成22年1月22日に当センターの遺伝子治療臨床研究審査委員会に提出し、複数回の審議の上、最終的には平成23年2月24日付で承認された。その後、審議は厚生労働省厚生科学審査会科学技術部会（作業部会）に移り、平成24年3月28日にて了承、そして、その結果を受

け平成24年6月14日付で厚生労働大臣により承認された。ただ、今回の遺伝子治療臨床研究で使用されるヒト末梢血由来 CD34 陽性細胞が、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」(平成22年厚生労働省告示380号)におけるヒト幹細胞にあたるもの疑義があり、ヒト幹細胞臨床研究審査委員会に対して疑義照会を行ったところ、平成24年10月18日付で「今回の遺伝子治療臨床研究における患者 CD34 陽性細胞はヒト幹細胞指針が定める幹細胞の対象とはならない」の回答を得、本遺伝子治療は実施可能となった。このように計画開始から丸7年の月日を経て、本遺伝子治療はようやくスタートラインに立った。しかし、この7年間で遺伝子治療の状況は大きく変わった。それは遺伝子治療が原発性免疫不全症のみならず、血液系疾患や神経性疾患などの遺伝性疾患に対しての有効性を長足に向上したことである。そして、この流れは米国遺伝子治療学会が NIH に対し、近いうちに遺伝子治療が適応となる疾患 Target 10 を提唱させるに至っている(そのうち遺伝性疾患は7つを占める)。さらには、近年、これら疾患に対して大手の製薬企業が参画しており、遺伝子治療が企業治験(clinical trial)ベースとして行われている。一方、我が国では遺伝子治療に対する製薬企業等の関心は低く、いまだ遺伝子治療が、一大学等が行う臨床研究(clinical research)ベースで行われているに過ぎず、その発展性、継続性を考えたとき暗澹たる気持ちにならざるを得ない。そして、このようなシステムの違いを理解しない限り、今後の我が国の遺伝子治療の発展はないと言っても過言ではない。例えば、欧州では一括して臨床用ウイルスベクターを製造する機関があり、米国では染色体挿入部位ベクターを使用した場合、その挿入部位を無償で網羅的に解析してくれる機関がある。このように、これら遺伝子治療を含めた臨床研究は単に一つの技術

開発により急速な進歩を遂げるのではなく、それら技術革新を包括的に支える体制が必須であり、それを誰が、如何に、構築することが最大の課題であり、今後、本遺伝子治療の実施にあたってはその発展性を考慮していきながら研究を進めていくことが肝要であると思われる。

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、前臨床研究として、1) モデルマウス等用いた CGD 病態解明、2) 新規ベクターの構築、3) 新規インスレーター機能解析、4) 次世代シーケンサーを用いた挿入部位の網羅的解析、臨床研究として、1) CGD の病態解析、2) 遺伝性疾患に対する遺伝子診断の倫理性の検討、3) 遺伝子治療のための環境整備、4) 遺伝子治療のデータ管理体制の構築等を行った。同時に海外の遺伝子治療の現状調査し、日本の問題点を整理した。

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

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究発表

研究成果刊行に関する一覧表参照

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

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表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻	ページ	出版年
Lin HT, <u>Otsu M</u> , Nakauchi H	Stem cell therapy: an exercise in patience and prudence.	Philos Trans R Soc Lon B Biol Sci	368	20110334	2013
Yamada A, Moritake H, Shimonodan H, Yokogami K, Takeshima H, Marutsuka K, <u>Nunoi H</u>	Efficacy of Temozolomide in a Central Nervous System Relapse of Neuroblastoma With O 6 -Methylguanine Methyltransferase (MGMT) Promoter Methylation.	J Pediatr Hematol Oncol	35	e38-41	2013
Moritake H, Kamimura S, Kojima H, Shimonodan H, Harada M, Sugimoto T, Nao-I N, <u>Nunoi H</u>	Cytomegalovirus retinitis as an adverse immunological effect of pulses of vincristine and dexamethasone in maintenance therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia.	Pediatr Blood Cancer	60	329-331	2013
Uchibori R, Tsukahara T, Mizuguchi H, Saga Y, Urabe M, Mizukami H, <u>Kume A</u> , Ozawa K	NF- κ B activity regulates mesenchymal stem cell accumulation at tumor sites.	Cancer Res	73	364-372	2013
小須賀基通、 <u>奥山虎之</u>	酵素補充療法	小児科診療	76	145-150	2013
Kawano Y, Nakae J, Watanabe N, Fujisaka S, Iskandar K, Sekioka R, Hayashi Y, Tobe K, Kasuga M, Noda T, Yoshimura A, <u>Onodera M</u> , Itoh H	Loss of PDK1-Foxo1 signaling in myeloid cells predisposes to adipose tissue inflammation and insulin resistance.	Diabetes	61	1935-1948	2012
堀内清華、石黒 精、中川 智子、庄司健介、永井 章、新井勝大、堀川玲子、河合利尚、渡辺信之、 <u>小野寺雅史</u>	甲状腺機能低下症と1型糖尿病に難治性下痢症を合併し、Foxp低下を認めたIPEX症候群の女児例	Jpn J Clin Immunol	35	526-532	2012
Imagawa T, Takei S, Umebayashi H, Yamaguchi K, Itoh Y, <u>Kawai T</u> , et al	Efficacy, Pharmacokinetics, and Safety of Adalimumab in Pediatric Patients with Juvenile Idiopathic Arthritis in Japan.	Clin Rheumatol	31	1713-1721	2012
Kawai T, Nishikomori R, Izawa K, Murata Y, Tanaka N, Sakai H, Saito M, Yasumi T, … <u>Nunoi H</u> , Kiyohara Y, Yoden A, Murata T, Sasaki S, Ito E, Akutagawa H, <u>Kawai T</u> , et al	Frequent somatic mosaicism of NEMO in T cells of patients with X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia with immunodeficiency.	Blood	119	5458-5466	2012
河合利尚	慢性肉芽腫症と他の食細胞機能異常症	小児内科	44	242-243	2012

Tanaka A, <u>Okuyama T</u> , Suzuki Y, Sakai N, Takakura H, Sawada T, Tanaka T, Otomo T, Ohashi T, Ishige-Wada M, Yab H, et al	Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: A nationwide survey in Japan.	Mol Genet Metab	107	513-520	2012
Sasaki T, Niizeki H, Shimizu A, Shiohama A, Hirakiyama A, <u>Okuyama T</u> , Seki A, Kabashima K, et al	Identification of mutations in the prostaglandin transporter gene SLCO2A1 and its phenotype-genotype correlation in Japanese patients with pachydermoperiostosis.	J Dermatol Sci	68	36-44	2012
Hwu WL, <u>Okuyama T</u> , But WM, Estrada S, Gu X, Hui J, Kosuga M, Lin SP, Ngu LH, Shi H, Tanaka A, et al	Current diagnosis and management of mucopolysaccharidosis VI in the Asia-Pacific region.	Mol Genet Metab	107	136-144.	2012
D'Aco K, Underhill L, Rangachari L, Arn P, Cox GF, Giugliani R, <u>Okuyama T</u> , Wijburg F, Kaplan P	Diagnosis and treatment trends in mucopolysaccharidosis I: findings from the MPS I Registry	Eur J Pediatr	171	911-919	2012
Yamada M, Okura Y, Suzuki Y, Fukumura S, Miyazaki T, Ikeda H, Takezaki S, Kawamura N, <u>Ariga T</u>	Somatic mosaicism in two unrelated patients with X-linked chronic granulomatous disease characterized by the presence of a small population of normal cells.	Gene	497	110-115	2012
Yamada M, Okura Y, Suzuki Y, Fukumura S, Miyazaki T, Ikeda H, Takezaki S, Kawamura N, <u>Ariga T</u>	Somatic mosaicism in two unrelated patients with X-linked chronic granulomatous disease characterized by the presence of a small population of normal cells.	Gene	497	110-115.	2012
Takezaki S, Yamada M, Kato M, Park M-j, Maruyama K, Yamazaki Y, Chida N, Ohara O, Kobayashi I, <u>Ariga T</u>	Chronic Mucocutaneous Candidiasis Caused by a Gain-of-Function Mutation in the STAT1 DNA-Binding Domain.	J Immunol	189	1521-1526	2012
Okura Y, Nawate M, Takahashi Y, Kobayashi I, Yamada M, <u>Ariga T</u>	Rheumatoid factor-positive synovitis in a patient with C3 deficiency.	Scand J Rheumatol	41	405-406	2012
Takezaki S, Okura Y, Ichikawa M, Suzuki D, Ohshima J, Kaneda M, Cho Y, Yamada M, Kawamura N, Iguchi A, Kobayashi I, <u>Ariga T</u>	Development of germinoma during the treatment of systemic-onset juvenile idiopathic arthritis with infliximab.	Modern Rheumatolog	22	621-624	2012
Cho Y, Iizuka S, Hatae Y, Kobayashi K, Hattori Y, Yamashiro Y, <u>Ariga T</u>	A 25-year Observation of a Japanese Female Patient with Hb Nottingham Having Two Babies with the Same Disorder.	Hemoglobin	36	446-455	2012

Sato T, Okumura F, Iguchi A, <u>Ariga T</u> , Hatakeyama S	TRIM32 promotes retinoic acid receptor α -mediated differentiation in human promyelogenous leukemic cell line HL60.	Biochem Biophys Res Commun	417	594-600	2012
Sato T, Okumura F, <u>Ariga T</u> , Hatakeyama S	TRIM6 interacts with c-Myc and maintains pluripotency of mouse embryonal stem cells.	J Cell Sci	125	1544-1555	2012
Shibata M, Sato T, Nukiwa R, <u>Ariga T</u> , Hatakeyama S	TRIM45 negatively regulates NF- κ B-mediated transcription and suppresses cell proliferation.	Biochem Biophys Res Commun	423	104-109	2012
Nakaoka H, Kanegane H, Taneichi H, Miya K, Yang X, Nomura K, Takezaki S, Yamada M, Ohara O, Kamae C, Imai K, Nonoyama S, Wada T, Yachie A, Hershfield MS, <u>Ariga T</u> , Miyawaki T	Delayed onset adenosine deaminase deficiency associated with acute disseminated encephalomyelitis.	Int J Hematol	95	692-696	2012
Kanegane H, Taneichi T, Nomura K, Wada T, Yachie A, Imai K, <u>Ariga T</u> , Santisteban I, Hershfield MS, Miyawaki T	Successful bone marrow transplantation with reduced intensity conditioning in a patient with delayed-onset adenosine deaminase deficiency.	Pediatr Transplant	17	E29-E32	2012
<u>Ariga T</u>	Wiskott-Aldrich syndrome; an X-linked primary immunodeficiency disease with unique and characteristic features.	Allergology Int	61	183-189	2012
Yamada M, Okura Y, Suzuki Y, Fukumura S, Miyazaki T, Ikeda H, Takezaki S, Kawamura N, <u>Ariga T</u>	Somatic mosaicism in two unrelated patients with X-linked chronic granulomatous disease characterized by the presence of a small population of normal cells.	Gene	497	110-115.	2012
Takezaki S, Yamada M, Kato M, Park M-j, Maruyama K, Yamazaki Y, Chida N, Ohara O, Kobayashi I, <u>Ariga T</u>	Chronic Mucocutaneous Candidiasis Caused by a Gain-of-Function Mutation in the STAT1 DNA-Binding Domain.	J Immunol	189	1521-1526	2012
Oshima K, Nagase T, Imai K, Nonoyama S, Obara M, Mizukami T, <u>Nunoi H</u> , Kanegane H, Kuribayashi F, Amemiya S, Ohara O	A Dual Reporter Splicing Assay Using HaloTag-containing Proteins.	Curr Chem Genomics	6	27-37	2012
Matsunaga T, Yamashita K, Kubuki Y, Toyama T, Imataki O, Maeda K, Kawano N, Satou S, Kawano H, Ishizaki J, ... <u>Nunoi H</u> , et al	Acute myeloid leukemia in clinical practice: a retrospective population-based cohort study in Miyazaki Prefecture, Japan. Int J	Hematol	96	342-349	2012

Hosoki K, Fujisawa T, Hashiguchi A, Nagao M, Hiraguchi Y, Tokuda R, Nakano T, <u>Nunoi H</u> , Ihara T	Aberrant cytokine responses to influenza A virus in a child with severe influenza A infections.	Allergol Int	61	507-509	2012
Nakamura H, Fang J, Mizukami T, <u>Nunoi H</u> , Maeda H	PEGylated D-amino acid oxidase restores bactericidal activity of neutrophils in chronic granulomatous disease via hypochlorite.	Exp Biol Med	237	703-708	2012
Moritake H, Yamada A, Kimoto Y, Sawa D, Shimonodan H, <u>Nunoi H</u>	Acute megakaryoblastic leukemia and severe pulmonary fibrosis in a child with Down syndrome: successful treatment with ultra low-dose cytarabine using GATA1 mutation to monitor minimal residual disease.	Am J Hematol.	87	447-450	2012
Arai T, Oh-ishi T, Yamamoto H, <u>Nunoi H</u> , Kamizono J, Uehara M, Kubota T, Sakurai T, Kizaki T, Ohno H	Copy number variations due to large genomic deletion in X-linked chronic granulomatous disease.	PLoS One	7	e27782	2012
Moritake H, Hidaka F, Kamimura S, Kojima H, Shimonodan H, <u>Nunoi H</u>	Concomitant transient erythroblastopenia of childhood with neonatal hepatitis.	Pediatr Int	54	147-150	2012
Mizukami T, Obara M, Nishikomori R, Kawai T, Tahara Y, Sameshima N, Marutsuka K, Nakase H, Kimura N, Heike T, <u>Nunoi H</u>	Successful treatment with infliximab for inflammatory colitis in a patient with X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia with immunodeficiency.	J Clin Immunol	32	39-49	2012
中原 彰彦, 布井 博幸	クローズアップ感染症（感染症治療の進歩）急性脳症と臓器障害 インフルエンザ脳症を中心に	小児内科	44	1104-1108	2012
布井 博幸	インフルエンザ脳症 アポトーシスを伴う多臓器不全	LiSA	19 別冊'12	92-100	2012
Moritake H, Hidaka F, Kamimura S, Kojima H, Shimonodan H, <u>Nunoi H</u>	Concomitant transient erythroblastopenia of childhood with neonatal hepatitis.	Pediatr Int	54	147-150	2012
Mizukami T, Obara M, Nishikomori R, Kawai T, Tahara Y, Sameshima N, Marutsuka K, Nakase H, Kimura N, Heike T, <u>Nunoi H</u>	Successful Treatment with Infliximab for Inflammatory Colitis in a Patient with X-linked Anhidrotic Ectodermal Dysplasia with Immunodeficiency.	J Clin Immunol	32	39-49	2012
Ogura M, Urabe M, Akimoto T, Onishi A, Ito T, Tsukahara T, Mizukami H, <u>Kume A</u> , Muto S, Kusano E, Ozawa K	Interleukin-10 expression induced by adeno-associated virus vector suppresses proteinuria in Zucker obese rats.	Gene Ther	19	476-482	2012

Yagi H, Sanechika S, Ichinose H, Sumi-Ichinose C, Mizukami H, Urabe M, Ozawa K, <u>Kume A</u>	Recovery of neurogenic amine in phenylketonuria mice after liver-targeted gene therapy.	NeuroReport	23	30-34	2012
Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Kakuta S, Iwakura Y, Takayama N, Ooehara J, <u>Otsu M</u> , et al	In vivo imaging visualizes discoid platelet aggregations without endothelium disruption and implicates contribution of inflammatory cytokine and integrin signaling.	Blood	119	e45	2012
Nakanishi M, <u>Otsu M</u>	Development of Sendai Virus Vectors and Their Potential Applications in Gene Therapy and Regenerative Medicine.	Current Gene Therapy	12	410	2012
Kumano K, Arai S, Hosoi M, Taoka K, Takayama N, <u>Otsu M</u> , et al	Generation of induced pluripotent stem cells from primary chronic myelogenous leukemia patient samples.	Blood	119	6234	2012
Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, ··· <u>Otsu M</u> , et al	In vivo imaging visualizes discoid platelet aggregations without endothelium disruption and implicates contribution of inflammatory cytokine and integrin signaling.	Blood	119	45-56	2012
Hasegawa D, Manabe A, Ohara A, Kikuchi A, Koh K, Kiyokawa N, <u>Fukushima T</u> , Ishida Y, Saito T, Hanada R, Tsuchida M; Tokyo Children's Cancer Study Group	The utility of performing the initial lumbar puncture on day 8 in remission induction therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: TCCSG L99-15 study.	Pediatr Blood Cancer	58	23-30	2012
Fukushima H, <u>Fukushima T</u> , Hiraki A, Suzuki R, MahmoudSS, Yoshimi A, Nakao T, et al	A case report: Central nervous system lesions due to Juvenile myelomonocytic leukemia progressed in a boy undergoing first line chemotherapy.	Int J Hematol	95	581-584	2012
Namba T, Mochizuki H, Suzuki R, <u>Onodera M</u> , Yamaguchi M, Namiki H, Shioda S, Seki T	Time-lapse imaging reveals symmetric division of GFAP-expressing progenitors for expansion of postnatal dentate granule neurons.	PLoS ONE	6	25303	2011
Kawahara M, Chen J, Sogo T, Teng J, Otsu M, <u>Onodera M</u> , Nakauchi H, Ueda H, Nagamune T	Growth promotion of genetically modified hematopoietic progenitors using antibody/ c-Mpl chimera.	Cytokine	55	402-408	2011
Maeyama Y, Otsu M, Kubo S, Yamano T, Iimura Y, <u>Onodera M</u> , Kondo S, Sakiyama Y, <u>Ariga T</u>	Intracellular estrogen receptor-binding fragment associated antigen 9 exerts in vivo tumor promoting effects via its coiled-coil region.	Int J Oncology	39	41-49	2011

Fujisawa Y, Nabekura T, Kawachi Y, Otsuka F, <u>Onodera M</u>	Enforced ROR(γ)t expression in haematopoietic stem cells increases regulatory T cell number, which reduces immunoreactivity and attenuates hypersensitivity in vivo.	Asian Pac J Allergy Immunol	29	86-93	2011
Kunishima S, Kashiwagi H, Otsu M, Takayama N, Eto K, <u>Onodera M</u> , Miyajima Y, Takamatsu Y, Suzumiya J, Matsubara K, Tomiyama Y, S Hidehiko	Heterozygous <i>ITGA2B</i> R995W mutation inducing a constitutive activation of the α IIb β 3 receptor or affects proplatelet formation and causes congenital macrothrombocytopenia.	Blood	117	5479-5484	2011
Sugiyama H, Onuki K, Ishige K, Baba N, Ueda T, Matsuda S, Takeuchi K, <u>Onodera M</u> , Nakanuma Y, Yamato M, Yamamoto M, Hyodo I, Shoda J	Potent <i>In Vitro</i> and <i>In Vivo</i> Antitumor Activity of Sorafenib Against Human Intrahepatic Cholangiocarcinoma Cells.	J Gastroenterol	46	779-789	2011
<u>Kawai T</u> , Kusakabe H, Seki A, Kobayashi S, <u>Onodera M</u>	Osteomyelitis due to triethoprim/sulfamethoxazole-resistant <i>Edwardsiella tarda</i> infection in a patient with X-linked chronic granulomatous disease.	Infection	39	171-173	2011
Oda E, Tanaka T, Migita O, <u>Okuyama T</u> , et al	Newborn screening for Pompe disease in Japan.	Mol Genet Metab	104	560-565	2011
Shigeto S, Katafuchi T, Okada Y, <u>Okuyama T</u>	Improved assay for differential diagnosis between Pompe disease and acid α -glucosidase pseudodeficiency on dried blood spots.	Mol Genet Metab.	103	12-17	2011
Saito M, Nagasawa M, Takada H, Hara T, Tsuchiya S, Agematsu K, Yamada M, Kawamura N, <u>Ariga T</u> , 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	235-249	2011
Morio T, Atsuta Y, Tomizawa D, Nagamura-Inoue T, Kato K, <u>Ariga T</u> , Kawakawa K, Koike K, Tauchi H, Kajiwara M, Hara T, Kato S	for the Japanese Cord Blood Bank Network. Outcome of unrelated umbilical cord blood transplantation in 88 patients with primary immunodeficiency in Japan.	Br J Haematol	154	363-372	2011
Fujimoto S, Watts RA, Kobayashi S, Suzuki K, Jayne DR, Scott DG, Hashimoto H, <u>Nunoi H</u>	Comparison of the epidemiology of anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis between Japan and the U.K.	Rheumatology	50	1916-1920	2011
Kawachi S, Matsushita T, Sato T, <u>Nunoi H</u> , Noguchi H, Ota S, Kanemoto N, Nakatani K, Nishiguchi T, Yuge A, Imamura H, et al	Multicenter prospective evaluation of a novel rapid immunochromatographic diagnostic kit specifically detecting influenza A H1N1 2009 virus.	J Clin Virol	51	68-72	2011

Phung TT, Luong ST, Kawachi S, <u>Nunoi H</u> , Nguyen LT, Nakayama T, Suzuki K	Interleukin 12 and myeloperoxidase (MPO) in Vietnamese children with acute respiratory distress syndrome due to Avian influenza (H5N1) infection.	J Infect	62	104-106	2011
Moritake H, Shimonodan H, Marutsuka K, Kamimura S, Kojima H, <u>Nunoi H</u>	C-MYC rearrangement may induce an aggressive phenotype in anaplastic lymphoma kinase positive anaplastic large cell lymphoma: Identification of a novel fusion gene LO17/C-MYC.	Am J Hematol.	86	75-78	2011
Kikuchi Y, <u>Kume A</u> , Urabe M, Mizukami H, Suzuki T, Ozaki K, Nagai T, Ozawa K	Reciprocal upregulation of Notch signaling molecules in hematopoietic progenitor and mesenchymal stromal cells.	J Stem Cells and Regenerative Medicine	7	61-68	2011
Takahashi K, Saga Y, Mizukami H, Takei Y, Urabe M, <u>Kume A</u> , Suzuki M, Ozawa K	Development of a mouse model for lymph node metastasis with endometrial.	Cancer Science	102	2272-2277	2011
Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, ··· <u>Otsu M</u> , et al	Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia.	Nature	478	64-69	2011
Yokoi T, Kobayashi H, Shimada Y, ··· <u>Otsu M</u> , et al	Minimum requirement of donor cells to reduce the glycolipid storage following bone marrow transplantation in a murine model of Fabry disease.	J Gene Med	13	262-268	2011
Tozuka Y, Kumon M, Wada E, <u>Onodera M</u> , Mochizuki H, Wada K	Maternal obesity impairs hippocampal BDNF production and spatial learning performance in young mouse offspring.	Neurochem Int	57	235-247	2010
Hirata Y Hamanaka S, <u>Onodera M</u>	Transactivation of the dopamine receptor 3 gene by a single provirus integration results in development of B cell lymphoma in transgenic mice generated from retrovirally transduced embryonic stem cells.	Blood	115	3930-3938	2010
Miyamoto N, Tanaka R, Shimura H, Watanabe T, Mori H, <u>Onodera M</u> , Mochizuki H, Hattori N, Urabe T	Phosphodiesterase III inhibition promotes differentiation and survival of oligodendrocyte progenitors and enhances regeneration of ischemic white matter lesions in the adult mammalian brain.	J Cereb Blood Flow Metab	30	299-310	2010
Kobayashi H, Shimada Y, Ikegami M, <u>Kawai T</u> , Sakurai K, Urashima T, Ijima M, Fujiwara M, Kaneshiro K, Ohashi T, Eto Y, Ishigaki K, Osawa M, Kyosen SO, Ida H	Prognostic factors for the late onset Pompe disease with enzyme replacement therapy: From our experience of 4 cases including an autopsy case.	Mol Genet Metab	100	14-19	2010

Kato I, Umeda K, Awaya T, Yui Y, Niwa A, Fujino H, Matsubara H, Watanabe K, Heike T, Adachi N, Endo F, Mizukami T, <u>Nunoi H</u> , Nakahata T, Adachi S	Successful treatment of refractory donor lymphocyte infusion-induced immune-mediated pancytopenia with rituximab.	Pediatr Blood Cancer	54	329-331	2010
Roos D, Kuhns DB, Maddalena A, Roesler J, Lopez JA, <u>Ariga T</u> , Avcin T, de Boer M, Bustamante J, Condino-Neto A, et al	Hematologically important mutations: X-linked chronic granulomatous disease (third update).	Blood Cells Mol Dis	45	246-265	2010
Muramatsu S, Fujimoto K, Kato S, Mizukami H, Asari S, Ikeguchi K, Kawakami T, Urabe M, <u>Kume A</u> , Sato T, Watanabe E, Ozawa K, Nakano I	A phase I study of aromatic L-amino acid decarboxylase gene therapy for Parkinson's disease.	Mol Ther	18	1731-1735	2010
Takayama N, Nishimura S, Nakamura S, Shimizu T, Ohnishi R, Endo H, Yamaguchi T, <u>Otsu M</u> , Nishimura K, et al	Transient activation of c-MYC expression is critical for efficient platelet generation from human induced pluripotent stem cells.	J Exp Med	207	2817	2010
Hayashi Y, Chan T, Warashina M, Fukuda M, Ariizumi T, Okabayashi K, Takayama N, <u>Otsu M</u> , Eto K, Furue MK, Michiue T, Ohnuma K, Nakauchi H, Asashima M	Reduction of N-glycolylneuraminic acid in human induced pluripotent stem cells generated or cultured under feeder- and serum-free defined conditions.	PLoS One	5	e14099	2010
Kaneko S, <u>Otsu M</u> , Nakauchi H	Reprogramming adult hematopoietic cells.	Curr Opin Hematol	17	271	2010
Ogawa S, Sanada M, Shih LY, Suzuki T, <u>Otsu M</u> , Nakauchi H, Koeffler HP	Gain-of-function c-CBL mutations associated with uniparental disomy of 11q in myeloid neoplasms.	Cell Cycle	9	1051	2010
Ogawa S, Shih LY, Suzuki T, <u>Otsu M</u>	Deregulated intracellular signaling by mutated c-CBL in myeloid neoplasms.	Clin Cancer Res	16	3825	2010

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
小須賀基通、奥山虎之	ムコ多糖症	五十嵐隆	小児疾患の診断基準	東京医学社	東京	2012	168-169
大津 真、中内啓光	ES/iPS細胞技術と造血幹細胞移植		日本臨床	日本臨床社	大阪	2012	146
有賀 正	原発性食細胞機能不全症	門脇孝、永井良三	内科学	西村書店	東京	2012	1329-1332
有賀 正、大倉有可	補体欠損症	原寿朗	小児の発熱 A to Z	診断と治療社	東京	2012	191-197
久米 晃啓	サラセミアに対する造血幹細胞遺伝子治療の臨床研究	高久史麿、小澤敬也、坂田洋一、金倉譲、小島勢二	Annual Review 血液 2012	中外医学社	東京	2012	80-86
大津 真	夢の万能細胞iPS細胞の臨床応用への道-遺伝病を中心に-		小児内科	東京医学社	東京	2012	1697
有賀 正	免疫不全症候群	五十嵐 隆	「発熱の診かたと対応」小児科臨床ピクシス	中山書店	東京	2011	190-193
有賀 正	全身に見られる症候易感染症、	山口徹、北原光夫、福井次矢	今日の治療指針	医学書院	東京	2011	1196-1197
久米晃啓	造血幹細胞遺伝子治療後のLMO2、EVI1の活性化	高久史麿、小澤敬也、坂田洋一、金倉譲、小島勢二	Annual Review 血液 2011	中外医学社	東京	2011	40-47
有賀 正	全身に見られる症候易感染症	金澤一郎、永井良三	今日の診断指針第六版	医学書院	東京	2010	67-70
大澤光次郎、大津 真、岩間厚志	幹細胞の分化誘導と臨床応用、組織幹細胞、造血幹細胞と再生医療	中辻憲夫、中内啓光監修	実験医学	羊土社	東京	2010	247

Ⅲ. 資 料

大

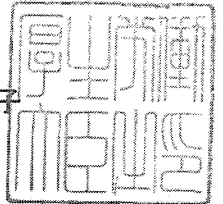
厚生労働省発科 0614 第3号

平成 24 年 6 月 14 日

国立成育医療研究センター

総長 五十嵐 隆 殿

厚生労働大臣 小宮山 洋子



遺伝子治療臨床研究実施計画について

平成 23 年 9 月 29 日付けで申請のあった下記の臨床研究については、実施して差し支えない。

なお、臨床研究の中止、終了等に伴う厚生労働大臣への報告については、遺伝子治療臨床研究に関する指針及び関係通知の定めるところによるほか、定期的に中間報告書を提出するようお願いする。

記

課 題 名 : 慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞を標的とした遺伝子治療臨床研究

総括責任者 : 小野寺雅史 (国立成育医療研究センター研究所 成育遺伝研究部長)