

心の注意を払って実施した。

C. 研究結果

胎生8週のアウエルバッハ神経叢内にはすでに神経節細胞とグリア細胞が分化しており、腸管壁の発達は、腸間膜側から対側に向かって神経叢内の神経細胞や固有筋層が分化・成熟していくことが分かった。また、アウエルバッハ神経叢内の神経節細胞数とグリア細胞数の比率は出生直前までは1:1だが、その後年齢と共に神経節細胞の比率が低下（グリア細胞の比率が増加）しており、神経節細胞が成熟過程においてアポトーシスを起こしていることが示唆された。それぞれの細胞を同定するために有用な抗体としては神経節細胞にはHuC/D抗体、Phox2b抗体、グリア細胞にはSox10抗体、Sox2抗体が最も良好な染色性を有していた。これらに加えて、既に知られているCajal細胞を同定するCD117抗体、固有筋層を同定するSMA抗体を組み合わせることで同一組織内での二重ないし三重免疫組織化学染色が可能であることが分かった。また、Phox2b抗体は未熟な神経節細胞に優位な染色性を示す一方、tyrpsine hydroxylase (TH)抗体は成熟した神経節細胞に優位な染色性を示した。

D. 考察

腸管壁内神経細胞が存在するにもかかわらず腸管蠕動不全を来たすHD類縁疾患の診断や分類に関して、いまだ一定のコンセンサスが得られていない。これはHD類縁疾患の希少性だけでなく、HD類縁疾患の病理学的診断はH.E染色やAChE染色による形態学的検討が主であり、診断の精度や再現性

に問題があることが理由としてあげられる。近年、新たなアプローチとして免疫組織化学染色によるHD類縁疾患の病理学的診断・分類の試みが報告されるようになったが、HD類縁疾患の定義に利用されるまでには至っていない。また、HD類縁疾患の診断の対照となる年齢に応じた正常腸管神経叢の評価基準・方法が未確立であることも診断の難しさを助長していると思われる。

今回我々は、HD類縁疾患の免疫組織化学染色による病理学的検討を行うにあたり、胎児期から成人期にかけての正常回腸を用いて、腸管神経叢の経時的変化と、腸管蠕動に必要な要素である神経叢内の神経節細胞やグリア細胞、固有筋層、Cajal細胞について、それぞれの細胞を同定するために適切な抗体を選別した。さらに、HD類縁疾患に対する免疫組織化学染色による診断法の確立を目指して、個々の症例についての検討を試みた。神経節細胞の同定にはHuC/D抗体、Phox2b抗体、グリア細胞にはSox10抗体、Sox2抗体Cajal細胞にはCD117抗体、固有筋層にはSMA抗体が、それぞれ適した抗体であると考えられた。これらの新たな染色方法をHD病類縁疾患に応用することで、腸管組織内の神経節、Cajal細胞、固有筋層をより精密に同定し、分布異常を明確にすることが可能と考えられた。

神経節細胞の未熟性の評価については、BCL-2抗体による免疫組織化学染色が有用との検討結果があるが、染色強度の判定が困難で、更なる検討が必要と考えられた。Phox2b、THについても未熟性のマーカーとしての有用性を検討していく予定である。

また、病理診断ガイドラインの策定にあたっては、腸管神経叢の発達を考慮した生

検部位の検討が必要と考えられた。

E. 結論

HD 類縁疾患の病理診断ガイドラインの策定にあたり、腸管神経叢の神経節細胞およびグリア細胞、固有筋層、Cajal 細胞の評価に適切な抗体を選定した。胎児期から成人までの正常腸管神経叢の発達について、免疫組織化学染色により、評価を試みた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Matsuoka K, Hayashi S, Urano F, Lihua J. Zhu, Okita H, Sato H, Nakazawa A. Squamous metaplasia in the cyst epithelium of type 1 congenital pulmonary airway malformation after thoracoamniotic shunt placement. Human Pathology 2012;43:1413-1417

2. 学会発表

1. 畑中 政博, 中野 夏子, 羽賀 千都子, 大喜 多肇, 松岡 健太郎, 中澤 温子. 胎児期から成人期にかけての腸管神経叢神経節細胞の病理学的検討. 第32回日本小児病理研究会 2012月9月8日, 大阪

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)
分担研究報告書

胎児診断例の検討

研究分担者 月森 清巳 福岡市立こども病院 産科科長
左合 治彦 国立成育医療研究センター 周産期センター長

研究要旨

【研究目的】先天性胆道閉鎖を含む新生児胆汁うっ滞症候群、乳幼児巨大肝血管腫、腹部リンパ管腫における胎児診断・治療の実態を把握するために、これら疾患の胎児診断・治療に関する先行研究の文献レビューを行った。

【研究方法】医学文献データベース MEDLINE を用いて文献を検索し、胎児診断に用いた検査法と検査所見、胎児治療の有無と治療内容・治療効果、児の予後についてこれまでの研究成果を整理した。

【研究結果】胆道閉鎖症、先天性胆道拡張症、肝血管腫、腹部リンパ管腫においては胎児超音波検査により胎児診断できた例が数多く報告されていた。胎児治療については、肝血管腫のために心不全に進行した胎児に対して副腎皮質ステロイドを投与し、奏功した報告例があった。児の予後については、肝血管腫と後腹膜リンパ管腫では人工妊娠中絶を含めた胎児死亡の報告例があり、周産期死亡は各々26% (7/27 例)、57% (4/7 例) であった。胎児超音波検査所見と児の生命予後との関連について検討すると、肝血管腫では腫瘍の大きさ (5cm 以上) と AV shunt の存在、後腹膜リンパ管腫では臀部・下肢への腫瘍の浸潤が生命予後不良の因子であった。

【結論】胆道閉鎖症、先天性胆道拡張症、肝血管腫、腹部リンパ管腫における胎児診断、胎児治療に関するこれまでの研究成果を整理した。これらの疾患の胎児診断例は数多く報告されており、また胎児肝血管腫と後腹膜リンパ管腫では周産期死亡の頻度が高いことから、胎児治療を含めた周産期の治療指針の基盤となる情報を集積し、胎児期から成人までシームレスな診療が提供できるような診断・治療のガイドラインの作成が急務であると考えられた。

研究協力者

住江 正大 (国立成育医療研究センター 医員)

A. 研究目的

先天性胆道閉鎖を含む新生児胆汁うっ滞症候群、乳幼児巨大肝血管腫、腹部リンパ管腫における胎児診断・治療の実態を把握するために、これら疾患の胎児診断・治療に関する先行研究の文献レビューを行った。

B. 研究方法

胆道閉鎖症、先天性胆道拡張症、肝血管腫、腹部リンパ管腫における胎児診断と胎児治療例について医学文献データベース MEDLINE を用いて検索した。検索した文献とそれらのなかで引用されている文献を参照して、胎児診断に用いた検査法・検査所見と診断時期、胎児治療の有無と治療内容・治療効果、児の予後についてこれまでの研究成果を整理した。

(倫理面への配慮)

本年度の研究は文献レビューのため、倫理的な問題はない。

C. 研究結果

1. 胆道閉鎖症、先天性胆道拡張症

胆道閉鎖症および先天性胆道拡張症における胎児診断については欧文でそれぞれ 23 例 (type I と IIIId) と 14 例 (type I) の報告例があった。最も早いものは妊娠 13 週に診断されていた。胎児超音波検査では胆道閉鎖症と先天性胆道拡張症はともに肝門部の嚢胞状腫瘍 (嚢腫) が特徴的所見であるが、胎児期に両者の鑑別は困難であると報告されている。

これまで報告されている胎児診断例を参照して、胎児胆道閉鎖症と先天性胆道拡張症における嚢腫の最大径と経時的な変化について検討すると、胆道拡張症では胆道閉鎖症と比較して嚢腫のサイズが大きく (2~3cm 以上)、妊娠週数が進行するに伴い増大する特徴があった (表 1)。

2. 肝血管腫

肝血管腫の胎児診断については欧文で 27 例の報告例があった。胎児肝血管腫の診断には胎児超音波ドプラ法による血管抵抗の低い血流の検出が有用であるという報告があり、最も早いものは妊娠 16 週に診断されていた。

児の予後に関わる重篤な合併症として胎児心不全による胎児水腫が 33% (9/27 例)、Kasabach-Merritt 症候群 (消費性凝固障害) が 22% (6/27 例) に認められた。周産期死亡は 26% (7/27 例) であった。

胎児肝血管腫における胎児超音波所見 (腫瘍内エコー輝度、腫瘍サイズ、腫瘍内血流) と児の予後 (胎児水腫、Kasabach-Merritt 症候群、周産期死亡) との関連について検討すると、腫瘍サイズが 5cm 径以上あるいは AV shunt を認めるものは予後が不良であった (表 2)。

肝血管腫に対する胎児治療としては、肝血管腫のために心不全に進行した胎児への副腎皮質ステロイド投与が 3 例 (経母体投与 2 例、臍帯静脈内・羊水腔内投与 1 例) 報告されていた。

このうち 2 例 (経母体投与 1 例、臍帯静脈内・羊水腔内投与 1 例) は血管腫の縮小と心不全の改善を認めた。また、肝血管腫による Kasabach-Merritt 症候群を合併した胎児に臍帯静脈内へ血小板を輸血し、血小板減少の改善を認めた症例が報告されていた。

3. 腹部リンパ管腫

腹部リンパ管腫の胎児診断は欧文で 13 例の報告例があった。胎児腹部リンパ管腫の超音波所見は腹部の多発性嚢胞状腫瘍を特徴とするが、腫瘍の存在部位の診断には胎児 MRI 検査が有用であるという報告があった。

胎児後腹膜リンパ管腫では 86% (6/7 例) に臀部・下肢に腫瘍の浸潤をきたし、57% (4/7 例) は予後不良と判断され人工妊娠中絶が行われていた。

D. 考察

胆道閉鎖症、先天性胆道拡張症、肝血管腫、腹部リンパ管腫における胎児診断、胎児治療に関するこれまでの研究成果を整理した。

これら疾患の胎児診断については胎児超音波検査により診断できた例が数多く報告されている。胎児超音波検査における特徴的な所見としては、胆道閉鎖症と先天性胆道拡張症はともに肝門部の嚢胞状腫瘍 (嚢腫)、胎児肝血管腫では血管抵抗の低い血流を有する肝腫瘍、腹部リンパ管腫では腹部の多発性嚢胞状腫瘍であった。胎児期に胆道閉鎖症と先天性胆道拡張症とを鑑別することは困難であるが、胆道拡張症では胆道閉鎖症と比較して嚢腫のサイズが大きく (2~3cm 以上)、経時的に増大する特徴があった。このことから胎児超音波検査における肝門部の嚢腫の大きさと経時的な変化を観察することによって胆道閉鎖症と先天性胆道拡張症とを胎児期に鑑別診断できる可能性が示唆された。

胎児治療については、肝血管腫のために心不全に進行した胎児に対して副腎皮質ステロイドを投与し、奏功した報告例があった。

一方、児の予後については、肝血管腫と後腹膜リンパ管腫では人工妊娠中絶を含めた胎児死亡の報告例があり、周産期死亡は各々 26% (7/27

例)、57% (4/7 例) であった。胎児超音波検査所見と児の生命予後との関連について検討すると、肝血管腫では腫瘍の大きさ (5cm 以上) と AV shunt の存在、後腹膜リンパ管腫では臀部・下肢への腫瘍の浸潤が生命予後不良の因子であった。

このように胎児肝血管腫と後腹膜リンパ管腫では周産期死亡の頻度が高いことから、胎児治療を含めた周産期の治療指針の基盤となる情報を集積することが急務であると考えられた。

現在、胆道閉鎖症と先天性胆道拡張症、肝血管腫、腹部リンパ管腫における胎児診断・治療に関する症例調査票の作成に取り組んでいる。症例調査票では、出生前診断できた週数、胎児画像所見を中心とした出生前診断の方法と検査所見、胎児治療の有無とその内容、妊娠経過、出生後の検査所見、生命予後、短期・長期合併症などを調査項目として選定した (表 3)。調査票ができ次第、全国調査を実施する予定である。

E. 結論

胆道閉鎖症、先天性胆道拡張症、肝血管腫、腹部リンパ管腫における胎児診断、胎児治療に関するこれまでの研究成果を整理した。これらの疾患の胎児診断例は数多く報告されており、また胎児肝血管腫と後腹膜リンパ管腫では周産期死亡の頻度が高いことから、胎児治療を含めた周産期の治療指針の基盤となる情報を集積し、胎児期から成人までシームレスな診療が提供できるような、診断・治療のガイドラインの作成が急務であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miyazaki O, Nishimura G, Sago H, Horiuchi T, Hayashi S, Kosaki R. Prenatal diagnosis of fetal skeletal dysplasia with 3D CT. *Pediatr Radiol* 42(7):842-852, 2012
- 2) Ishii K, Murakoshi T, Sago H. Adverse outcome in monozygotic twins with selective intrauterine fetal growth

restriction in the presence of abnormal umbilical artery Doppler and severe oligohydramnios. *J Obstet Gynaecol Res* 38(10):1271, 2012

- 3) Takahashi Y, Kawabata I, Sumie M, Nakata M, Ishii K, Murakoshi T, Katsuragi S, Ikeda T, Saito M, Kawamoto H, Hayashi S, Sago H. Thoracoamniotic shunting for fetal pleural effusions using a double-basket shunt. *Prenat Diagn* 8:1-6, 2012
- 4) Egawa M, Hayashi S, Yang L, Sakamoto N, Sago H. Chorioamniotic membrane separation after fetoscopic laser surgery for twin-twin transfusion syndrome. *Prenat Diagn* 33(1):89-94, 2013
- 5) Morokuma S, Fukushima K, Otera Y, Yumoto Y, Tsukimori K, Ochiai M, Hara T, Wake N. Ultrasound evaluation of fetal brain dysfunction based on behavioral patterns. *Brain Dev* 35(1):61-67, 2013
- 6) Tsukimori K, Hamasaki Y, Morihana E, Fusazaki N, Fujita Y, Takahata Y, Oda S, Kado H: Aortic Regurgitation Associated With Critical Aortic Stenosis in a Fetus. *Pediatr Cardiol*. 2013 in press
- 7) Sato M, Tsukimori K, Fujita Y, Morihana E, Fusazaki N, Takahata Y, Kado H. Prenatal Diagnosis of Coarctation of the Aorta Using Four-dimensional Fetal Echocardiography with Power Doppler and Spatiotemporal Image Correlation. *J Ultrasound Med*. 2013 in press
- 8) Tsukimori K, Fujita Y, Morihana E, Fusazaki N. Prenatal images of left hemitruncus in tetralogy of Fallot with an absent pulmonary valve.

2. 学会発表

- 1) 鈴木 朋, 高橋 健, 今野 秀洋, 上出 泰山, 青木 宏明, 上田 英梨子, 江川 真希子, 佐々木 愛子, 杉林 里佳, 住江 正大, 左合 治彦. 胎児鏡下胎盤吻合血管凝固術後の術後早期分娩における術前予測因子の検討. 第 48 回日本周産期・新生児医学会学術集会. 平成 24 年年 7 月, 埼玉
- 2) 杉林 里佳, 田沼 有希子, 岡田 朋美, 鈴木 朋, 今野 秀洋, 小川 浩平, 上田 英梨子, 江川 真希子, 住江 正大, 北川 道弘, 名取 道也, 左合 治彦. 双胎間輸血症候群に対し胎児鏡下胎盤吻合血管レーザー凝固術を受けた児の心構造異常に関する検討. 第 48 回日本周産期・新生児医学会学術集会. 平成 24 年年 7 月, 埼玉
- 3) 三好 潤一, 前野 泰樹, 左合 治彦, 稲村 昇, 川滝 元良, 堀米 仁志, 与田 仁志, 竹田津 未生, 生水 真紀夫, 上田 恵子, 桂木 真司, 池田 智明. 胎児徐脈性不整脈に対する胎児治療効果についての検討 (胎児徐脈の胎児治療に関する現状調査 2002-2008 より). 第 48 回日本周産期・新生児医学会学術集会. 平成 24 年 7 月, 埼玉
- 4) 今野 秀洋, 杉林 里佳, 上田 英梨子, 青木 宏明, 江川 真希子, 佐々木 愛子, 住江 正大, 渡辺 典芳, 名取 道也, 左合 治彦. 双胎間輸血症候群、胎児鏡下レーザー手術術後に臍帯相互巻絡発症例の検討. 第 48 回日本周産期・新生児医学会学術集会. 平成 24 年 7 月, 埼玉
- 5) 井上 毅信, 伊藤 裕司, 兼重 昌夫, 花井 彩江, 和田 友香, 高橋 重裕, 藤永 英志, 塚本 桂子, 中村 知夫, 左合 治彦. TTTS に対して FLP を施行するも早産となった症例の臨床像の検討. 第 57 回日本未熟児新生児学会学術集会. 平成 24 年 11 月, 熊本

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

表 1 胎児胆道閉鎖症と胆道拡張症における嚢腫の最大径と経時的な変化

	嚢腫の最大径(mm)				嚢腫の経時的な変化			
	<20	20-30	>30	計	増大	不変	縮小	計
胆道閉鎖症	15 (63)	5 (21)	4 (16)	24 (100)	2 (10)	17 (80)	2 (10)	21 (100)
type I	4 (36)	3 (28)	4 (36)	11 (46)	2 (29)	5 (71)	0 (0)	7 (33)
type III d	11 (85)	2 (15)	0 (0)	13 (54)	0 (0)	12 (86)	2 (14)	14 (67)
胆道拡張症	2 (15)	3 (23)	8 (62)	13(100)	7 (70)	3 (30)	0(10)	10 (100)

データは症例数 (%) で示す。

表 2 胎児肝血管腫における超音波所見と児の予後との関連

合併症	計	腫瘍内エコー輝度			腫瘍サイズ (cm)			腫瘍内血流		
		hypoechoic	hyperechoic	mixed	<1	1-5	>5	増加	AV シャント	血流なし
	27 (100)	7 (28)	7 (28)	11 (44)	4 (18)	11 (50)	7 (32)	9 (41)	8 (36)	5 (23)
胎児水腫	9 (33)	3 (43)	2 (29)	3 (27)	1 (25)	3 (27)	2 (29)	2 (22)	5 (63)	0 (0)
Kasabach-Merritt 症候群	6 (22)	3 (43)	1 (14)	2 (18)	1 (25)	1 (9)	3 (43)	1 (11)	4 (50)	1 (20)
周産期死亡	7 (26)	0 (0)	2 (29)	5 (45)	1 (25)	3 (27)	2 (29)	2 (22)	3 (38)	1 (20)

データは症例数 (%) で示す。

表 3 胎児診断例の全国調査項目

大項目	中項目	小項目
出生前の情報	出生前診断	最初に診断された週数、分娩予定日
	母体情報	年齢(診断時)、単胎または多胎、妊娠分娩歴、不妊治療の有無
	初回診断時 超音波検査	超音波検査実施日、腫瘍の性状、腫瘍最大径(cm)、腫瘍内血流 腫瘍の進展、胎児水腫の有無、児頭大横径、推定体重
	胎児MRI検査	MRI検査実施日、腫瘍の性状、腫瘍最大径(cm)、腫瘍内血流 腫瘍の進展、超音波と比較して有用だった点
	最終 超音波検査	超音波検査実施日、腫瘍の性状、腫瘍最大径(cm)、腫瘍内血流 腫瘍の進展、胎児水腫の有無、児頭大横径、推定体重
	胎児診断された合併奇形	合併奇形の有無とその内容
	母体合併症状	合併症状の有無とその内容
	胎児治療	胎児治療の有無とその内容、実施日
	胎児死亡	人工妊娠中絶の有無、子宮内胎児死亡の有無、剖検の有無
分娩時の情報	分娩のための他施設への 搬送	他施設への搬送の有無
	分娩時の状況	出生日時、性別、出生体重、分娩方法、分娩時母体合併症の有無
	新生児の状況	Apgar Score 1分、5分、皮下浮腫の有無、他の合併奇形の有無 人工呼吸管理の必要性、新生児蘇生の有無
	出生直後の血液検査	Hb、血小板数、pH、Base Excess、Lactate、T-bil、D-bil
児の情報	生後搬送の有無	生後に他施設への搬送の有無
	出生後の超音波検査	超音波検査実施日、腫瘍の性状、腫瘍最大径(cm)、腫瘍内血流 腫瘍の進展
	出生後のMRI検査	MRI検査実施日、腫瘍の性状、腫瘍最大径(cm)、腫瘍内血流 腫瘍の進展
	出生後のCT検査	CT検査実施日、撮影方法、腫瘍の性状、腫瘍最大径(cm)、腫瘍内血流、 腫瘍の進展
	予後	最終診断、手術の有無、転帰、退院時後障害の有無

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)
分担研究報告書

「疾患特異的 iPS 細胞を用いた疾患解析と新規治療法開発の可能性」に関する研究

研究分担者 中畑 龍俊 京都大学 iPS 細胞研究所 副所長・特定拠点教授

研究要旨

Hirschsprung 病や Hirschsprung 病類縁疾患は、小児期からの消化器系の希少難治性疾患群であり、その原因については不明な点が多い。本分担研究においては、疾患の原因解明を目的として疾患特異的 iPS 細胞を樹立し、疾患解析を行った。

具体的には、Hirschsprung 病患者末梢血より疾患特異的 iPS 細胞を樹立し、樹立した iPS 細胞を神経堤細胞へと分化誘導し、増殖能・遊走能・分化能の評価を行った。本研究により Hirschsprung 病や Hirschsprung 病類縁疾患の病態像が明らかになり、新規治療法の開発につながれば、患者や家族に福音をもたらすのみならず、医学研究領域に本邦発の大きなインパクトを与えることが期待される。

研究協力者

桐野 浩輔 (京都大学 iPS 細胞研究所)

腸管神経系の発生異常が原因として考えられている。

A. 研究目的

Hirschsprung 病および Hirschsprung 病類縁疾患は、ともに小児期より腸管蠕動不全をきたす疾患である。Hirschsprung 病は、胎生期における腸管神経系の発生異常によって生じ、腸管神経系細胞の前駆細胞である神経堤細胞の機能異常が主な疾患原因と考えられている。疾患の解析において、モデルマウスにおける表現型がヒトでの表現型と異なること・胎生期にのみ存在するヒト神経堤細胞を実験材料として入手困難であることなどから、ヒトにおける研究は進んでいない。Hirschsprung 病類縁疾患は、その希少性により原因を含めた疾患概念に関するコンセンサスが十分に得られていないが、一部では Hirschsprung 病と類似した

近年、疾患特異的 iPS 細胞を用いることで、多くの疾患で発生段階における細胞機能異常を再現することが可能となった。本分担研究は、京都大学 iPS 細胞研究所・臨床応用研究部門を中心として行っており、疾患特異的 iPS 細胞を用いた疾患解析により Hirschsprung 病および Hirschsprung 病類縁疾患の病態解明を目指し、これらの難病に対する新規治療法を開発を行うことを目的としている。

B. 研究方法

1) Hirschsprung 病家族例 (父および娘、娘の方がより重症) と非罹患家族 (母) よりインフォームドコンセントを得て末梢血を採取し、一部よりゲノム DNA を抽出した。このゲノム DNA を用いてエキソームシーケ

ンス解析を行っている。

2) 1)で採取した末梢血より、Lymphoprepを用いて単核球を得た。それぞれに Oct3/4, Sox2, Klf4, L-Myc, Lin28, shp53 の6つの遺伝子をエピソーマルベクターで導入し、iPS細胞の樹立を行った。

3) 樹立した iPS 細胞を、TGF-β 阻害剤を含む無血清培地を用いて背側神経上皮細胞へと分化誘導し、既知の神経堤表面マーカーである CD271 陽性・CD49d 陽性の神経堤細胞を FACS (fluorescence activated cell sorting) により分離した。

4) 疾患特異的 iPS 細胞および健常コントロール iPS 細胞より分化誘導した神経堤細胞の網羅的遺伝子発現解析を行っている (マイクロアレイ)。また神経堤細胞の増殖能や遊走能、神経堤細胞から神経細胞やグリア細胞への分化能を現在解析している。

(倫理面への配慮)

すべての資料は書面にてインフォームドコンセントを得て収集された資料である。本研究の研究対象資料は、九州大学病院および京都大学の臨床研究・遺伝子解析研究に関する倫理委員会の承認を得て開始された。

(倫理面への配慮)

本研究における病理診断は、関連法規を遵守し、倫理委員会の承認を経た上で、検体提供者への人権擁護、個人情報保護に細心の注意を払って実施した。

C. 研究結果

1) 患者2名(70-HSR, 71-HSR)および非罹患家族1名(72-NOR)の末梢血よりゲノム DNA

を抽出し、エキソームシーケンス解析を現在行っている。

2) 同時に、採取した末梢血より分離した単核球から iPS 細胞を樹立し (図 1)、それぞれ 10 クローンずつ pick up して凍結保存した。樹立した iPS 細胞については、未分化マーカーである Tra1-81, SSEA4, Nanog を発現していること、導入された遺伝子

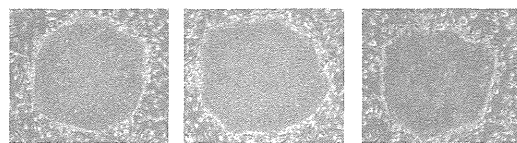
(transgene) の発現解析を行い各 transgene が silencing されていることを確認した。

3) 樹立した iPS 細胞を TGF-β 阻害剤を含む無血清培地を用いて 7 日間分化誘導した。分化開始 7 日目に、ほとんどの細胞は神経堤細胞を含む背側神経上皮細胞へと分化した。フローサイトメトリーを用いて解析すると、神経堤細胞マーカーである CD271 陽性・CD49d 陽性の細胞を認め、この細胞を FACS により分離することができた (図 2)。

分化効率 (CD271 陽性かつ CD49d 陽性細胞の割合) は疾患および健常人の間で差を認めなかった (図 3)。

4) 疾患特異的 iPS 細胞および健常コントロール iPS 細胞・ES 細胞それぞれより分化誘導した神経堤細胞の網羅的遺伝子発現解析を行っている。また、神経堤細胞の増殖能・遊走能・分化能の評価を現在行っている。

図 1. 樹立した iPS 細胞



70-HSR

72-NOR

図 2. 分化誘導し分離した神経堤細胞

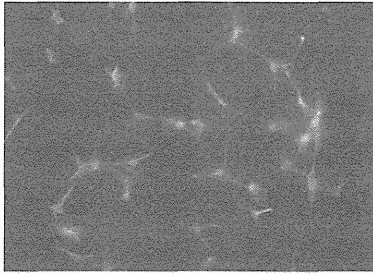
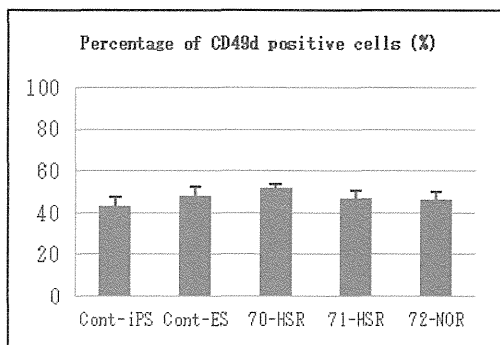


図 3. iPS 細胞から神経堤細胞への分化誘導効率



D. 考察

Hirschsprung 病および Hirschsprung 病類縁疾患の疾患特異的 iPS 細胞を用いて病態解明を目指し、これらの難病に対する新規治療法の開発を行うことを目的とした研究の 1 年目の研究を行った。

疾患原因に関し、先行する研究によりある程度の知見が集積している Hirschsprung 病をはじめに解析することとし、上記のように疾患特異的 iPS 細胞を樹立した。また、iPS 細胞より比較的短期間で神経堤細胞を分化誘導する方法を確立し、目的とする神経堤細胞を FACS を用いて濃縮して得ることが可能となった。

Hirschsprung 病はおもに腸管神経系細胞の前駆細胞である神経堤細胞の機能異常が疾患原因と考えられており、今後 iPS 細胞

由来神経堤細胞について詳細な機能解析を行うことで、疾患の原因や腸管神経系発生に関する新たな知見が得られるものと考えられる。今回は表現促進現象を有する家族例より細胞採取を行った（父より娘が重症）が、現在この 1 家族に関して遺伝子解析を網羅的に行っている。細胞機能解析と遺伝子解析を併せて評価することで、従来の家系解析や連鎖解析では解明することの出来なかった「遺伝型と表現型の相関」を明らかにすることが期待される。

E. 結論

本年度は本研究の目的遂行に向けた 1 年目としての研究を行う事ができ、また次年度の速やかな研究遂行のための準備を十分に行うことができた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Sakai H, Okafuji I, Nishikomori R, Abe J, Izawa K, Kambe N, Yasumi T, Nakahata T, Heike T. The CD40-CD40L axis and INF-g play critical roles in Langerhans giant cell formation. *Int. Immunol* 24(1):5-15, 2012
2. Izawa K, Hijikata A, Tanaka N, Kawai T, Saito M.K, Goldbach-Mansky R, Aksentijevich I, Yasumi T, Nakahata T, Heike T, Nishikomori R, OharaO. Detection of base substitution-type somatic mosaicism of the NLRP3 gene with >99.9% statistical confidence by massively parallel sequencing.

- DNA Res 19(2):143-152, 2012
3. Morishima T, Nomura A, Saida S, Watanabe K, Yagi H, Matsumoto M, Fujimura Y, Heike T, Nakahata T, Adachi S. Pediatric idiopathic TTP diagnosed with decreased ADAMTS13 activity. *Pediatr. Int* 54(3):422-3, 2012
 4. Tsuchiya A, Imai M, Kamimura H, Takamura M, Yamagiwa S, Sugiyama T, Nomoto M, Heike T, Nagasawa T, Nakahata T, Aoyagi Y. Increased susceptibility to severe chronic liver damage in CXCR4 conditional knock-out mice. *Dig. Dis. Sci.* 57(11):2892-2900, 2012. DOI 10.1007/s10620-012-2239-8, 2012.
 5. Hiejima E, Komatsu H, Takeda Y, Sogo T, Inui A, Okafuji I, Nishikomori R, Nakahata T, Fujisawa T. Acute liver failure in young children with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis without macrophage activation syndrome: Report of two cases. *J. Pediatr. Child Health* 48(3):E122-5, 2012
 6. Kawai T, Nishikomori R, Izawa K, Murata Y, Tanaka N, Sakai H, Saito M, Yasumi T, Takaoka Y, Nakahata T, Mizukami T, Nunoi H, Kiyohara Y, Yoden A, Mutara T, Sasaki S, Ito E, Akutagawa H, Kawai T, Imai C, Okada S, Kobayashi M, Heike T. Frequent somatic mosaicism of NEMO in T cells of patients with X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia and immunodeficiency. *Blood* 119(23):5458-66, 2012
 7. Tsumura M, Okada S, Sakai H, Yasunaga S, Ohtsubo M, Murata T, Obata H, Yasumi T, Kong X, Abhyankar A, Heike T, Nakahata T, Nishikomori R, Al-Muhsen S, Boisson-Dupuis S, Casanova J, AlZahrani M, Shehri MA, ElGhazali G, Takihara Y, Kobayashi M. Dominant-negative STAT1 SH2 domain mutations in unrelated patients with Mendelian susceptibility to mycobacterial disease. *Human Mutation* 33(9):1377-87, 2012 doi: 10.1002/humu.22113, 2012 Sep
 8. Kikuchi A, Hasegawa D, Ohtsuka Y, Hamamoto K, Kojima S, Okamura J, Nakahata T, Manabe A. Outcome of children with Refractory Anaemia with Excess of Blast (RAEB) and RAEB in Transformation (RAEB-T) in the Japanese MDS99 study. *Brit. J. Haematol.* 158(5):657-661, 2012. 06/2012; DOI:10.1111/j.1365-2141.2012.09210.x
 9. Tanaka T, Takahashi K, Yamane M, Tomida S, Nakamura S, Oshima K, Niwa A, Nishikomori R, Kambe N, Hara H, Mitsuyama M, Morone N, Heuse J.E, Yamamoto T, Watanabe A, Sato-Ohtsubo A, Ozawa S, Asaka I, Heike T, Yamanaka S, Nakahata T, Saito M.K. Induced pluripotent stem cells from CINCA syndrome patients as a model

- for dissecting somatic mosaicism and drug discovery. *Blood* 120(6):1299-308, 2012
10. Egawa N, Kitaoka S, Tsukita K, Naitoh M, Takahashi K, Yamamoto T, Adachi F, Kondo T, Okita K, Asaka I, Aoi T, Watanabe A, Yamada Y, Morizane A, Takahashi J, Ayaki T, Ito H, Yoshikawa K, Yamawaki S, Suzuki S, Watanabe D, Hioki H, Kaneko T, Makioka K, Okamoto K, Takuma H, Tamaoka A, Hasegawa K, Nonaka T, Hasegawa M, Kawata A, Yoshida M, Nakahata T, Takahashi R, Marchetto M.C, Gage F.H, Yamanaka S, Inoue H. Drug screening for ALS using patient-specific induced pluripotent stem cells. *Sci Transl Med* 1:4(145):145ra104, 2012
11. Kawai T, Saito M, Nishikomori R, Yasumi T, Izawa K, Murakami T, Okamoto N, Mori Y, Nakagawa N, Imai K, Nonoyama S, Wada T, Yatie A, Oomori K, Nakahata T, Heike T. Multiple reversions of an IL2RG mutation restore combined immunodeficiency patient. *J. Clin. Immunol* 32(4):690-7, 2012
12. Nakazawa Y, Saito S, Yanagisawa R, Suzuki T, Ito T, Ishida F, Muramatsu H, Matsumoto K, Kato K, Ishida H, Umeda K, Adachi S, Nakahata T, Koike K. Recipient seropositivity for adenovirus type 11 is highly predictive of the development of hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* in press
13. Kondo T, Asai M, Tsukita K, Kutoku Y, Ohsawa Y, Sunada Y, Imamura K, Egawa N, Yahata N, Okita K, Takahashi K, Asaka I, Aoi T, Watanabe A, Watanabe K, Kadoya C, Nakano R, Watanabe D, Maruyama K, Hori O, Hibino S, Choshi T, Nakahata T, Hioki H, Kaneko T, Naitoh M, Yoshikawa K, Yamawaki S, Suzuki S, Hata R, Ueno S, Seki T, Kobayashi K, Toda T, Murakami K, Irie K, Klein W.K, Mori H, Asada T, Takahashi R, Iwata N, Yamanaka S, Inoue H. Modeling Alzheimer's disease using iPSCs reveals stress phenotypes associated with intracellular A β and differential drug responsiveness. *Cell Stem Cell* in press.
14. Saida S, Watanabe K, Sato-Otsubo A, Terui K, Yoshida K, Okuno Y, Toki T, Wang RN, Shiraishi Y, Miyano S, Kato I, Morishima T, Fujino H, Umeda K, Hiramatsu H, Adachi S, Ito E, Ogawa S, Ito M, Nakahata T, Heike T. Clonal selection in xenografted TAM recapitulates the evolutionary process of myeloid leukemia in Down syndrome. *Blood* in press
15. 中畑 龍俊. 総論 再生医療の進歩 (II 再生医療の進歩). *小児科診療* (Vol.75 No.1) 57-63, 2012年1月 (特集 最先端医療の進歩—臓器移

植・再生医療・遺伝子治療)

16. 中畑 龍俊. 白血病治療の進歩と今後の展望. 日本小児血液・がん学会雑誌 第49巻1・2号, 2012
17. 中畑 龍俊、丹羽 明. 幹細胞増幅、第10章 内科疾患と再生医療、カラー版内科学、門脇孝、永井良三(総編集)、p447-450, 2012, 西村書店、東京
18. 斎藤 潤、中畑 龍俊. 疾患特異的 iPS 細胞. 再生医療 12(1):19-29, 2013

2. 学会発表

特別講演、招待講演、招請講演、教育講演

1. 中畑 龍俊. 特別講演、iPS 細胞研究の今、その可能性と将来展望. 第115回日本小児科学学術集会 平成24年4月20-22日, 福岡
2. 中畑 龍俊. 招待講演、iPS 細胞を用いたこれからの小児医療の可能性. 旭川小児科医会講演会 平成24年5月15日, 旭川
3. 中畑 龍俊. 招請講演、iPS 細胞研究の進展. 第59回日本臨床検査医学会学術集会 平成24年11月29日-12月2日, 京都
4. 中畑 龍俊. 教育講演、小児患者における iPS 細胞の応用. 第49回日本小児アレルギー学会 平成24年9月15-16日, 大阪

国際学会

5. Yanagimachi M, Niwa A, Tanaka T, Oshima K, Saito M Nakahata T. Differentiation of monocytic lineage cells from human iPS cells by using a serum and feeder free

culture method. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), June13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.

6. Niwa A, Saito M, Oshima K, Yanagimachi M, Tanaka T, Kato I, Nakahata T. Human ESC/IPSC-Derived mesenchymal stroma can support hematopoietic progenitors. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), Jun13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
7. Morishima T, Watanabe K, Niwa A, Tanaka T, Saida S, Kato I, Umeda K, Hiramatsu H, Matsubara K, Adachi S, Nakahata T, Heike T. Induced pluripotent stem cell model of severe congenital neutropenia with HAX1 gene deficiency. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), Jun13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
8. Yokoyama K, Ikeya M, Nasu A, Tanaka T, Saito M, Umeda K, Nishikomori R, Nakahata T, Heike T, Toguchida J. Understanding the pathology of the arthropathy in chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome by using iPS cells technology. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), Jun13-16, 2012, Pacifico

- Yokohama, Yokohama, Japan.
9. Tanaka T, Saito MK, Takahashi K, Yamanaka S, Nakahata T. Induced pluripotent stem cells from CINCA syndrome patients as a model for dissecting somatic mosaicism and drug discovery. 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (ISSCR), Jun13-16, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
 10. Manabe A, Kikuchi A, Kojima S, Tsuchida M, Hayashi Y, Koike K, Ohara A, Ishii E, Komada Y, Nakahata T. Long-term follow-up of more than 545 children with myelodysplastic syndrome (MDS) and myeloproliferative neoplasms (MPN). VI International Symposium on Myelodysplastic Syndromes and Bone Marrow Failures in Childhood, Nov7-9, 2012, Prague
 11. Honda Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Kojima S, Ito M, Kikuchi A, Nakahata T, Manabe A. Clinic characteristics of 23 children with juvenile myelomonocytic leukemia who developed blast crisis: MDS Committee of LSPHO. VI International Symposium on Myelodysplastic Syndromes and Bone Marrow Failures in Childhood, Nov7-9, 2012, Prague
 12. Hasegawa D, Chen X-j, Hirabayashi S, Ishida Y, Watanabe S, Zaike Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Hama A, Kojima S, Ito M, Nakahata T, Manabe A. Treatment outcome of 67 cases with refractory cytopenia of childhood (RCC): A Prospective Registration Through The Japanese Society of Pediatric Hematology/Oncology (JSPHO). VI International Symposium on Myelodysplastic Syndromes and Bone Marrow Failures in Childhood, Nov7-9, 2012, Prague
 13. Tomizawa D, Tawa A, Watanabe T, Saito A.M, Kudo K, Taga T, Iwamoto S., Shimada A, Terui K, MD, Moritake H, Kinoshita A, Takahashi H, Nakayama H, Koh K, Kigasawa H, Kosaka Y, Miyachi H, Horibe K, Nakahata T, Adachi S. Excess reduction of anthracyclines results in inferior event-free survival in core binding factor acute myeloid leukemia in children; A report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG). 54th Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY of HEMATOLOGY, Dec8-11, 2012, Atlanta.
 14. Suzuki N, Hira A, Niwa A, Saito M, Matsuo K, Nakahata T, Takata M, Yabe M. Mesodermal development from reprogrammed Fanconi anemia cells is affected by ALDH2 enzymatic activity. 54th Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY of HEMATOLOGY, Dec8-11, 2012, Atlanta

15. Yagasaki H, Watanabe K, Kudo K, Tsuchida M, Shichino H, Morimoto A, Kobayashi R, Yabe H, Kikuchi A, Ohga S, Ito E, Ohara A, Nakahata N, Kojima S. Immunosuppressive therapy with antithymocyte globulin and Cyclosporine for fulminant aplastic anemia. 54th Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY of HEMATOLOGY, Dec8-11, 2012, Atlanta
16. Tomizawa D, Tawa A, Watanabe T, Saito A.M, Kudo K, Taga T, Iwamoto S, Shimada A, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Takahashi H, Nakayama H, Koh K, Kigasawa H, Kosaka Y, Miyachi H, Horibe K, Nakahata T, Adachi S. Appropriate dose modification in induction therapy is essential for the treatment of infants with acute myeloid leukemia; A report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG). 54th Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY of HEMATOLOGY, Dec8-11, 2012, Atlanta
17. Hasegawa D, Tawa A, Tomizawa D, Watanabe T, Saito A, Kudo K, Taga T, Iwamoto S, Shimada A, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Takahashi H, Nakayama H, Koh K, Kigasawa H, Kosaka Y, Miyachi H, Horibe K, Nakahata T, Adachi S. Attempts to optimize post-induction treatment in childhood acute myeloid leukemia without core binding factors: A report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG). 54th Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY of HEMATOLOGY, Dec8-11, 2012, Atlanta
- 国内学会（一般演題）
18. 中畑 龍俊. 疾患特異的 iPS 細胞を用いた難治性疾患の画期的診断・治療法の開発に関する研究. (重点研究成果発表) 平成 23 年度厚生労働省難治性疾患克服研究推進事業研究成果発表会「再生医療技術及び遺伝子治療技術の難治性疾患治療への応用」平成 24 年 1 月 14 日, 大阪
19. 井澤 和司、土方 敦司、西小森 隆太、小原 収、田中 尚子、河合 朋樹、八角 高裕、斎藤 潤、中畑 龍俊、平家俊男. 次世代シーケンサーによる NLRP3 体制モザイクの診断. 第 115 回日本小児科学会学術集会 平成 24 年 4 月 20-22 日, 福岡
20. 石田 宏之、今井 耕輔、本間 健一、田村 真一、今村 俊彦、斎藤 潤、大嶋 宏一、伊藤 雅文、中畑 龍俊、野々山 恵章. 白血球減少、骨髓異形成とリンパ浮腫を呈する GATA-2 異常. 第 115 回日本小児科学会学術集会 平成 24 年 4 月 20-22 日, 福岡
21. 川村 晃久、十河 孝浩、上辻 麻子、加藤 格、長谷川 浩二、戎家 美紀、西田 栄介、中畑 龍俊. 表面マーカーによる初期化成功予測因子の解析. 第 33 回日本炎症・再生医学会 平成 24 年 7 月 5-6 日, 福岡

22. 川村 晃久、十河 孝浩、尾野 亘、加藤 格、長谷川 浩二、中畑 龍俊. 初期化誘導過程で出現する心筋前駆様細胞を用いた安全かつ効率的な心筋再生療法の確立. 第33回日本炎症・再生医学会 平成24年7月5-6日, 福岡
23. 井澤 和司、西小森 隆太、吉岡 耕平、齋藤 潤、中畑 龍俊、平家 俊男. CINCA 症候群における NLRP3 体細胞モザイク変異. 第33回日本炎症・再生医学会 平成24年7月5-6日, 福岡
24. 本田 裕子、土田 昌宏、増永 敦子、吉見 礼美、小島 勢二、伊藤 雅文、菊池 陽、中畑 龍俊、真部 淳: 経過中に急性転化した JMML23 例の検討; MDS 委員会のデータベースから(口演) 第54回日本小児血液・がん学会学術集会 平成24年11月30-12月2日, 横浜
25. 才田 聡、渡邊 健一郎、佐藤 亜以子、照井 君典、吉田 健一、奥野 友介、土岐 力、王汝 南、白石 友一、宮野 悟、加藤 格、森嶋 達也、梅田 雄嗣、平松 英文、藤野 寿典、足立 壮一、丹羽 明、中畑 龍俊、伊藤 悦朗、小川 誠司、平家 俊男. NOG マウスを用いた TAM の病態解析(口演) 第54回日本小児血液・がん学会学術集会 平成24年11月30-12月2日, 横浜
26. Hasegawa D, Chen X-j, Hirabayashi S, Ishida Y, Watanabe S, Zaike Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Hama A, Kojima S, Ito M, Nakahata T, Manabe A. Treatment outcome of refractory cytopenia of childhood(RCC): A prospective registration through the Japanese Society of Pediatric Hematology/Oncology(JSPHO) between 1999 and 2008. (ワークショップ) 第54回日本小児血液・がん学会学術集会 平成24年11月30-12月2日, 横浜
27. Yagasaki H, Shichino H, Ohara A, Kudo K, Tsuchida M, Kobayashi R, Ito E, Watanabe K, Kikuchi A, Morimoto A, Yabe H, Ohga S, Nakahata T, Kojima S on behalf of Japanese Childhood Aplastic Anemia Study Group: Outcome of Immunosuppressive therapy in children with fulminant aplastic anemia. (ワークショップ) 第54回日本小児血液・がん学会学術集会 平成24年11月30-12月2日, 横浜
28. 柳町 昌克、丹羽 明、田中 孝之、村田 祐樹、八角 高裕、金澤 伸雄、平家 俊男、中畑 龍俊、齋藤 潤. iPS 細胞から単球・樹状細胞の分化誘導と疾患 iPS 細胞研究への応用. 第5回自己炎症疾患研究会 平成24年7月6日, 福岡
- その他、専門医、一般医等医療従事者への情報提供(シンポジウムの開催、講演等での発表)
29. 中畑 龍俊. 患者さんから樹立する iPS 細胞を用いた今後の小児医療. 第8回医学生・若手医師のための小児科診療最前線 平成24年6月23日 北野病院5F(きたのホール)

30. 中畑 龍俊. iPS 細胞を用いた今後の医療の可能性. 第 23 回小児科血液セミナー 平成 24 年 7 月 19 日, 広島
31. 中畑 龍俊. iPS 細胞を用いた今後の医療の可能性. 第 7 回信州肝胆膵外科先端医療研究会 平成 24 年 11 月 17 日, 松本
32. 中畑 龍俊. 患者さんから作成する iPS 細胞を用いた今後の医療. 第 6 回高知県血液・細胞治療研究会 平成 24 年 12 月 15 日, 高知

患者、家族、患者会や一般市民への情報提供（シンポジウムの開催、講演等での発表、マスコミでの発表など）

33. 中畑 龍俊. 小児の難治性血液疾患と iPS 細胞. 再生つばさの会大阪医療講演会／相談会 平成 24 年 3 月 10 日 エルおおさか（大阪府立労働センター）
34. 中畑 龍俊. 難治性血液疾患と iPS 細胞. 再生つばさの会（再生不良性貧血、骨髄異形成症候群、発作性夜間ヘモグロビン素尿症患者・家族の会）「横浜医療講演会」 平成 24 年 9 月 8 日 神奈川県総合薬事保健センター
35. 中畑 龍俊. iPS 細胞の今とこれから. 第一回市民公開講座「iPS 細胞こんにちは！～さい帯血は生命のお母さん～」 平成 24 年 11 月 29 日, 東京

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

Ⅲ. 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	巻号	ページ	出版年
Taguchi T, Nagata K, Kinoshita Y, Ieiri S, Tajiri T, Teshiba R, Esumi G, Karashima Y, Hoka S, Masumoto K	The utility of muscle sparing axillar skin crease incision for pediatric thoracic surgery	Pediatr Surg Int	28	239-244	2012
Ohkubo H, Nakajima A, et al	An epidemiologic survey of chronic intestinal pseudo-obstruction and evaluation of the newly proposed diagnostic criteria	Digestion	86	12-19	2012
長谷川 泰浩, 位田 忍, 窪田 昭男 他	Hirschsprung病類縁疾患に対するsynbioticsの投与経験	日本小児栄養消化器肝臓学会雑誌	26	54	2012
Uchida K, Otake K, Inoue M, Koike Y, Matsushita K, Araki T, Okita Y, Tanaka K, Uchida K, Yodoya N, Iwamoto S, Arai K, Kusunoki M	Chronic intestinal pseudo-obstruction due to lymphocytic intestinal leiomyositis: Case report and literature review	Intractable Rare Dis Res	1(1)	35-39	2012
Suzuki K, Kanamori Y, Sugiyama M, Komura M, Terawaki K, Kodaka T, Takahashi M, Fukami E, Iwanaka T	Plasma citrulline may be a good marker of intestinal functions in intestinal dysfunction	Pediatr Int	54	899-904	2012
Sumida W, Watanabe Y, Takasu H	Strategies for catheter-related blood stream infection based on medical course in children receiving parenteral nutrition	Pediatr Surg Int	28	21-25	2012
Arisue A, Shimojima N, Tomiya M, Shimizu T, Harada D, Nakayama M, Tomita H, Shinoda M, Tanabe M, Maruyama I, Mizuno M, Kuroda T, Wakabayashi G, Morikawa Y	Effect of an omega-3 lipid emulsion in reducing oxidative stress in a rat model of intestinal ischemia-reperfusion injury	Pediatr Surg Int	28	913-918	2012
Alatas FS, Hayashida M, Matsuura T, Saeki I, Yanagi Y, Taguchi T	Intracranial hemorrhage associated with vitamin K-deficiency bleeding in patients with biliary atresia: focus on long-term outcomes	J Pediatr Gastroenterol Nutr	54(4)	552-557	2012
Matsuura T, Kohashi K, Yanagi Y, Saeki I, Hayashida M, Aishima S, Oda Y, Taguchi T	A morphological study of the removed livers from patients receiving living donor liver transplantation for adult biliary atresia	Pediatr Surg Int	28(12)	1171-1175	2012
松井 陽	母子健康手帳に便色見本が掲載された意義	小児科臨床	65(8)	1778-1787	2012

Fuchimoto Y, Morikawa N, Kuroda T., Hirobe S, Kamagata S, Kumagai M, Matsuoka K, Morikawa Y	Vincristine, actinomycin D, cyclophosphamide chemotherapy resolves Kasabach-Merritt syndrome resistant to conventional therapies	Pediatr Int : official journal of the Japan Pediatric Society	54(2)	285-287	2012
藤野明浩	リンパ管腫（リンパ管奇形）の診断・治療戦略	PEPARS 71, 血管腫・血管奇形治療マニュアル	11	68-77	2012
Matsuoka K, Hayashi S, Uragami F, Lihua J. Zhu, Okita H, Sato H, Nakazawa A	Squamous metaplasia in the ciliated epithelium of type 1 congenital pulmonary airway malformation after thoracoamniotic shunt placement	Human Pathology	43	1413-1417	2012
Takahashi Y, Kawabata I, Sumie M, Nakata M, Ishii K, Murakoshi T, Katsuragi S, Ikeda T, Saito M, Kawamoto H, Hayashi S, Sago H	Thoracoamniotic shunting for fetal pleural effusions using a double-basket shunt.	Prenat Diagn	8	1-6	2012
Tsukimori K, Fujita Y, Morihana E, Fusazaki N	Prenatal images of left hemitruncus in tetralogy of Fallot with an absent pulmonary valve	Pediatr Cardiol.		in press	2013