

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：82612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08312

研究課題名(和文) 機能獲得型変異による原発性免疫不全症へのゲノム編集を用いた新規遺伝子治療の開発

研究課題名(英文) Genome editing-based gene therapy for primary immunodeficiency caused by dominant gain-of-function mutations.

研究代表者

内山 徹 (Uchiyama, Toru)

国立研究開発法人国立成育医療研究センター・成育遺伝研究部・室長

研究者番号：10436107

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：活性化PI3Kδ症候群(APDS)などの機能獲得型変異による疾患に対するゲノム編集では、変異アレルのみを編集する必要がある。APDSでは、PI3K/Aktシグナルの恒常活性化が起こることから、患者T細胞に対して、変異アレル特異的な認識とindel挿入による破壊を試みた。その結果、80%の細胞でindel挿入が認められ、さらにフレームシフトの誘導は70%であった。ゲノム編集を行った患者T細胞では、ゲノム編集前に比べてAktのリン酸下の低下が認められ、恒常活性化の改善が認められた。In vivoにおける解析のため、ヒトPIK3CD遺伝子変異に対応する変異を持つマウスの作製を行なっている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

レンチウイルスベクターを用いた遺伝子治療は多くの疾患でその有効性が認められ、造血細胞移植ドナーが不在の患者における有力な治療選択肢となりつつある。しかし、その原理は、変異遺伝子はそのままだ、染色体上に新たに治療遺伝子を組み込む「付加型遺伝子治療」であり、恒常活性化変異による疾患に対しては、変異遺伝子そのままとなることから、効果が期待できない。一方で、ゲノム編集技術は、変異遺伝子(変異アレル)のみを直接編集することが可能であり、さらに、活性化変異に対しては、変異アレルの修復ではなく、変異アレルの破壊のみでシグナルの異常活性化が期待でき、よりシンプルな遺伝子治療法の確立が可能である。

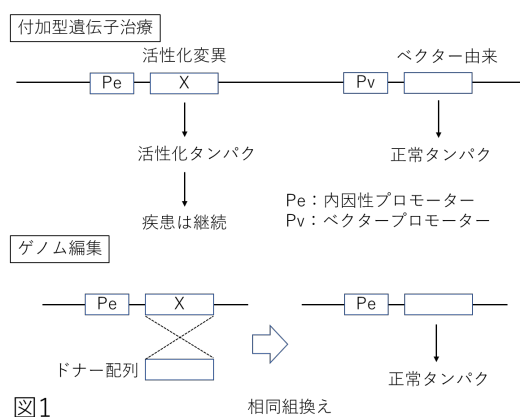
研究成果の概要(英文)：Gain of function mutations in the PIK3CD gene causes the activated PI3K delta syndrome (APDS). The patients show the constitutive activation of PI3K/Akt signaling, which causes the immunologic abnormalities, including lymphadenopathy and immunodeficiency. In a conventional gene-addition strategy using viral vectors, the mutant allele remains and may cause clinical symptoms. Therefore, we developed the genome editing system using Cas9 nuclease to destroy the mutant allele using an indel insertion. Cas9 transfer yielded the frameshift only in mutated allele due to indel at the level of 70% in the patient's cells. Loss of mutated allele caused the decrease in the phosphorylation of Akt, implying the improvement of constitutive activation in APDS cells. We are now developing the mice model for a long-term evaluation of the efficacy and the safety features.

研究分野：遺伝子細胞治療

キーワード：ゲノム編集 原発性免疫不全症 機能獲得型変異 遺伝子治療

1. 研究開始当初の背景

1990年代より始まった原発性免疫不全症 (primary immunodeficiency; PID) に対する造血幹細胞遺伝子治療は、現在レンチウイルスベクターが主流となり、多くの疾患で優れた効果が認められている。ウイルスベクターによる遺伝子治療は、変異遺伝子はそのままだに、染色体上に新たに正常 (治療) 遺伝子を組み込む“付加型”遺伝子治療であり、PID の多くが“機能喪失型変異”によるものであることから、十分な効果が期待できる。一方で、PID の中でも免疫調節異常症の一部の疾患は片アリの遺伝子の機能獲得変異により発症するが、従来の“付加型”遺伝子治療では、活性化した変異遺伝子そのままとなることから、効果が期待できなかった (図1)。2013年に報告された活性化 PI3K δ 症候群 (Activated PI3K δ syndrome: APDS) は、細胞増殖シグナルである PI3K/Akt/mTOR 経路の恒常的活性化から、分化の異常を伴う T 細胞の増殖と機能の低下、B 細胞のクラススイッチの異常を特徴とし、PI3 kinase のサブユニットである p110 δ (PIK3CD)の片アリの活性化 (機能獲得型) 変異によって起こる常染色体優性の疾患である。易感染性とリンパ増殖症状が時に致死性的となることから、根治として造血幹細胞移植が必要であるが、進行する臓器障害などから、移植関連合併症のリスクが決して低くはない (Okano T., Uchiyama T., et al. J Allergy Clin Immunol. 2018 doi: 10.1016/j.jaci.2018.04.032.)。遺伝子治療はこれらの合併症を克服する可能性を持つが、p110 δ の片アリの活性化型変異によることから、やはり従来の“付加型”遺伝子治療では難しい。近年 CRISPR/Cas9 などによるゲノム編集技術の発展によって、染色体上の任意の部位の直接編集ができるようになった (図1)。しかし、APDS のような機能獲得型変異による疾患では、正常アリルはそのままに変異アリルのみを標的とし、かつ高い効率で、変異遺伝子が残らないよう修復する戦略を立てる必要がある。



2. 研究の目的

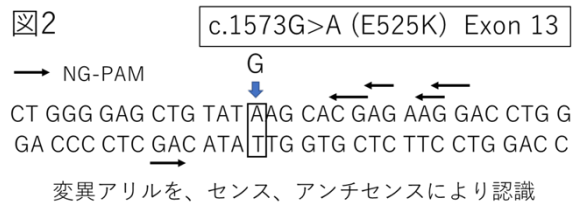
本開発の目的は、新型 Cas9 (Cas9-NG) を用いて、①変異アリルのみを認識し、かつ②高い効率で変異遺伝子の編集を実施することで、機能獲得変異による PID への造血幹細胞遺伝子治療の基礎的開発を行うことである。

(1) 変異アリルのみを認識

APDS では、片アリの p110 δ の活性化変異により発症する。一方で、ラパマイシンなどによる PI3K 経路全体の抑制はリンパ球の低下を引き起こすことから (Goto F, Uchiyama T, et al. J Clin Immunol. 37:347, 2017)、正常アリル由来の活性を残したまま、変異アリルのみを認識し、編集を行う必要がある。Cas9 システムでは、ガイド RNA (gRNA) のターゲットとなる DNA の PAM 配列から最初の 10-12 塩基が、gRNA のシード配列に厳密に認識される。そのため、変異部位をこの 12 塩基の中に配列させることで、変異アリルのみを特異的に認識できることになるが、従来の SpCas9 では gRNA の設計が NGG-PAM 配列に制限され、目的の DNA 領域に設計できない状況が少なくなかった。分担研究者の西増らが開発した新型 Cas9 では、PAM 配列が NG のみとなることから PAM 配列の制限が事実上無くなり、この 10-12 塩基の中にほぼ確実に変異部位を位置させることが可能である。

(2) indel による変異アレルの破壊の挿入

正常アレルからの p110δ の発現のみで細胞機能が維持できる場合、活性化を抑制するシンプルな方法は、変異遺伝子への indel 挿入による遺伝子の破壊である。Cas9 による DNA の切断では、修復時の非相同性末端結合 (non-homologous end joining: NHEJ) に伴って insertion/deletion (indel) が挿入される。この Indel の挿入により、遺伝子自体を破壊し活性を抑制する。Cas9-NG は最大で 50% 程度の indel 挿入が可能であることから、センス鎖のみではなくアンチセンス鎖からも変異部位を認識することで、DNA 切断と indel 挿入効率の上昇を試みる (図 2)。



本研究では、Cas9-NG を利用することで、変異アレルのみの認識と編集を行い、従来の遺伝子治療では対象とならなかった機能獲得変異による PID への遺伝子治療の確立を目指す。

3. 研究の方法

(1) SpCas9-NG によるゲノム編集法的设计・確立

ヒト p110δ (PIK3CD) の各変異を認識する gRNA を設計する。変異アレルのみの認識を行うために、NG-PAM 配列から 12 塩基の中に G>A 変異が位置するように、センス鎖、アンチセンス鎖に対して gRNA を設計する (図 2)。患者細胞に 2 種類の gRNA (センス鎖、アンチセンス鎖) と Cas9-NG を RNP (リボヌクレオタンパク) としてエレクトロポレーションで導入する。

(2) 患者細胞を用いた有効性の評価

APDS 患者から得られた CD3+T 細胞に対して Indel 挿入による変異アレルの破壊を実施し、PI3K/Akt/mTOR シグナルの変化を解析する。APDS 患者の T 細胞では Akt シグナルのリン酸化の亢進が認められることから、変異アレルの破壊後の細胞におけるリン酸化の低下を確認する。一方で、ゲノム編集後の細胞では、片方の正常アレルのみによるシグナル伝達となることから、シグナルの過度の抑制が引き起こされる可能性も否定できない。そのため、ゲノム編集後の細胞に対して、CD3/CD28 による T 細胞受容体 (TCR) 刺激による増殖能やサイトカイン産生能に関して解析を行う。

(3) マウスモデルの作製と治療に必要な編集効率の検討

近年 APDS のモデルマウスが報告され、ヒトにおける E1021K に相当する E1020K を導入し、APDS の病態が再現されることが分かった (Nature Immunol. 19:986, 2018)。患者 T 細胞による片アレルの破壊によるシグナルの正常化の確認後、造血幹細胞遺伝子治療の有効性を確かめるため、受精卵への CRISPR/Cas9 の導入により E1020K の変異を持つマウスを作製する。作製した APDS マウスの骨髄から造血幹細胞を分離し、患者細胞と Indel 挿入による編集を実施する。APDS マウスの骨髄 (陰性コントロール)、ゲノム編集後の骨髄、WT マウスの骨髄 (陽性コントロール) をレシピエントマウスに移植し、T 細胞、B 細胞の絶対数や分画異常、Akt の活性化亢進などの改善を解析、評価する。

4. 研究成果

(1) Cas9 の導入条件の検討

効率よく患者細胞に対するゲノム編集を実施する条件を決定するため、Cas9 の形態 (DNA、mRNA、タンパク) と導入量、ガイド RNA との比率に関して検証した。T 細胞における CD3 抗原の indel 挿入によるノックダウンを指標とし、その効率、細胞の生存率を比較検討し

た。その結果、タンパク>mRNA>DNAの順に高い生存率を認め、また最適化した Cas9 濃度、gRNA との比率で、90%以上の CD3 のノックダウンを達成した (図3)。上記により、患者細胞に対する Cas9 とガイド RNA の導入条件を決定した。

(2) APDS 患者 T 細胞に対するゲノム編集の実施

活性化 PI3Kδ 症候群の原因となる PIK 3 CD 遺伝子のホットスポット変異である E1021K を片アレルにもつ T 細胞株を樹立し、上記にて確立した Cas9 の導入方法を用いて、これらの細胞に対してゲノム編集を実施した。片アレルの機能獲得型変異によることから、変異アレルのみの破壊、もしくは修復を試みた。両方法とも切断効率の向上が重要であることから、複数のガイド RNA を設計し、各ガイド RNA における切断効率を、次世代シーケンサーを用いて解析した。その結果、最も効率の高い条件では、80%程度の indel 挿入が可能であり、indel 挿入によるフレームシフトの誘導は 70%であった (図4)。

(3) ゲノム編集による恒常活性化シグナルの抑制

APDS 患者では、PI3K/Akt シグナルの恒常活性化が起こることから、変異アレルの破壊によるシグナル伝達の正常化に関して、患者細胞を用いた解析を実施した。まず、ホットスポットである E525K および E1021K を持つ APDS 患者より T 細胞株を樹立した。これらの細胞株では、健康人由来 T 細胞株に比較し、Akt のリン酸化の亢進が認められた。次に、各変異に対して同様にゲノム編集を実施したところ、70-80%の効率で変異アレル特異的な indel 挿入が可能であった。これらの細胞における Akt のリン酸化を解析したところ、ゲノム編集前の患者 T 細胞に比べて、リン酸下の低下が認められた (図5)。

(4) APDS モデルマウスの作製

一方で、本来 2 copy 存在する PIK 3 CD の片アレルを破壊することから、haploinsufficiency による影響が出る可能性もある。In vivo における解析のため、ヒト PIK 3 CD 遺伝子変異に対応する変異を持つマウスの作製を行なっている (これまでのところ目的の変異を持つ個体を得られておらず、引き続き作製を行う。)

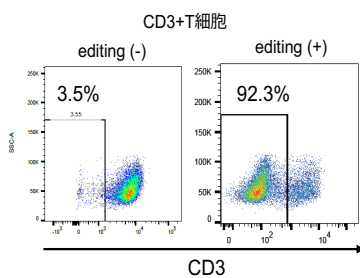


図3 Cas9導入条件の決定

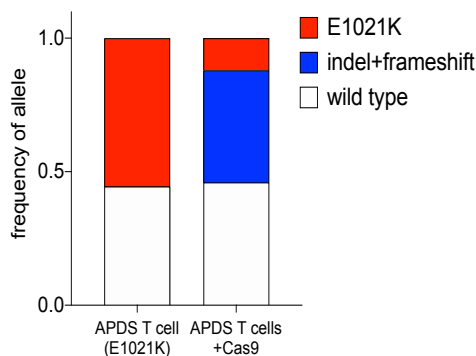
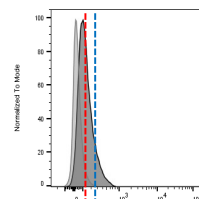
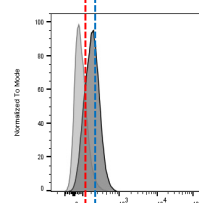


図4 indelによるフレームシフトの導入

健康コントロール



APDS患者 (E1021K)



APDS患者 (E1021K) + ゲノム編集

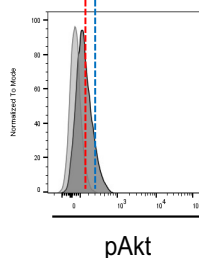


図5 ゲノム編集によるAktの恒常的リン酸化の改善

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 17件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Uchiyama Toru, Takahashi Sirirat, Nakabayashi Kazuhiko, Okamura Kohji, Edasawa Kaori, Yamada Masafumi, Watanabe Nobuyuki, Mochizuki Emi, Yasuda Toru, Miura Akane, Kato Motohiro, Tomizawa Daisuke, Otsu Makoto, Ariga Tadashi, Onodera Masafumi	4. 巻 23
2. 論文標題 Nonconditioned ADA-SCID gene therapy reveals ADA requirement in the hematopoietic system and clonal dominance of vector-marked clones	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Therapy - Methods & Clinical Development	6. 最初と最後の頁 424 ~ 433
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.omtm.2021.10.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shirai R, Osumi T, Terashima K, Kiyotani C, Uchiyama M, Tsujimoto S, Yoshida M, Yoshida K, Uchiyama T, Tomizawa D, Shioda Y, Sekiguchi M, Watanabe K, Keino D, Ueno H, Ohki K, Takita J, Ito S, Deguchi T, Kiyokawa N, Ogiwara H, Hishiki T, Ogawa S, Okita H, Matsumoto K, Yoshioka T, Kato M	4. 巻 28
2. 論文標題 High prevalence of SMARCB1 constitutional abnormalities including mosaicism in malignant rhabdoid tumors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 1124 ~ 1128
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41431-020-0614-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ushijima K., Okuno M., Ayabe T., Kikuchi N., Kawamura T., Urakami T., Yokota I., Amemiya S., Uchiyama T., Kikuchi T., Ogata T., Sugihara S., Fukami M., The Japanese Study Group of Insulin Therapy for Childhood and Adolescent Diabetes	4. 巻 37
2. 論文標題 Low prevalence of maternal microchimerism in peripheral blood of Japanese children with type 1 diabetes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diabetic Medicine	6. 最初と最後の頁 2131 ~ 2135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dme.14221	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Erina, Kobori Yoshitomo, Katsumi Momori, Ushijima Kikumi, Uchiyama Toru, Okada Hiroshi, Miyado Mami, Fukami Maki	4. 巻 19
2. 論文標題 Copy number analysis of Y linked loci in young men with non obstructive azoospermia: Implications for the rarity of early onset mosaic loss of chromosome Y	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Reproductive Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 178 ~ 181
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/rmb2.12321	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uchida Hajime, Sakamoto Seisuke, Shimizu Seiichi, Takeda Masahiro, Yanagi Yusuke, Fukuda Akinari, Uchiyama Toru, Irie Rie, Kasahara Mureo	4. 巻 18
2. 論文標題 Efficacy of Antithymocyte Globulin Treatment for Severe Centrilobular Injury Following Pediatric Liver Transplant: Clinical Significance of Monitoring Lymphocyte Subset	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Experimental and Clinical Transplantation	6. 最初と最後の頁 325 ~ 333
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.6002/ect.2019.0387	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Osumi T, Yoshimura S, Sako M, Uchiyama T, Ishikawa T, Kawai T, Inoue E, Takimoto T, Takeuchi I, Yamada M, Sakamoto K, Yoshida K, Kimura Y, Matsukawa Y, Matsumoto K, Imadome K, Arai K, Deguchi T, Imai K, Yuza Y, Matsumoto K, Onodera M, Kanegane H, Tomizawa D, Kato M	4. 巻 26
2. 論文標題 Prospective Study of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation with Post-Transplantation Cyclophosphamide and Antithymocyte Globulin from HLA-Mismatched Related Donors for Nonmalignant Diseases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biology of Blood and Marrow Transplantation	6. 最初と最後の頁 e286 ~ e291
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbmt.2020.08.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishikawa Takashi, Okai Masashi, Mochizuki Emi, Uchiyama Toru, Onodera Masafumi, Kawai Toshinao	4. 巻 -
2. 論文標題 Bacillus Calmette-Guérin (BCG) Infections at High Frequency in Both AR-CGD and X-CGD Patients Following BCG Vaccination	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cid/ciaa1049	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kanamaru Yuri, Uchiyama Toru, Kaname Tadashi, Yanagi Kumiko, Ohara Osamu, Kunishima Shinji, Ishiguro Akira	4. 巻 -
2. 論文標題 ETV6-related thrombocytopenia associated with a transient decrease in von Willebrand factor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Hematology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-021-03136-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishikawa Takashi, Tamura Eiichiro, Kasahara Mureo, Uchida Hajime, Higuchi Masataka, Kobayashi Hisato, Shimizu Hirotaka, Ogawa Eiki, Yotani Nobuyuki, Irie Rie, Kosaki Rika, Kosaki Kenjiro, Uchiyama Toru, Onodera Masafumi, Kawai Toshinao	4. 巻 -
2. 論文標題 Severe Liver Disorder Following Liver Transplantation in STING-Associated Vasculopathy with Onset in Infancy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10875-021-00977-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uchiyama Toru, Kawakami Saori, Masuda Hiroshi, Yoshida Kazue, Niizeki Hironori, Mochizuki Emi, Edasawa Kaori, Ishiguro Akira, Onodera Masafumi	4. 巻 41
2. 論文標題 A Distinct Feature of T Cell Subpopulations in a Patient with CHARGE Syndrome and Omenn Syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 233 ~ 237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10875-020-00875-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 11.Tsujimoto SI, Shirai R, Utano T, Osumi T, Matsumoto K, Shioda Y, Kiyotani C, Uchiyama T, Deguchi T, Terashima K, Tomizawa D, Matsumoto K, Kato M.	4. 巻 111
2. 論文標題 Comparison of clonazepam and levetiracetam in children for prevention of busulfan-induced seizure in hematopoietic stem cell transplantation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Hematol.	6. 最初と最後の頁 463-466
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-019-02795-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito T, Ito Y, Samura O, Aoki H, Uchiyama T, Okamoto A, Hata K	4. 巻 22
2. 論文標題 Direct assessment of a single-cell DNA using crudely purified live cells: a proof of concept for noninvasive prenatal definitive diagnosis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Mol Diagn.	6. 最初と最後の頁 132-140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmoldx.2019.10.006.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shirai R, Osumi T, Terashima K, Kiyotani C, Uchiyama M, Tsujimoto S, Yoshida M, Yoshida K, Uchiyama T, Tmizawa D, Shioda Y, Sekiguchi M, Watanabe K, Keino D, Ueno-Yokohata H, Ohki K, Takita J, Ito S, Deguchi T, Kiyokawa N, Ogiwara H, Hishiki T, Ogawa S, Okita H, Matsumoto K, Yoshioka T, Kato M.	4. 巻 Epub ahead of print
2. 論文標題 High prevalence of SMARCB1 constitutional abnormalities including mosaicism in malignant rhabdoid tumours.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Eur J Hum Genet.	6. 最初と最後の頁 N/A
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41431-020-0614-z.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ushijima K, Okuno M, Ayabe T, Kikuchi N, Kawamura T, Urakami T, Yokota I, Amemiya S, Uchiyama T, Kikuchi T, Ogata T, Sugihara S, Fukami M	4. 巻 Epub ahead of print
2. 論文標題 Low prevalence of maternal microchimerism in peripheral blood of Japanese children with type 1 diabetes.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Diabet Med.	6. 最初と最後の頁 N/A
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dme.14221.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsuchida M, Kirino Y, Soejima Y, Onodera M, Arai K, Tamura E, Ishikawa T, Kawai T, Uchiyama T, Nomura S, Kobayashi D, Taguri M, Mitsuhashi T, Takata A, Miyake N, Nakajima H, Miyake S, Matsumoto N	4. 巻 21
2. 論文標題 Haploinsufficiency of A20 caused by a novel nonsense variant or entire deletion of TNFAIP3 is clinically distinct from Behcet disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Arthritis Res Ther.	6. 最初と最後の頁 137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13075-019-1928-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Narumoto S, Sakamoto S, Sasaki K, Hirata Y, Fukuda A, Uchiyama T, Irie R, Yoshida T, Kasahara M.	4. 巻 23
2. 論文標題 ABO-incompatible liver transplantation for children under 2 years of age: A case report and a single-center review.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pediatr Transplant.	6. 最初と最後の頁 e13308.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/petr.13308	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Osumi T, Tomizawa D, Kawai T, Sako M, Inoue E, Takimoto T, Tamura E, Uchiyama T, Imadome K, Taniguchi M, Shirai R, Yoshida M, Ando R, Tsumura Y, Fuji H, Matsumoto K, Shioda Y, Kiyotani C, Terashima K, Onodera M, Matsumoto K, Kato M.	4. 巻 54
2. 論文標題 A prospective study of allogeneic transplantation from unrelated donors for chronic granulomatous disease with target busulfan-based reduced-intensity conditioning	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bone Marrow Transplant	6. 最初と最後の頁 168-172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41409-018-0271-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 8件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 内山徹
2. 発表標題 アデノシン・デアミナーゼ欠損症における酵素補充療法による免疫再構築の評価
3. 学会等名 第5回日本免疫不全・自己炎症学会総会・学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内山徹
2. 発表標題 新生児スクリーニングにて発見され、迅速に酵素補充療法を導入したアデノシン・デアミナーゼ欠損症の一例
3. 学会等名 第5回日本免疫不全・自己炎症学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Toru Uchiyama
2. 発表標題 Progress of gene therapy for primary immunodeficiency diseases.
3. 学会等名 第27回日本遺伝子細胞治療学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内山 徹
2. 発表標題 再生医療 -遺伝子治療と細胞治療-
3. 学会等名 第20回CRCと臨床試験のあり方を考える会議2020 in長崎 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 内山 徹
2. 発表標題 CAR-T細胞の体内動態と有効性、安全性の検討
3. 学会等名 第11回 国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Toru Uchiyama
2. 発表標題 Insertional Oncogenesis in X-CGD Patient after MFSGS Retroviral Vector-Mediated Gene Therapy.
3. 学会等名 22nd Annual meeting of American Society of Gene and Cell therapy. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Toru Uchiyama
2. 発表標題 Single cell-based vector tracing in patients with ADA-SCID treated with stem cell gene therapy.
3. 学会等名 2019 Cell Therapy Seminar (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内山 徹
2. 発表標題 Progress of gene therapy for primary immunodeficiency.
3. 学会等名 第25回 日本遺伝子細胞治療学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内山 徹
2. 発表標題 X連鎖慢性肉芽腫症へのレトロウイルスベクターによる遺伝子治療における発がん挿入変異の解析
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内山 徹
2. 発表標題 Progress of gene therapy for primary immunodeficiency diseases.
3. 学会等名 第10回 国際協力遺伝病遺伝子治療フォーラム 第10周年記念大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 内山 徹
2. 発表標題 レンチウイルスベクターの品質・安全管理
3. 学会等名 第20回医薬品等ウイルス安全性シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 内山 徹
2. 発表標題 Progress in the treatment of primary immunodeficiency -enzyme replacement therapy and gene therapy-
3. 学会等名 第3回日本免疫不全・自己炎症学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 北條 浩彦	4. 発行年 2022年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 301
3. 書名 リアルタイム・デジタルPCR実験スタンダード	

1. 著者名 小澤 敬也	4. 発行年 2020年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 240
3. 書名 いま、本格化する 遺伝子治療	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	西増 弘志 (Nishimasu Hiroshi) (00467044)	東京大学・先端科学技術研究センター・教授 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------