

厚生労働科学研究費補助金(ヒトゲノム・再生医療等研究事業)

**幹細胞と形態形成遺伝子を用いた
眼組織の再生と修復に関する研究**

(課題番号 H13—再生—001)

平成14年度 総括・分担報告書

平成15年(2003年)3月

**主任研究者 東 範 行
(国立成育医療センター眼科医長)**

目 次

I. 総括研究報告書

- 幹細胞と形態形成遺伝子を用いた眼組織の再生と修復に関する研究
東 範行 国立成育医療センター 眼科 1

II. 分担研究報告書

1. 眼内の各組織に特異的に遺伝子導入するためのベクターシステムの開発に関する研究
奥山 虎之 国立成育医療センター遺伝診療部 12
2. Cre/lox P系・アデノウイルスベクターを用いた Fas リガンド導入による
白色家兎水晶体吸引術後の水晶体上皮細胞増殖の抑制
根岸 一乃 慶應義塾大学眼科 15
3. cDNAアレーを用いた角膜創傷治癒における遺伝子発現の解析
田中 靖彦 国立病院東京医療センター 21
4. レンズ細胞特異的転写因子 MafA/L-Maf のヒトおよびマウス・ホモログ
片岡 浩介 東京工業大学フロンティア創造共同研究センター 23
5. 幹細胞から眼組織への分化に関する研究
仁科 博史 東京大学大学院薬学系研究科 25
6. 幹細胞からの網膜細胞の分化誘導に関する研究
渡邊 卓 杏林大学医学部臨床病理学教室 27
7. 眼の形態形成遺伝子 Pax6 を用いた網膜再生の研究
東 範行 国立成育医療センター 眼科 29

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 33

IV. 研究成果の刊行物、別刷 37

幹細胞と形態形成遺伝子を用いた眼組織の再生と修復に関する研究

(課題番号 H13-再生-001)

主任研究者 東 範行 国立成育医療センター眼科医長

研究要旨：形態形成遺伝子を幹細胞に導入することによって、眼の組織を再生、修復させ、失われた視覚を回復することを研究目的とした。複雑な構造をもつ眼の組織において Cre-loxP システムと組織特異的遺伝子のプロモーターを用いて、選択した組織に遺伝子を導入させる方法を開発した。これを用い、白内障手術後の水晶体細胞にアポトーシスを起こし、術後の細胞増殖を予防した。角膜においては創傷治癒に関係する遺伝子の検索を27,000遺伝子を含むヒトcDNAアレーを用いて行い、ヒト上皮細胞と実質細胞を共培養して上皮細胞の障害時における実質細胞の遺伝子発現レベルを解析した。水晶体においては、レンズ細胞特異的遺伝子発現を司る転写因子 MafA/L-Maf の発現と機能を解析した。網膜の再生研究では、眼形成関連の転写因子 PAX6 を薬剤の除去(Tet-off)によって誘導可能なマウス胚性幹(ES)細胞を樹立した。また、ラット網膜前駆細胞から網膜細胞へと分化誘導可能な培養系を用いて、細胞内シグナル伝達系である MAP キナーゼファミリーが、網膜前駆細胞の生存維持、水平細胞への分化誘導、アマクリン細胞の機能発現に関与する可能性を見出した。脳由来神経幹細胞の網膜内移植を行い、神経幹細胞への遺伝子導入を行い、マウス網膜細胞ペレット培養において、神経幹細胞、ES細胞、骨髄由来細胞などを用いた網膜の再生・再建治療の実験系を作成した。さらに、Pax6 の exon 5a をもつ isoform の機能を解析した。この isoform が発生期に網膜細胞が密に存在する後極部に強く発現すること、Pax6 を初期網膜に過剰導入すると網膜細胞の密度と分化が亢進するが exon 5a をもつ isoform の方がはるかに顕著であること、さらに、発生後期には異所性に錐体視細胞が形成されることを明らかにした。Pax6 の exon 5a をもつ isoform の方は、黄斑などの網膜の高度な視覚に関する構造の形成に関与していることが示唆され、網膜再生に用いるには exon 5a をもつ isoform の方が適切であると考えられた。

分担研究者

奥山 虎之 国立成育医療センター
遺伝診療科医長
片岡 浩介 東京工業大学フロンティア
創造共同研究センター研究員
根岸 一乃 慶應義塾大学眼科専任講師
田中 靖彦 国立病院東京医療センター院長
仁科 博史 東京大学大学院薬学系研究科
助教授
渡邊 卓 杏林大学医学部臨床病理学教室
教授

くつもの形態形成遺伝子が発見されるにおよび、その形成システムの解明は急速な展開を見せている。ことに、Pax6 は眼形成の master control 遺伝子であると考えられており、ショウジョウバエやアフリカツメガエルでは target expression によって異所性に眼を形成することができ、下等動物であれば眼全体を作るほど強力な機能をもっている。この遺伝子はヒトでも発生を通じて眼のほぼすべての組織に発現しており、疾患の遺伝子変異検索では先天無虹彩、前眼部形成異常、先天白内障、黄斑低形成、視神経形成異常などで Pax6 の変異が見つかっていることから、ヒトでも眼の形態形成で多彩な機能を担っていると考えられる。下等動物であれば Pax6 遺伝子だけで眼全体を作ることができるが、高等動物では困難である。しかし、網膜などの部分的な組織を作ることは期

A. 研究目的

視覚器の構造はきわめて複雑であるが、近年い

待でき、失われた視覚を回復する治療に通ずると考えられる。

眼の形態形成では、Pax6 を頂点として多くの遺伝子がカスケードを形成しているが、最近 Pax6 の下流で働く遺伝子 (Eya, SO, Dac 等) が発見され機能が解析されている。これらは Pax6 に次ぐ準 master control 遺伝子であると考えられ、これらを用いても組織を再生させることが期待される。さらに、最近 Pax6 の下流で水晶体形成を担う遺伝子 L-Maf が発見された。これらの形態形成遺伝子は、網膜や水晶体を含めて眼のさまざまな組織を再生させる鍵になると考えられる。

再生において、もう 1 つの重要な要素は幹細胞である。両生類では網膜色素上皮細胞から神経網膜と水晶体が再生されるので、網膜と虹彩毛様体色素上皮細胞が注目されている。我々が色素上皮細胞に Pax6 を導入して網膜を形成したことから、網膜再生においては色素上皮細胞が幹細胞として期待される。水晶体では、L-Maf を導入して幼若な皮膚を水晶体へ分化転換することができるが、白内障手術などで残存する水晶体上皮細胞も 1 つの候補である。

初年度は、角膜の修復に関しては、ムコ多糖症の混濁に対する遺伝子治療を行った。水晶体の再生に関して形成遺伝子 L-Maf のヒトとマウスのホモログを同定し、白内障術後の残存水晶体上皮細胞に幹細胞としての可能性があるかを検討した。また、網膜の再生では、網膜特異遺伝子の同定、転写因子の発現誘導や細胞の増殖・分化に関わる細胞内シグナルの働き、脳由来神経幹細胞あるいは網膜色素上皮細胞からの神経網膜分化、誘導に関する研究を行った。

本年度は、Cre-loxP システムと組織特異的遺伝子のプロモーターを用いて、複雑な構造をもつ眼の組織において選択した組織に遺伝子を導入させる方法を開発した。これを用いて白内障術後の水晶体細胞増殖予防を行った。角膜においては創傷治療に関係する遺伝子の検索をヒト cDNA アレーを用いて行った。水晶体においては、レンズ細胞に特異的な転写因子 MafA/L-Maf の発現と機能を解析した。網膜では、眼形成転写因子 PAX6 を薬剤の除去 (Tet-off) によって誘導可能なマウス胚性幹 (ES) 細胞を樹立し、MAP キナーゼファミリーの機能を検討し、これらを用いる網膜細胞ペレット培養法を作成した。さらに、Pax6 の exon 5a をもつ isoform の機能を解析した。

B. 研究方法

1) 眼内の各組織に特異的に遺伝子導入するためのベクターシステムの開発

a. 隅角で特異的に発現するベクターの構築

隅角組織に特異的に発現する遺伝子ミオシリンプロモーター領域と Cre 組み換え酵素遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターを構築した。このベクターをマウスの前眼部に投与し、導入遺伝子の発現を LacZ に対する活性染色を用いて評価した。

b. 水晶体で特異的に発現するベクターの構築
水晶体で特異的に発現する遺伝子クリスタリンプロモーター領域と Cre 組み換え酵素遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターを構築した。このベクターをマウスの前眼部に投与し、導入遺伝子の発現を LacZ に対する活性染色を用いて評価した。

2) Cre/loxP システムを用いた Fas リガンド導入による水晶体上皮細胞増殖の抑制

Cre/loxP 系・アデノウイルスベクターを用いた Fas リガンド導入により白色家兎水晶体吸引術後の水晶体上皮細胞増殖の抑制について検討した。白色家兎に対する水晶体吸引術後、Cre/loxP 系により CAG プロモーターを用いて LacZ、FasL 遺伝子を導入した。また水晶体に特異的な $\alpha 1$ クリスタリンプロモーターを用いて FasL を導入した。LacZ 染色あるいは TUNEL 法によって発現を確認した。

3) cDNA アレーを用いた角膜創傷治療における遺伝子発現の解析

角膜創傷治療に関係する遺伝子の検索をヒト cDNA アレーを用いて行った。4 代継代培養角膜上皮細胞と 3 代継代培養角膜実質細胞を 3 日間共培養した。半数の上皮には共培養する直前にセルスクレーパーで部分的に傷を与えた。cDNA アレーはアジレント社 Human アレー 1 (12,814 遺伝子) および 2 (14,355 遺伝子) を使用した。

4) レンズ細胞特異的転写因子 MafA/L-Maf のヒトおよびマウス・ホモログ

mafA のマウス各組織における発現を RT-PCR 法により調べたところ、意外なことに膵臓ランゲルハンス島の β 細胞に非常に限局して発現していることがわかった。そこで、その産物 MafA の機能を、培養 β 細胞株を用いて解析した。

5) 幹細胞から眼組織への分化に関する研究

薬剤の除去 (Tet-off) によって誘導可能なマウス胚性幹 (ES) 細胞を樹立した。また、杏林大の渡辺らによって確立されたラット網膜 pellet 培養による網膜分化誘導系に MAP キナーゼ阻害剤を添加することによって生理機能への関与を検討した。

6) 幹細胞からの網膜細胞の分化誘導に関する研究

a. 脳由来神経幹細胞の網膜内移植

ラット脳由来神経幹細胞を網膜の細胞環境に置くことにより網膜細胞への分化誘導が可能で

あるか否かを検討するため、発生期網膜内への幹細胞の直接的な移植および発生期ラット網膜の pellet 培養系を応用した混合培養を行った。幹細胞を識別するため、レトロウイルスを用いて幹細胞に GFP 遺伝子を組み込んだ。網膜細胞への分化の指標として、ロドプシンに対する抗体を用いた。

b. 神経幹細胞への遺伝子導入

神経幹細胞の細胞内環境操作による分化能変化を検討する目的で、Pax6 あるいは Nrl-Crx 遺伝子をウイルスベクターで幹細胞に組み込んだ。これらの細胞は主として発生期眼内への移植実験に用いた。

c. マウスの pellet 培養系の確立

これまで、発生期ラット網膜細胞より調製した pellet 培養を用いて網膜細胞分化機構の解明を行ってきたが、今回、マウス由来の ES 細胞、骨髄細胞等を用いるにあたり新たにマウスの pellet 培養系の確立をめざした。

7) 眼の形態形成遺伝子 Pax6 を用いた網膜再生の研究

a. 網膜形成における Pax6 の isoform の発現について、鶏胚の各 stage の網膜組織を摘出し、RT-PCR で発現量を検討した。

b. Pax6 の exon5a によってコードされる 14 アミノ酸に対するポリクローナル抗体を作成し、出生前後のマーマセット網膜で免疫染色を行った。

c. 鶏胚網膜へ Pax6 遺伝子の各 isoform (Pax6(-5a) あるいは Pax6(+5a)) を電気穿孔法で導入した。

C. 研究結果および考察

1) 眼内の各組織に特異的に遺伝子導入するためのベクターシステムの開発

a. 隅角組織特異的な遺伝子発現

通常の CAG プロモータを用いたアデノウイルスでは、遺伝子発現は、マウスの前眼部で角膜上皮、水晶体前面、隅角など広範囲に及んでいた。これに対して、ミオシリンプロモータを用いた Cre/loxP システムウイルスベクターを投与した場合、染色される組織は隅角組織に局限しており、この遺伝子導入システムにより隅角組織特異的な遺伝子発現が可能であることが示された。

b. 水晶体組織特異的な遺伝子発現

通常の CAG プロモータを用いたアデノウイルスを水晶体内に注入したところ、遺伝子発現はおもに水晶体全域で認められたが、水晶体外組織である角膜や網膜にも及んでいた。これに対して、クリスタリンプロモータを用いた Cre/loxP システムウイルスベクターを投与した場合、染色される組織は、水晶体組織に局限していた。これより、この遺伝子導入システムにより水晶体組織特異

的な遺伝子発現が可能であることが示された。

眼は角膜、隅角、水晶体など異なった組織が集中して存在するきわめて複雑な構造を有する器官であり、眼内の特定の組織にのみ導入遺伝子を発現できるシステムの開発は、遺伝子治療や再生医療の臨床応用がより現実に近くなることが期待される。

2) Cre/lox P システムを用いた Fas リガンド導入による水晶体上皮細胞増殖の抑制

通常 CAG プロモータを用いたアデノウイルスを用いた場合は、水晶体上皮細胞にアポトーシスがみられ、同時に隅角や網膜の細胞にも同様にアポトーシスがみられた。しかし、クリスタリンプロモータを用いた Cre/loxP システムウイルスベクターを投与した場合は、水晶体上皮細胞には高率でアポトーシスが起ったが、隅角や網膜にはアポトーシス細胞はみられなかった。いずれの群においても前房内の組織に異常な炎症や組織損傷の所見はなかった。水晶体上皮細胞に組織特異的に効率よく遺伝子が入ったが、それでも水晶体上皮細胞の除去は不完全であり、臨床応用のためには、第一に発現効率の向上が重要である。また、このような系はその組織特異性から白内障治療の際の薬物投与などにも応用できる可能性があると考えられた。

3) cDNA アレーを用いた角膜創傷治癒における遺伝子発現の解析

無傷と障害を与えた上皮細胞と共培養の実質細胞について遺伝子の発現の差が 10 倍以上のものが合計 24 遺伝子ほど発見された。その中には未知遺伝子が半数を占める。上皮細胞の障害によって発現が上昇した既知遺伝子にはシグナル伝達系や核タンパク質の遺伝子が含まれ、発現が低下した既知遺伝子には膜タンパク質、コラーゲンなどの構造タンパク質がふくまれている。リストの上位 2 つの遺伝子については RT-PCR 法によって cDNA アレーのデータと比較した結果、何れの遺伝子についても発現の傾向は同じであったが、発現の差はアレーの 3 分の 1 程度であることが判明した。今後はタンパク質の発現レベル・修飾などを中心に解析を行う。

4) レンズ細胞特異的転写因子 MafA/L-Maf のヒトおよびマウス・ホモログ

MafA は、インスリン遺伝子プロモーター上の MARE (Maf 認識 DNA 配列) に結合して、インスリン遺伝子の発現をグルコース濃度依存的に活性化する転写因子であることを発見した。インスリン遺伝子の膵臓β細胞特異的かつグルコース濃度依存的な発現制御には、Pax6, Islet-1, NeuroD などの、眼 (レンズあるいは網膜など) の発生・分化に密接に関わる転写制御因子が関与してい

ることが知られており、眼と膵臓β細胞の発生と機能維持に同じ転写因子群が働いていることがわかった。この中でも特に MafA は、それ自体の発現がグルコース濃度依存的であり、膵臓β細胞のグルコース感知システムの重要な部分を担っている可能性があることがわかった。MafA が、膵臓β細胞においてグルコース濃度を感知する転写因子として機能することが判明したこと、また、MafA は眼においても発現していることから、糖尿病に伴う高血糖によって MafA の発現と活性制御が混乱をきたし、これらの合併症を引き起こしている可能性が考えられる。

5) 幹細胞から眼組織への分化に関する研究

Pax6 と EGFP を同時に発現誘導可能な ES 細胞を樹立した。Pax6 発現誘導された ES 細胞の動態を検討している。また、3 種類の MAP キナーゼ (ERK, p38, SAPK/JNK) が網膜の形成過程に必須の役割を果たしている可能性を見出した。bFGF は、受容体を介して MAP キナーゼの活性化を誘導する。また、ショウジュウバエの眼形成には、MAP キナーゼによる Eya を含む転写因子のリン酸化が、遺伝子発現の制御に関与していることが示唆されている。マウス眼形成においても、同様に MAP キナーゼ系が眼形成関連の転写因子を制御していると思われる。

6) 幹細胞からの網膜細胞の分化誘導に関する研究

a. 脳由来神経幹細胞の網膜内移植

発生期網膜 pellet 中に GFP 陽性海馬由来幹細胞を混合して培養したところ、ごく少数ではあるが GFP 陽性細胞中に rodopsin 陽性と考えられる細胞が見出された。これが実際に photoreceptor であるか、別のマーカーを用いて確認する必要がある。

b. 神経幹細胞への遺伝子導入

ラット眼組織への幹細胞の移植実験では遺伝子導入を行わない幹細胞、Pax-6 導幹細胞、Nrl-Crx 導入幹細胞で、行動に明らかな差異を認めた。その意義の解明に関しては今後の検討を待つ必要がある。現在のところ、網膜内に移植された幹細胞の動向を観察する段階にとどまっているが、今後、これら幹細胞が実際に網膜細胞へと分化したか否かを確認する目的で、光受容体細胞に固有なロドプシンに対する抗体をはじめとする各種細胞マーカーを用いた詳細な検討を予定している。

c. マウスの pellet 培養系の確立

発生期マウス網膜の pellet は良好な発育を示し、ラット pellet 培養中で特徴的にみられるロゼットの良好な形成が観察された。この系を用いてマウス由来の ES 細胞、骨髄細胞等の網膜細胞への分化誘導に関する検討を行うことが当面の目標で

あるが、マウスの系では、さまざまな遺伝子改変動物を利用した解析が可能となるなどの利点がある。

7) 眼の形態形成遺伝子 Pax6 を用いた網膜再生の研究

a. RT-PCR による網膜形成における Pax6 の isoform の発現

発生期の鶏胚網膜では、Pax6(-5a) と Pax6(+5a) のいずれも発現していたが、一般に Pax6(-5a) が優位であり、発生後期では網膜後部で Pax6(+5a) の発現の方が優位であった。

b. 免疫染色による網膜形成における Pax6 の isoform の発現

マーモセット網膜では、14 アミノ酸に対する抗体の染色が、後極にことに黄斑付近に強くみられた。以上から網膜細胞が密に発育し、感度の高い部位に発現することが判明した。

c. 鶏胚網膜への Pax6 遺伝子導入

Pax6(-5a) を導入すると、網膜が厚くなり、PCNA 染色性が増加し、細胞の増殖が亢進した。また、神経節細胞の分化亢進がみられた。Pax6(+5a) を導入した網膜は、Pax6(-5a) 導入による部分的なものではなく、層全体が過剰に成長し髪を形成した。また、錐体細胞の亢進がみられた。

以上から、Pax6(+5a) は網膜で視覚感度の高い部位の構造形成に関与していることが示唆された。Pax6 をもちいた網膜再生においては Pax6(-5a) より Pax6(+5a) を用いることが好ましいと考えられる。

D. 結論

複雑な構造をもつ眼の組織において Cre-loxP システムと組織特異的遺伝子のプロモーターを用いて、選択した組織に遺伝子を導入させる方法を開発した。これを用い、白内障手術後の水晶体細胞にアポトーシスを起こし、術後の細胞増殖を予防した。角膜においては創傷治癒に関係する遺伝子の検索を 27,000 遺伝子を含むヒト cDNA アレーを用いて行い、ヒト上皮細胞と実質細胞を共培養して上皮細胞の障害時における実質細胞の遺伝子発現レベルを解析した。水晶体においては、レンズ細胞特異的遺伝子発現を司る転写因子 MafA/L-Maf の発現と機能を解析した。網膜の再生研究では、眼形成関連の転写因子 PAX6 を薬剤の除去(Tet-off)によって誘導可能なマウス胚性幹(ES)細胞を樹立した。また、ラット網膜前駆細胞から網膜細胞へと分化誘導可能な培養系を用いて、細胞内シグナル伝達系である MAP キナーゼファミリーが、網膜前駆細胞の生存維持、水平細胞への分化誘導、アマクリン細胞の機能発現に関与する可能性を見出した。脳由来神経幹細胞

の網膜内移植を行い、神経幹細胞への遺伝子導入を行い、マウス網膜細胞ペレット培養において、神経幹細胞、ES細胞、骨髄由来細胞などを用いた網膜の再生・再建治療の実験系を作成した。さらに、Pax6の exon 5aをもつ isoformの機能を解析した。この isoformが発生期に網膜細胞が密に存在する後極部に強く発現すること、Pax6を初期網膜に過剰導入すると網膜細胞の密度と分化が亢進するが exon 5aをもつ isoformの方がはるかに顕著であること、さらに、発生後期には異索性に錐体視細胞が形成されることを明らかにした。Pax6の exon 5aをもつ isoformの方は、黄斑などの網膜の高度な視覚に関する構造の形成に関与していることが示唆され、網膜再生に用いるには exon 5aをもつ isoformの方が適切であると考えられた。

E. 健康危険情報 特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

奥山虎之. 遺伝性疾患の治療. 小児科学. 医学書院 Pp.248-252, 2002.

小須賀基通, 奥山虎之. 小児遺伝性神経疾患の遺伝子治療の開発. 最新医学 57: 79-83, 2003.

Kurosawa K, Sasaki H, Sato Y, Yamanaka M, Shimizu M, Ito Y, Okuyama T, Matsuo M, Imaizumi K, Kuroki Y, Nishimura G. Paternal UPD14 is responsible for a distinctive malformation complex. *Am J Med Genet* 110:268-272, 2002.

Li XK, Kosuga M, Tokieda K, Kanaji A, Fukuhara Y, Hashimoto M, Okabe K, Yaginuma H, Yamada M, Suzuki S and Okuyama T. Prolongation of transgene expression by coexpression of cytokine response modifier a in rodent liver after adenoviral gene transfer. *Mol Ther* 5:262-268, 2002.

Fujino M, Li XK, Guo L, Kitazawa Y, Funeshima N, Fukuda S, Kimura H, Miyashita T, Okuyama T, Amano T and Suzuki S. T-cell apoptosis triggered by FTY720 via mitochondrial pathway. *Transplant Proc* 33:3084-3085, 2002.

Sano Y, Yamada J, Ishino Y, Adachi W, Kawasaki S, Suzuki T, Kinoshita S, Okuyama T, Azuma N. Non-cleavable mutant Fas ligand transfection of donor cornea abrogates ocular immune privilege. *Exp Eye Res* 75:475-83, 2002.

根岸一乃:角膜収差 IOL & RS 16; 294- 297,2002

根岸一乃: 視力測定. 角膜トポグラフィと波面センサー,224-229,メジカルビュー社, 東京,2002

根岸一乃:LASIKの職員教育. IOL & RS 16; 87-89,2002

根岸一乃: 波面収差と波面センサー. 東京都眼科医会報, 181, 東京都眼科医会, 2002

根岸一乃:眼科学の臨床からみたレーザーの安全. 日本レーザー治療学会誌 1; 29, 2002

根岸一乃:眼内レンズ挿入眼の視機能.あたらしい眼科 19. 305-310,2002

山崎重典、根岸一乃: 夜間のグレア.眼科診療ブラクティス 15(6);58-59,2002

横山 康弘、平松宏一、大沼一彦、小林克彦、根岸一乃、野田 徹:PSFアナライザーによるコンタクトレンズ装着眼の網膜像評価, あたらしい眼科 vol.20 No.2 2003(印刷中)

Kobayashi K, Shibutani M, Takeuchi G, Ohnuma K, Miyake Y, Noda T, Negishi K, Ohno K :Measurement of the single-pass MTF and simulation of the retinal image of the human eye developed Point Spread Function Analysis System., Proceeding of SPIE's Biomedical Optics 2003 of Ophthalmic technologies VIII (in press)

Kurosaka D, Kato K, Kurosaka H, Yoshino M, Nakamura K, Negishi K: Elschinig pearl formation along the neodymium:YAG laser posterior capsulotomy margin. *J Cataract Refract Surg* 28;1809-1813,2002

S. Umeda, R. Ayyagari, M. T. Suzuki, Y. Yoshikawa, F. Iwata, K. Fujiki, A. Kanai, Y. Takada, Y. Tanaka, and T. Iwata. Molecular Cloning of ELOVL4 Gene and exclusion as a candidate gene for early onset macular degeneration in Cynomolgus Monkey (*Macaca fascicularis*). *Exp. Anim.* (2003) in press

K. Izumi, Y. Mashima, M. Obazawa, Y. Ohtake, T. Tanino, H. Miyata, Y. Tanaka, and T. Iwata. Variants of Myocilin Gene in Japanese Patients With Normal Tension Glaucoma. *Curr. Eye Res.* (2003) in press

Kataoka, K., S.-i. Han, S. Shioda, M. Hirai, M. Nishizawa, and H. Handa. 2002. MafA is a glucose-regulated and pancreatic β -cell-specific transcriptional activator for the insulin gene. *J Biol. Chem.* 277:49903-49910.

- Sawa, C., T Yoshikawa, F. Matsuda-Suzuki, S. Deléhouzée, M. Goto, H. Watanabe, J-i. Sawada, K. Kataoka, and H. Handa. 2002. YEAF1/RYPB and YAF-2 are functionally distinct members of a cofactor family for YY1 and E4TF1/hGABP transcription factors. *J. Biol. Chem.* 277: 22484-22490.
- Nishi, T., N. Shimizu, M. Hiramoto, I. Sato, Y. Yamaguchi, M. Hasegawa, S. Aizawa, H. Tanaka, K. Kataoka, H. Watanabe and H. Handa. 2002. Spatial redox regulation of a critical cysteine residue of NF- κ B *in vivo*. *J. Biol. Chem.* 277:44548-44546.
- Kitagawa, D. et al. Activation of Extracellular Signal-regulated Kinase by Ultraviolet Is Mediated Through Src-dependent Epidermal Growth Factor Receptor Phosphorylation. *J. Biol. Chem.* (2002) 277, 366-371
- Watanabe, T. et al. SEK1/MKK4-mediated SAPK/JNK signaling participates in embryonic hepatoblast proliferation via a pathway different from NF- κ B-induced anti-apoptosis. *Dev. Biol.* (2002) 250, 332-347
- Takayanagi, H. et al. Induction and Activation of the Transcription Factor NFATc1 (NFAT2) Integrate RANKL Signaling in terminal differentiation of osteoclasts. *Dev. Cell* (2002) 3, 889-901
- Yamamoto, A. et al. Possible Involvement of I κ B Kinase 2 and MKK7 in Osteoclastogenesis Induced by Receptor Activator of Nuclear factor κ B Ligand. *J. Bone Miner. Res.* (2002) 17, 612-621
- Kondo K, Sagara H, Hirokawa K, Kaga K, Matsushima S, Mabuchi K, Uchimura H, Watanabe T. Hair cell development in vivo and in vitro: analysis using a monoclonal antibody specific to hair cells in the chick inner ear. *J Comp. Neurol.* 445: 176 - 198 (2002)
- Abe N, Watanabe T, Suzuki K, Machida H, Toda H, Nakaya Y, Masaki T, Mori T, Sugiyama M, Atomi Y. Risk factors predictive of lymph node metastasis in depressed early gastric cancer. *Am J Surg.* 183: 168 - 172 (2002)
- Abe N, Watanabe T, Ozawa S, Masaki T, Mori T, Sugiyama M, Ishida H, Nagamatsu S, Atomi Y. Pancreatic endocrine function and glucose transporter (GLUT-2) expression in rat acute pancreatitis. *Pancreas* 25: 149 - 153 (2002)
- Abe N, Watanabe T, Izumisato Y, Masaki T, Mori T, Sugiyama M, Chiappetta G, Fusco A, Fijioka Y, Atomi Y. Diagnostic significance of High Mobility Group I (Y) Protein expression in intraductal papillary mucinous tumors of the pancreas. *Pancreas* 25: 198 - 204 (2002)
- Abe N, Watanabe T, Toda H, Machida H, Suzuki K, Masaki T, Sugiyama M, Atomi Y, Nakaya Y. Carcinoembryonic antigen levels in peritoneal washes: a potential prognostic marker for patients with colorectal cancer. *Hepato-gastroenterology* (in press)
- 近藤健二, 加我君孝, 渡邊 卓. 内耳の形態形成. *神経研究の進歩* 46: 13-23 (2002)
- Azuma N, Yamaguchi Y, Handa H, Tadokoro K, Asaka A, Yamada M. Mutations of the *PAX6* gene detected in patients with a variety of optic nerve malformations. *Am J Hum Genet* 2003; in press.
- Azuma N, Hida T, Kohsaka S, Akiya S, Uemura Y. Glial overgrowth from the optic nerve head in fetuses of 16 weeks gestation. *Arch Ophthalmol* 2003; in press.
- Kamata Y, Tanabe A, Kanaji A, Kosuga M, Fukuhara Y, Li X-K, Suzuki S, Yamada M, Azuma N, Okuyama T. Long-term normalization in the central nervous system, ocular manifestations, and skeletal deformities by a single systemic adenovirus injection into neonatal mice with mucopolysaccharidosis. *Gene Therapy* 2002; in press.
- Kamata Y, Okuyama T, Kosuga K, O'hira A, Kanaji A, Sasaki K, Yamada M, Azuma N. Adenovirus-mediated gene therapy for corneal clouding in mice with mucopolysaccharidosis type VII. *Mol Ther* 4:307-312, 2001.
- Kawase E, Azuma N. A case of atypical WAGR syndrome with anterior segment anomaly and microphthalmos. *Arch Ophthalmol* 119: 1855-1856, 2001.
- Nishina S, Azuma N. Severe macular pucker after infantile retinal detachment surgery. *Br J Ophthalmol* 86:354-355, 2002.
- Sano Y, Yamada J, Ishino Y, Adachi W, Kawasaki S, Suzuki T, Kinoshita S, Okuyama T, Azuma N. Non-cleavable mutant Fas ligand transfection of donor cornea abrogates ocular immune privilege. *Exp Eye Res* 75:475-83, 2002
- Ayaki M, Ohguro N, Azuma N, Majima Y, Yata K, Ibaraki N, Singh DP, Ko V, Shinohara T. Detection of

cytotoxic anti-LEDGF autoantibodies in atopic dermatitis. *Autoimmunity* 35:319-27, 2002

Mashima Y, Suzuki Y, Sergeev Y, Ohtake Y, Tanino T, Kimura I, Miyata H, Aihara M, Tanihara H, Inatani M, Azuma N, Iwata T, Araie M. Novel cytochrome P4501B1 (CYP1B1) gene mutations in Japanese patients with primary congenital glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42:2211-2216, 2001

仁科幸子・新井千賀子・越後貫滋子・赤池祥子・富田 香・守田好江・千田耕基・東 範行. 乳幼児のロービジョンケアの現状と問題点—医療機関と教育機関の共同ケアによる成果. *眼臨医* 96:37-61, 2002.

仁科幸子・越後貫滋子・赤池祥子・三井田千春・東 範行・富田 香. 視覚障害児に対する遮光レンズ選定のためのコントラストグレアテストの利用. *眼臨医* 96:395-399, 2002

東 範行. 分子生物学による疾患の解明—眼形態形成遺伝子とその変異—. *眼科* 44:813-821, 2002.

東 範行. 先天白内障の問題点. *日眼会誌* 106:263-264, 2002.

東 範行. 検眼鏡による視神経乳頭のみかた. *眼科診療プラクティス* 5:2-11, 2002.

東 範行. 機能弱視 薬の知識 53:2-4, 2002.

東 範行. 国立成育医療センター. 日本の眼科 73:879-890, 2002.

東 範行. 見下すことによって距離を判断する. 日本の眼科 73:225-226, 2002.

東 範行. 骨髄由来の網膜血管新生. 日本の眼科 73:995-996, 2002.

東 範行. 分子生物学による疾患の解明. *日眼会誌増刷* 259-262, 2002.

2. 学会発表

小須賀 基通, 田辺 亜希子, 佐々木 恭子, 東 範行, 松尾 宣武, 山田 正夫, 奥山 虎之 ムコ多糖症 VII 型の遺伝子治療: 生後早期のアデノウイルス全身投与による中枢神経病変の改善について. 第 43 回日本先天代謝異常学会, 東京, 10 月, 2000.

室谷 浩二, 緒方 勤, 涌井 敬子, 福嶋 義光,

奥山 虎之, 山森 俊治 9p 上の性決定遺伝子: 6 例における臨床的および分子遺伝学的解析. 日本人類遺伝学会第 45 回大会, 福岡, 10 月, 2000.

奥山 虎之, 小須賀 基通, 山田 正夫, 鎌田 裕子, 東 範行 アデノウイルスベクターを用いたムコ多糖症 VII 型角膜病変に対する遺伝子治療. 日本人類遺伝学会第 45 回大会, 福岡, 10 月, 2000.

田辺 亜希子, 小須賀 基通, 佐々木 恭子, 東 範行, 山田 正夫, 奥山 虎之 ムコ多糖症 VII 型の遺伝子治療: 生後早期のアデノウイルス全身投与による中枢神経病変の改善について. 日本人類遺伝学会第 45 回大会, 福岡, 10 月, 2000.

小須賀 基通, 奥山 虎之, 佐々木 恭子, 山田 正夫, 田村 明彦, 鈴木 盛一 肝クッパー細胞の排除がアデノウイルスベクターによる肝細胞遺伝子治療に与える効果. 日本人類遺伝学会第 45 回大会, 福岡, 10 月, 2000.

Yokoyama S, Negishi K, Ohnuma K, Fukuma Y, Kitajima N, Okazaki Y, Aeba H, Hirayama N, Hayashi K, Noda T: Evaluation of the quality of peripheral fundus images observed in vitreous surgery through prism-type contact lenses using asurgical microscope. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Annual meeting, 2002, Fort Lauderdale, USA

Kobayashi K, Ohnuma K, Negishi K, Ohno K, Shibutani M, Takeuchi G, Miyaka Y, Noda T: Prediction of Defocusing Visual Acuity using square-wave MTF in human eyes. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Annual meeting, 2002, Fort Lauderdale, USA

Shibutani M, Ohnuma K, Negishi K, Ohno K, Kobayashi K, Kubotera Y, Miyake Y, Noda T: Prediction of Defocused visual acuity by simulated retinal images of Landolt's rings in human eyes. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Annual meeting, 2002, Fort Lauderdale, USA

Negishi K, Kobayashi K, Shibutani M, Takeuchi G, Ohnuma K, Hirayama N, Ohno K, Noda T: Comparison of the visual function in eyes with a monofocal with a multifocal contact lens using a new point spread function analysis system. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Annual meeting, 2002, Fort Lauderdale, USA

Kaneda E, Negishi K, Kobayashi K, Shibutani M,

Takeuchi G, Ohnuma K, Hirayama N, Noda T: Evaluation of visual function using a new point spread function analysis system in pseudophakic eyes with aftercataract. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Annual meeting, 2002, Fort Lauderdale, USA

Ohno K, Negishi K, Kobayashi K, Shibutani M, Takeuchi G, Ohnuma K, Hirayama N, Noda T: Evaluation of visual function using a new point spread function analysis system in LASIK patients. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Annual meeting, 2002, Fort Lauderdale, USA

Takeuchi G, Kobayashi K, Ohnuma K, Miyake Y, Negishi K, Hirayama N, Ohno K, Noda T: Comparison of Single-pass MTF using a new point spread function analysis system with MTF obtained by raytracing of lens data in the same human eye. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Annual meeting, 2002, Fort Lauderdale, USA

Negishi K, Ohnuma K, Ikeda T, Noda T: Visual simulation of images through a decentered refractive multifocal IOL. 2002 Joint Meeting, American Academy of Ophthalmology and Pan-American Association of Ophthalmology, 2002, Orlando, USA

Shimizu S, Negishi K, Yamazaki S, Kurosaka D, Mashima Y: Course of posterior corneal elevation after myopic LASIK. Symposium on cataract, IOL, and Refractive Surgery, 2002, Philadelphia, USA

Noda T, Negishi K, Ohno K, Hirayama N, Ohnuma K: Quality of optic fundus images observed through a variety of diagnostic lenses in pseudophakic eyes. Symposium on cataract, IOL, and Refractive Surgery, 2002, Philadelphia, USA

Negishi K, Kobayashi K, Ohnuma K, Ohno K, Noda T: Clinical Applications of the new point spread function analyzer. Symposium on cataract, IOL, and Refractive Surgery, 2002, Philadelphia, USA

Negishi K, Ohnuma K, Ikeda T, Noda T: Assessment of visual images through a decentered monofocal or refractive multifocal intraocular lens using a new image simulation system. XX congress of the European Society of Cataract & Refractive Surgeons, 2002, Nice, France.

Kosaka K, Negishi K, Shimizu S, Yamazaki S, Kurosaka D, Mashima Y: Possible factors that might affect the anterior shifting of the posterior corneal surface after LASIK. XX congress of the European Society of Cataract & Refractive Surgeons, 2002,

Nice, France.

Yoshino M, Kurosaka D, Kurosaka H, Nakamura K, Kato K, Negishi K: The longterm prognosis for limbal approach lensectomy/ lens aspiration with anterior vitrectomy. XX congress of the European Society of Cataract & Refractive Surgeons, 2002, Nice, France.

Kurosaka D, Yoshino M, Kurosaka D, Nakamura K, Kato K, Negishi K: Effect of posterior convexity of intraocular lens on lens epithelial cell migration. XX congress of the European Society of Cataract & Refractive Surgeons, 2002, Nice, France.

Yamazaki S, Negishi K, Shimizu S, Kurosaka D, Mashima Y: A case of flap ripped in multiple sites by an automatic microkeratome during LASIK. XX congress of the European Society of Cataract & Refractive Surgeons, 2002, Nice, France.

Kobayashi K, Shibutani M, Takeuchi G, Ohnuma K, Miyake Y, Noda T, Negishi K, Ohno K: Measurement of the single-pass MTF and simulation of the retinal image of the human eye developed Point Spread Function Analysis System. Photonics West, Biomedical Optics 2003, San Jose, USA

野田徹、大沼一彦、福岡康文、岡崎芳郎、響庭秀綱、平山典夫、大野建治、横山真介、根岸一乃: 硝子体手術におけるプリズム型コンタクトレンズによる眼底周辺部の手術用顕微鏡観察像の評価. 第106回日本眼科学会総会 2002, 仙台

小林克彦、渋谷雅博、竹内楽、大沼一彦、三宅洋一、根岸一乃、野田徹: Point Spread Function 解析装置による完全矯正時及凸レンズ付加時の視力の推定. 第106回日本眼科学会総会 2002, 仙台

根岸一乃、小林克彦、渋谷雅博、竹内楽、大沼一彦、平山典夫、大野建治、野田徹: Point Spread Function 解析装置による単焦点および多焦点コンタクトレンズ挿入眼の光学特性評価. 第106回日本眼科学会総会 2002, 仙台

内野裕一、黒坂大次郎、吉野真未、中村邦彦、加藤克彦、根岸一乃: 各種眼内レンズのNd:YAG レーザー後囊切開術施行率に与える影響. 第17回日本眼内レンズ屈折手術学会 2002, 東京

里深信吾、中村邦彦、根岸一乃、加藤克彦、黒坂大次郎: トリパンプルー、インドシアニンググリーンによる豚眼水晶体囊の染色性に関する比較検討. 第17回日本眼内レンズ屈折手術学会 2002, 東京
清水里美、根岸一乃、山崎重典、黒坂大次郎、真

島行彦: Laser in situ keratomileusis 術後の角膜後面前方偏位の経時的変化. 第17回日本眼内レンズ屈折手術学会 2002, 東京

佐藤裕理、秋山邦彦、大野建治、林康司、野田徹、根岸一乃: 新しいアクリル眼内レンズ AR40 挿入眼の術後早期の屈折変化. 第17回日本眼内レンズ屈折手術学会 2002, 東京

大野建治、春畑裕二、野田徹、佐野雄太、根岸一乃: エキシマレーザー・アイトラッキングシステムの術後早期成績. 第17回日本眼内レンズ屈折手術学会 2002, 東京

根岸一乃、清水里美、山崎重典、黒坂大次郎、真島行彦: 自動式マイクロケラトームによる角膜フラップ断裂の1例. 第17回日本眼内レンズ屈折手術学会 2002, 東京

山崎重典、根岸一乃、清水里美、黒坂大次郎、真島行彦: 慶應義塾大学病院における屈折矯正手術の診療システムと患者満足度. 第17回日本眼内レンズ屈折手術学会 2002, 東京

鈴木健太郎、大沼一彦、小林克彦、根岸一乃、大野建治、野田徹: PSF 解析装置によるシングルパス MTF とコントラスト感度からの推定 MTF との比較. 第38回日本眼科学会・第17回眼科 ME 学会合同学会, 2002, 浜松

鈴木健太郎、大沼一彦、根岸一乃、大野建治、野田徹: 水晶体の位相分布推定方法. 第38回日本眼科学会・第17回眼科 ME 学会合同学会, 2002, 浜松

根岸一乃、横山康弘、平松宏一、大沼一彦、小林克彦、大野建治、野田徹: PSF 解析装置による単焦点および二重焦点ハードコンタクトレンズ装着眼の視機能評価. 第56回臨床眼科学会 2002, 盛岡

吉野真未、黒坂大次郎、中村邦彦、加藤克彦、根岸一乃: 先天白内障の長期予後. 第56回臨床眼科学会 2002, 盛岡

野田徹、大沼一彦、福間康文、岡崎芳郎、響庭秀綱、平山典夫、大野建治、横山真介、根岸一乃: 硝子体手術における手術用顕微鏡観察像の評価: プリズムレンズによる眼底観察像の光学的解析. 第57回国立病院療養所総合医学会, 2002, 福岡

春畑裕二、野田徹、大沼一彦、福間康文、岡崎芳

郎、響庭秀綱、平山典夫、大野建治、横山真介、根岸一乃: 硝子体手術における眼底観察像の評価: 各種コンタクトレンズによる後極部眼的観察像の色収差. 第57回国立病院療養所総合医学会, 2002, 福岡

桜井美晴、小林克彦、渋谷雅博、竹内楽、大沼一彦、三宅洋一、根岸一乃、野田徹: Point Spread Function 解析装置によるデフォーカス状態における他覚的視機能評価. 第57回国立病院療養所総合医学会, 2002, 福岡

根岸一乃、小林克彦、渋谷雅博、竹内楽、大沼一彦、平山典夫、大野建治、野田徹: Point Spread Function 解析装置による単焦点および多焦点コンタクトレンズ挿入眼の他覚的視機能評価. 第57回国立病院療養所総合医学会, 2002, 福岡

林康司、佐藤裕理、秋山邦彦、大野建治、野田徹、根岸一乃: Foldable 眼内レンズ挿入術後の屈折変化. 第57回国立病院療養所総合医学会, 2002, 福岡

矢野江津子、北村葉月、桜井美樹、長田さだ子、山崎重典、清水里美、根岸一乃: 術後近見視シミュレーションと患者満足度. 第4回ニデックエキシマレーザーユーザーミーティング, 箱根, 2002

小林克彦、渋谷雅博、竹内 楽、窪寺裕美、大沼一彦、根岸一乃、大野建治、野田 徹: PSFアナライザーによる生体眼コントラスト特性の他覚的測定. 第44回日本交通眼科学会, 2002, 東京

野田 徹、大野建治、小林克彦、渋谷雅博、竹内 楽、窪寺裕美、大沼一彦、根岸一乃、PSFアナライザーによる運転免許取得基準視力の他覚的評価. 第44回日本交通眼科学会, 2002, 東京

小坂晃一、根岸一乃、清水里美、山崎重典、黒坂大次郎、真島行彦: Laser in situ keratomileusis 術後の角膜後面前方偏位の危険因子. 第26回日本眼科手術学会総会 2002, 京都

清水里美、根岸一乃、山崎重典、黒坂大次郎、真島行彦: 自動式コントラスト視力測定装置によるLASIK術前後の視機能評価. 第26回日本眼科手術学会総会 2002, 京都

山崎重典、根岸一乃、清水里美、大野建治、野田徹: 自覚式波面収差解析装置 WFA1000 の使用経験. 第26回日本眼科手術学会総会 2002, 京都
兼田英子、根岸一乃、山崎重典、清水里美、黒坂

大次郎、山田昌和、真島行彦:エキシマレーザー治療的角膜切除術後白内障手術の眼内レンズ予測精度.第26回日本眼科手術学会総会 2002,京都

西村僚、黒坂大次郎、山崎重典、中村邦彦、加藤克彦、根岸一乃:後発白内障切開後に水晶体上皮細胞が後発切開辺縁より眼内レンズ後面上へ進展した2症例.第26回日本眼科手術学会総会 2002,京都

根岸一乃:屈折矯正手術の最近の話題.千代田区眼科医会講演会,2002,東京

根岸一乃:慶應義塾大学病院における屈折矯正手術診療の形態と患者満足度.第725回東京眼科集談会特別講演,2002,東京

根岸一乃:眼科学の臨床からみたレーザーの安全.第14回日本レーザー治療学会学術集会シンポジウム,2002,つくば

根岸一乃:眼科検査の skill up -眼軸長-.第43回日本視能矯正学会シンポジウム,2002,東京

Y. Tanaka, J. Utsumi, T. Sudo, N. Nakamura, K. Kigasawa, T. Iwata, M. Matsui. Purification, Molecular Cloning and Expression of A Novel Growth Promotive Factor for Retinal Pigment Epithelial Cells, REF-1/TFPI-2. The Association of Research in Vision and Ophthalmology, May 2002, Fort Lauderdale Florida USA

K. Izumi, Q. Zhang, Y. Sergeev, Y. Mashima, S. Noda, Y. Imamura, J. Kudoh, N. Shimizu, Y. Tanaka, T. Iwata. Comparison of Retina Specific Amine Oxidase (AOC2) and Super Family Gene Vascular Adhesion Protein 1 (AOC3) Tandemly Located in Chromosome 17q21. The Association of Research in Vision and Ophthalmology, May 2002, Fort Lauderdale Florida USA

T. Iwata, N. Sanuki, K. Fujiki, H. N. Thanh, A. Kanai, S. Umeda, T. Nishiyama, Y. Mashima, Y. Tanaka. Identification of Erythrocyte Antigen PBDX Expressed in Human Cornea Epithelial Cells and Keratocytes. The Association of Research in Vision and Ophthalmology, May 2002, Fort Lauderdale Florida USA

T. Nishiyama, S. Umeda, M. T. Suzuki, Y. Yoshikawa, A. Yasosima, F. Iwata, K. Fujiki, A. Kanai, Y. Tanaka, T. Iwata. Histopathological Study of Drusen Observed in Cynomolgus Monkey (Macaca fascicularis). The Association of Research in Vision and Ophthalmology, May 2002, Fort

Lauderdale Florida USA

S. Umeda, R. Ayyagari, M. T. Suzuki, Y. Yoshikawa, F. Iwata, K. Fujiki, A. Kanai, Y. Takada, Y. Tanaka, T. Iwata. Molecular Cloning of ELOVL4 Gene from Cynomolgus Monkey (Macaca Fascicularis). The Association of Research in Vision and Ophthalmology, May 2002, Fort Lauderdale Florida USA

T. Iwata, M. Obazawa, Y. Mashima, S. Noda, J. Kudoh, N. Shimizu, Y. Tanaka. Cloning, Expression and Characterization of Porcine Myocilin. XV International Congress of Eye Research, October 2002 Geneva, Switzerland

泉香奈子、讃岐奈緒子、藤木慶子、Ha Nauyen Thanh、金井淳、梅田慎介、西山隆恒、真島行彦、田中靖彦、岩田岳。ヒト角膜上皮・実質細胞に発現するX染色体遺伝子PBDXの解析。日本眼科学会 2002年5月 (仙台)

尾羽澤実、強張、Yuri Sergeev、真島行彦、野田節子、今村裕、工藤純、清水信義、西山隆恒、田中靖彦、岩田岳。Retina Specific Amine Oxidase (AOC2)とタンデムに位置する兄弟遺伝子 Vascular Adhesion Protein 1(AOC3)との比較解析。日本眼科学会 2002年5月 (仙台)

岩田岳、梅田慎介、吉川泰弘、Radha Ayyagari、鈴木通弘、岩田文乃、金井淳、田中靖彦。カニクイザルELOVL4遺伝子のクローニングと発現解析。日本眼科学会 2002年5月 (仙台)

西山隆恒、梅田慎介、鈴木通弘、吉川泰弘、鈴木慶子、金井淳、田中靖彦、岩田岳。カニクイザルにみられるドルーゼンの病理組織学的検索。日本眼科学会 2002年5月 (仙台)

片岡浩介、韓松伊、西澤誠、半田宏「bZip転写因子MafAはグルコース濃度依存的/膵beta細胞特異的なインスリン発現制御因子である」第75回日本生化学会

日本再生医療学会総会、2002年4月、京都。

FASEB Summer Research Conferences、2002年8月、米国。

第25回日本分子生物学会、2002年12月、横浜。

再生医学シンポ、2003年1月、東京。

Keystone Symposia、2003年2月、カナダ国

東 範行. ワークショップ 視覚進化と高等動物の視覚. 日本分子生物学会 2001年12月(横浜)

川瀬英理子・山田正夫・東 範行. Pax6 と Pax2 の相互作用. 日本分子生物学会 2001年12月(横浜)

東 範行. 小児の視覚. 東京都眼科医会 2001年12月(東京)

東 範行. 小児の視覚障害とその管理. 神奈川県眼科医会 2002年2月(横浜)

東 範行. 眼の形態形成遺伝子とその変異. 感覚器障害研究講演会 2002年2月(東京)

東 範行. 眼の形態形成遺伝子. 宮崎眼科医会 2002年2月(宮崎)

東 範行. シンポジウム「20世紀の総括」分子生物学による疾患の解明. 日本眼科学会 2002年5月(仙台)

東 範行. 講習会 小児眼科の診療「後眼部疾患」. 日本小児眼科学会 2002年4月(豊橋)

川瀬英理子・山田正夫・東 範行. Pax6 と Pax2 の相互作用. 日本小児眼科学会 2002年4月(豊橋)

仁科幸子・東 範行・宮内 潤・金子 剛. 眼瞼に再発を繰り返した若年性黄色肉芽腫の1例. 日本小児眼科学会 2002年4月(豊橋)

Kamata Y, Tanabe A, Kanaji A, Kosuga M, Fukuhara Y, Li X-K, Suzuki S, Yamada M, Azuma N, Okuyana T. Long-term normalization in the central nervous system, ocular manifestations, and skeletal deformities by a single systemic adenovirus injection into neonatal mice with mucopolysaccharoidosis. 米国遺伝子治療学会 2002年6月(ボストン)

東 範行. シンポジウム 眼の形態形成遺伝子の機能と眼先天異常における変異. 日本先天異常学会 2002年6月(宮崎)

東 範行. 電子カルテ. Japan Macula Club 2002年8月(蒲郡)

東 範行. 小児の視覚障害とその管理. 信州眼

科医会 2002年9月(松本)

東 範行. 電子カルテ. 日本臨床眼科学会 2002年9月(盛岡)

東 範行. 生涯教育講習会 乳幼児の集団検診. 日本臨床眼科学会 2002年9月(盛岡)

川瀬英理子・山田正夫・東 範行. 視神経先天異常における PAX6 遺伝子の変異. 日本臨床眼科学会 2002年9月(盛岡)

野田英一郎・仁科幸子・東 範行. 小角膜を伴う両眼先天白内障の手術成績. 日本臨床眼科学会 2002年9月(盛岡)

仁科幸子・東 範行. 乳幼児における遮断弱視の治療経過. 日本臨床眼科学会 2002年9月(盛岡)

鎌田裕子・仁科幸子・川瀬英理子・高本紀子・東 範行・河村益徳. 眼科診療における電子カルテ運用のためのデータファイリングシステムの効用. 日本臨床眼科学会 2002年9月(盛岡)

綾木 雅彦・大黒伸行・末野利治・東 範行・馬嶋清如・他. アトピー性皮膚炎患者では水晶体上皮細胞由来の自己抗体が高い. 日本臨床眼科学会 2002年9月(盛岡)

仁科幸子・野田英一郎・東 範行. 重複障害児における両眼先天・発達白内障術後のハビリテーション. 日本ロービジョン学会 2002年10月(仙台)

東 範行. 特別講演 眼を作るしくみ. 九州硝子体研究会 2002年10月(宮崎)

東 範行. 眼の形成と Pax6. 開放的融合研究公開シンポジウム「ゲノム機能から個体発生を探る」2002年10月(東京)

H. 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

眼内の各組織に特異的に遺伝子導入するための ベクターシステムの開発に関する研究

分担研究者 奥山 虎之 国立成育医療センター 遺伝診療科

研究要旨: クリスタリンおよびミオシリン遺伝子のプロモーター領域の遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターを作成し、Cre 組み換え酵素により水晶体および隅角でのみ導入遺伝子を発現できるシステムを構築した。ウイルスベクターを前眼部または水晶体内に導入した際、ウイルスは周囲の組織にも浸潤していたが、導入遺伝子の発現は水晶体および隅角に局限していた。

A. 研究目的

本研究の目的は、隅角や水晶体で特異的に発現している蛋白をコードする遺伝子のプロモーターを利用して、組織特異的遺伝子発現システムを構築することである。

B. 研究方法

1. 隅角組織で特異的に発現するベクター組織の構築

ミオシリンは隅角組織に特異的に発現する遺伝子で、緑内障の発症と密接な関係が指摘されている。同遺伝子の 5'プロモーター領域の 500 塩基対の DNA 断片を Cre 組み換え酵素遺伝子の 5'領域に組み込んだアデノウイルスベクター AxMyoNCre を COS-TPC 法で構築した (図 1)。このベクターと AxCALNLacZ (Cre 組み換え酵素の存在下で LacZ を発現するアデノウイルスベクター) をマウスの前眼部に投与し、導入遺伝子の発現を LacZ に対する活性染色を後に評価した (図 2)。組織非特異的プロモーターである CAG プロモーターで LacZ 遺伝子を発現するアデノウイルス AxCALacZ を投与した場合の活性染色結果を比較対照とした (図 1)。

2. 水晶体組織で特異的に発現するベクター組織の構築

水晶体で特異的に発現している蛋白であるクリスタリン遺伝子の 5'プロモーター領域の 750 塩基対を Cre 組み換え酵素遺伝子の 5'領域に組み込んだアデノウイルスベクター AxCrNCre を COS-TPC 法で構築した (図 1)。このベクターと AxCALNLacZ をマウスの水晶体内に投与し、導入遺伝子の発現を LacZ に対する活性染色を後に評価した (図 2)。組織非特異的プロモーターである CAG プロモーターで LacZ 遺伝子を発現するアデノウイルス AxCALacZ を投与した場合の活性染色結果を比較対照とした (図 1)。

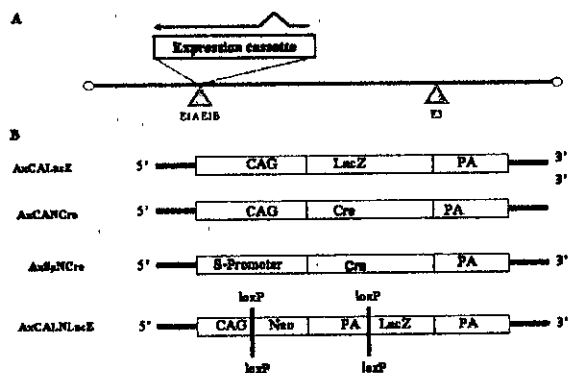


図 1. 隅角および水晶体特異的に Cre 組み換え酵素を発現するアデノウイルスベクターの構造。アデノウイルスの E1 部分に Cre 組み換え酵素の発現ユニットを組み込んだアデノウイルス (A) の構造と、その発現ユニットの構造 (B) を示す。組織特異的プロモーターで Cre 組み換え酵素を発現させるベクター AxSpNCre とする。クリスタリンおよびミオシリンプロモーター部分を組み込んだアデノウイルスは、それぞれ AxMyoNCre および AxCrNCre となる。

Cre/loxP システムによる組織特異的な遺伝子発現系

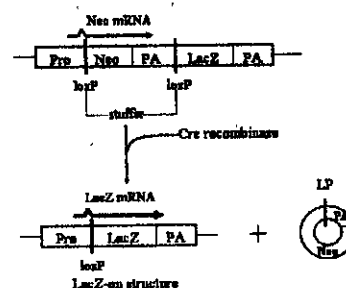


図 2. Cre 組み換え酵素の存在下で LacZ を発現させる遺伝子構造。Cre 組み換え酵素が存在すると loxP 配列で囲まれた部分が切り取られ、プロモーターと LacZ 遺伝子が直接連結し、LacZ が発現する。

C. 研究結果

1. 隅角組織特異的な遺伝子発現

マウスの前眼部にアデノウイルス AxCALacZ を投与し、LacZ に対する活性染色で導入遺伝子の発現を検討したところ、遺伝子発現は、角膜内皮、水晶体前面、隅角など広範囲に及んでいた。これに対して、AxMyNCre と AxCALNLacZ の 2 種のウイルスベクターをマウスの前眼部に同時投与した場合、LacZ で染色される組織は隅角組織に限局しており、この遺伝子導入システムにより隅角組織特異的な遺伝子発現が可能であることが示された。

2. 水晶体組織特異的な遺伝子発現

マウスの水晶体内の溶液を吸引した後、AxCALacZ を含むウイルス溶液を水晶体内に注入し、LacZ に対する活性染色で導入遺伝子の発現を検討したところ、遺伝子発現はおもに水晶体全域で認められたが、水晶体外組織である角膜や網膜にも及んでいた。これに対して、AxCrNCre と AxCALNLacZ の 2 種のウイルスベクターをマウスの水晶体内部に同時投与した場合、LacZ で染色される組織は、水晶体組織に限局していた。これより、この遺伝子導入システムにより水晶体組織特異的な遺伝子発現が可能であることが示された。

D. 考察

眼は角膜、隅角、水晶体など異なった組織が集中して存在するきわめて複雑な構造を有する器官である。眼内の特定の組織にのみ導入遺伝子を発現できるシステムの開発は、遺伝子治療や再生医療を安全に行ううえで重要となる。今回の検討により、ミオシリンやクリスタリンのような組織特異的な発現をする蛋白をコードする遺伝子のプロモーターを利用することにより隅角や水晶体などに導入遺伝子を特異的に発現できるベクターシステムの構築が可能であることが示された。このシステムを適切に利用することにより、正確で安全な遺伝子導入が可能となり、遺伝子治療や再生医療の臨床応用がより現実になることが期待される。

E. 結論

クリスタリンおよびミオシリン遺伝子のプロモーター領域の遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターを作成し、Cre 組み換え酵素により水晶体および隅角でのみ導入遺伝子を発現できるシステムを構築した。複雑な組織から成る眼の遺伝子治療に有効であることが示された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

奥山虎之. 遺伝性疾患の治療. 小児科学. 医学書院 Pp.248-252, 2002.

小須賀基通, 奥山虎之. 小児遺伝性神経疾患の遺伝子治療の開発. 最新医学 57: 79-83, 2003.

Kurosawa K, Sasaki H, Sato Y, Yamanaka M, Shimizu M, Ito Y, Okuyama T, Matsuo M, Imaizumi K, Kuroki Y, Nishimura G. Paternal UPD14 is responsible for a distinctive malformation complex. Am J Med Genet 110:268-272, 2002.

Li XK, Kosuga M, Tokieda K, Kanaji A, Fukuhara Y, Hashimoto M, Okabe K, Yaginuma H, Yamada M, Suzuki S and Okuyama T. Prolongation of transgene expression by coexpression of cytokine response modifier α in rodent liver after adenoviral gene transfer Mol Ther 5:262-268, 2002.

Fujino M, Li XK, Guo L, Kitazawa Y, Funeshima N, Fukuda S, Kimura H, Miyashita T, Okuyama T, Amano T and Suzuki S. T-cell apoptosis triggered by FTY720 via mitochondrial pathway Transplant Proc 33:3084-3085, 2002.

Sano Y, Yamada J, Ishino Y, Adachi W, Kawasaki S, Suzuki T, Kinoshita S, Okuyama T, Azuma N. Non-cleavable mutant Fas ligand transfection of donor cornea abrogates ocular immune privilege. Exp Eye Res 75:475-83, 2002.

2. 学会発表

小須賀 基通, 田辺 亜希子, 佐々木 恭子, 東 範行, 松尾 宣武, 山田 正夫, 奥山 虎之 ムコ多糖症 VII 型の遺伝子治療: 生後早期のアデノウイルス全身投与による中枢神経病変の改善について. 第 43 回日本先天代謝異常学会, 東京, 10月19-21日, 2000.

室谷 浩二, 緒方 勤, 涌井 敬子, 福嶋 義光, 奥山 虎之, 山森 俊治 9p 上の性決定遺伝子: 6例における臨床的および分子遺伝学的解析. 日本人類遺伝学会第 45 回大会, 福岡, 10月25-27日, 2000.

奥山 虎之, 小須賀 基通, 山田 正夫, 鎌田 裕子, 東 範行 アデノウイルスベクターを用いた ムコ多糖症 VII 型角膜病変に対する遺伝子治療. 日本人類遺伝学会第 45 回大会, 福岡, 10月25-27日, 2000.

田辺 亜希子, 小須賀 基通, 佐々木 恭子, 東

範行, 山田 正夫, 奥山 虎之 ムコ多糖症 VII 型の遺伝子治療: 生後早期のアデノウイルス全身投与による中枢神経病変の改善について. 日本人類遺伝学会第 45 回大会, 福岡, 10 月 25-27 日, 2000.

小須賀 基通, 奥山 虎之, 佐々木 恭子, 山田 正夫, 田村 明彦, 鈴木 盛一 肝クッパー細胞の排除がアデノウイルスベクターによる肝細胞遺伝子治療に与える効果. 日本人類遺伝学会第 45 回大会, 福岡, 10 月 25-27 日, 2000.

H. 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

Cre/lox P 系・アデノウイルスベクターを用いた Fas リガンド導入 による白色家兎水晶体吸引術後の水晶体上皮細胞増殖の抑制

分担研究者 根岸一乃 慶應義塾大学眼科専任講師

研究要旨：現在の白内障術後の主要合併症である後発白内障の治療法の一環として、Cre/lox P 系・アデノウイルスベクターを用いた Fas リガンド導入により白色家兎水晶体吸引術後の水晶体上皮細胞増殖の抑制について検討した。白色家兎に対する水晶体吸引術後、Cre/lox P 系により LacZ、FasL を発現させ、また水晶体に特異的な $\alpha 1$ クリスタリンプロモーターを用い FasL を発現させた。Cre/lox P 系のみでは水晶体上皮とともに虹彩や隅角にも lacZ が発現し、FasL 導入では、水晶体上皮細胞と同時に隅角や網膜の細胞にもアポトーシスがみられた。しかし、Cre/lox P 系に水晶体に特異的な $\alpha 1$ クリスタリンプロモーターを用いた場合は、水晶体上皮細胞には高率でアポトーシスが起ったが、隅角や網膜にはアポトーシス細胞はみられなかった。また、いずれの群においても前房内の組織に異常な炎症や組織損傷の所見はなかった。結論として、Cre/lox P 系・アデノウイルスベクターを用いた Fas リガンド導入による家兎水晶体上皮細胞増殖の抑制は後発白内障の治療として応用できる可能性があるが、臨床応用のためには発現率を向上させる必要があると考えられた。

A. 研究目的

脊椎動物の水晶体には水晶体囊の中に一層のシート状にならんだ水晶体上皮細胞と水晶体上皮細胞の分化の最終地点である水晶体繊維細胞の2種類の細胞がある。水晶体は単純で整然とした構造によりその透明性を保っているが、加齢や外傷などにより水晶体蛋白の変化がおこると、水晶体は混濁し白内障となり視力が低下する。これに対し、現在は水晶体囊内の内容をすべて除去し、代わりに人工のレンズ、すなわち眼内レンズを挿入するという治療がおこなわれている。しかし、現在の技術では、手術操作で水晶体上皮細胞をすべて取り去ることは不可能であるため、術後も水晶体上皮細胞が一部残る。この残存した水晶体上皮細胞は、術後の環境下で増殖、分化することにより不完全な水晶体を再生する。これを後発白内障とよぶ。後発白内障は白内障術後眼に高率におきる主要合併症で、再度の視力障害の原因となる。年間100万件以上という白内障の手術件数を考えると、これは医学的ばかりでなく、医療経済上も大きな問題である。後発白内障の治療としては、古くは観血的治療、すなわち再手術による混濁の除去、また現在の主流はレーザーによる後囊切開であるが、観血的治療では患者の肉体的、精神的負担が大きく、両者とも術後炎症を惹起するという問題が解決されていない。近年の新しい試みとして行われている前房内への薬物投与は、非組織特異的であるため、眼球のような一つのコンパー

トメントに複数の組織がある臓器では、他組織への障害が強く、これも問題である。そこで、近年もうひとつの試みとしておこなわれているのが遺伝子治療である。遺伝子治療には、組織特異的なプロモーター、すなわち、網膜であればロドプシン、水晶体であれば α クリスタリンのプロモーターにつなげて標的遺伝子を発現させる方法があるが、プロモーターの発現量が低く、効率がわるいという問題がある。このような問題をふまえ、今回、部位特異的組換え酵素 Cre/lox P 系と、Fas を発現する細胞においてアポトーシスを誘導する Fas リガンド（以下 FasL と略す）を用いて、水晶体上皮細胞に特異的に FasL を発現させ、アポトーシスを誘導することにより、術後に増殖した水晶体上皮細胞を選択的かつ効率的に除去できるかどうかについて検討した。

B. 研究方法

1. アデノウイルス

この研究では、COS-TPC method (Kanegae *et al.*, 1995) を用いて、AxCANLacZ, AxCALNLacZ, AxCANCre, AxCALNFasL, $\alpha 1$ -crystallin-AxCANCre, の4種類のアデノウイルスを用いた。AxCANLacZ と AxCANCre は CAG プロモーター制御下において、それぞれ E.coli beta-galactosidase と Cre recombinase を発現する E1/E3-deleted アデノウイルスベクターである (Sato *et al.* 1998)。Alpha-1-crystallin-AxCANCre は $\alpha 1$ クリスタリンプロモーター制御下において

Cre recombinase を発現するアデノウイルスベクターである。AxCALNLacZ, AxCALNFasL, は Cre recombinase 存在下でプロモーターとそれぞれ LacZ, Fas リガンドの間の stuffer sequence が欠失したときに、LacZ, Fas リガンドを発現するアデノウイルスベクターである。抗体価は AxCALNLacZ, AxCALNFasL, AxCANCre, alpha-1-crystallin-AxCANCre の順に 2.5×10^9 pfu/ μ l, 1×10^9 pfu/ μ l, 1×10^9 pfu/ μ l, 9×10^9 pfu/ μ l であった。

2. 材料と手術方法

材料は体重約 2 Kg の白色家兎で、手術 1 時間前に 0.3% ノルフロキサシンと 0.1% ジクロフェナクナトリウムを点眼し、手術 1 時間前より 0.5% トロピカミドと 5% フェニレフリンの点眼を 3 回行った。白色家兎に対し、ケタミン(45mg/kg)(三共)とキシラジン(8mg/kg)(バイエル)の筋注にて全身麻酔を行った。手術顕微鏡下にて 0.4% イソジン液(明治)にて手術眼を消毒後、3mm 角膜切開、連続前囊切開後に超音波水晶体手術装置(Cavitron 9001™, Alcon Surgical, Fort Worth)を用いて水晶体超音波乳化吸引術を施行した。術中の前房保持にはヒアルロン酸ナトリウム、灌流液はヘパリン(5,000 U/500ml)、エピネフリン(2mg/500ml)、デキサメサゾン(2mg/500ml)入りの BSS plus®

(Alcon Laboratories) を用いた。術創は 10-0 ナイロン糸で 1 針縫合した。手術終了時に以下に示すようなアデノウイルスベクターを前房内注射した。注入したアデノウイルスは、グループ 1 : AxCALNLacZ(0.25ml)+ AxCANCre(0.25ml)

(Cre/loxP 系により LacZ を発現させる群)、グループ 2 : AxCALNFasL(0.25ml)+

AxCANCre(0.25ml) (Cre/loxP 系を用いて FasL を発現させる群)、グループ 3 :

AxCALNFasL(0.25ml)+

alpha-1-crystallin-AxCANCre(0.25ml) (Cre/loxP 系において Cre 酵素のプロモーターとして水晶体に特異的な α 1 クリスタリンプロモーターを用い FasL を発現させる群) である。最後に 12 mg のトブラマイシン (Shionogi, Osaka, Japan を結膜下注射し、テラマイ眼軟膏® (Pfizer, New York, NY) を点入した。

3. 組織

手術後 2 日でペントバルビタールの過剰投与にて白色家兎を処理し、眼球を摘出したあと、直ちに 4% 中性緩衝ホルマリンにて固定し、組織を切断した。また、一部は通常の方法でパラフィン包埋したのち、2- μ m の切片として TUNEL 法を行った。

4. RNA の分離と白色家兎眼における Fas の検出

白色家兎眼の水晶体組織から RNeasy Mini Kit (QIAGEN)を用いて全 RNA を分離し、SuperScript II reverse transcriptase and adaptor primers (GibcoBRL) (Ausubel, FM. *et al.*, 1990)を用いて標準的方法で cDNA に変換した。cDNA は Fas に特異的なプライマーを用いて不飽和 PCR で増幅した。cDNA 濃度の標準化のため、PCR 法にて内因性 β -actin に対する cDNA を 1 分間、94 °C にて 30 サイクル、60 °C にて 1 分、72 °C で 3 分間増幅した。Fas の増幅に使用したプライマーは

forward primer ;

5'-TTACCTGTATTGCTGGCTGGCTCACTGT-3'

reverse primer ;

5'-CTGCACTTGGTATTCTGGATCGTA-3'

(respective product size:294bp for Fas)であった。

5. 白色家兎眼における β ガラクトシダーゼ活性の組織化学的検出

X-gal 溶液は 44 mM Hepes, 3mM フェリシアンカリウム, 150mM 塩化ナトリウム, 1.3mM 塩化マグネシウムを含む緩衝液を用いて作成した。切断した組織を X-gal 溶液でインキュベート後、アルコール脱水を行い、パラフィン包埋し、4 μ m の切片を作成した。切片は核染ののち、光学顕微鏡で観察した。

6. 白色家兎眼におけるアポトーシス細胞の組織化学的検出

アポトーシス細胞の検出はApopTag plus kit (Oncor, Gaithersburg, MD, and USA)を用いて、Tunel nick-end labeling 法で行った。

C. 研究結果

白色家兎水晶体上皮細胞においては、RT-PCR 法による検討の結果 Fas の発現がみとめられた。組織科学的な検討の結果、グループ 1 では水晶体上皮細胞が染色され LacZ の発現がみられ、同時に虹彩や隅角にも lacZ が発現していた。グループ 2 では、水晶体上皮細胞にアポトーシスがみられ、同時に隅角や網膜の細胞にも同様にアポトーシスがみられた。しかし、グループ 3 では、水晶体上皮細胞には高率でアポトーシスが起ったが、隅角や網膜にはアポトーシス細胞はみられなかった。また、いずれの群においても前房内の組織に異常な炎症や組織損傷の所見はなかった。

D. 考察

今回用いた系では、 α クリスタリンプロモーターによって水晶体特異的に発現する Cre により、特異的に Stuffer が切り出され、強力な CAG プロモーターから目的遺伝子である FasL が発現した。この Cre 酵素による ON/OFF 発現法は従来の誘導法

にくらべて、1)誘導前の発現が極めて低い、2)誘導後の発現は強力なCAGプロモーターから行われるので格段に高い、3)組換えアデノウイルスをスイッチに使うことにより、培養細胞系だけでなく動物個体にも用いることが可能である、などの際立った特長がある。結果で示されたごとく、今回は水晶体上皮細胞に組織特異的に効率よく遺伝子が入ったが、それでも水晶体上皮細胞の除去は不完全であり、治療法としてはいまだ問題がある。解決法としては、反復投与を行う可能性も考えられるが、静脈注射によるアデノウイルスベクターの投与が可能である肝臓などと違い、眼への投与法は局所投与でなければならないため、反復投与は侵襲が強く、臨床的には実現困難である。ただし、今回のような1回の投与に限っては、術後炎症は通常の手術後の反応と組織学的には差がなく、投与自体の副作用と考えられる所見はなかった。以上より、臨床応用のためには、第一に発現効率の向上が重要である。また、今回の検討とは離れるが、このような系はその組織特異性から白内障治療の際の薬物投与などにも応用できる可能性があると考えられた。

E. 結論

Cre/lox P 系・アデノウイルスベクターを用いた Fas リガンド導入による家兎水晶体上皮細胞増殖の抑制は後発白内障の治療として応用できる可能性があるが、臨床応用のためには発現率を向上させる必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

根岸一乃:角膜収差. IOL & RS 16; 294- 297,2002

根岸一乃: 視力測定. 角膜トポグラフィと波面センサー,224-229,メジカルビュー社, 東京,2002

根岸一乃:LASIK の職員教育. IOL & RS 16; 87-89,2002

根岸一乃: 波面収差と波面センサー. 東京都眼科医会報, 181, 東京都眼科医会, 2002

根岸一乃:眼科学の臨床からみたレーザーの安全. 日本レーザー治療学会誌 1; 29, 2002

根岸一乃:眼内レンズ挿入眼の視機能.あたらしい眼科 19. 305-310,2002

山崎重典、根岸一乃: 夜間のグレア.眼科診療プラクティス 15(6);58-59,2002

横山 康弘、平松宏一、大沼一彦、小林克彦、根岸一乃、野田 徹:PSFアナライザーによるコンタクトレンズ装着眼の網膜像評価, あたらしい眼科 vol.20 No.2 2003(印刷中)

Kobayashi K, Shibutani M, Takeuchi G, Ohnuma K, Miyake Y, Noda T, Negishi K, Ohno K :Measurement of the single-pass MTF and simulation of the retinal image of the human eye developed Point Spread Function Analysis System., Proceeding of SPIE's Biomedical Optics 2003 of Ophthalmic technologies VIII (in press)

Kurosaka D, Kato K, Kurosaka H, Yoshino M, Nakamura K, Negishi K: Elschinig pearl formation along the neodymium:YAG laser posterior capsulotomy margin. J Cataract Refract Surg 28;1809-1813,2002

2. 学会発表

Yokoyama S, Negishi K, Ohnuma K, Fukuma Y, Kitajima N, Okazaki Y, Aeba H, Hirayama N, Hayashi K, Noda T: Evaluation of the quality of peripheral fundus images observed in vitreous surgery through prism-type contact lenses using asurgical microscope. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Annual meeting, 2002, Fort Lauderdale, USA

Kobayashi K, Ohnuma K, Negishi K, Ohno K, Shibutani M, Takeuchi G, Miyake Y, Noda T: Prediction of Defocusing Visual Acuity using square-wave MTF in human eyes. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Annual meeting, 2002, Fort Lauderdale, USA

Shibutani M, Ohnuma K, Negishi K, Ohno K, Kobayashi K, Kubotera Y, Miyake Y, Noda T: Prediction of Defocused visual acuity by simulated retinal images of Landolt's rings in human eyes. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Annual meeting, 2002, Fort Lauderdale, USA

Negishi K, Kobayashi K, Shibutani M, Takeuchi G, Ohnuma K, Hirayama N, Ohno K, Noda T: Comparison of the visual function in eyes with a monofocal with a multifocal contact lens using a new point spread function analysis system. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Annual meeting, 2002, Fort Lauderdale, USA

Kaneda E, Negishi K, Kobayashi K, Shibutani M, Takeuchi G, Ohnuma K, Hirayama N, Noda T: Evaluation of visual function using a new point spread function analysis system in pseudophakic eyes with aftercataract. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Annual meeting, 2002, Fort Lauderdale, USA

Ohno K, Negishi K, Kobayashi K, Shibutani M, Takeuchi G, Ohnuma K, Hirayama N, Noda T: Evaluation of visual function using a new point spread function analysis system in LASIK patients. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Annual meeting, 2002, Fort Lauderdale, USA

Takeuchi G, Kobayashi K, Ohnuma K, Miyake Y, Negishi K, Hirayama N, Ohno K, Noda T: Comparison of Single-pass MTF using a new point spread function analysis system with MTF obtained by raytracing of lens data in the same human eye. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Annual meeting, 2002, Fort Lauderdale, USA

Negishi K, Ohnuma K, Ikeda T, Noda T: Visual simulation of images through a decentered refractive multifocal IOL. 2002 Joint Meeting, American Academy of Ophthalmology and Pan-American Association of Ophthalmology, 2002, Orlando, USA

Shimizu S, Negishi K, Yamazaki S, Kurosaka D, Mashima Y: Course of posterior corneal elevation after myopic LASIK. Symposium on cataract, IOL, and Refractive Surgery, 2002, Philadelphia, USA

Noda T, Negishi K, Ohno K, Hirayama N, Ohnuma K: Quality of optic fundus images observed through a variety of diagnostic lenses in pseudophakic eyes. Symposium on cataract, IOL, and Refractive Surgery, 2002, Philadelphia, USA

Negishi K, Kobayashi K, Ohnuma K, Ohno K, Noda T: Clinical Applications of the new point spread function analyzer. Symposium on cataract, IOL, and Refractive Surgery, 2002, Philadelphia, USA

Negishi K, Ohnuma K, Ikeda T, Noda T: Assessment of visual images through a decentered monofocal or refractive multifocal intraocular lens using a new image simulation system. XX congress of the European Society of Cataract & Refractive Surgeons, 2002, Nice, France.

Kosaka K, Negishi K, Shimizu S, Yamazaki S, Kurosaka D, Mashima Y: Possible factors that might affect the anterior shifting of the posterior corneal surface after LASIK. XX congress of the European

Society of Cataract & Refractive Surgeons, 2002, Nice, France.

Yoshino M, Kurosaka D, Kurosaka H, Nakamura K, Kato K, Negishi K: The longterm prognosis for limbal approach lensectomy/ lens aspiration with anterior vitrectomy. XX congress of the European Society of Cataract & Refractive Surgeons, 2002, Nice, France.

Kurosaka D, Yoshino M, Kurosaka D, Nakamura K, Kato K, Negishi K: Effect of posterior convexity of intraocular lens on lens epithelial cell migration. XX congress of the European Society of Cataract & Refractive Surgeons, 2002, Nice, France.

Yamazaki S, Negishi K, Shimizu S, Kurosaka D, Mashima Y: A case of flap ripped in multiple sites by an automatic microkeratome during LASIK. XX congress of the European Society of Cataract & Refractive Surgeons, 2002, Nice, France.

Kobayashi K, Shibutani M, Takeuchi G, Ohnuma K, Miyake Y, Noda T, Negishi K, Ohno K: Measurement of the single-pass MTF and simulation of the retinal image of the human eye developed Point Spread Function Analysis System. Photonics West, Biomedical Optics 2003, San Jose, USA

野田徹、大沼一彦、福間康文、岡崎芳郎、響庭秀綱、平山典夫、大野建治、横山真介、根岸一乃: 硝子体手術におけるプリズム型コンタクトレンズによる眼底周辺部の手術用顕微鏡観察像の評価. 第106回日本眼科学会総会 2002, 仙台

小林克彦、渋谷雅博、竹内稔、大沼一彦、三宅洋一、根岸一乃、野田徹: Point Spread Function 解析装置による完全矯正時及凸レンズ付加時の視力の推定. 第106回日本眼科学会総会 2002, 仙台

根岸一乃、小林克彦、渋谷雅博、竹内稔、大沼一彦、平山典夫、大野建治、野田徹: Point Spread Function 解析装置による単焦点および多焦点コンタクトレンズ挿入眼の光学特性評価. 第106回日本眼科学会総会 2002, 仙台

内野裕一、黒坂大次郎、吉野真未、中村邦彦、加藤克彦、根岸一乃: 各種眼内レンズのNd:YAGレーザー後囊切開術施行率に与える影響. 第17回日本眼内レンズ屈折手術学会 2002, 東京

里深信吾、中村邦彦、根岸一乃、加藤克彦、黒坂大次郎: トリパンプルー、インドシアニングリーンによる豚眼水晶体囊の染色性に関する比較検討. 第17回日本眼内レンズ屈折手術学会 2002, 東京