

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回日本眼光学学会・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回日本眼光学学会・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: P S F 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、: P S F 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

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得 無し
2. 実用新案登録 無し

## 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

分担研究者 田中靖彦 国立病院東京医療センター 院長

研究要旨：角膜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アレーを用いて行った。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。

### A. 研究目的

角膜再生において上皮細胞と実質細胞との相互的なシグナル伝達を遺伝子発現レベルで解析するために上皮・実質細胞の共培養を行い、上皮細胞に傷を与えて実質細胞への遺伝子発現の影響を解析した。

### B. 研究方法

6穴ウェルに4代継代培養角膜上皮細胞を $1.8 \times 10^5$ /well (confluent) になるまで培養した。また、1型コラーゲン溶液0.2mlをinsert dishの中央におきゲル化させた後、 $7.5 \times 10^3$ の3代継代培養角膜実質細胞を含む培養液0.085mlを各ゲル上に静置させ6時間保温、接着させた。その後、各々をHEPES緩衝液でwashし、insert dishを6穴ウェルにのせ各ウェルに5.0mlの培養液を加えて3日間共培養した。尚、全6穴ウェルの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。

### C. 研究結果

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。

### D. 考察

角膜は上皮、実質、内皮と層状構造になってお

り、上皮への損傷によって実質細胞の形質転換が起こることが知られている。今回我々は上皮細胞と実質細胞を同じ培養器で非接触の状態でも共培養し、上皮細胞に傷を加えた場合の実質細胞への影響を遺伝子の発現レベルで解析した。非接触の状態にあるにもかかわらず、はっきりとした発現量の差がcDNAアレーとRT-PCRの両方法によって確認でき、上皮細胞から損傷にともなうシグナルが発信され、実質細胞がそれを受信して反応したことが確認された。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。

### E. 結論

今回の実験によってヒト角膜上皮細胞と実質細胞の共培養系において上皮細胞が傷つけられた場合に非接触の状態でも実質細胞にシグナルが伝えられ、複数の遺伝子について発現が誘導されることが判明した。

### F. 健康管理情報

特になし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

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

#### 2. 学会発表

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)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

## 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

分担研究者 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

研究要旨：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。

### A. 研究目的

転写因子 MafA/L-Maf は、レンズ細胞に特異的に発現しており、各クラスのクリスタリン遺伝子の発現を活性化し、またレンズ細胞の分化にたいへん重要な役割を果たしていることがニワトリを用いた解析からあきらかにされてきている。前年度にヒト、マウス、ラットなど哺乳類における *mafA* ホモログをクローン化し、その構造解析を行った。この遺伝子の、哺乳類の眼の発生における役割をあきらかにし、ヒトの疾患との関わりを探ることが本年度の研究の目的である。

### B. 研究方法

*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。

### C. 研究結果

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は興味深い。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。

### D. 考察

糖尿病の合併症として、網膜の変性や白内障といった障害が起こるが、そのメカニズムはあきらかににはなっていない。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。

### E. 結論

ヒト、マウス、ラット *mafA* 遺伝子の構造を解明したので、今後、眼の形成・機能異常におけるこの遺伝子の異常との関わりを調べることが可能になった。また、血糖値により眼における MafA の発現・活性がどのように変化しているのかを、糖尿病合併症との関わりをふまえて調べていく必要がある。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

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-κB *in vivo*. *J Biol. Chem.* 277:44548-44546.

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.

#### 2. 学会発表

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

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

## 幹細胞から眼組織への分化に関する研究

分担研究者 仁科 博史 東京大学大学院薬学系研究科 助教授

研究要旨：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。EGFP も発現誘導されることから、PAX6 発現細胞の動態を可視化することが可能となった。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、アムクリン細胞の機能発現に関与する可能性を見出した。

### A. 研究目的

眼組織構築に関わる分子やシグナル伝達系を解明し、将来の再生医療の基盤となる眼組織分化誘導系の開発を行う。

### B. 研究方法

国立成育医療センターの東らによってヒト眼疾患関連遺伝子として見出された PAX6 野生型や変異体を、マウス ES 細胞内で発現誘導することにより、網膜を構成する細胞へ分化誘導可能か検討する。また、杏林大の渡辺らによって確立された網膜分化誘導系に 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する。実験動物の取り扱いは、東京大学動物実験委員会の承認を得、そのプロトコールに従って遂行されている。

### C. 研究成果

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。

### D. 考察

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、ショウジョ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、MAP キナーゼ系が眼形成関連の転写因子を制御している可能性が示唆された。

### E. 結論

網膜分化誘導系を用いて眼組織構築に関わるシグナル伝達系の一端が解明された。また、PAX6

発現誘導可能な ES 細胞を用いた眼組織分化誘導系の開発が期待される。

### F. 健康危険情報

該当する危険はなし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

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

Yamamoto, A. et al. Possible Involvement of IκB Kinase 2 and MKK7 in Osteoclastogenesis Induced by Receptor Activator of Nuclear factor κB Ligand. *J. Bone Miner. Res.* (2002) **17**, 612-621

Watanabe, T et al. SEK1/MKK4-mediated SAPK/JNK signaling participates in embryonic hepatoblast proliferation via a pathway different from NF-κB-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

#### 2. 学会発表

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

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 本研究プロジェクトで作製された MAP キナーゼ関連分子特異抗体が、2002年7月より(株)生物医学研究所から発売されている。



## 幹細胞からの網膜細胞の分化誘導に関する研究

分担研究者 渡邊 卓 杏林大学医学部臨床検査医学教室 教授

研究要旨：網膜に起因する多くの視覚障害患者に対する根本的な治療法が全く確立されていない現状において、網膜の再生・再建による治療法の開発が待たれている。この目的のためには、神経幹細胞を含む各種幹細胞より効率的に網膜細胞・網膜組織を誘導構築することが不可欠であるが、本研究ではこの点に関する基礎的な検討を行う。

### A. 研究目的

一旦発生を完了すると、その後は決して修復されることはないと考えられてきたほ乳類（霊長類）の中樞神経系の中にも、分裂可能な神経幹細胞が含まれている可能性が明らかにされつつある。これらの細胞は少なくとも *in vitro* の適切な条件下において活発に細胞分裂を繰り返し、ニューロンおよびグリア細胞へと分化しうるということが明らかにされている。糖尿病性網膜症をはじめ網膜に起因する多くの視覚障害患者に対する根本的な治療法が全く確立されていない現状において、網膜の再生による治療法の開発は必須であり、その中でこれらの神経幹細胞は有望な素材となり得ると考えられている。

本年は昨年度に引き続き、網膜組織の再生治療に向けた試みとして、成体脳（海馬）由来の神経幹細胞からの網膜細胞の誘導を試みた。今年度はとくに網膜細胞の発生分化と関連の深いとされるいくつかの転写因子の遺伝子を幹細胞内に導入し、これが網膜細胞への分化誘導にいかなる効果を有するか、という点に関する検討を行った。今年度はこの他、網膜細胞誘導の細胞源として ES 細胞、骨髄細胞を用いるべく、基礎的な検討を行った。これに関連して、発生期マウス網膜細胞の pellet 培養に関する基礎的な検討を併せ行った。

### B. 研究方法

a. 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用いた。いずれの場合にも、幹細胞を識別する目的で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上でこれを用い、また網膜細胞への分化の指標として、網膜の光受容体細胞に固有なロドプシンに対する抗体を用いた。移植はガラスピペットを用いて硝子体下腔に細胞を注入した。pellet 培

養での混合実験では、GFP 陽性神経幹細胞を発生期網膜細胞と少なくとも 2 週間混合培養した後、GFP 陽性細胞に関して、ロドプシン等の発現の状況を検討した。

b. さらに神経幹細胞の細胞内環境を人工的に操作することによりその分化能を変化させる、もしくはより効率的に網膜細胞への分化を誘導することが可能であるか否かを検討する目的で、網膜の発生過程で重要な役割をはたすことが示されている既知の転写因子のうち Pax-6 および Nrl-Crx についてその遺伝子をウイルスベクターを用いて幹細胞に組み込んだ。これらの細胞は主として発生期限内への移植実験に用いた。

c. 我々はこれまで、発生期の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の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。pellet 作成法はラットに準じて行い、今回は培地の条件についての検討を中心に行った。

### C. 研究結果

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。しかし、これが実際に photoreceptor 細胞であるか否かという点に関して、少なくともこれとは全く独立した別のマーカーを用いて確認する必要があると考えている。

・ラット眼組織への幹細胞の移植実験では (1) 何ら遺伝子等の導入を行わない幹細胞、(2) Pax-6 を導入した幹細胞、(3) Nrl-Crx を導入した幹細胞に関して、先ず外顆粒層への細胞の浸潤をみると、(1) 外顆粒層の前半部に細胞突起の浸潤が少量みられる、(2) 少量ではあるが、網膜の層構造と垂直方向に細胞が配列されている、(3) 全く見られず、というように、それぞれ条

件の異なる幹細胞の行動に明らかな差異を認め  
た。一方、視神経への細胞の浸潤であるが、(1)  
少量の細胞が進入、(2)比較的多くの細胞の浸潤  
をみとめ、その一部はかなりの距離を遊走したこ  
とになる、(3)全く細胞の侵入を認めない、など、  
視神経への細胞の侵入に関しても上記三種の細  
胞は異なる行動パターンを示した。

・ラットとは異なり、発生期マウス網膜の pellet  
は無血清培地もしくは少量の FCS を添加した無  
血清培地中で、牛胎児血清 (FCS) を主体とする  
培養液に比してより良好な発育を示した。しかし  
ながら、いずれの条件においてもラット 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。

#### D. 考察

ラット脳由来神経幹細胞より網膜細胞への分  
化を誘導する目的で、本年度は、網膜の発生もし  
しくは視細胞の発生分化の過程で重要な役割をは  
たすことが示されている既知の転写因子のうち  
Pax-6 および NRL-CRX 遺伝子を幹細胞に組み込  
み、分化能の検討を行った。これらの処理により、  
網膜および視神経内での幹細胞の行動パターン  
に微妙な差異が観察されたが、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。

今年度はまた、新たにマウスの pellet 培養系の  
確立をめざした。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。さらに、  
今回行った培地の条件についての検討では、マウ  
ス pellet は無血清もしくは低血清培地中で比較的  
良好な発育を示すことが明らかとなったが、これ  
は培養液の組成の検討などに極めて有用である。

#### E. 結論

所期の目的を追究するための環境はほぼ整備  
されたと考えられる。今後、神経幹細胞、ES 細  
胞、骨髄由来細胞などさまざまな細胞種を用いた  
網膜の再生・再建治療の可能性に関する検討を幅

広く行ってゆく考えである。

#### F. 健康危険情報

該当する危険はなし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Kondo K, Sagara H, Hirose 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)

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

- |           |    |
|-----------|----|
| 1. 特許取得   | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他    | なし |

## 眼の形態形成遺伝子 Pax6 を用いた網膜再生の研究

分担研究者 東 範行 国立成育医療センター 眼科医長

研究要旨：Pax6 は眼の形態形成において master control 遺伝子であるが、脊椎動物以上の高等動物は、exon 5a がコードする 14 アミノ酸を余分にもつ isoform が存在する。これまで、この isoform の機能は不明であった。今回、この exon 5a をもつ isoform が発生期では網膜の視細胞が密に存在する後極部に強く発現することが判明した。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したが、exon 5a をもつ isoform の方がはるかに顕著であった。さらに、発生後期には異所性に錐体視細胞が形成された。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。

### A. 研究目的

眼の発生では Pax6 をはじめとする形態形成遺伝子が発見され、複雑な器官が作られる仕組みが明らかになってきている。Pax6 遺伝子は、ほとんどすべての動物で眼の形成に重要な働きをしていることが明らかになった。さらに、ショウジョウバエ初期胚のさまざまな部位にこの遺伝子を発現させたところ (target expression)、触覚や翅、肢などに異所性に複眼が発生したので、眼という器官形成を全体的に支配する master control であることが明らかになった。脊椎動物でもアフリカツメガエルで Pax6 を導入して、不完全ながらも角膜、水晶体、網膜を含む眼組織を異所性に作る実験が行われている。ヒトでは先天無虹彩を始めとしてさまざまな疾患で変異がみつき、やはり眼の形成に重要であることが判明した。Pax6 は発生期にわたって網膜に発現しているので、網膜の再生に応用できる可能性がある。昨年度は、網膜色素上皮に Pax6 を導入して、ほぼ完全な構造の網膜を作ることに成功した。

Pax6 は脊椎動物以上の高等な動物では、exon 5a がコードする 14 アミノ酸を余分にもつ isoform (Pax6(+5a)) が存在する。脊椎動物では exon 5a がをもたず ((Pax6(-5a))、脊椎動物にいたって (Pax6(-5a) と Pax6(+5a) の双方が存在するようになった。しかし、この両 isoform の機能の違いは知られていない。本年度は、網膜形成における Pax6 の isoform の機能について検討した。

### B. 実験方法

#### 1) RT-PCR による網膜形成における Pax6 の isoform の発現

鶏胚の各 stage の網膜組織 (前部と後部) を摘出し、mRNA を調整した。RT-PCR で cDNA を作成し、PCR で Pax6 の両 isoform、Pax6(-5a) と Pax6(+5a) の

発現量を検討した。

#### 2) 免疫染色による網膜形成における Pax6 の isoform の発現

Pax6 の exon 5a 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た。出生前後のコモンマーモセットの網膜で免疫染色を行った。

#### 3) 鶏胚網膜への Pax6 遺伝子導入

鶏受精卵を孵卵器で発生を進め、2-7 日胚の網膜に Pax6 遺伝子各 isoform を導入した。強制発現プラスミドベクター pCAGGS に Pax6(-5a) あるいは Pax6(+5a) 遺伝子を組み込み、これを電気穿孔法で鶏胚に導入した。その後、孵卵器で発生を進め、10-20 日胚で実体顕微鏡下と病理変化を検討した。

### C. 研究結果

#### 1) 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) が優位であった。しかし、発生後期では、網膜の後部において Pax6(+5a) の発現の方が優位であった。

#### 2) 免疫染色による網膜形成における Pax6 の isoform の発現

コモンマーモセットの網膜では、14 アミノ酸に対する抗体の免疫染色が、後極にことに黄斑付近に強く、周辺部では僅かしか見られなかった。

#### 3) 鶏胚網膜への Pax6 遺伝子導入

発生初期の網膜に Pax6(-5a) を過剰導入すると、網膜の厚みが増加した。組織所見は、遺伝子の導入部位では PCNA の染色性が増加し、細胞の増殖が亢進していた。また、ことに神経節細胞の分化亢進がみられた。さらに、神経節細胞の axon が束とな

って硝子体腔へ異所性に成長していた。

一方、Pax6(+5a)を導入した網膜は、Pax6(-5a)導入による部分的なものでなく、層全体が過剰に成長し皺を形成していた。また、過剰に形成された網膜皺においては、視細胞の分化で錐体細胞の亢進がみられた。

#### D. 考察

今回の研究によって、Pax6 遺伝子のうち、exon 5a を含む Isoform の網膜形成における特徴が明らかになった。

Pax6(+5a)は、網膜の発生期には後部ことに黄斑周囲に強く発現していたが、この部位は網膜細胞が密に発育し、かつ感度の高い視細胞が集中的に分化する部位である。そして、Pax6(-5a)の導入によって網膜の成長と分化が亢進したが、Pax6(+5a)の方がはるかにその機能が高かった。さらに、Pax6(+5a)の方が導入した場合、視細胞で錐体の分化亢進がみられた。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 遺伝子に exon 5a をもつのは脊椎動物であり、無脊椎動物は Pax6(-5a)しかもたない。進化において、網膜の構造は脊椎動物にいたって急に高度となり、黄斑が生まれた。これには Pax6 遺伝子における exon 5a の獲得が関与しているのかもしれない。今年度の研究より Pax6(+5a)が高い網膜の発育・分化能をもつことが明らかになり、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。

#### E. 結論

Pax6 の 2 つの isoform のうち、14 アミノ酸を余分にもつ Pax6(+5a) は高い網膜の発育・分化能をもつ。網膜再生に用いるにはこの exon 5a をもつ isoform の方が適切である。

#### F. 健康危険情報

該当する危険は無し

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

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, Ohoguro 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「20世紀における眼科学の総括」 259-262, 2002.

## 2. 学会発表

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 adnovirus 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

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
奥山虎之	遺伝性疾患の治療	白木和夫 前川喜平	小児科学第2版	医学書院	東京	2002	248-251
根岸一乃	視力測定		角膜トポグラフィ ーと波面センサー	メジカル ビュー社	東京	2002	224-229,

雑誌

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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	475-483	2002
根岸一乃	角膜収差	IOL & RS	16	294- 297	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	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	58-59	2002
横山 康弘、平松宏一、 大沼 一彦、小林克彦、根	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	20	印刷中	2003

岸一乃、野田 徹					
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	2003
Kurosaka D, Kato K, Kurosaka H, Yoshino M, Nakamura K, Negishi K	Elschnig 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, T. Iwata	Molecular Cloning of ELOVL4 Gene and exclusion as a candidate gene for early onset macular degeneration in Cynomolgus Monkey ( <i>Macaca fascicularis</i> ).	Exp Anim		in press	2003
K. Izumi, Y. Mashima, M. Obazawa, Y. Ohtake, T. Tanino, H. Miyata, Y. Tanaka, T. Iwata	Variants of Myocilin Gene in Japanese Patients With Normal Tension Glaucoma.	Curr Eye Res		in press	2003
Kataoka K, S-i. Han S. Shioda M. Hirai M. Nishizawa Handa H.	MafA is a glucose-regulated and pancreatic $\beta$ -cell-specific transcriptional activator for the insulin gene.	J Biol Chem	277	49903-49910.	2002
Sawa C, Yoshikawa T, Matsuda-Suzuki F, Deléhouzée S, Goto M, Watanabe H. Sawada J, Kataoka K, Handa H	YEAFF1/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	2002
Nishi T, Shimizu N, Hiramoto M, Sato I, Yamaguchi Y, Hasegawa M, Aizawa S, Tanaka H, Kataoka K, Watanabe H, Handa H	Spatial redox regulation of a critical cysteine residue of NF- $\kappa$ B <i>in vivo</i> .	J Biol Chem	277	44548-44546.	2002
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	277	366-371	2002
Watanabe T, et al.	SEK1/MKK4-mediated SAPK/JNK signaling participates in embryonic hepatoblast proliferation via a pathway different from NF- $\kappa$ B-induced anti-apoptosis.	Dev Biol	250	332-347	2002
Takayanagi H, et al.	Induction and Activation of the Transcription Factor NFATc1 (NFAT2) Integrate RANKL Signaling in terminal differentiation of osteoclasts.	Dev Cell	3	889-901	2002
Yamamoto A, et al.	Possible Involvement of I $\kappa$ B Kinase 2 and MKK7 in Osteoclastogenesis Induced by Receptor Activator of Nuclear factor $\kappa$ B Ligand.	J Bone Miner Res	17	612-621	2002



Kondo K, Sagara H, Hirose 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, Fijioaka 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	2003
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 <i>PAX6</i> gene detected in patients with a variety of optic nerve malformations.	Am J Hum Genet		in press	2003
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		in press	2003
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 adovirus injection into neonatal mice with mucopolysaccharoidosis.	Gene Therapy		in press	2003
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	475-483	2002
Ayaki M, Ohoguro 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,	Novel cytochrome P4501B1 (CYP1B1) gene mutations in Japanese patients with primary congenital glaucoma.	Invest Ophthalmol Vis Sci	42	2211-2216	2002

Tanihara H, Inatani M, Azuma N, Iwata T, Araie M					
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	「20 世紀における眼科学の総括」分 子生物学による疾患の解明	日眼会誌増刷		259-262	2002

20020459

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、  
P.33-P.36の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。