

20020474

厚生労働科学研究研究費補助金

ヒトゲノム・再生医療等研究事業

「ヒト羊膜を用いた再生表層角膜移植片における免疫学的研究」

平成 14 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 坪田 一男

平成 15 (2003) 年 4 月

目次

I. 総括研究報告書		
「ヒト羊膜を用いた表層角膜移植片 における免疫学的研究」	—————	1-5
坪田 一男		
II. 分担研究報告書		
1 「ヒト羊膜を用いた培養角膜上皮 移植に関する研究	—————	6-8
木下 茂		
2 「羊膜上培養上皮層の確立」	—————	9
大橋 裕一		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	—————	10-11
IV. 研究成果の刊行物・別冊	—————	12

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）

総括研究報告書

「ヒト羊膜を用いた再生表層角膜移植片における免疫学的研究」

主任研究者 坪田 一男 東京歯科大学角膜センター眼科教授
研究協力者 篠崎 尚史 東京歯科大学角膜センター長
島崎 潤 東京歯科大学眼科助教授
榛村 重人 東京歯科大学眼科講師
比嘉 一成 東京歯科大学眼科研究室主任

研究要旨

ヒト羊膜上に角膜上皮細胞を培養する技術の確立に成功した。培養された上皮細胞は重層化し、羊膜との間に基底膜が再構築されていた。この培養上皮細胞は、癬痕性角結膜症患者に一部移植され、現在経過観察中である。また、羊膜の抗炎症効果のメカニズム解明のために、羊膜中のヒアルロン酸に注目し、その局在と、リンパ球接着に及ぼす影響について研究した。

その結果、リンパ球上の CD44 と羊膜のヒアルロン酸を介する系が炎症細胞の接着に重要な役割を果たしていることが示唆された。

A. 研究目的 本研究は、難治性であるスティーブンスジョンソン症候群や眼類天疱瘡などの重症眼表面疾患の治療成績を改善し、またドナー角膜不足のために手術を受けることが難しい角結膜疾患患者に治療の道を拓くために、羊膜を用いた表層角膜移植片の作成と移植技術の確立を目的としている。さらに、再生された角結膜上皮細胞がどのような免疫学的、細胞生物学的性質を有しているかを解明し、その臨床応用の拡大の可能性を探る。

B. 研究方法 今年度も、羊膜上に再生した角結膜上皮細胞の生物学的・及び免疫学的性質に関する基礎的な検討と、将来の製品化に向けてシートの輸送条件の検討、及び前年度に引き続いての培養上皮シート移植の臨床応用についての検討を行った。

（倫理面への配慮） 本研究で用いる羊膜組織は、帝王切開時に提供して頂くものであり、文書によるインフォームドコンセントによって承諾を頂いている。羊膜移植の臨床応用に関しては、平成8年に東京歯科大学倫理委員

会の承認を得ている。また上皮シート移植に関しても、平成13年に東京歯科大学倫理委員会の承認を得ている。本手術を施行するに当たってはレシピエントに十分な説明を行い承諾を得ると共に、近親者の輪部組織よりの細胞採取が必要な場合には、ドナーよりのインフォームドコンセントも得ている。

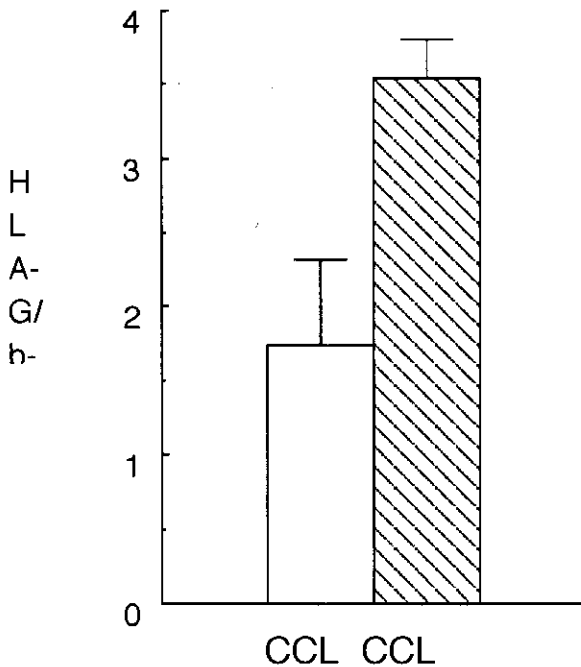
C. 研究結果

（再生結膜上皮の生物学的性質） 羊膜移植、培養上皮移植の対象となる眼表面疾患では多くの場合、結膜の角化及び杯細胞減少を伴っている。これらの変化に対する羊膜の影響を調べるために、羊膜上と通常培養条件下の再生結膜上皮におけるトランスグルタミナーゼ I (TGase I) と Mac 1 mRNA の発現を real-time PCR を用いて比較した。その結果、セルラインを用いた検討では両者に差を認めなかったが、primary の結膜細胞においては、羊膜上で培養したもので TGase I の発現の減少と、Mac 1 mRNA の発現が亢進している傾向を認めた。しかし、サンプルによるばらつきが大きいと、同一ドナーからのペアー組織

における解析を引き続き行っている。

(再生結膜上皮における HLA-G の発現)

HLA-G は、class Ib と呼ばれる主要適合抗原の一つで、胎児に対する母体免疫反応の抑制などを行うとともに、NK 細胞活性やリンパ球による免疫反応を抑制しているとされている。われわれは、羊膜上に培養した結膜上皮細胞のマイクロアレイによる解析によって、HLA-G mRNA が羊膜上の結膜細胞で約 2.6 倍亢進していることを認めた。これを確認するために、real-time PCR による解析も行い、やはり 2-3 倍の発現亢進を認めた。このことは、羊膜が再生結膜細胞での HLA-G 発現を誘導することで、過度の炎症や拒絶反応を抑制している可能性を示している (下図)。



(羊膜に対する組織反応) 前年度の研究で、家兎角膜内に移植された羊膜組織が 4 週間以上存在することを報告したが、今回は羊膜移植角膜での CD4, CD8, matrix metalloproteinase-2, vimentin, α -SMA の発現の免疫組織学的

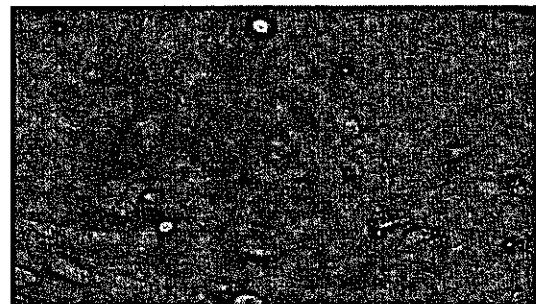
に検討した (表 1)。その結果、羊膜に対する炎症・免疫反応は軽微であることが示された。

表 1 角膜実質内移植後 28 日での免疫染色結果。染色程度を半定量的に示している。

Exp. No.	for 28 days	
	G17	G09
	SHAM	AM
CD4	—	—
CD8	—	+
MMP2	—	—
Vimentin	—	— (±)
α -SMA	—	±

(培養上皮シートの輸送に関する基礎的検討)

将来、培養上皮シートを製品化する場合には、これをどのような条件下で輸送するかが大きな問題となる。この問題に対する基礎的検討として、分担研究者の施設 (京都府立医大) にて作成した上皮シートを常温で輸送し、組織変化を調べた。輸送後における培養上皮細胞の viability を Calcein-PI 染色で行ったところ、PI 陽性細胞はほとんど検出されなかったが、Calcein の染色性は低下していた (下図左)。輸送後のこの染色性の低下は 37°C、5% CO₂ でインキュベーションすることにより経時的に回復し、24 時間後には十分回復していた。また、Explant 法と cell suspension 法の違いによる保存状態や viability への影響は観察されなかった (下図)。



Calcein-PI 染色 (200 倍)



H-E 染色 (200 倍)

(培養上皮シート移植の臨床応用)

平成 13 年度より開始した癬痕性角結膜症に対する羊膜シート移植の症例の長期予後を検討した。これまで 21 例 22 眼に対して移植を行った結果、重度のドライアイや眼表面の角化を伴う症例においては、培養上皮細胞の生着が得られないことが多いことが判明した。このため、培養条件を改良して、羊膜と培養細胞の接着が強固なシートを作成して移植に用いることを本年度より行った。その結果、新しい培養方法を用いたシート移植のほうが再生上皮細胞の生着が良好であることが判明した。現在これらの症例を増やし、かつ長期の予後を検討中である。

D. 考察

1) 達成度について本年度も、基礎的研究と、臨床応用の双方に対してバランスの取れた進歩が得られた。眼科領域において羊膜移植はポピュラーな手術になりつつあるが、その機序や羊膜組織の特異性、再生上皮細胞の性質変化についてはいまだに未知な部分が多い。われわれのこれまでの検討で、羊膜には炎症やアロ免疫反応を抑制し、再生上皮細胞の分化を調整する作用があることが明らかとなってきた。また臨床応用に関しても、中期観察の結果が明らかとなりつつあり、臨床応用に適した上皮培養条件が明らかとなってきた。

た。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について 羊膜という生体材料を用いた上皮シートの作成は、再生医学全体から見てもユニークな試みであり、その成果は他分野でも注目を集めている。羊膜組織は、単なる基質としてだけでなく、未分化な細胞群を含むことから、再生した細胞の性質に影響を与えることが示唆されており、これまでの本研究においても、この考えを支持する結果が得られている。羊膜を用いた眼表面再建は、国際的にも注目を集めているが、本研究に参加している施設の基礎的・及び臨床的研究は、その最先端をいっており、大きな注目を集めている。また、培養上皮シートの移植が広く臨床応用されるようになれば、これまで角膜移植が必要とされ、かつドナー不足のために視力回復の機会が得られなかった患者に大きな福音となる。

3) 今後の展望について 培養上皮シートの臨床応用を進めるに当たっては、これまで本研究で行ってきたような基礎的検討と、実際の臨床データの蓄積が欠かせない。さらにそれに加えて、作成したシートの保存方法、遠隔地への輸送方法の検討が必要である。さらに上皮シートを製品化するに当たっては、GMP,GCP 対応への処置も必要となる。また基礎的検討課題としては、これまでドナー細胞としていた角膜輪部上皮細胞だけでなく、他の細胞ソースを探すことも重要である。なぜなら、上皮シート移植の適応となる重症癬痕性角結膜症では両眼が罹患している場合が多く、その場合アロ上皮の使用による拒絶反応が大きな問題となるからである。患者自身の口腔粘膜上皮の培養シートの作成は、共同研究施設ですでに成功しており、この臨床応用を当施設でも行う予定である。さらに、角膜輪部上皮から組織特異的幹細胞の分離・培養についても検討を行う予定であり、これに成功すれば上皮シートのバンク化への道が開

ける。培養上皮細胞への遺伝子導入によって、拒絶反応の回避を行うことが可能かについても将来検討したい。

E. 結論 羊膜上に角結膜上皮を培養して上皮シートを作成し、眼表面疾患の治療に応用する、という本研究の目的に向け、本年度も重要な成果が得られた。羊膜上での再生結膜上皮では角化の抑制とムチン分泌の亢進という、眼表面再建に望ましい分化方向への変化が生じていることが示唆され、かつ HLA-G の発現を介した免疫反応の抑制というユニークな機序が明らかとなりつつある。臨床応用については、培養条件の改善と症例の選択・術後管理の改良が両輪となって進行し、すでに有力な治療方法として認知されつつある。さらに、上皮シートの至適輸送・保存法の検討も始まり、将来の製品化に向けての準備も整いつつある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Jun Shimazaki, MD, Masayo Aiba, BS, Eiki Goto, MD, Naoko Kato, MD Shigeto Shimmura, MD, Kazuo Tsubota, MD. Transplantation of Human Limbal Epithelium Cultivated on Amniotic Membrane for the Treatment of Severe Ocular Surface Disorders
Ophthalmology 2002;109:1285-1290

2. Shigeto Shimmura, MD Kazuo Tsubota, MD.
Ocular Surface Reconstruction Update.
Current Opinion in Ophthalmology 2002;13:213-219

3. Jun Shimazaki, MD, Shigeto Shimmura, MD, Kazuo Tsubota, MD.

Limbal Stem Cell Transplantation for the Treatment of Subepithelial Amyloidosis of the Cornea (Gelatinous Drop-like Dystrophy). Cornea 2002;21(2):177-180

4. Kazuo Tsubota, MD, Shigeto Shimmura, MD, Naoshi Shinozaki, MS, Edward J. Holland, MD, Jun Shimazaki, MD. Clinical Application of Living-related Conjunctival-limbal Allograft
American Journal of Ophthalmology 2002;133:134-135

2. 学会発表

1) 国内

1. Shimazaki J, Shimmura S, Higa K, Enomoto-Aiba M, Oshima M, Ishioka M, Tsubota K. recent advance in ocular surface reconstruction using amniotic membrane.

The Association for Research. Geneva, Switzerland, 2002/10/6-10.

2. 許斐健二、城間弘喜、榛村重人、島崎潤、坪田一男、羊膜移植後の病理組織学的検討。第240回千葉県眼科集談会、千葉市、2002/9/8.

3. 坪田一男、再生角膜プロジェクトのコンセプト、平成13年度東京歯科大学口腔科学研究センターワークショップ、千葉市、2002/3/1.

4. メイ・グリフィス、天然ポリマー素材による角膜の構築、平成13年度東京歯科大学口腔科学研究センターワークショップ、千葉市、2002/3/1.

5. 榛村重人、ポリマーの生体適合性、平成13年度東京歯科大学口腔科学研究センターワークショップ、千葉市、2002/3/1.

6. 比嘉一哉、代替基底膜としての羊膜と羊膜上皮培養、平成 13 年度東京歯科大学口腔科学研究センターワークショップ、千葉市、2002/3/1.

7. 島崎 潤、培養上皮移植の臨床応用、平成 13 年度東京歯科大学口腔科学研究センターワークショップ、千葉市、2002/3/1.

2) 海外

1. Tsubota K. Limbal stem cell therapy for sever ocular surface disorders. The Association for Research in Vision and ophthalmology, Annual Meeting, Sunday Symposium Florida, U.S.A., 2002/5/5.

2. Tseng S, Tsubota K, Kenyon K. Ocular surface reconstruction by stem cell transplantation and amniotic membrane transplantation. Instruction course. American Academy of ophthalmology, Annual meeting, Florida, U>S>A>, 2002/10/1/-23.

3. Shimmura S, Griffith M, Usui A, Shimazaki J, Tsubota K, Shinozaki N, Dollion C. Biocompatibility of Collagen-based Blended Biomaterials. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Annual Meeting, Florida, U.S.A.,2002/5.

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

共同研究のオタワ大学チームと共にバイオポリマー単体と培養細胞を組み込んだバイオポリマーの US.Patent を取得した。

研究要旨

ヒト羊膜上を基質として角膜上皮幹細胞を培養して角膜上皮細胞シートを作成する技術の確立に成功し、大学倫理委員会の承認を得て、難治性角結膜上皮疾患に対して臨床応用を行った。さらにこの培養技術法についての必須条件をさまざまな角度から詳細に検討し、基質としては羊膜上皮細胞を除去した羊膜を使用し、3T3 細胞との共培養を行い、また培養期間中に air-lifting を行うことが培養上皮シートを作成するために必須であることを示した。また角膜上皮 stem cell をより多く含むと考えられる cell suspension 法による培養角膜上皮シート作成にも成功した。

- A. 研究目的 本研究では生体材料として広く普及しているヒト羊膜を基質として、ヒト角膜上皮幹細胞 (Transient Amplifying Cell を含む) を培養して角膜上皮細胞シートを作成して眼表面に移植する技術を確立することを目的とする。この技術の確立により、急性期及び慢性期の難治性角結膜疾患患者に対する臨床応用が期待できる。
- B. 研究方法 上皮を搔爬した羊膜上に in vitro で角膜上皮幹細胞を含む上皮細胞を生着させて上皮細胞シートを作成し、in vivo へ移植する手術法について基礎的ならびに臨床的検討を行った。倫理面への配慮では羊膜採取および培養角膜上皮移植術については大学倫理委員会の承認を受け、その規定に従って行った。
- C. 研究結果 In vitro から In vivo への移植に耐えうる培養角膜上皮シートの作成条件を詳細に検討した結果、基質としての羊膜は EDTA により羊膜上皮細胞を除去して用いること、培養にはマイトマイシン C 処理した 3T3 細胞との共培養を行うことにより安定化すること、培養期間後半に培養上皮シートを空気に暴露する (air-lifting) ことによって、表層細胞のバリアー機能を持たせること、培養方法では従来の explant 法と比較して cell suspension 法によるシート作成が良好であることがわかった。これまでに上述の条件で作成した培養角膜上皮シートを用いて、臨床例 31 例に手術を施行し、全例で培養上皮は角膜上に生着し、良好な角膜上皮層を形成することができた。
- D. 考察 1) 達成度について 本研究において、臨床応用可能な培養角膜上皮シートの作成条件を詳細に検討することが可能となった。また、角膜上皮幹細胞をより多く含むと考えられる cell suspension 法により作成した培養角膜上皮シートは臨床応用可能となった。2) 研究成果の学術的、国際的、社会的意義について 本研究により得られた基礎的ならびに臨床応用の成果は Investigative Ophthalmology Visual Science, Ophthalmology 誌などに掲載され、国際的にも注目されており、社会的意義も大きいと考えられる。3) 今後の展望について 本研究に得られた羊膜上培養角膜上皮シート作成の培養技術を広く他の上皮系の細胞に応用することにより、自己移植を念頭に置いた新たな治療法を確立する。
- E. 結論 羊膜を基質とした培養角膜上皮シートの作成法を確立し、難治性角結膜上皮患者に臨床応用し、良好な結果を得た。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Koizumi N et al: Cultivated corneal epithelial stem cell transplantation in ocular surface disorders. *Ophthalmology* 108: 1569-1574, 2001.

2. Kinoshita S et al: Characteristics of the human ocular surface epithelium. *Prog. Ret and Eye Res* 20: 639-673, 2001.

3. Koizumi N et al: Cultivated corneal epithelial transplantation for ocular surface reconstruction in acute phase Stevens-Johnson syndrome. *Arch Ophthalmol* 119: 298-300, 2001.

4. Koizumi N et al: An evaluation of cultivated corneal limbal epithelial cells using cell suspension culture. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 43; 2114-2121, 2002.

5. Nakamura T et al: Successful re-grafting of cultivated corneal epithelial transplantation using amniotic membrane as a carrier in severe ocular surface disease. *Cornea*. 22; 70-1: 2003.

2. 学会発表

1. Koizumi N et al. An evaluation of cultivated corneal limbal epithelial cells using cell suspension culture. 2001 ARVO, Fort Lauderdale, Florida, USA, 2001.

2. Ban Y et al. Comparison of the ultrastructure and barrier function of cultivated human corneal epithelial cells on amniotic membrane with and without air-lifting. 2001 (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, USA, 2001.

3. Kinoshita S et al. Cultivated corneal epithelial transplantation in severe ocular surface disease. The 6th International Ocular Surface Society (IOSS), Fort Lauderdale, Florida, USA, 2001.

4. Ban Y et al. Tight junction associated integral membrane proteins in human corneal epithelial cells cultivated on amniotic membrane. XIII. Congress of The European Society of Ophthalmology, Istanbul, Turkey, 2001.

5. Nakamura T et al. Re-grafting of cultivated corneal

epithelial transplantation in severe ocular surface disease. 7th International Ocular Surface Society Regional Meeting, Kyoto, Japan, 2001. 7

6. Ban Y et al. To evaluate the usefulness of the air-lifting technique for culturing corneal epithelial cell sheets on amniotic membrane for use in ocular surface reconstruction. 7th International Ocular Surface Society Regional Meeting, Kyoto, Japan, 2001.

7. Cooper L et al. Electron microscopic investigation into the removed cultivated epithelial transplants in patients after allo-cultivated corneal epithelial transplantation. 7th International Ocular Surface Society Regional Meeting, Kyoto, Japan, 2001.

8. Nakamura T et al. Successful culture of rabbit oral epithelial cells on amniotic membrane - A new strategy for ocular surface reconstruction. 2002 ARVO, Fort Lauderdale, Florida, USA, 2002.5.9.

9. Ban Y et al: Quantitative ultrastructural comparison of human corneal epithelial cells cultivated on amniotic membrane with and without air-lifting. 2002 Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, USA, 2002.5.6.

10. Kinoshita S et al: Reconstruction of damaged corneal surfaces by transplantation of autologous cultivated oral epithelium. 2002 Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, USA, 2002.5.8.

11. Nakamura T et al. The Successful Culture and Autologous Transplantation of Rabbit Oral Epithelial Cells Using Amniotic Membrane as a Carrier. XV International Congress of Eye Research (ICER), Geneva, Switzerland, 2002.10 1

12. Nakamura T. Ocular surface reconstruction using cultivated mucosal epithelial stem cells. The 8th Annual Meeting of the Kyoto Cornea Club, Kyoto, 2002.12.7.

cultivated mucosal epithelial stem cells. The 8th Annual

Meeting of the Kyoto Cornea Club, Kyoto, 2002.12.7.

H. 知的財産権の出願、登録状況（予定を含む）

特になし

研究要旨

炎症を伴った角膜輪部疲弊症に対する眼表面の外科的再建は、最後に残された課題の一つである。当教室での羊膜移植・輪部移植同時手術の臨床成績を検討したが、免疫反応や手術侵襲などからその長期的な効果には限界がある。そこで、羊膜上に重層化させた培養角膜上皮シート移植に着目し、無血清培地での培養上皮シート作製を試みている。

A. 研究目的 近年、炎症を伴う角膜輪部上皮疲弊症や遷延性角膜上皮欠損などに対し、羊膜上に重層化させた培養角膜上皮シートの移植が試みられ、良好な臨床成績が得られている。今回は、当教室における羊膜移植・輪部移植同時手術症例における術後成績を考察するとともに、無血清培地での培養角膜上皮シート作成の可能性について検討する。

B. 研究方法 京都府立医大眼科の方法に習い、白色家兎の角膜上皮培養を試みた。冷凍ヒト羊膜を解凍後に 0.02%EDTA で 2 時間 incubate した後、cell scraper で羊膜上皮を剥離除去し culture insert に張った。この羊膜上に 3x3mm のウサギ角膜片を置き培養液 (SHEM) 中で 3T3 細胞と共培養し、角膜上皮の羊膜への進展を観察した。また、将来の臨床応用を念頭に、無血清培地でのシート作成についても検討した。

さらに、2000 年以降に羊膜移植・角膜輪部移植を施行した癩痕性角結膜疾患症例の長期術後成績を検討した。

C. 研究結果 京都府立医大方式により、In vitro における羊膜上へのウサギ角膜上皮の生着、進展を組織学的に確認できたほか、無血清培地においても良好な生育が見られている。

検討した臨床症例は 19 例 21 眼で、術後平均観察期間は 21.2 か月であった。術後 2 段階以上の視力改善は 15 眼 (71.4%) に得られたが、拒絶反応は 8 例 (38.0%) と高率に認められた。また、拒絶反応のほか、術後感染や原疾患再燃などにより、移植輪部片を越えて結膜上皮が全周に侵入した例が 1 眼、部

分的に侵入した例が 12 眼に及んだ。再建不良例は眼類天疱瘡に多く認められた。

D. 考察 羊膜移植・輪部移植同時手術の長期の術後成績は、重症ドライアイや慢性炎症を伴う疾患ではよくない。このために、より低侵襲で繰り返し行える手術方法の導入が必要である。

その意味で、培養角膜上皮シートの臨床応用に期待が持たれるが、無血清培地内で羊膜上の角膜上皮細胞を十分に重層化させる手法の開発が課題である。シートが作成できれば、家兎の角膜輪部上皮の疲弊モデルに対して、羊膜移植・輪部移植同時手術あるいは培養上皮シート移植とを行い、その術後経過を比較検討してみたい。

E. 結論 羊膜移植・角膜輪部移植の長期効果には限界があり、より侵襲が少ない培養上皮シート移植の臨床応用を推進すべきである。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

「マイトマイシン C 術中塗布と羊膜移植を併用した再発翼状片の手術成績」川_ 史朗, 宇野敏彦, 島村一郎, 大橋裕一; 日本眼科学会雑誌 2003 年 6 月号掲載予定

2. 学会発表

第 56 回日本臨床眼科学会「羊膜移植—再発翼状片を中心に—」宇野敏彦, 第 1 回愛媛再生移植研究会「眼表面疾患の再建」田中裕子, 大橋裕一他

H. 知的所有権の取得状況

なし。

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

雑誌（主任分）

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Jun Shimazaki, MD, Masayo Aiba, BS, Eiki Goto, MD, Naoko Kato, MD Shigeto Shimmura, MD, Kazuo Tsubota, MD	Transplantation of Human Limbal Epithelium Cultivated on Amniotic Membrane for the Treatment of Severe Ocular Surface Disorders.	Ophthalmology	109	1285-1290	2002
Shigeto Shimmura, MD, Kazuo Tsubota, MD	Ocular Surface Reconstruction Update	Current Opinion in Ophthalmology	13	213-219	2002
Jun Shimazaki, MD, Shigeto Shimmura, MD, Kazuo Tsubota, MD	Limbal Stem Cell Transplantation for the Treatment of Subepithelial Amyloidosis of the Cornea (Gelatinous Drop-like Dystrophy)	Cornea	21(2)	177-180	2002
Kazuo Tsubota, MD, Shigeto Shimmura, MD, Naoshi Shinozaki, MS, Edward J. Holland, MD, Jun Shimazaki, MD	Clinical Application of Living-related Conjunctival-limbal Allograft	American Journal of Ophthalmology	133	134-135	2002

雑誌（分担分）

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Koizumi N et al	ultivated corneal epithelial stem cell transplantation in ocular surface disorders	Ophthalmology	108	1569-1574	2002

Kinoshita S et al	Characteristics of the human ocular surface epithelium	Prog. Ret and Eye Res	20	639-673	2002
Koizumi N et al	Cultivated corneal epithelial transplantation for ocular surface reconstruction in acute phase Stevens-Johnson syndrome.	Ophthalmol	119	98-300	2002
Koizumi N et al: An	Successful regrafting of cultivated corneal epithelial transplantation using amniotic membrane as a carrier in severe ocular surface disease	Invest Ophthalmol Vis Sci.	298-300	2114-2121	2002
Nakamura T et al	Successful regrafting of cultivated corneal epithelial transplantation using amniotic membrane as a carrier in severe ocular surface disease	Cornea	22	70-71	2003

20020474

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、
P.10-P.11の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。