

Myocilin Gene in Japanese Patients With Normal Tension Glaucoma. *Ophthalmic Research* 35:345-350 (2003)

Yasuhiko Tanaka, Jun Utsumi, Mizuo Matsui, Tetsuo Sudo, Noriko Nakamura, Masato Mutoh, Akemi Kajita, Saburo Sone, Kazuteru Kigasawa, Masahiko Shibuya, Venkat N. Reddy, Qiang Zhang, and Takeshi Iwata. Purification, Molecular Cloning, and Expression of a Novel Growth Promotive Factor for Retinal Pigment Epithelial Cells, REF-1/TFPI-2. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45:245-252 (2004)

岩田岳、真島行彦  
インベーター法を用いた緑内障の遺伝子解析  
Bio Medical Quick Review Net 2004

記事番号 40019  
<http://www.medicaldo.co.jp/>  
株式会社メディカルド

Minoru Obazawa, Yukihiko Mashima, Naoko Sanuki, Setsuko Noda, Jun Kudoh, Nobuyoshi Shimizu, Yasuhiko Tanaka, and Takeshi Iwata. Comparable Analysis of Porcine Optineurin and Myocilin Expression in Trabecular Meshwork Cells and Astrocytes from Optic Nerve Head. *Invest Ophthalmol Vis Sci* (2004, in press)

2. 学会発表

岩田岳、真島行彦、尾羽澤実、真島行彦、讃岐奈緒子、野田節子、工藤純、清水信義、田中靖彦、岩田岳。日本眼科学会 2003年5月 (福岡)

岩田岳、真島行彦、尾羽澤実、真島行彦、讃岐奈緒子、野田節子、工藤純、清水信義、田中靖彦、岩田岳。日本眼科学会 2003年5月 (福岡)

岩田岳、真島行彦、尾羽澤実、真島行彦、讃岐奈緒子、野田節子、工藤純、清水信義、田中靖彦、岩田岳。日本眼科学会 2003年5月 (福岡)

岩田岳、讃岐奈緒子、真島行彦、田中靖彦、水晶発振子マイクロバランスを用いた OPTN と RAB8 の分子間相互作用の解析。日本眼科学会 2003年5月 (福岡)

尾羽澤実、真島行彦、讃岐奈緒子、野田節子、工藤純、清水信義、田中靖彦、岩田岳。日本眼科学会 2003年5月 (福岡)

Iwata T, Sanuki N, Mashima Y, Tanaka Y. Analysis of Optineurin-RAB8 Protein-Protein Interaction Using Quartz-Crystal Microbalance (QCM). *The Association of Research in Vision and Ophthalmology*, May 2003, Fort Lauderdale Florida USA

Obazawa M, Sanuki N, Mashima Y, Noda S, Kudo J, Shimizu N, Tanaka Y, Iwata T. Expression of Porcine Myocilin and Optineurin in Trabecular Meshwork Cells and Astrocytes from Optic Nerve Head. *The Association of Research in Vision and Ophthalmology*, May 2003, Fort Lauderdale Florida USA

岩田岳、真島行彦、尾羽澤実、真島行彦、讃岐奈緒子、野田節子、工藤純、清水信義、田中靖彦、岩田岳。日本眼科学会 2003年5月 (福岡)

## 眼疾患に対する遺伝子・細胞治療に関する研究

### —視細胞の分化調節機構に関する研究—

分担研究者 岡野 栄之 慶應義塾大学医学部生理学教室 教授

研究要旨: 原発性・続発性に障害された神経網膜、特に網膜視細胞の再生を可能にするために、マウス網膜を用いて網膜視細胞の分化誘導に関与する調節機構の一部を明らかにした。網膜視細胞の分化を細胞外微少環境と関連づけて解析し、組織内再生や細胞移植による治療法の研究に利用する。

#### A. 研究目的

視細胞の分化には、外的因子および内的因子の相互関係が関与するとされている。外的因子である Ciliary neurotrophic factor (CNTF) は、*in vitro* で視細胞の分化マーカーであるロドプシンの発現を抑制することが知られ、さらに、生体内での視細胞分化の開始は、CNTF の発現が生体網膜内で急激に低下する時期に一致していたことから、視細胞の分化の過程に何らかの影響を与えると考えられていた。また、CNTF は、損傷網膜においては、その活性が上昇しているとされ、再生医学の見地からも興味深い外的因子であるといえた。そこで我々は、網膜視細胞の分化調節機構の一部を明らかにするため、マウス神経網膜を用い、CNTF が網膜視細胞前駆細胞の内的因子に与える影響を解析した。再生医療の見地からは、この情報を、組織内再生や細胞移植などの新規治療法の開発の基礎として役立てることを目的とする。

#### B. 研究方法

我々はマウス神経網膜を器官培養する方法を導入した。この方法ではマウス網膜の正常発生の過程をよく再現することが知られていた。これを利用し、外的因子である CNTF が、その下流のいずれのシグナル伝達機構を介し、視細胞の分化マーカーであるロドプシンの発現を抑制するかを解析した。そのために、我々は、周産期マウスの器官培養した網膜を、免疫染色法や *in situ* hybridization 法を用いて定性的に解析すると共に、イムノブロット法や real-time RT-PCR 法を用いて定量的にも解析した。

さらに、この器官培養法を活用し、ノックアウトマウスの網膜組織と、エレクトロポレーションによる遺伝子導入法を用い、CNTF の影響の原因となった細胞内シグナル伝達機構を明らかにした。エレクトロポレーション法は、器官培養下の

正常神経網膜に、直接遺伝子を導入する方法を新たに確立した。また、CNTF/gp130 の下流のシグナルがそれぞれ阻害された遺伝子改変マウスを交配により準備した。

さらに、このシグナルの生体内での視細胞分化における機能に関し、定性的、定量的手法を用いてノックアウトマウスを解析した。

(倫理面の配慮)  
動物の飼育・管理は慶應義塾大学医学部動物実験ガイドラインを遵守して行われている。

#### C. 研究結果

1) 生後0日目のマウス神経網膜を CNTF 存在下で器官培養したところ(5~9日間)、予定視細胞層(presumptive rod photoreceptor cell layer)において、*crx* およびロドプシンの発現は抑制され、STAT3 は活性化されていた。また、CNTF を添加して培養した後、CNTF を除いて培養すると、活性化 STAT3 の発現は低下し、ロドプシンの発現が開始した。

2) 網膜特異的 STAT3 conditional KO マウスの網膜では、CNTF 存在下で器官培養しても、*crx* およびロドプシンの発現は保たれていた。これに対し、SHP2 活性化が阻害された gp130 レセプター変異マウスの網膜では、CNTF 存在下で器官培養すると、正常網膜細胞と同様、*crx* およびロドプシンの発現は抑制された。また、正常網膜でも STAT3 ドミナントーネガティブ変異株を導入され、STAT3 活性化を阻害された細胞での一部では、CNTF が存在しても、*crx* およびロドプシンの発現は保たれていた。すなわち、SHP2 ではなく、STAT3 の活性化を阻害すると、CNTF を添加しても *crx* およびロドプシンの発現は抑制されなかった。

3) 網膜特異的 STAT3 conditional KO マウスの胎生18日目の網膜では、正常網膜と異なり STAT3 の活性化が見られないのだが、real-time RT-PCRに

において *crx* mRNA の発現上昇が正常より早期に見られた。ただし、ロドプシンの発現時期に明らかに変化は見られなかった。

#### D. 考察

本来ロドプシンの発現が開始する生後0日目以降の網膜細胞でも、*in vitro*において、CNTFを添加すると、ロドプシンの発現が抑制されることが知られていた。これはCNTF/gp130レセプター系下流の主な2つのシグナル伝達経路のうち、STAT3の活性化を介して生じたロドプシンの上流の転写因子 *crx* の発現抑制を伴っていることが明らかになった。網膜特異的にSTAT3を発現しないSTAT3 conditional KO マウスや SHP2リン酸化能を欠くgp130レセプター変異マウスの網膜器官培養、リン酸化能を持たないSTAT3ドミカン、トモネガティブ変異株の遺伝子を導入した網膜器官培養の解析から、SHP2ではなくSTAT3の活性化が生じない状況下では、CNTFによる視細胞分化の抑制が解除されることが明らかになった。よって、CNTFが *crx* とロドプシン発現を抑制するには、STAT3の活性化が必要であるといえた。

正常より早期に、活性化STAT3の低下が生じる網膜特異的STAT3 conditional KO マウスで、正常より早期に *crx* の発現上昇があつたことからも、活性化STAT3の発現低下は視細胞の分化時期を決定する因子の一つとして関与していると考えられた。ただし、網膜特異的STAT3 conditional KO マウスでも、ロドプシンの発現開始時期に変化は無く、視細胞分化のためには、活性化STAT3以外にも解除されるべき負の調節因子や、新たに発現すべき正の調節因子の存在する可能性が示唆された。

#### E. 結論

マウス視細胞(rod)の分化マーカーである *crx* およびロドプシンの発現には、活性化STAT3の発現低下が必要であることが明らかになった。*in vitro* でCNTFの添加によりSTAT3を活性化し続けると、正常では分化するはずの時期になっても分化せず、CNTF除去により活性化STAT3の発現が低下すると分化し始めた。また、胎生後期に活性化STAT3の発現がみられないと、分化の開始が早まる傾向にあった。しかし、単独で最終分化マーカーロドプシンの発現開始を早めるものではなく、他の因子も共に関与する可能性が考えられた。すなわち、活性化STAT3は発生過程において視細胞分化に対し抑制的に働き、その発現低下は視細胞の分化の時期を決める因子の一つとして、部分的に関与していると考えられた。

F. 健康管理情報 (Journal of Health Management Information Science) に掲載された論文の要約をまとめた。また、この論文の全文を無料でダウンロードできる。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Tonchev AB, Yamashita T, Zhao L, Okano HJ, Okano H: Proliferation of neural and neuronal progenitors after global brain ischemia in young adult macaque monkeys. *Mol Cell Neurosci* 23: 292-301, 2003

Kayahara T, Sawada M, Takaiishi S, Fukui H, Seno H, Fukuzawa H, Suzuki K, Hiai H, Kageyama R, Okano H, Chiba T: Candidate markers for stem and early progenitor cells, Musashi-1 and Hes1, are expressed in crypt base columnar cells of mouse small intestine. *FEBS Letter* 535: 131-135, 2003

Sasaki T, Kitagawa K, Sugimura S, Omura-Matsuoka E, Tanaka S, Yagita Y, Okano H, Matsumoto M, Hori M: Implication of Cyclooxygenase-2 on Enhanced Proliferation of Neural Progenitor Cells in the Adult Mouse Hippocampus After Ischemia. *J Neurosci Res* 72: 461-471, 2003

Nakamura Y, Yamamoto M, Oda E, Yamamoto A, Kanemura Y, Hara M, Suzuki A, Yamasaki M, Okano H: Expression of tubulin beta II in neural stem/progenitor cells and radial fibers during human fetal brain development. *Lab Invest* 83: 479-489, 2003

Yuasa Y, Okabe M, Yoshikawa S, Tabuchi K, Xiong W, C, Hiromi Y, Okano H: Drosophila homeodomain protein REPO controls glial differentiation by cooperating with ETS and BTB transcription factors. *Development* 130: 2419-2428, 2003

Uchida K, Okano H, Hayashi T, Mine Y, Tanioka Y, Nomura T, Kawase T: Grafted swine neuroepithelial stem cells can form myelinated axons and both efferent and afferent synapses with xenogeneic rat neurons. *J Neurosci Res* 72: 661-669, 2003

Kokuzawa J, Yoshimura S, Kitajima H, Shinoda J, Kaku Y, Iwama T, Morishita R, Shimazaki T, Okano H, Kunisada T, Sakai N: Hepatocyte growth factor promotes proliferation and neural differentiation of neural stem cells from mouse embryos. *Mol Cell Neurosci* 24: 190-197, 2003

Ishizuya-Oka A, Shimizu K, Sakakibara SI, Okano H, Ueda S: Thyroid hormone-upregulated expression of Musashi-1 is specific for progenitor cells of the adult epithelium during amphibian gastrointestinal remodeling. *J Cell Sci* 116: 3157-3164, 2003

Kanuka H, Kuranaga E, Hiratou T, Igaki T, Nelson B

Okano H, Miura M: Cytosol-endoplasmic reticulum interplay by Sec61alpha translocon in polyglutamine-mediated neurotoxicity in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 11723-11728, 2003

Baker H, Kobayashi K, Okano H, Saino-Saito S: Cortical and striatal expression of tyrosine hydroxylase mRNA in neonatal and adult mice. *Cell Mol Neurobiol* 23: 503-518, 2003

Tamaki T, Akatsuka A, Okada Y, Matsuzaki Y, Okano H, and Kimura M: Growth and differentiation potential of main- and side-population cells derived from murine skeletal muscle. *Exp Cell Res* 291: 83-90, 2003

Miyanomori Y, Kobayashi H, Watanabe M, Nagata T, Imai T, Uesugi S, Okano H, Katahira M: Origin of higher affinity to RNA of the N-terminal RNA-binding domain than that of the C-terminal one of a mouse neural protein, musashi1, as revealed by comparison of their structures, modes of interaction, surface electrostatic potentials, and backbone dynamics. *J Biol Chem* 278: 41309-41315, 2003

Yoshida T, Tokunaga A, Nakao K, Okano H: Distinct expression patterns of splicing isoforms of mNumb in the endocrine lineage of developing pancreas. *Differentiation* 71: 486-495, 2003

Hu QD, Ang BT, Karsak M, Hu WP, Cui XY, Duka T, Takeda Y, Chia W, Natesan S, Ng YK, Ling EA, Israel A, Maciag T, Small D, Trifonova R, Kopan R, Okano H, Nakafuku M, Chiba S, Hirai H, Schachner M, Pallen CJ, Watanabe K, Xiao ZC: F3/Contactin acts as a functional ligand for Notch during oligodendrocyte maturation. *Cell* 115: 163-175, 2003

Okada S, Nakamura M, Mikami Y, Shimzakai T, Ohsugi Y, Yoshizaki K, Kishimoto T, Toyama Y, Okano H: Blockade of interleukin-6 receptor ameliorates functional recovery in spinal cord injury. *J Neurosci Res* In press, 2004

Yamashima T, Tonchev BA, Seki T, Sawamoto K, Okano H: Vascular adventitia generates neuronal progenitors in monkey hippocampus after ischemia. *Hippocampus* In press, 2004

Matsuzaki Y, Kinjo K, Mulligan RC, Okano H: Unexpectedly efficient homing capacity of purified murine hematopoietic stem cell. *Immunity* 20: 87-93, 2004

Murata J, Murayama A, Horii A, Doi K, Harada T, Okano H, Kubo T: Expression of Musashi1, a neural RNA-binding protein, in the cochlear of young adult mice. *Neuroscience Letter* 354: 201-204, 2004

Ieda M, Fukuda K, Kimura K, Hisaka Y, Kawaguchi H, Shimoda K, Takeshita E, Okano H, Kurihara Y, Kurihara H, Ishida J, Fukamizu A, Salamone L, Howard JF, Ogawa S: Endothelin-1 regulates cardiac sympathetic nerve innervation in the rodent heart by controlling nerve growth factor expression. *J Clin Invest* In press, 2004

Watanabe K, Nakamura M, Iwanami A, Fujita Y, Kanemura Y, Toyama Y, Okano H: Comparison between fetal spinal cord and forebrain-derived neural stem/progenitor cells as a source of transplantation for spinal cord injury. *Dev Neurosci* In Press, 2004

Ohba H, Chiyoda T, Endo E, Yano M, Hayakawa Y, Sakaguchi M, Darnell RB, Okano HJ, Okano H: Sox21 is a repressor of neuronal differentiation and is antagonized by YB-1. *Neurosci Lett* In Press, 2004

Mikami Y, Okano H, Sakaguchi M, Nakamura M, Shimazaki T, Okano HJ, Kawakami Y, Toyama Y, Toda M: Implantation of dendritic cells in the injured adult spinal cord results in activation of the endogenous neural/progenitor cells for denovo neurogenesis and axonal regeneration, leading to functional recovery. *J Neurosci Res* In Press, 2004

Ozawa Y, Nakao K, Takeda J, Akira, Gruss P, Hirano T, Oguchi Y, Okano H: Down-regulation of STAT3 activation is required as an intrinsic factor to complete rod photoreceptor differentiation. *Mol Cell Neurosci* In Press, 2004

Sakaguchi H, Yaoi T, Suzuki T, Okano H, Hisa Y, Fushiki N: Spatiotemporal patterns of Musashi1 expression during inner ear development. *Neuroreport* In Press, 2004

Tokunaga A, Kohyama J, Yoshida T, Nakao K, Sawamoto K, Okano H: Mapping spatio-temporal activation of Notch signaling during neurogenesis and gliogenesis in the developing mouse brain. *J Neurochem* In Press, 2004

## 2. 学会発表

小沢洋子、中尾啓子、島崎琢也、竹田潤二、審良静男、石原 克彦、平野俊夫、小口佳久、岡野栄之 Downregulation of STAT3-activation is required for presumptive rod photoreceptor cells to differentiate in the postnatal retina. 第26回分子生物学会年会、神戸、2003年12月

## 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

幹細胞から眼組織への分化誘導能に関する研究

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：再生医療の材料として期待されている幹細胞の眼組織への分化誘導能を検討する目的で、本年度はマウスの各種幹細胞の生存・死・分化誘導能等の特性の検討を主要な細胞内情報伝達系である MAP キナーゼ (ERK や SAPK/JNK) 系や PAX6 遺伝子を用いた眼組織への分化誘導能の観点から検討した。その結果、ES 細胞の生存維持には ERK 系が関与すること、また、PAX6 遺伝子をマウス胎児の色素上皮に導入することによって、ニワトリ同様に網膜組織へと分化誘導する可能であることを見出した。これらの結果は、再生医療に求められる幹細胞の試験管内培養法や眼組織への分化誘導系を確立する上で重要な知見を提供すると考えられる。

A. 研究目的

眼組織構築に期待されている ES 細胞や骨髄細胞などの特性を明らかにし、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

阻害剤や遺伝子破壊法を用いてマウス ES 細胞における MAP キナーゼ系を阻害し、その生存や細胞死に対する影響を検討した。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

MAP キナーゼ系が ES 細胞の生存維持や分化誘導に必須の役割を果たすこと、またニワトリ同様、マウスにおいても色素上皮には Pax6 感受性の幹細胞が存在し網膜組織へと分化誘導可能であることを見出した。

D. 考察

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されている。マウス眼形成においても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。また、哺乳動物においても幹細胞から網膜組織を構築できることが示唆された。

E. 結論

ES 細胞の生存や分化誘導に関わるシグナル伝達系の一端が解明された。また、哺乳動物においても PAX6 発現誘導系を利用した幹細胞から眼組織への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

Kishimoto, H. et al. Different Properties of SEK1 and MKK7 in Dual Phosphorylation of Stress-induced Activated Protein Kinase SAPK/JNK in Embryonic Stem Cells. *J. Biol. Chem.* 278, 16595-16601 (2003).

Okamura-Oho, Y. et al Dentatorubral-pallidoluyasian atrophy (DRPLA) protein is phosphorylated by c-Jun NH<sub>2</sub>-Terminal Kinase. *Hum. Mol. Genet.*, 12, 1535-1542 (2003).

Saibil, SD. et al Weak agonist self-peptides promote selection and tuning of virus-specific T cells. *Eur. J. Immunol.* 33, 685-696 (2003).

Nishina, H. et al. Activation Mechanism and Physiological Roles of Stress-Activated Protein Kinase/c-Jun NH<sub>2</sub>-Terminal Kinase in Mammalian Cells. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* (2003) in press.

Momose, H. et al. Dual Phosphorylation of Phosphoinositide 3-Kinase Adaptor Grb2-Associated Binder 2 Is Responsible for Superoxide Formation Synergistically Stimulated by Fcγ and Formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanine Receptors in Differentiated THP-1 Cells. *J. Immunol.*, 171, 4227-4234 (2003).

Terai, S. et al. An *in vivo* model for monitoring trans-differentiation of bone marrow cells into functional hepatocytes. *J. Biochem.*, 134, 551-558 (2003).

Yamamoto, N. et al. A subpopulation of bone marrow cells depleted by a novel antibody, anti-Liv8, is useful for cell therapy to repair damaged liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 313, 1110-1118 (2004).

Nishitai, G et al. Stress induces mitochondria-mediated apoptosis independent of SAPK/JNK activation in ES cells. *J. Biol. Chem.* 279, 1621-1626 (2004).

Wada, T. et al. MKK7 couples stress signaling to G2/M cell cycle progression and cellular senescence. *Nat. Cell Biol.* in press (2004).

Nishina, H. et al. (2004) [book] SAPK/JNK signaling participates in embryonic hepatoblast proliferation via a pathway different from NF- $\kappa$ B-induced anti-apoptosis. in *Stem Cell and Liver Regeneration*. pp. 1-14, Springer-Verlag Tokyo, Inc., Tokyo.

## 2. 学会発表

Keystone Symposia, カナダ国, バンフ, 2003年1月

3rd European Meeting on Zebrafish and Medaka Development and Genetics, フランス国, パリ, 2003年6月

第76回日本生化学会, 横浜, 2003年10月

第26回日本分子生物学会, 神戸, 2003年12月

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、(株)生物医学研究所から発売されている。

分担研究者：東ノ範行 国立成育医療センター 眼科医長

研究要旨 クリスタリン、ミオシリンあるいはオプシ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、隅角あるいは網膜視細胞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、水晶体、硝子体内に導入した際、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、隅角あるいは網膜視細胞に局限していた。

### 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. 実験方法

#### 1. 隅角組織で特異的発現するベクターの構築

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。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。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。

#### 2. 水晶体で特異的発現するベクターの構築

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。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。

#### 3. 網膜視細胞で特異的発現するベクターの構築

オプシン(青、赤、緑)は視物質として網膜視細胞に特異的に発現する遺伝子である。同遺伝子の5'プロモーター領域1000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 AxOpsNCre を COS-TPC 法で構築した。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) をマウスの網膜に投与し、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。

### C. 実験方法

#### d. 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、AxMyoNCre 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。

#### e. 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。

#### f. 網膜視細胞特異的な遺伝子発現

マウスの硝子体内に AxCALacZ を含むウイルス溶液を注入し、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網膜全層で認められた。これに対して、

AxOpsNCre と AxCALNLacZ の2種のウイルスベクターをマウスの硝子体内に同時投与した場合、LacZ で染色される組織は、網膜視細胞に限局していた。これより、この遺伝子導入システムにより網膜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、網膜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、オブシ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、水晶体、網膜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、眼のような複雑な構造をもつ器官では、正確に目標を定めた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、ミオシリンあるいはオブシ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、隅角あるいは網膜視細胞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

該当する危険は無し

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

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 VII. *Gene Therapy*, 10:406-414, 2003.

Ohtake Y, Tanino T, Suzuki Y, Miyata H, Taomoto M, Azuma N, Tanihara H, Araie M, Mashima Y. Phenotype of cytochrome P4501B1 gene (CYP1B1) mutations in Japanese patients with primary congenital glaucoma. *Br J Ophthalmol*, 87:302-304, 2003.

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*, 72:1565-1570, 2003.

Siozawa N, Tazima S, Azuma N, Hiroki K, Kono T, Ito M. Histological study of the hypertrophic placentas and open eyelid observed in cloned fetuses. *J Reprod. Dev*, 49:221-226, 2003.

Kanaji A, Kosuga M, Li X-K, Fukuhara Y, Tanabe A, Kamata Y, Azuma N, Yamada M, Sakamaki T, Toyama Y, Okuyama T. Improvement of skeletal lesions in mice with mucopolysaccharidosis type vii by neonatal adenoviral gene transfer. *Molecular Therapy*, In press.

Nishitai G, Shimizu N, Negishi T, Kishimoto H, Nakagawa K, Kitagawa D, Watanabe T, Momose H, Ohata S, Tanemura S, Asaka S, Kubota J, Saito R, Yoshida H, Mak TW, Wada T, Penninger JM, Azuma N, Nishina H, Katada T. Stress induces mitochondria-mediated apoptosis independent of SAPK/JNK activation in ES cells. *J. Biol. Chem.* In press.

Nishina H, Nakagawa K, Azuma N, Katada T. [review] Activation mechanism and physiological roles of stress-activated protein Kinase/c-Jun NH2-terminal kinase in mammalian cells. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*. In press.

Azuma N, Kawase E, Suzuki Y, Yamada M. Mutation of PAX6 gene detected in patients with congenital optic nerve anomalies. *European Society of Ophthalmology*, 337-343, 2003.

東 範行. 視線と視野の成り立ち. *日本視能訓練士協会誌*, 32:33-34, 2003.

東 範行. 網膜光障害の分子メカニズム. *日本の眼科*, 74:223-224, 2003.

東 範行. 先天白内障の原因遺伝子. *日本の眼科*, 74:113-114, 2003.

大西克尚・東 範行・雨宮次生. 小児の悪性腫瘍. *眼科*, 45:753-756, 2003.

東 範行. 画像ファイリングシステム NAVIS. *眼科診療プラクティス*, 文光堂, 東京, 6: 170-174, 2003.



東 範行. 眼組織. *Critical Neuroscience*. 中外医学社, 21, 1187-1191, 2003.

東 範行. 未熟児網膜症の管理. *眼科診療の最前線*, 金原出版, 東京, 223-230, 2003.

川瀬英理子・東 範行. 学校保健. *小児眼科のABC*. 日本医事新報社, 東京, 174-177, 2003.

東 範行(編). 視神経乳頭のみかた. *眼科診療プラクティス*, 文光堂, 東京, 2003.

東 範行. 目の異常. *最新保育保健の基礎知識*. 日本小児医事出版社, 東京, 298-300, 2003.

東 範行. 感覚器疾患. *新体系看護学 29 小児看護②健康障害をもつ小児の看護*. メジカルフレンド社, 東京, 338-343, 2003.

野田英一郎・東 範行. 眼疾患 結膜炎. *実践小児診療*. 日本医師会, 東京, 318. 2003.

野田英一郎・東 範行. 眼疾患 睫毛内反. *実践小児診療*. 日本医師会, 東京, 318. 2003.

鈴木由実・東 範行. 眼疾患 屈折異常. *実践小児診療*. 日本医師会, 東京, 318. 2003.

芝 大介・東 範行. 眼疾患 斜視. *実践小児診療*. 日本医師会, 東京, 319. 2003.

鈴木由実・東 範行. 眼疾患 眼異物. *実践小児診療*. 日本医師会, 東京, 319. 2003.

芝 大介・東 範行. 眼疾患 眼振. *実践小児診療*. 日本医師会, 東京, 320. 2003.

## 2. 学会発表

東 範行. 教育講演 小児の眼疾患. 第28回日本小児科学会東京地方会(東京) 2003年3月.

東 範行. 教育講演 電子カルテにおけるファイリングシステム. 日本白内障・眼内レンズ・屈折矯正学会(神戸) 2003年6月.

東 範行. 特別講演 眼の形態形成遺伝子. 生理化学談話会(大阪) 2003年11月

東 範行. シンポジウム 硝子体網膜手術の限界とこれからの対応—小児硝子体手術の適応と限界. 日本眼科学会(福岡) 2003年4月.

東 範行. シンポジウム 眼をつくる仕組みと再生医療. 成育公開シンポジウム(東京) 2003年5月. (主催: 日本小児眼科学会・共催: 産婦人科・小児科) 1-800(名古屋) 発行: 日本小児眼科学会

東 範行. シンポジウム 網膜芽細胞腫全国登録. 第28回日本小児眼科学会(神戸) 2003年6月.

(主催: 日本小児眼科学会・共催: 産婦人科・小児科) 1-800(名古屋) 発行: 日本小児眼科学会

東 範行. シンポジウム 電子カルテ化と眼科診療—ペーパーレス電子カルテの現状と問題点. 第57回日本臨床眼科学会(名古屋) 2003年10月.

(主催: 日本臨床眼科学会・共催: 産婦人科・小児科) 1-800(名古屋) 発行: 日本臨床眼科学会

東 範行. シンポジウム Vision2020の進展—我が国における小児失明の現状と対策. 第57回日本臨床眼科学会(名古屋) 2003年10月.

(主催: 日本臨床眼科学会・共催: 産婦人科・小児科) 1-800(名古屋) 発行: 日本臨床眼科学会

東 範行. 25G径結膜硝子体手術. 第57回日本臨床眼科学会(名古屋) 2003年10月.

(主催: 日本臨床眼科学会・共催: 産婦人科・小児科) 1-800(名古屋) 発行: 日本臨床眼科学会

Azuma N. Update treatment of retinopathy of prematurity in Japan. *Advanced Vitreous Surgery Course*. (Tokyo) 2003年10月.

Azuma N. PAX6 mutations in congenital eye anomalies and role of the gene on retinal development. *International Symposium of the Pax6 Gene* (Sendai) 2003年7月.

Azuma N, Kawase E, Suzuki Y, Yamada M. Mutation of the PAX6 gene detected in patients with congenital optic nerve anomalies. *The 14th Congress of the European Society of Ophthalmology* (Madrid) 2003年6月.

芝 大介・東 範行. 先天網膜ひだの硝子体手術. 日本眼科手術学会(京都) 2003年1月.

鈴木由美・川瀬英理子・仁科幸子・東 範行. 左右の異なった視神経異常を呈した3症例. 第28回日本小児眼科学会(神戸) 2003年6月.

仁科幸子・越後貫滋子・赤池祥子・東 範行. 早期発症外斜視手術例の検討. 第28回日本小児眼科学会(神戸) 2003年6月.

鈴木由美・川瀬英理子・仁科幸子・東 範行. 乳頭周囲ぶどう腫の光干渉断層像. 第57回日本臨床眼科学会(名古屋) 2003年10月.

芝 大介・東 範行. 電子カルテにおけるデータファイリング. 第57回日本臨床眼科学会(名古屋)

屋)2003年10月。

仁科幸子・東 範行. 先天・発達白内障術後の緑内障. 第57回日本臨床眼科学会 (名古屋)2003年10月。

鎌田裕子・仁科幸子・東 範行. 瞳孔形成を行った角膜水晶体分離不全の1例. 第57回日本臨床眼科学会 (名古屋)2003年10月。

羽藤 晋・仁科幸子・東 範行・山田昌和. 早期発症調節性内斜視の治療経過. 第57回日本臨床眼科学会 (名古屋)2003年10月。

#### 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

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	頁数
Nishima H et al.	SAPK/JNK signaling participates in embryonic hepatoblast proliferation via a pathway different from NF-B-induced anti-apoptosis.		Stem Cell and Liver Regeneration	Springer-Verlag Tokyo	Tokyo	2004	14
東 範行	未熟児網膜症の管理		眼科診療の最前線	金原出版	東京	2003	223-230
川瀬英理子 東 範行	学校保健		小児眼科のABC	日本医事 新報社	東京	2003	174-177
東 範行	目の異常		最新保育保健の基礎知識	日本小児 医事出版 社	東京	2003	298-300
東 範行	感覚器疾患		新体系看護学 29 小児看護②健康障害をもつ小児の看護	メジカル フレンド 社	東京	2003	338-343
野田英一郎 東 範行	眼疾患 結膜炎		実践小児診療	日本医師 会	東京	2003	318
野田英一郎 東 範行	眼疾患 睫毛内反		実践小児診療	日本医師 会	東京	2003	318
鈴木由美 東 範行	眼疾患 屈折異常		実践小児診療	日本医師 会	東京	2003	318
芝 大介 東 範行	眼疾患 斜視		実践小児診療	日本医師 会	東京	2003	319
鈴木由美 東 範行	眼疾患 眼異物		実践小児診療	日本医師 会	東京	2003	319
芝 大介 東 範行	眼疾患 眼振		実践小児診療	日本医師 会	東京	2003	320

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
Kamata Y, Tanabe A, Kanaji A, Kosuga M, Fukuhara Y, Li XK, 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	Gene Ther	10	406-414	2003

	mucopolysaccharidosis VII.				
Kanaji A, Kosuga M, Li XK, Fukuhara Y, Tanabe A, Kamata Y, Azuma N, Yamada M, Sakamaki T, Toyama Y, Okuyama	T.Improvement of skeletal lesions in mice with mucopolysaccharidosis type VII by neonatal adenoviral gene transfer.	Mol Ther.	8	718-725	2003
Fujino M, Kawasaki M, Funeshima N, Kitazawa Y, Kosuga M, Okabe K, Hashimoto M, Yaginuma H, Mikoshiba K, Okuyama T, Suzuki S, Li XK.	CrmA gene expression protects mice against concanavalin- A-induced hepatitis by inhibiting IL-18 secretion and hepatocyte apoptosis.	Gene Ther.	10	781-1790	2003
M. Takahashi, NJ. Deb, Y. Kawashita, SW. Lee, J. Furgueil, T. Okuyama, N. Roy-Chowdhury, B. Vikram, J. Roy-Chowdhury, C. Guha.	A novel strategy for in vivo expansion of transplanted hepatocytes using preparative hepatic irradiation and FasL-induced hepatocellular apoptosis.	Gene Ther.	10	304-313	2003
M. Takahashi, H. Saito, K. Atsukawa, H. Ebinuma, T. Okuyama, H. Ishii.	Bcl-2 prevents doxorubicin- induced apoptosis of human liver cancer cells.	Hepatol. Res.	25	192-201	2003
Y. Abe, M. Takamura, M. Sawada, M. Hisano, Y. Tsuji, N. Saikawa, T. Okuyama, Y. Odajima, K. Fujita, H. Chikaoka, Y. Iikura.	Case of insertion, inversion and deletion of chromosome 6.	Pediatr Int	44	530-533	2003
Kamata Y, Tanabe A, Kanaji A, Kosuga M, Fukuhara Y, Li XK, 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 VII.	Gene Ther	10(5)	406-414	2003
Okamura-Oho Y, Miyashita T, Nagao K, Shima S, Ogata Y, Katada T, Nishina H, Yamada M.	Dentatorubral-pallidoluyasian atrophy protein is phosphorylated by c-Jun NH <sub>2</sub> -terminal kinase.	Hum Mol Genet	12 (13)	1535-1542	2003
Kanaji A, Kosuga M, Li XK, Fukuhara Y, Tanabe A, Kamata Y, Azuma N, Yamada M, Sakamaki T, Toyama Y, Okuyama T.	Improvement of skeletal lesions in mice with mucopolysaccharidosis type VII by neonatal adenoviral gene transfer.	Mol Ther	8(5)	718-725	2003
Fujii K, Miyashita T, Omata T, Kobayashi K, Takanashi J, Kouchi K, Yamada M, Kohno Y.	Gorlin syndrome with ulcerative colitis in a Japanese girl.	Am J Med Genet	121A (1)	65-68	2003
Fujii K, Kohno Y, Sugita K, Nakamura M, Moroi Y, Urabe K, Furue M, Yamada M, Miyashita T.	Mutations in the human homologue of <i>Drosophila patched</i> in Japanese nevoid basal cell carcinoma syndrome patients.	Hum Mutat	21(4)	451-452	2003

Shikama Y, Yamada M, Miyashita T	Caspase-8 and caspase-10 activate NF- $\kappa$ B through RIP, NIK and IKK $\alpha$ kinases.	Eur J Immunol	33(7)	1998-2006	2003
Miyahara A, Okamura-Oho Y, Miyashita T, Hoshika A, Yamada M	Genomic structure and alternative splicing of the insulin receptor tyrosine kinase substrate of 53-kDa protein.	J Hum Genet	48(8)	410-414	2003
Nagao K, Fujii K, Yamada M, Miyashita T	Identification of a novel polymorphism involving a CGG repeat in the <i>PITCH</i> gene and a genome-wide screening of CGG-containing genes.	J Hum Genet	49(2)	97-101	2004
小須賀基通, 奥山虎之	出生前における遺伝性疾患の遺伝子診断	医学のあゆみ	204	987-990	2003
Tonchev AB, Yamashita T, Zhao L, Okano H, Okano H	Proliferation of neural and neuronal progenitors after global brain ischemia in young adult macaque monkeys.	Mol Cell Neurosci	23	292-301	2003
Kayahara T, Sawada M, Takaishi S, Fukui H, Seno H, Fukuzawa H, Suzuki K, Hiai H, Kageyama R, Okano H, Chiba T	Candidate markers for stem and early progenitor cells, Musashi-1 and Hes1, are expressed in crypt base columnar cells of mouse small intestine.	FEBS Letter	535	131-135	2003
Sasaki T, Kitagawa K, Sugimura S, Omura-Matsuoka E, Tanaka S, Yagita Y, Okano H, Matsumoto M, Hori M	Implication of Cyclooxygenase-2 on Enhanced Proliferation of Neural Progenitor Cells in the Adult Mouse Hippocampus After Ischemia.	J Neurosci Res	72	461-471	2003
Nakamura Y, Yamamoto M, Oda E, Yamamoto A, Kanemura Y, Hara M, Suzuki A, Yamasaki M, Okano H	Expression of tubulin beta-II in neural stem/progenitor cells and radial fibers during human fetal brain development.	Lab Invest	83	479-489	2003
Yuasa Y, Okabe M, Yoshikawa S, Tabuchi K, Xiong W-C, Hiromi Y, Okano H	Drosophila homeodomain protein REPO controls glial differentiation by cooperating with ETS and BTB transcription factors.	Development	130	2419-2428	2003
Uchida K, Okano H, Hayashi T, Miñe Y, Tanioka Y, Nomura T, Kawase T	Grafted swine neuroepithelial stem cells can form myelinated axons and both efferent and afferent synapses with xenogeneic rat neurons.	J Neurosci Res	72	661-669	2003
Kokuizawa J, Yoshimura S, Kitajima H, Shinoda J, Kaku Y, Iwama T, Morishita R, Shimazaki T, Okano H, Kunisada T, Sakai N	Hepatocyte growth factor promotes proliferation and neural differentiation of neural stem cells from mouse embryos.	Mol Cell Neurosci	24	190-197	2003
Ishizuya-Oka A, Shimizu K, Sakakibara SI, Okano H, Ueda S	Thyroid hormone-upregulated expression of Musashi-1 is specific for progenitor cells of the adult epithelium during amphibian gastrointestinal remodeling.	J Cell Sci	116	13157-13164	2003
Kanuka H, Kuranaga E, Hiratou T, Igaki T, Nelson	Cytosol-endoplasmic reticulum interplay by Sec61 alpha translocon in	Proc Natl Acad Sci	100	11723-11728	2003

B, Okano H, Miura, M	polyglutamine-mediated neurotoxicity in <i>Drosophila</i> .	USA			
Baker H, Kobayashi K, Okano H, Saino-Saito S	Cortical and striatal expression of tyrosine hydroxylase mRNA in neonatal and adult mice.	Cell Mol Neurobiol	23	503-518	2003
Tamaki T, Akatsuka A, Okada Y, Matsuzaki, Y., Okano, H. and Kimura, M	Growth and differentiation potential of main- and side-population cells derived from murine skeletal muscle.	Exp Cell Res	291	83-90	2003
Miyanomori Y, Kobayashi H, Watanabe M, Nagata T, Imai T, Uesugi, S, Okano H, Katahira M	Origin of higher affinity to RNA of the N-terminal RNA-binding domain than that of the C-terminal one of a mouse neural protein, musashi1, as revealed by comparison of their structures, modes of interaction, surface electrostatic potentials, and backbone dynamics.	J Biol Chem	278	41309-41315	2003
Yoshida T, Tokunaga A, Nakao K, Okano, H	Distinct expression patterns of splicing isoforms of mNumb in the endocrine lineage of developing pancreas.	Differentiation	71	486-495	2003
Hu QD, Ang BT, Karsak M, Hu WP, Cui XY, Duka T, Takeda Y, Chia W, Natesan S, Ng YK, Ling EA, Israel A, Maciag T, Small D, Trifonova R, Kopan R, Okano H, Nakafuku M, Chiba S, Hirai H, Schachner M, Pallen CJ, Watanabe K, Xiao ZC	F3/Contactin acts as a functional ligand for Notch during oligodendrocyte maturation.	Cell	115	163-175	2003
Okada S, Nakamura M, Mikami Y, Shimzakai T, Ohsugi Y, Yoshizaki K, Kishimoto, T, Toyama, Y, Okano H	Blockade of interleukin-6 receptor ameliorates functional recovery in spinal cord injury.	J Neurosci Res		In press	2004
Yamashima T, Tonchev BA, Seki T, Sawamoto, K, Okano H	Vascular adventitia generates neuronal progenitors in monkey hippocampus after ischemia.	Hippocampus		In press	2004
Matsuzaki Y, Kinjo K, Mulligan RC, Okano H	Unexpectedly efficient homing capacity of purified murine hematopoietic stem cell.	Immunity	20	87-93	2003
Murata J, Murayama A, Horii A, Doi K, Harada T, Okano H, Kubo T	Expression of Musashi1, a neural RNA-binding protein, in the cochlea of young adult mice.	Neuroscience Letter	354	201-204	2003
Ieda M, Fukuda K, Kimura K, Hisaka Y, Kawaguchi H, Shimoda K, Takeshita E, Okano H, Kurihara Y, Kurihara H, Ishida J, Fukamizu A, Salamone L, Howard J.F, Ogawa S	Endothelin-1 regulates cardiac sympathetic nerve innervation in the rodent heart by controlling nerve growth factor expression.	J Clin Invest		In press	2004
Watanabe K, Nakamura M, Iwanami A, Fujita Y, Kanemura Y, Toyama Y, Okano H	Comparison between fetal spinal cord and forebrain-derived neural stem/progenitor cells as a source of transplantation for spinal cord injury.	Dev. Neurosci.		In press	2004
Ohba H, Chiyoda T, Endo	Sox21 is a repressor of neuronal	Neurosci		In Press	2004

E, Yano M, Hayakawa Y, Sakaguchi M, Darnell RB, Okano HJ, Okano H	differentiation and is antagonized by YB-1	Lettor			
Mikami Y, Okano H, Sakaguchi M, Nakamura M, Shimazaki T, Okano HJ, Kawakami Y, Toyama Y, Toda M	Implantation of dendritic cells in the injured adult spinal cord results in activation of the endogenous neural/progenitor cells for denovo neurogenesis and axonal regeneration, leading to functional recovery.	J. Neurosci. Res.			In Press 2004
Ozawa Y, Nakao K, Takeda J, Akira, Gruss P, Hirano T, Oguchi Y, Okano H	Down-regulation of STAT3 activation is required as an intrinsic factor to complete rod photoreceptor differentiation.	Mol Cell Neurosci.			In Press 2003
Sakaguchi H, Yaoi T, Suzuki T, Okano H, Hisa Y, Fushiki N	Spatiotemporal patterns of Musashi1 expression during inner ear development.	Neuroreport			In Press 2004
Tokunaga A, Kohyama J, Yoshida T, Nakao K, Sawamoto K, Okano H	Mapping spatio-temporal activation of Notch signaling during neurogenesis and gliogenesis in the developing mouse brain.	Neurochem			In Press 2004
Kishimoto, H. et al.	Different Properties of SEK1 and MKK7 in Dual Phosphorylation of Stress-induced Activated Protein Kinase SAPK/JNK in Embryonic Stem Cells.	J. Biol. Chem.	278	16595-16600	2003
Okamura-Oho, Y. et al.	Dentatorubral-pallidolusian atrophy (DRPLA) protein is phosphorylated by c-Jun NH <sub>2</sub> -Terminal Kinase.	Hum. Mol. Genet.	12	1535-1542	2003
Saibil, SD. et al.	Weak agonist self-peptides promote selection and tuning of virus-specific T cells.	Eur. J. Immunol.	33	685-696	2003
Nishina, H. et al.	Activation Mechanism and Physiological Roles of Stress-Activated Protein Kinase/c-Jun NH <sub>2</sub> -Terminal Kinase in Mammalian Cells.	J. Biol. Regul. Homeost. Agents.			in press 2004
Momose, H. et al.	Dual Phosphorylation of Phosphoinositide 3-Kinase Adaptor Grb2-Associated Binder 2 Is Responsible for Superoxide Formation Synergistically Stimulated by Fcγ and Formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanine Receptors in Differentiated THP-1 Cells.	J. Immunol.	171	4227-4234	2003
Terai, S. et al.	An <i>in vivo</i> model for monitoring trans-differentiation of bone marrow cells into functional hepatocytes.	J. Biochem.	134	551-558	2003
Yamamoto, N. et al.	A subpopulation of bone marrow cells depleted by a novel antibody, anti-Liv8, is useful for cell therapy to repair damaged liver.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	313	1110-1118	2003
Nishitai, G. et al.	Stress induces mitochondria-mediated apoptosis independent of SAPK/JNK activation in ES cells.	J. Biol. Chem.	279	1621-1626	2004
Wada, T. et al.	MKK7 couples stress signaling to G2/M cell cycle progression and cellular senescence.	Nat. Cell Biol.			in press 2004

Ohtake Y, Tanino T, Suzuki Y, Miyata H, Taomoto M, Azuma N, Tanihara H, Araie M, Mashima Y	Phenotype of cytochrome P4501B1 gene (CYP1B1) mutations in Japanese patients with primary congenital glaucoma.	Br J Ophthalmol	87	302-304	2003
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	72	1565-1570	2003
Siozawa N, Tazima S, Azuma N, Hiroki K, Kono T, Itou M.	Histological study of the hypertrophic placentas and open eyelid observed in cloned fetuses.	J Reprod Dev	49	221-226	2003
Kanaji A, Kosuga M, Li X-K, Fukuhara Y, Tanabe A, Kamata Y, Azuma N, Yamada M, Sakamaki T, Toyama Y, Okuyama T	Improvement of skeletal lesions in mice with mucopolysaccharidosis type vii by neonatal adenoviral gene transfer.	Molecular Therapy		in press	2004
Nishitai G, Shimizu N, Negishi T, Kishimoto H, Nakagawa K, Kitagawa D, Watanabe T, Momose H, Ohata S, Tanemura S, Asaka S, Kubota J, Saito R, Yoshida H, Mak TW, Wada T, Penninger JM, Azuma N, Nishina H, Katada T	Stress induces mitochondria-mediated apoptosis independent of SAPK/JNK activation in ES cells.	J. Biol. Chem.		in press	2004
Nishina H, Nakagawa K, Azuma N, Katada T	[review] Activation mechanism and physiological roles of stress-activated protein Kinase/c-Jun NH2-terminal kinase in mammalian cells.	J. Biol. Regul. Homeost. Agents		in press	2004
Azuma N, Kawase E, Suzuki Y, Yamada M	Mutation of PAX6 gene detected in patients with congenital optic nerve anomalies.	European Society of Ophthalmology		337-343	2003
東 範行	視線と視野の成り立ち	日本視能訓練士協会誌	32	33-34	2003
東 範行	網膜光障害の分子メカニズム	日本の眼科	74	223-224	2003
東 範行	先天白内障の原因遺伝子	日本の眼科	74	113-114	2003
大西克尚・東 範行・雨宮次生	小児の悪性腫瘍	眼科	45	753-756	2003
東 範行	画像ファイリングシステム NAVIS	眼科診療プラクティス	6	170-174	2003
東 範行	眼組織	Critical Neuroscience	21	1187-1191	2003
東 範行 (編)	視神経乳頭のみかた	眼科診療プラクティス			2003



20030582

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