

200500840A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

難治性疾患による涙腺の障害に対する
新規治療法の開発

平成 17 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 坪田一男
平成 18 (2006) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書	
難治性疾患による涙腺の障害に対する新規治療法の開発	2
坪田一男	
II. 分担研究報告	
1. 涙腺・唾液腺幹細胞の局在の検討	19
後藤英樹	
2. 涙腺・唾液腺 SP 細胞特異的発現因子の機能解析	23
斎藤一郎	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	27

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

難治性疾患による涙腺の障害に対する新規治療法の開発

主任研究者 坪田一男 慶應義塾大学医学部眼科学教室教授

研究要旨

難治性疾患であるスティーブン・ジョンソン症候群やシェーグレン症候群などにより消失または著しく障害された涙腺の分泌機能を回復するために再生医療を応用することが本研究の目的である。すなわち涙腺組織から幹細胞を同定純化し、分泌障害を有する当該腺組織に採取した幹細胞を移入することにより障害された分泌機能の回復をはかる。本年度は当該研究の初年度に当たり幹細胞を多数含んだ分画として採取された side population (SP) 細胞を用いた細胞治療の有効性を示すと共にその機能を検討した。また、本研究では涙液分泌障害との合併が知られている唾液分泌障害に対しても同様の検討を行った。これまで SP 細胞の移入により放射線照射により涙液・唾液分泌障害を誘導したマウスにおいて分泌能の回復が認められることを報告してきたが、さらに詳細に移入した組織における SP 細胞の生着を検討した結果、移入した SP 細胞による組織再構築能は認められず、移入した細胞は散在性に存在しているのみであった。このことより涙液・唾液量の回復は SP 細胞から分泌される液性因子を介した残存組織の賦活化による可能性が強く示唆された。次に、この可能性について検証するため cDNA microarray を用いた解析により SP 細胞特異的に発現する複数の遺伝子を同定し、その中の一つであるクラステリンの機能を詳細に解析した。すなわちクラステリン遺伝子を恒常的に発現するマウス線維芽細胞株 (STO 細胞) を樹立し機能解析に用いた。樹立した細胞株のストレス応答性を検討するために H₂O₂ 刺激後に生細胞数を計測するとともに細胞内で産生される活性酸素種 (reactive oxygen species, ROS) 量を解析した。その結果、クラステリンを恒常的に発現する STO 細胞では H₂O₂ 刺激による細胞死が抑制され、かつ細胞内の ROS 量も減少していた。これらの結果から、SP 細胞はクラステリンなどの液性因子を分泌することにより残存腺組織の機能を賦活化している可能性が示唆された。さらに、SP 細胞が幹細胞を多数含む分画であると考えられていることよりクラステリンが幹細胞のマーカー因子となりうる可能性が想定されたので当該腺組織における slow cycling cell (幹細胞とされている) におけるクラステリンの発現を検討した結果、その一部の細胞がクラステリン陽性細胞であることが確認された。今後、さらにクラステリン陽性細胞の性状とその機能について検討する予定である。

分担研究者

後藤英樹 慶應義塾大学医学部講師

斎藤一郎 鶴見大学歯学部教授

A. 研究目的

難治性疾患であるスティーブン・ジョンソン症候群やシェーグレン症候群などにより消失または著しく障害された涙腺・唾液腺の分泌機能を回復するために再生医療を応用することが本研究の目的である。すなわち涙腺・唾液腺組織から幹細胞を同定純化し、採取された幹細胞を分泌障害を有する当該腺組織に移入することにより障害された分泌機能の回復をはかる。

B. 研究方法

1. 涙液・唾液分泌障害マウスを用いた治療実験

(1) 涙液・唾液分泌障害マウスの作製
6週齢の雄性 C57BL/6 マウス眼窩外涙腺あるいは唾液腺組織に 15Gy の放射線を照射し一週後にピロカルピン刺激による涙液あるいは唾液分泌量を測定した。

(2) SP 細胞の移入

放射線照射 2 週後に Green Fluorescent Protein (GFP) を全身組織に恒常的に発現する GFP トランスジェニックマウスの涙腺あるいは唾液腺それぞれから採取した SP 細胞 (5×10^3 cell \sim 1×10^4 cell) を涙液・唾液分泌障害マウスの当該組織に移入した。

(3) 涙液・唾液量の測定

経時的にピロカルピン刺激後の涙液・唾液量を測定した。

(4) 移入した SP 細胞の生着確認

蛍光顕微鏡を用いて SP 細胞を移入した涙腺および唾液腺組織の摘出標本における GFP 陽性細胞の存在を検討した。これまでの検討では GFP の発する

緑色蛍光を蛍光顕微鏡により直接観察していたが、さらに検出感度を上げる目的で TRITC 標識マウス抗 GFP 抗体を用いて GFP 陽性細胞を検出した。

2. SP 細胞に特異的な発現遺伝子の機能解析

cDNA microarray を用いた結果より SP 細胞特異的な発現遺伝子が複数同定された。本研究では、その一つであるクラステリンについて、さらに詳細な検討を行った。

(1) クラステリン全長 cDNA の増幅

マウス顎下腺より採取した RNA を鋳型として RT-PCR により全長 cDNA を増幅した。

(2) クラステリン遺伝子発現ベクターの構築

得られたクラステリン全長 cDNA を mammalian expression vector である pCAGS-puro (理研の丹羽博士により供与) に挿入し大腸菌で大量培養した後 plasmid を精製した (pCAGS-Clu)。また、導入遺伝子を挿入していない empty vector も作製した。

(3) クラステリン遺伝子発現安定細胞株の樹立

精製した pCAGS-Clu 及び pCAGS-puro をリポフェクタミン 2000

(Invitrogen) によりマウスの胎児線維芽細胞株 (STO) に遺伝子導入し、さらに puromycin による薬剤選択を 2 週間行い安定細胞株を採取した (STOclu)。

(4) 樹立した STOclu 細胞を用いたクラステリン遺伝子の機能解析

造血幹細胞における自己複製能の維持には ATM を介した酸化ストレスの抑制機構の存在が報告されている。したがって、SP 細胞特異的因子として同定されたクラステリンが酸化ストレスを抑制する可能性が考えられたので *in vitro* でその可能性を検証した。

1) H₂O₂ 刺激後の生細胞数の計測

STOcl_u 細胞および mock ST0 細胞を種々の濃度の H₂O₂ で刺激した 24 時間後に trypan blue 染色による生細胞数を計測した。

2) H₂O₂ 刺激後の細胞内活性酸素種 (reactive oxygen species, ROS) 量の測定

細胞内の ROS 量を酸化ストレス感受性蛍光色素である 100nM の CM-H₂DCFDA 染色後 FACS により解析した。CM-H₂DCFDA は蛍光色素の一つで ROS などによる酸化を受けると分子内のエステル結合が切断され異なる波長の蛍光を発する。この原理を利用して細胞内の ROS 量を FACS により測定することが可能である。

3. 幹細胞マーカーとしてのクラステリンの応用可能性を検討

クラステリンが当該腺組織における幹細胞のマーカー因子として応用が可能か否かを検討する目的で、これらの組織における幹細胞の同定を試みた。

(1) マウス涙腺・唾液腺組織における幹細胞の同定

これまで BrdU 長期保持細胞が slow cycling cell であり幹細胞の可能性が高いことが報告されてきたので当該腺組織においても slow cycling cell を同定し、これらの細胞におけるクラステリンの発現を検討した。すなわち、生後 3 日齢のマウスに 3 日間、1 日 2 回 50μg/g BrdU を皮下注射し 10 週後に当該腺組織を摘出し O. C. T. compound に包埋した。さらに、クリオスタットを用いて 4μm の薄切切片を作製し FITC 標識マウスモノクローナル抗 BrdU 抗体 (Roche) を用いて BrdU 陽性細胞を免疫組織化学的に検出した。

(2) BrdU 陽性細胞におけるクラステリン発現の検出

(1) で作製した薄切切片をもちいて

マウスモノクローナル抗 BrdU 抗体 (Roche) と PE 標識ヤギポリクローナル抗クラステリン抗体を用いた 2 重染色により検出した。

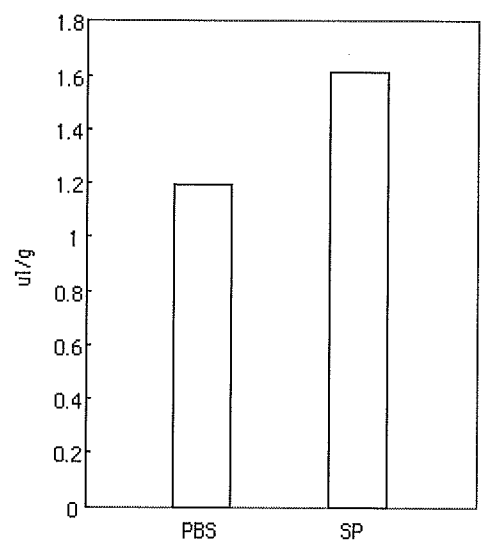
(倫理面への配慮)

本研究では事前に実験手技、倫理面での対応などに関する承認を本学動物実験委員会から得ており、動物の飼育ならびに屠殺にあたっては動物への苦痛を極力避けるよう厳重に配慮した。

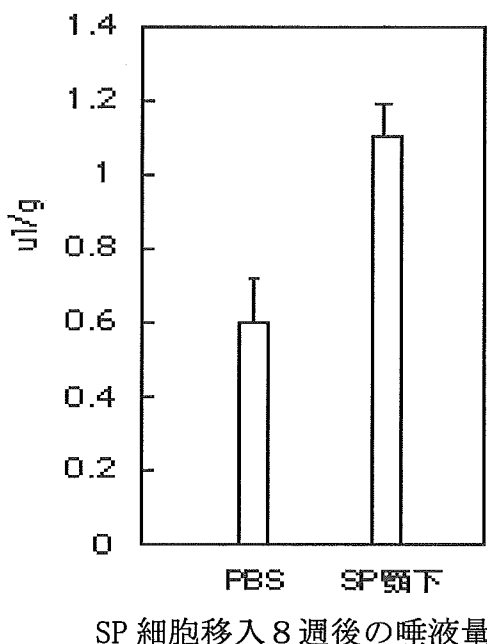
C. 研究結果

1. 涙液・唾液分泌障害マウスを用いた治療実験

涙腺・唾液腺に放射線照射したマウスでは照射後一週目からピロカルピン刺激による涙液あるいは唾液分泌量に明らかな減少が認められた。放射線照射 2 週後に、これらの組織に GFP トランスジェニックマウスの涙腺あるいは唾液腺それぞれから採取した SP 細胞 (5×10³cell~1×10⁴cell) を移入した結果、涙液・唾液量の回復が認められた。



SP 細胞移入 8 週後の涙液量



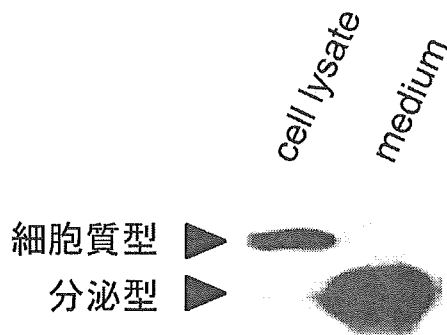
次に、抗 GFP 抗体を用いて移植した組織における GFP 陽性細胞の存在を詳細に検討した結果、GFP 陽性細胞は散在性に存在するものの、移植した細胞による組織再構築は認められなかった。このことから、SP 細胞を移入した組織において分泌量の回復が認められたのは、移入細胞自身の組織再構成による可能性は低く、移入細胞が分泌する液性因子を介した残存組織の賦活化に起因した可能性が考えられた。

2. SP 細胞に特異的な発現遺伝子の機能解析

SP 細胞特異的な発現因子の一つであるクラステリンを恒常的に発現する STO 細胞を用いた解析によりクラステリンが活性酸素種 (reactive oxygen species, ROS) による細胞障害抑制作用を有することが明らかとなった。

(以下クラステリンを恒常的に発現する STO 細胞を ST0clu、empty vector を導入した STO 細胞を mock STO と略す。)すなわち、ST0clu および mock STO を種々の濃度の H_2O_2 で刺激した 24 時

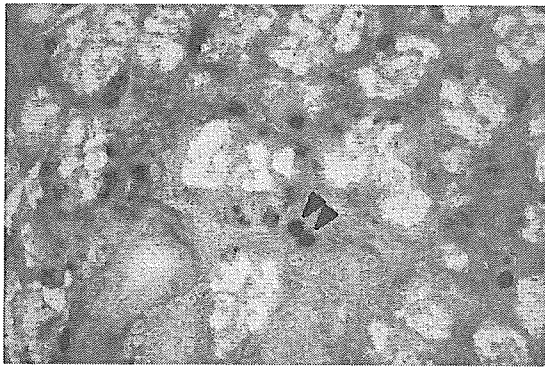
間後に trypan blue 染色による生細胞数を計測した結果、ST0clu では mock STO と比較して有意に細胞の生存率が高かった。さらに、細胞内で産生される ROS 量を蛍光色素である 100nM の CM- H_2 DCFDA 染色後 FACS により解析した結果、ST0clu では mock STO と比較して有意に ROS 量の減少が認められた。次にクラステリンには細胞質型と分泌型の 2 種類存在することが知られており液性因子としてのクラステリンの機能を解析するために ST0clu と mock STO の培養上清を STO 細胞に添加した後に H_2O_2 刺激による細胞内の ROS 量を測定した結果、ST0clu の培養上清を添加した STO 細胞で細胞内 ROS の産生が抑制された。



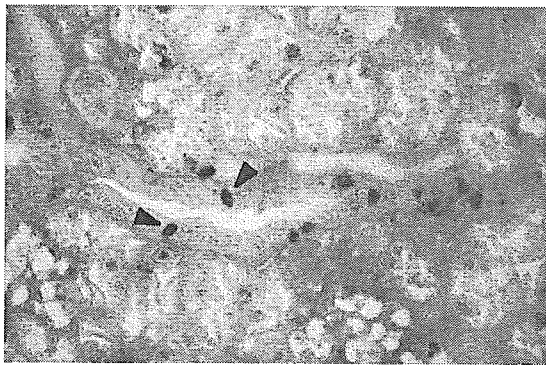
ST0clu でみられる 2 種類のクラステリン

3. 幹細胞マーカーとしてのクラステリンの応用可能性を検討

BrdU 陽性細胞すなわち slow cycling cell の分布は導管上皮が主体で一部、腺房細胞にも分布していた。一方、クラステリン陽性細胞の分布も同様であったが BrdU 陽性、クラステリン陽性の double positive cell は一部であった。



涙腺組織における BrdU 陽性細胞の局在



唾液腺組織における BrdU 陽性細胞の局在

D. 考察

根治療法の存在しない難治性疾患により失われた組織を再生するために幹細胞による再生医療の応用が検討されている。白血病患者における骨髄移植や熱傷患者における培養皮膚移植などは既に臨床応用され、糖尿病やパーキンソン病などでも疾患モデル動物を用いた実験で、胎児性幹細胞(embryonic stem: ES 細胞)や骨髄間葉系幹細胞などを用いた組織再生による治療法の奏効が報告されており、それらの臨床応用が期待される。また、眼科領域でもスティーブン・ジョンソン症候群や角膜化学傷・熱傷などの角膜障害に対し

て角膜幹細胞移植の応用を主任研究者が報告している。スティーブン・ジョンソン症候群で認められる重篤な涙液分泌障害はシェーグレン症候群や頭頸部悪性腫瘍の放射線治療後にも認められるものの、その根治療法に関する報告は国内・国外において皆無であり効果的な治療法の開発が望まれる。

本研究結果において涙液・唾液分泌障害マウスの涙腺・唾液腺に SP 細胞を移入することにより、その分泌機能の改善が認められたことはヒトの涙液・唾液分泌障害の治療法として細胞治療の応用可能性を示唆するものであり極めて有用と思われる。これまで細胞治療の目的は移入した細胞による失われた組織の再構築にあったが、本研究により移入細胞が分泌する細胞保護因子の存在が明らかとなり、残存する組織の機能回復に少なからず関与している可能性が示唆されたことは極めて興味深く治療適応の拡大につながると考えられる。

本研究結果により SP 細胞特異的に発現する遺伝子の一つが種々の疾患の原因として報告されている酸化ストレスによる細胞障害を抑制することが明らかになったのは新たな知見である。加えて、生体の恒常性維持に必要な幹細胞はミトコンドリアで常時産生されている酸化ストレスに常に暴露されており、このようなストレスを抑制するためにクラステリンなどの酸化ストレス抑制因子を有している可能性が考えられる。また、本因子は創薬の標的分子としても有用で今後さらに組織幹細胞の性格を解析することにより新たな機能を有する因子の発見につながる可能性が考えられた。

本研究のもう一つの目的である涙腺・唾液腺組織幹細胞のマーカー検索についてはクラステリンが候補因子と

して検討されたが、クラステリン陽性細胞が、これまでの報告で幹細胞とされていた slow cycling cell と必ずしも一致しなかったことより確定は不可能であった。しかしながら、最近になり乳腺において幹細胞の大部分は cycling cell であるという報告もなされクラステリンが幹細胞のマーカーとなりうるか否かは今後の検討が必要である。

E. 結論

放射線照射により涙液・唾液の分泌障害を呈するマウスを作製し、これらの涙腺・唾液腺組織に SP 細胞を移入した結果、涙液・唾液分泌量に改善が認められた。このことより、SP 細胞を用いた細胞治療が涙液・唾液分泌障害に対する新規治療法として応用可能であることが示唆された。加えて、細胞移入の治療効果として移入した細胞からの細胞保護因子の分泌をを介した機構が存在する可能性が示唆された、

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Hara, T., Nakamura, K., Matsui, M., Yamamoto, A., Nakahara, Y., Migishima, R.S., Yokoyama, M., Mishima, K., Saito, I., Okano, H and Mizushima, N.: Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. **Nature**, (in press).
- (2) Ishimaru, N., Arakaki, R., Omotehara, F., Yamada, K., Mishima, K., Saito, I., and Hayashi, Y. : A Novel Role of RbAp48 for Tissue-specific Apoptosis in the Exocrine Glands Depending on Estrogen Deficiency. **Mol. Cell. Biol.** (in press)
- (3) Higuchi A, Shimmura S, Takeuchi, T, Suematsu, M, Tsubota, K. Elucidation of apoptosis induced by serum deprivation in cultured conjunctival epithelial cells. **Br J Ophthalmol.** (Epub ahead of print)
- (4) Ohashi Y, Dogru M, Tsubota K. Laboratory findings in tear fluid analysis. **Clin Chim Acta.** (Epub ahead of print)
- (5) Onguchi T, Dogru M, Okada N, Kato NA, Tanaka M, Takano Y, Fukagawa K, Shimazaki J, Tsubota K, Fujishima H. The impact of the onset time of atopic keratoconjunctivitis on the tear function and ocular surface findings. **Am J Ophthalmol.** 141(3):569-71, 2006.
- (6) Kawaguchi N, Inoue M, Sugimura E, Shinoda K, Tsubota K. Subjective visual sensation during vitrectomy under retrobulbar anesthesia. **Am J Ophthalmol.** 141(2):407-9, 2006.
- (7) Kojima T, Dogru M, Ishida R, Goto E, Matsumoto Y, Tsubota K. Clinical evaluation of the Smart Plug in the treatment of dry eyes. **Am J Ophthalmol.** 141(2):386-8, 2006.
- (8) Shimmura S, Tsubota K. Deep lamellar keratoplasty. **Am J Ophthalmol.** 141(2):352-3, 2006.
- (9) Noda-Tsuruya T, Asano-Kato N, Toda I, Tsubota K. Autologous serum

- eye drops for dry eye after LASIK. **J Refract Surg.** 22(1):61-6, 2006.
- (10) Izumi K, Kurosaka D, Iwata T, Oguchi Y, Tanaka Y, Mashima Y, Tsubota K. Involvement of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 in corneal fibroblasts during corneal wound healing. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 47(2):591-8, 2006.
- (11) Shimazaki J, Konomi K, Shimmura S, Tsubota K. Ocular surface reconstruction for thermal burns caused by fireworks. **Cornea.** 25(2):139-45, 2006.
- (12) Asano-Kato N, Toda I, Sakai C, Hori-Komai Y, Takano Y, Dogru M, Tsubota K. Pupil decentration and iris tilting detected by Orbscan: anatomic variations among healthy subjects and influence on outcomes of laser refractive surgeries. **J Cataract Refract Surg.** 31(10):1938-42, 2005.
- (13) Hida RY, Nishiwaki-Dantas MC, Hida MM, Tsubota K. [Quantitative tear study using the red phenol test in the Brazilian population] **Arq Bras Oftalmol.** 68(4):433-7, 2005.
- (14) Asano-Kato N, Fukagawa K, Okada N, Dogru M, Tsubota K, Fujishima H. Tryptase increases proliferative activity of human conjunctival fibroblasts through protease-activated receptor-2. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 46(12):4622-6, 2005.
- (15) Okada N, Fukagawa K, Takano Y, Dogru M, Tsubota K, Fujishima H, Matsumoto K, Nakajima T, Saito H. The implications of the upregulation of ICAM-1/VCAM-1 expression of corneal fibroblasts on the pathogenesis of allergic keratopathy. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 46(12):4512-8, 2005.
- (16) Dogru M, Asano-Kato N, Tanaka M, Igarashi A, Shimmura S, Shimazaki J, Okada N, Takano Y, Fukagawa K, Tsubota K, Fujishima H. Ocular surface and MUC5AC alterations in atopic patients with corneal shield ulcers. **Curr Eye Res.** 30(10):897-908, 2005.
- (17) Shimmura S, Omoto M, Den S, Bissen-Miyajima H, Tsubota K, Shimazaki J. Microkeratome-assisted phacoemulsification. **J Cataract Refract Surg.** 31(9):1699-701, 2005.
- (18) Noda K, Ishida S, Shinoda H, Koto T, Aoki T, Tsubota K, Oguchi Y, Okada Y, Ikeda E. Hypoxia induces the expression of membrane-type 1 matrix metalloproteinase in retinal glial cells. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 46(10):3817-24, 2005.
- (19) Dogru M, Stern ME, Smith JA, Foulks GN, Lemp MA, Tsubota K. Changing trends in the definition and diagnosis of dry eyes. **Am J Ophthalmol.** 140(3):507-8, 2005.
- (20) Hida RY, Ohashi Y, Takano Y, Dogru M, Goto E, Fujishima H, Saito I, Saito K, Fukase Y, Tsubota K. Elevated levels of human alpha-defensin in tears of patients with

- allergic conjunctival disease complicated by corneal lesions: detection by SELDI ProteinChip system and quantification. **Curr Eye Res.** 30(9):723-30, 2005.
- (21) Inoue M, Shinoda K, Ishida S, Uchida A, Kurosaka D, Katsura H, Tsubota K. Intraocular lens implantation after atopic cataract surgery decreases incidence of postoperative retinal detachment. **Ophthalmology.** 112(10):1719-24, 2005.
- (22) Dogru M, Tsubota K. Survival analysis of conjunctival limbal grafts and amniotic membrane transplantation in eyes with total limbal stem cell deficiency. **Am J Ophthalmol.** 140(2):305-6, 2005.
- (23) Higa K, Shimmura S, Miyashita H, Shimazaki J, Tsubota K. Melanocytes in the corneal limbus interact with K19-positive basal epithelial cells. **Exp Eye Res.** 81(2):218-23, 2005.
- (24) Miyashita H, Shimmura S, Kobayashi H, Taguchi T, Asano-Kato N, Uchino Y, Kato M, Shimazaki J, Tanaka J, Tsubota K. Collagen-immobilized poly(vinyl alcohol) as an artificial cornea scaffold that supports a stratified corneal epithelium. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater.** 76(1):56-63, 2006.
- (25) Nagai N, Oike Y, Noda K, Urano T, Kubota Y, Ozawa Y, Shinoda H, Koto T, Shinoda K, Inoue M, Tsubota K, Yamashiro K, Suda T, Ishida S. Suppression of ocular inflammation in endotoxin-induced uveitis by blocking the angiotensin II type 1 receptor. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 46(8):2925-31, 2005.
- (26) Dogru M, Tsubota K. Current concepts in ocular surface reconstruction. **Semin Ophthalmol.** 20(2):75-93, 2005.
- (27) Matsumoto Y, Dogru M, Goto E, Fujishima H, Tsubota K. Successful topical application of a new antifungal agent, micafungin, in the treatment of refractory fungal corneal ulcers: report of three cases and literature review. **Cornea.** 24(6):748-53, 2005.
- (28) Shiraishi K, Tsuzaka K, Yoshimoto K, Kumazawa C, Nozaki K, Abe T, Tsubota K, Takeuchi T. Critical role of the fifth domain of E-cadherin for heterophilic adhesion with alpha E beta 7, but not for homophilic adhesion. **J Immunol.** 175(2):1014-21, 2005.
- (29) Asano-Kato N, Toda I, Hori-Komai Y, Sakai C, Fukumoto T, Arai H, Dogru M, Takano Y, Tsubota K. Experience with the Artisan phakic intraocular lens in Asian eyes. **J Cataract Refract Surg.** 31(5):910-5, 2005.
- (30) Dogru M, Honda R, Omoto M, Toda I, Fujishima H, Arai H, Matsuyama M, Nishijima S, Hida Y, Yagi Y, Tsubota K. Early visual results with the 1CU accommodating intraocular lens. **J Cataract Refract Surg.** (5):895-902, 2005.
- (31) Miyake-Kashima M, Dogru M, Nojima T, Murase M, Matsumoto Y,

- Tsubota K. The effect of antireflection film use on blink rate and asthenopic symptoms during visual display terminal work. **Cornea**. 24(5):567-70, 2005.
- (32) Kamoi M, Mashima Y, Kawashima M, Tsubota K. Electrolysis for corneal opacities in a young patient with superficial variant of granular corneal dystrophy (Reis-Bucklers corneal dystrophy). **Am J Ophthalmol**. 139(6):1139-40, 2005.
- (33) Okuda A, Inoue M, Shinoda K, Tsubota K. Massive bilateral vitreoretinal hemorrhage in patient with chronic refractory idiopathic thrombocytopenic purpura. **Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol**. 243(11):1190-3, 2005.
- (34) Takahashi Y, Igaki M, Suzuki A, Takahashi G, Dogru M, Tsubota K. The effect of periocular warming on accommodation. **Ophthalmology**. 112(6):1113-8, 2005.
- (35) Yoshida S, Shimmura S, Shimazaki J, Shinozaki N, Tsubota K. Serum-free spheroid culture of mouse corneal keratocytes. **Invest Ophthalmol Vis Sci**. 46(5):1653-8, 2005.
- (36) Matsumoto Y, Dogru M, Tsubota K. Ocular surface findings in Hallopeau-Siemens subtype of dystrophic epidermolysis bullosa: report of a case and literature review. **Cornea**. 24(4):474-9, 2005.
- (37) Asano-Kato N, Fukagawa K, Okada N, Kawakita T, Takano Y, Dogru M, Tsubota K, Fujishima H. TGF-beta1, IL-1beta, and Th2 cytokines stimulate vascular endothelial growth factor production from conjunctival fibroblasts. **Exp Eye Res**. 80(4):555-60, 2005.
2. 学会発表
- (1) 美島健二, 坪田一男, 千葉 寛, 山田耕一, 井上裕子, 斎藤一郎 Side population 細胞特異的発現遺伝子の機能解析 第 5 回日本再生医療学会, 2006
- (2) Negishi K, Saiki M, Kurosaka D, Tsubota K. Objective measurement of accommodative effects of the 1CU accommodating IOL. Symposium on Cataract, IOL and Refractive Surgery, Annual Meeting, 2005.
- (3) Shigeyasu C, Negishi K, Tsubota K. Degradation of visual function after phakic IOL implantation in 2 cases. Symposium on Cataract, IOL and Refractive Surgery, Annual Meeting, 2005.
- (4) Asano-Kato N, Okada N, Igarashi A, Kujira A, Fukagawa K, Dogru M, Tanaka M, Takano Y, Tsubota K, Fujishima H. Trypsin increases conjunctival fibroblast proliferation via protease-activated receptor-2. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting., 2005.
- (5) Dogru M, Okada N, Asano Kato N, Igarashi A, Tanaka M, Takano Y, Fukagawa K, Tsubota K, Shimazaki J, Fujishima H. Tear function and ocular surface mucin alterations in atopic dermatitis patients. The Association for Research in Vision and

- Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (6) Dursun D, Bozbeyoglu S, Karabay G, Bilezikci B, Akova Y.A, Dogru M, Tsubota K. Surface mucin changes in the rabbit dry eye model using a modified impression cytology technique. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (7) Goto E, Dogru M, Matsumoto Y, Fukagawa K, Saiki M, Uchino M, Kojima T, Yamamoto Y, Kawashima M, Tsubota K. Topical eye ointment application to lid margin for the treatment of dry eye. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (8) Hara S, Kojima T, Miyake M, Goto E, Hazama A, Sasaki Y, Dogru M, Tsubota K. The effect of topical amiloride eye drops on ocular surface tear retention in rabbits. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (9) Hida R.Y, Ohashi Y, Dogru M, Takano Y, Saito I, Ishida R, Goto E, Saito K, Fukase Y, Tsubota K. Elevated levels of human α -defensin in the tears of patients with allergic conjunctival disease complicated by corneal lesions; detection by seldi protein chip system and quantification. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (10) Higa K, Shimmura S, Miyashita H, Shimazaki J, Tsubota K. Melanocytes in the corneal limbus interact with K19-positive basal epithelial cells. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (11) Higuchi A, Takahashi Y, Tsubota K. Effects of desiccation on inflammatory cytokines production in cornea. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (12) Homma R, Yoshikawa H, Kurokawa M.S, Masuda C, Takada E, Ueno H, Tsubota K, Ueno S, Suzuki N. Experimental transplantation of corneal epithelium induced by PAX6 gene transfection to mouse embryonic stem (ES) cell. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (13) Ishida S, Nagai N, Noda K, Shinoda H, Koto T, Ozawa Y, Shinoda K, Inoue M, Tsubota K. Suppression of ocular inflammation in endotoxin-induced uveitis by blocking angiotensin II type 1 receptor. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (14) Kaido M, Ishida R, Goto E, Dogru M, Yamada M, Sotozono C, Kinoshita S, Tsubota K. Functional visual acuity in Stevens-Johnson syndrome (SJS). The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (15) Kamoi M, Goto E, Dogru M, Matsumoto Y, Ishida R, Terauchi N,

- Tsubota K. Tear evaporation rates and lipid layer status in non-Sjögren syndrome aqueous tear deficiency dry eye patients. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (16) Kawaguchi N, Kurosaka D, Yoshino M, Nakamura K, Negishi K, Tsubota K. The inhibitory effect of optic edge of intraocular lens on lens epithelial cell migration is not dependent on optic material. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (17) Kawashima M, Den S, Onguchi T, Omoto M, Shimmura S, Tsubota K, Shimazaki J. Retrospective analysis of deep lamellar keratoplasty for corneal dystrophies. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (18) Kojima T, Hara S, Ishida R, Goto E, Murat D, Tsubota K. Clinical Evaluation of new punctal plug (smart plug™) for the treatment of dry eye patient that conventional plugs doesn't suit. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (19) Koto T, Ishida S, Shinoda H, Inoue M, Tsubota K, Okada Y, Ikeda E. Hypoxia causes the changes in claudin-5 expression and the barrier function of endothelial cells. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (20) Kurosaka D, Yoshino M, Nakamura K, Negishi K, Tsubota K. Adhesive property of an intraocular lens influences lens epithelial cell migration under the optic. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (21) Miyashita H, Shimmura S, Matsuzaki Y, Higa K, Okano H, Shimazaki J, Tsubota K. Characterization of human limbal side population (SP) cells. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (22) Nagai N, Noda K, Urano T, Kubota Y, Shinoda K, Inoue M, Tsubota K, Suda T, Oike Y, Ishida S. Selective suppression of pathological, but not physiological, retinal neovascularization by blocking angiotensin II type 1 receptor. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (23) Nakamura K, Kurosaka D, Yoshino M, Negishi K, Tsubota K. Inhibitor of FAK blocks activation of corneal fibroblasts induced by TGF β . The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (24) Negishi K, Ohnuma K, Saiki M, Kurosaka D, Tsubota K. Range of pseudoaccommodation in eyes with an accommodative intraocular lens. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (25) Nishimura R, Negishi K, Saiki M,

- Shimizu S, Kurosaka D, Tsubota K. Structural analysis of the anterior chamber using a rotating scheimpflug camera in eyes undergoing laser in situ keratomileusis. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (26) Noda K, Ishida S, Shinoda H, Koto T, Tsubota K, Oguchi Y, Okada Y, Ikeda E. Hypoxia induces the expression of membrane type 1-matrix metalloproteinase in retinal glial cells. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (27) Ogawa Y, Dogru M, Ishida K, Goto E, Tsubota K. Capillary meniscometry (CM): a new and simple concept of tear meniscus evaluation. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (28) Ogawa Y, Kodama H, Kameyama K, Yamazaki K, Yasuoka H, Okamoto S, Tsubota K, Inoko H, Kaswakami Y, Kuwana M. Donor-derived fibroblasts in the pathogenesis of lacrimal gland chronic graft-versus-host disease. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (29) Ohashi Y, Sasaki Y, Ishida N, Hirai S.I, Watanabe K, Yasui M, Tsubota K. Odorant-binding protein-1a regulates aquaporin-5 gating in mouse. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (30) Omoto M, Shimmura S, Tsubota K, Shimazaki J. Microkeratome-assisted endothelial lamellar keratoplasty. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (31) Ozawa Y, Nakao K, Shimazaki T, Kurihara T, Tsubota K, Okano H. Downregulation of STAT3 activation is required for presumptive rod photoreceptor cells to differentiate in the postnatal retina. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (32) Saiki M, Goto E, Asano-Kato N, Suzuki S, Dogru M, Tsubota K. Kinetic analysis of tear lipid layer interference images in dry eye with allergic conjunctivitis. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (33) Satake Y, Aiba M, Dogru M, Sumi T, Tomita M, Higa K, Shimmura S, Tsubota K, Shimazaki J. Barrier function and epithelial phenotype following cultivated oral mucosal epithelial transplantation. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (34) Satofuka S, Inoue M, Ishida S, Shinoda K, Imamura Y, Tsubota K. Strength of vitreous cutter. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (35) Shimazaki J, Higa J, Aiba M, Itabashi Y, Fukuda K, Tsubota K, Shimmura S. Comparison of cultivated

- limbal epithelial sheets with and without substrates. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (36) Shimmura S, Miyashita H, Higa K, Yoshida S, Shimazaki J, Tsubota K. The matricellular protein SPARC is constitutively expressed by limbal fibroblasts and inhibits intercellular adhesion of corneal epithelial cells in vitro. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (37) Takano Y, Igarashi A, Kujira A, Okada N, Asano-Kato N, Satake Y, Tanaka M, Tsubota K, Fukagawa K, Fujishima H. The effect of tranilast on eotaxin production in cultured conjunctival fibroblasts. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (38) Tanaka M, Murat D, Fukagawa K, Okada N, Asano-Kato N, Takano Y, Igarashi A, Kujira A, Tsubota K, Fujishima H. The efficacy of FK506 eye-drop in the treatment of ocular surface complications in patients with severe allergic patients with corneal complications. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (39) Terauchi N, Goto E, Dogru M, Toda I, Kato N, Kubota A, Saiki M, Satou Y, Tsubota K. Tear film lipid layer observations in dry eye associated with visual display terminal work. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (40) Toda I, Yoshida A, Sakai C, Hori-Komai Y, Tsubota K. Practical visual performance with soft contact lens wear and post-LASIK. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (41) Tomita M, Shimmura S, Sumi T, Tsubota K, Shimazaki J. Dacryoadenitis associated with acanthamoeba keratitis. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (42) Tsubota K, Mishima K, Saito I. Therapeutic potential of side population cells for lacrimal gland hypofunction. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (43) Uchida A, Goto E, Dogru M, Yamamoto Y, Ogawa Y, Uchino M, Terauchi N, Nishimura R, Tsubota K. Non-invasive interference tear meniscometry using tearscope plus in dry eye patients. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (44) Uchino M, Goto E, Matsumoto Y, Dogru M, Saiki M, Fukagawa K, Tsubota K. Changes in tear evaporation rates after topical low-dose lipid eye ointment application to lid margin. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.

- (45) Uchino Y, Miyashita H, Shimmura S, Kobayashi H, Shimazaki J, Tsubota K. Amniotic membrane- poly (Vinyl alcohol) hybrid polymer as an artificial cornea scaffold. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (46) Yamamoto Y, Dogru M, Matsumoto Y, Saiki M, Goto E, Ishioka M, Tsubota K. Tear function and ocular surface alterations with lactoferrin treatment in severe dry eyes. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (47) Yoshida S, Shimmura S, Matsuzaki Y, Shimazaki J, Okano H, Tsubota K. Sphere initiating cells in the mouse corneal stroma exhibit multipotency in addition to the keratocyte phenotype in vitro. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (48) Yoshino M, Kurosaka D, Nakamura K, Negishi K, Tsubota K. PCO and epithelial-mesenchymal transition in cataractogenesis Rho/Rho - Kinase inhibitor blocks myodifferentiation of lens epithelial cells. The Association for Research in Vision and Ophthalmology(ARVO), Annual meeting. , 2005.
- (49) Shimmura S, Yoshida S, Matsuzaki Y, Okano H, Tsubota K. Multipotent cornea stromal precursors are of neural crest origin and not the bone marrow. Western Eye Research Conference, Laguna Beach, 2005.
- (50) Uchino M, Dogru M, Tsubota K. Our clinical experience with bacterial keratitis: fluoroquinolones and keratolysis. 2005 4th International Conference on Ocular Infections, 2005.
- (51) 吉本桂子, 小笠原未恵, めで島麻衣, 瀬戸山由美子, 鈴木勝也, 津坂憲政, 小川葉子, 坪田一男, 安倍達, 竹内勤. シェーグレン症候群患者PBLからのIgG産生亢進とサイトカインの関与. 第49回日本リウマチ学会総会・学術集会、第14回国際リウマチシンポジウム, 2005.
- (52) 吉本桂子, 小笠原未恵, 瀬戸山由美子, 鈴木勝也, 津坂憲政, 小川葉子, 坪田一男, 安倍達, 竹内勤. シェーグレン症候群患者PBLからのIgG産生におけるサイトカインの関与. 第10回シェーグレン症候群セミナー2005, 2005.
- (53) Sasaki Y, Ishida N, Yasui M, Tsubota K. Aquaporin 5 gating mechanism in lacrimal gland acinar cells. 第82回日本生理学会, 2005.
- (54) 高野洋之, 田中まり, 深川和己, 加藤直子, 坪田一男, 藤島浩. 重症アレルギー性角結膜炎に対するマイトマイシンCを用いた巨大乳頭切除術の安全性と効果. 第742回東京眼科集談会, 2005.
- (55) 河口奈々恵, 根岸一乃, 佐伯めぐみ, 清水里美, 黒坂大次郎, 真島行彦, 坪田一男. 眼科手術後の屈折異常に対するエキシマレーザー屈折矯正手術の術後成績. 第44回日本白内障学会総会/第31回水晶体研究会、第20回日本眼内レンズ屈折手術学会総会, 2005.

- (56) 西村僚, 根岸一乃, 清水里美, 佐伯めぐみ, 増田麻里恵, 北村葉月, 黒坂大次郎, 坪田一男. Laser in situ keratomileusis 施行前後の前眼部構造変化. 第 44 回日本白内障学会総会/第 31 回水晶体研究会、第 20 回日本眼内レンズ屈折手術学会総会, 2005.
- (57) 堀好子, 戸田郁子, 伊藤光登志, 山本亨宏, 中島潔, 坪田一男. 調節時の収差の変化について. 第 44 回日本白内障学会総会/第 31 回水晶体研究会、第 20 回日本眼内レンズ屈折手術学会総会, 2005.
- (58) 山本亨宏, 堀好子, 戸田郁子, 伊藤光登志, 中島潔, 酒井誓子, 坪田一男. 2 種類の収差計における高次収差の比較. 第 44 回日本白内障学会総会/第 31 回水晶体研究会、第 20 回日本眼内レンズ屈折手術学会総会, 2005.
- (59) 熊埜堂隆, 根岸一乃, 玉沖朋子, 佐伯めぐみ, 宇津見義一, 坪田一男. ハードコンタクトレンズ (HCL) 装用円錐角膜眼の高次収差と視機能. 第 48 回日本コンタクトレンズ学会総会, 2005.
- (60) 横井則彦, 小室青, 丸山邦夫, 木下茂, 坪田一男, 山口昌彦, 日野孝. オフィスのコンタクトレンズ装用者におけるドライアイとマイボーム腺の関連. 第 48 回日本コンタクトレンズ学会総会, 2005.
- (61) 宮下英之, 榛村重人, 小林尚俊, 田口哲志, 内野裕一, 加藤直子, 島崎潤, 田中順三, 坪田一男. 人工角膜材料としての羊膜・ポリビニルアルコール・ハイブリッドポリマー. 第 8 回日本組織工学会, 2005.
- (62) 樋口明弘, 坪田一男. ドライアイ治療に有効な成分の血清からの精製. 第 14 回日本シェーグレン症候群研究会, 千葉, 2005.
- (63) 正木康史, 菅井進, 下山久美子, 小川紀良, 北川和子, 山本元久, 高橋裕樹, 篠村恭久, 今井浩三, 佐伯敬子, 杉山英二, 松井祥子, 中田真司, 江口勝美, 折口智樹, 西山進, 山西裕司, 坪田一男, 佐々木恭正, 西森功, 長澤浩平, 梅原久範. 40 例の AMOLPS (自己免疫リンパ増殖性多臓器疾患)/Mikulicz 病の検討. 第 14 回日本シェーグレン症候群研究会, 千葉, 2005.
- (64) 美島健二, 井上裕子, 坪田一男, 斎藤一郎. 涙腺・唾液腺組織からの side population 細胞の同定とその機能解析. 第 14 回日本シェーグレン症候群研究会, 千葉, 2005.
- (65) 村戸ドール, 佐伯めぐみ, 後藤英樹, 松本幸裕, 坪田一男. シェーグレン症候群に対するラクトフェリン内服の応用. 第 14 回日本シェーグレン症候群研究会, 千葉, 2005.
- (66) 山本和彦, 桜井敏晴, 中川洋一, 斎藤一郎, 坪田一男, 河上裕. シェーグレン症候群患者唾液腺・涙腺を移植した SCID マウス血清を用いた自己抗原の同定. 第 14 回日本シェーグレン症候群研究会, 千葉, 2005.
- (67) 吉本桂子, 小笠原未恵, 瀬戸山由

- 美子, 鈴木勝也, 津坂憲政, 小川葉子, 坪田一男, 安倍達, 竹内勤. シェーグレン症候群患者 T 細胞におけるBAFF産生機序の検討. 第14回日本シェーグレン症候群研究会, 千葉, 2005.
- (68) 内野美樹, 村戸ドール, 小川葉子, 石田玲子, 海道美奈子, 後藤英樹, 坪田一男. 角膜上結膜侵入における血清点眼および涙点プラグ治療の有用性. 第59回日本臨床眼科学会, 2005.
- (69) 海道美奈子, 村戸ドール, 後藤英樹, 石田玲子, 島崎潤, 山田昌和, 外園千恵, 木下茂, 坪田一男. ステイアブンスジョンソン症候群(SJ)における実用視力と臨床所見、VFQ25. 第59回日本臨床眼科学会, 2005.
- (70) 河口奈々恵, 根岸一乃, 佐伯めぐみ, 増田麻里恵, 北村葉月, 坪田一男. 多焦点眼内レンズ挿入後にLASIKを施行した1例. 第59回日本臨床眼科学会, 2005.
- (71) 川島素子, 佐竹良之, 角環, 榛村重人, 坪田一男, 島崎潤. 培養上皮移植後の角膜移植の経過. 第59回日本臨床眼科学会, 2005.
- (72) 佐伯めぐみ, 根岸一乃, 北村葉月, 増田麻里恵, 清水里美, 坪田一男. LASIK術後の近見視機能と高次収差. 第59回日本臨床眼科学会, 2005.
- (73) 重安千花, 根岸一乃, 佐伯めぐみ, 増田麻里恵, 北村葉月, 清水里美, 坪田一男. 片眼に多焦点眼内レンズ挿入、僚眼にLASIKを施行した片眼性白内障例の術後視機能. 第59回日本臨床眼科学会, 2005.
- (74) 武田美幸, 根岸一乃, 佐伯めぐみ, 原修哉, 坪田一男. 簡易近点計の試作. 第59回日本臨床眼科学会, 2005.
- (75) 寺内直毅, 根岸一乃, 佐伯めぐみ, 黒坂大次郎, 坪田一男. 極小切開白内障手術と小切開白内障手術の早期術後成績の比較. 第59回日本臨床眼科学会, 2005.
- (76) 原修哉, 小島隆司, 市川一夫, 狭間章博, 三宅将生, 佐々木恭正, 村戸ドール, 後藤英樹, 坪田一男. 結膜上皮におけるENaCの存在に関連した新しい涙液貯溜のメカニズムの可能性. 第59回日本臨床眼科学会, 2005.
- (77) 番由美子, 小川葉子, 後藤英樹, 内野美樹, 小川旬子, 寺内直毅, 小川由佳子, 村戸ドール, 坪田一男. 慢性涙腺移植片対宿主病によるドライアイのDR-1による涙液油層の観察. 第59回日本臨床眼科学会, 2005.
- (78) 増田麻里恵, 根岸一乃, 佐伯めぐみ, 北村葉月, 黒坂大次郎, 坪田一男. 調節、多焦点、および単焦点眼内レンズの術後成績の比較. 第59回日本臨床眼科学会, 2005.
- (79) 藤島浩, 深川和己, 村戸ドール, 坪田一男. アトピー疾患患者からの末梢血好酸球上のCRTH2の発現について. 第32回日本臨床免疫学会, 2005.
- (80) 吉本桂子, 小笠原未恵, ぬで島麻衣, 瀬戸山由美子, 津坂憲政, 安倍

達, 坪田一男, 竹内勤. シェーグレン症候群患者 PBL における IgG 産生機構と IFN- γ の関与. 第 32 回日本臨床免疫学会, 2005.

(81) 桜井敏晴, 山本和彦, 松崎ゆり子, 中川洋一, 斎藤一郎, 坪田一男, 河上裕. シェーグレン症候群患者の病巣唾液腺・涙腺を移植した SCID マウス血清を用いた新規自己抗原の同定. 第 35 回日本免疫学会総会, 2005.

(82) 後藤英樹. ドライアイ診断と治療の最近の進歩. 第 14 回日本シェーグレン症候群研究会, 2005.

(83) 後藤英樹. 重症マイボーム腺機能不全の治療—日本角膜学会シンポジウム難治性角膜疾患への挑戦. 第 59 回臨床眼科学会, 2005.

(84) 後藤英樹, 内田敦郎, 内野美樹, 村戸ドール, 小川葉子, 山本祐介, 小川由佳子, 深川和己, 坪田一男. ドライアイ患者における干涉デバイスを用いた非侵襲的メニスカス高測定, 第 30 回角膜カンファレンス, 2006.

H. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む。)

特許取得

なし

実用新案登録

なし

3) その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

涙腺・唾液腺幹細胞の局在の検討

分担研究者 後藤英樹 慶應義塾大学医学部講師

研究要旨

涙腺・唾液腺組織における幹細胞の局在を明らかにすることは、その特異的な表面マーカーを同定するためにも必要と思われる。この目的のため本研究では当該腺組織における幹細胞の同定を試みた。すなわち、これまで造血幹細胞、表皮幹細胞などをはじめとした種々の組織幹細胞は slow cycling cell として知られ、BrdU を応用することにより、その局在が明らかにされてきた。我々は、当該腺組織における幹細胞を同定すべく本法の応用を試みた。すなわち、生後 3 日齢のマウス皮下に BrdU を 2 回/日、3 日間連続投与し、10 週後に BrdU 陽性細胞（BrdU 長期保持細胞）を免疫組織化学的に検出した。検出された BrdU 陽性細胞は長期に BrdU を保持していることから slow cycling cell と呼ばれ幹細胞の性格を保持していると報告されている。涙腺・唾液腺組織ともに BrdU 陽性細胞の存在が確認され、これらの細胞の局在は導管上皮細胞を主体に腺房細胞にも認められた。さらに、幹細胞を多数含む分画として採取された SP 細胞に特異的な因子として同定されたクラステリンが幹細胞のマーカー因子となりうる可能性が想定されたので同定された BrdU 陽性細胞とその局在を比較検討した。その結果、BrdU 陽性かつクラステリン陽性細胞の存在が確認されたが、一部の細胞のみでありクラステリンの幹細胞マーカーとして可能性については、さらなる検討が必要である。