

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18年度 総括・分担研報告書

主任研究者 坪田 一男

平成19（2007）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. クラステリン蛋白の機能解析……………19
後藤英樹
2. 組み換えクラステリン蛋白の作製……………23
斎藤一郎

III. 研究成果の刊行に関する一覧表……………31

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

これまで主任研究者は、放射線照射により誘導したマウス涙液分泌障害モデルを用いた治療実験により、マウス涙腺から単離したside population (SP)細胞の障害局所への移入による治療効果を明らかにしてきた。この治療効果は、移入したSP細胞により再構築された腺組織の分泌能による可能性は乏しく、SP細胞の分泌する液性因子を介している可能性が想定された。その候補蛋白の一つとして同定されたクラステリンは、活性酸素種による細胞死を抑制することが明らかとなり、その機能を解析することにより臨床応用への可能性を検討している。当該年度は、バキュロウイルス-昆虫細胞系を用いて作製した組み換えクラステリン蛋白を、条件検討により得られた至適条件にて抽出・精製し、精製した蛋白を用いて*in vitro*における機能を解析した。すなわち、マウスの線維芽細胞株であるNIH3T3細胞に、クラステリン存在下あるいは非存在下で過酸化水素刺激を加えた後、生細胞数を測定した。その結果、クラステリン存在下で過酸化水素刺激した場合の生細胞数は、非存在下で刺激した場合に比べ有意に上昇していた。したがって、クラステリン蛋白が酸化ストレスを介した細胞死を抑制する機能を有することが明らかとなった。さらに、*in vivo*モデルにおいて本蛋白の治療効果を検討するために、紫外線を用いたラットの角膜障害モデルを作製した。

分担研究者

後藤英樹 鶴見大学歯学部助教授

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。これまでの検討により、SP細胞を用いた細胞治療が涙液分泌障害の治療法として奏効する可能性が明らかとなり、加えて、SP細胞に高い発現を示すクラステリンが活性酸素種による細胞障害を抑制することが示された。本研究ではクラステリンの臨床応用の可能性について検討している。

B. 研究方法

1. バキュロウイルス-昆虫細胞系を用いたクラステリン組み換え蛋白作製

前年度はクラステリン蛋白を恒常的に発現するマウス線維芽細胞株を用いてクラステリンが細胞障害を抑制する機能を有していることが明らかとなった。当該年度は、分泌蛋白としてのクラステリンの機能を解析する目的で、組み換えクラステリン蛋白を作製し、その機能を解析した。クラステリン蛋白の作製方法を以下に示す。

(1) 組み換えトランスファープラスミドの作製

①PCRによりHis-tagを付加したclusterin 全長cDNAをpBAC1ベクター (*In vitro*) のマルチクローニングサイトに挿入し(pBAC1-Clusterin-HT)、大腸菌DH5 α にトランスフォームした。トランスフォームした大腸菌を大量培養後、プラスミドDNAをMaxi-prepプラスミド精製キット (Quiagen) により抽出・精製した。

②精製したプラスミドの塩基配列を解析し、目的遺伝子と100%一致することを確認した。

(2) クラステリン発現組み換えバキュロウイルスの作製

①pBAC1-Clusterin-HTプラスミドを昆虫細胞であるSf9細胞にトランスフェクションしcytopathic effect (CPE) の出現によりウイルス産生を確認した。

②培養上清を回収し、さらにSf9細胞に感染することにより、ウイルスの大量増幅を行った。

(3) 組み換えバキュロウイルスの純化

①6穴プレートの各ウエルに 1×10^6 個のSf9細胞を播種し、翌日、限界希釈したウイルスを感染した。感染1時間後、培地を吸引しlow-melting point agarose を重層した。

②6日後、出現したプラークを10クローン採取し、それぞれのクローンを別々にSf9細胞に感染させた。感染3日後、Western blotting 法により組み換えクラステリン蛋白の発現を検出した。すなわち、培養上清を回収し、細胞溶解液にて溶解後、96°C 3分間加熱した。さらに10% SDS-polyacrylamide gel (SDS-PAGE) にて電気泳動後、PVDF膜に転写し、goat anti-clusterin 抗体およびrabbit anti-His 抗体を用いて組み換えクラステリン蛋白の発現を比較検討した。

③最も発現の高いウイルスクローンを同定し、同定したウイルスクローンをSf9細胞に感染させウイルスの増幅を行った。

(4) クラステリン発現組み換えバキュロウイルスを用いたクラステリン蛋白の大量合成

①クラステリン発現組み換えバキュロウイルスをSf9細胞に3MOIで感染後1L系にて蛋白の大量作製を行った。

②Western blotting 法によりクラステリン蛋白の発現を検討した。

③陽イオン交換クロマトグラフィーにより分離後、Ni-NTA (QIAGEN) を用いてクラステリン蛋白を単離・精製した。

④クマシーブルー染色およびWestern blotting 法により精製後の蛋白の純度を検討した。

2. *in vitro*における組み換えクラステリン蛋白の機能解析

作製した組み換えクラステリン蛋白に酸化ストレスを介した細胞障害を抑制する機能が認められるか否かを検証する目的で以下の実験を行った。

- (1) マウス線維芽細胞株であるNIH3T3細胞の培養上清に0.1, 1, および10 μ g/ml のクラステリン蛋白を添加した。
- (2) クラステリン蛋白添加2時間後に0.1mMの過酸化水素を加えた。
- (3) 過酸化水素を加えた12時間後にトリパンブルー染色により生細胞数の割合を計測した。

3. *in vivo*におけるクラステリン蛋白の機能解析

*in vitro*における解析によりクラステリン蛋白に細胞障害を抑制する機能が認められたので、*in vivo*におけるその治療効果を明らかにする目的で、ラット角膜障害モデルを用いた治療実験を行う。角膜障害モデルでは、点眼によりクラステリン蛋白を直接障害部位に作用させることができ、容易にその効果を評価することが可能である。

当該年度は治療実験に用いるラット角膜障害モデルを作製した。以下に方法を示す。

- (1) 8週齢の雄性SDラットの右眼に144mJ/cm²あるいは288mJ/cm²の線量の紫外線をそれぞれ照射した。
- (2) 照射24時間後にフルオレセイン染色後、実態顕微鏡により、角膜表面を観察し損傷の程度を評価した。

(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。また、本実験は「バイオセーフティーに関するカルタヘナ議定

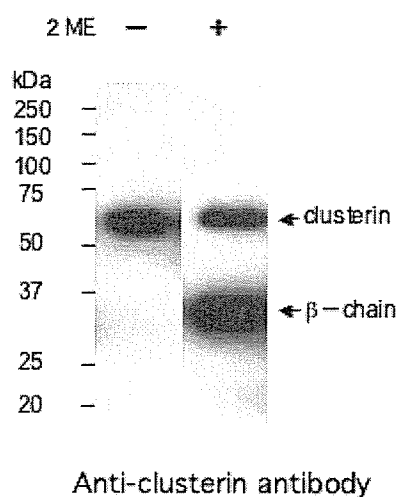
書」に基づく文部科学省の法制化された規定に基づき実施された。

C. 研究結果

1. バキュロウイルス-昆虫細胞系を用いたクラステリン組み換え蛋白作製

(1) プラーク法を用いて純化したクラステリン発現バキュロウイルスをSf9細胞にて増幅した。増幅したウイルスを用いて、浮遊培養状態にてSf9細胞に感染後、27°Cにて振盪培養し、48、72、および96時間後の培養上清中に含まれるクラステリン蛋白をWestern blotting法により検出した。その結果、3MOIの力価で感染し、培養96時間の条件で良好な結果が得られた。

(2) 同様の条件により1L系の浮遊培養上清中に含まれるクラステリンを陽イオン交換クロマトグラフィーにて分離後Ni-NTA(QIAGEN)にて精製した。Western blotting法による結果から、比較的純度の高いクラステリン蛋白が得られたことが確認された。(下図)。



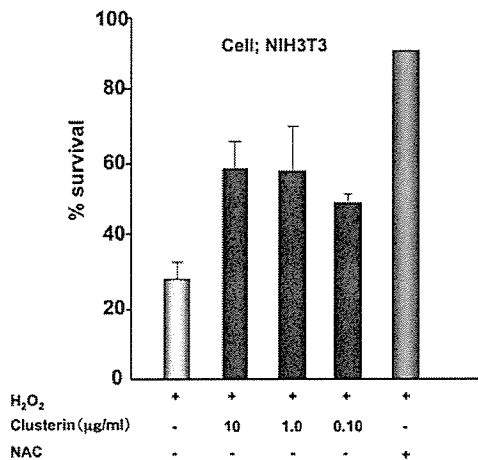
(2 ME; 2-Mercaptoethanol)

2. *in vitro*における組み換えクラステリン蛋白の機能解析

NIH3T3細胞の培養上清に0.1, 1および10 μ g/ml のクラステリン蛋白を添加し、2時

間後に0.1mMの過酸化水素を加えた。過酸化水素を加えた12時間後にトリパンブルー染色により生細胞数の割合を測定した結果、クラステリン未添加では、生細胞数が約30%であったのに対して、1および10 μ g/mlのクラステリンを添加した場合の生細胞数が約60%と有意に増加していた（下図）。

(NAC; n-acetyl cysteineは radical scavengerとして知られ、コントロールとして使用された。)

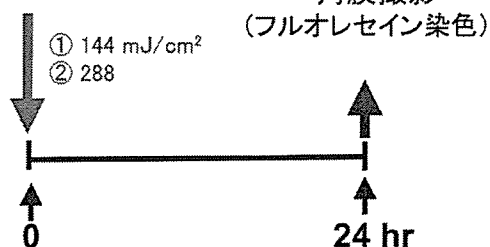


3. ラットの角膜障害モデルの作製

8週齢の雄性SDラットの右眼に144mJ/cm²あるいは288mJ/cm²の線量の紫外線をそれぞれ照射した。（下図）。

SDラット(8W, ♂) 6匹

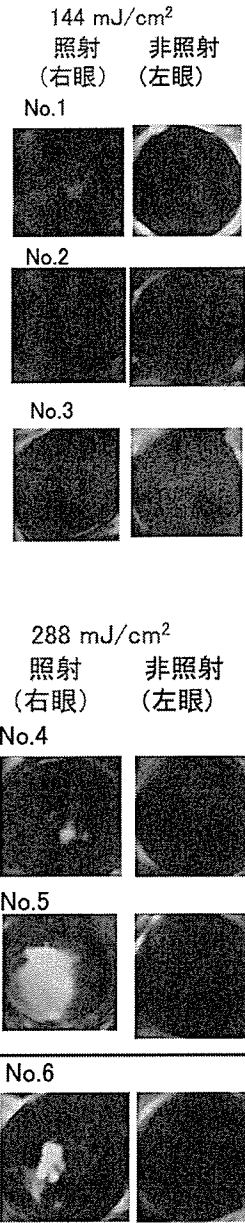
紫外線(UV-B)
照射(右眼)



照射24時間後にフルオレセインにより角膜表面を染色し観察した（上図）。288mJ/cm²の線量の紫外線で明らかにフルオレセインの浸透像が確認された。さらに、これらの障害をより客観的に評価する目的で損傷のスコア化を試みている。

D. 考察

組み換え蛋白作製方法としては、大腸菌、酵母、バキュロウイルス-昆虫細胞あるいは動物細胞を用いた方法があげられる。大腸菌を用いた方法は最も簡便で、安価のう



え短期間で組み換え蛋白が得られることより頻用されているが、糖鎖付加や複雑な高次構造を呈する蛋白質にはあまり適していないとされている。一方、大腸菌の欠点を補う方法としてバキュロウイルス-昆虫細胞を用いた方法があげられる。本法は操作がやや煩雑であるが、糖鎖付加および複雑な高次構造の形成も可能であることが知られている。本研究の対象蛋白であるクラステリンは多数のマンノースを主体とした糖鎖付加を有し、加えてジスルフィド結合によるヘテロダイマー形成を伴うことよりバキュロウイルス-昆虫細胞の応用が適していると考えられた。本法ではクラステリン蛋白を発現するバキュロウイルスを感染させた昆虫細胞Sf9の培養上清を採取することにより分泌型のクラステリン蛋白を精製することが可能と考えられた。精製後のクラステリン蛋白は、Western blotting 法により予測されるアミノ酸配列よりも分子量が明らかに増加していることが確認され、糖鎖付加の可能性が示唆された。また、2ME処理による還元状態において、その分子量の低下が認められたので、ジスルフィド結合を介したヘテロダイマー形成が確認された。従って、精製されたクラステリンの大部分は分泌型であることが確認できた。さらに、分泌型のクラステリン蛋白が過酸化水素刺激による細胞障害を抑制する機能を有していることが明らかになったことは、本蛋白の臨床応用の可能性を示唆したものとして有用と考えられた。このことを検証する目的で、本研究では紫外線照射角膜障害モデルラットを作製した。角膜障害モデルの利点としては蛍光色素を応用することにより、障害の可視化が容易であることや、点眼によるクラステリン蛋白の直接的な治療効果の判定が可能であることがあげられる。今後本モデルラットを用いてクラステリンの治療効果の有無を明らかにする予定である。

E. 結論

バキュロウイルス-昆虫細胞系で作製された組み換えクラステリン蛋白には酸化ストレスを介した細胞障害抑制効果が認められることが明らかとなった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Nishiyama T, Mishima K, Ide F, Yamada K, Obara K, Sato A, Hitosugi N, Inoue H, Tsubota K, and Saito I. Functional analysis of established mouse vascular endothelial cell line. **J Vasc Res** 44:138-148, 2007
- (2) Nishiyama T, Nakamura T, Obara K, Inoue H, Mishima K, Matsumoto N, Matsui M, Manabe T, Mikoshiba K, and Saito I. Upregulated PAR-2-mediated salivary secretion in mice deficient in muscarinic acetylcholine receptor subtypes. **J Pharmacol Exp Ther** 320: 516-24, 2007.
- (3) Ryo K, Yamada H, Nakagawa Y, Tai Y, Obara K, Inoue H, Mishima K, and Saito I. Possible involvement of oxidative stress in salivary gland of patients with Sjogren's syndrome. **Pathobiology** 73: 252-60, 2006
- (4) Obara K, Ide F, Mishima K, Inoue H, Yamada H, Hayashi Y, and Saito I. Biological and oncogenic properties of p53-deficient salivary gland epithelial cells with particular emphasis on stromal-epithelial interactions in tumorigenesis. **Pathobiology** 73: 261-70, 2006.
- (5) Higa K, Shimmura S, Kato N, Kawakita T, Miyashita H, Itabashi Y, Fukuda K, Shimazaki J, Tsubota K. Proliferation and Differentiation of Transplantable Rabbit Epithelial Sheets Engineered with or without an Amniotic Membrane Carrier. **Invest Ophthalmol Vis Sci**. 48:597-604, 2007.
- (6) Nishimura R, Negishi K, Saiki M, Arai H, Shimizu S, Toda I, Tsubota K. No Forward Shifting of Posterior Corneal Surface in Eyes Undergoing LASIK. **Ophthalmology**. Jan 17; [Epub ahead of print] 2007.
- (7) Nishiyama T, Mishima K, Ide F, Yamada K, Obara K, Sato A, Hitosugi N, Inoue H, Tsubota K, Saito I. Functional Analysis of an Established Mouse Vascular Endothelial Cell Line. **J Vasc Res**. 44(2):138-148, 2007.

- (8) Ogawa Y, Razzaque MS, Kameyama K, Hasegawa G, Shimmura S, Kawai M, Okamoto S, Ikeda Y, Tsubota K, Kawakami Y, Kuwana M. Role of Heat Shock Protein 47, a Collagen-Binding Chaperone, in Lacrimal Gland Pathology in Patients with cGVHD. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 48:1079-86, 2007.
- (9) Satofuka S, Ichihara A, Nagai N, Koto T, Shinoda H, Noda K, Ozawa Y, Inoue M, Tsubota K, Itoh H, Oike Y, Ishida S. Role of nonproteolytically activated prorenin in pathologic, but not physiologic, retinal neovascularization. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 48:422-9, 2007.
- (10) Altinors DD, Akca S, Akova YA, Bilezikci B, Goto E, Dogru M, Tsubota K. Smoking associated with damage to the lipid layer of the ocular surface. **Am J Ophthalmol.** 141:1016-1021, 2006.
- (11) Dogru M, Okada N, Asano-Kato N, Igarashi A, Fukagawa K, Shimazaki J, Tsubota K, Fujishima H. Alterations of the ocular surface epithelial mucins 1, 2, 4 and the tear functions in patients with atopic keratoconjunctivitis. **Clin Exp Allergy.** 36:1556-1565, 2006.
- (12) Dogru M, Ishida K, Matsumoto Y, Goto E, Ishioka M, Kojima T, Goto T, Saiki M, Tsubota K. Strip meniscometry: a new and simple method of tear meniscus evaluation. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 47:1895-901, 2006.
- (13) Goto E, Dogru M, Fukagawa K, Uchino M, Matsumoto Y, Saiki M, Tsubota K. Successful tear lipid layer treatment for refractory dry eye in office workers by low-dose lipid application on the full-length eyelid margin. **Am J Ophthalmol.** 142:264-270, 2006.
- (14) Higa K, Shimmura S, Shimazaki J, Tsubota K. Ocular surface epithelium epithelial cells upregulate HLA-G when expanded in vitro on amniotic membrane substrates. **Cornea.** 25:715-721, 2006.
- (15) 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.** 90:760-764, 2006.
- (16) Hori-Komai Y, Toda I, Asano-Kato N, Ito M, Yamamoto T, Tsubota K. Comparison of LASIK using the NIDEK EC-5000 optimized aspheric transition zone (OATz) and conventional ablation profile. **J Refract Surg.** 22:546-555, 2006.
- (17) 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.** 47:591-598, 2006.
- (18) Kaido M, Dogru M, Goto E, Shimazaki J, Tsubota K. Fourier analysis of single running suture adjustment in penetrating and deep lamellar keratoplasty. **J Refract Surg.** 22:617-620, 2006.
- (19) Kaido M, Dogru M, Yamada M, Sotozono C, Kinoshita S, Shimazaki J, Tsubota K. Functional visual acuity in Stevens-Johnson syndrome. **Am J Ophthalmol.** 142:917-922, 2006.
- (20) Kato N, Fukagawa K, Dogru M, Fujishima H, Tsubota K. Mechanisms of giant papillary formation in vernal keratoconjunctivitis. **Cornea.** 1:47-52, 2006.
- (21) Kawashima M, Kawakita T, Den S, Shimmura S, Tsubota K, Shimazaki J. Comparison of deep lamellar keratoplasty and penetrating keratoplasty for lattice and macular corneal dystrophies. **Am J Ophthalmol.** 142:304-309, 2006.
- (22) 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.** 141:386-388, 2006.
- (23) Maruyama-Hosoi F, Shimazaki J, Shimmura S, Tsubota K. Changes observed in keratolimbal allograft. **Cornea.** 25:377-382, 2006.
- (24) Matsumoto Y, Dogru M, Goto E, Ishida R, Kojima T, Onguchi T, Yagi Y, Shimazaki J, Tsubota K. Efficacy of a new warmmoist air device on tear functions of patients with simple meibomian gland dysfunction. **Cornea.** 25:644-650, 2006.
- (25) 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.** 76:56-63, 2006.
- (26) Noda-Tsuruya T, Asano-Kato N, Toda I, Tsubota K. Autologous serum eye drops for dry eye after LASIK. **J Refract Surg.** 22:61-66, 2006.
- (27) Ohashi Y, Dogru M, Tsubota K. Laboratory findings in tear fluid analysis. **Clin Chim Acta.** 369:17-28, 2006.
- (28) Onguchi T, Dogru M, Okada N, Asano-Kato N, 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.** 141:569-571, 2006.
- (29) Shimazaki J, Konomi K, Shimmura S, Tsubota K. Ocular surface reconstruction for thermal burns caused by fireworks. **Cornea.** 25:139-145, 2006.
- (30) Shimmura S, Miyashita H, Higa K, Yoshida S, Shimazaki J, Tsubota K. Proteomic analysis of soluble factors secreted by limbal fibroblasts. **Mol Vis.** 12:478-484, 2006.
- (31) Shimmura S, Miyashita H, Uchino Y, Taguchi T, Kobayashi H, Shimazaki J, Tanaka J, Tsubota K. Microkeratome assisted deep lamellar keratoprosthesis. **Br J Ophthalmol.** 90:826-829, 2006.
- (32) Suzuki S, Goto E, Dogru M, Asano-Kato N, Matsumoto Y, Hara Y, Fujishima H, Tsubota K. Tear film lipid layer alterations in allergic conjunctivitis. **Cornea.** 25:277-280, 2006.
- (33) Tanaka M, Dogru M, Takano Y, Miyake-Kashima M, Asano-Kato N, Fukagawa K, Tsubota K, Fujishima H. Quantitative evaluation of the early changes in ocular surface inflammation following MMC-aided papillary resection in severe allergic patients with corneal complications. **Cornea.** 25:281-285, 2006.
- (34) Toda I, Kato-Asano N, Hori-Komai Y, Tsubota K. Dry eye after LASIK enhancement by flap lifting. **J Refract Surg.** 22:358-362, 2006.
- (35) Tomita M, Shimmura S, Tsubota K, Shimazaki J. Dacryoadenitis associated with acanthamoeba keratitis. **Arch Ophthalmol.** 124:1239-42, 2006.
- (36) Tsuji K, Yamamoto T, Hori-Komai Y, Toda I, Tsubota K. Traumatic epithelial flap detachment after laser subepithelial keratomileusis. **J Refract Surg.** 22:305-307, 2006.
- (37) Uchino M, Dogru M, Yagi Y, Goto E, Tomita M, Kon T, Saiki M, Matsumoto Y, Uchino Y, Yokoi N, Kinoshita S, Tsubota K. The features of dry eye disease in a Japanese elderly population. **Optom Vis Sci.** 83:797-802, 2006.
- (38) Uchino M, Ogawa Y, Kawai M, Shimada H, Kameyama K, Okamoto S, Dogru M, Tsubota K. Ocular complications in a child with acute graft-versus-host disease following cord blood stem cell transplantation: therapeutic challenges. **Acta Ophthalmol Scand.** 84:545-548, 2006.
- (39) Uchino Y, Goto E, Takano Y, Dogru M, Shinozaki N, Shimmura S, Yagi Y, Tsubota K, Shimazaki J. Long-standing bullous keratopathy is associated with peripheral conjunctivalization and limbal deficiency. **Ophthalmology.** 113:1098-101, 2006.
- (40) Uchino Y, Shimmura S, Miyashita H, Taguchi T, Kobayashi H, Shimazaki J, Tanaka J, Tsubota K. Amniotic membrane immobilized poly(vinyl alcohol) hybrid polymer as an artificial cornea scaffold that supports a stratified and differentiated corneal epithelium. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater.** 2006 [Epub ahead of print].
- (41) Yoshida S, Shimmura S, Kawakita T, Miyashita H, Den S, Shimazaki J, Tsubota K. Cytokeratin 15 can be used to identify the limbal phenotype in normal and diseased ocular surfaces. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 47:4780-6, 2006.
- (42) Yoshida S, Shimmura S, Nagoshi N, Fukuda K, Matsuzaki Y, Okano H, Tsubota K. Isolation of multipotent neural crest-derived stem cells from the adult mouse cornea. **Stem Cells.** 24:2714-2722, 2006
- (43) Imamura Y, Noda S, Hashizume K, Shinoda K, Yamaguchi M, Uchiyama S, Shimizu T, Mizushima Y, Shirasawa T, Tsubota K. Drusen, choroidal neovascularization, and retinal pigment epithelium dysfunction in SOD1-deficient mice: a model of age-related macular degeneration. **Proc Natl Acad**

- Sci U S A. 103:11282-11287, 2006.
- (44) Inagaki Y, Mashima Y, Fuse N, Funayama T, Ohtake Y, Yasuda N, Murakami A, Hotta Y, Fukuchi T, Tsubota K. Polymorphism of beta-adrenergic receptors and susceptibility to open-angle glaucoma. **Mol Vis.** 12:673-680, 2006.
- (45) Kawaguchi N, Inoue M, Sugisaka E, Shinoda K, Tsubota K. Subjective visual sensation during vitrectomy under retrobulbar anesthesia. **Am J Ophthalmol.** 141:407-409, 2006.
- (46) Kurihara T, Ozawa Y, Shinoda K, Nagai N, Inoue M, Oike Y, Tsubota K, Ishida S, Okano H. Neuroprotective effects of angiotensin II type 1 receptor (AT1R) blocker, telmisartan via modulating AT1R and AT2R signaling in retinal inflammation. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 47:5545-5552, 2006.
- (47) Nagai N, Oike Y, Izumi-Nagai K, Urano T, Kubota Y, Noda K, Ozawa Y, Inoue M, Tsubota K, Suda T, Ishida S. Angiotensin II type 1 receptor-mediated inflammation is required for choroidal neovascularization. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** 26:2252-2259, 2006.
- (48) Satofuka S, Ichihara A, Nagai N, Yamashiro K, Koto T, Shinoda H, Noda K, Ozawa Y, Inoue M, Tsubota K, Suzuki F, Oike Y, Ishida S. Suppression of ocular inflammation in endotoxin-induced uveitis by inhibiting nonproteolytic activation of prorenin. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 47:2686-2892, 2006.
- (3) Shigeyasu C, Negishi K, Saiki M, Masuda M, Kitamura H, Shimizu S, Tsubota K. Visual function in a highly myopic eye after implantation of multifocal IOL for unilateral cataract and LASIK in the fellow eye. American Society of Cataract & Refractive Surgery 2006 Synposium & Congress, San Francisco, 2006.
- (4) Dogru M, Sasaki Y, Imamura Y, Okada N, Igarashi A, Goto E, Kawakita T, Sato E, Ward S, Saito I, Tsubota K. Implication of smoking on ocular surface and tear function. International Ocular Surface Society, Florida, 2006.
- (5) Goto E, Dogru M, Matsumoto Y, Kaido M, Tsubota K. Successful tear lipid layer treatment for severe dry eye patients by low-dose lipid application on the full-length lid margin. International Ocular Surface Society, Florida, 2006.
- (6) Ward S, Wang Y, Ogawa Y, Okada N, Igarashi A, Goto E, Kawakita T, Dogru M, Tsubota K. Ocular surface and tear functions graft versus host disease. International Ocular Surface Society, Florida, 2006.
- (7) Den S, Omoto M, Shimmura S, Tsubota K, Shimazaki J. Prospective, randomized study on efficacy of systemic cyclosporine in high-risk corneal transplantation. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (8) Dogru M, Okada N, Kato N, Igarashi A, Tanaka M, Takano Y, Fukagawa K, Tsubota K, Fujishima H. The differences in tear functions and ocular surface findings between atopic and vernal keratoconjunctivitis. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (9) Fujishima H, Dogru M, Okada N, Asano-Kato N, Igarashi A, Kujira A, Takano Y, Tsubota K, Fukagawa K. Crth2 expression on eosinophils from atopic patients. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (10) Fukagawa K, Okada N, Igarashi A, Kujira A, Kato N, Dogru M, Takano Y, Tsubota K, Fujishima H. Omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) suppress chemokine production in

2.学会発表

- (1) 美島健二、坪田一男、山田耕一、小原久実、山田浩之、渡辺雅尚、井上裕子、齋藤一郎 外分泌腺機能維持における酸化ストレスの役割-Side population 細胞における酸化ストレス抑制因子の同定- 第6回日本抗加齢医学会総会 (東京) 2006, 5
- (2) Negishi K, Terauch N, Saiki M, Shimizu S, Kurosaka D, Tsubota K. Comparison of clinical bimanual microincisional and conventional coaxial cataract surgeries. American Society of Cataract & Refractive Surgery 2006 Synposium & Congress, San Francisco, 2006.

- cultured human conjunctival fibroblasts. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (11) Goto E, Dogru M, Sato E, Takano Y, Matsuda S, Shinozaki E, Tsubota K. The intensity of corneal reflex from the eye increased after punctal plug insertion in dry eye patients with Sjogren syndrome. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (12) Hara S, Kojima T, Shimazaki J, Ichikawa K, Goto E, Dogru M, Tsubota K. The evaluation of efficacy of surgery for conjunctivochalasis using "Tear Stability Analysis System (TSAS)". The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (13) Higuchi A, Okubo Y, Watanabe M, Hirashima M, Shimmura S, Tsubota K. Identification of a candidate for the Treatment of dry eye from serum. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (14) Izumi K, Nagai N, Ozawa Y, Kurihara T, Inoue M, Tsubota K, Mihara M, Ohsugi Y, Okano H, Ishida S. Suppression of choroidal neovascularization by blocking interleukin-6 receptor signaling. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (15) Kato N, Ishioka M, Fukagawa K, Dogru M, Okada N, Tsubota K, Fujishima H. Vernal keratoconjunctivitis may be exacerbated by staphylococcus aureus and its superantigen production. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (16) Kawakita T, Hornia A, Shimmura S, Higa K, Miyashita H, Tsubota K, Shimazaki J, Tseng S.C. G. Corneal epithelial sheet equivalent generated from a single murine corneal/limbal epithelial progenitor cell. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (17) Kayama M, Ueno H, Homma R, Kurokawa M.S, Yoshikawa H, Tsubota K, Ueno S, Suzuki N. In vitro corneal epithelial cell induction with high purity by Pax6 gene transfection of mouse embryonic stem cells. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (18) Kojima T, Shimazaki J, Ichikawa K, Goto E, Dogru M, Tsubota K. The evaluation of efficacy of surgery for conjunctivochalasis using "Tear Stability Analysis System(TSAS)" The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (19) Koto T, Oike Y, Nagai N, Satofuka S, Kurihara T, Mochimaru H, Ozawa Y, Inoue M, Tsubota K, Ishida S. Suppression of endotoxin-induced uveitis by calcium-channel blockers. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (20) Kurihara T, Ozawa Y, Nagai N, K.Shinoda, Inoue M, Oike Y, Tsubota K, Ishida S, Okano H. Effects of angiotensin II type 1 (AT1-R) receptor blocker on retinal neuronal cells in inflammatory status. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (21) Kurosaka D, Izumi K, 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. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (22) Mochimaru H, Koto T, Nagai N, Satofuka S, Shinoda H, Kurihara T, Ozawa Y, Inoue M, Tsubota K, Ishida S. Suppressive effects of ω -3 fatty acid on choroidal neovascularization. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (23) Nagai N, Oike Y, Izumi K, Urano T, Kubota Y, Ozawa Y, Inoue M, Tsubota K, Suda T, Ishida S. Angiotensin II type 1 receptor-mediated inflammation is required for choroidal neovascularization. The Association for Research in Vision

- and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (24) Nakamura S, Shibuya M, Nakashima H, Tsubota K. Effect of D- β -hydroxybutyrate on chronic superficial punctate keratopathy in a rat dry eye model with jogging board. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (25) Nakashima H, Shibuya M, Hisamura R, Masuda N, Nakamura S, Imagawa T, Uehara M, Tsubota K. Proliferation and differentiation capacity in corneal epithelia in dry eye condition. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (26) Ogawa Y, Yamazaki K, Dogru M, Goto E, Shimmura S, Fujishima H, Kuwana M, Okamoto S, Kawakami Y, Tsubota K. Pathogenic fibrosis and inflammation of conjunctival chronic graft-versus-host disease. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (27) Okada N, Fukagawa K, Igarashi A, Kujira A, Dogru M, Asano-Kato N, Tsubota K, Fujishima H. Altered expression of interleukin-13 receptor alpha 2 on severe allergic conjunctivitis derived-conjunctival fibroblasts. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (28) Onguchi T, Kobayashi J, Adan Sato E, Kawakita T, Goto E, Uchino M, Uchino Y, Dogru M, Shimazaki J, Tsubota K. Tear film alterations with a new eyewarmer device "the orgahexafiber mask": Implications for the treatment of meibomian gland dysfunction (mgd). The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (29) Ozawa Y, Kurihara T, Nagai N, Koto T, Satofuka S, Inoue M, Oike Y, Tsubota K, Ishida S, Okano H. STAT3-activation negatively contributes regulation of rhodopsin-expression in adult inflammatory retina. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (30) Saiki M, Negishi K, Ohnuma K, Kitamura H, Masuda M, Shimizu S, Tsubota K. Effect of change in higher order aberrations with accommodation on visual function in normal and post-LASIK eyes. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (31) Sasaki Y, Kawedia J, Menon A.G, Yasui M, Tsubota K. Effect on tear and saliva secretion in AQP5-deficient mice. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (32) Satofuka S, Ichihara A, Nagai N, Yamashiro K, Koto T, Ozawa Y, Inoue M, Tsubota K, Oike Y, Ishida S. Suppression of ocular inflammation in endotoxin-induced uveitis by inhibiting nonproteolytic activation of prorenin. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (33) Shibuya M, Nakashima H, Nakamura S, Imagawa T, Uehara M, Tsubota K. Changes in corneal surface structure and tear film stability in a rat dry eye model with a jogging board. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (34) Shimazaki J, Satake Y, Kawashima M, Higa K, Shimmura S, Tsubota K. Outcome of cultivated oral mucosal epithelial transplantation in severe bilateral ocular surface disorders. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (35) Shimmura S, Miyashita H, S. Yoshida, Shimazaki J, Tsubota K. The use of keratocyte progenitors as feeder cells for epithelial sheet cultivation. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (36) Shinoda H, Shimoda M, Nagai N, Koto T, Satofuka S, Ozawa Y, Inoue M, Tsubota K, Okada Y, Ishida S. expression of ADAM28 in proliferative diabetic retinopathy. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.

- (37) Takano Y, Dogru M, Tanaka M, J. Shoji, Bonini S, Fukagawa K, Satake Y, Tsubota K, Fujishima H. Preliminary results of the world ocular allergy study: Comparison of the characteristics of patients with severe ocular allergies in Italy and Japan. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (38) Tanaka M, Dogru M, Takano Y, Asano-Kato N, Fukagawa K, Tsubota K, Fujishima H. Long-term results of mitomycin-C (MMC)-aided papillary resection in patients with severe ocular allergies. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (39) Takahashi Y, Igaki M, Suzuki A, Takahashi G, Dogru M, Tsubota K. The effect of periocular warming on near reflex. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (40) Toda I, Hori-Komai Y, Ito M, Yamamoto T, Tsubota K. Quality of vision after wavefront-guided versus conventional LASIK by NIDEK excimer laser. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (41) Tomita M, Shimmura S, Satake Y, Tsubota K, Shimazaki J. Post-keratoplasty atopic sclerokeratitis. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (42) Tsubota K, Y. Sasaki, Dogru M, Imamura Y, Shirasawa T, Saito I. Oxidative stress decreases tear secretion in Cu,Zn-Superoxide Dismutase (SOD-1)-deficient mice. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (43) Yamaguchi T, Negishi K, Noda T, Fujiiike K, Tsubota K, Ohnuma K. Differences in wavefront aberrations in different wavelengths. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (44) Yoshida S, Shimmura S, Matsuzaki Y, Shimazaki J, Okano H, Tsubota K. Multipotent cornea stromal precursors are of neural crest origin and not the bone marrow. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Annual meeting, Florida, 2006.
- (45) 小沢洋子, 栗原俊英, 永井紀博, 篠田 啓, 尾池雄一, 坪田一男, 石田 晋, 岡野栄之. 眼炎症による網膜機能障害に対するアンジオテンシン II 1 型受容体阻害剤の効果. 第 10 回眼科分子生物研究会, 熱海, 2006.
- (46) 永井紀博, 尾池雄一, 小沢洋子, 坪田一男, 石田 晋. アンジオテンシン II 1 型受容体阻害薬による脈絡膜血管新生の抑制. 第 10 回眼科分子生物研究会, 熱海, 2006.
- (47) 内野裕一, 榛村重人, 大本雅弘, 田聖花, 島崎潤, 坪田一男. 重症眼表面疾患に合併した白内障に対する microketatome-assisted PEA. 第 29 回日本眼科手術学会総会, 東京, 2006.
- (48) 戸田郁子, 堀好子, 坪田一男. LASIK 術後 5 年の成績. 第 29 回日本眼科手術学会総会, 東京, 2006.
- (49) 堀好子, 戸田郁子, 伊藤光登志, 山本亨宏, 中島潔, 坪田一男. LASIK 再手術施行例の検討. 第 29 回日本眼科手術学会総会, 東京, 2006.
- (50) 永井紀博, 尾池雄一, 坪田一男, 石田 晋. アンジオテンシン II 1 型受容体阻害薬による脈絡膜血管新生の抑制. 第 11 回アンジオテンシンカンファレンス, 東京, 2006.
- (51) 五十嵐安弥子, 岡田直子, 鯨昭子, 加藤直子, 田中まり, 村戸ドール, 深川和己, 佐竹良之, 坪田一男, 藤島浩. 重症アレルギー性結膜炎患者における PARC の発現. 第 30 回角膜カンファレンス・第 22 回日本角膜移植学会, 東京, 2006.
- (52) 石岡みさき, 加藤直子, 島崎潤, 坪田一男. ヒアルロン酸点眼による一時的な視力低下. 第 30 回角膜カンファレンス・第 22 回日本角膜移植学会, 東京, 2006.
- (53) 石田玲子, 海道美奈子, 村戸ドール, 後藤英樹, 坪田一男. BUT 短縮型ドライアイの実用視力. 第 30 回角膜カ

- ンファランス・第22回日本角膜移植学会，東京，2006。
- (54) 岩室賢治，小林ジュリエ，村戸ドール，後藤英樹，石田玲子，高野洋之，佐藤エンリケアダン，海道美奈子，原修哉，小川葉子，坪田一男。新型アイウォーマー (Orgahexa Warmer) による涙液機能の変化。第30回角膜カンファランス・第22回日本角膜移植学会，東京，2006。
- (55) 岡田直子，深川和己，加藤直子，五十嵐安弥子，鯨昭子，坪田一男，藤島浩。IL-13Ra2 の発現とアレルギー性角結膜炎。第30回角膜カンファランス・第22回日本角膜移植学会，東京，2006。
- (56) 小川旬子，小川葉子，後藤英樹，内野美樹，山本祐介，番裕美子，村戸ドール，坪田一男。慢性移植片対宿主病による重症ドライアイへの治療用コンタクトレンズ装用の試み。第30回角膜カンファランス・第22回日本角膜移植学会，東京，2006。
- (57) 小川由佳子，小川葉子，後藤英樹，村戸ドール，山本祐介，出田真二，山崎一人，河上裕，坪田一男。慢性移植片対宿主病によるドライアイの結膜上皮病変の検討。第30回角膜カンファランス・第22回日本角膜移植学会，東京，2006。
- (58) 小川葉子，山崎一人，村戸ドール，後藤英樹，榛村重人，藤島浩，岡本真一郎，河上裕，坪田一男。慢性移植片対宿主病ドライアイの結膜における線維芽細胞の免疫応答への関与。第30回角膜カンファランス・第22回日本角膜移植学会，東京，2006。
- (59) 海道美奈子，村戸ドール，玉沖朋子，石田玲子，坪田一男。最新型実用視力計とその測定方法。第30回角膜カンファランス・第22回日本角膜移植学会，東京，2006。
- (60) 加藤直子，榛村重人，宮下英之，比嘉一成，吉田悟，川北哲也，坪田一男。翼状片の発生機序におけるβカテニンの役割。第30回角膜カンファランス・第22回日本角膜移植学会，東京，2006。
- (61) 川北哲也，Tseng Scheffer，榛村重人，坪田一男，島崎潤。Keratocyteの無血清培養による表現型維持のメカニズムの考察。第30回角膜カンファランス・第22回日本角膜移植学会，東京，2006。
- (62) 鯨昭子，岡田直子，五十嵐安弥子，佐竹良之，加藤直子，深川和己，坪田一男，藤島浩。EZ-TAXIScan ^{® ;} を用いた好酸球遊走の可視化。第30回角膜カンファランス・第22回日本角膜移植学会，東京，2006。
- (63) 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渉デバイスを用いた非侵襲的メニスカス高測定。第30回角膜カンファランス・第22回日本角膜移植学会，東京，2006。
- (64) 佐伯めぐみ，根岸一乃，清水里美，荒井宏幸，戸田郁子，坪田一男。屈折矯正手術後の眼内レンズ度数の予測精度。第30回角膜カンファランス・第22回日本角膜移植学会，東京，2006。
- (65) 佐竹良之，比嘉一成，川島素子，大本雅弘，榛村重人，坪田一男，島崎潤。培養口腔粘膜上皮シートを用いた眼表面再建の術後成績。第30回角膜カンファランス・第22回日本角膜移植学会，東京，2006。
- (66) 重安千花，藤島浩，山本祐介，後藤英樹，榛村重人，坪田一男。リング付き冷凍保存羊膜の使用経験。第30回角膜カンファランス・第22回日本角膜移植学会，東京，2006。
- (67) 田中まり，深川和己，村戸ドール，加藤直子，高野洋之，川北哲也，佐竹良之，坪田一男，藤島浩。重症アレルギー性結膜炎0.05%マイトマイシンC併用乳頭切除術の有効性と長期経過。第30回角膜カンファランス・第22回日本角膜移植学会，東京，2006。
- (68) 原修哉，小島隆司，市川一夫，島崎潤，中村友昭，村戸ドール，後藤英樹，坪田一男。結膜弛緩症手術後に

- における TSAS (Tear Stability Analysis System) を用いた涙液動態の評価. 第 30 回角膜カンファレンス・第 22 回日本角膜移植学会, 東京, 2006.
- (69) 番裕美子, 出田真二, 村戸ドール, 小川葉子, 小川旬子, 野田実香, 小島隆司, 山本祐介, 小川由佳子, 宗像里奈, 後藤英樹, 坪田一男. 涙点プラグ迷入により涙小管炎症状を呈し、プラグ摘出術を施行した 3 例. 第 30 回角膜カンファレンス・第 22 回日本角膜移植学会, 東京, 2006.
- (70) 比嘉一成, 榛村重人, 板橋裕史, 福田恵一, 坪田一男, 島崎潤. フィブリンコートウエルを用いた培養上皮シートの作成と移植. 第 30 回角膜カンファレンス・第 22 回日本角膜移植学会, 東京, 2006.
- (71) 樋口明弘, 大久保ゆり, 坪田一男. 血清からのドライアイ治療有効成分の精製. 第 30 回角膜カンファレンス・第 22 回日本角膜移植学会, 東京, 2006.
- (72) 深川和己, 岡田直子, 五十嵐安弥子, 鯨昭子, 加藤直子, 村戸ドール, 高野洋之, 田中まり), 坪田一男, 藤島浩. オメガ 3 不飽和脂肪酸は重症アレルギー性角結膜炎患者で減少している. 第 30 回角膜カンファレンス・第 22 回日本角膜移植学会, 東京, 2006.
- (73) 藤島浩, 山本祐介, 榛村重人, 重安千花, 坪田一男. マイクロケラトームを用いた角膜移植について. 第 30 回角膜カンファレンス・第 22 回日本角膜移植学会, 東京, 2006.
- (74) 外園千恵, 小泉範子, 上田真由美, 東原尚代, 稲富勉, 横井則彦, 山田昌和, 海道美奈子, 村戸ドール, 坪田一男, 木下茂. 慢性期 Stevens-Johnson 症候群患者の視力と前眼部所見. 第 30 回角膜カンファレンス・第 22 回日本角膜移植学会, 東京, 2006.
- (75) 中嶋英雄, 渋谷倫子, 中村滋, 今川智敬, 上原正人, 坪田一男. ラットドライアイモデルにおける角膜上皮細胞の増殖能、分化速度の変動. 第 30 回角膜カンファレンス・第 22 回日本角膜移植学会, 東京, 2006.
- (76) 宮下英之, 榛村重人, 森藤史, 吉田悟, 坪田一男. マウス角膜実質組織幹細胞のフィーダー細胞としての応用. 第 30 回角膜カンファレンス・第 22 回日本角膜移植学会, 東京, 2006.
- (77) 村戸ドール, 後藤英樹, 小川葉子, 今村裕, 川北哲也, 内野美樹, 佐藤エンリケアダン, 山本祐介, Ward Samantha, 斉藤一郎, 坪田一男. 喫煙における涙液機能、眼表面、口腔粘膜の変化. 第 30 回角膜カンファレンス・第 22 回日本角膜移植学会, 東京, 2006.
- (78) 山本亨宏, 伊藤光登志, 堀好子, 戸田郁子, 坪田一男. 南青山アイクリニックにおける LASIK17000 眼の検討. 第 30 回角膜カンファレンス・第 22 回日本角膜移植学会, 東京, 2006.
- (79) 吉田悟, 榛村重人, 島崎潤, 松崎有未, 岡野栄之, 坪田一男. マウス角膜における神経提由来組織幹細胞. 第 30 回角膜カンファレンス・第 22 回日本角膜移植学会, 東京, 2006.
- (80) 榛村重人, 吉田悟, 松崎有未, 岡野栄之, 坪田一男. マウス角膜における神経提由来組織幹細胞. 第 5 回日本再生医療学会, 岡山, 2006.
- (81) 永井紀博, 厚東隆志, 里深信吾, 持丸博史, 小沢洋子, 坪田一男, 井上 真, 石田 晋. アンジオテンシン II 1 型受容体阻害による糖尿病モデル網膜血管炎症の抑制. 第 12 回糖尿病眼学会, 東京, 2006.
- (82) 明尾潔, 舟山知夫, 浜田信行, 小林泰彦, 明尾庸子, 坪田一男. イオンビーム照射後のヒト培養網膜血管内皮細胞のグルタチオンペルオキシダーゼ発現. 第 110 回日本眼科学会総会, 大阪, 2006.
- (83) 泉香奈子, 黒坂大次郎, 岩田岳, 小口芳久, 田中靖彦, 真島行彦, 坪田一男. 角膜創傷治癒過程における IGF-I と IGFBP-3 の発現動態と機能. 第 110 回日本眼科学会総会, 大阪, 2006.

- (84) 内野裕一, 島崎潤, 内野美樹, 坪田一男. Laser Iridotomy後に生じた水疱性角膜症に対する全層角膜移植術の成績. 第110回日本眼科学会総会, 大阪, 2006.
- (85) 大本雅弘, 田聖花, 榛村重人, 坪田一男, 島崎潤. 角膜移植ハイリスク症例に対するシクロスポリン全身投与の効果. 第110回日本眼科学会総会, 大阪, 2006.
- (86) 川北哲也, Tseng Scheffer, 比嘉一成, 宮下英之, 榛村重人, 坪田一男, 島崎潤. マウス角膜上皮未分化細胞分離培養法の確立. 第110回日本眼科学会総会, 大阪, 2006.
- (87) 栗原俊英, 小沢洋子, 永井紀博, 篠田啓, 井上真, 尾池雄一, 坪田一男, 石田晋, 岡野栄之. 眼炎症による網膜機能障害に対するアンジオテンシン II1 型受容体阻害剤の効果. 第110回日本眼科学会総会, 大阪, 2006.
- (88) 榛村重人, 比嘉一成, 吉田悟, 川北哲也, 島崎潤, 坪田一男. 角膜上皮未分化細胞を用いたマウス培養上皮シート移植実験系の開発. 第110回日本眼科学会総会, 大阪, 2006.
- (89) 高橋洋子, 谷原理香, 山田瑞環子, 井垣通人, 鈴木敦, 高橋現一郎, 坪田一男. 眼周囲湿熱による近見反応の変化. 第110回日本眼科学会総会, 大阪, 2006.
- (90) 永井紀博, 里深信吾, 厚東隆志, 篠田肇, 栗原俊英, 小沢洋子, 井上真, 坪田一男, 石田晋. アンジオテンシン II1 型受容体拮抗薬による脈絡膜新生血管の抑制. 第110回日本眼科学会総会, 大阪, 2006.
- (91) 根岸一乃, 小林克彦, 大沼一彦, 野田徹, 佐伯めぐみ, 坪田一男. 正常眼における Modulation transfer function、コントラスト感度の加齢変化. 第110回日本眼科学会総会, 大阪, 2006.
- (92) 吉本桂子, 小笠原未恵, 高橋康恵, 瀬戸山由美子, 鈴木勝也, 津坂憲政, 小川葉子, 坪田一男, 阿部達, 竹内勤. シェーグレン症候群患者末梢 T 細胞における BAFF 産生制御機構の検討. 第50回日本リウマチ学会総会・学術集会, 長崎, 2006.
- (93) 厚東隆志, 永井紀博, 小澤洋子, 井上真, 坪田一男, 石田晋. Effect of ω -3 Fatty Acid on Suppression of Choroidal Neovascularization. 第6回日本抗加齢医学会総会, 東京, 2006.
- (94) 永井香奈子, 永井紀博, 小澤洋子, 岡野栄之, 坪田一男, 石田晋. Interleukin-6 受容体阻害による実験的脈絡膜新生血管の抑制. 第6回日本抗加齢医学会総会, 東京, 2006.
- (95) 永井紀博, 尾池雄一, 永井香奈子, 里深信吾, 厚東隆志, 小澤洋子, 坪田一男, 石田晋. Angiotensin II1 型受容体阻害による抗炎症を介した脈絡膜新生血管の抑制. 第6回日本抗加齢医学会総会, 東京, 2006.
- (96) 西脇祐司, 石田晋, 坪井樹, 細田加那江, 菊池有利子, 岩澤聡子, 島田直樹, 上村隆元, 坪田一男, 武林亨. 地域住民における加齢黄斑変性の有病率と危険因子に関する疫学研究. 第6回日本抗加齢医学会総会, 東京, 2006.
- (97) 橋爪公平, 今村裕, 平澤学, 松崎忠幸, 井上真, 坪田一男, 米井嘉一. 加齢黄斑変性、網膜静脈閉塞症患者における血中酸化ストレスマーカーの検索. 第6回日本抗加齢医学会総会, 東京, 2006.
- (98) 深川和己, 岡田直子, 五十嵐安弥子, 鯨昭子, 加藤直子, 村戸ドール, 坪田一男, 藤島浩. オメガ3不飽和脂肪酸は結膜線維芽細胞からのケモカイン及び接着分子の発現を抑制する. 第6回日本抗加齢医学会総会, 東京, 2006.
- (99) 松田さやか, 今村裕, 内田敦郎, 関麻依子, 篠田啓, Terry Grossman, 坪田一男. 径皮膚の網膜微少電流刺激による加齢黄斑変性治療. 第6回日本抗加齢医学会総会, 東京, 2006.
- (100) 山口剛史, 根岸一乃, 河口奈々恵, 増田麻里恵, 佐伯めぐみ, 北村葉月, 坪田一男. 加齢性白内障患者に対す

- る調節および多焦点眼内レンズによる老視治療. 第6回日本抗加齢医学会総会, 東京, 2006.
- (101) 吉本桂子, 高橋康恵, 瀬戸山由美子, 鈴木勝也, 津坂憲政, 小川葉子, 坪田一男, 阿部達, 竹内勤. シェーグレン症候群患者末梢T細胞におけるBAFF産生制御機構の検討. 第11回シェーグレン症候群セミナー, 東京, 2006.
- (102) 荒井宏幸, 福本光樹, 辻一夫, 山本亨宏, 戸田郁子, 坪田一男. 角膜小切開による虹彩支持型 foldable Phakic IOL (Aritflex[®]) の有用性. 第45回日本白内障学会総会・第21回眼内レンズ屈折手術学会総会, 東京, 2006.
- (103) 山口剛史, 根岸一乃, 佐伯めぐみ, 河口奈々恵, 清水里美, 山本祐介, 坪田一男. 虹彩支持型有水晶体眼内レンズの術後早期成績. 第45回日本白内障学会総会・第21回眼内レンズ屈折手術学会総会, 東京, 2006.
- (104) 里深信吾, 市原淳弘, 永井紀博, 厚東隆志, 篠田肇, 小澤洋子, 井上真, 坪田一男, 石田晋. プロレニンの非蛋白融解的活性化の阻害による眼内炎症の抑制. 第40回日本眼炎症学会, 米子, 2006.
- (105) 永井紀博, 泉香奈子, 小澤洋子, 坪田一男, 山城健児, 石田晋. アンジオテンシンII1型受容体シグナルのブロックによる眼内炎症の抑制. 第40回日本眼炎症学会, 米子, 2006.
- (106) 熊埜御堂隆, 玉沖朋子, 海道美奈子, 宇津見義一, 坪田一男. ハードコンタクトレンズ (HCL) 装用円錐角膜眼と角膜移植後円錐角膜眼の実用視力. 第49回日本コンタクトレンズ学会総会, 米子.
- (107) 栗原俊英, 小沢洋子, 永井紀博, 篠田啓, 井上真, 尾池雄一, 坪田一男, 石田晋, 岡野栄之. 眼炎症による網膜機能障害に対するアンジオテンシンII1型受容体阻害剤の効果. 第27回炎症・再生学会, 東京, 2006.
- (108) 永井紀博, 永井香奈子, 小沢洋子, 三原昌彦, 大杉義征, 岡野栄之, 坪田一男, 石田晋. Interleukin-6 受容体阻害による脈絡膜新生血管の抑制. 第27回炎症・再生学会, 東京, 2006.
- (109) 石田晋, 西脇祐司, 坪田一男, 武林亨. 地域住民における加齢黄斑変性の有病率と危険因子に関する疫学研究. 第8回 Japan Macula Club, 蒲郡, 2006.
- (110) 海道美奈子, 村戸ドール, 石田玲子, 林昭宏, 坪田一男. 実用視力測定における方法論. 第42回日本眼光学学会, 第21回眼科ME学会合同学会総会, 東京, 2006.
- (111) 村戸ドール, 海道美奈子, 石田玲子, 林昭宏, 坪田一男. 最新実用視力計とドライアイへの応用. 第42回日本眼光学学会, 第21回眼科ME学会合同学会総会, 東京, 2006.
- (112) 小川旬子, 村戸ドール, 小川葉子, 後藤英樹, 戸田郁子, 八木幸子, 坪田一男. 涙液保持能とコンタクトレンズ装用. 第15回シェーグレン症候群研究会, 横浜, 2006.
- (113) 小川由佳子, 小川葉子, 村戸ドール, 榛村重人, 山本祐介, 後藤英樹, 山崎一人, 河上裕, 坪田一男. シェーグレン症候群と慢性移植片対宿主病によるドライアイの結膜微絨毛と杯細胞の比較検討. 第15回シェーグレン症候群研究会, 横浜, 2006.
- (114) 樋口明弘, 大久保ゆり, 坪田一男. セレノプロテインPのドライアイモデルラットに対する点眼効果. 第15回シェーグレン症候群研究会, 横浜, 2006.
- (115) 村戸ドール, 海道美奈子, 石田玲子, 坪田一男. 最新型実用視力計とドライアイへの応用. 第15回シェーグレン症候群研究会, 横浜, 2006.
- (116) 山本和彦, 桜井俊晴, 中川洋一, 斉藤一郎, 坪田一男, 河上裕. シェーグレン症候群患者病巣涙腺・唾液腺移植 SCIDマウス血清を用いたcDNA発現クローニング法で得られた自己抗原のELISA法を用いた診断応用への検討. 第15回シェーグレン症候群研究会, 横浜, 2006.

- (117) 吉本桂子, 高橋康恵, 瀬戸山由美子, 鈴木勝也, 津坂憲政, 小川葉子, 坪田一男, 安部 達, 竹内 勤. シェーグレン症候群患者T細胞のBAFF産生機構のin vitroモデルの確立とその応用. 第15回シェーグレン症候群研究会, 横浜, 2006.
- (118) 石岡みさき, 加藤直子, 坪田一男. 眼表面の老化. 第60回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.
- (119) 内野祐一, 村戸ドール, 内野美樹, 深川和己, 榛村重人, 武林亨, デボラシャンバーグ, 坪田一男. VDT作業におけるドライアイ関連不定愁訴の出現頻度と関連因子. 第60回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.
- (120) 小川葉子, 村戸ドール, 小川由佳子, 内野美樹, 山本祐介, 小川旬子, 石田玲子, 海道美奈子, 原修哉, 坪田一男. 慢性移植片対宿主病早期ドライアイに対するトラニスト点眼の有効性. 第60回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.
- (121) 河口奈々恵, 根岸一乃, 佐伯めぐみ, 山口剛史, 清水里美, 坪田一男. 白内障患者に対する多焦点眼内レンズ挿入およびLASIKによる屈折矯正. 第60回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.
- (122) 榛村重人, 山本祐介, 内野裕一, 重安千花, 坪田一男. プレカットドナーを用いた角膜内皮移植術(DSAEK). 戸田郁子, 堀好子, 山本享宏, 坪田一男. 調節の加齢変化に対するLASIK. 第60回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.
- (123) 鳥居秀成, 根岸一乃, 佐伯めぐみ, 山口剛史, 河口奈々恵, 坪田一男. Epipolis laser in situ keratomileusisの初期手術成績. 第60回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.
- (124) 川北哲也, 榛村重人, 吉田悟, 宮下英之, 田聖花, 坪田一男, 島崎潤. ザルツマン角膜変性省の上皮表現型の解析. 第60回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.
- (125) 胡毅清, ワン・ヤン, 海道美奈子, 石田玲子, 佐伯めぐみ, 玉沖朋子, 岡田直子, 五十嵐安弥子, 村戸ドール, 坪田一男. 結膜弛症における実用視力の変化. 第60回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.
- (126) 橋爪公平, 今村裕, 玉沖朋子, 平澤学, 結城賢弥, 井上真, 黒坂大次郎, 坪田一男. 加齢黄斑変性の血中バイオマーカーの探索. 第60回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.
- (127) フーイーチェン, ワンヤン, 海道美奈子, 石田玲子, 佐伯めぐみ, 玉沖朋子, 岡田直子, 五十嵐安弥子, 村戸ドール, 坪田一男. 結膜弛緩症における実用視力の変化. 第60回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.
- (128) 深川和己, 岡田直子, 五十嵐安弥子, 鯨昭子, 加藤直子, 村戸ドール, 高野洋之, 田中まり, 藤島浩, 坪田一男. オメガ3不飽和脂肪酸は結膜線維芽細胞からのケモカイン及び接着分子の発現を抑制する. 第60回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.
- (129) 松タイスヒトミ, 海道美奈子, 石田玲子, 村戸ドール, 坪田一男. 後発白内障におけるYAGレーザー後囊切開前後の実用視力. 第60回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.
- (130) 村戸ドール, 小川葉子, 坪田一男. ドライアイにおける抗炎症剤の有効性. 第60回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.
- (131) 村戸ドール, ワン・ヤン, 岡田直子, 五十嵐安弥子, 加藤直子, 田中まり, 深川和己, 高野洋之, 坪田一男. アトピー性角結膜炎(AKC)における眼表面ムチン16の変化. 第60回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.
- (132) 山本祐介, 榛村重人, 重安千花, 坪田一男. 深層角膜内皮移植(DLEK)の再手術例. 第60回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.
- (133) ワードサマンサ, 海道美奈子, 石田玲子, 玉沖朋子, 室井知美, 佐伯めぐみ, 村戸ドール, 坪田一男. 年齢変化における実用視力. 第60回日本臨床眼科学会, 京都, 2006.
- (134) ワン・ヤン, 小川葉子, 村戸ドール, 河合正孝, 小川由佳子, 岡田直子,

五十嵐安弥子, 坪田一男. GVHD 重症
ドライアイに対する 0.05%シクロス
ポリン点眼治療前後の眼表面および
涙液機能の変化. 第 60 回日本臨床眼
科学会, 京都, 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

クラステリン蛋白の機能解析

分担研究者 後藤英樹 鶴見大学歯学部助教授

研究要旨

バキュロウイルス-昆虫細胞系で作製された組み換えクラステリン蛋白の機能を *in vitro* にて解析した。すなわち、マウス線維芽細胞株であるNIH3T3細胞の培養上清中に0.1, 1, および10 μ g/mlの濃度のクラステリンを加え、2時間後に0.1mMの過酸化水素で刺激する。さらに2時間後に活性酸素感受性蛍光色素であるCM-H₂DCFDAにより細胞内活性酸素種(ROS)量を測定した。また、12時間後に生細胞数を測定した。その結果、細胞外から加えたクラステリン蛋白は細胞内ROS量には影響を与えなかったが、過酸化水素刺激による細胞死を有意に抑制していた。現在、蛍光標識したクラステリン蛋白を用いてクラステリンが膜表面に結合する可能性や細胞内に取り込まれる可能性について検証している。