

厚生労働科学研究費補助金
感覚器障害研究事業

角膜内皮機能不全に対する
新しい治療方法の開発

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 山田 昌和

平成20年度 (2008) 4月

目 次

I. 総括研究報告書

角膜内皮機能不全に対する薬物治療のための基礎研究

II. 分担研究報告書

角膜内皮機能不全に対する薬物治療のための基礎研究

東城 博雅

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

IV. 研究成果の刊行物・別刷

I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）
総括研究報告書

角膜内皮機能不全に対する薬物治療のための基礎的研究

主任研究者：山田昌和

独立行政法人国立病院機構東京医療センター・臨床研究センター・部長

研究要旨： 角膜内皮機能不全は角膜疾患のなかで最も失明に至る頻度が高く、角膜移植を待機する患者の過半数を占める疾患である。本研究は角膜内皮機能不全に対する新しい治療法として、薬物療法と培養角膜内皮細胞移植による手術治療の開発を行うことを目的とした。

主任研究者の山田は、角膜内皮機能不全の薬物療法の開発を目的とした研究を行い、角膜内皮細胞のポンプ機能の担い手である Na-K ATPase の活性が、デキサメサゾン、インスリン及び protein kinase C (PKC) によってどのように制御されているかを検討した。角膜内皮の Na-K ATPase はデキサメサゾンとインスリンにより活性化された。ステロイドによる Na-K ATPase 活性化は酵素蛋白合成による Na-K ATPase の発現量増加を介すると考えられた。これに対してインスリンによる角膜内皮の Na-K ATPase 活性化は PKC を介し、Na-K ATPase の α サブユニットの脱リン酸化によることが推測された。インスリンの作用は cyclooxygenase 阻害剤の indomethacin や cytochrome P₄₅₀ 阻害剤の resorufin を添加することにより増強された。以上より、Na-K ATPase の活性制御には異なる複数の経路が存在していると考えられ、これらの薬剤の組み合わせによって Na-K ATPase 活性を制御できれば、水疱性角膜症を薬物で治療できる可能性があると考えられた。

分担研究者の東城は、内皮機能不全の重症例の治療のために、角膜内皮細胞の培養方法、増殖の制御に関する研究を行った。角膜内皮細胞の増殖抑制に関わる因子として TGF- β 2 の役割について検討を行ったところ、TGF- β 2 はヒト角膜内皮細胞の創傷治癒過程において、増殖に対しては抑制的に働くが、遊走に対しては促進的に働いていることが示された。TGF- β 2 によって角膜内皮の細胞増殖制御ができる可能性が示された。また、角膜内皮細胞の機能や増殖の制御に関与する脂質バイオマーカーを網羅的に解析するための高速液体クロマトグラフィー/質量分析システムの開発を行った。この目的で開発したカラムスイッチング 3 溶媒グラジエント HPLC/イオントラップ MS 法により角膜、涙液など微量試料中の中性脂質（コレステロールエステル、ワックスエステル）とリン脂質の分析が可能になった。さらにこのシステムを改良することにより、角膜内皮機能不全症を含む角膜疾患に関連する病態バイオマーカー検索が可能であると考えられた。

分担研究者氏名・所属機関名及び所属機関における職名

東城 博雅 大阪大学大学院医学系研究科生化学分子生物学 生命機能研究科細胞ネットワーク・生化学 准教授

A. 研究目的

角膜内皮機能不全は角膜疾患のなかで最も失明に至る頻度が高く、角膜移植を待機する患者の過半数を占める疾患である。本研究は角膜内皮機能不全に対する新しい治療法として、薬物療法と培養角膜内皮細胞移植による手術治療の開発を行うことを目的とする。角膜内皮機能不全症例のうち、軽症例は薬物療法による機能維持を目指し、重症例は自己または同種の培養角膜内皮細胞移植による手術治療を目指す。

角膜内皮は角膜の最後面に位置する一層の細胞層であり、ポンプ機能とバリア機能により角膜実質の含水率を制御し、角膜の透明性の維持に寄与している。角膜内皮細胞はヒトでは生後は再生能力がなく、その細胞数は加齢と共に低下し、コンタクトレンズの長期装用や眼手術などの侵襲によって低下することが知られている。細胞数の減少がある段階に達すると内皮機能不全となり、角膜浮腫から水疱性角膜症により失明状態に陥る。内皮機能不全の治療法は現状では角膜移植しかなく、角膜移植の適応となる最大の疾患となっている。本邦では提供眼不足のために、6000人の患者が数年間角膜移植手術を待機している状態であり、角膜

移植によらない本疾患の治療法の開発が急務と考えられる。

本研究では、主任研究者の山田は、角膜内皮機能不全の治療法として、従来ほとんど考慮されてこなかった薬物療法の開発を目的とした研究を行った。角膜内皮細胞のポンプ機能は主としてNa-K ATPaseにより発揮されるが、その詳細には不明の点が多い。本研究ではデキサメサゾン、インスリン及びprotein kinase C (PKC)による角膜内皮細胞のNa-K ATPase活性制御とその機序について検討した。

また、分担研究者の東城は、内皮機能不全の重症例の治療のために、角膜内皮細胞の培養方法、増殖の制御に関する研究を行った。ヒト角膜内皮細胞は生体内では増殖しないが、これには何らかの増殖抑制因子が関与していると推測される。今回は、角膜内皮細胞の増殖抑制に関わる因子としてTGF- β 2の役割について検討を行った。また、角膜内皮細胞の機能や増殖の制御に関与する可能性がある脂質バイオマーカーを網羅的に解析するための高速液体クロマトグラフィー/質量分析システムの開発を行った。

B. 研究方法

実験には、マウス由来の角膜内皮細胞株(C3H)を培養し、継代培養したものをを用いた。培養した角膜内皮細胞の培養液中に種々の濃度及び反応時間でデキサメサゾン、インスリン及びprotein kinase C (PKC) 活性薬のphorbol dibutyrate (PDBu)を添加した。PDBuのC3H細胞内におけるPKC活性化の確認はenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)法で行った。また、protein pho

sphatase阻害剤のokadaic acid、cyclooxygenase阻害剤のindomethacin、cytochrome P₄₅₀阻害剤のresorufinの存在下で10⁻⁹Mから10⁻⁵MのPDBUを添加することで、細胞内伝達経路の検討を行った。

Na-K ATPase の酵素活性測定は、培養液中にアデノシン 3 リン酸 (ATP) を加えて、ATPase により生成される無機リン酸量をリンモリブデン反応による呈色反応を用いることで行い、Na-K ATPase の特異的阻害剤であるウアバインを添加した場合と添加しない場合の差を求めて Na-K ATPase 活性とした。Na-K ATPase のポンプ機能の測定は角膜内皮細胞シートを Ussing chamber に組み込み、ポンプ機能により生じる角膜内皮細胞シートの表裏間の short circuit current を測定することで行った。また、デキサメサゾンによる Na-K ATPase α 1-subunit 発現量への影響を、ウサギ抗 Na-K ATPase α 1-subunit 抗体を用いた Western blotting 法により測定した。

C. 研究結果

1. デキサメサゾンの角膜内皮 Na-K ATPase に及ぼす影響

デキサメサゾンの反応時間と Na-K ATPase 酵素活性の関係を図 1A に示す。10⁻⁵M のデキサメサゾンを投与後、30 分、6 時間、24 時間、48 時間での Na-K ATPase 活性を測定した。デキサメサゾン反応時間が経過するにつれて Na-K ATPase 酵素活性が増加し、48 時間で最も活性が上昇した (* : p<0.05、Student T-test)。

デキサメサゾン濃度が Na-K ATPase 酵素活性に及ぼす影響を図 1B に示す。10⁻⁹M から 10⁻⁵M のデキサメサゾンを投与し 48 時間後の Na-K ATPase 活性を測定

した。Na-K ATPase の活性が濃度依存的に増加するのがみられ、濃度が 10⁻⁵M のときにコントロールの約 3.9 倍に有意に増加していた (** : p<0.01、Student T-test)。

蛋白合成阻害剤である cycloheximide の、デキサメサゾンによる Na-K ATPase 活性化に及ぼす影響を図 1C に示す。10⁻⁶M cycloheximide の存在下で、10⁻⁵M デキサメサゾンを投与し 48 時間後の Na-K ATPase 活性を測定した。デキサメサゾン単独投与したときにみられた Na-K ATPase の活性化は 10⁻⁶M cycloheximide の存在下では阻害された。デキサメサゾンによる Na-K ATPase 活性化は蛋白合成を介していることが示唆された (* : p<0.05、** : p<0.01、Student T-test)。

デキサメサゾンが Na-K ATPase α 1-subunit 発現量に及ぼす影響を図 2 に示す。10⁻⁷M から 10⁻⁵M のデキサメサゾンを投与し 48 時間後の Na-K ATPase α 1-subunit 発現量を Western blotting 法により測定した。デキサメサゾンの濃度依存的に Na-K ATPase α 1-subunit 発現量が増加するのがみられた。デキサメサゾンによる Na-K ATPase 活性化は、蛋白合成による Na-K ATPase の発現量増加を介していることが示された。

デキサメサゾンの反応時間と Ussing chamber を用いた Na-K ATPase ポンプ機能の関係を図 3A に示す。酵素活性と同様にポンプ機能も時間が経過するにつれて活性が増加し、48 時間で最も活性が高くなった (* : p<0.05、Student T-test)。デキサメサゾンの濃度とポンプ機能の関係を図 3B に示した。酵素活性と同様にポンプ機能も濃度依存的に増加するのがみられ、濃度が 10⁻⁵M のときに

コントロールの10.6倍となった(*: $p < 0.05$, Student T-test)。デキサメサゾンによるNa-K ATPase 酵素活性の亢進は、ポンプ機能という角膜内皮機能面に反映されていることが示された。

2. PKCの角膜内皮Na-K ATPaseに及ぼす影響

PKC活性化剤であるPDBuが角膜内皮細胞内PKC活性に及ぼす影響を図4に示す。 10^{-9} Mから 10^{-5} MのPDBuを投与し30分後のPKC活性をELISA法により測定した。PDBuの濃度依存的にPKC活性が増加し、 10^{-7} M以上でプラトーに達した。PDBuにより角膜内皮細胞内PKCが活性化されていることが確認された(*: $p < 0.05$, Student T-test)。

PDBuの反応時間とNa-K ATPase 酵素活性の関係を図5Aに示す。 10^{-7} MのPDBuを投与後、10分、30分、12時間、24時間でのNa-K ATPase 活性を測定した。PDBu 反応時間が30分以上でNa-K ATPase 酵素活性が有意に増加し、12時間以上でプラトーに達した(*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, Student T-test)。PDBu濃度がNa-K ATPase 酵素活性に及ぼす影響を図5Bに示す。 10^{-9} Mから 10^{-5} MのPDBuを投与し30分後のNa-K ATPase 活性を測定した。PDBu濃度が 10^{-7} Mで頂点に達しコントロールの約1.5倍の増加がみられ、bell shape型の用量反応曲線となった(†: $p < 0.01$, *: $p < 0.001$, Student T-test)。

PKC活性化能を有さないphorbol esterである 4α -PDBuおよび、PKC阻害剤であるStaurosporineのNa-K ATPase 酵素活性に対する影響を図5Cに示す。30分の反応時間で 10^{-7} MのPDBu投与によりみられたNa-K ATPase 活性化は同濃度、同反応時間の 4α -PDBuではみられなかった。

また 10^{-6} M Staurosporine 存在下ではPDBu投与によるNa-K ATPaseの活性化は阻害された(*: $p < 0.05$, Student T-test)。

PDBuの濃度とポンプ機能の関係を図6に示す。酵素活性と同様にポンプ機能もPDBu濃度が 10^{-7} Mで頂点に達し、bell shape型の用量反応曲線となった(*: $p < 0.05$, Student T-test)。

10^{-6} Mのindomethacin、 10^{-6} Mのresorufin、 10^{-6} Mのindomethacin + resorufin、 10^{-6} Mのokadaic acid、の存在下でPDBu濃度がNa-K ATPase 酵素活性に及ぼす影響をそれぞれ図7A、B、C、Dに示した。PDBu単独に比較しindomethacin、resorufin、indomethacin + resorufin 存在下のほうがNa-K ATPase 活性が有意に増強され、特にindomethacin + resorufin 存在下で最もNa-K ATPase 活性が増強された。一方、 10^{-6} Mのokadaic acid 存在下ではNa-K ATPase 酵素活性が抑制された>(*: $p < 0.05$, **: $p < 0.001$, ***: $p < 0.0001$, Two-way factorial ANOVA)

10^{-6} Mのindomethacin、 10^{-6} Mのresorufin、 10^{-6} Mのindomethacin + resorufin、 10^{-6} Mのokadaic acid、の存在下で 10^{-7} M PDBuがNa-K ATPase ポンプ機能に及ぼす影響を図8に示した。酵素活性の結果と同様に、indomethacin、resorufin、indomethacin + resorufin 存在下でポンプ機能が増強され、特にindomethacin + resorufin 存在下で最も増強された。一方、 10^{-6} Mのokadaic acid 存在下ではNa-K ATPase ポンプ機能が抑制された(*: $p < 0.05$, Student T-test)。

3. インスリンの角膜内皮 Na-K ATPase に及ぼす影響

インスリンの反応時間と Na-K ATPase 酵素活性の関係を図 9A に示す。 $10^{-7}M$ のインスリンを投与後、30 分、6 時間、24 時間、48 時間での Na-K ATPase 活性を測定した。インスリン投与後 6 時間で最も Na-K ATPase 活性が高くなり、時間が経過するにつれ活性が減少していった (* : $p < 0.05$, Student T-test)。インスリン濃度が Na-K ATPase 活性に及ぼす影響を図 9B に示す。 $10^{-9}M$ から $10^{-5}M$ のインスリンを投与し 6 時間後の Na-K ATPase 活性を測定した。Na-K ATPase 活性は、インスリン濃度が $10^{-7}M$ において頂点に達しコントロールの約 2.6 倍の活性増加がみられた (* : $p < 0.05$, Student T-test)。

$10^{-6}M$ の indomethacin、 $10^{-6}M$ の resorufin、 $10^{-6}M$ の indomethacin + resorufin、の存在下での存在下で $10^{-7}M$ インスリンが Na-K ATPase 酵素活性に及ぼす影響を図 9C に示した。PDBu の結果と同様に、インスリンによる Na-K ATPase 酵素活性化に関しても、indomethacin、resorufin の存在下で活性化が増強され、特に indomethacin + resorufin 存在下で最も活性が増加することが示された (* : $p < 0.05$, Student T-test)。また、PKC 活性阻害剤である Staurosporine の、インスリンによる Na-K ATPase 酵素活性化への影響を図 9D に示した。 $10^{-7}M$ インスリンによる Na-K ATPase 酵素活性化は $10^{-6}M$ Staurosporine 存在下では阻害された (* : $p < 0.05$, Student T-test)。インスリンによる Na-K ATPase 酵素活性化は PKC が関与していることが示された。

インスリンの反応時間とポンプ機能増加率の関係を図 10A に示す。酵素活性

の結果と同様に、インスリン投与後 6 時間で最も Na-K ATPase ポンプ機能が高くなり、時間が経過するにつれ減少していった (* : $p < 0.05$, Student T-test)。

インスリンの濃度とポンプ機能増加率の関係を図 10B に示す。酵素活性と同様にポンプ機能も、インスリン濃度が $10^{-7}M$ において頂点となりコントロールの約 3.7 倍の増加がみられ、bell shape 型の用量反応曲線となった (* : $p < 0.05$, Student T-test)。

D. 考察

角膜内皮 Na-K ATPase の酵素活性測定においても、Ussing chamber を用いた short circuit current による角膜内皮ポンプ機能測定においてもデキサメサゾンとインスリンは Na-K ATPase 活性を上昇させることが示された。また、デキサメサゾンとインスリンの Na-K ATPase 活性の制御機序は異なることも示唆された。

デキサメサゾンによる Na-K ATPase 活性の上昇は比較的長時間を要し、その作用は濃度依存的であった。デキサメサゾンによる Na-K ATPase 活性上昇は、蛋白合成阻害剤によって阻害されたこと、Western blotting 法により Na-K ATPase $\alpha 1$ -subunit 発現量の増加が確認されたことから、デキサメサゾンによる Na-K ATPase 活性化は新たな酵素蛋白合成による Na-K ATPase の発現量増加を介していることが示された。

インスリンによる Na-K ATPase 活性の上昇は短時間でみられ、その作用は濃度依存的ではなく、 $10^{-7}M$ で頂点となる bell-shape 型の反応曲線を示した。他の細胞種での報告から、インスリンは PKC などの protein kinase 群を介して Na-K ATPase 活性へ影響を及ぼすと考えられている。今回の結果でも、インスリン濃

度と Na-K ATPase 活性の用量反応曲線は、PDBu 濃度と Na-K ATPase 活性の用量反応曲線と類似の bell-shape 型を示した。また、PKC 活性化の阻害薬である staurosporine 存在下ではインスリンによる Na-K ATPase の活性化は抑制された。以上から、インスリンは PKC の活性化を介して Na-K ATPase を活性化していると推測された。

PKC の下流では、protein phosphatase 群、特に protein phosphatase 1 および protein phosphatase 2A を介し Na-K ATPase の α -subunit を脱リン酸化して Na-K ATPase の活性を上昇させる経路が指摘されている。一方で PKC の下流では cyclooxygenase や、cytochrome P₄₅₀ を介して Na-K ATPase 活性を抑制する経路も指摘されている。今回の結果でも、protein phosphatase 1 および 2A の阻害剤である okadaic acid の存在下では、PKC を活性化することにより Na-K ATPase の活性はほぼ完全に抑制され、一方で indomethacin や resorufin の存在下では PKC を活性化することにより Na-K ATPase の活性が増強されることが示された。このように角膜内皮細胞においても PKC の下流には、protein phosphatase を介する Na-K ATPase 活性を亢進する経路と cyclooxygenase や cytochrome P₄₅₀ を介する Na-K ATPase 活性を抑制する経路が併存していることが示された。インスリンも同様に、indomethacin や resorufin の存在下では Na-K ATPase の活性を増強することが示された。従って、インスリンによって Na-K ATPase を効率よく活性化するためには、抑制的に働く経路の阻害剤である indomethacin や resorufin を同時に投与する必要があると考えられた。

以上の結果から、デキサメサゾンとイ

ンスリンでは、異なる機序で Na-K ATPase 活性を亢進させることが示された。また、インスリンの作用は indomethacin や resorufin によって増強できることも明らかとなった。これらの薬剤の組み合わせによって角膜内皮細胞の Na-K ATPase 活性を制御できれば、水疱性角膜症に対する薬物治療となる可能性があると考えられた。

E. 結論

角膜内皮機能不全の薬物療法の開発を目的とした研究を行い、角膜内皮細胞のポンプ機能の担い手である Na-K ATPase の活性は、デキサメサゾン、インスリン及び protein kinase C (PKC) によって制御されていることを明らかにした。角膜内皮の Na-K ATPase はデキサメサゾンとインスリンにより活性化された。ステロイドによる Na-K ATPase 活性化は酵素蛋白合成による Na-K ATPase の発現量増加を介すると考えられた。これに対してインスリンによる角膜内皮の Na-K ATPase 活性化は PKC を介し、Na-K ATPase の α サブユニットの脱リン酸化によることが推測された。インスリンの作用は cyclooxygenase 阻害剤の indomethacin や cytochrome P₄₅₀ 阻害剤の resorufin を添加することにより増強された。以上より、Na-K ATPase の活性制御には異なる複数の経路が存在していると考えられ、これらの薬剤の組み合わせによって Na-K ATPase 活性を制御できれば、水疱性角膜症を薬物で治療できる可能性があると考えられた。

角膜内皮機能不全の重症例の治療のために、角膜内皮細胞の培養方法、増殖の制御に関する研究を行った。角膜内皮細胞の増殖抑制に関わる因子として TGF- β 2 の役割について検討を行ったところ、

TGF- β 2 はヒト角膜内皮細胞の創傷治癒過程において、増殖に対しては抑制的に働くが、遊走に対しては促進的に働いていることが示された。TGF- β 2 によって角膜内皮の細胞増殖制御ができる可能性が示された。

また、角膜内皮細胞の機能や増殖の制御に関与する脂質バイオマーカーを網羅的に解析するための高速液体クロマトグラフィー/質量分析システムの開発を行った。この目的で開発したカラムスイッチング 3 溶媒グラジエント HPLC/イオントラップ MS 法により角膜、涙液など微量試料中の中性脂質（コレステロールエステル、ワックスエステル）とリン脂質の分析が可能になった。さらにこのシステムを改良することにより、角膜内皮機能不全症を含む角膜疾患に関連する病態バイオマーカー検索が可能であると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kawashima M, Mochizuki H, Kawakita T, Hatou S, Shimazaki J, Yamada M. Presumed stromal graft rejection after automated lamellar therapeutic keratoplasty: case report.

J Med Case Report 2007, 1:10

2) Kawai M, Yamada M, Kawashima M, Inoue M, Goto E, Mashima Y, Tsubota K. Quantitative evaluation of tear meniscus height from fluorescein photographs. *Cornea*. 2007;26:403-6.

3) Sotozono C, Ang LP, Koizumi N, Higashihara H, Ueta M, Inatomi T, Yokoi

N, Kaido M, Dogru M, Shimazaki J, Tsubota K, Yamada M, Kinoshita S. New grading system for the evaluation of chronic ocular manifestations in patients with Stevens-Johnson syndrome.

Ophthalmology. 114:1294-302, 2007

4) Tatematsu-Ogawa Y, Yamada M, Kawashima M, Yamazaki Y, Bryce T, Tsubota K. The Disease Burden of Keratoconus in Patients' Lives: Comparisons to a Japanese Normative Sample.

Eye Contact Lens 2008;34:13-16

5) Mochizuki H, Yamada M, Hatou S, Kawashima M, Hata S. Deposition of Lipid, Protein, and Secretory Phospholipase A₂ on Hydrophilic Contact Lenses.

Eye Contact Lens 2008;34:46-49

6) Mochizuki H, Yamada M, Hatou S, Nishida T. Fluorophotometric Measurement of the Precorneal Residence Time of Topically Applied Hyaluronic Acid.

Br J Ophthalmol 2008;92:108-111.

7) Yamada M, Hatou S, Yoshida J. In Vitro Susceptibilities of Bacterial Isolates from Conjunctival Flora to Gatifloxacin, Levofloxacin, Tosufloxacin, and Moxifloxacin.

Eye Contact Lens 34:109-112, 2008

8) 羽藤晋、南川洋子、山田昌和.
結膜嚢から分離されたブドウ球菌に対する二変量ノンパラメトリック密度を用いた薬剤感受性分布解析.

あたらしい眼科 2007;24:663-667.

9) 山田昌和. 治療用コンタクトレンズの適応と管理の注意点について教えてください. あたらしい眼科 23:206-208, 2007

10) 山田昌和. これだけは知っておこう、点眼薬の基本.

眼科ケア 9:542-545, 2007

11) 羽藤晋、山田昌和. 角膜疾患.

眼科ケア 9 (増刊): 60-67、2007

12) 山田昌和. 細隙灯顕微鏡. 眼科 49 : 1259-1264、2007

13) 山田昌和. 前眼部疾患と両眼視. 両眼視. 大月洋編、金原出版、2007

14) 山田昌和. 移植か虹彩付きコンタクトレンズか? 美容的手術への対応. 眼科プラクティス 13、角膜外科のエッセンス. 坪田一男編、85-87、文光堂、2007

15) 山田昌和. 表層角膜炎、角膜びらん、ドライアイの薬物療法. 眼科疾患の薬物療法、山岡桂子編. 15-20、薬事新報社、2007

16) 山田昌和. Propionibacterim acnes 角膜炎. 眼科プラクティス 18、前眼部アトラス. 大鹿哲郎編、184、文光堂、2007

17) 山田昌和. デレン. 眼科プラクティス 18、前眼部アトラス. 大鹿哲郎編、216、

文光堂、2007

18) 山田昌和. 角膜脂肪変性. 眼科プラクティス 18、前眼部アトラス. 大鹿哲郎編、249-250、文光堂、2007

19) 山田昌和. 細隙灯顕微鏡検査. 眼科プラクティス 20、小児眼科診療. 樋田哲夫編、62-64、文光堂、2008

20) 山田昌和. 感染性結膜炎. 眼科プラクティス 20、小児眼科診療. 樋田哲夫編、122-125、文光堂、2008

21) 山田昌和. アレルギー性結膜炎. 眼科プラクティス 20、小児眼科診療. 樋田哲夫編、126-129、文光堂、2008

2. 学会発表

1) 山田昌和. 角膜疾患の実践的攻略法. 第 24 回郡山眼科おはなし会、郡山、2007. 4

2) 山田昌和. 眼科領域の疫学研究と効用分析. 第 171 回宮城県眼科集談会、仙台、2007. 4

3) 山田昌和. 感染性角膜炎、早く治す、優しく治す. 浜松眼科集談会、浜松、2007. 5

4) 山田昌和. 感染性角膜炎、早く治す、優しく治す. 第 5 回大阪オキュラーサーフェスフォーラム、大阪、2007. 5

5) 山田昌和. コンタクトレンズと感染性角膜炎. 第 44 回日本眼感染症学会、東京、2007. 7

6) 山田昌和. シンポジウム、コンタクトレンズ装用による涙液成分の変化.

第 50 回日本コンタクトレンズ学会、東京、2007. 7

7) 吉田絢子、羽藤晋、望月弘嗣、南川洋子、山田昌和. 表皮ブドウ球菌のキノロン耐性決定領域の遺伝子変異の検討. 第 44 回日本眼感染症学会、東京、2007. 7

8) 山田昌和. タイプ別にみるドライアイの診断と治療戦略. 中野区眼科部会学術講演会、東京、2007. 11

9) 山田昌和. ドライアイ、7つの常識非常識. 第 9 回西東京眼科フォーラム、東京、2007. 11

10) 山田昌和. わかっておきたいこどもの目の感染症. 第 17 回外来小児科学会、熊本、2007. 8

11) 山田昌和. ドライアイ、7つの常識非常識. 守口眼科研究会、大阪、2007. 9

12) 山田昌和. ドライアイ、7つの常識非常識. 滋賀県眼科集談会、滋賀、2007. 9

13) 山田昌和. 小児前眼部疾患と屈折異常. シンポジウム、第 61 回日本臨床眼科学会、京都、2007. 10

14) 若倉雅登、清澤源弘、山田昌和. 解決、不定愁訴、不明愁訴 5、目が重い、目がだるい. インストラクションコース、第 61 回日本臨床眼科学会、京都、2007. 10

15) 吉野健一、秦誠一郎、忍足和浩、望月弘嗣、河合正孝、羽藤晋、山田昌和. コンタクトレンズ関連角膜炎に対するフルオロキノロン剤の効果. 第 61 回日本臨床眼科学会、京都、2007. 10

16) 勝田智子、山田昌和、海道美奈子、坪田一男、島崎潤、外園千恵、木下茂、田川義継、大橋裕一、西田輝夫. VFQ-25 によるスチーブンスジョンソン症候群の VR-QOL 評価. 第 61 回日本臨床眼科学会、京都、2007. 10

17) 藤池佳子、勝田智子、羽藤晋、山田昌和. VFQ-25 と SF-8 を用いた斜視患者の QOL 評価. 第 61 回日本臨床眼科学会、京都、2007. 10

18) 吉田絢子、羽藤晋、望月弘嗣、南川洋子、山田昌和. 結膜囊から分離された表皮ブドウ球菌の薬剤耐性遺伝子の検討. 第 61 回日本臨床眼科学会、京都、2007. 10

19) 福田昌彦、杉岡孝二、渡辺敬三、河本庄平、下村嘉一、板橋幹城、山田昌和. ニューキノロン系抗菌点眼薬の角膜、房水、結膜への移行性. 第 61 回日本臨床眼科学会、京都、2007. 10

20) 羽藤晋、吉田絢子、望月弘嗣、山田昌和、秦誠一郎. 装用中の使い捨てコンタクトレンズの細菌学的検討. 第 61 回日本臨床眼科学会、京都、2007. 10

21) 山田昌和、望月弘嗣、吉田絢子、羽藤晋、東城博雅. シェーグレン症候群患者涙液中の補体値の測定. 第 61 回日本臨床眼科学会、京都、2007. 10

22) 望月弘嗣、勝田智子、羽藤晋、山田昌和. フルオレセイン標識レクチンを用いた in vivo での角膜表面ムチンの定量的評価. 第 61 回日本臨床眼科学会、京都、2007. 10

23) 山田昌和. コンタクトレンズ装用時の涙液成分の変化. セミナー、第61回日本臨床眼科学会、京都、2007.10

24) Yamada M, Mochizuki H, Hatou S, Tojo H. Increased Complement Concentrations in Tears of Patients with Sjögren Syndrome. 9th International Ocular Inflammation Society, Paris, 2007.9

25) 山田昌和. ドライアイ、7つの常識・非常識. オキュラーサーフェスシンポジウムイン山口. 山口 2008.1

26) 山田昌和. ドライアイ、7つの常識・山田昌和. よくみる角結膜腫瘍. 埼玉県眼科教育講演会. さいたま 2008.1

27) 山田昌和. 成人斜視手術のQOL、効用分析. シンポジウム、第31回日本眼科手術学会、横浜、2008.1

28) 山田 昌和. よくみる角結膜腫瘍. 教育セミナー, 第31階日本眼科手術学会, 横浜, 2008.1

29) 山田 昌和. 眼科医療、眼科勤務医の座標軸. 第15回SHの会、大阪、2008.2

30) 山田昌和. フルオロキノロン剤の角膜上皮、実質への影響. 参天製薬学術講演会、東京、2008.3

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

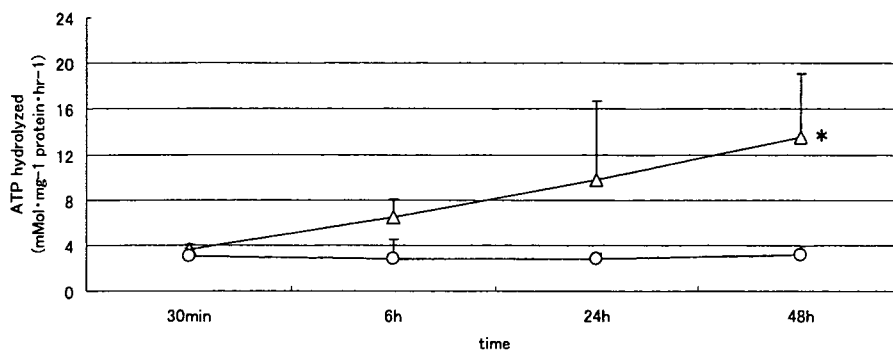
なし

3. その他

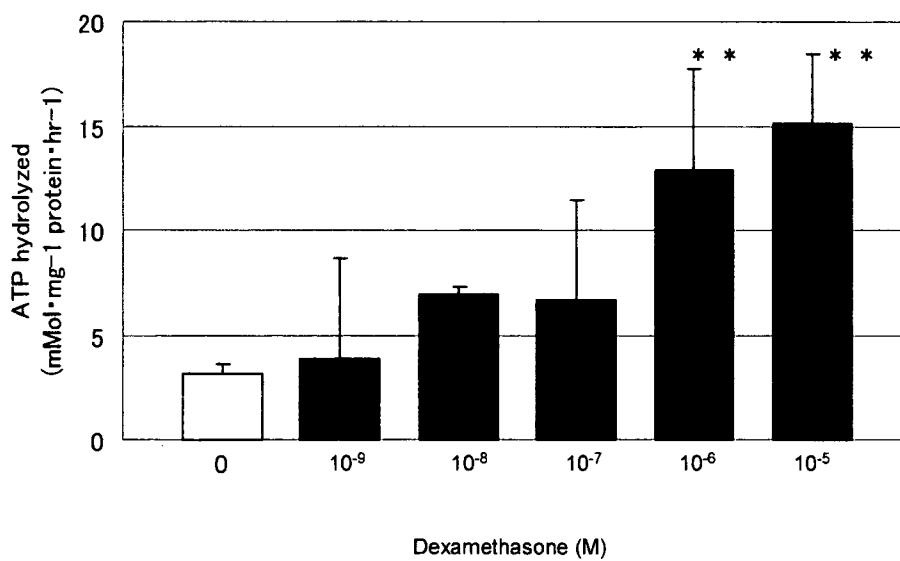
なし

図1：デキサメサゾンの角膜内皮 Na-K ATPase 酵素活性に及ぼす影響

A



B



C

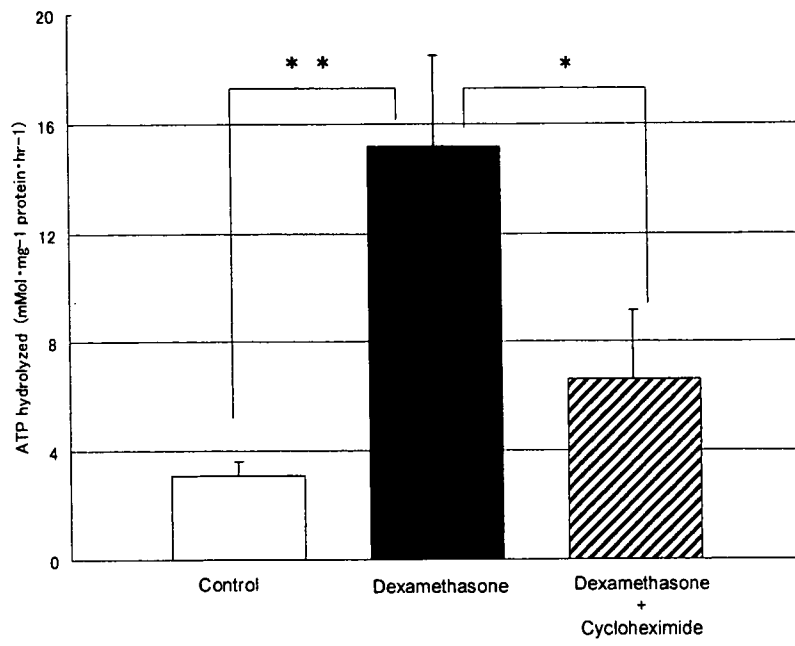


図 2 : デキサメサゾンの角膜内皮 Na-K ATPase α 1-subunit 発現量に及ぼす影響

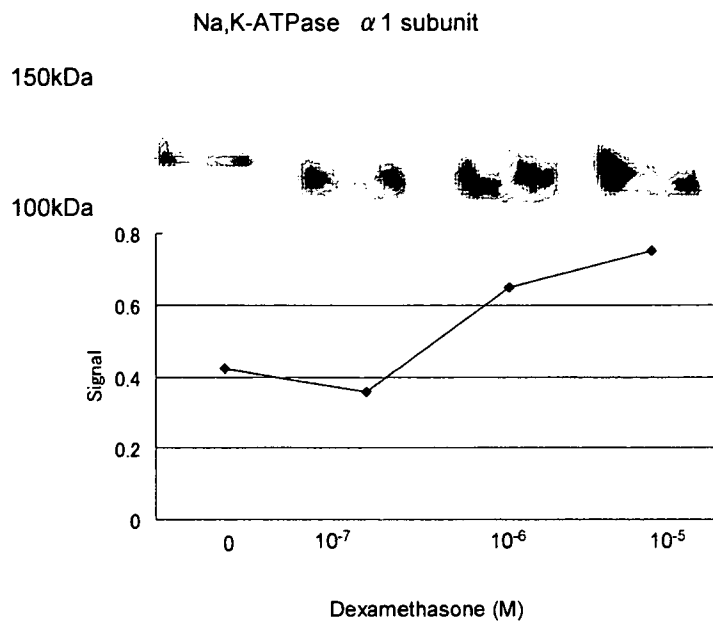


図3：デキサメサゾンの角膜内皮 Na-K ATPase ポンプ機能に及ぼす影響

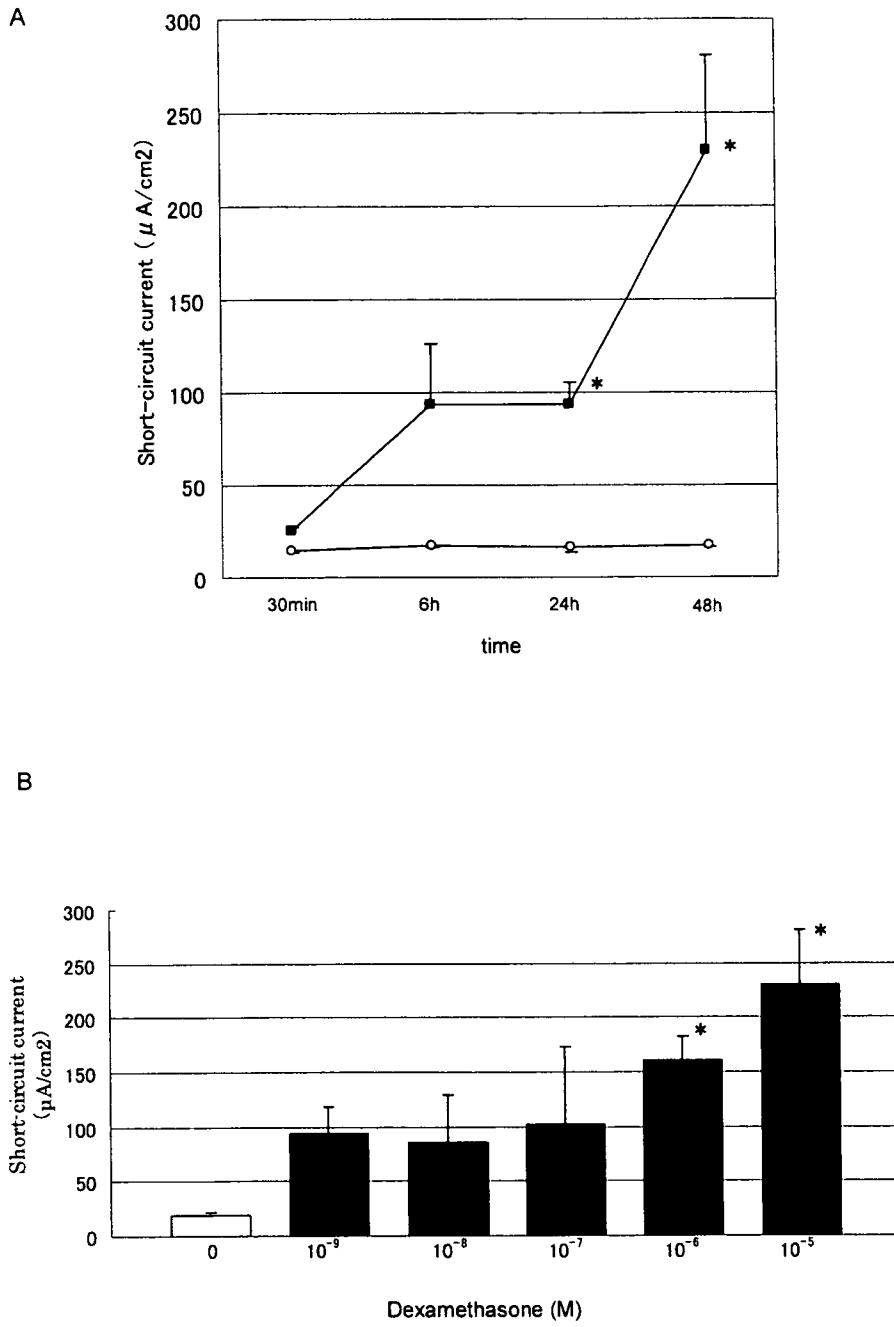


図 4 : PDBu による角膜内皮細胞内 PKC の活性化

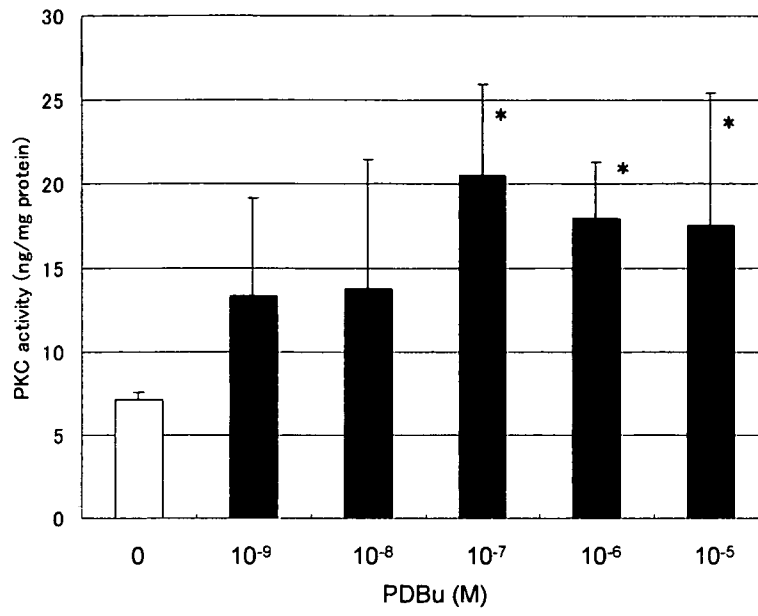
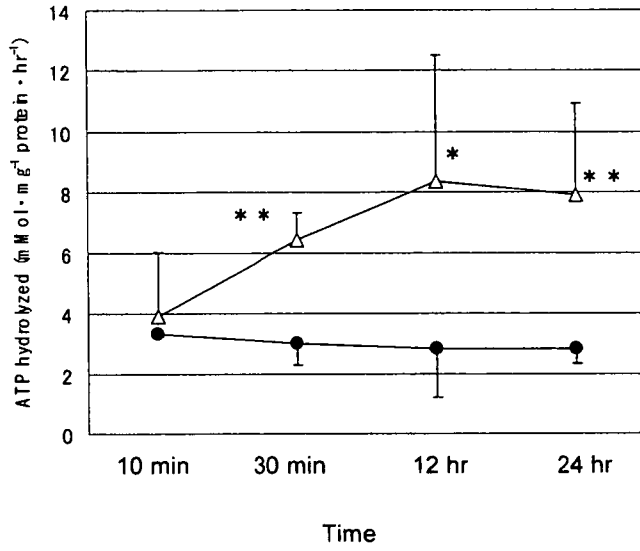
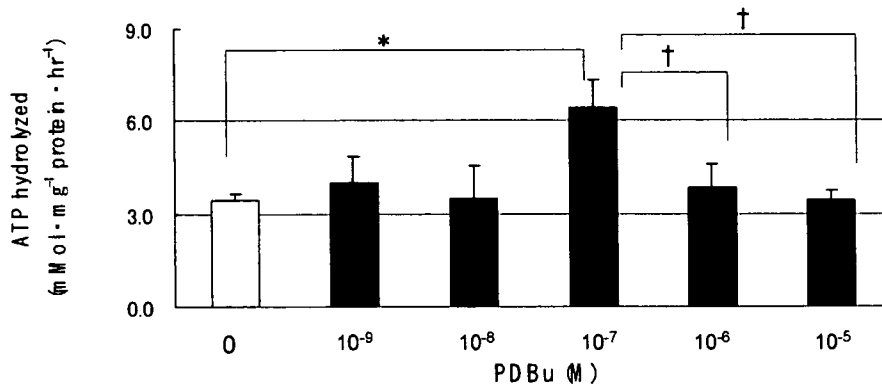


図 5 : PDBu の角膜内皮 Na-K ATPase 酵素活性に及ぼす影響

A



B



C

