

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：82404

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20H03845

研究課題名（和文）再生分化による網膜の機能再現と網膜変性疾患の新規治療

研究課題名（英文）Reprogramming/differentiation of the retina and new treatments for retinal degenerative diseases

研究代表者

世古 裕子（Seko, Yuko）

国立障害者リハビリテーションセンター（研究所）・研究所 感覚機能系障害研究部・研究部長

研究者番号：60301157

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：感覚機能で重要な視覚におけるセンサーとして働いている網膜は、1度損傷を受けると回復は困難である。ダイレクト・リプログラミングと呼ばれる再生技術で、転写因子遺伝子CRX, NeuroD, RAX, OTX2をヒト体細胞に導入すると、短期間（1～2週間）で光刺激に応答する視細胞様の細胞に分化する。この方法で、遺伝性・遅発性発症・進行性である網膜色素変性の患者由来細胞から分化誘導した変性視細胞様細胞におけるmRNAや蛋白を解析し、光トランスダクション関連やaging関連等の遺伝子発現の変化を見出した。また当研究室で樹立したゼブラフィッシュ網膜色素変性モデルを解析し、細胞モデルから得られた知見を検証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

中枢神経の1部である網膜の光受容細胞である視細胞は損傷を受けると回復は困難であるが、ES細胞やiPS細胞から再生できるようになっている。この方法では再生に数か月かかるが、ダイレクト・リプログラミングと呼ばれる再生技術では機能は限定的ではあるが1～2週間で視細胞様の細胞に分化誘導できる。遺伝性・遅発性発症・進行性である網膜色素変性の患者由来細胞からこの方法で分化誘導した変性視細胞様細胞におけるmRNAや蛋白を解析し、発現変化をパラメーターとした薬剤スクリーニングを試み、変化を正常化する薬剤を見いだした。遺伝性網膜変性の進行抑制を目指した短期間・低コストの評価系の開発に繋がる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Although methods to generate the retina from pluripotent stem cells have been established, it takes time for induction. Another method, transduction of transcription factors, CRX, NeuroD, RAX and OTX2, which is called “redirect differentiation”, can produce photosensitive photoreceptor-like cells (PLC) from somatic cells. Using this method, we produced PLC from retinitis pigmentosa (RP) patient-derived fibroblasts. Downregulation of phototransduction-related genes in patient-derived cells was restored by 4-PBA, an inhibitor of ER stress. RP is a hereditary, late-onset, progressive retinal degenerative disease, where retinal photoreceptor cells slowly die. To prevent progression of the disease, increasing strategies including gene therapy, have been proposed almost in research stages. Cost-effective screening system using such cellular modeling as shown by us may be useful. Another achievement was improvement of induction efficiency toward PLC by newly developed polycistronic vectors.

研究分野：網膜変性疾患、網膜視細胞のダイレクト・リプログラミング

キーワード：網膜視細胞 ダイレクト・リプログラミング 網膜色素変性

1. 研究開始当初の背景

感覚の90%を占める重要な機能である視覚におけるセンサーである網膜は、1度損傷を受けると回復は困難である。失われた視覚の再生を目指して網膜の再生研究が行われてきた。網膜は10層構造から成り、網膜色素上皮は最外層に位置し、視覚を司る9層から成る神経網膜を支える役割を担っている。視覚障害原因の上位を占める網膜色素変性は神経網膜、その中でも最初に光を感受する視細胞が変性する。すでに、マウスやヒトのES/iPS細胞から網膜様組織がつくられていたが(Eiraku, et al. Nature, 2011, Zhong, et al. Nat Commun, 2014)、網膜誘導に数か月を要することがひとつの課題となっていた。

一方、普通の線維芽細胞などの細胞(体細胞と呼ばれる)に数種類の転写因子遺伝子をミックスして導入すると1~2週間で必要な細胞が得られる“ダイレクト・リプログラミング”と呼ばれる技術も開発され、すでに心臓、膵臓、神経、血小板などがつくられている。研究代表者の世古らは、CRX, NEUROD, RAXの3種類の転写因子遺伝子をヒト線維芽細胞などに導入すると、約1週間で光刺激に応答する視細胞様の細胞に分化し OTX2 を加えるとより完全に分化誘導できることを見つけ (Seko, et al. PLoS One, 2012, Seko, et al. Genes Cells, 2014)、非侵襲的に採取可能なヒト末梢血単核細胞に CRX 1 種類の転写因子遺伝子を導入した場合にも、約1週間で光刺激に応答する視細胞様の細胞に分化することを見つけた (Komuta, et al. Seko, Biol Open, 2016)。さらに、網膜視細胞の機能維持の役割を果たしている網膜色素上皮細胞の培養上清を添加することによって分化誘導効率が高くなることも見つけた (Komuta, et al. Seko, Biol Open, 2016)。同じ方法で、網膜変性疾患の患者由来細胞やゲノム編集によって変異導入した細胞を分化誘導し変性視細胞モデルを作製すれば、薬剤のスクリーニングなどに応用可能である可能性があった。

一方、日本における視覚障害の第2位である網膜色素変性 (RP) について、当センター病院と研究所の連携により、日本人常染色体劣性 (ar) RP 患者の主要原因遺伝子が EYS であること、特に頻度の高い2種類は日本人に特有の創始者変異であることが示された (平成24年度)。平成24年度以降さらに多数例 (国リハ患者262例と共同研究先の京都大学の患者209名を合わせた471例) で家系解析を含む詳細な解析を行い、上記2種類に加え新たに3種類の病原性が明らかになり計5種類の変異が日本人 arRP の約3割に見られることを示していた (Iwanami et al. Mol Vis, 2019)。

そこで当研究室では、網膜色素変性の主要原因遺伝子 EYS 変異を保有する RP 患者の皮膚細胞からダイレクト・リプログラミングによって変性視細胞モデルを作製し、患者網膜に見立て転写産物 (RNA) と蛋白の発現を解析することによって、RP の病態を解明するとともに新規バイオマーカーの開発も目指し、変性視細胞モデルにおける転写産物の解析が病態解析の一助になることが示唆されていた。すなわち、異なる3種類の EYS 変異を保有する変性視細胞モデルの解析から、変異を保有する EYS 遺伝子転写産物が、変異の種類によって完全に分解される場合とほとんど分解されずに細胞内にとどまる場合があることがわかり、変異によって生じた終始コドンの直近下流の遺伝子配列の特徴によって分解 (NMD) から部分的に免れて細胞内に蓄積され、網膜の変性に関与する可能性が示唆された (Seko, et al. Stem Cell Res Ther, 2018)。また、ダイレクト・リプログラミングによって作製された視細胞様細胞とゼブラフィッシュ網膜を用い、網膜に発現する蛋白の中では最長とされる巨大分子 EYS 遺伝子の転写産物の全長を解析し、C末端側のみからなる転写産物は皮膚にも発現するが N末端側を含む転写産物は網膜に特異的に発現することも明らかにした (Takita et al. Seko. FASEB J, 2019)。

ダイレクト・リプログラミングは、短期間・低コストで目的の細胞を作ることができるだけでなく、エピゲノム情報が保持され、疾患モデル研究における有用性も示唆されていた。しかしながら、ダ

【1 研究目的、研究方法など (つづき)】

ダイレクト・リプログラミングで分化誘導された視細胞様細胞が不均一であるという課題もあった。

2. 研究の目的

ダイレクト・リプログラミングによって分化誘導された視細胞様細胞の分化レベルの不完全性と不均一性の改善、疾患細胞モデルによる検証を含めた適応の拡大を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 誘導レベルの不完全性と不均一性の改善、疾患細胞モデルによる検証

1. 4種類の転写因子がシストロニックに結合され、導入する細胞種に最適なベクターを構築した。ポリシストロニックベクター上での各転写因子の結合順序を変え、時間軸上でも発生過程を模倣した量的な発現コントロールを可能にすることを目指した。

2. *EYS* の変異を保有する網膜色素変性患者細胞にベクターを導入し変性視細胞モデルの作製、転写産物・変性蛋白の解析、ヒト変性視細胞モデルとゼブラフィッシュモデルの結果を統合し網膜変性機序を解明するとともに、細胞モデルの分化レベルを検証。

(2) 直接的分化誘導の適応拡大

新規改良ベクターを導入し、網膜前駆細胞の作製を目指し、移植医療への応用の可能性を探る。細胞モデルを用いたアッセイのスマールスケール化も完成させ、低コスト・鋭敏な評価系を完成させる。

4. 研究成果

(1) 誘導レベルの不完全性と不均一性の改善

ダイレクト・リプログラミングによって作製される視細胞様細胞が不均一であるという課題を克服するため、CRX, NEUROD, RAX, OTX2 の4種類の転写因子遺伝子をミックスして導入するというこれまでの方法ではなく、シストロニックに連結したポリシストロニックベクターを使用することを考え、薬剤耐性遺伝子を組み込んだレトロウィルスベクターに4因子の転写因子を順番を変えてポリシストロニックに連結したものを数種類、新規に構築した。これらを皮膚線維芽細胞に導入、視細胞様細胞に分化誘導した。それぞれのベクターによって誘導された視細胞様細胞における遺伝子/蛋白の発現を解析し、ポリシストロニックベクターでは、モノシストロニックベクターのミックス同様に視細胞特異的遺伝子/蛋白を発現する細胞を作製できること、連結する転写因子の順番によって分化の程度が異なることを見出した (業績欄 (学会発表)、原著論文執筆中)。(世古)

(2) 直接的分化誘導の適応拡大

(2) -1 網膜前駆細胞の作製の試み

市販の皮膚線維芽細胞を用い、網膜視細胞様細胞の誘導に用いる転写因子遺伝子とは異なる網膜前駆細胞誘導ベクターを作製し、自己複製能と網膜の各種細胞への分化能について検討を行った。その結果、誘導された細胞は継代することが可能な細胞であったが、網膜の各種細胞への分化能は不十分であった。

(2) -2

当初計画として、「網膜双極細胞の分化誘導方法を確立し網膜視細胞との *in vitro* でのシナプス再構築」も掲げていた。一方、分担者の金田らは当シナプスにおける主要な分子であるグルタミン酸レセプターの *in vitro* での解析を進めており、本研究の一部として重要な知見を得たのでここで報告する。代謝型グルタミン酸受容体6型 (mGluR6) は網膜の ON 型双極細胞の樹状突起に特異的に発現する受容体で、その機能異常は先天性停止性夜盲症の原因となることが知られている。mGluR6 の樹状突起への局在には、N 末端側に存在するシグナルペプチド部位が視細胞側に発現する *Lrit1*

【1 研究目的、研究方法など (つづき)】

や Eln1 と結合することが関係することが報告されている (Agost et al. J. Biol. Chem. 2021; Ueno et al., Cell Rep., 2018)。しかしながら細胞内の極性輸送や細胞膜への輸送に関する C 末側にシグナル部位が存在するのかどうかは検討されていない。我々は C 末側に細胞内輸送に関するシグナル部位が存在するのかどうかについて HEK 細胞を用いた強制発現系を用いて免疫組織化学的手法とビオチン標識法を用いて検討した。C 末側を欠損した変異型 mGluR6 は、欠損部位特異的に膜発現が見られなくなることが明らかになった(Rai et al., J. Neurochem, 2021)。また欠損型の中でも ER retention motif を欠損したものでは膜発現が認められた(Shimohata et al., Mol. Cell. Neurosci. 2023)。このことから mGluR6 の C 末側には、細胞膜発現に関するシグナル部位と ER retention motif が存在することが明らかとなった。(金田)

(2) - 3 疾患モデルによる検証

1) 変性視細胞モデルの解析

EYS 変異を保有する RP 患者由来の変性視細胞モデルと正常ボランティア由来の視細胞様細胞における遺伝子発現プロファイリングをマイクロアレイ等によって比較した。差が認められる遺伝子は薬剤の有効性を評価するパラメーターになる他、RP の新規バイオマーカーとなる可能性もある。比較するためのデータを精査し定量実験を重点的に進めるために実験のsmall scale 化を進めた。これまでは、誘導視細胞の主に質的研究を行い、6 ウェルプレート (培養表面積: 約 9.4cm²) を使用して分化誘導実験を行い、多数のターゲットについて遺伝子や蛋白の発現を調べた。量的な比較を行うため、検討項目を数種類に絞り、24 ウェルプレート (培養表面積: 約 1.9cm²)

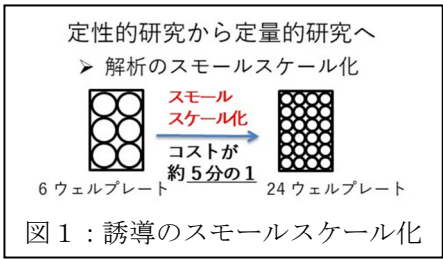


図 1: 誘導のsmall scale 化

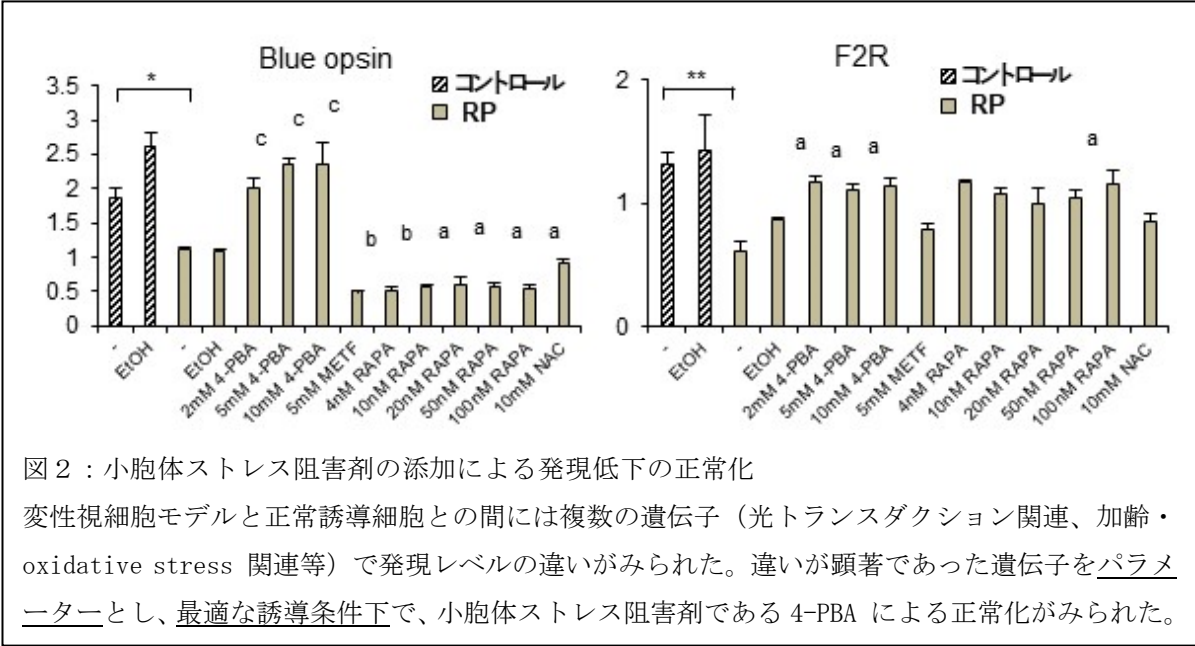


図 2: 小胞体ストレス阻害剤の添加による発現低下の正常化
 変性視細胞モデルと正常誘導細胞との間には複数の遺伝子 (光トランスダクション関連、加齢・oxidative stress 関連等) で発現レベルの違いがみられた。違いが顕著であった遺伝子をパラメーターとし、最適な誘導条件下で、小胞体ストレス阻害剤である 4-PBA による正常化がみられた。

を用いた分化誘導を開始し、このスケール(約 5 分の 1)でも定量的な発現解析実験が可能であることがわかった (図 1)。このsmall scale された系を用い、変性視細胞とドナーの年齢をマッチさせた正常ボランティア由来の視細胞様細胞との間で発現遺伝子を定量的に比較した。これまでの研究によって、ドナーの年齢が分化誘導効率に影響を与えることが明らかとなっており、継代数が分化誘導効率に影響を与えることも合致していた (未発表データ)。その結果、調べた 2 組において再現性をもって光トランスダクション関連その他の遺伝子の発現が有意に低下することが確認された。さらに、この実

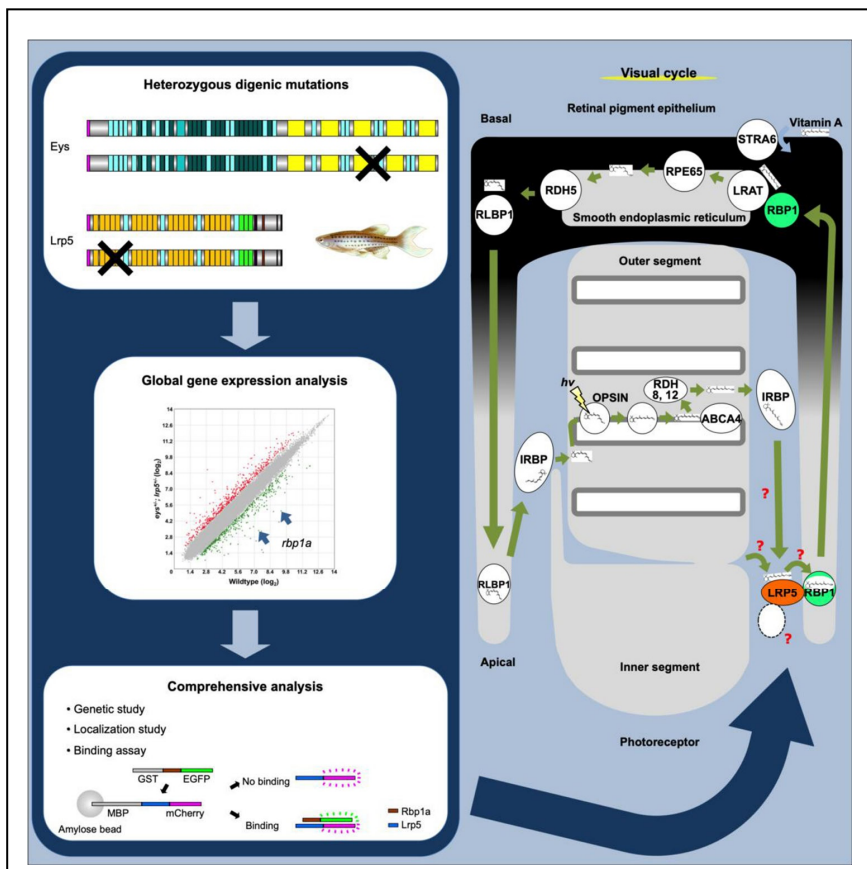
【1 研究目的、研究方法など (つづき)】

験系で小胞体ストレス阻害剤の添加によって発現低下が正常化することが見いだされ、網膜視細胞の細胞死に小胞体ストレスが関与することが示唆された (図2)。(Rai et al. Seko. Stem Cell Res Ther, 2022) 本研究の最終年度には、96 ウェルプレートを用いた誘導実験のプロトコールも確立し、上記 (1) の研究に採用した。(世古)

ヒト ES 細胞を用いた網膜再生の研究において、さまざまな材料の生原基への適合性を評価し、これらが視細胞の効率的な分化誘導に寄与することを考察した。特に、ポリシストロニックベクターの導入による転写因子の最適化が、分化の均一性と効率を向上させることを通じて、ヒト ES 細胞を用いた網膜再生研究の発展性を示すことができるかを、将来的な再生医療や薬剤スクリーニングへの応用に向け、個々の因子についての妥当性を検討した。(梅澤)

2) 網膜色素変性ゼブラフィッシュモデルの解析

細胞モデルの限界を補う目的で、マウスには存在しない EYS 遺伝子をノックアウトした網膜変性ゼブラフィッシュモデルの開発にも着手し、当研究室でも国内で初めて樹立に成功したが、国外で先に樹立され錐体杆体ジストロフィの表現型を示すことが報告された。並行して、EYS と LRP5 との二遺伝子性 RP の症例報告に着目し、この2つの遺伝子をノックアウトしたゼブラフィッシュを樹立し解析を行った。その結果、*eyes^{+/-}; lrp5^{+/-}*ゼブラフィッシュには、網膜変性が認められ、網羅的遺伝子発現解析によって、*eyes^{+/-}; lrp5^{+/-}*ゼブラフィッシュの眼では視覚サイクルに関わる *rbp1* 遺伝子の発現が著名に低下していることがわかった。さらに、Rbp1 蛋白は Lrp5 蛋白と、網膜色素上皮細胞の微絨毛に共局在し、Rbp1 蛋白が、Lrp5 蛋白の C 末側にある細胞内の部位に直接的に結合することが確認された。視覚サイクルに関連するとされる *rbp1* が顕著に低下することに加え、EYS, LRP5, RBP1 の相互作用が明らかになり EYS 変異による網膜色素変性の発症機序として視覚サイクルも関与することが示唆された (Takita & Seko iScience, 2020)。



国内外の複数の研究室で、EYS 遺伝子のノックアウトゼブラフィッシュの解析結果が報告されているが、当研究室では、EYS 遺伝子上でそれらとは異なる部位に変異を保有するノックアウトゼブラフィッシュを樹立し解析中である。(世古)

(Analysis of *eyes^{+/-}; lrp5^{+/-}* zebrafish reveals LRP5 as a strong candidate for the receptor of all-trans retinol in the visual cycle.

Takita and Seko, iScience, 2020)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 18件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 16件）

1. 著者名 Rai Dilip, Iwanami Masaki, Takahashi Yoriko, Komuta Yukari, Aoi Noriyuki, Umezawa Akihiro, Seko Yuko	4. 巻 13
2. 論文標題 Evaluation of photoreceptor-directed fibroblasts derived from retinitis pigmentosa patients with defects in the EYS gene: a possible cost-effective cellular model for mechanism-oriented drug	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Stem Cell Research & Therapy	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13287-022-02827-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsusaka Himari, Wu Tao, Furuya Kai, Yamada-Kato Tomoe, Bai Lanlan, Tomita Hiroshi, Sugano Eriko, Ozaki Taku, Kiyono Tohru, Okunishi Isao, Fukuda Tomokazu	4. 巻 9
2. 論文標題 Comprehensive transcriptome data to identify downstream genes of testosterone signalling in dermal papilla cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Data	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41597-022-01846-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kikuchi Yuki, Sugano Eriko, Yuki Shiori, Tabata Kitako, Endo Yuka, Takita Yuya, Onoguchi Reina, Ozaki Taku, Fukuda Tomokazu, Takai Yoshihiro, Kurose Takahiro, Tanaka Koichi, Honma Yoichi, Perez Eduardo, Stock Maxwell, Fern?ndez Jos? R., Tamura Masanori, Voronkov Michael, Stock Jeffrey B., Tomita Hiroshi	4. 巻 23
2. 論文標題 SIG-1451, a Novel, Non-Steroidal Anti-Inflammatory Compound, Attenuates Light-Induced Photoreceptor Degeneration by Affecting the Inflammatory Process	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 8802 ~ 8802
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23158802	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Furuya Kai, Fujibayashi So, Wu Tao, Takahashi Kouhei, Takase Shin, Orimoto Ai, Sugano Eriko, Tomita Hiroshi, Kashiwagi Sayo, Kiyono Tohru, Ishii Tsuyoshi, Fukuda Tomokazu	4. 巻 23
2. 論文標題 Transcriptome analysis to identify the downstream genes of androgen receptor in dermal papilla cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Genomic Data	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12863-021-01018-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tachibana Nobutaka, Hosono Katsuhiro, Nomura Shuhei, Arai Shinji, Torii Kaoruko, Kurata Kentaro, Sato Miho, Shimakawa Shuichi, Azuma Noriyuki, Ogata Tsutomu, Wada Yoshinao, Okamoto Nobuhiko, Saitsu Hiroto, Nishina Sachiko, Hotta Yoshihiro	4. 巻 13
2. 論文標題 Maternal Uniparental Isodisomy of Chromosome 4 and 8 in Patients with Retinal Dystrophy: SRD5A3-Congenital Disorders of Glycosylation and RP1-Related Retinitis Pigmentosa	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Genes	6. 最初と最後の頁 359 ~ 359
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/genes13020359	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Morikawa Hazuki, Nishina Sachiko, Torii Kaoruko, Hosono Katsuhiro, Yokoi Tadashi, Shigeyasu Chika, Yamada Masakazu, Kosuga Motomichi, Fukami Maki, Saitsu Hiroto, Azuma Noriyuki, Hori Yuichi, Hotta Yoshihiro	4. 巻 10
2. 論文標題 A pediatric case of congenital stromal corneal dystrophy caused by the novel variant c.953del of the DCN gene	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Human Genome Variation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41439-023-00239-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Azuma Noriyuki, Yokoi Tadashi, Tanaka Taku, Matsuzaka Emiko, Saida Yuki, Nishina Sachiko, Terao Miho, Takada Shuji, Fukami Maki, Okamura Kohji, Maehara Kayoko, Yamasaki Tokiwa, Hirayama Jun, Nishina Hiroshi, Handa Hiroshi, Yamaguchi Yuki	4. 巻 -
2. 論文標題 Integrator complex subunit 15 controls mRNA splicing and is critical for eye development	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Human Molecular Genetics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/hmg/ddad034	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takada Haruka, Miura Tomisato, Fujibayashi So, Sasaki Naomi, Takahashi Kouhei, Sugano Eriko, Tomita Hiroshi, Ozaki Taku, Kiyono Tooru, Yoshida Mitsuaki A., Fukuda Tomokazu	4. 巻 57
2. 論文標題 Detailed chromosome analysis of wild-type, immortalized fibroblasts with SV40T, E6E7, combinational introduction of cyclin dependent kinase 4, cyclin D1, telomerase reverse transcriptase	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal	6. 最初と最後の頁 998 ~ 1005
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11626-021-00631-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Munirah Izzah, Ozaki Taku, Sekine Aya, Morimoto Motoko, Sugawara Mayu, Takada Haruka, Sugano Eriko, Tomita Hiroshi, Kiyono Tohru, Fukuda Tomokazu	4. 巻 74
2. 論文標題 Immortalization of cells derived from domestic dogs through expressing mutant cyclin-dependent kinase 4, cyclin D1, and telomerase reverse transcriptase	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cytotechnology	6. 最初と最後の頁 181 ~ 192
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10616-021-00504-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Watanabe Yoshito, Sugano Eriko, Tabata Kitako, Hatakeyama Akito, Sakajiri Tetsuya, Fukuda Tomokazu, Ozaki Taku, Suzuki Tomoya, Sayama Tatsuki, Tomita Hiroshi	4. 巻 6
2. 論文標題 Development of an optogenetic gene sensitive to daylight and its implications in vision restoration	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 npj Regenerative Medicine	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41536-021-00177-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tabata Kitako, Sugano Eriko, Hatakeyama Akito, Watanabe Yoshito, Suzuki Tomoya, Ozaki Taku, Fukuda Tomokazu, Tomita Hiroshi	4. 巻 22
2. 論文標題 Phototoxicities Caused by Continuous Light Exposure Were Not Induced in Retinal Ganglion Cells Transduced by an Optogenetic Gene	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 6732 ~ 6732
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22136732	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Furuya Kai, Wu Tao, Orimoto Ai, Sugano Eriko, Tomita Hiroshi, Kiyono Tohru, Kurose Takahiro, Takai Yoshihiro, Fukuda Tomokazu	4. 巻 8
2. 論文標題 The transcriptome of wild-type and immortalized corneal epithelial cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Data	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41597-021-00908-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Maruyama Takuma, Mano Asuka, Ishii Toshiyuki, Kakinuma Yoshihiko, Kaneda Makoto	4. 巻 12
2. 論文標題 P2X ₂ receptors supply extracellular choline as a substrate for acetylcholine synthesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 250 ~ 257
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.13332	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Rai Dilip, Akagi Takumi, Shimohata Atsushi, Ishii Toshiyuki, Gangi Mie, Maruyama Takuma, Wada Kiyama Yuko, Ogiwara Ikuo, Kaneda Makoto	4. 巻 158
2. 論文標題 Involvement of the C terminal domain in cell surface localization and G protein coupling of mGluR6	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neurochemistry	6. 最初と最後の頁 837 ~ 848
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.15217	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fukuda Tomokazu, Furuya Kai, Takahashi Kouhei, Orimoto Ai, Sugano Eriko, Tomita Hiroshi, Kashiwagi Sayo, Kiyono Tohru, Ishii Tsuyoshi	4. 巻 24
2. 論文標題 Combinatorial expression of cell cycle regulators is more suitable for immortalization than oncogenic methods in dermal papilla cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101929 ~ 101929
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.101929	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Chukai Yusaku, Iwamoto Takeshi, Itoh Ken, Tomita Hiroshi, Ozaki Taku	4. 巻 1868
2. 論文標題 Characterization of mitochondrial calpain-5	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research	6. 最初と最後の頁 118989 ~ 118989
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamcr.2021.118989	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yin Chengzhu, Ishii Toshiyuki, Kaneda Makoto	4. 巻 440
2. 論文標題 Two Types of Cl Transporters Contribute to the Regulation of Intracellular Cl Concentrations in ON- and OFF-type Bipolar Cells in the Mouse Retina	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 267 ~ 276
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2020.06.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takita Shimpei, Seko Yuko	4. 巻 23
2. 論文標題 eys+/-; lrp5+/- Zebrafish Reveals Lrp5 Can Be the Receptor of Retinol in the Visual Cycle	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101762 ~ 101762
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.101762	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計22件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Mie Gangi, Takuma Maruyama, Toshiyuki Ishii, Makoto Kaneda
2. 発表標題 ON and OFF starburst amacrine cells are differentially regulated through distinct acetylcholine receptors
3. 学会等名 Neuroscience 2022, Annual Meeting of Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Toshiyuki Ishii, Takuma Maruyama, Makoto Kaneda
2. 発表標題 Starburst amacrine cells form gap junctions in early postnatal stage of the mouse retina
3. 学会等名 Neuroscience 2022, Annual Meeting of Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 富田浩史
2. 発表標題 シンポジウム1「オプトジェネティクス遺伝子を利用した視覚再建のための遺伝子治療
3. 学会等名 第28回 日本遺伝子細胞治療学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅野江里子, 畠山暁斗, 田端希多子, 佐山達紀, 小野口玲奈, 遠藤 由佳, 木村悠, 富田浩史
2. 発表標題 シンポジウム1 視覚再生/オプトジェネティクスと創薬「オプトジェネティクスを用いた新たな網膜機能の付与」
3. 学会等名 第42回日本眼薬理学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 遠藤由佳, 菅野江里子, 福田智一, 世古裕子, 田端希多子, 富田浩史
2. 発表標題 ダイレクトリプログラミング法による網膜muller細胞から視細胞への分化誘導条件の検討
3. 学会等名 第42回日本眼薬理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Toshiyuki Ishii, Atsushi Shimohata, Chiaki Suzuki, Tomomi Shimogori, Makoto Kaneda
2. 発表標題 Contribution of P2X3 receptors to visual information processing in the retina
3. 学会等名 (Neuroscience 2021, Annual Meeting of Neuroscience, Chicago, USA (国際学会))
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐渡愛、菅野江里子、田端希多子、新林史悠、小野口玲奈、富田 浩史
2. 発表標題 遺伝子治療による視覚再生後の脳の可塑性
3. 学会等名 眼薬理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 菊地由樹、菅野江里子、田端希多子、富田浩史
2. 発表標題 オプトジェネティクスを用いた網膜神経細胞保護
3. 学会等名 新学術領域研究 第4回 若手ワークショップ
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐渡愛、菅野江里子、田端希多子、富田浩史
2. 発表標題 オプトジェネティクスによる視覚再生後の視覚野の可塑性
3. 学会等名 新学術領域研究 第4回 若手ワークショップ
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石井 俊行、下畑 充志、鈴木 千晶、下郡 智美、金田 誠
2. 発表標題 マウス網膜におけるP2X3受容体を介した視覚情報の修飾
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会（ハイブリッド開催）、神戸市
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 丸山拓真, 石井俊行, 眞野あすか, 柿沼由彦, 金田誠
2. 発表標題 P2X2受容体を介した新奇なアセチルコリン合成経路
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会 (ハイブリッド開催)、神戸市
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 丸山 拓真、石井 俊行、碓井 澄子、清水 真澄、金田 誠
2. 発表標題 生後早期のスターバーストアМакリン細胞は、ギャップ結合を形成する
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会 (ハイブリッド開催)、仙台市
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 赤木 巧、下畑 充志、荻原 郁夫、金田 誠
2. 発表標題 代謝型グルタミン酸受容体6型の細胞膜表面局在に関するN型糖鎖修飾の解析
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会 (ハイブリッド開催)、仙台市
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 雁木 美衣、丸山 拓真、石井 俊之、金田 誠
2. 発表標題 ON型/OFF型スターバーストアМакリン細胞のアセチルコリン放出は異なるフィードバック機構によって制御されている
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会 (ハイブリッド開催)、仙台市
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 荻原 郁夫、尹 成珠、下畑 充志、雁木 美衣、金田 誠
2. 発表標題 Analysis of interaction between voltage-gated sodium channel Nav1.1 and fibroblast growth factor homologous factor
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会（ハイブリッド開催）、仙台市
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 世古裕子、ライ ディリップ、高橋 順子、梅澤 明弘
2. 発表標題 皮膚線維芽細胞から分化誘導した視細胞様細胞の評価 - ダイレクト・リプログラミングによる疾患モデルの可能性
3. 学会等名 第21回日本再生医療学会、WEB開催
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Dilip Rai, Yuko Seko
2. 発表標題 Induction of photoreceptor-like cells from human dermal fibroblast by multicistronic expression vectors
3. 学会等名 第21回日本再生医療学会、WEB開催
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 赤木 巧、Dilip Rai、下畑 充志、石井 俊行、雁木 美衣、丸山 拓真、木山 裕子、荻原 郁夫、金田 誠
2. 発表標題 代謝型グルタミン酸6型受容体の細胞膜発現におけるC末端領域の役割
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会（Web開催）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 尹 成珠、石井 俊行、 金田 誠
2. 発表標題 2つの異なるClトランスポーターが網膜のON型およびOFF型双極細胞における細胞内Cl濃度の調節に關与する
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会（Web開催）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 富田 浩史
2. 発表標題 遺伝子治療による視覚再生技術とその視覚持続性
3. 学会等名 第64回数理医学研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 菅野江里子、富田浩史、田端希多子
2. 発表標題 視覚再生後の 網膜、視覚野の機能変化
3. 学会等名 細胞社会ダイバーシティーの統合的解明と制御 領域会議
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 世古裕子
2. 発表標題 網膜色素変性原因遺伝子EYSの転写産物の解析
3. 学会等名 第13回レチナリサーチミーティング
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 東 範行	4. 発行年 2023年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 7
3. 書名 視覚器の発生. 視能検査学. 第2版	

1. 著者名 東 範行	4. 発行年 2023年
2. 出版社 診断と治療社	5. 総ページ数 7
3. 書名 眼の発生と先天異常. やさしい小児の眼科	

1. 著者名 Seko Y	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer-Verlag	5. 総ページ数 20
3. 書名 Essentials in Ophthalmology, Advances in Vision Research, Volume III	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	東 範行 (Azuma Noriyuki) (10159395)	東京医科歯科大学・難治疾患研究所・非常勤講師 (12602)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	金田 誠 (Kaneda Makoto) (30214480)	日本医科大学・大学院医学研究科・大学院教授 (32666)	
研究分担者	富田 浩史 (Tomita Hiroshi) (40302088)	岩手大学・理工学部・教授 (11201)	
研究分担者	梅澤 明弘 (Umezawa Akihiro) (70213486)	国立研究開発法人国立成育医療研究センター・研究所・研究所長/再生医療センター長/バイオバンク長 (82612)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関