

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：33916
 研究種目：基盤研究(C) (一般)
 研究期間：2017～2019
 課題番号：17K11495
 研究課題名(和文)虹彩由来幹/前駆細胞・iPS細胞の機能性網膜細胞への分化：再生と創薬研究への応用
 研究課題名(英文) Differentiation to the functional retina cell using tissue stem/progenitor cell and iPS cell derived from human iris tissue.
 研究代表者
 山本 直樹 (Yamamoto, Naoki)
 藤田医科大学・共同利用研究設備サポートセンター・准教授
 研究者番号：00267957
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：阻害剤やコーティング剤を検討し、組織幹細胞の状態を比較的長期間維持できる培養法を確立した。この培養法は、他の組織幹細胞や癌幹細胞なども維持培養できる可能性があるプレリミナリーな結果を得ている。

ヒト虹彩由来iPS細胞を用いて、電気生理学的機能を有する網膜神経節細胞や網膜神経細胞へ分化誘導できた。虹彩由来iPS細胞は、他の組織由来iPS細胞よりも遺伝子パネル検査において外胚葉系細胞へ分化しやすい傾向がみられた。虹彩由来iPS細胞を非接着(浮遊)培養および回転浮遊培養を行ったところ、内腔を形成する細胞塊と充実性の網膜神経細胞層様構造を呈する細胞凝集体の2種類が形成された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

眼球の網膜は、視細胞をはじめとする神経細胞の集まりです。眼の視力を再生させるためには、この網膜神経細胞の遺伝子やタンパク質を発現する細胞をiPS細胞から再生させるだけでは意味がなく、神経細胞としての機能を有する細胞でなければなりません。

私たちの研究では、iPS細胞から神経細胞としての機能を有する細胞に成長させる研究を行っています。将来的には、自身の眼球から安全に採取する術式が確立されている虹彩細胞を用いて、iPS細胞を作製するオーダーメイド再生医療や網膜神経の再生・回復を補助する創薬開発の評価で使用できる細胞を作出し、網膜疾患の患者さんに貢献できる研究を行っています。

研究成果の概要(英文)：We investigated inhibitors and coating agents, and established a culture method that can maintain the status of tissue stem cells relatively well. This culture method is a preliminarily designed to maintain the status of tissue stem cells and cancer stem cells.

Human iris-derived iPS cells were able to differentiate into retinal ganglion cells and retinal neurons with electrophysiological functions. Iris-derived iPS cells were more likely to differentiate into ectodermal cells in gene panel tests than iPS cells derived from other tissues. Iris-derived iPS cells were subjected to non-adherent (floating) and rotational floating culture method, and two types of cell aggregates were formed: one of cell mass with vacuous interior and another of cell aggregate exhibiting a substantial neural retina cell layer structure.

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：iPS細胞 網膜再生 再生医療 虹彩細胞 網膜神経細胞 電気生理 組織幹細胞 不死化細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

網膜変性症などの網膜に障害がある患者数は、推定で約 300 万人以上といわれているが、今日の眼科治療(手術など)では、視力を回復させることは非常に難しい。このような現状から、近年目覚ましい研究の進歩により『障害のある網膜神経細胞の代わりに新しい細胞を移植し、その移植細胞が宿主網膜に残存している細胞とネットワークを再構築することで網膜機能を再生させる』という再生医学・医療への期待が高まっている。

1960 年代から多能性幹細胞である胚性幹細胞(Embryonic Stem cells:ES 細胞)を用いた研究が始められたが、(1)受精卵を壊すという倫理的問題、(2)非自己の細胞であることによる免疫拒絶などの問題がある。2006 年に報告された人工多能性幹細胞(induced Pluripotent Stem cell : iPS 細胞)は、再生医療の研究で最も注目されている細胞であり、ES 細胞の問題を回避することができる。眼科領域においては、2014 年に滲出型加齢黄斑変性症の患者自身の細胞から作出された iPS 細胞由来の網膜色素上皮細胞(Retinal Pigment Epithelium : RPE)のシート移植手術が行われた。ただし、この iPS 細胞の移植は臨床研究の初期段階であり、目的は視力改善という治療効果を期待するものではなく、iPS 細胞から分化誘導して作出した RPE の安全性確認である。

一方、目的細胞と同じ発生学的分類の細胞を作出元とした iPS 細胞を用いた場合、作出元の細胞情報を iPS 細胞が記憶している(エピジェネティックメモリー)ことを利用することで、効率的に目的細胞に分化誘導できることが報告され(Kim K. et al. *Nature*. 2010)、眼科領域のみならず、さまざまな領域における再生医療研究で使用する由来細胞に対する検証が行われている。

2. 研究の目的

虹彩由来幹/前駆細胞、虹彩由来 iPS 細胞を中心として電気生理学的な機能を有する網膜神経節細胞、光刺激に反応する光応答性視細胞への分化誘導、不死化遺伝子の発現をコントロールできるベクターを導入した不死化網膜神経節細胞および不死化視細胞の作出、作出元細胞が異なる iPS 細胞を用いた網膜神経節細胞への分化誘導効率の比較、さらに浮遊培養法による網膜神経節細胞の三次元再構成(層状配列誘導)および自己組織化の検討を行い、トランスレーショナルリサーチとしての網膜再生と創薬開発の基盤研究を行う。

研究期間内において、以下の項目の検討を行った。

- (1) 網膜神経幹/前駆細胞の細胞表面マーカー解析とヒト虹彩由来組織幹細胞の維持培養法の検討
- (2) ヒト虹彩由来 iPS 細胞の網膜神経節細胞への分化誘導条件の探索
- (3) ヒト虹彩由来幹/前駆細胞とヒト虹彩由来 iPS 細胞の視細胞への分化誘導条件の探索
- (4) 発現コントロールが可能な不死化ベクターを用いた不死化細胞の作出
- (5) iPS 細胞の作出由来細胞が有するエピジェネティックな違いが分化誘導効率に与える影響
- (6) 凝集・浮遊培養法による三次元網膜層状配列の再構成

本研究計画では、これまでの研究をさらに前進させ、電気生理学的機能を有する網膜神経節細胞と光応答性視細胞に分化誘導するトランスレーショナルリサーチとしての再生医療研究、および網膜神経節細胞と視細胞への最終分化直前の細胞に発現コントロールが可能な不死化ベクターを導入して作出される不死化網膜神経節細胞および不死化視細胞を用いた創薬研究といった 2 種類の研究基盤を形成するハイブリット研究である。さらに虹彩由来 iPS 細胞と線維芽細胞や単核球由来 iPS 細胞を用いて、iPS 細胞の作出元細胞の違いによる網膜神経節細胞への分化誘導効率を比較し、作出元細胞のエピジェネティックメモリー(メチル化)が網膜神経節細胞への分化誘導効率に与える影響を検証した。

3. 研究の方法

藤田医科大学臨床研究倫理委員会および DNA 組換え委員会の承認を受け、成体ヒト虹彩由来組織幹/前駆細胞(虹彩幹/前駆細胞), 虹彩幹/前駆細胞由来不死化細胞(虹彩由来不死化細胞)および虹彩幹/前駆細胞由来 iPS 細胞(虹彩由来 iPS 細胞)を用いて本研究を実施した。

(1) 網膜神経幹/前駆細胞の細胞表面マーカー解析とヒト虹彩由来組織幹細胞の維持培養法の検討

既報の神経幹/前駆細胞の細胞表面マーカーを中心とした解析と細胞培養時に使用するコーティング剤や培養液への添加物質によるヒト虹彩由来組織幹細胞の維持培養法を検討した。

(2) ヒト虹彩由来 iPS 細胞の網膜神経節細胞への分化誘導条件の探索

既報の網膜神経節細胞への分化誘導方法を改良して, 細胞死を回避できる効率的な分化誘導法の検討および電気生理的に機能する細胞としての評価を行った。

(3) ヒト虹彩由来幹/前駆細胞とヒト虹彩由来 iPS 細胞の視細胞への分化誘導条件の探索

光応答性視細胞への分化誘導条件を探索した。虹彩由来幹/前駆細胞および虹彩由来 iPS 細胞を用いて, 網膜神経幹/前駆細胞に *Otx2* 遺伝子を導入して光応答性視細胞の作出を試みた。

(4) 発現コントロールが可能な不死化ベクターを用いた不死化細胞の作出

既報の不死化遺伝子(Yamamoto N. et al. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2016)を改良して, 偽 *attP* 部位に不死化遺伝子を特異的に挿入して, ドキシサイクリンの添加で不死化遺伝子の発現を ON/OFF にコントロールできる, 山本が開発・作成した不死化ベクターを用いて, 網膜神経前駆細胞の不死化細胞の作出を試みた。

(5) iPS 細胞の作出由来細胞が有するエピジェネティックな違いが分化誘導効率に与える影響

虹彩由来 iPS 細胞と線維芽細胞や単核球由来の iPS 細胞を網膜神経細胞へ分化し, iPS 細胞の作出元細胞が有するエピジェネティックメモリー(メチル化など)の違いが分化誘導効率に与える影響を比較検討した。

(6) 凝集・浮遊培養法による三次元網膜層状配列の再構成

ヒト虹彩由来 iPS 細胞を用いて, 既報の非接着浮遊培養(SFEBq)法をもとに, 山本が開発・報告した不死化水晶体上皮細胞を用いた細胞凝集体の回転浮遊培養法(山本直樹, 日本白内障学会誌 2016 年)を行い, 三次元網膜層状配列の再構成や神経網膜の自己組織化が誘導できるかを検討する。

さらに, 細胞自律的な分化を促すことで, 2次元の培養系にて眼の後眼部から前眼部にわたって広い範囲の発生を再現する培養法(Self-formed ectodermal autonomous multi-zone: SEAM)が報告された(Hayashi R. et al. *Nature.* 2016)。そこで, ヒト虹彩由来 iPS 細胞を用いて SEAM 法での検証を行った。

4. 研究成果

(1) 網膜神経幹/前駆細胞の細胞表面マーカー解析とヒト虹彩由来組織幹細胞の維持培養法の検討

網膜神経幹/前駆細胞の表面マーカー解析を行い, CD271 をはじめとするいくつかの表面マーカーを選出することができた。ヒト虹彩由来組織幹細胞の維持培養法については, ROCK (Rho-associated coiled-coil forming kinase: Rho 結合キナーゼ) 阻害剤を

用いることでかなり改善することができたが、適切な濃度設定と添加期間について、一部再現性が不安定な結果であったことから、詳細な実験条件の再設定を継続して行っている。さらに、細胞培養ディッシュをコーティング（論文投稿準備中のため X 物質とする）することで、組織幹細胞の状態を維持したまま培養することができることを見出した。これらの組織幹細胞の維持培養法は今後も検討を継続していくが、虹彩組織幹細胞に限らず、ヒトのさまざまな組織に存在する組織幹細胞、さらには癌幹細胞なども維持培養ができる可能性があるプレリミナリーな結果を得ている。

(2) ヒト虹彩由来 iPS 細胞の網膜神経節細胞への分化誘導条件の探索

ヒト虹彩由来 iPS 細胞から網膜神経幹/前駆細胞を誘導し、さらに神経節細胞への細胞凝集培養法による分化誘導を行ったところ、細胞凝集体表面から単極側において著しく長い突起を伸ばす形態が観察され、神経節細胞マーカーである Brn-3b や神経細胞マーカーである Neurofilament H, Tubulin-beta3 などを共発現する細胞を分化誘導することができた。これらの分化誘導した細胞を電気生理学的手法（パッチクランプ法）にて解析したところ、成熟した網膜神経節細胞に発現するナトリウムチャネルのシグナルが検出された。

(3) ヒト虹彩由来幹/前駆細胞とヒト虹彩由来 iPS 細胞の視細胞への分化誘導条件の探索

ヒト虹彩由来 iPS 細胞から網膜神経幹/前駆細胞を誘導して、さらに網膜神経細胞への分化誘導を行い、神経系細胞で特異的に検出される遺伝子・蛋白質の発現を確認することができた。さらに機能性を有する神経細胞としての評価を行い、パッチクランプ法にてナトリウムチャネルのシグナルを検出した。これらの結果は、第 49 回日本臨床分子形態学会総会にて発表し、奨励賞を受賞した。現在、原著論文および Review 論文を執筆中である。また、網膜神経幹/前駆細胞に *Otx2* 遺伝子を導入して光応答性視細胞の作出を試みたが、分化誘導効率が低かったため、今後も継続して検討を続けていく。

(4) 発現コントロールが可能な不死化ベクターを用いた不死化細胞の作出

網膜神経前駆細胞様のステップまで分化させた細胞に対して、我々が独自に作成したドキシサイクリン添加の有無によって不死化遺伝子の発現をコントロールできるベクターを導入したところ、一部ではあるが不死化細胞を作製することができた。ただし導入効率が低く、さらに前駆細胞の段階で維持培養する再現率が安定していないことから、今後更なる改良が必要である。

一方、この不死化細胞を分化誘導した細胞を用いて、眼科手術で使用する色素の細胞毒性試験を行い、プレリミナリーなデータを得ることができた。今後、細胞培養条件などの検討を引き続き行っていく。

(5) iPS 細胞の作出由来細胞が有するエピジェネティックな違いが分化誘導効率に与える影響

虹彩由来 iPS 細胞と作出元細胞が異なる iPS 細胞を用いた分化誘導効率の比較実験を行ったところ、虹彩由来 iPS 細胞の方が遺伝子パネル検査において外胚葉系細胞へ分化しやすい傾向であることを確認した。現在、n 数を増やして統計学的な有意差などを追加検討している。

(6) 凝集・浮遊培養法による三次元網膜層状配列の再構成

昨今の再生医療研究では、個々の細胞レベルでの分化誘導・機能性獲得から三次元・立体構造（オルガネラ）での分化誘導が注目されている。そこで、虹彩由来 iPS 細胞と虹彩由来幹/前駆細胞を用いて、非接着（浮遊）培養および回転浮遊培養を行い、網膜神経

細胞への分化と網膜層構造の再構成についての実験を実施した。ヒト虹彩由来 iPS 細胞で形成された細胞凝集体を分化誘導培地にて非接着（浮遊）培養および回転浮遊培養を行ったところ、内腔を形成する細胞塊と充実性の細胞層様構造を呈する細胞凝集体の2種類が形成された。内腔を形成する細胞塊は、水晶体上皮細胞でみられる α -A crystalline を発現する単層細胞がみられた。充実性の細胞凝集体は、三次元立体構築の網膜細胞層状配列を形成していた。現在、詳細な解析を継続して行っている。

ヒト虹彩由来 iPS 細胞を用いて、Self-formed Ectodermal Autonomous Multi-zone method (SEAM 法) にて、*in vivo* の前眼部および後眼部の発生・発達を模倣する外胚葉系統の異なる種類の細胞が形成されることを確認した。今後、SEAM 法で分化誘導した網膜神経細胞についての比較検証を行う。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Yamamoto N., Hiramatsu N., Isogai S., Kondo M., Imaizumi K., Horiguchi M.	4. 巻 53
2. 論文標題 Mechanism of atopic cataract caused by eosinophil granule major basic protein.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Med Mol Morphol.	6. 最初と最後の頁 94-103
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00795-019-00234-5	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 Hiramatsu N., Yamamoto N., Isogai S., Onouchi T., Hirayama M., Maeda S., Ina T., Kondo M., Imaizumi K.	4. 巻 53
2. 論文標題 An analysis of monocytes and dendritic cells differentiated from human peripheral blood monocyte-derived induced pluripotent stem cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Med Mol Morphol.	6. 最初と最後の頁 63-72
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00795-019-00231-8	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 Ohba S., Murayama K., Kuwahara K., Pareira E.S., Nakae S., Nishiyama Y., Adachi K., Yamada S., Sasaki H., Yamamoto N., Abe M., Mukherjee J., Hasegawa M., Pieper R.O., Hirose Y.	4. 巻 Online ahead of print
2. 論文標題 The Correlation of Fluorescence of Protoporphyrinogen IX and Status of Isocitrate Dehydrogenase in Gliomas.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurosurgery	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/neuros/nyz524	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 該当する
1. 著者名 Otani S., Fujii T., Kukimoto I., Yamamoto N., Tsukamoto T., Ichikawa R., Nishio E., Iwata A.	4. 巻 120
2. 論文標題 Cytokine expression profiles in cervical mucus from patients with cervical cancer and its precursor lesions.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cytokine	6. 最初と最後の頁 210-219
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cyto.2019.05.011	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 Yamada T., Hasegawa S., Hasebe Y., Kawagishi-Hotta M., Arima M., Iwata Y., Kobayashi T., Numata S., Yamamoto N., Nakata S., Sugiura K., Akamatsu H.	4. 巻 311
2. 論文標題 CXCL12 regulates differentiation of human immature melanocyte precursors as well as their migration.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Arch Dermatol Res.	6. 最初と最後の頁 55-62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00403-018-1880-2	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 Yamada T., Hasegawa S., Miyachi K., Date Y., Inoue Y., Yagami A., Arima M., Iwata Y., Yamamoto N., Nakata S., Matsunaga K., Sugiura K., Akamatsu H.	4. 巻 171
2. 論文標題 Laminin-332 regulates differentiation of human interfollicular epidermal stem cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mech Ageing Dev.	6. 最初と最後の頁 37-46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mad.2018.03.007.	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 Isogai S., Yamamoto N., Hiramatsu N., Goto Y., Hayashi M., Kondo M., Imaizumi K.	4. 巻 20
2. 論文標題 Preparation of induced pluripotent stem cells using human peripheral blood monocytes.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Reprogram.	6. 最初と最後の頁 347-355
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/cell.2018.0024	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 Miyachi K., Yamada T., Kawagishi-Hotta M., Hasebe Y., Date Y., Hasegawa S., Arima M., Iwata Y., Kobayashi T., Numata S., Yamamoto N., Nakata S., Sugiura K., Akamatsu H.	4. 巻 45
2. 論文標題 Extracellular proteoglycan decorin maintains human hair follicle stem cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Dermatol.	6. 最初と最後の頁 1403-1410
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.14678	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 Yamamoto T., Otake H., Hiramatsu N., Yamamoto N., Taga A., Nagai N.	4. 巻 19
2. 論文標題 A proteomic approach for understanding the mechanisms of delayed corneal wound healing in diabetic keratopathy using diabetic model rat.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 3635
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms19113635	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 Ogawa K., Suga H., Ozone C., Sakakibara M., Yamada T., Kano M., Mitsumoto K., Kasai T., Kodani Y., Nagasaki H., Yamamoto N., Hagiwara D., Goto M., Banno R., Sugimura Y., Arima H.	4. 巻 8
2. 論文標題 Vasopressin-secreting neurons derived from human embryonic stem cells through specific induction of dorsal hypothalamic progenitors.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 3615
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-22053-x.	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 Deguchi S., Otake H., Nakazawa Y., Hiramatsu N., Yamamoto N., Nagai N.	4. 巻 18
2. 論文標題 Ophthalmic formulation containing nilvadipine nanoparticles prevents retinal dysfunction in rats injected with streptozotocin.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 e2720
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms18122720.	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 Nagai N., Deguchi S., Otake H., Hiramatsu N., Yamamoto N.	4. 巻 18
2. 論文標題 Therapeutic Effect of Cilostazol Ophthalmic Nanodispersions on Retinal Dysfunction in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 e1971
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms18091971.	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 Yahata N., Matsumoto Y., Omi M., Yamamoto N., Hata R.	4. 巻 7
2. 論文標題 TALEN-mediated shift of mitochondrial DNA heteroplasmy in MELAS-iPSCs with m.13513G>A mutation.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 e15557
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-15871-y.	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 Kawagishi-Hotta M., Hasegawa S., Igarashi T., Yamada T., Takahashi M., Numata S., Kobayashi T., Iwata Y., Arima M., Yamamoto N., Yagami A., Nakata S., Uzawa T., Matsunaga K., Sugiura K., Akamatsu H.	4. 巻 6
2. 論文標題 Enhancement of individual differences in proliferation and differentiation potentials of aged human adipose-derived stem cells.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Regenerative Therapy	6. 最初と最後の頁 29-40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) org/10.1016/j.reth.2016.12.004	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 Kasai T., Nakatani M., Ishiguro N., Ohno K., Yamamoto N., Morita M., Yamada H., Tsuchida K., Uezumi A.	4. 巻 187
2. 論文標題 Promethazine hydrochloride inhibits ectopic fat cell formation in skeletal muscle.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Am J Pathol	6. 最初と最後の頁 2627-2634
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajpath.2017.08.008.	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 Fujikawa A., Chow J.P., Matsumoto M., Suzuki R., Kuboyama K., Yamamoto N., Noda M.	4. 巻 162
2. 論文標題 Identification of novel splicing variants of protein tyrosine phosphatase receptor type Z.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Biochem	6. 最初と最後の頁 381-390
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvx042.	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14件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 山本直樹、平松範子、大熊真人、磯谷澄都、谷川篤宏、今泉和良、宮地栄一、堀口正之。
2. 発表標題 SEAM法を応用した虹彩由来iPS細胞の網膜神経節細胞への分化誘導。
3. 学会等名 第51回日本臨床分子形態学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本直樹
2. 発表標題 混濁水晶体や眼内レンズと創傷治癒 - 透明水晶体の再生に向けて -
3. 学会等名 第23回眼創傷治癒研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本直樹
2. 発表標題 基礎研究から拓かれる応用研究・開発研究 水晶体・白内障研究の魅力。
3. 学会等名 第58回日本白内障学会総会・第45回水晶体研究会合同学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kojima H., Kato Y., Sato A., Yamamoto N.
2. 発表標題 Evaluation of corneal damage recovery using 3-dimensional model.
3. 学会等名 58th annual meeting & ToxExpo, Society of Toxicology. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本直樹、平松範子、磯谷澄都、堀口正之、平野耕治、近藤征史、今泉和良.
2. 発表標題 アレルギー疾患に合併する白内障の発症メカニズム.
3. 学会等名 第28回国際喘息学会日本・北アジア部会(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本直樹
2. 発表標題 今話題の白内障研究・治療を検証する 水晶体再生治療はできるのか?
3. 学会等名 第57回日本白内障学会総会・第43回水晶体研究会合同学会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山本直樹
2. 発表標題 組織学の解析入門と組織標本からの研究展開 - 透明水晶体と後発白内障の組織学的解析を中心に - .
3. 学会等名 第33回JSCRS学術総会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yamamoto N., Hiramatsu N., Kato Y., Kojima H.
2. 発表標題 Development of the in vitro assay for evaluating reversible eye irritation.
3. 学会等名 10th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences.(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yamamoto N., Hiramatsu N., Kato Y., Kojima H.
2. 発表標題 Development of the in vitro assay for evaluating weak eye irritation.
3. 学会等名 10th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山本 直樹, 平松 範子, 大熊 真人, 磯谷 澄都, 谷川 篤宏, 今泉 和良, 宮地 栄一, 堀口 正之
2. 発表標題 虹彩由来iPS細胞を用いた水晶体上皮細胞への分化誘導.
3. 学会等名 第50回日本臨床分子形態学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Naoki Yamamoto, Noriko Hiramatsu, Yoshinao Kato, Hajime Kojima
2. 発表標題 Development of the in vitro assay for evaluating weak eye irritation.
3. 学会等名 WC10 Seattle ALTEX (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山本 直樹, 大熊 真人, 平松 範子, 磯谷 澄都, 今泉 和良, 谷川 篤宏, 宮地 栄一, 堀口 正之
2. 発表標題 虹彩由来細胞を用いたiPS細胞作出と生理的機能を有する神経細胞への分化誘導
3. 学会等名 日本組織培養学会第90回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山本直樹
2. 発表標題 【学会奨励賞受賞記念講演】組織幹/前駆細胞・不死化細胞・iPS細胞を用いた 網膜再生研究
3. 学会等名 第49回日本臨床分子形態学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山本直樹
2. 発表標題 三次元角膜再構築モデルを用いて 回復性は評価できるか？
3. 学会等名 日本動物実験代替法学会 第30回大会（招待講演）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 山本直樹（分担著者）	4. 発行年 2018年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 332
3. 書名 皮膚の安全性・有用性評価法	

〔産業財産権〕

〔その他〕

https://www.fujita-hu.ac.jp/achievements/ https://researchmap.jp/read0136071 https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=55599876800

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	谷川 篤宏 (Tanikawa Atsuhito) (40324412)	藤田医科大学・医学部・准教授 (33916)	
研究分担者	大熊 真人 (Ohkuma Mahito) (50329710)	藤田医科大学・医学部・講師 (33916)	
研究分担者	堀口 正之 (Horiguchi Masayuki) (70209295)	藤田医科大学・医学部・教授 (33916)	
研究分担者	宮地 栄一 (Miyachi Ei-ichi) (90129685)	藤田医科大学・医学部・教授 (33916)	
研究協力者	平松 範子 (Hiramatsu Noriko) (10802209)	藤田医科大学・共同利用研究設備サポートセンター・特別研究員 (33916)	
研究協力者	今泉 和良 (Imaizumi Kazuyoshi) (50362257)	藤田医科大学・医学部・教授 (33916)	
研究協力者	山下 宏美 (Yamashita Hiromi) (33916)	藤田医科大学・医学部・研究補助員 (33916)	
研究協力者	田島 香里 (Tajima Kaori)	藤田医科大学・医学部・研究補助員	