

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09815

研究課題名（和文）虹彩iPS細胞を用いた電気生理機能を有する三次元網膜再生と薬物安全性評価法の開発

研究課題名（英文）Development of three-dimensional retinal regeneration with electrophysiological function and drug safety evaluation using the human iris derived iPS cells

研究代表者

山本 直樹（Yamamoto, Naoki）

藤田医科大学・バイオリソース室・教授

研究者番号：00267957

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：ヒトおよびマウス虹彩由来細胞から新規iPS細胞を作出し、それらの多分化能に関する検証実験を行うため、網膜神経細胞や網膜神経節細胞へ分化誘導を行った。それらの細胞について電気生理学的機能評価をパッチクランプ法にて検証し、電気生理学的に機能する網膜神経細胞であることを確認できたため、それぞれ論文報告をした。

細胞間相互作用による細胞分化において、網膜神経系細胞および水晶体へ効率的に分化する細胞を分取できることを見出したため、水晶体への分化に関する論文も発表した。さらに薬物のナノ製剤化による効率的な組織・細胞内への薬物送達について、いくつかの成果を論文発表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、虹彩由来iPS細胞は網膜神経細胞および眼球構成細胞（水晶体、網膜色素上皮細胞など）への効率的な分化誘導ができることを見出した。特に網膜神経細胞への分化は、神経細胞に特異的なタンパク質マーカーを発現するだけでなく、電気生理学的機能を有することが重要であり、本研究では機能性を有する網膜神経細胞への分化誘導に成功した。また、マウスのみならず、ヒトの虹彩由来細胞でもiPS細胞を作出し、効率的に網膜神経細胞などへ分化できることを報告した。電気生理学的機能性を有する細胞をin vitroで作成できたことは、網膜再生医療の臨床応用に向けた1つの重要なステップを証明できたこととなる。

研究成果の概要（英文）：Novel iPS cells were generated from human and mouse iris-derived cells and induced to differentiate into retinal neurons and retinal ganglion cells in order to conduct experiments to verify their multidifferentiation potential. The electrophysiological function of these cells was evaluated using the patch clamp method, and it was confirmed that they were electrophysiologically functional retinal nerve cells. We published a paper on each cell. In cell differentiation by cell-cell interaction, we found that cells efficiently differentiating into retinal nerve cells and lens cells could be fractionated, and we published a paper on lens differentiation. Furthermore, we published a paper on efficient drug delivery into tissues and cells by nano-formulation of drugs.

研究分野：眼科、再生医療

キーワード：虹彩由来iPS細胞 再生医療 網膜神経細胞 電気生理 薬物安全性評価 三次元網膜再生 薬物送達

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

発生学的研究知見をもとに、iPS 細胞の未分化維持または多様な細胞への分化誘導の研究が開かれている。生物の発生段階において、受精卵から多様な細胞が同時多発的に発生・分化がおこり、その際、さまざまな成長因子やシグナルが適切かつ必要な部位に作用する必要がある。この現象は血管などの発達が未熟な段階からおこるため、細胞レベルで自己分泌 (Autocrine) や傍分泌 (Paracrine) による相互作用も関連すると考えられている。しかし、これらの細胞間相互作用の機序はまだ解明されていないことが多く、細胞間相互作用の機序を解明することで、*in vivo* における発生や細胞分化過程のメカニズム解明、さらには再生医療研究の進展につながると考えている。

これまでの神経節細胞、網膜色素上皮細胞などの細胞を iPS 細胞から分化させる方法としては、コンディションの異なる複数の培養液を適宜変更しつつ、場合によっては接着培養から細胞凝集浮遊培養 (Sphere 法) に移行させて分化誘導を行う。Sphere 法による培養は、比較的組織幹細胞を増殖させることに適しているが、細胞凝集体の中心部に栄養などが供給されにくいため、細胞が壊死することが多く、長期培養には不向きである。この方法を改良したのが改良無血清凝集浮遊培養法 (Serum-free Floating culture of Embryoid Body-like aggregates with quick reaggregation: SFEBq 法) であり、細胞凝集体の中に網膜神経細胞の層構造が形成された (Eiraku M. et al. *Nature* 472, 51-56, 2011)。さらに SFEBq 法で浮遊培養を行った後、細胞凝集体を酵素で単離し、抗体を用いることで網膜神経節細胞を分離培養することはできたが、他の網膜神経細胞を分離できるかどうかはまだ不明確な点もある。

一方、細胞間相互作用による分化誘導について、眼科領域の研究ではヒト iPS 細胞から発生期の眼の細胞系譜を模倣させる 4 つの帯状構造から構成された外胚葉性の二次元細胞集合体 (Self-formed Ectodermal Autonomous Multi-zone: SEAM) 培養法が報告された (Hayashi R. et al. *Nature* 531, 376-380, 2016)。この SEAM 法は、同一条件で長期間培養することによって、細胞間相互作用による自律的分化が誘導される二次元培養法であり、細胞間相互作用が眼の発生・分化に関連していることを示唆している。しかし、この自律的分化誘導に関する詳細なメカニズムは、まだ完全に解明されていない。

### 2. 研究の目的

我々が網膜再生の研究材料として虹彩組織細胞に注目した理由は、発生学的分類において、虹彩は網膜神経細胞と同様に眼杯内層から発生すること、虹彩細胞は網膜色素上皮細胞のサイトカイン関連遺伝子と発現様式が類似していること、虹彩細胞はイモリの研究に代表されるように分化転換が起こりやすい細胞であること、ヒト閉塞隅角緑内障の治療法として『虹彩部分切除術』が術式として確立していることである。

そこで、我々は、マウスおよびヒト虹彩由来細胞からの新たな iPS 細胞株の構築、より効率的に分化した電気生理学的機能を有する網膜神経細胞および三次元網膜形成モデルの作製、実臨床薬物の安全性とナノ結晶技術による薬理作用 (薬効) を評価する試験法を開発することを本研究の目的とした。

### 3. 研究の方法

マウス虹彩由来細胞の培養方法については、これまでの我々の研究で確立している。そこで、培養したマウス虹彩由来細胞にリプログラミングベクターを導入して、新規マウス虹彩由来 iPS 細胞株を作出した。作出したマウス iPS 細胞を用いて、二次元培養法による網膜神経細胞や網膜神経節細胞へ分化誘導を行った。同様にヒト虹彩由来細胞を用いて、ヒト虹彩由来 iPS 細胞も作出した。

改変 SEAM 法で分化した網膜前駆領域は、分化状態の異なるヘテロな細胞集団であると思われることから、この領域の細胞をソーティングした後、三次元オルガノイドを形成させた。

マウス虹彩由来 iPS 細胞を網膜神経細胞領域の分化が促進される培養条件に調整した改変 SEAM 法にて培養し、マウス網膜前駆細胞マーカーでの分離を試みた。この分離した細胞を rd1 マウスに移植し、網膜組織内での細胞生着と分化について検証した。さらに分離した細胞を用いて、我々が開発したコントロール可能な不死化遺伝子ベクターを導入し、iPS 細胞から分化させたステージでの不死化細胞の作製を検討した。この不死化細胞を用いて、眼科臨床で使用されている薬物の安全性について薬効評価を行った。

### 4. 研究成果

まず動物移植実験で使用できるようにするため、マウス虹彩由来 iPS 細胞を作製し、この iPS 細胞の多分化能を検証した。二次元培養系において Recoverin 陽性の網膜神経細胞、および Neurofilament-M と Brn-3b 陽性の網膜神経節細胞に分化誘導を行った。分化誘導した細胞について、電気生理学的機能の有無についてパッチクランプ法による検証を行い、電気生理学的に機能する網膜神経細胞であることを確認し、論文発表した。

次にヒト虹彩由来 iPS 細胞を二次元培養系において、マウス虹彩由来 iPS 細胞と同様に Recoverin 陽性の網膜神経細胞、および Neurofilament-M と Brn-3b 陽性の網膜神経節細胞に分化誘導を行った。分化誘導した細胞について、電気生理学的機能の有無についてパッチクランプ法による検証を行い、Na チャネル（内向き電流）が検出された。TTX を添加することにより、Na チャネルは消失し、Wash out することで Na チャネルが再検出されたことから、電気生理学的に機能する網膜神経細胞であることが確認された。これらの成果をまとめて、論文発表した。

二次元培養の細胞間相互作用による改変 SEAM 法を用いた細胞分化において、網膜神経系細胞の分取ができることを確認した。なお、網膜神経系細胞の分取実験において、網膜神経細胞とは異なる領域の細胞を用いて水晶体上皮細胞へ効率的に分化できることを見出したため、水晶体への分化についての論文発表を行った。網膜神経細胞への分化においては、従来の分化誘導法とは異なり、細胞間相互作用のみで分化誘導できることから、さらに生体の発生における分化状態が模倣されている細胞培養モデルであると考え、更なる研究を継続展開中である。

分担研究者の長井との共同研究では、薬物のナノ製剤化による効率的な組織・細胞内への薬物送達について、いくつかの成果を得ることができたため、論文発表した。さらに薬剤による薬効評価法としての三次元培養についての研究成果を学会発表した。さらに薬効評価において、眼のマスター遺伝子の 1 つである PAX6 によるルシフェラーゼレポーターアッセイ iPS 細胞を作製できたため、今後の継続的研究で使用していく。本研究期間においては、このレポーターアッセイ iPS 細胞を用いて、WST-8 による細胞活性の測定、分化過程における薬物安全性の薬効評価をルシフェラーゼアッセイによる同時検討が可能であることがわかった。

マウス虹彩由来 iPS 細胞を網膜神経細胞領域の分化が促進する培養条件に調整した改変 SEAM 法にて培養し、マウス網膜前駆細胞マーカーでの分離後、rd1 マウス網膜組織に移植したところ、一部の細胞は網膜組織内に生着した。ERG を測定したところ、わずかではある移植前と比べて波形の反応がみられた。さらに分離した細胞を用いて、コントロール可能な不死化遺伝子ベクターを導入し、iPS 細胞から分化させたステージでの不死化細胞の作製には成功したが、分化ステージをコントロールする再現性が低かったことから、今後も研究を継続していく。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計25件（うち査読付論文 25件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 18件）

1. 著者名 Yamamoto Naoki, Hiramatsu Noriko, Ohkuma Mahito, Hatsusaka Natsuko, Takeda Shun, Nagai Noriaki, Miyachi Ei-ichi, Kondo Masashi, Imaizumi Kazuyoshi, Horiguchi Masayuki, Kubo Eri, Sasaki Hiroshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Novel Technique for Retinal Nerve Cell Regeneration with Electrophysiological Functions Using Human Iris-Derived iPS Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 743 ~ 743
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells10040743	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 Noriaki, Ogata Fumihiko, Ike Ayari, Shimomae Yurisa, Osako Hanano, Nakazawa Yosuke, Yamamoto Naoki, Kawasaki Naohito	4. 巻 14
2. 論文標題 Oral Formulation Based on Irbesartan Nanocrystals Improve Drug Solubility, Absorbability, and Efficacy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 387 ~ 387
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pharmaceutics14020387	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 Sugiyama Yuki, Nakazawa Yosuke, Sakagami Toko, Kawata Sara, Nagai Noriaki, Yamamoto Naoki, Funakoshi-Tago Megumi, Tamura Hiroomi	4. 巻 213
2. 論文標題 Capsaicin attenuates TGF 2-induced epithelial-mesenchymal-transition in lens epithelial cells in vivo and in vitro	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Experimental Eye Research	6. 最初と最後の頁 108840 ~ 108840
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.exer.2021.108840	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 Otake Hiroko, Yamaguchi Mizuki, Ogata Fumihiko, Deguchi Saori, Yamamoto Naoki, Sasaki Hiroshi, Kawasaki Naohito, Nagai Noriaki	4. 巻 11
2. 論文標題 Transdermal System Based on Solid Cilostazol Nanoparticles Attenuates Ischemia/Reperfusion-Induced Brain Injury in Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nanomaterials	6. 最初と最後の頁 1009 ~ 1009
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nano11041009	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 Goto Ryoka, Yamada Shigehiro, Otake Hiroko, Nakazawa Yosuke, Oka Mikako, Yamamoto Naoki, Sasaki Hiroshi, Nagai Noriaki	4. 巻 13
2. 論文標題 Instillation of Ophthalmic Formulation Containing Nilvadipine Nanocrystals Attenuates Lens Opacification in Shumiya Cataract Rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 1999 ~ 1999
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pharmaceutics13121999	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 Hiramatsu Noriko, Nagai Noriaki, Kondo Masashi, Imaizumi Kazuyoshi, Sasaki Hiroshi, Yamamoto Naoki	4. 巻 54
2. 論文標題 Morphological comparison between three-dimensional structure of immortalized human lens epithelial cells and Soemmering's ring	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medical Molecular Morphology	6. 最初と最後の頁 216 ~ 226
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-021-00280-y	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 Otake Hiroko, Yamaguchi Mizuki, Ogata Fumihiko, Deguchi Saori, Yamamoto Naoki, Sasaki Hiroshi, Kawasaki Naohito, Nagai Noriaki	4. 巻 22
2. 論文標題 Energy-Dependent Endocytosis Is Responsible for Skin Penetration of Formulations Based on a Combination of Indomethacin Nanoparticles and L-Menthol in Rat and Göttingen Minipig	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5137 ~ 5137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22105137	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 Minami Misa, Otake Hiroko, Nakazawa Yosuke, Okamoto Norio, Yamamoto Naoki, Sasaki Hiroshi, Nagai Noriaki	4. 巻 13
2. 論文標題 Balance of Drug Residence and Diffusion in Lacrimal Fluid Determine Ocular Bioavailability in In Situ Gels Incorporating Tranilast Nanoparticles	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 1425 ~ 1425
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pharmaceutics13091425	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 Deguchi Saori, Ogata Fumihiko, Watanabe Masaki, Otake Hiroko, Yamamoto Naoki, Kawasaki Naohito, Nagai Noriaki	4. 巻 13
2. 論文標題 Nanocrystalline Suspensions of Irbesartan Enhance Oral Bioavailability by Improving Drug Solubility and Leading Endocytosis Uptake into the Intestine	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 1404 ~ 1404
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pharmaceutics13091404	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 Gotoh Yusuke, Yamaguchi Teppei, Yatsuya Hiroshi, Ikeda Aki, Okamura Takuya, Sakakibara Yosuke, Ina Takuma, Maeda Yuri, Hirochi Mariko, Kako Hisashi, Goto Yasuhiro, Isogai Sumito, Yamamoto Naoki, Kondo Masashi, Imaizumi Kazuyoshi	4. 巻 21
2. 論文標題 Predictive risk factors for pneumothorax after transbronchial biopsy using endobronchial ultrasonography with a guide sheath	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Pulmonary Medicine	6. 最初と最後の頁 181
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12890-021-01551-1	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 Hatsusaka Natsuko, Yamamoto Naoki, Miyashita Hisanori, Shibuya Eri, Mita Norihiro, Yamazaki Mai, Shibata Teppei, Ishida Hidetoshi, Ukai Yuki, Kubo Eri, Cheng Hong-Ming, Sasaki Hiroshi	4. 巻 16
2. 論文標題 Association among pterygium, cataracts, and cumulative ocular ultraviolet exposure: A cross-sectional study in Han people in China and Taiwan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0253093
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0253093	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 國正茜, 高山綾子, 鵜飼祐輝, 渋谷恵理, 山崎舞, 柴田哲平, 柴田奈央子, 初坂奈津子, 山本直樹, 久保江理, 佐々木洋	4. 巻 33
2. 論文標題 3焦点眼内レンズ挿入眼の残余乱視と焦点深度曲線	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本白内障学会誌	6. 最初と最後の頁 75 ~ 80
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 山本直樹, 佐々木洋	4. 巻 63
2. 論文標題 【特集 房水のサイエンス】4. 白内障と房水	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 眼科	6. 最初と最後の頁 1059 ~ 1064
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 山本直樹, 武田峻, 初坂奈津子, 平松範子, 長井紀章, 出口粧央里, 中澤洋介, 高田匠, 小寺紗千子, 平田晃正, 久保江理, 佐々木洋	4. 巻 125
2. 論文標題 【外国誌要覧】新規不死化ヒト水晶体上皮細胞を用いた低温培養における水晶体蛋白質の影響	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本眼科学会誌	6. 最初と最後の頁 474
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 山本直樹, 久保江理, 佐々木洋	4. 巻 33
2. 論文標題 【外国誌要覧】新規不死化ヒト水晶体上皮細胞株 (iHLEC-NY2) を用いた低温培養における水晶体蛋白質の影響	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本白内障学会誌	6. 最初と最後の頁 82
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 N, Hiramatsu N, Ohkuma M, Hatsusaka N, Takeda S, Nagai N, Miyachi EI, Kondo M, Imaizumi K, Horiguchi M, Kubo E, Sasaki H.	4. 巻 10 (4)
2. 論文標題 Novel Technique for Retinal Nerve Cell Regeneration with Electrophysiological Functions Using Human Iris-Derived iPS Cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells.	6. 最初と最後の頁 743
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells10040743.	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 Yamamoto N, Hiramatsu N, Isogai S, Kondo M, Imaizumi K, Horiguchi M.	4. 巻 53 (2)
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 Yamamoto N, Takeda S, Hatsusaka N, Hiramatsu N, Nagai N, Deguchi S, Nakazawa Y, Takata T, Kodera S, Hirata A, Kubo E, Sasaki H.	4. 巻 9 (12)
2. 論文標題 Effect of a Lens Protein in Low-Temperature Culture of Novel Immortalized Human Lens Epithelial Cells (iHLEC-NY2).	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cells.	6. 最初と最後の頁 2670
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells9122670.	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 Hiramatsu N, Nagai N, Kondo M, Imaizumi K, Sasaki H, Yamamoto N.	4. 巻 Online ahead of print.
2. 論文標題 Morphological comparison between three-dimensional structure of immortalized human lens epithelial cells and Soemmering's ring.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Med Mol Morphol.	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) 10.1007/s00795-021-00280-y.	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 Nagai N, Seiriki R, Deguchi S, Otake H, Hiramatsu N, Sasaki H, Yamamoto N.	4. 巻 12 (6)
2. 論文標題 Hydrogel Formulations Incorporating Drug Nanocrystals Enhance the Therapeutic Effect of Rebamipide in a Hamster Model for Oral Mucositis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pharmaceutics.	6. 最初と最後の頁 532
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pharmaceutics12060532.	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, Fukuoka Y, Sato K, Otake H, Taga A, Oka M, Hiramatsu N, Yamamoto N.	4. 巻 21 (3)
2. 論文標題 The Intravitreal Injection of Lanosterol Nanoparticles Rescues Lens Structure Collapse at an Early Stage in Shumiya Cataract Rats.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 1048
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21031048.	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, Umachi K, Otake H, Oka M, Hiramatsu N, Sasaki H, Yamamoto N.	4. 巻 12 (7)
2. 論文標題 Ophthalmic In Situ Gelling System Containing Lanosterol Nanoparticles Delays Collapse of Lens Structure in Shumiya Cataract Rats.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pharmaceutics.	6. 最初と最後の頁 629
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pharmaceutics12070629.	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 山本直樹, 小島肇夫, 佐々木正治, 竹内小苗, 波多野浩太, 森村智美.	4. 巻 9 (1)
2. 論文標題 2018年改定 OECD TG 438ニワトリ眼球を用いた眼刺激性試験 (Isolated Chicken Eye Test: ICE法).	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 AATEX-JaCVAM	6. 最初と最後の頁 35-42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 山本直樹, 平松範子, 久保江理, 佐々木洋.	4. 巻 32 (1)
2. 論文標題 【総説】基礎研究から拓かれる応用研究・開発研究 細胞基底膜としての水晶体嚢の役割.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本白内障学会誌	6. 最初と最後の頁 41-43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 平松範子, 山本直樹.	4. 巻 32 (1)
2. 論文標題 iPS由来細胞凝集体を用いた水晶体囊再生の試み.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本白内障学会誌	6. 最初と最後の頁 44-46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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26件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 山本直樹, 平松範子, 佐々木洋, 近藤征史, 小島肇
2. 発表標題 【シンポジウム 9: 米国毒性学会合同シンポジウム: 毒性学におけるCRISPR の可能性】医薬品等の生殖毒性試験代替法に有用なヒト由来iPS細胞株の新規開発と応用
3. 学会等名 第48回日本毒性学会学術年会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本直樹, 長井紀章, 中澤洋介, 平松範子, 高田匠, 武田峻, 桶本孟, 石田秀俊, 宮下久範, 柴田哲平, 初坂奈津子, 平田晃正, 久保江理, 佐々木洋
2. 発表標題 新規ヒト不死化水晶体上皮細胞を用いた培養温度の違いによる水晶体蛋白質への影響
3. 学会等名 第125回日本眼科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山崎舞, 高山綾子, 水戸毅, 山本直樹, 久保江理, 佐々木洋
2. 発表標題 白内障眼におけるObjective Scattering Index
3. 学会等名 第125回日本眼科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 初坂奈津子, 桶本孟, 鶴飼祐輝, 関祐介, 関枝里子, 山本直樹, 久保江理, 佐々木洋
2. 発表標題 小兒瞼裂斑の自然経過と発症要因
3. 学会等名 第125回日本眼科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 初坂奈津子, 宮下久範, 桶本孟, 鶴飼祐輝, 清田優希也, 関祐介, 久保江理, 山本直樹, 佐々木洋
2. 発表標題 小兒期の眼部紫外線被ばくと白内障のリスク
3. 学会等名 第125回日本眼科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武田峻, 山本直樹, 長井紀章, 出口粧央里, 柴田哲平, 初坂奈津子, 平田晃正, 久保江理, 佐々木洋
2. 発表標題 体温と白内障病型および水晶体エネルギー代謝との関係
3. 学会等名 第125回日本眼科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福田正道, 柴田奈央子, 柴田哲平, 武田峻, 山本直樹, 久保江理, 佐々木洋
2. 発表標題 PA・ヨード点眼剤の角膜上皮障害に対するレバミピド点眼の予防効果
3. 学会等名 第125回日本眼科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 出口粧央里, 勢力諒太郎, 吉岡涼, 西田未来, 大竹裕子, 山本直樹, 長井紀章
2. 発表標題 レバミピドナノ結晶封入ハイドロゲルは口腔粘膜炎の修復を高める
3. 学会等名 日本薬剤学会第36年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本直樹, 平松範子, 佐々木洋, 河合憲司
2. 発表標題 電子顕微鏡を用いたアトピー白内障と外傷性白内障の前囊下混濁の比較
3. 学会等名 第53回日本臨床分子形態学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本直樹
2. 発表標題 ワークショップ2 眼領域から応用できるMethodology : 眼領域のiPS細胞を用いた水晶体や網膜神経細胞の再生 - 基礎研究から臨床応用の現状
3. 学会等名 第53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 2021年

1. 発表者名 福田正道, 山本直樹, 神山幸浩, 柴田奈央子, 宮下久範, 石田秀俊, 久保江理, 佐々木洋
2. 発表標題 PAヨード頻回点眼による角膜上皮障害に対するレバミピドの予防効果
3. 学会等名 第75回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本直樹, 平松範子, 加藤義直, 佐藤淳, 佐々木洋, 小島肇
2. 発表標題 不死化ヒト角膜上皮細胞 (iHCE-NY1) を用いた三次元角膜再構築モデルによる眼刺激性試験代替法の開発
3. 学会等名 第41回日本眼薬理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本直樹, 平松範子, 長井紀章, 中澤洋介, 高田匠, 宮田佳樹, 武田峻, 永田万由美, 松島博之, 久保江理, 佐々木洋
2. 発表標題 培養温度の違いによるヒト不死化水晶体上皮細胞 (iHLEC-NY2) の遺伝子・蛋白質への影響 (優秀演題受賞)
3. 学会等名 第60回日本白内障学会総会・第47回水晶体研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長井紀章, 武田峻, 出口粧央里, 山本直樹, 中澤洋介, 高田匠, 宮田佳樹, 平松範子, 永田万由美, 久保江理, 佐々木洋
2. 発表標題 温度の違いがヒト水晶体中ミトコンドリア機能へ及ぼす影響: 高環境温度はATPの過剰産生を誘発する
3. 学会等名 第60回日本白内障学会総会・第47回水晶体研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本直樹, 平松範子, 中嶋和紀, 田中美帆, 山口央樹, 平田晃正, 初坂奈津子, 柴田哲平, 柴田伸亮, 石田秀俊, 久保江理, 佐々木洋.
2. 発表標題 不死化水晶体上皮細胞に対する温度がおよぼす影響.
3. 学会等名 第59回日本白内障学会総会・第46回水晶体研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 関祐介, 初坂奈津子, 平田晃正, 清田優希也, 鶴飼祐輝, 関枝里子, 山本直樹, 久保江理, 佐々木洋.
2. 発表標題 環境温度の異なる国内2地域住民における深部温度と水晶体核部後方散乱光強度の比較.
3. 学会等名 第59回日本白内障学会総会・第46回水晶体研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三浦郁亮, 平田晃正, 小寺紗千子, 初坂奈津子, 山本直樹, 久保江理, 佐々木洋.
2. 発表標題 計算機シミュレーションによる白内障発生解明のための眼球中温度推定.
3. 学会等名 第59回日本白内障学会総会・第46回水晶体研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田茂裕, 馬地一稀, 福岡侑也, 大竹裕子, 平松範子, 山本直樹, 酒井裕子, 岡美佳子, 長井紀章.
2. 発表標題 ニルバジピンナノ結晶点眼剤の開発: 遺伝子白内障ラットSCRにおける水晶体混濁進行抑制効果.
3. 学会等名 第59回日本白内障学会総会・第46回水晶体研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 初坂奈津子, 鶴飼祐輝, 清田優希也, 宮下久範, 國正茜, 柴田哲平, 山本直樹, 平田晃正, 久保江理, 佐々木洋.
2. 発表標題 水晶体核部の散乱光増加と深部温度の関係.
3. 学会等名 第59回日本白内障学会総会・第46回水晶体研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長井紀章, 山本哲志, 大竹裕子, 平松範子, 山本直樹, 酒井裕子, 岡美佳子, 多賀淳.
2. 発表標題 ショットガンプロテオミクス解析を用いたSCR水晶体混濁要因の解析.
3. 学会等名 第59回日本白内障学会総会・第46回水晶体研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平松範子, 山本直樹, 市川一夫.
2. 発表標題 発現調整可能な不死化遺伝子を導入した水晶体上皮細胞株の細胞特性.
3. 学会等名 第59回日本白内障学会総会・第46回水晶体研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 桶本孟, 初坂奈津子, 柴田奈央子, 鵜飼祐輝, 関祐介, 関枝里子, 清田優希也, 山本直樹, 久保江理, 佐々木洋.
2. 発表標題 小児期の眼部紫外線被ばくと翼状片のリスク.
3. 学会等名 第74回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 初坂奈津子, 桶本孟, 鵜飼祐輝, 関祐介, 関枝里子, 山本直樹, 久保江理, 佐々木洋.
2. 発表標題 小児瞼裂斑の自然経過と発症要因.
3. 学会等名 第74回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 武田峻, 初坂奈津子, 山本直樹, 宮下久範, 桶本孟, 鶴飼祐輝, 久保江理, 平田晃正, 佐々木洋.
2. 発表標題 漢民族における環境温度と白内障.
3. 学会等名 第74回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福田正道, 山本直樹, 石田秀俊, 関祐介, 柴田奈央子, 久保江理, 佐々木洋.
2. 発表標題 PAコード消毒剤の洗浄量および洗浄時間と角膜上皮細胞障害.
3. 学会等名 第74回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平松範子, 長井紀章, 近藤征史, 今泉和良, 佐々木洋, 山本直樹.
2. 発表標題 不死化ヒト水晶体上皮細胞の三次元細胞凝集体とSoemmering's ring との構造比較.
3. 学会等名 第52回日本臨床分子形態学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

藤田医科大学バイオリソース室 <a href="https://www.fujita-hu.ac.jp/rpsh/center/center10.html">https://www.fujita-hu.ac.jp/rpsh/center/center10.html</a> 金沢医科大学ホームページ <a href="https://www.kanazawa-med.ac.jp/?bb=1#blog_position">https://www.kanazawa-med.ac.jp/?bb=1#blog_position</a> 金沢医科大学ホームページ(英語) News <a href="https://www.kanazawa-med.ac.jp/English/public_html/news/education-and-research/novel-technique-for-retinal-nerve-cell-regeneration-with-electrophysiological-functions-using-human-.html">https://www.kanazawa-med.ac.jp/English/public_html/news/education-and-research/novel-technique-for-retinal-nerve-cell-regeneration-with-electrophysiological-functions-using-human-.html</a> 金沢医科大学ホームページ(英語) News <a href="https://www.kanazawa-med.ac.jp/English/public_html/news/education-and-research/effect-of-a-lens-protein-in-low-temperature-culture-of-novel-immortalized-human-lens-epithelial-cell.html">https://www.kanazawa-med.ac.jp/English/public_html/news/education-and-research/effect-of-a-lens-protein-in-low-temperature-culture-of-novel-immortalized-human-lens-epithelial-cell.html</a>
--



## 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	大熊 真人 (Ohkuma Mahito) (50329710)	藤田医科大学・医学部・講師  (33916)	
研究分担者	長井 紀章 (Nagai Noriaki) (90411579)	近畿大学・薬学部・准教授  (34419)	
研究分担者	平松 範子 (Hiramatsu Noriko) (10802209)	藤田医科大学・バイオリソース室・技術員  (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)	削除：2021年2月26日

	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
研究協力者	加藤 由布 (Kato Yu) (50773412)	藤田医科大学・バイオリソース室・技術員  (33916)	

## 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