

原 著

サンショウウオ胚網膜と水晶体の発生段階に伴う, fibroblast growth factor, transforming growth factor-beta の局在変化

東京女子医科大学 眼科学 (主任: 小暮美津子教授)

シノ ザキ カズ ミ
篠 崎 和 美

(受付 平成9年5月6日)

Sequential Changes in the Localization of Fibroblast Growth Factors and Transforming Growth Factor-Beta in the Retina and Lens During Normal Embryonic Development of the Japanese Salamander**Kazumi SHINOZAKI**Department of Ophthalmology (Director: Prof. Mitsuko KOGURE)
Tokyo Women's Medical College

The localization of acidic fibroblast growth factor (a-FGF), basic fibroblast growth factor (b-FGF) and transforming growth factor-beta (TGF- β) in the retina and lens in the stages of normal embryonic development was immunohistochemically investigated in the Japanese salamander. a-FGF was localized in the neural retina at an early stage but was limited to the posterior pole at a later stage. After the laminar structure had formed, the localization of a-FGF became intense in the photoreceptors. TGF- β was strongly positive in the posterior portion of the neural retina and in the photoreceptors. a-FGF and TGF- β tended to be localized on the anterior side of the lens during lens fiber differentiation. After the nucleus of the lens had formed, the nucleus was stained heavily. b-FGF was localized in the nucleus at the stage of nucleus formation. The results of this study suggested that the growth factors play a role in the induction of morphological differentiation.

緒 言

有尾両棲類の神経網膜層の再生は興味深く研究されてきたが, 科学的な報告は1920年代の Wachs の報告からといわれ, 網膜色素上皮層を残し, 神経網膜を除去した場合に, イモリにおいては, 網膜組織や水晶体が再生することが知られている¹⁾. また, サンショウウオにおける検討で, 北米産サンショウウオは, 同様の処置で網膜の再生が可能とされているが²⁾, 日本産サンショウウオでは, 色素上皮細胞が脱分化し, 増殖はするが, 網膜は再生しないといわれている³⁾. 最近, 網膜移植の実験などが試みられているが⁴⁾, 前述の再生過程が種により異なる要因が明らかになれば, 同種

あるいは異種動物間の網膜移植や増殖性網膜症の増殖抑制など難治性網膜疾患の治療への応用の可能性がある。

眼の形態形成に fibroblast growth factor (FGF), transforming growth factor-beta (TGF- β), insulin-like growth factor (IGF), hepatocyte growth factor (HGF), epidermal growth factor (EGF) などの成長因子が関わっている。このうち, FGF は, 等電点の違いから, acidic-fibroblast growth factor (a-FGF) と basic-fibroblast growth factor (b-FGF) に分けられている⁵⁾. a-FGF は, 網膜, 角膜, 硝子体に, 特に高濃度に含まれており⁶⁾, ウサギ新生児網膜の培養ミューラ

細胞や⁷⁾, ラット新生児網膜の培養ガングリオン細胞の増殖に関与が報告されている⁸⁾. さらに, 水晶体の極性の決定への関与の可能性も考えられている⁹⁾. 一方, b-FGF も, トリ胚で神経網膜層の除去後に, b-FGF を含有するペレットを眼内に挿入すると, 神経網膜の再生を促す¹⁰⁾. さらに, ヒト房水中の存在¹¹⁾やマウス胚の水晶体後囊に吸着することが知られている¹²⁾. また, TGF- β は環境条件により細胞の増殖を促進したり, 抑制的に働くとされ¹³⁾, ラット脳ではグリア細胞の増殖を抑制するといわれている¹⁴⁾. ヒト水晶体では水晶体上皮細胞の増殖を抑制し, コラーゲン産生を促進するとされている¹⁵⁾. この FGF と TGF- β は, 脱分化への関与も指摘されており¹⁶⁾, これらの成長因子の発生段階における関わりをみることは興味深い. また, 数種類の成長因子がクロストークして作用すると考えられるので, これらの成長因子の局在は, 同一標本で観察することが重要であるが, これまでに行われていない.

そこで, 網膜色素上皮細胞の分化転換の可能性を検討する基礎実験として, 両棲類のうちまだ不明な点が多く, 種により差のみられるサンショウウオについて, まず, 観察することにした. 日本産サンショウウオ胚網膜と水晶体の発生過程の形態変化と, これに伴う a-FGF, b-FGF と TGF- β の局在変化を連続切片で免疫組織化学的手法を用い観察し, これらの成長因子の発生過程の形態変化や分化への相互の関与について検討した.

対象および方法

1. 対象

日本両棲類研究所 (所長: 篠崎尚次博士) から恵与された日本産カスミサンショウウオ (*Hynobius nebulosus*, 以下サンショウウオ) 胚において, 眼胚が分化段階にあるもので, 切片作製時に左右の眼胚が得られた20匹である. サンショウウオの発生段階は, 澤野によるトウホクサンショウウオの発生段階図¹⁷⁾を参考にして, 実体顕微鏡下で観察し, ステージ分類を行った. 今回用いたサンショウウオ胚の各群はステージ24~49に相当した (図1).

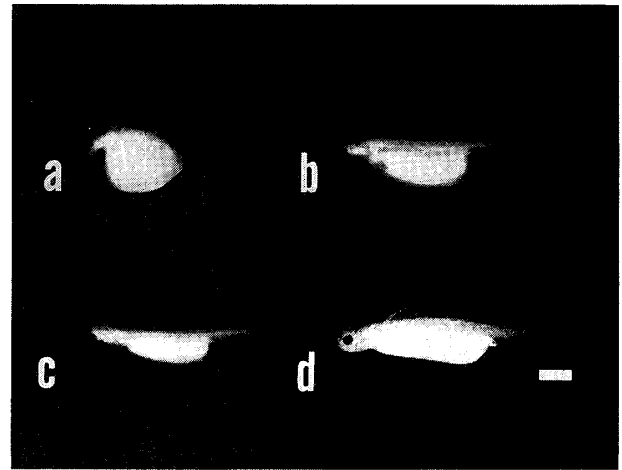


図1 サンショウウオ胚の全身像 (バーは2mm)
 a: ステージ24. 体節が明瞭になり, 顎群, 鰓群も明瞭になる. b: ステージ38. 胴部が伸長し, 頭部に眼胞のふくらみがみられ, 鰓芽が伸びて先端部が後方に屈曲. c: ステージ40. 眼球に色素細胞が出現し, 鰓が伸長し分岐の数が増加. d: ステージ43. 鰓が一層伸長, 少し開口している.

2. 方法

サンショウウオ胚は, ブアン液で10°C24時間固定後, エタノール系列で脱水し, パラフィン包埋後, 各ステージでの左右の眼胚を通る前頭部前額断の3 μ mの切片を作製した.

まず, ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を施して, サンショウウオの発生様式を, イモリとヒトの発生様式をもとに¹¹⁾⁸⁾, 各段階の組織像の形態観察をした. 同一標本の連続切片で a-FGF, b-FGF, TGF- β の免疫組織化学的観察を行い, 次いで, 網膜における視覚受容機能を確認するために, GTP 結合蛋白の局在も免疫組織化学的に確認した.

免疫染色は脱パラフィン後, 切片は0.3%過酸化水素水加メタノールを用いて, 内因性ペルオキシダーゼ活性の阻止を30分間行い, 次いで, 37°Cで0.1%トリプシンと室温で TRITON-X[®]でそれぞれ15分間前処理を行った. 一次抗体は4°Cのもとで12時間反応させた. 一次抗体としては, 抗ウシ a-FGF マウスモノクローナル抗体 (1:50, Upstate Biotechnology, USA), 抗ウシ b-FGF マウスモノクローナル抗体 (1:100, Upstate Biotechnology, USA), 抗ニワトリ卵黄 TGF- β 1

マウスモノクローナル抗体(1:1,000, 森永化学研究所池田建比古博士から恵与)と, 抗ウシGTP結合蛋白GO α サブユニット家兎ポリクローナル抗体(1:100, 医学生物学研究所, 日本)を用いた. 免疫組織学的染色はABC法(VECTASTAIN[®] VECTOR社)を用い, ビオチン化二次抗体およびアビジン・ビオチン・ペルオキシダーゼ複合体と60分間ずつ反応させた. 0.02%3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB)-0.005% H₂O₂で呈色をして, ヘマトキシリン液(マイヤー)で核染色を行った. この際, 正常動物血清で反応させたものを陰性対照とした.

結 果

1. HE染色による発生学的概略(図2)

網膜と水晶体の分化を(表1)にまとめた. 網膜原基は, ステージ24では, 多列円柱上皮の状態である. ステージ38では, 卵円形と円形の核をも

表1 網膜と水晶体の分化過程

ステージ	網膜原基	水晶体原基
24	多列円柱上皮	水晶体板
38	卵円形と円形の核を持つ細胞が多列網膜色素上皮	水晶体上皮細胞 水晶体繊維 胎生核
40	層構造網膜色素上皮	水晶体上皮細胞 水晶体繊維 胎生核
43	層構造視細胞網膜色素上皮	水晶体上皮細胞 水晶体繊維 胎生核

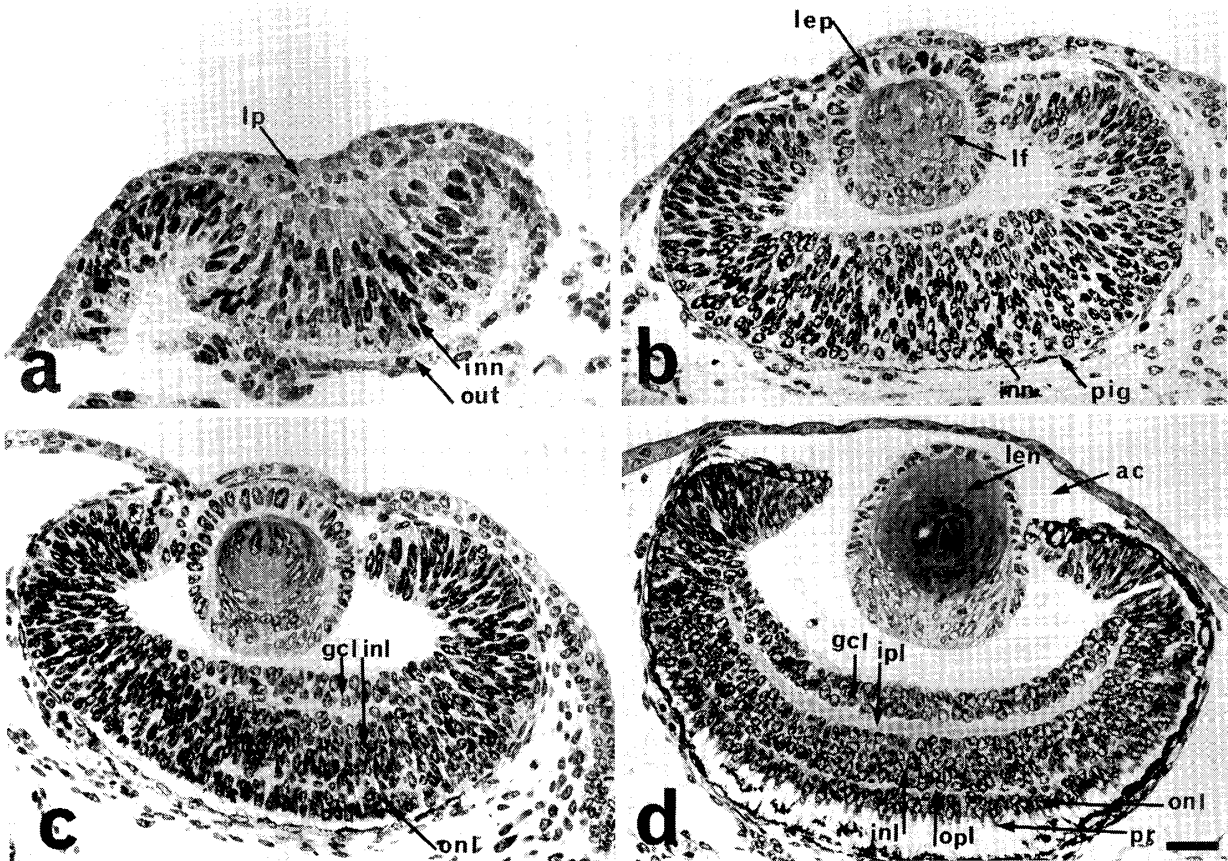


図2 発生学的概略(バーは50 μ m)

a: ステージ26. lp; 水晶体原基, inn; 眼胚内板(網膜原基), out; 眼胚外板. 網膜原基は多列円柱上皮. **b:** ステージ38. lep; 水晶体上皮, lf; 水晶体繊維, inn; 眼胚内板(網膜原基), pig; 網膜色素上皮. 網膜原基には, 卵円形と円形の核の細胞を認める. **c:** ステージ40. gcl; 神経節細胞層, inl; 内顆粒層, onl; 外顆粒層. **d:** ステージ43. len; 水晶体, ac; 前房, gcl; 神経節細胞層, ipl; 内網状層, inl; 内顆粒層, opl; 外網状層, onl; 外顆粒層, pr; 網膜色素上皮層.

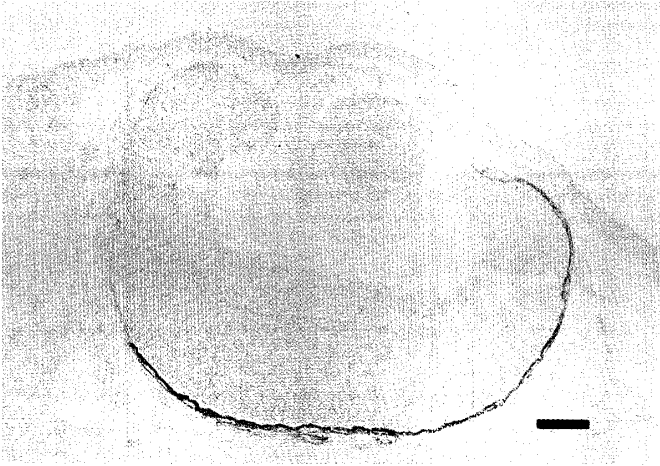


图 3

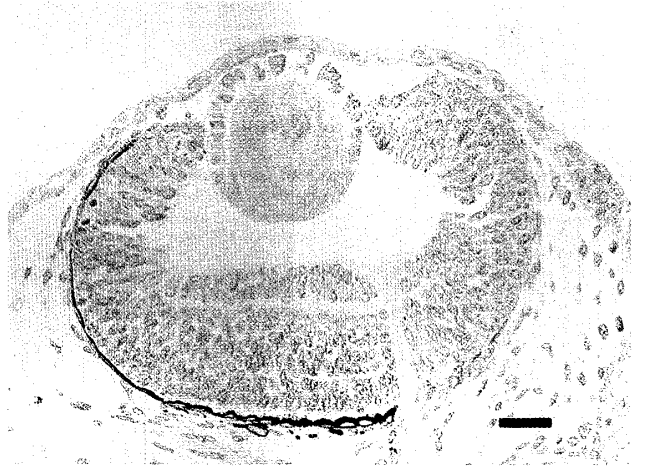


图 5

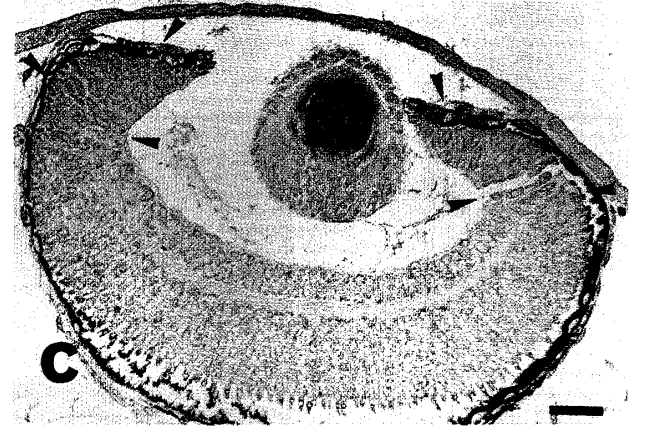
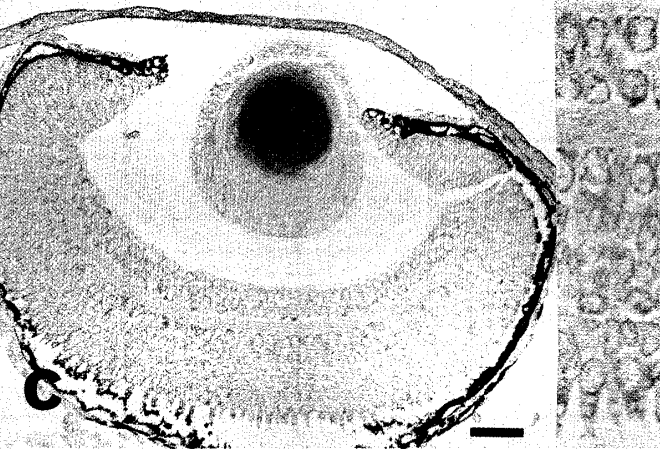
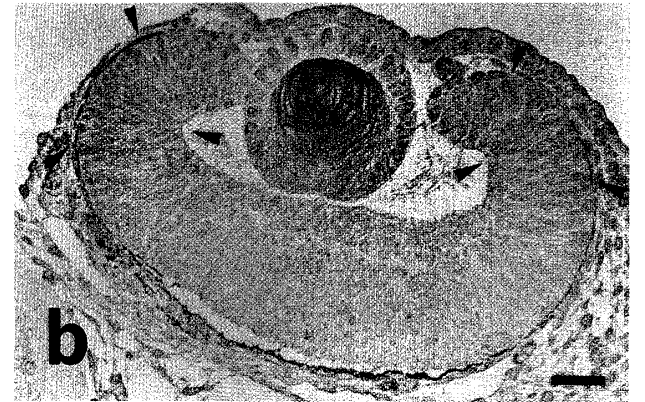
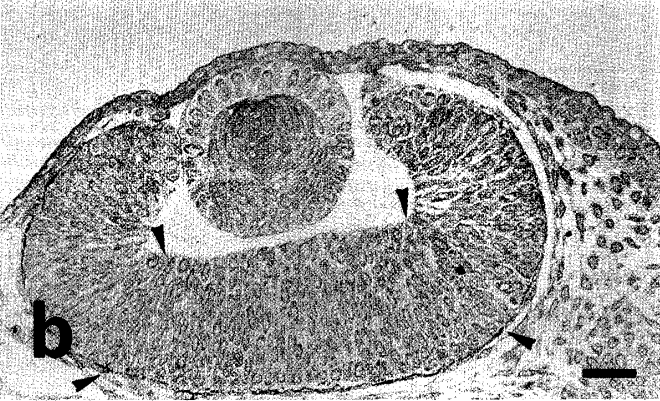
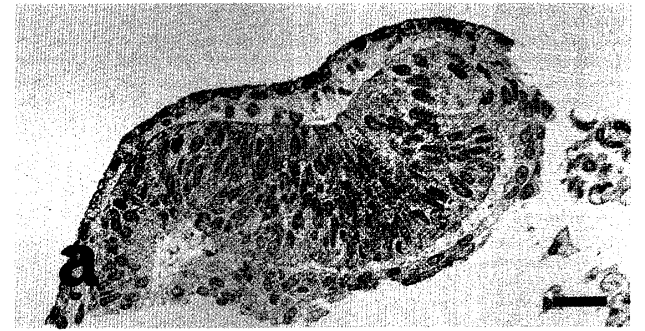
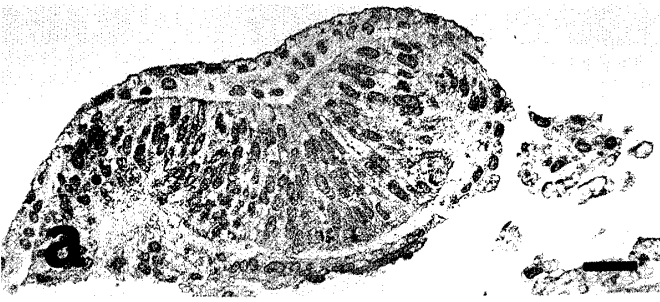


图 4

图 6

つ細胞が多列になり，網膜色素上皮の出現が認められる。ステージ40になると，層構造が形成され，ステージ43には，視細胞が観察された。また，水晶体においては，ステージ24は，水晶体板の状態であった。ステージ38からは，水晶体上皮細胞，水晶体繊維，胎生核が認められた。

G 蛋白の局在は，ステージ41ごろから，網状層に陽性所見を認めた（図3）。

2. a-FGF の免疫組織化学的局在（図4）

1) 網膜

ステージ26と38は，網膜原基を構成する全ての細胞の細胞質の核周囲に局在を認めた。ステージ38になると後極側により強く染色された。ステージ40から，層構造が形成され，後極側で内網状層に接して配列する細胞の群に，陽性所見が強くなった。ステージ43になると，視細胞を認め，さらに，視細胞の色素上皮側にも強い陽性所見を示した。

2) 水晶体

ステージ26は，網膜原基と同様に，構成している全細胞の核周囲に強い陽性所見が認められた。ステージ38から，水晶体繊維の角膜側に局在する傾向がみられた。ステージ43においては，水晶体核に強く染色された。

3. b-FGF の免疫組織化学的局在（図5）

1) 網膜

いずれのステージにも陽性所見は認めなかった。

2) 水晶体

ステージ41から，水晶体核に局在を観察した。

4. TGF- β の免疫組織化学的局在（図6）

1) 網膜

ステージ26と38は，網膜原基全体に細胞質の核の周囲に微弱な陽性所見を示すのみだった。ステージ40からは，局在が明らかになり，網膜原基の周辺側が後極側に比較して強い陽性所見を示した。ステージ43では，視細胞の色素上皮側にも，強い局在が観察された。

2) 水晶体

ステージ26は，網膜原基と同様な微弱な限性所見を示すのみだった。ステージ38では，a-FGFと同様に水晶体繊維の角膜側に陽性所見を認めた。ステージ43になると，水晶体核の中心部に強く陽性所見を示した。

5. 発生段階に伴う a-FGF, b-FGF と TGF- β の局在変化（図7）

網膜において，a-FGF は，初期には，全体に局在を認め，分化に伴い後極側に偏在した。層構造が形成されると，網状層に陽性所見が強くなり，さらに分化が進行すると，視細胞にも局在を認めた。TGF- β は，発生が進んでから強く染色され，周辺側が後極側より強く陽性所見を示し，視細胞にも局在が観察された。一方，水晶体では，a-FGF と TGF- β ともに，水晶体繊維に分化した時期には，角膜側に局在する傾向がみられ，水晶体核ができるまで，同部は強く染色された。また，TGF- β は水晶体上皮に分化が進行してから強く陽性所見を示した。そして，b-FGF は，水晶体核を認める

図3 G 蛋白の免疫組織化学的局在（バーは50 μ m）

ステージ41. 内・外網状層になる層に局在を認める。

図4 a-FGF の免疫組織化学的局在（バーは50 μ m）

a：ステージ26. b：ステージ38. 網膜の後極部に強い陽性所見を認める（矢印で示す）。c：ステージ43. 網膜の後極部の網状層に接する細胞や視細胞に強く染色している。囲んだ部位を拡大したところを右に示す。

図5 b-FGF の免疫組織化学的局在（バーは50 μ m）

ステージ41. 水晶体に陽性所見を認める。

図6 TGF- β 免疫組織化学的局在（バーは50 μ m）

a：ステージ26. b：ステージ40. 網膜原基の周辺部に強い陽性所見を認める（矢印で示す）。c：ステージ43. 周辺部の強い陽性所見（矢印で示す）に加えて，網状層に接する細胞や視細胞に強く染色している。

なお，網膜色素上皮層の色素は，上皮細胞に含まれるメラニンであり，DAB による発色ではない。

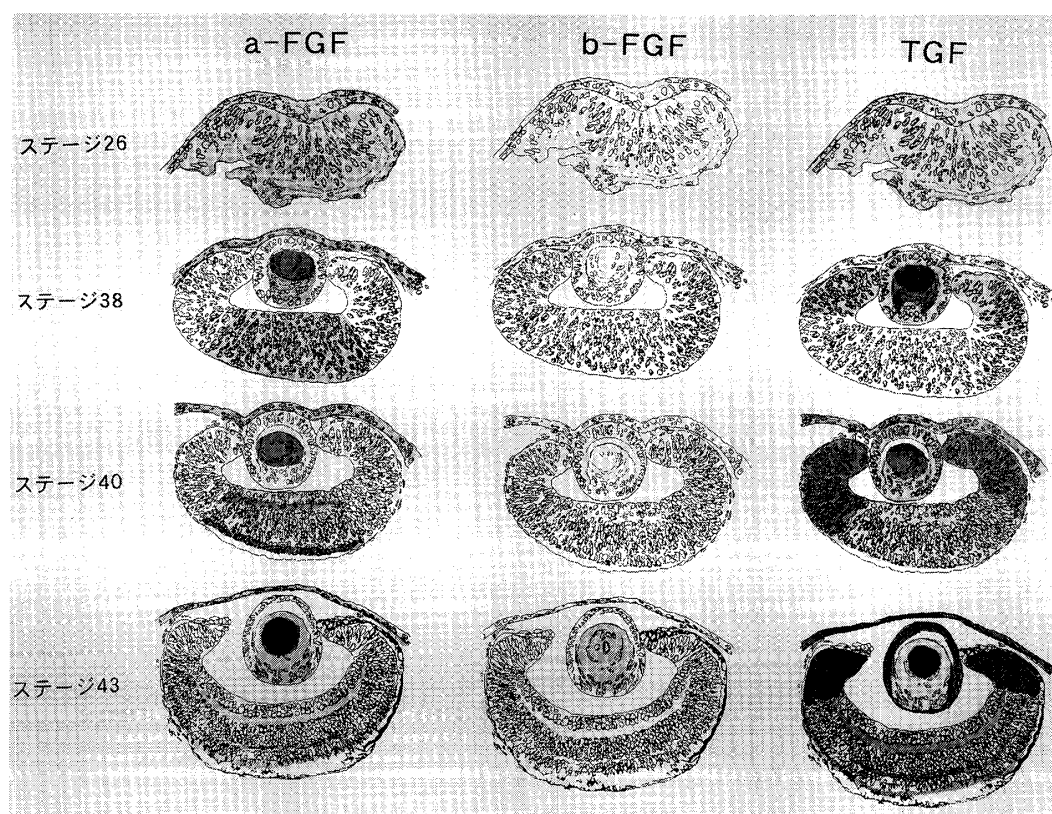


図7 a-FGF, b-FGF と TGF- β の発生段階に伴う局在変化
網かけの部分か、強い陽性所見の部位。

時期になり、核に局在を認めた。

いずれの陰性対照も染色されなかった。

考 察

1. 発生学的概略

レンズプラコードについては、両棲類以外のヒトなどは、体表外胚葉の全体から分化するが、両棲類では2葉からなる体表外胚葉の内葉の感覚層から分離する点異なる¹⁾。しかし、サンショウウオの網膜と水晶体の発生段階を、亀山義郎の発生段階表¹⁸⁾を参考にして、ヒト、ラット、マウスやウサギと比較したところ、表2、3に示すように、分化の時期は種により異なるが、網膜原基や水晶体板からの発生過程は、ヒト、ラットやマウスにほぼ類似していると思われた。一方、神経から細胞内への情報伝達に参与するG蛋白は、網膜でも杆体から神経細胞への情報伝達に関わっている¹⁹⁾。ステージ41からG蛋白の存在を確認できたことは、感覚器としての機能分化を示す根拠と考えられた。

表2 異種動物間における網膜の分化の時期

神経内板・外板	サンショウウオ	ヒト	ラット	マウス	ウサギ
	ステージ	胎齡	胎齡	胎齡	胎齡
多列円柱上皮	24	4週	11日	9.5日	10日
卵円形と円形の核を持つ細胞が多列網膜色素上皮(単層)	38	5週	13日	12日	14日
層構造	40	8週	16日	14日	
視細胞	43	16週	21日	19日	

(亀山義郎¹⁸⁾の発生段階表を改変)

表3 異種動物間における水晶体の分化の時期

水晶体原基	サンショウウオ	ヒト	ラット	マウス	ウサギ
	ステージ	胎齡	胎齡	胎齡	胎齡
水晶体板	24	4週	11日	9.5日	10日
水晶体上皮細胞 水晶体1次繊維 胎生核	38	7週	12日	12日	12日
水晶体上皮細胞 水晶体2次繊維 胎生核	43	10週	16日	16日	

(亀山義郎¹⁸⁾の発生段階表を改変)

2. a-FGF の免疫組織化学的局在について

網膜に関しては、胎齢10日から18日のラットでの a-FGF の局在は、本研究と類似した部位に陽性所見を示している²⁰⁾。さらに、胎齢20日のラットで、網膜の神経繊維や内網状層に認められており²¹⁾、サンショウウオの発生過程でも網膜の層構造が形成されるステージ40頃より、網状層になる部位に強く陽性所見を呈する傾向にあった。これらより、日本産サンショウウオとラットとは共通した局在傾向にあると考えられた。

次いで、網膜のいずれの細胞に作用するかに関しては、神経細胞とグリア細胞のどちらに強く作用しているか定説はない。ヒトとウシから得た眼球で内網状層や外網状層に陽性所見が強く、ガングリオン細胞には弱かったという報告や⁵⁾、ウサギ新生児の網膜のミュラー細胞の培養細胞では a-FGF は50ng/ml で最も細胞増殖を促進する結果が得られている⁶⁾。その一方、ラット新生児網膜の培養ガングリオン細胞で再生に⁷⁾、ゴールドフィッシュの網膜において a-FGF の硝子体中への注入が杆体の前駆細胞の増殖に関与しているという報告もある²²⁾。

また、時間的発現は、ラットの網膜において、a-FGF の mRNA を検索した報告では、胎生17日では低いレベルで、生後7日から急増し、13日目には成熟ラットのレベルに達し、胎生期の3倍の mRNA が存在するといわれている²³⁾。今回、全ステージとも強く陽性所見を認めているので、時期により、a-FGF の作用機序が、パラクリンからオートクリンに変化することも推測される。さらに、分化が進むに従い、偏在傾向を示し、網状層にあたる部位の境界部や視細胞の色素上皮側に強い染色性を認めたことから、網膜の形態分化の誘導への関与が示唆された。

水晶体では、胎齢13日のラットでは、a-FGF の局在は今回の結果と類似しているが²⁰⁾、胎齢20日のラットでは、水晶体の赤道部に a-FGF の強い陽性所見が観察されている⁹⁾²¹⁾。今回の結果と局在が異なるが、サンショウウオでは、水晶体二次繊維の細胞分裂部が、赤道部ではなく後極部のように観察されたので、この細胞分裂部の違いによるも

のかかもしれない。さらに、ヒトの水晶体上皮細胞の増殖が、a-FGF においては、100ng/ml のみで認められており⁸⁾、a-FGF が水晶体へ作用するには局在だけではなく、濃度も重要な条件と考えられる。本研究においても、角膜側に強く、分化の進行に伴い水晶体核に強く染色されていたことから、水晶体の極性や分化に関与していると思われる。

3. b-FGF の免疫組織化学的局在について

サンショウウオにおいて、今回観察した発生段階では、網膜では局在が認められなかった。ラットにおいても、初期には局在が認められず、胎齢16日からガングリオン細胞に認められている²⁰⁾。ニワトリ胚の網膜色素上皮において、3種類の FGF レセプターの発現が観察されており²⁴⁾、また、網膜の再生への関与¹⁰⁾もいわれている。したがって、網膜に関しては、発生の初期には関与が少なく、分化が進行した段階で関与してくるのかもしれない。

水晶体において、分化の進んだ胎齢16日のラットで b-FGF の局在がみられており²⁰⁾、胚の段階ではないが、水晶体上皮細胞の細胞表面に FGF のレセプターが免疫組織化学的に確認されており²⁵⁾、分化が進んだ段階で水晶体へ作用することも考えられる。

4. TGF- β の免疫組織化学的局在について

初期胚における誘導は分化の方向だけでなく個体の3次元的な形態を形成するための軸の決定をしている²⁶⁾。今回の観察において、網膜原基では、時期が進むに従い、強い陽性構造を認め、視細胞の色素上皮側、網膜原基の両端に陽性所見が強かった。この結果から、神経網膜への分化の制御、増殖を抑制し、形態形成に関連していると想定される。

一方、生後13週のラットで、TGF- β の type I・II レセプターが、水晶体上皮細胞には陽性で、水晶体繊維には陰性とされている²⁷⁾。今回、水晶体繊維細胞に陽性所見がみられた。水晶体発生過程における TGF- β の局在意義は、TGF- β の作用が多様なため、他の成長因子との関連も考えながら検討が必要と思われる。

5. 発生段階に伴う a-FGF, b-FGF と TGF- β の局在変化について

網膜原基において a-FGF は分化や増殖に促進的に作用し, TGF- β は, 抑制的に作用していることが推定される. 水晶体においては, a-FGF, TGF- β ともに, 強く染色される部位が移動し, 両者とも水晶体の前後の決定に関与している可能性がある. また, TGF- β は分化が進行してから, 水晶体上皮に強く染色され, 水晶体上皮細胞の増殖の継続に重要な働きをしている可能性がある. b-FGF は分化が進行してから陽性所見を示し, 発生過程よりも組織の維持に重要な因子なのかもしれない.

発生過程におけるニワトリ胚で神経網膜を除去し, 発生初期の眼胚前部の小片を挿入すると網膜神経層が誘導できるといわれており²⁸⁾, 水晶体の極性に対して網膜の関与²⁹⁾を示唆する報告がある. 今後, これら成長因子が, パラクリンに作用するか, オートクリンに作用するか検討する必要がある. また, アフリカツメガエルを用いた実験で発生初期に b-FGF が, 0.2ng/ml 以下の低濃度では神経系頭尾軸を頭部側で発現するマーカーが誘導され, 濃度が増すに連れ漸次尾部のマーカーが誘導されるという報告もある³⁰⁾. したがって, 局在していても濃度により組織に対する作用機転が異なると考えられ, 局在と濃度の検討も今後必要である.

結 論

サンショウウオ胚網膜と水晶体の発生学的概略と発生段階に伴う, a-FGF, b-FGF, TGF- β の局在の変化を免疫組織化学的に検討した. その結果, 眼胚からの発生過程における分化はほぼヒトに類似していた. また, 免疫組織化学的検査の結果, 網膜において, a-FGF は, 初期には, 全体に局在を認め, 分化に伴い後極側に偏在した. 層構造が形成されると, 網状層に陽性所見が強くなり, さらに分化が進行すると, 視細胞にも局在を認めた. TGF- β は, 発生が進んでから強く染色され, 周辺側が後極側より強く陽性所見を示し, 視細胞にも局在が観察された. 一方, 水晶体では, a-FGF と TGF- β は, 水晶体繊維に分化した時期には, 角膜

側に局在する傾向がみられ, 水晶体核ができると, 同部は強く染色された. b-FGF は, 水晶体核を認める時期になり, 核に局在を認めた. 形態分化の誘導にこれら成長因子の関与が示唆された.

御校閲いただいた小暮美津子教授, 実験の指導をしていただいた第一病理学教室・小林槇雄教授, 抗体を御恵与いただいた森永生化学研究所・池田建比古先生, サンショウウオを御恵与いただいた日本両棲類研究所長・篠崎尚次先生とサンショウウオの御恵与と御意見もいただいた日本両棲類研究主任研究員, 東京歯科大学市川総合病院眼科・篠崎尚史先生, 実験をはじめにあたり御教示いただいた岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所形態形成研究部門・上野直人教授, 筑波大学・斎藤建彦教授, 実験技術において御協力いただいた第一病理学教室・竹入英幸技術員, 御支援いただいた眼科学教室・高村悦子先生, 東京歯科大学市川総合病院眼科・坪田一男教授に深謝致します.

文 献

- 1) 江口吾郎: 水晶体の再生. pp5-45. 岩波書店, 東京(1980)
- 2) Wolff G: Entwicklungs-physiologische Studien. Arch Entw Mech Org 1: 380-390, 1895
- 3) 篠崎尚史, 平形明人: TGF- β と網膜. 実験医 10(15増刊): 1877-1885, 1992
- 4) 山口克宏: 網膜移植研究の展開. 日眼会誌 97: 555-562, 1993
- 5) Baird A, Esch F, Gospodarowicz D et al: Retina- and eye-derived endothelial cell growth factors: Partial molecular characterization and identity with acidic and basic fibroblast growth factors. Biochemistry 24: 7855-7860, 1985
- 6) Caruelle D, Groux-Muscattelli B, Gaudric A et al: Immunological study of acidic fibroblast growth factor (aFGF) distribution in the eye. J Cell Biochem 39: 117-128, 1989
- 7) Scherer J, Schnitzer J: Growth factor effects on the proliferation of different retinal glial cells in vitro. Brain Res Dev Brain Res 80: 209-221, 1994
- 8) Lipton SA, Wagner JA, Madison RD et al: Acidic fibroblast growth factor enhances regeneration of processes by postnatal mammalian retinal ganglion cells in culture. Proc Natl Acad Sci USA 85: 2388-2392, 1988
- 9) McAvoy JW, Chamberlain CG, de Iongh RU et al: The role of fibroblast growth factor in

- eye lens development. *Ann N Y Acad Sci* 638 : 256-274, 1991
- 10) **Pittack C, Jones M, Reh TA** : Basic fibroblast growth factor induces retinal pigment epithelium to generate neural retina in vitro. *Development* 113 : 577-588, 1991
 - 11) **Tripathi RC, Borisuth NS, Tripathi BJ** : Detection, quantification, and significance of basic fibroblast growth factor in the aqueous humor of man, cat, dog and pig. *Exp Eye Res* 54 : 447-454, 1992
 - 12) **Jeanny JC, Fayein N, Moenner M et al** : Specific fixation of bovine brain and retinal acidic and basic fibroblast growth factors to mouse embryonic eye basement membranes. *Exp Cell Res* 171 : 63-75, 1987
 - 13) 平井玲子 : TGF- β の細胞生物学. *実験医* 10(15増刊) : 1826-1832, 1992
 - 14) **Lindholm D, Castren E, Kiefer R et al** : Transforming growth factor-beta 1 in the rat brain: Increase after injury and inhibition of astrocyte proliferation. *J Cell Biol* 117 : 395-400, 1992
 - 15) 北岡 隆 : 細胞増殖因子. 「眼科診療プラクティス 22 やさしい眼の細胞・分子生物学」(丸尾敏夫, 本田孔子, 白井正彦ほか編), pp26-31, 文光堂, 東京(1996)
 - 16) 阿形清和, 江口吾朗 : 分化転換の分子機構. *実験医* 9(7増刊) : 686-691, 1991
 - 17) 澤野十蔵 : 「東北山椒魚の発生段階図」, pp1-14, ぐるす文庫, 札幌(1947)
 - 18) 亀山義郎 : 眼球の発生異常. 「薬物と感覚障害II 1.4」(中島 章, 秋吉正豊編), pp52-69, ソフトサイエンス社, 東京(1980)
 - 19) **Konig B, Arendt A, McDowell JH et al** : Three cytoplasmic loops of rhodopsin interact with transducin. *Proc Natl Acad Sci USA* 86 : 6878-6882, 1989
 - 20) **de Iongh R, McAvoy JW** : Spatiotemporal distribution of acidic and basic FGF indicates a role for FGF in rat lens morphogenesis. *Dev Dyn* 198 : 190-202, 1993
 - 21) **de Iongh R, McAvoy JW** : Distribution of acidic and basic fibroblast growth factors (FGF) in the foetal rat eye: Implications for lens development. *Growth Factors* 6 : 159-177, 1992
 - 22) **Negishi K, Shinagawa S** : Fibroblast growth factor induces proliferating cell nuclear antigen-immunoreactive cells in goldfish retina. *Neurosci Res* 18 : 143-156, 1993
 - 23) **Bugra K, Oliver L, Jacquemin E et al** : Acidic fibroblast growth factor is expressed abundantly by photoreceptors within the developing and mature rat retina. *Eur J Neurosci* 5 : 1586-1595, 1993
 - 24) 藤原美樹 : ニワトリ胚網膜色素上皮に発現する線維芽細胞成長因子レセプター遺伝子. *日眼会誌* 98 : 81-86, 1995
 - 25) 馬嶋清如, 高坂昌志 : ヒト水晶体上皮細胞における上皮成長因子, 塩基性線維芽細胞成長因子の存在. *日眼会誌* 99 : 625-629, 1994
 - 26) **Woodland HR** : Mesoderm formation in *Xenopus*. *Cell* 59 : 767-770, 1989
 - 27) **Obata H, Kaburaki T, Kato M et al** : Expression of TGF-beta type I and type II receptors in rat eyes. *Curr Eye Res* 15 : 335-340, 1996
 - 28) **Mascarelli F, Raulais D, Counis MF et al** : Characterization of acidic and basic fibroblast growth factors in brain, retina and vitreous chick embryo. *Biochem Biophys Res Commun* 14 : 47-86, 1987
 - 29) **Coulombre JL, Coulombre AJ** : Lens development: Fiber elongation and lens orientation. *Science* 142 : 1489-1490, 1963
 - 30) **Kengaku M, Okamoto H** : bFGF as possible morphogen for the anteroposterior axis of the central nervous system in *Xenopus*. *Development* 121 : 3121-3130, 1995