

Tsubo Lab

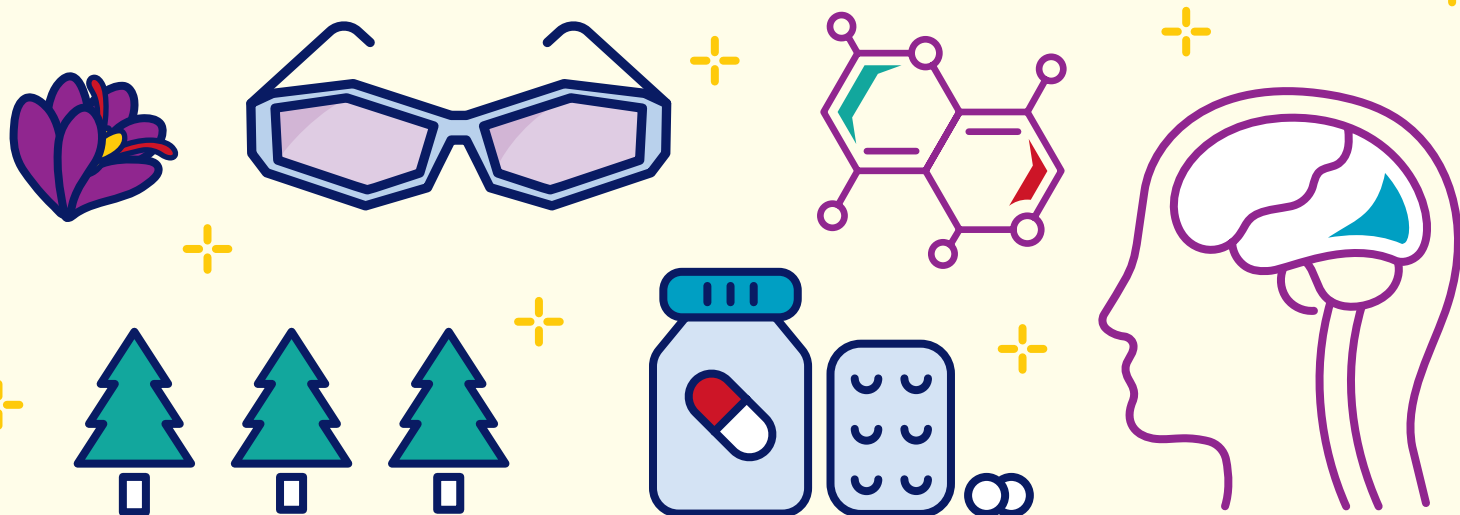
Annual Report 2022, Vol. 4 Tsubota Laboratory, Inc.

January 1, 2022 - December 31, 2022



VISIONary INNOVATION

GO OUT T-Shaped Strategy



株式会社 坪田ラボ 年次報告書 第4号（2022年）
Annual Report 2022, Vol. 3 Tsubota Laboratory, Inc.

目次 Contents

ご挨拶 CEO Greeting	2
巻頭対談 Special Dialogue	4
非視覚型オプシン研究の最前線 Frontiers of Non-visual Opsins ワシントン大学・眼科学 ラッセル・N・ファンゲルダー教授 坪田ラボ CEO 坪田 一男 Russell N. Van Gelder & Kazuo Tsubota	
研究報告 Research Reports	12
・ドライアイ研究、開発アップデート（坪田 一男） Updates on Dry Eye Research and Development (Kazuo Tsubota)	
・近視生物学の発展（栗原 俊英） Developments in Myopia Biology (Toshihide Kurihara)	
・非視覚光受容体 OPN5 による認知症、うつ病などの脳機能改善（早野 元詞） Non-visual Photoreceptor OPN5 Improves Brain Function in Diseases such as Dementia and Depression (Motoshi Hayano)	
・バイオレット光による非侵襲的パーキンソン病治療法の開発・研究報告（服部 信孝） The Use of Violet Light in Non-invasive Treatment of Parkinson's Disease: Research & Development Report (Nobutaka Hattori)	
・うつ病に対するバイオレット光による非侵襲的ニューロモデレーション治療法の開発に向けた二重盲検 ランダム化クロスオーバー試験（野田 賀大） A Double-Blind Randomized Crossover Trial to Develop a Non-invasive Neuromodulation Therapy with Violet Light for Depression (Yoshihiro Noda)	
・バイオレットライトで理想の睡眠を（満倉 靖恵） Optimal Sleep with Violet Light (Yasue Mitsukura)	
・ケラパイオ：円錐角膜の新しい治療法と診断法（小橋 英長） KeraVio: A Novel Treatment and Diagnosis for Keratoconus (Hidenaga Kobashi)	
坪田ラボへのメッセージ Messages for Tsubota Laboratory	22
業績 Achievements	24
坪田ラボ 2022年 10大ニュース Tsubota Laboratory - Top Ten News	28
メディア掲載 Mass Media 特許件数 Tsubota Lab Patents	30
世界における対象疾患の推定患者数 Estimated number of patients living with targeted diseases around the world	31
財務資料 Financial Data	32
第1回「坪田ラボ・オープンキャンパス」開催 The First Tsubota Laboratory Open Campus	34
慶應義塾大学医学部発ベンチャー協議会とともに In Tandem with the Association of Startups from Keio University School of Medicine	35
坪田ラボの事業戦略（T型戦略）とGO OUTという経営 The Tsubota Laboratory Philosophy: T-shaped Strategy and GO OUT	36
沿革 History	37
役員一覧 Board Members	38
編集後記 Postscript	39



巻頭言 Greeting

おかげさまで2022年6月23日に株式会社坪田ラボは東証グロース市場に上場しました。この場をかりまして、あらためて心から感謝申し上げます。今までサポートしてくださいました皆様、そしてこれからご縁をいただく皆様に心からお礼申し上げます。

2022年6月は株式市況が不安定で、必ずしも新規上場に適したタイミングではありませんでした。それでもそれが可能となったのはみんなで力をあわせて黒字経営を実践し、大学発ベンチャーの模範となろうという理念を貫いてきたからだと思います。一般的に大学発スタートアップでは赤字があたりまえです。でも坪田ラボの信条は“ごきげんをキーワード”としています。「黒字と赤字では黒字の方がごきげんだ！」という単純な考えからみんなで工夫して新しいビジネスモデルを創ったのです。すなわち、しっかりとしたサイエンスに基づいて、医薬品や医療器具の開発パイプラインを多数持ち、これを早期に導出してマネタイズするというモデルです。こうしたビジネスモデルは、他のベンチャー企業には見られない、当社の強みとなっています。

On June 23, 2022, Tsubota Laboratory, Inc. was listed on the Tokyo Stock Exchange Growth Market. May I take this opportunity to offer my deepest gratitude once again, both to those who supported our past efforts as well as to individuals joining us on future endeavors.

June 2022 was perhaps not ideal timing for a new listing, given the unstable stock market conditions. Nevertheless, I believe we prevailed by striving together for practice profitable management and adhering to our tenet of serving as a model for university-launched ventures. It usually goes without saying that university startups will sink into the red. However, *gokigen* (happiness with a positive outlook) is the steadfast keyword of the Tsubota Lab doctrine. “Given the choice between a surplus and a deficit, we’ll take the surplus—that’s the *gokigen* way!” That was the simple notion that led us to brainstorm our way to the creation of a new business model. Specifically, the model should be grounded in solid science, have multiple developmental pipelines for drugs or medical devices, and see them out-licensed and monetized at an early stage. This business model, absent in other startups, is our strength.



株式会社坪田ラボ CEO
坪田一男
Kazuo Tsubota, CEO
Tsubota Laboratory, Inc.



先日第3回の坪田ラボOKR合宿を行いました。OKRはObjectives & Key Resultsの略でグーグルなどが用いている目標管理システムです。多くの会社ではMBO (management by objective) を用いていますが、我々は目標をちょっとストレッチする、わくわくするチャレンジをするというOKRシステムを使っています。その合宿で坪田ラボのKey Success Factors (KSF成功要因) は何かをディスカッションしました。

そしてその中で、“良質なパイプラインを数多く創成、パートナーに導出し、しっかりと進捗管理する”が候補としてあがりました。

まだまだ社内でもディスカッションが必要ですが早期に導出するため多数のパイプラインを継続して創り出すことが重要であることは明白だと思います。坪田ラボではこれらのKSFを深く考え、10年後には「未来をごきげんにできた！」と胸をはって言えるようにチャレンジしていきたいです。これからもよろしくご指導ください！

We recently held our third Tsubota Lab OKR Camp. Objectives & Key Results, abbreviated as “OKR,” is a goal management system used by Google and others. While MBO (Management by Objective) is favored by most companies, we prefer OKR, as it expands our goals and injects exciting challenges into the process. At our recent camp, we sought to identify and discuss our own key success factors (KSF). Three suggestions surfaced during our deliberation: the creation of multiple quality pipelines, out-licensing to a partner, and maintaining excellent progress management.

While much remains to be discussed in-house, the importance of creating and maintaining multiple pipelines for early-stage out-licensing seems crystal clear. Meanwhile, we will continue to ponder our KSFs so that a decade from now, we can proudly declare that we made the future a happy, *gokigen* one. Meanwhile, we look forward to your ongoing support and guidance.



株式会社坪田ラボ、代表取締役社長
慶應義塾大学名誉教授
坪田一男
Kazuo Tsubota, MD, PhD, MBA
CEO, Tsubota Laboratory, Inc.
Professor Emeritus, Keio University



ワシントン大学医学部(米国ワシントン州シアトル)
眼科学教授・学科長
ラッセル・N・ファンゲルダー
Russell N. Van Gelder, MD, PhD
Professor and Chair
Boyd K. Bucey Memorial Chair
Department of Ophthalmology
University of Washington School of Medicine
Seattle, Washington, USA

「非視覚型オプシン研究の最前線」 Frontiers of Non-visual Opsins

今回の巻頭対談に登場いただいたRussell N. Van Gelder先生は著名な眼科医で、現在、米国・ワシントン大学医学部眼科教授・学科長でいらっしゃいます。また世界最大の眼科医の協会である米国眼科学会(AAO)の権威ある学術誌である「Ophthalmology」の編集長を務めておられ、2015年には米国眼科学会の会長も務められました。また臨床家としての素晴らしい実績だけでなく、基礎研究においても重要な業績を多数挙げておられます。特に坪田ラボでも研究開発を続けている非視覚型オプシン、特にOPN4、OPN5研究の第一人者として知られるVan Gelder先生をお招きして、坪田ラボCEO、坪田一男と縦横無尽に語り合っていました。

Dr. Russell N. Van Gelder, who appears in this issue's opening dialogue, is a distinguished ophthalmologist who is the current professor and chair of the Department of Ophthalmology at the University of Washington School of Medicine in Seattle, WA, USA. The American Academy of Ophthalmology (AAO) is the world's largest association of eye physicians and surgeons. Dr. Van Gelder serves as the editor-in-chief of *Ophthalmology*, the prestigious journal of the AAO, and he served as its president in 2015. In addition to his outstanding achievements as a clinician, Dr. Van Gelder has also made many important contributions to basic research. We invited Dr. Van Gelder, who is known as a leading researcher on non-visual opsins, especially OPN4 and OPN5, which Tsubota Lab continues to research and develop, to have an in depth discussion with Kazuo Tsubota, CEO of Tsubota Lab.

坪田一男(以下、坪田)：今日は、坪田ラボのアニユアルレポート第4号のためのインタビューにお時間を割いていただき、誠にありがとうございます。教授をゲストにお迎えできましたのは大変光栄です。まず、眼科学分野におけるご尽力も含め、自己紹介をお願いします。

ラッセル・N・ファンゲルダー(以下、ファンゲルダー)：こちらこそ、ありがとうございます。私はシアトルのワシントン大学医学部眼科教授および学科長を務めております。臨床科学者であるため患者を診ております。臨床専門分野はぶどう膜炎と眼の炎症性疾患です。網膜についても一部担当しています。他にも眼科学の中で様々な立場の業務を担っております。また、*Ophthalmology* 誌の編集長や、2015年米国眼科学会の会長を務め、Association of University Professors of Ophthalmology(米国眼科学教授協会)の会長にも任命されました。

坪田：素晴らしい。教授は科学者としての輝かしいキャリアだけでなく、眼科学分野においても重要なキャリアをお持ちですね。

ファンゲルダー：務めを果たすことは大事だと思っています。坪田先生も同じだと思いますが、私たちは眼科医であることでたくさんの恩恵を受けてきました。多くの機会が得られるありがたいキャリアで、多くの患者さんを助けることができますし、専門分野に還元することは大事だと思います。務めを果たすことは喜びでもあり、光栄でもあります。

坪田：おっしゃるとおりです。私も国をまたぐ科学者として、Association for Research in Vision and Ophthalmology(視覚および眼科学研究協会)の年次総会プログラム委員やInvestigative Ophthalmology & Visual Science 誌の編集委員として深く関わってまいりましたし、現在は「ベンチからベッドサイドへ(Bench to Bedside)」というシンポジウムを通じ、イノベーションのキャリアが浅い研究者の支援に取り組んでおります。ところで、去る(2022年)7月にシアトルで開催された初の国際シンポジウム「Biology of the Non-Visual Opsins(非視覚型オプシンの生物学)」においてRichard Lang氏とともに共同開催者を務められた教授に、この場を借りてお礼を申し上げたいと思います。あれは非常に刺激的なシンポジウムで、たくさんのお話を学びました。坪田ラボは現在、非視覚型オプシン、特にOPN5について研究しておりますが、教授はこの分野の第一人者でいらっしゃいます。OPN5のみならずOPN4の研究も始められ、長い研究歴をお持ちです。おそらく、非視覚型経路に関心をお持ちになった最初の眼科医だと存じます。研究の背景など、お聞かせ願えませんか。

ファンゲルダー：坪田先生には会議出席のため日本からお越しいただき、ありがとうございました。先生とご同僚たちから素晴らしいお話を聞くことができました。この会議で先生をお迎えすることができ、私が2018年の日本眼科学会年次総会に招聘演者としてお招きいただいたときに受けた心あたたまるおもてなしに、少しでも報いることができたなら嬉しく思います。重ねてお礼申し上げます。さて、私はスタンフォード大学でショウジョウバエの概日リズムの分子メカニズムを研究し、博士号を取得しました。そのとき、概日時計のコントロール下にある一部の遺伝子のクローンを作製し

Kazuo Tsubota (KT) : Thank you for joining me today and taking time for this interview for volume 4 of Tsubota Lab's annual report. It is our grant honor to have you as our guest. Please introduce yourself, including your service in the field of ophthalmology.

Russell Van Gelder (RVG) : Thank you. I am professor and chair of the Department of Ophthalmology at the University of Washington in Seattle. I am a clinician-scientist so I see patients and my clinical subspecialty is uveitis and ocular inflammatory diseases. I also do some medical retina work. I hold some other positions in ophthalmology. I am the editor-in-chief of the journal, *Ophthalmology*, and I have served in leadership in the American Academy of Ophthalmology as president in 2015, and also the Association of University Professors of Ophthalmology.

KT : Wonderful. So you not only have a terrific career as a scientist but also having a very important career in the field of ophthalmology.

RVG : I feel it is important to serve. I am sure you would agree, Kazuo, that we have both received many blessings for being ophthalmologists. It's a wonderful career with a great deal of opportunity and we help a lot of people, and I feel it is important to give back to the profession. It's been a pleasure and an honor to serve.

KT : I totally agree with you. As an international scientist I have been deeply involved with the Association for Research in Vision and Ophthalmology as Annual Meeting Program Committee member, editorial board of *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, and now I am striving to encourage early career researchers in innovation through the Bench to Bedside symposium. By the way, I would also like to take this opportunity to express my appreciation to you as co-organizer with Richard Lang of the 1st International Symposium on "Biology of the Non-Visual Opsins" in Seattle this past July. It was an exciting symposium and we learned a lot. Tsubota Lab is now working on the non-visual opsins, especially OPN5, and you are the leader in this field. Not only OPN5 but also starting OPN4, you have a long history. Maybe you are the first ophthalmologist interested in the non-visual pathways. Please provide us with some background.

RVG : It was a pleasure to have you come from Japan to attend the meeting. And, you and your colleagues gave wonderful talks, and it was a delight to be able to host you and repay just a small amount of the hospitality you kindly showed me when I was the invited speaker at the Japanese Ophthalmological Society annual meeting in 2018. Thank you. So, I did my PhD at Stanford University on the molecular mechanisms of circadian rhythms in drosophila fruit flies. We had cloned some genes at that time that were under the control of the circadian clock and one of the things that I noted was that light affected the gene expression very strongly in the fruit fly. I went



ました。そのときに気がついたことのひとつは、ショウジョウバエでは光が遺伝子発現に強く影響しているということでした。セントルイスで研修医として臨床研修に進みましたが、その間に、後に2017年にノーベル賞を授与された Jeffrey Hall と Michael Rosbash の両氏により、ショウジョウバエの正常な光受容体、すなわち杆体と錐体に相当するものは、概日リズムの光同調に必要ではないことが発見されました。実際ハエでは、これを媒介するタンパク質はクリプトクロムであり、ブルーライトに感受性の光受容体です。そこで私は研修医として、同じことがヒトでも起きるのかということに大きな関心を抱きました。1980年の日本の Shizufumi Ebihara (海老原史樹文) 先生と Keiichiro Tsuji (辻敬一郎) 先生以来、網膜変性のあるマウスは自身の概日リズムを光に対して非常にうまく同期化させることが長らく周知されています。しかし、光受容体とは何であるのか、だれもわかっていませんでした。その頃 Russell Foster は、マウスの眼からすべての錐体と杆体を完全に取捨することができ、それでもマウスは概日リズムに同調できるということを指摘したばかりでした。研修医の私はこの問題に取り組み始め、クリプトクロムのノックアウトを既に行っていたノースカロライナの Aziz Sancar と共同研究を始めました。彼はその後2015年に光回復酵素の研究でノーベル賞を授与されています。彼と私は、非視覚型の光受容経路はショウジョウバエでも哺乳類でも同じという仮説を立てました。これらの時計のメカニズムは非常によく似ているからです。しかし、早い話が、我々の仮説は間違いだとわかりました。間違った感光色素を採取していたのです。しかしながら、幸いなことに Satchidananda Panda および Ignacio Provencio と共同研究ができ、マウスの概日リズムの行動における光同調のための正しい感光色素を発見しました。それがメラノプシンです。そして、それにより2000年代早期にメラノプシンの研究に入りました。

坪田: 研究初期はそのような経緯だったのですね。では、非視覚型オプシンの研究にはどのように広がっていかれたのですか。

ファンゲルダー: 私たちは感光色素こそ概日時計の光同調に必要かつ十分であるということを発見し、メラノプシンに大に関心を抱きました。そして、Joe Takahashi の研究室から非常に有能なポストドク、Ethan Buhr の参加を得ました。そのとき我々は主にマルチ電極アレイを用いた網膜の記録に取り組んでおり、本質的に光感受性である網膜神経節細胞の光応答を記録できました。Ethan は Takahashi 研究室から、あるツール、すなわち Per2::Luciferase マウスを持ってきてくれました。これは、非常に

onto clinical training for my residency in St. Louis, and during that time there was a discovery made by Jeffrey Hall and Michael Rosbash, who later went on to win the Nobel prize in 2017, that the normal photoreceptors in the fruit fly, their equivalent of the rods and cones, were not required for circadian entrainment. In fact, in the flies, proteins that mediated this were cryptochromes which are blue light-sensing photoreceptors. So as a resident, I became very interested in whether the same thing happened in humans. It had been known for a very long time, since Shizufumi Ebihara and Keiichiro Tsuji from Japan in 1980, that mice with retinal degeneration synchronized their circadian rhythms to light very well. But, no one knew what the photoreceptor was. Russell Foster was in the process at that time of showing that you could take all the cones and rods out definitively of the mouse eye, and it would still entrain to circadian rhythms. So as a resident, I began to work on this problem and I partnered with a scientist in North Carolina, Aziz Sancar, who had knocked out the cyrptochromes, and he later when on to win the Nobel prize for his work in photolyase in 2015. He and I had the hypothesis that the non-visual photoreceptive pathways would be the same in fruit flies and in mammals because the clock mechanism is very similar. Long story short, it turned out our hypothesis was wrong. We picked the wrong photopigment, but we were fortunate to collaborate with Satchidananda Panda and Ignacio Provencio and discovered the correct photopigment for circadian rhythm behavioral entrainment in mice, which is melanopsin. And, that got us into the melanopsin field in the early 2000s.

KT : You have explained your early research. Next, how did you expand to the non-visual opsin research?

RVG : We had become very interested in melanopsin when we discovered that it was the photopigment that was necessary and sufficient for entrainment of the circadian clock, and I had a very talented post-doc join my lab from Joe Takahashi's lab, Ethan Buhr. At that time, we were mostly working on multi-electrode array recordings of the retina where we could record the light responses of intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. Ethan brought a tool with him from the Takahashi lab which was that the Per2::Luciferase mouse, and this is a mouse that has firefly luciferase gene knocked into the Period2 locus which is expressed with a very

強力な概日リズムが発現する遺伝子座 Period2 にホタルルシフェラーゼ遺伝子をノックインしたマウスで、これらのマウスでは、ルシフェリンが培地に存在するときにどれだけ明るく光るかを調べることによって、Per2 発現の概日リズムを測定することができます。我々が望んだのは、網膜自体が培養皿で明暗周期に同期化できるかどうかを明らかにすることです。そこで、Per2 luc を持つ野生型動物から網膜を採取し、それを、温度を変えずに明暗周期に置く方法を考案したところ、それらは明暗周期に見事に同期化しました。それはつまり、網膜には本来、光同調メカニズムが備わっているということです。次に、それはメラノプシン依存性であることを示したかったため、メラノプシンをノックアウトしたマウスを使用し、これらのマウスから Per2::Luciferase マウスを作製しました。これらの網膜も明暗周期に同期化することを発見したときは、かなりの驚きでした。

坪田: 貴重な知見ですね。

ファンゲルダー: ええ、次に我々は、そのようにさせているのは錐体が杆体であろうと推測し、網膜変性マウスで同じ実験をしたところ、マウスの網膜はじつに良く同期化しました。そこで次に、どちらか一方で十分である、そしてどちらも不要であると考え、メラノプシン、網膜変性、Per2::Luciferase のトリプル変異マウスを作製し、それらを交雑させました。そして網膜を明暗周期に置き、その網膜が明暗周期に光同調することを発見した際には、はっきり言って唖然としました。つまり、眼には未だ発見されていない他の光受容体があり、それが局所的な概日光同調を媒介しているということです。

坪田: 研究史的に言えば、OPN5 遺伝子は2003年に確認され、京都大学の Takahiro Yamashita (山下高廣) 先生は、OPN5 は380 ナノメートル (nm) の光の波長により活性化されると報告しました。そのとき教授は、他の光受容体とは OPN5 ではないかと思いつかれたのですね。

ファンゲルダー: そのとおりです。作用スペクトルを測定し、網膜で何色の光によって最大限に位相変化および光同調がもたらされるか調べると、380nm の光だとわかりました。ですが、マウスでは、それが OPN5 だとは証明されていません。なぜなら短波長 (s-錐体) は約360nm だからです。それは s-錐体であったかもしれませんが。しかし、s-錐体をノックアウトし、同じ実験を行うと、光同調に s-錐体は必要でないことがわかりました。

坪田: 教授の論文を拝見し、一部理解できない箇所がございます。通常、教授は LED 光を使用されていますが、LED 光には380nm の光がありません。培養皿で OPN5 をどのように刺激できたのですか。

ファンゲルダー: 実際には UV-LED があり、入手できます。短波長 LED があり、入手し使用できます。

坪田: 教授は最初から短波長刺激を標的にされていたのですか。

ファンゲルダー: 380 から600nm まで全範囲をやってみました。そしてわかったのは、赤色光である600nm は網膜の位相変化にまったく作用せず、メラノプシンのピークである480nm はわずかに作用するというものでした。420nm まで落とすと、より作用が

strong circadian rhythm so these mice show circadian rhythms of Per2 expression which can be measured by how bright they glow when luciferin is in the medium. What we wanted to do was to determine whether the retina itself could be synchronized in a dish to light-dark cycles. So, we took retinas from wild-type animals Per2 luc and devised a way to put them in light-dark cycles without the temperature changing, and sure enough they synchronized beautifully to the light-dark cycles so that meant there was an entrainment mechanism intrinsic to the retina. Next, we wanted to show that it was melanopsin dependent so we took melanopsin-knocked out mice and bred them to the Per2::Luciferase animals. We were somewhat surprised when we discovered that those retinas also synchronized to the light-dark cycle.

KT : It was a wonderful finding.

RVG : So, then we thought maybe it was the cones or the rods that are doing this so we performed the same experiment with the retinal degenerate mice, and their retinas synchronized just fine. So, then we thought that either is sufficient and neither is necessary so we crossed them altogether by making a melanopsin, retinal degenerate, Per2::Luciferase triple mutant mouse. We put the retinas in the light-dark cycle and we were frankly stunned to discover that its retinas entrained to the light-dark cycle and what that told us was that there were more photoreceptors that had not been discovered yet in the eye that were mediating local circadian entrainment.

KT : Historically, the OPN5 gene was determined in 2003, and Takahiro Yamashita from Kyoto University reported that OPN5 is activated by 380 nanometers (nm) wavelength of light. So, at that time, you got the idea that it might be OPN5.

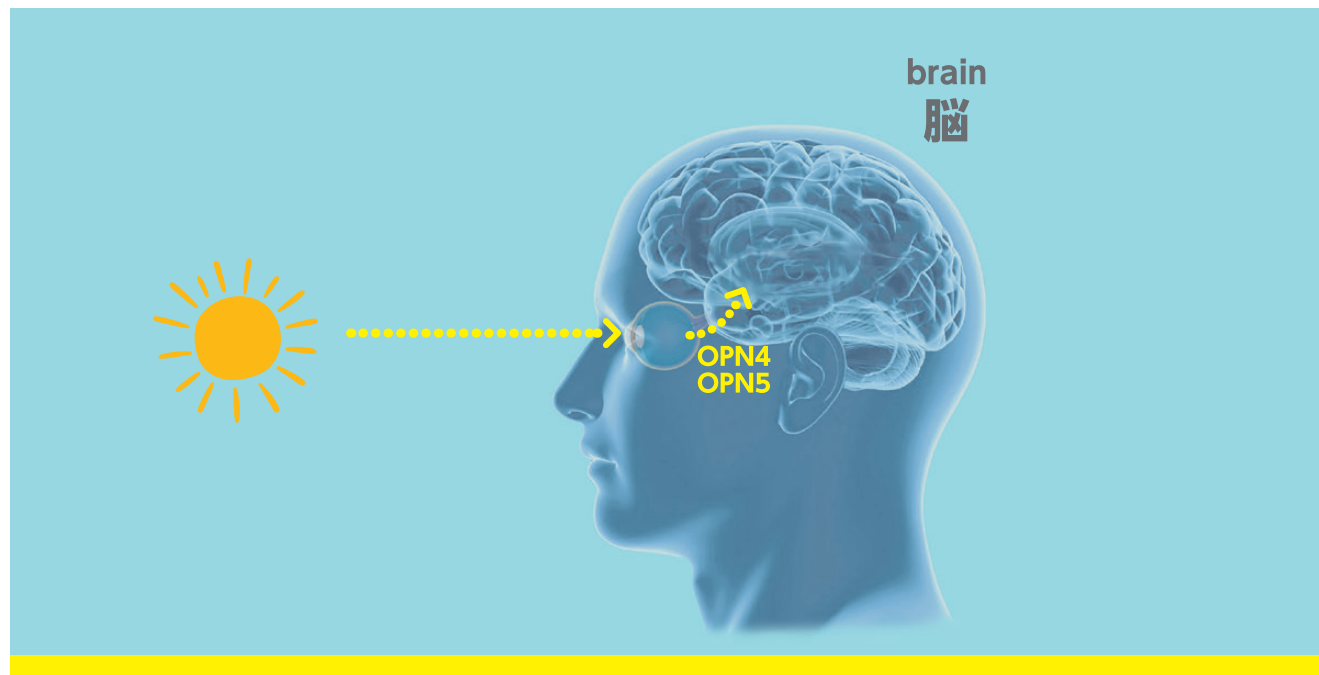
RVG : Exactly. We did an action spectrum and we looked at what color of light was maximally phase shifting and entraining in the retina and it turned out to be 380 nm light. Now, in a mouse it does not prove that it is OPN5 because the short wavelength (s-cone) is about 360 nm. So it could have been an s-cone also. But, we got the s-cone knocked out and did the same experiment and it turned out that it didn't need the s-cone for the entrainment.

KT : When I read your paper, there is one part I did not understand. Usually, you use the LED light, but LED light does not include 380 nm. So, how did you stimulate OPN5 in the dish?

RVG : Actually, there are UV-LEDs that one can obtain. There are short-wavelength LEDs that can be obtained and used.

KT : From the beginning, did you target the short-wavelength stimulation?

RVG : We did the whole range from 380 to 600 nm. What we found was the 600 nm, which is red, had absolutely no effect on phase shifting in the retina, and 480 nm, which is the peak for melanopsin, had a minimal effect. When we got down to 420 nm we saw a larger effect which got larger at 400 and maximal at 380



大きくなり、400nmではさらに大きくなり、380nmで最大になりました。これらをすべて作用スペクトルにまとめました。すると、感光色素は、きわめて青い光、UVに近い色素であることがわかりました。次の課題はOPN5変異体を見つけることですが、これは既に発見されていると聞いたことがあり、共同研究に進めました。King-Wai YauとRichard Langは別々の研究で両氏ともOPN5をノックアウトしていましたが、表現型はわかっていませんでした。両氏は我々との共同研究に合意し、OPN5ノックアウトマウスを提供してくれました。我々はこのマウスを使用し、それぞれ交配させ、トランスヘテロ接合体を作製しました。これは異なる2種のノックアウト対立遺伝子を持っており、ノックアウト対立遺伝子のひとつに固有であるのは確かにOPN5ノックアウトであって、他の何かではないことを証明するのに役立ちます。そこで我々はそのようなマウスを作製し、Per2::Luciferaseマウスと交配させました。それらのマウスで明暗周期に光同調するための網膜の能力が完全に失われているとわかったときは、本当に嬉しかったです。これによって、OPN5は網膜の局所的な概日光同調にとって必要かつ十分な感光色素であることが証明されました。

坪田: それは教授が発見された新しい概念だと思います。網膜だけでなく、光に直接曝露する組織または器官も、OPN4ではなくOPN5によって制御されているのですね。皮膚、毛包などに関する教授の一連の論文を興味深く拝見しています。

ファンゲルダー: あれはまったく予想せぬ発見でした。EthanがOPN5に関する論文を準備していたとき、陰性対照として肝臓を使用していました。彼によると、培養皿に肝臓を置くと、それは明暗周期に同期化しませんでした。我々はこのことについて議論しました。たとえ肝臓が適切な陰性対照であっても、その組織が同期化しないことを示すには、同一の眼の別の組織を使用するのが良いのではないかと考えたのです。文献を調べたところ、坪田先生のご専門である眼領域、すなわち角膜が良いとわかり、それを陰性対照にすることにしました。

nm. We put them together in an action spectrum. It showed that the photopigment was a very blue light, near UV pigment. Our next job was to find OPN5 mutants, and I had heard that it had been done so we moved forward to collaborate. King-Wai Yau and Richard Lang in separate researches had both had knocked-out OPN5 but had not found a phenotype. Both agreed to collaborate with us and provided their OPN5-knocked-out mice. We took those mice and crossed them to each other to make a transheterozygote that had two different knockout alleles and that helps to prove that it is really the OPN5 knockout and not something that is unique to one of the knockout alleles. Then we made that mouse and crossed it to the *Per2::Luciferase*. We were very gratified to see that those mice completely lost the ability of their retinas to entrain to the light-dark cycle. This proved that OPN5 was the photopigment that was necessary and sufficient for local circadian entrainment in the retina.

KT : I think that is the new concept that you discovered. Not only the retina but the tissues or organs that are exposed to light directly are controlled not by OPN4 but by OPN5. I have read and enjoyed your series of papers on skin, hair follicles, etc.

RVG : That was a very serendipitous finding. When Ethan had been preparing the paper on OPN5, he had used liver as the negative control. He showed that putting liver in the dish it does not synchronize to the light-dark cycle. We discussed this and even though the liver is a good negative control, it would be better to have another tissue from the same eye to show that that tissue did not synchronize. We looked through the literature and it turned out that the cornea, your favorite part of the eye, and we thought it would be a negative control.

KT : Yes, you reported about it in your paper. That was amazing.

坪田: ええ、教授はそのことを論文に報告されましたね。思いがけないことでした。角膜にはOPN5があり、OPN5により同期化されます。

ファンゲルダー: 我々にとって驚きでした。初めて、角膜は光感受性であることが示されたのです。結果的に話はもう少し複雑であることがわかりました。生体内では、角膜がその機能のためにOPN5を多く使用しているかどうか、よくわかりません。角膜が損傷されると、OPN5が大幅に増加します。生体外では、マウスの角膜上皮を除去し、培養皿に置くと、明暗周期では完全な暗闇の場合の2倍の速さで治癒が進みます。OPN5を取り除くと、明暗に関わらず、決して真の治癒は得られません。これは、実際にそうであるのですが、OPN5を概日リズムの光受容体としてみることによって開始したという点で、先生の研究に近づく重要な概念です。しかし我々は、それは体内の他の多くのことに使用されているのではないかと想像しています。もちろん、Richard Langの研究室は素晴らしい研究を行い、OPN5はおそらく代謝および代謝速度の制御因子として脳の深部で機能を果たし、また血管新生を調節するために発生段階の眼でも機能を果たしていることを明らかにしています。そしてもちろん、近視がバイオレットライトによって調節される可能性があることを示す先生の素晴らしい研究もあります。これは屋外の光が近視の抑制に役立つ理由の一部を説明する可能性があり、治療に応用可能となりうる直接検証可能な仮説を明白に導くものです。先生が今かけておられる眼鏡のフレームはバイオレットライトを発しOPN5を刺激して、近視に対して大きな抑制作用を示している可能性があります。そのすべては実際に、感光色素がかなり広範囲に発現しているという発見から得られたものであり、我々は今でもOPN5の機能に結びついているかもしれない他の現象を探しています。

坪田: ええ、同じ意見です。2015年に発表された教授の研究のおかげで、あの頃にバイオレットライトは近視予防に効果的であるわかりました。そして、教授の論文を読んだ後に、それはきっとOPN5だと予期しました。まず我々は、OPN5ノックアウトヒヨコモデルから始めましたが、研究は失敗に終わり、多大な時間を失いました。次に、マウスモデルで試してみようと決めましたが、動物モデルの作製はとても困難でした。

ファンゲルダー: 先生のグループは素晴らしい研究をなさっています。七月のシンポジウムで発表された、近視を誘導するために大きなゴーグルをかけたマウスの画像は、大胆なやり方ですね。本当に魅力的な研究です。

坪田: お褒めにあずかりまして光栄です。さて、OPN4やOPN5など、非視覚型オプシンが持つ広範な影響、あるいはその他の非視覚型オプシンが生理機能に対してより広範な作用を持っている可能性があることについてもお話したいのですが。一般の人々に非視覚型光受容体の重要性をどのように説明されますか。

ファンゲルダー: その作用の全容については未だ理解を試みているところです。重要性を示すいくつかの興味深い手がかりがあります。そのひとつとして、全ゲノム配列解析および情報の爆発的な増加によって、今では身体のあらゆる遺伝子にみられる変異の多くがわかっており、視色素、錐体色素、そして杆体色素について検討する際には、文字どおり数百の変異がロドプシン、錐体オプシ

Cornea has OPN5 and is synchronized by OPN5.

RVG : It was a surprise for us. We showed for the first time that the cornea is light sensitive. It turns out that the story is a little more complicated. *In vivo*, we are not sure if the cornea uses OPN5 much for its function. When the cornea is injured, OPN5 is massively upregulated. It turns out *in vitro*, if you de-epithelialize the mouse cornea and put it in a dish *in vitro*, it will heal about twice as fast in a light-dark cycle than it will in total darkness. If you take away OPN5 it never really heals, whether in light or dark. This is an important concept in getting to your work in that we started by looking at OPN5 as a circadian photoreceptor, which it is. But, we suspected that it is used for many other things in the body. Obviously, Richard Lang's lab has done impressive work showing that it probably functions in the deep brain as a regulator of metabolism and metabolic rate, and it functions in the developing eye to regulate vascular development. And, obviously, your beautiful work to show that myopia is likely modulated by that violet light and that may account for some of the reasons that outdoor light helps mitigate myopia and obviously leads to a direct testable hypothesis that may be therapeutic. The eyeglass frames you are wearing today that emit violet light and the stimulation of OPN5 may have a strong mitigating effect on myopia. All of that really followed from the discovery that it's a photopigment that is expressed fairly broadly, and we are still looking at other phenomena that we think might be linked to OPN5 function.

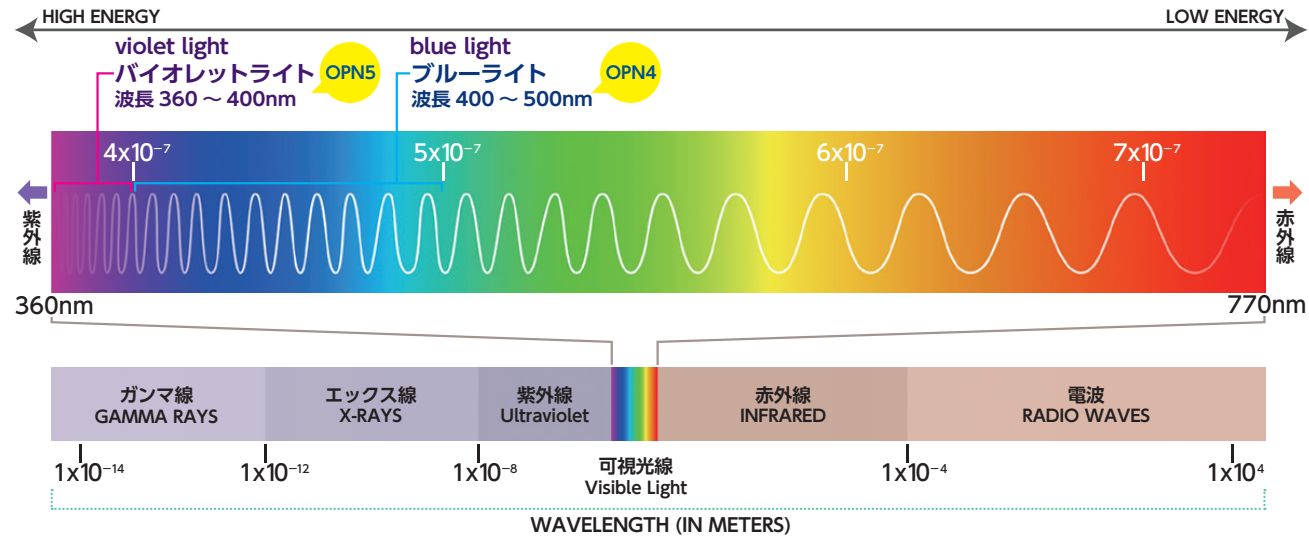
KT : Yes. I agree with you. Thanks your research published in 2015, around that time we have found that violet light is effective for the prevention of myopia. And, I after reading your paper, I expected it should be OPN5. First, we started with OPN5 knockout chick model, but the study failed so we lost a lot of time with that. Next, we decided to try the mouse model study, but it was a tricky to make an animal model.

RVG : Your group has done amazing work. The images you shared at the symposium in July with a mouse wearing huge goggles to induce myopia is heroic work. Really fantastic work.

KT : Thank you very much for the nice compliment. Next, I would like you to cover the broader effect of non-visual opsins, like OPN4 or OPN5 or other non-visual opsins which may have a broader effect on the physiology. How do you explain to the lay public the importance of non-visual photoreceptors?

RVG : We are still trying to understand the full range of its effects. There are a couple of interesting clues indicating the importance. One clue is with the whole explosion of whole genome sequencing and information, we now know many of the variants that we find in every gene in the body, and when we think about the visual pigments, the cone pigments, and the rod pigments, there are literally hundreds of mutations in rhodopsin, cone opsin, that cause a variety of retinitis pigmentosa, cone dystrophy and other diseases. In fact, all of the components of the visual phototransduction pathway, vascular channels, anything you can

可視光線のスペクトラム VISIBLE SPECTRUM



ンにあり、それらが様々な網膜色素変性症や錐体ジストロフィーなどの疾患の原因となっています。事実、視覚の光伝達経路の全構成要素、脈管、その他どんなものでも、世の中にはその変異を持つ人、それが特定されている人が存在します。しかし全ゲノムのコレクションにおいて、OPN5のホモ接合型の機能喪失が認められる人はひとりもいません。きわめて高度に保存されており、明らかにOPN5の変異に対する非常に強い選択圧がみられ、そのようにして高度に保存され、変異が生じないのです。

坪田: 言い換えると、変異はないということですね。つまり、その遺伝子は、その種の次世代を作るための生存にとってきわめて重要ということですね。

ファンゲルダー: ある集団において遺伝子変異が見られない場合には選択圧があるとみなしています。しかし、たとえば我々が作製したマウス、ホモ接合型OPN5を繁殖することはできません。ですから、OPN5がノックアウトされたら、雌雄ともに子孫を持つことはできないのです。理由はわかりません。たとえOPN5が精巣、子宮、卵巣として生殖配合子に発現していたとしても、その役割はわかりません。私のこの研究ラインにとって、重要な未知の領域です。我々が発見したもうひとつの領域は、三叉神経節および後根神経節などの感覚ニューロンもOPN5を発現しているということで、それらも培養皿で光感受性を示します。培養皿で光同調も見られます。このことから、光は疼痛伝達経路または感覚経路の調節に重要である可能性が示唆されます。ある種の光には鎮痛作用がある可能性を示唆する文献があります。まさに今私たちは、これらの光受容体の生理学と、それらが制御している可能性がある他の事柄を理解するうえで、ある種の黄金期にいるように思います。先生と坪田ラボによる近視の研究はカギを握る領域であることは確かです。OPN5は臨床的に重要な光受容体だと思います。その機能と扱い方の理解は、今後の健康増進にとって重要なものになるでしょう。

坪田: ありがとうございます。非視覚型オプシンの分野は今後数年のうちに拡大すると予測していらっしゃるのですね。注目のテーマになると思います。

name, there is someone out there who has that mutated and that has been identified. In the whole genome collection, there is not a single individual with a homozygous loss of function of OPN5. It is extremely highly conserved and there is clearly some very strong selective pressure against mutations in OPN5 that have kept it highly conserved and it does not mutate.

KT : In other words, there is no mutation. That means the gene is so important for the survival to make the next generation of the species.

RVG : We consider that is selective pressure for when we do not see mutations in the gene in a population. But, we know for example, that we cannot breed our mice, our homozygous OPN5. So the male and female who are OPN5 knockouts, never have offspring. We don't know why. We don't know the role even though OPN5 is expressed in the testes, uterus, ovaries and reproductive gametes. For me, this is an important unknown area for this line of research. Another area that we have discovered is that the sensory neurons, including the trigeminal ganglia and the dorsal root ganglia also express OPN5, and they are also light sensitive in a dish. They can be entrained in a dish. That suggests that light might be important in modulating pain pathways or sensory pathways. There is literature suggesting that certain light may be analgesic. I think we are in kind of a golden age right now of understanding what the physiology of these photoreceptors and what other things they may control. It's clear that the work you and Tsubota Lab are doing on myopia is a key area. We think OPN5 is a clinically relevant photoreceptor. Understanding its function and how to manipulate it will be important for the future for improving health.

KT : Thank you. So you predict that the field of non-visual opsins will expand in the next several years. It's going to be a hot topic.

RVG : I would like to think so! The time is right to look at different approaches in the field. I would like to see a lab or company to

ファンゲルダー: 私もそうなるように願っています！この分野の様々なアプローチを検討すべき時です。オプシンを薬理的に検討する研究室または企業を見てみたいものです。つまるところ、オプシンはすべてGタンパク質共役型受容体で、それは薬理学において最も成功した分野です。

坪田: ええ、この観点から、シアトルで行われたシンポジウム「非視覚型オプシンの生物学」はきわめて重要な刺激をもたらしてくれました。そして、2024年の日本での第2回国際シンポジウムの議長を務めさせていただくことは大変光栄です。

ファンゲルダー: 次回の会議をとっても楽しみにしております。たまに、「これまでとはまったく違う。こんな会議には出たことがない」とか「短い時間でずいぶん多くのことを学べた」と感じる会議があります。前回の会議はそのような会議でした。科学界では珍しいことです。次の開催が楽しみです。私の研究室のメンバーも楽しみにしております。研究室の成果を共有しましょう。

坪田: 日本や世界各国の研究室による成果を取り込むつもりです。

ファンゲルダー: すごいですね。日本で成された初期の研究は、一巡して日本での非視覚型オプシンの第2回会議につながりましたね。

坪田: 親切なお励ましのお言葉、ありがとうございます。日本のこの分野の初期のバイオニアについて教授のお言葉をいただけるとは、大変光栄です。坪田ラボのCEOとして、この重要な知見を臨床応用に使えるのは幸いです。臨床医にとっても研究者にとっても、一堂に会して臨床への貢献を探る絶好の機会となるでしょう。

ファンゲルダー: 近視は今日、世界中、特に東アジアにおいて、ほぼ間違いなく最も一般的な疾患です。まさに蔓延しています。非視覚型オプシンの発見は、近視を抑制または治癒させる経路を与えてくれるかもしれません。21世紀が直面する重大な健康問題を解決できると思えば、胸が高鳴ります。このふたつの領域を結びつけた坪田ラボによる研究の進展には感銘を受けました。

坪田: どうもありがとうございます。これからもベストを尽くす所存です。教授のご貢献と、興味の尽きない研究を私たちにご紹介くださったことに、改めてお礼申し上げます。今後の共同研究を楽しみにしています。

ファンゲルダー: こちらこそ。お話しする機会をいただいてありがとうございました。素晴らしいご研究へのお祝いを申し上げ、坪田ラボにとってさらに成果の大きい年になりますよう、お祈りしております。

文献 Bibliography

Buhr ED, Van Gelder RN. Local photic entrainment of the retinal circadian oscillator in the absence of rods, cones, and melanopsin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111 (23):8625-30.

Buhr ED, ... Lang RA, Yau KW, Van Gelder RN. Neuropsin (OPN5)-mediated photoentrainment of local circadian oscillators in mammalian retina and cornea. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(42):13093-8.

Ebihara S and Tsuji K. Entrainment of the circadian activity rhythm to the light cycle: Effective light intensity for a Zeitgeber in the retinal degenerate C3H mouse and the normal C57BL mouse. *Physiol Behav*, 1980;24(3):523-7.

Foster RG, Hankins MW. Non-rod, non-cone photoreception in the vertebrates. *Prog Retin Eye Res*. 2002 Nov;21(6):507-27.

Panda S, Provencio I, Tu DC, ... Van Gelder RN, Hogenesch JB. Melanopsin is required for non-image-forming photic responses in blind mice. *Science*. 2003;301(5632):525-7.

Yamashita T, ... Shichida, Y. Opn5 is a UV-sensitive bistable pigment that couples with Gi subtype of G protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(51):22084-9.

look at these opsins pharmacologically. At the end of the day, all opsins are G-protein coupled receptors and that is one of the most successful fields in pharmacology.

KT : So from this point of view, the “Biology of the Non-Visual Opsins” that was held in Seattle brought pivotal stimulation, and it will be my great honor to chair the 2nd international symposium in 2024 in Japan.

RVG : We are very much looking forward to the next meeting. Every once in a while, one attends a meeting with thoughts as “that was completely different. I have never been to a meeting like that,” or “I learned so much in a short period of time.” It was one of those meetings which are rare in the scientific community. I am looking forward to the second meeting. My lab members are looking forward to it. We can share the progress of our labs.

KT : We will involve the contributions from Japan and labs around the world.

RVG : Great. The early work done in Japan will come full circle to have the second meeting on non-visual opsins in Japan.

KT : Thank you for your kind comments. It will be our great honor to have your comments on the early pioneers in this field from Japan. AS CEO of Tsubota Lab, I am very happy to use this important knowledge to use for clinical application. It will be a great opportunity for both clinicians and researchers to come together to seek clinical contributions

RVG : Myopia is arguably the most common medical condition on the planet today, especially in East Asia. It really is an epidemic. The discovery of the non-visual opsins may give us a pathway to mitigating or curing myopia. It is extremely exciting to solve a major health issue facing the 21st century. I am impressed with the progress Tsubota Lab has made in linking these two areas together.

KT : Thank you very much. We would like to do our best. Thank you again for your contribution and sharing your interesting work with us. I look forward to future collaborations.

RVG : My pleasure. Thank you so much for the opportunity to chat, congratulations on your great work, and another successful year for Tsubota Lab.

ドライアイ研究、開発アップデート

Updates on Dry Eye Research and Development

ドライアイは近年急激に増加している目の病気だ。涙液層が不安定になり目が疲れたり、つらくなる。コンピューターワーク、コンタクトレンズ使用、座っての仕事スタイル、運動不足、質の悪い睡眠、食べ過ぎなど現代の生活スタイルに根付くライフスタイル病と考えられている。坪田ラボの事業領域である近視も実はライフスタイル病だ。近見作業の増大、屋外活動の減少、教育レベルの上昇、都市での生活増加、質の悪い睡眠などが大きく疾患の増加に貢献している。

2022年、慶應義塾大学医学部眼科学教室とのコラボレーションにてドライアイの本質である涙液層破壊時間の減少と、近視の原因と考えられている脈絡膜の菲薄化が相関することがわかってきた(図1)¹。目の前側の涙液層と目の後ろ側の脈絡膜が関係していることは非常に興味深い。

すでに慶應義塾大学理工学部の満倉研究室でバイオレットライトによって午後の涙液現象が抑制できることがわかってきており、ライフスタイルの変化としてバイオレットライト不足もあるのではないかという仮説のものに現在研究を進めている。本研究はなぜ現代において近視やドライアイが増えたのかということを含括的に説明しようとするものでこの究明によりまったく新しい治療法、ライフスタイル改善のための工夫などが開発される可能性がある。

また目のまわりの環境を改善してドライアイをよくするという画期的なアプローチは2021年報告したように開発が進んでいる。2023年には大きな進歩を報告できるものと思う。また坪田ラボの初めての試みとして初めて他大学のシードを開発するプロジェクトを開始した。ステムセル保護によるドライアイ治療薬の開発である。これは長年の友人である東京大学の西村栄美先生、西村先生が起業した株式会社イーゲームとのコラボレーションによる。坪田ラボが西村先生のドライアイへの応用特許を買い取り、最重症のドライアイに対する薬剤開発を行うものだ。こちらはまだまだ始まったばかりであるが大きな期待のもとに研究を続けている。



坪田一男
株式会社坪田ラボ CEO
Kazuo Tsubota, CEO
Tsubota Laboratory, Inc.

Dry eye is a disease which has increased dramatically in recent years. Instability of the tear film layer results in tired, painful eyes. It is considered a lifestyle disease rooted in current trends including computer and contact lens use, sedentary work, lack of exercise, poor quality sleep, and overeating. One of Tsubota Laboratory's business fields—myopia—is actually a lifestyle disease. Increased close-up work, decreased outdoor activity, higher levels of education, increased urban living, and poor quality sleep have all contributed to the escalation of this disease.

In collaboration with the Department of Ophthalmology at the Keio University School of Medicine in 2022, we reported the finding that decreased tear breakup time (the essence of dry eye) correlates with choroidal thinning, which is thought to cause myopia (Figure 1).¹ It is of great interest that the tear film layer (front of the eye) and the choroid (back of the eye) are involved.

The Mitsukura Laboratory from the Keio University Faculty of Science and Technology previously determined that violet light can suppress the reduction of tears in the afternoon, and is currently researching the hypothesis that a violet light deficiency may result from lifestyle changes. The current study seeks a comprehensive explanation for modern-day increases in myopia and dry eye and may result in the development of brand-new treatment methods and lifestyle improvements.

Furthermore, as reported in 2021, innovative approaches are being developed to improve the environment around the eyes to alleviate dry eye (Figure 2). We expect to report significant progress in the year ahead. Tsubota Laboratory has also embarked on a new project, that of developing a seed from another university—namely, a dry eye treatment based on stem cell protection. This is a collaboration with longtime friend Prof. Emi Nishimura of The University of Tokyo and her startup, EADERM CO., LTD. Tsubota Laboratory has made use of Prof. Nishimura's applied patent for dry eye and is developing medication for the treatment of severe dry eye. Although research and development have only just begun, we are pursuing it with high expectations.

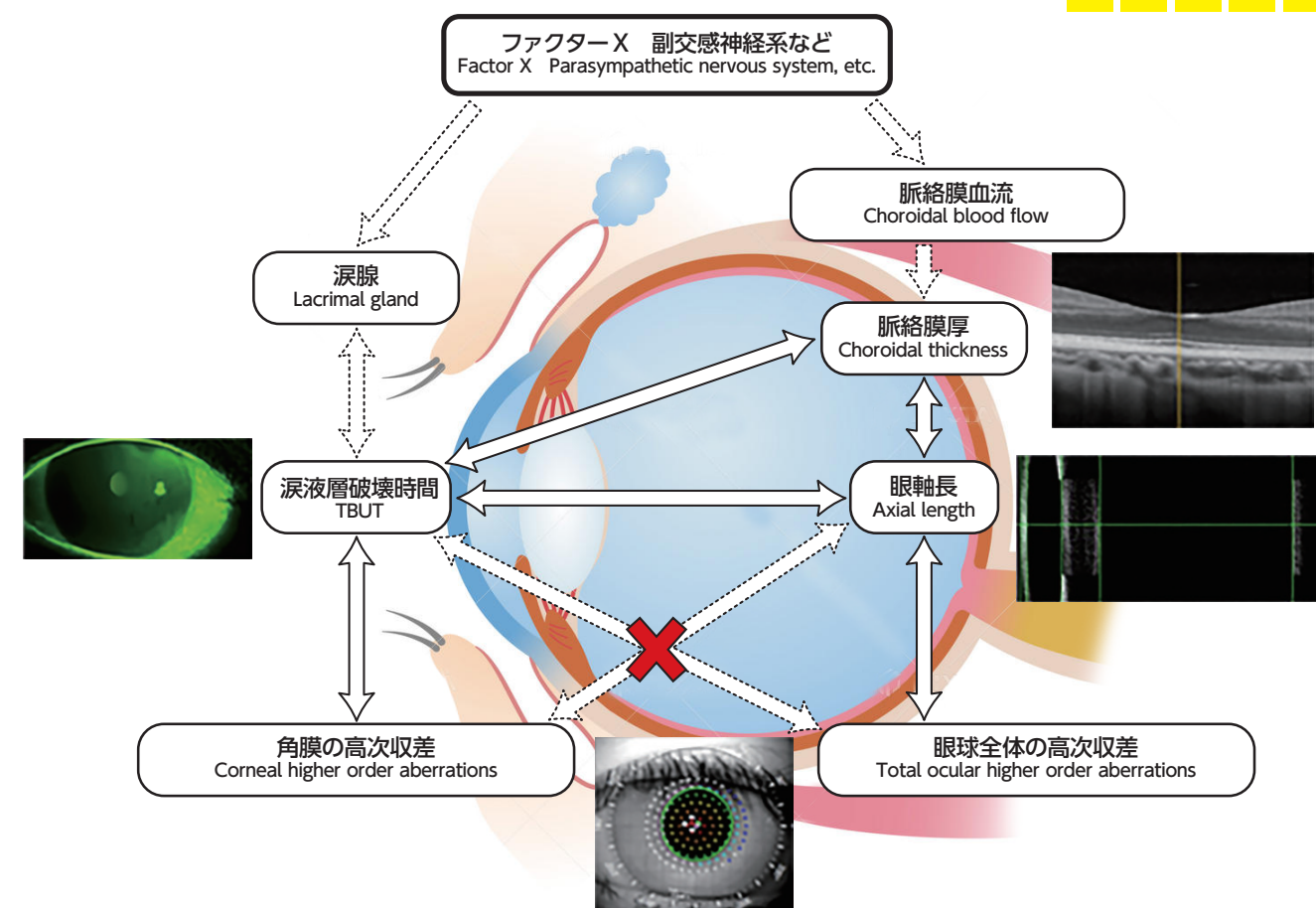


図1 涙液層と脈絡膜の関係

Figure 1. Relationship between tear and choroid

本研究の結果から、涙液層破壊時間(TBUT)、高次収差(HOA)、脈絡膜厚(CT)、眼軸長(AL)の関係を図解した。TBUTはCTと有意な相関があり、それはALと関連している。TBUTは角膜のHOAと相関するが、眼球全体のHOAとは相関しない。一方、ALは眼球全体のHOAと相関するが、角膜のHOAとは相関しない。副交感神経系は涙腺とCTの両方に影響を与えることから、副交感神経系はTBUTとCTの関連性の上流にある共通の因子である可能性がある。The schema of the relationships among the tear film breakup time (TBUT), higher order aberrations (HOAs), choroidal thickness (CT), and axial length (AL) from the results of the current study. The TBUT is associated significantly with the CT that is related to the AL. The TBUT is correlated with the corneal HOAs but not with the total ocular HOAs, whereas the AL is related to the total ocular HOAs but not to the corneal HOAs. Because the parasympathetic nervous system affects both the lacrimal glands and CT, the parasympathetic nervous system might be a common factor upstream in the association between the TBUT and the CT.



図2 モイスチャーミストメガネフレーム(仮称)
アクティブに湿度を上げるモイスチャーミストタイプの眼の加湿器
Figure 2. Moisture Mist Eyeglass Frames (provisional name)
Moisture mist type eye humidifier that actively increases humidity

参考文献 Reference

1. Hazra D, Yotsukura E, Torii H, et al. Relation between dry eye and myopia based on tear film breakup time, higher order aberration, choroidal thickness, and axial length. *Sci Rep.* 2022;12(1):10891.

近視生物学の発展

Developments in Myopia Biology



栗原 俊英

慶應義塾大学医学部眼科学教室 准教授
Toshihide Kurihara, MD, PhD
Principal Investigator,
Laboratory of Photobiology,
Associate Professor,
Department of Ophthalmology,
Keio University School of
Medicine

近視進行の生物学的メカニズムの対象がこれまでわかっていなかった脈絡膜、強膜へと広がってきました

バイオレットライトによる近視進行抑制 (Torii H et al. EBioMedicine. 2017) やその作用機序として非視覚型オプシン OPN5の関与の解明 (Jiang X et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2021) などこれまでエポックメイキングな発見を当慶大光生物学研究室と坪田ラボの共同研究で世に発信してきました。これまで網膜への光入力、波長を中心に研究成果を報告してきましたが、2022年は研究発展の転機となる3つの大きな基礎研究成果を論文発表するに至りました。

一つ目は、6月に発表したオメガ3多価不飽和脂肪酸の代謝産物が脈絡膜厚を維持し、近視進行を抑制することを報告した論文です (Mori K, Kuroha S et al. FASEB J. 2022)。本研究は慶大薬学部有田誠教授研究室との共同研究によりリビドミクス解析を実施し、特定の脂肪酸代謝産物が脈絡膜厚変化、ひいては近視進行を抑制的にも促進的にも機能していることを明らかにしました。EGR1を活性化する食品由来因子クロセチンの近視進行抑制機能の発見 (Mori K et al. Sci Rep. 2019, Mori K, Torii H, Fujimoto S et al. J Clin Med. 2019, Mori K et al. Nutrients. 2020) に続き、食事による近視進行介入への可能性をさらに高めた研究成果です。二つ目は、9月に発表した脈絡膜厚の変化そのものが近視進行を制御していることを明らかにした論文です (Zhang Y, Jeong H et al. PNAS Nexus. 2022)。進行した近視眼では脈絡膜の菲薄化が観察されますが、今回の研究では脈絡膜の変化が単なる眼軸長伸長・近視進行の結果ではなく、近視進行を促進する原因であることを見出しました。3種類の細胞特異的ノックアウトマウスを作成し、網膜色素上皮細胞におけるVEGF (血管内皮増殖因子) の発現量を変化させることで、光学的な入力に関わらず脈絡膜厚の変化が眼軸長伸長を制御していることを証明いたしました。三つ目は、10月に発表した眼軸長伸長の直接的な要因である強膜リモデリングは強膜線維芽細胞の小胞体ストレスによって引き起こされることを報告した論文です (Ikeda SI et al. Nat Commun. 2022)。この研究は、電子顕微鏡を用いた詳細な観察から、強膜の主な構成細胞である線維芽細胞の小胞体が近視眼で膨隆していることを発見したことでスタートしました。その後、強膜の小胞体ストレスを抑制することでレンズ誘導近視が抑制できること、小胞体ストレスを誘導することで近視が発症すること、さらにその分子メカニズムとして細胞内シグナルを2系統同定したことを報告しました。この研究成果により、眼軸長伸長

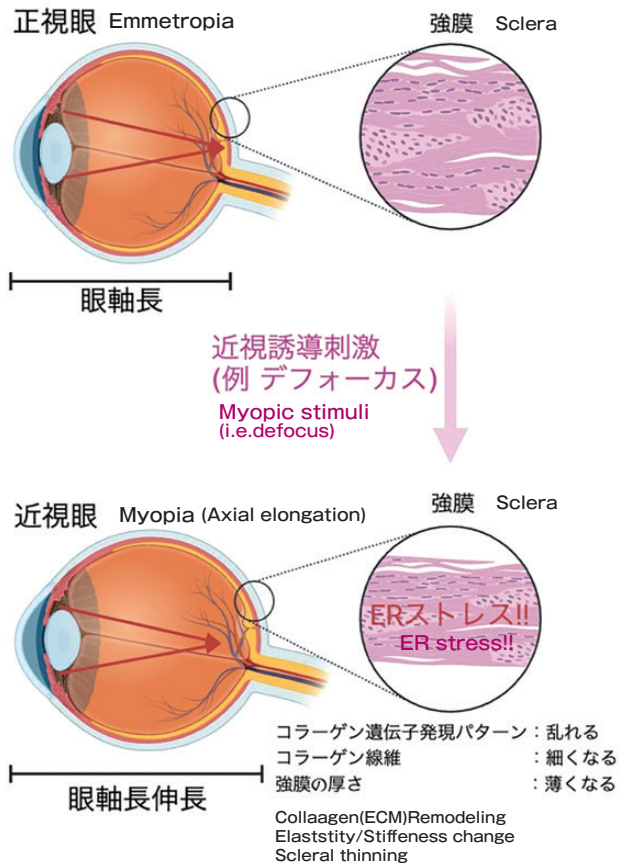
The Biological Mechanisms of Myopia Now Expanded to Include Previously Unknown Choroid and Sclera

Collaboration between Tsubota Lab and our Laboratory of Photobiology at Keio University has resulted in epoch-making discoveries shared with the world, such as the reports on violet light exposure as a preventive strategy against myopia progression¹ and the elucidation of its action mechanism, the non-visual opsin OPN5.² We previously published research results focused on light input to the retina and wavelengths, but 2022 marked a turning point with our publication of papers on three major basic research findings.

Our first finding resulted in a paper published in June, reporting that metabolites of omega-3 polyunsaturated fatty acids preserve choroidal thickness and suppress myopia progression.³ This study, a collaboration with Professor Makoto Arita's lab at the Keio University Faculty of Pharmacy, utilized lipidomics analysis and found that certain fatty acid metabolites function in both inhibitory and promotive ways to impact choroidal thickness and, by extension, myopia progression. This research strengthens the potential for diet as an intervention in myopia progression, as it follows the discovery of the myopia progression inhibitory function of crocetin, a food-derived factor which activates EGR1.⁴⁻⁶

Our second finding was consolidated in a September publication reporting that altered choroidal thickness itself regulates myopia progression.⁷ Although choroidal thinning is observed in eyes with advanced myopia, this study found that choroidal changes are not merely the result of axial length elongation and myopia progression, but actually promote myopia progression. By producing three cell-specific knockout mice and modifying the expression of VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) in retinal pigment epithelial cells, we showed that changes in choroidal thickness can regulate axial length elongation regardless of optical input.

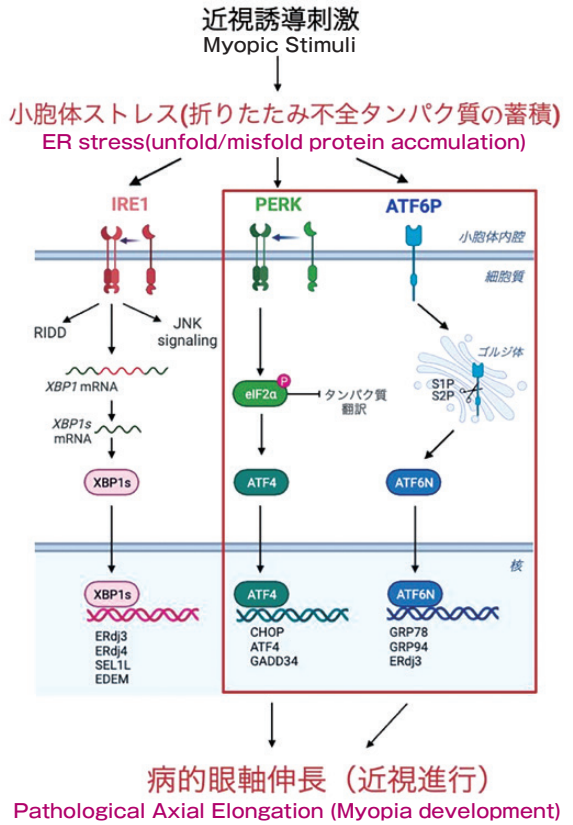
Our third finding, published in October, reported that scleral remodeling, which is a direct factor in axial length elongation, is itself caused by endoplasmic reticulum stress in scleral fibroblasts.⁸ The initial discovery was made by using an electron microscope for intricate observation of the sclera, upon which swelling was observed in myopic eyes in the endoplasmic reticulum of fibroblasts, the main constituent cells of the sclera. We made three subsequent reports: that lens-induced myopia can be inhibited by suppressing endoplasmic reticulum stress in the sclera, that myopia develops by inducing endoplasmic reticulum stress, and that two different pathways for intracellular signaling were newly identified as its molecular



に直接関わる強膜リモデリングの機序とその介入方法を解明することができ、今後この分子細胞メカニズムに沿った治療開発が期待できます。

臨床研究の成果として、学校検診の疫学調査で以前に報告した近視とドライアイの関係について (Yotsukura E, Torii H et al. JAMA Ophthalmol. 2019)、慶應大学病院学童近視外来においてもその関連性が追試でき、近視とドライアイの両方を制御する未知の因子の存在が示唆されました (Hazra D, Yotsukura E, Torii H et al. Sci Rep. 2022)。また、福岡市市立眼科病院との共同研究で後部硝子体剥離と眼軸長の相関を明らかにしました (Hanyuda A, Torii H et al. Sci Rep. 2022)。Tokyo Myopia Studyとして継続している近視疫学研究では、新たに就学時前の3-6歳の園児の49.7%が既に近視であることを見出しました (Maruyama T, Yotsukura E, Torii H et al. J Clin Med. 2022)。さらに坪田ラボで開発中のバイオレット照射眼鏡の安全性を評価するランダム化パイロット試験が完了し、期間中の安全性が確認できたことを報告しました (Torii H, Mori K et al. J Clin Med. 2022)。

このように、基礎・臨床が一体化して近視研究で世界をリードするに至っています。今後の研究成果に引き続きご期待ください。



mechanisms. These research results have facilitated our elucidation of the mechanism of scleral remodeling directly linked to axial length elongation and its intervention, allowing us to anticipate developing therapies in line with this molecular-cellular mechanism in the future.

In terms of clinical research, we followed up on an earlier report on the relationship between myopia and dry eye based on an epidemiological study of school physical examinations⁹ through additional testing on schoolchildren in the outpatient clinic of Keio University Hospital. Results suggested the implication of some unknown factor controlling both myopia and dry eye.¹⁰ Additionally, through collaboration with Hayashi Eye Hospital (Fukuoka City), we clarified a correlation between posterior vitreous detachment and axial length.¹¹ The Tokyo Myopia Study, an ongoing epidemiological research project investigating myopia, newly discovered that 49.7% of preschool children aged 3-6 were already myopic.¹² In another publication, we confirmed the safety of violet light-emitting eyeglass frames (under development by Tsubota Lab) during a now-completed randomized pilot study to evaluate their safety.¹³

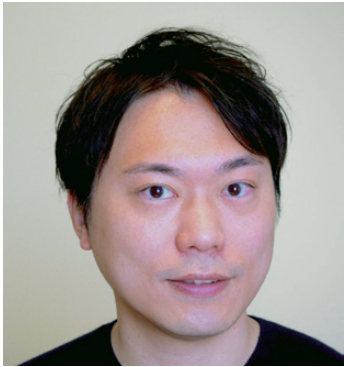
This integration of basic and clinical research has allowed us to become the global leader in myopia studies. We hope that you will continue to follow our efforts in the future.

参考文献 References

- Torii H, et al. Violet Light Exposure Can Be a Preventive Strategy Against Myopia Progression. *EBioMedicine*. 2017;15:210-219.
- Jiang X, et al. Violet light suppresses lens-induced myopia via neuropsin (OPN5) in mice *Proc Natl Acad Sci USA*. 2021;118(22):e2018840118.
- Mori K, Kuroha S, et al. Lipidomic analysis revealed n-3 polyunsaturated fatty acids suppressed choroidal thinning and myopia progression in mice. *FASEB J*. 2022;36(6):e22312.
- Mori K, et al. Oral crocetin administration suppressed refractive shift and axial elongation in a murine model of lens-induced myopia. *Sci Rep*. 2019;9(1):295.
- Mori K, Torii H, et al. The Effect of Dietary Supplementation of Crocetin for Myopia Control in Children: A Randomized Clinical Trial *J Clin Med*. 2019;8(8):1179.
- Mori K, et al. Estimation of the Minimum Effective Dose of Dietary Supplement Crocetin for Prevention of Myopia Progression in Mice. *Nutrients*. 2020;12(1):180.
- Zhang Y, Jeong H, et al. Vascular endothelial growth factor from retinal pigment epithelium is essential in choriocapillaris and axial length maintenance. *PNAS Nexus*. 2022;1:1-13.
- Ikeda SI et al. Scleral PERK and ATF6 as targets of myopic axial elongation of mouse eyes. *Nat Commun*. 2022;13(1):5859.
- Yotsukura E, Torii H et al. Current Prevalence of Myopia and Association of Myopia With Environmental Factors Among Schoolchildren in Japan. *JAMA Ophthalmol*. 2019;137(11):1233-1239.
- Hazra D, Yotsukura E, Torii H et al. Relation between dry eye and myopia based on tear film breakup time, higher order aberration, choroidal thickness, and axial length. *Sci Rep*. 2022;12(1):10891.
- Hanyuda A, Torii H et al. Relationship of choroidal thickness and axial length with posterior vitreous detachment in patients with high myopia. *Sci Rep*. 2022;12(1):4093.
- Maruyama T, Yotsukura E, Torii H et al. Children in Tokyo Have a Long Sustained Axial Length from Age 3 Years: The Tokyo Myopia Study. *J Clin Med*. 2022;11(15):4413.
- Torii H, Mori K et al. Short-Term Exposure to Violet Light Emitted from Eyeglass Frames in Myopic Children: A Randomized Pilot Clinical Trial. *J Clin Med*. 2022;11(20):6000.

非視覚光受容体 OPN5 による認知症、うつ病などの脳機能改善

Non-visual Photoreceptor OPN5 Improves Brain Function in Diseases such as Dementia and Depression



早野 元詞

株式会社坪田ラボ CSO

慶應義塾大学医学部精神神経科学教室

特任講師

Motoshi Hayano, PhD
CSO, Tsubota Laboratory, Inc.
Specially appointed lecturer,
Department of Neuropsychiatry,
Keio University School of
Medicine

哺乳類は網膜において赤、緑、青の3色の色覚を司る錐体細胞 (Cones) と、明暗の光の強弱を桿体細胞 (Rods) で電気信号へ変換し、脳へ送っている。錐体細胞には、L-Opsin (LWS; λ max: ~560nm)-、M-Opsin (MWS λ max: ~530nm)、S-Opsin (SWS1 λ max: ~430nm) の3種類が存在し、それぞれ赤、緑、青をテレビの三原色 (RGB) 同様に認識して組み合わせることによって多様な色が見えている。一方で、約6億年前の三葉虫で眼が誕生した後も光の利用は様々である。地球上の99%の生物生息領域とされる海においてチョウチンアンコウのように光を使って餌を呼び寄せるものもあれば、ハダカイワシのように光の影に隠れるカウンターイルミネーションという使い方をする生物もいる。ヒトは、4種類の「視覚光受容体」以外に、5種類の「非視覚光受容体」を保有している。その遺伝子発現は網膜だけでなく皮膚、脳など様々であり、OPN3, OPN4, OPN5, RGR (retinal G-protein-coupled receptor)、Peropsin といったものが知られている。

我々は OPN5 と呼ばれるバイオレット光の λ max: 380nm によって活性化する非視覚光受容体の「脳」や末梢臓器における機能の解析を行っている。OPN5 は 380nm の光を最大吸光波長にもち活性化する7回膜貫通 G タンパク質共役型受容体 (GPCR) である。哺乳類において OPN5 は 11-cis-retinal と結合しており、光によって全トランス型に異性化することで Gi 型のサブユニットから下流へとシグナルを伝達する。

実験動物であるマウスを 360-400nm の光を含む環境下で飼育することで記憶や感情等への影響と、神経変性疾患や精神疾患への治療法の開発を行ってきた。¹ 我々の研究成果は、OPN5 を介して光刺激は dorsal medial habenula (背側手綱核) への投射されていることを示している。加齢に伴ってマウスでは記憶力が低下するが、360-400nm の光を含む環境下で飼育することによって認知記憶の増加と神経増加が観察される。また、脳の中にはグリア細胞と呼ばれる神経細胞を制御、支持、神経伝達の効率化を行う細胞群が存在し、アストロサイト、マイクログリア、そしてオリゴデンドロサイトが知られている。360-400nm の光照射によって、オリゴデンドロサイトの分化とミエリン化が促進されることから、認知症への 360-400nm 光治療の可能性を示唆している。¹ さらにオリゴデンドロサイトとミエリン化はうつ病においても非常に重要であり、社会的敗北ストレスモデル (SDS) を用いたうつ病モデルで、360-400nm の光照射によってうつ様行動改善が観察されている。光環境は疫学的報告からうつ病において重要であることが示され

In the mammalian retina, cone cells (cones) governing red, green, and blue color vision, and rod cells (rods), which sense the intensity of light and dark light, convert light into electrical signals which are sent to the brain. There are three types of cone cells: L-Opsin (LWS; λ max: ~560nm)-, M-Opsin (MWS λ max: ~530 nm), and S-Opsin (SWS1 λ max: ~430 nm). Each respectively recognizes red, green, and blue, which are combined much like the three primary colors (RGB) of television, enabling humans to see a wide range of colors. In fact, light has been variously utilized since eyes first appeared in trilobites some 600 million years ago. In the ocean, said to house 99% of our planetary organisms, creatures such as the himantolophus sagamius (Pacific footballfish) use light to attract food, while others like the diaphus watasei (lanternfish) use counter-illumination to hide in the shadows of light. In addition to the four types of visual photoreceptors we all possess, humans have five kinds of non-visual photoreceptors. Identified as OPN3, OPN4, OPN5, RGR (retinal G-protein-coupled receptor), and peropsin, the gene expression of these non-visual photoreceptors is found not only in the retina, but also in the skin, brain, and other tissues.

At Tsubota Lab, we are analyzing the function of OPN5, which is activated by violet light λ max: 380 nm, in the brain and peripheral organs. OPN5 is a 7-transmembrane, G protein-coupled receptor (GPCR) which is activated by light with a maximum absorption wavelength of 380 nm. In mammals, OPN5 binds to 11-cis-retinal and transduces signals downstream from the Gi subunit by light-induced all-trans isomerization.

We have been studying experimental mice exposed to an environment with 360-400 nm light to learn the effects of such conditions on memory and emotion, and the development of treatment methods for neurodegenerative and psychiatric disorders.¹ Our research results demonstrate that light stimuli are projected via OPN5 to the dorsal medial habenula (dorsal habenula nucleus). Although memory declines in aging mice, both cognitive memory and neural increases are observed in mice kept in an environment containing 360-400 nm light. Moreover, the brain houses a cellular cluster of glial cells which control and support neurons and improve neurotransmission; astrocytes, microglia, and oligodendrocytes are known examples. Oligodendrocyte differentiation and myelination is enhanced with light irradiation at 360-400 nm, suggesting the potential for 360-400 nm light therapy in the treatment of dementia.¹ In addition, oligodendrocytes and myelination also play an important role in depression, and improvements in depression-like behavior observed using light irradiation at 360-400 nm in the social defeat stress (SDS) model of depression. Epidemiological reports have shown that light environment plays a key role in depression.² The OPN5 dependency of the depression treatment effect points to potential

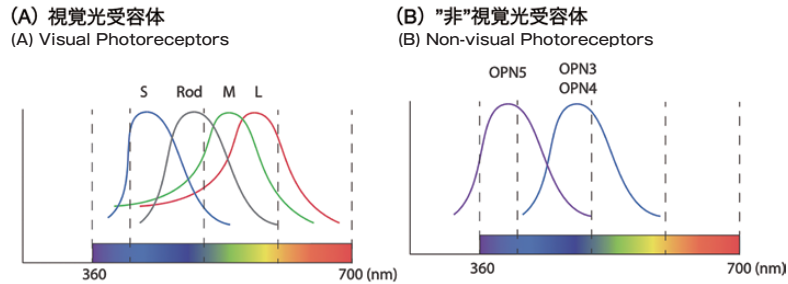


図1 非視覚光受容体の活性化光波長域

(A) 錐体細胞 (S-opsin, M-opsin, L-opsin) と、桿体細胞 (Rod) による光波長の視覚機能への活用。(B) 非視覚光受容体 OPN3, OPN4 によるブルーライトの受容と、OPN5 のバイオレットライト受容波長領域。

Figure 1. Activated Light Wavelength Range of Non-Visual Photoreceptors

(A) Utilization of light wavelengths by cones (S-opsin, M-opsin, L-opsin) and rods for visual function. (B) Blue light reception by non-visual photoreceptors OPN3 and OPN4, and violet light reception wavelength range of OPN5.

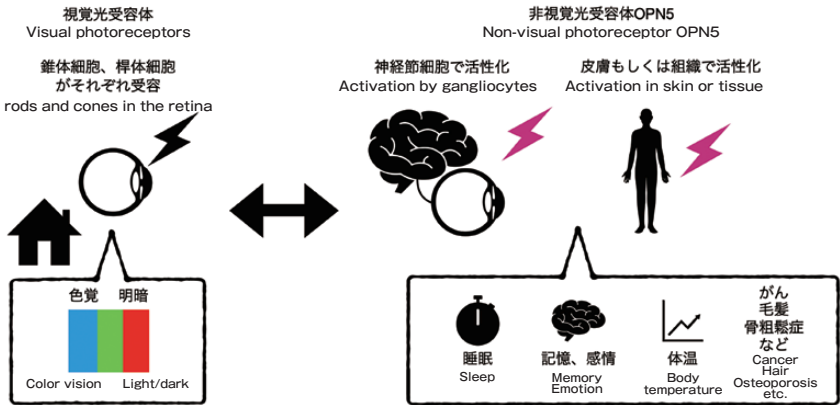


図2 非視覚光受容体 OPN5 と、360-400nm 光であるバイオレットライトの活用

視覚光受容体は、色覚や明暗など生活において非常に重要であるが、蛍光灯などによる室内光環境にはバイオレットライトが含まれていない。バイオレットライトは多くのガラス、コンタクトレンズなどで遮蔽されているため、現代社会において「失われた光」と言える。バイオレットライトは OPN5 を介して網膜、皮膚などで活性化し、睡眠、記憶、感情、体温などを制御する。コロナ禍において室内環境で過ごす時間が増える中で、バイオレットライトの活用が期待される。

Figure 2. Non-visual Photoreceptor OPN5 and Its Use of Violet Light (360-400nm light)

Visual photoreceptors are extremely important in areas of life such as color perception and light/darkness. However, our indoor light environment featuring fluorescent lighting does not include violet light, which could be termed a "lost light" in modern society, as it is blocked by materials such as glass and contact lenses. Violet light is activated in the retina and skin via OPN5 and regulates sleep, memory, emotion, and body temperature. Violet light should see increased utilization as more time is spent in indoor environments during the Covid pandemic.

ている。² うつ病治療効果は OPN5 依存的であることから、新しい光の機能と治療法への応用性が示唆されている。

また、慶應義塾大学医学部精神神経科学教室の野田賀大先生リードの元、360-400nm の光照射は 40Hz 周期刺激と組み合わせることで、様々な脳波を誘導することも臨床研究によって明らかにしている。³ 光を用いた脳活動へ実装化はアルツハイマー病を対象としてアメリカにおいて研究や開発が行われており、我々もアルツハイマー病に加えてパーキンソン病にも興味を持っている。さらに、神経変性疾患やうつ病などの診断技術の開発にも興味を持っており、順天堂大学医学部附属順天堂医院眼科の猪俣武範先生との共同研究によって、ドライアイとパーキンソン病のレビューがまとめられている。⁴

現在、我々は慶應義塾大学や順天堂大学と連携し、軽度認知障害 (MCI)、うつ病、パーキンソン病を対象とした特定臨床研究を実施しており、360-400nm 光の安全性をはじめとし、睡眠を含めて様々な脳機能改善の可能性を模索している。我々は老化現象の理解とモデル動物の開発も実施している。⁵ 今後、光の特性を用いて医療機器だけでなく、様々な生活の中で失われている 360-400nm の世界的応用に期待している。

new light functions and therapeutic applications.

Clinical studies headed by Dr. Yoshihiro Noda of the Department of Neuropsychiatry at the Keio University School of Medicine have demonstrated that light at 360-400 nm combined with 40 Hz periodic stimulation induces a range of brain waves.³ Research and development of the implementation of light into brain activity is underway in the US for Alzheimer's disease, and our group is similarly interested in such implications for both Alzheimer's and Parkinson's diseases. We are furthermore interested in developing diagnostic techniques for neurodegenerative disease and depression. The review of dry eye and Parkinson's disease was published by collaboration with Dr. Takenori Inomata of the Department of Ophthalmology at the Juntendo University School of Medicine.⁴

We are currently collaborating with Keio University and Juntendo University on specified clinical research into mild cognitive impairment (MCI), depression, and Parkinson's disease, examining the safety of 360-400 nm light and its potential to improve brain functions in areas such as sleep. We are also seeking insights into the aging phenomenon and are developing animal models.⁵ In the future, we plan further explorations into uses of light characteristics in medical devices, and also hope to see global utilization of 360-400 nm light in areas of modern life from which it has disappeared.

参考文献 References

- (preprint) Sasaki N, Gusain P, Hayano M, Sugaya T, Tonegawa N, Hatanaka Y, Tamura R, Okuyama K, Osada H, Ban N, Mitsukura Y, Lang RA, Mimura M, Tsubota K. Violet light modulates the central nervous system to regulate memory and mood. *bioRxiv* 2021.11.02.466604; doi: <https://doi.org/10.1101/2021.11.02.466604>
- Taniguchi K, Takano M, Tobari Y, Hayano M, Nakajima S, Mimura M, Tsubota K, Noda Y. Influence of External Natural Environment Including Sunshine Exposure on Public Mental Health: A Systematic Review. *Psychiatry Int.* 2022, 3, 91-113.

- Noda Y, Takano M, Hayano M, Li X, Wada M, Nakajima S, Mimura M, Kondo S, Tsubota K. Photobiological Neuromodulation of EEG and Steady-State Visual-Evoked Potentials by 40 Hz Violet Light Optical Stimulation in Healthy Individuals. *J Personalized Med.* 2021 June 15 11(6), 557
- Nagino K, Sung J, Oyama G, Hayano M, Hattori N, ... Inomata T. Prevalence and characteristics of dry eye disease in Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2022 Nov 1;12(1):18348.
- Yang J-H* and Hayano M* ... Tsubota K, ... Sinclair, DA. Loss of Epigenetic Information as a Cause of Mammalian Aging. *Cell.* 2023 Jan 19;186(2):305-326.e27. * equal contribution



服部 信孝

順天堂大学医学部神経学講座 教授

Nobutaka Hattori, MD
Professor, Department of Neurology,
School of Medicine, Juntendo
University

バイオレット光による非侵襲的パーキンソン病 治療法の開発・研究報告

The Use of Violet Light in Non-invasive Treatment of Parkinson's Disease: Research & Development Report

パーキンソン病は、中脳黒質のドパミン神経の変性・脱落が生じる進行性の神経変性疾患であり、動作緩慢、筋強剛、振戦、姿勢保持障害といった運動症状を主に呈するが、嗅覚低下、睡眠障害、認知機能低下、精神症状、自律神経症状といった多彩な非運動症状も呈する。特に進行期における認知機能低下や幻覚等の精神症状は、患者の生活の質を下げ、介護者負担を増加する要因となるばかりでなく、予後を規定する最も大きなリスク因子である。パーキンソン病では、約3〜6割程度の頻度で幻視が出現し、何かしら動く人物や動物などがみられ、特に薄暗い屋内にいるときにみられることが知られており、民間伝承にある「座敷わらし」とは、パーキンソン病にみられる幻視なのではないかという仮説もある。そこで、順天堂大学脳神経内科では坪田ラボと協同で、「バイオレットライトが室内では存在しないために幻覚を生じている」のではないかという仮説を検証するため、幻覚を有するパーキンソン病患者20名を対象にメガネ型のバイオレットライト照射装置を用いた非侵襲的光治療によってパーキンソン病の幻視や記憶における効果と安全性を検証する特定臨床研究を行っている。現在ほぼリクルートを終了し、今年度を目安に解析を行う。オープンラベル試験ではあるが、明らかに効果を実感する被験者が多く、ポジティブな結果が期待される。今後は多施設共同研究も視野に入れ、公的研究費の獲得に向け準備を行っている。



Parkinson's disease is a progressive neurodegenerative disease which leads to degeneration and loss of dopamine nerves in the substantia nigra of the midbrain. While it chiefly presents with motor symptoms such as sluggishness, muscular rigidity, tremors, and postural impairment, non-motor symptoms such as hyposmia, sleep disturbance, cognitive decline, psychiatric symptoms, and autonomic symptoms are also observed. As the disease advances, cognitive decline and psychiatric symptoms such as hallucinations not only reduce QOL and add to the caretaker burden, they are also the most significant risk factor in defining disease prognosis. Some 30-60% of Parkinson's disease patients experience hallucinations which often feature moving persons or animals, a phenomenon which often occurs in dimly lit rooms, leading to the theory that the tale of “*Zashiki Warashi*” (household spirits in northern Japan folklore) may have emerged due to Parkinson's disease. The Juntendo University Department of Neurology is collaborating with Tsubota Laboratory in specified clinical research to test the hypothesis that “the absence of violet light indoors leads to hallucinations.” Twenty Parkinson's disease patients who experience hallucinations are enrolled in the study, which will test the safety and efficacy of non-invasive phototherapy on hallucinations and memory in Parkinson's disease using an eyeglass-type medical device which emits violet light. Recruitment is nearly complete at this time, and analysis is expected to be performed within this fiscal year. Although this is an Open-Label study, positive results are expected with many participating subjects demonstrably experiencing effects. We are preparing to seek public research funds with the aim of conducting multicenter collaborative research in the future.



野田 賀大

慶應義塾大学医学部精神・神経科学 特任准教授

Yoshihiro Noda, MD, PhD, MBA
Associate Professor, Department of
Neuropsychiatry
Keio University School of Medicine

うつ病に対するバイオレット光による非侵襲的ニュー ロモデュレーション治療法の開発に向けた二重盲検 ランダム化クロスオーバー試験

A Double-Blind Randomized Crossover Trial to Develop a Non- invasive Neuromodulation Therapy with Violet Light for Depression

坪田先生率いる坪田ラボとは早いもので既に約3年のお付き合いがある。当初はバイオレット光刺激によるヒト脳波の変化をまずは健常者を対象に計測し、解析して欲しいという早野元詞先生と坪田一男先生からの熱烈なオファーからのスタートであった。その後すぐに共同研究をスタートし、倫理書類の修正作業を行い、すぐに実験を開始し、計測自体は約半年で終了した。その後3か月で脳波解析を終わらせ、すぐに論文化し、2-3か月で無事アクセプトされた。その際には坪田ラボCTOの近藤眞一郎さんにも色々とお世話になり、最初の1年はそのような形で割と順調に行った。それと同時に坪田ラボから委託された大きな仕事に表題のバイオレット光刺激を導入した軽症うつ病を対象とした特定臨床研究があった。こちらに関しては、最初の1年間はCRBとの闘いで、なかなかすぐに承認や実施許可を得ることができず、かなりストレスフルな時期であった。その後、外部機関で漸くCRB承認と実施許可を得ることができたが、その後に待ち構えていたのが、研究被験者のリクルート問題であった。というのは、元々の研究プロトコルがあまりにもリジッドな内容であったため、通常の臨床研究と比べ、研究の実行可能性を下げってしまう点がいくつかあり、スムーズな被験者リクルートが困難な状況となっていた。そこでまた半年程足止めを食らい、関係者からのプレッシャーもあり、正直心穏やかではなかった。色々と苦労があったが、2022年からは坪田ラボ取締役山田進太郎さんが本特定臨床研究を推進するために色々調整してくださったお陰で、臨床研究のリクルートが上手く進むようになった。お陰様で本原稿を執筆している2022年末時点で既に約50名の被験者をリクルートできており、来年春にはラストペーシエントアウトできる見込みである。来年度中には、軽症うつ病患者に対するバイオレット光刺激の有用性（有効性と有害事象の有無）についての結果をまとめ、皆様に報告できるのではないかと思います。そういった意味において、2023年のお正月は、多少なりとも”ご機嫌な”気持ちで迎えられるのではないかと期待している。



I have been working with Tsubota Lab, led by Dr. Kazuo Tsubota, for about three years. It all began with an enthusiastic overture from Dr. Motoshi Hayano and Dr. Kazuo Tsubota, requesting me to measure and analyze EEG changes induced by violet light stimulation in healthy human subjects. Collaboration began shortly thereafter, with revision of ethics-related documents, experimental launch, and completion of measurements a half-year later. EEG analysis was completed after an additional three months, resulting in a paper which was accepted in less than 3 months. Tsubota Lab's chief technology officer, Mr. Shinichiro Kondo helped in numerous ways, and the first year passed relatively smoothly. About that time, Tsubota Lab requested that I undertake a major specified clinical research project entitled “Violet Light Stimulation Intervention Study for Mild Depression.” We struggled with the Certified Review Board (CRB) that first year, which proved to be a stressful time as neither approval nor permission for project implementation were readily granted. CRB approval and permission to conduct the study were ultimately obtained using an outside agency, but the next problem awaiting us was recruitment of research subjects. The challenge arose as the original study protocol was so rigid that its feasibility was lower than typical clinical studies, complicating smooth recruitment. That created another half-year delay, and as I felt pressure from involved parties, I was anything but calm, to tell the truth. There were struggles, but from 2022 onward, thanks to Tsubota Lab's Director, Mr. Shintaro Yamada's support for, and coordination of, this specified clinical research study, recruitment began to proceed smoothly. Thanks to all those who supported us, as of this writing (the end of 2022), we have recruited about 50 subjects, and we expect the last patient out this coming spring. During the next fiscal year, I anticipate being able to turn research results into a written report on the usefulness (efficacy and any adverse effects) of violet light stimulation for patients with mild depression. With that in mind, I predict that the 2023 New Year may be ushered in with a fair degree of the *gokigen* — happiness and positive outlook — associated with Tsubota Lab.

バイオレットライトで理想の睡眠を Optimal Sleep with Violet Light

“バイオレットライト”（以下VLと略す）に魅せられて早数年が経ちました。私は理工学部で研究室を運営しており、スタッフ・研究員・学生を全て合わせると40名近くのメンバーで構成されていますが、その全員がVLの研究に興味津々です。そんな中で私達が注目しているのはもっぱらVLの人への影響です。

VLの論文はマウスやひよこに関するものは、今でこそちらほら見かけようになりましたが、以前は全くありませんでした。ところが私が注目したのはマウスでもひよこでもラットでもなく、人への影響、中でも睡眠への影響です。VLが人のサーカディアンリズムを制御するのではないかと直感的に考え、睡眠深度の調査を始めました。通常、人は朝太陽を浴びて13～15時間後までに徐々にメラトニンが生成されて自然に眠気が襲ってきます。朝早く起きて太陽を浴びていればこのような正常なメカニズムがサーカディアンリズムとして整っているのですが、太陽を浴びないで屋内で過ごしているとそういきません。ところがVLを午前中の2時間照射することで、太陽に浴びたのと同じ効果をもつ、いやそれ以上の効果を持つことが判明いたしました。

実験は、コントロールされた部屋に20代の男女健常者6名（全て別々の部屋）を配置し、外に出ることなく生活を3日間送ってもらい、終日心電図を装着し、就寝時には睡眠の質を計測しました。その結果が表1となります。表1は睡眠時間全体でレム睡眠・ノンレム睡眠の割合を示しております。文献[1]によると、10代から20代の理想的な睡眠はレム睡眠とノンレム睡眠の割合が1:4程度とされています。表1からVL照射ありの方が理想的な睡眠に近いことが分かります。また、同時に計測していた心電図から計算できるLF/HF（自律神経活動指標）において交感神経活動の亢進を照射後4時間も抑制することが確認できました（図1）。これによって、副交感神経を優位にさせることができ、心の安定を保つことができるのではないかと考えております。私の研究室ではこれ以外にもたくさんの生体情報を取りながらVLの効果を検証中です。これからも楽しみで仕方ないです。

表1：睡眠中のレム・ノンレム睡眠の割合
Table 1. Ratio of REM:non-REM sleep

	レム睡眠 REM sleep	ノンレム睡眠 Non-REM sleep
光照射あり With VL irradiation (%)	9.37	84.05
光照射なし Without VL irradiation (%)	6.58	88.92

参考文献 Reference

1. Rechtschaffen A, et al. A Manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System for Sleep Stages of Human Subjects. *Arch Gen Psychiatry*.1969;20(2):246-247.



満倉 靖恵

慶應義塾大学理工学部 教授

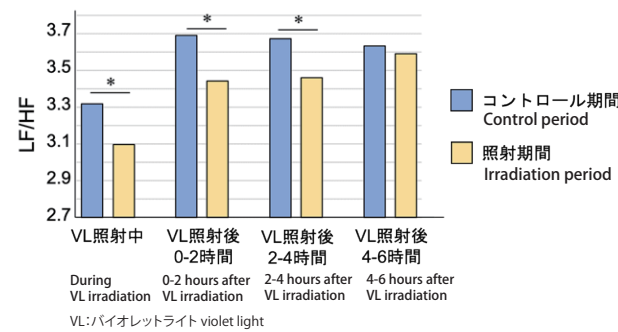
Yasue Mitsukura, MD, PhD
Professor, Department of System Design Engineering, Faculty of Science and Technology, Keio University

It has been several years since I first became fascinated by violet light (VL). I run a laboratory in the Faculty of Science and Technology, and all our staff, researchers, and students, who number almost 40 in total, are quite interested in VL research. Our focus is exclusively on the effects of VL on humans. These days, we see some papers on VL research using mice and chicks, but previously there were none at all. However, my focus is not on mice, chicks, or rats, but rather on the effects of VL on humans, especially regarding sleep. I intuitively felt that VL could be controlling human circadian rhythm and began to examine sleep depth. During the 13-15 hours after humans are first exposed to morning sunlight, the body gradually produces melatonin which naturally induces sleepiness. Those who awaken early and are exposed to sunlight will experience the normal mechanism of circadian rhythm, but those who remain indoors without such exposure will not. However, we now know that those who are exposed to 2 hours of VL irradiation during the morning receive an equivalent, or possibly greater, effect than those being exposed to sunlight.

The experiment included six healthy male and female subjects in their 20s were kept in individual controlled rooms with no external exposure for three days. The subjects wore ECG monitors for the whole period and the quality of their sleep was measured. The results are shown in Table 1, which reflects the percentage of REM and non-REM sleep experienced by the subjects. According to a previous report,¹ the ideal ratio of REM:non-REM sleep for individuals in their teens and 20s is 1:4. Table 1 shows that individuals exposed to VL irradiation experienced what approximates ideal sleep. The LF/HF (autonomic nerve activity index) calculated from values simultaneously measured by the ECG monitor confirmed that an increase in sympathetic nerve activity was suppressed for 4 hours following irradiation (Fig. 1). We believe that this allows the parasympathetic nervous system to dominate, helping maintain mental stability. Our laboratory is currently gathering a wealth of other biological information to verify the effects of VL. I am extremely excited by the potential.

図1：自律神経活動の変化

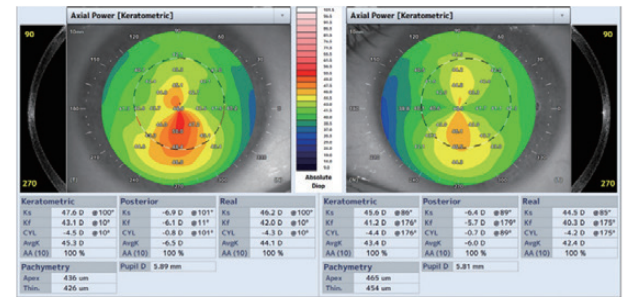
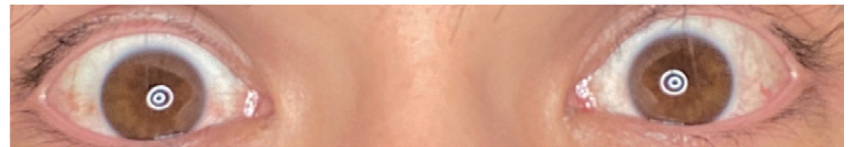
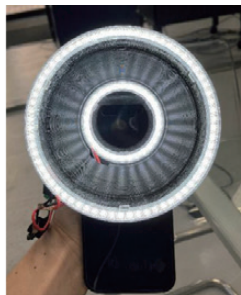
Figure 1. Fluctuations in autonomic nervous system activity



ケラバイオ：円錐角膜の新しい治療法と診断法 KeraVio: A Novel Treatment and Diagnosis for Keratoconus

2018年より円錐角膜の進行予防法としてバイオレット（VL）放射眼鏡（TLG-003）を用いた治療法を開発しておりケラバイオと名付けました。これまでにTLG-003装用とリボフラビン（Vitamin B2）点眼を組み合わせる探索的臨床研究を実施して、良好な有効性と安全性を確認し¹、従来角膜中に含まれる内因性リボフラビンに着目して点眼なしの臨床研究も実施しました²。しかしVL照射により進行抑制を得るにはリボフラビン投与は必須であることが判明しましたが、残念ながら国内での製造販売中止の影響を受けて中断しました。しかし、リボフラビンの代替薬剤として紫外可視吸収スペクトルがVL波長でピークを向かえるシアノコバラミン（Vitamin B12）に着目しております。生体外ではシアノコバラミン点眼とVL照射による角膜への有効性を確認し、臨床応用できるように開発中です。

ケラバイオ治療は円錐角膜の早期に有効と考えているため、診断機器の存在が重要であります。既存機器は高価で持ち運びできません。そこで我々はスマートフォンカメラに結合可能な診断機器「光るリング」を開発しております。図1のように、光るリングを角膜に投影させて自撮りすることで円錐角膜特有の歪みや乱視を検出することが可能であります。今後は医療機器への申請を目論んでおり、非医療機関での遠隔医療への挑戦も検討中であります。



参考文献 References

- Kobashi H, Torii H, Toda I, Kondo S, Itoi M, Tsubota K. Clinical outcomes of KeraVio using violet light: emitting glasses and riboflavin drops for corneal ectasia: a pilot study. *Br J Ophthalmol*. 2021 Oct;105(10):1376-1382.
- Kobashi H, Yunoki S, Kato N, Shimazaki J, Ide T, Tsubota K. Evaluation of the Physiological Corneal Intrastromal Riboflavin Concentration and the Corneal Elastic Modulus After Violet Light Irradiation. *Transl Vis Sci Technol*. 2021 Apr 29;10(5):12.



小橋 英長

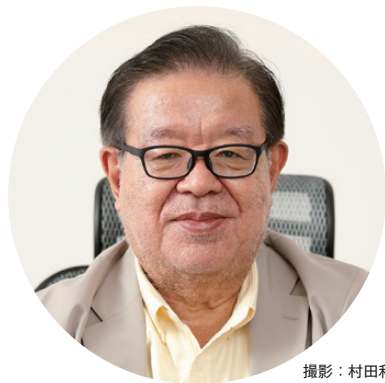
株式会社坪田ラボ 上席研究員
慶應義塾大学医学部眼科学教室 特任講師
Hidenaga Kobashi, MD, PhD
Senior Research Fellow,
Tsubota Laboratory, Inc.
Project Assistant Professor,
Department of Ophthalmology,
Keio University School of Medicine

Since 2018, we have been developing KeraVio, violet light (VL)-emitting eyeglass frames (TLG-003), as a therapy to slow progression of keratoconus. We conducted an exploratory clinical study combining usage of TLG-003 with the administration of riboflavin (vitamin B2) eye drops and satisfactorily confirmed both safety and efficacy.¹ We additionally conducted a clinical study without eye drops, focusing on endogenous riboflavin normally found in the cornea². The administration of riboflavin was found to be necessary to inhibit the progression of keratoconus through VL irradiation, but further research was suspended due to the discontinuation of the manufacture and sale of riboflavin within Japan. As an alternative to riboflavin, we are currently focusing on cyanocobalamin (Vitamin B12), whose UV and visible absorption spectrum peaks at the VL wavelength. The efficacy of cyanocobalamin eye drop usage in combination with VL irradiation has been confirmed on the cornea in vitro and is now under development for clinical application.

As KeraVio therapy is believed to be effective in early-stage keratoconus, diagnostic equipment is essential; at present, however, such equipment is both expensive and unportable. We are therefore developing a diagnostic device which we call “Hikaru rings” which can be used in conjunction with a smartphone camera. As shown in Figure 1, distortions and astigmatisms specific to keratoconus become detectable by projecting glowing rings on to the cornea and taking a selfie (self-portrait via smartphone camera). We plan to submit an application for our device to be recognized as a medical device, and will further consider the challenges of telemedicine within non-medical institutions.

Messages

坪田ラボへのメッセージ



撮影：村田和聡

村井 純 氏

慶應義塾大学教授
Jun Murai, PhD
Distinguished Professor, Keio University

坪田ラボのダッシュに期待

医学部は極めて真面目な科学と学術を背景に発展していると思っていたら、坪田先生の口からは「ごきげん」とか「ミュージカル」とか私の認識を飛び越えた話がポンポンと出てきました。「坪田先生、今いらっしゃる環境からはみ出てやりたいことがたくさんありそうですので私も力になりますね」ということで、分野違いの私たちはいろいろな挑戦を一緒にするようになりました。坪田先生の常識の壁を飛び越える生き方は、常に成果を伴っていること、しかもその成就の速度がすごい。Covid-19やウクライナ侵攻という歴史的な経験を共有し、我が国の、そして世界でも、デジタルトランスフォーメーションは、かつてない速度で進み始めました。DXは新しい挑戦を自由に低いコストで実現する環境を作ります。このタイミングでダッシュをかける坪田ラボのますますの驚きの発展に期待します。

Expecting Surprising Developments

Just as I thought the medical school was smoothly advancing, solidly bolstered by science and academics, along came Professor Tsubota, rapidly spouting off notions about *gokigen* (a happy outlook) and musicals, all of which were beyond the realm of my experience and perception. I was immediately fascinated, telling the professor, “It appears you have many areas of interest outside your bailiwick. Please let me be of assistance.” This launched collaborations on a host of projects which we addressed from differing fields. His approach to life leaps over common-sense boundaries and invariably produces results—at astonishing speed. Having shared the historical experience of Covid-19 and observed from afar the invasion of Ukraine, we now see the unprecedented speed with which digital transformation is advancing in our nation and across the globe. Indeed, digital transformation creates an environment enabling unrestricted and affordable realization of challenges. Tsubota Lab, which perpetually moves at lightning speed, should find this new environment a perfect fit for churning out further surprising developments, one after another...which we all await.



福田 恵一 氏

慶應義塾大学医学部内科学教室・循環器内科 教授
Heartseed 株式会社 代表取締役社長
Keiichi Fukuda, MD, PhD
Professor, Keio University School of Medicine
Department of Internal Medicine (Cardiology)
CEO, Heartseed Inc.

大学発ベンチャーのお手本です

日本の大学では研究成果を出して良い論文を書くことは出来るが、それを社会実装しビジネスにまで展開できる先生は数少ない。大阪大学岸本忠三先生や京都大学本庶佑先生のように研究成果を企業に導出してヒット商品化できたものもあるが、自らの研究成果を基に起業して成功された方は稀である。私は坪田先生を学生時代から存じ上げており、そのユニークな発想と実行力はかねてから尊敬していた。今回の坪田ラボ社の黒字化および本年のウクライナ戦時下でのIPOの成功には大変驚かされ、坪田先生の偉大さを改めて実感した。私もほぼ同時期に再生医療ベンチャー Heartseed 社を立ち上げ、外資系製薬会社と企業提携し、世界同時治験を目指しているが、社会実装までの道程はまだ長い。坪田先生という良いお手本を見習って、もうひと頑張りしたいと思っている。

Tsubota Laboratory—a Model of University Startup Bioventure

Japanese universities produce successful research results and scientific papers, but few professors can achieve social implementation through development of a business. Though individuals such as Dr. Tadamitsu Kishimoto of Osaka University and Dr. Tasuku Honjo of Kyoto University have commercialized their research results into successful products, researchers who try their hand as entrepreneurs, using their results to launch a business, are rare.

I have known Dr. Tsubota since his student days and have long admired his unique ideas and decisive action. I was nevertheless astonished by Tsubota Laboratory's profitability and IPO in a year of ongoing war in Ukraine and reminded yet again of Dr. Tsubota's greatness. I launched Heartseed, a venture pursuing regenerative medicine, at about the same time Tsubota Lab was established and have since secured a corporate alliance with an overseas pharmaceutical company, aiming for simultaneous global clinical trials, but the road to social implementation will be long. I hope to learn from Dr. Tsubota's excellent example and go the extra mile.



上野 太郎 氏

サスメド株式会社 代表取締役
Taro Ueno, MD, PhD
CEO, SUSMED, Inc.

日本の医療産業振興への大きな貢献を期待しております

坪田先生の行動力にはお会いする度に驚かされますが、その原動力として、日本社会の置かれた状況への問題意識と、社会課題解決への情熱が根底にあるのだと感じております。医薬産業や医療機器産業における貿易赤字の問題を熱く語り、サイエンスに基づくイノベーションを通じて自ら解決の道筋を示す姿を拝見すると、真の社会起業家であると同時に、次世代を鼓舞する教育者であると驚嘆いたします。

既存のアカデミアの枠を超えて、研究成果を社会実装することによって社会に還元し、社会変革と課題解決を実現しようとする坪田ラボの取り組みが、世代を超えて広がり、日本の将来を持続可能なものにしてくれることを期待しております。

Awaiting Great Contributions Toward Promotion of Japan's Medical Industry

Whenever we meet, I am freshly amazed at Dr. Tsubota's decisive action and sense that his driving force is rooted in awareness of the problems facing Japanese society and his passion for solving them. When I witness him speaking ardently of using science-based innovation to solve trade deficits in the medical/pharmaceutical and medical device industries, I marvel that he is both a true social entrepreneur and an educator who inspires the next generation. I trust that Tsubota Laboratory will implement the research results it achieves by transcending academic boundaries for the betterment of society, and that its efforts to engage in problem solving and social transformation will similarly transcend generations to yield a sustainable future for Japan.



ユージン・デ・ファン氏

カリフォルニア大学サンフランシスコ校 特別名誉教授
フォーサイトラボ ファウンダー・副会長

Eugene de Juan, MD
Jean Kelly Stock Distinguished Professor, University of California, San Francisco
Founder & Vice-Chairman, ForSight Labs, LLC

重要な研究成果活用における第一線でのご活躍にお祝い申し上げます!

日本を訪問し、坪田ラボの目覚ましい研究成果をお伺いできましたこと、大変嬉しく思います。特に、バイオレットライト波長を活用したメガネフレームのように、近視の進行に対して重要な研究成果を応用していること、喜ばしく思います。これは、大きな潜在的価値をもたらすでしょう。

坪田ラボへ私からアドバイスさせていただきます。いくつかの興味深い課題にではなく、1つの重要な課題に取り組んでください。重要な課題はすべて興味深いものですが、興味深い課題がすべて重要であるというわけではありません。自分のアイデアへの関心は適度に、ベストなアイデアを大切にしてください。子犬が自分から生まれなくても、(ベストなアイデアと同様に) 受け入れることによりそれはあなたのものとなり、あなたによって形づくられてゆくののです。

めなければ失敗をすることはありません。共に過ごした時間に感謝いたします。

Congratulations! Leading in the Translation of Key Research findings

What a pleasure it was to visit you in Japan and get updated with all your lab's impressive advances. I was particularly delighted to see you translating the important research like the specific violet light wavelength eyeglass frames on myopia progression. This would have huge potential benefit.

Some advice for the lab:

Work one important problem, not interesting ones. All important problems are interesting. Not all interesting ones are important. Care little if it is your idea, care greatly if it's the best idea; just as a puppy did not come from you, once you take it in (just like the best idea) it becomes fully yours and is shaped by you.

If you don't give up, you can not fail. Thanks again, loved our time together.

1. 英文論文

Original Articles & Reviews

Total Impact factor (IF): 168.348, Average Impact Factor 5.445

Myopia Total IF: 53.209 (5.912 average IF)

1. Hanyuda A, Torii H, Hayashi K, Uchida A, Mori K, Yotsukura E, Ogawa M, Negishi K, Kurihara T, Tsubota K. Relationship of choroidal thickness and axial length with posterior vitreous detachment in patients with high myopia. *Sci Rep.* 2022 Mar 8;12(1):4093.
2. Shinojima A, Negishi K, Tsubota K, Kurihara T. Multiple Factors Causing Myopia and the Possible Treatments: A Mini Review. *Front Public Health.* 2022 May 10;10:897600.
3. Mori K, Kuroha S, Hou J, Jeong H, Ogawa M, Ikeda SI, Kang JX, Negishi K, Torii H, Arita M, Kurihara T, Tsubota K. Lipidomic analysis revealed n-3 polyunsaturated fatty acids suppressed choroidal thinning and myopia progression in mice. *FASEB J.* 2022 Jun;36(6):e22312.
4. Hazra D, Yotsukura E, Torii H, Mori K, Maruyama T, Ogawa M, Hanyuda A, Tsubota K, Kurihara T, Negishi K. Relation between dry eye and myopia based on tear film breakup time, higher order aberration, choroidal thickness, and axial length. *Sci Rep.* 2022 Jun 28;12(1):10891.
5. Maruyama T, Yotsukura E, Torii H, Mori K, Inokuchi M, Tokumura M, Hazra D, Ogawa M, Hanyuda A, Tsubota K, Kurihara T, Negishi K. Children in Tokyo Have a Long Sustained Axial Length from Age 3 Years: The Tokyo Myopia Study. *J Clin Med.* 2022 Jul 29;11(15):4413.
6. Zhang Y, Jeong H, Mori K, Ikeda SI, Shoda C, Miwa Y, Nakai A, Chen J, Ma Z, Jiang X, Torii H, Kubota Y, Negishi K, Kurihara T, Tsubota K. Vascular endothelial growth factor from retinal pigment epithelium is essential in choriocapillaris and axial length maintenance. *PNAS Nexus.* 2022 Aug 24;1:1-13.
7. Ikeda SI, Kurihara T, Jiang X, Miwa Y, Lee D, Serizawa N, Jeong H, Mori K, Katada Y, Kunimi H, Ozawa N, Shoda C, Ibuki M, Negishi K, Torii H, Tsubota K. Scleral PERK and ATF6 as targets of myopic axial elongation of mouse eyes. *Nat Commun.* 2022 Oct 10;13(1):5859.
8. Hayashi S, Yoshida M, Hayashi K, Tsubota K. Progression of posterior vitreous detachment after cataract surgery. *Eye (Lond).* 2022 Oct;36(10):1872-1877.
9. Torii H, Mori K, Okano T, Kondo S, Yang HY, Yotsukura E, Hanyuda A, Ogawa M, Negishi K, Kurihara T, Tsubota K. Short-Term Exposure to Violet Light Emitted from Eyeglass Frames in Myopic Children: A Randomized Pilot Clinical Trial. *J Clin Med.* 2022 Oct 11;11(20):6000.

Dry Eye Total IF: 65.799 (5.483 average IF)

1. Uchino M, Yokoi N, Shimazaki J, Hori Y, Tsubota K, On Behalf Of The Japan Dry Eye Society. Adherence to Eye Drops Usage in Dry Eye Patients and Reasons for Non-Compliance: A Web-Based Survey. *J Clin Med.* 2022 Jan 12;11(2):367.
2. Dogru M, Kojima T, Simsek C, Nagata T, Tsubota K. Salivary and Lacrimal Gland Alterations of the Epidermal Fatty Acid-Binding Protein (E-FABP) in Non-Obese Diabetic Mice. *Int J Mol Sci.* 2022 Mar 23;23(7):3491.
3. Hiratsuka R, Shimizu E, Yamane M, Yazu H, Sato S, Fukui M, Mukai S, Uchino M, Kamoi M, Tatematsu Y, Saijo Y, Negishi K, Tsubota K, Ogawa Y. A single institute validation study comparing the international chronic ocular graft-versus-host disease consensus group diagnostic criteria with clinical parameters. *Ocul Surf.* 2022 Apr;24:12-14.
4. Dogru M, Kojima T, Nagata T, Tsubota K. Strip Meniscometry Tube in the Assessment of Tear Lactoferrin in Non-Obese Diabetic (NOD) Mice. *Appl Sci.* 2022 12:3700.
5. Dogru M, Simsek C, Kojima T, Aketa N, Tsubota K, Shimazaki J. The Impact of Noncontact Tonometry and Icare Rebound Tonometry on Tear Stability and Dry Eye Clinical Practice. *J Clin Med.* 2022 May 17;11(10):2819.
6. Murata K, Nagasawa M, Onaka T, Kanemaki N, Nakamura S, Tsubota K, Mogi K, Kikusui T. Increase of tear volume in dogs after reunion with owners is mediated by oxytocin. *Curr Biol.* 2022 Aug 22;32(16):R869-R870.
7. Kojima T, Dogru M, Yazu H, Kudo H, Tsubota K. Noninvasive Visualization of the Tear Film Microaerosol During Noncontact Tonometry Measurements. *Am J Ophthalmol.* 2022 Sep;241:28-39.
8. Ogawa Y, Dana R, Kim S, ... Pflugfelder S, Tsubota K. Multicenter prospective validation study for international chronic ocular graft-versus-host disease consensus diagnostic criteria. *Ocul Surf.* 2022 Sep 18;26:200-208.
9. Yang F, Hayashi I, Sato S, Saijo-Ban Y, Yamane M, Fukui M, Shimizu E, He J, Shibata S, Mukai S, Asai K, Ogawa M, Lan Y, Zeng Q, Hirakata A, Tsubota K, Ogawa Y. Eyelid blood vessel and meibomian gland changes in a sclerodermatous chronic GVHD mouse model. *Ocul Surf.* 2022 Oct;26:328-341.
10. Inaba T, Ohnishi-Kameyama M, Liu Y, Tanaka Y, Kobori M, Tamaki S, Ito T, Higa K, Shimazaki J, Tsubota K. Quercetin improves lacrimal gland function through its anti-oxidant actions: Evidence from animal studies, and a pilot study in healthy human volunteers. *Front Nutr.* 2022 Oct 6;9:974530.
11. Kaido M, Arita R, Mitsukura Y, Ishida R, Tsubota K. Variability of autonomic nerve activity in dry eye with decreased tear stability. *PLOS One.* 2022 Nov 16;17(11):e0276945.
12. Hanyuda A, Kubota M, Kubota S, Masui S, Yuki K, Tsubota K, Negishi K. Validation of a novel iPhone application for evaluating near functional visual acuity. *Sci Rep.* 2022 Dec 26;12(1):22342.

Presbyopia IF: 5.99

1. Ayaki M, Negishi K, Kawashima M, Tsubota K. Starting Time of Presbyopic Eyeglasses Wear and Lifestyle. *Front Public Health.* 2022 Jun 15;10:856999.

Brain/Aging Total IF: 4.996 (2.498 average IF)

1. Taniguchi K, Takano M, Tobari Y, Hayano M, Nakajima S, Mimura M, Tsubota K, Noda Y. Influence of External Natural Environment Including Sunshine Exposure on Public Mental Health: A Systematic Review. *Psychiatry Int.* 2022 4 Mar 3:91-113.
2. Nagino K, Sung J, Oyama G, Hayano M, ... Inomata T. Prevalence and Characteristics of Dry Eye Disease in Patients with Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sci Rep.* 2022 Nov 1;12(1):18348.

Miscellaneous Total IF: 38.354 (5.479 average IF)

1. Sasaki M, Miyagawa N, Harada S, Tsubota K, Takebayashi T, Nishiwaki Y, Kawasaki R. Dietary Patterns and Their Associations with Intermediate Age-Related Macular Degeneration in a Japanese Population. *J Clin Med.* 2022 Mar 15;11(6):1617.
2. Ofuji Y, Katada Y, Tomita Y, Nagai N, Sonobe H, Watanabe K, Shinoda H, Ozawa Y, Negishi K, Tsubota K, Kurihara T. Non-Perfusion Area Index for Prognostic Prediction in Diabetic Retinopathy. *Life (Basel).* 2022 Apr 6;12(4):542.
3. Ozawa Y, Toda E, Homma K, Osada H, Nagai N, Tsubota K, Okano H. Effects of Epigenetic Modification of PGC-1 α by a Chemical Chaperon on Mitochondria Biogenesis and Visual Function in Retinitis Pigmentosa. *Cells.* 2022 Apr 29;11(9):1497.
4. Hanyuda A, Rosner BA, Wiggs JL, Willett WC, Tsubota K, Pasquale LR, Kang JH. Prospective study of dietary intake of branched-chain amino acids and the risk of primary open-angle glaucoma. *Acta Ophthalmol.* 2022 May;100(3):e760-e769.
5. Inagaki E, Arai E, Hatou S, Sayano T, Taniguchi H, Negishi K, Kanai Y, Sato Y, Okano H, Tsubota K, Shimmura S. The Anterior Eye Chamber as a Visible Medium for In Vivo Tumorigenicity Tests. *Stem Cells Transl Med.* 2022 Aug 23;11(8):841-849.
6. Lee D, Nakai A, Miwa Y, Tomita Y, Kunimi H, Chen J, Ikeda SI, Tsubota K, Negishi K, Kurihara T. Retinal degeneration induced in a mouse model of ischemia-reperfusion injury and its management by pemaflibrate treatment. *FASEB J.* 2022 Sep;36(9):e22497.
7. Yasukawa T, Hanyuda A, Yamagishi K, Yuki K, Uchino M, Ozawa Y, Sasaki M, Tsubota K, Sawada N, Negishi K, Tsugane S, Iso H. Relationship between blood pressure and intraocular pressure in the JPHC-NEXT eye study. *Sci Rep.* 2022 Oct 19;12(1):17493.

2. 英文著書

Book/Book Chapter

1. Kojima T, Liu Z, Dogru M, Yokoi N, Yoon KC, Tong L, Sun CC, Puangsricharern V, Vu CHV, Tsubota K (2022). Treatment of Dry Eye Disease in Asia. In A. Galor (Ed.), *Dry Eye Disease* (pp. 181-202). Elsevier.
2. Tsubota K. *Dry Eye: the Hidden Health Hazard: For Computer Users Concerned About Eye Health*. Partridge Publishing Singapore (April 6, 2022).

3. 国際学会

International Conferences

The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) 2022 Annual Meeting. Denver, Colorado, 1-4 May 2022

1. Tsubota K, Hazra D, Yotsukura E, Mori K, Maruyama T, Ogawa M, Hanyuda A, Negishi K, Torii H, Kurihara T. Relationship between Dry Eye and Myopia in Children.
2. Ogawa M, Torii H, Yotsukura E, Mori K, Hanyuda A, Matsumura J, Fukuoka K, Negishi K, Kurihara T, Tsubota K. Intensive outdoor activity for 1 week increased choroidal thickness.
3. Hou J, Mori K, Ikeda S-I, Jeong H, Torii H, Negishi K, Kurihara T, Tsubota K. Ginkgo biloba Extracts Showed Myopia Suppressive Effects in a Lens-Induced Myopia Model in Mice.
4. Jeong H, Kurihara T, Jiang X, Negishi K, Tsubota K. Bunazosin inhibited axial elongation with an increase of the choroidal blood perfusion in a murine model of myopia.
5. Lee D, Nakai A, Miwa Y, Tomita Y, Kunimi H, Tsubota K, Negishi K, Kurihara T. Pemaflibrate exerts therapeutic effects on retinal damages induced by transient elevation of intraocular pressure via multiple protective pathways.

The 18th International Myopia Conference (IMC). Rotterdam, The Netherlands, 4 – 7 September 2022

1. Ikeda SI, Kurihara T, Jiang X, Jeong H, Mori K, Negishi K, Torii H, Tsubota K. Myopia Can Be Controlled By Intervention in Scleral Endoplasmic Reticulum Stress.
2. Zhang Y, Jeong H, Mori K, Ikeda S-I, Shoda C, Miwa Y, Nakai A, Chen J, Ma Z, Kubota Y, Negishi K, Kurihara T, Tsubota K. Role of VEGF Secreted from Retinal Pigment Epithelium in Choriocapillaris and Axial Length Maintenance.
3. Chen J, Ikeda S-I, Negishi K, Kurihara T, Tsubota K. Identification of Key Genes and Pathways Involved in Myopic Choroidal Angiogenesis and Drug Discovery Based on Biomedical Data Analysis.
4. Hou J, Mori K, Ikeda S-I, Jeong H, Torii H, Negishi K, Kurihara T, Tsubota K. Ginkgo Biloba Extracts Altered Choroidal Blood Perfusion in Mice.
5. Jeong H, Kurihara T, Jiang X, Negishi K, Tsubota K. Alpha-1 Blockers Suppress Lens-Induced Myopia in Mice by Maintenance of Choroidal Thickness.

- Kurihara T, Mori K, Kuroha S, Hou J, Jeong H, Ogawa M, Ikeda S-I, Kang JX, Negishi K, Torii H, Arita M, Tsubota K. Omega 3 polyunsaturated fatty acids showed suppression of choroidal thinning and subsequent myopia inhibition by lipidomic analysis in murine experimental models.
- Ma Z, Jeong H, Jiang X, Ikeda S-I, Negishi K, Kurihara T, Tsubota K. Post Lens-Induced-Myopia Emmetropization: Binocular Compensation in Progression And Recovery of Myopia.
- Mori K, Torii H, Hara Y, Hara M, Yotsukura E, Hanyuda A, Negishi K, Kurihara T, Tsubota K. A Randomized Controlled Trial for The Effect of Violet Light Transmitting Eyeglasses on Myopia Progression In Children.
- Tsubota K, Hazra D, Yotsukura E, Mori K, Maruyama T, Ogawa M, Hanyuda A, Negishi K, Torii H, Kurihara T. Choroidal Thickness and Tear Breakup Time are Related in Myopia Patients: Supportive Evidence for the Correlation between Myopia and Dry Eye.

4. 国際招待講演 International Symposia

The Korean Scientists and Engineers Association in Japan, 13th Joint Subcommittee (第13回合同分科会) 2022年3月5日
Jeong H, Kurihara T, Negishi K, Tsubota K. Establishment of scaffold-free choroid in vitro model.

Cornea Society “Reimagining Dry Eye” (virtual), Part 2. USA, 27 April 2022
Tsubota K. Global Definition of Dry Eye.

International Ocular Surface Society (IOSS). Denver, Colorado, USA, 30 April 2022
Tsubota K. Are dry eye and myopia related? A new perspective on pathophysiology.

2nd European Dry Eye Society Congress, Paris, France (hybrid). 10 June 2022
Tsubota K. Light for Health.

1st Wenzhou and Keio Joint Meeting on Myopia, China & Japan (web). 11 June 2022
Organizers: Xiangtian Zhou, Kazuo Tsubota

- Ikeda S-I. Scleral ER stress and myopia.
- Zhao F. Scleral HIFs and Myopia.
- Mori K. EPA (n-3 PUFA) and myopia.
- Pan M. ω -3 PUFA are protective for myopia.
- Yotsukura E, Torii H. Dry eye and myopia.
- Wu H. Choroidal circulation and myopia in children.
- Zhou Xu. Choroidal blood perfusion and myopia in Guinea pigs.
- Zhang Y, Jeong H. LRP2/VEGF gene deletion in RPE leads myopic phenotypes.
- Zhou Xi. Tsubota K. Discussion on the future of myopia research.

Juzhou Symposium & International Myopia Conference (hybrid). Chengdu, China, 17 June 2022
Tsubota K. Violet light can suppress myopia progression in mice, chicks and humans.

1st International Symposium of the Biology of the Non-Visual Opsins. Seattle, Washington, USA, 29-30 July 2022

- Tsubota K. Violet light hypothesis for myopia control.
- Kurihara T. The mouse as a myopia model.
- Hayano M. Violet light regulates brain function trough oligodendrogenesis and myelination.

66th Brazilian Congress of Ophthalmology (CBO 2022) (hybrid). Curitiba, Brazil, 7 September 2022
Tsubota K. The Importance of Light Response in Myopia.

Oriental International Congress on Ocular Surface Diseases (hybrid). Shanghai, China, 15 Oct 2022
Tsubota K. Dry Eye & Lifestyle.

Asia Dry Eye Society (ADES) Educational Session 2022 (virtual). China, 11 November 2022
Tsubota K. Dry Eye is a Lifestyle Disorder.

5. 和文著書・総説 Review Papers (Japanese)

- 坪田 一男, 横井 則彦. 日本におけるドライアイの発展の歴史と変遷. あたらしい眼科, 2021;38(12):1367-1374.
- 坪田 一男. 光と健康の新習慣 (New Habits of Light and Health). 2022 Spring *Nikkei Health*, 2022:94-97.
- 坪田 一男. 私の履歴書 東京都眼科医会報第259号8-13

インタビュー Interviews

- 有田 秀穂, 坪田 一男. 不安, 緊張の強い現代社会に～涙を流してストレスケア. *Frontiers in Dry Eye*. 2022;17(1):
- 坪田 一男, 西口 康二. 眼科診療最前線 (The Forefront of Ophthalmology). *Animus*, 2022;110:3-10.

6. 国内学会 Domestic Conferences

第126回日本眼科学会総会/The 126th Annual Meeting of the Japanese Ophthalmological Society, 大阪, 2022年4月14日～17日

- 森 紀和子, 鳥居 秀成, 原 裕, 原 道子, 四倉 絵里沙, 羽入田 明子, 根岸 一乃, 栗原 俊英, 坪田 一男. バイオレット光透過眼鏡を用いた2年間の無作為化二重盲検比較試験.
- 南 早紀子, 内田 敦郎, 永井 紀博, 篠田 肇, 栗原 俊英, 伴 紀充, 寺崎 寛人, 高木 均, 坪田 一男, 坂本 泰二, 小沢 洋子. 網膜剥離手術前の増殖硝子体網膜症 (PVR-C) の発生および手術予後と眼軸長の関係.
- 栗原俊英, 森 紀和子, 黒羽 小羊子, 侯 靖, 丁 憲煜, 小川 護, 池田 真一, Jing Kang, 鳥居 秀成, 有田 誠, 根岸 一乃, 坪田 一男. EPA 代謝物の脈絡膜菲薄化および近視抑制効果に与える影響.
- 張 琰, 栗原 俊英, 丁 憲煜, 森 紀和子, 池田 真一, 陳 俊翰, 根岸 一乃, 坪田 一男. Lrp2ノックアウトマウスが示す強度近視の分子機構解析.
- 侯 靖, 森 紀和子, 池田 真一, 丁 憲煜, 鳥居 秀成, 根岸 一乃, 栗原 俊英, 坪田 一男. イチョウ葉エキ스가EGR1活性および脈絡膜血流に与える影響についての検討.
- 丁 憲煜, 栗原 俊英, 張 琰, 森 紀和子, 池田 真一, 馬 子妍, 久保田 義顕, 根岸 一乃, 坪田 一男. 網膜色素上皮特異的 VEGF 欠損マウスでの眼軸長伸長.
- 池田 真一, 栗原 俊英, 根岸 一乃, 坪田 一男. AAV テノン囊下注射による強膜への遺伝子発現法を用いた近視発症メカニズムの検証.
- 李 徳鎬, 芹澤 奈保, 中井 郁華, 三輪 幸裕, 富田 洋平, 堅田 侑作, 畑中 悠佑, 坪田 一男, 根岸 一乃, 栗原 俊英. 片側総頸動脈閉塞による網膜虚血マウスモデルにおける網膜変性.

第4回日本近視学会総会/The 4th Annual Meeting of Japan Myopia Society, 大阪, 2022年5月14日～15日

- 坪田 一男, 栗原 俊英, 鳥居 秀成, ハズラ デバブラダ, 四倉 絵里沙, 森 紀和子, 小川 護, 根岸 一乃. 近視児童における涙液層破壊時間と眼軸長、脈絡膜厚との関連性.
- 白石 優希, 四倉 絵里沙, 森 紀和子, 小川 護, 羽入田 明子, 坪田 一男, 栗原 俊英, 鳥居 秀成, 根岸 一乃. 眼鏡装用の有無と近視進行の関連性の検討.
- 四倉 絵里沙, 鳥居 秀成, 森 紀和子, 小川 護, 羽入田 明子, 坪田 一男, 栗原 俊英, 根岸一乃. COVID-19流行前後の小中学生における屈折要素とライフスタイルの変化.
- 栗原 俊英. 近視進行メカニズムの分子・細胞レベルでの理解を目指して.
- 池田 真一, 栗原 俊英, 根岸 一乃, 坪田 一男. 近視進行に伴う強膜コラーゲン線維の変性.
- 丁 憲煜, 栗原 俊英, 馬 子妍, 姜 効炎, 近藤真一郎, 植野 雄介, 林 祐樹, 池田 真一, 森 紀和子, 鳥居 秀成, 根岸 一乃, 坪田 一男. レンズ誘導近視モデルマウスにおけるVL透過率による近視進行抑制効果の差異.

NEURO2022, 沖縄, 2022年7月2日

- 佐々木 信成, Pooja Gusain, 早野 元詞, 菅谷 哲郎, 利根川 直也, 畑中 悠佑, 田村 理佐子, 奥山 慧, 長田 秀斗, 野田 賀大, 伴 紀充, 満倉 靖恵, Richard A. Lang, 三村將, 坪田一男. Violet light modulates the central nervous system to regulate cognitive function.
- Pooja Gusain, 佐々木 信成, 満倉 靖恵, 早野 元詞, 坪田 一男. Violet light treatment ameliorates social behaviour in social defeat stress mice.

第76回日本臨床眼科学会/The 76th Annual Congress of Japan Clinical Ophthalmology, 東京, 2022年10月13日～16日

- 栗原 俊英. 近視という病態を考える (ランチョンセミナー 13).
- 栗原 俊英. 近視進行の分子メカニズムと治療ターゲット (インストラクションコース).

第45回日本分子生物学会年会, 幕張, 2022年12月3日

- Pooja Gusain, 佐々木 信成, 早野 元詞, 坪田 一男. Antidepressant effect of violet light on depressive behaviour in mice.
- Sarah Y Robertson, 利根川 直也, Pooja Gusain, 佐々木 信成, 満倉 靖恵, 早野 元詞, 坪田 一男. Violet light modulates mouse hippocampal function via the non-visual retinal opsin OPN5.

7. 国内招待講演 Domestic Symposia

- 坪田 一男. 非視覚系オプシンによる健康イノベーション. 日本抗加齢医学会. 東京. 2022年3月13日
- 坪田 一男. 坪田ラボから世界に発信」第15回箱根ドライアイクラブ. 小田原. 2022年5月28日
- 坪田 一男. 医療のイノベーションを日本から発信するために. ロイター Pharma Japan 2022. 東京. 2022年9月29日
- 坪田 一男. 健康医療イノベーション概論 (講義)」慶應大学医学研究科アントレプレナー育成コースでの講義. Web. 2022年10月6日
- 坪田 一男. ライフサイエンスにおける研究成果の社会実装：産学連携から大学発ベンチャー設立、そしてその先へ. 早稲田大学シンポジウム. 東京 (hybrid). 2022年11月4日

坪田ラボ 10大ニュース 2022

Tsubota Laboratory - Top Ten News

- 1** 2022年6月23日に東京証券取引所
グロース市場に上場
Listed on the Tokyo Stock Exchange (TSE)
Growth Market on June 23, 2022



- 2** 2022年3月期も黒字達成
Remained in the black for fiscal
year ending March 2022

- 3** Twenty/Twenty Therapeuticsとバイオレット照射型眼鏡に係る
アメリカ大陸ライセンス契約を締結
Executed a licensing agreement for the
Americas with Twenty/Twenty Therapeutics
for violet light-emitting eyeglass frames

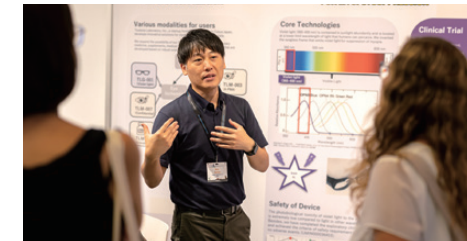
- 4** Laboratoires Théaと
強膜菲薄化抑制点眼薬に係る開発・製造・販売権の
独占的ライセンスアウト契約を締結
Executed an exclusive out-licensing agreement
with Laboratoires Théa for the development,
manufacture, and sales of an ophthalmic solution
to inhibit scleral remodeling to prevent myopia



- 5** バイオレット光照射型眼鏡の
検証治験を開始 (2022年6月～)
Initiated verification trial for violet light-
emitting eyeglass frames (June 2022)



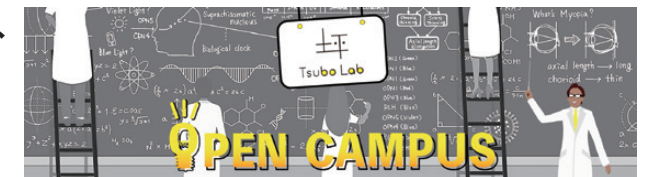
- 6** ARVO (米国・デンバー)、
第18回国際近視学会 (オランダ・ロッテルダム)
においてブースを出展
Exhibited booths at ARVO 2022 (Denver) &
The 18th International Myopia Conference (Rotterdam)



- 7** 慶應義塾大学医学部眼科学教室と共同で、
Nature Communications 誌 (オンライン版) に
論文「強膜に生じる小胞体ストレスが近視発症・進行の
中心的な分子メカニズム」を発表
In collaboration with the Department of Ophthalmology,
Keio University School of Medicine, research paper
published in Nature Communications
"Scleral PERK and ATF6 as targets of myopic axial
elongation of mouse eyes

- 8** IP ポートフォリオを大幅に強化 (特許提出11件、登録5
件)、論文も31本。インパクトファクター168.348
Greatly strengthened our IP portfolio with 11 patents submitted
and 5 patents registered, and 31 journal articles published with
a total impact factor of 168.348

- 9** 第1回オープンキャンパスを開催し、
最先端サイエンスについて
ディスカッション
Initiated 1st Tsubota Lab open campus
to discuss cutting edge science



- 10** オフィス拡張、従来の3倍の広さに
Tripled the office space from before!



メディア掲載・出演一覧 2022年 Mass Media

2022年1月27日
【ウェブメディア】ASCII STARTUP
大学シース起業から異色の黒字継続を進めるサイエンススタートアップに聞く事業化戦略
株式会社坪田ラボ 代表取締役社長 坪田 一男氏インタビュー

2022年3月14日
【雑誌】日経ヘルス 2022年春号
ブルーライト、バイオレットライト、2つの光が健康に重要
光と健康の新習慣

2022年6月16日
【ウェブメディア】日経電子版「もうすぐ上場します」
坪田ラボの坪田社長「眼鏡型機器で近視進行を抑制」

2022年6月16日
【ウェブメディア】会社四季報 ONLINE「新規上場企業情報」
6月23日上場！坪田ラボ(4890)の実力診断

2022年6月16日
【新聞・ウェブメディア】日本経済新聞(朝刊)「新規公開株の横顔」
坪田ラボ 近視向け眼鏡型機器

2022年6月21日
【ウェブメディア】CAPITAL EYE
坪田ラボ<4890>:眼の研究を届ける、参加は100件近く

2022年6月23日
【ウェブメディア】YouTube 日本取引所グループ公式チャンネル
【新規上場会社紹介】坪田ラボ(2022/6/23上場)(4890)

2022年6月23日
【ウェブメディア】日経電子版「経営トーク」
坪田ラボの坪田社長「近視向け眼鏡型機器を開発」

2022年6月23日
【テレビ】日本テレビ news every.
【視力低下】日光浴びて進行を抑制?「バイオレットライト」が重要

2022年6月27日
【テレビ】讀賣テレビ 朝生ワイド す・またん！
子どもの近視の深刻化と最先端近視研究

2022年6月24日
【ウェブメディア】日経バイオテク
坪田ラボが東証グロースに上場、初日の時価総額は213億円

2022年6月27日
【ウェブメディア】CAPITAL EYE
上場会見:坪田ラボ<4890>の坪田社長、パイプラインに寄り添う

2022年7月5日
【ウェブメディア】日経CNBC「IPO 社長に聞く」
坪田ラボ 坪田一男社長

2022年7月7日
【ウェブメディア】ZUU ONLINE「IPO 社長に聞く」
坪田ラボ 坪田一男社長

2022年7月8日
【ウェブメディア】会社四季報 ONLINE「きょうの動意株」
坪田ラボ4連騰、近視進行抑制用機器でマイルストーン受領

2022年8月19日
【ウェブメディア】会社四季報 ONLINE「IPO 社長の横顔」
創業時から黒字維持するバイオベンチャーの経営哲学
坪田ラボの坪田一男社長に聞く

2022年8月24日
【ウェブメディア】会社四季報 ONLINE「きょうの動意株」
坪田ラボが大幅反発、「愛情ホルモン」が涙の分泌に関与か

2022年10月12日
【ウェブメディア】TECH+ Powerd by マイナビニュース
慶大、近視を点眼で治療できる可能性のある化合物をマウスによる実験で発見

2022年10月28日
【新聞・ウェブメディア】朝日新聞デジタル
「子どもを近視から守る」夢追って 医学部教授から上場企業の社長に

2022年11月22日
【ウェブメディア】日経バイオテク
坪田ラボ、米企業とバイオレット光照射デバイスのライセンス契約を締結

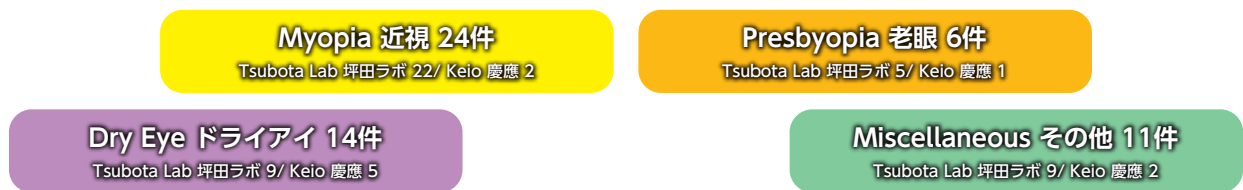
2022年12月22日
【ウェブメディア】会社四季報 ONLINE「きょうの動意株」
坪田ラボがストップ高気配、ライセンスアウト契約締結を好感

【ラジオ・レギュラー出演】
ラジオ NIKKEI「大人のラヂオ」

2022年1月7日	坪田一男	2022年7月1日	坪田一男
2022年2月4日	坪田一男	2022年8月5日	坪田一男
2022年3月4日	坪田一男	2022年9月2日	坪田一男
2022年4月1日	坪田一男	2022年10月7日	坪田一男
2022年5月6日	坪田一男	2022年11月4日	坪田一男
2022年6月3日	坪田一男	2022年12月2日	坪田一男

坪田ラボ特許件数 (2023年1月現在) Tsubota Lab Patents as of January 2023

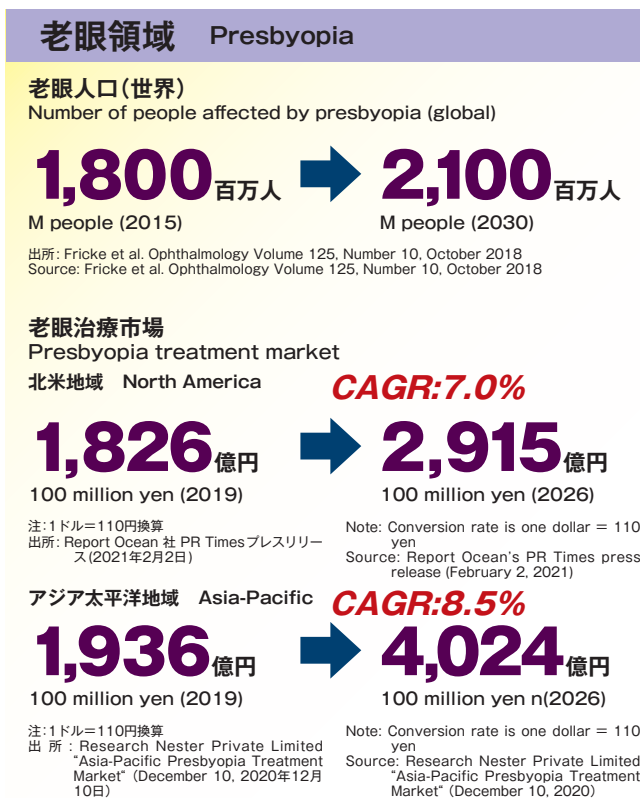
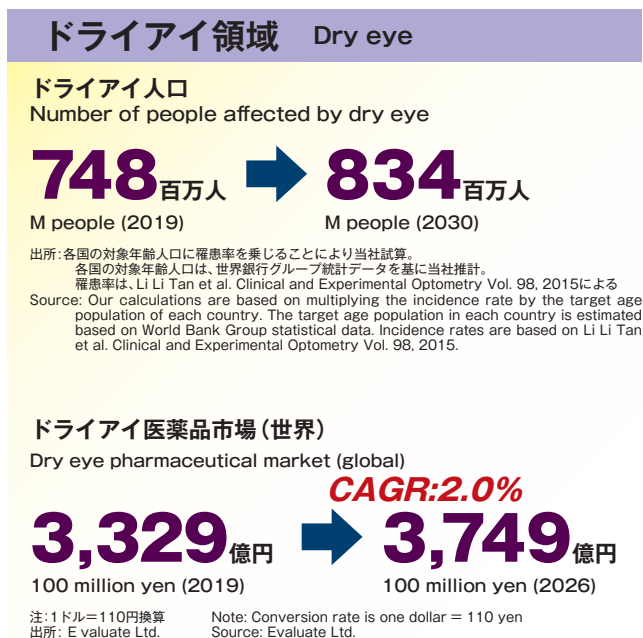
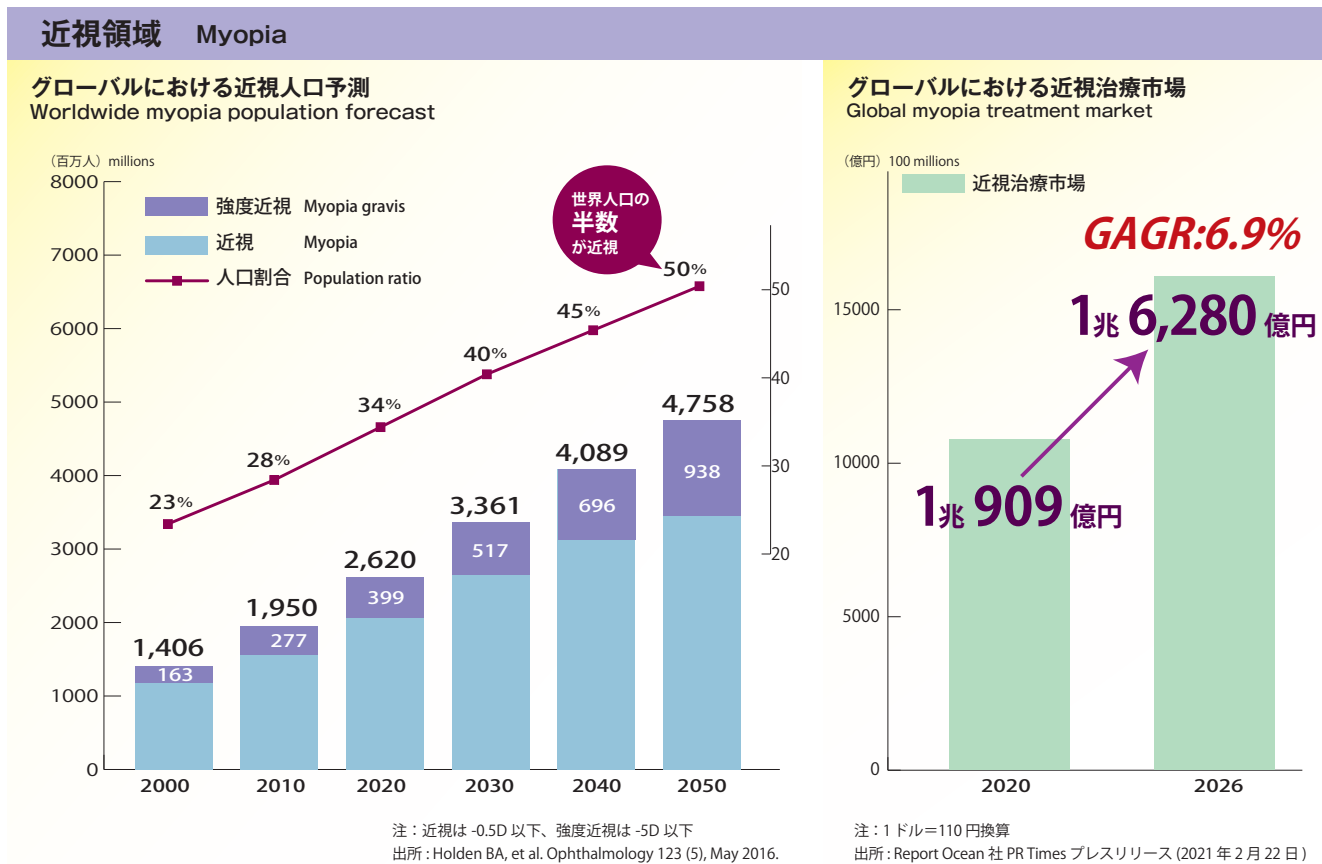
特許出願件数 55件
Number of patent applications: 55



うち、28件が登録済み
28 patents were registered

※ 同じ案件で国内外に出しているものは1件とカウント The same patent applied in Japan and overseas is counted as one.
※ 現存のもののみカウント Count only existing patents.
※ 坪田ラボ (株式会社ドライアイ K.T., 有限会社坪田含む) または慶應が出願人のものである Only those for which Tsubota Lab (including Dry Eye KT Co., Ltd. and Tsubota Co., Ltd.) or Keio are applicants.
※ 他社との共同出願のものは含む Includes joint applications with other companies.
※ 他社のみでの出願のものは除く Excludes applications filed only by other companies.
※ ファミリーはまとめて1カウント Family patents count as one.

世界における対象疾患の推定患者数 Estimated number of patients living with targeted diseases around the world



財務報告

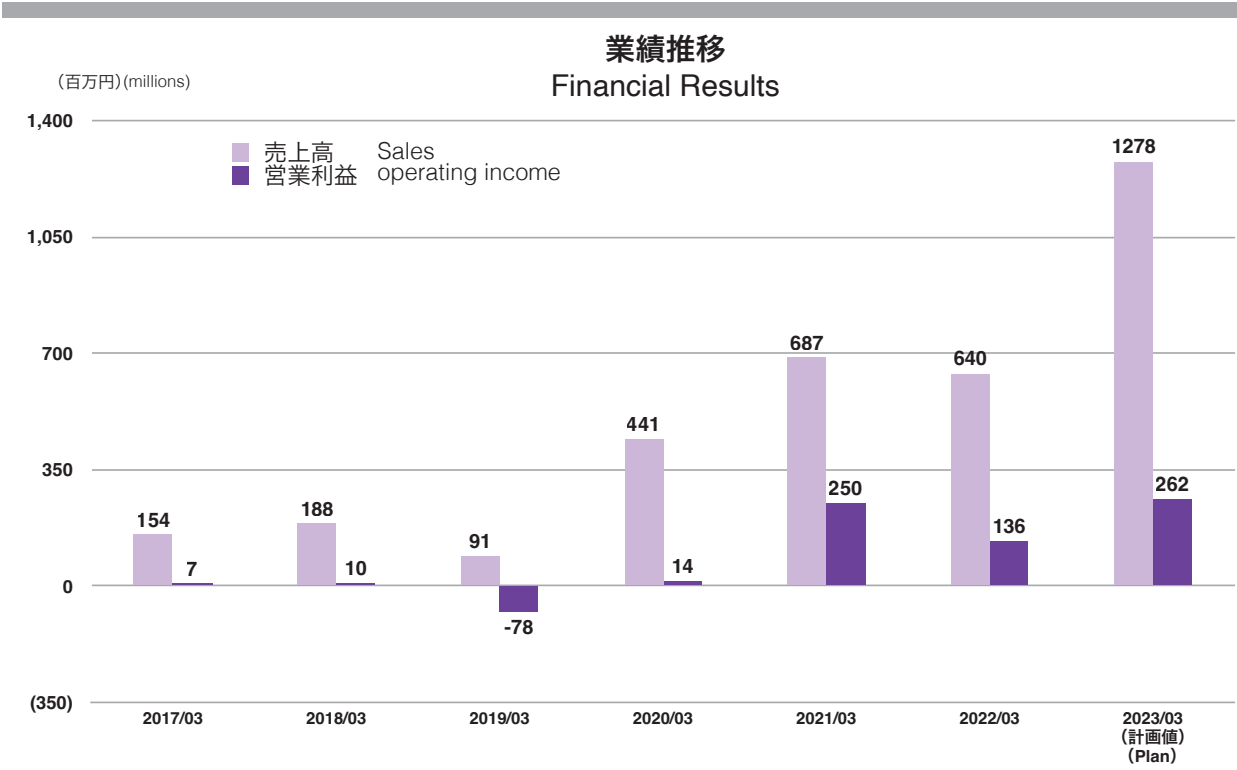
Financial Data

2023年3月期第3四半期 3rd quarter of the fiscal year ending March 31, 2023

損益計算書 Profit & Loss	2022年3月期第3四半期累計実績 Fiscal year ending March 31, 2022 Cumulative 3rd quarter results	2023年3月期第3四半期累計実績 Fiscal year ending March 31, 2023 Cumulative 3rd quarter results	(単位：千円) (¥: thousands)
下段 lower column	売上% vs Sales	売上% vs Sales	
売上高 Sales	550,005	882,116	
売上原価 Cost of goods sold	22,980 4.2%	180,305 20.4%	
売上総利益 Gross Profit	527,025 95.8%	701,811 79.6%	
販売費及び一般管理費 Selling, general and administrative expenses	298,846 54.3%	390,099 44.2%	
営業利益 Operating Income	228,179 41.5%	311,712 35.3%	
経常利益 Ordinary Income	291,064 52.9%	290,706 33.0%	
四半期(当期)純利益 Net Income	215,224 39.1%	201,582 22.9%	
1株当たり四半期(当期)純利益(円) Net Income per share (yen)	9.51	8.26	

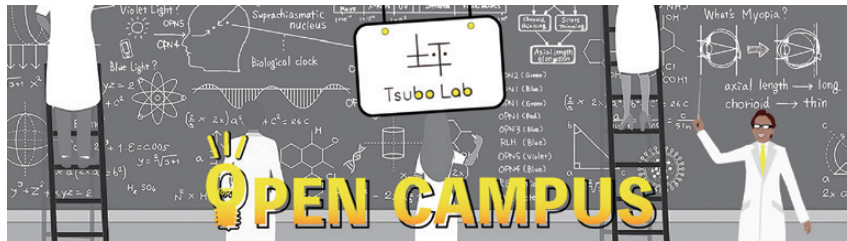
貸借対照表 Balance Sheet	2022年3月期通期末 Fiscal year ending March 31, 2022 Year-end	2023年3月期第3四半期末 Fiscal year ending March 31, 2023 End of 3rd quarter	前期末比 Versus the end of fiscal year 2022	(単位：千円) (¥: thousands)
流動資産 Current Assets	1,515,127	2,722,955	1,207,827	
(うち現金及び預金) (Cash and deposits)	1,174,929	2,332,444	1,157,515	
有形固定資産 Tangible fixed assets	70,732	70,150	△582	
無形固定資産 Intangible fixed assets	15,076	12,417	△2,658	
投資その他の資産 Investments and other assets	16,858	14,449	△2,408	
資産合計 Total assets	1,617,795	2,819,973	1,202,177	
流動負債 Current liabilities	674,102	655,329	△18,773	
(うち1年内有利子負債) (Current portion of long-term loans payable)	24,480	24,480	0	
固定負債 Fixed liabilities	199,340	123,020	△76,320	
(うち1年超有利子負債) (Long-term loan payable)	199,340	123,020	△76,320	
負債合計 Total liabilities	873,442	778,349	△95,093	
資本金 Capital stock	231,053	778,897	547,844	
資本剰余金 Capital surplus	215,053	762,897	547,844	
利益剰余金 Retained earnings	298,247	499,830	201,582	
純資産合計 Total net assets	744,353	2,041,624	1,297,270	
負債・純資産合計 Total liabilities and net assets	1,617,795	2,819,973	1,202,177	
自己資本比率 Equity Ratio	46.0%	72.4%		

業績予想対比 Progress in comparison with Forecasts	2023年3月期業績予想 Fiscal year ending March 31, 2023 Forecasts	2023年3月期第3四半期累計実績 Fiscal year ending March 31, 2023 Cumulative 3rd quarter results	業績予想進捗状況 Progress versus Forecasts	(単位：千円) (¥: thousands)
下段 lower column	売上% vs Sales	売上% vs Sales		
売上高 Sales	1,278,892	882,116	69.0%	
売上原価 Cost of goods sold	327,386 25.6%	180,305 20.4%	55.1%	
売上総利益 Gross Profit	951,506 74.4%	701,811 79.6%	73.8%	
販売費及び一般管理費 Selling, general and administrative expenses	688,698 53.9%	390,099 44.2%	56.6%	
営業利益 Operating Income	262,807 20.5%	311,712 35.3%	118.6%	
経常利益 Ordinary Income	262,407 20.5%	290,706 33.0%	110.8%	
四半期(当期)純利益 Net Income	181,768 14.2%	201,582 22.9%	110.9%	
1株当たり四半期(当期)純利益(円) Net Income per share(yen)	7.40	8.26		



第1回「坪田ラボ・オープンキャンパス」を開催、約300人が視聴

The First Tsubota Laboratory Open Campus Draws About 300 Participants



坪田ラボのサイエンス×コマースリゼーションの最新の取り組みと、共にイノベーションに挑む国内外の研究者とのコラボレーションの最前線を紹介する場として、「坪田ラボ・オープンキャンパス」が新たに設けられました。

第1回は2022年11月17日、Zoomウェビナーによるオンライン・ライブ配信形式で開催され、東京大学大学院工学系研究科技術経営戦略学専攻教授・各務茂夫先生▽慶應義塾大学医学部生理学教室教授・岡野栄之先生▽坪田ラボCEO・坪田一男が講演と総合討論を実施。約300人の方が視聴しました。

「坪田ラボ・オープンキャンパス」は2023年以降も年1～2回のペースで開催していくことを予定しています。

■第1回「坪田ラボ・オープンキャンパス」プログラム
日時：2022年11月17日（木）18時～20時
開催形式：Zoomウェビナーを使ったオンライン・ライブ配信
参加費：無料

○ご挨拶
株式会社坪田ラボ 代表取締役 CEO 坪田 一男



○ご講演1
「大学発ベンチャーとイノベーション・エコシステム」
東京大学大学院工学系研究科 技術経営戦略学専攻 教授
産学協創推進本部 副本部長
各務 茂夫先生



○ご講演2
「再生医療と脳科学」
慶應義塾大学医学部 生理学教室 教授
岡野 栄之先生



○講演3
「坪田ラボ ごきげん T型戦略」
株式会社坪田ラボ 代表取締役 CEO
坪田 一男

○総合討論

Tsubota Laboratory's Open Campus was recently established to introduce the company's current efforts in "Science x Commercialization" initiatives as well as its cutting-edge collaboration with domestic and international researchers in shared innovation.

The inaugural Open Campus was held as a Zoom webinar on November 17, 2022, with approximately 300 participants. Lectures and discussions were presented by Professor Shigeo Kagami of the Department of Technology Management for Innovation at The University of Tokyo, Professor Hideyuki Okano, Department of Physiology at the Keio University School of Medicine, and Kazuo Tsubota, CEO of Tsubota Laboratory, Inc.

From 2023 onward, the Tsubota Laboratory Open Campus is scheduled to be held once or twice annually.

First Tsubota Laboratory Open Campus
Date/time: Thursday, November 17, 2022 (6-8pm)
Format: Zoom webinar (live streaming)
Fee: Free for a participants

Opening greetings
Kazuo Tsubota, CEO, Tsubota Laboratory, Inc.

Lecture 1
University Ventures and the Innovation Ecosystem
Speaker: Shigeo Kagami
Professor, Department of Technology Management for Innovation, The University of Tokyo
Deputy Director-General, Division of University Corporate Relations

Lecture 2
Regenerative Medicine and Brain Science
Speaker: Hideyuki Okano
Professor, Department of Physiology, Keio University School of Medicine

Lecture 3
Tsubota Laboratory's "Gokigen" T-shaped Strategy
Speaker: Kazuo Tsubota
CEO, Tsubota Laboratory, Inc.

General Discussion

慶應義塾大学医学部発ベンチャー協議会とともに

In Tandem with the Association of Startups from Keio University School of Medicine

2021年時点で慶應義塾大学医学部から社会実装を目指し設立された会社数は15社でしたが、2022年は18社にまで拡大しました。そして会員企業の時価総額は471億円と、前年に比べて106億円、率にして29%増加しています。また保有知財も119件を数え、前年対比で32%増加しております。

慶應義塾大学医学部がイノベーションの起点となる為には、サイエンスだけではなく、サイエンスとコマースリゼーションの両輪が力強く、そしてバランス良く回転していくことが必要不可欠です。

この18社は各社が独自の知財とビジネスモデルで健康・医療の観点から社会課題の解決を目指し、事業を展開しています。

株式会社坪田ラボといたしましては、今後ともベンチャー協議会からのより多くのスタートアップ企業の誕生に微力ながら貢献させていただくとともに、大学発ベンチャーの模範となるべく、より一層の企業努力を行ってまいりたいと考えております。

慶應義塾大学医学部発ベンチャー協議会会員企業一覧（2023年2月現在）
Association of Startups from Keio University School of Medicine – Member List (as of February 2023)

	社名 Company Name	事業領域 Business Field	出身教室 Dept. of Origin	設立 Established
特別会員企業 Executive Member Company	株式会社坪田ラボ Tsubota Laboratory, Inc.	創薬、バイオ、医療機器等 Drug development, Biotechnology, Medical devices	眼科学 Ophthalmology	2015年2月 Feb 2015
幹事会員企業 Board Member Companies	Heartseed 株式会社 Heartseed Inc.	再生医療 Regenerative medicine	循環器内科 Cardiology	2015年11月 Nov 2015
	株式会社ケイファーマ K Pharma, Inc.	創薬、再生医療 Drug development, Regenerative medicine	生理学・整形外科科学 Physiology/Orthopedics	2016年11月 Nov 2016
一般 会員企業 General Member Companies	株式会社セルージュン Cellusion, Inc.	再生医療 Regenerative medicine	眼科学 Ophthalmology	2015年1月 Jan 2015
	株式会社 AdipoSeeds AdipoSeeds, Inc.	再生医療 Regenerative medicine	血液内科 Hematology	2016年7月 July 2016
	株式会社 OUI OUI Inc	診療デバイス Medical care devices	眼科学 Ophthalmology	2016年7月 July 2016
	株式会社レストアビジョン Restore Vision Inc.	再生医療 Regenerative medicine	眼科学 Ophthalmology	2016年11月 Nov 2016
	株式会社 グレースイメーシング Grace imaging, Inc.	スポーツヘルスケア Sports health care	整形外科 Orthopedics	2018年7月 July 2018
	株式会社イー・ライフ e-Life CO.,Ltd.	睡眠 Sleep	薬理学 Pharmacology	2018年10月 Oct 2018
	Across Therapeutics, Inc.	抗アкваポリン抗体 Anti-Aquaporin antibody	薬理学 Pharmacology	2018年11月 Nov 2018
	株式会社 Luxonus Luxonus Inc.	汎用撮影装置 Image diagnostic devices	解剖学 Anatomy	2018年12月 Dec 2018
	MatriSurge 株式会社 Matri Surge Co.,Ltd	生体医療材料 Biomedical materials	外科 Surgery	2019年1月 Jan 2019
	株式会社 Otolink Otolink Inc.	創薬・IoTヘルスケア Drug development, IoT healthcare	耳鼻咽喉科 Otorhinolaryngology	2019年5月 May 2019
	株式会社 iXgenei Xgene Inc.	医薬品開発 Drug development	生理学・脳神経外科 Physiology and neurosurgery	2020年1月 Jan 2020
	iMU 株式会社 iMU Corporation	医療機器デバイス Medical devices	整形外科 Orthopedics	2020年5月 May 2020
	株式会社 INTEP INTEP, Inc.	医療用システムの開発 Medical system development	リハビリテーション医学 Rehabilitation medicine	2020年7月 July 2020
	ALAN 株式会社 ALAN Inc.	プログラム医療機器開発 Medical device development	生理学 Physiology	2021年2月 Feb 2021
	株式会社 Orthopicks Orthopicks Inc.	情報通信業 Information and communications	整形外科 Orthopedic surgery	2021年2月 Feb 2021

As of 2021, the Keio University School of Medicine had launched 15 companies for social implementation; in 2022, that number increased to 18. The total market capitalization of member companies is 47.1 billion yen, an increase of 10.6 billion yen (29%) from last year. Intellectual property holdings now number 119, a 32% increase from last year.

Of course, Keio University School of Medicine cannot serve as the starting point for innovation based on science alone; both science and commercialization are essential and must function as strong and well-balanced axles to achieve success.

Each of the 18 member companies is developing its business to pursue solutions to social issues from a health/medicine perspective by harnessing its own intellectual properties and business model.

Tsubota Laboratory, Inc. will continue to make whatever small contribution we can toward the emergence of an abundance of new venture companies from the Association of Startups while also laboring to be a model for university-launched ventures.

当社の事業戦略(T型戦略)とGO OUTという経営

The Tsubota Laboratory Philosophy: T-shaped Strategy and GO OUT

当社では、もともと大学が強いサイエンスと、コマースリゼーションの両輪を力強くかつバランス良く回転させていくことで、早期の収益化を目指しています。そしてその収益をもとに、既存パイプラインの価値最大化を図る（深化）とともに、新たなシーズの開発、すなわち継続的収益源の確保（探索）にも努めています。

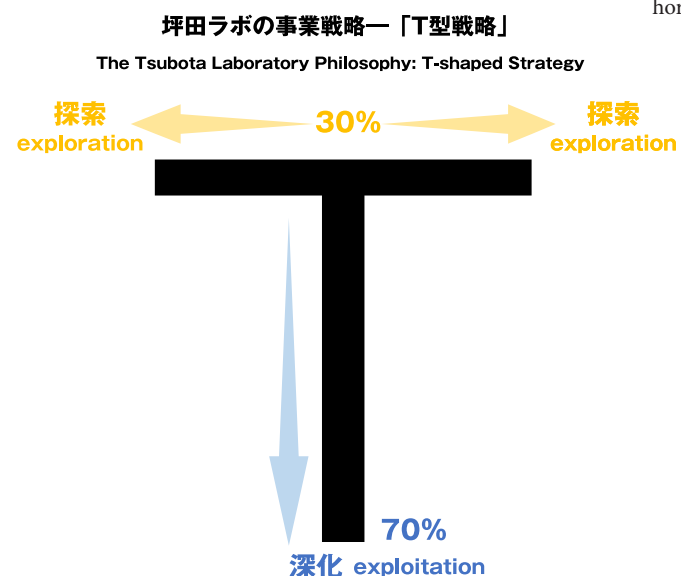
こうした「深化」と「探索」の考え方の原型は、スタンフォード大学のチャールズ・A・オライリー教授とハーバード大学のマイケル・L・タッシュマン教授の共著「両利きの経営」（東洋経済新報社）に書かれています。

坪田ラボは「深化」と「探索」を同時に追求する「T型戦略」を実践していくことに努めており、こうした戦略こそがイノベーションの源であると確信しております。

そしてこのことは企業だけではなく、個々人の生き方にも言えることです。ビジネス社会では、目指すべき人物像として、確りとした専門的な知見や経験を持つと同時に、専門以外の分野にも広く、そして深く知見を有する人材、いわゆる「T型人材」が挙げられてきました。一人一人が自身の専門性を更に深化させるとともに、それを軸として、専門以外の分野にも幅広く関心を持ち、様々な人と出会い、ネットワークを築き、知識を広げていくこと（GO OUT）がとても大切です。

今の日本が必要としているのは、まさにこのような人財であると思います。

こうした強い思いから、このたび当社 CEO 坪田一男は「GO OUT」の概念を解説する本を執筆しました。



Tsubota Laboratory strives for early-stage profitability through powerful balanced rotation of the dual wheels of science and commercialization in which universities excel. Those revenues will, in turn, maximize (exploit) the value of our existing pipeline, enabling development of new seeds and securing an ongoing revenue source (exploration). This philosophy of exploitation and exploration was originally described by Charles A. O'Reilly III (Stanford University) and Michael L. Tushman (Harvard University) in The Ambidextrous Organization (Harvard Business Review, 2004).

Tsubota Laboratory strives to implement a “T-shaped Strategy” which incorporates both exploitation and exploration and will serve, we believe, as the source of innovation.

Our unique strategy applies not only to corporations, but surely also to individual lifestyles. In the business world, we see T-type human resources elevated as the ideal, encompassing solid expertise and experience along with broad and deep knowledge in fields outside their own. Each of us must be grounded by deepening our own expertise, but then move outward (GO OUT), both by exhibiting interest in other fields and by networking with new individuals to expand our knowledge.

We believe this is precisely the type of human resources needed in Japan today. And, based on these strong convictions, CEO Kazuo Tsubota has authored a new book, GO OUT. We hope this tome provides many readers with the encouragement and momentum to expand their horizons.



会社沿革 History

2012	5月 坪田ラボの前身となる株式会社ドライアイKT 設立 Establishment of Dry Eye KT, Inc. in May
2015	2月 株式会社ドライアイKT が株式会社近視研究所、株式会社老眼研究所を吸収合併し、株式会社坪田ラボと商号変更 Dry Eye KT, Inc. merged with Myopia Research Institute, Inc. and Presbyopia Research Institute, Inc. to become Tsubota Laboratory, Inc. in February
2017	バイオレットライトが眼軸長の延伸を抑制する可能性を示唆する「バイオレットライト仮説」を発表 Publication of the “Violet Light Theory” in which violet light suppresses axial length elongation
2019	坪田一男が株式会社坪田ラボの代表取締役役に就任、慶應義塾大学医学部発ベンチャー協議会を発足し、幹事会員企業に Dr. Kazuo Tsubota was appointed CEO of Tsubota Laboratory, Inc. and became a member of the Venture Council in Keio University School of Medicine 4月 坪田ラボとして慶應義塾大学信濃町キャンパス内総合医科学研究棟（リサーチパーク）4S7 に研究室を開設 In April, Tsubota Lab opened its first research unit in Building 4S7 of Keio University Research Park located on the Shinanomachi Campus 5月 国内メガネ製造販売大手のジンズ社と、バイオレットライトを照射するメガネ型医療機器TLG-001の共同開発について契約を締結 In May, established a collaboration with JINS Inc., a major domestic eyewear firm, for joint development of violet light-emitting eyeglass frame medical device 6月 慶應義塾大学信濃町キャンパス内2号棟5階ヘオフィスを移転 In June, relocated office to the Shinanomachi Campus (Bldg. 2, 5th floor), where Keio University's hospital and medical school are located バイオレット光照射型眼鏡「TLG-001」の探索治験を開始 Exploratory clinical trial launched for violet light-emitting eyeglass frames (TLG-001)
2020	6月 オフィスを信濃町キャンパス内から信濃町駅前のビルに移転 In June, relocated office to the building in front of Shinanomachi station from the Shinanomachi Campus 12月「TLG-001」の探索試験を終了し、安全性と効果を確認 In December, concluded exploratory clinical trial, confirming safety and efficacy of the TLG-001 medical device for suppression of myopia progression — a major step in device development
2021	5月 慶應義塾大学と共同で、近視抑制に働く分子メカニズムを世界初で解明 In May, achieved world's first discovery of the molecular mechanisms of violet light in suppressing myopia in collaboration with Keio University
2022	6月23日 東京証券取引所グロース市場に新規上場 On June 23, Tsubota Laboratory was newly listed on the Tokyo Stock Exchange (Growth Market) 6月「TLG-001」の検証試験を開始 In June, started the confirmatory trial for TLG-001 12月 オフィスを拡張、従来の3倍の広さに In December, expanded the office to triple the previous size

役員一覧
Board Members



坪田一男／代表取締役
CEO Kazuo Tsubota



山田進太郎／取締役 事業開発本部長
Director, and General Manager,
Business Development Division
Shintaro Yamada



近藤眞一郎／取締役 研究開発本部長
Director, Chief Technology Officer,
and Manager,
Reach&Development Divison
Shinichiro Kondo



小泉信一／社外取締役
External Director
Shinichi Koizumi



吉川 勝／常勤監査役（社外）
Full-time External Auditor
Masaru Yoshikawa



堤 康之／社外監査役
External Auditor
Yasuyuki Tsutsumi



村田真一／社外監査役
External Auditor
Shinichi Murata

Map + Info
アクセス



株式会社坪田ラボ
Tsubota Laboratory, Inc.

電話 03-6384-2866
FAX 03-6384-2877

TEL +81-3-6384-2866
FAX +81-3-6384-2877



〒160-0016 東京都新宿区信濃町34番地 トーシン信濃町駅前ビル 304
304 Toshin Shinanomachi-ekimae Bldg., 34 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo 160-0016 Japan

編集後記

巻頭の代表挨拶や 10 大ニュースのトップにもあります通り、当社は 2022 年 6 月に東京証券取引所グロース市場に上場しました。上場によって社会的使命はより一層重くなりましたが、「大学発のしっかりとしたサイエンスとコマーシャリゼーションにより、イノベーションを起こし、グローバルな社会課題の解決を目指し、未来をごぎげんにする」という企業理念は揺るぎないものです。

今回は特別対談に Russell N. Van Gelder 先生をお招きしております。その中で、光受容体の様々な機能に対する注目度がかつてない程に高まっており、その中でも特に非視覚系オプシンの分野が拡大していくとの話がありますが、その一つである OPN5 は、まさに坪田ラボの研究開発における中核の一つです。

そこには、未来に向けた「夢」があり、その「夢」を現実のものとしていく為に、今後とも研究開発事業に邁進してまいります。

最後になりましたが、この場をお借りしまして、本報告書発行にあたって多大なご理解とご協力をいただきました皆様に心より感謝申し上げます。

株式会社坪田ラボ アニュアルレポート 2022
編集長 小橋 英長

Postscript

As you can see in the CEO's greeting at the beginning of this report and at the top of the 10 major news items, our company was listed on the Growth Market of the Tokyo Stock Exchange in June 2022.

Although the company's social mission became even more important after going public, our corporate philosophy of "Through solid science and commercialization originating from universities, we will bring about innovation, aim to solve global social issues, and make the future brighter," remains unwavering.

We have invited Dr. Russell N. Van Gelder for a special dialogue. In that discussion, he explains the ever-increasing attention to various functions of photoreceptors and the expanding field of non-visual opsins, one of which, OPN5, is truly one of the core components of Tsubota Lab's research and development.

We have a "dream" for the future, and in order to make this "dream" a reality, we will continue to push forward with our research and business development.

Finally, we would like to take this opportunity to express our sincere gratitude to all those who have given us their understanding and cooperation in publishing this report.

Hidenaga Kobashi, Editor-in-Chief
Tsubota Laboratory, Inc. Annual Report 2022

発行日：2023 年 3 月
発行：株式会社 坪田ラボ
発行者：坪田 一男
編集長：小橋 英長

Publication date: March 2023
Publisher: Tsubota Laboratory, Inc.
Issuer: Kazuo Tsubota
Editor-in-chief: Hidenaga Kobashi

Tsubota Laboratory, Inc.

www.tsubota-lab.com