

抗アレルギー薬によるテノン嚢線維芽細胞増殖抑制と 実験的濾過胞の維持

近藤寿美代, 山本 真之, 竹内 篤, 鈴木 裕子, 岩城 正佳

愛知医科大学眼科学教室

要 約

目 的：トラニラストとフマル酸ケトチフェンの *in vitro* テノン嚢線維芽細胞増殖抑制と実験的濾過胞の維持に対する効果を検討した。

方 法：ヒトテノン嚢由来の線維芽細胞を 10% ウシ胎仔血清を含んだ Dulbecco's modified Eagle's medium 培養した。培地にトラニラストとフマル酸ケトチフェンを加え、3-[4,5-dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 法と細胞数を計測する方法により細胞増殖速度を測定した。コラーゲンと transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) を該当する enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法で測定した。白色家兎に線維柱帯切除術を施行し、両薬剤を点眼し、眼圧の経過と濾過胞の消長を観察した。

結 果：トラニラスト、フマル酸ケトチフェンともに

以下の作用を示した。①線維芽細胞増殖を抑制した (50% 抑制濃度はそれぞれ 200, 70 μ M)。② TGF- β 1 の産生を抑制する作用は明らかではなかった。③ 低濃度 (10 μ M) で I 型コラーゲンの合成を抑制した。④ 点眼群では家兎眼の濾過胞消失までの時間が有意に延長した [それぞれ 12.5 ± 3.2 (平均値 \pm 標準偏差) 日, 13.9 ± 3.4 日, 対照は 10.5 ± 2.4 日]。

結 論：2 種の抗アレルギー薬のテノン嚢線維芽細胞増殖抑制作用と実験的濾過胞の維持の効果が確認できた。(日眼会誌 106 : 325-331, 2002)

キーワード：テノン嚢線維芽細胞, トラニラスト, フマル酸ケトチフェン, 細胞増殖, 濾過手術, 濾過胞

Anti-allergic Drugs Inhibit the Proliferation of Human Tenon's Capsule Fibroblast and Maintain the Experimental Filtering Blebs on Rabbit Eyes

Sumiyo Kondo, Masayuki Yamamoto, Atsushi Takeuchi, Hiroko Suzuki and Masayoshi Iwaki

Department of Ophthalmology, Aichi Medical University

Abstract

Purpose : To examine whether tranilast and ketotifen fumarate inhibit the growth of human Tenon's capsule fibroblasts and maintain experimental filtering blebs on rabbit eyes.

Methods : Human Tenon's capsule fibroblasts were grown in Dulbecco's modified Eagle's medium with 10% fetal calf serum and growth was measured with 3-[4,5-dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) and direct counting of cell number. Production of collagen and transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) was measured with corresponding enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In experimental filtering surgery performed on rabbit eyes, the effects of the topical drugs on intraocular pressure and on maintenance of the filtering blebs were observed.

Results : Both tranilast and ketotifen inhibited the growth of the fibroblasts and half-inhibitory

concentrations were 200 μ M and 70 μ M, respectively. Low concentration (10 μ M) of tranilast and ketotifen decreased the synthesis of collagen but neither drug had any obvious effect on TGF- β 1 production. Both drugs prolonged the life of the experimental filtering bleb significantly [12.5 ± 3.2 (mean \pm standard deviation) days, 13.9 ± 3.4 days, respectively ; control, 10.5 ± 2.4 days].

Conclusion : Tranilast and ketotifen inhibited the growth of human Tenon's capsule proliferation and are capable of maintaining experimental filtering blebs in rabbit eyes. (J Jpn Ophthalmol Soc 106 : 325-331, 2002)

Key words : Tenon's capsule fibroblast, Tranilast, Ketotifen, Cell proliferation, Filtering surgery, Filtering bleb

別刷請求先：480-1195 愛知県愛知郡長久手町岩作雁又 21 愛知医科大学眼科学教室 岩城 正佳
(平成 13 年 9 月 7 日受付, 平成 14 年 1 月 7 日改訂受理)

Reprint requests to : Masayoshi Iwaki, M. D. Department of Ophthalmology, Aichi Medical University,
21 Iwasaku, Karimata, Nagakute-cho, Aichi-gun, Aichi 480-1195, Japan

(Received September 7, 2001 and accepted in revised form January 7, 2002)

I 緒 言

点眼に使用される抗アレルギー薬には、本来の作用であるアレルギー反応を抑える以外に細胞増殖を抑制することが知られるようになった。トラニラスト(リザベン®)の本来の作用は、肥満細胞からケミカルメディエーターが遊離するのを抑制し、その作用を発揮することであると報告¹⁾されている。同薬はケロイドおよび肥厚性瘢痕の線維芽細胞の増殖を抑制し、その治療に有効なことが報告^{2,3)}された。眼科分野では、後発白内障の抑制^{4,5)}、屈折手術後の角膜混濁の防止⁶⁾、緑内障濾過手術の濾過胞維持に有効である⁷⁾との報告がある。同薬の作用は細胞に働き transforming growth factor- β (TGF- β)の産生を抑制することにより発揮されるという報告^{2,3)}があり、コラーゲンの産生を抑制して瘢痕化を防止するのもその結果であるといわれる。フマル酸ケトチフェン(ザジテン®)はケミカルメディエーターの遊離抑制と抗ヒスタミン作用の両作用により抗アレルギー作用を発揮する⁸⁾。同薬もケロイドと肥厚性瘢痕に対し有効であるとの報告⁹⁾がある。

我々は緑内障濾過手術の濾過胞の維持に苦慮していたが、このような点眼抗アレルギー薬が補助薬として濾過胞の形成や維持に有効か興味を持ち、培養細胞系と実験動物を用いて研究したので結果を報告する。

II 実験方法

1. 実験材料

白色家兎(雄, 体重2~3 kg)は日本生物材料センターから購入した。トラニラスト, フマル酸ケトチフェン, クロモグリク酸ナトリウムはそれぞれ, キッセイ薬品, 参天製薬, 千寿製薬から純品原末の提供を受けた。マイトマイシンC(2 mg 力価, 注射薬)は協和発酵から購入した。Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM)はニプロ社, ウシ胎仔血清(FBS)とbalanced salt solution(BSS)はGibcoから購入した。

2. ヒトテノン囊線維芽細胞の培養

ヒトテノン囊組織は, 白内障手術時に創口作製目的で切除したものを被手術者の同意を得て培養した。正常テノン囊組織(6~57歳, 4例)を10% FBSを含んだDMEM中, 37°C, 5% CO₂循環で培養を行った。約1週間培養し, 外生した線維芽細胞を2~3代継代培養した。実験には3~4代目を用い, 上記培養条件で96穴プレートに2.0×10³細胞/wellの濃度で播種して行った。

3. 細胞増殖の測定

線維芽細胞にMay-Giemsa染色を行い, 顕微鏡下で細胞数を算定する方法(cell count法)と, 細胞代謝を酸化還元反応を指標に検出する方法(3-[4,5-dimethylthiazole-2-yl]-2.5-diphenylterazolium bromide(MTT)法, CellTiter-96®細胞増殖試験, プロメガ社)を用い

た¹⁰⁾。前者では抗アレルギー薬(トラニラスト0~1mM, フマル酸ケトチフェン0~1 mM, クロモグリク酸ナトリウム0~1 mM, マイトマイシンC0~0.1 mM)を同時に添加した培地96穴マイクロプレート中に細胞を2×10³/wellの濃度で蒔いたものを24~72時間培養し, May-Giemsa染色し, 顕微鏡下で細胞数を算定した。後者では同条件で培養したものに, 添付マニュアルに従い tetrazolium 塩を含む色素液を添加し, 37°C, 4時間インキュベーション後, 変換されたformazan産物の量を570 nmの吸光度で測定した。いずれも各データはデュプリケートして実験し平均したものをとった。5回ずつ独立した実験を行った。

4. コラーゲン, TGF- β 1の産生の測定

線維芽細胞(2.0×10³個)を播種し, コンフルエントになった時に抗アレルギー薬入り無血清培地に置換し(対照, トラニラスト1, 10, 100 μ M, フマル酸ケトチフェン1, 10, 100 μ M), 48時間後に上清を採取してサンプルとした。それぞれについてenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法キットであるProcollagen type C-peptide(PIP)EIA Kit®(Takara)およびQuantikine Human Kit (R & D Systems社)を使用し, 添付マニュアルに従いI型コラーゲン(PIPとして測定450 nm)およびTGF- β 1(490 nm)の産生量を測定した。同時に同一条件で細胞増殖をMTT法で測定した。いずれもそれぞれ同一測定キットで3回の独立した実験を行った。

5. 家兎眼の濾過手術

動物は実験に必要な最少数を用い, 不必要な苦痛を与えないよう注意して実験に供した。白色家兎に対し, キシラジン塩酸塩と塩酸ケタミンを用いて全身麻酔を施行後, 3×3 mmの三角形の強膜弁を作製し, 弁下に線維柱帯切除術(2×1 mm)を施行した(図1 a)。周辺虹彩切除術を施行後, 強膜弁は無縫合, 結膜は8-0バキクリルで1針縫合した。術後右眼に2.5% フマル酸ケトチフェン[balanced salt solution(BSS)溶液]あるいは2.5%トラニラスト(BSS溶液)を1日3回, 左眼を対照としてBSSを1日3回点眼し, 濾過胞および眼圧を測定した。眼圧はPerkins 圧平眼圧計で測定した。濾過胞の状態は細隙灯顕微鏡と拡大写真で観察した(図1 b)。施術・点眼者と, 点眼薬の種類が知らされていない観察・測定者は別人が行い, 細隙灯顕微鏡で結膜下に液の貯溜がなくなった観察日を濾過胞消失日とした。各薬剤について8匹16眼, 計16匹32眼を実験に使用した。各群の比較にはt検定を用いた。

III 結 果

1. 薬剤の細胞増殖抑制

薬剤を添加して培養したヒトテノン囊線維芽細胞の顕微鏡写真を図2に示した。陽性対照としてマイトマイシ

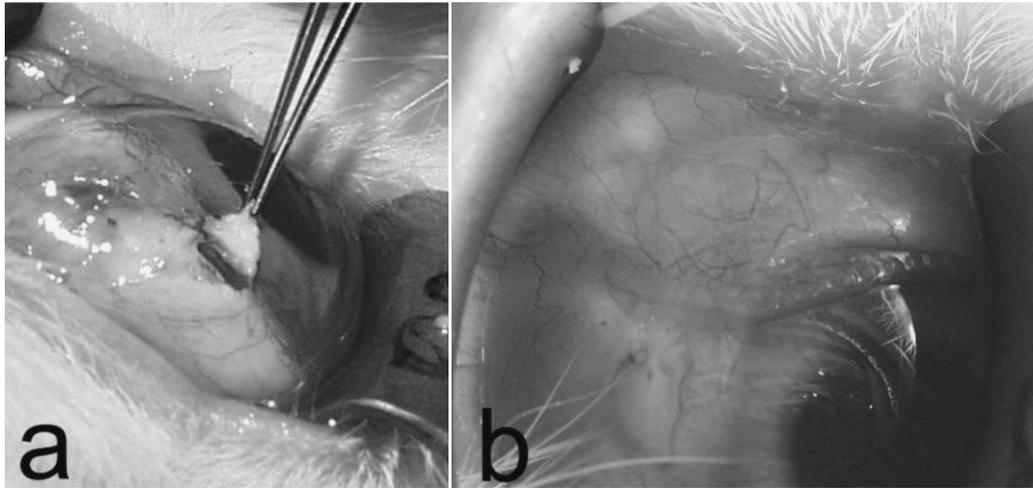


図 1 家兎眼に対する濾過手術(トラベクレクトミー)の施行。
a: 強膜弁下に線維柱帯切除した術中画像, b: 形成された濾過胞

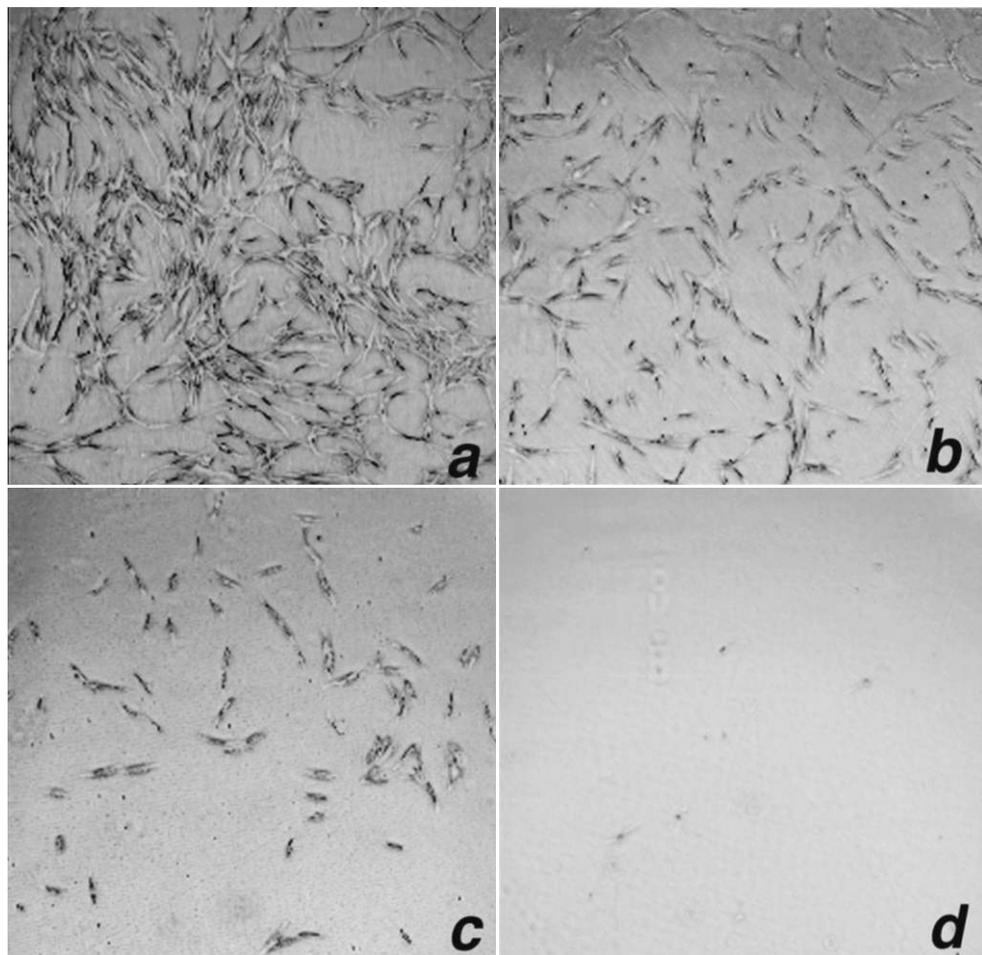


図 2 抗アレルギー薬添加した培養ヒトテノン嚢線維芽細胞の May-Giemsa 染色像(接種 24 時間後).
a: 無添加の対照, b: トラニラスト(125 μ M)添加, c: フマル酸ケトチフェン(125 μ M)添加, d: マイトマイシン C(12.5 μ M)添加

ン C を添加したもの, 陰性対照として薬剤溶媒のみを添加したものを示した. 薬剤添加により増殖抑制が生じていた. 定量的に検討するため各種薬剤濃度で培養し

た, 1 mm² 当たりの細胞数の計測 (cell count 法, 図 3 a) および MTT 法 (図 3 b) を施行した. マイトマイシン C は, 0.1~10 μ M で濃度依存的に強い増殖抑制効果を

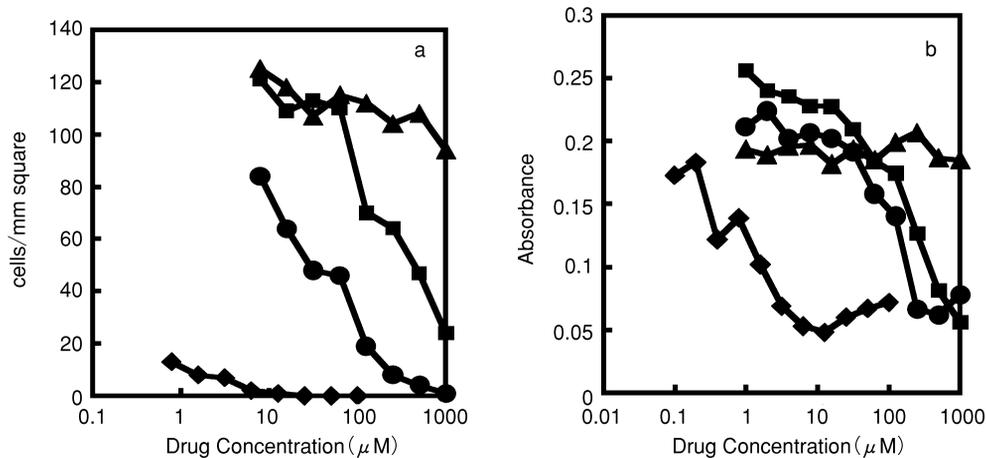


図3 抗アレルギー薬添加による培養ヒトテノン嚢線維芽細胞の増殖抑制(72時間後)。

a: 1 mm²当たりの細胞数, b: 3-[4,5-dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)法での吸光度(570 nm)

■: トラニラスト添加, ●: フマル酸ケトチフェン添加, ◆: マイトマイシンC添加, ▲: クロモグリク酸ナトリウム添加

表1 薬剤の50%増殖抑制濃度(ED₅₀, μM)

	cell count 法	MTT 法
トラニラスト	200	200
フマル酸ケトチフェン	20	70
クロモグリク酸ナトリウム	1,000 以上	1,000 以上
MMC	1 以下	0.5

ED₅₀: 50%有効量, MTT法: 3-[4,5-dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide, MMC: マイトマイシンC

示した。トラニラストとフマル酸ケトチフェンには、ともに10 μM以上の濃度でヒトテノン嚢由来線維芽細胞の増殖を濃度依存的に抑制し、フマル酸ケトチフェンがより強い増殖抑制を示した。同様の抗アレルギー作用のあるクロモグリク酸ナトリウムでは増殖抑制はなかった。50%増殖抑制濃度は、トラニラストではcell count法, MTT法のいずれでも約200 μM, フマル酸ケトチフェンではMTT法で約70 μM, cell count法で約20 μMの値が得られた。マイトマイシンCではMTT法で0.5 μM, cell count法で1 μM以下の50%増殖抑制濃度が得られた(表1)。5回の実験ですべて同様の結果を得た。

2. TGF-β1, I型コラーゲンの産生に対する薬剤の効果

TGF-β1, コラーゲンの産生に対する薬剤の効果をそれぞれ図4, 5に示した。トラニラスト, フマル酸ケトチフェンともに1, 10, 100 μMの濃度では48時間後のTGF-β1の産生量に有意な効果はなかった。フマル酸ケトチフェンの100 μMでは著明な産生低下があったが, 細胞当たりの産生に変化はなかった。一方, I型コラーゲンの産生に対して, トラニラスト, フマル酸ケトチ

フェンともに抑制効果がみられ, 培養48時間後のフマル酸ケトチフェン10 μMおよびトラニラスト10 μMでのPIP産生はともに約65%の抑制があった。両者とも濃度依存的な傾向を示した。

3. 家兎眼の濾過手術の結果

家兎眼(36眼)に濾過手術(トラベクトミー)を施行したが, 全例で良好な濾過胞を形成した(図1)。術後トラニラスト(2.5%)あるいはフマル酸ケトチフェン(2.5%)を点眼したものは, 細隙灯顕微鏡と拡大写真で観察した結果, 濾過胞消失までにそれぞれ12.5±3.2(平均値±標準偏差)日, 13.9±3.4日, 対照では10.5±2.4日で, t検定により両薬剤投与群と対照群でそれぞれ有意差があった。眼圧の推移を図6に示した。濾過手術直後, 眼圧はほぼ0になり, 対照群では術後13日で眼圧は正常に復した。術後トラニラストあるいはフマル酸ケトチフェンを点眼したものでは眼圧の回復が遅れ, t検定でそれぞれ術後8~12日目, 8~14日目で対照群と有意差があった。薬剤は, 濾過胞の菲薄度, 強膜の透見性, 前房の状態などに細隙灯による観察上, 影響を与えなかった。

IV 考 按

現在, 眼科臨床で抗アレルギー点眼薬として使用されているトラニラスト, およびフマル酸ケトチフェンとともにヒトテノン嚢線維芽細胞の増殖を抑制することが判明した。また, クロモグリク酸ナトリウムには増殖抑制効果はなかった。50%細胞増殖抑制濃度はトラニラストが約200 μM, フマル酸ケトチフェンのそれは20~70 μMであった。我々は前報⁵⁾で水晶体上皮細胞の増殖に対する各種抗アレルギー薬の効果を調べ, ほぼ同様の増殖阻害作用のあることを報告した。この水晶体上皮細胞

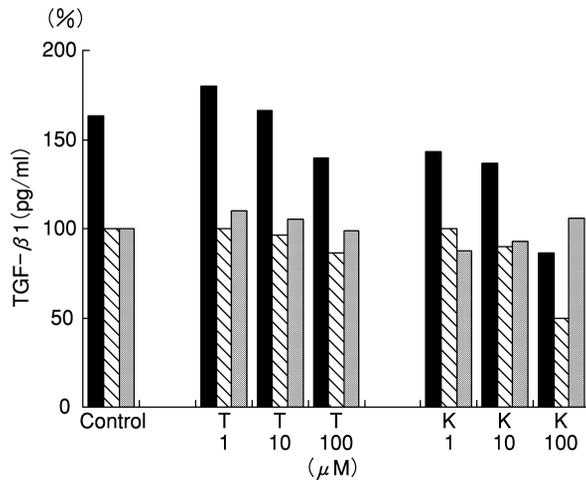


図 4 抗アレルギー薬の培養ヒトテノン囊線維芽細胞の transforming growth factor-β1(TGF-β1) 産生に対する影響。

無添加の対照およびトラニラスト(T)とフマル酸ケトチフェン(F, それぞれ 1, 10, 100 μM)を添加しヒトテノン囊線維芽細胞を培養した。

■: 48 時間後に産生した TGF-β1 濃度, ▨: 同時に MTT 法で細胞増殖を測定し, 対照に対する % で表示し, 細胞数量の目安としたもの, ■: 細胞数量当たりの TGF-β1 産生量を対照に対する % で表示したもの

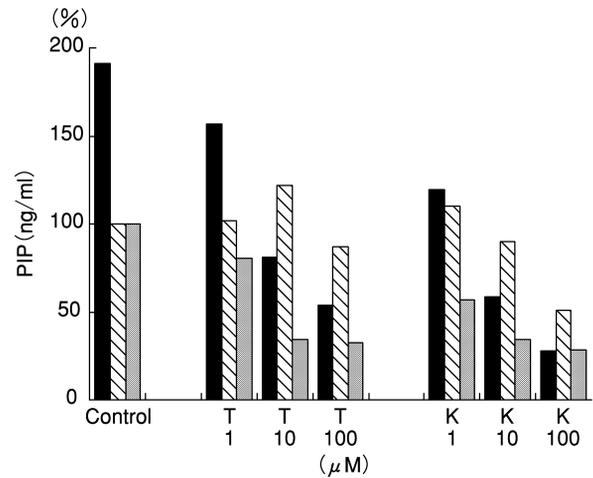


図 5 抗アレルギー薬の培養ヒトテノン囊線維芽細胞の I 型コラーゲン産生に対する影響。

無添加の対照およびトラニラスト(T)とフマル酸ケトチフェン(F, それぞれ 1, 10, 100 μM)を添加しヒトテノン囊線維芽細胞を培養した。

■: 48 時間後に産生した I 型コラーゲン PIP(procollagen type C peptide)として, ▨: 同時に MTT 法で細胞増殖を測定し, 対照に対する % で表示し, 細胞数量の目安としたもの, ■: 細胞数量当たりの PIP 産生量を対照に対する % で表示したもの

の増殖抑制のメカニズムは不明であるが, アポトーシスの関与が推定される実験結果を得, 後発白内障予防・治療に応用できる可能性について論じた⁹⁾。前報および本報から, 抗アレルギー薬(トラニラスト, およびフマル酸ケトチフェン)には各種の細胞に共通した増殖抑制作用のあることが推測され, したがって, テノン囊線維芽細胞増殖抑制にもアポトーシスが関与する可能性があると考えた。

トラニラストはアントラニル酸誘導体で, TGF-β の誘導を抑制する作用があるとの複数の報告^{11~13)15)}がある。郡司ら¹¹⁾は 1~10 μM のトラニラストは癬痕皮膚線維芽細胞の TGF-β1 の産生を約 2 分の 1 に抑制すること, Ikeda ら¹²⁾は肝星細胞で 150~300 μM のトラニラストは DNA 合成やコラーゲン合成を抑制するが, その機序は TGF-β1 を抑制することによると推定している。しかし, 同薬剤による TGF-β の誘導阻害は, 前報のウシ水晶体上皮細胞でも, 本報のヒトテノン囊線維芽細胞でもなかった。この不一致の原因は明らかではない。アッセイ法の違いや使用した細胞の差異があるので明解な結論は出ないが, 我々の実験からは否定的な結果を得た。I 型コラーゲンの合成抑制は, 細胞増殖に影響しない濃度で使用したトラニラスト, フマル酸ケトチフェンの両者でみられた。増殖抑制に影響しない低濃度(両薬剤で 1~10 μM)でコラーゲン合成の抑制がみられることの作用機序は不明であるが, 臨床的に興味深い現象である。Suzawa ら¹³⁾もケロイドの線維芽細胞で同レベル

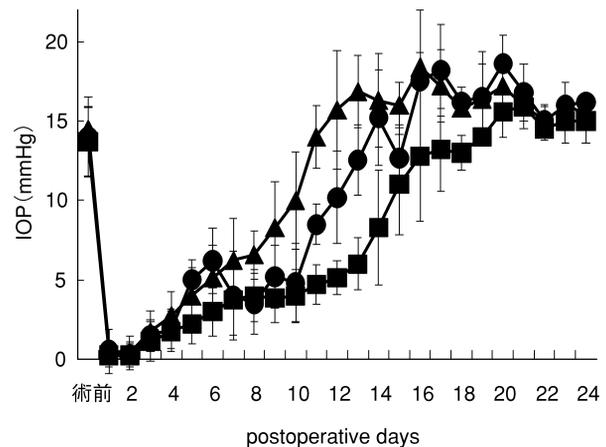


図 6 抗アレルギー薬の濾過手術後の家兎眼眼圧の推移に対する影響。

濾過手術後翌日からトラニラストとフマル酸ケトチフェン(いずれも 2.5%, balanced salts solution, BSS)を 1 日 3 回点眼した。他眼を対照として BSSのみを点眼した。バーは標準偏差。▲: 対照, ●: トラニラスト(術後 8~12 日に対照群と有意差), ■: フマル酸ケトチフェン(術後 8~14 日に対照群と有意差)

の濃度のトラニラストがコラーゲンの合成を抑制すると報告している。濾過胞の癬痕化と消失には線維芽細胞の増殖と細胞外基質の産生による癬痕組織の形成が強く関与している¹⁴⁾。細胞外基質の主要な構成蛋白質である I 型コラーゲンの合成を低濃度で阻害する両薬剤は臨床的

に有用である可能性が高いと考えた。Ohshima ら¹⁵⁾は家兎テノン囊線維芽細胞の増殖とコラーゲン産生に対するトラニラストの効果を調べ、300 μ M で増殖抑制とコラーゲン産生抑制がみられると報告した。我々の結果ではそれより低濃度でコラーゲン産生抑制がみられ相違があるが、動物種の違いやアッセイ法の違いがあり、その理由は不明である。

トラニラストには抗アレルギー作用以外に、細胞増殖抑制作用や瘢痕化防止作用など多くの報告²⁾⁻⁷⁾⁽¹¹⁾⁻¹³⁾⁽¹⁵⁾があり、本薬剤の特異な効力のように考えられている。しかし、前報⁵⁾および本報から、フマル酸ケトチフェンの効果と類似が多く、この2薬剤はおそらく同様の機序で増殖抑制や瘢痕化防止に作用するのであろうと類推した。

臨床的応用を考えた動物実験として、ウサギに対しトラベクレクトミーを施行し、術後両薬剤を点眼すれば、濾過胞の維持と眼圧低下に対し、トラニラスト、フマル酸ケトチフェンは有意差をもって有効であることを見出した(図6)。なお、両薬剤とも臨床的に使用されている濃度(それぞれ0.5, 0.05%)よりも高濃度を使用した条件で実験した。さらに、両薬剤の *in vitro* での力価(増殖抑制およびコラーゲン産生抑制、いずれもフマル酸ケトチフェン>トラニラスト)は濾過胞の維持と眼圧低下作用の効力と一致していた。このことは、両薬剤の濾過胞維持作用が線維芽細胞増殖抑制あるいはコラーゲン産生抑制に密接に関連していることを強く示している。先に青山ら¹⁶⁾は家兎緑内障濾過手術後のトラニラスト点眼の濾過胞形成への影響を組織学的に調べ、同薬は濾過胞形成に効果があること、さらに手術部位の線維芽細胞浸潤や線維形成の防止に効果があることを報告している。この効果は濾過手術時マイトマイシンCを併用させても相加的であったという。千原ら⁷⁾は临床上マイトマイシンC使用トラベクレクトミー後の濾過胞の維持にトラニラストが部分的に有効であると報告している。彼らはプロスペクティブに17例の開放隅角緑内障に濾過手術を行いトラニラストを点眼したが、基剤点眼の対照(16眼)に比べ経過観察期間(1年)を通じて眼圧が低かったが、統計学的には術後1か月の値のみが有意であったという。

我々は薬剤の濾過胞の維持効果についてマイトマイシンCを陽性対照とした実験は行っておらず、今後の課題と考えるが、文献的なデータと比較してみた¹⁷⁾⁽¹⁸⁾。Khaw ら¹⁷⁾は家兎眼に濾過手術を行い、マイトマイシンCの強膜塗布(0.2 mg/ml)例では眼圧がベースラインまで回復するのに30日、対照では11日であったという。Wilson ら¹⁸⁾は同様の実験系で、マイトマイシンC 0.2 mg 結膜下注射とその後1日4回の点眼(1回10 μ g)を行ったところ、眼圧は3日目より21日目で対照と比べ有意に低く、ベースラインに回復するのに、点眼群では

25日、対照群では12日であったという。これらから、トラニラスト、フマル酸ケトチフェンはマイトマイシンCより濾過胞の維持効果は弱いことが推測された。

临床上濾過胞維持のために使用されているマイトマイシンCや5-fluorouracil(5-FU)は感染、房水流出、低眼圧黄斑症などの合併症が問題となっている一方、必ずしも全例に永久的に濾過胞が維持できるわけではない。トラニラスト、フマル酸ケトチフェンは点眼薬として既に安全性が確立された薬物であり、マイトマイシンC、5-FUの減量や相加的な効果が期待できる薬品であると推定した。今後、同意の上、臨床的なデータを得たいと考えている。

文 献

- 1) Ujii A, Kojima M, Naito J, Nakazawa M: Effect of N-5' on histamine release from rat peritoneal exudate cells induced by calcium ionophore and ATP. *Jpn J Pharmacol* 34: 9-14, 1984.
- 2) 菊池伸次, 市川 潔, 須澤東夫, 浜野修一郎, 宮田廣志: Tranilast および他の抗アレルギー薬のコラーゲン合成およびサイトカイン産生・遊離に対する作用. *基礎と臨床* 26: 4377-4383, 1992.
- 3) 岩平佳子, 丸山 優: ケロイド・肥厚性瘢痕の発生・増悪に対するトラニラストの予防的効果. *臨床医薬* 8: 225-232, 1992.
- 4) Tobari I, Iwaki Y, Miyake K: Effect of tranilast eyedrops in preventing posterior capsule opacification: Preliminary report. *J Cataract Refract Surg* 25: 1394-1399, 1999.
- 5) 鈴木裕子, 岩城正佳, 今川路子, 竹内 実: 抗アレルギー薬による水晶体上皮細胞の増殖抑制. *日眼会誌* 105: 517-523, 2001.
- 6) 岡本 進: エキシマレーザー(PRK)術後の角膜上皮混濁に対するトラニラストの抑制効果. *あたらしい眼科* 14: 239-243, 1997.
- 7) 千原悦夫, 落合春幸, 董 瑾: 緑内障濾過胞に対する TGF- β 1 阻害剤トラニラストの効果. *眼紀* 50: 260-266, 1999.
- 8) Francos GC, Kauh YC, Gittlen SD, Schulman ES, Besarab A, Goyal S, et al: Elevated plasma histamine in chronic uremia. Effects of ketotifen on pruritus. *Int J Dermatol* 30: 884-889 1991.
- 9) 北吉 光, 松本維明, 升岡 健: フマル酸ケトチフェン(ザジテン)のケロイドと肥厚性瘢痕に対する臨床効果. *新薬と臨床* 45: 1570-1580, 1996.
- 10) Denizot F, Lang R: Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J Immunol Methods* 89: 271-277, 1986.
- 11) 郡司裕則, 周 立軍, 館下 亨, 小野一郎, 金子史男: トラニラストが線維芽細胞の TGF- β 1, コラーゲン, コラゲナーゼ産生に与える影響に関する実験的研究. *日形会誌* 16: 765-772, 1996.

- 12) **Ikeda H, Inao M, Fujiwara K** : Inhibitory effect of tranilast on activation and transforming growth factor β 1 expression in cultured rat stellate cells. *Biochem Biophys Res Commun* 227 : 322—327, 1996.
 - 13) **Suzawa H, Kikuchi, S, Arai N, Koda A** : The mechanism involved in the inhibitory action of tranilast on collagen biosynthesis of keroid fibroblast. *Jpn J Pharmacol* 60 : 91—96, 1992.
 - 14) **Costa VP, Speath GL, Eiferman RA, Oregonia S** : Wound healing modulation in glaucoma filtering surgery. *Ophthalmic Surg* 24 : 152—170, 1993.
 - 15) **Ohshima T, Kurosaka D, Kato K, Kurosaka H, Mashima Y, Tanaka Y, et al** : Tranilast inhibit cell proliferation and collagen synthesis by rabbit corneal and Tenon's capsule fibroblasts. *Curr Eye Res* 20 : 287—292, 2000.
 - 16) **青山裕美子, 本木正師, 橋本真理子** : 家兎緑内障濾過手術におけるトラニラストの濾過胞形成への影響. *あたらしい眼科* 17 : 1283—1290, 2000.
 - 17) **Khaw PT, Doyle JW, Sherwood MB, Smith MF, McGorray S** : Effects of intraoperative 5-fluorouracil or mitomycin C on glaucoma filtration surgery in the rabbit. *Ophthalmology* 100 : 367—372, 1993
 - 18) **Wilson MR, Lee DA, Baker RS, Goodwin LT Wooten F** : The effects of topical mytomycin on glaucoma filtration surgery in rabbits. *J Ocul Pharmacol* 7 : 1—8, 1991.
-