

血管内皮細胞増殖因子トランスジェニックマウスの網膜下新生血管に 対する網膜色素上皮細胞の作用

伊田 宜史, 戸部 隆雄, 宇山 昌延

関西医科大学眼科学教室

要 約

目 的：網膜の視細胞層で血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) を過剰発現する VEGF トランスジェニックマウスを用いて、網膜下腔に発達する網膜新生血管の発達、成熟に対する網膜色素上皮細胞 (RPE) の関与を明らかにする。

方 法：新生血管が発生する生後 10 日の上記実験マウスにヨウ素酸ソーダ 50 mg/kg を腹腔内投与して RPE を障害した。生後 31 日に蛍光眼底造影を行って、網膜下新生血管を検査した。また、網膜下新生血管の発達状態を形態学的に検索し、ヨウ素酸ソーダ投与群と非投与の対照群を比較した。

結 果：両群とも網膜下新生血管が発生し、蛍光眼底造影を行うと蛍光漏出をみたが、発生と漏出はヨウ素酸

ソーダ投与群の方が少なかった。組織学的には、ヨウ素酸ソーダ投与群では RPE による囲い込みが不完全で、血管内皮細胞の胞体は厚く窓構造の発育は不良であり、未熟であった。

結 論：RPE を障害すると網膜下新生血管の発達は少なく、未熟な状態に留まった。RPE は本動物における網膜下新生血管の血管内皮細胞成熟と窓構造形成に促進的に働いている可能性がある。(日眼会誌 109 : 5—11, 2005)

キーワード：VEGF トランスジェニックマウス、網膜下新生血管、網膜色素上皮細胞、血管内皮細胞の成熟、血管内皮細胞の窓形成

Retinal Pigment Epithelial Cells Contribute to Maturation and Fenestration of the Vascular Endothelial Cells in Vascular Endothelial Growth Factor—Transgenic Mice

Hisashi Ida, Takao Tobe and Masanobu Uyama

Department of Ophthalmology, Kansai Medical University

Abstract

Purpose : To demonstrate the role of the retinal pigment epithelial cells (RPE) in subretinal neovascularization during maturation and fenestration of endothelial cells in vascular endothelial growth factor (VEGF) transgenic mice.

Methods : VEGF transgenic mice were given an intraperitoneal injection of 50 mg/kg of sodium iodate (treated) or physiological saline (controls) on postnatal day 10. Fluorescein angiography (FAG) was carried out and the mice were sacrificed on postnatal day 31. The eyes were removed and processed for light and electron microscopy.

Results : FAG showed leakage from neovascularization in both groups, but there were fewer leakages in the treated group than in the control group. Electron microscopy showed subretinal neovascularization in both groups, but there were fewer fenestration

trations and less maturity of endothelial cells in the new vessels of mice in the treated group. In the treated mice, damaged RPE cells did not completely enclose new vessels and the endothelial cells were immature.

Conclusions : It is suggested that RPE cells promote endothelial cell maturation and formation of fenestrations in VEGF-induced subretinal neovascularization.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 109 : 5—11, 2005)

Key words : VEGF transgenic mice, Subretinal neovascularization, RPE cells, Endothelial cell maturation, Formation of fenestrations in the endothelial cells

別刷請求先：570-8506 守口市文園町 10—15 関西医科大学眼科学教室 伊田 宜史
(平成 15 年 9 月 30 日受付, 平成 16 年 6 月 14 日改訂受理)

Reprint requests to : Hisashi Ida, M. D. Department of Ophthalmology, Kansai Medical University, 10-15 Fumizonochi, Moriguchi 570-8506, Japan

(Received September 30, 2003 and accepted in revised form June 14, 2004)

I 緒 言

加齢黄斑変性は近年著しく増加し、高齢者の中途失明の原因として重要な疾患になってきた。本疾患では、脈絡膜新生血管が網膜下に発生、進展している。動物を用いて実験的に脈絡膜新生血管を作製すると、その発生、進展、退縮には網膜色素上皮細胞(retinal pigment epithelium, RPE)が大きい役割を演じていることがわかってきた^{1)~4)}。RPE が細胞増殖因子を産生し、発病初期には新生血管に促進的に働いて脈絡膜新生血管を進展し、また、その因子は RPE の増殖を促進し、発病末期には RPE が脈絡膜新生血管を取り囲んで自然退縮することが示され^{5)~7)}、その因子として線維芽細胞増殖因子(fibroblast growth factor, FGF)や血管内皮細胞増殖因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)が病巣部に証明されている^{8)~10)}。

しかしこれらの実験では、新生血管は網膜をレーザー光凝固して作られるので、同時に RPE を損傷し、その創傷修復過程と脈絡膜新生血管、RPE の相互関係が複雑に現れる欠点があった。

Okamoto ら¹¹⁾はロドプシンのプロモーターを用いて、VEGF 遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを作製した。このマウスでは、生後間もなく視細胞で VEGF の mRNA 発現が強まるに伴い、VEGF 蛋白が過剰に発現し、その結果、網膜外網状層の網膜血管から発生した新生血管が網膜下腔に向かって進展して、脈絡膜新生血管類似の網膜下新生血管網を形成することを示した。この実験モデルは、網膜内に持続的に VEGF が発現し、その VEGF の作用で網膜新生血管が自然発生することがわかった。この実験的新生血管は、RPE に外から傷害を加えないで発生するので、病変が単純である。

さらに、Tobe ら¹²⁾は VEGF が視細胞層で発現を増強するのに併せて、生後 10 日に発生した網膜血管由来の網膜下新生血管が、網膜下腔で RPE の増殖を伴いながら進展し、生後 31 日で新生血管の血管内皮細胞は、窓構造をもって成熟した形態となることを示し、その過程を電子顕微鏡で詳細に観察して、血管内皮細胞成熟の過程で RPE が大きい役割を果たしていることを推定した。

著者らは前報¹³⁾で、生後 10 日の正常 C57 BL/6 マウス腹腔内へ 50 mg/kg のヨウ素酸ソーダ(sodium iodate, SI)を投与すると、SI により眼底全面にわたって RPE が障害され、一部の RPE は壊死に陥って崩壊消失した。その後、RPE は再生して増殖し、修復したが、RPE の損傷の著しかった部位では、RPE は消失したままで修復せず、欠損部になり、その部では脈絡膜毛細血管板の管腔は閉塞していた。かつ、この予備実験で修復可能な

軽度の RPE の損傷を与える SI の投与量を知ることができたので、今回、VEGF トランスジェニックマウスに自然発生した新生血管に対して、その投与法、投与回数、投与量に基づいて SI を投与し、RPE を障害して、新生血管発育過程への RPE の関与について検討した。

II 実験方法

実験動物として、Johns Hopkins 大学 Wilmer 眼研究所 Peter A. Campochiaro 教授から供与された VEGF トランスジェニックマウス V-6 系統(C57 BL/6 種、生後 10 日、体重 5.5~6.5 g)を用いた¹¹⁾。このトランスジェニックマウスを生後 10 日にエーテルと塩酸ケタミン(ケタラル®)50 mg/kg で十分に全身麻酔した後、1 群には、生理食塩水に溶解した 0.1% SI 溶液を、体重当たり 50 mg/kg の量を腹腔内に 1 回投与した(以下、SI 投与群)。他群には、それと等量の生理食塩水のみを投与した(対照群)。各群 10 匹ずつ用いた。

網膜下新生血管の発生と SI による RPE 障害の状態を観察するために、両群を生後 31 日にミドリリン P®で散瞳し、全身麻酔下に生理食塩水で 10 倍に希釈した 1% フルオレセインナトリウム(フルオレサイト®)0.2 ml を腹腔内投与し、眼底全域の蛍光眼底造影写真を撮影した。

眼底全域における網膜下新生血管からの蛍光漏出点を数え、両群の各々 10 眼について、1 眼当たりの全網膜蛍光漏出数の平均値を算出した。蛍光眼底造影後、全身麻酔下で眼球摘出した後、前眼部を切り離して後極部の眼杯を作製した。

視神経を含んで矢状断で二分割し、4% グルタルアルデヒド・リン酸緩衝液(pH 7.4)で前固定した。さらに、1% 四酸化オスミウム・リン酸緩衝液(pH 7.4)で後固定の後、型の如くエタノール系列で脱水してエポキシ樹脂に包埋した。1 μ m の厚さで連続切片を作製し、トルイジン青染色を行って光学顕微鏡(光顕)で網膜下新生血管と RPE の組織所見を観察した。

次に、網膜下腔の新生血管を中心として超薄切片をミクロトームで作製し、酢酸ウラニウム・クエン酸鉛による二重染色を行って、透過電子顕微鏡(電顕、日立 H-7000 型)で網膜下新生血管の血管内皮細胞と RPE を観察した。電顕は倍率を 3,500 倍に固定して、写真撮影は各切片で観察できた網膜下新生血管のすべてに対して行い、血管内皮細胞にみられた窓構造の数を数えた。

両群の各々 10 眼について、各眼の一切片内にみられた網膜下新生血管の血管腔の合計、血管内皮細胞にある窓構造の数の合計から、1 個の網膜下新生血管腔当たりの平均有窓構造数を算出し、血管成熟度とした。

両群の蛍光漏出数と血管成熟度について、Mann-Whitney の U 検定を用いて統計学的解析を行った。

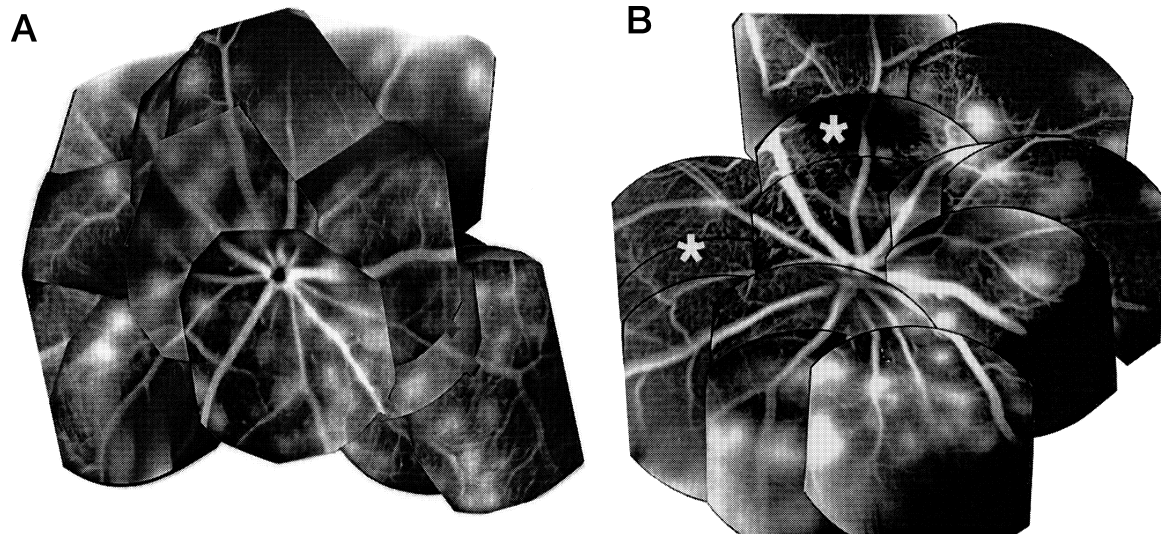


図 1 血管内皮細胞増殖因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)トランスジェニックマウスの生後 31 日の蛍光眼底造影。

A：対照群 B：ヨウ素酸ソーダ投与群

対照群では，網膜全体に蛍光漏出を伴う多数の網膜下新生血管がみられる．ヨウ素酸ソーダ投与群では，その数は少なく，網膜下新生血管が全くみられない領域(*)があった．

III 結 果

1. フルオレセイン蛍光眼底造影所見

生後 31 日には，対照群では網膜血管が蛍光色素により視神経乳頭を中心として放射状に造影されると，網膜下にある多数の新生血管から直ちに蛍光漏出が始まり，漏出は時間経過とともに拡大した．SI 投与群では網膜下新生血管からの蛍光漏出が少なく，蛍光漏出が全くみられない領域があった．造影早期の異常脈絡膜蛍光や造影後期の顆粒状の過蛍光はみなかった(図 1 A, B)．眼底全体にみられた蛍光漏出部の数は，1 眼当たり，対照群では平均 51 ± 1.7 (平均値 $\pm$ 標準偏差) か所に対して，SI 投与群では平均 31 ± 3.6 か所であり，対照群に比較して漏出部が少なかった ($p=0.015$)．

2. 病理組織学的所見

1) 対照群

光顕的には，生後 31 日には眼底全域に網膜血管から進展した新生血管が網膜下腔にみられた(図 2 A)．拡大して観察すると，これらの新生血管の中には，胞体が厚く未熟な血管内皮細胞と，胞体が薄く広い管腔を持つ血管内皮細胞がみられた．このような新生血管の周囲には RPE が増殖し，部分的には新生血管の囲い込みがみられた(図 2 B)．電顕でみると，網膜下腔の新生血管先端部領域には，幼若な内皮細胞が多数みられたが，RPE に周囲を囲い込まれたものは胞体が薄くなり，かつ窓構造を伴っていた．RPE による囲い込みがまだ不十分な部位では，内皮細胞の胞体が厚く未熟で，新生血管自体も未熟であった(図 3 A)．

2) SI 投与群

SI 投与群では，局所的に障害が強く生じた部位と障害が比較的軽度な部位が混在していた．しかし，投与後 21 日(生後 31 日)には，障害が強い部位でも RPE は再生，修復されていた．生後 31 日の障害網膜を光顕でみると，形態学的に障害が強い部位では RPE は重層化し，視細胞は配列が乱れ，一部を残して萎縮消失していた．網膜下腔には，マクロファージ様に増殖した色素顆粒を含んだ RPE が多数遊走していた(図 2 C)．また，組織障害が軽い部位では，RPE，視細胞の形態は保持されていた．このように障害が軽度で，視細胞の存在している部位では，新生血管が網膜下腔に進展していた．新生血管周囲には，対照群とほぼ同様に RPE の増殖がみられた(図 2 D)．

電顕的には，RPE の障害が強い部位では，Bruch 膜上には再生した扁平な RPE が広がり，Bruch 膜を覆っていた．扁平な RPE が重層化している部位もあった．また，丈の短い視細胞外節が一部再生されていた(図 3 B)．新生血管が網膜下腔に進展した部位をみると，RPE は対照群と同様，新生血管周囲に増殖していたが，一部の RPE の胞体内には空胞変性がみられた．新生血管は幼若であり，内皮細胞に窓構造はほとんどみられなかった(図 3 C)．網膜下腔には，管腔の比較的小さい網膜下新生血管がみられ，増殖した RPE が新生血管周囲を囲い込んでいた．この網膜下新生血管の血管内皮細胞の胞体は厚く，窓構造はほとんどみられず，管腔が狭かった(図 3 D)．

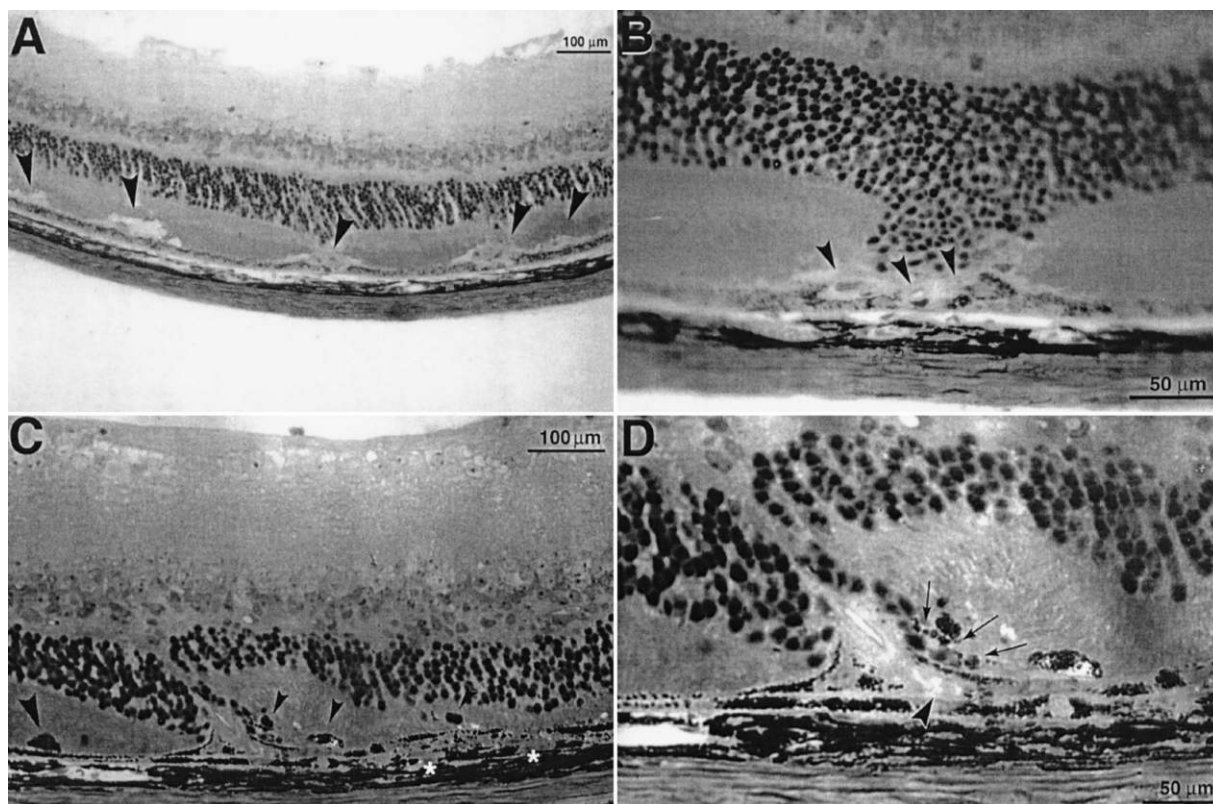


図 2 VEGF トランスジェニックマウスの生後 31 日の網膜光学顕微鏡写真，トルイジン青染色。

A, B: 対照群 C, D: ヨウ素酸ソーダ投与群

- A: 生後 31 日には，網膜血管から進展した新生血管が網膜下腔にみられる(矢じり)。
 B: 新生血管の先端部には，胞体が薄く広い管腔を持つ内皮細胞(矢じり)がみられ，周囲には網膜色素上皮(RPE)が増殖し，部分的に新生血管を囲い込んでいる。
 C: 障害が強い部位では，RPE は重層化し，視細胞は配列が乱れ，一部を残して萎縮消失している。網膜下腔には，マクローファージ様に増殖した色素顆粒を含んだ RPE が遊走している(矢じり)。脈絡膜では，毛細血管が閉塞した領域もみられる(*)。この部位に接して左方には，網膜外網状層から発生，進展した網膜下新生血管がみられる。
 D: 障害が軽度で，視細胞の存在している部位では，RPE，視細胞の形態は保持され，新生血管が網膜下腔に進展した。新生血管周囲には，RPE が増殖し，色素顆粒を含んだ RPE もみられる(矢印)。新生血管先端部には，比較的小さな管腔を持つ内皮細胞(矢じり)が確認できる。

3. 網膜下新生血管の血管内皮細胞における窓構造の平均数

網膜下新生血管の血管内皮細胞における有窓構造数の平均は，対照群では 1 血管腔当たり 2.0 ± 0.3 (平均値 $\pm$ 標準偏差) 個，SI 投与群では 1 血管腔当たり 0.6 ± 0.2 個であった。 $p=0.0139$ で有意差があった。

IV 考 按

脈絡膜新生血管の発生，進展，退縮に対して RPE が関与していることが示されている。特に網膜に光凝固を行って実験的に発生させた脈絡膜新生血管では，発生早期には RPE が新生血管の進展に促進的に働き，退縮期には新生血管を囲い込んで抑制，退縮させることが示されている^{1)~7)14)15)}。一方，ヨウ素酸ソーダ^{16)~18)}やオルニチン^{19)~24)}を投与して RPE を障害すると，脈絡膜毛細血管の内皮細胞の窓構造が消失し，さらに，内皮細胞が変

性して管腔が閉塞することが明らかになっている。このように，RPE の障害が脈絡膜毛細血管内皮細胞に変性をもたらすことが明らかになった。さらに，網膜光障害モデルやウレタン網膜症モデル，Royal College of Surgeons(RCS)ラットや高血圧ラットの長期経過において，網膜下腔に網膜血管が進展し，増殖した RPE の近傍で，網膜血管の血管内皮細胞に元来存在しない窓構造が発現することが報告^{25)~30)}され，既存の網膜血管における窓構造の発現は RPE の作用によると考えられている。このように RPE が脈絡膜新生血管，網膜下新生血管の発達，退縮に深く関与していることは明らかである。

脈絡膜および網膜新生血管の発生過程において，様々な細胞増殖因子が関与していることが示されているが，その中で VEGF が最も注目されている。VEGF は血管内皮細胞に特異的に作用し，脈管形成，血管新生の両方

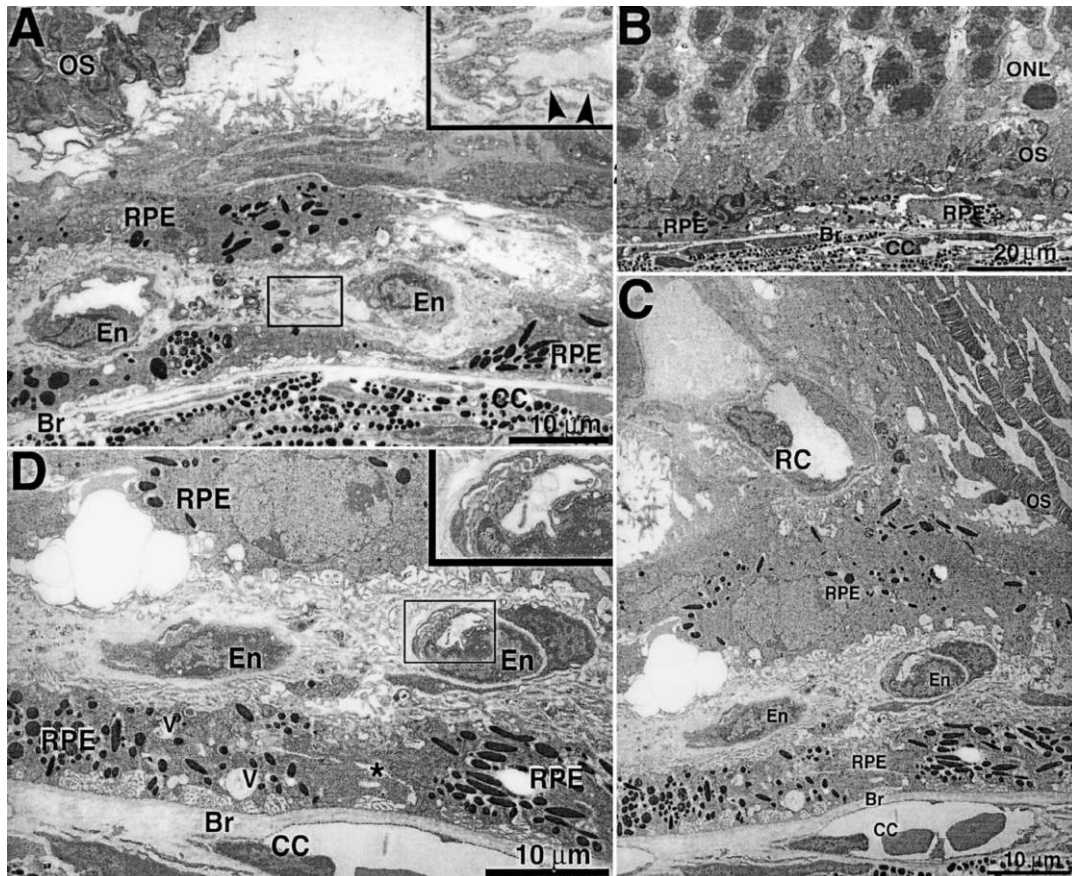


図 3 VEGF トランスジェニックマウスの生後 31 日の網膜電子顕微鏡写真。

A：対照群 B, C, D：ヨウ素酸ソーダ投与群

- A：新生血管の先端部において，増殖した RPE が周囲を囲い込んでいる．RPE には極性がみられ，新生血管に対して基底側で接している．このような部位では，内皮細胞(En)の胞体は薄くなり，血管壁には窓構造(矢じり，挿入図)がみられる．まだ囲い込みが不完全な部位では，新生血管の胞体は厚く，未熟である．OS：視細胞外節，CC：脈絡膜毛細血管，Br：Bruch 膜
- B：ヨウ素酸ソーダにより RPE が強く障害された部位では，新生血管はみられず，再生した扁平な RPE が Br を覆っている．視細胞層には，一部再生された丈の低い OS がみられるが，数と厚さは少ない．ONL：網膜外顆粒層
- C：ヨウ素酸ソーダにより障害された網膜において，障害が軽度で，OS の存在している部位には，網膜毛細血管(RC)から新生血管が網膜下腔に進展し，RPE が増殖して周囲を囲い込んでいる．
- D：新生血管先端部の En には，まだ窓構造はみられない(矢じり，挿入図)．Br に接した RPE の細胞質内には空胞(V)があり，側面の細胞間隙開大(★)もみられる．

に關与して，そのいずれの過程においても血管内皮細胞の遊走，増殖が促進され，血管内皮細胞を形態的に変化させて窓構造を発現する^{31)~34)}．VEGF トランスジェニックマウスは，ロドプシンのプロモーターを用いることにより，網膜の視細胞層内で VEGF を過剰に発現し，網膜血管から外方へ向かう新生血管を発生し，網膜下腔に発達する．このマウスの網膜下新生血管は，網膜血管から発生，進展するため，脈絡膜新生血管ではないが，脈絡膜新生血管が存在するのと同じ部位，すなわち網膜下腔に存在するため，脈絡膜新生血管の病態を研究するためには有用な動物モデルであり，また，レーザー光凝固などの傷害を与えることなく，網膜下新生血管が確実に多数発生するため，新しい網膜下新生血管モデルとし

て注目されている¹¹⁾¹²⁾．このモデルでは，網膜下新生血管は生後 10 日に網膜外網状層から発生し，網膜下腔に進展するが，その新生血管先端部に RPE の増殖がみられ，やがて血管内皮細胞に窓構造が発現する¹²⁾．今回，この VEGF トランスジェニックマウスの網膜下新生血管に対する RPE の役割を検討するために，予め RPE を障害し，RPE の機能を抑制して，網膜下新生血管の状態を観察した．

著者らは前報¹³⁾において，正常 C 57 BL/6 マウスの生後 10 日に SI 50 mg/kg を腹腔内投与すると，大部分の RPE は選択的に軽度障害されて，散在性に壊死に陥った．その後，投与後 21 日(生後 31 日)には扁平な RPE が再生し，増殖して Bruch 膜上を覆い，形態学的

には修復されることを報告した。

今回、同じ投与量、投与方法で SI を VEGF トランスジェニックマウスに用いた。SI は生後 10 日、このマウスの網膜下新生血管が発生する時期に投与され、新生血管が網膜下へ発達している間に RPE 障害を生じさせた。生後 31 日には、蛍光眼底造影で、網膜のほぼ全域で蛍光漏出はみられず、RPE の増殖、遊走により外側網膜血液関門が機能的に回復し、組織学的にも十分な修復治癒が起こっていた。SI 投与群における網膜下新生血管の発生に関して、生後 31 日に網膜下新生血管が網膜下腔に存在した部位では、形態学的に視細胞が正常であった。しかし、視細胞が SI により二次的に障害され、形態学的にも異常がみられた部位では、新生血管は網膜下へ発達せず、網膜下新生血管の発生は全くなかった。すなわち、視細胞の形態が正常であった部位では、VEGF 産生機能が温存されて網膜下新生血管が発生し、SI による RPE 障害により二次的に視細胞が障害され、形態に異常がみられた部位では、新生血管が発生しておらず、VEGF 産生が抑制された、と推測される。

このように VEGF トランスジェニックマウスにおいて、網膜下新生血管の発生する初期に SI を投与して RPE を障害した SI 投与群でも、RPE の障害が軽度な部位では、網膜下新生血管が発生し、対照群と同様に網膜下腔に進展していた。しかし電顕的に観察すると、対照群と比較して血管内皮細胞の成熟度が遅れていた。すなわち、SI 投与群では、血管内皮細胞の窓構造が少なく、血管内皮細胞の胞体が厚く、血管腔は狭小で、新生血管は未熟な状態であった。

この網膜下新生血管の血管内皮細胞における窓構造の発現には、増殖して囲い込む RPE による働きと視細胞層に発現するヒト VEGF による作用の 2 つの影響が考えられる。しかし RPE 障害群でも、RPE の障害が軽度な部位では、網膜下新生血管は対照群と同様に網膜下腔に進展しており、網膜における VEGF の発現は対照群と同様と思われ、SI 投与群と対照群の網膜下新生血管の形態学的な相違は、RPE を障害したことによる RPE の機能低下のためと推測される。すなわち、SI 投与後 21 日(生後 31 日)において、RPE は形態的にはほぼ修復され、増殖して網膜下新生血管に対する囲い込みもみられたが、RPE の機能が完全には回復していなかったために、網膜下新生血管は未熟に留まり、血管内皮細胞の窓構造は少数であったと思われる。

以上、新しい網膜下新生血管発生モデルである VEGF トランスジェニックマウスを用いて、SI を腹腔内投与し RPE を障害すると、網膜血管から網膜下腔に進展する網膜下新生血管の発生と成熟の程度が影響された。RPE の障害が軽度で、視細胞の形態が正常に保たれていても VEGF の産生が低下していないことの確証はないので、推測の段階ではあるが、新生血管の発展、成熟

には RPE が促進的に働いている可能性がある。

本論文の要旨は第 103 回日本眼科学会総会(千葉)で発表した。稿を終えるに当たり、試料作成にご助言、ご指導賜りました関西医科大学総合研究施設電子顕微鏡室、西村 巖氏に深謝いたします。

文 献

- 1) **Miller H, Miller B, Ryan SJ** : The role of the retinal pigment epithelium in the involution stage of subretinal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27 : 1644—1652, 1986.
- 2) **宇山昌延** : 脈絡膜新生血管、基礎と臨床. *日眼会誌* 95 : 1145—1180, 1991.
- 3) **Ryan SJ** : Subretinal neovascularization. *Arch Ophthalmol* 100 : 1804—1809, 1982.
- 4) **Miller H, Miller B, Ishibashi T, Ryan SJ** : Pathogenesis of laser-induced choroidal subretinal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31 : 899—908, 1990.
- 5) **板垣 隆, 大熊 紘, 加藤直子, 宇山昌延** : 網膜下新生血管に対する実験的研究. 第 1 報. 実験的網膜下新生血管の発生. *日眼会誌* 89 : 600—610, 1985.
- 6) **板垣 隆, 大熊 紘, 加藤直子, 宇山昌延** : 網膜下新生血管に対する実験的研究. 第 2 報. 実験的網膜下新生血管の退縮. *日眼会誌* 89 : 941—948, 1985.
- 7) **Uyama M, Ohkuma H, Itagaki T** : Choroidal neovascularization and the retinal pigment epithelium. In : BenEzra D, et al (Eds) : *Doc Ophthalmol Proc Ser* 50. Ocular Circulation and Neovascularization. Martinus Nijhoff, Dordrecht, 451—459, 1987.
- 8) **Matsushima M, Ogata N, Takada Y, Tobe T, Yamada H, Takahashi K, et al** : FGF receptor 1 expression in experimental choroidal neovascularization. *Jpn J Ophthalmol* 40 : 329—338, 1996.
- 9) **Wada M, Ogata N, Otsuji T, Uyama M** : Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor (KDR/flk-1) mRNA in experimental choroidal neovascularization. *Curr Eye Res* 5 : 203—213, 1999.
- 10) **Ishibashi T, Hata Y, Yoshikawa H, Nakagawa K, Sueishi K, Inomata H** : Expression of vascular endothelial growth factor in experimental choroidal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 235 : 159—167, 1997.
- 11) **Okamoto N, Tobe T, Hackett SF, Ozaki H, Vinore MA, Larochelle W, et al** : Transgenic mice with increased expression of vascular endothelial growth factor in the retina. *Am J Pathol* 151 : 281—291, 1997.
- 12) **Tobe T, Okamoto N, Vinore MA, Derevanik NL, Vinore SA, Zack DJ, et al** : Evolution of neovascularization in mice with overexpression of vascular endothelial growth factor in photoreceptors. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39 : 180—188, 1998.

- 13) 伊田宜史, 戸部隆雄, 宇山昌延: マウスにおけるヨウ素酸ソーダによる網膜色素上皮障害. 眼臨 93 : 1211—1215, 1999.
- 14) 山岸和矢, 大熊 紘, 板垣 隆, 加藤直子, 高橋寛二, 宇山昌延: 網膜下新生血管と網膜色素上皮の関連—第 2 報. 新生血管発育期における関連. 日眼会誌 92 : 1629—1636, 1988.
- 15) 山岸和矢, 大熊 紘, 板垣 隆, 加藤直子, 高橋寛二, 宇山昌延: 網膜下新生血管と網膜色素上皮の関連—第 1 報. 新生血管退縮期における関連. 日眼会誌 92 : 1618—1628, 1988.
- 16) Korte GE, Reppucci V, Henkind P : RPE destruction causes choriocapillary atrophy. Invest Ophthalmol Vis Sci 25 : 1135—1145, 1984.
- 17) Korte GE, Gerszberg T, Pua F, Henkind P : Choriocapillaris atrophy after experimental destruction of the retinal pigment epithelium in the rat. Acta Anat 127 : 171—175, 1986.
- 18) 白木邦彦, 森脇光康, 河野剛也, 阪本卓司, 三木徳彦: 沃素酸ナトリウム投与ラットにおける脈絡膜毛細血管内皮細胞有窓構造の変化—スチレン樹脂割断法による走査型電子顕微鏡的観察. 日眼会誌 98 : 558—565, 1994.
- 19) 竹内正光, 板垣 隆, 高橋寛二, 宇山昌延: 実験的オルニチン網膜症. 第 1 報. 注入早期の変化. 日眼会誌 94 : 1012—1023, 1990.
- 20) 竹内正光, 板垣 隆, 高橋寛二, 宇山昌延: 実験的オルニチン網膜症. 第 2 報. 注入長期の変化. 日眼会誌 96 : 161—168, 1992.
- 21) 竹内正光, 板垣 隆, 高橋寛二, 大熊 紘, 宇山昌延: 実験的オルニチン網膜症. 第 3 報. 注入中期の変化. 日眼会誌 97 : 17—28, 1993.
- 22) 前田英美, 竹内正光, 高橋寛二, 大熊 紘, 宇山昌延: ラット眼のオルニチン網膜症. —1. 網膜色素上皮の病理組織学的変化—. 日眼会誌 101 : 118—126, 1997.
- 23) 前田英美, 竹内正光, 高橋寛二, 板垣 隆, 大熊 紘, 宇山昌延: ラット眼のオルニチン網膜症. —2. 脈絡膜毛細血管板の萎縮・消失過程—. 日眼会誌 101 : 470—480, 1997.
- 24) Maeda H, Ogata N, Yi X, Takeuchi M, Ohkuma H, Uyama M : Apoptosis of photoreceptor cells in ornithine-induced retinopathy. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 236 : 207—212, 1998.
- 25) Shiraki K, Burns MS, Bellhorn RW : Abnormal vessel patterns in phototoxic rat retinopathy studied by vascular replicas. Curr Eye Res 2 : 545—551, 1983.
- 26) Burns MS, Hartz MJ : The retinal pigment epithelium induces fenestration of endothelial cells *in vivo*. Curr Eye Res 11 : 863—873, 1992.
- 27) Shiraki K, Burns MS : Neovascularization in urethane rat retinopathy demonstrated by thymidine labeling. Curr Eye Res 5 : 683—695, 1986.
- 28) Roque RS, Caldwell RB : Pigment epithelial cell changes precede vascular transformations in the dystrophic rat retina. Exp Eye Res 53 : 787—798, 1991.
- 29) Mancini MA, Frank RN, Keirn RJ, Kennedy A, Khoury K : Does the retinal pigment epithelium polarize the choriocapillaris? Invest Ophthalmol Vis Sci 27 : 336—345, 1986.
- 30) 木村 聡, 吉本弘志: 実験的腎性高血圧ラットにおける網膜内新生血管. 日眼会誌 94 : 18—24, 1990.
- 31) Roberts WG, Palade GE : Increased microvascular permeability and endothelial fenestration induced by vascular endothelial growth factor. Cell Sci 108 : 2369—2379, 1995.
- 32) Roberts WG, Palade GE : Neovasculature induced by vascular endothelial growth factor is fenestrated. Cancer Res 57 : 1820—1828, 1996.
- 33) 岩下憲四郎, 高橋寛二, 和田光正, 宇山昌延: 血管内皮増殖因子はサル眼での実験的脈絡膜血管新生の成長を促進する. 日眼会誌 103 : 415—424, 1999.
- 34) Pierce EA, Avery RL, Foley ED, Aiello LP, Smith LE : Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor expression in a mouse model of retinal neovascularization. Proc Natl Acad Sci USA 92 : 905—909, 1995.