

増殖糖尿病網膜症における硝子体中のケモカインの役割

川嶋美和子¹⁾, 庄司 純¹⁾, 嘉村 由美¹⁾, 佐藤 幸裕²⁾

¹⁾日本大学医学部眼科学教室, ²⁾東邦大学医学部附属佐倉病院眼科

要 約

目的: 増殖糖尿病網膜症(PDR)におけるケモカインの関与を検討する。

対象と方法: 対象は41眼(PDR群30眼, 非PDR群11眼)。手術で採取した硝子体を液状と細胞成分に分離した。液状成分はvascular endothelial growth factor (VEGF)および, interleukin-8(IL-8), monocyte chemotactic protein-1(MCP-1), regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted(RANTES)の濃度をenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA法)または, chemi-luminescence enzyme immunoassay (CLEIA法)で測定した。細胞成分はVEGFを検討した。

結果: 硝子体液中のVEGF, IL-8, MCP-1はPDR群で有意に高値であったが, RANTESは差がなかつ

た。PDR群においてIL-8とMCP-1に有意な相関があった。PDRの硝子体内にVEGF陽性細胞がみられ, 多核白血球と単核球であった。

結論: PDRでは, ケモカインにより硝子体内に遊走された多核白血球や単核球に発現されるVEGFを介した血管新生作用が関与している可能性がある。(日眼会誌109:596-602, 2005)

キーワード: ケモカイン, Interleukin-8(IL-8), Monocyte chemotactic protein-1(MCP-1), Regulated upon activation, Normal T cell expressed and secreted(RANTES), 増殖糖尿病網膜症

Role of Chemokines in the Vitreous of Proliferative Diabetic Retinopathy

Miwako Kawashima¹⁾, Jun Shoji¹⁾, Yumi Kamura¹⁾ and Yukihiro Sato²⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Nihon University School of Medicine

²⁾Department of Ophthalmology, Toho University, Sakura Hospital

Abstract

Purpose: To investigate the role of chemokines in the pathogenesis of proliferative diabetic retinopathy (PDR).

Subjects and Methods: In total, 41 eyes of 38 patients undergoing vitrectomy were divided into two groups; PDR and non-PDR. The PDR group was comprised of 30 eyes, and the non-PDR group of 11 eyes. Vitreous specimens obtained at vitrectomy were centrifuged and separated into supernatants and cellular components. Concentrations of vascular endothelial growth factor (VEGF), interleukin-8 (IL-8), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), and regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted (RANTES) in the supernatants were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) or chemiluminescence enzyme immunoassay (CLEIA). Expression of VEGF in the cellular components was determined by immunohistochemistry.

Results: Vitreous levels of VEGF ($p < 0.05$), IL-8 ($p < 0.0001$) and MCP-1 ($p < 0.05$) in the PDR group were significantly higher than in the non-PDR group. However, there was no significant difference

in RANTES between the two groups. There was a significant correlation ($p < 0.0001$, $r = 0.84$) between vitreous IL-8 and MCP-1 levels in the PDR group. After immunohistochemical staining with anti-VEGF monoclonal antibody, VEGF positivity was localized in polymorphonuclear leukocytes and monocytes of the cellular components of PDR vitreous specimens.

Conclusions: These results indicate that chemokines are possibly involved in the recruitment of neutrophils and monocytes into the vitreous and that they play a role in the intraocular neovascularization characteristic of PDR.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 109: 596-602, 2005)

Key words: Chemokine, Interleukin-8 (IL-8), Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), Regulated upon activation, Normal T cell expressed and secreted (RANTES), Proliferative diabetic retinopathy (PDR).

別刷請求先: 173-8610 東京都板橋区大谷口上町30-1 日本大学医学部眼科学教室 川嶋美和子
(平成16年8月27日受付, 平成17年2月8日改訂受理)

Reprint requests to: Miwako Kawashima, M.D. Department of Ophthalmology, Nihon University, School of Medicine, 30-1 Oyaguchikami-machi, Itabashiku-ku, Tokyo 173-8610, Japan

(Received August 27, 2004 and accepted in revised form February 8, 2005)

I 緒 言

増殖糖尿病網膜症 (proliferative diabetic retinopathy, PDR) は、新生血管と結合組織とから成る増殖組織の形成を特徴とする網膜症である。血管新生は、生理的血管新生と病的血管新生とに分類されるが¹⁾、糖尿病網膜症は病的血管新生を生じる代表的眼科疾患とされ²⁾、血管新生の進行は PDR の病態や重症度に深く関与している³⁾。病的血管新生の進行は、血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) や線維芽細胞増殖因子 (fibroblast growth factor, FGF) などに代表される促進因子と腫瘍増殖因子 (transforming growth factor- β , TGF- β) などに代表される抑制因子とのバランスにより変化するとされている³⁾。したがって、硝子体腔は解剖学的に閉鎖腔であるために、硝子体内における促進因子と抑制因子との関係は、PDR の病態に深く関与すると考えられる。

近年、炎症反応は血管新生を増悪させるとされ⁴⁾、炎症細胞を含む白血球や起炎物質が促進因子として注目されている。また、増殖硝子体網膜症および PDR ではリンパ球またはマクロファージの網脈絡膜組織または硝子体内への浸潤が増殖組織の形成に関与することが指摘されている⁵⁾⁶⁾。しかし、PDR において白血球遊走活性を有するケモカインの硝子体内での存在およびその意義についての検討は少ない。今回、PDR 症例において、硝子体内 VEGF およびケモカインと PDR の病態との関連について検討を行った。

II 対象と方法

1. 対 象

対象は、2003 年 6 月から 2004 年 3 月までに、日本大学医学部附属板橋病院眼科で硝子体手術を施行し、インフォームド・コンセントが得られた 38 例 41 眼である。これらを PDR を有する PDR 群と、糖尿病網膜症以外の眼底疾患を有する非 PDR 群との 2 群に分類した。内眼手術の既往がある症例は除外した。PDR 群は両眼例を含む 27 例 30 眼で、そのうち、手術時に硝子体出血があったもの (硝子体出血群) は 15 眼、硝子体出血がなかったもの (非硝子体出血群) は 15 眼であった。PDR 群における重症度の程度を、増殖膜の形成の程度により、増殖なし、増殖あり、増殖膜に伴う牽引性網膜剥離の 3 群に分類した。増殖なしは 7 眼、増殖ありは 15 眼、牽引性網膜剥離は 8 眼であった。また、非 PDR 群は 11 例 11 眼で、特発性黄斑円孔 8 例 8 眼、特発性黄斑上膜 3 例 3 眼である。両群における手術時年齢、PDR 群における推定罹病期間、手術時ヘモグロビン A_{1c} (HbA_{1c}) の詳細を表 1 に示した。

2. 硝子体の採取

硝子体手術に際して、眼内灌流を行う前に液-空気置

表 1 患者背景

	PDR 群	非 PDR 群
症例数	27	11
眼数	30	11
性差 (男性/女性)	15/12	4/7
手術時年齢 (平均値±SD) (歳)	58.2±8.5	66.5±3.4
推定罹病期間 (平均値±SD) (年)	8.0±7.5*	
手術時 HbA _{1c} (平均値±SD) (%)	8.0±2.2	

*: 推定罹病期間は 2 症例において不明であり、平均値から除外した。

PDR: proliferative diabetic retinopathy, SD: standard deviation, Hb: hemoglobin

換を行いながら硝子体カッターで硝子体液を吸引・切除して採取した。硝子体液は速やかに遠心分離 (400 g, 10 分) して、液状成分と細胞成分とに分離した。液状成分は測定まで -80°C で冷凍保存した。細胞成分はエッペンドルフチューブ (エッペンドルフ社) に入れ、2.5% 乾燥ヒトフィブリノゲン (ウェルファイド社) 液を 200 μ l 加えた後に、トロンビン局所溶液 (三共) 150 μ l を添加し、5 分間静置しフィブリンクロットを作製した。作製したフィブリンクロットは、Tissue-Tek® (サクラファインテック社) を用いてドライアイスイソペンタン中で急速凍結包埋し、-80°C で冷凍保存した。

3. 硝子体中 VEGF およびケモカイン測定

硝子体の液状成分は、測定時に解凍して VEGF および interleukin-8 (IL-8), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted (RANTES) の濃度測定を行った。VEGF の濃度測定は、Human VEGF ELISA Kit (ENDOGEN, 米国, 測定範囲 8 pg/ml~2,000 pg/ml), MCP-1 は、Human MCP-1 ELISA Kit (ENDOGEN, 米国, 測定範囲 10 pg/ml~2,000 pg/ml), RANTES は、Human RANTES ELISA Kit (ENDOGEN, 米国, 測定範囲 2 pg/ml~2,000 pg/ml) を用いた enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA 法) で測定した。IL-8 は、イムライズ法 (ヤトロン・DPC, 東京, 測定範囲 5 pg/ml~7,500 pg/ml) を用いた chemi-luminescence enzyme immunoassay (CLEIA 法) で測定した。測定結果の検討は、Mann-Whitney の U 検定, Kruskal-Wallis 検定を用いて統計学的解析を行い、相関関係は Spearman の順位相関から求めた。危険率 5% 未満を有意差ありとした。

4. 免疫組織化学的検討

PDR 群において、遠心分離後の硝子体細胞成分を用いて、免疫組織化学による検討を行った。細胞成分をフィブリンクロットとして凍結包埋したブロックを用いて、クライオスタット (HM 505 E, ミクローム社) により約 7 μ m の凍結切片を作製した。免疫組織化学による染色は、抗 VEGF マウスモノクローナル抗体 (Neo-

表 2 VEGF, ケモカインの測定眼数

	PDR 群				非 PDR 群			
	対象眼数	測定下限値未満	測定下限値以上		対象眼数	測定下限値未満	測定下限値以上	
		眼数	眼数	平均値±SD		眼数	眼数	平均値±SD
VEGF (pg/ml)	27 例 30 眼	0 例 0 眼	27 例 30 眼	1131.2±2094.9	11 例 11 眼	9 例 9 眼	2 例 2 眼	15.7±0.0
IL-8 (pg/ml)	27 例 30 眼	0 例 0 眼	27 例 30 眼	159.4±174.2	11 例 11 眼	3 例 3 眼	8 例 8 眼	7.7±2.1
MCP-1 (pg/ml)	27 例 27 眼	0 例 0 眼	27 例 27 眼	6425.0±3559.5	9 例 9 眼	0 例 0 眼	9 例 9 眼	3394.2±2042.2
RANTES (pg/ml)	27 例 30 眼	8 例 9 眼	19 例 21 眼	40.3±44.5	11 例 11 眼	5 例 5 眼	6 例 6 眼	14.7±12.4

VEGF : vascular endothelial growth factor, IL-8 : interleukin-8, MCP-1 : monocyte chemotactic protein-1, RANTES : regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted

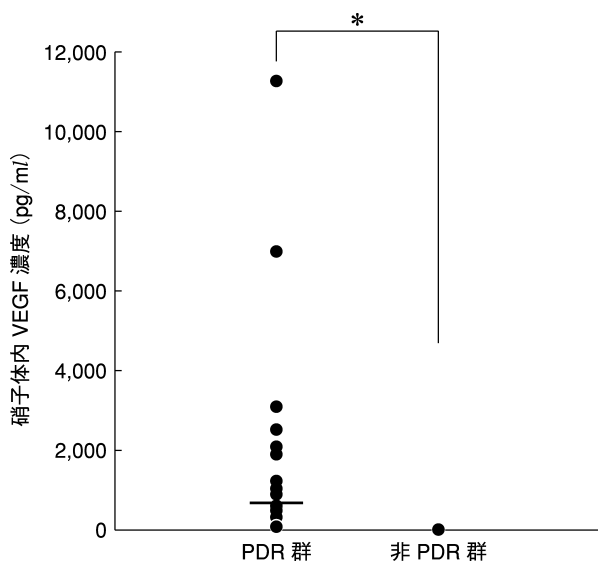


図 1 硝子体液中の vascular endothelial growth factor (VEGF) 濃度。

増殖糖尿病網膜症 (PDR) 群 1131.2±2094.9 (平均値±標準偏差) pg/ml, 非 PDR 群 15.7±0.0 pg/ml であり PDR 群で有意に高値である。*: p<0.05, Mann-Whitney の U 検定

Markers, 米国) を一次抗体に使用して, APAAP キット (ダコ・サイトメーション社) を用いた alkaline phosphatase-antialkaline phosphatase (APAAP) 法で染色した。核染色にはヘマトキシリンを用いて染色し, 光学顕微鏡 (BH-2, オリンパス社) で観察した。対照は, 一次抗体の代わりに 0.05 mol/l トリス塩酸緩衝液 (pH=7.6) を用いて染色したものを陰性対照とした。

III 結 果

1. 硝子体液中の VEGF, ケモカイン濃度

採取検体量には限りがあり, すべての項目を測定できなかった症例がある。また, 各測定項目には測定下限値未満の症例が含まれていたが, 測定下限値未満の症例は統計学的検討から除外した。測定下限値未満の症例眼数, 下限値以上の症例眼数と平均値を表 2 に示す。硝子体液中の VEGF は, PDR 群で 1131.2±2094.9 (平均値±標準偏差) pg/ml, 非 PDR 群で 15.7±0.0 pg/ml であ

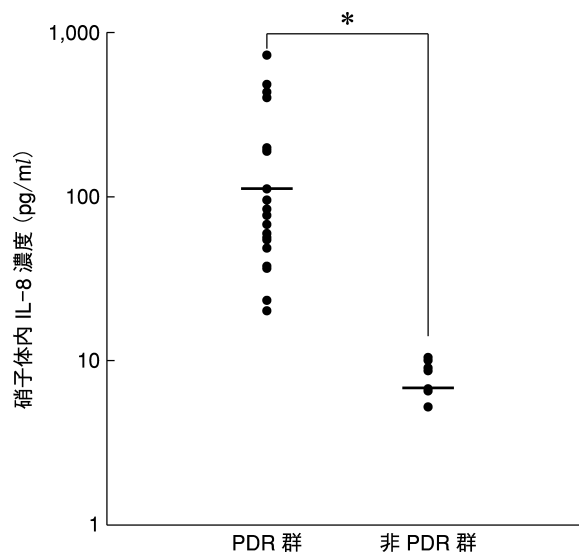


図 2 硝子体液中の interleukin-8 (IL-8) 濃度。

PDR 群 159.4±174.2 pg/ml, 非 PDR 群 7.7±2.1 pg/ml であり PDR 群で有意に高値である。*: p<0.0001, Mann-Whitney の U 検定

り, PDR 群は非 PDR 群に比較して有意に高値を示した (p<0.05) (図 1)。硝子体液中の IL-8 は, PDR 群で 159.4±174.2 pg/ml, 非 PDR 群で 7.7±2.1 pg/ml であり, PDR 群は非 PDR 群と比較して有意に高値を示した (p<0.0001) (図 2)。硝子体液中の MCP-1 は, PDR 群で 6425.0±3559.5 pg/ml, 非 PDR 群で 3394.2±2042.2 pg/ml であり, PDR 群は非 PDR 群と比較して有意に高値を示した (p<0.05) (図 3)。PDR 群における硝子体液中の IL-8 と MCP-1 の測定値の間には, 有意な相関関係があった (Spearman 順位相関, p<0.0001, r=0.84) (図 4)。硝子体液中の RANTES は, PDR 群で 40.3±44.5 pg/ml, 非 PDR 群で 14.7±12.4 pg/ml で両群間に有意差はなかった (p=0.062) (図 5)。PDR 群において, 硝子体出血の有無により硝子体出血群と非硝子体出血群に分け, 硝子体液中の VEGF およびケモカイン濃度を比較したが, 硝子体液中の VEGF, IL-8, MCP-1, RANTES とともに, 両群間に有意差はなかった (表 3)。また, PDR 群において, 増殖膜形成の程度により硝子体液中の VEGF およびケモカイン濃度を比

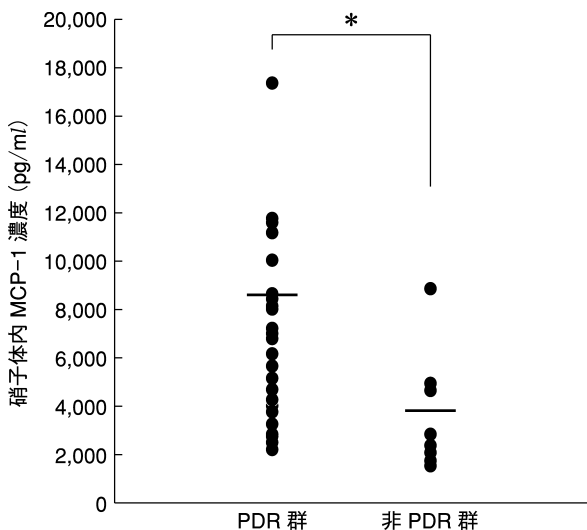


図 3 硝子体液中の monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1)濃度.

PDR 群 6425.0±3559.5 pg/ml, 非 PDR 群 3394.2±2042.2 pg/ml であり, PDR 群で有意に高値である.
* : p<0.05, Mann-Whitney の U 検定

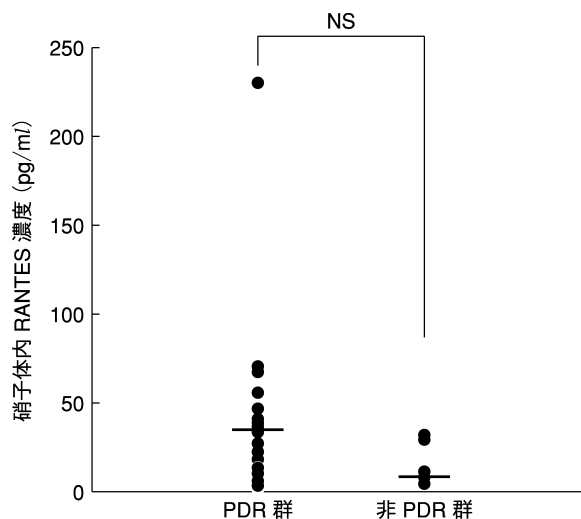


図 5 硝子体液中の regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted (RANTES)濃度. PDR 群 40.3±44.5 pg/ml, 非 PDR 群で 14.7±12.4 pg/ml であり両群に有意差はない(p=0.062, Mann-Whitney の U 検定).

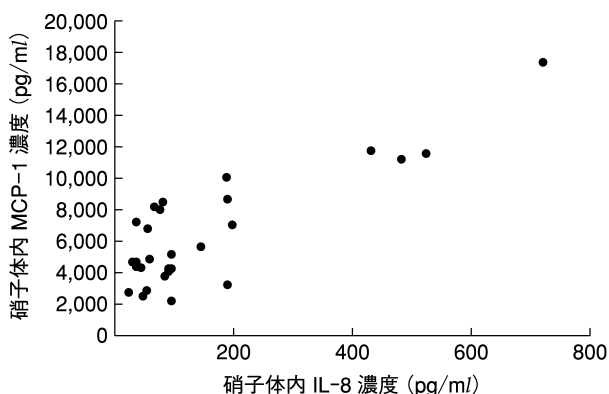


図 4 PDR 群における硝子体液中の IL-8 と MCP-1 との関係.

両者の間に, 有意な相関関係がある (Spearman の順位相関, p<0.0001, r=0.84).

較した. 増殖膜による牽引性網膜剝離を生じた症例で, より高値の傾向にあったが, 増殖なし, 増殖あり, 牽引性網膜剝離の各群間に有意差はなかった(表 4).

2. 免疫組織学的検討

抗 VEGF 抗体による APAAP 法での染色では, VEGF 陽性細胞がみられた. 陽性細胞は, 核の形態から, 多核白血球および単核球であった(図 6, 7).

IV 考 按

1994 年に, Adamis ら⁷⁾が PDR の硝子体液中での VEGF の上昇, また Aiello ら⁸⁾が PDR や網膜静脈閉塞症での硝子体液, 前房水での VEGF の上昇を報告して以来, 増殖因子である VEGF と糖尿病網膜症との関連が注目されている. また, 糖尿病網膜症は病的血管新生を生じる代表的な眼科疾患であるが, その病態には白血球の関与が指摘されている. 糖尿病網膜症の病態に, 白血球の関与を示唆する報告として, 臨床例では PDR から摘出した線維血管膜にマクロファージの浸潤がみられる⁶⁾などの報告や, 実験的には MCP-1 や macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α) により誘導されるマクロファージが, 酸素誘発虚血網膜症マウスモデルにおける血管新生に重要である⁹⁾との報告などがあり, 糖尿病網膜症の病態に炎症細胞を含んだ白血球の関与が重

表 3 PDR 群における硝子体出血の有無による VEGF, ケモカイン濃度

	硝子体出血群	非硝子体出血群	p 値
VEGF (平均値±SD) (pg/ml)	1290.8±2817.2 (n=15)	931.7±1019.1 (n=15)	NS
IL-8 (平均値±SD) (pg/ml)	143.2±151.8 (n=15)	175.6±198.2 (n=15)	NS
MCP-1 (平均値±SD) (pg/ml)	5975.3±2984.0 (n=14)	6909.3±4161.2 (n=13)	NS
RANTES (平均値±SD) (pg/ml)	35.9±59.9 (n=15)	18.7±19.7 (n=15)	NS

NS : not significant

表 4 PDR 群における増殖膜形成の程度と VEGF, ケモカイン濃度

	増殖なし	増殖あり	牽引性網膜剥離	p 値
VEGF(平均値±SD) (pg/ml)	351.6±183.3 (n=7)	949.7±977.6 (n=15)	2153.8±3790.5 (n=8)	NS
IL-8(平均値±SD) (pg/ml)	119.1±125.3 (n=7)	113.9±107.6 (n=15)	280.0±257.8 (n=8)	NS
MCP-1(平均値±SD) (pg/ml)	5912.9±2912.4 (n=6)	6272.0±2560.8 (n=13)	7282.6±5320.7 (n=8)	NS

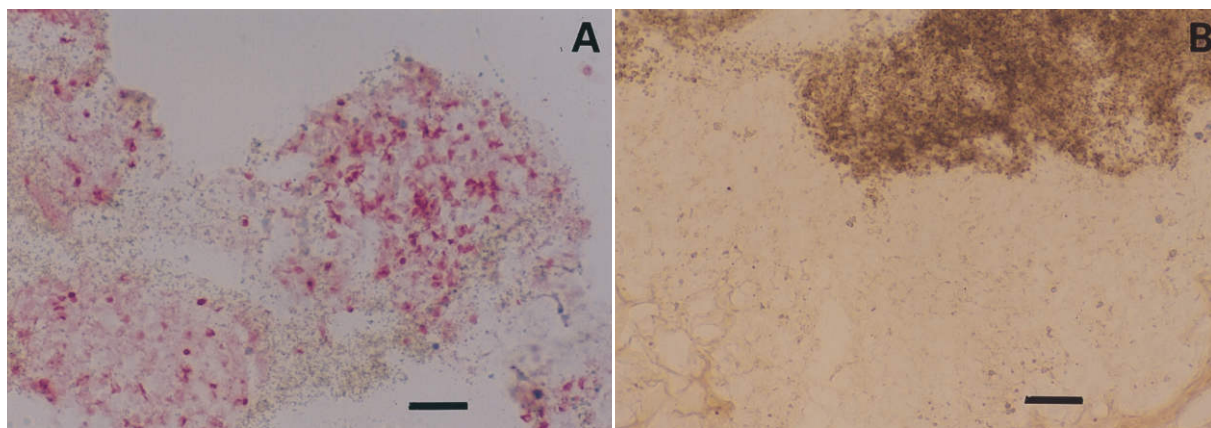


図 6 抗血管内皮増殖因子(VEGF)抗体による免疫組織化学(弱拡大).

A: VEGF 陽性細胞がみられる. B: 陰性対照(alkaline phosphatase-antialkaline phosphatase (APAAP)法, バー100 μ m).

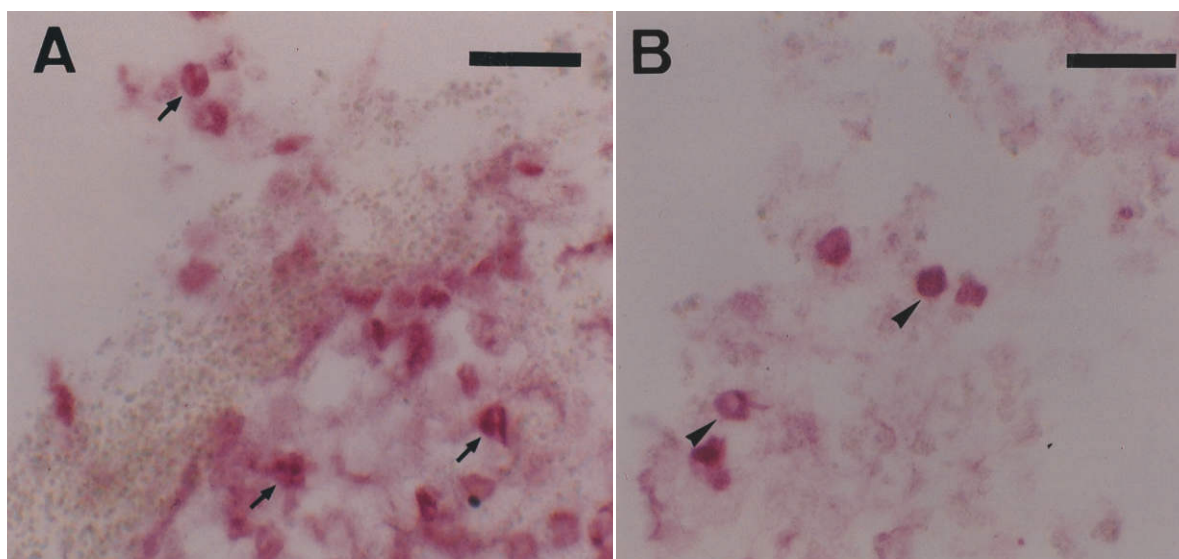


図 7 抗 VEGF 抗体による免疫組織化学(強拡大).

A: 多核白血球(矢印)が陽性. B: 単核球(矢じり)が陽性(APAAP 法, バー50 μ m).

要であると考えられる。そこで、今回我々は硝子体中の白血球遊走活性を有するケモカインと、PDR の病態との関連につき検討を行った。

今回検討に用いた硝子体液の VEGF 濃度は、非 PDR 群と比較して、PDR 群で有意に高値を示した。硝子体中 VEGF の測定値については、Adamis ら⁷⁾は免疫蛍光法を用い PDR 症例 8 例で平均 2,910 pg/ml、血管新生

疾患のない非 PDR 症例 12 例で 810 pg/ml と報告し、Aiello ら⁸⁾は放射免疫法と放射受容体法を用い活動性のある PDR 症例 46 例で 2.6 ± 5.7 (平均値±標準偏差) ng/ml、活動性のない PDR 症例 29 例で 0.3 ± 0.7 ng/ml、血管新生のない非 PDR 症例 12 例では 0.05 ± 0.00 ng/ml と報告している。また、Burgos ら¹⁰⁾は ELISA 法を用い PDR 症例 20 例で平均 1.75 ng/ml、非 PDR 症例

13 例で平均 0.009 ng/ml と報告しており、今回の我々の測定結果とほぼ一致するものであった。したがって、今回の PDR 群は、PDR におけるケモカインの関与を検討するうえで、PDR の条件を満たした検体であると考えられた。硝子体内 VEGF 濃度への血清中 VEGF の関与の有無については、Burgos ら¹⁰⁾が PDR 群と非 PDR 群の硝子体液、血清での VEGF 濃度、さらに、健常人と細小血管障害を有しない糖尿病患者の血清 VEGF 濃度を ELISA 法により測定し、硝子体内 VEGF 濃度に血清中 VEGF は関与しないことを報告している。

ケモカインは内因性の白血球遊走、活性化作用をもつポリペプチドの総称で、アミノ酸配列の相違により、C-X-C ケモカインと C-C ケモカインとに大別される。IL-8 は好中球に対する chemotactic activity を有するサイトカイン¹¹⁾で、MCP-1 は単球に対する遊走活性を持ち、組織での単球、マクロファージの浸潤を誘導する¹²⁾。RANTES はメモリー T 細胞、単球、好酸球、好塩基球に対する遊走活性作用を有する¹³⁾。今回の結果で PDR 群における、硝子体液中の IL-8 と MCP-1 が有意に上昇していたことは過去の報告^{14)~18)}と一致する。また、Elner ら¹⁵⁾は PDR の硝子体内で IL-8 と MCP-1 が対照群と比較して有意に高値であることを報告しているが、両者に相関は認めなかったとしている。しかし、今回の結果では PDR 群の硝子体液中の IL-8 と MCP-1 は有意な正の相関を示した。細小血管内での血管内皮細胞と白血球との接着、それに引き続く細胞接着因子の活性化は、PDR での毛細血管床の閉塞に重要であるとされている¹⁹⁾こと、また単球の内皮細胞への接着には MCP-1 だけでなく、IL-8 にも接着作用があると報告²⁰⁾されていることなどから、IL-8 および MCP-1 は硝子体内での好中球、単球、マクロファージの遊走に相互に関与していることが推察された。IL-8 と MCP-1 は、牽引性網膜剝離を伴った症例や、増殖の強い症例において高値の傾向を示したが、統計学的に有意差はなかった。今後、IL-8 や MCP-1 により遊走した炎症細胞と網膜症の詳細な重症度との関係につき、検討が必要と考えられる。硝子体内における IL-8 と MCP-1 の由来については、網膜色素上皮細胞、ミュラ細胞、マクロファージ、線維芽細胞、血管内皮細胞などの報告¹⁵⁾があるが、本研究ではケモカインの由来まで解明することはできておらず、これらの由来については今後、他の実験系により検討を要する。

一方 RANTES は、糖尿病患者の血清中で上昇し、糖尿病での大血管障害に影響すること²¹⁾や、糖尿病性腎症における間質の線維化に MCP-1 とともに影響し、マクロファージの遊走に関与するとの報告²²⁾があり、糖尿病の大血管、細小血管障害に影響するケモカインであると考えられている。しかし、今回 PDR 群と非 PDR 群で硝子体液中の RANTES の濃度に有意差がなかつ

たことから、PDR 群における硝子体内での存在意義は低いと考えられた。したがって、今回我々は PDR 群における重要なケモカインは、IL-8 と MCP-1 であると考えた。また、硝子体出血群と非硝子体出血群で VEGF、IL-8、MCP-1、RANTES の硝子体中濃度に差がないという結果からも、硝子体中の VEGF、ケモカイン濃度は、出血に伴う血液由来の因子による影響は少なく、硝子体内での局所産生が優位であると考えられた。VEGF に関する免疫組織化学の結果は、PDR 群における硝子体内の多核白血球、単核球が VEGF 陽性であったことから、硝子体内で VEGF が増加する要因の一つとして、多核白血球や単核球の関与が唆された。Edelman ら²³⁾はラットで化学的焼灼による角膜内血管新生を起こし、炎症に関連した角膜血管新生には、白血球による VEGF 産生を要することを報告した。また、Naug ら²⁴⁾はマウスの酸素誘発網膜症モデルでの病理的検討で、血管新生部位近傍の硝子体中で、マクロファージが VEGF を産生しながら遊走していることを報告している。すなわち、硝子体内における VEGF が関与する血管新生には、グリア細胞やミュラ細胞、毛細血管周皮細胞⁹⁾から産生される VEGF の他にケモカインにより誘導された多核白血球や単核球を介した機序が存在する可能性が考えられた。

硝子体内のケモカイン増加と血管新生との関係に関しては、Koch ら²⁵⁾が関節リウマチの滑液組織から得たマクロファージ由来の IL-8 に血管新生作用があることを、また、MCP-1 に関しては、Yoshida ら⁹⁾がマウスの虚血網膜からの血管新生に関与することを報告し、ケモカイン自身にも血管新生作用があることが指摘されている。したがって、PDR の血管新生に関しては、硝子体中 VEGF 濃度の上昇が重要であると考えられるが、ケモカイン自身による直接の血管新生作用が存在する可能性もあり、これらのケモカインを介した PDR での病的血管新生の病態について検討する必要があると考えられた。

稿を終えるに当たり、ご校閲いただいた澤 充教授に深謝いたします。本論文の要旨は、第 108 回日本眼科学会総会で発表した。

文 献

- 1) Folkman J, Klagsbrun M : Angiogenic factors. *Science* 235 : 442—447, 1987.
- 2) Schultz GS, Grant MB : Neovascular growth factors. *Eye* 5 : 170—180, 1991.
- 3) 猪俣 孟 : 眼内血管新生. *日眼会誌* 101 : 906—926, 1997.
- 4) 石田 晋, 山城健児, 白井智彦, 天野史郎, 小椋祐一郎, 樋田哲夫, 他 : 網膜浮腫・虚血・血管新生を制御する白血球の重要性について. *日眼会誌*

- 108 : 193—201, 2004.
- 5) **Charteris DG, Hiscott P, Grierson I, Lightman SL** : Proliferative vitreoretinopathy. Lymphocytes in epiretinal membranes. *Ophthalmology* 99 : 1364—1367, 1992.
 - 6) **Esser P, Heimann K, Wiedemann P** : Macrophages in proliferative vitreoretinopathy and proliferative diabetic retinopathy : Differentiation of subpopulations. *Br J Ophthalmol* 77 : 731—733, 1993.
 - 7) **Adamis AP, Miller JW, Bernal MT, D'Amico DJ, Folkman J, Yeo TK, et al** : Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 118 : 445—450, 1994.
 - 8) **Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, et al** : Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med* 331 : 1480—1487, 1994.
 - 9) **Yoshida S, Yoshida A, Ishibashi T, Elner SG, Elner VM** : Role of MCP-1 and MIP-1 α in retinal neovascularization during postischemic inflammation in a mouse model of retinal neovascularization. *J Leukoc Biol* 73 : 137—144, 2003.
 - 10) **Burgos R, Simo R, Audi L, Mateo C, Mesa J, Garcia-Ramirez M, et al** : Vitreous levels of vascular endothelial growth factor are not influenced by its serum concentrations in diabetic retinopathy. *Diabetologia* 40 : 1107—1109, 1997.
 - 11) **Larsen CG, Anderson AO, Appella E, Oppenheim JJ, Matsushima K** : The neutrophil-activating protein(NAP-1) is also chemotactic for T lymphocytes. *Science* 243 : 1464—1466, 1989.
 - 12) **Matsushima K, Larsen CG, DuBois GC, Oppenheim JJ** : Purification and characterization of a novel monocyte chemotactic and activating factor produced by a human myelomonocytic cell line. *J Exp Med* 169 : 1485—1490, 1989.
 - 13) **Baggiolini M, Dewald B, Moser B** : Interleukin-8 and related chemotactic cytokines-CXC and CC chemokines. *Adv Immunol* 55 : 97—179, 1994.
 - 14) **Yuuki T, Kanda T, Kimura Y, Kotajima N, Tamura J, Kobayashi I, et al** : Inflammatory cytokines in vitreous fluid and serum of patients with diabetic vitreoretinopathy. *J Diabetes Complications* 15 : 257—259, 2001.
 - 15) **Elner SG, Elner VM, Jaffe GJ, Stuart A, Kunkel SL, Strieter RM** : Cytokines in proliferative diabetic retinopathy and proliferative vitreoretinopathy. *Curr Eye Res* 14 : 1045—1053, 1995.
 - 16) **Mitamura Y, Takeuchi S, Matsuda A, Tagawa Y, Mizue Y, Nishihira J** : Monocyte chemotactic protein-1 in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmologica* 215 : 415—418, 2001.
 - 17) **Capeans C, De Rojas MV, Lojo S, Salorio MS** : C-C chemokines in the vitreous of patients with proliferative vitreoretinopathy and proliferative diabetic retinopathy. *Retina* 18 : 546—550, 1998.
 - 18) **Matsumoto Y, Takahashi M, Ogata M** : Relationship between glycooxidation and cytokines in the vitreous of eyes with diabetic retinopathy. *Jpn J Ophthalmol* 46 : 406—412, 2002.
 - 19) **Schröder S, Palinski W, Schmid-Schönbein GW** : Activated monocytes and granulocytes, capillary nonperfusion, and neovascularization in diabetic retinopathy. *Am J Pathol* 139 : 81—100, 1991.
 - 20) **Gerszten RE, Garcia-Zepeda EA, Lim YC, Yoshida M, Ding HA, Gimbrone MA, et al** : MCP-1 and IL-8 trigger firm adhesion of monocytes to vascular endothelium under flow conditions. *Nature* 398 : 718—723, 1999.
 - 21) **Nomura S, Shouzu A, Omoto S, Nishikawa M, Fukuhara S** : Significance of chemokines and activated platelets in patients with diabetes. *Clin Exp Immunol* 121 : 437—443, 2000.
 - 22) **Wang SN, Lapage J, Hirschberg R** : Role of glomerular ultrafiltration of growth factors in progressive interstitial fibrosis in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 57 : 1002—1014, 2000.
 - 23) **Edelman JL, Castro MR, Wen Y** : Correlation of VEGF expression by leukocytes with the growth and regression of blood vessels in the rat cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40 : 1112—1123, 1999.
 - 24) **Naug HL, Browning J, Gole GA, Gobe G** : Vitreal macrophages express vascular endothelial growth factor in oxygen-induced retinopathy. *Clin Experiment Ophthalmol* 28 : 48—52, 2000.
 - 25) **Koch AE, Polverini PJ, Kunkel SL, Harlow LA, DiPietro LA, Elner VM, et al** : Interleukin-8 as a macrophage-derived mediator of angiogenesis. *Science* 258 : 1798—1801, 1992.
-