

# 平成 18 年度日本眼科学会学術奨励賞 受賞論文総説

## 増殖糖尿病網膜症の網膜血管新生因子としてのエリスロポエチン

渡部 大介<sup>1)2)</sup>

<sup>1)</sup>京都大学大学院医学研究科眼科学教室, <sup>2)</sup>オクラホマ大学医学部生化学分子生物学

### 要 約

増殖糖尿病網膜症(PDR)でみられる網膜血管新生は患者を失明に至らせる重要な病態であるがその発生機序はまだ完全には解明されていない。今回我々はエリスロポエチン(Epo)の血管新生作用に着目し、EpoのPDRにおける役割について検討した。

方 法：PDR患者73例73眼、非糖尿病(NDM)患者71例71眼の硝子体中Epoおよび血管内皮増殖因子(VEGF)濃度を測定した。網膜血管新生におけるEpoの発現制御を可溶性Epo受容体を用いて検討した。

結 果：硝子体液中Epo濃度はPDR患者において

NDM患者に比べ優位に高かった。ロジスティック解析では、EpoがVEGFとは独立に、かつVEGFよりも強くPDRに関連していた。Epo阻害により*in vitro*および*in vivo*での網膜血管新生が抑制された。

結 論：Epoは増殖糖尿病網膜症における網膜血管新生に、VEGFとは独立して関与している可能性が示された。(日眼会誌 111：892-898, 2007)

キーワード：増殖糖尿病網膜症, 網膜血管新生, 増殖因子, 硝子体

## A Review

### Erythropoietin as a Retinal Angiogenic Factor in Proliferative Diabetic Retinopathy

Daisuke Watanabe<sup>1)2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Ophthalmology and Visual Sciences, Kyoto University Graduate School of Medicine

<sup>2)</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology, The University of Oklahoma Health Science Center

#### Abstract

Although retinal neovascularization in proliferative diabetic retinopathy (PDR) is a major cause of legal blindness, its mechanism is not fully understood. In this study, we focused on the angiogenic activity of erythropoietin (Epo) and evaluated its potential role in treating retinal angiogenesis in PDR.

**Methods** : We measured Epo and vascular endothelial growth factor (VEGF) levels in the vitreous fluids of 73 PDR patients and 71 nondiabetic (NDM) patients. We evaluated Epo expression and regulation in retinal neovascularization with soluble Epo receptor.

**Results** : The vitreous Epo level was significantly higher in patients with PDR than in NDM patients.

Multivariate logistic-regression analyses indicated that Epo and VEGF were independently associated with PDR and that Epo was more strongly associated with PDR than VEGF was. The blockade of Epo inhibited retinal neovascularization *in vitro* and *in vivo*.

**Conclusions** : Our data suggest that Epo is a potent angiogenic factor that acts independently of VEGF during retinal angiogenesis in PDR.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 111 : 892-898, 2007)

**Key words** : Proliferative diabetic retinopathy, Retinal neovascularization, Growth factor, Vitreous

別刷請求先：606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54 京都大学大学院医学研究科眼科学教室 渡部 大介

(平成 19 年 4 月 11 日受付, 平成 19 年 7 月 26 日改訂受理) E-mail : Daisuke-Watanabe@ouhsc.edu

Reprint requests to : Daisuke Watanabe, M. D., Ph.D. Department of Ophthalmology and Visual Sciences, Graduate School of Medicine, Kyoto University, 54 Kawahara-cho, Shogoin, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan (Received April 11, 2007 and accepted in revised form July 26, 2007)

## I はじめに

糖尿病網膜症は我が国の成人の中途失明の主要な原因の一つである。網膜症が進行すると毛細血管の閉塞が起こり、網膜が虚血に陥る。虚血網膜は眼内の病的新生血管を形成させ、その破綻による硝子体出血、血管膜収縮による牽引性網膜剥離、隅角新生血管膜による眼内房水流出抵抗による眼圧上昇(新生血管緑内障)を引き起こす。このように増殖糖尿病網膜症の失明に至る病態の多くは、眼内血管新生が主体となる。本稿ではエリスロポエチンの増殖糖尿病網膜症における網膜血管新生を惹起する新しい因子としての可能性について解説する。

## II 眼内血管新生に関与する因子

血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor; VEGF)は腫瘍や閉塞性血管障害における側副血行路形成など多様な血管新生を誘導し、眼内血管新生において最も重要な因子であると考えられている。VEGFは血管新生作用以外にも、血管透過性亢進、血栓形成、血流調節作用をもち、それぞれ、血管増殖、黄斑浮腫、網膜血管閉塞領域形成、血流異常など網膜症のほとんどの病理的变化に関与する可能性が示唆されている。実際、増殖糖尿病網膜症患者の硝子体液中には VEGF の発現が亢進しており、それらは血管内皮細胞増殖作用をもつ<sup>1)</sup>。また、動物実験においても、VEGF 阻害によって、網膜血管新生が抑制されるが、VEGF 阻害だけでは完全には抑制されない<sup>2)3)</sup>。したがって、VEGF は主要な眼内血管新生因子であるが、それ以外の因子の存在が推測される。さらに、正常網膜においては、ある一定レベルの VEGF が発現しており、それが内皮細胞の恒常性維持や網膜神経細胞の生存などに寄与していることが示唆されている<sup>4)</sup>。VEGF 阻害は網膜血管新生の治療には有効であるが、完全に VEGF を阻害することで網膜血管の恒常性維持、神経細胞の生存、維持などといった網膜環境に影響を与えかねない。このような観点からも VEGF 以外の眼内血管新生因子を見出す必要がある。

一方、エリスロポエチン(Epo)は分子量約 30 kD の糖蛋白質ホルモンで、赤血球前駆細胞を成熟赤血球に分化誘導する造血因子である<sup>5)6)7)</sup>。従来、Epo はもっぱら腎臓(胎児では肝)で産生されると考えられていたが、近年になって脳神経、子宮、卵巣、腫瘍あるいは網膜といった局所で産生されることが分かった。そしてその作用も造血作用だけではなく、神経細胞保護作用や<sup>8)9)10)</sup>、腫瘍発生作用<sup>11)</sup>、さらには血管新生作用<sup>12)13)14)</sup>など多様な作用を有することが明らかになった。Epo はサイトカイン受容体スーパーファミリーに属する Epo の受容体に結合し、Epo の受容体の重合を引き起こすことで、下流にシグナル伝達を行う。血管内皮細胞にも Epo の受容体が存在し、そのシグナル伝達経路は Janus Kina-

se 2(JAK 2)や signal transducer and activator of transcription 5(STAT 5)を介する<sup>15)</sup>。Epo の眼内血管新生における役割は不明であり、今回我々はその役割を明らかにするために以下の研究を行った<sup>16)</sup>。

## III 増殖糖尿病網膜症患者硝子体中のエリスロポエチン

我々はまず、対象患者 144 例 144 眼(増殖糖尿病網膜症(PDR)患者 73 例 73 眼および非糖尿病網膜症(NDM)患者 71 例 71 眼)の硝子体液中の Epo 濃度および VEGF 濃度をそれぞれラジオイムノアッセイ(RIA)法および ELISA 法により測定した。サブグループによる分類として、PDR 群では、網膜血管新生の活動性のある active 群と、活動性のない沈静化した quiescent 群の 2 群に分類し、NDM 群では、特発性網膜上膜、ぶどう膜炎、増殖性硝子体網膜症を含む炎症性疾患、特発性黄斑円孔、裂孔原性網膜剥離、その他に分類した(表 1)。硝子体液中 Epo 濃度は PDR 群(中央値 464.0 mIU/ml)では NDM 群(中央値 36.5 mIU/ml)に比べて有意に上昇していた( $p < 0.001$ )。同様に VEGF 濃度も PDR 群(中央値 345 pg/ml)では NDM 群(中央値 3.9 pg/ml)に比べて有意に上昇していた( $p < 0.001$ )。さらにサブグループ間での Epo 濃度および VEGF 濃度の比較を行った。PDR 群では、網膜血管新生の活動性の高い active 群では、活動性の低い quiescent 群に比べて有意に Epo 濃度は上昇していた( $p = 0.001$ )。また PDR 群では Epo 濃度は対照群のいずれのサブグループよりも有意に高かった( $p < 0.001$ )。NDM 群のサブグループ間では炎症

表 1 対象患者の臨床的特徴

グループ	増殖糖尿病網膜症	非糖尿病
症例数	73	71
年齢(歳)(平均値±標準偏差)	60.8±10.1	61.4±14.1
性別		
男性(%)	39(53)	24(34)
女性(%)	34(47)	47(66)
糖尿病歴(年)(平均値±標準偏差)	12.3±9.0	—
HbA1c値(%) (平均値±標準偏差)	7.6±1.6	—
サブグループによる分類		
Active(%)	52(71)	—
Quiescent(%)	21(29)	—
*ERM(%)	—	8(11)
†Inflammation(%)	—	14(20)
*MH(%)	—	22(31)
§RD(%)	—	22(31)
¶Others(%)	—	5(7)

データは平均値±標準偏差で示す。ERM：特発性網膜上膜。†Inflammation：炎症性疾患。増殖性硝子体網膜症 3 例とぶどう膜炎 11 例を含む。\*MH：特発性黄斑円孔。§RD：裂孔原性網膜剥離。¶Others：網膜細動脈瘤 2 例、Terson 症候群 2 例および脈絡膜新生血管 1 例を含む。(文献 16 より Massachusetts Medical Society の許可を得て引用、改変)。

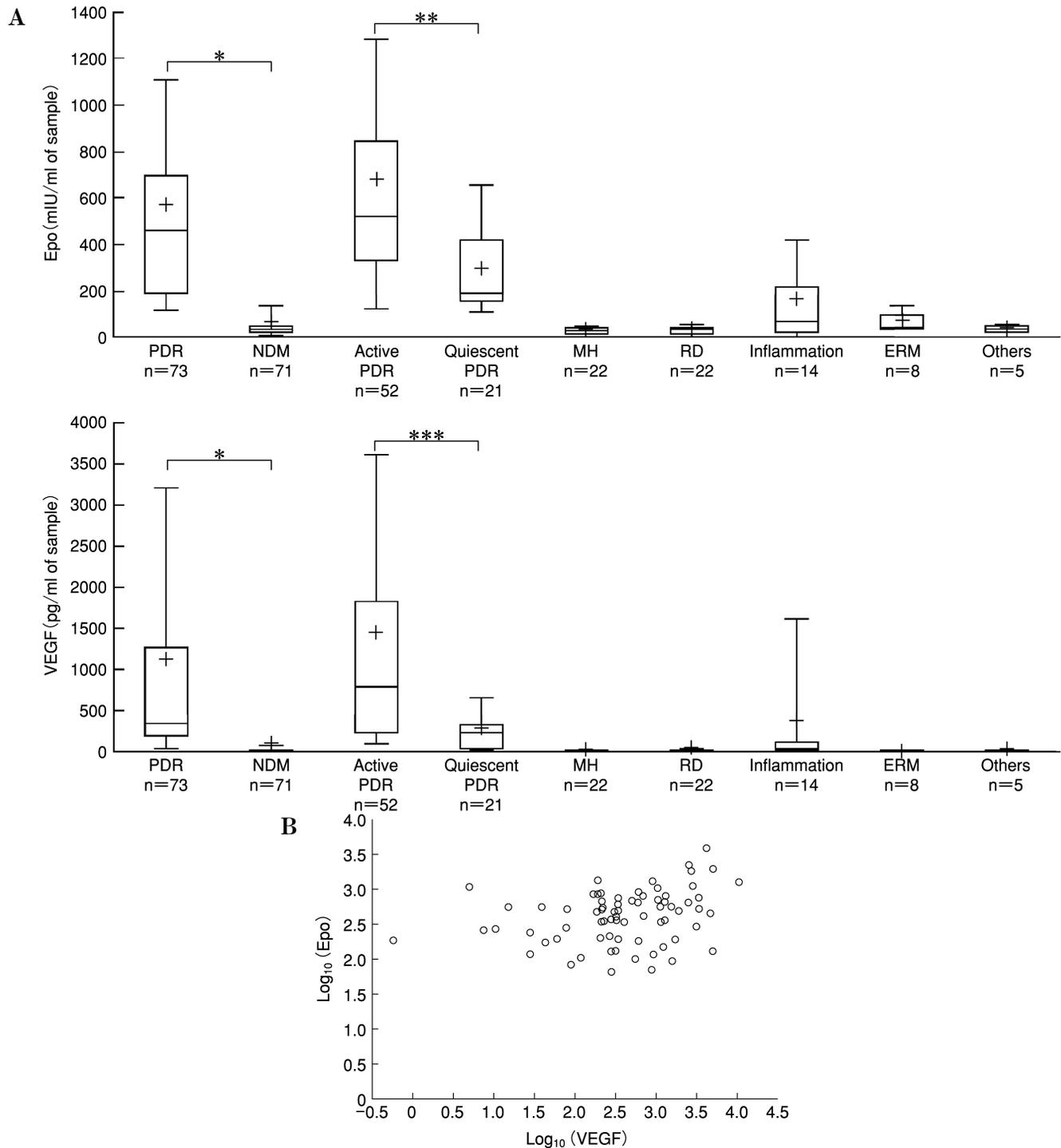


図1 硝子体液中のエリスロポエチン濃度。

A：患者硝子体液中のエリスロポエチン(Epo)濃度(上)および血管内皮増殖因子(VEGF)濃度(下)。増殖糖尿病網膜症患者と非糖尿病患者および各サブグループを箱ヒゲ図で表示。PDR：増殖糖尿病網膜症，NDM：非糖尿病，MH：特発性黄斑円孔，RD：裂孔原性網膜剝離，Inflammation：炎症性疾患，ERM：特発性網膜上膜，Others：その他。+は平均値。\*： $p < 0.001$ ，\*\*： $p = 0.001$ ，\*\*\*： $p < 0.05$ 。

B：PDR患者硝子体液中のVEGF濃度およびEpo濃度の相関散布図。VEGFおよびEpo濃度はLog変換値である。

(文献16より Massachusetts Medical Society の許可を得て転載，一部改変)。

性疾患が他のサブグループよりも高い傾向があった。VEGF濃度についても同様に，active群でquiescent群よりも有意な上昇がみられた(図1A)。

PDR群における硝子体液中VEGF濃度とEpo濃度との相関を，各濃度をLog変換後パラメトリック解析により検討したところ，両者の間には弱い相関関係しか

表 2 多変量ロジスティック回帰分析の結果

モデル	オッズ比*	95%信頼区間	p 値
単変量解析			
Epo	49.78	14.76-167.89	<0.001
VEGF	13.04	6.22-27.35	<0.001
多変量解析(4 変量)			
Epo	27.51	5.95-127.12	<0.001
VEGF	4.51	1.88-10.82	0.001
年齢(歳)	1.03	0.97-1.09	0.39
性別(男性)	0.77	0.16-3.69	0.74
多変量解析(2 変量)			
Epo	22.46	5.80-87.01	<0.001
VEGF	4.24	1.84-9.76	0.001

\*: Epo および VEGF に関しては、各濃度の Log 変換値での 1 標準偏差の増加に対するオッズ比である。(文献 16 より Massachusetts Medical Society の許可を得て転載、一部改変)。

みられなかった(ピアソン相関係数=0.29, p=0.01)。ノンパラメトリック順位相関により再度解析したが、同様の結果が得られた(図 1 B)。

硝子体中 Epo 濃度および VEGF 濃度の PDR への関連を検討するために多変量ロジスティック解析を行った。単変量解析では Epo および VEGF ともに増殖糖尿病網膜症に関与を示した。次に Epo, VEGF, 年齢および性別の 4 変量で解析を行ったが、年齢と性別は PDR に関与を示さなかった。そこで年齢と性別を除いた Epo と VEGF の 2 変量で解析を行うと、Epo は VEGF よりも強く PDR に関連している結果となった(表 2)。

血中の Epo 濃度の影響を検討するために、一部の患者(PDR 群 36 例, NDM 群 42 例)での血漿中 Epo 濃度を測定したところ、両群間での有意な差は認められなかった(中央値: PDR 群 18.7 mIU/ml, NDM 群 22.4 mIU/ml)。PDR 群における硝子体中 Epo 濃度と血漿中 Epo 濃度との間には有意な相関関係は認められなかった(ピアソン相関係数=-0.16, p=0.14)。

#### IV Epo の *in vitro* における網膜血管新生作用

Epo の網膜血管新生作用について *in vitro* での検討を行った。まず、最初に培養ウシ網膜血管内皮において、Epo 刺激により STAT5 および extracellular signal-regulated kinase(ERK) というシグナル伝達分子がリン酸化し、内皮細胞が増殖することを確認した(図 2)。次に PDR 患者硝子体中の Epo の生理活性を検討した。培養液に PDR 患者硝子体を加えると血管内皮細胞は増殖する。ここに可溶性 Epo 受容体を加え、Epo を阻害すると細胞増殖が抑制された。この抑制効果は可溶性 VEGF 受容体を加えた場合とほぼ同等であり、両者を加えると、さらに抑制効果は高まった(図 3)。このことから、PDR 患者硝子体中の Epo は *in vitro* での血管新生作用を有することが示唆される。

#### V Epo の *in vivo* における網膜血管新生作用

Epo の網膜血管新生作用について *in vivo* での検討を行った。マウスの虚血網膜での Epo の遺伝子発現を検討するために、高酸素負荷未熟児網膜症モデルマウスの網膜から total RNA を抽出し、real-time polymerase chain reaction(PCR)を行った。高酸素から正常酸素に戻した生後 12 日目に比べて、網膜が虚血に陥り網膜血管新生が誘導される生後 17 日目にかけて、Epo mRNA の発現増加を認めた。またこの変化は VEGF mRNA と同様の変化であった(図 4 A)。このことから虚血網膜においても Epo の発現が増強していることが示唆される。

最後に、Epo の *in vivo* での血管新生作用を検討するために、上記のマウスモデルの硝子体に可溶性 Epo 受容体を注入し、阻害実験を行った。Epo を阻害することにより、網膜血管新生は濃度依存性に抑制され、この効果は可溶性 VEGF 受容体注入による VEGF 阻害での抑制効果とほぼ同等であった。さらに可溶性 Epo と可溶性 VEGF 受容体の両者を注入することで、相乗的に抑制効果は高まった。以上の結果から Epo は *in vivo* の網膜血管新生作用を有することが示唆された(図 4 B)。

#### VI 眼内における Epo の意義

我々は本研究において、PDR 患者硝子体中 Epo 濃度が顕著に上昇しており、ロジスティック解析により VEGF とは独立して、かつ VEGF より強く PDR に関連していることを示した。PDR 患者において血中 Epo 濃度が上昇を認めなかったことから、全身ではなくおそらく網膜局所で網膜虚血により産生されると考えられる。マウス虚血網膜においては Epo 遺伝子の発現増加は VEGF と同様のパターンを認めたが、PDR 患者硝子体中 Epo 濃度は VEGF 濃度とは弱い相関関係しかみられなかった。また NDM 群では、炎症性疾患において Epo 濃度の軽度上昇を認めた。Epo の発現亢進には、低酸素によって誘導される転写因子 hypoxia-inducible factor 1(HIF-1)の発現亢進や mRNA の安定化などが分子機序として関与しており、同じ低酸素刺激により発現亢進する VEGF の場合と共通点がある<sup>17)</sup>。今回の検討の結果からは、Epo の発現制御には、高血糖、酸化ストレス、眼内炎症あるいは他のサイトカインなどといった、低酸素以外の因子が関係している可能性が示唆される。

臨床患者への Epo の全身投与により病状の改善をみた報告がいくつかある。腎性貧血の改善による腎不全への進行抑制<sup>18)</sup>、腫瘍の縮小による延命効果<sup>19)</sup>、脳卒中における脳神経保護<sup>20)</sup>などの効果があったとされる。腎性貧血の Epo 投与による改善で糖尿病網膜症が改善した

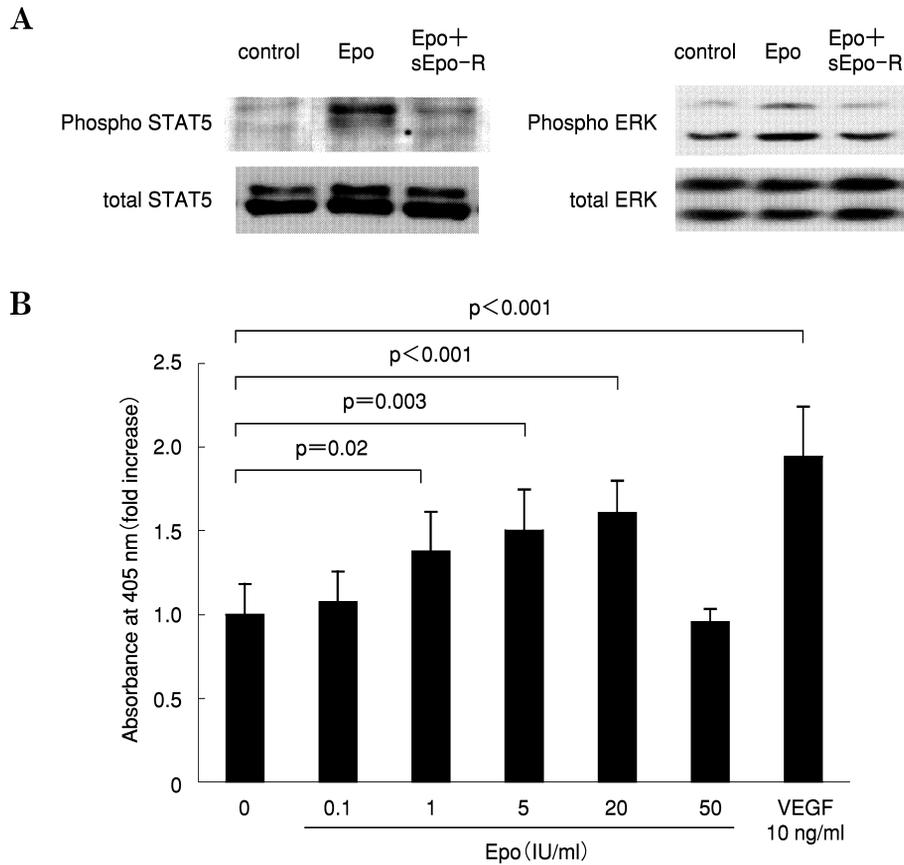


図 2 エリスロポエチンの血管内皮細胞における作用。

A: 培養ウシ網膜血管内皮細胞において Epo 刺激によりシグナル伝達蛋白質 signal transducer and activator of transcription 5 (STAT 5) および extracellular signal-regulated kinase (ERK) のリン酸化が亢進し、可溶性 Epo 受容体 (sEpo-R) を加えると減弱した。  
 B: 培養ウシ網膜血管内皮細胞に Epo および VEGF を加え、細胞増殖を細胞内 DNA に取り込まれる 5-bromo-2'-deoxyuridine を ELISA リーダーで測定することにより評価した。Epo 刺激により血管内皮細胞が増殖した。(文献 16 より Massachusetts Medical Society の許可を得て転載、一部改変)。

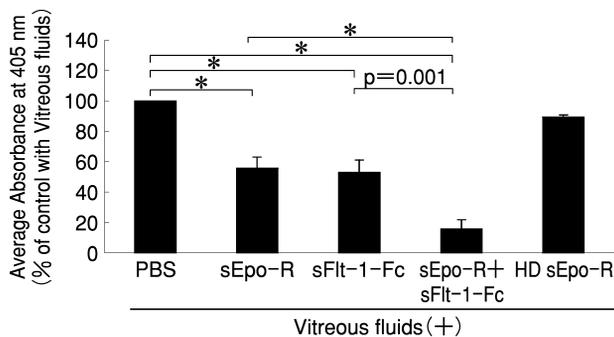


図 3 エリスロポエチンの *in vitro* における血管新生作用。

PDR 患者硝子体液中培養した内皮細胞に、可溶性受容体を加えることにより Epo および VEGF を阻害した (8 症例の結果)。PBS: 対照, sEpo-R: 可溶性 Epo 受容体, sFlt-1-Fc: 可溶性 VEGF 受容体 1, HD sEpo-R: 熱変性した可溶性 Epo 受容体 (陰性対照)。\*:  $p < 0.001$ 。Epo 阻害により細胞増殖が VEGF 阻害とほぼ同等に抑制され、両者の阻害でさらに抑制効果が高まった。(文献 16 より Massachusetts Medical Society の許可を得て転載、一部改変)。

症例報告も散見されるが、これは control study ではなく、高血圧や高脂血症などの全身状態も治療しているので Epo の効果は定かではない。しかし確かに貧血は糖尿病網膜症の増悪因子の一つであり<sup>21)</sup>、腎性貧血の改善は全身的にも重要である。今回の研究における *in vitro*, *in vivo* での検討結果から、Epo 阻害は VEGF 阻害と相乗的に網膜血管新生抑制効果があり、Epo 阻害は PDR の治療に有効である可能性が示唆されたが、実際の臨床応用には注意を要する。Epo は網膜の視細胞の保護作用を有するので<sup>22)23)</sup>、Epo 阻害によって視細胞の変性を伴う疾患などでは病状を悪化させる可能性がある<sup>24)</sup>。また糖尿病性神経症においても Epo は神経保護効果を有する<sup>25)26)</sup>。Epo の眼環境、特に網膜における役割は未だ不明な部分が多い。Epo 阻害が PDR の治療に本当に有効であるかどうかは、Epo の眼内における役割のさらなる解明、視細胞や網膜への影響、硝子体への局所投与などの投与方法なども含めて、今後さらに検討を重ねる必要があると思われる。

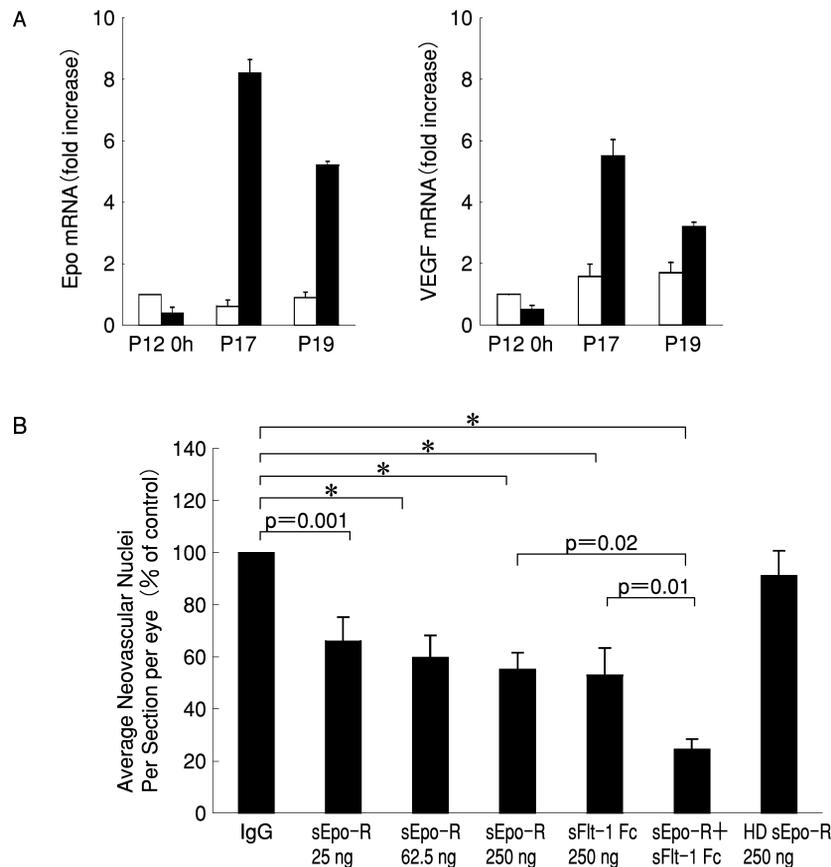


図 4 エリスロポエチンの *in vivo* における血管新生作用。

A: マウス虚血網膜における Epo および VEGF mRNA の発現を real-time polymerase chain reaction (PCR) で検討した。未熟児網膜症モデルマウス (Experimental mice) の網膜において生後 12 日目に高圧酸素から正常酸素に戻した直後 (P12 0h) に比べて、生後 17 日目 (P17) および 19 日目 (P19) では Epo, VEGF とも遺伝子発現が増加している。

□: 対照マウス, ■: 未熟児網膜症モデルマウス

B: 未熟児網膜症モデルマウスの硝子体に Epo および VEGF の可溶性受容体を生後 12 日目, 14 日目に投与した。Epo 阻害により網膜血管新生が VEGF 阻害とほぼ同等に抑制された。両者の阻害でさらに抑制効果が高まった。PBS: 対照, sEpo-R: 可溶性 Epo 受容体, sFlt-1-Fc: 可溶性 VEGF 受容体 1, HD sEpo-R: 熱変性した可溶性 Epo 受容体 (陰性対照)。\*:  $p < 0.001$

(文献 16 より Massachusetts Medical Society の許可を得て転載, 一部改変)。

## VII おわりに

以上, PDR での虚血性網膜血管新生における Epo の役割について述べた。今回の研究の結果から, Epo が虚血網膜から発現誘導され, 網膜血管新生に VEGF とは独立して関与している可能性が示された。しかし, 正常状態, 病的状態を含めて眼内における Epo の役割をさらに明らかにするためには, PDR 以外の種々の眼疾患を有する患者の眼内液, 血液サンプルでの Epo 濃度や生理活性の測定, あるいは基礎実験などを含めて, 今後さらに検討を重ねる必要がある。

稿を終えるにあたり, 受賞講演の機会を与えて下さいました学術奨励賞選考委員会委員各位, 第 111 回日本眼科学会総会長の下村嘉一教授に心より感謝申し上げます。また, 研究

のご指導を賜りました京都大学大学院医学研究科眼科の高木均先生 (現・兵庫県立尼崎病院眼科部長), 鈴間 潔先生, 桐生純一先生 (現・川崎医科大学教授), 喜多美穂里准教授, 吉村長久教授, 京都大学院生命科学研究所統合生命科学の永尾雅哉教授, 小林利寛先生, 増田誠司先生, 京都大学大学院医学研究科社会健康医学薬剤疫学の松井茂之先生に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 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.
- 2) Aiello LP, Pierce EA, Foley ED, Takagi H, Chen

- H, Riddle L**, et al : Suppression of retinal neovascularization *in vivo* by inhibition of vascular endothelial growth factor(VEGF) using soluble VEGF-receptor chimeric proteins. Proc Natl Acad Sci USA 92 : 10457—10461, 1995.
- 3) **Bainbridge JW, Mistry A, De Alwis M, Paleolog E, Baker A, Thrasher AJ**, et al : Inhibition of retinal neovascularisation by gene transfer of soluble VEGF receptor sFlt-1. Gene Ther 9 : 320—326, 2002.
  - 4) **Yourey PA, Gohari S, Su JL, Alderson RF** : Vascular endothelial cell growth factors promote the *in vitro* development of rat photoreceptor cells. J Neurosci 20 : 6781—6788, 2000.
  - 5) **Krantz SB** : Erythropoietin. Blood 77 : 419—434, 1991.
  - 6) **Jelkmann W** : Erythropoietin : structure, control of production, and function. Physiol Rev 72 : 449—489, 1992.
  - 7) **Youssoufian H, Longmore G, Neumann D, Yoshimura A, Lodish HF** : Structure, function, and activation of the erythropoietin receptor. Blood 81 : 2223—2236, 1993.
  - 8) **Masuda S, Nagao M, Takahata K, Konishi Y, Gallyas, Tabira T**, et al : Functional erythropoietin receptor of the cells with neural characteristics. Comparison with receptor properties of erythroid cells. J Biol Chem 268 : 11208—11216, 1993.
  - 9) **Morishita E, Masuda S, Nagao M, Yasuda Y, Sasaki R** : Erythropoietin receptor is expressed in rat hippocampal and cerebral cortical neurons, and erythropoietin prevents *in vitro* glutamate-induced neuronal death. Neuroscience 76 : 105—116, 1997.
  - 10) **Masuda S, Okano M, Yamagishi K, Nagao M, Ueda M, Sasaki R** : A novel site of erythropoietin production. Oxygen-dependent production in cultured rat astrocytes. J Biol Chem 269 : 19488—19493, 1994.
  - 11) **Yasuda Y, Musha T, Tanaka H, Fujita Y, Fujita H, Utsumi H**, et al : Inhibition of erythropoietin signalling destroys xenografts of ovarian and uterine cancers in nude mice. Br J Cancer 84 : 836—843, 2001.
  - 12) **Anagnostou A, Liu Z, Steiner M, Chin K, Lee ES, Kessimian N**, et al : Erythropoietin receptor mRNA expression in human endothelial cells. Proc Natl Acad Sci USA 91 : 3974—3978, 1994.
  - 13) **Yasuda Y, Masuda S, Chikuma M, Inoue K, Nagao M, Sasaki R** : Estrogen-dependent production of erythropoietin in uterus and its implication in uterine angiogenesis. J Biol Chem 273 : 25381—25387, 1998.
  - 14) **Morita M, Ohneda O, Yamashita T, Takahashi S, Suzuki N, Nakajima O**, et al : HLF/HIF-2 alpha is a key factor in retinopathy of prematurity in association with erythropoietin. EMBO J 22 : 1134—1146, 2003.
  - 15) **Fuste B, Serradell M, Escolar G, Cases A, Mazzara R, Castillo R**, et al : Erythropoietin triggers a signaling pathway in endothelial cells and increases the thrombogenicity of their extracellular matrices *in vitro*. Thromb Haemost 88 : 678—685, 2002.
  - 16) **Watanabe D, Suzuma K, Matsui S, Kurimoto M, Kiryu J, Kita M**, et al : Erythropoietin as a retinal angiogenic factor in proliferative diabetic retinopathy. New Engl J Med 353 : 782—792, 2005.
  - 17) **Rondon IJ, MacMillam LA, Beckman BS, Goldberg MA, Schneider T, Bunn HF**, et al : Hypoxia up-regulates the activity of a novel erythropoietin mRNA binding protein. J Biol Chem 266 : 16594—16598, 1991.
  - 18) **Kuriyama S, Tomonari H, Yoshida H, Hashimoto T, Kawaguchi Y, Sakai O** : Reversal of anemia by erythropoietin therapy retards the progression of chronic renal failure, especially in nondiabetic patients. Nephron 77 : 176—185, 1997.
  - 19) **Glaspay J, Dunst J** : Can erythropoietin therapy improve survival? Oncology 67 Suppl 1 : 5—11, 2004.
  - 20) **Ehrenreich H, Hasselblatt M, Dembowski C, Cepek L, Lewczuk P, Stiefel M**, et al : Erythropoietin therapy for acute stroke is both safe and beneficial. Mol Med 8 : 495—505, 2002.
  - 21) **Davis MD, Fisher MR, Gangnon RE, Barton F, Aiello LM, Chew EY**, et al : Risk factors for high-risk proliferative diabetic retinopathy and severe visual loss : Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Report # 18. Invest Ophthalmol Vis Sci 39 : 233—252, 1998.
  - 22) **Grimm C, Wenzel A, Groszer M, Mayser H, Seeliger M, Samardzija M**, et al : HIF-1 induced erythropoietin in the hypoxic retina protects against light-induced retinal degeneration. Nat Med 8 : 718—724, 2002.
  - 23) **Junk AK, Mammis A, Savitz SI, Singh M, Roth S, Malhotra S**, et al : Erythropoietin administration protects retinal neurons from acute ischemia-reperfusion injury. Proc Natl Acad Sci USA 99 : 10659—10664, 2002.
  - 24) **Becerra SP, Amaral J** : Erythropoietin—an endogenous retinal survival factor. N Engl J Med 347 : 1968—1970, 2002.
  - 25) **Lipton SA** : Erythropoietin for neurologic protection and diabetic neuropathy. N Engl J Med 350 : 2516—2517, 2004.
  - 26) **Bianchi R, Buyukakilli B, Brines M, Savino C, Cavaletti G, Oggioni N**, et al : Erythropoietin both protects from and reverses experimental diabetic neuropathy. Proc Natl Acad Sci USA 101 : 823—828, 2004.