

平成 20 年度日本眼科学会学術奨励賞 受賞論文総説

角膜血管新生のメカニズムと制御

臼井 智彦

東京大学医学部眼科・視覚矯正科

要 約

角膜は眼組織の最前面に位置する無血管透明組織である。しかし、角膜に炎症が生じると血管が侵入することがある。角膜新生血管は透過性が亢進しているため、脂質や蛋白質の漏出、沈着を招き、最終的に角膜の瘢痕化から透明性を損なう。このような血管侵入角膜に対する有効な治療法は存在しないだけでなく、角膜血管新生のメカニズムも十分解明されていない。そこで、近年炎症性疾患との関連がトピックスとなっているマクロファ-

ジ遊走阻止因子と組織レニンアンジオテンシン系の角膜血管新生に対する関与について動物モデルを用いて検討した。角膜血管新生に対して促進的に機能するこれらの因子の制御から新しい治療法の開発が期待される。(日眼会誌 113 : 1041—1049, 2009)

キーワード：角膜，炎症，血管新生

A Review

Mechanisms and Regulation of Corneal Neovascularization

Tomohiko Usui

Department of Ophthalmology, University of Tokyo

Abstract

The cornea is a transparent tissue and its transparency is dependent on many factors including avascularity. However, in response to a stimulation such as inflammation, neovasculature from the limbal plexus can invade the transparent cornea. Neovascularization in the corneal tissue induces unwanted opacification, which can result in significant reduction in visual function. Furthermore, corneal neovascularization is the main risk factor for rejection after keratoplasty. Although anti-angiogenic therapy is a promising approach to reduce corneal opacity and immune rejection secondary to keratoplasty, the exact mechanism driving corneal neovascularization

has not been fully identified. In this review, we summarize the known mechanisms of corneal neovascularization and describe the involvement of macrophage migration inhibitory factor and the tissue rennin angiotensin system. Regulation of these factors can have immense therapeutic potential for the treatment and prevention of corneal neovascularization.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 113 : 1041—1049, 2009)

Key words : Cornea, Angiogenesis, Inflammation

I はじめに

角膜はまさに透明組織である。その透明性は角膜の恒常性維持にかかわる多くの因子によって成立しているが、無血管組織であることも大きく貢献している。しか

し、血管新生自体が本来の生体防御として備わっている機構でもあるため、さまざまな病態において二次的に角膜に血管が侵入してくることがある(図 1)。この新生血管は透過性が亢進しており、脂質や蛋白質成分の漏出、沈着、さらに血管侵入過程における角膜コラーゲンの癒

別刷請求先：113-8655 東京都文京区本郷 7-3-1 東京大学医学部附属病院眼科 臼井 智彦

(平成 21 年 4 月 10 日受付，平成 21 年 7 月 28 日改訂受理) E-mail : tomohiko-uky@umin.ac.jp

Reprint requests to : Tomohiko Usui, M. D. Department of Ophthalmology, University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku Tokyo 113-8655, Japan

(Received April 10, 2009 and accepted in revised form July 28, 2009)

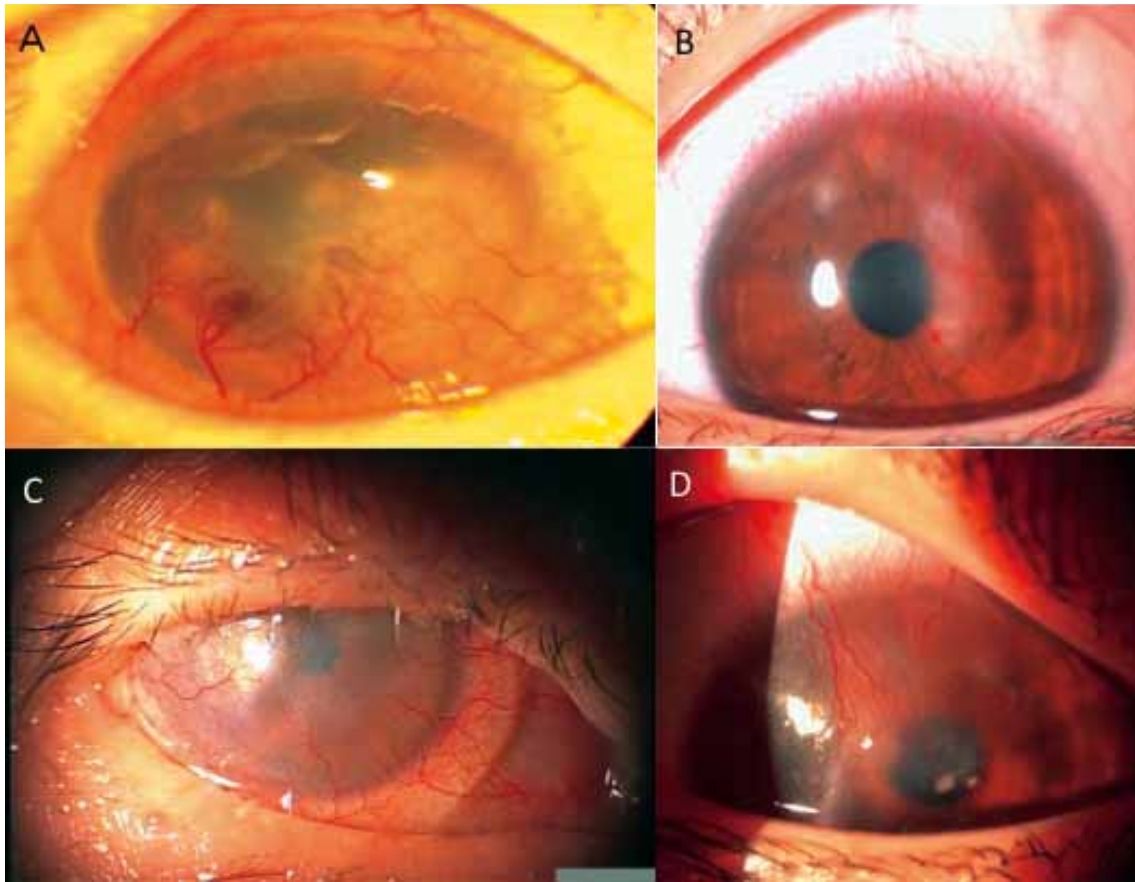


図 1 角膜血管新生.

A: 感染性角膜炎の癒痕期, B: 角膜フリクテン, C: Stevens-Johnson 症候群, D: アトピー性角結膜炎.
角膜に血管新生が生じると角膜の透明性は失われる.

痕化から角膜実質混濁を招き、透明性は失われ、視機能の低下を引き起こす。よって、角膜血管新生はその透明性を脅かす重篤な病態であるが、角膜血管をターゲットとした治療は現在ほとんど存在しない。このような癒痕角膜に対する治療は今なお角膜移植術に依存しているが、血管侵入角膜では拒絶反応発症率が高く、その予後は不良であることが知られている¹⁾²⁾。さらに角膜血管新生のメカニズム自体ですら十分理解されていないのが現状である。

本総説ではまず既知の角膜血管新生のメカニズムを概説し、治療法の開発を見据えた我々の研究とその展望の一部を概説する。

II 角膜血管新生のメカニズムと治療戦略

さまざまな要因によって角膜に血管新生が生じるがその多くは炎症による(図2)。角膜に何らかの刺激が加わるとその周囲の上皮細胞や実質細胞が活性化し、その活性領域が輪部まで及ぶと輪部結膜下や強膜の血管内皮細胞、周皮細胞が活性化し、マクロファージなどの白血球が血管外へと滲出する。活性化した白血球は炎症部位へと遊走し、さまざまな炎症性サイトカインや血管新生促進因子を過剰放出する³⁾。また、活性化した上皮細胞

や実質細胞もこれらの因子を放出する源となる⁴⁾⁵⁾。それによって輪部の血管内皮細胞や周皮細胞が炎症部位に向かって遊走し、増殖を開始する。血管新生は血管内皮と周皮細胞がチューブ状に伸張するのみの現象と思われがちであるが、そうではなく、周囲組織にさまざまな影響を及ぼすのである。例えば新生血管は成熟化するまでの間、透過性が亢進しており、そのため新生血管からさらに炎症細胞が周囲組織に浸潤する。透過性の亢進は角膜浮腫を生じせしめると同時にタイトな実質のコラーゲン構造を乱し、血管が侵入しやすい素地を作る。また血液内の脂質や蛋白質も漏出するため、これらが角膜実質に沈着することによりさらなる炎症が惹起される。このような現象が繰り返されることにより、最終的に角膜は混濁、癒痕化を生じ、角膜の透明性は失われるのである(図2)。

しかし無血管である角膜に何らかの異常が生じた際、炎症の副産物として血管新生が生じることは合目的な反応の一つでもある。したがって、角膜血管新生に対する治療を考えた場合、血管新生を生じる病態の原疾患の治療(例えば炎症や感染のコントロール)が重要であることは言うまでもないが、それに加えて、過剰発現した増悪因子を上手にコントロールし、血管新生そのものを

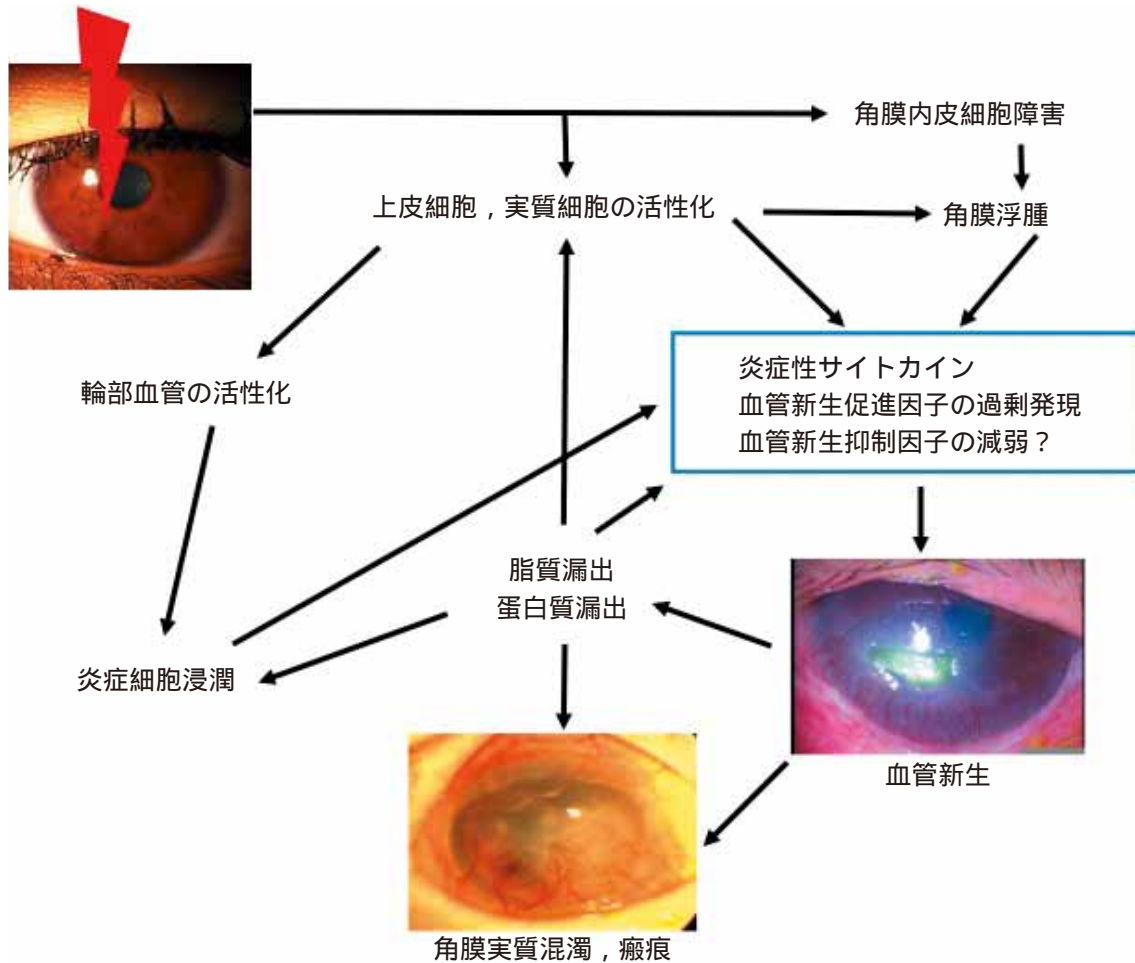


図 2 炎症性角膜血管新生のメカニズム。

角膜に何らかの刺激が加わるとその周囲の上皮細胞や実質細胞が活性化する。その活性が輪部まで及ぶと輪部血管が活性化し、マクロファージなどの炎症細胞が血管外へと漏出する。浸潤炎症細胞は炎症性サイトカインや血管新生促進因子を過剰産生する。また、活性化した上皮細胞や実質細胞もこれら因子を放出する。炎症により生じた角膜浮腫と相まって、角膜へ血管新生が生じる。新生血管の透過性は亢進しており、血液内の脂質や蛋白質が漏出し、これらが角膜実質に沈着することによりさらなる炎症を惹起する。このような現象が繰り返されることにより、最終的に角膜は混濁、瘢痕化を生じ、角膜の透明性は失われる。

ターゲットとした治療法も必要であると思われる。

これについては過剰発現した血管新生促進因子を抑制するといった手法が既に試みられており、その代表的なターゲットとして血管内皮細胞増殖因子(vascular endothelial growth factor: VEGF)が挙げられる。VEGFは眼血管新生疾患を含め、多くの血管新生疾患において責任分子の一つであり、強力な血管透過性亢進ならびに血管内皮の遊走、増殖作用をもつ⁶⁾。また VEGF は血管内皮細胞の接着分子発現を亢進し、一部の白血球にも直接作用し、炎症細胞の浸潤を促がすことから、炎症性サイトカインとしての側面も持ち合わせている⁷⁾。よって VEGF を制御することは、角膜血管新生を含むさまざまな血管新生の抑制に有効であり⁸⁾、多くの報告がその仮説を支持している⁶⁾。しかし、角膜に限らず血管新生は多因子によって成立している現象であり、VEGFのみで行われている現象ではない。実際に VEGF をブ

ロックすることは角膜血管新生抑制に有効ではあるが、完全に抑制することは不可能であり⁶⁾、さらなるメカニズムの解明が望まれている。そこで我々は血管新生のメカニズムの解明のために、現在まで角膜血管新生における関与が知られていなかったマクロファージ遊走阻止因子(macrophage migration inhibitory factor: MIF)と組織レニンアンジオテンシン系(組織 renin angiotensin system: 組織 RAS)について動物モデルを用いて検討した。

III MIF と角膜血管新生

MIF はマクロファージの移動を阻害することによりマクロファージを局所にとどめる作用を有する液性因子である⁹⁾¹⁰⁾。よって、MIF の過剰な生産は過度の炎症反応を引き起こし、MIF が炎症を伴う諸疾患に関与していることが知られてきた。近年ではその関連疾患が拡大

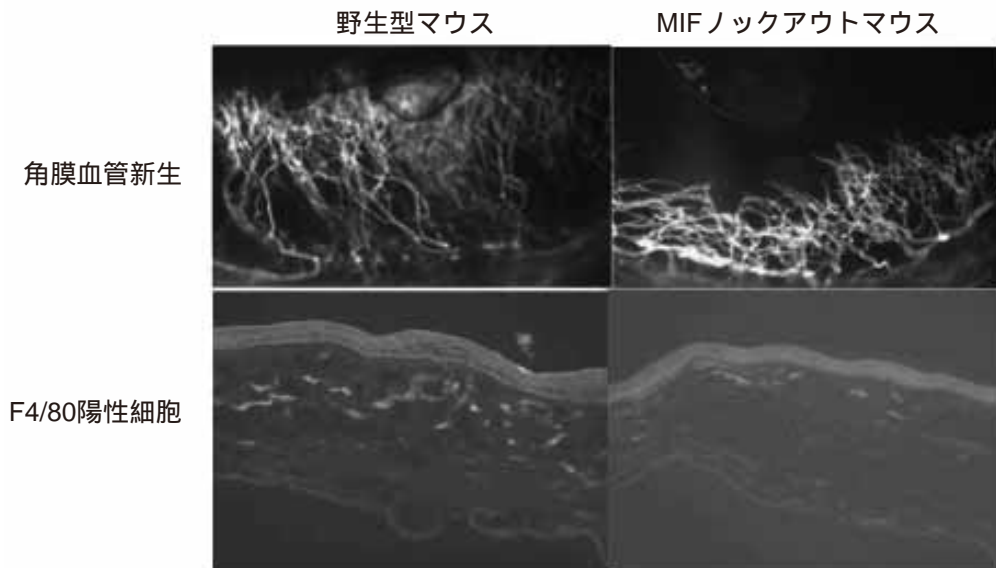


図 3 MIF ノックアウトマウスと野生型マウスにおけるマウス角膜血管新生.

10-0 ナイロン糸を角膜実質に通糸することにより角膜血管新生を誘導した。処置後7日目において血管新生領域を Isolectin B 4(血管内皮特異的レクチン)の灌流染色で、浸潤マクロファージを F 4/80 に対する免疫染色で観察した。Macrophage migration inhibitory factor (MIF) ノックアウトマウスでは、野生型マウスに比較して角膜血管新生(上段)やマクロファージの浸潤(下段)が減弱していた。

(文献 28, Figure 3, Figure 4 から許可を得て転載, 改変)

され、免疫関連反応、糸球体腎炎、敗血症性ショック、移植片対宿主病(組織拒絶)、関節リウマチ、急性呼吸窮迫症候群、遅延型過敏症など、さまざまな生体反応に大きな影響を及ぼしていることが明らかになりつつある^{11)~16)}。また、MIF は腫瘍増殖や腫瘍関連の血管新生に対し促進因子として働くことから血管新生との関連も指摘されており^{17)~22)}、mitogen-activated protein kinase や PI 3 kinase を介する直接的な、血管内皮増殖や遊走機能に関する分子メカニズムも解明されている²³⁾。さらに興味深いことに、この MIF は腫瘍細胞や滑膜細胞に作用すると VEGF の発現を亢進せしめるので²⁴⁾²⁵⁾、MIF の上昇は VEGF の上昇を引き起こすことになる。すなわち、VEGF の上流に位置するサイトカインとして MIF を考えることができるのである。眼組織では、既に Matsuda らにより角膜上皮の基底細胞層に MIF の発現が認められ²⁶⁾、MIF は炎症性サイトカインとしてのみならず、創傷治癒にも関連している可能性が示されている²⁷⁾。

このように多くの炎症性疾患に重要な役割を担う MIF が角膜血管新生に関与するかどうかを調べるために、マウスのアルカリ外傷や縫糸誘導角膜血管新生モデルで検討したところ、角膜血管新生の過程において MIF が mRNA レベル、蛋白質レベルで過剰産生していることが確認された²⁸⁾。MIF は炎症領域の角膜上皮細胞や実質細胞、浸潤白血球に発現していた²⁸⁾。そこで、MIF の角膜血管新生における機能を検討するために、ノックアウトマウスを用いた解析を行った。MIF ノックアウ

トマウスに角膜血管新生を誘導すると、野生型マウスに比較してマクロファージの浸潤や血管新生が著明に抑制されていた²⁸⁾(図 3)。このことから炎症が角膜に生じると、活性化した上皮細胞、実質細胞、浸潤したマクロファージにおいて MIF の産生が上昇し、血管を角膜実質内に誘導すると考えられた(図 4)。また MIF に影響を受けた細胞による VEGF の発現亢進や、MIF による浸潤マクロファージが角膜局所にとどまることがさらに炎症反応や血管新生作用の増強を招くと推測された(図 4)。以上より MIF の角膜血管新生における関与という新たなメカニズムの一端が判明し、MIF の抑制が角膜炎症細胞浸潤や血管新生の抑制につながる事が考えられた。現在、抗 MIF 剤の開発が進んでおり、さまざまな炎症性疾患へ応用され、その治療薬になるとともに、角膜血管新生性疾患への効果も期待される。今後は実際の疾患において MIF の発現を確認するとともに、MIF の抑制による眼局所を含めたさまざまな影響を検討する必要がある。

IV RAS と角膜血管新生

RAS は生体の血圧調節や電解質バランスの維持に重要な酵素-ホルモン系である²⁹⁾。RAS の基質であるアンジオテンシノーゲンは主に肝臓で合成され、血中へと分泌される。主に腎臓で産生されるレニンはこのアンジオテンシノーゲンを切断し、アンジオテンシン I (Ang I) が生成され、Ang I はさらにアンジオテンシン変換酵素(angiotensin converting enzyme : ACE)によりアン

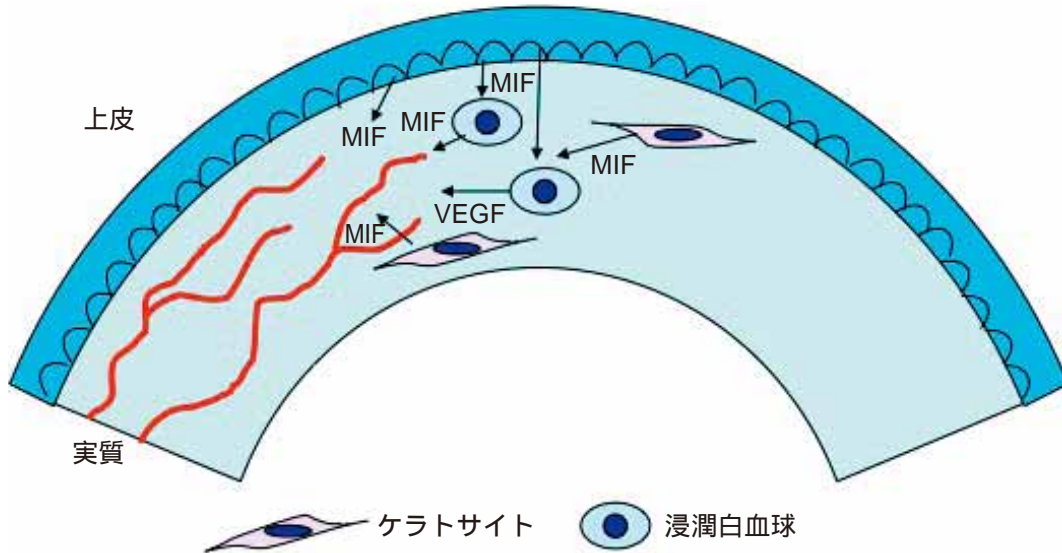


図 4 角膜血管新生における MIF の役割.

角膜に炎症が生じると、浸潤した炎症細胞、角膜上皮、実質細胞(ケラトサイト)から MIF が放出され、新生血管を直接角膜実質内に誘導する。また MIF は浸潤したマクロファージを炎症部位にとどめ、vascular endothelial growth factor (VEGF) の発現を亢進させ、さらに炎症反応、血管新生を促進する。

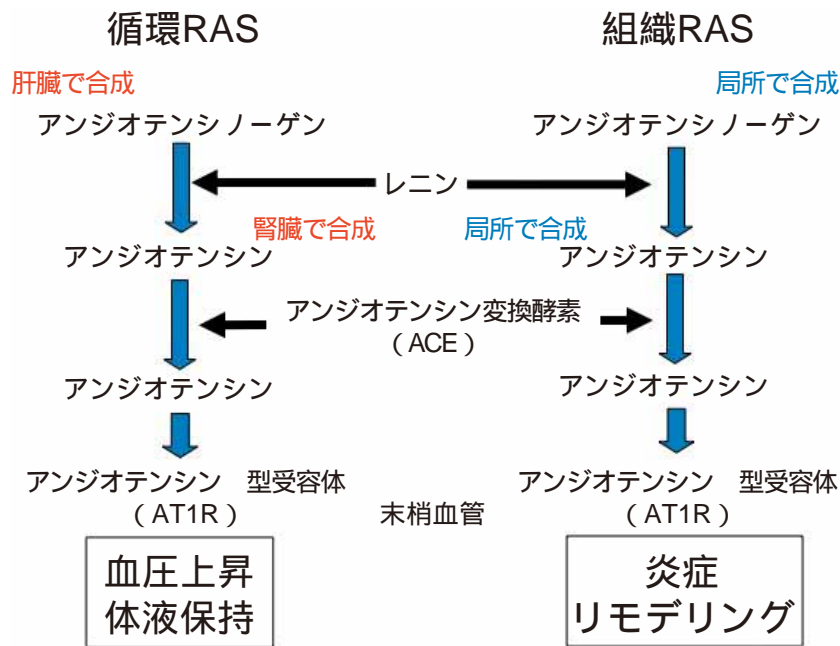


図 5 循環 RAS と組織 RAS.

レニンアンジオテンシン系(RAS)には循環 RAS と組織 RAS の二つの異なるシステムが存在する。循環 RAS では肝臓で合成されたアンジオテシノーゲンが腎臓で合成されたレニンやアンジオテンシン変換酵素によりアンジオテンシン II になり、末梢血管に発現するアンジオテンシン I 型受容体(AT1R)を介して血圧上昇や体液保持の作用を発揮する。一方組織 RAS は、組織局所でこれらの因子が産生され、炎症や組織のリモデリングの作用を有する。

ジオテンシン II (Ang II) へと変換される。Ang II は RAS の最終活性ペプチドであり、特異的受容体(angiotensin type I receptor : AT1R)を介して血管収縮、水電解質の再吸収促進などの生理機能を発揮し、血圧を上昇させる(図 5)。このように肝臓で合成された RAS 因

子が体循環系で末梢の血圧コントロールに関与する現象を循環 RAS(circulating RAS)といい²⁹⁾、本来細胞外液を体内に保持するために発達してきた仕組みと考えられている。

一方、局所の組織においても RAS 分子は発現し、細

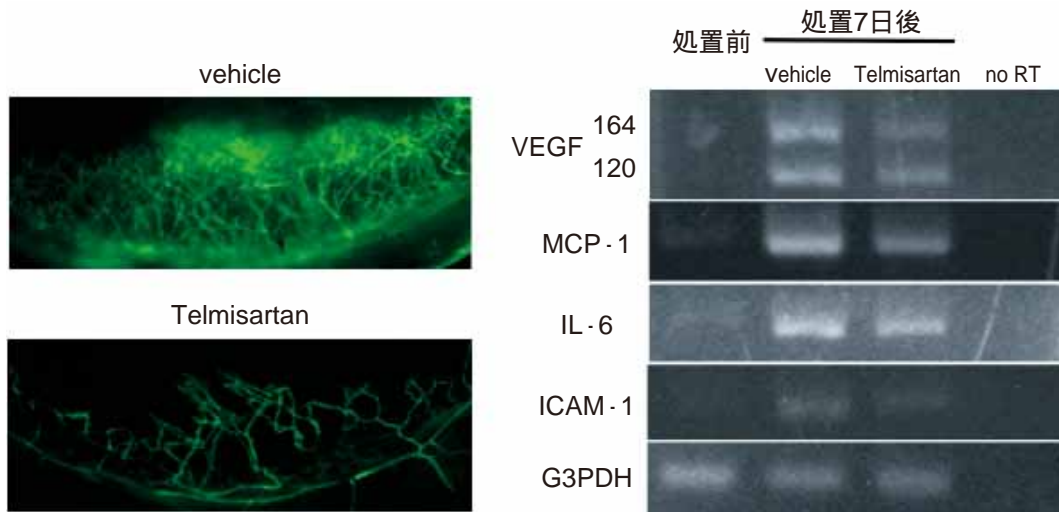


図 6 テルミサルタンによる角膜血管新生抑制。

10-0 ナイロン糸を角膜実質に通糸することにより角膜血管新生を誘導した。処置後7日目において血管新生領域を Isolectin B 4(血管内皮特異的レクチン)の灌流染色で観察した。アンジオテンシン I 型受容体のアンタゴニストであるテルミサルタン(telmisartan)の投与(左パネル下段)は、vehicle(PBS)投与(左パネル上段)と比較して、著明に角膜血管新生が抑制された。テルミサルタンの投与により、角膜における VEGF や、monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), interleukin-6 (IL-6), intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)などの炎症関連因子の mRNA 発現が減弱した(右パネル)。G3PDH は陽性対照、no RT は陰性対照。

(文献 35, Figure 5, Figure 6 から許可を得て転載, 改変)

胞の分化や、炎症、線維化など組織の修復や恒常性維持などの機能を担うことが分かってきた²⁹⁾。そして、炎症性疾患や動脈硬化など病的な状態においては、過剰発現した Ang II が血管内皮細胞における接着分子や炎症性サイトカインの発現を亢進させ、また白血球に対してもさまざまな液性因子の発現刺激のみならず、白血球の分化、増殖を促進させ、Ang II そのものが炎症性サイトカインとして機能するとされている^{30)~34)}(図 5)。このような局所のレニンアンジオテンシン系を組織 RAS(tissue RAS)という。

そこで角膜血管新生における RAS の関与を明らかにするために、マウス縫合糸誘導角膜血管新生モデルを用いて RAS の発現を検討した結果、mRNA レベルでアンジオテンシノーゲン、ACE、AT1R の発現が亢進していた³⁵⁾。また、RAS の最終機能ペプチドである Ang II は活性化した角膜上皮細胞や浸潤した炎症細胞、血管内皮細胞を含めた角膜実質に発現していることが免疫染色により確認された³⁵⁾。さらに、本モデルにおける RAS の機能を明らかにするために、AT1R アンタゴニスト(angiotensin II receptor blocker: ARB)であるテルミサルタンの全身投与を同モデルに対し施行した。すると、対照群と比較してテルミサルタン投与群では角膜実質における炎症細胞の浸潤や血管新生が著明に抑制された(図 6)。そしてテルミサルタンを投与した角膜では、VEGF や monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), interleukin-6 (IL-6)などの炎症関連液性因子、intracellu-

lar adhesion molecule-1 (ICAM-1)などの接着分子の発現が抑制されることが示された³⁵⁾(図 6)。

角膜は無血管組織であるため、RAS が関与しない組織と当初予想していたが、角膜同様、無血管組織である軟骨においても、慢性関節リウマチのような炎症性疾患では滑膜細胞の RAS の発現が亢進し、軟骨への血管新生が促進されることが報告されている³⁶⁾。角膜や軟骨といった無血管組織においても炎症のような病的状態においては局所の RAS が活性化するため、血管新生に対しても促進作用をもつと考えられた(図 7)。

以上より ARB の投与は角膜炎症時における血管新生抑制に有効であることが予想される。また、ARB は眼組織において眼圧下降作用を有することも知られており³⁷⁾、点眼薬としての臨床応用が期待されている。アルカリ外傷などで惹起された血管新生を伴う重度の前眼部炎症ではしばしば眼圧が上昇し、臨床問題になることが多い³⁸⁾。このようなときに眼圧下降作用を有し、かつ抗炎症、血管新生抑制薬となりうる ARB は、非常に有用な治療的ツールになるとと思われる。

V おわりに

本総説では炎症性角膜血管新生のメカニズムについて、最近我々が検討した MIF と RAS の関与を中心に概説し、これらの分子を制御することにより、血管新生抑制への可能性を示した。しかし、血管新生をターゲットとした治療を考えた場合、血管を消退させる、いわゆ

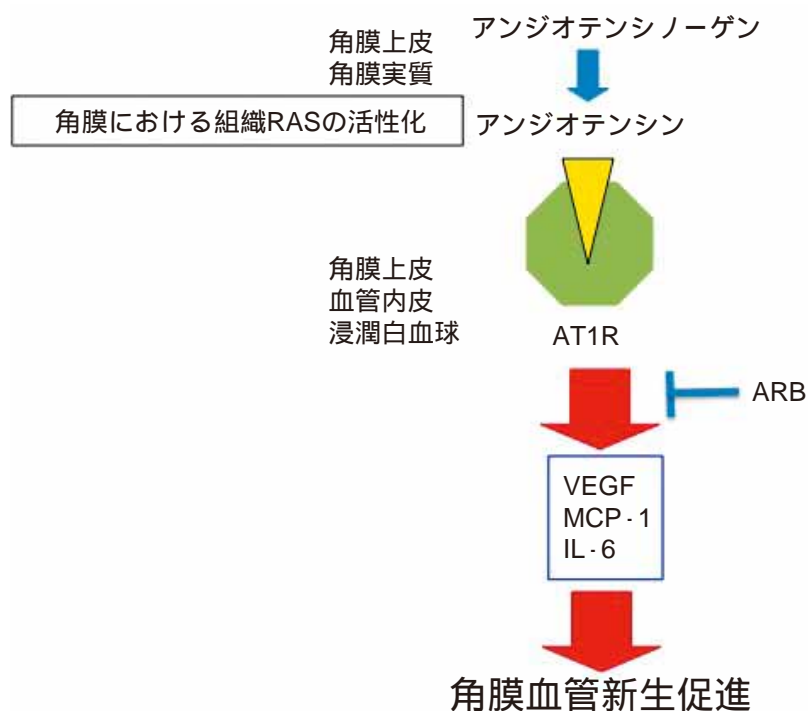


図 7 角膜 RAS と血管新生.

無血管組織である角膜においても、炎症が生じると組織 RAS が活性化する。そして、アンジオテンシン II がアンジオテンシン I 型受容体 (AT1R) と結合することにより、局所では VEGF, MCP-1, IL-6 といった炎症関連因子の産生が亢進し、角膜血管新生を促進する。よって AT1R のアンタゴニストである ARB は角膜血管新生や角膜炎症の治療薬として期待される。

る血管退縮療法や、血管新生の予防療法も考慮に入れるべきである。すなわち、侵入してしまった血管の退縮が可能であれば、血管新生抑制療法と組み合わせることにより、より確実な治療が生まれるであろう。我々はドラッグデリバリーを工夫した光感受性物質を用いた光線力学療法の検討³⁹⁾⁴⁰⁾や、自己樹状細胞を用いたワクチン療法の検討⁴¹⁾も行っており、動物実験レベルではあるがその効果を確認している。また、血管新生そのものが生体にとって合目的なイベントであるため、血管新生を抑制することによる上皮欠損や炎症の遷延など悪影響も存在するはずである。これらについてもさらに検討を加える必要がある。今後このように角膜血管新生に関与するさまざまな因子について検討を重ね、そのメカニズムをひとつひとつ明らかにすることができるならば、新たな治療法の開発につながると考えている。

文 献

- 1) Yamagami S, Suzuki Y, Tsuru T : Risk factors for graft failure in penetrating keratoplasty. *Acta Ophthalmol Scand* 74 : 584—588, 1996.
- 2) Williams KA, Esterman AJ, Barlett C, Holland H, Hornsby NB, Coster DJ : How effective is penetrating corneal transplantation? Factors influencing longterm outcome in multivariate analysis. *Transplantation* 81 : 896—901, 2006.
- 3) Gan L and Fagerholm P : Leukocytes in the early events of corneal neovascularization. *Cornea* 20 : 96—99, 2001.
- 4) Philipp W, Speicher I, Humpel C : Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in inflamed and vascularized human corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41 : 2514—2522, 2000.
- 5) Cursiefen C, Rummelt C, Kuchle M : Immunohistochemical localization of vascular endothelial growth factor, transforming growth factor alpha and transforming growth factor β 1 in human corneas with neovascularization. *Cornea* 19 : 526—533, 2000.
- 6) Shibuya M : Vascular endothelial growth factor-dependent and -independent regulation of angiogenesis. *BMB Rep* 41 : 278—286, 2008.
- 7) Usui T, Ishida S, Yamashita K, Kaji Y, Poulaki V, Moore J, et al : VEGF 164(165) as the pathological isoform : differential leukocyte and endothelial responses through VEGFR 1 and VEGFR 2. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45 : 368—374, 2004.
- 8) Amano S, Rohan R, Kutoki M, Tolentino M, Adamis AP : Requirement for vascular endothelial growth factor in wound- and inflammation-related corneal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39 : 18—22, 1998.
- 9) Nathan CF, Remold HG, David JR : Characterization of a lymphocyte factor which alters macro-

- phage functions. *J Exp Med* 137 : 275—290, 1973.
- 10) **Churchill WH, Piessens WF, Sulis CA, David JR** : Macrophages activated as suspension cultures with lymphocyte mediators kill neoplastic but not normal cells. *J Immunol* 115 : 781—786, 1975.
 - 11) **Bernhagen J, Calandra T, Mitchell RA, Martin SB, Tracey KJ, Voelter W**, et al : MIF is a pituitary-derived cytokine that potentiates lethal endotoxaemia. *Nature* 365 : 756—759, 1993.
 - 12) **Calandra T, Bernhagen J, Mitchell RA, Bucala R** : The macrophage is an important and previously recognized source of macrophage migration inhibitory factor. *J Exp Med* 179 : 1895—1902, 1994.
 - 13) **Mikulowska A, Mets CN, Bucala R, Holdsworth R** : Macrophage migration inhibitory factor is involved in the pathogenesis of collagen type II-induced arthritis in mice. *J Immunol* 158 : 5514—5517, 1997.
 - 14) **Lan HY, Bacher M, Yang N, Mu W, Nikolic-Paterson DJ, Metz C**, et al : The pathogenic role of macrophage migration inhibitory factor in immunologically induced kidney disease in the rat. *J Exp Med* 185 : 1455—1465, 1997.
 - 15) **Donnelly SC, Haslett C, Reid PT, Grant IS, Wallance WA, Metz CN**, et al : Regulatory role for macrophage migration inhibitory factor in acute respiratory distress syndrome. *Nat Med* 3 : 320—323, 1997.
 - 16) **Bozza M, Satskar AR, Lin G, Lu B, Humbles AA, Gerard C**, et al : Targeted disruption of macrophage migration inhibitory factor gene reveals its critical role in sepsis. *J Exp Med* 189 : 341—346, 1999.
 - 17) **Nishihira J, Ishibashi T, Fukushima T, Sun B, Sato Y, Todo S** : Macrophage migration inhibitory factor (MIF) : Its potential role in tumor growth and tumor-associated angiogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 995 : 171—182, 2003.
 - 18) **Shimizu T, Abe R, Nakamura H, Ohkawara A, Suzuki M, Nishihira J** : High expression of macrophage migration inhibitory factor in human melanoma cells and its role in tumor cell growth and angiogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 264 : 751—758, 1999.
 - 19) **Ogawa H, Nishihira J, Sato Y, Kondo M, Takahashi N, Oshima T**, et al : An antibody for macrophage migration inhibitory factor suppresses tumour growth and inhibits tumour-associated angiogenesis. *Cytokine* 12 : 309—314, 2000.
 - 20) **Ren Y, Tsui HT, Poon RT, Chen WH, Li Z, Lau C**, et al : Macrophage migration inhibitory factor : roles in regulating tumor cell migration and expression of angiogenic factors in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 107 : 22—29, 2003.
 - 21) **Wilson JM, Coletta PL, Cuthbert RJ, Scott N, MacLennan K, Hawcroft G**, et al : Macrophage migration inhibitory factor promotes intestinal tumorigenesis. *Gastroenterology* 129 : 1485—1503, 2005.
 - 22) **Takahashi N, Nishihira J, Sato Y, Kondo M, Ogawa H, Oshima T**, et al : Involvement of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in the mechanism of tumor growth. *Mol Med* 4 : 707—714, 1998.
 - 23) **Amin MA, Volpert OV, Woods JM, Kumar P, Harlow LA, Koch AE** : Migration inhibitory factor mediates angiogenesis via mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol kinase. *Circ Res* 93 : 321—329, 2003.
 - 24) **Ren Y, Law S, Huang X, Lee PY, Bacher M, Srivastava G**, et al : Macrophage migration inhibitory factor stimulates angiogenic factor expression and correlates with differentiation and lymph node status in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg* 242 : 55—63, 2005.
 - 25) **Ren Y, Chan HM, Li Z, Lin C, Nicholls J, Chen CF**, et al : Upregulation of macrophage migration inhibitory factor contributes to induced N-Myc expression by the activation of ERK signaling pathway and increased expression of interleukin-8 and VEGF in neuroblastoma. *Oncogene* 23 : 4146—4154, 2004.
 - 26) **Matsuda A, Tagawa Y, Matsuda H, Nishihira J** : Identification and immunolocalization of macrophage migration inhibitory factor in human cornea. *FEBS Lett* 385 : 225—228, 1996.
 - 27) **Matsuda A, Tagawa Y, Matsuda H, Nishihira J** : Expression of macrophage migration inhibitory factor in corneal wound healing in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38 : 1555—1562, 1997.
 - 28) **Usui T, Yamagami S, Kishimoto S, Yokoo S, Nakayama T, Amano S** : Role of macrophage migration inhibitory factor in corneal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48 : 3545—3550, 2007.
 - 29) **Gard PR** : The role of angiotensin II in cognition and behavior. *Eur J Pharmacol* 438 : 1—14, 2002.
 - 30) **Hernandez-Presa M, Bustos C, Ortego M, Ortego M, Tunon J, Renedo G**, et al : Angiotensin-converting enzyme inhibition prevents arterial nuclear factor- κ B activation, monocyte chemoattractant protein-1 expression, and macrophage infiltration in a rabbit model of early accelerated atherosclerosis. *Circulation* 95 : 1532—1541, 1997.
 - 31) **Pastore L, Tessitore A, Martinotti S, Toniato E, Alesse E, Bravi MC**, et al : Angiotensin II stimulates intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression by human vascular endothelial cells and increases soluble ICAM-1 release *in vivo*. *Circulation* 100 : 1646—1652, 1999.
 - 32) **Grafe M, Auch-Schwelk W, Zakrzewicz A, Zakrzewicz A, Regitz-Zagrosek V, Bartsch P**, et al : Angiotensin II-induced leukocyte adhesion on human coronary endothelial cells is mediated by E-selectin. *Circ Res* 81 : 804—811, 1997.

- 33) **Okamura A, Rakugi H, Ohishi M, Yanagitani Y, Takiuchi S, Moriguchi K**, et al : Upregulation of renin-angiotensin system during differentiation of monocytes to macrophages. *J Hypertens* 17 : 537—545, 1999.
- 34) **Leung PS, Carlsson PO** : Tissue renin-angiotensin system : its expression, localization, regulation and potential role in the pancreas. *J Mol Endocrinol* 26 : 155—164, 2001.
- 35) **Usui T, Sugisaki S, Iriyama A, Yokoo S, Yamagami S, Nagai N**, et al : Inhibition of corneal neovascularization by blocking the Angiotensin type I receptor. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49 : 4370—4376, 2008.
- 36) **Price A, Lockhart JC, Ferrell WR, Gsell W, McLean S, Sturrock RD** : Angiotensin II type 1 receptor as a novel therapeutic target in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 56 : 441—447, 2007.
- 37) **Vaajanen A, Luhtala S, Oksala O, Vapaatalo H** : Does the rennin-angiotensin system also regulate intra-ocular pressure? *Annal Med* 40 : 418—427, 2008.
- 38) **Parrish CM, Chandler JW** : Corneal trauma. In : Kaufman HE, et al (Eds) : *Cornea* 2nd edition. Butterworth-Heinmann, Washington DC, 633, 1997.
- 39) **Sugisaki K, Usui T, Nishiyama N, Jang WD, Yanagi Y, Yamagami S**, et al : Photodynamic therapy for corneal neovascularization using polymeric micelles encapsulating dendrimer porphyrins. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49 : 894—899, 2008.
- 40) **Usui T, Sugisaki K, Amano S, Jang WD, Nishiyama N, Kataoka K** : New drug delivery for corneal neovascularization using polyion complex micelles. *Cornea* 24 : S 39—S 42, 2005.
- 41) **Mochimaru H, Usui T, Yaguchi T, Nagahama Y, Hasegawa G, Usui Y**, et al : Suppression of alkali burn-induced corneal neovascularization by dendritic cell vaccination targeting VEGF receptor 2. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49 : 2172—2177, 2008.
-