

実験的脈絡膜血管新生に対するカルテオロール塩酸塩の効果

石田 晋¹⁾²⁾, 持丸 博史²⁾³⁾, 永井 紀博²⁾³⁾, 野田 航介¹⁾²⁾, 小沢 洋子²⁾³⁾

¹⁾北海道大学大学院医学研究科眼科学分野, ²⁾慶應義塾大学総合医科学研究センター網膜細胞生物学研究室

³⁾慶應義塾大学医学部眼科学教室

要 約

目 的：カルテオロール塩酸塩の脈絡膜血管新生 (choroidal neovascularization : CNV) への影響を検討したので報告する。

方 法：レーザー誘導 CNV を C57BL/6 マウスに作製し，蛍光標識レクチン染色により定量した。網膜色素上皮-脈絡膜組織における intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 と monocyte chemotactic protein (MCP)-1, ならびに RAW 264.7 マクロファージ培養系における tumor necrosis factor (TNF)- α を酵素結合免疫吸着法により測定した。

結 果：カルテオロール塩酸塩の投与により，CNV

形成，網膜色素上皮-脈絡膜組織における ICAM-1 と MCP-1 の発現，さらに培養マクロファージにおける TNF- α 発現が抑制された。

結 論：カルテオロール塩酸塩は抗炎症作用を介して実験的 CNV を抑制した。(日眼会誌 115 : 355—361, 2011)

キーワード：カルテオロール塩酸塩，脈絡膜血管新生，炎症，intercellular adhesion molecule-1, monocyte chemotactic protein-1

Effects of Carteolol Hydrochloride on Experimental Choroidal Neovascularization

Susumu Ishida¹⁾²⁾, Hiroshi Mochimaru²⁾³⁾, Norihiro Nagai²⁾³⁾, Kousuke Noda¹⁾²⁾ and Yoko Ozawa²⁾³⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Hokkaido University Graduate School of Medicine

²⁾Laboratory of Retinal Cell Biology, Keio University Center for Integrated Medical Research

³⁾Department of Ophthalmology, Keio University School of Medicine

Abstract

Purpose : To investigate the effects of carteolol hydrochloride on choroidal neovascularization (CNV).

Methods : Laser photocoagulation was performed to induce CNV in C57BL/6 mice. The response of CNV was assessed by fluorescein isothiocyanate-isolectin B4 staining. The expression of intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 and monocyte chemotactic protein (MCP)-1 in the retinal pigment epithelium (RPE)-choroid complex and tumor necrosis factor (TNF)- α in the RAW 264.7 macrophage culture was evaluated by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results : Carteolol hydrochloride application led

to significant suppression of the generation of CNV, the production of ICAM-1 and MCP-1 in the RPE-choroid, and macrophage expression of TNF- α .

Conclusion : Carteolol hydrochloride prevented CNV development through its anti-inflammatory action.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 115 : 355—361, 2011)

Key words : Carteolol hydrochloride, Choroidal neovascularization, Inflammation, Intercellular adhesion molecule-1, Monocyte chemotactic protein-1

I 緒 言

カルテオロール塩酸塩(ミケラン®点眼液)は，緑内障に対し眼圧下降を目的として広く用いられている交感神

経 β 遮断薬である。近年，この眼圧下降作用とは独立した付加的な特性として抗酸化作用¹⁾²⁾や抗炎症作用³⁾が指摘されている。カルテオロール塩酸塩の抗酸化作用としては，生体組織に強力な酸化ストレスを及ぼすヒドロキ

別刷請求先：060-8638 札幌市北区北 15 条西 7 北海道大学大学院医学研究科眼科学分野 石田 晋

(平成 22 年 5 月 1 日受付，平成 22 年 10 月 14 日改訂受理) E-mail : ishidasu@med.hokudai.ac.jp

Reprint requests to : Susumu Ishida, M. D., Ph. D. Department of Ophthalmology, Hokkaido University Graduate School of Medicine, N-15, W-7, Kita-ku, Sapporo 060-8638, Japan

(Received May 1, 2010 and accepted in revised form October 14, 2010)

シラジカル(OH[·])¹⁾やスーパーオキシドアニオン(O₂⁻)²⁾を消去するスカベンジャーとして機能することが示されている。この活性酸素に対するスカベンジャー作用は、カルテオロール塩酸塩の分子構造において他の交感神経β遮断薬にはない特有のキノリノン骨格に由来すると考えられている¹⁴⁾。また、カルテオロール塩酸塩は内因性交感神経刺激様作用(intrinsic sympathomimetic activity: ISA)を有する点も他の抗緑内障交感神経β遮断薬とは異なる特徴であり、抗炎症作用のメカニズムとしてβアドレナリン受容体に対する部分β刺激作用の重要性も指摘されている³⁾⁵⁾。

脈絡膜血管新生(choroidal neovascularization: CNV)は、加齢黄斑変性の終末病態である。近年、CNV発症の病態メカニズムとして酸化ストレスや炎症の関与が指摘されている^{6)~12)}。酸化ストレスはマクロファージ系炎症細胞に対してnuclear factor(NF)-κBなどのレドックス感受性転写因子を介してtumor necrosis factor(TNF)-αを産生することが知られる。マクロファージ由来のTNF-αはCNV病態の上流でさまざまな炎症関連分子の発現誘導に関与するが¹⁰⁾、なかでも、血管内皮細胞における白血球接着分子の一つintercellular adhesion molecule(ICAM)-1¹¹⁾とマクロファージ系炎症細胞の走化因子であるmonocyte chemotactic protein(MCP)-1¹²⁾は、CNV形成に必須の代表的な病態責任因子であることが示されている。そこで本研究では、炎症細胞に対する接着分子ICAM-1と走化因子MCP-1の発現制御に着目して、実験的CNVマウスモデルにおけるカルテオロール塩酸塩の効果を調べたので報告する。

II 実験方法

1. 実験的CNVの作製と評価

すべての動物実験は、眼科研究のための動物使用に関するARVO(Association for Research in Vision and Ophthalmology)声明を遵守し、慶應義塾大学総合医学研究センターによる承認済み実験計画書に基づいて行った。著者らの既報^{13)~18)}に従って、Novus Spectraレーザー光凝固装置(日本ルミナス)を用いて照射条件を波長532 nm、出力200 mW、時間0.1秒として、雄6週齢のC57BL/6マウス(日本クレア)にCNVを誘導した。レーザー照射7日後にFITC(fluorescein isothiocyanate)-isolectin B4(Vector)による蛍光標識レクチン染色を行いCNVの疑似体積を既報^{13)~18)}のとおり評価した。

2. 交感神経β遮断薬の投与

レーザー照射5日前よりマウス腹腔に5日間連続で25 mg/kg または 250 mg/kg のカルテオロール塩酸塩(大塚製薬より供与)、チモロールマレイン酸塩(Sigma)、サルブタモール硫酸塩(Sigma)、またはvehicle(溶媒)として200 μlのリン酸緩衝食塩水(phosphate buffered saline: PBS)を前投与した。それぞれの薬剤のマウスに

対するLD50(50%致死量)は、カルテオロール塩酸塩が380 mg/kg、チモロールマレイン酸塩が300 mg/kg、サルブタモール硫酸塩が274 mg/kgであることから、本研究ではまず最大用量に近い投与量での効果を観察するために250 mg/kgを選択し、投与日数に関する予備実験により(データ非表示)、5日間の連続投与を決定した。

3. 酵素結合免疫吸着法(enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA)

レーザー照射3日後、網膜色素上皮(retinal pigment epithelium: RPE)-脈絡膜組織を採取し、既報^{13)~16)}に従ってICAM-1 ELISAキット(R & D Systems)、MCP-1 ELISAキット(R & D Systems)を用いてICAM-1およびMCP-1蛋白質濃度を測定した。

4. 培養実験

マウスマクロファージの細胞株RAW 264.7を用い、著者らの既報^{13)~16)}の培養条件で実験した。リポ多糖(lipopolysaccharide: LPS)刺激によりTNF-αの発現を誘導した。10 μM または 100 μM のカルテオロール塩酸塩、チモロールマレイン酸塩、サルブタモール硫酸塩、またはPBSを前投与して1時間後に、LPS(Sigma)10 ng/mlを添加した。LPS刺激6時間後、培養上清を回収し、既報¹⁷⁾のとおりTNF-α ELISAキット(Biosource)を用いてTNF-α蛋白質濃度を測定した。

III 結果

1. カルテオロール塩酸塩によるマウス実験的CNVに対する抑制効果

マウスCNVモデルに対するvehicle(PBS)投与群、カルテオロール塩酸塩25 mg/kg、250 mg/kg投与群においてそれぞれCNV体積(平均値±標準誤差)は、323,986 ± 24,013 μm³ (n=47)、353,261 ± 44,850 μm³ (n=36)、240,139 ± 28,980 μm³ (n=37)であり、vehicle投与群と比較してカルテオロール塩酸塩250 mg/kg投与群では有意に(p<0.01)CNV体積が抑制された(図1)。また、同濃度(250 mg/kg)のチモロールマレイン酸塩投与群(n=51)では、CNV体積は325,375 ± 45,121 μm³であり、vehicle群との有意差は得られなかった(図1)。なお、カルテオロール塩酸塩およびチモロールマレイン酸塩投与群ではマウスの外観や活動性など健康状態に著変なかったが、サルブタモール硫酸塩(250 mg/kg)を投与するとマウスが高頻度で死亡したため解析できなかった。

2. カルテオロール塩酸塩によるCNVにおける炎症関連分子発現に対する抑制効果

カルテオロール塩酸塩のCNV抑制(図1)における分子メカニズムとして、CNVの病態責任因子である炎症関連分子ICAM-1(図2)およびMCP-1(図3)の発現変化をELISAで検討した。Vehicle(PBS)投与群、カルテオロール塩酸塩25 mg/kg、250 mg/kg投与群(それぞれn

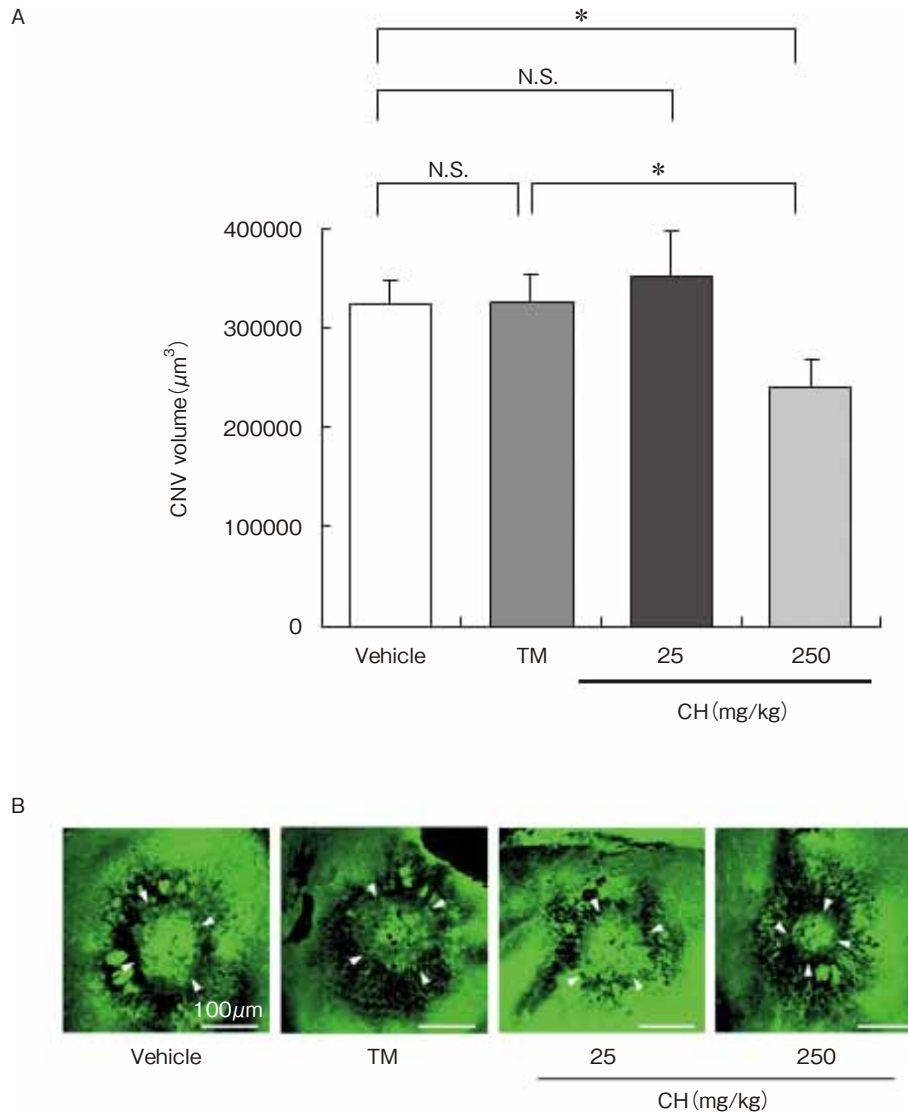


図 1 カルテオロール塩酸塩によるマウス実験の脈絡膜血管新生(CNV)に対する抑制効果。

A: マウス CNV モデルに対し, vehicle 投与, CH(カルテオロール塩酸塩)25 mg/kg, 250 mg/kg 投与による CNV 体積変化を示したグラフ. Vehicle 群と比較して CH 250 mg/kg 投与群では有意に CNV 体積が抑制されたが, TM(チモロールマレイン酸塩)250 mg/kg 投与群では抑制されなかった. B: 脈絡膜フラットマウントに対する蛍光標識レクチン染色像. 矢頭はレクチン染色された CNV. *: $p < 0.01$ (Mann-Whitney test), N. S.: 有意差なし, scale bar = 100 μm .

=4)でそれぞれ ICAM-1 および MCP-1 蛋白質濃度を比較したところ, vehicle 群と比較してカルテオロール塩酸塩 250 mg/kg 投与群では, ICAM-1 および MCP-1 産生ともに有意差をもって(それぞれ $p < 0.05$)抑制された(図 2, 3).

3. 種々の交感神経 β 修飾薬によるマクロファージにおける TNF- α 発現に対する効果の比較

動物実験で示されたカルテオロール塩酸塩の抗血管新生作用(図 1)・抗炎症作用(図 2, 3)のメカニズムをさらに検討するために, CNV 病態の促進因子として知られるマクロファージの培養実験を行った(図 4). マクロファージの TNF- α 発現について vehicle(PBS)添加群, カルテオロール塩酸塩 10 μM および 100 μM 添加群, チ

モロールマレイン酸塩 100 μM 添加群, サルブタモール硫酸塩 10 μM 添加群(それぞれ $n=6$)を比較したところ, vehicle と比較してカルテオロール塩酸塩とサルブタモール硫酸塩では有意に(それぞれ $p < 0.05$)抑制されたが, チモロールマレイン酸塩では抑制されなかった(図 4).

IV 考 按

本研究は, 著者らが文献を渉猟する限り初めて, カルテオロール塩酸塩の抗血管新生作用を示唆したものである. すなわち, カルテオロール塩酸塩の投与により CNV 形成が抑制されたが, 部分 β 刺激作用もキノリノン骨格もないチモロールマレイン酸塩では抑制されなかった

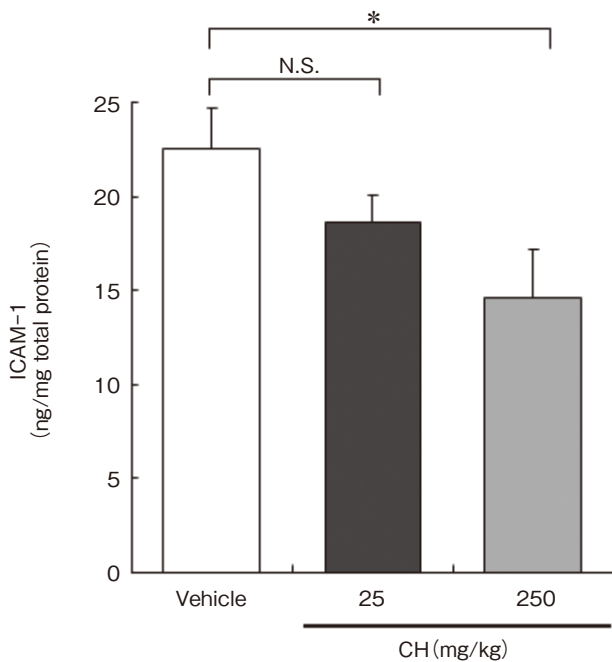


図 2 カルテオロール塩酸塩による CNV における intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 発現に対する抑制効果。

マウス CNV モデルに対し, vehicle 投与, CH(カルテオロール塩酸塩)25 mg/kg, 250 mg/kg 投与による ICAM-1 発現変化を示したグラフ. Vehicle 群と比較して CH 250 mg/kg 投与群では有意に ICAM-1 産生が抑制された. *: $p < 0.05$ (Mann-Whitney test), N.S.: 有意差なし.

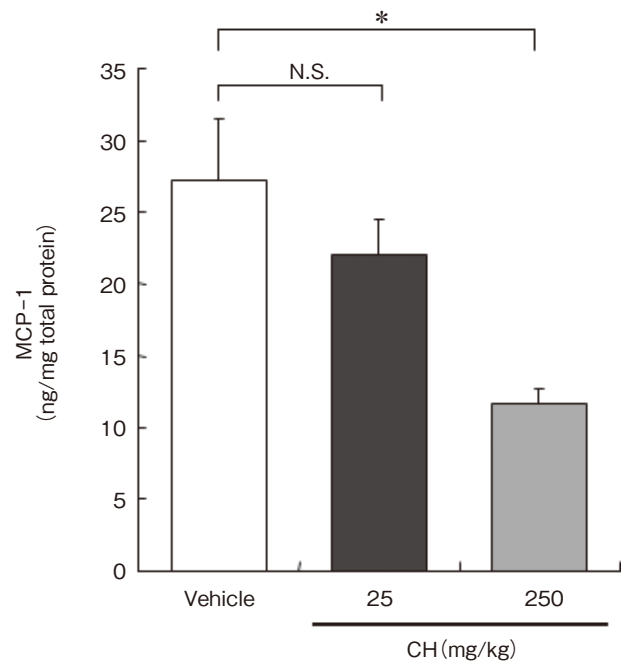


図 3 カルテオロール塩酸塩による CNV における monocyte chemotactic protein (MCP)-1 発現に対する抑制効果。

マウス CNV モデルに対し, vehicle 投与, CH(カルテオロール塩酸塩)25 mg/kg, 250 mg/kg 投与による MCP-1 発現変化を示したグラフ. Vehicle 群と比較して CH 250 mg/kg 投与群では有意に MCP-1 産生が抑制された. *: $p < 0.05$ (Mann-Whitney test), N.S.: 有意差なし.

(図 1). カルテオロール塩酸塩による CNV 抑制を説明する分子メカニズムとして, RPE-脈絡膜組織における ICAM-1(図 2)および MCP-1(図 3)の発現抑制が示された. カルテオロール塩酸塩により培養マクロファージにおける TNF- α 発現誘導が抑制されたが, チモロールマレイン酸塩では抑制されず, 一方, 交感神経 β 刺激薬のサルブタモール硫酸塩では抑制された(図 4).

近年の細胞生物学的研究の成果として, CNV 病態は酸化ストレス^{6)~8)15)16)}, 炎症^{9)~14)18)}によって促進されることが明らかとなり, マクロファージ系炎症細胞は CNV 形成の鍵因子と考えられている^{9)~16)18)}. 酸化ストレスは NF- κ B などのレドックス感受性転写因子を介してさまざまな炎症関連分子を誘導することが知られているが, CNV 組織に浸潤・集積したマクロファージは TNF- α を産生していることが分かっている¹⁰⁾. TNF- α は, 血管内皮細胞における MCP-1 と ICAM-1 発現を誘導するため¹⁵⁾¹⁶⁾, さらにマクロファージの動員と内皮細胞への接着が亢進¹¹⁾¹²⁾, CNV 病態には酸化ストレスと炎症病態の悪循環が介在すると考えられる. 実際, 抗酸化物質のルテイン¹⁵⁾やアスタキサンチン¹⁶⁾により, また, 抗炎症療法として接着分子 CD 44¹⁸⁾や炎症性サイトカイン interleukin-6¹⁴⁾の阻害により CNV 形成が抑制されるこ

とからも, 酸化ストレスと炎症により CNV が制御されるという病態理解の妥当性が確認される. 本研究では, マクロファージ由来 TNF- α と ICAM-1(血管内皮細胞に局在), MCP-1(血管内皮細胞と RPE 細胞から産生)に焦点を当てたが, CNV 病態では血管内皮細胞・マクロファージ・RPE 細胞など複数の細胞種の間でより多様なサイトカインネットワークが存在すると考えられる. したがって, カルテオロール塩酸塩が, CNV 組織においてマクロファージのみならず血管内皮細胞や RPE 細胞にも直接作用している可能性もあり, 今後の検討が待たれる.

カルテオロール塩酸塩は, ヒドロキシラジカル¹⁾やスーパーオキシドアニオン²⁾を消去するスカベンジャーとして抗酸化作用を有することが示されており, この機能はカルテオロール塩酸塩の分子構造において他の交感神経 β 遮断薬にはない特有のキノリノン骨格に由来すると考えられている¹⁴⁾. 実際, 抗潰瘍薬のレバミピド(ムコスタ[®])もキノリノン骨格を持ち, カルテオロール塩酸塩と同様にヒドロキシラジカルを消去し¹⁴⁾, 紫外線による角膜上皮細胞傷害を抑制することが示された¹⁾.

さらに, カルテオロール塩酸塩は, 単に β アドレナリン受容体を遮断するのみではなく条件によっては逆に

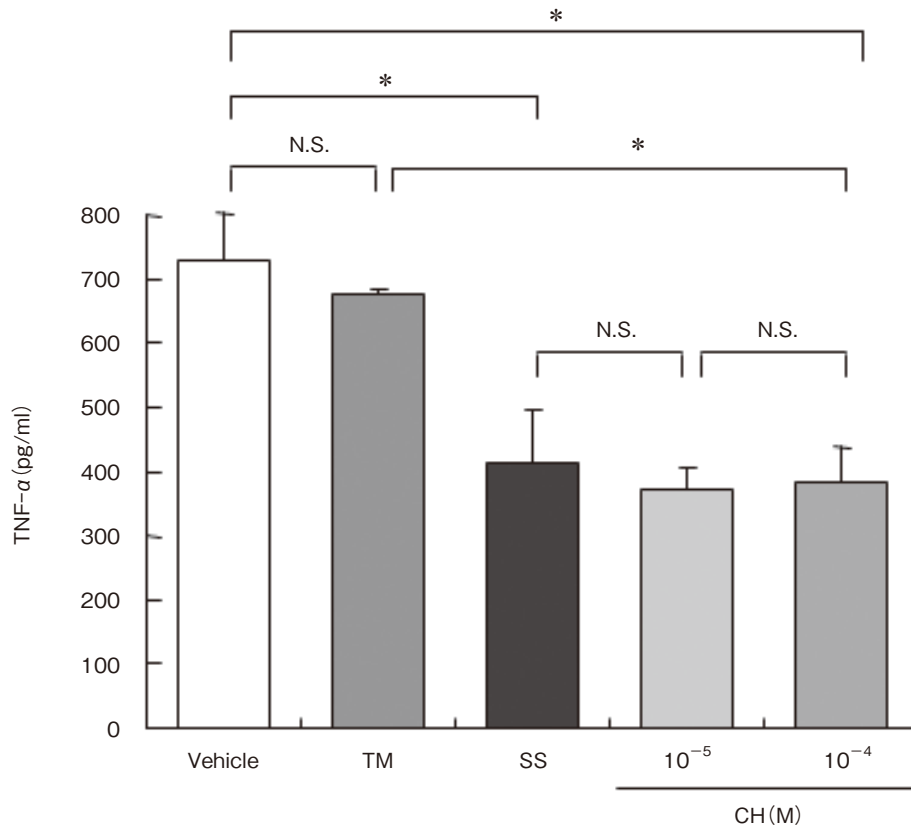


図 4 種々の交感神経 β 修飾薬によるマクロファージにおける tumor necrosis factor (TNF)- α 発現に対する効果の比較.

培養マクロファージにおける TNF- α 発現について, vehicle 添加, CH(カルテオロール塩酸塩)10 μ M および 100 μ M 添加, TM(チモロールマレイン酸塩)100 μ M 添加, SS(サルプタモール硫酸塩)10 μ M 添加による TNF- α 発現変化を示したグラフ. Vehicle 群と比較して CH 群と SS 群では有意に TNF- α 産生が抑制されたが, TM 群では抑制されなかった. *: $p < 0.05$ (Mann-Whitney test), N.S.: 有意差なし.

交感神経 β 刺激作用も発揮する ISA と呼ばれる特性があり,これが抗炎症作用に関与すると考えられている³⁾. すなわち, 交感神経 β 刺激薬のプロカテロール塩酸塩とクレンブテロール塩酸塩は, β アドレナリン受容体を刺激し細胞内 cyclic AMP(環状アデノシン 1 リン酸)の上昇を介して, 末梢血単核球における TNF- α 発現誘導を抑制するが, この抗炎症効果は交感神経 β 遮断薬プロプラノロール塩酸塩によって打ち消されることが示された⁵⁾. 実際, 交感神経 β 刺激薬のサルプタモール硫酸塩は, カルテオロール塩酸塩と同様に, 腹腔マクロファージおよび末梢血単核球における TNF- α 発現誘導を抑制したが, 部分 β 刺激作用(ISA)のない抗緑内障交感神経 β 遮断薬であるチモロールマレイン酸塩(チモプトール[®]点眼液), バタキシロール塩酸塩(バトプティック[®]点眼液), ニプラジロール(ハイパジール[®]点眼液)などはこの抗炎症作用を示さなかった³⁾. 本研究においても, 培養マクロファージにおける TNF- α 発現誘導がサルプタモール硫酸塩とカルテオロール塩酸塩によって抑制され(図 4), チモロールマレイン酸塩では抑制されなかったことから, 既報³⁾を支持する結果となった. サルプタモール硫酸塩にはカルテオロール塩酸塩と異なりキノリ

ノン骨格がないため, 培養実験(図 4)からは, 交感神経 β 刺激作用が TNF- α 抑制という抗炎症作用の重要なメカニズムであることが示唆される. しかしながら, 本研究の動物実験(図 1~3)において CNV 抑制効果を示したカルテオロール塩酸塩の投与量と同等のサルプタモール硫酸塩の投与ではマウスが死亡するため, 動物実験からは交感神経 β 刺激作用による効果は証明できなかった. 交感神経 β 刺激作用の関与を動物実験で証明するには, 全身への副作用(死亡も含め)を最小化すべく硝子体内注射などの局所投与, または, 今回の投与方法よりも低用量・長期間の実験系で検証するなど今後の工夫が必要であろう. したがって, 今回の動物実験の結果を解釈する際の問題点として, カルテオロール塩酸塩が有効性を示した投与量が単一の高用量のみであり薬剤特性(キノリノン骨格または部分 β 刺激作用)による効果と断定することは難しい. 本研究の結果(図 1~4)に加えて, 既報^{1)~3)}で示された特異的作用(抗酸化・抗炎症作用)を既知の特性として考え併せると, カルテオロール塩酸塩の抗血管新生作用が推定された.

興味深いことに, 交感神経 β 遮断薬の作用は細胞種によって異なる. 例えば, 網膜神経節細胞における酸化ス

トレスによる細胞死の検討では、チモロールマレイン酸塩、ベタキソロール塩酸塩、ニブラジロールは保護効果を示したが、カルテオロール塩酸塩は示さなかった¹⁹⁾。低酸素²⁰⁾やNMDA (*N*-メチル-*D*-アスパラギン酸)²¹⁾刺激による神経節細胞死でも、同様の結果であった。さらに線維柱帯細胞では、酸化ストレスによる細胞死に対してチモロールマレイン酸塩とニブラジロールの保護効果が示された²²⁾。したがって、網膜神経節細胞^{19)~21)}や線維柱帯細胞²²⁾で観察された種々の交感神経 β 遮断薬の細胞保護効果は、本研究の結果も含めて炎症細胞³⁾⁵⁾や角膜上皮細胞¹⁾²⁾に対する効果とは明らかに異なり、キノリノン骨格や部分 β 刺激作用に依存しない作用機序が考えられる。このような種々の交感神経 β 遮断薬の付加価値としての機能は、現時点では抗緑内障点眼薬として発揮することは難しいと考えられる。しかしながら、ドラッグデリバリーの進歩によりこれらの機能が活用される時代も来る可能性があり、各薬剤の潜在的な特性として評価しておくことは将来の臨床応用のために意義のあることと考えられる。本研究では、カルテオロール塩酸塩に抗炎症作用を介する抗血管新生作用がある可能性を示した。

本研究は、大塚製薬株式会社より慶應義塾大学総合医科学研究センター網膜細胞生物学研究室へ寄附された平成19年度受託研究費(250万円)により行われたことを付記して謝意を表します。また、本研究にご指導・ご助言をいただきました坪田一男慶應義塾大学教授、尾池雄一熊本大学教授に深謝いたします。

文 献

- 1) **Tanito M, Takanashi T, Kaidzu S, Yoshida Y, Ohira A** : Cytoprotective effects of rebamipide and carteolol hydrochloride against ultraviolet B-induced corneal damage in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 : 2980—2985, 2003.
- 2) **Kuwahara K, Oizumi N, Fujisawa S, Tanito M, Ohira A** : Carteolol hydrochloride protects human corneal epithelial cells from UVB-induced damage *in vitro*. *Cornea* 24 : 213—220, 2005.
- 3) **Kawai K, Kuwahara K, Oizumi N, Kitagaki H, Fujisawa S** : Effects of carteolol hydrochloride on the *in vitro* production of LPS-induced proinflammatory cytokines by murine macrophage. *J Ocul Pharmacol Ther* 20 : 237—245, 2004.
- 4) **Naito Y, Yoshikawa T, Tanigawa T, Sakurai K, Yamasaki K, Uchida M, et al** : Hydroxyl radical scavenging by rebamipide and related compounds : electron paramagnetic resonance study. *Free Radic Biol Med* 18 : 117—123, 1995.
- 5) **Yoshimura T, Kurita C, Nagao T, Usami E, Nakao T, Watanabe S, et al** : Inhibition of tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β production by β -adrenoceptor agonists from lipopolysaccharide-stimulated human peripheral blood mononuclear cells. *Pharmacology* 54 : 144—152, 1997.
- 6) **Kamei M, Yoneda K, Kume N, Suzuki M, Itabe H, Matsuda K, et al** : Scavenger receptors for oxidized lipoprotein in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48 : 1801—1807, 2007.
- 7) **Iriyama A, Fujiki R, Inoue Y, Takahashi H, Tamaki Y, Takezawa S, et al** : A2E, a pigment of the lipofuscin of retinal pigment epithelial cells, is an endogenous ligand for retinoic acid receptor. *J Biol Chem* 283 : 11947—11953, 2008.
- 8) **坪田一男** : 活性酸素・炎症 : エイジング仮説. *日眼会誌* 111 : 193—206, 2007.
- 9) **石田 晋** : 生活習慣病と抗加齢眼科学 : レニン-アンジオテンシン系と炎症制御による網脈絡膜病態の是正. *日眼会誌* 113 : 403—423, 2009.
- 10) **Oh H, Takagi H, Takagi C, Suzuma K, Otani A, Ishida K, et al** : The potential angiogenic role of macrophages in the formation of choroidal neovascular membranes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40 : 1891—1898, 1999.
- 11) **Sakurai E, Taguchi H, Anand A, Ambati BK, Gragoudas ES, Miller JW, et al** : Targeted disruption of the CD 18 or ICAM-1 gene inhibits choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 : 2743—2749, 2003.
- 12) **Tsutsumi C, Sonoda KH, Egashira K, Qiao H, Hisatomi T, Nakao S, et al** : The critical role of ocular-infiltrating macrophages in the development of choroidal neovascularization. *J Leukoc Biol* 74 : 25—32, 2003.
- 13) **Nagai N, Oike Y, Izumi-Nagai K, Urano T, Kubota Y, Noda K, et al** : Angiotensin II type 1 receptor-mediated inflammation is required for choroidal neovascularization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 26 : 2252—2259, 2006.
- 14) **Izumi-Nagai K, Nagai N, Ozawa Y, Mihara M, Ohsugi Y, Kurihara T, et al** : Interleukin-6 receptor-mediated activation of signal transducer and activator of transcription-3 (STAT 3) promotes choroidal neovascularization. *Am J Pathol* 170 : 2149—2158, 2007.
- 15) **Izumi-Nagai K, Nagai N, Ohgami K, Satofuka S, Ozawa Y, Tsubota K, et al** : Macular pigment lutein is antiinflammatory in preventing choroidal neovascularization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27 : 2555—2562, 2007.
- 16) **Izumi-Nagai K, Nagai N, Ohgami K, Satofuka S, Ozawa Y, Tsubota K, et al** : Inhibition of choroidal neovascularization with an anti-inflammatory carotenoid astaxanthin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49 : 1679—1685, 2008.
- 17) **Mochimaru H, Nagai N, Hasegawa G, Kudo-Saito C, Yaguchi T, Usui Y, et al** : Suppression of choroidal neovascularization by dendritic cell vaccination targeting VEGFR 2. *Invest Ophthalmol Vis*

- Sci 48 : 4795—4801, 2007.
- 18) **Mochimaru H, Takahashi E, Tsukamoto N, Miyazaki J, Yaguchi T, Koto T**, et al : Involvement of hyaluronan and its receptor CD 44 with choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50 : 4410—4415, 2009.
 - 19) **Yu ZK, Chen YN, Aihara M, Mao W, Uchida S, Araie M** : Effects of β -adrenergic receptor antagonists on oxidative stress in purified rat retinal ganglion cells. *Mol Vis* 13 : 833—839, 2007.
 - 20) **Chen YN, Yamada H, Mao W, Matsuyama S, Aihara M, Araie M** : Hypoxia-induced retinal ganglion cell death and the neuroprotective effects of β -adrenergic antagonists. *Brain Res* 1148 : 28—37, 2007.
 - 21) **Metoki T, Ohguro H, Ohguro I, Mamiya K, Ito T, Nakazawa M** : Study of effects of antiglaucoma eye drops on *N*-methyl-*D*-aspartate-induced retinal damage. *Jpn J Ophthalmol* 49 : 453—461, 2005.
 - 22) **Miyamoto N, Izumi H, Miyamoto R, Kubota T, Tawara A, Sasaguri Y**, et al : Nipradilol and timolol induce Foxo 3a and peroxiredoxin 2 expression and protect trabecular meshwork cells from oxidative stress. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50 : 2777—2784, 2009.
-