

経角膜的に投与したプロスタグランジン E₂の家兎前眼部に及ぼす影響

平田 秀樹, 開 繁義, 鍛冶 兆宏, 武田 憲夫, 福尾 吉史, 立浪 和也

富山医科薬科大学医学部眼科学教室

要 約

プロスタグランジン E₂ (PGE₂) の家兎前眼部に及ぼす影響を調べるために, PGE₂濃度を 0.05~500 μg/ml の範囲で, 角膜円筒法により経角膜的投与を行い, 眼内の炎症性反応を前房内フレア(フレア値), 眼圧, 房水成分濃度を指標にして検討した. 抗炎症薬による PGE₂眼反応の抑制実験も試みた. 経角膜的に投与した外因性 PGE₂によって, フレアは数時間で回復する一峰性の反応, および眼圧は初期に一過性に上昇する反応がともに用量依存的であることを定量的に証明した. 房水成分の変化では, アスコルビン酸およびグルタチオンの濃度が

ともに一時的な低下を示し, 特に還元型グルタチオンの低下が顕著であった. また, アラキドン酸代謝阻害薬によりフレアが抑制されたことから, 外因性の PGE₂による刺激で眼組織における新たなアラキドン酸代謝系が作動することが示唆された. (日眼会誌 98:927-934, 1994)

キーワード: プロスタグランジン E₂, 角膜円筒法, 前房内フレア, アスコルビン酸, グルタチオン

The Effects of Transcorneal Administration of Prostaglandin E₂ on Rabbit Eyes

Hideki Hirata, Shigeyoshi Hiraki, Yoshihiro Kaji,
Norio Takeda, Yoshifumi Fukuo and Kazuya Tachinami

Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University

Abstract

The pharmacologic effects of prostaglandin E₂ (PGE₂) on the anterior ocular segment were investigated. PGE₂ was administered with a glass cylinder attached to the cornea in concentrations ranging from 0.05 to 500 μg/ml. The intraocular inflammatory reaction was assessed according to the changes in the anterior chamber flare, ocular tension, and components of the aqueous humor. We also performed experiments designed to inhibit the reactions induced by PGE₂ using anti-inflammatory agents. The PGE₂ elicited a single peak reaction in the anterior chamber flare, which recovered after several hours, and a transient elevation in the ocular tension in the early stage after PGE₂ administration. Quantitative analysis of these two reac-

tions revealed that both were dependent on the dose of PGE₂ administered. The concentrations of ascorbic acid and glutathione, particularly that of the reduced form of the latter, were transiently reduced in the aqueous humor. The anterior chamber flares were suppressed by agents that inhibit arachidonic acid metabolism. These findings suggest that the metabolism of arachidonic acid becomes newly activated as a result of stimulation by PGE₂ of extrinsic origin. (J Jpn Ophthalmol Soc 98:927-934, 1994)

Key words: Prostaglandin E₂, Corneal bath method, Anterior chamber flare, Ascorbic acid, Glutathione

I 緒 言

プロスタグランジン E₂ (PGE₂) は炎症などの生体反応における細胞間情報伝達因子として知られているが, 点眼など局所的に投与された PGE₂ が家兎眼組織に及ぼす

影響は, 血液房水柵の透過性亢進による前眼部の炎症性反応, 一過性の眼圧上昇とそれに続く房水流出抵抗の低下による眼圧下降^{1)~4)}, および血管拡張作用による結膜充血であり, 内眼筋への影響は弱いとされている^{5)~7)}. 外因性に投与する場合, 従来報告されている方法の一つは

別刷請求先: 930-01 富山県富山市杉谷 2630 富山医科薬科大学医学部眼科学教室 平田 秀樹
(平成6年2月10日受付, 平成6年6月6日改訂受理)

Reprint requests to: Hideki Hirata, M.D. Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University, 2630 Sugitani, Toyama-shi, Toyama-ken 930-01, Japan

(Received February 10, 1994 and accepted in revised form June 6, 1994)

静脈内注射であるが、全身投与では肺循環において、そのほとんどが代謝酵素により失活してしまう。また、局所投与では点眼および結膜下注射が行われているが、この場合、結膜に豊富に存在する血管系や、肥満細胞などの炎症系細胞への影響も無視できない。そこで、著者らはこれらの外眼部組織への影響を最小限にとどめ、角膜のみから眼内移行した PGE_2 の前眼部に及ぼす影響を定量的に評価するために、手技的に確立されている角膜円筒法^{8)~11)}を用い、家兎前眼部の PGE_2 による反応を薬理学的、生化学的に検討した。

II 実験方法

1. 使用動物

成熟した雄の日本有色家兎，体重 2.5~3.0 kg，114 匹を用いた。

2. 使用薬剤

1) PGE_2 ：フナコシ株式会社製を用い，10 mg あたり 1 ml のエタノールで溶解後，20 μl ずつ小分けして窒素封入し， -80°C で凍結保存した。用時，エタノールと生理食塩水で希釈し，0.1, 0.5, 1, 5, 10, 25, 50, 125, 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度の PGE_2 溶液を調製した。すべての PGE_2 溶液のエタノール濃度は，最終的に 5% となるように調製した。

2) プラノプロフェン：吉富製薬株式会社製の原末を蒸留水に溶解して 0.1% 溶液を調製した。

3) ベタメタゾンリン酸ナトリウム：0.4% 液は市販の注射液であるリンデロン®注（塩野義製薬株式会社製）を使用し，これを生理食塩水で希釈して 0.1% 液を調製した。

3. PGE_2 の投与方法

1) 角膜円筒法は，側臥位で固定した家兎の眼瞼を手指で開瞼し，ガラス円筒（図 1）を角膜を圧迫しないように角膜上に固定し，円筒内に PGE_2 溶液 600 μl を満たして角膜と 4 分間接触させた後 PGE_2 溶液を回収し，約 30 秒間生理食塩水で角結膜表面を十分に洗浄した。

2) 結膜プール法は，角膜上の円筒内には生理食塩水 600 μl を入れて固定し，円筒の外側，すなわち，結膜嚢内に PGE_2 を貯留させる方法で，角膜円筒法と同様に PGE_2 溶液 600 μl を 4 分間貯溜後，約 30 秒間生理食塩水で十分に角結膜表面を洗浄した。

なお，1), 2) とも PGE_2 の投与は片眼のみとし，予備実験および各濃度での PGE_2 投与によるフレアの反応を確認した後，その他の実験に使用した。

4. フレアおよび眼圧の測定

前房内炎症性反応の観察はレーザーフレアセルメーター（興和株式会社製 FC-1000）を用い，眼圧は非接触型眼圧計（甲南キーラー社製 Pulsair）を用いた。

5. 房水成分濃度の測定

測定成分は還元型アスコルビン酸（AA），総アスコル

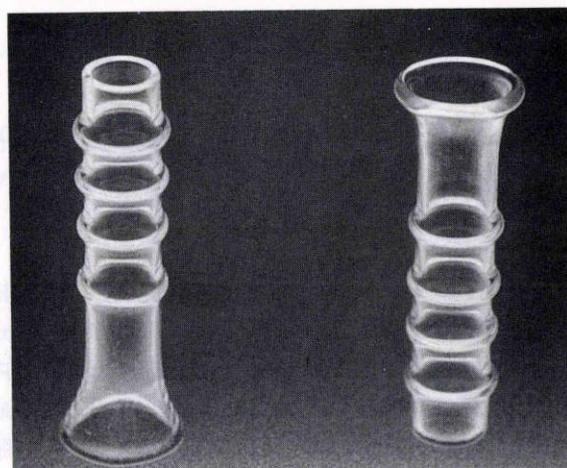


図 1 実験に使用したガラス円筒。

角膜円筒法および結膜プール法に使用したガラス製の円筒。内径 11 mm，外径 14 mm，高さ 35 mm のガラスの円筒で，角膜輪部にフィットするように角膜接着面は曲率をもたせてある。

ビン酸（T-AA），還元型グルタチオン（GSH），総グルタチオン（T-GSH），蛋白質で，既報^{12)~15)}に準じて高速液体クロマトグラフ（HPLC）法で測定した。なお，房水成分濃度の正常値は共著者の開らが行った無処置の有色家兎のデータ（ $n=200$ ，AA=204.0 \pm 34.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，T-AA=220.0 \pm 43.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，GSH=5.86 \pm 0.81 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，T-GSH=12.72 \pm 2.68 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，蛋白質=395 \pm 146 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，平均値 \pm 標準偏差）を使用した。

6. 実験の内容

1) 予備実験：a) 角膜円筒法の前眼部への影響を調べるために， PGE_2 を含まない生理食塩水のみを用いて角膜円筒法を行った後，フレアおよび眼圧を測定した。また， PGE_2 投与後フルオレセインで角膜の染色状態を調べた。

b) PGE_2 の溶媒に含まれるエタノールの前眼部に及ぼす影響の有無を調べるために，実験で使用している 2 倍の濃度のエタノール（10%）を含む生理食塩水を使用して角膜円筒法を行い，フレア，眼圧を測定し，フルオレセインで角膜の染色状態を調べた。

c) PGE_2 投与後の無処置眼（反対眼）に対する影響の有無をフレアおよび眼圧で調べた。

d) 結膜プール法と角膜円筒法の違いをみるために，25 および 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の PGE_2 溶液を使用し，フレアを指標にして， PGE_2 の投与経路を角膜に限定した場合と結膜に限定した場合の前眼部組織に与える影響の違いを調べた。

2) 本実験：本実験は実験の種類によって，次の実験群に分けて示す。

実験 1：角膜円筒法による PGE_2 反応の容量依存性に関する実験。

PGE_2 の濃度に対する前房内炎症性反応の程度を探る

実験で、投与する PGE₂濃度は 0.05~500 μg/ml とし、フレアおよび眼圧の変化を経時的に測定した。

実験 2 ; PGE₂による房水成分濃度の変化。

PGE₂投与の一定時間後に角膜輪部から 29 G 針で 1 回のみ房水約 150 μl を採取し、直ちに小分けした。異なる有色家兎で異なる時点の採取を行い、経時的な房水成分の濃度変化を HPLC 法で測定した。

実験 3 ; 薬剤による PGE₂反応の抑制実験。

25 および 50 μg/ml の PGE₂投与に対する抑制実験を試みた。抑制薬は PGE₂投与の 4 時間前から 30 分毎に点眼投与した群と、1 時間前から 15 分毎に点眼投与した群との二通りで行った。ステロイド系抗炎症薬としてベタメタゾンリン酸ナトリウム(0.4%, 0.1%), 非ステロイド系としてプラノプロフェン (0.1%) を使用した。

実験 4 ; PGE₂の連続投与実験。

25 μg/ml の PGE₂で、単回投与での反応の回復後に 2 回目の投与を行い、経時的にフレアの変化を調べた。また、10 μg/ml の PGE₂での 1 時間毎の連続投与によるフレアの経時変化も調べた。

7. 統計処理には Student's t-test を用い、危険率 5% 未満を有意とした。

III 結 果

まず、予備実験の結果は、a) 生理食塩水で角膜円筒法を行った実験ではフレア、眼圧ともに有意な変化を認めなかった。また、フルオレセインによる角膜の染色も認めず、角膜上皮は正常であった。b) 10% エタノールを含む生理食塩水によってもフレア、眼圧の変化は認めず、さらに、フルオレセインによる角膜の染色も認めなかった。また、c) すべての実験を通じて、反対眼ではフレアおよび眼圧の変化は認めなかった。d) 結膜プール法では

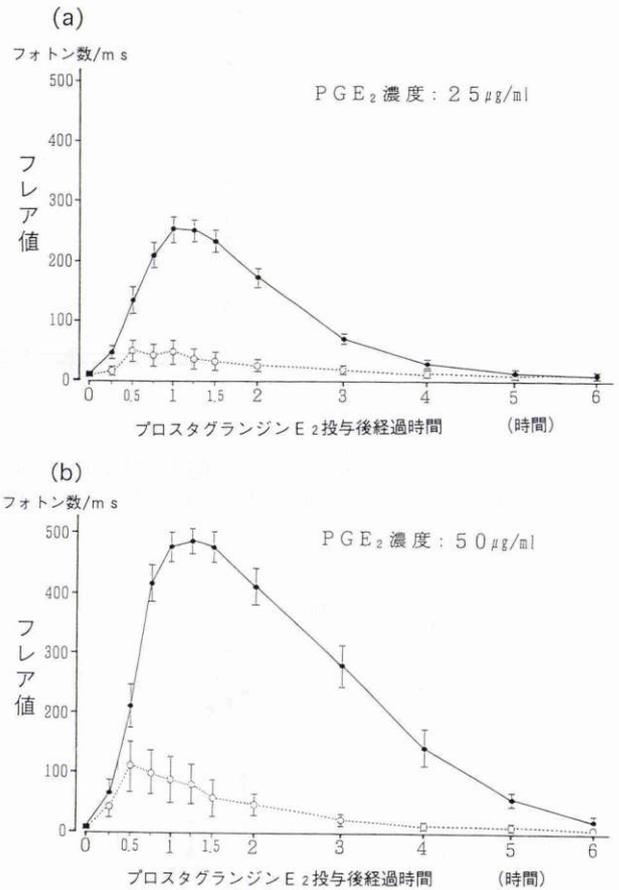


図2 プロスタグランジン E₂ (PGE₂) 投与方法の違いによるフレア値の比較。

PGE₂の投与は角膜円筒法および結膜プール法の二法で行った。結膜プール法は角膜円筒法に比べ反応が非常に弱い。PGE₂投与量は上段(a)が 25 μg/ml、下段(b)が 50 μg/ml のものである。角膜円筒法は n=25、結膜プール法は n=7、(平均値±標準偏差) 黒丸：角膜円筒法、白丸：結膜プール法

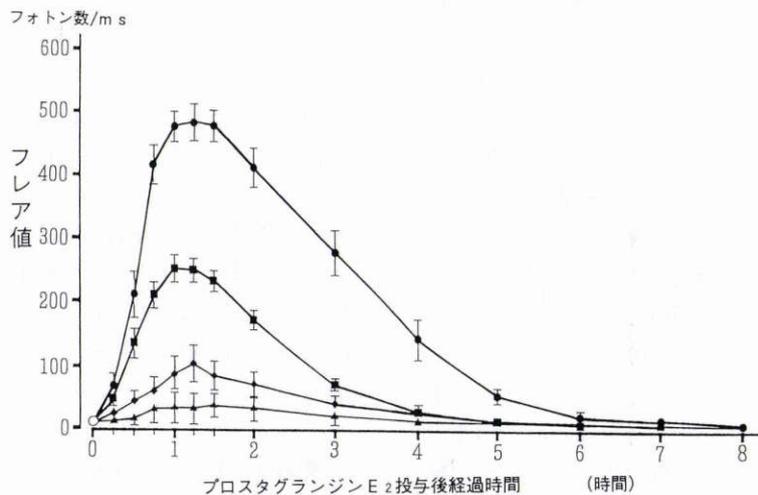


図3 PGE₂濃度とフレア値の経時変化。

角膜円筒法による PGE₂投与後、フレア値は 1 時間~1 時間 30 分にピークがあり、4 時間~8 時間で収束する一峰性の反応が認められる (平均値±標準偏差) (n=7~25)。

黒丸：50 μg/ml、黒四角：25 μg/ml、黒菱形：10 μg/ml、黒三角：5 μg/ml

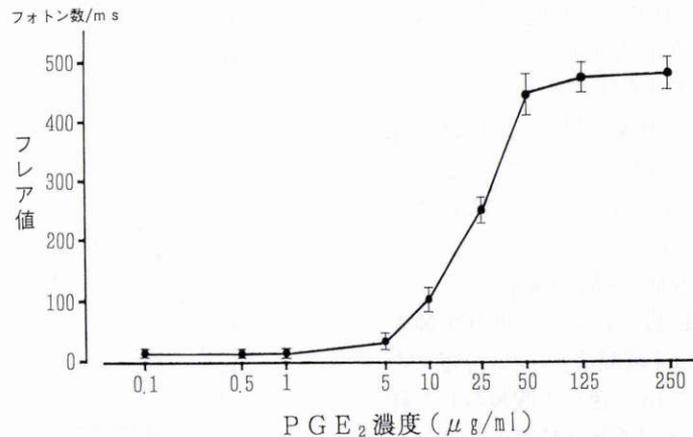


図4 フレア値による PGE₂ の容量-作用相関.

PGE₂ 濃度が 5 µg/ml 以上でフレア値の上昇を認め、50 µg/ml 以上では有意差を認めない (平均値±標準偏差) (n=5~25).

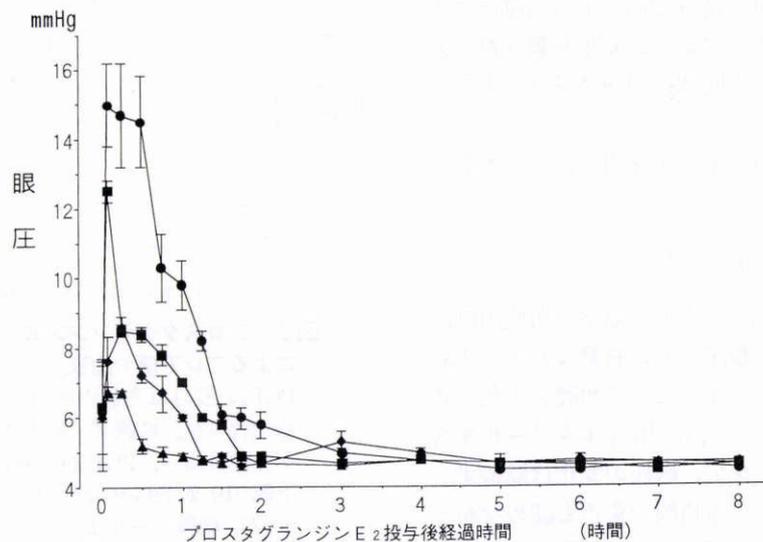


図5 PGE₂ 濃度と眼圧の経時変化.

角膜円筒法による PGE₂ 投与後、眼圧は 5 分~15 分にピークを持つ初期の一過性の上昇の後、長時間にわたって下降がみられる (平均値±標準偏差) (n=6~10). *: p<0.01, **: p<0.05.
黒丸: 50 µg/ml, 黒四角: 25 µg/ml, 黒菱形: 10 µg/ml, 黒三角: 5 µg/ml

フレアの変化は角膜円筒法に比べ弱かったが(図2), 結膜充血と結膜浮腫は強く認められた.

実験1: PGE₂ 投与による前房内のフレアの変化は投与後約1時間でピークとなり, 約4~8時間で回復する一峰性の反応を示した(図3). 各濃度でのフレアの最大値(図4)ならびに面積値(時間反応曲線下面積)で比較すると, 反応の用量依存性が明確に認められた. 眼圧は, 従来の報告にみられるように, 10 µl/ml 以上の濃度では, 投与後早期に一過性の上昇が認められ, その後十時間以上に及ぶ眼圧の低下が認められた(図5). 房水中の炎症細胞の確認については, 25 G 針付きシリンジで採取した房水をサイトスピン法および0.2 µm フィルター濾過で細胞の存在を確認したが, 細胞は認められなかった.

実験2: 房水成分では, AA, T-AA とも PGE₂ 投与後

約1~2時間が最も低下しており, 初期値の約50% (AA=46.4%, T-AA=49.4%)まで低下したが(図6), 以後徐々に上昇し, フレア値の回復に一致して6~8時間でほぼ正常値まで回復した. グルタチオンは PGE₂ 投与後1時間で T-GSH が62%までの低下であったのに対し, GSH は21%にまで低下した(図7). 蛋白質濃度はフレア値とほぼ一致した変化を示し(相関係数=0.814, p<0.002)(図8), ピークとなる1時間での蛋白成分は分子量の大きな成分ピークの増加が認められた(図9).

実験3: 抑制実験において, PGE₂ 投与の1時間前からのリン酸ベタメタゾンの投与では変化がみられなかった. しかし, 4時間前から投与すると, 0.4%では50 µg/ml の PGE₂ 投与で72.8%, 25 µg/ml では71.5%の抑制が認められた. 0.1%では, 50 µg/ml の PGE₂ 投与で

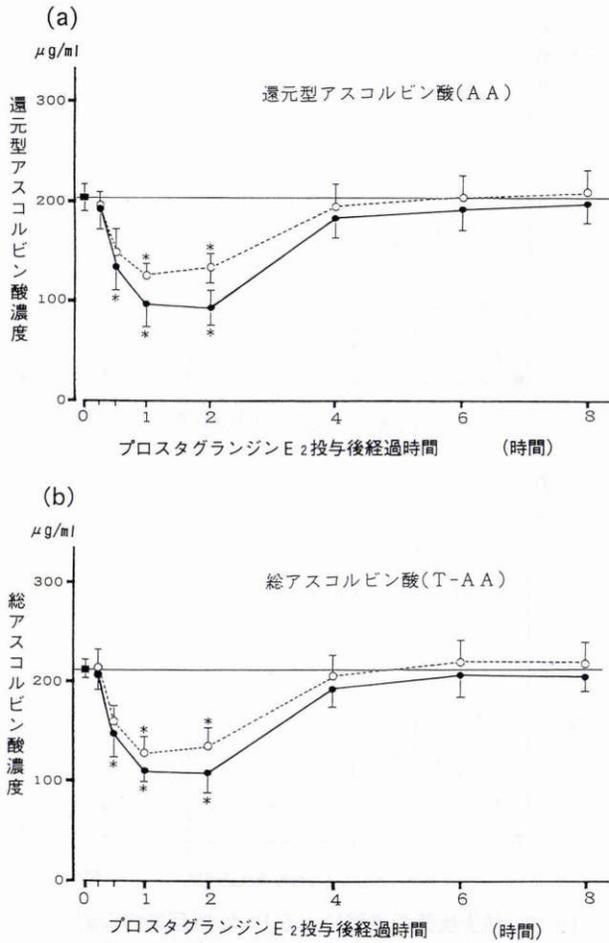


図6 房水中のアスコルビン酸濃度の経時変化。

PGE₂の投与は角膜円筒法で、PGE₂濃度は50 $\mu\text{g/ml}$ 。(a) AAは正常値に比べ1~2時間をピークに有意な低下を示す。(b) T-AAは正常値に比べ1~2時間をピークに有意な低下を示す。いずれも無処置眼は同感性反応と思われる変化がみられる(平均値±標準誤差)(n=5~8)。*: p<0.001, **: p<0.01
 黒丸: 実験眼, 白丸: 反対眼

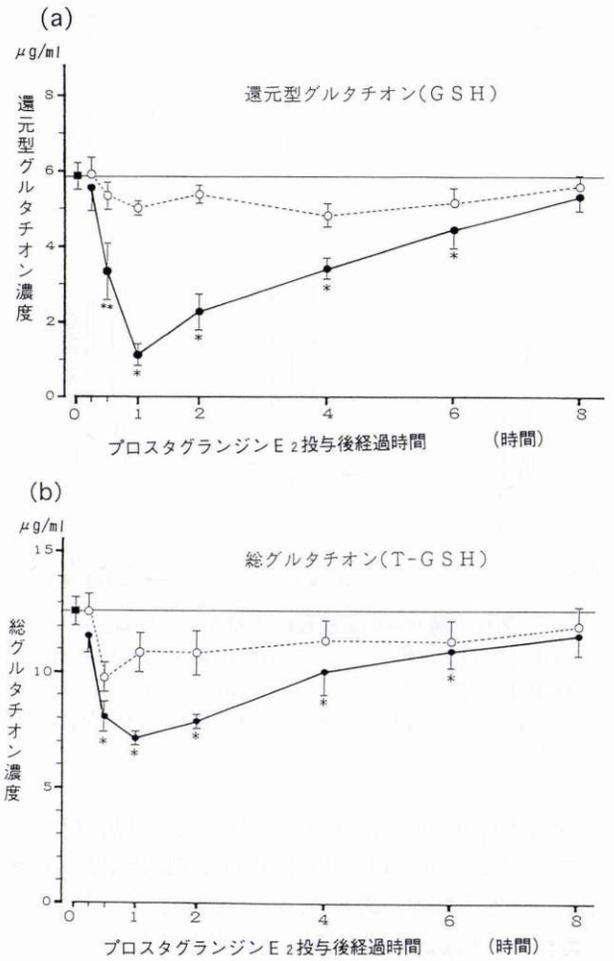


図7 房水中のグルタチオン濃度の経時変化。

PGE₂投与は角膜円筒法で、PGE₂濃度は50 $\mu\text{g/ml}$ 。(a) GSHは正常値に比べ1時間をピークに有意な低下を示す。(b) T-GSHは正常値に比べ1~2時間をピークに有意な低下を示す。また無処置眼の同感性反応と思われる変化がみられる(平均値±標準誤差)(n=5~8)。*: p<0.001, **: p<0.05
 黒丸: 実験眼, 白丸: 反対眼

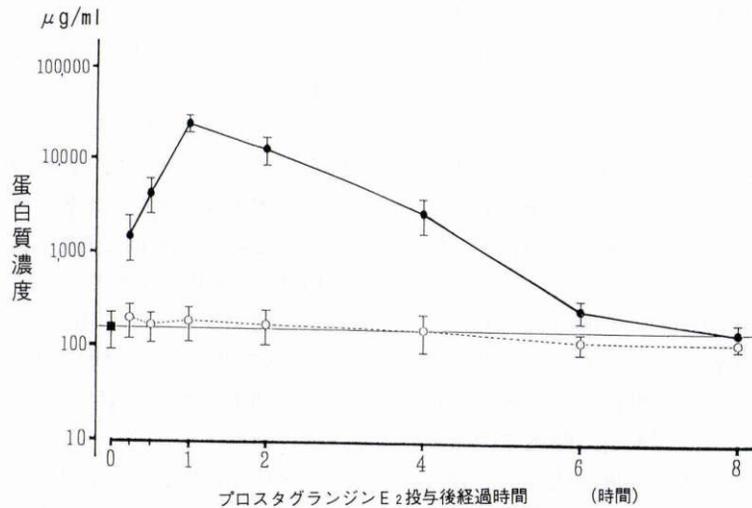


図8 房水中の蛋白質の経時変化。

PGE₂投与は角膜円筒法で、PGE₂濃度は50 $\mu\text{g/ml}$ 。フレア値とよく似た経時変化を示し、無処置眼は同感性反応を認めない(平均値±標準誤差)(n=5~8)。
 黒丸: 実験眼, 白丸: 反対眼

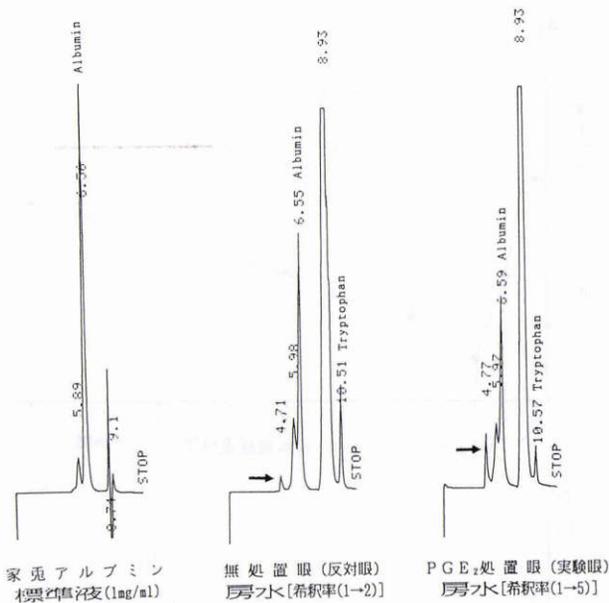


図9 房水中の蛋白質のクロマトグラム.

PGE₂投与は角膜円筒法で、PGE₂濃度は50 μg/ml. PGE₂投与後1時間の房水中蛋白質のクロマトグラム. アルブミンに比べ、高分子量の蛋白成分 (矢印) が増加している.

57.8%, 25 μg/ml では56.4%であった. 0.1% プラノプロフェンは、50 μg/ml のPGE₂投与で64.2%, 25 μg/ml では57.9%の抑制が認められた (図10).

実験4: 25 μg/ml のPGE₂連続投与では反応のピーク値で比較すると、2回目の投与は約70%の低下がみられた (図11 a). 10 μg/ml のPGE₂を1時間毎に連続投与した場合には反応の回復時間に差がみられたが、いずれも実験開始後2~4時間がピークとなる上昇を示し、以後徐々に低下して十数時間で初期値に戻った (図11 b).

IV 考 按

従来、局所投与によるPGE₂の眼組織に及ぼす影響については多数の報告がみられるが、形態学的な研究が多く、また、生理生化学的あるいは薬理学的な研究についても眼圧に関する研究^{11~14)}が主体であり、PGE₂による眼炎症性反応に関する研究は少ないのが現状で、その本質は現在なお不明な部分が多い. そこで今回、著者らはこの点を明らかにするために、まず、従来の投与方法の問題点から検討を加えた.

従来の点眼投与では、結膜の充血と浮腫が認められており、また、今回の予備実験における結膜プール法においても同様な所見を認めたため、PGE₂に起因する外眼部炎症が存在し得る条件下では、PGE₂の眼内に及ぼす影響を調べる実験系には適さないと判断した. したがって、局所投与したPGE₂の眼反応を定量的に評価する方法として、結膜への影響を除くために、PGE₂溶液の接触する部位を角膜に限定し、PGE₂濃度と接触時間を一定にする必要があると考え、既報^{8)~11)}に準じた角膜円筒法

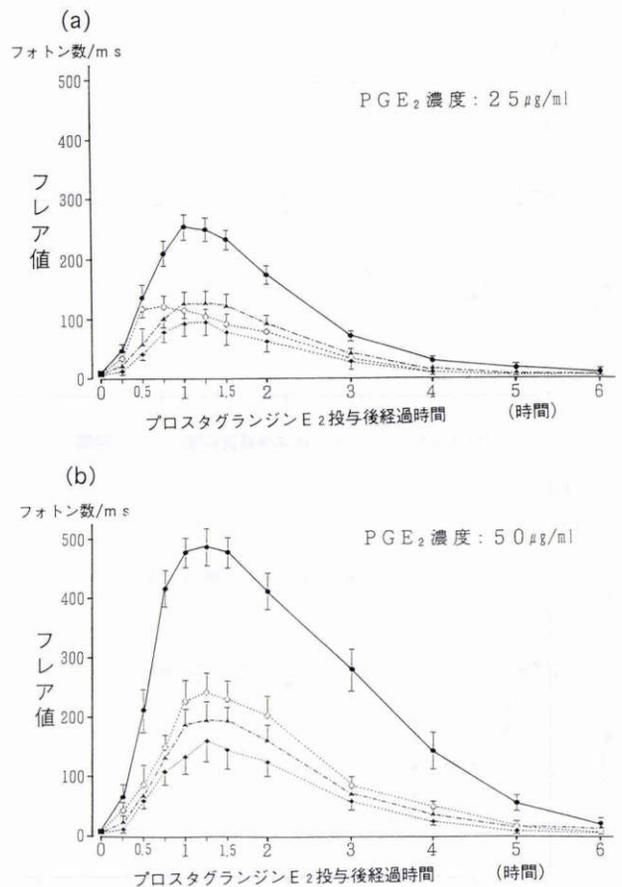


図10 抗炎症薬の点眼によるPGE₂眼反応の抑制.

PGE₂投与は角膜円筒法で、PGE₂濃度は上段 (a) が25 μg/ml, 下段 (b) が50 μg/ml. 抑制には、0.4%, 0.1%ベタメサゾンリン酸ナトリウム, 0.1%プラノプロフェンを使用し、フレア値にて比較した. 点眼はPGE₂投与の4時間前から30分毎に行なった. n=6~8, 平均値±標準誤差
黒丸: Control, 黒菱形: 0.4% ベタメサゾン, 白菱形: 0.1% ベタメサゾン, 黒三角: 0.1% プラノプロフェン

を用い、今回の実験系における妥当性を確認した上で本研究を行った. また、一般に市販の点眼薬は塩化ベンザルコニウムなどの保存薬を含有しているが、角結膜障害性を有する⁹⁾ことから、薬物の角膜透過性にも影響するので、本実験ではその影響を除外するために保存薬を含まない薬液を無菌的に調製した.

PGE₂の点眼投与による眼圧の一過性上昇後の十時間以上に及ぶ低下はよく知られている¹²⁾¹⁴⁾が、前房内の炎症性反応や房水成分濃度の変化については、定量的に検討した研究は調べた限りではほとんどみられない⁴⁾. 眼炎症の指標としての蛋白量の測定には、以前は前房穿刺による房水採取を行う必要があったが、近年になりレーザーフレアセルメーターが開発され、非侵襲的に同一眼での前房内の変化を経時的に測定することが可能となり¹⁶⁾、実験精度はもとより、犠牲家兔の減少などの利点がある. PGE₂投与濃度によらずフレア値のピーク時間が

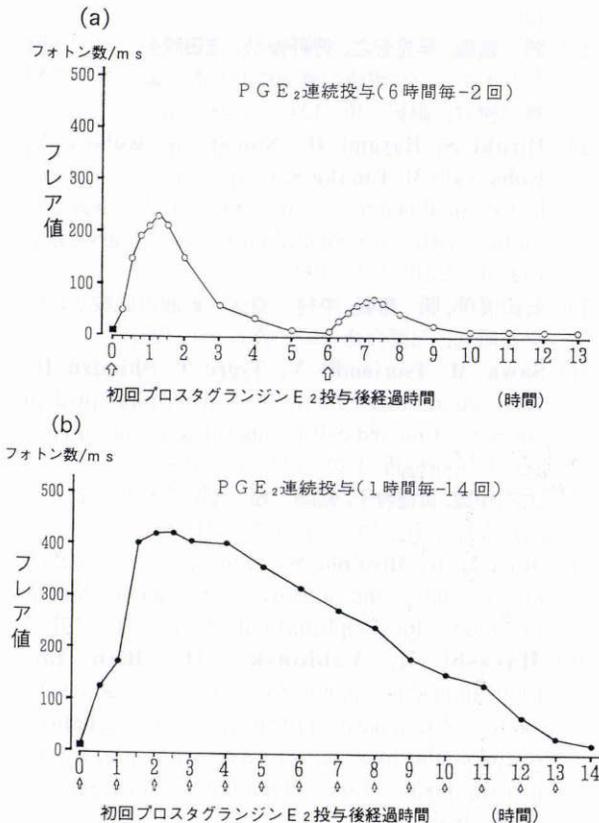


図11 PGE₂連続投与による反応性の変化。

PGE₂投与は角膜円筒法で、フレアにて観察した。標準的な反応を一例ずつ示す。上段(a)はPGE₂(25 μg/ml)2回連続投与で、1回目の反応が収束した6時間後に2回目の投与を行った。2回目の反応は1回目の約30%(面積比)である。下段(b)はPGE₂(10 μg/ml)1時間毎の連続投与で、1時間~4時間でピークとなる上昇を示し、その後徐々に低下し、十数時間で収束した。矢印はPGE₂投与を示す。

ほぼ一定であったことは、PGE₂の接触時間を一定にしたことと、角膜面上に残存するPGE₂を洗浄したことにより、濃度勾配による拡散速度がほぼ一定になったためと思われる。また、フレアのピーク値で比較すると用量依存性の変化が認められ、投与した直後から前房内にPGE類が認められている⁴⁾こと、脂溶性の物質は容易に経角膜的に前房に達することなどから、角膜円筒法による経角膜的な投与でもPGE₂は虹彩・毛様体に達して血管透過性亢進作用を惹起していると思われる。一方、PGE₂は血管拡張作用しか示さず、透過性亢進作用はヒスタミンやキニン系などのオータコイドの作用であるとする考え⁵⁾もあるが、シクロオキシゲナーゼ拮抗型阻害薬であるプラノプロフェンで反応の抑制がみられたことや、ホスホリパーゼA₂阻害蛋白であるリポコルチンの合成を促進するコルチコステロイドでも抑制され、しかも、リポコルチン合成には一定の時間が必要なこと¹⁷⁾などから、投与したPGE₂が前眼部組織に達して細胞を刺激し、新たにアラキドン酸代謝を惹起している可能性が示唆された。

眼圧変化は、PGE₂投与後5~15分にピークを持つ用量依存性と思われる一過性の上昇と、従来の報告¹⁸⁾¹⁹⁾と同様に、その後十時間以上続く下降の二相性変化が認められた。今回著者らの行った房水成分の測定では、アスコルビン酸が低下したことにより、PGE₂の影響が毛様体上皮の房水産生能にも及んでおり、眼圧下降機序の一端を担っている可能性が示唆された。

房水成分、特にGSHの著しい低下については房水内に流入した蛋白質などの血漿成分による酸化促進が考えられる他に、前眼部組織が炎症性の状態に陥って低栄養状態になった結果、GSHの消費が関与していることも考えられた。また、アラキドン酸代謝の過程にGSH消費が関わっていることも考えられた。反対眼では同感性反応と思われる変動を示したが、今後さらに検討を加える必要がある。房水蛋白質濃度の変化はフレア値とよく相関しているが、蛋白質成分のクロマトグラムをみると、アルブミンよりも高分子量の成分がフレアの上昇に一致して増加しており、PGE₂により房水蛋白質成分の組成比に変化がみられたことから、血液房水柵の一時的な機能障害が起きていると思われる。また、連続投与と実験における反応の低下は脱感受性と思われた。

本研究では、局所に投与した外因性のPGE₂投与による家兎前眼部組織への影響をフレア、眼圧、房水成分の変化を指標に究明し、内因性のアラキドン酸代謝が惹起されている可能性が示唆された。今後の課題として、PGE₂による血液房水柵の形態的な変化や角膜の神経系への影響を確かめることが必要である。さらに、PGE₂のアゴニストやアンタゴニストの使用により、4つのサブタイプが存在が知られているPGE₂受容体(EP受容体)の眼組織における局在とともに、作用機序の解明につながるものと思われる。

稿を終えるにあたり、終始ご指導いただきました当教室の窪田靖夫教授、第二病理学教室の小泉富美朝教授に深謝いたします。

本論文の一部は第97回日本眼科学会総会で発表した。なお、本研究は田村科学技術振興財団による研究助成を受けたことを記して謝意を表します。

文 献

- 1) Cole DF, Unger WG: Prostaglandins as mediators for the responses of the eye to trauma. *Exp Eye Res* 17: 357-368, 1973.
- 2) Bito LZ: The effects of experimental uveitis on anterior uveal prostaglandin transport and aqueous humor composition. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 13: 959-966, 1974.
- 3) Green K, Kim K: Pattern of ocular response to topical and systemic prostaglandin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 14: 36-40, 1975.
- 4) Camras CB, Bito LZ, Eakins KE: Reduction of intraocular pressure by prostaglandins applied topically to the eyes of conscious rabbits. *Invest*

- Ophthalmol Vis Sci 16: 1125—1134, 1977.
- 5) 郷 保正: 眼におけるプロスタグランジンの代謝と作用. 眼紀 40: 2589—2606, 1989.
 - 6) van Alphen GWHM, Wilhelm PB, Elsenfeld PW: The effect of prostaglandins on the isolated internal muscles of the mammalian eye, including man. Doc Ophthalmol 42: 397—415, 1977.
 - 7) Suzuki R, Kobayashi S: Response of bovine intra-ocular muscles to transmural stimulation in the presence of various prostaglandins. Exp Eye Res 36: 789—798, 1983.
 - 8) 開 繁義, 石田俊郎, 狩野真由美: 涙液の生化学的分析による眼局所用薬剤の角膜障害性の評価. 日眼会誌 92: 1553—1564, 1988.
 - 9) 開 繁義, 沼田このみ, 石田俊郎, 窪田晴夫: エリッククス®点眼液の家兎眼角結膜組織に与える影響. あたらしい眼科 7: 293—296, 1990.
 - 10) 尾崎真由美, 関 繁義, 沼田このみ: 涙液および房水の成分を指標としたアルカリ熱傷の研究. 日眼会誌 96: 559—568, 1992.
 - 11) 開 繁義, 平田秀樹, 鍛冶兆宏: 長期に連用する点眼液の家兎眼角結膜組織に対する影響. あたらしい眼科 10: 595—601, 1993.
 - 12) 開 繁義, 山田祐司, 中村泰久: 眼組織中の還元型グルタチオンの高速液体クロマトグラフィー (蛍光検出法) による定量法. あたらしい眼科 2: 294—298, 1985.
 - 13) 開 繁義, 早見宏之, 狩野俊哉, 窪田晴夫: フマル酸ケトチフェン点眼液の家兎眼角結膜組織に与える影響の検討. 眼紀 40: 1242—1248, 1989.
 - 14) Hiraki S, Hayami H, Numata K, Kubota Y, Kobayashi M, Tanaka S, et al: Biochemical and histological findings on the effect of fibronectin in rabbits with experimental corneal disorders. Drug Res 40: 1336—1340, 1990.
 - 15) 石田俊郎, 開 繁義, 中村 泰久: 涙液の採取法に関する研究. 日眼会誌 91: 473—480, 1987.
 - 16) Sawa M, Tsurimaki Y, Tsuru T, Shimizu H: New quantitative method to determine protein concentration and cell number in aqueous *in vivo*. Jpn J Ophthalmol 32: 132—142, 1988.
 - 17) 大内和雄, 渡邊雅子, 鶴藤 丞: 副腎皮質ステロイドの抗炎症作用. 炎症 6: 337—344, 1986.
 - 18) Masuda K, Mishima S: Effects of prostaglandins on inflow and outflow of the aqueous humor in rabbits. Jpn J Ophthalmol 17: 300—309, 1973.
 - 19) Hayashi M, Yablonski ME, Bito LZ: Eicosanoids as a new class of ocular hypotensive agents: 2. Comparison of the apparent mechanism of the ocular hypotensive effects of A and F type prostaglandins. Invest Ophthalmol Vis Sci 28: 1639—1643, 1987.