

実験的脈絡膜新生血管形成過程における線維芽細胞増殖因子 レセプター1発現の *in situ* hybridization による証明

松島 正史, 緒方奈保子, 高田百合子, 戸部 隆雄
山田 晴彦, 高橋 寛二, 宇山 昌延

関西医科大学眼科学教室

要 約

線維芽細胞増殖因子 (fibroblast growth factor, FGF) は生体で血管新生の重要な促進因子とみられている。我々は、ラットの脈絡膜新生血管発生モデルの局所網脈絡膜において FGF receptor 1 の messengerRNA (mRNA) の発現を証明した。成熟有色ラットの眼底後極部に強度レーザー光凝固を行い、実験的に脈絡膜新生血管を作成した。光凝固後、経時的に眼球を摘出の上、網脈絡膜の切片を作り、FGF receptor 1 cDNA fragment から作った sense, antisense probe を用いて *in situ* hybridization を行った。

正常網脈絡膜では、FGF receptor 1 の mRNA は、網膜神経節細胞層、内顆粒層に発現していた。光凝固後、

脈絡膜新生血管の発展時期に、脈絡膜血管壁、網膜色素上皮細胞、脈絡膜色素細胞に mRNA の発現をみた。脈絡膜新生血管の形成に関連した細胞に FGF receptor 1 の mRNA の強い発現がみられたことは、FGF が脈絡膜新生血管発生に強く関与していることを示した。網膜色素上皮細胞、血管内皮細胞に対し FGF は自己分泌 (autocrine) あるいは傍分泌 (paracrine) 的に働いていると考えられた。(日眼会誌 99:642-648, 1995)

キーワード：実験的脈絡膜新生血管、線維芽細胞増殖因子レセプター1、網膜色素上皮細胞、血管新生、*in situ* ハイブリダイゼーション

Expression of Fibroblast Growth Factor Receptor 1 in Experimental Choroidal Neovascularization with *In Situ* Hybridization

Masashi Matsushima, Nahoko Ogata, Yuriko Takada, Takao Tobe,
Haruhiko Yamada, Kanji Takahashi and Masanobu Uyama

Department of Ophthalmology, Kansai Medical University

Abstract

Fibroblast growth factor (FGF) is an important factor for neovascularization *in vivo*. In order to clarify the role of FGF in experimentally produced choroidal neovascularization, we demonstrated mRNA for FGF receptor 1 *in situ* hybridization. Krypton laser photocoagulation was applied to the posterior retina of colored rats to produce choroidal neovascularization experimentally. These eyes were removed at several different intervals after photocoagulation. Chorioretinal section were used for *in situ* hybridization. FGF receptor 1 cDNA fragment was used to make antisense and sense probes for *in situ* hybridization. In normal chorioretinal tissue, staining indicating the existence of FGF receptor 1 mRNA was seen in the ganglion cell layer and inner nuclear layer. After the photocoagulation, the staining was seen in the retinal pig-

ment epithelial cells, melanocytes in the choroid, and choroidal blood vessel wall in the photocoagulated lesions. FGF receptor 1 mRNA was expressed through the development of choroidal neovascularization, and it appears that FGF is necessary for development of choroidal neovascularization. Previous workers showed that the capillary endothelial cells and retinal pigment epithelial cells produce basic FGF *in vitro*. It seems that FGF effects those cells in an autocrine or paracrine manner *in vivo*. (J Jpn Ophthalmol Soc 99:642-648, 1995)

Key words: Experimental chorionovascularization, Basic fibroblast growth factor receptor 1, Retinal pigment epithelium, Neovascularization, *In situ* hybridization

別刷請求先：570 大阪府守口市文園町10-15 関西医科大学眼科学教室 松島 正史
(平成6年11月16日受付, 平成7年1月26日改訂受理)

Reprint requests to: Masashi Matsushima, M.D. Department of Ophthalmology, Kansai Medical University, 10-15 Fumizono-cho, Moriguchi-shi, Osaka-fu 570, Japan

(Received November 16, 1994 and accepted in revised form January 26, 1995)

I 緒 言

近年急増している老人性円板状黄斑変性の治療として、脈絡膜新生血管を光凝固する治療法が一般的であるが、その成績は必ずしも良好ではない¹⁾。最近、薬物療法としてインターフェロンによる老人性円板状黄斑変性の薬物治療が注目されつつある。

しかし、その機序は、現在のところ不明である^{2)~4)}。生体内で血管新生を起こす血管新生因子としては、線維芽細胞増殖因子 (fibroblast growth factors, FGFs), transforming growth factor (TGF), 血小板由来内皮細胞増殖因子 (platelet-derived endothelial cell growth factor, PD-ECGF), 血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) など、多種類の増殖因子があると推定されている⁵⁾。

そのうち、FGF は生体で血管新生進展に関与する重要な因子とみられ、特に塩基性線維芽細胞増殖因子 (basic-FGF) は血管内皮細胞のプロテアーゼ産生、細胞の遊走および増殖を調節していることが示されている⁶⁾。また、FGF が、その活性を発現するためにはいったん細胞外に分泌された後、標的細胞の FGF レセプターに結合する必要がある⁷⁾。

我々は、生体内における血管新生過程において FGF レセプターが発現する時期や、その細胞を明らかにするため、ラットの脈絡膜新生血管発生モデルにおいて酸性線維芽細胞増殖因子 (acidic-FGF) および basic-FGF の受容体である FGF receptor 1 (flg gene) の messenger RNA (mRNA) の発現状態を in situ hybridization 法により検索した。

II 実験方法

1. プロープの作成

大阪大学医学部第二解剖学教室の和中氏から分与された 957~1257 番目までの 300 ベースペアの FGF receptor 1 complementary DNA fragment の組み込まれた vector (pBluescript KS (+))⁸⁾を用いた。

この vector をコンピテント細胞 (XL 1-Blue, STRATAGENE 社) に挿入し、そのコンピテント細胞を培養した後、プラスミドを抽出した (QIAGEN Plasmid kit 使用) 後、制限酵素を用いて直線化した後、T3 および T7 RNA ポリメラーゼを用いて antisense および senseRNA を増幅させ、それぞれの RNA を DIG-RNA Labeling Kit (Boehringer Mannheim 社) を一部使用し、ディゴキシゲニンで標識し非放射性プロープとした。

2. 実験動物と脈絡膜新生血管作成方法

成熟有色ラット (Brown-Norway 系) の眼底後極部にクリプトンレーザーで強度光凝固 (100 μ m, 0.1 秒, 100 mW) を約 20 か所に行い、実験的に脈絡膜新生血管を作成した。光凝固直後、1 日、3 日、7 日、14 日、28 日に経時

的にラットを 4% パラホルムアルデヒド/リン酸緩衝生理食塩水で灌流固定した後、眼球を摘出し、さらに 2 時間、4% パラホルムアルデヒド/リン酸緩衝生理食塩水に浸漬固定、30% サッカロースに 2 時間漬けた後、液体窒素を用いて急速凍結し、クリオスタットを用いて約 15 μ m の網脈絡膜切片を作成した。全例 6 匹 12 眼のラットを用い、各実験には 2 眼ずつ使用した。

3. In situ hybridization

各組織切片をプロテナーゼ K (10 μ g/ml, 20 分), 0.2 M 塩酸 (10 分), 0.25% 無水酢酸 (10 分) で前処置を行った後、antisenseRNA を目的の mRNA を検出するためのプロープに、senseRNA を対照として、50°C, 16 時間ハイブリダイズした。

ハイブリダイゼーションの後、アルカリフォスファターゼ標識抗ディゴキシゲニン抗体で抗体反応を行い、発色基質として 5-Bromo-4-chloro-3-indolylphosphate (BCIP) および nitroblue tetrazoliumchloride (NBT) を用いて発色反応を行い、光学顕微鏡で観察した。また、対比染色としてメチルグリーンを用いた。

III 結 果

正常網脈絡膜を antisenseRNA プロープを用いてハイブリダイゼーションすると、FGF receptor 1 の mRNA の発現を示す紫色の染色は、網膜神経節細胞層に強く、内顆粒層に弱くみられた。それ以外の網膜の各層、網膜色素上皮層、脈絡膜には染色をみなかった (図 1 a)。

正常網脈絡膜で senseRNA プロープを用いて対照としたものでは、網膜、網膜色素上皮、脈絡膜、いずれにも染色をみなかった (図 1 b)。

図 2 は、光凝固直後の組織を antisenseRNA プロープでハイブリダイゼーションしたものである。神経節細胞層には弱い染色をみたが、他の網膜組織、網膜色素上皮、脈絡膜には染色をみなかった。光凝固 1 日も同様の結果であった。

光凝固後 3 日には、神経節細胞層の染色には変化なく、内顆粒層の染色の増強、脈絡膜血管壁、網膜色素上皮細胞および脈絡膜内のメラノサイトなどに染色がみられた (図 3 a~c)。

光凝固 7 日には、図 4 a のように、antisenseRNA プロープを用いてハイブリダイゼーションした組織では、網膜下腔および Bruch 膜上に増殖した網膜色素上皮細胞に強い染色をみた。また、脈絡膜では、脈絡膜血管壁のみが染色されており、メラノサイトは染色されていなかった。図 4 b は、網膜下腔に増殖した網膜色素上皮細胞を拡大したもので、増殖した紡錘型を示す網膜色素上皮細胞の胞体に強い染色をみた。

光凝固 14 日には、脈絡膜網膜下新生血管周囲に増殖した紡錘型の網膜色素上皮細胞には染色をみた。新生血管周囲の色素を持った球形のマクロファージ様細胞には染

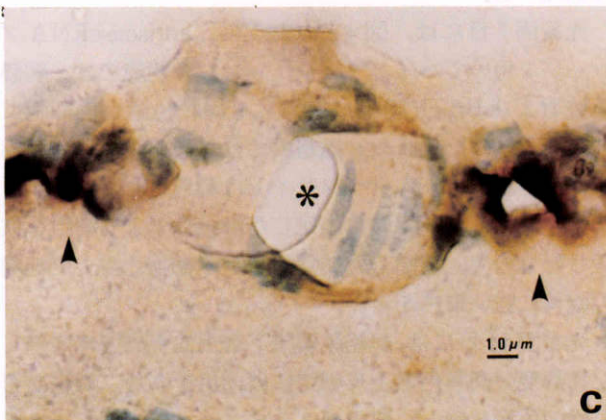
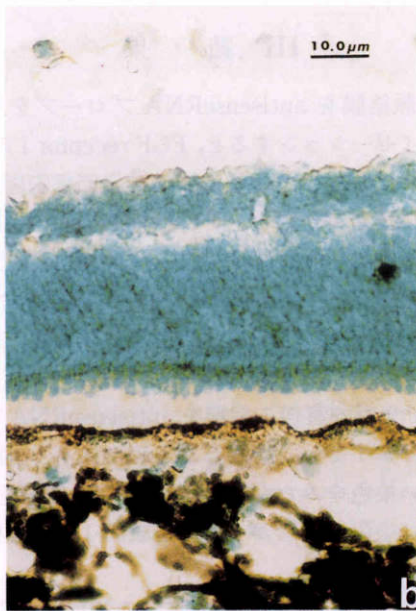
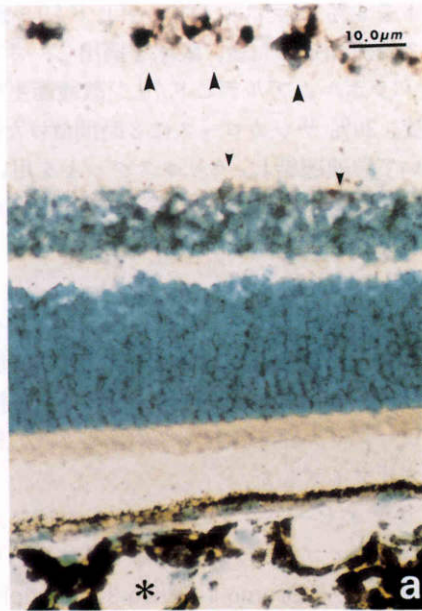


図 1 a, b, c 正常網膜。

a: antisenseRNA プロブを用いて in situ hybridization を行った。網膜神経節細胞層 (大矢じり) に強く、内顆粒層 (小矢じり) に弱く、線維芽細胞増殖因子レセプター 1 (FGF receptor 1) の発現を示す染色がみられる。その他の網膜組織、網膜色素上皮、脈絡膜および脈絡膜血管 (*米印) 壁には染色をみない。b: sense RNA プロブを用いた対照。網膜、網膜色素上皮、脈絡膜、いずれの組織においても染色をみない。c: antisenseRNA プロブを用いて in situ hybridization を行った。網膜神経節細胞層の細胞 (矢じり) には染色がみられるが、網膜血管 (*印) 壁には染色をみない。

対比染色: メチルグリーン

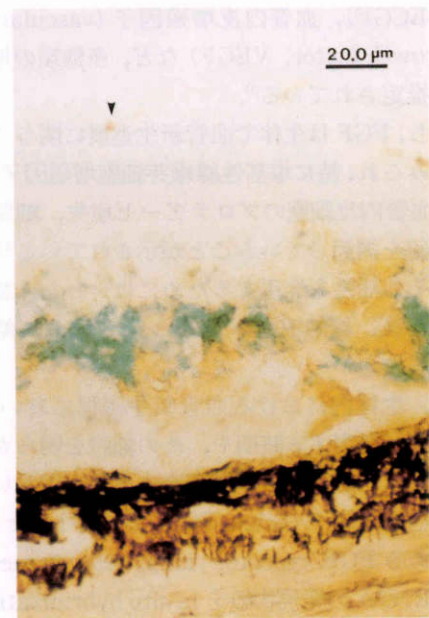


図 2 光凝固直後。

antisenseRNA プロブを用いて in situ hybridization を行った。網膜神経節細胞層には弱い染色 (矢じり) を認めるが、他の網膜組織、網膜色素上皮脈絡膜には染色をみない。

対比染色: メチルグリーン

色をみなかった (図 5 a, b)。

光凝固 28 日には、図 6 a のごとく、多くの網膜下新生血管部周囲には染色をみなかったが、一部の新生血管においては、図 6 b のごとく、その周囲の網膜色素上皮細胞に軽い染色をみた。

senseRNA プロブを用いた対照では、全時期を通じて染色をみなかった。

IV 考 按

Wanaka ら⁹⁾は、ラットで FGF receptor 1 の mRNA の発現をみたことを in situ hybridization で観察し、胎生期および出生後間もない網膜では、網膜色素上皮細胞、神経網膜に広範囲に FGF receptor 1 の mRNA の発現がみられ、成熟ラット網膜には、今回の研究と同じく網

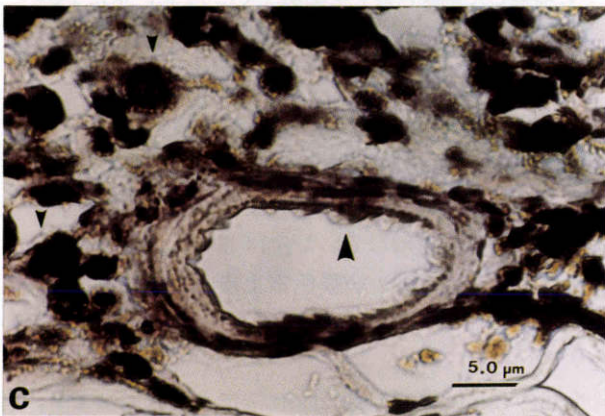
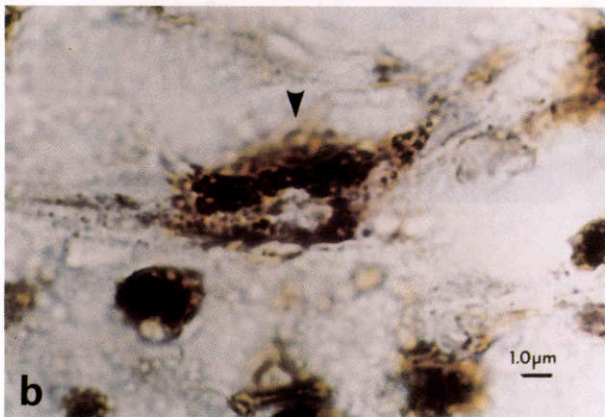
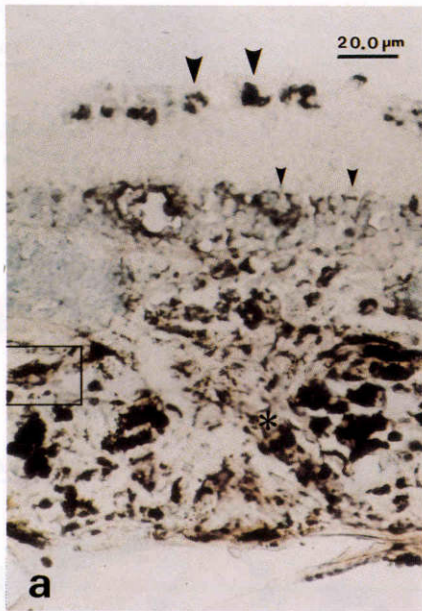


図 3 a, b, c 光凝固後 3 日目。

antisenseRNA プローブを用いて in situ hybridization を行った。

a: 網膜神経節細胞層 (大矢じり) の染色には変化なく, 内顆粒層 (小矢じり) の染色の増強, 網膜色素上皮細胞 (黒枠内) および脈絡膜 (*印) 内の色素細胞などに染色がみられる。b: 光凝固部周辺部の網膜色素上皮細胞 (矢じり) の拡大 (図 3a の黒枠内)。細胞の胞体に FGF receptor 1 の mRNA の発現を示す紫色の染色がみられる。c: 光凝固部脈絡膜の拡大。脈絡膜深層の血管壁 (大矢じり), 脈絡膜色素細胞 (小矢じり) に FGF receptor 1 の mRNA の発現を示す紫色の染色がみられる。

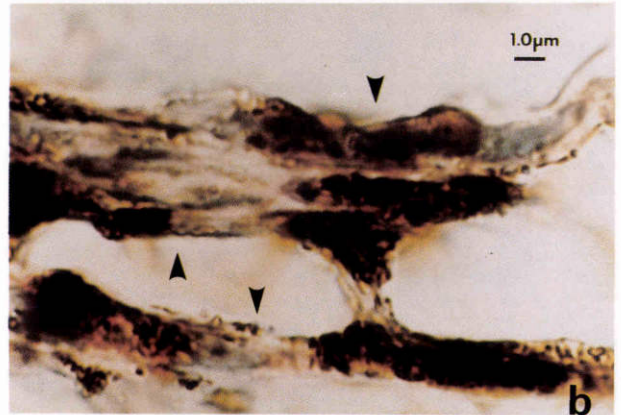
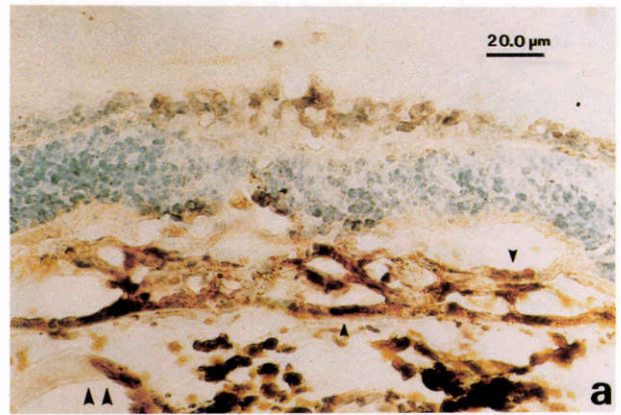


図 4 a, b 光凝固後 7 日目。

antisenseRNA プローブを用いて in situ hybridization を行った。

a: 光凝固部の網膜下腔に増殖した網膜色素上皮細胞 (小矢じり), 脈絡膜血管壁 (大矢じり) に FGF receptor 1 mRNA の発現を示す染色がみられる。b: 光凝固部の網膜下腔に増殖した網膜色素上皮細胞 (矢じり) の拡大, 細胞の胞体に FGF receptor 1 の mRNA の発現を示す紫色の染色がみられる。

膜神経節細胞層, 内顆粒層にのみその発現をみたと報告している。我々は FGF receptor 1 の mRNA の発現は正常網膜組織においては, 網膜神経節細胞層, 内顆粒層に発現がみられたが, その他の網膜には発現をみなかった。網膜神経節細胞層に FGF receptor 1 の mRNA の強い発現がみられ, 網膜神経節細胞が正常状態において FGF に対し何らかの反応を示していると考えられた。また, 正常網膜では, 網膜色素上皮細胞には FGF receptor 1 の mRNA の発現はみられず, 正常状態での網膜色素上皮細胞は, FGF には反応していないとみられた。この結果は, 上述した従来の報告と等しい結果であった。

また, Heuer ら¹⁰⁾は, 成長期のニワトリの網膜において, FGF receptor 1 の mRNA は網膜神経節細胞層, 内および外顆粒層などに弱く発現をみたとして示している。また, 大内ら¹¹⁾¹²⁾もニワトリ胚ふ卵を用いて FGF receptor 1 の mRNA の発現を in situ hybridization 法で調べ, 胚発生期において神経網膜, 網膜色素上皮に強く発現して

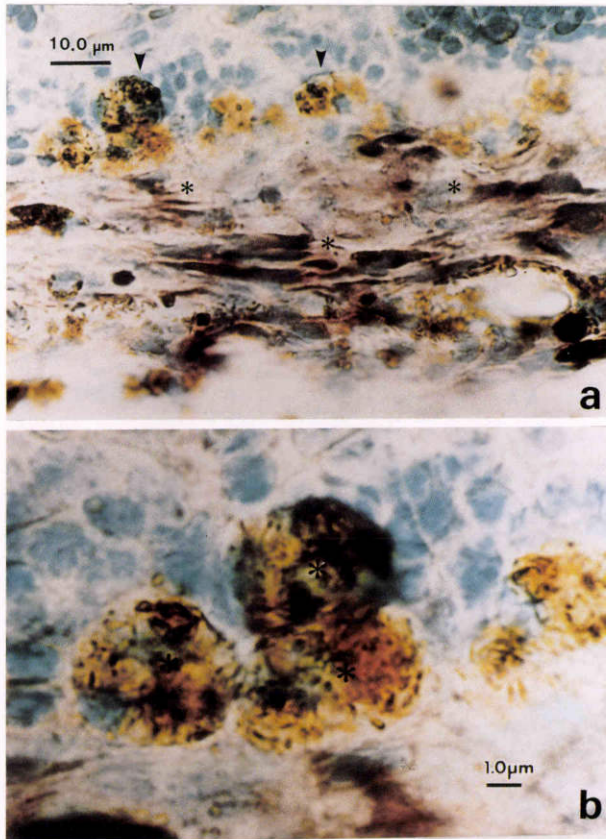


図 5 a, b 光凝固後 14 日目。

antisenseRNA プローブを用いて in situ hybridization を行った。

a: 光凝固部の網膜下腔に増殖した紡錘型の網膜色素上皮細胞 (*印) には, FGF receptor 1 の mRNA の発現を示す染色がみられるが, その周囲の球状のマクローファージ様細胞 (矢じり) には染色はみられない。

b: 球状のマクローファージ様細胞 (*印) の拡大, FGF receptor 1 mRNA の発現を示す染色はみられない。

いることを報告している。藤原¹³⁾¹⁴⁾も、ニワトリ胚ふ卵を用いて、FGF receptor 1 の発現を網膜色素上皮において調べ、胚発生の時期により網膜色素上皮に発現する FGF receptor のサブタイプは異なることを確認している。

これらの報告^{9)~14)}から、胎生期および成長期には、FGF receptor の発現は網膜色素上皮細胞および神経網膜に広範囲にみられ、成熟期には、網膜神経節細胞層および内顆粒層にのみ FGF receptor の発現がみられ、網膜色素上皮細胞にはみられないことを示している。

光凝固後の FGF receptor 1 の mRNA の発現の状態を、我々が既に報告¹⁵⁾¹⁶⁾したラットの脈絡膜新生血管の発生の過程の各時期と比べて表 1 に示した。

組織学的には、光凝固直後および 1 日には、網膜色素上皮、Bruch 膜は断裂し、凝固部の脈絡膜毛細血管板は閉塞していた。3 日には、網膜下腔には明らかに管腔の形成された新生血管をみなかったが、網膜下腔には多種の細胞がみられ、光凝固の周辺部には、扁平な網膜色素上皮が増殖し重層しており、そこには電子顕微鏡でみる

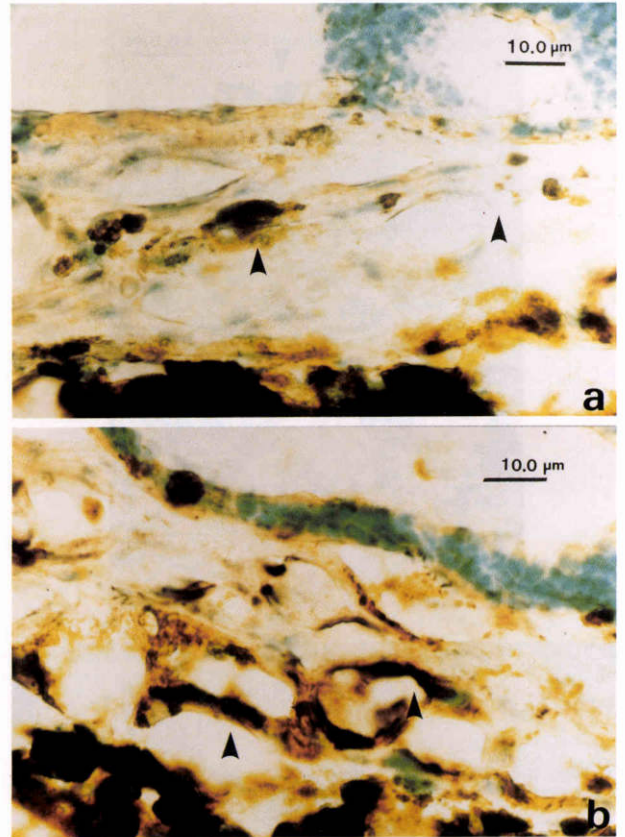


図 6 a, b 光凝固後 28 日目。

antisenseRNA プローブを用いて in situ hybridization を行った。

a: 光凝固部の網膜下腔に増殖した網膜色素上皮細胞 (矢じり) には, もはや FGF receptor 1 の発現を示す染色はみられない。b: 一部の光凝固部では, 網膜下腔に増殖した網膜色素上皮細胞 (矢じり) に, 未だ FGF receptor 1 の mRNA の発現を示す染色がみられる。

と、既に血管内皮細胞が狭い管腔を形成していた。7 日には、網膜下腔に管腔の大きい新生血管が多数発育していて、増殖した扁平な網膜色素上皮細胞が新生血管の上を囲い込む傾向を示していた。14 日では、管腔の発達した新生血管が紡錘型の網膜色素上皮の間に多数みられ、感覚網膜の下を一層の網膜色素上皮が完全に覆っていた¹⁵⁾¹⁶⁾。

今回の in situ hybridization 法による研究により、光凝固直後から 28 日までにおいて、FGF receptor 1 の mRNA の発現を示す染色は 3 日目に最も強くみられ、この時期に FGF が光凝固後の組織修復における細胞増殖に強く関与しており、さらには脈絡膜新生血管に関与する細胞が最も盛んに増殖していると思われた。

すなわち、強度光凝固後の組織修復過程の早期において、FGF receptor 1 の mRNA の発現が凝固部の各細胞に最も強くみられ、染色された細胞は、脈絡膜のメラノサイト、脈絡膜血管壁、網膜色素上皮細胞、網膜内顆粒層の細胞などであり、広範囲の細胞が染色されていた。

表1 新生血管発生過程と FGF receptor 1 の関係

強度光凝固による網膜色素上皮と Bruch 膜の障害		
光凝固後 の日数	新生血管	FGF receptor 1 の発現
1日	新生血管未発生	発現なし
3日	新生血管発生 しはじめる	網膜色素上皮細胞, 脈絡膜血管壁, 脈絡膜 メラノサイトに強い発現をみる
7日	増殖した紡錘型の網膜色素上皮細胞が新生 血管を囲い込む傾向を示す	網膜色素上皮細胞, 脈絡膜血管壁に強い発 現をみる
14日	網膜色素上皮細胞が増殖し新生血管を囲い 込みはじめる	網膜色素上皮細胞, 脈絡膜血管壁に発現を みる
28日	網膜色素上皮細胞が新生血管を囲い込む 新生血管内皮細胞での FGF receptor	発現をほとんどみない 発現は不明

FGF : fibroblast growth factor

また、今回の凍結切片を用いた光学顕微鏡的観察では確定はできなかったが、網膜下腔の新生血管らしい管腔を囲んでいる細胞にも染色がみられた。すなわち、強度光凝固後の組織修復過程に FGF が働いており、また、脈絡膜新生血管の発生、進展にも関与していることが示された。

網膜下新生血管の近くの網膜色素上皮細胞は、光凝固後14日の組織にも強い染色性を示し、光凝固後、長期間 FGF に反応して増殖していることが示された。

また、網膜下新生血管の周囲に存在した色素を含んだ大型のマクrophage 様細胞は7日、14日、28日にみられたが、すべての時期において染色されず、FGF に対して反応していないことが示された。

宇山¹⁾、山岸ら¹⁷⁾¹⁸⁾は、網膜下新生血管の発生と発育には増殖した網膜色素上皮細胞の随伴が必要で、発育後期には増殖した網膜色素上皮細胞は新生血管を退縮させるよう働いていることを示し、網膜下新生血管の発展に網膜色素上皮は密接に関連していることを明らかにした。今回の研究で網膜色素上皮細胞に FGF receptor 1 の mRNA の発現がみられたことから、網膜色素上皮細胞は FGF に反応して増殖し、網膜下への脈絡膜新生血管の発育に関与していると思われた。また、網膜下新生血管は脈絡膜血管から発生しているが、今回の研究で光凝固部の脈絡膜の血管壁に FGF receptor 1 の mRNA の発現がみられたことから、この部の血管内皮細胞が FGF に反応し、脈絡膜新生血管発生に関与していると思われた。

網膜色素上皮細胞と血管内皮細胞は、basic-FGF を産生することが *in vitro* で報告^{19)~22)}されており、Sternfeldら¹⁹⁾はヒト網膜色素上皮細胞は basic-FGF 遺伝子およびその蛋白を発現しており、basic-FGF が自己分泌 (auto-crine) 的あるいは傍分泌 (paracrine) 的に網膜色素細胞に作用しているであろうと報告している。また、

血管内皮細胞が *in vitro* において basic-FGF を産生し、それが自己分泌的に内皮細胞に働いているとする報告^{20)~22)}もある。今回の研究で、FGF receptor 1 の mRNA の発現が網膜色素上皮細胞、脈絡膜血管壁などにみられたことから、これらの細胞が産生した basic-FGF が脈絡膜新生血管の発生過程において、各細胞に自己分泌的あるいは傍分泌的に作用しているものと考えられた。

また、FGF がその活性を示すために産生細胞から分泌された後、標的細胞のレセプターに結合する必要があるとされる²³⁾。FGF と FGF 受容体の結合を阻害することによって、あるいは FGF レセプターの発現を抑えることによって血管新生を阻止することができると報告されているものには、インターロイキン¹²⁴⁾、インターフェロン γ ²⁵⁾、血小板第四因子²⁶⁾などがある。今回の研究で、FGF が脈絡膜新生血管の発生にその早期から血管新生に強く関与していることが示された。このことは、脈絡膜新生血管の治療法の一つとして FGF 受容体機能阻害による薬物療法の可能性を示唆するものである。

我々は、本研究でラット脈絡膜新生血管モデルを用い、FGF receptor 1 の mRNA の発現を *in situ* hybridization 法によって検討し、FGF receptor 1 の mRNA の発現は新生血管発生の早期から比較的長期間、網膜色素上皮細胞、脈絡膜血管壁など新生血管に関連する細胞にみられ、basic-FGF をはじめとする FGF ファミリーが脈絡膜新生血管の発生過程に強く関与していることが明らかになった。

稿を終えるにあたり、FGF receptor 1 cDNA を分与された大阪大学医学部第二解剖学教室和中明生氏に深謝いたします。

本論文の要旨は第98回日本眼科学会総会 (平成6年4月) で報告した。

なお、本研究には文部省科学研究費補助金(奨励研究 A-06771562, 松島), 厚生省特定疾患「網膜脈絡膜萎縮症調査研究班」の援助を受けた。記して謝意を表します。

文 献

- 1) 宇山昌延: 脈絡膜新生血管。基礎と臨床。日眼会誌 95: 1145-1180, 1991.
- 2) Fung WE: Interferon alpha 2a for treatment of age-related macular degeneration. Am J Ophthalmol 112: 349-350, 1991.
- 3) Poliner LS, Tornambe PE, Michelson PE, Heitzmann JG: Interferon Alphe-2a for subfoveal neovascularization in age-related macular degeneration. Ophthalmol 100: 1417-1424, 1993.
- 4) Thomas MA, Ibanez HE: Interferon alpha-2a in the treatment of subfoveal choroidal neovascularization. Am J Ophthalmol 115: 563-568, 1993.
- 5) 三井洋司: 細胞増殖因子と血管新生。代謝 27: 1057-1063, 1990.
- 6) 宮園浩平: 血管新生と増殖因子。血管新生の生物学—新たな展開に向けて。実験医学 9: 105-107, 1991.
- 7) 佐藤靖史: 血管新生と増殖因子。増殖因子による血管新生の調節。実験医学 9: 116-120, 1991.
- 8) Wanaka A, Johnson EM Jr, Milbrandt J: Localization of FGF receptor mRNA in the adult rat central nervous system by in situ hybridization. Neuron 5: 267-281, 1990.
- 9) Wanaka A, Milbrandt J, Johnson EM Jr: Expression of FGF receptor gene in rat development. Development 111: 455-468, 1991.
- 10) Heuer JG, von Bartheld CS, Kinoshita Y, Evers PC, Bothwell M: Alternating phases of FGF receptor and NGF receptor expression in the developing chicken nervous system. Neuron 5: 283-296, 1990.
- 11) 大内淑代: 眼の発生分化にともなう線維芽細胞増殖因子レセプター遺伝子発現。第1報。FGFレセプター1遺伝子の発現パターンについて。日眼会誌 97: 304-309, 1993.
- 12) Ohuchi H, Koyama E, Myokai F, Nohno T, Shiraga F, Matsuo T, et al: Expression patterns of two fibroblast growth factor receptor genes during early chick eye development. Exp Eye Res 58: 649-658, 1994.
- 13) 藤原美樹: ニワトリ胚網膜色素上皮に発現する線維芽細胞増殖因子レセプター遺伝子—第2報。In situ hybridization 法による検討—。日眼会誌 98: 630-635, 1994.
- 14) 藤原美樹: ニワトリ胚網膜色素上皮に発現する線維芽細胞増殖因子レセプター遺伝子—第1報。Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)法による検討—。日眼会誌 98: 625-629, 1994.
- 15) 戸部隆雄, 高橋寛二, 大熊 紘, 宇山昌延: ラット網膜における実験的脈絡膜新生血管の発生。日眼会誌 98: 837-845, 1994.
- 16) 戸部隆雄, 高橋寛二, 大熊 紘, 宇山昌延: ラットにおけるクリプトンレーザーによる実験的脈絡膜新生血管の発生。眼紀 45: 853-856, 1994.
- 17) 山岸和矢, 大熊 紘, 板垣 隆, 加藤直子, 宇山昌延: 網膜下新生血管と網膜色素上皮の関連—第1報。新生血管退縮期における関連。日眼会誌 92: 1618-1628, 1988.
- 18) 山岸和矢, 大熊 紘, 板垣 隆, 加藤直子, 高橋寛二, 宇山昌延: 網膜下新生血管と網膜色素上皮の関連—第2報。新生血管発育期における関連。日眼会誌 92: 1629-1636, 1988.
- 19) Sternfeld MD, Robertson JE, Shipley GD, Tsai J, Rosenbaum JT: Cultured human retinal pigment epithelial cells express basic fibroblast growth factor and its receptor. Cur Eye Res 8: 1029-1037, 1989.
- 20) Sato Y, Rifkin DB: Autocrine activities of basic fibroblast growth factor: Regulation of endothelial cell movement, plasminogen activator synthesis. J Cell Biol 107: 1199-1205, 1988.
- 21) Sato Y, Shimada T, Takaki R: Autocrinological role of basic fibroblast growth factor on tube formation of vascular endothelial cells *in vivo*. Biochem Biophys Res Commun 180: 1098-1102, 1991.
- 22) Tsuboi R, Sato Y, Rifkin DB: Correlation of cell migration, cell invasion, receptor number, proteinase production, and basic fibroblast growth factor levels in endothelial cells. J Cell Biol 110: 511-517, 1990.
- 23) Seno M, Igarashi K: Fibroblast growth factor receptors. Mol Biol 11: 149-158, 1992.
- 24) Cozzolino F, Torcia M, Aldinucci D, Ziche M, Almerigogna F, Bani D, et al: Interleukin 1 is an autocrine regulator of human endothelial cell growth. Cell Biol 87: 6487-6491, 1990.
- 25) Friesel R, Komoriya A, Maciag T: Inhibition of endothelial cell proliferation by Gamma-Interferon. J Cell Biol 104: 689-696, 1987.
- 26) Sato Y, Abe M, Takaki R: Platelet factor 4 blocks the binding of basic fibroblast growth factor to the receptor and inhibits the spontaneous migration of vascular endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun 172: 595-600, 1990.