

角膜上皮創傷治癒における プロスタグランジンの作用機序について

月山 純子

近畿大学医学部眼科学教室

抄 録

角膜上皮創傷治癒機構におけるプロスタグランジン (PG) の役割を知るために、家兎角膜上皮細胞の遊走と増殖に対する表皮成長因子 (EGF) とプロスタグランジンの影響を器官培養法、実験的角膜上皮創傷治癒モデルおよび MTT 法を用いて検討した。さらに上皮創傷治癒モデルを用い角膜上皮細胞によるプロスタグランジン合成に対する EGF の影響を ELISA 法にて検討した。器官培養法、上皮創傷治癒モデルのいずれにおいても、EGF 添加群は対照群に比べて角膜上皮伸長が有意に増加した。非ステロイド抗炎症薬 (NSAIDs) の単独添加では上皮伸長に影響を認めなかったが、EGF と同時に添加した群では EGF の上皮伸長促進効果を有意に抑制した。上皮創傷治癒モデル培養液中の PGE_2 、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 量は EGF 添加後 3 時間で対照群と比べて有意な増加を認め、この EGF による角膜上皮細胞のプロスタグランジン産生促進作用は、EGF に対する中和抗体や NSAIDs によって抑制された。EGF 添加で角膜上皮細胞の増殖は促進されたが、NSAIDs を同時に加えると EGF の細胞増殖促進作用は有意に抑制された。NSAIDs の単独投与では角膜上皮細胞増殖に影響はなかった。以上のことから、EGF による上皮細胞の伸長や増殖に対する促進作用に、EGF 刺激によって産生されるプロスタグランジンが関与していることが示唆された。

Key words: 角膜上皮, 創傷治癒, 表皮成長因子 (EGF), プロスタグランジン (PG), 非ステロイド抗炎症薬 (NSAIDs), 細胞増殖

緒 言

プロスタグランジンとトロンボキサン (TX) よりなるプロスタノイドは、生理的あるいは病的な刺激に応じて産生・分泌され、標的細胞に作用するオートコイドである。プロスタノイドには主に PGD_2 、 PGE_2 、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 、 PGI_2 、 TXA_2 の 5 種類が知られ、それぞれ生理的に重要な働きをしている。プロスタノイドの産生は、細胞膜リン脂質からホスホリパーゼ A_2 によって切り出されたアラキドン酸からシクロオキシゲナーゼ (COX) により PGH_2 が生成され、さらに各々のプロスタノイドに特異的な合成酵素によって合成される¹。

近年、プロスタノイド受容体の構造、機能が明らかになり、プロスタノイドの生体におけるさまざまな生理的あるいは病態生理的役割が解明されてきた²。なかでもプロスタグランジンは、炎症、血管新生、骨吸収、分娩など生体活動の多くの場面におい

て重要な制御因子として機能している³。

炎症におけるプロスタグランジンの役割については古くから多数の研究がなされており、プロスタグランジンの合成を抑制する COX 阻害薬は NSAIDs として広く臨床で用いられている。なかでもジクロフェナックとインドメタシンは抗炎症薬点眼として眼科領域でも従来から使用されている。1991年には COX に常在型 (構成型) である COX-1 と誘導型である COX-2 の二つのアイソザイムが存在することが発見され⁴、二つの COX が生体反応において機能分担をおこなっていることが明らかにされつつある。COX-2 は刺激が加わることによりはじめて生合成されることから、特に生体に何らかの変化が起る場合に COX-2 が機能すると推測されている⁵。

眼科領域においてはプロスタグランジン的一种である $\text{PGF}_{2\alpha}$ に眼圧下降作用があることが知られている⁶。実際に $\text{PGF}_{2\alpha}$ 誘導体であるラタノプロストやイソプロピルウノプロストンは眼圧下降薬点眼と

して眼科領域で臨床応用されている。これらの PGF_{2α} 誘導体点眼による副作用として角膜上皮障害が報告されているが⁸⁻¹¹、プロスタグランジンの角膜上皮に対する作用の詳細は明らかでない。一方、眼手術後などの消炎を目的とした NSAIDs 点眼も広く臨床で利用されているが、NSAIDs 点眼による角膜上皮障害も多数報告されており、さまざまな議論がなされている¹²⁻¹⁷。

角膜上皮には様々なサイトカインや成長因子が作用するが、なかでも EGF は創傷治癒を促進する因子として、角膜上皮創傷治癒時に強く作用すると考えられている。EGF はマウスの顎下腺より発見された分子量約6,000のポリペプチドで涙液中にも存在し、*in vitro* の実験では角膜の上皮細胞、実質細胞、内皮細胞に対して強い増殖促進活性を示す²⁰。EGF 点眼は角膜穿孔や遷延性角膜上皮欠損の症例に対して有効であるという報告があり、現在臨床治験中である²¹。

近年、サイトカインや成長因子の活性の一部はプロスタグランジンをはじめとするプロスタノイドやロイコトリエンを介して情報伝達されると言われている^{18,19}。EGF のシグナル伝達経路にもアラキドン酸カスケードの関与が報告されており^{18,19}、プロスタグランジン製剤や NSAIDs 点眼による角膜上皮障害のメカニズムに、EGF とプロスタグランジンの相互作用が関与している可能性が考えられる。

そこで本研究では、EGF とプロスタグランジンの相互関係について、家兎角膜上皮細胞を用いた検討をおこなった。また、2種の COX の関与については COX-1、COX-2 非選択的阻害薬であるジクロフェナックとインドメタシン、臨床応用されていないが COX-2 選択的阻害薬である NS398 を用いて EGF とプロスタグランジンの関係を検討した。

方 法

材料および試薬

白色家兎(日本在来種、雄、体重2~3 kg)は北摂産業から購入した。

リン酸緩衝生理食塩水 (pH 7.2; 以下 PBS と略す) は日水製薬、0.02% EDTA、0.25% トリプシン溶液、minimum essential medium (MEM) 培養液、TC199 培養液は阪大微生物研究会、デイスパーゼは合同酒精株式会社、ウシ胎児血清 (FCS) は JRH biosciences 社、プラスチック培養皿 (24穴培養皿) は Corning 社、96穴プラスチックプレートは Falcon 社、Millipore filter[®] (type HA) は Millipore 社のものを用いた。

リコンビナント表皮成長因子 (Recombinant

human epidermal growth factor, EGF) は Progen 社、プロスタグランジン E₂ およびプロスタグランジン F_{2α} elisa Kit は Neogen 社、NS398 は Cayman 社、ジクロフェナックはわかもと製薬株式会社、抗 EGF 抗体 (human, monoclonal) は大塚製薬、ジメチルスルホキシド (DMSO) は和光純薬工業株式会社、MTT、インドメタシンは Sigma 社からそれぞれ購入した。

実験方法

初代家兎角膜上皮細胞の培養

日本白色家兎(雄、体重2~3 kg)をペントバルビタールで屠殺後、すみやかに眼球を脱臼させ角膜全層を摘出した。角膜内皮をデスマ膜とともにピンセットで機械的に除去し、2 mg/ml のデイスパーゼを含む TC199 培養溶液で 4°C にて一晚反応させた。スパーテルで剝離、採取した角膜上皮を 0.25% トリプシンと 0.02% EDTA で 37°C にて 15 分間反応させ、その後十分にピペッティングし単細胞浮遊液を作製した。15% FCS を含む TC199 培養液を加えて 2 回洗浄、遠心 (800 g, 7 分) し実験に用いた。培養液は 15% FCS を含む TC199 培養液を使用した。

角膜片を用いた器官培養

角膜片を用いた器官培養は Nishida らの方法²² に準じた。家兎角膜を摘出後約 2×4 mm の全層角膜片を作製し、血清無添加の MEM 培養液中で培養した。培養液中に種々の試薬を添加培養し、24 時間後に角膜片を固定、パラフィン包埋ののち切片を作製した。HE 染色を行い顕微鏡下に実質断面を伸長した上皮の長さを計測した。

角膜上皮創傷治癒モデルの作製

角膜上皮創傷治癒モデルの作製は Jumblatt らの方法²³ に準じた (図 1)。初代家兎角膜上皮細胞を 24 穴プラスチックプレートに 2×10⁵ 個/穴ずつ播種し、15% FCS を含む TC199 培養液にて 37°C でコンフルエントの状態まで培養した。培養液を除去したのち、直径 5 mm の HA filter を 24 穴培養角膜上皮の中央におき、液体窒素で凍らせたプローブをプレートの裏側から 5 秒間押しあてた。1% FCS を含む TC199 培養液を加え、filter を注意深く取り除き円形の上皮欠損部を作製した。培養液に種々の試薬を加え 37°C で 24 時間培養した。その後 10% のホルマリンで固定し 1% のクリスタルバイオレットで染色した。残存する上皮欠損部を写真撮影し、欠損部の面積をコンピューター画像上で測定した。

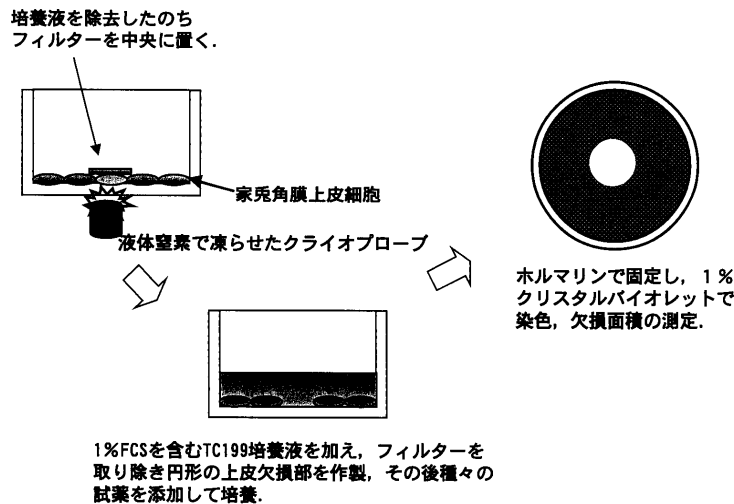


図1 角膜上皮創傷治癒モデルの作製法

細胞増殖能の測定

細胞増殖能の測定には MTT 法を用いた。初代家兎角膜上皮細胞を96穴プラスチックプレートに 2×10^4 個/穴ずつ播種した。15% FCS を含む TC199 培養液にて 37°C 、2 日間培養したのち 1% FCS を含む TC199 培養液と交換し、種々の試薬を加えた。 37°C で 3 日間培養した後 0.5% MTT 試薬を添加し、さらに 3 時間培養した。培養液を吸引し PBS で洗浄後 $200 \mu\text{l}$ のジメチルスルホキシドを加えて細胞膜を溶解し、産生された MTT formazan をマイクロプレートリーダー（波長 570 nm ）で計測し、その吸光度をもって表示した。

角膜上皮細胞の産生する PGE_2 、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 量の測定

角膜上皮細胞を用い前述の方法で欠損部を作製し、一定時間培養の後、培養液中の PGE_2 、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 量を Neogen 社製 ELISA キットにて測定した。角膜上皮細胞を 0.1 N の水酸化ナトリウムで溶解して蛋白量を定量し、角膜上皮細胞の PGE_2 、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 産生量は単位蛋白 (mg protein) あたりで算出した。

統計

すべての実験は各群 3 個以上の検体で行い、平均および標準誤差を算定した。また、各群間の統計的検定は student T 検定を用いた。

成績

角膜片を用いた器官培養法にて角膜上皮伸長に対する EGF と NSAIDs の影響を検討した(図 2)。培養 24 時間後の上皮の伸長は無添加対照群では $531 \pm 23.76 \mu\text{m}$ であった。EGF (10 ng/ml) 添加群では角膜上皮の伸長は $730 \pm 44.60 \mu\text{m}$ となり、対照群に比して有意な促進を認めた ($p < 0.005$)。NSAIDs であるジクロフェナック、インドメタシンを単独に添加しても、上皮伸長は約 $500 \mu\text{m}$ と対照群との間に明らかな差はなかった。しかし、ジクロフェナックやインドメタシンを EGF と同時に添加すると、EGF 単独添加群に比べて上皮の伸長が有意に減少していた ($p < 0.05$)。これらのことから NSAIDs は EGF の角膜上皮伸長に対する促進作用に抑制的に働くことが明らかとなった。

角膜上皮創傷治癒モデルを用いて、EGF の上皮創

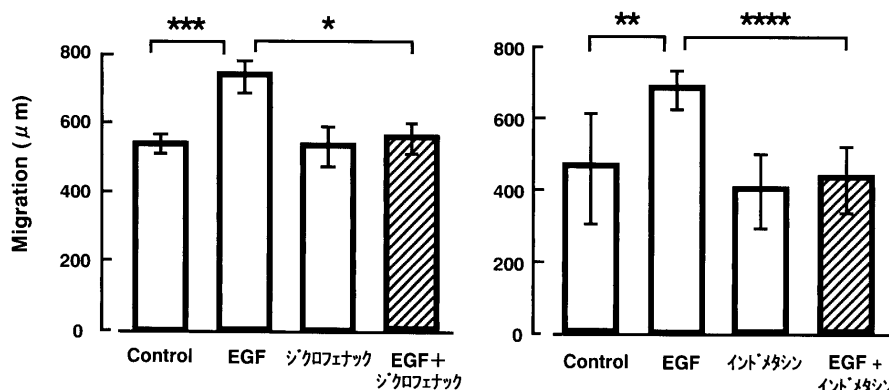


図2 器官培養法による角膜上皮伸長に対する EGF と NSAIDs の影響
結果は平均値 ± 標準誤差で示す。n=6
EGF は 10 ng/ml 、ジクロフェナックは 10^{-5} M 、インドメタシンは 10^{-5} M の濃度で刺激した結果を示した。
* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.005$, **** : $p < 0.001$

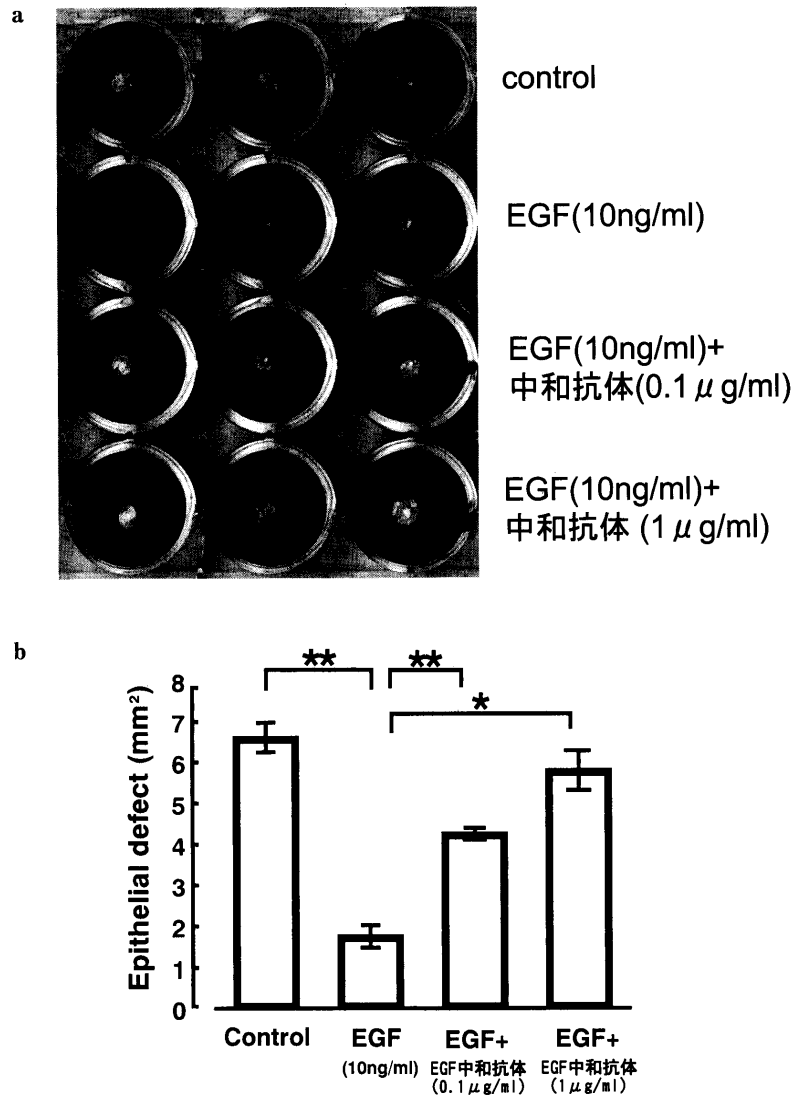


図3 a. b 上皮創傷治癒モデルにおけるEGF中和抗体によるEGF作用の抑制
結果は平均値±標準誤差で示す。n=4
*: p<0.005, **: p<0.0005

傷治癒に対する影響を検討した(図3)。培養24時間後の上皮欠損面積は無添加対照群では $6.60 \pm 0.19 \text{ mm}^2$ であったが、EGF (10 ng/ml) を添加した群では $1.75 \pm 0.18 \text{ mm}^2$ と欠損面積は有意に減少した ($p < 0.0005$)。一方EGFとEGFに対する中和抗体を同時に添加すると、上皮欠損面積は中和抗体0.1 μg/ml 添加群で $4.24 \pm 0.04 \text{ mm}^2$ 、1 μg/ml 添加群で $5.79 \pm 0.25 \text{ mm}^2$ といずれもEGF単独添加群と比べて有意に増加した ($p < 0.005$)。これらのことから、この実験モデルにおいてもEGFの上皮創傷治癒に対する促進作用を認めた。

上皮創傷治癒モデルにおけるEGFとNSAIDsの影響を検討した(図4)。ジクロフェナック、インドメタシン、NS398の単独添加では 10^{-5} M までの

範囲で残存した上皮欠損部の面積には変化を認めなかった。しかし、EGFを同時に添加した群では 10^{-5} M のジクロフェナック、 10^{-7} M から 10^{-5} M のインドメタシンの添加で上皮欠損面積はEGF単独添加に比べて有意に増加した ($p < 0.01$)。また、COX-2選択的阻害薬であるNS398でも、 10^{-5} M の添加で有意な上皮欠損面積の増加を認めた ($p < 0.05$)。これらのことから、EGFの角膜上皮創傷治癒促進効果に対してNSAIDsが抑制的に作用し、この作用はCOX-2が関与していることが示唆された。

角膜上皮細胞の増殖に対するEGFとNSAIDsの影響について検討した(図5)。ジクロフェナック、インドメタシン、NS398はいずれも単独投与では 10^{-5} M から 10^{-9} M の濃度で細胞増殖に影響は認め

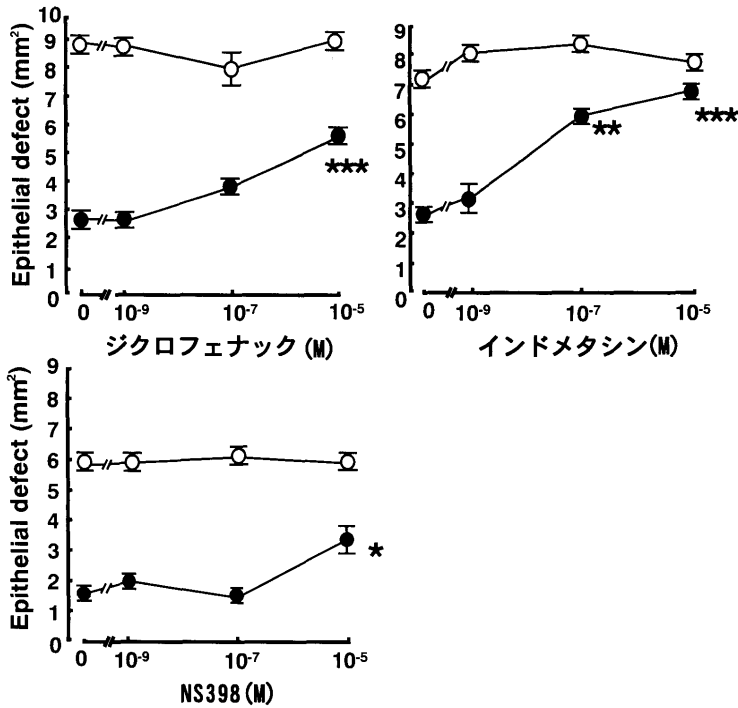


図4 上皮創傷治癒モデルにおけるEGFとNSAIDsの影響
 —○—EGF(-), —●—EGF(10 ng/ml)
 結果は平均値±標準誤差で示す。
 n=4
 EGF単独添加群と、EGFとNSAIDs同時添加群の間で有意差検定を行った。
 * : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.005

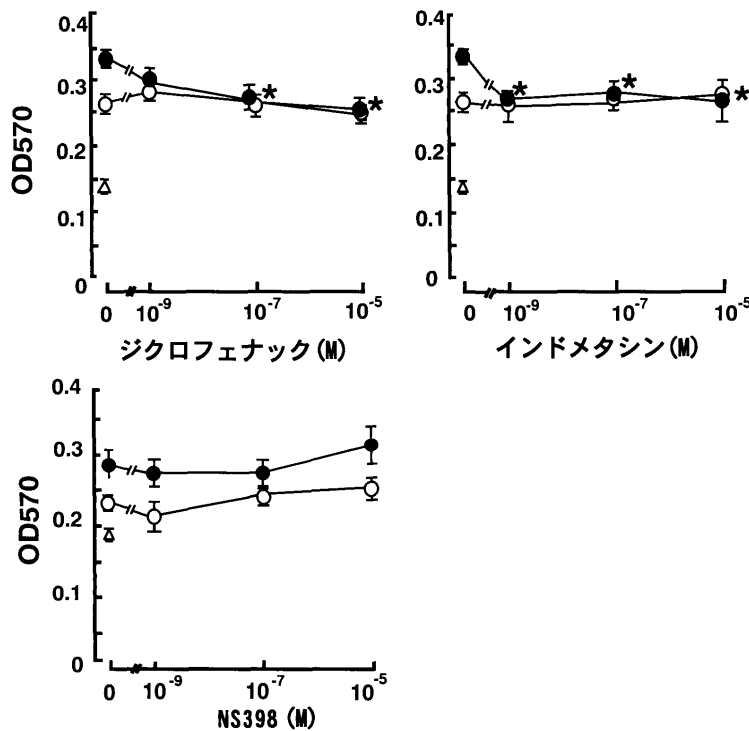


図5 角膜上皮細胞増殖に対するEGFとNSAIDsの影響
 —○—EGF(-), —●—EGF(10 ng/ml),
 —△—培養開始前
 結果は平均値±標準誤差で示す。
 n=5
 EGF単独添加群と、EGFとNSAIDs同時添加群の間で有意差検定を行った。
 * : p<0.05

なかった。EGF (10 ng/ml) の添加により細胞増殖は対照群に比べて有意に促進されたが (p<0.05), EGF と同時にジクロフェナックを添加すると10⁻⁷ M以上の濃度でEGFの細胞増殖促進作用は有意に抑制された(p<0.05)。インドメタシン添加でも10⁻⁵ Mから10⁻⁹ Mの濃度でEGFの細胞増殖促進作用

は抑制された(p<0.05)。しかし、COX-2 選択的阻害薬であるNS398では、EGFの増殖促進作用に対して影響を認めなかった。これらのことより、EGFの角膜上皮細胞の増殖促進作用に対するNSAIDsの作用は、COX-1を介する可能性が考えられた。角膜上皮細胞のプロスタグランジン産生に対する

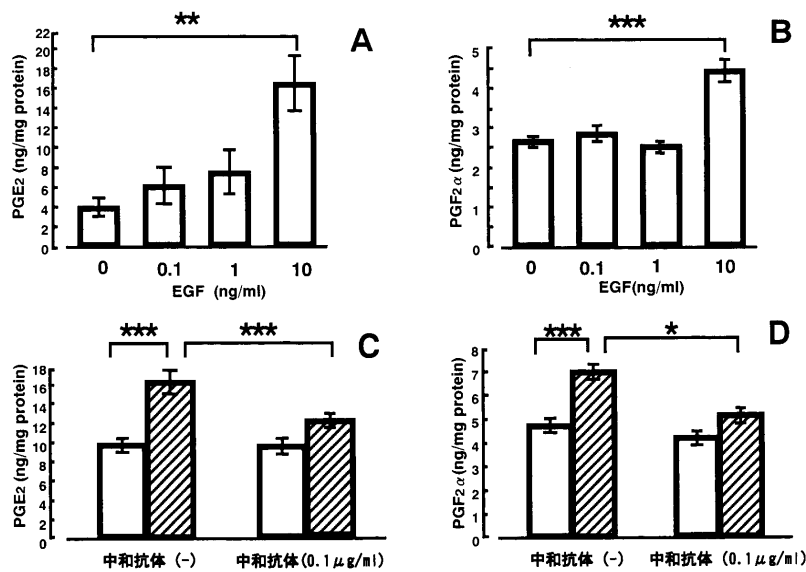


図6 角膜上皮創傷治癒時のプロスタグランジン産生に対するEGFの影響
 A: EGF (0.1, 1, 10 ng/ml) 添加後の培養上清中の PGE₂ 量を ELISA 法にて定量した。
 B: PGF_{2α} 量の定量
 C: EGF (10 ng/ml), EGF 中和抗体 (0.1 μg/ml) を同時添加した場合の培養上清中の PGE₂ 量を定量した。
 D: PGF_{2α} 量の定量
 □ EGF (-) ▨ EGF (10 ng/ml)
 結果は平均値 ± 標準誤差で示す。
 n = 4
 * : p < 0.05, ** : p < 0.01, *** : p < 0.005

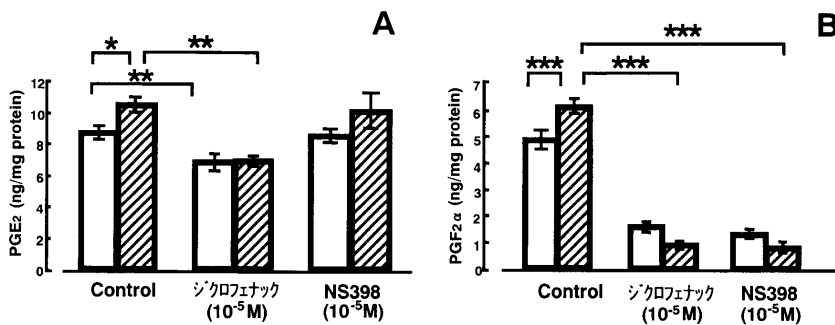


図7 角膜上皮創傷治癒時のプロスタグランジン産生に対するEGFとNSAIDsの影響
 A: EGF (10 ng/ml) と NSAIDs を同時添加したときの、培養上清中の PGE₂ 量を ELISA 法にて定量した。
 B: PGF_{2α} 量の定量
 □ EGF (-), ▨ EGF (10 ng/ml)
 結果は平均値 ± 標準誤差で示す。n = 4
 * : p < 0.05, ** : p < 0.01, *** : p < 0.001

EGF の影響を検討した。(図 6)。上皮創傷治癒モデル作製後、EGF (0.1, 1, 10 ng/ml) を加えて 37°C で 3 時間培養したのち、培養上清中の PGE₂, PGF_{2α} 濃度を ELISA 法にて測定し、角膜上皮細胞が産生した PGE₂, PGF_{2α} を算出した(図 6 A, B)。上皮細胞の PGE₂ 産生量は EGF 非添加群では 3.92 ± 0.91 ng/mg protein であったが EGF 添加によって濃度依存的に亢進して、10 ng/ml の EGF 添加群では 16.38 ± 2.85 ng/mg protein と、対照群と比べて上皮細胞による PGE₂ 産生の有意な増加を認めた (p < 0.01)。上皮細胞の PGF_{2α} 産生量も対照群 2.65 ± 0.10 ng/mg protein に対し、10 ng/ml の EGF 添加群で 4.42 ± 0.28 ng/mg protein と有意な増加を認めた (p < 0.005)。この EGF 添加による PGE₂, PGF_{2α} 産生量の増加は 0.1 μg/ml の EGF 中和抗体によって有意に抑制された(図 6 C, D)。このことから EGF は角膜上皮細胞の PGE₂, PGF_{2α} の産生を促進することが明らかとなった。

また、EGF による PGE₂, PGF_{2α} 産生の上昇が、COX を介しているのかを検討した(図 7)。上皮創傷治癒モデル作製後、ジクロフェナックと NS398 を各々単独または EGF (10 ng/ml) と同時に添加し、培養 3 時間後に上清を回収して PGE₂, PGF_{2α} 量を算出した。ジクロフェナック投与群では、EGF の添加の有無にかかわらず、対照群に比べて PGE₂ 量が有意に減少していた (p < 0.01)。一方 NS398 を添加した場合には上皮細胞の PGE₂ 産生に変化を認めなかった(図 7 A)。上皮細胞による PGF_{2α} 産生量はジクロフェナックおよび NS398 により、EGF の有無にかかわらず有意に産生量が抑制された (p < 0.001) (図 7 B)。

考 察

本研究では NSAIDs は単独では角膜上皮伸長、細胞増殖に影響しなかったが、EGF による角膜上皮伸長や、細胞増殖に対する促進効果を抑制した(図 2,

4, 5). また, 角膜上皮創傷治癒過程において角膜上皮細胞の PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$ 産生が EGF によって促進されることが明らかになった(図6). これらのことから EGF に依存した角膜上皮の創傷治癒過程に, PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$ が関与している可能性が考えられる.

近年, 薬理的な解析により, プロスタノイドに特異的な受容体が明らかになり, PGD , PGE , PGF , PGI , TX の特異的な受容体は, 各々 DP , EP , FP , IP , TP と名付けられている. さらに EP は 4 種類のサブタイプ (EP1 , EP2 , EP3 , EP4) に分類されている¹. SchloetzerSchrehardt らは, 免疫染色にてヒトの角膜上皮に EP1 , EP2 , FP receptor の高い発現があったと報告しており²⁴, これらのレセプターに親和性の高い PGE_2 や $\text{PGF}_{2\alpha}$ が角膜上皮に対して何らかの作用をもつことが推察できる.

NSAIDs の点眼は抗炎症薬として内眼手術術後などに広く用いられているが, その副作用の一つとして角膜上皮障害が報告されている¹²⁻¹⁵. これまで, ジクロフェナックやインドメタシンによる角膜上皮障害の作用機序について, さまざまな議論がなされてきた^{16,17}. 本研究では, EGF による上皮細胞の増殖や創傷治癒に対する促進作用が NSAIDs によって阻害された(図2, 4, 5). EGF は角膜上皮細胞の細胞増殖や上皮伸長を促進することにより角膜上皮創傷治癒を促進する. 近年, 創傷治癒時に涙腺中の EGF mRNA が上昇しているとの報告²⁵ や, 創傷治癒時に EGF のレセプター発現が上昇しているという報告²⁶ があり, *in vivo* の条件では角膜上皮創傷治癒時に EGF が強く作用していると考えられている. 本研究の結果から考え合わせると, NSAIDs による角膜上皮障害の原因のひとつに, 創傷治癒時に内因性の EGF 作用を抑制することによる上皮創傷治癒遅延があり, その結果として角膜上皮障害が生じるのではないかと考えられた.

NSAIDs による EGF 作用の抑制については他の細胞でも同様の報告がある. Peppelenbosch らは, A431 細胞, Hela 細胞, ラットの繊維芽細胞において, インドメタシンが EGF によるアクチンの脱重合を阻害すると報告している¹⁹. Loftin らはマウスのケラチノサイトを EGF で刺激すると細胞増殖が促進されるが, インドメタシンは EGF に依存した細胞増殖を抑えると報告している²⁷. 一方, Kang らはラビットの不死化角膜上皮細胞において, PGE_2 が EGF のシグナル伝達のなかで MAP キナーゼ活性を阻害することで細胞増殖を抑制すると報告している²⁸. 細胞増殖に関する結果は本研究の結果と相違点があったが, これには初代培養の角膜上皮細胞

と SV40 ウィルスによる不死化細胞株との相違が関係しているのではないかと考えられる.

近年, サイトカインや成長因子のシグナル伝達にプロスタグランジンなどのエイコサノイドが関与しているといわれており, 培養細胞を種々の成長因子やサイトカインで刺激するとプロスタグランジン産生が亢進するという報告が多数ある¹⁸. 1977年に Levine らは, イヌの腎細胞を EGF で刺激すると PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$ が生成, 遊離されると報告している²⁹. Kang らはラビットの不死化角膜上皮細胞において, EGF 刺激により PGE_2 産生が誘導されると報告している²⁸. 本研究においても, 上皮創傷治癒モデルで EGF 刺激により培養家兎角膜上皮細胞の PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$ 産生量の増加を認めた. さらに, この増加は EGF 中和抗体を同時に添加することで抑制された(図6). これらのことから, EGF の角膜上皮細胞に対する作用は EGF 刺激によるプロスタグランジン産生亢進が関与していることが推察できる.

EGF によるプロスタグランジン産生は NSAIDs によって抑制されたが, PGE_2 と $\text{PGF}_{2\alpha}$ 産生に対する NSAIDs の作用には差異が認められた. 上皮細胞の PGE_2 産生はジクロフェナックでは抑制されるが NS398 では変化を認めなかった(図7A). 一方 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 産生に関してはジクロフェナック, および NS398 のいずれでも同様の抑制効果を認めた(図7B). ジクロフェナックは COX-1, COX-2 の両方を抑制するのに対し, NS398 は COX-2 を選択的に抑制する. このことから EGF によって誘導される PGE_2 産生は主に COX-1 の関与が, $\text{PGF}_{2\alpha}$ 産生に関しては COX-2 が主に関与していることが示唆された.

本研究の結果から, 臨床での NSAIDs 点眼の使用にあたり, 角膜上皮疾患の病態における EGF など他の因子の関与を考慮して用いることが副作用の軽減につながると考えられる.

謝 辞

稿を終えるにあたり, 後校閲を賜りました恩師下村嘉一教授に深甚なる謝意を表します. また終始御助言, 後指導を賜りました三島弘助教授ならびに福田昌彦, 日比野剛講師, 阿部考助, 原英徳助手に感謝の意を表します. 本論文の一部は Association for Research in Vision and Ophthalmology 年次総会 (Fort Lauderdale, Florida, 1999年5月), 第103回日本眼科学会総会 (千葉, 1999年4月), 第23回角膜カンファレンス (山口, 1999年2月) において発表した.

文 献

1. 小林拓也, 牛首文隆, 成宮 周 (1999) 受容体ノックアウトマウスを用いた新しい生理機能の解析. 現代医療 31: 171-183

2. Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F (1999) Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. *Physiol Rev* 79: 1193-1226
3. 堀 隆光 (2000) COX-2 と細胞死. 森田育男編. COX の理論と実証. 大阪: メディカルビュー社, pp42-50
4. Kujubu DA, Fletcher BS, Varnum BC, Lim RW, Herschman HR (1991) TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. *J Biol Chem* 266: 12866-12872
5. Laszlo ZB (1997) Prostaglandins: A new approach to glaucoma management with a new, intriguing side effect. *Surv Ophthalmol* 41 [Suppl 22]: S1-S14
6. 阪本吉広, 岩崎直樹, 前田直之, 渡辺 仁, 切通 彰, 井上幸次, 下村嘉一 (1995) プロスタグランジン F_{2α} 点眼薬による角膜上皮障害. *臨眼* 49: 1845-1848
7. 小室 青, 横井則彦, 松本康宏, 木下 茂 (1996) イソプロピルウノプロストン点眼の角膜上皮バリアー機能に及ぼす影響. *あたらしい眼科* 13: 442-444
8. 俊野敦子, 岡本茂樹, 島村一郎, 宮本二美, 原 祐子, 見玉俊夫, 大橋裕一 (1998) プロスタグランジン F_{2α} イソプロピルウノプロストン点眼薬による角膜上皮障害の発症メカニズム. *日眼会誌* 102: 101-105
9. Kaufman HE, Varnell ED, Thompson HW (1999) Latanoprost increases the severity and recurrence of herpetic keratitis in the rabbit. *Am J Ophthalmol* 127: 531-536
10. Wand M, Girbert CM, Liesegang TJ (1999) Latanoprost and herpes simplex keratitis. *Am J Ophthalmol* 127: 602-604
11. Sudesh S, Cohen EJ, Rapuano CJ, Wilson RP (1999) Corneal toxicity associated with Latanoprost. *Arch Ophthalmol* 117: 539-540
12. 宮谷博史, 草田英嗣, 初田高明 (1988) 眼内レンズ挿入術後炎症に対するインドメタシン点眼の功罪. *臨眼* 42: 419-423
13. 山田昌和, 坪田一男, 永本敏之 (1990) 白内障術後のインドメタシン点眼が角膜上皮に及ぼす影響. *臨眼* 44: 455-459
14. 北大路 浩史, 中井義秀, 北大路 勢津子 (1991) 白内障術前術後の抗炎症剤ジクロフェナック点眼. *臨眼* 45: 171-174
15. 篠田 啓, 山田昌和, 永本敏之 (1997) デキサメタゾンとジクロフェナック点眼の白内障術後の抗炎症療法. *臨眼* 51: 141-145
16. Reviglio VE, Rana TS, Li Q, Ashraf MF, Daly MK, O'Brien TP (2000) Effect of topical nonsteroidal anti-inflammatory agents on the expression of matrix metalloproteinases in the cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41 [Suppl]: S901
17. 山田昌和, 蕪城晃子, 河合正孝 (1999) ジクロフェナックの点眼が涙液中 substance P 濃度に及ぼす影響について. *日眼会誌* 103: 84
18. 堀 隆光 (1997) サイトカインと COX-2. *炎症と免疫* 5: 21-27
19. Peppelenbosch MP, Tertoolen LGJ, Hage WJ, Laat SW (1993) Epidermal growth factor-induced actin remodeling is regulated by 5-lipoxygenase and cyclooxygenase products. *Cell* 74: 565-575
20. 大橋裕一 (1989) EGF (Epidermal Growth Factor) - 上皮細胞成長因子-. *眼紀* 40: 413-417
21. 三島 弘 (1997) フィブロネクチン, 表皮成長因子 (EGF) など. *臨眼* 51 (11): 53-56
22. Nishida T, Nakagawa S, Ohashi Y, Watanabe K, Manabe R (1987) Fibronectin promotes epithelial migration of cultured rabbit cornea in situ. *J Cell Biol* 97: 1653-1657
23. Jumblatt MM, Neufeld AH (1986) A tissue culture assay of corneal epithelial wound closure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27: 8-13
24. SchloetzerSchrehardt UM, Nuesing RM, Naumann GOH (2000) Immunolocalization of prostaglandin e2 and f2 alpha receptor proteins in human ocular tissues. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41(4) [Suppl]: S250
25. Wilson SE, Liang Q, Kim WJ (1999) Lacrimal gland HGF, KGF, and EGF mRNA levels increase after corneal epithelial wounding. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40: 2185-2190
26. Zieske JD, Takahashi H, Hutcheon AEK, Dalbone AC (2000) Activation of epidermal growth factor receptor during corneal epithelial migration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41: 1346-1355
27. Loftin CD, Eling TE (1996) Prostaglandin synthase 2 expression in epidermal growth factor-dependent proliferation of mouse keratinocytes. *Arch Biochem Biophys* 330: 419-429
28. Kang SS, Li T, Xu D, Reinach PS, Lu L (2000) Inhibitory effect of PGE₂ on EGF-induced MAP kinase activity and rabbit corneal epithelial proliferation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41: 2164-2169
29. Levine L, Hassid A (1977) Epidermal growth factor stimulates prostaglandin biosynthesis by canine kidney (MDCK) cells. *Biochem Biophys Res Commun* 76: 1181-1187