

増殖性網膜硝子体疾患における癥痕収縮に対するスタチンの強力な阻害効果

Potent Inhibition of Cicatricial Contraction in Proliferative Vitreoretinal Diseases by Statins

川原周平*

はじめに

増殖糖尿病網膜症や増殖硝子体網膜症といった増殖性網膜硝子体疾患は、重篤な視力障害の原因の一つである¹⁾。これらの疾患では、過度の創傷治癒や線維化によって網膜面上に増殖膜が形成される。増殖膜は硝子体中にも伸展していき、やがて収縮して牽引性の網膜剝離をひき起こす²⁾。近年、これらの疾患に対する手術的アプローチ、つまり硝子体手術の技術と手術器具は格段に進歩したが、術後の再増殖や増殖膜癥痕収縮に伴う牽引性網膜剝離によってまだまだ治療の成功は妨げられている³⁾。したがって、手術療法の補助となる、もしくは手術療法に取って代わるような新しい薬物による治療が必要なのではないかと考えられる。以前筆者らは、Rho kinase 経路は TGF (形質転換成長因子)- β 2 刺激によるミオシン軽鎖 (MLC) のリン酸化や硝子体細胞を包埋したコラーゲンゲルの収縮に関わっており、Rho kinase

の強力な阻害剤であるファスジルが有意にそれらを抑制するということを報告した⁴⁾。本研究では、ウシ眼球から採取した硝子体細胞を用いて TGF- β 2 や硝子体サンプル刺激による MLC のリン酸化やコラーゲンゲル収縮に対するスタチンの抑制効果を検討した。また、増殖硝子体網膜症動物モデルを用いてスタチンがその治療薬となり得るかを *in vivo* で検討した。

I 増殖膜と硝子体細胞

増殖膜は硝子体細胞や網膜色素上皮細胞、グリア細胞、線維芽細胞様細胞などさまざまな種類の細胞から構成されているといわれているが、はっきりした由来は不明なことが多い⁵⁻⁸⁾。なかでも硝子体細胞は α -SMA (smooth muscle actin) を発現する筋線維芽細胞へと形質転換し、強力な収縮作用を有することから有力な構成細胞と考えられる。硝子体細胞は多数の細胞突起とライ

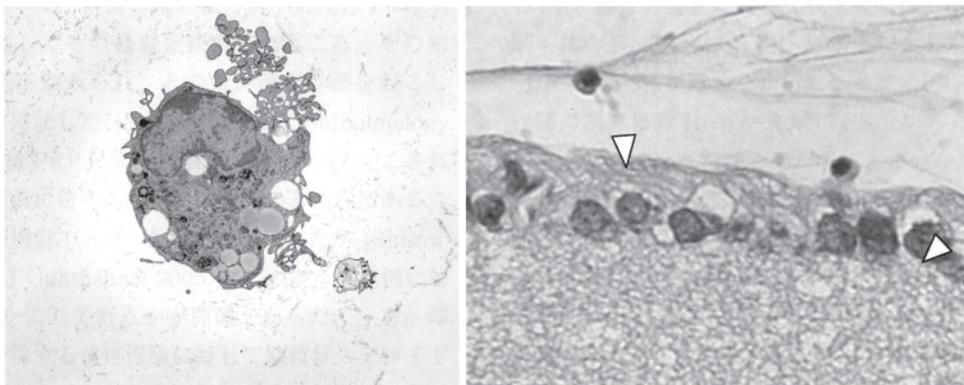


図1 硝子体細胞の電子顕微鏡像と組織像 [矢頭 (▽) は硝子体細胞を示す]

* Shuhei Kawahara : 九州大学大学院医学研究院眼科学分野
[別刷請求先] 川原周平 : 〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1 九州大学大学院医学研究院眼科学分野

ソゾーム顆粒, 粗面小胞体を有し, 形態学的にマクロファージ由来であると考えられる⁹⁾(図1). 生理的な状態では, 硝子体細胞はおもに硝子体皮質に存在しており硝子体の透明性維持のための役割を担う^{10,11)}. しかし, 病的状態では, 硝子体細胞は特発性黄斑上膜や黄斑円孔, 糖尿病黄斑浮腫といった硝子体網膜界面疾患の原因となっている¹²⁾. 糖尿病患者では健常者よりも硝子体細胞の数が増えており, 形態も異なっていると報告されている¹³⁾.

II 形質転換成長因子 (TGF- β)

TGF- β は組織の線維化において重要な役割を果たす. TGF- β には3つのアイソフォームがあり, そのなかでも TGF- β 2 は硝子体中に最も多く存在している^{14,15)}. その役割としては細胞増殖, 遊走, 形質転換, 細胞外マトリックス産生, ストレスファイバーの形成とその収縮といったものがあげられる^{4,16)}. TGF- β 2 で硝子体細胞を刺激すると α -SMA を発現するようになり, 強力な収縮作用を持つ筋線維芽細胞へ形質転換を起こすことが

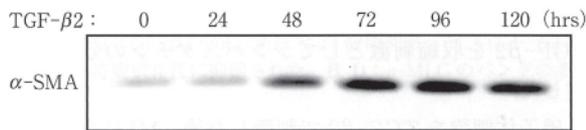


図2 TGF- β 2 による筋線維芽細胞への形質転換
硝子体細胞を TGF- β 2 で刺激すると48時間から α -SMA の発現が亢進する. α -SMA は筋線維芽細胞に特異的に発現するため形質転換の指標となる.

わかる(図2). この形質転換は増殖膜の収縮において非常に重要である. 実際に TGF- β 2 は増殖糖尿病網膜症や増殖硝子体網膜症の硝子体においてより多く発現しており, これらの疾患における眼内の線維組織の形成とその収縮に密接に関連していることが考えられる¹⁵⁻²⁰⁾(図3A).

コラーゲンゲル収縮アッセイは増殖膜の収縮を評価する実験系として非常に有用である. I型コラーゲンに細胞を包埋してコラーゲンゲルを作製し, これに収縮刺激を加えると収縮した細胞にコラーゲンゲルが牽引されてゲルは収縮する. この収縮したコラーゲンゲルの直径を測定することで収縮の程度を評価できるものである. コラーゲンゲル収縮アッセイを用いて増殖膜収縮における TGF- β 2 の役割について検討を行った. 硝子体細胞を包埋したコラーゲンゲルを手術の際に患者より採取した硝子体サンプルで刺激すると, コラーゲンゲルは収縮する(図3B, C). しかし, その硝子体サンプルを抗 TGF- β 2 抗体で前処置し TGF- β 2 の作用を失効させると著明にその収縮が抑制される. このことから硝子体中における増殖膜の収縮では TGF- β 2 が非常に重要な役割を果たしていることが考えられる.

III Rho/Rho kinase 経路

増殖膜の収縮はおもに Rho/Rho kinase 経路を介して行われると考えられる. Rho は低分子量 G 蛋白の一つであり, Rho kinase を介して細胞の接着, 細胞骨格の再構築, ストレスファイバー形成とその収縮にかかわ

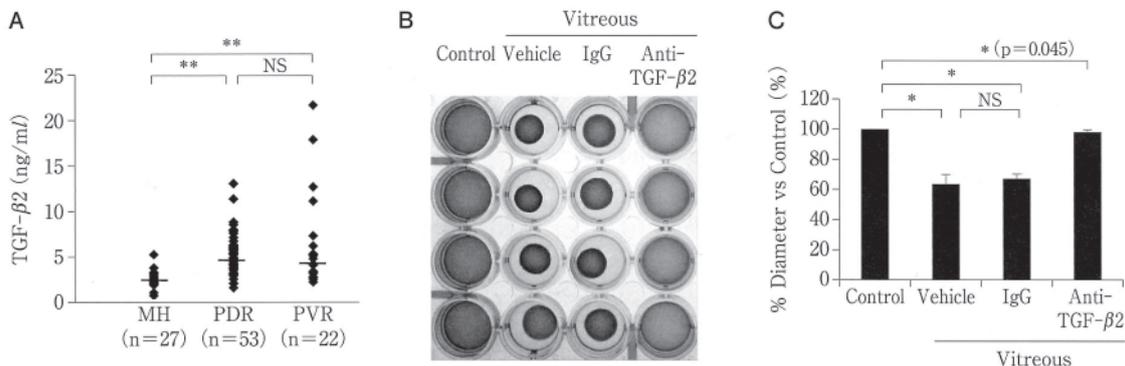


図3 硝子体中 TGF- β 2 濃度と収縮におけるその役割

A: 硝子体中の TGF- β 2 濃度を ELISA 法で測定. 非増殖性疾患 [黄斑円孔 (MH)] に比べて増殖性網膜硝子体疾患 [増殖糖尿病網膜症 (PDR), 増殖硝子体網膜症 (PVR)] の硝子体中 TGF- β 2 濃度は有意に高かった. ** $p < 0.01$ vs MH. B: 硝子体細胞を包埋したコラーゲンゲルを増殖性網膜硝子体疾患の硝子体サンプルで刺激するとコラーゲンゲルは徐々に収縮する. 写真は5日目のもの. 同じ硝子体サンプルを抗 TGF- β 2 抗体で前処理したものではコラーゲンゲルの収縮は著明に抑制された. C: コラーゲンゲルの直径をパーセントで表示. * $p < 0.05$. NS: 有意差なし. (Vehicle: 溶媒)

ている²¹⁻²⁵). 収縮刺激が加わると Rho は細胞膜上で GTP (グルタミルトランスベプターゼ) 結合型から GDP (グラノシン三リン酸) 結合型へと変化し下流のエフェクター分子である Rho kinase を活性化する. 活性化した Rho kinase は MLC を直接, または MLC フォスファターゼを介して間接的にリン酸化する. さらにリン酸化された MLC はアクチンと架橋を形成し収縮をひき起こす^{24,25}). このように収縮は Rho/Rho kinase 経路を介した MLC のリン酸化によって起こるため, 本研究ではリン酸化 MLC を収縮の指標とした.

IV スタチン

スタチンは 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl (HMG)-CoA 還元酵素阻害剤であり, コレステロール産生を抑制し高脂血症を改善する薬として広く使われている. HMG-CoA は mevalonate 経路の上流に位置し, mevalonate に変換された後, いくつかのステップを経てコレステロールへと変化する²⁶) (図 4). スタチンは HMG-CoA 還元酵素を阻害することでこの mevalonate 経路をブロックし, コレステロールの産生を抑制する薬物である. スタチンはその生成法から natural 型 (ロバスタチン, プラバスタチン), semi-synthetic 型 (シンバスタチン), そして synthetic 型 (アトルバスタチン, フラバスタチン, セリバスタチン) の 3 つの種類に分類される. 本稿ではそのなかからシンバスタチンの効果について述べる. 近年, スタチンにはコレステロール低下作用以外にもさまざまな多面的効果があることが知られており, なかでも冠動脈疾患や糖尿病などを合併したハイリスク患者の心血管イベントを減少させる効果がある

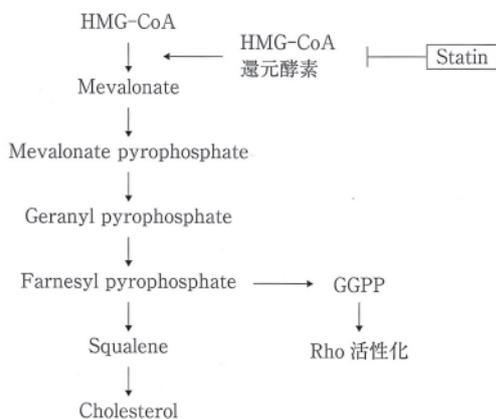


図 4 Cholesterol 産生経路と副産物

ことは有名である²⁷). その他にも, スタチンは骨粗鬆症²⁸) や癌の増大および転移といったものにまで効果があると報告されている^{29,30}).

Mevalonate 経路のもう一つの産物として geranylgeranylpyrophosphate (GGPP) がある. Rho は細胞膜に移行することではじめて活性化する³¹) が, GGPP は GTP 結合蛋白である Rho を細胞膜に接着させる脂質アタッチメントとして働くため, Rho の活性化および Rho/Rho kinase 経路の活性化には必須の物質といえる³²). スタチンは mevalonate 経路を制御することで GGPP の産生も抑制するため, Rho/Rho kinase 経路の活性化も阻害する. したがってスタチンは Rho/Rho kinase 経路を介した増殖膜の収縮を抑制できるのではないかと考えられた.

V TGF- β 2 による収縮反応に対するシンバスタチンの抑制効果

硝子体中にはさまざまなサイトカインが含まれておりそれぞれが複雑に作用しあっている. なかでも TGF- β 2 は先に述べたように硝子体中における増殖膜の収縮において非常に大きな役割を果たしている. ここでは TGF- β 2 を収縮刺激としてシンバスタチンの効果を検討した.

硝子体細胞を TGF- β 2 で刺激した後, MLC のリン酸化を Western blot 法で評価したところ MLC のリン酸化は著明に亢進していた. しかし, TGF- β 2 刺激前にシンバスタチンを添加したものでは濃度依存性かつ時間依存性にそのリン酸化が抑制された (図 5). つぎに, コラーゲンゲル収縮アッセイでシンバスタチンの効果を評価した. 硝子体細胞を包埋したコラーゲンゲルを TGF- β 2 で刺激するとゲルは徐々に収縮する. シンバスタチンを添加するとその収縮は濃度依存性に抑制され一定の濃度以上では完全に収縮を抑制した (図 6).

Rho/Rho kinase 経路の活性化過程では Rho が GGPP を介して細胞質から細胞膜に移行している. したがって硝子体細胞を TGF- β 2 で刺激すると Rho/Rho kinase 経路が活性化し細胞膜と結合した Rho が増加する (図 7). ところが, シンバスタチンを添加したものでは Rho の細胞膜移行は著明に抑制されており, Rho/Rho kinase 経路の活性化が阻害された状態であることがわかる. さらに GGPP の下流にある mevalonate を添加したのでは, シンバスタチンの抑制効果が得られなかつ

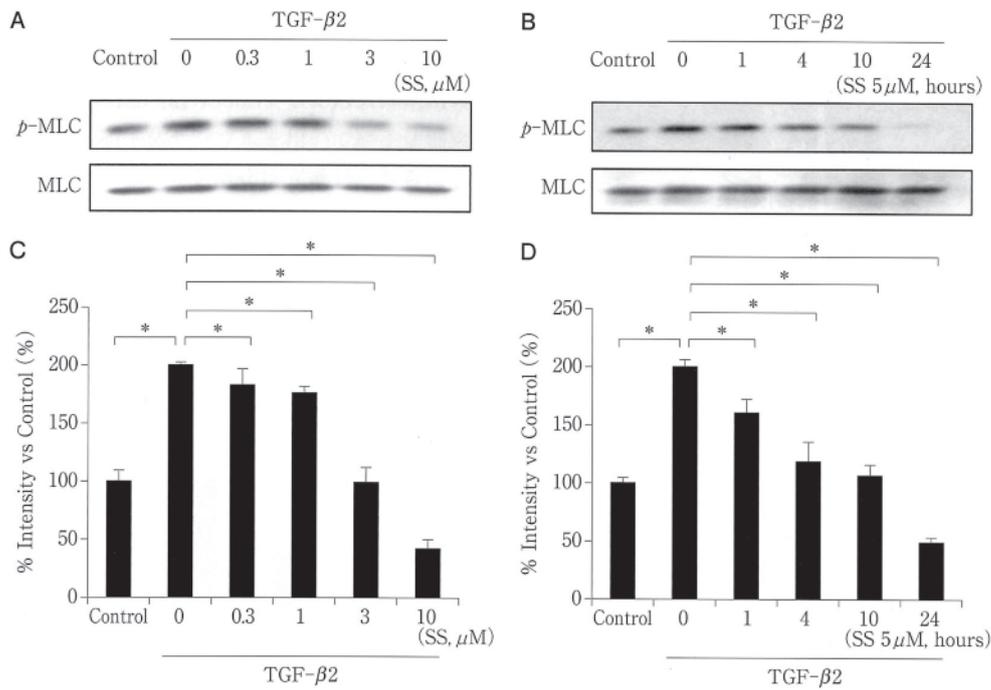


図5 TGF-β2刺激でのMLCリン酸化に対するシンバスタチン(SS)の抑制効果

A: 硝子体細胞をシンバスタチンで30分間前処置したのちTGF-β2 (3 ng/ml) で24時間刺激した。細胞のライセートを抽出し抗p-MLC抗体を用いてWestern blot法で分析した。TGF-β2刺激によってMLCのリン酸化は亢進するが、そのリン酸化はシンバスタチンによって濃度依存性に抑制された。C: 硝子体細胞を5 μMのシンバスタチンで前処置したのちTGF-β2 (3 ng/ml) で24時間刺激した。TGF-β2刺激によって亢進したMLCのリン酸化はシンバスタチンによって時間依存性に抑制された。B, D: p-MLCのバンドの濃さはMLCで補正。*p<0.05。

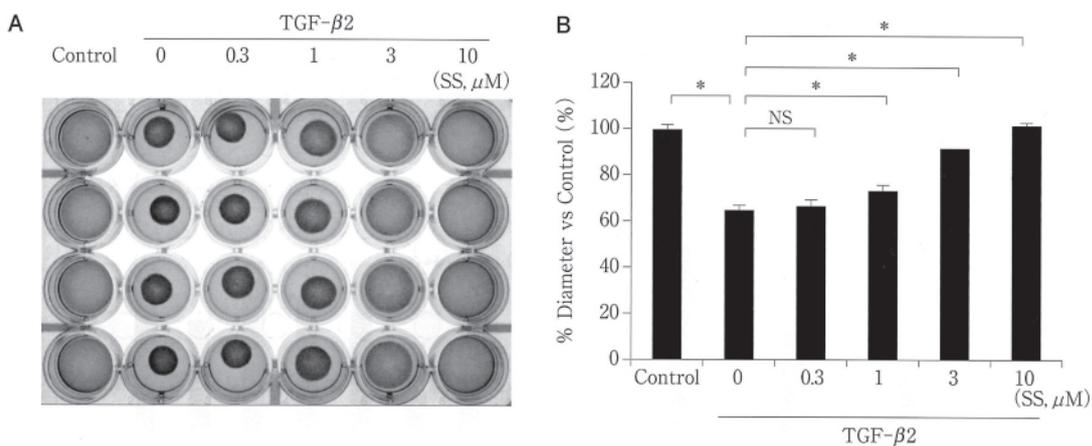


図6 TGF-β2刺激による硝子体包埋コラーゲンゲルの収縮に対するシンバスタチンの抑制効果

A: 硝子体細胞をコラーゲンゲルに包埋し、TGF-β2 (3 ng/ml) で刺激を行った。シンバスタチンで前処置したものは濃度依存性に収縮が抑制された。写真は刺激から5日目のもの。B: コラーゲンゲルの直径をパーセントで表示。*p<0.05, NS: 有意差なし。

た。このことからシンバスタチンはHMG-CoAからmevalonateへの転換を阻害することでその効果を発揮していることが確認できる。

VI 硝子体サンプルによる収縮反応に対するシンバスタチンの抑制効果

TGF- β 2によって収縮反応が起こり、それはシンバスタチンによって抑制できることは証明できた。しかし、実際には硝子体中にはさまざまなサイトカインが存在しているため、収縮においてはTGF- β 2が最も重要な存在であるとはいえ他のサイトカインの影響も考えな

くてはならない。硝子体中に存在するサイトカインのなかでも、IGF(インスリン成長因子)-1やPDGF(血小板由来成長因子)、endothelin familyは細胞外マトリッ

図7 Rhoの細胞膜移行に対するシンバスタチンの抑制効果
A: 硝子体細胞をmevalonate(Mev)とシンバスタチンで前処置したのち、TGF- β 2(3ng/ml)で24時間刺激を行った。細胞膜蛋白を分離しWestern blot法で評価した。TGF- β 2によって細胞膜に局在するRhoは増加したがシンバスタチンで前処置するとその増加は抑制された。**B:** バンドの濃さをパーセントで表示。* p <0.05, NS:有意差なし。(Vehicle: 溶媒, membrane: 細胞膜)

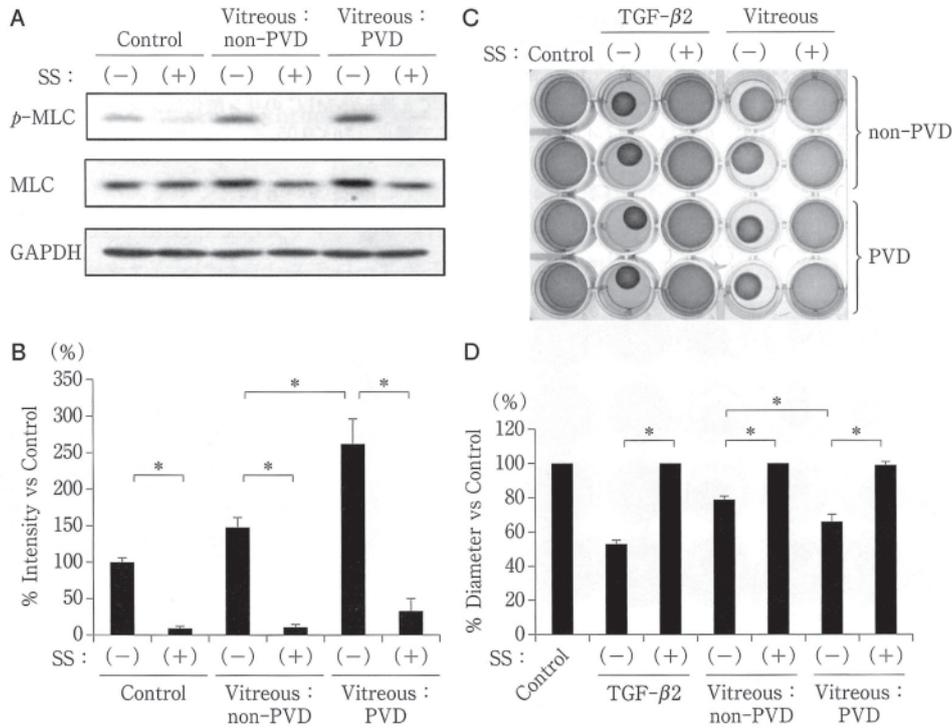
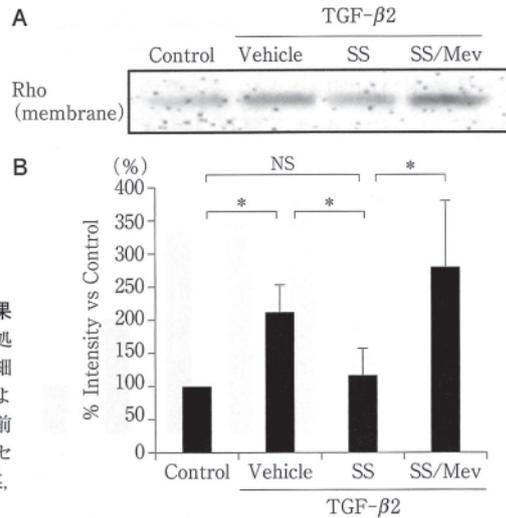


図8 硝子体サンプル刺激によるMLCリン酸化とコラーゲンゲル収縮に対するシンバスタチンの抑制効果
A: 硝子体細胞を硝子体サンプルで刺激するとMLCのリン酸化が亢進する。シンバスタチンで前処置するとMLCのリン酸化は著明に抑制された。**B:** p-MLCのバンドの濃さはGAPDH(グリセルアルデヒド3リン酸脱水素酵素)で補正。**C:** 硝子体細胞を包埋したコラーゲンゲルを硝子体サンプルで刺激するとコラーゲンゲルは収縮するが、シンバスタチンで前処置したものではほぼ完全に収縮が抑制された。写真は刺激後5日目のもの。**D:** コラーゲンゲルの直径をパーセントで表示。* p <0.05。(non-PVD: 非増殖性疾患, PVD: 増殖性網膜硝子体疾患)

クスの収縮を誘導するといわれている^{4,33,34}。したがって実際の臨床において収縮の場となっている硝子体でのシンバスタチンの効果を検討する必要がある。手術の際に患者より採取した硝子体サンプルを用いて硝子体細胞を刺激したところMLCのリン酸化は亢進し、さらにそのリン酸化は特に非増殖性疾患よりも増殖性網膜硝子体疾患の硝子体サンプルにおいて強く認められた(図8 A, B)。ところがシンバスタチンを添加したものではどちらの硝子体サンプルでもMLCのリン酸化は著明に抑制された。同様に硝子体サンプルでコラーゲンを刺激すると、コラーゲンは徐々に収縮した。また、その収縮は非増殖性疾患よりも増殖性網膜硝子体疾患において有意に強くみられた。さらに、この収縮反応はシンバスタチンを添加することでほぼ完全に抑制することができた(図8 C, D)。シンバスタチンは硝子体サンプルによってひき起こされた収縮反応をほぼ完全に抑制したことから、IGF-1やPDGF, endothelin familyといった他のサイトカインによるRho/Rho kinase経路を介した作用も抑制することができると考えられる。

VII シンバスタチンの増殖硝子体網膜症の進行抑制効果 (in vivo)

*In vitro*におけるシンバスタチンの効果が検証できたところで、つぎにウサギの眼に実験的増殖硝子体網膜症を作製し、*in vivo*におけるシンバスタチンの効果を検討した。実験的増殖硝子体網膜症は既報の方法³⁵によって作製し、作製と同時に硝子体内に溶媒のみ、またはシンバスタチンの投与を行った。その後も1, 3, 5, 7日目にシンバスタチンの硝子体内投与を行った。増殖硝子体網膜症の病態はFastenbergらの分類³⁶に従い、つぎのようにステージングした。Stage 1: 硝子体中の増殖膜形成, stage 2: 局所的な網膜牽引, 局所的な血管変化(充血, 怒張, 拡張, 血管隆起), stage 3: medullary rayの局所的剥離, stage 4: 重度の網膜剥離, medullary rayの全剥離, 周辺網膜剥離, stage 5: 全網膜剥離。溶媒のみを投与したコントロール眼では徐々に増殖硝子体網膜症が進行し、増殖膜形成とその収縮による網膜剥離を認めた(図9A)。それに対し、5 μ Mと15 μ Mのシンバスタチンを投与した群では増殖硝子体網膜症の進行が有意に抑制された(図9C)。シンバスタチンの投与によって増殖膜の収縮は抑制され、さらに、眼内に形成された増殖膜もコントロール群に比べて薄く

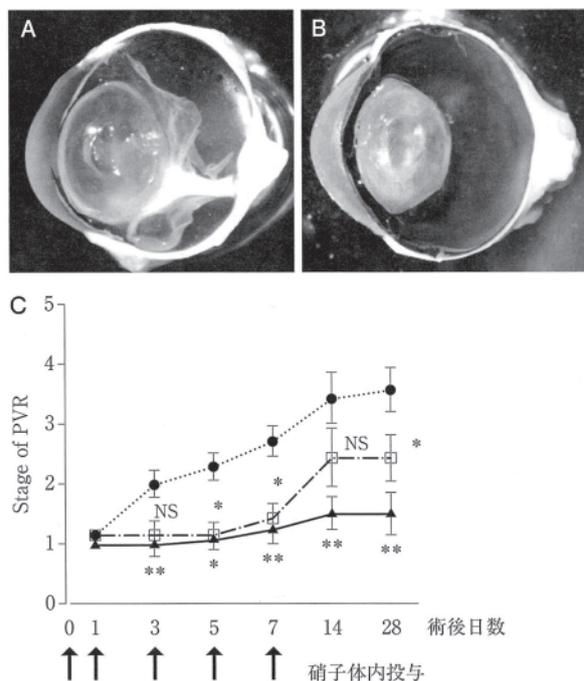


図9 ウサギ眼に作製した実験的増殖硝子体網膜症に対するシンバスタチンの抑制効果

A: 28日目の増殖硝子体網膜症眼(溶媒投与, stage 5)。硝子体腔に増殖膜の形成がみられ、網膜の牽引が起こり網膜剥離を認める。B: シンバスタチン(15 μ M)を投与したstage 1の増殖硝子体網膜症眼。薄い増殖膜が認められたが、牽引性網膜剥離は認めない。C: シンバスタチンを投与した群では有意に病態の進行が抑制された。●: 溶媒, □: 5 μ M シンバスタチン, ▲: 15 μ M シンバスタチン。 ** p <0.01, * p <0.05, NS: 有意差なし。

目立たなかった(図9B)。したがって、シンバスタチンは増殖膜の癒着収縮を抑制する効果に加えて、増殖膜の形成と成長を抑制する効果があるようである。シンバスタチンの眼内投与を7日目でストップし病態の進行を観察したところ、5 μ Mのシンバスタチンを投与した群では軽度網膜症の進行がみられたが、15 μ Mのシンバスタチンを投与した群では有意な網膜症の進行は認めなかった。有意ではなかったが完全には進行を抑制しえなかった理由として、硝子体中でのシンバスタチンの半減期の問題があると考えられる。そのため、硝子体中のシンバスタチン濃度を効果的に一定に保つためには、頻回に硝子体内注射をするか、もしくは長期間ゆっくり徐放されるドラッグデリバリーシステムを用いる必要がある。

シンバスタチンの臨床応用を考えた場合、網膜に対する毒性についても検討しておく必要がある。そこでシンバスタチンを投与したウサギ眼で網膜電図検査を行い、

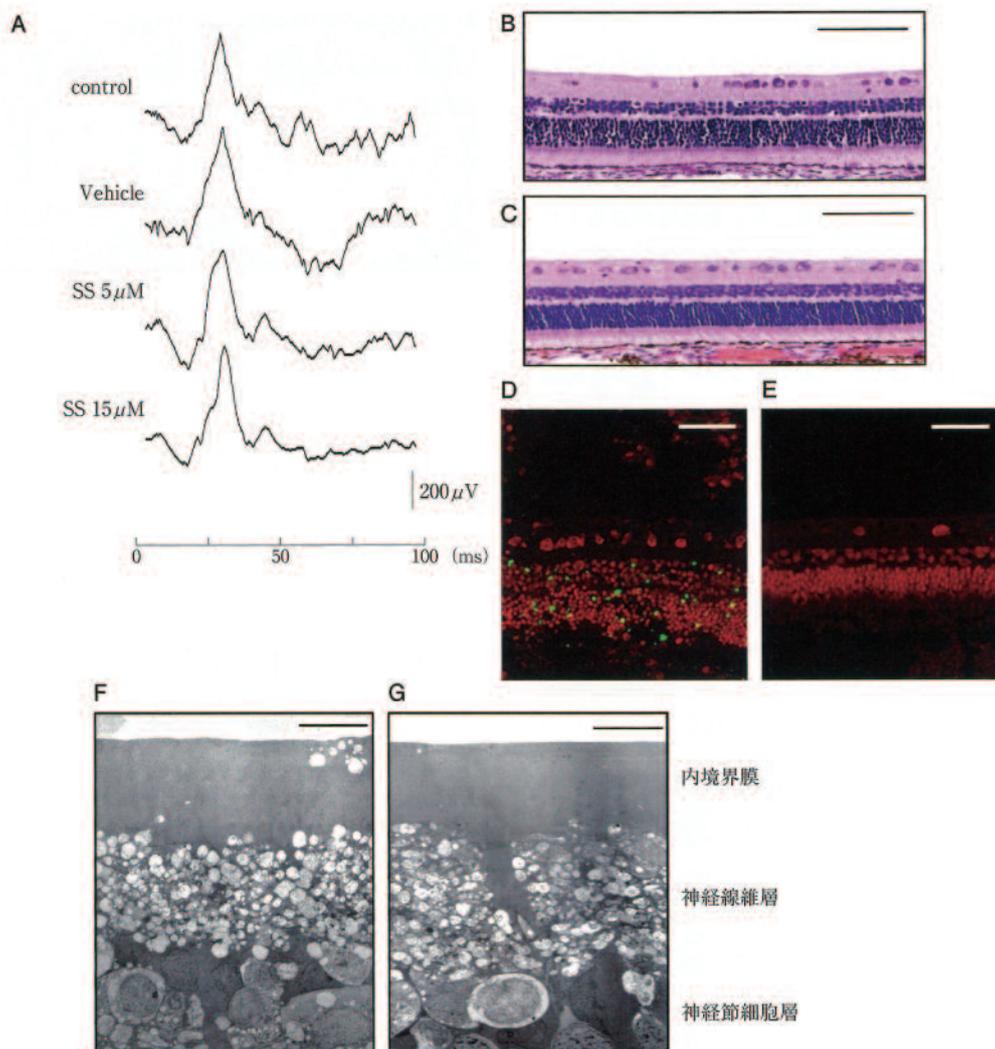


図 10 シンバスタチンを投与した眼の生理学的, 形態学的検査

A: 28 日目の網膜電図. B: 無処置のウサギ眼の光学顕微鏡像. C: シンバスタチン (15 μM) を投与された眼の光学顕微鏡像. Scale bar: 100 μm. D: TUNEL 法のポジティブコントロール. E: シンバスタチン (15 μM) を投与した眼. Scale bar: 50 μm. F: 無処置のウサギ眼の電子顕微鏡像. G: シンバスタチンを投与した眼の電子顕微鏡像. Scale bar: 10 μm. (Vehicle: 溶媒)

機能的異常の有無を調べたがコントロールとの間で差はなかった。また実験終了後に眼球を摘出し光学顕微鏡検査、透過電子顕微鏡検査を行ったが形態的、組織学的異常は認めなかった。TUNEL アッセイでもアポトーシスやネクローシスは亢進していなかった (図 10)。したがって、本研究で用いた濃度においてはシンバスタチンの明らかな毒性はないものと考えられる。

おわりに

近年、トリアムシノロンや抗 VEGF (血管内皮増殖因

子) 薬など薬物治療に対する関心が高まっている。これらの薬剤によってある程度の段階の病態ではその進行を抑制することが可能である。しかし、いったん病態が進行し増殖性の変化をきたした症例では手術を避けられない。なかには再手術をもってしても著しい視力低下や失明に至ってしまうことも稀ではない。このような症例をできるだけ減らしていくのがわれわれ眼科医の責務であり今後さらに研究が行われていくべき領域の一つであると思われる。

文 献

- 1) Pastor JC, de la Rúa ER, Martin F : Proliferative vitreoretinopathy : risk factors and pathobiology. *Prog Retin Eye Res* **21** : 127-144, 2002
- 2) Friedlander M : Fibrosis and diseases of the eye. *J Clin Invest* **117** : 576-586, 2007
- 3) Pastor JC : Proliferative vitreoretinopathy : an overview. *Surv Ophthalmol* **43** : 3-18, 1998
- 4) Hirayama K, Hata Y, Noda Y et al : The involvement of the rho-kinase pathway and its regulation in cytokine-induced collagen gel contraction by hyalocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **45** : 3896-3903, 2004
- 5) Campochiaro PA : Pathogenic mechanisms in proliferative vitreoretinopathy. *Arch Ophthalmol* **115** : 237-241, 1997
- 6) Jerdan JA, Pepose JS, Michels RG et al : Proliferative vitreoretinopathy membranes. An immunohistochemical study. *Ophthalmology* **96** : 801-810, 1989
- 7) Viores SA, Campochiaro PA, Conway BP : Ultrastructural and electron-immunocytochemical characterization of cells in epiretinal membranes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **31** : 14-28, 1990
- 8) Machemer R, Laqua H : Pigment epithelium proliferation in retinal detachment (massive periretinal proliferation). *Am J Ophthalmol* **80** : 1-23, 1975
- 9) Lazarus HS, Hageman GS : In situ characterization of the human hyalocyte. *Arch Ophthalmol* **112** : 1356-1362, 1994
- 10) Grabner G, Boltz G, Forster O : Macrophage-like properties of human hyalocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **19** : 333-340, 1980
- 11) Mitchell CA, Risau W, Drexler HC : Regression of vessels in the tunica vasculosa lentis is initiated by coordinated endothelial apoptosis : a role for vascular endothelial growth factor as a survival factor for endothelium. *Dev Dyn* **213** : 322-333, 1998
- 12) Kampik A, Kenyon KR, Michels RG et al : Epiretinal and vitreous membranes. Comparative study of 56 cases. *Arch Ophthalmol* **99** : 1445-1454, 1981
- 13) Faulborn J, Dunker S, Bowald S : Diabetic vitreopathy—findings using the celloidin embedding technique. *Ophthalmologica* **212** : 369-376, 1998
- 14) Pfeffer BA, Flanders KC, Guerin CJ et al : Transforming growth factor beta 2 is the predominant isoform in the neural retina, retinal pigment epithelium-choroid and vitreous of the monkey eye. *Exp Eye Res* **59** : 323-333, 1994
- 15) Connor TB Jr, Roberts AB, Sporn MB et al : Correlation of fibrosis and transforming growth factor-beta type 2 levels in the eye. *J Clin Invest* **83** : 1661-1666, 1989
- 16) Gamulescu MA, Chen Y, He S et al : Transforming growth factor beta2-induced myofibroblastic differentiation of human retinal pigment epithelial cells : regulation by extracellular matrix proteins and hepatocyte growth factor. *Exp Eye Res* **83** : 212-222, 2006
- 17) Kita T, Hata Y, Kano K et al : Transforming growth factor-beta 2 and connective tissue growth factor in proliferative vitreoretinal diseases : possible involvement of hyalocytes and therapeutic potential of Rho kinase inhibitor. *Diabetes* **56** : 231-238, 2007
- 18) Ando A, Ueda M, Uyama M et al : Enhancement of dedifferentiation and myoid differentiation of retinal pigment epithelial cells by platelet derived growth factor. *Br J Ophthalmol* **84** : 1306-1311, 2000
- 19) Viores SA, Henderer JD, Mahlow J et al : Isoforms of platelet-derived growth factor and its receptors in epiretinal membranes : immunolocalization to retinal pigmented epithelial cells. *Exp Eye Res* **60** : 607-619, 1995
- 20) Jester JV, Ho-Chang J : Modulation of cultured corneal keratocyte phenotype by growth factors/cytokines control in vitro contractility and extracellular matrix contraction. *Exp Eye Res* **77** : 581-592, 2003
- 21) Hall A : Rho GTPases and the actin cytoskeleton. *Science* **279** : 509-514, 1998
- 22) Paterson HF, Self AJ, Garrett MD et al : Microinjection of recombinant p21rho induces rapid changes in cell morphology. *J Cell Biol* **111** : 1001-1007, 1990
- 23) Takaishi K, Sasaki T, Kato M et al : Involvement of Rho p21 small GTP-binding protein and its regulator in the HGF-induced cell motility. *Oncogene* **9** : 273-279, 1994
- 24) Kureishi Y, Kobayashi S, Amano M et al : Rho-associated kinase directly induces smooth muscle contraction through myosin light chain phosphorylation. *J Biol Chem* **272** : 12257-12260, 1997
- 25) Amano M, Chihara K, Kimura K et al : Formation of actin stress fibers and focal adhesions enhanced by Rho-kinase. *Science* **275** : 1308-1311, 1997
- 26) Graaf MR, Richel DJ, van Noorden CJ et al : Effects of statins and farnesyltransferase inhibitors on the development and progression of cancer. *Cancer Treat Rev* **30** : 609-641, 2004
- 27) MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals : a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* **360** : 7-22, 2002
- 28) Coons JC : Hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors in osteoporosis management. *Ann Pharmacother* **36** : 326-330, 2002
- 29) Campbell MJ, Esserman LJ, Zhou Y et al : Breast cancer growth prevention by statins. *Cancer Res* **66** : 8707-8714, 2006
- 30) Matar P, Rozados VR, Binda MM et al : Inhibitory effect of Lovastatin on spontaneous metastases derived from a rat lymphoma. *Clin Exp Metastasis* **17** : 19-25, 1999
- 31) Van Aelst L, D'Souza-Schorey C : Rho GTPases and signaling networks. *Genes Dev* **11** : 2295-2322, 1997
- 32) Laufs U, Liao JK : Post-transcriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase mRNA stability by Rho GTPase. *J Biol Chem* **273** : 24266-24271, 1998
- 33) Guidry C, Hook M : Endothelins produced by endothelial cells promote collagen gel contraction by fibroblasts. *J Cell Biol* **115** : 873-880, 1991
- 34) Guidry C : Tractional force generation by porcine Muller cells. Development and differential stimulation by growth factors. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **38** : 456-468, 1997
- 35) Dong X, Chen N, Xie L et al : Prevention of experimental proliferative vitreoretinopathy with a biodegradable intravitreal drug delivery system of all-trans retinoic acid. *Retina* **26** : 210-213, 2006
- 36) Fastenberg DM, Diddie KR, Dorey K et al : The role of cellular proliferation in an experimental model of massive periretinal proliferation. *Am J Ophthalmol* **93** : 565-572, 1982