

抗眼底新生血管药物的研究进展

姚燕鸿, 张琼, 王玲

基金项目: 中国上海市科委基础重点资助项目 (No. 08JC1415600); 中国上海市重点学科建设资助项目 (No. S30205)

作者单位: (200025) 中国上海市, 上海交通大学医学院附属瑞金医院眼科

作者简介: 姚燕鸿, 在读硕士研究生, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 王玲, 博士, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 眼底病、视觉电生理. lwang@rjeye.com

收稿日期: 2010-04-09 修回日期: 2010-04-30

Recent advance of the study on the anti-neovascular drugs for fundus diseases

Yan-Hong Yao, Qiong Zhang, Ling Wang

Foundation item: Key Based Projects of Shanghai Science Committee, China (No. 08JC1415600); Key Discipline Construction Project of Shanghai, China (No. S30205)

Department of Ophthalmology, Ruijin Hospital of Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

Correspondence to: Ling Wang. Department of Ophthalmology, Ruijin Hospital of Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China. lwang@rjeye.com

Received: 2010-04-09 Accepted: 2010-04-30

Abstract

• Retina and choroid neovascularization (NV) may induce vitreous hemorrhage, subretinal hemorrhage and tractional retinal detachment and usually result in poor vision. It is often seen in the eyes with age-related macular degeneration (AMD), diabetic retinopathy (DR), retinal vein occlusions (RVO) and retinopathy of prematurity (ROP). At present, drugs of NV mainly target the different phases of the angiogenesis and suppress its growth. We discuss the present anti-neovascular drugs which are used on clinic or under the clinical trial.

• **KEYWORDS:** neovascularization; anti-neovascular drugs; retina; choroid

Yao YH, Zhang Q, Wang L. Recent advance of the study on the anti-neovascular drugs for fundus diseases. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2010;10(5):901-904

摘要

视网膜和脉络膜新生血管可引发玻璃体出血、视网膜下出血、牵引性视网膜脱离等, 从而危害患眼视力。这类病变常见于老年性黄斑变性 (age related macular degeneration, AMD)、糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR)、视网膜静脉阻塞 (retinal vein occlusions, RVO)、早产儿视网膜病变 (retinopathy of prematurity, ROP) 等眼底病。当前, 药物治疗新生血管 (neovascularization, NV) 主要是针对 NV 生成的不同阶段抑制其生长。本文综述了目前已用于临

床及正在进行临床试验的治疗眼底新生血管的药物。

关键词: 新生血管形成; 抗新生血管药物; 视网膜; 脉络膜
DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2010.05.025

姚燕鸿, 张琼, 王玲. 抗眼底新生血管药物的研究进展. *国际眼科杂志* 2010;10(5):901-904

0 引言

视网膜和脉络膜病理性血管生长可引发一系列临床病理改变, 如: 玻璃体出血、视网膜下出血、牵引性视网膜脱离等, 这些改变严重威胁患眼视力。这类病变常见于 AMD, DR, RVO, ROP 等眼底病。目前眼科治疗新生血管 (NV) 的方法有: (1) 手术治疗: 如玻璃体切除手术; (2) 激光治疗: 如激光光凝治疗、光动力学治疗 (photodynamic therapy, PDT)、经瞳孔温热疗法 (transpupillary thermotherapy, TTT); (3) 放射疗法: 如低剂量放射治疗等; (4) 药物治疗: 药物途径主要是针对 NV 生成的不同阶段抑制其生长^[1]。我们主要讨论了目前已用于临床及正在进行临床试验的治疗眼底 NV 的药物。

1 皮质类固醇激素类

抗 NV 生成的激素通过改变毛细血管基底膜的构成, 抑制内皮细胞增殖和迁移, 调节血管生成过程中炎症细胞的参与。抗 NV 生成的激素主要有三类: 糖皮质激素、皮质醇代谢物和角鲨胺。

1.1 曲安奈德 曲安奈德 (triamcinolone acetonide, TA) 是一种人工合成的含氟长效肾上腺糖皮质激素, 有实验表明当培养的人视网膜色素上皮细胞 (retinal pigment epithelial, RPE) 处于缺氧应激状态下时, TA 能降低血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的表达, 从而起到抗 NV 的作用^[2,3]。也有实验提示玻璃体腔内注射 TA 能有效抑制 NV 的生长^[4]。这些都证明了 TA 在抗 NV 治疗中具有重要作用。目前临床上对 TA 的运用已从单独治疗转变到联合治疗, 如联合 PDT。近来, 有报道认为玻璃体腔内注射 TA 可作为 PDT 治疗 AMD 的辅助治疗, 可以减少 PDT 的治疗次数以及提高其疗效。联合治疗的理念基于 TA 作为一种类固醇激素, 能减少 PDT 治疗后的炎症及渗出反应, 与 PDT 在提高视力方面具有协同作用^[5,6]。研究发现, 就需要再次治疗的数量和视力改善的程度而言, PDT 联合 TA 治疗比单独用 PDT 治疗, 两次 PDT 治疗间隔时间更长, 且联合治疗更有益于视力提高^[7,9]。然而, 玻璃体腔注射 TA 具有以下并发症: 大约 19%~43% 的患者注射 TA 后 1~3mo 内眼压升高, 其中大约有 3% 的患者眼压不能由药物控制而需要行抗青光眼手术^[10]。一些年长的患者在 TA 注射后 1a, 由于晶状体后囊膜混浊或/和核性混浊需要行白内障手术。也有报道称 1/1 000 的患者出现感染性眼内炎, 有的由于对药物反应发生非感染性眼内炎, 还有前房出现药物结晶导致假性眼内炎发生^[11]。当视力下降时, 需要多次注射曲安奈德, 单次注射 20mg 作用大约可维持 6~9mo, 如单次注射 4mg 大约为 2~4mo。

1.2 乙酸阿奈可他 乙酸阿奈可他是一种抑制 NV 生成的激素衍生物,但它不具有类固醇激素的活性,其代谢产物也无副作用,这就降低了眼内压升高以及促白内障发展的风险^[12]。它仅抑制发育成熟初期的血管生长,对已生长成熟的血管无抑制作用。有实验表明,在 AMD 患者治疗时,乙酸阿奈可他 15mg 球后注射组较安慰剂组视力损失三行以下的患者有统计学意义上的减少,且血管造影显示该剂量可抑制局部 NV 生长^[13]。三期临床随机双盲试验比较了乙酸阿奈可他与 PDT 治疗 AMD 的安全性与其有效性,发现乙酸阿奈可他组和 PDT 组治疗后视力损失小于三行的患者比例分别是 45% 和 49%,不具有统计学差异,在两组中都未发现不良事件发生^[14]。

1.3 角鲨胺 角鲨胺是一种氨基类甾体类激素,由角鲨鱼的肝组织提取而来,具有抗肿瘤和选择性抑制 NV 形成的作用。它可以抑制 VEGF 的信号途径,同时抑制 VEGF 和整合素蛋白的表达,并可导致缺氧诱导的视网膜 NV 病变模型中 NV 的退化^[15]。有研究表明,角鲨胺可抑制丝裂原诱导的血管内皮细胞的增生和迁移,然而对未激活的血管内皮细胞没有明显的作用^[16]。多个动物模型实验表明角鲨胺有抑制视网膜^[17]和脉络膜^[18] NV 形成的效果。目前全身使用角鲨胺治疗 AMD 眼的 CNV 正在进行二期临床试验中。

2 抗血管内皮生长因子相关药物

眼内的代谢异常促使 VEGF 产生, NV 的异常增生。目前抗 NV 形成的药物主要是抗 VEGF,从而达到抑制 NV 形成的目的。

2.1 Pegaptanib Pegaptanib (Macugen) 是一种大分子 VEGF 抑制剂,寡核苷酸适体,它可特异性结合 VEGF 的一种亚型——VEGF₁₆₅,阻止它与细胞表面的受体结合。该药已经在 2004 年得到 FDA 认证,用于治疗 AMD。VEGF₁₆₅ 是影响 NV 生长和血管通透性的 VEGF 初始亚型,是阻止 NV 形成的理想的目标。多中心研究已证实了 Macugen 治疗 AMD 有效。VISION 试验^[19]证明玻璃体腔内注射 Macugen 第 1 年能减少约 50% 患者的视力丢失,在治疗的第 2 年能稳定病情。Cunningham 等^[20]的试验显示,糖尿病视网膜病变患者用 Macugen 治疗后视力提高,黄斑水肿有所改善,且大约 50% 左右的患者不需要再行激光治疗。经对该药治疗 1a 与 2a 的患者比较,后者视力改善较前者更好,说明长期治疗对该病患者视力改善更有帮助^[21]。另有报道称玻璃体腔内注射 Macugen 能抑制 NV 生成,但不影响正常血管的生长,相比较注射 VEGFR1 的 Fc 片段,它作为一个诱导受体与所有的 VEGF 亚型结合,同时抑制了病理性及生理性的血管形成^[22]。目前并没有迹象表明性别、年龄、种族、虹膜颜色、造影显示的病理类型、损伤范围大小、基线视力等对治疗效果有影响^[23]。也没有发现该药具有全身毒性或与注射 VEGF 抑制剂相关的副作用^[19]。目前大多数眼科医生的治疗剂量为玻璃体腔内注射 Pegaptanib 每 6wk 1 次,0.3mg/次,共 48wk,9 次。

2.2 Ranibizumab Ranibizumab (Lucentis) 是一种人源性 VEGF-A 抗体 Fab 片段,已得到了 FDA 认证,且能结合所有活性形式的 VEGF-A (包括具有其生理活性的降解产物),防止它们与 VEGFR-1 及 VEGFR-2 结合,从而减少血管内皮细胞增殖和降低血管通透性,抑制 NV 生成。Lucentis 只是 VEGF-A 的抑制剂,并不抑制所有的 VEGF。VEGF-A 被认为是 NV 生成的两个重要方面——血管生成激活和血管通透性增加的重要调节因子,它还与 AMD 患

者 CNV 发展^[24]和糖尿病视网膜病变患者黄斑囊样水肿 (cystoid macular edema, CME) 发生^[25]有关。Lucentis 由于缺少抗体 Fc 片段,所以可以减少眼部炎症反应的发生^[26]。MARINA 证实了 Lucentis 可以保存 AMD 患者的原有视力,其中部分患者视力有所提高,血管渗漏范围缩小^[27]。ANCHOR^[28], FOCUS^[29] 临床试验认为 Lucentis 联合 PDT 治疗 AMD 患眼的 CNV 比 PDT 联合安慰剂更有效。Chun 等^[30]的试验证明了 Lucentis 对治疗糖尿病视网膜病变黄斑水肿有效,患者的视力有所提高且中央视网膜厚度下降。与 Macugen 相比, Lucentis 可以提高患者的视力,而非仅局限于保持原有视力。目前大多数眼科医生治疗剂量为玻璃体腔内注射 Lucentis, 1 次/mo, 0.5mg/次,共 24mo。

2.3 Bevacizumab Bevacizumab (avastin) 是一种能结合所有活性形式的 VEGF-A 的人源性全长单克隆抗体,2004 年被 FDA 批准用于治疗转移性结直肠癌。该药现已被广泛用于治疗 CNV。有研究显示,全身使用 avastin 治疗湿性 AMD,每 2wk 使用 1 次,每次 5mg/kg,患者的视力、OCT 和荧光血管造影结果都有统计学意义上的提高^[31],在该研究中,未发现患者有其他系统的副反应。另一项研究对已出现 CNV 的 AMD 患眼 79 眼,玻璃体腔内注射 avastin (1.25mg) 4~8wk 后,发现患者视力提高,黄斑视网膜厚度降低,渗漏减少,未发现有眼部或全身的副反应^[32]。玻璃体腔内注射 avastin 能安全有效减少 CNV,稳定甚至提高患者的视力^[33,34]。也有报道认为玻璃体腔内注射 avastin 对一些 Macugen 治疗疗效较差的患者也有一定的效果^[35],电生理研究显示 avastin 对视网膜无副作用,相反, CNV 区域在外的光感受器功能可得到一定程度的恢复^[36]。

2.4 VEGF TRAP 它是人 VEGFR1 的免疫球蛋白区结构域 2 和 VEGFR2 的免疫球蛋白区结构域 3 融合到人 IgGfc 片段的可溶性受体,与 VEGF 的亲合力相当高,可结合循环系统和组织中所有的 VEGF 亚型以及相关的血管生成因子。给予小鼠模型全身或局部 VEGF TRAP 可抑制视网膜和脉络膜的 NV 生长和血管渗漏^[37]。Nguyen 等^[38]对 21 只患有 CNV 的 AMD 患眼给予 VEGF TRAP 剂量分组玻璃体腔内注射,6wk 后,患者的最佳矫正视力平均提高 4.43 个字母,最高剂量组提高 13.5 个, OCT 显示平均中心视网膜厚度下降 104.5 μ m, 荧光造影结果显示高剂量组的 CNV 荧光渗漏的范围明显减少。评估眼内注射 VEGF Trap 疗效三期临床试验正在进行中。

2.5 RNA 干扰类药物 RNA 干扰 (RNAi) 也称转录后基因沉默作用,它促使细胞内特定蛋白质的信使 RNA (mRNA) 前体降解,从而阻断该蛋白质的生物合成。Sirna-027 是一种短干扰 RNA,它可以下调 VEGFR-1 的表达,减少 VEGF 介导的 NV 形成^[39]。目前它的一期临床实验治疗湿性 AMD 正在进行。Bevasiranib (Cands 和 ALN-VEG01) 是一种作用于 VEGF-A 合成过程的短干扰 RNA,它对已合成的 VEGF 蛋白无作用,与其他抗 VEGF 治疗如 Lucentis 具有协同作用^[40]。

2.6 sFlt-1 (soluble Fms-like tyrosine kinase 1) sFlt-1 是溶解性的 VEGFR1,一种变异的 VEGF 拮抗剂,与 VEGF 有很高的亲合力,可以阻止 VEGF 与其正常的受体结合。其生理浓度的比例还有待探讨,在一些动物模型中证明用基因导入的方法将 sFlt-1 导入小鼠视网膜有抗 NV 形成的作用^[41]。

2.7 雷伯霉素 雷伯霉素最初是由链霉菌属产生的一种免疫抑制剂用于抗真菌治疗。2002 年, Guba 等^[42]报道了

在活鼠体内雷伯霉素能有效地抑制肿瘤生长和血管生成,它抗 NV 的形成可能与降低 VEGF 的产量以及明显抑制血管内皮细胞对 VEGF 的刺激反应有关。2004 年,Dejneka 等^[43]在模型小鼠全身注射雷伯霉素后,发现视网膜和脉络膜的 NV 形成同时受到抑制。

3 色素上皮衍生因子相关药物

PEDF 是天然的抗血管生成因子,它促进异常血管的退化,对抗多种血管源性刺激因子,如:VEGF,FGF,PDGF,IL-8。其作用机制为促进 NV 内皮细胞的凋亡从而引起 NV 的退化,抑制 NV 形成。实验证明,CNV 患者玻璃体样本中 PEDF 的量相对于同龄健康者有所下降^[44]。近来有研究表明,PEDF 具有抗脉络膜和视网膜 NV 的作用。但 PEDF 抗 NV 的作用是剂量依赖性的,大剂量的 PEDF 可以促进 NV 生长。在激光诱导的 CNV 模型中,低剂量的 PEDF(90 μ g/mL)通过皮下微泵注射可以减少 CNV 的发生,但高剂量(360 μ g/mL)显著增加 CNV 的发生^[45]。PEDF 抑制正在成熟过程中的 NV 的生长,并不影响已成熟的血管形成。AdPEDF 是以腺病毒为载体携带的 PEDF,玻璃体内注射后 PEDF 能持续分泌,并稳定存在于玻璃体内。AdPEDF 治疗湿性 AMD 一期临床试验已完成^[46-47]。

4 基质金属蛋白酶抑制剂

早期 NV 形成中,被激活的蛋白酶溶解血管基底膜和周细胞外基质的蛋白,微血管内皮细胞通过血管基底膜,浸润、迁移,进入邻近细胞外间质,形成 NV 芽。该浸润过程与特异性细胞外 MMPs 和基质金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs)的分泌和活性有关。MMPs 和 TIMPs 之间平衡的破坏是 NV 产生的重要原因。VEGF 通过血管平滑肌细胞上的 VEGFR 上调 MMPs, MMPs 通过降解细胞外基质释放更多的 VEGF,这一正反馈调节环路促进 NV 的形成。TIMPs 可抑制 MMPs 的活性,并可抑制内皮细胞增殖诱导的生长因子,抑制血管形成^[48]。视网膜色素上皮细胞中过度表达的 TIMPs 可抑制 CNV 形成^[49]。

5 信号通路抑制剂

5.1 PKC412 PKC412 是一种口服的小分子量酪氨酸激酶抑制剂,能结合细胞内 VEGF 受体的酶活性区域,通过阻止受体磷酸化,抑制酪氨酸激酶的活性,抑制胞质内 VEGF 信号级联反应。PKC412 的作用不具有特异性,不仅对 VEGFR-2 起作用,还作用于其他酪氨酸激酶,其中一些是细胞生长必须的。有研究发现,141 例糖尿病黄斑水肿的患者口服了该药物后,黄斑区视网膜厚度显著下降,但是视力并无提高^[50]。全身用药带来的副作用将限制此药在眼科的远期应用。

5.2 Ruboxistaurin Ruboxistaurin 是一种口服的 PKC- β 的选择性抑制剂。当高血糖时,PKC- β 在循环系统中被 VEGF 激活,增加糖尿病各系统并发症的可能性。一项针对 29 例不患有或患有轻度糖尿病视网膜病变患者的临床试验结果显示,它可以改善高血糖引起的视网膜循环时间异常,减少 NV 渗漏^[51]。

5.3 Vatalanib Vatalanib (PTK787/ZK 222584) 是一种 VEGFR 酪氨酸激酶抑制剂,通过抑制三种 VEGF 受体的酪氨酸激酶活性,阻止 VEGF 的信号转导。临床上该药被用于抑制肿瘤的生长,有实验^[52]将 Vatalanib 注射入缺氧诱导视网膜病变的小鼠玻璃体腔内,结果显示,注射 40 microM 剂量的小鼠 NV 模型视网膜异常血管增生明显减少。局部注射 Vatalanib 可能成为治疗缺氧性视网膜病变

如 PDR, RVO 等的一种新途径。

6 展望

综上所述,迄今为止研究的大多数抗 NV 药物均旨在阻止 NV 的发展,可以使 NV 萎缩,但不能使已成熟的 NV 消退。对已成熟的 NV 采用 PDT, TTT, 激光光凝、放射治疗,但病情稍有反复。目前一些学者采用 PDT 联合 TA, PDT 联合抗 VEGF 类药物,通过利用不同的药物作用机制,针对 NV 生成的不同阶段,在抑制和消除 NV 上取得了较好的临床疗效^[53,54],提示联合疗法可能是治疗视网膜和脉络膜 NV 的一个较好的途径。

参考文献

- 1 Dorrell M, Uusitalo-Jarvinen H, Aguilar E, et al. Ocular neovascularization: basic mechanisms and therapeutic advances. *Surv Ophthalmol* 2007;52(Suppl 1):S3-19
- 2 Matsuda S, Gomi F, Oshima Y, et al. Vascular endothelial growth factor reduced and connective tissue growth factor induced by triamcinolone in ARPE19 cells under oxidative stress. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(3):1062-1068
- 3 Obata R, Inoue Y, Iriyama A, et al. Triamcinolone acetonide suppresses early proangiogenic response in retinal pigment epithelial cells after photodynamic therapy *in vitro*. *Br J Ophthalmol* 2007;91(1):100-104
- 4 Ciulla TA, Criswell MH, Danis RP, et al. Intravitreal triamcinolone acetonide inhibits choroidal neovascularization in a laser-treated rat model. *Arch Ophthalmol* 2001;119(3):399-404
- 5 Chan WM, Lai TY, Wong AL, et al. Combined photodynamic therapy and intravitreal triamcinolone injection for the treatment of subfoveal choroidal neovascularisation in age related macular degeneration: a comparative study. *Br J Ophthalmol* 2006;90(3):337-341
- 6 Ergun E, Maar N, Ansari-Shahrezaei S, et al. Photodynamic therapy with verteporfin and intravitreal triamcinolone acetonide in the treatment of neovascular age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2006;142(1):10-16
- 7 Arias L, Garcia-Arumi J, Ramon JM, et al. Photodynamic therapy with intravitreal triamcinolone in predominantly classic choroidal neovascularization: one-year results of a randomized study. *Ophthalmology* 2006;113(12):2243-2250
- 8 Augustin AJ, Schmidt-Erfurth U. Verteporfin and intravitreal triamcinolone acetonide combination therapy for occult choroidal neovascularization in age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2006;141(4):638-645
- 9 Nicolo M, Ghiglione D, Lai S, et al. Occult with no classic choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration treated by intravitreal triamcinolone and photodynamic therapy with verteporfin. *Retina* 2006;26(1):58-64
- 10 Jonas JB, Degenring RF, Kreissig I, et al. Intraocular pressure elevation after intravitreal triamcinolone acetonide injection. *Ophthalmology* 2005;112(4):593-598
- 11 Moshfeghi DM, Kaiser PK, Scott IU, et al. Acute endophthalmitis following intravitreal triamcinolone acetonide injection. *Am J Ophthalmol* 2003;136(5):791-796
- 12 Chakravarthy U, Soubrane G, Bandello F, et al. Evolving European guidance on the medical management of neovascular age related macular degeneration. *Br J Ophthalmol* 2006;90(9):1188-1196
- 13 Schmidt-Erfurth U, Michels S, Michels R, et al. Anecortave acetate for the treatment of subfoveal choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration. *Eur J Ophthalmol* 2005;15(4):482-485
- 14 Slakter JS, Bochow TW, D'Amico DJ, et al. Anecortave acetate (15 milligrams) versus photodynamic therapy for treatment of subfoveal neovascularization in age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2006;113(1):3-13
- 15 Higgins RD, Yan Y, Geng Y, et al. Regression of retinopathy by squalamine in a mouse model. *Pediatr Res* 2004;56(1):144-149
- 16 Sills AK Jr, Williams JI, Tyler BM, et al. Squalamine inhibits angio-

- genesis and solid tumor growth *in vivo* and perturbs embryonic vasculature. *Cancer Res* 1998;58(13):2784-2792
- 17 Higgins RD, Sanders RJ, Yan Y, *et al.* Squalamine improves retinal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(6):1507-1512
- 18 Ciulla TA, Criswell MH, Danis RP, *et al.* Squalamine lactate reduces choroidal neovascularization in a laser-injury model in the rat. *Retina* 2003;23(6):808-814
- 19 Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham ET Jr, *et al.* Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2004;351(27):2805-2816
- 20 Cunningham ET Jr, Adamis AP, Altaweel M, *et al.* A phase II randomized double-masked trial of pegaptanib, an anti-vascular endothelial growth factor aptamer, for diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2005;112(10):1747-1757
- 21 D'Amico DJ, Patel M, Adamis AP, *et al.* Pegaptanib sodium for neovascular age-related macular degeneration: two-year safety results of the two prospective, multicenter, controlled clinical trials. *Ophthalmology* 2006;113(6):992-1001
- 22 Ishida S, Usui T, Yamashiro K, *et al.* VEGF164-mediated inflammation is required for pathological, but not physiological, ischemia-induced retinal neovascularization. *J Exp Med* 2003;198(3):483-489
- 23 Ng EW, Adamis AP. Targeting angiogenesis, the underlying disorder in neovascular age-related macular degeneration. *Can J Ophthalmol* 2005;40(3):352-368
- 24 Rakic JM, Lambert V, Devy L, *et al.* Placental growth factor, a member of the VEGF family, contributes to the development of choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(7):3186-3193
- 25 Funatsu H, Yamashita H, Noma H, *et al.* Increased levels of vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in the aqueous humor of diabetics with macular edema. *Am J Ophthalmol* 2002;133(1):70-77
- 26 Gaudreault J, Fei D, Rusit J, *et al.* Preclinical pharmacokinetics of ranibizumab (rhuFabV2) after a single intravitreal administration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(2):726-733
- 27 Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, *et al.* Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006;355(14):1419-1431
- 28 Brown DM, Kaiser PK, Michels M, *et al.* Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006;355(14):1432-1444
- 29 Heier JS, Boyer DS, Ciulla TA, *et al.* for the FOCUS Study Group. Ranibizumab combined with verteporfin photodynamic therapy in neovascular age-related macular degeneration: Year 1 results of the FOCUS Study. *Arch Ophthalmol* 2006;124(11):1532-1542
- 30 Chun DW, Heier JS, Topping TM, *et al.* A pilot study of multiple intravitreal injections of ranibizumab in patients with center-involving clinically significant diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2006;113(10):1706-1712
- 31 Michels S, Rosenfeld PJ, Puliafito CA, *et al.* Systemic bevacizumab (Avastin) therapy for neovascular age-related macular degeneration twelve-week results of an uncontrolled open-label clinical study. *Ophthalmology* 2005;112(6):1035-1047
- 32 Joussen AM, Poulaki V, Qin W, *et al.* Retinal vascular endothelial growth factor induces intercellular adhesion molecule-1 and endothelial nitric oxide synthase expression and initiates early diabetic retinal leukocyte adhesion *in vivo*. *Am J Pathol* 2002;160(2):501-509
- 33 Rich RM, Rosenfeld PJ, Puliafito CA, *et al.* Short-term safety and efficacy of intravitreal bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Retina* 2006;26(5):495-511
- 34 Avery RL, Pieramici DJ, Rabena MD, *et al.* Intravitreal bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2006;113(3):363-372
- 35 Rosenfeld PJ, Moshfeghi AA, Puliafito CA. Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of bevacizumab (avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2005;36(4):331-335
- 36 Moschos MM, Brouzas D, Apostolopoulos M, *et al.* Intravitreal use of bevacizumab (Avastin) for choroidal neovascularization due to ARMD: A preliminary multifocal-ERG and OCT study: Multifocal-ERG after use of bevacizumab in ARMD. *Doc Ophthalmol* 2007;114(1):37-44
- 37 Saishin Y, Saishin Y, Takahashi K, *et al.* VEGF-TRAP (R1R2) suppresses choroidal neovascularization and VEGF-induced breakdown of the blood-retinal barrier. *J Cell Physiol* 2003;195(2):241-248
- 38 Nguyen QD, Shah SM, Browning DJ, *et al.* A phase I study of intravitreal vascular endothelial growth factor trap-eye in patients with neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2009;116(11):2141-2148
- 39 Shen J, Samul R, Silva RL, *et al.* Suppression of ocular neovascularization with siRNA targeting VEGF receptor 1. *Gene Ther* 2006;13(3):225-234
- 40 Barakat MR, Kaiser PK. VEGF inhibitors for the treatment of neovascular age-related macular degeneration. *Expert Opin Investig Drugs* 2009;18(5):637-646
- 41 Rota R, Riccioni T, Zaccarini M, *et al.* Marked inhibition of retinal neovascularization in rats following soluble-flt-1 gene transfer. *J Gene Med* 2004;6(9):992-1002
- 42 Guba M, von Breitenbuch P, Steinbauer M, *et al.* Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nat Med* 2002;8(2):128-135
- 43 Dejneka NS, Kuroki AM, Fosnot J, *et al.* Systemic rapamycin inhibits retinal and choroidal neovascularization in mice. *Mol Vis* 2004;10:964-972
- 44 Holekamp N, Bouck N, Volpert O. Pigment epithelium-derived factor is deficient in the vitreous of patients with choroidal neovascularization due to age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2002;134(2):220-227
- 45 Apte RS, Barreiro RA, Duh E, *et al.* Stimulation of neovascularization by the anti-angiogenic factor PEDF. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(12):4491-4497
- 46 Rasmussen H, Chu KW, Campochiaro P, *et al.* Clinical protocol. An open-label, phase I, single administration, dose-escalation study of ADGVPEDF. 11D (ADPEDF) in neovascular age-related macular degeneration (AMD). *Hum Gene Ther* 2001;12(16):2029-2032
- 47 Campochiaro PA, Nguyen QD, Shah, *et al.* Adenoviral vector-delivered pigment epithelium-derived factor for neovascular age-related macular degeneration: results of a phase I clinical trial. *Hum Gene Ther* 2006;17(2):167-176
- 48 Seo DW, Li H, Guedez L, *et al.* TIMP-2 mediated inhibition of angiogenesis: an MMP-independent mechanism. *Cell* 2003;114(2):171-180
- 49 Takahashi T, Nakamura T, Hayashi A, *et al.* Inhibition of experimental choroidal neovascularization by overexpression of tissue inhibitor of metalloproteinases-3 in retinal pigment epithelium cells. *Am J Ophthalmol* 2000;130(6):774-781
- 50 Campochiaro PA. Reduction of diabetic macular edema by oral administration of the kinase inhibitor PKC412. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(3):922-931
- 51 Aiello LP, Clermont A, Arora V, *et al.* Inhibition of PKC beta by oral administration of ruboxistaurin is well tolerated and ameliorates diabetes-induced retinal hemodynamic abnormalities in patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(1):86-92
- 52 Maier P, Unsöld AS, Junker B, *et al.* Intravitreal injection of specific receptor tyrosine kinase inhibitor PTK787/ZK222 584 improves ischemia-induced retinopathy in mice. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005;243(6):593-600
- 53 Kramerov AA, Saghizadeh M, Pan H, *et al.* Expression of protein kinase CK2 in astroglial cells of normal and neovascularized retina. *Am J Pathol* 2006;168(5):1722-1736
- 54 Dorrell MI, Aguilar E, Schepcke L, *et al.* Combination angiostatic therapy completely inhibits ocular and tumor angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104(3):967-972