

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 増渕 和博

本研究は生体において重要なプロセスである血管新生・リンパ管新生の分子生物学・細胞生物学的解析に当たり、ヒト良性血管腫組織から有用な新規内皮細胞株の樹立を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 樹立した細胞株の倍加成長時間は 30 時間程度であり、研究において実用的である。また、ヌードマウスと SCID マウスにおいて造腫瘍性は確認されなかった。さらに、慣習的な血管内皮細胞の特徴である、アセチル LDL (low density lipoprotein) の細胞内への取り込み、vWF (von Willebrand factor)・CD31 (PECAM-1; Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1) の発現、敷石状の外観、ラミニン・フィブロネクチン・コラーゲン IV などの基底膜成分を含む MATRIGEL 上でのネットワーク形成が確認され、現在定義されている血管内皮の特徴を保持していることが示された。
2. 樹立した細胞株において、VEGFR (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor) 1/VEGFR2 の発現が RT-PCR で確認されたが、タンパクレベルでは確認されなかった。また、VEGFR3 の発現が RT-PCR 及びタンパクレベルで確認されたが、リガンドである VEGF-C 刺激に対する VEGFR3 の自己リン酸化及び MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase) のリン酸化は確認されなかった。以上の様に、株化に際して、VEGFR の本来の発現と機能が低下してい

ることが示され、株化におけるレセプター発現制御の変化という問題を提起した。

3. 樹立した細胞株のクローンにおいて、リンパ管内皮特異的な転写因子である Prox1 の発現が RT-PCR で確認された。また、ヒト繊維芽細胞単層上での HUVEC (Human Umbilical Vascular Endothelial Cell) との共培養において、HUVEC が形成する管腔の近位に樹立した細胞株が極めて多数確認され、樹立した細胞株と HUVEC との間に相互作用があることが確認された。リンパ管内皮細胞に選択的に発現していると言われている VEGFR3 が、今回樹立した細胞株において発現していることから、樹立した細胞株は、血管内皮・リンパ管内皮両方の性質を持っている可能性が示唆された。

以上、本論文において、ヒト良性血管腫組織から樹立された新規の内皮様細胞株が、血管内皮細胞の特徴を十分保持すると共に、一部リンパ管内皮細胞の特徴を有し、かつ実用的な増殖能を持つユニークな細胞株であることが示された。本研究は血管新生・リンパ管新生の研究において期待されている内皮様細胞株として有用であると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。