

論文内容の要旨

論文題名 **Vascular mural-endothelial cell communication is facilitated by FGF-2 in cooperation with VEGF-A**

和訳 血管内皮・壁細胞間コミュニケーションは VEGF-A と協調的に FGF-2 によって促進される

指導教官 大内 尉義 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 13 年 4 月 1 日入学

医学博士課程

生殖発達加齢医学専攻

氏名 狩野 光伸

要旨内容

血管新生治療は虚血性心血管疾患に対する有望な治療法として広く研究されてきている。最もよく用いられる血管新生増殖因子は、いずれもよく研究の進んでいる VEGF-A と FGF-2 である。血管新生における VEGF-A の役割は 1996 年 Carmeliet ら、Ferrara らにより VEGF-A ノックアウトマウスでの知見から確立された。一方 FGF-2 については以前からその血管新生作用が知られているにもか

かわらず、リガンドと対応する FGF 受容体のノックアウトマウスからの知見は血管新生作用機構の解明には役立たなかった。しかしトリ尿漿膜実験系、角膜アッセイ、マトリゲルプラグアッセイといった実験系においてはその血管新生作用が確認され、作用機構がよく研究されてきた。このため、これらの増殖因子をそれぞれ単独で用いた血管新生療法の臨床試験が計画され、2002 年から 2003 年にかけては VEGF-A を用いた一つと FGF-2 を用いた二つの大規模臨床試験の結果が報告された。しかし残念ながらいずれも確実な有意差は認められなかった。このようにヒトでの VEGF-A または FGF-2 の単独刺激では有意な成熟血管新生が惹起されなかった一方で、実験系での結果ではあるが VEGF-A と FGF-2 の共刺激による強い血管新生相乗作用が 1992 年以降報告されてきた。また近年では VEGF-A と PDGF-BB あるいは FGF-2 と PDGF-BB という組み合わせでの血管新生相乗効果も報告された。しかしいずれの相乗効果についてもその機構についての理解はあまりなされていない。

少なくとも胎生期の血管形成において、PDGF-B—PDGF β 受容体を介したシグナル伝達が、血管壁細胞(mural cells)の内皮細胞(endothelial cells)への接着を起こし、これが新生血管を安定化させるために必要であると報告されてきた。このことは PDGF-B や PDGF β 受容体のノックアウトが異常新生血管の形成をもたらすことから示された。また近年(2003 年)、この機構が成熟個体における癌

血管新生においても新生血管の安定化に役立っている可能性が示唆された。そこで私は今回このシグナル伝達系と成熟血管新生に注目して、成熟個体での血管新生療法における VEGF-A-FGF-2 共刺激による相乗効果の機構解析を試みた。

マウスにおけるマトリゲルプラグアッセイと、マウス全能性幹細胞由来の VEGF 2 型受容体陽性細胞を無血清單層培養した系を用いて、まず VEGF-A と FGF-2 共刺激の相乗効果を検討した。この結果、この条件は VEGF-A 単独刺激や FGF-2 単独刺激に比較して、壁細胞の内皮細胞への接近と、赤血球を中に容れた新生血管の誘導が有意に多く引き起こされることが観察された。細胞培養系における定量的 RTPCR の結果から、これらの現象が①VEGF-A により強調された内皮周囲の PDGF-BB 濃度勾配と②FGF-2 により発現上昇した壁細胞 PDGF β 受容体の二つの相乗効果を介して起きていることが示唆された。これらが VEGF-A と FGF-2 共刺激による相乗効果の機構であることを①に対しては外部からの PDGF-BB リガンド追加、②に対しては PDGF β 受容体特異的中和抗体追加により、共刺激の結果である壁細胞の接近と成熟血管の誘導が減少することをもって証明した。また、他に既に報告されている PDGF-BB リガンドを外部から追加する共刺激条件、すなわち VEGF と PDGF-BB、FGF-2 と PDGF-BB について同じ実験系にて効果を比較したところ、いずれも VEGF-A と FGF-2 での共刺激条件に比べ、有意に成熟血管誘導の減少を観察した。

これらの実験結果に基づき、今回私は、①成熟個体における血管新生治療においても、PDGF-B-PDGF β 受容体シグナル伝達を介した壁細胞の内皮細胞被覆が成熟新生血管の形成に不可欠であること、②VEGF-A-FGF-2共刺激による相乗効果のメカニズムは、PDGF-B-PDGF β 受容体シグナル伝達を構成するリガンドの濃度勾配の増強と受容体発現の増強との双方の相乗効果にあること、の二点を示した（下記付図参照）。この知見を応用することで、よりよい血管新生療法の確立がもたらされることが期待される。

