

学位授与番号	医博甲第1139号		
学位授与年月日	平成6年3月25日		
氏名	野村素弘		
学位論文題目	低酸素による血管細胞増殖誘導の分子機構 －血管内皮増殖因子（VEGF）のオートクリン／パラクリン作用－		
論文審査委員	主査	教授	山下純宏
	副査	教授	山下博
		教授	福田龍二

### 内容の要旨及び審査の結果の要旨

血管新生は、既存の血管から新しい血管網が形成される現象で、個体の発生・成長、黄体形成、創傷治癒などの生理的過程や腫瘍、糖尿病性網膜症、閉塞性血管障害などの病的状態の進展や修復の過程で重要な役割をはたしているが、そのメカニズムについてはなお不明な点が多い。本研究では、内皮細胞と周皮細胞の増殖が、低酸素によりどのように影響されるかを明らかにする目的で、以下の検討を行った。すなわち、ヒト臍静脈内皮細胞とウシ網膜血管周皮細胞を種々の酸素濃度下にて培養し、1) 生細胞数算定、2) ノーザンプロット分析および逆転写-ポリメラーゼ連鎖反応 (reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) による血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 遺伝子の発現解析、3) RT-PCRによるVEGF受容体サブタイプの同定と発現解析、4) VEGF mRNAに対するアンチセンスオリゴヌクレオチドが、低酸素下で内皮細胞増殖におよぼす効果につき検討した。得られた成績は以下の如くに要約される。

- 1) 内皮細胞、周皮細胞ともに低酸素下では通常の酸素濃度下に比し生細胞数が有意に増加し、細胞増殖促進における酸素の最大有効濃度は内皮細胞で10%、周皮細胞で2.5%であった。
- 2) 内皮細胞、周皮細胞ともに分泌型のVEGF<sub>121</sub>、VEGF<sub>165</sub>をコードするmRNAを発現しており、両者でVEGF mRNAの発現が酸素濃度の低下に依存して著しく増加することが見出された。
- 3) 内皮細胞では *fms*-like tyrosine kinase 1 (*flt 1*)、*fms*-like tyrosine kinase 4 (*flt 4*)、kinase insert domain-containing receptor (*kdr*) の3種のVEGF受容体遺伝子が酸素濃度に関わらず恒常的に発現しており、その発現量は  $kdr > flt 4 > flt 1$  の順に多いことが見出された。一方、周皮細胞では *flt 1* mRNAのみが低酸素状態で検出された。
- 4) VEGF mRNAに相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドは10%酸素下での内皮細胞へのチミジン取り込みを用量依存的に抑制することが見出された。

以上の結果から、血管新生の場となる細小血管を構成する内皮細胞と周皮細胞の増殖は低酸素により誘導され、内皮細胞の増殖誘導にはこれらの血管細胞自身で産生されるVEGFがオートクリンおよびパラクリン作用を介して関与しているものと結論された。

本研究は、低酸素による血管細胞増殖誘導機構をVEGFの発現と作用の観点から明らかにしたものであり、血管生物学および臨床医学上価値ある労作と考えられた。