

氏名	オウ 王	ヒデ 英	ヤス 泰
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)		
学位記番号	論 医 博 第 1764 号		
学位授与の日付	平成 13 年 11 月 26 日		
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当		
学位論文題目	Hypoxia and vascular endothelial growth factor selectively upregulate angiopoietin-2 in bovine microvascular endothelial cells. (ウシ網膜微小血管内皮細胞における低酸素と血管内皮増殖因子によるアンジオポイエチン-2の選択的発現増強に関する研究)		
論文調査委員	(主 査) 教 授 開	祐 司	教 授 西 川 伸 一 教 授 本 田 孔 士

論 文 内 容 の 要 旨

血管新生は血管内皮細胞の分化, 増殖, 管腔形成, 成熟の段階を経てなされるが, 1989年に Ferrara らが発見した血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor: VEGF) はその過程において重要なサイトカインの一つであると考えられている。近年新たに血管内皮細胞特異的で VEGF 受容体とは異なる receptor tyrosine kinase として Tie2 受容体が発見され, 傍血管細胞と血管内皮細胞との相互作用を通じて血管の成熟に関与することが示唆されている。Tie2 受容体のリガンドとして agonist である angiopoietin-1 (Ang1) と antagonist である angiopoietin-2 (Ang2) が Yancopoulos らによって発見されているが, 本研究では angiopoietin-Tie2 受容体系が眼内血管新生局面においてどのような発現制御を受けるのかということについて検討した。まず培養ウシ網膜血管内皮細胞を用いて, 血管新生で重要な役割を果たす VEGF による刺激でこの系の mRNA の発現制御を Northern blot 法で解析した。その結果, Ang1 と Tie2 には変化がみられなかったが, Ang2 だけが VEGF により選択的に 4.6 \pm 0.7 倍に発現増強した。また, 用量依存性についての検討では 25 ng/ml (EC₅₀=12.5 ng/ml) で最大効果が得られた。次に同じ内皮細胞でも origin による反応の相異が存在するか否かという点についてウシ大動脈血管内皮細胞を用いて検討した結果, 同様に選択的な Ang2 の発現増強 (2.6 \pm 0.3 倍) がみられた。この VEGF による Ang2 の発現増強のメカニズムについては, nuclear run-on assay と転写阻害剤であるアクチノマイシン D を用いた解析から, Ang2 mRNA の半減期には影響がなく, 主として転写亢進によるものであることが判明した。VEGF 受容体下流のシグナル分子としては tyrosine kinase, PKC, MAPK が報告されているが, それぞれの阻害剤を用いた解析から, VEGF による Ang2 の発現増強には tyrosine kinase や MAPK が重要な役割を果たし, PKC も部分的に関与していることが解明された。次に虚血性血管新生の重要な因子である低酸素の angiopoietin-Tie2 受容体系に対する効果を検討した結果, VEGF による刺激と同様, Ang2 の選択的発現増強 (3.6 \pm 0.09 倍) がみられた。低酸素は VEGF の発現も誘導するが, 観察された低酸素による Ang2 の発現増強が VEGF を介するか否かという点について, VEGF 中和抗体を用いて検討した。その結果低酸素による Ang2 の発現増強には VEGF が介在していないことが判明した。最後に in vivo の病的血管新生局面における Ang2 の発現動態を解析するため, Smith らが考案したマウスの虚血性網膜血管新生モデルにおいて in situ hybridization により検討したところ, 網膜虚血誘導開始12時間後には Ang2 の発現増強がみられ, 生後17日目のいわゆる neovascular tufts と呼ばれる網膜血管新生部位にも著明な発現をみとめた。以上より, 虚血性網膜血管新生においては VEGF や低酸素により Ang2 の選択的発現増強が誘導され, これが既存血管の integrity を不安定化し, 血管新生が起りやすい環境を創出するという新しいメカニズムが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

近年, 血管内皮細胞特異的受容体チロシンキナーゼとして Tie2 とそのリガンドである angiopoietin (Ang1 : agonist, Ang2 : antagonist) が発見され, 血管の成熟に関与することが示唆されている。本研究では, この系の網膜血管新生における発現制御について検討した。血管新生で重要な役割を果たす血管内皮増殖因子 (VEGF) による刺激で mRNA の発現制

御を培養ウシ網膜血管内皮細胞で解析した結果、Ang2 だけが選択的に発現増強した。nuclear run-on assay によりこの発現増強は主として転写亢進によるものであることが判明した。VEGF 受容体下流のシグナル分子を検討した結果、この発現増強にはチロシンキナーゼや mitogen-activated protein kinase が重要で、protein kinase C も部分的に関与することが明らかになった。虚血性血管新生の重要因子である低酸素の効果を検討した結果、VEGF 刺激と同様に Ang2 の選択的発現増強がみられた。マウスの虚血性網膜血管新生モデルでは、血管新生部位に著明な Ang2 の発現がみられた。これらの結果より、虚血性網膜血管新生では Ang2 が選択的に発現増強して既存血管が不安定化し、向血管新生的環境が創出されるとい機構が示唆された。

以上の研究は網膜血管新生の病態解明に貢献し、今後の治療に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成13年10月3日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格とみとめられたものである。