

平成 21 年度 がん特定領域研究 若手共同研究報告書

研究課題名：新規血管内皮細胞特異的遺伝子の生体における血管新生能評価

若手研究代表者（申請者）： 松本 健
所属研究機関：筑波大学大学院 人間総合科学研究科
解剖学・発生学講座
共同研究者： 大貫 秀隆
所属研究機関：愛媛大学大学院 医学系研究科
生化学・分子遺伝学分野

研究成果概要

<研究目的>

腫瘍血管新生に重要な経路の一つとして、VEGF/VEGFR 系が挙げられるが、まだ多くの未同定な分子機構が存在することが想定される。研究代表者は、VEGFR2 ノックアウトマウスを用いたマイクロアレイ解析により、マウス胚発生時の新生血管内皮細胞において高発現している 22 遺伝子を同定している。本研究では、共同研究により *in vitro*、*in vivo* および *ex vivo* の血管新生能評価系を習得し、同定した遺伝子の機能を解明することを通して、血管形成の複雑なネットワークおよび腫瘍血管新生の新たな理解を深めることを目的とする。

<研究方法・研究結果>

血管新生は、血管内皮細胞の増殖・遊走・管腔形成からなる複雑な素過程から成立している。このうち、管腔形成における新規血管内皮細胞特異的遺伝子それぞれの役割を明らかにするために、ヒト培養血管内皮細胞を対象としたノックダウンモデルを用いた。その結果、上記 22 遺伝子のうち、6 遺伝子が管腔形成に強く関与することが明らかとなった (Fig. 1)。加えて、これら遺伝子の生体における役割を明らかにするための *in vivo* 評価モデル (Imaging of whole-mount retina)、*ex vivo* 評価モデル (Mouse aortic ring assay) を習得した (Fig. 2)。

<考察>

In vitro 培養細胞を対象としたノックダウンモデルにより、6 遺伝子の血管新生および腫瘍血管新生への関与が示唆された。今後は、共同研究により習得した *ex vivo*・*in vivo* 血管新生評価モデルを用いて生体内における生理的・病的血管新生に対する各々の役割を明らかにする。

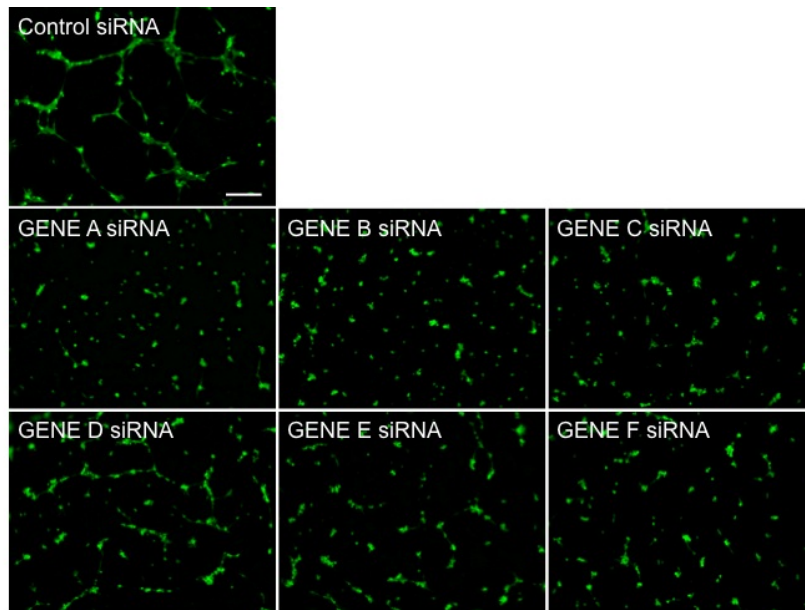


Fig. 1 ヒト培養血管内皮細胞のノックダウンモデルを用いた管腔形成能評価
 ヒト培養血管内皮細胞に対し、新規血管内皮細胞特異的遺伝子各々の発現をノックダウンした。その後、BD マトリゲルマトリックス上、VEGF 存在下で培養することにより管腔形成能への影響を評価した。Scale bar: 200 μ m

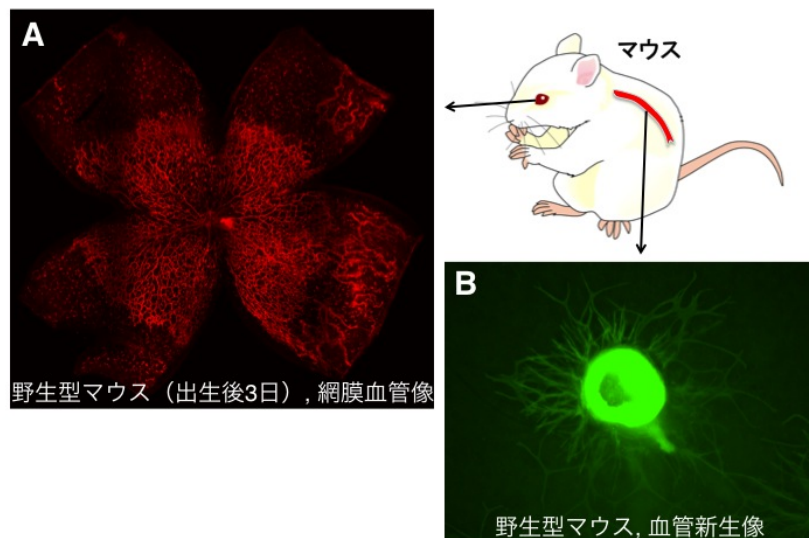


Fig. 2 *In vivo*・*ex vivo* 血管新生能評価モデル

A; Imaging of whole-mount retina (新生マウス仔網膜を用いた *in vivo* 評価系)、B; Mouse aortic ring assay (マウス胸部大動脈を用いた *ex vivo* にて評価する系)。