

論文審査の要旨

報告番号	総研第 7-8 号	学位申請者	大川 政士
審査委員	主査	大塚 隆生	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	榎田 英樹	副査 山下 勝
	副査	西尾 善彦	副査 西 順一郎

VEGF-A165 is the predominant VEGF-A isoform in platelets, while VEGF-A121 is abundant in serum and plasma from healthy individuals
(健康人において、VEGF-Aは血小板中に多く存在し、VEGF-A121は血清、血漿中に多く存在する)

血管内皮細胞増殖因子-A (以下 VEGF-A) は正常組織から腫瘍まで広く血管新生に関与する増殖因子である。VEGF-A に対する抗 VEGF-A 抗体は、その確かな効果・効能により多くの癌腫で臨床応用されているが、これまでの臨床研究で、血漿、血清中の VEGF-A が測定されたものの、治療効果判定等に不可欠な血液バイオマーカーには至っていない。学位申請者らは VEGF-A を多く含み、活性化により VEGF-A を局所に放出することができる血小板に着目し、血小板が病態、病勢を反映するバイオマーカー候補となりうると思った。また、VEGF-A には複数のアイソフォームが存在し、その拡散性の違いから血漿、血清、血小板において VEGF-A アイソフォーム分画が異なると考えられるが、既存の測定系では VEGF-A アイソフォームに特異性がなく、血液中のアイソフォーム分画は明らかにされていない。そこで、まず VEGF-A アイソフォーム測定系を新規に開発し、次に健康人の血液検体を用いて血漿、血清、血小板中の VEGF-A アイソフォーム分画の測定・解析を行った。

結果、以下の知見が明らかになった。

- 1) 作成した抗 VEGF-A121 モノクローナル抗体、抗 VEGF-A165 モノクローナル抗体は、VEGF-A121 と VEGF-A165 それぞれに特異的な抗体であることを確認した。
- 2) 同抗体を用いて開発した新 ELISA 系においても十分な特異性があり、精度管理も許容範囲内であった
- 3) 健康人において、血漿、血清中では、VEGF-A121 が VEGF-A165 と比べ多く存在した。一方、血小板においては VEGF-A165 が VEGF-A121 に比べ多く存在していた。
- 4) 血小板中の VEGF-A165 と比べて、トロンビン刺激により血小板から放出される VEGF-A165 は少なかった。

これまで、VEGF-A のアイソフォームの中で VEGF-A165 が最も主要で体内に多く存在するとされてきたが、血漿、血清中には VEGF-A165 ではなく VEGF-A121 が多く存在することが今回初めて明らかとなった。VEGF-A121 はエクソン 6, 7 がなく、同部位がコードするヘパラン硫酸プロテオグリカン結合部位を持たないことにより、VEGF-A121 は血管内皮細胞の細胞膜上に発現しているヘパラン硫酸プロテオグリカンに捕捉されないため、血漿中により多く存在しているものと考察された。

本研究は、従来、VEGF-A がアイソフォームを区別することなく一括測定されてきた課題を、新規に VEGF-A アイソフォーム測定系を開発することにより解決した。さらに、この測定系を用いることで、健康人の血漿、血清と血小板中では VEGF-A アイソフォーム分画が異なることを初めて明らかに観察したことは非常に興味深く、今後、さまざまな疾患において血液中の VEGF-A アイソフォーム測定を行う際の基盤となる研究内容である。よって、本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。