

# Connective tissue growth factor binds vascular endothelial growth factor (VEGF) and inhibits VEGF-induced angiogenesis

著者	Inoki Isao
著者別名	居軒, 功
journal or publication title	博士学位論文要旨 論文内容の要旨および論文審査結果の要旨 / 金沢大学大学院医学研究科
volume	平成17年7月
page range	74
year	2005-07-01
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/15944">http://hdl.handle.net/2297/15944</a>

学位授与番号	乙第 1600 号
学位授与年月日	平成 16 年 11 月 17 日
氏 名	居 軒 功
学位論文題目	Connective tissue growth factor binds vascular endothelial growth factor (VEGF) and inhibits VEGF-induced angiogenesis (結合組織増殖因子 (CTGF) は血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) に結合し、VEGF 誘発性血管新生を抑制する。)
論文審査委員	主 査 教 授 金 子 周 一 副 査 教 授 多 久 和 陽 教 授 高 倉 伸 幸

### 内容の要旨及び審査の結果の要旨

血管新生はガンの増殖、転移、糖尿病性網膜症、慢性関節リウマチなど、様々な病態生理学的状態で重要な役割を果たしている。血管内皮細胞増殖因子(vascular endothelial growth factor, VEGF) は強力な血管新生刺激因子であり、これらの病態における血管新生に強く関わっていることが知られている。従って、VEGF の活性を抑制することは、これらの疾患の治療上、きわめて有用なアプローチと考えられる。関節軟骨は無血管であるという特徴を持ち、血管新生に対しても抵抗性を有する。一方で、関節軟骨は VEGF やその他の血管新生刺激因子を産生していることが示されており、このことは VEGF が他の分子との相互作用により活性調節を受けている可能性を示唆している。本研究では、VEGF 結合分子を検索するため、VEGF を bait として軟骨細胞 cDNA ライブラリーを yeast two hybrid 法によりスクリーニングし、候補分子として結合組織増殖因子(connective tissue growth factor, CTGF) を同定し、VEGF の血管新生活性に及ぼす作用を検討した。

VEGF<sub>165</sub> と CTGF 両者の発現プラスミドを 293T 細胞に導入し、その培養液を回収、CTGF を免疫沈降し抗 VEGF 抗体でウェスタンブロットすると VEGF<sub>165</sub> が検出された。また、ELISA プレートに固相化した VEGF<sub>165</sub> に対する <sup>125</sup>I-CTGF の結合アッセイによっても両者の相互作用が示された。CTGF は、I; IGFBP、II; vWFC、III; TSP-1、IV; CT の各ドメインからなるタンパクであり、どのドメインが VEGF との結合に重要かを知るため、各ドメインの欠失変異体を作成し、VEGF との結合アッセイを施行したところ、TSP-1 ドメインが VEGF<sub>165</sub> の Exon7 にコードされる領域に結合すること、および CT ドメインが Exon7 領域以外に結合し、CTGF と VEGF<sub>165</sub> の結合部位は 2 カ所であった。

ウシ大動脈内皮細胞 (BAEC) の I 型コラーゲンゲル内での管腔形成能は VEGF<sub>165</sub> により著明に刺激された。CTGF はこの VEGF<sub>165</sub> 誘発性管腔形成を 45% にまで抑制した。

マトリゲルをマウス腹部正中皮下に注入し、プラグを形成させ、このプラグ内に侵入した血管内皮細胞数、形成された管腔数を計測すると VEGF<sub>165</sub> (50 ng/ml) 存在下では、血管内皮細胞の侵入およびプラグ内の管腔形成は著明に亢進したが、CTGF (100 ng/ml) 共存下では、VEGF<sub>165</sub> 誘発性のプラグ内血管新生は、VEGF<sub>165</sub> 単独時の 30% にまで抑制された。

以上本研究は、CTGF が VEGF に結合し、その血管新生活性を阻害することをはじめて明らかにした点で、血管医学生物学に寄与し、学位に値する研究と評価された。