

血管内皮増殖因子 b (VEGF-b) を標的とした新規脳梗塞治療の検討

下畠享良

新潟大学脳研究所 臨床神経科学部門 神経内科学分野

【研究の背景】

脳梗塞に対する根本治療として組織プラスミノゲンアクチベーターを用いた血栓溶解療法が行われているが、その恩恵に浴する患者は少ない。従って、脳梗塞後の回復期において、機能回復を促進させる治療法の確立が望まれている。しかし、そのような治療は未だ臨床応用はなされていない。脳虚血後の機能回復を促進する重要な戦略の一つに血管新生の促進がある。血管新生と神経再生は相互に影響し、脳虚血後の機能回復を促進させる。血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor; VEGF) は、血管新生を強力に促進する血管リモデリング因子であり、脳梗塞超急性期において血液脳関門を破綻させ、さらに血栓溶解療法後の脳出血合併症に関与する一方、回復期においては機能回復に作用するという 2 面性を有している。VEGF のスプライシングバリエントである VEGF165b は、VEGF と VEGF 受容体の結合を競合的に阻害し、内因性の VEGF 阻害因子として作用する。VEGF165b の作用を抑制することにより、血管新生が促進され、脳虚血後の回復を促すことが期待される。しかし、脳虚血後の VEGF165b の発現や局在の変化、血管新生への影響については不明である。

【目的】

VEGF165b が脳虚血後の血管新生を阻害する可能性を検討すること。このため一過性局所脳虚血後の VEGF165b の発現および局在の変化と、VEGF165b が血管新生に及ぼす影響について検討すること。

【方法】

雄 Sprague-Dawley ラットを用い、血管内塞栓系による一過性局所脳虚血モデルを作成し、虚血後 1 日、3 日、7 日、14 日、および対照(非虚血群)の大脳皮質を脳試料として採取した。VEGF165b の経時的变化と局在を、抗 VEGF165b 抗体を用いたウェスタンプロットと免疫組織化学、蛍光 2 重染色により評価した。血管内皮細胞の増殖を検出するため Ki-67(細胞増殖マーカー)、および endothelial barrier antigen (EBA; 血管内皮マーカー) の蛍光二重染色を行った。さらに VEGF-VEGF 受容体シグナリングを介した血管新生のマーカーである endocan に対する抗体を用いたウェスタンプロットと免疫組織化学を行い、VEGF165b と血管内皮細胞増殖、VEGF-VEGF 受容体シグナリングを介した血管新生の関係を検討した。

【結果】

ウェスタンプロットで評価した VEGF165b 発現は、虚血後 3 日目をピークとして増加した。免疫染色により VEGF165b 発現の局在を評価すると、VEGF165b は虚血中心部の血管内皮細胞に発現した。一方、VEGF は虚血辺縁部に発現し、両者は共局在しなかった。Ki-67 で評価した血管内皮細胞の増殖は、非虚血群では認めないものの、虚血後 3 日目をピークとして虚血中心部において増加した。虚血辺縁部においても同様の傾向であるものの、有意なものではなかった。ウェスタンプロットで評価した endocan の発現は、虚血後 3 日目ではなく虚血後 7 日目以降に増加した。免疫染色により endocan の発現を評価すると、虚血後 3 日目の虚血中心部の血管には認めず、虚血後 7 日目をピークとして虚血周辺部の血管のみに発現し

ていた。

【考 察】

VEGF165b の長期間に及ぶ発現変化が初めて明らかとなり、脳虚血後の亜急性期に発現が増加し、虚血中心部の血管内皮細胞に発現することが示された。脳虚血後亜急性期には虚血中心部においても血管内皮細胞は増殖するものの、endocan 発現は目立たないことから、VEGF165b の発現により、VEGF-VEGF 受容体シグナリングを介した血管新生が阻害されているものと考えられた。末梢動脈病モデルマウスにおいては、抗 VEGF165b 中和抗体投与により血管新生が促進されると報告されていることから、同様に、脳梗塞回復期における抗 VEGF165b 中和抗体の投与が、虚血中心部においても VEGF-VEGF 受容体シグナリングを介した血管新生を促進させることが期待される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

VEGF165b が脳虚血後において発現し、血管新生を抑制している可能性が示された。VEGF165b は脳梗塞の回復期における血管新生を促進する新規治療標的分子として有望であり、将来の脳梗塞再生医療に貢献する可能性がある。

【研究発表リスト（学会・論文）】

Ishikawa M, Takahashi T, Kanazawa M, Kawamura K, Toriyabe M, Miura M, Koyama M, Nishizawa M, Shimohata T. Post-ischemic expression of an anti-angiogenic fator VEGF165b and its inhibitory effect on post-ischemic angiogenesis in rats. Brain and Brain PET 2015 (Vancouver) ポスター発表
石川正典, 高橋哲哉, 金澤雅人, 川村邦雄, 鳥谷部真史, 三浦南, 小山美咲, 西澤正豊, 下畠享良. ラット一過性脳虚血モデルにおける血管新生阻害因子 VEGF165b の検討. 第 40 回日本脳卒中学会(広島)口演