

神経発生と血管発生

Neurovascular development

寺田愛子

Aiko Terada

大阪市立総合医療センター 脳神経外科

Department of Neurosurgery, Osaka City General Hospital

Key words: neurovascular development, brain vasculature,

はじめに

中枢神経系の神経発生については、形態発生学的研究に加え、分子生物学的研究の発達にともない、その分子学的機構について明らかとなっていることが多く、各組織形成単位 (histogenic unit) ごとに異なる領域特異的遺伝子の発現によって神経形成・分化形態形成がすすむことが知られている^{1,2}。中枢神経系の血管発生は、血管由来の発生調整機構はなく、神経組織の成長・酸素需要に従って表層血管から脳実質へ受動的に伸展して形成されると考えられていたが、近年の分子生物学的研究により、血管発生は神経発生と共通のガイダンスシステムで発生し、また神経由来のガイド・シグナルにより血管発生が誘導されるだけでなく、血管由来のガイド・シグナルが神経発生を制御することもあることがわかってきた³⁻⁵。血管発生における分子学的機構は未解明な点が多いが、神経および血管の相互作用により形成される中枢神経系の血管発生について概説する。

生理的な血管形成様式

中胚葉由来の血管芽細胞 (angioblast) や血液血管前駆細胞 (hemangioblast) から分化した血管内皮前駆細胞 (endothelial progenitor cell: EPC) が集合して原始血管叢 (primitive meningeal plexus) を形成する脈管形成 (vasculogenesis) からはじまり、続いて、組織構築に原始血管叢が無血管領域へと侵入し、発芽 (sprouting)、分岐、融合を繰り返しながら、より複雑な毛細血管網を構築する血管新生 (angiogenesis) がみられる⁶。

胎児発生期の細胞学的機構⁶

形態学的発生過程として、原始心筒の拍動開始と神経管の閉鎖前の Carnegie stage (CS) 9 から頭部の血管形成は始まり、CS 10 に頭尾軸に伸長した dorsal aorta から各体節に分節枝が分枝する。CS 13 には dorsal aorta から内頸動脈が発生して Willi's 動脈輪の前駆体が形成され、同時に primary head sinus がみられる。したがって、発生初期から神経管周囲の動静脈構造は脈管形成

(vasculogenesis) により形成されているが、神経管は無血管領域であり、その血管形成は周囲からの侵入による血管新生 (angiogenesis) によって形成される。

発生初期の神経管では、perineural vascular plexus (PNVP) , intraneural vascular plexus (INVP) / penetrating vessels , preriventricular vascular plexus (PVP) の順で血管形成される。

1. PNVP の形成 (E 8.5 / CS 6-10)

起源：中胚葉 (非中枢神経系)

形成様式：主に脈管形成 (vasculogenesis)

ヒト胚の pial capillary anastomotic plexus に相当し、CS17 までに anterior, middle, posterior meningeal plexus となり、後に軟膜 (pia)・クモ膜 (arachnoid) の動静脈へと分化する。

2. INVP (E 9.5, CS 14-23) の形成 (Figure 1, 2)

形成様式：PNVP から発芽型血管新生 (sprouting angiogenesis) により神経管実質へ侵入
放射状に脳室方向へ進み、perforating vessels を形成する

形成方向：侵入時期は吻尾軸と背腹軸によって異なり、時空間的規則性にそって形成される

吻尾軸：神経管閉鎖開始部と同じ中脳・後脳から形成され、その後、前脳方向にも形成される (終脳が最後) .

背腹軸：腹側から背側の方向性。背側皮質が最も遅れる。

外側グリア限界膜 (External glia limiting membrane: EGLM) の突破：astrocyte の放射状グリア終足と基底膜で形成される EGLM が、神経組織と PNVP / capillaries の境界となっているが、グリア基底膜と capillary 基底膜が融合し、capillaries の Tip 細胞 (血管先端内皮細胞) から伸展する糸状仮足 (filopodia) が EGLM を穿孔すると、放射状グリアにそった sprouting angiogenesis がすすむ。この過程で Blood-Brain Barrier (BBB) の特性も獲得される。

Virchow-Ribbin 腔：侵入した血管の周囲腔がクモ膜下腔と連続して残存する。成人でのリンパ系の前駆体とされる。

3. PVP (periventricular vascular plexus) の形成

INVP が脳室帯 (ventricular zone) に到達すると、脳室上皮 (ependymal surface) に平行に側方枝が分枝し、これらの分枝が吻合することで形成される。

Figure 1⁷

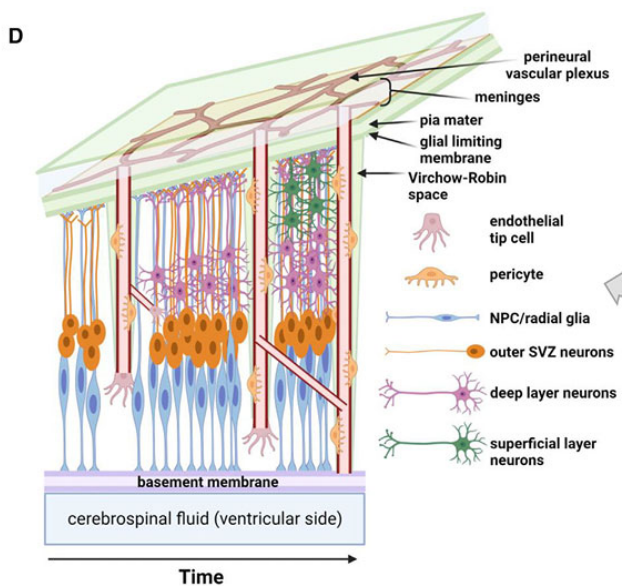
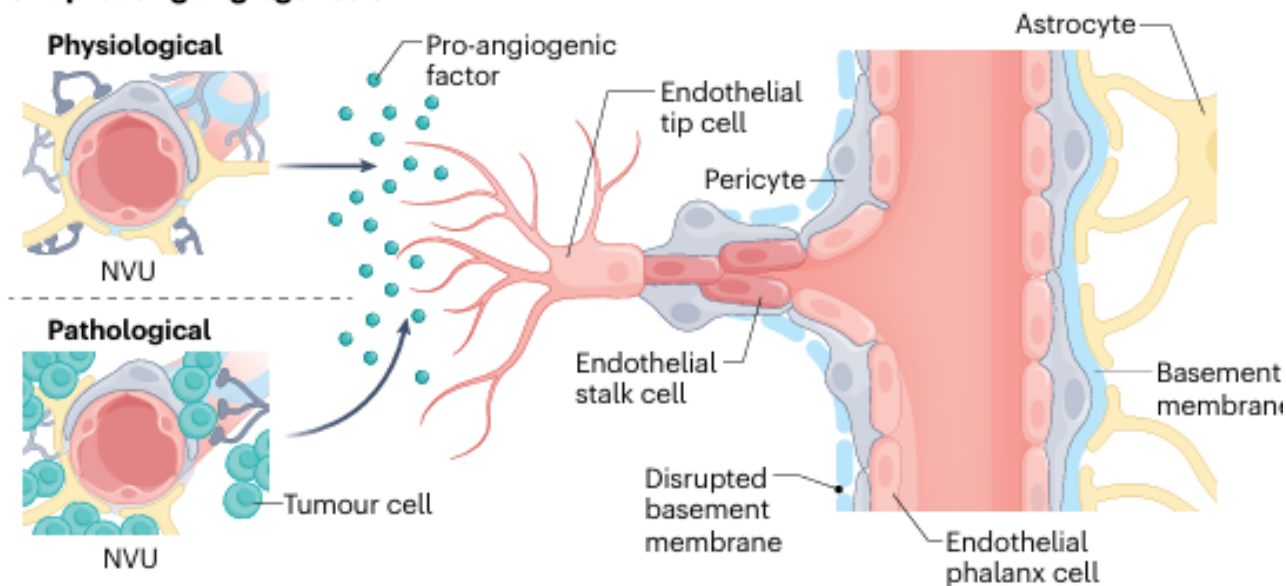


Figure 2⁶

a Sprouting angiogenesis



胎児発生期の分子学的機構

近年、上記の細胞学的血管発形成を制御する主要な分子シグナル経路が明らかとなってきた。

血管形成で大きな役割を果たす神経組織への血管侵入でみられる発芽型血管新生 (sprouting angiogenesis) では、先端に糸状仮足 (filopodia) を無血管領域に向けて伸展する Tip 細胞 (血管先端内皮細胞) が発芽領域に位置しており、その背後で増殖する Stalk 細胞 (血管柄細胞) が管腔伸長を担う。Tip 細胞は無血管領域に発現する血管内皮成長因子 (vascular endothelial growth factor :

VEGF) の濃度勾配に応じて糸状仮足を伸ばし血管成長の方向を決定している^{5,8,9}。また, Tip 細胞では Notch リガンドである Delta-like 4 (Dll4) を発現して Tip 細胞数を制限する一方で, Stalk 細胞では Notch 受容体である Notch1 が発現し, Dll4 に拮抗することで, 血管密度を制御している¹⁰。

Tip 細胞の形態は, 神経軸索伸長における成長円錐 (axon growth cone) に類似しているが, 神経誘導分子である Netrins, Semaphorins, Ephrind/Eph, Slit/Robo や WNT, Shh, BMP, Nogo-A / Nogo-B も血管誘導に関与していることがわかってきており, 分子レベルの相同性もみられる。このような神経-血管共有ガイダンスシステムのことを Neurovascular Link とよぶ⁶。NVL 分子を含む胎児期血管形成を制御するシグナル系は下記にあげられるようなものがわかってきている。

胎児発生期の血管形成を制御する主要シグナル経路⁶ (Figure 3)

<非中枢神経系特異的血管形成シグナル>

1. VEGFA-VEGFR-DLL4-Jagged-Notch 系

Tip 細胞 / Stalk 細胞の分化

発芽型血管新生の方向性

2. YAP-TAZ (Hippo pathway)

Tip 細胞の移動・Stalk 細胞の増殖を促進

3. Angiopoietin-TIE1/TIE2 系

血管安定化・成熟

4. 古典的軸索誘導分子 (血管誘導にも作用する NVL 分子)

- SLIT2-ROBO4 : 血管透過性を抑制, ARF6 / RAC の抑制による血管安定化
- SEMA3A-NRP1-plexinA/D1 : 抗血管新生, Tip 細胞に強く発現
- SEMA3E-plexinD1 : VEGF-DLL4-Notch とクロストーク
- Netrin1 / Netrin4-UNC5B : 抗血管新生, VEGF シグナルの調節
- EphrinB2-EphB4 : 動脈 / 静脈の区別化, E9 から arterial angioblast に発現

5. 非古典的軸索誘導分子 (integrin $\alpha V\beta 8$ -TGF β 系)

TGF β 1-TGFB2-ALK5-SMAD3 経路 : sprouting を抑制し, 血管を安定化

$\alpha V\beta 8$ は脳の背腹軸の TGF β 勾配を活性化するため, 背腹軸の血管侵入を制御し, INVP の形成方向や形成時期の heterogeneity をもたらす

<主な中枢神経系特異的血管新生シグナル>

1. WNT7a/WNT7b-GPR124-RECK- β -catenin シグナル系

CNS 特異的 WNT リガンドである WNT7a / WNT7b は, 神経細胞・グリア細胞で産生され, CNS 内皮細胞特異的に発現した共受容体 GPR124 (Adgra2) / RECK に作用し, WNT7a / b のシグナルを強力に増幅し, β -catenin シグナルを活性化させる。 β -catenin シグナルは, BBB の確立と維持に必須であり, INVP 形成にも必要とする。WNT シグナルには領域差があり, BBB が弱い領域 (脳室周囲器官, 脈絡叢, 眼の脈絡膜毛細血管) では WNT- β -catenin の活性が低下している。高透過性を維持するために WNT 活性が抑制されている。

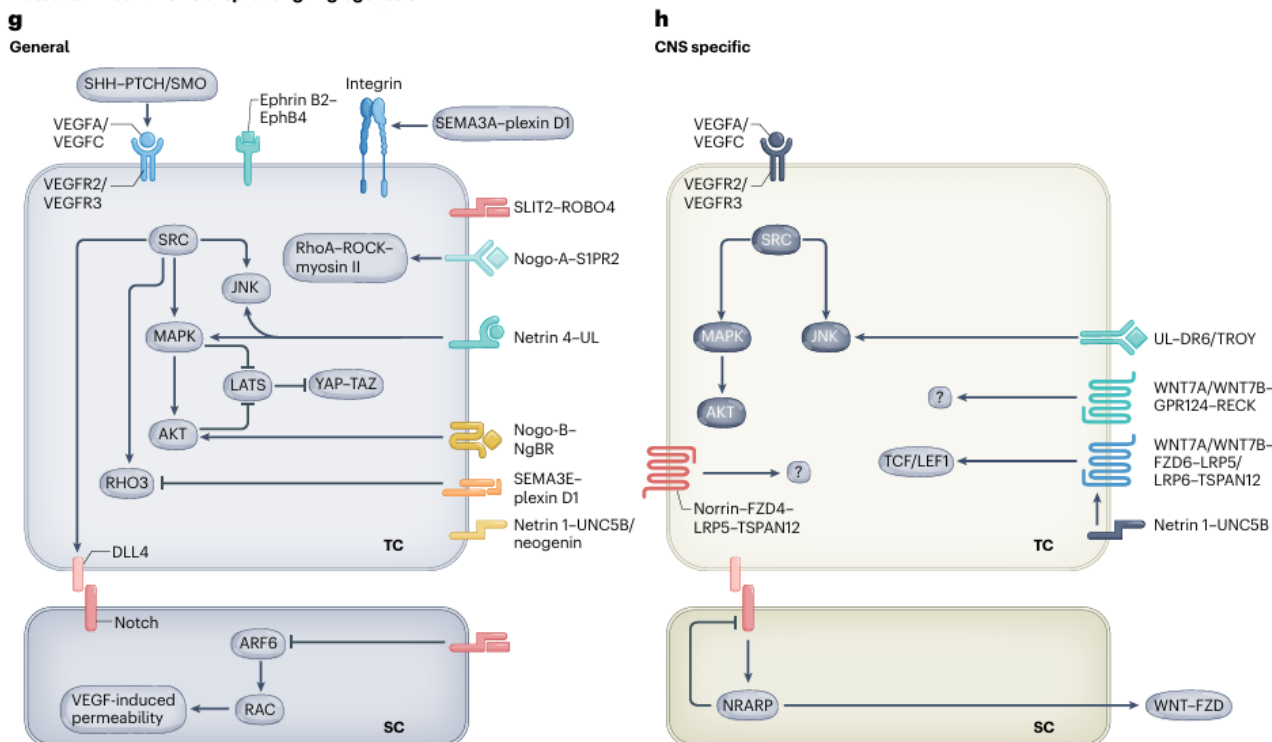
2. Cxcr4-Cxcl12b : CNS 特異的な arteriovenous patterning を示す。

また、BBB の特性の獲得にあたっては、Neurovascular Unit (NVU) ¹¹ が重要な役割をはたす。NVU とは、血管形成に関与する細胞群で、脳微小血管内皮細胞 (brain microepithelial cells), 神経前駆細胞 (neural progenitor cells), 神経細胞 (neuron), グリア細胞, 血管壁細胞 (周皮細胞, 血管平滑筋細胞), 基底膜から構成される。BBB の機能は NVU の相互作用で成立する。NVU は脳領域や発生段階の他、出生後や加齢に応じて変化することが示されてきた ¹²。また近年では、RNA-sq により内皮細胞には動脈→毛細血管→静脈と動静脈軸にそって連続的な遺伝子発現が変化することがわかった。この内皮細胞の arteriovenous zonation (段階的な表現型の変化)により、内皮細胞は滑らかな連続体 (seamless continuum) を形成する。一方で壁細胞は、断続的 zonation を呈し、その境界がやや急峻に変化する (punctuated continuum) ¹³。

病態血管では、arteriovenous zonation の破綻や、中枢神経系特異的血管新生シグナルの特異性の喪失などがおきていることがわかってきている ¹²。

Figure 3⁶

Molecular mechanisms of sprouting angiogenesis



各中枢神経系における血管形成 ⁷

前脳

PNVP と PVP の 2 系統の血管形成が観察される。E9 (CS11) に腹側終脳に局限して PVP が出現し、E10 (CS13/14) には腹側で PVP が明瞭化する。E11 (CS15) に腹側から背側へ血管内皮細胞が移動し、背側終脳にも PVP が形成される。この血管内皮細胞の移動は GABA ニューロンの移動と一致するが、血管内皮細胞が先行して移動する ¹⁴。前脳の発生では、腹側では Nkx2.1, Dlx1/2 が、背側で

は Pax6 が発現し、背腹パターンが決定されるが、この神経前駆細胞の領域特異的遺伝子 (ホメオボックス遺伝子) と同じ遺伝子を、PVP を形成する血管内皮細胞自身が発現することで、血管形成の背腹側パターンも決定していることが示されており^{4,15}、神経系と血管系は同じ分子プログラムで同期していることが示唆される。PVP は、腹側から背側方向と、内側から外側方向に進展し、最終的には両側側脳室を横断する広範な plexus となる。

中脳

ヒト胚の中脳の血管形成のデータは乏しく、マウス胚からの研究から推定される。中脳血管形成は、初期は basal plate 優位で、後期は alar plate 優位へとシフトする。初期は PNVP 由来の perforating vessel が rostral midbrain に限定して出現し、後期に全域に拡大する¹⁵。Willis 動脈輪の分枝から供給される。

後脳・小脳

後脳では、E9.75 (CS13) に PNVP から放射状に血管が侵入開始し、E10 (CS13/14) に放射状血管が脳室面に沿って直格に曲がる。E10.5 (CS14) に隣接する PVs が吻合して SVP (subventricular vascular plexus) を形成する。

小脳皮質の微小血管形成についてのデータは乏しいが、PNVP 由来の血管が小脳表面から侵入し、大脳皮質と類似したパターンで形成されると予想される。

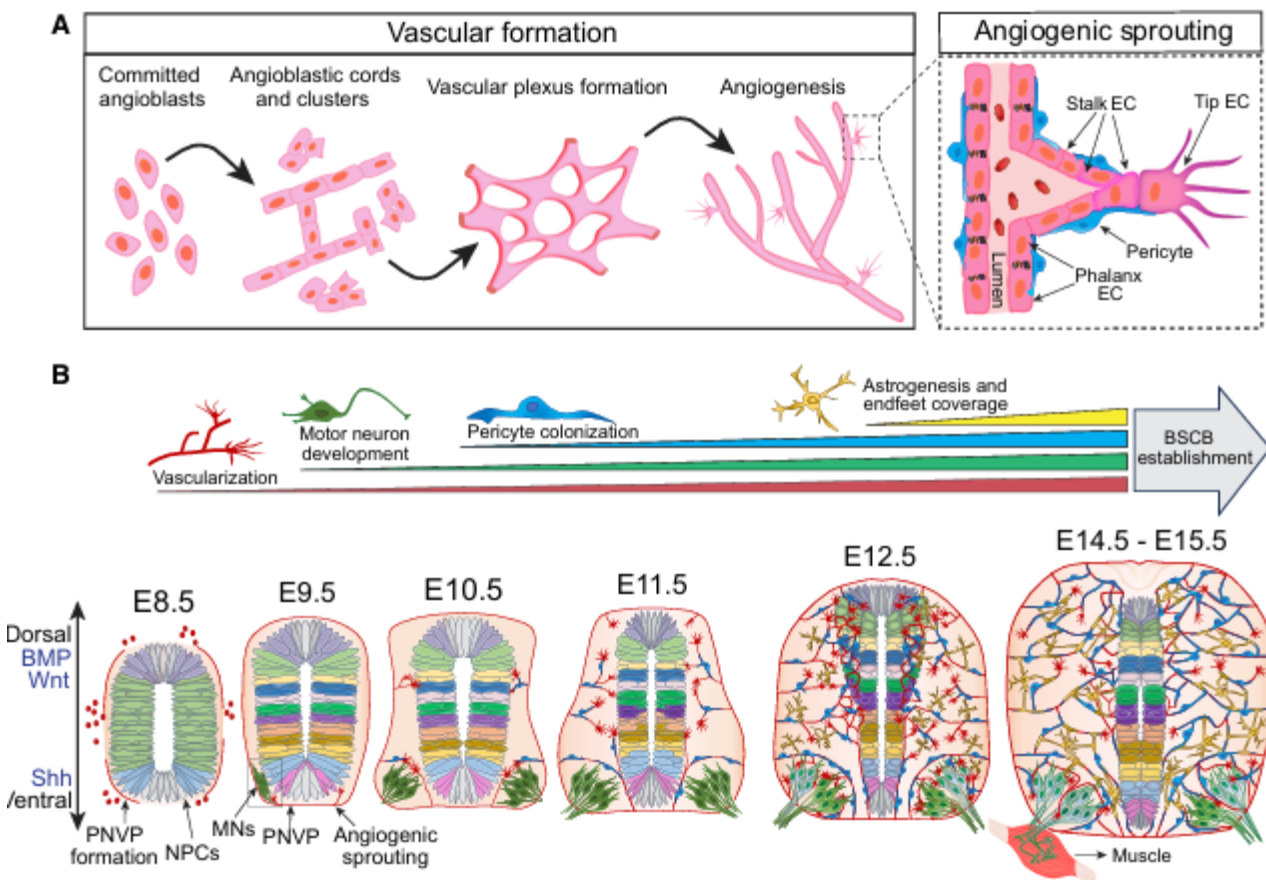
脳底動脈・椎骨動脈が PNVP の主な供給原となる。

脊髄

脊髄の PNVP は、dorsal aorta 由来の VA と dorsal longitudinal vessel から形成される。

脊髄の血管形成は前脳や中脳より早期に開始され、E8.5–E9.5 (CS11/12) から PNVP が形成され始める。E10.5 (CS14) には、神経組織が VEGF と WNT7a / WNT 7b を発現し、PNVP からの発芽型血管新生が脊髄内に放射状に侵入し始める。脊髄は前脳・中脳と異なり PVP を持たない。血管侵入は腹側から背側の順に進む。PNVP からの血管は floor plate 近傍の ventral spinal cord に侵入し、motor neuron column の外側を通過し、その後背側方向へ進む。この際、最背外側領域、motor neuron column, floor plate および神経前駆細胞層の一部は選択的に血管侵入が回避される (Figure4)。運動ニューロン (Motor neuron) は、VEGF と sFlt1 を同時に発現し、血管侵入を精密制御する。VEGF により PNVP の sprout を誘引するが、sFlt1 (VEGF antagonist) により motor neuron column への早期侵入を阻止している^{7,16}。

Figure 4¹⁶



主要血管分岐パターンの決定について

PNVP からの発芽型血管新生において各領域で時空間的 heterogeneity を呈することで、主要な血管分岐パターンが決定すると考えられ、パターン決定には、上記に示したような神経と血管由来の分子学的機構により制御されていることがわかってきた。神経発生では、各組織形成単位 (histogenic unit) ごとに異なる領域特異的遺伝子の発現により神経形成・分化形態形成がすすむことがわかっており^{1,2}、前後軸 (横方向) (neuromeric) と背腹軸 (縦報告) (zonal, columnar) の境界で区切られた細胞群が、この unit に相当し、prosomeric model では、これを基本 unit として脊椎動物に共通する脳の基本設計図が示されている (Figure 5-1)^{1,17}。各領域での血管発生と神経発生とが同じ分子学的機構に制御されることで同期することも明らかになってきており、Pulles らは現時点では未解明な点が多く残る主要動脈分岐パターンを、すでに解明されている神経発生の各領域特異的遺伝子発現に基づいた設計図に投影できる可能性を提唱している (Figure 5-2)。これらの理解は脳動静脈奇形などの血管障害の病態や血管構築の理解の参考となる。

References

1. John I. R. Rubenstein, Salvador Martinez, Kenji Shimamura, Luis Puelles. 1994Science_Rubenstein_The embryonic vertebrate forebrain prosomeric model. *Science (1979)*. 1994;266:578-580.
2. Lumsden & Keyes. Lumsden & Keyes, 1989. Segemental patterns of neuronal development in the chick hindbrain. 1989;24:1-5.
3. Paredes I, Himmels P, Ruiz de Almodóvar C. Neurovascular Communication during CNS Development. *Dev Cell. Cell Press*. 2018;45(1):10-32. doi:10.1016/j.devcel.2018.01.023
4. Vasudevan A, Long JE, Crandall JE, Rubenstein JLR, Bhide PG. Compartment-specific transcription factors orchestrate angiogenesis gradients in the embryonic brain. *Nat Neurosci*. 2008;11(4):429-439.
5. James JM, Gewolb C, Bautch VL. Neurovascular development uses VEGF-A signaling to regulate blood vessel ingression into the neural tube. *Development*. 2009;136(5):833-841. doi:10.1242/dev.028845
6. Wälchli T, Bisschop J, Carmeliet P, et al. Shaping the brain vasculature in development and disease in the single-cell era. *Nat Rev Neurosci. Springer Nature*. 2023;24(5):271-298.
7. Hellström M, Phng LK, Gerhardt H. VEGF and Notch signaling: the yin and yang of angiogenic sprouting. *Cell Adh Migr*. 2007;1(3):133-136.
8. Carmeliet P, Tessier-Lavigne M. Common mechanisms of nerve and blood vessel wiring. *Nature*. 2005;436(7048):193-200.
9. Hellström M, Phng LK, Hofmann JJ, et al. Dll4 signalling through Notch1 regulates formation of tip cells during angiogenesis. *Nature*. 2007;445(7129):776-780.
10. Schaeffer S, Iadecola C. Revisiting the neurovascular unit. *Nat Neurosci. Nature Research*. 2021;24(9):1198-1209. 7
11. Wälchli T, Ghobrial M, Schwab M, et al. Single-cell atlas of the human brain vasculature across development, adulthood and disease. *Nature*. 2024;632(8025):603-613.
12. Vanlandewijck M, He L, Mäe MA, et al. A molecular atlas of cell types and zonation in the brain vasculature. *Nature*. 2018;554(7693):475-480.
13. Won C, Lin Z, Kumar T. P, et al. Autonomous vascular networks synchronize GABA neuron migration in the embryonic forebrain. *Nat Commun*. 2013;4.
14. Puelles L, Martínez-Marin R, Melgarejo-Otalora P, Ayad A, Valavanis A, Ferran JL. Patterned vascularization of embryonic mouse forebrain, and neuromeric topology of major human subarachnoidal arterial branches: A prosomeric mapping. *Front Neuroanat*. 2019;13.
15. Ruiz de Almodovar C, Dupraz S, Bonanomi D. Neurovascular dynamics in the spinal cord from development to pathophysiology. *Neuron. Cell Press*. 2025;113(24):4134-4157.
16. Boutom SM, Silva TP, Palecek SP, Shusta E V., Fernandes TG, Ashton RS. Central nervous system vascularization in human embryos and neural organoids. *Cell Rep. Elsevier B.V*. 2024;43(12).