

論文内容の要旨

マウス初期胚の眼球形成領域の血管形成
(清野太郎, 木村英二, 村嶋亜紀, 黒坂大次郎)
(岩手医学雑誌 69 巻, 5 号 平成 29 年 12 月掲載)

I. 研究目的

血管系の異常が関与する眼科疾患は数多く、病態の理解をさらに深め、新たな治療方法を確立するためには初期を含めた血管発生過程を正確に理解する必要がある。これまでヒトやマウスなどの哺乳類を対象とした眼を栄養する血管系の初期形成過程に関しては、連続切片の再構築や色素注入法による報告、血管系で特異的に緑色蛍光蛋白を発現する遺伝子組み換えマウスを用いた報告、蛍光免疫染色法を用いた報告が既にいくつかなされているが、いまだ眼の初期血管形成に着目しその詳細を明らかにした報告はない。そこで本研究では、哺乳類のモデル生物としてマウスを用いて、初期胚の頭部、特に眼球形成領域の血管系の形成過程を、血管内皮細胞に対する蛍光免疫染色法を用いて 3 次元的に解析した。また得られたマウスにおける所見と、ゼブラフィッシュにおいて報告された所見を比較、解析することで、眼を栄養する血管系の初期形成過程における脊椎動物間での相違性についても明らかにした。

II. 研究対象ならび方法

過去の報告から血管形成が始まると想定される 7.875~8.375 days post coitum (dpc) の間のマウス胚子を対象とし、血管内皮細胞のマーカーとして PECAM-1 (CD31)、血管芽細胞マーカーとして ETV2 を用いて蛍光免疫染色を行った。染色した標本は CUBIC-II 液を用いて透明化処理を施した後、共焦点顕微鏡を用い観察、撮影を行った。取得したイメージングデータから、3 次元再構築ソフト (Amira) を用いて血管のつながりを立体的に解析し、得られた画像をもとに各血管の同定を行った。

III. 研究結果

頭部血管系発生の初期過程を 4 次元的に可視化することに成功し、硝子体血管系に先駆けて形成される眼球形成領域の外表面を覆う血管網の形成過程を明らかにした。そこで、この頭部表面血管系の形成過程を発達に応じて、4 つのステージ (ステージ 1: 血管形成の開始, ステージ 2: 血管の伸展と分岐, ステージ 3: 眼球形成領域周囲の冠状吻合, ステージ 4: 輪状血管網の形成) に分けることで、それぞれのステージにおける血管系の解剖学的構造を詳細に解析した。その結果、伸展した表面血管系が眼胞中央へ向かい、それぞれ分枝を出しながら伸展していく過程や、表面血管系同士が吻合し、リング状に眼胞表面を覆う過程が段階的に観察された。その後それぞれの血管の分布を解析し、眼胞表面の血管系は、原始内頸動脈から分岐した血管それぞれから血管新生が起こり、それらが吻合す

ることで眼胞表面を覆う血管系を形成することを明らかにした。また、頭部全般の血管系を構成する内皮細胞の起源に関して、PECAM-1, ETV2 を用いた免疫染色標本の解析により、原始内頸動脈の形成以前に、CD31 陽性細胞が眼胞形成領域の外背側を中心に存在していることを確認した。同時期の脳胞の外側表面に、ETV2 陽性の血管芽細胞が広汎に散在していることが明らかとなり、このことから、第1大動脈弓由来の血管とは独立した頭部の血管床が哺乳類において存在している可能性が示唆された。

IV. 結 語

マウス胚子の眼球形成領域の初期血管系の形成過程を形態学的に解析し、初めてその詳細を明らかにするとともに、頭部の独立した血管床が存在する可能性を示した。この独立した血管床は、小型魚類のゼブラフィッシュにおいても、その存在が報告されており、今後より詳細に解析を進めていく必要がある。眼の血管系が関与する先天性および後天性疾患による視覚障害を治療するうえで、初期の眼の血管形成過程を理解することは、その形態形成、あるいは病態メカニズムを解明する際に有用な基盤情報となる。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 佐藤 洋一 (医学教育学講座)

副査 教授 齋野 朝幸 (解剖学講座:細胞生物学分野)

副査 講師 村井 憲一 (眼科学講座)

本研究はマウスをモデルに眼球の血管形成過程を明らかにし、眼の血管系が関与する先天性および後天性疾患による視覚障害を治療するうえで必要な眼の発生と病態メカニズムを解明する際に有用な基盤情報を得ることを目的としている。

これまでヒトやマウスなどの哺乳類を対象とした眼を栄養する血管系の初期形成過程に関しては、いずれも血液循環の開始以降で血管の管腔が形成された段階以降での血管形成過程を対象としており、いまだに眼の初期血管形成に着目しその詳細を明らかにした報告は無かった。そこで本研究では、マウスの初期胚 (7.875~8.375 dpc) の頭部、特に眼球形成領域の血管系の形成過程を、血管内皮細胞に対する蛍光免疫染色法を用いて3次元的に解析した。

結果、初めてマウス胚子で血液循環の始まる以前の眼球形成領域の初期血管系の詳細を明らかにした。すなわち、眼胞形成以前に原始内頸動脈とその分枝から眼球形成領域の外側表面に輪状血管が完成されることを見出した。これまで眼球の血管形成は眼胞形成に伴って発生すると考えられてきたが、それ以前に眼球形成に関わる血管系の存在が示唆される。また、頭部に体幹の血管系から独立した血管床が存在する可能性も明らかにした。この独立した血管床は、小型魚類のゼブラフィッシュにおいても、その存在が報告されているが、眼球形成領域の輪状血管の由来とも関係しており、これまでの血管発生学の脈管形成と血管新生の常識を覆す知見である。

今後、更に静脈系の発生も含めた詳細な解析が求められるが、今回得られた結果は血管発生学に大きなインパクトを与えることが予想される。また眼の発生の詳細を知る上でも重要な情報となるであろう。学位に値する研究である。

試験・試問の結果の要旨

本文の要旨についての質問に加え、血管発生学の解析手法および血管発生異常を伴う疾患に関する諮問を行い、適切な回答を得た。学位に値する学識を有していると考えられる。また、学位論文の作成にあたって、剽窃・盗作等の研究不正は無いことを確認した。

参考論文

- 1) 観血的整復固定を行った肩甲帯重複損傷の一例 (三又義訓, 他1名と共著)
岩手県立病院医学会雑誌 第53巻, 第1号 (2013)
- 2) 初心者の白内障手術における粘弾性物質による眼圧および角膜内皮細胞への影響 (坂本うみ, 他6名と共著)
岩手医学雑誌 第69巻, 第3号 (2017)
- 3) Effect of green tea polyphenols on glucocorticoid-induced cataract formation in chick embryo (ステロイド誘発鶏胚白内障モデルにおける緑茶ポリフェノールの効果)
(前田可奈子, 他7名と共著) 岩手医学雑誌 第69巻, 第4号 (2017)