

Original

マウス胚の頭部初期血管系の形成過程の形態学的解析

齊藤美帆, 木村英二, 人見次郎

岩手医科大学医学部, 解剖学講座人体発生学分野

(Received on December 1, 2017 & Accepted on December 28, 2017)

要旨

ヒトを含め哺乳類の頭部血管系が、どのように形成されるのかは、いまだ十分解明されていない。本研究では、神経板と頭突起が形成される時期のマウス胚の連続切片と透明化ホールマウント標本を作製し、初期血管内皮細胞を PECAM-1 の免疫染色で同定することにより、頭部の脈管形成の詳細を解析した。その結果、背側大動脈が第一大動脈弓との連絡部を超えて頭端領

域まで伸長し、その拡張した先端部が神経板に接することが明らかとなった。さらに、背側大動脈先端部分と神経板直下の血管系が心臓原基や背側大動脈と独立して形成される可能性も示唆された。これまで背側大動脈の頭端についての記載は無く、頭部の主要な血管形成を担うとされてきた原始内頸動脈の発生も含めて、頭部血管系の脈管形成は再考されるべき課題と言える。

Key words : vasculogenesis, cephalic vasculature, mouse, transparent embryos, immuno-staining

I. 緒 言

血管は酸素や栄養を体内の細胞に運び、同時に二酸化炭素や老廃物を回収する役割を果たし、個体内のほぼすべての組織に存在している。また、さまざまな病態の発生や進展にも関わっており、血管形成過程を理解することは、再生医療を進める上で、また病態生理を理解する上でも重要である。特に、脳の血管は内頸動脈と椎骨動脈で支配され、2つの血管をつなぐ脳底動脈系の基本構造は、魚類から哺乳類まで脊椎動物を通じて、種を超えて保存的であり、特徴的である¹⁾。

ヒトにおける初期の頭部血管系の発生に関しては、Padgett が 1948 年と 1957 年に胎児の連続切片標本の三次元再構築を行った結果を報告している^{2,3)}。すなわち、頭部血管形成の初

期の過程において、第一大動脈弓から伸長した原始内頸動脈が尾側への分枝血管を介して原始後脳血管路 (primordial hindbrain channel, PHBC) につながり初期の脳血液循環路が確立するが、同時に背側大動脈から分岐したいくつかの脳神経に対応した原始三叉神経動脈などが、原始後脳血管路と連絡する。そして長きにわたり、これらの血管が、頭部の血管網を形成する内皮細胞を供給すると考えられてきた。しかしながら、これらの原始後脳血管路と繋がる複数の動脈の存在は、種によって安定しておらず、供給母体として、確実性に欠いていることも指摘されてきた⁴⁾。

ヒトやマウスなどの哺乳動物では、発生の初期過程は母体の体内で進行するので、つぶさに観察することはかなわない。この制限を克服するモデル生物として、近年発生研究に用いられるようになったのが小型魚類のゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) であるが、このモデルを使っ

Corresponding author: Jiro Hitomi
jhitomi@iwate-med.ac.jp

て、背側大動脈の脈管形成の機構やそこから血管新生する脊髄の血管系の形成過程が明らかになっている^{5, 6)}。一方、Proulxらは、初期の血管芽細胞の分化マーカーであるEtv2のBACトランスジェニックを用いた解析により、頭部において、背側大動脈とは独立した血管床が存在することを報告した⁷⁾。すなわち、ゼブラフィッシュでは、発生初期過程に、眼胞の嘴側に形成されるROC (rostral organizing center)からは頭部の動脈を形成する血管床が形成され、また眼胞と耳胞の間に形成されるMOC (midbrain organizing center)からは、頭部の静脈を形成する血管床と原始内頸動脈が形成される。我々もゼブラフィッシュを用いた研究から、これらの結果と同様の解析結果を得ている⁸⁾。以上の結果は、頭部の血管網を構成する内皮細胞が背側大動脈から供給されるとするこれまでの概念を覆すもので、背側大動脈とは独立して形成された血管床からの血管新生によって頭部血管系が形成されることを示唆している。

本研究では、哺乳類のモデル生物としてマウス胚を用いて、小型魚類のゼブラフィッシュにおいて明らかになった初期の頭部血管系の発生母地となる独立した血管床の存在が、哺乳類においても保存されているのかを明らかにすることを目的とした。また、血管発生のプロセスの初期に中胚葉から血球血管芽細胞(ヘマンジオブラスト)や血管芽細胞(アンジオブラスト)へ分化していく段階で血球系と内皮系で表面マーカーを共有していることを踏まえて、従来から最も初期の血管形成の血管内皮細胞のマーカーとして認知されるPECAM-1 (CD31)の発現に着目し^{9, 10)}、この細胞群を可視化することで、初期の頭部血管形成過程を形態学的に解析した。

II. 研究材料および方法

1. 研究倫理

本研究では、マウス胚のパラフィン連続切片の酵素組織学的免疫染色とホルマウムの蛍

光免疫染色を行った。動物実験は、岩手医科大学動物実験委員会の承認後(承認番号: 26-026)、動物実験規定を遵守して実施した。

2. マウス胚の取り出し

ICRの妊娠マウス(日本クレア, 東京)を用いて、血管形成が始まると想定される交尾後7.5~8.5日目(days post coitum, dpc)のマウス胚を対象とした。ICR妊娠マウスをイソフルランによる麻酔を施した後、胚をリン酸緩衝液中で摘出し、室温で1~2時間2%PFAで固定した。固定後、メタノール系列による脱水処理を行い、ホルマウント蛍光免疫染色用に100%メタノール液中で保存(-30℃)するとともに、一部は切片作成用に親水処理後パラフィンで包埋した。

3. 連続切片を用いた免疫染色

血管網の観察のため、一次抗体として抗PECAM-1ウサギポリクローナル抗体(abcam; ab28346)、二次抗体としてHRP標識ヤギ抗ウサギIgG(H+L)抗体(abcam, ab6721)を用いた。発色にはDAB(VECTOR, SK-4105)を用い、対比染色としてヘマトキシリン(Mayer)染色(武藤化学, 3000-2)を施した。6 μ mの連続パラフィン切片を作成し、脱パラフィン後、Target Retrieval Solution(Dako, S1699)を用いて抗原の賦活化を行った。続いて、3%過酸化水素水による内因性ペルオキシダーゼ失活を行い、10%FBSによりブロッキングを1時間行い、一次抗体を10倍希釈で2時間反応後、二次抗体を1000倍希釈で2時間反応させ、DABを用いて発色させた。その後、ヘマトキシリンで核染色し、光学顕微鏡(BX51, OLYMPUS)で観察・撮影した。

4. ホルマウント蛍光免疫染色

連続切片標本と同様に、血管内皮細胞のマーカーPECAM-1に対して、マウス胚のホルマウント蛍光免疫染色を行った。一次抗体として、抗CD31ウサギポリクローナル抗体(abcam, ab28346)、二次抗体としてHRP

表 1. 解析に用いた胚のステージ分類と形態的特徴と数

dpc	7	8				9
Theiler stage	10	11	11	12	12	13
Findings	Neural plate Head process	bud to early head fold to late head fold	Late head fold (LHF), foregut invagination	1-4 somites, allantois extends, 1st branchial arch, heart starts to form, foregut pocket visible	5-7 somites, Absent: The 2nd branchial arch and >7 somites.	8-12 somites, Turning of the embryo, 1st branchial arch has maxillary and mandibular components, 2nd arch present Absent 3rd branchial arch
n	14	8	11	7	9	6

標識ヤギ抗ウサギ IgG (H+L) 抗体 (abcam, ab6721), 蛍光の発色には, TSA Fluorescein System (PerkinElmer, SAT701001KT) を用いた. 保存胚を親水処理後, 50%DMSO 及び 2.5% Triton-X 100 にて浸透化処理し, 3% 過酸化水素水にて内因性ペルオキシダーゼの不活性化を行った. 10%FBS にて一晚ブロッケン処理を施し, 一次抗体 (10 倍希釈) で 2 日間反応後, 二次抗体 (500 倍希釈) で一晚反応させ, TSA Fluorescein reagent (50 倍希釈) で 1 時間反応させシグナルの増幅を行った. 4%PFA にて後固定後, CUBIC- II 液を用いて透明化処理を施した^{11, 12)}.

5. ホールマウント染色標本のイメージングと三次元再構築による解析

CUBIC- II 液で透明化処理を施した標本を, 共焦点レーザー顕微鏡 (LSM510, Zeiss) を用いて観察し, 撮影を行った. 取得したイメージングデータを用いて, 三次元再構築ソフト (Amira, Thermo Scientific Amira) により血管のつながりを三次元的に解析し, 初期血管網の各血管を同定し, その位置関係を解析した.

III. 結 果

1. 背側大動脈と第一大動脈弓

頭部の初期の脈管形成の過程を明らかにする目的で, 心臓形成と背側大動脈が形成される 8

dpc 前後の胚を対象に解析を行った. その際, マウスの胚の発生は同腹でも個体差が大きいため, 7.5 から 8.5 dpc の胚を集め, Theiler のステージ分類の 10 から 13 の記載に則って¹³⁾, 心臓形成, 体節形成の進行を指標に, 胚の成熟度を区別した (表 1).

図 1 はパラフィン包埋した 8.5 dpc 胚の連続切片の PECAM-1 免疫染色像の一部である. 神経板 (neural plate, NP), 心内膜筒, 前腸ポケット (foregut pocket, V), 卵黄膜内の血島が観察される一方で, 体節形成は 2 つが確認され, ステージ 12 の初期の特徴に一致する. この時, 胚内に血球は観察されていない.

PECAM-1 は心内膜筒の内皮細胞に強く陽性であるとともに, 頭部の前腸ポケットの左右両側の中胚葉に観察される管腔の内皮にも陽性である. また, 神経板上皮に沿って, その直下に管腔が散見されるが, その内腔を覆う上皮にも陽性である. これらの PECAM-1 陽性細胞は形態からも血管内皮細胞と同定できる. 解剖学的な位置関係から頭部間葉組織中の管腔構造は背側大動脈 (dorsal aorta, DA) であると判断した.

2 本の背側大動脈は平行に, 脊索板のやや外側を, 前腸ポケットの背側の上皮の基底面に接して, 体軸の前後を走行しており, 心内膜筒と大動脈弓 (aortic arch, AA) で連絡した後 (3-16 の矢印), さらにその前方の頭部間葉組

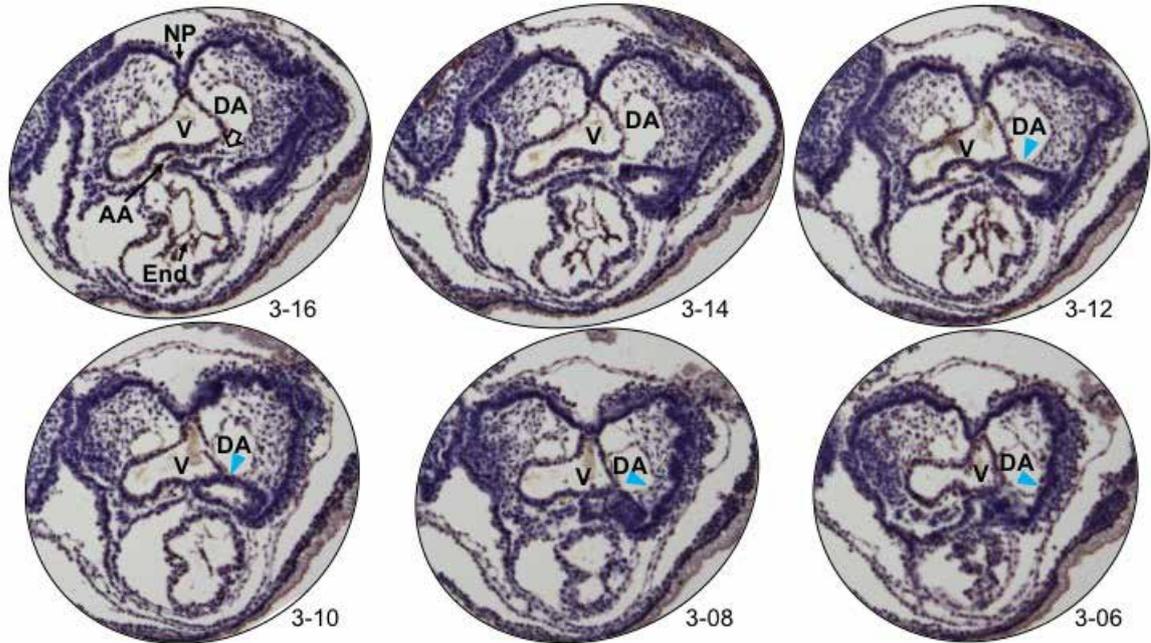


図1. ステージ12胚のPECAM-1免疫染色連続切片像。

ステージ12胚(8.5 dpc)をパラフィン包埋し, その連続切片を抗PECAM-1抗体で免疫染色した. 切片はほぼ水平断面で, 体軸後方から3-16, 14, 12, 10, 8, 6の順で前方に向かう. 心内膜筒と背側大動脈の血管内皮が陽性である. 白抜き矢印, 第一大動脈弓-背側大動脈連結部; 矢頭, 背側大動脈と神経板との接触部; A, aortic arch; DA, dorsal aorta; End, endocardial tube; V, foregut pocket. $\times 100$

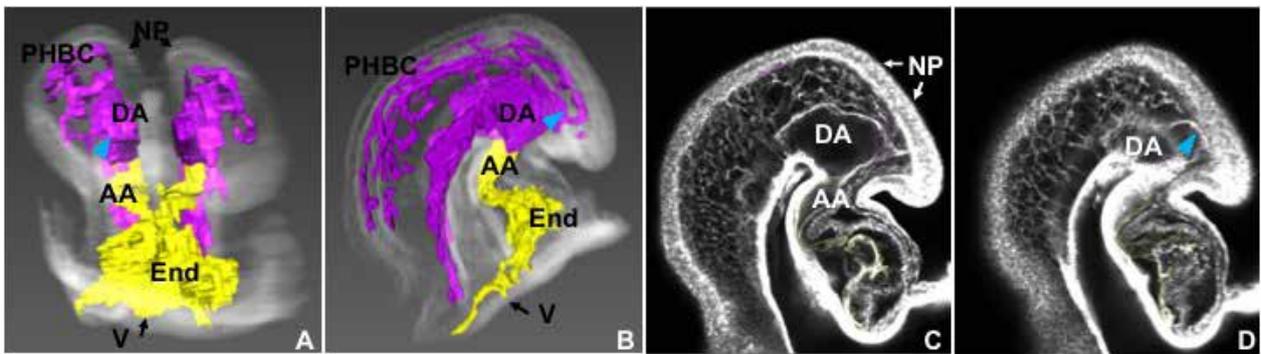


図2. ステージ12胚のPECAM-1免疫染色ホールマウント標本の三次元再構築像。

抗PECAM-1抗体で免疫染色したステージ12胚(8.125 dpc)のホールマウント標本の矢状断面を共焦点レーザー顕微鏡で $5.87 \mu\text{m}$ スライス67フレームを撮像後, Amiraを使い, 連続切片のPECAM-1陽性の内皮細胞を描出して, 血管を三次元再構築した. A, 正面像; B, 左側面像; C-D, 断層像. それぞれ26番目と28番目のスライス. 28が内側である. 矢頭, 背側大動脈と神経板との接触部; AA, aortic arch; DA, dorsal aorta; End, endocardial tube; PHBC, primordial hindbrain channel; V, foregut pocket.

織内を伸長して, 図1の切片番号3-12, 10, 8, 6の矢頭が示すように, 頭部の腹側及び外側の神経板の上皮の基底面に接していた.

2. 背側大動脈と頭端部神経板

ステージ12胚のパラフィン切片のPECAM-1

の免疫染色標本では, 背側大動脈が大動脈弓を超えて, 頭部の神経板に接していることが観察されたが, 血管の全体像の把握が難しいため, 血管の三次元的な走行が確認できるように, PECAM-1免疫染色したホールマウント標本を

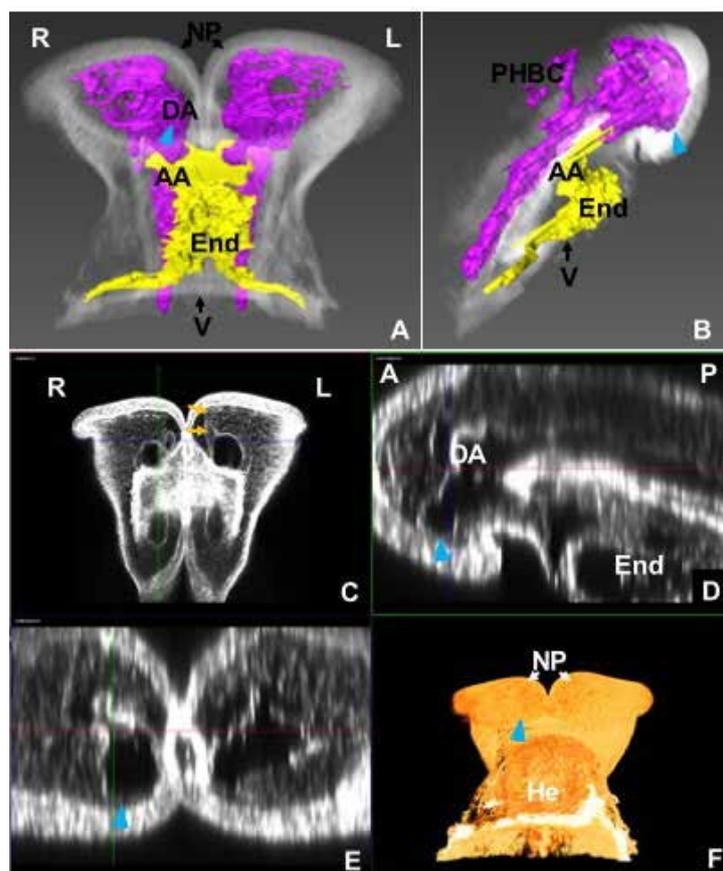


図3. ステージ12初期胚のPECAM-1免疫染色ホールマウント標本の三次元再構築像。

抗PECAM-1抗体で免疫染色したステージ12初期胚(8.125 dpc)のホールマウント標本の前頭断面を共焦点レーザー顕微鏡で5.87 μm スライス47フレームを撮像後、Amiraを使い、連続切片のPECAM-1陽性の内皮細胞を描出して、血管を三次元再構築した。A, 正面像; B, 左側面像; C, 前頭断面; D, 矢状断面; E, 水平断面; F, 前方から見た像; 矢頭, 背側大動脈と神経板との接触部; AA, aortic arch; DA, dorsal aorta; End, endocardial tube; He, heart tube; PHBC, primordial hindbrain channel; V, foregut pocket.

使い、さらに若いステージの胚の背側大動脈と前脳の神経板を観察した。

ステージ12の初期の胚では、心臓原基から心内膜筒への変化と第一大動脈弓の形成過程が観察されたが、いずれの標本でも背側大動脈が第一大動脈弓を超えて伸長し、その先端部は神経板に接していることが確認された(図2-4)。

図2は8.125 dpcの胚で、心内膜筒(endocardial tube, End)の形態から、図1とほぼ同じ発生段階の胚と判断できる。図2のAとBはそれぞれ、レーザー顕微鏡の67枚の断層像を画像解析ソフトのAmiraを用いて三次元再構築した頭部の正面像と側面像である。また、

図2のCとDはその断層像の26枚目と28枚目である。背側大動脈は、前腸の背面を走行し、心内膜筒から繋がる大動脈弓との合流部で大きく拡張していた。背側大動脈の背側の外側後方には、血管洞が観察され、将来の原始後脳血管路と思われる血管が観察された。図2のCとDでは、背側大動脈の先端部が大きく拡張していることがよくわかる。拡張した背側大動脈の先端は矢頭の部分で、神経板上皮の基底部分と接していた。

図3はステージ12のさらに若い個体のPECAM-1免疫染色三次元再構築像である。図2の個体に比較して、頭部の膨らみも乏しく、

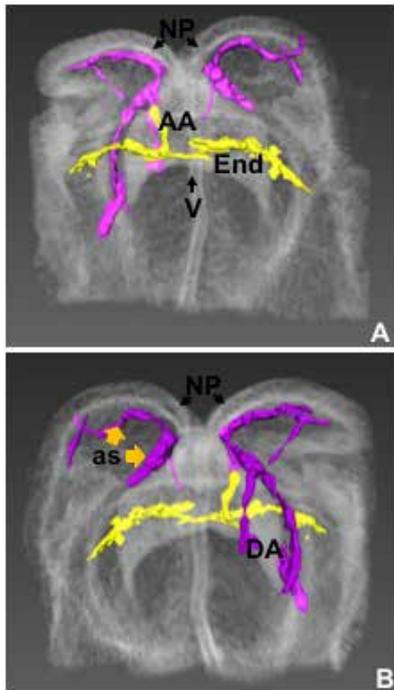


図4. ステージ11後期胚のPECAM-1免疫染色ホールマウント標本の三次元再構築像
抗PECAM-1抗体で免疫染色したステージ11胚(7.875 dpc)のホールマウント標本の前頭断面を共焦点レーザー顕微鏡で5.87 μ m スライス41フレームを撮像後, Amiraを使い, 連続切片のPECAM-1陽性の内皮細胞を描出して, 血管を三次元再構築した. A, 背側像; B, 腹側像; 矢頭, 背側大動脈と神経板との接触部; AA, aortic arch; DA, dorsal aorta; End, endocardial tube; AS, anterior sinus.

心内膜筒がまっすぐで小さく, 原始後脳血管路の形成も不十分である. しかし, 背面(前頭断面)からは背側大動脈の頭部での拡張とそこから前方へ伸長する血管が確認され(図3C矢印), さらにその伸長した血管は神経板に沿って走行した. また, 矢状断面(図3D)と水平断面(図3E)では, 拡張した背側大動脈先端部が頭部の腹内側で神経板との接触するのが確認できた.

3. 頭部の脈管形成

心臓形成と背側大動脈の形成との関係を確認するために, 心内膜筒が形成される以前の胚を観察した. 図4は7.875 dpcの胚のPECAM-1免疫染色三次元再構築像である. 神経板の下面で心臓原基の細胞索が膨らんで, 馬蹄形に広

がっていた. 一方, 頭端部の神経板の下面に沿って走行する血管洞が確認された. この血管洞は, 左右に存在していたが, 神経板の正中部, すなわち脊索板の左右で後方に折れ曲がり, 前腸ポケットの側面を後方に向かって走行していたが, 前腸ポケットを超えて, その存在を確認できなかった(図4B矢印). この時, 左側のこの血管洞は大動脈弓と連絡していなかった. 左側の血管洞には心臓原基と連絡する血管路があり, 大動脈弓と考えられた. 背側大動脈と思われる血管は左側のみ観察されたが, その外側にも体軸の前後方向に走行する血管が認められた.

この胚の右側のような血管洞, すなわち, 大動脈弓と連絡が無く, 背側大動脈とも判断の付かない血管洞は, 同じステージ11の他の個体でも確認され, ステージ12以降で確認できる背側大動脈や原始後脳血管路と区別するため, 「神経板頭端血管洞 anterior sinus of neural plate」と名付けた.

IV. 考 察

我々は胚の初期血管系の発生過程に興味を持ち, ゼブラフィッシュやマウスの胚の血管形成を観察してきた. 特に脳の血管系は, ヒトと同じくゼブラフィッシュでもマウスでも, 内頸動脈と椎骨動脈の2つの血管系により構成され, 且つ, 両者が脳底部で動脈輪を形成し, 互いに交通しているが, この関係は両生類から哺乳類まで, 種を越えて脊椎動物に良く保存されていて, その発生過程は非常に興味深い. これまで椎骨動脈と連絡する脳底動脈の形成過程については, ゼブラフィッシュで明らかにしてきた¹⁴⁾が, 内頸動脈の形成過程の詳細は明らかにしていない.

浦は, 岩手医科大学の学生用教科書の解剖学総論に, 内頸動脈は, 背側大動脈の前方の続きである第一及び第二大動脈弓が消失したときに, 第三動脈弓の背側脚をうける形で形成され,

耳胞から前方に hypobranchial artery とともに分布すると記載している¹⁵⁾。一方、背側大動脈と大動脈弓については、『血管系は消化管の周囲からできる。心臓からうしろでは背側に大動脈、腹側に腸下静脈が形成され腸管側壁の血管網で互いに連絡された形が最も原始的なものである。心臓から前では腸下静脈の前の続きとして動脈幹又は腹側大動脈が鰓腸の腹側を走り咽頭部のところで大動脈弓を作って背側の多くは融合しない有対の背側大動脈又は大動脈根と連絡している。』とし、左右の第一大動脈弓が連絡する咽頭部での背側大動脈がどのような形態をしているのか、さらに頭方への伸び出しがあるのか、については述べていない。また、Theilerによると、背側大動脈は体節が形成される8 dpcのステージ12で、体幹部の体節茎の直下で両側性に発生するとしているが、やはりその詳細については、不明である¹³⁾。最近では、DrakeらやWallsらのグループがマウス胚の脈管形成について報告しているが、背側大動脈と内頸動脈の関係の詳細は記載がない^{16, 17)}。

我々は、DrakeらやWallsらと同じくPECAM-1の抗体を用いて、胚の脈管形成を観察したが、モノクローナル抗体ではなく、染色の感度を上げるためにポリクローナル抗体を用いた。特異度は変わらず、背側大動脈や心内膜の内皮細胞とそれに連続する血管内皮細胞が染色された。同時に、前腸と後腸の上皮も強い反応を示したが、解析に影響はなかった。

パラフィン包埋した胚の連続切片の免疫染色標本では、浦の記載と同様に、背側大動脈が前腸ポケットに接して、頭端部に延びていることが確認され、ポケットの拡大した部分を越えた部位で大動脈弓と連続していた。またそれよりも前方の頭方の神経板直下の間葉組織にも伸長していることが確認できた。また、ホールマウント標本の血管の三次元再構築像でも、背側大動脈は、前腸ポケットの口側端で大動脈弓と連

絡すること、連絡部では拡張し、さらに前方の頭端部の神経板と接触することが、明らかになった。Wallsらの報告の画像にも同様の血管は確認できるが、彼らはこの部位を原始内頸動脈と記載している。しかし、原始内頸動脈は第一大動脈弓と第二大動脈弓および第三大動脈弓との連絡を絶たれた背側大動脈の遺残部のことであり、また背側大動脈との明らかな連続性から考えて、これを内頸動脈とすることはできない。

また、神経板との接触部では、背側大動脈の拡張した部分から外側後方に、神経板に沿って延びる血管があり、その後方では、のちに原始後脳血管路と呼ばれる血管に似た走行を示した。原始後脳血管路は、耳胞及び三叉神経節以下の脳神経節の腹内側にあつて前脳及び中脳部の静脈を受け鰓廓のうしろで前主静脈に注ぐ。ステージ11の胚では、背側大動脈の頭端部と神経板に沿って外側後方に延びる血管路が、心内膜筒が形成される以前に、体幹の背側大動脈からも、大動脈弓からも独立して観察された。この血管系の存在が普遍的であれば、胚で最も早期に脈管形成される血管系であり、神経板に特異的な分布を示す血管系である可能性を考え、原始後脳血管路とも区別し、「神経板頭端血管洞」と名付け、さらに検討を加えたい。一方、ゼブラフィッシュでは、頭部に背側大動脈とは独立した血管床が存在する^{7), 8)}。それは、頭端の嘴側に形成されるROCと名付けられており、ここから頭部の動脈を形成すると考えられている。この血管系の発生過程は、神経板頭端血管洞とよく似ており、哺乳類のマウスでも同様の機構が存在する可能性がある。

さて、内頸動脈の形成過程であるが、清野らの報告では、ステージ12のマウス胚で前脳の神経板の背面に眼溝が形成される時期に合致して、原始内頸動脈は第一大動脈弓と背側大動脈の連絡部から、眼球形成領域の外表面に延び出しており、神経板から形成される眼溝に圧排さ

れるように存在している¹⁸⁾。また、神経板に沿って走行している。このことは、清野らの観察した原始内頸動脈は、もともとそこに存在していた背側大動脈の頭端部が眼溝から眼杯の形成により、圧排・伸展した可能性を示している。今後は所謂、原始内頸動脈と背側大動脈の関係の詳細を、ステージ12の胚を中心に明らかにしていく必要がある。

稿を終えるにあたり研究の遂行に際し、御協力を賜りました岩手医科大学解剖学講座・人体発生分野の及川里百合研究補助員、菊池恵子研究補助員、職員の皆様に深く感謝致します。

動物実験にあたりましては御指導、御協力を賜りました岩手医科大学医歯薬総合研究所動物実験センターの技術員諸兄、解剖学講座・人体発生分野の村嶋亜紀助教に深く感謝致します。

利益相反：著者には開示すべき利益相反はない。

References

- 1) **Rahmat S and Gilland E:** Comparative Anatomy of the Carotid-Basilar Arterial Trunk and Hindbrain Penetrating Arteries in Vertebrates. *The Open Anatomy Journal* **6**, 1-26, 2014.
- 2) **Padgett DH:** The development of the cranial arteries in the human embryo. *Contrib Embryol* **212**, 207-261, 1948.
- 3) **Padgett, DH:** The development of the Cranial Venous System in man, from the viewpoint of comparative anatomy. *Contributions to embryology* Vol. 247, Carnegie Inst, Washington, 1957.
- 4) 浦 良治：頭の血管の発生について。岩手医誌 **20**, 619-623, 1969.
- 5) **Lawson ND and Weinstein BM:** Arteries and veins: making a difference with zebrafish. *Nature Reviews Genetics* **3**, 674 -682, 2002.
- 6) **Isogai S, Lawson ND, Torrealday S, et al.:** Angiogenic network formation in the developing vertebrate trunk. *Development* **130**, 5281-5290, 2003.
- 7) **Proulx K, Lu A and Sumanas S:** Cranial vasculature in zebrafish forms by angioblast cluster-derived angiogenesis. *Dev Biol* **348**, 34-46, 2010.
- 8) **Hashiura T, Kimura E, Fujisawa S, et al.:** Live imaging of primary ocular vasculature formation in zebrafish. *PLoS One* **12**(4), e0176456, 2017.
- 9) **Newman PJ:** The Biology of PECAM-1. *J Clin Invest* **99**, 3-8, 1997.
- 10) **Wang HU, Chen ZF and Anderson DJ:** Molecular Distinction and Angiogenic Interaction between Embryonic Arteries and Veins Revealed by ephrin-B2 and Its receptor Eph-B4. *Cell* **93**, 741-753, 1998.
- 11) **Susaki E, Tainaka K, Perrin D, et al.:** Whole-brain imaging with single-cell resolution using chemical cocktails and computational analysis. *Cell* **157**, 726-739, 2014.
- 12) **Tainaka K, Kubota S, Suyama T, et al.:** Whole-body imaging with single-cell resolution by tissue decolorization. *Cell* **159**, 911-924, 2014.
- 13) **Theiler K:** *The House Mouse Atlas of Embryonic Development*, Springer-Verlag, New York, 1989.
- 14) **Kimura E, Isogai S and Hitomi J:** Integration of vascular systems between the brain and spinal cord in zebrafish. *Dev Biol* **406**, 40-51, 2015.
- 15) 浦 良治：解剖学総論，補正第2版，pp. 227-229，杜陵タイプ，盛岡，1972.
- 16) **Drake CJ and Fleming PA:** Vasculogenesis in the day 6.5 to 9.5 mouse embryo. *Blood* **95**, 1671-1679, 2000.
- 17) **Walls JR, Coultas L, Rossant J, et al.:** Three-dimensional analysis of vascular development in the mouse embryo. *Plos one* **3**, e2853, 2008.
- 18) 清野太郎, 木村英二, 村嶋亜紀, 他：マウス初期胚の眼球形成領域の血管形成。岩手医誌 **69**, 243-253, 2017.

Morphological analysis of cephalic vasculogenesis in mouse embryos

Miho SAITO, Eiji KIMURA and Jiro HITOMI

Division of Human Embryology, Department of Anatomy, School of Medicine,
Iwate Medical University, Yahaba, Japan

(Received on December 1, 2017 & Accepted on December 28, 2017)

Abstract

Attempts have been made to clarify cephalic vascular development in mammals including humans, but the details remain unresolved. In this study, we investigated the vascular development in the stage of neural plate and head process formation using immunostaining of serial sections and nearly transparent whole-bodies with PECAM-1 antibody, which enabled us to visualize endothelial cells in the early stage of mouse embryos. We succeeded in capturing images of the dorsal aorta ahead of

the junction with the first aortic arch, of which the frontal portion showed an expanded lumen and endothelium attached to the cephalic neural plate. We also demonstrated that, just beneath the neural plate, the dorsal-lateral vasculature elongated from the front portion, which would develop before the vasculogenesis of the dorsal aorta beside the foregut pocket. These detailed morphological data will help elucidate the mechanism of cephalic vasculature development.
