

論文の内容の要旨

論文題目 Comparative anatomy of coronary arteries in vertebrates

: Are amniotic coronary arteries a newly acquired trait?

(脊椎動物における冠動脈の比較解剖学：羊膜類の冠動脈は新規獲得形質か?)

氏名 水上 薫

序文

冠動脈は心臓自体に酸素やエネルギー源を供給する重要な血管系であり、特に哺乳類・鳥類では生存に不可欠である。近年ではマウスやゼブラフィッシュなどのモデル動物での実験発生学的研究が盛んである。しかし一方で、限られたモデル動物で得られた知見の間には比較困難な差異も存在し、冠循環の起源・発生の本質的理解にはほど遠い。この問題の解決には各系統を跨いだ進化的な考察が必須だが、実は冠動脈は脊椎動物のほとんどの系統において解剖学的記載ですら少数かつ曖昧であり、ましてや発生研究はごくわずかで、長年停滞した状態が続いている。そのため、例えば現時点では哺乳類や鳥類であれ他の系統であれ、心臓の表層に分布する動脈網を、暗黙の裡に”冠動脈”という同一の形質として見なしているが、これらが本当に同様の構造なのかさえも不明である。

また、近年、マウスやニワトリの研究から、羊膜類の冠動脈発生がこれまでの想定よりも複雑であることが分かってきた。発生には頭側から大動脈上を心臓に向かって伸長する血管網(aortic subepicardial vessel; ASV)が一過性に出現し、冠動脈形成に寄与する内皮細胞集団と協調することでいわゆる冠動脈が形成される。しかし、ASV がどこから来るのか、その発生過程が脊椎動物全体を通して普遍的であるかどうかは不明である。

本研究は、今まで個別論的であった冠循環の知見を、脊椎動物を通じて比較可能な「冠動脈進化史」という一貫した知識体系としてまとめ上げることを目的とする。特に、冠循環の起点となる冠動脈起始部に着目し、マウス、ウズラ、系統間を繋ぐ両生類、ゼブラフィッシュを解剖学的視点および発生・分子細胞学的視点から比較し、冠循環の発生源の解明と進化的な理解を試みた。

結果

脊椎動物は円口類を除き、ほぼすべての系統において”冠動脈”を有している。しかし、その起

始部の位置を比較すると、マウス・ニワトリなど羊膜類の冠動脈起始部が大動脈洞に位置しているのに対し、少なくとも軟骨魚類の成体では鰓で酸素化された血液を集める鰓下動脈に起始している。では、真骨魚類ではどうだろうか。ゼブラフィッシュの解析を行った結果、冠動脈起始部は他の真骨魚類同様、鰓下動脈から還流されることが明確に観察された。さらに発生過程を見ると、鰓下動脈は 2~3 days post fertilization (dpf) 頃、大動脈囊直上の正中部分で第二咽頭弓のコアに存在する二次心臓領域に位置する細胞群が内皮細胞に分化して左右に分岐する Y 字状の分枝構造を形成し、それぞれ左右の第一咽頭弓動脈の分枝と接続を形成していた。さらに発生を追っていくと、3dpf 頃には鰓下動脈の正中の一枝が腹側大動脈の背側を心臓流出路に向かって伸長し始め、14dpf 頃には鰓下動脈と腹側大動脈の接続が見られるようになり、21dpf 頃には腹側大動脈の周囲に多くの血管網を形成し、鰓との接続も形成していた。一方頭側から来る鰓下動脈だけではなく、45dpf 頃になると心房心室間から出芽した内皮細胞が心流出路の動脈球に向かって伸長し始め、それぞれ動脈球上の血管網を介して合流していた。さらに、動脈球上に血管網が 50dpf 頃までにリモデリングされ、成体で見られるような心室壁を還流する冠動脈を形づくっていることが明らかとなった。

次に、ゼブラフィッシュ型の冠動脈発生から羊膜類型の発生様式への変化が進化上どの時点で起こったのかを明らかにするため、両生類の冠動脈起始部についても解析を行った。両生類の成体における冠循環の解剖学的記述は曖昧なものはいくつか存在するが、発生に関する報告はほとんどなく、アフリカツメガエルでさえ詳細に解析されないまま、冠動脈を持たない動物として認識されている。そこで、まずはアフリカツメガエルの冠血管の解析を行い、他の両生類と比較した。その結果、アフリカツメガエルは動脈球上に明確な血管網を形成しており、その起始部は頸動脈の大動脈からの分岐直上に位置していた。これはアフリカツメガエル特有の形態ではなく、他種のカエルやイモリなど他の両生類においても同様であった。一方、静脈は静脈洞の右側に開口する分枝状の血管網として動脈球上に観察された。

これらの魚類や両生類における動脈球上の血管網は、羊膜類において胎生期に一過性に形成される ASV の分布と比較解剖学的に類似している。その形成過程をマウス胚において解析したところ、胎生 11.0~12.5 日胚の時期に第三咽頭弓動脈から出芽し、大動脈上を降下する血管を認めた。この血管は大動脈基部で ASV に相当すると思われる内皮細胞の細網構造と連続し、大動脈基部の冠動脈起始部形成領域で中膜層に侵入する内皮細胞の索状構造ともつながっていた。同様の第三咽頭弓動脈から大動脈基部の冠動脈起始部に至る連続した血管網は鳥類であるウズ

ラでも観察された。以上から、羊膜類の胎生血管である ASV はその起始と分布において、魚類や両生類の冠動脈と類似した構造物であると考えられた。

考察

冠循環という概念が 13 世紀頃 Ibn al-Nafis によって提唱されて以来、それはヒトの生存に不可欠であることから、哺乳類を中心に多くの研究が蓄積されてきた。その過程で冠動脈起始部位置に関する記載も行われ、従来の教科書的な理解では、冠動脈起始部は酸素化された血液をより効率的に心筋へ輸送するため、進化の過程で下鰓動脈から大動脈起始部へと段階的に変化したと考えられてきた。しかし、本研究の結果をもとに比較解剖学的視点から冠動脈起始部の位置を整理すると、非羊膜類がより鰓に近い頭側から冠動脈を供給していたのに対し、羊膜類では大動脈起始部からそれらが供給されていた。この冠動脈起始部位置の差異を理解するため、次に発生を比較すると、羊膜類の冠動脈起始部は胎生期の動脈周囲に一過性に生じる ASV の大動脈壁内への伸長を用いた *ingrowth* 様式をとり、一方で非羊膜類冠動脈と羊膜類 ASV では内皮細胞の出芽領域が直接起始部へと変化する *outgrowth* 様式をとっていた。つまり、羊膜類の冠動脈とそれ以外の系統の冠動脈は、形成される位置・形成様式がともに異なることから、相同な構造ではないことが示唆された。

この冠循環のリモデリングが羊膜類で起こった背景には、鰓弓領域を含む頭部-体幹境界の大規模な変化、つまり「頸部」の獲得が関係していることが考えられる。近年の研究によれば、頸の獲得は体腔および心臓を含む内臓の再配置とも関連していることが示唆されている。つまり、羊膜類では本来の鰓弓動脈の直下にあった心臓が発生過程で体幹へ後退し、その結果、非羊膜類様の下鰓動脈や頸動脈から分岐する元々の“冠動脈”では羊膜類の心機能を維持するのに十分な血管を供給することが困難になったと考えることもできる。この変化が下地となり、羊膜類様冠動脈の形成が促され、現在の大動脈起始部に位置する冠動脈起始部が新規に獲得されたと思われる。

ヒトの冠動脈起始部異常の症例にも ASV が冠動脈であったことを示唆する報告が存在する。これらの冠動脈起始部異常は大動脈弓や頸動脈など、本研究で明らかとなった ASV の分岐領域である咽頭弓動脈由来の血管系に異所的な冠動脈起始部が形成されるものである。このような本来の起始部位置からかなり頭側の領域に羊膜類冠動脈起始部の形成に必須である ASV 以外の内皮細胞集団が胎生期に分布しているという報告は存在しない。よってこのような頭側に形成

される異所的な冠動脈は ASV の遺残によって形成された可能性がある。しかし ASV が羊膜類において他の内皮細胞集団の協力無しに直接冠動脈へと分化する分子機構は不明であり、それらを明らかにすることは今後の課題であると言える。

近年、VEGF や CXCL 12 - CXCR 4 シグナルが羊膜類 ASV の伸長とそれらの大動脈壁への侵入に重要であることが報告された。しかし、上記以外の分子機構については現在ほとんど明らかになっておらず、ASV の特徴を代表するような分子機構は未だ不明なままである。また、非羊膜類の冠動脈起始部の形成に寄与する分子機構も ASV 以上に不明であり、これらの分子機構を丁寧に見ていくことは今後の課題である。

また、これまで羊膜類を元に述べられてきた冠動脈起始部の形成に ASV と協調し寄与する細胞集団の発生機構が脊椎動物全体を通して一致するかも不明である。例として、アフリカツメガエルやゼブラフィッシュのようないくつかの系統における心外膜前駆組織の発生研究はわずかながら存在するが、その発生・分子機構はごく一部が明らかとなっているのみであり、羊膜類のそれと比較した冠動脈やその起始部への寄与は現在まで報告されていない。よって、羊膜類では冠動脈形成に寄与する静脈洞・心外膜前駆組織由来の細胞集団の利用方法自体が、羊膜類と非羊膜類で異なっている可能性すらも考えられる。これらの非羊膜類での内皮細胞集団の冠動脈形成への寄与の有無とその遺伝子発現の解析も今後の課題と言える。

以上の結果から、両生類、ゼブラフィッシュ、ウズラ、マウスの冠動脈の解剖・発生を解析した結果、「脊椎動物に共通するとされていた”冠動脈”という構造の発生機序は羊膜類とそれ以外とで大きく異なり、羊膜類以外において”冠動脈”と呼ばれてきた構造はむしろ、羊膜類の ASV と一致する」ことが示唆された。つまり、羊膜類における”冠動脈”はその系統に至る過程で獲得された、新規形質である可能性があり、教科書的知識に則って多様な生物種で”冠動脈”と解剖学的に命名されてきた構造は、羊膜類と他の生物とで異なる形質を指している可能性が示唆された。

従って、長年断片的であった脊椎動物の多系統にわたる冠動脈起始部の解剖・発生的記載を行い、発生・進化における包括的な概念を提示、「冠動脈起始部の発生機序の解明およびその進化の包括的理解」の一端を明らかにした。