

神経堤細胞・鰓弓と大動脈弓の発生

Neural crest cells and Pharyngeal arch arteries

太田貴裕

Takahiro Ota

東京都立多摩総合医療センター 脳神経外科

Department of Neurosurgery, Tokyo Metropolitan Tama Medical Center

Keywords: neural crest cell, pharyngeal arch, aortic arch, remodeling, neurocristopathy

目次

1. 原腸形成と三胚葉盤
 - 1.1. 原腸形成の概説：三胚葉と体軸の形成
 - 1.2. 上皮間葉転換 epithelial-to-mesenchymal transition (EMT)
 - 1.3. 原腸形成 gastrulation
 - 1.4. 沿軸中胚葉
2. 神経板、神経管、神経堤細胞
 - 2.1. 神経板の形成
 - 2.2. 神経管形成 Neurulation
 - 2.3. 神経堤細胞 Neural Crest Cell
 - 2.4. NCCの分化
3. 咽頭弓の発生とNCC
4. 心臓血管形成とNCC
5. Neurocristopathy

はじめに

神経堤細胞(Neural Crest Cell: NCC)は2つのユニークな特徴がありembryologistにとって非常に興味深いトピックである¹。幅広い多分化能と、その発達には構成細胞が胚全体に移動し選んだ部位に定着しそこで幅広い細胞へ分化するという段階を含んでいるという点である。神経堤(NC)を獲得したことで脊椎動物はいくつかの利益を得られた。1つは末梢神経系による生理学的機能調節能力であり、もう1つは環境変化に対してより適応しやすくなったことである。例を挙げると、温度調節に重要な末梢血管の血管運動性が末梢神経系にコントロールされている、また皮膚のNC由来色素により有害な紫外線への防護スクリーンが得られていることである。さらに心血管系にもNCが関与しており、特に鰓弓(pharyngeal arch)と大動脈弓の発生へのNCCの関与についてreviewする。

1. 原腸形成と三胚葉胚盤²

1.1. 原腸形成の概観：三胚葉と体軸の形成

原始線条が第3週の初めに形成され、3つの体軸が決まる。発生15日目ごろに、胚盤が卵形になっているが、その正中矢状面に中心に溝をもった肥厚ができ、この肥厚は原始線条primitive streakと呼ばれる。長軸の正中構造であるprimitive streakが2層性胚盤の上胚盤葉epiblastの尾側端で作られることで始まる。このprimitive streakの形成により、体軸も決まる。primitive streakは胚盤の尾側正中にできるので、これにより頭尾軸と内外側軸が決まる。primitive streakの形成は正中で起こるので、羊膜腔の中から上胚葉

をみると、原始線条の右にあるのが体の右側で、左にあるのが体の左側である。このようにしてprimitive streakの形成により左右軸も決まる。

1.2. 上皮間葉転換 epithelial-to-mesenchymal transition (EMT)

発生16日目に、原始線条の外側にある上胚盤葉の細胞が原始線条に向かって動き、EMTを起こす。

- ・上皮epithelium: 規則的な形をした（立方状が多い）細胞が、その側方で互いに結合したシート状の構造
- ・間葉(間充織)mesenchyme: 不規則な形をした細胞（星状が多い）が疎に配列

EMTの間に、上胚盤葉の細胞はフラスコあるいは瓶状になり、偽足pseudopodiumと呼ばれる足状の突起を出して隣の細胞から離れていく。偽足により上胚盤葉とした胚盤葉の間隙（あるいは下胚盤葉の中）を移動することができる(図1)。

1.3. 原腸形成 gastrulation

この原始線条を通る胚子の中への細胞の集団移動で、3つの胚葉を作り出す運動がgastrulationである。内胚葉と胚内中胚葉が形成されると、上胚盤葉の細胞は原始線条に向かって動くことも落ち込むこともない。残りの上胚盤葉は外胚葉ectodermを形成し、そこではすぐに中心の神経板neural plate と辺縁の表皮外胚葉surface ectodermになる。胚子では頭から尾方向に発生が進行する→やがて三胚葉胚盤 trilaminar embryonic discの形成が全体で完成する。(図2)

形態形成変化 morphogenetic changeが3つの胚葉で起こり、原始的な器官原基ができる。実際は1つの胚葉だけから作られる器官は少なく、2-3つの胚葉の協力によりできる(例、消化管は内胚葉と中胚葉に由来する)。入れ子状の環状構造tube-within-a-tubeのボディプランによる器官原基の形成は、次に器官形成過程organogenesisへと続くことになる。

1.4. 沿軸中胚葉は頭部と体幹部では異なっている

原始線条期の中期に原始線条の中心から落ち込んでいく中胚葉細胞は、沿軸中胚葉となり、脊索のすぐ隣面に位置するようになる。将来の頭部領域では、この中胚葉は頭部中胚葉head mesodermとして分節化しないままである。後に、中胚葉は広がって、頭部間葉head mesenchymeとして発生中の頭部を満たす。後で、NCCの移動が始まると、NCCも間葉を補充する。よって頭部間葉は頭部中胚葉と外胚葉性のNCCに由来する。頭部中胚葉は顔面、顎、咽喉の横紋筋になる。このような筋は咽頭の両側で分節した、咽頭弓pharyngeal archの中で分化する。咽頭弓は顔面頭部の発生で中心的な役割を果たす。将来の体幹部領域では、沿軸中胚葉は最初帯状になっているが、それらはやがて分節化してブロック状の中胚葉の凝集である体節somiteになる。(図3)

2. 神経板, 神経管, 神経堤

2.1. 神経板 neural plateの形成

将来の中樞神経系形成の最初の出来事は、発生18日目の原始結節primitive nodeのすぐ頭側での、外胚葉の肥厚したneural plateの形成である。(図4) 神経板の形成は、ヒトでのorganizerである原始結節からの誘導による。神経板の形成は神経誘導neural inductionと呼ばれる。神経誘導の結果、外胚葉は肥厚した多列で円柱状のpseudostratified columnar神経上皮細胞neuroepithelial cell (神経外胚葉neuroectoderm)に分化する。神経板は最初、胚子の頭端にでき、それから頭一尾方向に分化が進行する。神経板は第4週に巻き上がり、神経管を形成する。これが中枢神経系の前駆組織となる。神経板の外側唇は、NCCになる。神経板は頭方で広く(脳になる)、尾部に向かうにしたがって狭い。発生の非常に早い時期に、将来の脳は3つの領域すなわち前脳forebrain, 中脳midbrain, 後脳hindbrainに分けられる。神経板の狭い尾部(その頭部では後脳につながる)は脊髄になる。

2.2. 神経管形成 Neurulation

神経板の急速な伸長は、神経上皮neuroepitheliumとその下の組織での収束伸長運動 convergent extensionにより起こるものである。神経管の形成neurulationには4つの大きな出来事がある。神経板形成、神経板の形の変化、神経板の屈曲、神経溝の閉鎖である。

神経板形成過程で起こる形態形成上の大きな変化は外胚葉の細胞が頂底方向に伸びて(apicobasal elongation) 肥厚した単層の神経板を作ることである。神経板の屈曲過程では、神経板の外側壁に神経ヒダ neural foldができるが、これは神経上皮neuroepitheliumと近傍の表皮外胚葉surface ectodermより構成される。屈曲の間、脊索の上にある正中回転軸median hinge pointを中心に回転して、neural foldは背側に立ち上がる。屈曲する神経板によりできる溝は神経溝neural grooveと呼ばれる。脳の領域の神経板/神経溝は脊髄レベルより広いので、脳の神経板ではもう1か所回転軸が生じ、神経板を背側正中で癒合させる。この回転軸は背外側回転軸dorsolateral hinge pointと呼ばれ、脳のレベルのneural foldが内側に折れ曲がり、正中で両側のneural foldが合わさるようにする。(図5)

神経溝の閉鎖過程で左右の神経ヒダは背側正中で癒合し、neural foldは表皮外胚葉と神経管の蓋板roof plate of the neural tubeという2つの上皮層に分かれる。この両層の境界にできるのが神経堤細胞NCCで、この細胞はneural foldから上皮間葉転換を起こすことにより起こる。(図5E)

神経管の頭一尾の領域化 (図6)

発生21日目までに将来の脳になる部位では神経分節neuromereと呼ばれる一連の幅の狭い膨らみがさらに明瞭になる。特に菱脳胞で顕著で菱脳胞は7-8つのrhombomereによりほぼ同じ大きさの分節に区切られている。Rhombomereは一時的な構造で、第6週の初めまでに見分けがつかなくなる。

神経管は頭尾軸(図6右A, B)と背腹軸(図6右C)側において局所的なsignaling sensorの働きにより分割される。発生初期ではFgf8が中脳後脳境界部(峽部)が発現しており(A)、発生が進むとzona limitans intrathalamica(ZLI)が間脳中部に出現し、視床(Th)と視床前部(Pth)の発生を制御する(B)。

2.3. 神経堤細胞 Neural Crest Cell³

NCCはEMTを行い、神経管を離れていく。NCCは移動中の周辺環境からのシグナルによって分化していく。中には移動開始前に特定の系統に分化することがあらかじめ決まっているものもある。NCCは多能性と可塑性を持った不均一な細胞集団である。EMTが幹細胞特性の獲得と関連しており、NC多能性と移動開始はEMTプログラムの一部として関連し同時に制御されているという興味深い可能性を示すものである⁴。

NCCは中脳域で最初にできる。頭部神経堤細胞cranial (cephalic) neural crest cellは、脳の発生と関連して、頭部神経孔が閉じる前に、neural foldが背側正中で癒合するころには移動を始めている。脊髄ではNCCは神経管が閉じてから移動を始める。尾部のNCCは尾部神経孔が26日目に閉じた後、髄策から生じる。よって、NCCが神経管から離れたり、移動したりする動きは頭尾軸上に波のように、つまり中脳域から脊髄の最尾方に向けて起こる。(図7)

もともと多分化能を持っていたNCCが分裂し、発生における潜在能力(developmental potential)が徐々に限定されていくというモデルが提唱された^{5,6}。(図8)そのため個々のNCCは、発生における潜在能力と発生運命の方向付けとが大きく異なる可能性がある。あるいはいくつかのNCCは多分化能をもつ前駆細胞でそれ以外のものは発生運命が限られているのかもしれない

2.4. NCCの多分化能

NCCは頭尾軸の位置の違いによって、その分化していく組織が異なることから、以下の4つにグループ分けされている。(図9)⁷

- 1) 前脳の尾側と中脳域mesencephalonから出発するNCCは、第3脳神経の副交感神経節、眼と視神経の周りの結合組織、虹彩と毛様体筋、眼の角膜の一部に分化する。頭部NCCは頭部中胚葉とおもに、中脳のレベルよりも頭方の間葉組織を形成する。中脳と菱脳(後脳)域からのNCCは、頭頸部の咽頭弓pharyngeal archの構造にも関与する。これらの構造として鼻、顔、中耳や頸の軟骨、骨などがある。中脳、菱脳部のNCCは顔面頸部の真皮、平滑筋、脂肪や葉の象牙芽細胞odontoblastにも分化する。菱

脳の尾部からのNCCは迷走神経域のNCCとともに、甲状腺の傍濾胞細胞にも分化する。菱脳部NCCは第V, VII, IX, X脳神経の感覚神経節のニューロンのグリアの形成にあずかる。

2) 迷走神経域のNCC (第1～7体節のレベル)

大きく3つに分類される。一部は、発生中の心臓の頭端に移動し、中隔(大肺動脈中隔 aorticopulmonary septum)となり、流出路を分割する。他の迷走神経域のNCCはさらに遠くの消化管の間葉壁に移動し、ニューロンに分化して、食道から直腸までのすべての消化管壁で腸管神経系を形成する。

3) 体幹部NCC (第8～28体節のレベル)

4) 仙骨部NCC (第28体節よりも尾方)

上記4つの解剖学領域は一部重なっている。他、頭部、心臓、体幹、迷走の4つに分類する記載もある³。頭部NCCと体幹NCCは同等ではなく、頭部NCCは軟骨、筋肉、骨を作ることができるが、体幹NCCでは作ることができない。

3. 咽頭弓の発生とNCC

咽頭弓の発生

咽頭弓は無顎類の鰓弓から進化したもので、進化的に保存されている。咽頭弓はすべての脊椎動物で胚発生の時期に形成される。有顎の脊椎動物では、第1弓は下顎も形成する。それ以外の弓構造は現代の魚類では鰓(えら)を形成し、ヒトでは顔面頸部の多数の構造を形成する。ヒト胚子では、5対の咽頭弓があり、1, 2, 3, 4, 6と番号が振られている。第5弓はヒトでは全く形成されないか形成されても短期しか形成しない痕跡的なものですぐに退縮してしまう。

他の多くの体の構造と同じように咽頭弓も頭尾側の方向で形成される。第1弓は22日目に形成され、第2・3弓はそれに続いて24日目に形成される。第4・6弓は26日目に形成される。この頭尾側報告の形成過程は、22q11.2欠失症候群のようなヒトの症候群で尾側の構造ほど強く障害されることにも現れている。

それぞれの咽頭弓は間葉の芯(中胚葉とNC外胚葉)、外側を縁取る外胚葉、内側を縁取る内胚葉から構成される。(図10 D,E) それぞれの弓構造には(1)中心部の軟骨要素(NCに由来する)(2)横紋筋の原基(頭部中胚葉からなる)、そしてその筋に入力する脳神経、(3)大動脈弓動脈が含まれている。ヒト胎児の咽頭弓は最初魚の鰓弓と似ているが、鰓のような鰓裂を構成しない点だけが異なる。その代わり、咽頭弓間の外側の咽頭裂pharyngeal cleft (pharyngeal groove)は裏側にある咽頭嚢pharyngeal pouchとは薄い咽頭膜pharyngeal membrane隔てられている。この膜は二相性で外胚葉と内胚葉で構成されている。

TABLE 17-1 DERIVATIVES OF THE PHARYNGEAL ARCHES AND THEIR TISSUES OF ORIGIN

Pharyngeal Arch	Arch Artery ^a	Skeletal Elements	Muscles	Cranial Nerve ^b
1	Terminal branch of maxillary artery	Derived from arch cartilages (originating from neural crest cells): from maxillary cartilage: alisphenoid, incus From Meckel's cartilage: malleus Derived by direct ossification from arch dermal mesenchyme: maxilla, zygomatic, squamous portion of temporal bone, mandible (originate from neural crest cells)	Muscles of mastication (temporalis, masseter, medial and lateral pterygoids), mylohyoid, anterior belly of the digastric, tensor tympani, tensor veli palatini (originate from head mesoderm)	Maxillary and mandibular divisions of trigeminal nerve (V)
2	Stapedial artery (embryonic), caroticotympanic artery (adult)	Stapes, styloid process, lesser horns and part of body of hyoid (derived from the second-arch [Reichert's] cartilage; originate from neural crest cells)	Muscles of facial expression (orbicularis oculi, orbicularis oris, risorius, platysma, auricularis, frontalis, and buccinator), posterior belly of the digastric, stylohyoid, stapedius (originate from head mesoderm)	Facial nerve (VII)
3	Common carotid artery, root of internal carotid	Lower rim and part of body of hyoid (derived from the third-arch cartilage; originate from neural crest)	Stylopharyngeus (originates from head mesoderm)	Glossopharyngeal nerve (IX)
4	Arch of aorta (left side), right subclavian artery (right side); original sprouts of pulmonary arteries	Thyroid and epiglottal laryngeal cartilages (derived from the fourth-arch cartilage; originate from neural crest cells)	Constrictors of pharynx, cricothyroid, levator veli palatini (originate from occipital somites)	Superior laryngeal branch of vagus nerve (X)
6	Ductus arteriosus; roots of definitive pulmonary arteries	Remaining laryngeal cartilages (derived from the sixth-arch cartilage; uncertain whether they originate from neural crest or mesoderm)	Intrinsic muscles of larynx (except the cricothyroid; originate from occipital somites)	Recurrent laryngeal branch of vagus nerve (X)

咽頭弓軟骨と骨格要素の起源

咽頭弓内で形成される軟骨は中脳・後脳域のNCCから発生したものである。体幹領域ではその移動は主としてNCCの能動的な行動によって起こる。頭部ではNCC移動には受動的な動きもみられ、周囲組織の腹側への移動に伴ってNCCも腹側へと位置を変える。第2咽頭弓の軟骨は後脳のrhombomere(rと略す)4の領域の神経ヒダから移動してきたNCCで形成される。(図11) 第3咽頭弓の軟骨は後脳尾側域(髄脳)から移動してくるNCCで形成される。それぞれの咽頭弓で発生した筋肉はもともと入力していた脳神経により支配される。鼻口腔や咽頭の知覚神経も同じように配置される。咽頭弓3, 4, 6の内皮はthe dorsal aorta, endocardium, or the aortic sac由来ではなく second heart field 由来である⁸。

○後脳の分節化

発生初期の脳は前脳胞prosencephalon・中脳胞mesencephalon/菱脳胞rhombencephalonに区分される。菱脳胞のロンボメアは固有な組み合わせの転写因子を発現する。ロンボメアの特異性に関連のあるのはHoxファミリーで、後脳の頭尾方向の軸に沿って重なり合って発現し、Hoxの頭方の発現境界がロンボメアの境界と一致する。(図11A)。Hox遺伝子はそれぞれのロンボメアの特異的な分化に必要である。例えばHoxa1はr4, r5の分化に必要でHoxa1ノックアウトマウスでは両節が小さくなるか欠失してしまう。Hoxb1はr4で特異的に発現するが、マウスやゼブラフィッシュでHoxb1をノックアウトし、働かせないようにすると、r4がr2に変換する。逆にHoxb1をトリ胚のr4で強制発現させてやると、r2はr4の形質に転換する。

後脳分節化の重要な側面の1つは発生中の咽頭弓での神経パターンを決定することである。脳神経のうちV, VII, IXの運動神経は2つのロンボメアから起こり、それぞれ1つの咽頭弓に入力する(図11A) 第V脳神経は第1咽頭弓に、第VII脳神経は第2咽頭弓に、第IX脳神経は第3咽頭弓に入力する。(第X脳神経と第XII脳神経はそれぞれr4, r6に入力する) マウスでHoxb1の機能が喪失すると、r4から発生する運動神経はまる

でr2から発生したような挙動を示しr2運動神経に特有な移動パターンを示す。トリ胚で逆にr2でHoxb1を過剰発現させてやると、r2の運動神経は本来の第1咽頭弓ではなく第2咽頭弓に入力する。

後脳の分節化はNCCの集団を分ける作用もあり、後脳起源のNCCは基本的に3つの流れへと編成される(図11B なおこれらの3つの流れに加え、さらに頭方の中脳と前脳尾側に由来するNCCの流れもある)。後脳からの3つの流れが形成されるのは、部分的にはr3とr5に由来するNCCの数が比較的少なく、またこれらの部位からのNCCはより頭側か尾側に移動して隣接するNCCの流れに入ってしまう。第1(r1, r2)と第2(r4)の後脳NCCの分離は非常に重要で、これらはHoxa2の発現がないか、あるかにより区別される。特にr2由来の細胞はHox2の発現を移動と同時に下げてしまい、予定r1領域のNCCのHoxa発現も中脳後脳境界の峡部isthmusのFgf8シグナルで下げられてしまう。マウスでHoxa2が変異を受けると、第2咽頭弓がホメオティック変換を起こして第1咽頭弓になる。

4. 心臓血管形成と神経堤細胞⁹

○流出路の分離に際してのNCCの役割

心臓の中隔形成にNCCが重要であることは、25年前ニワトリ胚でのNC除去実験で最初に示された。NCCの移動開始前に心臓NCCを実験動物から取り除いてしまうと、心臓ルーピングは異常になり動脈幹円錐の中隔形成は不完全になる。心臓NCCを除いてしまうと動脈管開存が起こり、三尖弁狭窄、心室中隔欠損、大血管転位、二重右心房流出、ファロー四兆症が起こる¹⁰。(図12)心臓NCCの役割を示す証拠は、こういった心奇形が咽頭弓の発生異常を伴っていることでも示される。咽頭弓は心臓NCCの移動経路でもある。ヒトで心臓と咽頭弓の異常を起こして生まれる症候群はCHARGE症候群(coloboma of the eye 網膜などの形成不全による裂け目, heart defects 心臓奇形, atresia of the choanae 後鼻孔閉鎖, retarded growth and development 成長遅延, genital and urinary anomalies 泌尿生殖器異常, ear anomalies and hearing loss 耳の奇形と難聴)と 22q11.2 欠失症候群 DeGeorge syndromeないし軟口蓋心臓顔貌症候群 velocardiofacial syndromeとしても知られる。

心臓NCC

後耳胞神経堤細胞(R6,7,8)は、神経管からEMTを起こして腹側に移動し、circumpharyngeal ridgeを形成してここで足踏み状態となり、第1と第2鰓弓が下顎動脈と舌骨動脈にリモデリングする頃、前後軸に沿って3つの流れを作り第3, 4, 6鰓弓に分布する。神経堤細胞は鰓弓内で外胚葉と内胚葉の間を移動増殖して、新生の動脈内皮を取り囲み血管平滑筋に分化して第3, 4, 6鰓弓動脈を形成する。鰓弓動脈は、左右対称に1対ずつ形成され大動脈嚢と背側動脈に連結し、成長に従って第3, 4, 6鰓弓動脈は最終的に大動脈弓、動脈管を含む非対称性の大血管にリモデリングする。(図13)

哺乳類と鳥類の第4と第6鰓弓動脈は逆のリモデリングをするため、マウスは左大動脈弓と左動脈管を、鳥類は右大動脈弓と両側動脈管を残す形態の違いがある。後耳胞神経堤を除去したニワトリ胚やマウス胎仔では、内皮細胞による鰓弓動脈は形成されるが、その後のリモデリング過程がうまくいかずに血管は退縮あるいは発育が不十分となり、血管異常を生じることから、後耳胞神経堤細胞は鰓弓動脈形成には必要ではなく、リモデリングや血管平滑筋を形成する役割を持つと理解されている¹⁰。

神経堤レポーターマウスWnt1-Creと2次心臓領域(SHF)レポーターマウスMef2c-Creを、それぞれROSA26-LZマウスと掛け合わせた研究から次の事柄が明らかとなっている¹¹。NCC由来の血管平滑筋は、上行大動脈、大動脈弓、動脈管、腕頭動脈、左右CCA、右SA、肺動脈を形成し、SHF由来の細胞は上行大動脈、肺動脈を形成する。したがって上行大動脈と肺動脈にはNCCとSHF細胞の2種類の由来細胞が分布し、2次心臓領域由来の平滑筋が外側を覆い、内側の平滑筋を神経堤由来細胞が形成する(図14)¹²。

神経堤細胞の血管平滑筋分化に関与するシグナルはNotchシグナル、Hippoシグナル、Bmp, Tgf-beta, myocardin-related transcription factor B(MRTF-B)などが報告されているが、血管異常疾患に結びつくのはこれまでに限られた数のシグナル経路しか発見されていない⁹。

○組織相互作用により動脈弓リモデリングが起こる

最近のニワトリやマウスでの研究で、NC由来の間葉と咽頭の外胚葉・内胚葉の組織間相互作用が、咽頭動脈弓の発生に重要だということが明らかになってきた。ある程度以上のレベルのFgf8シグナルが2次心臓野の増殖・生存・分化を制御している。Fgf8は咽頭の外胚葉・内胚葉で特異的に発現しており、中胚葉やNC由来の間葉では発現していない。しかしNC由来の細胞は、この領域のFgf8のシグナルレベルの維持には働いているようである。心臓の発生は咽頭弓からのFgf8シグナルの影響を受けるだけでなく、咽頭の血管の発生もFgf8依存性であることがニワトリ・マウスの両方で示されている。Fgf8ハイポモルフマウス(hypomorphとは、ある動物で遺伝子発現が落ちていること)では、ヒト22q11.2欠失症候群でみられる心臓や大動脈の異常の大部分がみられる。もしFgf8発現が発生中のマウス胎児の咽頭外胚葉で、特異的にノックアウトされると第4大動脈弓がなくなり、心臓には欠陥がないものの、大動脈と鎖骨下動脈の発生に問題が生じる。一方、Fgf8発現が第3、第4咽頭弓内胚葉で欠失すると、その腺の発生(例、甲状腺・上皮小体・胸腺)と動脈半月弁形成の両方に異常が生じる。

転写因子Tbx1(22q11.2に座している)に変異が起こると咽頭動脈弓の欠失が起こり、それは完全欠失症の動脈弓形成異常と形質が似ていて、特に第4大動脈弓に影響を受ける(例:動脈弓の中途途絶、右鎖骨下動脈の起源異常、右大動脈弓の起源異常)。マウスでTbx1の発現は第4咽頭嚢の内胚葉と、それと重なる第4咽頭弓で高く、マウスでのTbx1のヘテロ不活性化はヒトにおけるTBX1欠失と同様な表現型を示す。咽頭弓で発現する遺伝子のいくつかを完全欠失させると、似たような表現型がみられるが、Fgf8とTbx1だけはヘテロ欠失でそれと同じ表現型を示す。

エンドセリンは成体で血圧調節に重要なペプチドとして働く。ところが胎児発生中においてはエンドセリンとその受容体Etaは、NCCの増殖・分化という別な役割を担っている。エンドセリン受容体Etaやエンドセリンをプロセシングして活性型にする変換酵素Endothelin converting enzyme-1(Ece1)をノックアウトしたマウスでは、NCに由来する心臓形成、咽頭動脈弓、そして腸神経節の欠損を示す。エンドセリン-1(Et1)は咽頭弓外胚葉と内胚葉に発現するが、NC発現しない。一方、Eta受容体は咽頭弓のNCCだけに発現する。マウスでEce1またはEtaをノックアウトすると、大動脈弓の中途途絶または右鎖骨下動脈の欠損を招く。これらのノックアウトマウスでは咽頭弓発生に重要な遺伝子、Dlx2, Dlx3, EphA3, MsxE, Hand2などの発現が変化している。こういった結果やニワトリ胚における結果を合わせると、EtaシグナルがNCで動かななくても細胞は咽頭弓に向かって移動して、正常な初期の咽頭弓血管を形成する。ところが咽頭弓に入り込むことのできたNCCが減少し、それに比例して動脈弓リモデリングの低形成や異常が起こってくる。

咽頭弓への神経入力もまた、咽頭大動脈弓の発生と関係している。Tgf β 2のノックアウトマウスでは第4弓間葉の細胞死亢進が起こり、第4大動脈弓の中途途絶が起こって異常な右鎖骨下動脈の発生が起こる。これらのマウスではNCCの平滑筋への移動と分化は正常だが、欠損は第4咽頭弓への神経入力の欠失と一致している。

まとめると咽頭弓のNCCは初期の咽頭弓管構築よりも、特別な大動脈弓血管のリモデリングを維持するのに重要な役割を担っている。連続するリモデリングが咽頭NCC、咽頭弓内胚葉・外胚葉・中胚葉の間の複雑なパラクリン相互作用によって起こるのだろうが、その相互作用についてはまだわかっていない。

5. Neurocristopathy

NC発生の問題によりDiGeorge, Treacher-Collins and CHARGE syndromes or Hirschsprung's diseaseなどの先天異常を生じる。不十分な神経堤形成と移動により引き起こされる最も一般的なphenotypeは頭蓋顔面異常、聴力消失、皮膚の色素新着・心疾患、と腸神経節欠損である⁴。

Neurocristopathies (NCP) は脊椎動物、とくにヒトに起こる疾患群であり、発生過程でのNCCの特化、移動、分化の異常や死により引き起こされるものである。種々の色素沈着、皮膚、甲状腺、聴力障害、頭蓋顔面形成異常、消化管機能異常や腫瘍といったものがneurocristopathyと考えられている。⁷ 最近では疾患の発生の際に影響するNCの発生段階によって分類することも提唱されている。NC induction and specification, NC migrationとNC differentiationの大きく三つに分類される¹³。

Vega-LopezらはReviewでNeurocristopathyについての新しい分類方法を提唱している。

まず初めのアプローチはNC細胞群による分類である⁷. (cranial, cardiac, trunk, or sacral) (図15)

5.1. Cranial NCCに由来するNeurocristopathies

Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy (CADASIL), Craniosynostosis (CS), Klippel-Feil syndrome (KFS), PHACES syndrome, Sturge-Weber syndrome (SWS)などが含まれる. CADASIL syndrome は片頭痛発作, 脳卒中発作, 血管性パーキンソン症候群, 精神症状など血管平滑筋のNOTCH3遺伝子変異, pericytes degenerationを認める. 頭部領域の血管平滑筋はNCC由来である. Notchシグナルは心血管の発生と平滑筋分化におけるNCCに必須のregulatorである. PHACES (Posterior fossa malformations–Hemangiomas–Arterial anomalies–Cardiac defects–Eye abnormalities–Sternal cleft and supraumbilical raphe) syndrome についてはNNAC2017小宮山先生のレクチャーを参照されたい

5.2. truncal NCCに由来するNeurocristopathies

Neuroblastoma (NB), Pheochromocytomas (PCC), von Hippel-Lindau syndrome (VHL)などが含まれる.

5.3. cranial とcardiac NCCに由来するNeurocristopathies

22q11.2 deletion syndrome, CHARGE syndromeなどが含まれる.

The 22q11.2 欠失症候群 (DeGeorge症候群: DGS): DGSでは大動脈離断 (B型) が最も多く, TOF (CAFSと同様), VSD, 総動脈幹遺残と続く. 右側大動脈弓, 高位大動脈弓, 主要大動脈肺動脈側副血行路, 鎖骨下動脈孤立症, 鎖骨下動脈起始異常, 腕頭動脈分離, 動脈管開存, 上大静脈遺残などの合併血管異常も多い. CHARGE syndromeは多発奇形症候群であり, 網膜の部分欠損ocular coloboma, heart defects (conotruncal lesions), 後鼻孔閉鎖choanal atresia, 成長障害・発達遅滞retarded growth and development, 外陰部低形成urogenital 耳奇形・難聴を主症状としている.

5.4. Cranial とTrunk NCCに由来するNeurocristopathiesには Neurofibromatosis I (NF1)が含まれる.

5.5. Cranial, cardiac and trunk NCCに由来するNeurocristopathiesにはMelanomaが含まれる.

Novel causal mechanisms of neurocristopathies

Vega-Lopezらは以前Neurocristopathyとは分類されていないが, 分子細胞系譜解析に基づいた病理から新たに分類に追加すべきであると考えられる疾患を記載している⁷. (Holoprosencephaly, Multiple sclerosisなど). この他にもNCに隣接した細胞群の発生異常によるもの, epigenetic mechanismによるもの, environmental factorsによるもの(Fetal Alcohol Spectrum Disorder (FASD), Fetal Tobacco Syndrome, medicinal drugs等) などが提唱されている.

参考文献

1. Le Douarin NM, Dupin E. The "beginnings" of the neural crest. *Dev Biol.* 2018
2. Schoenwolf GC BS BP, Francis-West PH. *Larsen's Human Embryology*: Elsevier; 2015.
3. Scott F.Gilvert MJFB. *Developmental Biology Eleventh Edition*: Sinauer Associates, Inc.; 2016.
4. Mayor R, Theveneau E. The neural crest. *Development.* 2013;140:2247-51
5. Martinez-Morales J, Henrich T, Ramialison M, Wittbrodt J. New genes in the evolution of the neural crest differentiation program. *Genome Biology.* 2007;8:R36.1-17
6. Le Douarin NM, Calloni GW, Dupin E. The stem cells of the neural crest. *Cell Cycle.* 2008;7:1013-9
7. Vega-Lopez GA, Cerrizuela S, Tribulo C, et al. Neurocristopathies: New insights 150 years after the neural crest discovery. *Dev Biol.* 2018
8. Wang X, Chen D, Chen K, et al. Endothelium in the pharyngeal arches 3, 4 and 6 is derived from the second heart field. *Dev Biol.* 2017;421:108-17
9. 宮川一 富田幸子. 特集：心臓の発生・再生・創生 I.心臓の発生と進化 心臓血管形成における神経堤細胞. *生体の科学.* 2017;68:525-30
10. Keyte A, Hutson MR. The neural crest in cardiac congenital anomalies. *Differentiation.* 2012;84:25-40
11. Sawada H, Rateri DL, Moorleggen JJ, et al. Smooth Muscle Cells Derived From Second Heart Field and Cardiac Neural Crest Reside in Spatially Distinct Domains in the Media of the Ascending Aorta-Brief Report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017;37:1722-6
12. 白石公. Review 【特集：日本小児循環器学会第14回教育セミナー】ここまで知っておきたい発生学: 発生・形態形成の基礎知識. *Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery.* 2018;34:88-98
13. Watt KEN, Trainor, P.A. Chapter 17- Neurocristopathies: the Etiology and Pathogenesis of Disorders Arising from Defects in Neural Crest Cell Development, *Neural Crest Cells.* Boston: Academic Press; 2014.

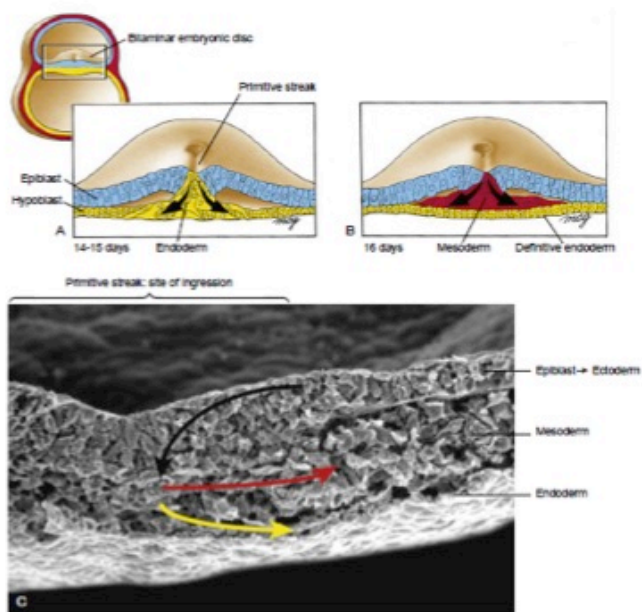


図1：原始線条を通る断面で、原腸形成過程の上胚盤葉の細胞の陥入を示した図（文献2より引用）

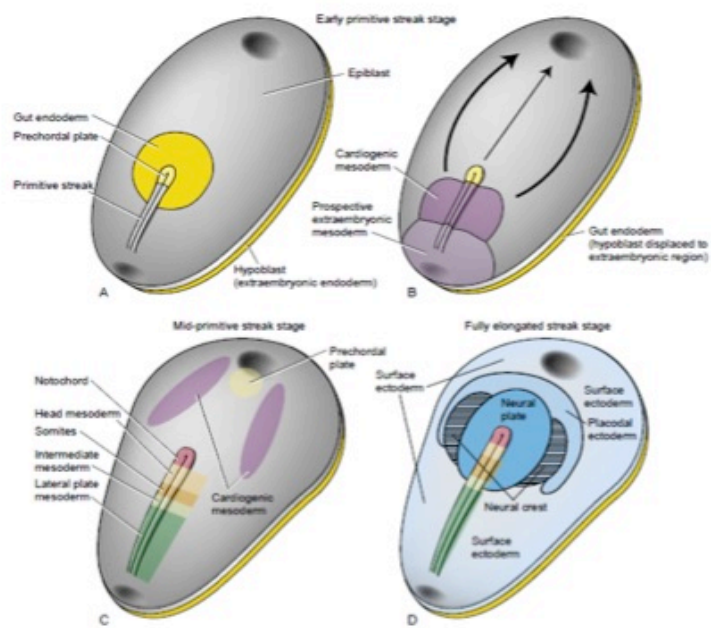


図2：上胚盤葉の予定運命図(マウスとニワトリ)(文献2より引用)

図3: ニワトリ胚の頭部横断面(A), 体幹横断面(B) (文献2より引用)
notochord (flesh), paraxial mesoderm (orange), intermediate mesoderm (light green), lateral plate mesoderm consisting of somatic mesoderm(dark green) and splanchnic mesoderm (purple).

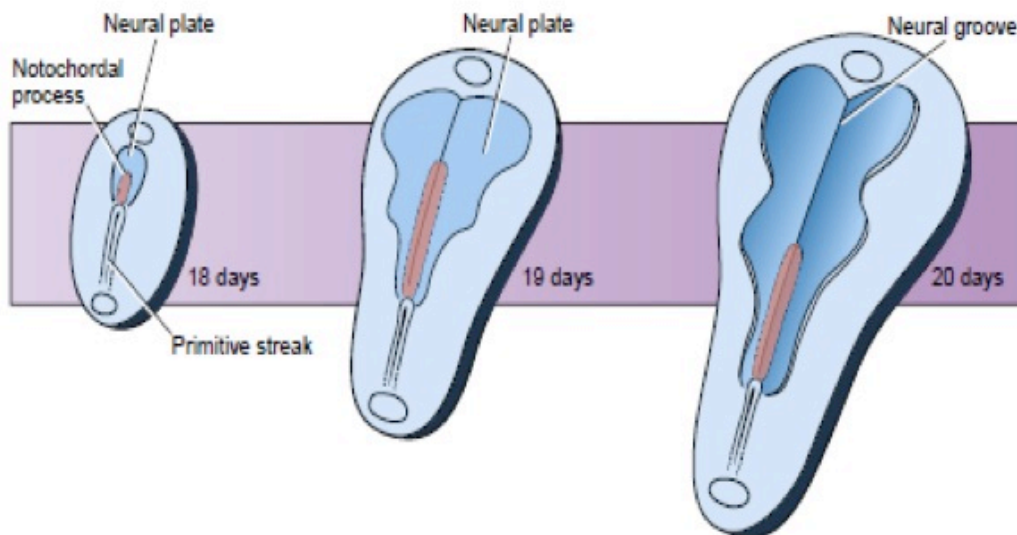
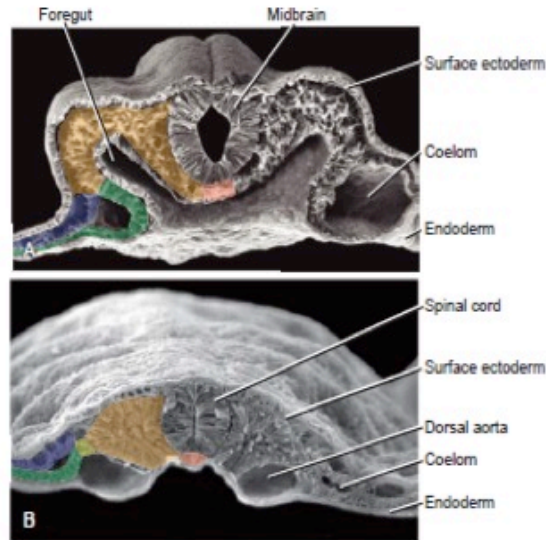


図4: 18-20日目の神経板の伸長と原始線条の退縮を示す模式図 (文献2より引用)

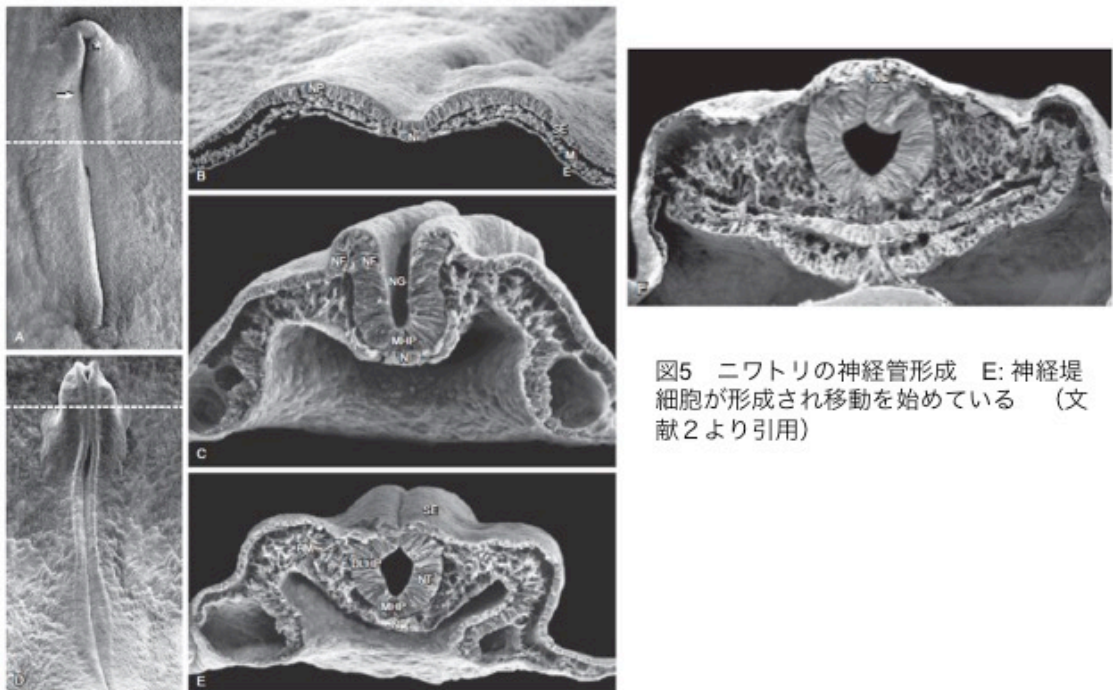


図5 ニワトリの神経管形成 E: 神経堤細胞が形成され移動を始めている (文献2より引用)

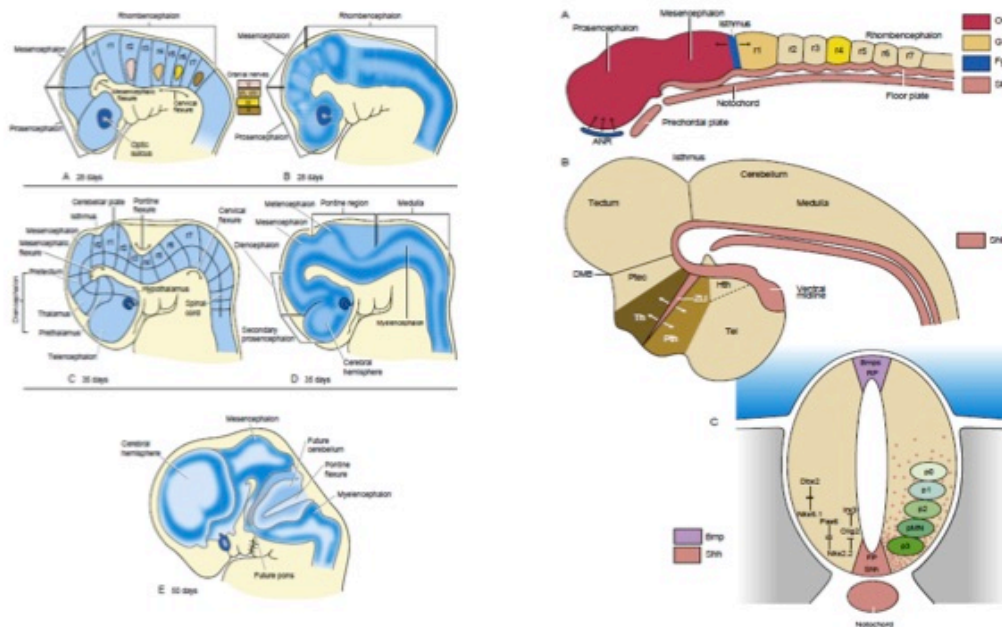


図6 脳の初期発生 (左) と初期胚子の神経軸の細分化 (右) (文献2より引用)

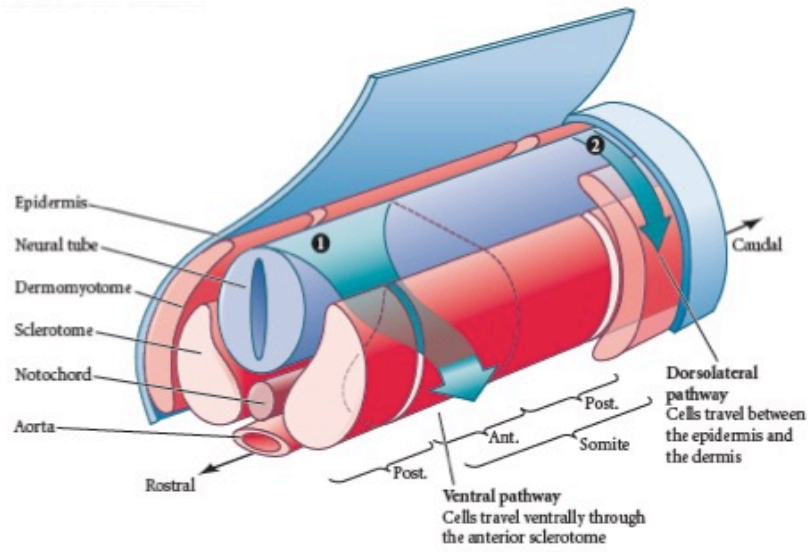


図7：Truncal neural crest cellの移動方向（文献3より引用）

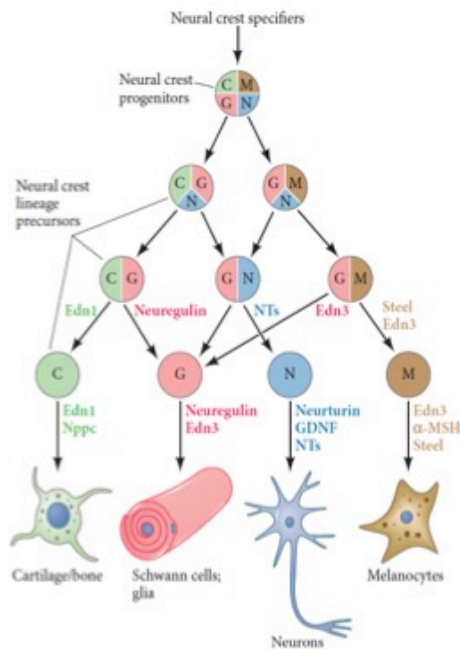


図8：神経堤系譜の分離モデルと神経堤細胞の不均一性（文献3より引用）

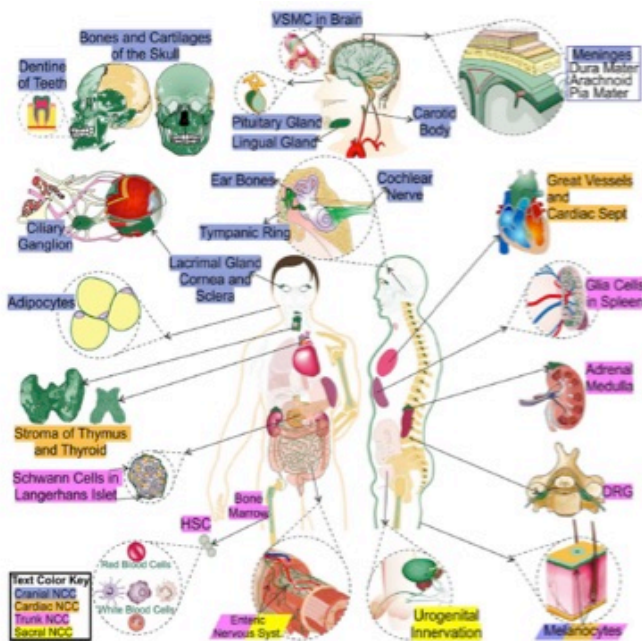


図9: NC由来組織の模式図 (文献11より引用)

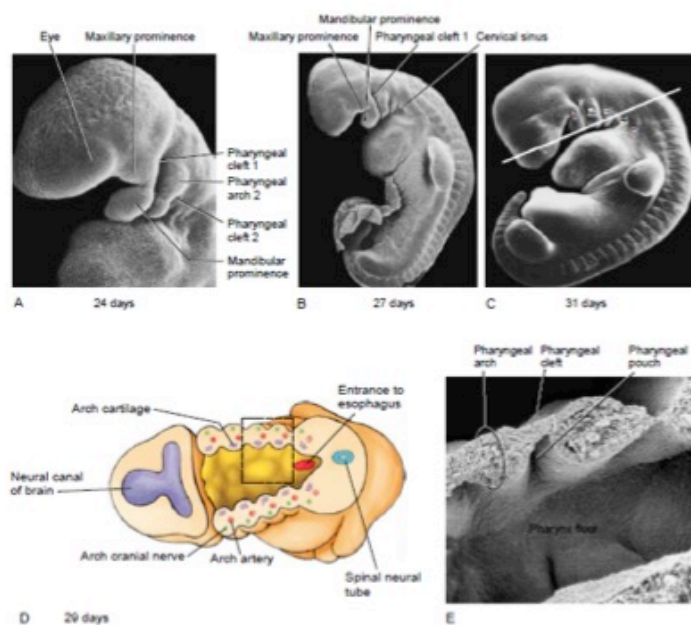


図10: 咽頭弓の形成 C: 第5週の最初までに、5弓全てが形成される。白線での断面をDに示す。D: 軟骨・動脈と脳神経を示す (文献2より引用)

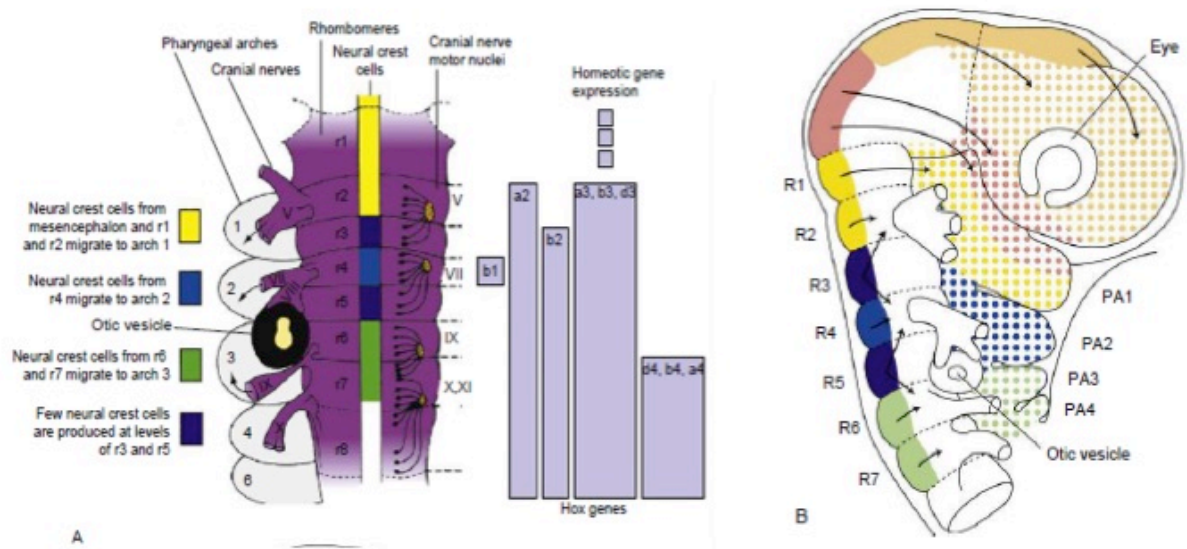


図11 咽頭弓・ロンボメア・Hox遺伝子 (文献2より引用)

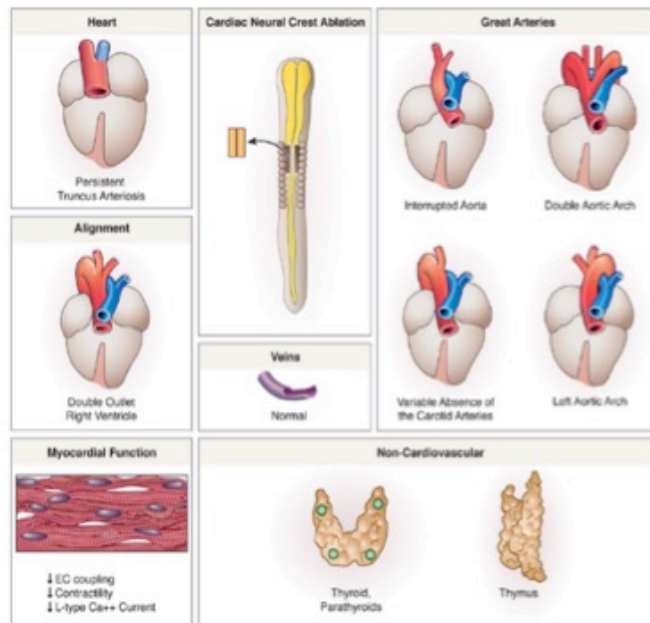


図12 : Cardiac neural crest ablation phenotype (文献9より引用)

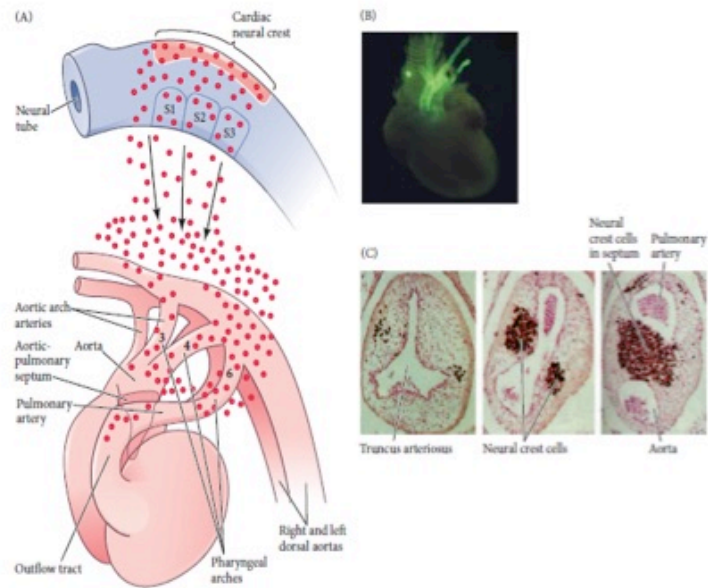


図13: (A) ヒト心臓神経堤細胞は咽頭弓を通り動脈幹に進入する。 (B) Pax3をもつ心臓神経堤細胞でのみ緑色の蛍光蛋白質が発現するトランスジェニックマウスにおいて心臓の流出路領域が標識される。(文献3より引用)

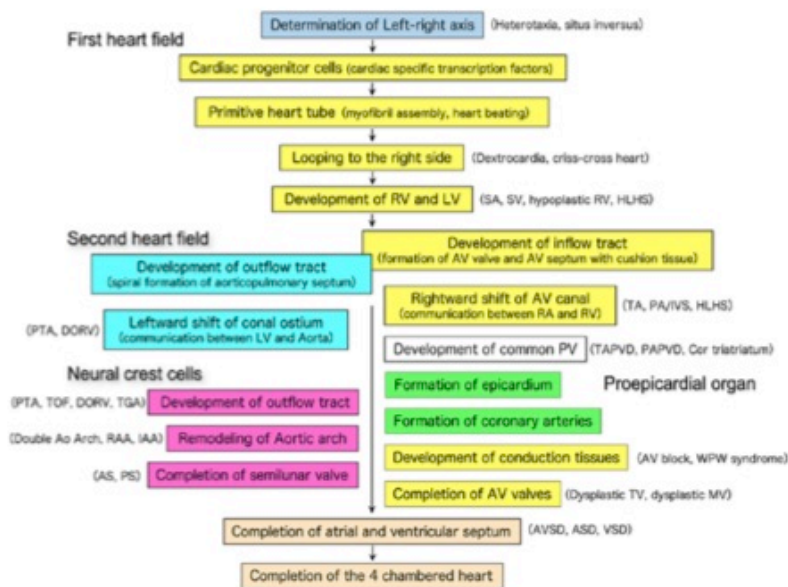


図14: 心臓の形態形成にかかわる細胞起源
 一次心臓領域の心筋細胞 (黄色)、二次心臓領域の心筋細胞 (水色)、神経堤細胞 (桃色)、心外膜細胞 (緑)
 (文献12より引用)

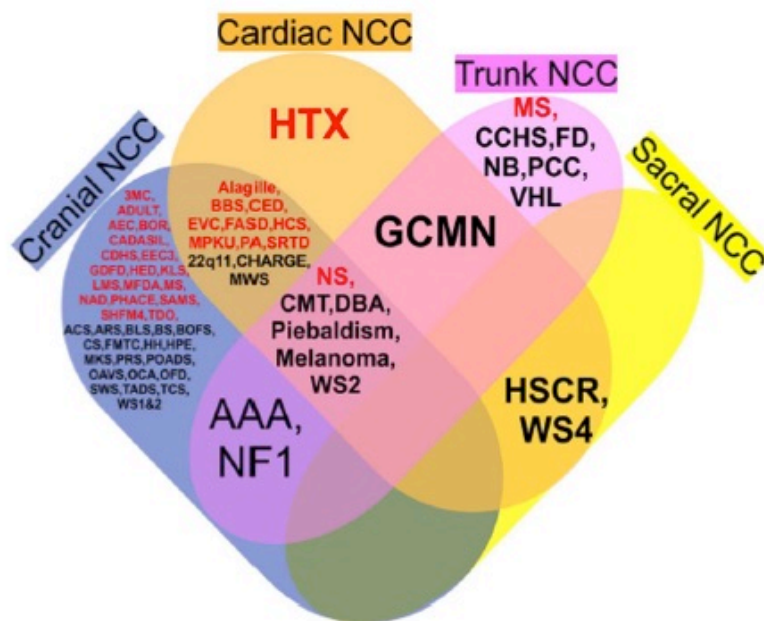


図15：NeurocristopathyにおけるNCC細胞群ごとの寄与の模式図（文献7より引用）