

血管が管をつくりながら枝を伸ばすしくみ

西山 功一

Key words : 血管新生, 血管内腔圧, 血管基底膜剛性, 力学バランス, 細胞極性

毛細血管は組織に張りめぐらされ、血流を分配することで組織の働きを支えている。血管は血流を通す管と分配に適した枝分かれ構造を持ち、血管新生によってつくられる。しかし、血管内皮細胞の集団が進める枝の伸長や管腔形成といった異なる形態形成現象がどのように調和し、機能的な血管網を形づくるのかは十分にわかっていない。

本稿では、筆者らの知見と最近の研究を踏まえ、血管内皮細胞の移動制御を軸に、これらの形態形成要素の統合機構を概説する。

I. 血管が枝を伸ばすしくみ

血管新生は、既存の血管から新たな枝が形成される現象である。本稿ではこれを、出芽、伸長、分岐、管腔化、径拡大といった複数の“形態形成要素”の組み合わせとして捉える(図1)。これらの要素は同時並行的に進行するが、それぞれ異なる細胞現象に支えられている。

なかでも枝の伸長は、血管網を拡張する中心的要素である。一見単純な索状構造の延長に見えるが、実際には血管内皮細胞の動的な集団移動によって成立していることが、近年の研究で明らかになってきた。

血管新生においては、血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor; VEGF)などの血管新生因子の刺激を受けると、血管内側を覆う血

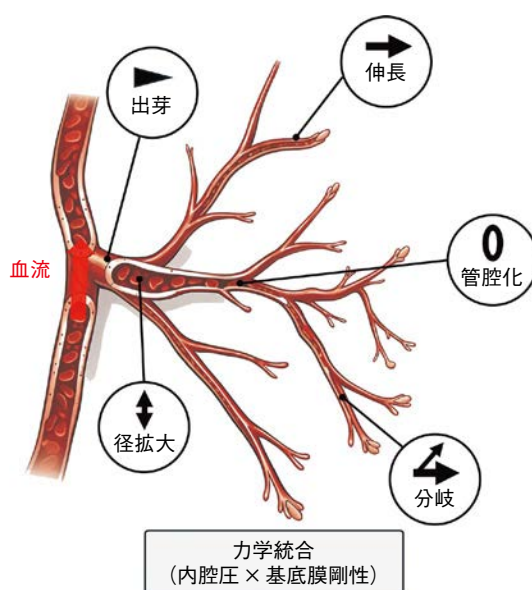


図1 血管新生における形態形成要素

血管新生は出芽、伸長、分岐、管腔化、径拡大といった複数の形態形成要素から構成される。これらは同時並行的に進行し、機能的血管網を形成する。

管内皮細胞が活性化されチップ細胞と呼ばれる細胞へ特殊化される。チップ細胞は、血管外側の細胞外マトリックス(extracellular matrix; ECM)を再構築し VEGF 分泌方向へと侵入する(出芽)。このチップ内皮細胞に続く形で、増殖したストーク細胞と呼ばれる血管内皮細胞が移動し、索上構

How blood vessels can elongate while forming tubular structures

Nishiyama Koichi : 宮崎大学医学部機能制御学講座血管動態生化学分野 (〒 889-1692 宮崎県宮崎市清武町木原 5200)

0370-9531/08/¥500/ 論文/JCOPY

造の連続性を保ったまま伸長する¹⁾。この枝の伸長過程において、チップ細胞とストーク細胞は固定的な配置を保つのではなく、それぞれの細胞は前後に動いたり停止したり、お互いの位置を入れ替えながら全体として前進する^{2,3)}。この動的秩序こそが枝の伸長の本質であるとわかってきた。

こうした複雑な血管内皮細胞の移動は、Delta-Notch-VEGF 分子軸を介した細胞間相互作用による移動スピード制御⁴⁾、VEGF、セマフォリン分子などへの外部刺激に応じた方向性決定⁵⁾、更には細胞固有のゆらぎ⁶⁾を含む多層的な制御機構に支えられている。しかし、これらがどのように統合され枝の伸長として現れるのかは体系的に整理されていない。

II. 血管が管をつくるしくみ

血管の枝が一定程度伸長すると、内部に血流を通す管腔が形成される。この過程の起点は、血管内皮細胞の極性の転換である。枝の伸長時には前後軸に沿った極性(前後軸極性)を示す細胞が、管腔形成に際しては、頂底軸方向への細胞極性(頂底軸極性)を獲得する必要がある。すなわち、細胞移動のための極性から、管腔構造形成のための極性へと機能転換が起こる。この頂底軸極性への極性変換には、VE-カドヘリンを介した内皮細胞間接着と、細胞外基質からの β 1-インテグリンを介した入力が協調して働く。これにより内腔側と基底膜側が規定され、管腔化が進む⁷⁾。

このように細胞極性変化→血管構造の極性形成を経て、細胞間接着部を解離させることで空洞としての管腔をつくるしくみに加えて、細胞内に形成された巨大ベジクルが融合し管腔を形成する経路も存在する⁷⁾。また、既存の管腔から連続的に新規管腔を形成する場合や、より遠位端に不連続的にいったん管腔構造をつくった後に既存管腔に接続するなど、つくり方の多様性も明らかになってきている^{8,9)}。しかし、その生物学的意義はよくわかっていない。

更に近年、管腔形成には生体力学的制御が関与することも明らかになってきた。すなわち、血流による血管内腔圧の上昇により内皮細胞内側への逆向きの細胞膜出芽を制御することが、管腔成長

に必須の要素であることもわかってきた⁸⁾。

III. 血管新生を制御する 血流内腔圧の作用

新生血管は、母血管の内腔構造と連続性を保ったまま伸長する。つまり、新生血管の枝はその内部に血流が流入しながら伸長するため、血流による力学刺激に常に曝されている。通常血流は、内腔面に沿ったせん断応力と、血管壁に垂直に作用する内腔圧を生じさせる。更に、血流による血管内腔圧がかかると、血管壁は一定程度伸展した状態で血管形状が保持される。その際血管壁には、円周方向や長軸方向に張力(血管壁伸展張力)がかかる。しかし、新生血管の先端は盲端で閉じた構造をとるため、いったん血流が流入し血管腔が血液で満たされてしまうと、そこには少なくとも大きな流れは存在しなくなる。つまり新生血管は、その母血管にかかるシェアストレスにより間接的な影響は受け得るものの、直接的にはむしろ血管内腔圧とそれに伴う血管壁の伸展負荷を主に受けていると想定される。しかし、その血流力学刺激の血管新生への作用は、前述した血管内腔圧の管腔成長作用以外には検討されていなかった。

生体现象における血流の力学作用を明らかにする際、その力学刺激を定量的に変化させ、刺激の程度に応じた現象の変化を分子・細胞レベルで解析する必要がある。しかし、生体内で血流力学刺激を特異的に操作することは、方法論的に非常に難しい。そこで筆者らは、マイクロ流路デバイス上で、血流による力学刺激を模した状況下の血管新生現象を再構成的に再現し、血流による内腔圧や血管壁伸展負荷の作用を解析した¹⁰⁾。ここでは、細胞基質内に血管内皮細胞による内腔構造を持つ三次元的な血管新生が誘導される。その内腔は近位部でデバイス流路に開口しているため、流路を介して形成された血管内腔へ培地の静水圧差を利用して、血流による血管内腔圧を模した負荷をかけることができる。

このオンチップ血管新生モデルを用いて、血流による異所的な血管内腔圧の上昇と続く血管壁伸展負荷が新生血管枝の伸長を抑制する現象を発見した¹⁰⁾(図2)。研究開発当初は、血管内腔圧負荷

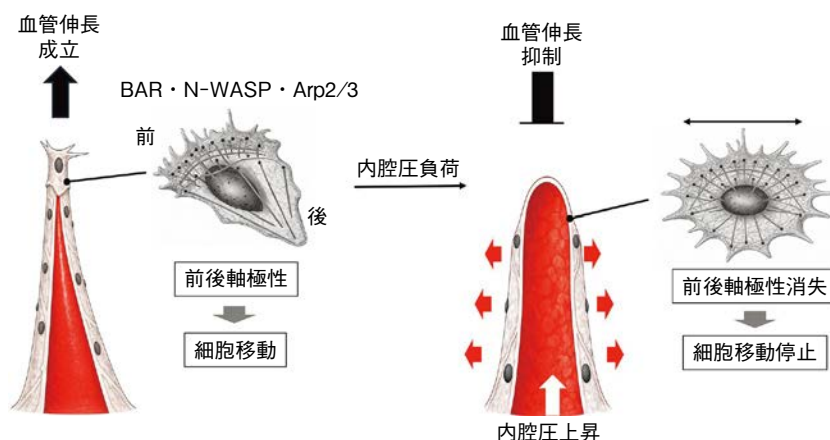


図 2 血管内腔圧による血管壁伸展を介した血管伸長抑制機構

血管内腔圧による血管壁伸展は内皮細胞の前後軸極性を破綻させ、細胞移動を抑制することで血管伸長を停止させる。

により、血管壁が内腔圧によって外側に押されることで、枝の伸長が促進すると予想していた。しかし実際は逆に、枝の伸長は抑制された。更に内腔圧と同時に血管の外側からも同様に血管外圧をかけておき血管内圧上昇による血管拡張を予防しておく、枝の伸長は抑制されなくなった。つまり、枝の伸長抑制作用は、血管内腔圧そのものの作用というより、血管内腔圧によって血管が拡張し血管壁が伸展されることに起因することがわかった¹⁰⁾。

更に、共同研究者の日本医科大学 福原茂朋博士らのゼブラフィッシュ創傷治癒モデルを用いた検討により、損傷後血管の再生は血流が継続して流入する上流側血管からは生じないことがわかった。つまり、血管内腔圧の血管壁伸展を介した血管伸長抑制作用が、血管損傷後の修復過程という実際の生体内で生じていることが実証された¹⁰⁾。

続く詳細な検討から、血管内皮細胞が血管壁伸展を感知し、細胞移動による枝の伸長が抑制されるメカノバイオリジ機構も明らかになった。血管内皮細胞は前後軸極性を持って、枝の伸長方向に向かって移動する。その際、アクチン重合反応に必須な N-WASP や Arp2/3 複合体が細胞前側に局在することで、細胞移動の駆動力となる細胞前側での糸状仮足形成が可能となる。更に膜タンパク質 BAR (ここでは、TOCA-1 · CIP4)¹¹⁾ は膜の曲率を感知して細胞前方に集積し、アクチン重

合の足場となるが、血管壁伸展によりその膜結合が阻害される (血管壁伸展の感知)。そのため、その後のアクチン重合反応が障害され、細胞移動の停止、血管伸長の抑制に至る機序が明らかになった (図 2)。

IV. 血管が管をつくりながら枝を伸ばすしくみ

それでは、生理的に新生血管が伸長する際に受ける血管内圧負荷でも、同様に血管伸長が抑制するのであろうか。この疑問に迫るため、筆者らは血管内皮細胞によるオンチップ血管新生モデルをタイムラプス観察し、内腔拡張とチップ内皮細胞 (伸長の指標) の移動動態の時間的關係を解析した。更に介入実験によりその因果関係性を検証した。本モデルでは、外部から意図的に圧負荷を加えない条件でも、血管内外の培地の静水圧較差により、血管内腔圧が相対的に優位となる。その結果、新規内腔が拡張するタイミングに一致してチップ細胞移動が低下し、血管伸長が停止することが明らかになった⁹⁾ (図 3)。

しかし、もし内腔圧による血管壁伸展が常に伸長を阻害するのであれば、血流を伴う血管新生は原理的に成立し得ないはずである。実際には、新生血管は管腔を形成し血流を受けながらも、更に遠位へと枝を伸ばしていく。この矛盾はいかに説明されるのか。

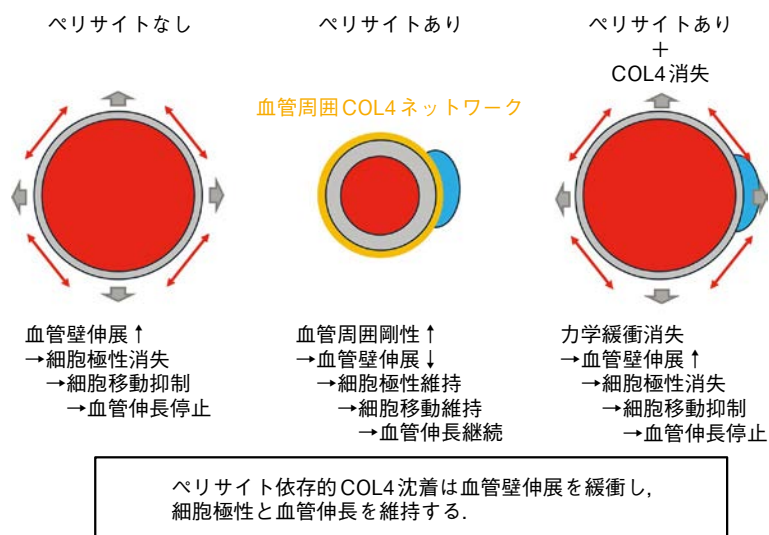


図 3 ペリサイト依存的 4 型コラーゲンによる血管壁伸展の力学緩衝

ペリサイト依存的 COL4 沈着は血管周囲剛性を増加させ、血管壁伸展を緩衝することで内皮細胞極性と血管伸長を維持する。COL4 消失によりこの力学緩衝は失われる。

この問いに対する鍵は、血管を取り囲むように存在するペリサイトの作用にあった⁹⁾。これまで、網膜血管新生では、PDGF 受容体 β 阻害抗体によりペリサイトの被覆を阻害すると、血管径(内腔)が拡張し血管伸長が遅延することが示されていた¹²⁾。そこで筆者らは、オンチップモデルにペリサイトを導入して血管新生を誘導した。その結果、血管径は細く保たれ、伸長は促進された。すなわちペリサイトには、血管径を抑える作用と伸長を促す作用が存在することが確認された。

ここで重要となるのは、この 2 つの作用が独立か、因果的に連結しているかである。まず、外部から血管内腔圧負荷を加えて血管の拡張性を評価したところ、ペリサイト存在下では血管拡張性が低下していた。これは血管周囲が硬化している可能性を示唆した。次に、PTM 解析(細胞外基質内に埋め込んだビーズの熱ゆらぎから基質の粘弾性を推測する手法¹³⁾)により、血管外周囲基質の硬さを実測した。その結果、ペリサイトの存在により血管周囲が硬化していることが確認された。更に、この血管周囲硬化が血管径保持を介して血管伸長促進に必須かを検証するため、ECM(フィブリン・コラーゲングル)を架橋剤トランスグルタミナーゼで硬化させた。すると、血管径は細い

まま維持され、血管伸長は促進された。以上より、ペリサイトは血管周囲を硬くすることで、内腔圧による血管・内腔拡張を抑え、滞りない血管伸長を可能にすることが示された¹⁰⁾(図 3)。

次に、ペリサイト依存的な血管周囲硬化の分子基盤を検討した。筆者らは血管基底膜、特に 4 型コラーゲン(COL4)に着目した。血管基底膜は血管内皮細胞の直外側に存在し、血管を裏打ちする物理的バリアとして機能する¹⁴⁾。また、COL4 が血管基底膜の硬さを規定する主要因子である¹⁴⁾。しかし、血管新生における役割の詳細は十分に解明されていなかった。

オンチップモデルとマウス網膜の両方で新生血管の COL4 血管基底膜形成を観察したところ、新規内腔が形成され、内腔圧によって拡張しやすい新生血管先端部周囲において、ペリサイト存在下で COL4 基底膜形成が促進していた⁹⁾。そこで血管内皮細胞において COL4 をノックダウンし、オンチップモデルで機能的関与を解析した。その結果、ペリサイトが存在していても、COL4 ノックダウンにより血管は異常拡張し、血管伸長は停止した。同時に、血管周囲が実際に軟化していることも確認された。更に、架橋剤処理で血管周囲基質を硬化させると、COL4 ノックダウンの血管新

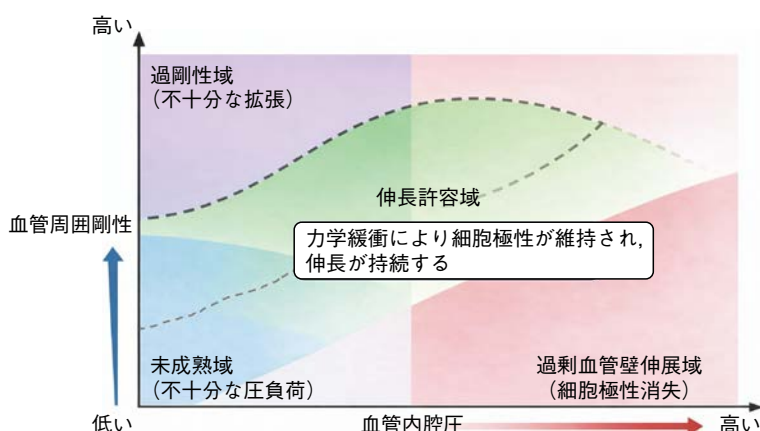


図 4 力学統合相図：血管新生の原理提示

本図は、血管内腔圧と血管周囲剛性の組み合わせが血管新生の伸長様式を規定することを示す力学相図である。内腔圧が低い場合には未成熟域（不十分な圧負荷）となり、血管は十分に拡張せず伸長は持続しない。一方、周囲剛性が過度に高い場合には過剛性域（不十分な拡張）となり、内腔拡張が制限される。逆に、内腔圧が過剰で周囲剛性が低い条件では過剰血管壁伸展域に入り、細胞極性が破綻し伸長が停止する。これらに対し、適切な力学バランスが成立する領域では、血管壁伸長が基底膜により力学的に緩衝され、内皮細胞の前後軸極性が維持されることで伸長が持続する。

生異常は回復した⁹⁾。これらの実験事実は、COL4 基底膜形成による周囲硬化が、血管拡張を抑え血管伸長を許容するために重要であることを確証する。

以上をまとめると、ペリサイト依存的な COL4 血管基底膜形成が血管周囲を硬化させ、血管内腔圧による過度な血管・内腔の拡張を抑える。その結果、血管内皮細胞の移動が維持され、血管は管腔を形成しながらも枝を伸ばし続けることができる（図 3）。すなわち、“管をつくりながら枝を伸ばす”統合機構の骨格が明らかになった。

細胞レベルでも、異所的な血管内腔圧負荷時と同様に、内腔成長に伴い BAR タンパク質の血管内皮細胞先端端局在が低下し、細胞移動が抑制されていた⁹⁾。したがって、生理的条件下でも同様の血管壁伸展感知機構が作動し、それをペリサイト・血管基底膜が力学的に緩衝するというモデルが支持される。

V. 今後の展望

本稿で概説した知見は、血管新生における枝の伸長と管腔形成が、単なる時間的連続過程ではなく、血管内腔圧と血管周囲力学環境とのバランスの下で統合される過程であるという、生体力学機構に基づく新たな血管新生原理を示している。内

腔圧は管腔形成に必須である一方で、血管壁の過度な伸展を介して内皮細胞の前後軸極性を変換し、細胞移動を抑制し得る。ペリサイト依存的な COL4 血管基底膜形成は、この伸展を緩衝することで、管腔形成と枝の伸長を両立させる力学的基盤として機能している。

今後の課題の一つは、この統合機構を定量的原理として記述することにある。筆者らは、血管新生が“血管内腔圧×血管周囲（基底膜）剛性”によって規定される伸長許容域を持つという作業仮説を提案する（図 4）。すなわち、管を形成しながらの伸長の成否は内腔圧の絶対値ではなく、その圧に対する血管壁の伸展応答に依存する。内腔圧負荷と周囲剛性を独立に操作し、血管伸長速度のみならず、管腔成長率や血管径分布といった形態指標を統合的に解析することで、血管新生を力学相図として整理できる可能性がある。この枠組みは、正常発生から、虚血における不全、腫瘍における異常亢進までを一元的に説明する理論基盤となり得る。

一方で、幾つかの重要な未解決点が残されている。第一に、ペリサイトによる COL4 基底膜形成の時空間制御機構である。血管内皮細胞との相互作用は示唆されているが、実働分子群や局所的な基底膜物性制御の実態は明らかでない。第二

に、血管壁伸展感知機構と細胞極性転換の接続点である。血管壁伸展は、管腔形成の促進因子なのか、あるいは極性転換の起点としても機能しているのか未解明である。第三に、血管壁伸展感知機構の実体である。内皮細胞膜の伸展のみならず、細胞間接着部の力学変化がどの程度関与するのは検討を要する。これらを明らかにすることで、血管新生は“伸長か管腔形成か”という二項対立ではなく、“両者が同時に成立する条件”を定義可能な統合過程として理解されるであろう。

本概念は、腫瘍血管、虚血組織、再生医療における血管化など、血流入力と周囲環境が大きく変動する状況においても示唆を与える。血管周囲力学環境の調整は、VEGF などの分子刺激とは異なる軸から血管新生の“質”を制御する可能性を持つ。今後、分子制御と力学設計を組み合わせた戦略が、血管新生のより精緻な制御へと発展することが期待される。

おわりに

血管新生は、枝の伸長と管腔形成が同時並行に進む形態形成過程である。内腔圧は管腔形成を促す一方、血管壁進展を介して伸長を抑制し得る。ペリサイトと COL4 血管基底膜はこの伸展を緩

衝し、両者の両立を可能にする。力学統合原理の理解は、血管新生の質的制御へつながる。

●文 献

- 1) Geudens I, Gerhardt H : *Development*. **138** : 4569–4583, 2011
- 2) Jakobsson L, Franco CA, Bentley K et al : *Nat Cell Biol*. **12** : 943–953, 2010
- 3) Arima S, Nishiyama K, Ko T et al : *Development*. **138** : 4763–4776, 2011
- 4) Bentley K, Franco CA, Philippides A et al : *Nat Cell Biol*. **16** : 309–321, 2014
- 5) Fukushima Y, Nishiyama K, Kataoka H et al : *EMBO J*. **39** : e102930, 2020
- 6) Sugihara K, Nishiyama K, Fukuhara S et al : *Cell Rep*. **13** : 1814–1827, 2015
- 7) Zeeb M, Strlic B, Lammert E : *Curr Opin Cell Biol*. **22** : 626–632, 2010
- 8) Gebala V, Collins R, Geudens I et al : *Nat Cell Biol*. **18** : 443–450, 2016
- 9) Hanada Y, Halder S, Arima Y et al : *Nat Commun*. **16** : 6788, 2025
- 10) Yuge S, Nishiyama K, Arima Y et al : *Nat Commun*. **13** : 2594, 2022
- 11) Suetsugu S, Gautreau A : *Trends Cell Biol*. **22** : 141–150, 2012
- 12) Uemura A, Ogawa M, Hirashima M et al : *J Clin Invest*. **110** : 1619–1628, 2002
- 13) Wirtz D : *Annu Rev Biophys*. **38** : 301–326, 2009
- 14) Marchand M, Monnot C, Muller L et al : *Semin Cell Dev Biol*. **89** : 147–156, 2019