

< 総 説 >

先天性心疾患の分子生物学

(平成11年1月29日受付)

(平成11年5月10日受理)

東京女子医科大学循環器小児科

門 間 和 夫 松 岡 瑠 美 子

key words : 先天性心疾患, CATCH 22 22 q 11.2 欠失症候群, Williams 症候群, Holt-Oram 症候群

要 旨

先天性心疾患の成因解明を目指して心臓の発生を司る遺伝子群の研究が進んでいる。心臓発生の各段階に各遺伝子が限局性に順次発現して、細胞の分化、増殖を program している。先天性心疾患を合併する 22 q 11.2 欠失症候群と Williams 症候群(染色体 7 q 11.2 欠失)の染色体部分欠失が末梢血リンパ球とそれぞれの染色体上の probe を用いた FISH 法で診断できるようになり、欠失遺伝子の解明が進んでいる。22 q 11.2 欠失症候群では神経堤細胞の遊走あるいは機能の異常から主に Conotruncus の先天性心疾患が生じる。即ち Fallot 四徴症、総動脈幹症、大動脈弓離断などである。一方で Chick-Quail Chimera の実験と Retrovirus Lac Z 組み込み細胞の追跡実験から神経堤細胞の分布が解明された。正常の Conotruncus の発生では endothelin 1 遺伝子、d-Hand 遺伝子、UFD 1 L 遺伝子がこの部分で順次発現していて神経堤細胞の作用を助けており、UFD 1 L 遺伝子のみが 22 q 11.2 に位置することが判明した。家族性の心房中隔欠損を生じる遺伝子として Holt-Oram 症候群遺伝子と CSX/NKX-2.5 が今までに同定された。Polysplenia, Asplenia(Situs ambiguus), Situs Inversus, Corrected Transposition などを生じうる遺伝子がいくつも発見されはじめた。各先天性心疾患を生じる遺伝子は多数存在する様である。

緒 言

分子生物学の手技が先天性心疾患の成因の研究に応用され、未だ部分的ではあるが、先天性心疾患の成因が分子レベルで解明されはじめた¹⁾。まず心臓の発生初期に心臓原基に限局性に発現する遺伝子が順次発見された^{2,3)}。これらの遺伝子は心臓と大血管を形成する細胞の分化、増殖、apoptosis をプログラムしている⁴⁾。先天性心疾患と直接関係する遺伝子、分子は未だ解明途上であるが、ここでは 1999 年時点での知見を review する。

1. 22 q 11.2 欠失症候群⁵⁾

1970 年台に高尾篤良教授が円錐部動脈幹異常顔貌症候群と名付けた疾患は 1993 年に染色体の長腕の微小欠失 22 q 11.2 欠失により生じることが判明した⁶⁾。

この疾患は DiGeorge 症候群、Velo-cardio-facial syndrome(Shprintzen syndrome)を含み、80% に先天性心疾患を合併する^{5,6)}。合併する先天性心疾患は東京女子医大心研のデータ⁶⁾では 70% が肺動脈閉鎖鎖を含むファロー四徴症^{7,8)}であり、その他に総動脈幹症⁹⁾、B 型大動脈弓離断、心室中隔欠損などである。22 q 11.2 欠失症候群は珍しい疾患ではなく、おおよそファロー四徴症の 15%、総動脈幹症の 30%、B 型大動脈弓離断の 60% が染色体 22 q 11.2 欠失症候群である¹⁰⁾。

22 q 11.2 欠失症候群の先天性心疾患、胸腺と副甲状腺の低形成はいずれも発生初期の神経堤細胞の機能不全¹¹⁾で起きることから、染色体 22 q 11 欠失症では、22 q 11.2 に含まれていて本症で欠けている遺伝子が神経堤細胞の機能不全を生じていると考えられる。Chick-Quail Chimera の実験¹¹⁾と Retrovirus Lac Z 組み込み細胞の追跡実験¹²⁾から神経堤細胞の分布が一層明らかになった。正常の円錐部動脈幹の発生では endothelin 1

別刷請求先 : (〒162 8666) 東京都新宿区河田町 8 1

東京女子医科大学循環器小児科

門間 和夫

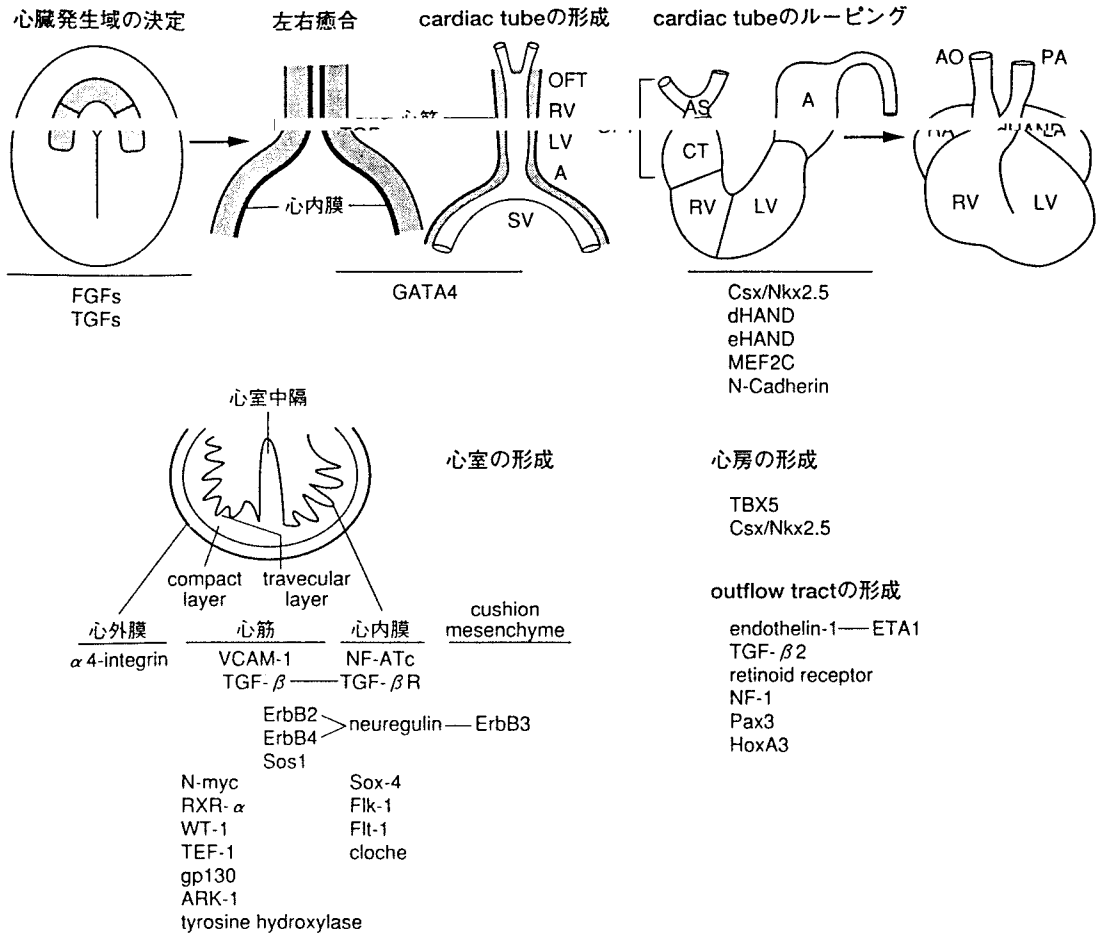


図1 心臓形成に関わる因子. 笠原, 出雲³⁾より引用.

遺伝子¹³⁾, d-Hand 遺伝子, UFD 1 L 遺伝子がこの部分に順次発現して、神経堤細胞の機能発揮を助けており、この中で UFD 1 L 遺伝子のみが染色体 22 q 11 に位置することが判明した¹⁴⁾。従って UFD 1 L 遺伝子は責任遺伝子の可能性が高いと示唆される。

日常診療で染色体 22 q 11 欠失症の診断は次ぎの手順で行われる¹⁵⁾。この疾患はほぼ 100% に特有の顔貌(細い目, 小さい鼻, 小さい口, 小さい顎, 耳の変形), 鼻声, 精神発達遅延を合併している¹⁶⁾。従って上記の先天性心疾患の患者ではこの特有の顔貌の有無を注意してみる。もし疑いがあれば、静脈血をヘパリンで採血して 22 q 11.2 欠失の有無を染色体 22 q 11.2 の probe を用いた FISH 法で検査する。リンパ球の培養をするので、検査の結果が出るのに 2 週間かかる。正常では 22 番染色体に 4 個の蛍光点があり、本症候群で

は 2 個の蛍光点がある。

临床上、22 q 11.2 欠失症候群の診断はダウン症の場合と同じく重要である。その診断が重要な理由の第一は、先天性心疾患の成因解明である。ほとんど全ての親は自分の子供の先天性心疾患の原因を知りたいと思っている。理由の第二は染色体 22 q 11.2 欠失症に合併する先天性心疾患には大動脈、肺動脈、動脈管の奇形が合併するので、その点の注意深い診断が必要になるからである。理由の第三は染色体 22 q 11 欠失症に高率に合併する、先天性心疾患以外の疾患の治療が必要になるからである。即ち本症では鼻声、口蓋裂、粘膜下口蓋裂、食事の嚥下障害、反復性中耳炎など耳鼻科の疾患が多い。また本症には低カルシウム血症、精神発達遅延、言語発達遅延、鼻声などの症状で小児科を受診する必要が生じる。本症の精神発達遅延は進行

表1 染色体微細欠失における先天性心疾患

症候群名	罹病率	染色体における微細欠失領域	欠失遺伝子	先天性心疾患の型	先天性心疾患の合併頻度
Wolf-Hirschhorn 症候群	1/50,000	4p16.3		大血管異常, 総肺静脈還流異常, 心房中隔欠損, 心室中隔欠損	50%
猫なき症候群	1/50,000	5p15-p14		動脈管開存	15 ~ 30%
Williams 症候群	1/20,000	7q11.23	エラスチン, LIMK1, HPC-1/Syntaxin 1A	大動脈弁上狭窄, 末梢肺動脈狭窄	70 ~ 80%
Jacobson 症候群	1/10,000	11q23-25	Ets-1, NFRKB	心室中隔欠損, 左心低形成, 動脈管開存, 心房中隔欠損, 大動脈縮窄	60%
Alagille 症候群	1/70,000	20p12	Jagged1	肺動脈狭窄, 大動脈弁狭窄, Fallot 四徴	85 ~ 90%
22q11.2 欠失症候群	1/5,000	22q11.2	HIRA (DGCR1/TUPLE 1), ZNF74, LZTR-1, T10, LMC1/DGCR6, UFD1L, GSCL 等	大動脈弓起始異常, Fallot 四徴症, 肺動脈閉鎖, 心室中隔欠損, 大動脈離断 (DiGeorge 症候群)	80 ~ 90%

性であり, IQ は 10 年に 10 ずつ低下する¹⁷⁾. 従って本症では学齢が進むにつれて, 学習障害の問題が深刻になる.

2. Williams 症候群

Williams 症候群は大動脈弁上狭窄, 末梢肺動脈狭窄, 特異顔貌, 精神発達遅延, 外交官気質, しわがれ声, などの症状を呈する症候群である¹⁸⁾. 通常は散发例である¹⁸⁾. Williams 症候群が 7 番染色体長腕 q11.23 の欠失 (deletion) によること, この欠失部分に elastin 遺伝子が含まれていることが, 1993 年に確定した^{19, 20)}.

東京女子医科大学では Williams 症候群 32 例の WSCR probe を用いた FISH 検査を行い, 全例に 7q11.23 の欠失を証明した²¹⁾. 80% に大動脈弁上狭窄があり, 半数に末梢肺動脈狭窄が合併していた.

Williams 症候群では elastin 遺伝子の半接合体欠失のため, elastin 蛋白の形成不全が考えられている²²⁾. これに相当する組織所見として, 大動脈弁上狭窄症では弾性線維の断裂, 乱れ, 減少があり, 代償性に膠原線維の増加, 平滑筋線維の肥大がある²²⁾.

Williams 症候群とは別に常染色体性優性遺伝をする大動脈弁上狭窄症が知られていたが, 1993 年に至り, この場合も elastin 遺伝子の突然変異によることが判明した. この場合の elastin 遺伝子異常には転座による断裂²³⁾と遺伝子内欠失²⁴⁾があり, それぞれ短い elastin 蛋白が作られる. これらの家族発生例では心疾患があるが Williams 症候群の他の症状は合併しないか, 極く軽い.

Williams 症候群の脳神経異常を生じる遺伝子は

elastin 遺伝子とは別に染色体 7q11.23 にあると考えられている. 本症候群で欠失している遺伝子の中で, 脳の形成と機能に関係する遺伝子として LIM Kinase 1 遺伝子²⁵⁾と Syntaxin 1 A 遺伝子が注目される²⁶⁾.

3. 心房中隔欠損 (Holt-Oram 症候群と家族性心房中隔欠損)

Holt-Oram 症候群は常染色体性優性遺伝をする, 四肢骨格奇形と心房中隔欠損や房室ブロックなどの先天性心疾患の症候群である²⁷⁾. 遺伝性の先天性心疾患は稀であり, この症候群は先天性心疾患の遺伝子解明の手がかりとなりうるとして注目されてきた²⁷⁾.

先ず 1994 年に Nature Genetics の同じ号で Brook など英国のグループと Bonnet など Paris のグループが Holt-Oram 症候群のそれぞれ 7 家族, 9 家族の連鎖解析を行い, 遺伝子が 12 番染色体長腕上にあることを報告した^{28, 29)}. 但し英国のグループの研究では Holt-Oram 症候群遺伝子は 7 家族中の 5 家族で 12 番染色体上にあり, 残り 2 家族では 12 番染色体上には無かった²⁸⁾.

次に Nature Genetics の 1997 年 1 月号で Holt-Oram 症候群の遺伝子発見が 2 つの論文により同時に報告された. この遺伝子は TBX 5 と命名された. 報告したのは, Basson, Seidman など Boston のグループ³⁰⁾と, Li, Bonnet, Brook など英仏国のグループ³¹⁾である. TBX 5 遺伝子は T-Box transcription factor (転写因子) 遺伝子である. 家族性の Holt-Oram 症候群と散发性の Holt-Oram 症候群の両者で, TBX 5 遺伝子の塩基配列 1 個の突然変異が認められ, そのために蛋白生成が途中で中断した短い蛋白, あるいはアミノ酸異常を含む

蛋白が生じていた。

ヒト胎児の発生初期の心臓において, TBX 5 遺伝子の発現を調べると, 心房になる部分と手になる部分(原基)に強く発現していた³¹⁾。

TBX 5 の異常が四肢骨格奇形と先天性心疾患を生じる機序は次のように考察されている³¹⁾。ヒトの発生の初期に受精後 26 日から 40 日の胚芽の心房原基と前肢原基に TBX 5 遺伝子が強く発現していることから, TBX 5 遺伝子は心房と前肢の発生に必要な転写因子である。心房原基と前肢原基において, TBX 5 遺伝子の上流と下流の遺伝子が未確認であるが, 骨形成因子群 (bone morphogenetic protein, Bmp Family がそれに相当すると思われる。Bmp 2 遺伝子と Bmp 5 遺伝子は発生初期の心房部分に強く発現する。

1998 年 7 月には Holt-Oram 症候群ではない家族性の先天性心疾患 (主に心房中隔欠損, 房室ブロック) が NKX 2.5 遺伝子の突然変異で生じることが Schott, Seidman らにより Science 誌上で報告された³²⁾。NKX 2.5 遺伝子も転写因子であり, ショウジョウバエの心臓に相当する血管の発生に必須の遺伝子 tinman と相同の遺伝子である。NKX 2.5 遺伝子は CSX 遺伝子とも呼ばれ, マウスの発生初期に心臓に発現し, CSX 遺伝子の knock-out mouse は発生の初期に死亡する³²⁾。この遺伝子は 5 番染色体 q 35 に存在する。NKX 2.5 遺伝子は心臓の初期発生上重要な遺伝子として注目されてきた。Schott, Seidman らは, 心房中隔欠損と房室ブロックが常染色体性優性遺伝の形式で多発している 4 家族, 33 人に NKX 2.5 の突然変異を見つけた³²⁾。この突然変異では 2 家族ではアミノ酸 1 個の異常がある蛋白質が形成され, 別の 2 家族では途中で形成の止まった短い蛋白質が形成されていた。先天性心疾患は 33 人中の 27 人が心房中隔欠損症であり, 残りが心室中隔欠損症, Fallot 四徴症などであった。ほぼ全てに房室ブロックがあり, 人工ペースメーカー植え込みが 13 例に行われていた。NKX 2.5 遺伝子の場合もこの遺伝子の上流と下流の遺伝子が未確認なので, 心房中隔形成上の具体的役割は不明であるが, 心房形成上に重要な役割をはたしていると考えられる。

4. Heterotaxia Syndrome

(内臓逆位, 無脾症候群, 多脾症候群)

内臓逆位, 無脾症候群, 多脾症候群など, 左右位異常の分子生物学, 分子遺伝学がマウスなどの実験動物で研究されている。これらの研究で既に 10 以上の関係遺伝子が判明しているが³³⁾, 中でも注目されるのが,

ヒトの内臓逆位と内臓不定位を生じる ZIC 3 と横山の発見した inv マウス³⁴⁾である。

inv マウスは劣性遺伝の内臓逆位であり, 1998 年にその遺伝子とその部分欠失が判明し, その遺伝子は *inversin* と名付けられた^{35) 36)}。*inversin* は心臓の発生の初期に心臓原基に発現し, その後 *nodal*, *lefty-1*, *lefty-2*, *Pitx 2* などの遺伝子が順次発現する^{36) 37)}。

恐らくヒトの内臓逆位, 無脾症候群, 多脾症候群を生じる遺伝子は多数あると推定される。

結 語

正常の心臓と大血管の発生は数多くの遺伝子が順次発現して行われる。先天性心疾患は心臓と大血管の発生が正常に行われない場合である。分子生物学と分子遺伝学によりこれら心臓の発生に関与する遺伝子が解明されつつある。更に先天性心疾患の成因が遺伝子・分子レベルで徐々に解明されようとしている。

文 献

- 1) Burn J, Goodship J: Developmental genetics of the heart. *Curr Opin Genet Devel* 1996; 6: 322-326
- 2) Lyons GE: Vertebrate heart development. *Curr Opin Genet Devel* 1996; 6: 454-460.
- 3) 笠原英子, 出雲正剛: 心臓の初期発生の分子生物学. *Annual Review 循環器* 1999. 中外医学社, 東京, 1999, pp 1-8
- 4) Fishman MC, Chien KR: Fashioning the vertebrate heart: earliest embryonic decisions. *Development* 1997; 124: 2099-2117
- 5) 松岡瑠美子: 染色体微細欠失による先天性心疾患. *Annual Review 循環器* 1999. 中外医学社, 東京, 1999, pp 9-14
- 6) Matsuoka R, Kimura M, Scambler PJ, Morrow BE, Imamura S, Monoshima S, Shimizu N, Yamagishi H, Joho K, Watanabe S, Oyama K, Saji T, Ando M, Takao A, Momma K: Molecular and clinical study of 183 patients with conotruncal anomaly face syndrome. *Hum Genet* 1998; 103: 70-80
- 7) Momma K, Kondo C, Ando M, Matsuoka R, Takao A: Tetralogy of Fallot with chromosome 22 q 11 deletion. *Am J Cardiol* 1995; 76: 618-621
- 8) Momma K, Kondo C, Matsuoka R: Tetralogy of Fallot with pulmonary atresia associated with chromosome 22 q 11 deletion. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 198-202
- 9) Goldmuntz E, Clark BJ, Mitchell LE, Jawad AF, Cuneo BF, Reed L, McDonald-McGinn D, Chien P, Feuer J, Zackai EH, Emanuel BS, Driscoll DA: Frequency of 22 q 11 deletion in patients with

- conotruncal defects. *J Am Coll Cardiol* 1998 ; 32 : 492 498
- 10) Momma K, Ando M, Matsuoka R : Truncus arteriosus communis associated with chromosome 22 q 11 deletion. *J Am Coll Cardiol* 1997 ; 30 : 1067 1071
- 11) Kirby ML, Waldo KL : Role of neural crest in congenital heart disease. *Circ Res* 1990 ; 82 : 332 340
- 12) Bergwerff M, Verberne ME, DeRuiter MC, Poelmann RE, Gittenberger-de Groot AC : Neural crest cell contribution to the developing circulatory system. Implications for vascular morphology ? *Circ Res* 1998 ; 82 : 221 231
- 13) 栗原裕基 : エンドセリンと血管発生 . Annual Review 循環器 1999 .中外医学社 ,東京 ,1999, pp 15 21
- 14) Shrivastava D : Personal communication. 1998
- 15) 高尾篤良 ,門間和夫 ,中沢 誠 ,中西敏雄編集 : 臨床発達心臓病学 . 改訂 2 版 , 中外医学社 , 東京 , 1997, pp 15, 38 40
- 16) 城尾邦隆 : 症候群と心疾患 . In .高尾篤良 ,門間和夫 ,中沢誠 ,中西敏雄編集 : 臨床発達心臓病学 ,改訂 2 版 , 中外医学社 , 東京 . 1997. pp 800 803
- 17) 武藤順子 ,炭田沢子 ,新井ゆみ ,大沢真木子 ,五十嵐一枝 ,松岡瑠美子 ,門間和夫 : CATCH 22 の神経学的検討 . 東京女子医科大学雑誌 1996 ; 66 : 429 448
- 18) 門間和夫 : Williams 症候群 . Annual Review 循環器 , 中外医学社 , 東京 , 1995. 175 178
- 19) Ewart AK, Morris CA, Atkinson D, et al : Hemizygoty at the elastin locus in a developmental disorder, Williams syndrome. *Nature Genetics* 1993 ; 5 : 11 16
- 20) Olson TM, Michels VV, Lindon MM, et al : Autosomal dominant supravalvular aortic stenosis : localization to chromosome 7. *Human Molecular Genetics* 1993 ; 7 : 869 873
- 21) Hirota H, Matsuoka R, Kimura M, Imamura S, Joho K, Ando M, Takao A, Momma K : Molecular cytogenetic diagnosis of Williams syndrome. *Am J Med Genet* 1996 ; 64 : 473 477
- 22) Ewart AK, Jin W, Atkinson D, Morris CA, Keating MT : Supravalvular aortic stenosis associated with a deletion disrupting the elastin gene. *J Clin Invest* 1994 ; 93 : 1071 1077
- 23) Curran ME, Atkinson DL, Ewart AK, Morris CA, Leppert MF, Keating MT : The elastin gene is disrupted by a translocation associated with supravalvular aortic stenosis. *Cell* 1993 ; 73 : 159 168
- 24) Olson TM, Michels VV, Urban Z, Csiszar K, Christiano AM, Driscoll DJ, Feldt RH, Boyd CD, Thibodeau SN : A 30 kb deletion within the elastin gene results in familial supravalvular aortic stenosis. *Hum Mol Genet* 1995 ; 4 : 1677 1679
- 25) Frangiskakis JM, Ewart AK, Morris CA, et al : LIM kinase 1 hemizygoty implicated in impaired visospatial constructive cognition. *Cell* 1996 ; 86 : 59 69
- 26) Osborne LR, Shi XM, Soder S, et al : Identification and implication of neuronal-specific syntaxin 1 A (STX 1 A) gene in the commonly deleted region of Williams syndrome. *HGM* 1996 ; 56 : abstract 49
- 27) Basson CT, Cowley GS, Solomon SD, Weissman B, Poznanski NAK, Traill TA, Seidman JG, Seidman CE : The clinical and genetic spectrum of the Holt-Oram syndrome (Heart-Hand syndrome) *N Engl J Med* 1994 ; 330 : 885 891
- 28) Terrett JA, Newbury-Ecob R, Cross GS, Fenton I, Raeburn JA, Young ID, Brook JD : Holt-Oram syndrome is a genetically heterogeneous disease with one locus mapping to human chromosome 12 q. *Nat Genet* 1994 ; 6 : 401 404
- 29) Bonnet D, Pelet A, Legeai-Mallet L, Sidi D, Mathieu M, Parent P, Plauchu H, Serville F, Schinzel A, Weissbach J, Kachaner J, Munnich A, Lyonnet S : A gene for Holt-Oram syndrome maps to the long arm of chromosome 12. *Nat Genet* 1994 ; 6 : 405 408
- 30) Basson CT, Bachinsky DR, Lin RC, Levi T, Elkins JA, Soultis J, Gralyzel D, Kroumpouzou E, Traill TA, Leblanc-Straceski J, Renault B, Kucherlapati R, Seidman JG, Seidman CE : Mutations in human cause limb and cardiac malformation in Holt-Oram syndrome. *Nature Genet* 1997 ; 15 : 30 35
- 31) Li QY, Newbury-Ecob RA, Terrett JA, Wilson DI, Curtis ARJ, Yi CH, Gebuhr T, Bullen PJ, Robson SC, Strachan T, Bonnet D, Lyonnet S, Young ID, Raeburn JA, Buckler AJ, Law DJ, Brook JD : Holt-Oram syndrome is caused by mutations in TBX 5, a member of the Brachyury(T) gene family. *Nature Genet* 1997 ; 15 : 21 29
- 32) Schott J-J, Benson DW, Basson CT, Pease W, Silberbach GM, Moak JP, Maron BJ, Seidman CE, Seidman JG : Congenital heart disease caused by mutations in the transcription factor NKX 2-5. *Science* 1998 ; 281 : 108 111
- 33) Ramsdell AF, Yost HJ : Molecular mechanisms of vertebrate left-right development. *TIG* 1998 ; 14 : 459 465

- 34) Yokoyama T, Copeland NG, Jenkins NA, Montgomery CA, Elder FFB, Overbeek PA : Reversal of left-right asymmetry : A situs inversus mutation. *Science* 1993 ; 260 : 679 682
- 35) Mochizuki T, Saijoh Y, Tsutiya K, Shirayoshi Y, Takai S, Taya C, Yonekawa H, Yamada K, Nihei H, Nakatsuji N, Overbeek PA, Hamada H, Yokoyama T : Cloning of *inv*, a gene that controls left /right asymmetry and kidney development. *Nature* 1998 ; 395 : 177 181
- 36) Morgan D, Turnpenny L, Goodship J, Dai W, Majumder K, Matthews L, Gardner A, Schuster G, Vien L., Harrison W, Elder FFB, Penman-Splitt M, Overbeek P, Strahan T : *Inversin*, a novel gene in the vertebrate left-right axis pathway, is partly deleted in the *inv* mouse. *Nat Genet* 1998 ; 20 : 149 155
- 37) Ryan AK, Blumberg B, R-Esteban C, Y-Tamura S, Tamura K, Tsukui T, Pena J, Sabbagh W, Greenwald J, Choe S, Norris DP, Robertson EJ, Evans RM, Rosenfeld MG, Baluarte JCI : *Pitx 2* determines left-right asymmetry of internal organs in vertebrates. *Nature* 1998 ; 394 : 545 551

Molecular Biology of Congenital Heart Disease

Kazuo Momma and Rumiko Matsuoka

Heart Institute, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan

Molecular genetic studies to elucidate the mechanisms of congenital heart disease are progressing. In the early embryonic heart, specific genes are expressed locally in succession, programming development, differentiation, and proliferation. Microdeletions of chromosomes causing CATCH 22 and Williams syndrome are being diagnosed with FISH and specific chromosome probes. CATCH 22 is associated with insufficient function of the neural crest cells and conotruncal anomalies, such as tetralogy of Fallot, truncus arteriosus and aortic arch interruption. Distribution of the neural crest cells has been studied using quail-chick chimera and the retrovirus-Lac Z experiment. The normal neural crest cell function depends on several genes, including endothelin 1, d-Hand, and UFD 1 L, the latter being included in 22 q 11. TBX 1 and CSX/NKX 2.5 have been identified as the genes causing atrial septal defect in Holt-Oram syndrome and familial ASD. More than 10 genes are known as candidate genes which may be related to situs inversus or ambiguous.
