

## I. 基礎「先天性心疾患の理解を深めるmolecular embryology」

## 先天性心疾患の理解を深めるMolecular Embryology

山岸 敬幸

慶應義塾大学医学部小児科

Key words :

cardiac development, molecular embryology, secondary heart field, anterior heart field, outflow tract

## Molecular Embryology for an Understanding of Cardiovascular Development and Congenital Heart Diseases

Hiroyuki Yamagishi

Department of Pediatrics, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

Congenital heart diseases result from abnormal morphogenesis of the embryonic cardiovascular system and usually involve defects in specific structural components of the developing heart and vessels. Therefore, the “Molecular Embryology” for an understanding of the individual modular steps in cardiovascular morphogenesis is particularly relevant to congenital heart diseases. Recent advances in molecular embryology have identified a population of myocardial precursor cells in pharyngeal mesoderm anterior to the early heart tube, namely, the “anterior heart field”. Discovery of the anterior heart field has important implications for the interpretation of cardiac outflow tract development and for the study of congenital heart diseases.

## 要 旨

先天性心疾患は、心臓大血管の発生異常に起因する疾患である。私たちが日常診療で遭遇する先天性心疾患の多くは、心臓大血管の複雑な発生における特定の領域または段階の異常によって発症するものであり、全般的な発生異常は胎生致死と考えられる。したがって、複雑な心臓大血管の発生をいくつかの領域または段階別に分けて詳細に解析する「分子発生学」は、先天性心疾患の成り立ちを理解するための科学として重要である。最近の「分子発生学」の進歩において、原始心筒の前方(=頭側ないし流出路側)の咽頭弓中胚葉領域に、心筋前駆細胞が存在することが明らかになり、「前方心臓領域」と名付けられた。前方心臓領域の発見により、心臓流出路の発生に新たな概念が誕生し、先天性心疾患の発症機序を理解するうえでの重要な知見が得られている。

## はじめに

「先天性心疾患の理解を深めるMolecular Embryology (分子発生学)」とは、それぞれの疾患の成り立ちを“自然の摂理”に基づいて考える科学である。先天性心疾患は、出生1,000人につき5~10人に起こる最も頻度の高い先天異常の一つであり、心臓発生の異常に起因する。高等動物の心臓発生は、いわば進化によって生み出された自然の芸術であり、時間的・空間的に秩序だった多く複雑な過程、すなわち由来の異なる心臓前駆細胞の移動、増殖、分化、プログラム細胞死、相互作用によって成立している。この複雑な過程を効率よく理解するためには、本稿の前半で示すように、いくつかの領域ないし段階別に分けて考える方法がよいと筆者は考えている。それぞれの領域・段階で、どのような自然現象により、どのように心臓大血管の各部分が形づくられていくかを理解しながら、全体像を把握していくというやり方である。実際、私たちが日常診療で遭遇

する多くの先天性心疾患は、これらいずれかの領域の特異的な発生異常であり、全般的な発生異常は胎生致死と考えられる。したがって、このやり方は先天性心疾患の成り立ちを考えるうえでも重要である。近年、基礎研究の分野でも心臓発生を領域別に制御する心臓前駆細胞や遺伝子の解析から、先天性心疾患の発症機序を解明するうえでの有益な情報が得られている。

本稿では、講演の内容とは順序を変えて、前半で総論として“心臓発生を領域別・段階別に理解する考え方”を、後半で各論として最新の分子発生学に基づいた“心臓流出路の発生とその異常についての考え方”を述べる。講演で述べた各論としての“左右心室の発生とその異常”については割愛させていただき、別の機会に譲ることをご容赦願いたい。2006年に発行された「心血管発生研究会テキスト(事務局を通じて無料配布中・部数に限りあり)」に、一部関連した内容を掲載したので、ご興味のある方はご参照いただければ幸いです。

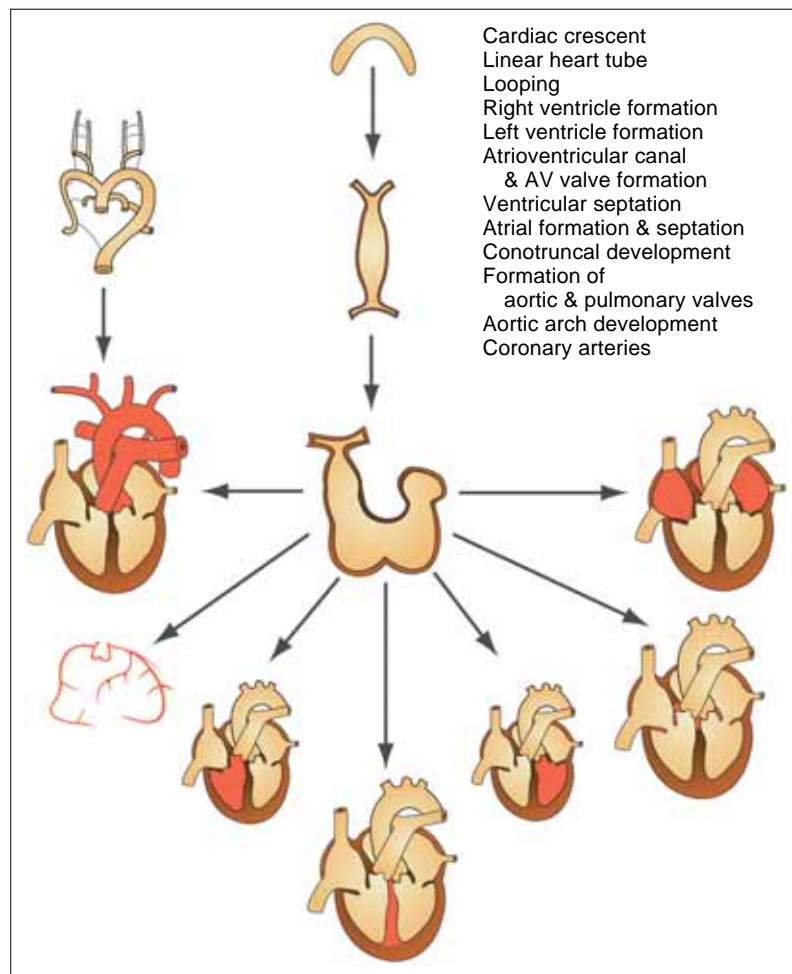


Fig. 1 An understanding of the individual modular steps in cardiovascular development.

### 心臓発生を領域別・段階別に理解する考え方

#### 1. 心臓大血管の発生 (Fig. 1)

心臓大血管は循環系を担う臓器として胎生期に最初に機能しはじめ、胚発生の段階と要求に合わせて形態変化する。心臓大血管形態形成の過程は、生物の種を越えて保存されている。哺乳類では、複雑な心臓大血管形態形成により出生後の体循環と肺循環の分離が可能となり、各臓器に効率よく酸素を供給し、高等な個体を維持するための循環機能が獲得される。

ヒトでは心大血管系の発生は胎生20日ごろ(マウス胎生7.5日ごろ)開始され、胎生50日ごろ(マウス胎生15.5日ごろ)までにほぼ完成する。まず、胚葉形成直後に側板中胚葉(lateral plate mesoderm)由来の心臓前駆細胞により、脊索前板前方部に三日月型の心原基(cardiac crescent)が発生し(Fig. 1-)、胚の正中に原始心筒(linear heart tube)を形成する。原始心筒は1本の管状構造で、頭側を咽頭弓(pharyngeal arch)に、尾側を横中隔

(septum transversum)に固定され、心拍動を開始して尾側から頭側に血液を送る。原始心筒は細胞・分子レベルでは、頭側(cranial/arterial end)と大動脈嚢(aortic sac)から尾側(caudal/venous end)と静脈洞(sinus venosus)に向かって、円錐動脈幹(流出路)、右心室、左心室、左右心房を形成する部位に区別されている(Fig. 1-)。

原始心筒が右方へ屈曲(looping)するとともに、左右心室原基は急速に発育を始める。頭尾方向に区別されていた右左心室原基は、右(やや腹側)左(やや背側)方向に並び替わり(Fig. 1-)、左右心室(Fig. 1-)および心房の形態が明らかになる。

房室管部(atrioventricular canal: AVC)には、心内膜から遊離して形質転換した間葉細胞(上皮-間葉細胞転換(epithelial-mesenchymal transformation: EMT))により心内膜床(endocardial cushion)が形成される(Fig. 1-)。上・下心内膜床の癒合により房室管は分割され、心内膜床は心房中隔(一次孔の閉鎖)、房室弁(僧帽弁と三尖弁)、心室中隔基部(膜様部中隔)の形成に関与する。心

房中隔, 心室中隔および房室弁が形成され, 2心房2心室の形態が完成する( Fig. 1- ~ ).

円錐動脈幹部( conotruncus )には, 移動した心臓神経堤細胞( cardiac neural crest cell )により, 動脈幹中隔が形成され, 1本の管状構造をした動脈幹が, 螺旋状( spiral )に2つの流出路~大血管基部に分割され( Fig. 1- ), 半月弁が形成される( Fig. 1- ). 大動脈は左心室に, 肺動脈は右心室に整合( alignment )することが, 出生後の体循環と肺循環の分離に不可欠である.

大血管系は, 左右対称に咽頭弓を貫く走行で徐々に発生する, 6対の咽頭弓動脈( pharyngeal arch artery )を原基として形成される. 6対の咽頭弓動脈のうち, 第3, 4, 6咽頭弓動脈に心臓神経堤細胞が分布し, 血管リモデリング( remodeling )により大動脈弓とその分枝, 左右肺動脈および動脈管が形成される( Fig. 1- ). 冠動脈系の血管前駆細胞は, 心外膜( epicardium )から供給される. 末梢で心外膜の上皮細胞の一部が上皮-間葉細胞転換により心外膜下・心筋層にもぐり込んで血管叢を形成し( vasculogenesis ), 血管新生( angiogenesis )により冠動脈のパターンが形成された後, 中枢で大動脈基部に接続して完成する( Fig. 1- ).

## 2. 心臓大血管の発生と先天性心疾患

先天性心疾患の発症機序を理解する一つの方法として, 複雑な循環器系の発生の過程におけるいくつかの重要なステップ( Fig. 1 )を理解し, それぞれの異常によって, どのような先天性心疾患が起こるかを考えるとよい. Fig. 1の番号に沿って概要を示す.

心原基の発生: 無心症( 胎内死亡 )

原始心筒の形成: 二分心臓( cardia bifida )( 胎内死亡 )

原始心筒のlooping: 心房内臓錯位症候群, 修正大血管転位( I-TGA ), 両大血管右室起始( DORV ), 三尖弁閉鎖( TA )

左右心室の発生: 右室低形成, 左心低形成症候群( HLHS ), 単心室( SV )

心内膜床の発生と房室弁の形成: 心内膜床欠損( ECD: 房室中隔欠損・AVSD ), 共通房室弁, Ebstein奇形, 僧帽弁閉鎖( MA/HLHS ), 僧帽弁閉鎖不全( MR )

心室中隔の形成: 心室中隔欠損( VSD )

左右心房と心房中隔の形成: 心房中隔欠損( ASD ), 三心房心, 総肺静脈還流異常( TAPVC )

円錐動脈幹の発生と心臓流出路の形成: 完全大血管転位( TGA ), 総動脈幹遺残( PTA ), 大動脈肺動脈窓( AP window ), Fallot四徴症( TOF ), DORV, VSD( 円錐部, 膜性部 )

大動脈弁・肺動脈弁の形成: 大動脈弁狭窄( AS ),



Fig. 2 Cell lineages that contribute to cardiovascular development.

肺動脈弁狭窄( PS ), 肺動脈閉鎖( PA )

大血管( 大動脈弓・主肺動脈・動脈管 )の発生: 大動脈弓離断( IAA ), 大動脈弓分枝異常, 大動脈縮窄( CoA ), 動脈管開存( PDA )

冠動脈の発生: 冠動脈異常( Bland-White-Garland症候群など )

## 3. 心臓大血管の発生に関与する細胞群

心臓大血管は元来中胚葉由来であり, 古典的には側板中胚葉由来の細胞により形成されると考えられてきた. しかし, 1980年代の心臓神経堤細胞の発見, 最近の新たな心臓前駆細胞領域の発見により, 心大血管系はいくつかの異なる細胞群により形成されることが明らかになってきた<sup>1-5</sup>).

現在の考え方では, 原始心筒は側板中胚葉由来の心臓前駆細胞により形成された心原基から発生し, この心臓前駆細胞の起源を「一次心臓(形成)領域( primary heart field: PHF )」( Fig. 2: 赤色 )と称する. 原始心筒がloopingするころ, その背側にある臓側中胚葉領域( splanchnic mesoderm )に由来する心臓前駆細胞( Fig. 2: 青色 )が, 原始心筒の前方( 大動脈嚢 )および後方( 静脈洞 )より心臓へ流入し, それぞれ心臓の前方部分( 円錐動脈幹と右心室 )および後方部分( 心房 )の形成に関与する. この心臓前駆細胞の起源を「二次心臓(形成)領域( secondary heart field: SHF )」と呼ぶ. さらに, 外胚葉由来の間葉系細胞である心臓神経堤細胞( Fig. 2: 黄色 )が円錐動脈幹に分布し, 円錐動脈幹中隔( 大動脈・肺動脈中隔 )が形成される. 心臓神経堤細胞は第3, 4, 6咽頭弓動脈にも分布し, 胸部大動脈系の血管平滑筋に分化する. 心外膜は, 原始心筒の後方に接続する横中隔の

前心外膜組織 (proepicardial organ : PEO) に由来する細胞 (Fig. 2 : 緑色) が、静脈洞側から心臓全体を覆うことにより形成される。心外膜を形成した細胞の一部は、前述のように上皮-間葉細胞転換を経て、冠状動脈の発生に關与する。

#### 4. 二次心臓領域

二次心臓領域という、側板中胚葉領域以外の心臓前駆細胞の起源の発見により、心臓大血管の発生ならびに先天性心疾患の発症機構に新しい概念が生まれた。しかし、二次心臓領域の定義については、いまだ海外の心臓発生の専門家の間でも混乱があり、この用語の使用・解釈には注意を要する。

##### 1) 二次心臓領域の発見

二次心臓領域の最初の報告は2001年のことである。原始心筒がloopingしはじめるころ、咽頭弓臓側中胚葉領域に由来し、咽頭弓に連なる心筒の頭側(流出路側)から心筋層および心内膜層に流入し、その形成に關与する心臓前駆細胞が存在することが、欧米の3つの研究室からほぼ同時に報告された<sup>2-4)</sup>。1つの研究室では、この咽頭弓中胚葉領域を、心臓の前方(頭側)にあって心臓前駆細胞の起源となることから、「前方心臓(形成)領域 (anterior heart field : AHF)」と命名し、また別の研究室では、側板中胚葉由来の心原基を形成する領域を一次心臓領域としたときの「二次心臓領域」と命名した。すなわち、この時点では名称が異なっていたが、この新たな心臓前駆細胞の起源は咽頭弓中胚葉のごく小さな領域に存在し、それらの細胞は心臓流出路の一部を形成すると考えられていた。

##### 2) 二次心臓領域の概念の拡大

ところが、2003年に発表されたEvansらの *islet-1* (*Isl1*) の研究は、二次心臓領域の概念を拡大するものであった<sup>6)</sup>。*Isl1*は膵臓の内分泌細胞に発現する転写因子で、ラット *insulin-1* 遺伝子の発現調節領域に作用する因子として発見された<sup>7)</sup>。Evansらは、*Isl1*ノックアウトマウスに心臓発生異常が認められることに注目し、胚発生における *Isl1* の発現を検討した<sup>6)</sup>。*Isl1*は胎生7.5日から一次心臓領域よりも正中かつ背側の領域に認められ、臓側中胚葉の広い範囲と咽頭内胚葉に発現していたが、一次心臓領域には発現していなかった。しかし驚いたことに、*Isl1*を発現した細胞群は、原始心筒のloopingが始まる胎生8.25日ごろから原始心筒の流出路側および流入路側から心臓に流入し、胎生9.5~10.5日には流出路および右心室の心筋層、心内膜層の大部分を形成していた。また、右心房、左心房を形成する細胞の半分以上も、*Isl1*を発現した臓側中胚葉細胞に由来することが判

明した。

この研究成果により、Fig. 2 (青色) に示すように、心臓前駆細胞は原始心筒の背側の臓側中胚葉の幅広い領域に起源することが明らかになった。すなわち、二次心臓領域は心臓の前方(流出路側)だけでなく後方(流入路側)にも存在し、流入路側からは心房を形成する心筋細胞を供給することが示され、その心臓発生における役割は、それまで考えられていたよりも大きなものとなった。

現在、意見の統一は得られていないが、臓側中胚葉の *Isl1* 発現領域を一次心臓領域以外の心臓前駆細胞起源として、二次心臓領域 (この場合、もともと提唱された心臓流出路側の“secondary heart field”と区別して、英語では“second heart field”という名称を提唱する研究者もいる) と呼び、そのなかで流出路の発生に關与する前駆細胞の起源を前方心臓領域と呼ぶこともある。今後、二次心臓領域/前方心臓領域の概念が見直され、用語が統一される必要がある。本稿では便宜上、流出路の発生に關与する二次心臓領域を“前方心臓領域”と呼称する。

#### 最新の知見を踏まえた心臓流出路の発生とその異常についての理解

##### 1. 心臓流出路の発生<sup>8)</sup>

原始心筒のlooping後、左右心室の形態が明らかになり心室中隔・筋性部中隔が発達する。1本の導管である流出路には、左側および右側から円錐動脈幹隆起 (conus & truncus swelling または conotruncal cushion : 心内膜由来の間葉細胞、神経堤細胞、および心ゼリーを構成する細胞外基質から成る) が形成される (Fig. 3-A)。左右の円錐動脈幹隆起は、回旋し(ねじれ)ながら癒合して下部は円錐中隔、上部は動脈幹中隔を形成する。大動脈 (Ao) と肺動脈 (PA) は、下部 (円錐部) では PA 前 - Ao 後、上部 (動脈幹部) では Ao 前 - PA 後の位置関係で分離する (Fig. 3-B)。円錐動脈幹隆起により形成された円錐中隔は、円錐口の左方移動により心室中隔・筋性部中隔に接続する。この周囲の心内膜床組織により心室中隔・膜様中隔が形成され、心室中隔が完成し、RV-PA、LV-Ao の関係が成立する (Fig. 3-C)。

##### 2. 心臓流出路の発生異常に起因する先天性心疾患

円錐動脈幹の回旋および左方移動により、肺動脈は右前方の右心室に、大動脈は左後方の左心室に接続する。流出路中隔 (大動脈・肺動脈中隔) および心室中隔 (円錐中隔、膜様中隔、筋性中隔) の形成により、左心系 (体循環) と右心系 (肺循環) が分離する。心臓流出路 (円錐動脈幹) の発生異常は、以下の臨床的に重要な先天性



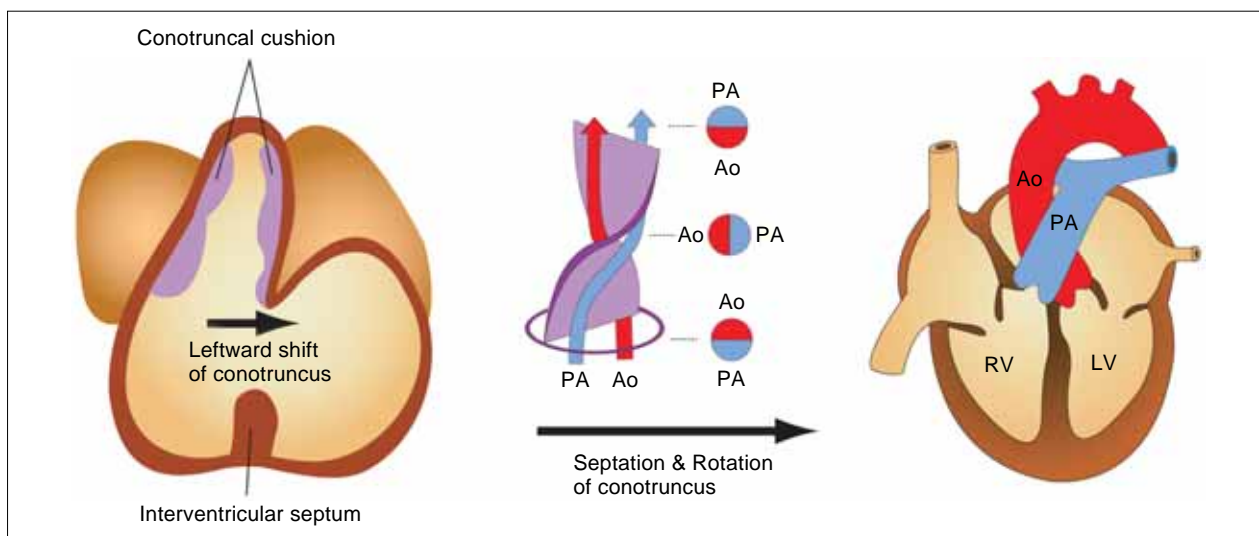


Fig. 3 Development of the cardiac outflow tract.

A | B | C

心疾患に関連する( Fig. 4 ). 円錐動脈幹の回旋が起こらない：完全大血管転位，動脈幹中隔が完全に欠損する：総動脈幹遺残，動脈幹中隔が部分的に欠損する：大動脈肺動脈窓，円錐中隔の形成不全：円錐部(漏斗部)心室中隔欠損，円錐口の左方移動が不十分：両大血管右室起始，円錐中隔と筋性中隔の整合が不整(malalignment)：Fallot四徴症，膜様部心室中隔欠損。

### 3. 心臓流出路の発生と前方心臓領域・心臓神経堤細胞の関与

#### 1 前方心臓領域細胞と心臓神経堤細胞の分布( Fig. 5 )

Fig. 5-A(胎生9.0日マウス胚・右側面像模式図)に示すように，原始心筒は側板中胚葉領域の細胞(赤色)により形成される．前方心臓領域細胞(青色)は，咽頭弓中胚葉に起源し，原始心筒がloopingしはじめるころに動脈幹部に移動し，側板中胚葉由来の組織(赤色)と混在して心筋層・心内膜に分布し，流出路および右心室の形成に関与する．Fig. 5-B(流出路横断切片)に前方心臓領域細胞(青色)の流出路での分布を示す．

Fig. 5-C(胎生9.5日マウス胚・右側面像模式図)に示すように，神経管背側(黄色)に起源する心臓神経堤細胞(黄色)は，原始心筒がloopingするころに動脈幹部に移動し，円錐動脈幹隆起に沿って分布して円錐中隔，動脈幹中隔，半月弁，流出路の形成に関与する．Fig. 5-D(流出路横断切片)に心臓神経堤細胞(青色)の流出路での分布を示す．

#### 2 前方心臓領域と心臓神経堤細胞の役割および相互作用

Kirbyらが1980年代に行ったニワトリ胚で神経堤細胞

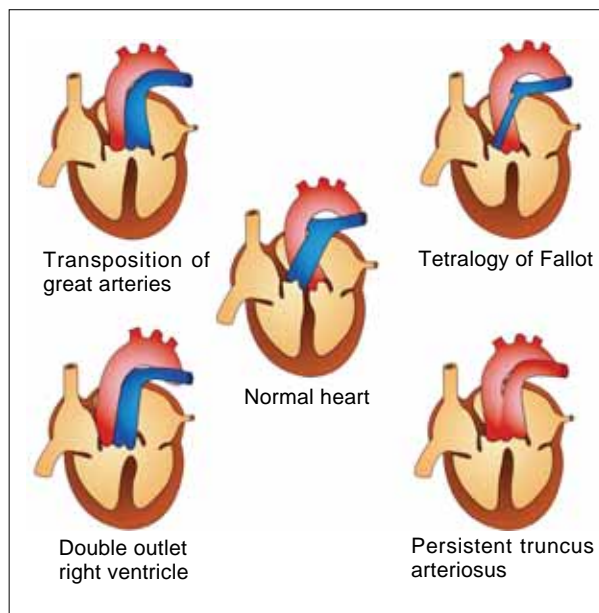


Fig. 4 Congenital heart defects resulting from abnormal development of the cardiac outflow tract.

を除去する実験では，流出路発生における心臓神経堤細胞の重要性が明らかになった<sup>1)</sup>．彼女らは，やはりニワトリ胚を用いて2001年に前方心臓領域/二次心臓領域を発見した<sup>3)</sup>．以後，心臓神経堤細胞および前方心臓領域の心臓流出路発生における役割について，ニワトリ胚の心臓神経堤細胞除去モデルで前方心臓領域細胞の分化を研究し，さらに前方心臓領域細胞を除去したニワトリ胚を作製して，いくつかの重要な成果を報告している<sup>3, 10, 11)</sup>．Kirbyらの研究成果は以下に要約される．

前方心臓領域細胞は、心筒の最頭側(流出路側)で流出路心筋および大血管基部平滑筋に分化する。

神経堤細胞除去ニワトリ胚では、前方心臓領域細胞の流出路への供給が起らないことから、その供給には心臓神経堤細胞が必要である。

前方心臓領域細胞が除去されると、発生中の流出路(円錐動脈幹)が短縮し、また回旋も不足することから、前方心臓領域細胞は流出路の伸長、回旋に必要である。

前方心臓領域細胞を除去したニワトリ胚では、Fallot四徴症、肺動脈閉鎖症が発生する。

したがって、心臓神経堤細胞は円錐動脈幹中隔に、前方心臓領域細胞は流出路心筋および平滑筋層にそれぞれ分化し、流出路の正常な発育・回旋と、その結果起こる大血管と左右心室の正しいalignmentには、両細胞の相互作用が必要であると推測される。

### 3) 前方心臓領域に発現する分子TBX1

T-box型転写因子であるTBX1は、心臓流出路の異常を高率に合併する染色体微細欠失症候群(22q11.2欠失症候群)の主要な責任遺伝子である<sup>12)</sup>。Tbx1ヘテロ変異マウスでは10~50%に大動脈弓異常が、Tbx1ホモ変異マウスでは総動脈幹遺残、胸腺・副甲状腺低形成、口蓋裂、顔面頭蓋骨異常など、22q11.2欠失症候群の主要症状すべてが認められる<sup>13-15)</sup>。

私たちはマウスTbx1遺伝子上流転写制御領域を単離し、LacZレポーター遺伝子を連結・導入したトランスジェニックマウス(Tbx1-lacZマウス)を樹立して、心臓流出路の発生におけるTbx1の発現を解析した。その結果、Tbx1は前方心臓領域由来の心臓前駆細胞に発現し、心臓神経堤細胞には発現しないことを明らかにした<sup>16)</sup>。この結果は、私たち(そしておそらく、すべての22q11.2欠失症候群の研究者)にとって衝撃的であった。なぜなら従来22q11.2欠失症候群のprimaryな病因は、神経堤細胞の異常と考えられており、責任遺伝子は神経堤細胞に発現すると想定されていたからである。

さらに私たちは、Tbx1遺伝子上流制御領域にCre組換え酵素遺伝子を連結・導入したトランスジェニックマウス(Tbx1-Creマウス)をROSA26レポーター(ROSA26R)トランスジェニックマウスと交配することによって、Tbx1を発現した前方心臓領域由来細胞の発生分化過程を観察した(Fig. 6-A)。このシステムでは、X-gal染色で青色に染まる細胞を前方心臓領域由来細胞として、他のTbx1を発現しなかった青色に染まらない細胞と識別することができる。Tbx1を発現した前方心臓領域由来の細胞は、胎生初期には流出路全体と右心室原基を形成し、後期・出生直前にはおもに右心室流出路から肺動脈主幹部および肺動脈弁を形成すること

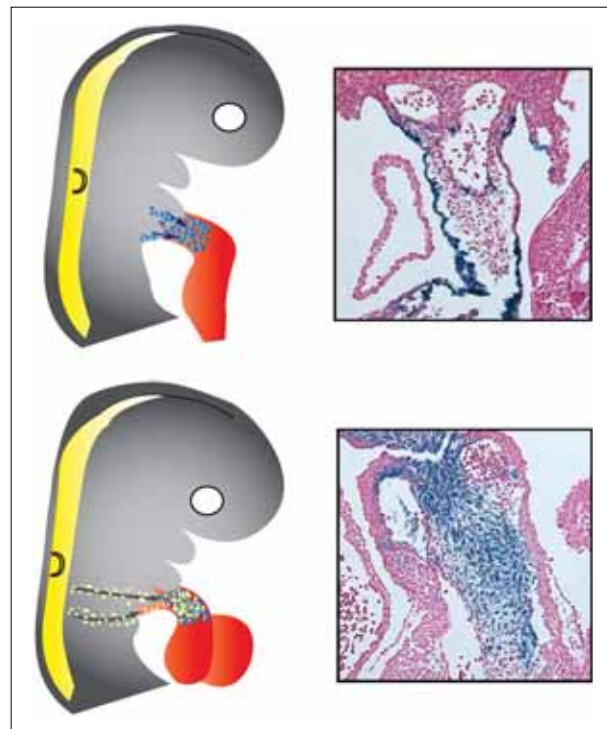


Fig. 5 Contribution of the anterior heart field cells (A, B) and cardiac neural crest cells (C, D) to outflow tract development.

が示された(Fig. 6-B)<sup>7)</sup>。

### 4) Tbx1の機能

心臓流出路におけるTbx1の機能については、遺伝子変異マウスの解析により検討されている<sup>18-21)</sup>。Tbx1変異マウスでは、心臓神経堤細胞の流出路への移動、円錐動脈幹隆起の形成はほぼ正常だったが、流出路を形成する分化した心筋細胞の数が減少していた。このマウスでは臓側中胚葉における細胞増殖の低下が認められ、前方心臓領域から流出路形成に動員された心臓前駆細胞の数が減少していると考えられた。胎生9~11日に流出路が急速に伸張する時期には、流出路心筋前駆細胞が前方心臓領域から継続的に動員される必要がある。Tbx1の機能は前方心臓領域における細胞増殖を維持し、流出路形成に必要な十分な数の前駆細胞を供給することにより、流出路の発育とremodelingを促進することと推測される。

Tbx1の転写標的については、いくつかの候補遺伝子が報告されている<sup>19, 21, 22)</sup>。そのなかで特に注目されるのは、線維芽細胞増殖因子Fgf8およびFgf10である。Tbx1発現低下マウスの前方心臓領域では、Fgf8/10の発現が特異的に低下しており、心臓流出路の発生においてFgf8/10がTbx1の下流で機能すると考えられる。培養

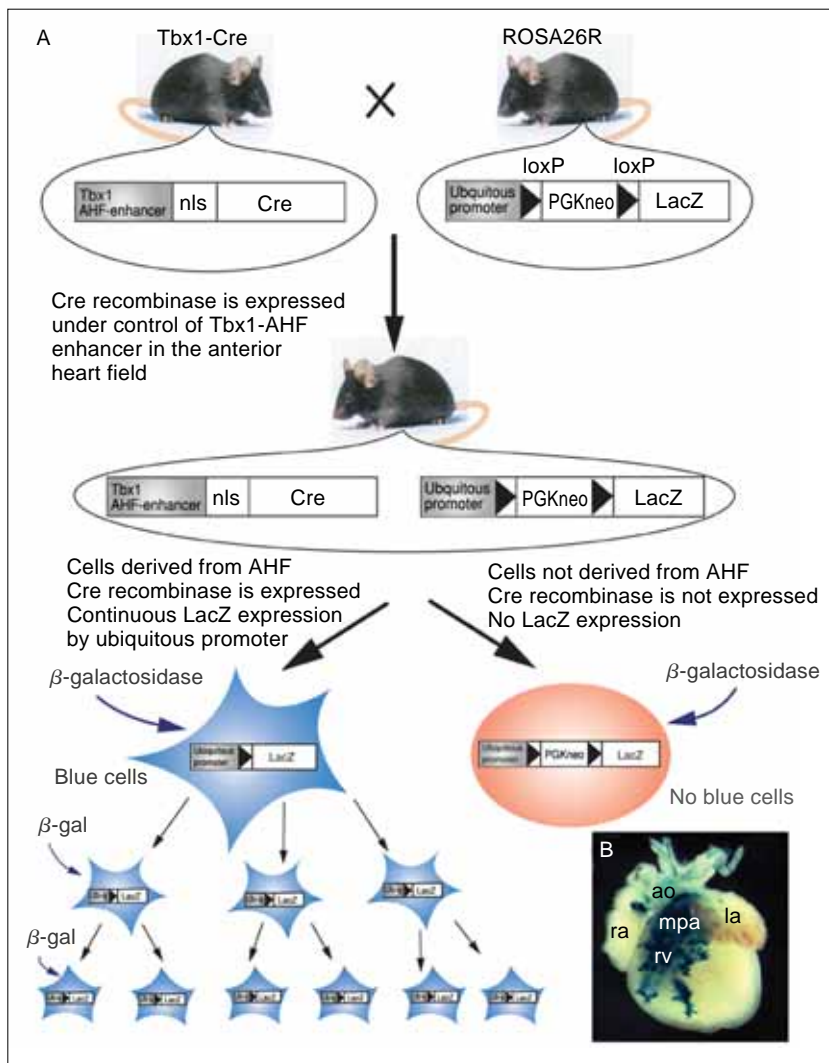


Fig. 6 Cell lineage analysis using the Cre-loxP/ROSA26R system for the anterior heart field cells (A) reveals that blue cells marked by Tbx1 expression give rise to the right ventricular outflow tract (B).  
ao, aorta; mpa, main pulmonary artery; rv, right ventricle; ra, right atrium; la, left atrium

細胞を用いた実験では、Tbx1が*Fgf10*の転写を活性化することが示されており、Tbx1の機能の少なくとも一部は*Fgf10*を介している可能性がある。しかし、*Fgf10*変異マウスでは明らかな前方心臓領域の異常が認められないため、*Fgf10*の機能を代償する分子（おそらく*Fgf8*との遺伝的相補性）が推測される。またこれらの増殖因子は、前方心臓領域細胞の増殖を促進し、前方心臓領域・心臓神経堤細胞間の相互作用を担うシグナル伝達分子としても注目されている。

#### 4. 先天性心臓流出路異常の発症機構についての考察

以上の分子発生学の知見と従来の形態形成学から、心臓流出路の発生異常による先天性心疾患（TOF, PTA）について、Fig. 7のような発症機構が考察される。PTAは心臓神経堤細胞を除去したニワトリ胚で高率に認められることから、心臓神経堤細胞の発生異常により円

錐動脈幹中隔が完全欠損して発症すると考えられる。TOFの発症機構は完全に解明されているわけではないが、円錐動脈幹の不完全な回旋および中隔形成に起因すると考えられている。すなわち、円錐動脈幹の回旋異常により流出路中隔と筋性部中隔のalignmentが障害され、結果として大動脈が心室中隔欠損の上に騎乗する。そして円錐動脈幹隆起により異常に前方偏位した中隔が形成され、肺動脈弁・漏斗部狭窄が発生するという説である<sup>23)</sup>。これに対し、Van Praaghは肺動脈弁下漏斗部（または円錐）の低形成が、漏斗部狭窄と流出路中隔のmalalignmentの原因であるとする説を唱えている<sup>23)</sup>。前方心臓領域が発見される以前には、TOFの発症機構は心臓神経堤細胞の発生異常によって説明されることが多かった。しかし、最近の分子発生学の研究成果から、TOFの発症にはむしろ前方心臓領域細胞の発生異常が大きく関与すると考えられる。この発生異常によ



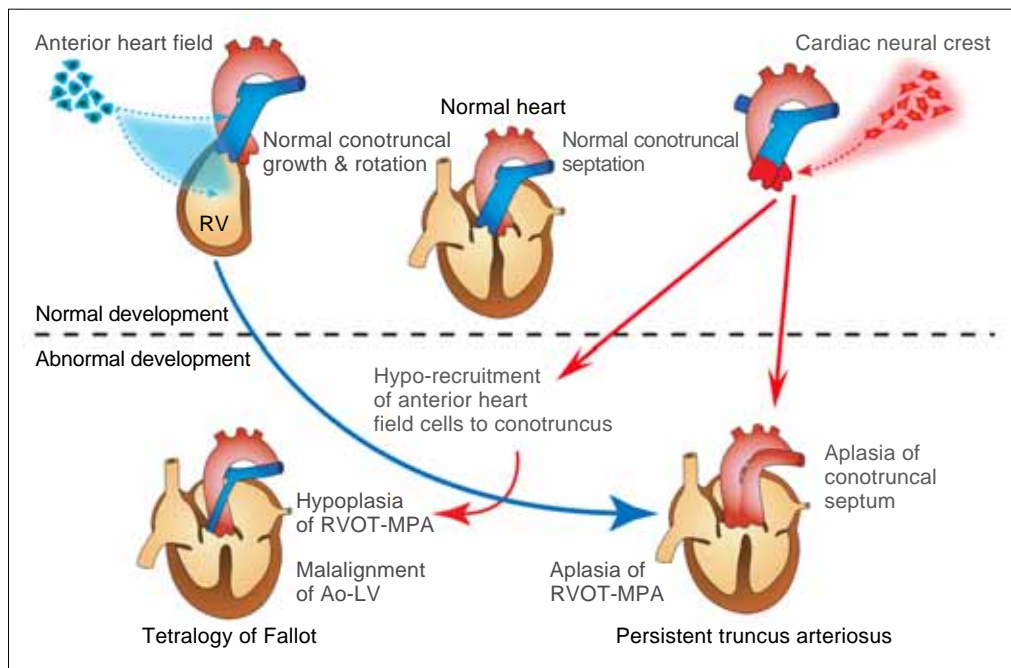


Fig. 7 Molecular embryology for an understanding of the embryogenesis of cardiac outflow tract defects. RVOT, right ventricular outflow tract; MPA, main pulmonary artery; Ao, aorta; LV, left ventricle

り，円錐動脈幹の発育と回旋が不完全となり，前方心臓領域細胞がprimaryに形成する肺動脈弁下漏斗部(円錐)の低形成が起こる．その結果としてTOFが発症すると考える，Van Praaghの説に近い考え方である．一方，心臓神経堤細胞の発生異常もsecondaryに前方心臓領域細胞の流出路への供給を障害することから，同様に円錐動脈幹の発育・回旋不全を招来し，TOF発症の原因となり得る．さらに，前方心臓領域細胞の発生異常が非常に高度で，主肺動脈および漏斗部が全く形成されなければ，心臓からの流出路は大動脈だけになり，肺動脈閉鎖(兼心室中隔欠損)ないしPTAの形態になると考えられる．以上まとめると<sup>17)</sup>，

1. TOFの発症機序として，primaryな原因は前方心臓領域細胞の発生異常であると考えられる．

2. 心臓神経堤細胞の発生異常は，secondaryに前方心臓領域細胞の発生異常を招来することによりTOFの原因となる．

3. 前方心臓領域細胞および心臓神経堤細胞の発生異常の程度により，肺動脈弁下漏斗部形成の重症度(すなわち肺動脈狭窄の重症度)には，軽度の肺動脈狭窄から肺動脈閉鎖までのスペクトラムが生じる．

4. 心臓神経堤細胞の発生異常の最重症型は，円錐動脈幹中隔の完全欠損によるPTAである．また，前方心臓領域細胞の発生異常の最重症型でも，肺動脈-右室流出路の完全欠損によりPTAの表現型となり得る．

4に挙げた考察が正しければ，表現型は同様のPTAであっても，総動脈幹が前者では肺動脈成分と大動脈成分の半々により構成されるが，後者ではすべて大動脈成分であることが推定される．興味深いことに，マウス*Tbx1*欠損により発症するPTAでは，総動脈幹は大動脈成分だけで構成されることが学会報告されている(Kelly RG, 私信)．

#### おわりに

心臓の発生学は，自然・生物の神秘を探求するものであると同時に，小児循環器医の夢である先天性心疾患の成因解明と予防・再生医療への基礎として，急速に発展している．1980年代，Kirbyらにより神経堤細胞を除去したニワトリ胚が22q11.2欠失(当時のDiGeorge)症候群の主要症状と同様の発生異常を起こすことが示され，以来，本症候群に合併する心臓流出路異常のprimaryな原因は心臓神経堤細胞の発生異常であると考えられてきた．しかし，前方心臓領域という心臓流出路の発生に関する新たな心臓前駆細胞が発見されると同時に，22q11.2欠失症候群の主要責任遺伝子*TBX1*は心臓神経堤細胞ではなく，前方心臓領域に発現することが明らかになった．そして*Tbx1*が発現する前方心臓領域細胞の発生異常が，心臓流出路異常のprimaryな原因になるという新たな概念が誕生した．心臓流出路の正常な発生には，心臓神経堤細胞と前方心臓領域細胞



の相互作用が必要であり、それらの発生異常の程度により、多彩な心臓流出路異常のスペクトラムが形成されると考えられる。しかし、本稿のまとめとして述べたこの考察も、将来Molecular Embryologyの発展により書き替えられ、さらに“自然の本質”に近づいていくことであろう。

Molecular Embryologyの今後の課題として、複雑な心臓大血管形成を制御する多くの分子の相互作用から成るネットワークを解析する必要性、この分子ネットワークが形態形成にどのように機能しているのか、すなわち“from gene to morphology”を解明することが挙げられる。Challengingな研究・発想が求められている。本稿が、多くの忙しい臨床医にとって、Molecular Embryologyの意義を感じ、先天性心疾患の理解を深める一助となれば、誠に幸いである。

謝辞 本稿で紹介した私たちの研究は、Gladstone Institute of Cardiovascular Disease, UCSF(University of California, San Francisco)のDeepak Srivastava教授、慶應義塾大学医学部小児科の前田 潤先生、山岸千尋先生のご協力により行われたものであり深謝いたします。研究の一部は文科省科学研究費によった。著者は国際統合医科学インスティテュート [IREIIMS] 運営会議メンバーである。

#### 【参考文献】

- 1) Kirby ML, Gale TF, Stewart DE: Neural crest cells contribute to normal aorticopulmonary septation. *Science* 1983; 220: 1059–1061
- 2) Mjaatvedt CH, Nakaoka T, Moreno-Rodriguez R, et al: The outflow tract of the heart is recruited from a novel heart-forming field. *Dev Biol* 2001; 238: 97–109
- 3) Waldo KL, Kumiski DH, Wallis KT et al: Conotruncal myocardium arises from a secondary heart field. *Development* 2001; 128: 3179–3188
- 4) Kelly RG, Brown NA, Buckingham ME: The arterial pole of the mouse heart forms from Fgf10-expressing cells in pharyngeal mesoderm. *Dev Cell* 2001; 1: 435–440
- 5) Mikawa T, Gourdie RG: Pericardial mesoderm generates a population of coronary smooth muscle cells migrating into the heart along with ingrowth of the epicardial organ. *Dev Biol* 1996; 174: 221–232
- 6) Cai CL, Liang X, Shi Y, et al: Isl1 identifies a cardiac progenitor population that proliferates prior to differentiation and contributes a majority of cells to the heart. *Dev Cell* 2003; 5: 877–889
- 7) Karlsson O, Thor S, Norberg T, et al: Insulin gene enhancer binding protein Isl-1 is a member of a novel class of proteins containing both a homeo- and a Cys-His domain. *Nature* 1990; 344: 879–882
- 8) Sadler TW: *Langman's Medical Embryology*. 9th edition, Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins, 2004
- 9) 山岸敬幸, 仲澤麻紀, 土橋隆俊: 心臓流出路の形態形成に関わる新しい細胞系譜と遺伝子. 矢崎義雄, 山口徹, 高本真一, 中澤 誠 (編), *Annual Review 循環器* 2004, 東京, 中外医学社, 2004, pp34–40
- 10) Ward C, Stadt H, Hutson M, et al: Ablation of the secondary heart field leads to tetralogy of Fallot and pulmonary atresia. *Dev Biol* 2005; 284: 72–83
- 11) Waldo KL, Hutson MR, Stadt HA, et al: Cardiac neural crest is necessary for normal addition of the myocardium to the arterial pole from the secondary heart field. *Dev Biol* 2005; 281: 66–77
- 12) Yamagishi H, Srivastava D: Unraveling the genetic and developmental mysteries of 22q11 deletion syndrome. *Trends Mol Med* 2003; 9: 383–389
- 13) Merscher S, Funke B, Epstein JA, et al: TBX1 is responsible for cardiovascular defects in velo-cardio-facial/DiGeorge syndrome. *Cell* 2001; 104: 619–629
- 14) Jerome LA, Papaioannou VE: DiGeorge syndrome phenotype in mice mutant for the T-box gene, Tbx1. *Nat Genet* 2001; 27: 286–291
- 15) Lindsay EA, Vitelli F, Su H, et al: Tbx1 haploinsufficiency in the DiGeorge syndrome region causes aortic arch defects in mice. *Nature* 2001; 410: 97–101
- 16) Yamagishi H, Maeda J, Hu T, et al: Tbx1 is regulated by tissue-specific forkhead proteins through a common Sonic hedgehog-responsive enhancer. *Genes Dev* 2003; 17: 269–281
- 17) Maeda J, Yamagishi H, McAnally J, et al: Tbx1 is regulated by forkhead proteins in the secondary heart field. *Dev Dyn* 2006; 235: 701–710
- 18) Vitelli F, Morishima M, Taddei I, et al: Tbx1 mutation causes multiple cardiovascular defects and disrupts neural crest and cranial nerve migratory pathways. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 915–922
- 19) Xu H, Morishima M, Wylie JN, et al: Tbx1 has a dual role in the morphogenesis of the cardiac outflow tract. *Development* 2004; 131: 3217–3227
- 20) Xu H, Cerrato F, Baldini A: Timed mutation and cell-fate mapping reveal reiterated roles of Tbx1 during embryogenesis, and a crucial function during segmentation of the pharyngeal system via regulation of endoderm expansion. *Development* 2005; 132: 4387–4395
- 21) Hu T, Yamagishi H, Maeda J, et al: Tbx1 regulates fibroblast growth factors in the anterior heart field through a reinforcing autoregulatory loop involving forkhead transcription factors. *Development* 2004; 131: 5491–5502
- 22) Vitelli F, Taddei I, Morishima M, et al: A genetic link between Tbx1 and fibroblast growth factor signaling. *Development* 2002; 129: 4605–4611
- 23) Allen HD, Gutgesell HP, Clark EB, Driscoll DJ (eds): *Moss and Adams' Heart Disease in Infants, Children, and Adolescents including The Fetus and Young Adult*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001