

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： 左右軸の決定と内臓錯位症候群

山岸 敬幸

慶應義塾大学医学部小児科

Left-Right Axis Determination of the Body and Heterotaxy Syndrome

Hiroyuki Yamagishi

Division of Pediatric Cardiology, Department of Pediatrics, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

Congenital heart diseases (CHD) result from abnormal development of the cardiovascular system and usually involve defects in specific steps or structural components of the developing heart and vessels. The determination of left-right patterning of our body proceeds as following steps: 1) A number of motile cilia in the node rotate and lead to the unidirectional leftward flow of extra-embryonic fluid in the node cavity, 2) This “Nodal Flow” induces asymmetric expression of Nodal, a member of TGF- β superfamily, only on the left side of the embryo that eventually activates the molecular pathway regulating the left-side specific morphogenesis. Disruption of any of these steps may result in left-right patterning defects or heterotaxy syndrome in human. Discovery of numerous factors involving the components of monocilia in the node and left side specific molecular pathway has provided new insights into not only heterotaxy syndrome but also associated CHD.

Keywords: heart development, node, cilia, TGF- β superfamily

先天性心疾患は、心臓大血管の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。発生初期の胚は、心臓の原基を含めて左右対称の形態をしている。体の各臓器・組織が正常に左右非対称に形成されるためには、体の左右軸に関する情報が必要である。左右軸が決定される過程は、次のように説明される：Node の cilia が回転運動し、Nodal flow が生じることにより胚の右から左への分子の流れが発生する；その流れが胚の左側に左側形成機構を誘導し左側形成分子・遺伝子カスケード、すなわち TGF- β スーパーファミリーの Nodal から Lefty そして転写因子 Pitx2 の発現に続く分子機構が活性化する。胚の左右軸の決定は正常な心臓形態形成にも必須であり、この分子機構が障害されると右側相同（無脾症候群）、左側相同（多脾症候群）を含む内臓錯位症候群が発症し、単心室症、肺動脈閉鎖症などの重篤な先天性心疾患が合併する。左右軸決定の発生学のさらなる発展により、これら先天性心疾患の発症機構が解明されることが期待される。

はじめに

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発生異常によって発症するものである。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解析する「臨床心臓発生学」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 (Fig. 1)¹⁾。

発生初期の心臓は、三日月型の原基から胚の正中に形成された 1 本の管状構造（原始心筒）であり、この段階では胚全体が左右対称の形態をしている (Fig. 1

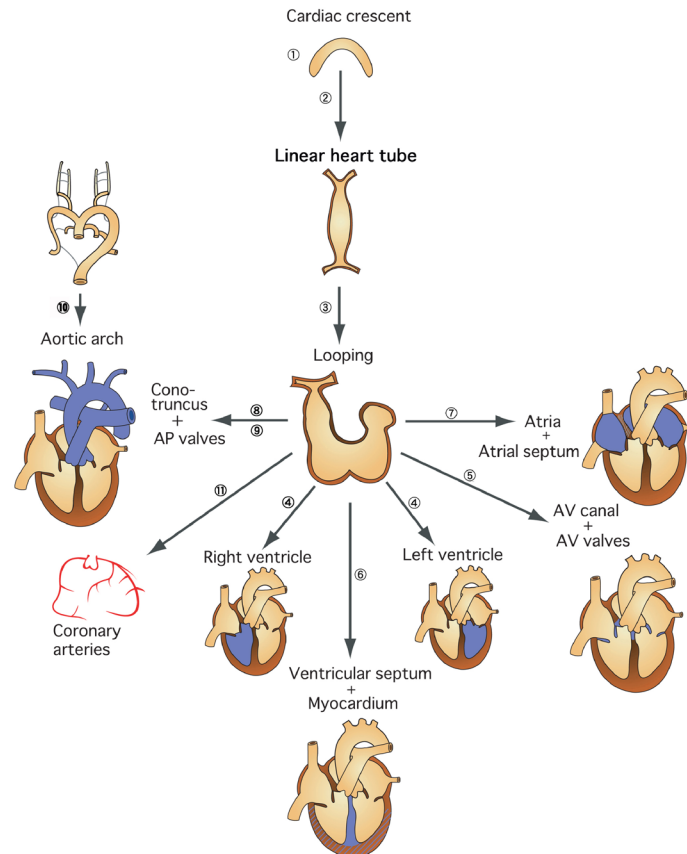


Fig. 1 Molecular embryology for an understanding of the individual modular steps in cardiovascular development

①②). 原始心筒の右方への屈曲 (looping) は, 胚 (胎児) に内臓の左右非対称が初めて現れる段階である (Fig. 1 ③). 体の各臓器・組織が正常に左右非対称に形成されるためには, 体の左右軸に関する情報が必要である. 胚の左右軸の決定は正常な心臓形態形成に必須であり, この情報が障害されると内臓錯位をとまなう単心室症など, 重篤な先天性心疾患が発症する. 胚の左右軸の決定に関する分子発生的研究領域は, 多くの日本人研究者によりリードされている.

教育セミナーで概説した「左右軸の決定と内臓錯位症候群」の内容については, ちょうど最近, 八代健太博士により本誌特集総説【ホットトピックス】「臓器錯位症候群の発生機序」(八代健太ほか, 日本小児循環器学会雑誌 33(5): 349-361, 2017) としてまとめられている. したがって, 本稿ではアウトラインを示し, 詳細については上記総説をご参照いただくこととしたい. また, 教育セミナーで使用したスライド図については, 予稿集を参照されたい.

I. 左右軸の決定

教育セミナーでは, 左右軸が決定される過程について以下の4つのステップから成ると説明した (予稿集第8図)²⁾.

1. Node の cilia が回転運動する
2. Nodal flow : 胚の右から左への流れが生じる
3. 左側形成機構が胚の左側に発現する
4. 左側形成分子・遺伝子が活性化する (Nodal-Lefty-Pitx2)

八代論文では, 同様の内容を次の4つのステップで説明している (八代論文 Fig. 2).

1. 対称性の破れ (ステップ 1)
2. 左側への Node の非対称情報の伝搬 (ステップ 2)
3. 左の側板中胚葉特異的な一過的 Nodal 発現の確立 (ステップ 3)
4. 転写因子 Pitx2 の発現と左右非対称な形態形成 (ステップ 4)

以下に要点をまとめる.

1. Node における motile cilia の回転運動による、 胚の右から左への nodal flow の形成（上記 1 および 2 の過程）

マウスの原始結節の node 細胞には、繊毛（primary cilia, 9+0 cilia）がある。繊毛の内部構造は、2つの微小管（microtubule）が9対並んで骨格をなし、各々の微小管対の間に、物質を細胞の近位方向に運搬する motor 蛋白である dynein が存在する。微小管の“ずれ運動”による“らせん運動”が生じ、繊毛は一定方向に回転する。この繊毛の回転の軸が一定の斜めの角度をなしているため、回転運動は繊毛の上部（表層）で、胚の右から左への流れを生み出している（予稿集第 11 図）（八代論文 Fig. 3）^{2,3)}。この左方向への一定した物質の流れは“nodal flow”と呼ばれ、左右軸の決定に必須な何らかの形態形成因子を胚の左側へ運ぶ機能を果たしていると考えられる。node が左右軸を決定する signal center であることは、胚に人工的に反対方向の“nodal flow”を作り出すと左右軸が逆転する事実からも証明されている⁴⁾。

2. nodal flow による胚の左側における左側形成機構の発現、および左側形成分子・遺伝子の活性化（上記 3 および 4 の過程）

nodal flow によって node で生じた左右軸を決定する最初の情報は、TGF- β ファミリーに属する発生を制御するリガンド蛋白である Nodal が発現することにより、側板中胚葉へ伝達される（予稿集第 14 図）（八代論文 Fig. 1, 4, 5）⁵⁾。Nodal は、はじめ node 周囲に均一に存在するが、その後 node の左側に拡散し高濃度に存在するようになる。Nodal は受容体 ActRII との結合を介して、下流の SMAD 因子群をリン酸化することにより活性化し、シグナルを伝達する。側板中胚葉における Nodal 発現パターンは左側に局限しており、右側では発現が認められない。この発現パターンの制御には、Nodal シグナルの阻害因子である Lefty1/2 が必須である⁶⁾。Lefty1/2 は Nodal 同様 TGF- β ファミリーに属し、ActRII への結合で Nodal と競合することにより Nodal に対して抑制的に作用する。Nodal はポジティブフィードバック機構により自己発現を促進する一方、胚の正中では Lefty1 を、左側板中胚葉では Lefty2 の発現を誘導する。Lefty1 は Nodal をはじめとする左右決定因子群の右方への拡散を防ぎ（midline barrier）、Lefty2 は左側板中胚葉において、Nodal シグナルの強度に応じて Nodal の発現量を調節する。左側板中胚葉領域に特異的な Nodal シグナルにより、その下流の転写因子 Pitx2 が

誘導される。Pitx2 は、左右軸の情報を臓器の形態形成に伝達する。左側板中胚葉に発現した Pitx2 は pre-cardiac mesoderm に作用して、最終的に心臓流入路および流出路における左側の決定に関わると推測される。Pitx2 をはじめとする、個体の左右非対称形成に重要な役割を果たす転写因子群が胚の左側特異的に誘導され、形態形成が進行する⁷⁾。

ここで、nodal flow が node での Nodal 遺伝子の発現の左右差へと変換される分子機構は未だ明らかではなく、“Mechanosensory model”と“Chemosensory model”が提唱されている（予稿集第 15 図）（八代論文 Fig. 3D, Fig. 4A）。前者は、もともと常染色体顕性遺伝の 2 型多嚢胞腎の責任遺伝子として臨床遺伝学的探索により同定された Pkd2 遺伝子が、ノックアウトマウスの解析により左右軸に関係すると判明したことから推測されているモデルである⁸⁾。Pkd2 は node の cilia に局在し、力学的ストレスや熱などの物理的エネルギーを感知する受容体として知られる TRP ファミリーに属するカルシウムイオンチャンネルである。Pkd2 がメカノセンサーとして nodal flow を感知して、node の左側でカルシウム・シグナルを活性化し、Nodal の左右非対称な発現を誘導すると考えられている。一方、後者は線維芽細胞増殖因子（FGF）、Hedgehog やレチノイン酸シグナルの関与から推測されているモデルで、nodal flow がこれらシグナル因子を胚の左側へ運んだ結果、Nodal の左側優位の発現が誘導されると考えられている⁹⁻¹³⁾。今後の検討が必要である。

II. 内臓錯位症候群

1. 概念・病態

本症候群の診断には、心房内臓位（vicero-atrial situs）についての理解が必要である（予稿集第 7 図）。胸腹部臓器が体の左右軸に基づいて正しい位置および形態を示す状態を正位（situs solitus）、左右が逆転した完全な鏡像型を逆位（situs inversus）と呼ぶ。内臓錯位症候群（heterotaxy syndrome）は、本来左右非対称に発達する胸腹部の臓器の左右分化、すなわち左右軸決定の障害により各臓器に種々の先天異常が発生する症候群で、無脾（asplenia）症候群、多脾（poly-splenia）症候群を含む。無脾症候群では、本来左側に発達すべき脾臓が欠損し、左側に右側の臓器が対称に発達する右側相同（right isomerism）が見られ、多脾症候群は右側に左側の臓器が対称に発達する左側相同（left isomerism）を特徴とする。しかし、脾臓形態が必ずしも左右相同を反映しない場合もあるため、脾臓

形態にとらわれず、胸腹部臓器左右分化障害の総称として、内臓錯位症候群という診断名が用いられる。個々の症例で、各臓器の位置に正常から相同まで様々な程度の分化障害・左右相同の混在（非定位）（*situs ambiguous*）が認められる。非定位の場合、脾臓形態と左右の心房内臓位が必ずしも一致せず、個々の胸腹部臓器の位置および形態を確認する必要がある。

2. 診断

種々の画像検査（単純 X 線、超音波、CT、MRI、心血管造影等）で、以下の3つの臓器位および脾臓形態を個々に確定し、特徴的な合併心疾患の血行動態を把握する。右側相同（無脾症候群）および左側相同（多脾症候群）にそれぞれ特徴的な心血管形態異常を Table 1 に示す¹⁴⁾。

1. 心房位診断：心耳の形態による。検査では困難な場合もあり、心臓手術時所見が確実。
2. 胸部臓器位診断：気管支形態による。
3. 腹部臓器位診断：脾臓、肝臓の形態、胆嚢の有無、

胃の位置などによる。末梢血像の Howell-Jolly 小体（無脾症候群で陽性）も参考所見となる。

3. 成因

上述の通り、本来左右非対称に発達する胸腹部の臓器の左右分化の障害により発症すると考えられる（予稿集第 12 図）。左右軸決定過程において、前述の「左側形成機構」が胚の左側に発現せず右側に発現すれば *situs inversus* が、両側に発現すれば *left isomerism* ないし *polysplenia* が、両側ともに発現しなければ *right isomerism* ないし *asplenia* が起こる。各臓器・組織の左右分化情報がランダム化した結果が、*situs ambiguous* と考えられる。以下の左右軸決定に関与する因子の異常が、内臓錯位症候群の原因として明らかになってきた（Table 2）¹⁵⁾。

1) *cilia* に関連する遺伝子の異常

線毛構造を形成する蛋白をコードする一連の遺伝子群の変異は、内臓錯位症候群の病因遺伝子として同定されてきた。外来遺伝子の挿入により偶然発生した

Table 1 Cardiovascular abnormalities in heterotaxy

	Right isomerism	Left isomerism
Interrupted inferior vena cava	0%	60–95%
Anomaly of superior vena cava	65%	60%
Total anomalous PV connections	20–50%	5%
Atrioventricular septal defect	70–100%	65–90%
“Single ventricle”	75%	40%
Pulmonary obstruction	50–90%	35%
Aortic obstruction	5%	25%
Double-outlet right ventricle	20–85%	20–30%
Complete heart block	0–4%	15–50%
Normal heart	0%	17%
Asplenia	75%	10%
Polysplenia	0%	45%
Major extracardiac anomaly	10%	10%

Table 2 Genetic causes of heterotaxy

Gene	Prevalence	Mode	Function
<i>ZIC3</i>	~1% in sporadic	≥75% in familial X-linked	Zf transcription factor
<i>NODAL</i>	5–10%	Autosomal dominant	TGF-β signal
<i>CFC1</i>	6–21%	Autosomal dominant	Nodal pathway
<i>ACVR2B</i>	2.4%	Autosomal dominant	Nodal pathway
<i>FOXH1</i>	Unknown	Autosomal dominant	Nodal pathway
<i>LEFTY A</i>	1.6%	Autosomal dominant	Nodal pathway
<i>GDF1</i>	2.1%	Autosomal dominant	Nodal pathway
<i>SESN1</i>	<1%	Autosomal dominant	Nodal pathway
<i>CRELD1</i>	<1%	Autosomal dominant	EGF-like protein
<i>NKY2.5</i>	Unknown	Autosomal dominant	Transcription factor
<i>DNAI1</i> or <i>DNAH5</i>	58%	Autosomal dominant	Dynein arm component

100%内臓逆位をきたす inv/inv マウスでは, mono-cilia の構成要素である Inversin の遺伝子変異が原因となる¹⁶⁾. 内臓位のランダム化をきたす突然変異マウス iv/iv では, dynein をコードする遺伝子 lrd (left-right dynein) が欠失する. その結果, node の cilia のらせん運動が消失し, 左方向への nodal flow が生じないために左右軸の決定が障害される¹⁷⁾. Kinesin という微小管上で物質を細胞の遠位方向に運搬するモーター蛋白をコードする遺伝子 KIF3B のノックアウトマウスでは, cilia 内の蛋白質の運搬が障害されて cilia が正常に形成されず, nodal flow が欠如して左右軸がランダム化すると考えられる¹⁸⁾.

Kartagener 症候群は, 1970 年代に提唱された

1. 内臓逆位 (または内臓錯位)
2. 慢性副鼻腔炎, 中耳炎, 気管支拡張症
3. 男性不妊 (精子運動低下)

を 3 徴候とする症候群である¹⁹⁾. この症候群では, dynein heavy chain をコードする染色体 5p 上の DNAH5 が欠失することが明らかになった²⁰⁾. その結果 iv/iv マウスと同様に nodal flow が消失し, 内臓位がランダム化すると共に, 繊毛運動障害による慢性呼吸障害や精子運動不全による男性不妊を来す. すなわち, 今世紀に cilia の機能と左右軸の決定との関連が分子レベルで解明された結果, 一見関わり合いもないような 3 徴候が合併する機序が明らかにされたのである.

内臓錯位症候群で呼吸器症状の遷延, 反復性の無気肺があれば, 先天性繊毛運動機能異常 (primary ciliary dyskinesia: PCD) が疑われる. Motile cilia の遺伝子異常により, 内臓錯位症候群と PCD を同時に発症する症例があると考えられる²⁰⁾.

2) 左側形成分子・遺伝子の異常

左右軸情報を伝達する TGF- β ファミリーの遺伝子異常が本症候群の原因となり, 候補遺伝子として NODAL, ACVR2B, LEFTY2 などが明らかにされた²¹⁻²³⁾. X 連鎖性家系例では, ZIC3 変異の検出率が高い²⁴⁾. さらに環境因子として母体糖尿病環境との関連も報告されている²⁵⁾.

4. 治療

以下の 3 つの病態に対して, 内科ないし外科的治療, および内科的感染予防を行う.

1. 先天性心疾患: 症状の主体を占める.
2. 消化管異常: 腸管の回転異常や固定障害, 胆道閉鎖 (特に左側相同) の合併がある.
3. 易感染性: 無脾症候群は脾摘後と同様, 重症肺炎

球菌感染症等の細菌感染症ハイリスク群である.

1) 内科的治療

右側相同では共通房室弁, 単心室・単心房, 肺静脈還流異常, 肺動脈閉鎖・狭窄, 大血管転位などが複合し, 肺血流減少や右左短絡によるチアノーゼ, ないし肺うっ血や房室弁逆流に伴う心不全が新生児期より見られる. 左側相同では, 両心室型房室結合を有する房室中隔欠損, 体静脈還流異常, 洞結節・房室伝導路形成不全の合併が多く, 肺血流増加・うっ血性心不全を乳児早期より認める. いずれの症例でも, 肺血流ないし体血流を動脈管に依存する場合には, 生直後から PGE1 持続静注による動脈管開存療法を行う.

2) 外科的治療

姑息的には, 肺血流減少例に対する体・肺動脈短絡手術, 体静脈・肺動脈短絡手術 (Glenn 型手術), ないし肺動脈増加例に対する肺動脈絞扼手術により, 肺血流量を適正に保つ. 右側相同に多い単心室型疾患では, Fontan 型手術による血行動態再建を目標として治療戦略を立てる. 一般に, 右側相同のほうが左側相同よりも心疾患が複雑で予後不良であり, 1) 肺動脈閉鎖・狭窄の有無, 2) 総肺静脈還流異常, 肺静脈閉塞の有無, 3) 共通房室弁逆流の程度が予後を左右する. また, 2 つの洞結節や房室結節があり, 上室性頻拍発作に対して治療を必要とする例がある. 左側相同では二心室修復が可能な症例も多いが, 左心低形成例, 重度肺高血圧合併例, および洞結節・刺激伝導系の低形成による徐脈性不整脈 (洞機能不全や房室ブロック) に対してペースメーカーを必要とする例があり, これらの症例は予後不良である.

おわりに

「臨床心臓発生学」は, 自然・生物の神秘を探求するものであり, 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発展すべきものである. 本教育セミナーで述べたように, 分子生物学的および分子遺伝学的研究の成果の積み重ねにより, 今世紀「臨床心臓発生学」に新たなページが書き加えられた. しかし, このページも今後更なる研究の発展によりさらに書きかえられ, 着実に「自然の本質」に近づいていくことが期待される.

利益相反

本稿について開示すべき利益相反はない.

引用文献

- 1) 山岸敬幸：先天性心疾患の理解を深める Molecular Embryology. 日小児循環器会誌 2007; **23**: 364-372
- 2) Hamada H, Meno C, Watanabe D, et al: Establishment of vertebrate left-right asymmetry. *Nat Rev Genet* 2002; **3**: 103-113
- 3) Hashimoto M, Shinohara K, Wang J, et al: Planar polarization of node cells determines the rotational axis of node cilia. *Nat Cell Biol* 2010; **12**: 170-176
- 4) Oki S, Kitajima K, Marques S, et al: Reversal of left-right asymmetry induced by aberrant Nodal signaling in the node of mouse embryos. *Development* 2009; **136**: 3917-3925
- 5) Meno C, Saijoh Y, Fujii H, et al: Left-right asymmetric expression of the TGF β -family member *lefty* in mouse embryos. *Nature* 1996; **381**: 151-155
- 6) Meno C, Shimono A, Saijoh Y, et al: *Lefty-1* is required for left-right determination as a regulator of *lefty-2* and nodal. *Cell* 1998; **94**: 287-297
- 7) Lin CR, Kiousi C, O'Connell S, et al: *Pitx2* regulates lung asymmetry, cardiac positioning and pituitary and tooth morphogenesis. *Nature* 1999; **401**: 279-282
- 8) Yoshihara S, Shiratori H, Kuo IY, et al: Cilia at the node of mouse embryos sense fluid flow for left-right determination via *Pkd2*. *Science* 2012; **338**: 226-231
- 9) Delling M, Indzhukulian AA, Liu X, et al: Primary cilia are not calcium-responsive mechanosensors. *Nature* 2016; **531**: 656-660
- 10) Tanaka Y, Okada Y, Hirokawa N: FGF-induced vesicular release of Sonic hedgehog and retinoic acid in leftward nodal flow is critical for left-right determination. *Nature* 2005; **435**: 172-177
- 11) Rodriguez Esteban C, Capdevila J, Economides AN, et al: The novel Cer-like protein *Caronte* mediates the establishment of embryonic left-right asymmetry. *Nature* 1999; **401**: 243-251
- 12) Zhang XM, Ramalho-Santos M, McMahon AP: Smoothed mutants reveal redundant roles for *Shh* and *Ihh* signaling including regulation of L/R asymmetry by the mouse node. *Cell* 2001; **105**: 781-792
- 13) Chazaud C, Chambon P, Dolle P: Retinoic acid is required in the mouse embryo for left-right asymmetry determination and heart morphogenesis. *Development* 1999; **126**: 2589-2596
- 14) Taketazu M, Loughheed J, Yoo SJ, et al: Spectrum of cardiovascular disease, accuracy of diagnosis, and outcome in fetal heterotaxy syndrome. *Am J Cardiol* 2006; **97**: 720-724
- 15) Sutherland MJ, Ware SM: Disorders of left-right asymmetry: Heterotaxy and situs inversus. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2009; **151C**: 307-317
- 16) Watanabe D, Saijoh Y, Nonaka S, et al: The left-right determinant *Inversin* is a component of node monocilia and other 9+0 cilia. *Development* 2003; **130**: 1725-1734
- 17) Supp DM, Witte DP, Potter SS, et al: Mutation of an axonemal dynein affects left-right asymmetry in *inversus viscerum* mice. *Nature* 1997; **389**: 963-966
- 18) Nonaka S, Tanaka Y, Okada Y, et al: Randomization of left-right asymmetry due to loss of nodal cilia generating leftward flow of extraembryonic fluid in mice lacking *KIF3B* motor protein. *Cell* 1998; **95**: 829-837
- 19) Afzelius BA: A human syndrome caused by immotile cilia. *Science* 1976; **193**: 317-319
- 20) Kennedy MP, Omran H, Leigh MW, et al: Congenital heart disease and other heterotaxic defects in a large cohort of patients with primary ciliary dyskinesia. *Circulation* 2007; **115**: 2814-2821
- 21) Mohapatra B, Casey B, Li H, et al: Identification and functional characterization of *NODAL* rare variants in heterotaxy and isolated cardiovascular malformations. *Hum Mol Genet* 2009; **18**: 861-871
- 22) Kosaki R, Gebbia M, Kosaki K, et al: Left-right axis malformations associated with mutations in *ACVR2B*, the gene for human activin receptor type IIB. *Am J Med Genet* 1999; **82**: 70-76
- 23) Kosaki K, Bassi MT, Kosaki R, et al: Characterization and mutation analysis of human *LEFTY A* and *LEFTY B*, homologues of murine genes implicated in left-right axis development. *Am J Hum Genet* 1999; **64**: 712-721
- 24) Bellchambers HM, Ware SM: *ZIC3* in Heterotaxy. *Adv Exp Med Biol* 2018; **1046**: 301-327
- 25) Kuehl KS, Loffredo C: Risk factors for heart disease associated with abnormal sidedness. *Teratology* 2002; **66**: 242-248