

第 1 章

心脏和大血管的发育

Peter J. Gruber¹, Andy Wessels²和Steven W. Kubalak²

1. Primary Children's Medical Center, Salt Lake City, UT, USA

2. Medical University of South Carolina, Charleston, SC, USA

引言

现代心脏胚胎学整合了分子和细胞生物学技术与发育过程中传统的胚胎形态学方法。关于人类心脏发育的描述有限，有必要以非人类物种的心脏发育模型来加以补充。因为易于观察和操作，所以传统上喜爱用鸟类胚胎作为实验模型。最近，由于小鼠分子遗传学工具的发展和普及，该物种成了研究心脏发育的首选模型。本章尽可能讨论实验动物模型的结果与人类心脏发育的关系。表1-1提供了广泛使用的鸡和鼠胚胎发育分期及两者间的简明对比^[1-7]。多物种的对比则提供了一个用于了解人类心脏发育和人类疾病病因学的重要平台。

心脏前体细胞的形成

所有将变成心脏各部分的细胞来源于未分化的前体细胞，这些前体细胞将受到外部信号的影响而进入其最终发育的通路。除了理解这些分化行为是如何发生的求知挑战之外，是否可能通过控制心脏组织分化以取代出生后的病变心肌，也在该领域中催生了大量的工作。

受精卵细胞反复分裂形成了一个细胞团块，再演变成两层明显的细胞层。上胚层与第二层细胞层分开，而这第二层细胞在鸡中称为下胚层，或在鼠和人中被称为原始内胚层。接下来的关键发育阶段为原肠胚形成，此阶段中大量细胞发生迁徙进入囊胚腔，并在其内进行重组，以至于形成了三个胚层（外胚层、中胚层和内胚层），从而决定了胚胎发育成未来躯体的雏形（图1-1）^[7, 8]。

表1-1 人、小鼠和鸡胚胎发育阶段的简明对比

人			小鼠	鸡
Carnegie 分期 ^a	Streeter 分级 ^b	孕天数	胚胎天数 (Theiler 分期) ^c	Hamburger/Hamilton 分期 (孵化天数) ^d
9	IX	20	8-8.5 (12)	7-8 (1.1)
10	X	22	8.5-9 (13)	10 (1.5)
11	XI	24	9-9.5 (14)	11 (1.8)
12	XII	26	9.5-10.25 (15)	14 (2.2)
13	XIII	28	10.25-10.5 (16)	17 (2.6)
14	XIV - XV	32	10.5-10.75 (17)	19 (2.9)
15	XVI	33	11 (18)	20-21 (3.3)
16	XVIII	37	11.5 (19)	24 (4)
17	XX	41	12 (20)	26 (4.8)
18	XXI - XXII	44	12.5 (21)	28 (5.6)
19	XXIII	47	13 (21)	29-30 (6.4)
20		50	14 (22)	31-32 (7.2)
21		52	14 (22)	34 (8)
22		54	14 (22)	35 (8.7)
23		56	14 (22)	36 (9.6)

^a O'Rahilly R, Muller F, Streeter GL. (1987) *Developmental Stages in Human Embryos*. Washington, DC: Carnegie Institution of Washington [2].

^b Streeter GL. (1942) Developmental horizons in human embryos. Description of age group XI, 13-20 somites, and age group XII, 21-29 somites. *Contrib Embryol* 30, 211-245 [3]; Streeter GL. (1945) Developmental horizons in human embryos. Description of age group XIII, embryos about 4 or 5 millimeters long, and age group XIV, period of indentation of lens vesicle. *Contrib Embryol* 32, 27-63 [4]; Streeter GL. (1948) Developmental horizons in human embryos. Description of age group XI, 13-20 somites, age group XV, XVI, XVII, and XVIII. *Contrib Embryol* 32, 133-203 [5].

^c Theiler K. (1989) *The House Mouse: Atlas of Embryonic Development*. New York, NY: Springer Verlag [6].

^d Hamburger V, Hamilton HL. (1951) A series of normal stages in the development of the chick embryo. 1951. *Dev Dyn* 195, 231-272 [1].

在所有物种中, 心前细胞的出现是原肠胚形成过程中的早期步骤。人类原肠胚形成发生在发育期第三周的开端, 此后, 成血管细胞就即刻出现在生心区。鸡胚胎中的心前细胞在进行原肠胚形成的时候 (Hamburger-Hamilton 3期), 原条的长度短于1mm; 心前细胞通过原条的部位从原条前端算起, 宽约0.125-0.75mm^[9]。原肠胚形成时期在最前方通过原条的心前细胞构成了原始心管的最前方部分。

细胞经过原肠胚形成之后, 它们进入未分化间质。未定型的心前细胞进入原条仅为了特化其细胞类型或离开原条后在中胚层的移行通路^[9]。随后, 心前细胞将向两侧移动, 在亨森氏结水平与侧板中胚层会合。侧板中胚层然后分裂成两层, 脏壁层直接位于内胚层上方, 体壁层直接位于外胚层下方。前方的内胚层为脏壁中胚层细胞提供信号, 促进其向

心前细胞谱系分化。成纤维细胞生长因子 (FGF) - 1、-2和-4以及骨形态发生蛋白2 (BMP2) 是这一过程中的关键蛋白^[10]。但是, 迄今为止没有发现任何单个基因的缺失会导致所有来自心前中胚层的心肌特异性分化失败。这一观察表明了要么心前细胞心肌分化过程存在一个显著的遗传冗余, 要么就是存在心前细胞分化遗传调控途径的多样性。

心前细胞位于上皮样的脏壁中胚层头端。在这一时期, 心前细胞可通过诸如NKX2-5、MEF2、HAND1、HAND2、GATA4、TBX5和ISL1等多种分子标记物的表达来进行鉴别^[11-17]。脏壁中胚层上表达心前标记物的区域也被称为“生心区”, 该区域实际上细胞形成心管的区域大^[18]。在啮齿目动物胚胎中, 心前中胚层细胞展现出自发性收缩活动, 标志着—个更接近于心肌细胞的分化状态, 但是在鸡胚

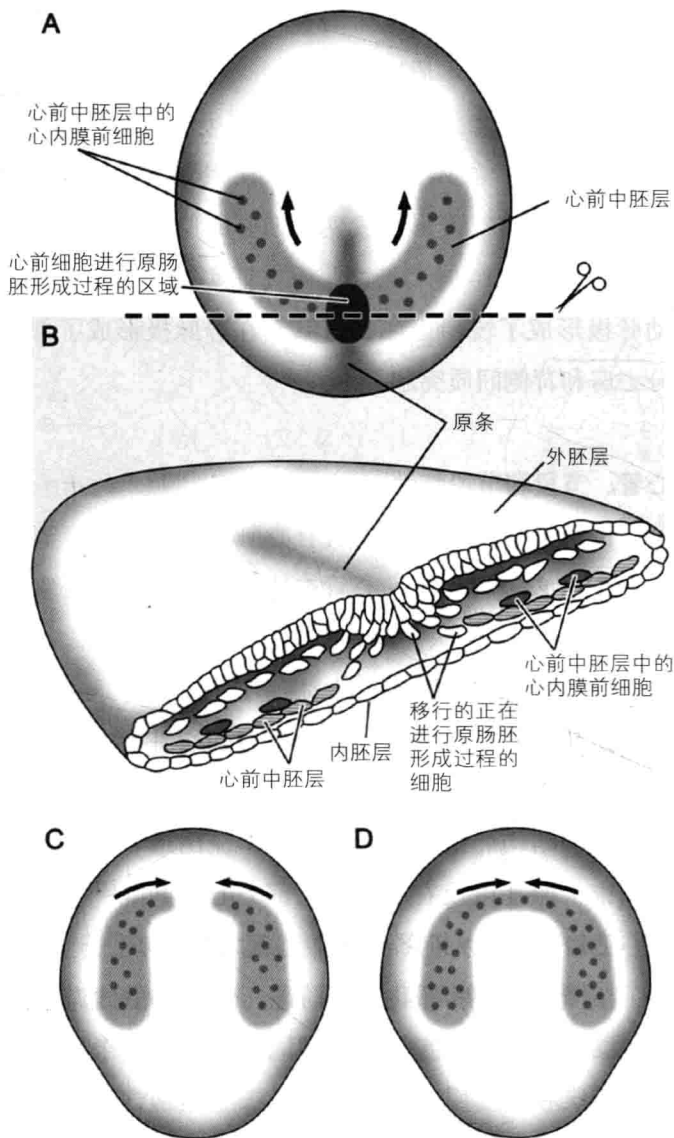


图1-1 原肠胚形成、心前细胞移行和生心区形成的简明图示

A. 最终要变成心脏细胞的细胞经位于原条最前部尾端的一个宽阔区域，从外胚层移行入原条。形成原肠胚的细胞的移行方向，如箭头所示，是离开中线并向两侧前部移动。B. 胚胎横截面水平如图A中的虚线所示。心前中胚层形成了一个上皮层，与内胚层紧邻。心内膜前细胞散布于同一区域，并可通过免疫组织化学方法与普通心前中胚层区别开来。C和D. 两个侧心前中胚层群落（也称为生心区）在转向中线之前，先向前移行（C）。它们将在中线会合，如图D所示，其会合位置紧靠前肠门的前方。

胎中没有这一现象存在^[19,20]。

心前中胚层细胞是作为一个单位整体移行，而不是作为一群细胞各自移行。位于胚胎两侧的心前

中胚层沿着从头端到前肠门的方向一起向中线移行到达前肠门。当两侧心前中胚层团块的最头端部分在中线会合，整个心前细胞群形成了一个马蹄状的新月形结构，称之为第一（主要）生心区。通过实验去除内胚层和（或外胚层），证实了促使心前细胞迁徙的信号由非心脏组织的内胚层提供。而细胞外基质分子纤维连接蛋白就有可能是内胚层表面上心前细胞对之应答的重要成分之一^[21]。

心内膜前体细胞的移行通路和心前细胞相似，但是也存在重要的差异。心内膜前细胞和内皮前细胞又都被称为成血管细胞。心内膜成血管细胞最先可在脏壁中胚层中被检测出来。中胚层细胞受诸如来自内胚层的转化生长因子- β (TGF β)₂₋₄和血管内皮生长因子(VEGF)的信号诱导进入成血管细胞谱系。心内膜成血管细胞和心前细胞一起向前移行至中线，但它们是作为独立细胞移行的。

心管的形成

当第一生心区的心前细胞向中线稳定移动时，心内膜细胞开始形成一个微通道网络，随后这些微通道合并成一个被心肌覆盖的复杂心内膜网络^[22]。如果因遗传学^[15]或者机械性操控^[23]造成中胚层无法在中线会合，两侧的生心区就会形成两个心管，并各自独立地进行一定程度的发育。但在正常发育中，心内膜的微通道网络很快融合形成单个肌性管道内的单一内皮通道（图1-2）^[7]。

心管在形成时，通过一称之为心背系膜的结构与前肠相连^[24]。在襻化过程中，心背系膜退化，直至仅保留心管的心房和动脉两极的连接。心背系膜中央部分的解体是正常襻化过程的关键步骤，此时动脉和静脉端的附着为襻化的心管提供了“锚定点”。心背系膜的间质部分被称之为背侧间充质突起^[25,26]，其在后方突入心房，是第二生心区的衍生

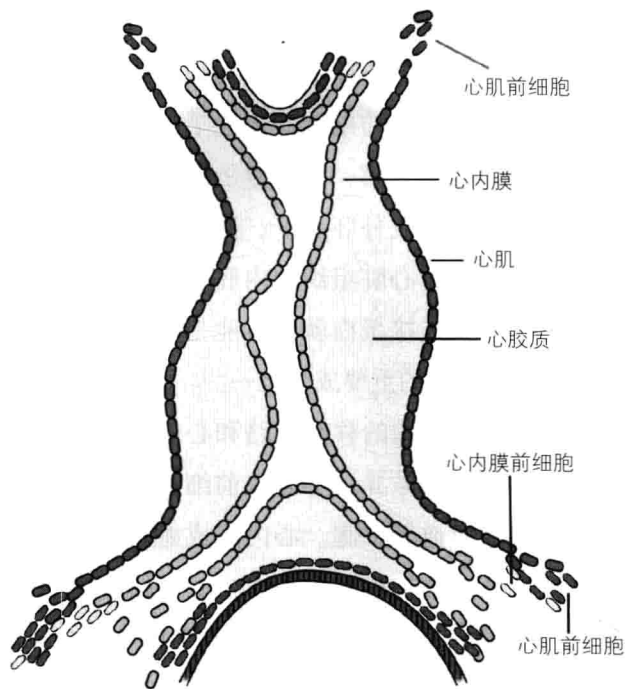


图1-2 心管的形成

心管的形成始于两侧心中胚层细胞集群在中线上的融合,以致于形成了一个环绕内皮(心内膜)通道的心肌管。在此阶段,心管的心肌细胞集群仅包括未来左心室小梁部前体。额外的节段是通过心中胚层持续移行进入心管来添加的。

物^[25]。它是构成房室(AV)间隔的重要组成部分,并作为引导肺静脉发育的结构而存在。心背系膜也是发育过程中包括由神经嵴发育出神经结构^[27],以及一些细胞可能从腹神经管发育而来^[28]时细胞移行的重要途径。

在心管形成后,心跳很快就启动了,并可观察到血液循环(鼠胚胎8.5天,人胚胎20天时)。随着循环的启动,心脏变成了胚胎中第一个实施其基本成熟功能的器官。但是,在心脏发育的这一阶段,心管并未获得用于心脏完整发育的全部细胞集群。发育早期的细胞示踪谱系研究^[29,31]显示,原始心管由心中胚层的两侧区域发育而来,目前将此区域称之为第一生心区;这个心中胚层很长时间以来被认为是心脏的前体组织。但是,其他研究^[32]强烈提示心管的生长,特别是在动脉极位置,依赖于第二

群祖细胞提供的心脏组织。直到21世纪早期,这一额外细胞群落的本质才得以阐明。综合许多实验室的研究^[25,33-36],对这种被称之为第二生心区的额外细胞群落形成了许多新的看法,并认识到其对心管的延长和生长,以及形成成熟的四腔心脏有着非常重要的作用(图1-3)^[7]。这些研究证实第二生心区在动脉极形成了流出道和右心室,在静脉极形成了部分心房和背侧间质突起。

心管、节段和节段特性

传统上认为心管包括所有心脏节段的前体。事实上,当心跳启动时,心管主要包含未来的左心室组织^[37,38]。免疫组织化学、原位杂交以及细胞追踪技术证实了流出道、右心室^[32]、房室连接节段^[37]、心房^[39]和静脉窦都是在襻化过程中添加到心脏上的。其实,大多数人类复杂型先天性心脏病的发生都涉及到上述的结构。最近的研究表明,流出道(动脉干和圆锥)原基以及右心室和大部分心室间隔^[35]及部分心脏静脉极是从前部/第二生心区发育而来。

在襻化之前和襻化早期阶段,原始心管含有两到三层厚的心肌细胞层,呈圆周型环绕着一个内皮管,心肌和内皮层之间有一个无细胞但富含细胞外基质的间隙,该间隙被称之为心胶质。随着襻化过程,可以通过在心管上的位置和结构特征来识别出未来的心脏节段,诸如房室管和流出道节段中有显著的心胶质积聚。也可以通过测定其肌肉收缩和舒张速率的差异、自发性起搏点活动的频率,以及电脉冲传导的速度,从生理学上来鉴别各节段。

节段分化产生了胚胎心脏的生理学功能^[41]。心管不同区域的快慢交替收缩特性确保了单向的前向血流^[42]。心房具有最快的自发收缩性频率,是起搏点活动的部位。除极波在肌细胞间传递,从心房传递到流出道,但是在整个心管的传导速率是不均一的。心房传导快,房室传导慢,心室传导快,流

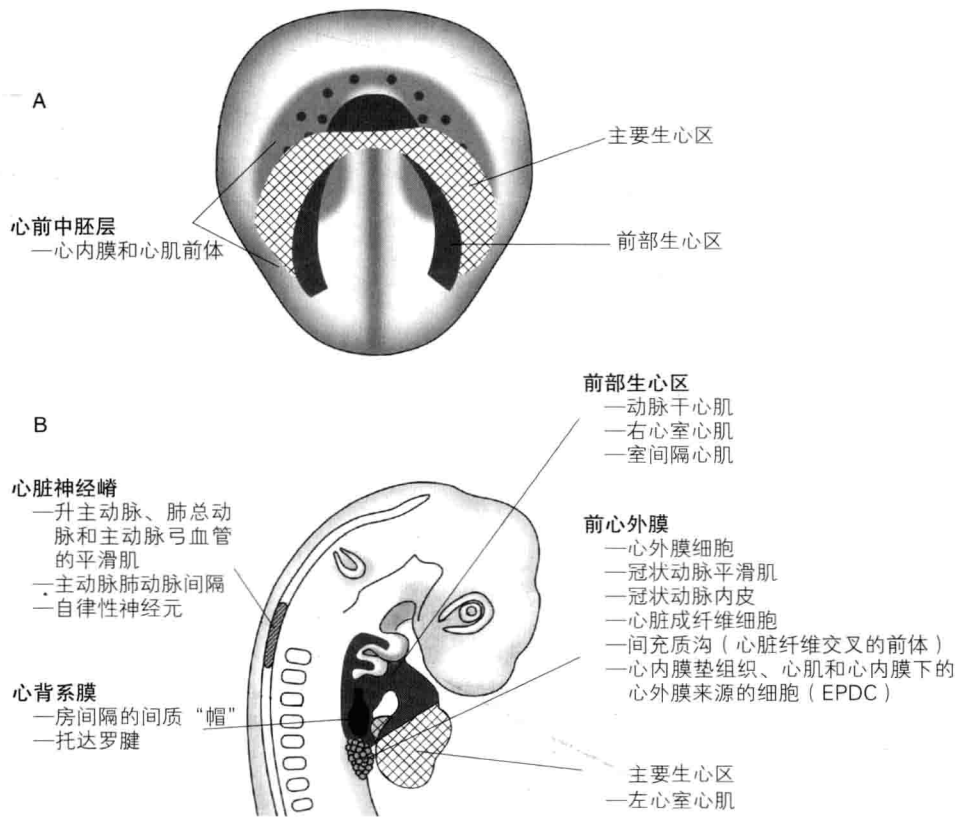


图1-3 正常心脏发育

正常心脏发育需要综合多个来源的细胞集群。A. 心前中胚层为心内膜和大多数心内膜垫细胞提供了起源。心肌前细胞为所有类型的心脏肌细胞提供了起源。主要生心区为心房和左室的大多数心肌提供了起源。前部生心区将为流出道、右心室和室间隔提供起源。B. 多种心外胚胎组织为正常心脏发育提供了关键的细胞集群。这些细胞集群包括心脏神经嵴细胞，以及来自前心外膜和心背系膜的细胞。

出道传导慢。快速传导区域显示出快速的收缩—舒张的机械特征，而慢速传导区域则展现出缓慢而持久的收缩。结果造成先是心房有力地收缩，接着房室连接发生括约肌样的收缩（在房室瓣发育成熟之前），这在心室有力的射血期过程中阻止了逆向血流的产生。心管的心动周期以流出道的括约肌样收缩（在半月瓣发育成熟前）为结束，这同样阻止了来自主动脉弓的逆向血流。

心脏节段的遗传学决定

除了功能上的差异，心脏各节段也可通过基因表达的独特模式来予以区别。但是，尽管可用于在心管形成后识别各节段的标记物的数量迅速增多，但是却很少能成功地在心前中胚层中识别各节段。数据提示，谱系归趋的最终决定发生在心前中胚层^[931]，但是对这一机制的发生时机和本质却还知之

甚少。可能了解最多的原肠胚形成时胚胎前后轴的决定因素就是维甲酸类化合物^[43,44]。维甲酸是维生素A的代谢产物，对维甲酸信号通路的操控会造成全身发育轴模式的显著异常，特别在心脏发育中^[45-49]。维甲酸缺乏时可观察到心房节段和体静脉结构的异常发育^[50,52]。维甲酸过量也会造成心脏畸形，通常涉及到流出道^[53,54]，并导致心房特异表达基因出现心室表达^[55-57]。维甲酸信号的时空模式在早期心脏发育中是和视黄醛脱氢酶2（RALDH2）表达高度相关的，该酶是视黄醇（维生素A）转换成视黄酸通路中的关键酶^[58-60]。维甲酸信号通路已被明确是心脏节段分化的关键机制，但是也可能有一些未知的其他通路参与其中。

转基因小鼠的研究提供了一些最有趣的数据，反映了调节心脏不同区域的遗传途径间的差异。在这些实验中，一个基因的调节部分被用来驱动另一

个报道基因的表达,而这个报道基因的产物则在组织中易于检测。来源于两个基因的重组DNA被注入到鼠受精卵的雄原核中,该DNA通常就会被整合入鼠的细胞核DNA中。这些受精卵被植入到雌鼠中,通常可以一直发育到分娩。携带着新DNA(“转基因”)的新生动物可以通过分析其DNA予以鉴别。如果存在转基因,该动物将被用于繁育,其后代将被用于转基因表达模式的分析。

使用这个技术,已可证实心脏节段和区域基因表达的一些特征^[61]。决定基因区域性表达模式的基因调控元件通常是模块化的组合,也就是说,对一个在心脏中有广泛表达的基因来说,其在不同区域的表达是由不同调节性的DNA来负责的。例如,来源于Gata6基因的10千碱基对(kb)片段驱动的转基因,在整个心房、房室连接和左右心室都出现了表达,仅流出道除外;而一个更小的2.3kb的该基因片段仅驱动了转基因在房室连接部位的表达(图1-4)^[7,62]。由特定基因调控元件决定的基因表达的节段性和区域性范围,可能随发育阶段的不同而发生改变,在原始心管中广泛表达的转基因可能在成人心脏中仅有局限性表达。最后,心脏中一些转基因在空间和时间上被差异化地激活的事实,极大地证实了这些组织在基因调控的最基础水平上是不同的(图1-4)^[7]。

小鼠的基因敲除实验对理解节段分化的遗传调控网络也起到了很大的帮助。转录因子HAND2对小鼠原始右心室正常发育的必要性,是一个特别引人入胜的关于特定节段显著依赖于特定的遗传学调控途径的例子^[63]。

一个相对较新的、使得对心脏发育的了解产生彻底改变的基因改造技术是使用Cre-Lox小鼠模型系统^[64]。在这个方法中,需要先构建受特定基因序列驱动表达Cre重组酶的小鼠。当Cre小鼠和携带两个Lox P位点序列的小鼠进行杂交,Cre就可以特异性地

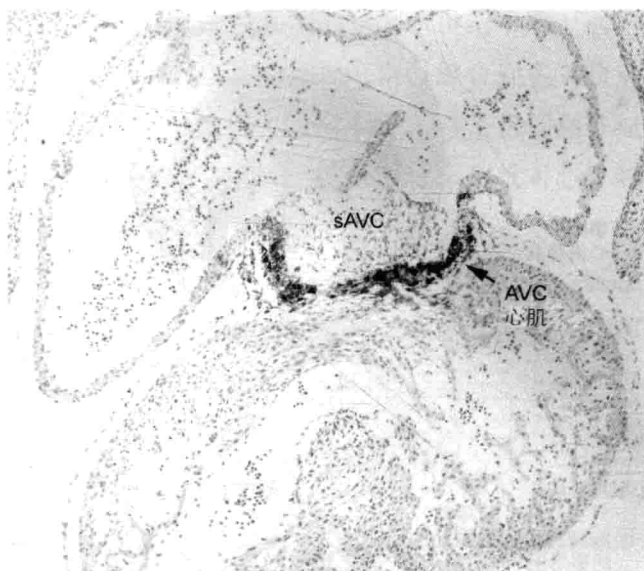


图1-4 小鼠胚胎剖面图

处于胚胎11.75天的小鼠胚胎的剖面,该品系小鼠携带一个由部分GATA6启动子所控制的表达LacZ报告基因的转基因。在这个发育时期,LacZ基因的表达,局限于房室管心肌,图中所示的深染色细胞为LacZ基因表达所致(sAVC,上房室心内膜垫;AVC,房室管)(感谢A. Wessels和J. Burch提供图片)。

删除两个Lox P位点间的序列,并依赖于Cre和Lox P小鼠构建的特性,达成诸如组织特异性基因删除^[65]或者细胞追踪的目的^[25]。

详细讨论上述每一技术如何增进我们对正常和异常心脏发育的理解,这超出了本章的范围。对于有兴趣的读者,最近有一些优秀的综述文章就这些策略的使用进行了讨论^[66,67]。

襻化

当心管因在动脉极和静脉极有新的心脏组织不断加入而延伸时,心管朝右侧弯曲。随着形态改变的持续,心管变成更加复杂。左心室移至心房的前下方,右心室移至左心室右侧,并稍稍靠前。心管的弯曲第一次从形态学上表明了胚胎的左右两侧并非镜像对称,这一现象也同时表明心脏发育与身体三个轴的建立是紧密联系的^[68,69]。

所有脊椎动物和大多数无脊椎动物的躯体布局都显示出在前-后(A-P)、背-腹(D-V)和左-右(L-R)三个体轴上的明显不对称。在分子水平上,体轴是由在发育极早期的信号不对称传播所决定的。根据最近的共识,与心脏发育相关的左-右轴决定过程被分为启动、延展和解读三个步骤[70,71]。第一个步骤需要启动前-后、背-腹和左-右三轴极性的建立。哺乳动物中这个步骤所需的启动信号不明。第二步是通过许多细胞信号机制对最初形成的左-右不对称进行拓展和放大。一般来讲,小鼠左-右轴建立延展过程中所涉及的信号分子在鸟类中都能找到相对应的分子。但是,在这一般规律中也存在着一个明显的反例,即小鼠左侧化所需的一些分子在鸟类中却是其右侧化的决定因素^[72]。对人类中负责这些过程的分子则知之甚少。第三步是发育中的器官的细胞和组织对在第二步中延展了的不对称信号进行解读。成对结构的最终发育结果是形成镜像对称的器官(诸如肢体),或形成成对但不对等的结构(诸如心房),这是正确信号输送到器官原基和器官原基对信号产生正确解读的共同结果。

现在发现有很多鼠类的心脏襻化异常遗传模型,这也在一定程度上反映了调控左-右轴建立的遗传机制对心脏发育影响的复杂性^[73]。一些模型主要以襻化方向异常为主,另一些则还表现出不同心脏节段的对位异常。全部内脏随机定位^[74,75]、内脏反位^[76]、内脏定位异常并伴不同程度器官发育缺陷^[77]、以及内脏定位缺陷合并双右侧化或者双左侧化^[73]的鼠模型均有所阐述。同时,小鼠模型中的致畸基因往往是人类内脏异位的候选基因^[78]。

左心房和右心房的分子学特性由左-右信号机制来决定。左心房和右心房的分子学差异在心房节段出现后的早期就得以建立,其遗传调控则依赖于左-右信号机制^[79-81]。有趣的是,在左-右轴决定异常的小鼠模型中,大动脉转位的发生率通常升高^[73],提

示左-右信号机制是影响正常流出道发育的一个可能因素。

心管弯曲的遗传调控机制不明。襻化是心脏的固有特性,如果从胚胎中取出心脏,无论有无心跳,也都将产生襻化^[82,83]。直的心管变形成为襻化结构可能是一些机械性力量所致^[84]。但是,所需的变形力量的来源又不得而知。一个简单的解释是心襻大弯处的肌细胞的复制速度更快,而小弯处的肌细胞复制速度更慢,数据提示局部的生长差异确实有一些作用^[85,86]。但是,细胞松弛素B作为一种抑制肌动蛋白聚合的抑制剂,因此也是一种抑制细胞支架重新排列的抑制剂,根据其是否广泛性使用或者局部使用的不同,要么能消除襻化,要么能逆转襻化方向^[87]。这提示了所需的不对称机械性张力可能是心管内的细胞对尚未知晓的调节信号产生的应答所致。

襻化、融合和分隔—主要标志点

襻化不仅决定了心脏的左右侧定位,也决定了心脏各节段彼此的正确关系。人为划分的形态发生学步骤是有用的,可以确定从尚呈直形的心管到已经襻化但还是呈管状的心脏,以及从襻化了的心脏到准备进行分隔的心脏。因此,在本章中,襻化描述了心管生长、弯曲和旋转的初始阶段。襻化始于房室连接仅与左心室相连,止于流出道仅与右心室相连。襻化的第二阶段,有时称之为融合,是右心房流入道移动到右心室上方,以及主动脉流出道移动到左心室上方的过程,同时在这个过程中,流出道间隔呈脊状隆起,分别与原始肌部间隔和房室垫融合。心室分隔是原始室间孔关闭及室间隔和圆锥隔形成连续的一个过程。描述这些过程需要认识一些相对少量的出现在胚胎心脏襻化和融合阶段中的关键标志点(图1-5)^[7,88]。

襻化了的心脏有一个内侧弯曲和一个外侧弯曲。根据内侧弯曲成锐角的特性,在心脏发育的其余阶段中,原始心房节段、房室节段、心室节段和流出道节段在空间距离上是非常靠近的。作为融合过程中右心室获得其流入道而左心室获得其流出道的区域,心脏的内侧弯曲可以说是正常心脏发育中最重要、复杂且动态化的部位。

在心脏的腔内表面,内侧弯曲的皱褶在心脏内部形成了一个小型的肌性嵴,位于房室连接和流出道之间,被称之为心室漏斗凸缘或心室漏斗嵴。其他关键标志点是房室连接的两个主要心内膜垫,以及两个流出道的心内膜垫。下心内膜垫和背侧房室心肌相附着,上心内膜垫和腹侧房室心肌相附着。随着融合过程的继续,小型的右侧和左侧的侧房室心内膜垫变得明显起来。两个流出道心内膜垫形成

了延展的螺旋嵴,从远端的动脉干终点延伸到尾端的右心室体部。在前方终止于右心室的心内膜垫嵴被称之为隔心内膜嵴。在后方终止于右心室的心内膜嵴称之为壁心内膜嵴。壁心内膜嵴与右侧的侧心内膜垫相接触,而右侧的侧心内膜垫将与上心内膜垫形成连续。隔心内膜嵴将与下心内膜垫形成连续。随着正常分隔过程中心内膜垫的融合,它们与原发房间隔和背侧间质突起一起共同构建出中央房室间质复合体,该复合体从房室连接延伸到心肌流出道的远端部分。在最基本层面上,间质组织的融合过程可以被看做是一个组织形成的拉链来对心脏进行分隔^[26]。在检视成熟心脏时无法发现圆锥隔的心内膜垫组织的原因是这些间质结构在心肌化过程中被心肌所取代^[89]。就人类先天性心脏病而言,这是一系列关键的发育步骤,因为诸如复杂型转位、

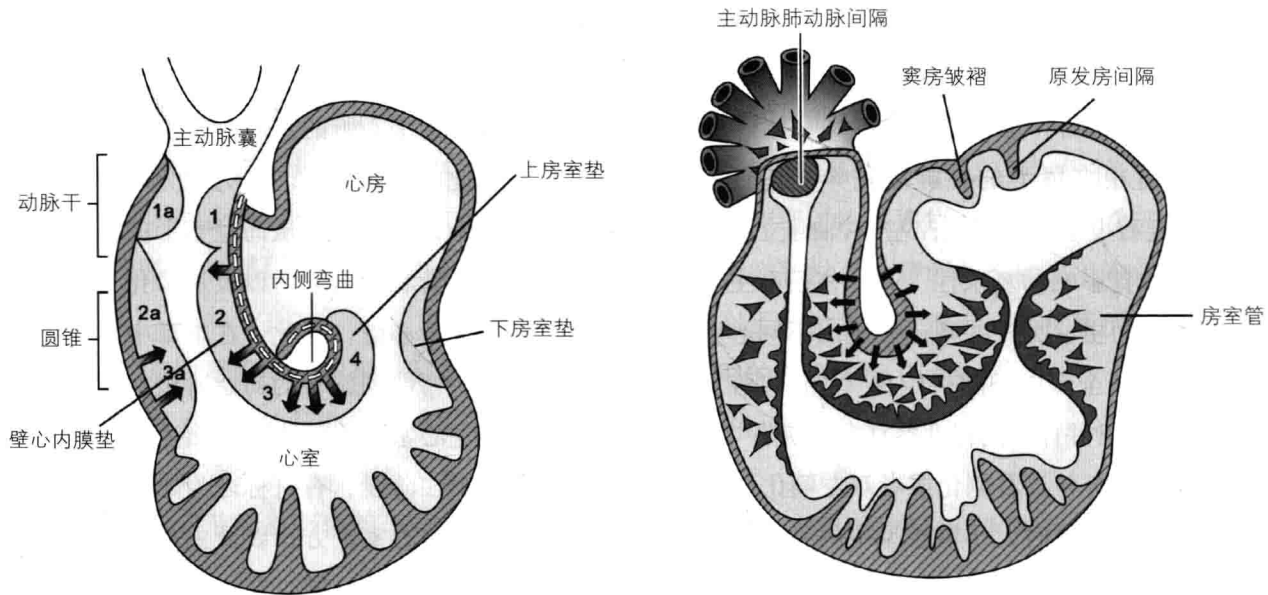


图1-5 心脏发育早期的心脏关键标志点的高度简化图示

左图显示约为Hamburger/Hamilton24期的心内膜垫的相对位置。1和1a为动脉干心内膜垫,2和2a为远端的圆锥心内膜垫,3和3a为近端的圆锥心内膜垫,4为上房室垫。箭头表示将来心肌化的部位。在内侧弯曲处,正常发育造成此处没有心肌袖状结构,并保留着位于壁心内膜垫和上房室垫之间的原始纤维连续。在正常成熟心脏中观察到的二尖瓣和主动脉瓣之间的纤维连续就体现了这种原始的纤维连续。右图中,内侧弯曲处的心肌以箭头表示;多边形细胞表示心内膜垫的间质侵入(引自Mjaatvedt CH, Yamamura H, Wessels A, Ramsdell A, Turner D, et al. (1999) Mechanisms of segmentation, septation, and remodeling of the tubular heart: endocardial cushion fate and cardiac looping. In: Harvey RP, Rosenthal N, editors. Heart Development. San Diego: Academic Press. pp. 159-175^[88])。

永存动脉干和各类四联症型疾病，都是来源于这些正常发育步骤中的偏差。

左心室腔和右心室腔通过原始室间孔相互交通。血液从右心室进入心脏的流出道。一个袖口状的心肌结构沿着流出道延伸到位于心包反折高度的主动脉囊处。

在融合过程中，心脏内侧弯曲的角度变得更呈锐角。房室连接向右侧扩展形成了右房室连接，同时主（或中线）房室心内膜垫在房室连接处的管腔中央相互会合。此一阶段中虽然流出道心内膜尚未融合，但仍可清晰界定主动脉和肺动脉通道。主动脉通道向其原位的左前方移动。因为房室孔向右侧扩展及主动脉流出道向左侧移动的共同作用，使得心管内侧弯曲形成的锐角成为房室连接和流出道形成连续的区域。而此形态发生学运动也造成了流出道嵴旋转到一个与生长中的肌部间隔接近且平行的平面上。

心内膜垫的发育和心肌化

当心脏初步形成时，心肌和心内膜细胞层由一个习惯上被称之为“心胶质”的无细胞层将其分开^[90]。心胶质可以被认为是一种基底膜，位于两层并列的上皮之间（心肌和心内膜），并含有传统的基底膜蛋白。初始阶段，这些分子的产生和分布极大程度上受到相邻的房室心肌产生的因子的控制^[91,92]。在早期襻化心脏的流出道和房室区域内心胶质发生凝聚，形成相对的突起物。由此形成的心内膜垫，与具有特殊收缩功能的房室连接和流出道心肌一起，达到防止逆向血流产生的目的^[93]。房室心内膜垫也参与心脏纤维交叉上间质组织的形成，包括房室瓣和中心纤维体^[94]。胚胎期流出道的心内膜垫参与形成主动脉肺动脉间隔、半月瓣和圆锥隔^[95]。在心内膜垫的形态发生学过程中，定居到原有的无细胞心胶质中的间质细胞集群来源于心脏的内膜细胞^[67,96]

和一个心外膜来源的细胞集群，该细胞集群移行入房室垫，但不进入流出道垫^[97]。

内皮侵入心胶质是一个真正的细胞转分化过程，从典型的上皮细胞转变成独立移行的成纤维细胞样间质细胞^[98-100]。这个过程有些类似于细胞恶变过程中的细胞变化，这个过程至少部分受到TGF β 介导的信号转导的控制^[101,102]。只有来自流出道和房室垫的心内膜有能力进行这种转变，只有流出道和房室连接处的心肌能够诱导此转变^[101,103]。不是所有的房室区域和圆锥动脉干区域的心内膜细胞都参与这种变化；随着移行过程的进行，剩余的心内膜细胞进行分裂以补充其数量。间质细胞也主动复制，并参与到垫结构中^[99]。最近的数据提示类似的上皮间充质过程可能也参与粥样斑块中新内膜的形成^[104]。

心肌化是心内膜垫间质被心肌取代的过程^[89]。心脏内所有的间隔结构—室间隔、房间隔和圆锥隔，一定程度上都是通过非心肌的间质垫融合构建的。心肌化承担着肌性圆锥隔和肌性室间隔的流入道及前部流出道的形成。在人类中，房室膜性间隔是唯一来源于心内膜垫组织的非心肌间隔结构。根据Cre-Lox细胞示踪研究，圆锥垫的心肌化可能主要涉及心肌细胞向垫组织内的侵入。这一过程的控制机制不明^[89,105,106]。

心房分隔

心房分隔和肺总静脉与左心房的连接是正常心脏发育中的紧密关联事件^[81]。最近针对小鼠、鸡和人类胚胎的研究高度提示心背系膜在这些步骤中的重要性。在心背系膜和心房连续的位置上（大约是在肺芽水平），有一个间质细胞的突起进入心房。这个组织已经被发现多年，也有许多名称，包括“前庭棘”，“心背系膜的心内膜增殖”、“静脉窦组织”和最近所说的“背侧间质突起”——这是本书所采取的术语名称。和其他位于房室连接的间质组织不同，背侧间质突起不是来源于上皮至间质的

转变, 而是一种来源于第二生心区的衍生物^[25,26]。背侧间质延伸入心腔, 和位于原发隔前缘上的间质帽相连。两个主房室垫、背侧间质突起与间质帽最终一起融合, 形成了房室间质复合体。这个过程对于正常的房室分隔是必须的 (图1-6)^[7,81]。最近的文章强烈提示背侧间质突起发育时受到干扰可能是房室间隔缺损发病机制的一个主要原因。

根据一些区分左心房和右心房心肌的分子标记物的表达^[81], 原发隔的心肌部分来源于左心房心肌。原发隔通过其心肌部分的伸长进行生长。如上

所述, 原发隔前缘上的间质帽是间质组织, 细胞来源于内皮至间质的转变, 与心内膜垫中的细胞来源类似^[67]。随着原发隔的继续生长, 使得原发隔间质帽和背侧间质突起与两个主房室心内膜垫相接触 (图1-7)^[25,26]。这些间质组织融合形成房室间质复合体, 并使得原发房间孔关闭^[26]。关于这一过程的知识, 对于理解完全型共同房室通道的发病机理, 以及理解对其进行修补相关的组织关系是至关重要的。

原发房间孔关闭前, 在原发隔体部出现了继发孔。人类中的这个过程最初表现为原发隔上出现小

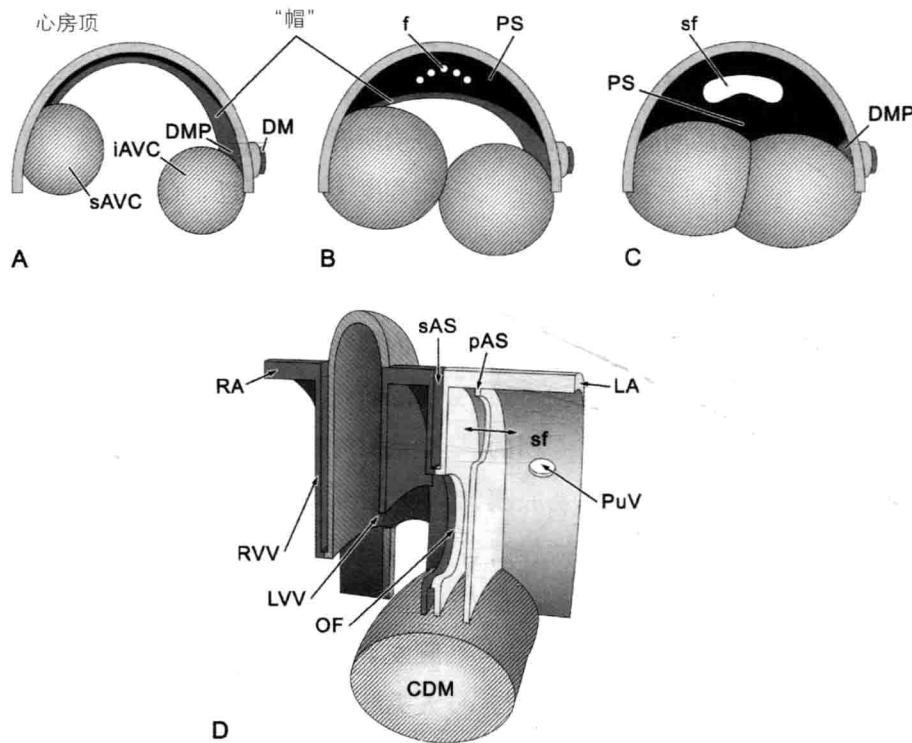


图1-6 人类发育时心房分隔的一系列步骤

A. 发育约4.5周的心脏。原发隔前缘被一个间质帽覆盖, 这个间质帽与心房腔内的心背系膜的突起相连续。上房室垫 (sAVC) 和下房室垫 (iAVC) 也与此间质帽相连续。(DM, 心背系膜; DMP, 心背系膜突起) B. 发育6周的心脏。原发隔及其间质帽接近融合中的下房室垫和上房室垫。肌部原发隔 (PS) 上出现筛孔 (f)。C. 发育6~7周, sAVC、iAVC和原发隔间质帽的融合完成。原发隔上的多个筛孔合并, 形成继发孔 (sf)。D. 左心房心肌和右心房心肌连接处的心肌产生内褶, 构建出继发房间隔 (sAS)。使用能区分窦房心肌细胞不同集群的分子标记物, 显示sAS的右侧皱褶和左静脉瓣 (LVV) 来源于右心房 (RA) 心肌, 而sAS的左侧皱褶和原发房间隔 (pAS) 来源于左心房 (LA) 心肌。右静脉瓣 (RVV) 是通过静脉窦 (SV) 心肌和右心房心肌连接处产生内褶而形成的, 使得其心房内出现右心房分子显型, 而腔内面出现静脉窦分子显型 (CDM, 来源于心内膜垫的间质; PuV, 肺总静脉; OF, 卵圆孔) (引自 Wessels A, Anderson RH, Markwald RR, et al. (2000) Atrial development in the human heart: an immunohistochemical study with emphasis on the role of mesenchymal tissue. *Anat RC* 259, 288-300^[81])。

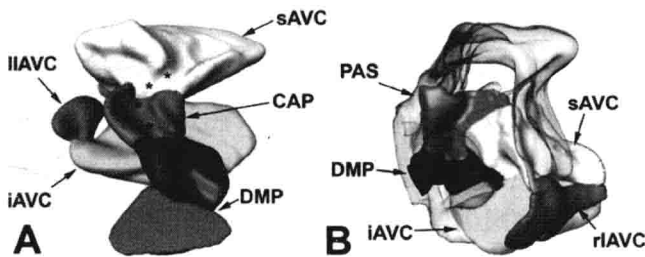


图1-7 三维重建显示了小鼠心脏发育过程中房室间质组织的时间和空间关系

运用计算机对一系列小鼠心脏染色切片进行三维重建 (AMIRA软件)。A 为孕11.5天, B为孕13天。这些图片显示了是间质各部分的相互融合, 完成了房室分隔。A. 间质组织的上方视图, 而其他的的心脏组织通过数字技术予以去除, 以利于研究各间质部分的关系。在此时期, 各独立的间质部分尚未完全融合。星号标出了这些组织中的沟状结构, 而原发隔的心肌部分就坐落于此 (移去以便重建)。B. 以假设一个人站在右心房内来观察房室组织的视角, 在这一阶段, 所有的间质组织已经融合。这张图片显示了背侧间质突起是如何在两个主房室垫之间形成楔形结构, 同时形成原发隔的基底部。在这个时期, 已经再也无法将心房的间质帽同其他心内膜转化的间质组织区分开来 (详见Snarr等的论著^[25,26]。CAP, 原发房间隔上的间质帽; DMP, 背侧间质突起; iAVC, 下房室垫; IIAVC, 左侧的侧房室垫; PAS, 原发房间隔[原发隔]; riAVC, 右侧的侧房室垫; sAVC, 上房室垫) (经Snarr等^[26]的许可而改绘)。

孔, 然后数量增多, 尺寸变大, 最后合并成最终的继发孔^[81]。

继发隔是作为一个位于静脉窦的左侧静脉瓣和原发隔之间的心房顶内褶而开始的。继发隔也标明了左心房和右心房组织之间的界限位置。结果, 继发隔的左心房心肌表现出左心房标记物, 而继发隔的右心房心肌表面出现右心房标记物^[81]。

心室之间的分隔

因为原始室间孔最初为右心室提供了全部的流入血流, 并为左心室提供了全部的流出血流, 所以其正确关闭对于心脏的正常发育是至关重要的。原始室间孔的关闭是通过肌部室间隔的生长和房室连接及流出道的心内膜垫融合来协同完成的。

肌部室间隔的生长与心室心肌形态的动态改变密切相关^[107]。当心血管最初形成和襻化后早期时, 其

心肌层只有几个细胞的厚度。襻化后, 心室腔以口袋状的形式向尾端增大。这个袋状结构位于襻化心脏的大弯处, 并在其内表面迅速长出一系列圆周形的嵴 (图1-8)^[7,107]。

原始小梁嵴的肌细胞和下方的致密心肌的肌细胞是不同的, 致密心肌的肌细胞是活跃增殖的, 而小梁肌细胞则已经退出细胞周期且并不分裂^[107]。致密心肌的“生发层”为心室壁肌细胞提供了数量上的增长, 但是心肌体积最初的主要增长是通过心肌小梁部的增长而来的^[107]。致密心肌给发育中的小梁部的心室连接内输送细胞; 这种关系在胚胎心肌生长过程中持续存在^[107]。

原始小梁嵴呈片状扩展, 其上出现小孔。肌小梁被认为在原始心脏中承担着一些生理学功能。它们增进了心室的收缩功能^[108]。小梁的存在, 使心内膜的表面积大大增加, 这被认为在真正的冠状血管

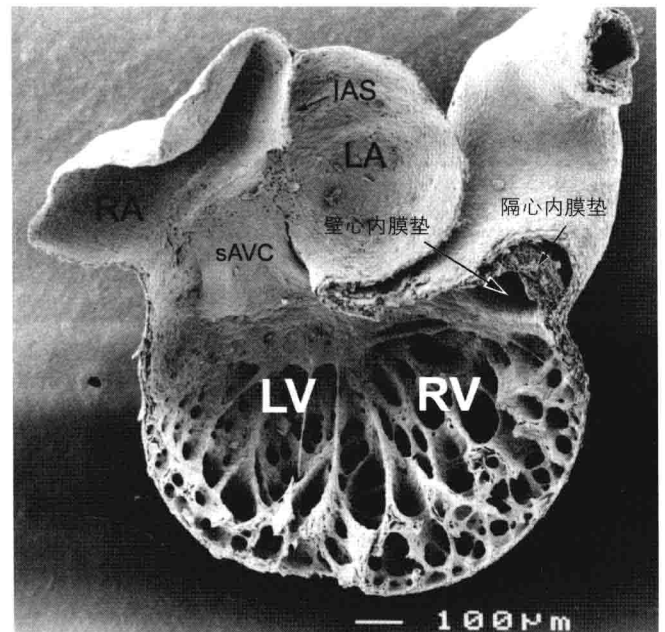


图1-8 鸡胚胎心脏的左右心室剖面的扫描电子显微镜图像很容易地就可以见到以褶状嵴为特征的早期心肌小梁。在这个时期, 心血管的内侧弯曲将房室流入道和右心室分开, 将流出道与左心室分开 (IAS, 房间隔; LA, 左心房; RA, 右心房; sAVC, 上房室垫) (感谢 David Sedmera提供图片)。

系统发育出来之前,其可以改善发育中心肌的营养和气体交换^[109]。有人认为在发育中的心脏内,小梁是一种传导系统,相当于远端束支和浦肯野纤维(或可能为其前体)^[42]。小梁也被认为在未分隔的心脏中有助于引导血流^[110]。因此,在超声心动图中不常发现的心室致密化不全有其重要意义。

在鸡的心脏中,原始肌部室间隔最初是通过小梁聚合而形成的。在哺乳类动物的心脏中,原始肌部室间隔可能是心室心尖的生长引起致密心肌产生内褶的产物。因此相对于禽类,室间沟可能更是作

为一个哺乳类动物心脏的固有特征。能够识别原始环的HNK1-leu7抗体可以清楚地标记人类的原始肌部室间隔的前缘(图1-9)^[7,111,112]。在人类胚胎中使用这种抗体,可清晰显示右心室和右心室隔,包括流入道节段的心肌前体全部来源于位于最初原始室间孔远端的心肌细胞集群^[113]。

原始肌部室间隔最初是一个新月形的结构,其后边界延伸到下心内膜垫,其前边界延伸到上心内膜垫。原始室间孔关闭的部分过程包括上心内膜垫和下心内膜垫的彼此相向延伸,在人类约孕6周时其

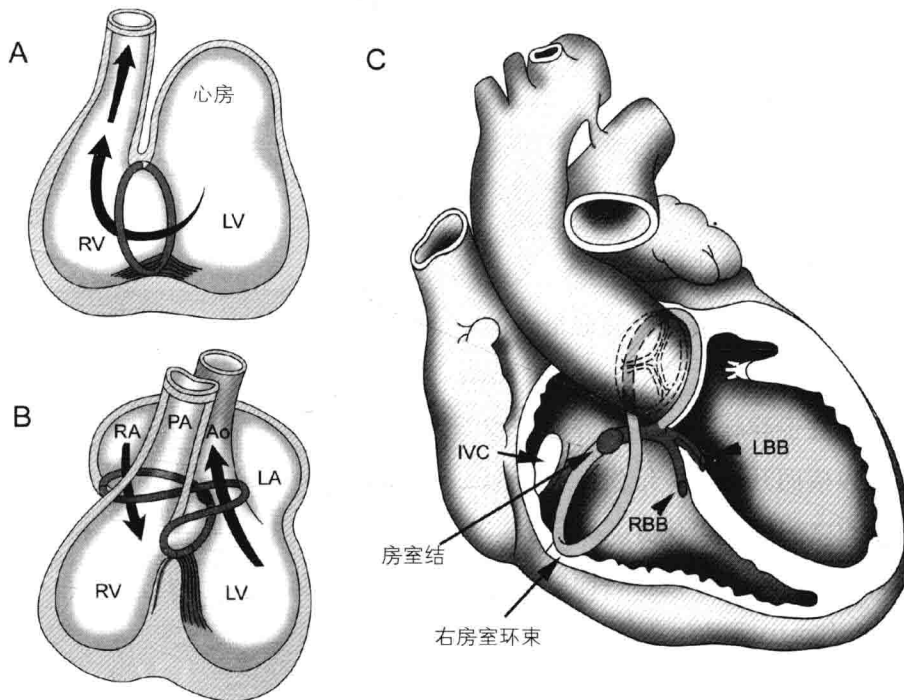


图1-9 心环肌发育过程

这些示意图通过以Gln2、HHK1和Leu7抗体来识别其糖抗原表位的表达,显示了传导系统始于一个在人类胚胎心脏中发现的心肌环的发育过程

A. 约孕5周时的人类心脏。发现有一圈环状的心肌环绕着原始室间孔。注意该环形结构的上部位于房室心肌和心室心肌的连接处。B. 在约孕7周的人类心脏发育中,融合过程使得短小的房室心肌向右边扩展,伴随着房室流入道的向右侧扩展。流出道向左侧运动导致环状结构围着主动脉根部绕圈。随着肌部室间隔开始生长,可以发现该环形组织从其位于室间隔上的主要部分,顺着间隔壁朝着增大的左右心室心尖呈绞绳状的延伸。C. 成熟的心脏传导系统包括房室结、希氏束,以及右束支(RBB)和左束支(LBB),来源于该原始的环形组织。此外,在成人心脏中也可在三尖瓣纤维环的心房侧以及在主动脉后的心肌内找到原始环的残迹。(RV,右心室;LV,左心室;RA,右心房;LA,左心房;PA,肺动脉;Ao,主动脉;IVC,下腔静脉。)

(引自Wessels A, Vermeulen JL, Verbeek FJ, et al. (1992) Spatial distribution of "tissue-specific" antigens in the developing human heart and skeletal muscle. III. An immunohistochemical analysis of the distribution of the neural tissue antigen G1N2 in the embryonic heart; implications for the development of the atrioventricular conduction system. *Anat Rec* 232, 97-111^[111];以及Moorman AFM, Lamers WH (1999) Development of the conduction system of the vertebrate heart. In: Harvey RP, Rosenthal N, editors. *Heart Development*. San Diego: Academic Press. pp. 195-207^[112].)

接触并融合。尽管心脏在有持续的机械性活动情况下仍能使心内膜垫融合的机制不明，但这个问题还是相当值得关注的。肌部间隔的进一步生长导致肌性隔嵴和已经融合的心内膜垫组织产生融合。除了位于左心室和右心房之间的膜部间隔则之外，原始的肌部间隔和心内膜垫来源的间隔之间的界限，因心肌化而变得模糊不清。正常的流入道间隔的发育主要取决于下心内膜垫来源的组织与肌部室间隔之间的交互作用，而光滑的前部室间隔则来源于上心内膜垫和肌部室间隔之间的交互作用。膜部间隔是肌部间隔和上心内膜垫及下心内膜垫之间最后结合的大致位置^[114]。

房室连接节段和房室瓣的发育

如之前所讨论的，位于原始心房和心室连接部位的心肌的电生理和生理特性对分隔前的心脏是至关重要的。但是，位于房室连接部心肌、心房心肌和心室心肌之间的心肌连续必须予以断开，以便心脏纤维交叉的发育及实现传导系统的正确功能。除称之为希氏束的特化心肌外，房室心肌和心室肌之间被一层称之为纤维化环的纤维绝缘层所隔开。在成熟心脏中，房室连接心肌的残余部分被整合入最终的心房心肌中^[94]。

襻化心脏的房室心内膜垫的间质细胞群和在心脏外表面的房室沟中的间质细胞融合，造成了房室心肌连续的纤维中断。房室沟间质细胞来源于心外膜细胞（见图1-3）^[7]，这将在本章下文中的篇幅内和冠状动脉发育一起进行详细讨论。形态学研究提示，房室沟间质主动内收进入心内膜垫^[115]；驱动间质内收和心肌层分离的机制不明。人类心脏中，心肌连续的中断始于孕52到60天，正常情况下在孕4月底前“完成”^[94]。如果房室连接的绝缘组织没有形成，可能成为临床预激综合征的病因基础。有趣的

是，在正常的新生儿心脏的纤维绝缘部位可观察到一些孤立的肌细胞跨越纤维绝缘体，这些孤立的肌细胞是胚胎心脏房室连接部位心肌的残留，其原本是位于房室沟间质和心内膜垫间质中的^[116]。这个位置和发现的壁房室旁束的位置不同^[117]，房室旁束位于心外膜下，所以前者似乎代表一种通过房室沟间质来源纤维组织的不同的心肌路径。发育过程中没有发现类似于壁房室旁束的结构，因此应该考虑这些附属连接是在出生后发生的可能性。整个预激通路和正常形态学结果之间的关系需要进一步研究。

房室瓣发育可能与房室沟组织的内向性生长过程有关，因为最终瓣膜的附着点在正常情况下位于心内膜垫组织和内收的房室沟组织之间的位置。房室瓣瓣叶是通过尚不清楚的脱层过程使心内膜垫组织和心肌与心室壁分离来形成的^[105,118,119]。此时发生的、并能影响瓣膜发育和参与脱层过程的事件包括有：心室小梁变粗糙、小梁被整合入致密心肌，以及心室腔的心尖部扩张。

脱层的时候，瓣膜瓣叶的心房面由心内膜垫组织构成，而其心室面主要由心肌构成。心肌层提供了与相关的瓣下张力装置的连续性。随着瓣叶形态发生学的演进，心肌部分消失了，其过程未知。最初，房室瓣叶的末端和致密心室心肌直接相连，或通过心肌的小梁外生突起进行连接。随着发育过程的演进，乳头肌来源于两个机制：从最初独立且已经存在的小梁彼此聚合形成乳头肌；或从心肌分离出来的心肌结构加入小梁或自身直接形成了乳头肌。二尖瓣乳头肌来源于单个的大型小梁，然后分开成为两个独立的支撑乳头肌^[119]。外科修复难度极高的降落伞样二尖瓣病人可能就是这一过程缺陷造成的，这类病人是外科学上存在挑战的群体。三尖瓣乳头肌是通过不同的机制，彼此独立发育而来的；三尖瓣前乳头肌来源于在孕6周时的小梁聚合，隔瓣乳头肌是孕10到12周心肌脱层的产物，而

后乳头肌复合体在孕12周时还是一个相对不显的结构^[105]。腱索是通过小梁和(或)最初为实心结构的各独立瓣叶逐渐形成开孔及纤维分化而形成的;也有关于腱索是来源于心肌或者心内膜垫组织的不同看法^[105,107,118]。

先前所述,在房室连接中存在四个心内膜垫。上心内膜垫和下心内膜垫自其开始出现以来,就是最突出的心内膜垫,但侧心内膜垫也有重要作用,侧心内膜垫只有在Carnegie分期17期(约42天)后才能看到^[94,118]。左边的侧房室垫参与到二尖瓣后瓣形成。右边的侧房室垫变得向前与流出道的隔心内膜垫连续,参与形成三尖瓣的前瓣和下瓣。

房室瓣的形态发生学是人类心脏发育中最持久的过程之一。在孕5到6周时,才开始形成能予以识别的三尖瓣组成部分。房室心内膜垫在此时处于活跃的结构变形期,导致上房室心内膜垫和右边的侧房室心内膜垫相互融合。圆锥垫在此时期也正完成了它们的融合。融合后的流出道间隔然后向心尖部延伸,到达心脏的内侧弯曲处,位于融合中的上心内膜垫和右边的侧心内膜垫的前方。在这个位置上,融合了的流出道垫将黏附到心室漏斗褶皱处的心肌上,建立了相对于房室瓣的圆锥隔前部,并形成了室上嵴^[105]。尽管此时心脏在形态发生学上的整体分期处于成熟阶段,但三尖瓣瓣叶还是在外观上非常原始,且不能自由活动。到孕8周末,下瓣叶完全分离出来,到孕11周,前瓣叶分离出来,而隔瓣叶则在孕12周分离出来。直到隔瓣叶完全分离出来之前,分开前瓣叶和隔瓣叶的交界结构还是不完全的^[105]。

在二尖瓣发育过程中,下房室垫和上房室垫在约孕5周时开始融合;即便在融合前,将逐渐发展为两个二尖瓣乳头肌的小梁复合体增大,可见其与上房室垫及下房室垫连接^[118,119]。左边的侧房室垫,作为后瓣叶的前体,可在孕第7周时看到。大约在这个

时期,可以发现二尖瓣瓣膜结构的初步脱层,一直持续到发育的第10周。在发育的第10到14周期间,瓣叶的心肌成分消失,乳头肌达到其成熟外观,且腱索分化完成^[118,119]。

传导系统的发育

在小鼠发育中,窦房结最早在约10.5天时被识别,大约相当于人类发育的Carnegie分期的第14期(约32天),窦房结位于右总主静脉壁的中部,并向头端延伸至前主静脉和总主静脉的连接处。这相当于成熟心脏中位于奇静脉开口和右心房之间的这一段上腔静脉^[120]。

在人类胚胎中,约在Carnegie分期第15期(约孕33天),可在组织学上识别出房室结^[121]。它位于房室管的后部,下心内膜垫的心室边缘下方的心肌中,并被包括在原始环中^[94]。原始房室结直接与房室和心室心肌相连续。从最早期开始,可以注意到一个最终变成希氏束的细胞束从房室结组织的主体部分延伸到心室的心内膜下。在发育中的房室结的主体部分下方,房室沟间质将内收与心内膜垫间质相接触,并环绕未来的希氏束将其收纳入位于心脏交叉部位的纤维绝缘组织中^[94]。

在人类中,通过使用原始环抗体Gln2/HNK1/Leu7可识别出近端的束支^[7,111,112]。传导组织在心室中的分化似乎是通过一个将“工作”心肌募集入传导系统细胞谱系的过程来实现的,同时与其脱离细胞周期有关^[122,123]。许多观察支持原始心脏的小梁是连接近端希氏束和心室游离壁的最初传导通路的论点^[124]。在成熟心脏中,一小部分小梁可能仍保持作为传导系统的组成部分。

各物种间的浦肯野纤维的细胞学形态极其不同^[125]。在一些物种中,使用形态学标准很难鉴别出壁内浦肯野纤维。可跨物种明确识别壁内浦肯野纤

维的分子标记物目前仍未被发现^[124]。但是，在所有被研究的动物中，与中央房室结—希氏束—束支传导系统相比，壁内浦肯野纤维是一个晚期出现的结构。在发育的羊心脏中，可以轻松地使用形态学标准将浦肯野纤维与“工作”心肌细胞鉴别开来，但直到孕60天之前，都没有看到有壁内浦肯野纤维，而房室结早在孕27天就可以看到^[126]。在这个物种内，传导组织的形态学分化明确是从房室结开始向外进行的。

鸡胚胎心肌中的浦肯野纤维可以通过间隙连接蛋白Cx42的特异性表达来识别。使用这个标记物，发现在直到第10天的鸡胚胎心脏中才能识别到浦肯野纤维。在这个模型中，只有在发育中的冠状动脉附近的心肌细胞才被募集起来分化成浦肯野细胞^[123]。数据提示，内皮素信号转导可能是这个过程的一个重要决定因素^[127]。

流出道的形态发生学

流出道中的标记点

本章使用由Pexieder提出的流出道的形态学术语^[128]。在襻化的早期，流出道相对较短，之后变长，且有明显的弯曲。弯曲的位置是将动脉干和流出道圆锥部分开的主要外部标志点，即彼此分开的结构。整个区域的外部标志点是近端的心室漏斗褶和远端的主动脉囊。主动脉囊—流出道连接可以通过主动脉囊根部的喇叭形张开、心包反折和心胶质及心肌的远端边界来识别。流出道腔的近端是以心室漏斗褶内表面上的心肌嵴为标识，即心室漏斗凸缘。隔流出道嵴和壁流出道嵴从右心室盘旋到流出道远端，在流出道的弯曲部位，其方向上有明显的变化。随着分隔的进行，流出道的心肌部分缩短。

在心底部，圆锥嵴和房室心内膜垫连续。在圆锥的重构过程中，二尖瓣和主动脉瓣之间的垫组

织的间质（纤维）连续将予以保留，而位于三尖瓣和肺动脉瓣之间的纤维连接则消失了。流出道重构过程的发生机制非常令人感兴趣，但是基本上还是没有明确。准确地说，这些机制对于了解大多数临床上具有挑战性的先天性心脏病的发病机理是至关重要的。实际上，流出道重构的正常过程非常容易被药理学、遗传学或实验显微外科操作所干扰，通常造成两个半月瓣持续存在完整的心肌圆锥和一个室间隔缺损—右心室双出口（DORV）^[129,130]。在脐肠静脉上放置一个血管夹的实验模型中，所致畸形好像是由胚胎血流变化造成的；但是，这个血流变化模型并不能解释大多数先天性心脏病的表型^[129,131,132]。实际上，不同的畸形模型可以造成DORV疾病谱系中各种不同类型的圆锥畸形^[129]。实验模型中观察到的DORV的频度，表明胚胎心脏发育时需要整合多个过程，以改变两个大动脉都发自右心室这种“默认”的位置关系。同时这也指出“DORV”这一术语名称可能不尽人意地把一组病因学上完全不同的缺陷都归入到一个拥有最终相同表型的病变上来。因此，精确判定心脏表型需要认真地分析血管形态学。或者，各种DORV可能是多种初始损害引起的、不同程度地停滞于同一发育形态学路径所造成的^[130]。

主动脉肺动脉分隔

随着位于第四主动脉弓和第六主动脉弓之间、主动脉囊顶部的间质凝聚，主肺动脉间隔初步形成（图1-10）^[7,130]。自20世纪70年代晚期以来，这一间质的心外起源被广泛了解^[133]，在1983年Kirby鉴别出这是一个神经嵴细胞集群^[134]。两根间质凝聚形成的刺突，在流出道的动脉干末端穿透入心内膜垫嵴。分隔是朝心脏方向进行的，随着神经嵴来源的间质刺突融合，分隔完成。随着间隔的形成，动脉干因此被神经嵴来源的平滑肌细胞分开^[106]。随着主肺动

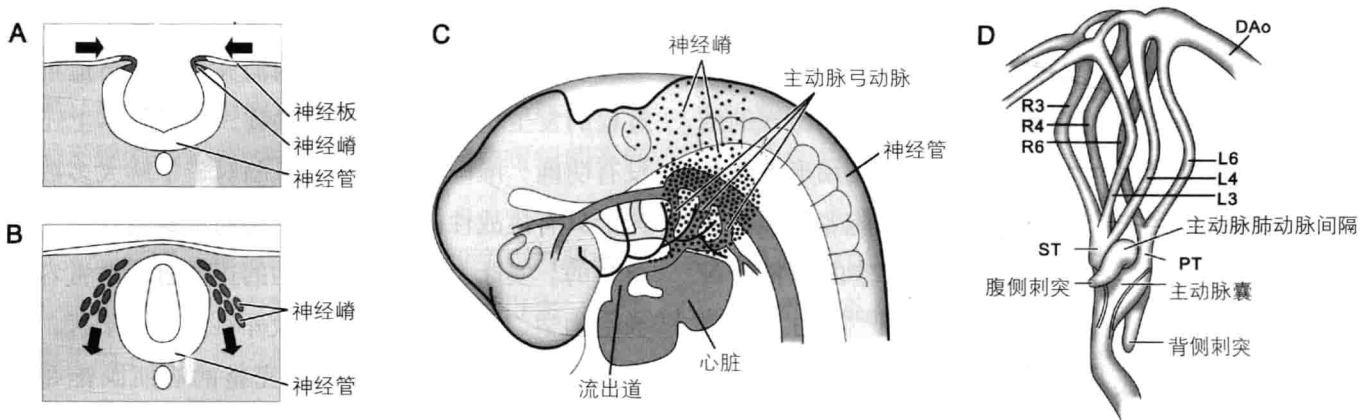


图1-10 参与正常心脏发育的神经嵴的特征

A和B. 神经嵴是一个细胞集群, 在侧神经板融合形成闭合的神经管时迁出, 经整个胚胎进行移行。C. 心脏神经嵴经主动脉弓动脉移行进入心脏的流出道。D. 形成主动脉肺动脉间隔的神经嵴细胞在第四主动脉弓血管和第六主动脉弓血管之间形成了一个凝聚团块, 该团块具有两个“刺”状结构, 穿透入圆锥心内膜垫和动脉干心内膜垫 (PT, 肺动脉干; ST, 体动脉干; DAo, 降主动脉) (经Kirby^[130]的许可改绘。Contribution of neural crest to heart and vessel development. In: Harvey RP, Rosenthal N, eds. Heart Development. pp. 179–193. Copyright © 1999 Elsevier.)

脉分隔朝着心脏方向的推进, 主动脉干和肺动脉干变得明显, 心肌袖的远端部分保持在间隔复合体高度或者下方。在远端的动脉干心肌中发现的凋亡现象非常少, 因此有可能心肌并非简单的死亡^[106]。主动脉下圆锥心肌是朝着心脏回缩还是转移分化成位于主动脉和肺动脉根部的平滑肌细胞, 这依然存在活跃的争议^[106,135,136]。在主动脉肺动脉间隔缺失的情况下, 心脏的出口与一个诸如永存动脉干时的共同动脉干相连, 如果主动脉肺动脉间隔形成不完全, 则就是主肺动脉窗。

半月瓣的发育

半月瓣在主肺动脉间隔和圆锥隔的连接部位上发育。它们来源于壁圆锥嵴和隔圆锥嵴、圆锥心内膜嵴之间形成的小嵴, 以及穿透圆锥心内膜嵴的神经嵴来源的间质刺突。在小鼠中, 间质刺突的神经嵴细胞可通过表达 α 平滑肌肌动蛋白 (ASMA) 来予以标记^[106,137]。心脏神经嵴细胞也可通过使用多种转基因鼠模型系统来使之显现, 最常用的是Wnt1-cre鼠和Rosa26R-lacZ报告基因鼠^[67]。心内膜嵴的融合是

通过嵴之间的接触, 及之后接触位置上内皮细胞消失来完成的。然后这些嵴通过一个ASMA阳性细胞构成的螺旋形或者纽结形结构来相互连接, 这个结构就是形成中的主肺动脉间隔。

半月瓣瓣叶的发育在分隔形成后马上开始。在小鼠中, 最初在远端心内膜嵴及间隔垫的动脉面长出实心尖端突出物, 将来成为瓣叶组织^[138]。瓣窦是通过在瓣叶的出口面进行主动的内皮凹陷而形成的。初始的瓣膜瓣叶是增厚的结构, 充满大量的细胞外基质, 基质中有心内膜来源的间质细胞密集栖息, 其动脉面由立方形的内皮构成, 而心室面则为一层扁平的流线形内皮。在瓣窦凹陷完成后, 瓣叶进行重构, 形成具有成熟半月瓣特征的柔软的纤维组织^[139]。瓣膜重构是一个缓慢的过程, 在出生时其组织学上还不完全成熟^[138,140]。这些过程的机制有大部分未能探明。在这些过程中, 神经嵴细胞的作用并不像它们在主肺动脉间隔形成的过程中所起的作用那样显著—在半月瓣瓣叶中, 出现在其中的ASMA阳性的神经嵴来源的细胞, 只位于瓣叶交界的接合点和大血管的动脉壁上^[106]。这些神经嵴来源细胞所

处的位置也提示了神经嵴异常和瓣膜接合点形成或位置畸形之间的关联。

研究报道过小鼠Nfatc基因被敲除可造成主动脉和肺动脉瓣不发育^[141,142]。NFAT蛋白是一种转录因子，被认为是免疫系统、神经系统、心肌和骨骼肌中细胞内钙信号转导的重要介质^[143]。NFAT信号转导由钙调神经磷酸酶启动，钙调神经磷酸酶是环孢菌素和FK506的主要细胞内靶点。在心脏发育过程中，Nfatc基因的表达局限于在心内膜中的一小部分细胞中，但除了这个现象以外，Nfatc对半月瓣瓣膜发育所起作用的机制不明。虽然罕见，但是人类中的两组半月瓣未发育也有报道^[144,145]。此外，单个半月瓣发育不良是最常见的先天性心脏病类型之一，可以是孤立性的（例如，主动脉双叶瓣），或者可合并其他诸如法洛四联症，法洛四联症合并肺动脉瓣缺如综合征、肺动脉闭锁和许多左心室流出道缺损，而主动脉瓣膜发育不良合并左心发育不良综合征是其中最重症的表现形式。

在Sox4缺陷的小鼠中可以找到一个更复杂的半月瓣瓣膜生发异常的模型^[146]。这些动物在孕中期死亡，存在半月瓣关闭不全（如同NFATc缺陷胚胎），并表现出一系列轻重不同的心血管畸形，从孤立性的漏斗隔缺失到圆锥动脉干和主肺动脉分隔形成的完全失败。被注意到的额外心外畸形则包括气管食管瘘。在这个模型中发现的流出道畸形被假设为由神经嵴（见下文）和流出道心内膜垫细胞集群之间的信号转导异常所致。和那些与“纯”神经嵴缺陷有关的共同动脉干模型不同，Sox4缺陷鼠表现出在半月瓣瓣叶数量和相对分化程度上的诸多严重程度不一的缺陷。

圆锥分隔

圆锥隔的形成是一个多步骤过程。最初，圆锥心内膜嵴是由被心内膜和心肌包绕的心胶质构成

的“简单”结构。和在房室垫中一样，一小部分的心内膜细胞转分化成间质细胞，然后侵入到心胶质中。随后，圆锥心内膜嵴增大，每一次圆锥心肌样收缩则将相对的心内膜嵴带到一起来^[93]。心内膜嵴的融合是另一个不太了解的过程，随着时间从远端的圆锥向心底部推进，并形成一个初始的间质圆锥隔。当近端的圆锥垫融合，它们就完成了主动脉下和肺动脉下流出道的分隔。然后，心内膜垫组织被心肌组织取代，该过程先发生在近端圆锥隔，最后到远端圆锥隔。圆锥垫的心肌化造成室上嵴和肌部流出道隔的形成。

主肺动脉的分隔复合体中的间质神经嵴刺突延伸入圆锥心内膜嵴，但是与其在主肺动脉分隔时的作用不同，它们并不参与形成圆锥隔。圆锥嵴内的神经嵴细胞消失，可能是通过一个凋亡机制来实现，推测其一定程度上对调控随后的心肌化过程是重要的^[147]。

大血管和冠脉循环的形态发生学

神经嵴和心脏的发育

神经嵴细胞经主动脉弓移行进入心脏，该类细胞对于主肺动脉的分隔、流出道分隔和第三、第四及第六主动脉弓血管的中膜形成是必须的^[130,134,148]。另外的一群神经嵴细胞分化成支配心脏的自主神经。其他邻近发育中的心脏和大血管的神经嵴来源结构包括胸腺、甲状腺和甲状旁腺。

神经嵴是一个脊椎动物发育中的临时结构，起源于神经管的最背侧区域（图1-10）^[7,130,148,149]。神经嵴的细胞位于神经板的侧缘上，通过神经板折拢成神经管，位于左侧和右侧的细胞被带至对向位置。细胞然后开始迁出并沿着精确路径移行到多个终点。随着神经管的闭合，这一过程从头端开始并延伸到尾端^[148]。特定区域的神经嵴细胞通过特定路径