

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）  
難治性血管腫・血管奇形についての調査研究班患者実態調査および治療法の研究  
平成 24 年度 分担研究報告書

## 恒常的活性型 Tie2 遺伝子発現トランスジェニックマウス作製 による血管奇形のモデルマウスの解析

研究分担者 高倉 伸幸  
(大阪大学 微生物病研究所 情報伝達分野 教授)

### 研究要旨

遺伝性 / 家族性の血管奇形のひとつに、内皮細胞に発現するレセプター型チロシンキナーゼである Tie2 遺伝子の点突然変異が報告されている。Tie2 は生理的には、壁細胞から分泌されるアンジオポエチン-1 により活性化をうけると活性化し、内皮細胞と壁細胞間の接着が誘導されて、血管構造の安定化に寄与する。一方で、血管新生が進行中に Tie2 の活性化が誘導されると、内皮細胞の運動能の亢進により、血管新生が促進される状態となる。遺伝的な Tie2 の点突然変異が、Tie2 のリガンド非依存的な恒常的活性化を誘導し、この際に血管新生が旺盛になって静脈奇形が発症するといわれている。近年では、遺伝的な Tie2 点突然変異以外にも、成体の局所的な血管領域で Tie2 の体細胞突然変異が生じて静脈奇形が発症することも明らかになってきた。静脈奇形の多くの患者において、この Tie2 の変異が観察されることから、恒常的活性型の Tie2 による静脈奇形を示すモデルマウスの作製は、その治療法、分子機序の解明等に役立つと考えられるが、まだその成功例はない。我々は、マウスの Tie2 において、848 番目のアミノ酸のアルギニンをトリプトファンに置換することで、マウス版の恒常的活性型 Tie2(CA-Tie2)の作製に成功した。本遺伝子を CAG-Flox-cat-polyA-Flox の下流に連結した遺伝子コンストラクトを作製し、マウス受精卵に遺伝子導入して、Flox-CA-Tie2 tg マウスを作製した。本マウスと血管内皮細胞に特異的に発現するジャンクション分子 VE-Cadherin の遺伝子プロモーター下にタモキシフェンの刺激で Cre を発現するマウスを交配させ、成体マウスにおいて血管内皮細胞の Tie2 を活性化させたところ、部分的に静脈の奇形様の病変が誘導されることが判明した。

### A 研究目的

恒常的活性型 Tie2 遺伝子 (CA-Tie2) を血管内皮細胞に特異的に発現するトランスジェニックマウスを作製し、本遺伝子異常が血管奇形の原因となりうるかを検討する。

### B 研究方法

マウスの Tie2 において、848 番目のアミノ酸のアルギニンをトリプトファンに置換することで、マウス版の恒常的活性型 Tie2 (CA-Tie2) を作製した。本遺伝子を CAG-Flox-cat-polyA-Flox の下流に連結した遺

伝子コンストラクトを作製し、マウス受精卵に遺伝子導入して、Flox-CA-Tie2 tg マウスを作製した。本マウスと血管内皮細胞に特異的に発現するジャンクション分子 VE-Cadherin の遺伝子プロモーター下にタモキシフェンの刺激で Cre を発現するマウスを交配させ、成体マウスにおいて血管内皮細胞の Tie2 を活性化させた。

### C 結果

単に、成体マウスの血管内皮細胞に恒常的活性型の Tie2 を発現させただけでは静脈奇形は発生しなかった。そこで、Tie2 を恒常的活性化状態にしたマウスの皮下に vascular endothelial growth factor (VEGF)を含むマトリゲルを打ち込み血管新生を誘導したところ、マトリゲル内に侵入した血管において、野生型マウスとは異なり、径の拡張して蛇行する異常血管が発生した。

### D. 結論と考察

遺伝性の Tie2 の恒常的活性化変異を有する患者では、全身の血管内皮細胞の Tie2 が活性化しているにもかかわらず、血管奇形は上半身、特に頭頸部に限局することが多い。この理由として、何らかの血管新生刺激が静脈奇形発症の原因となっていることが示唆された。

### E 研究発表

1. Kajiya K, Kidoya H, Sawane M, Matsumoto-Okazaki Y, Yamanishi H, Furuse M, Takakura N. Promotion of Lymphatic Integrity by Angiopoietin-1/Tie2 Signaling during Inflammation. *Am J Pathol* 180, 1273-1282, 2012
2. Kidoya H, Kunii N, Naito H, Muramatsu F, Okamoto Y, Nakayama T, Takakura N. The apelin/APJ system induces maturation of the tumor vasculature and improves the efficiency of immune therapy. *Oncogene* 31: 3254-3264, 2012
3. Sakimoto S, Kidoya H, Naito H, Kamei M, Sakaguchi H, Goda N, Fukamizu A, Nishida K, Takakura N. A role for endothelial cells in promoting the maturation of astrocytes through the apelin/APJ system in mice. *Development* 139: 1327-1335, 2012
4. Muramatsu F, Kidoya H, Naito H, Sakimoto S, Takakura N. microRNA-125b inhibits tube formation of blood vessels through translational suppression of VE-cadherin. *Oncogene* 32:414-421, 2013

### F 健康危険情報

該当なし

### G 知的財産権の出現・登録状況

該当なし