GLUT-1 染色を行った文献が４編あった。４編合計すると、乳児血管腫病変８例すべてで GLUT-1 陽性、乳児血管腫との鑑別が必要となる非乳児血管腫病変４９例すべてで GLUT-1 陰性であった。以上を合計すると、乳児血管腫病変２８１例のうち２７６例で GLUT-1 陽性、非乳児血管腫病変２９６例のうち２９３例で GLUT-1 陰性であり、乳児血管腫における GLUT-1 陽性の感度は 98.2%、特異度は 99.0%であった。

GLUT-1 染色の有用性は、HE 染色のみで検討した症例の再検討でも確認されている。GLUT-1 染色を用いて症例の再検討を行った論文は４編あり、このうち１編では、HE 染色のみで診断できなかった症例は１８％あると報告されていた。

CQ 10　システマティックレビュー２次スクリーニング

文献No.	文献情報				
	ID	Language	Authors	Title	Journal
1	23584448	eng	Osaki TH, Jakobiec FA, Mendoza PR, Lee Y, Fay	Immunohistochemical investigations of orbital infantile hemangiomas and adult encapsulated cavernous venous lesions (malformation versus hemangioma).	Ophthal Plast Reconstr Surg
2	23379586	eng	Laing EL, Brasch HD, Steel R, Jia J, Itinteang T, Tan ST, Day	Verrucous hemangioma expresses primitive markers.	J Cutan Pathol
3	23169416	eng	Trindade F, Kutzner H, Requena L, Tellechea O, Colmenero	Microvenular hemangioma-an immunohistochemical study of 9 cases.	Am J Dermatopathol
4	22307233	eng	Sadeghpour M, Antaya RJ, Lazova R, Ko	Dilated lymphatic vessels in tufted angioma: a potential source of diagnostic confusion.	Am J Dermatopathol
5	19524305	eng	Badi AN, Kerschner JE, North PE, Drolet BA, Messner A, Perkins	Histopathologic and immunophenotypic profile of subglottic hemangioma: multicenter study.	Int J Pediatr Otorhinolaryngol
6	16751300	eng	Al-Adnani M, Williams S, Rampling D, Ashworth M, Malone M, Sebire	Histopathological reporting of paediatric cutaneous vascular anomalies in relation to proposed multidisciplinary classification system.	J Clin Pathol
7	15937818	eng	Hernandez F, Navarro M, Encinas JL, Lopez Gutierrez JC, Lopez Santamaria M, Leal N, Martinez L, Patron M, Tovar	The role of GLUT1 immunostaining in the diagnosis and classification of liver vascular tumors in children.	J Pediatr Surg
8	15509684	eng	Drut RM, Drut	Extracutaneous infantile haemangioma is also Glut1 positive.	J Clin Pathol

Year	Volume	Pages	研究デザイン	P: サンプル数、セッティング、Pの特徴	I: 記載されているIとその形式
2013	29(3)	183-95	後ろ向き疫学研究	臨床病理学的にIHと診断された眼窩IH症例10例	HE, Alcian-blue, Masson trichrome, GLUT-1, CD31, CD34, D2-40, SMA, desmin, Ki-67の染色
2013	40(4)	391-6	後ろ向き疫学研究	Verrucous hemangioma (VH) 2症例	SMA, CD34, GLUT-1, D2-40, brachyury, ACE, Oct-4, HBZ, WT-1, CD45
2012	34(8)	810-2	後ろ向き疫学研究	臨床的、組織学的、免疫染色でmicrovenular hemangioma (MH)と診断された9例	WT-1, D2-40, GLUT-1
2012	34(4)	400-3	後ろ向き疫学研究	Tufted angioma (TA)と診断された7例(もとは9例。重複症例が2症例で、計7症例);	HE, D2-40, VEGF-A, GLUT-1, HHV-8
2009	73(9)	1187-91	後ろ向き疫学研究	組織学的にsubglottic hemangiomaと診断された19例	HEの再評価(一人の病理医), GLUT-1(18症例は染色追加、1症例は以前染めたもの)
2006	59(12)	1278-82	後ろ向き疫学研究	過去に提出されたcutaneous vascular lesion144例	HE, GLUT-1, D2-40について、過去標本が不十分であれば適宜免疫染色追加。その上でISSVA分類にしたがって再分類。
2005	40(5)	801-4	後ろ向き疫学研究	liver vascular tumorのうち病理標本のある11例(うちGLUT-1陽性は4症例)	GLUT-1陽性か陰性かで2グループに分け、臨床事項やKi-67陽性率を比較
2004	57(11)	1197-200	後ろ向き疫学研究	皮膚IHの典型症例8例	αSMA, GLUT-1

C: 記載されているCとその形式	O: 記載されているOとその形式	conclusion
臨床病理学的にcavernous hemangiomaと診断された眼窩症例(ECVL)10例	いずれもCD31, CD34陽性、D2-40陰性。IHはすべてGLUT-1陽性でECVLはすべてで陰性。IHではSMAが単層のpericyteに染まるが、desminは染まらず、ECVLではSMAが多層の血管壁の細胞や間質の細胞に染まる。Ki-67はIHで陽性細胞が多く(平均16.3%)、ECVLではほとんどみられない。	ECVLとIHでは免疫染色態度が違う。
proliferating infantile hemangioma (1例?), D2-40に対してのみmulti-tissue block (tonsil, appendix, skin, thyroid)を免疫染色のコントロールとして使用	D2-40陰性、GLUT-1はIHにはびまん性に陽性であるが、VHでは一部のみ陽性。VHではprimitive markerのOct-4、brachyury、ACE陽性。Primitive markerのWT-1ではVH, IHともにpericyteに主に陽性。HBZはIHのみ陽性。CD45はVH, IHともに内皮陰性。	VHは免疫染色でprimitive micrvascular phenotypeを示すが、GLUT-1を含むembryonic factorは陰性で、IHよりもやや分化した段階の腫瘍と考えられる。
免疫染色のpositiveおよびnegative controlをそれぞれ用意したとの記載のみ。	すべてWT-1陽性、D2-40およびGLUT-1陰性。	microvascular hemangiomaではIHで陽性となるGLUT-1は陰性である。(その他の結果はIHと関係なし)
記載なし	D2-40は背景のリンパ管と房状の病変内部の細い脈管に一部陽性、VEGF-Aは表皮と内皮にびまん性に非特異的に陽性、GLUT-1とHHV-8は陰性。	TAに関して、臨床情報とlymphangioma-likeな脈管があれば診断できる。
それぞれの症例の健常部がnegative controlで、切片に含まれる神経周皮や赤血球がpositive control。	16例はHEでIHでGLUT-1陽性、1例はHEで判断するには小さすぎる検体だがGLUT-1陽性の脈管を含む。2例は病変が含まれていないと考えられGLUT-1も陰性。	声門下の血管腫はIHが多く、診断確定にはGLUT-1が有用。
(GLUT-1に関しては胎盤を使用。D2-40に関しては臨床的に明らかなcystic hygromaを使用。)	46%がIHで、そのうち18%がHEで分かりづらいがGLUT-1によって診断可能であった。LMの30%、LVMはすべて、vascular malformation, NOSとされており、これらの多くは臨床情報も不十分だった。ISSVA分類は組織学的に有用な分類であるが、免疫染色や臨床所見が必須。	ISSVA分類は血管病変の分類として有用であるが、正確な臨床所見と免疫染色のルーチン化が必須。
(しいて言えばGLUT-1陰性の7症例)	GLUT-1陽性例のほうが年齢が高く、致死率が高く、増殖能が高いが、そののち退縮する。GLUT-1で予後予測がしやすくなる。	GLUT-1陽性の肝血管病変は増殖期の血管腫で後に退縮するものが多い。(用語は出ていないが暗にIHを鑑別?)
5, 乳腺1, 唾液腺1, 肝臓1, 胎盤2 (免疫染色のpositive controlは赤血球、神経周皮、トロホブラストなどのinner control、negative controlは非病変部の血管)	すべての症例でGLUT-1陽性で、周囲のpericyteはαSMA陽性。皮膚症例に限らず、GLUT-1はIHに陽性。	皮膚以外のIHと皮膚のIHについて、IHならどこに発生した病変もGLUT-1は陽性で性質は同じ。

文献No.	文献情報				
	ID	Language	Authors	Title	Journal
9	15105642	eng	Lyons LL, North PE, Mac-Moune Lai F, Stoler MH, Folpe AL, Weiss	Kaposiform hemangioendothelioma: a study of 33 cases emphasizing its pathologic, immunophenotypic, and biologic uniqueness from juvenile hemangioma.	Am J Surg Pathol
10	11735711	eng	North PE, Waner M, James CA, Mizeracki A, Frieden IJ, Mihm MC	Congenital nonprogressive hemangioma: a distinct clinicopathologic entity unlike infantile hemangioma.	Arch Dermatol
11	11346333	eng	North PE, Waner M, Mizeracki A, Mrak RE, Nicholas R, Kincannon J, Suen JY, Mihm MC	A unique microvascular phenotype shared by juvenile hemangiomas and human placenta.	Arch Dermatol
12	10665907	eng	North PE, Waner M, Mizeracki A, Mihm MC	GLUT1: a newly discovered immunohistochemical marker for juvenile hemangiomas.	Hum Pathol
13		eng	J. Leon-Villapalos, K. Wolfe, L. Kangesu	GLUT-1: an extra diagnostic tool to differentiate between haemangiomas and vascular malformations.	The British Association of Plastic Surgeons
14		eng	Jun Q. MO, MD, Haytham H. Dimashkieh, MD, Kevin E. Bove, MD	GLUT-1 Endothelial Reactivity Distinguishes Hepatic Infantile Hemangioma From Congenital Hepatic Vascular Malformation With Associated Capillary Proliferation.	Hum Pathol
15		eng	William A. Ahrens MD, Robert V. Ridenour III MD, Bolette L. Caron, Dylan V. Miller MD, Andrew L. Folpe MD	GLUT-1 expression in mesenchymal tumors: an immunohistochemical study of 247 soft tissue and bone neoplasms.	Hum Pathol

Year	Volume	Pages	研究デザイン	P: サンプル数、セッティング、Pの特徴	I: 記載されているIとその形式
2004	28(5)	559-68	後ろ向き疫学研究	KHEと診断された33例	αSMA, CD31, CD34, vWf, FLI1, CD61, GLUT-1, LeY, HHV-8
2001	137(12)	1607-20	後ろ向き疫学研究	4ヶ月以下のcellular vascular tumor43件(36症例)	組織の特徴、GLUT-1, LeYの免疫染色、臨床データのreview
2001	137(5)	559-70	後ろ向き疫学研究	juvenile hemangioma(IH)66例	GLUT-1, LeY, FcγRII, merosin, laminin, PAL-E, CD31, electron microscopy
2000	31(1)	11-22	後ろ向き疫学研究	juvenile hemangioma(IH)143例	GLUT-1, CD31, Ki-67, FⅧ-related antigen
2005	58	348-352	後ろ向き疫学研究	juvenile hemangioma(IH)19例, NICH2例, vascular malformation29例	GLUT-1
2004	35(2)	200-209	後ろ向き疫学研究	hepatic vascular lesions in infants and young children19例	GLUT-1, CD31, CD34
2008	39	1519-1526	後ろ向き疫学研究	mesenchymal tumors247例 (juvenile capillary hemangioma(=IH?)9例を含む)	GLUT-1

C: 記載されているCとその形式	O: 記載されているOとその形式	conclusion
positive controlはinner controlで、negative controlはprocessed in parallel without primary antibody	結節内部の内皮にはCD31, CD34, FLI1が陽性だがGLUT-1, LeYは陰性。糸球体様の結節ではαSMA陽性の腫大したpericyteを認め、CD61陽性のフィブリン血栓を伴う。HHV-8はなし。Juvenile hemangioma(IH?)とはGLUT-1, LeYで鑑別可能。HHV-8陰性でありKaposi sarcomaと鑑別可能。	KHEでは死亡する原因はKMPであり、転移ではなく、腫瘍は周囲間質に広がるのみであり、その点から中間悪性群とするのは妥当である。
GLUT-1のpositive controlはinner controlで、LeYは口腔粘膜。negative controlはprocessed in parallel without primary antibody。	NICHはIHと、形態的およびGLUT-1とLeYの染色性で鑑別できる。	NICHはIHとは発生機序が違うと考えられる。
26; malformation, 13; pyogenic granuloma, 6; tufted angioma, 7; epithelioid hemangioendothelioma, 1; infantile kaposiform hemangioendothelioma, 14; angiosarcoma, 1(?); placenta, 4(?); brain, spinal cord, truncal skin, 4; normal pediatric skin, 4; reactive capillary proliferation[healing surgical wound(1), decubitus(2), ulcerative colitis(1)], 6; pediatric tumor neovasculature(nonvascular tumor)	66例のIHはすべてGLUT-1, LeY, FcγRII, merosin陽性、malrofmation, granulation tissue, pyogenic granuloma, tumor vasculature, malignant tumor of nonvascular originはnegative。GLUT-1, LeY, FcγRII, merosinは絨毛には陽性であるが皮膚の小血管には陰性で、脳の血管はGLUT-1とmerosinのみ陽性。	染色結果は腫瘍のoriginを示唆している。胎盤の血管との類似性がある。
66; vascular malformation, 20; pyogenic granuloma, 7; granulation, 12; angiosarcoma, 5; hemangioendothelioma	GLUT-1はIHの139/143phaseによらず染まる。Malformation, pyogenic granuloma, granulationではKi-67陽性細胞が多くても染まらない。Angiosarcomaでは一部陽性の症例もある。非腫瘍部ではblood-tissue barrierがある部分でのみGLUT-1陽性。	GLUT-1染色はIHの鑑別に役立つ。Blood-tissue barrierのある部分でGLUT-1陽性であることはIHのメカニズム解明に役立つ可能性がある。
4; pyogenic granuloma(negative control), 4; granulation tissue(negative control), 1?; placental tissue(positive control)	IHの18/19でGLUT-1陽性。NICH、vascular malformationでは陰性。	GLUT-1はjuvenile hemangioma(=IH)をvascular malformationと鑑別するのによいマーカーである。
Negative control; without primary antibody, Positive control; typical juvenile hemangioma of skin, erythrocytes, perineurium, endoneural capillaries(internala control)	IHと類似したGLUT-1陽性の症例群(9例)と、malformation様でcapillaryの増殖を伴うGLUT-1陰性の症例群(10例)に分けられた。	GLUT-1はIH likeな病変とmalformation likeな病変を分けるために有用であり、IH likeな病変と皮膚のIHとの類似性も示唆している。
normal perineurium(positive control), surrounding nonneural tissue(negative control)	良性のnerve sheath tumorは陽性、IHも陽性、その他軟部腫瘍で陽性となるものも多いが、IHや神経系のlow gradeな腫瘍と鑑別が必要となるような病変ではnegative。	GLUT-1はperineurial differentiationを示すものに特異的なマーカーと言うわけではなく、その陽性所見はhypoxic zoneのタンパクがupregulateされ、hypoxia-inducible factor 1-αなどのタンパクがactivateされていることを意味する。

分子生物学総論１

血管形成の分子機序における基本的原理と血管奇形の遺伝子異常

高倉伸幸

血管は胎児期の脈管形成から始まり、様々な血管リモデリングの過程をへて、全身にくまなく血管網を張り巡らさせる。胎児期の脈管形成期の遺伝子異常においては、先天的な血管奇形を生じさせ、また出生後の体細胞の遺伝子変異においても血管構造に関わるメカニズムに支障が生じると、血管の異形成から血管奇形が生じうる。本診療ガイドラインを理解する上で、血管形成の分子メカニズムの概要を認識することは非常に重要である。そこで、本項では、血管形成が胎児期にどのように発生し、どのような過程をへて成熟血管へと成長していくのか、従来から判明してきているその分子機序を概説し、どのような遺伝子の変異が血管奇形で報告されてきているのかを列挙したい。

１）血管機能

血管は血液成分を組織深部まで送達するパイプとしての機能を持つことは周知であるが、その他の機能として、筋性動脈ではその弛緩収縮により血圧の調節を行い、毛細血管での酸素養分の供給が営まれ、そして細静脈では炎症部位に白血球の浸潤が誘導される。また、血管細胞は組織細胞との直接的な相互作用により、組織形成および組織の維持に機能する。例えば、造血幹細胞や神経幹細胞などの組織幹細胞は、血管領域を生態学的適所（ニッチ）として棲息し、血管細胞の分泌する分子によって幹細胞の自己複製の誘導や未分化性維持などの幹細胞性が誘導される。血管細胞とは、血管の最も内腔を一面に覆う血管内皮細胞とその周囲で内皮細胞と接着する壁細胞（毛細血管ではペリサイト、それより管腔の大きな血管では平滑筋細胞）であるが、主に幹細胞性と関わるのは血管内皮細胞と考えられている。

また、臓器特異的な血管内皮細胞の機能も明らかになりつつある。例えば骨髄の洞様血管の形成には、notch シグナルが重要で、notch を内皮細胞特異的に欠損させると、血管形成が不十分になり、この場合骨形成も不十分になる。肝臓では、類洞血管を構築する内皮細胞が分泌する HGF や Wnt2 が肝細胞の維持や再生に重要な役割を果たす。このように血管内皮細胞から分泌され、組織形成に影響を与える分子は、angiocrine factor と呼ばれている。血管は構造的な多様性にも適合することができる。例えば腎臓の糸球体形成、内分泌組織における有窓性血管の形成などの構造的特徴に適応する。また、血管には動静脈、リンパ管が存在するが、それぞれ、動脈、静脈、リンパ管内皮細胞は特徴を持

った遺伝子発現パターンを示し、それぞれの血管に特有の機能をもたらしていると考えられている。また、既存の血管の中に血管内皮細胞の幹細胞様細胞が存在しており、これが血管の維持や再生に重要な役割を有することが示唆されている。

2）血管の発生（脈管形成／血管発生）

胎児期早期に血管が存在しない組織における血管の形成は、中胚葉から血管前駆細胞を経て血管内皮細胞への分化が生じ、血管内皮細胞による管腔形成から始まる。この過程は脈管形成あるいは血管発生と呼ばれ、後述の既存血管から新しい血管分岐が形成される血管新生の過程とは異なっている。

中胚葉の発生や中胚葉から内皮細胞系列の細胞への分化決定に、bone morphogenetic protein 4 (BMP4)からのシグナル制御や fibroblast growth factor 2 (bFGF)刺激がそれぞれ重要である。Indian hedgehog (IHH)は、血管内皮細胞の分化誘導に重要であることが示唆されているが、ただしこの分化はヒト ES 細胞を用いた内皮細胞への分化系解析において見いだされたものである。中胚葉細胞からの内皮細胞の分化において、E-26-specific (ETS) 転写因子ファミリーの ER71 (ETS-related 71, 別名 ETV2)が重要な機能を果たす。この分子は、血管系や造血系の発生分化に重要な VEGFR2 (vascular endothelial growth factor receptor 2), Tie2, Scl, Notch4, そして NFATC1 (nuclear factor of activated T cells, cytoplasmic1)の発現を調節する転写因子 Fox (forkhead transcriptional factor)-C2 と相互作用して、造血系細胞や血管系細胞の発生に必須の機能を果たす。

中胚葉から発生した血管内皮細胞は血管内皮成長因子（vascular endothelial growth factor; VEGF）により、その受容体である VEGFR1, 2, 3 の中でも特に VEGFR2 を介して、内皮細胞の増殖や管腔形成、そして運動能が誘導され、管腔を有する血管が形成される。一般的に、成熟した血管は、内皮細胞の周囲に壁細胞が接着して安定構造を呈するが、胎児期早期に形成される血管は、壁細胞の裏打ちを伴わず、未成熟な血管である。このような血管では、血管径は一様に拡大しており、原始血管叢とよばれる。この血管叢は、様々な過程を経て大中小の階層性を有する血管に成長していく。この過程はリモデリングと呼ばれ、複数の機序が介在する。例えば、内皮細胞への壁細胞の裏打ち、血管同士の融合によって血管径の太い血管の形成。一本の血管から複数の血管が血管の走行にそって縦方向に分断する嵌入型血管新生。また既存の血管から新しい血管分枝が発芽して、無血管野に侵入していく発芽的血管新生。逆に余剰に形成された血管は内皮細胞のアポトーシスにより退縮する。

３）発芽的血管新生

成体において、様々な病態で観察される血管形成は、既存の血管から新たな血管分岐が発生する発芽的血管新生の過程により主に誘導される。血管新生は、腫瘍血管新生や網膜症の異常血管などの形成に関与することから、この発芽的血管新生の分子メカニズムは病態を改善する格好の治療ターゲットである。従来、血管新生が生じる際には、既存の血管内の内皮細胞が一様に増殖を始め、新規血管分枝を形成すると考えられてきた。しかし、最近この過程には少なくとも異なる３種の内皮細胞が関わっていることが判明してきた。

低酸素や炎症により分泌される VEGF などの血管系サイトカインが既存の血管を刺激すると、Tip（先端）細胞と呼ばれる細胞が発生する。この細胞は多くの糸状仮足を発現しており、血管内皮細胞の遊走因子を感知し、血管分岐の先端を移動して、新規の血管が必要とされる領域に入り込んでいく。Tip 細胞には増殖性はないと考えられているが、その後方に、Tip 細胞に接着して、増殖活性の高い Stalk（茎）細胞と呼ばれる内皮細胞が存在する。この増殖活性から、Stalk 細胞は新規血管の長さを調整すると考えられている。Tip 細胞と Stalk 細胞が入れ替わる可能性も示唆されているが、まだ明確ではない。

Tip 細胞の発生は、まず VEGFR2 の活性化した既存血管の内皮細胞の中で、Dll4（delta-like ligand 4）の発現、分泌の高まった細胞が Tip 細胞となることが示されている。分泌された Dll4 はその周囲の内皮細胞の Notch を活性化して、VEGFR2 や VEGFR2 とヘテロダイマーを形成して VEGF のシグナルを強める機能を有する neuropilin-1(Nrp1)や VEGFR3（Flt4）の発現を弱める。一方で Tip 細胞は Nrp1 の発現が亢進し、よって Tip 細胞と Stalk 細胞では VEGF に対する反応性が全く異なる細胞となる。Stalk 細胞では VEGF-A に対する応答性が減弱して、Dll4 の発現が減少する。そのため Tip 細胞では Notch の活性化が生じない。

Tip 細胞においては VEGFR3 が発現しており、この受容体の VEGF-C（一般的にはリンパ管内皮成長因子である）による活性化が、Stalk 細胞の分化決定にも機能することが報告されている。また、Stalk 細胞では VEGFR2, 3 の発現は抑制されるが、VEGFR1（Flt-1）の発現が高く、これが Tip 細胞の分化に抑制的に機能することも示唆されている。最終的に Tip 細胞は既存の血管と連結するか、Tip 細胞同士が連結して新しい血管のループを形成する。

Stalk 細胞によって形成される新しい血管は、透過性の亢進した未成熟な血管であり、内皮細胞同士の強固な接着、内皮−壁細胞間の接着が誘導された安定血管が形成される為に、Phalanx 細胞と呼ばれる内皮細胞が出現する。Stalk 細胞が Phalanx 細胞に分化すると考えるのが妥当であるが、まだ発生機序は不明である。Phalanx 細胞は可溶性の VEGF 受容体（sFlt1）を分泌して、周囲の VEGF を中和して血管新生を終息させることや、VE-cadherin の発現を亢進させて、血管内皮

細胞同士を隙間なく接着させる。従って、この Phalanx 細胞の出現が、血管新生の過程においては血管新生の終了と血管成熟化の開始の合図となると考えられる。

4）血管成熟化

血管成熟化の過程では、前述したように内皮細胞同士の接着や内皮細胞と壁細胞との細胞接着にくわえ、血管周囲に細胞外マトリックスが包囲して成熟血管が形成されていく。この過程では、血管内皮細胞と壁細胞との細胞間相互作用はもちろんのこと、アクセサリー細胞として、血液細胞も血管の成熟化に関与している。血管成熟化過程は以下のように要約できる。

血管内皮細胞だけで形成された管腔に対し、壁細胞が基底膜側から裏打ちして構造的に安定な血管が維持される。この際、内皮細胞から分泌される Platelet derived growth factor (PDGF)のアイソフォームのうち、主に PDGF-BB が壁細胞上の PDGF 受容体βを活性化し、壁細胞の運動能を高め、内皮細胞近傍への動員を誘導する。壁細胞からは、内皮細胞に発現するレセプター型チロシンキナーゼ Tie2 の結合分子、アンジオポエチン－1 (Ang1)が分泌され、内皮細胞の Tie2 の活性化によりインテグリンなどの接着因子を介して、内皮細胞と壁細胞の接着が誘導される。また Tie2 の活性化は、内皮細胞同士の接着を VE-cadherin を介して誘導し、透過性の抑制した血管の形成に関与する（後述）。Ang1 はさらに毛細血管の血管径を構造的に拡大させ、血流を増加させる。この血管径の制御は、Tie2 の活性化によって内皮細胞から分泌される apelin が、内皮細胞に発現する７回膜貫通型の G 蛋白共役型受容体 APJ を活性化することで誘導されることが判明している。

Tie2 活性化は、血管形成の過程では、血管安定化だけでなく、内皮細胞の運動性の亢進という、内皮細胞の状態に応じて２者択一的なシグナル伝達が生じる。血管が成熟過程に入る際には、Akt のシグナルが優位となり、内皮—内皮、内皮—壁細胞間の接着を強め、血管安定化を誘導する。一方、血管新生の進行中では、Tie2 の活性化で ERK のシグナルが優位になり、内皮細胞の運動性が増強する。造血系との関係では、血管新生の過程で、血管内から先に無血管野に侵入した造血幹細胞は Ang1 を分泌して、無血管野に内皮細胞の移動を誘導する。これは後者の ERK シグナルが優位になった際に生じる現象と捉えることができる。ただ、造血幹細胞の分泌する Ang1 は透過性も抑制した成熟血管の誘導にも関わっており、Akt、ERK のシグナルの択一性はもっと複雑である可能性もある。

5）血管リモデリングの開始機構

構造的に安定している血管から、新しい血管が形成される際には、内皮細胞と壁細胞の細胞接着、および内皮細胞同士の細胞接着が抑制される。このメカニズムについては以下のような機序が判明している。

血管内皮細胞の運動、増殖を誘導する為に分泌される VEGF により、内皮細胞上の VEGFR2 が活性化されると、その下流で Src チロシンキナーゼの活性化を介して、VE-cadherin の細胞内移行を誘導し、細胞接着を抑制して透過性を亢進させる。しかし、壁細胞の内皮細胞に接着している安定血管では、Tie2 が活性化しており、この際には small GTPase である RhoA とその下流のターゲットである mammalian diaphanous (mDia)を介して Src の解離を誘導して、VE-cadherin の細胞内移行を抑制して透過性を抑制する。そこで、血管構造に一旦乱れを誘導するため、Tie2 の活性化を阻害する Ang1 のアンタゴニストである Ang2 が内皮細胞から分泌され、Tie2 の不活性化を誘導する。このことにより、内皮細胞と壁細胞同士の接着にゆるみが生じ、内皮細胞間も強固な接着とはならず、内皮細胞の運動が許容される。虚血刺激では、血管新生の開始前に内皮細胞に miR125b というマイクロ RNA が発現すると、VE-cadherin の mRNA の蛋白翻訳を抑制することにより VE-cadherin の発現量が低下することも判明してきている。VE-cadherin が細胞内に移動して、内皮細胞同士の間に隙間があくと、そこから血管形成に関わる血液細胞が漏出して、血管形成を促進させる。このようにして、不安定になった血管から新しい血管が伸長していくことが判明している。

6）血管奇形に関連する遺伝子

血管形成の際には、様々な機序が作用することを上述した。この血管形成に関わる分子の欠損や過剰な発現、あるいはリガンド非依存的な受容体の活性化により、様々な血管構造の変化をもたらせ、血管奇形の原因となっている。以下に血管奇形とその原因となっていることが示唆されている遺伝子をまとめた。

Capillary malformations (CM)	
Cutaneous and/or mucosal CM (aka "port-wine" stain)	GNAQ
CM with bone and/or soft tissue hyperplasia	
CM with bone and/or ocular anomalies (Sturge-Weber syndrome)	GNAQ
CM of CM-AVM	RASA1
Telangiectasia	
Hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT)	
HHT1	ENG
HHT2	ACVRL1
HHT3	
JPHT (juvenile polyposis hemorragec telangiectasia)	SMAD4
Others	
Cutis marmorta telamgiectatica congenital (CMTC)	
Nevus simplex/Salmon patch	
Others	

Venus malformation (VM)	
Common VM	TIE2 somatic
Familial VM cutaneo-mucosal (VMCM)	TIE2
Blue rubber bleb nevus (Bean) syndrome VM	
Glomuvenous malformation (VM with glomus cells)	Glomulin
Cerebral cavernous malformation (CCM)	
CCM1	KRIT1
CCM2	Malcavernin
CCM3	PDCD10

Arteriovenous malformation (AVM)	
Sporadic	
In HHT	
HHT1	ENG
HHT2	ACVRL1
JPHT (juvenile polyposis hemorrhagic Telangiectasia)	SMAD4
In CM-AVM	RASA1

Arteriovenous fistulas (AVF)	
Sporadic	
In HHT	
HHT1	ENG
HHT2	ACVRL1
JPHT (juvenile polyposis hemorrhagic Telangiectasia)	SMAD4
In CM-AVM	RASA1

Vascular malformations associated with other anomalies	
Klippel-Trenauay syndrome	
Paeks Weber syndroma	RASA1
Servelle-Martorell syndrome	
Sturge-Weber syndrome	GNAQ
Limb CM + congenital non-progressive limb overgrowth	
Maffucci syndrome	
Macrocephaly - CM (M-CM or MCAP)	PIK3CA
Microcephaly - CM (MICCAP)	STAMBP
CLOVES syndrome	PIK3CA
Proteus syndrome	AKT1
Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndrome	PTEN

Provisinally unclassified vascular anomalies	
Verrucous hemangioma	
Multifocal lymphangioendotheliomatosis with thrombocytopenia / cutaneovisceral angiomatosis with thrombocytopenia (MLT/CAT)	
Kaposiform lymphangiomatosis (KLA)	
PTEN (type) hamartoma of soft tissue / "angiomatosis" of soft tissue	PTEN

以下の遺伝子機能などは論文を検索して、明確にする予定。

GNAQ

Guanine nucleotide-binding protein G(q) subunit alpha をコードする遺伝子。７回膜貫通型受容体と結合して、G 蛋白の不活性化を誘導する。Sturge-Weber syndrome と port-wine stains の患者で遺伝子変異がみつかっている。

RASA1

P120-RasGTPase activating protein である RasGAP をコードする遺伝子。RasGAP により、Ras が不活性化することにより、細胞増殖を抑制する。CM-AVM の多くの患者で 30 種以上の遺伝子変異が報告されている。

ENG (Endoglin)

膜糖タンパクであり TGFβのアクセサリー受容体である。血管内皮細胞に発現。遺伝子欠損により、血管細胞の分化には異常がないが、血管構造の異常が観察される。HHT1 患者で遺伝子変異の報告あり。

ACVRL1 (activin-like receptpr kinase1)

TGFβ, BMP9, BMP10 受容体。ヒト AVM の原因遺伝子。血管内皮細胞特異的遺伝子欠損マウスで AVM が誘導される。HHT2 に類似した表現型。平滑筋特異的遺伝子ノックアウトマウスでは脳神経系で AVM が観察される。

SMAD4

TGFβ/BMP シグナル伝達分子。juvenile polyposis の原因遺伝子。SMAD4 レベルの血管内皮細胞における低下で、血管の異形成が生じる。内皮細胞と壁細胞の細胞接着に関わる。

TIE2

内皮細胞に発現するレセプター型チロシンキナーゼ。この活性化で内皮細胞同士や内皮−壁細胞の接着が誘導される。恒常的活性型 Tie2 が静脈奇形の原因となる。

Glomulin (GLMN)

48kD の FK506-binding protein (FKBP)-関連蛋白。c-Met とも相互作用する。血管の正常発生に必須であり、遺伝子変異により glomangioma と呼ばれる glomuvenous malformations を誘導する。

KRIT1(Krev interaction trapped1)

N末端には４つのアンキリンリピートを、そしてC末にはKrev-1 (Rap1a, ras-related protein 1A)と相互作用するドメインを持つ分子。CCMの患者でloss of function mutationが観察される。約４０％の家族性CCMが本遺伝子変異を有する。N末端にはintegrin cytoplasmic domain-associated protein-1α (ICAP1α)と相互作用するNPXYモチーフを有する。NPXYモチーフは細胞内領域のインテグリンβ1とICAP1αと相互作用を競合する。KRIT1のLoss-of function mutationsによって、インテグリンβ1とICAP1αと相互作用を亢進して、細胞接着や細胞の移動に影響を及ぼす。

Malcavernin (Cerebral cavernous malformations 2 protein)

CCM2 遺伝子産物。心血管の形成と恒常性維持に重要。内皮細胞のジャンクションの安定化で透過性の制御に寄与する。MAP2K-MAP3K3 シグナルに関与すると考えられている。おそらく、MAP3K3 依存的 p38 活性化に関連する。また、RhoA-GTPase として知られているシグナル分子を抑制する。さらにはアクチン骨格の制御にも関わる。

PDCD10

CCM3遺伝子は、PDCD10 (programmed cell death 10, TFAR15)をコードする。40％の家族性CCMはCCM3 locusに関連する。PDCD10はヒト前骨髄球の細胞株（TF1）において、成長因子シグナルの遮断や、線維芽細胞へのアポトーシスの誘導により発現が亢進する遺伝子として見いだされた。血管奇形における機能は未だ明確ではない。

PTEN

イノシトールリン脂質であるホスファチジルイノシトール3,4,5-三リン酸（PtdIns(3,4,5)P3）の脱リン酸化反応を触媒する酵素である。PTENが阻害されることにより細胞内にはPtdIns(3,4,5)P3が蓄積し細胞の異常増殖に繋がる。

分子生物学総論２

リンパ管奇形と関連する遺伝子異常に関しての概説

青木洋子

- 原発性リンパ管疾患の原因は未解明であるが、家族性の血管奇形およびリンパ管奇形では、遺伝子変異が同定されてきている。そのうち家族性リンパ管奇形に関連して同定されている遺伝子は 11 個であった（表 1）。各遺伝子の機能を下記に記載する。血管・リンパ管と神経系の相互に作用する遺伝子と、癌に関連する遺伝子の異常が原因である事が考えられる。
- これらの家族性リンパ管奇形に関連する遺伝子変異のシグナル経路を描くと、図 1 のように集約できた。PI3K-Akt signaling pathway から mTOR signaling pathway を通って VEGF signaling pathway に至り、lymphangiogenesis を維持する経路が主である。遺伝子異常が同定されている家族性リンパ管奇形症候群は、シグナル経路の異常により正常なリンパ管形成が阻害された結果、リンパ浮腫として発症することが推測される。臨床的にはこのシグナルカスケードに関連する遺伝子変異が原因となる疾患は、ほとんどが癌であることが知られている（表 2）。

表 1. Lymphatic malformations にかかわる遺伝子

Lymphatic malformations (LM)	
Primary lymphedema	
Nonne-Milroy syndrome	FLT4/ VEGFR3
Primary hereditary lymphedema	VEGFC
Primary hereditary lymphedema	GJC2/Connexin 47
Lymphedema-distichiasis	FOXC2
Hypotrichosis-lymphedema-telangiectasia	SOX18
Primary lymphedema with myelodysplasia	GATA2
Primary generalized lymphatic anomaly (Hennekam lymphangiectasia-lymphedema syndrome)	CCBE1
Microcephaly with or without chorioretinopathy, lymphedema, or mental retardation syndrome	KIF11
Lymphedema-choanal atresia	PTPN14
Vascular malformations associated with other anomalies	
CLOVES syndrome (LM + VM + CM +/- AVM + lipomatous overgrowth)	PIK3CA (postzygotic somatic mosaicism)
Proteus syndrome (CM, VM and/or LM + asymmetrical somatic overgrowth)	AKT1(postzygotic somatic mosaicism)

図 1. 家族性リンパ管奇形に関連する遺伝子変異のシグナル経路

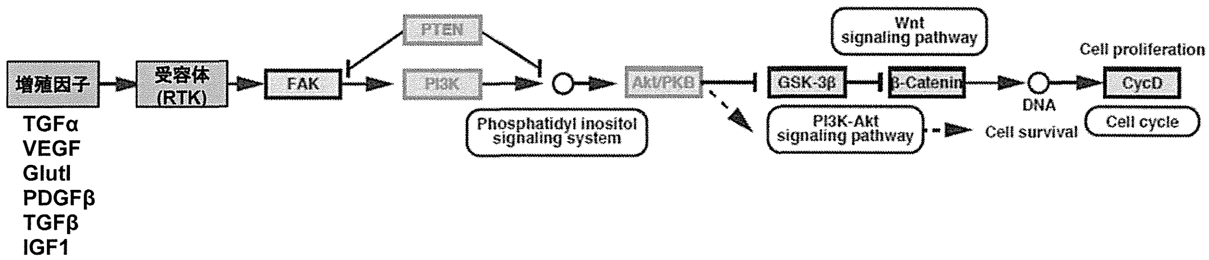

表 2. 各遺伝子にかかる疾患群

Gene associated disorder	
FLT4 / VEGFR3 / VEGFC	・Milroy disease ・Lymphatic metastasis
GJC2 / Connexin 47	・primary hereditary lymphedema ・Leukodystrophy hypomyelinating 2 (HLD2) ・Spastic paraplegia 44 (SPG44) ・Pelizaeus-Merzbacher-like disease-1
FOXC2	・Lymphedema-distichiasis syndrome
SOX18	・Hypotrichosis-lymphedema-telangiectasia syndrome (HLTS)
GATA2	・Dendritic cell monocyte lymphocyte B and natural killer lymphocyte deficiency (DCML) ・ Primary lymphedema with myelodysplasia (LMPM), ・ Myelodysplastic syndrome (MDS)
CCBE1	・ Primary generalized lymphatic anormaly (Hennekam lymphangiectasia-lymphedema syndrome)
KIF11	・Microcephaly with or without chorioretinopathy lymphedema, or mental retardation (MCLMR)
PTPN14	・Choanal atresia and lymphedema (CHATLY) ・ Influence clinical severity of hereditary haemorragic telagiectasia (HHT) ・Frequently mutated in a variety of human cancers
PIK3CA	・Macrocephaly-CM (M-CM or MCAP) ・CLOVES syndrome ・many types of cancer, including cancer of the ovary, breast, lung, brain, and stomach, and colorectal cancer
AKT1	・Proteus syndrome ・cancer (small percentage of breast, ovarian, and colorectal cancers) ・schizophrenia

各遺伝子に関する情報

・ FLT4 (Fms-like tyrosine kinase 4) 遺伝子は、リンパ管系の維持や調整を行うVEGFR3 蛋白をコードする。VEGFR-3/Flt-4 は VEGF-C と VEGF-D に対応して、リンパ管形成を調節していることが知られている。VEGFC や VEGFD が VEGFR3 と結合すると、リンパ管細胞の成長や動きや生存を調整する信号が送られる。

・ GJC2 遺伝子は gap junction protein をコードする。gap junction protein はコネキシンの相同性を持つファミリーの一員である。この遺伝子は中枢の髄鞘形成に重要な役割を担い、末梢では髄鞘形成に関与する。

・ FOXC2 遺伝子は多くの中胚葉由来組織の発生を制御している。出生前に多くの器官や組織を形成する際に重要な役割を担う蛋白の合成を促進する。この蛋白は転写因子であり DNA の特定の領域に結合してその他の多くの遺伝子の活性化の調整を補助する。FOXC2 は、血管、肺、目、腎臓、尿路、心血管系、リンパ管の形成において発達過程で重要な役割を担う。FOXC2 の発現はリンパ管新生のマスター因子である Prox1 が誘導するという報告もある。

・ SOX18 遺伝子は胎児の発育調整や細胞の運命決定に関係する転写因子である SOX(SRY-related HMG-box)ファミリーの一つをコードする。この蛋白は髪の毛、血管、リンパ管などの発育に関係する。

・ GATA2 遺伝子は、転写因子である GATA2 をコードする。DNA に結合して標的遺伝子の発現、及び細胞の性質を制御する因子として知られている。GATA2 は造血幹細胞、造血前駆細胞、内分泌細胞の増殖維持に重要な機能を発揮する。また、血管内皮細胞においてその性質維持に重要であり、同遺伝子の機能が失われると血管内皮細胞の一部が別の細胞に形質転換を起こす事がわかっている。

・ CCBE1 遺伝子は細胞外基質の再構築や移動といった機能を有すると考えられている。胚発生における分泌リンパ管新生、静脈からの発芽に必須である。主に卵巣で発現しているが、卵巣がんのセルラインや癌腫においては下方制御されているため、腫瘍を抑制すると考えられている。