

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業)）

分担研究報告書

難治性血管腫・血管奇形・リンパ管腫・リンパ管腫症および関連疾患についての調査研究

分担課題 血管腫・血管奇形診療ガイドラインの策定

高倉伸幸 大阪大学微生物病研究所 教授

研究要旨：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。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、総論執筆においては、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、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。

#### A．研究目的

本研究は血管腫・血管奇形・リンパ管腫・リンパ管腫症およびその関連疾患を対象とし、診療ガイドラインを策定することを目的としている。

これらの血管、リンパ管疾患を解析して上で、どのように血管が形成されてくるのか、その分子機序、細胞機序を知る必要がある。また、血管奇形の原因について、一部Tie2受容体の遺伝子変異等、西欧において詳しく解析がなされている例もあるが、多くの疾患については、単発的な遺伝子変異の報告はなされてきているが、体系的に解析がまだなされていない状況である。そこで、本研究では、血管奇形の診療ガイドライン策定にむけ、疾患原理の理解のため、これまで血管形成の機序として解明されてきた原理、原則をまとめ、また血管奇形の原因遺伝子として報告されている遺伝子の機能解析の報告をまとめることを目的とした。

#### B．研究方法

従来より、我々は基礎医学者として、血管

形成の分子機序については、見知を有していたが、特に血管奇形に関わる遺伝子について、血管発生および血管新生とどのように関連性があるのかを考察しつつ、血管奇形関連遺伝子の本来有する血管機能の文献的検索を行った。

（倫理面への配慮）

「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守した。

#### C．研究結果

血管形成の細胞機序および分子機序の解析に先立ち、血管の機能について概説を試み、次いで、主に胎児期の血管形成である血管発生/脈管形成の分子機序をまとめた。既存の血管から新しく血管が形成されることを血管新生と呼ぶが、このなかでも発芽的血管新生の分子機序について、最近明らかになってきた、3つの細胞種（tip細胞、stalk細胞、phalanx細胞）についても触れながらまとめた。また、血管の成熟化に関する機構を特に、血管内皮細胞と血管壁細胞との関係でまとめて記載を行った。異常の正常組織の血管形成の細胞および分子機序をまとめた後に、これまで血管奇形に関

連するとされてきた遺伝子について、その遺伝子が本来もつ機能について概略をまとめ、引用文献を含めてまとめた。以下にその成果を列挙する。

#### 1) 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。

#### 2) 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。

#### 3) ENG (Endoglin)

膜糖タンパクでありTGFβのアクセサリ受容体である。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。

#### 4) ACVRL1 (activin-like receptor 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。

#### 5) 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。

#### 6) 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。

#### 7) 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glomovenous malformationsを誘導する。

#### 8) 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。

#### 9) 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。

#### 10) 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。

#### 11) 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。

#### 12) PIK3CA

Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) は、イノシトールリン脂質のリン酸化を誘導する酵素で、このリン酸化によるプロテインキナーゼB (PKB)/Aktの活性化で、細胞の増殖や細胞生存など様々な細胞内シグナルに影響を与える。ゲノム上で知られる8つのPIKと8つのPIK類似遺伝子の中で、PIK3CAにおいて比較的高頻度に腫瘍において特異的遺伝子変異が同定されている。

#### 13) AKT1

12)で記載のPI3K/AKTシグナル経路をになうシグナル分子。多くのがんで過剰な発現および活性化が観察される。

#### 14) STAMBP

STAMBPは脱コビキチン化酵素をコードする遺伝子で、この遺伝子の変異が小頭症毛細血管異形成症候群を発症させることが報告されている。

### D . 考察

これまで既知となってきた血管形成の分子機序の中で、血管奇形の原因遺伝子として報告されている分子の本来有する細胞に対する機能から、どのように血管奇形に関わるのかが若干明らかになってきていることが判明した。特に、Tie2受容体の変異型で恒常的活性型の受容体では、西欧では多くの割合で静脈奇形の原因遺伝子として報告されてきており、今後我が国でも、静脈奇形の遺伝子診断として有用ではないかなどが考察された。

### E . 結論

ISSVA分類に記載のある、各種血管奇形に関連することが報告されてきている遺伝子について、その正常組織における機能を、複数の参考文献からまとめ、血管奇形の原因となる血管における機能を考察した。今後、これらの遺伝子変異の体系的な解析により、疾患別遺伝子変異の頻度や関わりがさらに詳細になると考えられる。

### F . 研究発表

#### 1 . 論文発表

1. Naito H, Wakabayashi T, Kidoya H, Muramatsu F, Takara K, Eino D, Yamane K, Iba T, Takakura N. Endothelial Side Population Cells Contribute to Tumor Angiogenesis and Antiangiogenic Drug Resistance. *Cancer Res* 76 :3200-3210, 2016
2. Hiramatsu M, Hishikawa T, Tokunaga K, Kidoya H, Nishihiro S, Haruma J, Shimizu T, Takasugi Y, Shinji Y, Sugiu K, Takakura N, Date I. Combined gene therapy with vascular endothelial growth factor plus apelin in a chronic cerebral hypoperfusion model in rats. *J Neurosurg* 23: 1-8, 2016

#### 2 . 学会発表

該当なし

### G . 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

#### 1 特許取得

該当なし

#### 2 実用新案登録

該当なし

#### 3 その他

なし