

博士論文（要約）

眼窩内海綿状血管奇形における
新規関連遺伝子変異の同定と機能解析

本郷 博貴

眼窩内海綿状血管奇形は血管奇形疾患の一種であり、単層の血管内皮細胞で形成された多数の拡張した血管腔からなり豊富な間質を伴う組織所見を特徴とする。40~50歳代の女性に好発し、眼球突出、視力低下、斜視などの症状を呈した場合には手術摘出による治療が行われる。血管腫・血管奇形には、本疾患以外にも中枢神経・胸腹部臓器・骨・軟部組織や皮膚など全身に生じる様々な疾患があるが、多発性のものや周囲組織へ浸潤するものなど治療抵抗性の症例もあり、また多くは原因不明で根本的な治療法の確立が求められている。

血管腫・血管奇形疾患においては、これまでいくつかの疾患で関連遺伝子が報告されてきた。変異が同定された遺伝子の機能に着目すると、その多くが RAS-MAPK および PI3K-mTOR の 2 つのシグナル伝達経路上に存在し、同シグナル経路を活性化する変異であることがわかってきた。これら 2 つのシグナル伝達経路は様々な悪性腫瘍との関連がもともと知られている経路であり、血管腫・血管奇形に悪性腫瘍と類似の分子機構が関連している可能性が示唆され注目されている。これに伴い、血管腫・血管奇形の分類法として最も標準的な分類である ISSVA (International Society for the Study of Vascular Anomalies) 分類においても、最新の 2018 年版においては関連遺伝子が付記されるなど、分子生物学的な観点から血管腫・血管奇形の疾患概念が見直されつつある。しかし、眼窩内眼窩内海綿状血管奇形 (ISSVA 分類では静脈奇形に分

類される) においては関連が明らかと言える遺伝子は未だ報告されていない。

そこで本研究では、眼窩内海綿状血管奇形においても、病態に強く関連する遺伝子異常が存在するという仮説を立てた。新規関連遺伝子変異を同定し、さらに同定された遺伝子変異の機能解析まで行うことを目的とした。

まず discovery 解析として、眼窩内海綿状血管奇形 3 例を含む計 16 例の血管腫・血管奇形症例を対象とした解析を行った (東京大学倫理承認番号 G10026, G10028)。サンプルより DNA を抽出後、SureSelect XT Focused Exome (過去にヒト疾患との関連が報告された多型・変異を含む約 6000 遺伝子のエクソンを標的としたキャプチャキット) を用い DNA ライブラリを作成、Hiseq2500 (Illumina) を用いたシーケンスを行った。その結果、非同義変異として、眼窩内海綿状血管奇形では中央値 5 (範囲 3~11) の変異が同定されたが、際立った所見として、眼窩内海綿状血管奇形全 3 例で同一の遺伝子 (ここでは遺伝子 X とする) の変異が共通して認められた。同遺伝子変異はその他の血管腫・血管奇形症例には認められなかった。

そこで、眼窩内海綿状血管奇形の追加 25 症例を対象とした validation 解析を行った。変異解析の方法として droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR) を用いた。その結果、解析が行えた 23 例中 22 例で遺伝子 X 変異が陽性であり Discovery cohort を合計すると、眼窩内海綿状血管奇形 26 例中 25 例

(96.2%) において遺伝子 X 変異が同定された。

また、眼窩内海綿状血管奇形における、遺伝子 X により産生されるタンパク（ここでは Y タンパクとする）の発現領域を調べるため、変異陽性の眼窩内海綿状血管奇形病変に対する免疫組織染色（Y タンパク, CD31（血管内皮細胞マーカー）, α SMA（血管平滑筋マーカー））を行ったところ、Y タンパクは α SMA タンパク陽性細胞において発現が認められる所見であった。

遺伝子 X はチャネルタンパクを産生する遺伝子の一種である。そこで、遺伝子 X 変異がチャネル機能に与える影響を調べるために、*Xenopus oocyte* を用いた whole cell voltage clamp 実験を施行した。野生型 Y タンパク、変異型 Y タンパクを発現させた *oocyte* および陰性コントロール *oocyte* を作成し、各 *oocyte* におけるチャネル電流を測定した。その結果、変異型遺伝子 X 注射 *oocyte* のチャネル電流は、野生型遺伝子 X 注射 *oocyte* の場合と比較し有意に高く、さらにチャネル阻害薬により阻害された。このことより、遺伝子 X 変異がチャネル活性を上昇させる機能獲得型変異であると考えられた。

Y タンパクは血管において発現し、血管形成や血管発達に深く関連していると考えられている。ただし遺伝子 X 変異が眼窩内血管奇形の病態にどのような機序で関連しているかは未だ示されておらず、今後の研究が必要である。

本研究は、遺伝子 X 変異が眼窩内海綿状血管奇形に高頻度に認められること

を明らかにし、分子生物学的な知見が急速に蓄積しつつある全身の血管奇形疾患の分野において、新規の血管奇形関連遺伝子の候補としての可能性を示した。血管奇形の病態に関わる新たな分子学的機序として、今後の血管奇形治療における新規治療法の開発にもつながる可能性があることから、本研究は意義が大きいと考えられる。