

【目的】 血管奇形は異常血管の集簇を特徴とする疾患である。全身の各臓器の機能障害の原因となり、病態解明および新規治療開発が求められている。我々は先行研究において、ギャップ結合タンパク質の一種である GJA4 の変異 *GJA4*c.121G>T (p.Gly41Cys) が眼窩内海綿状血管奇形において高頻度 (25/26 例 [96.2%]) に認められることを同定した。本研究では、動物実験や血管内皮細胞株を用いた細胞実験を行うことでギャップ結合タンパク質機能異常により血管奇形形成に至るメカニズムを解明することを目的とした。

【方法】 動物実験として、マウス受精卵に対する CRISPR/Cas9 システムを用いたゲノム編集を行い、*Gja4*c.121G>T ノックインマウスを作製した。野生型、ヘテロ接合型変異体、ホモ接合型変異体について表現型を比較した。細胞実験として、レトロウイルスベクターにより野生型および変異型 *GJA4* を導入したヒト臍帯静脈内皮細胞株 (human umbilical vein endothelial cells : HUVEC) を作製し、血管奇形の病態への関与が報告されている内皮間葉転換 (Endothelial-to-Mesenchymal Transition : EndMT) 関連遺伝子発現を評価した。

【結果】 遺伝子変異ノックインマウスについて、ヘテロ接合型変異体同士の交配においてホモ接合型変異体の産子が認められず、胎生致死が疑われた。妊娠マウスの帝王切開を行い、胎児を評価したところ、E9.5 では明らかな表現型は認められなかったが、E12.5 には全身皮膚が赤色調になり、一部の皮膚に異常拡張血管を疑う所見が認められた。E14.5 の胎児は既に死亡していた。この結果から、マウスにおいて *Gja4* c.121G>T が有害であることが明らかになった。また、HUVEC を用いた実験については、変異型 *GJA4* 導入 HUVEC において、野生型やコントロールと比較し、血管内皮細胞マーカー *PECAM1* の発現が低下し、EndMT 誘導転写因子 (*KLF4*, *SNAI1*, *ZEB1*, *ZEB2*) の発現が上昇する傾向が認められ、*GJA4*c.121G>T が EndMT を誘導することで血管奇形の病態に寄与する可能性が示唆された。現在、より詳細な動物および細胞実験を行っており、これによりギャップ結合タンパク質異常により血管奇形形成にいたる詳細なメカニズムを明らかにすることを目指している。さらに、病態の詳細な理解が新規治療法開発にまでつながることが期待される。

*Gja4*c.121G>T ノックインマウス胎児の外観

