

新規血管奇形関連遺伝子 *GJA4* 改変モデルマウスを用いた脳血管奇形発症機序の解明

小川正太郎

東京大学医学部附属病院 脳神経外科

【研究の背景】

脳・脊髄血管奇形は、異常血管の集簇を特徴とする中枢神経系疾患であり、脳卒中の主要な原因の一つとして、生命に関わるのみならず身体に重篤な後遺機能障害をもたらす。これまでいくつかの疾患関連遺伝子が報告されたが、詳細な発症機序はいまだ不明であり、根本的な治療法の確立には至っていない。

我々は血管奇形の一つである海綿状血管奇形に関して、新規の疾患関連遺伝子 *Gap Junction Protein Alpha 4 (GJA4)* を同定した¹⁾。細胞壁における細胞間結合・情報伝達に関与する *GJA4* 遺伝子は既知の遺伝子異常とは全く異なる機序で血管病変の形成に関与している可能性がある。

【目 的】

本研究では、我々が独自に作成した *GJA4* 遺伝子変異モデルマウスを使用し、血管発生過程における *GJA4* 遺伝子の果たす役割や、細胞の恒常性維持における細胞間結合や細胞間情報伝達の役割について明らかにすること、さらに新規治療法の開発につなげることを目的とした。

【方 法】

GJA4 変異を組織特異的・時期選択的に発現可能な遺伝子改変マウスを作成した (LSL-*Gja4* conditional knock-in マウス)。このマウスは CRISPR-Cas9 により *GJA4* 変異を導入したものであり、変異遺伝子の upstream に存在する停止配列が Cre 存在下で取り除かれることにより、任意の組織・タイミングで *GJA4* の過剰発現を誘導可能である。上記マウスを発現細胞や発現タイミングを調整可能な Cre マウスと交配することで、*GJA4* の過剰発現が生体に及ぼす影響を検証した。

【結 果】

LSL-*Gja4* conditional knock-in mice をまず、Tie2-Cre マウスと交配し、胎児期に全身の血管内皮細胞に *GJA4* 変異を誘導した。その結果 *GJA4* 変異が発現した全マウスが胎生致死に至り、胎児期マウスを評価したところ全身に血管病変が生じていることが明らかになった。さらに、*GJA4* 変異マウスをタモキシフェン投与下でのみ Cre を発現する Tie2-CreERT2 マウスと交配した。出生後のいくつかのタイミングで *GJA4* の発現を誘導したところ、タモキシフェン投与の投与回数・投与量に依存して、全身の血管異常が増悪し、致死性変化をたどることが明らかになった。

以上から *GJA4* 変異は何らかのメカニズムを介して血管構造の破綻を誘起し、血管病変の形成に寄与することが示唆された。

【考 察】

これまで *GJA4* 変異を誘導した動物モデルは存在しない。我々は時期選択的・組織特異的に *GJA4* 変異を発現し、病変

組織の正確な評価に有用な遺伝子改変マウスを独自に樹立し、血管病変の再現に成功した。引き続き病変の組織学的評価を行っていく。一方で、全身の血管内皮細胞に *GJA4* 変異を誘導したマウスの多くが致死経過をたどり、治療薬の効果判定や病変の経時的変化の評価には不十分である。そのため今後は *Slco1c1-CreERT2* マウスとの交配を行い、任意のタイミングで脳血管内皮特異的に *GJA4* 変異を発現可能なモデルを作成する。このモデルは中枢神経のみに病変が誘導される、よりヒト生体内での CCM 発症に近いモデルである。長期生存も期待できることから、治療薬の効果判定にも使用でき、CCM の根治的治療薬の開発につながる可能性がある。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

我々が新規に同定した *GJA4* は細胞膜において hemichannel および gap junction を形成する分子であり、これまで血管奇形との関連が示唆されてきた分子経路 (RAS-MAPK や PI3K-mTOR pathway) と全く異なる機序で発症に関わっていると考えられる。Gap junction は骨格筋・一部の血球細胞を除くすべての細胞に発現する構造で、電気シグナル・小分子代謝物質・second messenger などの交換による情報伝達に働き、細胞生理の根幹を担っている。血管組織においても、内皮細胞・平滑筋細胞の活動や相互作用において必須の役割を果たしている²⁾。また *GJA4* の変異は、皮膚、肝臓の血管奇形でも認められることが最近報告されており、全身の幅広い種類の血管奇形で driver となっていることが示唆され、*GJA4* の機能解明は全身の血管奇形の発生機序解明、新たな治療法の確立につながる可能性がある。

血管奇形は動脈硬化に伴う脳梗塞・脳出血とは違い、小児期や比較的若年で発症することも多い。患者の長期的な日常生活自立度 (ADL) および生活の質 (QOL) の低下を引き起こし、長期間の治療やリハビリテーションの必要性を生じさせることから、医療経済に対する負担も大きい。本研究の成果は、患者予後の改善効果に加えて、医療費削減などの社会的波及効果も大きい。

【参考・引用文献】

1. Hongo H, Miyawaki S, Teranishi Y, et al. Somatic *GJA4* gain-of-function mutation in orbital cavernous venous malformations. *Angiogenesis*. Feb 2023;26(1):37-52. doi:10.1007/s10456-022-09846-5
2. Gollob MH, Jones DL, Krahn AD, et al. Somatic mutations in the connexin 40 gene (*GJA5*) in atrial fibrillation. *N Engl J Med*. Jun 22 2006;354(25):2677-88. doi:10.1056/NEJMoa052800