

PIKopathy and slow-flow vascular malformations

石黒友也

Tomoya Ishiguro,

大阪市立総合医療センター 脳神経外科

Department of Neurosurgery, Osaka City General Hospital

Key words: PIKopathy, PI3Kinase/AKT/mTOR signaling pathway, slow-flow vascular malformation

1. はじめに

Vascular malformation は脈管形成異常により構成された病変で、頭頸部・四肢・体幹のどこにでも発生し、疼痛・血栓化・感染・出血・外観の変形など様々な症状を引き起こす。International Society for the Study of Vascular Anomalies (ISSVA)分類 (Table)では病変の血行動態によって slow-flow と fast-flow vascular malformation に大別し、その構成成分によって前者には静脈奇形 (venous malformation (VM)), リンパ管奇形 (lymphatic malformation (LM)), 毛細血管奇形 (capillary malformation (CM))が、後者には動静脈奇形・瘻 (arteriovenous malformation/fistula (AVM/AVF))が含まれる^{5,8)}。Vascular malformation の原因遺伝子としては 1990 年代に hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT)や familial mucocutaneous venous malformation (VMCM)の患者の血液細胞から生殖細胞系列の変異 (germline mutation^{*})が発見されたのを機に、2000 年代には血液細胞だけではなく、病変由来の DNA 解析により体細胞系列の変異 (somatic mutation^{*})が検出された。さらに近年では次世代シーケンサーの解析技術の進歩によって、vascular malformation の somatic mutation が次々と発見されている¹²⁾。

これまで発見されている遺伝子異常の多くは、PI3Kinase/AKT/mTOR 経路, RAS/MEK/ERK 経路といった血管新生 (angiogenesis), リンパ管新生 (lymphangiogenesis)に重要なシグナル伝達路上の分子に集中している。PI3Kinase/AKT/mTOR 経路の異常 (PIKopathy)によって生じる vascular malformation は VM や LM といった slow-flow のもので、一方、RAS/MEK/ERK 経路の異常 (RASopathy)は high-flow のものとなる傾向がある^{3,9,12,16)}。これらの経路に關与する遺伝子の変異は主に活性型変異 (gain of function^{*} mutation)であるため、近年では vascular malformation に対してこれらの経路の過剰活性化 (overactivation) を抑える分子標的療法が注目されている。本稿では PI3Kinase/AKT/mTOR 経路と、その異常によって生じる slow-flow vascular malformation について概説する。

Table: ISSVA 分類 (単純型の vascular malformation のみ) (文献 8 より改変)

Malformation	Casative gene
venous malformation (VM)	
common VM	<i>TIE2 (TEK)/PIK3CA</i>
familial mucocutaneous venous malformation (VMCM)	<i>TIE2 (TEK)</i>
blue rubber bleb nevus syndrome (BRBNS)	<i>TIE2 (TEK)</i>
glomovenous malformation (GVM)	<i>Glomulin</i>
cerebral cavernous malformation (CCM)	CCM1: <i>KRIT1</i> , CCM2: <i>Malcavermin</i> , CCM3: <i>PDCD10</i>
familial intraosseous vascular malformation (VMOS)	<i>ELMO2</i>
verrucous venous malformation (formerly verrucous hemangioma)	<i>MAP3K3</i>
others	
lymphatic malformation (LM)	
common (cystic) LM	<i>PIC3CA</i>
– macrocystic LM	
– microcystic LM	
– mixed LM	
generalized lymphatic anomaly (GLA)	
– Kaposiform lymphangiomatosis (KLA)	
LM in Gorham-Stout disease	
channel type LM	
"acquired" progressive lymphatic anomaly (so called acquired progressive "lymphangioma")	
primary lymphedema	
– Nonne-Milroy syndrome	<i>FLT4/VEGFR3</i>
– primary hereditary lymphedema	<i>VEGFC</i>
– primary hereditary lymphedema	<i>GJC2/Connexin 47</i>
– lymphedema-distichiasis	<i>FOXC2</i>
– hypotrichosis-lymphedema-telangiectasia	<i>SOX18</i>
– primary lymphedema with myelodysplasia	<i>GATA2</i>
– primary generalized lymphatic anomaly (Hennekam lymphangiectasia-lymphedema syndrome)	<i>CCBE1</i>
– microcephaly with or without chorioretinopathy, lymphedema, or mental retardation	<i>KIF11</i>
lymphedema-choanal atresia	<i>PTPN14</i>
capillary malformation (CM)	
nevus simplex/salmon patch, "angle kiss", "shork bite"	
cutaneous and/or mucosal CM (also known as "port-wine" stain)	
– nonsyndromic CM	<i>GNAQ</i>
– CM with CNS and/or ocular anomalies (Sturge-Weber syndrome)	<i>GNAQ</i>
– CM with bone and/or soft tissue overgrowth	<i>GNAI1</i>
– diffuse CM with overgrowth (DCMO)	<i>GNAI1</i>
reticulate CM	
– CM of MIC-CAP (microcephaly-capillary malformation)	<i>STAMBP</i>
– CM of MCAP (megalencephaly-capillary malformation-polymicrogyria)	<i>PIK3CA</i>
CM of CM-AVM	CM-AVM1: <i>RASA1</i> , CM-AVM2: <i>EPHB4</i>
cutis marmorata telangiectasia congenita (CMTC)	
others	
telangiectasia	
– hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT)	HHT1: <i>ENG</i> , HHT2: <i>ACVRL1</i> , JPHT: <i>SMAD4</i>
– others	
arteriovenous malformation/fistula (AVM/AVF)	
sporadic	<i>MAP2K1</i>
in HHT	HHT1: <i>ENG</i> , HHT2: <i>ACVRL1</i> , JPHT: <i>SMAD4</i>
in CM-AVM	CM-AVM1: <i>RASA1</i> , CM-AVM2: <i>EPHB4</i>
others	

2. PI3Kinase/AKT/mTOR 経路 (Fig.1)

全ての生物は周囲の環境を感知して、それに応じて適切な応答を行わなければならない。これを可能にしているのが細胞内シグナル伝達である。細胞内に存在する多種多様の因子は外部から受け取った情報を正確に次の因子へ伝え、細胞が環境に適応するための反応を引き起こす。例えば細胞増殖因子 (cell growth factor) や細胞外の栄養状態などのシグナルを統合し、厳密に細胞増殖を制御することで、適切なタイミングで細胞増殖を引き起こし必要以上に細胞が増殖を続けないようにコントロールしている。細胞内シグナル伝達には cAMP やカルシウムイオンなどのセカンドメッセンジャーによるもの、G タンパク質 (G protein^{*}) を介するものなど様々な形式が存在するが、血管新生やリンパ管新生に重要なシグナル伝達路の一つである PI3Kinase/AKT/mTOR 経路はタンパク質、特にチロシン (tyrosine) のリン酸化^{*}を中心としたシグナル伝達路である。

PI3Kinase/AKT/mTOR 経路は細胞の proliferation, angiogenesis, differentiation, survival, metabolism などに直接関与して、細胞周期を調節している^{2,3,9,12}。ヒトにおいてはこの経路の調節不全が癌、自己免疫疾患、血管奇形などの発症と関連づけられている¹³。イノシトールリン脂質 (phosphatidylinositol) は細胞膜を構成するリン脂質の一種で、シグナル伝達系を中心に様々な細胞機能に密接に関与しており、phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) によってリン酸化され、セカンドメッセンジャーとして細胞内に情報を伝える。PI3K はヒトでは class I, II, III のサブクラスに分類され、class II, III の機能に関してはまだ不明な点が多く、細胞増殖制御に関わるシグナル伝達に密接に関与するのが class I である^{2,6,9}。Class I PI3K は触媒サブユニット (catalytic subunit^{*}) である p110 と調節サブユニット (regulatory subunit^{*}) である p85 からなる二量体 (dimer^{*}) で、細胞表面にある G タンパク質共役受容体 (G-protein-coupled receptor (GPCR)), インテグリン (integrin) を介した細胞接着、受容体型チロシンキナーゼ (receptor tyrosine kinase (RTK)) などからの様々な刺激により PI3K が活性化される^{2,6}。RTK には様々な class が同定されており、血管内皮細胞増殖因子受容体 (vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR)) もその一つで、また血管内皮細胞に特異的に発現する RTK として TIE2 (TEK) があり、そのリガンド (ligand^{*}) が血管新生因子である angiopoietin (Ang) である^{2,9,12}。Class I PI3K の触媒サブユニットはさらに p100 α , p100 β , p100 δ に分けられるが、このうち血管形成には p100 α の活性化が不可欠であり、p100 α を不活性化することで sprouting や remodeling 異常を引き起こす⁹。Class I PI3K は細胞膜の微量構成成分の一つであるホスファチジルイノシトール-4,5-ビスリン酸 (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP₂)) をリン酸化して、ホスファチジルイノシトール 3,4,5-トリスリン酸 (phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate (PIP₃)) に変換し、PIP₃ はプレクストリン相同ドメイン (pleckstrin-homology domain^{*} (PH domain)) などと結合して、これを持つ細胞質タンパク質を細胞膜へ recruit する^{2,9,12}。PIP₃ は phosphatase and tensin homolog (PTEN) によって脱リン酸化され PIP₂ となるため、PTEN は PI3K シグナル伝達路の negative regulator として機能する^{2,12}。Class I PI3K と PTEN はいずれも、以下に述べる AKT シグナル伝達の中心的メディエーターであり、これらを encode する遺伝子の変異は多くの癌や血管奇形などで認められる。

Serine-threonine protein kinase AKT (protein kinase B (PKB) の別称) は PH domain を持ち、タンパク質合成促進、遺伝子転写制御、細胞遊走等、多種多様な生理作用に関与しており、また血管新生および代謝において調節的な役割を果たしている。AKT には AKT1,2,3 の 3 種類の isoform^{*} があり、

AKT1 と AKT2 は身体の大部分の組織において発現しているが、血管内皮細胞では AKT1 が主に発現している⁹⁾。AKT には重要なリン酸化部位が threonine308 (Thr308)と serine473 (Ser473)の 2 か所があり、それぞれ 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (ホスホイノシチド依存性キナーゼ 1 (PDK1))と mammalian (mechanistic) target of rapamycin complex 2 (哺乳類ラパマイシン標的タンパク質複合体 2 (mTORC2))によってリン酸化される⁶⁾。PDK1 は PH domain を有するため、PIP3 によって AKT とともに細胞膜上に recruit されることで AKT の Thr308 がリン酸化される。また詳細は分かっていないが、mTORC2 は PIP3 によって活性化して AKT の Ser473 をリン酸化する。この 2 つの部位のリン酸化により活性化した AKT は、その下流にあるターゲットタンパク質をリン酸化することで、細胞増殖・代謝・生存・運動性など様々な細胞活動に関与する。代表的なターゲットタンパク質として tuberous sclerosis complex1/2 (TSC1/2)が挙げられ、AKT によって TSC1/2 は抑制される。また TSC1/2 は生理的状态ではその下流に位置する低分子量 GTPase^{*}である Rheb を抑制する。Rheb は mTOR complex 1 (mTORC1)のキナーゼ活性に必要な刺激因子であるため、したがって AKT によって TSC1/2 を抑制されることで、結果的に mTORC1 が活性化される^{7,10)}。mTOR は serine/threonine kinase で、活性化した mTOR は細胞周期の進行、タンパク質合成、血管新生を促進し、一方で apoptosis を抑制する。mTOR はタンパク質複合体として働き、rapamycin に感受性を示す mTORC1 と、非感受性の mTORC2 がある⁷⁾。mTORC1 の機能の 1 つに mRNA からタンパク質への翻訳 (translation)制御があり、mTORC1 活性を阻害することで mRNA 翻訳が低下する¹⁵⁾。mTORC1 の活性化により、その下流に位置する翻訳開始因子 eIF4E 結合タンパク質 1 (eukaryotic translation initiation factor binding protein 4E (4EBP1))と ribosomal protein S6 kinase 1 (S6K1)がリン酸化される。4EBP1 と S6K1 はいずれも翻訳制御に関わる因子で、活性化することで翻訳開始段階をコントロールするとともに、翻訳を促進して、最終的に血管新生やリンパ管新生におけるタンパク質合成や細胞増殖の促進を調節している^{7,10,14)}。

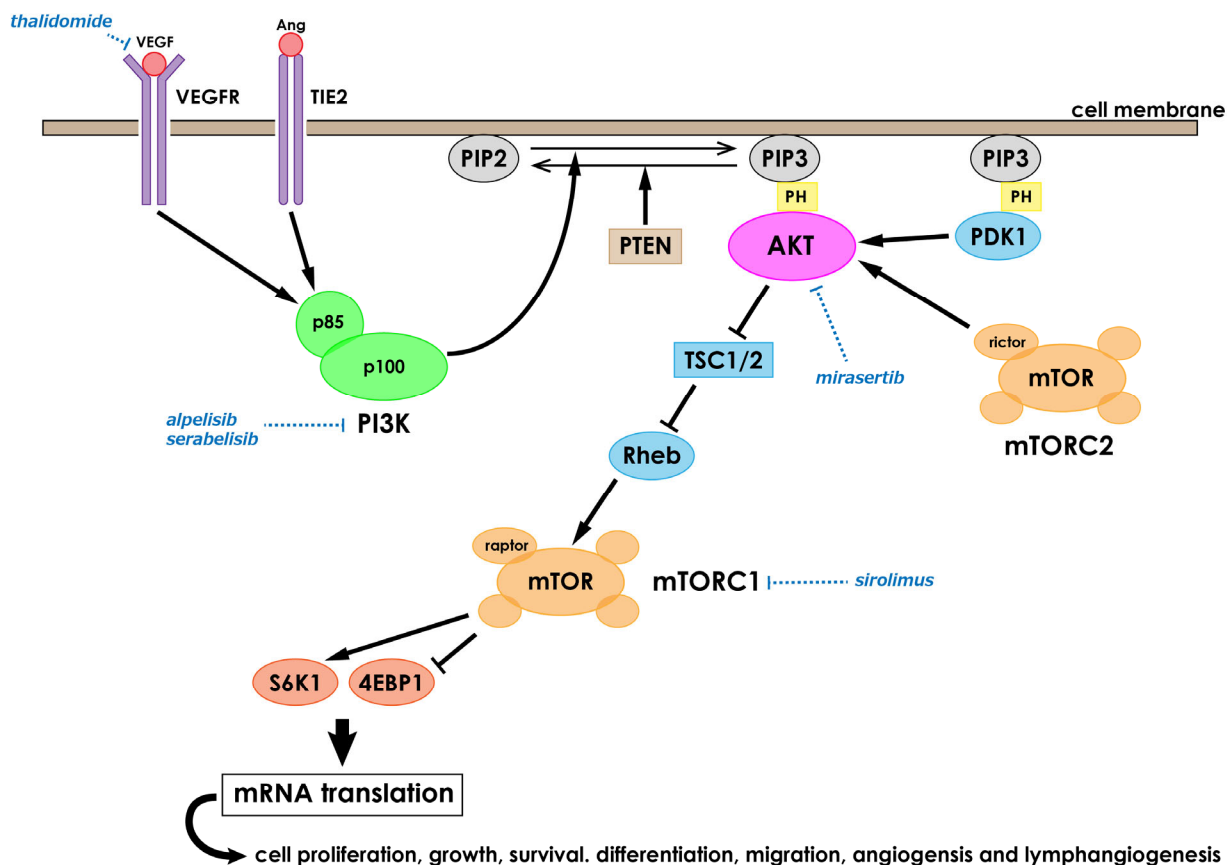


Fig.1: PI3Kinase/AKT/mTOR 経路

血管新生因子や血管内皮細胞増殖因子を受け取った RKT によって PI3K が活性化される。活性化した PI3K は細胞膜上で PIP2 を基質として PIP3 を産生し、それが AKT の活性化につながる。mTORC1 は AKT の下流で活性化され、タンパク質合成を制御している。

3. PIKopathy 関連の slow-flow vascular malformation

PIK3CA 遺伝子は PI3K の触媒サブユニットである p100 α を encode しており、この遺伝子変異は PI3K/AKT/mTOR 経路をより活性化させ、上皮細胞 (epithelial cell) や間葉細胞 (mesenchymal cell) を含めた組織の異常増殖が促進される。PIK3CA 遺伝子の somatic mutation は乳癌や他の固形癌だけでなく、組織肥大を特徴とする過成長症候群 (overgrowth syndrome) を引き起こす^{2,9)}。PIK3CA 関連の過成長症候群は PIK3CA-related overgrowth spectrum (PROS) と呼ばれ、様々な疾患が含まれる (Fig.2)。その代表である CLOVES 症候群は、Congenital Lipomatous Overgrowth, Vascular malformations, Epidermal nevi, Scoliosis/Skeletal and Spinal anomalies の頭文字からきており、2007 年に Snapp らが 7 例の CLOVE 症候群を報告した後に¹³⁾、2009 年に Alomari が脊椎の変形や側弯症、2 分脊椎などの合併も多く認めることから CLOVES 症候群と提唱した¹⁾。PROS の臨床症状は多彩であり、vascular malformation を合併する場合はその多くは VM, LM, CM といった slow-flow vascular malformation である²⁾。PIK3CA 遺伝子の somatic mutation は PROS だけでなく、overgrowth を伴わない孤発性の VM や LM でも多く認められ、Canaud らはこれらを総称し

て” *PIK3CA*-related disorders”といった概念を提唱している²⁾。これは癌を除く *PIK3CA* 遺伝子の somatic mutation による疾患を PROS, *PIK3CA*-related vascular malformations, *PIK3CA*-related nonvascular lesions の3つに分類し、孤発性の VM, LM だけでなく, lymphatic-venous malformation (LVM), capillary-lymphatic-venous malformation (CLVM)といった混合型の slow-flow vascular malformation なども *PIK3CA*-related vascular malformations に含まれる (Fig.2)。孤発性の VM では半数以上で *PIK3CA* 遺伝子の somatic mutation を認めるが³⁾, PI3K/AKT/mTOR 経路の上流である TIE2 受容体を encode する *TIE2* 遺伝子の somatic mutation も半数近くで認められる¹¹⁾。一方, 孤発性の LM では *PIK3CA* 遺伝子の somatic mutation を 70%以上で認める^{3,16)}。また全身性の LM である generalized lymphatic anomaly (GLA)を含む complicated lymphatic anomalies (CLA)も *PIK3CA*-related vascular malformations に含まれる²⁾。 *PIK3CA* 遺伝子変異の hot-spot として helical domain の p.Glu542Lys (E542K)^{*}, p.Glu545Lys (E545K)^{*}や kinase domain の p.His1047Arg (H1047R)^{*}, p.His1047Leu (H1047L)^{*}が知られているが, PROS などの syndromic なものでは non-hot-spot *PIK3CA* 遺伝子変異のこともある^{2,12)}。

Slow-flow vascular malformation の遺伝子変異の大部分は somatic mutation であるが, germline mutation のものも存在する。 *PIK3CA* 遺伝子の germline mutation でも, somatic mutation である PROS と類似の臨床症状を呈することが報告されている⁴⁾。また VM では *TIE2* 遺伝子の germline mutation によって VMCM や blue rubber bleb nervus syndrome (BRBNS)が発症する^{3,12,16)}。

PI3K シグナル伝達路の negative regulator として機能する PTEN は *PTEN* 遺伝子によって encode される^{2,12)}。 *PTEN* 遺伝子の変異は機能喪失型変異 (loss of function^{*} mutation)であるため, 結果的に PI3Kinase/AKT/mTOR 経路は恒常的に活性化する。 PTEN 遺伝子の germline mutation によって PTEN Hamartoma tumor syndrome (PHTS) (Cowden syndrome, Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndrome, Lhermitte-Duclos disease などの総称した疾患概念)が生じる^{2,12,16)}。 PHTS は癌, 過誤腫, 巨頭症などの他に vascular malformation や脂肪組織の overgrowth を合併することがあり, PROS との鑑別を要する²⁾。また PHTS と類似の症候を呈する Proteus syndrome では, 一部で AKT1 を encode する *AKT1* 遺伝子の somatic mutation が指摘されている^{2,16)}。

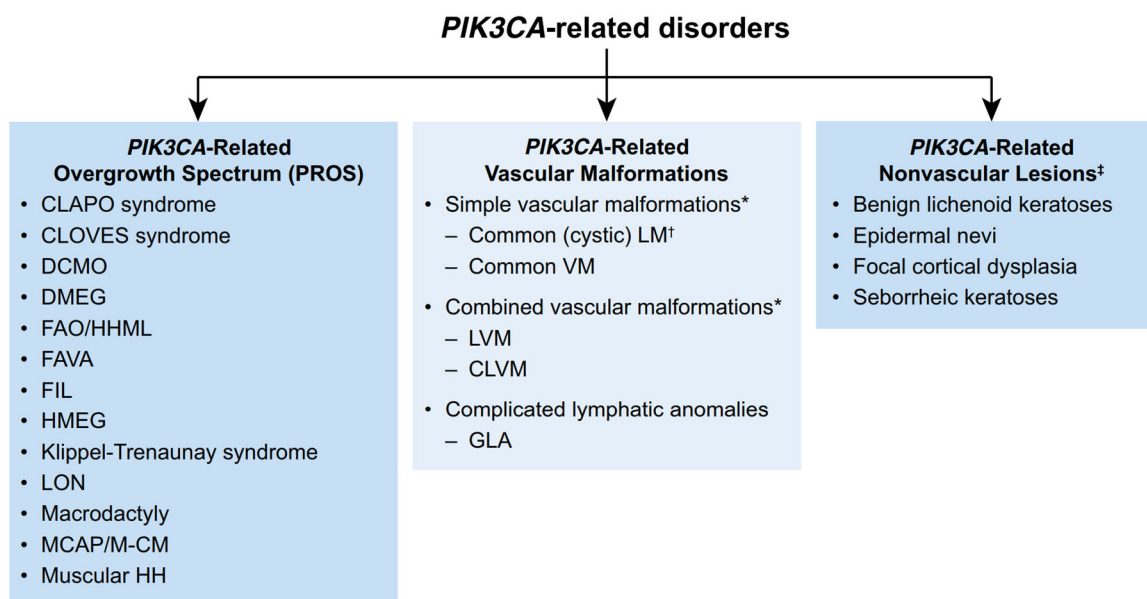


Fig.2: PIK3CA-related disorders (文献 2 より引用)

PIK3CA-related disorders は PROS, vascular malformation, nonvascular lesions の 3 つに大別される。

【略語】 CLAPO: capillary malformation of the lower lip, lymphatic malformation of the face and neck, asymmetry and partial/generalized overgrowth, DCMO: diffuse capillary malformation with overgrowth, DMEG: dysplastic megalencephaly, FAO/HHML: fibroadipose hyperplasia or overgrowth/hemihyperplasia-multiple lipomatosis, FAVA: fibroadipose vascular anomaly, FIL: fibroadipose or facial infiltrating lipomatosis, HH: hemihyperplasia, HMEG: hemimegalencephaly, LON: lipomatosis of nerve, MCAP/M-CM: megalencephaly-capillary malformation.

4. おわりに

PI3K/AKT/mTOR 経路に対する分子標的薬には mTOR 阻害薬である sirolimus, AKT 阻害薬である miransertib, PI3K 阻害薬である alpelisib, serabelisib などがある^{2,9,12,16)}。このような分子標的薬の出現により vascular malformation の治療には paradigm shift が起こっている。これらの薬剤を使用するにあたっては、その基となる PI3K/AKT/mTOR 経路を理解しておかなくてはならない。

【用語】(本文中に*がついているもの)

germline mutation (生殖細胞遺伝子変異): 生殖細胞 (精子や卵子)に遺伝子変異が存在し、したがって常染色体顕性 (優性)遺伝で家族性に発症する。

somatic mutation (体細胞遺伝子変異): 生殖細胞 (精子や卵子)以外の細胞 (体細胞)に存在する突然変異。個体発生のどの時期にも起こりうるが、特に初期と終期に起こりやすい。

gain of function: 遺伝子変異の結果、遺伝子産物が構造変化することによって、他の因子とのタンパク間相互作用が変化するなどして、生理状態では見られない新しい機能を獲得すること

G protein: GDP (グアノシン二リン酸)を信号伝達サイクルの制御に使っている分子スイッチ。GDP が結合すると、G タンパク質は不活性化する。GDP が GTP (グアノシン三リン酸)に置き換えられると G タンパク質は活性化し、信号を伝えるようになる。GTPase は GTP の 3 番目のリン酸を GDP とする加水分解酵素ファミリー。GTPase は通常、細胞内シグナル伝達の必須メディエーターである「分子スイッチ」として機能する。

リン酸化: タンパク質にリン酸基を付加させる化学反応。リン酸化はタンパク質機能 (細胞増殖, アポトーシスなど)の調節や細胞全体のシグナル伝達において主要なメカニズムを担っている。

catalytic subunit (触媒サブユニット): 酵素タンパクで、化学反応の速度を促進させる機能をもつポリペプチド

regulatory subunit (調節サブユニット) : 酵素タンパクで、酵素全体の反応を調節するポリペプチド

dimer (二量体) : 2つの同種の分子やサブユニット (単量体)が重合して生成する物質.

ligand (リガンド) : 特定の受容体に特異的に結合する物質. 通常、標的タンパク質上の結合部位に結合することでシグナルを生成する分子.

domain (ドメイン) : 特定の機能や DNA の対応するセグメントに関連するタンパク質の特定の物理的領域またはアミノ酸配列.

Pleckstrin-homology domain (プレクストリン相同ドメイン (PH ドメイン)) : 約 120 のアミノ酸残基からなるタンパク質ドメインで、細胞内輸送、細胞情報伝達、細胞骨格再構築に関与する非常に多様なシグナル伝達タンパク質に認められる.

isoform : 基本的な機能に関するアミノ酸残基は共通しているが、他の部分のアミノ酸配列は異なるタンパク質.

GTPase : GTP の 3 番目のリン酸を GDP とする加水分解酵素ファミリー. GTPase は通常、細胞内シグナル伝達の必須メディエーターである「分子スイッチ」として機能する.

rapamycin : イースター島の土壌細菌から単離された、抗真菌作用を持つマクロライド化合物.

p.○○ (アミノ酸 A)xx(数字)◎◎ (アミノ酸 B) : 遺伝子変異のタンパク質レベルでの記載法で、p.は protein の頭文字. 数字はアミノ末端から数えたアミノ酸の番号で、アミノ酸 A がアミノ酸 B に置換されたことを示す (nonsynonymous (missense)変異).

loss of function : 遺伝子変異の結果、生理状態で認められるタンパク質を生成できなくなり、そのタンパク質の機能が失われること.

参考文献 :

1. Alomari AI: Characterization of a distinct syndrome that associated complex truncal overgrowth, vascular, and acral anomalies: a descriptive study of 18 cases of CLOVES syndrome. Clin Dysmorphol 18: 1-7, 2009
2. Canaud G, Hammil AM, Adams D, et al: A review of mechanisms of disease across PIK3CA-related disorders with vascular malformations. Ophanet J Rare Dis 2021 Jul 8;16(1):306.doi: 10.1186/s13023-021-01929-8
3. Clapp A, Shawber CJ, Wu JK: Pathophysiology of slow-flow vascular malformations;

- current understanding and unanswered questions. *J Vasc Acom (Phila)* 4(3): e069. Published online 2023 Jul 10. doi: 10.1097/JOVA.000000000000069
4. Cooley Coleman JA, Gass JM, Srikanth S, et al: Clinical and functional characterization of germline PIK3CA variants in patients with PIK3CA-related overgrowth spectrum disorders. *Hum Mol Genet* 32: 1457-1465, 2023
 5. Enjolras O. Classification and management of the various superficial vascular anomalies: hemangiomas and vascular malformations. *J Dermatol* 24: 701-710, 1997
 6. Graupera M, Potente M: Regulation of angiogenesis by PI3K signaling networks. *Exp Cell Res* 2013 May 15;319(9):1348-55. doi: 10.1016/j.yexcr.2013.02.021. Epub 2013 Mar 13
 7. Hori Y, Ozeki M, Hirose K, et al: Analysis of mTOR pathway expression in lymphatic malformation and related disease. *Pathol Int* 2020 Jun;70(6):323-329. doi: 10.1111/pin.12913. Epub 2020 Feb 18
 8. International Society for the Study of Vascular Anomalies 2018 Classification. <https://www.issva.org/classification>
 9. Kobińska P, Sabata H, Vilata O, et al: The onset of PI3K-related vascular malformations occurs during angiogenesis and is prevented by the AKT inhibitor miransertib. *EMBO Mol Med* 2022 Jul 7;14(7):e15619. doi: 10.15252/emmm.202115619. Epub 2022 Jun 13
 10. Kopeć J, Sałacińska-Łoś E, Orzechowska M, et al: mTOR pathway substrates present high activation in vascular malformations and significantly decrease with age. *Diagnostics (Basel)* 2023 Dec 25;14(1):38. doi: 10.3390/diagnostics14010038
 11. Limaya N, Wouters V, Uebelhoer M, et al. Somatic mutations in angiopoietin receptor gene TEK cause solitary and multiple sporadic venous malformations. *Nat Genet* 41: 118-124, 2009
 12. Queisser A, Seront E, Boon LM, et al: Genetic basis and therapies for vascular anomalies. *Circ Res* 129: 155-173, 2021
 13. Sapp JC, Turner JT, van de Kamp JM, et al: Newly delineated syndrome of congenital lipomatous overgrowth, vascular malformation, and epidermal nevi (CLOVE syndrome) in seven patients. *Am J Med Genet A* 143: 2994-2958, 2007
 14. 高原照直, 前田達哉: ストレス刺激に回答した TOR 複合体 1 (TORC1)の活性制御機構. *生化学* 3: 205-213, 2013
 15. Thoreen CC, Chantranupong L, Keys HR, et al: A unifying model for mTORC1-mediated regulation of mRNA translation. *Nature* 485: 109-113, 2012
 16. Zúñiga-Castillo M, Teng CL, Teng JMC: Genetics of vascular malformation and therapeutic implications. *Curr Opin Pediatr* 31: 498-508, 2019