



available at www.sciencedirect.com



journal homepage: www.elsevier.com/locate/annpla



Pathogénie et génétique des anomalies vasculaires

Pathogenesis and genetics of vascular anomalies

M. Vikkula

Laboratoire de génétique moléculaire humaine, institut de pathologie cellulaire Christian-de-Duve, université catholique de Louvain, 74, avenue Hippocrate, 1200 Bruxelles, Belgique

MOTS CLÉS

Angiogenèse ;
Hémangiomes ;
Malformations
vasculaires ;
Génétique

Résumé Les anomalies vasculaires sont des défauts localisés de l'angiogenèse. Elles se classifient en deux catégories : les tumeurs vasculaires (hémangiomes) et les malformations vasculaires. L'hémangiome représente la tumeur bénigne la plus répandue chez les nourrissons. Il apparaît dans les premières semaines de vie, se développe rapidement pour ensuite disparaître spontanément, mais lentement. En revanche, les malformations vasculaires, secondaires à un déficit congénital du développement vasculaire, sont présentes dès la naissance, bien qu'elles ne puissent devenir apparentes que des jours, des semaines, voire des années après. La transmission de la plupart des anomalies vasculaires est non héréditaire. Néanmoins, l'étude génétique de cas familiaux a permis l'identification de trois gènes responsables de malformations vasculaires, à savoir : 1) le gène *TIE2*, à l'origine des malformations veineuses mucocutanées (MVMC) ; 2) le gène *glomuline*, responsable des malformations glomuveineuses (MGV) ; et 3) le gène *RASA1*, causant un nouveau phénotype intitulé malformations capillaires-malformations artérioveineuses (MC-MAV). L'identification de ces gènes a permis de renforcer le diagnostic clinique et de l'étayer. Actuellement, des études sont en cours afin de mettre au point de nouvelles thérapies, plus adéquates, et de mieux comprendre les mécanismes moléculaires responsables du développement des lésions vasculaires.

© 2006 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

KEYWORDS

Angiogenesis;
Hemangioma;
Vascular malformations;
Genetics

Abstract Vascular anomalies, divided into vascular tumors and vascular malformations, are localized defects of angiogenesis. Hemangiomas appear soon after birth, grow quickly, and then spontaneously, but slowly, disappear. In contrast, vascular malformations are congenital defects of vascular development that grow proportionately with the child. Most vascular anomalies are considered non-hereditary. However, due to detailed analysis inherited forms have been observed, which has led to identify mutations in three genes causing familial vascular malformations: in the angiopoietin receptor *TIE2* in mucocutaneous venous malformations (VMCM), in glomulin in glomuvenous malformations (GVM) and in *RASA1* in the newly recognized phenotype capillary malformation-arteriovenous malformation (CM-AVM). Identification of the causative genes has permitted more precise diagnosis and differential diagnosis, evaluation of phenotypic variability among patients with a proven mutation, study of used treatments in more homogeneous patient groups, and elucidation of the etiopathogenic mechanism.

Adresse e-mail : vikkula@bchm.ucl.ac.be (M. Vikkula).

isms behind vascular malformations. Further studies are needed to unravel the role of genetic variations in the various vascular malformations and to unravel the precise molecular mechanisms that lead to development of these vascular lesions. This should provide development of new-targeted therapies.

© 2006 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Introduction

La compréhension des mécanismes moléculaires du développement du système lymphatique et vasculaire a permis une meilleure compréhension de l'étiopathogénie des anomalies vasculaires. Des études utilisant des modèles murins *in vivo*, ainsi que des techniques de biologie cellulaire et moléculaire, ont permis l'identification et la décodification du mécanisme d'action de plusieurs gènes codant pour des facteurs de croissance, des récepteurs ou des facteurs de transcription impliqués dans le développement du système lymphatique et vasculaire.

Le développement du système lymphatique et vasculaire commence par la différenciation des hémangioblastes (dérivés du mésoderme) en hémocytoblastes (précurseurs des cellules sanguines) et angioblastes (précurseurs des cellules endothéliales). Les angioblastes se réunissent dans des structures luminaires, les îlots sanguins, qui fusionnent pour donner naissance à un réseau primitif de structures vasculaires, le plexus capillaire primaire. Ce processus constitue la vasculogénèse. Ensuite, les vaisseaux primitifs se ramifient, les branches inutiles sont coupées et des cellules murales non endothéliales sont recrutées afin d'assurer la structure et la fonction des futurs vaisseaux sanguins ; l'angiogénèse est née. De manière concomitante, les vaisseaux se différencient en artères, capillaires et veines et le réseau lymphatique se développe à partir des veines cardinales.

Les anomalies vasculaires sont définies comme des lésions localisées des vaisseaux lymphatiques et/ou vasculaires. D'un point de vue histologique, les anomalies vasculaires ont un aspect tortueux et élargi. La majorité des cas semble être sporadique, sans histoire familiale. Cependant, des études génétiques sur quelques cas familiaux rares ont permis l'identification d'un nombre de gènes et de leurs mutations responsables des anomalies vasculaires. L'étude de ces nouveaux gènes et de leurs facteurs régulateurs est d'un grand intérêt pour le développement de nouvelles thérapies. Elle permet une meilleure compréhension des mécanismes étiopathogéniques des anomalies vasculaires, et ainsi une meilleure classification.

Anomalies vasculaires

Bien que les anomalies vasculaires soient souvent cutanées, elles peuvent aussi se développer sur un organe interne tel que le foie, les poumons et le tube digestif. Les anomalies vasculaires se classifient dans deux grandes catégories : les tumeurs vasculaires, avec la plus fréquente l'hémangiome, et les malformations vasculaires.

Hémangiome

L'hémangiome infantile (HI) touche environ 10-20 % des nouveau-nés. Cette tumeur bénigne apparaît quelques semaines après la naissance sous la forme d'une macule érythémateuse qui grandit très vite au cours de la première année de vie. Après cette phase proliférative, assez courte, l'hémangiome entame une lente phase d'involution (régression), qui peut durer jusqu'à dix ans. Histologiquement, elle se caractérise par une apoptose intense qui laisse la place à un tissu résiduel graisseux ou fibrograisseux. L'étiologie des hémangiomes est encore un mystère qui reste à élucider, même si de nombreux facteurs angiogéniques ont déjà été mis en évidence dans ces tumeurs vasculaires. Boye et al. ont récemment démontré que les cellules endothéliales provenant des HIs prolifératifs sont clonales, et que *in vitro*, ces cellules présentent une vitesse de prolifération et de migration différente de celles des cellules endothéliales normales [1]. Ces résultats suggèrent que les HIs soient induits par une altération intrinsèque d'un ou plusieurs gènes importants pour la prolifération des cellules endothéliales [1]. Il a également été prouvé que les cellules endothéliales des HIs expriment des gènes similaires à ceux du placenta, du cordon ombilical et des cellules souches de la moelle. Dès lors, une origine placentaire ou via les cellules souches circulantes est possible. L'association d'hémangiomes avec certains déficits de développement, comme décrit dans le syndrome Phaces, pourrait conduire à l'identification de facteurs génétiques potentiels chez les patients présentant un hémangiome ; néanmoins, aucune anomalie cytogénétique n'a pu être mise en évidence.

Malformations vasculaires

Bien que les hémangiomes représentent l'anomalie vasculaire la plus fréquente, les malformations vasculaires restent la pathologie la plus couramment rencontrée dans les cliniques spécialisées dans le traitement des angiomes. En fonction du vaisseau atteint, elles se divisent en artérioveineuses, capillaires, lymphatiques et veineuses. Cette classification biologique, fondée sur des critères cliniques, radiologiques et histologiques, est d'une grande utilité pour le diagnostic précis des malformations vasculaires, ainsi que pour l'étude de leur étiologie. Le fait que ces lésions soient, habituellement, présentes dès la naissance et qu'elles se développent proportionnellement à l'enfant, suggère une étiologie intra-utérine. Néanmoins, d'autres facteurs additionnels sont probablement impliqués dans la localisation, l'aspect ou la taille de ces malformations vasculaires.

Malformations veineuses

La plupart des malformations veineuses sont sporadiques. Néanmoins, il existe quelques familles où la malformation se transmet sous le mode autosomique dominant [2,3]. L'étude génétique (par analyses de liaison) de ces familles a permis d'identifier le facteur responsable des malformations veineuses mucocutanées familiales (MVMC) sur le chromosome 9p. Étant donné que les patients analysés présentaient des lésions veineuses cutanées et muqueuses, cette pathologie a été appelée MVMC (malformation veineuse mucocutanée). L'identification de cette pathologie fut le point de départ pour le clonage positionnel du gène muté, que nous avons identifié comme étant le récepteur de l'angiopoïétine, TIE2, spécifique aux cellules endothéliales vasculaires [3]. Une même mutation ponctuelle (substitution simple d'un acide aminé, R849W) a été identifiée dans deux des familles étudiées. Cette même mutation se retrouve dans trois autres familles [4-6] et une seconde substitution d'un acide aminé dans une autre famille [4].

La substitution R849W est localisée dans le domaine intracellulaire du récepteur tyrosine-kinase TIE2. In vitro, cette mutation augmente l'activité de phosphorylation de ce récepteur. Étant donné que la voie de signalisation régulée par ce récepteur est essentielle pour la survie des cellules endothéliales, il est possible que les malformations veineuses mucocutanées soient causées par une augmentation de la survie des cellules endothéliales. Par ailleurs, l'absence de cellules murales dans les malformations veineuses suggère une altération dans la signalisation entre les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses.

La majorité des anomalies veineuses familiales ne sont néanmoins pas liées au chromosome 9p. Une nouvelle analyse de liaison du génome entier a démontré une liaison avec le chromosome 1p22 [7]. Ces résultats prouvent que les lésions de ces patients ont une base étiologique différente. Cliniquement, ces lésions veineuses ont des caractéristiques spécifiques qui permettent de les différencier des MVMCs et des MVs sporadiques : elles sont bleu-pourpre, nodulaires et douloureuses à la palpation [8]. Le clonage positionnel a permis d'identifier le gène muté, appelé *glomuline* à cause de la présence histologique de « cellules murales glomiques » [9]. Ces lésions veineuses, anciennement connues sous le nom de « glomangiomes » et « tumeur glomique », furent récemment rebaptisées « malformation glomuveineuse », car il s'agit de malformations vasculaires et non de tumeurs. La fonction du nouveau gène *glomuline* reste, à ce jour, inconnue. Son expression est limitée aux cellules musculaires lisses des vaisseaux et non aux cellules endothéliales. Cela suggère que les MGVs sont probablement dues à un déficit de différenciation des cellules musculaires des vaisseaux [10]. Une des mutations identifiée, 157delAAGAA, est présente dans plus de 50 % des patients atteints de MGVs. Cela s'explique par le partage d'un gène ancestral commun, présent dans la majorité des familles. La recherche de quatre autres mutations communes donne une efficacité de diagnostic des MGV de 70 % des patients investigués [11] (Brouillard et al., non-publié). Les 30 % restants ayant une mutation plus rare, le criblage en est plus complexe.

Les analyses génétiques des patients atteints de MGVs ont montré qu'au moins 70 % sont héréditaires [8]. La grande variabilité phénotypique retrouvée parmi les patients

atteints de MGVs, même au sein d'une même famille, et la présence de personnes porteuses de mutation, mais ne développant pas de lésions, suggèrent que toutes les MGVs sont héréditaires. En effet, de petites lésions punctiformes peuvent passer inaperçues, même si un autre membre de la famille présente une importante MGV.

Étant donné que la majorité des mutations du gène *glomuline* cause des codons stop prématurés, il est probable que ces mutations entraînent une perte de fonction de la protéine [11]. En fait, le niveau de transcription de la *glomuline* dans le tissu des MGVs est extrêmement bas. Cela suggère la nécessité d'une perte complète de *glomuline* pour qu'une MGV se développe (McIntyre et al., non publié). Cette hypothèse est renforcée par la découverte d'une seconde mutation dans le gène *glomuline* dans une MGV réséquée [9]. La mutation héréditaire ainsi que la mutation somatique créant, toutes deux, des codons stop prématurés, le scénario le plus probable est celui d'une perte complète mais localisée de la fonction de *glomuline* dans ces lésions. Les GVMs obéissent donc à un mode de transmission héréditaire paradominant, ce qui pourrait être le cas pour d'autres anomalies vasculaires localisées. Cette hypothèse est très attrayante puisqu'elle permettrait d'expliquer le nombre important, et en constante augmentation, de lésions que présentent des individus avec des antécédents familiaux, à l'inverse des patients sporadiques qui n'ont habituellement qu'une seule lésion [8]. Par ailleurs, cette hypothèse d'une seconde mutation somatique pourrait également expliquer la nature localisée de ces lésions, et leur variation en taille et en nombre.

Malformations capillaires

Les malformations capillaires sont les plus fréquentes parmi les malformations vasculaires. Environ 0,3 % de la population est atteinte par cette anomalie. Histologiquement, ces lésions se caractérisent par une dilatation locale des capillaires.

L'analyse génétique de nombreuses familles atteintes de MCs a démontré son caractère potentiellement héréditaire. Un locus a été identifié sur le chromosome 5q (CMC1) [12]. Une analyse plus détaillée des patients dans six de ces familles a permis de discerner des critères cliniques spécifiques et de découvrir une nouvelle entité clinique baptisée MC-MAV pour « Malformation Capillaire-Malformation Artérioveineuse ». Les lésions capillaires sont atypiques ; elles sont petites, multiples, de forme ronde ou ovoïde et de couleur rose-rougeâtre-gris avec parfois un halo blanc périlésionnel. Certains patients présentent également, en plus de leur MC, une malformation ou une fistule artérioveineuse. Un patient, dans ces six familles initialement étudiées, présente un syndrome de Parkes-Weber, phénotype rare impliquant l'existence de plusieurs microfistules artérioveineuses, d'une hypertrophie du tissu mou et/ou des os, et d'une tache vasculaire cutanée [13]. Une association phénotypique similaire a été observée dans 24 familles additionnelles chez lesquelles, une mutation dans le gène *RASA1* a été identifiée (Revencu et al., en préparation). Étant donné le nombre important de patients présentant une lésion à flux rapide, et la pénétrance élevée des mutations dans *RASA1* (> 95 %), il est essentiel de diagnostiquer les patients atteints de cette entité afin de pouvoir leur admi-

nistrer un suivi, traitement et conseil génétique personnalisés. Le meilleur indice est la présence d'une MC cutanée atypique [13] (Revenu et al., en préparation).

Les malformations vasculaires à flux rapide ont toujours été considérées comme non héréditaires, à l'exception de celles présentes dans la maladie d'Osler-Weber-Rendu (de localisation pulmonaire, cérébrale et hépatique) et dans le syndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba [14]. La reconnaissance des MC-MAV démontre que des malformations artérioveineuses cutanées et sous-cutanées peuvent également avoir une cause génétique. La grande variabilité observée dans le phénotype des patients atteints soulève de nombreuses questions : pourquoi ces lésions se développent-elles uniquement localement ? Quelle est l'entière du spectre phénotypique ? Et quel est le risque de développer des lésions à flux rapide chez les porteurs de mutation ? Des analyses plus étendues sur la relation génotype-phénotype chez les individus atteints, ainsi que des études in vivo sur des modèles murins, sont nécessaires pour répondre à ces questions. À l'heure actuelle, il semble évident, sur la base des premières familles étudiées, que cette pathologie est loin d'être rare [12].

Dans les six familles analysées, les individus atteints avaient des mutations dans le gène *RASA1* (ou *p120RasGAP*) responsables de codons stop prématurés [15]. Une perte de fonction de la protéine et une haplo-insuffisance étant, dès lors, plus que probable, une transmission paradominante, comme déjà suggérée pour les MGVs, pourrait être impliquée. *RASA1* est, en réalité, une protéine intracellulaire de petite taille qui induit l'activité GTPase de la protéine RAS. La vitesse de conversion du complexe GTP-RAS en GDP-RAS en est augmentée, ce qui a pour effet l'inhibition de son activité, dès l'activation du récepteur du facteur de croissance. Un autre homologue du RasGAP est la neurofibrine. Cette protéine est mutée chez les patients atteints de neurofibromatose. Sachant que l'activation de Ras est impliquée dans de nombreuses formes de cancer, il est surprenant que des mutations dans *RASA1* soient à l'origine de phénotypes vasculaires spécifiques. Néanmoins, plusieurs modèles murins knock-out pour des facteurs impliqués dans la voie de signalisation Ras, et dont les embryons à l'état homozygote ne sont pas viables, démontrent une dysmorphogénèse vasculaire. C'est le cas pour les souris mosaïques composées du type sauvage et de cellules *Rasa1* knock-out qui présentent toutes deux, une importante désorganisation vasculaire telle que la présence de branches aortiques ventrales anormales. On peut donc en conclure que *RASA1* a une fonction spécifique dans les vaisseaux sanguins ou que le système vasculaire est plus sensible que tout autre organe aux altérations de la fonction de *RASA1*. Étant donné son implication dans le cancer, plusieurs études sont en cours pour identifier des agents modulateurs de l'activité de la voie de signalisation de Ras. Certaines de ces molécules pourraient être utilisées dans le traitement des MC-MAV. À l'heure actuelle, le rôle de cette voie dans l'étiopathogénèse des MCs n'est pas connu.

Malformations lymphatiques (ML)

Les malformations lymphatiques, comme les malformations vasculaires, sont habituellement des lésions cutanées. Elles peuvent néanmoins atteindre d'autres parties du corps.

Aucune analyse génétique de liaison n'est possible, étant donné l'absence de cas familiaux de MLs. C'est pourquoi, l'étiopathogénie des MLs est toujours inexplicée. Les données disponibles sur le dysfonctionnement de la lymphangiogénèse nous viennent des études génétiques des lymphoedèmes qui sont souvent familiaux.

Le lymphoedème se caractérise par un gonflement de la partie du corps atteint par la lésion, le plus souvent les membres inférieurs. Ce gonflement est causé par une accumulation de liquide lymphatique dans les espaces interstitiels suite à un dysfonctionnement du système lymphatique. Le lymphoedème peut apparaître lorsque les vaisseaux lymphatiques n'existent pas ou sont non-fonctionnels (lymphoedème congénital primaire). Des études génétiques ont démontré que le lymphoedème primaire est causé par une mutation ponctuelle (une substitution d'acide aminé) dans le récepteur VEGFR3 (récepteur 3 pour le « vascular endothelial growth factor ») qui joue un rôle crucial dans la lymphangiogénèse normale et pathologique [16]. Des expériences in vitro ont démontré la perte de la capacité d'autophosphorylation du récepteur suite à cette mutation. Ces patients ayant un allèle normal dans le tissu atteint, une thérapie utilisant les ligands du VEGFR3 (à savoir VEGF-C et VEGF-D) pourrait être envisagée. Plusieurs études réalisées sur des modèles murins évoluent dans ce sens et sont donc très encourageantes. Jusqu'à présent, aucune preuve n'existe confirmant le rôle du VEGFR3 et de sa voie de signalisation en aval dans les malformations lymphatiques.

Deux autres gènes sont impliqués dans le lymphoedème : il s'agit de deux facteurs de transcription, le *FOXC2* et le *SOX18*. Des mutations dans *FOXC2* sont responsables du syndrome de lymphoedème-distichiasis. Les patients atteints de ce syndrome ont presque invariablement une double rangée de cils (distichiasis), ainsi qu'un lymphoedème d'un membre inférieur. La plupart des mutations dans *FOXC2* créent des codons stop prématurés, entraînant une perte de fonction et une altération de l'expression des gènes cibles. *FOXC2* inhibe entre autre l'expression du PDGF-B (facteur de croissance plaquettaire bêta). En conséquence, les patients ayant des mutations dans *FOXC2* ont un facteur PDGF-B sur-exprimé et donc un recrutement anormal de cellules vasculaires musculaires lisses dans les parois des vaisseaux lymphatiques périphériques. Ces patients manifestent souvent des symptômes dans d'autres organes, comme le cœur et le crâne, démontrant ainsi les effets pléiotropiques de *FOXC2*.

Dans deux familles cosanguines, deux mutations récessives causant des substitutions d'acides aminés dans le domaine liant l'ADN au facteur *SOX18* ont été identifiées. Ces mutations sont responsables du syndrome HLT (hypotrichose-lymphoedème-télangiectasie) [17]. Un autre changement nucléotidique, cette fois-ci dominant et conduisant à un codon stop prématuré, a également été identifié dans une troisième famille. Cette mutation est localisée dans le domaine transactivateur du *SOX18*. Il reste encore à déterminer si ces mutations causent une simple perte de fonction ou si elles ont des effets dominants négatifs. La fonction, la régulation ainsi que les gènes cibles de *SOX18* sont peu connus à ce jour. Il en est de même du rôle de *SOX18* dans les malformations lymphatiques. Des études moléculaires

plus complexes sont attendues, afin de pouvoir clarifier tous ces aspects.

Conclusion

Il est actuellement clairement établi que l'angiogenèse joue un rôle crucial dans le développement embryonnaire et l'apparition de diverses maladies. C'est la raison pour laquelle un nombre croissant de facteurs angiogéniques et/ou antiangiogéniques ont été identifiés et deviennent d'excellents candidats pour déterminer les causes et étudier les mécanismes étiopathogéniques des anomalies vasculaires. L'identification de groupes homogènes de malformations, sur la base de critères cliniques, de profil d'expression et de déficit moléculaire, devrait permettre d'initier des études plus sensibles et plus spécifiques à la recherche d'un traitement pour ses anomalies vasculaires congénitales.

Remerciements

L'auteur remercie les patients, ainsi que les membres de leurs familles, pour leur participation aux études génétiques et pour leur contribution inestimable à l'avancement des recherches dans le domaine des anomalies vasculaires. Il en est de même pour les organismes qui ont soutenu financièrement la réalisation de ces études, à savoir : PAI (pôles d'attraction interuniversitaires) initié par la politique scientifique fédérale Belge, network 5/25 ; ARC (actions de recherche concertées-convention n° 02/07/276 du ministère de la Communauté française de Belgique ; NIH (National Institute of Health, Program Project P01 AR048564-01A1) ; Union européenne-FW6 Integrated project LYMPHANGIOGENOMICS, LSHG-CT-2004-503573 et FNRS (Fonds national de la recherche scientifique). Toutes les subventions ont été accordées à M.-V., « Maître de recherches du FNRS ». L'auteur remercie également Mme L. Niculescu pour son aide dans la mise en page de ce document.

Références

- [1] Boye E, Yu Y, Paranya G, Mulliken JB, Olsen BR, Bischoff J. Clonality and altered behavior of endothelial cells from hemangiomas. *J Clin Invest* 2001;107:745-52.
- [2] Boon LM, Mulliken JB, Vikkula M, Watkins H, Seidman J, Olsen BR, et al. Assignment of a locus for dominantly inherited venous malformations to chromosome 9p. *Hum Mol Genet* 1994;3:1583-7.
- [3] Vikkula M, Boon LM, Carraway 3rd KL, Calvert JT, Diamonti AJ, Goumnerov B, et al. Vascular dysmorphogenesis caused by an activating mutation in the receptor tyrosine kinase TIE2. *Cell* 1996;87:1181-90.
- [4] Gallione CJ, Pasyk KA, Boon LM, Lennon F, Johnson DW, Helmbold EA, et al. A gene for familial venous malformations maps to chromosome 9p in a second large kindred. *J Med Genet* 1995;32:197-9.
- [5] Wang H, Zhang Y, Toratani S, Okamoto T. Transformation of vascular endothelial cells by a point mutation in the TIE2 gene from human intramuscular haemangioma. *Oncogene* 2004;23:8700-4.
- [6] Nobuhara Y, Onoda N, Fukai K, Hosomi N, Ishii M, Wakasa K, et al. TIE2 gain-of-function mutation in a patient with pancreatic lymphangioma associated with blue rubber-bleb nevus syndrome: report of a case. *Surg Today* 2006;36:283-6.
- [7] Boon LM, Brouillard P, Irrthum A, Karttunen L, Warman ML, Rudolph R, et al. A gene for inherited cutaneous venous anomalies ("glomangiomas") localizes to chromosome 1p21-22. *Am J Hum Genet* 1999;65:125-33.
- [8] Boon LM, Mulliken JB, Enjolras O, Vikkula M. Glomuvenous malformation (glomangioma) and venous malformation: distinct clinicopathologic and genetic entities. *Arch Dermatol* 2004;140:971-6.
- [9] Brouillard P, Boon LM, Mulliken JB, Enjolras O, Ghassibe M, Warman ML, et al. Mutations in a novel factor, glomulin, are responsible for glomuvenous malformations ("glomangiomas"). *Am J Hum Genet* 2002;70:866-74.
- [10] McIntyre BAS, Brouillard P, Aerts V, Gutierrez-Roelens I, Vikkula M. *Glomulin* is predominantly expressed in vascular smooth muscle cells in the embryonic and adult mouse. *Gene Expr Patterns* 2004;4:351-8.
- [11] Brouillard P, Ghassibe M, Penington A, Boon LM, Domp Martin A, Temple IK, et al. Four common glomulin mutations cause two thirds of glomuvenous malformations ("familial glomangiomas"): evidence for a founder effect. *J Med Genet* 2005;42:e13.
- [12] Eerola I, Boon LM, Watanabe S, Grynberg H, Mulliken JB, Vikkula M. Locus for susceptibility for familial capillary malformation ("port-wine stain") maps to 5q. *Eur J Hum Genet* 2002;10:375-80.
- [13] Eerola I, Boon LM, Mulliken JB, Burrows PE, Domp Martin A, Watanabe S, et al. Capillary malformation arteriovenous malformation, a new clinical and genetic disorder caused by RASA1 mutations. *Am J Hum Genet* 2003;73:1240-9.
- [14] Mulliken JB, Young AE. *Vascular birthmarks: hemangiomas and vascular malformations*. Philadelphia: WB Saunders Company; 1988.
- [15] Boon LM, Mulliken JB, Vikkula M. RASA1: variable phenotype with capillary and arteriovenous malformations. *Curr Opin Genet Dev* 2005;15:265-9.
- [16] Irrthum A, Karkkainen MJ, Devriendt K, Alitalo K, Vikkula M. Congenital hereditary lymphedema caused by a mutation that inactivates VEGFR3 tyrosine kinase. *Am J Hum Genet* 2000;67:295-301.
- [17] Irrthum A, Devriendt K, Chitayat D, Matthijs G, Glade C, Steijlen PM, et al. Mutations in the transcription factor gene SOX18 underlie recessive and dominant forms of hypotrichosis-lymphedema-telangiectasia. *Am J Hum Genet* 2003;72:1470-8.