

平成 19 年 7 月 13 日

第 1 回 FOP 研究班班会議

## 進行性骨化性線維異形成症 (FOP) に関する基礎研究の進歩

埼玉医科大学ゲノム医学研究センター

病態生理部門 片桐 岳 信

進行性骨化性線維異形成症 (Fibrodysplasia Ossificans Progressiva, FOP) は、小児期に発症し、徐々に体幹から末梢の筋組織からへ異所性骨化が進行する遺伝性疾患である。ごく最近まで、FOP の発症原因は不明で、異所性骨形成の分子メカニズムも不明な点が多かった。しかし、2006 年、ペンシルバニア大学整形外科の Frederick S. Kaplan 教授らのグループにより、FOP の責任遺伝子が報告され (Shore et al, *Nat. Genet.* **38**:525, 2006)、FOP の発症原因に関する研究が急速に進展しつつある。

FOP と類似した筋組織内における異所性骨化は、酸で脱灰した骨基質を移植することで誘導できることが知られていた。この活性本体は、Transforming Growth Factor- $\beta$  と相同性の高い Bone Morphogenetic Protein (BMP) と呼ばれる成長因子であることが明らかになっている。BMP には 15 種類以上の因子が同定されているが、特に BMP-2/4、BMP-5/6/7/8、GDF-5/6/7 に強い骨誘導活性が認められる。

筋芽細胞 (C2C12 細胞) の培養系に BMP を添加すると、成熟した筋細胞への分化が完全に抑制され、代わりに骨芽細胞の分化マーカーの発現が誘導される。BMP 以外にも筋分化を抑制する因子は数多く報告されているが、これらの中で筋芽細胞から骨芽細胞分化を誘導する因子は BMP しか報告されていない。筋組織中で異所性骨化を誘導する生理活性物質も BMP しか見いだされておらず、C2C12 細胞を用いた実験系は BMP の異所性骨誘導活性をよく反映したモデルと考えられる。

BMP の細胞内シグナルは、細胞膜に存在する 2 種類の膜貫通型セリンスレオニン受容体によって伝達される。BMP を結合した II 型受容体が I 型受容体をリン酸化し、それによって活性化された I 型受容体が細胞室内で Smad、p38 MAP キナーゼ、PI3 キナーゼ、JNK 等の情報伝達系を活性化する。種々の BMP が結合する受容体は、3 種類の II 型受容体と 4 種類の I 型受容体で組合せが異なると考えられている。

一連の BMP シグナルは、細胞外、細胞膜、細胞質、核内などで、さまざまな因子によって正または負に制御されることが知られている。FOP における骨化が BMP による骨形成と類似していることから、以前から BMP シグナルの伝達因子の異常が FOP の発症に關与する可能性が指摘されてきた。実際、1996 年にはリンパ球における BMP-4 の過剰産生が報告され、1999 年には BMP のアンタゴニストである Noggin 遺伝子の欠失が報告された。また、2001 年には Smad1 を含む第 4 染色体の領域と FOP の関連が遺伝学的連鎖解析から指摘されていた。

埼玉医科大学では、FOP の責任遺伝子を同定するために「FOP 診療・研究プロジェクト」を組織して、国内の FOP 患者の遺伝子解析に取り組んだ。その過程で、2006 年 4 月、Kaplan と Shore らのグループが、家族性 FOP の遺伝子解析から、BMP 受容体の一種である ACVR1/ALK2 遺伝子に共通して認められる変異を同定した。埼玉医科大学を含めていくつかの国内研究機関が遺伝子解析を行い、本邦でも、検討した全例で ALK2 遺伝子の 617 番目の塩基がグアニン (G) からアデニン (A) に置換したヘテロ接合体であることを確認した。

この ALK2 遺伝子における変異は、206 番のアルギニン残基からヒスチジン残基への置換を引き起こす。すでに 1995 年、ALK2 の 207 番に相当するアミノ酸を酸性アミノ酸に置換すると、リガンド非依存的に細胞内シグナルが活性化される構成的活性型変異体となることが報告されていた。このような現象は、ALK2 のみならず、このファミリーの I 型受容体に共通して認められる現象であった。

FOP で見いだされた変異は、受容体を活性化する変異の近傍であったことから、我々は FOP の R206H 変異を導入した ALK2 受容体の機能を検討した。その結果、受容体の基質となる Smad1 のリン酸化が BMP 非依存的に誘導されること、さらに、その Smad の標的遺伝子のプロモーターが活性化されることを確認した。これらの結果は、FOP の発症機序の一部が、ALK2 受容体の変異による構成的活性化が原因である可能性を示している。

従って、FOP に対する有効な治療薬を開発するためには、この活性化された ALK2 受容体を阻害するような Smad7 や他の生理活性物質、あるいは Smad1/5/8 の発現を亢進させるようなシグナルに対する阻害剤が望ましいと考えられた。今後、このような阻害剤を開発するためには、C2C12 細胞のような *in vitro* のモデルに加え、*in vivo* の病態モデルも必須と考えられる。

07/13/07  
難治性疾患克服研究事業  
骨性軟骨化症に関する基礎研究  
進行性骨化性線維異形成症研究班  
平成19年度 第1回総会

## 進行性骨化性線維異形成症 (FOP) に関する基礎研究の進歩

片桐 岳信  
埼玉医科大学ゲノム医学研究センター  
病態生理部門

### Fibrodysplasia Ossificans Progressiva (進行性骨化性線維異形成症)

*Shafritz et al (1990) N. Engl. J. Med. 323:555-561*

### Bone Morphogenetic Protein (BMP)

Unit (1969) Science 122:843-849

Wozney et al (1988) Science 242:1538-1539

### BMP-2はC2C12細胞の筋分化を抑制し 骨芽細胞への分化を誘導する

Control

BMP-2

*Katagiri et al (1994) J. Cell Biol. 127:1753-1766*

### BMPによるC2C12細胞の分化制御

BMP・TGF-β ↓

筋管細胞  
Myogenin  
トロポニンT  
ミオシン重鎖

BMP ↑

骨芽細胞  
Runx2/Cbfa-1  
Osterix  
ALP  
オステオカルシン  
PTH受容体

### BMPの細胞内情報伝達系

筋分化の抑制・骨芽細胞への分化誘導

### TGF-βファミリーのリガンド・受容体

	Ligand	Type II R	Type I R	
BMPs	BMP-2/4	BMPR-II	BMPR-IA	骨形成
	GDF-5	ActR-II	BMPR-IB	
	BMP-7	ActR-IIB	ACVR1/ALK2	
	BMP-9		ALK1	
TGF-β/ Activin	TGF-β	TβR-II	TβR-I	増殖 癌
	Activin	ActR-II	ActR-IB	
	Nodal	ActR-IIB	ALK7	

*Massague and Chen (2009) Genes Dev. 23:2753-2810*

### BMP活性の調節因子

### FOPとBMPシグナル関連遺伝子



- ☞ 14q22-q23: BMP-4 (1996)
- ☞ 17q21-22: Noggin (1999)
- ☞ 4q27-q31: Smad1? (2000)



### 埼玉医科大学 FOP診療・研究プロジェクト

[http://www.saitama-med.ac.jp/medlinks/saitama\\_univ\\_fop/web-content/index.html](http://www.saitama-med.ac.jp/medlinks/saitama_univ_fop/web-content/index.html)

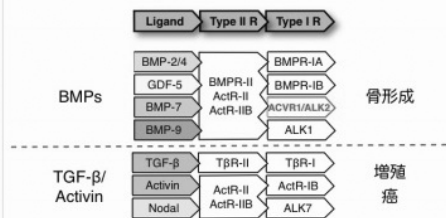
BRIEF COMMUNICATIONS  
nature genetics  
published online 23 April 2006

#### A recurrent mutation in the BMP type I receptor ACVR1 causes inherited and sporadic fibrodysplasia ossificans progressiva

Eileen M Shore<sup>1,2</sup>, Mojib Xie<sup>1,2</sup>, George J Feldman<sup>1,2</sup>, David A Teitelbaum<sup>1,2</sup>, The FOP International Research Consortium, Matthew A Brown<sup>3</sup> & Frederick S Kaplan<sup>1,2,4</sup>

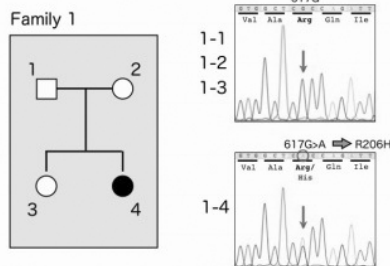
Fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP) is a rare autosomal dominant disorder of skeletal malformations and progressive ectodermal ossification. We mapped FOP to chromosome 2q23-24 by linkage analysis and identified an identical heterozygous mutation (G7C>A, G506H) in the glyco-serine (GS) activation domain of ACVR1, a BMP type I receptor, in all affected individuals examined. Protein modeling predicts destabilization of the GS domain, consistent with constitutive activation of ACVR1 as the underlying cause of the ectopic chondrogenesis, osteogenesis and joint fusion seen in FOP.

### TGF-βファミリーのリガンド・受容体

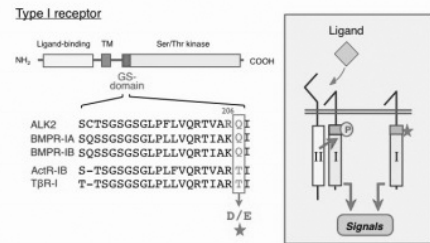


Massague and Chen (2009) *Genes Dev.* 23:2751-2810

### FOPにおけるACVR1/ALK2遺伝子の変異

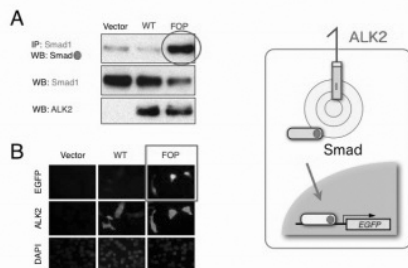


### GSドメインのアミノ酸置換によるI型受容体の活性化



Weiner et al (1995) *EMBO J* 14:2199-2208

### ALK2(R206H)は構成的活性型である



### FOP治療薬の可能性

