

進行性骨化性線維異形成症の異所性骨化に対する予防薬に関する研究

研究分担者 鬼頭 浩史 名古屋大学大学院医学系研究科整形外科 講師

研究要旨 1040 種類の薬剤を用いた薬効スクリーニング法により、カルシウム拮抗薬である Fendiline と Perhexilene が、C2C12 細胞における BMP シグナルを抑制することを確認した。

A. 研究目的

進行性骨化性線維異形成症 (FOP) では炎症などを契機として BMP レセプター (ALK2) の恒常的活性化が生じ、その標的遺伝子である Id1 の発現が促進することにより異所性骨化が進行する。本研究の目的は、Id1 遺伝子のプロモーター領域に作用し、その発現を抑制する薬剤を薬効スクリーニング法により同定することである。

B. 研究方法

FOP における ALK2 の遺伝子変異 (R206H) をベクターを用いてマウス筋芽細胞株 C2C12 細胞に遺伝子導入し、BMP シグナルを恒常的に強制発現させる。次に、Id1 遺伝子のプロモーター領域を含むルシフェラーゼベクターをその細胞株に導入し、ルシフェラーゼによるプロモーターアッセイ系を確立する。米国食品医薬品局 (FDA) で認可されている 1040 種類の薬剤をこの系に添加して、ルシフェラーゼ活性を測定することにより、BMP シグナルを抑制する薬剤を同定する。

同定した薬剤の *in vitro* における骨芽細胞への分化抑制効果は、骨形成マーカー (骨型アルカリフォスファターゼなど) の測定により評価する。また、ラットの筋肉内に BMP-2 を注射して異所性骨化モデルを作製し、同定した薬剤の *in vivo* にお

ける骨組織形成抑制能を検討する。

C. 研究結果

複数回にわたり全薬剤についてスクリーニングを施行し、その結果を統計的に解析したところ、カルシウム拮抗薬である Fendiline hydrochloride (Fendiline) と Perhexilene malate (Perhexilene) が Id1 のプロモーターを抑制しうる薬剤であることを確認した。これらの薬剤は、濃度依存性にルシフェラーゼによる発光量および Id1mRNA の発現を抑制した。C2C12 細胞の骨芽細胞分化のマーカーであるアルカリフォスファターゼも同様に、これらの薬剤により濃度依存性に活性の低下を認めた。

D. 考察

Fendiline はカルシウム拮抗以外の作用として、カルシウム感受受容体のアゴニストとも考えられている。一方、Perhexilene は再発冠動脈疾患に対する有用性が認められている。しかし、両薬剤ともに骨形成抑制作用についての報告はない。

本研究はすでに認可されている薬剤を用いたスクリーニングであるため、研究成果の臨床応用がただちに可能となる。

FOP は進行性の異所性骨化により関節不動化をきたし ADL が著しく低下するが、外

科的侵襲は炎症を惹起するため禁忌とされている。本研究により FOP における異所性骨化を抑制する薬剤が同定されれば、新たな骨化の予防に役立つだけでなく、その薬剤の術前投与により、異所性骨化の外科的切除が可能になるかもしれない。また、異所性骨化による開口障害や胸郭運動制限を予防することで、FOP 患者の予後改善に結びつく可能性もある。

E. 結論

1040 種類の薬効スクリーニングにより、カルシウム拮抗薬である Fendiline および Perhexilene が Id1 遺伝子のプロモーター活性を抑制し、アルカリフォスファターゼ活性を抑えることを明らかにした。今後、これらの薬剤の作用機序を明らかにするために、SMAD を中心とした細胞内シグナルの変動と、動物実験における骨組織形成抑制効果の検討をさらに進める必要がある。

F. 研究発表

1.論文発表

該当なし

2.学会発表

該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし