

京都大学	博士（医学）	氏名	日野 恭介
論文題目	Neofunction of ACVR1 in fibrodysplasia ossificans progressiva (進行性骨化性線維異形成症における変異 ACVR1 の新たな機能)		
(論文内容の要旨)			
<p><b>【背景と目的】</b> 進行性骨化性線維異形成症 (fibrodysplasia ossificans progressiva、以下 FOP)は、筋、腱、靭帯といった線維性結合組織内に骨化巣が出現する非常に稀な遺伝性疾患である。外傷、外科的侵襲、感染などの炎症を惹起するエピソードにより骨化が劇的に進行するフレアーアップと称される現象を特徴とする。原因遺伝子は、BMP の I 型受容体の 1 つである ACVR1 (別名 ALK2) の経配偶子性点突然変異であることがすでにわかっており、変異 ACVR1 (以下 FOP-ACVR1) のリガンド非依存的な恒常活性化能や、リガンド依存的な過剰活性化能が疾患の原因と考えられてきた。しかし、これら従来の仮説では、フレアーアップで骨化が劇的に進行するメカニズムが説明できない。そこで今回、FOP-ACVR1 のみで BMP シグナルを伝達するリガンドの同定を試み、その異所性骨形成における詳細なメカニズムを解析した。</p> <p><b>【方法】</b> FOP 患者由来 iPS 細胞と、その FOP-ACVR1 を野生型に修復した FOP 患者由来 iPS 細胞をそれぞれ間葉系間質細胞 (FOP-及び resFOP-iMSCs)へと誘導し、BMP 応答配列を用いた Luciferase アッセイ (BRE-Luc assay)にて FOP-iMSCs のみで BMP シグナルを伝達するリガンドを探索した。また、その結果同定した Activin-A の、in vitro における軟骨分化や、in vivo における異所性骨形成への作用を解析した。</p> <p><b>【結果】</b> ①BMP が含まれる TGF-βスーパーファミリーのリガンド約 30 種類について、BRE-Luc assay を用いて FOP-及び resFOP-iMSCs への作用を検討した。その結果、本来は BMP シグナルを伝達しないはずの Activin-A が FOP-iMSCs のみで BMP シグナルを伝達することが明らかとなった。Activin-A は炎症時に分泌されることがわかっており、フレアーアップ時の骨化に関与している可能性があると考えられた。 ②FOP の異所性骨は、主に内軟骨性骨化で形成されることから、in vitro における軟骨分化への Activin-A の作用を検討した。その結果、Activin-A が FOP-iMSCs で顕著に軟骨分化を促進することが示された。 ③免疫不全マウスに FOP-及び resFOP-iMSCs と Activin-A を発現するマウス細胞を共移植し、6 週間経過観察した。その結果、産生された Activin-A の作用により、FOP-iMSCs を移植した部分にのみ異所性骨が形成された。</p> <p><b>【結論】</b> FOP 患者の異所性骨形成過程に予想外のリガンドである Activin-A が関与しているという新規のメカニズムが明らかになった。今回得られた知見は、新規 FOP 治療剤のスクリーニングに非常に有用である。</p>			

(論文審査の結果の要旨)
<p>進行性骨化性線維異形成症 (fibrodysplasia ossificans progressiva、以下 FOP)は、筋、腱、靭帯等の線維性結合組織内に骨化巣が出現する稀な遺伝性疾患である。外傷等の炎症を惹起するエピソードにより骨化が劇的に進行するフレアーアップと称される現象を特徴とする。原因遺伝子は BMP の I 型受容体の 1 つである ACVR1 であり、変異 ACVR1 (以下 FOP-ACVR1)のリガンド非依存的な恒常活性化能や、リガンド依存的な過剰活性化能が疾患の原因と考えられてきた。しかし、これら従来の仮説では、フレアーアップで骨化が劇的に進行するメカニズムが説明できない。そこで今回、患者由来 iPS 細胞を用いて、FOP における異所性骨形成の分子機構の解明を試みた。</p> <p>まず、FOP 患者由来 iPS 細胞と、その FOP-ACVR1 を野生型に修復したアイソジェニック細胞をそれぞれ間葉系間質細胞 (mesenchymal stromal cell、MSC) へと誘導し(FOP-及び resFOP-iMSCs)、FOP-iMSCs 特異的なリガンドを探索した。その結果、本来は BMP シグナルを伝達しない Activin-A が FOP-iMSCs のみで BMP シグナルを伝達することが明らかとなった。</p> <p>次に、FOP の異所性骨は、主に内軟骨性骨化で形成されることから、in vitro における軟骨分化への Activin-A の作用を検討した。その結果、Activin-A が FOP-iMSCs で顕著に軟骨分化を促進することが示された。</p> <p>最後に、免疫不全マウスに FOP-及び resFOP-iMSCs と Activin-A を発現するマウス細胞を共移植し、6 週間経過観察した。その結果、FOP-iMSCs を移植した部分にのみ異所性骨が形成された。これらの結果から、FOP 患者の異所性骨形成過程に Activin-A が関与しているという新規のメカニズムが明らかとなった。</p> <p>以上の研究は FOP の異所性骨形成過程の解明に貢献し新たな治療薬の開発に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 4 月 25 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。</p>