

substitution in ALK2, Arg to His in codon 206 within the OS domain. This hypothesis was confirmed by our finding that levels of receptors following activation by Smad1 and Smad5, two downstream signal transducers for the BMP receptors, were increased during muscle regeneration. Substitutions of codon Gln207 to aspartic acid in ALK2 and homologous positions in other type I receptors in the TGF- $\beta$  superfamily result in constitutive activation of the serine/threonine kinases of these receptors without binding of ligands (26,29-31). These findings led us to examine whether ALK2(R206H) is activated in FOP as a BMP receptor. As shown here, we found that ALK2(R206H) induces BMP-specific signaling via phosphorylation of Smad1/5/8 even in the absence of BMPs or type II receptors, although the osteoblastic differentiation-inducing activity of ALK2(R206H) was weaker than those of BMPRIA(Q233D) and ALK2(Q307D) (Fig. 3A, and data not shown). Ours is thus the first study to elucidate biochemically that ALK2(R206H), the mutant receptor commonly identified in FOP, acts as a mild constitutively activated BMP type I receptor. The ALK2(R206H) mutation found in FOP is the first case of a natural gain-of-function mutation among the TGF- $\beta$  superfamily receptors.

Injury of muscle tissue induces local heterotopic bone formation in patients with FOP (33-35). We speculated that

additional signals may be altered in response to muscular injury. This hypothesis was confirmed by our finding that levels of Smad1 and Smad5, two downstream signal transducers for the BMP receptors, were increased during muscle regeneration. Moreover, co-expression of ALK2(R206H) with Smad1 or Smad5 synergistically induced myoblasts to show increased phenotypic expression related to osteoblastic differentiation. These findings suggest that the heterotopic bone formation in patients with FOP may, in part, be caused by cooperative activity of the constitutively activated BMP receptor [ALK2(R206H)] with trauma-induced up-regulation of Smad1 and Smad5. Although up-regulation of Smad1 and Smad5 in patients with FOP should be examined, tissue samples from patients with FOP are not available since biopsy and surgery must be avoided in such patients in order to prevent induction of heterotopic bone formation.

Moreover, treatments with BMPs further stimulated the osteoblastic differentiation of C2C12 myoblasts expressing ALK2(R206H) (Fig. 4). We and others have identified BMP-4 and other osteogenic BMPs in serum in vertebrates (25,36,37), and BMP-4 has been found to be over-expressed in lymphocytes in FOP (20).

It might thus be possible that myoblasts in FOP patients are exposed to BMP ligands

through bleeding after muscle injury, and that these events cooperatively stimulate the process of heterotopic bone formation further in muscle tissue.

Interestingly, over-expression of wild-type ALK2 moderately inhibited myogenesis in the absence of BMPs and suppressed the ALP activity induced by BMPs. Since wild-type ALK2 did not induce detectable levels of the BMP-specific Smad pathway in the absence of BMPs (Fig. 1F), a non-Smad pathway might also play a role in this receptor inhibition (32). Alternatively, wild-type ALK2 may bind to other ligands rather than BMPs in our culture conditions. Activin appears to be a possible ligand of ALK2, since it has been shown to be present in the circulation (38) and to suppress both myogenesis and osteoblastic differentiation *in vitro* (39,40). Moreover, ALK2 was shown originally to bind to activin in the presence of appropriate type II receptors (41,42). Further studies will be required to test this hypothesis.

At present, no treatments are available to prevent heterotopic bone formation in FOP. Recently, the unique small molecule dorsomorphin was identified as a specific inhibitor of Smad-dependent signaling induced by BMP type I receptors (28). Since dorsomorphin was found to inhibit the BMP-specific signaling induced by the ALK2(R206H) mutant receptor, this

compound provides proof of concept for intracellular signal transduction inhibition in the design of novel drugs for the treatment of FOP. As Smad7 is an intrinsic intracellular molecule, drugs that induce Smad7 expression might be useful as well. The findings presented here suggest that not only ALK2(R206H), but also a novel type of signaling that induces Smad1/5, are potential targets of treatment in patients with FOP. Unfortunately, however, we were unable to test these possibilities *in vivo* since there is no suitable *in vivo* model system reflecting the phenotypes of FOP. We are currently attempting to establish new mouse models of FOP using ALK2(R206H). We will, in the near future, be able to examine the inhibitory effects of dorsomorphin and other compounds *in vivo* using these models.

In conclusion, we identified the ALK2(R206H) mutation in Japanese FOP patients. ALK2(R206H) is the first case of identification of a naturally activated BMP type I receptor in vertebrates. We found that Smad1 and Smad5 were induced in response to muscular injury and may play important roles in heterotopic bone formation after injury of muscle tissue in FOP. Molecules including dorsomorphin and Smad7 will aid establishment of novel methods of treatment of FOP.

7. Wozney, J. M., Rosen, V., Celeste, A. J., Mittleman, B., Whitters, M. J., Kriz, R. W., Hewick, R. M., and Wang, E. A. (1989) *Science* **242**, 1528-1534
8. Glaser, D. L., Economides, A. N., Wang, L., Liu, X., Kimble, R. D., Fandi, J. P., Wilson, J. M., Stahl, N., Kaplan, F. S., and Shore, E. M. (2003) *J Bone Joint Surg Am* **85-A**, 2332-2342
9. Miyazono, K., Maeda, S., and Imamura, T. (2005) *Cytokine Growth Factor Rev* **16**, 251-263
10. Katagiri, T., Suda, T., and Miyazono, K. (2008) *In The TGF- $\beta$  Family*, Miyazono, K., and Derynck, R., editors. Cold Spring Harbor Press, New York, pp 121-149
11. Arahata, M., Moren, A., Jostan, S., Itoh, S., Sampath, K., Westermarck, B., Heldin, C. H., Heldin, N. E., and ten Dijke, P. (1998) *Biochem Biophys Res Commun* **249**, 505-511
12. Katagiri, T., Imada, M., Yama, T., Suda, T., Takahashi, N., and Kamejiro, R. (2002) *Genes Cells Dev* **7**, 649-660
13. Takase, M., Imamura, T., Sampath, T. K., Takeda, K., Ichijo, H., Miyazono, K., and Kawabata, M. (1998) *Biochem Biophys Res Commun* **244**, 26-29
14. Imamura, T., Takase, M., Nishihara, A., Oeda, E., Hanai, J., Kawabata, M., and Miyazono, K. (1997) *Nature* **389**, 622-626
15. Nakano, A., Afrakhte, M., Moren, A., Nakayama, T., Christian, J. L., Henchel, R., Itoh, S., Kawabata, M., Heldin, N. E., Heldin, C. H., and ten Dijke, P. (1997) *Nature* **389**, 631-635
16. Fiori, J. L., Billings, P. C., de la Pena, L. S., Kaplan, F. S., and Shore, E. M. (2006) *J Bone Miner Res* **21**, 902-909
17. Gannon, F. H., Kaplan, F. S., Ohnishi, E., Finkel, G. C., Zaslaff, M. A., and Shore, E. M. (1997) *Hum Pathol* **28**, 330-341
18. Kaplan, F. S., Fiori, J., L.S. D. L. P., Abu, J., Billings, P. C., and Shore, E. M. (2006) *Ann N Y Acad Sci* **1068**, 54-65
19. Kaplan, F. S., Tabas, J. A., and Zaslaff, M. A. (1996) *Calcif Tissue Int* **47**, 117-125
20. Shultz, A. B., Shore, E. M., Gannon, F. H., Zaslaff, M. A., Tsui, R., Muenke, M., and Kaplan, F. S. (1996) *N Engl J Med* **335**, 555-561
21. Shore, E. M., Xu, M., Feldman, G. J., Fentemacher, D. A., Cho, T. J., Choi, I. H., Connor, J. M., DeLu, P., Glaser, D. L., LeMerrer, M., Morhart, R., Rogers, J. G., Smith, R., Triffin, J. T., Utzberger, J. A., Zaslaff, M., Brown, M. A., and Kaplan, F. S. (2006) *Nat Genet* **38**, 523-527
22. Nakajima, M., Haga, N., Takikawa, K., Maunabe, N., Nishimura, G., and Ikegawa, S. (2007) *J Hum Genet* **52**, 473-475
23. Katagiri, T., Yamaguchi, A., Konaki, M., Abe, E., Takahashi, N., Ikeda, T., Rosen, V., Wozney, J. M., and Wang, E. A. (1989) *Science* **242**, 1528-1534

#### Acknowledgments

We thank the patients and their relatives, and the Japanese FOP patient advocacy group, J-FOP-Hikari, in particular, for their cooperation. We also thank Drs. T. Abe, Y. Mizuno, Y. Yasuoka, T. Hirata (Saitama Medical University), N. Haga, H. Kawabata, and H. Kisho (The Research Committee on Fibrodysplasia Ossificans Progressiva of the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan) for their excellent technical assistance and valuable comments and discussion. We are grateful Dr. J. A. Langer and Okinawa Prefectural Institute of Health and Environment for pDEF3 and habu venom, respectively. This work was supported in part by a grant-in-aid from Saitama Medical University Internal Grants (to TK), a grant-in-aid from Health and Labour Sciences Research Grants for Research on Measures for Intractable Diseases (to TF), a grant-in-aid from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology of Japan (to TK and TF), by Japan Intractable Diseases Research Foundation, by Sanjyo Foundation of Life Science (to TK), by the Kawano Masazori Memorial Foundation for Promotion of Pediatrics (to TK), by the Novo Nordisk Award for Growth and Development (to TK), by The Center for Research in FOP and Related Disorders at The University of Pennsylvania (Penn), The International FOP Association, The Ian Call Endowment (Penn), The Weldon Family Endowment (Penn), The Isaac & Rose Nassau Professorship of Orthopaedic Molecular Medicine (Penn), and a grant to FSK and EMS from The National Institutes of Health of The United States (ROI-AR41916), and in particular by a Grant to "Academic Frontier" Project of the Saitama Medical University Research Center for Genomic Medicine.

#### References

1. Cohen, R. B., Hahn, G. V., Tabas, J. A., Peepker, J., Levitz, C. L., Sando, A., Sando, N., Zaslaff, M., and Kaplan, F. S. (1993) *J Bone Joint Surg Am* **75**, 215-219
2. Kaplan, F. S., McCluskey, W., Hahn, G., Tabas, J. A., Muenke, M., and Zaslaff, M. A. (1993) *J Bone Joint Surg Am* **75**, 1214-1220
3. Kaplan, F. S., Tabas, J. A., Gannon, F. H., Finkel, G. V., and Zaslaff, M. A. (1993) *J Bone Joint Surg Am* **75**, 220-230
4. Kaplan, F. S., Shim, Q., Lounev, V., Seeman, P., Gruppe, J., Katagiri, T., Pignolo, R. J., and Shore, E. M. (in press) *J Bone Miner Res*
5. Kaplan, F. S., Ghoser, D. L., Shore, E. M., Pignolo, R. J., Xu, M., Zhang, Y., Senitzler, D., Forman, S. J., and Emerson, S. G. (2007) *J Bone Joint Surg Am* **89**, 347-357
6. Urist, M. R. (1965) *Science* **150**, 893-899

## Abbreviations

FOP, fibrodysplasia ossificans progressiva; BMP, bone morphogenetic protein; ACVR1, activin A type I receptor; ALK, activin receptor-like kinase; ALP, alkaline phosphatase; MHC, myosin heavy chain

## Figure Legends

## Figure 1. ALK2(R206H) acts as a constitutively activated BMP receptor.

(A) C2C12 cells were co-transfected with FLAG-tagged Smad1 and a V5-tagged wild-type ALK2(WT), ALK2(R206H), or BMPR-1A(Q233D). Cell lysates were immunoblotted with anti-phospho-Smad1/5/8, anti-FLAG, or anti-V5 antibody. Constitutively active BMPR-1A(Q233D) was used as a positive control. (B) C2C12 cells transfected with wild-type ALK2 or ALK2(R206H) were immunostained with anti-phospho-Smad1/5/8 or anti-V5 antibody and DAPI. (C) C2C12 cells were co-transfected with  $\beta$ -galactosidase reporter plasmid and wild-type ALK2, ALK2(R206H), or BMPR-1A(Q233D). Results are the mean  $\pm$  SD ( $n = 3$ ). \*\*,  $P < 0.01$ ; \*\*\*,  $P < 0.001$  compared with vector transfection. (D and E) C2C12 cells were co-transfected with  $\beta$ -galactosidase reporter plasmid and wild-type ALK2, ALK2(R206H), or BMPR-1A(Q233D). Levels of EGFP were determined by fluorescence microscopy (D) and immunoblotting (E). (F) C3H10T1/2 cells co-transfected with a MyoD expression construct (24) and empty vector, wild-type ALK2, ALK2(R206H), or BMPR-1A(Q233D) were stained with anti-MHC antibody.

Figure 2. Increased Smad1 and Smad5 mRNA during muscular injury *in vivo*.

(A, B and C) Mice were injected with vehicle (saline) or habu venom in femoral muscle, and total RNA was prepared after 3 or 7 days. Messenger RNA levels of BMP receptors (A) and Smad5 (B and C) were determined by RT-PCR (A and B) or real-time qPCR (C). TNF- $\alpha$  expression was examined to confirm inflammatory reaction. (D) Levels of Smad1 and Smad5 proteins in injured muscle *in vivo* were detected by immunoblotting at 3 and 7 days after injury. Two and three independent mice were analyzed in the control (uninjected) and vehicle and Habu venom-injected groups, respectively. (E) Localization of Smad1 and Smad5 in muscle tissues was determined by immunohistochemistry using specific antibodies to Smad1 and Smad5, respectively, on day 3 after injection.

24. J. M. Fujisawa-Sethna, A., and Suda, T. (1994) *J Cell Biol* 127, 1755-1766
24. Katagiri, T., Akiyama, S., Namiki, M., Konaki, M., Yamaguchi, A., Rosen, V., Wronsey, J. M., Fujisawa-Sethna, A., and Suda, T. (1997) *Exp Cell Res* 230, 342-351
25. Kodaira, K., Inada, M., Goto, M., Tomoyasu, A., Fukuda, T., Kamijo, R., Suda, T., Higashio, K., and Katagiri, T. (2006) *Biochem Biophys Res Commun* 345, 1224-1231
26. Akiyama, S., Katagiri, T., Namiki, M., Yanai, N., Yamamoto, N., Miyama, K., Shibuya, H., Ueno, S., Wronsey, J. M., and Suda, T. (1997) *Exp Cell Res* 235, 362-369
27. Goto, K., Kamiya, Y., Inamura, T., Miyazono, K., and Miyazono, K. (2007) *J Biol Chem* 282, 20602-20611
28. Yu, P. B., Hong, C. C., Shehidiandian, C., Baheti, J. L., Deng, D. Y., Hoyng, S. A., Lin, H. Y., Blush, K. D., and Peterson, R. T. (2008) *Nat Chem Biol* 4, 33-41
29. Sobushchysky, S., ten Dijke, P., Miyazono, K., and Heldin, C. H. (1996) *EMBO J* 15, 6231-6240
30. Aoki, H., Fujii, M., Inamura, T., Yagi, K., Takehara, K., Kato, M., and Miyazono, K. (2001) *J Cell Sci* 114, 1483-1489
31. Wieser, R., Wrana, J. L., and Massagué, J. (1995) *EMBO J* 14, 2195-2208
32. Perry, R. L., Parker, M. H., and Roudnicki, M. A. (2001) *Mol Cell* 8, 291-301
33. Conner, J. M., and Evans, D. A. (1982) *J Bone Joint Surg Br* 64, 76-83
34. Lanchoney, T. F., Cohen, R. B., Roelke, D. M., Zaslouff, M. A., and Kaplan, F. S. (1995) *J Pediatr* 126, 762-764
35. Luchetti, W., Cohen, R. B., Hahn, G. V., Roelke, D. M., Heplin, M., Zaslouff, M., and Kaplan, F. S. (1996) *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod* 81, 21-25
36. Davies, M. R., Lund, R. J., Matthew, S., and Hruska, K. A. (2005) *J Am Soc Nephrol* 16, 917-928
37. David, L., Mallet, C., Keramidas, M., Lamasde, N., Guez, J. M., Dupuis-Girod, S., Planchou, H., Feige, J.-J., and Bailly, S. (2008) *Circ Res* 102, 914-922
38. Yamashita, H., ten Dijke, P., Hoylebroeck, D., Sampath, T. K., Andries, M., Smith, J. C., Heldin, C. H., and Miyazono, K. (1995) *J Cell Biol* 130, 217-226
39. Hentoue, T., Jingushi, S., Urabe, K., Okazaki, K., and Iwamoto, Y. (1998) *J Cell Biochem* 75, 206-214
40. Link, B. A., and Nishi, R. (1997) *Exp Cell Res* 233, 350-362
41. Arizono, L., Carcamo, J., Ventura, F., Weis, F. M., Massagué, J., and Wrana, J. L. (1993) *Cell* 75, 671-680
42. ten Dijke, P., Ichijo, H., Franzen, P., Scholz, P., Sara, J., Toyoshima, H., Heldin, C. H., and

C2C12-ALK2(WT) clone 20, and C2C12-ALK2(R206H) clone 19 were treated with increasing concentrations of dorsomorphin in low-serum medium and stained with anti-MHC antibody on day 3.

**Figure 3. Cooperative effect of ALK2(R206H) with Smad1/5 in induction of osteoblastic differentiation**

(A and B) C2C12 cells were co-transfected with FLAG-tagged Smad1, Smad5, or Smad8 with V5-tagged wild-type ALK2(WT), ALK2(R206H), or BMPR-1A(Q233D). ALP activity (A) and levels of phosphorylation of Smads (B) were determined on day 3. Results are the mean  $\pm$  SD (n = 3). \* $P$  < 0.05, \*\* $P$  < 0.01, \*\*\* $P$  < 0.001 compared to vector transfection in each group. (C) C2C12 cells were co-transfected with FLAG-tagged Smad1 or Smad1(AVA) and V5-tagged wild-type ALK2, ALK2(R206H), or BMPR-1A(Q233D). RT-PCR was performed to determine levels of expression of ALP and osteic mRNAs after 3 days. Levels of phosphorylated Smads and receptors were determined by immunoblotting using anti-phospho Smad1/5/8, anti-FLAG, or anti-V5 antibody (lower panels).

**Figure 4. BMPs further stimulate ALP activity induced by ALK2(R206H) and Smad1 in C2C12 myoblasts.**

C2C12 cells co-transfected with Smad1 and wild-type ALK2, ALK2(R206H), or BMPR-1A(Q233D) were treated for 3 days with 300 ng/ml of BMP-2 (A) or 100 ng/ml of BMP-4 (B), BMP-6 (C), or BMP-7(D), and ALP activity was then determined. Results are the mean  $\pm$  SD (n = 3). \* $P$  < 0.05, \*\* $P$  < 0.01, \*\*\* $P$  < 0.001 compared with controls.

**Figure 5. Inhibition of biological activities of ALK2(R206H) by noggin and I-Smads.**

(A) C2C12 cells co-transfected with Smad1 and ALK2(R206H) (closed circles) or BMPR-1A(Q233D) (open circles) were treated with noggin. ALP activity was determined on day 3. (B and C) C2C12 cells were co-transfected with BMPR-1A(Q233D) (B) or ALK2(R206H) (C) and Smad1, with increasing amounts of Smad6 (closed circles) or Smad7 (open circles). Total amounts of DNA transfected were adjusted equally with an empty vector. ALP activity was determined on day 3. Results are the mean  $\pm$  SD (n = 3).

**Figure 6. Dorsomorphin inhibits ALK2(R206H) activity**

(A) HEK293 cells were co-transfected with FLAG-tagged Smad1 and V5-tagged ALK2(R206H) or V5-BMPR-1A(Q233D), and then treated for 3 days with dorsomorphin at 3  $\mu$ M. Levels of phosphorylated Smad1 were determined by immunoblotting. (B) C2C12 cells were co-transfected with Smad1 and ALK2(R206H) (closed circles) or BMPR-1A(Q233D) (open circles) and treated with graded concentrations of dorsomorphin. ALP activity was determined on day 3. (C) Parental C2C12 cells,



Figure 1

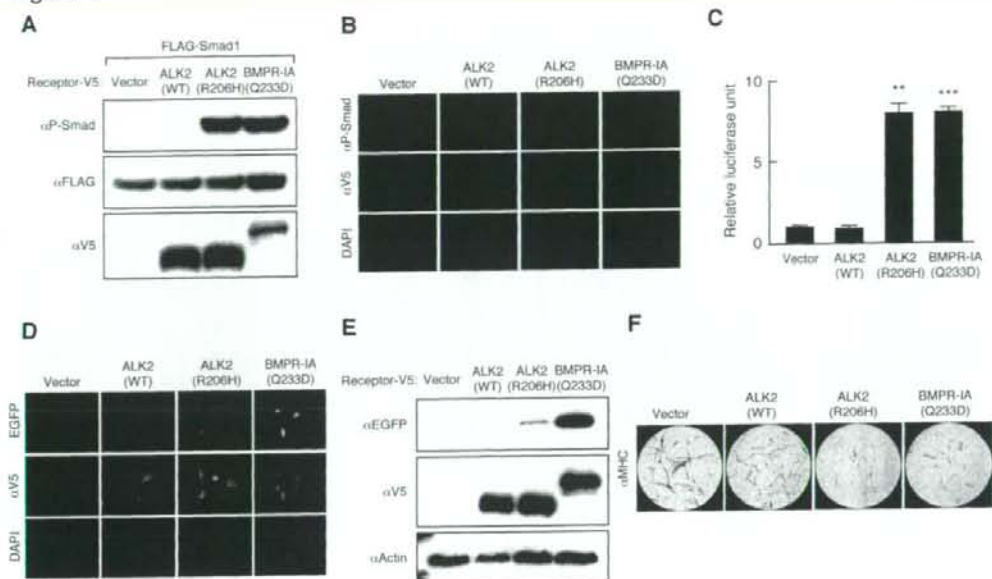


Figure 2

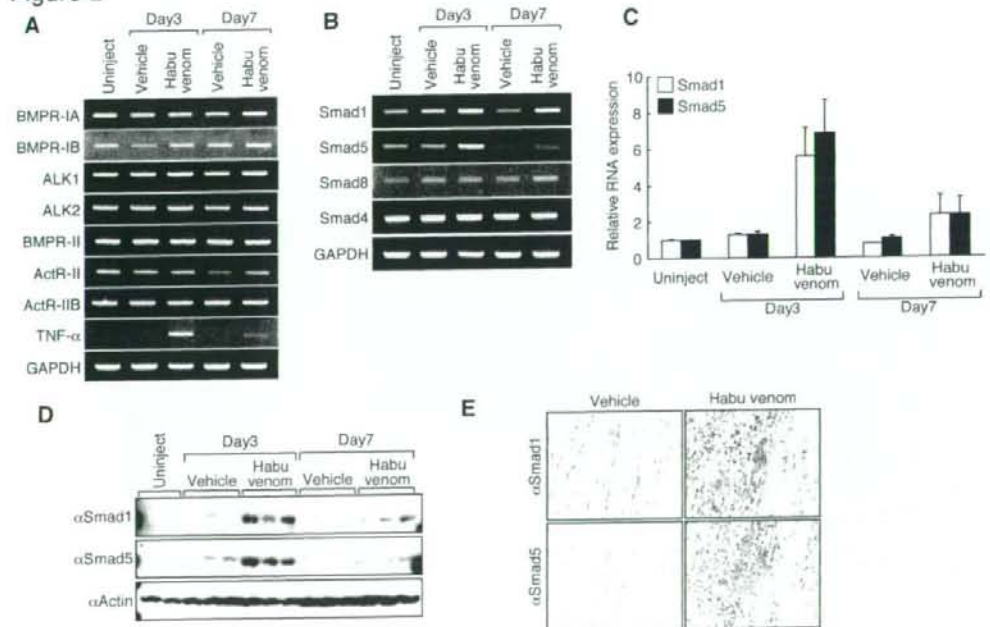
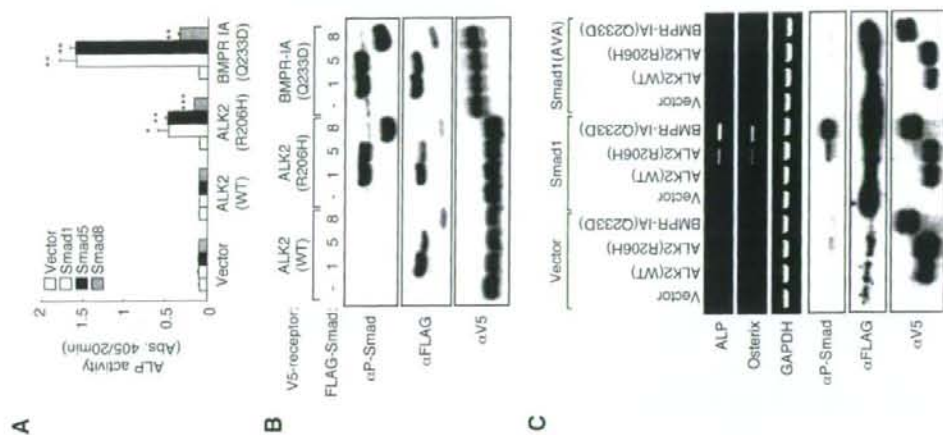


Figure 3



20

Figure 4

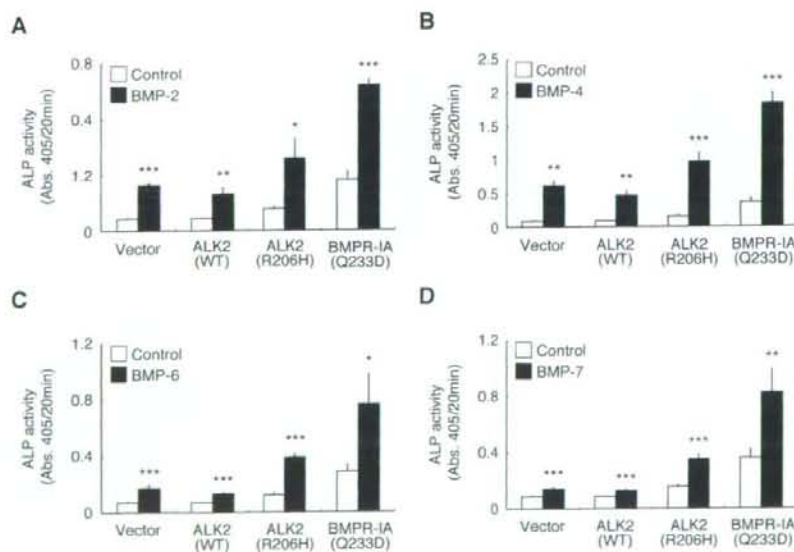


Figure 5

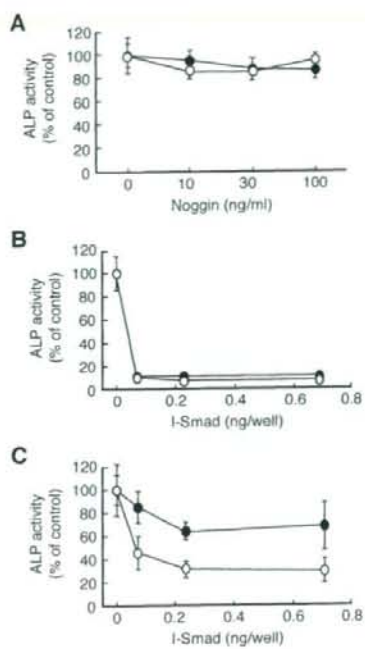
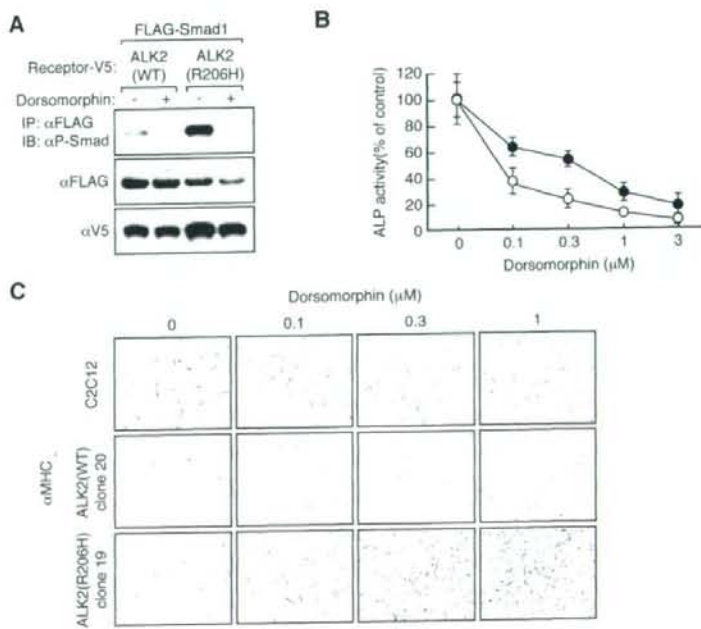


Figure 6







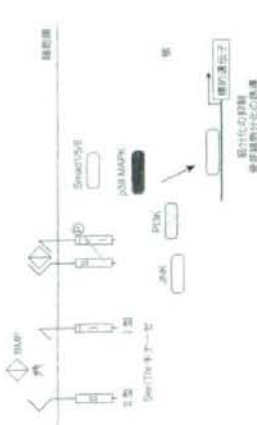


図1 BMPの細胞内情報伝達系による標的遺伝子の誘導  
BMPは、標的細胞が持つ1型と2型受容体に結合する。1型受容体は1型受容体と結合して活性化し、活性化された1型受容体が細胞内で Smad1、Smad5、MAPキナーゼ-1、Smad1/5/8をリン酸化させる。リン酸化された Smad1/5/8は Smad4と結合し、核内へ移行して標的遺伝子の転写を制御される。  
(鎌倉ら作成)

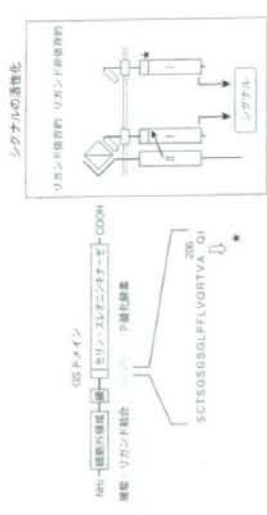


図3 運行性骨化生線維芽細胞 (FOP) における ALK2 受容体の役割  
FOPでは、BMP受容体の1種であるALK2のGS領域に位置する206番目のアミノ酸残基がスレニン残基に置換している。これにより異常ALK2は構成的活性型受容体となり、BMPリガンドとの結合がなくても下流でSmad1/5/8のP酸化反応が亢進する。  
(鎌倉ら作成)

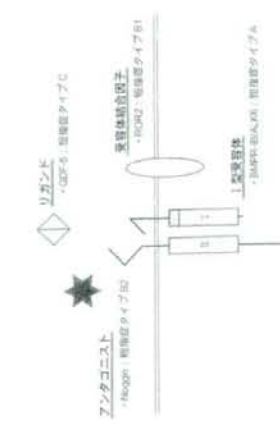


図2 BMPシグナルと骨髄腫 (Brachyactin)  
これまでの研究から、BMPシグナルが骨髄腫の発症に関与していることが明らかになっている。すでに、骨髄腫の標的として、リガンド (GDF-5)、受容体 (BMPRI、RI)、骨髄腫転移因子 (ROR1、ROR2)、アンチセンス1 (Noggin) に異常が確認された。詳細は本文参照。  
(鎌倉ら作成)

3. 運行性骨化生線維芽細胞と ALK2/ACVR1 受容体  
運行性骨化生線維芽細胞 (fibrocytogenesis osteofibrous progression: FOP) は、BMPの標的と同時に細胞内で骨形成因子の結合を阻害する阻害因子である。最近、FOPの責任遺伝子として BMP の1型受容体 ALK2 をコードする ACVR1 遺伝子の同定された。  
この FOP における ALK2 の変異は、細胞膜の下に位置し、キナーゼ活性を調節すると考えられている GSドメインと呼ばれる領域内にある (図3)。FOPの異常 ALK2 受容体は発現した細胞では、リガンド非依存的に BMP の標的遺伝子である骨形成因子を産生することから、この FOP の異常は BMP 受容体の非依存的に発現された阻害因子であることが明らかとなった。全身の脂肪で異常 ALK2 を発現しているにもかかわらず、該

キナーゼドメインが欠失するよう遺伝子が同定された。この ROR2 の欠失は不明な点が多いが、少なくとも細胞体ドメインで BMPRII 受容体と相互作用することが明らかとなり、GDF-5 の BMPRII を介したシグナルの重要性が改めて示された。  
GDF-5 を含む BMPファミリーは、細胞外でさまざまな種類のアンチセンス1と結合し、細胞骨格の発育への結合が阻害される。BMPやGDFのアンチセンス1の中で、Nogginの骨髄腫発症の実験によって阻害因子ドメインが同定されたことの重要性は、Nogginが骨髄腫転移因子となることとして、GDF-5との類似性がほとんど変化しない新しい阻害因子ドメインが同定された。これは、従来の阻害因子ドメインと区別するため、ドメインとして分類することが提唱されている。

FOP: fibrocytogenesis osteofibrous progression (骨形成性骨腫瘍形成症)

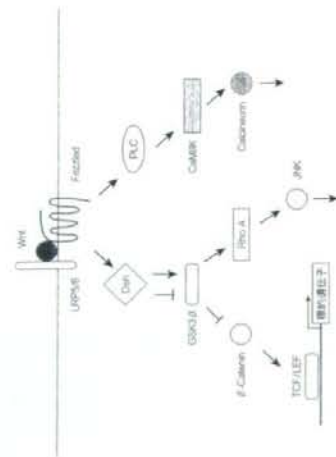


図4 Wntシグナル伝達機構

Wntは、細胞表面のLrp5/6受容体とFrizzledに結合し、細胞内で主に3つの経路を介してシグナルを伝達する。この中で、GSK3β、β-Catenin、TCF/LEFを介した経路が骨形成に重要と考えられている。この経路では、GSK3βが転写因子β-Cateninを分解化して分解を促すが、Lrp5/6の活性化によってGSK3βが阻害されるとTCFが安定化し、最終的に骨形成因子の転写が誘導される。

(複製より作成)

再生に伴ってFGFの局所性骨化が局所的に誘導されることから、調節因子がBMPシグナルを伝達する可能性が示唆されている<sup>19)</sup>。

■ Wntシグナル阻害因子

Wntは、LRP5/6とFrizzledと呼ばれる受容体を含めて、主に3つの経路でシグナルが伝達される(図4)。この中で、特にGSK3βとβ-Cateninを介する骨形成の伝達に関係すると考えられる<sup>19)</sup>。この経路では、Wntシグナルがない場合は、細胞内でGSK3βと呼ばれる半チロシンキナーゼが常にβ-Cateninを分解化して分解を促し、シグナルが伝

BMD: bone mineral density (骨密度), OPSS: osteoporosis-pseudoglioma syndrome

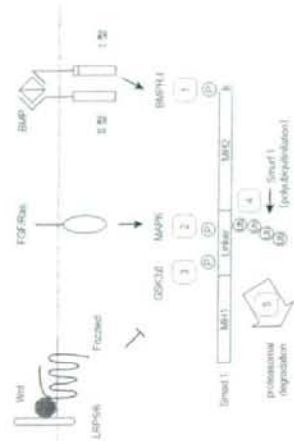


図5 BMPとWntシグナルによるSmad1を介したクロストーク

BMPの1型受容体は、Smad1とC末端のP部位によって活性化される。一方、MAPキナーゼとGSK3βは、それぞれリンカー領域の異なる部位を介して、Smad1によるβ-Cateninとその他のプロテオソームによる分解を促進する。Wntシグナルは、GSK3βを阻害することでSmad1を安定化する。

(複製より作成)

理的に骨形成を促進していることが示され、骨小梁骨形成調節因子の役割が示唆された。

Wntシグナルは、細胞内のDkk1と呼ばれる因子によって阻害される。OPSSにおけるLRP5/6の機能獲得変異は、細胞内のDkk1結合領域に重要な同定されており、Dkk1によるWntシグナル制御の解除が細胞内シグナルの伝達を引き起こす可能性が指摘されている<sup>20)</sup>。また、通常BMPのシグナルは、Wntシグナルの伝達を抑制する。このため、WntシグナルとBMPシグナルの相互作用は、骨形成の調節に重要な役割を果たしている。

■ BMPとWntシグナルのクロストーク

興味深いことに、BMPが誘導する骨形成調節因子は、Sclerostinによって阻害される<sup>21)</sup>。BMPが誘導する骨形成調節因子の発現は阻害されないことも報告された。これは、BMPシグナルの手段でWntシグナルがクロストークする可能性を示唆する。この報告は、このBMPとWntシグナルのクロストークのメカニズムに関する重要な発見が期待される。

BMP受容体は、Smad1/5/8のC末端に位置するSer/Val/Serの足が骨形成を促進する。一方、MAPキナーゼとGSK3βは、それぞれリンカー領域の異なる部位を介して、Smad1によるβ-Cateninとその他のプロテオソームによる分解を促進する。Wntシグナルは、GSK3βを阻害することでSmad1を安定化する。

最近、BMP受容体によって作動化されたSmad1の分解は、骨のリンカー領域のGSK3β

によって阻害はされることの影響であることが示された<sup>1)</sup>。すなわち、骨形成体によるC末端のP-酸化、S-MAPキナーゼによるリンカー-領域のP-酸化、T-GSK3βによるリンカーのP-酸化、L-1という阻害のP-酸化を変化させたSmad1が、E3-ユビクティンリガーであるSmurf1によって阻害され、ポリユビチン化されることでプロテアソームで分解されるという機構である(図5)<sup>1)</sup>。

先に述べたように、Smad1の分解を促進するGSK3βの活性は、Wntシグナルによって阻害されることから、結果的にWntシグナルはSmad1を変化させる。一方、阻害Smad1の活性化はNotchやTGFβ、真骨Smad1の活性化はNotchやTGFβ、真骨Smad1の分解はGSK3βが関与するという発見は、LRP5の機能阻害型変異および機能喪失変異が骨形成に阻害すること、WntシグナルがBMPシグナルとクロストークすることを極めてよく説明する。

■おわりに

それまで独立した研究により、BMPとWntシグナルの生理的および病的特異性は重要なことが示されてきた。さらに、両者のシグナルがクロス-トークすることが行われ、そのメカニズムの解明が注目されている中で、この阻害、BMPのシグナル伝達阻害Smad1の活性化はWntシグナルが関与するという重要な発見が報告された。これは、改めてSmadを中心としたBMPシグナルの骨形成における重要性を示しており、今後、さらには骨形成の調節機構の解明が進むことが期待される。

文 献

1) Katagiri T, Suda T, Miyazono K. The bone morphogenetic proteins. In: Miyazono K, & Derynck R, eds. The TGF-β Superfamily

Monographs. Cold Spring Harbor, New York, in press.

2) Eyerman DJ, Bariboff CF, Yang Y, et al. The mutational spectrum of brachydactyly type C. *Am J Med Genet* 112: 291-298, 2002

3) Lehtonen K, Seeman P, Siroki S, et al. Mutation in bone morphogenetic protein receptor 1B cause brachydactyly type A2. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 12277-12282, 2003.

4) Lehtonen K, Seeman P, Borgstrom J, et al. A novel R486Q mutation in BMPRII resulting in either a brachydactyly type C or acromioclavicular joint osteoarthritis or osteoporosis type A2. *Eur J Hum Genet* 14: 1248-1254, 2006.

5) DeChiara TM, Kinsale RB, Powers MP, et al. Ro2, encoding a receptor-like tyrosine kinase, is required for cartilage and growth plate development. *Nat Genet* 24: 271-274, 2000.

6) Gilgrie M, Fortnow AM, Maraglia M, et al. Dominant mutations in Ro2, encoding a orphan receptor tyrosine kinase, cause brachydactyly type B. *Nat Genet* 24: 275-278, 2000.

7) Sannar M, Siroki S, Schwabe GC, et al. Modulation of GPR126/B1b signaling through interaction with the tyrosine kinase receptor Ro2. *Genes Cells* 9: 1227-1238, 2004.

8) Lehtonen K, Seeman P, Siroki S, et al. A new subtype of brachydactyly type B caused by point mutations in the bone morphogenetic protein antagonist NID4/SH-As1/Han Gene B1. *J Bone Miner Res* 2007.

9) Stone EM, Xu H, Fildes G, et al. A receptor mutation in the BMP type I receptor ACVSI causes inherited and sporadic fibrodysplasia ossificans progressiva. *Nat Genet* 38: 525-527, 2006.

10) Fukuda T, Koike M, Kunitake S, et al. A constitutively activated BMP receptor, ALK3, induces heterotopic bone formation in patients with fibrodysplasia ossificans progressiva. *J Bone Miner Res* 22 (suppl 1): S10, 2007.

Topics 骨形成におけるBMPシグナルとWntシグナルのクロストークの重要性

11) Achyres EM. Opposing effects of Wnt and MAPK on BMP2-induced signal transduction. *Dev Cell* 13: 755-756, 2007

12) Crook Y, Siva RH, Fukui N, et al. LDL receptor-related protein (LRP5) affects bone growth and eye development. *Cell* 107: 513-523, 2001.

13) Boylan LJ, Mao J, Bakky J, et al. High bone density due to a mutation in LDL-receptor-related protein 5. *N Engl J Med* 346: 1513-1521, 2002.

14) Holman W, Deegheert JP, Claessen E, et al. Homed LRP5 mutation in a patient with a high bone mass phenotype results in decreased DKK-1-mediated inhibition of Wnt signaling. *J*

*Bone Miner Res* 22: 108-114, 2007

15) van Deuren RJ, Swenson JP, Edling D, et al. Wnt but not BMP signaling is involved in the inhibitory action of sclerostin on BMP-stimulated bone formation. *J Bone Miner Res* 22: 18-28, 2007.

16) Shapiro G, Alarcón C, Spagnoli JM, et al. High bone mass due to a mutation in LDL-receptor-related protein 5. *N Engl J Med* 346: 454, 2002.

17) Furutani LC, Evers E, Reich A, et al. In vivo genetic patterning signal Wnt5A/53 receptors directs formation of the BMP-Smad1 signal. *Cell* 131: 680-693, 2007.

骨粗鬆症診療ハンドブック  
改訂4版



編集 岩波書店  
編集者 中村 利孝 編  
松本 俊夫 編  
定価 4,725円(本体4,500円+税5%)送料別  
ISBN4-7532-2006-3 C3047

おもな内容

- I 骨粗鬆症の概念と病態
- II 骨粗鬆症の疫学
- III 骨粗鬆症・骨折の危険因子と予防
- IV 骨粗鬆症・骨折の合併症とQOL
- V 骨粗鬆症の診断と骨折のリスク評価
- VI 骨粗鬆症の治療
- VII わが国における骨粗鬆症治療のガイドライン

岩波書店 医薬ジャーナル社  
〒100-8555 東京都千代田区千代田1-3-1 電話 03-5561-0111 03-5561-0112 FAX 03-5561-0108 (受付時間)







図2. FOPにおけるBMPシグナルの異常（筆者が作成）  
正常型のALK2受容体は、BMPと結合したときのみに細胞内標的遺伝子(Smad)を活性化して骨形成を誘導する。一方、FOP/ALK2/FGFR3受容体は、BMPに結合しなくても細胞内の骨形成活性因子、ALK2受容体を利用する分子は、FOPの病態に応用できる可能性がある。

### FOPにおけるALK2受容体の機能的变化

FOPで同定された遺伝的変異は、BMP受容体であるALK2の活性を抑制する、いわゆる「ネガティブ」に相当するGSドメインと呼ばれる領域に含まれていました。この事実は、この領域の立体構造の変化により、受容体の活性が変化する可能性を示しています。

そこで我々は、この変異したALK2受容体とBMPシグナルに反応する胚芽細胞C2C12を導入し、その変化を評価しました。通常、受容体は信号を送らないうちに失活化されています。BMPが結合したときだけ活性化する性質を示しています。しかし、さまざまな条件下で細胞内の骨形成を抑制した結果、いずれの場合でも異常な骨形成を促進することが明らかになりました。むしろ、FOP受容体は、BMPが結合したときだけでなく、常に活性化した状態にある状態を示していると考えられました（図2）。

これらの研究結果より、FOPにおける骨形成性の乏しくなる一因は、遺伝子の変異によりALK2受容体の構造が変化し、それによって細胞内に骨形成

BMPについてはすでに数多くの研究が行われており、我々はBMPが骨形成C2C12から産生される骨への分化を抑制するばかりでなく、それを骨芽細胞への分化を誘導する作用があることを報告しました。このマウス胚芽細胞C2C12を用いた実験では、骨芽細胞への分化を誘導する生理的物質は、BMPしか見出されていません。生体内でも、骨形成で骨形成を誘導できるのはBMPに限られていることから、C2C12を用いた培養系がBMPによる骨形成を誘導しているのと同様に骨形成を誘導していることが示唆されます。

### FOPの責任遺伝子ALK2

FOPにおける骨形成性骨化がどのような順序で起こるのか、その詳細は現在でも明らかになっていません。しかし、FOPが一時的な骨形成で認められた例があることや、家族性FOPで父親から子供に遺伝していることから、FOPは常染色体優性遺伝を示す遺伝性疾患であることが明らかになりました。さらに、FOPにおける骨形成性骨化は、BMPが誘導する骨形成性骨化が骨形成を抑制していることから、FOPの原因がBMPシグナルの異常による可能性が指摘され、いくつかの研究機関でFOP責任遺伝子が探索されました。

その結果、平成19年4月、米国ペンシルバニア州聖路外科大学のFrederick S. Kaplanらの研究グループにより、家族性FOPに共通してみられる遺伝的変異が同定されました。彼らがFOPの責任遺伝子として同定したのは、予想されていたとおりBMPを結合する1型受容体の主成分であるALK2でした（図2）。

FOPを発症していない人では、ALK2遺伝子の937番目の塩基はGですが、FOPを発症した患者さんでは、Gの塩基にある存在するヘチロであることが確認されました。この遺伝子の塩基は、5'→3'方向に読まれると、268番目のアミノ酸残基が、268番目のアミノ酸残基から269番目のアミノ酸残基に変化（R269H）します。このアミノ酸の異常により受容体の立体構造に変化を生じ、機能が変化すると推測されました。

我々も、国内の患者さんから遺伝子の提供を受け、ALK2遺伝子を変異箇所を解析したところ、全く同一の変異を確認しました。従って、このALK2遺伝子の617G>A (R269H) 変異は、世界的なFOPの原因遺伝子になっていいるものと考えられます。この発見、

表1. 国内外における主なFOP発症例

国/地域	患者数	FOP発症例
米国	10	Frederick S. Kaplan et al. (1998)
日本	10	Yoshida et al. (2001)
韓国	10	Kim et al. (2003)
中国	10	Li et al. (2005)
フランス	10	Le Goff et al. (2007)
ドイツ	10	Wenzel et al. (2009)
オーストラリア	10	Wright et al. (2011)
インドネシア	10	Wijaya et al. (2013)
イタリア	10	Di Girolamo et al. (2015)
スウェーデン	10	Wahlberg et al. (2017)
オランダ	10	Van't Hof-Grootenboer et al. (2019)
韓国	10	Kim et al. (2021)
中国	10	Li et al. (2022)
日本	10	Yoshida et al. (2023)

骨形成がなくなり起こるようになったものの、投薬の止によって骨化が再発したという点です。この発見は、骨髄腫ではFOPの骨化を促すことである。この発見を示すと共に、ある種の発症例ではFOPの骨化性骨化に関与する可能性を示唆しており、FOPの発症原因や治療法を確立する上で重要な情報を提供していると思われまます。

さらに、今後の研究によりALK2受容体を特異的に阻害するようなる化合物が発見されれば、FOPに特異的な治療法が実現される可能性があります。

### FOPの遺伝子診断と今後の展望

以上のように、FOPの発症にはALK2遺伝子の変異が原因と推定されています。従って、FOPの正確な診断法はありますが、FOPの責任遺伝子ALK2が同定されたことで遺伝的診断が可能になりました。我々の研究グループでも、患者さんの遺伝子検査を行い、FOPの責任遺伝子診断を行っています。これにより、従来は4年以内に骨化が進行するFOPの診断が、正確に診断できるようになりました。これは、FOPの診断が、正確に診断できるようになりました。これは、FOPの診断が、正確に診断できるようになりました。これは、FOPの診断が、正確に診断できるようになりました。

最近、骨髄腫に伴う免疫抑制剤の使用は骨形成を促進する作用があることが報告されています。これは、FOPの骨化を促進する作用があることが報告されています。これは、FOPの骨化を促進する作用があることが報告されています。これは、FOPの骨化を促進する作用があることが報告されています。

1) Shalhoub AL, Shaw EM, Gorman TK, et al. Overexpression of an osteogenic transcription factor, *Id1*, in osteoblasts. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 1003-1010.

2) Koyama T, Koyama T, Koyama T, et al. Osteogenic bone formation is induced by the expression of *Id1* in osteoblasts. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1003-1010.

3) Cawston J and Jones DA. Genetic aspects of fibrodysplasia ossificans progressiva. *J Med Genet* 1982; 19: 1003-1010.

4) Koyama T, Koyama T, Koyama T, et al. Osteogenic bone formation is induced by the expression of *Id1* in osteoblasts. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1003-1010.

5) Koyama T, Koyama T, Koyama T, et al. Osteogenic bone formation is induced by the expression of *Id1* in osteoblasts. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1003-1010.

6) Shaw EM, Koyama T, Koyama T, et al. Osteogenic bone formation is induced by the expression of *Id1* in osteoblasts. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1003-1010.

7) Koyama T, Koyama T, Koyama T, et al. Osteogenic bone formation is induced by the expression of *Id1* in osteoblasts. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1003-1010.

8) Koyama T, Koyama T, Koyama T, et al. Osteogenic bone formation is induced by the expression of *Id1* in osteoblasts. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1003-1010.

9) Kaplan FS, Gauer HL, Shaw EM, et al. Identification of a cell contribution to active fibrodysplasia ossificans progressiva. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1003-1010.



## 進行性骨化性線維異形成症の病態と治療

埼玉医科大学埼玉医学研究センター  
病態生理部門長 教授  
片桐 岳信 (かたがひ たけのぶ)

### 【要旨】

進行性骨化性線維異形成症 (FOP) は、平成19年3月に鑑識の一つとして報告された遺伝性疾患で、主に骨髄腔における異所性骨化を特徴とする。遺伝子 FOP の遺伝子座として BMP 受容体の一種 ALK2 が同定され、遺伝型がほぼすべての患者に認められる。

### はじめに

進行性骨化性線維異形成症 (brody dysplasia ossificans progressiva; FOP) は、全身の骨格筋における異所性骨化を特徴とする遺伝性疾患である<sup>1)</sup>。顔面や手足などにも骨化が及ぶが、手足麻痺などにおける異所性骨化は認められない。病態の理解には多くの

関与が報告されるため、可動域が極めて小さくなり、自立的な運動が不可能で困難となる疾患である。現時点では FOP の異所性骨化を抑制する有効な治療法は確立されておらず、FOP は平成19年3月に我が国の難病の一つとして認定され、各研究機関による個別研究だけでなく、厚生労働省の FOP 研究班としても発症機序の解明や

治療法の確立に向けて研究が行われている<sup>2)</sup>。FOP における異所性骨化の特徴は、筋組織の破壊・再生が急激な頻度で骨化を誘発する点である。FOP は出生時から徐々に進行する疾患で、異所性骨化の前にアレア・アレアと呼ばれる腫瘍が認められる。これが骨と誤られてハイ・オプ・アレアと呼ばれる切痕が行われ、結果的に異所性骨化を亢進させた FOP が発症する<sup>3)</sup>。この病態は世界的に多い<sup>4)</sup>。病態は正能に限り FOP の進行を遅らせることも、発症前の正確な発症機序の確立と FOP に関する

正確な病態の普及が強く望まれる。最近、FOP の発症と密接に関連する遺伝子の解析から ACVRI/ALK2 遺伝子が同定され、これが FOP 発症の原因遺伝子と考えられている<sup>5)</sup>。この原因遺伝子を用いた *in vitro* の解析から、細胞死や骨化因子産物が構造的に影響シグナルを伝達する可能性が明らかとなった。さらに、このシグナルを伝達する低分子化合物が、FOP の治療にたりうる可能性も示されている。本報では、FOP の病態や治療についての最新の知見を交えながら解説する。

◆キーワード  
異所性骨化  
筋組織  
遺伝性疾患  
BMP

表1 FOPに関する医学的情報を公開しているホームページ

組織名	URL
厚生労働省FOP研究会	<a href="http://design.webcontent.co.jp/fop/index.html">http://design.webcontent.co.jp/fop/index.html</a>
難病情報センター	<a href="http://www.nanbyoou.co.jp/skkar/121_1.htm">http://www.nanbyoou.co.jp/skkar/121_1.htm</a>
埼玉医科大学FOP診療・研究プロジェクト	<a href="http://www.saijima-med.ac.jp/med/ku/saijima_univ_fop/web-content/fopbox.html">http://www.saijima-med.ac.jp/med/ku/saijima_univ_fop/web-content/fopbox.html</a>
IFOPA	<a href="http://www.ifopa.org/index.html">http://www.ifopa.org/index.html</a>

表2 FOPの発症と進行に関する特徴

項目	特徴
罹患率	約200万人に1人 (人種、地域、性別によらず)
発症年齢	世界的症例の大部分は乳幼児 (先天性 FOP は海外の7例)
発症部位	外区母指様の変形 (左右対称) 頸、鎖、背中におけるアレア・アレア 局所的な異所性骨化 (体幹部から末梢、頭部から足趾、近位から遠位)
進行パターン	30歳前後 2-5歳 10歳前後 全身の骨化 (20-30%に到達)

## FOPの病態認定と研究体制

平成19年3月に開催された、厚生労働省の第1回骨化性疾患研究会において、患者会などから要望を受けて「骨化性疾患について」、難病研究事業対象疾患

(いわゆる難病) の追加認定が検討された。難病とは「疾患と適切な治療方法未確立」「生活への長期間にわたる支障の各要件を満たす疾患の中から選ばれた」という疾患を指す。さらに、この中の45疾患は、特に治療が困難で成願

な医療費を要するため、医療費の公費助成対象となる特定疾患治療研究事業 (いわゆる特定疾患) として認定されている。

この特定疾患指定選定においては、最終的に FOP と診断された症 (X P) の発症が新しい難病として認定された。その結果、我が国の難病は現在122疾患ととなり、それらが10の研究班によって研究されている。

新設された FOP に関する研究班は、平成19年度に既存の「骨柱関節系化症に関する調査研究班」に追加する形で組織された。初年度は整形外科および産科の領域から5名、平成20年度はさらに小児科と産科領域の分指が加わり、合計7名が FOP の発症機序の解明と新しい治療法の確立に向けた研究に携わっている。

現在、FOP 研究班が特に重点的に調査している点として、国内の FOP 患者の把握が挙げられる。全国の医療機関を対象にアンケート調査を行い、FOP 患者の発症月別に発表された症例数に基づき、重複する患者を除いた約10名

の FOP 患者がいるものと認定されている<sup>6)</sup>。この数字は、発症率から世界的な発症頻度とはほぼ一致する。

さらに FOP 研究班では、患者や家族だけでなく、医療関係者にも向け大規模なホームページを開設し、FOP に関する医学的情報や研究の成果など、最新の情報も広く発信することに努めている (表1)。我々は、埼玉医科大学 FOP 専門の診療クリニックとして「埼玉医科大学 FOP 診療・研究プロジェクト」を組織し、難病研究と基礎研究を進めており、この研究成果などをホームページで公開している。この他に、米国のシカゴ大学整形外科の Frederick S. Kaplan 博士が中心となり組織された International FOP Association (IFOPA) についてもホームページで情報発信を中心とした会員に向けて事務局を運営している。

## FOPの病態 (表2)

(1) 出生時の外区母指様の変形  
FOP における筋組織の異常性





# FOP(進行性骨化性線維異形成症)と BMP

ない。しかし、後述するように、今日では発症間でも遺伝子診断によって FOP の確定診断が可能となったことから、可能な限り FOP を早期に確定し診断したうえで発症や進行を遅らせることが非常に大切と考えられる。

## ■FOP の確定診断と研究経緯

FOP は、2007 年 3 月に厚生労働省で開催された特定疾患対策懇話会において新しい難治性疾患として研究費が認められ、FOP 研究が本格化した。これにより、現在、我が国では 123 の疾患が難病として認定され、若狭法はこれらに向けて研究が進められている。FOP は難病に認定されたが、患者の医療費が補助される特定疾患(希 疾患)の対象疾患ではない。FOP の確定診断を受けたことにより、すでに難病として研究が実行している(骨柱関節器化産)に関する調査研究、既に FOP 研究の目的を追加する形で、2007 年から FOP 研究班が組織された。FOP 研究の最初に取り組み課題として、国内の FOP 患者数の把握が挙げられ、FOP 患者が受診する可能性の高い整形外科、小児科、リハビリテーション科を中心とした全国規模のアプローチ調査が実施されている。2008 年春の途中経過によると、ほぼ予想通り 60 名前後の患者が

さらに FOP 研究班では、患者や家族だけでなく、医療関係者にも向けられた形でホームページを開き、FOP に関する医学的情報や研究の成果など最新の情報も広く発信する予定に据えている(注 1)。われわれは、崎玉医科大学 FOP 専門の研究室グループとして「埼玉医科大学 FOP 診療・研究プロジェクト」を組織し、臨床研究と基礎研究を連

続して行っている。FOP 研究班では、患者や家族だけでなく、医療関係者にも向けられた形でホームページを開き、FOP に関する医学的情報や研究の成果など最新の情報も広く発信する予定に据えている(注 1)。われわれは、崎玉医科大学 FOP 専門の研究室グループとして「埼玉医科大学 FOP 診療・研究プロジェクト」を組織し、臨床研究と基礎研究を連

続して行っている。FOP 研究班では、患者や家族だけでなく、医療関係者にも向けられた形でホームページを開き、FOP に関する医学的情報や研究の成果など最新の情報も広く発信する予定に据えている(注 1)。われわれは、崎玉医科大学 FOP 専門の研究室グループとして「埼玉医科大学 FOP 診療・研究プロジェクト」を組織し、臨床研究と基礎研究を連

整形外科・11月・2008年11月

1098

## ■進行性骨化性線維異形成症(fibrodysplasia ossificans progressiva: FOP)

進行性骨化性線維異形成症(FOP)は、成長に伴う全身の軟骨節や軟骨、腱における異所性骨化を特徴とする疾患で、以前は進行性骨化筋炎(myositis ossificans progressiva: MOP)とも呼ばれた(8)。病巣の進行に伴い多くの関節が癒着するため可動域が極度に小さくなり、自立的な運動が極めて困難となる。異所性骨化は顔面にも及び、開口障害や嚥下障害を伴う症例も認められる。その一方で、心臓や横隔膜、肝などの臓器にも異所性骨化形成を認めない。

FOP は、常染色体優性遺伝の形式を示す遺伝性疾患である(9)。世界的には約 200 人に 1 人の発症率と考えられており、我が国では約 60 名の FOP 患者が存在すると推定されている。わが国の 23 例を含むほとんどの症例は孤発例であるが、世界的には 7 例の家族性 FOP が報告されている。全症例とも父親から子に遺伝したケースである(8)。FOP 患者は、整形外科や小児科を受診する場合が多いが、これまでは正産科で発症した症例が報告されている(注 2)。FOP の確定診断は、FOP 患者の家族性 FOP が報告されている。全症例とも父親から子に遺伝したケースである(8)。FOP 患者は、整形外科や小児科を受診する場合が多いが、これまでは正産科で発症した症例が報告されている(注 2)。FOP の確定診断は、FOP 患者の家族性 FOP が報告されている。全症例とも父親から子に遺伝したケースである(8)。

FOP は、常染色体優性遺伝の形式を示す遺伝性疾患である(9)。世界的には約 200 人に 1 人の発症率と考えられており、我が国では約 60 名の FOP 患者が存在すると推定されている。わが国の 23 例を含むほとんどの症例は孤発例であるが、世界的には 7 例の家族性 FOP が報告されている。全症例とも父親から子に遺伝したケースである(8)。FOP 患者は、整形外科や小児科を受診する場合が多いが、これまでは正産科で発症した症例が報告されている(注 2)。FOP の確定診断は、FOP 患者の家族性 FOP が報告されている。全症例とも父親から子に遺伝したケースである(8)。

## 学術

の活性も抑制した(10)。将来、このような多発的疾患から FOP にあるような病変が誘発される可能性がある(図 2)。

最近、骨髄腫に伴い免疫抑制薬を用いた治療を受けていた FOP 症例で、異所性骨化がほぼ完全に抑制されていたことが報告された(11)。この症例では、免疫抑制薬の投与を中止したところ、骨髄腫が成

功していたにもかかわらず異所性骨化が再発したという。この報告は、骨髄腫では FOP の骨化を抑制することはできないことを示唆している。FOP の骨化に因子となる可能性を示唆する FOP の責任遺伝子が同定される前の 1996 年には発表された研究で、FOP 患者のリンパ球では

BMP-1/4 の過剰発現が認められたことが示された。この報告から FOP 治療に有効なのは、いかに期待されていたが、既にいつから今回の症例報告はほぼ肯定的に FOP の治療責任遺伝子が ALK3 を受容体とすることからも、骨髄腫で FOP の再発を誘発することは困難と思われる。

【参考文献】  
1) Kitterman JA, et al. Pediatrics 116: e654, 2005  
2) Kaplan FS, et al. J Bone Miner Metab. in press.  
3) 芳賀眞樹, 等. 厚生労働科学研究費補助金「難治性疾患克服研究事業」骨柱関節器化産に関する調査研究. 平成 19 年度報告. 分府研究報告書, 2008, p165.  
4) Shore EM, et al. Nat Genet 38: 525, 2006.  
5) Nakajima M, et al. J Hum Genet 52: 473, 2007.  
6) Fukuda T, et al. J Biol Chem. in press.  
7) Furuya H, et al. Am J Med Genet A 146A: 459, 2008.  
8) Boccardi R, et al. Eur J Hum Genet. in press.  
9) Katagiri T, et al. TGF-beta Family. Derynck R, et al (Eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York, 2008, p121.  
10) Chakkalakal SA, et al. J Bone Miner Res 23 (abstracts): 557, 2008.  
11) Kaplan FS, et al. J Bone Joint Surg Am 89: 347, 2007.

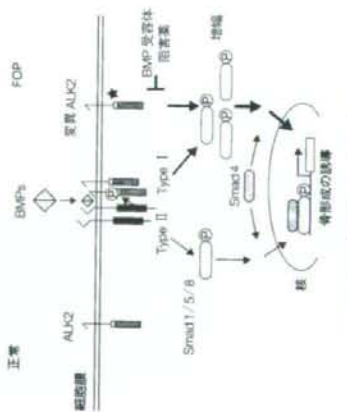


図2 FOPにおけるBMPシグナルの伝達

野生型のALK3は、BMPと結合した時のみSmad1/5/8を介して骨形成を誘導する。一方、FOPの責任遺伝子はBMPが結合しなくても骨形成にSmad1/5/8を活性化させる。さらに、新生児の骨形成でSmad1/5/8の量が増加しBMPシグナルが増強される。ALK3受容体の活性を阻害する分子は、FOPの治療に応用できる可能性がある(筆者作成)

## おわりに

FOP は、殺生前世という原因もまったく不明で治療法もない疾患であった。しかし、この疾患の研究により FOP の発症原因が分子レベルで明らかとなりつつある。これららの発見により FOP の治療に必要な遺伝的分子が明らかになり、FOP 研究は確実に次のステップへと進んだ。これらが発見を喜び、近い将来、FOP 患者が自由に生活していただくことを願う。それ以上に整形外科や小児科、整形外科の医師、患者、家族、患者会との連携を共有し、これからも、実現可能な治療法を模索する必要があるであろう。

## 参考文献

1) Kitterman JA, et al. Pediatrics 116: e654, 2005  
2) Kaplan FS, et al. J Bone Miner Metab. in press.  
3) 芳賀眞樹, 等. 厚生労働科学研究費補助金「難治性疾患克服研究事業」骨柱関節器化産に関する調査研究. 平成 19 年度報告. 分府研究報告書, 2008, p165.  
4) Shore EM, et al. Nat Genet 38: 525, 2006.  
5) Nakajima M, et al. J Hum Genet 52: 473, 2007.  
6) Fukuda T, et al. J Biol Chem. in press.  
7) Furuya H, et al. Am J Med Genet A 146A: 459, 2008.  
8) Boccardi R, et al. Eur J Hum Genet. in press.  
9) Katagiri T, et al. TGF-beta Family. Derynck R, et al (Eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York, 2008, p121.  
10) Chakkalakal SA, et al. J Bone Miner Res 23 (abstracts): 557, 2008.  
11) Kaplan FS, et al. J Bone Joint Surg Am 89: 347, 2007.

表 1 FOP に関する医学的情報を公開しているホームページ

組織名	URL
凡生の難病 FOP 研究会	<a href="http://design.webquest.co.jp/fop/index.html">http://design.webquest.co.jp/fop/index.html</a>
難病情報センター	<a href="http://www.ranbyou.or.jp/ibook_121_1.htm">http://www.ranbyou.or.jp/ibook_121_1.htm</a>
埼玉医科大学 FOP 診療・研究プロジェクト	<a href="http://www.saitama-med.ac.jp/medinfo/saitama_uni_fop_web_content_index.html">http://www.saitama-med.ac.jp/medinfo/saitama_uni_fop_web_content_index.html</a>
FOFA	<a href="http://www.fofa.org/index.html">http://www.fofa.org/index.html</a>

FOFA: International FOP Association

めており、この研究成果などをホームページで公開している。この他に、米国ペンシルバニア大学整形外科の Frederick S. Kaplan 博士らが中心となって組織された International FOP Association (IFOFA) もホームページで情報発信するともに、季刊誌を発行している。

#### ■FOP の特徴

FOP の前組織における異所性骨形成は、出生時にはほとんど認められず、成長に伴って進行する。FOP の出生時の最大の特徴は、左右対称に外反付趾症の発症を有することであり、ほぼすべての FOP 症例で確認されるという<sup>10)</sup>。現時点では、この出生時の外反付趾症の症状と遺伝子診断(後述)で、大部分の FOP を確定診断できると考えられる。

2~5 歳前後になると、頭、頸、背中に痛みを伴う flare-up と呼ばれる腫瘍が出現し、数週間にわたって持続する。FOP ではバネイアシンが蓄積とされるために組織学的特徴が変異しているが、比較的に初期の腫瘍は液体物質や線維芽細胞で満たされており、骨形成を示すような像は認められない。その後、腫瘍の消失に伴いその部位に異所性骨形成が進行する。このとき、骨形成は体幹部から末梢へ、頭部から尾端へ、近位から遠位へと進行する傾向があり、30 歳頃までに全身に及ぶ。FOP の異所性骨形成は長期間に著しく進行し、20~30% の患者には難癒が認められる。

#### ■FOP の遺伝子変異

FOP の発症確率はいまだ明らかでない部分が多い。しかし、2006 年に Kaplan と共同研究者ら<sup>9)</sup>

が FOP の責任遺伝子として bone morphogenetic protein (BMP) 受容体の 1 種を同定した。このことにより、FOP に関する研究は急速に進化した。かなり以前から、骨芽質に含まれる BMP を前組織に発現すると異所性骨化を誘導できることが知られていた。この活性は BMP に特異的で、他のサイトカインやホルモンにはこのような活性は認められていない。このため、FOP の発症に BMP シグナルの異常が関与する可能性が指摘されてきた。BMP-4 の過剰発現や BMP アンタゴニストである Noggin の機能障害や変異などが示唆されたが、最終的に家族性 FOP の解析から BMP 受容体の一つである ALK2 の変異が同定された<sup>9)</sup>。この変異は家族性 FOP のみならず孤発性 FOP にも共通で、受容体の活性を制御する細胞内の GS ドメインと呼ばれる領域にある 206 残基目のアルギニン (R) をヒスチジン (H) に変異させるもので、617 番目の塩基 G から A に置換したものであった。国内の 20 例以上の孤発性 FOP も、すべて同じ変異を持つことが確認されている<sup>11)</sup>。ごく最近、九州地方の FOP 患者に同じ ALK2 遺伝子内の異なる領域に変異が同定された。この変異は、356 番目の残基をグリシン (G) からアスパラギン酸 (D) に変異させることが判明している。

これらの発見から、ALK2 の 617 番目の塩基の変異を調べることによって、大部分の FOP を正確に診断できることが明らかとなり、われわれは、FOP が疑われる場合には、まず初期にこの部位の塩基配列を解析し、変異が同定された場合には ALK2 遺伝子の全エクソドメイン領域を解析している。

#### ■変異 ALK2 受容体による異所性骨化

われわれは、FOP で見出された ALK2 (R206H) 変異受容体の機能を解析した。その結果、この変異受容体は BMP と結合しなくても、常に BMP シグナルを細胞内に伝達する構造的活性型受容体であることが明らかとなった<sup>12)</sup>。しかし、この活性は弱く、FOP における異所性骨化の誘導にはさらに別の機序が関与すると予想された。

FOP では骨芽細胞によって骨化が誘導されることから、マウスの前組織に組織を与え、その骨化過程を解析したところ、BMP シグナルの伝達因子である Smad1/5 の量が増加することが判明した<sup>13)</sup>。一方、ALK2 を含む BMP 受容体の発現量は変化は認められなかった。Smad1/5 は、ALK2 受容体によってリン酸化される基質であることが知られており、遺伝的に活性化された変異受容体と筋再生によって増加した Smad1/5 の協働的な作用によって BMP シグナルが増強され、骨化が誘導されるものと考えられた(図 1)。

FOP はヒトのみに認められる疾患で、実験動物の前駆モデルが確立されていなかったことが最初の理由となっていた。FOP の責任遺伝子を発見した Kaplan らのグループは、ALK2 遺伝子に R206H 変異を導入したマウス (ALK2 遺伝子マウス) を作成している。ごく最近組織された International Conference on BMPs の際、上記の遺伝子を導入したキメラマウスにおいて、肥満の発症が認められた。さらに 6 週齢以降で骨化が認められることが報告された。このマウスがライオン化されれば、FOP 研究がさらに進展するものと期待される。

#### ■FOP の治療

現時点では、主に FOP の腫瘍に対してステロイドなどの抗炎症薬、さらに異所性骨化に対してビタミン D 誘導剤などを用いられているが、有効性が確立した治療法はない。最近見出された BMP 受容体特異的阻害剤 desmoplatin は、FOP の ALK2 (R206H) 受容体の底物も阻害することが明らかとなった<sup>14)</sup>。将来、このよう

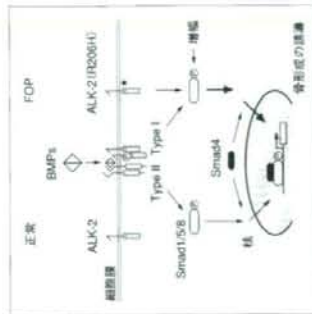


図 1 FOP に関する BMP シグナルの異常な機序 (概)

別タイプの ALK2 は、BMP と結合したときのみ Smad1/5/8 を介して骨形成を誘導する。一方、FOP の ALK2 (R206H) 受容体(★印)は、GS ドメインの変異により BMP が結合しなくても構造的に Smad1/5/8 を活性化し、ALK2 受容体を阻害する。FOP の治療に活用できる可能性がある。

な受容体阻害剤から FOP の治療薬が開発される

ことが期待される。最近、骨髄移植に伴い免疫抑制剤を 14 年間投与していた FOP 症例で、異所性骨化がほぼ完全に抑制されていたことが報告された<sup>15)</sup>。この症例は、免疫抑制剤の投与を中止したところ、骨髄移植が成功していたにもかかわらず異所性骨化が再発したという。この報告は、骨髄移植では FOP の骨化を防ぎ、骨化を促進しないことを明確に示すと同時に、ある種の免疫反応が骨化に関与する可能性を示唆する。

#### ■おわりに

FOP は、数年前まで原因も全く不明で治療法もない病気であった。しかし、ここ数年の研究によって責任遺伝子が明らかとなり、FOP の発症確率が分子レベルで解明されつつある。これらの発見によって治療のための標的分子が明確となり、FOP









