

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K07869

研究課題名(和文)骨形成不全症の分子基盤の解明とWntシグナルとOASISの活性化による新規治療

研究課題名(英文)Elucidation of the molecular basis of osteogenesis imperfecta and novel therapy through activation of Wnt signaling and OASIS

研究代表者

菅野 潤子 (KANNO, Junko)

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：30509386

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：先行研究である骨形成不全症の包括的な変異解析で責任遺伝子であるCOL1A1、COL1A2に変異が同定されなかった患者2名と新規4名の計6名を対象としたエクソーム解析を施行した。エクソーム解析後、検出された変異をサンガー法で確認した。エクソーム解析で2家系にCOL1A2変異を同定した。1家系にPPIB変異を同定した。過去の報告(19家系中15家系で変異陽性)と合わせた変異検出率は78%(23家系中18家系で変異陽性)であった。PPIB変異による骨形成不全症の症例は本邦初である。また、最終年度にSERPINEF1変異の患者も同定された。SERPINEF1変異の骨形成不全症の症例も本邦初である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨形成患者の包括的な解析結果は、エクソーム解析でも、これまでの報告で原因として同定されていたCOL1A1、COL1A2においては過去の報告と同様の検出率であった。また、本邦初のPPIB変異とSERPINEF1変異を同定し、稀ではあるが、本邦においてもCOL1A1、COL1A2以外が病院の骨形成不全の患者の存在が証明された。

研究成果の概要(英文)：Exome analysis was performed on six patients, including two patients in whom no mutations were identified in the responsible genes, COL1A1 and COL1A2, in a previous study, a comprehensive mutation analysis of osteogenesis imperfecta, and four new patients. After exome analysis, the mutations detected were confirmed by the Sanger method. Exome analysis identified COL1A2 mutations in two families. COL1A2 mutation was identified in one family and PPIB mutation was identified in one family. This is the first case of osteogenesis imperfecta caused by PPIB mutation in Japan. In the final year of the study, a patient with SERPINEF1 mutation was also identified, the first case of SERPINEF1 mutation osteogenesis imperfecta in Japan.

研究分野：小児内分泌学

キーワード：骨形成不全症 PPIB SERPINEF1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本人骨形成不全症患者において我々は、患者の 80%は 1 型コラーゲンの形成にかかわる *COL1A1*、*COL1A2* にヘテロ接合性変異を有することを報告した (Kanno J, JBMM 2017)。欧米の報告では約 90%の患者に *COL1A1*、*COL1A2* に変異が見いだされること、我々の患者で変異が同定されない患者が約 20%存在したことより、日本人においては *COL1A1*、*COL1A2* 以外の遺伝子が原因の患者が存在することが示唆される。近年、コラーゲンの修飾に関わる *LEPRE1*、*CRTAP*、*PPIB*、1 型コラーゲンの輸送や架橋に関わる *SERPINH1*、*FKBP10*、*PLOD2*、骨芽細胞の分化に関わる *SP7*、*WNT1*、*CREB3L1*、過剰化骨形成を特徴とする骨形成不全症 5 型の原因の *IFITM5* など、次々と骨形成不全症の稀な原因遺伝子が同定されている。また、これらの既知の遺伝子以外にも、未知の原因遺伝子の存在も示唆される。

現在、骨形成不全症の治療薬はビスホスホネート製剤が標準的である。しかし、ビスホスホネート製剤は、破骨細胞のアポトーシスを誘導し、骨吸収を抑制し骨密度を増加させるが、カップリング作用により骨形成も同時に抑制するため、根本的な治療とはいえない。また、顎骨壊死や不整脈などの副作用も認められる。

2. 研究の目的

エクソーム解析、アレイ CGH および MLPA を用いた骨形成不全症の原因遺伝子の包括的な解析による真の日本人の遺伝学的背景の解明を目的とする。本邦における骨形成不全症の多数例の包括的な解析の報告はこれまでにないことより学術的独自性があるといえる。本研究では骨形成不全症の新たな分子標的治療薬として Sema3A と抗 Sema4D 抗体、salbrinal の動物モデルでの安全性と有効性を検証することを目的とする。骨形成不全症の分子標的治療の報告は少なく、現行の治療が根本的な治療ではないことを踏まえ、モデル動物で安全性や有効性を確立し、将来的には創薬に繋がることが期待されることより、学術的創造性があると言える。

3. 研究の方法

日本人骨形成不全症の遺伝的背景の解明の先行研究で *COL1A1*、*COL1A2* に変異が同定されなかった患者と新規患者の自験例約 20 名と、全国から収集した検体約 80 例の計約 100 例を対象としたエクソーム解析。

エクソーム解析において、既知の原因遺伝子の一方の変異のみ検出された場合、及び全く変異が検出されなかった場合は、アレイ CGH と MLPA 法糖を用いて欠失や重複などのコピー数の異常の検出を行う。変異マウスにおける分子標的治療の有効性と安全性の検証を行う。

4. 研究成果

エクソーム解析で 2 家系に *COL1A2* に変異を同定した。1 家系に *PPIB* 変異を同定した。過去の報告 (19 家系中 15 家系で変異陽性) と合わせた変異検出率は 78% (23 家系中 18 家系で変異陽性) であった。*PPIB* 変異による骨形成不全症の症例は本邦初である。

1 型コラーゲンは 2 本の 1 鎖と 1 本の 2 鎖で構成されていて、1 鎖は *COL1A1*、2 鎖は *COL1A2* にコードされている。1 鎖の 986 番目のプロリン残基の水酸化は 3 重螺旋の形成に必須で、このプロリン残基のみを特異的に水酸化する複合体 P3H1・CRTAP・cyclophilin B をコードする遺伝子のバリエーションは重症の骨形成不全症の表現型を呈することが報告されている。正常ではこの 3 つがコンプレックスを形成してコラーゲンに結合し、P3H1 活性を示す。P3H1 がないと、酵素活性は発揮できなくなる。cyclophilin B や CRTAP がなくとも、P3H1 はコラーゲンに結合することはできるがその活性は低くなる。また CypB は P3H1 か CRTAP のいずれかがないと、コラーゲンへの結合ができなくなる。CypB は *PPIB* にコードされている。*PPIB* バリエーションの初めの報告では 1 家系は胎児期に重症の骨形成不全症の診断で人口流産。1 家系は胎児期に診断された型の同胞例で、歯牙形成不全はなく、灰色強膜、早期の Pamidronate 治療が効果が認められていた。次の報告では型の同胞例で、歯牙形成不全、青色強膜はなく、*PPIB* の開始コドンのバリエーションであった。青色強膜や歯牙形成不全が軽度または認めず、亀背を呈する例が認められた。今回の *PPIB* 変異陽性例は、非血族婚の両親から妊娠 39 週、自然分娩で出生、生後 7 日目に大腿骨骨折、以後 6 歳までに 5 回の骨折歴を認めていた。青色強膜はごく軽度、歯牙形成不全は認めず、左大腿骨の弯曲のため、介助なしには歩行不能であった。エクソーム解析で *PPIB* の p.E126G 変異をホモ接合性に同定し、両親はこの変異のヘテロ接合体であった。Pamidronate の

月1回投与を開始し、骨密度は正常範囲内までに上昇し、治療後骨折を認めなかった。短い距離は支えなしで歩行可能となっている。

また、最終年度に *SERPINEF1* 変異の患者も同定された。*SERPINEF1* にバリエーションが同定された症例は、1歳時から大腿骨骨折を繰り返し、2歳時に当院初診。骨密度は-2.5SDと典型的な骨形成不全症ほど低くなく、経過観察としたが、再度軽微な受傷で骨折したため遺伝子検査を施行した。*SERPINEF1* に2つのバリエーションを認め、骨形成不全症6型と診断した。両親はこれらのバリエーションのヘテロ接合体であった。

SERPINEF1 変異の骨形成不全症症例も本邦初である。

本邦初の *PP1B*、*SERPINEF1* 変異を同定し、稀ではあるが、本邦においても *COL1A1*、*COL1A2* 以外が病因の骨形成不全症の患者の存在が証明された。

PP1B 変異による骨形成不全症の患者では従来治療であるビスホスホネートが著効した。*SERPINEF1* 異常では抗 RANKL 抗体が奏功するとの報告があるため抗 RANKL 抗体での治療を検討している。変異マウスの作成、分子標的治療の検証は達成できなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 菅野潤子 川嶋明香 島彦仁 曾木千純 梅木郁美 鈴木大 上村美季 新堀哲也 青木洋子 藤原幾磨 呉繁夫
2. 発表標題 日本人骨形成不全症患者の遺伝的背景の解明とアレンドロネート注治療の有用性の検討
3. 学会等名 第121回日本小児科学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 菅野潤子 川嶋明香 島彦仁 曾木千純 梅木郁美 鈴木大 上村美季 新堀哲也 青木洋子 藤原幾磨 呉繁夫
2. 発表標題 日本人骨形成不全症患者の遺伝的背景の解明とアレンドロネート注治療の有用性の検討
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	藤原 幾磨 (FUJIWARA Ikuma) (10271909)	東北大学・医学系研究科・非常勤講師 (11301)	
研究分担者	新堀 哲也 (NIIHORI Tetsuya) (40436134)	東北大学・医学系研究科・准教授 (11301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	鈴木 大 (SUZUKI Dai) (70814713)	東北大学・大学病院・助教 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関