

平成 22 年 4 月 30 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20791050
 研究課題名（和文） BMP 応答性骨格形成細胞前駆細胞の可視化とその応用
 研究課題名（英文） Identification of BMP responsive osteoprogenitor cells in muscle tissue
 研究代表者
 福田 亨（FUKUDA TORU）
 埼玉医科大学・医学部・助教
 研究者番号：20301492

研究成果の概要（和文）：BMP は強力な異所性骨誘導作用を持つ生理活性物質である。しかし BMP に応答し骨芽細胞や軟骨細胞へ分化する前駆細胞は未だ明らかにされていない。そこで本研究では BMP 応答性骨格形成細胞前駆細胞の同定を試みた。まず、BMP のシグナル異常により異所性骨化を生じる遺伝病である FOP に着目した。FOP の原因遺伝子である ALK2 の R206H 変異を発現するトランスジェニックマウスを作製し 3 ラインを確立に成功した。

研究成果の概要（英文）：BMPs were identified as factors responsible for induction of bone formation. However, the BMP responsive osteoprogenitor cells were remains unknown. To identify these progenitors, we attempted to generate a ALK2(R206H) transgenic mice.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2008年度 | 1,900,000 | 570,000 | 2,470,000 |
| 2009年度 | 1,400,000 | 420,000 | 1,820,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,300,000 | 990,000 | 4,290,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・骨・軟骨代謝学

キーワード：BMP、骨形成、トランスジェニック

1. 研究開始当初の背景

骨は運動・支持器官としての強度と血中カルシウム濃度の恒常性を保つため、一生にわたり形成と破壊を繰り返している。骨の形

成は骨芽細胞、破壊（骨吸収）は破骨細胞が担っており、形成と破壊の絶妙なバランスによって骨組織の恒常性が維持されている。近年の高齢化社会の進展に伴い、高齢者の生活

の質 (Quality Of Life: QOL) の向上と維持の面からも骨疾患に代表される運動器疾患の制御と克服が社会的にも求められている。骨粗鬆症や関節リウマチ、変形性関節症等、正常な骨代謝の破綻を起因とする疾患は患者数が非常に多いにも関わらず、そのメカニズムの解明や創薬研究についてはあまり進んでないのが現状である。このため、骨代謝の分子メカニズムを解明し、その成果を臨床応用することが社会的な急務となっている。

2. 研究の目的

骨誘導因子 (Bone Morphogenetic Protein; BMP) は強力な異所性骨誘導作用を持つ生理活性物質である。BMP は骨基質中に含まれる因子で、筋組織内に移植すると異所性骨化を誘導する。我々は世界で初めて血清から BMP を単離して全身性の骨形成因子としても働く可能性を示し (Kodaira et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 345(3): 1224-1231, 2006) さらに血小板から BMP 活性促進因子を単離・同定することにも成功した (Tomoyasu et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 361(1): 62-67, 2007) 。このように血中の BMP やその活性促進因子が全身性の生理的骨形成にも重要な役割を担うと予想される。BMP は、未分化の間葉系細胞から骨芽細胞や軟骨細胞への分化を促進すると考えられている (図 1) 。しかし、生体内で BMP が骨を誘導する際、どのような前駆細胞が骨形成細胞に分化するかは未だ解明されていない。この骨格形成前駆細胞を同定し、その性状を解明することは、骨形成の基本的調節機構を解明する上で極めて重要な研究課題である。そこで本研究では、BMP の初期応答遺伝子のプロモーター・エンハンサーで緑色蛍光タンパク質を発現する BMP レポーターマウ

スを作製し、in vivo における BMP 応答性の骨格形成細胞前駆細胞を同定し、その性状を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究は生体内に存在する BMP 応答性の骨格形成細胞前駆細胞の同定と性状の解析を行い、BMP による骨形成の調節機構を明らかにすることを目的とする。BMP 応答性の骨格形成細胞前駆細胞を同定するための BMP レポーターマウスを作製するにあたり、まず全身の筋組織内に異所性骨化を生じる進行性骨化性線維異形成症 (Fibrodysplasia Ossificans Progressiva; FOP) に着目した。FOP の原因遺伝子としてこれまでに BMP の I 型受容体の一つである ALK2 が同定されている。骨格形成前駆細胞の同定に用いるため、筋組織での異所性骨化誘導を可能にする ALK2(206H) を筋組織内で特異的に発現するトランスジェニックマウスの作製を行った。

4. 研究成果

ALK2(206H)トランスジェニックマウスは Cre リコンビナーゼの発現依存的に ALK2(206H)発現するコンディショナルトランスジェニックマウスシステムを用い、作製を行った。マウス受精卵へのマイクロインジェクションにより得られた、founder マウスと肝臓特異的に Cre を発現する Albin-Cre との交配により、導入遺伝子の発現の確認を行った。その結果、3 ラインで肝臓特異的 ALK2(206H)の発現を確認することに成功した。また、得られた 3 ライン間では導入遺伝子の発現量が異なることが明らかとなった。さらに、筋組織内に Cre リコンビナーゼを発現するアデノウイルスを投与することにより、一過的に導入遺伝子を発現させることに成功した。

本研究で作製に成功したトランスジェニックマウスはFOP治療法や治療薬の開発に用いることができるだけでなく、未だ解明されていない骨格形成細胞前駆細胞の同定に大きく関与できると思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計7件)

Fukuda T, Kohda M, Kanomata K, Nojima J, Nakamura A, Kamizono J, Noguchi Y, Iwakiri K, Kondo T, Kurose J, Endo K, Awakura T, Fukushi J, Nakashima Y, Chiyonobu T, Kawara A, Nishida Y, Wada I, Akita M, Komori T, Nakayama K, Nanba A, Maruki Y, Yoda T, Tomoda H, Yu PB, Shore EM, Kaplan FS, Miyazono K, Matsuoka M, Ikebuchi K, Ohtake A, Oda H, Jimi E, Owan I, Okazaki Y, Katagiri T. Constitutively activated ALK2 and increased SMAD1/5 cooperatively induce bone morphogenetic protein signaling in fibrodysplasia ossificans progressiva. *J. Biol. Chem.* (2009) 284: 7149-7156 査読有り

Kokabu S, Nojima J, Kanomata K, Ohte S, Yoda T, Fukuda T, Katagiri T. Protein Phosphatase Magnesium-Dependent 1A-Mediated Inhibition of BMP Signaling is Independent of Smad Dephosphorylation. *J. Bone Miner. Res.* (2009) in press 査読有り

Mizuno Y, Tokuzawa Y, Ninomiya Y, Yagi K, Yatsuka-Kanesaki Y, Suda T, Fukuda T, Katagiri T, Kondoh Y, Amemiya T, Tashiro H, Okazaki Y. miR-210 promotes osteoblastic differentiation through inhibition of AcvR1b. *FEBS Lett.* (2009)

583: 2263-226 査読有り

Yoshimura K, Kitagawa H, Fujiki R, Tanabe M, Takezawa S, Takada I, Yamaoka I, Yonezawa M, Kondo T, Furutani Y, Yagi H, Yoshinaga S, Masuda T, Fukuda T, Yamamoto Y, Ebihara K, Li DY, Matsuoka R, Takeuchi JK, Matsumoto T, Kato S. Distinct function of 2 chromatin remodeling complexes that share a common subunit, Williams syndrome transcription factor (WSTF). *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* (2009) 106: 9280-9285 査読有り

Kanomata K, Kokabu S, Nojima J, Fukuda T, Katagiri T. DRAGON, a GPI-anchored membrane protein, inhibits BMP signaling in C2C12 myoblasts. *Genes Cells* (2009) 14: 695-702 査読有り

Fukuda T, Kanomata K, Nojima J, Kokabu S, Akita M, Ikebuchi K, Jimi E, Komori T, Maruki Y, Matsuoka M, Miyazono K, Nakayama K, Nanba A, Tomoda H, Okazaki Y, Ohtake A, Oda H, Owan I, Yoda T, Haga N, Furuya H, Katagiri T. A unique mutation of ALK2, G356D, found in a patient with fibrodysplasia ossificans progressiva is a moderately activated BMP type I receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2008) 377: 905-909 査読有り

Mizuno Y, Yagi K, Tokuzawa Y, Kanesaki-Yatsuka Y, Suda T, Katagiri T, Fukuda T, Maruyama M, Okuda A, Amemiya T, Kondoh Y, Tashiro H, Okazaki Y. miR-125b inhibits osteoblastic differentiation by down-regulation of cell proliferation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2008) 368: 267-272 査読有り

[学会発表](計5件)

福田亨 WntとBMPリガンドによる

相乗的な骨芽細胞の誘導機構 第 32 回 BMP
日本分子生物学会年会 2009 年 12 月 12 日
パシフィコ横浜 (神奈川県)

福田亨 筋組織内に異所性骨化を
生じる遺伝性難病 Fibrodysplasia
Ossificans Progressiva (FOP) 第 10 回運
動器科学研究会 2009 年 9 月 18 日 東京ス
テーションコンファレンス (東京都)

福田亨 Functional Analysis of
Mutant ALK2 Receptors Found in
Fibrodysplasia ossificans progressiva
(FOP) 31st ASBMR (American Society for
Bone and Mineral Research) annual meeting
2009 年 9 月 12 日 コロラドコンベ
ンションセンター (アメリカ)

福田亨 Fibrodysplasia
ossificans progressiva (FOP) で同定され
た ALK2 変異体の解析 第 27 回日本骨代謝
学会学術集会 2009 年 7 月 25 日 大阪国
際会議場 (大阪府)

福田亨 Fibrodysplasia
ossificans progressiva (FOP) で新たに同
定された ALK2 変異体の機能解析 第 16 回
BMP 研究会 2009 年 7 月 26 日 大阪大
学中之島センター (大阪府)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福田 亨 (FUKUDA TORU)
埼玉医科大学・医学部・助教
研究者番号: 20301492

(2) 研究代表者 なし

(3) 研究代表者 なし