

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 創薬基盤推進研究事業
(英語) Research on Development of New Drugs

研究開発課題名： (日本語) 進行性骨化性線維異形成症に対する新規治療薬の開発
(英語) Development of new therapeutic drug for Fibrodysplasia Ossificans Progressiva

研究開発担当者

所属 役職 氏名： (日本語) 京都大学ウイルス・再生医科学研究所/iPS細胞研究所・
教授/副所長・戸口田 淳也
(英語) Institute for Frontier Life and Medical Sciences/Center for iPS Cell
Research and Application, Kyoto University・Professor/Deputy
Director・Junya Toguchida

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) なし
開発課題名： (英語)

研究開発分担者

所属 役職 氏名： (日本語) 京都大学医学部附属病院臨床総合研究センター・准教授・
岡本 健
(英語) Institute for Application of Clinical Trial, Kyoto University
Hospital・Associate Professor・Takeshi Okamoto

所属 役職 氏名： (日本語) 京都大学医学部附属病院臨床総合研究センター・助教・
金 永輝
(英語) Institute for Application of Clinical Trial, Kyoto University
Hospital・Assistant Professor・Yonghui Jin

所属 役職 氏名：（日本語） 東京大学医学部附属病院リハビリテーション科・教授・
芳賀 信彦

（英語） Department of Rehabilitation Medicine, The University of Tokyo
Hospital・Professor・Nobuhiko Haga

所属 役職 氏名：（日本語） 名古屋大学大学院医学研究科整形外科・准教授
鬼頭 浩史

（英語） Department of Orthopaedics, Nagoya University Graduate School of
Medicine・Associate Professor・Hiroshi Kitoh

II. 成果の概要（総括研究報告）

進行性骨化性線維異形成症(Fibrodysplasia Ossificans Progressiva, FOP)に対する新規治療薬の開発に向けて、下記の二つの課題に取り組んだ。

1. mTOR 阻害剤による異所性骨化抑制の分子機構の解明

1) 変異 ACVR1/ALK2 による mTOR 活性亢進の分子機構の解明

培地を共有する培養実験系から、変異 ACVR1/ALK2 を介したアクチビン刺激により FOP 細胞が mTOR 活性を亢進する蛋白を分泌していることを示唆する結果を得た。そこで網羅的遺伝子発現解析によりアクチビン刺激により FOP 細胞で特異的に発現が亢進している遺伝子群を同定し、その中の分泌蛋白をコードする遺伝子より、解析候補となる ENPP2 を選出した。ENPP2 の発現を阻害したところ、mTOR 活性が低下したことから、ENPP2 がアクチビンによる mTOR 活性化に係わる因子の 1 つであることが判明した。

2) 活性化 mTOR による内軟骨性骨化促進機構の解明

mTOR の活性亢進から軟骨形成に至る分子機構を明らかにするために、mTOR シグナルの下流に位置する因子を阻害剤等で改変したところ、特定の因子を阻害することで軟骨基質形成能が劇的に低下することを見出した。更にその因子がアクチビンにより直接誘導されることも判明し、アクチビンによる軟骨基質形成亢進に強く関与していることが示唆された。

2. FOP に対するシロリムスを用いた医師主導治験

1) FOP 患者の病歴データの収集・分析

FOP の自然経過を把握するため、治験実施予定の施設のみならず、他の施設も含む多施設共同非介入観察研究を立案し、まず京都大学で承認され、続いて他の施設においても承認された。これらの施設で診療を受けている患者数の合計は約 40 名（本邦の患者数の約半数）である。また FOP の患者会と連絡をとり、本研究への参加を依頼した。そして承認された計画に基づいて京都大学 3 名を含む合計 13 名の観察研究を開始した。

2) 治験計画の立案・申請

海外から大規模な観察研究の論文が発表されたことから、そのデータをもとにまず京都大学において医学部附属病院臨床総合研究センターの支援を受け、治験薬提供企業との協議のもとに治験計画を立案し、PMDA との事前面談を経て対面助言を受けた。そして治験参加予定施設の担当者を含めた会議において最終案を決定し、京都大学の治験審査委員会へ提出する治験実施計画書を作製した。

To develop new therapeutic drugs for Fibrodysplasia Ossificans Progressiva, we have engaged in following two issues.

1. Investigation of molecular mechanism of the suppression of heterotopic ossification by mTOR inhibitors

1) Investigation of molecular mechanism of the activation of mTOR by the signal via the mutant ACVR1/ALK2

Based on the results of co-culture experiments, we have observed that via the mutant ACVR1/ALK2, Activin induced the production of soluble factors in FOP cells, which subsequently enhanced the activity of mTOR. To identify the such factors, the comprehensive gene expression analyses was performed, and genes encoding soluble factors were selected from the list of up-regulated genes by Activin, among which the ENPP2 gene was identified as a strong candidate. Inhibition of ENPP2 gene clearly inhibited the activation of mTOR by Activin, indicating that ENPP2 is one of major factors involved in the process of mTOR activation by Activin.

2) Investigation of molecular mechanism of the enhancement of chondrogenesis by activated mTOR

To understand the molecular mechanism how the activation of mTOR enhanced chondrogenesis, we have inhibited each signal pathway located in the downstream of mTOR. As a result, inhibition of one particular pathway dramatically changed the effect of Activin on chondrogenesis. We also found that the Activin regulated the expression of the major gene on that pathway, suggesting that the identified pathway is strongly involved in the process of enhancement of chondrogenesis by Activin.

2. Investigator initiated clinical trial of Sirolimus for FOP

1) Collection and analyses of historical data of FOP patients

To understand the natural course of FOP patients, we have designed a multi-institutional, non-invasive observational study participated by not only the institutes to be registered in the clinical trial, but also other institutes. After the approval by the IRB in Kyoto University, the study was also approved in several other institutes. Total number of patients in these institutes will be approximately 40, which is almost a half of total number in Japan. As a result, total of 13 patients have participated in this observational study.

2) Design and application of the clinical trial plan

After we started our observational study, the result of world-wide, large scale observational study was published. Using the data described in that publication, we designed the clinical trial by the collaboration with the institute for Advancement of Clinical Trial in Kyoto University Hospital and the pharmaceutical company offering the investigational new drug. After the consultation with PMDA, the final form of application was reviewed by researchers in the collaboration and prepared for the submission to the IRB of Kyoto University.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌5件、国際誌7件）

1. Hayashi Y, Hsiao EC, Sami S, Lancero M, Schlieve CR, Nguyen T, Yano K, Nagahashi A, Ikeya M, Matsumoto Y, Nishimura K, Fukuda A, Hisatake K, Tomoda K, Asaka I, Toguchida J, Conklin BR, Yamanaka S. BMP-SMAD-ID promotes reprogramming to pluripotency by inhibiting p16/INK4A-dependent senescence. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016, 113, 13057-62.
2. 日野恭介、池谷 真、戸口田淳也. 患者由来 iPS 細胞を用いた進行性骨化性線維異形成症(FOP)の病態解明. 感染 炎症 免疫. 2016, 46, 55-8.
3. 池谷 真、日野恭介、松本佳久、福田 誠、戸口田淳也. 間葉系幹細胞疾患としての進行性骨化性線維異形成症. 実験医学. 2016, 17, 2913-9.
4. 戸口田淳也. 進行性骨化性線維異形成症(FOP)に対する新規治療法の開発. 整形・災害外科. 2016, 59, 1525-31.
5. 松本佳久、日野恭介、池谷 真、戸口田淳也. iPS 細胞を用いた進行性骨化性線維異形成症の病態解明. バイオサイエンスとインダストリー. 2016, 74, 324-6.
6. 戸口田淳也、日野恭介、池谷 真. 疾患特異的 iPS 細胞を活用した難病研究 病態解明から創薬へ. Clinical Calcium. 2016, 26, 593-600.
7. Shibata A, Machida J, Yamaguchi S, Kimura M, Tatematsu T, Miyachi H, Matsushita M, Kitoh H, Ishiguro N, Nakayama A, Higashi Y, Shimozato K, Tokita Y. Characterization of novel Runx2 mutation with alanine tract expansion from Japanese cleidocranial dysplasia patient. Mutagenesis 2016, 31(1):61-67.
8. Hasegawa S, Kitoh H, Ohkawara B, Mishima K, Matsushita M, Masuda A, Ishiguro N, Ohno K. Tranilast stimulates endochondral ossification by upregulating SOX9 and RUNX2 promoters. Biochem Biophys Res Commun 2016, 470(2):356-361.
9. Sugiura K, Ohno A, Kono M, Kitoh H, Itomi K, Akiyama M. Hyperpigmentation over the metacarpophalangeal joints the malleoli in a case of hyaline fibromatosis syndrome with ANTXR2 mutations. J Eur Acad Dermatol Venereol 2016, 30(10):e44-e46.
10. Matsushita M, Kitoh H, Mishima K, Kadono I, Sugiura H, Hasegawa S, Nishida Y, Ishiguro N. Low bone mineral density in achondroplasia and hypochondroplasia. Pediatr Int 2016, 58(8):705-708.
11. Hasegawa S, Victoria T, Kayserili H, Zackai E, Nishimura G, Haga N, Nakashima Y, Miyazaki O, Kitoh H. Characteristic calcaneal ossification: an additional early radiographic finding in infants with fibrodysplasia ossificans progressiva. Ped Radiol 2016, 46(11):1568-1572.
12. Matsushita M, Mishima K, Esaki R, Ishiguro N, Ohno K, Kitoh H. Maternal administration of meclozine for the treatment of foramen magnum stenosis in transgenic mice with achondroplasia. J Neurosurg Pediatr 2016, 19(1):91-95

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Evaluation of genetic factors of OPLL using patient-specific iPSCs, ポスター, Kawai S, Hada M, Koyama Y, Ikeya M, Alev C, Hotta A, Ikegawa S, Nakamura M, Yoshitomi H, Matsuda S, Toguchida J. ISSCR 2016 Annual Meeting, 2016/6/22-25, 国外.
2. 家族性 OPLL 患者由来の iPSC 細胞を用いた OPLL 遺伝的要素の検討, 口頭, 川井俊介, 羽田匡孝, 小山優子, 池谷 真, Cantas Alev, 堀田秋津, 池川志郎, 中村雅也, 松本守雄, 吉富啓之, 松田秀一, 戸口田淳也, 第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会, 福岡, 2016/10/13-14, 国内.
3. iPSC 細胞を活用した進行性骨化性線維異形成症の病態解析, 口頭, 関口和也, 日野恭介, 池谷 真, 戸口田淳也, 第 27 回小児整形外科学会学術集会, 2016/12/1-2, 国内.
4. 疾患特異的 iPSC 細胞を用いた創薬に向けた薬剤スクリーニング系の構築, 口頭, 松本佳久, 池谷 真, 日野恭介, 福田誠, 大塚隆信, 戸口田淳也, 第 89 回日本整形外科学会学術総会, 2016/5/12-15, 国内.
5. Neofunction of ACVR1 in Fibrodysplasia Ossificans Progressiva, Toguchida, J, Hino K, Ikeya M, Horigome K, Matsumoto Y, Ebise H, Nishio M, Sekiguchi K, Shibata M, Nagata S, Matsuda S. ポスター, ISSCR 2016 Annual Meeting, 2016/6/22-25, 国外.
6. 疾患特異的 iPSC 細胞を活用した骨格疾患の病態解明・創薬, 口頭, 戸口田淳也, 日野恭介, 池谷 真, 関口和也, 金永輝, 岡本 健, 吉富啓之, 松田秀一, 第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2016/10/13-14, 国内.
7. Application of disease-specific iPSC cells for FOP research, 口頭, Toguchida J, 2016 Drug Development Forum of FOP, 2016/10/13-14, 国外.
8. Treatment strategies for short stature in achondroplasia, 口頭, Kitoh H, Mishima K, Matsushita M. 13th International Congress of Human Genetics (Kyoto) 2016/4/3-6, 国内.
9. Genu varum in achondroplasia and hypochondroplasia, ポスター, Kitoh H, Mishima K, Matsushita M, Sugiura H, Hasegawa S, Ishiguro N. Annual meeting of Pediatric Orthopedic Society of North America (Indianapolis), 2016/4/27-30, 国外.
10. Clinically attainable concentration of meclozine promotes bone growth in transgenic mice with achondroplasia. 口頭 Matsushita M, Kitoh H, Mishima K, Nishida Y, Ishiguro N, Ohno K. Gordon Research Conference (Hong Kong), 2016/6/5-10, 国外.
11. 軟骨無形成症の低身長に対する治療, 口頭, 鬼頭浩史, 三島健一, 松下雅樹, 第 34 回日本骨代謝学会・第 3 回アジア太平洋骨代謝学会 (大阪), 2016/7/20-23, 国内.
12. Meclozine による軟骨無形成症の根本的治療の可能性と限界, 口頭, 松下雅樹, 鬼頭浩史, 三島健一, 杉浦洋, 西田佳弘, 石黒直樹, 大野欽司, 第 34 回日本骨代謝学会・第 3 回アジア太平洋骨代謝学会 (大阪), 2016/7/20-23, 国内.
13. Clinically attainable concentration of meclozine has a potent effect on promoting bone growth in achondroplasia, 口頭, Matsushita M, Kitoh H, Mishima K, Ishiguro N, Ohno K, The annual scientific meeting of the endocrine society of Australia, the Society for Reproductive Biology and the Australia and New Zealand Bone and Mineral Society (Gold Coast), 2016/8/21-24, 国外.
14. Clinically attainable concentration of meclozine has a potent effect on promoting bone

- growth in achondroplasia, 口頭, Matsushita M, Kitoh H, Mishima K, Ishiguro N, Ohno K, The annual scientific meeting of the endocrine society of Australia, the Society for Reproductive Biology and the Australia and New Zealand Bone and Mineral Society (Gold Coast), 2016/8/21-24, 国外.
15. FGFR3-targetted therapy for short stature in achondroplasia, 口頭, Kitoh H, Matsushita M, Mishima K, Ishiguro N, 60th Korean Orthopaedic Association (Incheon), 2016/10/19-22, 国外.
 16. Meclozine は乗り物酔い止め薬としての効能を発揮する用量の連続投与により軟骨無形成症における骨伸長を促進しうる, 口頭, 松下雅樹, 鬼頭浩史, 三島健一, 杉浦洋, 西田佳弘, 石黒直樹, 大野欽司, 第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会 (福岡), 2016/10/13-14, 国内.
 17. Treatment strategies for short stature in achondroplasia, 口頭, Kitoh H, 第 50 回日本小児内分泌学会・第 9 回アジア太平洋小児内分泌学会 (東京), 2016/11/16-20, 国内.
 18. 軟骨無形成症に対する根本的治療の開発, 口頭, 松下雅樹, 鬼頭浩史, 三島健一, 杉浦洋, 長谷川幸, 北村暁子, 石黒直樹, 第 27 回日本小児整形外科学会 (仙台), 2016/12/1-2, 国内.
 19. 周産期致死性の低ホスファターゼ症に対し生後 1 日より酵素補充療法を行った 1 例, 口頭, 杉浦洋, 鬼頭浩史, 三島健一, 松下雅樹, 北村暁子, 門野泉, 西田佳弘, 石黒直樹, 第 28 回日本整形外科学会骨系統疾患研究会 (仙台), 2016/12/3, 国内.
 20. 軟骨無形成症の根本的治療法を目指した meclozine の有効投与量の検討, 口頭, 松下雅樹, 鬼頭浩史, 三島健一, 杉浦洋, 北村暁子, 西田佳弘, 石黒直樹, 大野欽司, 第 30 回日本軟骨代謝学会 (京都), 2017/3/3-4, 国内.
 21. Clinically feasible dose of meclozine promotes bone growth in mouse model with achondroplasia, 口頭, Matsushita M, Kitoh H, Mishima K, Sugiura H, Hasegawa S, Kitamura A, Ishiguro N, Ohno K. Annual meeting of Orthopaedic Research Society (San Diego), 2017/3/19-22, 国外.
 22. 骨系統疾患の病態解明と治療の進歩, 口頭, 芳賀信彦, 第 13 回宮城小児整形外科研究会, 2016/4/9, 国内.
 23. 進行性骨化性線維異形成症患者における身体機能の経時的評価, 口頭, 中原康雄, 遠藤佐知子, 澤田佑介, 真野浩志, 井口はるひ, 遠藤聡, 野口周一, 四津有人, 吉川二葉, 藤原清香, 篠田裕介, 芳賀信彦, 第 53 回日本リハビリテーション医学会学術集会, 2016/6/9-11, 国内.
 24. 骨系統疾患と障害, 口頭, 芳賀信彦, 第 53 回日本リハビリテーション医学会学術集会, 2016/6/10, 国内.
 25. 骨系統疾患の障害とリハビリテーション, 口頭, 芳賀信彦, 第 39 回宮崎リハビリテーション研究会, 2017/2/25, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. iPS細胞を活用した難治性疾患の病態解明・創薬, 戸口田淳也, 第13回京大病院iPS細胞・再生医学研究会, 2016/1/28, 国内.
2. iPS細胞の骨軟骨疾患への応用, 戸口田淳也, 2016年度医工学フォーラム, 2016/2/24, 国内.
3. 体を支える骨の病気について, 戸口田淳也, 2016年度再生医科学研究所公開講演会, 2016/7/16, 国内.
4. iPS細胞の骨・軟骨疾患への応用, 戸口田淳也, 健康フォーラム2016, 2016/11/20, 国内.
5. FOPにおけるADLとQOL, 中原康雄, 芳賀信彦, 平成28年度進行性骨化性線維異形成症(FOP)研究報告会, 2016/11/26, 国内.

(4) 特許出願

該当なし