

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) 難治性疾患実用化研究事業  
(英語) Practical Research Project for Rare / Intractable Diseases

研究開発課題名：(日本語) 診療ガイドライン策定を目指した骨系統疾患の診療ネットワークの構築  
(英語) Creation of a network for skeletal dysplasia research and care to develop clinical guidelines

研究開発担当者 (日本語) 小児科学 教授 大藪 恵一  
所属 役職 氏名：(英語) Department of Pediatrics Osaka University, Graduate School of Medicine,  
Professor, Keiichi Ozono

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) 診療ガイドライン策定を目指した骨系統疾患の診療ネットワークの構築  
開発課題名：(英語) Creation of a network for skeletal dysplasia research and care to develop clinical guidelines

研究開発分担者所属 役職 氏名：

- (日本語) 神奈川県立こども医療センター 内分泌代謝科 部長 安達昌功  
(英語) Kanagawa Children's Medical Center, Department of Endocrinology & Metabolism,  
Director, Masanori Adachi
- (日本語) 京都大学 iPS 細胞研究所 教授 妻木範行  
(英語) Center for iPS Cell Research and Application, Kyoto University,  
Professor, Noriyuki Tsumaki
- (日本語) 岡山大学病院小児科 講師 長谷川高誠  
(英語) Department of Pediatrics, Okayama University Hospital,  
Assistant professor, Kosei Hasegawa
- (日本語) 地方独立行政法人 大阪府立病院機構 大阪府立母子保健総合医療センター・  
研究所・環境影響部門 部長 道上敏美

- (英 語) Department of Bone and Mineral Research Osaka Medical Center and Research Institute for Maternal and Child Health, Head, Toshimi Michigami
5. (日本語) 埼玉県立小児医療センター 副病院長 望月 弘  
(英 語) Saitama Children's Medical Center,  
Deputy Chief of Medical Clinic, Hiroshi Mochizuki
6. (日本語) 兵庫医科大学 教授 澤井英明  
(英 語) Hyogo College of Medicine, Professor, Hideaki Sawai
7. (日本語) 東北大学大学院医学系研究科小児環境医学分野 教授 藤原幾磨  
(英 語) Tohoku University Graduate School of Medicine Department of  
Pediatric Endocrinology and Environmental Medicine, Professor, Ikuma Fujiwara
8. (日本語) 大学院医学系研究科保健学専攻 教授 酒井規夫  
(英 語) Child Healthcare and Genetic Science Laboratory, Division of Health Science, Osaka  
University Graduate School of Medicine, Professor, Norio Sakai

## II. 成果の概要（総括研究報告）

本研究では、新規治療が開発されつつある骨系統疾患を対象として臨床データの登録システムを構築し、胎児期～小児期～成人期の年齢特異的な症状に基づく診断・治療適応の選択および効果の判定・新規治療薬の開発および実用化に必要な基盤を作ることを目指している。具体的には、軟骨無形成症(ACH)、低ホスファターゼ症(HPP)、骨形成不全症(OI)、II型コラーゲン異常症およびその他の骨系統疾患を対象としている。まず、研究班のホームページ(HP)を開設し、遺伝子診断など確実な診断を提供するための相談窓口を設けた([http://www2.med.osaka-u.ac.jp/skeletal\\_dysplasia/index.html](http://www2.med.osaka-u.ac.jp/skeletal_dysplasia/index.html))。モデルマウスを用いてFGFR3関連疾患に対してスタチンが候補薬として見いだされたので、IGF-1との協調作用を検討している。CNP/NPR-Bシグナルを標的とする治療の開発の一貫として、軟骨分化におけるCNP下流シグナルを検討し、CREBのリン酸化が重要であることを見出した。指定難病におけるOIの診断基準の妥当性を検討した結果、406例中255例がdefiniteと診断され、現行基準はほぼ妥当であると考えられた。OIに対しては、細胞内の異常I型コラーゲンの動態を解析し、小胞体内に蓄積することを定量的に示した。これを指標に、小胞体内蓄積を減少させるOIの候補薬を見出した。iPS細胞から神経堤細胞、間葉系幹細胞を介して骨芽細胞を誘導する培養系を確立した。疾患特異的iPS細胞作製のための患者リクルートを行っている(5例のOI患者のiPS細胞が作成された)。HPPに対する酵素補充療法が開始されたが、医師主導治験のデータを論文投稿すると共に、治療対象症例の選択と治療効果判定方法を検討している。II型コラーゲン異常症の発症率を胎児・新生児診断例から、2万出生に1人と推定した。骨系統疾患に対する診療ガイドラインを作成するため、clinical questionを決定し、系統的文献検索を行っている。

In the present study, we aim at creation of a network for skeletal dysplasia research and care to develop clinical guidelines, because many new drugs have been developed for patients with skeletal dysplasia. Among skeletal dysplasias, we focus on achondroplasia (ACH), osteogenesis imperfect (OI), hypophosphatasia (HPP) and type II collagenopathy. First, we

have built a web site to provide information on skeletal dysplasia, and consultation service is available via the site for patients with skeletal dysplasia ([http://www2.med.osaka-u.ac.jp/skeletal\\_dysplasia/index.html](http://www2.med.osaka-u.ac.jp/skeletal_dysplasia/index.html)). Statin has become a candidate drug for achondroplasia based on the effect in a mouse model. The additive effect of IGF-1 with statin is now investigated. CNP/NPR-B signal is another target of drug development for achondroplasia. The analysis of CNP/NPR-B signal revealed the phosphorylation of CREB is involved in the effect in differentiation of chondrocytes. As one of Japan designated intractable diseases, OI has diagnostic criteria. According to our investigation, 255 patients with OI out of 406 were compatible with definite diagnosis, suggesting that the criteria are valid. Dermal fibroblasts were obtained from 6 patients with OI. ER retention of type I procollagen was analyzed by immunofluorescent staining. As a result, excessive amount of type I procollagen in ER by over 2 times more in OI fibroblasts than normal was revealed. We found the drug X which decreased the retention in a dose-dependent manner. OI-specific iPS cells were obtained from 5 patients with OI. The culture condition in which osteoblasts are differentiated from iPS cell through neural crest cells or mesenchymal stem cells was established. Enzyme replacement therapy is approved for HPP. Data from the physician-conducting clinical trial was summarized and the manuscript was submitted. The prevalence of type II collagenopathy is estimated one of 20,000 births based on the study of fetal and neonatal cases in designated area. We set up clinical questions to develop clinical guidelines.

### 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 19 件、国際誌 9 件）

1. Saito T, Nagasaki K, Nishimura G, Wada M, Nyuzuki H, Takagi M, Hasegawa T, Amano N, Murotsuki J, Sawai H, Yamada T, Sato S, Saitoh A. Criteria for radiologic diagnosis of hypochondroplasia in neonates. *Pediatr Radiol*. 2016 Apr;46(4):513-8.
2. Nobuzane T, Yamada T, Miura K, Sawai H, Masuzaki H, Kudo Y. Survey of prenatal testing for genetic disorders in Japan: Recent report. *J Obstet Gynaecol Res*. 2016 Apr;42(4):375-9.
3. Suzumori N, Ebara T, Yamada T, Samura O, Yotsumoto J, Nishiyama M, Miura K, Sawai H, Murotsuki J, Kitagawa M, Kamei Y, Masuzaki H, Hirahara F, Saldivar JS, Dharajiya N, Sago H, Sekizawa A; Japan NIPT Consortium. Fetal cell-free DNA fraction in maternal plasma is affected by fetal trisomy. *J Hum Genet*. 2016 Jul;61(7):647-52.
4. Okawa R, Iijima O, Kishino M, Okawa H, Toyosawa S, Sugano-Tajima H, Shimada T, Okada T, Ozono K, Ooshima T, Nakano K, Gene therapy improves dental manifestations in hypophosphatasia model mice, *J Periodontal Res*. 2016 Aug 26. [Epub ahead of print]

5. Miyake H, Yamada S, Fujii Y, Sawai H, Arimori N, Yamanouchi Y, Ozasa Y, Kanai M, Sago H, Sekizawa A, Takada F, Masuzaki H, Matsubara Y, Hirahara F, Kugu K. Nationwide survey for current clinical status of amniocentesis and maternal serum marker test in Japan. *J Hum Genet.* 2016 Oct;61(10):879-884.
6. Yamashita M, Hasegawa K, Higuchi Y, Miyai T, Okada A, Tanaka H, Tsukahara H. Urinary Cross-linked N-terminal Telopeptide of Type I Collagen Levels of Infants with Osteogenesis Imperfecta and Healthy Infants. *Acta Med Okayama.* 2016 Dec;70(6):435-439.
7. Nishiyama M, Sekizawa A, Ogawa K, Sawai H, Nakamura H, Samura O, Suzumori N, Nakayama S, Yamada T, Ogawa M, Katagiri Y, Murotsuki J, Okamoto Y, Namba A, Hamanoue H, Ogawa M, Miura K, Izumi S, Kamei Y, Sago H. Factors affecting parental decisions to terminate pregnancy in the presence of chromosome abnormalities: a Japanese multicenter study. *Prenat Diagn.* 2016 Dec;36(12):1121-1126.
8. Yotsumoto J, Sekizawa A, Suzumori N, Yamada T, Samura O, Nishiyama M, Miura K, Sawai H, Murotsuki J, Kitagawa M, Kamei Y, Masuzaki H, Hirahara F, Endo T, Fukushima A, Namba A, Osada H, Kasai Y, Watanabe A, Katagiri Y, Takeshita N, Ogawa M, Okai T, Izumi S, Hamanoue H, Inuzuka M, Haino K, Hamajima N, Nishizawa H, Okamoto Y, Nakamura H, Kanegawa T, Yoshimatsu J, Tairaku S, Naruse K, Masuyama H, Hyodo M, Kaji T, Maeda K, Matsubara K, Ogawa M, Yoshizato T, Ohba T, Kawano Y, Sago H; Japan NIPT Consortium.. A survey on awareness of genetic counseling for non-invasive prenatal testing: the first year experience in Japan. *J Hum Genet.* 2016 Dec;61(12):995-1001.
9. Takahashi Y, Sawai H, Murotsuki J, Satoh S, Yamada T, Hayakawa H, Kouduma Y, Sase M, Watanabe A, Miyazaki O, Nishimura G. Parental serum alkaline phosphatase activity as an auxiliary tool for prenatal diagnosis of hypophosphatasia. *Prenat Diagn.* 2017 Mar 22.
10. Safety and efficacy of treatment with Asfotase Alfa in patients with hypophosphatasia: results from Japanese clinical trial. Kitaoka T, Tajima T, Nagasaki K, Kikuchi T, Yamamoto K, Michigami T, Okada S, Fujiwara I, Kokaji M, Mochizuki H, Ogata T, Tatebayashi K, Watanabe A, Yatsuga S, Kubota T, Ozono K. *Clinical Endocrinology (Oxford)*, 2017, Apr. 4 [E-pub ahead of print].
11. Hasegawa K, Numakura C, Tanaka H, Furujo M, Kubo T, Higuchi Y, Yamashita M, Tsukahara H. Three cases of Japanese acromicric/geleophysic dysplasia with FBN1 mutations: a comparison of clinical and radiological features. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2017 Jan 1;30(1):117-121.
12. 大藪恵一, 大理石骨病, 今日の整形外科治療指針, 2016, P251.
13. 大藪恵一, 骨形成不全症に対して骨粗鬆症治療を投与する場合の注意点は?, CQで学ぶ骨粗鬆症治療薬の安全対策, 2016, p129-133.
14. Ohata Y, Ozono K, Michigami T, Current concepts in perinatal mineral metabolism, *Clin Pediatr Endocrinol*, 2016, 25 (1) : 9-17.
15. 大藪恵一, 低ホスファターゼ症, 小児科, 2016, 57 (3) : 225-261.

16. 大藪恵一, 低ホスファターゼ症の治療薬開発, 内分泌・糖尿病・代謝内科, 2016, 42 (3) : 203-207.
17. 大藪恵一, 低ホスファターゼ症, 最新医学, 2016, 71 (10) : 57-62.
18. 大藪恵一, 骨発育, 小児疾患診療のための病態生理, 2016, 48 (601) : 584-588.
19. 河野智敬, 鈴木秀一, 小澤綾子, 会津克哉, 道上敏美, 大藪恵一, 望月弘, 経過良好な低ホスファターゼ症の臨床像と遺伝学的診断, 日本小児科学会雑誌, 2016, 120 (7) : 1066-1071, .
20. Kubota T, Wang W, Miura K, Nakayama H, Yamamoto K, Fujiwara M, Ohata Y, Tachibana M, Kitaoka T, Takakuwa S, Miyoshi Y, Namba N, Ozono K., Serum NT-proCNP levels increased after initiation of GH treatment in patients with achondroplasia/hypochondroplasia, Clin Endocrinol (Oxf). 2016 [84 (6) :845-50]
21. Okazaki Y, Kitajima H, Mochizuki N, Kitaoka T, Michigami T, Ozono K , Lethal hypophosphatasia successfully treated with enzyme replacement from day 1 after birth, Eur J Pediatr, 2016, 175:433-437.
22. Wang W, Song MH, Miura K, Fujiwara M, Nawa N, Ohata Y, Kitaoka T, Kubota T, Namba N, Jin DK, Kim OH, Ozono K, Cho TJ, Acromesomelic dysplasia, type Maroteaux caused by novel loss-of-function mutations of the NPR2 gene: Three case reports, Am J Med Genet A, 2016, 170A(2):426-434,
23. Whyte MP, Rockman-Greenberg C, Ozono K, Riese R, Moseley S, Melian A, Thompson DD, Bishop N, Hofmann C, Asfotase alfa treatment improves survival for perinatal and infantile hypophosphatasia, J Clin Endocrinol Metab, 2016 [Epub ahead of print]
24. 細胞変換技術による軟骨疾患研究の進展開, 妻木範行, 大阪府医師会医学会雑誌, 2016, 47,1, 9-15.
25. iPS 細胞技術を使った軟骨疾患研究, 妻木範行, 最新医学社, 2016, 71, 8, 132-137.
26. Hasegawa K, Fukuhara R, Moriwake T, Tanaka H, Higuchi Y, Yamashita M, Tsukahara H. A novel mutation p.Ser348Cys in FGFR3 causes achondroplasia.
27. Lethal hypophosphatasia successfully treated with enzyme replacement from day 1 after birth. Okazaki Y, Kitajima H, Mochizuki N, Kitaoka T, Michigami T, Ozono K, European Journal of Pediatrics. 2016, 175, 433-7.
28. Calongos G, Hori M, Ogino M, Sawai H. A Case of Thanatophoric Dysplasia Type I with Fetal Hydrops in the First Trimester. Case Rep Obstet Gynecol. 2016;2016:1821230.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 骨系統疾患の治療の現状と今後の薬剤開発, 口頭, 大藪恵一, 第 89 回日本内分泌学会学術総会, 2016/4/21-23, 国内.
2. 骨系統疾患から見た成長障害, 口頭, 大藪恵一, 第 119 回日本小児科学会学術集会, 2016/5/13-15, 国内.

3. 骨系統疾患の診断と治療の最前線, 口頭, 大藪恵一, 第 40 回日本口蓋裂学会総会・学術集会, 2016/05/26-27, 国内.
4. 骨系統疾患 Update 2017, 口頭, 大藪恵一, 第 29 回京滋小児内分泌代謝カンファレンス, 2017/2/11, 国内
5. Application of iPSC technology to disease modeling for chondrodysplasia, 口頭, Noriyuki Tsumaki, The 5th International Research Conference on Multiple Hereditary Exostoses (MHE Research Foundation), 2016/5/19-22, 国外.
6. Application of iPS cell technologies to cartilage regeneration and disease modeling, 口頭, Noriyuki Tsumaki, Swiss-Kyoto Joint Symposium, 2016/6/13, 国内.
7. iPS 細胞を使った軟骨疾患研究の新展開, 口頭, 妻木範行, 昭和大学歯学部口腔生化学講座セミナー, 2016/7/7, 国内.
8. 疾患 iPS 細胞モデルを使った骨系統疾患の治療薬の探索, 口頭, 妻木範行, 第 50 回日本小児内分泌学会学術集会 [JSPE] 第 9 回アジア太平洋小児内分泌学会 [APPES] 総会, 2016/11/17, 国内.
9. Establishment of a human growth plate model with iPS Cell-derived cartilage, 口頭, 木村武司, 妻木範行, 第 50 回日本小児内分泌学会学術集会 [JSPE] 第 9 回アジア太平洋小児内分泌学会 [APPES] 総会, 2016/11/17, 国内.
10. ラット骨端線への iPS 細胞由来軟骨 particle 移植, ポスター, 小林与人, 妻木範行, 第 7 回 Orthopedic Research Club, 2016/11/19, 国内.
11. 骨系統疾患の疾患 iPS 細胞モデルと創薬研究, 口頭, 妻木範行, 第 39 回日本分子生物学会年会, 2016/11/30, 国内.
12. iPS 細胞を使った軟骨疾患研究の新展開, 口頭, 妻木範行, 昭和大学歯学部口腔生化学講座セミナー, 2016/7/7, 国内
13. iPS 細胞を用いた骨系統疾患研究, 口頭, 妻木範行, 第 24 回母子医療センターシンポジウム, 2017/2/17, 国内.
14. 軟骨無形成症および軟骨低形成症の診療状況に関するアンケート調査報告, 北岡 太一, 窪田拓生, 原田 大輔, 難波 範行, 長谷川 高誠, 安達 昌功, 藤原 幾磨, 望月 弘, 皆川 京子, 竹島 泰弘, 大藪 恵一, 第 119 回日本小児科学会学術集会 2016/5/13~15, 国内
15. 先天性骨系統疾患の診療と遺伝子診断, 長谷川高誠, 岡山臨床遺伝カンファレンス, 2016/5/28, 国内
16. 最近病態が明らかにされた骨系統疾患-自験例より- 長谷川高誠, 第 8 回中国四国骨系統・内分泌懇話会, 2016/10/1, 国内
17. 骨系統疾患と遺伝子診断, 長谷川高誠, 第 14 回 岡山臨床小児内分泌・代謝研究会, 2017/2/16 国内
18. The radiological features in a patient of achondroplasia with p.Ser348Cys mutation in the FGFR3 Daisuke Miyahara, Tadashi Moriwake, Rie Fukuhara, Yousuke Higuchi, Kosei Hasegawa, 2016/11/17~20, 国内
19. 低フォスファターゼ症の病態と治療の進歩, 口頭 (シンポジウム講演), 道上敏美, 第 34 回日本骨代謝学会学術集会, 2016/7/22, 国内.

20. CNP/NPRB シグナルは軟骨細胞分化後期に細胞周期の制御を介して肥大軟骨細胞層の肥厚をもたらす, 口頭, 山本景子, 川井正信, 山崎美和, 立川加奈子, 窪田拓生, 大藪恵一, 道上敏美, 第34回日本骨代謝学会学術集会, 2016/7/22, 国内.
21. CNP/NPRB signaling expands the hypertrophic zone in the growth plate cartilage by modulating cell cycle, ポスター, Yamamoto K, Kawai M, Yamazaki M, Tachikawa K, Wang W, Kubota T, Ozono K, Michigami T. Annual meeting of the American society for bone and mineral research. 2016/9/18, 国外.
22. ビタミンD欠乏性くる病と低ホスファターゼ症, 口頭(シンポジウム講演), 道上敏美, 第26回日本内分泌学会臨床内分泌代謝Update. 2016/11/18, 国内.
23. 酵素補充療法導入後における低ホスファターゼ症周産期型の新しい重症度分類の提案・口頭・永岡晋一、室月淳、澤井英明ほか、第69回日本産科婦人科学会学術講演会(広島)、2017年4月16日、国内
24. Survey of long survival cases of thanatophoric dysplasias, Oral, Hideaki Sawai, 20th International Conference on Prenatal Diagnosis and Therapy (Berlin, Germany), 13 July 2016、国外
25. Efficacy of monthly alendronate infusion for osteogenesis imperfecta, ポスター, 藤原幾磨, ASBMR2016 米国骨代謝学会, 2016年9月, 国外
26. A case of osteogenesis imperfecta caused by PPIB mutation (First Japanese case), ポスター, 菅野潤子、藤原幾磨, 第9回アジア太平洋小児内分泌学会、第50回日本小児内分泌学会, 2016年11月, 国内
27. Efficacy of monthly alendronate infusion for osteogenesis imperfecta, ポスター, 藤原幾磨, 第9回アジア太平洋小児内分泌学会、第50回日本小児内分泌学会, 2016年11月, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
なし。

(4) 特許出願  
非公開。