

氏名(本籍) 藤本 舞 (埼玉県)
学位の種類 博士(歯学)
学位記番号 甲 第314号
学位授与日 2015年3月23日
学位授与の要件 博士の学位論文提出者(学位規程第11条第1項該当者)
学位論文題目 進行性骨化性線維異形成症における骨化シグナル活性化機序の解析と胚性幹細胞を用いた新しい病態モデルの構築
論文審査委員 (主査)教授 須田 直人
(副査)教授 大森 喜弘
(副査)教授 羽毛田 慈之
(副査)教授 友村 明人

論文内容の要旨

進行性骨化性線維異形成症 (fibrodysplasia ossificans progressiva, FOP) は、幼少期から骨格筋組織内に異所性骨化を生じる遺伝性疾患である。FOP は、BMP の I 型受容体の 1 つである ALK2 の変異が原因と報告されている。本研究では、既知の典型的 FOP 症例と新規に報告された遅発性 FOP 症例から同定された ALK2 変異体の細胞内シグナルの活性化機構を解析した。典型的 FOP および遅発性 FOP のいずれの ALK2 変異体も、BMP シグナルの機能獲得型変異体で、BMP の II 型受容体である BMPR-II または ActR-IIIB のキナーゼ活性依存的に活性化された。9 つのセリン・スレオニン残基のうち、T203 残基が II 型受容体による活性化に必須であった。FOP の ALK2 変異体は II 型 BMP 受容体によって活性化を受けやすい変異体であることが明らかとなった。ALK2 の T203 残基は自身がリン酸化されて活性化するのではなく、ALK2 分子内の他の残基のリン酸化レベルを制御することによって、ALK2 の活性化を調節する可能性が示唆された。本研究により FOP の ALK2 の活性化メカニズムが明らかとなり、今後、新規の FOP 治療法開発に貴重な知見が得られた。

本研究ではさらに、Tet-Off システム下で野生型あるいは R206H 変異型 ALK2 を発現するマウス ES 細胞を樹立した。樹立されたいずれのクローンでも doxycycline (Dox) 非存在下で ALK2 の mRNA とタンパク質が誘導された。R206H 変異体を発現するクローン [RH#2] では、BMP 非存在下でも Dox 依存的な Smad1/5 のリン酸化や BMP 特異的レポーター活性の上昇を認めた。RH#2 は軟骨誘導培地に TGF- β 1 と BMP4 を添加すると、Dox 存在下でも軟骨細胞特異的な mRNA 発現が誘導された。さらに Dox 非存在下で培養した RH#2 は、TGF- β 1 のみを添加しても軟骨細胞分化が亢進した。本研究で樹立した ES 細胞は、FOP の異所性骨化の初期段階を反映する *in vitro* の実験系として有用であり、R206H 変異を介して誘導される軟骨分化を阻害する生理活性物質の探索へ応用が期待される。

論文審査および試験結果の要旨

本論文は、典型的 FOP 症例と遅発性 FOP 症例という異なる表現系を示す変異体の活性化機構の解析を行うことで、FOP の異所性骨化のメカニズムを明らかとした。II 型受容体による T203 を介した ALK2 の活性化という新たなメカニズムが提唱され、新規の FOP 治療法の開発に寄与すると期待される。さらに FOP から同定されたヒト変異型 ALK2 の発現を、Tet-Off システムで制御できるマウス ES 細胞を樹立し、この ES 細胞を用いた *in vitro* における軟骨分化誘導系を開発した。これは、FOP における変異 ALK2 による内軟骨性骨化の初期段階を反映した *in vitro* の有用な病態モデルと考えられる。

明海大学大学院歯学研究科歯学専攻 藤本 舞に対する最終試験は、2015 年 1 月 14 日、主査 須田 直人教授、副査 大森 喜弘教授、羽毛田 慈之教授、友村 明人教授の 4 名により行われた。論文審査ならびに専攻学術に関し、口頭試問をもって実施し、合格と認めた。また、藤本 舞の語学試験は、大学院入学試験の外国語試験の結果をもって合格とした。よって申請者 藤本 舞の本論文は、博士(歯学)の学位論文に値するものであると判断した。