

vectors into diseased muscle, this system seemed to be useful in modifying genetically autologous cells *ex vivo* rather than in direct injection *in vivo*. In fact, lentiviral vectors expressing mini-dystrophin transduced mouse satellite cells efficiently, and the transduced cells regenerated muscle fibers after transplantation [28]. Quenneville et al. [29] showed that lentiviral vectors are useful in transducing monkey muscle stem cells. The lentiviral vector has been recently used to modify muscle stem cells to deliver an antisense sequence linked to a modified U7 [30] or U1 [31] small nuclear RNA for restoration of the reading frame.

Antisense oligonucleotide (AO)-mediated exon skipping for DMD gene

Skipping of targeted exons

DMD is caused by mutations in the *DMD* gene that disrupt the open reading frame. BMD is also caused by mutations in the *DMD* gene, but in the case of BMD, the open reading frame is maintained. If we can skip (splice out) targeted exons by modification of splicing patterns and restore the reading frame, a shorter dystrophin protein can be restored in the DMD muscle, converting the DMD phenotype to a BMD phenotype. To this end, a number of antisense oligonucleotides (AOs) have been designed and tested *in vitro* [32–34] and *in vivo* [35–37]. Fig. 1 illustrates the skipping of exon 51 using one AO. Whether the resultant shortened dystrophin is functional or not depends largely on the function of the deleted part. In general, truncation of the rod domain is thought to be relatively harmless.

Single exon 51 skipping is expected to be suitable for approximately 13% of DMD patients. Multiple exon skipping is estimated to be applicable to more than 80% of DMD patients. Theoretically, the AO-mediated exon skipping strategy cannot treat patients with mutations in the promoter region, deletion of the first or last (79th)

exon, deletion of the domain bound by dystroglycan: exons 62–69 [38] or large deletions (>35 exons) [39]. However, these mutations are rare, and the majority of patients have a mutation in the hotspot located between exons 43 and 55.

Design of AOs

AOs are designed to hybridize specific sequences, such as exon-intron boundaries, and exon splicing enhancer (ESE) sequences in transcripts. AOs interfere sterically with the splicing machinery [40,41]. There are several software programs, such as ESEfinder (<http://rulai.cshl.edu/tools/ESE>), to design antisense oligonucleotides, but extensive empirical analysis is still required for each exon.

AO chemistry, delivery *in vivo*, and toxicity

Among the AOs tested so far, AOs having a 2'-O-methyl phosphorothioate backbone (2'-O-MeAO) and phosphorodiamidate morpholino oligomers (PMOs) (Fig. 2) are commonly used in animal models and in clinical trials [42,43]. 2'-O-MeAOs have a chemically modified RNA structure (Fig. 2). The modifications increase the half-life and distribution to tissues. 2'-O-MeAOs have been well tolerated in clinical trials. PMOs have a morpholino backbone, are uncharged, are not recognized by cellular proteins, and, therefore, are rapidly cleared from plasma and excreted in urine. Very high doses of PMOs are reported to be well tolerated by animal models. This would be partly because PMOs hardly evoke innate immune responses.

In vivo delivery of AOs

One limitation of PMO-mediated exon-skipping therapy is that PMOs do not easily enter cardiac muscle. Recently, to improve the uptake of PMOs by cardiocytes, peptide-tagged PMOs (PPMOs) [44] and Octa-guanidine PMOs [45] were developed. These modified

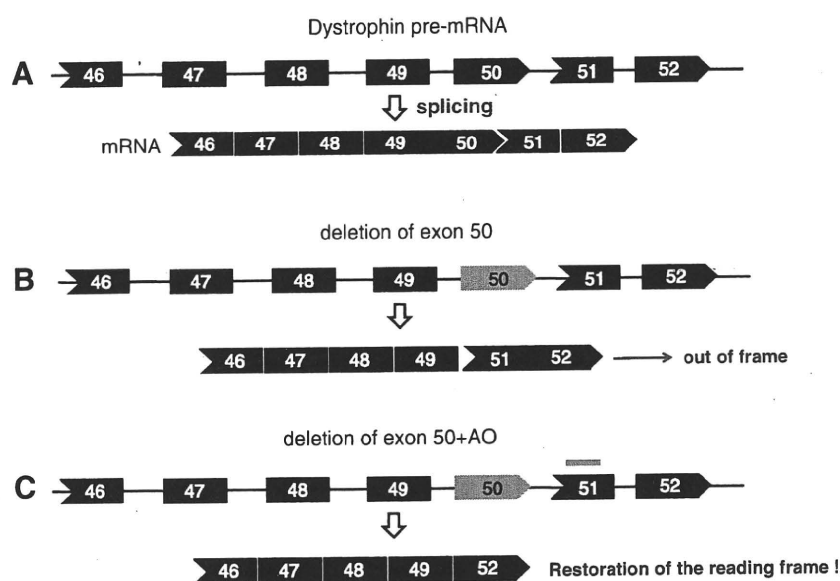


Fig. 1 – Exon skipping therapy for DMD patients with deletion of exon 51. (A) Normal dystrophin transcript and mRNA. (B) Deletion of exon 50 disrupts the open reading frame, leading to a premature stop codon, unstable mRNA, and a truncated protein. (C) Targeted skipping of exon 51 using AO restores the reading frame and produces a shorter but functional dystrophin that lacks exons 50 and 51. Blue bar indicates AO targeting the sequence in exon 51.

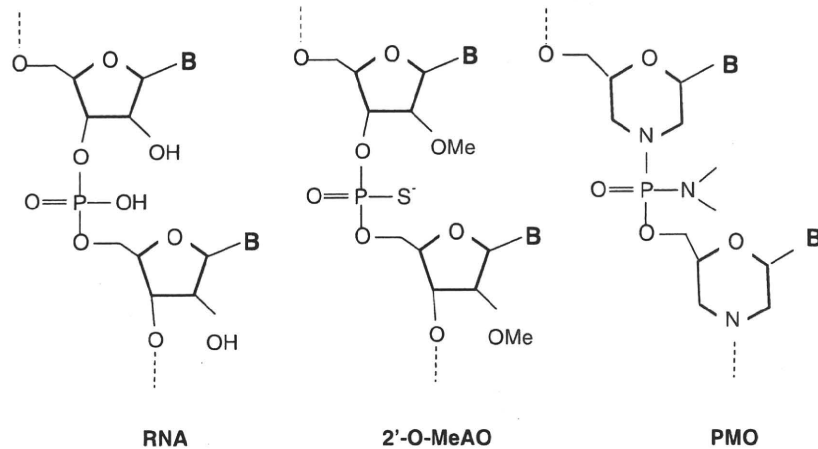


Fig. 2 – Structure of RNA, 2'-O-MeAO, and PMO. B: bases (adenine, cytosine, guanine, and thymine).

morpholinos are reported to be more effective than native PMOs in inducing exon skipping in cardiac muscle after intravascular injection. But there are potential concerns that PPMOs might elicit an immune response or have toxicity compared with PMOs due to the protein moiety.

Skipping multiple exons

If fully approved, AVI-4658 and PRO051, both of which target dystrophin exon 51, will be able to treat 13% of DMD patients. To treat more patients, elimination of two or more exons from the final mRNA is required. Theoretically, multiexon skipping using a cocktail of AOs can restore the reading frame of the *DMD* gene in more than 83% of the all DMD patients. Double-exon skipping using AOs has been shown to be feasible in patient-derived cells [46], mouse models, and dystrophic dogs [37]. On the other hand, the efficiency of multiexon skipping is much lower than expected [47]. This is presumably because partial exon skipping results in out-of-frame transcripts. It will be some time before multiple-exon skipping is applied to DMD patients.

Ongoing clinical trials of exon skipping

Clinical trials using intramuscular administration of 51 AOs, PRO051 (2'-O-Me AO), and AVI-4658 (PMO) have been performed in Europe by Prosensa and AVI BioPharma respectively. PRO051 and AVI-4658 were both designed to induce exon 51 skipping in the *DMD* gene and, therefore, can treat DMD patients with deletions such as 45–50, 47–50, 48–50, 49–50, 50, or 52. AVI BioPharma reported the initial data of systemic treatment with AVI-4658 (a phase 1b/2 clinical study) in the United Kingdom, which resulted in the successful restoration of dystrophin in the 2-mg/kg dose cohort (<http://www.avibio.com/>). AVI-4658 is well tolerated and so far has caused no serious side effects in treated patients. A phase 1/2 dose-ranging safety study using PRO051 was performed on 12 patients at two European clinical centers. The study demonstrated that PRO051 was also well tolerated up to 6 mg/kg and that novel dystrophin expression was detected in the patients in response to injections above 0.5 mg/kg [48] (also refer to <http://prosenza.eu/technology-and-products/Pipeline/PRO-051.php> or http://www.parentproject.org.au/html/s02_article/article_view.asp?art_id=679&nav_catid=214&nav_top_id=78).

However, the consequences of long-term administration of both AOs should be carefully examined because AOs have a transient effect and must be readministered to sustain the effect.

Conclusions

Development of gene therapy for DMD has long been a challenge, but recent strategies, such as AAV-8 or AAV-9-mediated systemic delivery of microdystrophin and exon skipping, hold great potential. AO-induced exon skipping is a mutation-specific approach. Both the mutation and splicing patterns of dystrophin mRNA must be examined individually, and the AO sequences used would differ from patient to patient. One concern is that the efficacy and safety of each variation must be tested on the same backbone, requiring more time to get approval from the regulatory authorities.

Although AO-mediated exon skipping has shown promising results, the authors predict that a combination of exon skipping and other therapeutic approaches, such as viral vector-mediated gene transfer, stem cell-based therapy, or additional strategies of enhancing muscle regeneration, will become the standard approach for future DMD therapy.

Acknowledgments

We would like to thank all members of the laboratory for helpful discussions.

REFERENCES¹

- [1] A. Aartsma-Rus, J.C. Van Deutekom, I.F. Fokkema, G.J. Van Ommen, J.T. Den Dunnen, Entries in the Leiden Duchenne muscular dystrophy mutation database: an overview of mutation types and paradoxical cases that confirm the reading-frame rule, *Muscle Nerve* 34 (2006) 135–144.

¹ The authors apologize that due to the limitation of space, all relevant references are not cited.

- [2] K.P. Campbell, Three muscular dystrophies: loss of cytoskeleton–extracellular matrix linkage, *Cell* 80 (1995) 675–679.
- [3] G. Gao, L.H. Vandenberghe, J.M. Wilson, New recombinant serotypes of AAV vectors, *Curr. Gene Ther.* 5 (2005) 285–297.
- [4] C. Trollet, T. Athanasopoulos, L. Popplewell, A. Malerba, G. Dickson, Gene therapy for muscular dystrophy: current progress and future prospects, *Expert Opin. Biol. Ther.* 9 (2009) 849–866.
- [5] A.L. Arnett, J.R. Chamberlain, J.S. Chamberlain, Therapy for neuromuscular disorders, *Curr. Opin. Genet. Dev.* 19 (2009) 290–297.
- [6] K. Foster, H. Foster, J.G. Dickson, Gene therapy progress and prospects: Duchenne muscular dystrophy, *Gene Ther.* 13 (2006) 1677–1685.
- [7] P. Gregorevic, M.J. Blankinship, J.M. Allen, R.W. Crawford, L. Meuse, D.G. Miller, D.W. Russell, J.S. Chamberlain, Systemic delivery of genes to striated muscles using adeno-associated viral vectors, *Nat. Med.* 10 (2004) 828–834.
- [8] A. Nishiyama, B.N. Ampong, S. Ohshima, J.H. Shin, H. Nakai, M. Imamura, Y. Miyagoe-Suzuki, T. Okada, S. Takeda, Recombinant adeno-associated virus type 8-mediated extensive therapeutic gene delivery into skeletal muscle of alpha-sarcoglycan-deficient mice, *Hum. Gene Ther.* 19 (2008) 719–730.
- [9] Z. Wang, T. Zhu, C. Qiao, L. Zhou, B. Wang, J. Zhang, C. Chen, J. Li, X. Xiao, Adeno-associated virus serotype 8 efficiently delivers genes to muscle and heart, *Nat. Biotechnol.* 23 (2005) 321–328.
- [10] K. Inagaki, S. Fuess, T.A. Storm, G.A. Gibson, C.F. McTiernan, M.A. Kay, H. Nakai, Robust systemic transduction with AAV9 vectors in mice: efficient global cardiac gene transfer superior to that of AAV8, *Mol. Ther.* 14 (2006) 45–53.
- [11] L.T. Bish, K. Morine, M.M. Sleeper, J. Sanmiguel, D. Wu, G. Gao, J.M. Wilson, H.L. Sweeney, Adeno-associated virus (AAV) serotype 9 provides global cardiac gene transfer superior to AAV1, AAV6, AAV7, and AAV8 in the mouse and rat, *Hum. Gene Ther.* 19 (2008) 1359–1368.
- [12] C.A. Pacak, C.S. Mah, B.D. Thattaliyath, T.J. Conlon, M.A. Lewis, D.E. Cloutier, I. Zolotukhin, A.F. Tarantal, B.J. Byrne, Recombinant adeno-associated virus serotype 9 leads to preferential cardiac transduction in vivo, *Circ. Res.* 99 (2006) e3–e9.
- [13] M. Yoshimura, M. Sakamoto, M. Ikemoto, Y. Mochizuki, K. Yuasa, Y. Miyagoe-Suzuki, S. Takeda, AAV vector-mediated microdystrophin expression in a relatively small percentage of mdx myofibers improved the mdx phenotype, *Mol. Ther.* 10 (2004) 821–828.
- [14] P. Gregorevic, M.J. Blankinship, J.M. Allen, J.S. Chamberlain, Systemic microdystrophin gene delivery improves skeletal muscle structure and function in old dystrophic mdx mice, *Mol. Ther.* 16 (2008) 657–664.
- [15] P. Gregorevic, J.M. Allen, E. Minami, M.J. Blankinship, M. Haraguchi, L. Meuse, E. Finn, M.E. Adams, S.C. Froehner, C.E. Murry, J.S. Chamberlain, rAAV6-microdystrophin preserves muscle function and extends lifespan in severely dystrophic mice, *Nat. Med.* 12 (2006) 787–789.
- [16] D. Townsend, M.J. Blankinship, J.M. Allen, P. Gregorevic, J.S. Chamberlain, J.M. Metzger, Systemic administration of micro-dystrophin restores cardiac geometry and prevents dobutamine-induced cardiac pump failure, *Mol. Ther.* 15 (2007) 1086–1092.
- [17] A. Ghosh, Y. Yue, Y. Lai, D. Duan, A hybrid vector system expands adeno-associated viral vector packaging capacity in a transgene-independent manner, *Mol. Ther.* 16 (2008) 124–130.
- [18] K. Yuasa, M. Yoshimura, N. Urasawa, S. Ohshima, J.M. Howell, A. Nakamura, T. Hijikata, Y. Miyagoe-Suzuki, S. Takeda, Injection of a recombinant AAV serotype 2 into canine skeletal muscles evokes strong immune responses against transgene products, *Gene Ther.* 14 (2007) 1249–1260.
- [19] S. Ohshima, J.H. Shin, K. Yuasa, A. Nishiyama, J. Kira, T. Okada, S. Takeda, Transduction efficiency and immune response associated with the administration of AAV8 vector into dog skeletal muscle, *Mol. Ther.* 17 (2009) 73–80.
- [20] L.R. Rodino-Klapac, P.M. Janssen, C.L. Montgomery, B.D. Coley, L.G. Chicoine, K.R. Clark, J.R. Mendell, A translational approach for limb vascular delivery of the micro-dystrophin gene without high volume or high pressure for treatment of Duchenne muscular dystrophy, *J. Transl. Med.* 5 (2007) 45.
- [21] L.R. Rodino-Klapac, C.L. Montgomery, W.G. Bremer, K.M. Shontz, V. Malik, N. Davis, S. Sprinkle, K.J. Campbell, Z. Sahenk, K.R. Clark, C.M. Walker, J.R. Mendell, L.G. Chicoine, Persistent expression of FLAG-tagged micro dystrophin in nonhuman primates following intramuscular and vascular delivery, *Mol. Ther.* 18 (2010) 109–117.
- [22] Z. Wang, J.M. Allen, S.R. Riddell, P. Gregorevic, R. Storb, S.J. Tapscott, J.S. Chamberlain, C.S. Kuhr, Immunity to adeno-associated virus-mediated gene transfer in a random-bred canine model of Duchenne muscular dystrophy, *Hum. Gene Ther.* 18 (2007) 18–26.
- [23] Z. Wang, C.S. Kuhr, J.M. Allen, M. Blankinship, P. Gregorevic, J.S. Chamberlain, S.J. Tapscott, R. Storb, Sustained AAV-mediated dystrophin expression in a canine model of Duchenne muscular dystrophy with a brief course of immunosuppression, *Mol. Ther.* 15 (2007) 1160–1166.
- [24] M.Z. Salva, C.L. Himeda, P.W. Tai, E. Nishiuchi, P. Gregorevic, J.M. Allen, E.E. Finn, Q.G. Nguyen, M.J. Blankinship, L. Meuse, J.S. Chamberlain, S.D. Hauschka, Design of tissue-specific regulatory cassettes for high-level rAAV-mediated expression in skeletal and cardiac muscle, *Mol. Ther.* 15 (2007) 320–329.
- [25] B. Wang, J. Li, F.H. Fu, C. Chen, X. Zhu, L. Zhou, X. Jiang, X. Xiao, Construction and analysis of compact muscle-specific promoters for AAV vectors, *Gene Ther.* 15 (2008) 1489–1499.
- [26] H. Foster, P.S. Sharp, T. Athanasopoulos, C. Trollet, I.R. Graham, K. Foster, D.J. Wells, G. Dickson, Codon and mRNA sequence optimization of microdystrophin transgenes improves expression and physiological outcome in dystrophic mdx mice following AAV2/8 gene transfer, *Mol. Ther.* 16 (2008) 1825–1832.
- [27] S. Li, E. Kimura, B.M. Fall, M. Reyes, J.C. Angello, R. Welikson, S.D. Hauschka, J.S. Chamberlain, Stable transduction of myogenic cells with lentiviral vectors expressing a minidystrophin, *Gene Ther.* 12 (2005) 1099–1108.
- [28] M. Ikemoto, S. Fukada, A. Uezumi, S. Masuda, H. Miyoshi, H. Yamamoto, M.R. Wada, N. Masubuchi, Y. Miyagoe-Suzuki, S. Takeda, Autologous transplantation of SM/C-2.6(+) satellite cells transduced with micro-dystrophin CS1 cDNA by lentiviral vector into mdx mice, *Mol. Ther.* 15 (2007) 2178–2185.
- [29] S.P. Quenneville, P. Chapdelaine, D. Skuk, M. Paradis, M. Goulet, J. Rousseau, X. Xiao, L. Garcia, J.P. Tremblay, Autologous transplantation of muscle precursor cells modified with a lentivirus for muscular dystrophy: human cells and primate models, *Mol. Ther.* 15 (2007) 431–438.
- [30] A. Goyenvalle, A. Vulin, F. Fougerousse, F. Leturcq, J.C. Kaplan, L. Garcia, O. Danos, Rescue of dystrophic muscle through U7 snRNA-mediated exon skipping, *Science* 306 (2004) 1796–1799.
- [31] M.A. Denti, A. Rosa, G. D'Antona, O. Sthandier, F.G. De Angelis, C. Nicoletti, M. Allocca, O. Pansarasa, V. Parente, A. Musaro, A. Auricchio, R. Bottinelli, I. Bozzoni, Body-wide gene therapy of Duchenne muscular dystrophy in the mdx mouse model, *Proc Natl Acad Sci U S A* 103 (2006) 3758–3763.
- [32] S.D. Wilton, A.M. Fall, P.L. Harding, G. McClorey, C. Coleman, S. Fletcher, Antisense oligonucleotide-induced exon skipping across the human dystrophin gene transcript, *Mol. Ther.* 15 (2007) 1288–1296.
- [33] A. Aartsma-Rus, L. van Vliet, M. Hirschi, A.A. Janson, H. Heemskerk, C.L. de Winter, S. de Kimpe, J.C. van Deutekom, P.A. t Hoen, G.J. van Ommen, Guidelines for antisense oligonucleotide design and insight into splice-modulating mechanisms, *Mol. Ther.* 17 (2009) 548–553.
- [34] L.J. Popplewell, C. Adkin, V. Arechavala-Gomez, A. Aartsma-Rus, C.L. de Winter, S.D. Wilton, J.E. Morgan, F. Muntoni, I.R. Graham, G. Dickson, Comparative analysis of antisense oligonucleotide sequences targeting exon 53 of the human DMD gene:

- implications for future clinical trials, *Neuromuscul. Disord.* 20 (2010) 102–110.
- [35] Q.L. Lu, C.J. Mann, F. Lou, G. Bou-Gharios, G.E. Morris, S.A. Xue, S. Fletcher, T.A. Partridge, S.D. Wilton, Functional amounts of dystrophin produced by skipping the mutated exon in the mdx dystrophic mouse, *Nat. Med.* 9 (2003) 1009–1014.
- [36] J. Alter, F. Lou, A. Rabinowitz, H. Yin, J. Rosenfeld, S.D. Wilton, T.A. Partridge, Q.L. Lu, Systemic delivery of morpholino oligonucleotide restores dystrophin expression bodywide and improves dystrophic pathology, *Nat. Med.* 12 (2006) 175–177.
- [37] T. Yokota, Q.L. Lu, T. Partridge, M. Kobayashi, A. Nakamura, S. Takeda, E. Hoffman, Efficacy of systemic morpholino exon-skipping in Duchenne dystrophy dogs, *Ann. Neurol.* 65 (2009) 667–676.
- [38] M. Ishikawa-Sakurai, M. Yoshida, M. Imamura, K.E. Davies, E. Ozawa, ZZ domain is essentially required for the physiological binding of dystrophin and utrophin to beta-dystroglycan, *Hum. Mol. Genet.* 13 (2004) 693–702.
- [39] A. Aartsma-Rus, I. Fokkema, J. Verschuuren, I. Ginjaar, J. van Deutekom, G.J. van Ommen, J.T. den Dunnen, Theoretic applicability of antisense-mediated exon skipping for Duchenne muscular dystrophy mutations, *Hum. Mutat.* 30 (2009) 293–299.
- [40] A. Aartsma-Rus, C.L. De Winter, A.A. Janson, W.E. Kaman, G.J. Van Ommen, J.T. Den Dunnen, J.C. Van Deutekom, Functional analysis of 114 exon-internal AONs for targeted DMD exon skipping: indication for steric hindrance of SR protein binding sites, *Oligonucleotides* 15 (2005) 284–297.
- [41] L.J. Popplewell, C. Trollet, G. Dickson, I.R. Graham, Design of phosphorodiamidate morpholino oligomers (PMOs) for the induction of exon skipping of the human DMD gene, *Mol. Ther.* 17 (2009) 554–561.
- [42] M. Kinali, V. Arechavala-Gomez, L. Feng, S. Cirak, D. Hunt, C. Adkin, M. Guglieri, E. Ashton, S. Abbs, P. Nihoyannopoulos, M.E. Garralda, M. Rutherford, C. McCulley, L. Popplewell, I.R. Graham, G. Dickson, M.J. Wood, D.J. Wells, S.D. Wilton, R. Kole, V. Straub, K. Bushby, C. Sewry, J.E. Morgan, F. Muntoni, Local restoration of dystrophin expression with the morpholino oligomer AVI-4658 in Duchenne muscular dystrophy: a single-blind, placebo-controlled, dose-escalation, proof-of-concept study, *Lancet Neurol.* 8 (2009) 918–928.
- [43] J.C. van Deutekom, A.A. Janson, I.B. Ginjaar, W.S. Frankhuizen, A. Aartsma-Rus, M. Bremmer-Bout, J.T. den Dunnen, K. Koop, A.J. van der Kooi, N.M. Goemans, S.J. de Kimpe, P.F. Ekhart, E.H. Venneker, G.J. Platenburg, J.J. Verschuuren, G.J. van Ommen, Local dystrophin restoration with antisense oligonucleotide PRO051, *N Engl J. Med.* 357 (2007) 2677–2686.
- [44] N. Jearawiriyapaisarn, H.M. Moulton, B. Buckley, J. Roberts, P. Sazani, S. Fucharoen, P.L. Iversen, R. Kole, Sustained dystrophin expression induced by peptide-conjugated morpholino oligomers in the muscles of mdx mice, *Mol. Ther.* 16 (2008) 1624–1629.
- [45] P.A. Morcos, Y. Li, S. Jiang, Vivo-Morpholinos: a non-peptide transporter delivers Morpholinos into a wide array of mouse tissues, *Biotechniques* 45 (2008) 613–614 616, 618 passim.
- [46] A. Aartsma-Rus, A.A. Janson, W.E. Kaman, M. Bremmer-Bout, G.J. van Ommen, J.T. den Dunnen, J.C. van Deutekom, Antisense-induced multiexon skipping for Duchenne muscular dystrophy makes more sense, *Am. J. Hum. Genet.* 74 (2004) 83–92.
- [47] L. van Vliet, C.L. de Winter, J.C. van Deutekom, G.J. van Ommen, A. Aartsma-Rus, Assessment of the feasibility of exon 45–55 multiexon skipping for Duchenne muscular dystrophy, *BMC Med. Genet.* 9 (2008) 105.
- [48] A. Extance, Targeting RNA: an emerging hope for treating muscular dystrophy, *Nat. Rev. Drug Discov.* 8 (2009) 917–918.

筋ジストロフィー

谷口真理子*
Mariko Taniguchi

戸田達史
Tatsushi Toda

はじめに

筋ジストロフィーとは骨格筋が慢性、進行性に壊死、再生をくり返し徐々に筋力低下、筋萎縮をきたす遺伝性筋疾患の総称である。遺伝子診療での筋疾患の相談頻度は高く、患者や家族、血縁者から妊娠、結婚、次子の再発率などの相談が多い。この稿では、紙数の都合上小児科領域で比較的頻度の高い Duchenne 型/Becker 型筋ジストロフィー (DMD/BMD; X連鎖性劣性遺伝: XLR) や福山型先天性筋ジストロフィー (FCMD; 常染色体劣性遺伝: AR), また筋強直症候群に分類されるが頻度の高い筋強直性ジストロフィー (DM; 常染色体優性遺伝: AD) について遺伝学的な基礎知識および両親への説明、遺伝学的検査法について要約する。

1. Duchenne 型/Becker 型筋ジストロフィー

1. 疾患の概略

DMD/BMD とともに、筋細胞膜の裏うち蛋白である *dystrophin* 遺伝子 (X21.2) の変異が原因である。最も頻度の高い小児期発症の筋ジストロフィーであり、出生男児 1/3500 人で発症、男児が罹患し、女性では保因者 (carrier) となるが症状のある例 (manifesting carrier) もある。DMD ではジストロフィン蛋白がほぼ完全欠損 (3%以下) であるが、BMD では少量 (~30%) 存在し、BMD は DMD の軽症型である。この違いは遺伝子変異

の差による。

2. 自然歴

DMD は運動発達の遅れ、転びやすい、階段昇降を嫌がるなどで 2~3 歳で気づかれる。採血の際偶然血清 CK, ALD, AST, ALT の高値で発見されることもある。特徴的な Gowers 兆候 (登攀性起立), 動揺性歩行, 仮性筋肥大を認め、平均 9 歳ごろより歩行困難, 10 代で車椅子, 徐々に完全臥床となる。軽度の知能低下を伴う例もある。寿命は以前 20 歳台といわれたが, 呼吸器や理学療法の進歩により延びている。死因は心筋症, 左心不全が多い。BMD は発症が 5 歳以上で 20 歳台以降に車椅子生活となる例が多いが, 筋肉痛のみ, 生涯無症状の例もある。

3. 診断

前述の臨床的兆候, 血清学的検査, 画像検査で近位筋優位の萎縮より疑われ, 末梢血での遺伝子検査により *dystrophin* に変異が同定されれば確定診断となる。検査方法には MLPA 法 (図 1), multiplex PCR 法, 直接シーケンス法, サザンブロット法, FISH 法, CGH マイクロアレイ法など (表) があり, 一部保険適用となった。変異は欠失, 重複型が最多だが (DMD 70%, BMD 85%, hot spot は exon 3~8 および 45~53), 微小変異のナンセンス, フレームシフト変異もある。変異由来のジストロフィン蛋白の残存機能の善し悪しが症状と相関する。筋生検は侵襲性の問題はあるが, 遺伝子変異が特定できない場合や症状が非典型的である場合有用である。筋組織の抗ジストロフィン抗体による免疫染色法, ウェスタンブロット法により他疾患との鑑別が可能である。

* 大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝学
〔〒565-0871 吹田市山田丘 2-2 B9〕
TEL 06-6879-3381 FAX 06-6879-3389
E-mail: mtaniguchi@clgene.med.osaka-u.ac.jp

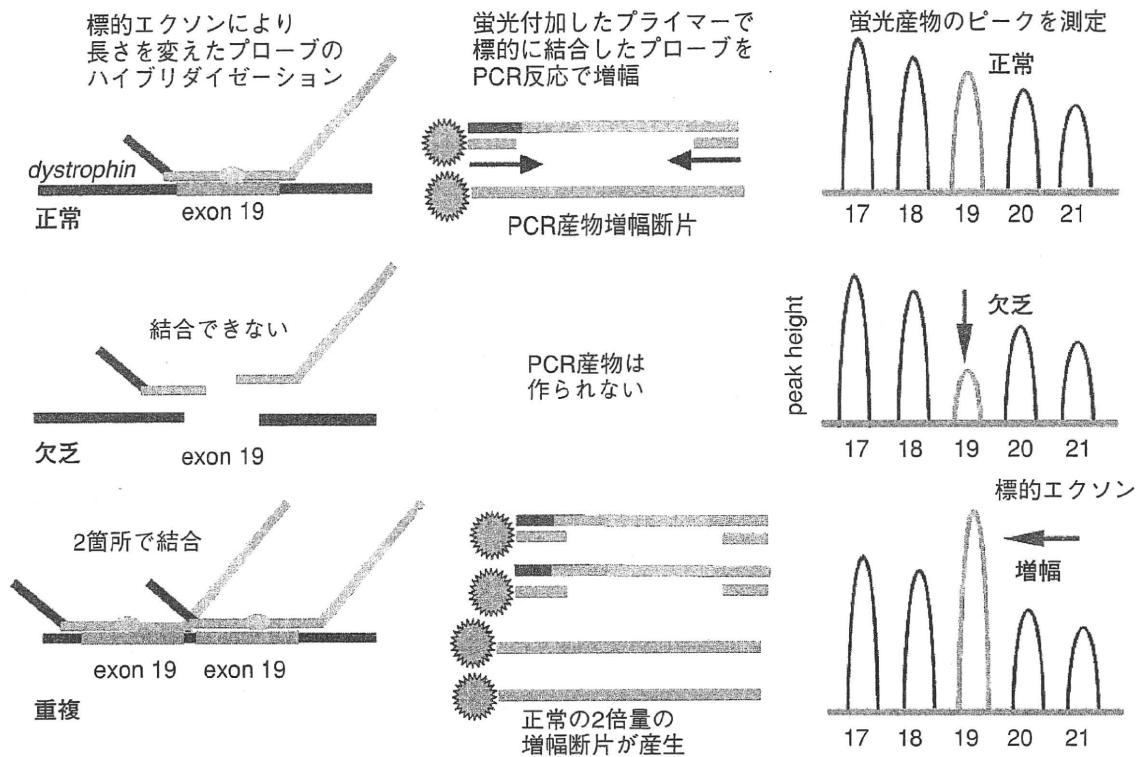


図 1 MLPA 法の原理 概略のため実際の結果とは異なる。

表 MD の CTG リピート数と重症度の相関

臨床型	臨床症状	CTG リピート数 (重複あり)	発症年齢	平均死亡年齢
前変異	なし	38~50	正常	正常
軽微型	白内障 軽いミオトニア	50~150	20~70 歳	60~正常
成人型	筋症状, 不整脈 白内障 前頭部禿頭 悪性腫瘍	100~ 1000~1500	10~30 歳	48~55
先天型	筋緊張低下 呼吸障害 精神発達遅滞	~1000~ 2000~ (1000 以下の報告あり)	新生児 ~10 歳	45 (周産期死亡は除く)

(出典: Gene Review)

4. 遺伝形式, 再発率

XLR. 母親が保因者の場合, 息子の 50%が罹患し娘の 50%は保因者。父親が患者である場合, 息子は罹患せず, 娘は 100%保因者。孤発例は約 1/3 だが, 新生 (*de novo*) 突然変異以外に, 性腺モザイクや体細胞モザイク例もみられるため, 孤発例の場合, 再発率は経験的に 5%程度である^{1,2)}。

5. 親への説明において気をつけること

筋ジストロフィーは難病である。まだ幼児である子が, DMD と告知された両親の落胆は想像を絶する。また母親が保因者の場合, 自身が保因者であることに対し自責の念を覚えたり, 次子への再発率の不安も生じたりと家族の心理的負担は大きい。X 染色体上に存在するジストロフィン巨大なため変異率が高く, X 染色体を 1 本もつ男性

で発症し、2本もつ女性で保因者となる。つまり、DMDは母親のせいで発症するわけではない。結果の告知においてそのような印象が伝わると母は深く傷つき、医療不信に陥ったり、疾患や患児の受け入れに問題が出たり、家族が崩壊することさえある。母親の保因者診断は、manifesting carrierの診断を除き、次子への再発率を知るための情報への目的で行われ、その結果は必ずしも本人の健康管理や利益のためとならず、夫婦関係の変化や、親族からの差別など、良くない影響があることも十分に話し合ったうえで検討される必要がある。また発端者に姉妹がいる場合、保因者である可能性は50%である。母は娘が将来自分と同じ苦しみをもつのだろうか、と苦悩し、なかには両親が娘の保因者診断を性急に希望される場合がある。しかし、保因者診断は本人の自由意志によってなされるものであり、原則として娘が成人になるまで検査は行わない³⁾。

このようにDMD/BMDの遺伝子検査は結果が発端者だけでなく、その家系全体に及ぼすストレスが大きい。遺伝子検査は、検査の意義やその結果による影響を十分検討されたうえで実施されるのが望ましく、結果告知後のフォローや心理的ケアも大切である。

6. 最近の治療法の進歩

近年、DMDに対し、既存のステロイド療法に加え遺伝子治療、薬剤治療にむけて研究の進歩は目覚ましい。エキソンスキッピング法は、特定の変異型の患者において、核酸化合物を用いて変異由来のジストロフィン蛋白の機能を低下させる部分のみを取り除き、完全ではないが改良した蛋白に換えて軽症のDMD、つまりBMDにする治療法⁴⁾で、治験が進んでいる。また、遺伝子治療や幹細胞移植の研究においては、動物実験で著明な治療効果が出る事が報告された^{5,6)}。また、微小変異のなかでもナンセンス変異の患者に対し、変異により翻訳が停止して壊される蛋白の“翻訳を完結させる”リードスルー薬剤(PTC124)の治験が海外で始まった⁷⁾。この疾患はもはや不治の病ではなくなりつつある。実現化という面ではまだ改良すべき問題はあろうが、最新の治療に関する研究成

果の正確な情報を気に向け、患者や家族に情報提供することも大切である。

7. 出生前診断

DMDに対し一部の施設で実施可能。妊娠前に発端者の遺伝子変異が同定され、母親がその保因者と同定されていることが必須条件である。ただし、孤発例でも性腺モザイク例が10~20%あるため、母親に変異が同定できない場合でも、発端者の変異が同定されている場合は羊水検査の適応になる^{1,2)}。胎児が女兒か、また男児であれば発端者と同じ変異を有するかを羊水検査(妊娠14~16週)あるいは絨毛検査(妊娠10~12週)により抽出した胎児由来のDNAで診断する。出生前診断は侵襲性があり、診断が中絶を選択しうる医療行為であり、家族の心理的、身体的負担は大きい。しかもこの検査は、健常児を保証する検査ではない。よって十分な遺伝カウンセリングは必須であり、希望される夫婦には必ず妊娠前に来談するよう勧める。一部施設で許可された着床前診断は、中絶を回避できるメリットがある一方、成功率、費用に関し議論がある。BMDに対しては生命予後の倫理的観点より適応はない。

8. 親の会

最も代表的な筋ジストロフィーの親の会として日本筋ジストロフィー協会(<http://www.jmda.or.jp/>)がある。会員数は約3000名、地方支部は8つに及ぶ全国組織で、「根本治療法の開発促進」、「患者のQOLの向上」を事業目標に活発にセミナーや集会を開催している。生活面での不安、療育、教育に関する相談や、患者家族同士の情報交換ができる家族会の存在は患者家族にとって心理的、社会的に貴重な支えとなる。

II. 福山型先天性筋ジストロフィー

1. 疾患の概略

FCMDは1960年に、福山らにより発見された、脳奇形に眼症状を伴う先天性筋ジストロフィーである⁸⁾。小児期の筋ジストロフィーでは日本で2番目に頻度が高い(2.9/10万人)。原因遺伝子 *fuku-*

tin (9q13) は 1998 年に、小林、戸田らにより同定された⁹⁾。ほとんどの患者で遺伝子の 3' 非翻訳領域に約 3kb のレトロトランスポゾンの挿入変異を両アレルに保有する。この変異を片アレルのみにもち、もう片アレルに点変異などの微小変異をもつ複合ヘテロ症例も存在する。

2. 自然歴

典型例では生後から乳児時期早期の間に全身性、進行性、対称性の筋力低下、筋萎縮を認める (floppy infant)。遅い頸定 (約 8 か月)、座位保持までは獲得しても、3~4 歳のいざり這いが最高到達運動機能である。約半数にけいれん、約 70% で眼症状 (視神経萎縮、眼振、網膜剥離) を認め、精神運動発達遅延は全例に認める。筋症状の進行は緩徐だが 6 歳以降に関節拘縮や筋力低下が著明となり完全臥床となる。肺炎、心不全、呼吸不全などの合併症により成人に達することは難しい。非典型例には歩行可能な例や心筋症、肢帯型筋ジストロフィーを呈す患者もみられる。

3. 診断

前述した臨床的兆候、血清学的検査 (数 1000 単位の CK 上昇) に、画像検査で筋組織の萎縮、脂肪変性、頭部 CT で厚脳回様所見、頭部 MRI で白質髄鞘化遅延などの所見より疑われ、遺伝子検査により *fukutin* ヘレトロトランスポゾンの挿入変異が認められれば確定診断となる。末梢血での遺伝子検査法は PCR 法、直接シーケンス法、サザンプロット法などが用いられ、一部保険適用となった。筋生検は、遺伝子検査で確定診断となる現在、ほとんど実施されなくなった。

4. 遺伝形式、再発率

AR。約 1/90 人が保因者で、日本には約 1000~2000 人の患者が存在する。性差はない。両親は保因者であり、再発率は 25%。50% は保因者となる。保因者は生涯無症状である。

5. 親への説明において気をつけること

fukutin にレトロトランスポゾンが挿入されたのは約 100 世代前の 1 人の日本人の祖先である (創

始者効果)。挿入変異の保因者である夫婦は遠い親戚同士である。両親は自分たちがその保因者であることにショックを受ける。しかし、両親が劣性遺伝病の保因者であることは決して珍しくない。私たちは誰も少なくとも 10 個以上の劣性遺伝病の遺伝子変異の保因者といわれる。つまり“人類みな保因者”なのである。説明する私たちもそのことを自覚しておくことは大事である。

6. 最近の治療法の進歩

有効な治療法は未だないが、*fukutin* の変異がもたらす病態解明が進んでいる。

7. 出生前診断

一部の施設 (東京女子医科大学、大阪大学) で可能。妊娠前に発端者の遺伝子変異が同定されていることが条件である。絨毛または羊水培養細胞より抽出した胎児 DNA で挿入変異を検出する PCR 法などを用い、発端者と同じ変異を保有するかを検査する。当院では母親の組織混入を除外するために、個人を識別するマイクロサテライトマーカーを使用し、診断した DNA が間違いなく胎児由来であることを確認する (図 2)。診断の精度は 99.999% 以上である。着床前診断は行われていない。出生前診断には十分な遺伝カウンセリングが必須である。

III. 筋強直性ジストロフィー

1. 疾患の概略

DM は筋症状以外に全身症状を伴う、比較的頻度の高い (5/10 万人) 筋強直症候群である。原因遺伝子 DMPK (DM1) は 19q13.2-q13.3 に存在し、患者では遺伝子の非翻訳領域にある CTG リピート数が延長する。このリピート数と発症、重症度は負の相関を示す (表)。この延長は世代を経て伸張し重症化する表現促進現象 (anticipation) を伴う (短縮する場合もある)。次世代でのリピート数は母親が DM の場合、父親の場合に比し有意に伸張度が高い (機序は不明)。最近、DM のもうひとつの遺伝子 DM2 が原因である DM2 型が見つかり²⁾、日本でも 1 例報告があるが DM1 型に比し症状は軽

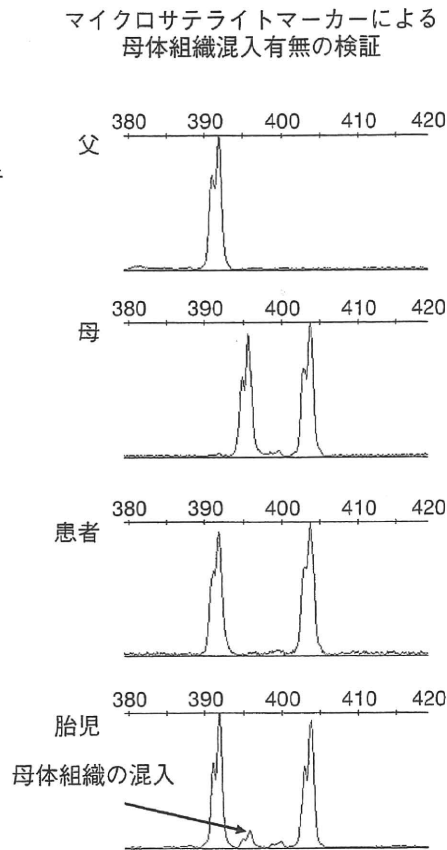
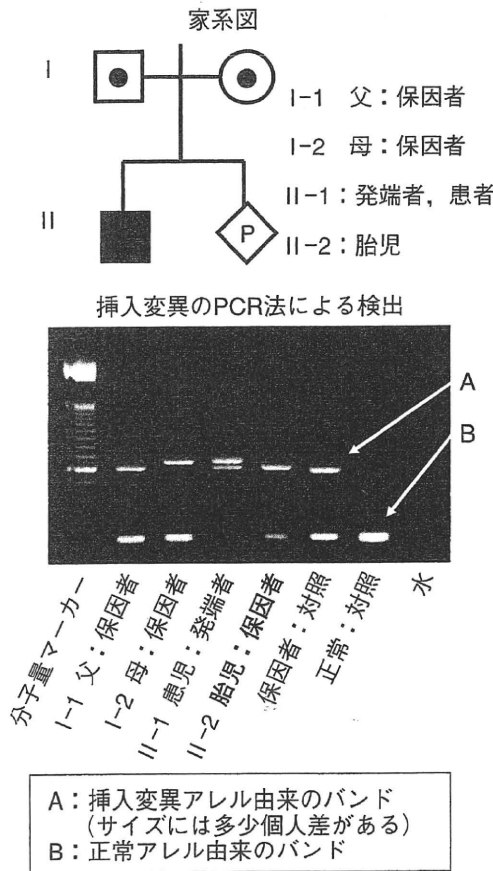


図 2 FCMD の出生前診断 実際の検査結果を多少改変

いとされる。

2. 自然歴

先天型 DM は出生時より低緊張で、特徴的顔貌 (逆 V 字型上口唇, 高口蓋), 哺乳困難, 呼吸障害, 精神運動発達遅延を伴い重症である。乳児期を過ぎると筋症状は少し改善し歩行可能となる例もあるが, 知的障害は全例に認め, 思春期以降には徐々に運動機能が低下する。成人型では特徴的な顔貌 (斧様顔貌), ミオトニア, 筋力低下, 呼吸障害, 嚥下困難などの平滑筋症状, 心筋伝導障害以外に内分泌系 (糖尿病, 性腺機能低下), 前頭部禿頭, 白内障, 精神症状などの全身症状や悪性腫瘍の合併がみられる。軽微型では白内障のみの例もある。成人型や軽微型では症状に個人差が大きく, 筋力低下が軽い例, 本人が自覚していない例もある。成人型女性では妊娠を契機に発症する例や, 羊水過多, 遷延分娩, 子癇出血, 自然流産, 死産など, 妊娠, 分娩に伴う合併症のリスクが高

い。

3. 診断

上記臨床症状や家族歴により疑われ, 遺伝子検査により DM1 の CTG リポート数の延長があれば確定診断となる。成人型では臨床症状として, 握った手を開くのに時間がかかる grip myotonia や, 母指球を叩くと持続性の筋収縮が起きる percussion myotonia を認め, 筋電図所見も参考になる。筋生検はほとんど行われない。

4. 遺伝形式, 再発率

AD. 性差なく再発率は 50%。先天型が出生した場合, ほとんどの場合母親が成人型 DM である。突然変異はなく, 浸透率は 100%。成人型の母が先天型を出生した場合の再発率は, 経験的に 20~40% と高い。リピート数が 300 回以下の女性が先天型の患児をもつリスクは 10% である一方, 300 回以上ではリスクが 59% となる報告もある¹⁾。し

かし、個々の症例において次世代のリピート数を予測するのは困難である。成人型の男性から先天型が生まれるケースはまれである。

5. 親への説明において気をつけること

先天型 DM の出生、診断を契機に母が同疾患であることに気づかれる。成人型の母は DM を発症するとそれ以降の妊娠、出産のリスクに加え不整脈、窒息による突然死の危険性もありうるため、診断確定が必ずしも家族にとって不利益な情報ではない。しかし、母親が未発症の場合や、自覚のない場合は発症前診断と同様に慎重に扱われなければならない。母親の診断に際しては、遺伝子診断の前に、まずは先天型 DM も含め、この幅広い症状をきたす疾患の特徴を家族に十分理解してもらうことが重要である。その際に、神経内科受診の必要性や不整脈に対する検診、内分泌系の精査や眼科的検査など医学的に必要性のある情報を伝える。そもそも遺伝子検査は、臨床的診断に基づいて行われることが望ましく、その逆は好ましくない。すでに未発症の兄弟がいる場合の遺伝子診断も、臨床症状の有無に基づき検討されるのが望ましい。発端者の診断ついでに家族全員のリピート数を調べるようなことは望ましくない。

この疾患に突然変異はない。家族歴の聴取により家系内で罹患の可能性のある人が多数いることが判明する。しかしこの疾患は、症状に個人差が大きく、加えて世代間でのリピート数の伸張による違いもあり、症状の出現年齢や重症度、出現する症状部位の予想が困難である。この疾患は発端者の診断を契機に、家系がさまざまな不安やストレスを抱えることになる。しかし、私たちは経験的な事実に基づいた、必ずしも十分でない情報提供をせざるをえず、その情報の限界性のなかで、患者やその家族がさまざまな決断をしてゆかなければならないことを認識しなければならない。

6. 最近の治療法の進歩

最近、この疾患の病態機序が解明された。DM1 遺伝子で伸張している CTG リピートが、さまざまな遺伝子の pre-messenger RNA のスプライシング異常を誘発し全身の臓器にさまざまな症状が出

るという^{10,11)}。この病態機序の解明に伴い、スプライシングを制御する核酸化合物や薬剤化合物を用いた治療法開発に向け研究が進んでいる。

7. 出生前診断

一部の施設で実施されている（着床前診断も一部の施設で認可）。妊娠前に母親が成人型 DM でリピート数が同定されていることが必須条件である。絨毛または羊水培養細胞から抽出した胎児 DNA を用い、直接リピート数を調べる方法や、増幅した遺伝子を電気泳動し、大まかな伸張を検出する方法がある。留意すべきは、この出生前診断ではリピート伸張の有無の判定は可能だが、胎児が先天型を発症するかについての診断は困難なことである。出生前診断の相談に来る夫婦には、この検査の限界性は必ず伝える。また、妊娠自体が母体、胎児の両方にとってリスクとなることも伝える。父が成人型 DM の場合の次子の出生前診断は、成人発症の疾患の出生前診断と同意義となり、わが国では適応にならない。

おわりに

近年、筋疾患に対し臨床診断、病理診断に加え遺伝子検査が確定診断に必須の要素となりつつあり、平成 20 年度より DMD および FCMD の遺伝子検査が保険適用となった。それは医学の進歩による恩恵である一方で、とくに治療法が確立されていない難病において、一生不変の遺伝情報を容易に検査で明かすことには危険性を感じる。遺伝学的検査は、適切な時期に心理・社会的ケアができる環境で、十分な知識、準備をもってなされなければ、患者や家族、血縁者に対し不安や絶望、拒絶、誤解など大きなストレスを与えかねない。よって近年は、臨床遺伝専門医、遺伝カウンセラーによる遺伝カウンセリングの実施の重要性が呼びかけられており、DMD、FCMD の遺伝子検査にも遺伝カウンセリングの実施およびガイドラインの遵守³⁾が明記されている。

当然、主治医と患者やその家族との信頼関係は患者の治療やフォローにおいて最も大切である。よって発端者の遺伝子診断は、主治医、専門機関、臨床遺伝専門医が連携をとり、患者や家族の利益

を最大限配慮して検討されることが望ましい。家系内の遺伝子診断についても、臨床遺伝専門医や各科専門医、各地の遺伝科や遺伝子診療部門に紹介し、医学的・遺伝学的情報を十分提供し検査の妥当性を検討できる場を設けることが大切である。今後は各疾患の遺伝子診断に対するガイドラインが作成され、さまざまな医療機関においても、同等の倫理基準や診療体制をもって遺伝子検査に取り組めるようになることが望まれる。

文 献

- 1) Darras BT, Korf BR, Urion DK : Dystrophinopathy (March 2008) ; Thomas BD : Myotonic dystrophy type 1 (November 2007) ; In GeneReviews at Gene Tests : Medical Genetics Information Resource (database online). University of Washington, Seattle, 1997-2008. <http://www.genetests.org/>
- 2) Firth VH, Hurst AJ : Clinical Genetics, Oxford University Press, 2005
- 3) 遺伝学的検査に関するガイドライン, 遺伝医学関連10学会, 2003年8月
- 4) van Deutekom JC, Janson AA, Ginjaar IB, et al : Local dystrophin restoration with antisense oligonucleotide PRO051. *N Engl J Med* 357 : 2677-2686, 2007
- 5) Darabi R, Gehlbach K, Bachoo RM, et al : Functional skeletal muscle regeneration from differentiating embryonic stem cells. *Nat Med* 14 : 134-143, 2008
- 6) Sampaolesi M, Blot S, D'Antona G, et al : Mesoangioblast stem cells ameliorate muscle function in dystrophic dogs. *Nature* 444 : 574-579, 2006
- 7) Welch EM, Barton ER, Zhuo J, et al : PTC124 targets genetic disorders caused by nonsense mutations. *Nature* 447 : 87-91, 2007
- 8) Fukuyama Y, Osawa M, Suzuki H : Congenital progressive muscular dystrophy of the Fukuyama type—clinical, genetic and pathological considerations. *Brain Dev* 3 : 1-29, 1981
- 9) Kobayashi K, Nakahori Y, Miyake M, et al : An ancient retrotransposal insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Nature* 394 : 388-392, 1998
- 10) Philips AV, Timchenko LT, Cooper TA : Disruption of splicing regulated by a CUG-binding protein in myotonic dystrophy. *Science* 280 : 737-741, 1998
- 11) Mahadevan MS, Yadava RS, Yu Q, et al : Reversible model of RNA toxicity and cardiac conduction defects in myotonic dystrophy. *Nat Genet* 38 : 1066-1070, 2006

* * *

福山型筋ジストロフィーの発見とその類縁疾患における病態

Pathomechanism of Fukuyama-type congenital muscular dystrophy and related disorders

戸田達史

わが国で特異的にみられる福山型筋ジストロフィーや、そのほか muscle-eye-brain 病, Walker-Warburg 症候群は、先天性筋ジストロフィーに滑脳症と眼奇形をともなう類縁疾患である。筆者らは、福山型筋ジストロフィーの原因遺伝子を同定し、原因蛋白質をフクチンと命名した。近年、これらの筋ジストロフィーに共通した病態として α ジストログリカンの糖鎖修飾異常が注目され、“ α ジストログリカノパチー”という新しい疾患概念が提唱されている。本稿では、福山型筋ジストロフィーの研究の歴史やその病態を中心に、 α ジストログリカノパチーについて解説する。



Key words

●福山型筋ジストロフィー ●フクチン ● α ジストログリカノパチー ●muscle-eye-brain 病 ●糖鎖

はじめに

筋ジストロフィーは、進行性の筋力低下と筋萎縮をともなう、筋線維の変性・壊死をおもな病理像とする遺伝性疾患の総称である。その種類は多く、発症頻度、遺伝形式、発症年齢、臨床症状はまったく異なっている。世界中で多くの患者が苦しんでおり、その救済のため、わが国を含め多くの国で、専門病院ばかりでなく筋ジストロフィー協会などの支援団体がつくられている。

福山型先天性筋ジストロフィー (Fukuyama-type congenital muscular dystrophy; FCMD) は、1960年、福山らにより発見され、その後、臨床的に集大成された。先天性筋ジストロフィーに神経細胞の移動障害による脳奇形をともなう常染色体性劣性遺伝疾患であり、日本人に特異的な疾患である。筆者らは、“日本人の名前のついた病気は日本人の手でなんとかしたい”と思い、患者集めからはじめて、ポジショナルクローニング法により原因遺伝子を同定

し、原因蛋白質をフクチンと命名した¹⁾。さらに、遠藤玉夫博士 (東京都老人総合研究所) らと共同で、福山型先天性筋ジストロフィーの類縁疾患である muscle-eye-brain 病の原因蛋白質が糖転移酵素 POMGnT1 であることを証明した²⁾。近年、筋ジストロフィーの原因が翻訳後の糖鎖修飾異常であるという、新たな発症メカニズムを示唆する研究があいついでいるが、福山型先天性筋ジストロフィーは糖鎖とのかかわりが示された最初の例である。本稿では、まず、福山型先天性筋ジストロフィーの発見から確立にいたる臨床的なことについて概説し、その後、遺伝子同定への道のりと最近のトピックス“糖鎖異常と筋ジストロフィー”を中心に述べる。ほとんど日本人にのみ発症し、日本人が発見・研究してきたこの疾患について、普段、親しみのない読者にもぜひ知っていただきたいと筆をとった。

I 福山型先天性筋ジストロフィーの発見と確立

福山型先天性筋ジストロフィーは、福山幸夫博士 (現 東京女子医大名誉教授) が東京大学医学部附属病院小児科に在籍していた1960年、“いわゆる脳性麻痺例から血清クレアチンキナーゼの高値例”を見だし、これを独立疾患として提唱したところからその歴史がはじまる。以後、福山ら

Tatsushi Toda

大阪大学大学院医学系研究科 臨床遺伝学

E-mail : toda@clgene.med.osaka-u.ac.jp

URL : <http://www.clgene.med.osaka-u.ac.jp/www/menu.html>

を中心とした多数の症例報告や研究によって疾患としての確立がなされていった³⁾。この疾患は、わが国における小児期筋ジストロフィーのなかで、デュシェンヌ型筋ジストロフィーのつぎに多くみられ、発症率は2.9/10万人であり、日本人の約90人に1人が保因者である計算になる。わが国には1000～2000人ほどの患者がいると推定されているが、海外からの診断確実例の報告は、この1～2年で増えたものの(後述)、当初は数例のみで、わが国に特異的にみられる疾患である。

福山型先天性筋ジストロフィーは、重度の筋ジストロフィー病変とともに多少脳回を基本とする高度の脳奇形を認め、さらに最近では、近視、白内障、視神経低形成、網膜剥離などの眼症状も注目されている。すなわち、遺伝子異常により骨格筋、眼、脳を中心に侵す一系統疾患である(図1)。患児は生後～乳児早期に筋緊張低下や筋力低下を発症し、運動障害は重症で、2歳前後で坐位まで獲得するものは多いが、歩行まで獲得するものはまれである。しかし、乳児期から筋力低下が認められるにもかかわらずその進行は緩徐であり、顎定または坐位保持の状態のまま維持する例が多い。また同時に、脳奇形による中枢神経症状にとまな

た精神発達の遅延がみられ、その約半数に痙攣がみられる。6歳以降は運動機能の低下がみられ、筋力低下や全身の関節拘縮により10歳前後には完全臥床状態となる。平均寿命は17.6歳で、死亡原因としては肺炎がもっとも多く、ついで、心不全、呼吸不全の順である³⁾。

中枢神経病変は、病理学的に多小脳回あるいは厚回様多小脳回、無脳回などの脳回異常の混合が必発であり、特徴的である(図1)。組織学的には、大脳では層構造が失われ、皮質外層部における細胞移動障害により、有髄線維を含むグリア間葉性膜組織が不規則に増殖している⁴⁾。

福山型先天性筋ジストロフィーは、1960年の発表後、わが国ではスムーズに認知されたものの、海外ではなかなか認知されなかった。その理由は、発表された雑誌がやや私的なものであったことと、海外に患者がいなかったことのためである。海外の雑誌に掲載された総説では、1979年に出版されたものでさえ、“先天性筋ジストロフィーという疾患自体、やがては分類から消えていくであろう”とあるくらいである。いわんや福山型をや、である。しかし、福山らの不断の活動やいくつかの影響のある論文をとおして、福山型先天性筋ジストロフィーの知識は徐々に広がっていった。そして、1986年には、Mendelian Inheritance in Man (いわゆる、McKusickのカatalog)に登録された。しかし、国際疾病分類(神経)に独立した疾患として登場したのが1991年であることは、われわれ日本人からみればたいへん意外である。

II 福山型筋ジストロフィー原因遺伝子同定のヒントと幸運

日本人に多く発症し重度な疾患であるにもかかわらず、デュシェンヌ型筋ジストロフィーに比べ、福山型筋ジストロフィーの本態はほとんどわかっていなかった。1989年、筆者は、筋ジストロフィー専門病院で臨床にたずさわっていた。当時、デュシェンヌ型筋ジストロフィーはその原因蛋白質であるジストロフィンが発見され病態が明らかになりつつあったが、福山型筋ジストロフィーに関しては常染色体性劣性遺伝疾患であるということ以外は遺伝子の位置も不明であり、確実なマーカー蛋白質となりうる物質もなく、分子医学的には何もわかっていなかった。

この原因不明の疾患の診療に取り組みながら、“日本人の名前のついた病気は日本人の手で何とかしたい”と思っていたのだが、それを始めるきっかけは、1990年に偶然に出

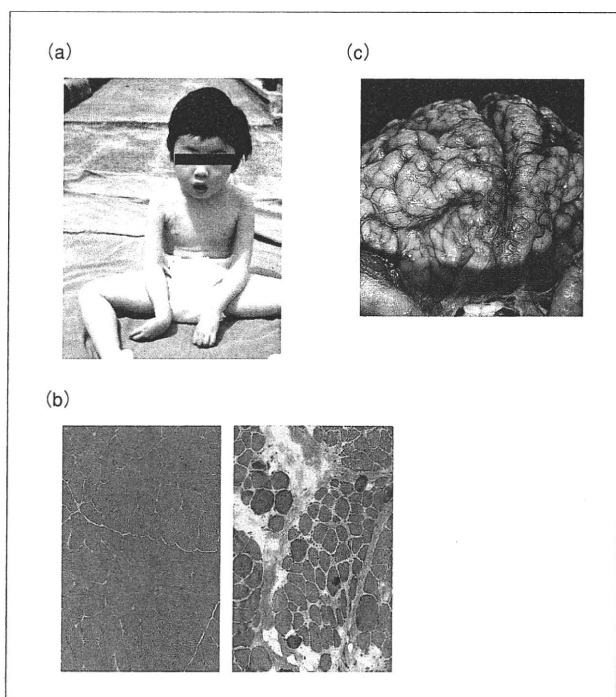


図1 福山型筋ジストロフィーの特徴

(a) 患者の全身像。5歳。座位しかできない。ミオパチー様顔貌と関節拘縮。
(b) 生検筋の組織像(ヘマトキシリン-エオジン染色)。左：正常筋、右：福山型筋ジストロフィー。
(c) 多小脳回。小多脳回が集合して厚脳回様にみえる。

かけたある班会議にあった。そこで三木哲郎博士(現 愛媛大学)が、“近親婚の症例は多いのですか？ 近親婚の症例で10人くらいの患者さんがいれば、連鎖解析ができるのですが”と、筆者とはまったく無関係な演題において質問していたことによる。筆者はこの“ホモ接合性マッピング”⁵⁾の理論は知るはずもなく、休憩時間に三木博士に体当たりして聞いてみた。

その原理を、図2に示す。常染色体性劣性遺伝疾患の場合、いとこ婚の家系において、共通祖先の父親または母親のどちらかの染色体に福山型筋ジストロフィー変異があるとする(すなわち保因者。変異をfとし、正常を+とする)、その変異が子に伝わり、その変異がさらにその子に伝わり、変異をもつとこどうしの子においてはじめて、変異をホモにもち疾患を発症することが考えられる。言い換えれば、患者は共通祖先の1本の染色体のコピーを2つもつことになり、これを“同祖ホモ”という。この疾患原因遺伝子にごく近いDNA多型マーカーのアレルが仮に“1”である場合、遺伝子どうしの位置が近いと組換えは起こりにくいので、1はfとともに動き患者において同祖ホモになる。逆にいえば、近親婚により生まれた患者においてつねにホモとなるようなDNA多型を探せば、それは疾患原因遺伝子の近くに位置することが示唆されるわけである⁵⁾。

当時、常染色体性劣性遺伝疾患で通常の連鎖解析をするのは不可能といわれており、ホモ接合性マッピングの理論を聞いてから、猛然と近親婚における症例の集積を開始した。“近親婚症例はいらっしゃいませんか？”と全国数百カ所の病院に手紙を書き、山中まで症例を集めに出かけた。もし、あの班会議に行っていなければ、このような研究は行なわなかったであろう。

また、その後、1991年、東京大学医学部附属病院神経内科医局における症例検討会で、福山型筋ジストロフィーと色素性乾皮症A群(常染色体性劣性遺伝疾患で、原因遺伝子XPAが同定された直後であった⁶⁾)を同時に発症した近親婚の症例が存在するとの情報を得て、この場合、2つの原因遺伝子は近くに存在しなければならないことに気づいた。その理由は、両親がともに2つの無関係な常染色体性劣性遺伝疾患の保因者である可能性は少なく、むしろ、患者の曾祖父または曾祖母が福山型筋ジストロフィーと色素性乾皮症A群の変異保因者であり、さらに、それら2つの原因遺伝子は近くに存在するため組換えが起こらず、ともに患者の父方と母方へと伝わり、患者で2つの変異ともホモとなって両者が合併した(図2)、という状況を考えてわ

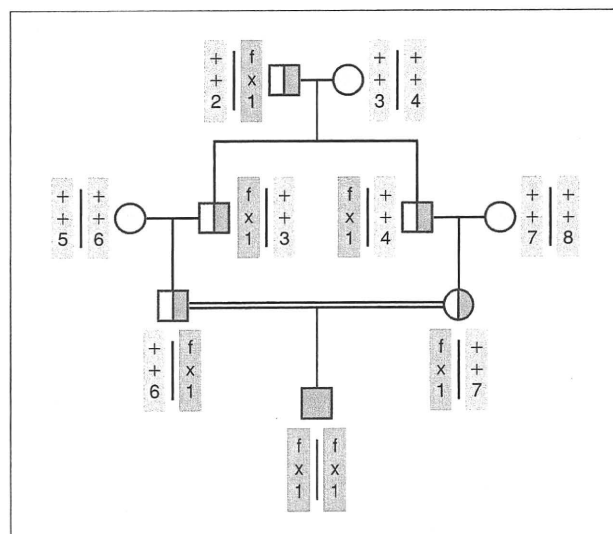


図2 ホモ接合性マッピングの原理

患者は曾祖父の1本の染色体断片のコピーを2つもつ“同祖ホモ”であり、福山型筋ジストロフィー原因遺伝子のごく近くにあるDNA多型もホモ(ここでは1, 1)になる。また、同様の理由で、色素性乾皮症A群の原因遺伝子XPAもホモになり、色素性乾皮症A群も発症する。

f: 福山型筋ジストロフィー遺伝子変異, x: XPA遺伝子変異。

けである⁵⁾。そして、まさにその周辺から連鎖解析を行ない、福山型筋ジストロフィーの原因遺伝子が9q31-33領域に存在することを報告した⁷⁾。

III 福山型筋ジストロフィー原因遺伝子 フクチンとレトロトランスポゾン

その後も筆者らのグループは、福山型筋ジストロフィーの原因遺伝子の存在範囲を狭める解析をつづけた。まず、組換え家系の解析により福山型筋ジストロフィーの原因遺伝子の存在範囲を数cMに局限化したあと、その範囲のなかのひとつのマイクロサテライト多型に連鎖不平衡を見いだした。この多型の周辺のYACならびにコスミドの整列化クローンを作製し、独自にマイクロサテライト多型をクローニングして連鎖不平衡マッピングを行なうことで、原因遺伝子の存在範囲を100 kb以下と大幅に狭めた⁸⁾。そして、この領域の整列化コスミドの各クローンをプローブとしてサザンハイブリダイゼーション法で解析し、患者DNAのほとんどに約3 kbの挿入配列があることを見いだした。つぎに、挿入配列のまわりの断片を起点としてcDNAをスクリーニングしつづけて、1種類のcDNAを得た。こうして1998年、福山型筋ジストロフィーの原因遺伝子をつきとめることに成功し、その遺伝子産物をフクチンと命名した¹⁾(図3)。

正常型フクチンのcDNAは約7kbで、骨格筋、心筋、脳で優位に発現している。ほとんどの患者DNAでみられた約3kbの挿入配列は、フクチン遺伝子の3'非翻訳領域にレトロトランスポゾンSVA型⁹⁾が挿入されていたものであった。この変異をもつ染色体ではフクチン遺伝子の発現が減少していることが観察された¹⁾。

フクチン遺伝子を挟んで存在する近傍の4つの多型マーカーを用いて多型解析を行なうと、レトロトランスポゾン挿入をもつ染色体はすべて同じハプロタイプを示す。これは、日本人の福山型筋ジストロフィー患者は共通した1人の祖先(保因者)に由来することを意味する。遺伝的に隔離された集団である日本人のなかで、レトロトランスポゾンが挿入された1本の染色体が全国に広がっていったものと考えられる。この“創始者”は約2500年前に存在したと考えられ¹⁰⁾、この時代はちょうど縄文時代から弥生時代へと移行するころである。古代から伝わったレトロトランスポゾンがヒトの遺伝性疾患の原因であることがわかったのは、世界ではじめてのことである¹⁾。

フクチンは461アミノ酸残基からなる53.7Kの蛋白質であり、N末端に膜貫通部位をもつ。抗フクチン抗体では発現量の少ない内在性フクチンを検出できないが、フクチンを細胞に強制発現させるとゴルジ体とその存在が認められる¹⁾。アミノ酸配列において相同性を示す既知の蛋白質やモチーフ検索から、フクチンはさまざまなゴルジ体糖転移酵素にみられるDXDモチーフとその周辺部分に酵母、線虫、細菌で保存されたドメインをもち、フクチン蛋白質ファミリーを形成していることが明らかとなった。また、それらの機能から、糖鎖修飾酵素あるいはその関連蛋白質である可能性が示唆されている¹¹⁾。

IV 福山型筋ジストロフィーの幅広い臨床スペクトラム

日本人における福山型筋ジストロフィー患者のほとんどは、レトロトランスポゾン挿入型染色体のホモ接合体、または、レトロトランスポゾン挿入型染色体とほかの変異をもった染色体との複合ヘテロ接合体である。また、複合ヘテロ接合体の患者は水頭症や小眼球などを併発し、ホモ接合体の患者よりも重症となる¹²⁾(表1)。これは、レトロトランスポゾン挿入型染色体からは微量ながらフクチン遺伝子が発現し、それは翻訳されて正常な蛋白質となるが、ほかの変異をもった染色体からは正常に機能する蛋白質が翻訳されないためと考えられる。この考えは、フクチンノックアウトマウスが胎生致死であることをうまく説明できる。すなわち、フクチンは正常な胚発生に必要な蛋白質であり、完全欠損した個体は生存しえないのであろう¹³⁾。つまり、海外では点変異をもつ染色体のホモ接合体となるため通常は胎生致死となり患者は存在しないが、わが国においては、めずらしいレトロトランスポゾンDNAの挿入が起こったためこの疾患が発生したといえる。この考えを裏づけるように、2003年にトルコにおいて出生後10日で死亡した男児は、フクチン遺伝子の一塩基挿入変異をホモ接合体でもっていたことを報告した¹⁴⁾。ほかに、塩基置換によるナンセンス変異をホモ接合体でもち出生後4カ月半で死亡した例が報告されている(表1)。

しかしながら、2006年、わが国において、心筋症と軽度の筋力低下をみとめ知能正常の、臨床的には肢帯型筋ジストロフィーの例が成人で6例報告された¹⁵⁾。これは、レト

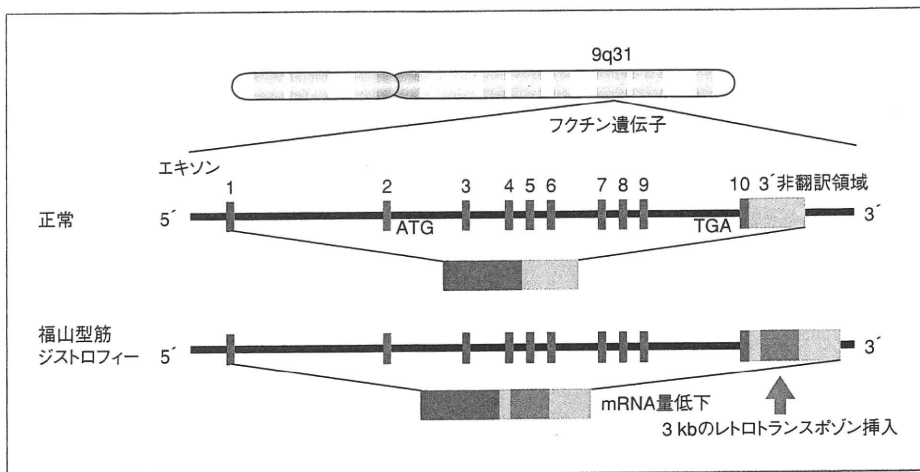


図3 フクチン遺伝子の模式図

フクチン遺伝子はゲノム上で約100kbにわたり、10個のエキソンからなる。大部分の福山型筋ジストロフィー患者には3'非翻訳領域(水色)にレトロトランスポゾン(緑色)が挿入されている。遺伝子産物であるフクチンは、461個のアミノ酸残基からなる53.7Kの糖鎖修飾に関する新規蛋白質である。

表1 フクチン遺伝子の変異と表現型との関係

ハプロタイプ	変異の場所	DNA/アミノ酸レベルでの変異	効果	患者数	表現型
創始者ハプロタイプのホモ接合体					
138-192-147-183	3'非翻訳領域	3 kb レトロトランスポゾン挿入	mRNA 量低下	106	軽症/典型/重症/不明 (22:51:2:5)
創始者ハプロタイプと点変異の複合ヘテロ接合体					
130-201-157-183	エキソン3	C250T/Arg47 終止	ナンセンス変異	13	重症 (重度水頭症: 1)
138-195-143-191	エキソン4	298-299 欠失/Met63Val, 75 終止	フレームシフト	1	重症
不明	エキソン5	C718T/Arg203 終止	ナンセンス変異	1	重症
158-201-151-197	エキソン6	T859G/Cys250Gly	ミスセンス変異	1	重症
126-200-149-183	エキソン7	T1017A/Cys302 終止	ナンセンス変異	1	典型
128-196-159-183	イントロン7	1.2 kb L1 挿入, スプライス異常	エキソンスキップ	2	重症
不明	エキソン8	C1030T/Arg307 終止	ナンセンス変異	1	重症
不明	エキソン9	T1169A/Leu353 終止	ナンセンス変異	1	重症
不明	エキソン9	A1223G/Tyr371Cys	ミスセンス変異	1	重症
150-196-147-193	エキソン9	1279A 挿入/Phe390Ile, 403 終止	フレームシフト	1	重症 (小眼球)
点変異ホモ接合体					
不明	エキソン4	GC345 346CT/Gln116 終止	ナンセンス変異	1	最重症 (水頭症, 眼異常, 4カ月半で死亡)
不明	エキソン5	504T 挿入/157 終止	フレームシフト	1	最重症 (小眼球, 重度水頭症, 10日で死亡)

創始者レトロトランスポゾン変異と点変異との複合ヘテロ接合体の症例のほうが重症の傾向を示す点変異をホモ接合体としてもつ患者は原則として胎生致死または超重症であるが、軽症例の報告もある

ロトランスポゾン挿入型染色体と点変異染色体の複合ヘテロ接合体であった。また同様に、ユダヤ人で肢帯型筋ジストロフィーの例が3例報告され、これは点変異染色体のホモ接合体であった¹⁶⁾。これらは、福山型筋ジストロフィーが先天型であるとの従来のイメージを変え、さらなる広い臨床スペクトラムを考えさせる。また、同様の報告もつづき、フクチン遺伝子の変異はさまざまな臨床型をひき起こすことが明らかになった¹⁷⁾。点変異の場合にも、変異が起こる位置によっては軽症型の変異が存在するものと思われる。

V 福山型筋ジストロフィーの病態と α ジストログリカン糖鎖異常

デュシェンヌ型筋ジストロフィーの原因蛋白質であるジストロフィン¹⁸⁾は、筋細胞膜において複数の糖蛋白質と結合してジストロフィン-糖蛋白質複合体を形成し、繊維状アクチンからなる細胞骨格とつながっている (図4)。ジストロフィン-糖蛋白質複合体の中心成分であるジストログリカン複合体は、単一の遺伝子にコードされた前駆体蛋白質が翻訳後に切断されて、 α と β の2つのサブユニットからなっている¹⁸⁾。 β ジストログリカンは膜貫通蛋白質で、細胞内でジストロフィンと、細胞外で α ジストログリカンと結合している。それに対し、 α ジストログリカンは細胞外に存在し、哺乳類にはめずらしいO-マンノース型糖鎖 (Sia α 2-3Gal β 1-

4GlcNAc β 1-2Man-Ser/Thr) で高度に修飾され、この糖鎖を介して細胞外基底膜の構成成分であるラミニンと結合している¹⁹⁾。こうして、基底膜と細胞骨格はジストロフィン、 α ジストログリカン、 β ジストログリカンをつうじて結合しており、このつながりは骨格筋の収縮・弛緩による機械的な負荷に対して筋細胞膜を保護している。この構造に異常が生じると筋細胞膜の脆弱化や透過性の増大をきたし、細胞外からのCa²⁺の流入とそれによる筋蛋白質の分解、さらには、筋線維の崩壊をひき起こすと考えられている。

近年、フクチンが α ジストログリカンの糖鎖修飾にかかわっていることが示唆されている。福山型筋ジストロフィー患者の骨格筋では、 α ジストログリカンのO-マンノース型糖鎖を認識する抗体による免疫反応性が著減している²⁰⁾ (図5)。後述するが、遠藤らと筆者らは、福山型筋ジストロフィー類縁疾患である muscle-eye-brain 病が、 α ジストログリカンとラミニンの連結部であるO-マンノース型糖鎖にN-アセチルグルコサミンを付加する新規の糖転移酵素である POMGnT1 の異常により発症する疾患であることを見いだした。筋ジストロフィーの原因遺伝子として糖転移酵素が同定され、実際に患者で変異が確認されたのははじめてのことである²⁾。

また、 α ジストログリカン認識抗体による検討では、 α ジストログリカンは糖鎖修飾異常によっても筋細胞膜表面に残ってはいるが、分子量は小さくなっており、ラミニンな

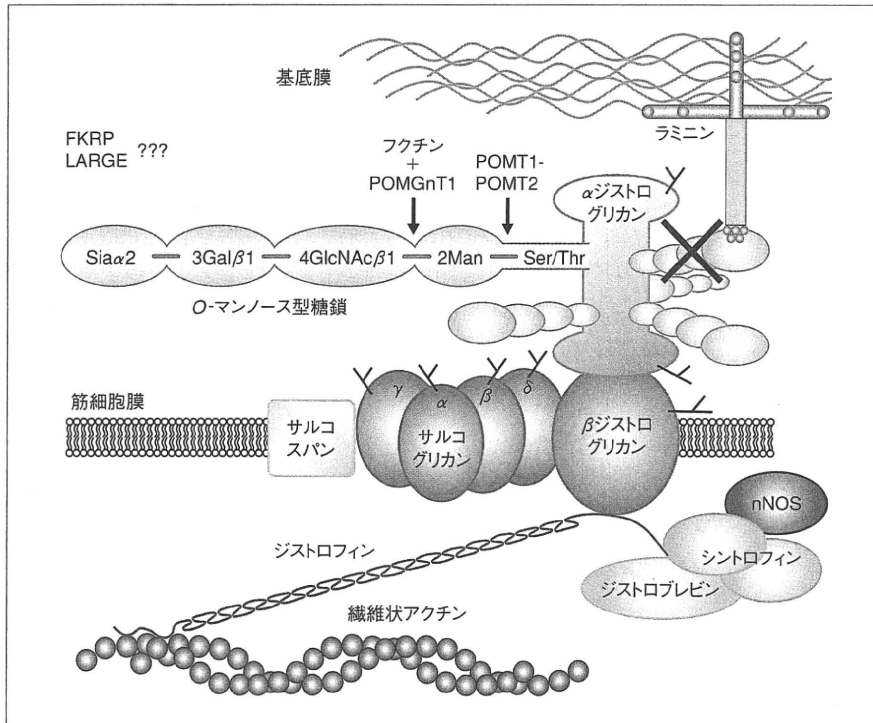


図4 ジストロフィン-糖蛋白質複合体と α ジストログリカナパチャー

細胞外基底膜と細胞内骨格をつなぐジストロフィン-糖蛋白質複合体における α ジストログリカンは、O-マンノース型糖鎖を介してラミニンと結合している。この糖鎖修飾に異常をきたすと、ラミニンなどのリガンドとの結合能が低下し α ジストログリカナパチャーを発症すると考えられている。福山型筋ジストロフィー類縁疾患である muscle-eye-brain 病は POMGnT1、Walker-Warburg 症候群は POMT1 という、O-マンノース型糖鎖に N-アセチルグルコサミンを付加する糖転移酵素の異常により発症することがわかっている。フクチンは POMGnT1 と複合体を形成してその活性を修飾していると考えられている。

どのリガンドとの結合能が低下していた²¹⁾(図6a)。さらに、フクチン欠損キメラマウスにおいても同様に、 α ジストログリカン糖鎖認識抗体による免疫反応性が著減し、ラミニンとの結合能の低下を認めた²²⁾。つまり、福山型筋ジストロフィーではフクチンの欠損によって α ジストログリカンの糖鎖修飾に異常をきたし、ラミニンなどの細胞外基質との結合能が低下して基底膜と細胞骨格のつながりが破綻するため、筋ジストロフィーが発症すると考えられる(図4)。

多小脳回を基本とする脳病変の発生においても、 α ジストログリカンの糖鎖修飾異常が病態の中心であると考えられる。通常、大脳皮質の表面はグリア境界膜-基底膜複合体によって覆われており、神経組織が露出することはない。しかし、福山型筋ジストロフィーでは、 α ジストログリカンの糖鎖修飾異常により基底膜の構成成分であるラミニンなどのリガンドとの結合能が低下する。これによりグリア境界膜-基底膜複合体に破れが生じ、胎生期の神経細胞の移動を阻止できずに神経組織がくも膜下腔へと迷出して多小脳回が発生するものと考えられる。実際、福山型筋ジストロフィー胎児の脳組織ではグリア境界膜-基底膜複合体に亀裂がみられ⁴⁾、フクチン欠損キメラマウスの胎児脳においても脳表基底膜が破綻する時期に一致して神経組織のくも膜下腔への迷出が認められた。なお、フクチン自体は神経細胞の移動には関与しない²³⁾。また、ジストログリカン脳特異

的ノックアウトマウスでも福山型筋ジストロフィーと同様の脳病変が認められ²⁴⁾、脳における α ジストログリカンの欠損あるいは糖鎖修飾異常のいずれによっても基底膜の破綻をきたし、神経細胞の移動異常にいたるものと考えられる。

Ⅵ 福山型筋ジストロフィー類縁疾患の原因遺伝子の発見と共通の発症機構

近年、福山型筋ジストロフィーにくわえ、 α ジストログリカンの糖鎖修飾異常が原因となる疾患の報告があいつぎ、これらは共通のメカニズムにより筋ジストロフィーを発症するものと考えられている(表2)。

先天性筋ジストロフィーにおいて、II型滑脳症と眼奇形をともなう muscle-eye-brain 病や Walker-Warburg 症候群は、その病変部位や症状の類似性から福山型筋ジストロフィーの類縁疾患とされており、Walker-Warburg 症候群> muscle-eye-brain 病=福山型筋ジストロフィーの順で重症である。筆者らは、遠藤らとの共同研究により、O-マンノース型糖鎖の GlcNAc β 1-2Man 結合に関与する糖転移酵素 POMGnT1 (protein O-mannose β -1,2-N-acetylglucosaminyltransferase 1) をコードする遺伝子の異常により、フィンランドで多くみられる muscle-eye-brain 病が引き起こされることを明らかにした²⁾。さらに、わが国を含む世界

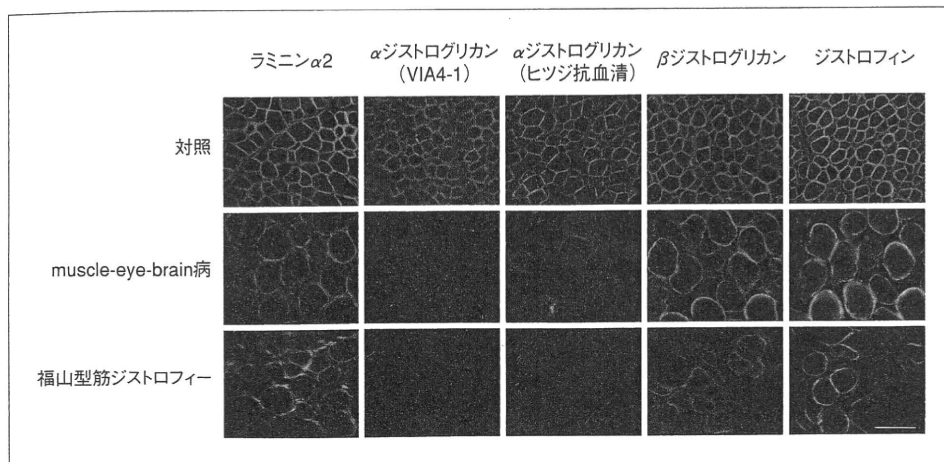


図5 福山型筋ジストロフィーと muscle-eye-brain 病の骨格筋における免疫組織染色

福山型筋ジストロフィーと muscle-eye-brain 病では、 α ジストログリカンの糖鎖認識抗体での反応性が下がっている。
[文献 26 より転載]

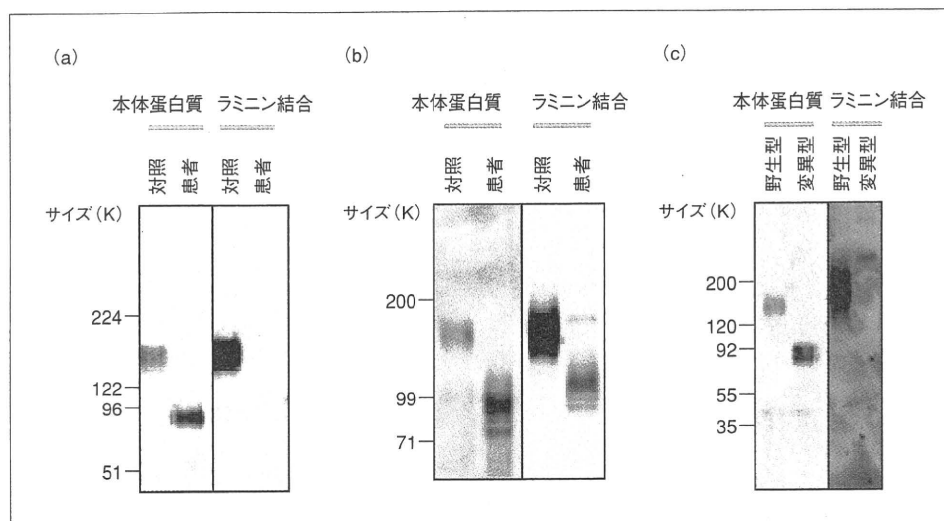


図6 α ジストログリカンパチーにおける α ジストログリカンのラミンとの結合能

(a) 福山型筋ジストロフィー。
(b) muscle-eye-brain 病。
(c) myodystrophy マウス。
(a)～(c)において、それぞれ、左側の2つのレーンでは α ジストログリカン本体蛋白質の存在、右側の2つのレーンではラミンとの結合能を示す。福山型筋ジストロフィーや muscle-eye-brain 病において、 α ジストログリカンは残っているが、糖鎖修飾異常により分子量が小さくなっており、ラミンとの結合能が低下している。
[文献 21 より転載、一部改変]

各国にも muscle-eye-brain 病患者が存在することを確認した²⁵⁾。筋ジストロフィーの原因遺伝子として糖転移酵素が同定され、実際に患者で変異が確認されたのはこの疾患がはじめてのことである。福山型筋ジストロフィーと同様、muscle-eye-brain 病患者の骨格筋では α ジストログリカンの糖鎖認識抗体による免疫反応性が著減し²⁶⁾ (図5)、また、 α ジストログリカンの認識抗体による検討では、 α ジストログリカンは筋細胞膜表面に存在するが分子量が小さくなっており、リガンドとの結合能も低下していた²¹⁾ (図6b)。

つづいて、一部の Walker-Warburg 症候群患者で、O-マンノース型糖鎖の合成にかかわる POMT1 (protein O-mannosyltransferase 1) をコードする遺伝子に変異が見いだされた。福山型筋ジストロフィーや muscle-eye-brain 病と同様、Walker-Warburg 症候群の患者における骨格筋でも α ジストログリカンの糖鎖認識抗体での免疫反応性が著

しく低下していた²⁷⁾。POMT1はPOMT2と複合体を形成して協同的に作用し²⁸⁾、POMT2変異による患者も発見された²⁹⁾。

また、先天性筋ジストロフィー1C型患者においてFKRP (*fukutin-related protein*) 遺伝子に変異が見いだされた。FKRPはフクチンと高い相同性をもつ蛋白質で、同様の機能をもつことが推察される。先天性筋ジストロフィー1C型患者の骨格筋では、 α ジストログリカンの糖鎖認識抗体による免疫反応性が著減しており、やはり、糖鎖修飾異常が病態に関与しているものと考えられる³⁰⁾。一方で、発症が遅く比較的軽症な肢帯型筋ジストロフィー2I型でもFKRP遺伝子に変異が見いだされた。これらの疾患は対立遺伝子疾患であり、幅広い重症度をもつものと考えられる。

自然発生の筋ジストロフィーモデル動物である myodystrophy (*myd*) マウスは、Large (like-acetylglucosaminyl

表2 α ジストログリカンに対する糖鎖修飾の異常によるとされている疾患群“ α ジストログリカノパチー”

疾患名	原因遺伝子産物	染色体座位
福山型先天性筋ジストロフィー	フクチン	9q31
muscle-eye-brain 病	POMGnT1	1p33-34
Walker-Warburg 症候群	POMT1	9q34.1
先天性筋ジストロフィー1C型	FKRP	19q13.3
肢帯型筋ジストロフィー2I型	FKRP	19q13.3
myodystrophy マウス	Large	8 (マウス)
先天性筋ジストロフィー1D型	LARGE	22q12.3

transferase) 蛋白質をコードする遺伝子内に大きな欠失をもっている³¹⁾。Largeの活性はいまだ不明であるが、既知の糖転移酵素と高い相同性をもっている。mydマウスでは筋ジストロフィーにくわえて大脳皮質や小脳、海馬での神経細胞の移動に異常があり、脳表の基底膜が破壊されていることが報告されている。mydマウスでも、骨格筋や脳において α ジストログリカンの糖鎖修飾異常によってリガンドとの結合能が低下していた(図6c)。したがって、Largeも α ジストログリカンの糖鎖修飾に関与していると考えられる^{21,31)}。さらに、ヒトにおいてはLARGEをコードする遺伝子の異常により先天性筋ジストロフィー1D型が発症することが報告された³²⁾。

これらすべての疾患において、 α ジストログリカンのラミニン結合性が低下することが確認されている。福山型筋ジストロフィーと同様、これらの疾患においても細胞外の基底膜と筋細胞または脳表アストロサイトの足突起との結合

性が低下していることが発症の原因と考えられ、筆者らは、これら疾患群を総称して α ジストログリカノパチーという概念を提唱した³³⁾(図4, 表2)。また、その後も世界中から報告があいつぎ、現在、FKRP, POMT1, POMT2, POMGnT1, フクチン, LARGEをコードする遺伝子の変異は、Walker-Warburg 症候群, muscle-eye-brain 病, 福山型筋ジストロフィー, 肢帯型筋ジストロフィーなど、さまざまな臨床型筋ジストロフィーをひき起こすことが明らかになった¹⁷⁾。しかし、これらの遺伝子産物のなかでその酵素活性がわかっているのは、POMGnT1とPOMT1-POMT2だけである。筆者らは、フクチンには α ジストログリカンとラミニンとの結合にかかわる糖鎖に関して明らかな糖転位活性が検出されないこと、フクチンとPOMGnT1は両者ともゴルジ体に局在しフクチンの膜貫通領域をとおして結合していること、フクチン欠損細胞にPOMGnT1を発現してもPOMGnT1活性が検出されないこと、さらに、福山型筋ジストロフィーのモデルマウスではPOMGnT1活性が減少していること、を示した。フクチンはPOMGnT1と複合体を形成し、その活性に影響しているものと思われる³⁴⁾(図4)。

また、マイクロアレイによる発現解析、免疫組織学的解析、形態学的解析から、福山型筋ジストロフィーだけでなく α ジストログリカノパチーに神経筋接合部の形態異常と α ジストログリカンの集積障害を見いだした。 α ジストログリカノパチーの主要病態として、筋ジストロフィー以外に、神経筋接合部由来の筋分化シグナルが不完全となり筋繊維

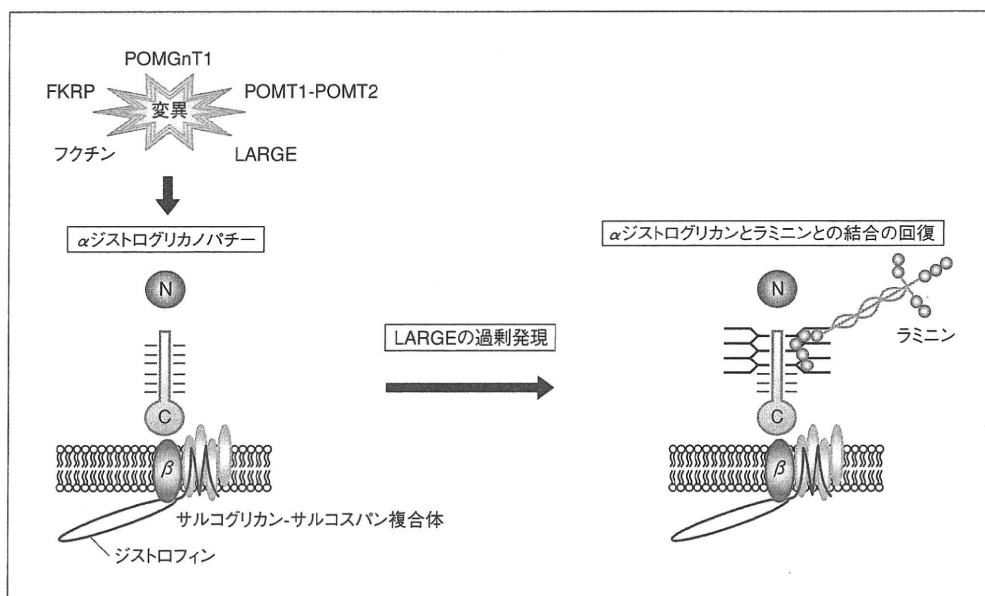


図7 LARGE 過剰発現による α ジストログリカン機能不全の解消モデル

糖鎖修飾経路の異常によって α ジストログリカンのラミニン結合能が著しく低下し、 α ジストログリカノパチーは発症する。LARGEを過剰発現させることによって、 α ジストログリカンとラミニンとの結合能が新たに形成もしくは増強される。

の成熟障害を起こすことが考えられる³⁵⁾。

Ⅳ 福山型筋ジストロフィーおよび α ジストログリカノパチーの治療へのヒント

多くの神経・筋変性疾患と同様、現在のところ、福山型筋ジストロフィーを含む α ジストログリカノパチーに治療法はないが、治療的アプローチにむけて研究が緒についたところである。

アデノウイルスベクターを用いて *myd* マウスの骨格筋に原因遺伝子である *LARGE* 遺伝子を発現させると、 α ジストログリカンの糖鎖修飾異常が回復し筋ジストロフィーが改善することが報告された。さらに興味深いことに、福山型筋ジストロフィー、muscle-eye-brain 病および Walker-Warburg 症候群の患者由来の細胞（筋芽細胞、線維芽細胞）においても、*LARGE* の過剰発現により α ジストログリカンの糖鎖修飾異常に改善を認められ、リガンドとの結合能が回復したという³⁶⁾。また、*LARGE* は α ジストログリカンの N 末端を認識・結合し、そのムチンドメインの糖鎖

付加に関与することが明らかになった³⁷⁾。さらに最近、FKRP は筋細胞膜に存在し、ジストロフィン-糖蛋白質複体のなかでジストログリカンの糖鎖状態に影響をあたえているという³⁸⁾。*LARGE* が付加する糖鎖が muscle-eye-brain 病などで欠損するラミニン結合 O-マンノース型糖鎖である保証はないが、遺伝的に異なるこれらの疾患群に対して、共通の病態である“ α ジストログリカンの糖鎖異常”を標的とした治療法の開発につながる可能性があり、たいへん興味深い（図 7）。

福山型筋ジストロフィーの病態解明および治療法の構築にはモデルマウスを用いた研究が不可欠であるが、フクチンノックアウトマウスは胎生致死であり¹³⁾、フクチン欠損キメラマウスは個体ごと、組織ごとにキメラ率が異なるため²²⁾、モデルとしては有効ではない。そこで筆者らは、レトロトランスポゾン挿入変異をもつノックインモデルマウスを作製し、その解析を行なった。しかし、レトロトランスポゾン挿入変異ホモ接合体、そして、より重症と思われる点変異との複合ヘテロ接合体のいずれにおいても、筋ジストロフィー症状は認められなかった。このモデルマウスにお

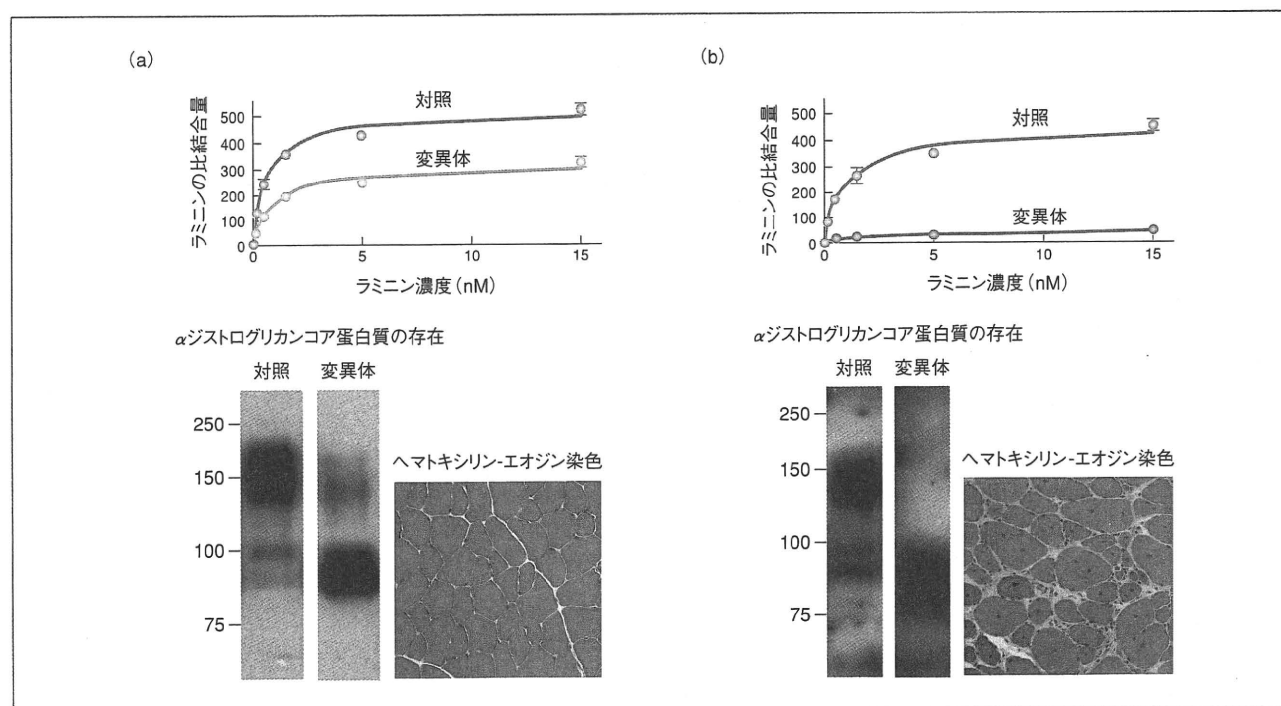


図8 福山型筋ジストロフィーノックインマウスと *Large^{myd}* マウスとの比較

(a) 福山型筋ジストロフィーノックインマウス。

(b) *Large^{myd}* マウス。

福山型筋ジストロフィーノックインマウスでは、*Large^{myd}* マウスと異なり、正常な糖鎖型の α ジストログリカンが残存しており筋ジストロフィー症状は認められない。ラミニン結合能も 50%程度が残存している。つまり、糖鎖異常を部分的にでも解消できれば筋ジストロフィー発症を抑制できる可能性がある。