

Table 1 Nonsense mutations detected in dystrophinopathy cases

KUCG no.	Disease	Exon	DNA change	Protein change
58	DMD	5	c.354G>A	p.Trp118X
571	DMD	5	c.355C>T	p.Gln119X
412	DMD	6	c.433C>T	p.Arg145X
5	DMD	7	c.580C>T	p.Gln194X
272	DMD	8	c.686T>A	p.Leu229X
65	DMD	8	c.724C>T	p.Gln242X
306	DMD	8	c.754G>T	p.Glu252X
377	DMD	10	c.1062G>A	p.Trp354X
171	DMD	10	c.1087C>T	p.Gln363X
9642	DMD	11	c.1324C>T	p.Gln442X
6	DMD	12	c.1474C>T	p.Gln492X
454	DMD	14	*c.1684C>T	p.Gln562X
496	DMD	15	c.1793C>G	p.Ser598X
582	DMD	17	*c.2047G>T	p.Glu683X
264	DMD	17	*c.2089A>T	p.Lys697X
102	DMD	18	c.2236G>T	p.Glu746X
78	DMD	19	c.2302C>T	p.Arg768X
85	DMD	19	c.2365G>T	p.Glu789X
482	DMD	19	c.2365G>T	p.Glu789X
847	DMD	20	c.2419C>T	p.Gln807X
203	DMD	20	c.2449C>T	p.Gln817X
809	DMD	21	*c.2677C>T	p.Gln893X
9695	DMD	21	c.2776C>T	p.Gln926X
326	DMD	23	c.3151C>T	p.Arg1051X
9625	DMD	26	*c.3472A>T	p.Lys1158X
54	DMD	26	c.3562A>T	p.Lys1188X
28	DMD	26	c.3580C>T	p.Gln1194X
9565	BMD	27	c.3631G>T	p.[Gln1211X, Arg1202_Glu1262del]**
522	DMD	28	*c.3795G>A	p.Trp1265X
797	BMD	31	c.4303G>T	p.[Glu1435X, Lys1412_Gln1448del]**
509	DMD	32	c.4375C>T	p.Arg1459X
594	DMD	32	c.4384C>T	p.Gln1462X
877	DMD	32	c.4414C>T	p.Gln1472X
652	DMD	33	*c.4527T>G	p.Tyr1509X
517	DMD	33	*c.4666G>T	p.Gly1556X
754	DMD	34	*c.4687A>T	p.Lys1563X
44	DMD	34	c.4729C>T	p.Arg1577X
539	DMD	34	c.4729C>T	p.Arg1577X
52	DMD	34	c.4757G>A	p.Trp1586X
4	DMD	36	c.5044G>T	p.Glu1682X
148	DMD	38	c.5350G>T	p.Glu1784X
577	DMD	39	c.5551C>T	p.Gln1851X
225	DMD	41	c.5899C>T	p.Arg1967X
501	DMD	41	c.5899C>T	p.Arg1967X
651	DMD	41	c.5899C>T	p.Arg1967X
593	DMD	42	c.5985T>G	p.Tyr1995X
30	DMD	43	c.6283C>T	p.Arg2095X
147	DMD	44	c.6423C>A	p.Tyr2141X
185	DMD	44	*c.6432T>A	p.Tyr2144X
341	DMD	47	c.6805C>T	p.Gln2269X
9584	DMD	47	*c.6862C>T	p.Gln2288X
700	DMD	50	*c.7255G>T	p.Glu2419X
456	DMD	53	*c.7817G>A	p.Trp2606X
475	DMD	53	*c.7855A>T	p.Lys2619X
314	DMD	57	c.8420G>A	p.Trp2807X
643	DMD	57	c.8460G>A	p.Trp2820X
550	DMD	58	c.8608C>T	p.Arg2870X
9627	DMD	58	c.8608C>T	p.Arg2870X

Table 1 Continued

KUCG no.	Disease	Exon	DNA change	Protein change
9655	DMD	59	*c.8746G>T	p.Glu2916X
720	DMD	62	*c.9216C>G	p.Tyr3072X
514	DMD	66	c.9568C>T	p.Arg3190X
724	DMD	66	c.9568C>T	p.Arg3190X
445	DMD	68	*c.9851G>A	p.Trp3284X
478	DMD	68	*c.9913G>T	p.Glu3305X
703	DMD	70	c.10108C>T	p.Arg3370X
852	DMD	70	c.10108C>T	p.Arg3370X
888	DMD	70	c.10141 C>T	p.Arg3381X
401	DMD	70	c.10171C>T	p.Arg3391X
9622	BMD	76	c.10873C>T	p.Gln3625X

Abbreviations: BMD, Becker muscular dystrophy; DMD, Duchenne muscular dystrophy; KUCG, Kobe University Clinical Genetics. Asterisks indicate novel mutations that have not been previously reported in the Leiden Muscular Dystrophy database (updated 23 December 2009) (<http://www.dmd.nl/>), and double asterisks indicate nonsense mutations that resulted in splicing abnormalities (c.[363]g>u, 3604_3786del) in KUCG no. 9565 and (c.[4303]g>u, 4234_4344del) in KUCG no. 797.

that similarly extensive mutation analysis should be performed to identify the responsible mutation when dystrophin deficiency has been confirmed.

An existing locus-specific database for dystrophinopathy in Leiden focuses on mutations that have been either reported in the literature or directly submitted to the database.³⁸ Because of the involvement of multiple submitters, the data quality is not homogeneous and analyses could be biased. The French database (UMD-DMD France), containing 2084 independent mutations in dystrophin, has been established by collaboration with several institutes, and the quality of UMD-DMD France is guaranteed by curators.²⁹

For a long time, multiplex PCR examining selected deletion-prone exons has been used as the mutation screening method of choice for the dystrophin gene. Our results indicate that using MLPA to examine all 79 exons for deletion or duplication mutations allows mutation detection in 70% of Japanese DMD/BMD cases (Figure 1). In addition, MLPA has been shown to detect small mutations.²⁰ MLPA is considered to be the most powerful single technology to identify mutations in the huge dystrophin gene, and should be used as the first-line mutation detection method for the dystrophin gene in Japanese dystrophinopathy. In contrast, in Taiwan, which is geographically near to Japan, MLPA analysis identified a lower incidence of deletions and a higher incidence of duplications (deletion and duplication mutations were found in 36.0 and 24.7% of 89 DMD/BMD patients, respectively³⁹), compared with other reports that show 60% and 5–10%, respectively.^{6,8,40} Although differences in ethnicity should be taken into account, MLPA remains the first line in mutation detection in dystrophinopathy.^{6–9}

A total of four deep intron mutations were identified at least 285 bp from the exon/intron boundary; this was possible only because we used detection of novel dystrophin mRNA (Figure 4). This analysis provided 1% of detected mutations, and facilitated our perfect mutation detection rate. Therefore, we suggest that it is necessary to analyze dystrophin mRNA to complete the mutation analysis, even when the dystrophin gene is apparently normal. Deep intron mutations have previously been identified in three cases, and their potential to be treated by exon skipping strategies was examined. Because the completely normal 79 exons of the dystrophin gene were maintained in these cases, induction of pseudoexon skipping would be expected to result in completely normal expression of dystrophin, the ultimate goal of dystrophinopathy treatment.⁴¹ Our cases can now be tested for any potential to be treated by exon skipping.

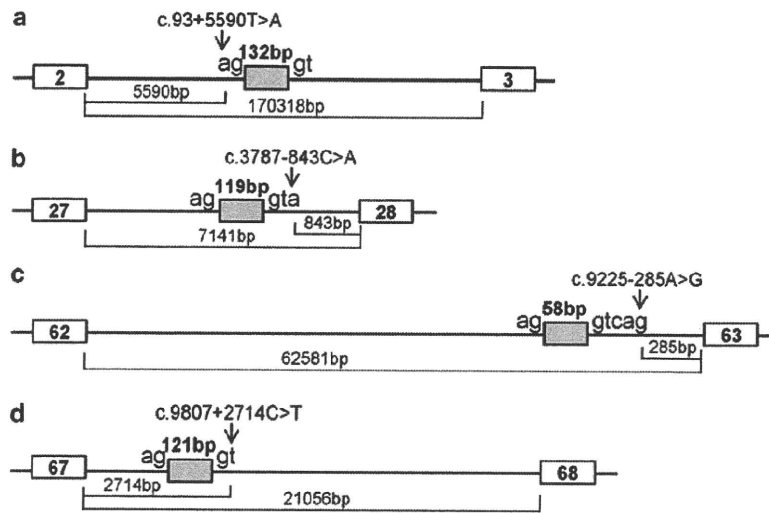


Figure 4 Deep intron mutations. Four deep intron mutations are schematically described. Boxes and lines represent exons and introns, respectively. The shaded boxes represent pseudoexons. Numbers in the open boxes indicate the exon number of the dystrophin gene, and the size of the pseudoexon is indicated above the shaded box. Two to five nucleotides adjacent to the pseudoexons are shown on the intron lines, and the mutated nucleotides are shown by vertical arrows. The upper and lower horizontal square brackets indicate distance from the intron/exon border and intron size, respectively. (a) In a BMD case (KUCG no. 9597), a novel splice site was created and a 132-bp exon was created and incorporated into the mRNA. (b) In a DMD case (KUCG no. 465), a novel splice site was created and a 119-bp exon was created and incorporated into the mRNA. (c) In a BMD case (KUCG no. 290), a novel splice site was created, and a 58-bp exon was created and incorporated into the mRNA. (d) In a DMD case (KUCG no. 857), a novel splice site was created, and a 121-bp exon was created and incorporated into the mRNA.

Table 2 Splice consensus site mutations in dystrophinopathy cases

KUCG no.	Disease	Intron	DNA change	RNA change
641	DMD	4	*c.264+2_264+3insGT	r.264_265insgu
712	DMD	11	*c.1329_1331+5delCAAGTAAG	r.[1150_1331del, 1150_1482del]
9602	BMD	13	c.1602G>T	r.1483_1602del
557	BMD	13	*c.1603-1G>T	r.[1603_1612del, 1603_1704del, 1603_1812del, 1603_1992del, 1603_2168del]
294	DMD	17	c.2168+1G>C	r.1993_2168del
9582	BMD	20	*c.2622G>C	r.[2622g>c, 2603_2622del]
682	DMD	20	c.2622+1G>A	r.2603_2622del
109	BMD	20	c.2623-2A>G	r.[2622_2623ins2623-7_2623-1; 2623-2a>g, 2622_2623ins2623-6_2623-1; 2623-2a>g, 2623_2629del]
687	DMD	21	*c.2804-2A>G	r.2803_2804insg
194	BMD	24	*c.3276+2T>G	r.[3276_3277ins3276+1-3276+39; 3276+2u>g, 3276_3277ins3276+1-3276+39; 3276+2u>g; 3277_3432del]
293	BMD	25	c.3432+1G>A	r.3277_3432del
739	BMD	29	c.4071+1G>C	r.3787_4071del
329	DMD	32	c.4518+5G>A	r.[4518_4519ins4518+1_4518+28; 4518+5g>a, 4421_4518del]
154	BMD	42	*c.6117G>A	r.[5923_6117del, 6117_6118ins6117+1_6117+35; 6117g>a]
684	DMD	43	*c.6291-1G>A	r.6291_6438del
421	DMD	44	*c.6438+2T>A	r.spl?
701	DMD	45	*c.6614+1G>A	r.6583_6614del
391	DMD	45	*c.6615-2A>T	r.spl?
699	DMD	56	*c.8391-1G>A	r.[8391delg, 8391_8547del]
715	DMD	58	*c.8669-1G>C	r.8669_8670delag
220	DMD	65	c.9563+1G>A	r.spl?
9666	DMD	66	c.9649+2T>C	r.9564_9649del
9629	DMD	66	c.9649+5G>T	r.9564_9649del
775	DMD	70	c.10223+1G>A	r.10087_10223del

Abbreviations: BMD, Becker muscular dystrophy; DMD, Duchenne muscular dystrophy; KUCG, Kobe University Clinical Genetics. Asterisks indicate the novel mutations that have not been previously reported in the Leiden Muscular Dystrophy database (updated 23 December 2009) (<http://www.dmd.nl>).

In contrast to the deletions and duplications, which were localized within two hotspots, nonsense mutations were detected throughout the gene, with 30.4% (21), 30.4% (21), 24.6% (17) and 14.5% (10) in

the first (exons 1–20), second (exons 21–40), third (exons 41–60) and fourth (exons 61–79) quartiles of the dystrophin gene, respectively. Although nonsense mutations were detected in 16% of all cases in

Table 3 Small insertion/deletion mutations from 1 to 606 nucleotides in dystrophinopathy cases

KUCG				
no.	Disease	Exon	DNA change	Protein change
212	BMD	2	c.53delA	p.Lys18ArgfsX8
39	DMD	5	c.280delA	p.Ile94LeufsX7
723	BMD	8	c.676_678delAAG	p.Lys226del
726	DMD	8	c.783dupT	p.Lys262X
499	DMD	12	*c.1373_1374delAA	p.Lys458ArgfsX4
231	DMD	12	*c.1376_1377delAG	p.Glu459ValfsX3
728	BMD	14	*c.1627delA	p.[Ile543SerfsX40, Val535_Gln664del]
277	DMD	15	*c.1773delA	p.Asp592IlefsX15
9600	DMD	19	c.2327_2378del52	p.Ala765ArgfsX15**
434	DMD	25	c.3347_3350delAGAA	p.Lys1116MetfsX36
579	BMD	27	*c.3613delG	p.[Glu1205LysfsX10, Arg1202_Glu1262del]**
492	DMD	27	*c.3766_3767insT	p.Gly1256ValfsX15
818	DMD	28	*c.3908_3909delCT	p.Ser1303X
245	DMD	29	*c.3959delC	p.Pro1320GlnfsX11
307	DMD	30	*c.4231dupC	p.Gln1411ProfsX6
795	DMD	33	c.4536-4540delGAGTG	p.Lys1516X
505	DMD	34	*c.4729delC	p.Arg1577GlufsX4
764	DMD	36	*c.5071dupA	p.Ile1691AsnfsX9
673	DMD	36	c.5140delG	p.Glu1714LysfsX7
414	BMD	38	c.5434_5437delTTCA	p.Ala1776_Met1816del**
436	DMD	39	*c.5561delT	p.Leu1854TyrfsX11
781	DMD	44	*c.6430dupT	p.Tyr2144LeufsX3
9601	DMD	44	c.6435_6436delins606	p.Arg2098AsnfsX16**
512	DMD	45	*c.6613dupA	p.Arg2205LysfsX18
404	DMD	49	*c.7128delA	p.Gln2376HisfsX24
638	DMD	50	*c.7221_7227delCTCTGAG	p.Ser2408GlyfsX4
342	DMD	52	*c.7654delG	p.Asp2552IlefsX24
836	DMD	59	*c.8733delC	p.Asn2912IlefsX7
761	DMD	63	c.9262delA	p.Met3088X
732	DMD	67	c.9657_9658ins325	p.Tyr3217CysfsX2**
289	DMD	71	c.10224dupT	p.Pro3409SerfsX24
702	BMD	74	c.10453delC	p.Leu3485X
441	DMD	74	c.10498_10499delAG	p.Ser3500X
9696	DMD	74	c.10498_10499delAG	p.Ser3500X

Abbreviations: BMD, Becker muscular dystrophy; DMD, Duchenne muscular dystrophy; KUCG, Kobe University Clinical Genetics. Asterisks indicate the novel mutations that have not been previously reported in the Leiden Muscular Dystrophy database (updated 23 December 2009) (<http://www.dmd.nl/>), and double asterisks indicate small deletion/insertion mutations that resulted in splicing abnormalities (KUCG no. 9600: r.2293_2380del, KUCG no. 579: r.[3613delg, 3604_3786del], KUCG no. 414: r.5326_5448del, KUCG no. 9601: r.6291_6438del and KUCG no. 732: r.9650_9807del).

Table 4 Cases with chromosomal abnormalities and splicing errors without any mutation in genomic DNA

KUCG no.	Disease	Mutation
233	DMD	del(X)(p21.2-3)
481	DMD	inv(X)(p21.2q28)
338	BMD	c.-(r.10224_10553del)

Abbreviations: BMD, Becker muscular dystrophy; DMD, Duchenne muscular dystrophy; KUCG, Kobe University Clinical Genetics.

Japan, reports from outside Japan have described lower nonsense mutation rates up to 13.2%.^{10,29,42} The rate of nonsense mutation is high among the Japanese. This may be because of a difference in the effort expended in finding nonsense mutations in these reports.

Table 5 Applicable cases for molecular therapies

Molecular therapies	Applicable cases
Nonsense suppression	66 (19%)
Skipping of	
Exon 51	40 (11%)
Exon 53	39 (11%)
Exon 45	31 (9%)
Exon 44	14 (4%)
Exon 8	12 (3%)
Exon 43	10 (3%)
Exon 52	10 (3%)
Exon 55	10 (3%)

It has been reported that one nonsense mutation at a CpG site in exon 59 (c.8713C>T; p.R2905X) was detected in six patients with different haplotypes,²⁸ and this mutation has been reported from several countries, suggesting that c.8713C>T is a hotspot for mutation. In this study, however, no case showed this point mutation. In contrast, in the Japanese, the most common nucleotide change was c.5899C>T, which was found in three cases (Table 1). Interestingly, c.5899C>T has been once detected in the United States.²⁸ In Taiwan, which is geographically near to Japan, c.10108C>T was identified three times among 14 nonsense mutation cases,⁴² and this mutation was identified twice in our study. These findings suggest an ethnic difference in the mutability of CpG sites, involving the rate of demethylation or features of the chromatin structure.

Although the enormous dystrophin gene has huge introns that have accumulated retrotransposon insertions, this has rarely been shown to cause disease.⁴³ In our series, two retrotransposon insertions were found.³⁴ Their identification was because of the elongation of exon size, which made PCR amplification difficult, and could have resulted in misdiagnosis as a single-exon deletion. Therefore, we propose that supposed single-exon deletion cases should be examined in more detail.

Although the reading frame rule is thought to explain the phenotype,⁵ 18 out of 270 cases with deletion (6.7%) and 13 out of 38 cases with duplication (34.2%) did not fit with the reading frame rule (Figures 2 and 3). Furthermore, identical mutations could result in two different phenotypes; deletions of exons 3–7, 10–44, 43, 44 and 45, and duplication of exon 2. In-frame deletions starting in the actin-binding domain or disrupting the cysteine-rich domain resulted in DMD phenotype because of the lack of binding sites with dystrophin-associated proteins. Other mechanisms may have a role in modulating the clinical severity, including recoding mechanism and unusual splicing.²⁹

We examined the applicability for molecular therapies among the 260 different mutations identified in DMD/BMD (Table 5). Nonsense suppression therapy has been studied and a compound named PTC124 is now in clinical trials to treat DMD cases caused by a nonsense mutation.¹⁵ This treatment could be applied to 66 cases with nonsense mutations in our study (19% of DMD cases). Induction of exon skipping that corrects out-of-frame to in-frame has been proposed as a highly plausible method for DMD treatment, and the first clinical trial has been conducted in Japan.^{13,44} The applicability of this technology was examined in the KUCG database. The greatest number of treatable cases with one antisense oligonucleotide was 40, which could be treated by skipping of the single exon 51. In fact, exon

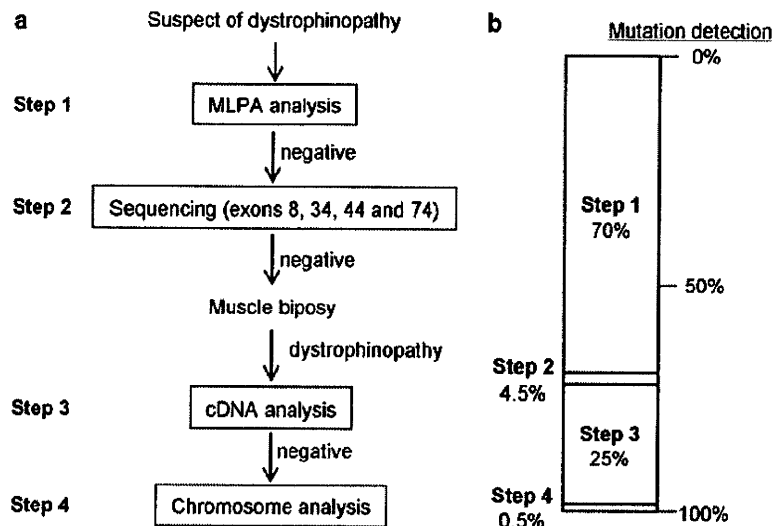


Figure 5 Molecular testing strategy for Japanese dystrophinopathy. A diagram for the molecular diagnosis of dystrophinopathy (a) and the frequency of mutation detection by each diagnostic step (b). Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) analysis identifies deletion and duplication mutations encompassing one or more exons, which account for 70% of dystrophinopathy cases. In cases with loss of a single exon by MLPA, the exon structure was examined by another method before concluding that there is a single-exon deletion, because small mutations have been found to disturb MLPA amplification.²⁰ Sequencing of exons and flanking introns of exons 8, 34, 44 and 74, in which small mutations are detected frequently, revealed mutations in a further 4.5% of dystrophinopathy cases. After confirmation of the diagnosis as dystrophinopathy, cDNA analysis was performed, which identified mutations in 25% of cases. After chromosome analysis, mutations were identified in all dystrophinopathy cases.

51 skipping treatment has already been clinically tested in Europe.¹⁴ Skipping of exon 53 would produce an in-frame transcript in 39 DMD cases. In total, single-exon skipping could be applied to the treatment of 173 cases with 58 patterns of deletion. Skipping of two or three exons could be applied to 27 and 1 case, respectively. It seems therefore that induction of exon skipping is the most applicable molecular therapy for the treatment of DMD. However, it is noteworthy that dual phenotypes can result from one identical deletion (Figures 2a and b), and this must be considered when assessing the potential effects of the treatment. With exon skipping treatment, the most effective results would be expected for the four deep intron mutations (Figure 4), because expression of a completely normal dystrophin transcript could be induced.

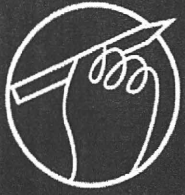
The best strategy for comprehensive dystrophin gene testing has long been debated. A balance must be found between the need to obtain definitive results and the effort required to perform a comprehensive analysis of heterogeneous mutations in the large dystrophin gene.¹⁰ Recently, one analytical method has been shown to identify mutations in the dystrophin gene in 98% of DMD cases.³⁷ This is very useful but is still not perfect in identifying all mutations. From our results, it is possible to define a strategy that will be useful in prioritizing cases for various stages of dystrophin gene mutation analysis and will maximize the benefits of comprehensive mutation analysis for dystrophinopathy (Figure 5). In this strategy, MLPA analysis should be used first, to detect 70% of the mutations (step 1). Second, direct sequencing of the four exons 8, 34, 44 and 70 (which each contained small mutations in five or six cases; Tables 1–3) should be conducted to reveal mutations in a further 4.5% of cases (step 2). Thereafter, muscle biopsy should be conducted to confirm the diagnosis and obtain dystrophin mRNA for sequence analysis. Dystrophin cDNA analysis is expected to reveal mutations in 25% of cases (step 3). Finally, chromosome analysis would complete the mutation analysis (step 4), enabling mutation detection in all dystrophinopathy cases.

ACKNOWLEDGEMENTS

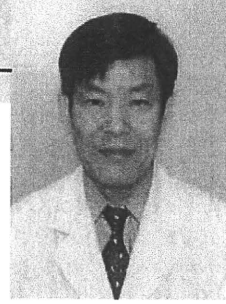
This work was supported by grants from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan, a Health and Labor Science Research Grant (Research on Psychiatric and Neurological Diseases and Mental Health) and a Research Grant for Nervous and Mental Disorders from the Ministry of Health, Labor and Welfare.

- Zatz, M., Rapaport, D., Vainzof, M., Passos-Bueno, M. R., Bortolini, E. R., Pavanello, R. C. M. *et al*. Serum creatine-kinase (CK) and pyruvate-kinase activities in Duchenne (DMD) as compared with Becker (BMD) muscular dystrophy. *J. Neurol. Sci.* **102**, 190–196 (1991).
- Ahn, A. H. & Kunkel, L. M. The structural and functional diversity of dystrophin. *Nat. Genet.* **3**, 283–291 (1993).
- Chamberlain, J. S., Gibbs, R. A., Ranier, J. E., Nguyen, P. N. & Caskey, C. T. Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification. *Nucleic Acids Res.* **16**, 11141–11156 (1988).
- Beggs, A. H., Koenig, M., Boyce, F. M. & Kunkel, L. M. Detection of 98% of DMD/BMD gene deletions by polymerase chain reaction. *Hum. Genet.* **86**, 45–48 (1990).
- Monaco, A. P., Bertelson, C. J., Liechti-Gallati, S., Moser, H. & Kunkel, L. M. An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus. *Genomics* **2**, 90–95 (1988).
- White, S., Kalf, M., Liu, Q., Villerius, M., Engelsma, D., Kriek, M. *et al*. Comprehensive detection of genomic duplications and deletions in the DMD gene, by use of multiplex amplifiable probe hybridization. *Am. J. Hum. Genet.* **71**, 365–374 (2002).
- Gatta, V., Scarciolla, O., Gaspari, A. R., Palka, C., De Angelis, M. V., Di Muzio, A. *et al*. Identification of deletions and duplications of the DMD gene in affected males and carrier females by multiple ligation probe amplification (MLPA). *Hum. Genet.* **117**, 92–98 (2005).
- Lalic, T., Vossen, R., Coffa, J., Schouten, J., Guc-Scekic, M., Radivojevic, D. *et al*. Deletion and duplication screening in the DMD gene using MLPA. *Eur. J. Hum. Genet.* **13**, 1231–1234 (2005).
- Janssen, B., Hartmann, C., Scholz, V., Jauch, A. & Zschocke, J. MLPA analysis for the detection of deletions, duplications and complex rearrangements in the dystrophin gene: potential and pitfalls. *Neurogenetics* **6**, 29–35 (2005).
- Stockley, T. L., Akber, S., Bulgin, N. & Ray, P. N. Strategy for comprehensive molecular testing for Duchenne and Becker muscular dystrophies. *Genet. Test.* **10**, 229–243 (2006).
- Zeng, F., Ren, Z., Huang, S., Kalf, M., Mommersteeg, M., Smit, M. *et al*. Array-MLPA: comprehensive detection of deletions and duplications and its application to DMD patients. *Hum. Mutat.* **29**, 190–197 (2008).
- Hegde, M. R., Chin, E. L., Mülle, J. G., Okou, D. T., Warren, S. T. & Zwick, M. E. Microarray-based mutation detection in the dystrophin gene. *Hum. Mutat.* **29**, 1091–1099 (2008).

- 13 Takeshima, Y., Yagi, M., Wada, H., Ishibashi, K., Nishiyama, A., Kakumoto, M. *et al*. Intravenous infusion of an antisense oligonucleotide results in exon skipping in muscle dystrophin mRNA of Duchenne muscular dystrophy. *Pediatr. Res.* **59**, 690–694 (2006).
- 14 van Deutekom, J., Janson, A., Ginjaar, I., Frankhuizen, W., Aartsma-Rus, A., Bremmer-Bout, M. *et al*. Local dystrophin restoration with antisense oligonucleotide PRO051. *N. Engl. J. Med.* **357**, 2677–2686 (2007).
- 15 Welch, E. M., Barton, E. R., Zhuo, J., Tomizawa, Y., Friesen, W. J., Trifillis, P. *et al*. PTC124 targets genetic disorders caused by nonsense mutations. *Nature* **447**, 87–91 (2007).
- 16 Matsuo, M., Masumura, T., Nishio, H., Nakajima, T., Kitoh, Y., Takumi, T. *et al*. Exon skipping during splicing of dystrophin mRNA precursor due to an intraxon deletion in the dystrophin gene of Duchenne muscular dystrophy Kobe. *J. Clin. Invest.* **87**, 2127–2131 (1991).
- 17 Shiga, N., Takeshima, Y., Sakamoto, H., Inoue, K., Yokota, Y., Yokoyama, M. *et al*. Disruption of the splicing enhancer sequence within exon 27 of the dystrophin gene by a nonsense mutation induces partial skipping of the exon and is responsible for Becker muscular dystrophy. *J. Clin. Invest.* **100**, 2204–2210 (1997).
- 18 Adachi, K., Takeshima, Y., Wada, H., Yagi, M., Nakamura, H. & Matsuo, M. Heterologous dystrophin mRNAs produced by a novel splice acceptor site mutation in intermediate dystrophinopathy. *Pediatr. Res.* **53**, 125–131 (2003).
- 19 Matsuo, M., Masumura, T., Nakajima, T., Kitoh, Y., Takumi, T., Nishio, H. *et al*. A very small frame-shifting deletion within exon 19 of the Duchenne muscular dystrophy gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **170**, 963–967 (1990).
- 20 Okizuka, Y., Takeshima, Y., Awano, H., Zhang, Z., Yagi, M. & Matsuo, M. Small mutations detected by multiplex ligation-dependent probe amplification of the dystrophin gene. *Genet. Test Mol. Biomarkers* **13**, 427–431 (2009).
- 21 Patria, S. Y., Takeshima, Y., Suminaga, R., Nakamura, H., Iwasaki, R., Minagawa, T. *et al*. A simple explanation for a case of incompatibility with the reading frame theory in Duchenne muscular dystrophy: failure to detect an aberrant restriction fragment in Southern blot analysis. *Brain Dev.* **21**, 386–389 (1999).
- 22 Koenig, M., Hoffman, E. P., Bertelson, C. J., Monaco, A. P., Feener, C. & Kunkel, L. M. Complete cloning of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) cDNA and preliminary genomic organization of the DMD gene in normal and affected individuals. *Cell* **50**, 509–517 (1987).
- 23 Tran, V. K., Takeshima, Y., Zhang, Z., Yagi, M., Nishiyama, A., Habara, Y. *et al*. Splicing analysis disclosed a determinant single nucleotide for exon skipping caused by a novel intra-exonic four-nucleotide deletion in the dystrophin gene. *J. Med. Genet.* **43**, 924–930 (2006).
- 24 Tran, V. K., Takeshima, Y., Zhang, Z., Habara, Y., Haginoya, K., Nishiyama, A. *et al*. A nonsense mutation-created intraexonic splice site is active in the lymphocytes, but not in the skeletal muscle of a DMD patient. *Hum. Genet.* **120**, 737–742 (2007).
- 25 Roberts, R. G., Barby, T. F., Manners, E., Bobrow, M. & Bentley, D. R. Direct detection of dystrophin gene rearrangements by analysis of dystrophin mRNA in peripheral blood lymphocytes. *Am. J. Hum. Genet.* **49**, 298–310 (1991).
- 26 Patria, S. Y., Alimsardjono, H., Nishio, H., Takeshima, Y., Nakamura, H. & Matsuo, M. A case of Becker muscular dystrophy resulting from the skipping of four contiguous exons (71–74) of the dystrophin gene during mRNA maturation. *Proc. Assoc. Am. Phys.* **108**, 308–314 (1996).
- 27 Zhang, Z., Takeshima, Y., Awano, H., Nishiyama, A., Okizuka, Y., Yagi, M. *et al*. Tandem duplications of two separate fragments of the dystrophin gene in a patient with Duchenne muscular dystrophy. *J. Hum. Genet.* **53**, 215–219 (2008).
- 28 Buzin, C. H., Feng, J., Yan, J., Scaringe, W., Liu, Q., den Dunnen, J. *et al*. Mutation rates in the dystrophin gene: a hotspot of mutation at a CpG dinucleotide. *Hum. Mutat.* **25**, 177–188 (2005).
- 29 Tuffery-Giraud, S., Beroud, C., Leturcq, F., Yaou, R. B., Hamroun, D., Michel-Calemard, L. *et al*. Genotype-phenotype analysis in 2405 patients with a dystrophinopathy using the UMD-DMD database: a model of nationwide knowledgebase. *Hum. Mut.* **30**, 934–945 (2009).
- 30 Nishiyama, A., Takeshima, Y., Zhang, Z., Habara, Y., Tran, T. H., Yagi, M. *et al*. Dystrophin nonsense mutations can generate alternative rescue transcripts in lymphocytes. *Ann. Hum. Genet.* **72**, 717–724 (2008).
- 31 Suminaga, R., Takeshima, Y., Wada, H., Yagi, M. & Matsuo, M. C-terminal truncated dystrophin identified in skeletal muscle of an asymptomatic boy with a novel nonsense mutation of the dystrophin gene. *Pediatr. Res.* **56**, 739–743 (2004).
- 32 Yagi, M., Takeshima, Y., Wada, H., Nakamura, H. & Matsuo, M. Two alternative exons can result from activation of the cryptic splice acceptor site deep within intron 2 of the dystrophin gene in a patient with as yet asymptomatic dystrophinopathy. *Hum. Genet.* **112**, 164–170 (2003).
- 33 Habara, Y., Takeshima, Y., Awano, H., Okizuka, Y., Zhang, Z., Saiki, K. *et al*. *In vitro* splicing analysis reveals that availability of a cryptic splice site is not a determinant for alternative splicing patterns caused by +1G>A mutations in introns of the dystrophin gene. *J. Med. Genet.* **46**, 542–547 (2009).
- 34 Narita, N., Nishio, H., Kitoh, Y., Ishikawa, Y., Ishikawa, Y., Minami, R. *et al*. Insertion of a 5' truncated L1 element into the 3' end of exon 44 of the dystrophin gene resulted in skipping of the exon during splicing in a case of Duchenne muscular dystrophy. *J. Clin. Invest.* **91**, 1862–1867 (1993).
- 35 Trimarco, A., Torella, A., Piliuso, G., Maria Ventriglia, V., Politano, L. & Nigro, V. Log-PCR: a new tool for immediate and cost-effective diagnosis of up to 85% of dystrophin gene mutations. *Clin. Chem.* **54**, 973–981 (2008).
- 36 Taylor, P. J., Maroulis, S., Mullan, G. L., Pedersen, R. L., Baumli, A., Elakis, G. *et al*. Measurement of the clinical utility of a combined mutation detection protocol in carriers of Duchenne and Becker muscular dystrophy. *J. Med. Genet.* **44**, 368–372 (2007).
- 37 Ashton, E. J., Yau, S. C., Deans, Z. C. & Abbs, S. J. Simultaneous mutation scanning for gross deletions, duplications and point mutations in the DMD gene. *Eur. J. Hum. Genet.* **16**, 53–61 (2008).
- 38 Aartsma-Rus, A., Van Deutekom, J. C., Fokkema, I. F., Van Ommen, G. J. & Den Dunnen, J. T. 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**, 135–144 (2006).
- 39 Hwa, H. L., Chang, Y. Y., Chen, C. H., Kao, Y. S., Jong, Y. J., Chao, M. C. *et al*. Multiplex ligation-dependent probe amplification identification of deletions and duplications of the Duchenne muscular dystrophy gene in Taiwanese subjects. *J. Formos. Med. Assoc.* **106**, 339–346 (2007).
- 40 Schwartz, M. & Duno, M. Improved molecular diagnosis of dystrophin gene mutations using the multiplex ligation-dependent probe amplification method. *Genet. Test.* **8**, 361–367 (2004).
- 41 Gurvich, O. L., Tuohy, T. M., Howard, M. T., Finkel, R. S., Medne, L., Anderson, C. B. *et al*. DMD pseudoexon mutations: splicing efficiency, phenotype, and potential therapy. *Ann. Neurol.* **63**, 81–89 (2008).
- 42 Hwa, H. L., Chang, Y. Y., Huang, C. H., Chen, C. H., Kao, Y. S., Jong, Y. J. *et al*. Small mutations of the DMD gene in Taiwanese families. *J. Formos. Med. Assoc.* **107**, 463–469 (2008).
- 43 Musova, Z., Hedvicakova, P., Mohrmann, M., Tesarova, M., Krepelova, A., Zeman, J. *et al*. A novel insertion of a rearranged L1 element in exon 44 of the dystrophin gene: further evidence for possible bias in retroposon integration. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **347**, 145–149 (2006).
- 44 Matsuo, M. Duchenne/Becker muscular dystrophy: from molecular diagnosis to gene therapy. *Brain Dev.* **18**, 167–172 (1996).



リレー随想



松尾雅文先生
昭和147年 3月 神戸大学医学部卒業
昭和152年 3月 神戸大学大学院医学系研究科終了(医学博士)
昭和152年 4月 米国ヴァージニア大学医学部リサーチフェロー
昭和154年 5月 兵庫県立こども病院内科医師
昭和157年 8月 神戸大学医学部附属病院小児科助手
平成 3年11月 神戸大学医学部小児科助教授
平成 4年 8月 神戸大学医学部附属医学研究国際交流センター教授
平成15年 4月 神戸大学大学院医学系研究科成育医学講座小児科学分野教授
平成20年 4月 神戸大学大学院医学研究科内科系講座小児科学分野教授

Duchenne 型筋ジストロフィーの治療へ —患者さんから教え続けられた成果—

松尾雅文

私は1972年に神戸大学医学部を卒業し、そのまま小児科に入局し、1年間大学病院での研修を受けた。2年目に大学院に進学し、受け持った糖原病VI型患者の酵素診断を第二生化学教室の西塚泰美教授（後にプロテインキナーゼCの発見者としてノーベル賞候補者）のもとで行っていただいた。この時、西塚教授より生化学を勉強しないかと言われ、サイエンスの世界を知るきっかけとなり、学園紛争で学生時代にまともにも勉強していなかった私の人生を変えた。しかし、生化学教室ではあまり成果はあげられず、西塚研究室の劣等生だったと思う。ただ、西塚教授から「病気は嘘をつかない」と Cori 夫妻が糖原病の発生機序を明らかにしてノーベル賞をもらった話をして頂いたことだけは非常に強く頭の中に残った。このことは、以降の私の医師としての生き方を大きく決定づけた。

アメリカ留学で生化学の研究をした後、兵庫県立こども病院新生児科に勤務した。1人で産科医院へ出向き、新生児を蘇生して自身で点滴管理・呼吸管理などをしながら救急車で病院へ連れて帰るということを来る日も来る日も行っていた。その中で、全く想像もしなかった病気を持つ新生児に多数遭遇したが、「病気は嘘をつかない」を肝に銘じ、1歩ずつ病態解明を試みていった。そして、シトルリン血症の日本で最初の症例を見いだすなど、多くの一見謎めいた病態を解明し、診断治療できた。しかしながら、尿素回路異常症の

OTC 欠損症の1例では高アンモニア血症を治療するのに、腹膜灌流を連日行って生命を助けることが出来たが、知能に重い障害を残してしまった。今でもその27歳になった患者さんが時々神戸大学病院に入院されてくる。その度に自分の非力さを心の中で詫びている。こども病院では多数のしかも多様な小児の疾患を診療した。小児科医としては病気を治すことが最大の務めであると再認識し今日に至っている。

現在、私が行っている Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) に関する治療の研究は、たった1人の患者との出会いから始まったものである。それは、私が病棟医長として神戸大学病院で母子センターの開設を済ませ、臨床面では未熟児の呼吸障害に対し肺サーファクタントによる治療が可能となり、一応新生児医療は完結と考えられた時である。次の課題は、遺伝病の克服と考えた。丁度、1980年代の終わりのPCRの機械がやっと世の中に出回り出した時である。私達は、PCRを駆使してDMD患者でジストロフィン遺伝子の遺伝子解析を進める中で、1人のDMD患者から極めて特異な遺伝子異常を見いだした。「ジストロフィン神戸」と命名したこのジストロフィン遺伝子の異常は、エクソン19内の52塩基の欠失であった。ところが、「ジストロフィン神戸」ではゲノムの異常から2次的にエクソン19のスキッピングがスプライシング時に生じていることが判明した。このエクソンスキッピングが52塩基の欠失によりスプライシング促進配列が消失したことが原因とつきとめた。さらに、このスプライシング促進配列の機能を人工的に阻害すれば同じエクソンスキッピングが誘導されると考え、アンチセンスオリゴヌクレオチド (AO) を用いたところエクソン19のスキッピングが誘導されることを明らかにした。

AOを用いてエクソン19のスキッピング誘導を人為的に行うことが可能となり、治療への応用を考えた。ジストロフィン遺伝子のエクソン20を欠失したDMDでは242塩基が欠失し、アウトオブフレームになっている。このDMD例で、エクソン19のスキッピングを誘導すると、エクソン19の88塩基がさらにmRNAから欠けることとなり、エクソン20と19の合計330塩基がmRNAから消失する。その結果、mRNAはインフレームとなりこのDMD患者ではジストロフィンの産生が期待される。

エクソン20を欠失したDMD患者は見つからなかったが、

国立療養所八雲病院の石川幸辰先生がまさにこの遺伝子の異常を持った患者を紹介して下さった。そして、患者由来の培養筋細胞に先の AO を導入し、導入後の細胞でエクソン19のスキッピングが誘導されるとともにジストロフィン染色陽性細胞の出現を確認した。神戸大学ではエクソン20を欠失した DMD 患者への AO を用いた治療を計画し、倫理委員会にて審議され承認された。治療後、患者骨格筋のジストロフィン mRNA を RT-PCR 解析すると、治療前には検出出来なかったエクソン19のスキッピングした mRNA を検出し、AO によるエクソンスキッピングの誘導効果を確認した。さらに、骨格筋でジストロフィンの発現をも確認することに成功した。世界で初めての DMD のエクソンスキッピング誘導治療例として *Pediatric Research* 誌の2006年5月号の表紙を飾るなど世界から大きな注目を集めることとなった。

「ジストロフィン神戸」という遺伝子の異常の同定が、DMD 患者の多くの症例に応用出来る全く新しい治療法の確立に結びついた。たった1人の患者さんでもその病態解析が多くの患者を救うことになるということをもぎまぎと教えてくれた。一方、「ジストロフィン神戸」から学び提唱した治療法は、世界で認知されるのに10年以上を要した。この間あまりの反応のなさに何度かこの研究をやめようかと思っただが、西塚教授の「病気は嘘をつかない」との言葉を思い出し、自分のやっていることは患者さんから学んだことであり絶対正しいと思ひ直して続けてきた。まさに、患者さんからずっと背中を押し続けられたといっても過言ではない。

さらに、もっと患者さんから学ぶことがあるはずと、DMD 患者の遺伝子診断を徹底的にやってきた。やはり予想通り多くのことが学べ、また別の新しい DMD 治療法の確立へと結びつく成果が出てきている。患者から学び、患者へ返す、これを引き続き実行したいと考えている。今大きく期待していることは、DMD 患者の1人が自分の病気は自分で治すと決意し、大学で分子生物学の勉強をしていてくれることである。近い将来、その彼から「先生、こうしたらどうですか」と言われる日を心待ちにしている。

このように、ずっと患者さんから教え続けられてきた。患者さんが出してくれる難しい問題を理解できたのは、その時々巡りあえた素晴らしい先輩・同僚・仲間のおかげであった。「ジストロフィン神戸」に関しては、当時国立療養所

兵庫中央病院小児科におられた西尾久英先生（現神戸大学教授）と、日本ケミカルリサーチ（株）の増村威宏博士の力添えなくしては発見できなかった。そして、スプライシングという全く未知の世界へ私を引きずり込んで下さった当時の神戸大学理学部助教授の坂本博先生（現・教授）には特にお世話になった。そのほかの多くの方々の援助なしには、患者さんの発する事実を学習も出来ず患者さんへの思い返しも出来なかった。患者さんとの巡りあわせも運命的なものを感じるが、その時々私によく学習できるに相応しい先生方と遭遇できた。すべてが全く偶然のこととは理解しながらも、何かそれぞれの患者さんが私を導いてくれるものがあると因縁を感じる。



バトンタッチゾーン

私にバトンタッチをしていただいたのは大阪市立大学小児科教授を2010年3月で定年退職された山野恒一先生でした。この原稿が出版される頃は、余裕の出来た時間に釣りに出かけられ、きっと大物を釣りあげておられるものと想像しています。山野先生は小児科学会副会長の大役を務められ、学会理事会での発言は皆のものを唸らせる水戸黄門様の存在でした。また、多様な会員がいる大阪の小児科学会をまとめられたのは山野先生の人柄のなせるところでありました。私は山野先生の後を継いで日本小児神経学会近畿地方会の運営委員長を引き受けています。今、しみじみと山野先生が会をうまく運営されてきたことを感じています。さらに、大学の小児科教室の運営についても山野先生の教室の運営の仕方を横から勉強させて頂いておりました。これも山野先生のレベルに達せず、反省しております。

私がバトンタッチするのは、山形大学医学部小児科の早坂清教授です。早坂教授は Charcot-Marie-Tooth 病の原因遺伝子を見だし、世界にその名を轟かせました。先生の名声を改めて知りましたのは、私がシアトルの小児病院を訪れた時でした。病院内を見学している時、私が日本から来たことを知るや否や「"Kiyoshi"を知っているか」と尋ねられました。どの「Kiyoshi?」と一時戸惑いましたが、話をしているうちにまさに早坂清教授のことでありました。この Charcot-Marie-Tooth 病に留まらず、次から次へと遺伝子クローニングの仕事なされ、日本はもとより、世界でももっと名が売れている素晴らしい先生です。私にとっては、地方の大学小児科のあり方を何かとご教授頂くことが多い先生です。

小児科学

Duchenne型筋ジストロフィーの
新しい治療戦略

New strategies for Duchenne muscular dystrophy treatment

Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) は男児 3,500 人に 1 人が発症する、もっとも頻度の高い伴性劣性遺伝性疾患である。DMD は幼児期に筋力低下を示しはじめ、年齢が長じるに従い一貫して筋萎縮が進行し、20 歳代に心不全・呼吸不全で死亡するきわめて重篤な疾患である。いまだ有効な治療法がなく、治療法の確立が急務となっている。DMD はジストロフィン遺伝子の異常により、骨格筋でジストロフィンが欠損することにより発症する。ジストロフィン遺伝子が 1986 年にクローニングされて以来、この重篤な DMD は体内に正常な遺伝子を導入する遺伝子治療により治療が可能と考えられてきた。しかし遺伝子治療は、DMD 治療においてはいまだ広く臨床応用されるには至っていない。一方、DMD の遺伝子診断と分子病態の解明の進歩に伴い、分子治療が DMD の新しい治療として有望視されてきている。ここでは最近開発されつつある、DMD の 2 つの新しい分子治療法を紹介する。

DMD の分子病態

DMD では、ジストロフィン遺伝子のエクソン単位の欠失の異常によりジストロフィン mRNA のアミノ酸読み取り枠がずれ(アウトオブフレーム)、mRNA 上にストップコドンが出現する場合がもっとも多い。ついで、ジストロフィン遺伝子にストップコドンを形成する 1 塩基置換のナンセンス変異が多い。こうしたストップコドンの存在によりジストロフィン産生が阻害され、ジストロフィン欠損を導いている。

こうしたストップコドンの作用を解除するため、ジストロフィン遺伝子の欠失変異に対してはエクソスキッピング誘導治療が、そしてナンセンス変異に際してはリボソーマルリードスルー治療が開発されてきている。

エクソスキッピング誘導治療

ジストロフィン遺伝子のエクソン単位の欠失により、アウトオブフレームになっている例には、アンチセンスオリゴヌクレオチドを用いて欠失に隣接する 1 つのエクソンのスキッピングを誘導して mRNA をインフレームに変え、機能を発揮するサイズの小さなジストロフィンを発現させるものである。著者らは“ジストロフィン神戸”(著者らが報告したエクソンのスキッピングを起こす症例)の分子病態解析結果から、世界ではじめてこの方法を提唱した^{1,2)}。これは遺伝子から転写された mRNA 前駆体からイントロンを切り取るスプライシングの段階で、アンチセンスオリゴヌクレオチドを用いてエクソン配列を認識させないようにしてエクソンをイントロンとともに切り取られるようにし、エクソンのスキッピングを誘導するものである。そしてジストロフィン遺伝子のエクソン 19 のスキッピングを誘導するアンチセンスオリゴヌクレオチドの同定に成功し、これを用いてエクソン 20 を欠失した DMD 患者に対して世界ではじめてエクソスキッピング誘導治療を実施した³⁾。この治療により、エクソン 19 のスキッピングの誘導された新しいジストロフィン mRNA の産生と、それに応

じたジストロフィンの発現が患者骨格筋で認められた³⁾。

この分子治療はジストロフィンを発現させる DMD の新しい治療として大きく注目され、現在ではもっとも実用化の可能性の高い DMD 治療として世界標準になりつつある⁴⁾。このエクソスキッピングの標的となるエクソンはそれぞれの患者が有しているエクソン欠失に隣接しているもので、遺伝子の異常に対応したオーダーメイドとなっている。そのため、できるだけ多くの患者が治療できるように神戸大学ではエクソン 45、オランダあるいはイギリスではエクソン 51 のスキッピング誘導に焦点を当てたアンチセンスオリゴヌクレオチドの開発が行われ、臨床試験がはじまっている例もある⁵⁾。

リボソーマルリードスルー誘導治療

ジストロフィン遺伝子にナンセンス変異があると、リボソームでの mRNA から蛋白への翻訳が停止し、ジストロフィンが産生されずジストロフィン欠損となる。このとき、抗生物質のゲンタマイシンをリボソームに作用させると翻訳が停止することなく最後まで進む。これはリボソーマルリードスルー効果とよばれ、ナンセンス変異の治療手段として有望視されている⁶⁾。しかし、ゲンタマイシンに特有の強い副作用のため、DMD の治療への応用は進まなかった。一方、アメリカの PTC 社は、このリボソーマルリードスルー作用を有する化合物 PTC124 を見出すことに成功した⁷⁾。この PTC124 は副作用もなく経口投与も可能な非常に臨床応用に適したもので、現在アメリカでジストロフィン遺伝子のナンセンス変異を有する DMD 患者を対象とした試験が実施されている⁸⁾。近々わが国でもその試験が開始される予定となつ

ていたが、残念ながら治験の結果が思わしくなく、日本での治験の開始は延期されてしまった。DMDの1割以上の患者が治療対象となり、多くの患者がその恩恵にあずかる期待の大きな治療法であり、早期の臨床応用が望まれる。

1) Takeshima, Y. et al. : Modulation of *in vitro* splicing of the upstream intron by modifying an intra-exon sequence which is deleted from the dystrophin gene in dystrophin Kobe. *J. Clin. Invest.*, **95** : 515-520, 1995.
 2) Matsuo, M. : Duchenne/Becker

muscular dystrophy : from molecular diagnosis to gene therapy. *Brain Dev.*, **18** : 167-172, 1996.

3) Takeshima, Y. et al. : Intravenous infusion of an antisense oligonucleotide results in exon skipping in muscle dystrophin mRNA of Duchenne muscular dystrophy. *Pediatr. Res.*, **59** : 690-694, 2006.
 4) van Deutekom, J. C. and van Ommen, G. J. : Advances in Duchenne muscular dystrophy gene therapy. *Nat. Rev. Genet.*, **4** : 774-783, 2003.
 5) van Deutekom, J. et al. : Local dystrophin restoration with antisense oligonucleotide PRO051. *N. Engl. J. Med.*, **357** : 2677-2686, 2007.

6) Mankin, A. S. and Liebman, S. W. : Baby, don't stop! *Nat. Genet.*, **23** : 8-10, 1999.
 7) Welch, E. M. et al. : PTC124tar gets genetic disorders caused by nonsense mutations. *Nature*, **447** : 87-91, 2007.
 8) Nelson, S. F. et al. : Emerging genetic therapies to treat Duchenne muscular dystrophy. *Curr. Opin. Neurology*, **22** : 532-538, 2009.

松尾雅文 / Masafumi MATSUO
 神戸大学大学院医学研究科内科系講座
 小児科学

* * *

次号の特集予告(235巻10号)**

[12月第1土曜特集]

◆エピゲノム研究最前線

[企画：児玉龍彦／東京大学先端科学技術研究センターシステム生物医学ラボラトリー]

 ゲノムは外界の刺激をうけて DNA やヒストンのメチル化などの修飾をうける。これらをエピゲノム情報というが、この情報は驚くべきことに、一代の間は細胞分裂で保持され、細胞の記憶を作る。これまで、遺伝子配列がわかれば個別化医療が可能になると誤解されていたのだが、遺伝子配列は外界の刺激をもとにしたこれらエピゲノム修飾をうけて働きが決まっていることがわかってきた。たとえば生活習慣病ではヒストン3の9番目のリジンのメチル化が、低栄養・低酸素などの状況を反映して書きかえられる。そこで、生活習慣病の治療ではコレステロールや血糖の数値の是正だけでなく、これまで“体質”などとよばれていたエピゲノム情報を書きかえる重要性が注目されている。いま、世界で一斉に DNA のメチル化の診断応用や、ヒストン修飾酵素を標的とした抗がん剤の開発がスタートしている。本特集では、エピゲノムというあらたな概念の基礎と、とりわけ医学への応用が著しい分野を中心に各専門の先生方に解説いただく。

