

表 1 現在までに報告されているAS-oligoによるエクソンスキッピング誘導治療の臨床応用

	Takeshima ら (2006)	Van Deutekom ら (2007)	Kinali ら (2009)	Goemans ら (2011)
<症例> 数(人) 年齢(歳)	1 10	4 10~13	7 10~17	12 5~13
<AS-oligo> 標的エクソン 種類 塩基数 投与経路 投与量	19 S-oligo 31 静脈注射 0.5 mg/kg/wk×4 週間	51 2-OMePS 20 筋肉内注射 0.8 mg	51 PMO 30 筋肉内注射 0.09 mg または 0.9 mg	51 2-OMePS 20 皮下注射 0.5, 2.0, 4.0 または 6.0 mg/kg/wk ×5 週間
<結果> 評価時期 mRNA 蛋白発現 副作用	1 週間後 エクソン 19 スキップ (+) (-)	4 週間後 エクソン 51 スキップ (+) (-)	3~4 週間後 エクソン 51 スキップ (+)も不均一 (-)	2 週間後, 7 週間後 エクソン 51 スキップ 0.5 mg/kg 投与群はスキップ (-) (+) (-)

S-oligo : phosphorothioate oligonucleotide, 2-OMePS : 2'-O-methyl phosphorothioate oligonucleotide, PMO : phosphorodiamidate morpholino oligomers.

誘導され、ジストロフィン蛋白の発現も確認された。

さらに phase I / II a 臨床試験も実施され、対象患者 12 人に対し 2-OMePS の皮下注射を行った。患者 12 人を 0.5, 2.0, 4.0, 6.0 mg/kg/wk の 4 つの投与群にそれぞれ 3 人ずつ分配して 5 週間投与を行い、効果を検討した。0.5 mg/kg/wk 投与群ではエクソン 51 スキップは認められなかったが、それ以外の症例ではエクソン 51 のスキッピング誘導、ジストロフィン蛋白の産生を認め、有効性が確認された³⁾。またその後の 12 週間に及ぶ投与では、6 分間歩行試験で平均 35.2±28.7 m の改善を認めた。経過中、蛋白尿や尿αミクログロブリンの上昇、接種部位の疼痛などが有害事象としてみられたものの、重篤な有害事象の発生は認められなかったと報告されている。

イギリスからも 2009 年に、Phosphorodiamidate morpholino oligomer (PMO) を用いたエクソン 51 のスキッピング誘導が報告された。対象患者 7 人を低用量群 (0.09 mg) と高用量群 (0.9 mg) に分けてそれぞれ筋肉内注射を行い、その効果を検討した。その結果、局所投与した筋肉においてジストロフィン蛋白の発現が確認され、高用量群のほうがより強いジストロフィン蛋白の発現を認めた⁴⁾。

● エクソンスキッピング誘導治療の展開

AS-oligo はエクソン特異的にスキッピング誘導をもたらす。臨床応用のためには 1 つの AS-oligo で多くの患者が治療できることが望ましい。すでに、他のさまざまなエクソンにおける AS-oligo によるスキッピングの誘導は、著者らを含め Aartsma-Rus らや Wilton らによって報告されている¹⁰⁻¹²⁾。神戸大学での DMD 症例の解析結果⁵⁾をもとに、1 つの AS-oligo で多数の DMD 患者が治療できる標的エクソンを選択した。その結果、エクソン 51 で 11%、エクソン 53 で 11%、エクソン 45 で 9% の患者が治療できることが判明した。それぞれのエクソンスキッピング誘導治療により治療可能となる欠失パターンを表に示す (表 2)。

さらに 1 つのエクソンのスキッピングを誘導するだけでなく、同時に複数のエクソンのスキッピングを誘導する試みも検討されており、実際に DMD 症例の筋培養細胞で 2 つのエクソンスキッピング誘導に成功し、ジストロフィン蛋白の発現を確認した症例が報告されている¹³⁾。複数のエクソンのスキッピングを誘導することが可能になれば、さらに多くの DMD 症例が治療対象となりうることが期待される。

また近年、より安定で標的への高い結合力をも

表 2 エクソンスキッピング誘導治療の標的エクソンと欠失パターン
(神戸大学での解析結果⁵⁾より)

標的エクソン	対象となるエクソン欠失	症例の割合
51	45~50, 47~50, 48~50, 49~50, 50, 52	11%
53	21~52, 45~52, 47~52, 48~52, 49~52, 52	11%
45	44, 46, 46~47, 46~48, 46~49, 46~51, 46~53, 46~55	9%
44	3~43, 42~43, 43, 45, 45~54, 45~56	4%
8	3~7, 5~7	3%
43	44, 44~47	3%
52	51, 53, 53~55, 53~60	3%
55	45~54, 47~54, 48~54, 50~54, 56, 56~62	3%

つさまざまな AS-oligo が開発されてきている。著者らは RNA/ENA キメラという新しい強力な AS-oligo を用いて、培養筋細胞においてエクソンスキッピングの誘導に成功した。この新しい AS-oligo を用いた検討では、従来の S-oligo を用いた場合と比較して 40 倍の効果がみられた¹⁴⁾。またエクソン 19 以外の多くのエクソンスキッピングを誘導できる AS-oligo を同定しており、現在エクソン 45 スキッピング誘導治療の準備を進めている。

最近では、マウスにおいてペプチドを結合させた AS-oligo を用いることで、より高い心筋への効果が認められたという報告もあり¹⁵⁾、DMD において重要な合併症である心筋障害への効果も期待したい。

また著者らは、エクソン 41 内に 1 塩基置換を有したナンセンス変異例についてもエクソンスキッピング誘導治療の検討を行った。患者由来の培養筋細胞に RNA/ENA キメラによる AS-oligo を導入したところ、ジストロフィン mRNA の約 90% でエクソン 41 のスキッピングが誘導されており、ジストロフィンの産生も確認された¹¹⁾。これは、欠失変異のみならずナンセンス変異を有する DMD 症例も、AS-oligo によるエクソンスキッピング誘導治療の対象となりうることを示すものであった。

低分子化合物による エクソンスキッピング誘導

これまで著者らは、高分子量の核酸医薬である AS-oligo を用いたエクソンスキッピング誘導治療の検討を行ってきたが、低分子化合物である

TG003 (a kinase inhibitor specific for Cdc-like kinases) がエクソンスキッピングを亢進し、さらに DMD 筋細胞においてジストロフィン蛋白発現を促進することを見出した¹⁶⁾。エクソン 31 内にナンセンス変異を有する患者由来の筋培養細胞に TG003 を添加したところ、エクソン 31 のスキッピングが増強され、さらにジストロフィンの発現も増強された。この結果は、低分子化合物によるエクソンスキッピング誘導治療という道を開く世界ではじめての成果であった。

今後の展望

現在、オランダでの phase I / II a 臨床試験に引き続き、エクソン 51 を標的としたエクソンスキッピング誘導治療の phase III 臨床試験が開始されている。この無作為プラセボ対照試験は最大 18 カ国、180 名の患者が参加予定となっている。AS-oligo によるエクソンスキッピング誘導治療が DMD の標準治療となることを期待したい。

おわりに

DMD は重篤な筋疾患であるが有効な治療法はなく、治療法の確立が強く待ち望まれてきた。近年、遺伝子診断と分子病態の解明の進歩に伴い、新しい治療法の開発が精力的に行われてきている。そのなかでもエクソンスキッピング誘導治療は DMD の治療として非常に注目されており、すでに臨床試験もはじまっている。mRNA を修飾する治療が臨床応用されていることを紹介した。

文献

- 1) Takeshima, Y. et al. : *Pediatr. Res.*, **59** : 690-694, 2006.
- 2) Van Deutekom, J. C. et al. : *N. Engl. J. Med.*, **367** : 2677-2686, 2007.
- 3) Goemans, N. M. et al. : *N. Engl. J. Med.*, **364** : 1513-1522, 2011.
- 4) Kinali, M. et al. : *Lancet Neurol.*, **8** : 918-928, 2009.
- 5) Takeshima, Y. et al. : *J. Hum. Genet.*, **55** : 379-388, 2010.
- 6) Matsuo, M. et al. : *J. Clin. Invest.*, **87** : 2127-2131, 1991.
- 7) Takeshima, Y. et al. : *J. Clin. Invest.*, **95** : 515-520, 1995.
- 8) Pramono, Z. A. et al. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **226** : 445-449, 1996.
- 9) Takeshima, Y. et al. : *Brain Dev.*, **23** : 788-790, 2001.
- 10) Wilton, S. D. et al. : *Mol. Ther.*, **15** : 1288-1296, 2007.
- 11) Surono, A. et al. : *Hum. Gene Ther.*, **15** : 749-757, 2004.
- 12) Aartsma-Rus, A. et al. : *Neuromuscul. Disord.*, **12** (Suppl. 1) : S71-77, 2002.
- 13) Aartsma-Rus, A. et al. : *Am. J. Hum. Genet.*, **74** : 83-92, 2004.
- 14) Yagi, M. et al. : *Oligonucleotides*, **14** : 33-40, 2004.
- 15) Yin, H. et al. : Pip5 transduction peptides direct high efficiency oligonucleotide-mediated dystrophin exon skipping in heart and phenotypic correction in mdx Mice. *Mol. Ther.*, Apr. 19, 2011. [Epub ahead of print]
- 16) Nishida, A. et al. : *Nat. Commun.*, **2** : 308, 2011.

* * *

特集

小児医療における診断・治療の進歩 23
治療技術

Key words
Duchenne 型筋ジストロフィー
エクソンスキッピング
リードスルー
ジストロフィン

Duchenne 型筋ジストロフィーの エクソンスキッピング誘導治療と リードスルー誘導治療

まつ お まさふみ
松尾 雅文*

要旨

Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) は、ジストロフィン遺伝子の異常により筋肉のジストロフィンが欠損して発症する。そのため、DMD の治療としてはジストロフィンを発現させることが根本治療となる。現在、DMD の治療として患者のジストロフィン遺伝子の作用を発揮させてジストロフィンを発現させる方法が、遺伝子の異常に対応して2つ開発されてきている。ジストロフィン遺伝子のエクソン欠失によるアウトオブフレーム変異に対して、アンチセンスオリゴヌクレオチドを用いたエクソンスキッピング誘導治療と、ナンセンス変異に対するリードスルー誘導治療である。本稿ではこれら2つの DMD の治療法について、筆者らの成果を交えて紹介する。

はじめに

Duchenne 型筋ジストロフィー (Duchenne muscular dystrophy : DMD) は重篤な進行性の筋萎縮で、いまだ有効な治療法はない。DMD は、ジストロフィン遺伝子の異常に起因する筋肉のジストロフィン欠損を特徴とし、ジストロフィンの発現をはかることが根本治療となる。そのため、正常な遺伝子を導入してジストロフィンを発現させる遺伝子治療の開発が試みられてきた。最近では、患者自身が生来持っているジストロフィン遺伝子を有効に活用してジストロフィンを発現させるエクソンスキッピング誘導治療とリードスルー誘導治療が有望視されている。前者はスプライシングのステップで、後者は翻訳のステップで異常のあるジストロフィン遺伝子の作用を修正し、機能的なジス

トロフィンを産生させるものである。エクソンスキッピング誘導はジストロフィン遺伝子の欠失の異常を有する例に、リードスルー誘導治療はナンセンス異常を有する例に用いられ、ともに遺伝子異常に対応した個別的治療法となっている。現在これらの2つの方法はともに臨床試験が実施されている。本稿では、筆者らの見出したエクソンスキッピング誘導能を有する低分子化合物にも触れ、DMD のエクソンスキッピング誘導治療とリードスルー誘導治療について紹介する。

I Duchenne 型筋ジストロフィー

1. 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始め、年齢が長ずるに従い一貫して筋萎縮が進行し、12 歳までに車椅子生活となる。さらに、筋萎縮は

* 神戸学院大学総合リハビリテーション学部医療リハビリテーション学科
〒651-2180 兵庫県神戸市西区伊川谷町有瀬 518

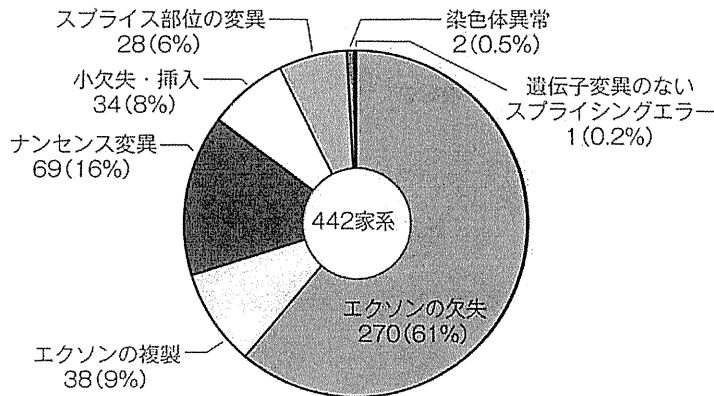


図1 ジストロフィン遺伝子異常
DMD/BMD442家系の遺伝子異常の分布を示す。

進行し、20歳台に心不全・呼吸不全で死亡する。きわめて重篤な疾患であるが、現在有効な治療法がない。乳児期に筋力低下症状のみられない状態でも血液化学検査で偶然著明なクレアチンキナーゼ値の上昇を指摘され、DMDの診断に至る例が多い。DMDでは、筋生検組織のジストロフィン染色でジストロフィンが染色されないジストロフィン欠損を呈する。一方、Becker型筋ジストロフィー（BMD）は、成人期に筋力低下で発症し、筋萎縮の進行は比較的ゆるやかな軽症の筋萎縮症である。BMDでは、筋のジストロフィンが斑点状に染色され、ジストロフィン異常を呈する。重症のDMDと軽症のBMDはともにジストロフィン遺伝子の異常から発症する。

2. ジストロフィン遺伝子の異常

ジストロフィン遺伝子は79個のエクソンからなる巨大な遺伝子であるが、遺伝子の異常はエクソン単位に広がる大きな欠失がもっとも多く、しかもその異常は2カ所のホットスポットに集中するという特徴がある。日本人のDMD/BMD患者442家系のジストロフィン遺伝子の解析結果では、エクソン単位の欠失が遺伝子異常の6割を占める（図1）¹⁾。エクソン単位の重複の異常も多いが、微細な遺伝子の異常としてナンセンス変異が16%を占めている。

エクソン欠失・重複はDMDでもBMDでも同定され、ナンセンス変異はほとんどがDMDで同定される。

3. アミノ酸読み取り枠則

DMDとBMDの表現型の違いはアミノ酸読み取り枠則により説明される。すなわちDMDではジストロフィン遺伝子の欠失あるいは重複したエクソンにコードされている塩基の総数が3の倍数ではないため、ジストロフィンmRNAのアミノ酸読み取り枠にずれを生じ（アウトオブフレーム）、その結果ストップコドンが出現しジストロフィンが産生されない。また、点変異でストップコドンを形成するナンセンス変異もDMDの原因となる。これに対し、症状の軽いBMDでは欠失あるいは重複したエクソンにコードされている塩基の総数が3の倍数で、ジストロフィンmRNAのアミノ酸読み取り枠は維持され（インフレーム）、サイズの小さなジストロフィンが産生される。したがって、個々の遺伝子異常でアミノ酸読み取り枠を検討することは予後をみるうえで重要である。

II エクソンスキッピング誘導治療

1. エクソンスキッピング誘導治療とは

DMDでジストロフィンmRNAのアミノ酸

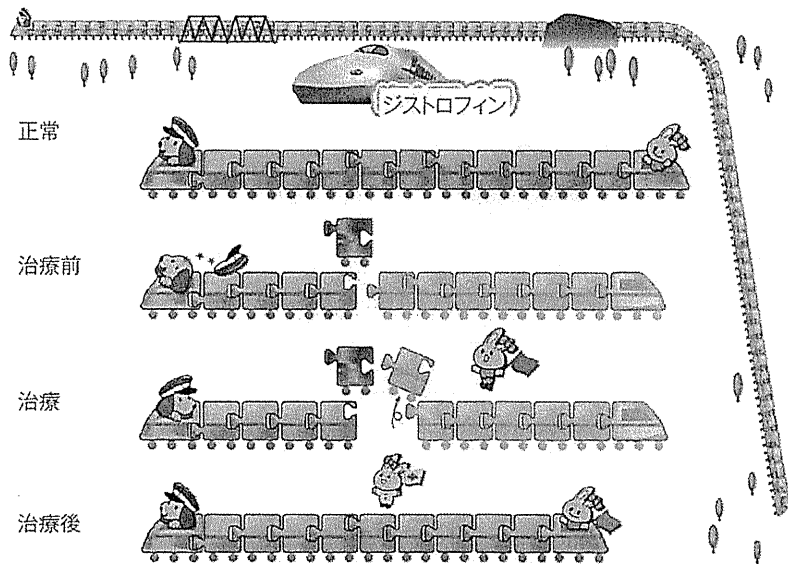


図2 エクソンスキッピング誘導治療

ジストロフィン遺伝子は79個のエクソンから構成されており、それを79両の車両に置き換えている。正常では、車両の連結に問題がない(正常)。しかし、ジストロフィン遺伝子で欠失が生じると車両の消失となり、アウトオブフレームのエクソンが欠失すると連結できなくなり、遺伝子の機能が失われる(治療前)。そこで、欠失のとなりのエクソンを取り除き(治療)、インフレームにかえてやると車両の連結はできるようになり、再び走り出す(治療後)。

読み取り枠のアウトオブフレームをインフレームに変換することにより、サイズの小さなジストロフィンが産生される。これは、エクソン欠失でスプライシング時に隣接するエクソンのスキッピングを誘導して欠失の範囲を広げ、欠失する塩基の総数を3の倍数にすることで可能となる(図2)。また、ナンセンス変異がインフレームのエクソンにあればそのエクソンのスキッピングを誘導することにより、ナンセンス変異の除かれたインフレームのmRNAが産生され、ジストロフィンの発現が促される。

2. エクソンスキッピング誘導治療の世界で初めての実施例

筆者らは、ジストロフィン神戸の詳細な分子病態の解明から、アンチセンスオリゴヌクレオチド(AO)を用いてジストロフィン遺伝子のエクソン19のスキッピングが誘導できることを明らかにした。そして、このAOを用いたエ

クソンスキッピング誘導治療を世界に先駆けて着想した(図3)。すなわち、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。実際、患者由来の培養筋細胞に先のAOを導入しジストロフィン染色陽性細胞の出現をみた²⁾。さらに、このAOを患者に投与したところ、筋のジストロフィンmRNAでエクソン19のスキッピングを確認し、免疫染色でもジストロフィンの発現を確認した³⁾。

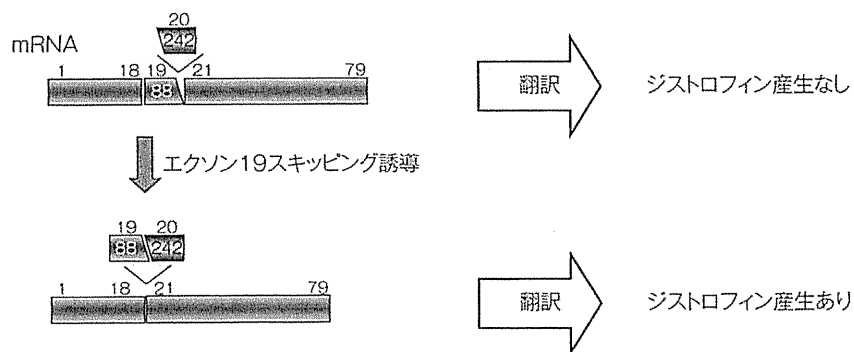


図3 エクソン19スキッピング誘導による治療

表 各エクソンスキッピングによる治療可能割合

エクソン	割合 (%)
51	11
53	11
45	9
44	4
8	3
43	3
52	3
55	3

③ AOを用いたエクソンスキッピング誘導治療の展開

a. 各エクソンごとの治療対象症例割合

エクソンスキッピング誘導治療は、エクソン19のスキッピングで紹介したように、各患者が有するエクソン欠失のパターンに合わせて隣接するエクソンをスキップさせるものである。そのために標的とするエクソンによって、治療できる症例数が異なってくる。そこで、ジストロフィン遺伝子の欠失のパターンからエクソンスキッピングによる治療可能な症例を検討した(表)。すると、エクソン51, 53, 45のスキッピングを誘導することで比較的多くの患者を治療できることが判明した。エクソン51のスキッピング誘導により治療できる割合は、欧米でもっとも高く13%となっている。そのため、欧米でエクソン51のスキッピングを誘導するAOの開発が勢力的になされた。そして、

PRO051とAVI-4658の開発が進められ現在フェーズIIまで進んでいる。

b. PRO051

PRO051は2'-O-methyl RNAをモノマーとした20塩基の核酸で、エクソン51のスキッピング誘導作用を有している。フェーズIIの治験では、5~13歳の12例の患者にPRO051が0.5~6 mg/kgの量で1週間に1回皮下投与された。このPRO051では蛋白尿が全員で出現したが、大きな問題にはならなかった。その他に特異的な副作用はみられていない。投与量が4 mg/kg以上であった例で、エクソン51のスキッピング誘導が確認されるとともに、ジストロフィンの発現増加も確認された⁴⁾。現在臨床治験がグローバルに実施されるところとなっている。

c. AVI-4658

AVI-4658はモルフォリノ核酸からなる30塩基のAOで、エクソン51のスキッピングを誘導する作用がある。最近報告されたフェーズIIの治験では、6~13歳の19例のDMD患者にAVI-4658が0.5~20 mg/kgの量で、1週間に1回計12回静脈内投与がなされた。このAVI-4658投与による副作用はみられず、エクソン51のスキッピングはすべての例で確認された。さらに、高投与群例を中心に7例にジストロフィン発現が増加した。そして、当初の目的である安全性と生化学的な有効性が確認され

た⁵⁾。

d. 神戸大学の取り組み (エクソン 45 のスキッピング誘導)

神戸大学では ethylene bridged nucleic acid (ENA) という生体での安定性を増した修飾核酸と RNA をキメラにした RNA/ENA キメラが強力なエクソンスキッピング誘導効果を有することに着眼して、RNA/ENA キメラのエクソン 45 のスキッピングを誘導治療への応用をはかっている。RNA/ENA からなるエクソン 45 のスキッピングを誘導する AO85 を合成し、DMD 患者培養細胞に導入したところ、ジストロフィンの有意な発現を確認している。また、AO85 の反応速度論的解析を実施し、低い EC50 であることを明らかにし、臨床応用にすぐれたものと報告した⁶⁾。今後、臨床への応用を計画しているところである。

e. ナンセンス変異でのエクソンスキッピング誘導治療

ジストロフィン遺伝子のナンセンス変異では通常 DMD となるが、中に表現型が BMD となっている例が見出される。こうした例のジストロフィン mRNA を解析するとナンセンス変異をコードするエクソンのスキッピングが自然に誘導され、インフレームの mRNA が産生され、ジストロフィンが発現している⁷⁾。

したがって、AO を用いてナンセンス変異を有するインフレームのエクソンのスキッピングを誘導することが治療の標的となる。AO を用いてナンセンス変異をもつエクソンのスキッピングの誘導を行い、患者培養筋細胞でジストロフィンの発現が確認されている⁸⁾⁹⁾。

f. 低分子化合物を用いたエクソンスキッピング誘導治療

AO は分子量が大きく、定期的に筋注あるいは静脈内投与する必要があるなどの不便性がある。そのために、エクソンスキッピング誘導作用を有する低分子化合物の探索が次の課題となっている¹⁰⁾。筆者らは、ナンセンス変異を有

するエクソン 31 あるいは 1 塩基欠失を有するエクソン 27 を特異的にスキッピング誘導する低分子化合物の発見に成功した¹¹⁾。さらに、この低分子化合物を用いて患者由来筋細胞においてジストロフィン発現の亢進を確認した。今後、AO にかわる低分子化合物を用いたエクソンスキッピング誘導治療の展開が大きく期待される。

Ⅲ リードスルー誘導治療

①. リードスルーとは

リードスルーとは、mRNA 上のナンセンス変異を読み飛ばして新たなアミノ酸の伸長をもたらす、mRNA から蛋白への翻訳を最後まで進めるものである。mRNA 上にナンセンスコドンがあれば、tRNA ではなく終結因子がリボソームに結合し、ペプチド鎖がリボソームから遊離されて蛋白合成が停止する。この時、ナンセンスコドンと終結因子の結合を弱めれば、ナンセンスコドンとどれかの tRNA との結合を促し、新たなアミノ酸の伸長が起こり蛋白の合成が最後まで進行する。これが、リードスルー効果とよばれているものである (図 4)。

②. ゲンタマイシン

ゲンタマイシンはリボソームに結合してナンセンス変異の認識性を弱め、翻訳を停止させることなく最後まで進めるリボソームリードスルー効果を有していることが古くより知られていた¹²⁾。しかしながら、ゲンタマイシンの特有の腎臓、聴神経に高い毒性の副作用のため、ゲンタマイシンを DMD の治療へ応用することは進まず、ヒト DMD のゲンタマイシンによる治療応用は 2 つの小規模な実施例にとどまっていた¹³⁾¹⁴⁾。

最近、ゲンタマイシンの有効性が 9~17 歳の 16 例の患者で検討された。投与量は 7.5 mg/kg で投与方法は週に 1 回あるいは 2 回で、6 カ月間投与された。その結果、大きな副作用もなく、

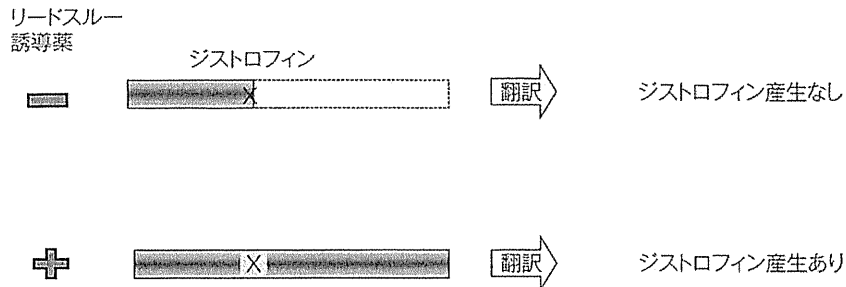


図4 リードスルー誘導治療

mRNA から蛋白への翻訳時に、mRNA にナンセンス変異 (X) があると、リボソームにおける蛋白合成はその場所で停止する (上段)。その時、リードスルー誘導薬が存在する (+) と、ナンセンス変異の認識が弱まり mRNA から蛋白への翻訳が最後まで進む (下段)。

ジストロフィンの発現が充進するとともに、血清中のクレアチンキナーゼの低下も認められた¹⁵⁾。これは、ヒトに副作用を生じさせない使用量でのゲンタマイシンの有効性を示すものであった。

3. PTC124

米国の PTC 社は、ナンセンス変異を翻訳時に読みとばすリボソームリードスルー作用を有する化合物を見出すことに成功した¹⁶⁾。この化合物は PTC124 と名づけられ、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、現在米国でジストロフィン遺伝子のナンセンス変異を有する患者を対象とした治験が実施された¹⁷⁾。しかしながら、その結果は期待されたものとなっておらず、再検討されている (http://www.ptcbio.com/May_DBMD_Trial_Update.htm)。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薬剤である。

4. リードスルー誘導治療の展開

メラノコルチン 4 レセプター遺伝子のナンセンス変異に対するリードスルー効果がゲンタマイシンと PTC124 で比較されているが、この遺伝子ではゲンタマイシンのみに有効性が確認されている¹⁸⁾。また、PEX 遺伝子のナンセンス変異についても同様にゲンタマイシンでの有効性は確認されたが、PTC124 では確認できなかった¹⁹⁾。このように、リードスルー誘導治療の効果については一定せず、まだ多くの解決すべき課題があるようである。

一方、新たなアミノグルコシドの NB54 が開発され、Rett 症候群の治療に用いられようとしている²⁰⁾。また、わが国でもリードスルー誘導薬の探索が行われてきており、その候補化合物がリストアップされてきている²¹⁾。

おわりに

ジストロフィンを発現する 2 つの治療法について紹介した。DMD は長く治療法のない病気としてとらえられてきたが 2 つの方法ともに臨床治験の結果が出てきて、治療が可能との光がみえてきた。しかし、ジストロフィン発現をどのレベルを目指すかについて議論があった。最近、新たなマウスを使った検討により、ジストロフィンの低レベル (正常の 5% 未満) の発現でも有効なことが示された²²⁾。ヒトでも同様であればさらにまた大きな希望となる。

いずれにしても DMD の治療は遺伝子異常の型に基づいたもので、患者の遺伝子の異常の解析が必須となっている。

文献

- 1) Takeshima Y et al: Mutation spectrum of the dystrophin gene in 442 Duchenne/Becker mus-

- cular dystrophy cases from one Japanese referral center. *J Hum Genet* 2010 ; 55 : 379-388
- 2) Takeshima Y et al : Oligonucleotides against a splicing enhancer sequence led to dystrophin production in muscle cells from a Duchenne muscular dystrophy patient. *Brain Dev* 2001 ; 23 : 788-798
 - 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* 2006 ; 59 : 690-694
 - 4) Cirak S et al : Exon skipping and dystrophin restoration in patients with Duchenne muscular dystrophy after systemic phosphorodiamidate morpholino oligomer treatment : an open-label, phase 2, dose-escalation study. *Lancet* 2011 ; 378 : 595-605
 - 5) Goemans NM et al : Systemic administration of PRO051 in Duchenne's muscular dystrophy. *N Engl J Med* 2011 ; 364 : 1513-1522
 - 6) Maluekaa R et al : Antisense oligonucleotide induced dystrophin exon 45 skipping at a low EC50 in a cell-free splicing system. *Nucleic Acid Ther* 2011 (in press)
 - 7) Shiga N 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* 1997 ; 100 : 2204-2210
 - 8) Aartsma-Rus A et al : Therapeutic antisense-induced exon skipping in cultured muscle cells from six different DMD patients. *Hum Mol Genet* 2003 ; 12 : 907-914
 - 9) Surono A et al : Chimeric RNA/ethylene bridged nucleic acids promote dystrophin expression in myocytes of Duchenne muscular dystrophy by inducing skipping of the nonsense-mutation-encoding exon. *Hum Gene Ther* 2004 ; 15 : 749-757
 - 10) O'Leary DA et al : Identification of small molecule and genetic modulators of AON-induced dystrophin exon skipping by high-throughput screening. *PLoS One* 2009 ; 4 : e8348
 - 11) Nishida A et al : Chemical treatment enhances skipping of a mutated exon in the dystrophin gene. *Nat Commun* 2011 ; 2 : 308
 - 12) Mankin AS, Liebman SW : Baby, don't stop! *Nat Genet* 1999 ; 23 : 8-10
 - 13) Wagner KR et al : Gentamicin treatment of Duchenne and Becker muscular dystrophy due to nonsense mutations. *Ann Neurol* 2001 ; 49 : 706-711
 - 14) Politano L et al : Gentamicin administration in Duchenne patients with premature stop codon. Preliminary results. *Acta Myol* 2003 ; 22 : 15-21
 - 15) Malik V et al : Aminoglycoside-induced mutation suppression (stop codon readthrough) as a therapeutic strategy for Duchenne muscular dystrophy. *Ther Adv Neurol Disord* 2010 ; 3 : 379-389
 - 16) Welch EM et al : PTC124 targets genetic disorders caused by nonsense mutations. *Nature* 2007 ; 447 : 87-91
 - 17) Nelson SF et al : Emerging genetic therapies to treat Duchenne muscular dystrophy. *Curr Opin Neurol* 2009 ; 22 : 532-538
 - 18) Brumm H et al : Rescue of melanocortin 4 receptor (MC4R) nonsense mutations by aminoglycoside-mediated read-through. *Obesity (Silver Spring)*. 2011 Jul 7. doi : 10.1038/oby.2011.202
 - 19) Dranchak PK et al : Nonsense suppressor therapies rescue peroxisome lipid metabolism and assembly in cells from patients with specific PEX gene mutations. *J Cell Biochem* 2011 ; 112 : 1250-1258
 - 20) Vecsler M et al : Ex vivo treatment with a novel synthetic aminoglycoside NB54 in primary fibroblasts from Rett syndrome patients suppresses MECP2 nonsense mutations. *PLoS One* 2011 ; 6 : e20733
 - 21) Arakawa M et al : Negamycin restores dystrophin expression in skeletal and cardiac muscles of mdx mice. *J Biochem (Tokyo)* 2003 ; 134 : 751-758
 - 22) Li D, Yue Y, Duan D : Marginal level dystrophin expression improves clinical outcome in a strain of dystrophin/utrophin double knockout mice. *PLoS One* 2010 ; 5 : e15286

◦ ◦ ◦

