



2009年3月19日

デュシェンヌ型筋ジストロフィーのモデル犬で エクソン・スキッピングを用いた治療に世界で初めて成功

—日米の共同研究チームが研究成果とビデオを発表—

国立精神・神経センターと米国チルドレンズ・ナショナル・メディカルセンターの共同研究チームは、世界的に最も頻度の高い致死性の遺伝疾患のひとつであるデュシェンヌ型筋ジストロフィーに対する「マルチ・エクソン・スキッピング治療」により、筋ジストロフィー・モデル犬の症状の改善に世界で初めて成功しました。「マルチ・エクソン・スキッピング」は、複数の短いDNA類似体の分子を用いて、タンパク質の効率的な合成を妨げている遺伝子変異のある転写産物（メッセンジャーRNA前駆体）を覆うことにより遺伝子の機能を回復させる新たな手法です。

本研究は、日本と米国との共同研究として行われ、米国神経学会誌 *Annals of Neurology*（オンライン版3月13日付） [<http://www3.interscience.wiley.com/journal/122260425/abstract>] に掲載されました。

デュシェンヌ型筋ジストロフィーは、全世界において出生男児3500人のうち1人の割合で発症する最も頻度の高い致死性の遺伝疾患であり、筋組織を構成する細胞が、ジストロフィンを効率的に作り出せないことに起因します。「エクソン・スキッピング」は、従来の遺伝子治療とは異なり、アンチセンスと呼ばれる短い合成DNA類似体を用いて、遺伝子の転写産物（メッセンジャーRNA前駆体）のうち変異のある部分やその周囲を覆って読み飛ばさせる（スキッピング）ことにより、タンパク質の産生を回復させる技術です。遺伝子変異はジストロフィン遺伝子の79個のエクソンと呼ばれる領域のいずれにも起こりますが、しばしば同時に複数個のエクソンをスキッピングする必要があるため、研究者らは、モルフォリノと呼ばれるアンチセンスの「カクテル」を用い治療の適用範囲を広げられるようになりました。この技術により、筋ジストロフィーで見出された遺伝子変異を含め、最大でデュシェンヌ型筋ジストロフィーの80～90%の患者に対して治療が可能になると考えられています。

本研究の筆頭著者である横田俊文博士は、「デュシェンヌ型に対するエクソン・スキッピング治療の実現可能性はこれまでも専門家により議論されてきたが、本研究成果により、近い将来に全身治療の臨床試験が可能になるだろう」また、「これから行うべき課題は多いが、本研究の成功によって、全身の筋組織に対する効果的な投与という大きなハードルを乗り越えたといえる」と述べています。

国立精神・神経センター 神経研究所の新しい最先端の動物施設が、本研究の実施に利用されました。

米国チルドレンズ・ナショナル・メディカルセンターの遺伝医学センター部長であり本研究の責任著者であるエリック・ホフマン博士は、「この研究は、全身的なアンチセンス治療が、デュシェンヌ型筋ジストロフィーやその他の疾患で行うことができるという概念を実証するものである」と述べています。

また、国立精神・神経センター 神経研究所の部長であり、もう一人の責任著者である武田伸一博士は、「デュシェンヌ型筋ジストロフィーの大多数の患者で全身治療を行うためには、複数の配列のアンチセンスを血液中に投与することが必要となるが、この研究は、動物個体で初めてマルチ・エクソン・スキッピングに成功したものである」さらに、「臨床での試験を実現させるためには、患者に対する安全性を保証し、アンチセンス薬物を急いで開発し広めるためにも、希少疾患であることを考慮して、毒性、有効性等を評価する方法を再検討することが重要である」と述べています。

著者らは、まだ重要なステップが残っている点についても強調しています。モルフォリノを用いた全身治療には、大量のアンチセンス分子が必要である上、生産にはコストがかかり、入手も困難です。さらに、この研究の結果、心筋障害の抑制が軽度であったことから、デュシェンヌ型の心臓を救うためには、より効果的で特殊な方法が必要と考えられます。しかし、本研究の成功により、デュシェンヌ型やその他の遺伝性疾患に対する効果的な治療として、これまで専門家により多く議論されてきた手法であるエクソン・スキッピングを用いた全身治療の実現に向けて、大きく近づいたと考えられます。

ビデオ1：未治療筋ジストロフィー犬（7ヶ月令） [\(Windows\)](#) [\(Mac\)](#)

ビデオ2：未治療筋ジストロフィー犬2（7ヶ月令） [\(Windows\)](#) [\(Mac\)](#)

ビデオ3：週1回 120 mg/Kg カクテル・モルフォリノを5回投与後の筋ジストロフィー犬（7ヶ月令） [\(Windows\)](#) [\(Mac\)](#)

ビデオ4：週1回 200 mg/Kg カクテル・モルフォリノを7回投与後の筋ジストロフィー犬（4ヶ月令） [\(Windows\)](#) [\(Mac\)](#)

ビデオ5：週1回 120 mg/Kg カクテル・モルフォリノを11回投与後の筋ジストロフィー犬（7ヶ月令） [\(Windows\)](#) [\(Mac\)](#)

本研究は、厚生労働省精神・神経疾患研究委託費（16B-2, 19A-7），厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業：H19-トランスレーショナルリサーチ-003），厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業：H18-こころ-019），米国デュシェンヌ撲滅基金，米国防総省，ジャイナ教徒財団，ヴァージニア・ビーチ・クリスタルボール（米国筋ジストロフィー協会），米国国立医学リハビリテーションセンター，および米国NIHウエルストーン筋ジストロフィー研究センターによる研究資金により行われました。

コンタクト：国立精神・神経センター 神経研究所

遺伝子疾患治療研究部長 武田 伸一

TEL：042-346-1720

###

米国チルドレンズ・ナショナル・メディカルセンター（CNMC）／小児研究所について

米国チルドレンズ・ナショナル・メディカルセンターは、ワシントンD.C.にあり、小児期の疾患と外傷に対する革新的な新規治療法の開発において長年リーダーとしての役割を果たしてきました。CNMCは、米国の子供たちのための機関として135年以上の歴史を持ち、US News & World ReportとLeapfrogグループによって格付けされた最高ランクの小児病院の一つにも数えられています。詳細は、www.childrensnational.orgをご覧ください。CNMCの研究部門である小児研究所では、臨床および地域のための研究のみでなく、基礎研究と臨床をつなぐトランスレーショナル・リサーチを行っています。研究プログラムについての詳細は、www.childrensnational.org/researchを御覧ください。

国立精神・神経センター（東京）について

国立精神・神経センター（NCNP）は、東京都小平市にあり、未解明の精神・神経・筋・発達障害疾患の原因究明、治療モデルと治療法の開発及びそのために必要な基盤研究を行っています。詳細については、<http://www.ncnp.go.jp/index.html>をご覧ください。神経研究所は、NCNPを構成している中心的な施設の一つであり、国立の研究機関として、神経科学および臨床神経学研究を促進するために、1986年に設立されました。神経研究所は、現在、研究技術により分類された基盤系7部門と、対象となる精神・神経疾患によって分類された臨床系7部門及びそれらを支援する管理室2室から構成されています。神経研究所で行われている研究計画の詳細については、www.ncnp.go.jp/nin/をご覧ください。

用語の説明

デュシェンヌ型筋ジストロフィー

ジストロフィン遺伝子の異常によりジストロフィンが欠損するX連鎖性の遺伝性疾患。筋ジストロフィーの中でも最も頻度が高く、2-5歳で発症する。筋萎縮、筋力低下は進行性であり、13歳までに自立歩行不能となって車椅子生活を余儀なくされ、30歳以前に呼吸不全あるいは拡張型心筋症による心不全で死亡する。現在、進行の経過を遅らせるステロイド剤以外に、有効な治療法は存在しておらず、新たな治療法の開発が期待されている。

筋ジストロフィー犬

ゴールドレトリバーに自然発生した筋ジストロフィー犬は、デュシェンヌ型筋ジストロフィーと類似した進行性の筋萎縮・筋力低下や心筋障害を示していたことから、治療法の開発に有用なモデルとして注目されていた。しかし、大型犬であり飼育・繁殖が容易でなかったことから、国立精神・神経センターではその凍結精子を用いてより飼育・繁殖が容易であるビーグル種の筋ジストロフィー犬のコロニーを確立した。

エクソンの欠失とアミノ酸の読み枠

ジストロフィン遺伝子のエクソン（最終的に機能する転写産物に残る塩基配列）の一部が欠失するタイプのデュシェンヌ型筋ジストロフィーでは、メッセンジャーRNAからアミノ酸への翻訳過程において、読み枠のずれが生じるため、正常なアミノ酸への翻訳が阻害されて正常よりも前に停止コドンが出現する。そのためジストロフィンが産生されない。一方、変異があってもアミノ酸の読み枠が保たれている場合は、不完全ながらも小型のジストロフィンが産生される。筋ジストロフィー犬では、ジストロフィン遺伝子のイントロン6とエクソン7の境界に点変異を有することから、メッセンジャーRNA前駆体からメッセンジャーRNAの過程でエクソン7がスキップしてアミノ酸の読み枠がずれ、エクソン8にストップ・コドンを生ずるためジストロフィンが産生されない。

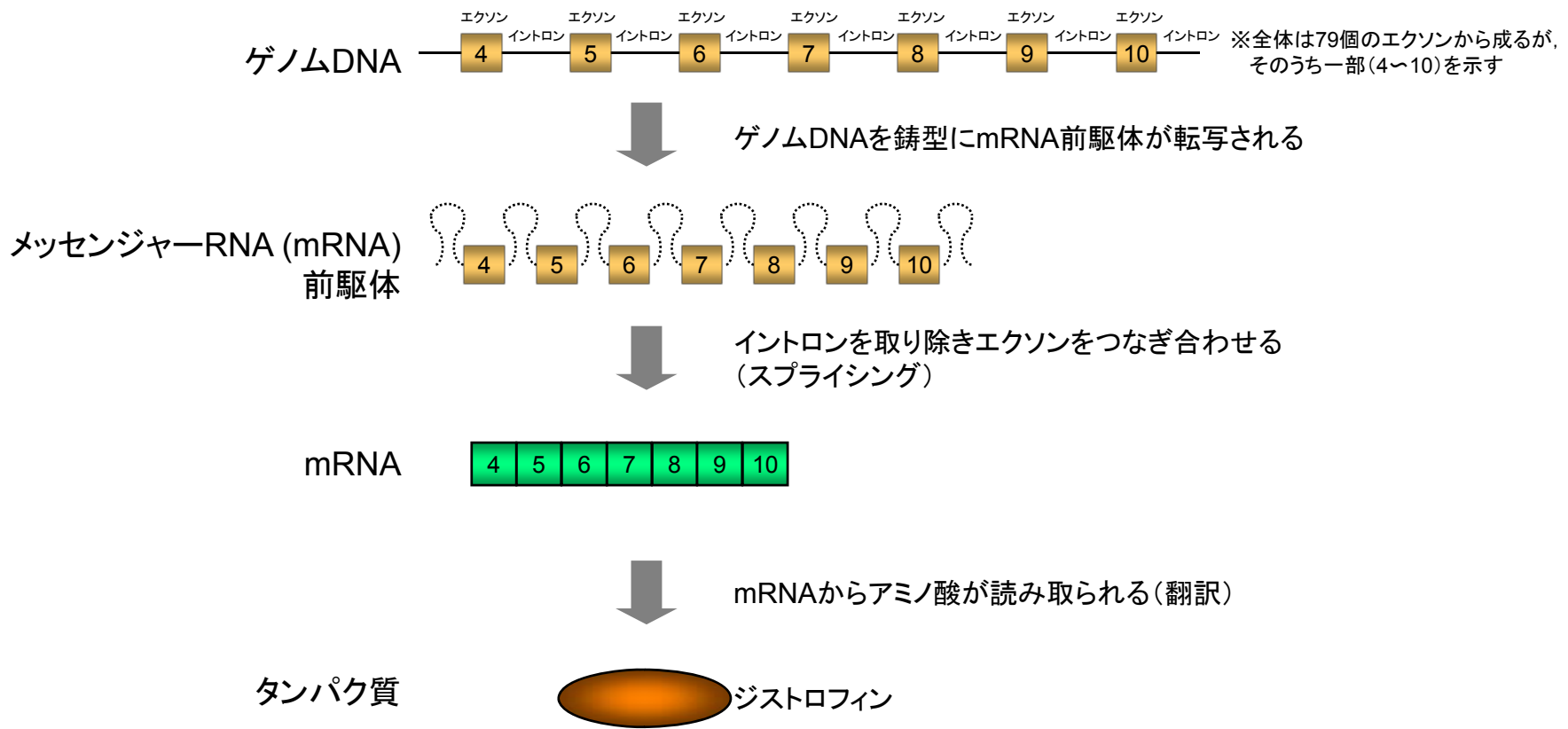
アンチセンス・オリゴヌクレオチド

メッセンジャーRNA前駆体の標的配列に相補的な約25塩基対か、それ以下の長さの短い一本鎖の合成核酸類似体の配列である。相補的なメッセンジャーRNA前駆体と結合することによりスプライシングを制御することができる。生体内での抗分解性、メッセンジャーRNA前駆体との親和性などを向上させるための修飾が施されている。一方、モルフォリノはアンチセンス・オリゴヌクレオチドの中でも、DNA/RNAのデオキシリボース/リボース環に代わってモルフォリン環を、リン酸塩の代わりにフォスフォロジアミデートを持っていることから、水溶性で高いメッセンジャーRNA前駆体結合力を有し、免疫応答を活性化しないなどの利点がある。

エクソン・スキッピング

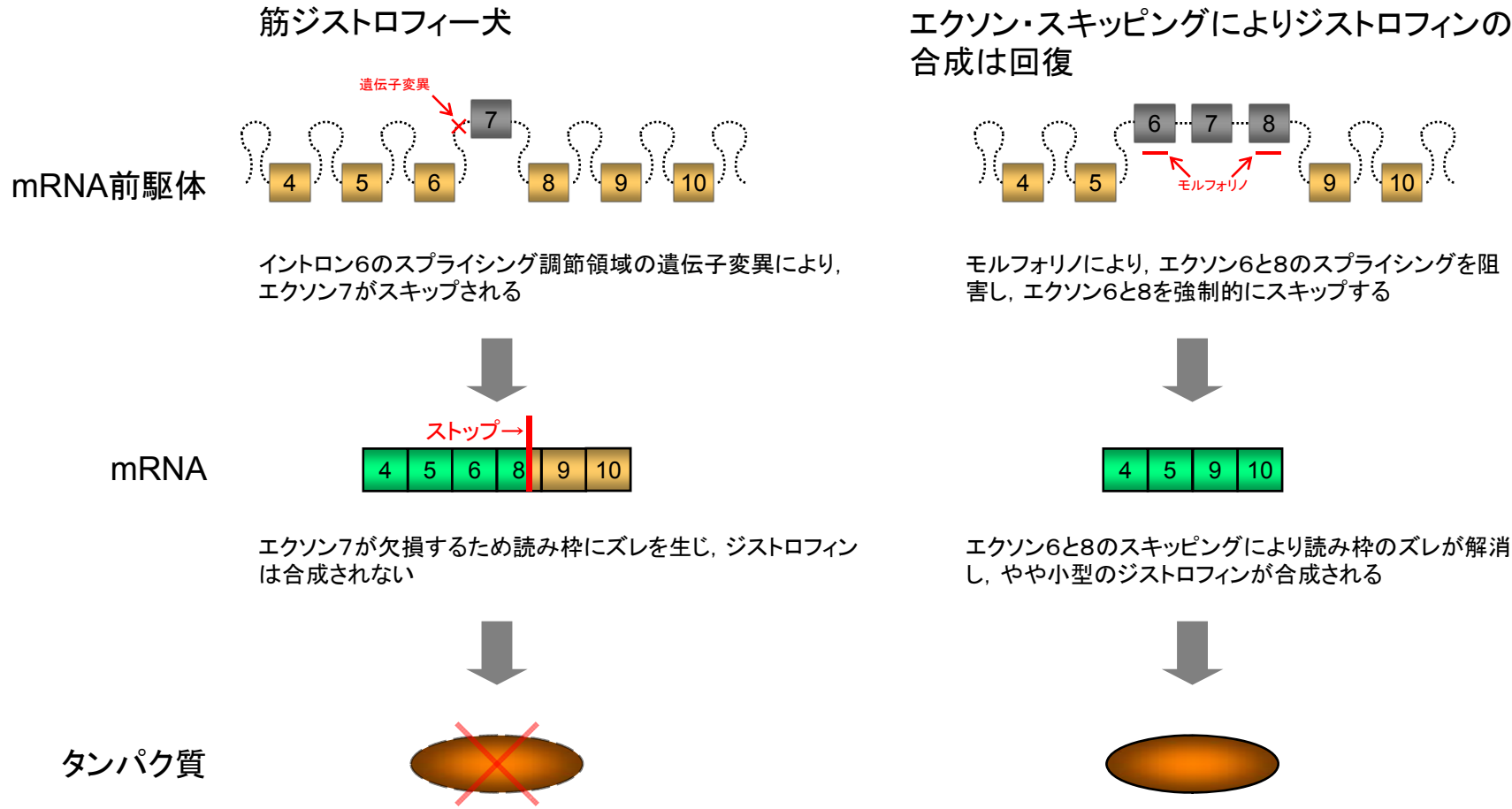
メッセンジャーRNA前駆体からイントロンを切り出すスプライシングの過程は、エクソン/イントロンの境界部の配列、あるいはエクソン内のスプライシング促進配列により制御されている。これらの配列をアンチセンス・オリゴヌクレオチドでブロックすると、そのエクソンはスプライシングの過程でスキップされ、成熟メッセンジャーRNAには含まれない。エクソンのスキッピングによりアミノ酸読み枠のずれが修正された場合には、スキップしたエクソンに相当する部分は欠如しているものの、正常に近い機能を有するジストロフィンが産生される。

図1. ジストロフィン遺伝子からのジストロフィン合成



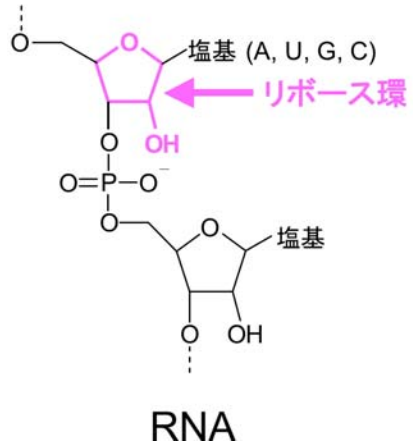
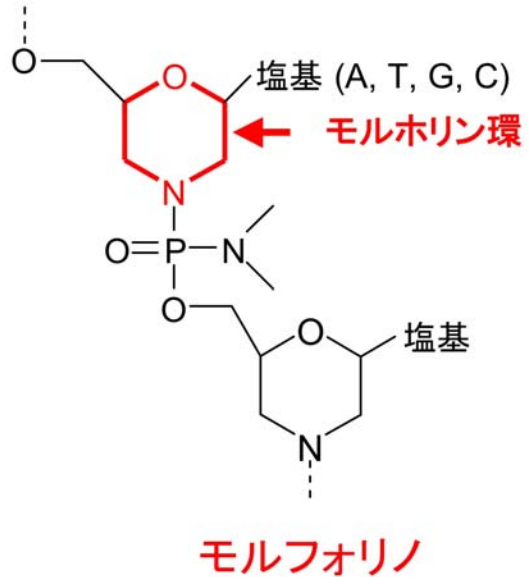
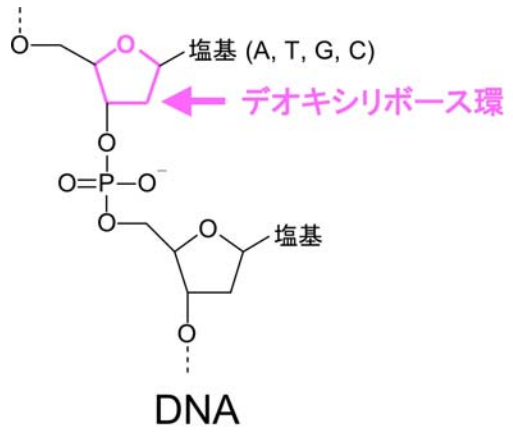
染色体にあるゲノムDNAには、タンパク質への翻訳に必要な配列(エクソン)と、必要とされない配列(イントロン)が含まれており、エクソン-イントロン-エクソン-イントロンと交互に配列している。ジストロフィン遺伝子は79個のエクソンから成る。ゲノムDNAを鋳型として転写されたメッセンジャーRNA(mRNA)前駆体から、イントロンが取り除かれて、エクソンだけからなるmRNAが合成される。このイントロンが取り除かれてエクソンがつなぎ合わされる過程をスプライシング(splice=つなぎ合わせる)という。スプライシングを経てmRNAからアミノ酸が読み取られる(翻訳)ことで、ジストロフィンが合成される。

図2. 筋ジストロフィー犬に対するエクソン・スキッピング



筋ジストロフィー犬では、ジストロフィン遺伝子のイントロン6の遺伝子変異により、mRNA前駆体においてエクソン7が正常にスプライシングされずにスキップされ、mRNAではエクソン6と8が直接連結する。するとアミノ酸の読み枠にズレが生じ、エクソン8にアミノ酸への翻訳ストップをコードする読み枠が出現する。このためジストロフィンは合成されず、筋ジストロフィーの症状が出現する。しかしモルフォリノでエクソン6と8のスプライシングを阻害してやると、エクソン6と8を強制的にスキップすることができる。エクソン5と9は直接結合し、アミノ酸の読み枠のズレが解消するために、やや小型のジストロフィンが合成される。

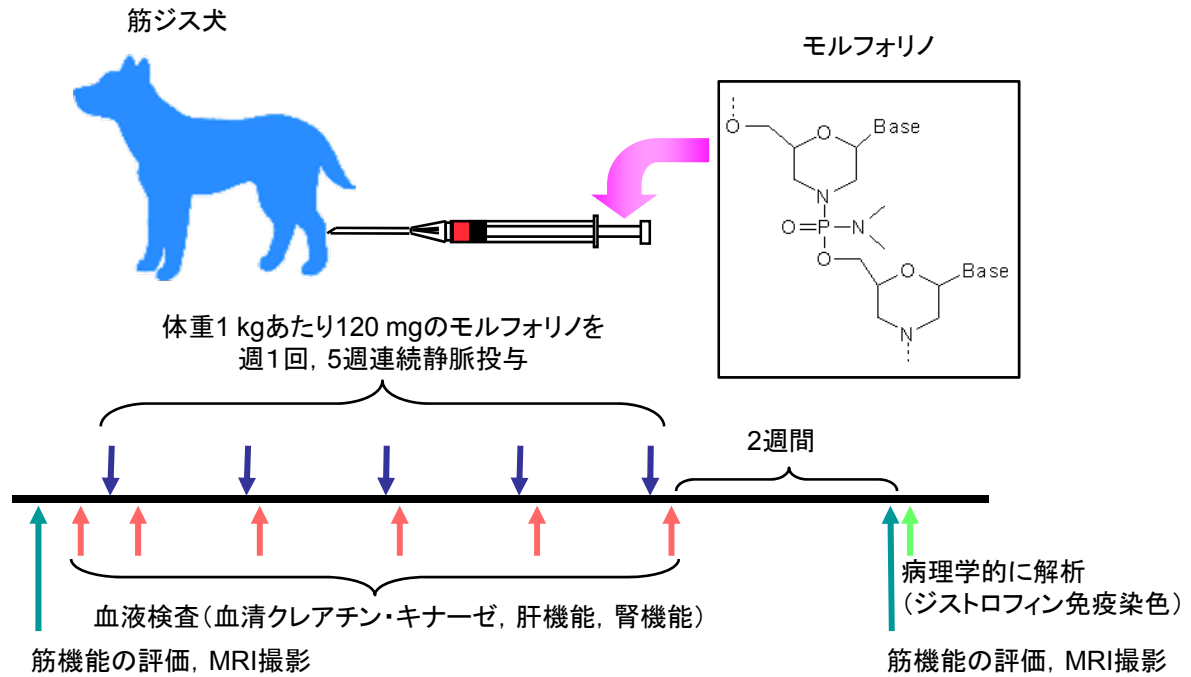
図3. モルフォリノと核酸(DNAとRNA)の類似性



モルフォリノではDNAやRNAの糖がモルホリン環に置き換えられている

二本鎖のゲノムDNAを鋳型として、一本鎖のmRNA前駆体が転写されるが、mRNA前駆体と逆方向の(相補的な)配列の一本鎖の合成核酸類似体をアンチセンス・オリゴヌクレオチドと呼ぶ。アンチセンス・オリゴヌクレオチドは、塩基、糖、リン酸基から成る核酸化合物から作ることができるが、このうち糖として、DNAにおけるデオキシリボース環やRNAにおけるリボース環に代えて、人工化合物であるモルホリン環を使用した核酸化合物をモルフォリノと呼ぶ。モルフォリノによりmRNA前駆体のスプライシングを阻害するとエクソンをスキップすることができる。

図4. 筋ジス犬に対するモルフォリノの全身治療



ジストロフィン免疫染色

