

筋ジストロフィー

筋ジストロフィーとは筋肉細胞が壊れ、その数が次第に減っていくために、筋肉の力が弱くなる病気です。病気が進むと歩けなくなって車椅子生活となったり、呼吸筋も侵されて人工呼吸器が必要となることもあります。病気の原因となる遺伝子は次々とみつかっていますが、まだ病気の進行をとめることはできません。筋ジストロフィーにもいくつかの種類があります。その中で一番多い病気がデュシェンヌ型です。デュシェンヌ型を中心として、治療法の開発が進んでいて、人への応用も間近いと考えられています。



デュシェンヌ型筋ジストロフィーのエクソンスキッピング誘導治療

【研究課題】デュシェンヌ型筋ジストロフィーのアンチセンス治療法の開発

松尾雅文

神戸大学大学院医学系研究科内科系講座小児科学教授

デュシェンヌ型筋ジストロフィーについて

1. デュシェンヌ型筋ジストロフィーとは

筋ジストロフィーとは筋細胞が壊れるために、筋細胞が少しずつ減って筋肉の力が弱くなる病気です。最初は転びやすい、立ち上がる時に努力がいることで気づかれます(図1)。筋ジストロフィーにもいろいろ種類があって、その中で一番多い病気がデュシェンヌ型です。男の子にだけ出る病気で、10歳ころ車いす生活となり、20歳ころには人工呼吸器が必要となります。

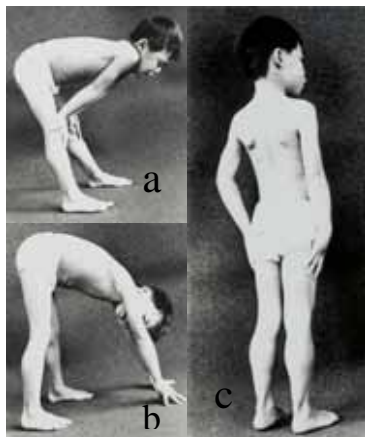


図1：デュシェンヌ型の男児

筋肉の力が弱いため、床に手をつけて(a)、つぎに膝に手をあてて(b)立ち上がります。ふくらはぎが太いのもこの病気の特徴です(c)。

2. デュシェンヌ型ではジストロフィン遺伝子に変異がある

デュシェンヌ型ではジストロフィンとよばれる遺伝子に変異(異常)があり、そのために筋細胞膜のジストロフィンという蛋白が欠損します(図2)

膜を補強するジストロフィン蛋白がないと、膜が弱くなり、シャボン玉のように筋細胞はこわれやすくなると考えられています。ジストロフィンを上手に補ってあげるには、正常な遺伝子を細胞内に導入するか、本来患者さんがもっている遺伝子に操作を加える必要があります。操作を加えて治療する方法のひとつにエクソンスキッピングという方法があります。それをご紹介します。

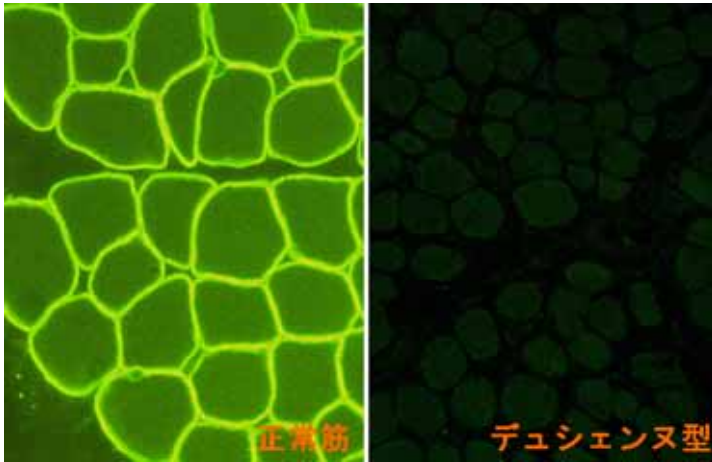


図2：ジストロフィン染色。(筋肉の横断面)
 正常(左)ではジストロフィン蛋白が筋細胞の膜にあるので、膜のところが明るく光っています。デュシェンヌ型(右)ではジストロフィンが全くないので、光っていません。

3. エクソンとイントロン、それにスプライシング？

遺伝子はタンパク産生に必要な遺伝情報が入っているエクソンと、あまり大した働きをしていないイントロンの二つの部分が交互にiriみだれています。遺伝子を有効に働かせるにはあまり役に立たないイントロンを切り離し、大切なエクソンをつなぎ合わせる必要があります。この切り離し、つなぎ合わせのことをスプライシング (splice=つなぎ合わせる) といいます。ジストロフィン遺伝子では大切な遺伝情報をもっているエクソンが 79 個あり、1 番目から 79 番目まで順序よく並んでいます。

4. デュシェンヌ型の 60-70%ではジストロフィン遺伝子のエクソンが欠けている

デュシェンヌ型の遺伝子異常(変異)はいろいろありますが、もっとも多いのは79個あるエクソンのいくつか欠けている変異(欠失)です。エクソンが欠けていると、遺伝情報の翻訳がうまく進まないためジストロフィン蛋白がまったく合成されません。それはエクソンが欠けているために、翻訳の仕方に「ずれ」ができるためです。(読み取り枠(フレーム)のずれを英語ではアウトオブフレーム out of frame といいます)。この「ずれ」を何とかして治そうと(インフレーム in frame にする) 私たちは長年研究をすすめてきました(図3)。

■ 正常

THE DOG CAN RUN AND EAT (意味が通じる)

■ アウトオブフレーム(DMD)

欠失
 THE DOG CAN **R** UN AN DE AT
 ↓
 THE DOG CAN UNA NDE AT (意味不明)

■ インフレーム

欠失
 THE DOG CAN **RUNAN** DE AT
 ↓
 THE DOG CAN EAT (意味が通じる)

図3：アウトオブフレームとインフレーム

遺伝子の3つの塩基配列から1つのアミノ酸ができて、それが集りタンパクが合成されます(正常)。遺伝子の欠失が3の倍数でない時(例：Rの1個)では、読み枠にずれができて意味が通じなくなり(アウトオブフレーム)タンパクはできません。欠失が3の倍数(RUNANDの6個)ですと本来の意味とは違っても文章としては成り立ち(インフレーム)不完全ながらタンパクはできます。

5.エクソン 19 スキッピング例の発見

私たちはデュシェンヌ型でスプライシングの異常から79個のエクソンの19番目が欠けている男のお子さんをみつけました。エクソンは.....18,20, 21,22.....とつながり19番目がありません。そのために、エクソン18までのジストロフィンが出来ますが、それ以降に読み取り枠がずれて、その先のジストロフィンができず、すぐに壊れてしまうのです。私たちはこの例から、人工的にエクソン19を取り除けることに気がつきました。エクソン19の中でスプライシングに関係している配列に蓋をしてしまいます。蓋があるので、このエクソンは機能できず取り除かれてしまうのです。蓋はアンチセンスオリゴヌクレオチドという核酸で、試験管の中で合成することが可能です。

6.エクソン19番目を取り除く(エクソンスキッピング治療)治療の開始

合成したアンチセンスオリゴヌクレオチドを患者さんに点滴静注すれば、エクソン19に蓋をして、エクソン19の配列が取り除かれます。エクソン20を欠失したデュシェンヌ型筋ジストロフィーで人工的にエクソン19を取り除いたら、エクソン...17,18,21,22...となって、読み取り枠のずれがなくなり(英語で in frame といいます)不完全ですがジストロフィンができることに気づきました。すなわちアミノ酸読み取り枠(フレーム)を修正し、ジストロフィン蛋白の発現を誘導することが出来ることになると思ったのです。(図4)

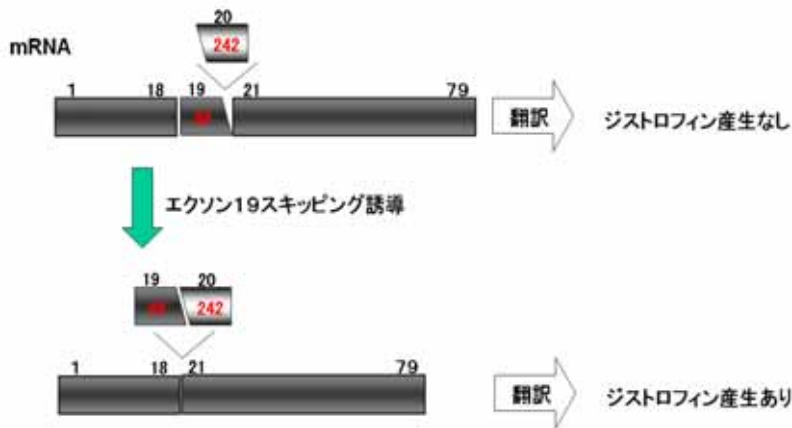


図4: エクソンスキッピング誘導治療の考え

アンチセンスオリゴヌクレオチドを用いてエクソン19のスキッピングを誘導する治療例を示します。デュシェンヌ型でジストロフィン遺伝子のエクソン20を欠失した例では242塩基が無くなり(3の倍数でない)アウトオブフレームとなりジストロフィンは産生されません(上段)。このときアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いてエクソン19のスキッピングを誘導すると、残るエクソン19と20の2つのエクソン配列の合計330塩基が消失しインフレームとなりジストロフィンの産生が可能となります(下段)。

私たちは試験管の中で、エクソン 20 を欠失した例でエクソン 19,20 が欠けている mRNA が産生されジストロフィン蛋白を作ることを確認しました。また動物実験で安全性を確認しました。大学の倫理委員会の認可を受けて、エクソン 20 が欠失しているデュシェンヌ型の男に治療を始めたのです。治療することにより、細胞膜にはジストロフィンが出現しています。そのことが、有名な国際誌の表紙をかざることになりました（図 5）。

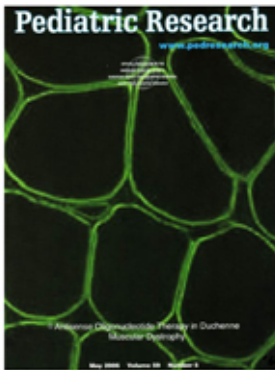


図 5 私たちの研究成果を表紙にした雑誌

Pediatric Research 誌に掲載された世界で初めての治療報告例です。

7. 欠失をもった多くの患者さんに応用が可能

わたしたちが治療したのはエクソン 20 の欠失した患者さんです。デュシェンヌ型の多くの患者さんはエクソン 50 番目付近が欠失しています。私たちはそのような患者さん達にも治療が出来る様に探索を行い、エクソンスキッピングを誘導することに成功しています。エクソンスキッピング治療の特徴をまとめました。

- (1) 生まれつき持っているジストロフィン遺伝子の利用
- (2) メッセンジャーRNA のアミノ酸読み取り枠の修正
- (3) オーダーメイド医療
- (4) 大量化学合成の可能な核酸医薬

今後、こうした成果を臨床の現場に応用し一人でも多くの患者さんが治療できることを目指しています。