

(問い合わせ先)  
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 武田部長  
電話 042-341-2711 (内 5221)

平成 21 年 3 月 17 日

報道機関各位

国立精神・神経センター

## 筋ジストロフィー犬を用いたエクソン・スキッピング治療に成功

### デュシェンヌ型筋ジストロフィーの臨床応用へ期待

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(武田伸一 部長)と米国国立小児医療センター遺伝医学センター(横田俊文 研究員, エリック・ホフマン 教授)の研究グループは、致死性の遺伝性筋疾患である「デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)」の犬モデル動物を用いた「エクソン・スキッピング治療」に世界で初めて成功しました。本研究成果は、米国神経学会の学会誌『*Annals of Neurology*』のオンライン版(<http://www3.interscience.wiley.com/journal/76507645/home> 3月13日付け)に掲載されました。

DMDは、ジストロフィン遺伝子の異常により筋細胞の構造を補強するジストロフィンが欠損しているために、幼児期以降に筋萎縮や筋力低下が進行し、呼吸不全や心不全で30歳代までに死亡する疾患です。本邦には約4,000人の患者がいるとされます。これまでに、多くの治療法が検討されてきましたが、ステロイド剤以外に有効な治療法はありませんでした。

DMDの犬モデル動物である筋ジストロフィー犬(筋ジス犬)<sup>\*1</sup>は、ジストロフィン遺伝子の変異により7番目のエクソン(遺伝子のうちアミノ酸の情報を有する配列)が読み飛ばされ、アミノ酸への翻訳が途中で停止するためにジストロフィンが産生されません。ところが、6番目と8番目のエクソンを強制的に読み飛ばす(スキップする)ことで、少し短いものの機能するジストロフィンが産生される可能性が考えられました。この方法は、エクソン・スキッピング(読み飛ばし法)と呼ばれています(図1, 2)。

そこで、研究グループは、安全性・安定性が高く、静脈からの投与が可能な「モルフォリノ」という合成核酸類似体を筋ジス犬に全身投与し、エクソン・スキッピング治療を行った結果、全身の骨格筋にジストロフィンが発現し、臨床検査所見、画像所見および運動機能が改善し、明らかな副作用はみられませんでした(図4)。複数のエクソンを同時にスキップさせる「マルチ・エクソン・スキッピング治療」が、大型の疾患モデル動物を用いて実証できたことから、本治療法が適応となるDMD患者数を、飛躍的に増加することが可能となりました。

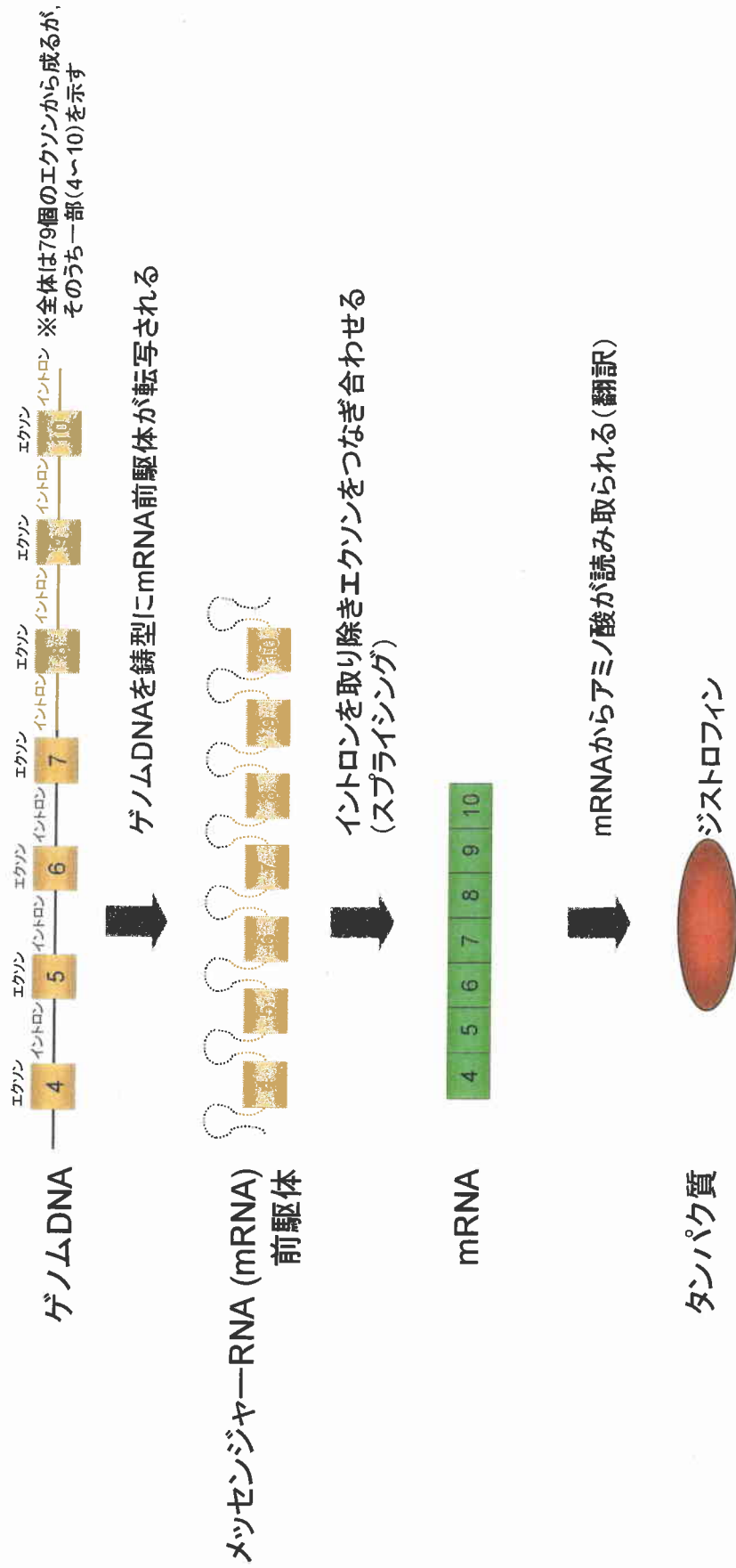
臨床応用には、症状を改善する用量や安全性の検討、モルフォリノが頻回投与を必要とすることや心筋におけるジストロフィンの発現回復が限定的であったことから、効果的な投与方法や他の化合物での検討も必要です。しかし、本成果により、DMD に対する有効な治療法の実現に近づくことが期待されます。

## 用語の説明

### ※1 筋ジストロフィー犬

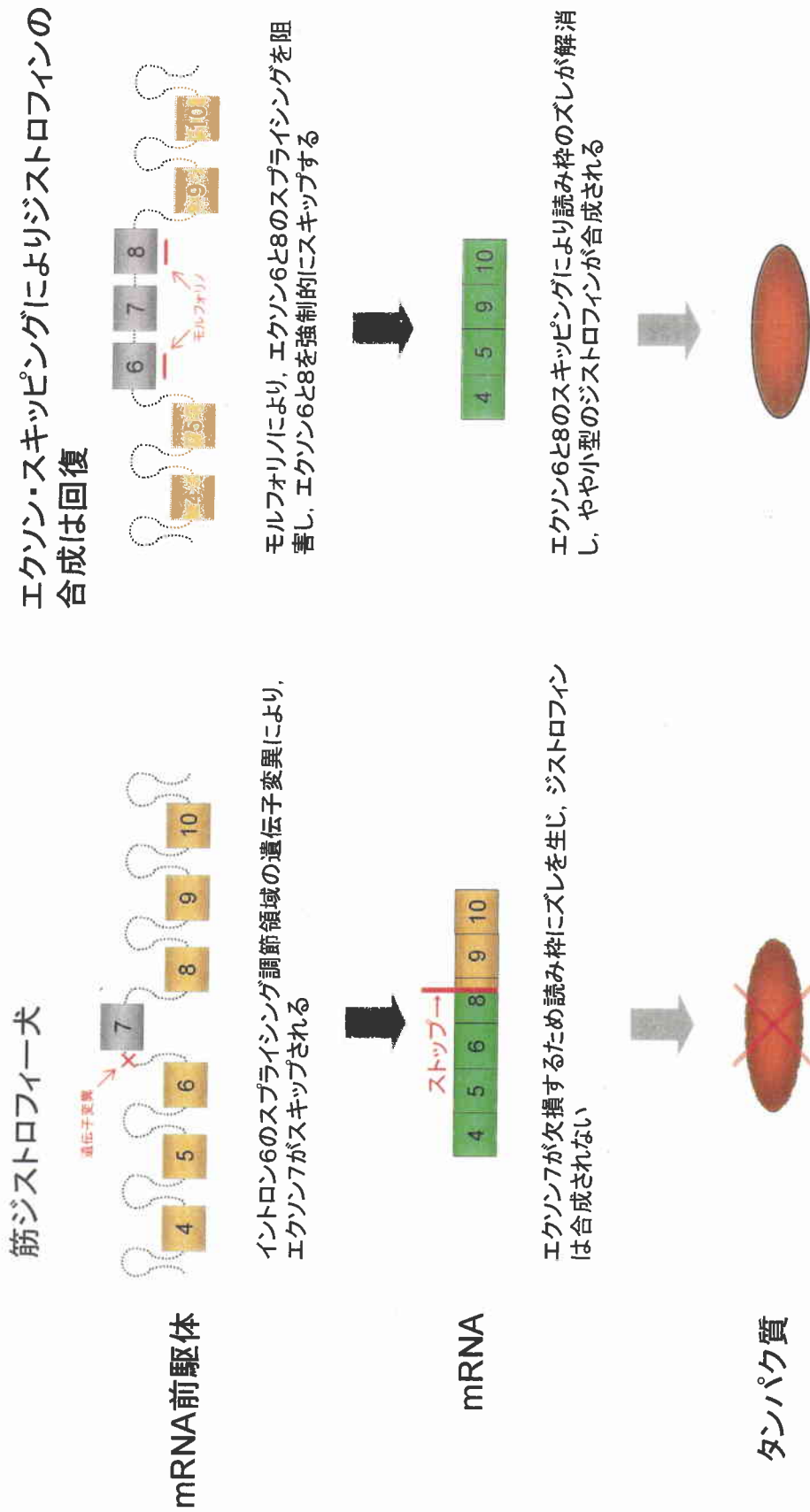
ゴールデンレトリバーに自然発生した筋ジストロフィー犬は、DMD と類似した進行性の筋萎縮・筋力低下や心筋障害を示していたことから、治療法の開発に有用なモデルとして注目されていた。しかし、大型犬であり飼育・繁殖が容易でなかったことから、国立精神・神経センターではその凍結精子を用いて、飼育・繁殖が容易なビーグル種の筋ジストロフィー犬のコロニーを確立した。

図1. ジストロフィン遺伝子からのジストロフィン合成



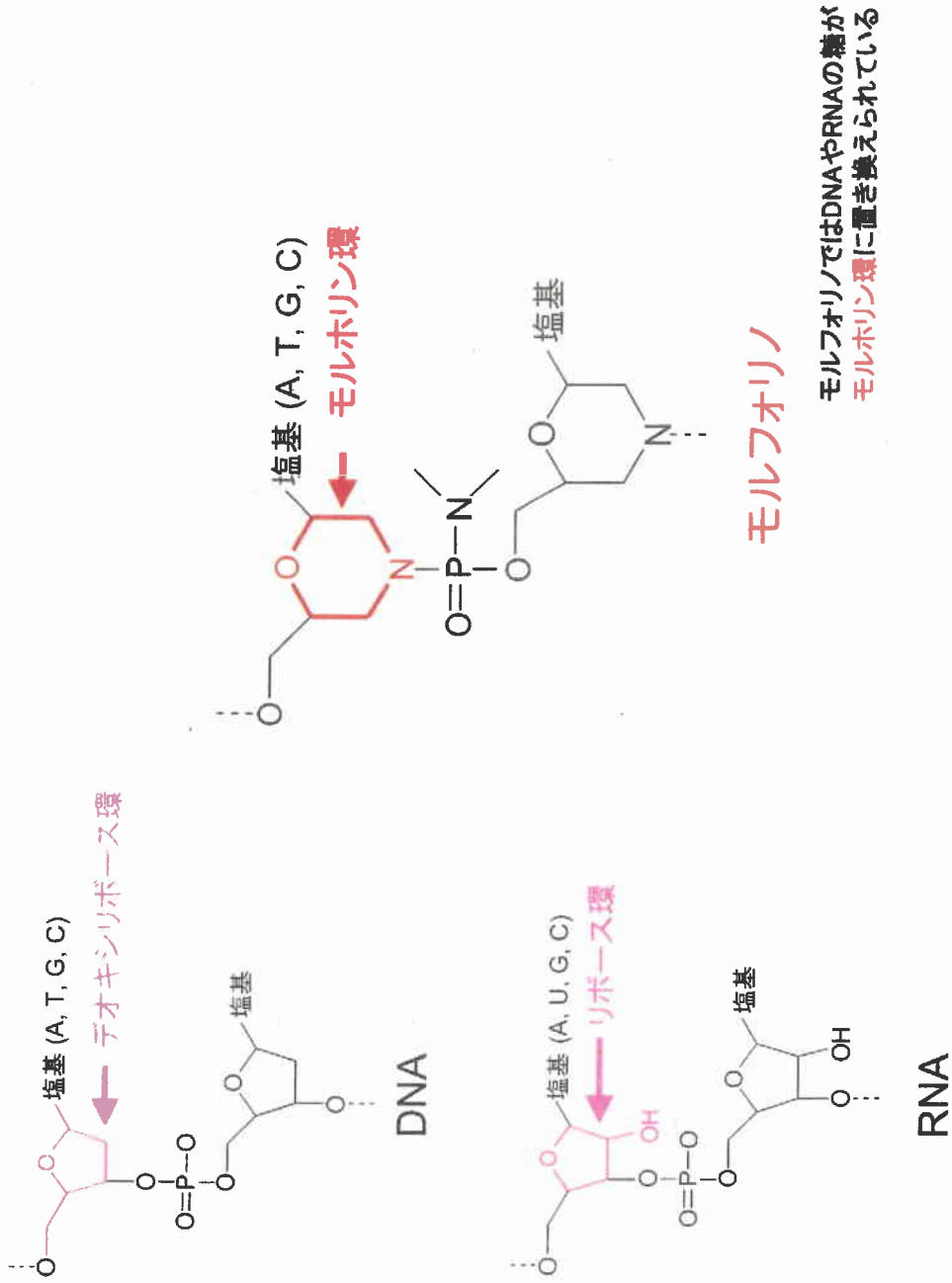
染色体にあるゲノムDNAには、タンパク質への翻訳に必要な配列(エクソン)と、必要とされない配列(イントロン)が含まれており、エクソン-イントロン-エクソン-イントロンと交互に配列している。ジストロフィン遺伝子は79個のエクソンから成る。ゲノムDNAを鋳型として転写されたメッセンジャーRNA(mRNA)前駆体から、イントロンが取り除かれて、エクソンだけからなるmRNAが合成される。このイントロンが取り除かれてエクソンがつなぎ合わされる過程をスプライシング(splice=つなぎ合わせる)という。スプライシングを経てmRNAからアミノ酸が読み取られる(翻訳)ことで、ジストロフィンが合成される。

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が正常にスパライジ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。しかしモルフォリンでエクソン6と8のスパライジ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. モルフオリノと核酸(DNAとRNA)の類似性



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オリノと呼ぶ。モルフオリノにより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

