

# 筋ジストロフィーの長期の医療と教育 －小児科の立場から－

竹島泰弘<sup>†</sup>

IRYO Vol. 70 No. 7 (306-311) 2016

## 要旨

Duchenne 型筋ジストロフィー (Duchenne muscular dystrophy: DMD) は、ジストロフィン遺伝子変異により発症する最も頻度の高い遺伝性筋疾患である。10歳前後で歩行不能となり、10歳台後半から20歳前後で呼吸不全・心不全を呈する重篤な疾患であるが、根治治療はない。そのため、運動機能のみならず呼吸循環機能の小児期からの評価、出生前診断・保因者診断などの遺伝医療、学校との関わりなど総合的に診療する必要がある。一方、アンチセンスオリゴヌクレオチドによりエクソンスキッピングを誘導し、アミノ酸読み取り枠のずれを修復する「エクソンスキッピング誘導治療」、ナンセンス変異の認識性を弱め、翻訳を最後まで進める「ナンセンス変異リードスルー誘導治療」などの分子治療の臨床への応用が進められており、早期診断の重要性を検討すべき時代になっている。本稿では、小児期 DMD 患者・家族に対する告知・遺伝相談などを含めた総合診療体系の重要性とともに、私たちが進めているアルベカシンによるナンセンス変異リードスルー誘導治療の医師主導治験などの新たな治療法開発について概説する。一部の治験では有効性を示す結果が出つつある。これらの治療が一日も早く多くの患者のもとへ届けられることが期待される。

キーワード Duchenne 型筋ジストロフィー, ジストロフィン, エクソンスキッピング, ナンセンス変異リードスルー, 分子治療

## 臨床症候

Duchenne 型筋ジストロフィー (Duchenne muscular dystrophy: DMD) は、ジストロフィン遺伝子変異により発症する進行性筋疾患である。DMD では運動機能の障害のみではなく、呼吸不全、心不全および精神遅滞がさまざまな程度でみられる。概要

を図1に示す。以前は、乳幼児期の運動発達の遅れを契機に診断されることが多かったが、近年は、血液検査を施行した際に偶然 AST, ALT の上昇を指摘され、精査によって著しい高クレアチンキナーゼ (CK) 血症 (乳幼児期では通常10,000IU/l 以上) を認めたことを契機に診断されることも多い。処女歩行は平均的には1歳6カ月で大きく遅れることは

兵庫医科大学 小児科学 <sup>†</sup>医師

著者連絡先: 竹島泰弘 兵庫医科大学 小児科学 〒663-8501 兵庫県西宮市武庫川町1-1

e-mail: ytake@hyo-med.ac.jp

(平成28年1月7日受付, 平成28年5月13日受理)

Care and Treatment for Duchenne Muscular Dystrophy during Childhood

Yasuhiro Takeshima, Hyogo College of Medicine

(Received Jan. 7, 2016, Accepted May. 13, 2016)

Key Words: Duchenne muscular dystrophy, dystrophin, exon skipping, nonsense read-through, molecular therapy

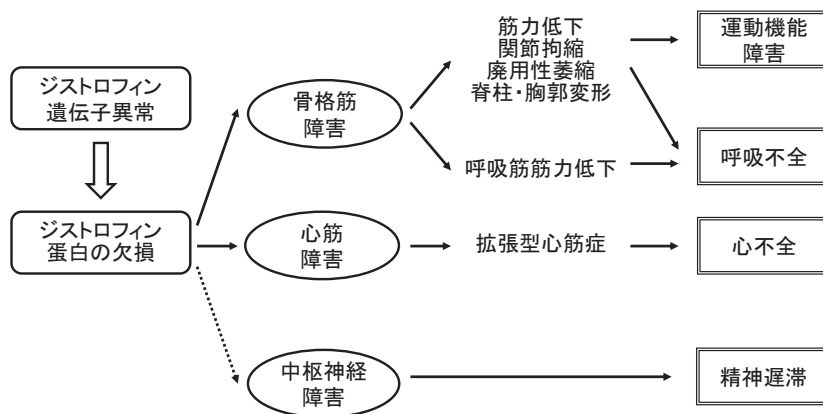


図1 DMDでみられる臨床症候

ジストロフィン遺伝子異常によってもたらされる臨床症候を示す。精神遅滞の合併はDMDの1/3の症例にみられるが、その機構はまだ明らかではない(点線矢印)。

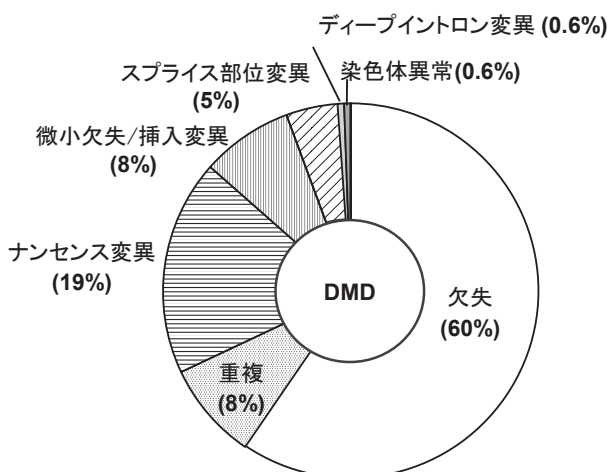


図2 日本人DMD症例でみられるジストロフィン遺伝子変異の各型の頻度

DMDではエクソン単位の欠失が60%、重複が8%にみられ、ナンセンス変異が19%を占める。(文献1より改変)

まれである。通常、3-5歳ころより転びやすい、走れないなどの筋力低下症状を認めるようになる。筋力低下は近位筋優位であり、登はん性起立 (Gowers 徴候) を認める。歩行は次第に動揺性歩行となり、また、足関節の拘縮のために尖足歩行を呈するようになる。仮性肥大 (pseudohypertrophy) は下腿腓腹筋で著明である。10歳前後12歳までに歩行不能となり、脊柱変形、膝・股関節さらに上肢の関節拘縮が進行する。10歳代後半から20歳前後で呼吸不全、心不全を呈するようになり、これらの症状が生命予後を左右する。また、軽度ないし中等度の精神遅滞が1/3の症例にみられる。

### ジストロフィン遺伝子変異

ジストロフィン遺伝子はX染色体短腕 Xp21.2に存在する2400kbにおよぶ巨大な遺伝子であり、79エクソンより成る。筋組織において発現しているmRNAは14kbであり、427kDの蛋白をコードしている。従来、遺伝子診断は本人の診断あるいは家族の遺伝相談のために行われていた。しかし、近年、根治治療に関する多くの研究成果が報告されてきている。そのような治療法の中で「エクソンスキッピング誘導治療」, 「ナンセンス変異リードスルー誘導治療」は、いずれもジストロフィン遺伝子変異に応じた、テーラーメイド治療である。そのため、遺伝子変異の同定は的確な診断・遺伝相談のみならず、治療法を選択する上においても不可欠である。私たちはDMD全症例において遺伝子変異を同定してきた<sup>1)</sup>。その結果を図2に示す。

### 治療・合併症管理

筋ジストロフィーの診療においては、筋症状のみではなく、呼吸機能、心機能を含めて、自覚症状が出現する以前から系統的に指導管理することが重要である。

理学療法の第一の目的は図1に示したような症状の進行を最小限に食い止め、ADL自立期間の延長を図ることにある。また、側弯に対する外科治療の有効性も報告されている。薬物療法として、プレドニゾロンによる運動機能の改善効果が報告されており、2013年より保険適応となっている。

呼吸機能・心機能は、診断時より定期的に評価することが重要である。低換気に対する呼吸補助療法としては、通常、鼻マスク等による非侵襲的換気療法 (noninvasive positive pressure ventilation: NPPV) を行い、必要に応じて器械により強制深吸気後に急激に陰圧にシフトして吸引する器械的咳介助 (mechanically assisted coughing: MAC) も用いられる。心筋障害に対しては、アンジオテンシン変換酵素阻害薬 (angiotensin converting enzyme inhibitor: ACE-I) あるいはアンジオテンシン受容体拮抗薬 (angiotensin receptor blocker: ARB) に加えて、 $\beta$ 遮断薬の有用性が報告されている。

## 新たな治療法の開発

DMD では、ジストロフィン遺伝子の変異により筋組織におけるジストロフィンの発現がみられない。そのため、ジストロフィンの発現を誘導することが根治治療となる。1987年にジストロフィン遺伝子がクローニングされた時には<sup>2)</sup>、正常な遺伝子を導入する「従来型の遺伝子治療」への期待が高まったが、現在もまだ臨床応用には至っていない。一方、「従来型の遺伝子治療」ではなく、変異遺伝子からの遺伝情報を修飾する「分子治療」が注目されている。

### 1. エクソンスキッピング誘導治療

一つが、「アンチセンスオリゴヌクレオチド (antisense oligonucleotide: AS-oligo) によるエクソンスキッピング誘導治療」である。ジストロフィン遺伝子異常のおよそ6割は1ないし数エクソンの欠失であるが、mRNA 上における欠失の塩基数が3の倍数でない場合 (out-of-frame 欠失)、それ以降のアミノ酸読み取り枠にずれを生じ、C 端までジストロフィン蛋白が合成されない。このような蛋白は不安定であるため、筋細胞膜にジストロフィン蛋白の発現がみられず重症型の DMD となる。一方、mRNA 上における欠失の塩基数が3の倍数である場合 (in-frame 欠失)、アミノ酸読み取り枠は維持されており、一部アミノ酸の欠失はあるもののC 端まで蛋白が合成されるため軽症型の Becker 型筋ジストロフィーとなる。DMD に対するエクソンスキッピング誘導治療は、この分子病態に基づいたものである。すなわち、欠失領域に隣接するエクソンスキッピングを誘導することにより、DMD の out-of-frame 欠失を in-frame 欠失に変換し、機能を有

するジストロフィン蛋白の産生を誘導するものである。

私たちは、ジストロフィン遺伝子エクソン内にスプライシング促進配列 (splicing enhancer sequence: SES) が存在すること、さらに、SES に対するアンチセンスオリゴヌクレオチド (antisense oligonucleotide: AS-oligo) により、その機能を抑制しエクソンスキッピングを誘導できることを明らかにした<sup>3-6)</sup>。そして、DMD 症例に対し AS-oligo を静脈内投与することにより、筋組織においてエクソンスキッピングを誘導し、その結果ジストロフィン発現がみられることを世界で初めて明らかにした (図3)<sup>7)</sup>。

その後、より強力な作用を有する修飾核酸 2'-O-methyl phosphorothioate oligoribonucleotide (2' O Me)、あるいは Phosphorodiamidate morpholino oligomer (PMO) を用いた AS-oligo が開発され、治療が進められている<sup>8)9)</sup>。私たちは従来の S 化 DNA に比べ40倍強力である 2'-O, 4'-C-ethylene-bridged nucleic acid (ENA) より成る AS-oligo を開発し、エクソンスキッピング誘導治療の検討を進めている<sup>10)</sup>。

### 2. ナンセンス変異リードスルー誘導治療

ジストロフィン遺伝子から転写により mRNA に写し取られた情報はリボゾームにおいてアミノ酸に翻訳され、ジストロフィン蛋白の合成が進む (図4 a)。「ナンセンス変異」では1塩基の変異により終止コドンとなり、蛋白の合成がそこでストップする (図4 b)。このような蛋白は不安定であり機能的な蛋白として存在しないため、表現型は DMD となる。そこへ、「ナンセンス変異リードスルー」を誘導する薬剤を投与すると、「ナンセンス変異」が読み飛ばされ、さらに後ろへと蛋白合成が続くようになる (図4 c)。その結果、機能を有するジストロフィン蛋白が産生され、症状が軽症化することが期待される。このような治療法を「ナンセンス変異リードスルー誘導治療」という。

1999年、DMD のモデル動物である mdx マウスに対し、ゲンタマイシン投与することにより、ナンセンス変異リードスルーが誘導され、ジストロフィン蛋白の発現がみられるようになること、さらに血中の CK 値が低下することが明らかとなった<sup>11)</sup>。そして、2010年、Malik らは、DMD 症例にゲンタマイシンを静脈内投与することにより、有意に血性 CK 値が低下し、さらに筋組織においてジストロフ

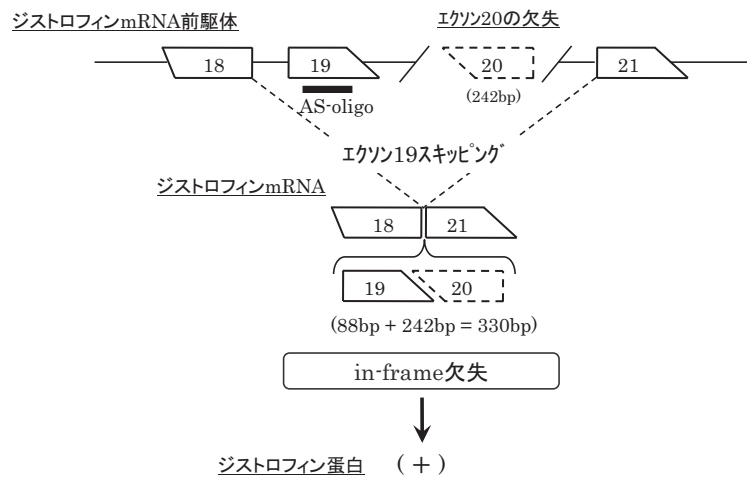


図3 世界で初めて行ったエクソンスキッピング誘導治療

エクソン20欠失 DMD 症例では、242塩基欠失 (out-of-frame 欠失) のため、アミノ酸読み取り枠のずれが生じ、ジストロフィン蛋白の産生はみられない。本症例にエクソン19のスキッピングを誘導すると、mRNA 上において330 (88 + 242) 塩基の欠失 (in-frame 欠失) となり、ジストロフィン蛋白の産生が誘導される。横線はイントロン、台形はエクソン、台形内の番号はエクソン番号を示し、点線台形は欠失しているエクソンを示す。

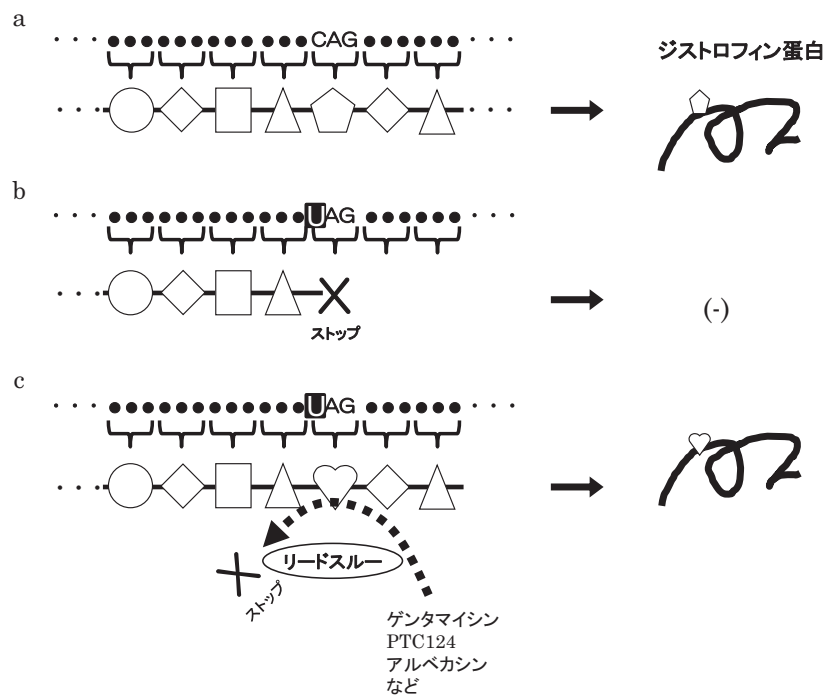


図4 ナンセンスリードスルー誘導治療

- 正常. mRNA (上段) における3塩基のコードによりアミノ酸が組み込まれ、蛋白 (下段) が産生される。
- ナンセンス変異症例. 1塩基置換 (白抜き「U」) により終止コード (「UAG」) となるため、そこで蛋白への翻訳が止まってしまう。このようなC端の欠失した蛋白は不安定であるため、ジストロフィン蛋白は産生されない。
- ナンセンス変異症例に対するナンセンス変異リードスルー誘導治療. 終止コードの認識がゆらぎ、いずれかのアミノ酸 (♡) が入り、C端へ翻訳が進行するため、蛋白が産生されるようになる。



インが発現することを報告した<sup>12)</sup>.

一方、2007年には、アミノグリコシド系抗生物質とは異なる「PTC124」の「ナンセンス変異リードスルー」効果が報告された<sup>13)</sup>. そして、48週間1日3回内服投与する国際治験では、6分間歩行試験において有効性を示唆する結果が得られた. 全体では統計学的な有効差は認められなかったが、ベースラインの6分間歩行が350m未満であったDMD症例、あるいはDecline-phaseのDMD症例においては、両群間に有意差が認められ<sup>14)</sup>, European medicine agency (EMA) において条件付き承認を受けた<sup>15)</sup>.

このような世界の動きの中、私たちはアミドグリコシド系抗生物質である「アルベカシン」に注目した. アルベカシンは、ゲンタマイシン以上のリードスルー活性があり、さらに、アミドグリコシド系抗生物質で問題になる腎臓および耳に対する副作用がゲンタマイシンより少ない<sup>16)</sup>. 私たちはアルベカシンによる治療法開発の基礎的な検討を進め、その結果、日本医師会治験促進センターの治験推進研究事業に採択され、2013年10月より医師主導治験を開始している. 今回の治験は、4歳以上で歩行可能なナンセンス変異によるDMD症例を対象とし、二重盲検下で週1回、36回投与を行うものである.

---

## おわりに

ジストロフィン遺伝子が同定されて四半世紀が過ぎた. 遺伝子が同定され、分子病態が解明されたことにより、エクソンスキッピング誘導治療・ナンセンスリードスルー誘導治療などの分子治療が開発された. そして、現在、世界各地で治験が行われている. また、欧米において、DMD治療薬に対する規制当局の対応が大きく変化しており、治療薬としての承認への動きが加速しているように感じられる. 近い将来、これらの治療法が多くの患者のもとへ届けられることが期待される.

〈本論文は第29回日本医学会総会2015 関西 学術講演柱20-4 筋ジストロフィーの長期の医療と教育 で発表した内容に加筆したものである.〉

**著者の利益相反:** 著者は第一三共(株)とコンサルティング契約を締結している. その他本論文発表内容に関連して申告なし.

---

## 【文献】

- 1) Takeshima Y, Yagi M, Okizuka Y et al. Mutation spectrum of the dystrophin gene in 442 Duchenne/Becker muscular dystrophy cases from one Japanese referral center. *J Hum Genet* 2010 ; 55 : 379-88.
- 2) Koenig M, Hoffman EP, Bertelson CJ et al. Complete cloning of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) cDNA and preliminary genomic organization of the DMD gene in normal and affected individuals. *Cell* 1987 ; 50 : 509-17.
- 3) Takeshima Y, Nishio H, Sakamoto H 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* 1995 ; 95 : 515-20.
- 4) Takeshima Y, Wada H, Yagi M 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 : 788-90.
- 5) Takeshima Y, Yagi M, Wada H et al. Intraperitoneal administration of phosphorothioate antisense oligodeoxynucleotide against splicing enhancer sequence induced exon skipping in dystrophin mRNA expressed in mdx skeletal muscle. *Brain Dev* 2005 ; 27 : 488-93.
- 6) Takeshima Y, Yagi M, Matsuo M. Optimizing RNA/ENA chimeric antisense oligonucleotides using in vitro splicing. *Methods Mol Biol* 2012 ; 867 : 131-41.
- 7) Takeshima Y, Yagi M, Wada H et al. Intravenous infusion of an antisense oligonucleotide results in exon skipping in muscle dystrophin mRNA of Duchenne muscular dystrophy. *Pediatr Res* 2006 ; 59 : 690-4.
- 8) Voit T, Topaloglu H, Straub V et al. Safety and efficacy of drisapersen for the treatment of Duchenne muscular dystrophy (DEMAND II) : an exploratory, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet Neurol* 2014 ; 13 : 987-96.
- 9) Mendell JR, Rodino-Klapac LR, Sahenk Z et al. Eteplirsen for the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Ann Neurol* 2013 ; 74 : 637-47.
- 10) Yagi M, Takeshima Y, Surono A et al. Chimeric

- RNA and 2'-O, 4'-C-ethylene-bridged nucleic acids have stronger activity than phosphorothioate oligodeoxynucleotides in induction of exon 19 skipping in dystrophin mRNA. *Oligonucleotides* 2004 ; 14 : 33-40.
- 11) Barton-Davis ER, Cordier L, Shoturma DI et al. Aminoglycoside antibiotics restore dystrophin function to skeletal muscles of mdx mice. *J Clin Invest* 1999 ; 104 : 375-81.
- 12) Malik V, Rodino-Klapac LR, Violette L et al. Gentamicin-induced readthrough of stop codons in Duchenne muscular dystrophy. *Ann Neurol* 2010 ; 67 : 771-80.
- 13) Welch EM, Barton ER, Zhuo J et al. PTC 124 targets genetic disorders caused by nonsense mutations. *Nature* 2007 ; 447 : 87-91.
- 14) Bushby K, Finkel R, Wong B et al. Ataluren treatment of patients with nonsense mutation dystrophinopathy. *Muscle Nerve* 2014 ; 50 : 477-87.
- 15) Haas M, Vlcek V, Balabanov P et al. European Medicines Agency review of ataluren for the treatment of ambulant patients aged 5 years and older with Duchenne muscular dystrophy resulting from a nonsense mutation in the dystrophin gene. *Neuromuscul Disord* 2015 ; 25 : 5-13.
- 16) Kurebe M, Yokota M, Niizato T et al. Antibacterial activity and ototoxicity in guinea pigs, and nephrotoxicity in rats of arbekacin. *Arzneimittelforschung* 1986 ; 36 : 1511-7 .