

# エキスパートに聞く その2 「デュシェンヌ型筋ジストロフィーの治療」

武田伸一先生  
(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 部長)



聞き手  
財団法人精神・神経科学振興財団  
常務理事 桒中征哉

**桒中**：今日は、主にデュシェンヌ型筋ジストロフィーの根本的治療に向けてということで、研究の現状を先生にお話いただきたいと思います。遺伝子治療を含めて、色々な治療方法が話題になっていますが、最も期待されている、そして、近々実現しそうなものに絞ってお話をしていただきたいのです。今期待されている方法とは、いくつ位あって、どんな方法があるのか、まずタイトルだけでも結構ですので、教えてください。

## 筋ジストロフィーの治療には3本柱がある

**武田**：デュシェンヌ型を対象としますと、大きく3つ方法が考えられると思います。一つは遺伝子治療ですが、遺伝子そのものを補うかたちのものと、ゲノム遺伝子からメッセージーRNA (mRNA) を読み取るときにある程度操作を行うものを含めて遺伝子治療と呼んでおります。二つ目が、去年の暮れから話題になっております、幹細胞移植治療でありまして、これについては、実現するまでに少し時間がかかるのではないかと考えております。三つ目が、遺伝子治療や幹細胞移植治療を補うという意味で、薬物を用いた治療があります。ただ、先生がおっしゃった比較的实现に近いのは、アンチセンス・モルフォリンによるエクソン・スキッピングではないかと考えております。薬物使用の中にも臨床応用に近いと言われている試みがいくつかあります。

## 解説



写真1  
躯幹に強く筋萎縮があるので肩甲骨が突出している。下腿に肥大(仮性肥大)がある。

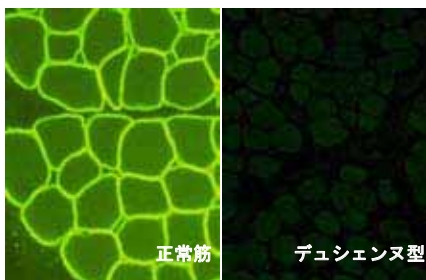


図2  
正常筋(左)ではジストロフィンが膜に存在するので緑色に光っている。デュシェンヌ型(右)ではジストロフィンがないので全く染色されていない。

図2

## エクソンスキッピング治療は数年以内に実用化される

**桒中**：まず、エクソン・スキッピングという言葉がわかりづらいので、エクソン・スキッピングとはどういうことなのかお話ししていただけませんか。

**武田**：デュシェンヌ型筋ジストロフィーは、ジストロフィン遺伝子の異常を原因とするわけですが、遺伝子の異常のかたちにいくつかあります。遺伝子の欠失であったり、あるいは重複であったり、点変異だったりします。エクソンの欠失があって、ジストロフィン蛋白質ができない人がデュシェンヌ型の60-70%と言われています。欠失の近傍のエクソンを操作することによって、正常ではないのだけれど、少し小型のジストロフィンを作らせてあげようとい

## デュシェンヌ型筋ジストロフィー

色盲とか血友病などと同じように、X(性染色体)連鎖遺伝をとるので男児だけが病気になる(写真1)。遺伝子変異をもっている女性も(保因者は)症状がないか、あっても軽い。X染色体の上にあるジストロフィンという遺伝子に異常(変異)があるために、筋細胞膜にジストロフィンができない(図2)。膜にジストロフィンがなく、膜が弱いので細胞は壊れやすく、細胞の数は減っていく。筋ジストロフィーでも活発な再生があるが、再生が十分に代償できないので、病気は進行する。

うのがエクソン・スキッピング治療と言えると思います。

**桼中**：エクソンが欠けているために、遺伝子の読み枠にずれが起きて、そのためにジストロフィンという蛋白質ができなかったけれど、人為的に別のエクソンをとばして（スキップして）そのずれを直してまた蛋白質を作ってあげるといふ考え方ですね。

**武田**：不思議なことに、デュシェンヌの患者さんでは読み枠がずれているためにジストロフィン蛋白質

**解説**

**スプライシングとは？**

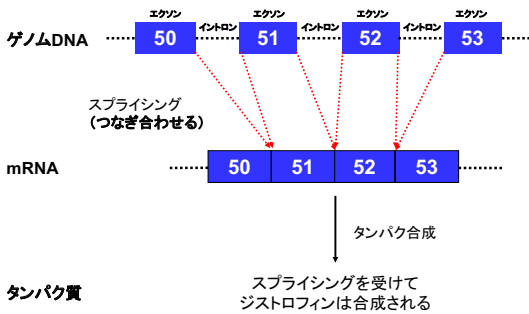


図 3

**スプライシング**

染色体にあるゲノム DNA は遺伝情報に欠かせない部分エクソンと、ほとんど必要とされない部分イントロンからできており、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 個のエクソンからなっている(図 3)。ゲノム DNA を鋳型としてメッセンジャー RNA (mRNA) ができる(転写と呼ばれる)過程で、イントロンは取り除かれエクソンだけになる。このイントロンが取り除かれエクソンがつなぎあ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。mRNA からアミノ酸が読み取られる(翻訳と呼ばれる)過程を経て、ジストロフィン蛋白質が合成される。

ができないのですけれども、読み枠を回復させることによって、やや小型だけれどジストロフィンが出来るようになり、治療に結びつくということなのです。

**桼中**：同じジストロフィン遺伝子の異常でも軽症のベッカー型では遺伝子の読み枠にずれがないわけですよ、デュシェンヌ型をベッカー型に変える治療と考えて良いわけですか。

**武田**：そうですね、デュシェンヌ型というのはどこの国へ行きますしても、患者さんの姿は比較的似ているんですね。ベッカー型と言いますと、単にデュシ

**解説**

**デュシェンヌ型の患者さん**

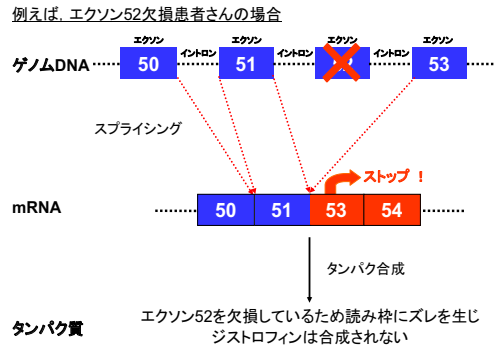


図 4

**エクソン・スキッピングによりジストロフィンの合成は回復**

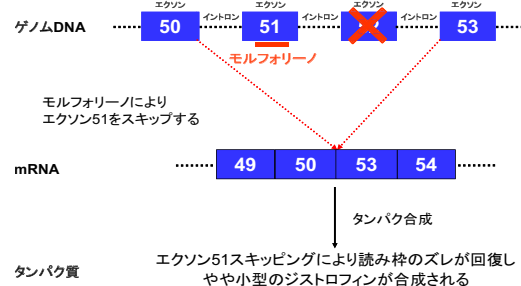


図 5

**エクソン・スキッピング治療**

(例えば、エクソン 52 欠損患者さんの場合)

ジストロフィン遺伝子のエクソン 52 が欠損すると、エクソン 51 が 53 に直接結合する(スプライシングされる)ために、アミノ酸の読み枠にズレを生じ、エクソン 53 にストップの信号がでる。このためにタンパク質は全くできず、デュシェンヌ型となる(図 4)。しかし、アンチセンス・モルフォリーノを作成して、エクソン 51 のスプライシングを妨害してやると、エクソン 51 を読みとばす(スキップ)することができる。エクソン 50 と 53 は直接結合し、アミノ酸の読み枠のズレが回復するために、やや小型のジストロフィン蛋白質が合成される(図 5)。

エンヌ型より軽いというだけではなくて、大きなばらつきがあります。大人になっても、あるいは、中年になっても独立歩行が可能な非常に軽いベッカー型の患者さんを目標に考えております。

**桼中**：わかりました。それでは、エクソン・スキップをする時のアンチセンス・モルフォリーノについて説明をお願いします。

**武田**：これもなかなか理解していただくのが難しいかと思います。基本的に、エクソンをスキップする

## 解説

### モルフォリーノは、核酸(DNAとRNA)に類似した人工的な化合物である

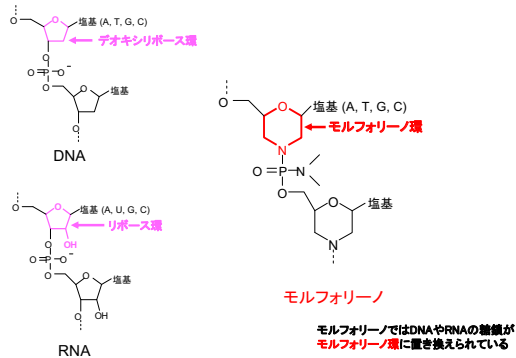


図 6

#### アンチセンス・モルフォリーノ

二本鎖のゲノム DNA を鋳型として、一本鎖のメッセンジャー RNA (mRNA) ができる (転写される) が、mRNA とは逆の方向の遺伝子断片をアンチセンス・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、糖鎖、リン酸基から成る各種の核酸化合物から作ることができるが、このうち、糖鎖として、DNA の場合のデオキシリボース環、RNA の場合のリボース環ではなく、人工的な化合物であるモルフォリーノ環を使用した核酸化合物をモルフォリーノと呼ぶ。モルフォリーノにより mRNA のスプライシングを妨害してやると、エクソンをスキップすることができる。

という作業には、アンチセンスの配列が使われます。メッセンジャー RNA (mRNA) と逆の方向の遺伝子断片を、アンチセンス・オリゴヌクレオチドと呼びます。モノフォリーノはアンチセンスの配列を持つ、核酸に似た人工的な化合物です (図 6)。利点としては、モルフォリーノは核酸を分解するような酵素 (ヌクレアーゼ) で壊されませんので、非常に安定しています。もう一つは、モルフォリーノを使っても生体の持っている免疫機構が働かないので、拒絶反応をうけません。さらにモルフォリーノは、生理的食塩水に溶いて静脈から投与することができます。従って、モルフォリーノを使うと全身的な治療が可能であることが特徴となります。

**埜中:** 以前、先生の講演で伺ったのですが、このアンチセンス・モルフォリーノを使って、筋ジストロフィーの犬で非常に良い成績を得られたということをお聞きしたのですが、それについてお話し下さい。

**武田:** 多くの遺伝子治療などと同じで、私たちがまず目指すのは、ジストロフィンが欠損したモデル動

物 (デュシェンヌ型のモデル動物) を使って、筋繊維にジストロフィンを発現させることです。ジストロフィンの発現に成功すれば、次は、症状が軽くなったとか、進行が遅くなったとか、臨床的な改善効果を確認することが大切です。筋ジストロフィー犬へのモルフォリーノの投与では、呼吸にとって大事な横隔膜でジストロフィンが合成されるようになりました。次に臨床的な改善効果があったかどうか大きなポイントです。筋ジストロフィー犬の施設の人たちが熱心に取り組んでくれて、筋ジストロフィー犬の症状を重症から軽症まで数値であらわす基準 (グレーディング) を作成してくれました。そのグレーディングを行ったところ、モルフォリーノを投与した場合に、進行が遅くなる、あるいは、殆んどその進行が止まることが観察されました。先生にも筋ジストロフィー犬のビデオを見て頂いたことがあったと思います。

**埜中:** そうすると、アンチセンス・モルフォリーノを使用することにより、筋ジストロフィー犬ではジストロフィンもできるし、臨床的にも良くなるということで、その有効性はほぼ確実であると結論できるわけですね。

アンチセンス・モルフォリーノの問題点というものはあるのですか。

**武田:** いくつも問題点があります。一つは、モルフォリーノは水に溶けやすく、腎臓で非常に速やかに代謝されるため、有効時間は短いのです。モルフォリーノの効果は、一番長くても三ヶ月程度といわれています。そうしますと、一回のモルフォリーノの注射が有効だったとしても、これを繰り返していく必要があるわけです。繰り返すために、モルフォリーノが体の臓器のどこかに貯まってしまうとか、あるいは、一回の投与では大丈夫でも何回も投与していくと有害事象が出て来るのではないかが問題になります。そこで、この治療法を臨床に応用するためには、有効性ととも安全性を十分に検証しなければいけないと私は考えています。次の問題点は、アンチセンス・モノフォリーノによる治療は、当面、個別医療 (personalized medicine) に留めることです。つまり、ターゲットとなるエクソンが異なるたびに、アンチセンスの配列を設計し、その有効性と安全性

を検定する必要があります。もう一つの問題点は、パテント等の制限も加わって、モノフォリーノが極めて高価であって、生産規模も限られており、入手が難しいことです。

**桼中**：これは答えるのがなかなか難しいと思うのですが、安全性を確認し、このアンチセンス・モノフォリーノを人に試すというのは、やはり、数年はかかりますでしょうか。

**武田**：皆さんに応援をいただいて、研究を進めているのですが、患者さんに十分にご説明したり、安全性の確認を動物で行ったりしなければいけません。研究のテンポが早まっております、このままのペースでいくと、平成 20 年度内、すなわち、平成 21 年の 3 月までには試験的な導入ができる可能性があります。

**桼中**：それは、すばらしいニュースですね。実現性が近いということで、患者さんの期待は非常に大きいと思います。

### ウィルスベクターを使った遺伝子治療研究にも明るい見通しが

**桼中**：次に、ウィルスベクターを使った遺伝子治療、そちらの可能性はいかがでしょうか。

**武田**：私達はウィルスベクターを使った実験を、10 年くらい前から進めてきています。10 年間の研究成果として、少なくとも、骨格筋に対して、有効性の高いベクターを見出すことができました。それは、アデノ随伴ウィルス (adeno - associated virus: AAV) ベクターといわれるもので、世界中が認めています。このベクターにジストロフィン遺伝子を組み込んだものは、静脈から導入することが可能なので、全身の骨格筋と心臓を同時に治療することができます。初期に使った血清型 2 型の AAV ベクターは有効性が非常に高かったわけですが、免疫反応 (拒絶) の問題がありました。私達は、その後 AAV ベクターの血清型 8 型、あるいは、9 型が全身投与が可能で、しかも免疫反応も低いことを見いだしています。mdx マウス (ジストロフィンが欠損しているデュシェンヌ型マウス) に注射して、全身の筋肉で長期間ジストロフィンが発現することを確認しています。現在、筋ジストロフィーを使って、その有効性と安全性を検討するという研究を進めていますので、是非、

期待をしていただきたいと思います。

**桼中**：AAV ベクターが筋ジストロフィーで有効であるとする、次にはサルなどでの毒性とかを検証して人への応用というのも、わりと近い将来できそうな感じですね。

**武田**：そうですね。この AAV ベクター治療は、フランスなどは臨床試験を開始すると聞いています。ただ、フランスの研究者たちは、AAV ベクターを繰り返し使用するために、免疫抑制剤の使用を主張しています。私たちは、筋ジストロフィー患者さんに免疫抑制剤を使う場合には短期間、少量の使用にとどめたいと思っています。

## 解説

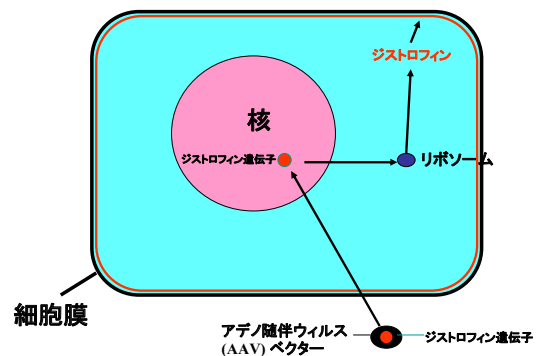


図 7

### ウィルスベクターを使用した遺伝子治療 (図 7)

ウィルスにはウィルス固有の DNA がある。その DNA の中に、遺伝子を組み込んで注射する。ウィルスは細胞内に入り込むので、細胞内に入った遺伝子が、必要な蛋白質を合成する。たとえばジストロフィン遺伝子を組み込んだウィルスを注射すれば細胞内のリボソーム (蛋白質を作る工場) でジストロフィンが合成される。細胞内に遺伝子を運び込む「運び屋さん」のことをベクターとよぶ。AAV ベクターを使えば、それは核の中に入るので、長期間ジストロフィン (赤い色の線) を作り続ける。

### 幹細胞治療は理想的な治療、でも実用化にはいくつかの障壁がある

**桼中**：次に、幹細胞治療というテーマに入りたいと思います。一昨年、京都大学の出澤先生、鍋島先生たちが、マウス骨髄から特に骨髄間質細胞から、大量の筋肉になる幹細胞を取り出すことに成功されま

した。それを使って幹細胞治療の可能性というものを示されたわけですが、その研究はどこまで発展しているのでしょうか。

**武田**：私達も、出澤先生、鍋島先生と協力して、骨髄間質細胞を使った方法を患者さんに応用したいと努力をしています。ただ、いくつか困難があります。一つは、幹細胞を使った場合の治療は有効性が低いことです。筋肉になるような幹細胞をジストロフィンのない mdx マウスに移植したとしても、ジストロフィンを作ってくれる細胞は数%以下と非常に低いのです。出澤先生、鍋島先生達が考案された、骨髄間質細胞を幹細胞にする方法を筋ジストロフィーに應用して、より有効性をたかめることに挑戦しています。

**埜中**：京都大学の山中先生が作った iPS 細胞はいかがですか？再生医療には非常に役立つが、筋ジストロフィーのような遺伝子病への応用はまだ道が遠いのではないかと思います。

**武田**：iPS 細胞以前から ES 細胞の研究が続けられてきたわけですが、ES 細胞の場合は胎児の細胞を使うという倫理的な問題がありました。アメリカもそうですし、ヨーロッパでも ES 細胞を使用することに、強い反発がありました。それに対して iPS 細胞の場合は、胎児の細胞を使う必要がありません。皮膚から線維芽細胞を取ってきて、遺伝子操作をくわえることにより、ES 細胞と同じようにいろいろな細胞に分化する万能細胞が作られました。これは学問的には、すごい業績だと思います。iPS 細胞を治療に使うとなると、再生医療への応用が考えられます。たとえば、心筋梗塞の患者さんがおられるとする。患者さんの皮膚から iPS 幹細胞を心筋細胞に誘導する。その心筋細胞を梗塞部に貼り付ける。自分の皮膚由来の心筋細胞ですから、拒絶反応がなく安全に使用できることになります。この iPS 細胞を特定のゲノム遺伝子に異常のある筋ジストロフィーの患者さんに使えるかどうか、これが問題です。患者さんご自身の皮膚から細胞を取って iPS 細胞を作成したとしても、残念ながら特定のゲノム遺伝子（たとえばジストロフィン遺伝子）に異常があります。すると、この iPS 細胞に正しい遺伝子を入れなければなりません。すなわち、遺伝子治療が必要になるわけです。したがって、iPS 細胞を遺伝子に異常がある筋ジストロフィーの患者さんに使うためには、今まで筋ジ

ストロフィーに対する遺伝子治療の研究が抱えてきた困難な点を克服する必要があると考えます。

### 薬物治療としての読み終え（リード・スルー）治療は有望

**埜中**：次に、薬物治療でリード・スルーというのが話題になっています。このリード・スルーというものについてご説明していただけませんか。デュシェンヌ型の何%くらいの方が、治療の対象になっているのでしょうか。

**武田**：デュシェンヌ型では多くの患者さんでジストロフィン遺伝子の欠失、重複などの異常があります。約 10%の患者さんでは、塩基の一つが他の塩基に置き換わっていると言われていました。それを一塩基変異（点変異）といいます。一塩基が変わったために、遺伝子の途中で蛋白質を作るのを止めてしまいなさいという配列（赤信号）が新しくできます。それをストップコドンといいます。ストップコドンができるような変異をナンセンス変異とよんでいます。リード・スルー（読み終え）治療というのは、このストップコドン（赤信号）を無視して最後まで読み終え、蛋白質を合成させる方法です。最初にリード・スルーの働きがあるとして注目された薬物は「ゲンタマイシン」という抗生物質でした。「ゲンタマイシン」はすでに長い間多くの病院で使われている抗生物質ですが、腎毒性が強く、難聴も起きますので、長期には使用できません。実際に、「ゲンタマイシン」を筋ジストロフィーの患者さんに使ってみたのですが、有効だという結果は得られなかったと聞いています。そこで、多くの研究者達は、「ゲンタマイシン」に代



対談中の武田先生（右）と聞き手の埜中常務理事（左）

わるリード・スルーの作用を持っている薬を探し始めました。日本では東大の松田先生によって、「ネガマイシン」という抗生物質が毒性が少なく、リード・スルー効果があることが明らかにされました。ただ、ネガマイシンは新しく製造できないので、臨床応用にいたらず、それに代わるあたらしい物質がみいだされたと聞いています。アメリカでは「PCT124」という薬物が見いだされ、毒性も少なく経口投与ができることから一躍、脚光を浴びていて、大規模な臨床試験が行われると聞いています。

**桼中：**PTC 124 の効果は公表されているのでしょうか。

**武田：**まだ動物実験だけで、臨床試験の結果は公表されていません。

### 遺伝子治療、薬物治療は遺伝子変異によって対象が異なる

**桼中：**今までお話をまとめますと、遺伝子の欠失の患者さんに対してはアンチセンス・モルフォリーノによるエクソン・スキッピング治療が適応となり、点変異でストップコドンを持っている患者さんに対してはリード・スルー治療が適応になる。この二つの治療は患者さんへの応用が非常に近い。根本治療である AAV ベクターを使った遺伝子治療、骨髄などからの幹細胞治療は、実用まで、まだ研究が必要である。ということだろうと思います。すると、患者さんは自分がどのような遺伝子変異をもっているか、だからどの治療がつけられるか、それを知ることが急を要することですね。

**武田：**デュシェンヌ型筋ジストロフィーについては、遺伝子性の神経・筋疾患のさきがけとして、非常に多くの研究者が治療法を開発するための努力をしてきました。その中から、遺伝子治療、エクソン・スキッピングや幹細胞の治療法がでてきました。次の10年間の目標は、今研究が進んできた治療を、ベッドサイドか外来で実現することにあります。これまでだったら10歳以前に運動ができなくなってしまう患者さんも、他の子たちと遊べる期間が少しでも長くなる、そういうことを実現したいと思います。治療にあたっては、しっかりとした診断が必要であることは言うまでもありません。医師が、臨床症状

をよく診て、必要ならば筋生検をして病名をつけることに加えて、今までにも増して遺伝子診断をやっていただくことが重要だと思います。たとえばエクソン・スキッピング治療の場合には、どのエクソンが欠けているのかきちんと確定しなければいけません。現在はジストロフィン遺伝子の79のエクソン一つずつについて全部検査する方法（MLPA法）ができています。しかも保険でカバーされます。それから、最後に出てきたリード・スルー治療の場合は、本当にストップコドンがあるかナンセンス変異の有無を確定しなければいけません。ストップコドンがあるかないかを調べるには、ジストロフィン遺伝子の塩基の配列（シーケンス）をすべて調べる必要があります。いろいろな治療が現実化しつつあることを考えると、私たちは、遺伝子診断をきちんと行える体制をこれまで以上に作らなければいけないと思っています。これにはとてもお金がかかりますので、何らかの補助をしていただくことが必要となるでしょう。米国では、個人保険でカバーされるとのことです。欧州では筋ジストロフィーのための24時間テレビがあり、集まった寄付は患者さんの診療費の援助や、研究にあてられています。日本は、この10年間、経済状態があまり良くなかったために、市民の活動は、必ずしも活発ではない気がします。社会の皆さんも巻き込んだかたちで、病気で苦しんでいる人たちを助けて、もう少し開かれた暮らしやすい社会に変えていくことが必要ではないでしょうか。私は、研究者ですが、そういったことも努力したいと思っています。

**桼中：**今日は、先生、ほんとうにありがとうございました。

収録 2008年1月17日