

< Symposium 14-3 > 今開かれる筋ジストロフィー治療の扉

デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対する ナンセンス変異リードスルー誘導治療

竹島 泰弘¹⁾

要旨：Duchenne 型筋ジストロフィー（DMD）は、ジストロフィン遺伝子の異常により発症する遺伝性筋疾患であり、全症例の19%がナンセンス変異による。ナンセンス変異リードスルー誘導治療は、蛋白の翻訳過程においてナンセンス変異を読み飛ばし、機能を有するジストロフィン蛋白の発現を誘導するものである。今までに、ゲンタマイシンおよびPTC124によるDMDに対する本治療の有効性が示唆されている。私たちはゲンタマイシンより副作用の少ないアルベカシンに着目し、本薬剤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を開始した。根治治療法のないDMDに対する有効な治療法となることが期待される。

（臨床神経 2014;54:1074-1076）

Key words：デュシェンヌ型筋ジストロフィー、ジストロフィン、ナンセンス変異、リードスルー誘導治療、分子治療

はじめに

デュシェンヌ型筋ジストロフィー（Duchenne muscular dystrophy; DMD）の原因遺伝子であるジストロフィン遺伝子が同定されて25年を超えた。1987年にジストロフィン遺伝子が同定された時には、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、現在もまだ実現化されていない。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。私たちは、2013年秋より「分子治療」の一つである「ナンセンス変異リードスルー誘導治療」の医師主導治験を開始した。ここでは、この治療法と今回の治験に関して概説する。

デュシェンヌ型筋ジストロフィーとジストロフィン遺伝子

DMDは遺伝性・進行性の筋疾患で、出生男児3,500人に1人の割合で発症する。乳児期にはめだつた症状はみられないが、3～5歳頃から転びやすい、階段を昇りにくいなど歩行に関する症状がみられるようになり、12歳までに車椅子生活となる。さらに年齢が長ざると関節の拘縮や側彎が進行し、10歳台後半から20歳前後になると呼吸不全・心不全がみられるようになり生命を脅かす。このように非常に重篤な疾患であるが、根治治療法はない。

DMDはジストロフィン遺伝子変異によりジストロフィン蛋白が欠損することにより発症する。ジストロフィン遺伝子はX染色体短腕上に存在する2,500 kbにおよぶ遺伝子で、79エクソンより成る。Fig. 1にDMD症例でみられる遺伝子変異の型ごとの頻度を示す¹⁾。もっとも多い「欠失変異」が60%で、「ナンセンス変異」は19%である。本稿で述べる「リー

ドスルー誘導治療」は、この「ナンセンス変異」症例に対するものである。

「ナンセンス変異リードスルー」について

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（Fig. 2a）。「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（Fig. 2b）。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。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

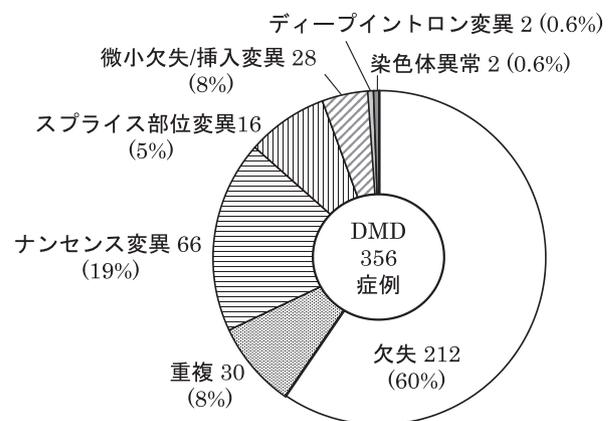


Fig. 1 Duchenne 型筋ジストロフィーでみられる遺伝子変異の型ごとの頻度。

60%の症例にエクソン単位の欠失変異が、19%の症例にナンセンス変異がみられる。（参考文献1より改変）

¹⁾ 兵庫医科大学小児科学〔〒663-8501 兵庫県西宮市武庫川町1-1〕
（受付日：2014年5月23日）

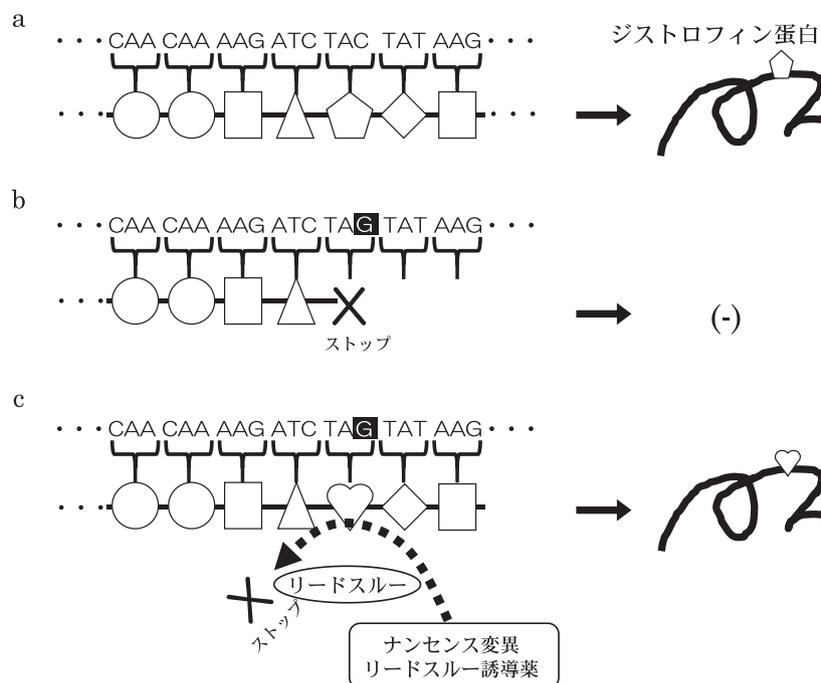


Fig. 2 ナンセンス変異リードスルー誘導治療の原理.

- a. 正常. 正常なジストロフィン蛋白が産生される. b. ナンセンス変異. 「C」が「G」(白抜き)に変異したため, ナンセンスコドンとなり, 蛋白合成が中断してしまう. このようなタンパクは不安定なため, ジストロフィン蛋白はみとめられない. c. ナンセンス変異リードスルー誘導. アルベカシンなどによりナンセンスコドンの認識があいまいになり, 他のアミノ酸が取り込まれ蛋白合成はひき続きおこなわれる. その結果, 本来とは少しことなるが機能を有したジストロフィン蛋白が産生される.

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 (Fig. 2c). 本来の終止コドンまで蛋白合成が続くと, 機能を有するジストロフィン蛋白が産生され (Fig. 2c), 症状が軽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」という.

1960年代よりストレプトマイシンなどのアミノグリコシド系抗生物質に, ナンセンス変異を読み飛ばす作用のあることが報告されている. そして1999年, デュシェンヌ型筋ジストロフィーのモデル動物であるmdxマウスに, ゲンタマイシンを投与することにより, 欠失していたジストロフィン蛋白が産生されるようになること, さらに病気の指標である血中のCK値が改善することが報告された²⁾. その結果を受け, DMD症例に対するゲンタマイシン投与の臨床研究がおこなわれるようになった. その有効性に対する評価は様々であったが³⁾⁴⁾, 2010年, Malikらによってゲンタマイシンによるジストロフィン蛋白発現の回復, 血中CK値の改善などの有効性が報告された⁵⁾.

一方, アミノグリコシド系抗生物質とはことなる物質においても「ナンセンス変異リードスルー」作用を有する物質があり, 2007年には「PTC124」という化合物をmdxマウスに投与することにより, ジストロフィン蛋白が産生することが報告された⁶⁾. この薬は内服薬であり, DMD症例に対し24

日間内服投与するIIa相試験により, ジストロフィン発現増加, 血清CK値低下などが報告された⁷⁾. その後, 48週間1日3回内服投与する国際的な治験がおこなわれた. 6分間歩行試験においてplacebo群 (n = 57)が平均44.1 m減少であったのに対し, low dose群 (10, 10, 20 mg/kg; n = 57)が平均12.9 m減少であり⁸⁾, 統計学的な有効差はみとめられなかったものの, 一定の効果がみとめられ, European medicine agency (EMA)において条件付き承認の方向で検討が進められている.

アルベカシンによる治験の実際

このような世界の動きの中, 私たちはアミノ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1973年に微生物化学研究所が創製した国産のアミノグリコシド系抗生物質で, 1990年からMRSA敗血症および肺炎を適応として市販, 1998年には小児適応を取得している. 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, アミノ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ということから⁹⁾, アルベカシンによる治療法開発の検討を進めた. そして, 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回投与をおこなうものである。

さいごに

今回の「ナンセンス変異リードスルー誘導治療」は、ナンセンス変異によるDMDを対象としている。一方、欠失変異に対しては、「エクソンスキッピング誘導治療」の臨床への応用が進められている¹⁰⁾。このようにDMDに対する治療法は、個々の症例の遺伝子変異に応じた「オーダーメイド治療」であり、正確な遺伝子診断が不可欠である。遺伝子診断とオーダーメイド治療を車の両輪として、多くの患者さんの福音となるように励んでいきたい。

※本論文に関連し、開示すべきCOI状態にある企業、組織、団体はいずれも有りません。

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;55:379-388.
- 2) Barton-Davis ER, Cordier L, Shoturma DI, et al. Aminoglycoside antibiotics restore dystrophin function to skeletal muscles of mdx mice. *J Clin Invest* 1999;104:375-381.
- 3) Wagner KR, Hamed S, Hadley DW, et al. Gentamicin treatment of Duchenne and Becker muscular dystrophy due to nonsense mutations. *Ann Neurol* 2001;49:706-711.
- 4) Politano L, Nigro G, Nigro V, et al. Gentamicin administration in Duchenne patients with premature stop codon. Preliminary results. *Acta Myol* 2003;22:15-21.
- 5) Malik V, Rodino-Klapac LR, Viollet L, et al. Gentamicin-induced readthrough of stop codons in Duchenne muscular dystrophy. *Ann Neurol* 2010;67:771-780.
- 6) Welch EM, Barton ER, Zhuo J, et al. PTC124 targets genetic disorders caused by nonsense mutations. *Nature* 2007;447:87-91.
- 7) Finkel RS, Flanigan KM, Wong B, et al. Phase 2a study of ataluren-mediated dystrophin production in patients with nonsense mutation Duchenne muscular dystrophy. *PLoS One* 2013;8:e81302.
- 8) PTC Therapeutics Receives Conditional Approval in the European Union for Translarna™ For the Treatment of Nonsense Mutation Duchenne Muscular Dystrophy [Internet]. PTC Therapeutics; 2014 Aug 4. [cited 2014 Sep 10]. Available from: <http://ir.ptcbio.com/releasedetail.cfm?ReleaseID=863914>
- 9) Kurebe M, Yokota M, Niizato T, et al. Antibacterial activity and ototoxicity in guinea pigs, and nephrotoxicity in rats of arbekacin. *Arzneimittelforschung* 1986;36:1511-1517.
- 10) 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;59:690-694.

Abstract

Nonsense readthrough therapy for Duchenne muscular dystrophy

Yasuhiro Takeshima, M.D., Ph.D.¹⁾

¹⁾Department of Pediatrics, Hyogo College of Medicine

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is the most common form of inherited muscle disease and is characterized by progressive muscle wasting ultimately resulting in death of the patients in their twenties. DMD is characterized by a deficiency of the muscle dystrophin as a result of mutations in the dystrophin gene. Currently, no effective treatment for DMD is available. Promising molecular therapies which are mutation specific have been developed. Induction of the readthrough of nonsense mutations is expected to produce dystrophin in DMD patients with nonsense mutations, which are detected in 19% of DMD cases. Clinical effectiveness of gentamicin and PTC124 have been suggested. We have demonstrated that arbekacin-mediated readthrough can substantially ameliorate muscular dystrophy. We already have begun the clinical trial of the nonsense mutation readthrough therapy using arbekacin. We hope that this molecular therapy will contribute towards the treatment for DMD.

(*Clin Neurol* 2014;54:1074-1076)

Key words: Duchenne muscular dystrophy, dystrophin, nonsense mutation, readthrough therapy, molecular therapy