

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08221

研究課題名(和文)尿中スプライシング産物をバイオマーカーとした筋ジストロフィー治療評価系の検証

研究課題名(英文)Validation of a treatment evaluation system for muscular dystrophy using urinary splicing products as biomarkers

研究代表者

田中 靖彦 (TANAKA, Yasuhiko)

兵庫医科大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：20595045

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：Duchenne型筋ジストロフィー(Duchenne Muscular Dystrophy:DMD)に対し、エクソンスキッピングを誘導する治療法の臨床への応用が開始された。同療法は現在最も実績と有効性のある根治療法といえる。しかし、有効性を評価するバイオマーカーが無いことが治療を推進する上で妨げとなっている。患者尿由来mRNAを解析することにより個々の症例におけるエクソンスキッピング誘導治療の有効性を非侵襲的かつ簡便に評価するシステムを構築可能と考えた。本研究の成果により、臨床応用が開始されようとしているエクソンスキッピング誘導治療が大きく推進するものと期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血中RNA(extracellular RNA: exRNA)におけるスプライシングパターンを解析するシステムの構築とともに、AS-oligo投与症例におけるジストロフィンRNAスプライシングパターンの解析を行った。エクソンスキッピング療法を行うにあたり、より信州の少ない治療評価方法の確立に寄与した。

研究成果の概要(英文)：The clinical application of a therapy that induces exon skipping for Duchenne Muscular Dystrophy (DMD) has begun. This therapy is currently the most proven and effective curative treatment. However, the lack of a biomarker to evaluate its effectiveness is an obstacle to promoting this treatment. We believe that by analyzing mRNA derived from patient urine, it is possible to create a system to non-invasively and easily evaluate the effectiveness of exon skipping induction therapy in individual cases. It is expected that the results of this research will greatly advance exon skipping induction therapy, which is about to be applied clinically.

研究分野：代謝性疾患

キーワード：Duchenne型筋ジストロフィー エクソンスキッピング extracellular RNA アンチセンスオリゴヌクレオチド

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) は、ジストロフィン・糖タンパク質複合体 (dystrophin-glycoprotein complex; DGC) の中心分子であるジストロフィンが欠損することで発症し、ジストロフィンの欠損が不完全な場合はベッカー型筋ジストロフィー (BMD) の表現型をとる。DMD は、X-染色体連鎖性遺伝形式をとり、筋ジストロフィーの中でもっとも頻度が高く、新生男児 3,500 人に 1 人の割合で発症する。2~5 歳時に歩行異常で気付かれ、進行性の筋力低下のため 11 歳前後に独立歩行が不可能になり、以後呼吸不全や心不全で死亡にいたる。最近、呼吸管理の進歩により、約 10 年間寿命が延長しているが、有効とみとめられている治療はコルチコステロイドと脊椎変形に対する対症的手術治療、呼吸補助のみであり、未だ筋変性・壊死を阻止する決定的な治療法はなかった。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。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。今回のエクソンスキッピング療法は「ナンセンス変異」症例に対する治療であり、ナンセンス部位をスキップするものである。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。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り、より効果が安定して、副作用の少ない治療薬が求められていた。Duchenne 型筋ジストロフィー (Duchenne Muscular Dystrophy: DMD) に対し、エクソンスキッピングを誘導する治療法臨床への応用が開始された。「DMD に対するエクソンスキッピング誘導治療」は本邦でも迅速承認を受けており、現在最も実績と有効性のある根治療法といえる。

2. 研究の目的

アンチセンス法とは、標的遺伝子 RNA にハイブリダイズすることのできるアンチセンス核酸 (RNA もしくは DNA) を用いて遺伝子機能発現を抑制する方法である。アンチセンス阻害 (antisense inhibition) ともいう。標的とする遺伝子 RNA の全長もしくは一部に対する一本鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドを細胞内に導入することで効果を発揮する。標的遺伝子 RNA にハイブリダイズしたアンチセンス核酸は、標的遺伝子 RNA のスプライシング阻害、および翻訳阻害を引き起こす。アンチセンス法を用いて遺伝性疾患や感染性疾患に関わる遺伝子機能発現を抑制する治療形態の一種をアンチセンス治療 (antisense therapy) と呼ぶ。これまでに癌、糖尿病、筋萎縮性側索硬化症の治療などへの使用が検討されている。2014 年にはアンチセンス法を用いた薬として fomivirsen や mipomersen などがアメリカ食品医薬品局によって認可されている。今回の DMD に対する治療では、以上部位のエクソンをアンチセンスオリゴヌクレオチドを用いて細胞レベルにおいてアンチセンスオリゴヌクレオチド (Antisense Oligo Nucleotide: AS-Oligo) によるエクソンスキッピング効率には差があることが予想されており、個々の症例における有効性を評価するバイオマーカーが無いことが治療を推進する上で妨げとなっている。もしも、信頼性が高く、より侵襲性が低く、より容易にアンチセンスオリゴヌクレオチドによるエクソンスキッピング効果が評価できる方法を確立できれば、DMD の治療に大きな助けになる。

3. 研究の方法

申請者は尿中に排泄される mRNA が筋組織におけるスプライシングを反映する可能性を着想した。スプライシングを受けた mRNA は脱落した部位が発生する、最終的にはその一部が尿中に排泄されることが分かっている。そして、患者尿由来 mRNA を解析することにより個々の症例におけるエクソンスキッピング誘導治療の有効性を非侵襲的かつ簡便に評価するシステムを構築可能と考えた。本研究の成果により、臨床応用が開始されようとしているエクソンスキッピング誘導治療が大きく推進するものと期待される。

4 . 研究成果

血中 RNA(extracellular RNA: exRNA)におけるスプライシングパターンを解析するシステムの構築とともに、AS-oligo 投与症例におけるジストロフィン RNA スプライシングパターンの解析を行った。尿を検体とすることにより、エクソンスキッピング療法を行うにあたり、より侵襲の少ない治療評価方法の確立に寄与した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	李 知子 (LEE Tomoko) (10596042)	兵庫医科大学・医学部・准教授 (34519)	
研究分担者	下村 英毅 (SHIMOMURA Hideki) (30441273)	兵庫医科大学・医学部・准教授 (34519)	
研究分担者	竹島 泰弘 (TAKESHIMA Yasuhiro) (40281141)	兵庫医科大学・医学部・教授 (34519)	
研究分担者	奥野 美佐子 (OKUNO Misako) (60646553)	兵庫医科大学・医学部・助教 (34519)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------