

みなさん、こんにちは。小平では梅が咲きはじまりました。

前号でお知らせしました筋ジストロフィーの新しい治療薬・Translarna®がヨーロッパで条件付承認を受け発売がはじまりました。ナンセンス変異によるデュシェンヌ型筋ジストロフィーを対象とした治療薬です。近い将来、日本の患者さんの元に届けられることを期待しております。

こういった新薬の誕生は、基礎医学研究の大きな成果です。今号では基礎医学の研究者の先生方にも最新の研究についてご紹介いただいています。それでは紙面をお楽しみください。



木村 円

ジストロフィン遺伝子の変異修復を目指した ゲノム手術法開発

京都大学 iPS 細胞研究所 堀田 秋津

皆様はじめまして。私、iPS 細胞研究所の堀田と申します。今日は研究者の間でにわかに注目を集めている「ゲノム編集」という新しい研究成果についてお伝えたく、つたない文章を綴っています。

Duchenne 型の筋ジストロフィーは、ジストロフィンという遺伝子に間違いが起こると発病します。一番多いのは、遺伝子が途中で大きく無くなっている変異で、そのためにジストロフィン・タンパク質がまったくできなくなったり、中途半端なタンパク質が出来てしまったりします。この事は 30 年近く前から分かっていたのですが、これまで人類はヒトの細胞で遺伝子の変異を効率良く修復する手段を持っていませんでした。

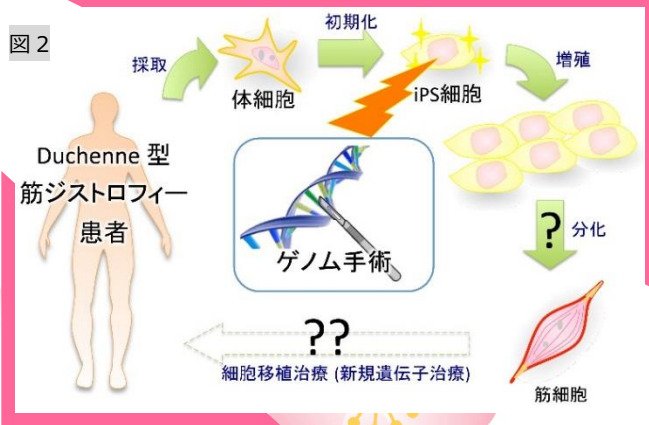
そんな中、とある研究成果が注目を集めています。それが、2011 年に登場した TALEN と、2013 年に登場した CRISPR という「分子のハサミ」で、ヒトのゲノムのたった一カ所、狙った場所だけを「切る」技術です。大事なゲノムを切ってしまうなんて乱暴な、と思われるかもしれませんが、これはまさに外科手術と同じ考えです。皮膚を切っても、小さな傷であれば人間の自然治癒力できれいに治ります。ゲノムにも自然治癒力である「DNA 修復経路」が存在し、切れた DNA をすぐに修復できるようになっているのです。

TALEN と CRISPR はどちらも、ゲノム配列の中から指定した部位に結合して切断します。DNA が切断されると、すぐに切断部位で修復機構が働き、その際に塩基の一部が削り取られて少し短くなります。また、切断された部位の前後とまったく同じ配列をもった鋳型を DNA の絆創膏として一緒に細胞内へ入れておくと、鋳型の配列を取り込んで修復されることがあります。これらはまさに「ゲノムを手術する」ことが可能となってきているのです。

我々はこのゲノム手術法を用いることで、ジストロフィンのように巨大な遺伝子の変異を修復できるかどうか、さらには目的 DNA 部位以外に傷が入ってしまう副作用がないかどうかの検討を行いました。まず、ジストロフィン遺伝子のエ

クソン 44 が欠損している DMD 患者さんから iPS 細胞を樹立して、この患者さん由来の iPS 細胞で変異修復方法の検討を行いました。我々は 3 つの戦略でジストロフィン遺伝子の修復を試みました。1 つ目は 45 番目のエクソンをスキップして 43 と 46 を直結させて遺伝子の読み枠を戻す方法（エクソン 45 スキッピング）、2 つ目は塩基を 1 つ挿入することで読み枠を戻す方法（読み枠シフト）、3 つ目は 44 番目のエクソンを元の位置に挿入する方法（エクソン 44 挿入）です（図 1）。その結果、3 つ目のエクソン 44 挿入が最も iPS 細胞で効率良く、かつ完全長のジストロフィン・タンパク質が回復出来る事を示しました。

図 2

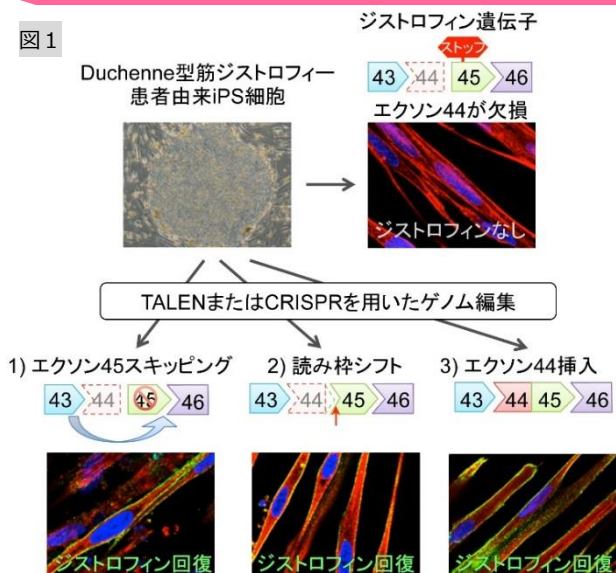


次に、ゲノム編集技術で修復した iPS 細胞について、ターゲット部位以外に望まない変異が導入されていないかどうか、ゲノム配列を高処理能力 DNA 配列解析装置で確認しました。その結果、TALEN や CRISPR で iPS 細胞を処理しても、目的変異修復部位以外ではほとんど変異導入リスクの増加は認められませんでした。

但し、課題もまだまだ沢山あります。例えば、修復効率がまだまだ十分とは言えず、改良の余地があります。また、我々の成果はあくまで細胞レベルのお話で、修復した iPS 細胞を如何に患者さんの筋肉組織に届けるかという大きな問題があります。iPS 細胞から筋細胞や筋肉の元となる細胞へ分化させる方法は、他の細胞種に比べると遅れていて、まだまだ研究開発の段階です（図 2）。また、仮に iPS 細胞から移植可能な筋細胞が出来たとしても、全身に存在する筋肉組織へ如何に届けるのかについて、まだ誰も良い答えを持っていません。このゲノム編集を用いた治療法が患者の皆様の元へ届くまでにはまだまだ時間が掛かると思います。

ゲノム編集技術の登場により、これまで不可能と考えられていたジストロフィン遺伝子変異をヒトの iPS 細胞で修復できるようになったことは、画期的な事です。我々研究者も、つい 4 - 5 年前までは、このような修復が簡単にできる時代が来るとは誰も予想していませんでした。今は不可能と考えられる事でも、一つ一つチャレンジを続けて行くことで、新たな可能性を切り開いて行ければと考えています。今後とも引き続き、研究活動に関する御理解と御協力の程、よろしく御願致します。

図 1



京都大学 iPS 細胞研究所ホームページ

CIRA (サイラ)

<http://www.cira.kyoto-u.ac.jp/j/>



ジストロフィン遺伝子に変異をもつラットの開発

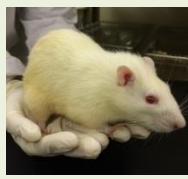
東京大学大学院農学生命科学研究科・獣医学専攻 獣医生理学教室 准教授 山内 啓太郎



私たちの研究室はその名の通り、東京大学大学院農学生命科学研究科の獣医学専攻に属しています。獣医学と聞くと多くの皆さんは、動物のお医者さんを想像と思いますが、獣医学は動物の病気の原因を解明してその予防や治療を行うだけでなく、人畜共通感染症や食品衛生に関わる公衆衛生学、さらには人を含む多様な動物種による違いを踏まえた基礎的な生命科学など幅広い分野をカバーしています。その中で、獣医生理学とは動物がどのようにして生きているのか、すなわち動物の体の中で営まれている生命現象がどのようにして制御されているのかを探求する学問分野です。

私たちの研究室は設置以来、既に 100 年を超える歴史をもち、伝統的にラットを用いた研究を行ってきました。ラットは繁殖や維持が容易で、その扱いやすさから生命科学のさまざまな分野で多用されています。私たちはこのラットを用いて骨格筋の発達や再生についての基礎研究を進めており、その一環として今回ジストロフィン遺伝子に変異をもつラットの作製に成功しました。

これまで、ジストロフィン遺伝子に変異をもつデュシェンヌ型やベッカー型筋ジストロフィーのモデルとなる実験動物としてはマウス (mdx マウス) やイヌ (CDMD) が広く使われてきました。しかし、mdx マウスは運動能力や筋力に大きな異常はなく、あつたとしても症状が出るのは一時的で、人に見られるような線維化や脂肪細胞の出現もみられません。一方、CDMD は人に近い症状を示しますが、モデル動物として繁殖や維持を行うためには多くの費用や労力が必要とされています。



▲写真 1▲
CRISPR/Cas 法により作製されたジストロフィン遺伝子変異ラット

今回、ジストロフィン遺伝子に変異をもつラットを作製するにあたり、私たちは最近新しく開発された CRISPR/Cas 法という遺伝子改変技術を使用しました。この方法を使うことにより、ジストロフィン遺伝子にさまざまな変異をもつラットを作製することができ、現在までにデュシェンヌ型筋ジストロフィーのように重篤な症状を示すラットに加え、ベッカー型筋ジストロフィーのように軽度な症状を示すラットも得られています。これらのラットは当研究室の大学院生である中村克行君が中心となって作製したもので、中村君は 2014 年に米国で開催された骨格筋幹細胞に関する研究集会で優秀発表賞を受賞しました。このように骨格筋再生に関する研究を通じて、将来性のある優秀な若い人材を育てていくことも私たちの大きな使命です。

今後は、私たちが作製したジストロフィン遺伝子変異ラットを世界中の研究者の皆さんに広く使って貰うことで、この分野における研究の進展に貢献することができればと思っています。



▲写真 2▲

米国で行われた FASEB Summer Research Conference "Skeletal Muscle Satellite and Stem Cells" にて、当教室博士 4 年の中村克行君がジストロフィン遺伝子変異ラットの作製に関する研究で優秀発表賞を受賞

東京大学大学院 農学生命科学研究科・農学部
獣医生理学研究室 ホームページ

<http://www.vm.a.u-tokyo.ac.jp/seiri/>



デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者さんの歯磨きのポイント

国立精神・神経医療研究センター病院 歯科 福本 裕

デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)の患者さんは、骨格の異常や咀嚼筋と舌などの筋機能の不均衡により、歯並びや噛み合わせが悪くなる傾向にあります。そのため、口の中に汚れが溜まりやすい部位ができ、むし歯や歯周病になりやすくなります。また、むし歯や歯周病になってしまうと、歯科治療の対象となりますが、DMD の全身的な症状により困難になることが少なくありません。

そこで、むし歯や歯周病の予防が、健常者に増して重要になります。むし歯や歯周病の原因は細菌であることを認識し、それを機械的に取り除くことができる歯ブラシの使い方を身につけましょう。歯ブラシは、ふつうの硬さでヘッドの小さいものを用いて、毛先を歯に当てて細かく振動させる、小さく回す、また、歯の噛む面では前後に動かします。歯と歯肉の境目は、歯肉が少し白くなる程度のもので磨くことで、汚れを取り除くと共に歯肉のマッサージ効果も期待できます。歯並びの悪い部位は歯ブラシを縦に使うと、毛先が当てやすくなります。上肢の運動障害で、手を挙げたまま歯ブラシを保持できない場合は洗面台などに肘を付いたり、歯ブラシを動かしにくい場合は電動歯ブラシが有効です。磨きにくい上の奥歯の頬の側は、口を大きく開けられない方が、頬がたるむため歯ブラシは当てやすく、また、下の前歯の口唇側は毛先を歯肉から歯の噛む面の方に向けて磨くなど、磨く部位により工夫が必要です。開口障害や巨舌で歯の舌側に歯ブラシが入りにくい場合は「タフトブラシ」などポイントで磨くヘッドが極小のものを勧めます。歯磨き粉はフッ素入りが良く、嚥下の問題やうがいが多い場合は、洗口液を歯ブラシに噴霧して磨く方法もあります。大切なことは、介助者による

仕上げ磨きです。これを習慣にすることで、磨き残しが減ります。あわせて、かかりつけ歯科医によるフォローアップをお勧めします。



国立精神・神経医療研究センター ホームページ

<http://www.ncnp.go.jp/hospital>

筋強直性ジストロフィー市民公開講座

市民公開講座「知っておきたい 筋強直性ジストロフィー」が、1 月 12 日(月)に大阪大学中之島センターにて開催され、定員の 120 名を超える 133 名の方にご参加いただきました。全国からたくさんの患者さん・ご家族が参加され、医療や生活の注意点などの大切な情報から、最新の治療研究、登録に関することなど盛りだくさんの内容で、とても好評でした。



(写真左：会場写真・写真右上：相談を受ける松村先生)

平成 26 年度厚生労働科学研究委託費(障害者対策総合事業)「筋強直性ジストロフィー治療推進のための臨床基盤整備の研究」(主任研究者・松村剛)と、平成 26 年度 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業))「難治性筋疾患の疫学・自然歴の収集および治療開発促進を目的とした疾患レジストリー研究」(主任研究者・木村円)によるものです。

今後も全国で市民公開講座を行う予定です。

詳しくはこちら →DM-CTG

「専門家が提供する筋強直性ジストロフィーの臨床情報のウェブサイト」



<http://dmctg.jp/>

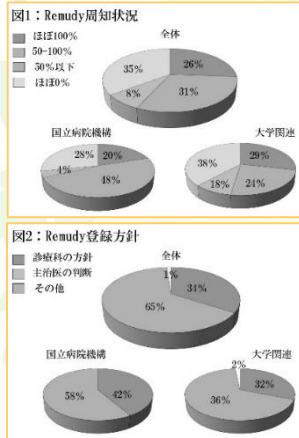
Remudy周知の現状-全国アンケート結果より-

独立行政法人国立病院機構南九州病院 臨床研究部 園田 至人

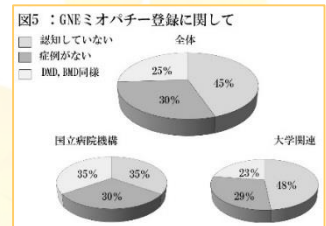
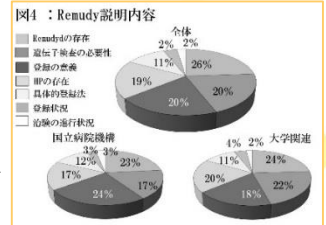
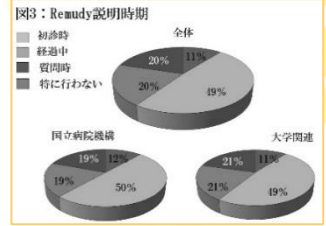
3年前木村先生より Remudy 周知を徹底するための方法を検討しなさいとの宿題を班会議で頂きました。その一環として周知状況をアンケートで調査しましたので一部を紹介申し上げます。

調査期間は平成 25 年 9 月～11 月とし、全国の小児科・神経内科を有する医療機関のうち、国立病院機構 (NHO) に属する医療機関 72 施設 112 診療科、大学病院・大学関連病院 138 施設 276 診療科を対象としました。アンケートの回収率は 84.8%、その内、DMD, BMD, あるいは GNE ミオパチーを診療中であると回答した医療機関は NHO32 診療科、大学関連病院 73 診療科でした。

患者数は DMD1534 例 (NHO 1131 例、大学 403 例)、BMD625 例 (NHO 423 例、大学 202 例) GNE ミオパチー147 例 (NHO 102 例、大学 45 例) であり、全ての疾患で NHO が大学の 2 倍以上という結果でした。筋ジス、あるいは GNE ミオパチーを診療中の医療機関での Remudy 周知状況を図 1 に示します。57%の機関で 50% 以上周知されていましたが、一方ほぼ 0%の周知であるとの回答が全体で 35%(大学関連では 38%)と Remudy 周知は十分とは言えない現状が見られます。また約 3 割の施設は登録に関して診療科の方針を持っていると回答されましたが、大半は主治医の判断に任せている様です (図 2)。



Remudy の説明時期に関して約 1 割は初診時、約半数は経過中に説明されていましたが、積極的に説明しない (質問時に説明あるいは特に行わない) との回答も 4 割に上りました(図 3)。説明内容は Remudy の存在、遺伝子検査の必要性、登録の意義、ホームページの存在等がほぼ同じ割合でした(図 4)。GNE ミオパチーの登録に関しては大学関連 48%、NHO で 35%が認知していないと周知の程度はさらに低い現実が見られます(図 5)。その他、筋直性ジストロフィー、封入体筋炎、肢帯型筋ジストロフィー、ミトコンドリア脳筋症、先天性ミオパチーも疾患レジストリーが望ましいのご意見、さらに Remudy に関して、「筋生検を要する場合がありますが高齢患者があまり興味を示さない。遺伝情報を扱うのでこまめに積極的に進めるか迷う。」「もっと広報活動が必要。Remudy 自体を知らない」等のご意見を頂きました。



Remudy への患者登録数は増加しています。しかし、今回の調査結果からは周知は充分でない部分も見て取れました。このアンケート結果を踏まえ、今後の情報発信の方法を検討し、広く周知を促していこうと思います。今後とも御指導、よろしく願い申し上げます。(図が見えづらい方は下記アドレスをご覧ください↓)

http://www.remudy.jp/remudy_paper/pdf/remudypaper13_P3S1.pdf

筋ジス協会・大塚駅前診療所が開所

2014 年 10 月 26 日に、武田先生、小牧先生と一緒に、筋ジストロフィー協会・大塚診療所の開所式に参加しました。たくさんの関係者の方が参集され、矢澤副理事長の司会によって本当にこころあたままる式典でした。

10 月 1 日からはじまった筋ジス協会念願の診療所は、長年筋ジストロフィーの研究・診療に取り組んでこられました東京女子医科大学名誉教授の大澤真木子先生が所長をつとめられています。

明るい診察室が先生のお人柄を表しているようで、筋ジス協会・大塚駅前診療所のますますの発展が期待されています。

木村 円

▼写真: 大塚診療所に▼

貝谷理事長 矢澤副理事長
貝谷診療所事務局長 大澤先生 石原先生



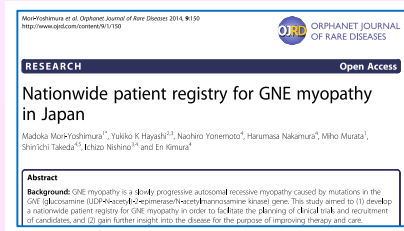
詳細は筋ジス協会・大塚診療所のウェブサイトをご覧ください。

<http://www.jmda.or.jp/ohtsuka/>

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー (GNE ミオパチー)

1) 森まどか先生の論文が

Orphanet Journal of Rare Diseases に掲載。

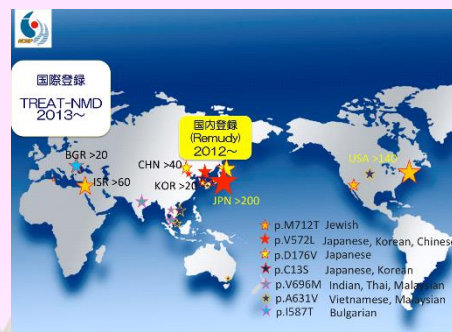


日本から世界初の GNE ミオパチー登録の現状を報告する重要な論文です。

◆ Madoka M et al. 2014 Orphanet Journal of Rare Diseases

<http://www.ojrd.com/content/9/1/150/abstract>

2) TREAT-NMD が運用する国際登録 GNEM-DMP (シアル酸徐放剤を開発する米国企業・Ultragenyxが資金を提供) と日本の Remudy による GNE ミオパチー登録の協調が進んでいます。現在、Remudy と



GNEM-DMP 双方の運営委員会が承認を受け、森まどか先生が国際登録 GNEM-DMP の 2 人目のキュレーターとなる手続き中です。



治験について：⑦他部門との連携

独立行政法人 国立精神・神経医療研究センター 臨床研究支援部 臨床研究推進部 藤生 江理子

連載
第七回目

皆様、はじめまして！

これまで連載を担当していた玉浦さんの後任で 2014 年 4 月に配置となりました看護師の藤生 江理子(ふじお えりこ)と申します。配置になってから臨床研究コーディネーターとして微力ながら活動しております。

今回より玉浦さんに継いで、「治験について」お伝えさせていただきます。

今号では看護師の役割についてご紹介致します。

看護師の役割

看護スタッフ(病棟・外来)との協働～こんなお仕事をしています～

- ★ 治験薬の投与(点滴・注射・内服)
- ★ 規定の検査(採血・採尿・心電図など)
- ★ 観察
 - ・ 病状
 - ・ 治験薬服用後の有害事象
- ★ 治験説明会での情報提供
 - ・ スケジュール、方法、注意点等は事前説明会でお互い確認
- ★ 治験リンクナース会
 - ・ 年 8 回開催
 - ・ 治験に関する知識の習得
 - ・ 情報提供・啓蒙活動等



次回は「他部門との連携」の続きで
理学療法士の役割を紹介致します。



患者さんの身体面と精神面を看護学で培った専門的な知識と技術でサポートしております。病棟で行われる治験では円滑に進められるように、病棟のご意見を取り入れて進めております。治験リンクナース会は病棟で行われている治験の状況を病棟リンクナースと看護師 CRC の情報交換を行っております。

治験ユニットが開設されました！

2014 年 1 月にワーキンググループが発足し、筋・神経疾患の入院患者さんの受け入れを行っている 2 南病棟を改築して設置されました。

年々増えている入院治験に対応する病棟として、また病床管理上、治験のみではなく治験の入院がない場合は一般病床として稼働可能な病床です。2015 年 1 月 12 日より始動となりました、ユニットの様子をご紹介致します。



治験に関わる
看護師の皆さん

治験で入院された患者さんの管理を行う設備が整えられています。

Q&A (ご質問とご回答)

Q

女性ジストロフィンパチーの登録、遺伝子解析はできますか？

A

とても重要な質問です。女性ジストロフィンパチー患者さんの疫学・自然歴に関する臨床研究はほとんどなく、診療上の情報も十分ではありません。心筋症の発症や経過、予後等についてもほとんど分かっていません。男女平等の観点からも登録を進めるべきであるというご意見もいただいています。Remudy 研究班では、女性ジストロフィンパチーの登録につままして前向きに検討を進めています。

しかしながら遺伝子解析にかかるマンパワー、コスト、公平性の問題などいくつかのハードルがあり、現状では女性患者さんの登録を前提としたシーケンス解析には対応が出来ない状況です。どうぞご理解くださいますようお願いいたします。なお、ジストロフィン遺伝子のシーケンス検査はオフネットジャパン (onj.jp) でも受け付けています。ご参考になさってください。



Q

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー(FSHD)の登録はいつ頃はじまりますか？

A

はい。TREAT-NMD のグローバルレジストリーと協調して、Remudy の研究班では、専門家、研究者、筋ジストロフィー協会の方々と相談しながら顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー(FSHD)の登録を検討しています。

新しいウェブ登録システムによって、いろいろな疾患の登録をすすめやすくなります。FSHD だけでなく、咽頭型筋ジストロフィー(OPMD)、肢帯型筋ジストロフィー(LGMD)、デイスファリノパチー、先天性ミオパチー、先天性筋無力症候群、筋チャンネル病などの登録について、具体的に検討しています。一方で、運用コスト、マンパワーの問題を解決していく必要があり、実際の患者さん・支援団体の方々と相談しながら進めて参ります。

もちろん、新しい登録がはじまる前には、Remudy のウェブサイト等を通じて皆さまにお知らせいたします。



* その他のご質問は、Remudy のホームページ(お問い合わせ)をご覧ください。

編集後記

日本国内では、この 1 月から難病新法が施行されました。現在も指定難病の整備が進められています。TREAT-NMD では、レジストリーを用いた新しい治療薬の市販後調査の検討を進めています。今後、承認・発売される新薬の長期的な有効性・安全性の評価にレジストリーを有効に活用できるように、世界と足並みをそろえて Remudy も進化します。昨年ウェブ登録システムも順調に滑り出しました。ご自分の登録情報をいつでもみることができ情報の更新も便利になっています。3 月には GNE ミオパチー(縁どり空胞を伴う遠位型ミオパチー・DMRV)の登録者の方もウェブ上で情報更新ができるようになります。まだユーザー登録をなさっていない登録者の方、ご協力の先生方は是非ユーザー登録をして、よかつたらご意見をお寄せください。

最後に、春は別れの季節でもあります。昨年 7 月から、筋ジストロフィーの登録について勉強された中国勝利病院の鄭一先生が 2 月末帰国されます。鄭先生は、筋ジス医療やリハビリ、メタ・アナリシス臨床研究にも取り組まれました。鄭先生と一緒に勉強できた約 8 ヶ月間は私たちにとってもとても素晴らしい刺激あふれる経験でした。鄭先生はこれから日中両国の架け橋としてさらなる活躍が期待されます。鄭先生本当にありがとうございました。(木村 円)



鄭先生と 埜中先生

埜中先生からのコメント
「わたしの外来と一緒に患者さんを見て、中国と日本の違いなどを互いに勉強しました。」

独立行政法人 国立精神・神経医療研究センターTMC
神経・筋疾患患者登録センター(Remudy) 患者情報登録部門

責任者： 木村 円

〒187-8551
東京都小平市小川東町 4-1-1 Tel/Fax:042-346-2309 (直通)
E-mail : remudy@ncnp.go.jp
HP(ホームページ) : <http://www.remudy.jp>