

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏名 吉村 まどか

本研究では、Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) の遺伝子治療を目指して、骨格筋への導入に有利とされるアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを用いて、*mdx* マウス骨格筋に対して短縮型ジストロフィンを導入した。

方法として、トランスジェニックマウスの手法ですでに治療効果を確認したコンストラクトを元に、短縮型ジストロフィンである 3.8kb の Δ CS1 ジストロフィンを作成し、筋特異的な発現をもたらす MCK promoter の下流に連結した 2 型 AAV ベクターを作成した。ジストロフィンを欠く DMD モデルマウスである *mdx* マウスを用いて、筋肉内に直接投与し、8 週、24 週後に効果を解析した。導入効率、病期を考慮して、筋変性開始前の 10 日齢、発症後のモデルとなる 5 週齢 *mdx* マウスに投与した。機能の検定には張力測定、免疫染色による発現線維数の検討、組織学的解析、筋線維横断面積を用いた。また、幼若齢での導入効率の改善をはかるため、5 型 AAV ベクターも導入し、2 型と比較した。

第一の成果は、後天的な短縮型ジストロフィン遺伝子導入が変性を抑止する効果を持ち、また生理学的にも正常同様に至るまでの機能回復をもたらすことを示した点である。とくに、筋変性の発症後の遺伝子導入で治療が可能である点は、実際の臨床の場では全例に発症前に治療を開始できるわけではないことを考慮すると、意義のある結果と考えられる。

第二に、導入発現効率と治療効果を対比した検討は、今後の治療実験全般に有用であると予想される。5 週齢での導入では約半数、10 日齢での導入では 20%程度の Δ CS1 の存在で機能の回復が観察された。この結果は、これまでに予想された全長型あるいは短縮型ジストロフィンの必要量よりも低い値であったことから、遺伝子治療や細胞移植治療の到達点の指標になる可能性がある。また、少数の短縮型ジストロフィン陽性線維で機能が回復した理由として、筋肥大が機能改善に貢献することが示唆された。これまで筋肥大を生ずることによりジストロフィー筋の治療をはかる試みが見られていたが、膜の脆弱性が克服できないため、効果は部分的なものに留まっていた。これらの筋肥大をもたらす物質にジストロフィン遺伝子導入に併用して治療効果をあげる試みの有用性を示した。

[別紙 2]

さらに、特に幼若齢での導入効率を増すため、ベクターとして利用される AAV のうち、AAV2 と DNA の相同性や tropism が大きく異なる 5 型 AAV (AAV5) に注目し、骨格筋での導入遺伝子発現を、AAV2 ベクターでの発現が少なかった幼若マウスを中心に検討した。細胞骨格蛋白質を発現させた場合、血清型の変更による発現量の変化は未知であったが、本研究において発現量の上昇が認められた。

これらの実験結果を通じ、本研究は DMD への治療の可能性を明らかにした。本研究の結果により得られた知見は、DMD に対する遺伝子治療の実現性を示した点で画期的であり、学位の授与に値するものと考えられる。