

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィ(FSHD)市民公開講座
@大阪 2017/06/18

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィ(FSHD)の 治療を目指した基礎研究

本田 充

東京大学大学院 理学系研究科 生命科学専攻
学術振興会 特別研究員DC2

自己紹介

1989年 生まれ(平成元年)、(ほぼ)東京育ち

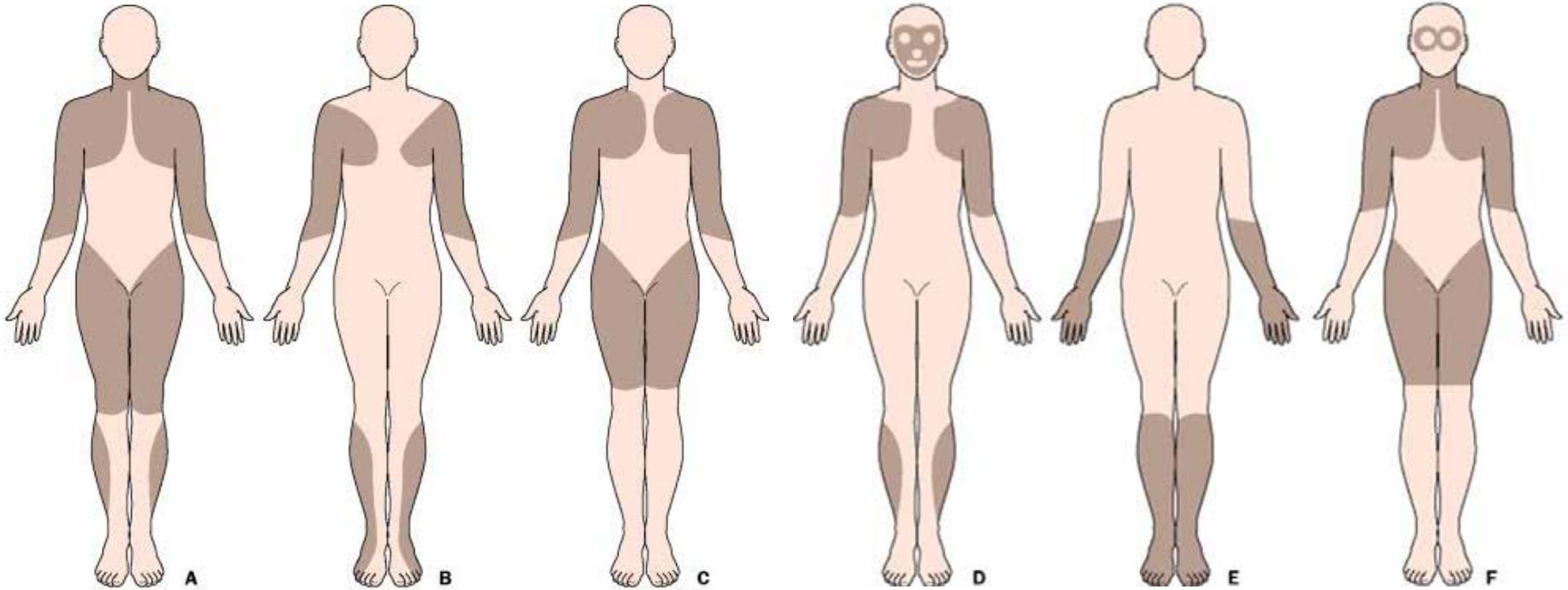
2002年 「**顔面肩甲上腕型 筋ジストロフィ**」と診断される(中学2年)

現在 大学院の博士課程3年の大学院生として、

筋ジスの研究@京都大学 iPS細胞研究所

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィ (FSHD) の
治療を目指した基礎研究

「筋ジストロフィ」は原因の違う筋疾患をまとめた総称である。



デュシェンヌ型
(DMD)
ベッカー型
(BMD)

エメリ・
ドレフュス型
(EDMD)

肢帯型
(LGMD)

顔面肩甲
上腕型
(FSHD)

遠位型
(DD)

眼咽頭型
(OPMD)

Emery AEH., (2002) *Lancet* modified

それぞれの型で有効な治療法も異なる！
FSHDにはFSHDのための治療法が必要！

病気の研究における基礎研究とは

基礎研究

- ・ 実験動物や培養細胞など「**病気のモデル**」を用いる。
- ・ なければ「**病気のモデル**」を創る。
- ・ 病気の解明や、治療の手がかりを見つける目的の実験。

こちらを今から
紹介します！

臨床研究・医薬品開発

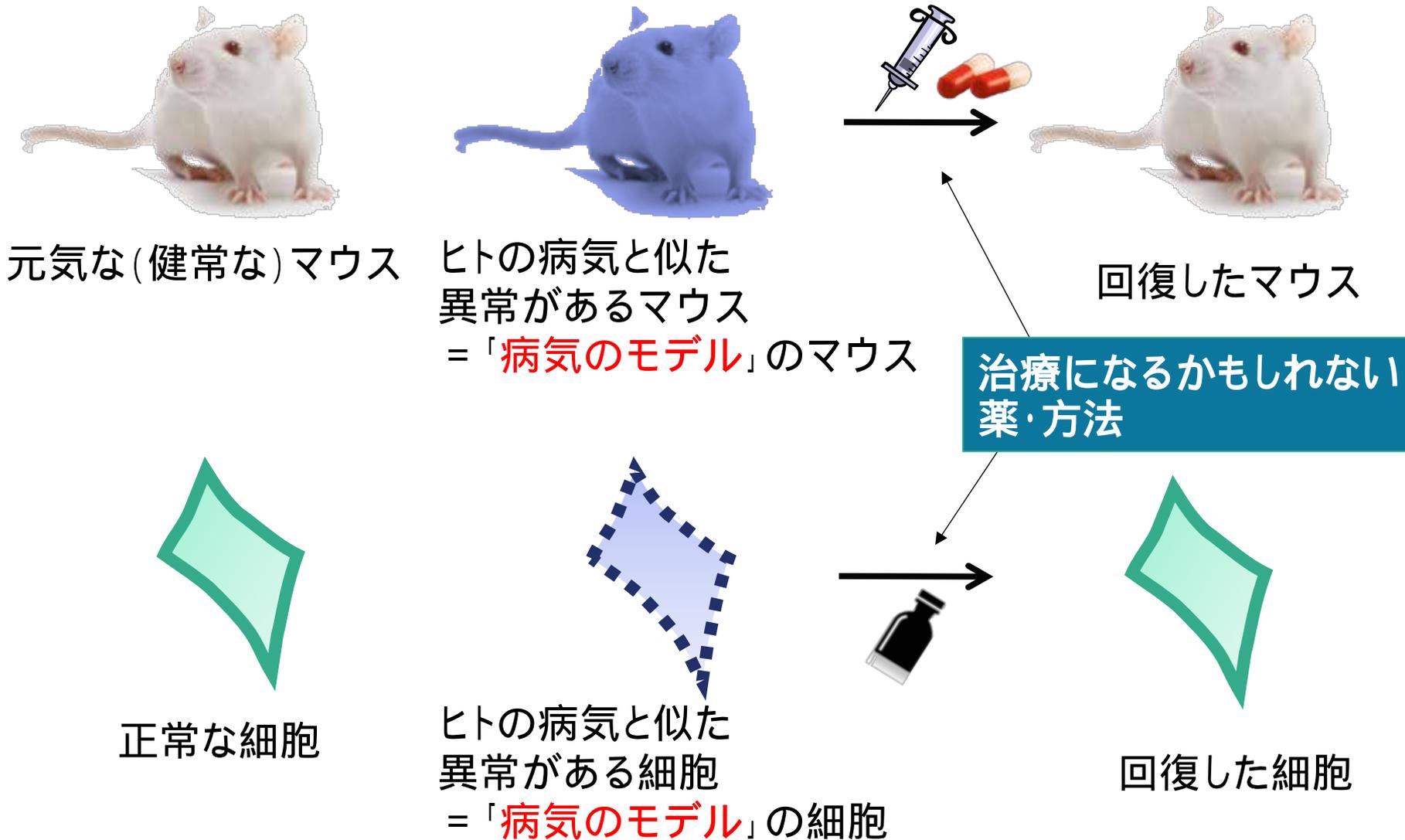
非臨床試験

- ・ 実験動物や培養細胞など「**病気のモデル**」を用いる。
- ・ 医薬品の効力や安全性を確かめる目的の実験。

臨床試験(治験)

- ・ ヒト(健常者や患者)に実際に医薬品を投与する。
- ・ 同じく、医薬品の効力や安全性を確かめる試験。

病気の研究における「病気のモデル」とは



これまでに報告された、FSHDの「病気のモデル」



DUX4の毒性に着目したモデル

ヒト・マウスの骨格筋の培養細胞を使ったモデル
- DUX4の強制発現
(アメリカ、フランスなどのグループでの研究例多数)

マウスを使ったモデル

- AAV6-DUX4 (アメリカ)
- D4Z4-2.5/12.5 (アメリカ・オランダ)
- iDUX-2.7 (アメリカ)

ゼブラフィッシュ(魚)を使ったモデル

- DUX4 transgenic (アメリカ)
- DUX4 RNA injection
(アメリカ、三橋先生)

その他のモデル

FSHD患者の筋肉(筋生検)を使ったモデル
- 骨格筋の培養細胞
(アメリカ、フランス、オランダ、ベルギーなどのグループでの研究例多数)
- Human muscle xenograft (アメリカ)
患者の筋生検の一部をマウスに移植して埋め込むモデル

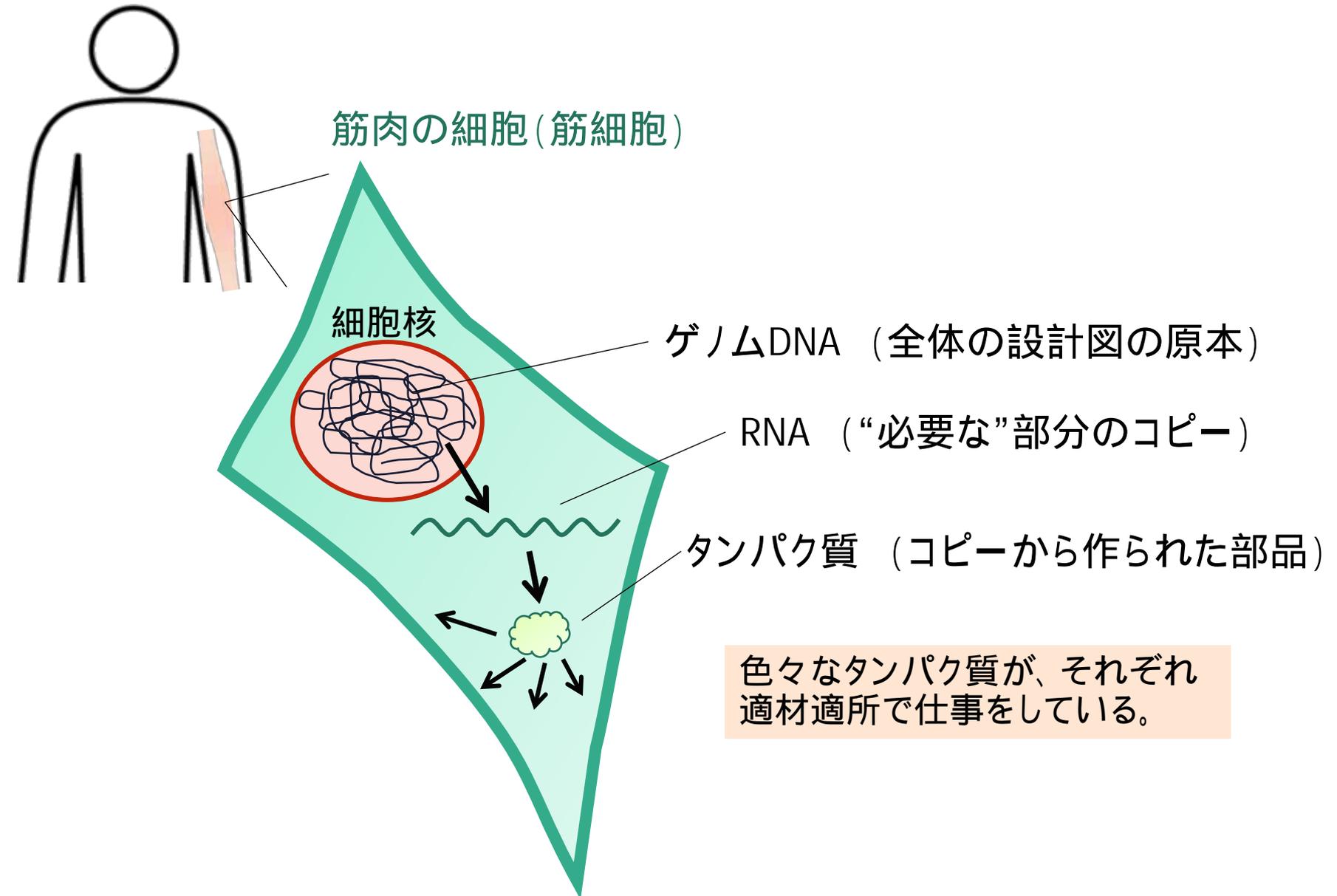
FSHD患者のES/iPS細胞を使ったモデル
(アメリカ・オーストラリア)

DUX4以外の遺伝子に着目したモデル

- FRG1 強制発現 マウス (アメリカ・イタリア)
- FAT1 ノックアウト マウス (フランス)
- Pitx1 強制発現 マウス (アメリカ)

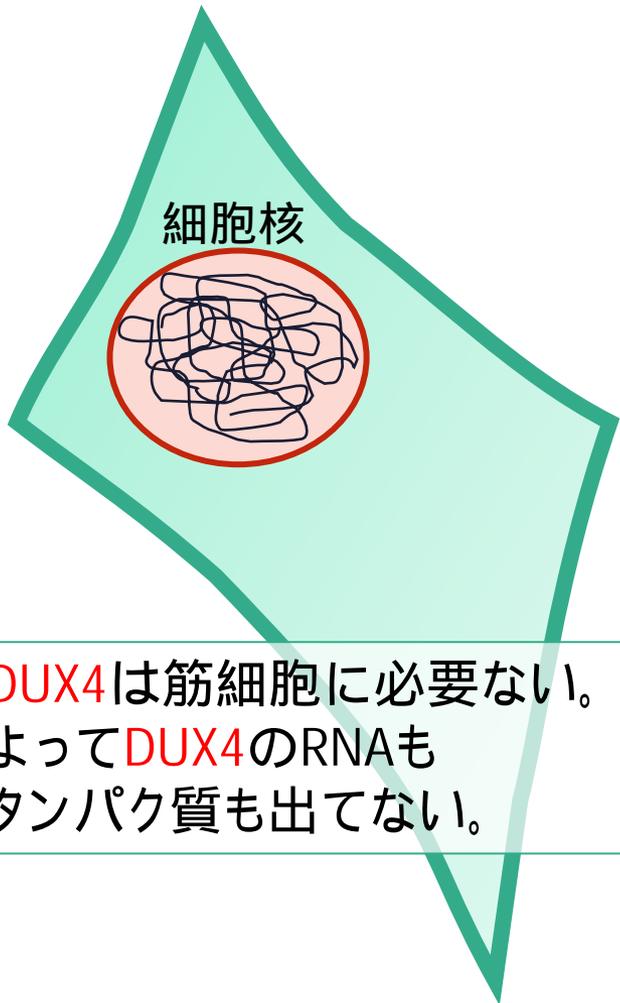
どうしたらFSHDを治せる？

細胞の話



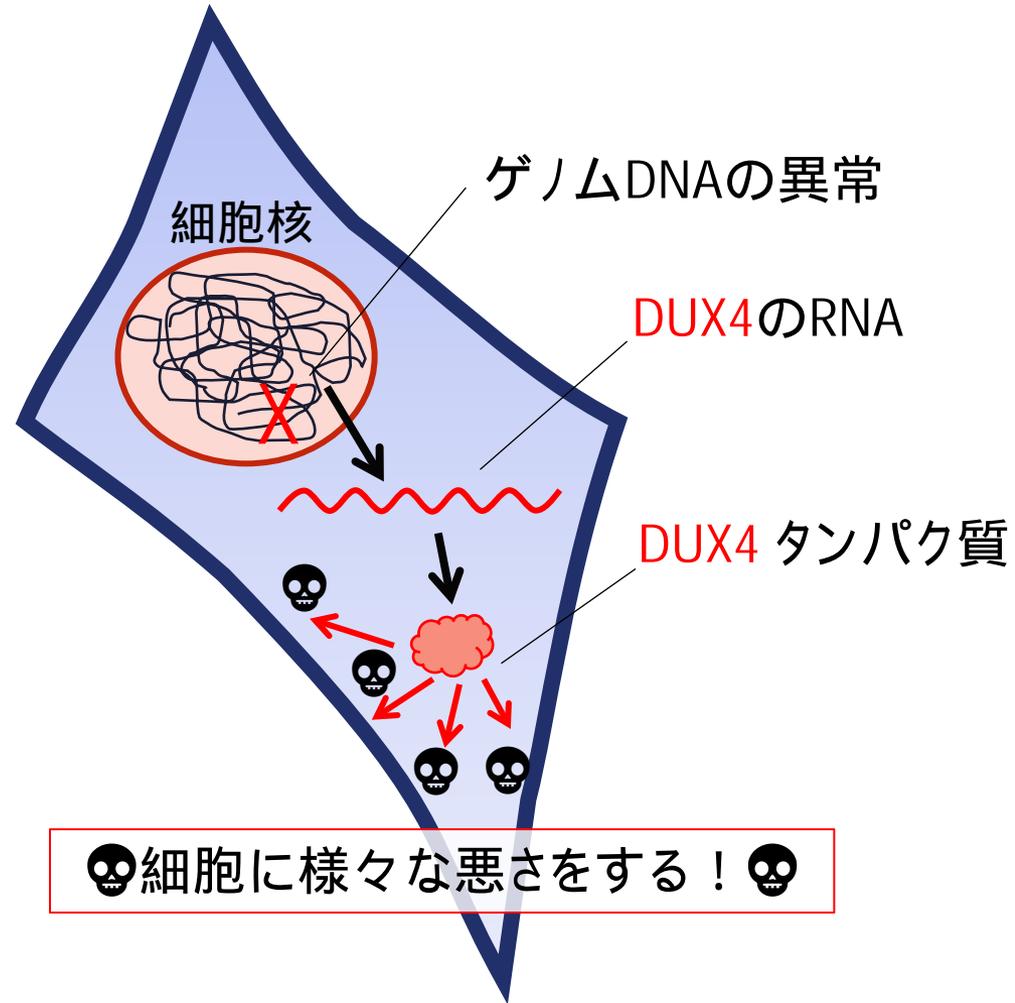
顔面肩甲上腕型 筋ジストロフィは、DUX4が諸悪の根源

健常者の筋細胞



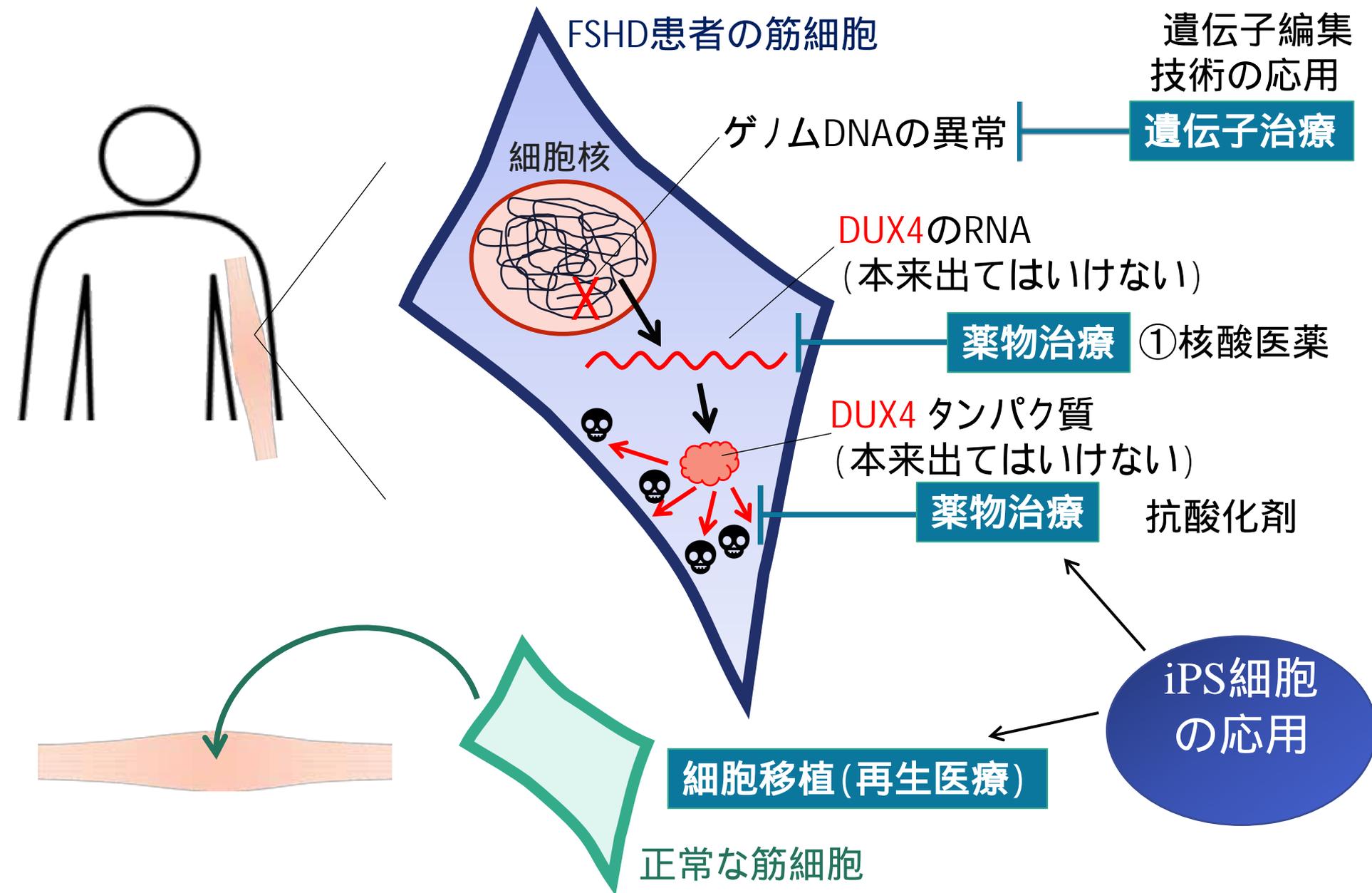
DUX4は筋細胞に必要ない。
よってDUX4のRNAも
タンパク質も出てない。

FSHD患者の筋細胞



☠細胞に様々な悪さをする！☠

考えられるFSHD治療の戦略



① 核酸医薬による、薬物治療の可能性

①核酸医薬(モルフォリノ)の可能性が示された。

Morpholino-mediated Knockdown of *DUX4* Toward Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy Therapeutics

Jennifer CJ Chen^{1,2}, Oliver D King^{1,2}, Yuanfan Zhang^{3,4}, Nicholas P Clayton⁵, Carrie Spencer^{1,2},
Bruce M Wentworth^{5,6}, Charles P Emerson, Jr^{1,2} and Kathryn R Wagner^{3,4,7,8}

Molecular Therapy vol. 24 no. 8, 1405–1411 aug. 2016

①核酸医薬(モルフォリノ)の可能性が示された。

Morpholino-mediated Knockdown of DUX4 Toward Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy Therapeutics

Jennifer CJ Chen^{1,2}, Oliver D King^{1,2}, Yuanfan Zhang^{3,4}, Nicholas P Clayton⁵, Carrie Spencer^{1,2},
Bruce M Wentworth^{5,6}, Charles P Emerson, Jr^{1,2} and Kathryn R Wagner^{3,4,7,8}

Molecular Therapy vol. 24 no. 8, 1405–1411 aug. 2016



薬物治療

①核酸医薬

- ・核酸医薬は、核酸(DNAやRNA)を材料にした医薬品。
- ・がんや遺伝性疾患など様々な病気の治療法として注目される次世代医薬。
- ・デュシェンヌ型筋ジストロフィ、筋強直性ジストロフィなどでも開発が進んでいる。
- ・核酸医薬の一つ「**モルフォリノ(PMO)**」。

DUX4のRNA



分解して減らす!

- ・この論文で、DUX4をターゲットにしたモルフォリノが、FSHDの「病気のモデル」において、効果があることが示された!

①核酸医薬(モルフォリノ)の可能性が示された。

Morpholino-mediated Knockdown of *DUX4* Toward Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy Therapeutics

Jennifer CJ Chen^{1,2}, Oliver D King^{1,2}, Yuanfan Zhang^{3,4}, Nicholas P Clayton⁵, Carrie Spencer^{1,2},
Bruce M Wentworth^{5,6}, Charles P Emerson, Jr^{1,2} and Kathryn R Wagner^{3,4,7,8}

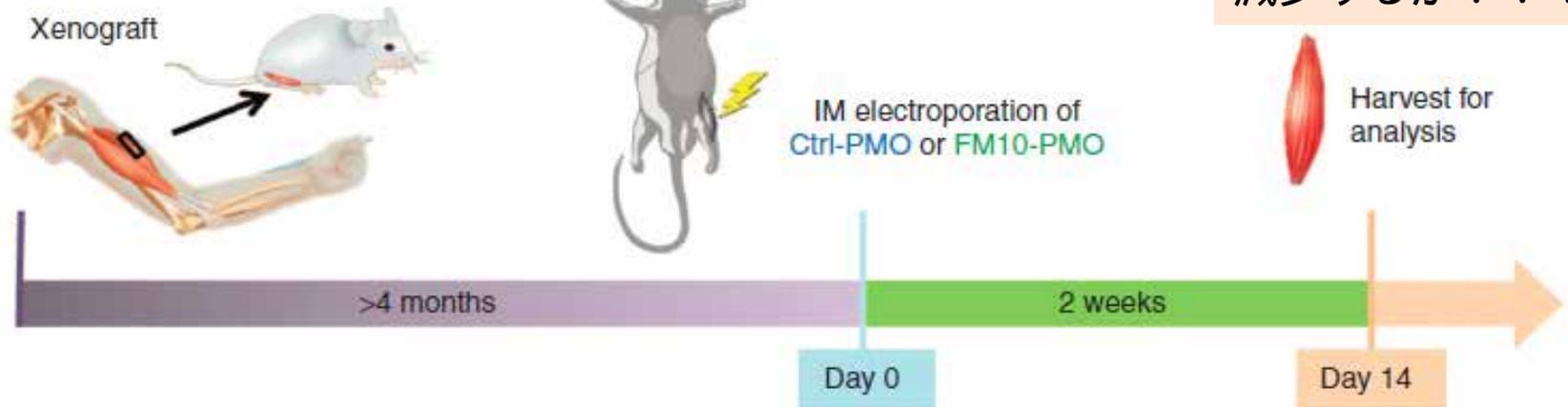
Molecular Therapy vol. 24 no. 8, 1405–1411 aug. 2016

論文で行われた実験の手順

患者の筋肉片(かけら)を
マウスの筋肉に移植
(=FSHDの「**病気のモデル**」)

モルフォリノを筋肉
に投与

果たして
DUX4のRNAは
減少するか???



①核酸医薬(モルフォリノ)の可能性が示された。

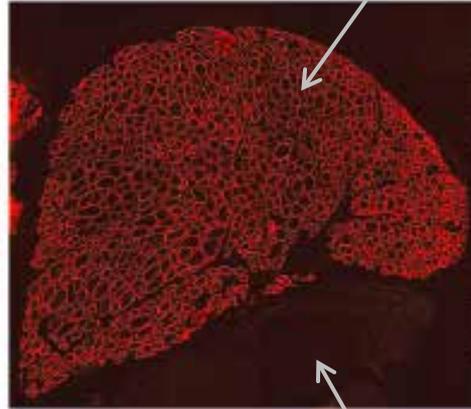
論文で行われた実験の結果

移植後のマウスから
筋肉をとってきた



ヒト由来の筋肉である証拠！

Human spectrin



移植後のマウスの筋肉に
患者の筋肉が生着した。

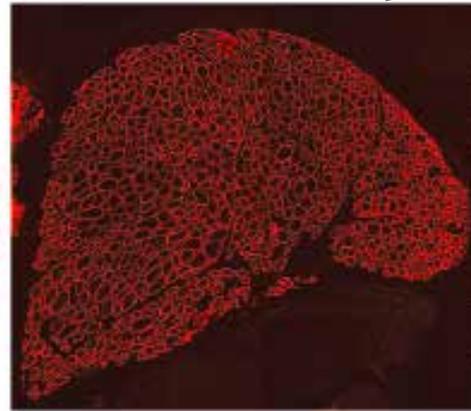
つまり、FSHDの「**病気のモデル**」が
きちんとできていた！

①核酸医薬(モルフォリノ)の可能性が示された。

論文で行われた実験の結果

移植後のマウスから
筋肉をとってきた

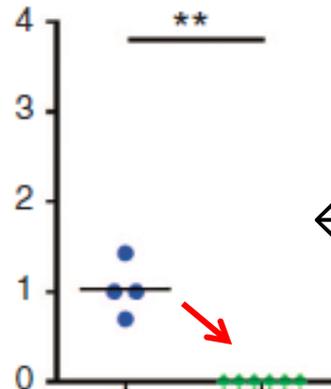
ヒト由来の筋肉である証拠！



移植後のマウスの筋肉に
患者の筋肉が生着した。

つまり、FSHDの「**病気のモデル**」が
きちんとできていた！

DUX4のRNAの量→

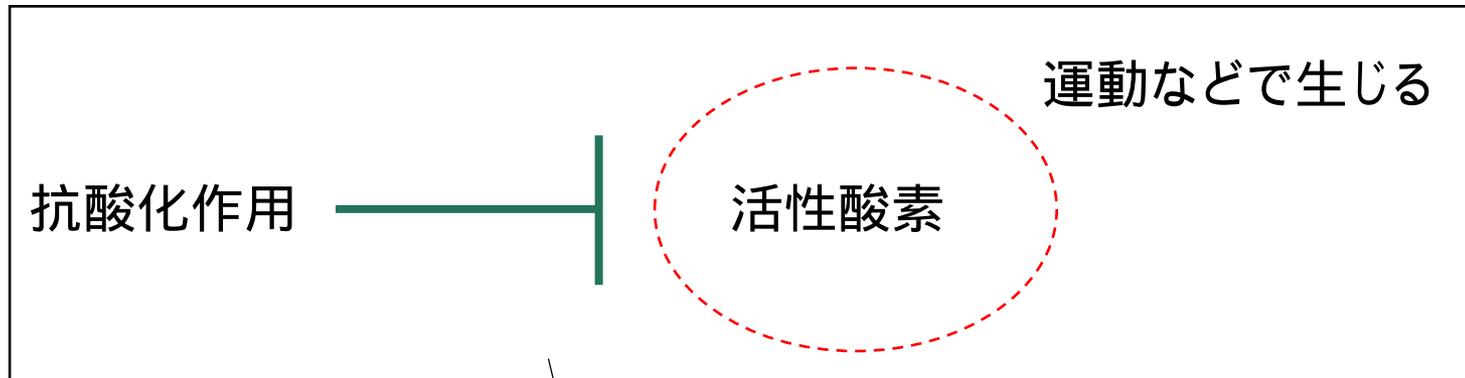


← DUX4をターゲットにした**モルフォリノ**の投与で、
DUX4の発現(RNAの量)が**下がった**！

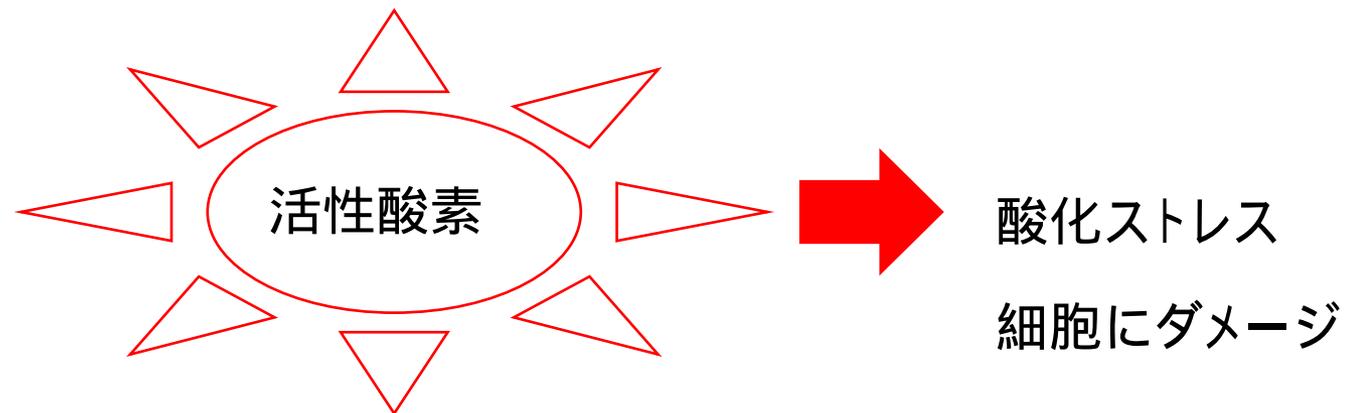
関係ないモルフォリノの投与
DUX4ターゲットのモルフォリノの投与

酸化ストレスを抑えることによる、薬物治療の可能性

酸化ストレスの話



バランスが崩れると、、、



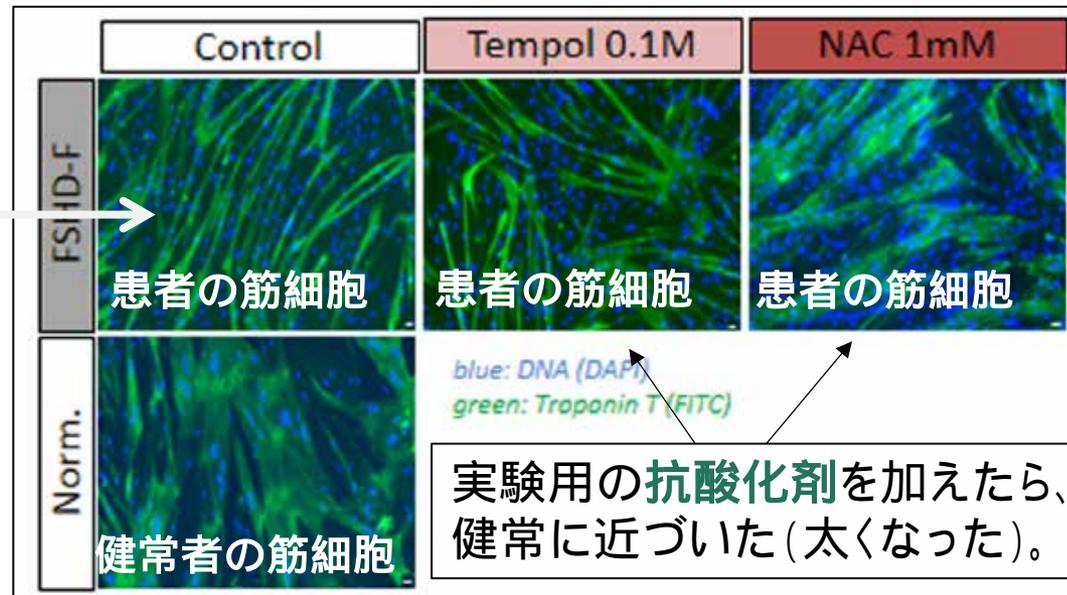
酸化ストレスがFSHDの病態に関係しているかもしれない。

DUX4-induced constitutive DNA damage and oxidative stress contribute to aberrant differentiation of myoblasts from FSHD patients



Petr Dmitriev^{a,b,1}, Yara Bou Saada^{a,1}, Carla Dib^a, Eugénie Anseau^d, Ana Barat^a, Aline Hamade^e, Philippe Dessen^c, Thomas Robert^c, Vladimir Lazar^c, Ruy A.N. Louzada^g, Corinne Dupuy^g, Vlada Zakharova^f, Gilles Carnac^b, Marc Lipinski^a, Yegor S. Vassetzky^{a,f,*}

Free Radical Biology and Medicine 99 (2016) 244–258



酸化ストレスのせいで、筋肉を再生する能力が低下しているかもしれない。

>>> 酸化ストレスを抑えれば、症状の悪化を食い止められるかも？

臨床研究：抗酸化剤の摂取で筋肉の機能が改善した。

Original Contribution

Effects of vitamin C, vitamin E, zinc gluconate, and selenomethionine supplementation on muscle function and oxidative stress biomarkers in patients with facioscapulohumeral dystrophy: A double-blind randomized controlled clinical trial



Emilie Passerieux^a, Maurice Hayot^b, Audrey Jausent^c, Gilles Carnac^a, Fares Gouzi^b, Fabien Pillard^d, Marie-Christine Picot^e, Koen Böcker^f, Gerald Hugon^a, Joel Pincemail^g, Jean O. Defraigne^g, Theo Verrips^h, Jacques Mercier^b, Dalila Laoudj-Chenivesse^{b,*}

Free Radical Biology and Medicine 81 (2015) 158–169

- ・ ビタミンC、ビタミンE、亜鉛、セレンといった抗酸化作用のある物質の摂取により、FSHD患者の筋肉の機能が、一部ではあるが、改善が見られた。
- ・ 具体的には、17週間の摂取したグループと、していないグループの比較で、随意最大筋力、持久力について効果あり。2分間歩行距離には効果なし。

過剰摂取については注意。サプリの使用などは必ず医師の指示を仰いで下さい。

遺伝子編集技術の応用による、遺伝子治療の可能性

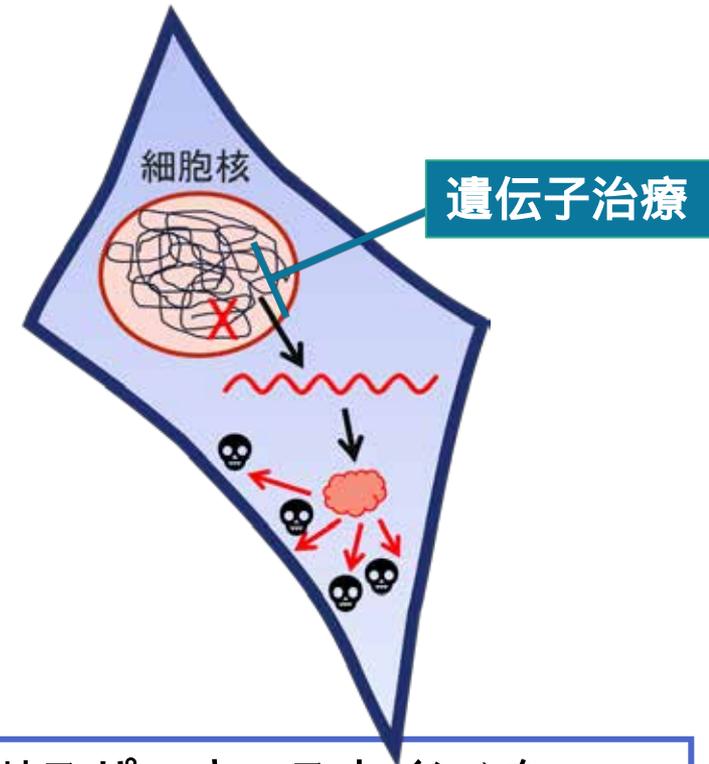
遺伝子編集技術の応用による治療の可能性が示された。

CRISPR/dCas9-mediated Transcriptional Inhibition Ameliorates the Epigenetic Dysregulation at D4Z4 and Represses *DUX4-fl* in FSH Muscular Dystrophy

Charis L Himeda¹, Takako I Jones¹ and Peter L Jones^{1,2}

¹The Department of Cell and Developmental Biology, University of Massachusetts Medical School, Worcester, Massachusetts, USA; ²The Department of Neurology, University of Massachusetts Medical School, Worcester, Massachusetts, USA

Molecular Therapy vol. 24 no. 3, 527–535 mar. 2016

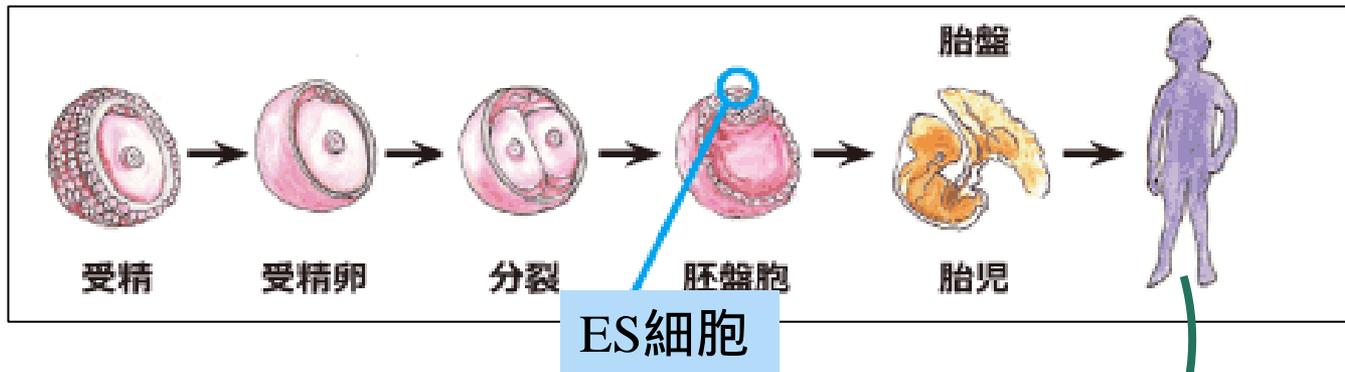


- ・ 今注目を集める遺伝子編集技術 CRISPR/Cas9 (クリスパーキャスナイン) を改造した技術 CRISPR/dCas9 を利用。
- ・ この技術を使って、DUX4のmRNAの量を減らすことに成功した。
- ・ CRISPR/Cas9とは違い、CRISPR/dCas9はゲノムDNAをいじる(編集する)わけではないので、比較的安全と考えられる。

iPS細胞の応用による治療の可能性

iPS細胞は、ES細胞の代わりの細胞

ES細胞： 胚性幹細胞 embryonic stem cell



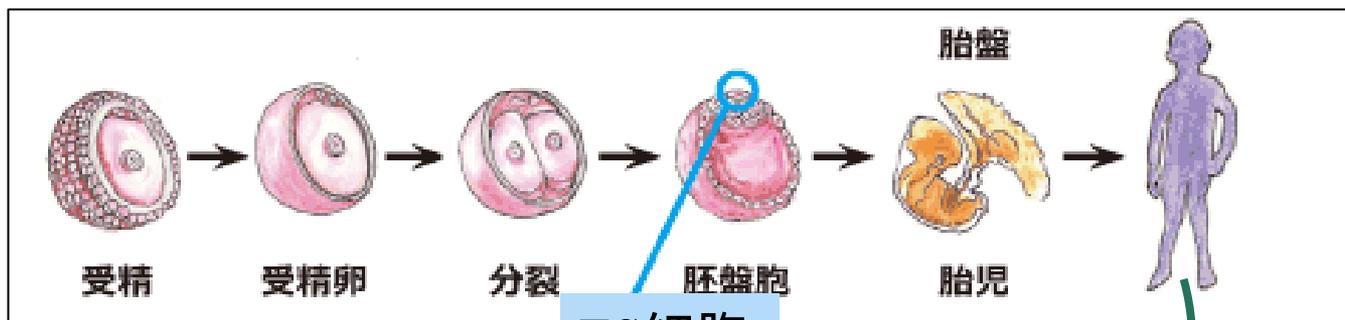
<https://www.secom.co.jp/zaidan/interview/toguchi-t4.html>

もとはといえば、
皮膚の細胞も、脳の細胞も、筋肉の細胞も、
みんなES細胞からできていた！

iPS細胞は、ES細胞の代わりの細胞

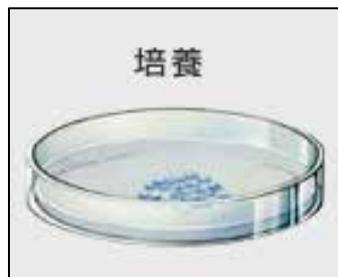
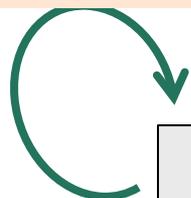
ES細胞： 胚性幹細胞 embryonic stem cell

<https://www.secom.co.jp/zaidan/interview/toguchi-t4.html>

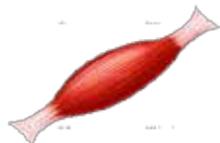
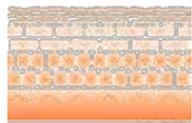


無限に増殖できる！

ES細胞



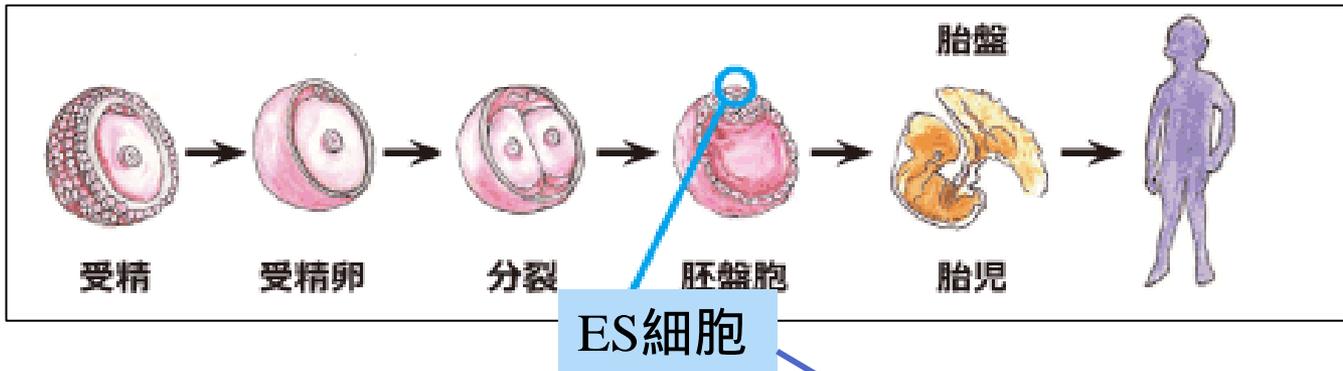
もとはといえば、
皮膚の細胞も、脳の細胞も、筋肉の細胞も、
みんなES細胞からできていた！



言い換えると、
ES細胞は、いろんな細胞に変化(分化)する
能力を秘めている！

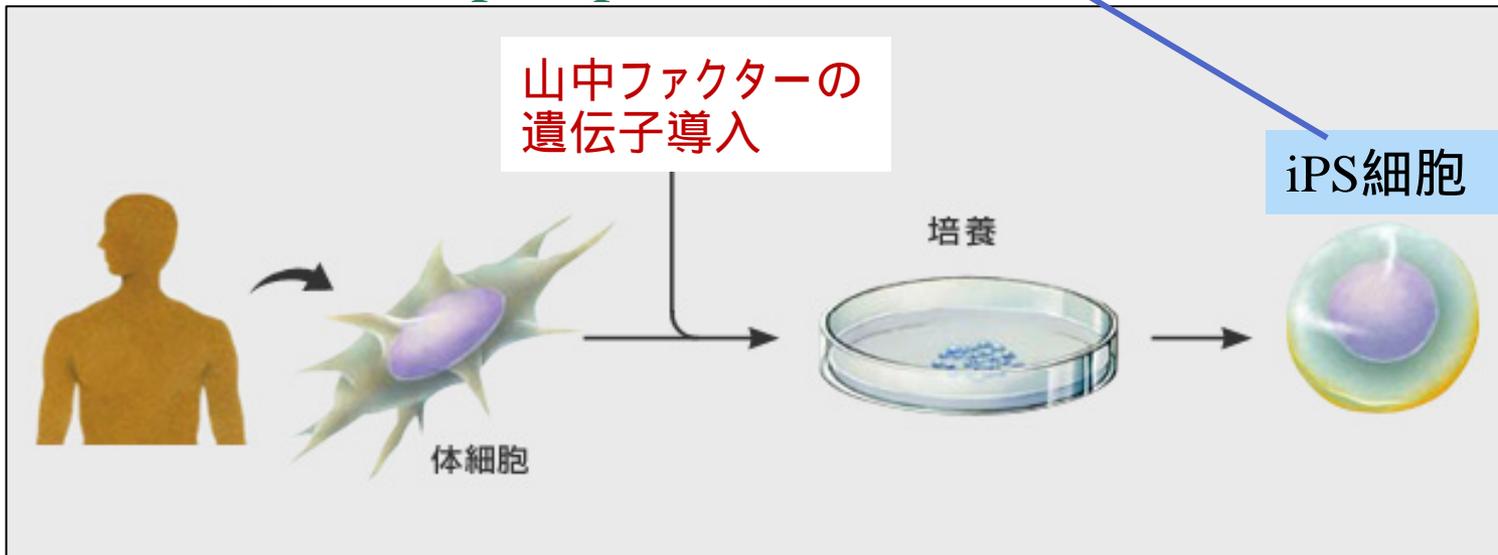
iPS細胞とは、人工的につくったES細胞

ES細胞： 胚性幹細胞 embryonic stem cell



<https://www.secom.co.jp/zaidan/interview/toguchi-t4.html>

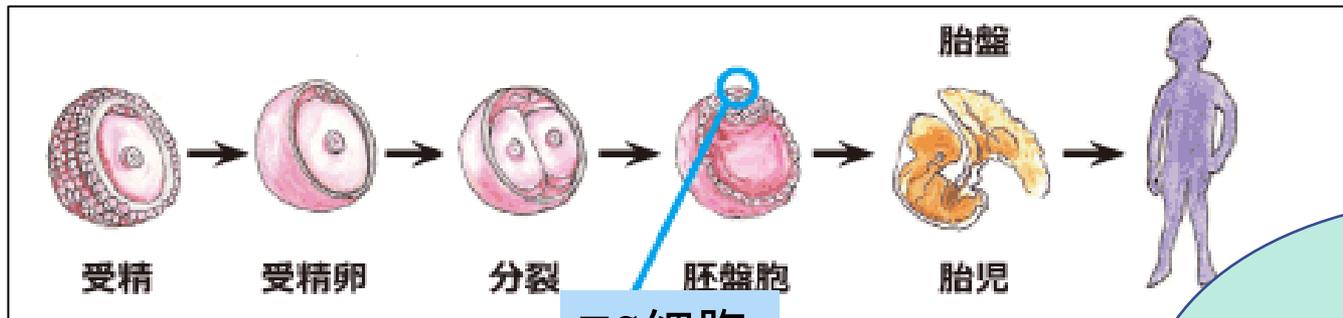
iPS細胞： 人工多能性幹細胞
induced pluripotent stem cell



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

iPS細胞とは、人工的につくったES細胞

ES細胞： 胚性幹細胞 embryonic stem cell

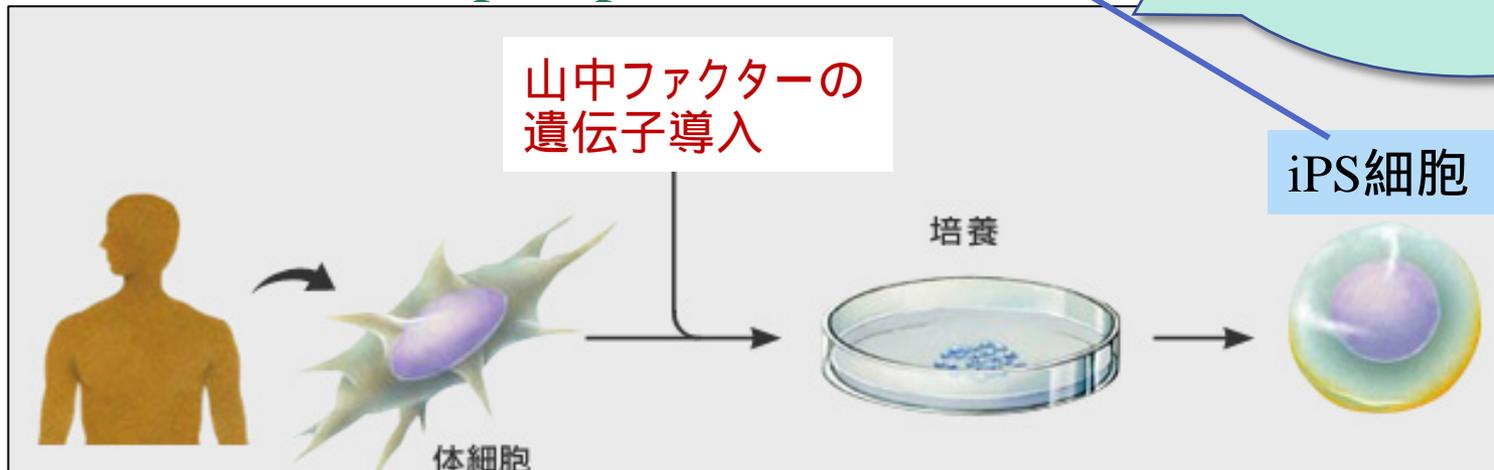


<https://www.secom.co.jp/zaidan/interview/toguchi-t4.html>

共通点

- ・無限に増殖できる！
- ・様々な種類の細胞に変化(分化)することが出来る！

iPS細胞： 人工多能性幹細胞
induced pluripotent stem cell



あらゆるヒトから、“ES細胞”のような細胞が作れるようになった！

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

iPS細胞を用いた筋ジストロフィの治療法には2種類ある。



櫻井英俊先生

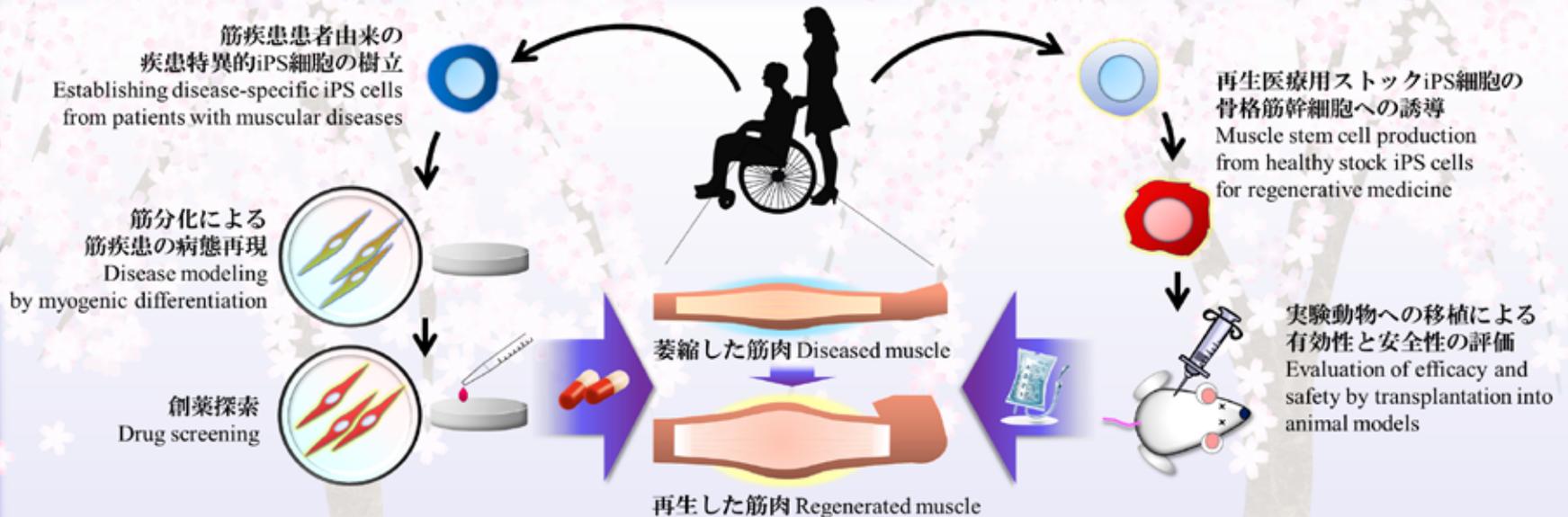
櫻井研究室の紹介



京都大学iPS細胞研究所

疾患iPS細胞を用いた創薬
Drug Discovery with Disease-specific iPS Cells

iPS細胞由来骨格筋幹細胞による再生医療
Regenerative Medicine
with iPS Cell-derived Muscle Stem Cells



2つの戦略であらゆる筋疾患の治療を目指します。
We aim to cure all kinds of muscular diseases with the two strategies.

iPS細胞を用いた筋ジス治療方法、1つ目

疾患iPS細胞を用いた創薬 Drug Discovery with Disease-specific iPS Cells

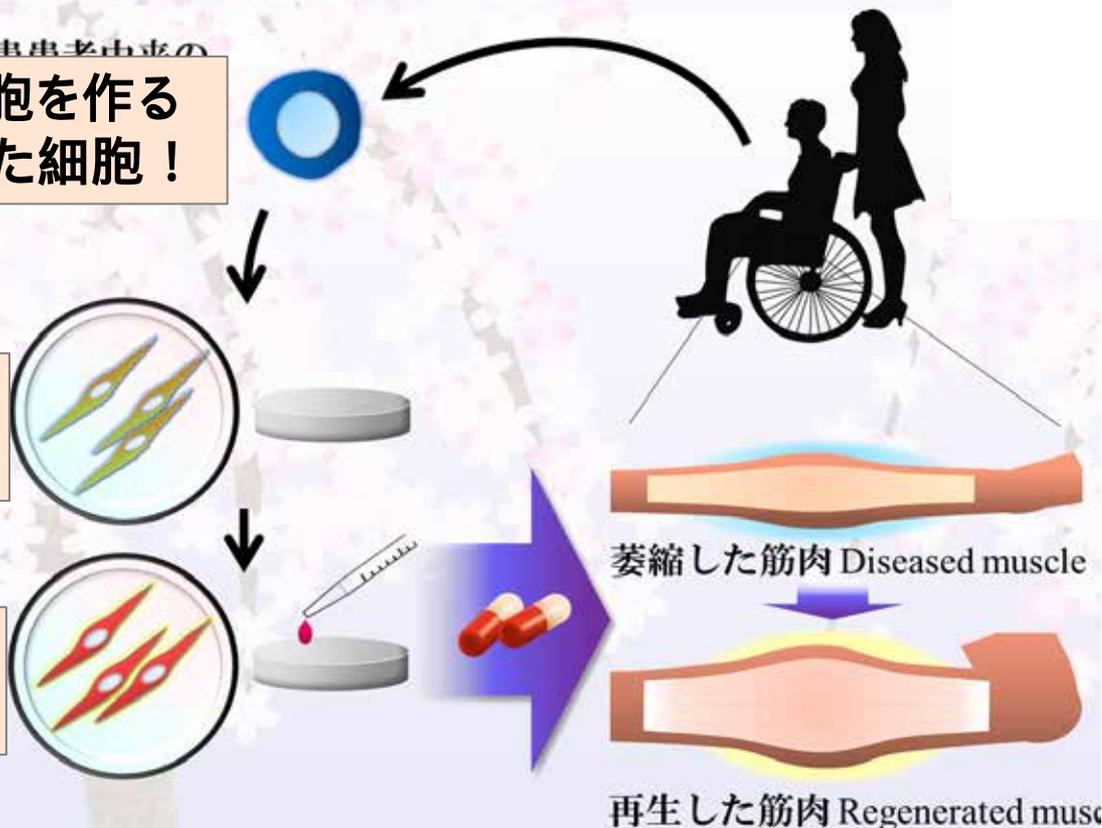
筋ジスの患者さまから iPS細胞を作る
= 筋ジスになる原因を持った細胞！

iPS細胞を筋肉の細胞にして、
「病気のモデル」を創る

「病気のモデル」が治るよう
な化学物質(薬)を見つける

筋疾患患者由来の

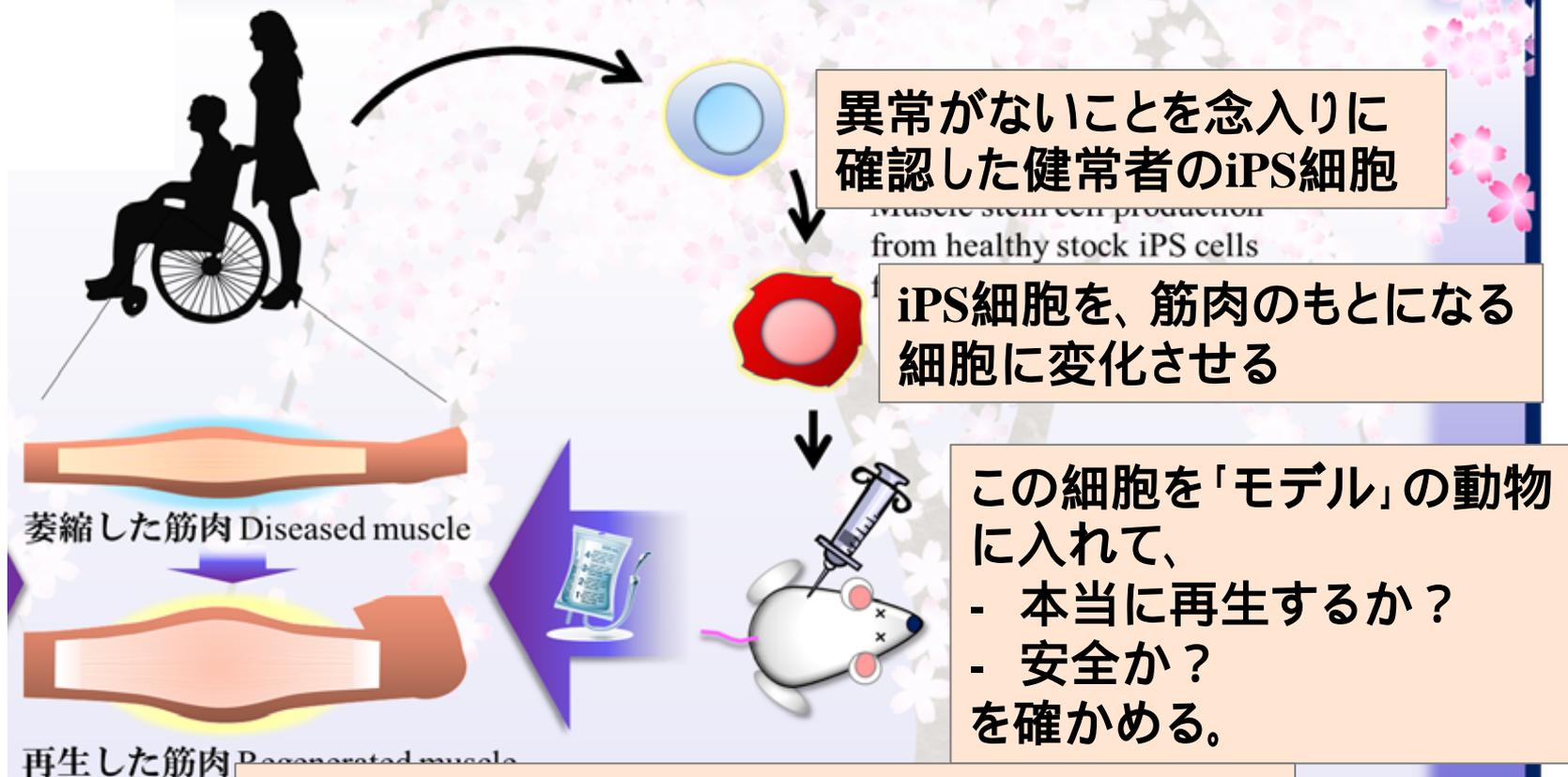
筋分化による



患者の筋肉が、薬で治せるかも！

iPS細胞を用いた筋ジス治療方法、2つ目

iPS細胞由来骨格筋幹細胞による再生医療 Regenerative Medicine with iPS Cell-derived Muscle Stem Cells



この細胞を患者にいれたら、
弱った筋肉が復活(再生)するかもしれない！

本日のメッセージ

- ・ 私たちが本当に必要なのは、「顔面肩甲上腕型」の筋ジストロフィのための治療法です！
- ・ ここ数年で、生命科学の技術が進み、顔面肩甲上腕型についても、さまざまな治療法の可能性が出てきています！
- ・ 病気であることに落ち込まず、今できることを大切にして、来たる治療法の確立を待ちましょう！