

## 綜 説

アンチセンス核酸を用いた  
デュシェンヌ型筋ジストロフィー治療の進歩佐藤 充人<sup>1)\*</sup> 中村 昭則<sup>2)</sup>

1) 信州大学医学部内科学第三教室

2) 独立行政法人国立病院機構まつもと医療センター臨床研究部

Advances in the Treatment of Duchenne Muscular  
Dystrophy Using Antisense OligonucleotidesMitsuto SATO<sup>1)</sup> and Akinori NAKAMURA<sup>2)</sup>

1) Department of Medicine (Neurology and Rheumatology), Shinshu University School of Medicine

2) Department of Clinical Research, National Hospital Organization Matsumoto Medical Center

**Key words:** Duchenne muscular dystrophy, Becker muscular dystrophy, antisense oligonucleotides, exon skipping therapy, clinical trial

デュシェンヌ型筋ジストロフィー, ベッカー型筋ジストロフィー, アンチセンス核酸, エクソン・スキップ治療, 臨床治験

## I はじめに

筋ジストロフィーとは病理学的に筋線維の変性・壊死と再生の混在を主病変とし, 進行性の筋萎縮と筋力低下をみる遺伝性筋疾患の総称である<sup>1)</sup>。近年の分子遺伝学の進歩により原因遺伝子およびその遺伝子産物が次々と明らかになっているが<sup>2)</sup>, 筋ジストロフィーの多くの例を占めるデュシェンヌ型筋ジストロフィー (Duchenne muscular dystrophy: DMD) では近年, アンチセンス核酸を用いて DMD の分子病態に介入するエクソン・スキップ治療薬の開発が国内外で進んでいる。本稿では DMD におけるアンチセンス核酸医薬開発の現状とエクソン・スキップ治療について概説する。

II デュシェンヌ型筋ジストロフィー  
(Duchenne muscular dystrophy: DMD)

DMD は DMD 遺伝子 (Xp21.2) の変異により骨格筋筋質膜の安定に重要なタンパク質であるジストロ

フィンが欠損する X 染色体連鎖性の遺伝性疾患であり, 疾患頻度は新生男児 3,500-5,000 人に 1 人, 人口 10 万人に 3~5 人とされている<sup>3)4)</sup>。3~5 歳に転びやすいなどで異常に気づかれるが, 本邦では乳幼児期にクレアチンキナーゼ (CK) や AST, ALT の高値で偶然に発見されることも多い。腓腹筋肥大や, 特徴的な登攀性起立 (Gowers 徴候) を呈し, 多くは 10 歳前後に歩行不能となる。また 10 歳代後半に呼吸不全や心筋症を認めるようになるが<sup>5)6)</sup>, 近年の呼吸不全および心不全の管理の進歩により寿命は 30 歳を超え, 40 歳以上の生存例も増えている<sup>7)8)</sup>。

## III DMD の分子病態機構

DMD は, 筋筋質膜下タンパク質であるジストロフィン (Dystrophin) をコードする DMD 遺伝子の変異によって引き起こされる。この遺伝子は Xp21 遺伝子座に位置し, 2,500kb の長さで 79 個のエクソンからなるヒトの遺伝子の中で最も長い遺伝子である<sup>1)</sup>。ジストロフィンは筋筋質膜直下に存在し, N 末端のアクチン結合ドメイン, 24 個のスペクトリン様反復モチーフからなるロッドドメイン, C 末端に隣接しジストログリカンおよびサルコグリカン複合体と相互作用するシステインリッチドメインからなる棒状の構造をして

\* 別刷請求先: 佐藤 充人 〒390-8621

松本市旭 3-1-1 信州大学医学部内科学第三教室

(脳神経内科, リウマチ・膠原病内科)

E-mail: msato@shinshu-u.ac.jp

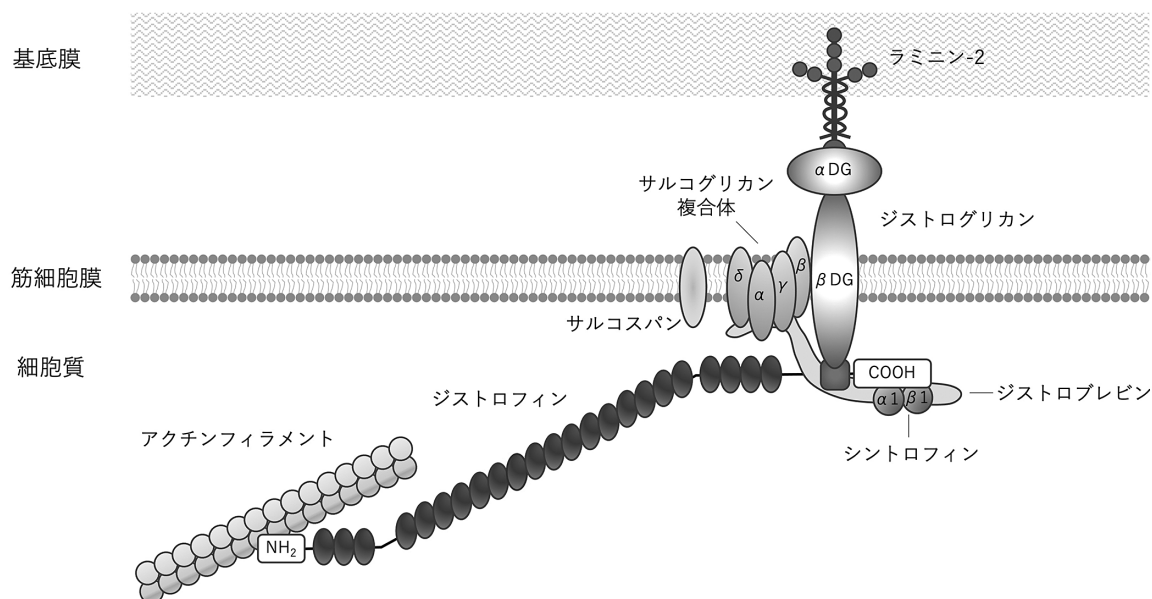


図1 ジストロフィンおよびジストロフィン関連糖タンパク質複合体 (DGC)

いる。ジストロフィンはジストロフィン関連糖タンパク質複合体 (DGC) を形成し、細胞骨格から筋形質膜を介して基底膜までを連結している (図1)。このジストロフィンによる細胞膜骨格と基底膜との架橋構造は筋形質膜を筋収縮による障害から保護し、DGCは細胞外基質から細胞質へのシグナル伝達にも関与していると考えられている<sup>9)</sup>。DMDではジストロフィンの欠損により、筋肉の形質膜が機械的ストレスに対して脆弱になり、カルシウムイオンの透過性が亢進して細胞内カルシウム濃度が上昇し、カルパインなどのカルシウム依存性プロテアーゼの活性化や、様々な炎症性ケモカインやサイトカインが誘導され、筋変性や壊死に至ると考えられている<sup>10)</sup>。他にも、神経型一酸化窒素合成酵素 (nNOS)<sup>11)</sup>、アクアポリン4<sup>12)</sup>、L型カルシウムイオンチャネル<sup>13)</sup>、ストレッチ感受性カルシウムチャネル<sup>14)</sup>などの発現や機能の異常がDMDの病態と関連していることが示唆されている。

#### IV DMD 遺伝子変異パターンと表現型

DMD 遺伝子の変異として、欠失、挿入、重複、ミスセンス、ナンセンスなどが同定されているが、本邦の報告では1個ないし複数のエクソンの欠失が60%、重複が8%にみられ、残りがナンセンス変異やスプライシング変異、1ないし数塩基の欠失・挿入変異などの微小変異とされる<sup>15)</sup>。特に、エクソン3-8領域及び45-55領域の2カ所に欠失・重複変異が集中するホットスポットが存在しており、エクソン45-55領域

はDMD 遺伝子変異全体の約60%を占めるとされている<sup>16)</sup>。遺伝子変異パターンで最も頻度の高い欠失変異では、変異によるアミノ酸の読み枠のずれによる「フレームシフト仮説」が提唱されている<sup>16)</sup>。これは欠失するエクソンの塩基の総計が3の倍数の場合 (イン・フレーム変異) には不完全な短縮したジストロフィンが形成されてDMDより軽症のベッカー型筋ジストロフィー (Becker muscular dystrophy : BMD) の表現型をとり、3の倍数でない場合 (アウト・オブ・フレーム変異) にはジストロフィンが形成されず重症のDMDの表現型をとるというもので、ジストロフィンのロッドドメインに生じた変異のほとんどを説明可能とする<sup>17)</sup>。図2にエクソン52欠失変異DMDとエクソン52-53欠失変異BMDのフレームシフト仮説を示した。エクソン52欠失変異を持つDMDでは、118 (3の倍数+1) 塩基対の欠失が起こり、アミノ酸の読み取り枠がずれてストップコドンが出現するためにジストロフィンは形成されない。一方、エクソン52-53欠失変異を持つBMDでは118+212=330 (3の倍数) 塩基対の欠失のためアミノ酸の読み取り枠が保持され、短縮はしているが機能を有したジストロフィンが形成される。しかし同じイン・フレーム変異の中でも、エクソン3-9欠失例<sup>18)</sup>やエクソン45-55欠失例<sup>19)20)</sup>のように軽微な骨格筋症状と高CK血症を呈するのみの例もあれば、DMDと変わらない重度の筋萎縮・筋力低下を示す例も存在している。

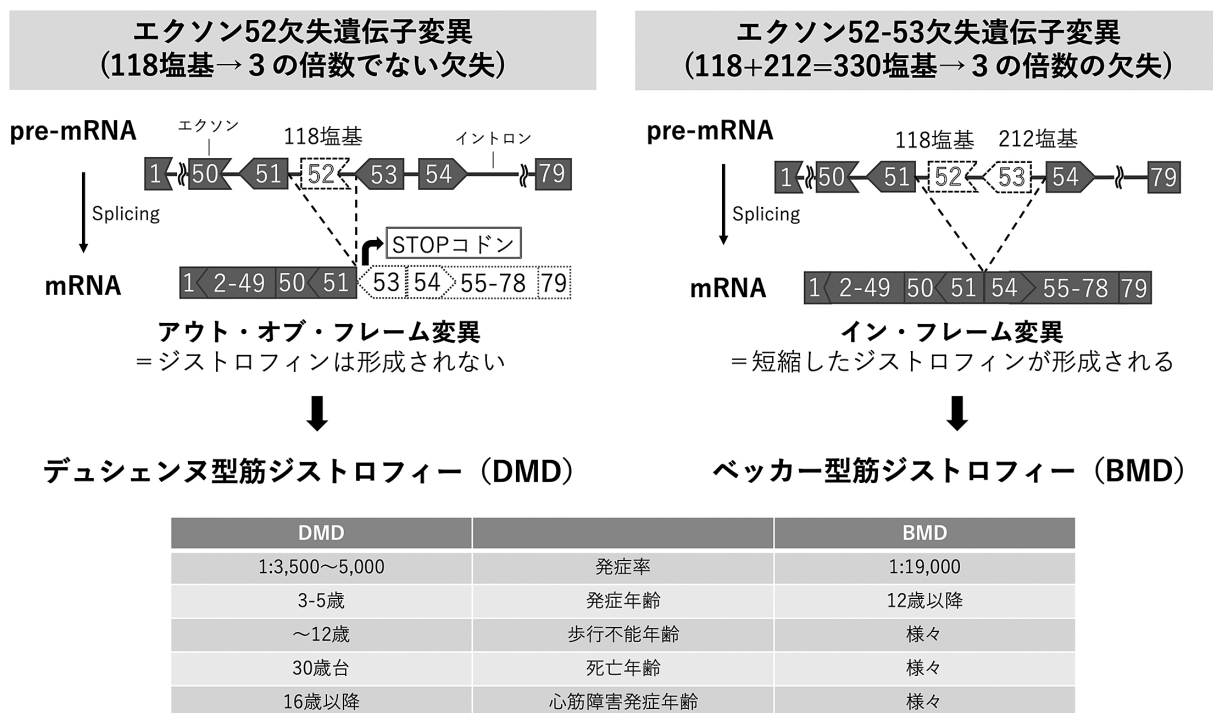


図2 DMD 遺伝子変異 (フレームシフト理論)

## V DMD の治療

DMD の治療アプローチには、① ジストロフィン欠失による病態を代償する治療と、② 欠失したジストロフィンの発現を回復させる治療の2つがある。

ジストロフィン欠失による病態を代償する治療として、DMD の進行性の筋力低下に対して唯一進行予防のエビデンスが得られている薬剤はステロイドであり<sup>21)</sup>、本邦でも2013年にプレドニゾロンが保険適用されている。ステロイドのDMDに対する薬理効果のメカニズムは未知の点も多いが、筋のタンパク分解の抑制や筋線維膜の安定化、抗炎症作用などが考えられている。ステロイド内服によって歩行期間の延長、上肢機能の維持、呼吸機能維持、脊柱変形防止などへの有効性が示唆されている<sup>22)</sup>。ステロイド治療は6か月から2年間の短期間においては筋力と筋機能を改善するエビデンスが得られているが<sup>23)24)</sup>、より長期投与の有効性、歩行可能期間の延長についてはまだエビデンスが十分得られていない<sup>4)</sup>。他に現在臨床研究が進められている治療薬としてはプロスタグランジンD合成酵素阻害薬<sup>25)</sup>、マイオスタチン阻害薬<sup>26)</sup>やユートロフィン発現促進薬<sup>27)</sup>などがある。

前述のように、DMD はジストロフィンの欠失が病因であることから、ジストロフィン発現回復がDMD

の進行を阻止する根本的な治療法と考えられ、ジストロフィンの発現回復を目指した治療法開発が行われてきた。現在開発されている治療法には、エクソン・スキップ治療<sup>28)</sup>、リード・スルー治療<sup>29)</sup>、ウイルスベクターを用いた遺伝子治療<sup>30)</sup>、細胞移植治療<sup>31)</sup>があり、そして近年はCRISPR/Cas9システムを用いたゲノム編集治療<sup>32)</sup>も開発が進んでいる。なかでも「アンチセンス核酸医薬」を用いたエクソン・スキップ治療の開発が活発化しており、2016年9月にエクソン51スキップ薬であるエテプリルセン (Exondys51<sup>®</sup>, 米サレブタ社) が条件付き承認され、新たな治療ステージに入った。

## VI アンチセンス核酸医薬とは

一般に、核酸医薬とは「天然型または化学修飾型の核酸を基本骨格とした薬物であり、遺伝子発現を介さずに直接生体に作用するもので、化学合成により製造される医薬品」を言う。構造、標的、作用部位や作用機序などの違いから分類され、アンチセンス核酸、siRNA、miRNA、デコイ、アダプタマー、CpG オリゴなど薬剤の形態は多様である。これら核酸医薬は高い特異性を持ち、mRNA やノンコーディング RNA などの細胞内標的分子をターゲットとすることも可能であり、新しい創薬モダリティとして注目されている。

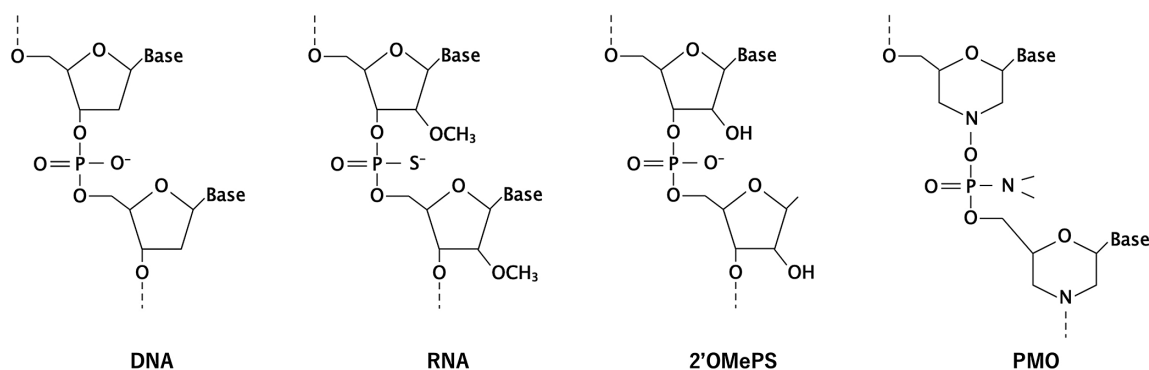


図3 2'-O-Methylphosphorothioates (2'OMePS) および Phosphorodiamidate morpholino oligomers (PMO) の化学構造

DMD の治療においては、20～30塩基程度の短い本鎖アンチセンス核酸（Antisense oligonucleotides：ASO）が用いられる<sup>33)</sup>。アンチセンス核酸は標的とする RNA（pre-mRNA, mRNA, miRNA など）と相補的な配列に設計し、DNA/RNA 二重鎖を形成することで標的 RNA の機能を抑制する。ASO の作用には、① RNA の機能阻害（Steric blocking 機構）と切断誘導（RNase H 依存機構）、② pre-mRNA のスプライシング抑制があり、DMD では後者の作用を用いた治療法が開発されている。前述のように ASO は短い DNA を基本構造としており、核酸分解酵素（ヌクレアーゼ）によって容易に切断されてしまう。そこで様々な化学修飾が施されて安定化が図られてきた。現在、最も使用されている化学修飾は2'-O-Methylphosphorothioates (2'OMePS) と Phosphorodiamidate morpholino oligomers (PMO) である（図3）。2'OMePS は RNA のリボース環の2'-OH 基をメチル化した構造をもつ。低コストで合成が可能というメリットはあるが、負電荷を持ち、Toll-like receptor のような免疫細胞受容体と反応しやすいというデメリットがある<sup>34)</sup>。対して PMO からなるモルフォリノ化合物（モルフォリノ核酸）は DNA のデオキシリボース環をモルフォリン環に置換した核酸類縁体であり、標的とする pre-mRNA に対して強い配列特異的結合を可能とする。また水溶性で静脈内投与が可能、電荷を持たないため血清タンパクとの相互作用が少ない、Toll-like receptor を介した免疫反応を引き起こさない、などの利点を有している。欠点としては、大部分が腎排泄されて血中半減期が短く、高い容量・反復投与が必要、心筋や横隔膜へのデリバリー能が低い、血液脳関門の透過性が低いことなどが挙げられる。近年は PMO に

細胞膜透過性ペプチドを修飾し、血中への滞留性と細胞膜透過性を向上させた Vivo-morpholinos や Peptide conjugated morpholinos (PPMO) が開発されている。PPMO はすでに DMD に対する臨床試験が開始されており（Sarepta 社、第Ⅱ相試験）、その有効性が期待される。

## Ⅶ アンチセンス核酸によるエクソン・スキップ治療

前述のフレームシフト仮説を基に、アミノ酸の読み取り枠を修正することでジストロフィンの発現回復を目的とした治療開発が進められてきた。DNA が翻訳されると、まずイントロンとエクソンが存在した状態の pre-mRNA が作られる。これがスプライシングという過程を経て、イントロンが除去されてアミノ酸がコードされたエクソンが繋ぎ合わされ、成熟 mRNA が形成される（図4）。このスプライシングの過程において、pre-mRNA にアンチセンス核酸を作用させることで特定のエクソンをスキップすること（エクソン・スキッピング）や、通常とは異なるスプライシング様式に誘導して除去される運命にあったエクソンを除去されない様に誘導すること（エクソンインクルージョン）が可能となる。DMD ではアンチセンス核酸によって、ジストロフィン mRNA 前駆体のスプライシングを調整し、アウト・オブ・フレームの原因となるエクソンを取り除いて（イン・フレーム化）、機能的な短縮型ジストロフィン・タンパク質を発現回復させる「エクソン・スキップ治療」が開発された。言い換えれば DMD をより軽症な表現型を呈する BMD に近づけることを目標とした治療であり、エクソン欠失変異を持つ DMD 患者の80%に有効であるとされる<sup>35)</sup>。図4にはエクソン52欠失変異を有する DMD に



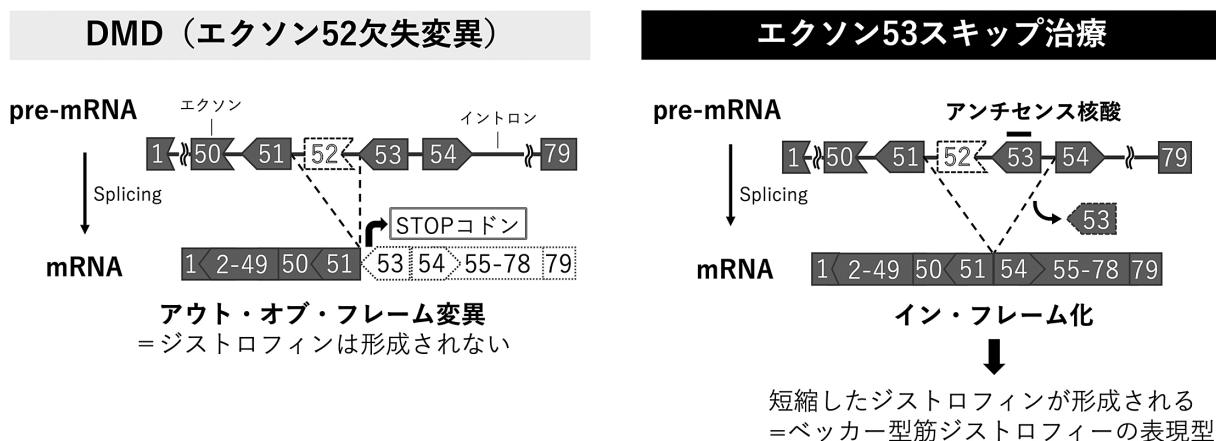


図4 エクソン・スキップ治療の概念 (例: エクソン52欠失に対するエクソン53スキップ治療)

対するエクソン53スキップ治療の概念を示した。エクソン53のスプライシング関連部位に相補的な配列を有したアンチセンス核酸が結合することで、エクソン53のスプライシングを阻害することにより mRNA でのアミノ酸読み取り枠が3の倍数に修正 (イン・フレーム化) された結果、除かれたエクソンの分だけ短いジストロフィンの発現が回復する。

#### VIII エクソン・スキップ治療薬開発の現状

エクソン・スキップ薬の先駆けは2'OMePSを使用した Drisapersen (BioMarin 社) であったが、不十分な治療効果と、注射部位反応や近位尿細管障害などの有害事象などの懸念から米国 FDA での承認が得られなかった。その後、世界初のエクソン・スキップ治療薬として2016年9月にエクソン51スキップ核酸医薬のエテプリルセン (Exondys 51<sup>®</sup>, Sarepta 社)<sup>36)</sup>が FDA で条件付き承認され、2019年12月にはゴロディルセン (Vyondys 53<sup>®</sup>, Sarepta 社)<sup>37)</sup>が初のエクソン53スキップ薬として承認されている。本邦においても、日本新薬株式会社と国立精神・神経医療研究センターが共同で開発したエクソン53スキップ薬ビルトラルセン (ビルテプソ<sup>®</sup>)<sup>38)</sup>が国産初のエクソン・スキップ薬として2020年5月に薬価収載された (同年米国 FDA でも承認)。また2021年2月には、エクソン45スキップ薬カシメルセン (Amondys45<sup>®</sup>, Sarepta 社)<sup>39)</sup>も FDA で承認を受け、2021年8月現在、上市されているエクソン・スキップ薬は4剤となっている (本邦で使用可能なのはビルトラルセンのみ)。他にも表1に示すようなエクソンをターゲットとしたエクソン・スキップ薬の臨床試験が行われている。

#### IX エクソン・スキップ治療薬の課題

スプライシングを調整するというこれまでにない革新的な作用機序を持ったエクソン・スキップ薬であるが、現状で運動機能の改善を含めた臨床上的有用性が確立しているとは言えない。世界初承認となったエクソン・スキップ薬であるエテプリルセンの臨床試験では<sup>36)40)</sup>、被験者から得られた生検筋においてジストロフィンが正常の0.2~0.3%回復したに過ぎず、欧州医薬品庁では新規承認申請は得られなかった。FDA は条件付き承認として市販後臨床試験を義務付けた。最近報告された投与開始7年後までの追跡調査において、エテプリルセン投与群はエテプリルセン非投与群に比べて歩行不能までの期間の中央値が2.09年と有意差をもって長く (5.09年 vs 3.00年,  $p < 0.01$ )、肺機能の低下も有意に抑制されていた (FVC%p 変化: 年率 3.3 vs -6.0%p,  $p < 0.0001$ )<sup>41)</sup>。今後この結果を受けて FDA がどのような評価を下すのか注目される。本邦で開発されたビルトラルセンについても、ビルトラルセン投与群ではジストロフィンの有意な発現回復が認められているが、明らかな運動機能の改善までの効果は確認できていない<sup>42)</sup>。本邦での承認条件でも同様に、有効性及び安全性の確認を目的とした臨床試験ならびに国内レジストリを用いた調査を実施することが課されている。PMO によるアンチセンス核酸はいずれも安全性に優れており、投与量の増加及び投与期間の延長に伴いジストロフィンの発現やエクソンのスキップ効率も増加することから<sup>42)</sup>、最大耐用量の確立と長期的な有効性及び安全性に関するデータの蓄積が必要であり、治療の最適化が求められている。

表1 臨床治験が進行しているおよび最近終了したアンチセンス核酸医薬  
(<http://clinicaltrials.gov> (accessed on 31 August 2021))

化学修飾	一般名 (商品名)	開発元	対象エクソン	開発フェーズ	薬事承認年
Phosphorodiamidate morpholino oligomers (PMO)	エテプリルセン (Exondys51)	Sarepta Therapeutics	Exon 51	Phase 2/3	2016年 (米国)
	ゴロディルセン (Vyondys53)	Sarepta Therapeutics	Exon 53	Phase 2/3	2019年 (米国)
	ビルトラルセン (ビルテプソ)	日本新薬, 国立精神・神経医療研究センター	Exon 53	Phase 2/3	2020年 (日本・米国)
	カシメルセン (Amondys45)	Sarepta Therapeutics	Exon 45	Phase 2/3	2021年 (米国)
	NS-089/NCNP-02	日本新薬, 国立精神・神経医療研究センター	Exon 44	Phase 1/2	-
2'-O-Methylphosphorothioates (2'OMePS)	Drisapersen	BioMarin Pharmaceutical	Exon 51	開発中止 (2018年)	-
	DS-5141b	第一三共	Exon 45	Phase 2	-
Peptide phosphorodiamidate morpholino oligomer (PPMO)	SRP-5051	Sarepta Therapeutics	Exon 51	Phase 2	-
Stereopure	Suvodirsen	Wave Life Sciences	Exon 51	開発中止 (2020年)	-

## X エクソン45-55領域のマルチ・エクソン・スキップ治療の可能性

これまでに承認されたエクソン・スキップ治療薬の標的エクソンは45, 51, 53である。これはエクソン45-55領域がDMD遺伝子変異のホットスポットであることから、この領域をターゲットにしたエクソン・スキップ治療薬の開発が先行しているが、それでも全DMD患者のうち30%弱が治療対象となるに過ぎない。今後はより多くの患者が治療可能となるよう、標的エクソンを増やした薬剤開発が望まれる。著者らはエクソン・スキップによりイン・フレーム変異を誘導する際、より表現型改善が見込まれるイン・フレーム変異へと誘導する必要があると考えている。これは実際のDMD遺伝子変異を有した患者の臨床症状から推測されることであるが、イン・フレーム変異を有する例であってもDMDの臨床病型を呈する例が存在しており<sup>43)</sup>、変異パターンによっては欠失周囲の1ないし2つのエクソンをスキップして単純にイン・フレーム化するだけでは十分な臨床的改善が得られない可能性がある。当科ではエクソン45-55欠失を有するが骨格筋症状が極めて軽く、中高年でも自立した社会生活を営

むことが可能な複数の症例を報告しており<sup>19)20)</sup>、同様な報告は複数のグループからもある<sup>44)45)</sup>。エクソン45~55はDMD遺伝子変異のホットスポットであり、このホットスポット全域をカバーする治療は全DMD患者の約60%を治療対象とすることができる<sup>44)</sup>。このエクソン45~55領域全てを対象としたマルチ・エクソン・スキップ治療<sup>46)47)</sup>(図5)は、より多くの患者により有効な治療効果をもたらす治療戦略と考えられる。

## XI おわりに

近年、DMDのように患者数が少ない希少疾患向け医薬品の開発機運が世界的に高まっている。本邦においても日本医療研究開発機構(AMED)で希少疾患向け医薬品への開発助成が開始されているが、欧米に比べて本邦での新薬の開発ペースは鈍いと指摘されている。この理由の一つとして、医薬品の開発には患者の参画が必須であるが、患者会の規模が小さく患者に情報を伝えるようなネットワークが存在せず、患者の集積が困難であることが挙げられている。DMDでは国立精神・神経医療研究センターが患者本人によって患者情報を登録できる筋ジストロフィー患者レジスト

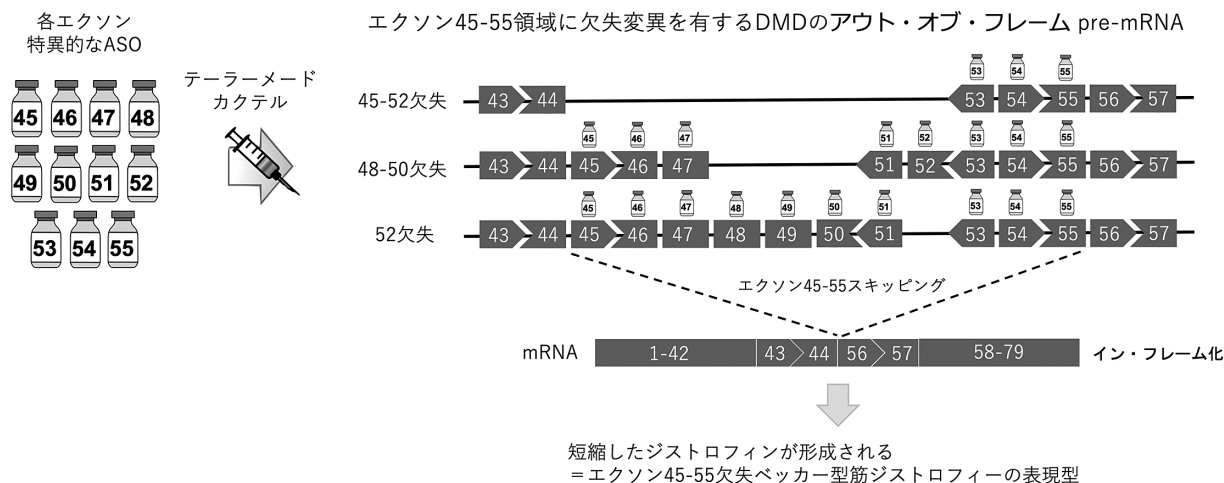


図5 ASO テーラーメイドカクテルによるエクソン45-55マルチ・エクソン・スキップ治療の概念

リ (Remudy) を構築し、治験の実施を加速させてきた。現在、国内でも医療機関や学会が中心となって様々な疾患レジストリの構築が進められ、医薬品開発や市販後調査などへの利用によるリアルワールドデータの蓄積が期待されている。

アンチセンス核酸や siRNA を用いた核酸医薬は現状で最も期待される創薬モダリティであり、DMD で

はいち早く開発が進んでいるが、まだ臨床上的有用性の確立には至っていない。より有効な薬剤デリバリー方法の開発や治療投与量、治療開始時期、治療期間などの最適化、そして将来的なマルチ・エクソン・スキップ治療を含めた、アンチセンス核酸による DMD 治療の今後の発展に期待したい。

## 文 献

- 1) Hoffman EP, Brown RH Jr, Kunkel LM: Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. Cell 51: 919-928, 1987
- 2) Benarroch L, Bonne G, Rivier F, et al: The 2021 version of the gene table of neuromuscular disorders (nuclear genome). Neuromuscul Disord 30: 1008-1048, 2020
- 3) Emery AE: Population frequencies of inherited neuromuscular diseases--a world survey. Neuromuscul Disord 1: 19-29, 1991
- 4) デュシェンヌ型筋ジストロフィー診療ガイドライン: 監修 日本神経学会, 日本小児神経学会, 国立精神・神経医療研究センター. 南江堂, 2014
- 5) Duchenne: The Pathology of Paralysis with Muscular Degeneration (Paralysie Myosclerotique), or Paralysis with Apparent Hypertrophy. Br Med J 2: 541-542, 1867
- 6) Nigro G, Comi LI, Politano L, et al: The incidence and evolution of cardiomyopathy in Duchenne muscular dystrophy. Int J Cardiol 26: 271-277, 1990
- 7) Eagle M, Baudouin SV, Chandler C, et al: Survival in Duchenne muscular dystrophy: improvements in life expectancy since 1967 and the impact of home nocturnal ventilation. Neuromuscul Disord 12: 926-929, 2002
- 8) McNally EM: New approaches in the therapy of cardiomyopathy in muscular dystrophy. Annu Rev Med 58: 75-88, 2007
- 9) Sunada Y, Campbell KP: Dystrophin-glycoprotein complex: molecular organization and critical roles in skeletal muscle. Curr Opin Neurol 8: 379-384, 1995
- 10) Griffin JF: Stress and immunity: a unifying concept. Vet Immunol Immunopathol 20: 263-312, 1989
- 11) Brenman JE, Chao DS, Xia H, et al: Nitric oxide synthase complexed with dystrophin and absent from skeletal muscle sarcolemma in Duchenne muscular dystrophy. Cell 82: 743-752, 1995

- 12) Frigeri A, Nicchia GP, Nico B, et al: Aquaporin-4 deficiency in skeletal muscle and brain of dystrophic mdx mice. *Faseb j* 15:90-98, 2001
- 13) Friedrich O, Both M, Gillis JM, et al: Mini-dystrophin restores L-type calcium currents in skeletal muscle of transgenic mdx mice. *J Physiol* 555:251-265, 2004
- 14) Franco-Obregón A, Lansman JB: Changes in mechanosensitive channel gating following mechanical stimulation in skeletal muscle myotubes from the mdx mouse. *J Physiol* 539:391-407, 2002
- 15) 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* 55:379-388, 2010
- 16) Monaco AP, Bertelson CJ, Liechti-Gallati S, et al: An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus. *Genomics* 2:90-95, 1988
- 17) Tuffery-Giraud S, Bérout C, Leturcq F, et al: Genotype-phenotype analysis in 2,405 patients with a dystrophinopathy using the UMD-DMD database: a model of nationwide knowledgebase. *Hum Mutat* 30:934-945, 2009
- 18) Nakamura A, Fueki N, Shiba N, et al: Deletion of exons 3-9 encompassing a mutational hot spot in the DMD gene presents an asymptomatic phenotype, indicating a target region for multiexon skipping therapy. *J Hum Genet* 61:663-667, 2016
- 19) Nakamura A, Yoshida K, Fukushima K, et al: Follow-up of three patients with a large in-frame deletion of exons 45-55 in the Duchenne muscular dystrophy (DMD) gene. *J Clin Neurosci* 15:757-763, 2008
- 20) Nakamura A, Shiba N, Miyazaki D, et al: Comparison of the phenotypes of patients harboring in-frame deletions starting at exon 45 in the Duchenne muscular dystrophy gene indicates potential for the development of exon skipping therapy. *J Hum Genet* 62:459-463, 2017
- 21) Matthews E, Brassington R, Kuntzer T, et al: Corticosteroids for the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Cochrane Database Syst Rev*:Cd003725, 2016
- 22) Koeks Z, Bladen CL, Salgado D, et al: Clinical Outcomes in Duchenne Muscular Dystrophy: A Study of 5345 Patients from the TREAT-NMD DMD Global Database. *J Neuromuscul Dis* 4:293-306, 2017
- 23) Angelini C, Pegoraro E, Turella E, et al: Deflazacort in Duchenne dystrophy: study of long-term effect. *Muscle Nerve* 17:386-391, 1994
- 24) Mendell JR, Moxley RT, Griggs RC, et al: Randomized, double-blind six-month trial of prednisone in Duchenne's muscular dystrophy. *N Engl J Med* 320:1592-1597, 1989
- 25) Takeshita E, Komaki H, Shimizu-Motohashi Y, et al: A phase I study of TAS-205 in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Ann Clin Transl Neurol* 5:1338-1349, 2018
- 26) Mariot V, Joubert R, Hourdé C, et al: Downregulation of myostatin pathway in neuromuscular diseases may explain challenges of anti-myostatin therapeutic approaches. *Nat Commun* 8:1859, 2017
- 27) Buyse GM, Voit T, Schara U, et al: Efficacy of idebenone on respiratory function in patients with Duchenne muscular dystrophy not using glucocorticoids (DELOS): a double-blind randomised placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet* 385:1748-1757, 2015
- 28) Pramono ZA, Takeshima Y, Alimsardjono H, et al: Induction of exon skipping of the dystrophin transcript in lymphoblastoid cells by transfecting an antisense oligodeoxynucleotide complementary to an exon recognition sequence. *Biochem Biophys Res Commun* 226:445-449, 1996
- 29) Barton-Davis ER, Cordier L, Shoturma DI, et al: Aminoglycoside antibiotics restore dystrophin function to skeletal muscles of mdx mice. *J Clin Invest* 104:375-381, 1999
- 30) Wang B, Li J, Xiao X: Adeno-associated virus vector carrying human minidystrophin genes effectively ameliorates muscular dystrophy in mdx mouse model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:13714-13719, 2000
- 31) Partridge TA, Morgan JE, Coulton GR, et al: Conversion of mdx myofibres from dystrophin-negative to -positive by injection of normal myoblasts. *Nature* 337:176-179, 1989



- 32) Ousterout DG, Kabadi AM, Thakore PI, et al: Multiplex CRISPR/Cas9-based genome editing for correction of dystrophin mutations that cause Duchenne muscular dystrophy. *Nature Communications* 6: 6244, 2015
- 33) Bennett CF, Swayze EE: RNA targeting therapeutics: molecular mechanisms of antisense oligonucleotides as a therapeutic platform. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 50: 259-293, 2010
- 34) Kole R, Krieg AM: Exon skipping therapy for Duchenne muscular dystrophy. *Adv Drug Deliv Rev* 87: 104-107, 2015
- 35) Bladen CL, Salgado D, Monges S, et al: The TREAT-NMD DMD Global Database: analysis of more than 7,000 Duchenne muscular dystrophy mutations. *Hum Mutat* 36: 395-402, 2015
- 36) levels Ctrad: EXONDYS 51® (eteplirsén) injection. Clinical trial results and dystrophin levels | EXONDYS 51® (eteplirsén) injection. <https://www.exondys51hcp.com/about-exondys-51/clinical-data>. Published September 2016. Accessed August 30, 2021
- 37) Heo Y-A: Golodirsén: First Approval. *Drugs* 80: 329-333, 2020
- 38) Komaki H, Nagata T, Saito T, et al: Systemic administration of the antisense oligonucleotide NS-065/NCNP-01 for skipping of exon 53 in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Sci Transl Med* 10, 2018
- 39) Shirley M: Casimersén: First Approval. *Drugs* 81: 875-879, 2021
- 40) Administration UFaD: FDA grants accelerated approval to first drug for Duchenne muscular dystrophy [press release]. Silver Spring (MD): FDA; 2016 [September 19]. Available from: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm521263.htm>. Accessed August 30, 2021
- 41) Mitelman O, Abdel-Hamid HZ, Byrne BJ, et al: A Combined Prospective and Retrospective Comparison of Long-Term Functional Outcomes Suggests Delayed Loss of Ambulation and Pulmonary Decline with Long-Term Eteplirsén Treatment. *J Neuromuscul Dis*, 2021
- 42) Komaki H, Takeshima Y, Matsumura T, et al: Viltolarsén in Japanese Duchenne muscular dystrophy patients: A phase 1/2 study. *Ann Clin Transl Neurol* 7: 2393-2408, 2020
- 43) Zamani GR, Karami F, Mehdizadeh M, et al: Analysis of dystrophin gene in Iranian Duchenne and Becker muscular dystrophies patients and identification of a novel mutation. *Neurol Sci* 36: 2011-2017, 2015
- 44) Bérout C, Tuffery-Giraud S, Matsuo M, et al: Multiexon skipping leading to an artificial DMD protein lacking amino acids from exons 45 through 55 could rescue up to 63% of patients with Duchenne muscular dystrophy. *Hum Mutat* 28: 196-202, 2007
- 45) Taglia A, Petillo R, D'Ambrosio P, et al: Clinical features of patients with dystrophinopathy sharing the 45-55 exon deletion of DMD gene. *Acta Myol* 34: 9-13, 2015
- 46) Nakamura A, Takeda S: Exon-skipping therapy for Duchenne muscular dystrophy. *Neuropathology* 29: 494-501, 2009
- 47) Echigoya Y, Lim KRQ, Melo D, et al: Exons 45-55 Skipping Using Mutation-Tailored Cocktails of Antisense Morpholinos in the DMD Gene. *Mol Ther* 27: 2005-2017, 2019

(R 3. 9. 6 受稿)