

**【目的】** 鏡-緒方症候群は染色体 14 番父親性 2 倍体によって引き起こされるゲノムインプリンティング疾患であり、難病指定を受けている疾患である。呼吸不全による新生児致死、腹直筋乖離、胎盤の過形成生後成長遅延など重篤な症状を呈するが、胎盤の異常以外の主病態である筋肉関連異常の原因は長い間不明であった。我々はその主原因が *PEG11/RTL1* の過剰発現であると考え、本研究ではマウスモデルにおける *Peg11/Rtl1* の筋肉での発現と過剰発現による異常を明らかにし、アンチセンス RNA に含まれる miRNA で過剰発現を抑制する遺伝子治療開発を試みる。

**【方法】** ヒト染色体 14 番の相同染色体であるマウス 12 番染色体の父親性 2 倍体、母親性 2 倍体でもヒト同様の症状が見られる。そこで、原因インプリンティング領域に含まれる *Peg11/Rtl1* とそのアンチセンス RNA をコードする *antiPeg11/antiRtl1* 領域を欠失したノックアウトマウスを作製した。この欠失を父親由来で伝達したマウスは *Peg11* KO となり、母親由来で伝達した場合には *antiPeg11/antiRtl1* KO マウスとなる。*AntiPeg11/antiRtl1* には *Peg11/Rtl1* を標的とする 6 個の miRNA が含まれることから、このマウスでは miRNA 欠失により *Peg11/Rtl1* mRNA の過剰発現が誘導される。まず、野生型のマウスを用いて個体発生の各ステージでの *Peg11/Rtl1* の発現時期と部位の詳細を明らかにし、筋肉での発現の有無を明らかにする。次に筋肉での発現が見られる発生ステージにおいて、*Peg11/Rtl1* の欠失と過剰発現による筋肉の異常を明らかにする。最終的に、*antiPeg11/antiRtl1* に含まれる miRNA または *antiPeg11/antiRtl1* 自身を導入が、実際に胎児期において *Peg11/Rtl1* の抑制に機能するかを確認する。

**【結果】** マウスにおいて胎児期および新生児期特異的に *Peg11/Rtl1* が骨格筋で発現することを確認した。これらには肋間筋、腹筋、横隔膜など新生児の呼吸に重要な筋肉が含まれることから、これらが鏡-緒方症候群の新生児における呼吸不全の原因になる可能性が高いことを突き止めた。また、新生児期のこれらの筋肉を調べると、固定化処理をした標本において筋繊維が筋細胞膜から剥離し、著しく収縮することを発見した(右図)。また、筋細胞において細胞核が中央部に位置する未成熟タイプが多いことを発見した(右下図の矢印)。これらのことから、*Peg11/Rtl1* の過剰発現が、実際に呼吸関連の骨格筋の構造的異常を引き起こしていることが明らかになった。さらに胎児期に *antiPeg11/antiRtl1* に含まれる複数の miRNA を投与することにより、これらの筋肉に影響が出ることを確認した。投与量と投与時期を詳細に詰めることにより、この方法は鏡-緒方症候群の遺伝子治療となりうると考えている。

*Peg11/Rtl1* の欠失 (左) および過剰発現 (右) は骨格筋の異常を引き起こす

