

A lmod1a mutation causes megacystis microcolon intestinal hypoperistalsis in a CRISPR/Cas9-modified zebrafish model

アルビン サントソ カリム

<https://hdl.handle.net/2324/7363636>

出版情報 : Kyushu University, 2024, 博士 (医学), 課程博士
バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (2)



(別紙様式 2)

氏 名	アルビン サントソ カリム
論 文 名	A lmod1a mutation causes megacystis microcolon intestinal hypoperistalsis in a CRISPR/Cas9-modified zebrafish model (lmod1a 変異は CRISPR/Cas9 改変ゼブラフィッシュモデルにおいて巨大膀胱短小結腸腸蠕動不全症 (MMIHS) を引き起こす)
論文調査委員	主 査 九州大学 教授 大賀 正一 副 査 九州大学 教授 加藤 聖子 副 査 九州大学 教授 三浦 岳

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

主論文内容の要旨：

巨膀胱短小結腸蠕動低下症候群 (MMIHS) は、ヒルシュスプルング病 (HSCR) に関連する疾患の一つである。これらの疾患は、神経節細胞が存在するにもかかわらず、HSCRの症状を呈する特徴を有する。MMIHS は、遺伝子変異を伴う先天性内臓筋症と定義されているが、その病因や病態生理については不明な点が多い。近年の遺伝子解析の進歩により、MMIHSに関連すると考えられるいくつかの遺伝子が特定されており、ACTG、LMOD1、MYH11、MYL9、MYLK、およびPDCL3が報告されている。lmod1欠損マウスモデルを使用した研究では、ヒトに見られる消化管および膀胱の表現型が確認され、別の細胞株を用いた研究では、LMOD1の変異によるアクチンとLMOD1間の分子間相互作用の破壊が示された。しかし、MMIHSにおけるLMOD1の腸管運動への役割は依然として明らかではない。

申請者らは、CRISPR/Cas9によるlmod1a遺伝子の欠損がゼブラフィッシュの平滑筋、特に腸蠕動に与える影響を調査することを目的に本研究を行った。

方法：ゼブラフィッシュのlmod1a遺伝子のエクソン1をCRISPR/Cas9を用いて標的とし、遺伝子型を確認した後、mRNAおよびタンパク質の発現を測定した。その後、腸管輸送アッセイおよび時空間マッピングを用いて表現型解析を行った。

結果：CRISPR/Cas9を用いて、再現性を持ってlmod1aのエクソン1に5塩基対の欠失を引き起こし、早期終止コドンによるタンパク質の切断が確認された。変異ゼブラフィッシュでは、lmod1aのmRNAおよびタンパク質の発現が大幅に減少したことが観察された。さらに、他の筋関連遺伝子であるacta2、myh11、およびmyod1も有意にダウンレギュレーションされていた。機能解析では、変異体ゼブラフィッシュは野生型に比べて腸蠕動が低下しており、蠕動の回数、速度、および長さが有意に減少していた。

結論：lmod1a変異を有するMMIHSゼブラフィッシュモデルをCRISPR/Cas9による遺伝子編集技術を用いて報告した。lmod1aのknockdownは、他の平滑筋関連遺伝子のダウンレギュレーションを引き起こしており、このメカニズムを解明するためのさらなる研究が必要である。また、ゼブラフィッシュの腸管運動は著しく影響を受け、腸蠕動低下が確認された。このモデルは、腸平滑筋の病態生理の解明に貢献し、将来的にはMMIHSの薬剤スクリーニングモデルとしても期待される。

以上の成績はこの方面の研究の発展に重要な知見を加えた意義あるものと考えられる。本論文についての試験はまず論文の研究目的、方法、実験成績などについて説明を求め、各調査委員より専門的な観点から論文内容及びこれに関連した事項について種々の質問を行ったところ適切な回答を得た。

よって調査委員合議の結果、試験は合格と決定し、博士（医学）の学位に値すると認める。

なお本論文は共著者多数（11名）だが、予備調査の結果、申請者が主導的役割を果たしていることを確認した。