

Zebrafish as an Excellent Model for Titinopathy

鄭惠暄¹，林芷仔¹，張子文²，羅梅真²，郭雲鼎^{2,*}，劉逸軒^{1,3,*}

Chih-Yu Lin¹，Mei-Chen Lo²，Yung-Ting Kuo²，I-Hsuan Liu^{1,3,*}

¹ Department of Animal Science and Technology, National Taiwan University, Taipei, 10617, Taiwan

² Taipei Medical University Shuang Ho Hospital, New Taipei City, 23561, Taiwan

³ Research Center for Developmental Biology and Regenerative Medicine, National Taiwan University, Taipei, 10617, Taiwan

肌聯蛋白 (Titin, TTN) 為肌節中的結構蛋白，能為肌肉收縮提供被動張力並維持肌節之完整性。因 *TTN* 基因突變而導致的遺傳性肌病統稱為肌聯蛋白肌病 (titinopathy)。一般而言，靠近胺基端的突變容易顯現與心肌病相關的病症，例如 I-band TTN 截短突變 (truncating variant, TTNtv) 典型會顯現擴張型心肌病 (Dilated cardiomyopathy, DCM)，而最靠近羧基端的 M-line 區域發生截短突變時，則亦會顯現脛骨肌失養症 (tibial muscular dystrophy, TMD) 等骨骼肌病症。斑馬魚具有兩個 *ttn* 基因，分別為 *ttn1* 與 *ttn2*。目前已知 *ttn1* 主要在骨骼肌中表達，且非心臟功能所必需；*ttn2* 則是斑馬魚早期發育過程中主要的 TTN 直系同源物，在心肌和骨骼肌中高度表達，且在 *ttn2* 的 A-band 截短突變亦可充分模擬人類的 TTNtv 病症。為了探討 M-line 截短突變對骨骼肌與心肌造成的影響，我們以基因編輯技術建立了 *ttn1*^{-11/-11}、*ttn2*^{-11/-11} 以及 *ttn1/ttn2* 雙基因變異之 *ttn*^{+/-11} 等 M4 TTNtv 斑馬魚模型。在 3 日齡幼魚測試觸摸誘發迴避反應試驗 (touch-evoke escape assay) 中，*ttn1*^{-11/-11}、*ttn2*^{-11/-11} 與 *ttn*^{+/-11} 皆出現迴避反應異常。在 *ttn*^{+/-11} 骨骼肌肌節超微結構，顯示輕微不規則的 z-disk 排列與異常型態的粒線體。在人類肌肉細胞株的模型中，M4 TTNtv 出現粒線體最大呼吸潛能顯著下降的情形。在心臟功能分析方面，3 日齡 *ttn* 突變魚胚皆出現心律不整，心室面積變化、心室直徑變化與舒張末期面積顯著降低。此外 *ttn2*^{-11/-11} 出現舒張末期容積、每搏輸出量與心輸出量皆顯著降低，以及心室舒張末期心肌壁增厚等與 DCM 相似的現象。在三至四月齡之後的成魚中，*ttn1*^{+/-} 魚隻的魚尾下垂角度顯著大於 WT，暗示 *ttn1*^{+/-} 成魚有後軀的遠端肌肉無力現象。而在運動訓練測試中，9 月齡的 *ttn2*^{-11/-11}，在爆發力運動訓練中，泳學習能力從第三個星期出現下降，暗示快肌機能下降，與 TMD 中年至老年發病影響遠端肌群運動功能的表型相似。綜上所述，本研究在斑馬魚兩個 *ttn* 基因的 M4 區域建立了截短突變魚株，並發現 *ttn1* 和 *ttn2* 突變斑馬魚顯現出 TMD 與 DCM 相似的表型，表示斑馬魚可作為 titinopathy 優良模型。相關魚株的建立有助於提升吾人對 titinopathy 的瞭解，並促成新治療策略的開發。