

บทคัดย่อ

Project Code : MRG5680061

Project Title : การศึกษาบทบาทของวิตามินดี 3 ในรูปแอคทีฟฟอร์ม [$1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$] ต่อการควบคุมการทำงานของเซลล์ต้นกำเนิดของกล้ามเนื้อลาย, การสังเคราะห์โปรตีน และการทำงานของกล้ามเนื้อในขณะฟื้นฟูสภาพจากการบาดเจ็บ

Investigator : ผศ.ดร. รชกฤต ศรีเกื้อ มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail Address : ratchakrit.sri@mahidol.ac.th

Project Period : 2 ปี (ได้รับการอนุมัติขยายระยะเวลาโครงการเพิ่มอีก 6 เดือน)

การค้นพบตัวรับสัญญาณการทำงานของวิตามินดี 3 (VDR) ในกล้ามเนื้อลายที่กำลังฟื้นฟูสภาพเมื่อไม่นานมานี้ ทำให้เกิดคำถามเกี่ยวกับบทบาทของวิตามินดี 3 ว่ามีความเกี่ยวข้องกับการฟื้นฟูสภาพของกล้ามเนื้อลายอย่างไร เพื่อศึกษาถึงบทบาทของวิตามินดี 3 ต่อกระบวนการดังกล่าว กล้ามเนื้อลายบริเวณหน้าแข้ง (tibialis anterior) ของหนูเมาส์เพศผู้ สายพันธุ์ C57BL/6 อายุ 10 สัปดาห์ ได้ถูกทำให้บาดเจ็บด้วย 1.2% BaCl_2 หลังจากนั้นวิตามินดี 3 ในรูปแอคทีฟฟอร์ม [$1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$] ได้ถูกฉีดเข้ากล้ามเนื้อลายที่มีการบาดเจ็บในขณะฟื้นฟูสภาพ (วันที่ 4-7 ภายหลังการบาดเจ็บ) โดยใช้ความเข้มข้น 2 ระดับในการศึกษา ได้แก่ 1 $\mu\text{g/kg}$ ต่อน้ำหนักกล้ามเนื้อหรือน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลอง ตัวอย่างกล้ามเนื้อสำหรับการวิเคราะห์ได้ถูกเก็บภายหลังจากการบาดเจ็บเป็นระยะเวลา 8 วัน เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของวิตามินดี 3 (VDR, CYP24A1 และ CYP27B1), การทำงานของเซลล์ต้นกำเนิดของกล้ามเนื้อลายและการสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อลายขึ้นมาใหม่ (myogenin และ EbMHC), กระบวนการสังเคราะห์โปรตีน (Akt, p70 S6K1, 4E-BP1 และ myostatin), ชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อลาย (fast MHC และ slow MHC), ปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (vimentin) และปริมาณหลอดเลือด (CD31) ซึ่งปัจจัยทั้งหมดส่งผลต่อการทำงานของกล้ามเนื้อลายในขณะฟื้นฟูสภาพจากการบาดเจ็บ จากการศึกษาพบว่าการฉีด $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ เข้าไปที่กล้ามเนื้อลายที่กำลังฟื้นฟูสภาพสามารถเพิ่มการแสดงออกของ VDR ได้ทั้ง 2 ความเข้มข้นที่ทดสอบ โดยการเพิ่มขึ้นของโปรตีน CYP24A1 และ vimentin รวมถึงการลดลงของโปรตีน myogenin และ EbMHC ถูกพบเฉพาะเมื่อได้รับ $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ที่ความเข้มข้นต่อน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองเท่านั้น ซึ่งผลด้านการยับยั้งโปรตีน myogenin และ EbMHC ได้ถูกยืนยันด้วยการทดสอบในหลอดทดลองกับเซลล์กล้ามเนื้อลายเพาะเลี้ยง (C2C12 myotubes) อย่างไรก็ตามไม่พบการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน CYP27B1, Akt, p70 S6K1, 4E-BP1, myostatin, fast MHC, slow MHC หรือ CD31 แต่อย่างใดในทั้ง 2 ความเข้มข้นที่ทดสอบ จากผลการวิจัยข้างต้นสามารถสรุปได้ว่าการทำงานของ $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ต่อกระบวนการฟื้นฟูสภาพของกล้ามเนื้อลายขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้น โดยความเข้มข้นที่ระดับ 1 $\mu\text{g/kg}$ ต่อน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองนั้นสามารถส่งผลยับยั้งการทำงานของเซลล์ต้นกำเนิดของกล้ามเนื้อลายและการสร้างเส้นใยกล้ามเนื้อลายขึ้นมาใหม่ รวมถึงส่งผลให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มากกว่าปกติ อย่างไรก็ตามการได้รับ $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ไม่มีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน, ชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อลาย และการปริมาณของหลอดเลือดที่สร้างขึ้นมาใหม่แต่อย่างใด

คำสืบค้น : วิตามินดี 3, การฟื้นฟูสภาพของกล้ามเนื้อลาย, การฉีดสารเข้ากล้ามเนื้อลาย, การเกิดพังผืด, การสร้างหลอดเลือด

Abstract

Project Code : MRG5680061

Project Title : An investigation on the effect of bioactive form of vitamin D₃ [1 α ,25(OH)₂D₃] on the regulation of satellite cell activity, protein synthesis, and muscle function during muscle regeneration

Investigator : Asst. Prof. Dr. Ratchakrit Srikuea (Mahidol University)

E-mail Address : ratchakrit.sri@mahidol.ac.th

Project Period : 2 years (6 months extension was approved)

The recent discovery of the vitamin D receptor (VDR) in regenerating muscle raises the question regarding the action of vitamin D₃ on skeletal muscle regeneration. To investigate the action of vitamin D₃ on this process, tibialis anterior (TA) muscle of male C57BL/6 mice (10 week of age) was injected with 1.2% BaCl₂ to induce extensive muscle injury. The bioactive form of vitamin D₃ [1 α ,25(OH)₂D₃] was administered daily via intramuscular injections during regenerative phase (day 4-7 post-injury). Two doses of 1 α ,25(OH)₂D₃ at 1 μ g/kg muscle wet weight (MW) and mouse body weight (BW) were investigated. Muscle samples were collected on day 8 post-injury to examine proteins related to vitamin D₃ metabolism (VDR, CYP24A1, and CYP27B1), satellite cell differentiation and regenerative muscle fiber formation (myogenin and EbMHC), protein synthesis signaling (Akt, p70 S6K1, 4E-BP1, and myostatin), fiber type composition (fast and slow MHCs), fibrous formation (vimentin), and angiogenesis (CD31). Administration of 1 α ,25(OH)₂D₃ at MW and BW doses increased VDR in regenerative muscle. Increased CYP24A1 and vimentin expression accompany decreased myogenin and EbMHC expression at the BW dose of 1 α ,25(OH)₂D₃. The suppressive effect of 1 α ,25(OH)₂D₃ on myogenin and EbMHC expression was confirmed in C2C12 myotubes. However, there was no change in CYP27B1, Akt, p70 S6K1, 4E-BP1, myostatin, fast and slow MHCs, or CD31 expression at any dose investigated. Taken together, there was a dose-dependent effect of 1 α ,25(OH)₂D₃ on skeletal muscle regeneration. Administration of 1 α ,25(OH)₂D₃ at BW dose resulted in decreased satellite cell differentiation, delayed regenerative muscle fiber formation, and increased muscular fibrosis. However, protein synthesis signaling, fiber type composition, and angiogenesis were not affected by 1 α ,25(OH)₂D₃ administration.

Keywords : vitamin D₃, muscle regeneration, intramuscular injection, muscular fibrosis, angiogenesis