

学 位 論 文 要 旨

氏名 Rattana-trai CHAIYASING

題 目 : **Functional analysis of estrogen and estrogen receptors in myoregeneration**
(筋再生過程でのエストロゲンおよびエストロゲン受容体の機能の解析)

論文要旨 :

Estrogen deficiency in women after menopause or ovariectomy affects to non-reproductive functions such as sarcopenia, obesity, and predisposition to develop frailty. The low estrogen status interferes and delay skeletal muscle repair after skeletal muscle injury. Thus, estrogen administration is expected to rescue muscle recovery. Function of estrogen difference between the two types of estrogen receptor (ER) α and ER β in myoregeneration. When the estrogen concentration decreased, adipogenesis was accelerated in skeletal muscle tissue. The overall aim of this thesis to elucidate function of estrogen and estrogen receptors in myoregeneration and intermuscular adipogenesis.

In Chapter 1, functions of estrogen and ERs in the myoregeneration process and morphogenesis were elucidated, to compare their effects on the morphological change, moreover, the alteration of the ER protein level during myoregeneration following muscle injury with cardiotoxin (CTX) in ovariectomized (OVX) mice. Muscle degeneration was severe in OVX mice than intact mice as control at 3 days after CTX injection. However, muscle regeneration started at 7 days in both OVX and intact mice, OVX mice poorly showed reconstruction than intact mice at 10 and 14 days. The diameter of regenerated myotubes in OVX mice was significantly smaller than that in intact mice at all time points after injury. OVX mice also showed lower muscle recovery ratio and slower speeds than did intact mice. ER protein levels showed a predominance of ER β over ER α in both intact and OVX states. The ER β level was increased significantly in OVX mice after injury than intact and OVX mice, respectively. In addition, continuous administration of E2 to OVX mice in which muscle injury was induced resulted in a significantly larger diameter of regenerated myotubes than that in mice that did not receive estrogen.

In Chapter 2, comparison of the function of ERs in a low estrogen status in the process of myoregeneration and intermuscular adipogenesis by morphometrical analysis. The OVX ER α knockout (KO) and ER β KO mice after injury with CTX were used to assess myotube morphology and adipogenesis area. Regenerated myotubes from OVX-ER β KO mice were consistently smaller in diameter than those from OVX-ER α KO and OVX-wild-type mice, whereas the adipogenesis area of OVX-ER β KO mice was consistently greater than that of the other types at all time post injury.

In conclusion, the data in this thesis provided evidence that estrogen is an essential factor in the myoregeneration since estrogen depletion delayed myoregeneration in injured muscles and administration of estrogen under the condition of a low estrogen status rescued delayed myoregeneration. Especially, ER β may be an influential factor in promoting myoregeneration and adipogenesis inhibition compared to ER α .

学位論文審査の結果の要旨

氏 名	RATTANATRAI CHAIYASING
審査委員	主 査：鳥取大学 教授 保坂 善真
	副 査：鹿児島大学 教授 矢吹 映
	副 査：鳥取大学 教授 森田 剛仁
	副 査：鳥取大学 准教授 割田 克彦
	副 査：鳥取大学 准教授 樋口 雅司
題 目	Functional analysis of estrogen and estrogen receptors in myoregeneration (筋再生過程でのエストロゲンおよびエストロゲン受容体の機能の解析)
審査結果の要旨： 申請者の RATTANATRAI CHAIYASING 氏の研究は、雌マウスで薬剤誘導性の筋損傷を惹起させ、筋組織の損傷から修復・再生に至る一連の過程の詳細な解析をとおして、筋組織でのエストロゲンおよびエストロゲン受容体 (ER) の機能を明らかにしたものである。 第 1 章では、エストロゲンと ER の筋再生過程での影響を解明し形態的变化への影響の解明を試みた。卵巣を摘出した低エストロゲン状態のマウス (OVX 群) の前脛骨 (TA) 筋をカルディオトキシン (CTX) で損傷させた後に、筋組織の系時的変化を解析した。CTX 処置 (損傷) 後 3 日目では、OVX 群は対照群と比較して筋の変性が著明であった。損傷後 7 日目では、OVX 群、対照群ともに筋線維の再生が確認できたが、OVX 群の再生筋管の直径は、損傷後のすべての時点 (7、10 および 14 日目) で対照群よりも有意に小さく、OVX 群の筋再生は対照群よりも遅いことが明らかになった。ER タンパク量は、いずれの群でも ER α よりも ER β が優位であった。特に OVX マウスの ER β は、損傷後 7 日目で有意に増加し、14 日目まで高値を維持していた。筋損傷を誘発した OVX マウスにエストロゲン (17 β エストラジオール) を 28 日間継続的に投与すると、再生筋管の直径はエストロゲン非投与群のそれよりも有意に大きくなった。すなわち、エストロゲンの枯渇は損傷筋の再生を遅らせるが、エストロゲンの補給によって筋再生の遅延は回復した。以上より、エストロゲンは、損傷筋の再生を円滑に進行させる因子であること、そして、ER β が ER α よりも筋再生に深く関わる受容体であることが示唆された。 第 2 章では、これら 2 種類の ER の筋再生過程での違いを、さらに明らかにするために、	

(別紙様式第 10 号)

ER ノックアウト (KO) マウスを用いた実験を行った。2 種類の ER KO ($ER\alpha$ KO および $ER\beta$ KO) マウスに対して OVX 処理を行った後 (OVX-ER KO) に、CTX 処理による筋損傷を TA 筋に惹起させ、TA 筋の筋管の形態の変化を評価した。興味深いことに、再生筋組織中に脂肪細胞や結合組織が顕著に観察されたことから、筋組織を構成する 3 種類の組織 (筋線維、脂肪細胞、結合組織) の面積やその割合も系時的に計測し解析した。OVX- $ER\beta$ KO 群の再生筋管の径は、OVX- $ER\alpha$ KO 群や OVX-Wild type 群の再生筋管に比べて有意に小さく、逆に OVX- $ER\beta$ KO 群の脂肪細胞の面積は他群よりも有意に大きかった。いずれの群においても、損傷筋の脂肪細胞と結合組織が占める割合は、非損傷筋よりも高値を示した。また、損傷後の日数が経過 (10、14 日目) しても、両者 (脂肪細胞と結合組織) が占める割合はほぼ一定で推移し、筋線維の占める割合の回復はみられなかった。結合組織と脂肪細胞の割合の変化に着目すると、時間の経過にともなって結合組織の面積割合は減少し、逆に脂肪細胞の割合が増加し、筋組織の質的・量的変化が生じていた。これらの傾向は、OVX- $ER\beta$ KO 群で最も顕著であった。以上より、 $ER\beta$ は、 $ER\alpha$ よりも筋再生の促進や脂肪形成の抑制に強く影響を及ぼす受容体であることが、強く推測された。

これらの結果は、雌での筋組織損傷後の修復・再生過程の進行やその過程で惹起される組織的な変化 (線維化および脂肪化) が、体内のエストロゲン量によって異なること、そして、筋再生および脂肪形成抑制に関わる受容体は主に $ER\beta$ である、という新たな知見を提供している。本研究によって明らかになったエストロゲンとその受容体による筋再生過程の質的・量的な制御機構が、今後の筋組織の損傷、修復、再生過程のさらなる解明に大いに寄与するものと考えられる。

以上より、本論文は博士 (獣医学) の学位論文にふさわしい価値があると認める。