

令和元年6月19日現在

機関番号：32703

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09806

研究課題名(和文) Dehydroepiandrosteroneの生理作用の解明

研究課題名(英文) Physiological role of dehydroepiandrosterone

研究代表者

青木 一孝 (Aoki, Kazutaka)

神奈川歯科大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号：60336542

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：db/dbマウスにおいてdehydroepiandrosterone (DHEA)とDHEA-Sは、どちらも随時血糖を低下させたが、インスリン低血糖試験では、DHEAとDHEA-Sともインスリン感受性の改善を認めなかった。C57B6、insulin receptor substrate (IRS)-1欠損、IRS-2欠損マウスにおいて、DHEA投与により肝臓のインスリンシグナル伝達系であるAktリン酸化は亢進した。DHEAの肝臓インスリン感受性亢進には、少なくともIRS-1またはIRS-2のどちらかが存在すればよいことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

副腎アンドロゲンであるDHEAには抗糖尿病作用があるが、その詳細は不明であるため、マウスを用いて肝臓の糖代謝を中心に検討を行った。DHEAは、随時血糖値を改善させたが、インスリン低血糖試験では、インスリン感受性の改善を認めなかった。遺伝子欠損マウスを用いた検討で、DHEAは肝臓のインスリン感受性を亢進させ、これには少なくともIRS-1またはIRS-2のどちらかが存在すればよいことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：In an insulin tolerance test, dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA-S administration decreased the initial plasma glucose levels in the db/db mice, but they did not decrease the ratios to the basal blood glucose level. DHEA increased Akt phosphorylation in the liver of C57B6, insulin receptor substrate (IRS)1- and IRS2-deficient mice fed a high fat diet, suggesting that the increase in Akt signaling induced by DHEA is sufficient in the presence of IRS1 or IRS2. DHEA and DHEA-S did not increase Akt phosphorylation in the primary hepatocytes of C57B6 mice.

研究分野：内分泌・糖尿病

キーワード：DHEA DHEA-S 糖尿病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

近年、生活習慣の欧米化や運動不足等により、世界中で2型糖尿病患者数は増加傾向にある。そのため、糖尿病発症メカニズム明らかにし、治療薬の作用機序を解明することが重要となってくる。副腎アンドロゲンである Dehydroepiandrosterone (DHEA)、DHEA-Sulphate (DHEA-S)は思春期に分泌量が増加し、以後加齢と共に分泌が減少するユニークな血中動態を示す。1982年にColemanらは、肥満と高インスリン血症を示す2型糖尿病モデル動物のdb/dbマウスでDHEAの抗糖尿病作用を世界で初めて報告した(Coleman et al. Diabetes, 1982)。抗糖尿病薬としてのDHEA可能性を期待し、我々は、DHEAの抗糖尿病作用のメカニズムを明らかにすべく、肝糖代謝を中心に検討を行ってきた。その結果、DHEA投与により、肝臓G6Pase活性、遺伝子発現、糖新生が抑制されることを見出した(Aoki K et al. Diabetes, 1999、Aoki K et al. Endocr J, 2000、Aoki K et al. Life Sci, 2004、Yamashita R, Saito T, Satoh S, Aoki K, et al. Endocr J, 2005)。近年、我々は、マウス肝臓のインスリン感受性やシグナル伝達系について検討を行い報告した(Muraoka T, Aoki K, et al. Metabolism, 2011、Aoki K et al. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2009)。正常ラットにおいて、DHEAは、インスリン刺激性の肝臓 insulin receptor substrate (IRS)-1、IRS-2、Aktのリン酸化を亢進させる報告(Campbell CS et al. Life Sci, 2004)はあるが、IRS-1とIRS-2の双方が必須か否か等、その詳細は不明である。

さらに、SakaiとOhsawarらは、DHEAとDHEA-S投与によりdb/dbマウスの空腹時血糖値が改善することを報告している(Sakai R et al. AINO JOURNAL, 2009)が、DHEAとDHEA-Sのどちらが高血糖改善作用が強いかは明らかとなっていない。

また、DHEAは加齢との関連性が指摘されていて、実際に猿にカロリー制限食を投与すると、寿命が延長し、血中DHEA-S濃度が上昇する(Roth GS et al. Science, 2002)が、実際にDHEAを投与すると、寿命延長効果があるか等の詳細は不明である。

## 2. 研究の目的

### (1) 抗糖尿病作用

C57B6マウス、IRS-1欠損マウス、IRS-2欠損マウスに高脂肪食、または、DHEA含有高脂肪食をそれぞれ投与し、肝臓と筋肉におけるインスリン感受性を評価する

DHEAが直接肝細胞に作用してインスリン感受性を亢進させるか否かを初代培養肝細胞を用いて検討する。

DHEAまたはDHEA-Sのどちらかが血糖降下作用が強いのか、血糖低下作用がDHEA/DHEA-S自身の作用によるものか、または、DHEAの代謝物による作用か否かを検討することが第3の目的である

### (2) 抗加齢作用

Klothoマウスをコントロール食群とDHEA含有食群に分け、寿命延長効果が認められるかを確認する。

## 3. 研究の方法

### (1) 抗糖尿病作用

雄のC57B6マウス、IRS-1欠損マウス、IRS-2欠損マウス、それぞれコントロール群(高脂肪食のみ)とDHEA投与群(高脂肪食+DHEA)の2群に分け、インスリン低血糖試験、ブドウ糖負荷試験、肝臓と筋肉におけるインスリン情報伝達系の評価を行った。

次に、雄のC57B6マウスをコントロール群(高脂肪食のみ)とandrostenedione投与群(高脂肪食+

androstenedione)の2群に分け、同様の検討を行った。

C57B6 マウスから初代培養細胞を作成し、DHEA、DHEA-S、androstenedione を添加し、Akt のリン酸化を定量した。

db/db マウスに、普通食、0.4%DHEA 含有食、0.4%DHEA-S 含有食、0.4%androstenedione 食、0.4%testosterone 食を投与し、インスリン低血糖試験を実施した。

## (2) 抗加齢作用

Klotho マウスを、それぞれコントロール群(普通食 n=3)と DHEA 投与群(DHEA 含有食 n=3)の2群に分け、寿命延長効果が認められるか検討した。

## 4 . 研究成果

### (1) 抗糖尿病作用

インスリン低血糖試験で、インスリン投与前血糖値に対する投与後の血糖値の比にてインスリン感受性を検討したが、C57B6、IRS-1 欠損、IRS-2 欠損マウスとも、コントロールに対して DHEA 投与による改善を認めなかった。C57B6、IRS-1 欠損、IRS-2 欠損マウスにおいて、DHEA により肝臓の Akt リン酸化は亢進した。C57B6 マウスでは androstenedione により肝臓 Akt リン酸化は亢進しなかった。B6 マウスにおいて、DHEA による筋肉 Akt のリン酸化は亢進せず、PKC

リン酸化は亢進傾向にあるものの有意差を認めなかった。IRS-1 欠損、IRS-2 欠損マウスにおいて、DHEA 投与による筋肉 Akt、PKC のリン酸化は亢進しなかったが、C57BL6 マウスにおいて androstenedione 投与による筋肉 Akt、PKC のリン酸化は亢進した。

DHEA は肝臓のインスリン感受性を亢進させ、これには少なくとも IRS-1 または IRS-2 のどちらかが存在すればよいことが示された。DHEA の肝臓のインスリン感受性亢進作用は、DHEA/DHEA-S 自身によるものと考えられた。また、androstenedione が筋肉のインスリン感受性を亢進させている可能性があると考えられた。

C57BL6 マウスから初代培養肝細胞を作成して検討を行ったところ、in vivo とは異なり、コントロールに比して DHEA または DHEA-S 添加(1 $\mu$ M、10 $\mu$ M)による Akt のリン酸化の亢進は認めなかった。androstenedione 1 $\mu$ M 群で Akt のリン酸化の亢進を認めたが、10 $\mu$ M 群では認めなかった。今後、高脂肪食負荷マウスや db/db マウスの初代培養肝細胞における DHEA/DHEA-S の作用を評価する予定である。

db/db マウスの随時血糖値は、普通食群に比し、DHEA 食群と DHEA-S 食群で有意に低下したが、DHEA 食群と DHEA-S 食群間では有意差を認めなかった。インスリン低血糖試験では、インスリン投与前血糖値に対する投与後の血糖値の比にて検討したが、普通食、DHEA 食、DHEA-S 食、androstenedione 食、testosterone 食群間で有意差を認めなかった。

(2) Klotho マウスを用いた検討では、DHEA 投与による寿命延長効果を認めなかった。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計4件)

Aoki K, Sato H, Terauchi Y. Usefulness of antidiabetic alpha-glucosidase inhibitors: a review on the timing of administration and effects on gut hormones. *Endocr J.* 66:395-401, 2019 doi: 10.1507/endocrj.EJ19-0041

Aoki K, Terauchi Y. Effect of Dehydroepiandrosterone (DHEA) on Diabetes Mellitus and Obesity. *Vitam Horm. Vitam Horm.* 108:355-365, 2018 Review. doi: 10.1016/bs.vh.2018.01.008.

Aoki K, Nagakura M, Taguri M, Kamiyama H, Masumura M, Furuie T, Oka M, Kamiko K, Nakajima

S, Akema N, Terauchi Y. Effect of Switching From an Anti-Diabetic Loose Dose Combination to a Fixed Dose Combination Regimen at Equivalent Dosage for 6 Months on Glycemic Control in Japanese Patients With Type 2 Diabetes: A Pilot Study. J Clin Med Res. 9:719-724, 2017 doi: 10.14740/jocmr3067w

Aoki K, Tajima K, Taguri M, Terauchi Y. Effect of dehydroepiandrosterone (DHEA) on Akt and protein kinase C zeta (PKC $\zeta$ ) phosphorylation in different tissues of C57BL6, insulin receptor substrate (IRS)1<sup>(-/-)</sup>, and IRS2<sup>(-/-)</sup> male mice fed a high-fat diet. J Steroid Biochem Mol Biol. 159:110-120, 2016 doi: 10.1016/j.jsbmb.2016.03.011.

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計1件)

Aoki K, Terauchi Y. Chapter 6. The Effects of Dehydroepiandrosterone (DHEA) on Diabetes Mellitus, Obesity, and Atherosclerosis. Advances in Medicine and Biology. Volume 114, 169-180, 2017

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名: 寺内 康夫

ローマ字氏名: (TERAUCHI, yasuo)

所属研究機関名: 横浜市立大学大学院医学研究科

部局名: 分子内分泌・糖尿病内科学

職名: 教授

研究者番号(8桁): 40359609

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：佐藤 温洋

ローマ字氏名：(SATO, haruhiro)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。