

令和 2 年 7 月 14 日現在

機関番号：44305

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2019

課題番号：16K12733

研究課題名(和文) 脂溶性ビタミンと運動に着目したアンドロゲン低下に伴う肥満とうつ状態の改善

研究課題名(英文) Spontaneous physical training and Vitamin D ameliorate depression-like behavior in orchidectomized mice

研究代表者

望月 美也子 (Mochizuki, Miyako)

京都文教短期大学・食物栄養学科・准教授

研究者番号：20367858

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、ob/obマウスの精巣を摘出して男性更年期モデルラットを作成し、ビタミンDの充足と低強度運動によるうつ状態の改善効果を検討した。その結果、精巣摘出前後の血清テストステロン濃度を測定すると、有意($P<0.01$)に低下が認められた。一方、うつ状態とビタミンD欠乏食の摂取は、体重、摂食量、飲水量に影響を及ぼさなかった。強制水泳試験の結果から、薬物の投与によってうつ状態を惹起しなくても、精巣摘出によってうつ状態が惹起され、軽度の運動により緩和されることが示唆された。さらに、V.D欠乏食の結果から、血清ビタミンDは、運動によるうつ状態の緩和効果を増強する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

うつ状態などの心の健康問題や男性更年期に伴う記憶力の低下は、客観的な測定・評価法が十分確立しておらず、成因までのプロセスの把握が難しい。また、個人差が大きいため、明らかな病態として進行するまで医学的にも社会的にもケアが行われていない。さらに、うつや記憶力の低下は、誤解や偏見もあり、本邦には解決すべき問題が多数存在している。

本研究は、男性自らが心身の健康について十分理解し、加齢に応じた過食や肥満の予防、あるいは食生活の改善や運動という「ライフステージに応じたセルフケア法の提案」として社会的意義を有する。

研究成果の概要(英文)：The present study was conducted to the ameliorative effect of spontaneous wheel running and Vitamin D on depression-like behavior in orchidectomized and chronic corticosterone (CORT) treated ob/ob mice. Testosterone levels were decreased by the orchidectomy. The mice were placed in the cages equipped with wheels and the wheel count was recorded. Depression-like behavior was investigated by the forced swimming test. Immobility time was significantly longer by orchidectomy regardless of the CORT treatment. When the mice were undertaking spontaneous physical training, immobility time was significantly shortened. Vitamin D reinforced the above effect. Our results indicated that spontaneous physical training may serve to reduce orchidectomy or CORT induced stress and Vitamin D reinforced the ameliorating effect.

研究分野：ライフステージ栄養学

キーワード：男性更年期 テストステロン 脂溶性ビタミン 低強度運動 食と栄養

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本研究着想の背景として、中高年の男性にも女性の更年期と似た症状を呈することが明らかになり、一般的にも男女共に更年期の存在が認知された。本邦では、加齢に伴う男性の性腺機能低下症は古くから「andropause」と表現されてきたが、国際的には「加齢によるアンドロゲンの低下に伴う症状を呈する状態」を示す言葉として **androgen decline in the aging male (ADAM)** もしくは **partial androgen deficiency of threatening male (PADAM)** が汎用され、本邦においても **PADAM** という概念が次第に定着していった。

そして、日本泌尿器科学会は、病態を医学的に的確に表現した言葉として「加齢男性性腺機能低下症候群 (LOH 症候群)」を採用し、「LOH 症候群診療ガイドライン」が作成され、LOH 症候群の診療が開始されている。

研究開始時の国内の研究動向として、並木ら¹⁾によると、LOH 症候群とは、「男性ホルモンの部分欠乏に因る症状および徴候からなる症候群」とされており、以前は加齢に伴う生理現象とみなされて診療の対象とされておらず、女性に対するホルモン補充が国際的に広く普及しているのに対し、高齢男性に対する医療は ED 治療薬の普及以外、あまり医療の対象となっていなかったと報告している。

さらに、男性更年期障害は主に更年期に発症する多彩な身体、精神症状を伴う疾患であり、その原因としてアンドロゲンの低下のみならず、ホルモン以外の精神的、身体的因子が関与している場合が少なくないとも報告している。

堀江²⁾は、LOH 症候群はうつ、性機能低下、認知機能の低下、骨粗鬆症、心血管疾患、内臓脂肪の増加、インスリン抵抗性の悪化、HDL の低下、コレステロール値と LDL の上昇に寄与し、メタボリック症候群のリスクファクターになると報告しているだけでなく、LOH 症候群には大うつ病の患者が含まれることが多く、テストステロンが低いと、QOL に大きな影響を与えると報告している。

脂溶性ビタミンであるビタミン D は、カルシウム代謝、骨代謝に密接に関わっていることが古くから知られている。ビタミン D は、食物の経口摂取だけでなく、紫外線を浴びることによって皮膚からも産生されるが、紫外線量が少ない地域では、食物からのビタミン D 摂取に加え「積極的な日光浴」の推奨が報告されている。

海外の動向として、ビタミン D 摂取量を抑制したラットは、学習能力と記憶能力が低下することも報告されている (Pei et al., *Psychoneuroendocrinology*, 2015)。さらに、低強度運動は、海馬のアンドロゲン量を増加させ、海馬神経新生を促進すること (Okamoto et al., *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012)、身体活動量の低下が海馬神経新生を抑制させることが報告されている (Nishijima et al., *J Phys Fitness Sports Med*, 2015)。

一方、研究代表者らは、本研究の開始前に 2010 年～2012 年基盤研究(C)「男性更年期の記憶力や活動量低下を緩和する運動トレーニングの検討」にて男性更年期モデルラットを作成し、運動トレーニングを実施すると、八方向放射状迷路実験において、記憶力が向上することを報告している³⁾。また、うつ病モデルマウスを作成し、食品成分の摂取によってうつ症状が緩和することも明らかにしている⁴⁾。本研究は、以上の国内外の動向や研究成果を発展させることを学術的背景としている。

2. 研究の目的

遺伝的に肥満状態を呈する **ob/ob** マウスの精巣を摘出して男性更年期モデルラットを作成し、ビタミン D の充足と低強度運動によるうつ状態の改善効果を行動生理学的手法から検討することを最終目的とする。

- (1) オス **ob/ob** マウスの精巣を摘出し、肥満を呈した男性更年期モデルラットが作成できるかどうかを確認する。
- (2) 研究代表者らの既報⁴⁾に基づき、グルココルチコイド (コルチコステロン) を投与してうつ状態を惹起させ、強制水泳試験にてうつ状態を呈しているかどうかを確認する。
- (3) ビタミン D 摂取量とうつ状態の関係を評価するため、一般的な飼料とビタミン D を欠乏させた特殊飼料を調整し、うつ状態の改善にビタミン D が必要かどうかを検討する。
- (4) 低強度運動とうつ状態の関係を評価するため、マウス用回転ゲージを用いた自発的運動量を測定し、うつ状態の改善に低強度運動が必要かどうかを検討する。

3. 研究の方法

- (1) 肥満を呈した男性更年期モデルラットの作成と評価

① オス **ob/ob** マウスの精巣の摘出

6 週齢オス **ob/ob** マウス (日本チャールスリバー株式会社) を用いた。予備飼育の後、ORX 群には精巣摘出術、SHAM 群にはシャムオペレーションを行った。精巣摘出方法、飼育条件は、研究代表者らの既報⁴⁾によった。

②血清テストステロン濃度の測定

飼育終了時まで経時的に採血し、血清テストステロン濃度を市販されているキットを用いて測定した。血中テストステロン濃度の低下から男性更年期モデルラットとする。

(2) うつ状態の惹起、ビタミンD摂取量および低強度運動の評価

グルココルチコイド（コルチコステロン）投与方法は、研究代表者らの既報⁴⁾によった。飼料はAIN-93G（普通食）を用い、ビタミンD欠乏食はAIN-93Gを改変して調製した。自発運動量は、マウス用回転ケージを用いて測定した。飼料と水は自由摂取させた。

(3) 群分け

予備飼育の後、体重層別化無作為抽出法により、各群の平均体重が均一となるように6群に群分けした。

ORX 運動群；ORX+普通食+自発的運動

ORX-CORT 運動群；ORX+CORT+普通食+自発的運動

ORX-CORT 群；ORX+CORT+普通飼食

ORX-CORT V. D 欠運動群；ORX+CORT+V. D 欠食+自発的運動

ORX-CORT V. D 欠群；ORX+CORT+V. D 欠食

SHAM 群：シャムオペレーション+普通食

(4) うつ状態の評価（強制水泳試験）

大橋ら⁵⁾の報告によると、マウスの体が底につかない深さの水に入れると、初めは逃避行動が盛んに生じるが、次第に動きが少なくなって無動が多くなるという一連の反応を示すことが示されている。また、既存の抗うつ療法をあらかじめ行うと無動時間が短縮することから、強制水泳試験は主として抗うつ薬のスクリーニングを目的として30年以上にわたり世界的に使われている方法である。

具体的な試験方法は、研究代表者らの既報⁴⁾によって行い、ビデオカメラを用いて録画した後、解析を行った。

4. 研究成果

(1) 肥満を呈した男性更年期モデルラットの作成と評価

精巣摘出前の血清テストステロン濃度には各群間に有意な差は見られなかったが、精巣摘出後の血清テストステロン濃度を測定すると、精巣摘出群（ORX 運動群、ORX-CORT 運動群、ORX-CORT 群、ORX-CORT V. D 欠運動群、ORX-CORT V. D 欠群）はSHAM 群と比較して、有意($P < 0.01$)に血清テストステロン濃度の低下が認められた。これらのことから、ob/ob マウスにおいても精巣摘出術を行うことによって、肥満を呈した男性更年期モデルラットを作成できることが確認された。

(2) うつ状態の惹起、ビタミンD摂取量および低強度運動の評価

飼育終了時まで飼料と水は自由摂取としたが、体重、摂食量、飲水量に各群間の有意な差は認められなかった。うつ状態の惹起とビタミンD欠乏食の摂取は、体重、摂食量、飲水量に影響を及ぼさないことが明らかとなった。

一方、マウス用回転ゲージを用いた運動群の自発運動量を測定した結果、ORX 運動群、ORX-CORT 運動群、ORX-CORT V. D 欠運動群の3群共に経時的に運動量が低下することが明らかとなった。しかし、ORX-CORT 運動群とORX-CORT V. D 欠運動群は、ORX 運動群と比較して、運動量の低下を抑制することが明らかとなった。

その理由として、VDによる筋力増強とORXによって血清テストステロン濃度が低下したことにより、コルチゾールの分泌が亢進し、ストレスによって自発的運動が増加したのではないかと考えた。今後、血清テストステロン濃度の低下と自発的運動の増加に関する詳細な検討が必要である。

(3) 強制水泳試験の評価

ORX 群には精巣摘出術、SHAM 群にはシャムオペレーションを行い、CORT 投与後に強制水泳試験を実施した結果、精巣摘出群のうち、ORX 運動群、ORX-CORT 群、ORX-CORT V. D 欠運動群、ORX-CORT V. D 欠群の4群はSHAM 群と比較して、水中無動時間が長くなることが明らかとなった（図1）。

これらの結果から、ORXによる血清テストステロン濃度の低下は、グルココルチコイド（コルチコステロン）投与によるうつ状態の惹起と同様にうつ状態を呈することが示唆された。しかしながら、ORX-CORT 運動群のみ、SHAM 群と比較して水中無動時間が短くなることが明らかとなったことから、CORT 処理に関する詳細な検討が必要である。

<自発的運動の効果>

ORX-CORT 運動群とORX-CORT 群を2群間で比較すると、自発的運動を行っている群は有意

($P < 0.01$)に無動時間が短くなることが明らかとなった。

<V.D 欠乏食の影響>

ORX-CORT 運動群と ORX-CORT V.D 欠運動群の 2 群間で比較すると、ORX-CORT V.D 欠運動群は有意 ($P < 0.05$)に無動時間が長くなることが明らかとなった。

以上の結果を総合すると、強制水泳試験の結果から、グルココルチコイド(コルチコステロン)投与によってうつ状態を惹起しなくても、ORX を実施することによってうつ状態を呈することが示唆された。

一方、普通食の場合は、自発的運動群はうつ状態を抑制することが明らかとなったが、その効果は V.D によりさらに増強されることが明らかとなった。

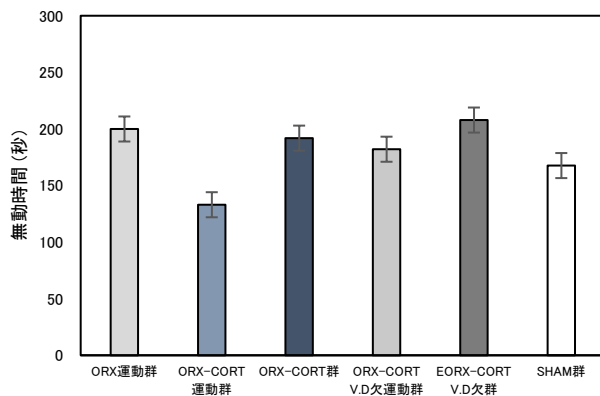


図 1 ; 強制水泳試験の結果

引用文献 :

- 1) 並木幹夫、高栄哲、小中弘之ら、加齢男性性腺機能低下症候群 (LOH 症候群) 診療の手引き、泌尿器外科 23(1)、2010、P51~55、
- 2) 堀江 重郎、男性更年期障害 (LOH 症候群)、日本内科学会誌、102(4)、2013、P914~921
- 3) Noboru Hasegawa, Miyako Mochizuki, Lin Mei, Treadmill exercise improves impaired spatial memory function in partial androgen deficiency rat model. J. Sports Sci. Med., 2010, 10, P596~597
- 4) Lin Mei, Miyako Mochizuki, Noboru Hasegawa, Pycnogenol Ameliorates Depression-Like Behavior in Repeated Corticosterone-Induced Depression Mice Model.
- 5) 大橋綾子、柳田諭、林美穂ら、強制水泳の神経科学、日本生物学的精神医学会誌、22 (2)、2011、P117-126

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	長谷川 昇 (Hasegawa Noboru) (10156317)	石川県立看護大学・看護学部・教授 (23302)	
研究 分 担 者	吉村 篤司 (Yoshimura Atsushi) (70159234)	名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・教授 (13903)	