

機関番号：37111

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20390263

研究課題名（和文）生活習慣病発症基盤としてのアンドロゲンの意義に関する基礎的、臨床的研究

研究課題名（英文）Basic and clinical research on the significance of androgen as the basis for the onset background of lifestyle-related diseases

研究代表者 柳瀬 敏彦（YANASE TOSHIHIKO）

福岡大学・医学部・教授

研究者番号：30239818

研究成果の概要（和文）：アンドロゲンの抗肥満作用の機序として、エネルギー産生亢進作用のあるレプチン-STAT3 シグナルのアンドロゲン受容体(AR)による活性化機構を明らかにした。この仕事を進展させ、選択的アンドロゲン受容体モジュレーター(SARM)化合物としてテストステロン誘導体の S42 を見出し、S42 が 除睾 SD ラットの血中中性脂肪濃度を著明に低下させることを明らかにした。アンドロゲンと動脈硬化症との関連については、アンドロゲンの直接効果の有無については一定の見解がなかった。我々は動脈硬化モデル動物を用いて、内因性アンドロゲンが動脈硬化抑制作用を示すことを明らかにし、その機序の一端としてアンドロゲンによる酸化 LDL 受容体、LOX-1 の発現抑制を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：As a mechanism for the anti-obesity effect of androgen, we clarified that androgen receptor (AR) can potentiate leptin-STAT3 signaling which is closely associated with energy expenditure. By extending this work, we identified a testosterone analogue, S42 as a new selective androgen receptor modulator (SARM) and found that S42 can dramatically reduce serum triglyceride level in male castrated SD rats. The significance of androgen in atherosclerosis is controversial. We revealed the anti-atherosclerotic effect of endogenous androgen in animal atherosclerotic model and clarified one mechanism related with the suppression of oxidized LDL receptor, LOX-1.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	4,600,000	1,380,000	5,980,000
2009年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2010年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
年度			
年度			
総計	14,200,000	4,260,000	1,8460,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内分泌学

キーワード：アンドロゲン、動脈硬化、メタボリックシンドローム、選択的アンドロゲン受容体修飾剤

## 1. 研究開始当初の背景

研究開始当初、生活習慣病におけるアンドロゲンの意義に関しては、ほとんど未解明の領域であった。一般的に、テストステロン(T)はエストロゲンとの対比から、動脈硬化促進的因子(悪玉)として

解釈されていたが、当時、生理的レベルのTはむしろ抗動脈硬化性に作用していることを示唆する疫学的研究成績が少しずつ報告され始めていた。また臨床的にTには抗抗肥満作用が示唆されていたが、機序は不明であった。当時、我々は東京

大学加藤茂明教授との共同研究によりアンドロゲン受容体(AR)KOマウスではオス特異的に晩発性肥満を呈すること、その機序としてオス ARKO マウスでは、運動量の低下と酸素消費量の低下に代表されるエネルギー消費の低下をきたし、また脂肪分解系の低下を認めることを報告していた(Diabetes 54, 1000, 2005)。オス ARKO マウスではレプチン抵抗性を認めた。当時、未発表ながら二重免疫染色で視床下部弓状核において AR とレプチン受容体が同一ニューロンに存在することを観察していたことから、エネルギー消費系シグナルであるレプチンシグナルへの AR の何らかの関与を想定し、本申請研究計画を構築した。また当時、インスリン/IGF-1シグナルが下流の Foxo1 のリン酸化を介して AR 転写活性を増強するという興味深い知見も発表していた(JBC 282, 7329, 2007)ことから、生活習慣病において T-AR 系とインスリンシグナル系の間で何らかのクロストークが存在する可能性も想定していた。

## 2. 研究の目的

本申請研究は、上記の背景と我々自身の研究実績を踏まえて、肥満、インスリン抵抗性、動脈硬化症等の生活習慣病における T-AR 系の作用とその意義を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) アンドロゲンの抗肥満作用機序: アンドロゲンの抗肥満作用機序の一端として、AR によるレプチンシグナルの増強効果の有無を検討した。AR がレプチン刺激下での STAT3 の核内移行を増強するか否かを STAT3-YFP の培養細胞系 (HEK293 細胞) への導入実験を用いて検討を行った。さらに *in vivo* での検証研究としてオス ARKO マウスにおけるレプチン刺激下での視床下部弓状核での STAT3 の細胞内 (核内あるいは核外) 局在を免疫染色にて検討した。

(2) 選択的アンドロゲン受容体モジュレーター(SARM)の探索研究: 前立腺刺激作用を有さず、抗メタボリックシンドローム(MS)作用を有する SARM の開発目的で以下の研究を行った。前立腺刺激活性がなく、UCP 刺激活性を刺激するステロイド化合物の探索を行った。119 のステロイド化合物のうち、前立腺癌細胞株 LNCaP 細胞において PSA プロモーター刺激活性を認めず、NIH-3T3 細胞の UCP-1 刺激活性を認めた化合物のみを選択した。その結果、S42 という T 誘導体にそのような活性を認めた。dihydrotestosterone(DHT) 投与を対照として、S42 の除睾 SD ラットへの 3 週間投与(腹

腔内投与)を行い、前立腺重量、肛門挙筋重量、血中脂質等を指標として、効果を比較検討した。また、屠殺後、脂肪、肝臓などにおける脂質関連酵素の発現を real-time PCR にて定量的に検討した。

(3) 内因性アンドロゲンの動脈硬化への影響: 高コレステロール食負荷ラビット(New Zealand white rabbit)を動脈硬化モデルとして無処置群、精巣摘出群、精巣摘出+DHT 投与群(皮下植え込み型 10-20mg/pellet)の3群に分け、大動脈硬化形成をきたす約 10-12 週で、屠殺し、大動脈の粥状硬化の程度を Sudan III 染色にて定量的比較検討を行なった。一部の組織は病理学的検討(LOX-1 抗体による免疫染色等)を行った。また採血検体は血中総テストステロン濃度、血清脂質等の測定を行った。

(4) 内因性アンドロゲン作用系の動脈硬化への影響: (3)の裏付け研究としてアポ EKO マウスと ARKO マウスの交配によりアポ E/AR ダブル KO マウスを作成し、アポ EKO マウスとの比較により動脈硬化病変の軽重について評価を行なった。具体的には動脈硬化性病変の範囲や程度を Sudan III 染色による脂肪染色下に観察し、HE 染色等による病理学的、統計学的検討を加えた。この際、血中脂質マーカーも測定した。

## 4. 研究成果

(1) アンドロゲンの抗肥満作用機序: エネルギー産生亢進作用のあるレプチン-STAT3 シグナルをアンドロゲン受容体(AR)が活性化する機構を明らかにした。培養細胞系において AR は STAT3 の核内移行を促進した。同時に、レプチン刺激下での STAT3 の視床下部弓状核における局在はオス野生型マウスでは核に明瞭に存在するのに対し、オス ARKO では、核と細胞質の両方に存在した。これらのことから、AR の STAT3 の核内移行促進機序によるレプチンシグナル増強効果が示唆された(Endocrinology 2008)。

(2) SARM の探索研究: MS 作用を有する可能性のある SARM 化合物として S42 を見出した。1, 10 mg/kg の S42 の除睾 SD ラットへの投与は、同量 DHT と異なり前立腺重量増加作用を示さず、骨格筋の肛門挙筋の重量を僅かながら増加させた。S42 が血中の中性脂肪を著明に低下させることを明らかにしたがその機序として、肝臓、白色脂肪などの脂肪合成系(SRBP-1C など)の低下によることを明らかにした(Endocrinology 2009)。

(3) 内因性アンドロゲンの動脈硬化への影響: 動脈硬化モデルである高コレステロール食負荷ラビットへ、エストロゲンに転換されることがないアンドロゲンである DHT の投与研究を行った。このモデル動物では精巣摘出群が、さらに動脈硬化を増悪させたが、DHT

除放ペレットによる DHT の生理的濃度の達成が、その動脈硬化を抑制すること、その機序には酸化 LDL 受容体の LOX-1 抑制が関与すること明らかにした (Endocrinology 2010)。

(4) 内因性アンドロゲン作用系の動脈硬化への影響: ApoE KO マウスに比べ、ApoE/AR のダブル KO マウスは 25 週の経過時点で、明らかな動脈硬化巢面積の増悪を認めた。これらの現象は血中脂質レベルの変動とは関連していなかった (投稿準備中)。以上の結果より、内因性アンドロゲン-AR 作用系は、抗肥満、抗動脈硬化性に抑制的に作用していると考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 34 件)

- ① Kwintkiewicz J, Nishi Y, Yanase T, Giudice LC, Peroxisome Proliferator Activated Receptor- $\gamma$  Mediates Bisphenol A Inhibition of FSH-Stimulated IGF-1, Aromatase, and Estradiol in Human Granulosa Cells. Environ Health Perspect. 18(3), 2010, 400-406 査読有り
- ② Qiu Y, Yanase T, Hu H, Tanaka T, Nishi Y, Liu M, Sueishi K, Sawamura T, Nawata H, Dihydrotestosterone suppresses foam cell formation and attenuates atherosclerosis development. Endocrinology 151, 2010, 3307-16 査読有り
- ③ Akehi Y, Mitsuyoshi Y, Tatsumoto A, Yoshida R, Ohkubo K, Kudo T, Ashida K, Anzai K, Yamashita T, Kawashima H, Ono J, Yanase T. Serum gamma-glutamyltransferase, triglyceride and total cholesterol are possible prediabetic risk markers in young Japanese men. Endocrine J 57, 2010, 981-989 査読有り
- ④ Nawata H, Watanabe T, Yanase T, Nomura M, Ashida K, Min L, Fan W, Sex hormone and neuroendocrine aspects of the metabolic syndrome. Prog Brain Res 182, 2010, 175-87 査読有り
- ⑤ 柳瀬敏彦, 野見山 崇, 性ホルモンと糖尿病 Diabetes Journal 38, 2010, 144-148 査読無し
- ⑥ 柳瀬敏彦, 明比 祐子, 特集: 男性更年期障害の考え方と実地臨床 各種ホルモンの加齢変動の意義 日本医師会雑誌 139(9), 2010, 1828-1829 査読無し
- ⑦ 柳瀬敏彦, 村瀬 邦崇, 田中智子 性ホルモン受容体とアディポサイエンス アディポサイエンス 7, 2010, 113-117 査読無し
- ⑧ 柳瀬敏彦, 核内受容体と内分泌疾患 U P D A T E: アンドロゲン受容体とメタボリックシンドローム ホルモンと臨床 58, 2010, 93-98 査読無し
- ⑨ 柳瀬敏彦, 蘆田健二, 明比祐子 III. 内分泌 B. 臨床分野での進歩 「4. アンチエイジングとホルモン」 Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌 2010 pp242-245 査読無し
- ⑩ 柳瀬敏彦, 村瀬邦崇 特集・アンチエイジング医学の進歩 アンチエイジングとしてのホルモン補充療法: GH, DHEA, テストステロン 臨床と研究 87, 2010, 515-520 査読無し
- ⑪ 蘆田健二, 明比祐子, 工藤忠睦, 柳瀬敏彦, : 特集 テストステロンと骨 「アンドロゲンの骨への作用」 CLINICAL CALCIUM 20: 2010, 165-173 査読無し
- ⑫ Min L, Yanase T, Tanaka T, Fan W, Nomura M, Kawate H, Okabe T, Takayanagi R, Nawata H, A novel synthetic androgen receptor ligand, S42, works as a selective androgen receptor modulator and possesses metabolic effects with little impact on the prostate. Endocrinology 150, 2009, 5606-16 査読有り
- ⑬ Matoba Y, Inoguchi T, Suzuki S, Nasu S, Hashimoto T, Yanase T, Nawata H, Takayanagi R. Impact of metabolic syndrome on the progression of Intima-Media Thickening in Japanese--a follow-up study. Diabetes Res Clin Pract. 86, 2009, e50-3 査読有り
- ⑭ Yanase T, Fan W. Modification of androgen receptor function by IGF-1 signaling implications in the mechanism of refractory prostate carcinoma. Vitam Horm 80, 2009, 649-66 査読有り
- ⑮ Iwamoto T, Yanase T, Horie H, Namiki M, Okuyama A. Late-onset hypogonadism (LOH) and androgens: validity of the measurement of free testosterone levels in the diagnostic criteria in Japan. Int J Urol. 16, 2009, 168-74 査読有り
- ⑯ 柳瀬敏彦 アンドロゲン-アンドロゲンレセプターとメタボリックシンドローム Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌 2009 141- 146 査読無し
- ⑰ 柳瀬敏彦 アンドロゲンの見直されつつある生理作用—アンドロゲンの抗メタボ作用 実験医学 27: 2009, 2276 - 2280 査読無し

- ⑱ 柳瀬敏彦 symposium 第 5 回メタボリックシンドローム研究会 proceeding「アンドロゲン受容体とメタボリックシンドローム」 Therapeutic Research 30: 2009, 942-947 査読無し
- ⑲ 柳瀬敏彦 アンドロゲンの医学: DHEA(-S) + テストステロン 日本抗加齢医学会雑誌 5: 2009, 42-46 査読無し
- ⑳ 柳瀬敏彦 「新しい臨床検査」 DHEA(-S), アンドロステンジオン、テストステロン 診断と治療 97 (特大号) 2009, 1892-1895 査読無し
- ㉑ 蘆田健二、竹之下博正、明比祐子、柳瀬敏彦 わかってきた男性ホルモンの作用 治療 91: 2009, 2185-2191 査読無し
- ㉒ Mottershead D. G, Pulkko M, Muggalla P, Pastemach A, Tolone M, Myllymaa S, Korchynskiy O, Nishi Y, Yanase T, Lun S, Juengel J, Laitinen M, Rivos O. Characterization of human growth differentiation factor-9 signaling in ovarian granulosa cells. Mol Cell Endocrinol 283: 2008, 58-67 査読有り
- ㉓ Matoba T, Inoguchi T, Nasu S, Suzuki S, Yanase T, Nawata H, Takayanagi R. Optimal cut-points of waist circumference for the clinical diagnosis of metabolic syndrome in the Japanese population. Diabetes Care 31: 2008, 590-592 査読有り
- ㉔ Shirohzu H, Okabe T, Gondo S, Tanaka T, Ohe K, Morinaga H, Kawate H, Nomura M, Takayanagi R, Nawata H, Yanase T. Methylation of a conserved intronic CpG island of mouse SF-1 is associated with cell-specific expression of SF-1 in a culture system but not with tissue-specific expression. Biochem Biophys Res Commun 369: 2008, 862-867 査読有り
- ㉕ Namiki M, Akaza H, Shimazui T, Ito N, Iwamoto T, Baba K, Kumano H, Koh E, Tsujimura A, Matsumiya K, Horie S, Maruyama O, Marumo K, Yanase T, Kumamoto Y. Working committee on clinical practice guidelines for late-onset hypogonadism; Japanese Urological Association/Japanese Society for Study of Aging Male. Clinical practice manual for late-onset hypogonadism syndrome. Int J Urol 15: 2008, 377-388 査読有り
- ㉖ Yanase T, Fan W, Kyoya K, Liu M, Takayanagi R, Kato S, Nawata H. Androgens and metabolic syndrome: lessons from androgen receptor knock out (ARKO) mice. J Steroid Biochem Molec Biol 109: 2008, 254-257 査読有り
- ㉗ Maeda Y, Inoguchi T, Tsubouchi H, Sawada F, Sasaki S, Fujii M, Saito R, Yanase T, Shimabukuro M, Nawata H, Takayanagi R. High prevalence of peripheral arterial disease diagnosed by low ankle-brachial index in Japanese patients with diabetes: the Kyushu Prevention Study for Atherosclerosis. Diabetes Res Clin Pract 82: 2008, 378-82 査読有り
- ㉘ Fan W, Yanase T, Nishi Y, Chiba S, Okabe T, Nomura M, Yoshimatsu H, Kato S, Takayanagi R, Nawata H. Functional potentiation of leptin-signal transducer and activator of transcription 3 signaling by the androgen receptor. Endocrinology 149, 2008, 6028-36 査読有り
- ㉙ Gondo S, Okabe T, Tanaka T, Morinaga H, Nomura M, Takayanagi R, Nawata H, Yanase T. Adipose tissue-derived and bone marrow-derived mesenchymal cells develop into different lineage of steroidogenic cells by forced expression of steroidogenic factor 1. Endocrinology 149, 2008, 4717-25 査読有り
- ㊀ 柳瀬敏彦 増刊 新時代の糖尿病学 (1) DHEA-S, アンドロゲン\_日本臨床 66(増刊号): 2008, 281-284 査読無し
- ㊁ 柳瀬敏彦, 名和田 新 特集 老年病の進歩と糖代謝 老化に伴う内分泌機能変化と糖代謝 糖尿病 51: 2008 299-301 査読無し
- ㊂ 柳瀬敏彦, 岡部泰二郎 特集 核内受容体と疾患 アンドロゲン受容体と疾患 ゲノム医学 8, 2008, 27-30 査読無し
- ㊃ 柳瀬敏彦 心血管疾患と核内受容体 性ホルモン受容体と代謝系異常 分子心血管病 6, 2008, 278-283 査読無し
- ㊄ 柳瀬敏彦 特集: 大きく変わる肥満症のとりえ方-摂食とエネルギー消費のバランス 機構性ステロイドと肥満 最新医学 63, 2008, 2085-2092 査読無し

[学会発表] (計 10 件)

- ① 柳瀬敏彦: サテライトシンポジウム「SERM と SARM」 selective androgen receptor modulator 第 15 回日本生殖内分泌学会 (豊中市) 2010 年 11 月 20 日

- ② 柳瀬敏彦：教育講演アンドロゲンとメタボリックシンドローム 平成10回日本内分泌学会北陸支部学術集会(金沢)2010年11月6日
- ③ 柳瀬敏彦：シンポジウム3 「性ホルモンと骨代謝」 アンドロゲンと骨代謝 第28回日本骨代謝学会(東京)2010年7月21日
- ④ Yanase T: Symposium “ Androgen” A new selective androgen receptor modulator which possesses metabolic effects with little impact on the prostate. 14<sup>th</sup> International Congress of Endocrinology (第14回国際内分泌学会)2010.3.29(Kyoto)
- ⑤ Tanaka T, Yanase T Official Satellite Symposium 13 New aspects of steroid :stem cells, biosynthesis and versatile actions. Steroidogenic cells regenerated from mesenchymal stem cells. International Congress of Endocrinology (第14回国際内分泌学会)2010.3.30(Kyoto)
- ⑥ Liu M, Yanase T Official Satellite Symposium 13 New aspects of steroid :stem cells, biosynthesis and versatile actions. A novel synthetic androgen receptor ligand, S42 works as a selective androgen receptor modulator and possesses metabolic effects with little impact on the prostate. International Congress of Endocrinology (第14回国際内分泌学会)2010.3.30(Kyoto)
- ⑦ Yanase T Session III A selective androgen receptor modulator which possesses metabolic effects with little impact on the prostate. 6<sup>th</sup> Bone Biology Forum 2009. 8. 21 Mishima (Invitation)
- ⑧ 柳瀬敏彦、范 吳強、西 芳寛、加藤茂明、名和田 新、高柳涼一 シンポジウム I [ステロイドホルモンからみたメタボリックシンドロームの成因と治療の展望] アンドロゲンとメタボリックシンドローム 第16回日本ステロイドホルモン学会 2008年11月22日(シンポジウム)(福井市)
- ⑨ 柳瀬敏彦 アンドロゲン：生活習慣病研究からアンドロゲン産生細胞再生まで(特別講演)第27回日本アンドロロジー学会 2008年7月4日(大阪)
- ⑩ Yanase T Symposium Androgen receptor regulated transcription “ Androgen receptor tranascription” 13<sup>th</sup> International Congress of

Endocrinology (第13回国際内分泌学会)2008. 11.12, リオデジャネイロ(ブラジル)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

柳瀬 敏彦 (YANASE TOSHIHIKO)  
福岡大学・医学部・教授  
研究者番号：30239818

### (2) 研究分担者

( )  
研究者番号：

### (3) 連携研究者

田中 智子 (TANAKA TOMOKO)  
福岡大学・医学部・助教  
研究者番号：10380528