

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24300235

研究課題名(和文) 運動がヒト骨格筋の性ステロイド代謝へ及ぼす影響

研究課題名(英文) Exercise and sex steroid hormones in skeletal muscle.

研究代表者

目崎 登 (MESAKI, Noboru)

筑波大学・名誉教授

研究者番号：30010408

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究はヒト骨格筋内性ステロイドホルモンの合成酵素発現および組織濃度の検討と加齢および高齢期のレジスタンストレーニングによる発現・分泌変動が筋量・筋力の増加に関連するかを検討した。ヒトの筋生検により、骨格筋内の性ステロイドホルモン合成酵素(3 β -HSD, 17 β -HSD, 5 α -reductase)発現が認められた。また、これらの発現および性ステロイドホルモン濃度は加齢により低下したが、レジスタンストレーニングにより改善し、骨格筋内の性ステロイドホルモン濃度と筋量・筋力との間に有意な正相関が認められた。骨格筋内の性ステロイドホルモンは高齢者の筋量・筋力の維持・増進に関与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Skeletal muscle can synthesize testosterone and 5 α -dihydrotestosterone (DHT) from dehydroepiandrosterone (DHEA) via steroidogenic enzymes, but hormone levels and steroidogenic enzyme expression decline with aging. However, it remains unclear whether resistance training can restore impaired steroidogenic enzyme expressions in older individuals. In this study, muscular sex steroid hormone levels and sex steroidogenesis-related enzyme expressions were significantly lower in older subjects than younger ones at baseline, but 12 wk of resistance training significantly restored hormone levels (each $P < 0.05$). Furthermore, the steroidogenesis-related enzymes such as 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (HSD), 17 β -HSD, and 5 α -reductase expressions were significantly restored by resistance training. We conclude progressive resistance training restores age-related declines in sex steroidogenic enzyme and muscle sex steroid hormone levels in older men.

研究分野：女性スポーツ医学

キーワード：性ステロイドホルモン 骨格筋 加齢 レジスタンストレーニング

1. 研究開始当初の背景

現在、糖尿病患者は国内で 250 万人 (そのうち約 10% は 1 型糖尿病) 予備軍を含め、1800 万人になるといわれており、急増する医療費を削減するためにこの疾患を予防・改善することは、急務である。糖尿病に対して、運動療法が効果的であることは明らかであるが、そのメカニズムとして、運動による骨格筋の糖輸送担体 (GLUT4) の発現を増加させ骨格筋による糖の取り込みを亢進し、インスリン抵抗性が改善するという報告が多くある (Zierath et al. J Appl Physiol, 2002)。一方で、2 型糖尿病、肥満、メタボリックシンドロームの患者では、性ホルモンの前駆体である DHEA が、正常人よりも低下しているという報告があり (Brignardello et al. Diabetes Care, 2007)、また血中 DHEA 濃度が加齢とともに減少することで中高齢者の生活習慣病 (2 型糖尿病、動脈硬化) の発症リスクにつながる可能性も示唆されている (Feldman et al, Am J Epidemiol, 2001)。これらのことから、研究代表者らは、性ステロイドホルモンと糖尿病の骨格筋糖代謝調節経路との関係に着目してきた。最近研究代表者らは、卵巣、精巣以外に筋細胞局所においても DHEA からテストステロン、5 α -dehydrotestosterone (DHT) が合成できることを報告した (Aizawa, Iemitsu et al. Am J Physiol, 2007, Sato, Iemitsu et al, Am J Physiol, 2008)。さらに、性ステロイドホルモン (DHEA, DHT) が筋の糖取り込み・利用の調節に影響するといった性ホルモンの新たな役割を発見した (Sato, Iemitsu et al, Am J Physiol, 2008, Acta Physiologica, 2009)。近年では、運動トレーニングにより、骨格筋中の性ステロイドホルモン (DHEA, DHT) や代謝関連酵素が増加させることを明らかにし (Sato, Iemitsu et al. Am J Physiol, 2011, Aizawa, Iemitsu et al, Med Sci Sports Exerc, 2011)、また、肥満ラットを用いて、骨格筋の糖代謝調節経路の GLUT4 も改善しており、骨格筋中の性ステロイドホルモン濃度と有意な相関関係がみられたことを動物実験にて報告している (Sato, Iemitsu et al. Am J Physiol, 2011)。

以上のことから、運動を行うことにより増大した性ステロイドホルモンが、骨格筋の糖取り込み・利用の調節亢進に影響する可能性が考えられる。しかしながら、これまでの申請者らの報告はすべて細胞・動物実験レベルであり、ヒトの骨格筋への影響は国内外の報告を見ても皆無である。

2. 研究の目的

本研究は、ヒトを対象に ヒト骨格筋にて性ホルモンを代謝・合成する機構が存在するのかを検討すること、長期的なレジスタンス運動により性ホルモン代謝・合成量が変化するかを検討することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 被験者:

健常若年男性 6 名 (24 \pm 1 歳) および健常高齢男性 13 名 (67 \pm 2 歳) を対象にした。すべての被験者は糖尿病、高血圧、脂質異常症、心疾患、腎疾患などの慢性疾患がなく、非喫煙者であった。また、本研究への参加に先立ち、すべての被験者に実験の内容や手順、予想される結果および予測されるリスクを説明した後に文書による実験参加の同意を得た。なお、本研究は「立命館大学びわこ・くさつキャンパス生命倫理審査委員会」の承諾を受け、ヘルシンキ宣言の精神に則り実施した。

(2) 実験手順:

被験者には、測定の前 24 時間前から激しい運動、カフェインおよびアルコール摂取を中止し、12 時間前から絶食させた。なお、飲水は自由摂取とした。実験中の室温は 25 $^{\circ}$ C に設定し、一定の気温にて実施した。すべての被験者に対して、安静時採血および外側広筋より筋生検を行った。

(3) レジスタンストレーニング介入:

高齢者において 12 週間の膝伸展、屈曲のレジスタンストレーニング (1RM70% 負荷、10 回 \times 3 セット、週 3 回) を実施した。トレーニング後に安静時採血および外側広筋より筋生検を行った。

(4) 測定項目:

筋量の測定

すべての被験者は仰臥位安静状態にし、磁気共鳴画像法 (MRI: Signa HDxt, 1.5T; GE ヘルスケアジャパン社製) を用いて、大腿部断面像の横断画像をスライス幅 1cm、ギャップなしで連続的に撮影した。大腿部は大転子と膝関節間の 50% 部位の骨格筋横断面積を測定した。

筋パワーの測定

筋パワーの評価として、等尺性の膝伸展運動、膝屈曲運動による発揮筋力を Biodex 社製のバイオデックスシステム 4 を用いて測定した。

血中および骨格筋中の性ステロイドホルモン濃度の測定

血液および骨格筋組織中の DHEA、DHT、遊離 testosterone の濃度は ELISA 法にて測定した。

骨格筋中の性ステロイドホルモン合成酵素タンパク発現の測定

筋生検にて採取した筋サンプルを用いて、Western blotting 法により、性ステロイドホルモン合成酵素である 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (HSD)、17 β -HSD、5 α -reductase のタンパク発現を Western blotting 法により測定した。

(5) 統計解析：

本研究結果は、すべて平均値±標準誤差で表した。若年および高齢者間およびレジスタンストレーニング前後の比較は、一元配置分散分析にて解析した。性ステロイドホルモン濃度と筋機能および筋量との関係をピアソンの相関係数によって検討するとともに、単回帰により回帰直線を求めた。危険率(P)は5%未満を有意水準とした。すべての統計解析は、StatView5.0(SAS社製)を使用した。

4. 研究成果

動物実験において、骨格筋性ステロイドホルモンの前駆体である DHEA からテストステロンやエストロゲンを代謝合成する酵素、3 β -HSD, 17 β -HSD, 5 α -reductase の発現が報告されているが、ヒトにおいても同様に 3 β -HSD, 17 β -HSD, 5 α -reductase 酵素のタンパク発現が認められた(図1)。

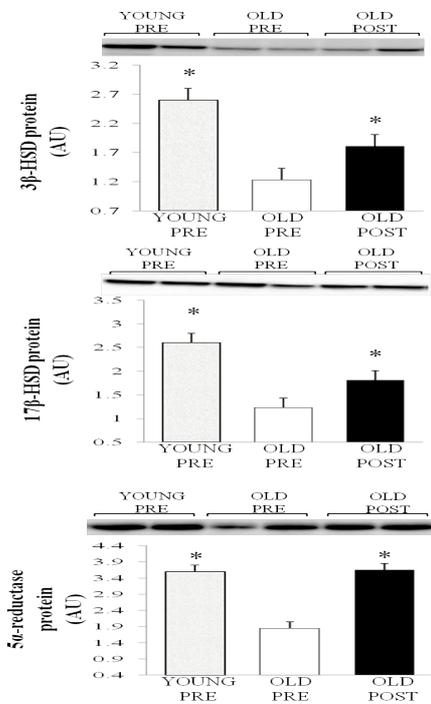


図1: 12週間のレジスタンス運動による骨格筋性ステロイドホルモン代謝酵素の変動

また、高齢者の骨格筋内の性ステロイドホルモン濃度(図2)や合成酵素(3 β -HSD, 17 β -HSD, 5 α -reductase:図1)発現は、若年者と比較して有意に低下していたが、12週間のレジスタンストレーニングにより、有意に改善した(P<0.05)。

また、骨格筋内の性ステロイドホルモン(遊離 testosterone および DHT)濃度は筋横断面積あるいは筋力と有意な正相関が認められた(遊離 testosterone vs 筋横断面積: r=0.515, P<0.002, vs 筋力: r=0.532, P<0.001, DHT vs 筋横断面積: r=0.521, P<0.001, vs 筋力: r=0.617, P<0.001, 表1)。これらの結果から、高齢期のレジスタンス

トレーニングは加齢によって低下した骨格筋内の性ステロイド合成代謝を改善させることにより、筋量・筋力の改善に關与する可能性が示唆された。

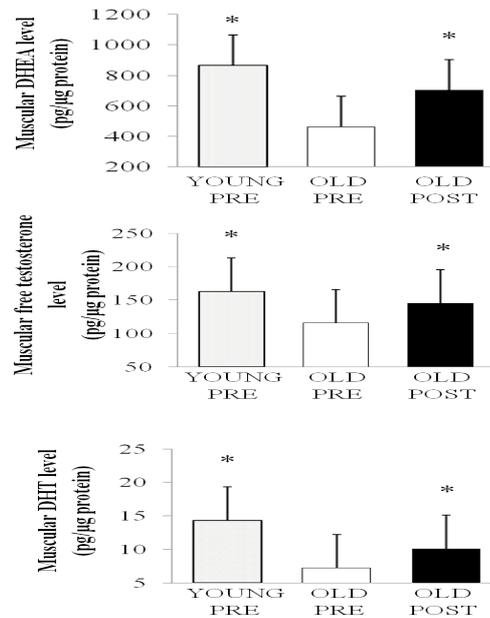


図2: 12週間のレジスタンス運動による骨格筋性ステロイドホルモン濃度の変動

表1: 12週間のレジスタンス運動による骨格筋性ステロイドホルモン濃度の変化量と筋量および筋力の変化量の相関

	Isokinetic Strength		Muscle CSA	
	r	p	r	p
Serum hormone				
DHEA	0.328	0.376	0.371	0.341
Free-testosterone	0.411	0.102	0.277	0.412
DHT	0.463	0.064	0.348	0.351
IGF-1	-0.164	0.671	-0.264	0.438
Muscle hormones				
DHEA	0.493	0.034	0.413	0.078
Free-testosterone	0.532	<0.001	0.515	0.002
DHT	0.617	<0.001	0.521	<0.001

以上の結果から、ヒトの骨格筋においても性ステロイド合成代謝する酵素は発現しているが、加齢により低下していること、また、高齢期のレジスタンストレーニングにより加齢によって低下した骨格筋内の性ステロイド合成代謝を改善させること、さらに、筋量・筋力の改善に關与する可能性が明らかとなった。

さらに、現在、性ホルモンはジオスゲニンといわれる栄養成分を摂取することにより組織中の濃度が増大することが知られている(Wu et al., Am J Coll Nutr 2005)。ジオスゲニンは山芋・自然薯などに多く含まれており、これらを摂取し、性ホルモンを分泌する機構が改善されることにより、糖尿病患者の血糖コントロール改善につながる可能

性が考えられる。そのため、動物実験にて、性ステロイドホルモン産生を促進するサプリメント摂取時の影響を検討することを目的とした。DHEA と化学構造が類似している食物由来のジオスゲニンに着目し、急性および慢性摂取による効果を動物実験にて検証した結果、インスリン分泌不全させたストレプトゾドシン投与モデルラットにおいて単回投与後の DHEA 濃度は増加し、高血糖状態を有意に改善させた。また、糖尿病モデルラットにて慢性摂取させた検討においても、骨格筋の GLUT4 を活性化させ、さらに、グルコースクランプ法にて検討した結果、インスリン抵抗性を有意に改善させた。

これらの結果から、食物由来のジオスゲニンは、骨格筋の性ステロイドホルモン産生を促進させることにより、糖取り込みを改善させる効果が認められた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 17 件)

Hasegawa N, Kurihara T, **Sato K**, Homma T, Fujie S, Fujita S, Sanada K, Hamaoka T, **Iemitsu M**. Intramyocellular and Extramyocellular Lipids Are Associated With Arterial Stiffness. *Am J Hypertens*. 2015 in press. 査読有, doi: 10.1093/ajh/hpv041

Miyamoto-Mikami E, **Sato K**, Kurihara T, Hasegawa N, Fujie S, Fujita S, Sanada K, Hamaoka T, Tabata I, **Iemitsu M**. Endurance training-induced increase in circulating irisin levels is associated with reduction of abdominal visceral fat in middle-aged and older adults. *PLoS One* 10: e0120354, 2015. 査読有, doi: 10.1371/journal.pone.0120354

Watanabe S, **Sato K**, Hasegawa N, Kurihara T, Matsutani K, Sanada K, Hamaoka T, Fujita S, **Iemitsu M**. Serum C1q as a novel biomarker of sarcopenia in older adults. *FASEB J* 29: 1003-1010, 2015. 査読有, doi: 10.1096/fj.14-262154

Sato K, **Iemitsu M**. Exercise and sex steroid hormones in skeletal muscle. *J Steroid Biochem Mol Biol* 145: 200-205, 2015. 査読有, doi: 10.1016/j.jsbmb.2014.03.009

Matsuo T, Saotome K, Seino S, Eto M, Shimojo N, Matsushita A, **Iemitsu M**, Ohshima H, Tanaka K, Mukai C. Low-volume, high-intensity, aerobic interval exercise for sedentary adults: VO_2 max, cardiac mass, and heart rate recovery. *Eur J Appl Physiol* 114: 1963-1972, 2014. 査読有, doi: 10.1007/s00421-014-2917-7

Park J, **Aizawa K**, Akimoto T, **Iemitsu M**, Agata U, Maeda S, Lim K, Omi N. Dehydroepiandrosterone administration

increased trabecular mass and dihydrotestosterone levels in the cancellous region of the tibia in young female rats. *Horm Metab Res* 46: 651-655, 2014. 査読有, doi: 10.1055/s-0034-1374630

Fujie S, **Sato K**, Miyamoto-Mikami E, Hasegawa N, Fujita S, Sanada K, Hamaoka T, **Iemitsu M**. Reduction of arterial stiffness by exercise training is associated with increasing plasma apelin level in middle-aged and older adults. *PLoS One* 9: e93545, 2014. 査読有, doi: 10.1371/journal.pone.0093545

Iemitsu M, Fujie S, Murakami H, Sanada K, Kawano H, Gando Y, Kawakami R, Tanaka N, Miyachi M. Higher cardiorespiratory fitness attenuates the risk of atherosclerosis associated with ADRB3 Trp64Arg polymorphism. *Eur J Appl Physiol* 114: 1421-1428, 2014. 査読有, doi: 10.1007/s00421-014-2862-5

Murakami H, **Iemitsu M**, Fuku N, Sanada K, Gando Y, Kawakami R, Miyachi M. The Q223R polymorphism in the leptin receptor associates with objectively measured light physical activity in free-living Japanese. *Physiol Behav* 129: 199-204, 2014. 査読有, doi: 10.1016/j.physbeh.2014.02.053

Sato K, Fujita S, **Iemitsu M**. Acute administration of diosgenin or dioscorea improves hyperglycemia with increases muscular steroidogenesis in STZ-induced type 1 diabetic rats. *J Steroid Biochem Mol Biol* 143: 152-159, 2014. 査読有, doi: 10.1016/j.jsbmb.2014.02.020

Sato K, **Iemitsu M**, Matsutani K, Kurihara T, Hamaoka T, Fujita S. Resistance training restores muscle sex steroid hormone steroidogenesis in older men. *FASEB J* 28: 1891-1897, 2014. 査読有, doi: 10.1096/fj.13-245480

Uchida M, Oyanagi E, Kawanishi N, **Iemitsu M**, Miyachi M, Kremenik MJ, Onodera S, Yano H. Exhaustive exercise increases the TNF- α production in response to flagellin via the upregulation of toll-like receptor 5 in the large intestine in mice. *Immunol Lett* 158: 151-158, 2014. 査読有, doi: 10.1016/j.imlet.2013.12.021

Matsuo T, Saotome K, Seino S, Shimojo N, Matsushita A, **Iemitsu M**, Ohshima H, Tanaka K, Mukai C. Effects of a low-volume aerobic-type interval exercise on VO_2 max and cardiac mass. *Med Sci Sports Exerc* 46: 42-50, 2014. 査読有, doi: 10.1249/MSS.0b013e3182a38da8

Otsuki T, Shimizu K, **Iemitsu M**, Kono I.

Multicomponent supplement containing Chlorella decreases arterial stiffness in healthy young men. *J Clin Biochem Nutr* 53: 166-169, 2013. 査読有, doi: 10.3164/jcbs.13-51

Hashimoto T, Sato K, Iemitsu M. Exercise-inducible factors to activate lipolysis in adipocytes. *J Appl Physiol* 115: 260-267, 2013. 査読有, doi: 10.1152/jappphysiol.00427.2013

Nakamura M, Hayashi K, Aizawa K, Mesaki N, Kono I. Effects of regular aerobic exercise on post-exercise vagal reactivation in young female. *Eur J Sport Sci* 13: 541-547, 2013. 査読有, doi: 10.1080/17461391.2013.774054

Akimoto T, Okuhira K, Aizawa K, Wada S, Honda H, Fukubayashi T, Ushida T. Skeletal muscle adaptation in response to mechanical stress in p130cas^{-/-} mice. *Am J Physiol Cell Physiol* 304: 541-547, 2013. 査読有, doi: 10.1152/ajpccell.00243.2012

[学会発表](計24件)

Hasegawa N, Kurihara T, Sato K, Fujita S, Sanada K, Otsuka M, Hamaoka T, Iemitsu M. Muscular lipid is associated with a risk factor of arterial stiffness. American Heart Association scientific sessions 2014. November 16 2014. Chicago, USA.

Fujie S, Sato K, Hasegawa N, Fujita S, Sanada K, Hamaoka T, Iemitsu M. Plasma apelin level contributes exercise training-induced improvement of arterial stiffness in the middle and older adults, American Heart Association Scientific Sessions 2014, November 16, 2014, Chicago, USA.

長谷川夏輝, 栗原俊之, 佐藤幸治, 藤田聡, 真田樹義, 浜岡隆文, 家光素行. 有酸素性トレーニングによる動脈硬化改善と筋細胞内・外脂肪含有量との関係. 第69回日本体力医学会大会. 2014年9月20日, 長崎大学(長崎県長崎市).

藤江隼平, 佐藤幸治, 長谷川夏輝, 藤田聡, 真田樹義, 浜岡隆文, 家光素行. 中高齢者における有酸素性トレーニングが血中adropin濃度に及ぼす影響. 第69回日本体力医学会大会, 2014年9月20日, 長崎大学(長崎県長崎市).

大和洋輔, 長谷川夏輝, 藤江隼平, 家光素行. 一過性のストレッチ運動が中心および末梢の動脈スティフネスに及ぼす影響. 第69回日本体力医学会大会. 2014年9月20日, 長崎大学(長崎県長崎市).

相澤勝治, 目崎登, 牛田多加志, 秋本 崇之. メカニカルストレスを介した活性型アンドロゲンによる筋萎縮抵抗性. 第69回日本体力医学会大会, 2014年9月20日, 長崎大学(長崎県長崎市).

佐藤幸治, 家光素行, 松谷健司, 栗原俊之, 目崎登, 浜岡隆文, 藤田聡. 高齢者の一過性レジスタンス運動による骨格筋性ステロイド代謝応答はトレーニングによる筋量・筋力増大に関連する. 第69回日本体力医学会大会, 2014年9月20日, 長崎大学(長崎県長崎市).

相澤勝治, 家光素行, 佐藤幸治, 目崎登. 筋局所アンドロゲン産生を介した高齢期の筋機能改善メカニズム. 日本体育学会第65回大会. 2014年8月28日, 岩手大学(岩手県盛岡市).

藤江隼平, 佐藤幸治, 長谷川夏輝, 家光素行. 肥満ラットの運動トレーニングによる動脈血管拡張因子の改善に動脈 Apelin 産生の増大が関与する. 第22回日本運動生理学会大会. 2014年7月20日, 川崎医療福祉大学(岡山県倉敷市).

長谷川夏輝, 佐藤幸治, 藤江隼平, 渡邊真也, 藤田聡, 真田樹義, 大塚光雄, 家光素行. 体力レベルの違いが筋細胞内・外脂肪含有量と動脈硬化指数の関係に及ぼす影響. 第22回日本運動生理学会大会. 2014年7月19日, 川崎医療福祉大学(岡山県倉敷市).

佐藤幸治, 目崎登, 家光素行. 運動およびジオスゲニン摂取は骨格筋内の性ホルモン増大を介してインスリン抵抗性を改善する. 第22回日本運動生理学会大会. 2014年7月19日, 川崎医療福祉大学(岡山県倉敷市).

目崎登. 女性とスポーツ. 平成26年度スポーツドクター愛知県連絡協議会研修会. 2014年7月5日, 中日パレス(愛知県名古屋市).

Hasegawa N, Kurihara T, Sato K, Fujita S, Sanada K, Otsuka M, Hamaoka T, Iemitsu M. Effects of intramyocellular and extramyocellular lipid contents on arterial stiffness. 19th Annual Congress of the European College of Sport Science. July 3, 2014. Amsterdam, Netherlands.

Yamato Y, Hasegawa N, Sato K, Iemitsu M. Effect of central arterial stiffness on acute stretching exercise in young men. 19th Annual Congress of the European College of Sport Science. July 3, 2014, Netherlands, Amsterdam.

Hasegawa N, Kurihara T, Watanabe S, Sato K, Fujita S, Sanada K, Hamaoka T, Iemitsu M. Effects of cardiorespiratory fitness level, age, and sex on intramyocellular and extramyocellular lipid contents. 61th ACSM Annual Meeting. May 29, 2014. Orland, USA.

Fujie S, Sato K, Miyamoto-Mikami E, Hasegawa N, Fujita S, Sanada K, Hamaoka T, Iemitsu M. Reduction of Arterial Stiffness by Exercise Training Is Associated with Increasing Plasma Apelin Level, 61nd American College of Sports Medicine Annual Meeting 2014, May 29, 2014, Orland, USA.

目崎登. 女性アスリートのヘルスケア.

第14回基礎体温計測推進研究会定例会 2013年11月16日・主婦会館(東京千代田区)。

目崎登・女性と運動・埼玉県医師会日医認定健康スポーツ医学講習会・2013年10月27日・川越プリンスホテル(埼玉県川越市)。

長谷川夏輝, 栗原俊之, **佐藤幸治**, 藤田聡, 真田樹義, 大塚光雄, 浜岡隆文, **家光素行**・筋細胞内脂肪含有量と動脈硬化指数の関係・第68回日本体力医学会・2013年9月22日, 日本教育会館(東京都千代田区)。

相澤勝治, 和田正吾, **目崎登**, 牛田多加志, 秋本崇之・筋萎縮抵抗性における筋局所活性型アンドロゲンの役割・第68回日本体力医学会・2013年9月22日, 日本教育会館(東京都千代田区)。

²¹ 長谷川夏輝, 栗原俊之, **佐藤幸治**, 藤田聡, 真田樹義, **家光素行**・体力レベルおよび加齢, 性別と筋細胞内・外脂肪含有量の関係・第64回日本体育学会・2013年8月30日, 立命館大学(滋賀県草津市)。

²² **Aizawa K**, Wada S, Ushida T, Akimoto T. The effect of local bioactive androgen production on skeletal muscular hypertrophy. 18th annual congress of the European College of Sport Science, June 26, 2013, Barcelona, Spain.

²³ **Sato K**, Fujie S, Fujita S, Okubo T, Hamaoka T, **Iemitsu M**. Combination of -Glycerophosphocholine (-GPC) intake and aerobic exercise enhances growth hormone secretion and fat metabolism in young adults. 18th annual congress of the European College of Sport Science, June 26, 2013, Barcelona, Spain.

²⁴ Fujie S, **Iemitsu M**, Murakami H, Sanada K, Kawano H, Gando Y, Kawakami R, Miyachi M. Cardiorespiratory fitness affects polymorphism in ADRB3 Trp64Arg-caused increase in common carotid intima-media thickness, Experimental Biology 2013, April 24, 2013, Boston, USA.

[図書](計2件)

宮村実晴編集・**相澤勝治**・真興交易医書出版部・ニュー運動生理学・2015, 416(291-298)。

Kunihiro Sakuma (Editors). **Katsuji Aizawa**. NOVA Publishers. Basic Biology and Current Understanding of Skeletal Muscle. 2013, 329(289-302)。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

目崎 登 (MESAKI, Noboru)

筑波大学・名誉教授

研究者番号: 30010408

(2) 研究分担者

家光 素行 (IEMITSU, Motoyuki)

立命館大学・スポーツ健康科学部・教授
研究者番号: 90375460

佐藤 幸治 (SATO, Koji)

立命館大学・スポーツ健康科学部・助教
研究者番号: 20584022

相澤 勝治 (AIZAWA, Katsuji)

専修大学・文学部・准教授

研究者番号: 80375477