

令和 2 年 5 月 9 日現在

機関番号：32634

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H02161

研究課題名(和文)メカニカルストレスを介した筋局所アンドロゲンの筋萎縮予防メカニズムの解明

研究課題名(英文)Prevention of muscle atrophy by local bioactive androgen through mechanical stretch

研究代表者

相澤 勝治 (Aizawa, Katsuji)

専修大学・経営学部・教授

研究者番号：80375477

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、身体運動の構成因子の一つと考えられるメカニカルストレス(物理的刺激)と活性型アンドロゲン産生経路に着目し、局所アンドロゲン産生の活性化が筋肥大および筋萎縮抵抗性に関与するか否かについて検討した。メカニカルストレスは性ホルモン合成酵素の5 α -reductase (srd5a1)を介した活性型アンドロゲン(DHT)を活性化し、その調節に最初期遺伝子であるEgr2の関与が明らかとなった。身体運動によるサルコペニアの予防や改善に筋局所の活性型アンドロゲンが重要な役割を果たしている可能性が考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果は、とくに中高齢期におけるサルコペニアの予防や改善メカニズムの基礎的知見として意義があると考えられる。加齢や不活動による骨格筋萎縮の予防において、身体運動による骨格筋機能の維持・改善に骨格筋局所のアンドロゲン産生が関与している可能性が考えられる。

研究成果の概要(英文)：Skeletal muscle is constantly exposed to physical force including exercise or mechanical stretch. Testosterone is converted into its bioactive metabolite dihydrotestosterone (DHT) by 5 α -reductase (srd5a1). DHT is also involved in exercise-induced skeletal muscular metabolism. However, it remains to be elucidated whether muscular DHT production through srd5a1 is locally involved in skeletal muscular plasticity. Here we found that local DHT production in skeletal muscle inhibited muscular atrophy through the suppression of atrophy-related gene expression. We show that mechanical stretch transactivates an androgenic enzyme, srd5a1 through the binding of early growth response 2 (Egr2) in skeletal muscle. These results suggest that bioactive androgen metabolism through the Egr2-srd5a1 axis could play important roles in maintaining muscle mass in mechanical stretch.

研究分野：スポーツ科学

キーワード：身体運動 骨格筋 アンドロゲン サルコペニア

1. 研究開始当初の背景

加齢に伴い低下する身体機能を維持・改善することは、生活習慣病予防や QOL (生活の質) を高める上で現代社会における重要な課題として位置づけられている。骨格筋においては、骨格筋萎縮を主病態とする加齢性筋肉減弱症 (サルコペニア) が発症し、血中アンドロゲン (男性ホルモン) レベルの低下と関連していることが指摘されている (Mauras et al, J Clin Endocrinol Metab, 1998)。骨格筋の萎縮には筋特異的ユビキチンリガーゼである MAFbx/atrogen-1 や MuRF1 が深く関与しており、筋萎縮を対象とした多くの研究でそれらの発現が増大することが示されている。一方、筋萎縮ラットへのテストステロン投与によって、骨格筋における MAFbx/atrogen-1 や MuRF1 の発現が抑制され、また副腎アンドロゲンである DHEA 投与と筋力トレーニングの併用は、高齢者の筋機能を向上させることが示されている (Villareal DT et al, Am J Physiol Endocrinol Metab, 2006)。

骨格筋機能の維持・向上にアンドロゲンが重要であることはよく知られている。先に申請者らは、性腺以外に骨格筋においても性ホルモン合成酵素が存在し、骨格筋内において性ホルモンが自己産生されることを報告してきた (Aizawa et al, Am J Physiol Endocrinol Metab, 2007)。一方、アンドロゲン受容体との親和性がテストステロンに比べ高いことから、活性型アンドロゲンと呼ばれるジヒドロテストステロン (DHT) は、性ホルモン合成酵素である 5 α -reductase (srd5a1) の修飾によってテストステロンから生成される。申請者らは、srd5a1 が運動刺激に鋭敏に反応して、その発現が骨格筋において増大することを示した (Aizawa et al, Steroids, 2010)。これらのことから、身体運動による srd5a1 を介した筋局所の活性型アンドロゲン産生機構は、骨格筋機能の維持・改善に重要な役割を果たしている可能性が考えられる (Aizawa et al, Med Sci Sports Exerc, 2011)。

身体運動の構成因子の一つであるメカニカルストレス (物理的刺激) は、恒常性の維持、病気の罹患、加齢・老化メタボリズム、循環器や運動器の維持、発生や分化などさまざま局面に関与していることが示されている。細胞が体内外の環境変化を認識、応答して恒常性を維持することは、生命の基本であり、きわめて重要な情報伝達のひとつである。生体内で、メカニカルストレスを強く受けている器官の一つとして骨格筋がある。骨格筋におけるメカニカルストレスの役割は、代謝適応 (metabolic adaptation) と損傷からの回復が挙げられる (Pette, D et al, Can J Appl Physiol, 2002)。マラソンなどの持久力を必要とする運動では、筋線維タイプ II からタイプ I へと移行し、メタボリックシンドロームの改善に有効と考えられている。一方、継続した筋力トレーニングに伴う骨格筋の肥大メカニズムとして、細胞膜表面のメカニカルストレス感受性イオンチャネルの開口、カルシウムイオンの細胞内へ流入、細胞内シグナル伝達系を介したタンパク合成系の亢進が報告されている (Burkholder et al, Front Biosci, 2007)。このように、筋収縮を伴う身体運動はメカニカルストレスに対する高度な応答機構が存在すると考えられるが、メカニカルストレスが筋局所アンドロゲン産生を介して骨格筋代謝 (筋タンパク質の合成・分解) 動態へ与える詳細なメカニズムについては十分に明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究では、筋局所の活性型アンドロゲン産生の活性化因子としてメカニカルストレスに着目し、局所アンドロゲン産生を介した骨格筋代謝制御メカニズムを明らかにし、メカニカルストレスを介した新たな筋萎縮予防メカニズムを解明することを目的とし、以下の 2 つの研究課題を設定した。

- 1) メカニカルストレスを介した筋局所アンドロゲン産生が骨格筋代謝に及ぼす影響
- 2) メカニカルストレスを介した筋局所アンドロゲン産生機構の転写メカニズムと生理作用

3. 研究の方法

本研究では、研究計画は 3 年間とし、メカニカルストレスに対する活性型アンドロゲン産生に働く srd5a1 に着目し、骨格筋代謝への影響について主に培養筋細胞を用いて検討した。さらに、srd5a1 及びその上流のプロモーターのレポーターを用いて、身体運動応答性の筋局所アンドロゲン産生の転写メカニズムについて明らかにすることを目的とした。本研究の課題を明らかにするために、以下の実験を行った。

実験 1 では、メカニカルストレスを介した筋局所アンドロゲン産生の応答機序について検討した。マウス筋芽細胞 C2C12 にメカニカルストレスを負荷し Egr2 及び srd5a1 遺伝子・タンパク質発現を測定した。メカニカルストレスは BioFlex plate を用い、周波数 0.17Hz、伸展率 20%、1 時間とした。

実験2では、骨格筋細胞へのメカニカルストレス刺激が Egr ファミリー遺伝子発現の応答に与える影響について検討した。マウス筋芽細胞 C2C12 にメカニカルストレスを負荷(1 時間、2 時間、3 時間)し、Egr ファミリー (Egr1, Egr2, Egr3, Egr4) 遺伝子発現を測定した。

実験3では、メカニカルストレス応答性が高い Egr2 に着目し、Egr2 を介した srd5a1 の転写調節機序について検討した。マウス筋芽細胞 C2C12 に Egr2 siRNA プライマーを遺伝子導入試薬 (Lipofectamine) を用いて導入し、srd5a1 遺伝子発現が抑制されるか否かについて検討した。

4. 研究成果

活性型アンドロゲンである DHT は、srd5a1 を介してテストステロンから合成される。骨格筋における srd5a1 を介した活性型アンドロゲン産生は運動により活性化され、骨格筋代謝への関与が示されている。先に srd5a1 の転写調節因子を探索し最初期遺伝子 Egr2 を同定したが、運動刺激に対する応答性については明らかでなかった。そこで実験1では、マウス筋芽細胞 C2C12 へのメカニカルストレス 刺激が Egr2 に与える影響について検討した。その結果、メカニカルストレスにより Egr2 及び srd5a1 の発現が増大した (図1,図2)。メカニカルストレス刺激による Egr2 を介した srd5a1 の転写活性化は、骨格筋局所の活性型アンドロゲン産生の亢進に関与している可能性が示された。

実験2では、マウス筋芽細胞 C2C12 へのメカニカルストレス刺激が Egr ファミリー遺伝子発現の応答に与える影響について検討した。その結果、Egr1, Egr2, Egr3 遺伝子発現はメカニカルストレス負荷1 時間に増加し、Egr4 は3 時間に増大した。メカニカルストレスによる Egr ファミリーの活性化は srd5a1 転写活性化に関与し、とくに Egr2 は骨格筋における応答性が高く、身体運動による骨格筋局所のアンドロゲン産生を介した骨格筋の適応に関与している可能性が考えられる。

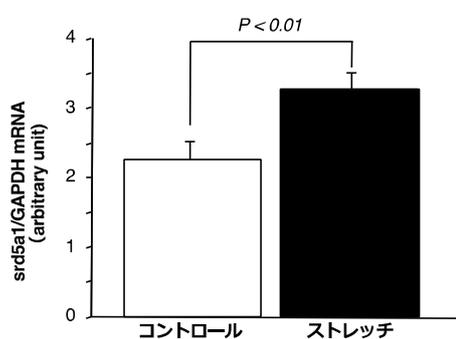


図1. マウス筋芽細胞 C2C12 へのメカニカルストレスによる srd5a1 遺伝子発現の変化

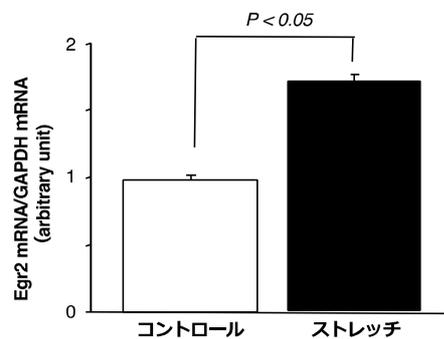


図2. マウス筋芽細胞 C2C12 へのメカニカルストレスによる Egr2 遺伝子発現の変化

実験3では、メカニカルストレス応答性が高いEgr2に着目し、Egr2を介したsrd5a1の転写調節機序について検討した。マウス筋芽細胞株C2C12細胞にEgr2 siRNAプライマーを遺伝子導入試薬 (Lipofectamine)を用いて導入し、srd5a1遺伝子発現が抑制されるか否かについて検討した。その結果、Egr2をノックダウンするとsrd5a1の遺伝子発現が抑制された。それゆえ、メカニカルストレス応答性 Egr2はsrd5a1を介した骨格筋局所のアンドロゲン産生の調節に重要な役割を果たしている可能性が考えられる。

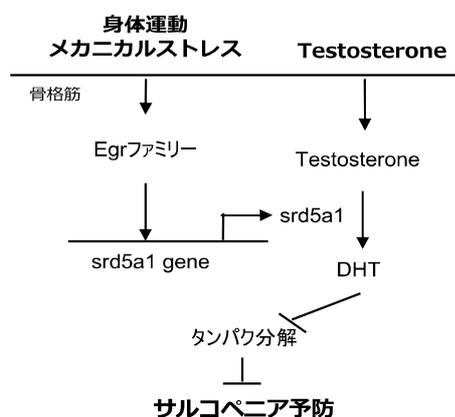


図3. 本研究のまとめ

本研究課題の検討より、メカニカルストレスによる Egr ファミリーの活性化は *sr5a1* 転写活性化に関与し、骨格筋代謝の調節機構に関与している可能性が考えられる (図3)。骨格筋代謝を制御するメカニズムとして、メカニカルストレスを介した活性型アンドロゲン産生の役割を明らかにすることが出来れば、身体運動における骨格筋の維持・改善の新たなターゲット機構の提案が可能であると考えられる。とくに、加齢や不活動によって低下する骨格筋萎縮を予防、改善することは高齢化社会を迎えている我が国において重要な課題である。本研究では、身体運動の構成因子の一つであるメカニカルストレスは、骨格筋局所のアンドロゲン産生を活性化し、その機序に Egr ファミリーが関与している可能性が示された。それゆえ、加齢に伴い循環血液中のアンドロゲン濃度が減少する高齢者において、身体運動の実施や運動実施が困難な対象者に対する骨格筋量保持機構の基礎的知見として重要な意義があると考えられる。

< 引用文献 >

Aizawa, K., et al. Expression of steroidogenic enzymes and synthesis of sex steroid hormones from DHEA in skeletal muscle of rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 292, 577-584.2007.

Aizawa, K., et al. Acute exercise activates local bioactive androgen metabolism in skeletal muscle. *Steroids.* 75, 219-223.2010.

Aizawa, K., et al. Endurance exercise training enhances local sex steroidogenesis in skeletal muscle. *Med. Sci. Sports. Exerc.* 43, 2072-2080. 2011.

Mauras N., et al. Testosterone deficiency in young men: marked alterations in whole body protein kinetics, strength, and adiposity. *J Clin Endocrinol Metab.* 83, 1886-1892. 1998.

Pette D. The adaptive potential of skeletal muscle fibers. *Can J Appl Physiol.* 27, 423-48. 2002.

Burkholder T.J. Mechanotransduction in skeletal muscle. *Front Biosci.* 12, 174-191. 2007.

Villareal D.T., et al. DHEA enhances effects of weight training on muscle mass and strength in elderly women and men. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 291, 1003-1008. 2006.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 0件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 相澤勝治	4. 巻 29
2. 論文標題 性ホルモンと血管脂質代謝：筋肉におけるテストステロン産生とその代謝作用	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Lipid	6. 最初と最後の頁 69-74
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 相澤勝治	4. 巻 19
2. 論文標題 骨格筋におけるアンドロゲン産生とメカニカルストレス	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 別冊B10 Clinica慢性炎症と疾患	6. 最初と最後の頁 118-122
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 相澤勝治	4. 巻 9
2. 論文標題 エストロゲンと運動機能	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY	6. 最初と最後の頁 185-191
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 相澤勝治	4. 巻 28
2. 論文標題 女性と骨格筋機能	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 トレーニング科学	6. 最初と最後の頁 15-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Katsuji Aizawa
2. 発表標題 Role of local steroidogenesis in skeletal muscle
3. 学会等名 第74回日本体力医学会（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 相澤勝治
2. 発表標題 骨格筋におけるテストステロン産生と作用.
3. 学会等名 第19回日本抗加齢医学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Katsuji Aizawa
2. 発表標題 Role of local steroidogenesis in skeletal muscle
3. 学会等名 23th Annual Congress of the European College of Sports Science, (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 相澤勝治
2. 発表標題 骨格筋における性ホルモン産生
3. 学会等名 第13回日本運動免疫学研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 相澤勝治
2. 発表標題 第73回日本体力医学会大会
3. 学会等名 メカニカルストレスに対するEgrファミリー遺伝子発現の応答
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 相澤勝治
2. 発表標題 骨格筋におけるアンドロゲン作用の性差
3. 学会等名 第30回トレーニング科学学会大会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 相澤勝治
2. 発表標題 筋肉でのテストステロン産生と作用
3. 学会等名 第17回日本Men's Health医学会・第8回テストステロン研究会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 相澤勝治
2. 発表標題 アンチエイジングと骨格筋
3. 学会等名 ダンスムーブメント指導員養成講習会（招待講演）
4. 発表年 2017年

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----