

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16235

研究課題名（和文）アンドロゲンの糖代謝制御機構の解明と治療への応用

研究課題名（英文）Study of glucose metabolism of androgens and application to therapy

研究代表者

吉田 守美子（YOSHIDA, Sumiko）

徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・准教授

研究者番号：40510904

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、骨格筋特異的アンドロゲン受容体欠損マウスを用いて、骨格筋におけるアンドロゲンの糖代謝制御メカニズムの詳細を検討した。骨格筋でのアンドロゲン受容体欠損は、体重増加や内臓脂肪蓄積を来たすことなく、骨格筋量も形態も維持されていたが、骨格筋へのグルコース取り込み能の低下やインスリン下流シグナルの減弱、さらに骨格筋への異所性脂肪蓄積の増加を介して、耐糖能異常とインスリン抵抗性を引き起こすことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国では、高齢者糖尿病をはじめ、加齢に伴う男性ホルモンに起因する生活習慣病が増加しているが、その対策は若年者と同様に食事・運動療法、薬物療法であり、根本に存在する男性ホルモン低下に介入する治療方法は試みられていない。本研究で骨格筋におけるアンドロゲンの抗糖尿病作用を明らかにしたことにより、男性更年期における耐糖能異常・糖尿病の予防と治療戦略に、アンドロゲンの維持という新しい概念が加わる可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the mechanism of androgen regulation of glucose metabolism in skeletal muscle using skeletal muscle-specific androgen receptor deficient mice. Skeletal muscle-specific androgen receptor deficient mice did not show weight gain or visceral fat accumulation, and maintained skeletal muscle mass and morphology. We showed that androgen receptor deficiency in skeletal muscle causes impaired glucose tolerance and insulin resistance through decreased glucose uptake into skeletal muscle, impaired insulin signaling, and increased ectopic fat accumulation in skeletal muscle.

研究分野：内分泌・代謝

キーワード：アンドロゲン 骨格筋 インスリン抵抗性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

加齢に伴う男性ホルモンの漸減的低下によって生じる様々な症候は、男性更年期(Late-onset hypogonadism)と定義され、内臓脂肪の蓄積や除脂肪体重の減少といった体組成の変化を伴い、耐糖能異常・糖尿病をはじめとする様々な生活習慣病の原因となる(引用文献)。男性ホルモン低下症では、除脂肪体重の低下と内臓脂肪の増加により、インスリン抵抗性・耐糖能異常を来す一方、男性ホルモンは肝臓や骨格筋などのインスリン標的臓器・糖代謝関連臓器に直接的に作用し糖代謝を維持する側面も重要と考えられている(引用文献)。

高齢社会の我が国では、高齢糖尿病患者の増加が問題となっているが、その対策は、若年者と同様に食事・運動療法、薬物療法であり、根本に存在する男性ホルモン低下への介入は考慮に入られていない。生活習慣病の予防や治療を目的とした男性ホルモン補充療法が積極的に推奨されない理由に、男性ホルモン製剤の副作用の問題と、エビデンスの欠如が挙げられる(引用文献)。しかし、性ホルモン低下に直接介入することこそが、高齢社会で、今後有効な治療戦略になるのではないだろうか。そこで本研究では、アンドロゲンの直接的な糖代謝制御機序を明らかにすることにより、男性更年期における耐糖能異常・糖尿病の予防と治療戦略に、アンドロゲンという新しい主軸が加わることを目指した。

2. 研究の目的

本研究では、男性ホルモンが体組成の変化を介してインスリン抵抗性を改善させるだけでなく、糖代謝臓器へ直接的に作用することにより、糖代謝を制御する重要性を明らかにする。具体的には、糖代謝・インスリン作用の中心臓器である骨格筋において、アンドロゲンの直接的な糖代謝制御機構を、臓器(骨格筋)特異的アンドロゲン受容体欠損マウスを用いて明らかにする。

3. 研究の方法

(1) アンドロゲンは全身の各臓器・細胞に発現したアンドロゲン受容体(AR)を介してその生理作用が発揮されるため、ARの各臓器における機能を解明することが、アンドロゲン作用の解明につながる。骨格筋特異的アンドロゲン受容体欠損マウスは、Cre-loxP系を用いて、アンドロゲン受容体 flox マウス(AR^{f/Y})と MLC1f-Cre マウスの掛け合わせにより産出した(ともに background は BL6 マウス)。

(2) 骨格筋特異的 AR 欠損マウスに、普通餌あるいは高脂肪餌を与え8週間飼育し、マウスの表現型の解析として、代謝測定、小動物用 CT 撮影(脂肪面積、骨格筋容量、CT 値による脂肪肝・脂肪筋の推定)、筋力測定、骨格筋の組織評価、糖負荷試験とインスリン負荷試験により耐糖能異常・インスリン分泌能・インスリン抵抗性を検討した。

(3) 骨格筋特異的 AR 欠損雄マウスにおける、インスリン依存的、非依存的な骨格筋への糖取り込み能を評価した。まず、FDG-PET を用いて骨格筋 FDG 集積を測定することで、骨格筋への糖取り込みを可視化した。また、2-Deoxy-D-glucose (2DG) を用いて生体内での骨格筋の糖(2DG)取り込みを測定した。

(4) 骨格筋特異的 AR 欠損マウスの骨格筋を採取し、ARの有無によるインスリン下流シグナル、糖代謝や骨格筋分化に関与する代謝経路に関して、蛋白および mRNA の発現の差異を検討した。

4. 研究成果

(1) 骨格筋特異的 AR 欠損雄(ARKO sk1)マウスは、骨格筋特異的に AR が欠損し、心筋の AR の発現は低下していないことを確認した。下肢筋の Quadriceps、Gastrocnemius、Soleus、Tibialis

anterior, extensor digitorum longus のいずれの筋でも AR の mRNA 発現は 10%未満に低下した。ARKO skI マウスは、コントロールマウス (AR f/Y) と比較し、血中の男性ホルモンおよび性腺刺激ホルモン (LH, FSH) に差を認めなかった。また、耐糖能に影響を与える血中アディポネクチン濃度にも差を認めなかった。

(2) V02(酸素摂取量)は、ARKO skI マウスとコントロールマウスで同等であった。前肢筋力は、コントロールマウスでは通常餌飼育で 11~13 週齢、高脂肪餌飼育では 9 週齢で筋力がピークとなったが、ARKO skI マウスではコントロールと比較してピーク時の筋力が有意に低下した。

(3) ARKO skI マウスはコントロールマウスと比較して、通常餌でも高脂肪餌でも、体重、CT による内臓脂肪面積・皮下脂肪面積、精巣上体脂肪重量、下肢骨格筋重量・容積、肝臓中性脂肪含有量に有意差を認めなかった。インスリン抵抗性試験 (ipITT: insulin 0.75U/kgBW) では、コントロールと比較して ARKO skI マウスで有意にインスリン抵抗性を認め、高脂肪食負荷 8 週での糖負荷試験 (ipGTT: glucose 2g/kgBW) で ARKO skI マウスにおいて有意に耐糖能の増悪を認めた。また ARKO skI マウスの大腿四頭筋 CT 値がコントロールと比較して低値であり、脂肪筋化が示唆された。ARKO skI マウスではインスリン分泌能の低下はなく、耐糖能異常はインスリン抵抗性に起因すると考えられた。

(4) 組織学的検討では、ARKO skI マウスとコントロールマウスで骨格筋形態、筋細胞の大きさに差を認めず、Gastrocnemius のミオシン ATPase 染色では、骨格筋線維タイプ (Type 1, Type 2A, Type 2B) にも差を認めなかった。

(5) FDG-PET イメージングを用いて骨格筋グルコース取り込み能を評価した。マウスを 3 時間空腹にした後に、insulin (1U/kgBW) あるいは生理食塩水を腹腔内投与し、10 分後に 10MBq の [18F] 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG) を投与した。FDG 投与 50 分後に PET を 30 分間撮像した。大腿部筋への FDG の集積はコントロールと比較して ARKO skI マウスで低下し、インスリン投与後の FDG 集積増加も ARKO skI マウスで低下した。またマウスに 2DG (1g/kgBW) とインスリン (0.5U/kgBW) を投与し、30 分後の骨格筋 (Quadriceps) への 2DG 取り込みを測定したところ、コントロールと比較して ARKO skI マウスで糖取り込みが低下した。

(6) インスリン下流シグナルの Akt リン酸化について、Western blot で検討した。骨格筋の Akt リン酸化高脂肪餌を 8 週負荷し、insulin 1×10^{-2} U/kgBW を大腿静脈から静注し、10 分後に腓腹筋を採取し、骨格筋の Akt リン酸化を検出したところ、ARKO skI マウスはインスリン刺激後の骨格筋の Akt リン酸化の減弱を認めた。またマウスから採取した骨格筋の GLUT4 の mRNA 発現は、ARKO skI マウスとコントロールマウスに差を認めず、GLUT4 の細胞膜への移行に AR が関与している可能性が示唆された。

(7) 以上の結果より、骨格筋でのアンドロゲン受容体欠損は、体重増加や内臓脂肪蓄積を来たすことなく、骨格筋量も形態も維持されていたが、骨格筋へのグルコース取り込みの低下やインスリン下流シグナルの減弱、さらに骨格筋異所性脂肪蓄積の増加を介して、耐糖能異常とインスリン抵抗性を引き起こすことが明らかとなった。アンドロゲンは、体組成を変化 (内臓脂肪増加と除脂肪体重減少) させるだけでなく、骨格筋において直接的に糖代謝に関与することを証明し、これらの結果は、男性更年期の耐糖能異常の予防・治療にアンドロゲンの維持が重要であることを支持するものであった。

(8) 今後の展望: 骨格筋での AR 欠損により、なぜ骨格筋で脂肪蓄積が増加するのか、その詳細なメカニズムに関して、筋芽細胞株を用いて検討をすすめ、アンドロゲンの骨格筋機能維持機構を明らかにする予定である。

<引用文献>

Testosterone Therapy in Men With Hypogonadism: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018;103(5):1715-1744.

Randomized Controlled Trials - Mechanistic Studies of Testosterone and the Cardiovascular System. *Asian J Androl.* 2018;20(2):120-130.

Cardiovascular Risks of Exogenous Testosterone Use Among Men: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Med.* 2017;130(3):293-305.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 吉田守美子, 粟飯原賢一, 安倍正博
2. 発表標題 骨格筋アンドロゲン受容体と耐糖能異常の検討
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田守美子, 粟飯原賢一, 安倍正博
2. 発表標題 心血管病と性差 ~アンドロゲンを中心に~
3. 学会等名 第61回日本老年医学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田守美子
2. 発表標題 性ホルモン補充療法の光と影
3. 学会等名 第29回臨床内分泌代謝Update（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田守美子, 池田康将, 粟飯原賢一, 安倍正博
2. 発表標題 心血管病におけるアンドロゲン受容体の意義
3. 学会等名 第30回 日本性機能学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田守美子、工藤千晶、辻本賀美、安井沙耶、遠藤ふうり、榊田志保、三井由加里、倉橋清衛、黒田暁生、明比祐子、遠藤逸朗、粟飯原賢一、船木真理、福本誠二、安倍正博、松久宗英
2. 発表標題 血糖管理入院でのテストステロン値の変化の検討
3. 学会等名 第63回 日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉田守美子、工藤千晶、辻本賀美、安井沙耶、遠藤ふうり、榊田志保、三井由加里、倉橋清衛、黒田暁生、明比祐子、遠藤逸朗、粟飯原賢一、松久宗英、安倍正博、福本誠二
2. 発表標題 糖尿病教育入院でのテストステロン値の変化の検討
3. 学会等名 第93回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉田守美子、粟飯原賢一
2. 発表標題 アンドロゲン受容体は骨格筋の糖取り込みに関与する
3. 学会等名 第36回内分泌代謝学サマーセミナー
4. 発表年 2018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
---------	---------------------------	-----------------------	----