

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K11617

研究課題名（和文）細胞内コルチゾール過剰作用による脂肪・骨格筋・骨の老化進展機構の解明

研究課題名（英文）Management of aging of adipose, skeletal muscle, and bone via investigation of intracellular hypercortisolemia

研究代表者

蘆田 健二（Ashida, Kenji）

久留米大学・医学部・准教授

研究者番号：40549333

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）：加齢に伴う体内環境の変化（成長ホルモンの低下、副腎男性ホルモンの低下、閉経/男性性腺機能低下症、炎症惹起因子の増加）は、11 β -水酸化ステロイド脱水素酵素-1型(11 β -HSD1)を活性化して細胞内コルチゾールを増加する。この細胞内コルチゾールの活性化が加齢に伴うサルコペニア肥満、骨粗鬆症などの体組成変化や代謝障害につながり負の循環につながると考えられる。この加齢現象を模倣するクッシング症候群、サブクリニカルクッシング症候群における体組成、代謝異常を明確化し、11 β -HSD1阻害薬の有効性を確認した。脂肪細胞、筋肉細胞株をもちいた基礎実験による機序解明とともに新たな創薬の基盤となる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超加齢社会をむかえる本邦にとって、加齢とともに増加するサルコペニア、肥満症、骨粗鬆症などの原因の究明と対策は重要な課題である。本研究は、加齢とともに起こる臓器の代謝異常を起こす原因として、糖質コルチコイドの細胞内活性化に着目した独自性のあるものである。また、最終的な結果の導出対象をヒトにおいておりフィードバックが容易である。本研究は、健康年齢の維持、健康寿命の延長、高齢者の生活の質を改善するための新たな知見を得られ、社会的意義が高い。

研究成果の概要（英文）：Intracellular cortisol is activated by the aging due to the up-regulation of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type-1 (11 β -HSD1) activity in relation to Somatopause (decrease in growth hormone and insulin-like growth factor-1 system); Adrenopause (decrease in adrenal androgens: dehydroepiandrosterone-sulfate); Menopause/Andropause (decrease in sex hormones form ovaries/testis); and inflammatory cytokines. viscous cycle between aging and intra-cellular cortisol hyperactivation leads to both anthropometric and metabolic disorders, including sarcopenic obesity and osteoporosis. We investigated the efficacy of 11 β -HSD1 inhibition on sarcopenia, fat accumulation, and osteoporosis in patients with Cushing's syndrome and subclinical Cushing's syndrome, which represent the human aging process. The results of this study will be the basis for the elucidation of the mechanism and improvement of the pathological aging process.

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：サルコペニア 肥満 糖尿病 コルチゾール

1. 研究開始当初の背景

グルココルチコイドは、高血圧・糖尿病・脂質異常症などの代謝異常症を惹起する作用をもつとともに、脂肪再分布(Lee MJ, et al. Biochim Biophys Acta. 2014;1842:473-481)を介して中心性肥満・満月様顔貌・水牛肩などの特徴的な体型を示す。また同時に、蛋白異化作用による筋萎縮・筋力低下や骨形成能の抑制による骨塩量の減少を起こす。自律的コルチゾール作用によるサブクリニカルクッシング症候群、コルチゾールの過剰作用によるクッシング症候群は、制御外のグルココルチコイド作用を具現化した疾患・症候群である。これらは、内臓肥満、サルコペニアの体組成異常を示すとともに、糖尿病(耐糖能障害)・高血圧症・脂質異常症・骨粗鬆症を合併しやすく、心血管疾患の合併症を発生して QOL が低下するリスクが高く致死率も高い(Lindholm J, et al. J Clin Endocrinol Metab. 2001;86:117-123) (図 1)。サブクリニカルクッシング症候群、クッシング症候群の示す病態や予後は、加齢にともなうヒトの体組成異常、代謝異常、合併症との類似性が指摘される。



標的細胞内に移行したコルチゾールは、11-水酸化ステロイド脱水素酵素(11-HSD)により活性型コルチゾールと非活性型コルチゾンの作用調整を受ける。11-HSDのうち、type 2は腎集合管上皮、唾液腺、腸管上皮、汗腺などのミネラルコルチコイド標的臓器で主として発現し、コルチゾールをコルチゾンに不活化しミ

ネラルコルチコイドの作用を特異化する。一方で、type 1は、特に肝臓、脂肪組織、骨格筋、心血管平滑筋、マクロファージ、中枢神経系に多く発現し、コルチゾンをコルチゾールに活性化作用を主体にもち(Basu R, et al. J Clin Endocrinol Metab. 2005;90:3919-3926)、細胞内コルチゾールの作用調整に重要な働きをもつ(図2)。

加齢、肥満、糖尿病、閉経などによる11-HSD type 1の活性化が報告されている。内臓肥満者において内臓脂肪の11-HSD type 1活性が高いこと(Purnell JQ, et al. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2009;296:E351-357)、高齢者・閉経後女性の骨格筋の11-HSD type 1 mRNA発現量が高いこと(Hassan-Smith ZK, et al. J Clin Endocrinol Metab. 2015;100:2673-2681)が示されている。しかしながら、11-HSD type 1の阻害がサブクリニカルクッシング症候群、クッシング症候群の表現型改善に帰依するのかどうか、また加齢による11-HSD type 1の活性化抑制がサルコペニア肥満の改善と予防、高血圧・耐糖能異常・脂質異常症や心血管疾患の改善につながるかは不明である。

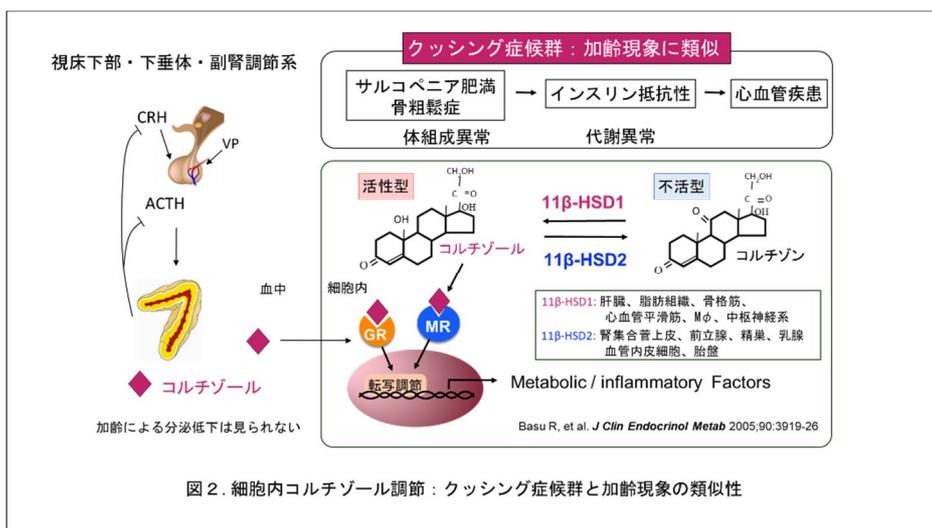


図2. 細胞内コルチゾール調節：クッシング症候群と加齢現象の類似性

2. 研究の目的

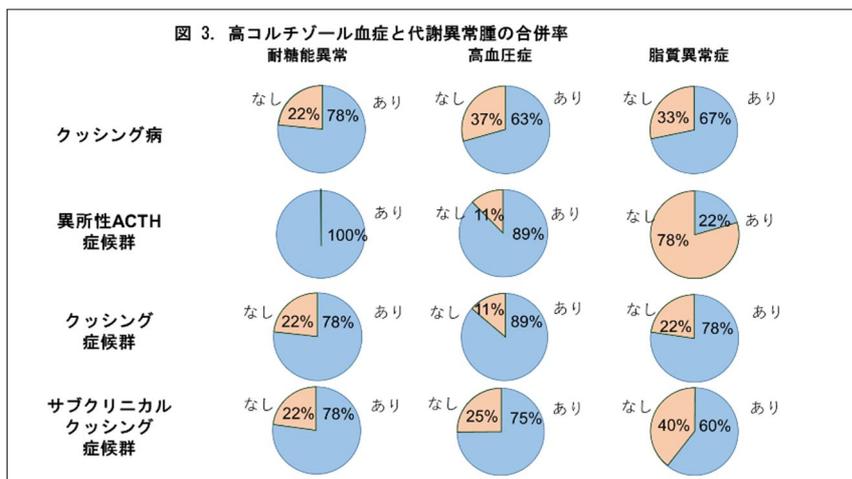
生体におけるコルチゾールの筋・脂肪・骨に対する影響を検討する。すなわち、過剰に活性化された細胞内コルチゾールの低下制御が、クッシング症候群・サブクリニカルクッシング症候群の体組成異常、代謝異常の改善につながることを確認する。また、11-HSD type 1阻害がサルコペニア肥満、インスリン感受性低下、骨粗鬆症の改善につながる標的となるか検証する。

今後のクッシング症候群・サブクリニカルクッシング症候群ならびに加齢によるサルコペニア肥満、代謝異常症の治療創薬の開発につなげることを目的とする。

3. 研究の方法

クッシング症候群およびサブクリニカルクッシング症候群で構成される希少疾患患者のレジストリを構築した。本疾患群の高血圧症、耐糖能異常、脂質異常症の合併率を検証した。また、糖負荷試験が可能な耐糖能異常患者を対象として尿中コルチゾール代謝物を解析し、11-HSD type 1の活性亢進を確認した。また、11-HSD type 1阻害薬を用いて11-HSD type 1活性の低下を実証し、糖負荷試験後の耐糖能異常、インスリン感受性の改善を確認した。また、11-HSD type 1活性が高いBMI 30 kg/m²以上の肥満者、夜間コルチゾールの非抑制群、HOMA-IR 2.5以上の高値群でわけて層別解析をした。さらに体重、体脂肪量、筋肉量の変化を解析した。

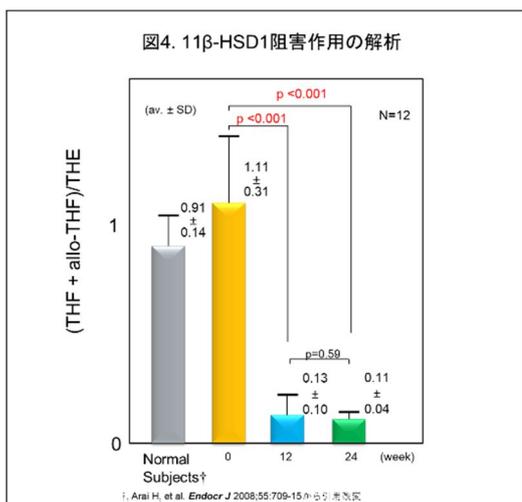
また、CTを用いた体組成解析（体脂肪、骨格筋量）を行い、高コルチゾール血症が骨格筋量を可逆的に減少させることを手術例の解析で確認した。コルチゾールの過剰分泌のない群でも、自律分泌能の出現による夜間コルチゾールの高値（日内変動の消失）と骨格筋量の相関を解析した。



4. 研究成果

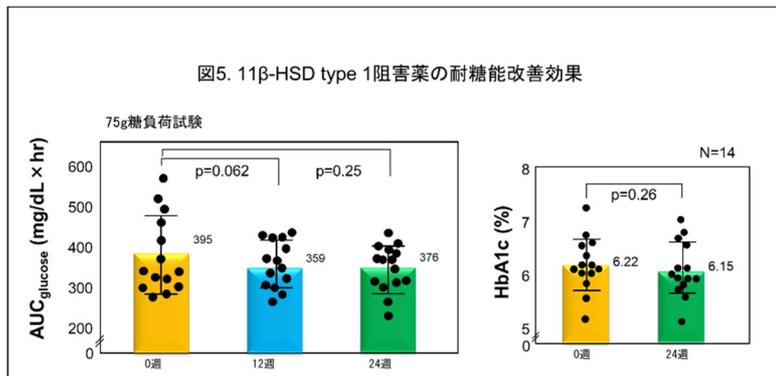
自律的コルチゾール産生能と耐糖能異常、高血圧症、脂質異常症の関係を病型に分けて検討した（総患者数 112 名）。いずれの病型においても代謝異常症の存在する頻度が高く、心血管合併症への進展や予後悪化の規定因子となることが示唆された（図 3）。

これらの患者のうち、活動性をもつ非治癒患者で糖負荷試験を行えたものは 16 例であった（クッシング病：2 名；異所性 ACTH 症候群：1 名；サブクリニカルクッシング症候群：11 名）。そのうち 2 名がスクリーニング検査で脱落し 14 名で 11-HSD type 1 阻害薬の効果と安全性を評価した。性別（男性：4 名；女性：10 名）、平均年齢 66.1 歳（標準偏差 9.8）、平均体格指数 (BMI) 26.1 kg/m²（標準偏差 6.1）、平均空腹時血漿グルコース濃度 107 mg/dL（標準偏差 20）、平均 HbA1c 6.22%（標準偏差 0.51）の軽症の耐糖能異常を示していた。11-HSD type 1 阻害薬の投与は、尿中コルチゾール代謝物の解析で 11-HSD type 1 活性を 1/10 に抑制した（図 4）。

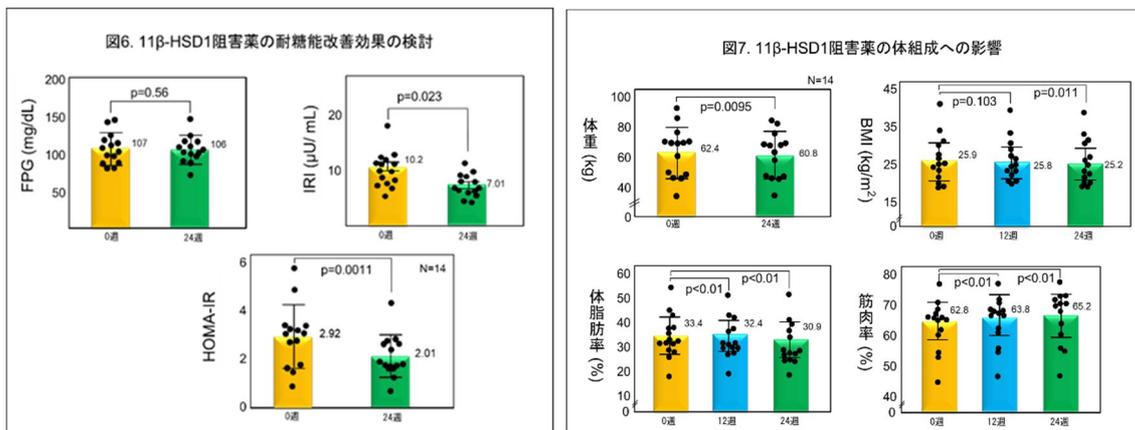


これらの患者のうち、活動性をもつ非治癒患者で糖負荷試験を行えたものは 16 例であった（クッシング病：2 名；異所性 ACTH 症候群：1 名；サブクリニカルクッシング症候群：11 名）。そのうち 2 名がスクリーニング検査で脱落し 14 名で 11-HSD type 1 阻害薬の効果と安全性を評価した。性別（男性：4 名；女性：10 名）、平均年齢 66.1 歳（標準偏差 9.8）、平均体格指数 (BMI) 26.1 kg/m²（標準偏差 6.1）、平均空腹時血漿グルコース濃度 107 mg/dL（標準偏差 20）、平均 HbA1c 6.22%（標準偏差 0.51）の軽症の耐糖能異常を示していた。11-HSD type 1 阻害薬の投与は、尿中コルチゾール代謝物の解析で 11-HSD type 1 活性を 1/10 に抑制した（図 4）。

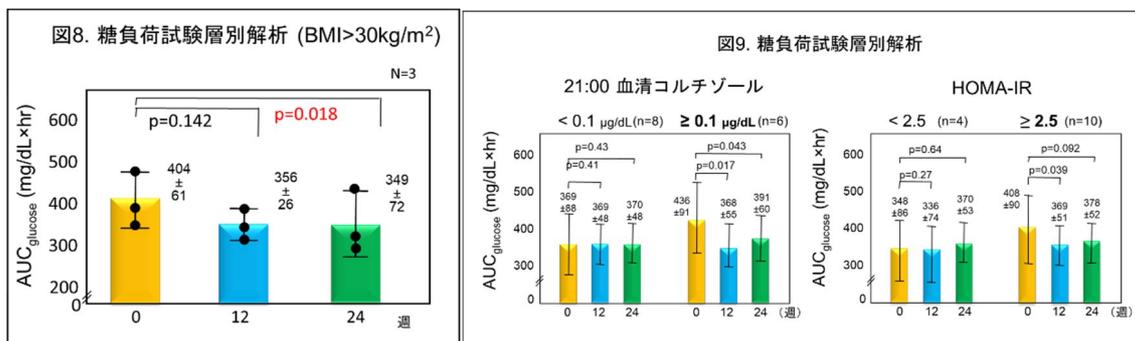
11-HSD type 1 活性の抑制は、75g 糖負荷試験で検討したグルコース濃度曲線下面積、HbA1c 値、空腹時血漿グルコース濃度のいずれでも改善を示さなかった（図 5, 6）。一方で、空腹時 IRI および HOMA-IR は有意に低下しインスリン感受性の改善が示唆された（図 6）。また、体組成の検討では体重が有意に減少し、なおかつこの減少は体脂肪の減少を反映したものであり、筋肉量は変化しない（筋肉率は増加）ことが示された（図 7）。以上のことから、11-HSD type 1 の過剰活性化の抑制がインスリン感受性を改善し、血中 IRI (Immunoreactive insulin) の減少、体脂肪量の減少につながることで、また筋肉量



の維持につながると考えられた。



全体としては有意な変化を示さなかった耐糖能異常に関して、11 -HSD type 1 活性が高い BMI > 30 kg/m²の肥満者 (図 8)、夜間コルチゾールの非抑制群 (図 9)、HOMA-IR ≥ 2.5 の高値群 (図 9) で、75g 糖負荷試験時の血漿グルコース濃度下面積は減少した。



今回は、歩行運動能や握力といった骨格筋の質的評価は行えなかったが、次相の研究で継続した発展的解析の基盤になることが期待できる。また、本邦の 11 -HSD type-1 阻害薬製造ラインの停止に伴い、米国の企業と臨床使用できる 11 -HSD type-1 阻害薬の供与を継続的に交渉している。マウス線維芽細胞株 3T3-L1 を用いたグルココルチコイド作用の検討では、脂肪分化誘導刺激に対しデキサメサゾンの投与は、生理量では脂肪分化促進に働く一方で高濃度～薬理量では脂肪分化を抑制した。グルココルチコイドの骨格筋に対する作用を、マウス筋芽細胞株 C2C12 を用いて検討をした。筋細胞への分化の際に使用するグルココルチコイドの投与のためか有意な変化は得られなかった。今後の 11 -HSD type-1 阻害薬を用いた検討で、その差異を確認する際の基礎として活用できる。

細胞内コルチゾール高値群の対照者として、非機能性副腎腫瘍、原発性アルドステロン症、褐色細胞腫などの副腎関連疾患患者レジストリを構築し、クッシング症候群・サブクリニカルクッシング症候群患者と対比して骨格筋・脂肪量を解析した (表 1)。

表 1. コルチゾール産生副腎腫瘍と非機能性副腎腫瘍

| 測定項目 | コルチゾール産生腫瘍 (n = 7) | 非機能性副腎腫瘍 (n = 16) | P 値† |
|--|---------------------|--------------------|--------|
| 臨床情報 | | | |
| 年齢 (歳) | 56.0 (54.5-62.0) | 65.5 (57.3-73.0) | 0.124 |
| BMI [Body mass index] (kg/m ²) | 18.7 (18.3-20.1) | 21.9 (21.1-25.0) | 0.030 |
| 尿中コルチゾール量 (μg/日) | 148.0 (116.0-250.0) | 32.0 (25.2-37.6) | <0.001 |
| 血中コルチゾール値 (23時, μg/dL) | 21.2 (17.9-22.9) | 2.7 (2.4-3.9) | <0.001 |
| 1 mg Dex 抑制試験 [血中コルチゾール値] (μg/dL) | 21.2 (18.9-24.4) | 1.3 (1.0-1.4) | <0.001 |
| CT 評価値 | | | |
| 内臓脂肪面積 [V] (cm ²) | 76.0 (63.2-108.0) | 77.2 (48.5-98.5) | 0.789 |
| 皮下脂肪面積 [S] (cm ²) | 67.0 (53.6-106.0) | 108.4 (89.2-160.6) | 0.249 |
| 腸腰筋面積 (cm ²) | 5.7 (4.5-8.0) | 9.9 (9.1-12.4) | 0.038 |
| V/S 比 | 1.12 (1.03-1.28) | 0.78 (0.50-1.02) | 0.025 |

測定値は中央値 (4 分位範囲) で記載した。†, 2 群間の比較は Mann-Whitney U test を用いて解析した。

コルチゾール産生腫瘍（クッシング症候群 + サブクリニカルクッシング症候群）と非機能性副腎腫瘍の症例について臨床的所見とともに CT を用いた脂肪面積（内臓および皮下）と骨格筋として腸腰筋面積の差異を解析した。全体の脂肪面積は、体格による差異が多きく作用するものの、内臓脂肪/皮下面積比については、有意にコルチゾール産生腫瘍で高いことが示された。同時に、腸腰筋面積は有意にコルチゾール産生腫瘍群で低下していた。つまり、加齢による成長ホルモン・IGF-1（ソマトメジン C）軸、閉経などの性腺機能低下症、副腎アンドロゲン（DHEA-S など）の低下に代表される副腎皮質機能変化、ならびに炎症性サイトカイン上昇による視床下部・下垂体・副腎調節系（HPA 軸）の活性化が 11 β -HSD type 1 活性を増加させ内臓脂肪の増加、骨格筋量の減少に働く。また、11 β -HSD type 1 阻害薬はこれらの変化を制御しうる可能性があることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Oda Satoko, Ashida Kenji, Uchiyama Makiko, Sakamoto Shohei, Hasuzawa Nao, Nagayama Ayako, Wang Lixiang, Nagata Hiromi, Sakamoto Ryuichi, Kishimoto Junji, Todaka Koji, Ogawa Yoshihiro, Nakanishi Yoichi, Nomura Masatoshi | 4. 巻 106 |
| 2. 論文標題 An Open-label Phase I/IIa Clinical Trial of 11 β -HSD1 Inhibitor for Cushing's Syndrome and Autonomous Cortisol Secretion | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism | 6. 最初と最後の頁 e3865 ~ e3880 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1210/clinem/dgab450 | 査読の有無 有 |
| 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2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

| |
|----------------------------|
| 1. 発表者名 野村政壽、蘆田健二 |
| 2. 発表標題 グルココルチコイドと糖尿病 |
| 3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術総会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|-------------------------------------|
| 1. 発表者名 野村政壽、蘆田健二 |
| 2. 発表標題 グルココルチコイドと糖尿病 「クリニカルアワー」 |
| 3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術総会（招待講演） |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|---|-----------------|
| 1. 著者名 蘆田健二、永山綾子、吉信聡子、岩田慎平、蓮澤奈央、安田淳一、本村誠一、野村政壽 | 4. 発行年 2021年 |
| 2. 出版社 科学評論社 | 5. 総ページ数 8 |
| 3. 書名 糖尿病・内分泌代謝科 | |

〔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 | 永山 綾子 (Nagayama Ayako) (00837883) | 久留米大学・医学部・助教 (37104) | |
| 研究分担者 | 大江 賢治 (Ohe Kenji) (30419527) | 福岡大学・薬学部・教授 (37111) | |
| 研究分担者 | 野村 政壽 (Nomura Masatoshi) (30315080) | 久留米大学・医学部・教授 (37104) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|