

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月1日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21390220

研究課題名（和文） アンドロゲンによる老年疾患抑制機構の解明：細胞老化から虚弱化まで

研究課題名（英文） Investigation on the protective action of androgen on aging and age-related diseases: from cellular senescence to frailty

研究代表者

秋下 雅弘 (AKISHITA MASAHIRO)

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：00261975

研究成果の概要（和文）：老化および老年疾患におけるアンドロゲンの意義と作用機序を解明する目的で研究を行った。臨床研究では、中年男性のメタボリックシンドロームや心血管疾患、虚弱高齢男女の認知機能や ADL、生命予後とアンドロゲンの低下が関連することを報告した。細胞および老化動物を用いた検討では、老化形質に対してアンドロゲンが保護的に作用し、NO、SIRT1 が重要な役割を果たすことを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：This project was conducted to investigate the protective action of androgen on aging and age-related diseases. Clinical studies showed that low plasma androgen levels were associated with metabolic syndrome and atherosclerosis in middle-aged men as well as cognitive impairment, dependence and high mortality in frail elderly men and women. Basic research using cultured cells and animal models revealed the protective action of androgen on aging and the important role of NO and SIRT1 in its process.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	6,400,000	1,920,000	8,320,000
2010年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
2011年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
総計	13,800,000	4,140,000	17,940,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内科学一般（含心身医学）

キーワード：長寿、老年病、男性ホルモン、アンドロゲン、テストステロン

1. 研究開始当初の背景

ホルモン分泌の加齢変化は顕著であり、特に更年期以降の女性にみられるエストロゲン分泌の枯渇は様々な疾患の引き金となることが知られている。一方、男性では、男性ホルモンであるアンドロゲンの分泌が20歳代以降漸減するが、その病的意義は不明であった。ところが近年、加齢に伴うアンドロゲンの低下が、性欲低下・うつ症状といったいわゆる男性更年期障害や肥満、高脂血症、動脈硬化性疾患などの生活習慣病、さらに骨粗

鬆症や認知症などの老年疾患と関係することが指摘されるようになった。若年性性腺機能低下症との相違から、加齢性性腺機能低下症 Late-onset hypogonadism (LOH) という疾患概念が提唱されている。高齢男性のテストステロン低下が死亡リスクと関連するという疫学研究の報告が相次ぐ中 (Arch Intern Med 2006, Circulation 2007, J Clin Endocrinol Metab 2008 など)、アンドロゲン補充療法 (Androgen replacement therapy, ART) により疾患や障害を防ぎ、健康長寿を達成でき

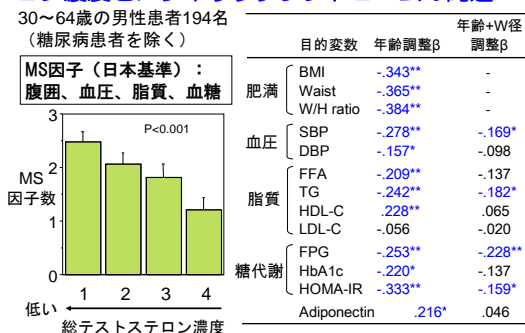
るかどうかが注目されている。しかし、いずれも小規模研究であるが、ART の有効性に関する報告は結果が一定しておらず、例えば最近行われた健常高齢者を対象とした無作為比較試験では、ART により筋肉増強/体脂肪減少効果や骨量増加効果は認めるものの、運動機能や認知機能の改善効果はみられなかった (N Engl J Med 2006, JAMA 2008)。

このように ART の効果が一致しない理由として、年齢や身体機能、疾患、さらにアンドロゲン低下の程度といった対象の属性が多様であることがまず挙げられる。実際に、研究代表者が班長として実施した 9 集団の横断・縦断観察研究では、疾患や機能低下が進行した状態ほどアンドロゲン低下と疾患指標との関連が強いことがわかり (厚生労働省長寿科学総合研究事業平成 17~19 年度報告書)、病態に応じて ART の適応が異なることが示唆された。もう一つ大きな問題は、アンドロゲンの作用がよくわかっていない点である。メタボリックシンドロームや動脈硬化などの生活習慣病に対しても、これまで考えられていたような善玉のエストロゲンに対して悪玉のアンドロゲンという構図はもはや成立しないと思われるが、では「アンドロゲンがどのような機序で代謝機能や血管機能を維持するのか?」という疑問は残されたままである。また、アンチエイジングホルモンともされる dehydroepiandrosterone (DHEA) は、ステロイド合成系でテストステロンの上流に位置するアンドロゲンであるが、単なるテストステロンの前駆体なのか、未知の受容体を介して作用するのかもわからない。一方、閉経後女性でもアンドロゲン分泌は経年的に低下し、生活習慣病や精神症状に関連するとされるが、女性におけるアンドロゲンの病態生理的意義は不明である。このように、アンドロゲンの作用機序がよくわかっていないため、臨床応用への道筋は付いてこなかった。

2. 研究の目的

以上のように、臨床的にも期待の大きいアンドロゲンの抗老化作用、抗老年疾患作用であるが、その作用機構を分子レベルから解明

図1. 男性生活習慣病患者におけるテストステロン濃度とメタボリックシンドロームの関連



し、その知見をアンドロゲン低下状態に基づく LOH の診断基準や補充療法の適応判断に役立てることはきわめて重要であり、そのための基盤作りが本研究の目的である。

そこで本研究は、(1)生活習慣病および老年疾患、老年症候群 (認知機能低下、虚弱化など) の病態におけるアンドロゲンの意義を解明し、それを医学的管理に生かす方策を提示すること、(2) アンドロゲンの作用を解明し、その知見に基づいて健康寿命延長の方法を策定すること、(3) その基盤として、老化の進行過程におけるアンドロゲンの分子機序とその制御法を解明すること、の3点を具体的な目標とする。この成果に基づき、老年男性ホルモン学とも言うべき新たな学術分野の創成へつなげることが本研究課題の目的である。

3. 研究の方法

(1)生活習慣病におけるアンドロゲンの意義：①中高年男性の性ホルモン濃度と生活習慣病；当科もしくは関連医療施設に通院歴のある中高年男性患者を対象に、早朝空腹時に採取した血清サンプルを用いて性ホルモン濃度を測定し、メタボリックシンドロームなど生活習慣病指標、臍レベルのCTによる内臓脂肪面積、皮下脂肪面積との関連について解析した。さらに、症例を追跡調査し、心血管疾患の発生リスクとの関連を解析した。②中年男性会社員 (延べ 172 名) の血清性ホルモン濃度および生活習慣病指標を追跡調査した。

(2)老年疾患および老年症候群におけるアンドロゲンの意義：①長野県の介護施設の軽度要介護高齢者 208 名 (男性 108 名、女性 100 名、年齢 81 ± 7 歳) を対象として、血中性ホルモン濃度 (総・遊離テストステロン、DHEA-S、エストラジオール) を測定し、基本的 ADL (Barthel Index)、手段的 ADL (Lawton & Brody)、認知機能 (長谷川式知能評価スケール改訂版)、高齢者うつスケール (GDS)、意欲の指標 (鳥羽) を用いた高齢者総合的機能評価を行った。②さらに、追跡調査を行い、その後の死亡リスクとの関連を解析した。③軽度認知障害ないしは軽症認知症患者に対してアンドロゲン補充療法を行い、認知機能

図2. 軽度認知機能障害を有する男性に対するテストステロン補充療法の効果

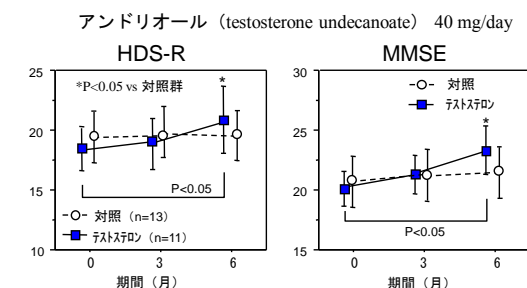
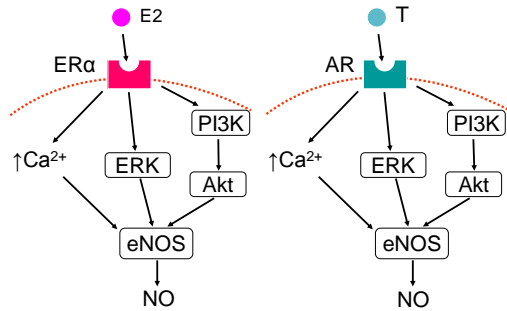


図3. 性ホルモンによるeNOS活性化のシグナル伝達



やADLに対する効果を検討した。

(3) 老化のプロセスにおける性差の機序の解明：①ヒト臍帯静脈血管内皮細胞およびヒト大動脈由来血管平滑筋細胞を用いた。過酸化水素を添加することにより早期老化を誘導し、あるいは高リン刺激 (2.6 mM) により血管平滑筋細胞の石灰沈着を誘導した。細胞老化は senescence-associated β -galactosidase (SA- β gal) アッセイや形態学変化により、石灰沈着はCaの定量により評価した。②老化モデル動物として認知症を呈する老化促進マウスの系統 SAMP8 を用いた検討を行った。

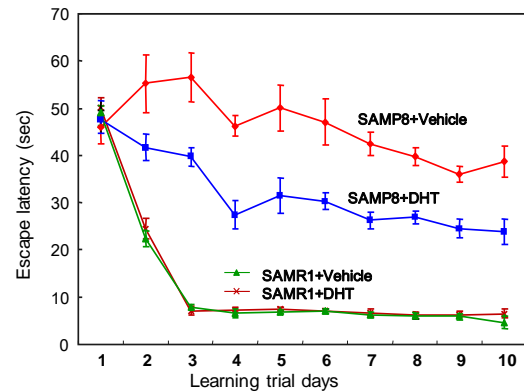
(4) 倫理的配慮：臨床研究は、東京大学大学院医学系研究科の倫理委員会、外部施設の場合にはその施設の倫理委員会の承認を得て実施した。動物実験は、東京大学医学系研究科の指針に従い、承認を受けて実施した。

4. 研究成果

(1) 生活習慣病におけるアンドロゲンの意義：①中年男性生活習慣病患者 194 名を対象に、メタボリックシンドロームと血清性ホルモン濃度との関連を解析し、テストステロン低値がメタボリックシンドロームの診断ならびに各構成要素、特に内臓肥満と関連することを示した (図1、論文1)。また、老人健診受診男性の解析では、血清テストステロン濃度が内臓脂肪面積と有意な負の相関を示したが、皮下脂肪面積とは相関しなかった。性ホルモンと心血管イベント発生に関する171名の調査では、平均追跡期間77カ月の間に20例の心血管イベントが発生した。血清テストステロン濃度の低い集団は高い集団に比べて心血管イベントの発生リスクが有意に高く、多因子調整後もその結果は変わらなかった (論文2)。②中年男性会社員の追跡調査では、5年間にテストステロンを含む性ホルモン濃度の明らかな変化はみられず、生活習慣病指標もほとんど変化しなかった (論文3)。

(2) 老年疾患および老年症候群におけるアンドロゲンの意義：①虚弱高齢者のコホート208名で得られたデータを解析し、男性では血清テストステロンが、女性ではDHEAが日

図4. テストステロン投与によるSAMP8の学習機能改善効果



常生活機能と関連することを報告した (論文4)。②70-96歳の軽度要介護高齢者214名 (男性117名、女性97名) を平均32か月間追跡調査し、開始時の血清性ホルモン濃度と死亡との関連を解析した。多変量解析の結果、男性ではテストステロンが3分位で下位の群が、女性ではdehydroepiandrosterone-sulfate (DHEA-S) が下位の群が、上位群に比べて3-4倍死亡リスクが高かった (論文5)。③軽度認知機能障害患者に対するアンドロゲン補充療法の効果を検討し、小規模ではあるが、男性ではtestosterone undecanoate 40 mg/日の投与により、女性ではdehydroepiandrosterone (DHEA) 25 mg/日の投与により、非投与群に比べて有意な認知機能の改善効果を認めた (図2、論文6; 論文7)。

(3) 老化のプロセスにおける性差の機序の解明：①血管内皮細胞では、アンドロゲン受容体が細胞膜レベルでPI3キナーゼ/Akt経路を活性化してeNOS活性化/NO産生に寄与することを報告した (論文8)。さらに、アンドロゲン受容体が細胞膜レベルでc-SrcおよびCaveolin-1と共存し、eNOS活性化につながることを見出し (論文投稿中)、関連する成果を英文総説として報告した (図3、論文9)。②また、アンドロゲンは酸化ストレス誘導性の内皮細胞老化を抑制し、神経細胞との共培養系では内皮細胞老化が神経細胞老化を誘導したが、内皮細胞をアンドロゲンで処理することで神経細胞の老化も抑制された (論文10)。血管平滑筋細胞を用いた検討により、アンドロゲン受容体が増殖因子Gas6のプロモーターに直接結合して転写を活性化し、さらに生存シグナルの活性化を介して血管石灰化を抑制することを報告した (論文11)。②認知症を呈する老化促進マウスSAMP8を用いた検討では、学習機能と血清テストステロンの低下、精巣のLeydig細胞と脳の海馬および周囲の血管組織に顕著な老化形質を認めたが、テストステロンの補充によりこれらはすべて改善し、抗老化遺伝子Sirt1の発現

回復もみられた (図 4、論文 10)。

これらの研究結果から、細胞老化から老年疾患・虚弱化に至る過程にアンドロゲンが深く関わることがわかり、この成果は今後治療法にも応用できると期待される。

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 20 件)

- 1) Akishita M, Yu J. Hormonal effects on blood vessels. *Hypertens Res* 査読有、2012;35:363-9
- 2) Ota H, Akishita M, Akiyoshi T, Kahyo T, Setou M, Ogawa S, Iijima K, Eto M, Ouchi Y. Testosterone deficiency accelerates neuronal and vascular aging of SAMP8 mice: protective role of eNOS and SIRT1. *PLoS One*. 査読有、2012;7:e29598.
- 3) Fukai S, Akishita M, Yamada S, Ogawa S, Yamaguchi K, Kozaki K, Toba K, Ouchi Y. Plasma sex hormone levels and mortality in disabled older men and women. *Geriatr Gerontol Int* 査読有、2011;11:196-203.
- 4) Akishita M, Fukai S, Hashimoto M, Kameyama Y, Nomura K, Nakamura T, Ogawa S, Iijima K, Eto M, Ouchi Y. Association of low testosterone with metabolic syndrome and its components in middle-aged Japanese men. *Hypertens Res* 査読有、2010;33:587-91.
- 5) Akishita M, Hashimoto M, Ohike Y, Ogawa S, Iijima K, Eto M, Ouchi Y. Low testosterone level as a predictor of cardiovascular events in Japanese men with coronary risk factors. *Atherosclerosis* 査読有、2010;210:232-236.
- 6) Fukai S, Akishita M, Yamada S, Toba K, Ouchi Y. Effects of testosterone in older men with mild-to-moderate cognitive impairment. *J Am Geriatr Soc* 査読有、2010;58:1419-21.
- 7) Fukai S, Akishita M, Miyao M, Ishida K, Toba K, Ouchi Y. Age-related changes in plasma androgen levels and their association with cardiovascular risk factors in male Japanese office workers. *Geriatr Gerontol Int* 査読有、2010;10:32-9.
- 8) Yamada S, Akishita M, Fukai S, Ogawa S, Yamaguchi K, Matsuyama J, Kozaki K, Toba K, Ouchi Y. Effects of dehydroepiandrosterone supplementation on cognitive function and activities of daily living in older women with mild to moderate cognitive impairment. *Geriatr Gerontol Int* 査読有、2010;10:280-7.
- 9) Yu J, Akishita M, Eto M, Ogawa S, Son

BK, Kato S, Ouchi Y, Okabe T. Androgen receptor-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells: Role of PI3-kinase/Akt pathway. *Endocrinology* 査読有、2010;151:1822-8.

10) Son BK, Akishita M, Iijima K, Ogawa S, Maemura K, Yu J, Takeyama K, Kato S, Eto M, Ouchi Y. Androgen receptor-dependent transactivation of growth arrest-specific gene 6 mediates inhibitory effects of testosterone on vascular calcification. *J Biol Chem* 査読有、2010;285:7537-44.

11) Fukai S, Akishita M, Yamada S, Hama T, Ogawa S, Iijima K, Eto M, Kozaki K, Toba K, Ouchi Y. Association of plasma sex hormone levels with functional decline in elderly men and women. *Geriatr Gerontol Int* 査読有、2009;9:282-9.

[学会発表] (計 35 件)

- 1) 秋下雅弘 (シンポジウム): ホルモンと認知症. アンドロゲンの認知機能改善作用. 日本認知症学会学術集会, 東京, 2011.11.12.
- 2) Akishita M (Symposium): Men's Health and Metabolism: Androgen action on vascular metabolism. 6th Japan-ASEAN Conference on Men's Health & Aging, Kamakura, Japan, 2011.7.1.
- 3) 秋下雅弘 (シンポジウム): 高齢社会/アンチエイジング 性ホルモンと抗老化. 日本医学会総会, 東京, 2011 (Web開催).
- 4) 秋下雅弘 (シンポジウム): テストステロン医学の最前線. テストステロンと虚弱. 日本抗加齢医学会総会, 京都, 2011.5.29.
- 5) 秋下雅弘 (シンポジウム): 生活習慣病におけるアンチエイジング医療: メタボ時代に最適なアンチエイジングとは? 性ホルモンとメタボリックシンドローム. 日本抗加齢医学会総会, 京都, 2011.5.27.
- 6) 秋下雅弘 (シンポジウム): アンドロゲンの血管作用とその性差. 日本性差医学・医療学会, 下関, 2011.2.6.
- 7) 秋下雅弘 (シンポジウム): 性ホルモン; Vasoprotective action of androgen and the role of androgen receptor. 日本血管生物医学会, 大阪, 2010.12.1.
- 8) 秋下雅弘 (シンポジウム): テストステロンと生活習慣病; テストステロンは寿命を規定する? 日本 Men's Health 医学会, 東京, 2010.11.27.
- 9) Akishita M (Symposium): Frailty in older men - testosterone is the key for care. Men's Health World Congress, Nice, France, 2010.10.30.
- 10) 秋下雅弘 (五島雄一郎賞受賞講演): Sex

hormones and atherosclerosis. 日本動脈硬化学会総会・学術集会, 岐阜, 2010.7.16.

11) 秋下雅弘 (シンポジウム): 男性ホルモン研究最前線 今年の話題. アンドロゲンによる eNOS 活性化機構. 日本抗加齢医学会総会, 京都, 2010.6.12.

12) Akishita M: Vasoprotective action of testosterone and the role of androgen receptor. Official Satellite Symposium of 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010): New aspects of steroids: stem cells biosynthesis and versatile actions, Kyoto, 2010.3.30.

13) Akishita M (Keynote Lecture): Sex Hormone and Geriatric Medicine. The 3rd International Symposium for Aging, Gwangju, Korea, 2009.11.27.

14) 秋下雅弘 (教育講演): 性ホルモンと老年疾患. 日本健康医学会総会, 東京, 2009.11.7.

15) 秋下雅弘 (シンポジウム): メンズヘルス・ウイメンズヘルス 男女の性ホルモンの血管保護作用. 日本抗加齢医学会総会, 東京, 2009.5.29.

[図書] (計 11 件)

1) 江頭正人, 秋下雅弘. 第 2 章サルコペニアの基礎的理解 第 2 節サルコペニア発生のメカニズム V. アンドロゲンとサルコペニア. 鈴木隆雄 監修. 島田裕之 編: サルコペニアの基礎と臨床. 55-61、真興交易 (株) 医書出版部・東京、2011.4.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

秋下 雅弘 (AKISHITA MASAHIRO)
東京大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号: 00261975

(2) 研究分担者

江頭 正人 (ETO MASATO)
東京大学・医学部附属病院・特任准教授
研究者番号: 80282630
小川 純人 (OGAWA SUMITO)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号: 20323579
大田 秀隆 (OTA HIDETAKA)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 20431869