

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591339

研究課題名(和文) アンドロゲン低下によるインスリン抵抗性惹起機構の解明

研究課題名(英文) Identification of the mechanism of the development of insulin resistance in androgen deficiency

研究代表者

福井 道明 (Fukui, Michiaki)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：30247829

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：高脂肪食にて飼育した精巣摘出マウスは擬似処置マウスと比べ、体重増加を認めた。また、ブドウ糖負荷試験による耐糖能悪化を認めた。さらに、高脂肪食にて飼育した精巣摘出マウスが、肝臓における脂質/リポタンパク質代謝関連遺伝子発現異常を介して脂肪肝を呈し、インスリン抵抗性増大と耐糖能異常悪化を認めた。アンドロゲン低下によるインスリン抵抗性惹起機構において、肝臓の脂質代謝障害や末梢組織の糖輸送担体4を介した糖取込み作用障害が重要な役割を担っていることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Body weight with orchidectomized mice fed high fat diet increased more than those with sham operation. In addition, The capacity of glucose tolerance worsened more in orchidectomized mice compared with that in sham operation. Orchidectomized mice fed high fat diet had developed fatty liver and insulin resistance due to lipid gene abnormalities in the liver. We have identified that abnormality of lipid metabolism in the liver and impairment of glucose intake via glucose transporter 4 in peripheral tissue have important roles in the development of insulin resistance.

研究分野：内分泌代謝

キーワード：アンドロゲン インスリン抵抗性

1. 研究開始当初の背景

(1) アンドロゲン低下はインスリン抵抗性を惹起し、糖・脂質代謝異常等の生活習慣病や心血管イベント発症の重要な危険因子の一つである。研究代表者をはじめ、豊富な臨床知見が報告されているが、その機序に関する基礎的研究報告は乏しい。

(2) インスリン抵抗性の強い肥満症例の肝臓や脂肪組織で小胞体ストレス/酸化ストレス関連遺伝子の発現が亢進しているとの報告が見られ、研究代表者らはアンドロゲン低下による糖・脂質代謝異常発現に小胞体ストレス/酸化ストレスが関与している可能性を思量し、本研究課題を発案するに至った。

(3) 加齢に伴う性ホルモンの低下、特に女性では閉経に伴うエストロゲン低下に伴うインスリン抵抗性惹起機構に関する多くの研究報告がある。細胞内 Ca 濃度の増加が小胞体ストレスの誘導に関与していることが知られているが、研究代表者らは、エストロゲンが高飽和脂肪酸食で誘導された小胞体ストレス/酸化ストレス/アポトーシスを、細胞内 Ca 濃度の恒常性に重要な役割を担う、加齢指標蛋白質 Senescence Marker Protein-30 (SMP30) の up-regulation を介して抑制することを明らかにした (Fukui M, et al. Biochem Biophys Res Commun 2011)。

2. 研究の目的

(1) アンドロゲン低下マウス (精巣摘出マウス) のインスリン標的組織 (肝臓・骨格筋・脂肪組織) における小胞体ストレス/酸化ストレス発現亢進、インスリンシグナルの抑制を検証する。

(2) アンドロゲン受容体 KO と SMP30 KO の交配による新規モデルマウス (アンドロゲン低下と酸化ストレス増大モデル) を用いて、上記(1)を検証する。

(3) 小胞体ストレス/酸化ストレス (ミトコンドリア機能異常) を標的とした糖・脂質代謝異常の予防や治療技術の開発の礎につなげる。

3. 研究の方法

(1) アンドロゲン低下マウスにおけるインスリン抵抗性の病態解明  
精巣摘出マウスおよび擬似処置マウスに普通食/高脂肪食を4週間投与し、以下の解析を行った。

糖・インスリン負荷試験、脂質、リポタンパク分画分析、ホルモン、サイトカイン測定

肝組織の病理学的解析

肝・骨格筋における性ホルモン受容体、糖・脂質代謝関連分子、インスリンシグナル伝達関連分子、小胞体ストレス関連分子の発

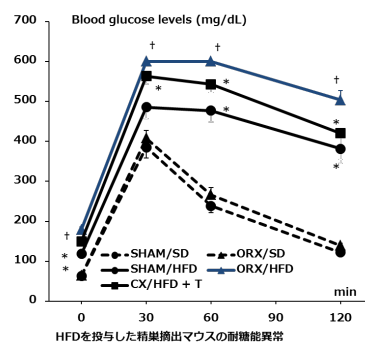
現動態解析

(2) 株化細胞による解析

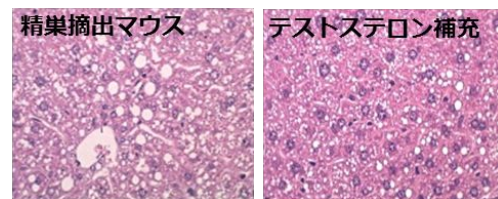
3T3-L1 脂肪細胞にテストステロンや性ホルモン受容体阻害剤の投与を行い、糖・脂質代謝関連分子、GLUT4 translocation シグナル伝達分子の解析を行った。

4. 研究成果

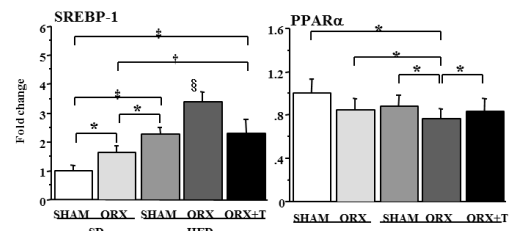
(1) 高脂肪食 (HFD) にて飼育した精巣摘出マウス (ORX) は擬似処置マウス (SHAM) と比べ、体重増加を認めた。また、ブドウ糖負荷試験による耐糖能悪化を認めた。リポタンパク分析では、small dense および very small dense LDL 分画の増加を認めた。SD: 標準食



(2) 高脂肪食にて飼育した精巣摘出マウスが、肝臓における脂質/リポタンパク質代謝関連遺伝子発現異常 (主として脂質合成関連遺伝子の増加と酸化関連遺伝子および脂質分泌関連遺伝子 MTP の低下) を介して脂肪肝を呈し、インスリン抵抗性増大と耐糖能異常悪化を認めた。同マウスにテストステロンを補充すると代謝異常は改善した (Senmaru T, Fukui M, et al. Metabolism 2013)。

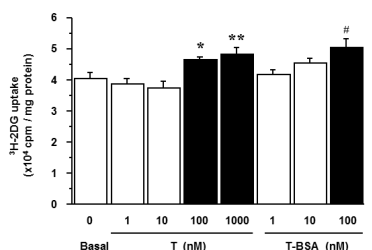


HFDを投与した精巣摘出マウスの肝脂肪沈着とテストステロン補充による改善

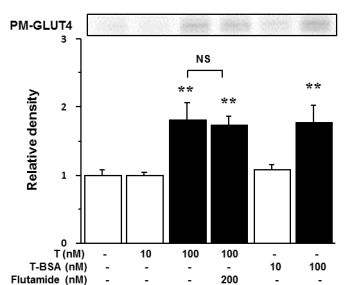


脂肪酸合成関連遺伝子SREBP-1の発現量増加とβ酸化関連遺伝子PPARαの発現量低下

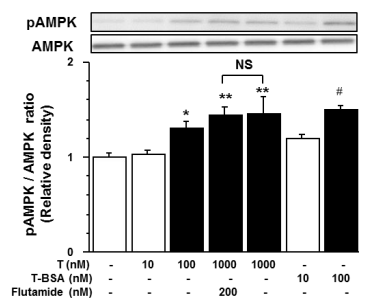
(3) 3T3-L1 脂肪細胞において、テストステロンが AMPK シグナルを介し GLUT4 の細胞膜への移行を促進させ、細胞内糖取込みを増加させた (論文投稿中)。



3T3-L1 脂肪細胞におけるテストステロンによる細胞内糖取込みの増加



3T3-L1 脂肪細胞におけるテストステロンによる GLUT4 発現量の増加



3T3-L1 脂肪細胞におけるテストステロンによる AMPK リン酸化の促進

(4) 申請時における当初の研究目的の1つであった小胞体ストレス/酸化ストレスを介したアンドロゲン低下によるインスリン抵抗性惹起機構は明らかにならなかった。今後、小胞体ストレスを誘導すると言われている高飽和脂肪酸食投与による実験を検討している。

(5) これまでの研究結果より、アンドロゲン低下によるインスリン抵抗性惹起機構において、肝臓の脂質代謝障害や末梢組織の GLUT4 を介した糖取込み作用障害が重要な役割を担っていることを明らかにした。本研究成果は、アンドロゲン低下によるインスリン抵抗性惹起機構を異なる臓器において明らかにしたため、各臓器を標的とした予防・治療技術の開発につながり、臨床的意義が非常に大きいと考える。

(6) アンドロゲン受容体 KO の研究は、検定の結果アロマターゼ KO を用いることとなった。現在、アロマターゼ KO マウスと SMP30 KO との交配マウスを用い、アンドロゲン低下によるインスリン抵抗性惹起機構における、女性ホルモンや性ホルモン受容体の関与も調査している。

## 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 1 件)

Senmaru T, Fukui M, Okada H, Mineoka Y, Yamazaki M, Tsujikawa M, Hasegawa G, Kitawaki J, Obayashi H, Nakamura N. Testosterone deficiency induces markedly decreased serum triglycerides, increased small dense LDL, and hepatic steatosis mediated by dysregulation of lipid assembly and secretion in mice fed a high-fat diet. *Metabolism*. 62: 851-860. 2013. DOI: 10.1016/j.metabol.2012.12.007. 査読有

〔学会発表〕(計 12 件)

### (1) 国際学会

Mitsuhashi K, Fukui M, et al. Testosterone Deficiency Exacerbates High-Fat Diet-Induced Glucose Intolerance through Inhibition of GLUT4-Mediated Glucose Uptake in Skeletal Muscle. 74th Scientific Session of the America Diabetes Association. 2014 Jun 14. San Francisco (USA)

Senmaru T, Fukui M, et al. Impaired GLUT4-mediated glucose uptake in skeletal muscle plays a key role in the development of glucose intolerance induced by testosterone deficiency. 49th EASD Annual Meeting. 2013 Sep 24. Barcelona (Spain)

Senmaru T, Fukui M, et al. Orchiectomized mice fed a high-fat diet exhibit impaired glucose tolerance due to increased glucose production in liver and decreased glucose uptake in skeletal muscle. 73rd Scientific Session of the America Diabetes Association. 2013 Jun 22. Chicago (USA)

Senmaru T, Fukui M, et al. Impaired hepatic lipid homeostasis plays a key role in the development of glucose intolerance induced by testosterone deficiency. 48th EASD Annual Meeting. 2012 Oct 04. Berlin (Germany).

### (2) 国内学会

三橋一輝、福井道明、他. Testosterone は 3T3-L1 脂肪細胞において GLUT4 を介した細胞内糖取込みを促進する. 第 15 回日本抗

加齢医学総会．2015年5月29日．福岡国際会議場（福岡県・博多市）．

三橋一輝、福井道明、他．Testosteroneは3T3-L1脂肪細胞においてGLUT4を介した細胞内糖取込みを促進する．第15回日本抗加齢医学総会．2015年5月23日．下関市民会館（山口県・下関市）

千丸貴史、福井道明、他．テストステロン低下と慢性炎症により惹起されるサルコペニアを伴った非アルコール性脂肪肝炎の病態解明 第2回肝臓と糖尿病・代謝研究会．2015年5月23日．シーモールパレス（山口県・下関市）．

三橋一輝、福井道明、他．テストステロンによる脂肪細胞におけるグルコース取り込みとそのシグナル伝達機構．第57回日本糖尿病学会年次学術集会 2014年5月24日．大阪国際会議場（大阪府・大阪市）．

千丸貴史、福井道明、他．Testosterone低下マウスの骨格筋におけるGLUT4 translocation シグナル伝達機構の検討．2014年5月24日．大阪国際会議場（大阪府・大阪市）．

千丸貴史、福井道明、他．テストステロン低下は高脂肪食投与マウスの脂肪肝および耐糖能障害を悪化させる 2013年5月16日．第56回日本糖尿病学会年次学術集会（熊本県・熊本市）．

千丸貴史、福井道明、他、アンドロゲン低下による脂質恒常性破綻を介した耐糖能障害発症機構．第86回日本内分泌学会学術総会．2013年4月26日．仙台国際センター（宮城県・仙台市）．

千丸貴史、福井道明、他．アンドロゲン低下は肝臓インスリン抵抗性を増強する．第55回日本糖尿病学会年次学術集会．2012年5月19日．（神奈川県・横浜市）．

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

出願状況（計0件）

取得状況（計0件）

## 6．研究組織

### (1)研究代表者

福井 道明 (FUKUI, Michiaki)  
京都府立医科大学・医学研究科・准教授  
研究者番号：30247829

### (2)研究分担者

長谷川 剛二 (HASEGAWA Goji)  
京都府立医科大学・医学研究科・准教授  
研究者番号：00295643  
（平成26年4月14日辞退）

中村 直登 (NAKAMURA Naoto)  
京都府立医科大学・医学研究科・教授  
研究者番号：40227921

邵 仁哲 (SOH Jintetsu)  
明治国際医療大学・医学研究科・教授  
研究者番号：40305587

山崎 真裕 (YAMAZAKI Masahiro)  
京都府立医科大学・医学研究科・助教  
研究者番号：50309134