

アンドロゲンとその標的因子による中枢性肥満 と動脈硬化の制御の分子メカニズム

Molecular mechanism in the control of central obesity and
atherosclerosis by androgen and its target molecule

名和田 新 (Nawata Hajime)

九州大学・大学院医学研究院・特任教授



研究の概要

アンドロゲン-アンドロゲン受容体(AR)系は抗肥満作用を有する。アンドロゲン-AR系の活性化はエネルギー代謝の中枢性調節機構において、レプチンシグナルを増強することで、抗肥満作用を発揮すること、また末梢性には抗動脈硬化性に作用することを明らかにした。生活習慣病創薬の観点から、前立腺刺激作用を認めず、脂質代謝改善作用を有する selective androgen receptor modulator (SARM) の候補化学物質を同定し、ラットへの投与実験で血中中性脂肪の低下作用を見出した。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学

キーワード：アンドロゲン、アンドロゲン受容体(AR)、抗肥満、抗動脈硬化、
メタボリックシンドローム、SARM

1. 研究開始当初の背景・動機

内臓脂肪型肥満を発症基盤とするメタボリックシンドローム(MS)、糖尿病、動脈硬化といった生活習慣病領域におけるアンドロゲン-AR系の観点からの研究成績は世界的にも少ない。我々は東京大学加藤茂明教授らにより開発された ARKO マウスが、エネルギー消費の低下により晩発性肥満を起こすことを見出した。この成果を踏まえ、アンドロゲンとしての testosterone (T) と dehydroepiandrosterone (DHEA) の MS や動脈硬化における意義の研究を実施した。

2. 研究の目的

(1) エネルギーバランスの中枢性調節機構におけるアンドロゲンの意義。(2) T の抗動脈硬化作用機構。(3) 前立腺には増殖作用を示さず、抗肥満作用を有する SARM (selective androgen receptor modulator) の開発。(4) 抗老化ホルモン DHEA により誘導される P38 特異的 phosphatase, DHEA-enhanced dual specificity protein phosphatase (DDSP) の抗肥満作用機序の解明。

3. 研究の方法

2. (1) 肥満におけるアンドロゲン-AR系
の中枢性作用機序: ARKOマウスのレプチン抵抗性の機序としてARシグナルはレプチンの作用を増強する可能性を仮説として考え、主に以下の研究を行なった。(a) オス野生型あるいはARKOマウスの脳室内レプチン投与時の食行動比較、視床下部諸核におけるAR、レプチン受容体、STAT3 の免疫染色による発現

検討 (c) レプチン誘導性のSTAT3 の転写活性化に及ぼすAR作用の影響等を検討。(2) アンドロゲンと動脈硬化: 動脈硬化モデルマウス(ApoEKOマウス)とARKOマウスの交配オスマウスの動脈硬化度(Sudan III染色下の動脈硬化面積で評価)や高コレステロール食餌負荷の動脈硬化兔への精巣摘出並びにDHT剤(皮下植込み徐放型 DHT20mg/pellet)の効果を検証。酸化LDL受容体LOX-1の発現に及ぼすアンドロゲンの影響について培養血管内皮細胞を用いて検討。(3) SARMの探索: アンドロゲンの脂肪分解促進作用、末梢性エネルギー代謝亢進作用に着目し、脂肪細胞におけるUCP-1遺伝子の転写活性を上昇させるものの、前立腺細胞のPSA遺伝子の転写活性は促進しない、いわゆるSARM活性を有する化合物を探索し、候補化学物質については各遺伝子mRNAの増減を各組織で確認した後、動物実験により、その化合物の毒性の有無、抗肥満作用、前立腺刺激作用の有無を検討。(4) DDSP過剰発現(DDSP-TG)マウスの解析: DDSP-TGマウスの表現型を常食下、高脂肪食下で検討。食事摂取量、運動量、エネルギー消費量、糖、脂肪代謝(real-time PCR)の観点より検討。

4. 研究の主な成果

(1) 肥満におけるアンドロゲン-AR系の中枢性作用機序: 脂肪由来ホルモンのレプチンは摂食抑制と交感神経活性の亢進作用による体重減少効果を有する。オスARKOマウスでは、血中レプチン濃度は増加しているが、摂食量は正常で、レプチン抵抗性が存在する。

このレプチン抵抗性は肥満前の同マウスへの脳室内レプチン投与実験でも確認され、AR欠乏に伴うintrinsicな現象と考えられた。そこで、まず、成獣オスマウスの視床下部におけるAR発現を免疫組織染色にて検討した結果、ARは視床下部のarcuate nucleus (ARC)をはじめとする諸核に強い発現を認めた。この発現パターンはレプチン受容体の発現と重複しており、レプチン支配下の中枢性エネルギー調節機構にARが関与する可能性が示唆された。さらに二重染色によりオスマウス視床下部ARCにおけるARとレプチン受容体の共局在を直接的に証明した。レプチンはレプチン受容体に結合し、下流のSTAT3のY705をリン酸化する。リン酸化STAT3は核内へ移行し、転写活性を発揮することにより生物作用を発現する。ARはリン酸化STAT3の特異的標的遺伝子であるAcute Phase Responsive Element (APRE)並びにPOMC (proopiomelanocortin) 遺伝子の転写を促進した。すなわちARはレプチン誘導性のSTAT3の転写活性化能を増強した。この効果はARに特異的であり、STAT3 Y705リン酸化を増強するためではない。興味深いことに、in vitroの系でARはリガンド非依存性に、低濃度のレプチンが惹起するSTAT3の核内移行を増強する結果を得た。この事実はレプチン脳室内投与下の野性型マウスでは、視床下部弓状核STAT3の顕著な核内発現を認めるのに対し、オスマウスではSTAT3の核内発現が明らかに低下していることから確認された。以上の結果より、アンドロゲンの抗肥満作用機序の一端として、レプチン作用の増強による交感神経活性化作用も関与しているものと考えている。一方、ARKOマウスの肥満成因としてリズム異常の可能性は摂食時間の夜間占有率に関する限り、野性型との間に大きな差異を認めなかった。

(2) アンドロゲンと動脈硬化 : ARKOとApoEKOマウスの交配オスマウスの動脈硬化面積は血中脂質レベルとは無関係にApoEKOマウス群に較べ有意に強い動脈硬化度を示した。内因性Tの抗動脈硬化作用は、高コレステロール食飼下のNew Zealand white rabbitの動脈硬化を精巣摘出が増悪しDHT投与により著明に抑制した成績からも支持された。また、生理的濃度のDHTは、ヒト血管内皮細胞においてTNF- α 及びIL-1 β 誘導下のLOX-1の発現を転写及び蛋白のレベルで抑制することを見出した。

(3) SARMの探索 : オスマウスは肥満をきたし、白色脂肪組織の熱産生蛋白UCP-1の発現は劇的に低下する。3T3L1細胞におけるUCP-1の発現増強をきたし、かつ前立腺癌細胞株LNCap細胞におけるPSAの発現上昇をきたさぬような化合物のスクリーニングを行ない、S42(仮称)という一つの化学物質の同定に成功した。現在、ラットの系で少なくともS42が前立腺重量やPSA mRNA発現に影響を与えず、肛門挙筋重量は増加させるSARM作用があること、またその投与により血中中性

脂肪値が劇的に低下することを観察している。

4. DDSP-TGマウスの解析 : DDSP-TGマウスの常食下での表現型には異常は認めなかった。高脂肪食下でのオスマウスDDSP-TGの体重増加が、13週齢以降において野生型と比較して有意に抑制され、内臓脂肪の減少を認めた。野生型と比較して、食餌量、自発運動量はほぼ同等であったが、体重あたりの酸素消費量は、DDSP-TGの方が高く維持されていた。したがって、少なくとも14週齢以降は、基礎代謝の亢進による体重増加抑制と考えられた。DDSPはDHEAの抗肥満作用機序の一端を説明する可能性がある。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

(1) アンドロゲンの抗メタボリック作用は、現在、世界的にも注目されているが、機序はほとんど解明されていない。今回、「T-AR系によるレプチンシグナルの増強」という新発見を提供し得た。

(2) 現在、世界的にSARMの開発研究が進められているが、いまだ製剤化されたものはない。今回の抗メタボリック作用を有するSARM候補物質の同定は、創薬の観点からもインパクトが大きい。

(3) Tと動脈硬化の関係については世界的にも一定の見解が得られていないが、今回の研究から内因性Tの抗動脈硬化作用機序が明らかとなった。

6. 主な発表論文等

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)

(1) Yanase T, Fan W, Kyoya K, Min L, Takayanagi R, Kato S, **Nawata H**: Androgens and Metabolic Syndrome : Lessons from Androgen Receptor Knock Out (ARKO) Mice J Steroid Biochem Molec Biol 2008 in press

(2) Fan W, Yanase T, Morinaga H, Okabe T, Nomura M, Daitoku H, Fukamizu A, Kato S, Takayanagi R, **Nawata H**: IGF1/insulin signaling activates androgen signaling through direct interactions of Foxo1 with androgen receptor. J Biol Chem 282: 7329-38, 2007

(3) Ashida K, Goto K, Zhao Y, Okabe T, Yanase T, Takayanagi R, Nomura M, **Nawata H**: Dehydroepiandrosterone negatively regulates the p38 mitogen-activated protein kinase pathway by a novel PTPN7 locus-derived transcript. Biochim Biophys Acta 1728(1-2): 84-94, 2005

(4) Fan W, Yanase T, Nomura M, Okabe T, Goto K, Sato T, Kawano H, Kato S, **Nawata H**: Androgen receptor null male mice develop late-onset obesity due to decreased energy expenditure and lipolytic activity but show normal insulin sensitivity with big adiponectin secretion. Diabetes 54: 1000-1008, 2005