

- 25) 小川純人、山田思鶴、浜達哉、神崎恒一、秋下雅弘、大内尉義、鳥羽研二：高齢者のボディコンポジションに対する運動療法の長期効果。日本老年医学会学術集会，札幌，2007.6.20
- 26) 若槻明彦。招請講演／閉経後高脂血症の管理 最近のエビデンスをふまえて。奈良県産婦人科医会 第67回臨床カンファレンス，2007.2.8 奈良
- 27) 若槻明彦。特別講演／閉経後高脂血症と骨粗鬆症の管理。第3回北海道更年期研究会，2007.2.0 札幌
- 28) 若槻明彦。Opening Lecture／脂質代謝に対するホルモン補充療法の功罪。東海性差医療・生活習慣病医学研究会，2007.4.7 名古屋
- 29) 若槻明彦。卒後研修プログラム／WHI報告の問題点とHRTの今後。第59回日本産科婦人科学会，2007.4.14 京都
- 30) 若槻明彦。ランチョンセミナー／閉経後女性に発症する生活習慣病の対策 ー骨粗鬆症と高脂血症の予防、治療についてー 第59回日本産科婦人科学会，2007.4.16 京都
- 31) 若槻明彦。閉経後女性の脂質代謝特性とその管理。第10回神奈川AI研究会，2007.4.21 横浜
- 32) 若槻明彦。特別講演／新ガイドラインから見た閉経後脂質異常症の管理。拡大一士会講演会，2007.5.17 静岡
- 33) 若槻明彦。閉経後ホルモン補充療法と動脈硬化。Vascular Disease Forum，2007.5.25 名古屋
- 34) 若槻明彦。特別講演／一般診療における妊婦・更年期女性の取り扱い。岡崎市医師会学術講演会，2007.7.6 岡崎
- 35) 若槻明彦。新ガイドラインからみた閉経後脂質異常症の管理。7月千種区学術講演会，2007.7.25 名古屋
- 36) 若槻明彦。特別講演／これからのホルモン補充療法のあり方 ー最近の大規模臨床試験の結果を踏まえてー。福島県産婦人科医会県中地区勉強会，2007.9.20 福島
- 37) 若槻明彦。特別講演／これからのホルモン補充療法のあり方 ー最近の大規模臨床試験の結果を踏まえてー。北九州産婦人科講演会 2007.10.16 福岡
- 38) 若槻明彦。医療現場におけるHRTの実際。ウイメンズヘルスケア事業部 MR研修，2007.10.18 大阪
- 39) 若槻明彦。特別講演／閉経後生活習慣病の治療・予防戦略。沼津市医師会学術講演会，2007.10.25 静岡
- 40) 若槻明彦。特別講演／閉経後ホルモン補充療法と心血管のリスク・ベネフィット。道南産科婦人科医会，2007.11.2 北海道
- 41) 若槻明彦。特別講演／これからのホルモン補充療法のあり方 ー最近の大規模臨床試験の結果を踏まえてー。和歌山市 伊那・伊賀郡産婦人科合同研修会，2007.11.10 和歌山
- 42) 若槻明彦。ランチョンセミナー「日本女性のクオリティーエイジング(QA)を考えるー新しい選択肢から見る婦人科ビジネスの展望ー」／日本女性のクオリティーエイジング(QA)とエストロゲン。第22回日本更年期医学会学術集会，2007.11.17 東京
- 43) 若槻明彦。特別講演／これからのホルモン補充療法のあり方 ー最近の大規模臨床試験の結果を踏まえてー。平成19年度第3回滋賀県産婦人科医会学術研修会，2007.12.9 滋賀

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

### 1. 特許取得

国内特許取得及び国際特許出願手続き中

名称「血管老化の予知因子およびその利用」

(近藤)

名称「抗 C-マンノシル化ペプチド抗体及び

その利用」(近藤)

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

研究協力者

東京大学大学院医学系研究科 深井志保

同上 孫 輔卿

同上 喻 静

同上 大谷 真

同上 吉田菜穂子

同上 瀧本禎之

同上 吉内一浩

同上 赤林 朗

同上 小川純人

東京大学医学部附属病院 下澤達雄

老人保健施設まほろばの郷 浜 達哉

杏林大学医学部 鳥羽研二

帝京大学医学部泌尿器科 安田弥子

「アンドロゲン低下と老年病の関連および作用機序に関する研究」

主任研究者 秋下雅弘 東京大学大学院医学系研究科加齢医学 准教授

研究要旨：1) 健常中年男性 33 名の血清ホルモン濃度を 2002 年と 2007 年に測定し比較した。その結果、総テストステロン、DHEA-S、エストラジオールともに有意な変化はみられなかった。2) 生活習慣病を有する中高年男性患者 176 名（平均 48 歳）を対象に、性ホルモン濃度の低下が心血管疾患発症のリスクになるかどうかを検討した。平均 76（中央値 54）か月間追跡を行い、血清総テストステロン低値群（下位 1/3、410ng/dL 未満）は、中一高値群（上位 2/3）に比べて、心血管イベントの発生が有意に多かった（ $p=0.001$  by logrank test）。年齢、高血圧、糖尿病、脂質異常症、喫煙、さらに血流依存性血管拡張能を共変量とした比例ハザード解析では、総テストステロン低値群であることがイベント発生の相対リスクを 2.9 倍に高めることがわかった。3) ヒト培養血管内皮細胞とヒト培養血管平滑筋細胞を用いて、アンドロゲンの抗動脈硬化作用について検討した。テストステロンによる内皮型 NO 合成酵素の活性化には、内皮細胞で豊富に発現するアンドロゲン受容体と PI3K/Akt 経路、ERK 経路の両方が関与することがわかった。テストステロンによる血管平滑筋石灰化の抑制は、アンドロゲン受容体を介した gas6 の発現回復と細胞死の抑制に関連するものであった。

A. 研究目的

高齢男性におけるアンドロゲンの低下は、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、脂質異常症、骨粗鬆症などの生活習慣病、さらに動脈硬化性疾患や認知症の発症にも関連することが指摘されるようになった。しかし、女性の閉経と異なり男性における性ホルモンの経年的低下は徐々に起きることから、アンドロゲン低下とそれに伴う異常をどのように捉えるかについて一定の見解は得られていない。また、主に性腺由来のテストステロンと副腎由来の dehydroepiandrosterone (DHEA) のどちらが重要であるのかも不明である。

実際、明らかな性腺機能低下症を除いて、男性に対するアンドロゲン補充療法は日本ではほとんど行われていない。一方、高齢女性でもアンドロゲンは経年的に低下するが、その意義はよくわかっていない。さらに、閉経後女性に対する女性ホルモン補充療法の有効性は、心筋梗塞・脳卒中の増加、乳癌の増加など有害事象の増加を主な理由に 2002 年に発表された大規模試験 Women's Health Initiative では否定され、新たなホルモン補充療法の可能性が模索されている。

本研究は、1) アンドロゲン低下と老年病との関連を検討するための横断および縦

断臨床研究、2) アンドロゲン補充療法および代替療法の効果について検討する介入研究、3) アンドロゲンの作用機序について検討する基礎研究の3要素から成る。

今年度は、1) 健常中年男性のホルモン濃度が5年間に経年的低下を示すかどうか、2) 中高年男性患者のアンドロゲン低下がその後の心血管疾患発症に関係するかどうか、3) アンドロゲンの抗動脈硬化作用として、内皮型NO合成酵素(eNOS)の活性化と血管平滑筋細胞の石灰化抑制作用の機序について検討した。

## B. 研究方法

1. 健常中年男性のホルモン濃度変化と活力度：某メーカーの都内本社に勤務する35～65歳の男性82名を対象に、空腹時採血により血清ホルモン濃度(総テストステロン、エストラジオール、DHEA-S)を測定し、同時に調べた健診項目および活力度指標との関連を解析した。また、5年前(2002年)にもホルモン濃度測定を行った33名について、ホルモン濃度の経年変化を解析した。

2. 中高年男性患者のアンドロゲン濃度と心血管イベント：30～69歳の男性176名(48±13歳)を対象とした。冠危険因子(高血圧症、糖尿病、脂質異常症、喫煙、肥満)のいずれかを有するが、心血管疾患(冠動脈疾患、脳卒中、大動脈疾患)の既往をもたない安定期の患者であることを組み入れの条件とした。除外基準は、悪性腫瘍、ステロイドホルモン服用、進行期の糖尿病性腎症とした。

採血は早朝空腹時に行い、血清ホルモン濃度(総テストステロン、エストラジオール、DHEA-S、コルチゾール)、血清脂質(総

コレステロール、HDLコレステロール、トリグリセリド)、血糖、ヘモグロビンA1cを測定した。超音波装置を用いた上腕動脈の血流依存性血管拡張反応(FMD)検査は既報(Hashimoto M, et al. *Circulation* 1995)にしたがい早朝空腹時に実施した。

追跡調査では、心血管イベント(脳卒中、心突然死、心筋梗塞、狭心症、冠動脈バイパス術、経皮的冠動脈インターベンション、心不全による入院、末梢血管疾患)の発生の有無について調べた。心血管イベントの発生例では、その時点で追跡打ち切りとした。

2. アンドロゲンの抗動脈硬化作用：培養ヒト大動脈内皮細胞を用い、testosterone刺激(1 mmol/L)により誘導されるeNOS活性化とその作用機序について検討した。eNOSの活性はリン酸化特異的抗体を用いたウエスタンブロット法により解析した。アンドロゲン受容体(AR)阻害は、拮抗薬およびsiRNAにより行った。

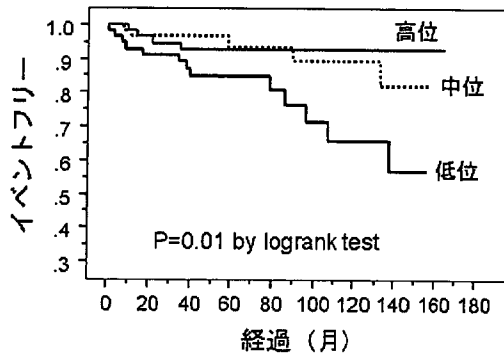
培養ヒト大動脈平滑筋細胞を用い、高リン刺激(2.6 mmol/L)により誘導される石灰化に対するtestosteroneおよびDHEAの影響を検討した。作用機序は、gas6発現、Akt活性、アポトーシス測定などにより検討した。

(倫理面への配慮) 研究は施設の倫理委員会による承認を得て実施し、試験への参加について本人から書面の同意を得て行った。

## C. 研究結果

1. 健常中年男性のホルモン濃度変化と活力度：前回2002年の調査と同様、各ホルモン濃度と活力度指標および健診項目(血圧、脂質、血糖)との間には、有意な関連は見

図1. 総テストステロン濃度別(3分位)にみた心血管イベントの発生



られなかった(データ示さず)。

5年前にも採血を行った33名(年齢は平均49歳→54歳)について、その間に総テストステロン(596±130→596±162 ng/dL, p=0.98)、DHEA-S(212±84→207±80 µg/L, p=0.50)、エストラジオールともに有意な変化を認めなかった。2002年のホルモン値と5年間の活力度指標の変化との間にも有意な関連はなかった。

2. 中高年男性患者のアンドロゲン濃度と心血管イベント: 平均76(中央値54)か月の追跡期間中に、23名に心血管イベントが認められた。その内訳は、脳卒中6例(脳梗塞5例、脳出血1例)、冠動脈イベント9例(急性心筋梗塞3例、バイパス術1例、経皮的インターベンション2例、その他の狭心症3例)、心突然死2例、心不全入院4例、末梢血管疾患2例であった。

総テストステロン、DHEA-S、エストラジオール、コルチゾールの濃度とイベント発生との関連について、各ホルモン濃度で症例を3分位して群間で生存分析を行った。その結果、総テストステロン濃度の低値群は中-上位群に比べてイベント発生が有意に多かった(図1)。DHEA-Sも同様に、3分位の低値群は中-上位群に比べてイベントが

表1. テストステロン濃度、冠危険因子と心血管イベントの発生: 比例ハザードモデル

変数	相対リスク (95%信頼区間)	p値
低テストステロン (<410 ng/dL)	2.77 (1.07-7.18)	0.03
年齢 (≥60歳)	3.28 (1.18-9.10)	0.02
肥満 (BMI≥27)	0.77 (0.29-2.00)	0.59
高血圧	2.80 (0.85-9.85)	0.09
糖尿病	1.72 (0.68-4.39)	0.25
脂質異常症	0.82 (0.29-2.37)	0.72
喫煙	2.47 (0.77-7.93)	0.13
FMD低下 (<3.5%)	4.19 (1.63-10.76)	0.002

Cox比例ハザードモデルによる解析。該当する場合は1、しない場合を0として解析した。BMI: 体格指数、FMD: 血流依存性血管拡張反応

多くみられた(p<0.05 by logrank test)。一方、エストラジオールとコルチゾールはイベント発生と有意に関連していなかった(データ示さず)。

次に、心血管イベントの古典的危険因子で調整する目的で、総テストステロンとDHEA-SについてCox比例ハザード回帰分析を行った。総テストステロン低値(下位1/3)は、年齢、体格指数、収縮期血圧、空腹時血糖、総コレステロール、HDLコレステロール、喫煙、FMDを共変量としても心血管イベント発生に有意に関連していた(中-上位に対する相対リスク3.9、95%信頼区間1.5~10.3、p<0.01)。次に、加齢(60歳以上)、肥満(BMI27以上)、高血圧、糖尿病、脂質異常、喫煙(現在)、FMD低下(3.5%未満)を共変量とした解析でも、総テストステロン低値(下位1/3、410 ng/dL未満)はイベント発生を2.8倍に高めるという結果であった(表1)。

DHEA-Sについては、年齢を共変量にした段階で有意差が消失し、他の危険因子の追加でもイベント発生に有意な関連を示さなかった(データ示さず)。

3. テストステロンの抗動脈硬化作用: 1) eNOS活性化作用; 培養ヒト大動脈内皮細胞に生理的濃度のテストステロンを添加すると、10分以降にeNOSの活性化(リン酸化)がみられた(ピークは30-60分)。この反応にARが関与しているかどうかを検討するた

図2. 血管内皮細胞におけるアンドロゲン受容体 (AR) の発現とeNOS活性化作用

A. ARの発現とsiRNAの効果

AR				
nt siRNA	-	+	-	-
AR-siRNA (nmol/L)	-	-	5	10

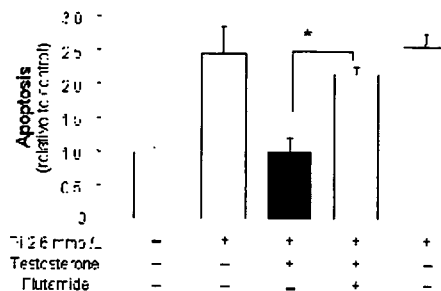
B. AR siRNAによるeNOS活性化の抑制

p-eNOS				
Test	-	+	-	+
	Cont siRNA	AR siRNA		

め、まず内皮細胞におけるARの発現をウエスタンブロットで検討したところ、豊富に発現していることがわかった (図2A)。そこで、AR拮抗薬NilutamideもしくはsiRNA (図2B) を添加した検討を行ったところ、テストステロンによるeNOSのリン酸化はほぼ打ち消された。また、テストステロンによるeNOSのリン酸化は、アロマターゼ阻害薬の影響を受けず、DHTでも同等の反応がみられたことから、テストステロンがエストラジオールに変換された結果ではなく、テストステロンがARに作用することによると考えられた。さらに、転写抑制薬アクチノマイシンD、細胞膜を通過しないBSA-テストステロンを用いた実験により、細胞膜レベルの転写を介さない反応であるらしいと考えられた。

2) 血管石灰化抑制作用 ; 高リン刺激により誘導される培養ヒト大動脈平滑筋細胞の石灰化は、生理的濃度のDHEAおよびテストステロンを添加することで抑制された。両者の作用はAR拮抗薬Flutamideによりほぼ打ち消されることから、ARを介した反応であると考えられた。また、この細胞にはやはりARが豊富に発現していた。ARが石灰

図3. リン刺激による血管平滑筋細胞のアポトーシスとテストステロンおよびアンドロゲン受容体拮抗薬の効果



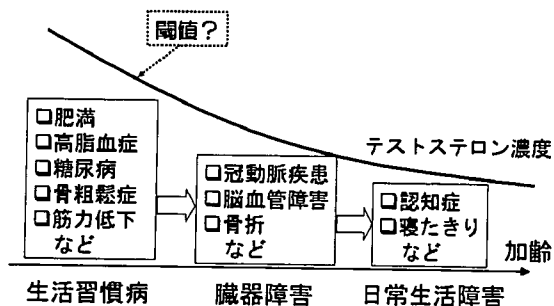
化を調節する機序として、増殖因子gas6およびその受容体Ax1の発現、さらにその細胞内シグナルからアポトーシス制御に至る経路を検討した。その結果、リン刺激によって減少するgas6/Ax1の発現はテストステロンで回復し、Akt活性の回復、アポトーシスの抑制効果も認められた (図3)。また、gas6遺伝子のプロモーター領域にはアンドロゲン応答配列が認められ、実際にこの配列を含むcDNAを用いたルシフェラーゼアッセイでは、テストステロンに転写活性作用がみられた。

D. 考察

中年男性におけるアンドロゲン濃度の低下は、動脈硬化性疾患の発症やその危険因子と関連することがいくつかの疫学研究により明らかにされている。しかし、アンドロゲン濃度には個人差が大きく、研究結果も様々であるため、どのような対象で問題となるのか、またどの程度の低下を異常と捉えるのか結論は出ていない。

今回、冠危険因子を有する平均48歳の中年男性患者を平均6年間追跡調査し、総テストステロン濃度が下位1/3 (410 ng/dL未満) の群は、高い群に比べて心血管イベントの発生が多いことがわかった。DHEA-Sについ

図4.アンドロゲンの経年的低下と老年病



でも、濃度低値はイベント発生と関連していたが、年齢調整するだけで有意な関連は消失したことから、独立した危険因子ではなく加齢指標に位置付けるのが妥当かもしれない。

昨年度までの研究で、中年男性患者のテストステロン低下はメタボリックシンドロームとその構成要素(内臓肥満、血圧高値、脂質異常、糖代謝異常)、血管内皮機能指標のFMDに関連することを示した。そのため、今回の研究では、冠危険因子やFMDを変数に加えた解析を行ったが、基本的な結果は変わらず、テストステロンの低下が心血管イベントの独立した予測因子であることが結論された。したがって、生活習慣病外来や男性更年期外来を訪れる患者では、テストステロンの低下を念頭に置いた検査を行い、もし低下を認める場合にはハイリスクとした管理やアンドロゲン補充療法の適応を考慮することが求められる。

一方、ほぼ同年齢の男性会社員を対象とした調査では、テストステロンを含むアンドロゲン濃度は特に健康状態と関連しているわけでは無かった。このように、同様に50歳前後でありながらアンドロゲン濃度の意義が全く異なる結果になった理由は何だろうか?まず、生活習慣病を保有する者も少数は含まれるが基本的には疾患のない

集団と、冠危険因子を少なくとも一つは有する集団では関連の出やすさが異なる(健康集団における天井効果)ということが考えられる。もう一つは、ホルモンレベルの違いが挙げられる。実際、患者集団の下位1/3のカットオフ値である410 ng/dLは、会社員集団では下位10%に該当する。また、2回ホルモン濃度を測定した会社員33名についてみると、5年間に総テストステロン、DHEA-S、エストラジオールとも有意な低下は示さず、結果には記していないが心血管イベントの発生もなかった。このように、健康中年男性では、全体のアンドロゲンレベルが高く維持され(患者集団の経年変化は不明であるが)、その結果、アンドロゲン濃度と健康指標との関連性がマスクされた可能性がある。昨年度までの研究に示したように、高齢男性でも、虚弱一要介護状態になるほどアンドロゲンと日常生活機能との関連が明確になるという事実からも同様のことが伺われる。これらの概念をまとめると図4のようなモデルになる。つまり、アンドロゲンレベルが低下して病的状態に陥るには一定の閾値のようなものがあり、20歳の男性に比べると低くても、50歳の健康男性ではまだアンドロゲンの不足は明瞭ではない。そして、さらに加齢あるいは疾患が加わってホルモン低下が顕著になるとその影響が表れ、生活習慣病から致命的な疾患や障害、機能低下に至るプロセスに陥るというモデルである。このモデルを証明するには、健康中高年者の追跡研究を含めた縦断的解析とアンドロゲン補充療法の効果を見る研究を総合的に解釈していくことが重要だと思われる。

アンドロゲンの作用に関する基礎研究と

して、今年度は、テストステロンによるeNOS活性化と血管石灰化抑制効果の作用機序を検討した。eNOS活性化は、テストステロン濃度と血管内皮機能との関連という研究者自身の臨床研究を受けたものであるが、エストロゲンに変換されて効果を発揮するのではなく、テストステロン自体がARに作用してeNOSを活性化する機構を解明した点に意義がある。生物学的にも新奇性が高く、細胞膜レベルでの反応についてさらに詳細を明らかにしたい。

血管平滑筋細胞の石灰化モデルを用いた検討では、やはりARを介した石灰化抑制効果とgas6/Axl経路によるアポトーシス制御が明らかになった。特に、gas6遺伝子の転写調節にARが関わるという知見は骨粗鬆症など他の老年疾患とアンドロゲンとの関わりにも応用可能であり、興味深い。

#### E. 結論

1) 健常中年男性のアンドロゲン濃度は5年間では低下しない。2) 心血管病のリスクを有する中年男性患者では、テストステロン濃度の低下が心血管イベントの危険因子である。3) テストステロンはアンドロゲン受容体を介してeNOS活性化と血管石灰化抑制を発揮する。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1.論文発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1) Son BK, Akishita M, Iijima K, Kozaki K, Maemura K, Eto M, Ouchi Y. Adiponectin

Antagonizes Stimulatory Effect of TNF{alpha} on Vascular Smooth Muscle Cell Calcification: Regulation of Gas6-Mediated Survival Pathway by AMP-Activated Protein Kinase.

Endocrinology. 2008 Jan 3 [Epub ahead of print].

2) Ota H, Akishita M, Eto M, Iijima K, Kaneki M, Ouchi Y. Sirt1 modulates premature senescence-like phenotype in human endothelial cells. J Mol Cell Cardiol. 2007;43:571-9.

3) Teramoto S, Yamaguchi Y, Yamamoto H, Hanaoka Y, Ishii M, Hibi S, Kume H, Akishita M, Ouchi Y. Effects of age and sex on plasma adrenomedullin levels in patients with obstructive sleep apnea syndrome. J Am Geriatr Soc. 2007;55:1891-2.

4) Akishita M, Hashimoto M, Ohike Y, Ogawa S, Iijima K, Eto M, Ouchi Y. Association of plasma dehydroepiandrosterone-sulfate levels with endothelial function in postmenopausal women with coronary risk factors. Hypertens Res. in press.

5) Akishita M, Hashimoto M, Ohike Y, Ogawa S, Iijima K, Eto M, Ouchi Y. Low testosterone level is an independent determinant of endothelial dysfunction in men. Hypertens Res. 2007;30:1029-1034

6) Xi H, Akishita M, Nagai K, Yu W, Hasegawa H, Eto M, Kozaki K, Toba K. Potent free radical scavenger, edaravone, suppresses oxidative stress-induced endothelial damage and early



atherosclerosis. Atherosclerosis.  
191:281-289, 2007.

7) Yu J, Eto M, Akishita M, Kaneko A,  
Ouchi Y, Okabe T. Signaling pathway of  
nitric oxide production induced by  
ginsenoside Rb1 in human aortic  
endothelial cells: A possible  
involvement of androgen receptor.  
Biochem Biophys Res Commun.  
2007;353:764-9.

8) Son BK, Kozaki K, Iijima K, Eto M,  
Nakano T, Akishita M, Ouchi Y.  
Gas6/Axl-PI3K/Akt pathway plays a  
central role in the effect of statins on  
inorganic phosphate-induced  
calcification of vascular smooth muscle  
cells. Eur J Pharmacol. 2007;556:1-8.

## 2.学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1) 秋下雅弘 (シンポジウム) : 性ホルモン・閉  
経と動脈硬化. 日本老年医学会学術集会,  
札幌, 2007. 6. 22

2) 秋下雅弘 (シンポジウム) : ホルモンから  
みた血管年齢. 日本抗加齢医学会総会, 京  
都, 2007. 7. 21

3) 秋下雅弘 (シンポジウム) : 循環器領域  
における性差医療. 性ホルモンと動脈硬化.  
日本心臓病学会学術集会, 千葉, 2007. 9. 12

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

なし

## 1.特許取得

なし

## 2.実用新案登録

なし

## 3.その他

研究協力者

東京大学大学院医学系研究科 深井志保

同上 孫 輔卿

同上 喻 静

「閉経後女性うつ病患者における  
血液中アンドロゲン・エストロゲン濃度と骨代謝マーカー」

分担研究者 熊野 宏昭 東京大学大学院医学系研究科ストレス防御・心身医学准教授

研究要旨

【目的】近年、うつ病が骨密度低下につながるとの報告が多数みとめられ、特に骨粗鬆症のリスクの高い中高年女性では、骨粗鬆症がうつ病の予後に大きな影響を及ぼす身体的合併症の一つとして考えられてきている。しかし、これまで、うつ病患者において、各種ホルモン、骨マーカーを同時に検討した研究は存在しない。そこで、本研究では、うつ病治療中の患者における、うつ病に関連する各種心理指標、血液・尿中の各種骨マーカーおよびホルモン等の濃度の関連を横断的に調べることを目的とした。

【方法】閉経後うつ病患者6名、健常者7名を対象に、血清中総Testosterone(T)、Estrone(E1)、Estradiol(E2)、Progesterone、luteinizing hormone(LH)、follicle stimulating hormone(FSH)、Dehydroepiandrosterone sulfate(DHEA-S)、Prolactin(PRL)、カルシウム、リン、intact parathyroid hormone(intact PTH)、25-hydroxy vitamin D(25-OHD)、1,25-dihydroxy vitamin D(1,25-(OH)<sub>2</sub>D)、Growth hormone(GH)、insulin-like growth factor I(IGF-I)、血漿中Osteocalcin、尿中I型コラーゲン架橋N-テロペプチド(NTx)の測定を行い、Beck depression inventory(BDI)に回答してもらった。マンホイットニーのU検定で2群間の比較を行ったうえで、患者群+健常者群に対して、BDI得点とE1、TのPearson相関係数、および、E1、TとOsteocalcinのPearson相関係数を算出した。

【結果】LH、FSH、E2、progesterone、DHEA-S、PRL、カルシウム、リン、intact PTH、25-OHD、1,25-(OH)<sub>2</sub>D、GH、IGF-1、尿中NTxは、2群間で有意差を認めなかったものの、閉経後うつ病女性患者では、健常者群と比較して、E1(p=0.014)、osteocalcin(p=0.014)は有意に低く、T(p=0.035)は有意に高かった。BDI得点とE1は、有意に負に相関し(r=-0.608, p=0.028)、BDI得点とTは、有意ではないが、正の相関傾向を示した(r=0.503, p=0.08)。E1とosteocalcinは、有意に正に相関した(r=0.605, p=0.028)が、Tとosteocalcinは、有意な相関は認められなかった(r=-0.406, p=0.169)。

【考察】閉経後女性では、抑うつ症状の増強に伴い、血清中のE1濃度が低下し、T濃度は上昇傾向を示すが、血漿中Osteocalcin濃度の低下は、Tの上昇にではなく、E1の低下に伴うものと考えられた。閉経後うつ病女性の骨代謝の変化には、血清中のE1濃度の低下が関連している可能性が示唆された。

## A. 研究目的

近年、うつ病が骨密度低下につながるとの報告(1-4)が多数みとめられ、特に骨粗鬆症のリスクの高い中高年女性では、骨粗鬆症がうつ病の予後に大きな影響を及ぼす身体的合併症の一つとして考えられてきている。

しかし、これまでのところ、閉経後女性うつ病患者において、Testosterone、Dehydroepiandrosterone、Estrone などを含めた各種ホルモン、骨マーカーを同時に検討した研究は存在しない。そこで、本研究では、うつ病治療中の患者における、うつ病に関連する各種心理指標、血液・尿中の各種骨マーカーおよびホルモン等の濃度の関連を横断的に調べることを目的とした。

## B. 研究方法

当院心療内科の外来に通院中の再診患者のうち、閉経後の女性うつ病患者6名(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-IV [DSM-IV] 上、大うつ病性障害、双極Ⅱ型障害 もっとも新しいエピソードがうつ病の診断基準を満たす患者。もしくは、当科の治療により、大うつ病性障害、双極Ⅱ型障害 もっとも新しいエピソードがうつ病が軽快した患者のうちで治療継続中の患者。)を対象とした。ただし、骨代謝に影響を及ぼす可能性のある身体疾患(クッシング病、副甲状腺機能亢進症など)のある患者、および、骨代謝に影響を及ぼす可能性のある薬(副腎皮質ステロイド、エストロゲン、テストステロン、経口

避妊薬、カルシトニン製剤、ビスフォスフォネート製剤、ビタミンD製剤、カルシウム製剤、ビタミンK2等)を定期的に投与されている患者は除外した。他の精神疾患の合併は問わなかった。それに併せて、年齢をマッチさせた閉経後健常者女性7名を対照群とした。

対象患者には、前日の夕食後から絶食、早朝2番尿を採取の上、午前9時に外来に来院してもらい、午前10時までに静脈血採血を行い、血清中総 Testosterone (T)、Estrone (E1)、Estradiol (E2)、Progesterone、luteinizing hormone (LH)、follicle stimulating hormone (FSH)、Dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S)、Prolactin (PRL)、カルシウム、リン、intact parathyroid hormone (intact PTH)、25-hydroxy vitamin D (25-OHD)、1,25-dihydroxy vitamin D (1,25-(OH)<sub>2</sub>D)、Growth hormone (GH)、insulin-like growth factor I (IGF-I)、血漿中 Osteocalcin、尿中 I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (NTx) の測定を行った。(尚、すべての血液および尿の濃度測定は、三菱化学メディエンスに委託した。)

静脈血採血および唾液採取後に、うつ病に関する質問紙 (Beck depression inventory (BDI)) に回答してもらった。

その後、MINI (Mini-International Neuropsychiatric Interview Major Depression Episode) にて大うつ病エピソード、軽躁エピソードについて、問診を行った。

群間比較については、マンホイットニーのU検定(両側検定)を行った。さらに、患者群、健常者群を合わせて、BDI 得点と E1, T の Pearson 相関係数、および、E1, T と Osteocalcin の Pearson 相関係数を求めた。すべての検定において、有意水準は  $p=0.05$  とした。すべてのデータは、中央値および最大値、最小値で示した。

#### (倫理面への配慮)

本研究は、東京大学医学部附属病院の倫理委員会の承認を受けている。

本研究では、研究対象者に対する人権擁護上の配慮、不利益と危険性の排除を徹底して行い、研究内容について書面による同意が得られた者のみを対象とした。さらにいつでも研究参加を中止できることも強調した。

プライバシーの確保に関しては、データの収集・保管は当科研究にかかわる医師が厳格に行う。保管されるデータ及び余った試料は研究期間終了後に全て破棄される。対象者および外来主治医に対してはデータの開示および説明を行うが、対象者の個人情報、本研究結果の報告の際には公表しない。

#### C. 研究結果

患者群の研究参加時の診断名は、大うつ病性障害 5 名 (中等症 1 名、部分寛解 4 名)、双極 II 型障害 最も新しいエピソードが大うつ病 1 名 (部分寛解 1 名) であった。

#### 1. 群間比較

結果は、Table 1 に示した通りである。

#### 2. BDI得点と E1, T の関係

BDI 得点と E1 は、有意に負に相関した ( $r=-0.608$ ,  $p=0.028$ ; Fig 1 参照)。

BDI 得点と T は、有意ではなかったが、正の相関傾向を示した。 ( $r=0.503$ ,  $p=0.080$ ; Fig 2 参照)。

#### 3. E1, T と osteocalcin の関係

E1 と osteocalcin は、有意に正に相関した ( $r=0.605$ ,  $p=0.028$ ; Fig 3 参照)。

T と osteocalcin は、有意な相関は認められなかった ( $r=-0.406$ ,  $p=0.169$ ; Fig 4 参照)。

#### D. 考察

本研究では、閉経後うつ病女性において、血液中 E1 濃度が有意に低下し、血液中 T 濃度が有意に上昇することを示された。さらに、BDI 得点と E1 は、有意な負の相関を認め、BDI 得点と T は、有意ではないが、正の相関傾向が認められた。これらの結果、閉経後女性では、抑うつ症状が強くなるにしたがって、血清中の E1 濃度が低下し、T 濃度が上昇する傾向にあることが示された。

先行研究では、70 歳以上の閉経後女性で E1 と E2 が抑うつ症状と不安に負に関連しているとの報告 (5)、さらには、大うつ病性障害の女性で T が上昇しているとの報告 (6) もあり、これらの結果を支持するものであると考えられる。

一方、本研究では、骨吸収マーカーである尿中NTxは2群間で差が認められず、骨形成マーカーであるOsteocalcinは、閉経後うつ病女性で有意に低下していた。また、E1とOsteocalcinは有意な正の相関を認め、TとOsteocalcinには有意な相関は認められなかった。これらのことから、患者群では、Tの上昇ではなく、E1の低下が、Osteocalcin低下と関連しているものと考えられた。

Riggsらによって提唱された一元論的モデルでは、退行期骨粗鬆症にはすべてエストロゲン作用の低下が関与していると考えられており、エストロゲン欠乏が骨形成低下につながるとしている(7)。本研究で、E1の低下した患者群で、骨形成マーカーが低下していることから、この一元論的モデルと矛盾しない。

一方で、閉経後女性ではアンドロゲン投与がむしろ骨形成を亢進させるとの報告もあり(8)、本研究における、Tの上昇ではなく、E1の低下が、患者群のOsteocalcinの低下に関連しているとの結果を支持するものであると考えられた。

以上をまとめて考えると、閉経後女性では、抑うつ症状の増強に伴い、血清中のE1濃度が低下し、E1の低下に伴って、血漿中のOsteocalcin濃度が低下するものと考えられた。

閉経後うつ病女性患者の骨代謝の変化には、血清中のE1濃度の低下が関連している可能性がある。

## E. 結論

閉経後うつ病女性では、血清中のE1濃度が低下し、T濃度が上昇する。それに加えて骨形成マーカーのOsteocalcinも低下するが、これは、血清中のT濃度の上昇ではなく、E1濃度の低下に関連するものと考えられた。

## F. 健康危険情報

該当するものなし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 熊野宏昭：精神神経症状から見たPADAM. 泌尿器科外科 19(11):1289-1294, 2006
- 2) 熊野宏昭：うつ病の診断と治療. 日本泌尿器科学/日本Men's Health学会「LOH症候群診療ガイドライン」検討ワーキング委員会(編)：加齢男性性機能低下症候群診療の手引き—LOH症候群. じほう社, 63-66, 2007
- 3) 熊野宏昭：心療内科医の視点から. 奥山明彦(編)：男性更年期障害—LOH症候群. 南山堂, 24-32, 2007

### 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

### 1. 特許取得

該当するものなし

### 2. 実用新案登録

該当するものなし

### 3. その他

該当するものなし

#### 研究協力者

東京大学大学院医学系研究科

ストレス防御・心身医学

大谷真

同上

吉田菜穂子

同上

瀧本禎之

同上

吉内一浩

同上

赤林朗

東京大学医学部附属病院検査部 下澤達雄

#### I. 参考文献

- 1) Michelson D, et al. Bone mineral density in women with depression. N Engl J Med 1996; 335: 1176-1181
- 2) Robbins J, et al. The association of bone mineral density and depression in an older population. J Am Geriatr Soc 2001; 49: 732-736
- 3) Yazici KM, et al. Bone mineral density in premenopausal women with major depressive disorder. Psychiatric Research 2003; 117: 271-275
- 4) Jacka FN, et al. Depression and bone mineral density in a community sample of perimenopausal women: Geelong Osteoporosis Study. Menopause 2005; 12: 88-91
- 5) Almeida OP, et al. Association between physiological serum concentration of estrogen and mental health of community-dwelling postmenopausal women

age 70 years and over. Am J Geriatr Psychiatry 2005; 13: 142-149

6) Weber Bettina, et al. Testosterone, androstenedione and dihydrotestosterone concentrations are elevated in female patients with major depression.

Psychoneuroendocrinology 2000; 25: 765-771

7) Riggs BL, et al. A unitary model for involutional osteoporosis: Estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men. J Bone Miner Res 1998; 13: 763-773

8) Raisz LG, et al. Comparison of the effects of estrogen alone plus androgen on biochemical markers of bone formation and resorption in postmenopausal women. J Clin Endocrinol Metab 1995; 81: 37-43

**Table 1: Clinical profile and biochemical data in depressive women and healthy controls**

	Depressive women (n=6)	Contorols (n=7)	P
Age (years)	60 (50-72)	53 (46-68)	NS
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	22.0 (14.7-27.1)	21.2 (17.9-24.2)	NS
BDI score	17 (7-19)	1 (0-14)	0.002
LH (mIU/ml)	19.28 (5.31-40.60)	24.65 (10.76-31.82)	NS
FSH (mIU/ml)	59.51 (34.03-153.65)	61.7 (44.52-102.67)	NS
Testosterone (ng/ml)	0.16 (0.09-0.42)	0.07 (0.05-0.15)	0.035
Estradiol (pg/ml)	ND (ND-17)	ND (ND-ND)	NS
Estrone (pg/ml)	52.2 (31.6-82.1)	89.0 (60.1-103.0)	0.014
Progesterone (ng/ml)	0.3 (ND-0.7)	0.4 (0.3-0.8)	NS
DHEA-S (ng/ml)	71 (22-121)	87 (43-209)	NS
Prolactin (ng/ml)	6.68 (2.27-9.92)	7.36 (5.07-14.68)	NS
Growth hormone (ng/ml)	0.71 (0.17-2.03)	1.39 (0.25-5.32)	NS
IGF-1 (ng/ml)	188 (98-262)	172 (116-291)	NS
intact PTH (pg/ml)	60 (31-102)	41 (22-53)	NS
Ca (mg/dl)	9.6 (9.3-10.0)	9.6 (9.4-10.6)	NS
P (mg/dl)	3.8 (3.3-4.4)	3.8 (3.4-4.6)	NS
25-OHD (ng/ml)	17.4 (10.9-27.5)	23.4 (14.1-34.3)	NS
1,25-(OH) <sub>2</sub> D (pg/ml)	41 (25-68)	49 (34-84)	NS
Osteocalcin (ng/ml)	5.3 (3.0-7.6)	8.9 (6.7-11.4)	0.014
urine NTx (nmol BCE/mmol Cr)	58.1 (41.3-253.0)	70.2 (49.8-134.0)	NS

All values are described as median (minimum-maximum). NS, not significant. ND, not detected.

P values in the rightmost column were calculated using a two-tailed Mann-Whitney U-test, and values of p<0.05 were considered statistically significant.

Fig 1. BDI得点とEstroneの関係

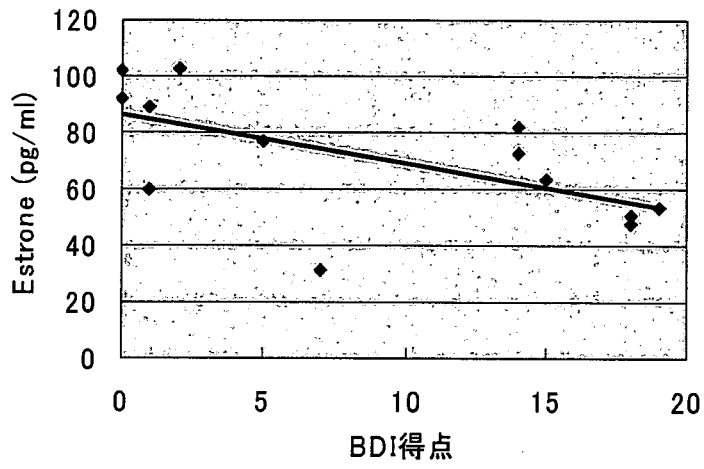


Fig 2. BDI得点とTestosteroneの関係

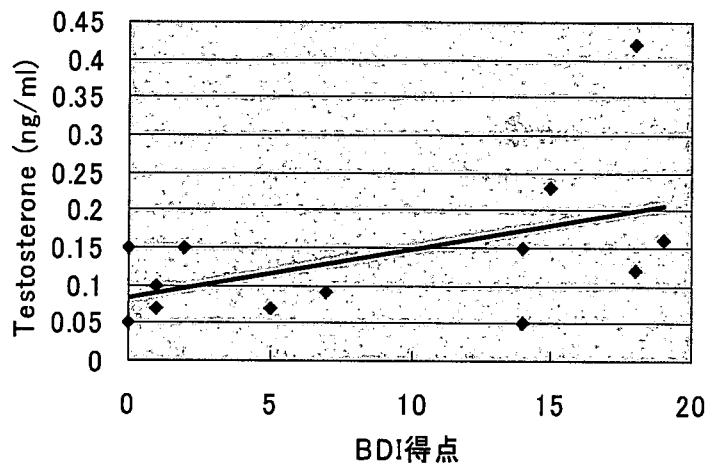




Fig 3. EstroneとOsteocalcinの関係

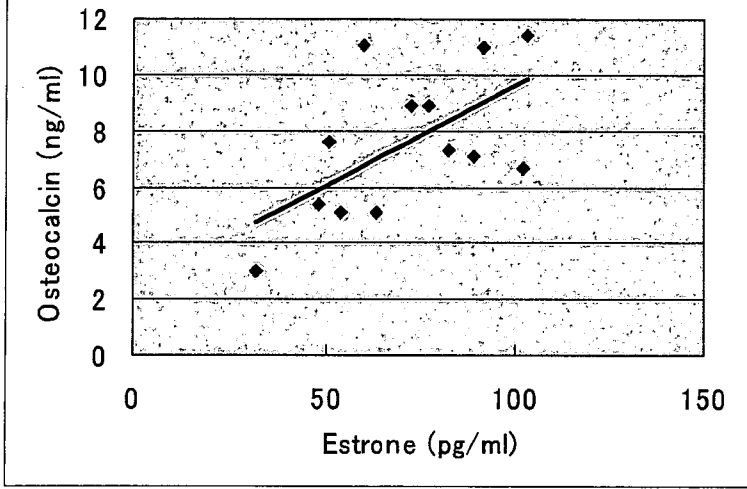
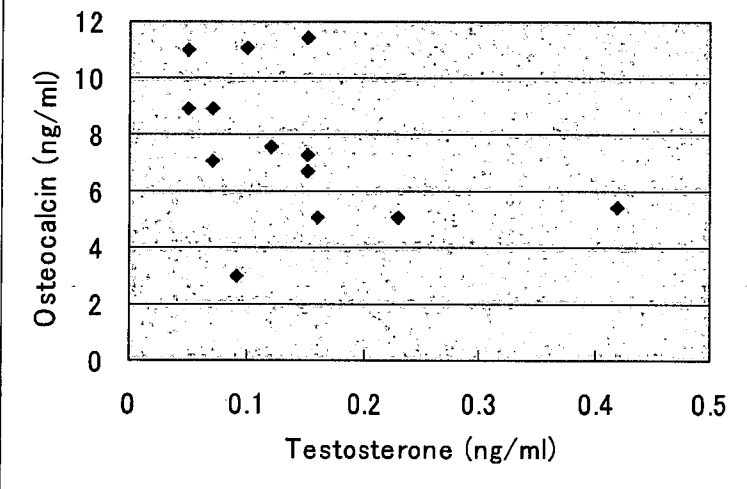


Fig 4. TestosteroneとOsteocalcinの関係



厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

「高齢者の精神身体的機能と男性ホルモンとの関係」

分担研究者 神崎 恒一 杏林大学医学部高齢医学 准教授

研究要旨：加齢に伴う男性ホルモンの低下は、男性更年期や虚弱、認知機能障害など心身機能の低下と関連することが指摘されている。我々は杏林大学病院もの忘れセンターに通院している高齢男性患者 147 名（平均年齢  $76.9 \pm 8.0$  歳）を対象に日常生活機能と遊離テストステロンとの関係を検討した。横断解析の結果、加齢に伴い血中 FT の減少を確認した。全体を FT 低値群（LFT 群）と FT 高値群（HFT 群、カットオフ値  $8.5 \text{ pg/ml}$ ）の 2 群に分け、各機能評価項目について群間比較した結果、初診時の横断解析では 2 群間で MMSE、IADL に有意なスコアの差を認め（いずれも HFT 群で高値）。続いて、LFT 群と HFT 群における各機能評価項目の経年変化量の違いを検討した結果、MMSE において、1 年後の時点では両群間に変化量の差は認められなかったが、2 年後、3 年後には LFT 群で点数の低下が認められる一方、HFT 群では点数の低下が認められないことが確認された。以上、FT は加齢とともに低下し、認知機能低下のある高齢男性において FT の低値は長期的に ADL や認知機能の低下をもたらすと考えられる。

#### A. 研究目的

加齢に伴う男性ホルモンの低下は、うつ症状などの男性更年期障害や肥満、高脂血症などの生活習慣病、さらに動脈硬化性疾患や認知症など多くの老年期疾患と関連することが指摘されている。

昨年度、杏林大学医学部高齢医学もの忘れセンター通院中の男性患者において、横断的解析の結果、血中遊離テストステロン（FT）の低下は、認知機能、ADL、意欲の低下と関連するが、FT は BADL、IADL、HDS-R、MMSE、Vitality index の 1 年間の経年変化との間には関連を認めないことから、FT の喪失効果は長年にわたるものである可能性があることを考察した。

本年度は、同じく総合的機能と血中 FT 濃度との関係について、2 年目以降縦断的調

査を追跡した。

#### B. 研究方法

対象は杏林大学病院もの忘れセンターに通院している MMSE15 点以上の男性患者 147 名（平均年齢  $76.9 \pm 8.0$  歳）。総合的機能評価として BADL、IADL、MMSE、GDS15、Vitality index を初診時以後経年的に評価し、初診時の血中遊離テストステロン（FT）との関係を統計的に解析した。2 群間の比較は t 検定、年齢、各群と総合的機能評価項目の関係は重回帰分析によって検討した。（倫理面への配慮）

本研究は、杏林大学医学部医の倫理委員会の承認のもと、実施している。

#### C. 研究結果

横断解析の結果、加齢に伴い血中 FT の減少を確認した（ $< 0.6 \sim 15.7 \text{ pg/ml}$ 、平均  $8.0$

±3.2pg/ml,  $r=-0.36$ ,  $p<0.01$ )。全体を FT 低値群 (LFT 群) と FT 高値群 (HFT 群, カットオフ値 8.5pg/ml) の 2 群に分け、各機能評価項目について群間比較した (t 検定) 結果、初診時の横断解析では 2 群間で MMSE (LFT 群 : 22.4±3.8 pts vs. HFT 群 23.8±3.7 pts,  $p<0.05$ ) , IADL (LFT 群 : 3.5±1.2 pts vs. HFT 群 4.1±1.3 pts,  $p<0.01$ ) に有意なスコアの差を認めた。続いて、同じく LFT 群と HFT 群における各機能評価項目の経年変化量の違いを検討した結果、MMSE において、1 年後の時点では両群間に変化量の差は認められなかったが (LFT 群 : +0.33±3.6 pts vs. HFT 群-0.07±2.9 pts)、2 年後 (LFT 群 : -2.6±4.9 pts vs. HFT 群 0.0±3.3 pts,  $p<0.05$ )、3 年後 (LFT 群 : -4.4±5.7 pts vs. HFT 群+0.2±2.3 pts,  $p<0.05$ ) の時点で LFT 群で点数の低下が認められる一方、HFT 群では点数の低下が認められなかった。一方、IADL においては LFT 群、HFT 群間に経年変化量の違いは認められなかった。

#### D. 考察

加齢に伴う男性ホルモンの低下は、男性更年期障害や生活習慣病、動脈硬化性疾患、認知症など、高齢者の機能低下に結びつく可能性が指摘されている。昨年の報告で、横断的解析では、血中遊離テストステロン (FT) の低下は、認知機能、ADL、意欲の低下と関連するものの、FT は BADL、IADL、HDS-R、MMSE、Vitality index の 1 年間の経年変化とは関連を認めないことから、FT の喪失効果は長年にわたるものによる可能性を考察した。本年度は、同じく総合的機能と血中 FT 濃度との関係について、2 年目以降縦断データを追加し再度解析した。全

体を FT 低値群 (LFT 群) と FT 高値群 (HFT 群, カットオフ値 8.5pg/ml) の 2 群に分け群間比較したところ、横断的解析では、2 群間で MMSE、IADL に有意なスコアの差を認め、HFT 群の方が各機能が勝っていた。次に、MMSE と IADL の経年変化量を LFT 群と HFT 群の間で比較したところ、MMSE では 1 年後の時点では両群間に変化量の差は認められなかったが、2 年後、3 年後の時点で LFT 群で点数の低下が認められる一方、HFT 群では点数の低下が認められなかった。なお、この関係は MMSE の変化量と FT との間の相関関係 (2 年後  $r=0.37$ 、3 年後  $r=0.54$ ) でも確認することができた。

以上の結果より、血中遊離テストステロンの低下は認知機能の低下と関連し、これは 1 年程度の短期的な影響によるのではなく、2 年以上の長期的な影響によるものと考えられる。

#### E. 結論

FT は加齢とともに低下し、認知機能低下のある高齢男性において FT の低値は長期的に ADL や認知機能の低下をもたらすと考えられる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Xi H, Akishita M, Nagai K, Yu W, Hasegawa H, Eto M, Kozaki K, Toba K. Potent free radical scavenger, edaravone, suppresses oxidative stress-induced endothelial damage and early atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2007;191:281-9.
2. Son BK, Kozaki K, Iijima K, Eto M,

Nakano T, Akishita M, Ouchi Y. Gas6/Axl-PI3K/Akt pathway plays a central role in the effect of statins on inorganic phosphate-induced calcification of vascular smooth muscle cells. Eur J Pharmacol. 2007;556:1-8.

3. Son BK, Akishita M, Iijima K, Kozaki K, Maemura K, Eto M, Ouchi Y. Adiponectin Antagonizes Stimulatory Effect of TNF{alpha} on Vascular Smooth Muscle Cell Calcification: Regulation of Gas6-Mediated Survival Pathway by AMP-Activated Protein Kinase. Endocrinology 2008; In press.

4. Sonohara K, Kozaki K, Akishita M, Nagai K, Hasegawa H, Kuzuya M, Yokote M, Toba K. White matter lesions as a feature of cognitive impairment, low vitality, and other symptoms of the geriatric syndrome in the elderly. Geriatr Gerontol Int. 2008; In press.

5. 平山俊一、菊地令子、井上慎一郎、塚原大輔、末光有美、小林義雄、杉山陽一、長谷川浩、神崎恒一、井上剛輔、鳥羽研二. 超高齢者におけるクレアチニククリアランス推定式の比較検討. 日老医誌. 2007;44:91-3.

6. 神崎恒一、村田久、菊地令子、杉山陽一、長谷川浩、井形昭弘、鳥羽研二. 活力度指標の信頼性、妥当性および、活力度指標と加齢、運動との関連性に関する検討. 日老医誌. 2008; In press

## 2. 学会発表

1. 小川純人, 山田思鶴, 浜達哉, 神崎恒一, 秋下雅弘, 大内尉義, 鳥羽研二. 高齢者のボディコンポジションに対する運動療法の長期効果. 第49回日本老年医学会 2007年6月 札幌

2. 中居龍平, 浜達哉, 山田思鶴, 菊地令子, 小林義雄, 田中克明, 神崎恒一, 鳥羽研二. 「ものわすれ外来」における認知症と重心

動揺検査での視覚補正機能の関係. 第49回日本老年医学会 2007年6月 札幌

3. 山田如子, 木村紗矢香, 小林義雄, 田中克明, 園原和樹, 中居龍平, 神崎恒一, 鳥羽研二. 認知症例の高齢者総合機能評価を用いた縦断解析による「もの忘れセンター」の効果との課題. 第49回日本老年医学会 2007年6月 札幌

4. 菊地令子, 小林義雄, 田中克明, 園原和樹, 山田如子, 木村紗矢香, 長谷川浩, 神崎恒一, 鳥羽研二. 認知症における転倒関連検査の意義. 第49回日本老年医学会 2007年6月 札幌

5. 神崎恒一, 鳥羽研二, 小川純人, 秋下雅弘, 大内尉義, 浜達哉, 山田思鶴. 地域在住高齢者における運動の効果. 第49回日本老年医学会 2007年6月 札幌

6. 山口潔, 秋下雅弘, 山田思鶴, 西谷弘美, 梅田祐美, 神崎恒一, 鳥羽研二, 大内尉義. 地域在宅高齢者における食生活習慣の性差. 第49回日本老年医学会 2007年6月 札幌

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし