

分担研究者 近藤宇史 長崎大学医歯薬総合大学院分子情報制御 教授

研究要旨：本年度は、男性ホルモンの前駆物質 DHEA が動脈硬化症の進展を防御することを発見するとともに、その分子生物学的機構を初めて明らかにし。まず、血小板由来増殖因子(PDGF-BB)はその受容体(PDGFR β)を介して血管平滑筋の増殖や形質転換を引き起こし、動脈硬化症の進展に重要な働きをするが、DHEA は PDGF-BB の働きを阻止して動脈硬化の進展を抑制した。つぎに、その機序にグルタチオン/グルタレドキシンによるレドックスシステムの活性化が関与していた。

A. 研究目的

男性ホルモンが動脈硬化症にどのように働くのかはまだ明らかでない。そこで血管平滑筋細胞に細胞増殖と形質転換を起こして動脈硬化進展に働くことが知られている血小板由来増殖因子(PDGF-BB)とその受容体 (PDGFR- β)を介した細胞内シグナルを、男性ホルモン前駆体 dehydroepiandrosterone(DHEA)が抑制するかどうかを検討した。つぎに、DHEA が細胞機能や構造の維持に重要な酸化還元(レドックス)システムを上昇させることを、すでに我々は明らかにしているが、DHEA のレドックス作用と抗動脈硬化作用との関連を詳細に検討することを目的とした。

B. 研究方法

1. ラット血管平滑筋細胞 A7r5 を用い、PDGF-BB による細胞増殖作用に対する DHEA 前投与の効果を検討した。細胞増殖は MTT アッセイ法で測定した。
2. 血管平滑筋細胞の形質転換を測定するために、SM α 22 と SM α -actin の遺伝子発現を quantitative RT-PCR 法を用いた。

3. DHEA 投与がレドックスに及ぼす影響を見る目的で細胞質型グルタレドキシン (GRX) 1 とグルタチオン合成酵素 γ -glutamylcysteine synthetase (γ -GCS)の遺伝子発現を夫々 RT-PCR 法で測定した。さらに GRX 1 の siRNA を作成して細胞内に導入して検討した。

4. PDGF-BB を投与して、PDGFR β を介した細胞増殖シグナルに及ぼす DHEA の影響を検討した。

C. 研究結果

1. 図 1 に示すように、ラット血管平滑筋細胞 A7r5 に PDGF-BB を投与すると、細胞増殖を引き起こした。その 18 時間前に 100nM DHEA で処理をしておくこと、PDGF-BB による細胞増殖は抑制された。この DHEA による PDGF-BB 作用の抑制は濃度依存性であった。

2. 次に、DHEA の働きを PDGF-BB で誘導される血管平滑筋細胞の形質転換について検討した。図 2 に示すように、PDGF-BB は平滑筋細胞特有に発現している SM α 22 と SM α -actin の遺伝子発現を低下させて形質転換を引き起こした。その作

用を DHEA は阻害し、形質転換を抑制した。これらの結果から、この DHEA は、動脈硬化など血管老化の起因となると考えられている PDGF-BB の働きを阻止することが示された。

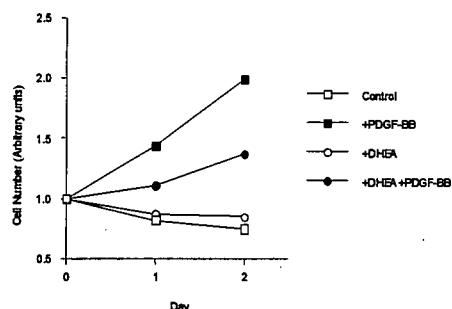


図 1. DHEA は PDGF 依存性の細胞増殖を抑制する。A7r5 細胞を 100 nM DHEA で 18 時間処理し、2 nM PDGF-BB による細胞増殖に及ぼす影響を crystal violet 染色で測定した。

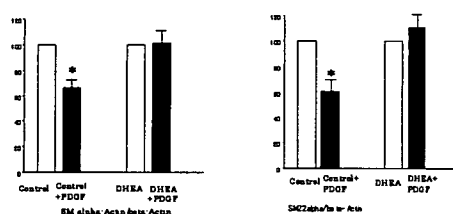


図 2. DHEA は血管平滑筋細胞特異遺伝子発現を制御する。血管平滑筋細胞特異遺伝子 SM22 α と SM α -actin 発現を RT-PCR で測定した。*, $p > 0.05$ vs. control.

3. PDGF 受容体(PDGFR β) チロシンのリン酸化は PDGF-BB 投与で増加した。このリン酸化は DHEA 前投与で低下した(図 3)。このことは、DHEA が PDGF-BB の

働きをその受容体のリン酸化のレベルで制御することを示している。

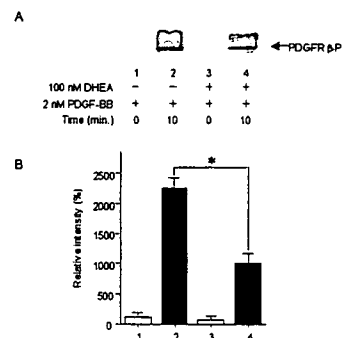


図 3. DHEA は PDGF 受容体のリン酸化を低下させる。PDGF-BB 依存性の PDGF 受容体チロシンリン酸化を特異抗体を用いて測定した。B は A の結果をグラフで示したものである。*, $p > 0.05$ vs. control.

4. DHEA は A7r5 細胞の GRX1 と γ -GCS の遺伝子発現を上昇させた(図 4 A)。 γ -GCS 上昇によって GSH 量も増加した(図 4 B)。既に申請者は PDGF 受容体由来のシグナルがレドックで負の制御を受けていることを明らかにしている(J.Biol.Chem.,2006)。そこで、GRX1 の siRNA を用いて GRX1 発現を低下させると、DHEA による PDGFR β のリン酸化抑制は回復した(図 5)。このことから、PDGFb のリン酸化は GRX1/GSH システムによって負の制御を受けていることが示唆された。

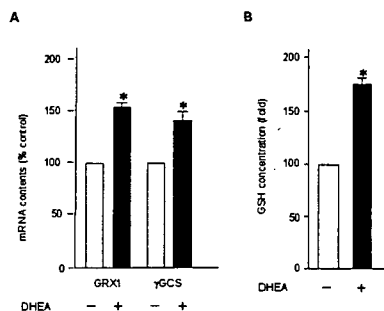


図4. DHEA は GRX1/GSH のレドックスを上昇させる。(A), GRX1 と γ -GCS の mRNA を Northern blot で測定した。(B), 細胞内 GSH の濃度を kit を用いて測定した。*, $p > 0.05$ vs. control.

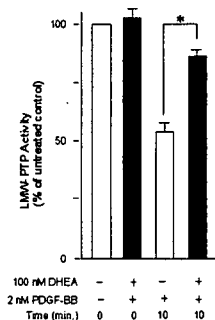


図6. DHEA は LMW-PTP 活性を活性化させる。low molecular weight-protein tyrosine kinase(LMW-PRP)を抗体で分画した後、DHEA による活性の変化を測定した。*, $p > 0.05$ vs. control..

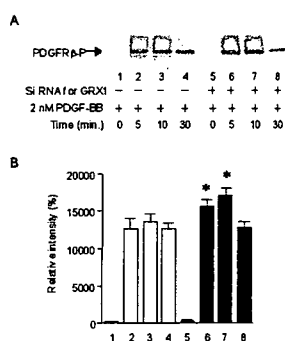


図5. GRX1 遺伝子発現を抑制すると、PDGF 受容体シグナルは回復する。GRX1 の siRNA を細胞に導入後、PDGF-BB を添加して PDGFR β リン酸化を抗体を用いて測定した。BはAの結果をグラフで示したものである。*, $p > 0.05$ vs. control.

5. DHEA の働きをさらに詳細に検討したところ、PDGFR β に特異的に働く脱リン酸化酵素の活性を DHEA は活性化に働くことを見出した(図6)。即ち、DHEA によって誘導された GRX1/GSH システムによってこの脱リン酸化酵素が活性化を受けることを明らかにした。

D. 考察

本年度は、男性ホルモン前駆体 DHEA が血管老化惹起増殖因子 PDGF の作用をその受容体のレベルで抑制することを初めて明らかにした。性ホルモンがどのような作用を有するのか多くの報告があるが、血管の老化に対してどのように働くのかは全く不明であった。今回の研究によって、DHEA が、血管平滑筋細胞の増殖と形質転換に重要な働きを示す PDGF-BB の働きを阻止し、その機序には GSH/GRX1 による PDGF 受容体の負のレドックス制御が関与していることを明らかにした。老化とともに血液中

の DHEA 濃度が低下することと、DHEA による抗動脈硬化作用との関連について新しい視点を提供することが出来たのは臨床で極めて価値のある研究であると思われる。抗老化の予防と治療の面からも発展が期待される。

E. 結論

細胞の機能、特にタンパク質の合成や成熟、酵素受容体、転写因子など重要な働きを制御するレドックスシステムの低下が血管老化に関与することが示された。男性ホルモンは、レドックス作用を介して血管平滑筋細胞の増殖や形質転換をもたらす細胞内シグナル伝達を抑えることで抗動脈硬化に働くことを初めて解明した。

F. 健康危険情報

今回の研究結果から、男性ホルモンの変動が血管老化に関連することが示唆された。今後血清中の男性ホルモン濃度を測定し、血管老化の危険因子となるかどうかについて幅広い検討が必要か大であると考えられる。

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) Ihara, Y., Urata, Y., Goto, S., Kondo T., Role of calreticulin in the sensitivity of myocardial H9c2 cells to oxidative stress caused by hydrogen peroxide. Am J Physiol Cell Physiol 290: C208-C221, 2006.
- 2) Nagai T, Kikuchi S, Ohmine K, Miyoshi T, Nakamura M, Kondo T., Furuyama K, Komatsu N, Ozawa K. Hemin reduces cellular sensitivity to

imatinib and anthracyclins via Nrf2. J Cellular Biochem., 2008 in press

- 3) Nonaka K, Kume N, Urata Y, Seto S, Kohno T, Honda S, Ikeda S, Muroya T, Ikeda Y, Ihara Y, Kita T, Kondo T. Serum levels of S-glutathionylated proteins as a risk marker for arteriosclerosis obliterans. Circ J. 71(1):100-5, 2007

- 4) Yoshioka S, Mukae H, Ishii H, Kakugawa T, Ishimoto H, Sakamoto N, Fujii T, Urata Y, Kondo T. Kubota H, Nagata K, Kohno S: Alpha-defensin enhances expression of HSP47 and collagen-1 in human lung fibroblasts. Life Sci. 24:80(20):1839-45, 2007

- 5) Muroi E, Manabe S, Ikezaki M, Urata Y, Sato S, Kondo T. Ito Y, Ihara Y: C-Mannosylated peptides derived from the thrombospondin type 1 repeat enhance lipopolysaccharide-induced signaling in macrophage-like RAW264.7 cells. Glycobiology. 17(9):1015-28, 2007.

- 6) 近藤宇史: 活性酸素と老化. 日本整形外科学会雑誌 (J.Jpn.Orthop. Assoc.) 81: 867-871, 2007

- 7) 近藤宇史, 井原義人, 浦田芳重, 後藤信治, 村田寛明, 安岡千枝, 奥永知宏, 神田宗武, 室井栄治, 林田 靖, 溝田新吾, 野中和樹, 河野貴明, 池崎みどり, 江村亜貴子: 放射線感受性を制御する分子シャペロンおよびレドックスによる新たな分子機構の発見. 平成14年度～平成18年度 放射線医療科学国際コンソーシアム 事業結果報告書, pp 7-8, 2007

- 8) 後藤信治, 浦田芳重, 河野貴明, 平尾朋仁, 井原義人, 近藤宇史: 放射線感受性を制御

する核及びミトコンドリア局在グルタチオンS-トランスフェラーゼの移行機構と役割の解析. 平成19年度特別教育研究経費第3回広島大学・長崎大学連携融合事業カンファランス 国際放射線被ばく者先進医療開発研究の期間連携事業報告書, pp. 69-71, 2007

2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1) Hayashida Y., Ihara Y, Miyata Y., Nomata K., Shirahama S., Kondo T., Kanetake, H. Overexpression of calreticuline causes pithelial-mesenchymal transition in renal epithelial cells by repressing E-cadherin gene expression: An implication to metastasis of kidney cancer. 2007 AACR Annual Meeting, Anaheim, U.S.A. pp.1211-15, 2007

4)井原義人, 池崎みどり, 和田芳直, 伊藤幸成, 近藤宇史: レクチン様シャペロン・カルレティキュリンの小胞体局在におけるカルレティキュリン-Bip 相互作用の意義. 第80回日本生化学会大会 (横浜)

5)浦田芳重, 後藤信治, 井原義人, 秋下雅弘, 近藤宇史: PDGF 受容体 β 由来シグナルのレドックス制御機構. 第80回日本生化学会大会 (横浜)

6)稲富千亜紀, 井原義人, 村田寛明, 澄川耕二, 近藤宇史. Glutaredoxin Protects nitric oxide-induced apoptosis and suppresses the oxidative modification of GAPDH. 第80回日本生化学会大会 (横浜)

7)後藤信治, 浦田芳重, 河野貴明, 平尾朋仁, 井原義人, 近藤宇史. 放射線感受性を制御

する核及びミトコンドリア局在グルタチオンS-トランスフェラーゼの移行機構と役割の解析. (第3回広島大学・長崎大学連携融合事業カンファランス. (広島)

8) 近藤宇史: 現場の加齢対策. 平成19年度長崎県医師会産業医研修会特別講演 (長崎)

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.

国際特許申請中。

名称「血管老化の予知因子およびその利用」
名称「抗C-マンノシル化ペプチド抗体及びその利用」

2. 実用新案登録

なし

3. その他: なし

「老年男性における睡眠時無呼吸症候群患者の血漿アドレノメデュリンへの影響」

分担研究者 寺本信嗣 東京大学大学院医学系研究科 加齢医学講座 講師

研究要旨：男性ホルモン低下と免疫能低下に対する睡眠時無呼吸症候群（SAS）の関与について血漿アドレノメデュリン（ADM）へ影響の側面から検討した。対象は OSAS を疑う症状を訴えて東大病院を受診した 160 例。全例に終夜睡眠ポリソムノグラフ（PSG）を施行し、翌朝、血漿 ADM を測定した。対象を高齢者と成人に分け、さらに男女で差があるか検討した。どちらの年齢層でも、OSAS 患者は、血漿 ADM が有意に高かったが、性差はなかった。また、ADM は加齢で増加する傾向がみられた。また、ADM 値は、末梢血白血球が産生する活性酸素量と正の相関を示し、酸化ストレスに対し代償的に上昇している可能性が示唆された。以上から高齢者 OSAS には、有意の酸化ストレスが生じており、抗酸化物質の代償的産生増加、また、血管拡張性因子の代償性の増加がみられることが示唆された。

A. 研究目的

男性ホルモン低下は免疫能低下と関連し、高齢男性の意欲や予後に関わる。高齢男性の意欲、老化、免疫能には酸化ストレスの関与が考えられる。そこで、加齢ともに増加する睡眠時無呼吸症候群（SAS）の酸化ストレスへの影響を検討した。OSAS は睡眠中に繰り返す上気道閉塞によって呼吸が中断されることで特徴づけられ、呼吸の中断は動脈血酸素分圧の低下をきたし、呼吸が再開すると共に動脈血酸素分圧は回復する¹⁾。こういった動脈血酸素分圧の変動は、いわゆる虚血再灌流障害における病態に類似している。この虚血再灌流障害の成因には活性酸素種（reactive oxygen species: ROS）による酸化ストレスが重要な関わりを持つとされている²⁾⁻⁴⁾。ROS は生体の構造や機能を担っている脂質や蛋白質、酵素や遺伝

子 DNA を酸化し損傷を与え、老化、高血圧、動脈硬化などの心血管疾患発症に重要な役割を果たす。この際、血管収縮性因子の過剰産生と血管拡張性因子の減少が高血圧、動脈硬化、心血管イベントの発症の増加に影響すると考えられる。そこで今回、OSAS の重症度と酸化ストレスと血管拡張性因子のひとつであるアドレノメデュリン（ADM）⁵⁾との関連を老年者と成人患者について比較検討したので報告する。

B. 研究方法

1) 対象：対象は、睡眠中のいびきや日中の眠気など OSAS を疑う症状を訴え東大病院およびその関連施設を受診した 160 例（男性 80 例、女性 80 例）。全例に終夜睡眠ポリソムノグラフ（PSG）を施行し、また高血圧、高脂血症、糖尿病加療歴や喫煙歴を聴取した。

2) 解析項目：身長、体重を測定し BMI を算出した。PSG 終了時の早朝空腹時に血圧測定および静脈採血、採尿を行った。静脈採血の血漿のアドレノメジュリン (ADM) 値をラジオイミュノアッセイ法 (radioimmunoassay kit、Phoenix Pharmaceuticals (Mountain View, CA, USA) で測定した。

PSG では、脳波 (C3-A2, C4-A1)、眼電図、おとがい筋電図、鼻口気流 (サーミスター)、胸壁と腹壁運動 (respiratory inductance plethysmograph)、酸素飽和度 (SpO₂) を測定した。10 秒以上の鼻口気流の停止を無呼吸 (apnea) と定義し、換気量が 20%以上低下し、SpO₂ がベースラインより 3%低下するか、あるいは覚醒反応を伴う場合を低呼吸 (hypopnea) と定義した。睡眠 1 時間あたりの無呼吸と低呼吸の和を Apnea-hypopnea index (以下 AHI) とした。ODI は、酸素飽和度の 90%未満の酸素飽和度低下の程度とその持続時間の積分とした。

$$ODI = \sum (90 - SaO_2) t$$
(t は時間 (hour))
6)。

3) 統計処理：AHI 5 未満を無呼吸症候群なし、20 以上を無呼吸症候群とした。さらに OSAS 群を 60 歳以上の高齢群と 60 歳未満の成人群に分けて比較した。二群間のそれぞれのパラメーターを unpaired t-test にて比較した。また酸化ストレスと睡眠呼吸障害パラメーター等の諸因子との相関は単相関分析を用いた。

C. 研究結果

全対象の背景、PSG の成績を表 1、2 に示した。血漿 ADM 値、活性酸素産生は無呼吸群で有意に高かった (図 1)。この ADM 値と活性

酸素産生量は、無呼吸の重症度よりも低酸素血症の重症度と相関を示した (図 2、図 3)。また、CPAP 治療で改善した (図 4)。

表 1 患者背景

| Group | Middle-aged OSAS group | Elderly OSAS group | Middle-aged control group | Elderly control group |
|--------------------------|------------------------|--------------------|---------------------------|-----------------------|
| Number of subjects | 80 | 80 | 80 | 80 |
| Male/female | 40/40 | 40/40 | 40/40 | 40/40 |
| Age, yr | 46.8 ± 2.2 | 65.8 ± 2.2 | 45.1 ± 2.2 | 64.8 ± 2.1 |
| BMI | 33.4 ± 0.9 | 32.1 ± 0.9 | 32.8 ± 1.1 | 31.5 ± 1.1 |
| Systolic BP | 138.1 ± 3.7 | 139.1 ± 4.7 | 135.6 ± 4.1 | 137.1 ± 3.7 |
| Diastolic BP | 82.1 ± 3.2 | 80.1 ± 3.2 | 78.9 ± 3.8 | 78.1 ± 2.8 |
| HR | 72.1 ± 3.2 | 70.1 ± 2.7 | 71.1 ± 3.0 | 69.1 ± 2.6 |
| Total cholesterol, mg/dL | 202.9 ± 7.9 | 199.1 ± 6.9 | 202.9 ± 7.9 | 198.3 ± 10.8 |
| HDL-cholesterol, mg/dL | 43.0 ± 2.2 | 41.0 ± 2.1 | 43.8 ± 2.3 | 42.2 ± 2.1 |
| Triglyceride, mg/dL | 144.1 ± 10.7 | 137.1 ± 12.7 | 140.1 ± 10.7 | 132.0 ± 10.9 |
| FFG mg/dL | 98.4 ± 1.3 | 94.6 ± 1.3 | 97.6 ± 1.4 | 90.3 ± 1.1 |
| HbA1c, % | 5.7 ± 0.1 | 5.8 ± 0.1 | 5.6 ± 0.1 | 5.27 ± 0.1 |
| Total sleep time, min | 388.1 ± 20.3* | 348.1 ± 20.3* | 440.3 ± 20.9 | 414.3 ± 20.9 |
| ESS | 14.6 ± 0.9* | 12.6 ± 1.1* | 3.1 ± 1.1 | 3.6 ± 1.2 |

表 2 各群の PSG による無呼吸重症度比較

| Group | Middle-aged OSAS group | Elderly OSAS group | Middle-aged control group | Elderly control group |
|------------------------------|------------------------|--------------------|---------------------------|-----------------------|
| Number of subjects | 80 | 80 | 80 | 80 |
| Male/female | 40/40 | 40/40 | 40/40 | 40/40 |
| AHI, events/h | 51.6 ± 3.0* | 50.1 ± 3.2* | 3.8 ± 0.3 | 3.6 ± 0.4 |
| SaO ₂ < 90%, %TST | 35.1 ± 5.2* | 34.1 ± 6.2* | 0 | 0 |
| Lowest SaO ₂ , % | 67.2 ± 2.1* | 68.9 ± 3.0* | 95.8 ± 0.5 | 94.1 ± 0.5 |
| ODI | 2.45 ± 0.32* | 2.41 ± 0.36* | 0.02 ± 0.01 | 0.02 ± 0.01 |
| SDS(2%) events/h | 61.2 ± 2.9* | 56.2 ± 3.1* | 6.6 ± 1.4 | 5.2 ± 1.2 |
| SDS(4%) events/h | 36.4 ± 3.2* | 33.2 ± 3.4* | 1.2 ± 0.2 | 1.0 ± 0.2 |
| SDS(6%) events/h | 19.1 ± 4.1* | 17.1 ± 4.7* | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| Arousal index, h | 42.4 ± 3.1* | 40.2 ± 2.2* | 8.3 ± 3.1 | 8.3 ± 3.1 |

図 1 血漿 ADM 値、活性酸素産生の無呼吸群と対照群との比較

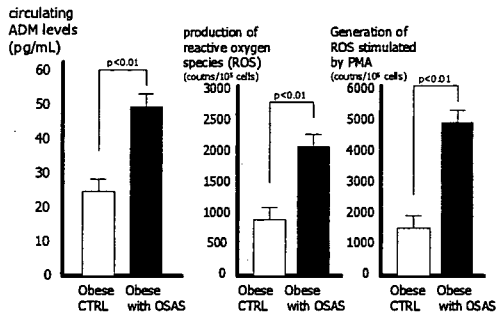


図2 血漿ADM値とAHI, ODIとの相関

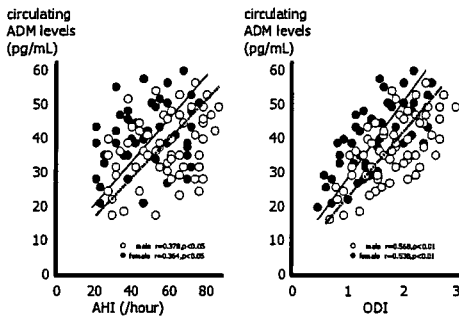


図3 末梢血液白血球が産生する活性酸素とAHI, ODIとの相関

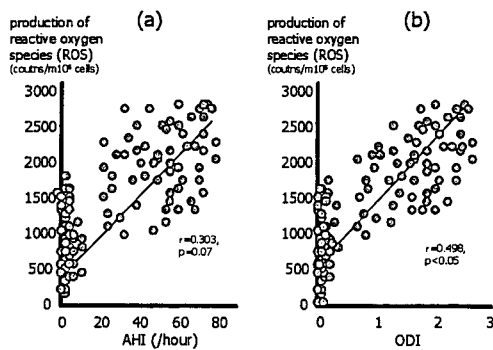
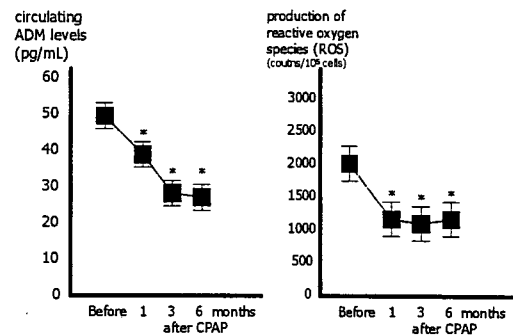


表3 血漿ADM値とOSAS関連指標との相関関係

| Variables | Age groups | R | p |
|------------------------------|-------------|-------|-------|
| AHI, events/h | Middle-aged | 0.372 | <0.05 |
| AHI, events/h | Elderly | 0.378 | <0.05 |
| SpO ₂ < 90%, %TST | Middle-aged | 0.384 | <0.05 |
| SpO ₂ < 90%, %TST | Elderly | 0.374 | <0.05 |
| Lowest SpO ₂ % | Middle-aged | 0.466 | <0.05 |
| Lowest SpO ₂ % | Elderly | 0.424 | <0.05 |
| ODI | Middle-aged | 0.552 | <0.01 |
| ODI | Elderly | 0.548 | <0.01 |
| SDS(2%) events/h | Middle-aged | 0.206 | 0.12 |
| SDS(2%) events/h | Elderly | 0.242 | 0.09 |
| SDS(4%) events/h | Middle-aged | 0.317 | 0.06 |
| SDS(4%) events/h | Elderly | 0.287 | 0.08 |
| SDS(6%) events/h | Middle-aged | 0.296 | 0.09 |
| SDS(6%) events/h | Elderly | 0.288 | 0.12 |
| Arousal index, /h | Middle-aged | 0.304 | 0.11 |
| Arousal index, /h | Elderly | 0.294 | 0.14 |

図4 血漿ADM値と末梢血白血球による活性酸素産生に対するとCPAPの効果



D. 考察

前回我々は、8-OHdGで評価した酸化ストレスは重症OSAS患者で有意に高値であること、AHIおよびODIは酸化ストレスと有意な相関を示し、さらにはその相関は酸化ストレスに影響するとされる交絡因子を調整した後も有意であったことを示した。

さらにOSAS患者における8-OHdG排泄は加齢で明らかな影響を受けず、高齢患者もOSASであれば、高度酸化ストレス障害下にあると推定された。

今回、我々は酸化ストレスの指標として、末梢血液白血球が産生する活性酸素を測定した。その結果、無呼吸群では、有意に活

性産生が大きいことが判明した。

すでに、無呼吸患者の酸化ストレスについては、活性酸素産生の見地から検討が行われており、SchulzらやDyugovskayaらはOSASにおいて好中球や単球からのROS産生が有意に多いことを報告している^{7),8)}。

今回は、さらに血管拡張性因子のひとつであるアドレノメジュリン (ADM)⁵⁾について検討した。すでに、血管障害のマーカーである、血管収縮性因子については多くの報告があるが、血管収縮性因子についての報告は少ない。

その結果、老年者では成人に比べ上昇傾向にあった。さらに、無呼吸患者では、各年齢群で有意に高値だった。したがって、血管拡張性因子は、代償的に上昇している可能性が示唆された。実際、CPAP治療によって、ADM値は無呼吸の改善とともに低下することも、ADMの代償的に上昇を支持すると考えられる(図4)。

近年、ADMは、血管拡張性因子のみならず抗酸化作用物質としても注目されている。⁹⁾¹⁰⁾本検討でも、ADM値と活性酸素産生との間に正の相関が得られており、ADMが抗酸化物質として代償的に上昇した可能性も考えられる。

今後、ADMと加齢、低酸素ストレス、血管病変などとの関連を高年齢者において明らかにしていく必要があると考えられる。

E. 結論

老年男性の重症OSASにおいて血漿中アドレノメジュリンは有意に高値であり、酸化ストレスや血管収縮性因子に対する代償的増加反応が生じている可能性が示唆された。

文献

- 1) Douglas NJ, Polo O. Pathogenesis of obstructive sleep apnoea/hypopnoea syndrome. *Lancet*. 1994; 344: 653-5.
- 2) Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med*. 2000; 109: 33-44.
- 3) McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med*. 2000; 108: 652-9.
- 4) McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med*. 1985; 312: 159-63.
- 5) Sugo S, Minamino N, Kangawa K, Miyamoto K, Kitamura K, Sakata J, Eto T, Matsuo H. Endothelial cells actively synthesize and secrete adrenomedullin. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 201: 1160-1166.
- 6) Ohga E, Nagase T, Tomita T, Teramoto S, Matsuse T, Katayama H, and Ouchi Y. Increased levels of circulating ICAM-1, VCAM-1, and L-selectin in obstructive sleep apnea syndrome. *J Appl Physiol* 1999; 87: 10-14.
- 7) Schulz R, Mahmoudi S, Hattar K, et al. Enhanced release of superoxide from polymorphonuclear neutrophils in obstructive sleep apnea. Impact of continuous positive airway pressure therapy. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000; 162: 566-70.
- 8) Dyugovskaya L, Lavie P, Lavie L. Increased adhesion molecules expression and production of reactive oxygen species in leukocytes of sleep apnea patients. *Am J Respir Crit Care Med*.

2002; 165: 934-9.

9) Saito T, Itoh H, Chun TH, Fukunaga Y, Yamashita J, Doi K, Tanaka T, Inoue M, Masatsugu K, Sawada N, Sakaguchi S, Arai H, Mukoyama M, Tojo K, Hosoya T, Nakao K. Coordinate regulation of endothelin and adrenomedullin secretion by oxidative stress in endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001; 281: H1364-71.

10) Yoshimoto T, Gochou N, Fukai N, Sugiyama T, Shichiri M, Hirata Y. Adrenomedullin inhibits angiotensin II-induced oxidative stress and gene expression in rat endothelial cells. *Hypertens Res.* 2005; 28: 165-72.

G. 論文発表

1) Yamaguchi Y, Nagase T, Tomita T, Nakamura K, Fukuhara S, Amano T, Yamamoto H, Ide Y, Suzuki M, Teramoto S, Asano T, Kangawa K, Nakagata N, Ouchi Y, Kurihara H. Beta-defensin overexpression induces progressive muscle degeneration in mice. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2007;292(6):C2141-9.

2) Yamamoto H, Nagase T, Shindo T, Teramoto S, Aoki-Nagase T, Yamaguchi Y, Hanaoka Y, Kurihara H, Ouchi Y. Adrenomedullin insufficiency increases allergen-induced airway hyperresponsiveness in mice. *J Appl Physiol.* 2007;102(6):2361-8.

3) Teramoto S. 1. COPD pathogenesis from the viewpoint of risk factors. *Intern Med.* 2007;46(2):77-79.

4) 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(11):1891-2.

5) Teramoto S, Yamaguchi Y, Yamamoto H, Hanaoka Y, Ishii M, Hibi S, Kume H, Akishita M, Ouchi Y. Increase in oxidative stress levels in elderly patients with obstructive sleep apnea syndrome: Effects of age and gender. *J Am Geriatr Soc.* 56:569-571, 2008

6) Teramoto S, Kume H, Yamaguchi Y, Yamamoto H, Hanaoka Y, Ishii M, Ishii T, Ouchi Y. Improvement of endothelial function with allopurinol may occur in selected patients with OSA: effect of age and sex. *Eur Respir J.* 2007;29(1):216-7;

7) Teramoto S, Yamamoto H, Yamaguchi Y, Hanaoka Y, Ishii M, Hibi S, Ouchi Y. ACE inhibitors prevent aspiration pneumonia in Asian, but not Caucasian, elderly patients with stroke. *Eur Respir J.* 2007;29(1):218-9;

8) Teramoto S, Ishii M. Aging, the aging lung, and senile emphysema are different. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;175(2):197-8

9) Ishii M, Teramoto S, Yakabe M, Yamamoto H, Yamaguchi Y, Hanaoka Y, Ouchi Y. Small intestinal intussusceptions caused by percutaneous endoscopic jejunostomy tube. *J Am Geriatr Soc.*

2007;55(12):2093-2094.

- 10) Teramoto S, Yamaguchi Y, Yamamoto H, Hanaoka Y, Ishii M, Hibi S, Ishii T, Kume H, Ouchi Y. Cardiovascular, but metabolic effects of CPAP in patients with obstructive sleep apnea Eur Respir J. 2008;31(1):223-225.
- 11) Teramoto S, Yamamoto H, Yamaguchi Y, Hanaoka Y, Ishii M, Hibi S, Kume H, Ouchi Y. Age greater than 80 years predicts the outcome of LRTI better than CURB-65 does. Eur Respir J. 2008;31(2):477-8.
- 12) Teramoto S, Fukuchi Y, Sasaki H, Sato K, Sekizawa K, Matuse T, Japanese Study Group on Aspiration Pulmonary Disease (JSAP) . Very high incidence of aspiration pneumonia in both community-acquired pneumonia and hospital acquired pneumonia in hospitalized patients -Multi-center, prospective study in Japan-. J Am Geriatr Soc. 56:577-579, 2008
- 13) Teramoto S, Ishii T, Ishii M, Yamamoto H, Yamaguchi Y, Hibi S, Ouchi Y. Variation in the TNF gene is not associated with susceptibility to Asian COPD. Eur Respir J. (in press)
- 14) Teramoto S, Yamamoto H, Yamaguchi Y, Ishii M, Hibi S, Kume H, Ouchi Y. Antiplatelet cilostazol, an inhibitor of type III phosphodiesterase, improves swallowing function in patients with a history of stroke. J Am Geriatr Soc. (in press)
- 15) Teramoto S, Yamaguchi Y, Yamamoto H, Hanaoka Y, Ishii M, Hibi S, Ishii T, Kume H, Ogawa S, Akishita M, Ouchi Y. Elevated levels of circulating soluble CD40 ligand in elderly patients with obstructive sleep apnea syndrome: Effects of continuous positive airway pressure. J Am Geriatr Soc. (in press)
- 16) 鳥羽研二, 井上慎一郎, 馬場幸, 長谷川浩, 寺本信嗣. より質の高い摂食・嚥下リハビリテーションを目指して 他科医からの提言 嚥下障害と誤嚥性肺炎 近そうで遠い概念. The Japanese Journal of Rehabilitation Medicine 44: 82-87, 2007
- 17) 寺本信嗣. COPD～全身性疾患としての治療方針～. Medicament News, (1904) : 15-16, 2007.
- 18) 寺本信嗣. 21世紀最大の生活習慣病 COPD-neglected disease から common disease へ-」世紀の最大の生活習慣病. 日本臨床内科医会雑誌 21:481-488, 2007
- 19) 寺本信嗣. 知って得するワンポイントアドバイス 嚥下機能検査. 脳と循環 12:170-172, 2007
- 20) 寺本信嗣. 【セカンドオピニオン実践ガイド 実地診療にも役立つ病期・病態別治療指針】 主要疾患の病期・病態別治療法 肺気腫、COPD. Medical Practice 24(臨増):227-233, 2007
- 21) 石井正紀, 寺本信嗣. 全身性炎症としての COPD と栄養障害. 呼吸器科 11: 227-232, 2007
- 22) 寺本信嗣, 山本寛, 山口泰弘, 花岡陽子, 石井正紀, 日比慎一郎. 【肺炎 高齢化社会を迎えて】 高齢者肺炎の特徴 誤嚥性肺炎の位置づけ. カレントセラピー 25:114-117, 2007
- 23) 寺本信嗣. 肺炎診療の最前線】 基礎疾

- 患・合併症のある場合の肺炎 高齢者、脳血管障害. 診断と治療 95:76-80, 2007
- 24) 寺本信嗣. 分子病態からみた睡眠呼吸障害. 分子呼吸器病 7:223-230, 2007
- 25) 寺本信嗣. アレルギー相談室 Q&A <内科> 高齢者で喘鳴を伴う呼吸困難を示す場合に、喘息以外に鑑別すべき病気は何ですか. アレルギーの臨床 360: 491, 2007
- 26) 石井正紀、寺本信嗣. 臨床生理：呼吸機能検査のステップアップ・2 高齢者における肺機能検査と評価. 検査と技術 35: 556-559, 2007
- 27) 寺本信嗣. 老人喘息の病態、鑑別、治療とその問題点 3. 老人喘息と鑑別すべき高齢者呼吸器疾患. 臨床免疫・アレルギー科 48 : 399-404, 2007
- 28) 寺本信嗣. II. ガイドラインにもとづく喘息と COPD の診断. 8. 高齢者における喘息と COPD の診かた. Medicina44:1850-1854, 2007
- 29) 石井正紀 寺本信嗣. COPD の栄養療法. 日本胸部臨床 66: 645-652, 2007
- 30) 寺本信嗣. 私の処方、「慢性閉塞性肺疾患 (COPD)」. Modern Physician 27: 1292-1293, 2007
- 31) 寺本信嗣. 診療の秘訣、「高齢者の息切れを診たら」. Modern Physician 27: 1417, 2007
- 32) 寺本信嗣. 患者の主訴をアセスメント見逃しがちな“誤嚥”のシグナル. MediCafe 2(3): 6-7, 2007
- 33) 寺本信嗣. 嚥下性肺炎の予防と治療. INFECTION FILE 2 2: 7-8, 2007
- 34) 寺本信嗣. 呼吸器疾患の薬物療法. Journal of Clinical Rehabilitation 16:1103-1109, 2007
- 35) 寺本信嗣. 嚥下障害と肺炎—リハビリテーション医学と内科学の missing link— 耳鼻と臨床 53 (補 2) :S79-S82, 2007
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む.)
なし

「勃起不全治療による男性ホルモン濃度と更年期症状の改善」

分担研究者 堀江 重郎 帝京大学医学部泌尿器科学教室 教授

研究要旨：勃起不全（ED）は男性の心血管イベントのリスクファクターであることが注目されている。酸化ストレスとテストステロンの唾液中濃度とEDとの重症度との関係を検討し、男性の健康指標のバイオマーカーとして、臨床応用できるかを検討した。唾液テストステロンが低下するとIIEF-EF 質問表によるEDの重症度は有意に増加した（ $r=-0.33$, $p<0.019$ ）。ED中等度からED重度群とED軽度からED無群との2群に分けると、中等度から重度群の方が9.88倍（1.52-64.10）（ $p=0.016$ ）酸化ストレス濃度が高かった。これらの結果より、男性の健康を考える上で、酸化ストレス及びテストロンは、心血管病を中心とする慢性疾患の予防に対するバイオマーカーとして有用であると考えられた。

A. 研究目的

近年、加齢により活性型テストステロン値が低下し様々な身体、精神・心理、及び性的症状をきたすことが注目され加齢性腺機能低下症(Late-onset -hypogonadism/LOH)と呼ばれている。LOH患者のほとんどが中等度から重度のEDを伴っているが、テストステロンとEDの関係については、未だ不明な点が多い。近年、PDE-5の定期的投与が血管上皮細胞の機能を改善し、EDのみでなく、多く病態に有益であるとの報告がある。我々は、PDE-5阻害薬が陰茎海綿体の血管上皮に作用するのみでなく、男性の健康の向上及びその維持に対する効果に対する可能性について検討した。

B. 研究方法

対象：

LOHと診断された患者のうち、つぎの基準をみたすもの20名（平均年齢：53歳）、42～73歳を対象とした。

- 1) 2ヶ月間ホルモン療法を続けても効果が現れない患者
- 2) ホルモン療法を望まない患者
- 3) IIEF-5 scoreで中等度から重度のEDと判断される患者
- 4) 協力的な特定のパートナーがいる患者

方法：

Sildenafil citrate 50mgを定期的に1週間に1回、6ヶ月間服用し、その前後におけるIIEF-5 score 各種ホルモン値（LH、FSH、コルチゾール、血清総テストステロン、唾液中テストステロン）及び、AMS scoreを比較した。

(倫理面への配慮)

帝京大学医学部倫理委員会よりの承諾。対象者より同意書を得た上で、研究を実施した。

C. 研究結果

Sildenafil 50mg 内服6ヶ月後の血清総テストステロン(p=0.035)、及び唾液テストステロン(p<0.001)は有意に増加しており、IIEF-5 score 及び AMS score とともに改善が見られた。統計学的有意さはみとめられなかったものの、LH、FSH とともに増加傾向が認められた。

D. 考察

唾液は被験者が血液や尿に比べて採取に対して抵抗の少ない検体であり、今後、唾液テストステロンのみでなく、他のバイオマーカーの対象となると考えられる。我々は酸化ストレスマーカーである8-OHdGが血液中と唾液中でよい相関を示したことより、今後、唾液8-OHdGは酸化ストレスマーカーとして、臨床応用でき、EDを含めた生活習慣病や癌更には加齢との関係を知ることにより、運動、食事、サプリメントといった予防医学の領域における臨床研究が進むと考える。

E. 結語

PDE-5 阻害剤はNO ドナーとして、全身の血管系に作用し、ED を含むLOH症状を改善する可能性が示唆された。また、唾液中の8OHdG は、酸化ストレスマーカーとして血中値の代替となり、心血管病を中心とする慢性疾患の予防に対するバイオマーカーと

して有用であると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

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. Yasuda M, Horie S. DHEA and testosterone in the elderly. *N Engl J Med.* 2007; 356(6): 635-6.
2. Yasuda M, Furuya K, Yoshii T et al. Low testosterone level of middle-aged Japanese men - the association between low testosterone levels and quality-of-life. *J Men's Health and Gender* 2007; 4: 149-155
3. Yasuda M, Shigeo H, Steven M A et al. The prevalence of depressive symptoms and other variables among frail aging men in New York City's Personal Care Services program. *J Men's Health and Gender* 2007; 4:165-170
4. Muto S, Yasuda M, Kamiyama Y et al. Testosterone decreased urinary-frequency in nNOS-deficient mice. *Int J Androl* 2008;31:67-70
5. Yasuda M, Honma S, Furuya K et al. Diagnostic significance of salivary testosterone measurement using both LC-MS and ELISA. *JOURNAL of Men's Health and Gender* 2008 in

press.

6. Yasuda M, Ide H, Furuya K et al.
Salivary 8-OHdG: a useful biomarker
for predicting severe ED and
Hypogonadism. The Journal of Sexual
Medicine 2008 in press

無し

3. その他

研究協力者

帝京大学医学部泌尿器科 安田弥子

2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. 安田弥子、古谷久美子、吉井 隆ら。
唾液テストステロンの有用性について。
第 94 回日本泌尿器科学会総会。
2. 安田弥子。難治性加齢性腺機能障害の
治療。第 72 回日本泌尿器科学会東部総
会。
3. Yasuda M, Furuya K, Yoshii T.
Diagnostic significance of salivary
testosterone measurement using both
LC-MS and ELISA
4. 安田弥子。ストレスと ED の重症度。
第 17 回日本性機能学会中部総会。
5. 安田弥子、古谷久美子、井手久満ら。
日本人男性のホルモン日内変動につい
て。第 17 回日本性機能学会東部総会。
6. 安田弥子、古谷久美子、井手久満ら。
LOH 患者における PDE-5 阻害薬定期投
与による酸化ストレス、およびホルモン
変化の検討。
第 18 回日本性機能学会東部総会。

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得
無し
2. 実用新案登録

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

「健常中高年男性への 25mgDHEA, 6 か月投与試験（最終報告）」

分担研究者 柳瀬 敏彦

九州大学大学院病態制御内科 准教授

研究要旨：抗老化ホルモンとしての DHEA には様々な有益な作用が報告されているが、わが国では長期的補充療法に関する検討成績が極めて乏しい現状にある。昨年度、40 歳以上の健常中高年男性への DHEA25mg 長期投与（6 か月）試験の 7 例の段階での中間報告を行ったが、本年度 11 例において最終結果をまとめた。DHEA 投与により血中 DHEA-S 濃度の上昇を確認したが、PSA を含めて有意な副作用は認めなかった。また測定した種々の血中マーカーの中で投与前と比較して、全体として有意の血中変動を認めたものはなかったが、糖代謝関連マーカーは軽度ながら改善傾向を認めた。また各種パラメーターの多くは血中 DHEA-S 値よりも血中 testosterone (T) 値と有意の相関性を認め、T への転換による血中 T 濃度の微増変化が作用機序に少なからず寄与をしている可能性が示唆された。25mgDHEA 長期（6 か月）投与は安全な補充療法と考えられる。

A. 研究目的

副腎アンドロゲンの dehydroepiandrosterone (DHEA) 並びに DHEA-sulfate (DHEA-S) は加齢に伴い漸減し、老化指標とも言うべき特徴的変動を示す¹⁾。また、DHEA は最近、長生き指標としての有用性も示され²⁾、動物実験やヒトにおける断面研究などから、抗肥満、抗糖尿病、抗動脈硬化、抗骨粗鬆症、抗自己免疫、抗癌作用など有益な種々の生理作用が報告されている¹⁾。我々は、欧米では高齢者への DHEA 補充療法の試みがなされており、QOL 改善³⁾、骨粗鬆症マーカー⁴⁾、皮膚所見の改善効果⁴⁾などが報告されている。しかしながら、わが国においては、補充療法に関する検討成績そのものが極めて乏しい現状にある。我々は既に DHEA 25mg あるいは 50mg の 2 週間投与によるパイロット試験の結果を報告しているが、40 歳以上の中高年を対象に下した検討の範囲では 25mg 投与でも 50mg 投与でも血中 DHEA あるいは血中 DHEA-S 濃度の上昇の程度には有意な差を認めなかった⁵⁾。この成績を踏まえて、安全

性も考慮し、昨年度、DHEA25mg を中高年男性への投与試験について、7 例の段階で中間報告を行なった。本年度、最終的に 11 例の中高年男性への試験を完遂したので、各種血中マーカーの変動についてその最終成績を報告する。

B. 研究方法

40 歳以上の健常ボランティア医師 10 名並びに医師管理下の薬剤師 1 名の合計 11 名（44-65 歳）を対象とし、25mgDHEA（グロリアインターナショナル）を 6 か月間、毎日、朝食後に服用し、自覚症状や以下の種々の採血パラメーターの変動につき、服用前、服用後 4 週、12 週、24 週に評価した。なお 4 症例では 36 週まで、1 症例では 48 週まで 24 週までの副作用がないことを確認の上、本人同意の上、投与が継続された。採血評価項目は以下のとおりである。統計解析は t-dependent student's test によった。

(1) 血液生化学：TP, Alb, BUN, Creat, UA, Ca, P, TB, DB, AST, ALT, LDH, ALP, γ -GTP,

ChE, TC, TG, Glu, Na, K, Cl, FFA

(2) 血液一般：RBC, Hb, Ht, WBC (分画含む)、Plt

(3) 血中ホルモン；leptin, IGF-1, DHEA-S, Δ 4-androstenedion (Δ 4-A), testosterone (T), estradiol (E2), cortisol

(4) 血中脂質；LDL, HDL, Lp (a),

(5) 糖尿病関連指標：HbA1C, IRI, c-peptide, HOMA 指数

(倫理面への配慮)

本研究は九州大学大学院医学研究院倫理委員会承認(承認日:平成15年2月10日)下で、同意書取得の上、行なわれた。

C. 研究結果

試験開始時並びに DHEA 服用期間中に血液一般所見の異常を認めた被験者はなかった。また血液生化学所見に関しては4名において服用前、軽度トランスアミラーゼの上昇(TY:GPT70, TM: GOT55, GPT 55, RT: GOT56, GPT84. TT: GPT 61)を認めたが、DHEA 服用期間中に有意変動は認めず、むしろ2例(TM, TT)で正常化を認めた。また1例(TM)において高尿酸血症(9.7mg/dl)を認めたが、服用期間中、若干の低下(8.4mg/dl)を認めた。その他、副作用と思われる有意な血液生化学データの変動は認めなかった。また、副作用チェック目的のPSAの変動に関しては、いずれも正常範囲内での変動であったが、2例で軽度の上昇、2例で低下を認めた。

DHEA は DHEA-S, Δ 4-A, T 及び E2 の前駆体ステロイドであることから、服用後のこれらの濃度推移を検討した。DHEA25mg 服用後、全ての被験者において血中 DHEA-S の有意上昇を認め、被験者の服用遵守が確認された(表1)。DHEA-S は 4、12、24 週の全てにおいて、 Δ 4-A は 4 週での有意上昇を認めた(表1)。また血中 T 並びに E2 値の

変動については、その変動パターンにかなりの個人差を認めたが、血中は 24 週においてのみ、また E2 は 4 週においてのみ有意上昇を認めた。血中 cortisol 値、IGF-1 値には全体として有意の変動を認めなかった(表1)。

脂質関連では LDL-cholesterol, HDL-cholesterol とも全体として有意変動を認めなかったが、HDL は 4 例において上昇傾向を認めた。糖代謝関連では全体として空腹時血糖(FBS)、血中 IRI, CPR、HOMA 指数の低下傾向を認めたが、統計学的に有意な差には至らなかった(表2)。2例において服用前に軽症糖尿病(HbA1C 6.5%及び7.6%)を認め、DHEA 服用にて1例では改善、1例では不変であった。全体としての HbA1C 値には有意変動を認めなかった(表2)。一方、動脈硬化に関連する接着因子の可溶性 VCAM-1 は昨年度、7例の段階での統計学的検討では 24 週において有意の低下を認めたが、11例の段階での最終検討ではどの週においても有意変動を認めなかった。可溶性 ICAM-1 に関してはいずれの週においても有意変動を認めなかった。また脂肪組織由来ホルモンである adiponectin, leptin についても有意変動を認めなかった。

一方、骨代謝マーカーである Intact osteocalcin (骨形成マーカー)及び NTX (骨吸収マーカー)には全体として有意の変動を認めなかった。

36 週、48 週まで試験を施行し得た被健者のデータも含め、被験者の全ての検査ポイントにおける血中 DHEA-S 値あるいは T 値と各種パラメーターとの相関性を検討したところ、血中 IRI, CPR, 遊離脂肪酸、HOMA 指数などのインスリン抵抗性関連指標は、DHEA-S 値とは相関性を示さず、むしろ T 値と有意の逆相関性を示した。血中 adiponectin 濃度についても DHEA-S 値とは相関を示さず、T 値と高い正の相関性を示した(表3)。

D. 考察

日本人中高年男性 11 名（2 名は軽症糖尿病あり）における 6 か月間の DHEA 服用試験において、血液一般、血液生化学等の変動において有意の副作用を認めなかった。また、前立腺癌マーカーの PSA についても正常範囲内での変動で、また血中 T 値の変動パターンとの関連性も認めなかった。DHEA 服用後、血中 DHEA-S の有意上昇を確認し得たことから、多少の個人差はあるとしても試験期間を通じて良好な服用コンプライアンスが確認できた。

脂質、糖代謝、インスリン感受性指標 (HOMA 指数)、leptin、adiponectin、骨代謝等のマーカーに関しては DHEA 服用前後で全体として有意の変動パターンは認められなかったが、FBS, HbA1C, HOMA 指数の改善傾向を認めた。動物実験や in vitro での成績を中心に DHEA にはインスリン感受性の改善を基盤とした耐糖能の改善効果が報告されており^{6), 7)}、今後の検討数の増加により、その作用がより明瞭に確認できる可能性がある。

大変、興味深いことに全ての検査ポイントにおける各種インスリン抵抗性指標の値は、DHEA 服用後、顕著な血中変動を示した血中 DHEA-S 値よりもむしろ T 値と有意の逆相関性を示した。この成績に合致する形でインスリン感受性増強作用のある adiponectin の血中濃度も、血中 DHEA-S 値とは相関性を認めず、T 値と極めて良好な正の相関性を示した。外因性 T 投与は血中 adiponectin 濃度をむしろ低下させる作用が報告されているが⁸⁾、本試験における血中 T 値の増加は生理的範囲における微増の範囲である。T 値の生理的変動は外因性 T 投与時とは異なった糖代謝作用を及ぼす可能性も考えられる。以上の成績は中高年男性への 25mgDHEA 長期投与時における作用点として、T への転換による血中 T 濃度の

微増変化を介した作用が DHEA や DHEA-S 以上に寄与をしている可能性を示唆し、興味深い。

E. 結論

中高年男性への DHEA 25mg, 6 か月間の服用試験を施行した。服用中、全ての被健者において有意な副作用を認めず、血中 DHEA-S 濃度の有意上昇と T 濃度の微増を確認した。25mgDHEA の長期投与では T への転換を介した作用機構の寄与が示唆された。

F. 関連文献

- (1) Nawata H, Yanase T, Goto K et al. ; Mechanism of action of anti-aging DHEA-S and the replacement of DHEA-S. Mech Ageing Dev 123:1101-1106, 2002
- (2) Roth GS, Lane MA, Ingram DK et al. : Biomarkers of caloric restriction may predict longevity in humans. Science 297:811, 2002
- (3) Morales AJ, Nolan JJ, Nelson JC, Yen SS: Effects of replacement dose of dehydroepiandrosterone in men and women of advancing age. J Clin Endocrinol Metab 78: 1360-7, 1994
- (4) Baulieu EE, Thomas G, Legrain S et al. ; Dehydroepiandrosterone (DHEA), DHEA sulfate, and aging: Contribution of the DHEAge Study to a sociobiomedical issue. Proc Natl Acad Sci USA 97:4279-4284, 2000
- (5) Yamada Y, Sekihara H, Omura M, Yanase T et al. : Changes in Serum Sex Hormone Profiles after Short-term Low-dose Administration of Dehydroepiandrosterone (DHEA) to Young and Elderly Persons. Endocr J. 54 : 163-62, 2007
- (6) Aoki K, Saitoh S, Mukasa K et al. : Dehydroepiandrosterone suppresses

elevated hepatic glucose 6-phosphatase and fructose 1, 6-bisphosphatase activities in C57BL/Ksj-db/db mice; comparison with troglitazone. *Diabetes* 48: 1579-85, 1999

(7) Ishizuka T, Kaita K, Miura A et al. : DHEA improves glucose uptake via activation of protein kinase C and phosphatidylinositol 3-kinase. *Am J Physiol* 276, E196-204, 1999

1) (8) Page ST, Herbst KL, Amory JK, et al. Testosterone administration suppresses adiponectin levels in men. *J Androl.* 26:85-92, 2005

G. 健康危険情報: なし

H. 研究発表

1. 論文発表

(1) Fan W, Yanase T, Morinaga H, Gondo S, Okabe T, Nomura M, Komatsu T, Morohashi K, Hayes TB, Takayanagi R, Nawata H. : Atrazine-induced aromatase expression is SF-1 dependent: implications for endocrine disruption in wildlife and reproductive cancers in humans. *Environ Health Perspect.* 115:720-7, 2007

(2) Miyamoto J, Matsumoto T, Shiina H, Inoue K, Takada I, Ito S, Itoh J, Minematsu T, Sato T, Yanase T, Nawata H, Osamura YR, Kato S. : The pituitary function of androgen receptor constitutes a glucocorticoid production circuit. *Mol Cell Biol.* 27:4807-14, 2007

(3) Fan W, Yanase T, Morinaga H, Gondo S, Okabe T, Nomura M, Hayes TB, Takayanagi R, Nawata H. : Herbicide atrazine activates SF-1 by direct affinity and concomitant co-activators recruitments to induce aromatase expression via

promoter II. *Biochem Biophys Res Commun.* 20;355:1012-8, 2007

(4) Saito Y, Yamada N, Shirai K, Sasaki J, Ebihara Y, Yanase T, Fox JC. : Effect of rosuvastatin 5-20mg on triglycerides and other lipid parameters in Japanese patients with hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis.* 194:505-11, 2007

(5) Fan W, Yanase T, Morinaga H, Okabe T, Nomura M, Daitoku H, Fukamizu A, Kato S, Takayanagi R, Nawata H. ; Insulin-like growth factor 1/insulin signaling activates androgen signaling through direct interactions of Foxo1 with androgen receptor. *J Biol Chem.* ;282:7329-38, 2007

(6) Yamada Y, Sekihara H, Omura M, Yanase T, Takayanagi R, Mune T, Yasuda K, Ishizuka T, Ueshiba H, Miyachi Y, Iwasaki T, Nakajima A, Nawata H. ; Changes in serum sex hormone profiles after short-term low-dose administration of dehydroepiandrosterone (DHEA) to young and elderly persons. *Endocr J.* 54:153-62, 2007

(7) Goto Y, Nomura M, Tanaka K, Kondo A, Morinaga H, Okabe T, Yanase T, Nawata H, Takayanagi R, Li E. ; Genetic interactions between activin type IIB receptor and Smad2 genes in asymmetrical patterning of the thoracic organs and the development of pancreas islets. *Dev Dyn.* 236:2865-74, 2007

(8) Tanaka T, Gondo S, Okabe T, Ohe K, Shirohzu H, Morinaga H, Nomura M, Tani K, Takayanagi R, Nawata H, Yanase T. ; Steroidogenic factor 1/adrenal 4 binding protein transforms human bone marrow mesenchymal cells into steroidogenic cells. *J Mol Endocrinol.* 39:343-50, 2007

(9) Woods DC, Liu HK, Nishi Y, Yanase T, Johnson AL.: Inhibition of proteasome activity sensitizes human granulosa tumor cells to TRAIL-induced cell death. *Cancer Lett.* 260: 20-27. 2008

(10) Ito M, Muraki M, Takahashi Y, Imai M, Tsukui T, Yamakawa N, Nakagawa K, Ohgi S, Horikawa T, Iwasaki W, Iida A, Nishi Y, Yanase T, Nawata H, Miyado K, Kono T, Hosoi Y, Saito H.: Glutathione S-transferase theta 1 expressed in granulosa cells as a biomarker for oocyte quality in age-related infertility. *Fertil Steril* 2008 in press

(11) Mottershead DG, Pulkko M, Muggalla P, Pastemach A, Tolone M, Myllymaa S, Korchynskyi O, Nishi Y, Yanase T, Lun S, Juengel J, Laitinen M, Rivos O: Characterization of human growth differentiation factor-9 signaling in ovarian granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol* 2008 in press

(12) Matoba T, Inoguchi T, Nasu S, Suzuki S, Yanase T, Nawata H, Takayanagi R: Optimal cut-points of waist circumference for the clinical diagnosis of metabolic syndrome in the Japanese population. *Diabetes Care* 2008 in press

(13) Shirohzu H, Okabe T, Gondo S, Tanaka T, Ohe K, Morinaga H, Kawate H, Nomura M, Takayanagi R, Nawata H, Yanase T: Methylation of a conserved intronic CpG island of mouse SF-1 is associated with cell-specific expression of SF-1 in a culture system but not with tissue-specific expression *Biochem Biophys Res Commun* 2008 in press

(14) 柳瀬敏彦: 脂質代謝異常と疾病「ステロイドホルモンと生活習慣病」*臨床検査* 51: 515-522. 2007

(15) 柳瀬敏彦: 特集 アンチエイジング

に迫る 4. ホルモン補償からアンチエイジングは可能か? *Life Style Medicine* 2007, 1: 125-132, 2007

(16) 柳瀬敏彦: アンドロゲン受容体、核内受容体コレギュレーターとメタボリックシンドローム *最新医学* 69: 2353-2359, 2007

I. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし