

厚生労働科学研究費補助金
長寿科学総合研究事業

男性ホルモン低下に起因する老年病の
治療戦略とその機序に関する総合研究

(H17-長寿-046)

平成 17 年度～平成 19 年度総合研究報告書

主任研究者 秋下 雅弘

平成 20 (2008) 年 4 月

目 次

- I. 総合研究報告
男性ホルモン低下に起因する老年病の治療戦略とその機序に関する総合研究
----- 1
秋下雅弘
- II. 研究成果の刊行に関する一覧表----- 34
- III. 研究成果の刊行物・別刷----- 50

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

総合研究報告書

「男性ホルモン低下に起因する老年病の治療戦略とその機序に関する総合研究」

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：老年病の発症・進展におけるアンドロゲン低下の意義とその治療法について検討し、以下の結果を得た。（１）アンドロゲン低下と老年病との関連を検討する横断・縦断観察研究：9集団（計900名）を対象とした研究により、1）健常中高年；男女とも糖脂質代謝とホルモン濃度は関連なし。2）生活習慣病；男性のテストステロン濃度、女性のDHEA-S濃度が血管内皮機能およびメタボリックシンドローム指標と独立した関連。男性のテストステロン低値が6年間の心血管イベントと関連。3）うつ病；男女でホルモン分泌能に異常がみられた。4）認知症；男性のテストステロン濃度が認知機能およびその2-3年の変化と関連。5）地域在住超高齢女性；DHEA-S濃度が認知機能と関連。6）要介護高齢者；男性のテストステロンが日常生活機能全般と、女性のDHEA-Sが基本的ADLと関連。男性のテストステロンおよびDHEA-S低値が2年後の死亡と関連。（２）アンドロゲン補充療法および代替療法の効果を検討する介入研究：7集団（計200名）を対象とした研究により、1）健常中高年；DHEAは男性の糖代謝、エストロゲンは女性の脂質と内皮機能を改善。2）虚弱高齢者；テストステロン補充療法は男性の認知機能を改善。DHEAは女性の認知機能と基本的ADL、骨塩量を改善。3）運動療法；高齢男女でテストステロン、DHEA-S濃度の増加。高齢女性で認知機能の改善。（３）アンドロゲンの作用機序に関する基礎研究：1）テストステロンの抗動脈硬化作用；アンドロゲン受容体を介した内皮型NO合成酵素の活性化作用と血管平滑筋細胞の石灰化抑制作用。2）DHEAは心筋の酸化ストレス応答性および血管平滑筋細胞の増殖シグナルを抑制。以上より、男性のみならず女性においても、老年病の発症・進展にアンドロゲン低下が深く関与していると考えられる。また、アンドロゲン補充療法および代替療法に老年病の進行予防効果が期待できる。

分担研究者：

熊野宏昭・東京大学大学院医学系研究科心身医学准教授

近藤宇史・長崎大学医歯薬総合大学院分子情報制御教授

神崎恒一・杏林大学医学部高齢医学准教授

寺本信嗣・東京大学大学院医学系研究科加

齢医学講師

堀江重郎・帝京大学医学部泌尿器科学教授

柳瀬敏彦・九州大学大学院医学研究院・

内分泌代謝学 准教授

山田思鶴・老健施設まほろばの郷施設長

若槻明彦・愛知医科大学産婦人科教授

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、高脂血症、骨粗鬆症などの生活習慣病、さらに動脈硬化性疾患や痴呆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。

このような背景から、本研究は高齢者におけるアンドロゲン低下の意義とその治療法の有効性および安全性を明らかにすることを目的とする。そのために、本研究の計画は、(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；健常中高年者から虚弱高齢者まで 8 集団（計 900 名）、(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；健常中高年者から虚弱高齢者

まで 6 集団（計 170 名）、(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 要素から構成した。

B. 研究方法

1. アンドロゲン低下と老年病との関連を検討する横断観察研究

1.-1) 健常中年男性の健康指標とホルモン濃度変化：都内メーカーに勤務する 35～65 歳の男性（2 回の調査で 151 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、健診項目および活力度指標との関連を解析した。また、5 年間隔で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。

1.-2) 健常閉経後女性の高脂血症とアンドロゲン：有経女性、自然閉経女性、有経女性と年齢をマッチした卵巣摘除後女性の 3 群を対象とし、血中テストステロンとエストロン(E1)、エストラジオール(E2)濃度および総コレステロール、中性脂肪、HDL コレステロール、LDL コレステロール濃度を測定した。さらに LDL の律速酵素であるリポ蛋白リパーゼ(LPL)と肝性リパーゼ(H-TGL)活性を測定し、3 群間で比較検討した。

1.-3) 中高年男性患者のアンドロゲン濃度と生活習慣病：30～69 歳の東大老年病科外来男性患者 118 名（49±11 歳）を対象とした。臍周囲径 85 cm 以上で、血圧高値（収縮期 ≥ 130 mmHg または拡張期 ≥ 85 mmHg）、脂質代謝異常（トリグリセリド ≥ 150 mg/dL または HDL コレステロール ≤ 40 mg/dL）、空腹時高血糖（ ≥ 110 mg/dL）のうち 2 つ以上を有する場合を MetS と診断し、また臍周囲径を含む各因子の保有数をカウントした。血清ホ

ルモン濃度とMetSの診断およびその構成要素との関連を解析した。

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) 検査を当教室にて実施した男性症例 (187名、47±15歳) および閉経後女性患者 (115名、57±5歳) を対象とした。血清ホルモン濃度は、早朝空腹採血によりRIA法で測定し、FMDおよび臨床背景との関連について解析検討した。

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、心血管疾患の既往をもたない安定期の患者を組み入れた。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) 検査も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、心不全入院、末梢血管疾患) の発生の有無について調べた。

1.-4) 男性更年期障害患者の更年期指数と唾液中テストステロン: 帝京大学医学部付属病院男性更年期外来を受診した 29 名 (30-65 歳) を対象とした。ホルモン (総および遊離テストステロン、LH、FSH、コルチゾール)、ADAM 質問紙 (Morely)、Aging Males Symptoms Rating Scale (AMS)、熊本健康調査票、国際前立腺症状スコア

(International Prostate Symptom Scale:IPSS)、Diagnostic and Statistical Manual IV (DSM-IV) を記録・測定した。

唾液中テストステロン測定の対象は 20-30 代 22 名 (平均 30.3 歳)、40-50 代 32 名 (平均 53.6 歳)、60 歳以上 24 名 (平均 66.25 歳) の 3 群、計 78 名の健常人ボランティアで、唾液は午前 9 時から午後 9 時まで 2 時間ごとに 7 回、採取し酵素免疫法により測定した。

1.-5) うつ病患者のステロイド分泌: 東京大学医学部附属病院心療内科外来にうつ病の治療目的で通院している 48 歳から 77 歳までの男性患者 16 名、閉経後女性患者 6 名および年齢をマッチさせた閉経後健常者女性 7 名を対象とした。男性では、12 時間以上の絶食後、午前 9 時から午前 10 時までの間に、含嗽後の唾液採取 (2 ml) および静脈血採血 (5 ml) を行い、血液 total testosterone (以下 T)、luteinizing hormone (以下 LH)、follicle stimulating hormone (以下 FSH)、dehydroepiandrosterone sulfate (以下 DHEA-S)、唾液 コルチゾールの測定を行った。女性では、早朝空腹時にホルモン濃度と骨代謝マーカーの測定を行った。うつ病に関する質問紙 (Beck depression inventory (BDI)) および MINI (Mini-International Neuropsychiatric Interview Major Depression Episode) を評価した。

1.-6) 睡眠時無呼吸患者のホルモンと酸化ストレス: 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。

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。
$$ODI = \sum (90 - SaO_2) t \quad (t \text{ は時間 (hour)})$$

EDS の評価；外来初診時に担当医が病歴聴取、身体所見の把握を行うとともに Epworth Sleepiness Scale (ESS) を用いて評価した。血漿オレキシン A 濃度の測定；測定は OREXIN-A RIA KIT (Peninsula laboratories, Inc.) を用いた。測定は対象血漿と抗ウサギペプチド血清にて 4℃で 24 時間インキュベートしたのち、[125 I] 標識した orexin-A を検体に添加して競合反応させ、さらに 4℃にて 24 時間インキュベ

ートした。24 時間後、goat anti-rabbit serum、normal rabbit serum をそれぞれ加え遠心分離 (4℃, 3000 rpm, 20 分間) し、その放射能を測定した。orexin-A 濃度は標準曲線を作成し、血漿中濃度を算出した。酸化ストレスの指標として尿中 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) を測定した。8-OHdG は高感度 ELISA キットにて測定し、同時に尿中のクレアチニンを測定しクレアチニン値で補正した。

酸化ストレスの指標として、末梢血白血球の産生する活性酸素産生を PMA 刺激下と無刺激下で、蛍光発光法で測定した。

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。

1.-7) 男性認知症患者の認知機能と日常生活機能；対象は杏林大学病院もの忘れセンターに通院している患者。

測定項目；身長、体重 (BMI)、血圧、脈波伝播速度 (baPWV)、血液生化学検査として DHEA-S、遊離テストステロン (FT)、総コレステロール (TC)、中性脂肪 (TG)、HDL-コレステロール (HDL-C)、LDL コレステロール (LDL-C)、HbA1c、総合的機能評価として基本的 ADL (Barthel index)、手段的 ADL (IADL)、認知機能 (MMSE, HDS-R)、うつ (GDS15)、意欲 (Vitality Index)。総合的機能評価の 6 項目は初診時以後経年的に評価した。

統計解析；2 群間の比較は t 検定、2 つの連続変数の相関は Pearson の相関係数を求めて解析した。複数の独立変数と従属変数との相関は重回帰分析を用いて解析した。

p<0.05 を有意差ありと判定した。

1.-8) 地域在住超高齢女性の認知機能：牟田病院（福岡市）及び同関連施設に入院、入所中の90歳から103歳の女性50名を対象とした。血中DHEA(-S)濃度と基本的ADL (Barthel index)、認知機能（改訂長谷川式簡易知能評価スケール、HDSR）を評価し、その関連を検討した。

1.-9) 要介護高齢者の日常生活機能：老人保健施設（まほろばの郷、長野県塩尻市）に通所もしくは入所中の男性82名（70-95歳、平均82±7歳）および女性101名（70-93歳、平均81±6歳）を対象とした。血中アンドロゲン濃度（総テストステロン、遊離テストステロン、DHEA、DHEA-S）を測定し、Barthel Index、手段的ADL (Lawton & Brody)、HDSR、GDS、Vitality Index との関係について解析した。

さらに、その後の生命予後に関して追跡調査を行い、ホルモン濃度との関連を解析した。

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

2.-1) 健常中年男性へのDHEA投与：40歳以上の健常ボランティア医師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。

2.-2) 閉経後女性の動脈硬化に対するホルモン補充療法の効果：閉経後女性を対象とし、結合型エストロゲン(CEE)0.625mg/日を3ヶ月間、CEEにMPA 2.5mg/日、5.0mg/

日を3ヶ月間併用投与する3群に分別し、投与前後で脂質濃度、血管内皮機能の指標であるflow mediated vasodilation (FMD)、内因性NO合成酵素阻害物質ADMA、NO賛成指標として亜硝酸/硝酸イオン濃度を測定した。

2.-3) 男性更年期障害患者に対する漢方薬と抗うつ薬の効果：帝京大学医学部付属病院男性更年期外来を受診した患者のうち、同意の得られた症例に薬理的にアンドロゲン増加作用のある漢方薬（八味地黄丸や補中益湯）を3ヶ月間投与し、有効性と安全性を評価した。

2.-4) 男性更年期患者に対するSildenafil投与の効果：加齢男性性腺機能低下症と診断された患者（20名、平均53歳）を対象とした。Sildenafil 50mgを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。

2.-5) 虚弱高齢男性に対するテストステロン補充療法：認知機能障害にて桔梗ヶ原病院通院中の男性10名（71-91歳、平均81±6歳）に対しTestosterone Undecanoate（アンドリオール®）40mg/日の投与を6か月間行った。投与前、投与3か月後、6か月後に血液検査と日常生活機能評価を実施した。対照として、テストステロン非投与の男性10名（63-89歳、平均79±9歳）に同様な評価を行った。

2.-6) 虚弱高齢女性に対するDHEA補充療法：アルツハイマー型認知症もしくは軽度認知機能障害にて桔梗ヶ原病院通院中の女性12名（69-90歳、平均82±6歳）に対し

DHEA カプセル (米国アテナクリニクス社) 25 mg/日の投与を6か月間行った。投与前、投与3か月後、6か月後に血液検査 (早朝空腹時) と日常生活機能評価を実施した。認知機能はHDSR およびMMSE を測定した。対照として、DHEA 非投与の女性16名 (81-89歳、平均83±6歳) に同様な評価を行った。

2.-7) 高齢骨粗鬆症患者に対するDHEA 補充療法の効果: 通院中あるいは介護施設入所中の高齢骨粗鬆症患者4名 (男性1名、女性3名、78-93歳) に対しDHEA カプセル (米国アテナクリニクス社) 25 mg/日の投与を6か月間行った。投与前、投与6か月後に血液検査 (早朝空腹時) と日常生活機能評価、骨密度測定 (Lunar Prodigy、GE Healthcare 社) を実施した。対照として、DHEA 非投与15名 (70-93歳、平均80±6歳) に同様な評価を行った。

2.-8) 中高年者に対する運動療法: 塩尻市桔梗ヶ原病院主催の「肥満・生活習慣病が気になる方のための運動教室」参加者31名 (48-77歳、平均年齢62±8歳、男/女10/21例、メタボリックシンドローム8例) を対象とした。3か月間の運動教室を実施し、前後で採血と各種機能を評価した。運動教室は週2回、1回90分間、運動療法士が指導し、有酸素運動/ストレッチ運動/筋力トレーニングを組み合わせ、強度はボルグの指数で11-13を目標とした。同様な運動を可能な限り毎日自宅で行わせた。

2.-9) 地域在住高齢女性に対する運動療法の効果: 長野県木祖村で実施された転倒予防運動教室に参加した女性39名 (50-80歳、67±8歳) を対象とした。運動教室は月2回開催し、対象者は教室で健康運動指

導士の指導を受けた上で、自宅でのストレッチと筋力運動からなる自主運動を3か月間継続した。開始前と3か月後に血液検査と日常生活機能・運動機能評価を実施した。

3. アンドロゲンの作用機序について検討する基礎研究

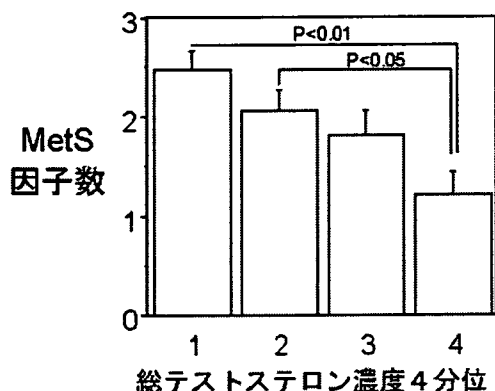
3.-1) テストステロンのNO分泌刺激作用: 培養ヒト大動脈内皮細胞を用い、testosterone刺激 (1 mmol/L) により誘導されるNO産生とその作用機構について検討した。細胞内NOは蛍光NO指示薬DAF-2を細胞に負荷し、細胞外へのNO分泌は培養上清中のNO₂/NO₃をGriess法により測定した。分子機構の解析には、eNOS、ErkおよびAktのリン酸化特異的抗体を用いたウエスタンブロット法により解析した。アンドロゲン受容体 (AR) 阻害は、拮抗薬およびsiRNAにより行った。

3.-2) アンドロゲンの血管石灰化抑制作用: 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テストステロンおよび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。

3.-3) アンドロゲンの抗酸化作用: ラットH9c2心筋芽細胞を用い、過酸化水素を暴露した後に脂質過酸化物の指標として4-hydroxynonenalの生成に及ぼすDHEA前投与の効果を検討した。アポトーシスはMTTアッセイにより、細胞内活性酸素種 (ROS) の濃度はDCFHDAを基質とした蛍光光度法により、細胞質型グルタレドキシシン (GRX) 1、ミトコンドリア型GRX2、チオレドキシシン1 (Trx1) の遺伝子発現はRT-PCR法により測定した。

図1. 中高年男性における総テストステロン濃度とメタボリックシンドローム

(MetS) 因子数との関連. MetS因子: 腹部肥満、血圧高値、脂質異常、血糖高値



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前投与の効果をもつアッセイで検討した。形質転換を測定するために、SM22とSM α -actinの遺伝子発現をquantitative RT-PCR法を用いた。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GRX1のsiRNAを作成して細胞内に導入して検討した。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。

(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. アンドロゲン低下と老年病との関連を検討する横断・縦断観察研究

1.-1) 健常中年男性のホルモン濃度変化と活力度: 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

表1. 中高年男性患者における総テストステロン濃度と血管内皮機能(FMD)との関連.

	標準回帰係数	p値
テストステロン	.328	.000
年齢	-.248	.010
高脂血症	-.191	.026
高血圧	.105	.316
糖尿病	-.130	.140
喫煙	-.235	.010

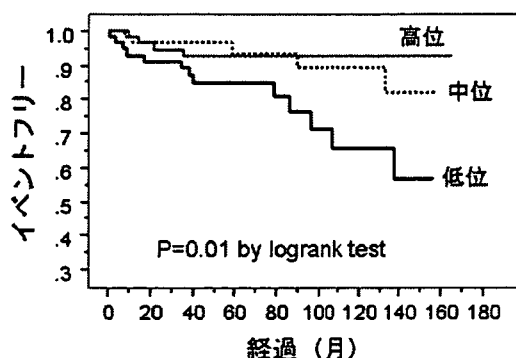
FMDを従属変数とした重回帰分析の結果を示す。

には、有意な関連は見られなかった。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 \pm 130→596 \pm 162 ng/dL, p=0.98)、DHEA-S(212 \pm 84→207 \pm 80 μ g/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。

1.-2) 健常閉経後女性の高脂血症とアンドロゲン: TC、TG、LDL-Cは、自然閉経女性、卵巣摘除後女性で有意に高値を示したが、HDL-Cは差がなかった。LDL-CはE1、E2ともに有意に負の相関を示したが、テストステロンとは関連がなかった。LPL活性は低エストロゲン環境の2群で有意に亢進していたが、H-TGL活性は3群間で差がなかった。

1.-3) 中高年患者のアンドロゲン濃度と生活習慣病: 男性患者のメタボリックシンドローム; 図1に示すように、総テストステロン(T)濃度で4分位すると、低値ほどMetS因子の保有数が多かった。年齢調整したロジスティック回帰分析では、総T濃度4分位で1階層の低下により、MetS診断に対する相対危険度は1.61(95%CI; 1.11-2.34)倍に増加することがわかった。dehydroepiandrosterone-sulfate(DHEA-S)

図2. 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



は、単変量解析ではMetS因子数と関連したが、年齢調整した重回帰分析では有意でなかった。

男性患者の血管内皮機能；総テストステロン、遊離テストステロンおよびDHEA-S濃度はFMD%と正の相関を示したが（それぞれ $r=0.261, 0.354, 0.295, p<0.001$ ）、エストラジオールとコルチゾールは相関しなかった。年齢および高血圧、高コレステロール血症、糖尿病、喫煙の有無（表1）、あるいは年齢、収縮期血圧、LDLコレステロール、HDLコレステロール、ヘモグロビンA1c（ $\beta=0.185, p<0.01$ ）を共変数とした重回帰分析でも、テストステロンはFMD%の独立した規定因子であった。DHEA-Sは、同様な重回帰分析ではFMD%の有意な規定因子でなかった。テストステロン濃度で4分位すると、最上位群のFMD%は最下位群の1.5倍であった（ 5.9 ± 4.1 vs. $3.9\pm 2.4, p<0.05$ ）。

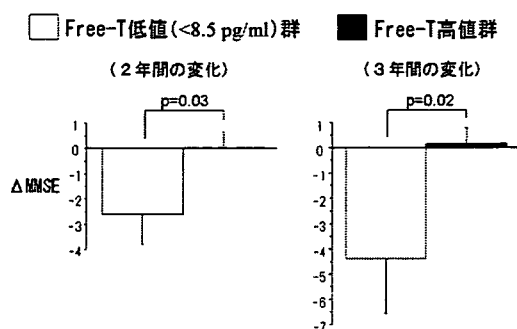
閉経後女性患者の血管内皮機能；単変量解析では、DHEA-S濃度はFMD%と正の相関を示したが、総テストステロン、エストラジオールおよびコルチゾールとは相関しなかった。年齢および高血圧、高コレステロール血症、糖尿病、喫煙の有無、あるいは年齢、収縮期血圧、LDLコレステロール、HDL

コレステロール、空腹時血糖、喫煙の有無（ $\beta=0.291, p<0.05$ ）を共変数とした重回帰分析でも、DHEA-SはFMD%の独立した規定因子であった。DHEA-S濃度で4分位すると、最上位群のFMD%は最下位群の1.8倍であった（ 5.3 ± 1.3 vs. $2.9\pm 2.0, p<0.05$ by Bonferroni test）。

男性患者の心血管イベント；平均76（中央値54）か月の追跡期間中、23名に心血管イベントが発生した。各ホルモン濃度で症例を3分位して、イベント発生との関連につい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一上位群に比べてイベント発生が有意に多かった（図2）。同様に、DHEA-Sも低値群は中一上位群に比べてイベントが多くみられた（ $p<0.05$ 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。危険因子で調整したCox比例ハザード回帰分析を行ったところ、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（中一上位に対する相対リスク3.9、95%信頼区間1.5-10.3、 $p<0.01$ ）。また、加齢（60歳以上）、肥満（BMI27以上）、高血圧、糖尿病、脂質異常、喫煙、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（95%信頼区間1.1-7.2、 $p<0.05$ ）。

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

図3. 物忘れ外来患者の遊離テストステロン値と認知機能 (MMSE) の変化



かった。

1.-4) 男性更年期障害患者の更年期指数と唾液中テストステロン：血中総テストステロン値は、369ng/dl (253.3-754.2)、遊離テストステロン値は10.5pg/ml (6.7-15.5)であった。テストステロン濃度と自覚症状質問紙であるAMSスコアとの相関は認めなかった。

唾液中テストステロンは、すべての時間帯で40-50代が最も低値傾向であり、午後7時を除くすべての時間帯で20-30代を有意に下回った。60歳以上では20-30代に比べ、午前9時と午後3時のみが有意に低値を示した。20-30代及び40-50代では日内変動が認められたが、60歳以上では日内変動は認めなかった。

1.-5) うつ病患者のステロイド分泌：男性被験者は16名（大うつ病性障害11名、双極Ⅱ型障害4名、気分変調性障害1名；年齢 64.5 ± 8.7 歳 (mean \pm SD))。65歳超のold-age群(7名)では、65歳以下のmiddle-age群(9名)と比較して、BDI得点では有意差がなかったが、LHが有意に高く [7.06 (1.52-10.44) mIU/ml vs 3.62 (1.31-4.88) mIU/ml [median(min-Max)]] ($p < 0.05$)、DHEA-Sが有意に低い [69 (38-207) μ g/ml vs 142 (74-247) μ g/dl] ($p < 0.05$)など、2群

間でホルモンバランスが異なっていたため、年代別の解析も試みた。唾液コルチゾールは、middle-age群では、LH、FSHとの関連は認められなかったが、old-age群では、下垂体レベル（少なくともFSH）でHPG系と正の相関を認めた (LH: $r=0.629$, $p=0.13$, FSH: $r=0.941$, $p < 0.01$)。DHEA-Sは、middle-age群では、LH、FSHとの関連は認められなかったが、old-age群では、LH、FSHを従属変数、唾液コルチゾールおよびDHEA-Sを説明変数として重回帰分析をすると、DHEA-Sでも下垂体レベル（少なくともFSH）で負に相関が認められた (LH: $\beta = -0.403$, N.S., FSH: $\beta = -0.378$, $p < 0.05$)。全対象者に対し、Tを従属変数、LHおよびDHEA-S、コルチゾールを説明変数として重回帰分析をすると、DHEA-S、唾液コルチゾールともに、Tとの有意な負の相関を認めた (DHEA-S: $\beta = -0.363$, $p < 0.01$, 唾液コルチゾール: $\beta = -0.313$, $p < 0.05$)。

閉経後女性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うつ病1名（部分寛解 1名）であった。BDI得点とE1は、有意に負に相関した ($r = -0.608$, $p = 0.028$)。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。 ($r = 0.503$, $p = 0.080$)。E1とosteocalcinは、有意に正に相関した ($r = 0.605$, $p = 0.028$)。Tとosteocalcinの間に有意な相関は認められなかった ($r = -0.406$, $p = 0.169$)。

1.-6) 睡眠時無呼吸患者のホルモンと酸化ストレス：血漿orexin-A濃度は、PSG上の覚醒指数と相関し、覚醒指数が高いほど早朝覚醒直後の血漿 orexin-A濃度が低値

表2. 虚弱高齢男性におけるアンドロゲン濃度と日常生活機能の関連

	Total-T	Free-T	DHEA-S	DHEA	E2
Barthel index	0.301**	0.339**	0.127	0.017	0.074
Instrumental ADL	0.254*	0.398**	0.178	0.149	0.144
HDS-R	0.354**	0.472**	0.257*	0.324*	0.114
GDS	-0.053	-0.104	0.036	0.102	-0.165
Vitality index	0.228*	0.407*	0.125	0.204	0.208

年齢調整した標準回帰係数を示す。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Total-T, total testosterone; Free-T, free testosterone; DHEA-S, dehydroepiandrosterone sulfate; DHEA, dehydroepiandrosterone; E2, estradiol; ADL, activities of daily living; HDS-R, Hasegawa Dementia Scale-Revised; GDS, Geriatric Depression Scale-15 items.

を示した。nCPAP治療によりorexin-A濃度は増加し、特に重症群で顕著であった。

非重症OSAS患者 (AHI<30) と比較して、重症OSAS患者 (無呼吸低呼吸指数 (AHI) \geq 30)) において8-OHdGは有意に高値を示した。さらに60歳未満と60歳以上で比較すると、どちらの年齢層でも、OSAS患者は、尿中8-OHdGが有意に高いことが判明した。重回帰分析の結果、AHIと3% oxygen desaturation indexは酸化ストレスに影響を及ぼす他の交絡因子に独立して8-OHdGと相関を示した。年齢は、OSAS患者において酸化ストレスのマーカー尿中8-OHdGの独立した危険因子ではなかった。

血漿ADM値、活性酸素産生は対照 (非無呼吸) 群に比べて無呼吸群で有意に高かった。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。また、CPAP治療で改善した。

1.-7) 男性認知症患者の認知機能と日常生活機能:

(1) 初年度: 男性 105 例 (76.8 \pm 7.1 歳; 平均 \pm 標準偏差)、女性 89 例 (75.6 \pm 8.9 歳) を対象に横断的な解析を行った。男性 105 名の遊離テストステロン (FT) 値は 8.3 \pm 3.3 pg/ml で加齢に伴う低下が認められた ($r = -0.39$, $p < 0.0001$)。女性 89 例の FT 値は 0.45 \pm 0.35 pg/ml で、うち 70 例は測定感度以下 (<0.6 pg/ml) であった。

次に、男性の DHEA-S 値は 843 \pm 582

表3. 虚弱高齢女性におけるアンドロゲン濃度と日常生活機能の関連

	Total-T	DHEA-S	DHEA	E2
Barthel index	0.120	0.225*	0.288**	-0.068
Instrumental ADL	-0.003	0.041	0.166	0.052
HDS-R	-0.028	0.038	-0.037	0.120
GDS	-0.008	-0.066	-0.012	0.052
Vitality index	-0.060	0.140	0.039	0.043

年齢調整した標準回帰係数を示す。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Total-T, total testosterone; DHEA-S, dehydroepiandrosterone sulfate; DHEA, dehydroepiandrosterone; E2, estradiol; ADL, activities of daily living; HDS-R, Hasegawa Dementia Scale-Revised; GDS, Geriatric Depression Scale-15 items.

ng/ml で、加齢に伴う低下が認められた ($r = -0.54$, $p < 0.0001$)。女性の DHEA-S 値は 712 \pm 434 ng/ml で、加齢に伴う低下は認められなかった ($r = -0.09$, $p = 0.4$)。男女とも FT と DHEA-S との間に有意な正相関が認められた (男性 $r = 0.27$, $p = 0.005$ 、女性 $r = 0.53$, $p < 0.0001$)。

総合的機能と FT との関係を解析した結果、男性において MMSE ($r = 0.29$, $p = 0.006$)、HDS-R ($r = 0.22$, $p = 0.03$) との間にそれぞれ有意な正相関が認められたが、GDS、Vitality Index、BADL、IADL との間には相関は認められなかった。また、総合的機能と DHEA-S との関係では、男性においては、いずれの機能との間にも有意な相関は認められなかった。一方、女性においては FT と総合的機能、DHEA-S と総合的機能のいずれにも相関は認められなかった。認知機能は加齢とともに低下するので、男性において MMSE または HDS-R を従属変数、FT と年齢の 2 つの因子を独立変数として重回帰分析を行ったところ、年齢は MMSE の決定因子であったが、FT は決定因子としては残らなかった。

(2) 二年次、三年次

二年次以降は、初診時の FT と各総合的機能の経年変化との関連を解析した。二年次は FT と各機能の 1 年後の変化との関係を見るにとどまり、その結果、いずれの機能とも FT は相関を示さなかった。

表4. 健常中高年男性(N=11)へのDHEA 25mg投与による代謝関連マーカーの変動

		0週	4週	12週	24週
FBS (mg/dl)	平均	114.8	104.3	110.8	110.5
	標準偏差	25.3	31.0	31.1	25.8 ^a
HbA _{1c} (%)	平均	5.38	5.30	5.30	5.29
	標準偏差	0.94	1.0	0.95	0.87
HOMA-R	平均	2.66	1.87	2.14	2.50
	標準偏差	1.71	1.38	1.46	1.57
LDL (mg/dl)	平均	134.4	135.9	136.5	137.7
	標準偏差	20.2	15.9	16.2	18.2
HDL (mg/dl)	平均	61.5	62.5	64.6	64.3
	標準偏差	11.7	11.4	13.6	11.3
遊離脂肪酸 (mEq/L)	平均	0.47	0.46	0.41	0.35
	標準偏差	0.17	0.15	0.14	0.09 ^b
アディポネクチン (μ g/ml)	平均	7.9	8.4	7.6	7.9
	標準偏差	4.3	4.8	3.8	4.0

^aP=0.06 vs 0週 ^bP=0.07 vs 0週

続いて、三年次も症例を追加するとともに、2年後以降の経年変化とFTとの関係を引き続き解析した。対象として147名の高齢“もの忘れ”男性(平均年齢76.9 \pm 8.0歳)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 \pm 3.8 pts vs. HFT群23.8 \pm 3.7 pts, p<0.05), IADL(LFT群:3.5 \pm 1.2 pts vs. HFT群4.1 \pm 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、二年次と同様、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 \pm 3.6 pts vs. HFT群-0.07 \pm 2.9 pts)、2年後(LFT群:-2.6 \pm 4.9 pts vs. HFT群0.0 \pm 3.3 pts, p<0.05)、3年後(LFT群:-4.4 \pm 5.7 pts vs. HFT群+0.2 \pm 2.3 pts, p<0.05)の時点でLFT群において点数の低下が認められる一方、HFT群では点数の低下は認められなかった(図3)。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。

1.-8) 地域在住超高齢女性の認知機能: DHEA-S濃度と年齢との相関は認めず、80%

は40歳代女性の正常下限値を超え、5名は20歳代女性の正常下限値をも超えた。単変量解析でも多変量解析でも、HDS-は血中DHEA-Sあるいは、DHEA値と5%のレベルで相関性を認めた。

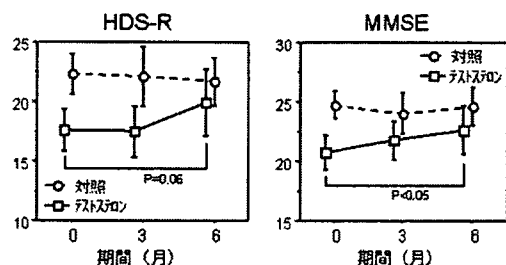
1.-9) 要介護高齢者の日常生活機能: 男性の総テストステロンおよび遊離テストステロン濃度は、GDS以外の日常生活機能評価項目と有意な正相関を示し、年齢補正しても同様であった(表2)。一方、DHEAおよびDHEA-S濃度は認知機能とのみ関連し、エストラジオールはどの項目とも関連しなかった。女性では、総テストステロンとエストラジオールはどの項目とも関連せず、DHEAとDHEA-Sは基本的ADL指標とのみ関連した(表3)。これらの関連は、さらに栄養指標(血清アルブミン、総コレステロール)を加えた多変量分析でも同様であった。

男性症例の予後調査では、平均追跡期間は3.1年、死亡22名(肺炎8名、心不全5名、脳血管障害3名)、生存39名、不明4名であった。テストステロン濃度で症例を3分位した生存分析では、遊離T下位1/3(<5 pg/ml)の群で、遊離T>5 pg/mlの群に比べて有意に生存率が低かった(p=0.03 by Logrank test)。しかし、ADLや意欲、認知機能を共変量に入れた比例ハザードモデルでは、遊離Tレベルによる生存率の差は有意ではなかった。

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

2.-1) 健常中高年男性へのDHEA投与効果: 投与期間中、PSAを含めて有意な副作用は認めなかった。血清DHEA-Sは4、12、24週の全てにおいて、 Δ 4-Aは4週で有意な上昇を認めた。また血中Tは24週においてのみ、

図4. 軽度認知機能障害を有する高齢男性に対するテストステロン補充療法の効果

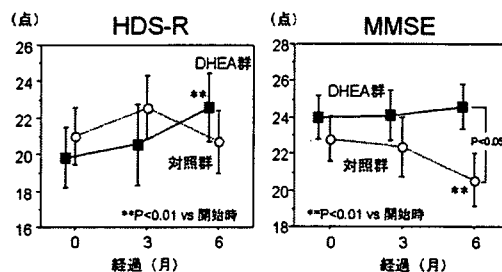


E2 は4週においてのみ有意な上昇を認めた。血中cortisol値、IGF-1値には有意な変動を認めなかった。また測定した糖代謝指標、脂質代謝指標、接着分子には有意な変化がみられなかった(表4)。

2.-2) 閉経後女性の動脈硬化に対するホルモン補充療法の効果: CEE単独群、CEE+MPA併用量群いずれもLDLコレステロールは同様の有意な低下を示した。HDLコレステロールはCEE単独群で有意な上昇を示したが、MPAの併用量と用量依存的に低下し、MPA5.0mgの群では投与前と有意差のないレベルまで低下した。FMDはCEE単独群で有意な上昇を示したが、MPAの併用量と用量依存的に低下し、MPA 2.5mgの群で投与前と有意差のないレベルまで低下した。亜硝酸/硝酸イオン濃度もFMDと同様にCEE単独群で上昇したが、MPAの併用量と用量依存的に低下した。一方、ADMAはエストロゲン単独群で低下したが、MPAを併用しても変化はなかった。

2.-3) 男性更年期障害患者に対する漢方薬と抗うつ薬の効果: 29名中8名はうつ病と診断された。1名は薬物療法を行わず、1名はテストステロン補充療法を実施、その他の27名は漢方薬もしくは抗うつ薬を投与された。漢方薬単独は14名、抗うつ薬単独2名、併用11名であった。症状の推移が追跡可能であった10名のうち8名で症状が軽快

図5. 軽度認知機能障害を有する高齢女性に対するDHEA補充療法の効果



し、10名のAMS総スコアは平均44から35に減少した。

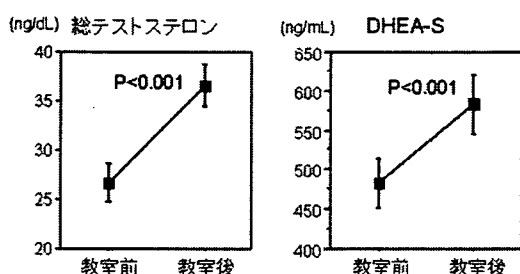
2.-4) 男性更年期患者に対するSildenafil投与の効果: 6ヶ月後の血清総テストステロン($p=0.035$)、及び唾液テストステロン($p<0.001$)は有意に増加しており、IIEF-5 score 及びAMS score ともに改善が見られた。

2.-5) 虚弱高齢男性に対するテストステロン補充療法: 治療前と6か月後の比較では、補充療法群にPSA濃度 ($1.5 \pm 0.4 \text{ ng/mL}$ から $1.4 \pm 0.4 \text{ ng/mL}$) や肝機能の有意な変化無く、その他の有害事象もみられなかった。テストステロンの投与量が少ないせい、遊離テストステロン濃度も有意には増加していなかった。

認知機能については、補充療法群でMMSEは有意に増加し、HDSRも増加傾向を認めた(図4)。対照群では6か月間に有意な変化はなかった。その他の日常生活機能については、開始時に比較的保たれていたせい、群間の有意差や6か月間の有意な変化はみられなかった。

2.-6) 虚弱高齢女性に対するDHEA補充療法: 認知機能やBarthel Indexを含む研究開始時の症例背景には両群間で有意差はみられなかった。血清ホルモン濃度は、治療前に比べて補充療法群では3か月後に有意な変化を示したのに対し、対照群では変化が

図6. 地域在住高齢女性に対する運動教室のアンドロゲン増加効果.



みられなかった。補充療法群の治療前と6か月後の比較では、DHEA-S濃度のみならず、総テストステロンも有意に増加していたが、エストラジオールには有意な変化がみられなかった。

認知機能については、対照群のHDSRは6か月間に变化せず、MMSEは有意に低下したのに対して、補充療法群のHDSRは治療前に比べて6か月後に有意に増加し、MMSEは有意な変化がなかった(図5)。結果的に、6か月後のMMSEは対照群に比べて補充療法群の方が有意に高かった。認知機能スケールを各カテゴリー別にみると、言語流暢性(野菜の名前)は有意に改善($p < 0.05$)、場所の見当識と遅延再生は改善傾向($p < 0.1$)であった。

その他の日常生活機能では、Barthel Indexが対照群で6か月間に有意に低下し、その結果、終了時には補充療法群に比べて有意に低値であった。手段的ADL、GDS、Vitality Indexには群間の有意差や6か月間の有意な変化はみられなかった。

また、試験期間中、補充療法群に臨床検査値異常や自他覚的有害事象はみられなかった。

2.-7) 高齢骨粗鬆症患者に対するDHEA補充療法の効果：大腿骨骨密度については、対照群では6か月間に $0.656 \pm 0.149 \text{ g/cm}^2$ か

ら $0.643 \pm 0.15 \text{ g/cm}^2$ へと有意に低下したのに対して、DHEA補充療法群の骨密度は治療前($0.355 \pm 0.099 \text{ g/cm}^2$)に比べて6か月後に増加傾向($0.588 \pm 0.097 \text{ g/cm}^2$)を示した。また試験期間中、DHEA補充療法群に臨床検査値異常や自他覚的有害事象などはみられなかった。

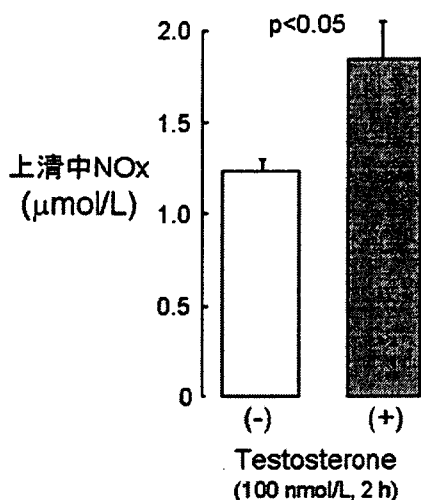
2.-8) 中高年者に対する運動療法：3か月の運動療法後、体重、ウエスト周囲径、内臓脂肪面積は有意に減少した。一方、ホルモン濃度については、DHEA-S($792 \pm 72 \text{ ng/mL}$ から $1006 \pm 123 \text{ ng/mL}$, $p < 0.01$)およびコルチゾール($9.1 \pm 0.6 \mu\text{g/dL}$ から $13.9 \pm 0.9 \mu\text{g/dL}$, $p < 0.01$)が有意に増加したのに対し、総テストステロン、エストラジオールには有意な変化がなかった。男女別の解析でも同様であった。またDHEA-Sの変化と特に関連した身体計測項目は認めなかった。

2.-9) 地域在住高齢女性に対する運動療法の効果：運動教室の前後で比較すると、総テストステロンは37%、DHEASは21%の有意な増加を示した(図6)。また、timed Up & Go test(-0.8 ± 1.2 秒)、HDSR($+1.2 \pm 2.5$ 点)、MMSE($+1.5 \pm 2.2$ 点)、GDS-15(-0.6 ± 1.5)は有意に改善した。さらに、体重($-2.0 \pm 2.7 \text{ kg}$)、収縮期血圧($-8.5 \pm 15.2 \text{ mmHg}$)は有意に低下し、HbA1cは有意ではないものの低下の傾向を示した。一方、これら改善項目の変化量とホルモン変化量との間には有意な相関はみられなかった。

3. アンドロゲンの作用機序について検討する基礎研究

3.-1) テストステロンのNO分泌刺激作用：テストステロン添加後10分には培養血管内皮細胞内のNO産生が認められ、テストステロン添加2時間後の上清中NO₂/NO₃濃度

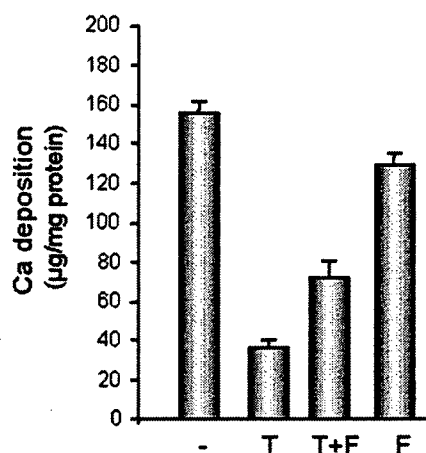
図7. テストステロンによるNO分泌刺激作用.



は有意に増加した (図7)。内皮型NO合成酵素 (eNOS) の活性は、テストステロン添加後15分をピークに、またテストステロンの濃度依存性に増加した。各種拮抗薬を用いた検討により、テストステロンのeNOS活性化は、アンドロゲン受容体/Erk経路とPI3/Akt経路を介することがわかった。また、内皮細胞にはARタンパクが豊富に発現していることがわかった。AR拮抗薬NilutamideもしくはsiRNA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。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。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。

3.-2) アンドロゲンの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

図8. 高リン刺激による培養血管平滑筋細胞の石灰化とテストステロンの抑制効果. T, testosterone 1 μmol/L F, flutamide 10 μmol/L



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 (図8)。培養ヒト大動脈平滑筋細胞にはやはりARが豊富に発現していた。リン刺激によって減少するgas6/Axl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。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。

3.-3) アンドロゲンの抗酸化作用：の18時間前処理により、過酸化水素で処理後のAkt活性は対照の約2.5倍に上昇し下流のFoxo3リン酸化を増強した (図9)。この作用はアロマターゼ阻害剤に影響されないため、エストロゲンに変換されて作用を発揮するわけではないと考えられた。DHEAはGRX1, GRX2, Trx1, グルタチオン合成酵素、γ-GCSの遺伝子発現を誘導した。GRX1の

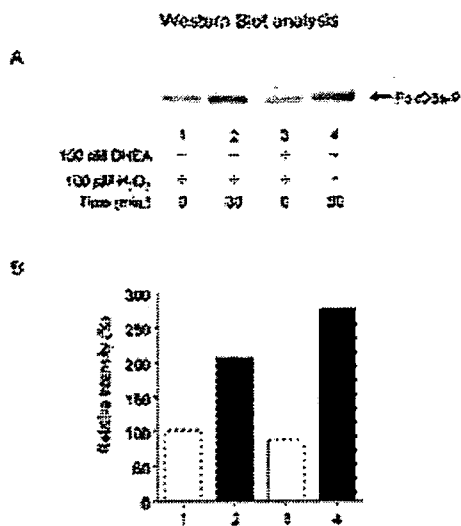


図9. 酸化ストレスに対するDHEAの保護作用

A. 心筋細胞H9c2細胞を100nM DHEAで18時間前処理すると100 μM過酸化水素によるFoxO3のリン酸化を増強した。B. Aの結果を比較強度で表した。

siRNAを細胞に導入すると、DHEAによる細胞保護効果が減少した。このことは、DHEAがGRX1による細胞のレドックス制御を介して抗酸化ストレスに働いていることを示している。

DHEA前処理により、PDGF-BBによる細胞増殖は濃度依存性に抑制された。また、PDGF-BBで誘導されるSM22とSM α -actinの遺伝子発現低下をDHEAは阻害した。PDGF受容体(PDGFR β)チロシンのリン酸化はDHEA前投与で低下した。DHEAはGRX1と γ -GCSの遺伝子発現を上昇させた。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。このことから、PDGF β 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。

D. 考察

本研究は、加齢とともに低下する男性ホルモンつまりアンドロゲンが生活習慣病、うつ病、認知症など老年病・老年症候群の

発症・進展に果たす役割を解明し、老年病の予防と治療における新規介入方法を探索することを目的とする。研究計画は、(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。アンドロゲンの意義は年齢など症例背景により異なることが予想され、実効性のある結果を得るためにも診療科を横断して調査研究することが重要である。そのため、研究班はホルモン研究に実績のある老年科(秋下、神崎、寺本、山田)、内分泌科(柳瀬)、心療内科(熊野)、泌尿器科(堀江)、婦人科(若槻)、生化学(近藤)の専門家より構成した。

平成17-19年度に、背景の異なる9集団(計900名)を対象にアンドロゲン低下と各種疾患指標および機能評価指標(日常生活機能、精神機能など)を用いた横断・縦断研究を実施した結果、1) 健常中高年; 男女とも糖脂質代謝とホルモン濃度は関連なし。2) 生活習慣病; 男性のテストステロン濃度、女性のDHEA-S濃度が血管内皮機能およびメタボリックシンドローム指標と独立した関連した。男性のテストステロン低値が6年間の心血管イベントと関連した。3) うつ病; 男女でホルモン分泌能に異常がみられた。4) 認知症; 男性のテストステロン濃度が認知機能およびその2-3年の変化と関連した。5) 地域在住超高齢女性; DHEA-S濃度が認知機能と関連した。6) 要介護高齢者; 男性のテストステロンが日常生活機能全般と、女性のDHEA-Sが基本的ADLと関連。男性のテストステロンおよび

DHEA-S低値が2年後の死亡と関連した。

以上の結果から、老年疾患と血中アンドロゲンレベルとの関係は一様でなく、対象の性・年齢、疾患の種類、病期などによって異なると考えられた。例えば、健常中年男性では、全体のアンドロゲンレベルが高く維持され、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。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10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歳の健常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、生活習慣病から致死的な疾患や障害、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、健常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。

本研究では、3集団を対象に、ホルモン補充療法の効果とその安全性について評価し、以下の結果を得た。

1) 健常中高年；DHEAは男性の糖代謝、エストロゲンは女性の脂質と内皮機能を改善した。2) 虚弱高齢者；テストステロン補充療法は男性の認知機能を改善した。DHEAは女性の認知機能と基本的ADL、骨塩量を改善した。3) 運動療法；高齢男女でテストステロン、DHEA-S濃度を増加させた。高

齢女性で認知機能が改善した。

健常中高年男性に対するDHEA補充療法は、症例を増やした結果、糖代謝の改善傾向を認めた以外には好ましい効果がみられなかったが、副作用も無かった。上記の観察研究同様に、アンドロゲン低下が顕在化しない段階では明らかな補充療法のベネフィットが得られないのかもしれない。最近JAMAに報告されたオランダの無作為割り付け試験でも、テストステロン濃度が中央値以下の健常高齢者（60～80歳）に対するテストステロン補充療法は腹部肥満を改善する以上の効果を発揮しなかった。

一方、軽度認知機能低下を示す虚弱高齢男性に対するテストステロン補充療法と虚弱高齢女性に対するDHEA補充療法は認知機能を改善した、さらに、虚弱高齢女性に対するDHEA補充療法はADLの改善と骨粗鬆症にも有効性が期待できることがわかった。しかし、男女共に対象数が少なく、一般化するにはもう少し対象を広げてアンドロゲン補充療法効果を検証するべきであろう。女性でも病態や年齢によりアンドロゲン投与が悪影響を及ぼす可能性があるが、アンドロゲン作用のある酢酸メドロキシプロゲステロンによる脂質代謝と血管内皮機能の悪化はその一例かもしれない。

アンドロゲン補充療法にはまだ良い製剤が無く、入手が限られている。また、ステロイドホルモンの使用には抵抗感のある高齢者も多く、その代替療法も求められている。その点、運動療法によるアンドロゲン増加効果は運動の多面的効果を説明する作用機序を呈示するものかもしれない。勃起障害（ED）治療薬として使われるPDE5阻害薬Sildenafilの長期投与によりテストステ

ロン濃度が増加するという結果も得られた。これは、EDの改善に起因する心因反応による副次的効果かもしれないが、興味深い。

アンドロゲン補充療法が我が国でほとんど実施されていない理由の一つとして作用機序が不明な点が挙げられ、作用機序解明のための基礎研究を実施し、以下の結果を得た。

1) テストステロンの抗動脈硬化作用；アンドロゲン受容体を介したNO産生刺激作用と血管平滑筋細胞の石灰化抑制作用。2) アンドロゲンの抗酸化作用；DHEAによる心筋の酸化ストレス応答性および血管平滑筋細胞の増殖シグナル抑制作用。

アンドロゲンのNO産生刺激作用は、血管保護／動脈硬化抑制作用のみならず、メタボリックシンドロームなどの生活習慣病予防や老年病予防へとつながっていく幅広い効果を示唆する。アンドロゲンによる血管石灰化抑制作用は、動脈硬化という老化プロセスの中心的病態に関わる現象であり、中高年者の初期血管障害から老年期の心血管イベントまで幅広く関与すると考えられる。さらに、アンドロゲンの抗酸化作用は、メタボリックシンドロームや動脈硬化に加えて、老化そのものにも関係する。このような結果から、概してアンドロゲンは老化や老年病に対して抑制的に作用することが考えられる。今後、上記臨床研究の結果を理論的に説明できるような基礎研究を追加していくことが重要と思われる。

E. 結論

男性のみならず女性においても、老年病の発症・進展にアンドロゲン低下が深く関与していると考えられる。また、アンドロ

ゲン補充療法とその代替療法に老年病の進行予防効果が期待できる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Arai H, Akishita M, Teramoto S, Arai H, Mizukami K, Morimoto S, Toba K. Incidence of adverse drug reactions in geriatric units of university hospitals. *Geriatr Gerontol Int* 5:293-297, 2005.
- 2) Akishita M, Nagai K, Xi H, Yu W, Sudoh N, Watanabe T, Ohara-Imaizumi M, Nagamatsu S, Kozaki K, Horiuchi M, Toba K. Renin angiotensin system modulates oxidative stress-induced endothelial cell apoptosis in rats. *Hypertension*. 45:1188-93, 2005.
- 3) Akishita M, Yamada S, Nishiya H, Sonohara K, Nakai R, Toba K. Effects of physical exercise on plasma concentrations of sex hormones in elderly women with dementia. *J Am Geriatr Soc* 53:1076-7, 2005
- 4) Oishi Y, Ozono R, Yoshizumi M, Akishita M, Horiuchi M, Oshima T. AT2 receptor mediates the cardioprotective effects of AT1 receptor antagonist in post-myocardial infarction remodeling. *Life Sci*. 2006;80:82-8.
- 5) Suzuki Y, Akishita M, Arai H, Teramoto S, Morimoto S, Toba K. Multiple consultations and polypharmacy of patients attending geriatric outpatient

- units of university hospitals. *Geriatr Gerontol Int.* 6:244-247, 2006.
- 6) Son BK, Kozaki K, Iijima K, Eto M, Kojima T, Ota H, Senda Y, Maemura K, Nakano T, Akishita M, Ouchi Y. Statins protect human aortic smooth muscle cells from inorganic phosphate-induced calcification by restoring Gas6-Axl survival pathway. *Circ Res* 98:1024-31, 2006.
- 7) Ota H, Tokunaga E, Chang K, Hikasa M, Iijima K, Eto M, Kozaki K, Akishita M, Ouchi Y, Kaneki M. Sirt1 inhibitor, Sirtinol, induces senescence-like growth arrest with attenuated Ras-MAPK signaling in human cancer cells. *Oncogene.* 25:176-85, 2006.
- 8) Yu W, Akishita M, Xi H, Nagai K, Sudoh N, Hasegawa H, Kozaki K, Toba K. Angiotensin converting enzyme inhibitor attenuates oxidative stress-induced endothelial cell apoptosis via p38 MAP kinase inhibition. *Clin Chim Acta.* 364:328-334, 2006.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) 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
- 12) 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.
- 13) 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.
- 14) 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.
- 15) 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* (in press).
- 16) Akishita M, Hashimoto M, Ohike Y,