

厚生労働科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

高齢者の性ホルモン低下に伴う各種合併症に関する臨床研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 並木 幹夫

平成20（2008）年 3月

# 目 次

## I. 総括研究報告

- 高齢者の性ホルモン低下に伴う各種合併症に関する臨床研究 1  
並木 幹夫

## II. 分担研究報告

1. LOH 症候群に対するバイオ診断チップの開発に関する研究 7  
民谷 栄一
2. LOH 症候群に対する ART の有用性に関する研究 11  
高 榮哲
3. LOH 症候群における遺伝子多型と ART の治療感受性遺伝子同定に関する研究 17  
小中 弘之

### 資料1

- 臨床試験実施計画書(スクリーニング試験) 21  
「中高年男性における前立腺特異抗原(PSA)と遊離型テストステロン(Free-T)  
との相関および運動習慣の有無に関する臨床試験」

### 資料2

- スクリーニング試験の説明文書および同意文書 35

### 資料3

- スクリーニング試験症例登録票 42

### 資料4

- 運動習慣に関わる質問紙 43

### 資料5

- スクリーニング試験案内ポスター 44

### 資料6

- 臨床試験実施計画書(本試験) 45  
「加齢男性性腺機能低下(LOH)症候群におけるアンドロゲン補充療法(ART)  
の有用性に関する臨床試験」

### 資料7

- 本試験の説明文書および同意文書 67

### 資料8, 9, 10

- 本試験症例仮登録票, 本試験開始報告書, 本試験中止報告書 83

### 資料11

- 本試験参加者用携帯カード 86

### 資料12

- 質問紙冊子 87

# 厚生労働科学研究費補助金(長寿研究事業)

## 総括 研究報告書

### 高齢者の性ホルモン低下に伴う各種合併症に関する研究

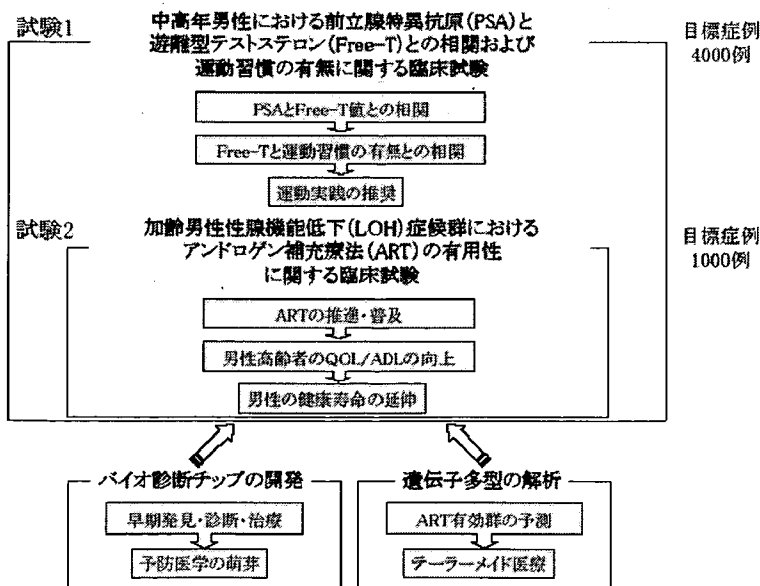
主任研究者 並木幹夫 金沢大学大学院医学系研究科集学的治療学 教授

#### 研究要旨

従来から顕在するホルモン補充療法における“性差”を是正すべく、加齢に起因するアンドロゲン低下に伴う加齢男性性腺機能低下(Late-Onset Hypogonadism: LOH)症候群に着目し、その推奨治療であるアンドロゲン補充療法(ART)の有効性を前向きランダム化比較試験(RCT)によって検証する。本研究によってEBMに基づいた適正なARTを確立、普及させることは、高齢男性のQOLを高めるとともに健康寿命の延伸に寄与し、超高齢社会における大きな福音になりうると考えられる。

#### A. 研究目的

### 本プロジェクトの全体構想



人口の高齢化に伴い、高齢男性のQOLの質が問われており、近年は学際的な視点から各種取り組みがすすめられている。その一環としてアンチエイジング医療が脚光を浴びるなか、高齢男性の性ホルモン低下に起因する合併症に対する医療の必要性が認識されつつある。従来から、ホルモン補

充療法に対する取り組みには大きな性差が存在し、更年期女性に対するエストロゲン補充療法が広く普及してきた一方で、男性に対する ART は未だ発展途上にある。これまで高齢男性のアンドロゲン低下は“加齢に伴う一般現象”と単に理解され、医療行政からも顧みられることなく、あまり医療の対象にならなかった。また、一部の医療機関では ART の有用性に関するエビデンスが欠落したまま、男性更年期障害という経験的な診断に基づいて ART が施行されていた。

そこで本研究では、まず高齢男性の性ホルモン低下に起因する諸症候を呈する病態である LOH 症候群という新しい概念を世に浸透させるべく、「LOH 症候群診療の手引き」を作成した。次に、その治療方針で推奨する ART の LOH 症候群に対する有効性を検証する目的で、国内の大学病院を中心とした多施設共同大規模 RCT を計画した。この臨床試験は、低テストステロン値を呈する中高年男性を対象とし、テストステロン投与群と非投与(コントロール)群の 2 群に無作為化し、ART の治療効果を比較検討するものである。治療効果については、自覚症状の改善を各種質問紙にて、他覚徴候の改善度を脂質代謝、糖代謝、骨代謝に関連した各種マーカーによって評価する。また、軽度の糖尿病、高血圧症、高脂血症、あるいは虚血性心疾患を有する内科加療中の低テストステロン値を呈する症例において、各疾患に対する標準治療に ART を併用することの有用性を検証する。本研究によって、LOH 症候群に対する関心が高まり、その治療法としての ART が確立され、普及すれば、高齢男性における QOL の改善や ADL の高い維持が可能となり、男性の健康寿命を延伸させると共に、長寿社会における医療費の削減にも寄与できると考えられる。

さらに副研究として、1) ナノテクノロジーを利用した、LOH 症候群の早期発見、早期治療を目指したバイオ診断チップの開発、2) テーラーメイド医療を念頭に置いた、ART の有効性を規定する遺伝子の同定とその遺伝子多型の解析、を本研究課題の中で実施する。

## B. 研究方法

主研究:

1. 中高年男性における前立腺特異抗原(PSA)と遊離型テストステロン(Free-T)との相関および運動習慣の有無に関する臨床試験(スクリーニング試験)
2. 加齢男性性腺機能低下(LOH)症候群におけるアンドロゲン補充療法(ART)の有用性に関する臨床試験(本試験)

【試験計画】国内の大学病院を中心とした多施設共同の大規模 RCT で、3 年計画で最初半年間の準備期間を経てその後1年間を症例の組み入れ期間とし、最後半年はデータ解析に充てる。LOH 症候群に対する ART の有効性を検証する大規模 RCT (テストステロン単独

投与試験)を実施するにあたり、適格患者のスクリーニングとPSAとFree-T関連を検討する目的でスクリーニング試験を計画する。

【試験目的】 LOH 症候群に対する ART の有効性を評価する。

【試験対象】 スクリーニング試験として、40 歳以上の 90 歳未満男性を対象に、PSA と Free-T を採血する。運動習慣の有無に関する質問紙 PSA < 2.0 ng/ml かつ Free-T < 11.8 pg/ml 症例に対し、本試験参加の同意を取得する。目標症例数を 1,000 に設定する。

【薬剤投与】 エナント酸テストステロンのデポ剤を、1回 250mg、4 週毎に合計 12 回筋注し、治療期間は原則 1 年間とする。

【試験方法】 封筒法を用いた無作為化によって組み入れ対象を 2 群に割付する。プラセボによる run-in 期間は設けず、テストステロン投与群と非投与(コントロール)群間で治療効果を比較検討する。また、軽度の糖尿病、高血圧症、高脂血症、あるいは虚血性心疾患に対して内科加療中で、テストステロンの低下を呈する症例においても、各疾患に対する標準的治療に ART を追加する併用効果の有無を検証する。治療開始後の血液検査は 3 カ月後、6 カ月後、12 カ月後とし、検査値に基づいて治療の中止または適宜投与量の増減を行う。さらに、ART の有効性が認められた症例に関しては、治療終了後における効果の持続性も検証するため、6 カ月間の追跡期間を加える。得られたデータに対して統計学的解析を加え、治療効果を評価する。

【評価方法】 自覚症状については、健康 QOL 調査の包括的尺度として普及している MOS Short-Form 36-Item Health Survey (SF-36)、Heinemann らによる Aging Males' Symptoms (AMS) rating scale、自己評価うつ尺度 Self-rating Depression Scale (SDS)、排尿機能スコアである International Prostate Symptom Score (IPSS)、性機能スコアである International Index of Erectile Function (IIEF5) 等の質問紙を用いて治療前後で比較評価する。また、骨密度の減少、筋力の低下、体脂肪の増加、貧血の進行等の改善に対する客観的評価には、脂質代謝、糖代謝、骨代謝に関する各種マーカーに加えて、下垂体性腺系ホルモン、副腎性ホルモン、血算、一般生化学検査に依る。有害事象については、腫瘍マーカー PSA を含めた一般生化学的な血液検査に加えて、National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events (NCI-CTCAE) を用いて評価する。

#### 副研究 1: LOH 症候群に対するバイオ診断チップの開発

患者及び健常人から血液および唾液を採取し、遊離型テストステロンのみならず、心身ストレスとの関連が指摘されているコルチゾール(cortisol)や老化度との関連が指摘されているデヒドロエピアンドロステロンサルフェート(DHEA-S)を測定し、適切な cut off 値を設定し、3 者を同時に測定検出できるシステムを構築する。また、副腎性ホルモンである DHEA は血中濃度が極めて低いために一般に検出は困難とされているが、ナノテクノロジーを応用した高感度法を

用いて、DHEA の唾液中検出を試みる。

副研究2: LOH 症候群における治療感受性を規定しうる遺伝子多型の解析

ART が施行された対象症例からの血液を採取し、治療感受性遺伝子に照準を絞って、主として一塩基多型 Single Nucleotide Polymorphism(s) (SNPs) を検索し、ART 有効群を予測する。また、DNA チップなどの遺伝子研究の革新的技術とコンピューターの情報処理能を駆使して、網羅的な SNPs の解析も展開する。具体的には ART の有効症例と 1) AR における CAG および GGN repeat 数、2) 5 $\alpha$ -reductase type 2 (SRD5A2) の V89L, A49T における SNPs との関連について検討する。

(倫理面への配慮)

LOH 症候群に対する診断の必要性と ART の有用性に対するランダム化試験に対するインフォームドコンセントを十分に行い、対象者からの同意を得ることを前提としている。また本研究終了後、対象者に対するアンケート調査を施行し、研究対象者の視点から倫理的の問題の有無についても吟味し、今後の臨床研究にフィードバックさせていく予定である。さらに、患者及び健常人から提供された検体を用いたバイオ診断チップの開発および遺伝子多型の解析に関する研究においては、各施設におけるヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会で承認を得たうえで、研究に使用する検体は、匿名化のうえ個人情報管理者により厳格に管理され、使用済み試料は産業廃棄物として廃棄する。得られた結果データについても、同様に管理され、倫理的に懸念される「個人及びその家族等の関係者に対する不利益」は全く生じないように配慮される。

## C. 研究結果

多施設大規模臨床試験:加齢男性性腺機能低下(LOH)症候群におけるアンドロゲン補充療法(ART)の有用性に関する臨床試験(以下、本試験)については、昨年8月初旬に東京(田町)で開催された第1回の班会議を皮切りに、その計画、内容、問題点等について十分に各施設間で意見交換がなされた。適格症例のスクリーニングも兼ねる目的で、中高年男性における前立腺特異抗原(PSA)と遊離型テストステロン(Free-T)との相関および運動習慣の有無に関する臨床試験(以下、スクリーニング試験)が新たに追加された。臨床検体、試験薬を使用する性格上、本試験、スクリーニング試験ともにその執行には各施設における臨床試験審査委員会(IRB)の承認が必要不可欠で、その準備がかなりの律速段階となり、大部分の施設で承認が得られるまでに昨年12月末まで費やされた。

この予想外の状況において、まず金沢大学関連施設で、いち早く11月下旬ぐらいから、本

格的にスクリーニング試験が動きだした。しかしながら、プラセボ群を置かない、テストステロン投与群と非投与群間でARTの有用性を比較検討する臨床試験であるため、本試験のエントリーに際し、その同意取得を頂くことはなかなか容易なことではなかった。結局のところ、本研究に関する進捗状況に関しては、半年という準備期間の設定から大規模臨床試験に関する計画上の執行遅延は約2ヵ月で、昨年末ぐらいより本研究が加速的に進んで進捗状況は極めて良好である。現在のところのエントリー数は、スクリーニング試験300例、本試験30例となっている。倫理委員会の承認が必要な遺伝子多型の解析おける執行遅延は約3ヵ月、バイオ診断チップの開発は計画通りとなっている。

#### D. 考察

本研究では、アンドロゲンの欠乏に伴う諸症候からなる病態として、LOH症候群という新しい概念を採択し、その啓発に努めるとともに、ARTの有効性を検証する大規模なRCTを計画した。また、低テストステロン値を呈する、軽度の糖尿病、高血圧症、高脂血症、あるいは虚血性心疾患を有する内科加療中の症例も積極的にRCTに組み入れ、それらの各疾患に対する標準治療にARTを併用することの臨床効果も検討する。期待される成果としては、EBMに基づいたARTの積極的な推進によって、高齢男性のADLとQOLの著しい向上と健康寿命の延伸、ひいては医療費の削減につながる事が予想される。究極的には、本研究が高齢者に特有の医学的諸問題の解決に対するブレークスルーの一つとなり、現行の介護中心の医療からWHOが提唱する“healthy and active aging for men”への転換を進展させる新たな長寿医療が萌芽すると考えられる。また、バイオ診断チップの開発によって、LOH症候群の早期発見、早期治療、予防を目指したスクリーニングシステムの確立と、ARTの治療効果に関与する遺伝子の同定とその遺伝子多型の解析によって、テーラーメイド医療副研究項目として加える予定である。

#### E. 結論

本研究の特筆すべきことは、国外に先駆けて施行する、LOH症候群に対するARTの有効性を検証する多施設共同の大規模RCTの計画である。さらに副研究として展開される、“LOH症候群に対する非侵襲的な診断法の確立としてのバイオチップを用いた診断法の開発”と“LOH症候群に関する遺伝子多型の解析とARTの治療感受性遺伝子の同定”によって、個人の発病リスクや予後推察、ARTの治療効果や副作用予測、新しい診断法、治療法や予防法の開発へと発展させる潜在性を有する点に本研究の独創性がある。残り2年間の研究

実施期間を効率良く、有意義に本研究を進め、必ず成果を挙げるよう邁進する次第である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表 該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし



ナノテクノロジーを利用した、LOH 症候群の早期発見、早期治療を目指した唾液でわかるバイオ診断チップの開発に関する研究

分担研究者 民谷 栄一 大阪大学大学院工学研究科精密科学・応用物理学 教授

研究要旨 本分担研究は、LOH 症候群の早期発見を目指して、LOH 症候群のマーカーと考えられる遊離型テストステロン濃度及び心身ストレスと関連しているとされるコルチゾール及び老化度との関連が指摘されているデヒドロエピアンドロステロンサルフェートについて、簡便に測定できるバイオ診断チップの開発を目的に実施した。本年度はコルチゾール及びテストステロンについて非侵襲的に測定するため唾液を対象としたイムノクロマト法による検出について検討した。いずれもステロイドホルモンであるため、競合法によるイムノクロマトストリップを構築した。その結果、モデル系で数 ng/mL～数十 ng/mL の感度での検出は可能であったが、唾液中の各ホルモンの濃度はコルチゾールが数 ng/mL、遊離テストステロンが数十 pg/mL～数百 pg/mL であると報告されているため、実サンプルでは更に検討する必要があることが示された。今後高感度化を検討すると共に、唾液の前処理による濃縮についても検討する予定である。

#### A. 研究目的

高齢男性の性ホルモン低下に起因する LOH 症候群の治療は高齢男性の QOL 改善や ADL の高い維持可能に繋がり、男性の健康寿命延伸及び長寿社会の医療費削減に有効であると考えられる。そのためには、LOH 症候群の早期発見、早期治療が重要である。そこで、“非侵襲、簡便、迅速、自宅でセルフチェックが可能”を指向したバイオ診断チップとして唾液中のコルチゾール、テストステロンなどのマーカーを検出するイムノクロマトストリップの開発を目的とした。

#### B. 研究方法

今回ターゲットとしたマーカーであるコルチゾールとテストステロンは、いずれも低分子のステロイドホルモンであるため、競合法を用いてイムノクロマトストリップを構築した（図 1 参照）。コルチゾール抗体又は抗原であるテストステロンをニトロセルロース膜のテストライン上に固定化し、適用する金コロイド標識抗原若しくは標識抗体濃度を最適化し、検出感度を検討した。また、流速の異なるニトロセルロース膜や、金コロイドのサイズについても検

討し、検出感度の向上を試みた。測定はハーフストリップで行った。

今回は、モデル系での検討を行ったため、ヒト実検体を用いることはなく、特に倫理面に関する配慮の必要は無かった。

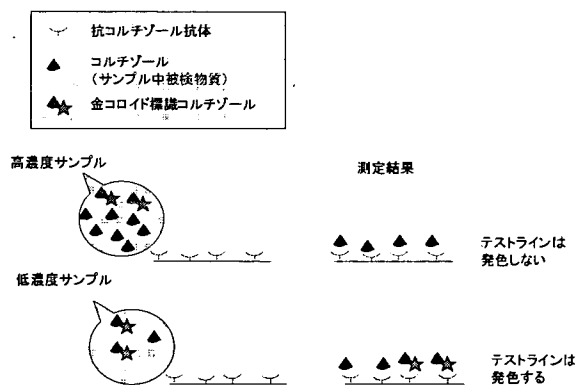


図 1 競合法の原理（例：コルチゾールを抗原とした場合）

#### C. 研究結果

##### 1) コルチゾールの検出について

図 1 に示したように、コルチゾール抗体をニトロセルロース膜上に固定化し、金コロイド標識したコルチゾールを一定量混合したサンプル

ルを適用し、発色強度を検討した。サンプル中に存在するコルチゾール濃度が高いとテストライン上に結合する標識コルチゾールの量が少なくなるため、テストラインの発色が弱くなる。競合法では測定に使用する金コロイドの量を厳密に一定にする必要があるが、使用する金コロイド濃度が高すぎると、低濃度の物質を検出することが出来ない。そこで OD520 を 6 に調整した金コロイド標識コルチゾールを 10 倍、20 倍、50 倍に希釈して、コルチゾール濃度 0, 8, 40, 200 ng/mL のサンプル液に適用し、測定した結果を図 2 に示した。10 倍及び 20 倍希釈で 200 ng/mL 以上の濃度を目視で検出することが出来た。50 倍希釈の場合、発色強度が非常に弱いため、目視ではいずれのラインもほとんど発色が確認出来なかったが、イムノクロマトリーダーを使用することで 8 ng/mL の濃度を検出することは可能であった。

今後、高感度化を図るために、より親和性の高い抗体の探索や BAS 化抗原などを用いる方法、標識金コロイドのサイズなどについて検討する予定である。

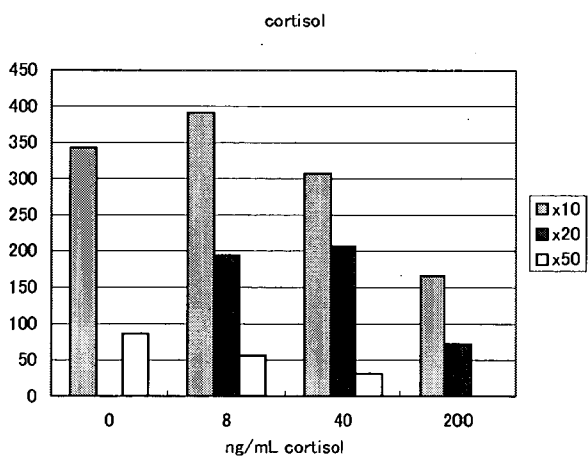


図 2 コルチゾールの競合法テストストリップによる検出（希釈度の異なる試料の発色度を測定）

## 2) テストステロンの検出について

当初、テストステロンをニトロセルロース膜上に固定化し、各種標識抗体による検出を試みたが、テストラインが全く発色しないことから、

テストステロンがニトロセルロース膜上に結合していないことが推測された。そこで、抗体を結合することも試みたが、テストステロンへの金コロイド標識も十分出来なかったためか、検出することが出来なかった。そこで、BAS 化したテストステロンを入手し、固定化したところ金コロイド標識した XM209 抗体で検出出来ることが予備的試験により示された。

そこで、1 分間に 90 mm および 135 mm の流速であるニトロセルロース膜 (HF90, HF135) それぞれに BAS 化テストステロンを固定化したテストストリップを作成し、40 nm の金コロイドで標識した抗体 1 μL または 2 μL を添加して測定した。テストラインとコントロールラインの発色強度をそれぞれイムノクロマトリーダーにより測定した。

図 3 にサンプル中のテストステロン濃度とテストライン発色強度の関係を、図 4 にテストライン強度とコントロールライン強度の合計に対するテストライン強度の割合を指標としてテストライン濃度との関係をグラフ化したものを示す。

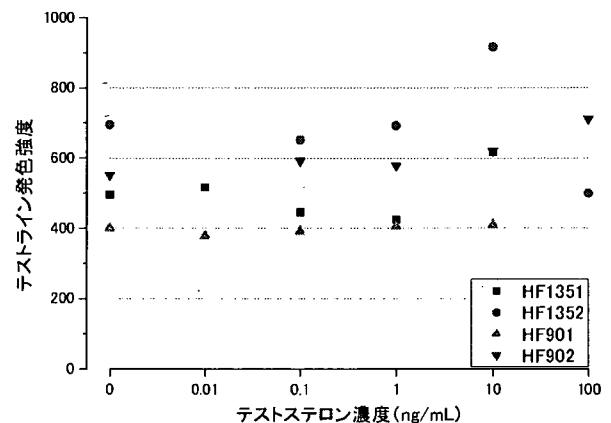


図 3 テストステロン濃度とテストラインの発色強度の関係

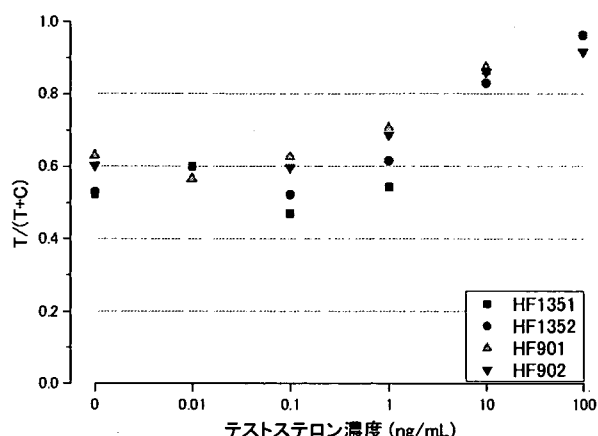


図4 規格化したテストライン強度とテストステロン濃度との関係 (T: テストライン発色強度、C: コントロールライン発色強度)

これらの結果から、HF135 ではいずれの適用量でも 0.1 ng/mL で、HF90 では 1 μL 適用時に 0.01 ng/mL で発色強度の低下が認められた。

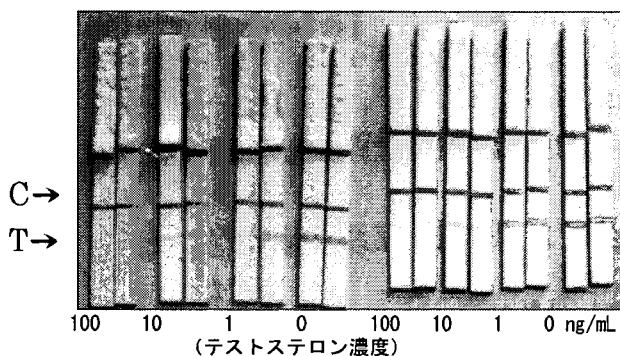


図5 流速の異なるニトロセルロース膜を用いたテストステロン実測例 (C: コントロールライン、T: テストライン)

図5には実際の測定結果例を示す。

目視では 0 ng/mL と比較して 1 ng/mL で若干発色の程度が薄くなっていることが認められたが、それ以下の濃度のテストステロンによる変化はクロマトリーダーによる数値化を行うことでのみ検出可能であった。1 ng/mL での発色強度低下は HF90 の方が大きい傾向が認められた。

ついで、金コロイド粒子のサイズを 60 nm に高め、HF90 のストリップを用いて検出感度に関して検討した。

図6に実際の測定結果例を、図7にイムノクロマトリーダーを用いて測定した発色強度とテストステロン濃度の関係を示す。

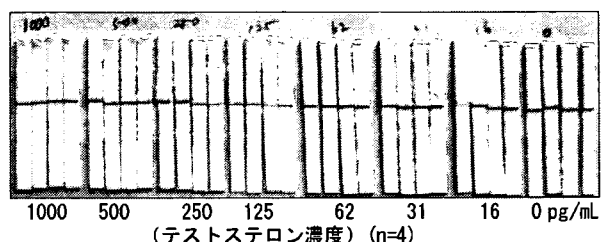


図6 HF90、60 nm 金コロイド標識抗体によるテストステロンの検出

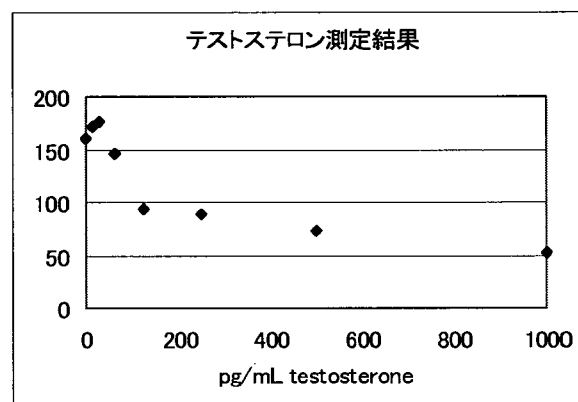


図7 テストライン発色強度とテストステロン濃度の関係

以上の結果では、62 pg/mL で発色強度の添加がイムノクロマトリーダーで検出出来たが、目視では、125 pg/mL 以上の濃度で検出可能であった。

#### D. 考察

本実験の結果より、コルチゾール、テストステロンとも、イムノクロマト法による検出が可能であることが示された。しかし、健常人で唾液中のコルチゾール濃度は数 ng/mL、遊離テストステロン濃度は数十から数百 pg/mL と報告されており、また、唾液実サンプル中には目的物質以外に様々な混在物が存在しているため今回のモデル系よりテストストリップの感度が低下することを考慮すると、今回作成されたテストストリップの感度はいずれの場合も十分

とは言えない。また、低濃度の目的物質を検出するには、発色強度のわずかな低下を検出する必要が有るため、イムノクロマトリーダーを用いる必要が有る。低コスト手軽な測定を目指すには、出来るだけ目視での判定が可能であることが望ましい。そのためにもさらなる高感度を図るために、金コロイドのサイズや濃度について検討すると共に、より親和性の高い検出用抗体の検索を行う。また、唾液実サンプルは粘性が高くそのままではイムノクロマトストリップを流れないため、前処理による粘性低下、濃縮などについて今後検討する予定である。

#### E. 結論

今回、イムノクロマト競合法により、コルチゾール及びテストステロン濃度を検出出来るテストストリップを構築できた。目視ではいずれの場合も数 ng/mL の感度であったが、イムノクロマトリーダーを用いることで定量的な測定が可能となり、感度はコルチゾールで 8 ng/mL, テストステロン 62 pg/mL であった。今後、唾液実サンプルに適用するためには、唾液の前処理及びさらなる高感度化について検討する必要が有る。

#### F. 健康危険情報

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録情報

なし

厚生労働科学研究費補助金(長寿研究事業)

分担 研究報告書

LOH 症候群に対する ART の有用性に関する研究

分担研究者 高 榮哲 金沢大学大学院医学系研究科集学的治療学 准教授

研究要旨

超高齢社会の到来に伴い、中高年男性の QOL 向上が提唱されており、近年は学際的な視点から各種取り組みがすすめられている。その一環としてアンチエイジング医療が脚光を浴びる中、高齢男性の性ホルモン低下に起因する合併症に対する医療の必要性が認識されつつある。最近、加齢男性性腺機能低下 (LOH) 症候群という新しい疾患概念が登場したが、この LOH 症候群の本質こそがまさしく加齢に伴うアンドロゲンの低下によるアンドロゲン標的臓器における機能障害である。そこで、LOH 症候群に対するアンドロゲン補充療法の有効性に関する臨床試験を予定し、そのエビデンスレベルを高めるべく、国内のいくつかの大学病院を中心とした多施設共同で大規模な RCT を計画した。

A. 研究目的

平均寿命の延長に伴う急激な高齢化という社会的背景のもと、高齢者の健康増進や予防医学への積極的な取り組みが国策の一つとなり、健康寿命の延伸を目指した長寿科学研究が待望されている。近年、アンチエイジング医学の登場とともに、その治療法として、サプリメント摂取、抗酸化療法、ホルモン補充療法の必要性が過度にクローズアップされているが、その効果に関しては十分なエビデンスが確立されていない。特にホ

ルモン補充療法については、更年期女性に対してはエストロゲン補充療法が広く普及してきた一方で、中高年男性に対するそれは未だ発展途上にあると言わざるをえない。中高年男性のアンドロゲン低下は、本邦ではこれまでも“加齢に伴う一現象”とみなされる程度で、医療行政から顧みられることはなく、医療の対象としても軽視されていた経緯があった。

欧米では 1980 年代から中高年男性に対するホルモン補充に対する様々な提唱と多くの検討がなされ、低アンドロゲンを呈する

中高年男性に対する ART の有効性を検討した報告が散見される。しかしながら、報告内容を詳細に検討すると、対象症例数が少なく、推奨グレードの低い論文が多いため、LOH 症候群に対する ART の有効性は、国内外を問わず未だに確立されていないのが現状である。そこで、本研究では、EBM に基づいた ART の積極的な推進によって、高齢男性の ADL と QOL の著しい向上と健康寿命の延伸、ひいては医療費の削減につながることを目的に、ART の有効性を検証する大規模な多施設共同の RCT を計画した。

本研究では、まず高齢男性の性ホルモン低下に起因する諸症候を呈する病態を LOH 症候群と定義し、「LOH 症候群診療の手引き」に基づいて、診断、治療、ART における副作用の回避と監視、治療後の評価に関するエビデンスの創出を指向することを究極の目標としている。今回は、LOH 症候群に対するアンドロゲン補充療法の有効性に関する臨床試験を予定し、そのエビデンスレベルを高めるべく、国内のいくつかの大学病院を中心とした多施設共同で大規模な RCT を計画した。

## B. 研究方法

本試験の施行は、以下のように1)スクリーニング試験、2)本試験の2段階展開とする。すなわち、スクリーニング試験によって PSA と free-T を測定することで積極的に LOH 症候群患者をリクルートし、適格症例に対し同意取得のうえ本試験にエントリーする。

主研究: 1) 中高年男性における前立腺特異抗原 (PSA) と遊離型テストステロン (Free-T) との相関および運動習慣の有無に関する臨床試験(スクリーニング試験)

2) 加齢男性性腺機能低下 (LOH) 症候群におけるアンドロゲン補充療法 (ART) の有用性に関する臨床試験(本試験)

【試験計画】 国内の大学病院を中心とした多施設共同の大規模 RCT で、3年計画で最初半年間の準備期間を経てその後1年間を症例の組み入れ期間とし、最後半年はデータ解析に充てる。LOH 症候群に対する ART の有効性を検証する大規模 RCT (テストステロン単独投与試験) を実施するにあたり、適格患者のスクリーニングと PSA と Free-T 関連を検討する目的でスクリーニング試験を計画した。

【試験目的】 LOH 症候群に対する ART の有効性を評価した。

【試験対象】 スクリーニング試験として、40歳以上の 90 歳未満男性を対象に、PSA と Free-T の採血に関するポスターを作成した。また、運動習慣の有無に関する質問紙を作成した。PSA < 2.0 ng/ml かつ Free-T < 11.8 pg/ml 症例に対し、本試験参加の同意を取得する。目標症例数を 1,000 に設定した。

【薬剤投与】 エナント酸テストステロンのデポ剤を、1回 250mg、4 週毎に合計 12 回筋注し、治療期間は原則1年間とする。

【試験方法】 封筒法を用いた無作為化によって組み入れ対象を2群に割付する。プラセボによる run-in 期間は設けず、テストステロン投与群と非投与(コントロール)群間で治

療効果を比較検討する。また、軽度の糖尿病、高血圧症、高脂血症、あるいは虚血性心疾患に対して内科加療中で、テストステロンの低下を呈する症例においても、各疾患に対する標準的治療に ART を追加する併用効果の有無を検証する。治療開始後の血液検査は 3 カ月後、6 カ月後、12 カ月後とし、検査値に基づいて治療の中止または適宜投与量の増減を行う。さらに、ART の有効性が認められた症例に関しては、治療終了後における効果の持続性も検証するため、6 カ月間の追跡期間を加える。得られたデータに対して統計学的解析を加え、治療効果を評価する。

【評価方法】 自覚症状については、健康 QOL 調査の包括的尺度として普及している MOS Short-Form 36-Item Health Survey (SF-36)、Heinemann らによる Aging Males' Symptoms (AMS) rating scale、排尿機能スコアである International Prostate Symptom Score (IPSS)、性機能スコアである International Index of Erectile Function (IIEF5) 等の質問紙を用いて治療前後で比較評価する。また、骨密度の減少、筋力の低下、体脂肪の増加、貧血の進行等の改善に対する客観的評価には、脂質代謝、糖代謝、骨代謝に関する各種マーカーに加えて、下垂体性腺系ホルモン、副腎性ホルモン、血算、一般生化学検査に依る。有害事象については、腫瘍マーカー PSA を含めた一般生化学的な血液検査に加えて、National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events (NCI-CTCAE)

を用いて評価する

特筆すべきは、アディポネクチンがメタボリックシンドロームのスクリーニングおよびモニターリングの採血マーカーになりうる可能性を ART と関連づけて論じる。

(倫理面への配慮)

LOH 症候群に対する診断の必要性と ART の有用性に対するランダム化試験に対するインフォームドコンセントを十分に行い、対象者からの同意を得ることを前提としている。また本研究終了後、対象者に対するアンケート調査を施行し、研究対象者の視点から倫理的の問題の有無についても吟味し、今後の臨床研究にフィードバックさせていく予定である。さらに、患者及び健常人から提供された検体を用いたバイオ診断チップの開発および遺伝子多型の解析に関する研究においては、各施設におけるヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会で承認を得たうえで、研究に使用する検体は、匿名化のうえ個人情報管理者により厳格に管理され、使用済み試料は産業廃棄物として廃棄する。得られた結果データについても、同様に管理され、倫理的に懸念される「個人及びその家族等の関係者に対する不利益」は全く生じないように配慮される。

## C. 研究結果

多施設大規模臨床試験：加齢男性性腺機能低下 (LOH) 症候群におけるアンドロゲン補充療法 (ART) の有用性に関する臨床試

験(以下、本試験)については、昨年 8 月初旬に東京(田町)で開催された第1回の班会議を皮切りに、その計画、内容、問題点等について十分に各施設間で意見交換がなされた。適格症例のスクリーニングも兼ねる目的で、中高年男性における前立腺特異抗原(PSA)と遊離型テストステロン(Free-T)との相関および運動習慣の有無に関する臨床試験(以下、スクリーニング試験)が新たに追加された。臨床検体、試験薬を使用する性格上、本試験、スクリーニング試験ともにその執行には各施設における臨床試験審査委員会(IRB)の承認が必要不可欠で、その準備がかなりの律速段階となり、大部分の施設で承認が得られるまでに昨年12月末まで費やされた。

この予想外の状況において、まず金沢大学関連施設で、いち早く11月下旬ぐらいから、本格的にスクリーニング試験が動き出した。しかしながら、プラセボ群を置かない、テストステロン投与群と非投与群間でARTの有用性を比較検討する臨床試験であるため、本試験のエントリーに際し、その同意取得を頂くことはなかなか容易なことではない。結局のところ、本研究に関する進捗状況に関しては、半年という準備期間の設定から大規模臨床試験に関する計画上の執行遅延は約2ヵ月で、昨年未ぐらいより本研究が加速度的に進んで進捗状況は極めて良好である。

現在のところのエントリー数は、スクリーニング試験300例、本試験30例となっている。倫理委員会の承認が必要な遺伝子多型の

解析おける執行遅延は約3ヵ月、バイオ診断チップの開発は計画通りとなっている。

各施設の臨床試験委員会で本臨床試験が承認され、参加していただいている施設と部署は以下の通り。

1. 金沢大学医学部附属病院
  - ① 大学院医学系研究科恒常性制御学
  - ② 大学院大学研究科臓器機能制御学
  - ③ 大学院大学研究科集学的治療学
2. 金沢社会保険病院
  - ① 内科
  - ② 泌尿器科
3. 金沢赤十字病院
  - ① 内科
  - ② 泌尿器科
4. 芳珠記念病院
  - ① 外科
  - ② 内科
5. 金沢医科大学附属病院
  - ① 老年内科
6. 千葉大学医学部附属病院
  - ① 泌尿器科
  - ② 糖尿病・代謝内分泌内科
7. 京都府立医科大学附属病院
  - ① 泌尿器科
  - ② 内分泌・糖尿病・代謝内科
8. 国際医療福祉大学病院
  - ① 内科
  - ② 泌尿器科
9. 大船中央病院
  - ① 検診科
  - ② 泌尿器科



登録症例数

2008/4/8現在

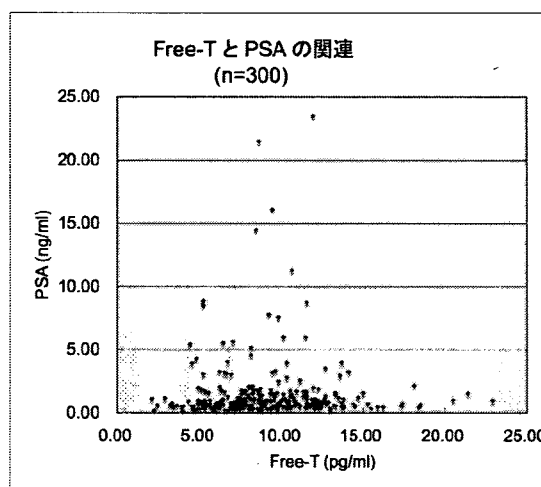
	スクリーニング試験	本試験
金大 泌	21	8
金大 1内	90	13
金大 2内	116	17
社保	40	7
芳珠	21	1
医科大	6	0
国際福祉大	2	1
千葉大	7	0
大船中央	3	0
計	306	47

(うち中止2件)

D. 考察

テストステロンの95%が精巣Leydig細胞から分泌され、血中では約98%が性ホルモン結合グロブリン(SHBG)およびアルブミンと結合している。結合していない残りの約1-3%の遊離型テストステロン(Free-T)が生物学的活性を有しており、末梢組織中で5 $\alpha$ 還元酵素によりジヒドロテストステロン(DHT)に変換される。前立腺組織内ではこのDHTとARが結合することによってその標的遺伝子の1つであるPSAの発現が調節されている。以上を考慮すると、血清PSA値とFree-T値の間に何らかの相関関係があると予想していたが、その予想は裏切られ、全く相関は認められなかった。Sofikerimらも、40歳以上の男性210人を対象に調べた結果、PSA値と、Free-T値あるいはTotal-T値いずれとも明らかな相関はないと報告している。

(Scientific World Journal. 2007, 1128-33)  
PSAが低値の場合、Free-T値の相関はなく、PSAが高値になってはじめてFree-Tと相関する可能性がある。いずれにしろ、Free-T値が高くても必ずしもPSAが高いわけではなく、テストステロン投与はPSAを必ずしも上昇させないことを証明できるかもしれない。



本研究では、アンドロゲンの欠乏に伴う諸症候からなる病態として、LOH症候群という新しい概念を採択し、その啓発に努めるとともに、ARTの有効性を検証する大規模なRCTを計画した。また、低テストステロン値を呈する、軽度の糖尿病、高血圧症、高脂血症、あるいは虚血性心疾患を有する内科加療中の症例も積極的にRCTに組み入れ、それらの各疾患に対する標準治療にARTを併用することの臨床効果も検討する。期待される成果としては、EBMに基づいたARTの積極的な推進によって、高齢男性のADLとQOLの著しい向上と健康寿命の延伸が予想される。究極的には、本研究が高齢者に

特有の医学的諸問題の解決に対するブレイクスルーの一つとなり、現行の介護中心の医療から WHO が提唱する“healthy and active aging for men”への転換を進展させる新たな長寿医療が萌芽すると考えられる。そのためにも、現在エントリー症例が 30 例しかない本試験の症例蓄積に向けて何らかの方策が必要で、早急に対策を講じなければならない。

#### E. 結論

本研究の特筆すべきことは、国外に先駆けて施行する、LOH 症候群に対する ART の有効性を検証する多施設共同の大規模 RCT の計画である。現在、臨床試験は現在進行形で、目に見える成果はまだないが、残り2年間の研究実施期間を効率良く、有意義に本研究を進め、必ず成果を挙げるよう邁進する次第である。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表 該当なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む.)

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

厚生労働科学研究費補助金(長寿研究事業)

分担 研究報告書

LOH 症候群における遺伝子多型と ART の治療感受性遺伝子同定に関する研究

分担研究者 小中弘之 金沢大学大学院医学系研究科集学的治療学 講師

【研究要旨】

LOH 症候群における遺伝子多型(特に一塩基多型)の解析と ART に対する治療感受性遺伝子の同定によって、個人の発病リスクや予後推察, ART の治療効果や副作用予測, 新しい診断法, 治療法や予防法の開発へと発展させるとともに、テーラーメイド医療へ昇華を試みる。

【研究目的】

平均寿命の延長に伴う急激な高齢化という社会的背景のもと、高齢者の健康増進や予防医学への積極的な取り組みが国策の一つとなり、健康寿命の延伸を目指した長寿科学研究が待望される時代となった。近年、アンチエイジング医学の登場とともに、その治療法として、サプリメント摂取、抗酸化療法、ホルモン補充療法の必要性が過度にクローズアップされている。特にホルモン補充療法については、更年期女性に対してはエストロゲン補充療法が広く普及してきた一方で、中高年男性に対するそれは未だ発展途上にある。中高年男性のアンドロゲン低下は、本邦ではこれまでも“加齢に伴う一現象”とみなされる程度で、医療の対象として軽視されていた経緯があったが、アンドロゲ

ンは男性における重要な生理的機能を担っているため、その低下は ED, 認知症, 筋力低下, 骨粗鬆症, 貧血, 内臓脂肪増加(あるいはメタボリックシンドロームへの進展)等の各種合併症を引き起こし、高齢男性の ADL, QOL に多大な影響を及ぼす。そこで、LOH 症候群に伴うこれらの症候の改善を目指して、アンドロゲンの補充による骨, 筋肉, 血管, 脂質代謝等に対する臨床効果に関する強力なエビデンスを創出する必要があるが、あらかじめ LOH 症候群に対する ART の有用性を予測、予見できれば、オーダーメイドあるいはテーラーメイド医療が構築されることによって、医療費削減につながる事が期待される。以上のように、治療の有効性に関する遺伝的背景の解析として、治療感受性と副作用を規定する一塩基多型 Single Nucleotide Polymorphism(s) (SNPs) の同定

を試み、個人化治療への応用につなげることを目的とする。

#### 【研究方法】

LOH 症候群と診断され ART が施行された対象症例より、血液 10-15ml 採取し、血清を使用して DNA を抽出する。ゲノム DNA 増幅キットを用いて抽出した DNA を増幅し、後々のためにストックサンプルを作成しておく。ART における治療感受性遺伝子に照準を絞って、主として一塩基多型 SNPs を検索し、ART 有効群を予測する。ターゲット遺伝子の同定に際し、以下の2つのアプローチを用いる。

1) 候補遺伝子アプローチ: 先駆的な知識をベースに遺伝子を狙い打ちする方法で、遺伝子の選択方法は多種多様である。今回我々はテストステロン代謝に関わるとされる以下の遺伝子における SNPs を解析する予定である。すなわち、チトクローム p450 酵素である CYP17, CYP3A4, CYP19A1, IGF-1 (insulin-like growth factor-1), IGFBP-3 (IGF binding protein-3), SRD5A2 (steroid 5 $\alpha$ -reductase type II enzyme), HSD17B1 (17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type I enzyme), HSD17B3, HSD3B1 (3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type I enzyme), HSD3B2 ーetc その中でも特に、ART の有効症例と 5 $\alpha$ -reductase type 2 (SRD5A2) の V89L, A49T における SNPs との関連について検討する。

2) ゲノムワイドアプローチ: SNPs をゲノム

全域に渡って絨毯爆撃的に解析する方法で、症例-対照群においてゲノム上の SNP をマーカーと考えて網羅的に調べていき、その近傍にある SNP がマーカーとして検出されることによって疾患との関連性を見出す。さらに、DNA チップなどの遺伝子研究の革新的技術とコンピューターの情報処理能力を駆使して、網羅的な SNPs の解析を展開する。

なお、標的 SNPs の検出には Tetra-primer amplification refractory mutation system (ARMS)

-PCR 法を基本的に用いる。

#### 【研究結果】

今年度は、症例のエントリーが始まったばかりで、採血のタイミングを ART 終了後あるいは、開始後半年という設定をしているため、現時点では数個のサンプルしか集まっておらず、結果報告には至っていない。しかしながら、SNP 解析のために、各種試薬、キットは既に購入済で、電気泳動ゲル装置、全自動核酸抽出・精製装置を準備すると共に、Tetra-primer ARMS-PCR に必要なプライマーの一部は作成済みである。

#### 【考察】

SNP はある集団内で 1%以上の頻度で見られるゲノム上の一塩基多型と定義され、その大多数が2種類の対立遺伝子(アレル)からなり、ゲノム上に平均 100-1,000 塩基につ