

2024年 9月 27日

<研究課題>男性ホルモンの骨格筋代謝・筋骨連関に及ぼす作用とその加齢変化・性差に関する研究

代表研究者 東京大学大学院医学系研究科老年病学 教授 小川 純人
共同研究者 東京大学大学院医学系研究科加齢医学 助教 細井 達矢
東京大学大学院医学系研究科加齢医学 助教 矢可部 満隆

【抄録】

加齢や老化に伴うアンドロゲンシグナルの低下はフレイルや要介護との関連が指摘されるだけでなく、骨格筋量減少、骨脆弱性、代謝障害を惹起させるなど、筋骨連関の破綻や代謝性疾患につながる可能性が示唆されている。その一方で、これらの病態メカニズムや性差については明らかになっていない。本研究では、骨格筋を構成する速筋と遅筋のうちサルコペニアの主座と考えられる速筋におけるアンドロゲン作用に着目し、申請者が樹立した速筋特異的アンドロゲン受容体 (AR) 欠損マウスを用いて、骨格筋代謝異常やサルコペニア・骨粗鬆症の病態、ならびにそれらの発症・進展における共通基盤と性差の解明を進めた。同マウスでは、筋量・筋力低下や骨変化とその性差が認められ、呼気ガス分析や各種網羅的解析を通じて、骨格筋代謝における変化や差異も示唆されてきている。

1. 研究の目的

加齢や老化に伴う男性ホルモン(アンドロゲン)シグナルの低下はフレイルや要介護との関連が指摘されるだけでなく、骨格筋量減少(サルコペニア)、骨脆弱性、代謝障害を惹起させるなど、筋骨連関の破綻や代謝性疾患につながる可能性が示唆されている。その一方で、これらの病態メカニズムや性差については明らかになっていない。また、サルコペニアは筋量と筋力の進行性かつ全身性の減少を伴う症候群であり、速筋優位に進行し、速筋・遅筋割合も影響される点で廃用に伴う筋萎縮とは異なると考えられている。こうした背景および一因として男性ホルモン(アンドロゲン)ならびにアンドロゲン-アンドロゲン受容体(AR)系の変化が指摘されてきたが、その機序は未だに十分明らかになっていない。本研究では、骨格筋を構成する速筋と遅筋のうちサルコペニアの主座と考えられる速筋におけるアンドロゲン作用に着目し、骨格筋におけるアンドロゲンの役割を検討するため、速筋特異的AR欠損(fmARKO)マウスを作成し、その骨格筋代謝異常やサルコペニア・骨粗鬆症の病態、ならびに

それらの発症・進展における共通基盤(筋骨連関)と性差の解明を目的とした。

本研究により、サルコペニアや筋骨連関等の病態解明や関連性、ならびにアンドロゲンの作用機序の解明に貢献することができると期待され、将来的に性差を考慮した効果的な介護予防や転倒骨折対策を構築・推進する上での基盤的知見となり得る可能性がある。申請者による最近の検討では、上記AR欠損マウスにおいて骨格筋・骨の異常、糖・脂質代謝異常やそれらの性差を含めて示唆されてきており、本研究内容を深耕し、骨格筋代謝や筋骨連関におけるアンドロゲン-AR系の重要性と性差について、それらの加齢変化や病態メカニズムを含めて明らかにしていきたい。

2. 研究方法と経過

これまでの知見等から、サルコペニアや筋骨連関における速筋特異的なアンドロゲン作用の重要性、ならびにそれらの表現型における性差の存在が示唆されており、本研究ではアンドロゲン作用を介した骨格筋代謝、サルコペニアや

筋骨連関の制御機構とそれらの性差について、更なる解析を行う。本研究では、AR-flox マウス、および速筋特異的 Cre マウスを用いて、2 系統を掛け合わせることで Cre-LoxP システムによって fmARKO マウスを作成する。13 週齢における体重や骨格筋量、骨密度、テストステロン濃度測定ならびに、13 週齢、1 年齢、2 年齢マウスを用いて筋力・筋持久力とその加齢変化についてオミックス解析等も活用して解析する、また、速筋特異的 AR 欠損マウス由来の骨格筋や各組織、血清、ならびに同マウス骨格筋由来初代培養系を用いて、AR 欠損に伴う筋・骨分化マーカー、ミトコンドリア機能関連因子、炎症老化関連因子などの変化をはじめ、RNA-seq、メタボローム解析等による網羅的解析や免疫組織化学法等の各種解析を実施し、筋代謝・筋骨連関とその性差に関して遺伝子・代謝レベルでの新規因子を含めた探索・解析を進める。また、上記 AR 欠損マウスに後肢懸垂負荷を与えた際の筋萎縮と骨粗鬆症化（筋骨連関）について筋代謝や骨代謝の変化や性差を含めた解析も進めていく。これまでの予備的検討により、上記 AR 欠損マウス骨格筋内での代謝・炎症変化とそれに伴う筋脂肪化、骨格筋代謝異常等の可能性が示唆されてきており、同マウスの筋代謝やミトコンドリア機能変化については、メタボローム解析、リポドミクス解析、酸素消費量解析、ブドウ糖・インスリン負荷試験（OGTT/ITT）、細胞外フラックスアナライザー等を通じて解明を進める。こうした種々の解析手法やモデル動物・組織・細胞を用いることで、アンドロゲンの筋特異的作用を介した筋代謝や筋骨連関への影響、ならびにその加齢変化や性差の一端を分子レベルで明らかにしたい。

3. 研究の成果

fmARKO マウスは雄雌ともに対照群マウスと同様に発育し、妊孕性も保たれた。また 12-13 週齢時点での、各種骨格筋重量でも有意差を認めなかった。13 週齢における対照群マウスと fmARKO マウス血液検体を用いて、メタボローム解析を行ったところ、主成分分析 (principal

component analysis; PCA) 結果では、現時点で明らかな差を認めていない一方で、Enrichment 解析、ヒートマップ作成、KEGG pathway を活用した解析等を現在進めている。また fmARKO マウス由来の骨格筋等の組織についても、血液検体での解析と同様にメタボローム解析等を進めている。また、fmARKO 雄マウスでは 9%ほど精巣重量が増加していたが、形態学的な差は認めず、血中テストステロン濃度に変化を認めなかった。一方、fmARKO 雄マウスについては、対照群雄マウスと比較して速筋から遅筋への変化が 14%多く認められた。1 年以降の fmARKO マウスでは対照マウスと比較して筋力に加えて筋量の低下が認められ、サルコペニアの表現型に類する知見が得られている。また、対照群マウスと fmARKO マウスを代謝ケージ内にて飼育し、明期・暗期における呼気ガス分析を実施し呼気代謝変化について解析したところ、fmARKO マウスでは呼気代謝変化が認められる可能性が示唆された。

さらにまた、fmARKO 雄マウスでは大腿骨骨密度が有意に低下しており、筋骨連関の可能性が示唆された。マイクロアレイ等の網羅的解析の結果によって、fmARKO 雄マウスではポリアミン生合成関連遺伝子やスペルミン等のポリアミン関連因子の発現低下が認められ、それらは液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法 (LC-MS/MS) および初代培養細胞系実験によっても示された。現在、AR やアンドロゲンを介したポリアミン生合成関連遺伝子やポリアミン等の制御機構、ならびに耐糖能・脂質代謝制御、老化炎症・ミトコンドリア機能制御等について検討を行っている。

4. 今後の課題

本研究結果から、アンドロゲンおよび AR 経路は、骨格筋における速筋への分化や筋組成・筋機能の維持において、筋線維タイプ特異的な役割を担っている可能性が示され、また性差の可能性も示唆された。本知見により、速筋における AR は、筋線維型の構成や筋骨連関において重要な制御因子であることに加えて、筋質（骨

格筋の脂肪化等)、骨格筋代謝(呼気代謝変化等)においても関与している可能性が示された。今後、本マウスモデルの表現型を深耕することや現在行っている各種オミックス解析による網羅的解析結果等により、サルコペニア(筋代謝)に併存しやすい骨粗鬆症(骨代謝)・糖尿病(糖代謝)・脂質異常症(脂質代謝)との病態を結びつける臓器・代謝連関のメカニズムやその加齢変化、ならびにアンドロゲンやARを介した臓器・代謝連関の制御やその性差に関する

解明につながることを期待される。

5. 研究成果の公表方法

今後、査読付き国際学術雑誌における原著論文投稿、ならびに日本老年医学会等での学会発表を予定している。

以上

Age-related changes and sex differences of androgen on skeletal muscle metabolism

Primary Researcher: Sumito Ogawa
Professor, Department of Geriatric Medicine,
Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

Co-researchers: Tatsuya Hosoi
Assistant professor, Department of Geriatric Medicine, Graduate
School of Medicine, The University of Tokyo

Mitsutaka Yakabe
Assistant professor, Department of Geriatric Medicine, Graduate
School of Medicine, The University of Tokyo

It has been suggested that the age-related decline in androgen is not only associated with frailty and the need for nursing care, but may also lead to the disruption of musculoskeletal relationships and metabolic disorders by inducing skeletal muscle mass loss, bone fragility, and metabolic disorders. On the other hand, the pathophysiology and gender differences in these processes remain unclear. In this study, we focused on androgen action in fast-twitch muscle, which is considered to be the main locus of sarcopenia, and used fast-twitch muscle-specific androgen receptor (AR)-deficient mice established by the applicant to investigate the pathogenesis of abnormal skeletal muscle metabolism, sarcopenia, and osteoporosis, as well as the common basis and sex differences in the onset and development of these disorders. We have also investigated the pathophysiological basis of these diseases using mice deficient in the fast-twitch muscle-specific AR. In the AR-deficient mice, muscle mass and strength loss, bone changes, and sex differences have been observed, and changes and differences in skeletal muscle metabolism have also been suggested through expiratory gas analysis and various comprehensive analyses.