アンドロゲン低下による会陰部の筋への影響と全身性運動効果の基礎的検証

吉岡潔志（PT）[1)2)]，土屋吉史（PhD）[1)]，
松本智博（PT, PhD）[1)]，中村晃大（PT）[1)]，
沢田雄一郎（MD）[3)]，小野悠介（PhD）[1)]

[1)] 熊本大学発生医学研究所器官構築部門筋発生再生分野
[2)] 脳梗塞リハビリセンター熊本
[3)] 愛媛大学医学部泌尿器科

キーワード：骨格筋，筋萎縮，メンズヘルス

はじめに

排泄制御機能の維持は QOL にとって重要である。排泄制御には，おもに会陰部の筋が関与している。効果的なリハビリテーション介入の確立のためには対象となる筋の特性について理解する必要があるが，筋の生理学的知見の多くは四肢筋を対象とした研究により得られたものである。近年，身体内の筋は均質ではなく，身体部位という単位で異なる特性をもつことが明らかにされつつある[1–3)]。しかし，会陰部の筋特性については不明な点が多い。男性の排尿障害と深いかかわりをもつ前立腺は，アンドロゲンの刺激を受け肥大することから，前立腺がんに対して，睾丸摘出や，薬剤を用いたアンドロゲン除去療法（Androgen deprivation therapy：以下，ADT）が選択される[4)]。ところが，マウスのアンドロゲンシグナル低下モデルにおいて，直腸を取り囲むように存在する球海綿体筋および肛門挙筋は，四肢筋と比べ劇的に萎縮することが知られている[5)6)]。また，ADT を選択した前立腺がん患者においても，肛門挙筋の萎縮は報告されており[7)]，会陰部の筋の特性を理解すること，筋萎縮に対する効果的な介入を検証することは喫緊の課題である。そこで本研究の目的は，睾丸摘出によるアンドロゲン低下モデルマウスを用い，排泄制御に関与する筋への影響を調べ，運動介入効果を検証することとした。

対象および方法

1. 睾丸摘出を用いたアンドロゲン低下モデルマウスの作成

3 ヵ月齢の雄マウス（C57BL/6J）を用いた。麻酔下にて睾丸摘出術を施す Cast 群と，偽手術を施す Sham 群，睾丸摘出術を施した後に自走ホイール付きケージ（メルクエスト，RW-15s）で飼育する群を Cast+Ex 群の 3 群に無作為に分けた。術傷は縫合糸にて閉創した。Cast+Ex 群マウスは 1 日 9 km 程度走行しており（Data not shown），手術の影響による自走ホイールの不使用がないことを確認した。本研究は所属大学動物実験委員会の承認（承認番号；A30-098）を得て行った。

2. 筋萎縮評価

手術から 8 週後に，下肢筋（前脛骨筋，長趾伸筋，腓腹筋，足底筋，ヒラメ筋）および会陰部筋（球海綿体筋，肛門挙筋）の筋サンプルを回収し，筋重量を測定した。EDL と尿道括約筋（US）を回収後に，コラゲナーゼ処理し，単一筋線維を取得後，2% PFA にて固定した。各筋線維の中央部を顕微鏡（Olympus, IX83）にて撮影し，筋線維中央部で直径を測定した。

3. 筋機能評価

前肢握力の測定は，Fujita らの方法を一部改変し行った[8)]。測定には小動物用握力計（Columbus Instruments）を用いた。マウスに測定グリップを前肢手部にて把持させ，尾部を牽引し，測定グリップを離した際のピークのトルク値（N）を記録した。測定は 5 回 3 セット行い，最大値を各個体の握力とした。

4. 遺伝子発現評価

3 ヵ月齢の雄マウス（C57BL/6J；非介入）の前脛骨筋，長趾伸筋，球海綿体筋，肛門挙筋，尿道括約筋の筋組織サンプルを回収した。Isogen II（ニッポンジーン）を用いて RNA を抽出し，ReverTra Ace kit（Toyobo）を用いて cDNA を合成し，遺伝子発現解析サンプルを作成した。Real-time qPCR を，Thunderbird SYBR quantitative PCR mix（Toyobo）および，CFX96 Touch real-time PCR detection system（Bio-Rad）を使用して行い，検量線法にて定量した。ターゲット遺伝子特異的なプライマーは以下のものを使用した。TATA box binding protein [forward 5’-CAGATGTGCGTCAGGCGTTC-3’ and reverse 5’-TAGTGATGCTGGGCACTGCG-3’]; Androgen receptor [forward5’-CAGGAGGAAGGAGAAAACTCCA-3’ and reverse 5’-ATTGACAAGGCAGCAAAGGAATC-3’].

5. 統計

2 群間の比較には対応のない T 検定を，多群間の比較には一元配置分散分析を用い，有意差を認めた場合には，多重比較検定に Tukey の方法を用いた。

結　　果

各群で握力の差は認められなかった（$p > 0.05$）。筋重量は，四肢筋（前脛骨筋，腓腹筋，長趾伸筋，足底筋，ヒラメ筋）において群間の差は認められず，会陰部（球海綿体筋，肛門挙筋）の筋では Cast 群，Cast+Ex 群ともに，Sham 群と比べ有意な差がみられた（$p < 0.01$，図 1）。Cast 群の尿道括約筋の筋線維直径は，Sham 群と比べ有意に小さい値を示した（$p < 0.01$，図 2）。骨格筋間（非介入マウス）のアンドロゲンレセプター（以下，AR）の遺伝子発現を比べたところ，球海綿体筋と肛門挙筋の遺伝子発現は，四肢筋である前脛骨筋，長趾伸筋よりも有意に大きな値を示した（$p < 0.01$）。一方，尿道括約筋と前脛骨筋，長趾伸筋の間に有意差は認められなかった（図 3）。

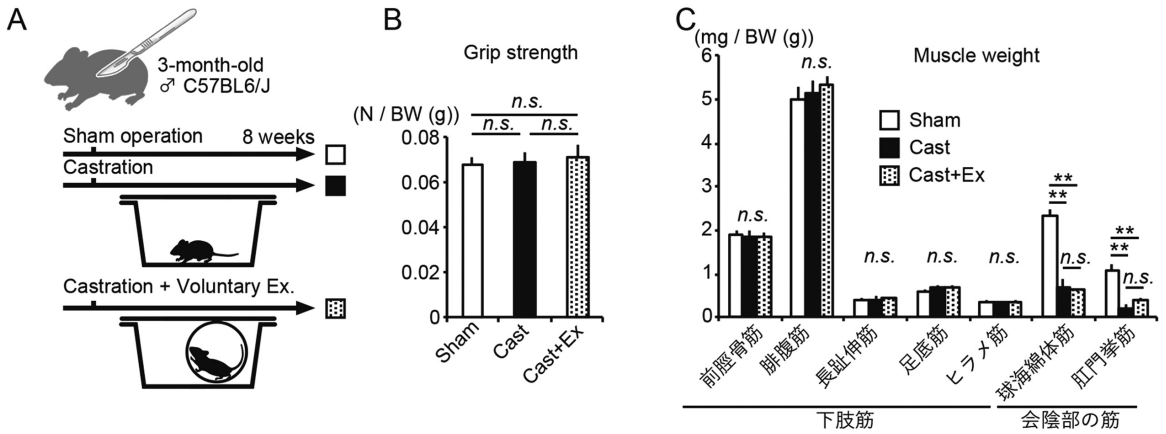

図 1　マウス睾丸摘出モデルの握力と筋重量
A）各群の模式図．3 ヵ月齢雄性マウスに偽手術を施した Sham 群と，去勢術を施した Cast 群を作成した．術後に自走ホイールケージで飼育した Cast 群を Cast+Ex 群とした．B）各群の体重比握力を示す．測定したすべての後肢筋で群間に有意差はみられなかった．n = 4, each．C）各群の体重比筋重量を示す．Cast 群，および Cast+Ex 群の骨盤底筋（肛門挙筋，球海綿体筋）の体重比筋重量は，Sham 群と比較し有意に小さい値を示した．n = 4, each. **; $p < 0.01$, *n.s.*; not significant.

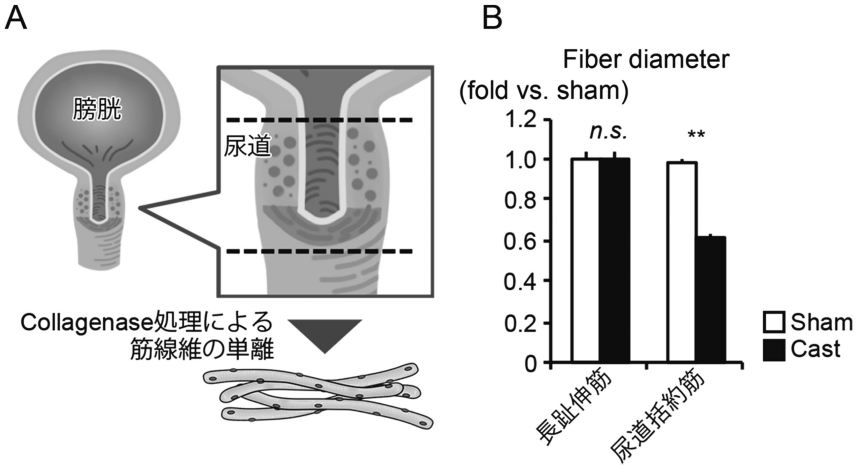

図 2　去勢による単離筋線維の直径の変化
A）尿道括約筋の模式図．尿道を輪状に取り囲むように存在している尿道固有の横紋筋を単離した．B）各筋線維直径の sham 群に対する比を示す．
n = 4, each. **; $p < 0.01$, *n.s.*; not significant.

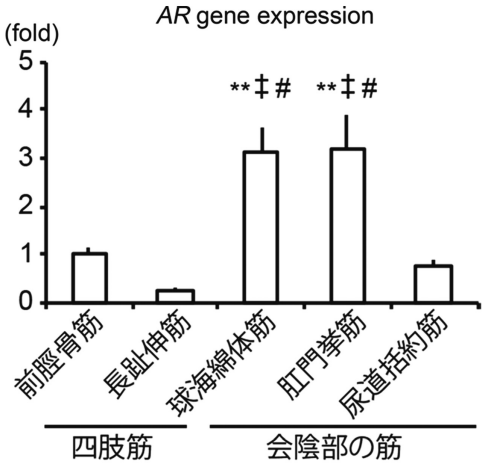

図 3　アンドロゲンレセプターの遺伝子発現
A）アンドロゲンレセプターの遺伝子発現量を示す．n = 5, each. **; $p < 0.01$（vs 前脛骨筋），‡; $p < 0.01$（vs 長趾伸筋），##; $p < 0.01$（vs 尿道括約筋）

考　　察

本研究において，睾丸摘出によるアンドロゲン低下モデルマウスを用い，筋応答の身体部位による違いを検証した。睾丸摘出から 8 週間後に，球海綿体筋，肛門挙筋は劇的に萎縮した。これまでに，AR のノックアウトマウスにおいても，球海綿体筋や肛門挙筋の重量が，顕著に低値を示すことが報告されており[5)6)]，本研究で得られた結果は，睾丸摘出によるアンドロゲンシグナル低下に起因するものと考えられる。一方で，四肢筋の筋重量については，わずかに萎縮するという報告[5)6)]と，変化がないという報告[9)10)]があるが，球海綿体筋・肛門挙筋と四肢筋の萎縮率には大きな差があることは一致した見解となっている。本研究では，四肢筋では筋重量に差は見られず，球海綿体筋と肛門挙筋で筋重量が顕著に低下するという結果が得られた。

前立腺肥大症や前立腺がんに対する有効な治療法とし

て，ADT は用いられている。しかし，その副作用として，疲労感，筋出力低下，脂肪蓄積，骨量低下による骨折リスクの増加等があり，問題となっている[11]。ADT を選択した前立腺がん患者に対する運動療法は，疲労感や筋出力の改善効果があること，代謝に関与する各種血液指標においても改善傾向があるとみられることが報告されている[12]。一方，会陰部の筋を運動療法の介入対象とする場合，患者自身が対象筋をイメージすることが難しいことに加え，理学療法士による筋収縮の確認も，患者への配慮と手技の双方の面で困難である。こういった背景から，本研究では，全身性の自発運動による変化を調べたが，睾丸摘出による劇的な筋萎縮を抑制することはできないという結果に至った。今後，対象筋を絞った介入や，四肢筋と異なる会陰部の筋の性質を理解し，治療法を確立していく必要がある。

骨格筋は全身に分布しているが，身体部位という単位で，性質の違いが存在することが近年の研究により示唆されている。身体部位単位での筋特性の違いは，発生時に獲得していると予想される。会陰部の筋と下肢筋はどちらも体節より発生する。下肢筋の前駆細胞は遠位に向かって遊走し，左右の下肢筋を形成する。一方で，会陰部の筋の前駆細胞は，左右の肢芽から中央に向かって遊走し，体軸中央部で筋を形成する[13]。球海綿体筋と肛門挙筋がもつ「アンドロゲンシグナル低下により劇的に萎縮する」という筋特性が，会陰部という身体部位単位で共通するものか否かを検証するため，発生期に同様に形成される尿道括約筋の応答を調べた。尿道括約筋は，尿道を取り巻くように存在しており，筋重量での測定が困難である。そこで，筋線維を単離し，筋線維直径を測定したところ，Cast 群で有意に低値を示した。直径の変化を，体積の変化に換算すると，40% 近い直径の減少は，劇的な筋萎縮であるといえる。以上より，アンドロゲンシグナル低下によって顕著な萎縮を示すという応答は，会陰部という身体部位単位での筋特性であることが示唆される。

アンドロゲンに対する会陰部の筋の高い感受性を生む原因を調べるため，AR の遺伝子発現を比較した。球海綿体筋と肛門挙筋は，四肢筋と比較し AR の発現が高かったが，予想に反し尿道括約筋の AR 発現は四肢筋との違いが見られなかった。この筋応答とのミスマッチの原因として，尿道括約筋サンプルを組織全体で採取しており，尿道を構成する他の組織の影響が大きかったこと，遺伝子発現と実際の AR タンパク質量が異なること，等が考えられる。今後，間質細胞を除した単一筋線維からの RNA 抽出や，タンパク質レベルでの検出を検討していく。

結　　論

全身性の運動ではアンドロゲンシグナル低下による会陰部の筋萎縮を抑制することができず，対象筋を絞った介入を検討する必要がある。また，アンドロゲン低下モデルマウスの球海綿体筋や肛門挙筋でみられる劇的な筋萎縮が尿道括約筋においても見られたことから，アンドロゲンシグナル低下に対して高い感受性をもつという特性は，会陰部という身体部位単位で共通した筋特性であることを示唆する結果が得られた。

身体内に存在する筋を一様なものと捉えるのではなく，会陰部特異的な筋特性を理解することは，メンズヘルス・ウィメンズヘルス領域の新たなリハビリテーション介入方略の開発につながる。

利 益 相 反

本研究に関連する，開示すべき利益相反はない。

文　　献

1) 吉岡潔志，小野悠介：がん悪液質における身体部位特異的な筋応答．基礎老化研究．2017; 41: 41–43.
2) 吉岡潔志，小野悠介：サテライト細胞の部位特異性と筋の肥大・萎縮．体育の科学．2016; 66: 659–663.
3) Rios AC, Marcelle C: Previews Head Muscles: Aliens Who Came in from the Cold? Dev Cell, Elsevier Inc. 2009; 16: 779–780.
4) Walsh PC: Risk of fracture after androgen deprivation for prostate cancer. J Urol. 2005; 174: 929–930.
5) Rana K, Chiu MWS, *et al.*: Muscle-specific androgen receptor deletion shows limited actions in myoblasts but not in myofibers in different muscles in vivo. J Mol Endocrinol. 2016; 57: 125–138.
6) Chambon C, Duteil D, *et al.*: Myocytic androgen receptor controls the strength but not the mass of limb muscles. Proc Natl Acad Sci. 2010; 107: 14327–14332.
7) Cheung AS, Cunningham C, *et al.*: Selective Loss of Levator Ani and Leg Muscle Volumes in Men Undergoing Androgen Deprivation Therapy. J Clin Endocrinol Metab. 2019; 104: 2229–2238.
8) Fujita R, Yoshioka K, *et al.*: Zmynd17 controls muscle mitochondrial quality and whole-body metabolism. 2018, 0.
9) Widmer CG, Morris-Wiman J: Limb, respiratory, and masticatory muscle compartmentalization. Developmental and hormonal considerations. Prog Brain Res. 2010; 187: 63–80.
10) Pires-Oliveira M, Maragno AL, *et al.*: Testosterone represses ubiquitin ligases atrogin-1 and Murf-1 expression in an androgen-sensitive rat skeletal muscle in vivo. J Appl Physiol. 2010; 108: 266–273.
11) Gardner JR, Livingston PM, *et al.*: Effects of exercise on treatment-related adverse effects for patients with prostate cancer receiving androgen-deprivation therapy: A systematic review. J Clin Oncol. 2014; 32: 335–346.
12) Yamaya K, Suzuki K, *et al.*: 男性ホルモン除去療法（ADT）中の前立腺癌患者に対するレジスタンストレーニングの効果 Effects of Resistance Training on Prostate Cancer Patients Receiving Androgen Deprivation Therapy．日本補完代替医療学会誌．2008; 5: 57–63.
13) Valasek P, Darrell J, *et al.*: A dual fate of the hindlimb muscle mass: cloacal/perineal musculature develops from leg muscle cells. Development. 2005; 132: 447–458.

発表実績

吉岡潔志，土屋吉史，小野悠介：アンドロゲン低下による筋萎縮応答の身体部位による比較．第 6 回日本運動器理学療法学会学術大会，2018 年 12 月 16 日