

問22 「ホルモン補充療法」を受けるとすれば、どのような科で受けたいですか。

- a. 婦人科
- b. 「ホルモン補充療法」を行っている内科
- c. 「ホルモン補充療法」を受けることができれば、何科でもかまわない。

問23 あなたの現在の職業を教えてください。(現在専業主婦の方で、以前職業に就かれていた方はaに○をつけて、以前の職業に△をつけて下さい。)

- a. 専業主婦 b. 会社員 c. 会社管理職 d. 公務員 e. 公務員管理職
- f. 教員 g. 農業 h. 自由業 () i. 医療従事者 ()
- j. 自営業 k. パート () l. 無職 m. その他 ()

問24 あなたの最終学歴を教えてください。

- a. 大学院 b. 大学 c. 短大 d. 旧制女学校 (注：該当する方のみ)、
- e. 各種専門学校 f. 高校 g. 中学 h. その他 ()

問25 差し支えなければ、あなたのご家庭の昨年1年間の総年収を教えてください。

- a. ~400万円 b. 400~600万円 c. 600~800万円 d. 800~1,000万円
- e. 1,000~1,200万円 f. 1,200~1,500万円 g. 1,500万円以上

問26 差し支えなければ、あなたのご家庭の家族構成を教えてください。あなたを含めて何人でお住まいですか。

人

同居なさっているご家族に○をつけて下さい。

- a. 配偶者 b. 祖父 c. 祖母 d. 父 e. 母 f. 子ども ()人
- g. その他 ()

お忙しい中、私どものアンケートにご協力くださりまして、誠にありがとうございました。

高齢女性の健康増進のためのホルモン
補充療法に関する総合研究班 班員一同

厚生省科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

分担研究者 大内 尉義 東京大学大学院医学系研究科教授

女性ホルモン補充療法と血管内皮機能との関連の検討

研究要旨 疫学的研究ならびに閉経後女性に対する女性ホルモン補充療法により、動脈硬化性疾患の発症が抑えられる事実から、女性ホルモンが抗動脈硬化作用を有すると考えられる。

閉経後女性の骨塩量減少に対して女性ホルモンが治療に用いられている。外来受診患者で閉経後1年以上を経過した無症候性女性で、骨粗鬆症と診断され女性ホルモン補充療法を開始した8名（平均年齢55歳）を対象とし、血管内皮機能がどのような影響を受けるかを治療開始前、3ヶ月後、6ヶ月後、1年後、2年後を計測時期とし、中長期にわたる経時的な検討を行った。女性ホルモン補充療法を受けている患者における内皮依存性血管拡張能は改善傾向を認め、治療期間中にその効果の減弱は認められなかった。女性ホルモン補充療法による動脈硬化性疾患の発症抑制には、女性ホルモンの内皮機能改善が関与している可能性が示唆された。また女性ホルモンの至適用量の検討を行うため、2年以上を経過した患者に対して従来の半量を投与し、その後の内皮依存性血管拡張能を検討したところ、血管内皮機能は改善の傾向が認められている。

A. 研究目的

Framingham Studyをはじめとする多くの疫学的研究、ならびに閉経後女性に対する女性ホルモン補充療法により動脈硬化性疾患の発症が約50%に抑えられるといった事実から、エストロゲンが抗動脈硬化作用を有すると考えられる。また動物実験モデルを用いた検討でもエストロゲンの抗動脈硬化作用が確認されている。さらに最近になってエストロゲン受容体 β の発現ならびにエストロゲン受容体 β を介すると考えられる抗動脈硬化作用の一部が報告され、エストロゲンの作用機序が次第に明らかになりつつある。

女性ホルモンの脂質代謝の改善といった動脈硬化のリスクファクターに対する作用に加えて、血管壁に対する直接作用

も指摘されているが、詳細は不明である。

閉経後女性の骨塩量減少に対して女性ホルモン補充療法が抑制効果のあることが知られ、治療に用いられている。短期間の女性ホルモン補充療法で内皮依存性血管拡張反応が改善されることが報告されている。そこで本研究では、骨塩量減少をきたした閉経後女性で女性ホルモン補充療法を受けている患者を対象とし、血管内皮機能がどのような影響を受けるかを中長期にわたり経時的に検討した。また女性ホルモンの至適用量の検討を行うため、2年以上を経過した患者に対して従来の半量を投与し、その後の内皮依存性血管拡張能を検討した。

B. 研究方法

対象は当科外来受診患者で閉経後1年以上を経過した無症候性女性で、骨粗鬆症と診断され女性ホルモン補充療法を開始した8名(平均年齢 54.8 ± 1.3 歳)を対象とした。女性ホルモン補充療法としてはプレマリン(Conjugated estrogen) 0.625mgとプロベラ(Medroxyprogesterone acetate) 2.5mgを連日経口服用を基本とした。また女性ホルモン補充療法を2年間経過した症例のうち6例に対してはプレマリン0.625mgの半量の0.3125mgとプロベラ2.5mgの半量の1.25mgを投与した。内皮依存性血管拡張能として超音波を用い右上腕動脈の反応性充血時の血管径増加率(%FMD)を計測した。同様に内皮非依存性血管拡張能としてNitroglycerin投与後の血管径増加率(%NTG)を計測した。計測時期は治療開始前、開始3ヶ月後、開始6ヶ月後、開始12ヶ月後、開始18ヶ月後、開始24ヶ月後、また6名は低用量に変えてから2-24ヶ月後に%FMDを測定し、血圧、血清ホルモン濃度、血清脂質、空腹時血

糖値等を同時に測定した。

C. 研究結果

被験者閉経後女性8名の基礎データと血清脂質の結果を表1に示す。HRT開始後の各時期では、BMI、平均血圧、総コレステロール、HDLコレステロール、中性脂肪、において有意差は認められなかった。しかし、ApolipoproteinにおいてはApoEにのみ変化がみられ、HRT開始後より低下傾向がみられ、開始6ヶ月後より統計学的に有意差が認められた。HRT開始後の血清 Estradiol 濃度は開始3ヶ月以降では開始以前に比して明らかに上昇していた(表2)。この上昇は半量に変えるとそれに伴い幾分低下するものの、開始以前に比べると有意な上昇を保った。また血清 Progesterone 濃度は開始以前に比して明らかな上昇は認められず、半量に変えても変化は認められなかった。空腹時血糖、HbA1c、フィブリノーゲンにおいても有意差は認められなかった。

Table 1. Clinical Characteristics of Subjects and Serum Lipid Profile

	Pre HRT (n=8)	HRT 3 months (n=7)	HRT 6 months (n=7)	HRT 12 months (n=8)	HRT 18months (n=8)	HRT 24months (n=8)	Half Dose HRT (n=6)
Age (yr)	54.8 ± 1.3						
Body Mass Index (kg/m ²)	20.3 ± 1.0			20.6 ± 1.0		20.4 ± 1.0	
Mean blood pressure (mmHg)	85 ± 3	83 ± 4	80 ± 4	82 ± 3	82 ± 4	84 ± 6	85 ± 5
Total cholesterol (mg/dl)	217 ± 12	215 ± 7	204 ± 10	199 ± 9	206 ± 10	210 ± 6	227 ± 10
HDL cholesterol (mg/dl)	68 ± 6	82 ± 5	73 ± 4	71 ± 4	75 ± 6	83 ± 6	83 ± 6
Apolipoprotein A1 (mg/dl)	147 ± 7	171 ± 8	163 ± 8	159 ± 6	165 ± 10	174 ± 10	183 ± 11
Apolipoprotein B (mg/dl)	102 ± 7	102 ± 6	100 ± 9	97 ± 8	98 ± 7	99 ± 7	102 ± 7
Apolipoprotein CIII (mg/dl)	9.7 ± 0.9	9.2 ± 0.5	8.0 ± 1.1	8.1 ± 0.6	8.3 ± 0.4	8.7 ± 0.5	9.6 ± 0.3
Apolipoprotein E (mg/dl)	5.2 ± 0.3	4.5 ± 0.4	$3.6 \pm 0.2^{**}$	$3.9 \pm 0.2^{**}$	$3.9 \pm 0.2^{**}$	$3.9 \pm 0.3^{**}$	$3.9 \pm 0.5^{**}$
Triglyceride (mg/dl)	80 ± 9	78 ± 10	85 ± 15	83 ± 9	86 ± 9	78 ± 11	73 ± 9

** P<0.05 vs Pre HRT

Table 2. Serum Levels of Ovarian Hormones and Other Blood Parameters

	Pre HRT (n=8)	HRT 3 months (n=7)	HRT 6 months (n=7)	HRT 12 months (n=8)	HRT 18 months (n=8)	HRT 24 months (n=8)	Half Dose HRT (n=6)
Estradiol (pg/ml)	2 ± 2	88 ± 15 **	76 ± 12 **	86 ± 13 **	71 ± 11 **	90 ± 16 **	48 ± 12 **
Progesterone (ng/ml)	0.2 ± 0.07	0.1 ± 0.06	0.2 ± 0.05	0.2 ± 0.05	0.2 ± 0.06	0.2 ± 0.06	0.1 ± 0.08
Fasting plasma glucose (mg/dl)	86 ± 3	84 ± 1	84 ± 2	84 ± 2	84 ± 2	87 ± 3	82 ± 5
Hemoglobin A1c (%)	5.1 ± 0.1	5.0 ± 0.2	4.9 ± 0.2	4.9 ± 0.1	4.8 ± 0.1	4.9 ± 0.1	4.7 ± 0.1
Fibrinogene (mg/dl)	320 ± 12	337 ± 29	272 ± 24	325 ± 28	312 ± 18	318 ± 17	303 ± 13

** P<0.05 vs Pre HRT

閉経後女性の %FMD はHRT治療後経時的に増加傾向を示し、治療開始前で4.7 ± 0.7%、開始3ヶ月後で6.4 ± 0.6%、開始6ヶ月後で7.2 ± 0.6%、開始12ヶ月後で8.2 ± 0.8%、開始18ヶ月後で7.9 ± 0.7%、開始24ヶ月後で8.1 ± 0.9%であり、治療開始前に比し開始6ヶ月後以降で %FMD は有意に増加していた (P<0.05, P<0.01; 図1)。

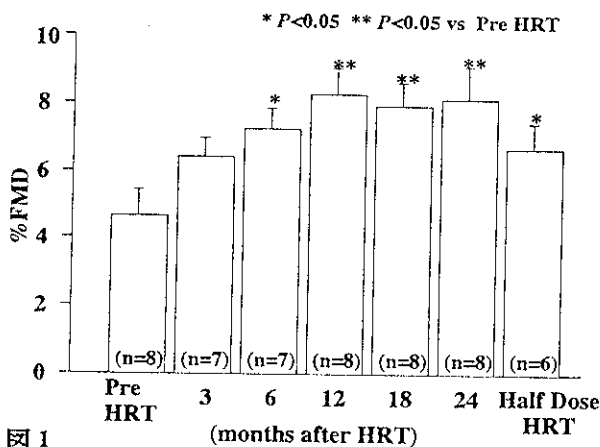


図1

また低用量に変えた6名の %FMD は6.7 ± 0.7%であり、その6名の24ヶ月後の %FMD 8.2 ± 1.3%と比較すると若干の低

下傾向はあるものの、統計学的な有意差は認めなかった。6名のHRT治療開始前の %FMD 5.4 ± 0.7と比較すると %有意に上昇していた。一方、%NTG は治療開始前で13.4 ± 1.2%、開始3ヶ月後で14.6 ± 1.6%、開始6ヶ月後で16.2 ± 1.6%、開始12ヶ月後で15.5 ± 0.6%、開始18ヶ月後で14.8 ± 0.9%、開始24ヶ月後で14.9 ± 1.1、低用量に変えた際の %NTG は15.6 ± 1.2%であり、各時期で有意差は認められなかった(図2)。

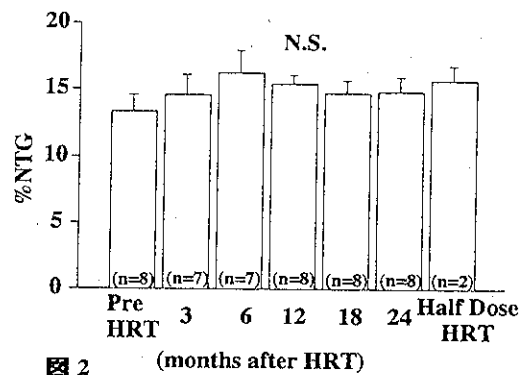


図2

D. 考察

短期間の女性ホルモン補充療法が内皮機能に及ぼす影響の検討としては、Lieberman らによる平均年齢55歳の閉経後女性12人を対象にプラセボ、Estradiol 1mg, 2mg の9週間投与による Double-blind、placebo-controlled、cross-over trial の報告がある。彼らは Estradiol 1mg, 2mg にて明らかな上腕動脈における血流依存性血管拡張反応の改善が、9週間という比較的短期間に認められたことを報告している。しかしながら、長期にわたる女性ホルモン補充療法において内皮機能改善が保たれるか否かと低用量の女性ホルモンが内皮機能を改善するかは不明であった。本研究により長期にわたるHRTにより少なくとも24ヶ月は内皮機能改善が維持され、その改善効果は低用量のHRTにおいても維持されることが示唆された。今後さらに症例数を重ね検討を要する必要がある。低用量HRT単独の血管内皮機能に及ぼす影響は現在症例を増やしつつ検討中である。

エストロゲンの作用機序に関しては脂質代謝改善等の動脈硬化のリスクファクターに対する作用と、動脈壁への直接作用に分けることができる。高コレステロール血症が動脈硬化のリスクであることはよく知られた事実であるが、エストロゲンに血清コレステロールレベルを変動する作用があることが多くの報告より明らかになっている。エストロゲンの投与により総コレステロールは低下する。またLDLコレステロールを低下させ、逆にHDLコレステロールを上昇させる。しか

し高脂血症を有さなかった被験者の閉経後女性8名においてはHRT開始後の各時期では、BMI、平均血圧、総コレステロール、HDLコレステロール、中性脂肪、空腹時血糖、HbA1cにおいて有意差は認められなかった。それゆえエストロゲンによる内皮機能の改善はこれら動脈硬化のリスクファクターに対する作用を介するものである可能性は低いと考えられる。またApolipoprotein EがHRTによって低下したことは肝臓においての合成の低下ないしは分解の促進が考えられるものの、本研究からはそれ以上の考察は難しい。

上述した動脈硬化のリスクを改善する作用の他に、エストロゲンは直接血管壁に作用して抗動脈硬化作用を発揮することも指摘されている。血管構成細胞にエストロゲン受容体が存在することは、エストロゲンの血管に対する直接作用を示唆するものと考えられる。Colburn らが培養大動脈内皮細胞に、Nakao らが培養大動脈平滑筋細胞に、エストロゲンの結合部位があることを証明した。また遺伝子レベルでも血管平滑筋細胞にエストロゲン受容体が存在することが示された。Kim-Schulze らはヒト冠動脈ならびに臍帯静脈内皮細胞にエストロゲン受容体が存在することを報告した。エストロゲンの血管壁に対する作用が、すべてエストロゲン受容体を介するか否かは不明であるが、エストロゲン受容体の存在はエストロゲンと血管との関係を考える上で大変意義深いと思われる。

血管内皮細胞は、内皮細胞由来弛緩因子 (Endothelium-derived relaxing

factor, EDRF) を産生し血管の tonus の調節に関与している。EDRF は nitric oxide (NO) または NO 類似化合物 (nitrosotiol または nitrosoheme など) であると現在では考えられている。エストロゲンは内皮細胞からの NO 産生を増加させることで血管拡張に働くという報告が得られてきている。高コレステロール食で飼育したサルは冠動脈は内皮機能障害が認められるが、エストロゲンの投与がこの障害を防ぐという報告もある。この研究では冠動脈内にアセチルコリン (内皮細胞に対する NO 放出作用、中膜平滑筋に対する直接の収縮作用を有する) を注入し、血管径の変化を冠動脈造影で評価している。卵巣摘出後エストロゲン補充を行った群ではアセチルコリンにより血管拡張が認められたが、エストロゲン補充を行わなかった群では逆に血管収縮が起きている。同様の検討は臨床的にも行われており、Reis らは、冠動脈疾患を有する閉経後女性に対しエストロゲンの急性投与を行ったところ、アセチルコリンの冠動脈内投与に対する血管径の反応が改善したことを報告している。これらの報告は本研究で得られた結果を十分支持するものと考えられる。

血管内皮機能異常は動脈硬化の初期変化と考えられているが、その機能評価は従来アセチルコリンの動脈内投与等による侵襲的検査法が主体であった。血流依存性血管拡張による血管内皮機能の評価は、高解像度の超音波を用いることで、非侵襲的に行うことができる。われわれは冠動脈危険因子の重複によって血管内

皮機能が低下することや血管内皮機能と頸動脈内膜中膜複合体の肥厚度が逆相関する事をすでに報告している。上腕動脈の血管内皮機能は冠動脈の血管内皮機能との相関や、心血管イベントとの関連も報告されている。それゆえHRTで血管内皮機能を保つことは、動脈硬化の進展防止につながると考えられる。通常量のHRTは一般に欧米で用いられている用量であり、本邦閉経後婦人に適量か否かは定かではない。通常量のHRTでは乳癌や子宮体癌などの発生の懸念、並びに子宮を有する婦人では閉経後の性器出血などの副作用を心配する声大きい。より少ない量でのHRTが有効であれば、副作用等の発生は軽減するものと思われる。今回のわれわれの検討では通常量の半量でも血管内皮機能は保持されることが示唆され、本邦閉経後婦人へのHRT投与量として低用量でも投与可能であり、効果が期待できる可能性が示された。

E. 結論

女性ホルモン補充療法により閉経後女性の血管内皮機能は改善を示した。この改善は女性ホルモン補充療法中は維持され、通常量の半量の女性ホルモン補充療法においても改善を認めた。女性ホルモン補充療法による動脈硬化性疾患の発症抑制には、女性ホルモンの血管内皮機能改善が関与している可能性が示唆され、低用量の女性ホルモン補充療法でも血管内皮機能を改善できる可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hashimoto M, Ouchi Y, et al. Modulation of endothelium-dependent flow-mediated dilatation of the brachial artery by sex and menstrual cycle. *Circulation* 92: 3431-55, 1995
- 2) Han SZ, Ouchi Y, et al. Inhibitory effects of insulin on Cytosolic Ca^{2+} level and contraction in the rat aorta endothelium-dependent and -independent mechanisms. *Circulation Res* 77: 673-8, 1995
- 3) Han SZ, Ouchi Y, et al. 17beta-estradiol inhibits Ca^{2+} influx and Ca^{2+} release induced by thromboxane A2 in porcine coronary artery. *Circulation* 91: 2619-26, 1995
- 4) 江頭 正人、大内尉義. 中高年者における血管内皮依存性拡張能についての検討. *日老医誌* 32:315, 1995,
- 5) 江頭 正人、大内尉義. 高コレステロール血症患者における血管内皮機能に関する検討. *日老医誌* 33:722, 1996
- 6) Akishita M, Ouchi Y, et al. Estrogen inhibits endothelin-1 production and c-fos gene expression in rat aorta. *Atherosclerosis* 125:27-38, 1996
- 7) Akishita M, Ouchi Y, et al. Estrogen inhibits cuff induced intimal thickening of rat femoral artery: effects on migration and proliferation of vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis* 130:1-10, 1997
- 8) Akishita M, Ouchi Y, et al. Estrogen attenuates endothelin-1 production by bovine endothelial cells via estrogen receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 251:17-21, 1998
- 9) Hashimoto M, Ouchi Y, et al. The impairment of flow-mediated vasodilatation in obese men with visceral fat accumulation. *Int J Obes Relat Metab Disord* 22:477-84, 1998
- 10) Ogawa S, Ouchi Y, et al. The complete primary structure of human estrogen receptor beta (hER beta) and its heterodimerization with ER alpha in vivo and in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 243(1):122-6, 1998
- 11) Hashimoto M, Eto M, Akishita M, Kozaki K, Ako J, Iijima K, Kim S, Toba K, Yoshizumi M, Ouchi Y. Correlation between flow-mediated vasodilatation of the brachial artery and intima-media thickness in the carotid artery in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19:2795-800, 1999.
- 12) Inoue S, Urano T, Ogawa S, Saito T, Orimo A, Hosoi T, Ouchi Y, Muramatsu M. Molecular cloning of rat efp: expression and regulation in primary osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 261:412-8, 1999
- 13) Hosoi T, Miyao M, Inoue S, Hoshino S, Shiraki M, Orimo H, Ouchi Y. Association study of parathyroid hormone gene polymorphism and bone mineral density in Japanese postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 64:205-8, 1999
- 14) 荻原俊男, 森本茂人, 中橋毅, 日和田邦男, 松岡博昭, 松本正幸, 島本和明, 大内尉義, 阿部功, 三上洋, 石光俊彦, 小原克彦, 高崎幹裕, 増田敦, 宗平純一, 江頭正人, 高川芳勅, 清原裕, 井林雪郎, 中村敏子, 藤島正敏. 降圧薬療法下通院中の老年者高血圧患者の3年間予後に関する多施設調査—脳心血管疾患および悪性疾患の発症・死亡について—. *日老医誌*

36:342-52, 1999

15) 宮尾益理子、細井孝之、大内尉義.
骨粗鬆症と遺伝子多型. 日老医誌
36:245-50, 1999

16) Iijima K, Yoshizumi M, Hashimoto M,
Kim S, Eto M, Ako J, Liang YQ, Sudoh N,
Hosoda K, Nakahara K, Toba K, Ouchi Y.
Red wine polyphenols inhibit proliferation of
vascular smooth muscle cells and downregulate
expression of cyclin A gene. *Circulation*
22:805-811, 2000

17) Michiro Ishikawa, Masahiro Akishita,
Koichi Kozaki, Kenji Toba, Atsushi Namiki,
Tetsu Yamaguchi, Hajime Orimo and
Yasuyoshi Ouchi. Expression of parathyroid
hormone-related protein in human and
experimental atherosclerotic lesions: functional
role in arterial intimal thickening.
Atherosclerosis (in press)

2. 学会発表

1) 橋本正良、大内尉義、他：閉経後女性
におけるホルモン補充療法の内皮依存性
血管拡張能に対する影響－超音波を用い
た検討－. 第7回性差医学研究会、東京、
1998年

2) 阿古潤哉、大内尉義、他：血管におけ
るエストロゲン受容体の発現とその役割.
第7回性差医学研究会、東京、1998年

3) 須藤紀子、大内尉義、他：フリーラジ
カルによる血管内皮細胞のアポトーシス
誘導と17βエストラジオールの抑制作用.
第30回日本動脈硬化学会総会、東京、
1998年

4) Inoue S, Ogawa S, Hosoi T, Muramatsu M
and Ouchi Y. Dominant negative mutant of

estrogen receptor as a tool for gerontological
research of estrogen action. 6th Asia/Oceania
Regional Congress of Gerontology, Seoul,
Korea, 1999年6月

5) Kim S, Yoshizumi M, Akishita M, Ako J,
Iijima K, Hashimoto M, Watanabe T, Ohike Y,
Toba K and Ouchi Y. Alterations in circulatory
homeostasis and cardiovascular diseases in the
elderly. 6th Asia/Oceania Regional Congress of
Gerontology, Seoul, Korea, 1999年6月

6) Ohike Y, Hashimoto M, Eto M, Kim S,
Ako J, Iijima K, Liang YQ, Sugimoto N,
Akishita M, Kozaki K, Yoshizumi M, Toba K
and Ouchi Y. Risk factors of Atherosclerosis
and vascular endothelial function. 6th
Asia/Oceania Regional Congress of
Gerontology, Seoul, Korea, 1999年6月

7) Inoue S, Ogawa S, Ishii Y, Tsurukami H,
Hirabayashi M, Ikeda K, Orimo A, Hosoi T,
Ueda M, Nakamura T, Ouchi Y, Muramatsu
M. Impaired estrogen receptor α and β
pathways. 81st Annual Meetings of the
Endocrine Society, San Diego, USA, 1999年6
月

8) Masayoshi Hashimoto, Koichi Kozaki,
Masato Eto, Masahiro Akishita, Junya Ako,
Katsuya Iijima, Seungbum Kim, Kenji Toba,
Masao Yoshizumi, Yasuyoshi Ouchi.
Association of coronary risk factors and
endothelium-dependent flow-mediated
dilatation of the brachial artery. The 72nd
American Heart Association Scientific
Sessions, Atlanta, USA 1999年11月

9) Noriko Sudoh, Kenji Toba, Masahiro
Akishita, Seungbum Kim, Junya Ako,

Masayoshi Hashimoto, Katsuya Iijima, Yi-Qiang Liang, Yumiko Ohike, Tokumitsu Watanabe, Masao Yoshizumi, Yasuyoshi Ouchi. estrogen protects vascular endothelial cells from apoptosis induced by hydrogen peroxide in rats. The 72nd American Heart Association Scientific Sessions, Atlanta, USA 1999年11月

10) 橋本正良、金承範、江頭正人、吉栖正雄、阿古潤哉、飯島勝矢、杉本直太、長野宏一朗、須藤紀子、鳥羽研二、大内尉義、近藤和雄、板倉弘重、細田和昭：赤ワイン急性摂取による内皮依存性血管拡張反応への影響。第28回東京脂質代謝研究会、東京、1999年1月

11) 井上 聡、小川純人、細井孝之、村松正實、大内尉義。エストロゲン受容体 (ER) α と ER β 両方のシグナルを阻害するドミナントネガティブ体。第14回ビタミンDワークショップ、1999年2月

12) 飯島勝矢、吉栖正雄、橋本正良、金承範、秋下雅弘、阿古潤哉、梁 一強、須藤紀子、渡辺徳光、大池裕美子、鳥羽研二、大内尉義。赤ワインポリフェノールの抗動脈硬化作用。第4回CTTG研究会、東京、1999年2月

13) 大内 尉義。循環器 "老化への道程" —老年期における循環器疾患。第63回日本循環器学会学術集会、東京、1999年3月

14) 須藤 紀子、鳥羽 研二、秋下 雅弘、江頭 正人、阿古 潤哉、金 承範、橋本 正良、飯島 勝矢、渡辺 徳光、大池 裕美子、吉栖 正雄、大内 尉義。エストロゲンの血管内皮細胞アポトーシ

ス抑制作用 -in situ 内皮傷害モデルにおける検討-。第63回日本循環器学会学術集会、東京、1999年3月

15) 井上 聡、小川純人、後藤和歌子、細井孝之、村松正實、大内尉義。エストロゲン受容体 (ER) α と ER β 両方のシグナルを阻害するドミナントネガティブ体と ER α / β それぞれのリガンド非依存性活性体。第72回日本内分泌学会学術総会、横浜、1999年6月

16) 大内尉義。高齢者の新しい総合的機能評価法の開発とその応用。第41回日本老年医学会学術集会・総会、京都、1999年6月

17) 橋本正良、宮尾益理子、江頭正人、金承範、阿古潤哉、飯島勝矢、梁 一強、須藤紀子、渡辺徳光、大池裕美子、吉栖正雄、鳥羽研二、大内尉義。女性ホルモン補充療法による内皮依存性血管拡張能に対する影響—2年にわたる臨床的検討—。第31回日本動脈硬化学会総会、宮崎、1999年6月

18) 井上 聡、折茂 彰、小川純人、大内尉義、村松正實。核内レセプタースーパーファミリーエストロゲン受容体とその標的遺伝子の生体機能。第72回日本生化学会大会、横浜、1999年10月

G. 知的所有権の所有状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生省科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

分担研究者 井上 聡 東京大学大学院医学系研究科講師

骨粗鬆症の予防、治療とホルモン補充療法に関する研究

研究要旨 日本人閉経後女性において、低用量[通常の半量]のHRTが骨量に与える影響を検討したところ、骨量増加効果が十分期待でき、有害事象も軽度であることが明らかになった。またHRT治療選択への遺伝子マーカーの候補として二つのエストロゲン受容体(ER) 遺伝子 α と β それぞれの新しい多型を見出し、骨量、骨代謝マーカーとの相関を示した。

A. 研究目的

女性ホルモン補充療法(HRT)は骨量増加・保持作用および骨粗鬆症による骨折の発生を抑制する効果を有することから、骨粗鬆症の進展防止および予防の目的で、欧米特に北米において広く用いられている。しかしながら、HRTを最も効率的に行うにはいつ開始すべきか、またどのくらいの期間行うべきかなど不明な点も少なくない。また、副作用の問題や治療中に服薬のコンプライアンスが低下し脱落してしまう症例が多いことなど問題点も指摘されている。一方、我が国における骨粗鬆症の予防・治療におけるHRTは最近急速に行われつつあるが、日本人におけるHRTの骨粗鬆症の予防・治療における意義については検討が十分でない。そこで、我々は日本人閉経後女性におけるHRTの骨量に及ぼす効果、および安全性ならびに服薬のコンプライアンスについて検討を行った。

また、骨粗鬆症は多因子性疾患であり、その背景因子については遺伝的因子

の影響が大きいことが示唆されている。閉経後女性における骨密度の減少は個人間で一様ではないことが知られており、この個人差は閉経に伴うエストロゲン産生の低下という体内環境の変化に対する反応性の多様性にもとづくものと考えられることができる。すなわち、この多様性に関与するものとしてエストロゲン作用に個体差があることが想定できる。特にエストロゲン作用の入口となるエストロゲンレセプター(ER)には最近従来から知られている α に加え β が存在することが明らかとなり、この二つのレセプターの量的あるいは質的な多様性、さらにはそれらを規定するER遺伝子の多様性が閉経後骨粗鬆症とそのホルモン補充療法に対する反応性を規定している可能性が考えられる。そこで我々は新しいER α 遺伝子とER β 遺伝子の多型性を探索し骨密度ならびに骨代謝マーカーとの関連を検討した。

B. 研究方法

1. 低容量HRTが骨量に及ぼす効果：

閉経後女性 36 名を対象に、HRT による骨密度の変化および副作用の発現頻度・服薬コンプライアンス状況について調査した。HRT 開始時の年齢は 63.3 ± 11.7 (Mean \pm S.D.) 歳 (35 - 86 歳)、で、HRT の方法は、基本的に結合型エストロジェン (プレマリン) 0.3125 mg の連日投与によった。骨量測定は dual energy X-ray absorptiometry を用いて、第二腰椎～第四腰椎の骨密度 (BMD) を原則として 3 か月毎に測定し、約 2 年間にわたり追跡した。有害事象の発生、服薬のコンプライアンスに関しても調査を行った。

2. ER 遺伝子の多型性分析：ER α 遺伝子の多型性分析は健康閉経後女性 306 名を対象として、末梢血の白血球分画より DNA を抽出した。ER の各エクソン (エクソン 1 からエクソン 8 まで) の全長を挟み込むように PCR プライマーを作成し、各エクソン毎に PCR を施行後、その産物を用いて PCR-SSCP を行った。この PCR-SSCP では、熱解離させた一本鎖 DNA が分子内塩基対を形成することにより、未変性ゲル内で独自の立体構造をとるため、見かけの分子サイズが塩基配列の違いにより異なってくるのを泳動度の差で検出するものである。PCR-SSCP ゲルより、移動度の異なるバンドを切り出し、クローン化し、dideoxy 法により DNA 塩基配列を決定した。その PCR-SSCP により分類された genotype と、BMD や各種骨代謝マーカーとの関連性について検討を加えた。

ER β 遺伝子の多型性分析は閉経後女性 204 人を対象とし、末梢血 DNA を用いて

CA リピートを含む領域を PCR 法にて増幅後、シーケンス法により遺伝子多型を同定した。この CA repeat 多型を用い、BMD と各種骨代謝マーカーとの関連性について検討した。

C. 研究結果

1. 低容量 HRT が骨量に及ぼす効果：治療開始直前の第二腰椎～第四腰椎 BMD は 0.791 ± 0.173 g/cm² (0.373 - 1.146, n=36) であった。HRT により BMD は 24 か月までのすべての測定において、初回時に比較し増加し、3 か月 (0.784 ± 0.198 ; +0.013 の増加, $p < 0.10$)、6 か月 (0.800 ± 0.160 ; +0.020, $p < 0.05$)、9 か月 (0.802 ± 0.162 ; +0.024, $p < 0.05$) であり以後 +2 % 前後を推移した。

有害事象は 36 例中 15 例に認め、その内訳は帯下の増加 9 例・性器出血 5 例・乳房緊満感 4 例であったが、いずれも一過性の軽度のもので治療の継続に支障を来たすようなものは認められなかった。服薬のコンプライアンスは、良好 (90% 以上服薬) 28 例・やや良好 (2/3 以上服薬) 5 例・不良 3 例であり、不良と判定された 3 例はすべて 60 歳未満の症例、やや良好と判定された 5 例中、2 例は 50 歳代、3 例は 60 歳代と若年者のコンプライアンスは低い傾向を認めた。

2. ER 遺伝子の多型性分析：

ER α 遺伝子の各エクソン毎に PCR-SSCP を行なった結果、エクソン 4 の PCR-SSCP において、3 種の泳動パターンが得られた。PCR-SSCP ゲルの各バンドを切り出して、クローニングし、

塩基配列を決定したところ、975番目のシトシンがグアニンに塩基置換を起こしているalleleが存在した。この塩基置換を持たないgenotypeをMM、一つ持つgenotypeをMm、二つ持つgenotypeをmmと名付けた。それぞれのgenotypeの出現頻度は、それぞれ、81名(26.5%)、132名(43.1%)、93名(30.4%)であった。この新しい多型性(MM, Mm, mm)と骨塩量や各種骨代謝パラメータとの関連につき解析を行なったところ、MM群では骨塩量の年間減少率が大きい傾向にあり、尿中カルシウム排泄量(早朝空腹時尿、クレアチニン補正值)が他のgenotypeに対して有意に多いことが判明した(MM vs mm, 0.247 vs 0.200, $p=0.03$)。

一方、ER β 遺伝子多型解析の結果では、ER β CAリピートは18~32の範囲で認められた。特にER β 26CAリピートを有する群とそれ以外の2群間において、腰椎骨骨密度との相関を解析したところ、前者で有意に高値を示すことが明らかになった(Z score; 0.674 vs. 0.128; $p=0.027$)。

D. 考察

閉経後女性においてHRTの意義およびコンプライアンスについて検討したところ、(1)低用量(プレマリン0.3125 mg/日)のHRTでも骨量は増加し、最高値は+8%にも達した。効果は追跡期間中維持された。(2)平均閉経後期間15年という高齢者においてもHRTは有効であり、また高齢者でのコンプライアンスは良好であった。(3)低用量HRTは有害事象が

軽度であり投薬拒否には直結しなかった。以上より、低用量HRTは閉経後の骨量減少および退行期骨粗鬆症に対する極めて有効な治療法であると考えられた。

骨量の新しいマーカーの開発としてHRTの作用点であるERをターゲットとして検索した。ER α のエクソン内の多型性はエクソン4内の975番目の塩基であるシトシン(C)がグアニン(G)に1塩基置換を起こしているalleleとして見出され、各genotypeと骨塩量や各種骨代謝マーカーの関連について検討したところ、尿中カルシウム排泄量の多いMM群は、mm群と比べて骨塩量の減少率が速い傾向にあることがわかった。この塩基置換はsilent mutationであったが、ER α のエクソン内の多型性についてはエクソン1の突然変異(silent mutation)以外には現在までに報告はなく、エクソン内に新たな多型性を検出した本研究の意義は大きいと考える。閉経直後の女性は尿中カルシウム排泄量が多く、エストロゲン補充療法により、尿中カルシウム排泄量が減少するという報告もあり、新たなエストロゲン受容体遺伝子の多型性が影響を及ぼしている可能性がある。

一方、新たに見出したER β CAリピートの多型解析からER β が少なくとも骨代謝に関与している可能性が示され、骨量予測に用いる遺伝子マーカーとしての有用性も示唆された。現在、WAVE法を用いて、新たなER β のSNP(single nucleotide polymorphism)の検索および骨密度、骨代謝マーカーとの相関の解析を進めている。

以上、二つのER遺伝子の多型と閉経後女性骨量ならび骨代謝マーカーとの解析を行い、新しいマーカーの開発した。

E. 結論

日本人閉経後女性において、低容量HRTにて骨量増加効果が十分期待できることが明らかになった。またER遺伝子多型性と骨量、骨代謝マーカーとの関連が認められることを示した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Kobayashi S, Inoue S, Hosoi T, Ouchi Y, Shiraki M, Orimo H. Association of bone mineral density with polymorphism of the estrogen receptor gene. *J Bone Miner Res* 11:306-311, 1996

2) Mizunuma H, Hosoi T, Okano H, Soda M, Tokizawa T, Kagami I, Miyamoto S, Ibuki Y, Inoue S, Shiraki M, Ouchi Y. Estrogen receptor gene polymorphisms and bone mineral density of pre- and postmenopausal women. *Bone* 21: 379-383, 1997

3) Ogawa S, Inoue S, Watanabe T, Hiroi H, Orimo A, Hosoi T, Ouchi Y. The complete primary structure of human estrogen receptor beta (hER beta) and its heterodimerization with ER alpha in vivo and in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 243:122-126, 1998

4) Ogawa S, Inoue S, Orimo A, Hosoi T, Ouchi Y, Muramatsu M. Cross-inhibition of both estrogen receptor alpha and beta pathways by each dominant negative mutant. *FEBS Lett* 423:129-132, 1998

5) Ogawa S, Inoue S, Watanabe T, Orimo A, Hosoi T, Ouchi Y, Muramatsu M. Molecular cloning and characterization of human estrogen receptor (ER) beta cx: a potential inhibitor of estrogen action in human.

Nucleic Acids Res 26:3505-3512, 1998

6) Tsukamoto K, Inoue S, Hosoi T, Orimo H, Emi M. Isolation and radiation hybrid mapping of dinucleotide repeat polymorphism at the human estrogen receptor beta locus. *J Hum Genet* 3: 73-74, 1998

7) Inoue S, Urano T, Ogawa S, Saito T, Orimo A, Hosoi T, Ouchi Y, Muramatsu M: Molecular cloning of rat efp: expression and regulation in primary osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 261(2):412-8, 1999

8) Ogawa S, Hosoi T, Shiraki M, Emi M, Muramatsu M, Ouchi Y, Inoue S: Association of estrogen receptor β (ER β) gene polymorphism with bone mineral density. *Biochem Biophys Res Commun* (in press), 2000

9) Hoshino S, Hosoi T, Miyao M, Shiraki M, Orimo H, Ouchi Y, Inoue S: Identification of a novel polymorphism of estrogen receptor alpha gene that is associated with calcium excretion in urine. *J Bone Miner Metab* (in press), 2000

2. 学会発表

1. 井上聡、大内尉義、村松正実: [シンポジウム]ステロイドホルモン標的遺伝子(1999.4.4)日本医学会総会(東京)

2. 井上聡、大内尉義、村松正実: [ミニシンポジウム]エストロゲン受容体と応答遺伝子の生体機能(1999.10.9)日本生化学会(横浜)

3. 小川 純人, 浦野 友彦, 細井 孝之, 白木 正孝, 折茂 肇, 井上 聡, 大内尉義. PPAR γ 遺伝子多型の骨量に及ぼす影響. (2000.1.28)第6回日本未病システム学会(広島.)

4. Inoue, S., Ogawa, S., Hosoi, T., Muramatsu, M., and Ouchi, Y. Dominant negative mutant of estrogen receptor as a tool for gerontological research of estrogen action. 6th Asia/Oceania Regional Congress of Gerontology, Seoul (Korea). 1999 June 8-11

5. Inoue, S., Ogawa, S., Ishii, Y., Tsurukami, H., Hirabayashi, M., Ikeda, K.,

Orimo, A., Hosoi, T., Ueda, S., Nakamura, T., Ouchi, Y., and Muramatsu, M. Impaired estrogen sensitivity in bone by inhibiting both estrogen receptor a and b pathways. 81th Annual Meeting of the Endocrine Society, New Orleans (USA). 1999 June 24 - 27.

G. 知的所有権の所有状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

高齢女性の精神的健康とホルモン補充療法（HRT）に関する研究

分担研究者 大藏 健義 獨協医科大学越谷病院教授

研究要旨 長期間の周期的順次投与法によるHRTが脳血流に及ぼす影響の検討のため、結合型エストロゲン（CEE）0.625mg/日または1.25mg/日を25日間投与し、後半の12日間に酢酸メドロキシプロゲステロン（MPA）5mg/日または10mg/日（CEE0.625mg/日に対してMPA5mg/日の割合）を併用投与して、5日間休業する周期的順次投与法によるホルモン補充療法（HRT）を閉経後女性に行い、HRT開始前と開始後に^{99m}Tc-ECDとSPECTを用いて脳血流を測定した。1年後、2年後、3年後の大脳血流量は3週後と同じ程度に有意に増加した（ $p < 0.05$ ）。小脳血流量も同じように増加したが、2年後と3年後の増加率は、3週後よりも有意に大きかった（ $p < 0.05$ ）。持続併用療法によるHRTが脳血流に及ぼす影響に関する検討として、CEE0.625mg/日+MPA2.5mg/日持続併用療法（通常量持続併用療法）を閉経後女性に行い、HRT開始前と3週後に脳血流を測定したが、大脳血流量では有意な変化は観察されなかった。小脳血流量は3週後と半年後に有意に増加した（ $p < 0.05$ ）。この投与法では、大脳血流と小脳血流に対するHRTの効果に乖離が認められた。また、CEE0.3125mg/日単独またはCEE0.3125mg/日+MPA1.25mg/日持続併用療法（低用量持続併用療法）を閉経後女性に行い、HRT開始前と開始後6週に脳血流を測定した。大脳血流は増加の傾向にあり（ $p < 0.07$ ）、小脳血流量は有意に増加した（ $p < 0.05$ ）。CEE・MPAの周期的順次投与法では、1年後、2年後、3年後にも大脳及び小脳血流の改善効果は維持された。また、CEE+MPAの通常量持続併用療法では大脳血流の改善効果は認められなかったが、小脳血流ではその効果は認められた。さらに、低用量持続併用療法は大脳血流及び小脳血流をともに増加すると考えられ、脳血流改善の観点から好ましい投与法であると思われる。

A. 研究目的

エストロゲン補充療法（ERT）は記憶や脳血流などの脳機能にも影響を及ぼすという重要な作用がある。最近では、ERTを受けていた女性はそうでない女性に比べて、アルツハイマー病発症の危険率が有意に低下した、という疫学的調査結果が相次いで報告されている。ERTが脳血流に及ぼす影響は、ERTが脳機能に及ぼす影響を臨床的に考える際に重要である。

ERT中に内頸動脈、中大脳動脈、眼底動脈などをドプラ計測して、血管抵抗が減少して血流速度が変化していることを

報告した論文はあるが、ERT中の脳血流そのものを測定して報告した論文は、著者らのものを除けば、殆ど見当たらない。平成10年度本分担研究、及び昨年度行った文部省科学研究費補助金「研究成果報告書」で著書らは次のような事実を明らかにした。1) 女性は閉経すると脳血流量が減少する。2) 閉経後女性に結合型エストロゲン（CEE）0.625mg/日または1.25mg/日を3週間投与すると、脳血流量はどちらの投与法でも同じ程度に大脳、小脳とも有意に増加する。3) 2) のCEE投与の後半、酢酸メドロキシプロゲステ

ロン(MPA)を5mg/日または10mg/日を8~12日間併用投与(CEE・MPAの順次投与方法)しても、脳血流の増加率は変わらない。4) CEE・MPAの周期的順次投与方法によるHRTを1年間行った時、脳血流を増加させる効果は1)の3週間投与の場合とほぼ同じであった。5) 3週間のCEE+MPA持続併用療法では有意な大脳血流の増加は認められなかった。しかし、さらに長期である2年及び3年での周期的順次投与方法によるHRTや、CEE+MPAの長期持続併用療法によるHRTの脳血流に及ぼす影響についてはまだ検討していなかった。したがって、本研究ではこれらのHRTが脳血流に及ぼす効果について検討するとともに、さらに低用量のCEE0.3125mg/日+MPA1.25mg/日ではどうなるかについても検討した。

B. 研究方法

1. 対象と方法

対象は、獨協医科大学越谷病院産科婦人科更年期外来を受診、更年期症状を有するが、脳血管障害を始めとして神経学的徴候を示さない閉経後女性とした。

研究課題Iと研究課題IIで用いた脳血流の測定法は次のとおりであった。脳血流の測定は technetium-99m ethylcysteinate dimer ($^{99m}\text{Tc-ECD}$)と single photon emission computed tomography (SPECT)を用いて、松田らの方法で定量的に測定した。SPECT収集は、東芝社製3検出器ガンマカメラGCA-9300Aを用い、ダイナミック収集は、東芝社製1検出ガンマカメラ

GCA-90Bを用いた。

仰臥位、閉眼、安静状態で、事前に血圧を測定した後に、 $^{99m}\text{Tc-ECD}$ は右腕内側肘静脈に、21Gのトンボ針を留置し、600MBqを生理食塩水20mlにて、ボラス投与して、マトリックス128x128、100フレーム(F/sec)で収集した。収集データをGMS-550Uに転送し、大動脈弓と大脳半球に関心領域を設定し、松田らの方法に従って Patlak-Plot 解析を行い、脳血流指標である brain perfusion index(BPI)を算出して、脳血流値(ml/100g/min)に変換した。

基底核と視床を含む断層面と、これから下方へ9スライス(9×3.4mm幅)目の画像で得られた小脳のスライス面全体にフリーROI(region of interest)を設定して血流値を求め、これを小脳の平均血流量とした。

脳血流の測定は、午前9:00~10:30の間に行い、同一人物に関しては同じ時間帯に行った。

尚、脳血流の測定はすべての対象(閉経後女性)から同意を得て行った。

研究課題I. 長期間の周期的順次投与方法によるHRTが脳血流に及ぼす影響に関する検討

ホルモン補充療法(HRT)を開始した時の対象21名の平均年齢は 50.7 ± 5.1 (SD)歳であった。以後平均値を示す時は、平均±SDとした。全症例でHRT開始直前、及び開始後3週間と1年(平均 13.8 ± 2.3 月)に脳血流を測定した。このうち15名では2年(平均 25.4 ± 2.2 月)後に、8名では3年(平均 37.5 ± 1.5 月)後に、それぞれ現在ま

でに脳血流を測定済みである。測定は各HRT周期のおよそ21日目前後に行った。HRTはCEE0.625mg/日または1.25mg/日を25日間投与し、後半の12日間にMPA5mg/日または10mg/日(CEE0.625mg/日に対してMPA5mg/日の割合)を併用投与した。5日間休薬して、この周期投与をくり返し行った(周期的順次投与方法)。統計学的処理は、paired t-testを用いて検定した。したがって、2年と3年のBaselineでの症例数は、それぞれに対応する15名と8名であった。

研究課題II. 持続併用療法によるHRTが脳血流に及ぼす影響に関する検討

1) CEE0.625mg/日+MPA2.5mg/日持続併用療法(通常量持続併用療法)

HRTを開始した時の対象15名の平均年齢は50.7±5.6歳であった。全症例でHRT開始前と3週間後に脳血流を測定した。このうちの9名では半年(平均6.6±1.3月)後に、4名では1年(平均11.5±1.0月)後に、それぞれ現在までに脳血流を測定済みである。

併用療法(低用量持続併用療法)

HRTを開始した時の対象7名の平均年齢は58.7±4.4歳であった。このうちの3名は子宮摘出済みでCEE単独とし、残りの4名ではMPAを併用していずれも連続投与を行った。投与直前と投与開始6週間後に脳血流を測定して比較した。

C. 研究結果

研究課題I.

1) 大脳血流量

HRT前後の大脳血流量(CBF)の推移と変化率を表1に示した。CBFについては、その推移を図示した(図1)。3週後、1年後、2年後、3年後のCBFは、いずれも前値に対して有意に増加した。平均増加率は5.8~8.0%で各増加率間に有意差はなかった。

2) 小脳血流量

HRT前後の小脳血流量(C_{bl}BF)の変化と増加率を表2に示した。C_{bl}BFについては、その推移を図示した。3週後、1年後、2年後、3年後のC_{bl}BFはいずれも前値に対して有意に増加した。平均増加率は、

表1. 長期HRT(CEE・MPAの周期的順次投与方法)前後の大脳血流量(CBF)の推移と変化率

	Baseline (n=21)	3 weeks (n=21)	1 year (n=21)	2 years (n=15)	3 years (n=8)
CBF (ml/100g/min)	44.3 ± 4.5	47.4 ± 4.8**	47.3 ± 4.9**	46.7 ± 4.8*	47.7 ± 5.6*
Δ% change	—	7.1 ± 5.3	6.7 ± 5.8	5.8 ± 9.2	8.0 ± 6.4

Mean ± SD. * p < 0.05, ** p < 0.00 vs. Baseline. 変化率(Δ%change)は、HRT前の値(Baseline)に対して何%変化したかを示している。

2) CEE0.3125mg/日単独または
CEE0.3125mg/日+MPA1.25mg/日持続

5.9~13.6%であり、2年後と3年後の平均
増加率は3週後の平均増加率よりも有意に

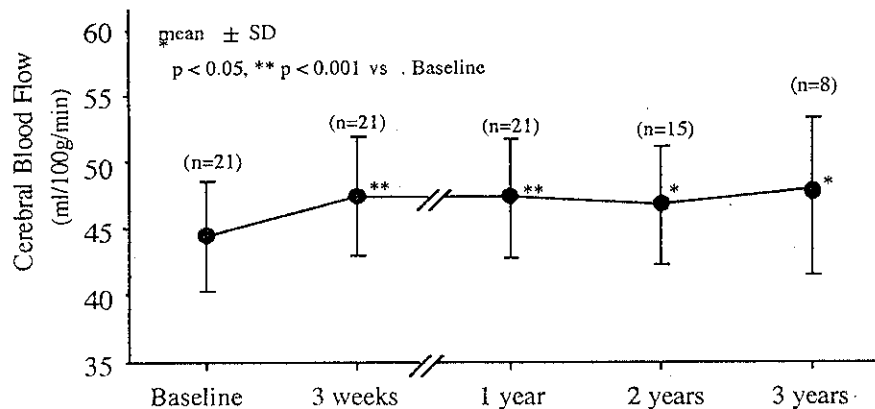


図1. 長期HRT(CEE・MPAの周期的順次投与法)前後の大脳血流量(CBF)の推移

表2. 長期HRT(CEE・MPAの周期的順次投与法)前後の小脳血流量(C_{b1}BF)の推移と変化率

	Baseline (n=21)	3 weeks (n=21)	1 year (n=21)	2 years (n=15)	3 years (n=8)
C _{b1} BF (ml/100g/min)	48.1 ± 5.1	50.9 ± 5.2**	52.0 ± 5.9**	53.1 ± 5.3**	54.0 ± 5.3*
Δ% change	—	5.9 ± 4.9	8.2 ± 7.4	11.7 ± 8.1†	13.6 ± 8.2†

Mean ± SD. * p < 0.05, ** p < 0.001 vs. Baseline. † p < 0.05 vs. 3weeks. 変化率(Δ% change)は、HRT前の値(Baseline)に対して何%変化したかを示している。

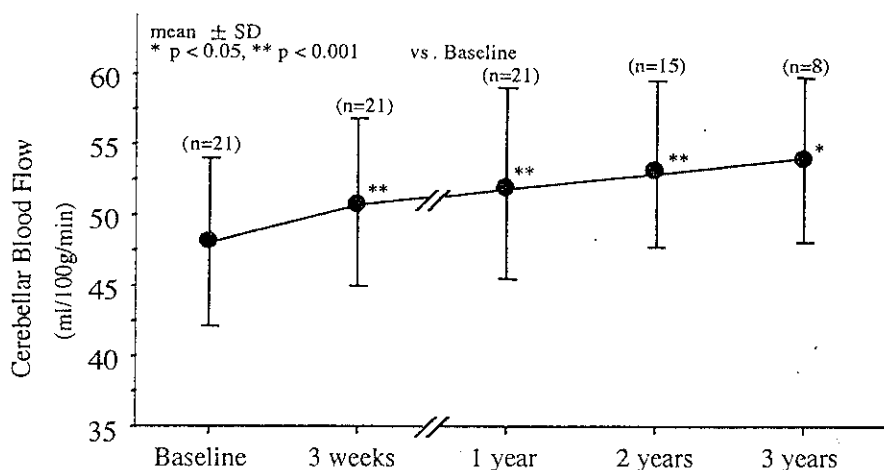


図2. 長期HRT(CEE・MPAの周期的順次投与法)前後の小脳血流量(C_{b1}BF)の推移

大きかった(unpaired t-test) (図2)。研究課題II.

1)通常量持続併用療法

HRT前後のCBFの推移と変化率を表3に示した。3週後、半年後及び1年後のCBFは、いずれも前値に比べて有意な変

表3. CEE 0.625mg/日 + MPA2.5mg/日 持続併用療法前後の大脳血流量 (CBF) の推移と変化率

	Baseline (n=15)	3 weeks (n=15)	Half a year (n=9)	1 year (n=4)
CBF (ml/100g/min)	43.4 ± 4.0	44.7 ± 4.5	44.7 ± 2.2	42.3 ± 3.3
Δ% change	—	3.1 ± 7.3	4.7 ± 7.9	2.7 ± 12.4

Mean ± SD. 変化率 (Δ% change) は、HRT 前の値 (Baseline) に対して何%変化したかを示している。

化は認められなかった。一方、3週後と半年後の C_{bl} BFは前値に比べ有意に増加していたが、1年後の C_{bl} BFは有意な増加を示さなかった(表4、図3)。HRT前後の血中 E_2 濃度を表5に示した。

2) 低用量持続併用療法

HRTによりCBFは 45.1 ± 3.2 ml/100g/minから6週後に 49.2 ± 5.1 ml/100g/minに変化し、増加の傾向にあった($p < 0.07$)。平均増加率は $9.1 \pm 11.0\%$ であった。

表4. CEE 0.625mg/日 + MPA2.5mg/日 持続併用療法前後の小脳血流量 (C_{bl} BF) の推移と変化率

	Baseline (n=15)	3 weeks (n=15)	Half a year (n=9)	1 year (n=4)
C_{bl} BF (ml/100g/min)	49.6 ± 5.0	52.1 ± 5.2*	53.3 ± 5.3**	51.7 ± 7.1
Δ% change	—	5.6 ± 9.6	9.5 ± 7.6	10.2 ± 11.8

Mean ± SD. * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$ vs. Baseline. 変化率 (Δ% change) は、HRT 前の値 (Baseline) に対して何%変化したかを示している。

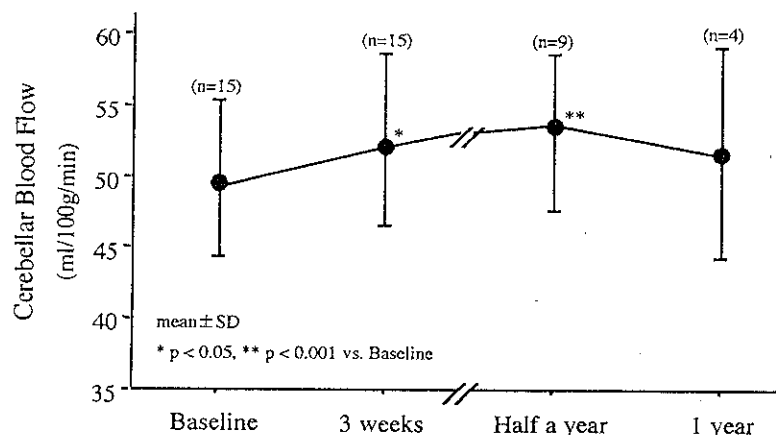


図3. CEE 0.625mg/日 + MPA2.5mg/日 持続併用療法前後の小脳血流量 (C_{bl} BF) の推移

表5. CEE + MPAの通常量併用療法前後の血中エストラジオール(E₂)濃度

	Baseline (n=15)	3 weeks (n=15)	Half a year (n=9)	1 year (n=4)
Serum E ₂	10.3±1.3	95.9±109.0	64.4±25.5	77.0±13.0

Mean±SD.

た。一方、C_{bl}BFは53.0±2.9ml/100g/minから6週後に57.3±5.0 ml/100g/minに有意に増加した(p<0.05)。平均増加率は8.2±8.7%であった。血中E₂濃度は、投与前10.0±0.0pg/mlであり6週後は44.0±17.9pg/mlであった。

D. 考察

脳血流量は、男女いずれも年齢とともに減少するが、女性の脳血流量は、同じ年齢の男性よりも多い。しかし、45~50歳を過ぎる頃より男女差がなくなる。これには、卵巣からのエストロゲン分泌の低下または永久的停止（閉経）が関与しているものと思われるが、そのことを著書らが先の報告書で初めて証明した。また、血中E₂濃度が50pg/ml前後あれば脳血流は増加することや、これ以上の血中E₂濃度でも脳血流増加の程度は同じであることも明らかにした。本研究はこうした実績の延長線上で行われたものである。

研究課題 I の結果から、CEE・MPAの周期的順次投与方法では、HRT開始後2~3年経過してもHRTの脳血流に及ぼす効果は、CEEを3週間投与した時と同じ程度に維持されていることを初めて明らかにした。一方、小脳血流量は、2年、3年と経過するにつれて3週後の増加率よりもさらに大きい増加率が認められた。このこ

とは長期HRTでは、大脳血流と小脳血流に及ぼす効果に差が出る可能性があることを示唆している。

研究課題IIの結果から、CEE+MPAの通常量持続併用療法では、1年後は例数が少ないので除くとして、3週後と半年後の大脳血流量は有意な増加は認められなかった。しかし、小脳血流量では3週後と半年後に有意な増加が認められた。このように通常量持続併用療法では、大脳血流量に及ぼす効果と小脳血流量に及ぼす効果に乖離が認められた。持続的にMPA2.5mg/日を併用すると大脳血流量ではエストロゲンの効果が打ち消されるが、小脳血流では周期的順次投与方法と同じ程度の血流増加作用が認められたことになる。しかし、MPAの量をさらに少なくしてMPA1.25mg/日にすると、例数が少ないにもかかわらず、またエストロゲン投与量も半減しているのに6週間後には、大脳血流量は増加の傾向を示し、小脳血流量は有意に増加した。これらの事実は2つの重要なことを意味している。1つは持続併用投与で通常用いるMPA量を半減すると、大脳血流と小脳血流量に及ぼすエストロゲンの効果を抑制しないであろうということである。もう1つは、エストロゲンの量を半減しても、持続投与の場合には血中E₂濃度は6週後に平均で