

厚生労働科学研究費補助金  
長寿科学総合研究事業

ゲノム情報に基づくホルモン補充療法合併症の  
発症予測システムの開発に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書  
主任研究者 高柳 涼一

平成17（2005）年3月

## 目次

|  |        |
|--|--------|
| I. 統括研究報告                              |        |
| ゲノム情報に基づくホルモン補充療法合併症の発症予測システムの開発に関する研究 | --- 1  |
| 高柳涼一                                   |        |
| II. 分担研究報告                             |        |
| 1. 血栓症症例でのプロテインS遺伝子解析に関する研究            | --- 4  |
| 濱崎直孝                                   |        |
| 2. 大規模コホートにおける血栓症症例に関する研究              | --- 5  |
| 古野純典                                   |        |
| 3. 大規模コホートにおけるプロテインSと動脈硬化度に関する研究       | --- 7  |
| 林 純                                    |        |
| 4. プロテインS遺伝子の発現解析に関する研究                | --- 8  |
| 大中佳三、河手久弥                              |        |
| III. 研究成果の刊行に関する一覧表                    | --- 10 |
| IV. 研究成果の刊行物・別刷                        | --- 14 |

統括研究報告書

ゲノム情報に基づくホルモン補充療法合併症の発症予測システムの開発に関する研究

主任研究者 高柳涼一 国立大学法人九州大学大学院医学研究院老年医学分野教授

研究要旨

ホルモン補充療法では静脈血栓症や冠動脈疾患のリスクが増加するが、そのメカニズムは不明である。本研究では、エストロゲンによるプロテインSの遺伝子発現調節の分子機構の解明、血栓症症例でのプロテインS遺伝子の promoter 領域の解析、コホート集団での動脈硬化度、血栓症と心血管の病歴、プロテインS活性、ゲノム情報の横断的比較解析を試みた。その結果、1)エストロゲンによるプロテインS遺伝子発現調節に関与する応答領域を同定した。2)血栓症症例のプロテインS遺伝子の promoter 領域に6カ所の新規 SNPs を同定した。3)コホート集団に関し、平成17年3月までに約8000例のゲノムと臨床データの集積を行った。4)プロテインS活性の新しい定量法を開発した。以上の結果をふまえ、さらなる解析を進めている。

分担研究者

濱崎直孝 (国立大学法人九州大学大学院医学研究院臨床検査医学分野教授)

古野純典 (国立大学法人九州大学大学院医学研究院予防医学分野教授)

林 純 (国立大学法人九州大学大学院医学研究院感染環境医学分野教授)

大中佳三 (国立大学法人九州大学大学院医学研究院老年医学分野講師)

河手久弥 (国立大学法人九州大学大学院医学研究院老年医学分野助手)

A. 研究目的

大規模臨床試験にてホルモン補充療法では静脈血栓症や冠動脈疾患のリスクの増加が報告されているが、その分子メカニズムは不明である。本研究では、1)エストロゲンによるプロテインSの遺伝子発現調節の基本的分子機構を解明すること、2)1.で明らかになった情報を基に、既に進行しているコホート集団(21COEプロジェクト:最終的に5万人規模)で、頸動脈エコーによる動脈硬化度、血栓症と心血管の病歴、プロテインS活性、ゲノム情報(プロモーターを含めたプロテインS遺伝子のSNPs)を横断的に比較し、プロテインS遺伝子のSNPsがプロテインS活性及び動脈硬化度をベースに心血管疾患発症に及ぼす影響を解析することを目的とする。

B. 研究方法

1. エストロゲンによるヒトプロテインS遺伝子発現調節の分子機構の解明:

ヒトプロテインS遺伝子の promoter 領域をルシフェラーゼ遺伝子の upstream 領域に組み込んだ発現 vector を、ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) 発現 vector とともにヒト肝癌由来細胞株に一過性に transfection し、性ステロイド(特にエストロゲン)の promoter 活性への影響を測定する。promoter 領域を種々の長さに deletion あるいは mutation した plasmid construct を用いた実験により、エストロゲンの作用する応答領域を決定する。応答領域に変異を導入した plasmid vector を作成し、最終的に応答配列を決定する。また Electrophoretic mobility Shift Assay (EMSA) を行い、エストロゲンのヒトプロテインS遺伝子の promoter への作用に関与するタンパク質を同定する。

2. 血栓症症例での遺伝子解析:

深部静脈血栓症および肺動脈血栓症の症例65例(coding 領域に変異を認めるプロテインS活性低下例16例、coding 領域に変異を認めないプロテインS活性低下例25例、プロテインS活性正常24例)および正常例50例についてプロテインS遺伝子の promoter 領域(6.0kb)の全 sequence を行う。

3. 大規模コホートにおける血栓症、動脈硬化症での解析:

21世紀COEプロジェクトで構築を進めている5万人規模のコホート集団を対象に、全

例に頸動脈エコーによる動脈硬化度の計測・評価を行い、血栓症や心血管疾患の病歴・家族歴の有無の調査、プロテインS活性の測定、およびゲノム情報（プロモーターを含めたプロテインS遺伝子のSNPs）の収集を行う。1で明らかになったエストロゲンの作用するプロテインS promoterの応答配列と分子機構の情報をもとに、動脈硬化度、血栓症や心血管疾患の病歴、プロテインS活性、ゲノム情報を横断的に比較し、プロテインS遺伝子のSNPsがプロテインS活性及び動脈硬化度をベースに心血管疾患発症に及ぼす影響を解析する。

（倫理面への配慮）

21世紀COEプログラムで5万人規模のコホート集団のゲノムDNAの採取にあたっては、文書にてインフォームドコンセントを得るよう十分な配慮を行うようにしている。また、九州大学医学部倫理委員会（H16年1月9日付）およびヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査専門委員会（H16年1月21日付）の承認を既に得ている。研究遂行上、新たな解析項目が必要となった場合は、その都度、上記、2つの委員会での承認後に行う予定である。また血栓症症例のゲノムDNAの採取は、文書にてインフォームドコンセントを得たうえで行った。

## C. 研究結果

### 1. エストロゲンによるヒトプロテインS遺伝子発現調節の分子機構の解明：

ヒトプロテインS遺伝子 promoter 領域の上流 6.0kb をルシフェラーゼ遺伝子に組み込んだ reporter 遺伝子の promoter 活性を、生理的濃度のエストロゲンが約 20%抑制する結果を基礎的検討にて既に得ていたが、ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) 発現ベクターと共にヒト肝癌由来細胞に導入する方法と、ER $\alpha$  を恒常的に発現するヒト肝細胞株を樹立し、その細胞株に reporter 遺伝子を導入する方法を用いて、promoter 領域 (6.0kb) を順次 deletion および mutation を導入した construct による実験結果より、12bp の応答領域が関与することを見いだした。

### 2. 血栓症、動脈硬化症での解析：

1) 血栓症での検討：血栓症症例 65 例 (coding 領域に変異を認めるプロテインS活性低下例 16 例、coding 領域に変異を認めないプロテインS活性低下例 25 例、

プロテインS活性正常 24 例) について、プロテインS遺伝子の promoter 領域 (6.0kb) の遺伝子解析を行った。その結果 10 カ所に SNPs、1 カ所に欠失変異を同定した。うち 5 カ所の SNPs、1 カ所の欠失変異は新規のものであった。

2) 21 世紀 COE プロジェクトにて構築を進めているコホート集団に関し、平成 17 年 3 月までに約 8000 例のゲノムを集積した。今年度は約 4,000 例に頸動脈エコーによる動脈硬化度の計測・評価、血栓症や心血管疾患の病歴・家族歴の有無の調査を行った。全例で血漿とゲノム遺伝子の収集を行っており、プロテインS活性の測定を行っている。

3) プロテインS活性の新しい定量法の開発：比色法を用いたプロテインS活性の測定法を新たに開発した。凝固時間を測定する従来の測定法と高い相関 ( $R=0.97$ ) を示した。

## D. 考察

1) ヒトプロテインS遺伝子 promoter 領域のエストロゲン応答領域は古典的エストロゲン応答配列とは異っており、エストロゲンの抑制作用は他の転写因子との蛋白間相互作用を介すると考えられた。現在、この領域に結合する因子を EMSA 法にて存在を確認し、yeast hybrid 法にてクローニングを行っている。

2) 本研究においてプロテインS遺伝子の promoter 領域 (6.0kb) に 6 カ所の新規 SNPs を同定できた。プロテインS活性と遺伝子多型の相関について詳しい解析を現在行っている。

3) コホート集団の構築のため、福岡市東区にて住民検診を行い、また沖縄県石垣市の住民検診に参加し、ゲノムと臨床データの順調な集積を行うことが出来た。

4) 新たに開発したプロテインS活性の測定法はより簡便な測定法であるため多数例での解析に好適と考えられた。

## E. 結論

1) エストロゲンによるプロテインS遺伝子発現調節に関与する応答領域を同定した。

2) 血栓症症例のプロテインS遺伝子の promoter 領域 (6.0kb) に 6 カ所の新規 SNPs を同定した。

3) 21 世紀 COE プロジェクトにて構築を進めているコホート集団に関し、平成 17 年 3 月までに約 8000 例のゲノムと臨床データの集積を行った。

4) プロテイン S 活性の新しい定量法を開発した。

#### F. 健康危険情報

特記すべき事項なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Ohnaka K, Taniguchi H, Kawate H, Nawata H, Takayanagi R: Glucocorticoid enhances the expression of dickkopf-1 in human osteoblasts: novel mechanism of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 318(1): 259-264, 2004

2) Wada Y, Kurihara M, Toyofuku M, Kawamura M, Iida H, Kayamori Y, Kinoshita S, Hamasaki N: Analytical goals for coagulation tests based on biological variation. *Clin Chem Lab Med* 42(1):79-83, 2004

3) Yin G, Kono S, Toyomura K, Hagiwara T, Nagano J, Mizoue T, Mibu R, Tanaka M, Kakeji Y, Maehara Y, Okamura T, Ikejiri K, Futami K, Yasunami Y, Maekawa T, Takenaka K, Ichimiya H, Imaizumi N: Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and colorectal cancer: The Fukuoka Colorectal Cancer Study. *Cancer Sci* 95(11):908-913, 2004

4) Okada K, Maeda N, Tatsukawa M, Shimizu C, Sawayama Y, Hayashi J: The influence of lifestyle modification on carotid artery intima-media thickness in a suburban Japanese population. *Atherosclerosis* 173(2): 329-337, 2004

5) Tsuda T, Yoshimura H, Hamasaki N: Development of a new colorimetric method for protein S activity measurement. *Clin Chem Lab Med* 42: 350-352, 2004.

6) Ohnaka K, Tanabe M, Kawate H, Nawata H, Takayanagi R: Glucocorticoid suppresses the canonical Wnt signal in human osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 329(1):177-181, 2005

7) Nawata H, Soen S, Takayanagi R, Tanaka I, Takaoka K, Fukunaga M, Matsumoto T, Suzuki Y, Tanaka H, Fujiwara S, Miki T, Sagawa A, Nishizawa Y, Seino Y: Guidelines on the management and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis of The Japanese Society for Bone and Mineral Research (2004 edition). *J Bone Miner Metab* 23(2):105-109, 2005

8) Kawate H, Wu Y, Ohnaka K, Nawata H, Takayanagi R. Tob proteins suppress steroid hormone receptor-mediated transcriptional activation. *Mol Cell Endocrinol* 230:77-86, 2005.

9) 河手久弥, 高柳涼一. ホルモン補充療法による抗加齢療法. *治療学*, 38:818-820, 2004.

10) 高柳涼一: 高齢者総合医療 予防医学. *日本内科学会雑誌* 93(12):2514-2517, 2004

##### 2. 学会発表

1) 田邊瑞穂, 大中佳三, 濱崎直孝, 山本健, 河手久弥, 林純, 古野純典, 高柳涼一. ホルモン応答を中心としたプロテイン S 遺伝子の発現調節機構の解析. 21 世紀 COE プログラム「大規模コホートに基づく生活習慣病研究教育」平成 16 年度若手研究者研究成果発表会、平成 17 年 1 月、福岡。

2) 浦田美秩代、他: プロテイン S 異常分子の機能解析. 第 51 回日本臨床検査医学会総会、平成 16 年 9 月、東京

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

「プロテイン S 及びプロテイン C の活性測定方法並びに活性測定試薬」(津田友秀、濱崎直孝: 出願中)

##### 2. 実用新案

なし

##### 3. その他

なし

分担研究報告書

血栓症症例でのプロテインS遺伝子解析に関する研究

分担研究者 濱崎直孝 国立大学法人九州大学大学院医学研究院臨床検査医学分野教授

研究要旨

血栓症症例65例(coding領域に変異を認めるプロテインS活性低下例16例、coding領域に変異を認めないプロテインS活性低下例25例、プロテインS活性正常24例)および正常例50例についてプロテインS遺伝子のpromoter領域(6.0kb)の遺伝子解析を行った。その結果10カ所にSNPs、1カ所に欠失変異を同定した。その内6カ所の変異については新規のものであった。プロテインS活性と遺伝子多型の相関について詳しい解析を現在進めている。また、比色法を用いた新しいプロテインS活性の測定法を開発した。

A. 研究目的

我々はこれまで日本人における血栓症症例の解析より、プロテインC/プロテインS凝固制御系の活性低下が約25%に認められることを明らかにした。本研究では血栓症症例のうちプロテインS活性の低下を認めないものや、coding領域に変異を認めないプロテインS活性低下例での病因を解明することを目的とした。

B. 研究方法

1) 深部静脈血栓症および肺動脈血栓症の症例65例(coding領域に変異を認めるプロテインS活性低下例16例、coding領域に変異を認めないプロテインS活性低下例25例、プロテインS活性正常24例)および正常例50例についてプロテインS遺伝子のpromoter領域(6.0kb)の全sequenceを行った。(倫理面への配慮)血栓症症例のゲノムDNA採取は、インフォームドコンセントを得たうえで行った。

2) 比色法を用いたプロテインS活性の測定法の開発を試みた。

C. 研究結果

1) プロテインS遺伝子のpromoter領域(6.0kb)に10カ所のSNPs、1カ所の欠失変異を認めた。うち5カ所のSNPs、1カ所の欠失変異は新規のものであった。

2) 新たに開発したプロテインS活性の測定法は、凝固時間を測定する従来の測定法と高い相関( $R=0.97$ )を示し、より簡便で多数例での解析に好適と考えられた。

D. 考察

本研究においてプロテインS遺伝子のpromoter領域(6.0kb)にいくつかのSNPsを同定できた。プロテインS活性と遺伝子

多型の相関について詳しい解析を現在行っている。

E. 結論

1) 血栓症症例のプロテインS遺伝子のpromoter領域(6.0kb)にいくつかのSNPsを同定した。

2) 比色法を用いた新しいプロテインS活性の測定法を開発した。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Tsuda T, Yoshimura H, Hamasaki N: Development of a new colorimetric method for protein S activity measurement. Clin Chem Lab Med 42: 350-352, 2004.

2) Kurihara M, Watanabe K, Inoue S, Wada Y, Ono M, Wakiyama M, Iida H, Kinoshita S, Hamasaki N: Characterization of Two Novel Mutations of the Antithrombin Gene Observed in Japanese Thrombophilic Patients. Thrombosis Res 115:351-358, 2005

2. 学会発表

1) 浦田美秩代、他：プロテインS異常分子の機能解析。第51回日本臨床検査医学会総会、平成16年9月、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

「プロテインS及びプロテインCの活性測定方法並びに活性測定試薬」(津田友秀、濱崎直孝：出願中)

分担研究報告書

大規模コホートにおける血栓症症例に関する研究

分担研究者 古野純典 国立大学法人九州大学大学院医学研究院予防医学分野教授

研究要旨

日本人においてエストロゲン補充で冠動脈疾患が悪化する原因として、プロテイン S を中心とした凝固制御系の破綻が関与する可能性がある。それを明らかにする目的で、21COE プロジェクトのコホート集団における、頸動脈エコーによる動脈硬化度、血栓症と心血管疾患の病歴、プロテイン S 活性、ゲノム情報（プロテイン S 遺伝子の SNPs）を横断的に比較する。また、エストロゲン補充療法者に対して、プロテイン S 活性、ゲノム解析を行い、血栓症、心血管疾患の発症リスクを追跡調査する。21COE コホートの中の福岡コホートは平成 17 年 3 月の段階で、4021 名の調査、血液生化学の測定を行い、約 3500 名のゲノムを抽出した。

A. 研究目的

エストロゲンによるプロテイン S の遺伝子発現調節の基本的分子機構の情報を基に、21COE プロジェクトにて進行しているコホート構築（最終的に 5 万人規模で構成される）において、福岡コホート集団で頸動脈エコーによる動脈硬化度、血栓症と心血管疾患の病歴、プロテイン S 活性、ゲノム情報（プロモーターを含めたプロテイン S 遺伝子の SNPs）を横断的に比較し、プロテイン S 遺伝子の SNPs によるプロテイン S 活性の変化と動脈硬化度他の因子が心血管病発症に及ぼす影響を解析する。また、エストロゲン補充療法者に対して、プロテイン S のゲノム解析、動脈硬化度評価、プロテイン S 活性測定を行い、エストロゲン補充後のプロテイン S 活性の変化とともに、血栓症、心血管疾患の発症リスクを追跡する Prospective study を行う。

B. 研究方法

福岡市東区に在住する 50～74 歳住民（2003 年 12 月末年齢）の中で、協力の回答があり、研究内容の説明後に同意を受けることができる者を調査対象とする。生活習慣や血栓症、心血管疾患の病歴・家族歴の有無の調査、身体測定と生化学検査、ゲノム採取のための採血を行い、プロテイン S 活性や血中エストラジオール濃度などの生化学データ測定やゲノムの抽出を

行う。また、問診にてエストロゲン補充療法者に対して、上記の解析や、今後の血栓症、心血管疾患の発症について追跡調査を行う。

（倫理面への配慮）

21 世紀 COE プログラムで 5 万人規模のコホート集団のゲノム DNA の採取にあたっては、文書にてインフォームドコンセントを得るよう十分な配慮を行うようにしている。また、九州大学医学部倫理委員会（H16 年 1 月 9 日付）およびヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査専門委員会（H16 年 1 月 21 日付）の承認を既に得ている。研究遂行上、新たな解析項目が必要となった場合は、その都度、上記、2 つの委員会での承認後に行う予定である。

C. 研究結果

現在は、上記目的のために、血清、ゲノムを採取、保存している。生活習慣病の研究基盤となる 5 万人規模の COE コホートを構築するための基礎調査実施計画に従い、福岡市東区住民を対象にした福岡コホートの基礎調査を継続した。平成 17 年 3 月までに計 4021 名について調査を終了し、高感度 CRP などの生化学検査を行い、残りの血清、血漿を保存した。また、約 3500 名（97%）から遺伝子解析の同意を受け、ゲノムを抽出し保存した。

#### D. 考察

エストロゲン補充療法は、老年病に対する主要な治療方法の一つであるが、更年期障害や閉経後骨粗鬆症に対して効果をもたらさず。また動脈硬化や痴呆の抑制効果も期待されている。しかし、近年の米国における大規模臨床試験において、エストロゲン補充療法が静脈血栓症、冠動脈疾患や乳癌のリスクを増加させる報告がなされている。一方、静脈血栓症や肺梗塞などの血栓症は多因子疾患であり、人種間でその危険因子も異なっている。日本人における血栓症の危険因子は欧米人の危険因子と異なり、プロテインSなどの凝固制御因子の分子異常によるものであると考えられている。日本人における血栓症におけるプロテインSの関係と、エストロゲン療法における血栓症、心血管疾患などの併発とプロテインSの関係を明らかにするため、5万人という大規模な21COE福岡コホート集団での動脈硬化の評価、血栓症の有無と、プロテインS活性の測定とプロテインS遺伝子のSNPsの検索を行い、その関連性を調べる。

#### E. 結論

現在、21COE福岡コホート集団の構築を行っている。平成17年3月までに合計4021名について、病歴、生活習慣、服薬等の調査を行った。平成17年3月までに全4021名の血清、血漿を分離し、高感度CRPなどの生化学検査を行った。また、約3500名のゲノムを抽出し、今後SNPs解析のために保存した。

#### F. 健康危険情報

特記すべき事項なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Iwashita M, Matsushita Y, Sasaki J, Arakawa K; Kono S, for the Kyushu Lipid Intervention Study (KLIS) Group: Relation of serum total cholesterol and other risk factors to risk of coronary events in middle-aged and elderly Japanese men with hypercholesterolemia: The Kyushu Lipid Intervention Study. *Circ J* 68: 405-409, 2004.

2) Yamaji, T, Mizoue T, Tabata S, Ogawa S, Yamaguchi K, Shimizu E, Mineshita M, Kono S: Coffee consumption and glucose tolerance status in middle-aged Japanese men. *Diabetologica* 47: 2145-2151, 2004.

3) Kono S: Secular trend of colon cancer incidence and mortality in relation to fat and meat intake in Japan. *Eur J Cancer Prev* 13(2): 127-132, 2004

4) Kono S, Toyomura K, Yin G, Nagano J, Mizoue T: A Case-Control Study of Colorectal Cancer in Relation to Lifestyle Factors and Genetic Polymorphisms: Design and Conduct of the Fukuoka Colorectal Cancer Study. *Asian Pacific J Cancer Prev* 5(4): 393-400, 2004

5) Kim DH, Ahn YO, Lee BH, Tsuji E, Kiyohara C, Kono S: Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, alcohol intake, and risks of colon and rectal cancers in Korea. *Cancer Lett* 216(2): 199-205, 2004

#### 2. 学会発表

1) 古野純典. 大腸がんの疫学: 福岡大腸がん研究. 第5回日本がん分子疫学研究会 2004年5月, 札幌

2) 古野純典, 銀光, 豊村研吾, 溝上哲也, 萩原聖子, 磯村香代子. グルタチオンS転移酵素(GST)遺伝子多型と大腸がんリスク: 福岡大腸がん研究. 第63回日本癌学会学術総会, 2004年9月

3) Kono S: Epidemiologic Research for the Prevention of Life-related Diseases. The 1st Biwako Bio Seminar. December 2004, Nagahama (Shiga).

4) 銀光, 古野純典, 豊村研吾, 永野純, 溝上哲也. アセトアルデヒド脱水素酵素(ALDH2)遺伝子多型と大腸がんリスク: 福岡大腸がん研究. 第15回日本疫学会学術総会, 2005年1月, 大津.

5) 溝上哲也, 山地大樹, 古野純典. 食事パターンと耐糖能障害: 自衛隊研究. 第15回日本疫学会学術総会, 2005年1月, 大津

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

大規模コホートにおけるプロテインSと動脈硬化度に関する研究

分担研究者 林 純 国立大学法人九州大学大学院医学研究院環境感染医学分野教授

研究要旨

コホート集団において、血栓症や冠動脈疾患の既往歴を調査し、頸動脈エコーによる動脈硬化度を測定する。これらの結果を、プロテインS活性やゲノム解析の結果と比較して、プロテインSが心血管病変発症にどのように影響するかを評価する。

A. 研究目的

凝固制御因子であるプロテインSが、静脈血栓症や冠動脈疾患発症の発症にどの程度関与しているかを評価するために、コホート集団を構築して、頸動脈エコーによる動脈硬化度の測定を行い、プロテインS活性やゲノム異常との関連を解析する。

B. 研究方法

沖縄県石垣市でのコホート集団構築を進め、血栓症や冠動脈疾患の既往歴を調査し、頸動脈エコーによる動脈硬化度の評価、血漿でのプロテインS活性の測定、プロテインSの遺伝子異常の解析を行う。

C. 研究結果

コホート集団の構築のため、平成15年度から準備を開始し、平成16年の沖縄県石垣市の住民検診に参加し、平成16年10月現在、40-74歳の検診者の4253名のうち、遺伝子検査の同意がとられ血液検体が確保できたのが4217名で、生活習慣の聞き取り調査ができたのが3363名であった。

D. 考察

石垣市において4000人を上回る規模のコホート集団を構築した。非常に高い確率(99%)で遺伝子解析用の採血に同意を得ることができた。今年度は、この集団に対して、頸動脈エコーによる動脈硬化度の評価を進めていく予定である。

E. 結論

沖縄県石垣市で4000人規模のコホート集団を構築した。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Tatsukawa M, Sawayama Y, Maeda N, Okada K, Furusyo N, Kashiwagi S, Hayashi J: Carotid atherosclerosis and cardiovascular risk factors: a comparison of residents of a rural area of Okinawa with residents of a typical suburban area of Fukuoka, Japan. *Atherosclerosis* 172:337-343, 2004.

2) Okada K, Maeda N, Tatsukawa M, Shimizu C, Sawayama Y, Hayashi J: The influence of lifestyle modification on carotid artery intima-media thickness in a suburban Japanese population. *Atherosclerosis* 173:329-337, 2004.

2. 学会発表

1) Okada K, Tatsukawa M, Kikuchi K, Sawayama Y, Furusyo N, Hayashi J. Pravastatin improves insulin resistance in hyperlipidemic patients. 第15回 Drug Affecting Lipid Metabolism Symposium, Oct 2004, Venice, Italy.

2) Maeda N, Tatsukawa M, Okada K, Kikuchi K, Sawayama Y, Furusyo N, Hayashi J. A comparative study of statins and probucol on common carotid intima-media thickness in patients with moderate hypercholesterolemia. 第15回 Drug Affecting Lipid Metabolism Symposium, Oct 2004, Venice, Italy.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

プロテインS遺伝子の発現解析に関する研究

分担研究者 大中佳三 国立大学法人九州大学医学研究院老年医学分野講師

河手久弥 国立大学法人九州大学医学研究院老年医学分野助手

研究要旨

エストロゲンによるプロテインSの遺伝子発現調節の基本的分子機構を解明するため、ヒトプロテインS遺伝子 promoter 領域の上流 6.0kb をルシフェラーゼ遺伝子に組み込んだ reporter 遺伝子をヒト肝癌由来細胞株に一過性に transfection し、性ステロイド（特にエストロゲン）の promoter 活性への影響を検討した。エストラジオールは promoter 活性を約 20%抑制したが、promoter 領域(6.0kb)を順次 deletion および mutation を導入した construct による実験結果より、12bp の応答領域の関与を見いだした。

A. 研究目的

女性では血中プロテインSは性周期や妊娠、ホルモン補充療法などで変動することが知られているが、その分子メカニズムは解明されていない。本研究ではエストロゲンによるプロテインSの遺伝子発現調節の基本的分子機構を解明することを目的とする。

B. 研究方法

ヒトプロテインS遺伝子の promoter 領域をルシフェラーゼ遺伝子の上流域に組み込んだ発現 vector を、ヒトエストロゲン受容体 $\alpha$  (ER $\alpha$ ) 発現 vector とともにヒト肝癌由来細胞株に一過性に transfection し、性ステロイド(特にエストロゲン)の promoter 活性への影響を測定。promoter 領域を種々の長さに deletion あるいは mutation した plasmid construct を用いて、エストロゲンの作用する応答領域を決定する。応答領域に変異を導入した plasmid vector を作成し、最終的に応答配列を決定する。また Electrophoretic mobility Shift Assay (EMSA) を行い、エストロゲンのヒトプロテインS遺伝子の promoter への作用に関与するタンパク質を同定する。

C. 研究結果

ヒトプロテインS遺伝子 promoter 領域の上流 6.0kb をルシフェラーゼ遺伝子に組

み込んだ reporter 遺伝子の promoter 活性を、生理的濃度のエストラジオールが約 20%抑制する結果を基礎的検討にて既に得ていたが、ヒトエストロゲン受容体 $\alpha$  (ER $\alpha$ ) 発現ベクターと共にヒト肝癌由来細胞に導入する方法と、ER $\alpha$  を恒常的に発現するヒト肝細胞株を樹立し、その細胞株に reporter 遺伝子を導入する方法を用いて、promoter 領域 (6.0kb) を順次 deletion および mutation を導入した construct による実験結果より、12bp の応答領域が関与することを見いだした。

D. 考察

今回同定した応答領域は古典的エストロゲン応答配列とは異なり、エストロゲンの抑制作用は他の転写因子との蛋白間相互作用を介することが想定される。現在、この領域に結合する因子を EMSA 法にて存在を確認し、yeast hybrid 法にてクローニングを行っている。

E. 結論

エストロゲンによるプロテインS遺伝子発現調節に関与する応答領域を同定した。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Ohnaka K, Taniguchi H, Kawate H, Nawata H, Takayanagi R: Glucocorticoid enhances the expression of dickkopf-1 in human osteoblasts: novel mechanism of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 318(1): 259-264, 2004

2) Kimura C, Oike M, Ohnaka K, Nose Y, Ito Y: Constitutive nitric oxide production in bovine aortic and brain microvascular endothelial cells: a comparative study. *J Physiol* 554(Pt 3): 721-730, 2004

3) Fan W, Yanase T, Wu Y, Kawate H, Saitoh M, Oba K, Nomura M, Okabe T, Goto K, Yanagisawa J, Kato S, Takayanagi R, Nawata H: Protein kinase A potentiates adrenal 4 binding protein/steroidogenic factor 1 transactivation by reintegrating the subcellular dynamic interactions of the nuclear receptor with its cofactors, general control nonderepressed-5/transformation/transcription domain-associated protein, and suppressor, dosage-sensitive sex reversal-1: a laser confocal imaging study in living KGN cells. *Mol Endocrinol* 18(1): 127-141, 2004

4) Ohnaka K, Tanabe M, Kawate H, Nawata H, Takayanagi R: Glucocorticoid suppresses the canonical Wnt signal in human osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 329(1):177-181, 2005

5) Kawate H, Wu Y, Ohnaka K, Nawata H, Takayanagi R. Tob proteins suppress steroid hormone receptor-mediated transcriptional activation. *Mol Cell Endocrinol* 230(1-2):77-86, 2005.

6) 河手久弥, 高柳涼一. ホルモン補充療法による抗加齢療法. *治療学* 38:818-820, 2004.

2. 学会発表

1) Ohnaka K, Taniguchi H, Kawate H, Nawata H, Takayanagi R: Glucocorticoid enhances the expression of dickkopf-1 in cultured human osteoblasts: novel mechanism of glucocorticoid-induced osteoporosis. 26th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, October 2004, Seattle, USA

2) Kawate H, Wu Y, Ohnaka K, Nawata H, Takayanagi R: Runx2 as a transcription repressor of steroid hormone receptors. 26th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, October 2004, Seattle, USA

3) 田邊瑞穂, 大中佳三, 濱崎直孝, 山本健, 河手久弥, 林純, 古野純典, 高柳涼一. ホルモン応答を中心としたプロテイン S 遺伝子の発現調節機構の解析. 21世紀 COE プログラム「大規模コホートに基づく生活習慣病研究教育」平成 16 年度若手研究者研究成果発表会、平成 17 年 1 月、福岡

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

| 著者氏名                      | 論文タイトル名                         | 書籍全体の編集者名          | 書籍名   | 出版社名               | 出版地名         | 出版年  | ページ     |
|---------------------------|---------------------------------|--------------------|---|--------------------|--------------|------|---------|
| 大中佳三,<br>高柳涼一             | お年寄りをさらに<br>元気に-ホルモン補<br>充療法-   | 名和田 新              | 内分泌疾患の<br>とらえ方  | 文光堂                | 東京           | 2004 | 223-232 |
| Ohnaka K,<br>Takayanagi R | DHEA and the<br>elderly         | Luciano<br>Martini | Encyclopedia of<br>Endocrine<br>Diseases,<br>Volume I | Academic<br>Press  | San<br>Diego | 2004 | 647-650 |
| Hamasaki N                | The analysis of<br>biocatalysts | Päuser S           | Sense, Sensors<br>and Systems                         | Editiones<br>Roche | Basel        | 2004 | 192-199 |

雑誌

| 発表者氏名  | 論文タイトル名  | 発表誌名                                 | 巻号     | ページ       | 出版年  |
|--|--|--------------------------------------|--------|-----------|------|
| Ohnaka K, Taniguchi H,<br>Kawate H, Nawata H,<br>Takayanagi R  | Glucocorticoid enhances the<br>expression of dickkopf-1 in human<br>osteoblasts: novel mechanism of<br>glucocorticoid-induced<br>osteoporosis.   | Biochem.<br>Biophys. Res.<br>Commun. | 318(1) | 259-264   | 2004 |
| Yanase T, Adachi M,<br>Goto K, Takayanagi R,<br>Nawata H   | Coregulator-related diseases.  | Intern. Med.                         | 43(5)  | 368-373   | 2004 |
| Fan W, Yanase T, Wu Y,<br>Kawate H, Saitoh M, Oba<br>K, Nomura M, Okabe T,<br>Goto K, Yanagisawa J,<br>Kato S, Takayanagi R,<br>Nawata H | Protein kinase A potentiates<br>adrenal 4 binding<br>protein/steroidogenic factor 1<br>transactivation by reintegrating<br>the subcellular dynamic<br>interactions of the nuclear<br>receptor with its cofactors,<br>general control nonderepressed-<br>5/transformation/transcription<br>domain-associated protein, and<br>suppressor, dosage-sensitive sex<br>reversal-1: a laser confocal<br>imaging study in living KGN cells. | Mol.<br>Endocrinol.                  | 18(1)  | 127-141   | 2004 |
| Kanki T, Nakayama H,<br>Sasaki N, Takio K, Alam<br>TI, Hamasaki N, Kang D  | Mitochondrial nucleoid and<br>transcription factor A.  | Ann. NY Acad.<br>Sci.                | 1011   | 61-68     | 2004 |
| Abe Y, Chaen T, Jin XR,<br>Hamasaki T, Hamasaki N  | Massspectrometric analyses of<br>transmembrane proteins in human<br>erythrocyte membrane.  | J. Biochem.<br>(Tokyo)               | 136(1) | 97-106    | 2004 |
| Urata M, Wada Y, Kim SH,<br>Chumpia W, Kayamori Y,<br>Hamasaki N, Kang D.  | High-sensitivity detection of the<br>A3243G mutation of mitochondrial<br>DNA by a combination of allele-<br>specific PCR and peptide nucleic<br>acid-directed PCR clamping.  | Clin. Chem.                          | 50(11) | 2045-2051 | 2004 |
| Kanki T, Ohgaki K,<br>Gaspari M, Gustafsson<br>CM, Fukuoh A, Sasaki N,<br>Hamasaki N, Kang D   | Architectural role of<br>mitochondrial transcription factor<br>A in maintenance of human<br>mitochondrial DNA.   | Mol. Cell.<br>Biol.                  | 24(22) | 9823-9834 | 2004 |
| Park LC, Maruyama T,<br>Kamiya N, Goto M, Kuma<br>H, Hamasaki N  | Mutation detection in the drug-<br>resistant hepatitis B virus<br>polymerase gene using<br>nanostructured reverse micelles.  | Anal. Sci.                           | 20(11) | 1609-1611 | 2004 |

研究成果の刊行に関する一覧表

|   |   |                               |        |           |      |
|---|---|-------------------------------|--------|-----------|------|
| Fu G, Wang T, Yang B, Lv F, Shi C, Jiang X, Tian L, Yu W, <u>Hamasaki N</u>   | Purification and characterization of the human erythrocyte band 3 protein C-terminal domain.  | Biochemistry                  | 43(6)  | 1633-1638 | 2004 |
| Wada Y, Kurihara M, Toyofuku M, Kawamura M, Iida H, Kayamori Y, Kinoshita S, <u>Hamasaki N</u>  | Analytical goals for coagulation tests based on biological variation.   | Clin. Chem. Lab. Med.         | 42(1)  | 79-83     | 2004 |
| Tsuda T, Yoshimura H, <u>Hamasaki N</u>   | Development of a new colorimetric method for protein S activity measurement.  | Clin. Chem. Lab. Med.         | 42(3)  | 350-352   | 2004 |
| Toyomura K, Yamaguchi K, Kawamoto H, Tabata S, Shimizu E, Mineshita M, Ogawa S, Lee KY, <u>Kono S</u>   | Relation of cigarette smoking and alcohol use to colorectal adenomas by subsite: the self-defense forces health study.  | Cancer Sci.                   | 95(1)  | 72-76     | 2004 |
| <u>Kono S</u>   | Secular trend of colon cancer incidence and mortality in relation to fat and meat intake in Japan.  | Eur. J. Cancer Prev.          | 13(2)  | 127-132   | 2004 |
| Iwashita M, Matsushita Y, Sasaki J, Arakawa K; <u>Kono S</u> , for the Kyushu Lipid Intervention Study (KLIS) Group   | Relation of serum total cholesterol and other risk factors to risk of coronary events in middle-aged and elderly Japanese men with hypercholesterolemia: The Kyushu Lipid Intervention Study. | Circ. J.                      | 68(5)  | 405-409   | 2004 |
| <u>Kono S</u> , Toyomura K, Yin G, Nagano J, Mizoue T   | A Case-Control Study of Colorectal Cancer in Relation to Lifestyle Factors and Genetic Polymorphisms: Design and Conduct of the Fukuoka Colorectal Cancer Study.                              | Asian Pacific J. Cancer Prev. | 5(4)   | 393-400   | 2004 |
| Kim DH, Ahn YO, Lee BH, Tsuji E, Kiyohara C, <u>Kono S</u>  | Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, alcohol intake, and risks of colon and rectal cancers in Korea.   | Cancer Lett.                  | 216(2) | 199-205   | 2004 |
| Yin G, <u>Kono S</u> , Toyomura K, Hagiwara T, Nagano J, Mizoue T, Mibu R, Tanaka M, Kakeji Y, Maehara Y, Okamura T, Ikejiri K, Futami K, Yasunami Y, Maekawa T, Takenaka K, Ichimiya H, Imaizumi N | Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and colorectal cancer: The Fukuoka Colorectal Cancer Study.  | Cancer Sci.                   | 95(11) | 908-913   | 2004 |
| Yamaji, T. Mizoue T, Tabata S, Ogawa S, Yamaguchi K, Shimizu E, Mineshita M, <u>Kono S</u>  | Coffee consumption and glucose tolerance status in middle-aged Japanese men.  | Diabetologica                 | 47(12) | 2145-2151 | 2004 |
| Tsuchihashi M, Tsutsui H, Tada H, Shihara M, Takeshita A, <u>Kono S</u> ; Japanese Coronary Intervention Study (JCIS) Group   | Volume-outcome relation for hospitals performing angioplasty for acute myocardial infarction: results from the Nationwide Japanese Registry.  | Circ. J.                      | 68(10) | 887-891   | 2004 |
| Okada K, Maeda N, Tatsukawa M, Shimizu C, Sawayama Y, <u>Hayashi J</u>  | The influence of lifestyle modification on carotid artery intima-media thickness in a suburban Japanese population.   | Atherosclerosis               | 173(2) | 329-337   | 2004 |
| Nakashima H, Furusyo N, Kubo N, Kashiwagi K,  | Double point mutation in the core promoter region of hepatitis B  | J. Gastrol. Hepatol.          | 19(5)  | 541-550   | 2004 |

研究成果の刊行に関する一覧表

|  |  |                                 |           |           |      |
|--|--|---------------------------------|-----------|-----------|------|
| Etoh Y, Kashiwagi S, Hayashi J   | virus (HBV) genotype C may be related to liver deterioration in patients with chronic HBV infection.   |                                 |           |           |      |
| Furusyo N, Kubo N, Nakashima H, Kashiwagi K, Hayashi J                                 | Relationship of genotype rather than race to hepatitis B virus pathogenicity: A study of Japanese and Solomon Islanders.   | Am. J. Trop. Med. Hyg.          | 70(5)     | 571-575   | 2004 |
| Chong Y, Nabeshima S, Furusyo N, Murata M, Yamaji K, Hayashi J                         | Downregulation of CXCR5 in CD27(-) B cells of HIV-1 infected patients.   | J. Med. Virol.                  | 73(3)     | 362-367   | 2004 |
| Furusyo N, Kubo N, Nakashima H, Kashiwagi K, Etoh Y, Hayashi J                         | Confirmation of nosocomial hepatitis C virus infection in a hemodialysis unit.   | Infect. Contr. Hosp. Epidemiol. | 25(7)     | 584-590   | 2004 |
| Tatsukawa M, Sawayama Y, Maeda N, Okada K, Furusyo N, Kashiwagi S, Hayashi J           | Carotid atherosclerosis and cardiovascular risk factors: a comparison of residents of a rural area of Okinawa with residents of a typical suburban area of Fukuoka, Japan. | Atherosclerosis                 | 172(2)    | 337-343   | 2004 |
| Kashiwagi K, Furusyo N, Nakashima H, Kubo N, Kinukawa N, Kashiwagi S, Hayashi J        | A decrease in mother-to-child transmission of human T lymphotropic virus type I (HTLV-I) in Okinawa, Japan.  | Am. J. Trop. Med. Hyg.          | 70(2)     | 158-163   | 2004 |
| Nomura H, Sou S, Tanimoto H, Nagahama T, Kimura Y, Hayashi J, Ishibashi H, Kashiwagi S | Short-term interferon- $\alpha$ therapy for acute hepatitis C: a randomized control trial.   | Hepatology                      | 39(5)     | 1213-1219 | 2004 |
| Makie T, Harada M, Nose Y, Kubo C, Nakamura T, Hayashi J, Kashiwagi S                  | Timeframe of acceptance of dying in end-stage AIDS patients during their final week.   | Counsel. Clin. Psychol. J.      | 1(2)      | 91-99     | 2004 |
| Nomura H, Sou S, Nagahama T, Hayashi J, Kashiwagi S, Ishibashi H                       | Efficacy of early retreatment with interferon $\beta$ for relapse in patients with genotype 1b chronic hepatitis C.  | Hepatol. Res.                   | 28(1)     | 36-40     | 2004 |
| Kimura C, Oike M, Ohnaka K, Nose Y, Ito Y  | Constitutive nitric oxide production in bovine aortic and brain microvascular endothelial cells: a comparative study.  | J. Physiol.                     | 554(Pt 3) | 721-730   | 2004 |
| 高柳涼一   | ステロイド長期投与による骨粗鬆症の発症機序について教えてください   | 小児内科                            | 36(2)     | 282-283   | 2004 |
| 大中佳三, 高柳涼一   | Rho-kinase 阻害剤   | 日本臨床                            | 62(増刊 2)  | 571-574   | 2004 |
| 大中佳三, 高柳涼一   | スタチンと BMP  | Clin. Calcium                   | 14(2)     | 286-288   | 2004 |
| 高柳涼一, 大中佳三   | スタチンは骨形成薬となり得るか?   | Med. Sci. Digest                | 30(3)     | 95-98     | 2004 |
| 高柳涼一   | 高齢者総合医療 予防医学   | 日本内科学会雑誌                        | 93(12)    | 2514-2517 | 2004 |
| 河手久弥, 呉 苗, 大中佳三, 岡部泰二郎, 柳瀬敏彦, 名和田新, 高柳涼一   | DNA 結合ドメインの変異により、アンドロゲン受容体の核移行障害、核内局在障害および核内での mobility の低下を認めたアンドロゲン不応症の 2 例  | ホルモンと臨床 増刊号 「内分泌興味ある症例 第 45 集」  | 52(増刊)    | 134-139   | 2004 |
| 高柳涼一, 河手久弥   | 転写因子と内分泌疾患 II ステロイドホルモン  | 臨床検査                            | 48(10)    | 1159-1166 | 2004 |
| 高柳涼一   | 慢性副腎不全の急性増悪  | 救急医学                            | 28(9)     | 1075-1078 | 2004 |
| 高柳涼一   | 疾患別診療ガイド 骨粗鬆症  | Medical Practice                | 21(増刊)    | 211-216   | 2004 |

研究成果の刊行に関する一覧表

|  |  |                                |          |           |      |
|--|--|--------------------------------|----------|-----------|------|
| 高柳涼一   | ステロイドによる骨粗鬆症 ステロイド性骨粗鬆症の診断基準と治療開始基準の検討   | The Bone                       | 18(3)    | 351-354   | 2004 |
| 河手久弥, 高柳涼一   | ホルモン補充による抗加齢療法   | 治療学                            | 38(7)    | 818-820   | 2004 |
| 大中佳三, 高柳涼一   | ステロイド性骨粗鬆症発症の分子機構  | Osteoporosis Japan             | 12(2)    | 317-320   | 2004 |
| 古野純典   | 大腸癌の疫学と予防  | 臨床と研究                          | 81(9)    | 1393-1397 | 2004 |
| 林純, 古庄憲浩   | ヒトからヒトへの感染症-血液由来感染症 C型肝炎ウイルス   | 臨床と研究                          | 81(10)   | 1635-1640 | 2004 |
| Murata M, Kishihara Y, Nabeshima S, Furusyo N, Kuroki M, Hayashi J   | Evaluation of a new ozone apparatus, the BOX-03, for the bacteriological disinfection of medical waste.  | 環境感染                           | 19(2)    | 277-280   | 2004 |
| Kawate H, Wu Y, Ohnaka K, Nawata H, Takayanagi R.  | Tob proteins suppress steroid hormone receptor-mediated transcriptional activation.  | Mol. Cell. Endocrinol.         | 230(1-2) | 77-86     | 2005 |
| Ohnaka K, Tanabe M, Kawate H, Nawata H, Takayanagi R.  | Glucocorticoid suppresses the canonical Wnt signal in human osteoblasts.   | Biochem. Biophys. Res. Commun. | 329(1)   | 177-181   | 2005 |
| Nawata H, Soen S, Takayanagi R, Tanaka I, Takaoka K, Fukunaga M, Matsumoto T, Suzuki Y, Tanaka H, Fujiwara S, Miki T, Sagawa A, Nishizawa Y, Seino Y | Guidelines on the management and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis of The Japanese Society for Bone and Mineral Research (2004 edition).              | J. Bone Miner. Metab.          | 23(2)    | 105-109   | 2005 |
| Ashida K, Goto K, Zhao Y, Okabe T, Yanase T, Takayanagi R, Nomura M, Nawata H.   | Dehydroepiandrosterone negatively regulates the p38 mitogen-activated protein kinase pathway by a novel mitogen-activated protein kinase phosphatase.                | Biochim. Biophys. Acta.        | 1728     | 84-94     | 2005 |
| Kang D, Hamasaki N   | Alterations of mitochondrial DNA in common diseases and disease states: aging, neurodegeneration, heart failure, diabetes, and cancer.                               | Curr. Med. Chem.               | 12(4)    | 429-441   | 2005 |
| Kang D, Hamasaki N   | Mitochondrial transcription factor A in the maintenance of its mitochondrial DNA   | Ann N Y Acad Sci               | 1042     | 1-8       | 2005 |
| Kurihara M, Watanabe K, Inoue S, Wada Y, Ono M, Wakiyama M, Iida H, Kinoshita S, Hamasaki N  | Characterization of two novel mutations of the antithrombin gene observed in Japanese thrombophilic patients.  | Thromb. Res.                   | 115(5)   | 351-358   | 2005 |
| Iwashita M, Matsushita Y, Sasaki J, Arakawa K, Kono S, for the Kyushu Lipid Intervention Study (KLIS) Group  | Relation of serum total cholesterol and other factors to risk of cerebral infarction in Japanese men with hypercholesterolemia: The Kyushu Lipid Intervention Study. | Circ. J.                       | 69(1)    | 1-6       | 2005 |
| Mizoue T, Yamaji T, Tabata S, Yamaguchi K, Shimizu E, Mineshita M, Ogawa S, Kono S   | Dietary patterns and colorectal adenomas in Japanese men: The Self-Defense Forces Health Study.  | Am. J. Epidemiol.              | 161(4)   | 338-345   | 2005 |
| Masuda Y, Haraguchi K, Kono S, Tsuji H, Pöpke O  | Concentrations of dioxins and related compounds in the blood of Fukuoka residents.   | Chemosphere                    | 58       | 329-344   | 2005 |

# お年寄りをさらに元気に

## — ホルモン補充療法 —

### □理解のためのエッセンス□

- 加齢とともにホルモンは変動する。生命維持に不可欠のホルモン(コルチゾール、インスリンなど)は変動しないが、エストロゲン、アンドロゲン、副腎アンドロゲンなどの性ホルモンは加齢により低下するため、ホルモン補充療法が行われる。
- 閉経に伴うエストロゲン低下は更年期障害や骨粗鬆症をひき起こすため、エストロゲン補充が行われる。子宮や乳腺への作用(発癌作用)はないが、抗動脈硬化作用や抗骨粗鬆症作用をもつ選択的エストロゲン受容体調整剤(SERM)が新しい補充療法薬として開発されている。
- 副腎アンドロゲンである DHEA(-S)は免疫賦活、抗糖尿病、抗骨粗鬆症、抗動脈硬化、抗肥満、抗腫瘍などの作用が動物実験のレベルで示されていたが、最近ヒトでもその効果が明らかにされつつあり、臨床試験が行われている。

### 1. 加齢による内分泌系の変動

内分泌腺は、加齢によりその分泌能や標的臓器の応答性が変化する。加齢によりホルモン分泌は低下する群(エストロゲン、テストステロン、副腎アンドロゲン)、不変群(インスリン、甲状腺ホルモン、副腎皮質刺激ホルモン、コルチゾールなど生命維持に不可欠なもの)、上昇する群(性腺刺激ホルモン)に大別される(図 24-1)。

加齢に伴う変動には性差があり、女性では閉経を契機に血中エストロゲン値は劇的に低下する。エストラジオール( $E_2$ )およびエストリオール( $E_3$ )値は、それぞれ成人の 10% および 30% 程度に低下する。男性では精巣の Leydig 細胞より分泌されるテストステロンは 20 歳代でピークとなり加齢とともに徐々に減少し、70 歳代で 20 歳代の 30% 程度となる。男性のエストロゲン値には加齢変化は認めない。

副腎アンドロゲンであるデヒドロエピアンドロステロン(DHEA)およびデヒドロエピアンドロステロン-サルフェート(DHEA-S)の血中濃度はきわめて特異な加齢変動を示す。血中 DHEA-S 値は男女とも 6~7 歳ころから増加しはじめ、20 歳前後をピークに加齢とともに直線的に低下し、老化のよい指標とされる(図 24-2)。

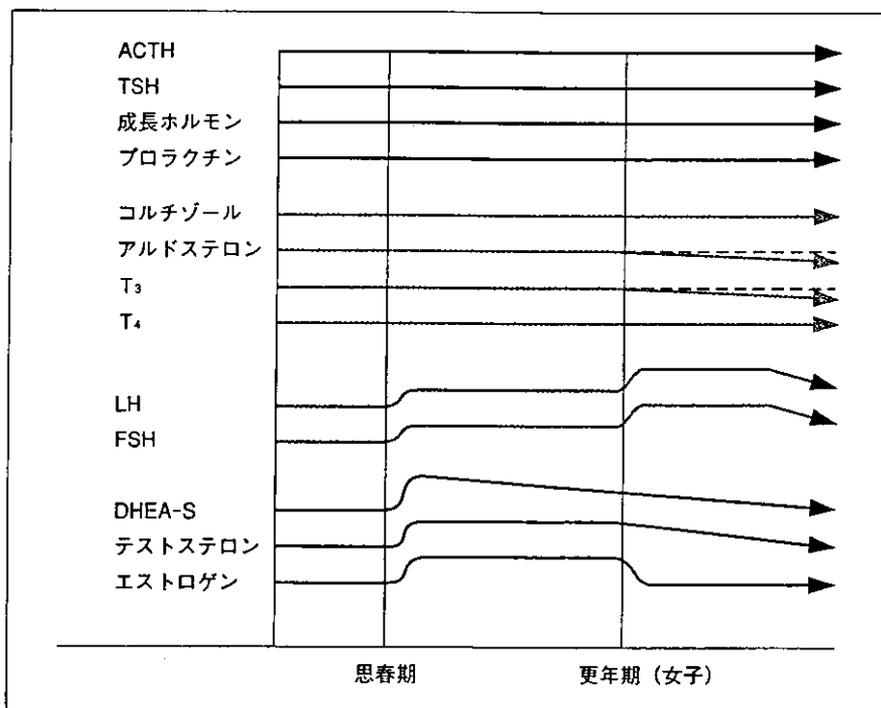


図 24-1 各種ホルモンの血中濃度の加齢に伴う変動  
血中ホルモン値は加齢により変動しない群(ACTH, コルチゾールなど), 上昇する群(LH, FSH), 低下する群(DHEA-S, エストロゲンなど)に大別される。

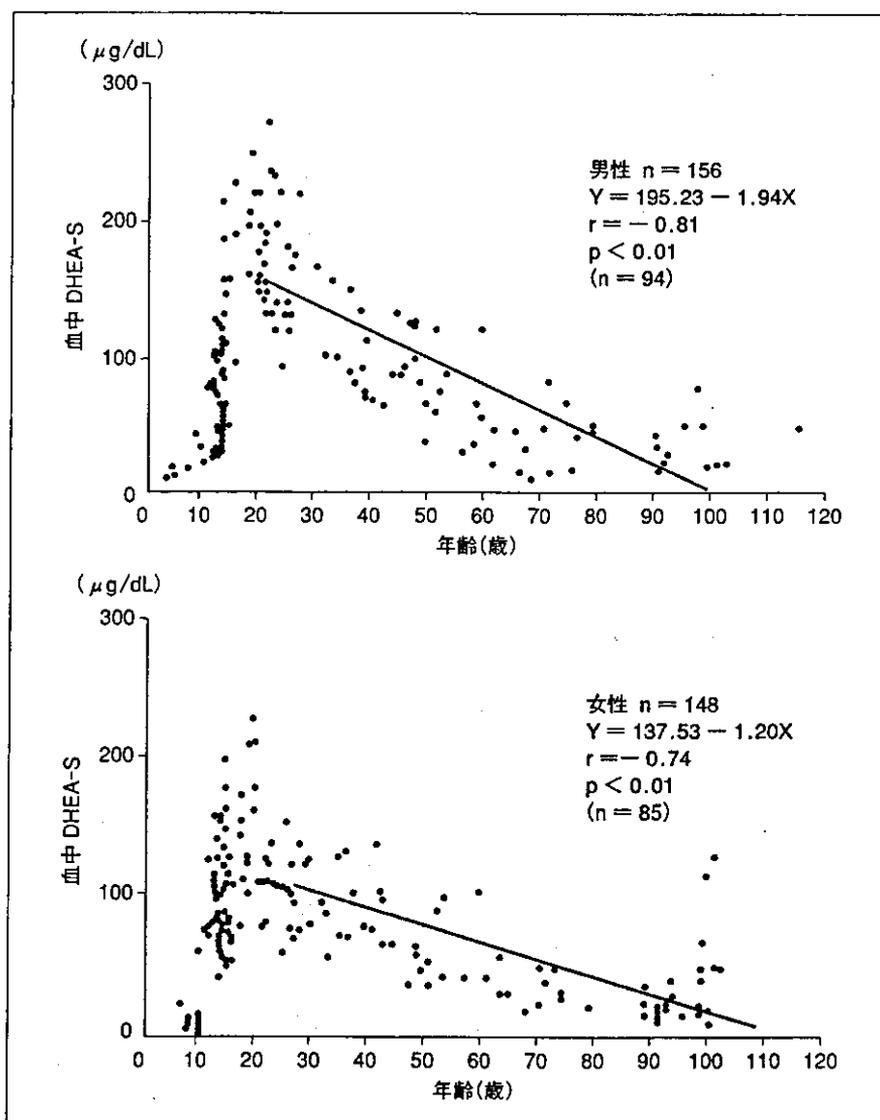


図 24-2 加齢による血中 DHEA-S の変動  
血中 DHEA-S 値は男女とも思春期に急増し, 20 代をピークに加齢とともに直線的に低下する。

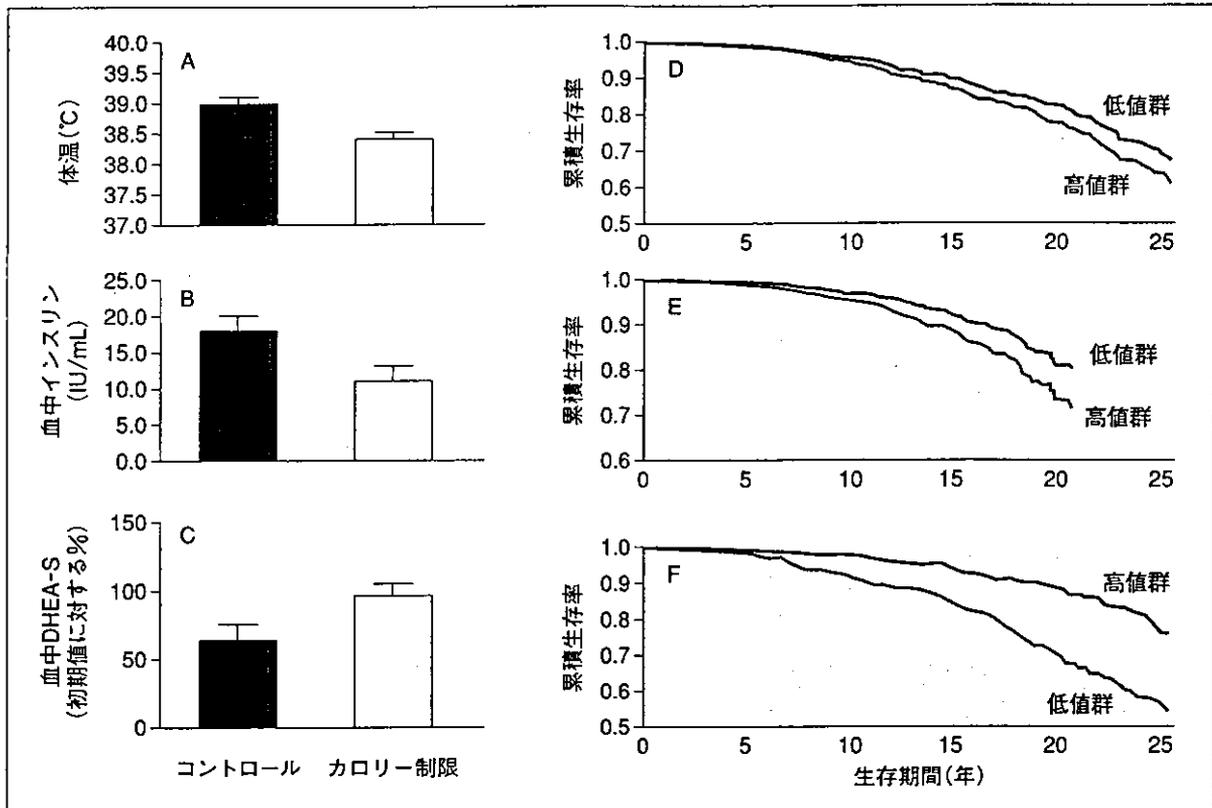


図 24-3 雄アカゲザルにカロリー制限を行ったときの体温，血中インスリン，DHEA-S の変化(A～C)，米国ボルチモア男性住民の各因子の高値群と低値群の累積生存率の比較(D～F)(Science 297 : 811, 2002 より)  
雄アカゲザルではカロリー制限により寿命が延長し，体温低下，血中インスリン値低下と血中 DHEA-S の低下速度の緩徐化を認める．ボルチモア男性住民の調査でもこのような特徴が「長生き」の人々に認められている．

このような加齢に伴う DHEA 分泌の低下はヒトおよびアカゲザルのような霊長類においてのみ観察される．興味深いことに，アカゲザルではヒトの約 2 倍の速度で血中 DHEA-S が低下するが，摂取カロリーを制限することにより寿命が延長し，体温の低下，血中インスリン値の低下とともに血中 DHEA-S の低下速度が緩徐となる．またこのような特徴が米国のボルチモア住民を対象にした調査でも「長生き」の人々に認められている(図 24-3)．過食を避け，「腹八分」が長生きの秘訣かもしれない．

## 2. エストロゲン補充療法

閉経後のエストロゲン欠乏によって起こるさまざまな問題には，更年期障害(ほてり，肩こり，頭痛，うつ状態，不眠など)をはじめ，泌尿生殖器の萎縮による老人性陰炎，尿失禁，皮膚の萎縮，骨粗鬆症，高脂血症，動脈硬化などがあり，これらに対してエストロゲンを補充するホルモン補充療法 hormone replacement therapy(HRT)が行われる．HRT にはエストロゲン欠乏に基づく症状が出てから開始するものと，予防的に行われるものがある．更年期障害や老人性陰炎では短期間の投与で症状の改善が得られるが，骨粗鬆症や動脈硬化症に対する効果は長

期間の投与が必要である。

HRTにおけるエストロゲン製剤の投与を長期間継続すると子宮内膜癌の発生頻度が高まるので子宮を有する婦人にはプロゲステロン製剤(黄体ホルモン)を併用する必要がある。エストロゲン製剤としては種々のタイプがあり、強さも異なる。

- ①結合型エストロゲン(プレマリン®など)：妊馬尿中から精製された天然結合型エストロゲンで、古くから最もよく用いられるエストロゲン製剤である。通常1錠0.625 mg/日を用いる。
- ②経皮吸収型エストラジオール(エストラダーム M®など)：持続的に放出されたエストラジオールが皮膚より吸収されるので、血中濃度が維持されやすい。また肝臓での初回通過効果を受けないため、中性脂肪増加作用がない。皮膚の弱い人には使いにくい。
- ③エストリオール(エストリール®など)：子宮内膜への作用が弱く、子宮内膜癌を気にする婦人や不正出血を嫌がる場合に用いる。エストロゲンの効果は結合型エストロゲンより弱いので、高齢者には適している。

併用するプロゲステロン製剤としては通常、酢酸メドキシプロゲステロン(MPA, プロベラ®など)2.5～5 mg/日が用いられる。

HRTの投与方法には主に以下の4つの方法がある(図24-4)。

- ①エストロゲン単独投与方法：エストロゲン製剤を連日投与する。更年期障害や萎縮性膣炎などに対する比較的短期間の投与や、子宮全摘後の女性が対象となる。
- ②逐次的投与方法：エストロゲン製剤を21日間投与、後半の12日間(10日目から21日目)にプロゲステロン製剤を併用し、22日目より1週間休薬するのを1クールとしてこれを繰り返す。休薬期間中に消退出血をみるので、主に閉経周辺期の女性に行われる。
- ③周期的投与方法：エストロゲン製剤を連日投与し、12～14日間プロゲステロン製剤を4週間ごとに併用する。プロゲステロン製剤服用終了後に消退出血をみるので、閉経周辺期の女性に行われる。
- ④持続併用投与方法：エストロゲン製剤とプロゲステロン製剤を連日投与する。投与開始初期には不正出血がみられるが、子宮内膜は次第に萎縮するので出血頻度は少なくなる。主に閉経後の比較的高齢者が対象となる。

HRTの絶対的禁忌例として、診断のつかない不正出血、急性期の肝疾患、急性期の血栓性静脈炎または血栓症・塞栓症、子宮内膜癌、乳癌、妊娠(の疑い)などがある。また慎重に投与するものとして、子宮内膜症、子宮筋腫、良性乳房疾患、心房細動などの血栓発症となる心疾患、高TG血症、胆石または胆嚢疾患、コントロール不良な糖尿病および高血圧、片頭痛、高度の肥満などである。

HRTを開始する前には十分な問診ならびに血液検査(一般血液検査、生化学検査、血液凝固系など)と子宮内膜癌、乳癌のチェックを行い、開始後も定期的に検査を行うことが必要である。HRTの有害事象としては、性器出血、乳房痛・乳房筋滴感、消化器症状、肝機能障害、子宮内膜癌・乳癌の発症頻度の増加などがあり、十分な配慮が必要である。子宮内膜癌のリスクはプロゲステロン製剤の併用にて軽減されるが、乳癌のリスクは、たとえプロゲステロン

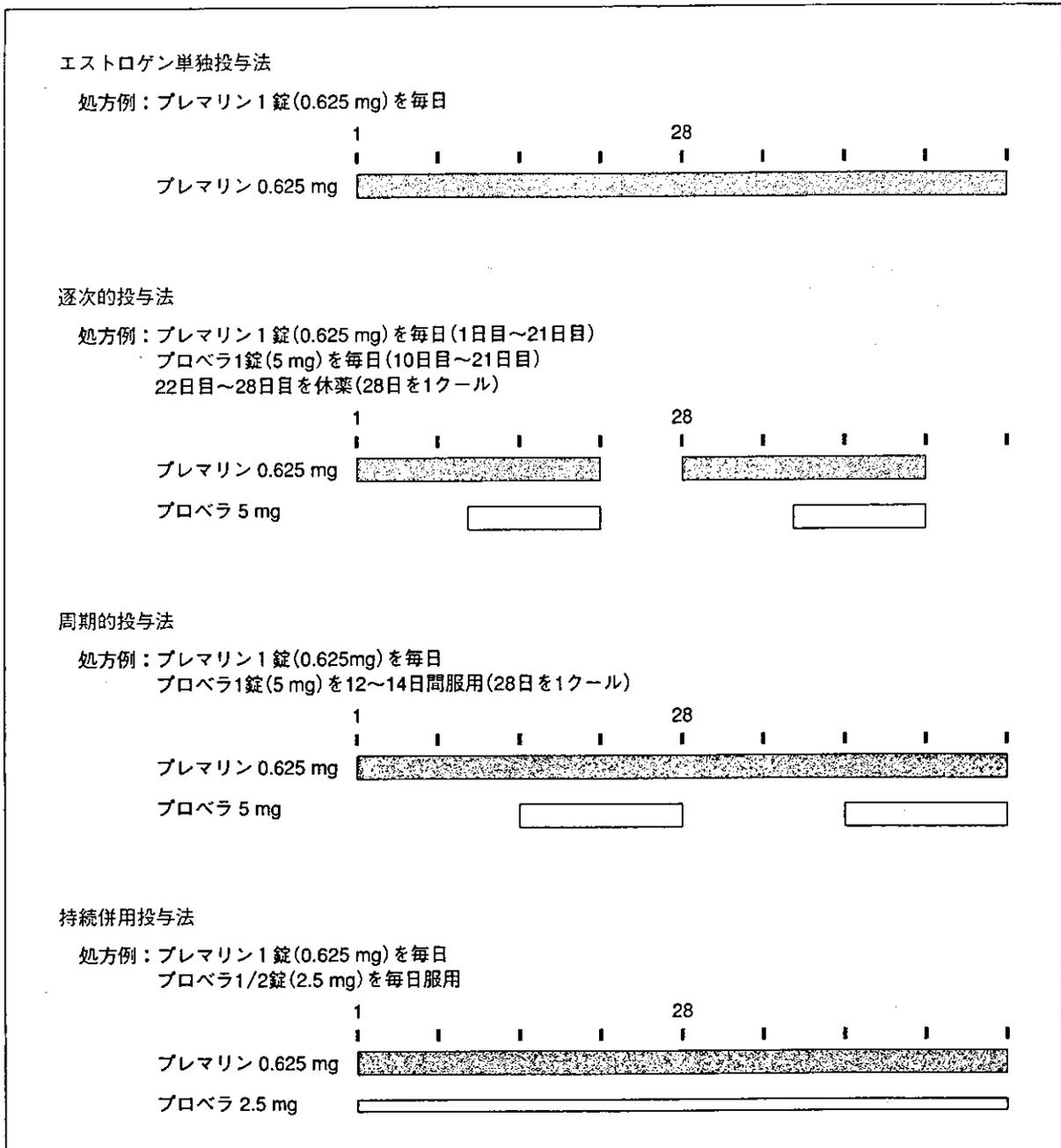


図 24-4 HRT の処方例

HRT はエストロゲン製剤を主体に、プロゲステロン製剤を併用して行われる。投与方法により 4 つに分けられる。代表的な処方例を示す。

製剤を併用しても長期の HRT(5 年以上)により増大することが最近報告されており、HRT 施行時には慎重な検診が必須である。最近開発されたラロキシフェンなどの選択的エストロゲン受容体調節剤 selective estrogen receptor modulator(SERM)は、組織選択的に働くため骨量増加やコレステロール低下作用は有するが、子宮や乳腺への影響はほとんどない。ただしホットフラッシュ(顔面紅潮、のぼせ)など更年期障害の改善には無効である。SERM は近々臨床使用可能となる予定であり、将来的には閉経直後の更年期障害のある時期は通常の HRT を数年間行い、その後は SERM に切り替えるという方法も可能となるであろう。