

Fig. 4. (a) Western blot analysis for p53 protein expression in KGN and COV434 cells. Treatment for 18 h with Z-LLF leads to an accumulation of p53 protein. Blots are representative of three replicate experiments. (b) p53 mRNA expression in KGN and COV434 cells following treatment with Z-LLF. ns,  $p > 0.05$ ; \* $p < 0.001$  by *t*-test,  $n = 3$  replicate experiments.

pre-treatment with Z-LLF synergistically enhances cell death (Fig. 1). Compared to the effect of TRAIL alone, reduced cell viability following treatment with Z-LLF in both KGN and COV434 cells occurs independent of caspase-8 activity, as IETD failed to block Z-LLF-induced death (Fig. 2a). Significantly, the finding that IETD reversed the effects of TRAIL when treated in combination with Z-LLF not only confirms that TRAIL-induced effects in KGN and COV434 are caspase-8-dependent, but also indicates that the sensitizing effects of Z-LLF on TRAIL-induced cell death lie at or upstream of caspase-8, either at the level of the DISC, or the TRAIL receptor (e.g., DR5), rather than solely by promoting release of mitochondrial cytochrome *c*. Interestingly, treatment with Z-LLF, but not TRAIL, led to a marked increase in levels of both *dr5* and *bax* mRNA (Fig. 3b) and protein (Fig. 3a). This result suggests a potential dual mechanism to perturb GCT cell viability, both by sensitizing granulosa cells to TRAIL, as well as promoting mitochondrial release of cytochrome *c* (Fig. 3c–d). Additional synergism between Z-LLF and TRAIL may occur at or downstream of mitochondrial cytochrome *c* release, as evidenced by the ability of the caspase-9 inhibitor, LEHD, to reverse the effects of Z-LLF when treated in combination with TRAIL (Fig. 2b).

In both KGN and COV434 cells, the level of p53 detectable by Western blot analysis dramatically increased following treatment with Z-LLF (Fig. 4a). However, the increase in the levels of

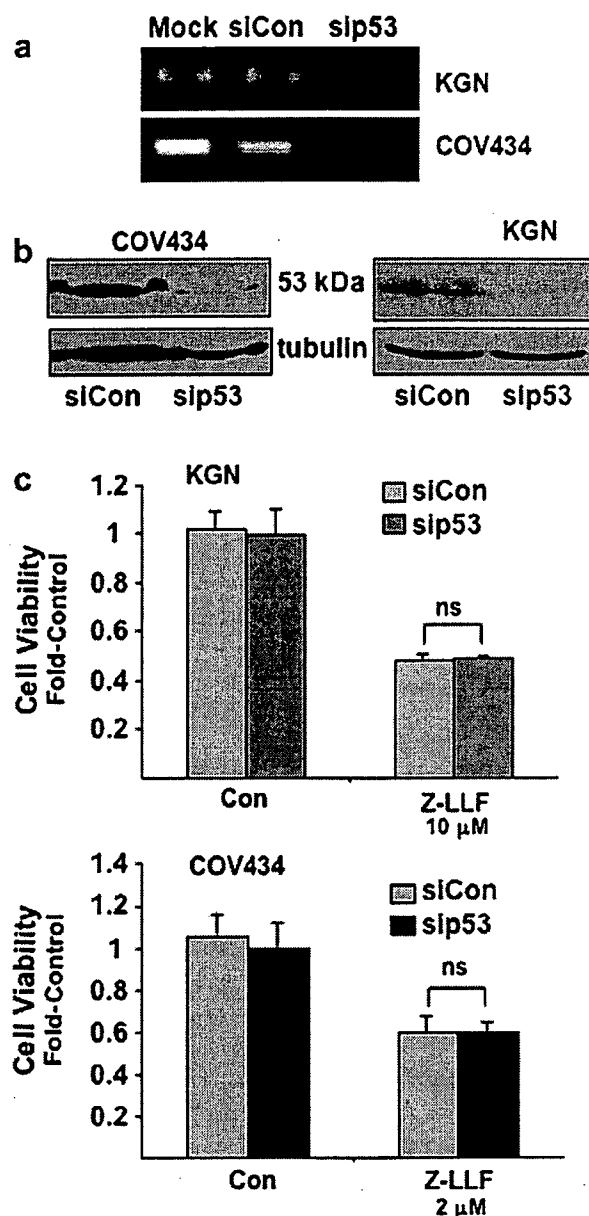


Fig. 5. p53 mRNA (a) and protein (b) levels dramatically decline following transfection of p53 siRNA (sip53) compared to mock-transfected cells and cells transfected with control, non-coding siRNA (siCon). (c) p53 knockdown does not alter cell viability compared to siCon cells, either in the absence (Con) or presence of Z-LLF. ns,  $p > 0.05$ ;  $n = 3$  replicate experiments.

p53 protein expression is likely a result of protein accumulation rather than *de novo* protein synthesis, as treatment with Z-LLF resulted in a decrease in p53 mRNA expression in COV434, and no increase in KGN (Fig. 4b). Following treatment with proteasome inhibitor the accumulation of p53 protein, as opposed to up-regulation of mRNA, has been proposed as the primary mechanism of action in leukemia cells lines [29], and it has been shown in

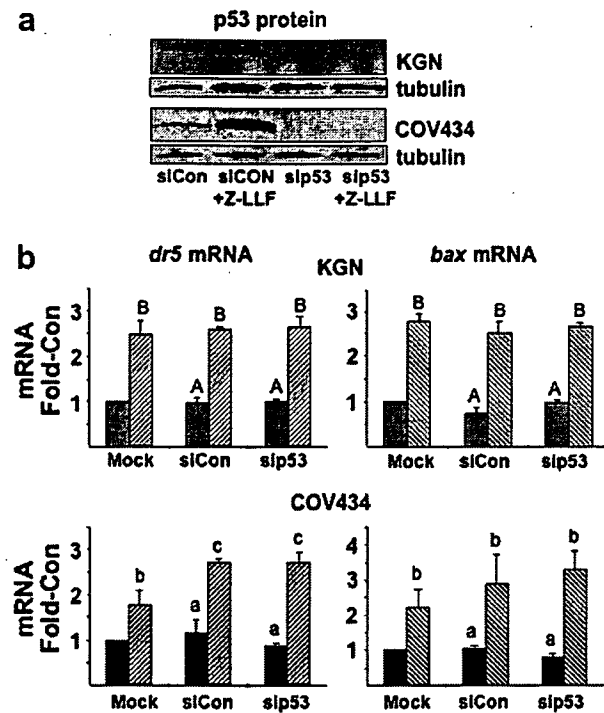


Fig. 6. (a) Levels of p53 protein in KGN and COV434 cells following transfection with non-specific siRNA (siCon), or with sip53 complexes. Cells were cultured in the absence or presence of Z-LLF (KGN, 10  $\mu$ M; COV434, 2  $\mu$ M) for 18 h. (b) Real-time PCR analysis for *dr5* and *bax* mRNA expression following mock-transfection, transfection with siCon, or transfection with sip53 in the absence (solid bars) or presence (cross-hatched bars) of Z-LLF. A and B; (a–c),  $p < 0.01$ , by ANOVA;  $n = 3$  replicate experiments.

multiple cell types that p53 is degraded by the proteasome complex [30–32]. Thus, it is likely that the increase in p53 protein induced by Z-LLF results from a decline in protein turnover. While apoptosis has generally been attributed to p53-dependent mechanisms if associated with p53 induction [29], regulation of p53 turnover by the proteasome makes this assessment less clear when proteasome activity is the target. Nevertheless, the use of a siRNA approach (to block *de novo* p53 synthesis) failed to prevent Z-LLF-reduced cell viability in both KGN and COV434 cell lines (Fig. 5), indicating that the reduction in viability occurs largely independent of p53. Moreover, sip53 did not alter Z-LLF induced *dr5* or *bax* mRNA expression in either cell line compared to siCon transfected cells (Fig. 6b), indicating that the increased levels of both *dr5* and *bax* resulting from Z-LLF treatment also occur independently of p53 activity. Taken together, these data suggest that inhibition of proteasome activity increases Bax and DR5 expression and sensitizes GCTs to

TRAIL-induced cell death in a p53-independent fashion.

In summary, the studies described herein are the first to demonstrate TRAIL-induced cell death specifically in granulosa tumor cells, and to provide mechanisms for proteasome inhibitor-mediated sensitization to TRAIL-induced apoptosis. While the use of a proteasome inhibitor has also been reported to render otherwise TRAIL-resistant primary cultured granulosa cells sensitive to TRAIL treatment [7], the identification of specific cellular correlates required for enhancing TRAIL sensitivity can ultimately lead to more effective approaches to selectively targeting the treatment of granulosa cell tumors. Finally, these results underscore the importance of using tumor-derived cell lines to develop targeted approaches to the pharmacologic management of granulosa tumors.

#### Acknowledgements

Research was supported by grants from the United States Department of Defense (DAMD17-03-1-0206) and the University of Notre Dame Walther Cancer Research Center.

#### References

- [1] S.T. Schumer, S.A. Cannistra, Granulosa cell tumor of the ovary, *J. Clin. Oncol.* 21 (2003) 1180–1189.
- [2] N. Colombo, G. Parma, V. Zanagnolo, A. Insinga, Management of ovarian stromal cell tumors, *J. Clin. Oncol.* 25 (2007) 2944–2951.
- [3] Y. Nishi, T. Yanase, Y. Mu, K. Oba, I. Ichino, M. Saito, M. Nomura, C. Mukasa, T. Okabe, K. Goto, R. Takayanagi, Y. Kashimura, M. Haji, H. Nawata, Establishment and characterization of a steroidogenic human granulosa-like tumor cell line, KGN, that expresses functional follicle-stimulating hormone receptor, *Endocrinology* 142 (2001) 437–445.
- [4] H. Zhang, M. Vollmer, M. De Geyter, Y. Litzistorf, A. Ladewig, M. Durrenberger, R. Guggenheim, P. Miny, W. Holzgreve, C. De Geyter, Characterization of an immortalized human granulosa cell line, *Mol. Hum. Reprod.* (2000) 146–153.
- [5] K. Kim, M.J. Fisher, S.-Q. Xu, W.S. El-Deiry, Molecular determinants of response to TRAIL in killing of normal and cancer cells, *Clin. Cancer Res.* 16 (2000) 335–346.
- [6] S.R. Wiley, K. Schooley, P.J. Smolak, W.S. Din, C.P. Huang, J.K. Nicholl, G.R. Sutherland, T.D. Smith, C. Rauch, C.A. Smith, Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis, *Immunity* 3 (1995) 673–682.
- [7] A.L. Johnson, C. Ratajczak, M.J. Haugen, H.-K. Liu, D.C. Woods, Tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand (TRAIL) expression and activity in hen granulosa cells, *Reproduction* 133 (2007) 609–613.

- [8] G. Pan, K. O'Rourke, A.M. Chinnaiyan, R. Gentz, R. Ebner, J. Ni, V.M. Dixit, The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL, *Science* 276 (1997) 111–113.
- [9] G. Pan, J. Ni, Y.-F. Wei, G. Yu, R. Gentz, V.M. Dixit, An antagonist decoy receptor and a death domain-containing receptor for TRAIL, *Science* 277 (1997) 815–818.
- [10] J.T. Bridgham, J.A. Wilder, H. Hollocher, A.L. Johnson, All in the family: evolutionary and functional relationships among death receptors, *Cell Death Differ.* 10 (2003) 19–25.
- [11] P. Schneider, M. Thome, K. Burns, J.L. Bodmer, K. Hofmann, T. Kataoka, N. Holler, J. Tschoop, TRAIL receptors 1 (DR4) and 2 (DR5) signal FADD-dependent apoptosis and activate NF- $\kappa$ B, *Immunity* 7 (1997) 831–836.
- [12] J.L. Bodmer, N. Holler, S. Reynard, P. Vinciguerra, P. Schneider, P. Juo, J. Blenis, J. Tschoop, TRAIL receptor-2 signals apoptosis through FADD and caspase-8, *Nat. Cell Biol.* 2 (2000) 241–243.
- [13] R.R. Siervo-Sassi, A.M. Marrangoni, X. Feng, N. Naoumova, M. Winans, R.P. Edwards, A. Lokshin, Physiological and molecular effects of Apo2L/TRAIL and cisplatin in ovarian carcinoma cell lines, *Cancer Lett.* 190 (2003) 61–72.
- [14] Q. Bao, Y. Shi, Apoptosome: a platform for the activation of initiator caspases, *Cell Death Differ.* 14 (2007) 56–65.
- [15] K.T. Imajoh-Ohmi, S. Sugiyama, K. Tanaka, S. Omura, H. Kikuchi, Lactacystin, a specific inhibitor of the proteasome, induces apoptosis in human monoblast U937 cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 217 (1995) 1070–1077.
- [16] E. Fujita, T. Mukasa, T. Tsukahara, K. Arahata, S. Omura, T. Momoi, Enhancement of CPP32-like activity in the TNF-treated U937 cells by the proteasome inhibitors, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 224 (1996) 74–79.
- [17] R.Z. Orlowski, J.R. Eswara, A. Lanfond-Walker, M.R. Gréver, M. Orlowski, C.V. Dang, Tumor growth inhibition induced in a murine model of human Burkitt's lymphoma by a proteasome inhibitor, *Cancer Res.* 58 (1998) 4342–4348.
- [18] J. Adams, V.J. Palombella, E.A. Sausville, J. Johnson, A. Destree, D.D. Lazarus, J. Maas, C.S. Pien, S. Prakash, P.J. Elliot, Proteasome inhibitors: a novel class of potent and effective antitumor agents, *Cancer Res.* 59 (1999) 2615–2622.
- [19] E. Er, L. Oliver, P.-F. Cartron, P. Juin, S. Manon, F.M. Vallette, Mitochondria as the target of the pro-apoptotic protein Bax, *Biochim. Biophys. Acta* 1757 (2006) 1301–1311.
- [20] U.G. Lopes, P. Erhardt, R. Yao, G.M. Cooper, p53-dependent induction of apoptosis by proteasome inhibitors, *J. Biol. Chem.* 272 (1997) 12893–12896.
- [21] T. Miyashita, J.C. Reed, Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human BAX gene, *Cell* 80 (1995) 293–299.
- [22] G. Wu, T.F. Burns, E.R. McDonald, W. Jiang, R. Meng, I.D. Krantz, G. Kao, D.D. Gan, J.Y. Zhou, R. Muschel, S.R. Hamilton, N.B. Spinner, S. Markowitz, G. Wu, W.S. el-Deiry, KILLER/DR5 is a DNA damage-inducible p53-regulated death receptor gene, *Nat. Genet.* 17 (1997) 141–143.
- [23] S. Wang, W.S. el-Deiry, Requirement of p53 targets in chemosensitization of colonic carcinoma to death ligand therapy, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100 (2003) 15095–15100.
- [24] D.C. Woods, A.L. Johnson, Protein kinase C activity mediates LH-induced ErbB/Erk signaling in differentiated hen granulosa cells, *Reproduction* 133 (2007) 733–741.
- [25] Z.A.J. Khan, S.K. Jonas, N. Le-Marer, H. Patel, R.Q. Wharton, A. Tarragona, A. Ivison, T.G. Allen-Mersh, p53 Mutations in primary and metastatic tumors and circulating tumor cells from colorectal carcinoma patients, *Clinical Cancer Res.* 6 (2000) 3499–3504.
- [26] K.J. Livak, T.D. Schmittgen, Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  method, *Methods* 25 (2001) 402–408.
- [27] W.S. el-Deiry, Regulation of p53 downstream genes, *Semin. Cancer Biol.* 8 (1998) 345–357.
- [28] E. Saulle, A. Petronelli, L. Pasquini, E. Petrucci, G. Mariani, M. Biffoni, G. Ferretti, G. Scambia, P. Benedetti-Panici, F. Cagnetti, R. Humphreys, C. Peschle, U. Testa, Proteasome inhibitors sensitize ovarian cells to TRAIL induced apoptosis, *Apoptosis* 12 (2007) 635–655.
- [29] W.G. An, S.G. Hwang, J.B. Trebel, M.V. Blagoskonny, Protease inhibitor-induced apoptosis: accumulation of wt p53, p21WAF1/CIP1, and induction of apoptosis are independent markers of proteasome inhibition, *Leukemia* 14 (2000) 1276–1283.
- [30] G.G. Maki, J.M. Huibregtse, P.M. Howley, In vivo ubiquitination and proteasome-mediated degradation of p53, *Cancer Res.* 56 (1996) 2649–2654.
- [31] M.V. Blagoskonny, G.S. Wu, S. Omura, W.S. El-Deiry, Proteasome-dependent regulation of p21WAF1/CIP1 expression, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 227 (1996) 564–569.
- [32] C. Dietrich, T. Bartsch, F. Schanz, F. Oesch, R.J. Wieser, p53-dependent cell cycle arrest induced by N-acetyl-L-leucyl-L-leucyl-L-norleucinal in platelet-derived growth factor-stimulated human fibroblast, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93 (2006) 10815–10819.



女性とメタボリックシンドローム

## 3. 女性と生活習慣病

### 4) 女性と高脂血症

わか せ へい ち  
若槻明彦

愛知医科大学産婦人科。

Key Words/閉経後女性, エストロゲン, 高脂血症

#### 要旨

脂質代謝異常には LDL コレステロールや中性脂肪 (TG) の上昇, HDL コレステロールの低下などがある。女性の場合, エストロゲン濃度が低下すると, LDL コレステロールや TG が高値となり, TG の上昇は LDL を酸化されやすい small dense LDL に変化させる。閉経後高脂血症の治療に関しては賛否両論あったが, 最近報告された臨床試験で, LDL コレステロール, TG いずれも治療意義のあることが証明された。したがって, 女性で高脂血症を認めた場合にはスタチンやフィブラートを積極的に投与すべきである。

#### はじめに

心筋梗塞や脳卒中などの動脈硬化性疾患の危険因子には, 高脂血症, 高血圧, 糖尿病, 肥満, 喫煙などがある。脂質代謝異常として, LDL コレステロール (LDL-C) や中性脂肪 (TG) の上昇, HDL コレステロール (HDL-C) の低下が心血管疾患 (CVD) リスクに関与する。

女性の場合, 50 歳以後に脂質代謝に乱れを生じることがわかっており, エストロゲン濃度の低下と密接に関連することが想定できる。

しかし, わが国では女性の高コレステロール

血症は CVD リスクにならないと考えられ, 軽度～中等度の閉経後高脂血症は積極的に治療されることはなかった。一方, 最近報告された臨床試験では, 女性の高コレステロール血症, 高 TG 血症に対する抗脂血症薬の治療効果が証明されている。

ホルモン補充療法 (HRT) は抗動脈硬化作用を有し, 従来 CVD リスクを低下すると考えられてきた。しかし, Women's Health Initiative (WHI) により, 逆に HRT はリスクを増加することが報告され<sup>1)</sup>, HRT の適応症例が制限されるようになった。しかし, 最近報告された WHI サブ解析では HRT 開始年齢により, CVD リスクも変化することが確認されている<sup>2)</sup>。

本稿では、脂質代謝異常から動脈硬化への進展する機序、閉経後高脂血症の頻度や発症機序、さらには管理方法について概説する。

## 脂質代謝異常から動脈硬化への進展機序

### 1. 高LDL血症

肝から産生されたVLDLはIDLからLDLにまで変化する。LDLは肝のLDL受容体から取り込まれ、血中濃度が維持されているが、血中に過剰に蓄積すると、血管内皮下に侵入し、活性酸素により酸化変性される。酸化LDLはマクロファージに一方向的に貪食され、最終的には泡沫細胞を形成し、粥状硬化へと進展する。したがって、血中にLDLが蓄積すると、冠動脈疾患や脳卒中などのリスクが増加することは多くの疫学データに証明されている。

### 2. 高TG血症

血中TGが高値になると、低HDL血症、インスリン抵抗性、肥満、高血圧、血栓形成、内皮機能低下など様々な動脈硬化に促進的な病態と関連して動脈硬化に促進的に作用するが、近

年とくにLDL粒子サイズを減少し、超悪玉のsmall dense LDLを産生することが注目されている。しかし、これまで高TG血症の臨床的意義は高LDL血症に比較して低いと考えられてきたが、わが国で2001年に日本人の秋田、高知、茨城、大阪の4地域住民1万1千人(40~69歳)を対象とした16年間の追跡研究が行われ、TGが冠動脈疾患のリスクファクターであるこ

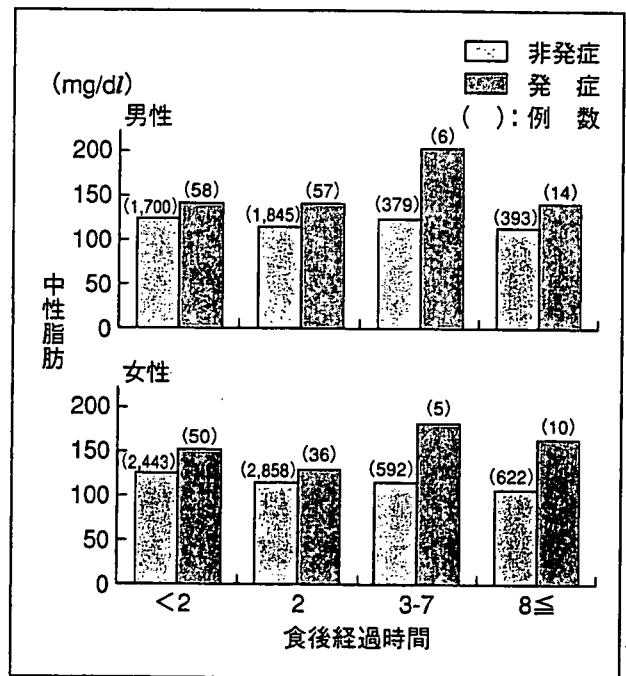


図1 食後経過時間別の中性脂肪と虚血性心疾患 (Iso H et al. Am J Epidemiol, 2001)

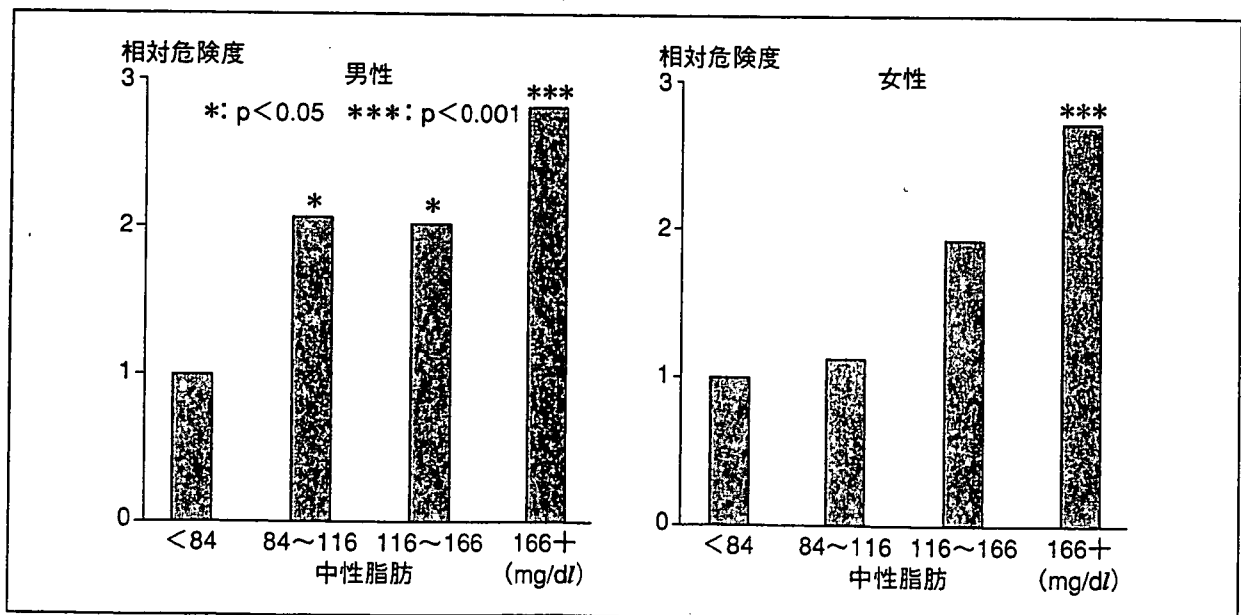


図2 中性脂肪と冠動脈疾患の発症リスク (Iso H et al. Am J Epidemiol, 2001)

とが示されている。この研究によると、TG値は冠動脈疾患の発症例が非発症例に比較して高値にシフトされており、食後TG値においても同様の結果が報告されている(図1)<sup>3)</sup>。また、TG値が84 mg/dl未満に比較し、166 mg/dl以上になるとは冠動脈疾患の発症リスクが男女とも3倍になることも示されている(図2)<sup>3)</sup>。したがって、高TG血症は動脈硬化の重大なリスクと考えるべきである。

### 3. 低HDL血症

HDLは肝や腸管、さらにはVLDLからIDLへの代謝課程で産生される。HDLは血管内皮下に侵入し、蓄積した泡沫細胞内のコレステロールを血中に処理する脱泡沫化作用を有する。また、HDLはそれ自身、抗酸化作用をも有し、抗動脈硬化的に作用する。したがって、HDL粒子が減少すると、動脈硬化に促進的に作用することは多くの臨床成績で証明されている。

## 高脂血症の診断

血中脂質を検査する場合、12時間以上の絶食後に採血をし、TC、TG、HDL-C濃度を調べる。LDL-C濃度はTC、TG、HDL-Cからfriedewaldの式( $TC - TG/5 - HDL-C$ )から推測することができるが、TGが400 mg/dl以上と高値の場合にはばらつきが大きくなるため、最近では信頼性が高い直接法で測定することが多い。絶食後に採血する理由は、食事摂取によりTG濃度は影響されやすく、空腹時より大幅に高値を示すためである。したがって、日本動脈硬化学会の定義によると、絶食後の条件下で採血した結果、TC:220 mg/dl以上、TG:150 mg/dl以上、LDL-C:140 mg/dl以上が高脂血症の基準に設定され、HDL-Cが40 mg/dl未満も治療の対象とされている<sup>4)</sup>。

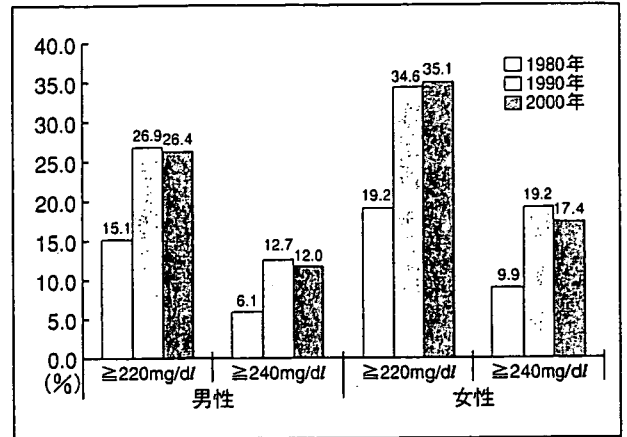


図3 高コレステロール血症者の割合  
(循環器疾患基礎調査より)

## 高脂血症の頻度

1999年の厚生労働省による高脂血症の頻度は、50歳以前では男性が高率で推移するのに対し、それ以後では逆に女性が高率となり、50%以上の割合で高脂血症と診断される。したがって、女性の場合、閉経すなわちエストロゲン濃度の低下が高脂血症の発症と密接に関与することが推測される。また1980年から10年ごとの高コレステロール血症患者の男女の頻度をみると、男性に比較し、女性が高率で、その頻度は男女とも徐々に増加している(図3)。さらに日米間の平均コレステロール値を年代で比較してみると、米国人は年々低下しているのに対し、日本人は上昇し続け、1990年にわが国の女性の平均コレステロール値が米国人女性を上まわっている。すなわち閉経後女性の高脂血症の増加は、エストロゲン低下に加え、食生活を含めたライフスタイルの急激な変化も大きな要因と考えられる。

## 閉経後高脂血症の発症機序

有経女性とエストロゲン濃度の低い自然閉経

女性さらには有経女性と年齢をマッチさせた両側卵巣摘除後女性の3群間の脂質代謝動態を比較検討してみると、LDL-C、LDLアポリipoprotein B (LDLアポB)濃度はいずれも有経女性に比較し、自然閉経および両側卵巣摘除後女性で高値を示している<sup>9)</sup>。LDLアポBはLDL1粒子当たり1分子存在するため、その濃度はLDL粒子数を意味するといわれており、エストロゲン濃度の低下がLDL粒子数の増加につながると考えられる。LDL粒子数の増加には2つの機序が考えられる。まずエストロゲン濃度が低下すると、肝のLDL受容体からのLDLの取り込みが低下するため、血中にLDLが停滞することが報告されている<sup>9)</sup>。次にLDLの律速酵素の一つであるリポ蛋白リパーゼ活性がエストロゲン濃度の低下により亢進する<sup>9)</sup>。したがって、低エストロゲン環境の女性では、リポ蛋白リパーゼ活性の亢進によるLDL合成系の亢進と、LDL受容体減少による異化系の低下が原因で血中にLDLが蓄積すると考えられる。

HDL-CやHDLアポA I, A IIは3群間で差がないことから、エストロゲン濃度低下に伴う血中HDL粒子数の変動はないが、TGはエストロゲン濃度の低い2つの群で高値を示す<sup>9)</sup>。高TG血症は、より動脈硬化に促進的な小型のLDL粒子を産生することが最近注目されている。小型LDLが動脈硬化の進行に際し、超悪玉である理由として、肝のLDL受容体との親和性に乏しいため血中にLDLが停滞しやすいことや<sup>7)</sup>、容易にfree radicalに酸化変性され、マクロファージに取り込まれやすいことなどがあ<sup>8)</sup>。さらに酸化LDLは、動脈硬化の発症と密接に関連する血管内皮機能を傷害することも最近報告されている。われわれは閉経後の高TG血症がLDLを小粒子化することを明らかにしている<sup>9)</sup>。また閉経後女性をLDL粒子径が25.5 nm以上のpattern Aと、25.5 nm未満のpattern B (冠動脈疾患の発症と密接に関係)に分類し

て検討してみると、LDL-Cは有経女性に比較し、閉経後のpattern A, Bいずれの群も高値を示したが、pattern Bの閉経後女性では、TGが高値で、LDLの被酸化性の亢進を示した。したがって、閉経後のTGの増加により小粒子化されたLDLは活性酸素に容易に酸化されやすい超悪玉LDLになっていることが示された。また、エストロゲン欠乏で低下した血管内皮機能はpattern Bの場合、pattern Aよりもさらに低下することも示され、閉経後の小型LDLは血管内皮機能にも抑制的に作用することが明らかにされている<sup>9)</sup>。

## 女性の高脂血症の治療意義に関する臨床試験

高脂血症の存在は動脈硬化の重大な危険因子であるが、Japan Lipid Intervention Study (JLIT)で低コレステロールになるとむしろ死亡率が増加するとの報告や、男女間の冠危険因子の比較で女性の場合、高コレステロール血症のオッズ比は1.0前後との報告などから(図4)<sup>10)</sup>、女性の高脂血症はCVDリスクにならないと考えられ、中等度以下の高脂血症は治療する必要がないとの意見が多かった。一方、欧米での疫学試験の成績ではコレステロール濃度と死亡率とは明らかに正の相関があるので、女性の場合でもコレステロールは低下すべきとの意見もあり、これまでは閉経後高脂血症の治療の是非について一致した見解がなかった。このため、昨年American Heart Association (AHA)で報告された信頼性の高い、前向きで無作為・二重盲検法で行われた大規模臨床試験の結果に期待された。

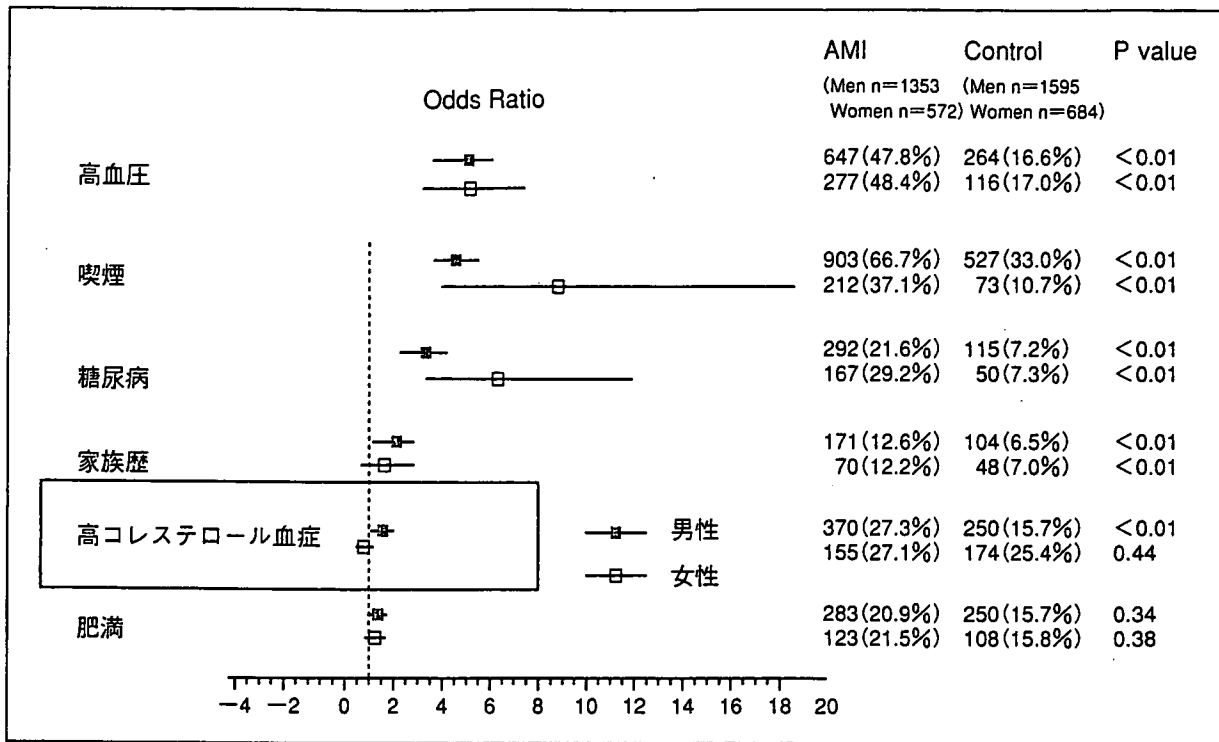


図4 心筋梗塞に対する動脈硬化危険因子のオッズ比 (Kawano H. et al. Circulation J, 2006)

### 1. Management of Elevated Cholesterol in the Primary Prevention Group of Adult Japanese Study (MEGA Study)

わが国の高脂血症患者に対して、スタチン(プラバスタチン)投与を行い、CVDの一次予防効果をみた試験である。対象には女性が68%と大半を占め、しかもTCが平均約240 mg/dlと軽度~中等度の高TC血症の患者が中心だったため、この試験により閉経後高脂血症の治療の是非が判明すると期待されていた。その結果が昨年報告され、プラバスタチンは有意に冠動脈疾患を33%および冠動脈疾患+脳梗塞の発症を30%抑制することが明らかになった。さらにサブ解析が最近報告され、プラバスタチンの効果には男女差がなく、さらに女性を年齢で細かく分類すると、冠動脈疾患、冠動脈疾患+脳梗塞、脳卒中におけるハザード比は加齢とともに低下し、60歳以上で最も低いことが明らかになった。したがって、MEGA Studyの結果より、女性の高コレステロール血症は軽度であっても治療するメリットがあり、特に比較的高齢

女性に対する積極的治療の必要性が証明された。

わが国では多くのスタチン製剤が存在するが、いずれも粥状硬化の基質ともいえる血中LDLを低下させることが主な作用である。しかし、それ以外にも抗炎症作用、抗酸化作用、血管内皮改善作用、抗凝固作用などのプレオトロピック効果がある。したがって、MEGA試験の結果はLDL低下のみならず、それ以外のプレオトロピック効果が作用した可能性もある。

### 2. The Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD) Trial<sup>11)</sup>

Ⅱ型糖尿病患者を対象としてフェノフィブラートを投与し、CVDリスクについて検討した試験である。FIELDはMEGAとは異なり、逆に男性が高率であることが特徴である。その結果、非致死性心筋梗塞と全心血管イベントは各々24%、11%低下することが示され、一次予防効果についてみれば、冠動脈イベントと全心血管イベントは各々25%、19%とさらなる低下が認められている。さらにサブ解析の結果、全心血管イベントのハザード比は男性では差がな



く、女性のみ有意な低下が報告されていることから、FIELD 試験の結果は、女性の高TG血症に対する積極的治療の必要性を示している。

一方、同じフェノフィブラートを用いた Diabetes Atherosclerosis Intervention Study (DAIS) 試験では、TGの低下とともにLDL粒子サイズの大型化が認められている。従って、FIELD 試験の結果はLDL粒子サイズへの好ましい効果を反映した可能性も十分考えられる<sup>12)</sup>。

### 閉経後高脂血症の管理方法

前述したごとく、女性の場合、閉経を迎えるとLDLやTGが上昇してくる。しかし、高脂血症の存在は自覚症状としては何ら認めないため、放置されることが多い。したがって、閉経前後になれば、必ず脂質スクリーニングを推奨すべきである。

MEGAやFIELD試験の結果より、脂質検査で高LDL血症と診断された場合にはスタチン製

剤を、高TG血症の場合にはフィブラート製剤を積極的に投与するべきと考えられる。実際の管理方法は動脈硬化学会のガイドラインにしたがい(表1)<sup>4)</sup>、冠危険因子のない場合、総コレステロールは240 mg/dl未満、LDLコレステロールは160 mg/dlであるが、冠危険因子の増加とともにより厳重な脂質管理が要求されている。閉経後女性の場合、高血圧や糖尿病の頻度が増加するので、脂質目標値に注意する必要がある。

### 高脂血症とホルモン補充療法(HRT)

HRTは脂質代謝改善作用をはじめ、多くの抗動脈硬化作用を有し、CVDリスクを低下することとの数多くの観察試験が報告されたため、閉経後高脂血症の第一選択薬とされてきた。しかし、1998年のHeart and estrogen/progestin Replacement Study (HERS)では虚血性心疾患

表1 患者カテゴリー別管理目標値

患者カテゴリー		脂質管理目標値 (mg/dl)				その他の危険因子の管理			
	冠動脈疾患*	他の主要冠危険因子**	TC	LDL-C	HDL-C	TG	高血圧	糖尿病	喫煙
A	なし	0	< 240	< 160	≥ 40	< 150	高血圧学会のガイドラインによる	糖尿病学会のガイドラインによる	禁煙
B1		1	< 220	< 140					
B2		2							
B3		3	< 200	< 120					
B4		4以上							
C	あり		< 180	< 100					

(動脈硬化学会, 2002)

- TC : 総コレステロール, LDL-C : LDLコレステロール, HDL-C : HDLコレステロール, TG : トリグリセリド
- \* 冠動脈疾患とは、確定診断された心筋梗塞、狭心症とする。
  - \*\* LDL-C以外の主要冠危険因子  
 加齢(男性≥45歳, 女性≥55歳), 高血圧, 糖尿病, 喫煙, 冠動脈疾患の家族歴, 低HDL-C血症 (< 40 mg/dl)
  - ・原則としてLDL-C値で評価し, TC値は参考値とする。
  - ・脂質管理は先ずライフスタイルの改善から始める。
  - ・脳梗塞, 閉塞性動脈硬化症の合併はB4扱いとする。
  - ・糖尿病があれば他に危険因子がなくともB3とする。
  - ・家族性高コレステロール血症は別に考慮する。

を有する女性へのHRTは冠動脈イベントを有意に増加させると報告され<sup>13)</sup>、2002年にはWomen's Health Initiative (WHI)<sup>11)</sup>により、健康女性に対するHRTが心筋梗塞や脳卒中のリスクを増加することが示された。したがって、現在ではHRTは高脂血症の適応から除外された。しかし、2004年に報告されたWHIではエストロゲン単独投与で冠動脈疾患リスクの増加はないが、脳卒中リスクは黄体ホルモン使用したHRT群と同様に上昇したと報告している<sup>14)</sup>。これらの結果は酢酸メドロキシプロゲステロン(MPA)が悪影響していると考えられるが、脳卒中はエストロゲン単独でも増加することからエストロゲン自身にも問題があると推測できる。その後しばらくHRTとCVDに関する報告がなかったが、今年になり、いくつかの論文が掲載されている。まずWHIサブ解析の結果によれば、エストロゲン単独群を年齢別に解析してみると、冠動脈疾患リスクのハザード比は50～59歳では0.63と低く、加齢とともにそのリスクが上昇することが示されている<sup>2)</sup>。さらに23の臨床試験を統計したメタアナライシスによれば、エストロゲン単独あるいはエストロゲン+プロゲステロンを使用した場合、冠動脈疾患リスクのオッズ比は60歳未満では0.68と低値であることが示されている。一方、60歳以上の平均は1.03であり、HRTの施行期間で分類すると、HRT開始後1年未満では1.47と上昇するが、それ以後は0.79と低下することが示されている<sup>15)</sup>。

以上の成績からHRTは閉経後早期の50歳代に開始すれば、CVDリスクの低下が期待できるが、HERSやWHIのように対象患者の年齢が60歳以上の場合、逆にエストロゲンの悪影響が好影響を相殺するためCVDリスクが上昇すると推測できる。

## おわりに

MEGAやFIELD試験により、閉経後高コレステロール血症や高TG血症の治療意義が証明された。したがって、閉経後高脂血症はCVDの重大なリスク因子と考え、スタチンやフィbrateによる積極的な治療が必要となる。

一方、HRTに関する最近の臨床試験によれば、比較的若年女性には動脈硬化に予防的であることが示されている。HRTがCVDリスクを増加した要因として、経口エストロゲン投与による血管炎症促進や血中TG上昇からsmall dense LDLの産生などが考えられる。これらの悪影響は年齢により異なる可能性が考えられるが、詳細な機序解明にはさらなる検討が必要である。いずれにしても現時点ではHRTはCVD予防や高脂血症の適応外である。しかし、近い将来、HRTの適応症例について再度見直される時期がくることを期待したい。

## 文献

- 1) Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators: Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. JAMA. 288: 321-333, 2002.
- 2) Hsia J, et al.: Conjugated equine estrogens and coronary heart disease: the Women's Health Initiative. Arch Intern Med 166: 759, 2006.
- 3) Iso H, et al.: Serum triglycerides and risk of coronary heart disease among Japanese men and women. Am J Epidemiol 153: 490-499, 2001.
- 4) 北徹他: 動脈硬化性疾患診療ガイドライン, 2002年版. 日本動脈硬化学会, p 9, 2002.
- 5) Ikenoue N, et al.: Small low-density lipoprotein particles in women with natural or surgically induced menopause. Obstet Gynecol. 93: 566-570,

- 1999.
- 6) Arca M, et al.: Hypercholesterolemia in postmenopausal women. Metabolic defects and response to low-dose lovastatin. JAMA 271:453-459, 1994.
  - 7) Nigon F, et al.: Discrete subspecies of human low density lipoproteins are heterogeneous in their interaction with the cellular LDL receptor. J Lipid Res 32:1741-1753, 1991.
  - 8) Tribble DL, et al.: Variations in oxidative susceptibility among six low density lipoprotein subfractions of differing density and particle size. Atherosclerosis 93:189-199, 1992.
  - 9) Wakatsuki A, et al.: Small low-density lipoprotein particles and endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women. Atherosclerosis. 177:329-336, 2004.
  - 10) Kawano H, et al.: Japanese Acute Coronary Syndrome Study (JACSS) Investigators. Sex differences of risk factors for acute myocardial infarction in Japanese patients. Circ J 70:513-517, 2006.
  - 11) Keech A, et al.: Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial. Lancet 366:1849-1861, 2005.
  - 12) Vakkilainen J, et al.: Relationships between low-density lipoprotein particle size, plasma lipoproteins, and progression of coronary artery disease: the Diabetes Atherosclerosis Intervention Study (DAIS). Circulation 107:1733-1737, 2003.
  - 13) Hulley S, et al.: Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. JAMA 280:605-613, 1998.
  - 14) Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators: Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy: the Women's Health Initiative randomized controlled trial. JAMA 291:1701-1712, 2004.
  - 15) Salpeter SR, et al.: Brief report: Coronary heart disease events associated with hormone therapy in younger and older women. A meta-analysis. J Gen Intern Med 21:363-366, 2006.

著者連絡先

(〒480-1195)  
愛知県愛知郡長久手町岩作雁又21  
愛知医科大学産婦人科  
若槻明彦



### HRTの適応と実際

従来、HRTは更年期障害のみならず、骨粗鬆症、高脂血症やアルツハイマー病予防目的でも積極的に使用されてきた。しかし、大規模臨床試験により、HRTの適応は更年期障害のみに制限され、しかも少量で短期間が推奨されている。一方、最近の臨床データではHRTに肯定的な意見もでており、HRTの適応疾患を定めるにはさらなる検討が必要である。エストロゲン投与の実際としては経口よりも経皮ルートが好ましいことがわかっている。その理由として、経皮投与の場合、経口のような中性脂肪の上昇からくるLDLの小粒子化や血管炎症促進作用、血栓形成傾向などの悪影響が少ないなどが報告されている。

(若槻明彦)

# ホルモン補充療法と心血管疾患

Hormone replacement therapy and cardiovascular disease



若槻明彦

Akihiko WAKATSUKI

愛知医科大学産婦人科

◎ホルモン補充療法(HRT)は心血管疾患(CVD)のリスクを低下すると考えられてきたが、大規模臨床試験で逆にリスクを増加することが報告され、HRTの適応が制限されるようになった。しかし、最近発表されたサブ解析でHRTは閉経早期であればCVDリスクを低下するが、高齢になれば逆にリスクを増加することが示された。HRTには、①酢酸メドロキシプロゲステロン(MPA)がHDLや血管内皮に抑制的に作用する、②経口エストロゲンによる中性脂肪(TG)増加がLDLを小粒子化する、③血管炎症に促進的に作用する、などの悪影響があることがわかっている。一方、経皮的エストロゲン投与や経口エストロゲンの減量、また天然型プロゲステロンの使用でこれらの悪影響を回避できることが示されている。したがって、HRTを施行する際には、エストロゲンの投与ルートや投与量、プロゲステロンの種類さらにはHRTの投与時期を考慮する必要がある。



Key word : エストロゲン，閉経後女性，心血管疾患

Framingham Study やわが国の疫学成績によれば、平均閉経年齢である50歳以後に心血管疾患(CVD)の発症率が上昇し、70歳以後で男性のリスクとほぼ同率になることが示されている<sup>1)</sup>。したがって、エストロゲン濃度の低下がCVD発症と密接に関連することが推測される。ホルモン補充療法(HRT)〔「サイドメモ」参照〕は、脂質代謝改善作用、抗酸化作用、血管拡張作用、エンドセリン1抑制作用、接着分子低下作用、降圧作用など多くの動脈硬化抑制作用を有し、CVDの発症や死亡率を減少するといわれてきた。しかし、2002年のWomen's Health Initiative(WHI)<sup>2)</sup>により、HRTはCVDリスクを逆に増加すると報告され、HRTの施行が制限されるようになった。しかし、わが国でHRTを受けていたほとんどの症例は更年期障害の治療目的で、閉経後女性のQOLに多大なる悪影響を及ぼしている。このように現在、HRTの実際について混乱した状態にある。WHIについては対象者年齢が高齢で、肥満、高血圧、喫煙者などのCVDの危険因子を有する患者が多数存在したなどの欠点が指摘されていた。実際に最近発表さ

れたWHIのサブ解析では、60歳未満でのHRTは冠動脈疾患リスクを減少するが、60歳以上では逆

サイド  
メモ

## ホルモン補充療法(HRT)とは

更年期周辺になると卵巣機能の衰えからエストロゲン濃度が低下し、ホットフラッシュや発汗などの症状が発症する。HRTは更年期障害にはきわめて効果的であることから、多くの患者に使用されるようになった。投与方法としては子宮摘出後の患者にはエストロゲン単独投与がよいが、子宮を有する女性の場合、エストロゲンを単独投与すると子宮内膜癌の発症が増加するために少量の黄体ホルモン併用の必要がある。一方、さまざまな研究によりエストロゲンには更年期障害の緩和以外にも骨量増加から骨折予防効果や動脈硬化抑制作用を有することが明らかにされ、とくに虚血性疾患の多い欧米ではその予防目的で30~40%の閉経後女性がHRTを使用するようになった。しかし、2002年の大規模臨床試験により、その効果が否定されたため現在までHRTの使用について躊躇する症例が多くなっている。

にリスクを増加することが示されている<sup>3)</sup>。

本稿では、HRTのCVDリスクに対する悪影響や今後の具体的なHRTの方法について概説する。

## HRTとCVDの歴史

### 1. Nurses Health Study<sup>4)</sup>

アメリカの看護師を対象に行ったアンケート調査であり、HRTによる冠動脈疾患と脳卒中の死亡に関する相対危険度はそれぞれ0.47と0.68と低値で、HRTが動脈硬化に抑制的に作用することが示されている。これらの結果をもとに、1992年にAmerican College of Physiciansは“すべての閉経後女性にHRTを考慮すべき”と勧告したため、アメリカでHRTが広く普及するようになり、わが国でもこのころからHRTについての理解が徐々に深まりはじめた。

### 2. Estrogen/Progestin Interventions Trial (PEPI)試験<sup>5)</sup>

HRTを施行する際、子宮を有する女性には子宮内膜癌の発症予防目的でプロゲスチン製剤を併用するが、PEPI試験はエストロゲンのみならずプロゲスチン製剤が脂質代謝などに与える影響を検討したものである。結合型エストロゲン(CEE)はLDLコレステロール(LDL-C)を低下し、HDLコレステロール(HDL-C)を増加するが、MPAはCEEのHDL-Cの増加作用を相殺する一方、天然型プロゲスチンには相殺作用がないことも示された。したがって、脂質代謝という観点からみて天然型プロゲスチンの使用が適切であると結論している。PEPI試験の結果からHRTは脂質代謝の改善作用を有し、CVDの発症予防に有効であろうと結論され、American Heart Association(AHA)は1995年に“すべての虚血性心疾患を有する閉経後女性にHRTを考慮すべき”とした。さらに、1997年には“虚血性心疾患の一次予防に関し、高LDL血症のような危険因子を多数有する閉経後女性にはHRTを考慮すべき”という内容の勧告を出したので、アメリカではHRTがさらに普及していった。

しかし、PEPI試験以外の大規模臨床試験の多くは観察試験によるもので、信頼性に関してはいまだ疑問点が残された。そこで、無作為化した前向

きの二重盲検試験での結果が必要とされ、このころすでに開始されていたWHIやHeart and Estrogen/Progestin Study(HERS)の結果に期待が寄せられた。

### 3. HERS<sup>6)</sup>

冠動脈疾患を有する女性を対象とし、CEE 0.625 mg+MPA 2.5 mgの連続投与がCVDのイベント発生にどのような影響を与えるかを前向きは無作為化・二重盲検法を用いて検討した試験である。その結果、PEPI試験の結果と同様に、HRT群はLDL-Cを低下し、HDL-Cを増加させることが示されたが、最初の数年間に限ってイベント発生の増加を認めた。HERSでは対象者の年齢が高齢であり、冠動脈疾患の程度が重度の患者が多かったことなど、試験デザインに欠点はあるものの、従来との報告とはまったく異なる成績であったため、AHAは2001年に“虚血性心疾患を有する閉経後女性に対しCVDの二次予防としての使用は推奨しない”と従来とはまったく逆の勧告を出した。

### 4. WHI(CEE+MPA投与群)<sup>2)</sup>

アメリカのNational Institute of Health(NIH)は更年期以後のアメリカ女性のQOLに関する疾患の研究を目的としてWHIを企画した。試験は健康女性を対象とし、前向きに、無作為・二重盲検法で行われた。HRT群はCEE 0.625 mg+MPA 2.5 mgの合剤を1錠/dayの連続投与で行った。その結果、HRT群において乳癌の発症が前もって設定してあった数値を超えたため、試験は2002年に急遽中止された。しかし、後述するCEE単独群では悪影響が認められず、試験を継続することとなった。HRT群における解析結果では全死亡率やすべての癌の発症はHRT群とプラセボ群間で差がなかったが、HRT群で全心臓疾患は22%増加し、骨折は24%低下した。さらに、この結果を詳細にみると、HRT群で心筋梗塞が29%、脳卒中が41%、肺塞栓症が113%、乳癌が26%増加する一方で、大腸癌は37%、大腿骨骨折は34%減少しているが(図1)、総合的にはHRTによるリスクがベネフィットを上まわると判定された。したがって、HRTのCVDに対する一次予防についても否定的な結果となり、AHAは“HRTはCVDの一次およ

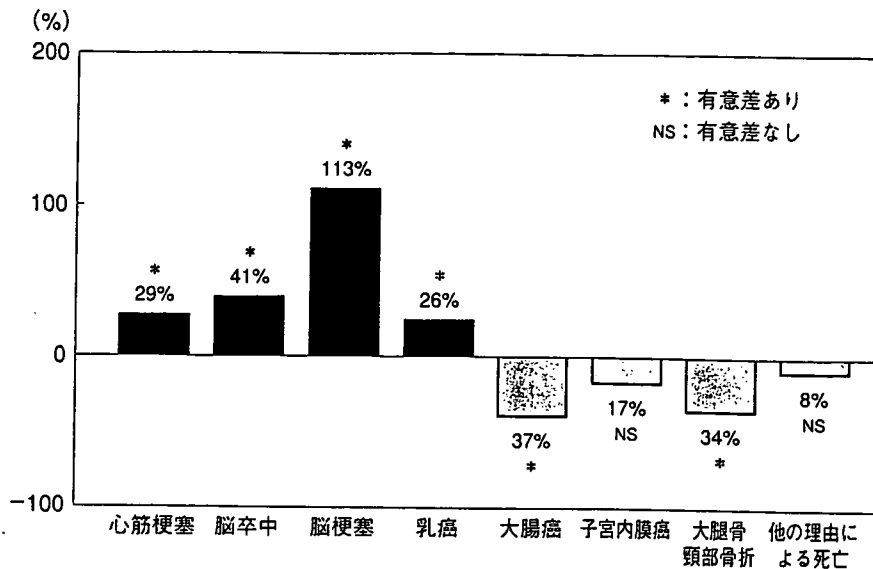


図 1 Women's Health Initiative (WHI) の試験解析結果

び二次予防の目的で施行すべきでない”と勧告するに至った。この WHI の成績はわが国ではマスメディアによりかなりの偏りをもって報道されたため、HRT 施行中の女性のみならず更年期医療に携わっている医療従事者にも強い衝撃が与えられ、HRT の適応症例がかなり制限されるようになった。

#### 5. WHI (CEE 単独投与群)<sup>7)</sup>

CEE 単独投与による結果が 2004 年に報告された。内容は CEE+MPA 群とは異なり、冠動脈疾患と乳癌のリスクは増加しないが、脳卒中は HRT 群と同様に増加することが示された。したがって、CVD リスクに MPA が悪影響を与えている可能性があるが、エストロゲン投与方法も悪影響していると考えられる。

#### 6. 最近報告された HRT と冠動脈疾患リスクに関する臨床試験

WHI のサブ解析によると、冠動脈疾患リスクのハザード比はエストロゲン投与年齢が 50~59 歳では 0.63 と低く、加齢とともにそのリスクは増加することが示されている<sup>3)</sup>(図 2)。さらに、23 の臨床試験を統計したメタアナリシスによれば、エストロゲン単独あるいはエストロゲン+プロゲステロンを使用した場合、冠動脈疾患リスクのオッズ比は 60 歳未満では 0.68 と低値であることが示されている。一方、60 歳以上の平均は 1.03 であり、HRT の施行期間で分類すると、HRT 開始後 1 年未満では 1.47 と上昇するが、それ以後は 0.79

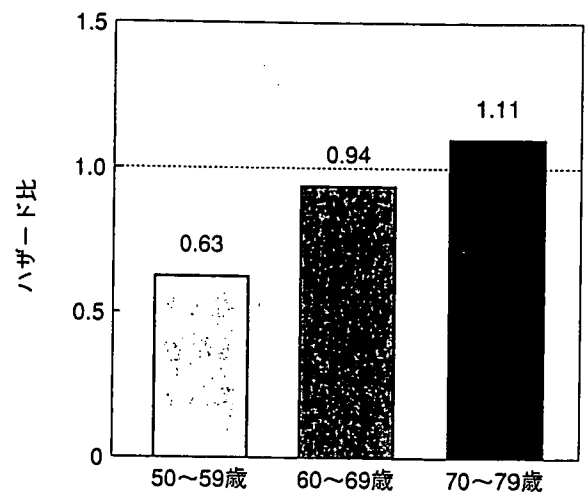


図 2 結合型エストロゲン投与による冠動脈疾患リスク (WHI サブ解析, 2006)

と低下することが示されている<sup>8)</sup>。

#### ● HRT が CVD リスクを増加した要因

##### 1. 経口エストロゲンによる中性脂肪 (TG) の増加が LDL を小粒子化する

経口エストロゲンは LDL-C を低下し、HDL-C を増加する脂質代謝改善作用を有するが、TG も増加させる。この TG 増加の臨床的意義は従来ないとされてきたが、著者らの検討により LDL を超悪玉の小型 LDL に変化させることを明らかにした<sup>9)</sup>。小型 LDL が超悪玉である理由としては、肝の LDL 受容体との親和性に乏しいため血中に LDL が停滞しやすく、血管壁内では容易に活性酸素に酸化変性され、マクロファージに取り込まれ、

粥状硬化に進展しやすいことがある。

## 2. 経口エストロゲンが血管炎症に促進的に作用する

動脈硬化の発症，進展には血管の炎症が密接に関与することが注目されている。急性冠症候群の発症機序としてはまず，血管プラーク内の炎症が活発になり，さらに蛋白分解酵素の matrix metalloproteinase (MMP) が活性化され，プラークの線維性被膜が脆弱化し，最終的に破綻する。破綻後は血管内に血栓が急速に充満するため，急性症状を呈するようになる。このように血管炎症は CVD のイベントを増加させる重大な危険因子である。著者らは経口エストロゲンの炎症マーカーに対する影響を検討し，高感度 CRP や血清アミロイド蛋白 A (SAA) や interleukin-6 (IL-6) などの急性炎症マーカーを上昇し，MMP-3 を上昇，MMP に抑制的に作用する tissue inhibitor of MMP (TIMP)-1 を低下させることを明らかにした<sup>10,11)</sup>。したがって，HERS における HRT の CVD イベントの増加は経口エストロゲンの血管炎症促進作用がプラークを不安定にさせた可能性が考えられる。

## 3. エストロゲンに併用する酢酸メドロキシプロゲステロン (MPA) がエストロゲンの抗動脈硬化作用に相殺する

経口の結合型エストロゲン (CEE) に併用する MPA の量を 0, 2.5, 5.0 mg の 3 群に分別して 3 カ月間連続投与すると，血管内皮機能と HDL-C は CEE 単独群で増加するが，MPA はその併用量と用量依存的にいずれも低下させることが示された<sup>12)</sup>。したがって，MPA は血管内皮と HDL-C に抑制的に作用することが明らかになった。

## 悪影響を回避した新しい HRT

### 1. 低用量の経口エストロゲンあるいは経皮的エストロゲン投与

これまで HRT のほとんどは経口投与であったが，この場合，初回の肝通過効果が悪影響していると考え，経口エストロゲン量を減量する，あるいは HRT の投与ルートを経口から経皮へ変更する方法を考案した。実際には従来の CEE 0.625 mg と 0.3125 mg の連日投与さらには経皮エストロゲン 0.72 mg の隔日投与を 3 カ月間行い，下記のパ

ラメータを比較検討した。

① 脂質および LDL 粒子サイズ……CEE 0.625 mg の場合，LDL-C は低下し，HDL-C は増加する。CEE 0.3125 mg の場合は HDL-C には変化がないが，LDL-C は同様に低下した。したがって，低用量にしてもエストロゲンの LDL-C の低下は温存されることが明らかになった。一方，経皮エストロゲンではいずれも変化なく，脂質に関しては経口のほうが有利と考えられる。しかし，CEE 0.625 mg では TG が増加し，LDL は酸化されやすい小型に変化し，エストロゲンの抗酸化作用に相殺的に作用する。CEE 0.3125 mg では TG の増加や LDL の小粒子化はなく<sup>13)</sup>，経皮エストロゲンでは逆に TG は低下し，LDL は大型化した<sup>14)</sup>。このため，エストロゲンの抗酸化作用が発揮でき，従来の経口エストロゲンの悪影響を回避できることが示された。

② 血管炎症……CEE 0.625 mg では血管炎症マーカーである CRP や SAA，さらには IL-6 などを上昇させ，MMP-3 も増加し，TIMP-1 は低下する。したがって，血管炎症に促進的に作用し，プラークの破綻に促進的に作用する可能性が示唆された。CEE 0.3125 mg では血管炎症マーカーや MMP，TIMP に影響せず<sup>15)</sup>，経皮エストロゲンでは CRP を低下させ，TIMP-1 上昇させることが示された<sup>11)</sup>。したがって，低用量の経口エストロゲンでは従来の経口のような血管炎症促進作用はなく，経皮では逆に炎症に抑制的に作用し，プラークを安定化させる可能性が考えられた。

③ 血管内皮機能……3 群について血管内皮機能と平滑筋機能の指標である FMD と NID を測定してみると，NID はいずれの群も変化ないが，FMD は 3 群ともに上昇することが示された。したがって，いずれも血管平滑筋機能には影響しないが，エストロゲンの内皮機能改善作用は低用量投与や経皮投与でも温存されることが明らかになった。

### 2. 併用するプロゲステン製剤の選択

MPA のような合成型プロゲステン製剤はアンドロゲン作用を有するため，HDL-C や血管内皮機能に抑制的に作用するが，天然型プロゲステン製剤にはアンドロゲン作用がないため，これらの悪影響は認めないと考えられる<sup>16)</sup>。したがって，

エストロゲンに併用するプロゲスチン製剤としては合成型プロゲスチン製剤に代わり天然型プロゲスチンが考慮されるべきである。

### 3. 閉経後早期でのHRT開始

WHIのサブ解析やメタアナリシスの成績から、HRTは50歳代に開始すれば冠動脈疾患リスクの低下が期待できるが、WHIのように対象患者の年齢が60歳以上の場合、逆にリスクが上昇すると推測できる。したがって、HRTの開始時期は閉経後早期が望ましいと考えられる。

### おわりに

2002年のWHIの報告以来、現在HRTを受けている女性のみならず医療従事者までがHRTの開始、継続に不安をもっており、HRTを断念した症例も少なくない。しかし、最近の研究によりHRTのCVDに対する短所が明確になり、従来行ってきたHRTの改善策もかなり具体化してきた。また、WHIサブ解析などからHRT開始時期を考慮すればCVDリスクを低下できることもわかってきた。しかし、現段階ではHRTはCVDリスク低下目的での適応とはならない。今後は日本人を対象としたさらなる臨床的検討を加え、CVDリスクの低下が可能なHRTの確立が望まれる。

### 文献

- 1) Kannel, W. B. et al. : *Ann. Intern. Med.*, **85** : 447-452, 1976.
- 2) Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators : *JAMA*, **288** : 321-333, 2002.
- 3) Hsia, J. et al. : *Arch. Intern. Med.*, **166** : 357-365, 2006.
- 4) Stampfer, M. J. et al. : *N. Engl. J. Med.*, **325** : 756-762, 1991.
- 5) The Writing Group for the PEPI Trial : *JAMA*, **273** : 199-208, 1995.
- 6) Hulley, S. et al. : *JAMA*, **280** : 605-613, 1998.
- 7) Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators : *JAMA*, **291** : 1701-1712, 2004.
- 8) Salpeter, S. R. et al. : *J. Gen. Intern. Med.*, **21** : 363-366, 2006.
- 9) Wakatsuki, A. et al. : *Obstet. Gynecol.*, **90** : 22-25, 1997.
- 10) Wakatsuki, A. et al. : *Circulation*, **105** : 1436-1439, 2002.
- 11) Wakatsuki, A. et al. : *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **23** : 1948-1949, 2003.
- 12) Wakatsuki, A. et al. : *Circulation*, **104** : 1773-1778, 2001.
- 13) Wakatsuki, A. et al. : *Circulation*, **108** : 808-813, 2003.
- 14) Wakatsuki, A. et al. : *Circulation*, **106** : 1771-1776, 2002.
- 15) Wakatsuki, A. et al. : *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **24** : 571-576, 2004.
- 16) Gerhard. M. et al. : *Circulation*, **98** : 1158-1163, 1998.

\* \* \*



## IV. 脂質代謝異常の臨床 高脂血症

### 高脂血症の管理と治療 特殊療法

### ホルモン補充療法

Hyperlipidemia and hormone replacement therapy

若槻明彦

**Key words** : 閉経後女性, エストロゲン, ホルモン補充療法, 高脂血症

#### はじめに

閉経後のホルモン補充療法(HRT)は、ほてりや発汗などに代表される更年期障害の治療を中心に施行されていたが、脂質代謝改善作用をはじめとする多くの抗動脈硬化作用を有することから、心血管疾患(CVD)の死亡率が高い欧米では30-40%の閉経後女性がCVD発症予防の目的でHRTを使用してきた。しかし、2002年に発表されたWomen's Health Initiative(WHI)により<sup>1)</sup>、HRTは心筋梗塞や脳卒中などのCVDリスクを増加するといったこれまでとは全く逆の報告がなされ(図1)、HRTの適応疾患が制限されるようになった。実際に著者らは、HRTは脂質代謝に好ましい効果を有するが、経口エストロゲンがトリグリセリド(TG)を上昇させたり<sup>2)</sup>、エストロゲンに併用する酢酸メドロキシプロゲステロン(MPA)がHDLコレステロールを低下させたりする悪影響も有することも明らかにしている<sup>3)</sup>。一方、2006年のWHIサブ解析によれば、HRTの開始年齢を考慮すれば冠動脈疾患リスクを低下できるという内容であり<sup>4)</sup>、現時点でHRTがCVDリスクにどのような影響を与えるかについての明確な結論はない。

本稿ではHRTが脂質代謝に与える影響と高脂血症に対する今後のHRTのあり方について

概説する。

#### 1. HRTが脂質代謝に与える好影響

##### a. エストロゲンの脂質代謝改善作用

経口エストロゲンは閉経後に減少した肝のLDL受容体を再度増加させ<sup>5)</sup>、中間比重リポ蛋白(IDL)からLDLへの変換をつかさどる肝性リパーゼ(H-TGL)活性を抑制することから<sup>6)</sup>、血中LDL濃度を低下させると考えられる。一方、H-TGLはHDLを肝に運搬する作用も有するので、H-TGL活性の抑制は血中HDLの増加にもつながる<sup>7)</sup>。

Lp(a)は高分子糖蛋白であるApo(a)とLDL様粒子との複合体であり<sup>8)</sup>、その濃度は90%が遺伝子によって規定されている。Lp(a)は単独の動脈硬化促進因子として注目されており、25-30mg/dlになるとCVDのリスクが約3倍高率になることが知られている。Lp(a)を低下させる薬剤は極めて少ないが、なかでもエストロゲンはLp(a)を著明に低下することが知られている<sup>9)</sup>。

##### b. エストロゲンの抗酸化作用

血中LDLは血管内皮下に侵入し、活性酸素に酸化変性される。マクロファージは酸化されたLDLのみを認識して一方的に取り込み、粥状硬化へと進展する。一方、HDLも同様に酸化

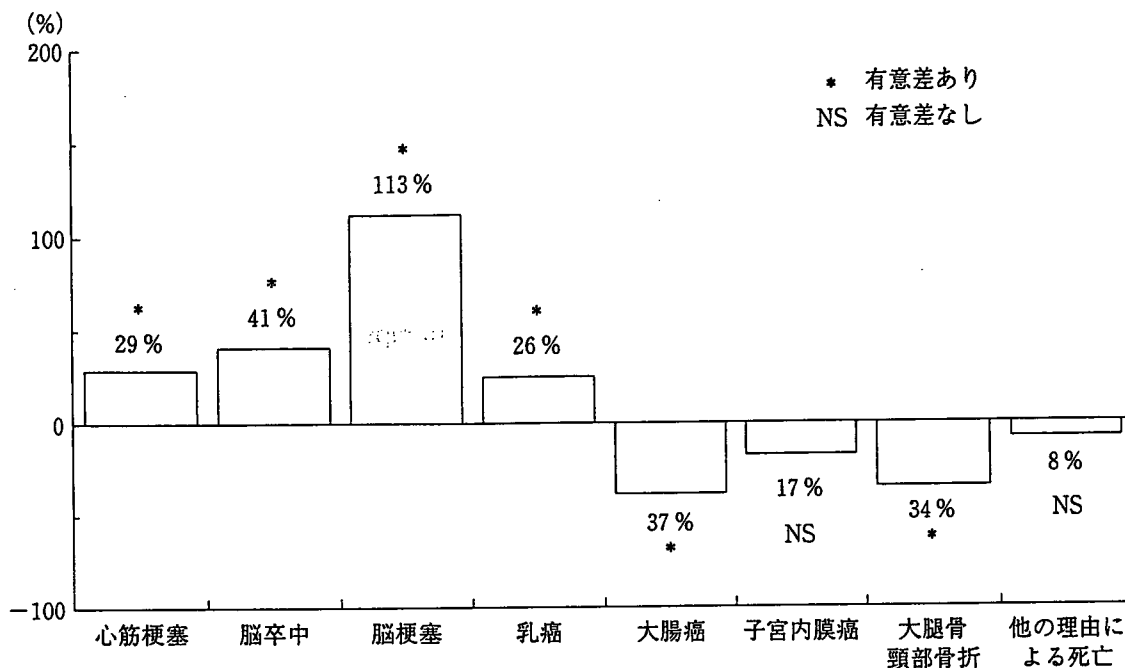


図1 Women's Health Initiative の試験解析結果

されることが知られている。しかし、HDLはLDLの場合とは異なり、マクロファージに取り込まれて泡沫化することはないが、酸化されることによりHDLの脱泡沫化作用が障害されると報告されている<sup>10)</sup>。したがって、LDLのみならずHDLの酸化過程も粥状硬化の進展には重要である。

エストロゲンは構造上A環がベンゼン環であり、OH基を有するため抗酸化作用を有する。著者らはエストロゲン補充がLDLやHDLの被酸化性を抑制することを証明している<sup>11)</sup>。

## 2. HRTが脂質代謝に与える悪影響

### a. エストロゲンによるTG増加とLDL小粒子化

経口エストロゲンはLDLを減少し、HDLを増加させる一方、TGを増加させる。以前はHRTによるTG増加の臨床的意義はないとされてきたが、最近の著者らの検討により、エストロゲンにより増加したTGがLDLを小粒子化することがわかっている<sup>2)</sup>。更にエストロゲンによるTG増加が実際にatherogenicかどうかを検討し、TG増加の少ない症例ではエストロゲンの抗酸化作用が期待できるが、TGが増加する

症例ではLDLが小粒子化されるため、エストロゲンの抗酸化作用が相殺され、逆に酸化されやすい小型LDLになることが明らかにされている<sup>12)</sup>。

### b. 酢酸メドロキシプロゲステロン(MPA)と脂質代謝

子宮を有する女性には子宮内膜癌の予防目的で、エストロゲンにプロゲステン製剤の併用が必要である。MPAが脂質代謝に与える影響を検討した成績によると、エストロゲンで低下したLDLコレステロールは、MPAを併用しても同様の低下を認めることから、MPAのLDLコレステロール濃度への影響は否定的と考えられる。一方、HDLコレステロールはLDLコレステロールの場合とは異なり、エストロゲン投与で上昇するが、MPAの併用量と用量依存的に減少することが明らかにされている<sup>3)</sup>。すなわちMPAはエストロゲンのHDLコレステロール増加作用に相殺的に作用すると考えられる。

## 3. これからのHRTのあり方

### a. 経皮的エストロゲン補充療法

経口エストロゲンでは血中TGが増加するが、経皮エストロゲンでは、変化ない～減少すると

報告されている。したがって、経皮エストロゲンではLDLの小粒子化が回避できる可能性が示唆される。著者らの行った経口と経皮のエストロゲン補充の比較試験によれば、経皮の場合にはTGは減少することから、LDLは経口の場合とは反対に大型化し、LDLの被酸化性は抑制され、エストロゲンの抗酸化作用が発揮できることが示されている<sup>13)</sup>。したがって、経皮にすることにより、LDLの小粒子化という経口投与の悪影響を回避できることが示された。

#### b. 低用量の経口エストロゲン補充療法

現在、経口エストロゲンのほとんどは結合型エストロゲン(CEE)0.625 mgが用いられている。しかし、最近の報告によれば、脳卒中の相対危険率はCEEの量と用量依存的に増加するが、0.3 mgの低用量で逆に低下することが示されている。更に糖尿病患者における心筋梗塞の相対危険率も同様にCEEの量と用量依存的に増加することがわかっている。したがって、経口エストロゲン量を減量することで、エストロゲンの悪影響を回避できる可能性がある。著者らの行ったCEE 0.625 mgと0.3125 mgの比較試験によれば、CEE 0.3125 mgの場合、TG濃度やLDL粒子サイズは変化せず、LDLの被酸化性が抑制されることから、低用量にするとLDLの小粒子化がなく、エストロゲンの抗酸化作用が発揮できると考えられる<sup>14)</sup>。

このように元来、高TG血症を有する症例やCEE 0.625 mg/日でTGが増加する症例には、経皮HRTや低用量HRTが適応になる可能性がある。

#### c. 併用するプロゲスチン製剤

MPAのような合成型プロゲスチン製剤はアンドロゲン作用を有するために、HDLコレステロールを低下させる。一方、micronized progesteroneのような天然型プロゲスチン製剤はアンドロゲン作用がないため、これらの悪影響は認めない<sup>15)</sup>。したがって、エストロゲンに併用するプロゲスチン製剤としては合成型に代わり、天然型プロゲスチンが考慮されるべきであるが、残念ながら日本では使用されておらず、MPAに頼らざるを得ないが、合成型プロゲス

チン製剤のなかでもアンドロゲン作用の少ないプロゲスチン製剤を選択すべきと考えられる。

### 4. 最近発表されたエストロゲンとCVDに関する報告

WHIのサブ解析によると、冠動脈疾患リスクのハザード比はエストロゲン投与年齢が50-59歳では0.63と低く、加齢とともにその比は上昇することが示されている<sup>16)</sup>(図2)。更に23の臨床試験を統計したメタアナリシスによれば、エストロゲン単独あるいはエストロゲン+プロゲスチンを使用した場合、冠動脈疾患リスクのオッズ比は60歳未満では0.68と低値であることが示されている。一方、60歳以上の平均は1.03であり、HRTの施行期間で分類すると、HRT開始後1年未満では1.47と上昇するが、それ以後は0.79と低下することが示されている<sup>16)</sup>(図3)。

以上の成績からHRTは閉経後早期の50歳代に開始すれば、CVDリスクの低下が期待できるが、WHIのように対象患者の年齢が60歳以上の場合、逆にエストロゲンの悪影響が好影響を相殺するためCVDリスクが上昇すると推測できる。

#### おわりに

2005年に報告されたManagement of Elevated Cholesterol in the Primary Prevention Group of Adult Japanese Study(MEGA) StudyやThe Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes(FIELD)試験により、閉経後高コレステロール血症や高TG血症の治療効果が証明され、スタチンやフィブラートによる積極的な治療の重要性が確認された。一方、HRTに関しては、2002年のWHI報道以来、CVDの適応からははずれている。しかし、今年のWHIサブ解析によれば、高齢ではエストロゲンの悪影響が出るが、閉経後早期であれば、むしろ好影響が期待できるとの結果であった。事実WHIの平均年齢は67歳と比較的高齢である一方、我が国でのHRT施行年齢はほとんどが50歳代とほぼ至適年齢である。しかし、現時点で

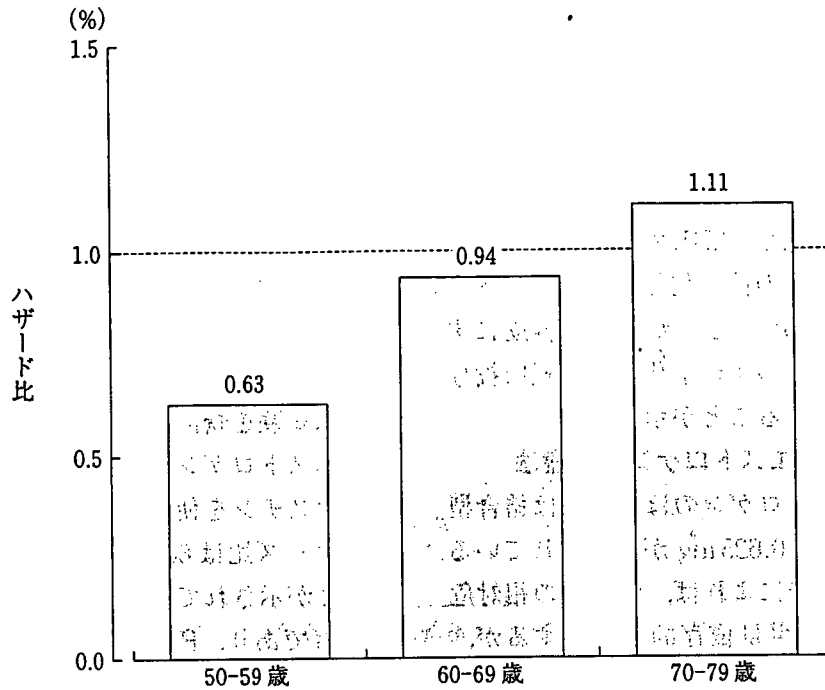


図 2 結合型エストロゲン投与による冠動脈疾患リスク (WHI サブ解析, 2006)

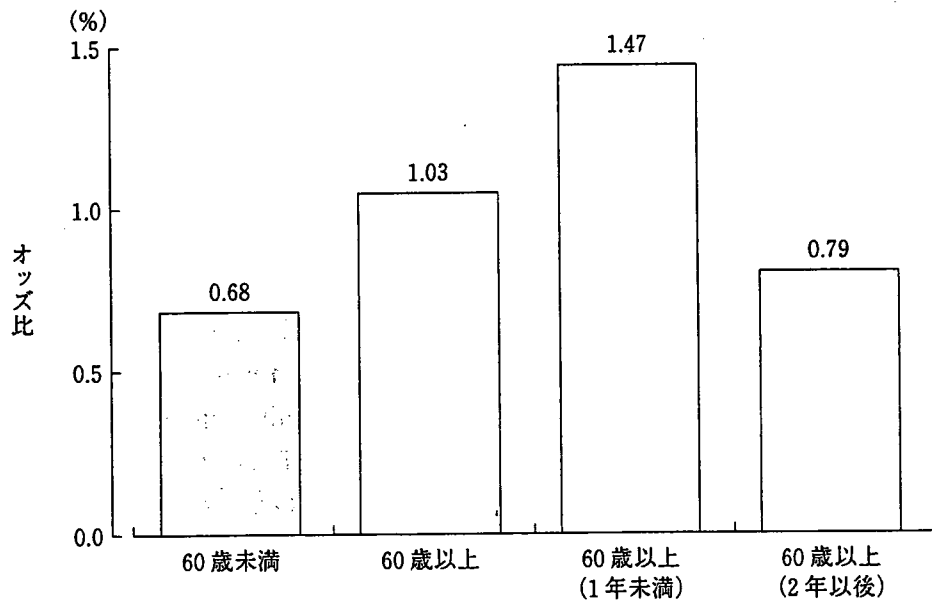


図 3 エストロゲン単独あるいはエストロゲン+プロゲステロンによる冠動脈疾患リスク

はまだ HRT は高脂血症の積極的適応とはならない。今後、HRT の投与ルートや投与量更には投与年齢を考慮すれば、CVD リスクを低下で

きる HRT が確立できる可能性があり、更なる研究が必要である。