

更年期女性における高脂血症・骨粗鬆症対策に関する検討

帝京大学医学部内科 教授 寺本 民生

研究目的

従来、女性は男性に比較すると高脂血症頻度も低く、動脈硬化性疾患の頻度も極めて低いため女性であること自体が動脈硬化発症の上で負の危険因子と考えられていた。しかしながらFramingham heart studyでも更年期以降の女性では高脂血症の頻度とともに動脈硬化発症率の上昇が観察される¹⁾として報告されている²⁾。我が国の最近のDataでも50歳以降の女性では血清コレステロール220mg/dl以上の高コレステロール血症が50%以上に達することが厚生省の調査で明らかにされており³⁾高齢化社会を迎える現状ではその対策が重要である。

一方、更年期女性におけるもう一点重要なことは、骨粗鬆症の発症であり、その予防も重要な社会問題である。この様な観点から、最近ではホルモン補充療法 (HRT) が注目されている。米国では約30%の更年期女性がHRTを受けているがわが国では10%に満たない。その理由として子宮癌、乳癌誘発などの副作用の問題とともにHRTによる抗動脈硬化作用のメカニズムが明らかにされていないことがあげられる。動脈硬化に対してLDLが促進的にHDLが抑制的に作用することはよく知られている。

LDLに関しては更年期に達した高脂血症女性の検討からLDLのFractional catabolic rateの低下により高脂血症になることが知られている⁴⁾が、HDLの上昇機構については十分な検討がなされているとはいえない。

また、近年動脈硬化発症機構に血管内皮細胞の障害が注目されている⁵⁾。とくに内皮細胞における接着分子発現を酸化LDLのリゾフォスファチジルコリン (LPC) が促進することが報告されている⁶⁾。

そこで、更年期女性における高脂血症に対してホルモン補充療法の血清脂質に及ぼす影響について脂質、リポ蛋白、コレステロールエステル転送蛋白 (CETP) 並びに骨代謝に焦点をあてて検討したので報告する。

研究方法

1) 試験対象

閉経後女性29名を対象に、11名にプレマリン (0.625mg) を (E群)、18名にプレマリン(0.625mg) とヒスロン (2.5mgもしくは5mg) を (EP群) 連日投与した。HRT前、後1、2、3カ月の血清を採取した。さらに継続できた症例については12カ月後の血清も採取した。

2) 測定項目

血清脂質 (コレステロール、トリグリセリド、HDL-コレステロール、磷脂質)、リポ蛋白、アポ蛋白 (A-1、B、E)、Lp (a)、レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ (LCAT) などは空腹時血清を用いて、帝京大学病院中央検査室にて測定した。CETPはSatoらの方法で測定した⁶⁾。

肝性リパーゼ (HTGL)、リポ蛋白リパーゼ (LPL) 活性は空腹時に体重 1 kgあたり10単位となるようにヘパリンを静脈注射し、10分後に採血した血清を用いて、その活性を測定した。

また、LDLの酸化に際して形成されるリゾフォスファチジルコリン (LPC) の形成に関わるPAF-Acetyl Hydrolase (PAF-AH) 活性については血清を-20度Cに保存して一括して測定した⁷⁾。

一方、骨代謝については骨由来A1-P、酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ、インタクトオステオカルシン、PTHインタクト、カルシトニン、1,25 (OH)₂D₃、尿ではピリジノリン、デオキシピリジノリン、ヒドロキシプロリンなどの骨形成、吸収マーカーについて検討した。また、一部の症例については骨塩量についても検討した。

研究結果

エントリーした患者は各群39名であったが、脂質関連酵素までペアで測定できた患者は表1に示すようにE群11名、EP群18名のみであり、この29名についての解析を報告する。各群において閉経年数、BMIについては全く差は認められなかった。

表1 HRT対象患者背景

	対象	年齢 (歳)	閉経 (歳)	卵摘手術 (人)	閉経後年数 (年)	身長 (cm)	体重 (kg)	BMI (kg/m ²)	
E 単独	mean	11	49.5	45.8	6	3.7	153.5	52.3	22.3
	±SD		5.3	3.6		4.4	5.2	6.9	3.7
EP併用	Mean	18	53.4	49.2	5	4.2	152.7	53.1	22.6
	±SD		6.2	3.0		4.9	6.4	9.6	3.0
両群	Mean	29	51.9	47.9	11	4.0	153.0	52.8	22.5
	±SD		6.2	3.6		4.7	6.0	8.7	3.3

1) 脂質関連パラメーター

表2には各脂質関連パラメーターについてE群の結果をまとめた。従来の報告どおり、コレステロールの若干の低下、トリグリセリドの若干の上昇を認めるが、有意差は認められなかった。一方、リン脂質とHDL-Cは明らかに上昇し、アポ蛋白A-Iもp=0.06と有意ではないが上昇する傾向をみせた。表3にはEP群の脂質パラメーターを示した。コレステロールの若干の低下は同様であるが、トリグリセリドには全く差が認められなかった。リン脂質、HDL-C、アポ蛋白A-Iにも差が認められなかった。プロゲステロンの併用はエストロジェンの脂質改善効果を打ち消す作用がある可能性が考えられた。しかし、傾向については存在するので、対象数を増やすと必ずしもエストロジェン

効果を完全に打ち消すものではない可能性がある。また、投与期間の問題も可能性として考えられたので48週後に治療が継続できていた症例について検討を加えた。表2、3に示したようにすべての傾向は保たれており、より顕著になり、併用群ではアポ蛋白Eの有意な低下が観察された。次に脂質関連酵素をみると、LPL、CETP活性は上昇する傾向にあるがHTGL活性は低下傾向が認められる。E群、EP群あわせると図1に示したようにHTGL活性が有意に低下し、CETP活性が有意に上昇

表2 CE単独投与による脂質代謝系の変動 (E群)

	投与開始前	12週経過後	48 週経過後	p-値 ⁴⁾	p-値 ⁵⁾
TC	203.5 ±25.2	198.8 ±30.0	200.5 ±28.0	0.6523	0.7755
HDL-C	60.7 ±14.7	71.6 ±11.6	72.7 ±15.0	0.0122	0.0013
non HDL-C ¹⁾	142.7 ±34.1	127.7 ±33.4	127.7 ±29.7	0.1650	0.1769
LDL-C ²⁾	123.2 ±32.2	103.1 ±28.7	108.0 ±30.4	0.0887	0.1987
TG	97.4 ±41.6	120.3 ±49.0	98.4 ±36.7	0.0098	0.9231
Atherogenic Index ³⁾	3.54 ±1.02	2.84 ±0.68	2.86 ±0.75	0.0170	0.0115
TPL	222.0 ±16.3	256.3 ±23.5	245.5 ±20.0	0.0018	0.0009
APO-AI	141.3 ±21.1	168.2 ±11.1	153.6 ±29.2	0.0183	0.4302
APO-B	99.7 ±24.4	101.8 ±21.4	96.4 ±19.5	0.7126	0.5966
APO-E	6.06 ±1.49	4.94 ±1.25	4.88 ±2.07	0.0278	0.1438
Lp(a)	31.4 ±46.3	29.5 ±39.7	25.5 ±34.4	0.6493	0.2257
LPL	10.0 ±5.07	10.0 ±3.29		0.9989	
HTGL	19.5 ±8.49	20.8 ±9.26		0.4479	
CETP	15.2 ±3.20	16.4 ±4.15		0.1436	

1) (TC)-(HDL-C), 2) (TC)-(HDL-C)-(TG)/5, 3) (TC)/(HDL-C), 4) (0w vs 12w), 5) (0w vs 48w)

表3 CE+MPA併用投与による脂質代謝系の変動 (EP群)

	投与開始前	12週経過後	48 週経過後	p-値 ⁴⁾	p-値 ⁵⁾
TC	201.2 ±22.8	186.9 ±13.9	187.6 ±20.5	0.0554	0.1072
HDL-C	56.7 ±14.0	61.9 ±17.2	61.9 ±15.1	0.2220	0.0894
non HDL-C ¹⁾	144.5 ±20.9	125.0 ±19.8	125.7 ±21.1	0.0299	0.0397
LDL-C ²⁾	122.6 ±22.7	98.1 ±24.4	103.3 ±21.6	0.0054	0.0225
TG	109.3 ±65.5	134.1 ±110.0	111.8 ±70.8	0.1797	0.8641
Atherogenic Index ³⁾	3.75 ±0.96	3.26 ±1.03	3.18 ±0.77	0.0607	0.0064
TPL	238.6 ±71.0	232.7 ±20.7	229.1 ±26.2	0.7755	0.6593
APO-AI	140.8 ±16.5	160.9 ±17.5	151.1 ±20.9	0.0047	0.1280
APO-B	93.3 ±12.8	92.4 ±17.5	93.2 ±12.6	0.8744	0.9825
APO-E	6.36 ±1.45	5.33 ±1.88	4.94 ±14.9	0.3228	0.0001
Lp(a)	20.6 ±30.4	14.0 ±20.0	15.9 ±20.9	0.0857	0.1636
LPL	7.43 ±3.35	10.0 ±3.04		0.5483	
HTGL	19.2 ±5.09	15.9 ±7.58		0.4110	
CETP	19.7 ±4.74	21.6 ±5.04		0.2885	

1) (TC)-(HDL-C), 2) (TC)-(HDL-C)-(TG)/5, 3) (TC)/(HDL-C), 4) (0w vs 12w), 5) (0w vs 48w)

表4 HRT12周後における脂質代謝系の変化率(%)の比較

	CE単独 (E群)	CE+MPA併用 (EP群)	群間比較 ⁴⁾
TC	- 2.5	- 2.3	0.6913
HDL-C	+ 22.5*	+ 7.9	0.0763
non HDL-C ¹⁾	- 11.2	- 8.0	0.8738
LDL-C ²⁾	- 15.4	- 14.6*	0.8929
TG	+ 14.6	+ 8.2	0.7917
Atherogenic Index ³⁾	- 20.6*	- 10.1	0.3211
TPL	+ 15.3**	+ 4.6	0.0150
APO-AI	+ 12.8	+ 7.0	0.5203
APO-B	+ 6.8	- 1.4	0.0415
APO-E	- 8.5	- 13.5*	0.5621
Lp(a)	- 1.6	- 24.8	0.1592
LPL	+ 13.5	+ 32.2	0.4470
HTGL	- 6.9	- 10.8	0.7369
CETP	+ 5.6	+ 8.4	0.6656

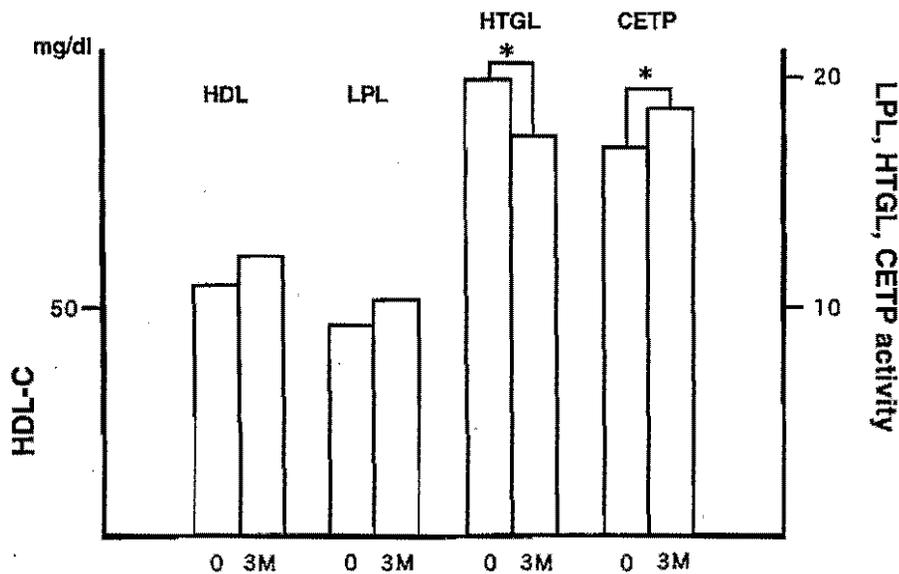
1) (TC)-(HDL-C), 2) (TC)-(HDL-C)-(TG)/5, 3) (TC)/(HDL-C), 4) non-paired t-test

* : p < 0.05, ** : p < 0.01

することが判明した。HRTにおけるHDL-Cの上昇にはCETP活性の低下という機序は考えられず、むしろHTGL活性の低下に起因するところが大きいように思われる。なお、表4にE群とEP群の比較を行った。興味深いことにリン脂質、アポ蛋白Bのみに有意な差を認めた。リン脂質についてはリポ蛋白組成に差がある可能性がある。アポ蛋白Bについては、LDL量を反映している可能性がある。そこでリン脂質が主として含まれているHDL分画について検討を加えた。HDL分画はベックマ

Fig. 1 Effect of HRT on HDL and the related enzymes

* : P < 0.05



ンの卓上超遠心機を用いて $d=1.063-1.21\text{ g/ml}$ を回収し、その脂質、蛋白の定量を行った。結果は表5に示すようにP/PL比は有意差はないもののE群、EP群ともに低下傾向を示した。すなわち、リン脂質に富むHDLが形成されていると考えられた。これに対し、TC/PL

比を見ると両群においてほとんど変化が認められなかった。すなわち、HRTによりリン脂質、コレステロールに富むHDLの形成が観察されることが示唆された。

また、図2に示したようにLDLに結合しLDL上でLPCの形成にかかわるPAF-AH活性がHRTで両群とも有意にかつ安定して低下していることが判明した。酸化LDLのLPCは血管内皮に作用して炎症性接着分子であるVCAM-1を発現させたり、一酸化窒素の産生を抑制したり、抗血栓作用を有するトロンボモジュリンの発現を抑制するなどを介して、動脈硬化を惹起するのに重要な役割を演じていることが知られている。その意味ではHRTによりPAF-AH活性が低下したということはLPCの産生を抑制することとなり、動脈硬化に対して予防的に作用する可能性が考えられる。

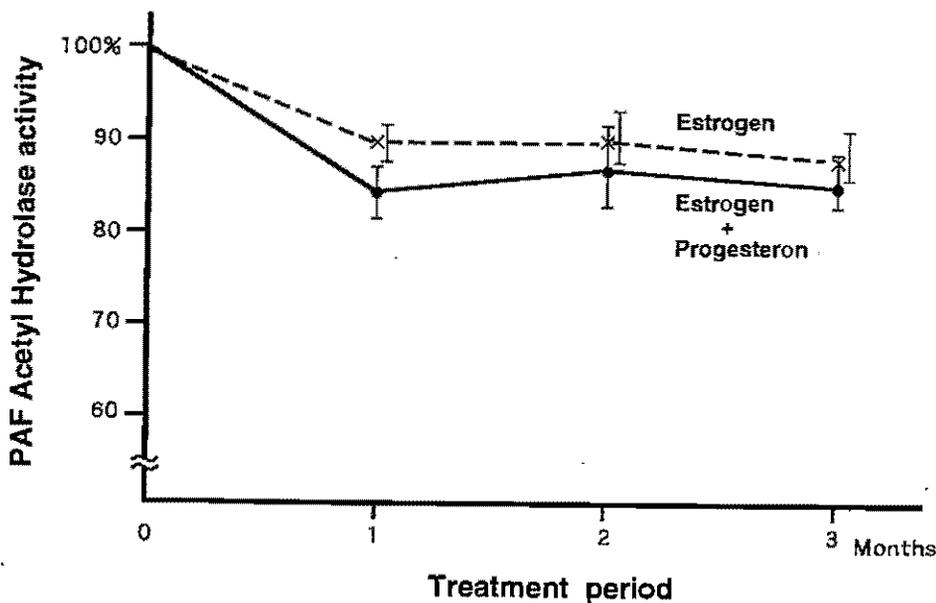
表5 HDLにおける蛋白、脂質構成比の変化

	CE単独投与		CE+MPA併用投与	
	投与開始前	8週投与後	投与開始前	8週投与後
P/PL	1.90±0.91	1.66±0.64	2.34±1.50	2.18±1.86
TC/PL	0.84±0.25	0.83±0.23	0.74±0.31	1.17±0.32

Mean ± S D

P : Protein
 P L : Phospholipids
 T C : Cholesterol

Fig. 2 Effect of HRT on plasma PAF-AH activity



2) 骨粗鬆症関連マーカー

表6には骨形成マーカー、骨吸収マーカーについてまとめた。E群では骨形成マーカーには変動が認められないが、骨吸収マーカーについてはすべて有意に抑制していた。一方、EP群では単独群に認められていた骨吸収マーカーの変動も打ち消されていた。両群間での差がないか検討したのが表7である。群間比較では有意差はないもののあきらかにE群の骨吸収マーカーに対する効果をプロジェステロンの併用が打ち消しているものと考えられた。

表6 HRT12周後における骨代謝系の変動

		HRT 開始前	12週経過後	p-value ³⁾
骨形成 マーカー E群 ¹⁾	骨Alp	57.11 ± 27.3	50.55 ± 23.6	0.3394
	OC	8.67 ± 3.32	7.34 ± 2.64	0.1683
骨吸収 マーカー	尿Pyr/Cr比	35.10 ± 17.1	27.50 ± 8.44	0.0414
	尿D-Pyr/Cr比	7.00 ± 3.46	5.11 ± 1.53	0.0285
	尿Hpr/Cr比	20.28 ± 7.75	13.86 ± 3.50	0.0275
骨塩量		1.009 ± 0.13	0.980 ± 0.14	0.1851
骨形成 マーカー EP群 ²⁾	骨Alp	59.05 ± 19.6	55.16 ± 15.1	0.8546
	OC	8.70 ± 3.94	6.52 ± 2.26	0.1044
骨吸収 マーカー	尿Pyr/Cr比	31.07 ± 10.9	25.42 ± 7.00	0.1047
	尿D-Pyr/Cr比	4.85 ± 1.87	4.21 ± 1.76	0.4020
	尿Hpr/Cr比	17.12 ± 5.44	12.71 ± 3.50	0.0773
骨塩量		1.003 ± 0.13	1.006 ± 0.12	0.4284

1) CE単独投与、2) CE+MPA併用投与、3) paired t-test

表7 HRT12周後における骨代謝系の変化率(%)の比較

		CE単独 (E群)	CE+MPA併用 (EP群)	群間比較 ¹⁾
骨形成 マーカー	骨Alp	- 11.1	+ 0.4	0.3336
	OC	- 12.8	- 16.5	0.8411
骨吸収 マーカー	尿Pyr/Cr比	- 15.7*	- 14.0	0.4957
	尿D-Pyr/Cr比	- 17.3*	- 6.1	0.4094
	尿Hpr/Cr比	- 24.9*	- 20.8	0.6039
骨塩量		- 2.8	+ 0.5	0.0560

1) non-paired t-test, * : p < 0.05

考 察

わが国における65歳以上の女性の死因は、循環器疾患が過半数を占める。さらに加齢とともにその比率は増加し、70歳代では男性の循環器疾患の比率を凌ぐという。そして、更年期女性においてはエストロゲン作用の低下とともに高脂血症の発現頻度の上昇も観察される。その特徴はコレステロー

ルの上昇とHDLコレステロールの低下である。このような脂質代謝異常の改善にホルモンの補充を行なうということは当然のことである。しかし、ホルモンの補充に伴う変化が本当に有利なものであるか検討するためには、そのメカニズムを明らかにすることが重要である。本研究では脂質代謝異常を中心にそのメカニズムについて検討を加えた。更年期女性のHDL代謝については十分な検討がなされていない。とくにHRTによるHDL上昇がどのような意味を有しているのか判明していない。本研究においても従来の研究と同様HRTによるHDLの上昇が観察され、アポ蛋白A-Iの上昇も観察された。HDLはコレステロール逆転送系において重要な役割を演ずることはよく知られているが、その中心的役割はマクロファージからのコレステロール除去とLDLに運搬するCETPに依拠するところが多い⁸⁾。また、HDL-コレステロールの制御にはアポ蛋白A-Iの合成、CETP活性、HTGL活性が重要な役割を演じ、LPL活性や肝臓におけるHDL受容体活性が修飾的な作用を有することが知られている⁹⁾。本研究においてCETP活性は上昇しLPL活性には有意な差が認められず、HDL上昇にこれらの因子の関与は否定される。一方、HTGL活性の有意な低下が観察されることからHTGLが関与している可能性が最も考えられる。しかし、HTGL活性低下に基づくHDLの上昇が動脈硬化発症に予防的に作用するか疑問のあるところである。山下らによればCETP活性低下者における動脈硬化発症患者はHTGL活性の低下を見たとしており⁹⁾、HTGL活性低下に基づく高HDL血症は必ずしも好ましいものではない可能性がある。

一方、LDLに関しては酸化変性を受ける際に生ずるLPCが動脈硬化発症に深く関わっていることが最近の多くの研究が示している。LPC産生にはLDL上のPAF-AHが関与しているとの報告もあり、本研究でも検討したところHRTにより有意に低下を示した。この作用は動脈硬化発症にとっては予防的に作用する可能性があり、今後の検討が必要と考える。

また、エストロジェンには、そのホルモン自体の持つ抗酸化作用がその化学構造的にも推定されin vitroでの報告が多数ある¹⁰⁾。しかし、これらの研究では高濃度のエストロジェンが使用されており、必ずしも生体内での意義が証明されるものではない。相良らは、in vivoの観察から、プレマリン1日0.625mgの内服がLDLの被酸化性を抑制する作用を報告している¹¹⁾。この被酸化性は患者LDLのCuイオン存在下でのTBARSを観察したものであり、必ずしも鋭敏なものではないが、有意な変動を観察している。さらに、3カ月間のプレマリン投与後の血中E1、E2濃度は、E1の平均が120pg/ml、E2が60pg/mlと、極めて低濃度で観察されている。このような結果は、必ずしもエストロジェンの直接的作用というより、我々の観察したPAF-AHとの関連を強く示唆するものと言えよう。しかし、一方でSackら¹²⁾は、閉経後婦人を対象に、経静脈的、経皮的にエストロジェンを投与し、LDL酸化に要する時間(lag time)を測定している。経静脈、経皮的エストロジェン投与は、いずれもlag timeの延長を認められており、中止するとlag timeは投与前まで短縮されている。lag timeは被酸化能を意味するので、彼らの実験結果からはエストロジェン投与後のLDL酸化の抑制作用はエストロジェン自身の抗酸化作用による可能性も十分考えられる。

また、Jiangらはウサギ冠動脈においてエストロジェンは血管を弛緩させることを報告している¹³⁾。また、エンドセリン(ET)産生¹⁴⁾や一酸化窒素(NO)¹⁵⁾におよぼすエストロジェンの作用などが報告

されている。血管内皮は血管作動物質を産生、放出して血管トーンを調節していることはよく知られている。その血管弛緩因子としてプロスタサイクリン (PGI₂) やNOが、また血管収縮因子としてトロンボキサン (TX) A₂やETがある。この中でもとくに血管内皮から産生されるNOは強力かつ生理的な弛緩因子として注目されており、その調節機構は極めて重要である。このNOの産生が循環血液中のエストロジェンの濃度に相関していることが報告されている¹⁶⁾。また、NOは血管を弛緩するだけでなく、LDLの酸化抑制、血小板の付着抑制をするトロンボモジュリンの産生を亢進するなど動脈硬化に対しては極めて防御的に作用する。この制御因子としてエストロジェンが注目されているのである。一方、酸化LDLはこのような内皮細胞におけるNOによる動脈硬化防御機構に対して妨害因子として作用することが報告されている。エストロジェンがLDLの酸化を予防するという観点からは、二重の意味でエストロジェンには動脈硬化予防効果が期待される。

よく知られた事実であるが、エストロジェンには骨粗鬆症に対する予防効果がある。本研究でも骨に対する効果は骨吸収マーカーの有意な抑制効果が証明された。このことはプロジェステロンの併用でも同様に観察され、かつ骨塩量に関してはより効果がはっきりしていたことを考察すると、併用療法がより優れていると考えられる。もちろんプロジェステロンは脂質についてはエストロジェンの作用を若干抑制する効果が観察されるが、有意とは言えない。

HRTの問題点は、副作用としての乳癌や子宮癌の問題である。子宮癌についてはプロジェステロンの併用が有意に抑制することが報告されているが、乳癌については統一的な見解がなかった。昨年、世界的なHRTのメタアナリシスが発表された¹⁷⁾。この発表では21カ国の51研究をまとめたもので対象となる患者は更年期女性53,865名であり、うちHRTを行っていたのが33%の17,830名であった。結果としてはHRTにより乳癌の相対的危険性は1.35と有意に増加するとしている。また50歳からHRTを開始すると5年で1,000人あたり2人、10年で6人、15年で12人増加するとしている。この結果はHRTの有用性を疑問視するものと考えられる。今後、脂質や骨に対する効果とこれら副作用とのかねあいで考慮すべき問題と考える。

今回の研究からはCa摂取としての牛乳の効果はあらゆる角度から変化をもたらさなかったが、Caの補給が重要であることは論を待たない。逆に牛乳摂取により脂質に対する影響が全くなかったという点からCa摂取の有用性だけが認識されるものと考えられる。脂質に対する有用性はLDLについてはHMG CoA還元酵素阻害薬でも十分引きだすことができるということから必ずしもHRTでなくても同様の効果が得られるものと推定される。

結 論

- 1) HRTで認められるHDL-Cの上昇はCETP活性の変動よりHTGL活性の低下によりもたらされていると考えられた。
- 2) HRTによるPAF-AHの低下はLDLにおけるLPCの産生抑制に作用している可能性が考えられ血管内皮障害に予防的に働く可能性が示唆された。

- 3) HRTにより骨吸収マーカーの有意な抑制効果が認められ、骨粗鬆症にはこの面での有効性が考えられた。

参考文献

- 1) Castelli, WP., Am. J. Obstet. Gynecol. 158 : 1553, 1988.
- 2) 第4次循環器基礎調査(平成2年)の概況。厚生省保健医療局疾病対策課監修
日本循環器管理研究協議会発行
- 3) Arca, M. et al. JAMA 271 : 453-459, 1994
- 4) Furgott, RF. et al. Nature 288 : 373-376, 1980
- 5) Kume, N. et al. J. Clin. Invest. 90 ; 1138-1144, 1992
- 6) Sato T, et al. Clin Chim Acta 240 : 1-9, 1995
- 7) M. HATTORI, et al. J. Biol. Chem. : 268 18748-18753, 1993
- 8) Tall, A., J. Clin. Invest. 86 : 379, 1990
- 9) 山下静也ほか 動脈硬化13 : 981, 1985
- 10) Rifci, VA. et al. Metabolism 41 : 1110-1114, 1992
- 11) 相良祐輔 The Lipid 8 : 462-470, 1997
- 12) Sack, MN. et al. Lancet 343 : 269-270, 1994
- 13) Jiang, C. et al. Br. J. Pharmacol. 104 : 1033-1037, 1991
- 14) 秋下雅弘ら Jp. Cir. J. 57 : 278-282, 1993
- 15) Van Buren, G., et al. Am. J. Obst. Gynecol, 16 : 828-833, 1992
- 16) Clarkcon, TB. et al. Br. J. Obstet. Gynecol. 103 : 53-58, 1996
- 17) Collaborative group on hormon factors in breast cancer. Lancet 350 : 1047-1059, 1997