

## シンポジウム2 中高年女性の加齢による変化

## 閉経による心血管系の変化及びその機序に関する研究

九州大学講師 野 崎 雅 裕

## 目 的

中高年女性の加齢による諸臓器の機能及び構造の経時的変化は、卵巣機能の廃絶すなわち閉経を境として顕著であり、その卵巣性ステロイドことにエストロゲンの欠乏は骨代謝を初め心血管系を含む全身の組織に重大な影響を及ぼす。とくに血管の機能と構造における変化は男性の加齢による経時的変化に比し大きく、高血圧や動脈硬化は閉経後女性の死因と密接な関連を有する。また閉経後のエストロゲン補充療法が中高年女性の心血管系や脳血管病変による死亡率を低下させる事実も明らかになりつつある。したがって中高年女性における心血管系の変化を把握しそれに対応するには、エストロゲン欠乏による血管の機能及び構造変化の過程を理解するとともに、その作用機序を解明することが肝要である。さらに従来よりエストロゲンは核内レセプターを介して作用するとされてきたが、エストロゲンの投与直後に観察される子宮血流量の増加や運動負荷による心電図ST低下の抑制など核内レセプターを介した作用では説明できない急性作用も種々報告されるようになった。このような視点から本シンポジウムでは、

1. 血管構造の変化、すなわち動脈硬化の成因に及ぼすエストロゲン欠乏の影響を脂質代謝及び平滑筋増殖について解析すること、
2. 血管機能の変化、すなわち血管収縮に関与するエストロゲンの慢性及び急性作用について、その作用機序を明らかにすることを目的とした。

## 方 法

## 1. 血管構造の変化に関与する因子について

1) 脂質代謝：血中脂質の加齢による影響を明らかにする目的で、当科更年期外来登録患者より治療前の閉経後女性を無作為に抽出後、40歳代、50歳代、60歳代、70歳代に分け総コレステロール、

LDL コレステロール、HDL コレステロール、中性脂肪、脂質代謝関連酵素を測定し層別解析した。また、血中脂質の閉経による影響を明らかにする目的で同年齢の未閉経群を対照群とし閉経後年数と血中脂質の変化について同様の検討を行った。

2) 平滑筋増殖：動脈硬化病巣に出現する平滑筋細胞は収縮型から増殖能を有する合成型へと形質転換したものである。その形質転換後の平滑筋細胞に対するエストロゲンの増殖抑制効果を検討するために雌性家兎の大動脈中膜平滑筋細胞の継代培養を行い、培養液中に $17\beta$  エストラジオールを最終濃度が100nM になるように加え、サイミジン取り込み法を用いて実験した。さらに、その平滑筋増殖抑制作用機序について、パッチクランプ法により培養平滑筋細胞に特徴的なイオンチャンネルに対するエストロゲンの作用を解析した。

## 2. 血管機能の変化に関与する因子について

1) 収縮機構に及ぼすエストロゲンの急性作用：去勢雌性家兎の摘出血管について等尺性収縮記録法を用い、エストロゲンの血管弛緩作用について①内皮の関与、②細胞内カルシウム(Ca)貯蔵部位の関与、③細胞外Ca流入機構の関与、という視点からの検討を行い、さらにその機序を解析するために細胞内微小電極法による膜電位、パッチクランプ法によるチャンネルに対する作用を調べた。

2) 収縮機構に及ぼすエストロゲンの慢性作用：去勢雌性家兎(対照群)及びエストロゲン負荷群の摘出血管について、血管作働性のアゴニストに対する収縮及び弛緩反応を比較検討し、さらにその作用点についての検討を行った。

## 成 績

## 1. 血管構造の変化に関与する因子について

1) 脂質代謝：血中脂質の加齢による影響では、

40歳代を対照群とすると60歳代の群において、総コレステロール、LDL コレステロールの有意な増加を認めたが( $p < 0.05$ )、HDL コレステロール、中性脂肪は有意な変動を認めず、50歳代及び70歳代ではいずれも有意差を認めなかった。また、血中脂質の閉経による影響では、未閉経群を対照群とすると閉経後1年目の群において総コレステロール、LDL コレステロールの有意な増加を認めた( $p < 0.01$ )。いずれの検討においても脂質代謝関連酵素には有意な変動を認めなかった。

2) 平滑筋増殖：対照群と比較したサイミジン取り込み法による形質転換後の培養平滑筋細胞の増殖は、 $17\beta$  エストラジオール添加群において明らかに抑制された( $p < 0.05$ )。その平滑筋増殖抑制作用に関するパッチクランプ法による検討において、培養平滑筋細胞に認められた不活性化の速い高電位及び低電位活性型 Ca 電流は、エストロゲンによりその振幅が有意に抑制された( $p < 0.05$ )。

## 2. 血管機能の変化に関与する因子について

1) 収縮機構に及ぼすエストロゲンの急性作用：

① 内皮の関与：エストロゲンの細胞外投与は収縮反応を濃度依存性に抑制し、比較的低濃度(10 nM $\sim$ 1 $\mu$ M)では内皮の有無による有意差はなかった。

② 細胞内 Ca 貯蔵部位の関与：細胞内 Ca 貯蔵部位への作働薬(カフェイン及びヒスタミン)による無 Ca 溶液中での一過性収縮に対して、エストロゲンは有意な作用を示さなかった。

③細胞外 Ca 流入機構の関与：エストロゲンは、膜の脱分極を誘発するカリウムチャンネル阻害薬であるテトラエチルアンモニウム(TEA)の存在下、あるいは非存在下で微小電極法による膜電位に変化を与えず、TEA 存在下における活動電

位を有意に抑制した( $p < 0.05$ )。パッチクランプ法では、エストロゲン投与直後より Ca 電流は濃度依存性に抑制されたが、カリウム電流には作用しなかった。Ca 電流の抑制作用は、GTP 結合蛋白(G 蛋白)を恒常的に活性化する GTP $\gamma$ S の電極内投与により有意に増強され( $p < 0.05$ )、G 蛋白の非加水分解性アゴニストである GDP $\beta$ S 又は百日咳毒素 (PTX) の電極内投与により消失した。

2) 収縮機構に及ぼすエストロゲンの慢性作用：対照群とエストロゲン負荷群に血管作動性アゴニストを投与し、内皮の有無による濃度-収縮相関曲線を比較した結果、その収縮反応は対照群で強い反応を示したが( $p < 0.05$ )、内皮の除去による有意差は認められなかった。さらに血管弛緩性アゴニストにより濃度-反応相関曲線を比較した結果、エストロゲン負荷群が強い反応を示した( $p < 0.05$ )。

## 結 論

1. 閉経は中高年女性の血管系における構造及び機能変化の変曲点であり、閉経に伴うエストロゲン欠乏状態は脂質代謝及び血管平滑筋増殖に影響を及ぼし、動脈硬化の形成と進展を促すことが示唆された。さらにエストロゲンは平滑筋増殖抑制作用を有し、その増殖抑制作用には Ca 拮抗薬と同様の Ca 電流の抑制という機序が関与する可能性を明らかにした。

2. エストロゲンの血管拡張作用には、核内レセプターに結合し内皮を介する作用と、膜を介した平滑筋への直接作用の二種類が存在することを明らかにした。この直接作用の機序は主に PTX 感受性 G 蛋白を介した Ca チャンネルの抑制であると考えられ、Ca 拮抗薬に抵抗性を示す高血圧症に対してもエストロゲンは有用である可能性が示された。