

シンポジウム2 中高年女性の加齢による変化

更年期における Hot flash と骨代謝の変化の機序に関する研究
—calcitonin 関連物質の関与—

癌研究会附属病院婦人科

陳 瑞 東

An Approach to Investigate the Mechanisms of Post Menopausal Hot
Flash and Bone Metabolic Change; Especially Related to the
Production of Calcitonin Gene Related Substances

Jui-Tung CHEN

Department of Gynecology, Cancer Institute Hospital, Tokyo

Key words: Hot flash • Post menopause • Calcitonin gene-related peptide

はじめに

更年期の変化に伴う症状のなかで、hot flash は最も頻度が高く、また最もつらい症状の一つである。閉経一年以内での hot flash の発症頻度は75%に達し、閉経前後では20~30%前後と報告されているが、日本では閉経直後でも40%程度の発症頻度と考えられている。Hot flash の発生に estrogen の低下が関与することは明白であるが、思春期でも estrogen のレベルは同様に低いのに hot flash は発生しないことから、hot flash の発生には aging の過程か、ある程度の estrogen priming の過程が必要と考えられる。

Hot flash の発生に伴い、LH, FSH, cortisol, ACTH, β -endorphine や epinephrine などが hot flash に一致して上昇することが知られており、hot flash の成因として、(1) estrogen の低下による、(2) LH の拍動性分泌による、(3) 視床下部におけるカテコラミンの増加により、LH-RH の拍動性分泌と体温中枢が刺激されることによる、といった仮説が提唱されてきた。しかし、これらの成因説では、(1) Hot flash に個体差があること：例えば人工閉経後でも hot flash が発生しない例があること、(2) Hot flash が上半身に局限すること：Hot flash は上半身、特に顔面に発生し、部位

による差異があること、(3) Hot flash の発生に estrogen の priming が必要なこと：例えば男性であっても前立腺癌のホルモン治療後に hot flash が発生すること、などが説明できない。

目 的

Hot flash が体表や、末梢の血管を拡張させることから、血管拡張物質と hot flash の関連を検討し、hot flash でこの物質が産生される合目性、加齢過程での意義について考察することを目的とした。

対象と方法

1. 血管拡張に関与する生体内情報伝達には内分泌と神経系が関与し、内分泌系では estrogen が血管拡張性を維持する作用があり、神経系では生理活性ペプチドに血管拡張作用がある。そこで代表的な血管拡張性生理活性ペプチドである vasoactive intestinal polypeptide (VIP) と calcitonin gene-related peptide (CGRP) について、hot flash 前後での変化を測定した。CGRP の測定はアプロチニンを加えた血漿を Sep Pack C18 で抽出し、RIA で測定した。感度は1.3pg/ml, inter, intra assay variability は8%前後である。

2. Hot flash 例について、hot flash の程度と CGRP の関係、次に同一症例における hot flash

前後での CGRP の変化と LH, TSH, cortisol, ACTH, calcitonin の関係を検討した。また, hot flash のある閉経婦人 4 例と hot flash のない閉経婦人 4 例に 4°C30秒の冷水負荷を行い, 指先部の温度の回復と CGRP の濃度を経時的に測定した。

3. 卵巣摘出ラットにおいて CGRP 投与での体温の変化, 特に表面温度と体幹温度の違い, CGRP 投与量と体温変化の関係を検討した。方法は11週齢のメス SD ラットに sham, OVX を施行し2週間飼育したものを使用した。体温は尾部と直腸で測定した。次に, E2(30 μ g/kg)補充による体温の変化, 特に表面温度の変化, CGRP 投与後の体温変化を検討した。

4. GnRH analog 投与例を15分ごとに採血しながら120分観察し, hot flash と LH, FSH, CGRP の関係から, hCGRP の由来が主に中枢性か, 末梢性か検討した。

5. 閉経後 hot flash のある婦人を15分ごとに採血しながら180分観察し, hot flash の発現時間と血中 LH, FSH, CGRP の同時測定した。また, 月経周期が整順な婦人について3日ごとに LH, FSH, E2, CGRP を同時に測定し, hot flash 時に CGRP の過分泌が起こる合目性について検討した。

成績と考察

1. VIP には有意な変化はなかったが, CGRP には有意な変動があり, CGRP は hot flash に関与することが明らかになった(図1)。

CGRP は calcitonin と同一の calcitonin 遺伝子から生成されるが生理機能は全く異なる。Calcitonin は主に甲状腺など, 神経組織以外で発現するのに対し, CGRP は神経組織のみで発現する。Calcitonin は骨吸収の抑制作用が主であり, 血管拡張性, 頻脈の作用はないが, CGRP は血管拡張性, 頻脈の作用が強く, 骨吸収の抑制作用はほとんどない。したがって, CGRP は neurotransmitter や neuromodulator としての作用が注目される。

2. CGRP 濃度は hot flash が高度になると有意に上昇した。また, CGRP は同一症例での hot flash 発症時点で, 基礎値の約2倍に有意に上昇し

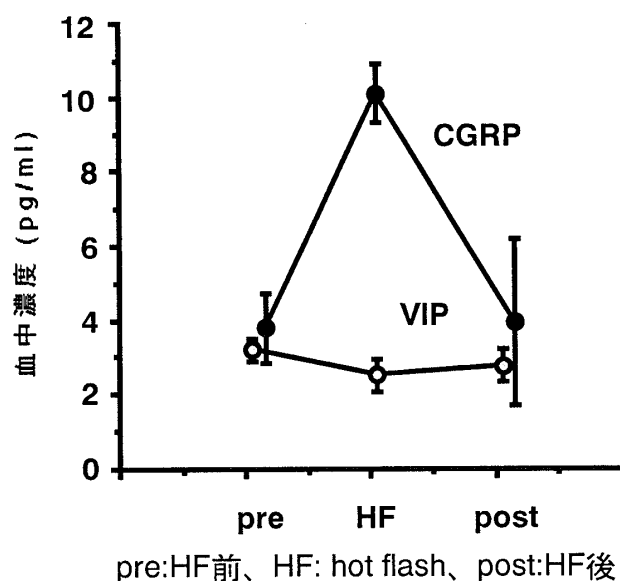


図1 Hot flash 前後での CGRP と VIP の変化

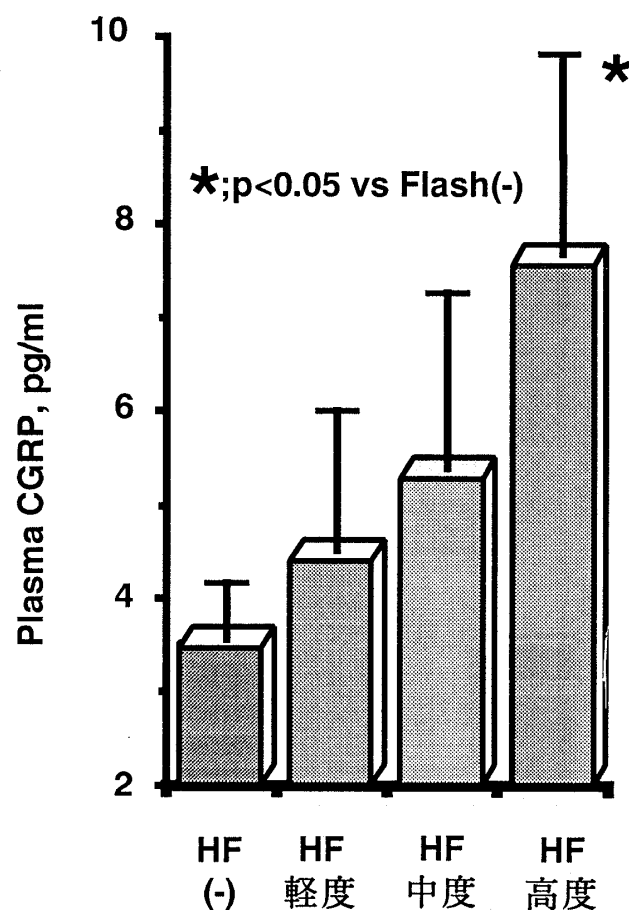


図2 Hot flash の程度と CGRP の変化

たが, 同時に測定した LH, TSH, cortisol, ACTH, calcitonin には hot flash に伴う有意な変化はなかった。冷水負荷試験では, 指先皮膚温の

表1 Hot flash 前後での各パラメーターの変化

	Pre	HF	Post	p
LH(mIU/ml)	33.70±6.54	30.7±4.63	29.86±4.74	NS
TSH(μ IU/ml)	1.33±0.12	1.15±0.14	1.04±0.114	NS
Cortisol(μ g/dl)	9.92±1.25	11.98±1.13	10.94±1.01	NS
ACTH(pg/ml)	6.83±1.25	6.49±1.04	7.12±1.46	NS
Calcitonin(pg/ml)	27.16±2.11	26.62±2.53	25.36±1.71	NS
CGRP(pg/ml)	5.41±0.92	10.56±0.93	5.78±1.03	0.002

p: ANOVA, Value: mean±SE

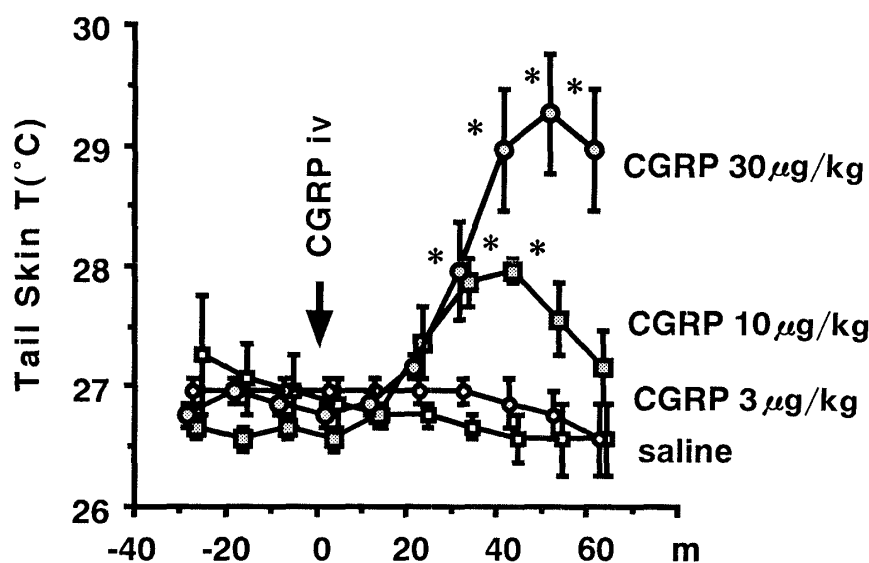


図3 OVX ラットにおける CGRP 静注後の皮膚温の変化

*: $p < 0.05$ vs before

回復には両群に違いはなかったが, CGRP の変化には両群で有意差があり, hot flash 群で冷水負荷直後から CGRP の上昇がみられた. 以上から CGRP の過分泌, 過反応性が hot flash に関与すると考えられた.

3. OVX により 2 週目から 4 週目まで皮膚温は sham 群より有意に上昇したが, その後は sham と違いはなかった. CGRP 10 μ g/kg 投与後, OVX で静注30分後に皮膚温が sham 群より有意に上昇した. この皮膚温の変化は CGRP の投与量(3~30 μ g/kg)と用量依存的に上昇したが, 直腸温は CGRP の投与に影響されなかった. したがって estrogen の低下は CGRP の反応性を高め, 皮膚温を上昇させるが, この変化は CGRP の過分泌で増強された. 一方, E2補充(30 μ g/kg)により OVX 群の血清 E2濃度は sham と同程度ま

で上昇し, OVX 群の上昇していた皮膚温は sham と同程度まで低下したが, CGRP 投与後の皮膚温は E2を補充しても, OVX 群より有意に低下しなかった. 冷水負荷試験, ラット実験から CGRP の過分泌, 過反応性が hot flash に関与し, E2投与はこの反応性を抑制していると考えられた.

4. GnRH analog 投与例での LH, FSH レベルは低値で安定しており, hot flash 例では hot flash と一致して CGRP が上昇していたことから, 末梢神経より遊離した CGRP が hot flash に関与すると考えられた. CGRP を含有する神経線維は心臓, 脳, 皮膚, 血管周囲に多く分布し, 特にラット皮膚では背中, 尾, 顔, 足, 鼻の順に多く, また子宮, 卵管, 卵巣にも分布している. 特に卵巣では間質や follicle の周囲に CGRP 含有神経末端が分布していることが確認されている. 動物や

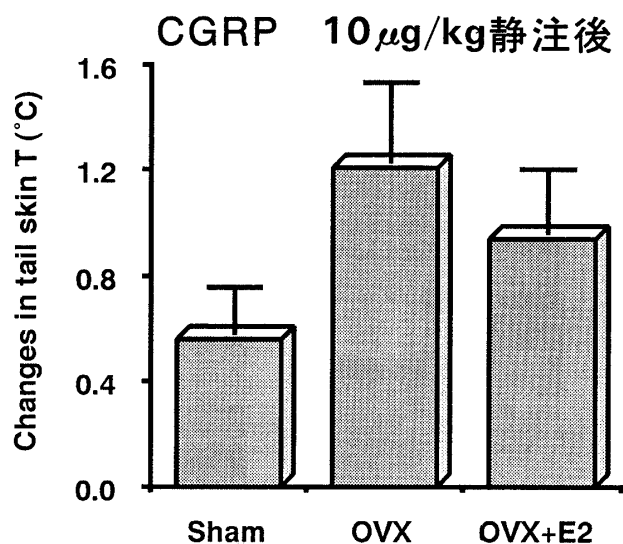


図4 E2補充後のOVXラットにおけるCGRP静注による皮膚温の変化

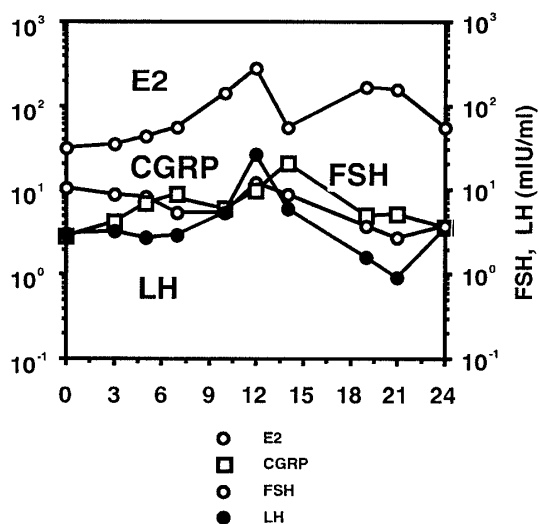


図6 正常月経周期例におけるCGRP, E2, FSH, LHの変化

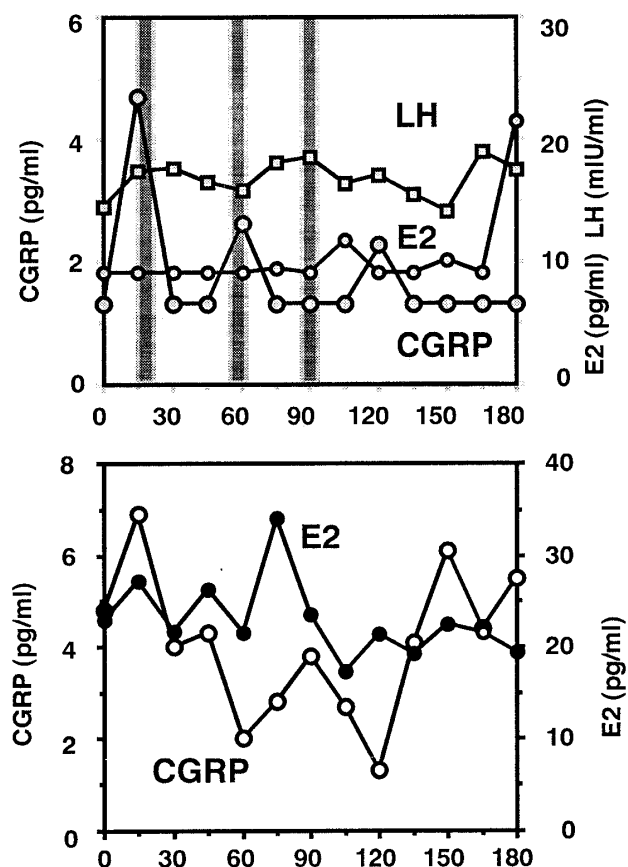


図5 CGRPの変化とLH, E2の律動性の関係
上段: Hot flashの発生とCGRPの変化が一致した例。縦のコラムはhot flashの発生を示す。
下段: CGRPの変化とE2の変化がよく一致している例。

ヒトに CGRP を投与した場合、脳室内など中枢投与では頻脈、血圧の上や、ノルアドレナリンの産生刺激、末梢投与では、血圧低下、hot flash や、カテコラミンの遊離が報告されている。

以上のことから、従来の hot flash 成因説で説明できなかった個体差の理由は CGRP の過分泌、過反応性の個体差で説明可能と考えられ、また hot flash が上半身に限局する理由も CGRP 含有神経の分布の違いで説明できる可能性がある。しかし、estrogen の priming が必要な点については不明である。

5. CGRP の変化と LH の律動性は、一致する場合、一致しない場合があった。しかし、特に興味を覚えたのは CGRP の変化と E2 の変化が非常に一致する症例を認めたことである。そこで、月経周期が整順な女性での E2, LH, FSH と CGRP の関係を検討したところ、CGRP は E2, LH サージよりやや遅れてピークになることがわかった。

以上のことから、hot flash において CGRP が分泌される合目性の可能性を示す。一つは CGRP の分泌が E2 濃度の低下を抑制する可能性：CGRP 含有神経末端が卵巣に分布していることから、E2 低下シグナルが知覚神経を通じて卵巣を刺激すると考えられる。もう一つは CGRP の分泌が卵巣の血流を保持する可能性：Estrogen 低下は末梢血管の弛緩性を低下させるので、CGRP が

血管の弛緩性の維持に働くと考えられる。

ま と め

1. Hot flash と CGRP の関係

Estrogen の低下により、感覚神経末端から CGRP が分泌される。CGRP は特に皮膚の末梢血管を拡張させるため、hot flash の発生を引き起こすことになる。一方で、CGRP の神経末端は卵巣にも分布していることから、CGRP は卵巣の機能を直接刺激したり、卵巣周囲の血流を増加させると考えられる。また、CGRP は中枢でも放出され、中枢でのノルアドレナリンの産生に関与している可能性もあると考えられる。

2. Aging と calcitonin 遺伝子との関係

Estrogen の比較的急性の低下に対応する症状は更年期の hot flash である。Estrogen の急激な変化はまず、知覚神経に刺激を与える。神経末端では同一部位でシグナルを伝達し、生理活性ペプ

チドを遊離できるので、その刺激は恐らく血管が最も関与しており、estrogen の低下に伴う血管の収縮が CGRP 分泌の契機になると考えられる。Hot flash が血管拡張で始まる事実は、この仮説を裏付けていると思われる。

Hot flash での CGRP の動態は、hot flash が決して疾患というものではなく、むしろ生体が estrogen 低下に過剰に反応する、あるいは過剰に適応する結果発生してくる状態であるということの意味している。この意味で hot flash に対する治療法として、HRT は理論的にも臨床的にも有用であるが、一方では、HRT 禁忌症例における hot flash の治療はそのままになってしまう。本研究の結果は、HRT 禁忌の症例に対しても、CGRP の反応性を modulate することにより hot flash をコントロールできる可能性を示した点にあるといえよう。特に、乳癌合併の hot flash に対する治療法の開発は、今後の女性の QOL の維持向上に欠かすことができない重要な課題である。

一方、estrogen 低下後の aging では、機能に形態変化が加味されてくることから、calcitonin 遺伝子産物のみの一因子で解析することには無理がある。しかし、estrogen 低下後に骨塩量を保持している症例では calcitonin の分泌が維持されていること、また、もし CGRP が血管の弛緩性を維持し、末梢循環の維持や動脈の硬化していく過程で抑制的に作用するとすれば、婦人の aging にとって重要な骨と血管の変化がともに calcitonin 遺伝子産物と関連していることになり、中高年以降でのこの物質のもつ意義は高いものと考えられる。

謝 辞

この研究を行うにあたって、白木正孝・白木由美子先生、大阪医科大学 後山尚久先生、帝人(株) 小林恒文・清水護氏の御協力を得ました。感謝致します。

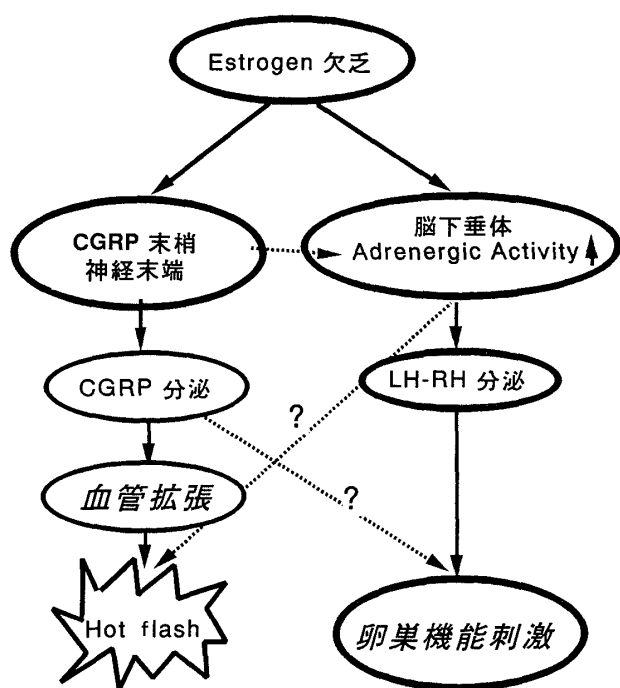


図7 Hot flash と CGRP の関係

Synopsis

Hot flash occurs following the decline of estrogen levels in females during menopause or in males after estrogen therapy. Because prepubertal girls are not reported of hot flash, withdrawal from estrogen or aging process might be a significant factor for the onset of hot flash, however, the precise mechanism of it has not been fully understood. Since hot flash initiated through vasodilatation and increased of blood flow, we investigated to see the changes of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) and calcitonin gene-related peptide (CGRP); the neuropeptides which were known to cause vasodilatation, in relation to hot flash.

The plasma CGRP levels were significantly elevated at the flash compared to before and after the flash ($p=0.0002$ by ANOVA), however, no significant change was observed in serum VIP level, nor FSH, LH, TSH, cortisol and ACTH levels during the flash. The cold load test was performed to see the relation between the sensory nerve function and CGRP level in postmenopausal women with or without hot flash, we found the immediate significant increase of CGRP level after the cold load in women with flash compared to without it ($p<0.05$). It was indicated that elevated secretion or hypersensitivity of CGRP to stimuli after estrogen deficiency has an important role for the occurrence of hot flash.

To study whether or not CGRP does elevate body temperature after estrogen deficiency, we monitored the tail skin and rectal temperature in ovariectomized (OVX) rat. The tail skin temperature was significantly elevated compared to sham operated rat at 2 to 6 weeks after ovariectomy, but no significant change was observed thereafter. By the venous injection of CGRP in OVX rat, skin tail temperature was significantly and dose dependently (3 to 30 $\mu\text{g/kg}$) elevated at 30 minutes after it ($p<0.05$), however, no significant change was observed in rectal temperature. These data suggest that the augmented skin temperature response to CGRP and the elevation of skin temperature in OVX rat may occur in menopausal women and contribute to their hot flash. Estradiol replacement (30 $\mu\text{g/kg}$) in OVX rat decreased the skin temperature to sham operated level, but this treatment did not significantly decreased the skin temperature after venous injection of CGRP by 10 $\mu\text{g/kg}$, suggesting estrogen replacement can not always well control the flash as we experience in clinical settings.

By the three hours-monitoring of CGRP, LH, FSH and estradiol level in postmenopausal women with flash, we found that pulsatile pattern of CGRP did not always reveal a close association with LH pulse, however, interestingly, CGRP pulse had closely associated with estradiol pulse in some instances. To investigate the association of CGRP and estradiol, we monitored CGRP, LH, FSH and estradiol level in women with normal menstruation cycles, and it was shown that a peak secretion of CGRP was observed just two to three days after the estradiol or LH surge, suggesting the close association between CGRP and estradiol level. Since the CGRP containing sensory nerve fibers were distributed not only in uterine or ovarian vessels but in ovarian stroma or around follicles in rat, these observations in postmenopausal women were likely to suggest that pulsatile CGRP release at hot flash might at least increase the ovarian blood flow or stimulate the ovarian function after estrogen deficiency.

In conclusion, it was speculated that hyperrelease of CGRP at sensory nerve end might occur after estrogen deficiency, which contributes to increase the peripheral blood flow, and to generate hot flash. On the other hand, pulsatile CGRP release at hot flash might at least increase the ovarian blood flow or stimulate the ovarian function because CGRP containing sensory nerve fibers were possible to distribute in ovarian vessels or stroma.
