

エストロゲンと血管

高橋 一広

山形大学医学部産科婦人科学講座

はじめに

動脈硬化症は、血管壁の増殖性・変性病変を主体とする血管壁肥厚により血管内腔の狭窄を来す疾患である。女性における虚血性心疾患や脳血管障害などの動脈硬化性疾患の発症頻度は、更年期以後に増加傾向を示し、加齢とともに男性の発症頻度と同レベルまで達する。この理由として、抗動脈硬化作用を有するエストロゲンが更年期以後に低下、消失するためと考えられている。エストロゲンの抗動脈硬化作用には、脂質代謝の改善などを介して間接的に血管に作用する indirect effects と、直接的に血管に作用する direct effects が知られている (図1) [1]。

1990年代終わりまでは、閉経後女性にエストロゲンを投与 (estrogen replacement therapy: ERT) すると、動脈硬化性疾患を中心とする心血管系疾患の発症はほぼ半減するとの疫学的な成績が多く報告された [2]。閉経後女性に対するホルモン補充療法 (hormone replacement therapy: HRT) の概念を大きく変えたのは1999年の HERS (Heart and Estrogen/progestin Replacement Study) [3] と2002年に発表された WHI (Women's Health Initiative) [4] であった。これらの報告は、それまでの予想とは大きく異なり、閉経後女性にエストロゲンに加えて黄体ホルモンであるプロゲステンを併用投与 (HRT) すると、心血管疾患が増加し、エストロゲン単独投与 (ERT) でも増加はしなかったものの、減少させるという結果は得られなかった。しかし、重要なことは、閉経、すなわち、エストロゲンの減少は心血管疾患の増加につながり、エストロゲンは血管に対しては動脈硬化抑制作用をもつということである。

本稿ではエストロゲンの血管への作用について、われわれの臨床的および基礎的データを含めて解説する。

エストロゲンの血管に対する間接的作用

米国フラミンガム研究によると、女性の心血管系疾患による死亡率は、50歳までは男性に比較して有意に低率であるが、閉経以後の年代では男性との差が次第に縮まり、70歳代では男女間でほとんど差がみられなくなる [5]。この結果は、閉経、すなわちエストロゲンの欠乏が心血管系疾患のリスクになることを強く示唆する。エストロゲンの血管に対する間接的な作用として、脂質代謝の改善が知られており、その作用機序は以下のようなことが知られている。

1. HMG-CoA 還元酵素活性の抑制

エストロゲンは、コレステロール合成経路の律速酵素である HMG-CoA 還元酵素の活性を抑制すると報告されている。HMG-CoA 還元酵素の活性制御は AMP キナーゼが関与しており、AMP キナーゼにより HMG-CoA 還元酵素の872番目のセリン残基がリン酸化されると HMG-CoA 還元酵素活性が低下する [6]。AMP キナーゼはエストロゲンにより活性化することから、エストロゲンにより活性化した AMP キナーゼが HMG-CoA 還元酵素をリン酸化することで、HMG-CoA 還元酵素を不活化する [7]。

2. 肝性トリグリセリドリパーゼ (HTGL) 活性制御

エストロゲンは HTGL 遺伝子発現を抑制することが知られている [8]。HTGL 活性を抑制することで IDL から LDL への転換を抑制し、血中 LDL を下げるとともに、HDL2 から HDL3 への分解を抑制し血中 HDL2 を増加させる。

3. LDL 受容体発現を促進

細胞内のコレステロール濃度は厳密に制御されており、細胞内のコレステロールが減少したときには、細胞膜上に LDL 受容体が発現し、LDL コレステロールの取り込みを行う。エストロゲンはエストロゲン受容体 α と転写因子 Sp1 と複合体 (ER α /Sp1) の形成を促進し、これが LDL 受容体遺伝子発現を促進する [9]。

連絡先：高橋一広、山形大学医学部産科婦人科学講座
〒990-9585 山形市飯田西2-2-2
TEL：023-628-5393
FAX：023-628-5396
E-mail：ktaka@med.id.yamagata-u.ac.jp

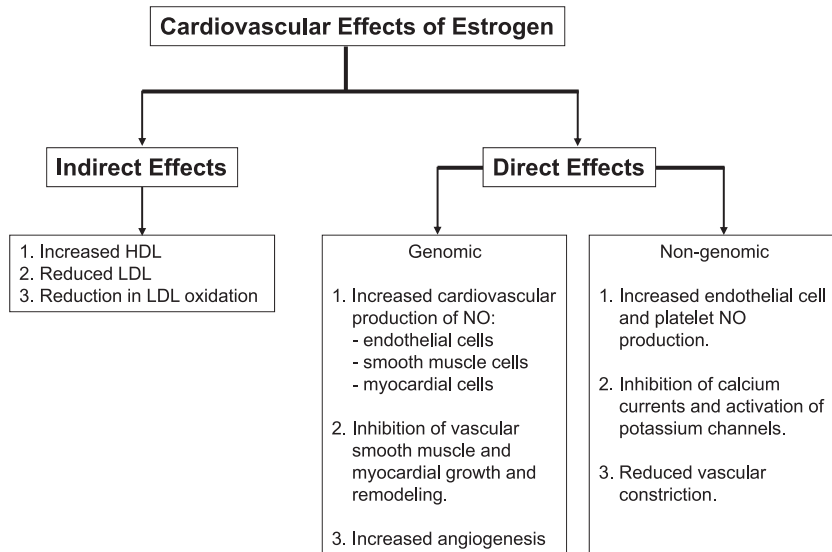


図1 血管に対するエストロゲンの作用 (文献1より引用)

エストロゲンは肝臓での LDL 受容体の数を増加させ、LDL コレステロールの取り込みを促進する。

4. リポ蛋白リパーゼ (LPL) 活性・発現制御

LPLは脂肪組織などで合成・分泌され、毛細血管の血管内皮細胞表面に存在する酵素である。血液中のトリグリセライドを、遊離脂肪酸とグリセロールに分解し、細胞内に遊離脂肪酸を取り込む。血中のエストロゲン濃度と脂肪組織の LPL 活性は逆相関し [10]、また、エストロゲンは ER を介し、LPL 遺伝子プロモーター上 AP-1 様配列を責任領域として LPL 発現、および脂肪蓄積を抑制することが報告されている [11]。

5. アポリポ蛋白 A-I (ApoA-I) の合成促進

エストロゲンは肝臓での HDL の主要構成蛋白である ApoA-I の合成を促進し、HDL の産生を高めている [12]。

つまりエストロゲンは総コレステロールや悪玉である LDL-コレステロールを低下させ、善玉である HDL-コレステロールを増加させる。

エストロゲンの血管に対する直接的作用

動脈硬化は、血管壁内に進入したコレステロールが酸化され、マクロファージに取り込まれ泡沫細胞化することで初期病巣が形成される。血管内皮細胞からは一酸化窒素 (NO) が産生され、これは血管を弛緩させ、動脈硬化抑制的に作用する。内皮細胞が傷害されると、NO の分泌低下によって、血管はしなやかさを失うとともに、内皮や血小板、マクロファージから PDGF (platelet-

derived growth factor) などが分泌され、血管平滑筋細胞の病的な増殖をもたらし、このことも動脈硬化の大きな要素となる [13]。

子宮摘出時に同時に卵巣を摘出すると、血管内皮機能を反映する血流依存性血管拡張反応 (flow-mediated vasodilatation: FMD) は、術後、わずか1週間で有意に低下する。一方、卵巣温存群では術後の FMD の低下は観察されない (図2) [14]。この結果は、卵巣摘出によるエストロゲンの欠乏で、血管内皮細胞からの一酸化窒素 (NO) の産生が低下し、血管の拡張能が障害されたことを示唆する。また、卵巣摘出により低下する FMD は、エストロゲンを投与することで回復することを、われわれは明らかにしている [15, 16]。

1. エストロゲンの NO 産生促進機序

血管内皮細胞であるヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) にエストロゲンを投与すると、NO 合成酵素である eNOS が活性化される。この活性化はエストロゲン受容体の拮抗薬である ICI-182,780 の併用により抑制され、かつ転写阻害剤である actinomycin D の併用では活性化を抑制しないことが明らかになっている。つまり、エストロゲンによる eNOS の活性化は、ER を介するが、転写を介さない non-genomic な反応である。また、このエストロゲンによる eNOS を活性化は Akt シグナルを介することが明らかになっている [17]。

2. エストロゲンの血管平滑筋細胞増殖抑制機序

エストロゲンが血管平滑筋細胞の増殖や DNA 合成を抑制することが *in vitro* の実験系で多く報告されている

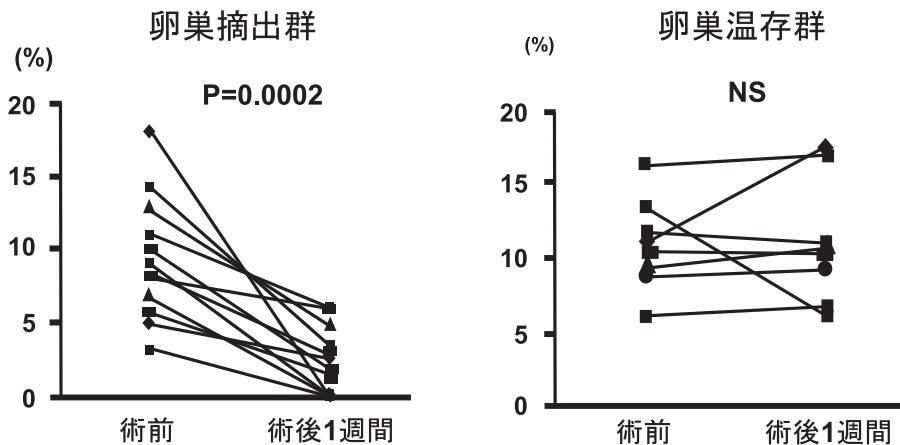


図2 両側卵巣摘出手術後のFMD変化(文献14より引用)
卵巣摘出術後1週間でFMDは有意に低下する。
FMD, flow-mediated vasodilatation

[18-21]. PDGFなどの増殖因子は細胞膜上の増殖因子受容体に結合することにより, MAPキナーゼカスケードを活性化し, その刺激を細胞内に伝達し, 細胞増殖や細胞分化を誘導する [22]. 細胞増殖に関与する cyclin D1遺伝子はMAPキナーゼが活性化することによって発現が誘導される遺伝子の1つである [23]. Cyclin D1はG1期に発現が誘導される代謝回転の速い蛋白質であり, G1期において転写因子E2Fと結合しているretinoblastoma蛋白(pRb)を, cyclin dependent kinaseとともにリン酸化して, pRbからE2Fの解離と転写活性を促している [24, 25]. pRbのリン酸化を抑制することにより, 平滑筋細胞の増殖を抑制する薬剤として, サリチル酸 [26], レチノイド [27], HMG-CoA還元剤阻害薬 [28] や α アドレナリン受容体遮断薬 [29] などが報告されている.

1) エストロゲンによる細胞周期の停止

PDGFによる培養ヒト血管平滑筋細胞の増殖は, エストロゲンにより抑制される (図3). エストロゲンはPDGFにより誘導される cyclin D1蛋白質の発現を抑制するとともに, pRbのリン酸化も抑制する. その結果, エストロゲン投与によりG1期からS期に移行する平滑筋細胞数が減少する [30]. つまり, エストロゲンの平滑筋細胞増殖抑制の作用機序として, cyclin D1遺伝子の発現やpRbのリン酸化を抑制することにより, 細胞周期を停止させることが考えられている. このように遺伝子発現を介して効果を示す作用はエストロゲンの genomic effects と呼ばれている [1, 31].

2) エストロゲンによるアポトーシスの誘導

動植物の脂肪の主成分である飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸のうち, 魚介類に多く含まれている高度不飽和脂肪酸

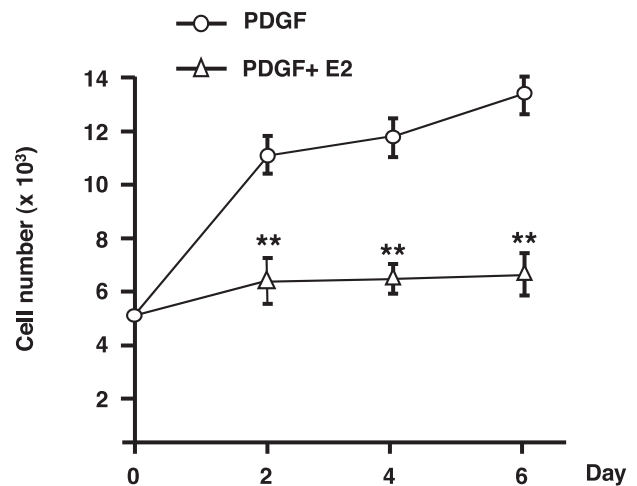


図3 エストロゲン (E2) による平滑筋細胞の増殖抑制 (文献30より引用, 改変)
PDGF (5 ng/ml) 刺激による平滑筋細胞の増殖に対する E2 (10⁻⁸ M) の影響について生細胞をカウントすることで検討した.
**P<0.01 vs PDGF

であるドコサヘキサエン酸が, p38MAPキナーゼを活性化することにより平滑筋細胞をアポトーシスに誘導することが知られている [32]. 血清添加により増殖状態にある培養ヒト血管平滑筋細胞にエストロゲンを投与すると, p38はリン酸化され, この作用はICI182,780により抑制される. さらにp38のリン酸化はエストロゲンに actinomycin D を併用しても抑制されない. TUNEL法でアポトーシスの有無を検討すると, エストロゲンによりアポトーシスを起こす平滑筋細胞数は有意に増加し, この作用はICI182,780やp38の特異的阻害剤であるSB203580の投与により抑制される. これらから, エストロゲンは増殖状態にある平滑筋細胞において, p38を活性化することによりアポトーシスを誘導することが明らか

になった [33]. p38の活性化はERを介した作用でありながら遺伝子の転写を介さない早い反応であり, エストロゲンが細胞膜上に存在しているERを介した non-genomic effects と呼ばれている [1, 31].

このようにわれわれの研究からもエストロゲンは血管に直接作用し, 抗動脈硬化作用を有することが明らかになった.

ホルモン補充療法と心筋梗塞・冠動脈疾患

エストロゲンは抗動脈硬化作用を有しているため, 閉経後女性にエストロゲンを投与することは大きなメリットをもたらすと考えられた. 事実, 1990年代終わりまでは, 閉経後女性にERTを行うと心血管系疾患の発症はほぼ半減すると報告されていた [2]. しかし, この流れが大きく変化したのは1999年のHERS [3]と2002年のWHI [4]の発表後である.

平均年齢63歳の閉経後女性を対象に調査を行ったWHIによると, エストロゲンとプロゲステンの併用であるHRTを行うと, 冠動脈疾患の発生リスクは増加(ハザード比(HR): 1.29, 95%信頼区間(CI): 1.02-1.63) [4]し, エストロゲン単独のERTを行っても, 冠動脈疾患の発生予防効果はみられなかった(HR: 0.91, CI: 0.75-1.12) [34].

更年期症状の治療という点から考えると, ホルモン補充療法は閉経周辺期から始めるべきものである. しかし, WHIに参加した閉経後女性の平均年齢は63歳であり, およそ更年期症状の治療適応となる年齢としては非現実的な年齢である. WHIのサブ解析によると, 自然閉経年齢に近い年齢からHRTを開始するほど, 統計学上有意な差はないものの, 心血管系疾患の発生頻度が少なくなる傾向があった [35]. また, 50~59歳の女性を対象にして, エストロゲンの冠動脈石灰化に及ぼす影響を追跡したWHI-CACS (Coronary Artery Calcium Study)によると, エストロゲンにより, 冠動脈石灰化スコアがプラセボに比較して有意に低かった [36]. 近年, 閉経後早期に開始するHRTは心疾患の発症を減らすことができるのではないかと, つまり timing hypothesis という考えが広まっている. 実際に, 閉経後まもなくの若いうちにHRTを開始すると, 心疾患の発生が有意に減少するという, この仮説を支持する結果が報告された [37].

おわりに

多くの疫学的研究から, 閉経後は心血管系疾患が増加

することは事実である. しかし, エストロゲンの投与により, すべての女性で心血管系疾患の発生が回避できるかというところではない. 女性の心血管系疾患の発生には, エストロゲンの減少という内分泌学的変化の他, 男性と同様に, 加齢という生物学的老化現象も関与する. そのため, エストロゲンの投与が, すべての年齢における動脈硬化の発生抑制につながるものではない. しかし, 基礎的研究から, エストロゲンが抗動脈硬化作用を有することに間違いはない. 「人は血管とともに老いる」といわれている. 今後は加齢をベースに起こる身体的変化に合わせた, より効果的で副作用の少ないHRTを行うことで, 女性のQOL向上に貢献できると考えられる.

引用文献

1. Skafar DF, Xu R, Morales J, Ram J, Sowers JR (1997) Clinical review 91: Female sex hormones and cardiovascular disease in women. *J Clin Endocrinol Metab* 82, 3913-3918.
2. Grodstein F, Stampfer M (1995) The epidemiology of coronary heart disease and estrogen replacement in postmenopausal women. *Prog Cardiovasc Dis* 38, 199-210.
3. Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B, Vittinghoff E (1998) 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.
4. Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators (2002) 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.
5. Kannel WB, Hjortland MC, McNamara PM, Gordon T (1976) Menopause and risk of cardiovascular disease: the Framingham study. *Ann Intern Med* 85, 447-452.
6. Trapani L, Pallottini V (2010) Age-Related Hypercholesterolemia and HMG-CoA Reductase Dysregulation: Sex Does Matter (A Gender Perspective). *Curr Gerontol Geriatr Res* 420139.
7. Trapani L, Violo F, Pallottini V (2010) Hypercholesterolemia and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase regulation in aged female rats. *Exp Gerontol* 45, 119-128.
8. Jones DR, Schmidt RJ, Pickard RT, Foxworthy PS, Eacho PI (2002) Estrogen receptor-mediated repression of human hepatic lipase gene transcription. *J Lipid Res* 43, 383-391.
9. Brüning JC, Lingohr P, Gillette J, Hanstein B, Avci H, Krone W, Müller-Wieland D, Kotzka J (2003) Estrogen receptor-alpha and Srebp1 interact in the induction of the low density lipoprotein receptor. *J Steroid Biochem Mol Biol* 86, 113-121.
10. Iverius PH, Brunzell JD (1988) Relationship between lipoprotein lipase activity and plasma sex steroid level in obese women. *J Clin Invest* 82, 1106-1112.
11. Homma H, Kurachi H, Nishio Y, Takeda T, Yamamoto T,

- Adachi K, Morishige K, Ohmichi M, Matsuzawa Y, Murata Y (2000) Estrogen suppresses transcription of lipoprotein lipase gene. Existence of a unique estrogen response element on the lipoprotein lipase promoter. *J Biol Chem* 275, 11404-11411.
12. Lamon-Fava S, Micherone D (2004) Regulation of apoA-I gene expression: mechanism of action of estrogen and genistein. *J Lipid Res* 45, 106-112.
 13. Ross R (1993) The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s *Nature* 362, 801-809.
 14. Ohmichi M, Kanda Y, Hisamoto K, Morishige K, Takahashi K, Sawada K, Minekawa R, Tasaka K, Murata Y (2003) Rapid changes of flow-mediated dilatation after surgical menopause. *Maturitas* 44, 125-131.
 15. Takahashi K, Mori-Abe A, Takata K, Ohta T, Kawagoe J, Tsutsumi S, Ohmichi M, Kurachi H (2007) Raloxifene improves the ovariectomy-induced impairment in endothelium-dependent vasodilation. *Menopause* 14, 656-661.
 16. Henmi N, Takahashi K, Amita M, Takata K, Ohta T, Tsutsumi S, Takahashi T, Kurachi H (2010) Effect of dienogest on estrogen-induced nitric oxide production in human umbilical vein endothelial cells and endothelium-dependent vasodilatation in postmenopausal women. *Menopause* 17, 615-621.
 17. Hisamoto K, Ohmichi M, Kurachi H, Hayakawa J, Kanda Y, Nishio Y, Adachi K, Tasaka K, Miyoshi E, Fujiwara N, Taniguchi N, Murata Y (2001) Estrogen induces the Akt-dependent activation of endothelial nitric-oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 276, 3459-3467.
 18. Dai-Do D, Espinosa E, Liu G, Rabelink TJ, Julmy F, Yang Z, Mahler F, Lüscher TF (1996) 17 β -estradiol inhibits proliferation and migration of human vascular smooth muscle cells: similar effects in cells from postmenopausal females and in males. *Cardiovasc Res* 32, 980-985.
 19. Kolodgie FD, Jacob A, Wilson PS, Carlson GC, Farb A, Verma A, Virmani R (1996) Estradiol attenuates directed migration of vascular smooth muscle cells *in vitro*. *Am J Pathol* 48, 969-976.
 20. Suzuki A, Mizuno K, Ino Y, Okada M, Kikkawa F, Mizutani S, Tomoda Y (1996) Effect of 17 β -estradiol and progesterone on growth-factor-induced proliferation and migration in human female aortic smooth muscle cells *in vitro*. *Cardiovasc Res* 32, 516-523.
 21. Somjen D, Kohen F, Jaffe A, Amir-Zaltsman Y, Knoll E, Stern N (1998) Effects of gonadal steroids and their antagonists on DNA synthesis in human vascular cells. *Hypertension* 32, 39-45.
 22. Graves LM, Bornfeldt KE, Sidhu JS, Argast GM, Raines EW, Ross R, Leslie CC, Krebs EG (1996) Platelet-derived growth factor stimulates protein kinase A through a mitogen-activated protein kinase-dependent pathway in human arterial smooth muscle cells. *J Biol Chem* 271, 505-511.
 23. Lavoie JN, L'Allemain G, Brunet A, Müller R, Pouyssegur J (1996) Cyclin D1 expression is regulated positively by the p42/p44MAPK and negatively by the p38/HOGMAPK pathway. *J Biol Chem* 271, 20608-20616.
 24. Weinberg RA (1995) The retinoblastoma protein and cell cycle control. *Cell* 81, 323-330.
 25. La Thangue NB (1996) E2F and the molecular mechanisms of early cell-cycle control. *Biochem Soc Trans* 24, 54-59.
 26. Marra DE, Simoncini T, Liao JK (2000) Inhibition of vascular smooth muscle cell proliferation by sodium salicylate mediated by upregulation of p21^{waf1} and p27^{kip1}. *Circulation* 102, 2124-2130.
 27. Wakino S, Kintscher U, Kim S, Jackson S, Yin F, Nagpal S, Chandraratna RA, Hsueh WA, Law RE (2001) Retinoids inhibits proliferation of human coronary smooth muscle cells by modulating cell cycle regulators. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21, 746-751.
 28. Yang Z, Kozai T, van der Loo B, Viswambharan H, Lachet M, Turina MI, Malinski T, Lüscher TF (2000) HMG-CoA reductase inhibition improves endothelial cell function and inhibits smooth muscle cell proliferation in human saphenous veins. *J Am Coll Cardiol* 36, 1691-1697.
 29. Kintscher U, Wakino S, Kim S, Jackson SM, Fleck E, Hsueh WA, Law RE (2000) Doxazosin inhibits retinoblastoma protein phosphorylation and G(1)->S transition in human coronary smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20, 1216-1224.
 30. Takahashi K, Ohmichi M, Yoshida M, Hisamoto K, Mabuuchi S, Arimoto-Ishida E, Mori A, Tsutsumi S, Tasaka K, Murata Y, Kurachi H (2003) Both estrogen and raloxifene cause G1 arrest of vascular smooth muscle cells. *J Endocrinol* 178, 319-329.
 31. Mendelsohn ME, Karas RH (1999) The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med* 340, 1801-1811.
 32. Diep QN, Touyz RM, Schiffrin EL (2000) Docosahexaenoic acid, a peroxisome proliferators-activated receptor- α ligand, induces apoptosis in vascular smooth muscle cells by stimulation of p38 mitogen-activated protein kinase. *Hypertension* 36, 851-855.
 33. Mori-Abe A, Tsutsumi S, Takahashi K, Toya M, Yoshida M, Du B, Kawagoe J, Nakahara K, Takahashi T, Ohmichi M, Kurachi H (2003) Estrogen and raloxifene induce apoptosis by activating p38 mitogen-activated protein kinase cascade in synthetic vascular smooth muscle cells. *J Endocrinol* 178, 417-426.
 34. The Women's Health Initiative Steering Committee (2004) Effects of Conjugated Equine Estrogen in Postmenopausal Women With Hysterectomy: The Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial. *JAMA* 291, 1701-1712.
 35. Rossouw JE, Prentice RL, Manson JE, Wu L, Barad D, Barnabei VM, Ko M, LaCroix AZ, Margolis KL, Stefanick ML (2007) Postmenopausal Hormone Therapy and Risk of Cardiovascular Disease by Age and Years Since Menopause. *JAMA* 297, 1465-1477.
 36. Manson JE, Allison MA, Rossouw JE, Carr JJ, Langer RD, Hsia J, Kuller LH, Cochrane BB, Hunt JR, Ludlam SE, Pettinger MB, Gass M, Margolis KL, Nathan L, Ockene JK, Prentice RL, Robbins J, Stefanick ML; WHI and WHI-CACS Investigators (2007) Estrogen therapy and coronary-artery calcification. *N Engl J Med* 356, 2591-602.
 37. Schierbeck LL, Rejnmark L, Tofteng CL, Stilgren L, Eiken P, Mosekilde L, Køber L, Jensen JE (2012) Effect of hormone replacement therapy on cardiovascular events in recently postmenopausal women: randomised trial. *BMJ* 345, e6409.