

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15660

研究課題名(和文)フレイル抑制機構におけるエストロゲンの役割：炎症に着目して

研究課題名(英文)The Role of Estrogen in Frailty Suppression Mechanisms: Focusing on Inflammation

研究代表者

七尾 道子(Nanao -Hamai, Michiko)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40876091

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：メスマウス(C57BL/6JMsSlc, 20週齢)において、卵巣摘出+血管炎症により大動脈瘤形成が亢進し、E2補充によって抑制された。E2がIL-6, IL-1などの炎症性サイトカインの抑制を介して血管炎症を抑制し、大動脈瘤形成を抑制することが示唆された。腹腔マクロファージ及びマウスマクロファージ様細胞RAW264.7細胞を用いた検討では、LPS刺激に対してE2は抑制的に働くことが示された。筋肉では、卵巣摘出+血管炎症によりヒラメ筋重量が減少し(腓腹筋量は不変)、握力が低下(持久力は不変)した。いずれもE2補充により回復し、一部の筋肉・筋機能においてE2は炎症抑制的に働くことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

女性では、更年期以降エストロゲンの分泌が低下し、加齢と共に動脈硬化や骨粗鬆症、サルコペニア、認知症の発症リスクが高まることが知られている。本研究によってE2減少が引き起こす炎症制御の破綻による慢性炎症が、フレイル関連臓器、特に血管と筋肉の機能低下・老化を引き起こすことが示唆された。今後、フレイル予防薬としての新たな選択的エストロゲン受容体調節薬の開発が期待される。

研究成果の概要(英文)：In female mice (C57BL/6JMsSlc, 20 weeks old), the formation of aortic aneurysms was enhanced by ovariectomy combined with vascular inflammation, and this was suppressed by E2 supplementation. It was suggested that E2 suppresses vascular inflammation and aortic aneurysm formation through the inhibition of inflammatory cytokines such as IL-6 and IL-1. Studies using peritoneal macrophages and mouse macrophage-like RAW264.7 cells showed that E2 acts suppressively in response to LPS stimulation.

In muscles, ovariectomy combined with vascular inflammation resulted in a decrease in the weight of the soleus muscle (with no change in gastrocnemius muscle weight) and a reduction in grip strength (with no change in endurance). Both were recovered by E2 supplementation, suggesting that E2 acts to suppress inflammation in certain muscles and muscle functions.

研究分野：老年医学

キーワード：エストロゲン フレイル 炎症 血管老化

1. 研究開始当初の背景

女性は、男性と比べて平均寿命が長いものの、男女の平均寿命と健康寿命の差（本研究では「不健康期間」と呼ぶ）を比較すると、女性は男性よりも不健康期間が3年強長く、当該不健康期間の短縮が喫緊の課題である。

フレイルは「加齢とともに心身の活力が低下し、複数の慢性疾患の併存などの影響もあり、心身の脆弱性が出現した状態であるが、一方で適切な介入・支援により、生活機能の維持向上が可能な状態像」と定義される。特に女性では、更年期以降エストロゲン分泌が低下し、加齢と共に動脈硬化や骨粗鬆症、サルコペニア、認知症の発症リスクが高まることが知られている。これらの病態は心身の機能低下に繋がり、フレイル発生の危険因子となる。実際、フレイルのリスクは、閉経後女性では同年代の男性に比較して高いことが報告されている。このように、内因性エストロゲンは臓器保護的に作用すると考えられ、その作用機序として抗炎症作用も示唆されているが(May AT et al., J Immunol, 2009)、詳細は不明である。

他方で、ホルモン補充療法には凝固系亢進や乳がん、子宮がんの増加など有害作用の発現リスクも一定以上あるため、更年期症状に対する短期的使用を除き、基本的に行うべきではないと勧告されている。したがって、エストロゲンに代わる選択的エストロゲン受容体調節薬が注目され、骨粗鬆症に対しては広く使用されている。サルコペニア、心血管病に対する選択的エストロゲン受容体調節薬は未開発であり、大前提として筋肉、血管におけるエストロゲン受容体の役割を明確にすることが重要である。

近年、慢性炎症を基盤に細胞や臓器の老化や機能低下が引き起こされることが報告されており、女性では女性ホルモンであるエストロゲン分泌の低下が全身の炎症を惹起し、血管老化やサルコペニアを介してフレイルに繋がるのではないかと考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、閉経後のフレイル関連臓器（特に血管、筋肉）の老化・機能不全に対するエストロゲンの作用について、炎症に着目して検証することで、エストロゲンのフレイルに対する作用とその機序を明らかにすることを目的とする。これらが明らかになれば、フレイル予防のための新規エストロゲン受容体調節薬の開発という創造的な試みにつなげることができる。

3. 研究の方法

1) エストロゲン低下が血管炎症を介して血管老化に与える影響とエストロゲン補充による改善効果

メスマウス (C57BL/6JmsSlc, 10 週齢) において、エストロゲン欠乏を卵巣摘出により惹起した。血管炎症は申請者が以前確立した塩化カルシウムの局所塗布とアンジオテンシンの持続投与による炎症性大動脈瘤モデルを用いた (Son BK et al., *Nat Commun*, 2015)。まず、卵巣摘出後に血管炎症を誘導したマウス (卵巣摘出 + 血管炎症誘導マウス) で、炎症惹起に伴う大動脈瘤形成の亢進と炎症性サイトカインの上昇が認められるか検証した。具体的には、卵巣摘出 + 血管炎症誘導マウスの大動脈径の計測、血中および大動脈の炎症性サイトカインの変化を sham 手術の対照群と比較検討した。次に、エストロゲン補充により、血管炎症および老化が抑制できるか、またその抑制がエストロゲン受容体を介するかを検証した。

2) エストロゲン低下が筋炎症を介して筋老化・機能低下に与える影響とエストロゲン補充による改善効果

まず、メスマウス (C57BL/6JmsSlc, 10 週齢) において、卵巣摘出後に血管炎症を誘導し、骨格筋 (ヒラメ筋、腓腹筋) への影響を、形態学的、病理組織学的に sham 手術の対照群と比較した。また、骨格筋の機能を筋力 (grip-strength テスト) や運動機能 (トレッドミルテスト) で

評価した。

4. 研究成果

1) エストロゲン低下が血管炎症を介して血管老化に与える影響とエストロゲン補充による改善効果

10週齢および20週齢いずれのマウスにおいても卵巣摘出後に血管炎症を誘導したマウス（卵巣摘出＋血管炎症誘導マウス）で、炎症惹起に伴う大動脈瘤形成の亢進が認められたが、20週齢においてその変化は顕著であった。20週齢マウスに卵巣摘出したうえでエストロゲンを補充し、血管炎症を誘導したところ、卵巣摘出によって拡大した大動脈瘤の形成はエストロゲン補充によって優位に抑制された。免疫染色では、卵巣摘出と血管炎症誘導によってf4/80陽性の炎症性マクロファージが中膜から外膜に浸潤し、IL-6などのサイトカインに応答してリン酸化されるpSTAT3が同じく陽性となり、これらの変化はエストロゲン補充により抑制された。

Realtime PCR を用いた大動脈組織のRNA解析では、F4/80, IL-6, IL-1 が卵巣摘出と血管炎症誘導によって上昇し、エストロゲン補充によってsham群と同レベルまで抑制された。

以上、雌マウスに対するE2の欠乏および補充により、血管炎症と大動脈瘤形成が制御されることが確認でき、E2は大動脈瘤に対して抑制的に働くことが示された。

続いて、E2の血管炎症の主座がどこにあるのか（マクロファージなのか、血管平滑筋細胞なのか、あるいはその他なのか）を検証すべく、まず腹腔マクロファージ及びマウスマクロファージ様細胞RAW264.7細胞を用いて検討を行った。野生型メスマウス（C57BL/6JmsSlc, 7-8週齢）の腹腔にBrewer's チオグリコレート培地をマウスあたり1ml注射(i.p)し3-4日飼育後に磯フルラン吸入麻酔を用いて安楽死させた。マクロファージ細胞を回収後に培養し、Ang /LPS刺激に対するE2の作用およびエストロゲン受容体（ $ER\alpha$, $ER\beta$ ）の関与を検討した。Ang による刺激は弱く、その刺激を抑制するE2の作用は確認できなかったが、LPS刺激に対してE2 (10^{-7} - $9M$)は抑制的に働くことが示された。

2) エストロゲン低下が筋炎症を介して筋老化・機能低下に与える影響とエストロゲン補充による改善効果

メスマウス（C57BL/6JmsSlc, 10週齢, 20週齢）においてE2欠乏＋血管炎症が骨格筋に与える影響について評価を行った。その結果、10週齢では骨格筋重量に明らかな変化は認められなかった。20週齢ではE2欠乏＋血管炎症によってヒラメ筋重量が減少し、E2補充により回復した。腓腹筋には明らかな影響を与えなかった。また筋機能を評価したところ、E2欠乏＋血管炎症によって握力が低下し、E2補充により回復した。他方で、持久力には変化を与えなかった。いずれもE2補充により回復したことから一部の筋肉・筋機能においてエストロゲンは炎症抑制的に働くことが示唆された。今後、局所炎症の有無や血管炎症との関わりなどより詳細な機序解明が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 七尾 道子, 孫 輔卿, 宋 沢涵, 豊島 弘一, 大浦 美弥, 小室 絢, 小川 純人, 秋下 雅弘
2. 発表標題 エストロゲンによる大動脈瘤形成の制御 - マウスモデルを用いた検討 -
3. 学会等名 第64回日本老年医学会学術集会
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名 七尾 道子, 孫 輔卿, 宋 沢涵, 豊島 弘一, 大浦 美弥, 小室 絢, 小川 純人, 秋下 雅弘
2. 発表標題 大動脈瘤形成に対するエストロゲンの抑制作用：マウスモデルを用いた検討
3. 学会等名 第54回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名 七尾 道子, 孫 輔卿, 豊島 弘一, 大浦 美弥, 小室 絢, 小川 純人, 秋下 雅弘
2. 発表標題 エストロゲン欠乏による大動脈瘤形成の促進作用 - 卵巣摘出マウスモデルを用いた検討 -
3. 学会等名 第63回日本老年医学会学術集会
4. 発表年 2021年 ~ 2022年

1. 発表者名 七尾 道子, 孫 輔卿, 豊島 弘一, 大浦 美弥, 小室 絢, 小川 純人, 秋下 雅弘
2. 発表標題 エストロゲンは腹部大動脈瘤の形成を抑制する：卵巣摘出マウスを用いた検討
3. 学会等名 第53回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年 ~ 2022年

1. 発表者名 Michiko Nanao-Hamai, Bo-Kyung Son, Aya Komuro, Miya Oura, Koichi Toyoshima, Zehan Song, Sumito Ogawa, Masahiro Akishita.
2. 発表標題 Inhibitory effects of estrogen on abdominal aortic aneurysm formation in ovariectomized mice
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Atherosclerosis (国際学会)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 七尾 道子, 孫 輔卿, 宋 沢涵, 豊島 弘一, 大浦 美弥, 小室 絢, 小川 純人, 秋下 雅弘
2. 発表標題 エストロゲンによる大動脈瘤形成の制御 - マウスモデルを用いた検討 -
3. 学会等名 第64回日本老年医学会学術集会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 七尾 道子, 孫 輔卿, 宋 沢涵, 豊島 弘一, 大浦 美弥, 小室 絢, 小川 純人, 秋下 雅弘
2. 発表標題 大動脈瘤形成に対するエストロゲンの抑制作用：マウスモデルを用いた検討
3. 学会等名 第54回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年～2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------