

での血中成長ホルモン濃度、他の血中ホルモン濃度を測定した。身長・体重の増加、摂食量などを測定し、グレリン欠損の影響を調べた。欠損マウスにおいて摂食と飲水の生体リズムを調べた。一日の決まった時間（9時から13時まで）だけ摂食を可能にした制限給餌を行って、摂食量を調べた。グレリン受容体が海馬にも存在することから、グレリンの記憶形成における役割が示唆されるので、欠損マウスにおいて記憶障害の有無を調べた。さらにグルコース負荷による血糖値の変化や、肝臓における脂質代謝酵素の変動、視床下部におけるグレリン以外の摂食調節ペプチドの発現について調べた。

（倫理面への配慮）

動物実験に際してはその愛護に留意し、投与実験や屠殺の際に苦痛を最小限にとどめるように十分配慮した。

### C. 研究結果

我々は平成17年度に成長ホルモン分泌促進活性および摂食亢進活性をもつホルモンであるグレリンの欠損マウスの作製を完了した。グレリン遺伝子変異マウスは、ヘテロ欠損マウス、ホモ欠損マウスを得て、順調に増えている。グレリン欠損マウスは不妊ではなく、妊娠や出産の過程、出産数は野生型と変わらない。

グレリン欠損マウスで確かにグレリンの発現がないかを、グレリン mRNA の発現を解析し、胃でのグレリン濃度を測定することで確認した。グレリン mRNA は野生型では視床下部、下垂体、胃、十二指腸、膵臓、精巣に発現が見られたが、グレリン欠損マウスでは発現が全くなかった。また胃でのグレリンのペプチド含量は欠損マウスでは全く検出できなかった。このようにこのマウスではグレリンが確かに欠損していることが確認された。

新生児にも特に目立った外見上の異常は見られず、順調に成長する。身長と体重も正常に増加し、体型や成長曲線も野生型マウスと変化ない。臓器・組織の奇形や異常もなかった。

またグレリン欠損マウスでは血中の成長ホルモン濃度、レプチン濃度、インスリン濃度、血中グルコース濃度、血中脂質濃度などは野生型マウス

と差がなかった。またグレリン欠損によってグレリン受容体の発現レベルには変化がなかった。

グレリンは摂食亢進性のホルモンであるが、このグレリン欠損マウスでは予想される摂食行動に関しては、異常が見られなかった。摂食量と飲水量はグレリン欠損マウスと野生型マウスでは差がなかった。生後の体重の増加に関してグレリン欠損マウスと野生型マウスでは差がなかった。摂食リズムと摂水リズムについても野生型マウスと違いはなかった。また一日4時間の制限給餌にしても摂食量に変化はなかった。餌の嗜好性を調べてみたが、普通食とあるいは高脂肪食の摂食量に関しても、グレリン欠損マウスと野生型マウスでは差がなかった。

視床下部ではグレリン以外にも複数の摂食調節ペプチドが、食欲の調節に関連しており、中でも NPY と POMC はグレリンのターゲット細胞に含まれる神経ペプチドであり、グレリンの摂食調節に重要である。ところがこれらの発現量は、グレリン欠損マウスと野生型マウスとでは差がなかった。

血糖負荷後の血糖値の変化を調べてみたが、正常時および絶食後に実験を行ったどちらの時でも、血糖値の推移にグレリン欠損マウスと差がなかった。

さらに肝臓における脂質代謝に関連した酵素の発現量もグレリン欠損マウスと野生型マウスでは差が見られなかった。

以上、グレリン欠損マウスには摂食行動や代謝活動に関して、現在までに明瞭な表現型は見つからなかった。

### D. 考察

グレリン欠損マウスに関してはすでに米国のグループが欠損マウスの作製と表現型の解析を行っており、論文も発表されている。しかし、我々の結果と同じく、いずれのグループも目立った表現型を観察していない。

我々はグレリン欠損マウスの遺伝的背景を C57BL/6J に整えた上で解析を行った。その結果我々の検討でも、欠損マウスの体重、摂食量、行動に目立った変化はなかった。これはグレリンの摂食亢進作用の欠落を補うような機構が、生体内

にあることを示している。つまり食欲の刺激はグレリンが単独で行っているのではなく、複数の因子が関与したものと考えられる。そのためグレリンが欠損しても、バックアップの因子がうまく食欲・摂食行動を調節して食欲の低下・消失を防止し、それによる栄養不良や死ぬことがないようにしていると考えられる。

現在さらに詳細に表現型を解析している。

## E. 結論

グレリン欠損マウスを作製した。グレリン欠損マウスの摂食行動には特徴的な表現型は観察できなかった。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- ① Kojima M, Kangawa K, Drug insight. The functions of ghrelin and its potential as a multitherapeutic hormone. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 2: 80-88, 2006.
- ② Takahashi H, Kurose Y, Kobayashi S, Sugino T, Kojima M, Kangawa K, Hasegawa Y, Terashima Y. Ghrelin enhances glucose- induced insulin secretion in scheduled meal- fed sheep. *J Endocrinol*, 189: 67- 75, 2006.
- ③ Hosoda H, Kojima M, Kangawa K. Biological, physiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *J Pharmacol Sci*, 100: 398- 410, 2006.
- ④ Matsuda K, Nishi Y, Okamatsu Y, Kojima M, Matsuishi T. Ghrelin and leptin: a link between obesity and allergy? *J Allergy Clin Immunol*, 117: 705- 706, 2006.
- ⑤ Yabuki A, Taharaguchi S, Ichii O, Kojima M, Nishi Y, Mifune H, Kamimura R, Matsumoto M, Suzuki S. Immunohistochemical localization of ghrelin in rodent kidneys. *Histochem Cell Biol*, 126: 231- 238, 2006.
- ⑥ Nagaya N, Kojima M, Kangawa K. Ghrelin, a novel growth hormone- releasing peptide, in the treatment of cardiopulmonary- associated cachexia. *Intern*

*Med*, 45: 127- 134, 2006.

- ⑦ Nakahara K, Nakagawa M, Baba Y, Sato M, Toshinai K, Date Y, Nakazato M, Kojima M, Miyazato M, Kaiya H, Hosoda H, Kangawa K, Murakami N. Maternal ghrelin plays an important role in rat fetal development during pregnancy. *Endocrinology*, 147: 1333- 1342, 2006.
- ### 2. 学会発表
- ① 児島将康: ニューロメジン U の新しい機能. 第 20 回 日本糖尿病動物研究会、東京、2006.
  - ② 児島将康: Neuromedin U と摂食・肥満・炎症. 第 2 回 宮崎サイエンスキャンプ、宮崎、2006.
  - ③ 児島将康: Novel functions of appetite- regulating peptide. 第 83 回 日本生理学会、前橋、2006.
  - ④ 児島将康: 神経ペプチド“ニューロメジン U”による免疫反応の制御. 第 10 回 多摩アレルギー懇話会、東京、2006.
  - ⑤ 児島将康: グレリンとニューロメジン U、2 つの摂食調節ペプチドの新しい機能. 第 79 回 日本内分泌学会学術総会、神戸、2006.
  - ⑥ 児島将康: グレリンによる摂食調節の分子機構. 北里大学獣医畜産学部ハイテク・リサーチ・センター報告会、三沢、2006.
  - ⑦ 児島将康: オーフアン受容体を使った新しい生理活性ペプチドの探索 (グレリンを例として). 第 16 回 WS フォーラム、2006.
  - ⑧ Kojima M: Hypothalamic ghrelin and its regulation. 2006 Seoul Symposium on Obesity and Diabetes, Seoul, 2006.
  - ⑨ Kojima M: Regulation of ghrelin production and secretion. The 7th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry, Singapore, 2006.
  - ⑩ Kojima M: Discovery of ghrelin and its impact on the basic and clinical research. The 16th International Symposium on Regulatory Peptides, Hakone, 2006.
  - ⑪ Kojima M: Regulation of Ghrelin Production and Secretion. The 32th Korean Diabetes Association, Gyeongju, 2006.
  - ⑫ Kojima M: The role of ghrelin in GH release and appetite regulation. The 3rd International Congress of the GRS and the IGF Society, Kobe, 2006.

## H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

研究協力者

佐藤貴弘（久留米大学分子生命科学研究所）

井田隆徳（久留米大学分子生命科学研究所）

## 消化器疾患の病態に対するグレリン臨床研究

分担研究者 大津留 晶 長崎大学医学部・歯学部附属病院

永井隆記念国際ヒバクシャ医療センター 助教授

消化器疾患の病態におけるグレリンの役割とその治療的意義を明らかにする目的で、以下の4つのプロジェクトを行っている。(1) 病態マーカーとしてのグレリンの意義を明らかにするため、摂食以外の要因によるグレリン日内リズム調節機構の解析を、絶食試験と摂食試験下に行った。グレリンは、絶食下でも日内変動リズムが形成され、そのリズムにより食欲や成長ホルモンのサージが形成されることが推測された。(2) 胃全摘、亜全摘症例を対象とし、グレリン補充療法臨床研究を行った。胃切除術後の患者 QOL を低下させている食欲低下や体重減少その他の内分泌異常が、グレリン欠乏による特異的な胃内内分泌機能低下症にもとづく可能性が考えられ、グレリンの補充臨床研究は有効な治療法となりうる可能性を追求している。(3) ヘリコバクター・ピロリによる萎縮性胃炎でも、その程度に比例して、グレリンの産生低下が認められ、中高齢者のソマトポーズに胃切除術だけでなく、萎縮性胃炎に伴うグレリン欠乏状態が関与する可能性が伺われた。(4) グレリンと慢性肝疾患の関係について、慢性肝疾患患者の臨床データを解析した。脂肪肝や非アルコール性脂肪性肝炎では、血中グレリンの高値が危険因子の一つと考えられた。さらにインターフェロン治療後の食思不振の一部にグレリンの低値が関与している可能性が示唆された。

### A. 研究目的

(1) これまで証明されているグレリンの食欲亢進作用は、主としての動物実験におけるデータを基にしている。しかし、人間の食欲や空腹感はより複雑な調節を受けていると想像される。そこでまずヒトにおけるグレリンの日内リズムが、摂食による血糖値上昇やインスリン上昇などの代謝調節により生じているのか、それともまったく別の調節機構があるのかを明らかにし、食欲と空腹感との関連をみる目的で、絶食試験と摂食試験を行い、解析を試みた。

(2) 胃癌の診断や手術の進歩に伴い、胃切除術を受けられた多くの患者の方々に、長期間生存が得られるようになった、しかし一方で、胃切除にとりもなう様々な機能障害が患者の QOL にとって重

要な問題となってきた。そこで胃切除後の機能障害にグレリンの欠乏が関与するかどうかを検討することを本分担研究の第一の目的とした。そこで、胃切除術後にグレリンが非生理的に欠乏した患者さんにおいて、グレリン補充療法の治療的意義があるかどうかを見極める目的で、現在胃切除患者におけるグレリン補充療法臨床研究を行っている。

(3) 消化性潰瘍の治療に当たって *H. pylori* の除菌療法が保険適応となり、胃癌の予防になる可能性が示唆され、一般臨床の現場でも盛んに施行されるようになってきた。しかしながら、除菌に纏わる幾つかの問題点も指摘されている。除菌後の肥満（体重増加）もその1つであり、生活習慣病の観点から非常に重要な点である。このことは、

除菌治療は潰瘍の再発や胃癌の発生の抑制という点ではメリットがあるが、肥満の抑制という点ではデメリットとなる可能性も考えられ、その病態解明は重要な課題である。そこで、ヘリコバクター感染に伴う慢性胃炎などにより、グレリンの産生に影響が出るかどうか検討することを第2の目的とした。

(4) ウイルス性C型慢性肝炎の治療の現在切り札になっているインターフェロン治療は、インターフェロンの様々な副作用で、治療継続困難であったり、治療中のQOLが著しく障害されることが問題である。その副作用の一つにインターフェロンによる食思不振があるこの食思不振にグレリンの発現調節が関与していないかの臨床研究を行う。また慢性肝疾患の別の病態である脂肪肝や非アルコール性脂肪性肝炎では、肥満がその発症の上流にあるといわれているが、グレリン発現調節の変化の有無や、もし何らかの異常があれば、病態に与えるグレリンの影響を検討する。

## B. 研究方法

(1) 健康成人8名に対し、絶食試験と摂食試験を行い、血中グレリン濃度の日内変動と、その他の食欲に影響があると考えられている液性因子や代謝マーカー（レプチン、成長ホルモン、インスリン、ガストリン、血糖、ケトン体、遊離脂肪酸など）の日内変動および空腹感や食欲スコアとの関連を検討した。

尚、本研究計画は、長崎大学医学部・歯学部附属病院倫理審査委員会にて承認された（承認番号07011826）。

(2) グレリン補充療法臨床研究の症例のエントリー基準を、以下に示す。

- ①年齢 50歳～75歳
- ②手術はcurative operationで、イレウス、縫合不全、創部感染症などの術後合併症を認めない症例。
- ③他の進行性悪性腫瘍の合併がないこと。
- ④重篤な肝疾患（Child B以上）、心疾患（NYHA III度以上）、腎疾患（Crクリアランス20以下）を有しないこと。
- ⑤自らの意思でこの臨床研究に参加を申し出て、書面による同意があること。

⑥細菌や真菌などによる活動性感染症を持たないこと。

⑦Performance Status II度以上の活動性があること。

⑧除外基準としては、妊婦・授乳婦、担当医師が不適と認めた症例。

またヒト投与用の精製グレリンは、循環器病センター内のペプチド研で生合成された原末を、長崎大学病院薬剤部の無菌製剤用のクリーンベンチの中で、d-mannitol (final: 3.75%) を含む注射用蒸留水で溶解し、0.22  $\mu$ mのfilterを通した後、グレリン200mg/mlの濃度で、1mlずつ分注し、-30°Cで使用時まで保存する。同ペプチド製剤を用いて、循環器病センターと京都大学探索医療センターと神戸大学医学部附属病院ですでに第I相および第II相臨床試験が施行され、単回投与および2週間連続投与の安全性と認容性が出されており、院内製剤ではあるが極めて安全性は高いことが示されている。今回長崎大学病院においても院内製剤として投与する。院内調剤については薬剤部においてその審査と調剤マニュアルを作成した。

グレリン注射薬の投与方法は、グレリン2  $\mu$ g/kgを生理的食塩水50mlにし、15分間で点滴静注する。プラセボはグレリン溶液と等量の3.75% d-mannitol液を50ml生理的食塩水に混入し、同様に点滴静注する。術直後症例は術後14日目より10日間、朝食前に投与する（実薬12例、プラセボ12例）。一方、術後1年以上の症例は、10日間投与を行うが、double blindでなくグレリンのみを、朝食前に点滴投与を行う。

（倫理面への配慮）

- ①患者本人がグレリンの臨床研究について十分な説明を受けた後に、患者個人の自由意志により決定されなければならない。
- ②薬剤による治療は患者本人の意志によりいつでも中止することができる。
- ③本薬剤による治療経験を学術論文などで公表する際は、患者個人の権利、プライバシーは厳重に保証されなければならない。

尚、本研究計画は、長崎大学医学部倫理審査委員会にて承認された（承認番号16091054）。

(3) 慢性萎縮性胃炎の対象は、長崎大学医学部附属病院光学診療部で胃内視鏡検査を受けた患者112

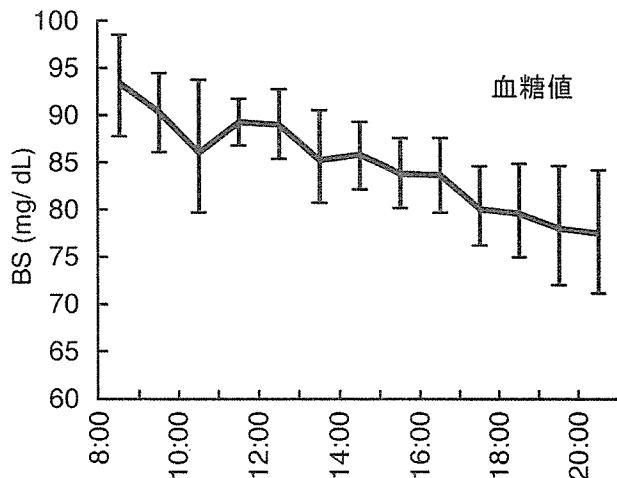
名を対象に、血漿、血清を採取し、グレリン

(N-terminal & C-terminal)、IGF-1、GH、レプチンの測定を行った。また身長・体重より BMI を求めた。

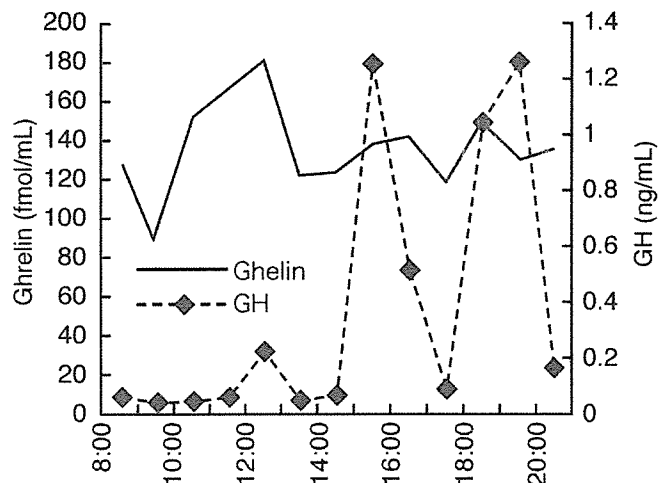
(4) 長崎大学病院に 2005 年に入院し肝生検を施行した 68 名 (非アルコール性脂肪性肝障害 NAFLD 25 名、慢性 C 型肝炎 35 名、肝硬変 C 型 6 名、慢性 B 型肝炎 2 名) を対象とした。病理学的に大滴性脂肪沈着の有無、その程度を調査し層別化した。脂肪沈着との関連を統計学的に評価した。グレリンは早朝空腹時に測定した。また C 型慢性肝炎でインターフェロン治療を行った群は、その前後での比較を行った。

### C. 研究結果

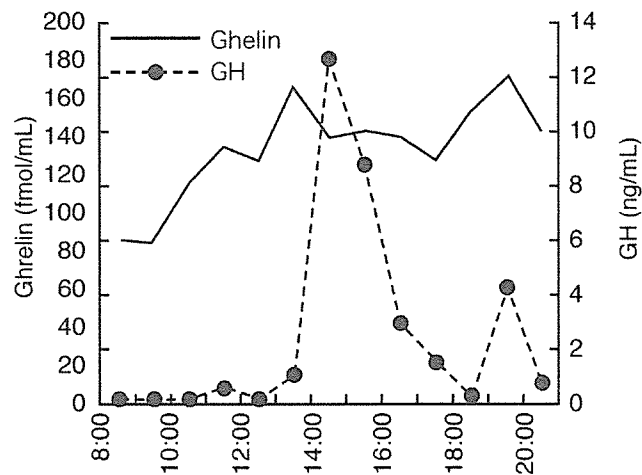
(1) グレリンは絶食時にもかかわらず、摂食時と同様な、2 峰性あるいは 3 峰性のピークが認められた。グレリンのピークに連動するように GH の日内サージも認められた (図 1~5 参照)。一方、血糖値、ケトン体、レプチン、インスリン、FFA などは変動の個人差が少なく、また増減パターンは、グレリン・空腹感と一致せず、一方向性の変化のみであった。



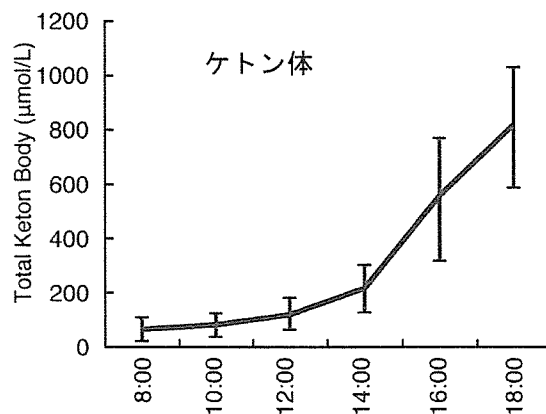
< 図 1 >



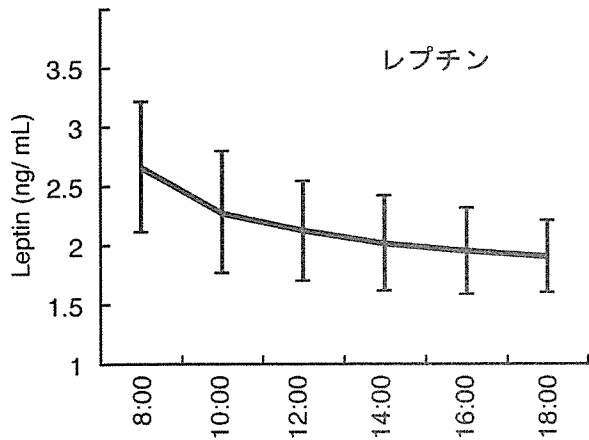
< 図 2 >



< 図 3 >



< 図 4 >



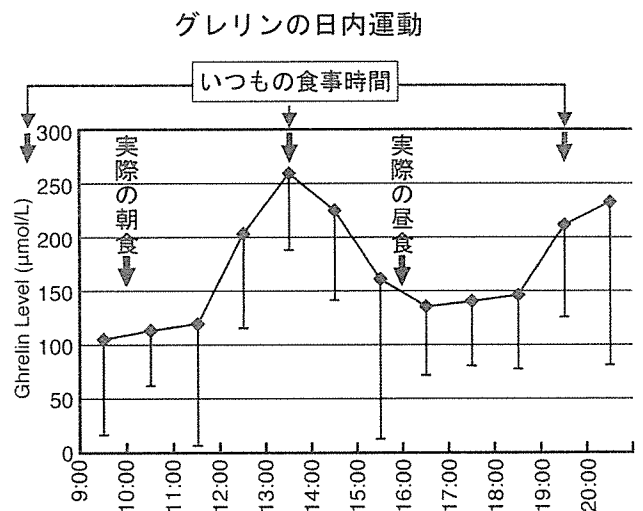
<図 5>

さらに通常の食事時間を2時間ずらして摂ってもらったところ、グレリンの日内変動リズムは摂った食事によってではなく、習慣付けられた日常のパターンにより規定されている結果が得られた(図6)。

(2) 術前のグレリンレベルを100%とすると、グレリンの血中レベルは、幽門側胃切除では78%であるのに対し、胃全摘術では32%に低下していた。また摂食量も術後4週時点で幽門側胃切除術が術前の80%であるのに比べ、胃全摘術は50%程度に低下し、グレリンの低下と比例していた。さらに術後6ヶ月以上経過した安定期で、術前BMIと比較すると、グレリンの血中レベルと%BMI減少率に負の相関が見られた( $r=0.734$ ,  $p<0.001$ )。幽門側胃切除と胃全摘術では、残存する胃の体積が当然異なるので、術後のグレリンレベルはそれを反映しているとも考えられるが、今回検討した幽門側切除術はBillroth I法で再建しているのに対し、全摘術はRoux-en-Y再建を行っているため、再建方法による影響の可能性も否定できない。そこで部分胃切除だがRoux-en-Y再建により近いBillroth II法による再建術をおこなっている臍頭十二指腸切除術との比較を行った。この手術では体重の減少率は胃全摘術とほぼ同じだが、血中グレリンのレベルの低下は認められなかった。よって我々の検討では、グレリンレベルは再建術式よりは、グレリン産生細胞の切除範囲に規定されており、それが術後の食欲低下や体重減少にも影響

があると考えられた。レプチンのレベルはBMIと相関が認められたが、グレリンとの関連は認めなかった。また術後のグレリンの変動にもレプチンやGHとの連動性はなかったが、IGF-Iはグレリンと同様な経時的変動が見られた。

これらの結果を基に、グレリン投与により胃切除患者においても、食欲の増進が見られるかの臨床研究を行った。結果の判明した1例に結果では、グレリン投与により、GH、ACTHは著明に反応していることが判った。また食欲も増加するが、空腹感はあまり変化しなかった。体重は、グレリン投与前まで術直後より次第に減少してきていたが、グレリン投与後体重の低下はストップし、除脂肪体重量が増加した。

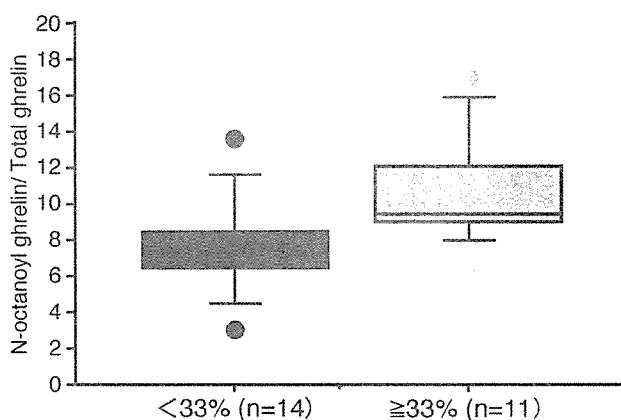


<図 6>

(3) 次にH. pylori感染・非感染患者に分けて、胃で産生される消化管ホルモン(グレリン、レプチン、ガストリン)の測定を行った。血漿グレリン値はペプシノーゲン1/2比でみた胃粘膜萎縮度と有意な負の相関性がみられた。またH. pylori陽性者では、加齢との関連性も認められた。レプチンとH. pylori感染に関しては、血漿レベルではBMIで補正した場合有意差はなかったが胃粘膜局所では陽性患者で高値を呈した。血漿ガストリン値は、H. pylori陽性者で上昇傾向にありレプチンとの相関性がみられた。

(4) 全症例に対しての検討では、C-Ghr値はGH、

ヒアルロン酸と正の相関、BMI、WBC、Hb、ChEと負の相関を認めた。N-Ghr値はGHと正の相関、HOMA-IR、WBC、LDHと負の相関を認めた。またN-Ghr/C-Ghr(%)はNAFLD症例において高度の脂肪沈着(33%以上)を有する群が脂肪沈着の少ない群(33%未満)と比較して高値を示した(図7)。C型慢性肝炎インターフェロン治療前後の血中グレリンの濃度は、低下するものもあれば上昇するものもあった。しかし、グレリンの濃度が低下している症例は、極めて食思不振が強く、またウイルスの排除も悪い傾向にあった。



<図7>

#### D. 考察

胃全摘出術後に認められる体重減少、食欲不振、ダンピング症候群、貧血、骨粗鬆症、消化管運動障害などの様々な機能障害の一部もしくはかなりはかなりの病態メカニズムにグレリン欠乏が関与している可能性が示唆された。今後、胃切除術を受けられた患者さんに対して、グレリン治療による胃切除術後の病態改善が可能かどうか、症例を追加してさらに検討を行う予定である。

特に胃切除後にグレリンの日内リズムが完全に消失する群では、GHの日内サージも低血糖発作などによる刺激を除けば、消失することが推測され、そのことが術後の病態に与える影響が示唆され現在検討中である。

また長期的なH. pylori感染が各種消化管ホルモンに影響を及ぼしている可能性が示唆された。除菌前後の変化も現在検討中だが、除菌後数ヶ月で

血中グレリンレベルが回復してくる例が多く認められた。このことはH. pylori持続感染による局所炎症性サイトカインなどによるグレリン産生内分泌細胞のturn-overに対する影響などが考えられた。

幽門側胃切除でも血中グレリンのレベルに幅があるのは残存胃のH. pylori感染の状態が影響を与えている可能性が示唆された。

一方、H. pylori持続感染もしくは除菌後の患者さんの中で、比較的若年の方の中にも、BMIが20以下で、食欲がなくグレリンが低値で、なかなか太れないことを訴えられる方々がおられる。神経性食指不振症の診断にはあてはまらず、このような患者に対するグレリン補充治療の研究も今後期待される。

慢性肝炎インターフェロン治療で、グレリンが低下する症例は、デスアシルグレリンよりも、N端で測定したアシル化グレリンで、より明らかであった。このことよりインターフェロンの副作用が生じるかどうかは、インターフェロンがグレリン発現に直接影響するよりもアシル化のメカニズムに影響を与えて、発現している可能性が考えられた。

またNASHは、GH欠損症の人で高頻度に見られることより、肝の脂肪化とグレリンの関係をさらに検討してゆきたい。

さらに成長ホルモンの抑制された insulin-sensitive long-lived transgenic dwarf rats (文献①)において、Angiotensin IIによる臓器線維化が、心臓では対照ラットと差が見られなかったのに対し、腎臓では抑制されていた。このラットではグレリンが増加していることが推測されている。よってその確認と、成長ホルモンによらないグレリンによる腎保護作用があるかどうか今後検討する予定である。また我々はがん幹細胞を同定したが(文献②)それらにグレリン受容体が多く発現しているかどうか検討中である。特に我々が樹立した成長ホルモン産生下垂体腫瘍(文献③)においてグレリン受容体が発現しているかどうか、またグレリンの腫瘍細胞増殖に及ぼす影響について検討予定である。

#### E. 結論

本研究により、グレリン欠乏は胃切除後患者に



おける体重減少をはじめとする様々なソマトポーズの一因になっている可能性があり、グレリン補充療法によるそれらの患者の治療研究が必要であると考えられた。また肝の脂肪化やインターフェロン治療の副作用発現にもグレリン-成長ホルモン Axis の機能障害が関与する可能性が示唆された。さらに消化器疾患以外の内分泌疾患や腫瘍の病態生理を理解するうえでも、グレリンが重要な生体マーカーとなる可能性を検討することが必要であると考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- ① Sato O, Ashizawa N, Ohtsuru A, Imanishi R, Kawano H, Seto S, Yamashita S, Shimokawa I, Yano K.: Fibrotic response to angiotensin II is blunted in the kidney, but not in the heart, in insulin-sensitive long-lived transgenic dwarf rats. *Int J Mol Med*, 19: 23- 27, 2007.
- ② Mitsutake N, Iwao A, Nagai K, Namba H, Ohtsuru A, Saenko V, Yamashita S: Characterization of side population in thyroid cancer cell lines: cancer stem-like cells are enriched partly but not exclusively. *Endocrinology*, in press, 2007.
- ③ Izumo T, Ohtsuru A, Tokunaga Y, Namba H, Kaneda Y, Nagata I, Yamashita S: Epstein- Barr virus-based vector improves the tumor cell killing effect of pituitary tumor in HVJ- liposome-mediated transcriptional targeting suicide gene therapy. *Intern J Oncol*, in press, 2007.

##### 2. 学会発表

- ① 柴田英貴、市川辰樹、中尾一彦、本吉康英、藤本真澄、川下浩、宮明寿光、大津留晶、細田洋司、江口勝美：肝脂肪沈着における Ghrelin- GH axis の検討。第 104 回 日本内科学会、大阪、2007。

#### H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## グレリン投与による慢性閉塞性肺疾患治療

分担研究者 永谷憲歳 国立循環器病センター研究所再生医療部 部長

慢性閉塞性肺疾患（COPD）では呼吸機能の悪化のみならず、低栄養状態（cachexia）が進行する。また、cachexia を伴った COPD 患者では、グレリン投与により呼吸筋力や下肢筋力の改善やエネルギー代謝の是正に働く可能性がある。我々はこれまでに、グレリンによる COPD 治療のパイロット臨床試験を行い、交感神経活性の抑制、摂食の促進、呼吸筋力の改善などの効果が認められた。これらの結果をふまえ、cachexia を伴う COPD 患者を対象に多施設二重盲検試験を開始し、グレリン投与の安全性および有効性の検討を行なった。

### A. 研究目的

グレリンは（1）下垂体からの成長ホルモン（GH）分泌の促進、（2）交感神経抑制、（3）血管拡張・心拍出量増加、（4）摂食促進、（5）エネルギー代謝の調節などの生理活性を有することが明らかとなっている。一方、慢性閉塞性肺疾患（COPD）患者においては、栄養障害を伴う体重減少を認めることが多く、低栄養状態（cachexia）は独立した予後因子となることが知られている。グレリンの生理活性を考えると、COPD に伴う cachexia の是正にグレリンが有効である可能性がある。実際に慢性心不全患者 10 例に対しグレリンを投与したところ、エネルギー代謝改善効果が認められた。また、cachexia を伴った COPD 患者 7 例に対しパイロット臨床試験を行い、グレリンの安全性および有効性について検討したところ、血清 GH 濃度の上昇、交感神経活性の抑制、摂食の促進、呼吸筋力の改善、運動耐容能の改善、エネルギー代謝の改善効果が認められた。

これらの結果をふまえ、グレリンの cachexia に対する治療効果の検討および安全性の検証を目的として、多施設無作為化二重盲検比較試験を開始した。

### B. 研究方法

#### 1) 対象者の選択基準

- ① COPD 患者（FEV1% < 70%、%FEV1 < 50%）
- ② 体重減少がある患者（BMI < 21kg/m<sup>2</sup>）
- ③ 20 歳以上 85 歳以下の患者
- ④ その他

#### 2) 臨床試験薬

実薬：合成ヒトグレリン（2 μg/kg）＋生理食塩水（10 mL）

偽薬：生理食塩水（10 mL）

#### 3) 臨床試験の方法

対象患者にグレリン（実薬）もしくは生理食塩水（偽薬）を 1 回あたり 30 分かけて 1 日に 2 回（朝食前と夕食前）、3 週間の点滴投与を行う。薬剤の投与は入院後に行うこととし、また、全例に呼吸リハビリテーションを合わせて行う。グレリンの有効性を評価するために、投与の前後で①問診による自覚症状の調査、②静脈採血 20 mL、③尿検査、④動脈採血、⑤呼吸機能検査、⑥摂食量の調査、⑦6 分間歩行試験、⑧骨格筋量、骨量、脂肪量の測定、⑨24 時間心電図、⑩運動負荷心肺機能試験、⑪握力測定、⑫呼吸筋力測定を行う。全ての評価は盲検下で行う。

#### 4) 評価項目

有効性の評価

主要項目：SGRQ（QOL score）

6 分間歩行試験

副次項目：SF-36

MRC dyspnea scale  
peak VO<sub>2</sub> (心肺運動負荷試験)  
食事摂取量  
VC  
FEV<sub>1</sub>%  
Maximal inspiratory pressure  
Maximal expiratory pressure  
血漿ノルアドレナリン濃度

#### 5) 目標例数

実薬群、偽薬群をそれぞれ 30 例、合計 60 例

#### 6) 臨床試験予定期間

2005 年 8 月から 2008 年 6 月まで  
(倫理面への配慮)

本臨床試験はヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則、臨床試験計画書を遵守し、各施設の倫理委員会による審査・承認のもと実施される。

#### C. 研究結果

現在までのところ、国立病院機構刀根山病院 9 例、奈良県立医科大学 3 例、宮崎大学医学部 7 例の計 19 例の臨床試験が完了した。平均年齢 74.1 歳、BMI = 18.5 ± 1.8、FEV<sub>1</sub>% = 36.6 ± 7.3 であった。自覚症状として胃腸の蠕動亢進感 (3 例)、口渇感 (1 例)、空腹感 (3 例)、ほかほか感 (3 例)、気分不良 (1 例) を認めた。また、試験薬投与後に有害事象として 2 例発生し (細菌性肺炎、抑うつ状態の増悪)、投与中止となったが、いずれも軽症かつ速やかに改善した。その他臨床検査値異常として低蛋白血症 (2 例)、高脂血症 (1 例) を認めたが、いずれも投与終了後に速やかに改善した。

#### D. 考察

cachexia は COPD の独立した予後規定因子であり、重症の COPD の治療には呼吸機能の改善のみならず cachexia の是正が必要である。グレリンは交感神経抑制、摂食促進、エネルギー代謝改善作用などの生理作用により、COPD 患者の呼吸筋力や下肢筋力の改善およびエネルギー代謝の是正に働く可能性があり、重症 COPD 患者の cachexia に対する新たな治療法として期待できる。

パイロット臨床試験により COPD に対するグレリン治療の安全性は確認できたため、有効性の確認について無作為化二重盲検比較試験を開始

し、症例数を重ねて検討中である。現在までに計 19 例の臨床試験が完了したが、有害事象として細菌性肺炎と抑うつ状態の悪化を認め、試験薬の投与を中止した。二重盲検比較試験であるため実薬群であったかは明らかではないが、いずれの有害事象も軽症かつ速やかに改善しており、また安全評価委員会においてグレリンとの因果関係はないと判断された。来年度中に目標 60 例を達成し、データ解析を行い有効性について検討する予定である。

#### E. 結論

我々は cachexia を伴う COPD 患者に対するグレリン投与の安全性、有効性を検討するため、多施設無作為化二重盲検比較試験を開始した。今後さらに症例を重ね、安全性および有効性についてさらに検討する。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- ① Nagaya N, Kangawa K. Therapeutic potential of ghrelin in the treatment of heart failure. *Drugs*, 66: 439- 448, 2006.
- ② Nagaya N, Kojima M, Kangawa K. Ghrelin, a novel growth hormone- releasing peptide, in the treatment of cardiopulmonary- associated cachexia. *Intern Med*, 45: 127- 134, 2006.

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし