

厚生労働科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

高齢者医療とQOL 改善に対する  
グレリンの臨床応用とその基盤的研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

## 目 次

### I. 総括研究報告書

- 高齢者と QOL 改善に対するグレリンの臨床応用とその基盤的研究 ----- 1  
寒川 賢治 (国立循環器病センター研究所 所長)

### II. 分担研究報告書

1. 循環器疾患におけるグレリン投与の治療的意義 ----- 11  
寒川 賢治 (国立循環器病センター研究所 所長)
2. 加齢に伴うソマトポーズおよび食欲低下に対するグレリンの有用性の研究 ----- 16  
中尾 一和 (京都大学大学院医学研究科 内科学講座・内分泌代謝内科 教授)
3. 高齢ラットにおけるグレリン受容体作動薬の摂食量および有用性の研究 ----- 18  
千原 和夫 (神戸大学大学院医学研究科 内科学講座  
糖尿病・代謝・内分泌内科学分野 教授)
4. 加齢に伴う体脂肪蓄積機序におけるグレリンの役割の解明 ----- 22  
芝 崎 保 (日本医科大学大学院医学研究科 生体統御科学 教授)
5. グレリンによる中枢神経細胞の増殖促進作用 ----- 25  
村 上 昇 (宮崎大学農学部 獣医学科 家畜生理学 教授)
6. 糖尿病性ニューロパチーに対するグレリンを用いた新たな治療法の開発 ----- 28  
中里 雅光 (宮崎大学医学部 内科学講座  
神経呼吸内分泌代謝学分野 教授)
7. 上部消化器外科領域におけるグレリンの臨床応用 ----- 31  
土岐祐一郎 (大阪大学医学研究科 外科学講座 消化器外科 准教授)
8. 人工股関節置換術の周術期や機能性摂食不振患者を対象とした  
グレリン投与臨床Ⅱ相試験 ----- 34  
赤水 尚史 (京都大学大学院医学研究科 医学部附属病院  
探索医療センター 教授)
9. グレリン欠損マウスの作成と解析 ----- 38  
児島 将康 (久留米大学分子生命科学研究所 遺伝情報研究部門 教授)
10. グレリン投与による慢性閉塞性肺疾患治療 ----- 41  
永谷 憲歳 (国立循環器病センター研究所 再生医療部 部長)

## 高齢者医療と QOL 改善に対するグレリンの臨床応用とその基盤的研究

主任研究者 寒川賢治（国立循環器病センター研究所 所長）

新規ホルモン；グレリンの病態生理学的意義の解明および高齢者医療と QOL 改善に対する臨床応用を目的として、当初予定されていた計画を遂行し、以下のような成果を得た。心筋梗塞モデルラットにグレリンを投与することで、急性期の心臓交感神経過剰興奮や急性期死亡率および慢性期の左室リモデリングを抑制した。糖尿病性神経障害モデルマウスへのグレリン投与は、末梢神経伝導速度の低下抑制や改善を認めたことから、グレリンは糖尿病性神経障害の新規治療法になりうる可能性が示された。グレリンはラット視床下部培養神経細胞の増殖を促進し、その慢性投与により記憶の保持が長い傾向を認めたことから、グレリンは神経再生に応用できる可能性が示唆された。ラットの加齢に伴う体脂肪蓄積には、グレリン非依存性の褐色脂肪細胞の機能低下および下垂体における成長ホルモン（GH）の合成低下が関与していることが明らかになった。高齢マウスへのグレリンの単回投与により摂食量が増加し、慢性投与では除脂肪体重率が増加した。高齢ラットにグレリン受容体作動薬 GHRP-2 を慢性投与すると摂食量、体重、血中 GH 値を増加させ、ヒラメ筋筋線維断面積を増加させて筋萎縮を抑制する可能性が示唆された。グレリン欠損マウスの作製・解析から、グレリン欠損マウスは摂食、形態、糖・脂質代謝に異常を認めなかったが、血圧不安定、消化管運動低下といった自律神経系の異常を認めた。体重減少を伴う慢性閉塞性肺疾患（COPD）患者、変形性股関節症に対する人工股関節置換術後の患者、胃切除後の患者を対象として、グレリンの臨床効果を評価するための二重盲検無作為比較試験を開始し、安全性、有効性の検証を進めており症例を集積中である。機能性食思不振患者 6 名に対するグレリンの反復投与試験を終了し、重篤な有害事象は認めず、一日摂食量は増加傾向を示し、空腹度は有意に増加した。本年度は、遺伝子改変動物によるグレリンの自律神経障害への病態生理学的意義の解明、心筋梗塞、糖尿病性神経障害、高齢での脂肪蓄積や食欲低下に対する改善効果などについての疾患モデル動物における基礎的な研究成果に加えて、COPD、機能性食思不振症、人工股関節置換術後、胃切除後の患者に対する効果の評価など、臨床分野においてもグレリン治療の適応疾患の拡大に向けた重要な成果を得ることができた。

## 【研究組織】

- 寒川 賢治 (国立循環器病センター研究所 所長)
- 中尾 一和 (京都大学大学院医学研究科 内科学講座 内分泌代謝内科 教授)
- 千原 和夫 (神戸大学大学院医学研究科 内科学講座 糖尿病・代謝・内分泌内科学 教授)
- 芝 崎 保 (日本医科大学大学院医学研究科 生体統御科学 教授)
- 村 上 昇 (宮崎大学農学部 獣医学科 家畜生理学講座 教授)
- 中里 雅光 (宮崎大学医学部 内科学講座 神経呼吸内分泌代謝学分野 教授)
- 土岐祐一郎 (大阪大学大学院医学研究科 外科学講座 消化器外科学 准教授)
- 赤水 尚史 (京都大学医学研究科 医学部付 属病院 探索医療センター 教授)
- 児島 将康 (久留米大学分子生命科学研究 所 遺伝情報研究部門 教授)
- 永谷 憲歳 (国立循環器病センター研究所 再生医療部 部長)

## A. 研究目的

成長ホルモン (GH) は、成長や代謝調節、老化の抑制に深く関与するホルモンで、その血中濃度は哺乳類では思春期をピークとして以降減少する。GH は筋・骨形成、脂肪分解、細胞増殖などの作用を有し、身体機能の維持に重要な役割を担っている。高齢者における GH の分泌低下はソマトポーズとも呼ばれ、骨格筋量や骨量の低下、内臓脂肪型肥満、脂肪肝をきたし生活の質 (QOL) を低下させる大きな要因となることから、超高齢化社会を迎える我が国において重要な問題として注目されている。主任研究者らがラットおよびヒトの胃から発見・構造決定した新規ペプチド; グレリンは、下垂体からの GH 分泌促進作用に加え、摂食亢進、エネルギー代謝調節、循環器系な

らびに免疫系の調節にも作用する。以上より、老化現象や高齢者の QOL を低下させる要因である骨・筋肉量の低下、エネルギー代謝障害、心肺機能の低下あるいは免疫能低下などとグレリン作用の減弱が密接に関連していることが推定される。グレリンの生体機能調節や病態生理学的意義に関する研究は、老化のメカニズム解明やソマトポーズによる健康障害に対する新規治療の開発に貢献できると考えられる。本研究事業は、これまでに蓄積したグレリンの知見や研究基盤に基づき、基礎と臨床の両面からグレリンの生体機能の調節および老化における役割を明らかにし、高齢者医療と QOL 改善に対するグレリンの臨床応用を目指している。

## B. 研究方法

本年度は、グレリンの生体調節機構の解明および高齢者医療と QOL 改善への臨床応用を目指し、以下のような方法で広範な研究を展開した。

- 1) 心筋梗塞におけるグレリン投与の治療的意義の検討。
- 2) 中枢神経細胞の増殖に対するグレリンの作用の解析。
- 3) 糖尿病性神経障害に対するグレリンの治療的意義の検討。
- 4) 加齢に伴う体脂肪蓄積機序におけるグレリンの生理的役割の検討。
- 5) 加齢に伴うソマトポーズおよび食欲低下に対するグレリンの有用性の検討。
- 6) 高齢ラットにおけるグレリン受容体作動薬の摂食量および筋に及ぼす作用の検討。
- 7) 遺伝子改変動物を用いたグレリンの生理学的意義に関する研究。
- 8) 機能性食思不振患者に対するグレリンの臨床効果。
- 9) 変形性股関節症の人工股関節置換術の周術期回復におけるグレリンの有効性評価。
- 10) 胃切除術後患者に対するグレリンの臨床効果。
- 11) 体重減少をきたした慢性閉塞性肺疾患患者に対するグレリンの臨床効果。

(倫理面への配慮)

本研究においてヒトを対象とした研究を行うに際しては、各施設で定められた臨床研究の規定に従って実施した。また実験動物を用いた研究では、実験動物飼育および保管に関する基準、各施設における実験動物委員会の指針に基づき、実験動物愛護を配慮して実施した。

## C. 研究結果および D. 考察

### 1) 心筋梗塞におけるグレリン投与の治療的意義の検討

寒川は、グレリンが心筋梗塞急性期の心臓交感神経過剰興奮および慢性期左室リモデリングを抑制するという仮説をたて、ラットを用いて検討した。ラットの左冠動脈を結紮することで心筋梗塞を作製し、直後または2時間後にグレリンを投与したところ、心筋梗塞後の心臓交感神経活動は著明に抑制され、急性期死亡率は有意に減少した。また、心筋梗塞作製翌日から2週間にわたりグレリンを連日投与したところ、心筋梗塞後の体重減少を抑制し、左室拡張末期径の拡大、左室収縮能の低下、心拍数増加、左室拡張末期圧の上昇を有意に抑制し、非梗塞部位における線維化を抑制した。これらの結果から、グレリンは新規の心筋梗塞治療薬として有用であると考えられた。

### 2) 中枢神経細胞の増殖に対するグレリンの作用の解析

村上は、ラットの中枢神経、特に視床下部ニューロンに対するグレリンの効果を検討した。グレリン受容体の mRNA 測定によって、胎児期および新生児期の視床下部ニューロンにはグレリン受容体が発現していることが判明した。グレリンは胎児期および新生児期(5日齢)のいずれでも視床下部培養神経細胞の増殖を促進し、特に神経芽細胞に対する効果が顕著であった。一方、デスアシルグレリンは胎児期でのみ増殖を促進し、新生児期のニューロンには作用しなかった。また、幼児期にグレリンを慢性投与し、成熟後の学習能力を評価した。その結果、有意差は無いがグレリン投与群で記憶の保持が長い傾向

( $P < 0.1$ ) が認められた。以上の知見は神経再生に対するグレリンの応用への可能性を示唆するものである。

### 3) 糖尿病性神経障害に対するグレリンの治療的意義の検討

中里は、糖尿病モデルマウスにおける末梢神経障害に対するグレリンの神経保護および神経修復作用について検討した。マウスにストレプトゾシン (STZ) を投与して糖尿病を作製し、STZ と同時、または神経障害が完成した STZ 投与8週間後からグレリンを連日投与したところ、グレリン投与群では神経伝導速度の低下が有意に抑制されただけでなく、すでに低下していた神経伝導速度の改善を認めた。また、グレリン投与群では酸化ストレスマーカーの改善や尾部血流の改善を認めた。同様の検討をグレリン受容体遺伝子欠損 (GHS-R<sup>-/-</sup>) マウスと GH 欠損ラットを用いて行ったところ、GHS-R<sup>-/-</sup> マウスでは末梢神経障害に対するグレリンの効果がみられず、GH 欠損ラットではグレリンによる改善効果が認められた。以上より、グレリンは抗酸化作用や血行改善作用を介して、またグレリン受容体依存的、GH 非依存的経路により糖尿病性末梢神経障害の予防および改善作用を有することが示唆された。これらの結果から、グレリンは糖尿病性神経障害に対する新規治療薬として有用であると考えられた。

### 4) 加齢に伴う体脂肪蓄積機序におけるグレリンの生理的役割の検討

芝崎は、中年期以降の体脂肪増加機序におけるグレリンの関与の有無を加齢に伴う生理的な GH 分泌低下との関連を含めて検討した。これまでにグレリンの投与が褐色脂肪組織 (BAT) のノルアドレナリン (NA) 分泌を抑制することを明らかにしており、グレリンは BAT の熱産生機能を抑制し脂肪蓄積作用を示す可能性を示してきた。本年度は体脂肪の少ない4週齢、体脂肪の増加が始まる8週齢、体脂肪が蓄積している20週齢のSD雄ラットを用いて、加齢に伴いBATのUCP1 mRNA発現量が減少すること、BATの白色脂肪化が生じること、外因性のグレリンによる弓状核Fos発現や

BAT 内の NA 分泌抑制反応が減弱することを明らかにした。これらの結果は褐色脂肪細胞の機能低下が加齢による体脂肪蓄積機序に関与している可能性を示し、また、この機能低下機序へのグレリンの関与は否定的であることが明らかになった。加齢ラットにおいて下垂体の GH mRNA 発現が減少していたことから GH の合成低下に伴う GH 分泌低下が体脂肪増加に関与している可能性が考えられた。今後、加齢に伴う GH 合成・分泌低下へのグレリンの関与に関する解析が必要である。

#### 5) 加齢に伴うソマトポーズおよび食欲低下に対するグレリンの有用性の検討

中尾は、マウスにおいてグレリンの投与により加齢に伴う食欲不振とソマトポーズを改善する可能性を検討した。まず、75 週齢のマウスに 72 時間の絶食の後、摂食再開と同時に  $360 \mu\text{g}/\text{kg}$  のグレリンを 1 日 2 回  $\times$  4 日間皮下投与したところ、摂食量の増加と体重の回復促進、除脂肪体重率の増加が見られた。次に、50 週齢のマウスに  $40 \mu\text{g}/\text{kg}$  のグレリンを週 2 回、80 週齢に至るまで皮下投与したところ、体重および体脂肪量は低く保たれた。これらの結果より、グレリンが加齢変化に対する新しい治療法となる可能性が示唆された。

#### 6) 高齢ラットにおけるグレリン受容体作動薬の摂食量および筋に及ぼす作用の検討

千原は、グレリンの筋萎縮抑制作用、その高齢者に対する臨床応用の可能性を検討する目的で、高齢ラットにおけるグレリン受容体作動薬 GHRP-2 の筋に及ぼす効果を、GH 分泌、摂食量、体重に及ぼす効果と併せて検討した。GHRP-2 の皮下投与 ( $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、2 回/日、60 日間) は、12 ヶ月齢の SD 系雄ラットにおいて、摂食量、体重、血中 GH 値を増加させた。一方、 $100 \mu\text{g}/\text{kg}$  の GHRP-2 の投与効果は、明瞭なものではなかった。 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$  の GHRP-2 投与はヒラメ筋筋線維断面積を増加させ、筋萎縮を抑制する可能性が示唆された。 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$  および  $100 \mu\text{g}/\text{kg}$  の GHRP-2 投与で、ヒラメ筋 atrogen-1、MuRF1 mRNA 量は減少したが、ヒラメ筋筋線維断面積への効果は  $10 \mu\text{g}/\text{kg}$  GHRP-2 投与時のみ観察されたことから、この

効果は単に atrogen-1、MuRF1 の発現減少によるものでなく、GH 上昇を伴うことが必要である可能性が考えられた。

#### 7) 遺伝子改変動物を用いたグレリンの生理学的意義に関する研究

児島は、グレリン欠損マウスを作製し、その遺伝的背景を C57BL/6J に整えた上で摂食量、体重、糖代謝、脂質代謝、自律神経機能等を解析した。グレリン欠損マウスは致死性ではなく、形態的な異常はなかった。また、グレリン欠損マウスの体重、摂食量、行動に目立った変化はなかった。グルコース負荷試験において野生型マウスとグレリン欠損マウスの間に血糖値の差は認められなかった。絶食を行ない、肝臓のアセチル CoA カルボキシラーゼ、脂肪酸合成酵素、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼの遺伝子発現量を検討したが差は認められなかった。しかし、グレリン欠損マウスは血圧不安定、体温維持機構の異常、消化管運動の低下、血圧・体温の日内リズム異常など、自律神経系の異常を示した。この自律神経系の異常は視床下部や延髄を中心とした中枢性のものであることを予備的検討から確認している。中枢性摂食異常症の患者においては単に摂食障害だけでなく、その他の様々な異常を訴える。これらは血圧・体温・消化管機能などの自律神経系の異常が多く、今回のグレリン欠損マウスの表現型との関連が興味深い。

#### 8) 機能性食思不振患者に対するグレリンの臨床効果

赤水は、機能性胃腸症 (Functional dyspepsia : FD) やその他の機能性摂食不振を呈する患者に対するグレリンの有用性と安全性を検討するために、グレリン反復投与試験 (臨床試験第 II 相) を開始し、2006 年 11 月に終了した。6 人が登録され、全員 FD であった。グレリン投与によって、主要エンドポイントである一日摂食量は増加傾向を示したが、統計的有意には達しなかった。グレリン投与による空腹度は有意に増加した。体重の変化はなかったが、体組成では体脂肪率に低下傾向、除脂肪率に増加傾向があった。血中 IGF-1 レベ

ルは増加傾向を示したが、統計的有意差には至らなかった。重篤な有害事象は全く認めなかった。軽度の有害事象を36事象認め、うち11事象はグレリンと因果関係があると判断されたが、いずれもすでに報告のあるもの（胃腸蠕動運動感、空腹、胃部不快、ほてり、眠気、多汗）でグレリン投与終了後改善した。4事象の中等度有害事象があったが、グレリンとの因果関係は不明でグレリン投与終了後改善した。血液、臨床化学検査、不安尺度において特に異常を認めなかった。データ解析可能症例数が少なかったため、さらなる検討が必要である。

#### **9) 変形性股関節症の人工股関節置換術の周術期回復におけるグレリンの有効性評価**

赤水は、高齢者の筋骨格系疾患に対するグレリンの有用性と安全性を検討するために、変形性股関節症に対する人工股関節置換術患者の周術期回復におけるグレリンの有効性評価に関する臨床第Ⅱ相試験を2005年9月から開始した。2007年8月に目標症例32例のグレリン投与を終了した。重篤な有害事象を認めず、現在、データを解析中である。

#### **10) 胃切除術後患者に対するグレリンの臨床効果**

土岐は、胃癌、食道癌などの上部消化管癌手術に特異的な術後後遺症である体重減少についてその病態とグレリンの関係を検討した。術後7日目までの検討においてデスアシルグレリンは胃全摘で約1/10、幽門側胃切除、食道切除胃管再建で約1/2に減少した。長期経過例の検討においても胃全摘ではグレリンの回復は見られず、幽門側胃切除、食道切除胃管再建では数年の経過をもって回復傾向が見られた。この知見に基づき「胃切除術後患者に対するグレリンの臨床効果に関するランダム化第Ⅱ相臨床試験」を2006年より開始し、2008年1月までに19例が登録され、さらに症例を集積中である。

#### **11) 体重減少をきたした慢性閉塞性肺疾患患者に対するグレリンの臨床効果**

永谷は、体重減少をきたした慢性閉塞性肺疾患患者7名に対して、グレリン投与により体重

が増加し、呼吸筋力と運動耐容能が改善することを示した。この結果を基に、グレリンの臨床効果と安全性を評価するため、体重減少をきたした慢性閉塞性肺疾患患者を対象として、多施設二重盲検無作為化比較試験を2005年8月から開始し、2008年1月までに国立病院機構刀根山病院14例、奈良県立医科大学6例、宮崎大学7例の計27例の臨床試験が完了した。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。

#### **E. 結論**

本年度は、グレリンの病態生理学的意義の解明および高齢者医療やQOL改善に対する臨床応用に向けて、基礎と臨床の両面から先駆的かつ応用的な研究を展開できた。

基礎研究分野では、グレリンの中枢神経細胞の増殖作用を明らかにし、脳神経系の変性疾患や脳血管障害への新規治療法としての可能性が示された。また、グレリンの心筋梗塞や糖尿病性神経障害への有効性が示され、それぞれの疾患に対する新規治療法になり得ることが示された。加齢に伴う体脂肪蓄積、筋量減少、食欲低下におけるグレリンの関与の新知見を得られ、グレリンやグレリン受容体作動薬が加齢変化に対する新しい治療法となる可能性が示唆された。これらの基礎研究の成果は、今後、グレリンの治療適応の拡大を検討する上で重要な知見と考えられた。遺伝子改変動物の解析からは、グレリンの自律神経機能調節に対する病態生理学的重要性が示され、グレリンの新たな生理作用や自律神経障害への創薬の方向性が示された。

臨床研究分野では、「機能性食思不振症に対する臨床効果」、「体重減少をきたした慢性閉塞性肺疾患患者の運動耐容能改善」、「変形

性股関節症に対する人工股関節置換術の周術期の回復」など高齢者に多くみられる病態に対するグレリン投与の有効性を評価するための臨床試験を開始し、現在、症例を蓄積している。また、胃切除術後の病態とグレリン欠乏との関連が示され、胃切除術後患者へのグレリン補充療法の有効性を評価する臨床試験を開始している。

グレリンの作用は、GH分泌促進や摂食亢進作用だけでなく、循環器、呼吸器、消化器といった主要臓器の機能維持および筋・骨代謝、糖・脂質代謝、さらには免疫の調節など多岐にわたっている。本年度は、グレリンの持つ抗老化作用のメカニズム解明を進展させることにより、ソマトポーズに起因する病態やQOL低下に対する臨床応用に向けたグレリン研究が着実に成果を上げることができた。今後、さらにグレリンの分泌制御機構や老化に起因する病態との関連を解明し、臨床応用の確立に向けて研究を展開させることが必要である。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Murashita M, Inoue T, Kusumi I, Nakagawa S, Itoh K, Tanaka T, Izumi T, Hosoda H, Kangawa K, Koyama T. Glucose and lipid metabolism of long-term risperidone monotherapy in patients with schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci*, 61: 54-58, 2007.
2. Kawakoshi A, Kaiya H, Riley LG, Hirano T, Grau EG, Miyazato M, Hosoda H, Kangawa K. Identification of a ghrelin-like peptide in two species of shark, *Sphyrna lewini* and *Carcharhinus melanopterus*. *Gen Comp Endocrinol*, 151: 259-268, 2007.
3. Kawamata T, Inui A, Hosoda H, Kangawa K, Hori T. Perioperative plasma active and total ghrelin levels are reduced in acromegaly when compared with in nonfunctioning pituitary tumours even after normalization of serum GH.

*Clin Endocrinol*, 67: 140-144, 2007.

4. Miura T, Maruyama K, Shimakura S, Kaiya H, Uchiyama M, Kangawa K, Shioda S, Matsuda K. Regulation of food intake in the goldfish by interaction between ghrelin and orexin. *Peptides*, 28: 1207-1213, 2007.
5. Iwakura H, Akamizu T, Ariyasu H, Irako T, Hosoda K, Nakao K, Kangawa K. Effects of ghrelin administration on decreased growth hormone status in obese animals. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 293: E819-E825, 2007.
6. Murashita M, Kusumi I, Hosoda H, Kangawa K, Koyama T. Acute administration of clozapine concurrently increases blood glucose and circulating plasma ghrelin levels in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 32: 777-784, 2007.
7. Takahashi H, Kurose Y, Sakaida M, Suzuki Y, Kobayashi S, Sugino T, Kojima M, Kangawa K, Hasegawa Y, Terashima Y. Ghrelin differentially modulates glucose-induced insulin secretion according to feeding status in sheep. *J Endocrinol*, 194: 621-625, 2007.
8. Arakawa M, Suzuki H, Minegishi Y, Fukushima Y, Masaoka T, Ishikawa T, Hosoda H, Kangawa K, Hibi T. Enhanced ghrelin expression and subsequent acid secretion in mice with genetic H(2)-receptor knockout. *J Gastroenterol*, 42: 711-718, 2007.
9. Takahashi M, Takahashi Y, Takahashi K, Zolotaryov FN, Hong KS, Iida K, Okimura Y, Kaji H, Chihara K. CXCL14 enhances insulin-dependent glucose uptake in adipocytes and is related to high-fat diet-induced obesity. *Biochem Biophys Res Commun*, 364: 1037-1042, 2007.
10. Yamamoto D, Ikeshita N, Daito R, Hemingtyas EH, Toda K, Takahashi K, Iida K, Takahashi Y, Kaji H, Chihara K, Okimura Y. Neither intravenous nor intracerebroventricular administration of obestatin affects the secretion of GH, PRL, TSH and ACTH in rats. *Regul*



- Pept, 138: 141-144, 2007.
11. Imanaka M, Iida K, Nishizawa H, Fukuoka H, Takeno R, Takahashi K, Kaji H, Takahashi Y, Okimura Y, Kaji H, Imanishi Y, Chihara K. McCune-Albright syndrome with acromegaly and fibrous dysplasia associated with the GNAS gene mutation identified by sensitive PNA-clamping method. *Intern Med*, 46: 1577-1583, 2007.
  12. Kaji H, Iida K, Takahashi Y, Okimura Y, Chihara K. Hormone replacement therapy and vascular risk disorders in adult hypopituitarism. *Endocr J*, 54: 239-245, 2007.
  13. Takahashi Y, Iida K, Takahashi K, Yoshioka S, Fukuoka H, Takeno R, Imanaka M, Nishizawa H, Takahashi M, Seo Y, Hayashi Y, Kondo T, Okimura Y, Kaji H, Kitazawa R, Kitazawa S, Chihara K. Growth hormone reverses nonalcoholic steatohepatitis in a patient with adult growth hormone deficiency. *Gastroenterology*, 132: 938-943, 2007.
  14. Chihara K, Shimatsu A, Hizuka N, Tanaka T, Seino Y, Kato Y, for the KP-102 Study Group. A simple diagnostic test using GH-releasing peptide-2 in adult GH deficiency. *Eur J Endocrinol*, 157: 19-27, 2007.
  15. Urushihara H, Fukuhara S, Tai S, Morita S, Chihara K. Heterogeneity in responsiveness of perceived quality of life to body composition changes between adult-and childhood-onset Japanese hypopituitary adults with GH deficiency during GH replacement. *Eur J Endocrinol*, 156: 637-645, 2007.
  16. Ida T, Miyazato M, Naganobu K, Nakahara K, Sato M, Lin XZ, Kaiya H, Doi K, Noda S, Kubo A, Murakami N, Kangawa K. Purification and characterization of feline ghrelin and its possible role. *Domest Anim Endocrinol*, 32: 93-105, 2007.
  17. Sato M, Nakahara K, Kojima M, Miyazato M, Kangawa K, Murakami N. Regulation of GH secretagogue receptor (GHS-R) gene expression in the rat nodose ganglion. *J Endocrinol*, 194: 1-7, 2007.
  18. Katayama T, Shimamoto S, Oda H, Nakahara K, Kangawa K, Murakami N. Glucagon receptor expression and glucagon stimulation of ghrelin secretion in rat stomach. *Biochem Biophys Res Commun*, 357: 865-870, 2007.
  19. Toshinai K, Nakazato M. Hormone replacement Up-to-date. Ghrelin, growth hormone and somatopause. *Clin Calcium*, 17: 1392-1399, 2007.
  20. Yamaguchi H, Sasaki K, Satomi Y, Shimbara T, Kageyama H, Mondal MS, Toshinai K, Date Y, Gonzalez LJ, Shioda S, Takao T, Nakazato M, Minamino N. Peptidomic identification and biological validation of neuroendocrine regulatory peptide-1 and -2. *J Biol Chem*, 282: 26354-26360, 2007.
  21. Toshinai K, Mondal MS, Shimbara T, Yamaguchi H, Date Y, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin stimulates growth hormone secretion and food intake in aged rats. *Mech Ageing Dev*, 128: 182-186, 2007.
  22. Ueno H, Shiiya T, Mizuta M, Mondal MS, Nakazato M. Plasma ghrelin concentrations in different clinical stages of diabetic complications and glycemic control in Japanese diabetics. *Endocr J*, 54: 895-902, 2007.
  23. Toshinai K, Kawagoe T, Shimbara T, Tobina T, Nishida Y, Mondal MS, Yamaguchi H, Date Y, Tanaka H, Nakazato M. Acute incremental exercise decreases plasma ghrelin level in healthy men. *Horm Metab Res*, 39: 849-851, 2007.
  24. Akamizu T, Kangawa K. Emerging results of anti-catabolic therapy with ghrelin. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 10: 278-283, 2007.
  25. Kim TS, Asato R, Akamizu T, Harada D, Nakashima Y, Higashi T, Yamamoto N, Tamura Y, Tamaki H, Hirano S, Tanaka S, Ito J. A rare case of hyperfunctioning papillary

- carcinoma of the thyroid gland. *Acta Otolaryngol Suppl*, 557: 55-57, 2007.
26. Kavvoura FK, Akamizu T, Awata T, Ban Y, Chistiakov DA, Frydecka I, Ghaderi A, Gough SC, Hiromatsu Y, Ploski R, Wang PW, Ban Y, Bednarczuk T, Chistiakova EI, Chojm M, Heward JM, Hiratani H, Juo SH, Karabon L, Katayama S, Kurihara S, Liu RT, Miyake I, Omrani GH, Pawlak E, Taniyama M, Tozaki T, Ioannidis JP. CTLA-4 gene polymorphisms and autoimmune thyroid disease: a meta analysis. *J Clin Endocrinol Metab*, 92: 3162-3170, 2007.
  27. Hataya Y, Akamizu T, Kanamoto N, Moriyama K, Shimatsu A, Nakao K. A case of subclinical hypothyroidism developing marked pleural effusions and peripheral edema with elevated vascular endothelial growth factor. *Endocr J*, 54: 577-584, 2007.
  28. Kojima M, Ida T, Sato T. Structure of mammalian and nonmammalian ghrelins. *Vitam Horm*, 77: 31-46, 2007.
  29. Takahashi H, Kurose Y, Sakaida M, Suzuki Y, Kobayashi S, Sugino T, Kojima M, Kangawa K, Hasegawa Y, Terashima Y. Ghrelin differentially modulates glucose-induced insulin secretion according to feeding status in sheep. *J Endocrinol*, 194: 621-625, 2007.
  30. Sato S, Hanada R, Kimura A, Abe T, Matsumoto T, Iwasaki M, Inose H, Ida T, Mieda M, Takeuchi Y, Fukumoto S, Fujita T, Kato S, Kangawa K, Kojima M, Shinomiya K, Takeda S. Central control of bone remodeling by neuromedin U. *Nat Med*, 13: 1234-1240, 2007.
  31. 大西俊介、寒川賢治、永谷憲歳：グレリンと心血管疾患，血管，30: 7-10, 2007.
  32. 大西俊介、永谷憲歳、寒川賢治：カヘキシアとグレリン，ペプチドと創薬 遺伝子医学 MOOK， 8: 132-136, メディカルドゥ，2007.
  33. 大西俊介、永谷憲歳、寒川賢治：グレリンの心血管系への作用，*Annual Review 循環器*，55-59, 2007.
  34. 大西俊介、永谷憲歳、寒川賢治：グレリン，*日本臨床*，65: 186-190, 2007.
  35. Schwenke DO, Tokudome T, Shirai M, Hosoda H, Horio T, Kishimoto I, Kangawa K. Exogenous ghrelin attenuates the progression of chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension in conscious rats. *Endocrinology*, 149: 237-244, 2008.
  36. Soeki T, Kishimoto I, Schwenke DO, Tokudome T, Horio T, Yoshida M, Hosoda H, Kangawa K. Ghrelin suppresses cardiac sympathetic activity and prevents early left ventricular remodeling in rats with myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 294: H426-H432, 2008.
  37. Hosoda H, Kangawa K. The autonomic nervous system regulates gastric ghrelin secretion in rats. *Regul Pept*, 146: 12-18, 2008.
  38. Hori Y, Kageyama H, Guan JL, Kohno D, Yada T, Takenoya F, Nonaka N, Kangawa K, Shioda S, Yoshida T. Synaptic interaction between ghrelin- and ghrelin-containing neurons in the rat hypothalamus. *Regul Pept*, 145: 122-127, 2008.
  39. Fukuoka H, Takahashi Y, Iida K, Kudo T, Nishizawa H, Imanaka M, Takeno R, Iguchi G, Takahashi K, Okimura Y, Kaji H, Chihara K. Low serum IGF-I/GH ratio is associated with abnormal glucose tolerance in acromegaly. *Horm Res*, 69: 165-171, 2008.
  40. Toda K, Yamamoto D, Fumoto M, Ikeshita N, Herningtyas EH, Iida K, Takahashi Y, Kaji H, Chihara K, Okimura Y. Involvement of mPOU (Brn-5), a class VI POU protein, in the gene expression of Pit-1 as well as PRL. *Mol Cell Endocrinol*, 280: 20-29, 2008.
  41. Yamamoto D, Ikeshita N, Matsubara T, Tasaki H, Herningtyas EH, Toda K, Iida K, Takahashi Y, Kaji H, Chihara K, Okimura Y. GHRP-2, a GHS-R agonist, directly acts on myocytes to attenuate the dexamethasone-

- induced expressions of muscle-specific ubiquitin ligases, Atrogin-1 and MuRF1. *Life Sci*, 82: 460-466, 2008.
42. Ogawa N, Yamaguchi H, Shimbara T, Toshinai K, Kakutani M, Yonemori F, Nakazato M. The vagal afferent pathway does not play a major role in the induction of satiety by intestinal fatty acid in rats. *Neurosci Lett*, 433: 38-42, 2008.
43. Mondal MS, Yamaguchi H, Date Y, Tsuruta T, Shimbara T, Toshinai K, Shimomura Y, Mori M, Nakazato M. Ontogeny of a new enteric peptide, neuropeptide W (NPW), in the developing rat stomach. *Regul Pept*, 145: 141-146, 2008.
44. Ueno H, Yamaguchi H, Mizuta M, Nakazato M. The role of PYY in feeding regulation. *Regul Pept*, 145: 12-16, 2008.
45. Doki Y, Okada K, Miyata H, Yamasaki M, Fujiwara Y, Takiguchi S, Yasuda T, Hirao T, Nagano H, Monden M. Long-term and short-term evaluation of esophageal reconstruction using the colon or the jejunum in esophageal cancer patients after gastrectomy. *Dis Esophagus*, 21: 132-138, 2008.
46. Kojima M. The discovery of ghrelin - A personal memory. *Regul Pept*, 145: 2-6, 2008.
47. Sato T, Kurokawa M, Nakashima Y, Ida T, Takahashi T, Fukue Y, Ikawa M, Okabe M, Kangawa K, Kojima M. Ghrelin deficiency does not influence feeding performance. *Regul Pept*, 145: 7-11, 2008.
48. Miyazato M, Mori K, Ida T, Kojima M, Murakami N, Kangawa K. Identification and functional analysis of a novel ligand for G protein-coupled receptor, Neuromedin S. *Regul Pept*, 145: 37-41, 2008.
49. Akamizu T, Iwakura H, Ariyasu H, Hosoda H, Murayama T, Yokode M, Teramukai S, Seno H, Chiba T, Noma S, Nakai Y, Fukunaga M, Nakai Y, Kangawa K, and FD Clinical Study Team. Repeated administration of ghrelin to patients with functional dyspepsia: its effects on appetite and food intake. *Eur J Endocrinol*, in press.
50. Takahashi K, Chin K, Akamizu T, Morita S, Sumi K, Oga T, Matsumoto H, Niimi A, Tsuboi T, Fukuhara S, Kangawa K, Mishima M. Acylated ghrelin level in patients with obstructive sleep apnoea before and after nasal CPAP treatment. *Respiration*, in press.
2. 学会発表
1. Fukuoka H, Takahashi Y, Iida K, Nishizawa H, Imanaka M, Takeno R, Iguchi G, Takahashi K, Takahashi M, Okimura Y, Kaji H, Chihara K. IGF-I stimulates reactive oxygen species (ROS) production, thereby affecting insulin sensitivity in adipocytes. The 89th Annual Meeting of the Endocrine Society, Toronto, Canada, 2007.
  2. 福岡秀規、高橋裕、西沢衡、今中真理、竹野亮子、飯田啓二、中江淳、置村康彦、加治秀介、千原和夫：成長ホルモンは、FoxO1 の遺伝子発現、活性を調節し脂肪細胞におけるインスリンシグナルに拮抗する，第 34 回日本神経内分泌学会，群馬，2007.
  3. 千原和夫：皮膚と成長ホルモン，第 16 回日本形成外科学会基礎学術集会，神戸，2007.
  4. 千原和夫：成人成長ホルモン分泌不全症の臨床，第 37 回日本内科学会近畿支部生涯教育講演会，京都，2007.
  5. 眞野あすか、大島久幸、岩寄あずさ、根本崇宏、周東裕仁、杉原 仁、及川眞一、芝崎 保：グレリンのエネルギー代謝調節機構における役割の解析，第 80 回日本内分泌学会学術総会，東京，2007.
  7. 村上 昇、中原桂子、寒川賢治：新規摂食関連ペプチドを用いた摂食機構の解析，第 143 回日本獣医学会，シンポジウム，筑波，2007.
  8. 井上賀之、中原桂子、岩永智江、村上 昇：グレリンによる新生児視床下部ニューロンの増殖作用，第 144 回日本獣医学会，北海道，2007.

9. Doki Y. Postoperative bodyweight loss and ghrelin in esophageal cancer patients. THE 20TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM: Physiological Changes and QOL of Cancer Patients after Radical Surgery, Tokyo, 2007.
10. 土岐祐一郎、瀧口修司、岡田一幸、藤原義之、宮田博志、山崎誠、細田洋司、寒川賢治：胃切除後体重減少におけるグレリンの意義と臨床応用の可能性について、第79回日本胃癌学会総会、名古屋、2007.
11. 赤水尚史：グレリン創薬のトランスレーショナルリサーチ、第80回日本整形外科学会学術総会、神戸ポートピアホテル、神戸、2007.
12. 赤水尚史：甲状腺クリーゼの新たな診断基準の作成、第80回日本内分泌学会学術総会、東京、2007.
13. 有安宏之、岩倉浩、中尾一和、寒川賢治、赤水尚史：加齢に伴うソマトポーズ及び食欲低下に対するグレリン有用性の研究、第34回日本神経内分泌学会、前橋、2007.
14. 赤水尚史：甲状腺クリーゼ（赤水班）、第50回日本甲状腺学会、神戸、2007.
15. 五十子大雅、赤水尚史：抗甲状腺剤による治療中に筋肉痛・関節痛を呈したバセドウ病の一例、第50回日本甲状腺学会、2007.
16. 南波崇、渡邊幹夫、赤水尚史、岩谷良則：インターロイキン4およびその受容体の遺伝子多型と自己免疫性甲状腺疾患の病態との関連、第50回日本甲状腺学会、神戸、2007.
17. 赤水尚史：甲状腺クリーゼの診断と治療、第44回日本臨床生理学会、大阪、2007.
18. 児島将康：摂食調節ペプチド、グレリンの生理作用と臨床応用、日本生化学会・中国四国支部会、高知、2007.
19. 児島将康：摂食調節ペプチド、グレリンの生理作用と臨床応用、第5回肝臓病研究会、東京、2007.
20. 児島将康：Neuromedin U と摂食・肥満・炎症、第34回日本神経内分泌学会、前橋、2007.
21. 児島将康：脂肪酸摂取によるグレリン産生

の調節機構、第12回アディポサイエンス研究会、大阪、2007.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

##### 1. 特許取得

1. 名称：グレリン及びその誘導体又は GHS-R1a に作用する物質を有効成分とする脊髄神経修復促進治療剤  
出願年月日：2007年8月10日  
出願国：世界  
出願番号：PCT/JP2007/065774  
発明者（所属）：村上 昇（宮崎大）、中原桂子（宮崎大）、橋本美穂（宮崎大）、寒川賢治（国立循環器病センター）、林友二郎（アスピオファーマ株式会社）
  2. 名称：デスアシルグレリン及びその誘導体を有効成分とする脊髄神経修復促進治療剤  
出願年月日：2007年8月10日  
出願国：世界  
出願番号：PCT/JP2007/065769  
発明者（所属）：村上 昇（宮崎大）、中原桂子（宮崎大）、橋本美穂（宮崎大）、寒川賢治（国立循環器病センター）、林友二郎（アスピオファーマ株式会社）
  3. 名称：成長ホルモン分泌促進因子レセプターに作用する物質または薬物的に許容される塩を有効成分とする糖尿病性神経障害治療剤  
出願日：2007年5月7日  
出願国：世界  
出願番号：特願 2007-122897 号  
発明者（所属）：中里雅光（宮崎大）、京楽 格（宮崎大）、塩見一剛（宮崎大）、寒川賢治（国立循環器病センター）、林友二郎（アスピオファーマ株式会社）
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 循環器疾患におけるグレリン投与の治療的意義

主任研究者 寒川賢治 国立循環器病センター研究所 所長

心筋梗塞による死亡原因としては、急性期においては心臓交感神経の過剰興奮に由来する不整脈が多く、慢性期においては左室リモデリングに由来する心不全が多い。本研究では、新規成長ホルモン分泌促進ペプチドであるグレリンが、心筋梗塞急性期の心臓交感神経過剰興奮及び慢性期左室リモデリングを抑制するという仮説をたて、ラットを用いて検討した。結果、グレリンは心筋梗塞後の心臓交感神経活動を著明に抑制し、急性期死亡率を有意に減少させた。また慢性期左室リモデリングも有意に改善した。これらの結果から、グレリンは心筋梗塞治療薬として有用であると考えられた。

### A. 研究目的

心筋梗塞による死亡は、急性期においては心臓交感神経の過剰興奮に由来する不整脈が多く、慢性期においては左室リモデリングに由来する心不全が多い。高齢化社会において、これらの心疾患の予後やQOLの改善は医療のみならず社会的にも重要な課題である。一方、我々は1999年にオープン受容体であった成長ホルモン分泌促進因子受容体の内因性リガンドとして、グレリンと名付けた新規ペプチドをラットおよびヒトの胃から発見した。グレリンは心臓カヘキシアを有する慢性心不全の治療薬として有用であることが示唆されているが（Nagaya et al. Circulation 2001）、グレリンの心筋梗塞急性期における交感神経抑制作用および抗リモデリング作用を検討した報告はなく、本研究において生理学的、病理学的、生化学的検討を行った。なお、グレリンの心血管系への作用にはGH/IGF-1を介したものと、独自作用があるが（Kojima et al. Physiol Rev 2005）、本研究においてはGH/IGF-1に影響しない量のグレリン投与による交感神経抑制・抗左室リモデリング作用を検討した。

### B. 研究方法

#### 【実験1】

雄 Sprague-Dawley ラット（280-340g）に Urethane 麻酔下で左冠動脈結紮により心筋梗塞を作製し、直後にグレリン 150  $\mu$ g/kg (n=10)、または生食 (n=10) を皮下投与し、左第2肋間より剥離した星状神経節から分岐する心臓交感神経枝の電氣的興奮を白金電極で拾い、フィルター処理（low-cutoff 0.1kHz, high-cutoff 1kHz）・増幅処理（BMA-200, Portable Bioamp Inc）後、術後6時間まで記録した。

なお記録中、心臓交感神経興奮の振幅、興奮頻度、これらを積分することにより求めた心臓交感神経活動および動脈圧は、持続的にオンラインモニター（model 8/S PowerLab data-acquisition system, AD Instruments）した。また実際の臨床現場の状況を想定し、心筋梗塞作製2時間後にグレリンを投与（n=8）して同様の観察・記録を行った。なお心筋梗塞のコントロールとして Sham 手術群（n=9）を用意した。

#### 【実験2】

雄 Sprague-Dawley ラット（180-220g）に左冠動脈結紮により心筋梗塞を作製し、心筋梗塞作製翌日よりグレリン 200  $\mu$ g/kg/day (n=15)、または生食の皮下投与（n=15）を2週間行った。また、心筋

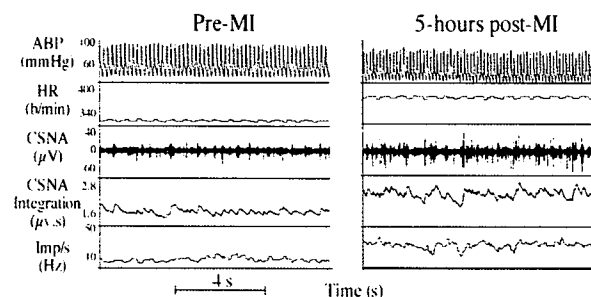
梗塞のコントロールとして Sham 手術群 (n=12) を用意した。梗塞あるいは Sham 手術 1 日目と 14 日目に心エコーにより左室リモデリングの進展および心機能に関する評価を行い、(SONOS 5500, Hewlett Packard)、14 日目に心臓カテーテルによる血行動態評価 (PowerLab data-acquisition system, AD Instruments) と、血漿および心臓組織のサンプリングを行った。病理学的検討としてマッソントリクロム染色による梗塞サイズの評価、シリウスレッド染色によるコラーゲン密度定量を行った。また、ノーザンブロット法により、非梗塞巣における ANP、コラーゲン I、コラーゲン III 遺伝子の発現を検討した。

### C. 研究結果

#### 【実験 1】

##### 1) 心臓交感神経活性に及ぼすグレリンの影響

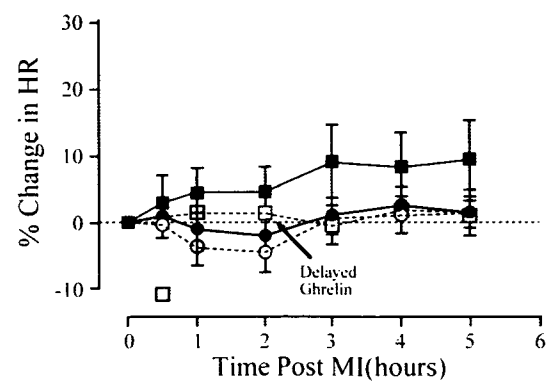
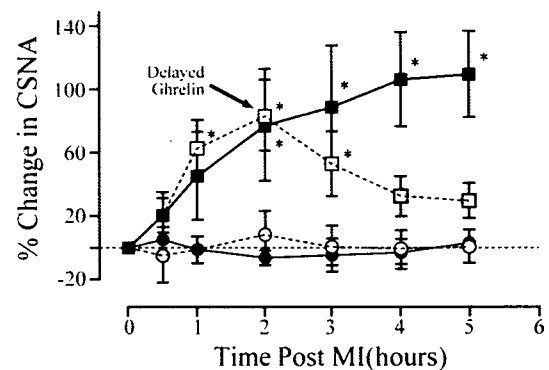
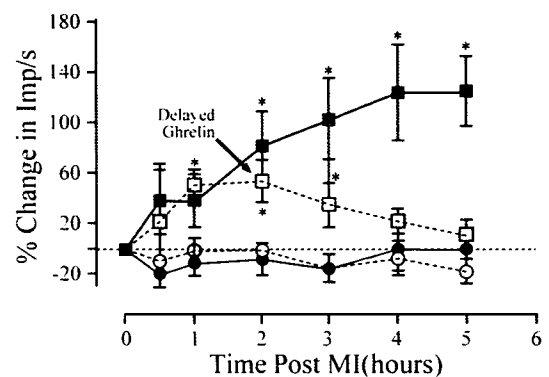
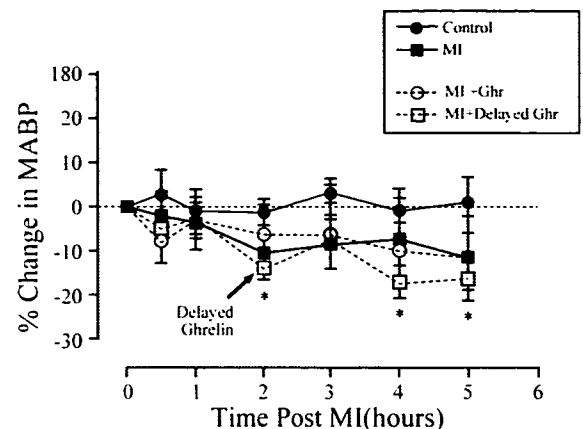
我々が用いた装置により、心臓交感神経活動は明瞭に記録可能であった (図 1)。



< 図 1 >

心筋梗塞作製 30 分後より心臓交感神経活性は増加し始め、以後 5 時間後まで漸増傾向を示したが、グレリン投与群においては全く増加せず、結局 5 時間後まで Sham 手術群との間で差は認めなかった。さらに興味深いことに心筋梗塞作製後 2 時間後にグレリンを投与した群でも、投与後より交感神経活性は漸減し、2 時間後には Sham 手術群との間で有意差が消失するまでに低下した。平均動脈圧は、心筋梗塞作製後 2 時間後にグレリンを投与した群でわずかに低下したものの、心筋梗塞作製直後にグレリンを投与した群においてはとくに他群との間で差は認めなかった。グレリン投与は

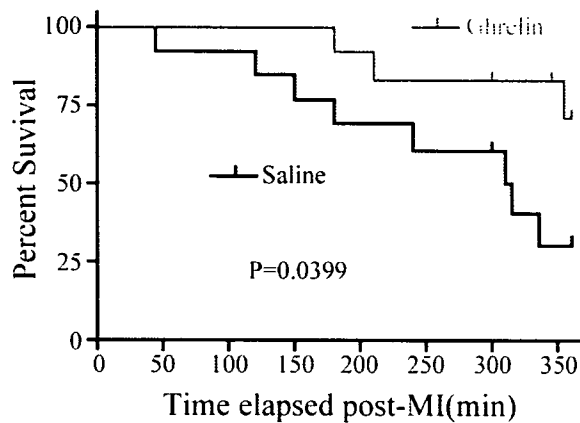
心拍数、心筋梗塞サイズに影響を及ぼさなかった (図 2)。



< 図 2 >

## 2) 心筋梗塞急性期死亡率に及ぼすグレリンの影響

梗塞作製後6時間までの間では、生食投与群では61%の死亡率であったが、梗塞直後にグレリンを投与した群では23%と著明な低下がみられ、これは統計学的にも有意な差であった(図3)。なお、梗塞作製2時間後にグレリンを投与した群でも、死亡率は25%と大幅な減少を認めた。



<図3>

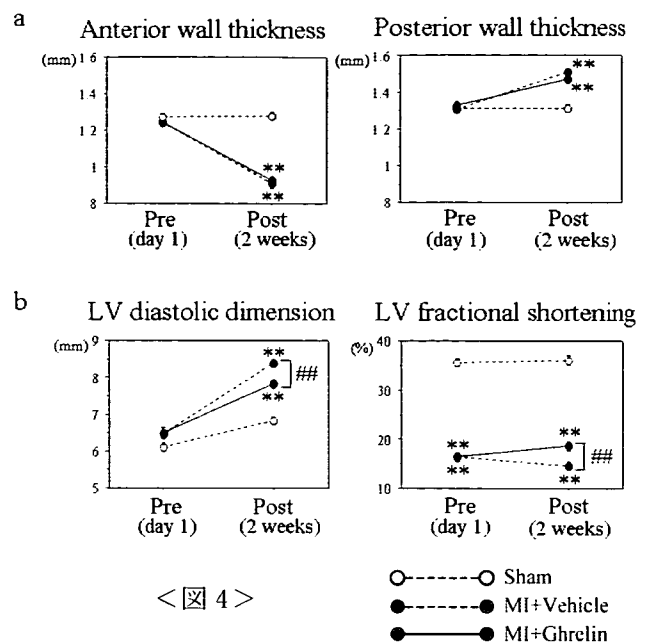
### 【実験2】

#### 1) 体重、心重量、心筋梗塞サイズへのグレリン投与の影響

心筋梗塞群はSham群に比べ体重の減少がみられたが、グレリン投与により体重の回復が認められた。心重量・心筋梗塞サイズについては、グレリン投与は影響を及ぼさなかった。

#### 2) 心エコーおよび心臓カテーテルによるグレリン投与後の評価

心筋梗塞により前壁の菲薄化および後壁の肥厚がみられたが、グレリン投与後においてもこれらの指標に有意な変化は認められなかった。しかし、グレリン投与は左室拡張末期径の拡大ならびに左室収縮能の低下を有意に抑制した(図4)。



<図4>

心拍数は心筋梗塞後(生食群において)有意に増加していたが、グレリン投与によりSham群と変わらないレベルまで減少した。心筋梗塞によって左室拡張末期圧は高くなり、+dP/dt、-dP/dtは低下したが、グレリンは動脈圧に影響を与えることなく、これらの左室収縮および拡張能の指標を有意に改善した(表1)。

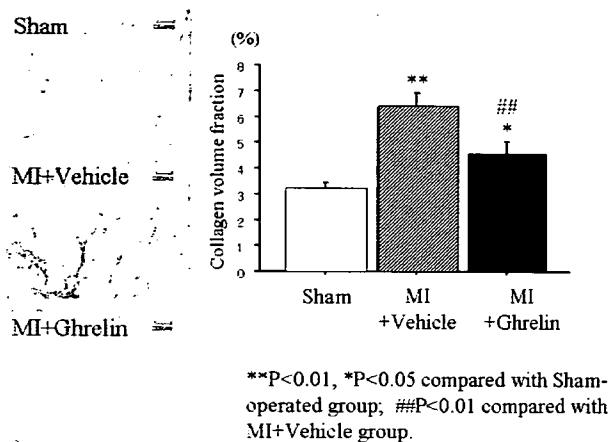
<表1>

	Sham	MI+Vehicle	MI+Ghrelin
HR, beats/min	427±7	449±8*	422±9#
MAP, mmHg	122±4	108±2**	108±3**
LVSP, mmHg	140±4	121±3**	123±3**
LVEDP, mmHg	7±1	21±2**	15±2**#
LV dP/dt <sub>max</sub> , mmHg/s	7544±238	5391±282**	6274±304**#
LV dP/dt <sub>min</sub> , mmHg/s	-5664±182	-4108±184**	-4902±255*#

Values are mean ± SEM. \*\*P<0.01 compared with sham-operated group; ##P<0.01 compared with MI+vehicle group by analysis of variance and Bonferroni's multiple-comparison t test. MI = myocardial infarction; HR = heart rate; MAP = mean arterial pressure; LVSP = left ventricular systolic pressure; LVEDP = left ventricular end-diastolic pressure; LV dP/dt max or min = peak rate of left ventricular rise or fall.

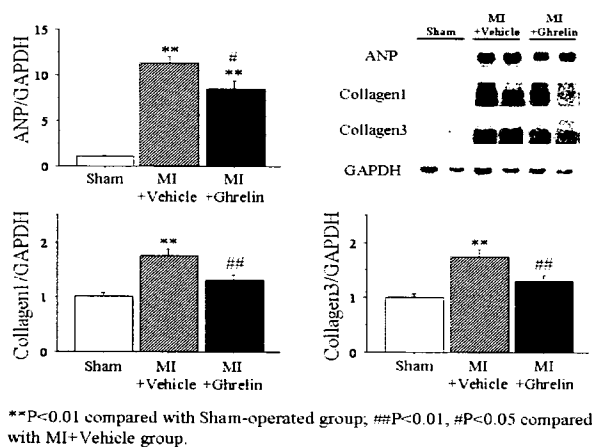
#### 3) コラーゲン密度および遺伝子発現に対するグレリンの効果

グレリンは非梗塞部位における形態学的コラーゲン密度の増加を明らかに軽減した(図5)。



<図 5>

さらに、グレリンは非梗塞部位において線維化に関連するコラーゲン I、コラーゲン III、心肥大に関連する ANP について、それぞれの mRNA の発現増加を著明に抑制した (図 6)。



<図 6>

#### D. 考察

本研究の結果は、実験 1 においてはグレリンが心筋梗塞による過剰な心臓交感神経活性化を抑制し、おそらく心室性不整脈の出現を抑えることで急性期死亡率を有意に減少させたことを示唆している。また実験 2 においてはグレリンが心筋梗塞慢性期における左室機能を改善し、心臓リモデリングの進展を抑制することを示唆している。ほぼ同じ用量のグレリン投与によって実験 1 では心拍

数に有意な変化がみられなかったのに対し、実験 2 では有意な減少がみられた。実験 2 の結果はグレリンによって慢性期の心機能が改善されたことによる二次的なものを見ている可能性がある。心筋梗塞急性期の交感神経活性化は、心拍出量を保つための代償的なものであろうが、同時に心室性不整脈、突然死の原因にもなりうるものが過去の研究で明らかにされている (Keating et al. Cell 2001, Kaye et al. J Am Coll Cardiol 1995)。心筋梗塞直後のグレリン投与だけでなく、梗塞 2 時間後のグレリン投与も交感神経活性を著明に抑制し、死亡率を低下させたことは今後のグレリンの臨床応用に期待を抱かせるものと考えられる。しかしながら、今回用いた量では若干ではあるが血圧に低下がみられた為、今後投与量については継続して検討する必要がある。また今回は単回投与で急性期については充分有意な効果が得られたが、これが慢性期の心臓リモデリングにどの程度関与してくるかについては非常に興味深い点であり、現在研究を進行させている。

実験 2 で、グレリン投与は梗塞慢性期の心機能を有意に改善させたが、この詳細なメカニズムは不明である。グレリンが GH/IGF-1 を刺激し、慢性心不全において心筋の成長を促すことが知られているが、本研究で用いた量は我々の検討では血中 IGF-1 を増加させなかった。このことからグレリンには GH/IGF-1 系に非依存的な独自の抗リモデリング作用があることは示された。グレリンの受容体である GHS-R は心臓にも存在していることが明らかになっているが、本研究で得られた結果がどの程度グレリンの心臓への直接作用に依存しているかについては不明であり、今後検討する必要がある。

#### E. 結論

本研究の結果は、グレリンが新しいタイプの心筋梗塞治療薬として、あるいは心保護薬として有用である可能性を示唆している。ただしそのメカニズム、至適投与量については今後さらに検討する必要がある。

#### F. 健康危険情報

なし



## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- ① Murashita M, Inoue T, Kusumi I, Nakagawa S, Itoh K, Tanaka T, Izumi T, Hosoda H, Kangawa K, Koyama T. Glucose and lipid metabolism of long-term risperidone monotherapy in patients with schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci*, 61: 54-58, 2007.
- ② Kawakoshi A, Kaiya H, Riley LG, Hirano T, Grau EG, Miyazato M, Hosoda H, Kangawa K. Identification of a ghrelin-like peptide in two species of shark, *Sphyrna lewini* and *Carcharhinus melanopterus*. *Gen Comp Endocrinol*, 151: 259-268, 2007.
- ③ Kawamata T, Inui A, Hosoda H, Kangawa K, Hori T. Perioperative plasma active and total ghrelin levels are reduced in acromegaly when compared with in nonfunctioning pituitary tumours even after normalization of serum GH. *Clin Endocrinol*, 67: 140-144, 2007.
- ④ Miura T, Maruyama K, Shimakura S, Kaiya H, Uchiyama M, Kangawa K, Shioda S, Matsuda K. Regulation of food intake in the goldfish by interaction between ghrelin and orexin. *Peptides*, 28: 1207-1213, 2007.
- ⑤ Iwakura H, Akamizu T, Ariyasu H, Irako T, Hosoda K, Nakao K, Kangawa K. Effects of ghrelin administration on decreased growth hormone status in obese animals. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 293: E819-E825, 2007.
- ⑥ Murashita M, Kusumi I, Hosoda H, Kangawa K, Koyama T. Acute administration of clozapine concurrently increases blood glucose and circulating plasma ghrelin levels in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 32: 777-784, 2007.
- ⑦ Takahashi H, Kurose Y, Sakaida M, Suzuki Y, Kobayashi S, Sugino T, Kojima M, Kangawa K, Hasegawa Y, Terashima Y. Ghrelin differentially modulates glucose-induced insulin secretion according to feeding status in sheep. *J Endocrinol*, 194: 621-625, 2007.
- ⑧ Arakawa M, Suzuki H, Minegishi Y, Fukushima Y, Masaoka T, Ishikawa T, Hosoda H, Kangawa K, Hibi T. Enhanced ghrelin expression and subsequent acid secretion in mice with genetic H(2)-receptor knockout. *J Gastroenterol*, 42: 711-718, 2007.
- ⑨ Schwenke DO, Tokudome T, Shirai M, Hosoda H, Horio T, Kishimoto I, Kangawa K. Exogenous ghrelin attenuates the progression of chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension in conscious rats. *Endocrinology*, 149: 237-244, 2008.
- ⑩ Soeki T, Kishimoto I, Schwenke DO, Tokudome T, Horio T, Yoshida M, Hosoda H, Kangawa K. Ghrelin suppresses cardiac sympathetic activity and prevents early left ventricular remodeling in rats with myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 294: H426-H432, 2008.
- ⑪ Hosoda H, Kangawa K. The autonomic nervous system regulates gastric ghrelin secretion in rats. *Regul Pept*, 146: 12-18, 2008.
- ⑫ Hori Y, Kageyama H, Guan JL, Kohno D, Yada T, Takenoya F, Nonaka N, Kangawa K, Shioda S, Yoshida T. Synaptic interaction between ghrelin- and ghrelin-containing neurons in the rat hypothalamus. *Regul Pept*, 145: 122-127, 2008.

### 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

研究協力者

宮里幹也（国立循環器病センター研究所）

徳留 健（国立循環器病センター研究所）

岸本一郎（国立循環器病センター病院）

添木 武（徳島大学医学部）

Daryl O. Schwenke (University of Otago)

## 加齢に伴うソマトポーズおよび食欲低下に対するグレリンの有用性の研究

分担研究者 中尾一和 京都大学大学院医学研究科  
内科学講座・内分泌代謝内科 教授

加齢に伴い、食欲の低下と GH 分泌の低下（ソマトポーズ）が観察される。新規ペプチドホルモンであるグレリンは、摂食と GH 分泌の亢進作用を有する。グレリンの血中濃度は加齢に伴い低下することが報告されている。我々はグレリンの投与により加齢に伴う食欲不振とソマトポーズを改善する可能性を検討した。まず、75 週齢のマウスに 72 時間の絶食の後、摂食再開と同時に 360  $\mu$ g/kg のグレリンを 1 日 2 回  $\times$  4 日間皮下投与したところ、摂食量の増加と体重の回復促進、除脂肪体重比の増加が見られた。次に、50 週齢のマウスに 40  $\mu$ g/kg のグレリンを週 2 回、80 週齢に至るまで皮下投与したところ、体重および体脂肪量は低く保たれた。これらの結果より、グレリンが加齢変化に対する新しい治療法となる可能性が示唆された。

### A. 研究目的

加齢は、食欲および摂食量の低下と GH 分泌の低下（ソマトポーズ）、体組成の変化を伴う。グレリンは 28 アミノ酸からなるアシル化ペプチドで、摂食と GH 分泌の亢進作用を有する新規ホルモンである。グレリンの血中濃度は加齢に伴い低下することが報告されている。本研究では、高齢モデル動物を用いてグレリン投与が加齢に伴う生理的、代謝的变化を改善し得るか否かを検証した。

### B. 研究方法

**動物**：雄性 C57BL6 マウスは日本クレアから購入した。

**実験 1**：10 週齢、25 週齢、50 週齢、75 週齢のマウス 4 グループ（各 n=10）について、7 日間の馴化の後 72 時間の絶食を行い、摂食再開後 5 日間、体重、摂食量をフォローした。

**実験 2**：ラットグレリンはペプチド研究所から購入した。75 週齢のマウス（n=30）に 7 日間の馴化の後 72 時間の絶食を行った。摂食再開と同時にグレリン投

与群（n=15）には 360  $\mu$ g/kg のグレリンを 1 日 2 回  $\times$  4 日間皮下投与し、対照群（n=15）には生理食塩水を投与した。投与終了後、体重、摂食量、CT による体組成の解析を行った。

**実験 3**：50 週齢のマウスに 40  $\mu$ g/kg のグレリンまたは生理食塩水を週 2 回 80 週齢に至るまで皮下投与した（各 n=20）。投与終了後、体重、体組成および血中の代謝パラメーターを測定した。

**統計処理**：結果は平均  $\pm$  SEM で表記し、有意差検定は two-way ANOVA もしくは Student' t-test によった。p < 0.05 を有意とした。

（倫理面への配慮）

本研究における全ての動物実験は京都大学動物実験委員会の認可を受けている。

### C. 研究結果

**実験 1**：平均摂食量と体重は週齢と共に有意に低下した（p < 0.01）。10 週齢マウスは、より高齢の群に比して絶食中の体重の減少と再摂食後の体重増加ともに大き

く、実験終了時の体重は他の群に比して有意に重かった ( $p < 0.001$ )。再摂食後の摂餌量増加率は、75週齢群で10週齢群に比して有意に低かった ( $p < 0.01$ )。

**実験 2:** 再摂食後、薬剤投与期間中の体重増加率、摂餌量ともにグレリン群で生食群に比して有意に高かった ( $p < 0.01$ 、 $p < 0.005$ )。しかし投与終了後は両群間で差を認めなかった。再摂食後の除脂肪体重の増加率はグレリン群で有意に高かった ( $p < 0.05$ )。

**実験 3:** グレリン投与後2時間の摂餌量は有意に増加した ( $p < 0.05$ ) が、1週間の総摂餌量には有意差はなかった。グレリン投与群の体重は生食群に比して有意に低かった ( $p < 0.01$ )。除脂肪体重は2群間で差はなかったが、体脂肪量はグレリン群で有意に低かった ( $p < 0.05$ )。血中ブドウ糖、インスリン、TG、コレステロール、GH、IGF-1レベルに差はなかった。

#### D. 考察

高齢マウスにおいて、グレリン投与は絶食後の摂餌量を増加させ、体重の回復を促進し、除脂肪体重比を増加させた。また、高齢マウスの体脂肪量を低く保った。

#### E. 結論

以上の結果より、グレリンが加齢変化に対する新しい治療法となる可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 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

## 高齢ラットにおけるグレリン受容体作動薬の摂食量および筋に及ぼす作用

分担研究者 千原和夫 神戸大学大学院医学研究科 内科学講座  
糖尿病・代謝・内分泌内科学 教授

グレリンの筋萎縮抑制作用、その高齢者に対する臨床応用の可能性を検討する目的で、高齢ラットにおけるグレリン受容体作動薬 GHRP-2 の筋に及ぼす効果を、GH 分泌、摂食量、体重に及ぼす効果と併せて検討した。GHRP-2 の皮下投与（10  $\mu$ g/kg、2 回/日、60 日間）は、12 ヶ月齢の SD 系雄ラットにおいて、摂食量、体重、血中成長ホルモン（GH）値を増加させた。一方、100  $\mu$ g/kg の GHRP-2 の投与効果は、明瞭なものではなかった。10  $\mu$ g/kg の GHRP-2 投与はヒラメ筋筋線維断面積を増加させ、筋萎縮を抑制する可能性が示唆された。10  $\mu$ g/kg および 100  $\mu$ g/kg の GHRP-2 投与で、ヒラメ筋 atrogen-1、MuRF 1 mRNA 量は減少したが、ヒラメ筋筋線維断面積への効果は 10  $\mu$ g/kg GHRP-2 投与時のみ観察されたことから、この効果は単に atrogen-1、MuRF 1 の発現減少によるものでなく、GH 上昇を伴うことが必要である可能性が考えられた。

### A. 研究目的

高齢者では、体脂肪量の増加、骨塩量の減少のほか、筋萎縮が目立つ。疾病により高齢者が長期臥床を余儀なくされたとき、筋萎縮はさらに亢進し、それにより活動性が低下し、社会生活が制限されることが多い。高齢者では成長ホルモン（GH）の分泌が低下するが（somatopause）、高齢者における体脂肪量増加、骨塩量減少、筋萎縮も、GH 分泌不全症患者におけるそのような体組成変化と同様、GH 分泌の低下に起因している可能性がある。

グレリンは GH 分泌を強力に促進するので、高齢者におけるグレリン、あるいはグレリン受容体作動薬の投与は、体脂肪量増加、骨塩量減少、筋萎縮に抑制的に作用する可能性がある。また、グレリンは脂肪細胞、骨芽細胞、筋細胞への直接作用も報告されているので、GH を介する間接作用と相俟って、体脂肪量、骨塩量、筋萎縮に影響を及ぼす可能性も考えられる。

最近、筋萎縮の発症機構の解明が進み、種々の原因による筋萎縮に共通して、ユビキチン・プロテアソーム系が活性化されていることが明らかと

なってきた。なかでも、筋特異的ユビキチンリガーゼである Atrogen-1、MuRF1 発現はこれらの筋萎縮に共通して増加していること、逆にこれらのノックアウトマウスでは筋萎縮が抑制されることから、その生理的重要性が認識されてきている。私どもは、グレリン受容体作動薬 GHRP-2 は筋に直接作用して、Atrogen-1、MuRF1 発現を低下させることを見出している。今回、高齢者の筋萎縮に対するグレリン、グレリン作動薬の効果をみる前段階として、GHRP-2 の筋萎縮に及ぼす効果について高齢ラットで検討した。また、GHRP-2 の GH 分泌、摂食量、体重に対する作用も併せて検討した。

### B. 研究方法

#### 1) グレリン受容体作動薬 GHRP-2 の摂食量、体重に及ぼす効果

12 ヶ月齢の SD 系雄ラットを 2 週間環境に馴化させたのち、3 群に分け、それぞれ 1) GHRP-2 10  $\mu$ g/kg 体重、2 回/日、2) GHRP-2 100  $\mu$ g/kg 体重、2 回/日、3) 同量の生理的食塩水、2 回/日を毎日皮下投与した。摂食量、体重も毎日測定した。