

201413005A・B

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業  
(腎疾患対策研究事業)

新規消化管ペプチドグレリンによる  
慢性腎臓病新規治療戦略の確立

平成24年度－平成26年度

**総合研究報告書**

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 伊藤 裕

平成27(2015)年5月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業  
(腎疾患対策研究事業)

新規消化管ペプチドグレリンによる  
慢性腎臓病新規治療戦略の確立

平成24年度—平成26年度

総合研究報告書

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 伊藤 裕

平成27(2015)年 5月

## 目 次

### 平成24年度—平成26年度 総合研究報告書 -----5

#### I. 平成24年度—平成26年度 総合研究報告書

新規消化管ペプチドグレリンによる慢性腎臓病新規治療戦略の確立

-----9

伊藤裕 慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科

#### II. 研究成果の刊行に関する一覧 -----41

### 平成26年度 総括・分担研究報告 -----45

#### I. 平成26年度総括研究報告

グレリンの腎保護作用を腎不全患者への応用 -----49

伊藤裕 慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科

#### II. 平成26年度分担研究報告

グレリン受容体欠損マウスを用いたグレリンの腎保護作用に関する研究

----- 93

徳山博文 慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科

脇野 修 慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科

糖尿病性腎症に対するグレリン長期投与による腎保護効果の検討

-----101

篠塚 圭祐 慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科

脇野 修 慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科

臨床試験「新規消化管ペプチド「グレリン」による慢性腎臓病患者に対する安全性の確認  
試験 -----109

中谷英章 慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科

脇野 修 慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科

#### III. 研究成果の刊行に関する一覧 -----153

#### IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----155

**平成26年度  
総括・分担研究報告書**

# I . 平成 2 6 年度総括研究報告

## グレリンの腎保護作用を腎不全患者への応用

慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科 伊藤 裕

研究要旨 慢性腎臓病（CKD）でのエネルギー消耗性の病態であるprotein-energy wasting syndrome（PEW）の改善によりCKD患者の腎予後の改善を目指すのが本研究の目的である。申請者はこれまでPEWの原因となるインスリン抵抗性の研究を進め腎性インスリン抵抗性症候群（RIRs）の概念を提唱した。PEWでの全身の酸化ストレスの亢進の改善について、共同研究者が発見した（Nature 1999）消化管ペプチドであるグレリンに注目した。我々はグレリンの慢性投与が腎臓の酸化ストレスレベルを低下させ、慢性の腎障害を抑制すること、グレリン受容体欠損マウスでの解析で内因性のグレリンが腎臓の酸化ストレスレベルの調節に重要であることが明らかとしている。さらにグレリン臨床試験の実現のためのシステムづくりとプロトコール作成を行った。国内ですでにグレリンの臨床研究を施行している宮崎大学よりの情報を参考に独自の倫理審査および臨床試験プロトコールを作製した。グレリンは（株）ペプチド研究所から購入し、そして慶應義塾大学病院内に製剤化するシステムを薬剤部の協力のもと構築した。さらに投与量に関しては京都大学医学部探索医療センター・グレリン創薬プロジェクトにおいて、低容量投与群として1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重を、高容量投与群として5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重を投与していることより、腎機能との関連で3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重を投与することとした。平成24年度はCKD患者に対するグレリン投与に関する詳細な試験プロトコールの作成と臨床試験に関する倫理審査を行った。まず試料の入手方法および製剤方法に関しシステムを作成する必要があった。過去に呼吸不全患者に投与を行った経験を有する宮崎大学および国立循環器病研究センター研究所の助言を得た。その結果グレリンは（株）ペプチド研究所から購入し、そして慶應義塾大学病院内にグレリンを製剤化するシステムを薬剤部の協力のもと構築した。すなわち慶應義塾大学病院薬剤部でその純度を確認し、必要な場合はさらに再精製の過程を加える。慶應義塾大学病院薬剤部にてこれを秤量し、3.75%マンニトール溶液に溶解後、フィルターにて濾過して無菌化し、バイアル詰めにし、製剤化する。ロットが異なるごとに薬剤部にて純度の確認を、エンドトキシン試験、無菌試験を外部委託により行う。異物検査に合格したものにラベルを貼付する。使用直前には、凍結試験薬を室温にて融解した後、使用量を総量20mLの生理食塩水に希釈して調製する。次にCKD患者に対する体内動態が明らかではなかったため投与量を慎重に決める必要が求められた。京都大学医学部探索医療センター・グレリン創薬プロジェクトにおいては、健常人にグレリンを静脈内投与した際の安全性、体内動態、薬理作用を検討し、重篤な有害事象を発生しないことを確認し報告

している。(Eur J Endocrinol. 2004)。この報告の中で、低容量投与群として1 µg/kg体重を、高容量投与群として5 µg/kg体重を投与しており、今回我々はその中間用量の3µg/kg体重を投与することとした。グレリン持続点滴投与を行い血中濃度は腎機能に影響されないこと。有害事象も消化管の運動亢進症状以外認められないことを明らかとした。

B. 研究目的  
慢性腎臓病 (CKD) でのエネルギー消耗性の病態である protein-energy wasting syndrome (PEW) の改善により CKD 患者の腎予後の改善を目指すのが本研究の目的である。申請者はこれまで PEW の原因となるインスリン抵抗性の研究を進め腎性インスリン抵抗性症候群 (RIRs) の概念を提唱した。平成 21 年度の厚生科学研究事業 (課題 ID 09156251) でこれを詳細に解析した。PEW では筋萎縮、脂肪萎縮が認められる。申請者は筋萎縮や脂肪萎縮性糖尿病の病態解明を行いミトコンドリア (Mit) の機能異常の存在 (別添図 6) (Biochem Biophys Res Commun 2008, Diabetes. 2009) を報告してきた。PEW での全身の酸化ストレスの亢進に対し、共同研究者が発見した (Nature 1999) 消化管ペプチドであるグレリンに注目した。申請者はグレリンの慢性投与が慢性の腎障害を抑制することを発見した。さらに平成 24 年度の基礎的検討ではグレリン受容体欠損マウスにおいてはすでに腎組織の酸化ストレスの亢進、尿細管障害が認められ、内因性のグレリンが腎臓の酸化ストレスレベルの調節に重要であることが明らかとなり、グレリンの腎保護作用の有効性がさらに確認できた。

B. 研究方法  
ヒトへのグレリン投与については、京都大学医学部探索医療センター・グレリン創薬

プロジェクトにおいて、健常人にグレリンを静脈内投与した際の安全性、体内動態、薬理作用を検討し、重篤な有害事象を発生しないことが確認され報告されている。

(Akamizu et al. Eur J Endocrinol. 2004; 150: 447-55)。さらに、グレリンに関する臨床試験・治験として、摂食不振患者や変形性股関節症による人工股関節置換術患者を対象とした臨床第 2 相試験が実施されている。一方、アスビオファーマ株式会社では、ヒトグレリンの製造、製剤化に成功し (Makino T et al. Biopolymers. 2005; 79: 238-47.)、グレリンの工業的生産法を確立し、さらに、グレリンの前臨床試験や健常人での安全性や作用を確認し、神経性食欲不振症、ならびにカヘキシアを対象とした臨床第 2 相試験を、日本、及び欧米で開始している。また、血液透析患者に投与した報告もあり、有効性、安全性が示されている。(Damien R. Ashby et al. Kidney International 2009; 76: 199-206)

### C. 研究結果

倫理審査 (添付資料 1) を経て、Phase I 試験のプロトコール (添付資料 2) に則り臨床治験を施行した。Phase I 試験として非透析 CKD 患者 6 症例で安全性を確認した (UMIN000011673、図 1)。グレリン持続点滴投与を行い血中濃度は腎機能に影響されないこと (図 2, 3, 4)。有害事象も消化管の運動亢進症状以外認められないことを明ら

かとした (図 5)。

#### E. 考案

国民医療費の増加の一因として慢性腎臓病 (CKD) の進行による心血管事故の増加と維持血液透析患者の増加がある。従って近年 CKD の発症に対する早期介入および進展阻止を重視した実地医療の展開が強調されている。しかしながら、新規透析導入は未だ減少していない。いまこそ CKD の治療戦略におけるパラダイムシフトが必要である。CKD の進展には申請書の提唱する腎性インスリン抵抗性症候群をはじめとする CKD における代謝異常が消耗性の病態である Protein Energy Wasting syndrome (PEW) を引き起こすことが背景にあると考えられる。本研究はこの PEW の進展増悪の阻止を CKD 治療に応用するという CKD を代謝異常症として捉え直す新たな治療パラダイムを提唱するものである。そして本研究はこれを臨床的に検証し、グレリン補充という CKD に対する新しい治療法の開発を推進する臨床に直結した研究プロジェクトである。しかも共同研究者の寒川らが発見した生理活性ペプチドを用いた translational research でありわが国発の世界に誇る研究である。本研究で得られる新知見は学術的にも有意義なものであるのみならず、CKD による加齢健康障害を阻止する新治療を提示できる可能性が高い。医療経済上も CKD 患者の透析移行の阻止、遅延を目指すものであり、その社会的貢献は極めて高い。

#### F. 結論

新規ペプチドグレリンの腎不全への適応をめざし基礎および臨床研究を開始した。今後実施への基礎データの構築を目指したい。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. 藤村慶子、脇野修、水口斉、原義和、長谷川一宏、徳山博文、林晃一、伊藤裕 アンジオテンシン II による腎老化作用に対する Ghrelin の腎保護効果、第 84 回日本内分泌学会学術集会、2011 年
2. 藤村慶子、脇野修、林晃一、伊藤裕 アンジオテンシン II による老化作用に対する Ghrelin の腎保護効果、第 54 回日本腎臓学会学術集会、2011 年
3. 藤村慶子、脇野修、水口斉、原義和、長谷川一宏、山口慎太郎、本間康一郎、神田武志、徳山博文、林晃一、伊藤裕 Angiotensin II による腎老化作用に対する Ghrelin の腎保護効果、第 34 回日本高血圧学会学術集会、2011 年
4. Keiko Fujimura, Shu Wakino, Hitoshi Minakuchi, Kazuhiro Hasegawa, Koichi Hayashi and Hiroshi Itoh. Ghrelin suppresses angiotensin II-induced premature renal senescence by reducing oxidative stress、ASN 2011
5. 藤村慶子、脇野修、水口斉、長谷川一宏、徳山博文、林晃一、伊藤裕 Angiotensin II による腎老化作用に対する Ghrelin の腎保護効果、日本心血管内分泌学会、2011 年
6. 藤村慶子、脇野修、林晃一、伊藤裕 Angiotensin II による腎障害に対する Ghrelin の腎保護効果、第 55 回日本腎臓学会学術集会、2012 年
6. 藤村慶子、脇野修、篠塚圭祐、徳山博文、林晃一、伊藤裕、消化管ペプチド Ghrelin の腎臓における生理的意義、第 57 回日本腎臓学会学術総会、



2014 年，横浜。（日本腎臓学会誌，56：3，303，2014.）

7. 脇野 修，藤村 慶子，篠塚 圭佑，徳山 博文，林 晃一，伊藤 裕，消化管ホルモン Ghrelin の腎臓における作用，第 17 回日本心血管内分泌学会，2014 年，横浜。（日本内分泌学会雑誌，90：2，752，2014.）

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

む）

1. 特許取得

糖尿病性腎症予防治療薬特許申請準備中  
発明者：伊藤 裕、脇野 修、中谷 英章、藤村 慶子、篠塚 圭祐、寒川 賢治  
出願者：慶應義塾

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図1 新規消化管ペプチド「グレリン」による慢性腎臓病患者に対する安全性の確認試験(UMIN000011673)の登録患者

患者	年齢	性別	原疾患	体重 kg	血圧 mmHg	血清Cr mg/dL	eGFR ml/分/1.73m <sup>2</sup>
A	36	女性	腎硬化症	41.4	157/107	3.03	15
B	71	男性	慢性腎炎	53.9	146/90	11.87	4
C	48	男性	糖尿病性腎症	90	166/88	9.26	7
D	84	男性	HCV関連腎症	49.5	126/71	7.26	5
E	44	男性	糖尿病性腎症	72	119/75	5.98	10
F	60	男性	糖尿病性腎症	86	133/85	10.10	7

図2 各症例でのグレリン血中濃度変化

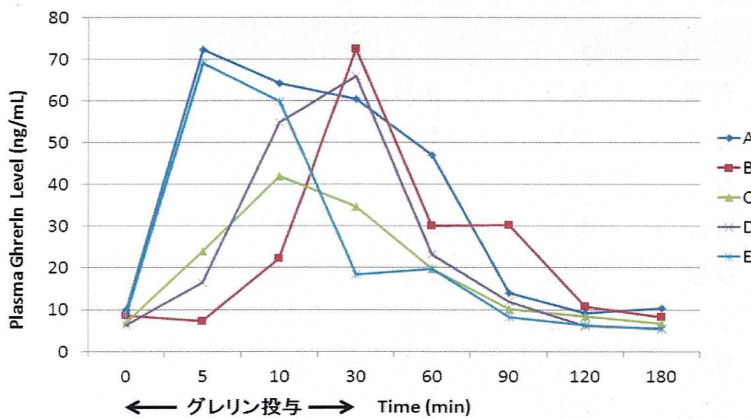
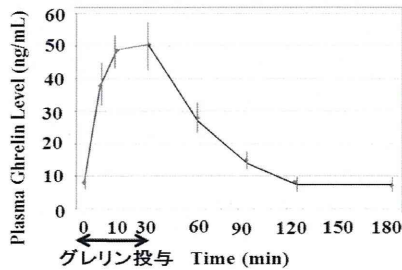
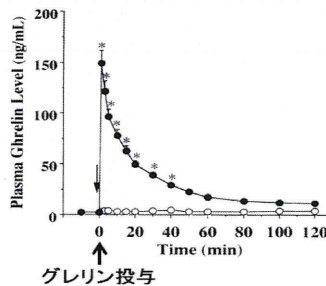


図3 グレリン投与時の血中グレリン濃度の変化  
— 健常人との比較 —

CKDへの合成ヒトグレリン3μg/kgの単回静脈内投与後の血中グレリン濃度 (本治験)



健常人への合成ヒトグレリン10μg/kgの単回静脈内投与後の血中グレリン濃度 (Eur J Endocrinol. 2004)



CKD 3μg/kg体重投与の最高血中濃度は50ng/mLであり、健常人10μg/kg体重の最高血中濃度は150ng/mLであった。腎機能による異常高値は認められなかった。

図4 グレリン血中濃度半減期およびピーク値と腎機能との関係

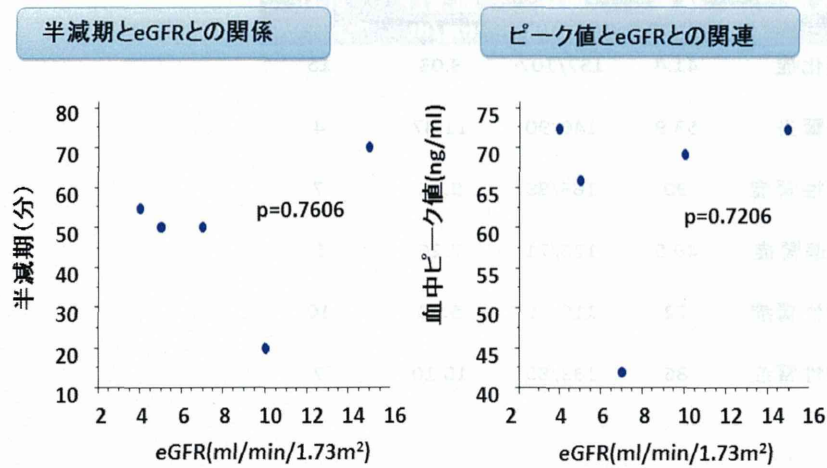


図5 CKD患者に対するグレリン投与での副作用・有害事象

	患者A	患者B	患者C	患者D	患者E	患者F
腸管運動亢進	あり	あり	あり	あり	あり	あり
腹部違和感	なし	なし	なし	なし	なし	なし
下痢	なし	なし	なし	なし	なし	なし
血圧低下	なし	なし	なし	なし	なし	なし
低血糖症状	なし	なし	なし	なし	なし	なし
顔面紅潮	なし	なし	なし	なし	なし	なし
不眠	なし	なし	なし	なし	なし	なし
その他	なし	なし	なし	なし	なし	なし

添付資料 1

倫理審査申請書

(西暦) 2013 年 4 月 1 日

慶應義塾大学医学部長 殿

部 門 長 所属 腎臓内分泌代謝内科 職名 教授

氏名 伊藤 裕 個人番号 606144

署名 \_\_\_\_\_ (印)

研究責任者 所属 腎臓内分泌代謝内科 職名 教授

氏名 伊藤 裕 個人番号 606144

署名 \_\_\_\_\_ (印)

実務責任者 所属 腎臓内分泌代謝内科 職名 講師

氏名 脇野 修 個人番号 095855

署名 \_\_\_\_\_ (印)

個人情報管理者 所属 クリニカルセンター 職名 特任講師

氏名 丸山 達也 個人番号 002122

承認番号 \_\_\_\_\_

\* 受付番号 (課題番号) \_\_\_\_\_ 号<事務局で記入>

1 課題名 新規消化管ペプチド「グレリン」による慢性腎臓病患者に対する安全性の確認

2 審査対象 基礎研究計画 臨床研究計画 (介入型) 臨床研究計画 (非介入型)  
医療計画 その他 ( )

同意文書  有  無 (慶應義塾大学病院の患者さんを対象としたもの)  
高度医療申請  有  無

### 3 研究組織

#### 分担者

氏名	所属	職名
中谷 英章	田辺三菱製薬寄付講座	特任助教

共同研究機関と担当者 (多施設共同研究の場合は研究組織名と代表者)

寒川 賢治 国立循環器病研究センター研究所 研究所長

### 4 計画の概要

#### 4.1. 目的と方法

目的の概要: 慢性腎臓病の進展阻止のための有効な治療方法を確立するため、新規消化管ペプチド「グレリン」を慢性腎臓病患者に投与し、その安全性を確認することが本研究の目的である。グレリンは1999年日本で分離精製されたペプチドであり、胃から分泌され、食欲増進と成長ホルモンの分泌亢進作用を認めるホルモンである。近年グレリンが抗酸化作用を有することが明らかにされた。我々はラットを用いた研究で慢性のグレリン投与が腎機能障害の進行を阻止することを見出した。腎機能障害の進行に腎臓における酸化ストレスの亢進が関与することが知られておりグレリンの抗酸化作用が腎機能進展抑制に働いたと考えられた。一方でグレリンは小規模ながらもすでに神経性食思不振症、慢性肺気腫、維持透析患者での投与の報告があり、患者のQOLを上昇させることが報告されている。今回の検討では透析導入前の保存期の腎機能障害の患者に対し投与を行い、慢性腎臓病患者における安全性を明らかにする目的で第1相試験を施行する。

入院の上、1日のみ朝食前にグレリン注射液(200 $\mu$ g/2ml/バイアル)必要量を生理食塩水に溶解して3 $\mu$ g/kg体重に調整し、シリンジポンプを用いて30分で静注にて投与する。

国立循環器病センターで行われた健常人ボランティア12名における臨床試験の報告(Akamizu et al. Eur J Endocrinol. 2004; 150: 447-55)の中で、低用量投与群として1 $\mu$ g/kg体重を、高用量投与群として5 $\mu$ g/kg体重を投与しており、また、血液透析患者には、透析後の無尿状態に対する12 $\mu$ g/kg体重を投与した報告があり、有効性、安全性が示されている(Damien R. Ashby et al. Kidney International 2009; 76: 199-206)。

今回我々は腎臓病患者に対する安全性を確認するため、透析患者に対して投与報告があった量の四分の一で、健常人に対して投与された高用量よりも少ない3 $\mu$ g/kg体重を投与することとした。

安全性に関しては以下の副作用が報告されている。国立循環器病センターで行われた健常人ボランティア12名における臨床試験(Akamizu et al. Eur J Endocrinol. 2004; 150: 447-55)を通して安全性は証明されているが、主な副作用としては腸管運動亢進・腹部違和感(1名/12名)、顔面紅潮(2名/12

名)であった。また維持透析患者への投与の報告もあり、腸管運動亢進(1名/12名)、腹部違和感(1名/12名)、顔面紅潮(1名/12名)、不眠(1名/12名)の症状を認めた以外は大きな副作用は認められなかった。(Damien R. Ashby et al. Kidney International 2009; 76: 199-206) 初回投与時は入院の上投与し、全身状態を厳重に管理した上で副作用の発現に細心の注意を払い安全性の確認を行う。

方法の概要：年齢20歳以上の慢性腎臓病ステージG4およびG5の患者(eGFR<30ml/min/1.73m<sup>2</sup>)で、透析導入されていないBMI25未満の当院外来患者に入院の上1日のみ朝食前にグレリン注射液(200μg/2ml/バイアル)必要量を生理食塩水に溶解して3μg/kg体重に調整し、シリンジポンプを用いて30分で静注にて投与する。グレリン投与後の血中濃度の経時的変化と、投与前後での腎臓の機能の変化を糸球体濾過率eGFRの変化率で調べる。ヒト合成グレリンの原末(純度90%以上、TFA塩、GMPグレード)を(株)ペプチド研究所から購入する。また、共同研究者である国立循環器病研究センター研究所の寒川賢治先生より本研究施行に際し指導及び助言を頂く。

#### 4.2 研究協力者の人数

パイロット study としてグレリン投与群6名

#### 4.3 実施期間

倫理委員会承認後より7カ月間

#### 4.4 実施場所

慶應義塾大学医学部 腎臓内分泌代謝内科 外来および病棟

### 5 研究協力者の選定・依頼と協力の詳細

#### 5.1 選定基準(13.4に詳述する場合は概要を記載)

(概要)年齢20歳以上の慢性腎臓病ステージG4およびG5の患者(eGFR<30ml/min/1.73m<sup>2</sup>)で、透析導入されていない当院外来患者のうち、BMI25未満で除外基準に該当せず、本研究協力に同意した者

#### 5.2 依頼方法

「患者説明文書」を用いて研究の主旨を説明し、「研究協力の同意書」に署名にて同意を取得する

#### 5.3 協力の詳細

1. 身体計測：身長、体重、腹囲、上腕三頭筋囲、上腕三頭筋皮下脂肪厚(登録時、入院時)
2. 検査：血液検査(1回当たり末梢静脈血10ml)、尿検査(1回当たり10ml)  
(登録時、入院投薬時)

試験開始前は登録時に血液検査と尿検査を1回行う。グレリン投与後の体内血中濃度の測定は、入院時に1回のみ行う。入院投与時はグレリン投与直前、1分後、5分後、10分後、20分後、30分後、40分後、50分後、60分後、90分後、120分後、180分後、の合計12回の採血により行う。採血は、第一回目の採血時にサーフローを挿入して行い、採血後にヘパリン生理食塩水を採血チューブに充填しヘパロックする。以降はそこからシリンジを用いて血液を採取する（1回当たり末梢静脈血10ml）。穿刺は1回のみ。検体は慶應義塾大学病院内で東ソーの自動ELISA測定装置を用いて行う。

尿検査は、1回当たり10mlで、グレリン投与直前、60分後、120分後、180分後の計4回行う。

3. 生理機能検査、画像検査：心電図、胸部レントゲン、心エコー（登録時）
4. 投薬：入院の上、1日のみ朝食前にグレリン注射液（200 $\mu$ g/2ml/バイアル）必要量を生理食塩水に溶解して3 $\mu$ g/kg体重に調整し、シリンジポンプを用いて30分で静注にて投与する。

京都大学医学部探索医療センター・グレリン創薬プロジェクトにおいては、健常人にグレリンを静脈内投与した際の安全性、体内動態、薬理作用を検討し、重篤な有害事象を発生しないことを確認し報告している。（Akamizu et al. Eur J Endocrinol. 2004; 150: 447-55）。

この報告の中で、低用量投与群として1 $\mu$ g/kg体重を、高用量投与群として5 $\mu$ g/kg体重を投与しており、また、血液透析患者には12 $\mu$ g/kg体重を投与した報告があり、有効性、安全性が示されている。（Damien R. Ashby et al. Kidney International 2009; 76: 199-206）

今回我々は腎臓病患者に対する安全性を確認するため、透析患者に対して投与報告があった量の四分の一で、健常人に対して投与された高用量よりも少ない3 $\mu$ g/kg体重を投与することとした。更に投与と同時に血中レベルを院内の測定システムを活用して測定することにより過剰投与を防止する。

今回用いる試料（グレリン）は基礎実験用ペプチドではなく、ヒト合成グレリンの原末（純度90%以上、TFA塩、GMPグレード）を（株）ペプチド研究所から購入する。

## 基礎試験

### ① 薬効薬理（GH分泌刺激作用およびその他の神経分泌作用）

ラット培養下垂体細胞において、合成ラットグレリン（ヒトグレリンのArg<sup>11</sup>-Val<sup>12</sup>がLyS<sup>11</sup>-Ala<sup>12</sup>に置換）は、GHRHと同等のGH分泌刺激作用を有していた（EC<sub>50</sub>=2.1nM）。グレリンは10 $\mu$ Mの濃度においてもACTH、FSH、LH、PRLおよびTSHの分泌に影響を及ぼさなかった。雄性ラットにおいて合成ラットグレリン（10 $\mu$ g iv）は5-10分後に140ng/mL程度のGHの頂値をもたらした。また、このin vivoの系においても合成ラットグレリンは他の下垂体前葉ホルモンの分泌に影響を及ぼさなかった。

### ② 毒性

サントリー株式会社（現アスピオファーマ株式会社）で2000年3月21日より同年10月2日にかけて

て行われたグレリンの毒性試験では、1群5例の Cj:CD (SD) IGS ラットにラットグレリンを10及び50 $\mu$ g/kg、2週間反復静脈内投与し、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、飲水量測定、尿検査、血液及び血液生化学的検査、骨髄検査、病理学的検査および BrdU 取り込みによる DNA 合成検査を行い、ラットグレリンの in vivo における生化学的作用を検討した。得られた結果は以下の通りであった。一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、飲水量測定、尿検査、血液及び血液生化学的検査、骨髄検査、病理学的検査および BrdU 取り込みによる DNA 合成検査で、ラットグレリン投与による影響は認められなかった。以上の結果から、本試験条件下では、ラットグレリンの10及び50 $\mu$ g/kg 投与を2週間反復静脈内投与しても、明らかな毒性は認められなかった。

## 臨床試験

### ① 薬効薬理（GH 分泌刺激作用およびその他の神経内分泌作用）

2001年1月17日より同年4月11日までに国立循環器病センターで行われた健常人ボランティア6名における臨床試験では、合成ヒトグレリン 10 $\mu$ g/kg の投与によって、血清 GH は30分後に約80ng/mL のレベルまで増加し、120分後には約20ng/mL まで減少した。血中 ACTH、PRL の値はそれぞれ215pg/mL、20.4ng/mL の頂値をとった。イタリアのグループによると、1.0 $\mu$ g/kg の合成ヒトグレリン投与によって、GH は30分後に92.1ng/mL の頂値を取った。

### ② 薬効薬理（血行動態に及ぼす作用）

国立循環器病センターで行われた健常人ボランティア6名における臨床試験では、合成ヒトグレリン 10 $\mu$ g/kg の投与によって平均動脈圧を12mmHg 降下させた。この値はプラセボ群と比較して統計学的に有意であった。その際に有意な心拍数の増加は認められなかった。

### ③ 薬物動態

国立循環器病センターで行われた健常人ボランティア6名における臨床試験では、合成ヒトグレリン 10 $\mu$ g/kg 投与によって血中グレリン濃度は1分後に基礎値の約61倍(150ng/ml)の濃度に達した。投与されたグレリンは約10分の半減期で急速に血中より消失し、120分後にはほぼ基礎値のレベルにまで低下していた。

### ④ 毒性

国立循環器病センターで行われた健常人ボランティア12名における臨床試験では、グレリンの静脈内投与によって、軽度の熱感(2名/12名)や腸蠕動の亢進(1名/12名)を自覚したのみで、その他に特記すべき自覚症状および他覚症状は認められなかった。これまでに、慢性心不全患者、慢性閉塞性肺疾患患者、高齢者股関節置換術、神経性食欲不振症、慢性下気道感染症など多彩な疾患に対して反復投与試験が行われているが、特記すべき有害事象は認められていない。

## 6 計画が準拠する倫理ガイドライン

「ヘルシンキ宣言」、および、



- ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針
- 臨床研究に関する倫理指針
- 疫学研究に関する倫理指針
- その他（ ）

#### 7 研究協力者への危険性とそれへの対処方法、協力者の利益、および社会的な危険性と利益の予測

グレリンは消化管ペプチドであり、国立循環器病センターで行われた健常人ボランティア 12 名における臨床試験では、低用量投与群として 1 μg/kg 体重を、高用量投与群として 5 μg/kg 体重を投与しているが安全性は証明されており、主な副作用としては腸管運動亢進・腹部違和感（1 名/12 名）、顔面紅潮（2 名/12 名）であった。（Akamizu et al. Eur J Endocrinol. 2004; 150: 447-55）また血液透析患者には 12 μg/kg 体重を投与した報告もあり、腸管運動亢進（1 名/12 名）、腹部違和感（1 名/12 名）、顔面紅潮（1 名/12 名）、不眠（1 名/12 名）の症状を認めた以外は大きな副作用は認められなかった（Damien R. Ashby et al. Kidney International 2009; 76: 199-206）。

初回投与時は入院の上投与し、全身状態を厳重に管理した上で副作用の発現に細心の注意を払う。その一方で協力者の利益としては、CKD に対する新規治療法を提供できる可能性が考えられる。国民医療費の増加の一因として CKD の進行による心血管事故の増加と維持血液透析患者の増加が挙げられるが、CKD に対する早期からの治療介入にもかかわらず CKD の進行阻止のための有効な治療法は未だないのが現状である。しかし、CKD 患者の病態の基盤となるエネルギー消耗状態である protein-energy wasting syndrome (PEW) の改善により CKD 患者の腎予後の改善が期待でき、医療費の増加も抑制できる可能性が考えられる。本研究により慢性腎臓病患者に対するグレリン投与の安全性が担保されれば、有効性を検証することができ、腎不全に対する新しい治療の確立による腎不全進行阻止が可能となるかもしれない。

本研究では臨床研究に関する倫理指針の規定により被験者に生じた健康被害の補償のための保険に加入し、万一被験者に健康被害が生じた場合補償する。

#### 8 個人情報保護の方法（匿名化の方法、発表の際の配慮等、とくに検体等を学外に移動する場合の配慮）

##### 診療情報、試料に関する個人情報について

個人情報管理者が新たな通し番号を設定し、本研究の管理 ID とする。管理 ID とカルテ番号との連結表を作成し、個人情報管理者が厳重に管理する。管理 ID により全ての情報を管理する。（連結可能匿名化）

なお、本研究に関する一切の試料など（サンプル、データ）は当院内で保管し、国立循環器病研究センターには移動されない。

9 研究協力者に理解を求め同意を得る方法（説明書および同意書を添付）

9.1 インフォームド・コンセントを受けられない協力者（未成年等）が必要な場合の理由

本研究では 20 歳以上の患者が対象のため該当しない

9.2 研究実施前に提供された試料等を使用する場合の同意の有無、内容、提供時期、関連指針への適合性

本研究では該当しない

9.3 他の研究実施機関から試料等の提供を受ける場合のインフォームド・コンセント

（説明書および同意書を添付）

本研究では該当しない

## 10 研究資金の調達方法

外来診察費用、検査費用、入院費用は通常の慢性腎臓病患者と同様に一般の保険診療下で行われ、自己負担分の費用は通常通りの患者負担となる。本研究で特別に行う特殊項目の採血や薬剤費用は協力者本人の負担とならず、厚生労働省科学研究費より支払われる。

本研究の研究資金は厚生労働省科学研究費による。

混合診療の可能性 有 ・ 無

## 11 研究終了後の試料等の扱い

11.1 試料等の廃棄方法、匿名化の方法

試験終了後採血検体等は他の用途に転用せず、保存もせず、匿名のまま廃棄する。

11.2 試料等の保存の必要性、保存の方法、匿名化の方法

本研究では該当しない

11.3 ヒト細胞・遺伝子・組織バンクに試料等を提供する場合のバンク名、匿名化の方法

本研究では該当しない

————— 以下は該当する研究のみ記入 —————

## 12 遺伝子解析研究における配慮

12.1 遺伝情報の開示に関する考え方

本研究では該当しない

## 12.2 遺伝カウンセリングの体制

本研究では該当しない

## 13 研究計画の詳細（疫学手法を用いて解析する研究の場合）

### 13.1 研究目的

我が国の国民医療費の増加の一因として慢性腎臓病(CKD)の進行による心血管事故の増加と高額医療である維持透析患者の増加が挙げられる。近年 CKD の発症に対する早期介入および進展阻止のための様々な試みが行われているが、有効な治療方法はなく、新規透析患者数は未だ減少していない。CKD の基盤病態の一つにエネルギー消費状態である protein-energy wasting syndrome (PEW) が知られている。CKD は腎性インスリン抵抗性症候群を引き起こし、そのためエネルギーの利用障害が起こる。それと並行して酸化ストレスの亢進も腎性インスリン抵抗性症候群を引き起こす。また、尿毒症物質の蓄積により食思不振となり、エネルギー利用障害と相まって PEW の状態となる。PEW では、筋萎縮、脂肪萎縮が認められ、体力の消耗、生活の質の低下、易感染性となり、心血管疾患の合併頻度の増加や腎機能障害の進行を来す。このため、抗酸化作用を有し、消耗性の疾患に有用性のある内因性ペプチドの投与により PEW の病態を改善し、腎予後の改善を図るため消化管ペプチドであるグレリンを投与し、安全性を確認するのが本研究の目的である。

グレリンは最近我が国で発見された消化管ペプチドである。グレリンには食欲増進作用、抗加齢、抗酸化、臓器保護作用が期待でき、慢性心不全、慢性閉塞性肺疾患、神経性食思不振症などに対して臨床試験が施行され、有効性、安全性が証明されている。また維持透析患者への投与の報告もあり、神経性食思不振症に関しては国内第 III 相試験が進行中である。近年我々はマウスを用いた検討によりグレリンの慢性投与が慢性の腎障害を抑制することを発見した。このメカニズムが ミトコンドリア (Mit) 脱共役蛋白である Uncoupling Protein-2 (UCP-2) の増加、Mit 膜電位差の減少、Mit 由来の酸化ストレスの軽減、さらに Mit 数の増加によることを証明した。本試験は申請者のこれまでの研究と新知見を総合した translational research である。そして CKD 患者の病態の基盤となるエネルギー消費状態である PEW の改善により CKD 患者の腎予後の改善が期待でき、医療費の増加も抑制できる可能性が考えられる。

また、京都大学医学部探索医療センター・グレリン創薬プロジェクトにおいては、健常人にグレリンを静脈内投与した際の安全性、体内動態、薬理作用を検討し、重篤な有害事象を発生しないことを確認し報告している。(Akamizu et al. Eur J Endocrinol. 2004; 150: 447-55)。さらに、グレリンに関する臨床試験・治験として、摂食不振患者や変形性股関節症による人工股関節置換術患者を対象とした臨床第 2 相試験を実施している。一方、アスピオファーマ株式会社では、ヒトグレリンの製造、製剤化に成功し (Makino T et al. Biopolymers. 2005; 79: 238-47.)、グレリンの工業的生産法を確立し、さらに、グレリンの前臨床試験や健常人での安全性や作用を確認し、神経性食欲不振症、ならびにカヘキシアを対象とした臨床第 2 相試験を、日本、及び欧米で開始している。また、血液透析患

者に投与した報告もあり、有効性、安全性が示されている (Damien R. Ashby et al. Kidney International 2009; 76: 199-206)。

### 13.2 研究デザインのタイプ

(無作為化比較試験(RCT)、非無作為化比較試験、症例対照研究、時間断面研究等)

単群での薬剤投与による安全性の確認のための介入試験

### 13.3 結果 (アウトカム) と原因 (曝露) に関する指標

#### 13.3.1 結果 (アウトカム) の指標

##### 一次エンドポイント

グレリン投与後の血中濃度の経時的変化

##### 二次エンドポイント

eGFR の変化率

身体計測: 体重、BMI、体脂肪量、腹囲、上腕三頭筋囲、上腕三頭筋皮下脂肪厚

腎機能: 血清クレアチニン、血清シスタチン C、尿中蛋白、尿中 NAG、尿中  $\beta$ 2M、尿中  $\alpha$ 1  
ミクログロブリン、尿クレアチニン

代謝マーカー: 空腹時血糖、空腹時インスリン、血清脂質、HOMA-IR

酸化ストレスマーカー: 尿中 8-ヒドロキシ-2 デオキシグアノシン (9-OH<sub>2</sub>DG)、尿中イソプロ  
スタン(15-Isoprostane F<sub>2</sub>)、酸化 LDL

栄養状態: 血清アルブミン、プレアルブミン、コリンエステラーゼ

グレリン投与による副作用 (腸管運動亢進、腹部違和感、下痢、顔面紅潮、不眠) の発現率

#### 13.3.2 原因 (曝露) の指標

##### 1) 薬剤

グレリン群: グレリン 3  $\mu$ g/kg 体重

ヒト合成グレリンの原末 (純度 90%以上、TFA 塩、GMP グレード) を (株) ペプチド研究所から購入する。慶應義塾大学病院薬剤部でその純度を確認し、必要な場合はさらに再精製の過程を加える。薬剤部にてこれを秤量し、3.75%マンニトール溶液に溶解後、フィルターにて加圧濾過して無菌化し、バイアル詰めにし、製剤化する。ロットが異なるごとに薬剤部にて純度を確認を、エンドトキシン試験、無菌試験などの安全性確認試験を外部委託により行う。

その後異物検査に合格したものにラベルを貼付し、施錠できる冷凍庫で-20°Cで凍結保存する。

使用直前に、凍結試験薬を室温にて融解した後、使用量を総量 20mL の生理食塩水に希釈して調製する。予め作成した台帳を基にロット番号をチェックした上で投与する。