

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 16 日現在

機関番号：17601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22659161

研究課題名（和文） 難治性呼吸器疾患に対するグレリン治療の開発研究

研究課題名（英文） Development research of ghrelin treatment against intractable respiratory diseases

研究代表者

中里 雅光 (NAKAZATO MASAMITSU)

宮崎大学・医学部・教授

研究者番号：10180267

研究成果の概要（和文）：

本研究では、グレリンの難治性呼吸器疾患における病態生理学的意義を基礎と臨床の両面から解析した。進行期肺癌患者において、化学療法前の血漿グレリン値と化学療法に伴う QOL 障害の程度に逆相関があることを見出した。慢性呼吸不全患者にグレリンを投与する容量探索試験を行い、栄養状態と運動耐用能の改善を得た。基礎研究として、グレリン投与は急性肺損傷モデルマウスに対して、肺炎細胞浸潤と肺線維化と肺上皮細胞のアポトーシスを軽減し、用量依存性の生存率改善作用があることを見出した。以上の結果から、グレリンは難治性呼吸器疾患に対する治療方策として有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

In this study, we explored the pathophysiological significance of ghrelin in intractable respiratory diseases. From clinical view, we found an inverse correlation between plasma ghrelin levels at pre-chemotherapy point and degree of chemotherapy-related decline of QOL score in patients with advanced lung cancer. We also found beneficial effects of ghrelin treatment on nutritional status and exercise tolerance in patients with chronic respiratory failure. In animal models, ghrelin administration definitively rescued bleomycin-treated mice in a dose-dependent manner. Ghrelin treatment ameliorated lung inflammation, lung fibrosis and apoptosis of alveolar epithelial cells after lung injury. These results indicate that ghrelin might be an attractive therapeutic strategy against these refractory lung diseases.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,700,000	0	1,700,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	360,000	3,260,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：グレリン・肺癌・漢方薬・慢性呼吸不全・肺傷害・Pten・QOL・カヘキシア

1. 研究開始当初の背景

申請者を含む研究グループは、1999年にG蛋白共役型受容体の内因性リガンドペプチドとしてヒトとラットの胃からグレリンを発見し、グレリンが強力な摂食および成長ホルモン分泌作用を有することを報告した。さらに、グレリンの生合成調節、分泌動態、肺内分布、遺伝子操作マウスの作出と解析、摂食亢進作用の情報伝達系の解明などに関する業績を積み重ねてきた。申請者は、これらの成果を呼吸器疾患や糖尿病への新規治療法を開発するための「橋渡し研究」に展開し、3つの用途特許として申請済である。現在、スーパー特区 第5分野「医薬費・医療機器の研究開発」の分担研究課題として、グレリンの創薬研究にも着手している。わが国では、高齢化と医療の進歩により、肺癌や慢性呼吸器疾患の患者数が増加し、担癌期間や罹病期間が延長している。そのため、肺癌自体や癌治療による食欲低下、全身の消耗による栄養障害や運動耐容能の低下など、QOLの維持・改善が重要な医療課題となっている。本研究では、申請者がこれまでに確立してきたグレリンのヒトでの proof of concept を活用し、難治性呼吸器疾患治療に対する社会のニーズに応えるための新たな医療創成を目指す。

## 2. 研究の目的

申請者らが発見から機能解析まで、世界に先駆けて研究を推進してきた新規摂食亢進ホルモングレリンの難治性呼吸器疾患における病態生理学的意義を基礎と臨床の両面から解析し、医療展開することが、本研究の目的である。グレリンは、ヒトへの投与により食欲亢進、成長ホルモン分泌促進、骨格筋増強、交感神経抑制、炎症制御、エネルギー消費の抑制などの効果を齎す。肺癌や慢性呼吸器疾患などの難治性呼吸器疾患は高齢者に多く、食欲低下や栄養状態の悪化が臨床上的重要な問題である。いずれもわが国で増加している病態であり、既存の治療法ではQOLの維持・改善が困難なため、新規治療法の開発が切望されている。本研究では難治性呼吸器疾患におけるグレリンの役割を基礎研究から解明し、臨床試験によりグレリン治療の有効性と安全性を実証して、医療応用への「橋渡し」を推進する。最終的には、高齢者に多い難治性呼吸器疾患の病態改善に抗老化ホルモンであるグレリンを用いた有効な治療法を創出したい。

## 3. 研究の方法

(1)肺癌患者や慢性呼吸器疾患患者のグレリンの病態生理学的意義の解明  
未治療で化学療法を受ける手術不能進行肺癌患者を対象にして、化学療法前後の血中グレリン(アシル化グレリンとデスアシルグレリ

ン)を測定し、体重減少、血清蛋白やコレステロール、カテコラミンや成長ホルモン、IGF-1との関連性を解析する。癌細胞の増殖に関連しているサイトカイン(TNF-a、IGF-1、IL-6、IL-8、VEGF)や接着分子(ICAM-1)と、化学療法による体重減少の程度や治療内容とグレリンの推移について評価する。

体重減少をきたした慢性呼吸器疾患患者の摂食量や骨格筋量(DEXAによる測定)、栄養状態、カテコラミンとグレリンの関連性を評価する。高齢者総合的機能評価によりADLを定量化して、生活機能、精神機能、社会・環境の3つの面に与えるグレリンの影響を評価する。

(2)補完医療による内因性グレリン誘導の検討  
六君子湯とオクタン酸含有栄養剤は、動物実験でグレリンの生合成を亢進することから、消耗性呼吸器疾患患者の食欲を亢進し、栄養状態を改善すると期待される。漢方薬や栄養補助食品は、現在補完医療として欧米でも注目されており、グレリンを介した改善作用の生化学的機序を解明できる。体重減少

(BMI<21)をきたした消耗性呼吸器疾患患者に対して、六君子湯 9gまたはオクタン酸2.8gを連日1ヶ月経口投与し、前後で摂取カロリー、体重、栄養状態、運動耐容能(6分間歩行試験)、呼吸器疾患の活動性、血中グレリンの変動を評価する。

(4)慢性呼吸器疾患患者に対するグレリンの臨床応用

低体重(BMI<21)の慢性呼吸器疾患患者を対象として、合成ヒトグレリン2μg/kgまたは対照生理食塩水を1日2回朝夕食前、経静脈的に2週間連日投与する。適応基準は60~80歳の症例とする。目標症例数は各群15例で、無作為化二重盲検プラセボ比較試験で行う。主要評価項目は、QOLスコア(SGRQとSF36)で解析し、副次評価項目は摂食量、体重、運動耐容能、骨格筋量、自覚症状定量スコア、摂食関連ホルモンとする。

6)肺傷害モデルマウスを用いた線維化と二次性肺高血圧に対するグレリンの効果の評価  
ブレオマイシンの気管内投与による肺傷害モデルマウスに対して、グレリン0.6 nmolを連日腹腔内に投与し、外因性の侵襲に対する生体防御機能を評価する。肺の線維化や肺高血圧に關与するサイトカイン

(TNF-a,IL-8,VEGF,TGF-b,ET-1)を測定し、病理組織学的変化を比較して、肺内の炎症細胞集積や線維化、肺高血圧に対するグレリンの抑制効果を検討する。申請者は、慢性気道感染症の患者にグレリンを投与し、気道炎症が抑制されることを証明している。敗血症や腸炎モデル動物でもグレリンの抗炎症効果が報告されていることから、急性肺傷害モデルマウスの生存期間を延長させる可能性がある。グレリンの投与により、肺内の炎症細胞浸潤や

線維化および肺高血圧の発症が抑制されれば、難治性かつ致命的な呼吸器疾患である、急性呼吸窮迫症候群の新規治療にグレリンが応用できる。

#### 4. 研究成果

(1)肺癌患者のグレリンの病態生理学的意義の解明、(2)補完医療による内因性グレリン誘導の検討、(3)慢性呼吸器疾患患者に対するグレリンの臨床応用、(4)肺傷害モデルマウスを用いた線維化と二次性高血圧に対するグレリンの効果の評価を行った。

(1)手術不能進行肺癌患者において、化学療法開始後14日間の血漿グレリンの動態を測定した。アンケートにより食欲、倦怠感、気力、嘔気の評価しグレリン値の動態と比較した。また、化学療法前と14日後のQOL European Organization Research and Treatment of Cancer, QOL-C30で評価し、グレリン値との相関を検討した。化学療法中の血漿グレリンは、QOL障害と平行した動態を示した。化学療法によってEORTC functionスコアが増悪しなかった症例では、化学療法前の血漿グレリン値が低く、経過中に血漿グレリン濃度が上昇した症例ではEORTC functionスコアが増悪する傾向にあった。これらの結果は、グレリンの抗カヘキシア作用と考えられた。

(2)慢性呼吸器疾患のため、食思不振を訴える患者を対象とした。六君子湯を4週間内服し、内服前、4週間内服後、内服終了4週後に評価を行った。17症例の解析では、食欲スコアは内服前に比較して内服終了時に有意に改善しており、終了4週後では内服前と有意差を認めなかった。血漿総グレリン、アシルグレリン、デアシルグレリンは症例間でばらつきが大きく、内服前、終了時、終了4週後に統計学的な有意差を認めなかった。

(3)慢性呼吸不全患者にグレリンを投与する用量探索試験を行い、9症例のエントリーを得た。全症例の平均で、摂食量が1784から1968 kcal/day、体重が45.4から47.9 kg、6分間歩行距離が244から298 mへ増えた。グレリン投与により、栄養状態と運動耐容能が改善した可能性が示唆された。

(4)ブレオマイシン肺傷害モデルマウスではグレリン投与により、用量依存性に生存率の改善を認めた。また、pair-fedアッセイにより、グレリンによる肺傷害モデルマウスの生存率改善効果は、摂食量増加作用に非依存性であることが明らかになった。さらに、肺炎細胞浸潤、肺線維化、肺上皮細胞のアポトーシスはグレリン投与により有意に減少することを明らかにした。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

1. Miki K, Maekura R, Nagaya N, Nakazato M, Kimura H, Murakami S, Ohnishi S, Hiraga T, Miki M, Kitada S, Yoshimura K, Arimura Y, Matsumoto N, Yoshikawa M, Yamahara K, Kangawa K.: Ghrelin Treatment of Cachectic Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. PLoS ONE, in press 査読有り
2. Imazu Y, Yanagi S, Miyoshi K, Tsubouchi H, Yamashita S, Matsumoto N, Ashitani J, Kangawa K, Nakazato M.: Ghrelin ameliorates bleomycin-induced acute lung injury by protecting alveolar epithelial cells and suppressing lung inflammation. Eur J Pharmacol, 672: 153-158, 2011 査読有り
3. Ueno H, Shiiya T, Nakazato M.: Translational research of ghrelin. Ann NY Acad Sci, 1200: 120-127 (2010) 査読有り
4. Komori T, Doi A, Furuta H, Wakao H, Nakao N, Nakazato M, Nanjo K, Senba E, Morikawa Y.: Regulation of ghrelin signaling by a leptin-induced gene, negative regulatory element-binding protein, in the hypothalamic neurons. J Biol Chem, 285: 37884-37894 (2010) 査読有り
5. Shiiya T, Ueno H, Toshinai K, Kawagoe T, Naito S, Tobina T, Nishida Y, Shindo M, Kangawa K, Tanaka H, Nakazato M.: Significant lowering of plasma ghrelin but not des-acyl ghrelin in response to acute exercise in men. Endocr J, 58: 335-342 (2011) 査読有り

[学会発表] (計13件)

1. 中里雅光: グレリンのトランスレーショナルリサーチ. 第84回日本内分泌学会学術総会, 神戸. 平成23年4月21日から23日
2. 中里雅光: 消化管ホルモンから糖尿病治療戦略を考える糖尿病治療の新時代～摂食調節機構を視野に入れて～. 第54回日本糖尿病学会年次学術集会. 札幌. 平成23年5月19～21日
3. 中里雅光: 脳による摂食調節. 第29回日本肥満症治療学会. 京都. 平成23年6月10日
4. 中里雅光: 肥満症の内科的治療の展望. 第32回日本肥満学会. 兵庫. 平成23年9月24日
5. 中里雅光: 肥満研究の新たな展開と糖尿病への臨床応用. 第49回日本糖尿病学会

- 九州地方会. 福岡. 平成23年10月14日.
6. 中里雅光: Gut-Brain Network of Appetite Regulation in Obesity. The Korea-Japan Joint Symposium in KSSO Meeting. 韓国. 平成23年10月15日
  7. 中里雅光: Clinical application of ghrelin and GLP-1 for the treatment of type 2 diabetes mellitus. 36th Autumn Congress of Korean Diabetes Association. 韓国. 平成22年10月16日
  8. 中里雅光: 肥満と糖尿病の治療におけるパラダイムシフト. 第42回日本内科学会九州支部主催生涯教育講演会. 鹿児島2010年11月14日
  9. Nakazato M: Translational research of ghrelin. 5th International Peptide Symposium. 京都. 2010年12月7日
  10. Nakazato M: Prevention and reversal of diabetic neuropathy by treatment with ghrelin. ENDO2010. San Diego, USA. 2010年6月20日
  11. 中里雅光: 栄養-脳機能ネットワーク: 食欲関連ペプチドの役割. Neuro 2010. 神戸. 2010年9月4日
  12. 中里雅光: 機能性ペプチドの臨床応用の実際. 第122回日本薬理学会関東部会. 静岡. 2010年6月5日
  13. 中里雅光: 加齢におけるアナボリックペプチドグレリンの意義とトランスレーションリサーチ. 第32回日本臨床栄養学会総会. 名古屋. 2010年8月29日

[図書] (計3件)

1. 松元信弘, 寒川賢治, 中里雅光: グレリンと呼吸器疾患. Annual Review 呼吸器. 50-56. 中外医学社(東京) 2011.1
2. 松元信弘, 中里雅光: グレリンのトランスレーションリサーチ. 実験医学増刊 代謝・内分泌 ネットワークと医薬応用. 803-807. 羊土社(東京) 2011.2.12
3. 中里雅光: 内分泌・代謝性疾患 肥満症. 今日の診断のために ガイドライン外来診療. 224-228. 日経メディカル開発. 2010.3.29

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: インスリン分泌促進剤  
発明者: 山崎基生、中里雅光  
権利者: 宮崎大学、協和発酵  
種類: 特願  
番号: 2010-296912  
出願年月日: 2010年12月28日  
国内外の別: 国内

○取得状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]  
ホームページ等  
なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

中里 雅光 (NAKAZATO MASAMITSU)  
宮崎大学・医学部・教授  
研究者番号: 10180267

(2)研究分担者

松元 信弘 (MATSUMOTO NOBUHIRO)  
宮崎大学・医学部・助教  
研究者番号: 70418838

柳 重久 (YANAGI SHIGEHISA)  
宮崎大学・医学部・助教  
研究者番号: 60404422

三好 かほり (MIYOSHI KAHORI)  
宮崎大学・医学部・医員  
研究者番号: 50573375

坪内 拓伸 (TSUBOUCHI HIRONOBU)  
宮崎大学・医学部・医員  
研究者番号: 60573988