

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 29 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500782

研究課題名(和文) グレリン併用運動療法の多面的抗生活習慣病作用に関する研究

研究課題名(英文) Anti-lifestyle diseases effects of ghrelin with exercise therapy

研究代表者

上野 浩晶 (Ueno, Hiroaki)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：00381062

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：グレリンの生活習慣病における運動療法補助療法としての有用性を明らかにするため以下の検討を行い成果を得た。健常人において中等度強度の運動中に血中グレリン濃度は有意に低下し、成長ホルモン値は有意に増加し、血中グレリン濃度と血中カテコラミン値は有意な負の相関を示した。2型糖尿病患者にグレリンを単回投与すると成長ホルモンの有意な上昇を認め、食後の血糖値やインスリン反応および食欲は生食投与時と比べて不変であった。2型糖尿病患者に2週間にわたりグレリン1.0 μg/kgを連日投与すると糖代謝には悪影響なく、糖尿病末梢神経障害の自覚症状や末梢神経伝導検査の有意な改善を認めた。

研究成果の概要(英文)：Plasma ghrelin level was significantly reduced by acute moderate exercise. In addition, plasma growth hormone (GH) and catecholamine levels were significantly increased during the exercise. Plasma ghrelin level was negatively correlated with plasma catecholamine level. Single administration of ghrelin to type 2 diabetic patients just before the test meal did not change the plasma glucose and insulin responses compared to control. Ghrelin 1.0 mmg/kg/day administration for 2-weeks increased plasma GH levels and did not change the body weight, plasma glucose and insulin levels in type 2 diabetic patients. Subjective symptoms of diabetic peripheral neuropathy and motor conduction velocity were significantly improved after 2-weeks administration of ghrelin. These results suggest that exogenous ghrelin administration, especially during exercise, increases plasma GH level additively without worsening glucose metabolism and ghrelin may have therapeutic potentials to diabetic polyneuropathy.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学、スポーツ科学

キーワード：グレリン 運動 成長ホルモン 糖尿病

### 1. 研究開始当初の背景

糖尿病、脂質異常症、高血圧といった生活習慣病を呈する患者は日本のみならず世界中で増加しており、細小血管合併症や大血管障害(動脈硬化性疾患)による Quality of life の低下や死亡率の増加、さらには医療費の増加を招いている。生活習慣病の治療で最も効果的かつ重要な治療法は食事療法と運動療法である。しかし、これらの治療法は実行や継続が困難であることも事実であり、行動療法や心理的サポートといった従来の方法に加えて、効果的な新規補助療法の開発が期待されている。

グレリンは主に胃から分泌されるペプチドで、強力な成長ホルモン分泌促進作用や摂食亢進作用のほか、消化管運動促進作用、抗炎症作用、抗心不全作用、骨形成作用、傷害心筋の再生作用など多彩な生理作用が報告されている。当研究室はグレリンの発見から関与しており、成長ホルモン分泌促進作用や摂食亢進作用の解明、胃から視床下部への情報伝達経路の解明、肥満、いそ、糖尿病、慢性胃炎などの胃腸疾患における病態生理学的意義の解明、さらには慢性閉塞性肺疾患や慢性下気道感染症患者に対するグレリンの臨床応用を報告してきた。

運動時には成長ホルモンの分泌亢進が知られており、運動の効果としての筋肉量増加や脂肪分解に寄与している。生活習慣病治療としての運動療法においても、有酸素運動だけでなく、レジスタンス運動を行うことで筋肉量増大や脂肪量の減少を図ることは、運動によるエネルギー消費増大のみならず、基礎代謝の増加やインスリン抵抗性の軽減につながり、その結果、血糖コントロールや脂質が改善するため重要である。運動時に外来性にグレリンを投与することにより、さらに成長ホルモンの分泌が亢進し、より効果的な筋肉量増大や脂肪量減少が得られるのではないかと期待される。

### 2. 研究の目的

グレリンは成長ホルモンを介した筋肉、骨、脂肪細胞への作用以外に、直接骨格筋細胞の分化増殖を促す(Filigheddu N: Mol Biol Cell 2007)、骨芽細胞の分化増殖を促進する(Maccarinelli G: J Endocrinol 2005)といった報告がある。以上より、グレリン併用の運動療法では成長ホルモン分泌をさらに亢進させるだけでなく、グレリンの直接作用による筋肉、骨への作用も期待できる。

当研究室では、ストレプトゾトシン(STZ)誘発糖尿病モデルマウスに発症する末梢神経障害に対して、グレリンを投与することで神経伝導検査や温度覚といった末梢神経障害の改善を認め、これらの作用には抗酸化ストレス、血流増加が関与することを報告した(Kyoraku I: BBRC 2009; 389: 405-8)。また、急性腎不全モデルマウスにグレリンを投与することで腎不全の増悪抑制を認めた報告

がある(Takeda R: J Am Soc Nephrol 2006)。さらに、グレリンは大血管障害(動脈硬化性疾患)に対して抑制的に作用することを示唆する以下の報告がある。メタボリックシンドローム患者で低下していた血管拡張能はグレリンの前処置により健常者と同等にまで改善した(Tesauro M: Circulation 2005)。ヒト動脈平滑筋細胞に対するアンジオテンシン II 誘導性の細胞収縮、分化、遊走がグレリンにより抑制されること(Rossi F: Atherosclerosis 2009)、ヒト血管平滑筋細胞に対するグレリンの抗炎症作用も報告されている(Chow KB: Inflammation 2009)。以上より、グレリンは糖尿病性末梢神経障害、慢性腎臓病、および大血管障害(動脈硬化性疾患)に対して有用であることも期待されるため、これらの仮説を明らかにすることを本研究の目的とした。

### 3. 研究の方法

運動時の内因性グレリンの分泌動態をまず明らかにするため、健常人男性を対象にして 50%VO<sub>2</sub>max の強度で 60 分間サイクリング運動を実施し、バイタルサインと共に、血糖値、インスリン、グレリン、デスアシルグレリン、成長ホルモン、カテコラミン 3 分画の血中パラメーターの測定を経時的に行った。

グレリンを 2 型糖尿病患者 10 名(男性 8 例、女性 2 例、body mass index は 23.8 ± 2.2、HbA1c (JDS 値) 8.2 ± 1.2 %、罹病期間 7.5 ± 4.4 年間)に投与した際の耐糖能に対する影響について、生理食塩水またはグレリン 0.5 μg/kg を静脈内投与し、400 kcal の試験食(炭水化物 63%、蛋白質 17%、脂質 20%)を摂取させ、前、15、30、45、60、90、120、180 分後に経時的に採血を行い、血糖値、インスリン値、成長ホルモン値、グレリン値を測定し、食欲を VAS; visual analogue scale で評価した。約 1 週間の間隔を置き、クロスオーバーで生理食塩水またはグレリンを投与して同様に採血を行った。

2 型糖尿病患者 7 名を対象にして、入院下でグレリン 1.0 μg/kg を 1 日 1 回 2 週間連続投与して、血糖値、インスリン、血清脂質、肝機能、腎機能、体重、体組成、食欲、末梢神経障害の自覚症状と神経伝導検査を検討した。

### 4. 研究成果

50%VO<sub>2</sub>max のサイクリング運動中に血中グレリン濃度は有意に低下し、運動終了 30 分後には回復傾向を示したが、デスアシルグレリンは運動中も運動後も有意な変化は認めなかった。また、成長ホルモンは運動開始 45 分後に約 18 ng/ml にまで著明に増加し、インスリン値は運動開始 30~60 分後に有意に低下した。血中カテコラミン 3 分画は運動後

にそれぞれ著明に増加した。血糖値は運動中に低下傾向となり、運動終了 30 分後には開始前と比べて有意に低値となった。グレリン値と成長ホルモンまたは血中カテコラミン 3 分画は有意な負の相関を認めた。以上より、中等度運動によりグレリン分泌低下、グレリン-0-アシルトランスフェラーゼ(グレリンの脂肪酸修飾 グレリンの活性化を行う酵素)の活性低下、または末梢組織でのグレリン取込(消費)亢進が惹起されると考えられ、運動に伴うアドレナリン系活性上昇にグレリン低下が関与している可能性が示唆された。Akamizu らの報告によれば、健康人にグレリン 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  を早朝空腹時に投与すると、約 120  $\text{ng}/\text{ml}$  にまで上昇する(Eur J Endocrinol. 2004;150: 447-55)ため、運動中に通常は低下するグレリンを外来性に投与することで、運動により得られる成長ホルモン分泌量よりもさらに多くの分泌を期待できることを確認できた。

グレリン投与時に血漿グレリン濃度は平均で前値の 9.5  $\text{fmol}/\text{mL}$  から 負荷 15 分後に 378  $\text{fmol}/\text{mL}$  に有意に増加し、成長ホルモン値も平均で前値の 0.4  $\text{ng}/\text{mL}$  から 負荷 15 分後に 18.3  $\text{ng}/\text{mL}$  まで有意に増加した。一方、生食投与時には血漿グレリン、成長ホルモンともに負荷 30~90 分後に前値よりも有意に低下していた。血糖値は約 120  $\text{mg}/\text{dL}$  から 負荷 90 分前後に約 250  $\text{mg}/\text{dL}$  まで増加し、インスリン値も約 5  $\mu\text{IU}/\text{mL}$  から 負荷 60~120 分後に 45  $\mu\text{IU}/\text{mL}$  まで有意に増加したが、生食投与時とグレリン投与時で血糖値とインスリン値は共に差を認めなかった。また、食欲の VAS も差がなかった。以上より、グレリン 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  の単回投与では 2 型糖尿病患者の耐糖能や食欲に悪影響を及ぼさないこと、また成長ホルモンも健康人と同等に上昇することを明らかにした。

グレリン 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  を 1 日 1 回 2 週間連続投与後に体重、体組成、血糖値、インスリン、血清脂質は不変~改善傾向であった。成長ホルモンの分泌促進反応は投与 1 日目と比べて 2 週間後には減弱していた。糖尿病性末梢神経障害の自覚症状と後脛骨神経運動神経伝導速度は 2 週間後に有意に改善していた。以上より、グレリンの短回投与は健康人や 2 型糖尿病患者の糖代謝に悪影響を与えず、2 週間連続投与でも同様で、糖尿病性末梢神経障害を改善する可能性も示唆された。運動中は内因性グレリン分泌が減少することも明らかとなり、運動とグレリンの併用により両者の効果が相俟って糖脂質代謝の改善および糖尿病合併症(末梢神経障害)の改善する可能性が示唆された。

#### 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 4 件)

Shiyya 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. 査読有, 58, 2011, 335-342

盛永裕太, 上野浩晶, 中里雅光: 消化管ホルモンによる摂食調節機序. 日本臨床増刊号 最新臨床糖尿病学(上), 査読有, 3, 2012, 85-89

土持若葉, 上野浩晶, 中里雅光: グレリンによる神経求心作用. 血管医学 査読無, 14, 2013, 17-21

Tsuchimochi W, Kyoraku I, Yamaguchi H, Toshinai K, Shiomi K, Kangawa K, Nakazato M.: Ghrelin prevents the development of experimental diabetic neuropathy in rodents. Eur J Pharmacol. 査読有, 702: 187-193, 2013

#### 〔学会発表〕(計 5 件)

長嶺和弘, 椎屋智美、盛永裕太、松尾崇、土持若葉、上野浩晶、中里雅光: 糖尿病性神経障害におけるグレリンの臨床応用. 第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会 2011 年 5 月 19-21 日 札幌

Nagamine K, Shiyya T, Morinaga Y, Matsuo T, Tsuchimochi W, Ueno H, Yamaguchi H, Nakazato M.: Translational research of ghrelin to diabetic peripheral polyneuropathy on type 2 diabetes mellitus. American Diabetes Association's 71st Scientific Sessions, June 24-28, 2011 San Diego, CA, USA

上野浩晶、中里雅光: ヒトから初めて見つかった摂食亢進ホルモン グレリンの機能と臨床応用. 第 15 回日本摂食障害学会(シンポジウム) 2011 年 9 月 4 日 鹿児島

土持若葉, 山口秀樹, 松尾崇, 京樂格,

上野浩晶, 土枝内厚次, 塩見一剛, 中里雅光: グレリンの糖尿病性神経障害に対する治療効果の検討. 第 26 回日本糖尿病・肥満動物学会, 2012. 2.17, 名古屋

上野浩晶、土持若葉、中里雅光: 肥満症と消化管ペプチド(シンポジウム 5 肥満症治療の新戦略~内科・外科治療と消化管~. 第 34 回日本肥満学会 2013 年 10 月 11 日 東京

#### 〔図書〕(計 3 件)

Ueno H, Nakazato M.: Translational research of ghrelin. Peptide Science 2010: Proceedings of the fifth international peptide symposium.

Eds: Fujii N, Kiso Y, The Japanese Peptide Society, 2011, 34

上野浩晶, 中里雅光: 摂食の内分泌学. 内科学書 改訂第8版. 小川 聡編: 中山書店, 2013, Vol 5: 262-265

山下英一郎, 上野浩晶, 中里雅光: 摂食調節ホルモンの臨床. Annual Review 2013 糖尿病・代謝・内分泌. 寺内康夫, 伊藤 裕, 石橋 俊編: 中外医学社, 2013, 205-210

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計 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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上野 浩晶 (UENO, Hiroaki)  
宮崎大学・医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野・助教  
研究者番号: 00381062

(2) 研究分担者

十枝内 厚二 (TOSHINAI, Koji)  
宮崎大学・医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野・講師  
研究者番号: 80381101

(3) 連携研究者

( )

研究者番号: