

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390204

研究課題名(和文) グレリンの自律神経作用を応用した循環器代謝疾患における橋渡し研究

研究課題名(英文) Translational Research of Ghrelin in Cardiometabolic Diseases and Its Potent Regulatory Role of Autonomic Nerve Function

研究代表者

岸本 一郎 (Kishimoto, Ichiro)

独立行政法人国立循環器病研究センター・病院・医長

研究者番号：80312221

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：心筋梗塞急性期にグレリンを一回皮下投与することで、その後の生存率と心機能が顕著に改善した。また、交感神経過緊張を抑制され、重症不整脈が減少していた。逆にグレリンを欠損した動物では、心筋梗塞後の生存率が低下しており、交感神経が異常に活性化していた。これらの事実より、胃から分泌されるホルモンが末梢神経求心路と延髄を介して心血管系を制御するというユニークな「消化管-神経-心臓連関」を証明した。

研究成果の概要(英文)：One bolus subcutaneous administration of ghrelin prevents arrhythmia and reduces mortality in the acute phase of myocardial infarction (MI), while continuous administration improves LV dysfunction and attenuates early cardiac remodeling after acute MI. The mechanism of ghrelin's action is related to down-regulation of the cardiac sympathetic nerve activity (SNA). The detrimental effect of a lack of endogenous ghrelin on malignant arrhythmia within 30 minutes after MI were also demonstrated in mice deficient for ghrelin, which have deteriorated heart function and high mortality after MI. The underlying mechanism is associated with the impaired inhibition of cardiac sympathetic activation by ghrelin. These results suggest existence of the stomach-brain-heart axis.

研究分野：循環器代謝学

キーワード：グレリン

1. 研究開始当初の背景

主として胃で産生される内分泌ホルモンであるグレリンは、脳下垂体からの成長ホルモン (GH) 分泌を促進し、摂食を亢進する生理作用を有する。グレリンの摂食や GH 分泌作用にかかわる情報伝達は、主として迷走神経求心路を介して脳へ伝達され、摂食や GH 分泌の調節中枢である視床下部に働いて、その作用を発現する。グレリンは、迷走神経求心路末端に存在する受容体に結合し、その情報を延髄孤束核に伝達し、孤束核に達した情報はその後ノルアドレナリン神経系により視床下部に伝達されると考えられている。

2. 研究の目的

自律神経系は、種々の疾患においてその発症・病態・予後・治療に密接に関係しているが、延髄孤束核からの神経線維は自律神経中枢にも投射しているため、グレリンの情報伝達が自律神経調節にも関わる可能性が考えられる。本研究では、内因性ペプチドホルモンであるグレリンの自律神経調節作用を明らかにし自律神経が病態を大きく修飾する疾患におけるグレリン投与効果を検証する。これらを通じて「グレリンを新たな治療薬としての開発」を目指す。加えて、「胃から分泌されるホルモンが末梢神経求心路と延髄を介して心血管系を制御するというユニークな「消化管-神経-心臓連関」のヒトでの証明」が本研究の目的である。

3. 研究の方法

1) 血中グレリン濃度の変動と自律神経活動の関連を基礎的・臨床的に検討する目的で、健康人にグレリン (10 µg/kg) を単回静脈内投与し、その後2時間ホルター心電図をモニターした。心拍変動解析により、心臓自律神経を交感神経と副交感神経成分に分けて解析した。

2) 野生型マウスに急性心筋梗塞モデルを作成し、グレリン受容体アゴニストであるヘキサレリンを経口単回投与した後の心機能、血中カテコールアミン濃度や心臓自律神経活性を、対照群と比較検討した。

3) 内因性グレリンを欠損した動物において急性心筋梗塞モデルを作成しその後の生存率解析とテレメトリーによる心拍変動解析を行い、自律神経への影響を野生型対象マウスと比較検討した。

4) グレリン皮下投与の交感神経抑制作用と副交感神経促進作用をヒトで証明するために、1回皮下注射後の心臓自律神経機能を心拍変動解析で検討した。

5) さらに自律神経調節作用を介した心筋梗塞や心不全などの循環器疾患治療におけるグレリンの有効性と安全性を検証する Proof of Concept (POC) 臨床試験を開始した。

4. 研究成果

・グレリン皮下投与製剤化-本研究ではヒト病態における持続治療としてのグレリン開発を目指しておりこの目的のためには皮下投与が簡便である。これまでに、皮下投与用グレリンの製剤化を行った。臨床試験薬に関する手順書を作成して製剤化し、臨床試験薬管理者のもとで管理する体制を構築した。

・グレリン皮下投与研究プロトコルの作成-本研究では人におけるグレリンの神経作用を解析するが、自律神経の活性は個人差が大きくまた被験薬がオープンラベルであればその影響が考えられるため、研究計画としては2重盲検クロスオーバー試験を策定した。

・MemCalc 法を用いた自律神経機能解析法の確立-自律神経異常と、心不全、冠動脈疾患、急性心筋梗塞による死亡率との関連が言われている。自律神経に対するグレリンの作用を検討するため、非線形かつ非正常な波形信号の解析の際に最も有効な解析手法である MemCalc 法を用いて自律神経障害を検出する方法を糖尿病患者にて確立した。

・内因性グレリンの自律神経活性に及ぼす生理的・病態生理的意義-グレリン遺伝子欠損マウスに病態モデルを作製し、心拍変動解析を用いて心臓自律神経活性におけるグレリンの生理的・病態生理的意義を検討するとともに、生存率・心血管機能における内因性グレリンの意義を研究しているが、現在までにグレリンの欠損した動物では、交感神経活性が高くまた心筋梗塞後の生存率が低いことを明らかにした (Endocrinology 2012; 153:3426-34)。

・グレリン類似物の治療的効果の検討-ヘキサレリンは成長ホルモンの分泌促進活性をもつ合成ペプチドであるが、グレリンの受容体に結合してその作用を発揮することが知られている。ヘキサレリン皮下投与の自律神経活性や種々の病態における心機能に及ぼす効果の検討から、この化合物がグレリン類似の心保護作用を有することが示唆されている。マウスに急性心筋梗塞モデルを作成し、ヘキサレリンを経口単回投与したところ、野生型対照動物で認められた慢性期の心機能低下が有意に改善しており、血中エピネフリン濃度の上昇も抑制されていた。また、心拍変動解析でも交感神経優位から副交感神経優位へと自律神経活性のシフトが起こっていた (Peptides 2014; 56:156-62)。

・グレリン静脈内単回投与の心臓自律神経における効果と安全性を検討するフェーズ1研究-健康成人にグレリンを単回静脈内投与したところ、心拍数と血圧が低下すると同時に、心臓自律神経の交感神経成分が抑制され、副交感神経成分が増加した (Peptides 2014; 62:1-5)。

・急性心筋梗塞後の内因性グレリンの意義に関する検討-グレリン欠損動物では急性心筋梗塞後の生存率は野生型対照動物に比較し

て有意に低下していた。生存した動物で心拍変動解析を行ったところ、グレリン欠損動物では心筋梗塞後の交感神経活性が野生型に比較して明らかに増加していた (Endocrinology. 2013;154:1854-63)。グレリン欠損動物で見られたこれら異常は、外因性のグレリン投与で有意に改善した。さらに、ヘキサレリン投与でも慢性期の心機能が改善し、交感神経活性の亢進が抑制されていた (Endocrinology 2013;154:3847-54)。

・グレリン皮下単回投与の心臓自律神経における効果と安全性を検討する POC 研究-上記のように、これまでにヒトグレリン皮下投与に向けて、研究プロトコルを作成し、グレリン皮下投与と製剤化を行ってきた。また、MemCalc 法を用いた自律神経機能解析法の確立も臨床的に確立しており、実際の研究開始に向けて準備が整ったと考えられた。基礎的検討においても、内因性グレリンの自律神経活性に及ぼす生理的・病態生理的意義やグレリン類似物の治療的効果の検討を継続しており、成果を論文発表できた。そこで、最終年度は、これまでに準備した臨床研究計画のとおり、被験者の説明同意を得て臨床的なグレリン皮下投与の自律神経系の活性に対する効果の検討を開始した。現在 4 例の症例登録を得て、さらに症例数を蓄積中である。また、グレリンの心臓保護効果の機序に関しても基礎的検討を進めている (Hypertension 2014;64:450-4)。

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 50 件)

2015

Nojiri T, Hosoda H, Tokudome T, Miura K, Ishikane S, Otani K, Kishimoto I, Shintani Y, Inoue M, Kimura T, Sawabata N, Minami M, Takagiri T, Funaki S, Takeuchi Y, Maeda H, Kidoya H, Kiyonari H, Shioi G, Arai Y, Hasegawa T, Takakura N, Horii M, Ohno Y, Miyazato M, Mochizuki M, Okumura M, Kangawa K, Atrial natriuretic peptide prevents cancer metastasis through vascular endothelial cells, PNAS、査読有、112 巻、2015、4086 - 4091

2014

Mao Y, Tokudome T, Kishimoto I, The cardiovascular action of hexarelin, Journal of Geriatric Cardiology、査読有、11 巻、2014、253-258
DOI:
10.11909/j.issn.1671-5411.2014.03.007.

Mao Y, Tokudome T, Kishimoto I, Ghrelin as a treatment for cardiovascular diseases, Hypertension、査読有、64 巻、2014、450 - 454
DOI:10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03726.

Soeki T, Koshiba K, Niki T, Kusunose K, Yamaguchi K, Yamada H, Wakatsuki T, Shimabukuro M, Minakuchi K, Kishimoto I, Kangawa K, Sata M, Effect of ghrelin on autonomic activity in healthy volunteers, Peptides、査読有、62 巻、2014、1 - 5
DOI:10.1016/j.peptides.2014.09.015.

Tokudome T, Kishimoto I, Miyazato M, Kangawa K, Ghrelin and the cardiovascular system, Front Horm Res、査読無、43 巻、2014、125 - 133
DOI: 10.1159/000360593.

Mao Y, Tokudome T, Kishimoto I, Otani K, Miyazato M, Kangawa K, One dose of oral hexarelin protects chronic cardiac function after myocardial infarction, Peptides、査読有、56 巻、2014、156-162
DOI: 10.1016/j.peptides.2014.04.004.

北風 政史、岸本 一郎、糖尿病を有する高血圧疾患の治療目標とその根拠を教えてください。また、そのエビデンスはどの程度あるのでしょうか？、中外医学社・高血圧診療 Q&A 155 エキスパートからの回答、査読無、1 版、2014、255-256

大谷 健太郎、岸本 一郎、授乳期における内因性心臓ナトリウム利尿ペプチド系による心保護作用のメカニズム、日本心臓血管作動物質学会・血管、査読無、37 巻、2014、44

森内 健史、岸本 一郎、糖尿病合併症動脈硬化性疾患 11. 冠動脈疾患 (急性心筋梗塞) メディカ出版・糖尿病ケア、査読無、11 巻、2014、055 - 056

森内 健史、岸本 一郎、糖尿病合併症動脈硬化性疾患 11. 冠動脈疾患 (急性心筋梗塞) メディカ出版・糖尿病ケア、査読無、11 巻、2014、052 - 054

森内 健史、岸本 一郎、糖尿病合併症動脈硬化性疾患 11. 冠動脈疾患 (急性心筋梗塞) メディカ出版・糖尿病ケア、査読無、11 巻、2014、026 - 027

宮里 幹也、徳留 健、岸本 一郎、寒川 賢治、第4章 生理活性ペプチドグレリンの循環器疾患治療への応用の可能性、生命科学から創薬へのイノベーション、査読無、1版、2014、23-29

Ariyasu H, Iwakura H, Yukawa N, Murayama T, Yokode M, Tada H, Yoshimura K, Teramukai S, Ito T, Shimizu A, Yonezawa A, Kangawa K, Mimori T, Akamizu T. Clinical effects of ghrelin on gastrointestinal involvement in patients with systemic sclerosis. *Endocr J*. 査読有、61 巻、2014、735 - 742

DOI:

<https://www.jstage.jst.go.jp/browse/endocrj/>

Shimada T, Furuta H, Doi A, Ariyasu H, Kawashima H, Wakasaki H, Nishi M, Sasaki H, Akamizu T. Des-acyl ghrelin protects microvascular endothelial cells from oxidative stress-induced apoptosis through sirtuin 1 signaling pathway. *Metabolism*. 査読有、63 巻、2014、469-474

DOI: 10.1016/j.metabol.2013.12.011.

Kaiya H, Kangawa K, Miyazato M. Molecular evolution of GPCRs: Ghrelin/ghrelin receptors. *J Mol Endocrinol*. 査読有、52 巻、2014、T87-100

DOI: 10.1530/JME-13-0175.

Yano Y, Nakazato M, Toshinai K, Inokuchi T, Matsuda S, Hidaka T, Hayakawa M, Kangawa K, Shimada K, Kario K. Circulating des-acyl ghrelin improves cardiovascular risk prediction in older hypertensive patients. *Am J Hypertens*. 査読有、27 巻、2014、727 - 733

DOI: 10.1093/ajh/hpt232.

2013

Mao Y, Tokudome T, Kishimoto I, Otani K, Hosoda H, Nagai C, Minamino N, Miyazato M, Kangawa K. Hexarelin treatment in male ghrelin knockout mice after myocardial infarction. *Endocrinology*. 査読有、154 巻、2013、3847-3854

DOI: 10.1210/en.2013-1291. Epub 2013 Jul 16.

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 巻、2013、187 - 193

DOI: 10.1016/j.ejphar.2013.01.035.

Kojima M, Kangawa K. Ghrelin discovery: a decade after. *Endocr Dev*. 査読有、25 巻、2013、1 - 4

DOI: 10.1159/000346036.

Mao Y, Tokudome T, Otani K, Kishimoto I, Miyazato M, Kangawa K. Excessive sympathoactivation and deteriorated heart function after myocardial infarction in male ghrelin knockout mice. *Endocrinology*. 査読有、154 巻、2013、1854 - 1863

DOI: 10.1210/en.2012-2132.

21 Bando M, Iwakura H, Ariyasu H, Koyama H, Hosoda K, Adachi S, Nakao K, Kangawa K, Akamizu T. Overexpression of intralyslet ghrelin enhances -cell proliferation after streptozotocin-induced -cell injury in mice. *Am J Physiol Endocrinol*. 査読有、305 巻、2013、E140-148

DOI: 10.1152/ajpendo.00112.2013.

22 Soeki T, Niki T, Uematsu E, Bando S, Matsuura T, Kusunose K, Ise T, Ueda Y, Tomita N, Yamaguchi K, Koshiba K, Yagi S, Fukuda D, Taketani Y, Iwase T, Yamada H, Wakatsuki T, Akaike M, Shimabukuro M, Kishimoto I, Kangawa K, Sata M. Ghrelin protects the heart against ischemia-induced arrhythmias by preserving connexin-43 protein. *Heart Vessels*. 査読有、28 巻、2013、795 - 801

DOI: 10.1007/s00380-013-0333-2.

23 Karra E, O'Daly OG, Choudhury AI, Yousseif A, Millership S, Neary MT, Scott WR, Chandarana K, Manning S, Hess ME, Iwakura H, Akamizu T, Millet Q, Gelegen C, Drew ME, Rahman S, Emmanuel JJ, Williams SC, R  ther UU, Br  ning JC, Withers DJ, Zelaya FO, Batterham RL. *J Clin Invest*. 査読有、123 巻、2013、3539 - 3551

DOI: 10.1172/JCI144403.

24 徳留健、岸本一郎、宮里幹也、寒川賢治、グレリンによる循環器疾患治療の可能性、Recent Advances in Cardiovascular Disease、循環器病研究の進歩、査読無、34 巻、2013、58-68

2012

- 25 Fukuhara S, Simmons S, Kawamura S, Inoue A, Orba Y, Tokudome T, Sunden Y, Arai Y, Moriwaki K, Ishida J, Uemura A, Kiyonari H, Abe T, Fukamizu A, Hirashima M, Sawa H, Aoki J, Ishii M, Mochizuki N, The sphingosine-1-phosphate transporter Spns2 expressed on endothelial cells regulates lymphocyte trafficking in mice, *J Clin Invest*, 査読有、122 巻、2012、1416 - 1426
DOI: 10.1172/JCI60746.
- 26 Schwenke DO, Tokudome T, Kishimoto I, Horio T, Cragg PA, Shirai M, Kangawa K, One dose of ghrelin prevents the acute and sustained increase in cardiac sympathetic tone after myocardial infarction, *Endocrinology*, 査読有、153 巻、2012、2436 - 2443
DOI: 10.1210/en.2011-2057.
- 27 Mao Y, Tokudome T, Otani K, Kishimoto I, Nakanishi M, Hosoda H, Miyazato M, Kangawa K, Ghrelin Prevents Incidence of Malignant Arrhythmia after Acute Myocardial Infarction through Vagal Afferent Nerves, *Endocrinology*, 査読有、153 巻、2012、3426-3434
DOI: 10.1210/en.2012-1065.
- 28 Ogawa Y, Mukoyama M, Yokoi H, Kasahara M, Mori K, Kato Y, Kuwabara T, Imamaki H, Kawanishi T, Koga K, Ishii A, Tokudome T, Kishimoto I, Sugawara A, Nakao K, Natriuretic peptide receptor guanylyl cyclase-A protects podocytes from aldosterone-induced glomerular injury, *J Am Soc Nephrol*, 査読有、23 巻、2012、1198 - 1209
DOI: 10.1681/ASN.2011100985.
- 29 Ariyasu H, Yamada G, Iwakura H, Akamizu T, Kangawa K, Nakao K, Transgenic mice overexpressing ghrelin or ghrelin analog, *Methods Enzymol*, 査読有、514 巻、2012、371 - 377
DOI: 10.1016/B978-0-12-381272-8.00023-4.
- 30 Akamizu T, Satoh T, Isozaki O, Suzuki A, Wakino S, Iburi T, Tsuboi K, Monden T, Kouki T, Otani H, Teramukai S, Uehara R, Nakamura Y, Nagai M, Mori M, Diagnostic criteria, clinical features, and incidence of thyroid storm based on nationwide surveys, *Thyroid*, 査読有、22 巻、2012、661 - 679

DOI: 10.1089/thy.2011.0334.

[学会発表](計8件)

大谷 健太郎、徳留 健、岸本 一郎、池田 智明、中尾 一和、寒川 賢治、授乳期肥大におけるアルドステロン系の関与、第 18 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会、2014 年 11 月 22 日、横浜市開港記念会館(神奈川県・横浜市)

徳留健、グレリンによる循環器疾患治療の可能性、第 18 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会、2014 年 11 月 21 日、横浜市開港記念会館(神奈川県・横浜市)

徳留健、生理活性ペプチドを応用した心血管疾患の新規治療法開発に関する研究、第 18 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会、2014 年 11 月 21 日、横浜市開港記念会館(神奈川県・横浜市)

竹島 健、稲葉秀文、小池 諒、浦木進丞、船橋友美、栗栖清悟、宮田佳穂里、宮本和佳、山岡博之、古川安志、石橋達也、松谷紀彦、太田敬之、土井麻子、有安宏之、川嶋弘道、若崎久生、古田浩人、西 理宏、赤水尚史、IgG4 高値を示すバセドウ病と橋本病のサイトカイン・ケモカイン値、第 87 回日本内分泌学会学術総会、平成 26 年 4 月 24 ~ 26 日、福岡国際会議場・福岡サンパレス(福岡市)

浦木進丞、小池 諒、早川佳奈、有安宏之、川嶋弘道、若崎久生、古田浩人、西理宏、谷 眞至、山上裕機、臼井 健、島津 章、赤水尚史、高 PRL・ACTH 血症を伴った下垂体腺腫を認めた MEN1 型の一例、第 87 回日本内分泌学会学術総会、平成 26 年 4 月 24 ~ 26 日、福岡国際会議場・福岡サンパレス(福岡市)

古田浩人、浦木進丞、高木伴幸、土井麻子、宮脇正和、島 友子、西 理宏、吉川徳茂、赤水尚史、ABCC8 遺伝子異常による糖尿病の臨床的特徴、第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会、平成 26 年 5 月 22 ~ 24 日、大阪国際会議場(大阪市)

Akamizu T, The Meet-the-Professor (MTP) session “Diagnosis and Management of Thyroid Storm”、ICE/ENDO 2014、June 21-24, 2014、Chicago, USA

Takeshi Soeki, Toshiyuki Niki, Sachiko Bando, Koji Yamaguchi, Yoshio Taketani, Takashi Iwase, Hirotugu Yamada, Tetsuzo Wakatsuki, Kenji Kangawa, Masataka Sata, Ghrelin protects the heart against ischemia-induced arrhythmias by modulating autonomic nerve activity, 欧州心臓学会議 (European Society of Cardiology 2012), 2012年8月29日、ドイツ・ミュンヘン

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0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0件)

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

〔その他〕
ホームページ等
該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岸本 一郎 (KIAHIMOTO, Ichiro)
国立循環器病研究センター・病院・医長
研究者番号：80312221

(2) 研究分担者

徳留 健 (Tokudome, Takeshi)
国立循環器病研究センター・研究所・室長
研究者番号：00443474

(3) 研究分担者

寒川 賢治 (Kangawa, Kenji)
国立循環器病研究センター・研究所・研究所長
研究者番号：00112417

(4) 研究分担者

赤水 尚史 (Akamizu, Takashi)
和歌山県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：20231813

(5) 研究分担者

添木 武 (Soeki, Takeshi)
徳島大学・ヘルスバイオサイエンス研究部・講師
研究者番号：60393211