

200921002B

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 ～ 21 年度 総合研究報告書

平成 22 (2010) 年 3 月

研究代表者 寒川 賢治  
国立循環器病センター研究所  
所長

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 ～ 21 年度 総合研究報告書

## 目 次

I. 総合研究報告		
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. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	23
III. 研究成果の刊行物・別刷	-----	35

## 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

研究代表者 寒川賢治（国立循環器病センター研究所 所長）

研究代表者らにより発見・構造決定されたグレリンは、強力な成長ホルモン分泌促進作用および摂食亢進作用を有する新規生理活性ペプチドである。本研究事業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、多くの有用な知見を得ることが出来た。基礎研究分野では、加齢に伴う食欲低下、除脂肪体重減少、体脂肪蓄積に対してグレリンが有用であることが示された。高齢者のステロイド誘導性筋萎縮に対してのグレリンの有用性を示すデータが得られたが、背景により結果が異なる可能性もあることが示唆された。また、中枢神経に対する神経再生や糖尿病性末梢神経障害に対する予防および改善作用、さらには心筋梗塞や肺高血圧に対する改善作用を有することも示された。グレリン分泌は機械的刺激より化学的刺激で抑制されていることや、環境要因やストレスに対する恒常性維持機構に関与している可能性、また、拒食症の種類によってはグレリンの摂食誘起効果が中枢性と末梢性投与で異なる可能性も示された。これらの結果は今後、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。デスアシルグレリンの過剰発現モデル動物からは、デスアシルグレリンはインスリン感受性を亢進する可能性が示された。グレリン過剰発現動物は作出に難渋したが、二つのアプローチから作出し、成長や摂食、耐糖能などの発現型を検討中である。臨床研究分野では、カヘキシアをきたし高齢者に多くみられる慢性閉塞性肺疾患、胃切除術後、食道切除胃管再建術後、慢性下気道感染症、機能性食思不振症患者に対するグレリンの臨床効果を検討し、一部は最終結果が出ていないが、多くの研究では有用な効果が得られている。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に関しては、体組成の改善は認められたが、筋力や歩行速度には差を認めなかった。また、オクタン酸高含有食品を摂取すると内因性グレリンが増加し、カヘキシアを呈する患者の栄養療法として重要であることが示された。今後さらに幅広いグレリンの臨床応用に向けて研究を推進する必要がある。

### 【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 客員教授)
- 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系研究科  
外科学講座 消化器外科学  
教授)
- 赤水 尚史 (京都大学医学研究科 医学部附  
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 客員研究員)

#### 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。研究代表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、循環器系並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に関する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

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基礎的研究と臨床的研究を展開した。

##### ① 基礎的研究

- 1) 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の有用性の検討
- 2) 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
- 3) 高齢ラットにおけるデキサメサゾン誘導性筋萎縮に及ぼすグレリン受容体作動薬の効果
- 4) 中枢神経細胞の増殖に対するグレリンの作用の解析
- 5) 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
- 6) 新規グレリンアシル基転移酵素の遺伝子発現様式と脂肪酸修飾活性について
- 7) グレリンの分泌制御と恒常性維持への関与
- 8) 循環器疾患におけるグレリン投与の治療的意義
- 9) バリン欠乏食給餌による拒食症モデルラットでのグレリンによる摂食機能回復について
- 10) デアスアシルグレリンの病態生理学的意義の検討
- 11) グレリン過剰発現トランスジェニックマウスの開発
- 12) グレリン産生腫瘍 (グレリノーマ) モデルマウスの樹立
- 13) グレリンによる食欲調節およびエネルギー代謝のメカニズムについて - グレリン遺伝子欠損マウスでの検討

##### ② 臨床的研究

- 1) 機能性食思不振患者に対するグレリンの臨床

効果

- 2) 体重減少をきたした慢性下気道感染症患者におけるグレリン投与の臨床効果
- 3) 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
- 4) オクタン酸高含有食品の摂取による内因性グレリンの増加と臨床応用
- 5) 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
- 6) 上部消化管外科領域におけるグレリンの臨床応用

(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 基礎的研究

#### 1) 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の有用性の検討

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、摂餌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  $40 \mu\text{g}/\text{kg}$  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。

#### 2) 高齢ラットにおけるデキサメサゾン誘導性筋萎縮に及ぼすグレリン受容体作動薬の効果

高齢者における筋萎縮や体組成に対するグレリンの効果を検討する目的で、研究を行った。18 ヶ月齢の SD 系雄ラットにおいて、デキサメサゾン ( $100 \mu\text{g}/\text{kg} \times 1$  回/日  $\times$  5 日) はヒラメ筋線維断面積を減少させたが、デキサメサゾンと同時にグレリン受容体作動薬 GHRP-2 ( $100 \mu\text{g}/\text{kg} \times 2$  回/日  $\times$  5 日) を投与したところ、筋線維断面積の減

少は認められなかった。GHRP-2 単独では筋線維断面積に影響を及ぼさなかった。一方、18 ヶ月齢のラットに GHRP-2 ( $100 \mu\text{g}/\text{kg} \times 2$  回/日) を 60 日間連続投与したとき、摂食量、体重、内蔵脂肪量、皮下脂肪量、除脂肪体重、血中 GH、IGF-I、グレリン値に明確な影響を与えなかったが、骨塩量の増加、筋線維断面積の減少が観察された。12 ヶ月齢のラットに GHRP-2 ( $10 \mu\text{g}/\text{kg} \times 2$  回/日) を 60 日間連続投与した場合、筋線維断面積の増加が観察された。高齢者におけるデキサメサゾン誘導性筋萎縮に対して GHRP-2 は有用である可能性があるが、長期投与の場合、使用量、対象の年齢等によって、逆の効果が出現する可能性がある。

#### 3) 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

中年期以降の体脂肪蓄積機序におけるグレリンの役割を解明するために 4、8、20 週齢ラットを用いて以下の点を明らかにした。加齢に伴い褐色脂肪組織 (BAT) の Ucp1 mRNA 発現が減少し、20 週齢ラットでは外因性グレリンの BAT 内ノルアドレナリン (NA) 分泌抑制作用が减弱した。グレリン受容体 (GHS-R) 拮抗薬を用いた実験結果から、内因性のグレリンによる BAT の NA 分泌抑制作用は 4 週齢ラットでは認められないが、20 週齢ラットと 8 週齢ラットでは同様に認められること、また、血中グレリンが 20 週齢ラットで最も高い値を示すことを明らかにした。これらの結果から 20 週齢ラットでは内因性グレリンによる BAT の機能抑制が強いため外因性グレリンに対する BAT の反応性が低下していると考えられた。加齢に伴う体脂肪蓄積機序には従来から示唆されている加齢に伴う GH 分泌低下に加え、BAT の機能低下の関与が考えられ、この機序にグレリン/GHS-R 系が関わっている可能性が考えられた。

#### 4) 中枢神経細胞の増殖に対するグレリンの作用の解析

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

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。

#### 5) 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

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。

#### 6) 新規グレリンアシル基転移酵素の遺伝子発現様式と脂肪酸修飾活性について

グレリンの生合成および生物活性発現に重要なステップである脂肪酸修飾化と、それを行うアシル基転移酵素 (Ghrelin O-acyltransferase: GOAT) の遺伝子発現について検討した。ラット出生後の成長発達において、胃組織でのグレリンおよび GOAT 遺伝子の発現は、生後 1 週目まで低く、その後増加を認め、思春期前の 5 週齢にはほぼ頂値となった。胃でのグレリンのペプチド量および遺伝子発現と GOAT 遺伝子発現は、ほぼ一致した経時的変化を示した。48 時間絶食により、胃グ

レリンのペプチド量はほぼ半減し、血漿グレリン濃度は上昇した。オクタン酸水による飼育によって、脂肪酸修飾を受けた胃グレリンのペプチド量は有意に増加したが、グレリンのペプチド総量には変化を認めなかった。高脂肪食負荷では脂肪酸修飾を受けた胃グレリンのペプチド量は変化を認めなかったが、グレリンのペプチド総量は減少した。しかし、絶食、オクタン酸水での飼育、高脂肪食負荷のいずれにおいても、グレリンおよび GOAT の遺伝子発現は変化を示さなかった。これらの結果から、グレリンの脂肪酸修飾と GOAT 遺伝子発現に明らかな関連性を見出すことは出来なかった。

#### 7) グレリンの分泌制御と恒常性維持への関与

グレリンの分泌制御機構を明らかにする目的で、ラットの胃に装着したカニューレを介して種々の物質や栄養物を投与し、血中グレリンの変動を調べた。また、低温、高温暴露、拘束ストレス下などの外部要因のグレリン分泌への影響を調べた。絶食ラットに、トウモロコシ油、20% グルコース、および 20% エタノールを投与するとグレリン分泌の著しい抑制が認められた。抑制の強さと持続時間はエタノール > グルコース > トウモロコシ油の順であった。一方、空気や水の投与による胃の伸張作用では有意な抑制は認められなかった。自由給餌ラットを高温に暴露した時、グレリン濃度の著しい増加が認められ、一方、低温暴露や拘束ストレスでは、有意な減少が認められた。以上の結果から、グレリン分泌は機械的刺激より化学的刺激で抑制されていることや、環境要因やストレスに対する恒常性維持機構に関与している可能性が推測された。

#### 8) 循環器疾患におけるグレリン投与の治療的意義

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、また、慢性期左室リモデリングも有意に改善することを明らかにしている。さらに、心筋梗塞後の心臓におけるグレリン受容体の局在が細胞マーカーの解析から末梢神経終末であることが明らかとなった。この事実より、グレリンの交感神経抑

制機序の少なくとも一部は、末梢神経求心路を介している可能性が示唆された。さらに、2週間連日グレリン皮下投与が、慢性低酸素による肺高血圧と肺動脈リモデリングを改善することを明らかにした。この結果から、グレリンは慢性低酸素による肺高血圧の治療薬として有用であると考えられた。

#### 9) バリン欠乏食給餌による拒食症モデルラットでのグレリンによる摂食機能回復について

バリン欠乏食給餌をラットに給餌することにより拒食症モデルラットを作出した。バリン欠乏食群では著しい摂食低下とそれに伴う体重減少が起こった。血中グレリン濃度は約3倍に上昇しており、空腹感が亢進しているにも関わらず拒食状態にあると推測された。この拒食症ラットにグレリンを腹腔内投与しても摂食の亢進は認められなかったが、グレリンを中枢へ投与すると有意な摂食増加が認められた。以上の結果、拒食症の種類によってはグレリンの摂食誘起効果が中枢性と末梢性投与で異なる可能性があるとして推測された。

#### 10) デスアシルグレリンの病態生理学的意義の検討

グレリンがアシル基を失ったデスアシルグレリンの病態生理学的意義を明らかにするため、デスアシルグレリンを肝臓で過剰発現するトランスジェニック (Tg) マウスを開発し、そのフェノタイプを解析した。Tg マウスは野生型 (Wt) マウスの約 100 倍の血中デスアシルグレリン濃度を有していた。Tg マウスは Wt マウスに比して成長、体組成、摂食、GH/IGF-I 系には差がみられないが、ITT においてインスリン感受性が有意に亢進していた。以上の結果より、デスアシルグレリンはインスリン感受性を亢進する可能性が示唆された。

#### 11) グレリン過剰発現トランスジェニックマウスの開発

アシル化を経ずに Ghrelin 様活性を有する Ghrelin-analog 過剰発現 Tg マウスを作製した。3 番目の Ser を Trp に置き換えたペプチド (Trp-Ghrelin) は、投与実験では Ghrelin の 10-20 倍の濃度において Ghrelin 同様の摂食促進作用と GH 分泌促進作用を発揮した。Trp-Ghrelin

cDNA を SAP promoter の下流に繋いだコンストラクトを構築し、Tg マウスを作製した。得られた Tg マウスの血中には、WT の血漿 Ghrelin 濃度の約 220 倍の Trp-Ghrelin が存在しており、耐糖能に変化を認めた。現在、フェノタイプの詳細な解析を行っている。

#### 12) グレリン産生腫瘍 (グレリノーマ) モデルマウスの樹立

グレリンの慢性作用を明らかにするため、グレリンプロモーター下流に SV40T 抗原を結合したトランスジェニック (Tg) マウス (GP-Tag Tg) を作製した。これまでの Tg マウスではデスアシルグレリンのみが産生される結果に終わっていたが、GP-Tag Tg では、胃のグレリン細胞の増生、血中グレリン濃度の上昇が確認された。血中 IGF-I 濃度は上昇、GHRH 負荷後 GH 反応は亢進傾向であり、GH-IGF-I 軸の活性化が示唆された。糖負荷試験では、インスリン分泌抑制を介した耐糖能の悪化が示唆された。

#### 13) グレリンによる食欲調節およびエネルギー代謝のメカニズムについて～グレリン遺伝子欠損マウスでの検討

グレリン欠損マウスを作製し、自律神経機能等を解析した。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が、自律神経系の異常を来すことを見出した。グレリン欠損マウスでは、睡眠・覚醒による血圧・心拍や体温の変動幅が狭く、また、基礎的な値の変動が著しかった。さらに血圧・心拍数の日内リズムが欠如し、血圧・心拍数が不安定で変動が大きかった。また、消化管運動の機能低下が見られ、体温低下と体温の日内変動リズム消失、体温基礎値の大きな変動を認めた。グレリン欠損マウスにグレリンを投与すると体温低下が抑制された。以上より、グレリンによる自律神経機能異常は、交感神経と副交感神経のバランスの崩れ、そしてこれらの日内変動リズムの消失によって生じるものであると考えられた。また、グレリン KO マウスへのカテコールアミンブロッカーの投与実験で、 $\beta$  ブロッカーがある程度グレリン KO マウスの血圧を低下させることがわかった。一方、 $\alpha$  ブロッカーの効果はあまり認められなかった。以上の結果から、グレリン欠損の影響は  $\beta$  アドレナリン受容体が大き



く関与していると推察された。実際、グレリンによる体温低下作用に関する研究から、グレリンがBATにおいて $\beta 3$  アドレナリン受容体を抑制して、交感神経機能を抑制することが判明した。以上より、グレリンは自律神経の恒常性維持に重要であることが明らかになった。

## ② 臨床研究

### 1) 機能性食思不振患者に対するグレリンの臨床効果

Functional dyspepsia 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 Functional dyspepsia 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。

### 2) 体重減少をきたした慢性下気道感染症患者におけるグレリン投与の臨床効果

体重減少をきたした慢性下気道感染症患者におけるグレリン投与の臨床効果について検討した。平均年齢 73.3 歳、平均 BMI 15.8 の患者 7 名に合成ヒトグレリン  $2 \mu\text{g}/\text{kg}$  を 2 回/日で 3 週間経静脈的に投与した。投与後に摂食量、体重、血清蛋白や内臓蛋白（総蛋白、プレアルブミン、レチノール結合蛋白、トランスフェリン）が有意に上昇し、酸素化能（ $\text{AaDO}_2$ ）および 6 分間歩行距

離で評価した運動耐容能が有意に改善した。喀痰量や痰中好中球数は有意に減少し、痰中の炎症性サイトカイン濃度（IL-8、TNF- $\alpha$ ）も有意に低下した。以上の結果から、グレリン投与は慢性下気道感染症患者の栄養状態改善と気道炎症抑制に有効であり、新規治療法として期待できる。

### 3) 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

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。人工股関節置換術周術期患者に術前 1 週、術後 2 週、計 3 週間、 $2 \mu\text{g}/\text{kg}$  のグレリンまたはプラセボを 1 日 2 回静脈内投与し、day36 まで入院観察した。32 名（男性 7 名、女性 25 名、平均年齢 60.4 歳、平均 BMI 22.3、平均 HbA1c 5.3%）が参加し、31 名で投与終了した。グレリン群で、有意な血清 IGF-I 濃度の上昇、体脂肪量の減少、除脂肪体重の増加を認めたが、筋力、歩行速度には差を認めなかった。重篤な有害事象はなかった。今後、高齢者や術後カタボリズムに対するグレリン臨床応用に関して、対象疾患や試験デザイン的大幅な変更を含めた検討を要すると考えられた。

### 4) オクタン酸高含有食品の摂取による内因性グレリンの増加と臨床応用

グレリンの活性発現に必須である 3 番目のセリン残基へのオクタン酸修飾に注目し、オクタン酸を多く摂取することで、内因性グレリン分泌の変化、および臨床応用の可能性について検討した。カヘキシアを呈する慢性呼吸器疾患患者を対象にして、400ml あたり 2.8g のオクタン酸を含有するラコールを摂取させると、摂取当日の血中グレリン濃度が有意に増加した。また、ラコールを 2 週間連続で摂取させると、体重、食欲、空腹時の血中グレリン濃度、血中グレリン/デスアシルグレリン比、IGF-I が増加し、栄養状態を反映する血中パラメータも改善した。以上より、オクタン酸高含有食品の摂取は、内因性グレリンの増加をもたらし、カヘキシアを呈する患者の栄養療法として重要であると考えられた。

## 5) 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

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、グレリン投与によるパイロット臨床試験を行い、血清 GH 濃度の上昇、交感神経活動の抑制、摂食亢進、体重増加、呼吸筋力と運動耐容能の改善を認めた。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、2009 年 3 月までに国立病院機構刀根山病院 20 例、奈良県立医科大学 6 例、宮崎大学 7 例の計 33 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。目標予定症例に到達し、効果安全性評価委員会の承認のもと、キーオープンを行い、現在解析中である。

## 6) 上部消化管外科領域におけるグレリンの臨床応用

グレリン投与により上部消化管手術の術後体重減少を予防するという臨床試験を行った。現在までに胃全摘および食道切除胃管再建の 2 つの疾患モデルにおいて、術後経口摂取再開時よりグレリン  $3 \mu\text{g}/\text{kg}$  もしくは生食を 1 日 2 回投与するというランダム化比較試験 (それぞれの試験で各群 10 例) を行った。安全性に関しては、合計 21 例のグレリン投与群のうち 1 例に grade 1 の発汗を認めて試験を中止した他は有害事象を認めなかった。結果は 2 つの試験ともほぼ同じで、グレリン投与により食欲、食事摂取カロリー、体重の改善を認めた。また、体組成においては脂肪の減少は抑制されないが除脂肪体重の減少が抑制された。この効果はグレリンの食欲増進および GH 作用によるところが大きいと思われるが、我々は抗炎症・侵襲さらに呼吸循環動態安定作用にも注目している。術直後経口摂取開始前からグレリンを投与することや、消化器癌における化学療法時

の食欲不振に対するグレリンの効果は今後の検討課題である。

## E. 結論

本研究事業では、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してきた。基礎研究分野では、加齢に伴う食欲低下、除脂肪体重減少、体脂肪蓄積に対してグレリンが有用であることが示された。高齢者のステロイド誘導性筋萎縮に対してのグレリンの有用性を示すデータが得られたが、背景により結果が異なる可能性もあることが示唆された。また、中枢神経に対する神経再生や糖尿病性末梢神経障害に対する予防および改善作用、さらには心筋梗塞や肺高血圧に対する改善作用を有することも示された。グレリン分泌は機械的刺激より化学的刺激で抑制されていることや、環境要因やストレスに対する恒常性維持機構に関与している可能性、また、拒食症の種類によってはグレリンの摂食誘起効果が中枢性と末梢性投与で異なる可能性も示された。これらの結果は今後、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。デスアシルグレリンの過剰発現モデル動物からは、デスアシルグレリンはインスリン感受性を亢進する可能性が示された。グレリン過剰発現動物は作出に難渋したが、二つのアプローチから作出し、成長や摂食、耐糖能などの発現型を検討中である。臨床研究分野では、カヘキシアをきたした高齢者に多くみられる慢性閉塞性肺疾患、胃切除術後、食道切除胃管再建術後、慢性下気道感染症、機能性食思不振症患者に対するグレリンの臨床効果を検討し、一部は最終結果が出ていないが、多くの研究では有用な効果が得られている。変形性股関節症に対する人工股関節置換術患者の術後回復におけるグレリンの有効性に関しては、体組成の改善は認めたが、筋力や歩行速度には差を認めなかった。また、オクタン酸高含有食品を摂取すると内因性グレリンが増加し、カヘ

キシアを呈する患者の栄養療法として重要であることが示された。

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。本研究事業により、グレリン有する抗老化作用のメカニズム解明が進展し、高齢者における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挙げることができた。今後、さらにグレリンの分泌制御機構、デスアシルグレリンの生理作用やシグナル伝達経路の解明、グレリンアシル化酵素へのアプローチ、および老化に起因する病態とグレリンとの関連を解明し、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, Herningtyas 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. Iwasaki E, Suzuki H, Sugino Y, Iida T, Nishizawa T, Masaoka T, Hosoda H, Kangawa K, Hibi T. Decreased levels of adiponectin in obese patients with gastroesophageal reflux evaluated by videoesophagography: possible relationship between gastroesophageal reflux and metabolic syndrome. *J Gastroenterol Hepatol*, 23: S216-221, 2008.
40. Akamizu T, Iwakura H, Ariyasu H, Murayama T, Sumi E, Teramukai S, Goto K, Ohnishi E, Akiyama H, Kawanabe K, Nankaku M, Ichihashi N, Tsuboyama T, Tamai K, Kataoka M, Nakamura T, Kangawa K. Osteoarthritis-Total Hip Replacement Clinical Study Team. Effects of ghrelin treatment on patients undergoing total hip replacement for osteoarthritis: different outcomes from studies in patients with cardiac and pulmonary cachexia. *J Am Geriatr Soc*, 56: 2363-2365, 2008.
41. 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 OSA before and after nasal CPAP treatment. *Respirology*, 13: 810-816, 2008.
42. Fukumoto K, Nakahara K, Katayama T, Miyazatao M, Kangawa K, Murakami N.

- Synergistic action of gastrin and ghrelin on gastric acid secretion in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 374: 60-63, 2008.
43. Schwenke DO, Tokudome T, Kishimoto I, Horio T, Shirai M, Cragg PA, Kangawa K. Early ghrelin treatment after myocardial infarction prevents an increase in cardiac sympathetic tone and reduces mortality. *Endocrinology*, 149: 5172-5176, 2008.
  44. Kodama T, Ashitani J, Matsumoto N, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin treatment suppresses neutrophil-dominant inflammation in airways of patients with chronic respiratory infection. *Pulm Pharmacol Ther*, 21: 774-779, 2008.
  45. Tanaka K, Morinobu S, Ichimura M, Asakawa A, Inui A, Hosoda H, Kangawa K, Yamawaki S. Decreased levels of ghrelin, cortisol, and fasting blood sugar, but not n-octanoylated ghrelin, in Japanese schizophrenic inpatients treated with olanzapine. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 32: 1527-1532, 2008.
  46. Ariyasu H, Iwakura H, Yamada G, Nakao K, Kangawa K, Akamizu T. Efficacy of ghrelin as a therapeutic approach for age-related physiological changes. *Endocrinology*, 149: 3722-3728, 2008.
  47. 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, FD Clinical Study Team. Repeated administration of ghrelin to patients with functional dyspepsia: its effects on food intake and appetite. *Eur J Endocrinol*, 158: 491-498, 2008.
  48. 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.
  49. 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.
  50. 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.
  51. Yamamoto H, Kouhara H, Iida K, Chihara K, Kasayama S. A novel growth hormone receptor gene deletion mutation in a patient with primary growth hormone insensitivity syndrome (Laron syndrome). *Growth Horm IGF Res*, 18: 136-142, 2008.
  52. Chihara K, Kato Y, Shimatsu A, Tanaka T, Kohno H. Efficacy and safety of individualized growth hormone treatment in adult Japanese patients with growth hormone deficiency. *Growth Horm IGF Res*, 18: 394-403, 2008.
  53. Herningtyas EH, Okimura Y, Handayaningsih AV, Yamamoto Y, Maki T, Iida K, Takahashi Y, Kaji H, Chihara K. Branched-chain amino acids and arginine suppress MaFbx/atrogin-1 mRNA expression via mTOR pathway in C2C12 cell line. *Biochim Biophys Acta*, 1780: 1115-1120, 2008.
  54. Ikeshita N, Kawagishi M, Shibahara H, Toda K, Yamashita T, Yamamoto D, Sugiyama Y, Iguchi G, Iida K, Takahashi Y, Kaji H, Chihara K, Okimura Y. Identification and Analysis of Prophet of Pit-1-Binding Sites in Human Pit-1 Gene. *Endocrinology*, 149: 5491-5499, 2008.
  55. Kaji H, Yamauchi M, Chihara K, Sugimoto T. Relationship between endogenous parathyroid hormone and bone metabolism/geometry in female patients treated with glucocorticoid. *Horm Metab Res*, 40: 60-65, 2008.

56. Inoue Y, Kaji H, Hisa I, Tobimatsu T, Naito J, Iu MF, Sugimoto T, Chihara K. Vitamin D status affects osteopenia in postmenopausal patients with primary hyperparathyroidism. *Endocr J*, 55: 57-65, 2008.
57. Takahashi M, Takahashi Y, Takahashi K, Zolotaryov FN, Hong KS, Kitazawa R, Iida K, Okimura Y, Kaji H, Kitazawa S, Kasuga M, Chihara K. Chemerin enhances insulin signaling and potentiates insulin-stimulated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett*, 582: 573-578, 2008.
58. Kaji H, Yamauchi M, Chihara K, Sugimoto T. Glucocorticoid excess affects cortical bone geometry in premenopausal, but not postmenopausal, women. *Calcif Tissue Int*, 82: 182-190, 2008.
59. Chihara K, Kato Y, Kohno H, Takano K, Tanaka T, Teramoto A, Shimatsu A. Safety and efficacy of growth hormone (GH) during extended treatment of adult Japanese patients with GH deficiency (GHD). *Growth Horm IGF Res*, 18: 307-317, 2008.
60. Takahashi Y, Iida K, Takeno R, Kitazawa R, Kitazawa S, Kitamura H, Fujioka Y, Yamada H, Kanda F, Ohta S, Nishimaki K, Fujimoto M, Kondo T, Iguchi G, Takahashi K, Kaji H, Okimura Y, Chihara K. Hepatic failure and enhanced oxidative stress in mitochondrial diabetes. *Endocr J*, 55: 509-514, 2008.
61. Kaji H, Naito J, Inoue Y, Sowa H, Sugimoto T, Chihara K. Statin Suppresses Apoptosis in Osteoblastic Cells: Role of Transforming Growth Factor-beta-Smad3 Pathway. *Horm Metab Res*, 40: 746-751, 2008.
62. Imanaka M, Iida K, Murawaki A, Nishizawa H, Fukuoka H, Takeno R, Takahashi Y, Okimura Y, Kaji H, Chihara K. Growth hormone stimulates mechano growth factor expression and activates myoblast transformation in C2C12 cells. *Kobe J Med Sci*, 54: E46-54, 2008.
63. Hisa I, Kaji H, Inoue Y, Sugimoto T, Chihara K. Fasting plasma glucose levels are related to bone mineral density in postmenopausal women with primary hyperparathyroidism. *Int J Clin Exp Med*, 1: 319-326, 2008.
64. 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.
65. 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.
66. 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.
67. 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.
68. 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.
69. Ueno H, Yamaguchi H, Mizuta M, Nakazato M. The role of PYY in feeding regulation. *Regul Pept*, 145: 12-16, 2008.
70. Kodama T, Ashitani J, Matsumoto N, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin treatment suppresses neutrophil-dominant inflammation in airways of patients with chronic respiratory

- infection. *Pulm Pharmacol Ther*, 21: 774-779, 2008.
71. Ueno H, Yamaguchi H, Mizuta M, Nakazato M. The role of PYY in feeding regulation. *Regul Pept*, 145: 12-16, 2008.
  72. 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.
  73. Makino T, Doki Y, Miyata H, Yasuda T, Yamasaki M, Fujiwara Y, Takiguchi S, Higuchi I, Hatazawa J, Monden M. Use of (18) F-fluorodeoxyglucose-positron emission tomography to evaluate responses to neo-adjuvant chemotherapy for primary tumor and lymph node metastasis in esophageal squamous cell carcinoma. *Surgery*, 144: 793-802, 2008.
  74. Takeno A, Takemasa I, Doki Y, Yamasaki M, Miyata H, Takiguchi S, Fujiwara Y, Matsubara K, Monden M. Integrative approach for differentially overexpressed genes in gastric cancer by combining large-scale gene expression profiling and network analysis. *Br J Cancer*, 99: 1307-1315, 2008.
  75. Zhang Y, Fujiwara Y, Doki Y, Takiguchi S, Yasuda T, Miyata H, Yamazaki M, Ngan CY, Yamamoto H, Ma Q, Monden M. Overexpression of tyrosine kinase B protein as a predictor for distant metastases and prognosis in gastric carcinoma. *Oncology*, 75: 17-26, 2008.
  76. Yoshioka A, Miyata H, Doki Y, Yamasaki M, Sohma I, Gotoh K, Takiguchi S, Fujiwara Y, Uchiyama Y, Monden M. LC3, an autophagosome marker, is highly expressed in gastrointestinal cancers. *Int J Oncol*, 33: 461-468, 2008.
  77. Yoshioka A, Miyata H, Doki Y, Yasuda T, Yamasaki M, Motoori M, Okada K, Matsuyama J, Makari Y, Sohma I, Takiguchi S, Fujiwara Y, Monden M. The activation of Akt during preoperative chemotherapy for esophageal cancer correlates with poor prognosis. *Oncol Rep*, 19: 1099-1107, 2008.
  78. Okada K, Yano M, Doki Y, Azama T, Iwanaga H, Miki H, Nakayama M, Miyata H, Takiguchi S, Fujiwara Y, Yasuda T, Ishida N, Monden M. Injection of LPS causes transient suppression of biological clock genes in rats. *J Surg Res*, 145: 5-12, 2008.
  79. Miyata H, Doki Y, Yasuda T, Yamasaki M, Higuchi I, Makari Y, Matsuyama J, Hirao T, Takiguchi S, Fujiwara Y, Monden M. Evaluation of clinical significance of 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in superficial squamous cell carcinomas of the thoracic esophagus. *Dis Esophagus*, 21: 144-150, 2008.
  80. 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.
  81. Iwakura H, Ariyasu H, Kanamoto N, Li Y, Yamada G, Hosoda K, Nakao K, Kangawa K, Akamizu T. Establishment Novel Mouse Model of Neuroblastoma. *Int J Oncol*, 33: 1195-1199, 2008.
  82. 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. *Respirology*, 13: 810-816, 2008.
  83. Kojima M. The discovery of ghrelin - A personal memory. *Regul Pept*, 145: 2-6, 2008.
  84. 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.
85. 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.
  86. Kojima M. The discovery of ghrelin--a personal memory. *Regul Pept*, 145: 2-6, 2008.
  87. Kojima M, Ida T, Sato T. Structure of mammalian and nonmammalian ghrelins. *Vitam Horm*, 77: 31-46, 2008.
  88. Kojima M, Kangawa K. Structure and function of ghrelin. *Results Probl Cell Differ*, 46: 89-115, 2008.
  89. 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.
  90. 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.
  91. Miura T, Maruyama K, Kaiya H, Miyazato M, Kangawa K, Uchiyama M, Shioda S, Matsuda K. Purification and properties of ghrelin from the intestine of the goldfish, *Carassius auratus*. *Peptides*, 30: 758-765, 2009.
  92. Hiejima H, Nishi Y, Hosoda H, Yoh J, Mifune H, Satou M, Sugimoto H, Chiba S, Kawahara Y, Tanaka E, Yoshimatsu H, Uchimura N, Kangawa K, Kojima M. Regional distribution and the dynamics of n-decanoyl ghrelin, another acyl-form of ghrelin, upon fasting in rodents. *Regul Pept*, 156: 47-56, 2009.
  93. Iwakura H, Ariyasu H, Li Y, Kanamoto N, Bando M, Yamada G, Hosoda H, Hosoda K, Shimatsu A, Nakao K, Kangawa K, Akamizu T. A mouse model of ghrelinoma exhibited activated growth hormone-insulin-like growth factor I axis and glucose intolerance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 297: E802-811, 2009.
  94. Kaiya H, Riley LG, Janzen W, Hirano T, Grau EG, Miyazato M, Kangawa K. Identification and genomic sequence of a ghrelin receptor (GHS-R)- like receptor in the Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Zoolog Sci*, 26: 330-337, 2009.
  95. Takahashi H, Kurose Y, Suzuki Y, Kojima M, Yamaguchi T, Yoshida Y, Ogino M, Hodate K, Azuma Y, Sugino T, Kangawa K, Hasegawa Y, Kobayashi S. Ghrelin differentially modulates the GH secretory response to GHRH between the fed and fasted states in sheep. *Domest Anim Endocrinol*, 37: 55-60, 2009.
  96. Yano Y, Toshinai K, Inokuchi T, Kangawa K, Shimada K, Kario K, Nakazato M. Plasma des-acyl ghrelin, but not plasma HMW adiponectin, is a useful cardiometabolic marker for predicting atherosclerosis in elderly hypertensive patients. *Atherosclerosis*, 204: 590-594, 2009.
  97. Kaiya H, Furuse M, Miyazato M, Kangawa K. Current knowledge of the roles of ghrelin in regulating food intake and energy balance in birds. *Gen Comp Endocrinol*, 163: 33-38, 2009.
  98. Theil MM, Miyake S, Mizuno M, Tomi C, Croxford JL, Hosoda H, Theil J, von Horsten S, Yokote H, Chiba A, Lin Y, Oki S, Akamizu T, Kangawa K, Yamamura T. Suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis by ghrelin. *J Immunol*, 183: 2859-2866, 2009.
  99. Kaiya H, Mori T, Miyazato M, Kangawa K. Ghrelin receptor (GHS-R)-like receptor and its genomic organisation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 153: 438-450, 2009.
  100. Kyoraku I, Shiomi K, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin reverses experimental diabetic neuropathy in mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 389: 405-408, 2009.
  101. Hotta M, Ohwada R, Akamizu T, Shibasaki T, Takano K, Kangawa K. Ghrelin increases hunger and food intake in patients with

- restricting-type anorexia nervosa: a pilot study. *Endocr J*, 56: 1119-1128, 2009.
102. Kaiya H, Kodama S, Ishiguro K, Matsuda K, Uchiyama M, Miyazato M, Kangawa K. Ghrelin-like peptide with fatty acid modification and O-glycosylation in the red stingray, *Dasyatis akajei*. *BMC Biochem*, 10: 30, 2009.
103. Kishimoto I, Tokudome T, Schwenke DO, Soeki T, Hosoda H, Nagaya N, Kangawa K. Therapeutic potentials of ghrelin in cardiac diseases. *Expert Rev Endocrinol Metab*, 4: 283-289, 2009.
104. Iida K, Takahashi Y, Kaji H, Okimura Y, Nose O, Chihara K. Difference between Japanese and Caucasian populations in the allelic frequency of growth hormone receptor polymorphism. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 22: 41-46, 2009.
105. Mano-Otagiri A, Ohata H, Iwasaki-Sekino A, Nemoto T, Shibasaki T. Ghrelin suppresses noradrenaline release in the brown adipose tissue of rats. *J Endocrinol*, 34: 226-237, 2009.
106. Yano Y, Toshinai K, Inokuchi T, Shimada K, Katio K, Nakazato M. Plasma Des-acyl ghrelin level, but not HMW adiponectin, is a proper risk calculator for predicting atherosclerosis in elderly hypertensive patients. *Atherosclerosis*, 204: 590-594, 2009.
107. Ashitani J, Matsumoto N, Nakazato M. Effect of octanoic acid-rich formula on plasma ghrelin levels in cachectic patients with chronic respiratory disease. *Nutr J*, 8: 25, 2009.
108. Yamaguchi N, Isomoto H, Mukae H, Ishimoto H, Ohnita K, Shikuwa S, Mizuta Y, Nakazato M, Kohno S. Concentrations of alpha- and beta-defensins in plasma of patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Res*, 58: 192-197, 2009.
109. Toshinai K, Nakazato M. Neuroendocrine regulatory peptide-1 and -2: novel bioactive peptides processed from VGF. *Cell Mol Life Sci*, 66: 1939-1945, 2009.
110. Ashitani J, Matsumoto N, Nakazato M. Ghrelin and its therapeutic potential for cachectic patients. *Peptides*, 30:1951-1956, 2009.
111. Kato K, Kannan H, Ohta H, Kemuriyama T, Maruyama S, Tandai-Hiruma M, Sato Y, Nakazato M, Nishimori T, Ishida Y, Onaka T, Nishida Y. Central endogenous vasopressin induced by central salt-loading participates in body fluid homeostasis through modulatory effects on neurons of the PVN in conscious rats. *J Neuroendocrinol*, 21: 921-934, 2009.
112. Saitoh Y, Hongwei W, Ueno H, Mizuta M, Nakazato M. Telmisartan attenuates fatty-acid-induced oxidative stress and NAD(P) H oxidase activity in pancreatic beta-cells. *Diabetes Metab*, 35: 392-397, 2009.
113. Yamamoto K, Fujiwara Y, Nishida T, Takiguchi S, Nakajima K, Miyata H, Yamasaki M, Mori M, Doki Y. Induction chemotherapy with docetaxel, 5-FU and CDDP (DFP) for advanced gastric cancer. *Anticancer Res*, 29: 4211-4215, 2009.
114. Miyata H, Yamasaki M, Takiguchi S, Nakajima K, Fujiwara Y, Nishida T, Mori M, Doki Y. Salvage esophagectomy after definitive chemoradiotherapy for thoracic esophageal cancer. *J Surg Oncol*, 1;100: 442-446, 2009.
115. Motoori M, Takemasa I, Yamasaki M, Komori T, Takeno A, Miyata H, Takiguchi S, Fujiwara Y, Yasuda T, Yano M, Matsuura N, Matsubara K, Monden M, Mori M, Doki Y. The feasibility of using biopsy samples from esophageal cancer for comprehensive gene expression profiling. *Int J Oncol*, 35: 265-271, 2009.
116. Theil MM, Miyake S, Mizuno M, Tomi C, Croxford JL, Hosoda H, Theil J, von Hörsten S, Yokote H, Chiba A, Lin Y, Oki S, Akamizu T, Kangawa K, Yamamura T. Suppression of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis by Ghrelin. *J Immunol*, 183: 2859-2866, 2009.
117. Takahashi T, Ida T, Sato T, Nakashima Y, Nakamura Y, Tsuji A, Kojima M. Production of n-octanoyl-modified ghrelin in cultured cells

- requires prohormone processing protease and ghrelin O-acyltransferase, as well as n-octanoic acid. *J Biochem*, 146: 675- 682, 2009.
118. Ohgusu H, Shirouzu K, Nakamura Y, Nakashima Y, Ida T, Sato T, Kojima M. Ghrelin O-acyltransferase (GOAT) has a preference for n-hexanoyl-CoA over n-octanoyl-CoA as an acyl donor. *Biochem Biophys Res Commun*, 386: 153-158, 2009.
119. Garcia EA, King P, Sidhu K, Ohgusu H, Walley A, Lecoer C, Gueorguiev M, Khalaf S, Davies D, Grossman AB, Kojima M, Petersenn S, Froguel P, Korbonits M. The role of ghrelin and ghrelin-receptor gene variants and promoter activity in type 2 diabetes. *Eur J Endocrinol*, 161: 307-315, 2009.
120. Mano-Otagiri A, Iwasaki-Sekino A, Nemoto T, Ohata H, Shuto Y, Nakabayashi H, Sugihara H, Oikawa S, Shibasaki T. Genetic suppression of ghrelin receptors activates brown adipocyte function and decreases fat storage in rats. *Regul Pept*, 160: 81-90, 2010.
121. Goto S, Nagao K, Bannai M, Takahashi M, Nakahara K, Kangawa K, Murakami N. Anorexia in rats caused by a valine-deficient diet is not ameliorated by systemic ghrelin treatment. *Neuroscience*, 166: 333-340, 2010.
122. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: from gene to physiological function. *Results Probl Cell Differ*, inpress.
123. Kangawa K. Challenge for novel peptide hormones: from discovery to therapeutic application. *Endocr J*, in press.
124. Adachi S, Takiguchi S, Okada K, Yamamoto K, Yamasaki M, Miyata H, Nakajima K, Fujiwara Y, Hosoda H, Kangawa K, Mori M, Doki Y. Effects of ghrelin administration after total gastrectomy: A prospective randomized placebo-controlled phase II study. *Gastroenterology*, inpress.
125. Yamamoto K, Takiguchi S, Miyata H, Adachi S, Hiura Y, Yamasaki M, Nakajima K, Fujiwara Y, Mori M, Kangawa K, Doki Y. Randomized phase II study of clinical effects of ghrelin after esophagectomy with gastric tube reconstruction. *Surgery*, inpress.
126. Yamamoto D, Maki T, Herningtyas EH, Ikeshita N, Shibahara H, Sugiyama Y, Nakanishi S, Iida K, Iguchi G, Takahashi Y, Kaji H, Chihara K, Okimura Y. Branched-chain amino acid protects against dexamethasone-induced soleus muscle atrophy in rats. *Muscle Nerve*, inpress.
127. Inoue Y, Nakahara K, Kangawa K, Murakami N. Transitional change in rat fetal cell proliferation in response to ghrelin and des-acyl ghrelin during the last stage of pregnancy. *Biochem Biophys Res Commun*, inpress.
128. Ueno H, Shiiya T, Nakazato M. Translational research of ghrelin. *Ann N Y Acad Sci*, inpress.
129. Akamizu T, Iwakura H, Ariyasu H, Kangawa K. Ghrelin and Functional Dyspepsia. *International Journal of Peptides*, inpress.
130. Hotta M, Ohwada R, Akamizu T, Shibasaki T, Takano K, Kangawa K. Ghrelin Increases Hunger and Food Intake in Patients with Restricting-type Anorexia Nervosa: A Pilot Study. *Endocr J*, inpress.
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、大畠久幸、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.
  6. 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.
  7. 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.
  8. 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.
  9. 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.
  10. 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.
  11. 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.
  12. 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.
  13. 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.
  14. 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.
  15. 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.
  16. 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.
  17. 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.
  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, 第 5 回肝臓病研究会, 東京, 2007.
  19. 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.
  20. 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.
  21. 眞野あすか、岩寄あずさ、芝崎 保：グレリンの褐色脂肪組織におけるノルアドレナリン分泌抑制作用への加齢の影響, 第 81 回日本内分泌学会学術総会, 青森, 2008.
  22. 眞野あすか、岩寄あずさ、芝崎 保：高脂肪摂取下のエネルギー代謝調節機構におけるグレリンの役割の解明, 第 35 回日本神経内分泌学会学術集会, 東京, 2008.
  23. 福元 香、中原桂子、安田達司、宮里幹也、寒川賢治、村上 昇：グレリン分泌への胃内容物による選択的抑制制御と自律神経系制御の可能性, 第 146 回日本獣医学会, 宮崎, 2008.
  24. 井上賀之、中原桂子、宮里幹也、寒川賢治、村上 昇：ラット胎児と新生児の培養神経細胞に対するグレリンとデスアシルグレリンの増殖作用の相違, 第 146 回日本獣医学会, 宮崎, 2008.
  25. Iwakura H, Ariyasu H, Irako T, Hosoda K, Nakao K, Kangawa K, Akamizu T: Effects of Ghrelin Administration on Glucose Metabolism and beta Cell Mass in Rats with Partial Pancreatectomy. The Endocrine Society's Annual Meeting, San Francisco, June 15-18, 2008.
  26. Ohwada R, Hotta M, Akamizu T, Shibasaki T, Kangawa K, Takano K: The Effect of Ghrelin on Appetite, Food Intake and Nutritional Parameters in Patients with Anorexia Nervosa, The Endocrine Society's Annual Meeting, San Francisco, June 15-18, 2008.
  27. Akamizu T, Iwakura H, Ariyasu H, Kangawa K: