

Thesis

漢方薬六君子湯の健常成人における血漿中消化管ホルモン濃度への作用

臨床医学研究系 内科学 消化器・肝臓内科学

高林 英日己

【背景】漢方薬の六君子湯は数百年前に我が国において確立された調合薬である。これまで慢性胃炎によると思われる上腹部症状や食欲不振に対して処方されてきたが、最近では新たな疾患概念である機能性胃腸障害の患者への投与が試みられ、胃運動を改善し、その上腹部症状や食欲不振を改善することが報告されている。しかし、これらの作用メカニズムは十分に解明されていない。

【目的】六君子湯による上腹部症状改善作用のメカニズムを明らかにするために我々は消化管の運動や分泌機能の調節作用を有するアシルグレリン、デスアシルグレリン、ガストリン、コレシストキニン(CCK)の血漿濃度に対する六君子湯の効果を検討した。

【方法】21人の健常成人を被験者として上記の消化管ホルモンの測定のために血液検体を空腹期・流動食(300 Kcal)摂取1時間後・2時間後に採取した。1週間六君子湯を服薬後に同様に採血検査を施行した。アシルグレリン、デスアシルグレリン、ガストリン、CCKは市販の測定キットにて測定した。

【結果】1週間の六君子湯投与により空腹期・食後2時間での血漿アシルグレリン濃度が六君子湯服薬前に比べて有意に上昇した。しかし、デスアシルグレリンおよびガストリンの血漿濃度には影響がなかった。1週間の六君子湯投与はCCKの空腹期の血漿濃度を低下させた。

【結論】これらの結果より、六君子湯は空腹期と食間(食後2時間)のアシルグレリンの血漿濃度を上昇させ、空腹期のCCK血漿濃度上昇を低下させることが示唆された。六君子湯は少なくとも部分的にアシルグレリンとCCKの分泌への作用を介することで食前および食間の食欲亢進を促すことが示唆された。

緒 言

六君子湯は数百年前に我が国において確立された伝統的な漢方薬である。以前より、慢性胃炎によると思われる諸症状、すなわち食思不振や膨満感、胸やけ、げっぷ、嘔気などを訴える患者に用いられてきたが、最近では機能性胃腸症(FD)を有する患者への効果が検討されている¹⁾。ラットを用いた基礎的研究において、六君子湯は胃運動遅延を改善させ²⁾、適応弛緩障害を減少させる³⁾。六君子湯はこれらの作用によってFD症状を改善することが推測されている。しかし、六君子湯の食欲改善作用については胃運動改善のみでは十分に説明できるものではなく、そのメカニズムは十分に解明されていない。近年、ラットにおいて六君子湯がシスプラチン投与に起因する食餌摂取量低下を抑制し、さらに血漿アシルグレリン濃度低下を抑制することが報告された⁴⁾。すなわち、六君子湯の食欲改善作用がグレリン分泌増加作用によることが示唆されている⁴⁾。グレリンはラットやヒトの胃

から単離されたペプチドで⁵⁾、食事摂取量や食欲を増加させる唯一の消化管ホルモンである^{6,11)}。グレリンは動物実験において中枢性あるいは末梢性に投与されることで胃運動や酸分泌を刺激することが知られている^{12,13)}が、糖尿病性胃腸障害患者に投与すると胃運動遅延を改善しFD症状を改善させることも報告されている¹⁴⁾。すなわち、グレリンの投与がこれらの消化器症状や食欲低下を改善することが示されてきた。しかし、ヒトにおいて内因性グレリンを増加させる治療の報告は稀であり、これまでに六君子湯が健常成人者の空腹期血漿アシルグレリン濃度を上昇させることが報告されている¹⁵⁾のみであった。

この、ヒトにおける六君子湯の血漿グレリン濃度増加作用は六君子湯の食欲改善作用などの臨床効果を説明できる可能性がある。それゆえ今回の研究では、著者は六君子湯投与が空腹期および食後期において二つの分子型のグレリン、すなわち食欲亢進作用のあるアシルグレリンと食欲に対して非活性型のデスアシルグレリンの血漿濃度に影響するかを検討した。さらに、六君子湯が血中のガストリン濃度へ影響しているかど

うかについても検討した。ガストリンはグレリン分泌を抑制することが報告されており¹⁶⁾、血中ガストリン濃度の変化がグレリン濃度に影響している可能性も推測できるため、ガストリン濃度の変化も検討しその関与の可能性についても検討した。最近の研究ではグレリン以外の多くの消化管ホルモンが食欲に作用していることが示されている。しかし、これらの多くの作用は食欲抑制作用である。コレシストキニン (CCK) もまた食欲抑制作用¹⁷⁾や胃排出能抑制作用を有することが知られているが¹⁸⁾、著者は健康成人者での六君子湯のCCK分泌への影響も検討した。近年FDの患者では外因性CCKに対する過敏性を有することが示されている¹⁹⁾。このことは内因性CCKの増減がFD症状と関連がある可能性を示唆している。六君子湯はこれらの消化管ホルモンの分泌に影響して食欲および消化管機能を改善させる可能性がある。著者は、六君子湯によるこれらの消化管ホルモン血中濃度への影響について明らかにすることを目的として以下の検討を行った。

対象と方法

1. 対象

21人の健康成人ボランティアで糖尿病や悪性腫瘍など慢性疾患を有さず、腹部症状を認めない者を(男性8名、女性13名、年齢39歳±8歳、平均BMI 24.0±1.2 kg/m²)本研究の被験者とした。18人のボランティアはヘリコバクターピロリ陰性で3人が陽性であった。ボランティアは埼玉医科大学総合医療センター消化器・肝臓内科の外来にて募集し、研究の概要を説明した後、自らの意志で参加した者を被験者とした。なお本研究は埼玉医科大学総合医療センター倫理委員会に承認された。

2. 薬剤

六君子湯(株式会社ツムラ 製品番号TJ43)(7.5 g)を1日3回各食前に2.5 g内服した。六君子湯7.5 gには以下の割合の混合生薬の乾燥エキス4.0 gを含有する。

日局ソウジュツ4.0 g、日局ニンジン4.0 g、日局ハンゲ4.0 g、日局ブクリョウ4.0 g、日局タイソウ2.0 g、日局チンピ2.0 g、日局カンゾウ1.0 g、日局ショウキョウ0.5 g。

3. 研究プロトコール

アシルグレリン、デスアシルグレリン、ガストリン、CCK濃度を測定するために、12時間の絶食の後、9時の空腹期および流動食(オクノス-A流動食・ホリカ食品株式会社、新潟、日本、300 Kcal/300 ml、炭水化物43.5 g、蛋白質15.9 g、脂質7.2 g)摂取1時間後・2時間後に血液検体を採取した。なお被験者は前日21時以降から検査開始時まで禁食とした。さらに六君子湯の効果を評価するために、六君子湯を1週間服薬したのちに同様の方法で血液検体を採取した。服薬期間の決定については、これまでの既報²⁾に基づいて行った。

既報によると、1週間の服用で効果ありと報告されているため本研究では1週間とした。

<血漿アシルグレリン、デスアシルグレリン測定>

血液検体採取後、可及的速やかにエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム(EDTA)とapoprotinを含んだチューブに移し十分に混和した後、検体はただちに4℃で遠心分離後、上澄み血漿は2つのチューブに移され、アシルグレリン分析に用いる分には1 mol/Lの塩酸を血漿の1/10量を加え安定させた。血漿サンプルは測定されるまでは-80℃で冷凍した。グレリン濃度はアシルグレリン、デスアシルグレリンのELISA(三菱化学メディエンス株式会社、東京、日本)のキットを用いて添付されたプロトコールに従って測定した。使用したアシルグレリン、デスアシルグレリン測定キットの感度はその下限としてアシルグレリン、デスアシルグレリン濃度は各々2.5 fmol/L、12.5 fmol/Lである。キット内およびキット間測定誤差(CV)はアシルグレリンについては6.5%と9.8%で、デスアシルグレリンについては3.7%と8.1%である。

<血漿ガストリン濃度測定>

血液採取後血清分離チューブに移し4℃で血液検体を遠心分離後、上澄みの血清は測定まで-80℃で保存した。血清ガストリン濃度はガストリンRIAキット(TFB株式会社、東京、日本)を用いて測定した。測定キットの感度は16 pg/mlで、16-800 pg/mlの濃度間で測定が可能である。

<血漿CCK濃度の測定>

血液検体採取後、EDTAとapoprotinを含有したチューブに移し、検体処理するまで氷上で冷やし、ただちに4℃で遠心分離した。血漿は測定するまで-80℃で冷凍した。血漿CCK濃度はCCKのRIAキットを用いて測定した(Phoenix Pharmaceuticals, INC, CA, USA)測定キットの感度は10 pg/ml以上で、測定適正濃度が10-10000 pg/mlの間である。

統計学的分析

すべてのデータはpaired t-testにて統計処理し有意差検定を行った。P値が0.05未満で有意差がありとした。

結 果

1. 六君子湯のグレリン血漿濃度への影響

健康成人ボランティアで六君子湯服用前後の血漿グレリン濃度を比較した。六君子湯投与により空腹期血漿アシルグレリン濃度が18.7±4.7 fmol/mlから24.2±5.6 fmol/ml(p<0.05)と有意に上昇を認めた(Fig.1)。食後2時間後の値も14.6±4.3 fmol/mlから21.9±5.2 fmol/ml(p<0.05)と有意に上昇を認めた。六君子湯服薬前後で食事摂取1時間後の血漿アシルグレリン濃度には差は認めなかった。対照的に血漿デスアシルグレリン濃度は六君子湯の投与により空腹期も食後1・2

時間後もともに変化を認めなかった (Fig.2). さらに六君子湯投与前後で総グレリン濃度 (アシルグレリンとデスアシルグレリンの合計) として空腹期および食後1時間後, 2時間後の濃度はともに有意差を認めなかった (Fig.3).

2. 六君子湯のガストリン血漿濃度への影響

血清ガストリン濃度は流動食摂取1時間後2時間後に上昇する. しかし, 六君子湯服用前後においてそれぞれのポイントでの血清ガストリン濃度に相違はなかった (Fig.4).

3. 六君子湯のCCKの血漿濃度への影響

六君子湯の血漿 CCK 濃度への影響を検討したが, 六君子湯投与1週間後の空腹時のCCK濃度は 568 ± 37 pg/ml から 484 ± 18 pg/ml ($p < 0.05$) と有意に低下した (Fig.5). しかし食後1, 2時間の血漿 CCK 濃度に対しては六君子湯服用前後に相違はなかった (Fig.5).

考 察

以前より報告されているように, 六君子湯は伝統的な漢方薬で, 腹部膨満感や, げっぷ, 嘔気など機能性胃腸障害の症状を有する患者に広く用いられてきた. 基礎研究では六君子湯はラットにおいて胃排出能遅延を改善し²⁾, ex-vivoの実験にて適応性弛緩を改善する³⁾ことが示されてきた. しかし六君子湯のその効果発現メカニズムは十分に知られていない. 近年 Takeda らにより六君子湯が in vivo の実験で血漿グレリン濃度を上昇させることが報告されている⁴⁾. 最近, 著者らもラットを用いた実験でストレス関連物質のウロコルチン1による食欲低下とグレリン低下が六君子湯服用にて回復することを報告している²⁰⁾. 今回の研究で著者はヒトにおいて食欲に作用するグレリンやその他の消化管ホルモンの分泌に関する六君子湯の効果につい

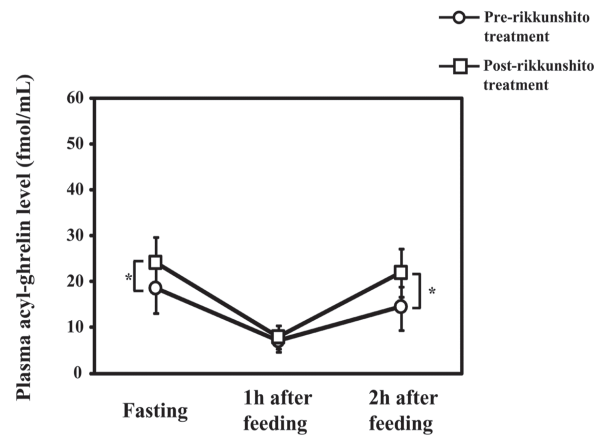


Fig. 1. 空腹時および食事摂取後1時間, 2時間後の血漿アシルグレリン濃度への六君子湯服薬の効果. 対象者は12時間禁食後採血を行い, 流動食摂取1時間後, 2時間後にも採血を行った. 六君子湯服薬1週間後に再度同様に採血検査を施行した. 各ポイントはアシルグレリン平均血中濃度+SE (fmo/L), * $p < 0.05$, N=21.

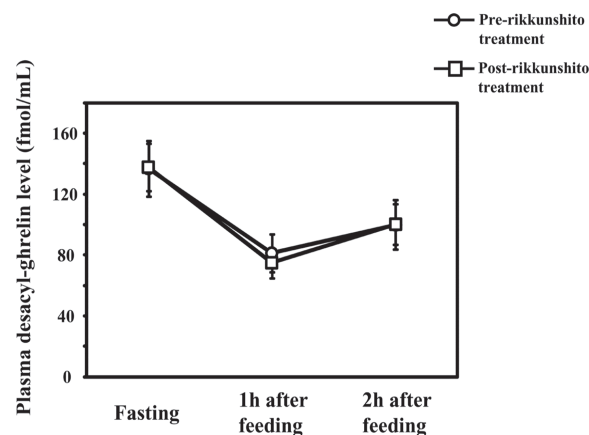


Fig. 2. 空腹時および食事摂取後1時間, 2時間後の血漿デスアシルグレリン濃度への六君子湯服薬の効果. 対象者は12時間禁食後採血を行い, 流動食摂取1時間後, 2時間後にも採血を行った. 六君子湯服薬1週間後に再度同様に採血検査を施行した. 各ポイントはデスアシルグレリン平均血中濃度+SE (fmo/L), N=21.

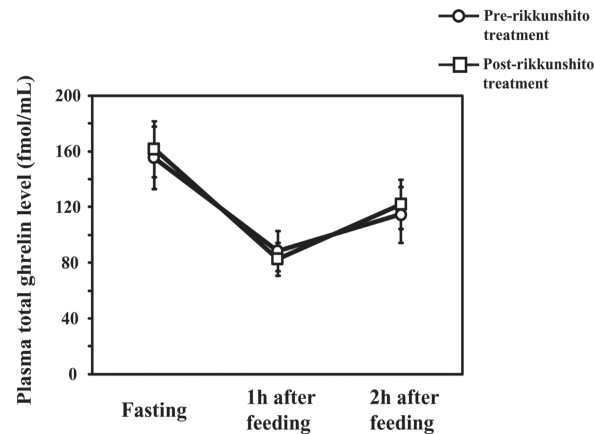


Fig. 3. 空腹時および食事摂取後1時間、2時間後の血漿総グレリン濃度への六君子湯服薬の効果. 対象者は12時間禁食後採血を行い、流動食摂取1時間後、2時間後にも採血を行った. 六君子湯服薬1週間後に再度同様に採血検査を施行した. 総グレリンはアシルグレリンとデスアシルグレリンの総和とした. 各ポイントは総グレリン平均血中濃度+SE (fmol/L), N=21.

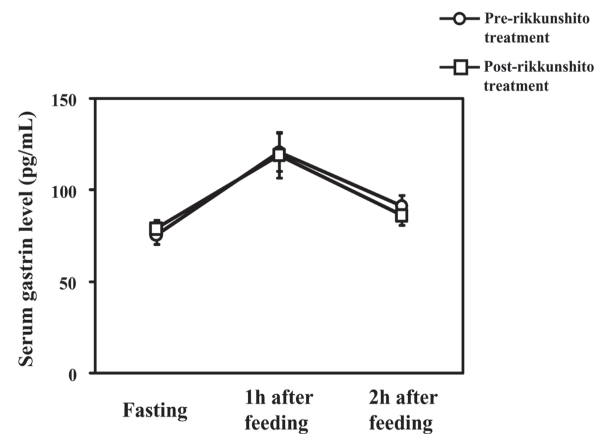


Fig. 4. 空腹時および食事摂取後1時間、2時間後の血清ガストリン濃度への六君子湯服薬の効果. 対象者は12時間禁食後採血を行い、流動食摂取1時間後、2時間後にも採血を行った. 六君子湯服薬1週間後に再度同様に採血検査を施行した. 各ポイントはガストリン平均血中濃度+SE (pg/mL), N=21.

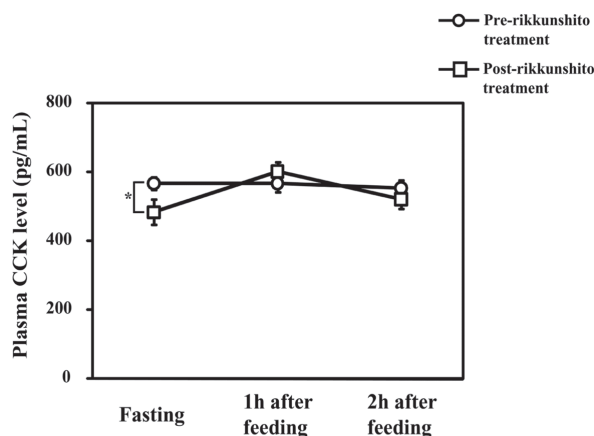


Fig. 5. 空腹時および食事摂取後1時間、2時間後の血漿CCK濃度への六君子湯服薬の効果. 対象者は12時間禁食後採血を行い、流動食摂取1時間後、2時間後にも採血を行った. 六君子湯服薬1週間後に再度同様に採血検査を施行した. 各ポイントはCCK平均血中濃度+SE (pg/mL), *p<0.05, N=21.

て検討した。これまで消化管や膵臓で産生される多くの消化管ホルモンが直接的・間接的に食欲へ影響していることが知られてきたが²¹⁾、さらに、近年、新たにレプチン²²⁾やグレリン⁵⁾のような食欲低下あるいは亢進作用のあるペプチドが発見されている。

今回の研究では、著者は食欲に対する六君子湯の効果を明らかにするため、4つの消化管ホルモン、アシルグレリン、デスアシルグレリン、CCK、ガストリンに焦点を当てて検討した。グレリンは末梢投与によって食欲や食事摂取量を増加させる唯一の消化管ホルモンである²¹⁾。またCCKは食欲や胃運動に関して抑制的に働くことが知られている^{17, 18)}。今回の研究で著者は空腹期や食後期におけるCCK血漿濃度への六君子湯投与の影響を明らかにすることを試みた。さらに血清ガストリン濃度に対する効果についても検討した。ガストリンの分泌は食物摂取によって誘発される。その生理学的作用として酸分泌を増加させ²³⁾胃液による消化を促進することが知られている。さらに、ガストリンは胃運動を活発にして^{24, 25)}、胃排出能を高めることも知られている。したがって、ガストリン分泌の変化は酸分泌および胃排出能に影響してFD症状を生じさせる可能性がある。さらにex-vivoの実験では、ガストリンはグレリンの分泌を抑制することも知られている¹⁶⁾。今回の研究では流動食を被験者に与え、これらの食欲関連ペプチドの食事前後の血中濃度を測定した。FD患者でみられるディスぺプシア症状は空腹期だけでなく食後にも強く認められるため、グレリンとCCKの食前食後の血漿濃度の測定は六君子湯効果のメカニズムを明らかにする為には必要と思われる。ヒトにおいてグレリン濃度は食前に上昇し、食後60-120分の間に低下する^{26, 27)}。CCKは食事開始10-30分後に上昇しゆっくりと低下し3-5時間で基礎濃度に戻る²⁸⁾。

今回これらのペプチドホルモン血中濃度測定のため、空腹期、食後1時間、2時間で採血を行った。まず六君子湯服薬以前の検査では、アシルグレリン、デスアシルグレリン、総グレリン濃度が食後1時間に低下する。さらに食後2時間には食後1時間と比較し上昇した。次に六君子湯投与を1週間行い、グレリン濃度への影響を検討すると、血漿アシルグレリン濃度は六君子湯投与前の値に比べて、空腹期と食後2時間に有意に上昇した。最近の臨床研究が示すように繰り返すグレリン投与にてFD患者において食欲増進効果が認められている²⁹⁾。今回の検討で明らかとなった血漿グレリン濃度を上昇させる六君子湯の効果は、六君子湯の治療による食欲増進に関与しているものと思われる。しかし、六君子湯投与前後でのデスアシルグレリン、総アシルグレリン濃度には変化を認めなかった。アシルグレリンは食欲や食事摂取量を増加させるグレリンの活性型であり、この結果は、

少なくとも部分的に空腹期と食後2時間の血漿アシルグレリン濃度を上昇させることによって、六君子湯が食欲を亢進させていることを示唆している。また、食後2時間の血漿アシルグレリン濃度の上昇は、六君子湯が次の食事への開始を血漿アシルグレリン濃度の上昇にて促進させている可能性を示唆している。今回の研究では、六君子湯はデスアシルグレリン濃度には影響がなかった。総グレリン濃度の90%がデスアシルグレリンなので³⁰⁾、アシルグレリン濃度のみの増加では総グレリン値としては微増を示したのみであり、有意な差を認めなかった。この結果は、六君子湯服用はグレリン産生の増加に関与しているのではなく、六君子湯服用によってグレリン産生細胞から血中へアシルグレリン放出が促進されたため、血中アシルグレリン濃度が上昇している可能性がある。あるいはグレリンのデスアシル化を抑制している可能性も推測されるが、今後の検討課題と思われる。Matsumuraらによると、六君子湯は健常成人やマウスで空腹期において血漿アシルグレリン濃度を上昇させる¹⁵⁾。その報告では、六君子湯はマウスの胃においてプレプログレリンmRNA発現を増加させ、その結果、グレリンの産生増加することが示唆されている¹⁵⁾。しかし、ヒトにおける胃でのグレリンのmRNAの発現増強は認められていない¹⁵⁾。今回の研究でも六君子湯は血漿デスアシルグレリン、および総グレリン濃度を上昇させなかった。すなわち、六君子湯はヒトにおいてグレリンの産生を増加させないことを示唆している。しかし、グレリン産生に対するマウスとヒトとの間での六君子湯の効果の違いには種の違いも関与している可能性がある。

これまでグレリンの放出および産生の詳細なメカニズムについては明らかではなく、六君子湯の効果発現の詳細なメカニズムも明らかになっていない。今後これらのメカニズムの解明にはさらなる研究が必要である。

今回の研究ではガストリン濃度も測定した。なぜならばex-vivoの動物実験では、ガストリンはグレリン分泌を減少させることが報告されており¹⁵⁾、もし六君子湯投与によってガストリン血中濃度が低下すれば、これによりグレリン濃度が増加した可能性がある。しかし、今回の研究ではガストリン濃度への六君子湯服用の影響は認められず、血漿アシルグレリン濃度上昇がガストリン濃度の変化によるものではないことが示されている。

一方、CCKは重要な消化調節の役割を果たしている重要な脳腸ペプチドである³¹⁾。CCKはヒトや動物において胆嚢を収縮させ膵液分泌を増加させて蛋白質や脂肪の消化を促進するが、一方、食事摂取量や満腹感を調節していることが知られている^{17, 32)}。CCKはカプサイシン感受性神経を介して胃運動や胃排出能

を抑制する³³⁾。ヒトにおいてもCCKは胃運動を調節している¹⁸⁾。さらにCCKのチャレンジテストでは、対象群に比較してFD患者においてCCKの投与でディスペプシア反応を生じ、腹痛や腹部膨満、満腹感、げっぷ、嘔気、嘔吐などの症状が増悪することが報告されている¹⁹⁾。すなわち、FD患者ではCCKへの感受性亢進があることが示唆されている。今回、空腹期の血漿CCK濃度は六君子湯1週間服用後に有意に低下した。しかし、食後の血漿CCK濃度については有意な変化を認めていない。今回の検討では試験食として300キロカロリーの流動食を用いたために食前に比べて食後の血漿CCK濃度の明らかな変化を認めていない。著者らは追加実験を行い、本流動食負荷において10分から30分の間でCCK濃度は上昇を認め、さらに六君子湯服用で低下することも確認している。今後、食後のCCK上昇への六君子湯服用の影響を見るためにはより脂肪成分の多い固形食にて検討する必要があると思われる。今回の研究で示した六君子湯服用による空腹時の血漿CCK濃度の低下は、CCKによる胃運動抑制や中枢性食欲低下を軽減し、嘔気や満腹感や食欲低下などの症状を改善させる六君子湯の作用と関連している可能性がある。

結 論

今回の研究において、六君子湯投与により空腹期や食後2時間後の血漿アシルグレリン濃度は上昇し食前の血漿CCK濃度は低下することが示された。これは少なくとも部分的には六君子湯が胃運動や食欲に関連するグレリンおよびCCKの分泌へ影響し、胃運動や食欲を改善させ食事摂取量を増加させていることを示唆している。これらの結果は六君子湯の上腹部症状および食欲改善作用の機序の一部を明らかにしたものである。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究の御指導を賜りました屋嘉比康治教授、ホルモン測定に御協力頂いた落合光子研究助手、多大な協力をいただいた埼玉医科大学総合医療センター消化器・肝臓内科医局員の皆様、ボランティアの皆様は心より感謝いたします。

引用文献

- 1) Tatsuta M, Iishi H. Effect of treatment with liu-jun-zi-tang(TJ-43) on gastric emptying and gastrointestinal symptoms in dyspeptic patients. *Aliment Pharmacol Ther* 1993;7:459-62.
- 2) Kido T, Nakai Y, Kase Y, Sakakibara I, Nomura M, Takeda S, et al. Effects of rikkunshi-to, a traditional Japanese medicine, on the delay of gastric emptying induced by N(G)-nitro-L-arginine. *J Pharmacol Sci* 2005;98:161-7.
- 3) Hayakawa T, Arakawa T, Kase Y, Akiyama S, Ishige A, Takeda S, et al. Liu-Jun-Zi-Tang, a kampo medicine, promotes adaptive relaxation in isolated guinea pig stomachs. *Drugs Exp Clin Res* 1999;25:211-8.
- 4) Takeda H, Sadakane C, Hattori T, Katsurada T, Ohkawara T, Nagai K, et al. Rikkunshito, an Herbal Medicine, Suppresses Cisplatin-Induced Anorexia in Rats Via 5-HT₂ Receptor Antagonism. *Gastroenterology* 2008;134:2004-13.
- 5) Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999;402:656-60.
- 6) Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Ishii S, Sugihara H, Wakabayashi I. Central effect of ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, on hypothalamic peptide gene expression. *Endocrinology* 2000;141:4797-800.
- 7) Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, et al. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001;409:194-8.
- 8) Asakawa A, Inui A, Kaga T, Yuzuriha H, Nagata T, Ueno N, et al. Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology* 2001;120:337-45.
- 9) Shintani M, Ogawa Y, Ebihara K, Aizawa-Abe M, Miyanaga F, Takaya K, et al. Ghrelin an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway. *Diabetes* 2001;50:227-32.
- 10) Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, Brynes AE, Frost GS, Murphy KG, et al. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5992-5.
- 11) Date Y, Nakazato M, Murakami N, Kojima M, Kangawa K, Matsukura S. Ghrelin acts in the central nervous system to stimulate gastric acid secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;280:904-7.
- 12) Masuda Y, Tanaka T, Inomata N, Ohnuma N, Tanaka S, Itoh Z, et al. Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;276:905-8.
- 13) Yakabi K, Ro S, Onouchi T, Tanaka T, Ohno S, Miura S, et al. Histamine mediates the stimulatory action of ghrelin on acid secretion in rat stomach. *Dig Dis Sci* 2006;51:1313-21.
- 14) Tack J, Depoortere I, Bisschops R, Verbeke K,

- Janssens J, Peeters T. Influence of ghrelin on gastric emptying and meal-related symptoms in idiopathic gastroparesis. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;22:847-53.
- 15) Matsumura T, Arai A, Yonemitsu Y, Maruoka D, Tanaka T, Suzuki T, et al. The traditional Japanese medicine Rikkunshito increases the plasma level of ghrelin in human and mice. *J Gastroenterol* 2010;45:300-7.
- 16) Lippl F, Kircher F, Erdmann J, Allescher HD, Schusdziarra V. Effect of GIP, GLP-1, insulin and gastrin on ghrelin release in the isolated rat stomach. *Regul Pept* 2004;119:93-8.
- 17) Kissileff HR, Pi-Sunyer FX, Thornton J, Smith GP. C-terminal octapeptide of cholecystokinin decreases food intake in man. *Am J Clin Nutr* 1981;34:154-60.
- 18) Liddle RA, Morita ET, Conrad CK, Williams JA. Regulation of gastric emptying in humans by cholecystokinin. *J Clin Invest* 1986;77:992-6.
- 19) Chua AS, Dinan TG, Rovati LC, Keeling PW. Cholecystokinin hyperresponsiveness in dysmotility-type nonulcer dyspepsia. *Ann N Y Acad Sci* 1994;713:298-9.
- 20) Yakabi K, Noguchi M, Ohno S, Ro S, Onouchi T, Ochiai M, et al. Urocortin1 reduces food intake and ghrelin secretion via CRF(2) receptors. *Am J Physiol endocrinol Metab* 2011;301:E72-82.
- 21) Wren AM, Bloom SR. Gut hormones and appetite control. *Gastroenterology* 2007;136:2116-30.
- 22) Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372:425-32.
- 23) Blair AJ III, Richardson CT, Walsh JH, Feldman M. Variable contribution of gastrin to gastric acid secretion after a meal in humans. *Gastroenterology* 1987;92:944-9.
- 24) Mearadji B, Straathof JW, Lamers CB, Masclee AA. Effect of gastrin on proximal gastric motor function in humans. *Neurogastroenterol Motil* 1999;11:449-55.
- 25) Hamilton SG, Sheiner HJ, Quinlan MF. Continuous monitoring of the effect of pentagastrin on gastric emptying of solid food in man. *Gut* 1976;17:273-9.
- 26) Cumming DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001;50:1714-9.
- 27) Tschoop M, Wawarta R, Riepl RI, Friedrich S, Bidlingmaier M, Landgraf R, et al. Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest* 2001;24:RC19-21.
- 28) Liddle RA, Goldfine ID, Rosen MS, Taplitz RA, Williams JA. Cholecystokinin bioactivity in human plasma. Molecular forms, responses to feeding, and relationship to gallbladder contraction. *J Clin Invest* 1985;75:1144-52.
- 29) Akamizu T, Iwakura H, Ariyasu H, Hosoda H, Murayama T, Yokode M, et al. Repeated administration of ghrelin to patients with functional dyspepsia: its effects on food intake and appetite. *Eur J Endocrinol* 2008;158:491-8.
- 30) Yoshimoto A, Mori K, Sugawara A, Mukoyama M, Yahata K, Suganami T, et al. Plasma ghrelin and desacyl ghrelin concentration in renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:2748-52.
- 31) Beglinger C. Effect of cholecystokinin on gastric motility in human. *Ann N Y Acad Sci* 1994;713:219-25.
- 32) Smith GP, Gibbs J. Satiating effect of cholecystokinin. *Ann N Y Acad Sci* 1994;713:236-41.
- 33) Raybould HE, Tache Y. Cholecystokinin inhibits gastric motility and emptying via a capsaicin-sensitive vagal pathway in rats. *Am J Physiol* 1988;255:G242-6.