活性アミンの ACTH 放出に及ぼす影響

その 1, 特に in vitro での下垂体前葉直接作用について

大阪大学医学部第 3 内科

植 村 泰 三^{*}, 花 崎 信 夫
矢 野 三 郎^{**}, 山 村 雄 一

^{*} 現: 日生病院内分泌内科

^{**} 富山医科薬科大学

Effects of Bioactive Monoamines on ACTH Release Part 1. Direct Action on Rat Anterior Pituitaries in Vitro

**Taizo UEMURA, Nobuo HANASAKI, Saburo YANO
and Yuichi YAMAMURA**

Third Department of Internal Medicine, Osaka University, Medical School, Osaka City.

A number of in vitro systems have been devised for the assay of the corticotropin releasing factor (CRF). However, none of these methods is sufficiently reliable. Based on our previous studies³¹⁾ which indicated that it is essential to consider the enzymatic degradation and acid activation of ACTH in the pituitary incubation medium, we have developed a revised in vitro procedure for the assay of CRF activity originally related to the method of Saffran & Schally²⁴⁾. A pair of half of each rat anterior pituitary was preincubated in 2 ml of the Krebs-Ringer bicarbonate buffer with 0.2% glucose (KRBG) at 37°C for 1 hour. One half was then transferred to a control vessel with fresh KRBG containing 0.5% BSA (KRBGA) and the other half to an experimental vessel with KRBGA and test material. In addition, a proteolytic inhibitor, trasylol (667 KIU/ml), was added to the second incubation medium. Both pituitary halves were reincubated in 1 ml of the medium for 1 hour. At the end of the incubation period, the medium separated from the pituitary was acidified with HCl approximately to pH2 and heated for 5 min. at 100°C. ACTH activities were determined by the isolated adrenal cell method of Sayers et al.²⁵⁾

Using this assay system, we studied the direct effects of biogenic monoamines on the release of ACTH at anterior pituitary levels in vitro and the following results were obtained.

- 1) Noradrenaline (NA) (4×10^{-4} M), serotonin (5HT) (3.3×10^{-5} M) and dopamine (DA) (2×10^{-4} M) produced a mean increase of 234%, 249% and 160% of ACTH release as compared with each paired control, respectively. 5TH was significantly effective at all

concentrations tested from 10^{-5} to 3.3×10^{-4} M.

- 2) When reserpine pretreated rat pituitaries were used (17 hrs before decapitation, 1 mg/rat, intraperitoneally), 3.3×10^{-5} M of 5HT and 2×10^{-4} M of DA were ineffective in inducing ACTH release, although both of them increased ACTH release from non-pretreated rat pituitaries as mentioned above. On the other hand, NA induced about 200% mean increase of ACTH release from reserpinized rat pituitaries even at a concentration of 4×10^{-5} M, at which NA had no effect on inducing ACTH release from non-pretreated rat pituitaries.
- 3) The response of ACTH release to NA (4×10^{-4} M) was inhibited by the β -receptor blocker propranolol (100 μ g/ml) but not by the α -receptor blocker phentolamine (100 μ g/ml). The action of 5HT in inducing ACTH release was not altered by either of these adrenergic blockers but was inhibited significantly by the specific serotonergic blocker methysergide (50 μ g/ml).
- 4) These stimulatory effects of NA and 5HT on ACTH release were not altered by the addition of 4×10^{-4} M of dexamethasone (DX) from the preincubation period.
- 5) Phentolamine, propranolol, methysergide or DX did not affect ACTH release each alone.

From the above results, it is suggested that some of these monoamines may act to stimulate ACTH release directly at the pituitary level. A second report, concerned with the effect of these amines on adenosine 3', 5'-monophosphate formation in rat pituitary in vitro, will be presented to aid in the confirmation of these results.

緒 言

下垂体前葉からの ACTH 分泌調節機構に、脳内アミン特に noradrenaline (NA)³³⁾ や serotonin (5HT)⁹⁾ が関与していることが近年明らかになりつつある。しかし、なお動物種差や実験条件の相違により一定の結論が得られていない。⁵⁾ また、その関与する作用部位、作用機序については多くの in vivo の実験より、視床下部の corticotropin releasing factor (CRF) 分泌部位より上位で、neurotransmitter として作用するものと推論されている^{10), 18)} が、in vivo の実験条件では末梢神経系を介するストレスとして作用するものか、または直接下垂体レベルで作用する可能性も完全には否定し得ない。^{19), 34)}

著者らは dexamethasone (DX), nembutal 前処置ラットで L-Dopa, dopamine (DA), 5 hydroxytryptophane (5HTP) の腹腔内投与により、血漿 corticosterone が上昇することを確めているが、³⁰⁾ 更に in vitro での下垂体 incubation medium 中へ放出された ACTH の生物活性の変動を詳細に検討した結果³¹⁾ にもとづいて、以下の如く Saffran & Schally ら²⁴⁾ の in vitro CRF 活性測定法を改変して、適確に ACTH 放出活性を測定しうる系を考案し、²⁹⁾ 脳内アミン類の下垂体直接 ACTH 放出活性を認める成績を得たので報告する。

実験方法

体重 150 ~ 250 gr, Sprague-Dawley 系雄ラットの下垂体前葉を断頭屠殺後すみやかに取り出して左右両葉を分離し、各片葉当り 1 ml の 0.2 % glucose を含む Krebs-Ringer bicarbonate buffer (KRBG) で 1 時間、37°C, 95% O₂, 5 % CO₂ 気相の下で preincubate した。次いで medium を入れかえて同様条件下で更に

1時間 incubate し, 同一下垂体の両葉間で一方に test material を添加して paired test を行った. この test incubation には 0.5% bovine serum albumin(BSA) を含んだ medium(KRBGA) を使い, 更に著者らの検討^{29), 31)} にもとづいて次の如く行った. ACTH の medium 中での失活を防ぐ目的で protease inhibitor: trasyolol(667 KIU/ml) を加え, アミン類の酸化を防止するためにアスコルビン酸 (1 mg/ml) も添加した. incubation 終了後, 対照群の medium に被検群に用いた試薬を同量加え, ACTH 測定時に於けるこれら試薬の干渉を除外した. 次いで 2 N 塩酸で medium を pH 2.0 前後に酸性化した後, 100°C で 5 分間加熱して, その後の失活を防いで ACTH の測定に供した. ACTH の測定は Sayers ら²⁵⁾ の trypsin digestion による副腎遊離細胞を用いる bioassay 法によって行った.

一部では, 屠殺17時間前に 1 mg/rat の reserpine を腹腔内に投与したラットの下垂体を用いて, 同様にアミンの効果を検討した.

アミン類の ACTH 放出効果に対する receptor blocker 併用効果の検討は, test incubation 時に対照群, 被検群共に有効濃度のアミンを加え, 更に被検群には receptor blocker を併用して行った.

DX のアミン類の ACTH 放出効果に及ぼす影響は, DX を被検群の preincubation 及び test incubation 時共に加え, アミン類は test incubation 時のみの対照, 被検両群に加えて検討した.

推計学的検討は paired test によった.

使用した主な試薬を以下に示す.

trypsin(TRL), lima bean trypsin inhibitor(LBI): Worthington Biochem. Corp., noradrenaline(N A): Fluka AG, Buchs SG., dopamine(D A): 半井化学, serotonin(5HT): Sigma Chem. Co., propranolol: 住友化学, phentolamine, reserpine: CIBA, methysergide: Sandoz A.G., 標準 ACTH: 3rd International Working Standard: National Institute for Medical Research(London).

ガラス器具はシリコン処理をしたものを用いた.

Fig. 1. In vitro effect of noradrenaline on ACTH release from rat anterior pituitary

* compared to each paired control

Fig. 2. In vitro effect of serotonin on ACTH release from rat anterior pituitary

Fig. 3. In vitro effect of dopamine on ACTH release from rat anterior pituitary

* compared to each paired control

結 果

1) 活性アミン類単独の影響

a) 無処置ラットの下垂体を用いた場合の効果

それぞれのpairとした対照群のACTH放出量に対する百分率で示すとNA添加群ではFig. 1の如く 4×10^{-4} M濃度で234%と著明なACTH放出活性を認めた, 5HT添加群では 10^{-5} Mで166%, 3.3×10^{-5} Mで249%, 3.3×10^{-4} Mで197%といずれも有意なACTH放出増加を示した.(Fig. 2) DA添加群では 2×10^{-4} Mで160%と有意に増加している.(Fig. 3)

Fig. 4. Comparison of effects of biogenic amines on ACTH release in vitro between pituitaries from intact and reserpinized rats

Each column represents the mean $\pm$ SEM.

* Number of observations

** Compared to each paired control

+ Using pituitaries from intact rats

++ Using pituitaries from rats with intraperitoneal injection of reserpine (1 mg/rat) 17 hrs before decapitation

b) reserpine 前処置ラットの下垂体を用いた場合の効果

1 mg/rat の reserpine を断頭17時間前に腹腔内投与したラットの下垂体を用いて, これらのアミン類の作用を reserpine を投与しなかった動物の下垂体を用いたものと比較した. Fig. 4 に示す如く NA では, reserpine 前処置群でより低濃度で ACTH 放出が増加するのに反し, 5HT 及び DA ではいずれも ACTH 放出作用が認められなくなっている. このことは少なくとも in vitro で ACTH 放出を促す作用が, アミン類全般に共通した, 全くの非特異的な作用ではないことを示していると考ええる.

Fig. 5. Effects of adrenergic and serotonergic receptor blockers on in vitro ACTH release in response to biogenic amines

Each bar represents the mean $\pm$ SEM.

* Number of observations

** Compared to each paired control with the addition of respective biogenic amine alone

2) 有効濃度のアミン類と α, β adrenergic receptor blocker 及び methysergide 併用の影響 (Fig. 5)

前述した各々のアミンの有効濃度を対照群にも test incubation 時に添加し、試験群には同濃度のアミンに、 α blocker として phentolamine, β blocker として propranolol, 5HT の場合にはさらに 5HT receptor blocker の methysergide を、図に示す濃度で併用して、アミン類の ACTH 放出効果に及ぼす影響を検討した。

NA $4 \times 10^{-4} M$ の ACTH 放出促進作用は α blocker では抑制されず、 β blocker の併用により有意に抑制された。5HT $3.3 \times 10^{-4} M$ の効果は α, β blocker では影響をうけず、methysergide により特異的に抑制された。DA $2 \times 10^{-4} M$ の作用に対しては β blocker は特に変化を及ぼさなかった。これらの結果は、アミン類の in vitro での下垂体直接作用が特異的な receptor を介してなされることを充分うかがわせる成績である。

3) アミン類の ACTH 放出作用に及ぼす dexamethasone (DX) の影響 (Fig. 6)

ACTH 分泌に対する glucocorticoid の negative feedback site が、下垂体前葉にあるとする説が最近多く提唱されている^{10, 23)}ので、NA と 5HT の ACTH 放出作用に及ぼす DX の下垂体直接作用の有無を、この in vitro の系を用いて検討した。

この際は DX を試験群の preincubation 時と test incubation 時共に加え、アミンは test incubation 時のみに対照群、試験群両方に添加した。図の如く DX $4 \times 10^{-4} M$ では NA, 5HT いずれの作用にも有意の抑制効果は認めなかった。

活性アミンのACTH放出に及ぼす影響 その1,
特にin vitro での下垂体前葉直接作用について (植村, 他3名)

Fig. 6. Effect of dexamethasone on in vitro ACTH release induced by noradrenaline and serotonin

Dexamethasone was added to both preincubation and test incubation media of experimental group and each amine only to test incubation media of control and experimental groups.

Each bar represents the mean $\pm$ SEM.

* Number of observations

** Compared to paired control with the addition of each amine alone.

4) 併用剤各々単独の作用

アミン類と併用した薬剤単独での in vitro ACTH 放出に対する影響を, それぞれの用いた濃度で検討したが, いずれの場合にも影響がなかった. (Fig. 7) 従って, これらの薬剤の併用効果が認められた成績は, 同時に用いたアミン類の作用に対してそれを抑制するように働いているものと考えられる.

Fig. 7. Effects of biogenic amine antagonists and dexamethasone on in vitro ACTH release from rat anterior pituitary

Each bar represents the mean $\pm$ SEM.

* Number of observations

** Compared to each paired control

考 察

ACTH の分泌調節機構に、脳内アミン、殊に NA、DA、5HT の関与することについて、近年益々多くの成績が集積されつつある。^{8), 9), 28), 33)}しかし、動物種差による成績の相違は当然のこととも考えられるが、同一種内の成績についても、いまだ研究者間で一定の結論に達していない。これらは実験手法の相違に基づく点が大であるが、アミン類の活性度を測る指標とされるものの相違や、特異性の欠除、特に一つのアミンの代謝過程に及ぼす変化が、他のアミン類の代謝にも影響すること、例えば DA の precursor L-Dopa の投与により中枢神経系の 5HT の量が増大されたり、¹⁾逆に 5HT の precursor, 5hydroxytryptophane (5HTP) の投与が、NA や ²¹⁾DA の ²⁰⁾放出を刺激することの考慮が不十分で、成績の解釈や推論に混乱をきたしている面が多いと考えられる。更に、これらのアミン類の ACTH 放出に対する作用部位及び作用機序に関しても、いまだ議論のあるところであるが、大多数の研究者が neurotransmitter として、CRF 分泌細胞より中枢側の神経支配の mediator として、作用するものと考えていることは周知のところである。著者らも前述の CRF 活性を従来より reliably に測定しうる in vitro の系を用いて、ラット視床下部片と下垂体前葉を同時に incubation した medium 中に放出される ACTH 活性に及ぼすアミン類の影響を検討し、視床下部からの CRF 様物質の分泌に対する作用を測定しようと試みたが、対照として用いた下垂体前葉単独の incubation medium に於いて、成績に示した如き ACTH の放出を増加させる作用を認めた。ところで、Saffran & Schally らの前述せる原法による報告²⁴⁾以来、in vitro でこれらのアミンが下垂体レベルでは ACTH の放出に影響しないとされている。³²⁾この相違は従来の in vitro CRF 活性測定法の不確実なことを証明するものと考えられ、著者らの考案した assay 系により異った成績が得られたもので、この assay 系の有意義なことを示すものと考ええる。事実、著者らの報告³⁰⁾以後に ACTH の immunoassay を用いる同様な in vitro の CRF 活性測定法によって、5HT 及び 5HTP¹³⁾や NA、5HTP¹²⁾に ACTH 放出活性を認めた報告がなされている。

しかし、本研究での有効なアミンの濃度は $10^{-5} \sim 10^{-4}$ M の order で相当な高濃度であり、NA、DA 及び 5HT の間に特に作用の相違が認められないので、これらの知見の生理的意義は勿論、全く非特異的な作用でないのかどうかを慎重に検討する必要がある。そこで前述の如き各アミン相互間の作用を除く目的で脳内及び下垂体内アミン量を著明に減少させるように、^{3), 4), 17)}レセルピンを前処置したラットの下垂体を用いて、各アミンの影響を調べ Fig. 4 の如き結果を得た。即ち全アミン含量の減少した下垂体では NA の作用が著明に出現し、5HT、DA の作用は抑制された。このことから、少くとも in vitro でのこれらすべてのアミンの ACTH 放出作用が、全く非特異的なものではないということが考えられる。またこれらアミン相互間の含量比が、作用発現に関係している可能性も推論しうる。このようにアミン類が下垂体に直接作用することに関しては、Pearse らの提唱する APUD cell series²²⁾の概念からも、ACTH のような polypeptide hormone を分泌する細胞に於ける、アミン類の何らかの生理的役割が考察されるところである。一方他の下垂体前葉ホルモンの分泌にアミンが直接影響を及ぼすこと、特に prolactin は下垂体からの分泌が DA や NA によって直接抑制されるという多くの報告がみられ、^{6), 7), 16)}これらの catecholamine が視床下部に存在する PIF (prolactin inhibiting factor) そのものであるという主張もなされている。²⁷⁾また DA は下垂体レベルで TRH (thyrotropin releasing hormone) に対する TSH (thyrotropin) と PRL (prolactin) の分泌反応を抑制すると思われる成績も報告されている。²⁾以上の成績や考察から、ACTH 分泌細胞に於いても、直接アミン類が作用する可能性は現時点で充分考慮に入れておくべきものと考ええる。また DX が CRF の in vitro での ACTH 放出作用に対して、下垂体に直接作用して抑制するという報告があるが、^{15), 26)}アミン類の ACTH 放出作用には抑制効果が認められなかった。このことはアミン類と CRF とは下垂体に於ける作用機序が異なることを示すものと考えられる。

更にこれらアミンの作用機序について, 特異的なreceptorが関与しているかどうかを, 各receptor blockerを用いて, アミンとの併用効果について検討した. Fig. 5の成績は, NAの作用は β -blockerで抑制され, β -receptorを介するものであり, 5HTはそれ独自の特異的なreceptor blockerによってのみ抑制され, serotonergic receptorを介して作用していることを示している. DAについては作用も最も弱く β blockerでは抑制されず, 下垂体のcyclic 3',5' adenosine monophosphate(cyclic AMP)含量に対しても無影響であり¹¹⁾非特異的な影響とも考えられる.

これらreceptorを介する作用機序を更に確証する為には, 細胞内messengerであるcyclic AMP含量に対する効果を伴うかどうかを, 実証することが肝要と考えられる. 現在, それについて研究を進め, 肯定的成績を得ている¹¹⁾ので続報にて報告する予定である.

要 約

副腎遊離細胞によるACTHのbioassayを用いた著者らの検討改変による, in vitroのACTH放出活性測定法を考案して, 活性アミンの下垂体レベル直接作用にもとづくACTH放出活性を検討し, 次の成績を得た.

- 1) NA(4×10^{-4} M), 5HT(3.3×10^{-5} M), DA(2×10^{-4} M)で各々対照の234%, 249%, 160%とACTH放出活性を認めた.
- 2) これらの作用はレセルピン前処置ラット下垂体を用いると, NAでは 4×10^{-5} Mでも約200%とACTH放出が高まるのに反し, 5HT, DAでは上記濃度でも活性が認められなくなった.
- 3) NAの作用は β blocker, propranololにて, 5HTの作用はmethysergideの併用によって抑制され, それぞれ β receptor及びserotonergic receptorを介する特異的なものと考えられる.
- 4) NA, 5HTのACTH放出作用に対する, DXの下垂体レベルでのnegative feedback効果はin vitroで証明されなかった.
- 5) phentolamine, propranolol, methysergide及びDXは, それぞれ単独では, ACTH放出に影響を与えなかった.

本論文の要旨は第21回日本内分泌学会西部部会及び第47回日本内分泌学会総会に於いて発表した.

文 献

- 1) Bartholini, G., Daprada, M. and Pletscher, A.: Decrease of cerebral 5-hydroxytryptamine by 3,4-dihydroxyphenylalanine after inhibition of extracerebral decarboxylase. *J. Pharm. Pharmacol.*, 20: 228-229, 1968.
- 2) Besses, G.S., Burrow, G.N., Spaulding, S.W. and Donabedian, R.K.: Dopamine infusion acutely inhibits the TSH and prolactin response to TRH. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 41: 985-987, 1975.
- 3) Björklund, A. and Falck, B.: Pituitary monoamines of the cat with special reference to the presence of an unidentified monoamine-like substance in the adenohypophysis. *Z. Zellforsch.*, 93: 254-264, 1969.
- 4) Carr, L.A. and Moore, K.E.: Effects of reserpine and α -methyltyrosine on brain catecholamines and the pituitary-adrenal responses to stress. *Neuroendocrinology*, 3: 285-302, 1968.
- 5) Chambers, J.W. and Brown, G.M.: Neurotransmitter regulation of growth hormone and ACTH in the rhesus monkey: effects of biogenic amines. *Endocrinology*, 98: 420-428, 1976.
- 6) Donoso, A.O., Bishop, W. and McCann, S.M.: The effects of drugs which modify catechol-

- amine synthesis on serum prolactin in rats with median eminence lesions. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 143: 360–363, 1973.
- 7) Donoso, A.O., Banzán, A.M. and Bargagliioni, J.C.: Further evidence on the direct action of L-dopa on prolactin release. *Neuroendocrinology*, 15: 236–239, 1974.
- 8) Eisenberg, R.M.: Further evidence of a central alpha-adrenergic inhibiting influence on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the rat. *Neuroendocrinology*, 17: 154–166, 1975.
- 9) Frohman, L.A. and Stachura, M.E.: Neuropharmacologic control of neuroendocrine function in man. *Metabolism*, 24: 211–234, 1975.
- 10) Halász, B., Vernikos-Danellis, J., and Gorski, R.A.: Pituitary ACTH content in rats after partial or total interruption of neural afferents to the medial basal hypothalamus. *Endocrinology*, 81: 921–924, 1967.
- 11) 花崎信夫, 植村泰三, 矢野三郎, 山村雄一: 活性アミンのラット下垂体 cAMP 含量と ACTH 分泌に対する影響について. 日内分泌誌, 51: 296, 1975.
- 12) 橋本浩三, 高原二郎, 細木秀美, 大藤信子, 安原東陽子, 森 正彦, 大藤 真: ACTH radioimmunoassay を用いた ACTH 放出活性の in vitro 測定法 —各種薬剤の ACTH 放出活性—, 日内分泌誌, 52: 114–124, 1976.
- 13) 平田結喜緒, 山本弘之助, 松倉 茂, 井村裕夫: 種々の薬物(特に活性アミン)のラット ACTH 分泌に及ぼす影響について. 日内分泌誌, 50: 465, 1974.
- 14) Koch, B., Lutz, B., Briaud, B. and Mialhe, C.: Glucocorticoid binding to adenohipophysis receptors and its physiological role. *Neuroendocrinology*, 18: 299–310, 1975.
- 15) Kraicer, J. and Milligan, J.V.: Suppression on ACTH release from adenohipophysis by corticosterone: An in vitro study. *Endocrinology*, 87: 371–376, 1970.
- 16) MacLeod, R.M. and Lehmyer, J.E.: Reversal of the inhibitory effect of dopamine on prolactin release by perphenazine and haloperidol. *Fed. Proc.*, 32: 307 Abs., 1973.
- 17) Maickel, R.P., Westermann, E.O. and Brodie, B.B.: Effects of reserpine and cold exposure on pituitary-adrenocortical function in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 134: 167–175, 1961.
- 18) Marks, B.H., Hall, M.M., and Bhattacharya, A.N.: Psychopharmacological effects and pituitary-adrenal activity. *Progr. Brain Res.*, 32: 57–70, 1970.
- 19) Naumenko, E.V.: Hypothalamic chemo-reactive structures and the regulation of pituitary adrenal function. Effects of local injections of norepinephrine, carbachol, and serotonin into the brain of guinea pigs with intact brains and after mesencephalic transection. *Brain Res.*, 11: 1–10, 1968.
- 20) Ng, L.K.Y., Chase, T.N., Colburn, R.W. and Kopin, I.J.: Release of [3 H] dopamine by L-5-hydroxytryptophan. *Brain Res.*, 45: 499–505, 1972.
- 21) Okada, F., Saito, Y., Fujieda, T. and Yamashita, I.: Monoamine changes in the brain of rats injected with L-5-hydroxytryptophan. *Nature (Lond.)*, 238: 355–356, 1972.
- 22) Pearse, A.G.E.: The cytochemistry and ultrastructure of polypeptide hormone-producing cells of the APUD series and the embryologic, physiologic and pathologic implications of the concept. *J. Histochem. Cytochem.*, 17: 303–313, 1969.
- 23) Rotsztein, W.H., Normand, M., Lalonde, J. and Fortier, C.: Relationship between ACTH release and corticosterone binding by the receptor sites of the adenohipophysis and dorsal hippocampus following infusion of corticosterone at a constant rate in the adrenalectomized rat. *Endocrinology*, 97: 223–230, 1975.
- 24) Saffran, M. and Schally, A.V.: The release of corticotrophin by

anterior pituitary tissue in vitro. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, 33: 408–415, 1955.

25) Sayers, G., Swallow, R.L. and Giordano, N.D.: An improved technique for the preparation of isolated rat adrenal cells: A sensitive, accurate and specific method for the assay of ACTH. *Endocrinology*, 88: 1063–1068, 1971.

26) Sayers, G. and Portanova, R.: Secretion of ACTH by isolated anterior pituitary cells: Kinetics of stimulation by corticotropin-releasing factor and of inhibition by corticosterone. *Endocrinology*, 94: 1723–1730, 1974.

27) Shaar, C.J. and Clemens, J.A.: The role of catecholamines in the release of anterior pituitary prolactin in vitro. *Endocrinology*, 95: 1202–1212, 1974.

28) Simon, M.L. and George, R.: Diurnal variations in plasma corticosterone and growth hormone as correlated with regional variations in norepinephrine, dopamine and serotonin content of rat brain. *Neuroendocrinology*, 17: 125–138, 1975.

29) 植村泰三, 花崎信夫, 矢野三郎, 山村雄一: in vitro の ACTH 放出活性測定法の検討. *日内分泌誌*, 50: 466, 1974.

30) 植村泰三, 花崎信夫, 矢野三郎, 山村雄一: 脳内アミンの ACTH 分泌に対する影響. *日内分泌誌*, 50: 720, 1974.

31) Uemura, T., Hanasaki, N., Yano, S. and Yamamura, Y.: The fate of ACTH released from rat anterior pituitary into the incubation medium in vitro: Enzymatic degradation and acid activation. *Endocrinologia Jap.*, 23: 233–236, 1976.

32) Van Loon, G.R. and Kragt, C.L: Effect of dopamine on the biological activity and in vitro release of ACTH and FSH. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 133: 1137–1141, 1970.

33) Van Loon, G.R.: Brain catecholamines and ACTH secretion, 209–247, Ed. by W.F. Ganong and L. Martini, *Frontiers in neuroendocrinology*, Oxford University Press, New York, 1973.

34) Vernikos-Danellis, J.: The pharmacological approach to the study of the mechanisms regulating ACTH secretion. 175–189. Ed. by N. Back, L. Martini and R. Paoletti, *Pharmacology of hormonal polypeptides and proteins*, Plenum Press, New York, 1968.