ヒト泌尿生殖器系における神経ペプチド含量の検討

獨協医科大学内分泌内科

(指導: 下田新一教授)

大 武 龍 介

Four Putative Neuropeptides Concentrations in the Human Urogenital Tract. Comparison of the Neuropeptides Concentration between Malignant and Benign Tissues.

Ryusuke OHTAKE

Department of Endocrinology Internal Medicine,

Dokkyo University School of Medicine,

Mibu, Tochigi

(Director Professor Shin-ichi Shimoda)

In order to evaluate a possible role of several peptides in the human urogenital tract, peptide concentrations in urogenital tissues collected from surgery were measured using specific radioimmunoassay. The specimens were extracted in boiling 0.5M acetic acid, and these extracts were utilized to measure neuropeptide concentrations, i.e., neuropeptide Y(NPY), calcitonin gene-related peptide(CGRP), vasoactive intestinal polypeptide(VIP) and peptide 7B2.

The highest concentrations of NPY were found in seminal vesicle (145 ± 42 pmol/g) and vas deference (104 ± 26 pmol/g). There was no significant difference in NPY concentration between malignant and non-malignant tissues (prostate and urinary bladder). High concentrations of VIP were also observed in several urogenital tissues (seminal vesicle, vas deference and urethra). VIP concentrations in prostatic cancer and carcinoma of urinary bladder seemed to be reduced, though no significant difference could be found in each corresponding tissue. Pituitary peptide 7B2 was found to be present in the human urogenital tract in relatively low concentrations. A significant difference was observed in CGRP concentration between carcinoma of urinary bladder and adjacent normal vesicular tissues ($p < 0.05$).

These four peptide immunoreactivities were further characterized by gel permeation or high performance liquid chromatography. Each main immunoreactivity in urogenital extracts seemed to correspond to each synthetic standard or pituitary extracts (in case of 7B2). These results demonstrated that pituitary peptide 7B2 was shown to be present in the human urogenital tract and that the distribution patterns of these peptides might correlate to their pathophysiological role in the urogenital tract. Furthermore, the absence of CGRP immunoreactivity in carcinoma of urinary bladder may be useful for additional diagnostic information.

緒 言

ヒト泌尿生殖器系では豊富な peptidergic innervation が認められ、種々神経ペプチドの組織内含量の検討及び組織化学的手法を用いての同定が行なわれている¹⁾³⁾⁶⁾⁹⁾¹⁰⁾¹²⁾¹³⁾²⁹⁾³⁶⁾。今回、我々は最近抽出同定された neuropeptide Y (NPY)³³⁾³⁴⁾と脳下垂体蛋白 7 B 2¹⁶⁾²⁸⁾、遺伝子検索により見いだされた calcitonin gene-related peptide (CGRP)¹⁰⁾、更に既に中枢・末梢神経系・消化管及び泌尿生殖器系に存在することが知られている vasoactive intestinal polypeptide (VIP)³⁾⁶⁾¹²⁾について各臓器別ないし疾患別についての組織内含量の差異の有無について検討を行なったので報告する。

対 象 と 方 法

対象には1985年12月より1986年6月までの7ヶ月間にわたり大阪医科大学泌尿器科及びその関連病院で手術切除を行なって得られた組織標本を用いた。対象患者は男性47名、女性4名(年齢1.5~86歳、平均61.4歳)の計51名で、疾患別では前立腺肥大症(BPH)26名、前立腺癌5名、膀胱癌7名、腎癌3名、水腎症2名、睾丸捻転2名、副睾丸炎2名、尿管狭窄症、腎血管性高血圧症、睾丸腫瘍、陰茎癌が各1名であった。前立腺及び膀胱部の組織は open surgery と経尿道的切除術で得られた組織について検討を行なった。

組織内神経ペプチド含量の測定の為、切除標本は直ちに-20℃で冷凍保存し、後日組織1gに対して約10mlの割合で0.5M酢酸にて10分間煮沸抽出を行なった。抽出液の NPY, CGRP, 7 B 2, VIP 濃度について各々特異抗体と対応する¹²⁵I 標識ペプチド及び standard を用い、radioimmunoassay (RIA) で測定した。NPY 測定は抗 NPY 家兔抗血清 (Peninsula Co, USA) と¹²⁵I-NPY (Amersham Co, Japan) を用いて RIA を構成した。本 RIA 系での ID₅₀は136fmol/tube であった。CGRP の測定も同様に抗 CGRP 家兔抗血清 (Peninsula Co, USA) と¹²⁵I-CGRP (Amersham Co, Japan) を用い、ID₅₀は12.5fmol/tube であった。下垂体蛋白 7 B 2 の測定には N 端23-39の fragment (7 B 2₂₃₋₃₉) を抗原として得た抗血清、¹²⁵I-7 B 2₂₃₋₃₉とこの fragment を standard として用いて RIA 系を構成した³¹⁾³²⁾。ID₅₀は12fmol/tube であった。VIP の測定は抗 VIP 抗血清 (Otsuka Assay Lab. Japan) と¹²⁵I-VIP (Otsuka Assay Lab. Japan) を用い、ID₅₀は15fmol/tube であった。これら4種の assay とともに0.1%triton X 100 (Sigma, USA) 及び0.3%bovine serum albumin (BSA, FractionV, Sigma), 10mM ethylene diamine tetraacetate (EDTA: Wako Pure Chem, Japan) 加60mM phosphate buffer, pH7.4を用い、4℃5日間 incubation 後、dextran coated charcoal (DCC) 法にて B・F 分離を行なった。測定した NPY, VIP, 7 B 2 免疫活性については0.9×60cm SephadexG-50 superfine column ないし1.4×90cm Sephadex G-100 superfine column を用いた gel chromatography で0.3%BSA, 10mM EDTA, 200mM NaCl 加60mM Phosphate Buffer を用い、4℃にて3.2ml/h の流速で分画を行なった。CGRP については組織含量低値ゆえに gel chromatography を用いた同定が困難だった為 μ Bondasphere 5 μ C₁₈-100Å column (3.9×15.0 mm, Waters Japan Co.) を用いた高速液体クロマトグラフィーシステム (HPLC) (Pump LC-6 A, Shimadzu Co Ltd. Kyoto, Japan, Column Oven CTO-6 A) を用いて検討した。移動相には、0.1%trifluoroacetic acid 加10%及び30%acetonitrile/water を用い stepwise gradient にて、1 ml/min の流速で分画を行なった。分画採取した sample は全て蒸発乾固させたのち、assay buffer にて再溶解し assay に供しヒト CGRP 標準品との異同を検討した。組織含量の結果は全て mean±SEM として表記し、統計学的検討には paired ないし unpaired t-test を用いた。

結 果

1) 組織別神経ペプチド含量

NPY の組織含量は図-1 に示した如く、精囊・精管で各々 $145.0 \pm 42.3 \text{ pmol/g}$ 、 $104.4 \pm 26.2 \text{ pmol/g}$ と高値を認め前立腺にも比較的高値を認めた。癌組織と対照とした良性の前立腺肥大症 (BPH) との比較では BPH $47.7 \pm 6.6 \text{ pmol/g}$ に対し、前立腺癌では $58.7 \pm 28.2 \text{ pmol/g}$ と有意の差は認めなかった。健常膀胱部 $33.3 \pm 7.4 \text{ pmol/g}$ に対して膀胱癌 $19.4 \pm 16.0 \text{ pmol/g}$ と NPY 含量の減少傾向を示したが、有意差は認めなかった。精巢・精巢上体には免疫活性を認めず、尿管・尿道では免疫活性は比較的低値に留まった。

VIP の組織別含量についての検討では従来の報告同様、精囊 $71.6 \pm 31.1 \text{ pmol/g}$ 、精管 $44.1 \pm 20.2 \text{ pmol/g}$ 、尿道 $22.7 \pm 18.6 \text{ pmol/g}$ と高値を認めた。前立腺肥大症 (BPH) と前立腺癌組織との比較では BPH $9.6 \pm 2.5 \text{ pmol/g}$ に対し、癌 $3.5 \pm 1.4 \text{ pmol/g}$ と癌組織にて低値傾向を認めたが有意差はなかった。膀胱健常部と膀胱癌部との比較では、健常部 $3.8 \pm 1.7 \text{ pmol/g}$ に対して癌部 $0.3 \pm 0.1 \text{ pmol/g}$ と前立腺組織同様癌組織で低値を示したが、有意差はなかった。尿管では $3.2 \pm 1.4 \text{ pmol/g}$ の含量を認めたが精巢、腎実質ではその活性を認めず、精巢上体に僅かにその活性を認めた (図-2)。

VIP や NPY に比べて低値ではあったが下垂体蛋白 7 B 2 免疫活性を泌尿生殖器系で広範に認め、尿管で $1.1 \pm 0.5 \text{ pmol/g}$ 、精管で $1.1 \pm 0.6 \text{ pmol/g}$ と共に他の泌尿生殖器に比して高値を示し、尿道、腎実質では各々 $0.1 \pm 0.1 \text{ pmol/g}$ 、 $0.2 \pm 0.2 \text{ pmol/g}$ と低値を示した。前立腺組織では BPH で $0.5 \pm 0.1 \text{ pmol/g}$ に対し、前立腺癌で $0.8 \pm 0.2 \text{ pmol/g}$ と高値傾向を示したが有意差は認めなかつ

Fig. 1. Immunoreactive neuropeptide Y (NPY) concentrations in the human urogenital tract.

Each column or bar shows the mean or SEM, respectively.

Sample numbers studied are indicated in the column.

Abbreviations are as follows;

BPH ; benign prostatic hypertrophy

P. Ca ; prostatic cancer

た。膀胱癌と健常膀胱部との比較 ($0.7 \pm 0.6 \text{ pmol/g}$ vs $0.3 \pm 0.4 \text{ pmol/g}$) でも癌組織に高値傾向を認めたが有意差は認めなかった。他に、精囊、精巣上体、精巣でも図-3の如く免疫活性を認めた。

CGRP は図-4 に示す如く精囊で $3.7 \pm 1.9 \text{ pmol/g}$ の値を示し、精管、尿管で各々 0.4 ± 0.3 , $0.3 \pm 0.3 \text{ pmol/g}$ と比較的低値で存在した。前立腺では BPH $0.2 \pm 0.1 \text{ pmol/g}$ と低値ながらその存在を確認したが癌組織では全く CGRP 免疫活性を検出出来なかった ($p < 0.05$)。尿道、膀胱粘膜など VIP, NPV 高値を示した他の泌尿生殖器では、CGRP 免疫活性は認められなかった (図-4)。

Fig. 2. Immunoreactive vasoactive intestinal polypeptide (VIP) concentrations in the human urogenital tract.
For explanation of the details, see Fig. 1.

Fig. 3. Immunoreactive 7B2 concentrations in the human urogenital tract.
For explanation of the details, see Fig. 1.

Fig. 4. Immunoreactive calcitonin gene-related peptide (CGRP) concentrations in the human urogenital tract.

For explanation of the details, see Fig. 1.

Fig. 5. Gel permeation profile of neuropeptide Y (NPY) in an extract of human seminal vesicle on a Sephadex G-50 superfine column (0.9 X 60cm). The column was pre calibrated with dextran blue (Dex), horse heart cytochrome C (Cyt) and trace amounts of sodium ^{125}I (*I). All column runs were performed at a flow rate of 3.2ml/hour at 4°C and included all marker substances. Concentrations are expressed as fmol/fraction. The arrow shows the elution position of synthetic NPY.

2) ゲル濾過ないし高速液体クロマトグラフィーによる免疫活性の同定

測定を行なった4種の神経ペプチドについて、夫々特異的免疫活性の測定の有無を検討する為、精囊腺抽出液を用いてゲル濾過法ないし HPLC によって免疫活性の検討を行なった。

NPY の免疫活性について0.9×60cm Sephadex G-50 superfine column を用いて行なったが精囊腺 NPY 免疫活性は標準液とほぼ同一部位に単一 peak として溶出された(図-5)。NPY と同様に Sephadex G-50 superfine column を用いた VIP 免疫活性は標準品とほぼ同一溶出部位に peak を認めた(図-6)。1.4×90cm Sephadex G-100 superfine column を用いたヒト尿管抽出液での

Fig. 6. Gel permeation profile of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in an extract of human seminal vesicle on a Sephadex G-50 superfine column (0.9 × 60cm).

For explanation of the details, see Fig. 5.

Fig. 7. Gel permeation profile of 7B2 in an extract of human ureter on a Sephadex G-100 superfine column (1.4 × 60cm).

For explanation of the details, see Fig. 5.

7 B 2 の免疫活性の検討 (図-7) ではブタ下垂体由来の 7 B 2 とほぼ同一の溶出パターンを示した。CGRP の検討では Gel chromatography による同定が困難だったので、 μ Bondasphere 5 μ C₁₈-100 Å column (3.9×150mm, Waters Co. Japan) を用い逆相 HPLC にて同定を行なった。精囊腺内 CGRP の免疫活性は図-8 に示す如く、大部分 40% Acetonitrile 濃度で standard と同一 fraction に溶出された。少量がより hydrophilic な相に溶出された。

Fig. 8. Reverse phase HPLC analysis of calcitonin gene related peptide (CGRP)-like immunoreactivity in a extract of human seminal vesicle. Concentrations are expressed as fmol/fraction. The dotted line shows the acetonitrile concentration. Arrow shows elution position of synthetic CGRP.

考 案

近年のめざましい免疫組織化学および免疫化学的手法の発展によって種々の神経ペプチドの泌尿生殖器系における存在が明らかとなって来た¹⁾³⁾⁹⁾¹²⁻¹⁴⁾¹⁹⁾²⁰⁾。又、泌尿生殖器系における機能調節も古典的なコリン作動性やノルアドレナリン作動性神経支配以外の要因が存在する事が知られており³⁰⁾、その候補に種々の神経ペプチドが挙げられて来ている¹³⁾¹⁴⁾¹⁸⁾²⁰⁻²²⁾²⁴⁾²⁹⁾。膀胱におけるこの古典的な神経伝達物質であるアセチルコリンないしノルアドレナリン作動性神経支配について完全な合意を見るに至らないまでも膀胱頂部および膀胱側壁でコリン作動性優位、膀胱基底部でのノルアドレナリン作動性優位が一般的に認められている⁴⁾⁶⁾。これと同様に神経ペプチドの分布においても膀胱頂部、側壁の VIP 優位と膀胱基底部での NPY 優位が認められ¹⁴⁾、膀胱排尿反射でのこれらの神経ペプチドと古典的神経伝達物質との神経細胞での共存ないし作用協関が示唆されている¹⁵⁾。VIP, NPY 以外にも泌尿生殖器系において enkephalins⁵⁾, dynorphin²⁷⁾, substance P¹³⁾, neurokinin A³⁵⁾, bombesin⁸⁾, neuromedin B²⁵⁾, somatostatin¹³⁾¹⁴⁾, CGRP³⁶⁾, peptide 7 B 2³¹⁾等種々の peptide の存在が証明されている。従来よりアトロピン抵抗性の膀胱利尿筋収縮惹起物質としてこれらの神経ペプチドがその候補にあげられていたが、主に知覚受容に参与するとされる substance P は capsaicin 投与実験結果等より否定的である²⁹⁾。

今回我々はこれらの種々の神経ペプチドの中から泌尿生殖器系に豊富に存在する VIP³⁾, NPY¹⁾ および substance P との共存が認められている CGRP³⁶⁾, 下垂体より抽出した蛋白 7 B 2³¹⁾ のヒト泌尿生殖器系での存在の有無について検討した。

VIP は Mundy²⁴⁾, Gu¹²⁾らの免疫組織化学的な検討によって膀胱では排尿筋および血管周囲に豊富に存在する事が示されており、先に述べた如くコリン作動性神経との協関が示唆されている。VIP の作用として血管拡張作用の他に平滑筋の弛緩作用が報告されているが、緊張型神経因性膀胱標本での VIP 含量の低下が認められ¹²⁾¹⁹⁾, 多発性硬化症患者では排尿筋過剰反射は正後にこの VIP 含量の有意の増加を認めたとする報告もあり²⁴⁾, 膀胱排尿筋の tonus 調節上重要な役割を果たしていると考えられている¹⁸⁾²⁰⁾。今回の我々の検討では、精囊、精管にて高値を認め尿道、尿管でも中等度の VIP 含量を認め、これら部位での VIP 作動性神経調節機構の存在が示唆された。精巣、腎盂、腎実質では VIP 免疫活性を殆ど認めず、前立腺癌と前立腺肥大にて切除した組織および膀胱癌と健常膀胱壁との比較では共に癌組織での含量減少傾向を認めたが、有意差はなかった。neuropeptide Y (NPY) は Tatemoto, Mutt³³⁾³⁴⁾らがブタ中枢神経系より抽出した36個のアミノ酸よりなる peptide で種々の末梢組織でカテコールアミン系 neuron 内に共存する事が判明している。NPY は心血管系に強力な作用²¹⁾¹⁾を発揮する他に、精管および膀胱平滑筋収縮を抑制する事²¹⁾²²⁾および節前性にノルアドレナリン放出を抑制する事²¹⁾などが報告されており、この peptide も泌尿生殖器系で重要な役割を果たすものと考えられている。6-hydroxy dopamine 投与実験では膀胱 NPY 含量減少は認められず、ノルアドレナリン含有細胞とは異なった分布を示すものと考えられている¹⁷⁾。Adrian ら¹⁾は精囊、精管、前立腺、尿道蔭茎海綿体で NPY 高含量を認めているが、今回の検討でも精囊、精管で NPY 含量の最高値を認め、NPY がこれら組織での平滑筋 tonus 調節に関与する可能性を示していると考えられた。前立腺組織でも中等度の含量を認めたが、前立腺癌組織および膀胱癌組織での著明な含量変動は認めず、精囊、精巣上体、腎盂では NPY 免疫活性を殆ど認めなかった。calcitonin gene related peptide (CGRP) は遺伝子組み替えにより発見された peptide で calcitonin mRNA との間での alternative processing によって出現すると考えられている³²⁾。泌尿生殖器系では、substance P との共存が報告されており³⁶⁾, substance P と共に capsaicin 感受性の知覚受容に関与していると考えられている²³⁾。これらの peptide の消失によって排尿閾値の上昇を認め排尿反射の求心路に関係していると考えられる。組織別の含量測定では、精囊にて比較的多量の CGRP を認めた他は、精管、尿管、前立腺肥大症組織に僅かに免疫活性を認めるに留まった。正常前立腺組織を用いての検討が困難だった事から前立腺肥大組織を対照として検討を行なったところ肥大組織では $0.2 \pm 0.2 \text{ pmol/g}$ に対して前立腺癌組織 ($n = 4$) では全例免疫活性を認めず、組織診断上の補助手段としての可能性が示唆された。下垂体蛋白 7 B 2 は Seidah, Chretien ら¹⁶⁾²⁸⁾によって proopiomelanocortin 由来の peptide を精製中に副産物として発見された新蛋白である。そのアミノ酸連鎖の検討で低度類似性を duck proinsulin, pork secretin, Rous sarcoma virus transforming protein TVFV 60 との間に認め、組織の growth factor としての作用が想定された。その後の検討で中枢神経系や末梢組織にもその存在を認めラット泌尿生殖器系での検討でもその存在を確認している³¹⁾。ヒト泌尿生殖器系での本蛋白の存在と、前立腺癌、膀胱癌組織とその対照組織間での含量変化の有無について検討を行なった。今回測定を行なった他の neuropeptides に比べて極めて低濃度であったが存在を認めた。この分布様式はラットでの報告³¹⁾と同様尿管、精管で比較的高値を認めた。膀胱癌組織、前立腺癌組織では対照膀胱壁、前立腺肥大組織に比べて 7 B 2 含量の増

加傾向を認めたが今回の例数では有意差を認めなかった。7 B 2 の分布様式が他ペプチドと類似の点より本蛋白が泌尿生殖器系で neurotransmitter ないし neuromodulator として作用する可能性が示唆される。

これらの検討を行なった peptide 免疫活性について gel permeation chromatography ないし HPLC による同定を行ない各々対応する standard に一致して主要免疫活性を認めた事から、ヒト泌尿生殖器系において VIP, NPY, CGRP, 7 B 2 が存在し各々特異的な分布を示す事より各々異なった作用を発揮している可能性が示唆された。

結 論

- 1) 下垂体蛋白 7 B 2 は低値ながらヒト泌尿生殖器系に広汎に存在し、ラットでの検討と類似の分布様式を示した。
- 2) CGRP は前立腺肥大組織と前立腺癌との間に有意の含量変化を認め組織の補助診断での有用性が示唆された。
- 3) NPY は泌尿生殖器系に広汎に存在し、VIP と共に精囊腺と精管で高値を示した。
- 4) 前立腺癌、前立腺肥大症あるいは膀胱癌と健常部との間でこれらの 7 B 2, NPY, VIP 含量に有意の差を認めなかった。

謝辞

稿を終えるにあたり御指導、御校閲を賜りました下田新一教授に深謝し、また直接御指導頂きました鈴木仁講師に深謝します。

更に組織の提供に御協力して頂きました大阪医科大学泌尿器科学宮崎重教授並びに教室の諸先生方に感謝します。

文 献

- 1) Adrian, T.E., Gu, J., Allen, J.M., Tatemoto, K., Polak, J.M. and Bloom, S.R.: Neuropeptide Y in the human male genital tract. *Life Sci.*, 35: 2643–2648, 1984.
- 2) Allen, J.M., Bircham, P.M.M., Edwards, A.U. and Bloom, S.R.: Neuropeptide Y (NPY) reduces myocardial perfusion and inhibits the force of heart contraction of the isolated perfused rabbit heart. *Regul. Peptides*, 6: 247–254, 1983.
- 3) Alm, P., Alumets, J., Hakanson, R. and Sundler, F.: Peptidergic (vasoactive intestinal peptide) nerves in the genitourinary tract. *Neurosci.*, 2: 751–754, 1977.
- 4) Alm, P.: Cholinergic innervation of the human urethra and urinary bladder: a histochemical study and review of methodology. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 43: 56–62, 1978.
- 5) Alm, P., Alumets, J., Hakanson, R., Owman, C., Sjoberg, N.O., Stjernqvist, M. and Sundler, F.: Enkephalin immunoreactive nerve fibers in the feline genitourinary tract. *Histochem.*, 72: 351–355, 1981.
- 6) Anand, P., Gibson, S.J., McGregor, G.P., Blank, M.A., Ghatei, M.A., Bacarese-Hamilton, A.J., Polak, J.M. and Bloom, S.R.: A VIP-containing system concentrated in the lumbosacral region of the human spinal cord. *Nature*, 305: 143–145, 1983.
- 7) Dahlstrom, A.: The adrenergic innervation of the urinary bladder in the cat and man in the normal state and after parasympathetic denervation. *Acta*

- Pharmacol. Toxicol., 43: 19–25, 1978.
- 8) Ghatei, M.A., Gu, J., Allen, J.M., Polak, J.M. and Bloom, S.R.: Bombesin-like immunoreactivity in female rat genitourinary tract. *Neurosci. Lett.*, 54: 13–19, 1985.
- 9) Gibbins, I.L., Furness, J.B., Costa, A., McIntyre, I., Hillyard, C.J. and Girgis, S.: Co-localization of calcitonin gene related peptide immunoreactivity with substance P in cutaneous, vascular and visceral sensory neurons of guinea pigs. *Neurosci. Lett.*, 57: 125–130, 1985.
- 10) Gibson, S.J., Polak, J.M., Bloom, S.R., Sabate, I.M., Mulderry, P.M., Ghatei, M.A., McGregor, G.P., Morrison, J.F.B., Kelly, J.S., Evans, R.M. and Rosenfeld, M.G.: CGRP immunoreactivity in the spinal cord of man and eight other species. *J. Neurosci.*, 4: 3101–3111, 1984.
- 11) Gu, J., Adrian, T.E., Polak, J.M., Allen, J.M., Tatemoto, K. and Bloom, S.R.: NPY-a major new cardiac neuropeptide: *Lancet* I: 1008–1010, 1983.
- 12) Gu, J., Restorick, J.M., Blank, M.A., Huang, W.M., Polak, J.M., Bloom, S.R. and Mundy, A.R.: Vasoactive intestinal polypeptide in the normal and unstable bladder. *Br. J. Urol.*, 55: 645–647, 1983.
- 13) Gu, J., Polak, J.M., Probert, L., Islam, K.N., Marangos, P.J., Mina, S., Adrian, T.E., McGregor, G.P., O'Shaughnessy, D.J. and Bloom, S.R.: Peptidergic innervation of the human male genital tract. *J. Urol.*, 130: 386–391, 1983.
- 14) Gu, J., Blank, M.A., Huang, W.M., Islam, K.N., McGregor, G.P., Christofides, N., Allen, J.M., Bloom, S.R. and Polak, J.M.: Peptide-containing nerves in human urinary bladder. *Urology*, 24: 353–357, 1984.
- 15) Hokfelt, T., Johansson, O., Ljungdahl, J.M., Lundberg, J.M. and Schultzberg, M.: Peptidergic neurons. *Nature*, 284: 515–521, 1980.
- 16) Hsi, K.L., Seidah, N.G., DeSerres, G. and Chretien, M.: Isolation and NH₂-terminal sequence of a novel porcine anterior pituitary polypeptide, homology to proinsulin, secretin and Rous sarcoma virus transforming protein TVFV 60. *FEBS Lett.*, 147: 262–266, 1982.
- 17) 稲垣 忍: 泌尿生殖器. 遠山正彌, 塩谷弥兵衛編, 化学の神経機能解剖学 p.567-573, 第5章末梢神経. 厚生社, 大阪, 1987.
- 18) Kinder, R.B. and Mundy, A.R.: Inhibition of spontaneous contractile activity in isolated human detrusor muscle strips by vasoactive intestinal polypeptide. *Br. J. Urol.*, 57: 20–23, 1985.
- 19) Kinder, R.B., Restorick, J. and Mundy, A.R.: Vasoactive intestinal polypeptide in the hyper-reflexic neuropathic bladder. *Br. J. Urol.*, 57: 289–291, 1985.
- 20) Levin, R.M. and Wein, A.J.: Effect of vasoactive intestinal peptide on the contractility of the rabbit urinary bladder. *Urol. Res.*, 9: 217–218, 1981.
- 21) Lundberg, J.M. and Stjarne, L.: Neuropeptide Y (NPY) depresses the secretion of ³H-noradrenaline and the contractile response evoked by field stimulation, in rat vas deferens. *Acta Physiol. Scand.*, 120: 477–479, 1984.
- 22) Lundberg, J.M., Hua, X. and Franco-Cereceda, A.: Effects of neuropeptide Y (NPY) on mechanical activity and neurotransmission in the heart, vas deferens and urinary bladder of the guinea-pig. *Acta Physiol. Scand.*, 121: 325–332, 1984.
- 23) Mulderry, P.K., Rodrigo, J., Ghatei, M.A., Allen, J.M., Rosenfeld, M.G., Polak, J.M. and Bloom, S.R.: Calcitonin gene-related peptide in cardiovascular tissues of the rat. *Neurosci.*, 14: 941–954, 1985.
- 24) Mundy, A.R.: Neuropeptides in lower urinary tract function.

- Wold J. Urol., 2: 211–215, 1984.
- 25) Namba, M., Ghatei, M.A., Gibson, S.J., Polak, J.M. and Bloom, S.R.: Distribution and localization of neuromedin B-like immunoreactivity in pig, cat and rat spinal cord. *Neurosci.*, 15: 1217–1226, 1985.
- 26) Rosenfeld, M.G., Mermod, J.J., Amara, S.G., Swanson, L.W., Savochenki, P.E., Rivier, J., Vale, W.W. and Evans, R.M.: Production of a novel neuropeptide encoded by the calcitonin gene via tissue-specific RNA processing. *Nature*, 304: 129–135, 1983.
- 27) Sasek, C.A., Seybold, V.S. and Elde, R.P.: The immunohistochemical localization of nine peptide in the sacral parasympathetic nucleus and the dorsal gray commissure in rat spinal cord. *Neurosci.*, 3: 855–873, 1984.
- 28) Seidah, N.G., Hsi, K.L., De Serres, G., Rochemont, J., Mamelin, J., Antakly, T., Cantin, M. and Chretien, M.: Isolation and NH₂-terminal sequence of a highly conserved human and porcine pituitary protein belonging to a new superfamily. Immunocytochemical localization in pars distalis and pars nervosa of the pituitary and in the supraoptic nucleus of the hypothalamus. *Arch. Biochem. Biophys.*, 225: 525–534, 1983.
- 29) Sharkey, K.A., Williams, R.G., Schultzberg, M. and Dockray, G.J.: Sensory substance P-innervation of the urinary bladder: possible site of action of capsaicin in causing urine retention in rats. *Neurosci.*, 10: 861–868, 1983.
- 30) Sjogren, C., Andersson, K-E., Husted, S., Mattiasson, A. and Moller-Madsen, B.: Atropine resistance of transmurally stimulated isolated human bladder muscle. *J. Urol.*, 128: 1368–1371, 1982.
- 31) Suzuki, H., Christofides, N.D., Chretien, M., Seidah, N.G., Polak, J.M. and Bloom, S.R.: A novel pituitary protein (7B2) in the rat urogenital tract. *Biomed. Res.*, 6: 139–143, 1985.
- 32) Suzuki, H., Christofides, N.D., Anand, P., Chretien, M., Seidah, N.G., Polak, J.M. and Bloom, S.R.: Regional distribution of a novel pituitary protein (7B2) in the rat spinal cord: effect of neonatal capsaicin treatment and thoracic cord transection. *Neurosci. Lett.*, 55: 151–156, 1985.
- 33) Tatemoto, K., Carlquist, M. and Mutt, V.: Neuropeptide Y - a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature*, 296: 659–660, 1982.
- 34) Tatemoto, K.: Neuropeptide Y: Complete amino acid sequence of the brain peptide. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 79: 5485–5489, 1982.
- 35) Theodorsson-Norheim, E., Brodin, E., Norheim, I. and Rosell, S.: Antisera raised against eleidosin and kassinin detect immunoreactive material in rat tissue extracts: tissue distribution and chromatographic characterization. *Regul. Peptides*, 9: 229–244, 1984.
- 36) Yokokawa, K., Tohyama, M., Shiosaka, S., Shiotani, Y., Sonoda, T., Emson, P.C., Hillyard, C.V., Girgis, S. and MacIntyre, I.: Distribution of calcitonin gene-related peptide-containing fibers in the urinary bladder of the rat and their origin. *Cell Tiss. Res.*, 244: 271–278, 1986.
- (受付日: '88. 3. 17)