

総 説

Neuropeptide Y

—ペプチド性神経伝達物質としての作用・生合成と 神経特異的遺伝子発現調節について—

樋 口 宗 史

も く じ

1. 緒 言	203
2. NPY によるカテコラミン遊離抑制—副腎 髄質クロマフィン細胞を用いて	204
3. NPY の種々の生理作用と NPY 受容体	205
4. NPY 生合成機構—NPY 遺伝子構造と発 現及び NPY 生合成	207
5. NPY 生合成の変化—特に生体内での加齢 及び高血圧に関与しての変動	211
6. 神経活動, シナプス伝達に伴う NPY 遺 伝子発現の変化	211
7. NPY 遺伝子発現に対するホルモン, 細胞 内セカンドメッセンジャーの影響	211
8. 交感神経への分化マーカーとしての NPY 遺伝子発現	213
9. 結 語	215

1. 緒 言

1978年に Tatemoto and Mutt^{1,2)} は, α -アミド化
アミノ酸の二次元薄層クロマトによる同定法を確立し,
それを用いてブタ小腸から α -アミド化したペプチドで
ある peptide YY (PYY) と peptide HI (PHI) を分
離した. さらに1982年, PYY の精製と同様な分離法で
 α -アミド化された近縁ペプチドをブタ脳から分離同定
し, その脳に多量に存在するペプチドを neuropeptide
Y (NPY) と命名した^{3,4)}. PYY 及び NPY はこのよ
うに化学的検出法により分離同定されたペプチドである
が, Edman 法による一次構造決定をしてみると, 以前
に膵臓から分離され, 膵外分泌を抑制する事が知られて
いた pancreatic polypeptide (PP) と極めて構造が類
似する事が見い出された³⁻⁵⁾. NPY, PYY, PP とともに

36個のアミノ酸より成る, C末がアミド化されたペプチ
ドで, ブタ NPY の分子量は 4,254 dalton であった
(図1). これら3つのペプチドは系統的に共通の祖先
遺伝子から派生した遺伝子の産物と考えられている⁶⁾.
NPY の発見に続いてその免疫組織化学的分布が詳細に
調べられ, ラット, ヒト脳に高濃度かつ広範に(視床下
部>線条体>大脳皮質>海馬>延髄>中脳)存在する重
要なペプチドである事が示され, それまで PP 様免疫活
性として脳に存在していると考えられていたペプチドが
実は NPY である事が NPY の特異的抗体を用いて明
らかとなった⁷⁻¹⁰⁾. NPY 神経の分布で特徴的な事は,
一般的にこの神経ペプチドはカテコラミン (CA) と共
存する事である^{9,11)}. しかし, 大脳皮質Ⅱ~Ⅵ層には
NPY 及び NPY mRNA を発現する神経が数多く存在
し, これらは somatostatin 及び GABA と共存し, 高
次精神機能に関与している事が推察されている^{12,13)}.
例えば, Alzheimer 病ではこの NPY 神経の特徴的変
性, 脱落がおきる事が報告されている¹⁴⁾. 中枢神経系で
は NPY 免疫活性 (NPY-LI) は視床下部に最も大量に
存在し, 豊富な NPY 神経線維連絡が認められ, NPY
は視床下部機能, 特に多くの視床下部ホルモンの遊離調
節に働いていると考えられている(表2). 末梢神経系
ではさらに明確にこのペプチドが全身の交感神経系に分
布し, CA と共存している. 例えば, 血管周囲交感神経
のほぼ半数において NPY は CA と共存しており, 重
要な神経修飾物質あるいは cotransmitter としての作
用が考えられた^{15,16)}(表3). このように NPY は多彩
な生理作用を持つが, 1984年時点においては, はたして
どこまで神経伝達物質あるいは神経修飾物質としての条
件を満たすかが不明であった. これに関して, 私達は
培養牛副腎クロマフィン細胞や培養神経細胞を用いて
NPY が生理的に重要なペプチド性神経伝達物質/神経
修飾物質として働いているという知見を得た. さらに
NPY 生合成が神経活動に伴い変動する事, トランス

Comparison of amino acid sequences of NPY, PYY, PP and PHI

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
porcine NPY	Tyr	Pro	Ser	Lys	Pro	Asp	Asn	Pro	Gly	Glu	Asp	Ala	Pro	Ala	Glu	Asp	Leu	Ala
porcine PYY	.	.	.	Ala	.	.	.	Glu	Ala	Ser	Pro	.	Glu
human PP	Ala	.	.	Leu	Glu	.	.	Val	Tyr	.	.	Asp	Asn	.	Thr	Pro	.	Gln
avian PP	Gly	.	.	.	Gln	.	.	Thr	Tyr	.	.	Asp	.	.	.	Val	.	Ile
porcine PHI	His	Ala	Asp	Gly	Val	Phe	Thr	Ser	Asp	Phe	Ser	Arg	Leu	Leu	Gly	Gln	.	Ser
	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
porcine NPY	Arg	Tyr	Tyr	Ser	Ala	Leu	Arg	His	Tyr	Ile	Asn	Leu	Ile	Thr	Arg	Gln	Arg	Tyr-NH ₂
porcine PYY	Ala	Ser	Leu	.	.	Val	.	.	.	-NH ₂
human PP	Gln	.	.	Ala	Ala	Asp	.	.	Arg	.	.	.	Met	Leu	.	.	Pro	-NH ₂
avian PP	.	Phe	.	Asp	Asn	.	Gln	Gln	.	Leu	.	Val	Val	.	.	His	.	-NH ₂
porcine PHI	Ala	Lys	Lys	Tyr	Leu	Gln	Ser	Leu	Ile	-NH ₂								

Fig. 1 Comparison of amino acid sequences of NPY, PYY, PP and PHI. There is a marked similarity in amino acid sequence among three members (NPY, PYY and PP) of the NPY family. Amino acids identical to those in the NPY structure are indicated as dots. NPY: neuropeptide, Y PYY: peptide YY, PP: pancreatic polypeptide, PHI: peptide HI.

シナプチック (transsynaptic) な調節を受ける事, in vivo においても加齢, 高血圧病態の要因で NPY 生合成が変動することを明らかにした. さらに NPY の生合成は主として NPY 遺伝子発現の変動に依る事が, クローニングした NPY cDNA を用いて NPY mRNA を定量する事で明らかになり, この神経特異的遺伝子発現の調節機構も解明されつつある. 今回この総説では, 私達の行なった仕事を中心に, 最近の NPY の研究について概説した.

2. NPY によるカテコラミン遊離抑制—副腎髄質クロマフィン細胞を用いて—

NPY 免疫活性 (NPY-LI) は, 牛副腎においては主としてノルエピネフリン (NE) 含有クロマフィン細胞

に, また一部は varicose を持つ NPY 含有神経に非常に高濃度に存在する¹⁷⁾. Met-enkephalin 免疫活性がエピネフリン (Epi) 含有クロマフィン細胞に局在するのに比べ, 対照的である. 生化学的に細胞下分布を調べると, NPY-LI はクロマフィン細胞内のクロマフィン顆粒に局在している¹⁷⁾. このことは NPY 自体が分泌顆粒からエクソサイトosis で細胞外に放出される事を示唆している. 実際, 牛副腎還流システムを用いて, 内臓神経からのアセチルコリン (ACh) がニコチンアセチルコリン受容体を刺激し, クロマフィン細胞から NPY を還流液中に放出させる事が明らかになった^{18,19)}. これは後で述べるように, NPY 前駆体 (prepro-NPY) は一次構造の中にシグナルペプチドを含んでおり, 他の神経ペプチドのように, pro-NPY が粗面小胞体で合成されながら小胞体内腔へ移行し, ゴルジ体へ移動しながらプロセッシングを受けて, その後成熟ペプチドが分泌顆粒から細胞外へ遊離放出されるという概念に一致する典型例と思われる. このように副腎髄質において NPY は NE 含有クロマフィン細胞分泌顆粒に存在しており, ニコチンアセチルコリン受容体刺激で, カテコラミン (CA) と共に放出されるので, この初代培養系を使うことは, 末梢交感神経において NE と共存する NPY の cotransmitter としての意義を研究するのに適していると考えられた. 図2は電気化学検出器を用いて測定した, 培養クロマフィン細胞からのニコチンによる内在性

ACh, acetylcholine; AP, activating protein; APP, avian pancreatic polypeptide; CA, catecholamine; cDNA, complementary DNA; CGRP, calcitonin gene related peptide; CPON, c-terminal peptide of NPY; Epi, epinephrine; GABA, γ -aminobutyric acid; HPP, human pancreatic polypeptide; mRNA, messenger RNA; NE, norepinephrine; NGF, nerve growth factor; NPY, neuropeptide Y; NPY-LI, neuropeptide Y-like immunoreactivity; NPY mRNA, prepro-neuropeptide Y messenger RNA; PHI, peptide HI; PP, pancreatic polypeptide; PYY, peptide YY; TH, tyrosine hydroxylase.

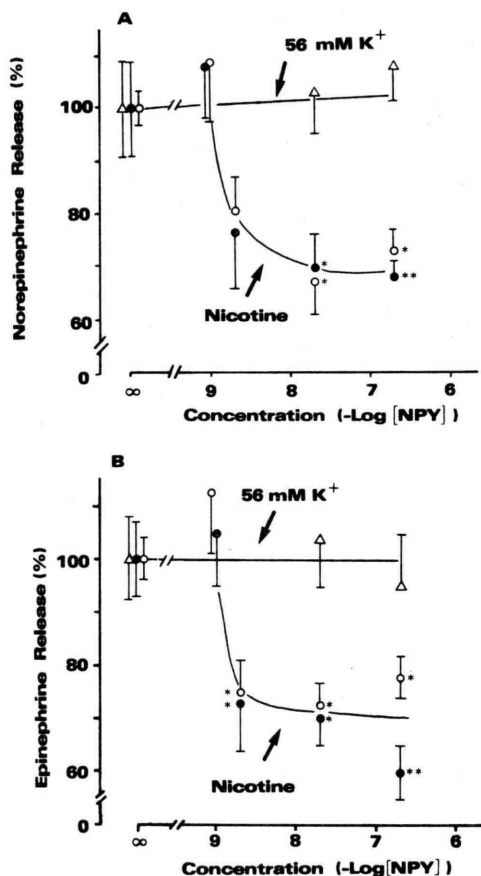


Fig. 2 Inhibition of nicotine-induced NE (A) and Epi (B) release from chromaffin cells by NPY. The release of endogeneous catecholamines from cultured chromaffin cells was induced by nicotine at 3×10^{-6} M (●) and 2×10^{-5} M (○) or 56 mM KCl (△). NPY inhibited the nicotine-stimulated NE and Epi release in a concentration-dependent manner. The inhibition by NPY was expressed as the percentage of the nicotine-induced catecholamine release in the presence of NPY per that in the absence of NPY. * $P < 0.05$, ** $P < 0.02$. (Ref. 21)

NE, Epi の遊離に対する NPY の用量作用曲線を示している^{20,21}). NPY はニコチンによる NE 及び Epi 遊離を両方とも同様に抑制した。しかし、無刺激時の基礎的遊離あるいは高カリウムによる遊離には NPY は影響を与えなかった。しかも NPY のこの作用はニコチンの CA 遊離作用に対して拮抗的に作用する事が明らかとなった。古典的神経伝達物質受容体が、この NPY

の CA 遊離抑制作用に関与しているのかを調べるため、 α -, β -, ムスカリニックアンタゴニストを高濃度存在させて、ニコチン誘発 CA 遊離に対する NPY の抑制を調べたところ、これらのアンタゴニストが存在しても NPY の抑制作用は明らかに認められた。さらに NPY 関連ペプチドとして調べたヒト pancreatic polypeptide (HPP), トリ PP (APP), PYY の中で、HPP に NPY と同様の強い CA 遊離抑制作用が認められた。これらのことは NPY の CA 遊離抑制作用が、特異的 NPY 受容体を介して生じており、HPP が NPY は C 末部分に強い相同構造を持つので NPY 受容体活性化に NPY の C 末部分が重要である事が推測された²¹). 実際、N-propionyl [3H]-NPY を用いた結合実験により牛副腎髄質膜分画には NPY に対する特異的結合部位が存在し、この結合部位は NPY と HPP に対して同程度の高い親和性を有していた²¹). このように NPY は副腎クロマフィン細胞上に特異的 NPY 受容体を持ち、CA 遊離を抑制する。その遊離抑制作用は $IC_{50} = 2 \times 10^{-9}$ M であり、これまで知られている他のペプチドによる CA 遊離抑制作用よりはるかに強いものであった (図 3, 表 1)。NPY が副腎クロマフィン細胞に高濃度存在するので、内臓神経刺激により NPY は CA とともに遊離された後、CA の遊離に生理的にネガティブフィードバックをかける事が考えられた。NPY による同様のメカニズムが末梢交感神経及び中枢神経における神経伝達物質遊離抑制、つまり、シナプス前抑制をひきおこしていると思われる²²⁻²⁴). Håkanson らはシナプス前抑制に関与する NPY 受容体を NPY の N 末端の必要性から Y_1 , Y_2 に分類できる事を示した。シナプス前抑制には NPY 13-36 の C 末部分で十分作用が認められ、 Y_2 受容体に関与していた^{24,25}). この NPY 受容体 (Y_2 受容体) の CA 遊離抑制機構は、百日咳菌毒素 (IAP) で消失する。つまり Y_2 受容体は抑制性 GTP 結合蛋白質 G_i 及び少なくとも 3 種類 (L, T, N 型) の膜電位依存性 Ca チャンネルとカップルする GTP 結合蛋白質 G_o を介して、それぞれ細胞内 cAMP 量の減少及び細胞内への Ca イオン流入の抑制をひきおこすと考えられる²⁶⁻²⁸). それ故に、NPY は他の神経伝達物質遊離抑制作用も持ち、例えばアセチルコリンの遊離を抑制しうる事が示された^{23,29}).

3. NPY の種々の生理作用と NPY 受容体

中枢神経系あるいは交感神経系の神経終末でのシナプス伝達の調節には 2 に述べた NPY の神経伝達物質遊

Table 1 Inhibitory effects on nicotine-induced catecholamine release from chromaffin cells by various peptides that exist in the adrenal glands

Peptide	Amount (pmol/g tissue)		Effective concentration
Neuropeptide Y	120	(bovine)	$IC_{50}=2 \times 10^{-9}$ M
	1500	(rat)	
	1200	(mouse)	
Substance P	4.1	(bovine)	$IC_{50}=10^{-6}$ M
	1.2	(rat)	
	1.5	(man)	
Met-Enk	6700	(bovine)	$IC_{50}=5 \times 10^{-4}$ M
	8.5	(rat)	
	300	(Guinea pig)	
Leu-Enk	10% of Met-Enk		$IC_{50} > 5 \times 10^{-4}$ M
Somatostatin	low		$IC_{50}=2 \times 10^{-5}$ M
VIP	low		probably

A large amount of neuropeptide Y (NPY) exists in the adrenal glands, and its effective dose is much smaller than those of the other peptides.

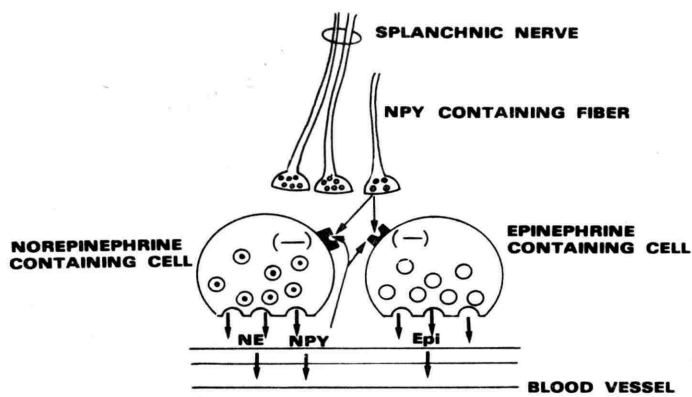



Fig. 3 Model of NPY function on catecholamine release from bovine chromaffin cells. (Ref. 21). : NPY receptor, (-): Inhibition of catecholamine release.

離抑制作用が生理的に重要な役割をはたしていると思われる。しかし一方で、NPY はシナプス後性にも作用を持つ^{24,25)}。例えば NPY は単独で血管平滑筋に強い収縮を生じさせる¹⁶⁾。この血管平滑筋における NPY の収縮作用は血管部位により NPY への感受性が異なり、脳血管は特に感受性が高い。Edvinsson ら¹⁶⁾によると、血管平滑筋における NPY のシナプス後性の作用には NPY 単独で惹起される持続性の収縮作用と、 α 受容体等を介する平滑筋収縮を NPY が増強する修飾作用の 2 つが存在する。現在、この 2 つの作用の分子レベルでの

作用機序は明らかではない。NPY のシナプス後性のこの 2 つの平滑筋収縮増強作用は、シナプス前性のカテコラミン遊離抑制作用と異なり、その作用発現に NPY の一次構造全体が必要とされ、 Y_1 受容体を介する事が示されている^{25,30)}。 Y_2 受容体が G_i , G_o とカップルするのは違い、 Y_1 受容体は GTP 結合蛋白質 Gp を介してホスホリパーゼ C と共役し、ホスホイノシタイドの分解を生じる事が示された^{25,30)};(Wahlestedt ら未発表)。また NPY 受容体は Na^+/H^+ 交換系を活性化し、細胞内 pH をアルカリ化する事が知られている³¹⁾。しかし、

これに関与する受容体のサブクラスや、共役する GTP 結合蛋白質の種類に関しては現在まだ明らかでない。表 2, 3, 4 に NPY の中枢、末梢作用及び病態との関連を示している。これらの作用に NPY 受容体のどのサブタイプが関係しているかも今後の課題である。

4. NPY 生成機構 — NPY 遺伝子構造と発現及び NPY 生成

神経細胞における NPY がどのように生成されるかの分子生物学的研究は、1984 年に Dixon らがヒト NPY cDNA クローンをヒトフェオクロモサイトーマ cDNA ライブラリーから単離した仕事に始まった³²⁾。次いでラット NPY cDNA クローン、ヒト及びラット NPY 遺伝子クローンが単離・同定され、NPY mRNA 及び NPY 遺伝子の構造、NPY 前駆体 (prepro-NPY)

のアミノ酸配列が明らかとなった^{6,33-37)}。成熟ペプチドと同様、NPY 遺伝子、NPY mRNA とともに pancreatic polypeptide (PP) 遺伝子及びその mRNA と高い相同性、構造の類似性を持ち、共通の祖先遺伝子から分かれたものと考えられた^{6,38)}。ヒト及びラットの NPY 遺伝子は Southern blot 分析で約 8 kb の長さを持つ single copy gene であり、ヒト NPY 遺伝子は第 7 染色体上に存在する^{6,37,39)}。pro-NPY と pro-PP を比較して興味深い事は、プロ体の C 末部分にある C 末端ペプチドの系統的保存が著しく異なる点である。この C 末端ペプチドのコード部分は NPY 遺伝子及び PP 遺伝子とも、第 3 エキソンに存在し、pro-NPY では C 末端ペプチドはヒト、ラット間で 93% の構造保存を示しており、一方 pro-PP では 11% の保存しか示していない^{32-35,40,41)}。つまり、PP 遺伝子のみその第 3 エキソンが著しくモザ

Table 2

Proposed central functions of NPY	Reference
1. Enhancement of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and gonadotropins release	69
2. Elevation of circulating luteinizing hormone (LH) after steroid-treatment	70
3. Reduction of circulating LH after gonadectomy	71
4. Elevation of corticotropin-releasing factor (CRF) and circulating adrenocorticotropin (ACTH), corticosterone and aldosterone	72, 73
5. Reduction of circulating growth hormone (GH)	71
6. Reduction of circulating thyrotropin (TSH)	73
7. Elevation of circulating prolactin (PRL)	74
8. Elevation of circulating vasopressin	73
9. Reduction of α -melanotropin (α -MSH) release	75
10. Shift of circadian rhythms	76
11. Increase in feeding behavior	77, 78
12. Decrease in systemic blood pressure	79, 80
13. Enhancement of centrally evoked pressor response	81
14. Decrease and/or increase in heart rate	80, 81, 82
15. Hypothermia	82
16. Bradypnea	79, 80
17. Sedation	83
18. Synchronization of EEG activity	79
19. Elevation of circulating insulin	84
20. Protection against stress-induced gastric erosion	85
21. Suppression of sexual behavior	78
22. Suppression of open field and home cage activity	86
23. Suppression of grooming behavior	82
24. Inhibition of memory retention	82

Table 3

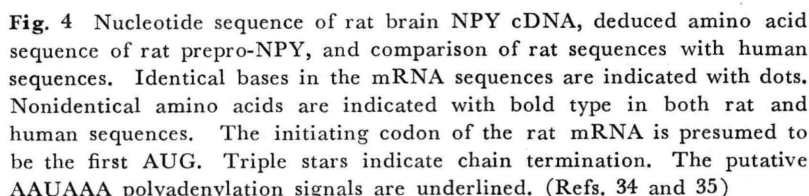
Proposed peripheral functions of NPY	Reference
1. Vasoconstriction	15, 16
2. Potentiation of vasoconstriction	15, 16
3. Increase in systemic blood pressure	24, 87
4. Presynaptic inhibition (Inhibition of CA release)	11, 21, 22
5. Positive and/or negative chronotropic action	88, 89
6. Negative inotropic action	90
7. Coronary vasoconstriction	90
8. Inhibition of cardiac vagal action	91
9. Inhibition of colonic motility	92
10. Relaxation of colon smooth muscle	93
11. Reduction in short circuit current in gut mucosa, i.e. effects on epithelial ion transport	94
12. Inhibition of basal insulin release	84
13. Inhibition of glucose-evoked insulin release	84
14. Inhibition of stimulated glucagon release	95
15. Natriuresis	96
16. Reduction of circulating atrial natriuretic factor (ANF)	97
17. Suppression of renin secretion	98
18. Reduction of circulating vasopressin	99
19. Inhibition of contractile response in vas deferens, uterine cervix, and fallopian tube	100
20. Enhancement of stimulated thyroid hormone release	101

Table 4

Proposed disorders and pathological conditions with relation of NPY	Reference
1. Hypertension	16, 56
2. Cardiac vasospasm	16
3. Cerebral vasospasm	16, 102
4. Pheochromocytoma	103
5. Alzheimer's disease	14
6. Major depression	104
7. Parkinson's disease	105
8. Ganglioneuroblastoma	103
9. Eating disorders such as bulimia	77, 78, 82
10. Schizophrenia	106

イク的進化をとげているのであるがその原因は不明である。pro-NPY の上の NPY と C 末端ペプチド (CPON) の両者はその系統的保存の強さから考え、生理的に重要なペプチドであると考えられる。さらに共通祖先遺伝子から分かれた NPY 及び PP 遺伝子の組織特異的発現の部位は、NPY は神経細胞、PP は膵臓と極めて異なっ

ており、これらの遺伝子の組織特異的発現のメカニズムも興味深い。私達は、NPY 遺伝子発現から成熟 NPY の生成までの生合成過程を調べる目的で、ラット NPY cDNA クローンを単離し、NPY mRNA 構造 (0.8 kb) を同定した^{34,35)} (図 4)。さらに、NPY cDNA を発現ベクター内に挿入し、合成 NPY mRNA を作成し、こ



神経細胞における NPY 遺伝子の転写は RNA ポリメラーゼ II により約 7.0 kb の長さの一次転写産物が作られる。現在 NPY 遺伝子の転写レベルで調節機構が明らかになりつつあるが、転写以降 (post-transcriptional) での調節機構、例えば NPY 前駆体のスプライシングの調節機構等についての研究は進んでいない。同様に、NPY mRNA の翻訳及びそれ以降 (post-translational) の研究も始められたばかりである。Dickerson ら⁴⁰⁾は

Table 5 The distribution of NPY mRNA and NPY immunoreactivity in rat tissues

Tissue	A, abundance of NPY mRNA		B, abundance of immunoreactive NPY peptide	
	pg/ μ g RNA	% of striatum	pmol/g tissue	% of striatum
Central nervous system				
Striatum	6.1 \pm 0.9	100	54 \pm 4 (8)	100
Frontal cortex	5.0 \pm 0.8	82	55 \pm 5 (8)	102
Hippocampus	2.1	34	23 \pm 1 (8)	43
Hypothalamus	2.0 \pm 0.1	33	120 \pm 10 (8)	222
Medulla oblongata	1.1	18	8 \pm 1 (10)	15
Midbrain	0.6	10	3 \pm 1 (8)	6
Cerebellum	0.4	7	<0.3	<0.6
Spinal cord	1.8	30	7 \pm 1 (6)	13
Other tissues				
Adrenal	2.4	39	210 \pm 70 ^a	390
Spleen	1.3	21	1 \pm 0.3 (4)	2
Heart	0.7	11	27 \pm 7 ^b (4)	50
Lung	0.4	7	2 \pm 0.9 (4)	4
Skeletal muscle	0.4	7	NT	NT
Stomach	0.3	5	NT	NT
Thyroid	0.2	3	NT	NT
Liver	0.1	2	<0.3 (4)	<0.6
Kidney	0.1	2	0.8 \pm 0.4 (4)	1
Small intestine ^c	0.06	1	55 \pm 26 ^c (4)	102 ^c
Testis	<0.06	<1	<0.3 (4)	<0.6
Pancreas	<0.06	<1	NT	NT

^aRef. 52. ^bPeptide values are for atrium only, while mRNA values are for whole heart. ^cPeptide values are for duodenum only. High values are probably due to cross-reacting peptide YY. A. the NPY mRNA contents of total RNA preparations from various brain regions or tissues (pg/ μ g RNA). B. the absolute amounts of NPY immunoreactivity (pmol/g tissue), NT: not tested. (Refs. 35, 52, 53)

クローン化したヒト pro-NPY cDNA を AtT-20 マウス下垂体前葉細胞に安定にトランスフェクションし, pro-NPY を発現する細胞系を確立した. AtT-20 細胞は NPY を全く発現せず, pro-ACTH/endorphin を産生する細胞であるが, この形質転換した AtT-20 細胞は, NPY 産生神経細胞同様, pro-NPY のプロセッシング産物である NPY と C 末端ペプチド (CPON) を産生した. このプロセッシングに関与する酵素群が pro-ACTH/endorphin のプロセッシングにも作用している事より, 2つのペプチド前駆体のプロセッシングに関与している酵素群は互換性があり, 広く神経細胞以外にも存在しうる事が示唆された.

神経細胞内では NPY mRNA は細胞体に存在し, 樹状突起や軸索には認められない⁴⁵⁾. 一般に神経ペプチドは細胞体内の粗面小胞体上で mRNA から前駆体が翻

訳され, ゴルジ体でプロセッシングをうけるが, ゴルジ体から神経線維終末部や樹状突起への輸送系の詳細は免疫組織化学的手法の技術的な問題で明確ではない. 細胞体で生成された NPY が軸索輸送される事は生化学的に証明されている⁴⁶⁾. 軸索輸送を受けた NPY は分泌顆粒に貯蔵され, 刺激に応じて分泌される^{47,48,17-19)}. NPY の分泌顆粒はいわゆる 'large dense core vesicles' に一致し, 'small dense core vesicles' には NPY は存在しない. つまり NPY は古典的神経伝達物質 NE のように神経終末への再取り込みはされないと考えられる. 遊離された NPY は細胞外蛋白分解酵素で分解される²¹⁾が, NPY の分解は他の神経ペプチド程速くはなく, NPY の持続作用の一つの要因と考えられる (ラット血漿中で半減期は 2 時間以上である (Higuchi, 未発表)).

5. NPY 生合成の変化—特に生体内での加齢および高血圧に関与しての変動

一般に NPY mRNA 量と NPY 量がよく相関する事より、NPY 生合成量の調節は主に NPY 遺伝子発現レベル (NPY mRNA 量) の調節によって行なわれていると思われる⁵⁵⁾。NPY のような神経活性ペプチドが、生体において実際に遺伝子発現レベルの調節を受けているのであろうか? 動物に種々の薬剤処理をしたり、病態モデルラットを用いて NPY 免疫活性量 (NPY-LI 量) の変化を測定してみると、NPY-LI 量は種々の条件下で変動する事がわかる⁴⁹⁻⁵⁵⁾。興味深い事は、末梢及び中枢神経系における加齢による NPY 量の著しい変化と、血圧に関与しての NPY 量の変化 (特発性高血圧症ラット (SHR) の脳内部位での変化や、降圧剤投与での変化等) が認められる事である。例えば、末梢臓器であるラット副腎において NPY 量は成熟 (加齢) に伴い、約200倍も量が増加する。一方、中枢神経系においては加齢に伴い、逆の調節が働いており、血圧運動中枢の存在する延髄・脊髄で1/10に、線条体、海馬で1/2の減少を示した。NPY の中枢投与による作用が、著しい降圧作用であり、逆に末梢性には血管平滑筋の持続的収縮をひきおこし、その結果として強い昇圧反応を生じさせる事から考え、NPY が加齢に伴う血圧調節に重要な働きをしていると考えられた⁵³⁾。

この加齢に伴う NPY 量の変化に NPY 遺伝子発現の変化が関与しているかどうかを調べる目的で、ラット副腎における NPY mRNA 量を測定すると NPY 量の増加に伴って NPY mRNA の著しい増加がおこっていた⁵⁴⁾。つまり、生体内において NPY を産生する副腎髄質クロマフィン細胞内で、NPY 遺伝子発現が変化し、その結果 NPY の産生が約200倍も増加する事が明らかになった。この加齢による NPY 産生の増加は支配神経である内臓神経の切断により消失する⁵²⁾。つまり内臓神経からのトランスシナプチック (transsynaptic) な支配により、クロマフィン細胞の活動に何らかの変化がおこり、それによって細胞内 NPY 遺伝子発現が調節されたと考えられた。このような例はレセルピン投与における内臓神経の活動増加が、副腎髄質 tyrosine hydroxylase (TH) 遺伝子の発現を増大させ、TH 分子の生合成を増加させるという事実⁵⁶⁾や、インシュリンによっても内臓神経の活動増加がおこり NPY 遺伝子発現が増大したという報告⁵⁷⁾においても認められている。

生体内での NPY ペプチドの調節は生成されるペプチ

ド量の変化だけでなく、質的にも修飾をうける。例えばラット副腎において加齢とともに Met¹⁷ の酸化された Met (O)-NPY が特異的に出現する⁵³⁾。この Met (O)-NPY の出現は中枢神経系に認められず、末梢神経節、副腎にのみ認められる (コレシストキニン (CCK) の Met (O) 型は中枢神経系に発現するのとは対照的である) が、この sulfoxide 型の生理的意義についてはまだ不明である^{53,58)}。

6. 神経活動、シナプス伝達に伴う NPY 遺伝子発現の変化

内臓神経切断による NPY mRNA 量の変化は、除神経によるクロマフィン細胞の活動の変化が NPY 遺伝子発現を変化させたものと考えられる。神経細胞活動の変化は、神経特異的遺伝子の発現をどのように変化させるのだろうか? 加えて NPY はカテコラミン (CA) の cotransmitter であり、CA 及び ACh の遊離を抑制する事でシナプス伝達を変化させる。この NPY 遺伝子発現の神経活動による調節がみい出されれば、神経細胞自体の持つ、学習記憶の基盤であるシナプス可塑性の化学的基礎現象のモデルになると考えられた。それ故に、培養神経細胞を用いて、神経活動やシナプス伝達による NPY 遺伝子発現の調節について検討を加えてみた。最初に種々のクローン化神経細胞をスクリーニングし、NPY mRNA を発現する細胞系をみい出した (表6)。NG108-15 細胞 (未分化) は NPY mRNA を最も多く含み、NPY 遺伝子転写活性の盛んな細胞と思われる。この神経細胞を高カリウムを含んだ krebs-bicarbonate 溶液で30分間 -13 mV まで膜を脱分極させて NPY mRNA 量の変動をみた。3時間後に NPY mRNA はコントロールの30%の増加を示し、6時間後でも13%の増加を示していた。actinomycin D (5 μ M) はこの増加を抑制した。このことは、この神経細胞膜の脱分極シグナルが何らかのセカンドメッセンジャーを介して核にある NPY 遺伝子転写活性を時間オーダーで増大させる機構がある事を示唆していた (Higuchi and Yoshida, 未発表)。

7. NPY 遺伝子発現に対するホルモン、細胞内セカンドメッセンジャーの影響

PC12 ラットフェオクロモサイトーマ細胞はアドレナリン性細胞系であり、NPY 遺伝子発現調節を調べる実験に適している。主にこの細胞を用いて、NPY mRNA 発現に対するホルモン、伝達物質、セカンドメッセン

Table 6 The neural cell lines which express NPY mRNA and NPY

	NPY mRNA		NPY
	pg/ μ g tcRNA	molecules/cell	pmol/g tissue
C ₆ rat glioma cells	<0.05	<0.4	(-)
N18TG2 mouse neuroblastoma cells (inactive)	0.13	0.9	35
NG108-15 hybrid cells (cholinergic)	11.4	1900	44
PC12 rat pheochromocytoma cells	0.23	1.9	19
N1E115 mouse neuroblastoma cells (adrenergic)	<0.05		
AtT-20 mouse pituitary cells	(-)	(-)	(-)
NCB20 hybrid cells (cholinergic)	3.2		39
rat striatum	6.1		54

These cells were cultured in 90% DMEM and 10% fetal calf serum in 75 cm² flasks, and the growing cells (in the growth phase, undifferentiated) were used for the analyses.

ジャーの影響について調べた^{34,35)}。各種ステロイドホルモン(糖質コルチコイド, 鉱質コルチコイド, 男性ホルモン, 女性ホルモン), 甲状腺ホルモン, インシュリンのうち糖質コルチコイド作用を持つステロイドホルモンのみが, NPY mRNA 量を有意に増加させた。その有効濃度よりこの正の調節作用は, 糖質コルチコイド受容体を介する反応であり, ラット NPY 遺伝子は糖質コルチコイド受容体により転写レベルで正に調節されると考えられた。実際ラット NPY 遺伝子 5' 上流領域には糖質コルチコイド受容体に結合しうる数個の cis elements が存在する³⁷⁾。しかし, これらの elements を介して糖質コルチコイド受容体が NPY 遺伝子転写をどのように調節するかについては, NPY 遺伝子プロモーター部分と CAT (chloramphenicol transferase) ベクターのミニ遺伝子を作成して, 直接転写活性の誘導を同定する必要がある。

シナプス伝達に關与する神経伝達物質は種々の細胞外刺激を細胞内セカンドメッセンジャーに変換する。私達はセカンドメッセンジャーとして cyclic AMP 上昇, cyclic GMP 上昇, phosphoinositides 回転に続く protein kinase C 活性化, 細胞内 Ca イオンの上昇が NPY 遺伝子発現にどう影響するのか次に検討した。細胞内 cAMP を上昇させる forskolin, dibutyryl cAMP 処理, protein kinase C を活性化する フォルボールエステル処理, カルシウムイオノフォア (A23187) 処理

は, それぞれ単独で NPY mRNA 量を軽度増加させる事ができた。つまり, cAMP の上昇, protein kinase C の活性化, 細胞内 Ca 濃度の上昇は NPY 遺伝子発現を上昇させる事を示していた³⁵⁾。さらに興味深い事は, これらの要因に著しい相乗作用 (synergistic action) が認められた事である。これらの相乗作用のうち, 細胞内 cAMP 量の上昇と protein kinase C の活性化によって最も強い相乗作用がみられた(図5)。つまり, 神経細胞内で cAMP 依存性蛋白リン酸化酵素と protein kinase C の両方の活性上昇が生じた時, NPY 遺伝子の著明な転写活性増大がおきる事を示唆していた。この相乗作用は, ヒト神経細胞 SK-N-MC 細胞でも認められた。つまり, ヒト及びラットの種を越えて保存される NPY 遺伝子の cis-elements (多分プロモーター領域に存在する) が, 両リン酸化酵素活性の変化を感じ, NPY 遺伝子転写活性を変化させると考えられた。このことを踏まえて NPY 遺伝子 5' 上流域に検索すると特徴的な 28 bp のパルンドローム (palindrome) 構造 (GGGAGTCACCCGGGCGTGACTGCC) が保存されていた³⁵⁾。この中にはいわゆる phorbol ester cis elements (T(G/T)AGTCA(G/C) あるいは CCCC-AGGC) 及び cAMP cis element ((T/G)ACGTCAG) によく似た構造が含まれている。相乗効果の合理的な可能性として, これらの cis element に結合しうる核内転写制御因子 (AP-1, AP-2 等^{59,60)} が, cAMP 依存

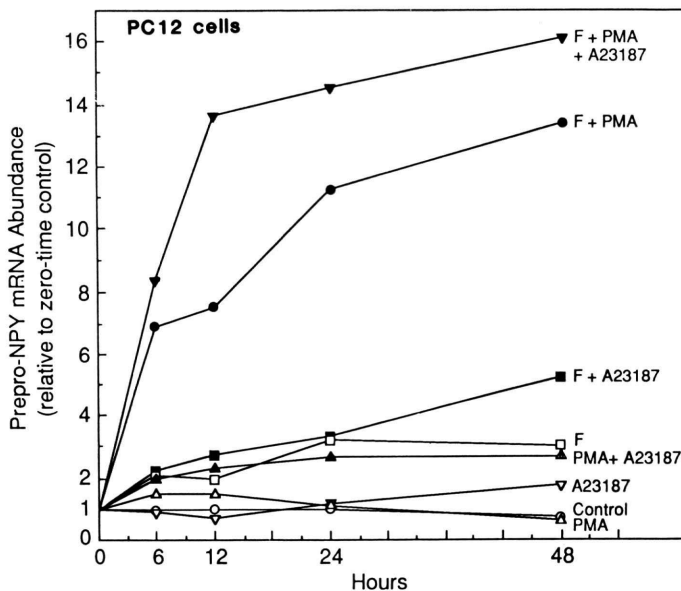


Fig. 5 Effects of forskolin, TPA, and A23187, alone or in combination, on the NPY mRNA abundance in PC12 cells. PC12 cells were treated with 20 μ M forskolin, 0.4 μ M TPA, and/or 0.4 μ M A23187 for the durations indicated. Forskolin (F) alone elevated NPY mRNA moderately. TPA or A23187 alone had little effect on the NPY mRNA abundance. The combination of these agents elicited the positive synergistic regulation of NPY gene expression. (Ref. 35)

性蛋白リン酸化酵素あるいは protein kinase C によりリン酸化される事で、NPY 遺伝子転写を行なう RNA ポリメラーゼ II 活性を相乗的に増加できるようになる事が考えられる。このようなセカンドメッセンジャー間の遺伝子発現における著しい相乗作用は、詳細が不明でこれまで報告がほとんどなされていないが、遺伝子発現調節では重要な機構であると思われる。

上記のように、神経活動やシナプス伝達により細胞内セカンドメッセンジャーが変動すると、NPY 遺伝子発現は著しく変化する事が明らかとなった。この NPY mRNA 量の変化は NPY 生成量の変動をきたし、カテコラミン等によるシナプス伝達の修飾に変動をもたらす。要するに神経伝達物質レベルでのシナプス可塑性の 1 つのモデルになると思われる。

8. 交感神経への分化マーカーとしての NPY 遺伝子発現

多くの免疫組織化学的研究により NPY は末梢交感神経系、中枢カテコラミン (CA 神経に主に共存する事がわかっている^{9,11)}、つまり、CA 合成酵素群の誘導がおき

ている神経細胞内に、NPY 産生がおきる事を示している。それ故に、この NPY 生合成のメカニズムとして、CA 神経細胞内での NPY 遺伝子転写活性の出現、calcitonin/CGRP でみられるような選択的スプライシング (alternative splicing) の発現、あるいは翻訳レベルでの生合成増加等が考えられた。この NPY の CA 神経細胞内での特異的発現の機構を検討する目的で、種々のクローン化神経細胞をスクリーニングした。例えば、Nirenberg 研で確立されたマウス神経細胞、雑種神経細胞、ラット PC12 フェオクロモサイトーマ細胞、マウス AtT-20 下垂体細胞、グリオーマ細胞、マクロファージ等多くの細胞が調べられた (これらの神経細胞は、神経伝達物質含量や、生合成律速酵素量が測定され、分類されている)。このうち、NPY を発現する細胞は神経細胞に限られていたが、予想に反して未分化アセチルコリン (ACh) 含有神経細胞 NG108-15 細胞、NCB-20 細胞に最も多量の NPY が、一方未分化 CA 含有神経細胞 PC12 細胞、N1E115 細胞には少量の NPY が存在するのが明らかとなった (表 6)。NPY を産生する細胞には Northern blot 分析で、脳内に認め

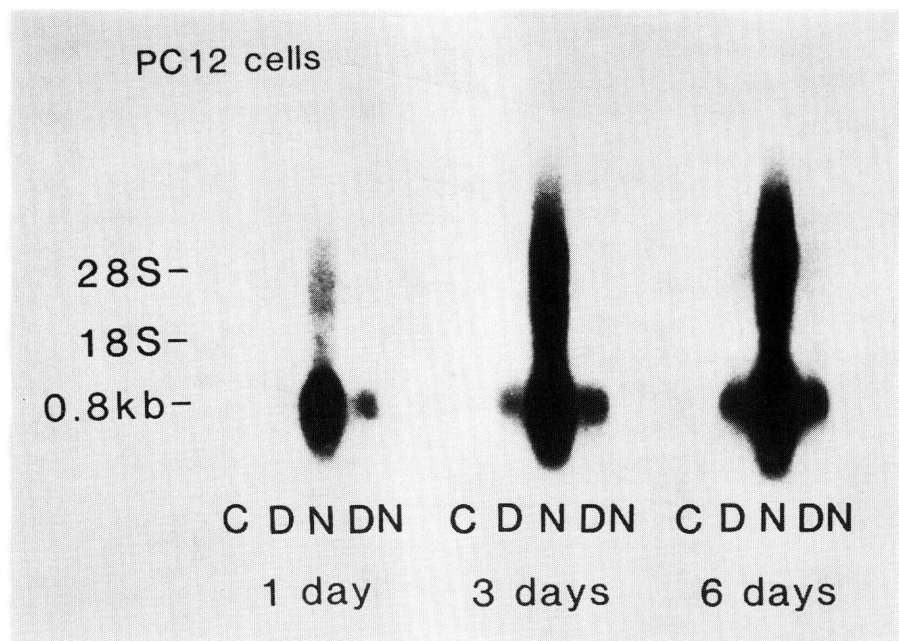


Fig. 6 Long-term effects of NGF on the NPY mRNA abundance. PC12 cells were treated with 60 ng/ml NGF (N) and/or 1 μ M dexamethasone (D). The total cellular RNA was analyzed electrophoretically, and Northern blot membranes were hybridized with a nick-translated rat NPY cDNA probe. NGF or dexamethasone alone elevated NPY mRNA abundance remarkably, while dexamethasone diminished the effect of NGF when both were present. (Higuchi and Sabol, unpublished data)

られるものと同じ 0.8 kb の成熟 NPY mRNA が認められ、明らかに未分化 ACh 含有細胞に多量に存在していた (表 6)。このことは NPY は一般に CA の cotransmitter として認められているが、細胞レベルにおいて CA の発現と NPY 遺伝子発現とは一致しない場合がある事を示していた。多分、NPY 遺伝子発現には、CA 生合成酵素群の遺伝子発現とは違う転写因子が関与している事を示唆している。

しかし、これらの未分化神経細胞を PC12 細胞は 2.5S 神経成長因子 (NGF) で交感神経様細胞に⁶¹⁾、また NG108-15 細胞あるいは NCB-20 細胞は cAMP や DMSO で ACh 性神経細胞に⁶²⁾分化させると、PC12 細胞では 4 日間で NPY mRNA 量が未分化型の 100 倍に増加し (図 6)、NG108-15 細胞では逆に分化に伴い、NPY mRNA 量が 3 日間で 1/10 に減少した。さらに nuclear run-on experiment により NGF による PC12 細胞分化時の NPY 遺伝子転写活性の変化を調べると、明らかに核での NPY 遺伝子の転写活性が増大していた (Higuchi and Sabol, 未発表)。一般に真核

細胞遺伝子転写制御には TATA ボックスや CCAAT ボックスに結合する基本的に必須の転写活性因子以外にもプロモーター部位に結合する何種類かの細胞特異的 transacting factor が存在すると考えられる。このようにモデル神経細胞を用いた時、交感神経細胞分化時には、NPY 遺伝子発現を強める転写因子の誘導あるいは転写抑制因子の産生抑制がおこっている事を示唆していた。また ACh 性神経細胞分化時には、上と逆の現象が生じていると考えられた。

交感神経に NPY が発現する機構をさらに検討するために、PC12 細胞における NGF の NPY mRNA 発現増大を詳細に調べた (Higuchi and Sabol, 未発表)。PC12 細胞は NGF による分化に伴い、形態的にも生化学的にも多くの変化がおこる⁶³⁾。protooncogene を含め幾つかの遺伝子発現の増加も NGF 処理の PC12 細胞において観察されている⁶⁴⁻⁶⁸⁾。これらの変化に比べ、NGF による NPY mRNA の増加は最も顕著なものである。NPY mRNA の増加は NGF 添加後、3.5 時間で 13 倍にも達し、NGF による遺伝子発現の誘導の

うちでも初期に属するものである。しかし、この増加は蛋白合成阻害剤で抑制される事より、NGF による何らかの蛋白性転写因子の産生を介する 2 次的なものと考えられる (Higuchi and Sabol, 未発表)。例えば c-fos 遺伝子発現誘導は蛋白合成阻害剤で抑制されず、NGF の最も直接的な作用と考えられるが、c-fos 遺伝子産物が NPY 遺伝子発現に関与しているかは現在不明のままである⁶⁵⁾。Minth ら⁶⁾は、神経細胞内で NPY 遺伝子が発現する時に必須のプロモーター部位はヒト NPY 遺伝子では -530 bp の 5' 上流領域と 51 bp の第 1 エキソンの最初の部分にある事を示した。しかし、神経細胞の分化 (特に交感神経への分化) に関与する transacting factor を認識する cis elements がこれらの部位に存在するかどうかは不明のままである。NGF は交感神経の分化や神経細胞の生存維持に必須の因子として知られ、いろいろな分化・増殖に関与する遺伝子の転写活性を上昇させる事が知られていたが、その機構については詳細が不明のままであった。NGF による NPY 遺伝子発現増大の現象の研究は、NGF の作用機序の解明に良い手がかりを与えらると思われる。

9. 結 語

neuropeptide Y (NPY) は中枢及び末梢交感神経系に広く分布し、降圧作用を含む多様な中枢神経作用や血管平滑筋収縮作用、神経終末よりの CA 遊離抑制作用を持つ。これらの生理作用を発現する NPY 受容体にも少なくとも 2 つのサブタイプ (Y_1 , Y_2) があり、種々の GTP 結合蛋白質とカップルする事がわかってきた。cDNA 及び遺伝子クローニングや構造決定によりヒト及びラットの NPY 前駆体一次構造が決定され、その強い系統的構造保存から NPY は生体に基本的な生理作用を持つペプチド性神経伝達物質と考えられ、それを支持する知見が集積してきている。NPY の多彩な生理作用に比べ、NPY 遺伝子発現や、pro-NPY の生合成、プロセッシング、分解に関する知見は少なかった。私達の実験により、NPY 遺伝子発現及び生合成は神経活動、ホルモン、神経伝達物質受容体を介するセカンドメッセンジャーにより強く調節されている事が明らかとなった。これらの因子による NPY 遺伝子発現調節は、NPY の生理作用より考え、シナプス伝達の変動をきたし、シナプス可塑性の 1 つの良い生化学的モデルと考えられた。さらに NPY は交感神経細胞内に発現し、また、CA 性神経細胞分化時の NPY 遺伝子発現が著明に増大する事から、この遺伝子発現調節機構の研究は、交感神経分

化の機序解明の良い手がかりを与えらると思われる。

謝辞：研究の御指導をいただいた吉田博教授、ならびに米国国立衛生研究所 (NIH) において共同研究をしていただいた Hsiu-Ying T. Yang 博士, Erminio Costa 博士, Steven L. Sabol 博士, Marshall Nirenberg 博士に深謝いたします。

文 献

- 1) Tatamoto, K. and Mutt, V.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **75**, 4115 (1978)
- 2) Tatamoto, K. and Mutt, V.: Nature **285**, 417 (1980)
- 3) Tatamoto, K., Carlquist, M. and Mutt, V.: Nature **296**, 659 (1982)
- 4) Tatamoto, K.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **79**, 5485 (1982)
- 5) Kimmel, J.R., Hayden, L.J. and Pollock, H.G.: J. Biol. Chem. **250**, 9369 (1975)
- 6) Minth, C.D., Andrews, P.C. and Dixon, J.E.: J. Biol. Chem. **261**, 11974 (1986)
- 7) Adrian, T.E., Allen, J.M., Bloom, S.R., Ghatei, M.A., Rossor, M.N., Roberts, G.W., Crow, T.J., Tatamoto, K. and Polak, J.M.: Nature **306**, 584 (1983)
- 8) Allen, Y.S., Adrian, T.E., Allen, J.M., Tatamoto, K., Crow, T.J., Bloom, S.R. and Polak, J.M.: Science **221**, 877 (1983)
- 9) Everitt, B.J., Hökfelt, T., Terenius, L., Tatamoto, K., Mutt, V. and Goldstein, M.: Neuroscience **11**, 443 (1984)
- 10) DiMaggio, D.A., Chronwall, B.M., Buchanan, K. and O'Donohue, T.L.: Neuroscience **15**, 1149 (1985)
- 11) Lundberg, J.M., Terenius, L., Hökfelt, T., Martling, C.R., Tatamoto, K., Mutt, V., Polak, J.M., Bloom, S. and Goldstein, M.: Acta Physiol. Scand. **116**, 477 (1982)
- 12) Hendry, S.H.C., Jones, E.G., DeFelipe, J., Schmechel, D., Brandon, C. and Emson, P.C.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **81**, 6526 (1984)
- 13) Terenghi, G., Polak, J.M., Hamid, Q., O'Brien, E., Denny, P., Legon, S., Dixon, J., Minth, C.D., Palay, S.L., Yasargil, G. and Chan-Palay, V.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **84**, 7315 (1987)
- 14) Kowall, N.W. and Beal, M.F.: Ann. Neurol. **23**, 105 (1988)
- 15) Emson, P.C. and DeQuidt, M.E.: TINS **7**, 31 (1984)
- 16) Edvinsson, L., Håkanson, R., Wahlestedt, C. and Uddman, R.: TIPS **8**, 231 (1987)
- 17) Majane, E.A., Alho, H., Kataoka, Y., Lee,

- C.H. and Yang, H.-Y.T.: *Endocrinology* **117**, 1162 (1985)
- 18) Allen, J.M., Bircham, P.M.M., Bloom, S.R. and Edwards, A.V.: *J. Physiol.* **357**, 401 (1984)
 - 19) Hexum, T.D., Majane, E.A., Russett, L.R. and Yang, H.-Y.T.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **243**, 927 (1987)
 - 20) Higuchi, H., Costa, E. and Yang, H.-Y.T.: *Fed. Proc.* **46**, 1448 (1987)
 - 21) Higuchi, H., Costa, E. and Yang, H.-Y.T.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **244**, 468 (1988)
 - 22) Lundberg, J.M. and Stjärne, L.: *Acta Physiol. Scand.* **120**, 477 (1984)
 - 23) Colmers, W.F., Lukowiak, K. and Pittman, Q.J.: *J. Physiol.* **383**, 285 (1987)
 - 24) Håkanson, R., Wahlestedt, C., Ekblad, E., Edvinsson, L. and Sundler, F.: *Prog. Brain Res. Vol. 68*, Edited by Hökfelt, T., Fuxe, K. and Pernow, B., p. 279, Elsevier Science Publishers, Amsterdam (1986)
 - 25) Håkanson, R. and Wahlestedt, C.: *IBRO Meeting Abstr.* S679 (1987)
 - 26) Fredholm, B.B., Jansen, I. and Edvinsson, L.: *Acta Physiol. Scand.* **124**, 467 (1985)
 - 27) Kassis, S., Olasmaa, M., Terenius, L. and Fishman, P.H.: *J. Biol. Chem.* **262**, 3429 (1987)
 - 28) Ewald, D.A., Sternweis, P.C. and Miller, R.J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **85**, 3633 (1988)
 - 29) Stretton, C.D. and Barnes, P.J.: *Br. J. Pharmacol.* **93**, 672 (1988)
 - 30) Wahlestedt, C., Yanaihara, N. and Håkanson, R.: *Regul. Pept.* **13**, 307 (1986)
 - 31) Clark, J.D. and Limbird, L.E.: *Fed. Proc.* **47**, A783 (1988)
 - 32) Minth, C.D., Bloom, S.R., Polak, J.M. and Dixon, J.E.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **81**, 4577 (1984)
 - 33) Higuchi, H. and Sabol, S.L.: *Fed. Proc.* **46**, 2182 (1987)
 - 34) 樋口宗史, Sabol, S.L.: *神経化学* **26**, 58 (1987)
 - 35) Higuchi, H., Yang, H.-Y.T. and Sabol, S.L.: *J. Biol. Chem.* **263**, 6288 (1988)
 - 36) Allen, J., Novotný, J., Martin, J. and Heinrich, G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **84**, 2532 (1987)
 - 37) Larhammar, D., Ericsson, A. and Persson, H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **84**, 2068 (1987)
 - 38) Leiter, A.B., Montminy, M.R., Jamieson, E. and Goodman, R.H.: *J. Biol. Chem.* **260**, 13013 (1985)
 - 39) Takeuchi, T., Gumucio, L.D., Yamada, T., Meisler, M.H., Minth, C.D., Dixon, J.E., Eddy, R.E. and Shows, T.B.: *J. Clin. Invest.* **77**, 1038 (1986)
 - 40) Boel, E., Schwartz, T.W., Norris, K.E. and Fiil, N.P.: *EMBO J.* **3**, 909 (1984)
 - 41) Yamamoto, H., Nata, K. and Okamoto, H.: *J. Biol. Chem.* **261**, 6156 (1986)
 - 42) Gu, J., Polak, J.M., Allen, J.M., Huang, W.M., Sheppard, M.N., Tatemoto, K. and Bloom, S.R.: *J. Histochem. Cytochem.* **32**, 467 (1984)
 - 43) Ericsson, A., Schalling, M., McIntyre, K.R., Lundberg, J.M., Larhammar, D., Seroogy, K., Hökfelt, T. and Persson, H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **84**, 5585 (1987)
 - 44) Dickerson, I.M., Dixon, J.E. and Mains, R.E.: *J. Biol. Chem.* **262**, 13646 (1987)
 - 45) Chan-Palay, V., Yasargil, G., Hamid, Q., Polak, J.M. and Palay, S.L.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **85**, 3213 (1988)
 - 46) Fried, G., Lundberg, J.M. and Theodorsson-Norheim, E.: *Acta Physiol. Scand.* **125**, 145 (1985)
 - 47) Pelletier, G., Guy, J., Allen, Y.S. and Polak, J.M.: *Neuropeptides* **4**, 319 (1984)
 - 48) Bastiaensen, E., Miserez, B. and De Potter, W.: *Brain Res.* **442**, 124 (1988)
 - 49) Lundberg, J.M., Saria, A., Hökfelt, T., Franco-Cereceda, A. and Terenius, L.: *Acta Physiol. Scand.* **123**, 363 (1985)
 - 50) Nagata, M., Franco-Cereceda, A., Svensson, T. and Lundberg, J.M.: *Acta Physiol. Scand.* **128**, 321 (1986)
 - 51) Allen, J.M., Schon, F., Yeats, J.C., Kelly, J.S. and Bloom, S.R.: *Neuroscience* **19**, 1251 (1986)
 - 52) Higuchi, H. and Yang, H.-Y.T.: *J. Neurochem.* **46**, 1658 (1986)
 - 53) Higuchi, H., Yang, H.-Y.T. and Costa, E.: *J. Neurochem.* **50**, 1879 (1988)
 - 54) 樋口宗史, 岩佐 厚, 吉田 博: *神経化学* **27**, 276 (1988)
 - 55) Maccarrone, C. and Jarrott, B.: *Brain Res.* **345**, 165 (1985)
 - 56) Biguet, N.F., Buda, M., Lamouroux, A., Samolyk, D. and Mallet, J.: *EMBO J.* **5**, 287 (1986)
 - 57) Fischer-Colbric, R., Iacangelo, A. and Eiden, L.E.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **85**, 3240 (1988)
 - 58) O'Hare, M.M.T., Tenmoku, S., Aakerlund, L., Hilsted, L., Johnsen, A. and Schwartz, T.W.: *Regul. Pept.* **20**, 293 (1988)
 - 59) Angel, P., Imagawa, M., Chiu, R., Stein, B., Imbra, R.J., Rahmsdorf, H.J., Jonat, C., Herrlich, P. and Karin, M.: *Cell* **49**, 729 (1987)
 - 60) Roesler, W.J., Vandenbark, G.R. and Hanson, R.W.: *J. Biol. Chem.* **263**, 9063 (1988)

- 61) Greene, L.A. and Tischler, A.S.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **73**, 2424 (1976)
- 62) Nirenberg, M., Wilson, S., Higashida, H., Rotter, A., Krueger, K., Busis, N., Ray, R., Kenimer, J.G. and Adler, M.: *Science* **222**, 794 (1983)
- 63) Guroff, G.: *Cell Culture in the Nervous System*, Edited by Bottenstein, J.E. and Sato, G., p. 245, Plenum Press, New York (1985)
- 64) Greenberg, M.E., Greene, L.A. and Ziff, E.B.: *J. Biol. Chem.* **260**, 14101 (1985)
- 65) Milbrandt, J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **83**, 4789 (1986)
- 66) Dickson, G., Prentice, H., Julien, J.-P., Ferrari, G., Leon, A. and Walsh, F.S.: *EMBO J.* **5**, 3449 (1986)
- 67) Feinstein, S.C., Dana, S.L., McConlogue, L., Shooter, E.M. and Foffino, P.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **82**, 5761 (1985)
- 68) Leonard, D.G.B., Ziff, E.B. and Greene, L.A.: *Mol. Cell. Biol.* **7**, 3156 (1987)
- 69) Khorram, O., Pau, K.-Y.F. and Spies, H.G.: *Peptides* **9**, 411 (1988)
- 70) Allen, L.G., Crowley, W.R. and Kalra, S.P.: *Endocrinology* **212**, 1953 (1987)
- 71) McDonald, J.K., Lumpkin, M.D., Samson, W.K. and McCann, S.M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **82**, 561 (1985)
- 72) Haas, D.A. and George, S.R.: *Life Sci.* **41**, 2725 (1987)
- 73) Härfstrand, A., Fuxe, K., Agnati, L.F., Eneroth, P., Zini, I., Zini, M., Andersson, K., Von Euler, G., Terenius, L., Mutt, V. and Goldstein, M.: *Neurochem. Int.* **8**, 355 (1986)
- 74) Kerkerian, L., Guy, J., Lefèvre, G. and Pelletier, G.: *Peptides* **6**, 1201 (1985)
- 75) Danger, J.M., Guy, J., Benyamina, M., Jégou, S., Lembuolenger, S., Coté, J., Tonon, M.C., Pelletier, G. and Vaudry, H.: *Peptides* **6**, 1225 (1985)
- 76) Albers, H.E., Ferris, C.F., Leeman, S.E. and Goldman, B.D.: *Science* **223**, 833 (1984)
- 77) Clark, J.T., Kalra, P.S., Crowley, W.R. and Kalra, S.P.: *Endocrinology* **115**, 427 (1984)
- 78) Clark, J.T., Kalra, P.S. and Kalra, S.P.: *Endocrinology* **117**, 2435 (1985)
- 79) Fuxe, K., Agnati, L.F., Härfstrand, A., Zini, I., Tatemoto, K., Pich, E.M., Hökfelt, T., Mutt, V. and Terenius, L.: *Acta Physiol. Scand.* **118**, 189 (1983)
- 80) Härfstrand, A.: *Acta Physiol. Scand.* **128**, 121 (1986)
- 81) Lightman, S.L. and Vallejo, M.: *J. Physiol.* **371**, 96p (1985)
- 82) Gray, T.S. and Morley, J.E.: *Life Sci.* **38**, 389 (1986)
- 83) Zini, I., Pich, M., Fuxe, K., Lenzi, P.I., Agnati, L.F., Härfstrand, A., Mutt, V., Tatemoto, K. and Moscara, M.: *Acta Physiol. Scand.* **122**, 71 (1984)
- 84) Moltz, J.H. and McDonald, J.K.: *Peptides* **6**, 1155 (1985)
- 85) Heilig, M. and Murison, R.: *Eur. J. Pharmacol.* **137**, 127 (1987)
- 86) Heilig, M. and Murison, R.: *Regul. Pept.* **19**, 221 (1987)
- 87) Dahlöf, C., Dahlöf, P. and Lundberg, J.M.: *Eur. J. Pharmacol.* **109**, 289 (1985)
- 88) Wahlestedt, C., Wohlfart, B. and Håkanson, R.: *Acta Physiol. Scand.* **129**, 459 (1987)
- 89) Balasubramaniam, A., Grupp, I., Matlib, M.A., Benza, R., Jackson, R.L., Fischer, J.E. and Grupp, G.: *Regul. Pept.* **21**, 289 (1988)
- 90) Allen, J.M., Bircham, P.M.M., Edwards, A.V., Tatemoto, K. and Bloom, S.R.: *Regul. Pept.* **6**, 247 (1983)
- 91) Potter, E.K.: *Neurosci. Lett.* **54**, 117 (1985)
- 92) Hellström, P.M., Olerup, O. and Tatemoto, K.: *Acta Physiol. Scand.* **124**, 613 (1985)
- 93) Wiley, J. and Owyang, C.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **84**, 2047 (1987)
- 94) Cox, H.M., Cuthbert, A.W., Håkanson, R. and Wahlestedt, C.: *J. Physiol.* **398**, 65 (1988)
- 95) Pettersson, M., Lundquist, I. and Åhrén, B.: *Endocrine Res.* **13**, 407 (1987)
- 96) Allen, J.M., Raine, A.E.G., Ledingham, J.G.G. and Bloom, S.R.: *Clin. Sci.* **68**, 373 (1985)
- 97) Baranowska, B., Gutkowska, J., Lemire, A., Cantin, M. and Genest, J.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **145**, 680 (1987)
- 98) Hackenthal, E., Aktories, K., Jakobs, K.H. and Lang, R.E.: *Am. J. Physiol.* **252**, F543 (1987)
- 99) Aubert, J.F., Burnier, M., Waeber, B., Nussberger, J., Dipette, D.J., Burris, J.F. and Brunner, H.R.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **244**, 1109 (1988)
- 100) Stjernquist, M., Emson, P., Owman, C., Sjöberg, N.-O., Sundler, F. and Tatemoto, K.: *Neurosci. Lett.* **39**, 279 (1983)
- 101) Grunditz, T., Håkanson, R., Rerup, C., Sundler, F. and Uddman, R.: *Endocrinology* **115**, 1537 (1984)
- 102) Allen, J.M., Schon, F., Todd, N., Yeats, J.C., Crockard, H.A. and Bloom, S.R.: *Lancet* **ii**, 550 (1984)
- 103) Adrian, T.E., Allen, J.M., Terenghi, G., Bacarese-Hamilton, A.J., Brown, M.J., Polak, J.M. and Bloom, S.R.: *Lancet* **ii**, 540 (1983)
- 104) Heilig, M., Wahlestedt, C., Ekman, R. and

- Widerlöv, E.: Eur. J. Pharmacol. **147**, 465 (1988)
- 105) Allen, J.M., Cross, A.J., Crow, T.J., Javoy-Agid, F., Agid, Y. and Bloom, S.R.: Brain Res. **337**, 197 (1985)
- 106) Beal, M.F., Svendsen, C.N., Bird, E.D. and Martin, J.B.: Neurochem. Pathol. **6**, 169 (1987)

Abstract—Neuropeptide Y (NPY): Functions and biosynthesis as a peptidergic neurotransmitter and the regulation of neuron-specific expression of NPY gene. Hiroshi HIGUCHI (Department of Pharmacology I, Osaka University School of Medicine, Nakanoshima, Kita-ku, Osaka 530, Japan). *Folia pharmacol. japon.* **93**, 203~218 (1989)

Neuropeptide Y (NPY) is widely distributed in the central and sympathetic nervous systems and has a variety of central actions including regulation of blood pressure and peripheral actions; e.g., continuous vasoconstriction and inhibition of catecholamine release. The NPY receptor can be divided into 2 subclasses (Y_1 , Y_2), and these subclasses are coupled to GTP binding proteins (G_i , G_o , G_p ). Recently, human and rat prepro-NPY mRNA and NPY gene structures have been determined by cDNA and genomic cloning and sequencing. The strong evolutionary conservation of these structures suggested that NPY is an essential peptidergic neurotransmitter. Little is known about the biosynthesis, processing, degradation of NPY and NPY gene expression. We showed that NPY gene expression and NPY biosynthesis are regulated by neural activity, hormone, and intracellular second messengers via neurotransmitter receptors. The change of NPY gene expression by these neural factors is considered to be a good model for a synaptic plasticity, because these changes cause the changes of synaptic transmission. Furthermore, because NPY is expressed in sympathetic neurons and its gene expression increased markedly on the differentiation of adrenergic cells, this study about NPY gene expression could provide good clues for elucidating the differentiation of sympathetic neurons.