

緒 言

副腎髄質におけるエンケファリンの存在については1979年にSCHULTZBERG等¹⁾がラットの副腎髄質細胞と神経終末にメチオニン-エンケファリン (MET-ENK) 様免疫反応性を見出して以来, ヒトやゴールデンハムスター等の多くの哺乳動物で免疫組織化学的に研究・報告されている²⁻⁵⁾。エンケファリンはクロム親性細胞内の顆粒にカテコールアミンと共存し, 開口分泌によりカテコールアミンと共に放出される⁶⁾という。更にその合成・分泌の機序が盛んに研究されてきた⁷⁾が, *in vivo*での副腎髄質細胞におけるエンケファリンの調節機序, カテコールアミン代謝との関係や種差等の詳細は不明な点が多い。また血液中に循環しているMET-ENKの主な源は副腎であるとされているが⁸⁾, その役割についても詳細は不明である。

一方, 松果体は近年, そのホルモンであるメラトニンの産生・放出が日内暗期に増加する著明な日内変動を示し, 連続照明により抑制され, 生殖機能や広範な自律系機能等とも関連することが報告され, このようなことから適応性調節性機構に属する多機能性器官とも見なされている⁹⁻¹¹⁾。痛みに対する感受性には日内変動があり¹²⁾, ラットで見られるモルヒネ鎮痛効果の夜間における増強は松果体からのメラトニンに依存することが示唆された¹³⁾。しかし, 齧歯類で松果体からの内因性オピオイド自体に対する作用を検討した報告は, ラット視床下部のエンケファリンとハムスター視床下部の β -エンドルフィンレベルに対する影響を見たもののみで^{14, 15)}, 副腎髄質では私共の報告以外にはない¹⁶⁾。

私共は先にラットで, 頭蓋内手術である松果体対照手術 (sham pinealectomy, SPX) による髄質細胞エンケファリンレベルの増加反応を見出した。本研究では, この反応が松果体ホルモンの変化によってどのような影響をうけるかを, ラットより多量にエンケファリ

ンを含み, 神経支配除去に対するその反応においてラットと異なるといわれるゴールデンハムスターを用いて免疫組織化学的に検索した。髄質アドレナリン細胞におけるMET-ENKレベルのSPXによる増加はこの動物でも見られ, 更にそれが連続照明により抑制され, メラトニン投与により再現されることを見出したので報告する。

材料と方法

実験動物はゴールデンハムスター総計45匹を用いた。6~7週齢の雄性ゴールデンハムスターを購入し (富士ラボラトリ, クレア社, 東京), 22±2°C, 24時間明暗周期 (明期07:00~19:00) に調節した窓のない部屋で, 固形飼料 (MF, オリエンタル酵母工業, 東京) と水を自由に摂取させて飼育した。1週間後, これらの動物を以下の5つの実験群に分け, 各群とも2週間後の9~10週齢で断頭し, 材料を採取した。

1. 正常無処置対照 (nonoperated, NO) 群は00:00, 06:00, 12:00, 18:00の4時点で用いた。2. 頭蓋内手術群では, SPXを施行した。すなわち, 松果体除去手術におけるようにハロセン麻酔下に頭蓋冠を歯科用ドリルを用いて開窓し, 頭頂部の矢状静脈洞から約1~2mm離れた髄膜にこれと平行に左右各1箇所, 静脈洞交会より約2mmの部位から前方へ約2~4mmの縦切開を脳実質に損傷を加えないように施した。3. 頭蓋内手術+連続照明 (SPX+LL) 群では, SPX後, 連続照明下におき, 自由飲水させた。4. 頭蓋内手術+連続照明+溶媒投与 (SPX+LL+VEH) 群では, SPX後連続照明下におき, 毎日溶媒 (0.1%エタノール水溶液) を19:00から07:00にのみ制限給水した。5. 頭蓋内手術+連続照明+メラトニン投与 (SPX+LL+MEL) 群では, SPX後連続照明下におき, メラトニン添加 (10 μ g/ml) 0.1%エタノール水溶液を毎日19:00から07:00にのみ制限給水した。SPXを施行した各群の動物では06:00に用いた。

動物は速やかに断頭し、直ちに副腎を摘出し Zamboni 液で室温下に 20 時間固定した。固定した副腎は液体窒素を用いて迅速に凍結包埋し、クリオスタットで厚さ 10 μm の凍結切片を作製した。

凍結切片は、immunogold-silver 染色法¹⁷⁾を用いて染色した。一次抗体には抗 methionine-enkephalin (MET-ENK) 抗体 (1,000 倍希釈液) 及び抗 phenylethanolamine-N-methyl transferase (PNMT) 抗体 (1,000 倍希釈液) を使用して、それぞれの抗体を隣接切片に使用することによって、副腎髄質アドレナリン (A) 細胞及びノルアドレナリン (NA) 細胞の分布と MET-ENK 様免疫反応性陽性細胞の分布及び反応性の強度を比較検討した。このような検討を各個体で少なくとも 2 回行った。一次抗体として ETI 社 (Allendale, NJ, U.S.A) の抗 MET-ENK 抗体及び Chemicon 社 (St. Elsegundo, Calif., U.S.A.) の抗 PNMT 抗体を用い、二次抗体と銀増感液にはそれぞれ BioCell 社 (Cardiff, U.K.) の gold conjugates (5 nm) と silver enhancing kit を用いた。また一部の標本においてはヘマトキシリン-エオシン (HE) 染色を行った。抗 MET-ENK 抗体は MET-ENK (500 倍希釈の抗 MET-ENK 抗体 1 ml に対して 50 μg) を用いて免疫吸収試験を行った⁵⁾。

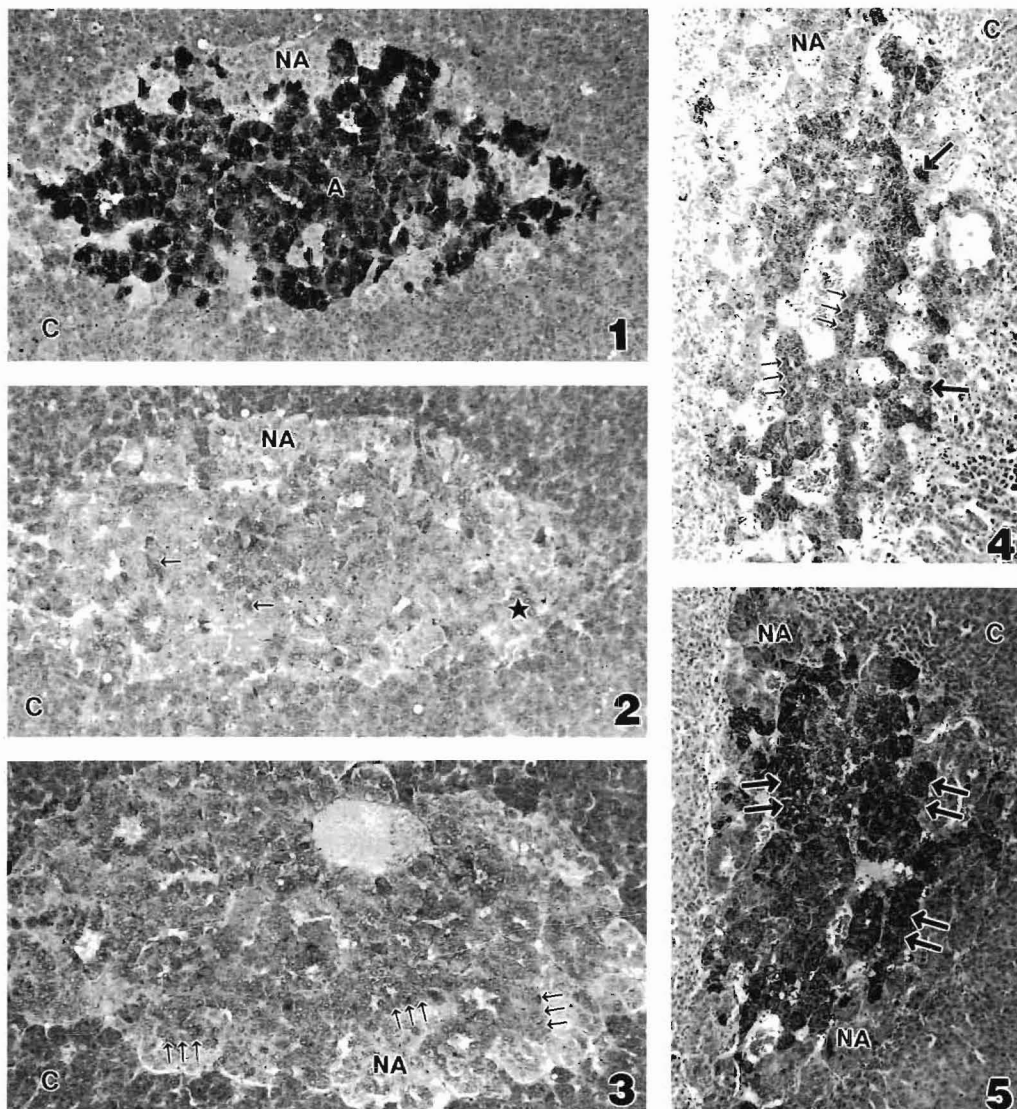
結 果

副腎は、その HE 染色標本において、皮質細胞は髄質細胞に比べ細胞質が強い好酸性を示し、やや小型であった。また髄質においては PNMT に対する免疫反応陽性細胞は傍皮質域の一部を除いては中央部にあって、その全体を占有し、PNMT 免疫反応陰性細胞は比較的狭い傍皮質域に局在し、そのほぼ大部分を占めた (図 1)。各実験群で、髄質傍皮質域における PNMT 免疫反応陰性の NA 細胞において、強い MET-ENK 様免疫反応性が認められた。しかし、この免疫反応性は MET-ENK による吸収試験後もなお弱く残

存した。一方、PNMT 免疫反応陽性の A 細胞に見られた MET-ENK 様免疫反応性は吸収試験により反応が消失した。以上の結果から、MET-ENK 様免疫反応性には、NA 細胞においては MET-ENK の存在による陽性反応の他に、非特異的の反応も含まれると見なされたのに対し、A 細胞では純粋に MET-ENK の存在を反映するものとみなされ、本研究では副腎髄質 A 細胞における免疫反応性を中心に検討した。

NO 群では副腎髄質 A 細胞領域全体における MET-ENK 様免疫反応性は明期の 12:00, 18:00 では一般に弱く (図 2), 00:00 で若干強くなり (図 3), 06:00 で最強となる (図 4) 日内変動を示した。06:00 では少数の A 細胞の胞体内に顆粒状の強い MET-ENK 様免疫反応性を認め、またそれ以外のほとんど全ての A 細胞にも弱い MET-ENK 様免疫反応性を認めた。06:00 において、SPX 群では NO 群と同様に A 細胞の胞体内に顆粒状の強い MET-ENK 様免疫反応性を認めたが、その数は NO 群より更に増加していた (図 5)。また、その他の弱い MET-ENK 様免疫反応性を示した A 細胞も NO 群に比較すると免疫反応性は強かった。SPX+LL 群と SPX+LL+VEH 群では SPX 群で増加した MET-ENK 様免疫反応性強陽性細胞をほとんど認めず、全体的にその免疫反応性は弱く、NO 群の明期の髄質とほぼ同様の反応性を示した。SPX+LL+MEL 群では同時点の NO 群、SPX+LL 群、及び SPX+LL+VEH 群と比較して MET-ENK 様免疫反応性強陽性細胞の増加が認められ、反応性は SPX 群と同様あるいは一層強い傾向を示した。

このような副腎髄質 A 細胞における MET-ENK 様免疫反応性の半定量的評価を以下のように行った。A 細胞領域に MET-ENK 様免疫反応性を認めない場合を (-), 弱い免疫反応性を示した細胞が A 細胞領域の 50% 未満に相当する面積を占めた場合を (±) (図 2), 弱い免疫反応性を A 細胞領域の 50% 以上の細



- 図 1 ゴールデンハムスターの副腎髄質のA細胞とNA細胞。視野の周辺部に皮質(C)が見られる。髄質の傍皮質域にはPNMT陰性のNA細胞が局在し、その内側の広い中心部をPNMT陽性のA細胞が占める。NO群(06:00)。immunogold-silver染色及びHE染色、 $\times 100$
- 図 2 ゴールデンハムスターの副腎髄質のMET-ENK様免疫反応性。評価： \pm 。A細胞領域に弱い反応性を示す細胞(小矢印)を少数認める。また、NA細胞領域に非特異的反応(★)を認める。NO群(18:00)。immunogold-silver染色及びHE染色、 $\times 100$
- 図 3 ゴールデンハムスターの副腎髄質のMET-ENK様免疫反応性。評価： $+$ 。A細胞領域にその50%以上を占める多数の反応陽性細胞(小矢印)を認める。また、傍皮質域にはMET-ENK陰性のNA細胞領域(NA)を認める。NO群(00:00)。immunogold-silver染色及びHE染色、 $\times 100$
- 図 4 ゴールデンハムスターの副腎髄質のMET-ENK様免疫反応性。評価： $++$ 。弱い反応性を示す細胞(小矢印)をA細胞領域の50%以上を占める程多数認め、強い反応性を示す細胞(大矢印)をA細胞領域の50%未満に認める。NO群(06:00)。immunogold-silver染色及びHE染色、 $\times 100$
- 図 5 ゴールデンハムスターの副腎髄質のMET-ENK様免疫反応性。評価： $+++$ 。A細胞領域全体に強い反応性を示す細胞(大矢印)を認める。SPX群(06:00)。immunogold-silver染色及びHE染色、 $\times 100$

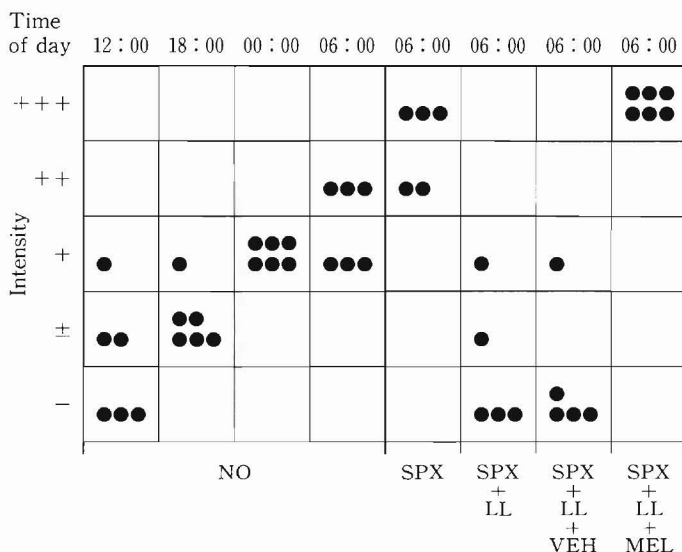


図 6 各実験群における副腎髄質A細胞のMET-ENK 様免疫反応性の強度。●は各個体を示す。

NOは正常無処置対照群, SPXは頭蓋内手術群, SPX+LLは頭蓋内手術+連続照明群, SPX+LL+VEHは頭蓋内手術+連続照明+溶媒投与群, SPX+LL+MELは頭蓋内手術+連続照明+メラトニン投与群。

胞で認めた場合を(+) (図3), 弱陽性細胞に加えてMET-ENK 強陽性細胞をA細胞領域の50%未満に認めた場合を(++) (図4), 強い免疫反応性を示すMET-ENK 陽性細胞をA細胞領域の50%以上に認めた標本を(+++) (図5)とした。各群, 各時点での各個体における免疫反応性の評価の結果を図6に示した。MET-ENK 様免疫反応性はNO群では, 暗期の2時点において全例で(+)から(++)の強度を示し, 特に暗終期の06:00では半数例においてNO群各時点における最高の強度(++)を示した。これに対し明期の2時点では, 反応は一般に弱く, 特に12:00ではほとんどの例で(-)から(±)の不明瞭な反応しか認められなかった。また06:00での各実験群における反応強度を比較すると, SPX群では(++)から(+++), SPX+LL+MEL群においては全例で(+++)の最も強い反応性を示した。一方, SPX+LL群及びSPX+LL+VEH群ではNO群での12:00におけると同様の傾向を示

し, ほとんどの例で(-)から(±)の不明瞭な反応性を示すのみであった。

考 察

本研究では, 副腎髄質エンケファリン様免疫反応性に関する私共のこれまでの研究¹⁶⁾とは若干異なる材料と方法を用いた。すなわち, 先の研究では実験動物にラットを用いたが, その後, 白色及び褐色ラットとゴールデンハムスターを日内2時点以上で比較し, 髄質細胞におけるMET-ENK 様免疫反応性は日内各時点でゴールデンハムスターにおいて最も高度であることを見出した(未発表)。BOHNら⁴⁾は, 動物を殺した日内時点は明らかでないが, ゴールデンハムスターとモルモットではラットよりも副腎髄質におけるMET-ENK 及びロイシン-エンケファリン(LEU-ENK) 様免疫反応陽性細胞が多いと述べている。FRANKLINら¹⁸⁾も, 副腎髄質エンケファリン含有ペプチド量を生化学的に測定し, 日内1時点で比較した成績ではあるが,

ゴールデンハムスターにおいてラットよりもその含有量が約90倍高かったと報告している。更に、ラットでは副腎髄質のエンケファリンレベルは神経支配除去によって増加する^{5,19)}のに対し、ゴールデンハムスターでは、ウシと同様、逆に低下する¹⁸⁾ことを見出した。

一方、これまでの各種形態学的指標を用いた副腎髄質に対する松果体からの影響を検索した結果によると、松果体除去の影響は少なくともラットではNA細胞よりもA細胞に強く現れる¹⁰⁾。また、ゴールデンハムスターを含め、一般にMET-ENKはNA細胞よりもA細胞に多量に含まれると言われ³⁾、更に前述のように、NA細胞においてはMET-ENK様免疫反応性の中に非特異的反応も含まれることが判ったこともあって、本研究ではA細胞におけるMET-ENK様免疫反応性についてのみ検索を行った。副腎髄質におけるA細胞とNA細胞の分布を見ると、ラットでは両細胞領域が混在するのに対し、ゴールデンハムスターではNA細胞は傍皮質域に限局する一方、髄質中央部はA細胞が占有するという特徴的分布を示す²⁰⁾。したがって、ゴールデンハムスターでは、副腎髄質の中央部を観察すれば、ほぼA細胞領域を観察していることになり、煩雑なNA細胞との鑑別に過大な注意を払う必要はない。この点からもゴールデンハムスターの副腎髄質は有用な実験材料と考えられる。免疫組織化学的方法として本研究で用いられたimmunogold-silver法は、これまで私共が用いてきたABC法よりも感度が若干良く、更に染色過程でペルオキシダーゼ反応を利用していないため、内因性ペルオキシダーゼによる非特異的反応が少ない¹⁷⁾。これらの利点から本研究ではこの染色法が用いられた。

私共は先に、ラット副腎髄質A細胞のMET-ENK様免疫反応性がSPXにより増強し、松果体除去動物ではこの増強反応は起こらないことを報告した¹⁶⁾。前述のFRANK-

LINら¹⁸⁾による髄質エンケファリン含有ペプチドに及ぼす神経支配除去の影響の成績は今後更に様々な角度から追試確認する必要もあるが、ここでは彼らの成績が正しいと考えて考察を進めると、神経支配除去によって髄質エンケファリンレベルはラットでは増加するのに対し、ゴールデンハムスターでは低下することになる。一方、私共の今回及び先の成績では、SPXはラットでもゴールデンハムスターでも髄質の大部分を占めるA細胞におけるメチオニン-エンケファリンレベルを増加させた。したがって、このSPXのエンケファリン増加効果は髄質A細胞への節前神経の活動低下によるものとは考え難いことになる。SPXが、ある種の動物では血中のメラトニンレベルを著しく増加させ²¹⁾、松果体除去がこのメラトニン増加を阻止すること、更に松果体除去はSPXによる副腎髄質エンケファリン増加効果をも阻止するという私共の先の報告¹⁶⁾を併せ考えると、SPXによって増加した松果体からのメラトニン分泌が直接的に、あるいは下垂体や副腎皮質ホルモンなどを介して間接的に、髄質A細胞に作用する可能性が考えられる。一方、SPXはラットでは節前神経の活動低下を来すのに対し、ゴールデンハムスターではその活動亢進を起こす可能性も考えられ、今後の検討が必要である。しかしながら、私共の先の報告によればラット及びゴールデンハムスター副腎髄質における節前神経終末の微細構造は松果体除去やSPXにより両動物で類似の変化を示すことから、この後者の可能性は考え難いかもしれない。

一方、松果体からの影響を除く目的で先の実験で私共は松果体除去術を行った。しかしながら松果体除去術は大きな侵襲を伴い、メラトニン分泌消失以外の影響が関与している可能性も否定できない。そこで本研究では、松果体除去術のような侵襲を与えないで松果体でのメラトニン合成・分泌を抑制し、血中メラトニンレベルを著減させる連続照明⁹⁾を行

ったが、やはり松果体除去と同様に、SPX による髄質 A 細胞のエンケファリン増加反応を阻止し、エンケファリン量の減少を起こした。したがって、このような松果体除去や連続照明のエンケファリン増加阻止効果が、メラトニンの補充によって抑制・消失することが期待される。しかしながら、私共の先の実験では、毎日 16:30 から 17:00 の間に 1 回、連日 10 日間、メラトニンを皮下注射したが、頭蓋内手術ラットで見られたような髄質 A 細胞における多量のエンケファリンの出現は認められなかった。皮下注射は痛みや束縛を伴い、更にメラトニンの血中濃度を一過性に上昇させるに過ぎない等の難点がある他、投与量がメラトニンの生理的血中レベルを大幅に超過させた可能性があった。これらの点を考慮して本研究では、メラトニンを非侵襲的で持続的に投与できる経口投与方法を用い、また投与量も血中レベルが生理的なレベルを若干上回るように濃度を調節し²²⁾、毎日 19:00~07:00 の 12 時間投与した。留置カテーテルを用い無拘束で夜間静脈内に持続投与する方法も今後検討すべき方法であろう。ともあれ本研究では、LL 下で飼育した SPX 動物にメラトニンを投与すると、すべての動物で A 細胞のエンケファリンレベルの明瞭な増加が認められた。これらの実験結果は、頭蓋内手術が松果体からのメラトニン分泌を介して副腎髄質 A 細胞の MET-ENK 量を増加させるという仮説を支持するものである。

私共のこれまでの実験成績によると、SPX は、ラットでは髄質 A 細胞・NA 細胞のペプチド合成に関与する粗面小胞体の集合・大規模化や総体積の増加を起こし、松果体除去はこれと反対の効果をもたらした²³⁾。しかしながら、これに関するゴールデンハムスターでの検索成績はまだない。また、ゴールデンハムスター副腎髄質において、血管周囲腔に面する細胞膜上に開口分泌像を有する A 細胞の頻度は、SPX 動物で正常及び松果体除去動物よりも低かった²⁴⁾。このように SPX は髄質 A

細胞における MET-ENK の前駆物質からの合成を促進し、少なくとも一部の A 細胞で血管周囲腔への分泌を抑制している可能性が考えられる。また、これと関連して、ラットやゴールデンハムスター副腎髄質の節前神経終末における小型明小胞の密度や、A 細胞におけるミトコンドリアの数も、松果体除去動物で両対照群の動物より多かった^{10, 24)}。このように髄質 A 細胞には、SPX や松果体からのホルモンによって同時に促進と抑制という相反する影響をうける 2 群の形態学的要素が存在するらしい。

最近、中枢神経系におけるオピオイド系の活動と松果体ホルモンとの間には相互作用が想定され、メラトニンが鎮痛機構に関与する可能性が考えられている^{13, 25)}。これに対して血中のエンケファリンは主に副腎髄質に由来するとされているが、その機能的意義はまだまだ明確ではない。しかしながら、エンケファリンはストレス反応において、これと一緒に放出されるカテコールアミンに対する髄質細胞自身の、あるいは末梢レベルでの、過剰な反応やカテコールアミンの放出の抑制に働くとの可能性が唱えられている^{26, 27)}。更にまた副腎髄質からのエンケファリンは、本研究における頭蓋内手術のような場合には、リンパ球、NK 細胞、単球などの生体防御機構の細胞の活性化^{28, 29)} などによっても、外界からの侵襲に適切に対処し、回復に貢献しているのかもしれない。

謝 辞

稿を終えるにあたり御校閲と御助言を賜った松木明知教授に心より感謝致します。また本研究の遂行にあたり終始協力して頂いた鈴木孝夫講師に深謝致します。更に、多大なるご協力を頂いた第二解剖学教室員一同に御礼申し上げます。

文 献

- 1) SCHULTZBERG, M., LUNDBERG, J. M., HÖKFELT, T. *et al.*: Enkephalin-like immunoreactivity in gland cells and nerve terminals of the adrenal medulla. *Neuroscience*, 3 : 1169-

- 1186, 1978.
- 2) LUNDBERG, J. M., HAMBERGER, B., SCHULTZBERG, M. *et al.* : Enkephalin- and somatostatin-like immunoreactivities in human adrenal medulla and pheochromocytoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76** : 4079-4083, 1979.
 - 3) PELTO-HUIKKO, M., SALMINEN, T., and HERVONEN, A. : Enkephalin-like immunoreactivity is restricted to the adrenaline cells in the hamster adrenal medulla. *Histochemistry*, **73** : 493-497, 1982.
 - 4) BOHN, M. C., KESSLER, J. A., GOLIGHTLY, L. *et al.* : Appearance of enkephalin-immunoreactivity in rat adrenal medulla following treatment with nicotinic antagonists or reserpine. *Cell Tissue Res.*, **231** : 469-479, 1983.
 - 5) PELTO-HUIKKO, M., SALMINEN, T., and HERVONEN, A. : Localization of enkephalins in cells and the nerves innervating adrenaline cells in rat adrenal medulla. *Histochemistry*, **82** : 377-383, 1985.
 - 6) HERVONEN, A., PELTO-HUIKKO, M., and LINNOILA, I. : Ultrastructural localization of enkephalin-like immunoreactivity in the rat adrenal medulla. *Am. J. Anat.*, **157** : 445-448, 1980.
 - 7) CARMICHAEL, S. W. and STODDARD, S. L. (eds.) : *The Adrenal Medulla*. CRC Press, Boca Raton, 1993.
 - 8) NORMAN, A. W. and LITWACK, G. : *Hormones*. 479, Academic Press, Orlando, 1987.
 - 9) GOLDMAN, B. D. : The physiology of melatonin in mammals. *Pineal Res. Rev.*, **1** : 145-182, 1983.
 - 10) KACHI, T. : Pineal actions on the autonomic system. *Pineal Res. Rev.*, **5** : 217-263, 1987.
 - 11) YU, H. S. and REITER, R. J. (eds.) : *Melatonin. Biosynthesis, Physiological Effects, and Clinical Applications*. CRC Press, Boca Raton, 1993.
 - 12) WESCHE, D. L., and FREDERICKSON, R. C. A. : Diurnal differences in opioid peptide levels correlated with nociceptive sensitivity. *Life Sci.*, **24** : 1861-1868, 1979.
 - 13) LAKIN, M. L., MILLER, C. H., STOTT, M. L. *et al.* : Involvement of the pineal gland and melatonin in murine analgesia. *Life Sci.*, **29** : 2543-2551, 1981.
 - 14) KUMAR, M. S. A., CHEN, C. L., SHARP, D. C. *et al.* : Diurnal fluctuations in methionine-enkephalin levels in the hypothalamus and preoptic area of the male rat : effects of pinealectomy. *Neuroendocrinology*, **35** : 28-31, 1982.
 - 15) ROBERTS, A. C., MARTENSZ, N. D., HASTINGS, M. H. *et al.* : Changes in photoperiod alter the daily rhythms of pineal melatonin content and hypothalamic β -endorphin content and the luteinizing hormone response to naloxone in the male Syrian hamster. *Endocrinology*, **117** : 141-148, 1985.
 - 16) KACHI, T., TAKAHASHI, G., SUZUKI, T. *et al.* : Effects of pineal and intracranial surgery on the adrenal medulla : quantitative morphological and immunohistochemical studies. TOUITOU, Y., ARENDT, J. and PÉVET, P. (eds.) : *Melatonin and the Pineal Gland-From Basic Science to Clinical Application*, 277-280, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 1993.
 - 17) SPRINGALL, D. R., HACKER, G. W., GRIMELIUS, L. *et al.* : The potential of the immunogold-silver staining method for paraffin sections. *Histochemistry*, **81** : 603-608, 1984.
 - 18) FRANKLIN, S. O., YOBURN, B. C., ZHU, Y-S. *et al.* : Preproenkephalin mRNA and enkephalin in normal and denervated adrenals in the Syrian hamster : comparison with central nervous system tissues. *Mol. Brain Res.*, **10** : 241-250, 1991.
 - 19) LEWIS, R. V., STERN, A. S., KILPATRICK, D. L. *et al.* : Marked increases in large enkephalin-containing polypeptides in the rat adrenal gland following denervation. *J. Neurosci.*, **1** : 80-82, 1981.
 - 20) AL-LAMI, F. : Follicular arrangements in hamster adrenomedullary cells : light and electron microscopic study. *Anat. Rec.*, **168** : 161-178, 1970.
 - 21) OWENS, D. W., and GERN, W. A. : The pineal gland and melatonin in sea turtles. LOFTS, B. and HOLMES, W. N. (eds.) : *Current Trends in Comparative Endocrinology*, 645-648, Hong Kong University Press, Hong Kong, 1985.
 - 22) VRIEND, J. : Pineal-thyroid interactions. *Pineal Res. Rev.*, **1** : 183-206, 1983.
 - 23) KACHI, T., TAKAHASHI, G., BANERJI, T. K. *et al.* : Rough endoplasmic reticulum in the

- adrenaline and noradrenaline cells of the adrenal medulla : Effects of intracranial surgery and pinealectomy. *J. Pineal Res.*, **12** : 89-95, 1992.
- 24) KACHI, T., TAKAHASHI, G., SUZUKI, T. et al. : Relationship between pineal gland and adrenal medulla. TANG, P. L., PANG, S. F. and REITER, R. J. (eds.) : Melatonin-A universal photoperiodic signal. *Front. Hormone Res.*, **21** : 51-59, S. Karger AG, Basel, 1996.
- 25) FRASCHINI, F., ESPOSTI, D., ESPOSTI, G. et al. : On a possible role of endogenous opioid peptides on melatonin secretion. REITER, R. J. and PANG, S. F. (eds.) : *Adv. Pineal Res.*, **3** : 127-132, John Libbey & Company Ltd, London, 1989.
- 26) NORTH, R. A. and TERRY, M. E. : Actions and distributions of opioid peptides in peripheral tissues. *Br. Med. Bull.*, **39** : 71-75, 1983.
- 27) SCHADT, J. C. and GADDIS, R. R. : Endogenous opiate peptides may limit norepinephrine release during hemorrhage. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **232** : 656-660, 1985.
- 28) WYBRAN, J. : Enkephalins and endorphins as modifiers of the immune system : present and future. *Fed. Proc.*, **44** : 92-94, 1985.
- 29) PLOTNIKOFF, N. P., MURGO, A. J., MILLER, G. C. et al. : Enkephalins : immunomodulators. *Fed. Proc.*, **44** : 118-122, 1985.