

# 糖尿病モデルラットの視床下部ニューロペプチド Y の変動について

阿 部 充 志

愛媛大学医学部眼科学

## *Neuropeptide Y increases in the specific hypothalamic nuclei of IDDM and NIDDM rats*

Mitsushi Abe

Department of Ophthalmology, School of Medicine, Ehime University

### Summary

Neuropeptide Y (NPY) concentration was determined by radioimmunoassay in selected hypothalamic regions microdissected from fresh brain slices of diabetic rats. In spontaneously diabetic (BB) rats, a model of IDDM, the NPY concentration was higher in the paraventricular nucleus (PVN) and the arcuate nucleus (ARH) than in control rats. Similar changes in NPY concentration were also found in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats, another model of IDDM. In Wister fatty rats, a model of NIDDM, the NPY concentration was also high in the PVN. When STZ-diabetic rats were treated with insulin, the elevated concentration of NPY in the PVN returned to the normal level. These findings support the idea that there is a NPYergic neuronal system in the ARH-PVN area which controls the endocrine pancreas.

### Key Words

Neuropeptide Y, BB rat, Wister fatty rat, Zucker rat, paraventricular hypothalamic nucleus, arcuate nucleus, microdissection

### 緒 言

ニューロペプチド Y (Neuropeptide Y; NPY) は、36コのアミノ酸残基よりなる神経ペプチドで、交感神経終末や間脳、視床下部に高い密度で分布している<sup>3),5),7),19)</sup>。視床下部のうちでも、室傍部 (paraventricular nucleus; PVN) は、特に NPY 含有神経末端の多い部位

であり<sup>7)</sup>、その多くは、同側の弓状核 (arcuate nucleus; ARH) に由来していることが知られている<sup>2),6),10)</sup>。

PVN は、バゾプレッシンやオキシトシンあるいは、CRF (corticotropin-releasing factor) などの合成、摂食行動の調節などを行う部位とされているが、最近、これらの PVN の調節機構への NPY の関与を示唆する結果が集まりつつある。例えば、PVN へ NPY を微量注入すると、摂食行動の誘発<sup>10)</sup>や下垂体—副腎皮質系の活性化<sup>12),20)</sup>、バゾプレッシン分泌の増加<sup>12)</sup>、胃酸分泌の抑制<sup>6)</sup>が起こる。また、我々は、ラット PVN への NPY の

1989年12月12日受理  
愛媛大学医学部眼科学

微量注入により、著明なインスリン分泌が誘発されることを見いだした<sup>1)</sup>。

このような NPY の外部投与効果についての成績は、いずれも、NPY が視床下部、特に PVN において摂食行動や自律神経、内分泌機能の調節に関与していることを予想させるものである。しかし、その機構が生理的条件下で実際に作動していることを確認するためには、内在性の NPY が行動や生理活動の変動に応じて、どのように変化するかを検討する必要がある。このような考え方に立って、本研究では、膵内分泌と摂食調節に対する NPY の PVN 投与効果についての我々の知見<sup>1)</sup>をふまえて、各種の膵内分泌異常（糖尿病）及び肥満モデル動物において、PVN を始めとする視床下部各部位での NPY の動態を明らかにすることを旨とした。

NPY の radioimmunoassay 法が開発されて以来、視床下部の NPY を定量した報告もいくつか見られるが、絶食及び再摂食により可逆的に変化すること<sup>16)</sup>と、ストレプトゾトシン (streptozotocin; STZ) による糖尿病ラットで増加すること<sup>21), 22)</sup>が知られているに過ぎない。そこで、今回、STZ—糖尿病ラットに加えて、遺伝性のモデル動物として、インスリン依存性糖尿病 (IDDM) のモデル動物である BB ラット<sup>14)</sup>、インスリン非依存性糖尿病 (NIDDM) のモデルである Wistar fatty ラット<sup>9)</sup>、そして、肥満モデルの Zucker ラット<sup>23)</sup>を用い、PVN 及び ARH を含むいくつかの視床下部の核についてその NPY 含量を定量した。また、STZ—糖尿病ラットについては、インスリン補充の効果についても検討した。

## 実験方法

実験動物：自然発症の IDDM のモデルである BB ラット (雌性) は、愛媛大学医学部小児科学教室で維持されているコロニーより提供を受けた。糖尿出現と高血糖 (300mg/100ml 以上) により糖尿病が発症したと判断されてから、顕性糖尿病の発症14—20日後 (11—14週齢) に屠殺した。対照群としては、Wistar 系ラット (雌性) を用いた。NIDDM のモデルと考えられる Wistar fatty ラット (雄性) 及び遺伝性肥満ラットである Zucker ラット (雄性) は、武田薬品生物研究所より提供を受けた。

糖尿病ラットにおけるインスリン補充の効果を検討する目的で、SD 系雄性ラットに、ストレプトゾトシン (55mg/kg, Sigma) を経静脈的に投与し、STZ—糖尿病ラットを作成した。対照群としては、等量の緩衝液を投与した。尿糖及び尿中のケトン体は、試験紙 (Keto-Diastix, Miles-Sankyo, Tokyo) で週2—3回測定した。ラットは、12日目、21日目及び32日目に屠殺した。うち1群は、13日目より32日目まで、中間型インスリン

(Monotard Human, Novo) を14—16単位ずつ午後5—6時に皮下注射した。ラットは、屠殺時に等しい週齢になるように計画した。

全てのラットは、12時間の明暗期 (午前7—午後7時が明期) の恒温室 (24°C) で自由摂食下に飼育した。摂食量は、屠殺前3日間の餌の減少量より算出した。屠殺時に頸部より採血し、血漿を分離して保存した。また、同時に子宮周囲ないしは副睾丸脂肪組織を採取し重量を測定した。

脳試料の採取：屠殺後直ちに脳を取り出し、-14°C でクライオスタットにて300µmの前額断の連続凍結切片を作成した。PVN, ARH, 腹内側核 (ventromedial nucleus; VMH), 視交叉上核 (suprachiasmatic nucleus; SCN) 及び外側視床下部 (lateral hypothalamic area; LH) を、Palkowits らの方法<sup>15)</sup>に準じて、punching needle (ARH には内径0.3mm, 他の部位は内径0.6mm) にて punch out した。punch out した部位は、König & Klippel のアトラス<sup>11)</sup>にて実体顕微鏡下で確認した。punch out した試料は、氷冷の0.1N 酢酸溶液0.5ml 中で、ポリトロンホモゲナイザーにてホモゲナイズし、遠心分離後その上清を凍結乾燥し-80°C で保存し NPY 定量に供した。また、遠心沈渣は、蛋白定量に用いた。

定量法：NPY の定量は、radioimmunoassay 法<sup>9)</sup>にて行った。すなわち、試料に<sup>125</sup>I でラベルしたブタ NPY (Amersham) と NPY の C 末端に対するウサギ抗体 (Amersham) を加えて、4°C で48時間静置後、未結合の<sup>125</sup>I-NPY を Chacoal に吸着させて取り除き、抗体に結合した<sup>125</sup>I-NPY をγ-カウンターで測定した。遠心沈渣中の組織蛋白量は、Lowry らの方法<sup>13)</sup>にて定量した。また、血漿中のグルコース (グルコースオキシダーゼ法, Autopack-A glucose kit, Boehringer), 中性脂肪<sup>17)</sup>及びインスリン (Insulin RIA kit, ミドリ十字) をそれぞれ定量した。

実験結果の解析：結果は全て平均値±標準誤差で表し、t-検定または分散分析で分析した。分散分析で有意差が見いだされた場合、続いて Newman-Keuls' multiple-range test を行った。有意水準を5%とした。

## 結果

自然発症の IDDM のモデルである BB ラットの一般性状を表1に示した。顕著な高血糖、低インスリン血症を主徴とし、著しい過食にも拘らず、低体重と白色脂肪の減少が確認された。視床下部の NPY 含量は、対照並びに BB ラットで共に、PVN 及び ARH において他の部位に比べて高値であった。さらに、BB ラットのこれら両部位では、対照ラットの2—2.5倍に増加していた

(図1)。視床下部の他の部位, 例えば VMH, SCN, LH でも, BB ラットの方が高値となる傾向にあったが, 対照群との間に統計学的に有意差は認められなかった。

次に、遺伝的に肥満と高血糖を発現し, NIDDM のモデルと考えられる Wistar fatty ラットの視床下部諸核の NPY 含量を検討した。5 週齢, 14 週齢及び22 週齢の Wistar fatty ラットの身体的特徴を表2に示した。5 週齢の fatty ラットでは, 同腹の対照 (lean) ラットに比べて, 既に摂食量の増加, 高インスリン血症, 白色脂肪量の増加がみられるが, 体重及び血糖値については有意な差は認められなかった。14 週齢になると, 体重の増加及び著明な高血糖が認められるようになり, これらは22 週齢まで持続した。Wistar fatty ラットの視床下部の諸核の NPY 含量を同腹の対照ラットと比較検討すると (図2), 5 週齢, 14 週齢そして22 週齢とすべての週齢で, PVN の NPY 含量の増加を認めた。しかしながら, 他の視床下部諸核においては, NPY 含量の差は認められ

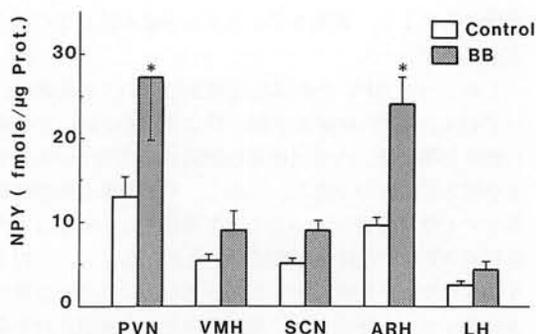


Fig. 1. Tissue neuropeptide Y concentrations in 5 hypothalamic regions of BB rats (BB) and control Wistar rats (control). PVN, paraventricular nucleus; VMH, ventromedial nucleus; SCN, supra-chiasmatic nucleus; ARH, arcuate nucleus; LH, lateral hypothalamic area. Values are means  $\pm$  SE. \*P < 0.05 vs. control as determined by Newman-Keuls' multiple-range test.

Table 1. Profile of the BB rat.

	Control (n = 5)	BB (n = 7)
Food intake (g / day)	17.6 $\pm$ 1.2	35.6 $\pm$ 1.4*
Body weight (g)	233 $\pm$ 10	185 $\pm$ 8**
White adipose tissue Parametrial (g)	2.75 $\pm$ 0.12	0.72 $\pm$ 0.09*
Plasma concentration		
Glucose (mg / 100ml)	154.9 $\pm$ 3.5	504.8 $\pm$ 9.5*
Triglyceride (mg / 100ml)	78.9 $\pm$ 5.5	145 $\pm$ 7.8*
Insulin ( $\mu$ U / ml)	44.4 $\pm$ 4.5	7.5 $\pm$ 1.7*

Values are means  $\pm$  SE for BB rats (BB) and control Wistar rats (control).  
\*P < 0.001, \*\*P < 0.02 compared to the values in controls.

Table 2. Profile of the Wistar fatty rat.

	W-lean 5 wks (n = 5)	W-fatty 5 wks (n = 5)	W-lean 14 wks (n = 4)	W-fatty 14 wks (n = 4)	W-lean 22 wks (n = 5)	W-fatty 22 wks (n = 5)
Food intake (g/day)	16.3 $\pm$ 0.8	26.6 $\pm$ 1.6*	20.0 $\pm$ 1.1	37.1 $\pm$ 0.9*	20.4 $\pm$ 0.5	35.4 $\pm$ 1.5*
Body weight (g)	110 $\pm$ 8	114 $\pm$ 10	360 $\pm$ 11	508 $\pm$ 6*	439 $\pm$ 10	663 $\pm$ 12*
White adipose tissue Epididymal (g)	0.43 $\pm$ 0.07	0.75 $\pm$ 0.08**	3.40 $\pm$ 0.03	10.96 $\pm$ 0.62*	5.66 $\pm$ 0.38	17.18 $\pm$ 0.86*
Plasma concentration						
Glucose (mg/100ml)	169.0 $\pm$ 9.2	180.0 $\pm$ 5.0	126.0 $\pm$ 3.2	359.0 $\pm$ 14.9*	114.4 $\pm$ 1.3	409.2 $\pm$ 23.0*
Triglyceride (mg/100ml)	112.0 $\pm$ 4.4	129.0 $\pm$ 3.7***	93.5 $\pm$ 6.9	316.0 $\pm$ 26.3*	119.4 $\pm$ 12.5	387.8 $\pm$ 26.9*
Insulin ( $\mu$ U/ml)	22.7 $\pm$ 4.8	61.4 $\pm$ 5.4*	40.3 $\pm$ 2.7	471.8 $\pm$ 65.2*	34.6 $\pm$ 2.7	498.6 $\pm$ 51.1*

Values are means  $\pm$  SE for obese Wistar fatty rats (W-fatty) and their lean littermates (W-lean).  
\*P < 0.001, \*\*P < 0.01, \*\*\*P < 0.02 compared to the values in the lean littermates.

なかった。

次に、Wistar fatty ラットと同じく 'fa' gene を持つ遺伝性肥満ラットである Zucker ラットについて同様の実験を行った。Zucker ラットは、表3に示したように、

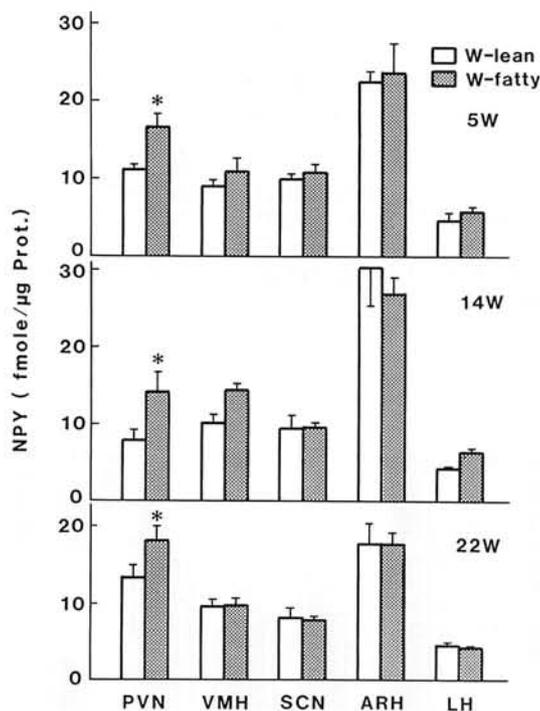


Fig. 2. Tissue neuropeptide Y concentrations (means  $\pm$  SE) in 5 hypothalamic regions of obese Wistar fatty rats (W-fatty) and lean littermates (W-lean) at 5, 14 and 22 wks of age. \* $P < 0.05$  vs. lean littermates as determined by Newman-Keuls' multiple-range test.

同腹の対照 (lean) ラットに比べて、過食及び顕著な肥満を示し、高インスリン血症及び高血糖を示した。しかしながら、この高インスリン血症及び高血糖は Wistar fatty ラットほど著しくなく、かつ Wistar fatty ラットのような多飲多尿、尿糖を示すことはなかった。この Zucker ラットについて、視床下部諸核の NPY 含量を測定すると (図3)、VMH 及び ARH において、同腹の対照ラットと比べて有意な増加が認められた。PVN については、対照と比較して有意な差異は認められなかったが、この場合の対照ラットの PVN における NPY 含量は他の対照ラット (図1, 2 及び4) に比べて高い傾向を示した。

最後に、STZ による IDDM ラットを作成し、インスリン補充による視床下部の NPY 含量の変化を検討した。STZ 投与により、血中インスリン値の低下、多食、

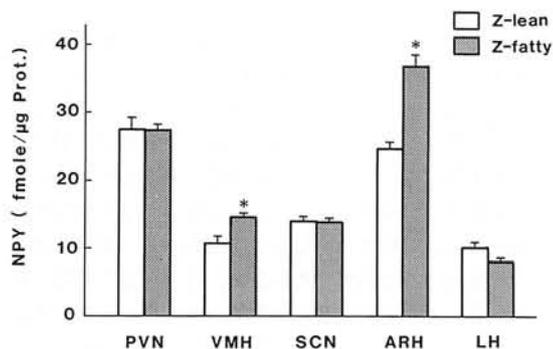


Fig. 3. Tissue neuropeptide Y concentrations (mean  $\pm$  SE) in 5 hypothalamic regions of obese Zucker rats (Z-fatty) and lean littermates (Z-lean) at 14 wks of age. \* $P < 0.05$  vs. lean littermates as determined by Newman-Keuls' multiple-range test.

Table 3. Profile of the Zucker fatty rat.

	Z-lean 14 wks (n = 6)	Z-fatty 14 wks (n = 6)
Food intake (g / day)	22.9 $\pm$ 0.5	32.9 $\pm$ 1.0*
Body weight (g)	323 $\pm$ 15	494 $\pm$ 19*
White adipose tissue		
Epididymal (g)	2.49 $\pm$ 0.23	13.03 $\pm$ 0.38*
Plasma concentration		
Glucose (mg / 100ml)	165.7 $\pm$ 11.8	283.4 $\pm$ 22.0*
Triglyceride (mg / 100ml)	103.3 $\pm$ 6.9	295.8 $\pm$ 49.8**
Insulin ( $\mu$ U / ml)	46.3 $\pm$ 8.5	129.0 $\pm$ 14.9*

Values are means  $\pm$  SE for obese Zucker rats (Z-fatty) and their lean littermates (Z-lean).

\* $P < 0.001$ , \*\* $P < 0.005$  compared to the values in the lean littermates.

Table 4. Profile of the STZ-induced diabetic rat.

	Control (n=6)	12 day (n=5)	21 day (n=7)	32 day (n=5)	32 day + Insulin (n=5)
Food intake (g/day)	25.2±1.0	39.5±0.8*	45.4±1.7*	50.5±2.7*	31.9±2.2*†
Body weight (g)	394±11	288±6*	275±9*	322±7*	402±11†
White adipose tissue					
Epididymal (g)	2.37±0.25	0.19±0.03*	0.33±0.06*	0.63±0.12*	2.62±0.17†
Retroperitoneal (g)	3.32±0.53	0.30±0.04*	0.08±0.02*	0.49±0.14*	4.23±0.15**
Plasma concentration					
Glucose (mg/100ml)	162.3±5.4	455.0±12.0*	507.5±17.6*	575.3±19.1*	295.0±37.9**
Triglyceride (mg/100ml)	119.8±44.1	70.8±27.7	155.3±67.8	146.9±37.7	193.1±49.6
Insulin (μU/ml)	81.2±10.5	14.1±2.0*	14.6±0.7*	20.0±5.1*	79.6±14.8†

Values are means ± SE for control and streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats at 12, 21, 32 days after the injection of STZ. Insulin treated group was represented as 32 day + insulin.

\*P < 0.05 vs. Control, †P < 0.05 vs. 32 day.

多飲多尿そして顕著なやせ及び高血糖が引き起こされた(表4)。この身体的特徴は、12日目、21日目そして32日目で、ほぼ同じような状態が持続していた。これに対し、13日目よりインスリン補充を行った群では、32日目で、体重及び白色脂肪量は、対照群のレベルかそれ以上に回復を示し、血中インスリン値もインスリン投与後20時間後では、対照群と同じレベルであった。血糖値は、対照群と比べると高値であったが、インスリン非投与群(32日目)に比べると有意に低値であった。また、摂食量は、インスリン非投与群の63%と、有意に減少した。視床下部の諸核のNPY含量は、図4に示すように、STZ投与後12日目には、PVNにおいてのみ有意な増加がみられたが、21日目では、PVN、VMHそしてARHでNPY含量の増加が認められ、これは32日目でも同様であった。しかし、インスリン補充により、PVN及びARHのNPY含量は対照群と同じレベルまで低下した。これに対しVMHでは、インスリン補充によってもNPY含量の低下は認められなかった。また、SCN、LHでは、インスリン補充の有無にかかわらず、STZ投与群との間には、有意なNPY含量の変化は認められなかった。

## 考 察

本研究では、2種の自然発症(遺伝性)糖尿病ラットを用いたが、このうちBBラットは、膵β-細胞の障害が原因で起こる自然発症のIDDMのモデルと考えられ<sup>19)</sup>、STZを投与して作成するモデルと同様の症状を示すとされている。このことは、今回の観察でも確認され、両者で高血糖、低インスリン血症が認められた(表1, 4)。一方、Wistar fattyラットは、Ikedaらにより開発

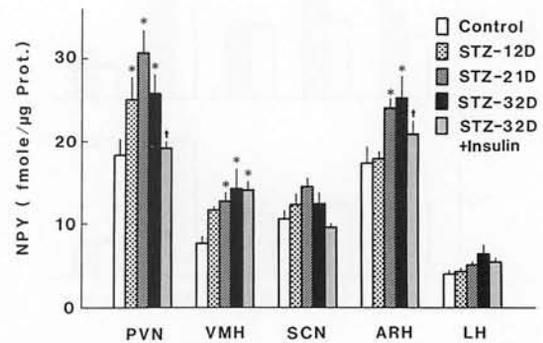


Fig. 4. Tissue neuropeptide Y concentrations (mean ± SE) in 5 hypothalamic regions of control and streptozotocin-induced diabetic rats at 12, 21 and 32 days after streptozotocin injection. One group was treated with insulin from 13th-32nd day (32D + insulin). \*P < 0.05 vs. control and †P < 0.05 vs. diabetic rat at 32 day as determined by Newman-Keuls' multiple-range test.

されたもので<sup>9)</sup>、肥満、高インスリン血症に高血糖並びに糖尿を伴うので、NIDDMのモデルと考えられている。

まず、BBラットにおいて、NPY含量の著明な増加がPVN及びARHにおいて認められた(図1)。同様の結果は、インスリン補充を受けず高血糖となったSTZ-糖尿病ラットにおいても認められた(図4)。STZ-糖尿病での変化は、Williamsらの報告<sup>22)</sup>と一致するものであるが、これらの実験結果は、BBラットにお

ける PVN と ARH での NPY 含量の変化が、遺伝的素因の発現の結果ではなく、インスリンの欠乏ないしはそれによる内部環境の変化（例えば高血糖）によるものであることを示唆している。

PVN における NPY 含量の増加は、NIDDM タイプの糖尿病モデルである Wistar fatty ラットにおいても見出された（図 2）。すなわち、5 週齢から 22 週齢まで、NPY 含量は PVN においてのみ一貫した増加を示した。Wistar fatty ラットは、4 週齢で既に摂食量、血中インスリン及び中性脂肪量が増加するが、血糖値の上昇は、それよりも遅れて 8 週齢になって初めて有意に増加することが知られている<sup>9)</sup>。このことは、今回の実験結果でも確認され、5 週齢では、インスリンと中性脂肪は高値であったが、血糖値は対照群と同レベルであった（表 2）。しかし、PVN における NPY 含量は既に 5 週齢で増加した。この事実は、PVN における NPY 含量の増加が、単に血糖値の変化によるものではないことを示唆している。

IDDM と NIDDM の両者とも、PVN において、NPY 含量の増加がみられるので、血中インスリン値そのものを NPY 含量に影響を与える主要因子と考えることはできない。しかし、NIDDM ではインスリン耐性がみられ、相対的にインスリン作用が不足していることを考えると、IDDM 及び NIDDM はともに絶対的または相対的にインスリン作用の不足した状態であることになる。ところで、正常ラットの PVN に NPY を微量注入するとインスリン分泌が促されることを我々は既に報告した<sup>1)</sup>が、このことは、PVN において NPY が神経伝達物質または神経伝達修飾物質として、膵内分泌の神経性調節に関与していることを示している。PVN のニューロンに対する NPY の作用機構の詳細は未だ明らかでないが、NPY の微量注入実験の結果は、今回見られた PVN の NPY 含量の増加現象とよく合致する。即ち、糖尿病ラットの PVN における NPY の増加は、インスリンをより多く分泌させようとする一種の適応現象に他ならないのであろう。また、PVN に NPY を投与するとインスリン分泌だけでなく、摂食行動が起こることが知られており<sup>1),18)</sup>、ここでみられた PVN における NPY の増加は、糖尿病ラットの摂食量の増加とも関連している可能性が高い。一般に、糖尿病状態においては、エネルギー摂取を増加させようとする生体の反応が引き起こされるので、その一環として NPY の増加がもたらされたと解釈できる。

このような、インスリン作用の過不足と PVN における NPY 含量との関係については、STZ-糖尿病ラットにインスリン補充を行った成績によっても支持された（図

4）。STZ を投与すると、PVN では早朝（STZ 投与後 12 日目）に NPY 含量が増加し、21 日目には、PVN に加えて、VMH 及び ARH においても NPY 含量の増加が認められた。このような動物に、インスリンを補充すると、20 日目には PVN および ARH で NPY 含量の低下がみられ、これらの部位における NPY 含量の変化が可逆的であることが示された。このことは、ARH-PVN 系の NPY 作動性ニューロンの活動が、末梢におけるインスリン作用の過不足を反映して変化することを示唆している。

インスリン作用の不足と視床下部 NPY との関係については、Zucker ラットにおいても示唆された。このラットは、'f' gene による遺伝性肥満を発現するが、Wistar fatty ラットのような明らかな糖尿病状態は呈さない（表 3）。しかしながら、Wistar fatty ラットと同じく、明らかな高インスリン血症とインスリン耐性を示すことが知られている<sup>9),23)</sup>。今回、この Zucker ラットの NPY 含量は、VMH と ARH において高値となるとの結果が得られた（図 3）。しかし、PVN では、対照 (lean) ラットとの間に有意差を認めなかった。ここで注目すべきことは、lean ラットのこの部位の NPY 含量は、他の部位や他の対照ラットに比べて相対的に高値を示しているという事実である。このことは、Zucker ラットの対照として用いた lean ラット群が fa +/−, −/− の双方の遺伝型を持つ 2 種のラットよりなっていることと関係している可能性があり、より詳細な分析が必要である。

以上をまとめると、

- 1) IDDM モデルラット、すなわち BB ラット及び STZ-糖尿病ラットにおいて、PVN 及び ARH の NPY 含量が特異的に増加した。
- 2) NIDDM モデルラット、すなわち Wistar fatty ラットにおいて高血糖の発症に先行して PVN の NPY 含量が増加した。
- 3) STZ-糖尿病ラットに対してインスリンを補充すると、PVN 及び ARH における NPY 含量の増加が抑制された。
- 4) 以上の結果と、PVN へ NPY を投与するとインスリン分泌が亢進するという既報の成績を併せると、ARH-PVN 系の NPY 作動性ニューロンは、生理的条件下においても、インスリン分泌の中枢性調節に関与しており、このニューロンの活動は、末梢組織でのインスリン作用の過不足に対応して変化するものと推論される。

## 謝 辞

本研究に使用した BB ラットを提供してくださった貴田嘉一助教授（愛媛大学医学部小児科学教室）、及び

Wistar fatty ラット及び Zucker ラットを提供して下さった池田衛博士(武田薬品中央研究所)に深謝致します。また、御指導、御校閲を頂いた嶋津孝教授、斉藤昌之教授そして田村修教授に心より感謝致します。

この研究の一部は、財団法人愛媛県保健医療財団の援助により行われた。

## 文 献

1. Abe, M., Saito, M., Shimazu, T.: Neuropeptide Y and norepinephrine injected into the paraventricular nucleus of the hypothalamus activate endocrine pancreas. *Biomed. Research*, **10**, 1989 in press.
2. Abe, M., Saito, M., Shimazu, T.: Neuropeptide Y in the specific hypothalamic nuclei of rats treated neonatally with monosodium glutamate. *Brain Res. Bull.*, **24**, 1990 in press.
3. Adrian, T.E., Allen, J.M., Bloom, S.R., et al.: Neuropeptide Y distribution in human brain. *Nature*, **306**:584-586,1983.
4. Allen, J.M., Yeals, J.C., Adrian, T.E., et al.: Radioimmunoassay of neuropeptide Y. *Reg. Peptides*, **8**:61-70,1984.
5. Allen, Y.S., Adrian, T.E., Allen, J.M., et al.: Neuropeptide Y distribution in the rat brain. *Science*, **221**:877-879, 1983.
6. Bai, F.L., Yamano, M., Shiotani, Y., et al.: An arcuato-paraventricular and -dorsomedial hypothalamic neuropeptide Y -containing system which lacks noradrenaline in the rat. *Brain Research*, **331**:172-175,1985.
7. Gray, T.S., Morley, J.E.: Neuropeptide Y: anatomical distribution and possible function in mammalian nervous system. *Life Sci.*, **38**: 389-401,1986.
8. Humphreys, G.A., Davison, J.S., Veale, W.L.: Injection of neuropeptide Y into the paraventricular nucleus of the hypothalamus inhibits gastric acid secretion in the rat. *Brain Research*, **456**: 241-248,1988.
9. Ikeda, H., Shino, A., Matsuo, T., et al.: A new genetically obese-hyperglycemic rat (wistar fatty). *Diabetes*, **30**: 1045-1050,1981.
10. Kerkérian, L., Pelletier, G.: Effects of monosodium L-glutamate administration on neuropeptide Y -containing neuron in the rat hypothalamus. *Brain Research*, **369**: 388 - 390,1986.
11. König, J.F.R., Klippel, R.A.: The rat brain; a stereotaxic atlas of the forebrain and lower part of the brain stem. Robert E. Krieger, Huntington, 1986.
12. Leibowitz, S.F., Sladek, C., Spencer, L., et al.: Neuropeptide Y, epinephrine and nor-epinephrine in the paraventricular nucleus: stimulation of feeding and the release of corticosterone, vasopressin and glucose. *Brain Res. Bull.*, **21**: 905-912,1988.
13. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., et al.: Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**: 265-275,1951.
14. Nakhoda, A.F., Like, A.A., Chappel, C.I., et al.: The spontaneously diabetic wistar rat: metabolic and morphologic studies. *Diabetes*, **26**: 100-112,1977.
15. Palkovits, M., Brownstein, M.J.: Maps and guide to microdissection of the rat brain. Elsevier, Amsterdam, 1988.
16. Sahu, A., Kalra, P.S., Kalra, S.P.: Food deprivation and ingestion induce reciprocal changes in neuropeptide Y concentrations in the paraventricular nucleus. *Peptides*, **9**: 83-86,1988.
17. Soloni, F.G.: Simplified manual micromethod for determination of serum triglycerides. *Clinical Chemistry*, **17**: 529-534,1971.
18. Stanley, B.G., Leibowitz, S.F.: Neuropeptide Y: stimulation of feeding and drinking by injection into the paraventricular nucleus. *Life sci.*, **35**: 2635-2642,1984.
19. Tatemoto, K., Carlquist, M., Mutt, V.: Neuropeptide Y — a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature*, **296**:659 - 660,1982.
20. Wahlestedt, C., Skagerberg, G., Ekman, R., et al.: Neuropeptide Y (NPY) in the area of the hypothalamic paraventricular nucleus activates the pituitary -adrenocortical axis in the rat. *Brain Research*, **417**: 33-38,1987.
21. Williams, G., Steel, J.H., Cardoso, H., et al.: Increased hypothalamic neuropeptide Y concentration in diabetic rat. *Diabetes*, **37**: 763 -

772,1988.

22. Williams, G., Gill, J.S., Lee, Y.C., et al.: Increased neuropeptide Y concentrations in specific hypothalamic regions of streptozocin - induced diabetic rats. *Diabetes*, **38**: 321 - 327,1989.
23. Zucker, L.M., Antoniades, H.N.: Insulin and obesity in the Zucker genetically obese rat "fatty". *Endocrinology*, **90**: 1320-1330,1972.