

Melatoninbiosynthese im Pinealorgan der Säugetiere: Alte und junge Befunde

Zusammenfassung

Im Pinealorgan der Säugetiere wird neuronal kodierte Information über die Lichtbedingungen der Außenwelt in die (nächtlich erhöhte) Biosynthese des Hormons Melatonin übersetzt. Unbekannte evolutionäre Zwänge haben zu einer veränderten Morphologie der Pinealozyten der Säugetiere geführt. Zudem sind die Befähigung zur direkten Lichtrezeption sowie der Besitz einer endogenen circadianen Uhrenfunktion im Pinealorgan der Säugetiere verschwunden. Die nächtlich erhöhte Biosynthese des Melatonins jedoch blieb trotz dieser evolutionären Veränderungen als verlässliches Abbild der Uhrzeit auch im Säugetier erhalten. In Folge dieser Veränderungen wird die Melatoninbiosynthese in Säugerpinealorgan als Marker der Dunkelheit abhängig vom Einfluss der zentralen biologischen Uhr im *Nucleus suprachiasmaticus* des Hypothalamus. Der vorliegende Artikel beschäftigt sich mit dem Stand der Kenntnis derjenigen Signale, die zur Erhöhung und Senkung der Melatoninbiosynthese-Aktivität im Pinealorgan der Säugetiere führen. Dabei wird besonderer Wert auf neuere Befunde gelegt.

Einführung

Die regelmäßige Abfolge von Licht und Dunkel hat das Leben auf der Erde von Anbeginn geformt. Der Besitz lichtwahrnehmender Strukturen stellt deshalb für nahezu alle Lebensformen einen selektiven Vorteil dar (Korf et al., 1998; Reppert und Weaver, 2002; Ekström et al., 2003). Die beiden Hauptqualitäten des Lichts, nämlich Formwahrnehmung in allen drei Dimensionen, Farbe und Bewegung sowie die Wahrnehmung zeitlicher Abfolgen durch Messung der Länge von Hell- und Dunkelphasen zu ermöglichen, sind für das Überleben von herausragender Bedeutung. Der selektive Vorteil der Fähigkeit zur Lichtwahrnehmung wird weiter verbessert durch die Entwicklung eines endogenen circadianen (*circa*: ungefähr; *dies*: Tag) Oszillators, der seinem Besitzer ermöglicht, Tag und Nacht zu antizipieren. Mit diesem Hilfsmittel gelingt es, Zeiten der Ruhe und der Nahrungssuche vorherzusagen, Fressfeinden zu entkommen und die Nutzung vielfältiger physischer und sozialer Ressourcen zu optimieren. Unter diesem selektiven Druck haben sich zwei spezialisierte Systeme aus dem Dienzephalon der Wirbeltiere entwickelt: die seitlichen Augen zur Form-, Farb- und

Bewegungswahrnehmung, und die Zirbeldrüse, auch Pinealorgan, *Glandula pinealis* oder *Epiphysis cerebri* genannt, welche die Abfolge von Licht und Dunkel in ein hormonelles Signal, die Biosynthese des Hormons Melatonin, umwandelt (Ekström et al., 2003).

Der vorliegende Übersichtsartikel fokussiert auf das Pinealorgan, das „dritte Auge“ der Nicht-Säuger-Wirbeltiere (Ekström et al., 2003), mit seiner rhythmischen Melatoninbiosynthese, welche die externe Zeit widerspiegelt. Die biochemischen Signalwege, welche die Rhythmen des Pinealorgans formen, sind in vielen Spezies gut untersucht und wurden in der Vergangenheit ausführlich beschrieben (Korf et al., 1998; Stehle et al., 2001; Maronde und Stehle, 2007). Die vorliegende Arbeit stellt den Versuch dar, neuere Erkenntnisse zur Regulation der Melatoninbiosynthese im Säugetier-Pinealorgan mit bereits bekannten Fakten abzugleichen, und aufzuzeigen, wie viele ungelöste Probleme dieses Modellsystem noch bietet.

Die Melatoninbiosynthese bleibt trotz evolutionärer Veränderungen der Pinealozyten erhalten

In allen bislang untersuchten Säugerspezies ist die rhythmische Melatoninbiosynthese abhängig von neuronaler Stimulation durch sympathische (und teilweise auch) parasymphatische Nervenfasern (Korf et al., 1998). Ohne die Noradrenalin (NA)-abhängige transsynaptische Aktivierung des cAMP-Signalweges, der unter anderem die Aktivität des geschwindigkeitsbestimmenden Enzyms der Melatoninbiosynthese, der Arylalkylamin-*N*-Acetyltransferase (AA-NAT) reguliert (Abb. 1), ebbt die rhythmische Melatoninbiosynthese rasch ab (Klein, 2007; Maronde und Stehle, 2007).

Die rhythmische Transkription der Gene für *Aa-nat* (Klein, 2007), den β_1 -adrenergen Rezeptor (Pfeffer et al., 1998), die Tryptophanhydroxylase, und das „cAMP-regulated element modulator“ (*Crem*) Genprodukt ICER (inducible cAMP early repressor), steht in Beziehung zur circadianen Regulation der Melatoninbiosynthese und ist gut charakterisiert.

Andere wichtige Komponenten dieser Signaltransduktionskaskade, wie die cAMP-abhängige Proteinkinase (PKA), unterliegen keiner transkriptionellen Regulation (Maronde et al., 1997, 1999). Bemerkenswerterweise induziert der NA/cAMP/Protein Kinase A (PKA) Signalweg

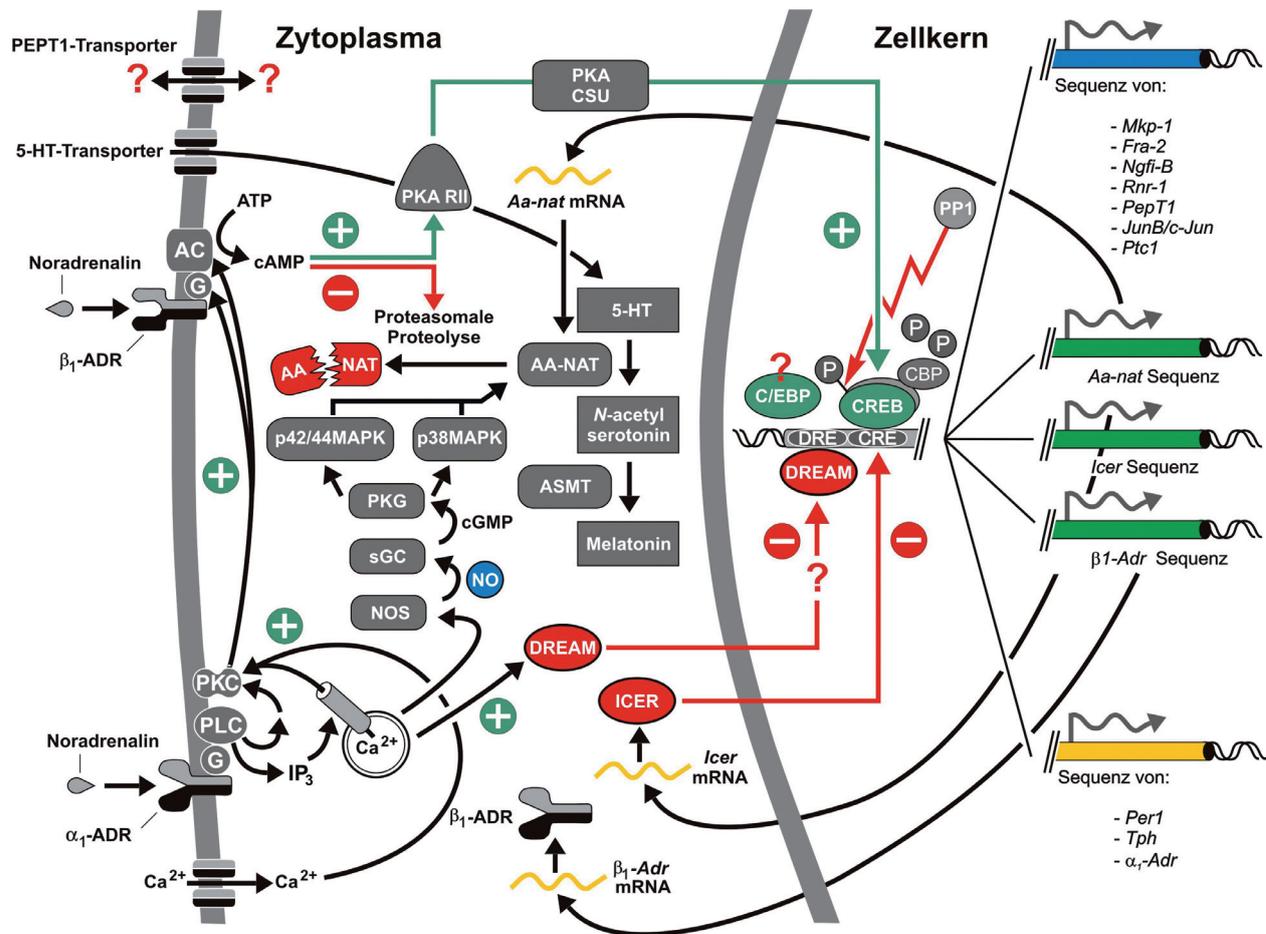


Abb. 1: Schema der wichtigsten, gegenwärtig bekannten Signalübermittlungswege des Säugetier-Pinealorgans. Bindung von Noradrenalin (NA) an den G_s -Protein gekoppelten β_1 -adrenergen Rezeptor (β_1 -ADR) aktiviert die Adenylat-Cyclase (AC), welche die Reaktion von ATP zu 3',5'-cyclic Adenosinmonophosphat (cAMP) und Pyrophosphat (PP_i) katalysiert. Die Erhöhung des cAMP-Spiegels aktiviert die cAMP-abhängige Proteinkinase (PKA), welche in ihre katalytischen und regulatorischen Untereinheiten zerfällt und neben vielen anderen Substraten das cAMP/Calcium regulierte Element (CRE) Bindungsprotein (CREB) phosphoryliert. Im Pinealorgan des Nagers bindet Serin-133-phosphoryliertes und dimerisiertes CREB (pCREB) an Gene, deren Promotoren CRE-Sequenzen enthalten und erhöht deren Transkriptionsrate.

Das Substrat für die Melatoninbiosynthese, 5-Hydroxytryptamin (5-HT/Serotonin) kann auf zwei Wegen in den Pinealozyten gelangen: Durch direkte Aufnahme mithilfe von Serotonin-Transportern oder durch Aufnahme von Tryptophan und dessen intrapinealozytäre Umwandlung in 5-Hydroxytryptophan durch das Enzym Tryptophan-Hydroxylase (TPH) und anschließender Decarboxylierung durch die aromatische Aminosäure-Decarboxylase (AADC) zu 5-HT. 5-HT wird dann durch die Arylalkylamin-*N*-Acetyl-Transferase (AA-NAT) zu *N*-Acetyl-5-Hydroxytryptamin *N*-acetyliert. AA-NAT wird bislang als das geschwindigkeitsbestimmende Enzym der Melatoninbiosynthese beim Nagel angesehen. Neuere Befunde zeigen allerdings in Bestätigung älterer Daten (Liu und Borjigin, 2005), dass die Modulation der AA-NAT-Aktivität über einen weiten dynamischen Bereich ohne Effekt auf die Melatoninproduktion ist und stellt damit das finale Enzym in der Melatoninbiosynthesekaskade, die Acetyl-Serotonin-O-Methyltransferase (ASMT; früher als Hydroxy-Indol-O-Methyl-Transferase = HIOMT bekannt), stärker in den Mittelpunkt.

Auf der rechten Seite der Abbildung sind cAMP-abhängige Gene in grün dargestellt, deren Regulation und Funktion gut charakterisiert sind. NA-induzierbare Gene, deren Regulation bekannt, deren Funktion aber bislang spekulativ ist, sind gelb und Gene unbekannter Funktion sind blau markiert.

Abkürzungen: AA-NAT, Arylalkylamine *N*-Acetyltransferase; AC, Adenylatcyclase; *Adr*, Adrenerger Rezeptor; C/EBP, CCAAT-Enhancer Bindungsprotein; CBP, CREB Bindungsprotein; *c-Jun*, Proto-Oncogen (Immediate Early Gene); CRE, Calcium/cAMP responsives Element; CREB, CRE Bindungsprotein, ein aktivierender (+, grün) Transkriptionsfaktor; CSU, katalytische Untereinheit der PKA; *Fra-2*, *Fos*-verwandtes Antigen 2; G, G-Protein; 5-HT, 5 Hydroxytryptamin/Serotonin; *Icer*/ICER, inducible cAMP early repressor, ein hemmender (-; rot) Transkriptionsfaktor; *JunB*, Proto-Oncogen; MAPK, Mitogen aktivierte Proteinkinase; *Mkp-1*, MAPK Phosphatase; *Ngfi-B*, (*Nurr77/Nr4a1*) nukleärer Orphanrezeptor; NO, der gasförmige Neurotransmitter Stickstoff-Monoxid; NOS, Stickstoff-Monoxid Synthase; P, Phosphatgruppe; *Per1*, Das Uhren Gen *Period1*; PKA, cAMP-abhängige Proteinkinase; PKC, Proteinkinase C; PKG, cGMP-abhängige Proteinkinase; PP_i, Proteinphosphatase Typ I; PP_v, Pyrophosphatgruppe; *Ptc1*, das Tumorsuppressorgen *patched1*, ein Säugetier Homolog des *Drosophila* Segmentpolaritätsgens, *patched*; RII, Regulatorische Untereinheit Type II der PKA; *Rnr-1*, Nucleärer Rezeptor aus der NGFI-B/Nur77 Familie; sGC, lösliche Guanylyl Cyclase; *Tph*, Tryptophan-Hydroxylase (modifiziert, verändert und erweitert aus [Maronde und Stehle, 2007]).

auch die circadianen Rhythmen von Genprodukten, die in keiner bislang bewiesenen Beziehung zur Melatoninbiosynthese stehen, wie dem Uhrengen *Per-1* (v.Gall et al., 2001; Bailey et al., 2009), *Fra-2* (Smith et al., 2001), *Ngf-B* (Humphries et al., 2004) und *PepT-1* (Gaildrat et al., 2005; Abb. 1). Trotz der guten Charakterisierung der Dynamik dieser Gene im Pinealorgan ist ihre Funktion bislang unklar. Zudem sind durch verschiedene DNA-Array-Analysen weitere im Pinealorgan der Ratte rhythmisch exprimierte Gene bekannter und unbekannter Funktion beschrieben worden (Fukuhara und Tosini, 2008; Bailey et al., 2009).

Bei der Geschwindigkeitsbestimmung der Melatoninbiosynthese im Nager-Pinealorgan ist für die Synthese von *Aa-nat*-Transkript eine wichtige Rolle für die phosphorylierte Form von „cAMP-regulated element binding protein“ (pCREB; Roseboom und Klein, 1995; Tamotsu et al., 1995; Koch et al., 2003) und dem aus den Proteinen FOS und JUN bestehenden AP1-Komplex (Sinitskaya et al., 2006) nachgewiesen worden. Hemmende Transkriptionsfaktoren, wie das CREM-Produkt ICER, scheinen an der Beendigung der AA-NAT Synthese beteiligt zu sein (Maronde et al., 1999; Stehle et al., 1993). Diese vermutete Bedeutung von ICER wurde allerdings durch neue Befunde wieder in Frage gestellt (Ho et al., 2007).

Aus bislang unbekanntenen Gründen spielt die posttranslationale Regulation von AA-NAT außerhalb der Nagerfamilie eine wichtigere Rolle als die transkriptionelle: in Pinealozyten von Schaf, Rind, Rhesusaffen und Mensch beeinflusst der NA/cAMP/PKA Signalweg die Melatoninbiosynthese u.a. durch direkte Phosphorylierung von AA-NAT und Komplexierung von AA-NAT mit 14-3-3 Protein zum Schutz vor proteolytischer Degradation durch das Proteasom (Stehle et al., 2001; Ganguly et al., 2005; Ackermann et al., 2006). Diese Spezies-spezifischen Unterschiede in der Regulation der Melatoninbiosynthese konnten bislang nicht mit unterschiedlichen Aktivitätsmustern (tagaktiv vs. nachtaktiv), Fortpflanzung (Hamster und Schaf pflanzen sich saisonabhängig fort), oder dem Leben in unterschiedlichen klimatischen Zonen (äquatorial vs. polar) korreliert werden (Übersicht siehe: Maronde und Stehle, 2007). Es bleibt also offen, warum bei der Regulation der Melatoninbiosynthese der oben erwähnten Säugerspezies verschiedene Mechanismen in unterschiedlicher Gewichtung verwendet werden.

Neben dem oben angesprochenen, gut charakterisierten cAMP/PKA-Signalweg aktiviert Noradrenalin auch G_q-gekoppelte α -adrenerge Rezeptoren, welche über Phospholipase C und Kalziumfreisetzung aus intra- und extrazellulären Speichern wirken (Korf et al., 1996; Simonneaux und Ribelayga, 2003; Abb.1). Die Erhöhung des intrazellulären Kalziumspiegels aktiviert neben anderen Molekülen auch die MAP-Kinasen (MAPKs;

Ho et al., 2006). Diese MAPK-Aktivierung könnte zu einer erhöhten Sensitivität führen, welche den raschen, lichtinduzierten Abfall der nächtlichen Melatoninbiosynthese verursacht (Gastel et al., 1998; Klein, 2007).

Der konstitutiv exprimierte Kalziumsensor DREAM (downstream regulatory element antagonist modulator; Link et al., 2004) kann (in Kalzium- und cAMP-abhängiger Weise) die Transkription der Gene mit einem DRE-Element in ihrem Promoter, wie *Aa-nat*, *Icer* und *Fra-2*, beeinflussen. Bemerkenswerterweise unterliegt die endogene Bindungsaktivität von DREAM an DRE-Elementen im Pinealorgan (und der Retina) von Ratten einer Tag/Nacht-Variation mit der höchsten Bindungsaffinität während des Tages und tritt somit zu der Zeit auf, wo die niedrigste Expression von *Aa-nat*, *Icer* und *Fra-2* beobachtet wird. Diese direkte Repression wird begleitet von der Eigenschaft des DREAM-Proteins, pCREB vom CRE Promoter-Element zu verdrängen, und die Rekrutierung des CREB-Binding Protein (CBP) durch pCREB zu verhindern.

Neue Facetten in der Biochemie des Pinealorgans

Wie oben bereits erwähnt, zeigt die Biosynthese von Melatonin im Säuger eine überraschende Vielfalt an molekularen Mechanismen. Zu dieser Vielfalt sind in jüngerer Zeit weitere Facetten hinzugekommen, deren Integration in bisherige Konzepte noch aussteht, bzw. welche unter Umständen auch zu neuen Regulationsmodellen führen könnten (Abb. 1).

Im Goldhamster (*Mesocricetus auratus*) scheint neuen Befunden zufolge sowohl der Beginn als auch die Beendigung der Melatoninbiosynthese durch Transkriptionsfaktoren der AP-1 Familie (c-fos, c-jun) anstelle der CRE-bundenen Proteine reguliert zu sein (Sinitskaya et al., 2006). Auch an der unterschiedlichen saisonalen Regulation der Melatoninbiosynthese scheinen noch unbekannte Transkriptionsfaktoren [oder ganz andere Prozesse, siehe weiter unten] mitzuwirken, denn die Kandidatenmoleküle ICER und C/EBP γ variieren nicht (Maronde et al., 2007).

Im Pinealorgan der Ratte wurde, wie oben bereits erwähnt, die Rolle hemmender Transkriptionsfaktoren wie ICER und FRA-2 bei der down-Regulation der AA-NAT auf der Basis von neuen *in vitro* Daten in Frage gestellt. Zwar regelt ICER laut dieser Befunde seine eigene Expression und die der Mitogen-aktivierten-Kinase Phosphatase 1, nicht jedoch die der AA-NAT mRNA (Ho et al., 2007).

Weitere neue Facetten der Regulation der Melatoninbiosynthese sind die Histon H3 Phosphorylierung durch die Kinase Aurora C (Ho et al., 2007; Price et al., 2008), die diurnale bzw. circadiane Variation der Phosphodiesterase PDE4B2 und deren Aktivität (Kim et al.,

2007), sowie die Regulation der S-Adenosyl-Methionin-Transferase (Kim et al., 2005). Insbesondere die rasche Histon-Phosphorylierung und -Acetylierung stellt einen interessanten neuen Befund dar, weil die besonders stark hochregulierten Gene, wie *Aa-nat* und *CREM*, zunächst von ihrem Histon-„Mantel“ befreit werden müssen, damit sie abgelesen werden können. Nicht überraschend ist dabei der Befund, dass die Histon H3 Modifikationen NA- bzw. cAMP-abhängig sind (Ho et al., 2007; Price et al., 2008).

Ältere Daten zeigen zudem, dass ohne Beteiligung von cAMP die Stärke der Melatoninbiosynthese durch z.B. Glutamat beeinflusst wird (Pfeffer et al., 1998). Neuen Befunden zufolge können auch Endocannabinoide eine Hemmung der Melatoninbiosynthese, ebenfalls ohne Beteiligung von cAMP, bewirken (Koch et al., 2008).

Dialyse-Versuche am Pinealorgan *in vivo* stellen darüber hinaus gegenwärtige Konzepte der Abregulation der Melatoninbiosynthese durch intrapineale Prozesse in Frage und postulieren stattdessen SCN-getriebene extrasympathische Prozesse als regulatives Prinzip (Perreaulenz et al., 2003, 2005).

Dreißig Jahre nach der ersten Beschreibung des Befundes ist nach wie vor unklar, was die Rolle des second messengers cGMP im Pinealorgan ist. Es konnte jedoch inzwischen gezeigt werden, dass cGMP-abhängige Phosphorylierung (durch die cGMP-abhängige Proteinkinase = PKG) zu erhöhter Aktivität eines Serotonin-Transporters führt (Ramamoorthy et al., 2007). Zeitlich zu der Erhöhung von cGMP im Pinealorgan nach NA-Ausschüttung passend, würde damit mehr Serotonin in die Pinealozyten transportiert und dadurch die Melatoninbiosynthese unterstützt werden.

Wie relevant auch immer sich diese neuen Befunde in Zukunft erweisen werden, so zeigen sie doch, dass wichtige Aspekte der Melatoninbiosynthese-Regulation noch immer unbekannt und durchaus weiterhin überraschende Befunde vom Pinealorgan zu erwarten sind.

Zusammenfassung und Ausblick

Die Vielzahl transsynaptischer Signalprozesse, verursacht durch diverse Transmitter, prozessiert durch Proteinkinasen und Transkriptionsfaktoren, verfeinert von posttranslationalen Prozessen, wie der proteasomalen Prozessierung, steht in scharfem Kontrast zu der vermeintlich einfachen Aufgabe des Pinealorgans, Lichtinformation aus der Retina in ein hormonelles Signal (Melatonin) zu verwandeln. Zum Verständnis der komplexen Vorgänge, welche unter Selektionsdruck den Säugetier-Pinealozyten morphologisch und funktionell geformt haben, tragen viele neue Daten zu Zellfunktion und molekularen Details bei. Diese neuen Daten haben jedoch noch nicht zu einem

klaren speziesübergreifenden Modell der Regulation der Melatoninbiosynthese geführt. Über die jeweiligen Strategien der verschiedenen Säugetierspezies hinaus steht unzweifelhaft fest, dass Melatonin ein integraler Bestandteil der diurnalen und circadianen Regulation physiologischer Prozesse ist. Schon heute helfen uns die Erkenntnisse zur Regulation der Melatoninbiosynthese Störungen der Homöostase durch Schichtarbeit, bei Blinden, oder nach einer Zeitonenverschiebung, wie beim Jet-Lag, zu behandeln (Arendt et al., 2008; Riemersma-van der Lek, 2008). Auch die Therapie der Erbkrankheit Smith-Magenis Syndrom, die unbehandelt zu schweren mentalen Beeinträchtigungen und Verhaltensauffälligkeiten bei den Betroffenen führt, profitiert bereits heute von diesen Kenntnissen zur Rolle von Melatonin und zeigt eine Perspektive für Melatonin als Pharmakon auf (De Leersnyder, 2006).

Neuesten Erkenntnissen zufolge findet sich bei einem Teil der Menschen, die unter Autismus und seiner abgeschwächten Form, dem Asperger-Syndrom, leiden, eine Mutation im Acetyl-Serotonin-Methyltransferase (ASMT) Gen (Melke et al., 2008), dem letzten Enzym der Melatoninbiosynthese-Kaskade. Auch dieser überraschende Befund stützt die Erwartung, dass die Physiologie des Pinealorgans noch längst nicht alle ihre Geheimnisse offenbart hat.

Literatur

- Ackermann K, Bux R, Rüb U, Korf HW, Kauert G, Stehle JH (2006). Characterization of human melatonin synthesis using autoptic pineal tissue. *Endocrinology* 147:3235–3242.
- Arendt J, Van Someren EJW, Appleton R, Skene DJ, Akerstedt T (2008). Clinical update: melatonin and sleep disorders. *Clin Med* 8:381–383.
- Bailey MJ, Coon SL, Carter DA, Humphries A, Kim JS, Shi Q, Gaildrat P, Morin F, Ganguly S, Hogenesch JB, Weller JL, Rath MF, Möller M, Baler R, Sugden D, Rangel ZG, Munson PJ, Klein DC (2009). Night/day changes in pineal expression of >600 genes: Central role of adrenergic/cAMP signaling. *J Biol Chem* 284:7606–7622.
- De Leersnyder H (2006). Inverted rhythm of melatonin secretion in Smith-Magenis syndrome: from symptoms to treatment. *Trends Endocrinol Metab* 17:291–298.
- Ekström P, Meissl H (2003). Evolution of photosensory pineal organs in new light: the fate of neuroendocrine photoreceptors. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 358:1679–1700.
- Fukuhara C, Tosini G (2008). Analysis of daily and circadian gene expression in the rat pineal gland. *Neurosci Res* 60:192–198.
- Gaildrat P, Möller M, Mukda S, Humphries A, Carter DA, Ganapathy V, Klein DC (2005). A novel pineal-specific product of the oligopeptide transporter *PepT1* gene: circadian expression mediated by cAMP activation of an intronic promoter. *J Biol Chem* 280:16851–16860.
- Gall von C, Schneider-Hüther I, Pfeffer M, Dehghani F, Korf HW, Stehle JH (2001). Clock gene protein mPER1 is rhythmically synthesized and under cAMP control in the mouse pineal organ. *J Neuroendocrinol* 13:313–316.

- Ganguly S, Weller JL, Ho A, Chemineau P, Malpoux B, Klein DC (2005). Melatonin synthesis: 14-3-3-dependent activation and inhibition of arylalkylamine N-acetyltransferase mediated by phosphoserine-205. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:1222–1227.
- Gastel JA, Roseboom PH, Rinaldi PA, Weller JL, Klein DC (1998). Melatonin production: proteasomal proteolysis in serotonin N-acetyltransferase regulation. *Science* 279:1358–1360.
- Ho AK, Price DM, Dukewich WG, Steinberg N, Arnason TG, Chik CL (2007). Acetylation of histone H3 and adrenergic-regulated gene transcription in rat pinealocytes. *Endocrinology* 148:4592–4600.
- Ho AK, Price DM, Terriff D, Chik CL (2006). Timing of mitogen-activated protein kinase (MAPK) activation in the rat pineal gland. *Mol Cell Endocrinol* 252:34–39.
- Ho AK, Terriff DL, Price DM, Wloka MT, Chik CL (2007). The role of inducible repressor proteins in the adrenergic induction of arylalkylamine-N-acetyltransferase and mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 in rat pinealocytes. *Endocrinology* 148:743–751.
- Humphries A, Weller J, Klein D, Baler R, Carter DA (2004). NGFI-B (Nurr77/Nr4a1) orphan nuclear receptor in rat pinealocytes: circadian expression involves an adrenergic-cyclic AMP mechanism. *J Neurochem* 91:946–955.
- Kim J, Bailey MJ, Ho AK, Møller M, Gaillardat P, Klein DC (2007). Daily rhythm in pineal phosphodiesterase (PDE) activity reflects adrenergic/3',5'-cyclic adenosine 5'-monophosphate induction of the PDE4B2 variant. *Endocrinology* 148:1475–1485.
- Kim J, Coon SL, Blackshaw S, Cepko CL, Møller M, Mukda S, Zhao WQ, Charlton CG, Klein DC (2005). Methionine adenosyltransferase: adrenergic-cAMP mechanism regulates a daily rhythm in pineal expression. *J Biol Chem* 280:677–684.
- Klein DC (2007). Arylalkylamine N-acetyltransferase: „the Timezyme“. *J Biol Chem*. 282: 4233–4237.
- Koch M, Habazettl I, Dehghani F, Korf H (2008). The rat pineal gland comprises an endocannabinoid system. *J Pineal Res* 45:351–360.
- Koch M, Mauhin V, Stehle JH, Schomerus C, Korf H (2003). Dephosphorylation of pCREB by protein serine/threonine phosphatases is involved in inactivation of Aanat gene transcription in rat pineal gland. *J Neurochem* 85:170–179.
- Korf HW, Schomerus C, Maronde E, Stehle JH (1996). Signal transduction molecules in the rat pineal organ: Ca²⁺, pCREB, and ICER. *Naturwissenschaften* 83:535–543.
- Korf HW, Schomerus C, Stehle JH (1998). The pineal organ, its hormone melatonin, and the photoneuroendocrine system. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 146:1–100.
- Link WA, Ledo F, Torres B, Palczewska M, Madsen TM, Savignac M, Albar JP, Mellström B, Naranjo JR (2004). Day-night changes in downstream regulatory element antagonist modulator/potassium channel interacting protein activity contribute to circadian gene expression in pineal gland. *J Neurosci* 24:5346–5355.
- Liu T, Borjigin J (2005). N-acetyltransferase is not the rate-limiting enzyme of melatonin synthesis at night. *J Pineal Res* 39:91–96.
- Maronde E, Middendorff R, Telgmann R, Müller D, Hemmings B, Taskén K, Olcese J (1997). Melatonin synthesis in the bovine pineal gland is regulated by type II cyclic AMP-dependent protein kinase. *J Neurochem* 68:770–777.
- Maronde E, Pfeffer M, Glass Y, Stehle JH (2007). Transcription factor dynamics in pineal gland and liver of the Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*) adapts to prevailing photoperiod. *J Pineal Res* 43:16–24.
- Maronde E, Pfeffer M, Olcese J, Molina CA, Schlotter F, Dehghani F, Korf HW, Stehle JH (1999). Transcription factors in neuroendocrine regulation: rhythmic changes in pCREB and ICER levels frame melatonin synthesis. *J Neurosci* 19:3326–3336.
- Maronde E, Stehle J (2007). The mammalian pineal gland: known facts, unknown facets. *Trends Endocrinol Metab*. 18:142–149.
- Maronde E, Wicht H, Taskén K, Genieser HG, Dehghani F, Olcese J, Korf HW (1999). CREB phosphorylation and melatonin biosynthesis in the rat pineal gland: involvement of cyclic AMP dependent protein kinase type II. *J Pineal Res* 27:170–182.
- Melke J, Goubran Botros H, Chaste P, Betancur C, Nygren G, Anckarsäter H, Rastam M, Ståhlberg O, Gillberg IC, Delorme R, Chabane N, Mouren-Simeoni MC, Fauchereau F, Durand CM, Chevalier F, Drouot X, Collet C, Launay JM, Leboyer M, Gillberg C, Bourgeron T (2008). Abnormal melatonin synthesis in autism spectrum disorders. *Mol Psychiatry* 13:90–98.
- Perreau-Lenz S, Kalsbeek A, Garidou ML, Wortel J, van der Vliet J, van Heijningen C, Simonneaux V, Pévet P, Buijs RM (2003). Suprachiasmatic control of melatonin synthesis in rats: inhibitory and stimulatory mechanisms. *Eur J Neurosci* 17:221–228.
- Perreau-Lenz S, Kalsbeek A, Van Der Vliet J, Pévet P, Buijs RM (2005). In vivo evidence for a controlled offset of melatonin synthesis at dawn by the suprachiasmatic nucleus in the rat. *Neuroscience* 130:797–803.
- Pfeffer M, Kühn R, Krug L, Korf HW, Stehle JH (1998). Rhythmic variation in beta1-adrenergic receptor mRNA levels in the rat pineal gland: circadian and developmental regulation. *Eur J Neurosci* 10:2896–2904.
- Price DM, Kanyo R, Steinberg N, Chik CL, Ho AK (2008). Nocturnal activation of Aurora C in rat pineal gland: its role in the norepinephrine-induced phosphorylation of histone H3 and gene expression. *Endocrinology* [Epub ahead of print].
- Ramamoorthy S, Samuvel DJ, Buck ER, Rudnick G, Jayanthi LD (2007). Phosphorylation of threonine residue 276 is required for acute regulation of serotonin transporter by cyclic GMP. *J Biol Chem* 282:11639–11647.
- Reppert SM, Weaver DR (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*. 418:935–941.
- Riemersma-van der Lek RF, Swaab DF, Twisk J, Hol EM, Hoogendijk WJ, Van Someren EJ (2008). Effect of bright light and melatonin on cognitive and noncognitive function in elderly residents of group care facilities: a randomized controlled trial. *JAMA* 299:2642–2655.
- Roseboom PH, Klein DC (1995). Norepinephrine stimulation of pineal cyclic AMP response element-binding protein phosphorylation: primary role of a beta-adrenergic receptor/cyclic AMP mechanism. *Mol Pharmacol* 47:439–449.
- Simonneaux V, Ribelayga C (2003). Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters. *Pharmacol Rev* 55:325–395.
- Sinitskaya N, Salingre A, Klosen P, Revel FG, Pévet P, Simonneaux V (2006). Differential expression of activator protein-1 proteins in the pineal gland of Syrian hamster and rat may explain species diversity in arylalkylamine N-acetyltransferase gene expression. *Endocrinology* 147:5052–5060.
- Smith M, Burke Z, Humphries A, Wells T, Klein D, Carter D, Baler R (2001). Tissue-specific transgenic knockdown of Fos-related antigen 2 (Fra-2) expression mediated by dominant negative Fra-2. *Mol Cell Biol* 21:3704–3713.
- Stehle JH, von Gall C, Schomerus C, Korf HW (2001). Of rodents and ungulates and melatonin: creating a uniform code for darkness by different signaling mechanisms. *J Biol Rhythms* 16:312–325.
- Stehle JH, Foulkes NS, Molina CA, Simonneaux V, Pévet P, Sassone-Corsi P (1993). Adrenergic signals direct rhythmic expression of transcriptional repressor CREM in the pineal gland. *Nature* 365:314–320.
- Tamotsu S, Schomerus C, Stehle JH, Roseboom PH, Korf HW (1995). Norepinephrine-induced phosphorylation of the transcription factor CREB in isolated rat pinealocytes: an immunocytochemical study. *Cell Tissue Res* 282:219–226.