ヒト胎盤における甲状腺ホルモンの脱ヨード反応

東北大学第二内科

鈴木道子, 吉田克己, 桜田俊郎
貴田岡博史, 海瀬和郎, 海瀬信子
深沢洋, 山本蒔子, 斉藤慎太郎
吉永馨

The Monodeiodination of Thyroxine to 3, 3', 5'-Triiodothyronine in the Human Placenta

M. SUZUKI, K. YOSHIDA, T. SAKURADA,
H. KITAOKA, K. KAISE, N. KAISE, H. FUKAZAWA,
M. YAMAMOTO, S. SAITO and K. YOSHINAGA

Second Department of Internal Medicine,
Tohoku University School of Medicine,
Sendai, Japan

We investigated the characteristics of the monodeiodination of thyroxine to T_3 and rT_3 in human placentas which were obtained at normal delivery. The placentas were homogenized in a cold sucrose Tris-HCl buffer, pH 7.5. The microsomal fraction was incubated at 37°C in air for 1 hr with $2\mu\text{g}$ of T_4 in the presence of 50mM DTT. The T_3 and rT_3 generated in the reaction mixture were extracted into cold ethanol and measured by RIA.

Among the usual subcellular fractions of the placental homogenate, microsomes were the most potent in deiodinating T_4 to rT_3 . In microsomes, production of rT_3 increased with protein concentration, incubation temperature up to 37°C , incubation time up to 120 min and T_4 concentration up to $16\mu\text{g}/\text{tube}$. The production of rT_3 from T_4 was lost by prior heating of the microsomal fraction to 56°C for 30 min. The net production rate of T_4 to rT_3 in the microsomal fraction was $17.9\text{ng}/\text{mg protein}/\mu\text{g } T_4/60\text{ min}$ at pH 7.5. rT_3 production from T_4 was maximal at pH 7.0. The production of T_3 from T_4 was negligible in the present system.

Degradation of T_3 in the placentas was rapid. Although the addition of anti- T_3 antibody to the reaction mixture suppressed the degradation of T_3 , it had no effect on the net production of T_3 , suggesting that the obtained net T_3 production rate had not been influenced by its degradation. Degradation of rT_3 was negligible.

These results indicate that the human placenta actively deiodinates T_4 to rT_3 enzymatically. This enzyme system might have some influence on the transplacental passage of the thyroid hormone from the mother to the fetus.

緒 言

1970年のBravermanの発表⁴⁾以来, 末梢組織におけるthyroxine (T_4) から, 3,5,3'-triiodothyronine (T_3) への転換に関する多くの研究がなされてきた。ラットの肝²⁹⁾, 腎⁶⁾, 心²⁴⁾, 脳¹²⁾, 下垂体²⁷⁾, ヒトの腎³⁰⁾および白血球³⁰⁾などで, T_4 から T_3 への転換が示される一方, T_4 から, 3,3',5'-triiodothyronine (rT_3) への転換も, ラットの脳²¹⁾, 肝⁵⁾およびヒト白血球³⁰⁾などで証明されており, それらの反応に影響を及ぼす種々の因子に関する研究もなされている^{7) 19) 20)}。その結果, 各々, 5'-および5-deiodinaseと称される脱ヨード酵素による反応であり, T_3 および rT_3 以後の脱ヨード反応にも同様の酵素系が関与していることが示唆されている¹¹⁾。

その間, T_3 および rT_3 の測定に関しては, radioimmunoassay (RIA) 法が確立され^{8) 10)}, 従来のchromatography法²⁾に比し, 簡便かつ正確なため, 末梢組織における脱ヨード反応の研究にさらに拍車をかけることとなった。

今回, 我々は, 自然分娩により得られたヒト胎盤を用いて, T_4 の脱ヨード反応を検索し, 興味深い結果を得たので報告する。

方 法

1. ヒト胎盤のhomogenateおよび細胞分画の作製

自然分娩により得られたヒト胎盤を用いた。胎盤は, 娩出後直ちに生理的食塩水で洗い, 脱落膜の付着がないことを確認して氷上に移し, その一部をblenderで細切した。細切組織重量を測定した後, 3倍量(wt/vol)の0.25M sucrose-0.025M Tris/HCl buffer (pH7.5) をもって稀釈し, Polyttron (Kinematica, Switzerland) を用いてhomogenizeした。4枚のガーゼで濾過した後, 4°C, 800gで10分間遠心し, その上清をとり除いて, 得られたpelletを再び0.25M sucrose-0.025M Tris/HCl buffer (pH7.5) で稀釈して, 4°C, 800gで10分間遠心した。その上清をとり除いた後, pelletを同じ条件で稀釈, 遠心して得られたpelletを核分画とした。以上の過程で得られた上清をプールして, homogenateとした。このhomogenateを4°C, 9,000gで20分間遠心し, そのpelletを2回洗い, mitochondria分画とした。その上清を, 更に, 4°C, 100,000gで1時間遠心し, pelletをmicrosome分画, 上清をcytosol分画とした。

2. T_4 からの T_3 および rT_3 への転換の測定

特に断わらない場合以外は, T_4 から T_3 および rT_3 への転換の測定を, 以下の条件で行なった。得られたhomogenateまたは各細胞分画(蛋白量1mg)に, 0.05M dithiothreitol (DDT), 2 μ gの T_4 , および0.05M Tris/HCl buffer (pH7.5)を加えて全量を1mlとし, 37°C, 空气中で60分間incubateした後, 2mlの冷ethanolを加えて反応液中の T_3 および rT_3 を4°C, overnightで抽出した。その抽出液中の T_3 および rT_3 の濃度をRIA^{28) 29)}で測定し, incubation時間が0分の時の各々の値を差し引いて, T_4 より転換された T_3 または rT_3 の量とした。

また, 諸条件, すなわち, DTT量, 組織蛋白量, incubation時間, incubation温度, bufferのpH, および基質(T_4)の量の変化により, T_4 から生じた T_3 および rT_3 の量がどのように変化するかを検索した。なお, pHの影響を調べるに際し用いたbufferは, 0.05M acetate buffer (pH4.0~5.5), 0.05M phosphate buffer (pH6.0~7.0), 0.05M Tris/HCl buffer (pH7.5~9.0) および0.05M glycine/NaOH buffer (pH9.5~10.5)である。

さらに, T_3 および rT_3 のdegradationを調べた。その際, 基質に対する抗体を加えてincubationを

行なうと、その脱ヨード反応が阻止されるとの報告³⁾にもとづき、抗 T_3 抗体を加えた際の T_3 のdegradationを調べるとともに、抗 T_3 抗体を加えた際の、 T_4 からの T_3 および rT_3 への転換量を測定した。

3. 使用した試薬

L- T_4 、L- T_3 およびDTTは、Sigma (Illinois, U.S.A.) より、また、L- rT_3 は、Henning (Berlin, Germany) より購入した。抗 rT_3 抗体は、Dr. L.E.Braverman (Worcester, U.S.A.) より、また、 ^{125}I - T_3 および ^{125}I - rT_3 はダイナボット社より提供された。

なお、蛋白の定量は、Lowryの方法²²⁾を用いて行ない、標準として、bovine serum albuminを用いた。

Fig. 1. Conversion of T_4 to rT_3 in various subcellular fractions of human placenta.

Fig. 2. Effect of DTT concentration on conversion of T_4 to rT_3 .

Fig. 3. Effect of protein content on conversion of T_4 to rT_3 .

Fig. 4. Effect of incubation time on conversion of T_4 to rT_3 .

結 果

ヒト胎盤においては、 T_4 からの T_3 産生はほとんどみられなかった。したがって、以下の項においては、主に T_4 からの rT_3 産生について並べる。

1. 各細胞分画における T_4 から rT_3 への脱ヨード反応

ヒト胎盤より得られた各細胞分画における rT_3 の産生量をFig. 1に示す。 rT_3 産生量はmicrosome分画において最も多く、17.9ng/mg protein/1μg T_4 /60minであり、これはhomogenateにおける産

生量の約3.6倍にあたっていた。cytosol分画および核分画では、 rT_3 の産生はほとんど認められなかった。mitochondria分画での rT_3 産生は $14.0\text{ ng/mg protein}/1\mu\text{g T}_4/60\text{ min}$ であった。そこで、以下の実験は、ヒト胎盤microsome分画で行なった。

2. T_4 から rT_3 への脱ヨード反応に及ぼす諸条件の影響

1) DTTの影響 (Fig. 2)

T_4 からの rT_3 産生は、DTTの濃度に依存し、DTT無添加の場合には脱ヨード反応は認められず、DTT添加量の増加に従い、その反応は増大し、DTT濃度 0.05 M ではほぼプラトーに達した。

2) 蛋白濃度の影響 (Fig. 3)

T_4 よりの rT_3 産生量と、反応液中のmicrosome分画の蛋白量とはほぼ直線関係にあった。

3) Incubation時間の影響 (Fig. 4)

Incubationを最長120分間にわたって行なったところ、incubation時間の増加につれて T_4 よりの rT_3 産生量は増大した。

Fig. 5. Effect of incubation temperature on conversion of T_4 to rT_3 .

4) Incubation温度の影響 (Fig. 5)

T_4 よりの rT_3 産生量はincubation温度に依存し、 4°C においてはほとんど産生されず、 37°C で最高であった。

5) Preheatingの影響 (Fig. 6)

ヒト胎盤のmicrosome分画を 56°C にて30分間preheatした後、 37°C でincubationを行なったところ、 T_4 よりの rT_3 産生量は著しく低下した。

6) pHの影響 (Fig. 7)

Incubation bufferのpHを変化させたところ、 $\text{pH}5.0$ 以下および $\text{pH}9.5$ 以上では、 rT_3 はほとんど産生されず、その間の範囲においても、 rT_3 産生はpHに依存し、 $\text{pH}7.0$ で最も多い産生量を得た。

7) 基質(T_4)量の影響

rT_3 産生量は、Fig. 8にみられるごとく、反応液中の T_4 の量が少なくとも $16\mu\text{g/tube}$ となるまでは増大した。

Fig. 6. Effect of pH on conversion of T₄ to rT₃. Fig. 7. Effect of T₄ content on conversion of T₄ to rT₃.

3. T₃およびrT₃のdegradation

8ngのT₃およびrT₃を、T₄からのそれぞれの産生量をみた場合と同一条件下で、ヒト胎盤microsome分画とともにincubateした際の各々のdegradationをFig. 9に示す。T₃では非常に速やかにdegradationが進み、incubation 15分後には前値の18%に、さらに60分後には8%の値にまで低下したのに対し、rT₃は60分後においても前値の90%の値を維持していた。次に抗T₃抗体を添加してincubateした際のT₃産生量の変化をみた。Fig. 10は、抗T₃抗体を加えた時のT₃のdegradationを示している。抗T₃抗体を加えると、明らかにdegradationの程度は減少し、1:20倍希釈の抗T₃抗体100 μlを添加した際には、60分後でもT₃前値の90%が代謝されずに維持されており、この抗体を添加し

た際の見かけの T_3 産生量は実際の産生量とほぼ一致すると考えられた。なお、図には示していないが、同じ稀釈倍数のnormal rabbit serumを添加した際の T_3 のdegradationは、controlと差がなく速やかであった。Fig. 11に、incubationに際し、抗 T_3 抗体を添加した場合の T_4 からの T_3 および rT_3 産生量を示したが、抗 T_3 抗体の添加の有無にかかわらず、 T_3 はほとんど産生されなかった。また、 T_4 よりの rT_3 産生は、抗 T_3 抗体の添加の影響をほとんど受けなかった。

Fig. 8. Effect of preheating on conversion of T_4 to rT_3 .

Fig. 9. Effect of incubation time on T_3 and rT_4 degradation.

Fig. 10. Effect of the presence of T₃ - antibody on T₃ degradation.

Fig. 11. Effect of the presence of T₃ - antibody on the conversion of T₄ to T₃ or rT₃.

考 察

末梢組織における脱ヨード反応に関するin vitroの研究は、今まで主にラットについて行なわれ、肝および腎がその反応の中心であることが示され⁷⁾、ヒトにおいても同様であると推測されている。事実、我々は、最近、尿管癌または腎癌により摘出されたヒト腎皮質の正常部分を用いて、T₄からT₃およびrT₃への転換が行なわれていること、特にT₃への転換が活発であること、またそれらが酵素反応と考えられること、および、各々の反応の至適pHがそれぞれ6.5および10.0と異なることな

どから、2つの別個の酵素によるものであろうことなどを報告した³⁰⁾。これに対し、今回検索したヒト胎盤においては、 T_4 から rT_3 への転換が活発であり、 T_3 はほとんど産生されていなかった。 T_3 の産生がほとんど認められないことの理由としては、次の2つのことが考えられる。第1に、実際に T_4 からの転換が起こっていないことによるものであり、第2には、転換された T_3 がさらに急速に代謝されてしまうために、見かけ上 T_3 が産生されていないように見えることである。事実、ヒト胎盤 microsome 分画における T_3 の degradation はきわめて迅速であった。この系に1:20倍稀釈の抗 T_3 抗体100 μ lを加えると、 T_3 の degradation は著明に抑制され、incubation 60分でも前値の約90%の値が維持されていることが認められたことから、反応液中に抗 T_3 抗体を加えて T_3 の代謝を抑制した状態で、 T_4 からの T_3 産生量を測定したが、抗 T_3 抗体を加えない場合と同様、 T_3 産生はほとんどみられなかった。このことから、本反応系で T_3 がほとんど認められないのは、実際に T_4 からの転換がほとんど起こっていないことに由来するものと考えられる。これに対し、 rT_3 の degradation はきわめて遅く、見かけ上の rT_3 産生量が、 T_4 からの転換量とほぼ一致すると考えられた。 T_4 から rT_3 への転換が活発に行なわれ、 T_3 への転換がほとんど起こっていないという点、および rT_3 の degradation がほとんど起こっていないという点は、我々がヒト腎で報告した結果³¹⁾とは全く異なり、ラット大脳での報告¹²⁾に類似している。

また、 T_4 から rT_3 への脱ヨード反応は、incubationの時間および温度、bufferのpH、組織蛋白量および基質量のいずれにも依存し、また組織をpreheatすることにより反応がほとんど起こらなくなるなどから、酵素反応によるものと考えられる。至適pHは7.0であったが、この値は、ヒト腎での T_4 からの rT_3 転換反応で得られた至適pH10.0とは明らかに異なっており、このことは、胎盤における T_4 から rT_3 への脱ヨード反応系が、他の組織における反応系とはやや異なったものであることを示唆していると思われる。また、本反応は、ヒト腎組織³¹⁾におけると同様、microsome 分画で最も活発に行なわれていた。

また、本反応はDTT無添加では起こらず、DTT添加濃度の上昇とともにその反応は活発となり、0.05MのDTTではほぼプラトーに達した。SH基の働きとしては、酵素自体を活性型に変える役割をすること、または、酵素自体は変化させないで補酵素として働くことなどが挙げられている⁹⁾が、ヒト胎盤においても、他の組織と同様に、脱ヨード酵素が作用するためにはSH基が必要と考えられ、その点においては、ヒト腎における T_4 から T_3 への反応³¹⁾や、ラット大脳での T_4 から rT_3 への反応⁵⁾のパターンと類似している。

最近、ヒト胎盤における脱ヨード反応に関し、Banovacら¹⁾およびRotiら²⁹⁾は、異なった結果を得ている。すなわち、前者によれば、ヒト胎盤homogenateによって T_4 から産生された T_3 および rT_3 量をRIAで測定した結果、 T_3 の産生量が rT_3 のそれを大きく上回っており、細胞分画ではmicrosome 分画で最もその反応が活発であり、 rT_3 の degradation は10分間のincubationで約35%が減少し、その後はプラトーに達したという。一方、Rotiら²⁹⁾は、ヒト胎盤homogenateをDTTおよび T_4 とともにincubateしたところ、 T_3 はほとんど産生されず、 rT_3 のみが検出されたこと、 T_4 から rT_3 が産出される反応が酵素反応と思われ、至適pHが7.2であったことなどを報告している。また、 $^{125}\text{I}-T_4$ 、 T_3 および rT_3 を用いて、それらからの産生物をpaperchromatography法で調べたところ、 $^{125}\text{I}-T_4$ からは56%の rT_3 が、また、 $^{125}\text{I}-T_3$ からは61%の3,3'-diiodothyronineおよび35%の3'-monoiodothyronineが証明されたのに反し、 $^{125}\text{I}-rT_3$ は脱ヨードを受けていなかったという。我々の得た結果は、Rotiらの結果²⁹⁾とほぼ一致していた。Banovacら¹⁾の実験系と、Rotiら²⁹⁾および我々の系との間で最も異

なっている点はDTT使用の有無である。Banovacら¹⁾の実験ではDTTを用いていなかったために、 rT_3 産生量がきわめてわずかであったことが推測される。ただし、 T_3 産生量が多かったことについては、DTT使用の有無だけでは説明できず、現時点において、その理由は不明である。

今回の検討で、 rT_3 のdegradationがほとんど起こっていなかったことは、ヒト³¹⁾およびラット腎⁶⁾で、 T_3 がきわめて安定である事実と類似している。その理由としては、脱ヨード酵素側の問題以外に、基質である rT_3 と胎盤内の酵素系との反応条件に問題がある可能性も推測される。

妊娠中および出産前後の甲状腺ホルモンの動態に関しては、多くの研究がなされている。Isaacら¹⁹⁾は、ヒト胎児に関して、妊娠28~44週における出産に際して得られた臍帯血の分析から、 T_3 濃度が妊娠週数に従い上昇してくるのに反し、 rT_3 濃度はしだいに減少してくるが、その絶対値は、前者に比し、後者の方が高い値を示していると報告している。胎児血清中の甲状腺ホルモンの由来に関しては、胎児自身の甲状腺が産生したもの、胎児末梢組織で転換されたもの、母体から臍帯を介して移行したもの、および羊水中から摂取したものなどの可能性が考えられる。Harrisら¹⁸⁾は、ラット肝を用いた実験で、胎児ラットでは5'-deiodinationが低下しており、このことが胎児ラットにおける高濃度の血清 rT_3 、および低濃度の T_3 の存在に寄与していると述べている。また、羊水中の甲状腺ホルモン濃度に関して、Meinholdら²⁷⁾は、ヒト羊水中の rT_3 濃度は、母体血清中濃度に比べて著明に高く、妊娠30週頃では、前者が後者の約8倍であるのに対し、 T_4 および T_3 濃度は母体血清中のそれらに比べて著明に低いことを報告している。一方、母親由来の甲状腺ホルモンの胎盤通過性に関しては、様々な報告がなされているが¹⁶⁾¹⁷⁾Dussaultらによれば¹³⁾、ラット胎児血清 T_4 が母親の T_4 に依存する度合は1%以下であると言う。また、El-Zaheriら¹⁴⁾は、ラット胎児血清TSH値が母親ラットの甲状腺切除の影響を受けないことから、胎盤を通過する T_4 は無視できる程度であると報告しており、さらに胎児血清および羊水中の rT_3 濃度は母親ラットの甲状腺機能により規定されていると述べている。さらに、彼らは、ラット母体に rT_3 を大量に投与した際の胎児血清中の rT_3 濃度は、わずかながら上昇すると述べている。今回、我々は、ヒト胎盤において、 T_4 から rT_3 への脱ヨード反応が活発に行なわれていることを確認したが、胎盤において大量の rT_3 が産生された場合、その一部が臍帯ないしは羊水を介して胎児に移行する可能性は十分考えられる。したがって、胎児血清中の rT_3 が高濃度であることの原因として、胎児自身による産生の他に、この機構も関与しているのではないかと考えられる。また、 T_4 が胎盤を通過しにくい事実に関しても、 T_4 自体が胎盤を通過しないことの他に、胎盤における T_4 から rT_3 への脱ヨード反応が関与している可能性も推測される。

なお、今回、我々は、胎盤の脱ヨード反応を検討するに際し、母体側および胎児側の分離は行なわなかった。ただ、犬において胎児組織(腎)を用いて検討したところ、 T_4 は、 T_3 、 rT_3 いずれへも脱ヨードされていなかった(未発表データ)。

結 語

ヒト胎盤homogenateおよび細胞分画を用いて、 T_4 から T_3 および rT_3 への脱ヨード反応についてin vitroで実験を行ない、以下の結果を得た。

1) ヒト胎盤では、 T_4 から rT_3 への脱ヨード反応は活発に行なわれていたが、 T_3 への反応はほとんど起こっていなかった。

2) T_4 から rT_3 への脱ヨード反応は、incubation温度、時間、蛋白量、基質量、DTT量および

bufferのpHに依存し、至適pHは7.0であった。また、胎盤組織を56°Cで30分間preheatしたところ、この反応は抑制された。

3) 胎盤における rT_3 のdegradationはわずかであった。

4) T_4 から rT_3 への反応は、microsome分画において最も活発に起こっていた。

5) 胎盤における T_4 から rT_3 への脱ヨード反応が胎盤における T_4 通過を阻止する機構に関与している可能性が考えられるとともに、産生された rT_3 が、胎児血清中の高濃度の rT_3 レベルの発現に寄与している可能性も推測される。

胎盤提供に御協力下さいました東北大学産婦人科教室の諸先生に感謝いたします。

本文の要旨は、第55回日本内分泌学会総会および第11回東北内分泌研究会において発表した。

文 献

- 1) Banovac, K., Bzik, Lj., Tislarić, D. and Sekso, M.: Conversion of thyroxine to triiodothyronine and reverse triiodothyronine in human placenta and fetal membranes. *Hormone Res.* 12: 253–259, 1980.
- 2) Becker, D.V. and Prudden, J.F.: The metabolism of 131 I-labelled thyroxine, triiodothyronine and diiodotyrosine by an isolated perfused rabbit liver. *Endocrinology*, 64: 136–148, 1959.
- 3) Borges, M., Eisenstein, Z., Burger, A.G. and Ingbar, S.H.: Immunosequestration: A new technique for studying peripheral iodothyronine metabolism in vitro. *Endocrinology*, 108: 1665–1671, 1981.
- 4) Braverman, L.E., Ingbar, S.H. and Sterling, K.: Conversion of thyroxine (T_4) to triiodothyronine (T_3) in athyreotic human subjects. *J. Clin. Invest.*, 49: 855–864, 1970.
- 5) Cavalieri, R.R., Gavin, L.A., Bui, F., McMahon, F. and Hammond, M.: Conversion of thyroxine to 3, 3', 5'-triiodothyronine (reverse T_3) by a soluble enzyme system of rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 79: 897–902, 1977.
- 6) Chiraseveenuprapund, P., Buergi, U., Goswami, A. and Rosenberg, I.N.: Conversion of L-thyroxine to triiodothyronine in rat kidney homogenate. *Endocrinology*, 102: 612–622, 1978.
- 7) Chopra, I.J.: A study of extrathyroidal conversion of thyroxine (T_4) to 3, 3', 5'-triiodothyronine (T_3) in vitro. *Endocrinology*, 101: 453–463, 1977.
- 8) Chopra, I.J.: Radioimmunoassay for measurement of 3, 3', 5'-triiodothyronine (reverse T_3). *J. Clin. Invest.*, 54: 583–592, 1974.
- 9) Chopra, I.J.: Sulfhydryl groups and the mono-deiodination of thyroxine to triiodothyronine. *Science*, 199: 904–906, 1978.
- 10) Chopra, I.J., Solomon, D.H. and Beall, G.N.: Radioimmunoassay for measurement of triiodothyronine in human serum. *J. Clin. Invest.*, 50: 2033–2041, 1971.
- 11) Chopra, I.J., Solomon, D.H., Chopra, U., Wu, S.Y., Fisher, D.A. and Nakamura, Y.: Pathway of metabolism of thyroid hormone. *Recent Prog. Horm. Res.*, 34: 521–567, 1978.
- 12) Dratman, M.B. and Crutchfield, F.L.: Synaptosomal 125 I triiodothyronine after intravenous 125 I thyroxine. *Am. J. Physiol.*, 235: E638–647, 1978.
- 13) Dussault, J.H. and Coulombe, P.: Minimal placental transfer of L-thyroxine (T_4) in the rat. *Pediatr. Res.*, 14: 228–231, 1980.
- 14) El-Zaheri, M.M., Vagerakis, A.G., Hinerfeld, L., Emerson, C.H. and Braverman, L.E.: Maternal thyroid function is the major determinant of amniotic fluid 3, 3', 5'-triiodothyronine in the rat. *J. Clin. Invest.*, 67: 1126–1133, 1981.

- 15) Gavin, L.A., McMahon, F.A. and Moeller, M.: Dietary modification of thyroxine deiodination in rat liver is not mediated by hepatic sulfhydryls. *J. Clin. Invest.*, 65: 943-946, 1980.
- 16) Gray, B. and Galton, V.A.: The transplacental passage of thyroxine and fetal thyroid function in the rat. *Acta Endocrinol.*, 75: 725-733, 1974.
- 17) Hamburg, M., Sobel, E.H., Koblin, R. and Rinestone, A.: Passage of thyroid hormone across the placenta and hypophysectomized rats. *Anat. Rec.*, 144: 219-227, 1962.
- 18) Harris, A.R.C., Fang, S.L., Prosky, J., Braverman, L.E. and Vagenakis, A.G.: Decreased outer ring monodeiodination of thyroxine and reverse triiodothyronine in the fetal and neonatal rat. *Endocrinology*, 103: 2216-2222, 1978.
- 19) Isaac, R.M., Hayek, A. and Standefer, J.C.: Reverse tri-iodothyronine to tri-iodothyronine ratio and gestational age. *J. Pediatrics*, 94: 477-479, 1979.
- 20) Kaplan, M.M., Tatrow, J.B., Breitbart, R. and Larsen, P.R.: Comparison of thyroxine and 3, 3', 5'-triiodothyronine metabolism in rat kidney and liver homogenates. *Metabolism*, 28: 1139-1146, 1979.
- 21) Kaplan, M.M. and Yaskoshi, K.A.: Phenolic and tyrosyl ring deiodination of iodothyronines in rat brain homogenates. *J. Clin. Invest.*, 66: 551-562, 1980.
- 22) Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275, 1951.
- 23) Meinhold, H., Dudenhausen, J.W., Wenzel, K.W. and Saling, E.: Amniotic fluid concentrations of 3, 3', 5'-triiodothyronine (rT₃), 3, 3'-diiodothyronine, 3, 5, 3'-triiodothyronine (T₃) and thyroxine (T₄) in normal and complicated pregnancy. *Clin. Endocrinology*, 10: 355-365, 1979.
- 24) Rabinowitz, J.L. and Hercher, E.S.: Thyroxine: conversion to triiodothyronine by isolated perfused rat heart. *Science*, 173: 1242-1243, 1971.
- 25) Roti, E., Fang, S.L., Green, K., Emerson, C.H. and Braverman, L.E.: Human Placenta is an active site of thyroxine and 3, 3', 5-triiodothyronine tyrosyl ring deiodination. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 53: 498-501, 1981.
- 26) Sakurada, T., Saito, S., Yamaguchi, T., Yamamoto, M., Demura, H., Demura, R., Fukuchi, S., Yoshida, K. and Torikai, T.: Radioimmunoassay of triiodothyronine. *Tohoku J. exp. Med.*, 110: 329-340, 1973.
- 27) Silva, J. and Larsen, P.R.: Pituitary nuclear 3, 5, 3'-triiodothyronine and thyrotropin secretion: an explanation for the effect of thyroxine. *Science*, 198: 617-620, 1978.
- 28) Vagenakis, A.G., Burger, A., Portnay, G.I., Rudolph, M., O'Brian, J.T., Azizi, F., Arky, R.A., Nicod, P., Ingbar, S.H. and Braverman, L.E.: Diversion of peripheral thyroxine metabolism from activating to inactivating pathways during complete fasting. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 41: 191-194, 1975.
- 29) Visser, T.J., van der Dose-Tobé, I., Docter, R. and Henneman, G.: Conversion of thyroxine into triiodothyronine by rat liver homogenate. *Biochem. J.*, 150: 489-493, 1975.
- 30) Woeber, K.A.: L-Triiodothyronine and L-reverse triiodothyronine generation in the human polymorphonuclear leukocyte. *J. Clin. Invest.*, 62: 577-584, 1978.
- 31) 吉田克己, 桜田俊郎, 貴岡博史, 深沢 洋, 海瀬信子, 海瀬一郎, 山本蔭子, 鈴木道子, 斎藤慎太郎, 吉永 肇, 木村正一, 山中雅夫: ヒト腎における甲状腺ホルモンの5-および5'-monodeiodination(I) 日内分泌会誌. 58: 199-209, 1982. (受付日: 57. 5. 4)