ラット肝細胞におけるカテコラミン 受容体のインターナリゼーションに およぼす甲状腺ホルモンの効果

信州大学医学部内分泌内科

橋 爪 潔 志, 山 内 恵 史, 小 林 睦 博
原 口 和 貴, 市 川 和 夫

The Effect of Thyroid Hormones on the Beta-Adrenergic Receptor Internalization in Isolated Rat Hepatocytes

**Kiyoshi HASHIZUME, Keishi YAMAUCHI, Mutsuhiro KOBAYASHI,
Kazutaka HARAGUCHI and Kazuo ICHIKAWA**

The Department of Medicine, Institute of Adaptation Medicine,
Shinshu University School of Medicine,
Matsumoto 390, Japan

The effect of the thyroid hormone(T_4) on the internalization of beta-adrenergic receptors in isolated hepatocytes was examined. Uptake of [3H]-dihydroalprenolol(DHA) by the cells, which were prepared from untreated-rats, was increased by the time-dependent manner *in vitro*. The amount of incorporated-[3H]-DHA was decreased by further incubation in the presence of 10^{-5} M of d, 1-isoproterenol. However, about 30% of incorporated-[3H]-DHA remained in the cells by this treatment. The amount of this [3H]-DHA remaining in the cells was lowered by pretreatment of the cells with methylamine, monodansylcadaverine, d, 1-isoproterenol or d, 1-propranolol. Then the amount of this [3H]-DHA was recognized as an internalized-receptor-hormone(or -DHA) complex.

The total uptake(internalized- + membrane bound-) of [3H]-DHA by the cells was not significantly different between the thyroidectomized (T_X + Saline) and T_4 -treated-thyroidectomized(T_X + T_4) rats. However, the rate of disappearance of incorporated-[3H]-DHA was greater in the T_X + T_4 animals compared to that in the T_X + Saline animals. In the cells obtained from the T_X + T_4 animals, internalized-[3H]-DHA was significantly higher than that of the T_X + Saline animals. The number of membrane associated beta adrenergic receptors was significantly lower in the T_X + T_4 group.

These results suggest that the thyroid hormone induces an acceleration of internalization of beta adrenergic receptors in hepatocytes.

緒 言

甲状腺ホルモンは、末梢組織でのカテコラミン受容体 (特に β -adrenergic receptor) およびカテコラミン感受性 adenylate cyclase 活性の変化を誘導し、それぞれの組織におけるカテコラミンの作用を修飾すると考えられている。この甲状腺ホルモンの作用は、組織によって著しく異なる。たとえば、心あるいは脂肪組織では、甲状腺ホルモンはカテコラミン感受性を増強する。^{1) 5) 11) 14) 18) 21) 22)} これらは主に、 β -作用を介する、phosphorylase a の、または、adenylate cyclase の活性化を指標として観察されている。一方、肝では、甲状腺ホルモン投与動物ではそれらの活性が減弱される事実が観察されている^{15) 16) 17) 19)}。これらの事実は、甲状腺ホルモンが、その標的とするそれぞれの組織で異った作用を有する可能性を示している。

一方、カテコラミン受容体は、ホルモン (β -agonist など) が結合することによって、細胞表面から、細胞内へ摂取され、細胞表面に存在する受容体の数を減少させる機能を有している⁴⁾。このカテコラミン受容体の internalization は、カテコラミン刺激に対する重要な調節機構と考えられる。甲状腺ホルモンが、末梢組織でのカテコラミン受容体数を変化させる現象、特に肝では、その受容体数が減少する事実は^{16) 17)}、甲状腺ホルモンがこの受容体の internalization にも影響をおよぼし、間接的にカテコラミンの作用を調節している可能性を示している。

本研究では、ラットを用いた実験で、甲状腺ホルモンが、肝細胞のカテコラミン受容体の internalization にどのような影響をおよぼすかを、in vivo, in vitro の実験で考察した。

材料および実験方法

動物: Wistar 系雄ラット (50g) を用いた。ラットはあらかじめ甲状腺摘除を行い、その2週間後から、生理食塩水 (Tx + Saline), あるいは L-thyroxine (T_4) (Sigma chemical Co.,) (Tx + T_4) を皮下に投与した。 T_4 の投与量は $100 \mu\text{g/kg}$ body weight とし、1日1回、3日間の連続投与を行い、その肝を実験に供した。

肝細胞の調製: ラット肝細胞は、Berry および Friend の方法²⁾ に従って調製した。調製前に肝の血液成分を取り除くため、氷冷した生理食塩水で perfusion を行った。コラゲナーゼ (type IV) (Sigma) で肝を処理した後、95% O_2 -5% CO_2 存在下で、Ham's F10 nutrient mixture (Gibco Chem. Co.,) 液中にて、4時間 37°C で incubation した後、細胞を実験に使用した。

[^3H]-dihydroalprenolol の肝細胞へのとりこみ: 調製した細胞をインキュベーションメディウム (136.9 mM NaCl , 2.7 mM KCl , $8.1 \text{ mM Na}_2\text{HPO}_4$, $1.5 \text{ mM KH}_2\text{PO}_4$, 0.9 mM CaCl_2 , 0.5 mM MgCl_2 , 6.7 mM Mglucose , 1% bovine serum albumin) に浮遊させ、 $10 \mu\text{M}$ の [^3H]-dihydroalprenolol ([^3H]-DHA) (New England Nuclear, Boston, U.S.A.) (SA ; 70 Ci/mmol) 存在下で 37°C で incubation した後、この mixture を 25% ショ糖の上に重層し、microfuge 遠沈法にて細胞を分離、99% の蟻酸で細胞を破壊、そこに存在する放射性を液体シンチレーションカウンターで測定した。Internalized-receptor-hormone (or-DHA) complex は、細胞に [^3H]-DHA をとりこませた後、incubation medium の 20 倍容量の 10^{-5} M d, ℓ -isoproterenol (Sigma) を含む緩衝液を加えて 15 分間 incubation し、 $1,000 \text{ rpm}$ 10 分間遠沈した後、そこに含まれる放射性を指標とした。

その他: 血中 T_3 , T_4 は市販の RIA キットを使用して測定した。monodansylcadaverine, methyldamine, d, ℓ -propranolol は Sigma Chemical 社のものを使用した。

Fig. 1. Effect of incubation of [3 H]-DHA-loaded hepatocytes in the presence or absence of d, l-isoproterenol on the release of preloaded [3 H]-DHA.

The hepatocytes obtained from untreated rats was preincubated in the presence of [3 H]-DHA for 15 min. After the incubation the mixture was centrifuged and the cells were suspended with 20 volumes of buffer containing 10^{-5} M isoproterenol, and were incubated for indicated times. After appropriate incubation time, the radioactivity in the cells was measured. Each datum indicates the mean $\pm$ SEM of five determinations.

結 果

1. [3 H]-DHA の細胞への摂取におよぼす d, l-isoproterenol の効果

未処置ラットの遊離肝細胞を [3 H]-DHA 存在下で incubate し、15分後に20倍容量の 10^{-5} M d, l-isoproterenol を含む緩衝液を加え、経時的に、細胞に摂取された [3 H] の変化を観察した。細胞に摂取された [3 H] の約70%は速やかに細胞外に放出された。Fig. 1に示すように細胞内 [3 H] の残存量は、d, l-isoproterenol を加えて約5分後には、0分における摂取量の約30%にまで低下した。しかし、その後 incubation をさらに継続しても、その値は、ほとんど変化しなかった。この実験結果は、d, l-isoproterenol によって displace されない [3 H]-DHA が存在することを意味していると考えられた。すなわち、細胞表面に結合する以外に細胞内に摂取された [3 H]-DHA があると思われる。また、d, l-isoproterenol を加えない緩衝液で反応液を20倍に希釈して incubation してもその結果はほとんど変わらなかった (Fig. 1)。したがって、大量の緩衝液で細胞を洗っても細胞表面に結合した [3 H]-DHA の除去が可能であると考えられたが、いずれにしても約30%の [3 H]-DHA は細胞を洗浄した後も遊離されない現象が存在するものと考えられた。

一方、細胞を種々の濃度の d, l-isoproterenol あるいは d, l-propranolol で30分間あらかじめ incubation し、これらの細胞に対し、同様な実験を行うと、残存する [3 H] は各々の濃度に依存して低下する結果が得られた (Fig. 2)。この事実は、d, l-isoproterenol、あるいは d, l-propranolol で細胞を前処置することにより、 β -receptor に特異的に結合した [3 H]-DHA の細胞内への摂取が抑制されることを示している。

Fig. 2. Effect of d, l-isoproterenol or d, l-propranolol on the [³H]-incorporation into the cells.

Isolated cells were preincubated with various concentrations of d, l-isoproterenol or d, l-propranolol for 30 min. at 37°C. After washing the cells with buffer, the cells were incubated in the presence of [³H]-DHA for 15 min., then the cells were packed by centrifugation and suspended with 20 volumes of the buffer containing 10⁻⁵M of d, l-isoproterenol and the cells were incubated for 15 min. The content of radioactivity in the cells was measured. Each result indicates the mean ± SEM of five determinations.

Table 1. Effect of methylamine or monodansylcadaverine on [³H]-DHA uptake into isolated hepatocytes.

Fraction	incorporated [³ H] (cpm/10 ⁶ cells)		
	treatment		
	saline	methylamine(20 mM)	monodansylcadaverine (0.1 mM)
Whole cell	11,744 ± 1,220	11,789 ± 891	9,860 ± 942
Particulate	7,117 ± 688	6,842 ± 696	6,967 ± 954
TCA soluble	1,744 ± 196 ^(a)	1,210 ± 158 ^(b)	890 ± 154 ^(c)
TCA precipitable	1,358 ± 106 ^(d)	810 ± 92 ^(e)	610 ± 88 ^(f)

The cells were preincubated in the presence or absence of methylamine or monodansylcadaverine. After the cells were washing, [³H]-DHA was loaded and the radioactivity in subcellular fractions was measured. Each datum indicates the mean ± SEM of five determinations. P values: less than 0.05 between (a) and (b), (a) and (c), (d) and (e), and (d) and (f). Significance was assessed using Student's t test.

2. 正常ラットの遊離肝細胞への [^3H] -DHA の取りこみにおよぼす methylamine および monodansylcadaverine の効果

β -receptor と結合した [^3H] -DHA の細胞内への摂取が internalization によって生じているか否かを, internalization を抑制する methylamine, および monodansylcadaverine を用いて考察した。未処置ラットの肝細胞を methylamine (20mM), あるいは monodansylcadaverine (0.1mM) で 30 分間, 37°C で preincubation し, これらの物質を含まない緩衝液で 2 回洗浄した後, 細胞への [^3H] -DHA の摂取を観察した。[^3H] -DHA との incubation は, 5 分間行った。Incubation 後, 各々の細胞群を 2 群に分け, 1 群は細胞に存在する全 [^3H] を直接測定し, 2 群は 10mM の potassiumphosphate buffer (pH 7.5, 0.5mM の EGTA を含む。) で細胞を破壊したのち, 40,000×g で遠沈し, その沈渣に存在する [^3H], また上清は, 25% TCA を加えて, 10,000×g で遠沈後, その上清と沈渣とに含まれる [^3H] を測定して, 各々に摂取された [^3H] -DHA より細胞内の [^3H] の分布状態を観察した。

細胞に摂取された全 [^3H] は, methylamine, monodansylcadaverine で処置した群で, コントロール群 (生理食塩水で処置) と著明な差を認めなかった。また細胞破壊後の沈渣 (particulate) への摂取も, コントロールグループと有意差を示さなかった。しかし, TCA による可溶化分画, および沈渣への [^3H] の摂取はこれらの薬剤によって有意に抑制された (Table 1)。細胞内への [^3H] -DHA の摂取がこれらの薬物によって抑制されたことから, 細胞内への [^3H] -DHA の摂取は, β -receptor が internalize されると同時に, これに結合した [^3H] -DHA が細胞内へ摂取される現象を示しているものと考えられた。

Fig. 3. Effect of methylamine on the [^3H] -DHA incorporation into the cells.

The isolated hepatocytes, which were obtained from T_x + Saline- or T_x + T_4 -treated rats, were preincubated in the presence or absence of 20 mM methylamine for 30 min. at 37°C. After the incubation the cells were washed with the buffer and were incubated in the presence of [^3H] -DHA for 5 min. at 37°C. The radioactivity in the cells, after incubation with 10^{-5} M d, 1-isoproterenol, was measured. Each datum indicates the mean $\pm$ SEM of five determinations. MA indicates methylamine.

また細胞を20mM methylamine と preincubate した後, $[^3\text{H}]$ -DHA と 5 分間 インキュベートし, さらに medium の20倍容量の 10^{-5}M d, ℓ -isoproterenol を含む緩衝液中で15分間, incubate した後の細胞内に残存する $[^3\text{H}]$ は, コントロール群に比し, 著しく低下していた (Fig. 3)。この事実は, methylamine が強力な internalization の blocker として作用していることを示しているものと考えられる。

したがって $[^3\text{H}]$ -DHA と incubation した後, 10^{-5}M d, ℓ -isoproterenol で15分間 incubate した後も細胞に存在する $[^3\text{H}]$ の放射活性を internalize された receptor-DHA complex と考え, 以下の実験を行った。

Table 2. Serum T_3 or T_4 levels in the T_x + Saline- or T_x + T_4 - treated rats.

Treatment	T_3 (ng/100 ml)	T_4 (μg /100 ml)
T_x + Saline	0.44 ± 0.21	0.31 ± 0.11
T_x + T_4	1.52 ± 0.34	0.82 ± 0.20

Fig. 4. The effects of T_4 on the uptake(left) and on internalization(right) of $[^3\text{H}]$ -DHA.

Hepatocytes, which were isolated from T_x + Saline or T_x + T_4 rats, were incubated with $[^3\text{H}]$ -DHA for indicated times. The content of $[^3\text{H}]$ -DHA before(uptake) and after(internalized) the incubation of the cells with 10^{-5}M d, 1-isoproterenol was illustrated. Each datum indicates the mean $\pm$ SEM of five determinations.

3. β -receptor の internalization におよぼす T_4 投与の効果

甲状腺摘除群ラット (T_x + Saline) および T_4 を投与したラット (T_x + T_4) の血中 T_3 , T_4 濃度を Table 2 に示してある。両者の細胞を用いて internalize された $[^3\text{H}]$ -DHA を観察すると, Fig. 3 に示すように, T_x + Saline, T_x + T_4 両群で methylamine 前処置により $[^3\text{H}]$ -DHA の摂取は有意に抑制された。一方, methylamine で前処置しない細胞での internalized- $[^3\text{H}]$ -DHA は, T_x +

T_4 群で有意に上昇していた。次に 37°C の実験条件下で、Tx+Saline群とTx+ T_4 群の間で、全細胞への摂取と、internalizeされた $[^3\text{H}]$ -DHAを比較した。全細胞への摂取は、約5分で最大に達した。しかし、incubationをさらに持続すると、摂取された $[^3\text{H}]$ は次第に低下する結果が得られた (Fig. 4, 左)。Tx+ T_4 群では、Tx+Saline群より、その消失速度は大であった。一方、これらの細胞へのinternalizeされた $[^3\text{H}]$ -DHAを観察すると、Tx+ T_4 群でTx+Saline群に比し、著しく高い値が得られた (Fig. 4, 右)。この事実は、甲状腺ホルモンは、 β -receptorのinternalizationを促進する効果を有していることを示している。 β -receptorのinternalizationは温度依存性があるため、 4°C 、 30°C 、 37°C の実験条件で T_4 投与の β -receptor internalizationを考察したが、いずれの温度でも、Tx+ T_4 群でinternalizationの著明な促進が観察された (Fig. 5)。

Fig. 5. The effect of temperature on the beta-receptor internalization in hepatocytes derived from T_x + Saline- or T_x + T_4 -treated rats.

Each datum indicates the mean $\pm$ SEM of five determinations.

Fig. 6. The changes in the localization of the beta-receptor during the incubation in hepatocytes derived from T_x + Saline- or T_x + T_4 -treated rats.

Each datum indicates the mean $\pm$ SEM of five determinations.

全細胞への $[^3\text{H}]$ -DHA の摂取から internalize された $[^3\text{H}]$ -DHA を除去すると, membrane-bound の $[^3\text{H}]$ -DHA が推測される。これを経時的に観察すると細胞表面の β -receptor の数の変化が示されるが, Fig. 6, 左に示すように, $\text{Tx} + \text{T}_4$ 群で細胞表面受容体数の著明な減少が観察された。また, 全摂取量に対する internalize された $[^3\text{H}]$ -DHA の割合は, $\text{Tx} + \text{T}_4$ 群で $\text{Tx} + \text{Sa-line}$ 群に比し高値であった (Fig. 6, 右)。

考 察

多くのホルモンは, その標的組織に結合した後, その作用を発現するが, 標的組織の細胞膜上で, このホルモンがどのように処理され, ホルモンの結合による情報の伝達がどのような機構で制御されているかは定かでない。特に生理活性アミン, ペプチドホルモンは, その受容体結合後, adenylylate cyclase-cyclic AMP 系を介して標的組織に対する賦活作用を有するが, この賦活作用そのものが, ホルモン情報の細胞内伝達に調節的役割を果たしている可能性が考えられている^{6) 7)}。さらに, このような adenylylate cyclase-cyclic AMP 系を介する賦活機序として, ADPribosylation 調節蛋白の活性化^{17) 20)}, および受容体-adenylylate cyclase の coupling の調節^{8) 9)}なども考えられており, これらの機構がホルモン情報の制御に重要な役割を果たしている可能性も示唆されている。また, 甲状腺ホルモンがカテコラミンの代謝過程の一つである monoamine oxidase 活性を調節する作用も知られている¹²⁾。このように種々の調節機序が存在するが, これらの他に, ホルモンが結合することにより, 細胞表面の受容体を細胞内に摂取し, 細胞表面の受容体数を低下させ, ホルモンの情報を制御する機構の存在することが明きらかになっている⁴⁾。

前述したとおり, 甲状腺ホルモンは, カテコラミンの作用に対し, 組織特異性を有するものの, どの組織に対しても調節的に作用していると考えられている^{1) 5) 11) 14) 15) 16) 17) 18) 19) 21) 22)}。特に肝細胞では甲状腺ホルモンはカテコラミン受容体の数の低下を誘導する^{15) 16) 17) 19)}。この作用は in vivo で甲状腺ホルモンを投与することにより生じる。これは内因性のカテコラミンの結合による細胞表面の受容体数の低下を甲状腺ホルモンが促進する可能性を示している。

著者らの実験では, 肝細胞を, 4 時間, preincubation しておいてから $[^3\text{H}]$ -DHA の細胞への摂取を観察した。このような状態で実験を行うと, 全細胞への摂取量は, $\text{Tx} + \text{Saline}$ と $\text{Tx} + \text{T}_4$ との間で有意差が認められないが, 摂取量が最大に達する 5 分後からは, $\text{Tx} + \text{T}_4$ 群で細胞に残存する $[^3\text{H}]$ -DHA 量の急速な減少が観察された。この事実は, $\text{Tx} + \text{T}_4$ の細胞で摂取された $[^3\text{H}]$ -DHA が細胞外へ除去されるか細胞表面の受容体数が急速に減少しているか, いずれかの現象を示しているものと考えられる。一方, internalize された放射活性を比較すると, 全細胞での残存量とは逆に, $\text{Tx} + \text{T}_4$ 群で著しい上昇が認められた。すなわち, membrane-bound の放射活性が $\text{Tx} + \text{T}_4$ 群で著しく減少しており, これは, 甲状腺ホルモンがカテコラミン受容体の internalization を促進することに起因すると考えられる。このような, T_4 によるカテコラミン受容体の internalization の促進は, 細胞調製後, 長時間 preincubation しておいた状態においても認められることから, 肝細胞においては, T_4 により受容体の internalization を誘導する何らかの因子が細胞内に産生されるものと思われる。

この実験でみられた, T_4 投与による肝細胞膜上のカテコラミン受容体数の減少は, 他の報告と一致するが^{15) 16) 17) 19)}, その減少によって, カテコラミン感受性の adenylylate cyclase 活性が平行して低下するか否かは未だ不明である。諸家の報告のように^{15) 16) 17) 19)}, 受容体数の減少と adenylylate cyc-

laseの減少とが平行すると仮定すれば、internalizeされた受容体はカテコラミンがたとえ結合していても、生理作用を有さない可能性が考えられる。これらの点については、更に詳細な検討が必要と思われる。

結 語

甲状腺ホルモン (T_4) を動物に前投与することにより、肝細胞の β -受容体のinternalizationが促進される事実を明らかにした。この促進効果は、甲状腺ホルモンが、肝細胞の β -受容体のinternalizationを誘導する何らかの因子を産生することにより生じるものと考えられた。

文 献

- 1) Armstrong, K.J., Stouffer, J.E., Van Inwegen, R.E., Thompson, W.J. and Robinson, G.A.: Effects of thyroid hormone deficiency on cyclic adenosine 3':5'-monophosphate of lipolysis in fat cells. *J. Biol. Chem.*, 249: 4226-4231, 1974.
- 2) Berry, M.N. and Friend, D.S.: High yield preparation of isolated rat liver parenchymal cells. *J. Cell. Biol.*, 43: 506-520, 1969.
- 3) Cheng, S.-Y., Maxfield, F.R., Robbins, J., Willingham, M.C. and Pastan, I.H.: Receptor-mediated uptake of 3, 3', 5-triiodo-L-thyronine by cultured fibroblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 77: 3425-3429, 1980.
- 4) Chaung, D.-M.: Inhibitors of transglutaminase potent agonist-mediated internalization of beta-adrenergic receptors. *J. Biol. Chem.*, 256: 8291-8293, 1981.
- 5) Debons, A.F. and Schwartz, J.E.: Dependence of the lipolytic action of epinephrine in vitro upon thyroid hormone. *J. Lipid Res.*, 2: 86-91, 1961.
- 6) Hashizume, K. and DeGroot, L.J.: Adenosine 3', 5'-monophosphate-dependent protein kinase activity in soluble thyrotropin receptor complex. *Endocrinology*, 104: 1739-1744, 1979.
- 7) Hashizume, K. and DeGroot, L.J.: Release of thyrotropin receptor from thyroid plasma membranes: Effect of hydrocortisone, propranolol, and adenosine 3', 5'-monophosphate. *Endocrinology*, 106: 1463-1468, 1980.
- 8) Hashizume, K., Kobayashi, M., Yamauchi, K., Ichikawa, K., Haraguchi, K. and Yamada, T.: Evidence for the existence of protein inhibitors for S-adenosyl-L-methionine-mediated methylation of phosphatidyl-ethanolamine in rat liver cytosol. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 110: 1983, in press.
- 9) Hirata, F., Strittmatter, W.J. and Axelrod, J.: Beta-adrenergic receptor agonist increase phospholipid methylation, membrane fluidity, and beta-adrenergic receptor-adenylate cyclase coupling. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 76: 368-372, 1970.
- 10) Horiuchi, R., Cheng, S.-Y., Willingham, M. and Pastan, I.: Inhibition of the nuclear entry of 3, 3', 5-triiodo-L-thyronine by monodansyl-cadaverine in GH₃ cells. *J. Biol. Chem.*, 257: 3139-3144, 1982.
- 11) Hornbrook, K.R. and Conrad, A.: Enhancement by thyroid hormone treatment of norepinephrine-induced phosphorylase activation in the rat heart. *Biochem. Pharmacol.*, 21: 897-907, 1972.
- 12) Ichikawa, K., Hashizume, K. and Yamada, T.: Monoamine oxidase inhibitory modulators in rat heart cytosol: Evidence for induction by thyroid hormone. *Endocrinology*, 111: 1803-1809, 1982.
- 13) Levitzki, A., Willingham, M. and Pastan, I.: Evidence for participation

- of transglutaminase in receptor-mediated endocytosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 77: 2706–2710, 1980.
- 14) Malbon, C.C., Moreno, F.J., Cabelli, R.J. and Fani, J.N.: Fat cell adenylate cyclase and beta-adrenergic receptors in a altered thyroid states. *J. Biol. Chem.*, 253: 671–678, 1978.
- 15) Malbon, C.C., Li, S.-Y. and Fani, J.N.: Hormonal activation of glycogen phosphorylase in hepatocytes from hypothyroid rats. *J. Biol. Chem.*, 253: 8820–8825, 1978.
- 16) Malbon, C.C.: Liver cell adenylate cyclase and beta-adrenergic receptors. *J. Biol. Chem.*, 255: 8692–8699, 1980.
- 17) Malbon, C.C. and Greenberg, M.L.: 3, 3', 5-triiodothyronine administration in vivo modulates the hormone-sensitive adenylate cyclase system of rat hepatocytes. *J. Clin. Invest.*, 69: 414–426, 1982.
- 18) McNiel, J.H. and Brody, J.M.: The effect of triiodothyronine pretreatment on amine-induced rat cardiac phosphoarylase activation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 161: 40–46, 1968.
- 19) Preiksaitis, H.G. and Kunos, G.: Adrenoreceptor-mediated activation of liver glycogen phosphorylase: effects of thyroid state. *Life Sci.*, 24: 35–42, 1979.
- 20) Stiles, G.L., Stadel, J.M., DeLean, A. and Lefkowitz, R.J.: Hypothyroidism modulates beta adrenergic receptor-adenylate cyclase interactions in rat reticulocytes. *J. Clin. Invest.*, 68: 1450–1455, 1981.
- 21) Tsai, J.S. and Chen, A.: Effect of L-triiodothyronine on $(-)^3\text{H}$ -dihydroalprenolol binding and cyclic AMP response to $(-)$ adrenaline in cultured heart cells. *Nature (London)*, 275: 138–140, 1978.
- 22) Wildenthal, K.: Studies of fetal mouse hearts in organ culture: influence of prolonged exposure to triiodothyronine on cardiac responsiveness to isoproterenol, glucagon, theophylline, acetylcholine and dibutyl cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 190: 272–279, 1974.

(受付日: 58. 3. 22)