

甲状腺ホルモンによるラット心筋の電位依存性 カリウムチャネル遺伝子発現の制御

新潟大学医学部第一内科学教室 (主任: 相澤義房教授)

阿部 晃

Regulation of Voltage-Gated K⁺ Channel mRNA Expression
by Thyroid Hormone in Rat Ventricle

Akira ABE

*The First Department of Internal Medicine,
Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Yoshifusa AIZAWA)*

Since effects of thyroid hormones on cardiac function or rhythm has been shown, wheater triiodethyronine (T3) modulates voltage-gated potassium channel gene expression in rat heart or not was studied in the present study. The mRNA expression of five K⁺ channel subunits (kv 1.2, kv 1.4, kv 1.5, kv 2.1 and kv 4.2) in rat ventricle was examined by RNase protection assay in rat which were treated with T3 or propylthiouracil (PTU) and was compared with control rats. Kv 1.2 mRNA expression strongly decreased in the ventricles of T3-treated rats, whereas Kv 1.5 mRNA increased, comparing to control rat ventricles. In contrast, Kv 1.5 mRNA expression in the ventricles strongly decreased and Kv 1.2 mRNA expression increased in PTU-treated rats. Interestingly, Kv 1.4 mRNA expression in ventricle was obviously enhanced by PTU-treatment although it was hardly detectable in control or T3-treated rat ventricles. The down-regulation of the ventricular Kv 1.5 mRNA expression by PTU was restored by administration of T3. No changes of Kv 2.1 and Kv 4.2 mRNA expression in ventricles were observed by the T3 or PTU treatment. These findings suggest that thyroid hormone influences mRNA expression of Shaker-related potassium channel genes (Kv 1.2, Kv 1.4 and Kv 1.5) in rat heart through T3 receptor-mediated regulation at a transcriptional level by an individually different direction.

Key words: potassium channel, thyroid hormone, T3 receptor

カリウムイオンチャネル, 甲状腺ホルモン, T3 受容体

Reprint requests to: Akira ABE,
The First Department of Internal Medicine,
Niigata University School of Medicine,
Niigata City, 951-8520, JAPAN.

別刷請求先: 〒951-8520 新潟市旭町通1番町754
新潟大学医学部第一内科学教室 阿部 晃

はじめに

近年多種類の電位依存性カリウムチャンネル遺伝子のクローニングがなされ、ラット心臓では主に Kv1.2, Kv1.4, Kv1.5, Kv2.1, Kv4.2 mRNA の発現が報告されている¹⁾。これらの遺伝子発現は、培養脳下垂体 GH3 細胞の Kv1.5 mRNA 発現の検討からグルココルチコイドで増加し²⁾、thyrotropin-releasing hormone (TRH) で減少することが示されている³⁾。また培養心筋細胞の Kv1.5 mRNA 発現は cAMP response element (CRE) を介して cAMP により転写活性が増加し⁴⁾、グルココルチコイドでも増加することが知られている⁵⁾。

一方、甲状腺機能亢進症モデルの兔では心筋筋の有効不応期が短縮することが報告されているが⁶⁾、その機序は不明である。電位依存性カリウムチャンネルは活動電位持続時間を規定する重要な要因であり、甲状腺疾患における心臓が知られていることから、甲状腺ホルモンがこれらの電位依存性カリウムチャンネルの遺伝子発現を修飾している可能性が考えられる。今回、甲状腺ホルモンが心室の Kv1.2, Kv1.4, Kv1.5, Kv2.1, Kv4.2 α サブユニット遺伝子発現に影響するかどうかを検討するために、ラットに T3 を、また T3 を低下させるために Propylthiouracil (PTU) を慢性投与し、心室筋における電位依存性カリウムチャンネルの発現を調べ、その調節機序を検討し考察を加えた。

対象と方法

1. 動物

8週齢雌性 SD 種ラット (体重 170~180 g) を propylthiouracil (PTU) 投与群、triiodothyronine (T3) 投与群、コントロール群に分けた。PTU 投与群は PTU 原末 4 mg を 5% CM-Cellulose 0.25 ml で溶解して

体重 100 g あたり 4 mg を連日 4 週間胃管チューブで投与した。T3 投与群は T3 (リオチロニンナトリウム錠、武田薬品工業株式会社) を粉砕し、25 μ g を蒸留水 0.5 ml で溶解して体重 100 g あたり 25 μ g として、コントロール群は蒸留水を 100 g あたり 0.25 ml を、それぞれ 4 週間連日胃管チューブより投与した。心室筋におけるカリウムチャンネル mRNA 発現量の経時的変化を検討するために、T3 を 1 日及び 3 日投与する群、PTU を 1, 2, 3 週間投与する群も作った。また PTU による効果が T3 低下のためかどうかを検討するため PTU 2 週間投与後に T3 を 1 回投与し 24 時間後に心臓を摘出して検討した。

投薬終了後麻酔下で開胸し、心臓から採血を行い、血清 T3, T4 値を RIA 法で測定した。心臓を摘出し PBS で血液を洗い流した後に心臓重量を測定し、心重量比を心重量/体重量として求め、T3 の心臓全体への作用を検討した。

2. RNA の抽出

摘出した心臓より左心室を切り出し、acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform 法で RNA を抽出した。

3. ラットの電位依存性カリウムチャンネルの cDNA クローニング

正常ラット心室筋より RNA を抽出し、表 1 に示すプライマーを用い、reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法により、ラット電位依存性カリウムチャンネル (Kv) の部分 cDNA をクローニングした。

得られた cDNA は pBluescript II SK+ベクターにクローニングした。クローニングされた cDNA はすべて automated DNA sequencer (ABI 373A; Perkin Elmer Japan, Urayasu, Japan) にて塩基配列を確認

表 1 ラット電位依存性カリウムチャンネルに対するプライマーの設定

cDNA Templates References	Nucleotides	Sence primar	Antisence primar
Kv1.2 [RBK2](7)	1143-1401	5'-TTCCGGGATGAGAACGAGGA-3'	5'-TTAGCTGAGAAGCCAGAGGA-3'
Kv1.4 [RHK1](8)	673-905	5'-TTCCAGAAACTCTGTTGGGA-3'	5'-TTTGTGAGAGAAGAGGAGGA-3'
Kv1.5 [KV1](9)	2394-2741	5'-TTCCCCTGCCTGGTAACCA-3'	5'-ATGCGAACCAGGGTGGACGC-3'
Kv2.1 [drk1](10)	1536-1953	5'-GGGATCCCCGAAAAGGCCA-3'	5'-CTCTGGTTTCTTCGTGGAGA-3'
Kv4.2 [Rshall](11)	1962-2359	5'-GGATCCAGCTTCGAGACACA-3'	5'-CTCCAGTAACCACCCCAGAA-3'

した。また、House keeping 遺伝子である Rat glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) mRNA を検出するために pGEM3Z ベクター (Promega) にクローニングした (nucleotides 673-787) (Dr. R. Wu, Cornell University, Ithaca, NY より提供) cDNA を用いた。

プラスミドは EcoR I (Kv1.2, Kv1.4, Kv1.5) 又は BamH I (Kv2.1, Kv4.2, GAPDH) で直線化し、それらをテンプレートとして T3 RNA ポリメラーゼ (Kv1.2, Kv1.4, Kv1.5 cRNA) 又は T7 RNA ポリメラーゼ (Kv2.1, Kv4.2, GAPDH cRNA) と ^{32}P を用いた *in vitro* transcription を行い、 ^{32}P でラベルされたアンチセンス cRNA プローブを作成した。

4. RNase Protection Assay

左心室心筋から抽出した RNA と陰性コントロールとして tRNA (Promega) のそれぞれ $10\ \mu\text{g}$ に ^{32}P でラベルした Kv1.2, Kv1.4, Kv1.5, Kv2.1, Kv4.2 と GAPDH のアンチセンス cRNA プローブを加え、 45°C で一晩ハイブリダイズした。ハイブリダイズしなかったプローブはリボスクレアーゼ A ($0.3\ \text{mg/ml}$; Sigma, St. Louis, MO) とリボスクレアーゼ T1 ($30\ \text{unit/ml}$; GIBCO/BRL, Grand Island, NY) で 30°C , $60\ \text{分}$ で消

化した。さらにリボスクレアーゼはプロテイナーゼ K ($0.5\ \text{mg/ml}$, Promega) で 37°C , $30\ \text{分}$ で消化した。ハイブリダイズしたプローブをフェノール/クロロホルムで抽出してエタノール沈殿後、 85°C で $3\ \text{分}$ 熱変性させ、 6% ポリアクリルアミドゲルで電気泳動後、ゲルを乾燥した。カリウムチャンネル mRNA を検出するためには、X線フィルム (Fujiphoto, Tokyo, Japan) に -70°C で $20\ \text{時間}$ 露出して現像し、GAPDH mRNA を検出するために同じゲルをさらに X線フィルムに -70°C で $6\ \text{時間}$ 露出して現像した。X線フィルムで検出されたプローブバンドをスキャナー (HP ScanJet 3C, Hewlett-Packard, Greeley, CO) で取り込み、各バンドの濃さを NIH image software (1.59, NIH Division of Computer Research and Technology, Bethesda, MD) でコンピューター解析を行った (Power Macintosh 9,500/132 Apple Computer, Cupertino, CA)。データは各カリウムチャンネル mRNA と GAPDH mRNA の比で表し、比較定量した。

5. 統計

数値は平均±標準偏差で表し、統計学的検討には対応のない t 検定 (Mann-Whitney の U 検定) を用い、p 値が 0.05 以下を有意とした。

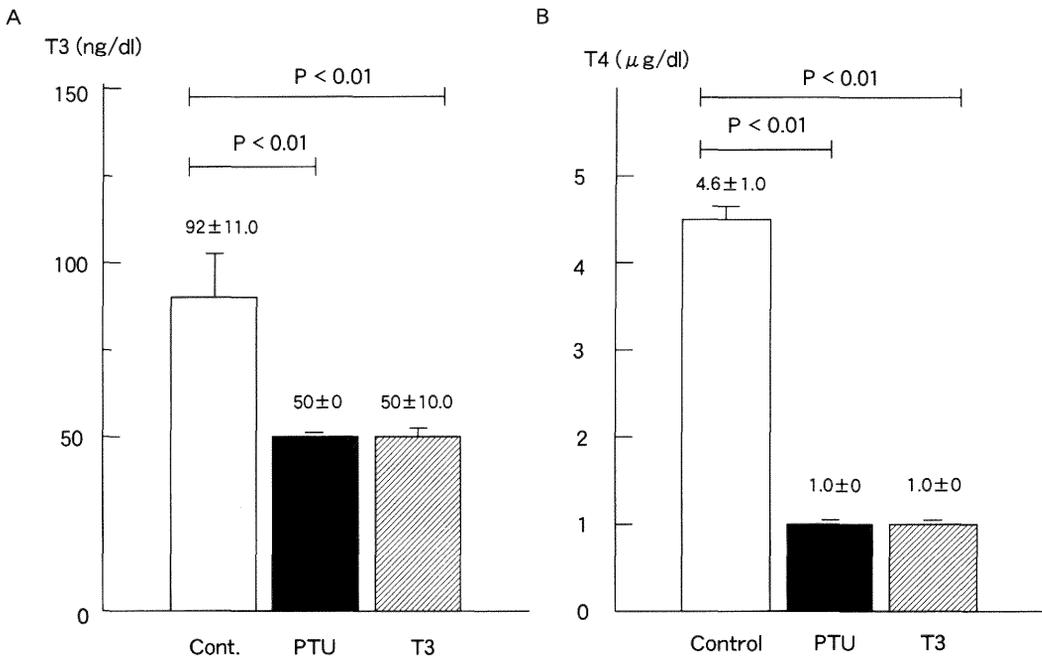


図1 T3及びPTU 4週間投与後の血清T3, T4測定値
Cont.: コントロール, PTU: propylthiouracil, T3: triiodethyronine.

成 績

1. 血清 T3 と T4 値及び体重増加率と心重量比

PTU を4週間投与した群では血清 T3 値及び T4 値はコントロール群と比較してそれぞれ有意に低下していた (50.0 ± 0.0 ng/dl vs. 92.0 ± 11.0 ng/dl $P < 0.01$), (1.0 ± 0.0 μ g/dl vs. 4.6 ± 1.0 μ g/dl $P < 0.01$) (図 1A, B). また, T3 を4週間投与した群でも血清 T3 及び T4 値はコントロール群と比較してそれぞれ有意に低下していた (50.0 ± 10.0 ng/dl vs. 92.0 ± 11.0 ng/dl $P < 0.01$), (1.0 ± 0.0 μ g/dl vs. 4.6 ± 1.0 μ g/dl $P < 0.01$) (図 1A, B).

実験期間中の体重増加率はコントロール群 40.9 ± 8.3 %, PTU 群 31.7 ± 3.3 %, T3 群 23.8 ± 9.5 % でそれぞれ有意差はなかった (図 2A). PTU 投与群の

心重量比はコントロール群のそれに比べ有意に小さかった (0.33 ± 0.01 % vs. 0.41 ± 0.03 % $P < 0.05$). 一方, T3 投与群はコントロール群及び PTU 投与群と比較してそれぞれ有意に大きかった (0.57 ± 0.01 % vs. 0.41 ± 0.03 % $P < 0.01$), (0.57 ± 0.01 % vs. 0.33 ± 0.01 % $P < 0.05$) (図 2B).

2. PTU 及び T3 による K⁺ チャネル mRNA 発現量の変化

(1) Kv1.2

Kv1.2 mRNA は PTU 群でコントロール群に比べて約2倍に増加していた (11.1 % vs. 22.5 %). T3 群では mRNA の発現は Kv1.2 検出感度以下にまで低下していた (図 3A, D).

(2) Kv1.4

Kv1.4 mRNA はコントロール群ではわずかに発現が確認される程度であったが (2.0 %), PTU 群はコン

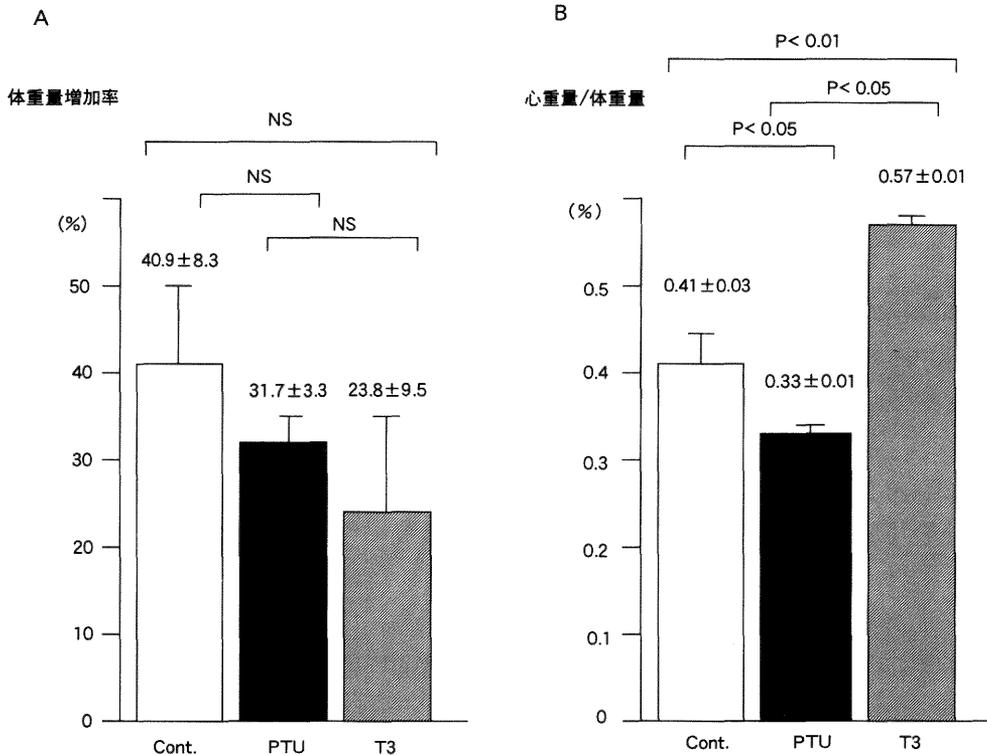


図 2 T3 及び PTU 4週間投与後の体重増加率と心重量比

A: 投薬終了時の体重量-投与前の体重量/投与前の体重量 $\times 100$ として表した。コントロール群, PTU 群, T3 群の間に有意差は認められなかった。

B: 単離心重量/体重量 $\times 100$ として表した。図 1 と同じ。T3 により心重量は増加し, PTU では逆に減少した。

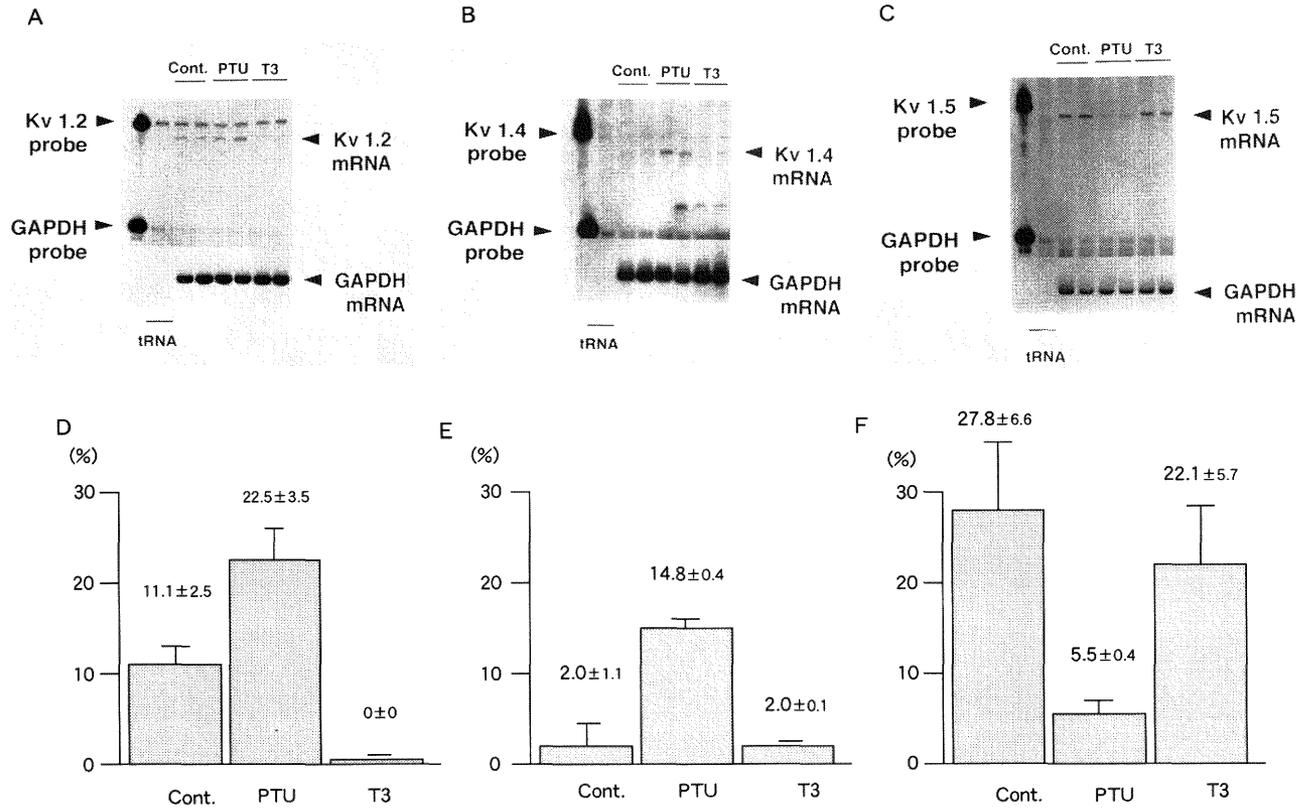


図3 T3及びPTU 4週間投与後の心室筋のKv1.2, Kv1.4, Kv1.5 mRNAの発現

mRNA発現はRNase protection assayで検出し(A:Kv1.2, B:Kv1.4, C:Kv1.5)それぞれの発現量は(20時間露出して検出したカリウムチャネル mRNAのバンドの濃さ)÷(6時間露出して検出したGAPDH mRNAのバンドの濃さ)で比較した(D:Kv1.2, E:Kv1.4, F:Kv1.5). Kv1.2 mRNAはT3投与により著明に減少し, PTU投与により増加した. Kv1.4 mRNAはPTU投与時のみ明らかに検出できるようになり, Kv1.5 mRNAは著減した.

トロール群に比べて約7倍に増加していた (14.8%)。T3 群では2.0%でコントロールと同等であった (図 3B, E)。

(3) Kv 1.5

Kv 1.5 mRNA は PTU 群でコントロール群に比べて約1/5倍に著減していた (27.8% vs. 5.5%)。しかし, T3 群では22.1%でコントロール群と比較してほぼ不変であった (図 3C, F)。

(4) Kv 2.1

Kv 2.1 mRNA はコントロール群23.4%, PTU 群23.4%, T3 群22.2%であり, いずれもコントロール群に比べて明らかな変化は見られなかった (図 4A, B)。

(5) Kv 4.2

Kv 4.2 mRNA はコントロール群27.8%, PTU 群20.5%, T3 群28.2%であり, いずれもコントロールに比べて大きな変化はなかった (図 4C, D)。

3. Kv 1.2 と Kv 1.5 mRNA 発現の経時的変化

T3 を投与すると24時間後に Kv 1.2 mRNA はコントロールに対して約1/5倍に著減した (34.4% vs. 7.8%), 一方, Kv 1.5 mRNA はコントロールに対して約1.4倍増加した (14.8% vs. 21.3%)。これらの変化は T3 投与後72時間でさらに増強した (Kv 1.2: 5.3%, Kv 1.5: 22.8%) (図 5A, B, C)。PTU を1週間以上

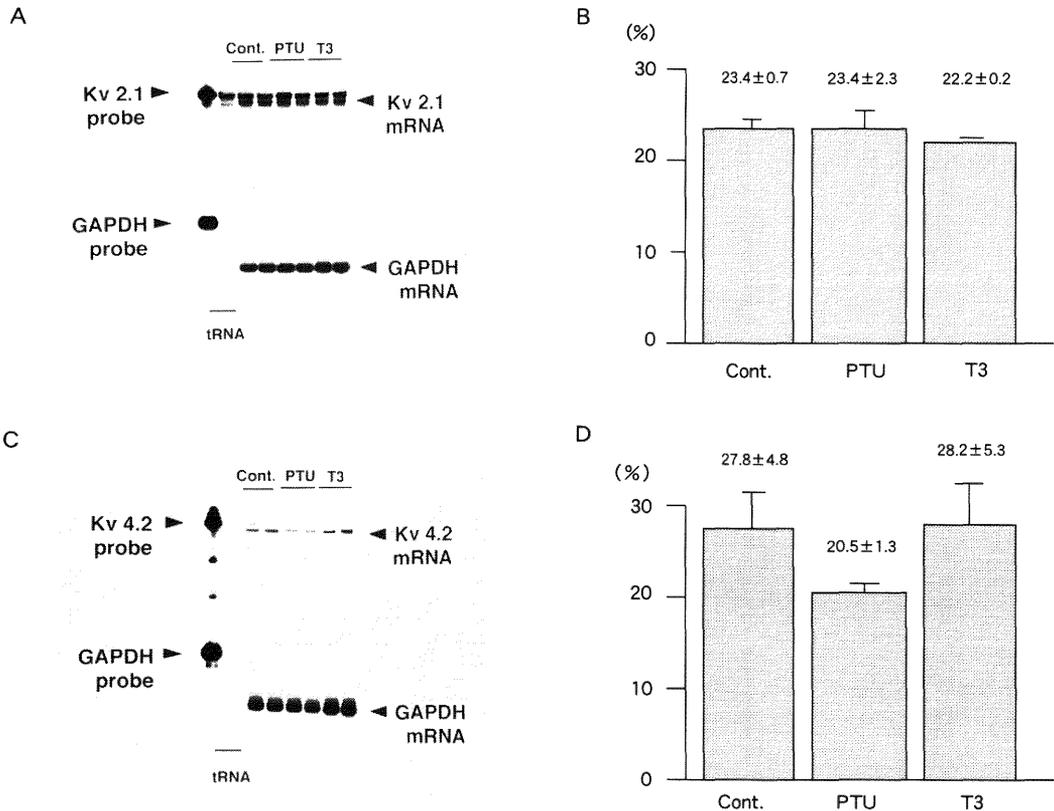


図 4 T3 及び PTU 4 週間投与後の心室の Kv 2.1, Kv 4.2 mRNA の発現

mRNA 発現は RNase protection assay で検出し (A: Kv 2.1, C: Kv 4.2) それぞれの発現量は (20時間露出して検出したカリウムチャンネル mRNA のバンドの濃さ) ÷ (6時間露出して検出した GAPDH mRNA のバンドの濃さ) で比較した (B: Kv 2.1, D: Kv 4.2)。T3 及び PTU 投与で Kv 2.1 は不変で, Kv 4.2 mRNA は PTU でわずかに低下するのみであった。

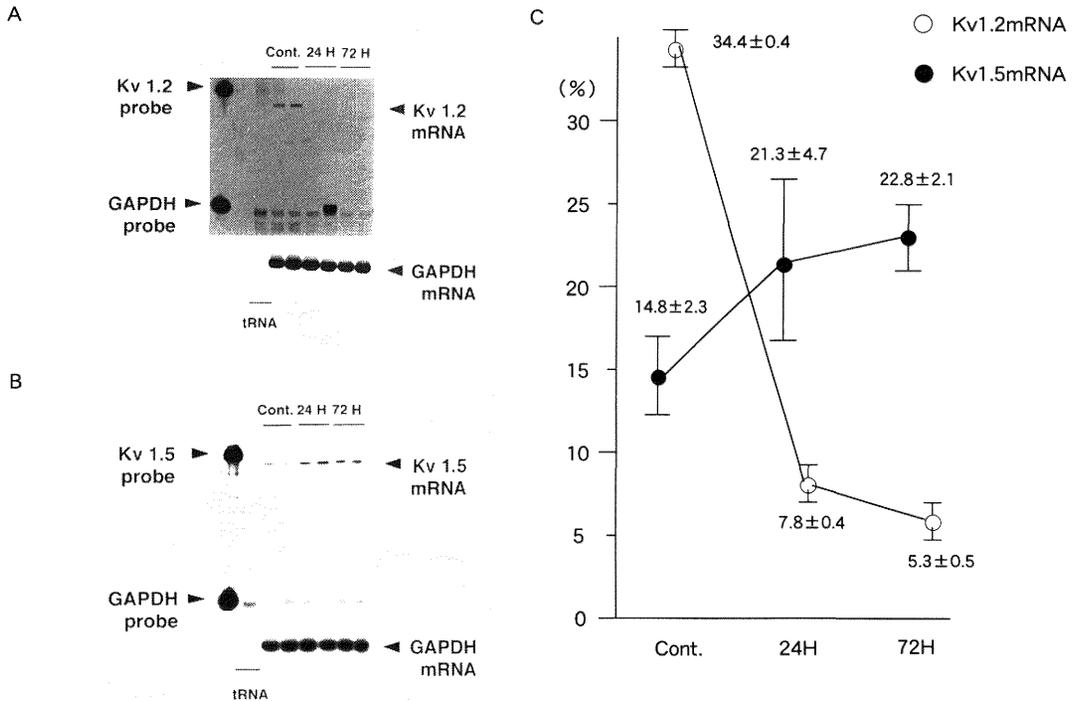


図 5 T3 投与による心室の Kv1.2, Kv1.5 mRNA の経時的変化

A, B は RNase protection assay の結果で, C は定量した結果である。

Kv1.2 mRNA は T3 投与24時間後から著減し, Kv1.5 mRNA は24時間後から逆に増加した。

24H: 24時間, 72H: 72時間. 他は図 1, 3 と同じ。

投与すると血清 T3 は低下し (コントロール群 92.0 ng/dl, PTU 1週 50.0 ng/dl, PTU 2週 60.0 ng/dl, PTU 3週 55.0 ng/dl), それに伴い心室の Kv1.5 mRNA も 1週後で明らかに減少し, その後も減少した (コントロール群 77.4%, PTU 1週 36.4%, PTU 2週 16.9%, PTU 3週 7.4%) (図 6A, B)。

4. PTU 投与モデルへの T3 補充効果

PTU を 2週間投与して Kv1.5 mRNA が著減した時点で, T3 を補充投与すると Kv1.5 mRNA はコントロールレベルに回復した (コントロール群 25.5%, PTU 2週間投与群 3.1%, PTU 2週間投与後 T3 補充群 22.9%) (図 7A, B)。

考 察

今回 T3 を 25 µg/100 g 体重, 4週間投与すると血清 T3, T4 値がコントロールに比べ有意に低下したが, 体重増加率には有意差を認めないにも関わらず心重量比

がコントロール群に比べ有意に増加しており, ここでの T3 の投与量で心臓に対して十分に作用するものと考えられた¹²⁾. 血清レベルの低下はおそらく, T3 の慢性投与により生理的な甲状腺ホルモン生成が抑制されたためと考えられる。

Kv1.4 mRNA はこれまでの報告¹⁾と異なり心室筋ではほとんど確認ができなかったが, 成長に伴って Kv1.4 mRNA 発現量が減少していくこと¹³⁾, 免疫組織化学的には Kv1.4 蛋白はほとんど確認されないことが報告されており¹⁴⁾¹⁵⁾, これらの結果と合致するものと思われる。

今回の研究から T3 投与後24時間で心室の Kv1.2 mRNA は著明に減少し, Kv1.5 mRNA は約 1.4 倍に増加し, PTU 投与では Kv1.5 mRNA は 1週間後から経時的に減少し, その発現抑制効果は T3 投与で消失することが示された. さらに PTU によりコントロールで発現がほとんど認められない Kv1.4 mRNA が

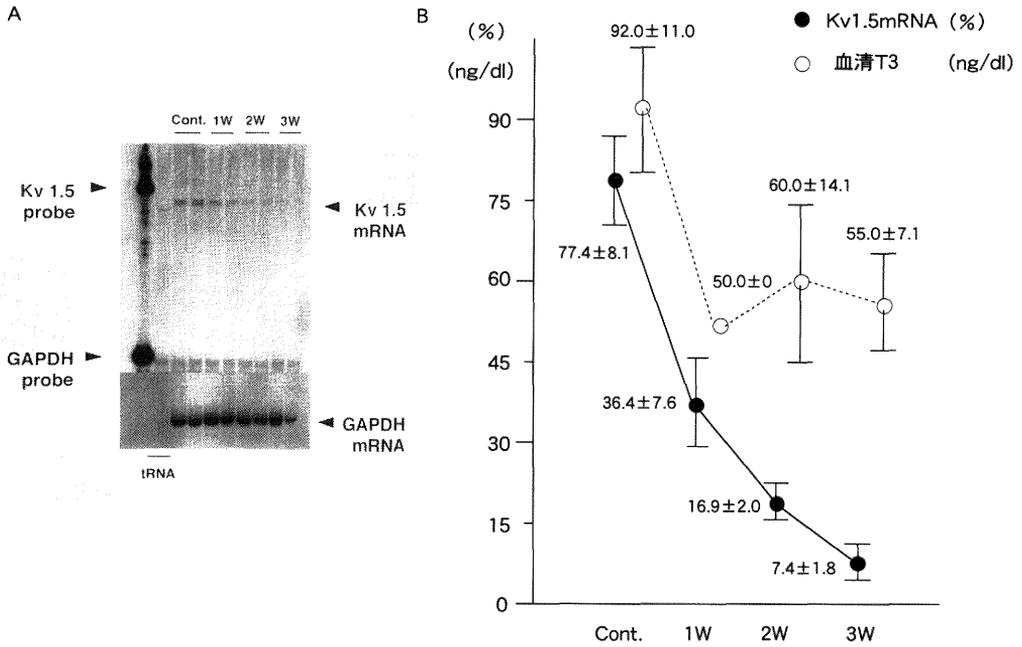


図 6 PTU 投与による Kv1.5 mRNA の経時的変化 (A) と血清 T3 値の経時的変化 (B)
 Kv1.5 mRNA と血清 T3 値は投与後1週間後から減少した。
 1W: 1週間, 2W: 2週間, 3W: 3週間. 他は図 1, 3 と同じ.

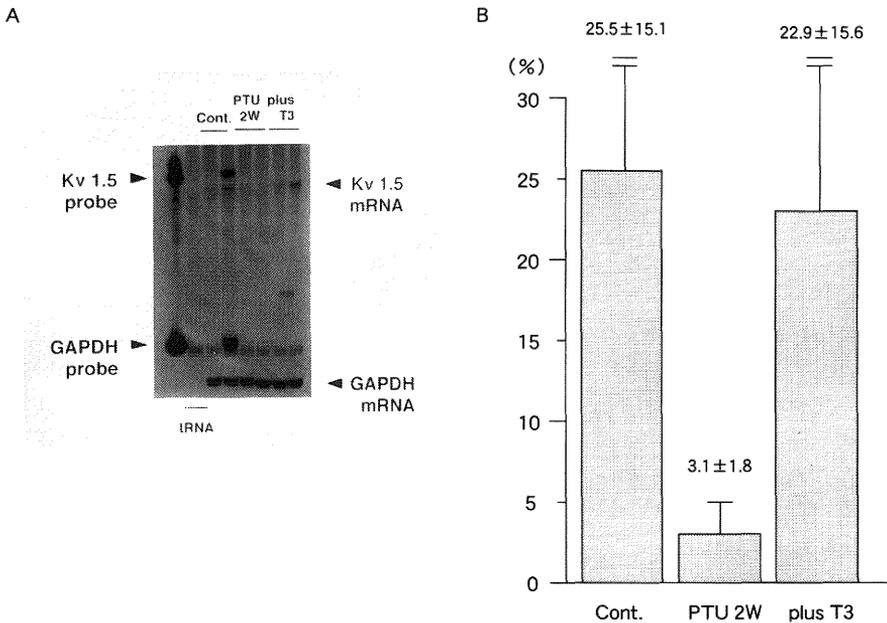


図 7 PTU 2週間投与後の T3 追加投与による Kv1.5 mRNA の変化 (A, B)
 Kv1.5 mRNA は PTU 投与2週間で著減するが, T3 の追加投与後24時間でその発現はもとのレベルに戻った。
 PTU 2W: PTU 2週間投与, plus T3: T3 追加投与. 他は図 1, 3 と同じ.

発現する様になったことから、生理的レベルの T3 で Kv 1.4 mRNA の発現は抑制されており、Kv 1.5 mRNA の発現が抑制されるとこれを補うために増加する機序が推定された。

PTU や T3 投与により mRNA 発現が変化したカリウムチャンネルは Shaker 関連遺伝子 (Kv 1.2, Kv 1.4, Kv 1.5) であることから Shaker 関連遺伝子には共通の T3 による発現調節機構が存在することが示唆された。

T3 は核酸の T3 受容体に結合し、その結合体が更に DNA 配列上の Thyroid hormone response element (TRE) に結合した場合、その下流の遺伝子の転写が促進される Positive TRE と、転写が抑制される Negative TRE が存在する。一方、T3 受容体に T3 が結合していない状態で Positive TRE に結合するとその転写活性は抑制され、Negative TRE に結合した場合は転写が促進される¹⁶⁾。もし今回の T3 や PTU による Kv 1.2, Kv 1.4, Kv 1.5 遺伝子の発現の変化が T3 受容体を介するものとする T3 投与で発現が増加し、PTU で発現が抑制された Kv 1.5 遺伝子の 5' 上流領には Positive TRE があり、T3 投与で発現が抑制され、PTU で発現が増加した Kv 1.2, Kv 1.4 遺伝子の 5' 上流領には Negative TRE が存在することが示唆される。このことは T3 レベルにより心室のカリウムチャンネルの発現は異なり、巧みに制御されている可能性を示している。

臨床的に甲状腺疾患時における心機能異常として T3 の高値では頻脈や心房細動、低値では除脈がもたらされ、高度の場合は心不全をきたすことが知られている。心房細動では活動電位持続時間の短縮が原因となるが、T3 の過剰状態ではいずれかのカリウムチャンネルの過剰発現がその背景にあると思われる。一方甲状腺機能亢進では心室性不整脈の報告はほとんどなく¹⁷⁾、これは Kv 1.5 と Kv 1.2 は T3 により逆の調節を受けることでお互いに打ち消し合い、活動電位持続時間が一定に維持されていることが考えられる。また、今回はカリウムチャンネルの α サブユニットの mRNA のみを検討しており、心臓電気生理学的変化までは検討していない。今後 α サブユニットの重合や β サブユニットの関与¹⁸⁾⁻²⁰⁾ など、検討する必要がある。

結 論

ラット心室筋の重量は T3 で増加し、さらに電位依存性カリウムイオンチャンネルの中で Shaker 関連遺伝子 (Kv 1.2, Kv 1.4, Kv 1.5) は甲状腺ホルモンの遺

伝子発現調節を受けている。即ち、Kv 1.2 mRNA の発現は T3 により抑制されるが、Kv 1.5 mRNA の発現は T3 では慢性期ではコントロールに比べ不変であったが、投与初期は増加させた。また T3 は、PTU により減少した Kv 1.5 mRNA 発現を増加させた。ラット心室筋では、甲状腺ホルモンは Kv 1.2 mRNA と Kv 1.5 mRNA に対して逆の制御を行っていると思われる。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、直接御指導、御助言をいただきました腎研究施設構造病理部門、木原 達教授、山本 格助教授、ならびに、研究にご協力いただきました馬 梅菴先生に心より感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) Jane, E.D. and David, M.: Quantitative analysis of potassium channel mRNA expression in atrial and ventricular muscle of rats. *Cir. Res.*, **75**: 252~260, 1994.
- 2) Koichi, T., Alla, F.F., Robert, G., James, S.T. and Edwin, S.L.: Dexamethason rapidly induced Kv 1.5 K⁺ channel gene transcription and expression in clonal pituitary cells. *Neuron*, **11**: 359~369, 1993.
- 3) Koichi, T., Robert, G., Alla, F.F., James, S.T. and Edwin, S.L.: Inhibition of voltage-gated K⁺ channel gene expression by the neuropeptide thyrotropin-releasing hormone. *J. Neurosci.*, **15**: 449~457, 1995.
- 4) Yasukiyo, M., Hiroaki, M., Eduardo, F., Abby, S. and Gideon, K.: The transcription of a mammalian voltage-gated potassium channel is regulated by cAMP in a cell-specific manner. *The Journal of Biological Chemistry*, **268**, No. 35: 26482~26493, 1993.
- 5) Koichi, T. and Edwin, S.L.: Glucocorticoid induction of Kv 1.5 K⁺ channel gene expression in ventricle of rat heart. *Cir. Res.*, **75**: 1006~1013, 1994.
- 6) Morton, F.A. and Roderick, W.C.: Atrial electrophysiology in experimental hyperthyroidism in rabbits. *Circ. Res.*, **26**: 575~581, 1970.
- 7) David, M.: Isolation of a cDNA clone coding for a putative second potassium channel indicates

- the existence of a gene family. *J. Biol. Chem.*, **264**: 8230~8236, 1989.
- 8) **Julie, C.L., Tseng-Crank, Gea-Ny Tseng, Arnold, S. and Mark, A.T.**: Molecular cloning and functional expression of a potassium channel cDNA isolated from a rat cardiac library. *FEBS*, **268**: 63~68, 1990.
 - 9) **Richard, S., John, M., Jeffry, S.S., Jacinta, B.W., Mary, B.Boyle, Kimberly, F., Christopher, J.L., Joanne, A., Carlos, O., Susan, A.B., Carl, B., Robert, B.S. and Leonard, K.K.**: Cloning and expression of cDNA and genomic clones encoding three delayed rectifier potassium channels in rat brain. *Neuron*, **4**: 929~939, 1990.
 - 10) **Georges, C.F., Antonius, M.J. VanDongen, Gabriele, S., Arthur, M.B. and Rolf, H.J.**: A novel potassium channel with delayed rectifier properties isolated from rat brain by expression cloning. *Nature*, **340**: 642~645, 1989.
 - 11) **Timothy, J.B., Meei-Ling, T., George, A.L., Yuh Nung, J. and Lily Yeh, J.**: Characterization of a mammalian cDNA for an inactivating voltage-sensitive K⁺ channel. *Neuron*, **7**: 471~483, 1991.
 - 12) **C. Fagg Sanford, Edomond, E.G. and Kern, W.**: Synthesis and degradation of myocardial protein during the development and regression of thyroxine-induced cardiac hypertrophy in rats. *Cir. Res.*, **43**: 688~694, 1978.
 - 13) **Haodong Xu, J.E., Dixon, D.M., Barry, J.S., Trimmer, J.P., Merlie, D.M. and Jeanne, M.N.**: Developmental analysis reveals mismatches in the expression of K⁺ channel α subunits and voltage-gated K⁺ channel currents in rat ventricular myocytes. *J. Gen. Physiol.*, **108**: 405~419, 1996.
 - 14) **Dianne, M.J., James, S.T., John, P.M. and Jeanne, M.N.**: Differential expression of voltage-gated K⁺ channel subunits in adult rat heart. *Cir. Res.*, **77**: 361~369, 1995.
 - 15) **Hiroaki, M., Junichi, S. and Mitsu, I.**: Shaker-related potassium channel, Kv 1.4, mRNA regulation in cultured rat heart myocytes and differential expression of Kv 1.4 and Kv 1.5 genes in myocardial development and hypertrophy. *J. Clin. Invest.*, **92**: 1659~1666, 1993.
 - 16) **Gregory, A.B., David, D.M. and Reed Larsen, P.**: Thyroid hormone regulation of gene expression. *Annu. Rev. Physiol.*, **53**: 17~35, 1991.
 - 17) **Ralf, P., Albert, G.B., Urs, S. and Pascal, N.**: The thyroid and the heart. *Circulation*, **87**: 1435~1441, 1993.
 - 18) **Karen, K.D., Sarah, K.E. and Michael, M.T.**: Molecular physiology of cardiac potassium channels. *Physiological Reviews*, **76**: 49~67, 1996.
 - 19) **Jens, R., Stefan, H.H., Frank, W., Christoph, L., David, N.P., J. Oliver, D.J. and Olaf, P.**: Inactivation properties of voltage-gated K⁺ channels altered by presence of β -subunit. *Nature*, **369.26**: 289~295, 1994.
 - 20) **Kensuke, N., Gongyi, S., Kenneth, J.R. and James, S.T.**: Selective interaction of voltage-gated K⁺ channel β -subunits with α -subunits. *J. Biol. Chem.*, **271.12**: 7084~7089, 1996.

(平成10年1月19日受付)