原　　著

甲状腺ホルモンの心房と心室の電位依存性カリウムチャネル発現に対する効果

新潟大学医学部第一内科学教室（主任：相澤義房教授）
馬　梅　蕾

Effects of Thyroid Hormone on Expression of Voltage−Dependent Potassium Channels in Cardiac Atrium and Ventricle

Meilei MA

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

In hyperthyroidism, supraventricular premature contraction or atrial fibrillation have been freqeuntly observed but the role of thyroid hormone in the genesis of these arrhythmias is to be determined.

Since the expression of voltage-dependent potassium channels (Kv channels) in cardial myocytes was shown to be affected by thyroid hormone, we examined the mRNA expression of Kv channels both in the atrium and in the ventricle in the hyper and hypothyroid models induced by daily administration of thyroid hormone (T3) and propylthiouracil (PTU) in rats, respectively.

As we previously demonstrated, the expression of Shaker-type Kv channels (Kv1.2, Kv1.4, and Kv1.5) was affected by the T3 or PTU treatment in the atrium and ventricle equally. In contrast, the present study showed apparent induction of mRNA expression of erg and minK Kv channels in the atrium but not in the ventricle by the T3 treatment. The increase of erg and minK Kv channels may shorten the duration of action potential and the wave length (=refractory period x conduction velocity) in the atrium, providing the arrhythmogenic basis for development of atrial fibrillation. The association between hyperthyroidism and atrial fibrillation could be explained by the

Reprint requests to: Meilei MA,
First Department of Internal Medicine,
Niigata University School of Medicine,
Niigata 951-8510, JAPAN.

別刷請求先：　〒951-8510 新潟市旭町通り1番町757
新潟大学医学部第一内科学教室　　馬　梅蕾

shortening of the action potential duration through induction of erg and minK Kv channel genes in the atrium.

Key words: voltage-dependent potassium channel, thyroid hormone, heart
電位依存性カリウムチャネル，甲状腺ホルモン，心臓

はじめに

近年分子生物学的手法の進歩やパッチクランプ法により心筋細胞膜には複数のカリウムチャネルが存在し，それらが心筋の活動電位の形成に重要な役割を演じていることが明らかになっている[1)-5)]．また，心筋細胞内外の因子により，これらのカリウムチャネルの活性化やその発現が制御されることも分かってきた．さらに，これらのカリウムチャネルには心臓内で発現分布および機能に違いがあることや，さまざまな病態がその発現や機能に影響を与え，心機能障害の一因となり得ることも明らかとなってきている[6)7)]．

頻脈や動悸が甲状腺機能亢進症の主症状であることから甲状腺ホルモンと心臓の関係は古くから注目されている．甲状腺機能亢進症モデルのウサギでは心房筋の有効不応期が短縮することや甲状腺ホルモンは心筋の活動電位持続時間を規定する重要な電位依存性カリウムチャネル（Kv チャネル）ファミリー遺伝子の発現を調節していることも報告されている[8)-10)]．我々も甲状腺ホルモンの心筋 Kv チャネルの発現の影響を検討し，Kv チャネルファミリーの中の Shaker タイプ（Kv 1.2，Kv 1.4，Kv 1.5）の発現が甲状腺ホルモンの制御を受けていることを報告した[10)]．一方，甲状腺機能亢進症には洞性頻脈，上室性期外収縮，心房細動など心房性不整脈が合併しやすいが心室性不整脈は起きにくい．このことは甲状腺ホルモンによる Kv チャネルの発現が，心房と心室で異っている可能性も示唆している[11)]．そこで，心筋に存在する Kv チャネルの心房と心室での発現の差異とそれに及ぼす甲状腺ホルモンの作用の差異を明らかにするために本研究を行った．

対象と方法

1. 動物

12週齢雌 Wistar Kyoto（WKY）ラットを Triiodothyronine（T 3）投与群（10匹），Propylthyouracil（PTU）投与群（10匹）及びコントロール群（10匹）に分けた．T 3 投与群は（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 μg を蒸留水 1.0 ml で溶解し，1 日 1 回に体重 100 g 当たり 25 μg の T 3 を経口用ゾンデで 1 ～ 5 日間連日投与した．PTU 投与群は PTU 原末 4 mg を 5 % Carboxy methyl cellulose 0.5 ml で溶解して体重 100 g あたり 4 mg を連日 2 週間経口用ゾンデで投与した．各々の処置後心筋における Kv チャネル mRNA 発現量の経時的変化を検討した．

投与終了後，無麻酔下で自動血圧測定装置（ソフトロン株式会社，BP－98A）を使って心拍数を測定した後，心臓採血を行い血清遊離 T 3，T 4 値を RIA 法で測定した．心臓は摘出後 PBS で血液を洗い流し，心房及び心室に分け全 RNA を acid guanidinium thiocyanate phenol-chloroform 法で抽出した．

2. Probe の調整

正常ラット心臓より RNA を抽出し，oligo（dT）プライマーと reverse transcriptase を用いて cDNA を合成した．また，文献報告及び遺伝子登録からの塩基配列を参考に設計した Kv チャネルファミリー遺伝子のプライマー（Kv 1.2，Kv 1.4，Kv 1.5，Kv 2.1，Kv 4.2, erg, LQT 1，minK を用い，polymerase chain reaction（PCR）法により，ラットの Kv チャネルファミリー遺伝子の部分 cDNA をクローニングした．得られた cDNA は pBluescript II SK（＋）ベクター（Stratagene 社）にクローニングし，automated DNA sequencer（ABI 310，Perkin Elmer 社）にてその塩基配列を確認した．House keeping 遺伝子であるラット glyceraldehyede 3 －phosphate dehydrogenase（GAPDH）cDNA は pGEM 3 Z ベクター（Promega 社）にクローニングして用いた．プラスミドは EcoR I（Kv 1.2，Kv 1.4，Kv 1.5），BamH I（Kv 2.1，Kv 4.2，erg，LQT 1，minK，GAPDH）で直線化し，それらをテンプレートとして T 3 RNA ポリメラーゼ（Kv 1.2，Kv 1.4，Kv 1.5）又は T 7 RNA ポリメラーゼ（Kv 2.1，Kv 4.2，erg，LQT 1，minK，GAPDH）と ^{32}P－UTP 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（**表 1**）．

表1

cDNA Templates	Length (bp)	Sequence	Vector	RNA Polymerase	Accession# GenBank
Kv1.2 (RBK 2)	258	1143−1401	pBⅡSK+	T 3	J 04731
Kv1.4 (RHK 1)	232	673−905	pBⅡSK+	T 3	M32867
Kv1.5 (KV 1)	347	2394−2741	pBⅡSK+	T 3	M27158
KV2.1 (drk 1)	417	1536−1953	pBⅡSK+	T 7	X16476
Kv4.2 (Rshall)	397	1962−2359	pBⅡSK+	T 7	S 64320
erg	260	2440−2700	pBⅡSK+	T 7	Z 96106
LQT 1	250	259−509	pBⅡSK+	T 7	U92655
mink	243	158−401	pBⅡSK+	T 7	M36461
GAPDH	114	673−787	pGEM 3 Z	T 7	M17701

3. Ribonuclease (RNase) Protection Assay

心房と心室から抽出した RNA と陰性コントロールの tRNA (Promega 社) それぞれ 10 μg に ^{32}P でラベルした Kv チャネルファミリーと GAPDH のアンチセンス cRNA プローブを加え，45℃で一晩反応させた．その後，二本鎖 RNA を形成しなかったアンチセンス cRNA プローブをリボヌクレアーゼ A (0.3 mg/ml, Sigma 社) とリボヌクレアーゼ T1 (30 unit/ml, GIBCO/BRL 社) で30℃，1時間で消化した．さらにリボヌクレアーゼはプロテイナーゼ K (0.5 mg/ml, Promega 社) で37℃，30分で消化した．二本鎖 RNA を形成したアンチセンス cRNA プローブをフェノール・クロロホルムで抽出し，エタノール沈殿後，95℃で3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X線フィルム（フジフィルム）に−70℃で20時間露光して現像した．X線フィルムで検出されたバンドをスキャナー（ヒューレットパッカード社）で取り込み，各バンドの濃さを NIH image software (1.59, NIH) でコンピューター解析した．データは各遺伝子 mRNA と GAPDH mRNA 発現の比で表し，比較定量した．

4. 統計

数値は平均±標準偏差で表し，統計学的検討には Mann−Whitney の U 検定を用い，P 値が 0.05 以下を有意とした．

結　　果

1. Kv チャネル mRNA 発現

(1) Kv 1.2 mRNA

Kv 1.2 mRNA のコントロール群での発現量は，心室より心房で約5倍に多かった．T 3 を投与すると心房，心室の発現量は共に著明に低下した（**図1**）．一方，PTU 群では心房，心室ともコントロール群に比べて，発現量が約2倍に増加した（Kv 1.2 mRNA/GAPDH mRNA 比＝心房：6.7％ vs 11.0％，心室：1.3％ vs 2.8％）．

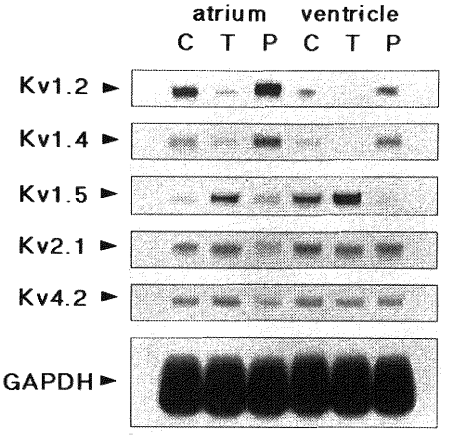

図1　T 3，PTU を投薬後の心房，心室の Kv 1.2, Kv 1.4, Kv 1.5, Kv 2.1, Kv 4.2 mRNA の発現

Kv 1.5 mRNA の発現は T 3 を投与により心房，心室ともに増加し，Kv 1.2，Kv 1.4 mRNA の発現は心房，心室ともに減少した．(C : control, T : T 3, P : PTU)

(2) Kv 1.4 mRNA

コントロール群の Kv 1.4 mRNA は心房，心室とも発現量は Kv 1.2 mRNA より少なかった（**図1**）．T 3 を投与すると心房，心室ともに発現量は低下したが，PTU を投与するとともに増加した（心房：0.7％ vs

3.1 %，心室：0.5 % vs 0.9 %）.

(3) Kv 1.5 mRNA

Kv 1.5 mRNA はコントロール群では心室が心房より約 9 倍に多く発現していた（**図 1**）. この発現は T 3 を投与すると心房と心室とも明らかに増加し（心房：0.7 % vs 8.5 %，心室：6.8 % vs 11.7 %），PTU を投与すると心室での発現は著明に低下した（心房：0.7 % vs 1.4 %，心室：6.8 % vs 0.2 %）.

(4) Kv 2.1 及び Kv 4.2 mRNA（**図 1**）

Kv 2.1 mRNA 及び Kv 4.2 mRNA はコントロール群では心房と心室に同程度発現していたが，それらの発現はコントロールと比べて T 3 群で心房，心室ともに有意な変化を認めなかった（Kv 2.1 mRNA；心房：2.5 % vs 2.9 %，心室：3.9 % vs 3.0 %，Kv 4.2 mRNA；心房：2.2 % vs 2.1 %，心室：2.4 % vs 2.0 %），PTU 群（Kv 2.1 mRNA；心房：2.5 % vs 1.2 %，心室：3.9 % vs 2.9 %，Kv 4.2 mRNA；心房：2.2 % vs 1.6 %，心室：2.4 % vs 2.1 %）.

(5) erg mRNA

コントロール群の心房の erg mRNA 発現量は心室より多く，T 3 群で心房でわずかに増加し（9.3 % vs 10.2 %），心室では明らかに減少していた（6.0 % vs 2.4 %）（**図 2**）. PTU 投与群では心房の発現量はわずかに減少し（9.3 % vs 7.5 %），心室ではやや増加した（6.0 % vs 8.7 %）.

(6) LQT 1 mRNA

コントロール群では心室の発現量が心房より多く（**図 2**），T 3 を投与すると心房，心室とも明らかに減少したが（心房：9.8 % vs 5.3 %，心室：13.7 % vs 3.4 %），PTU 群で顕著な変化はみられなかった（心房：9.3 % vs 9.4 %，心室：13.7 % vs 14.4 %）.

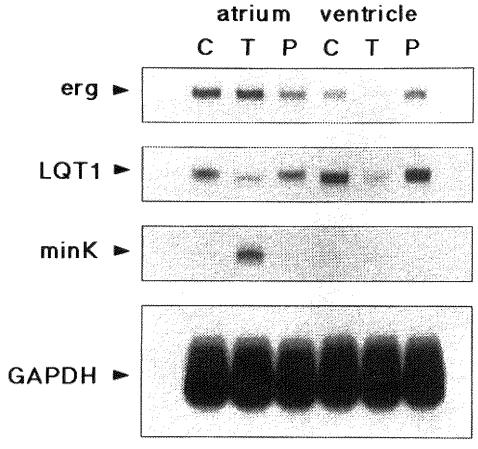

図 2　T 3，PTU を投薬後の心房，心室の erg，LQT 1，minK mRNA の発現
erg，minK は T 3 を投与すると心房でその mRNA の発現が著明に誘導され，心室ではその誘導は認められなかった.
（C：control，T：T 3，P：PTU）

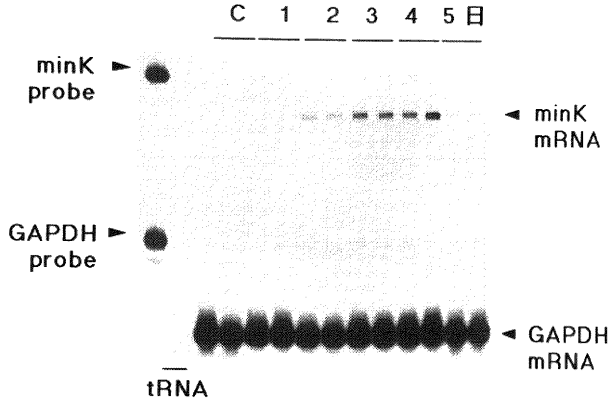

図 3　T 3 による心房の minK mRNA 発現の経時的変化
T 3 を連日投与すると 2 日目に心房の minK mRNA の発現が誘導され，その発現量は 4 日目にピークとなり，5 日目に減少した.（tRNA：陰性コントロール，C：control）

（7） minK mRNA

minK mRNA はコントロール群では心房，心室ともその発現はほとんど検出できなかったが，T3を投与すると心房でのみ発現が著明に誘導され，心室では認められなかった（**図2**）．PTU 投与群では心房，心室の minK mRNA 発現はコントロール群よりさらに低下し，検出感度以下になった．

2. T3による minK mRNA 発現及び血清遊離 T3と遊離 T4の経時的変化

T3を連日投与すると2日目に心房の minK mRNA の発現が誘導され，その発現量は4日目にピークとなり，5日目に減少した（**図3**）．血清遊離 T3値は T3投与後1日目で著明に増加したが，2日目から漸減した．血清遊離 T4値も T3を投与後1日目に急激に上昇したが，2日目以降はコントロールレベルに戻っていた．

3. ラット屠殺時の心拍数，血清遊離 T3，遊離 T4値

T3を3日間投与すると心拍数は投与前より著明に増加した（500.5 ± 34.8 vs 393 ± 28.6/分，P< 0.002）．一方，PTU を2週間投与した群の心拍数は投与前（372.6 ± 30.2/分）と投与後（398 ± 9.8/分）に有意な変化を認めなかった．

血清遊離 T3値はコントロール群と比較して T3投与した群では有意に増加（2.8 ± 0.2 pg/dl vs 147.2 ± 20.9 pg/dl，p< 0.0001）していたが，遊離 T4値は有意な差を認めなかった（0.8 ± 0.2 ng/dl vs 0.5 ± 0.2 ng/dl，p< 0.07）．PTU を2週間投与した群ではコントロール群と比較して血清遊離 T3（2.8 ± 0.2 pg/dl vs 0.9 ± 0.0 pg/dl，p< 0.0001）及び遊離 T4値（0.8 ± 0.2 ng/dl vs 0.2 ± 0.0 ng/dl，p< 0.003）は有意に低下した．

考　　察

甲状腺ホルモンは心筋の Kv チャネルファミリー mRNA の発現を調節していることが報告され[1)2)]，我々もラットに甲状腺ホルモンを投与すると心筋の Kv チャネルファミリーの Shaker タイプ Kv チャネルの Kv 1.5 mRNA の発現が増加し，反対に，Kv 1.2 mRNA，Kv 1.4 mRNA の発現が抑制されることを報告した[10)]．甲状腺ホルモンによる心筋の Kv チャネルファミリーの発現は，心筋の活動電位持続時間や周期長への応答を修飾している可能性を示している．

しかし，甲状腺機能亢進症では洞性頻脈，上室性期外収縮，心房細動などが起きやすいが，心室に関しては甲状腺中毒症として心機能の低下をもたらすことはしばしば問題になるが，心室性不整脈は認めにくい[11)]．これらの事実から，甲状腺ホルモンによって心房と心室で異なった応答をする Kv チャネルが存在する可能性が示唆された．そこで本研究では，甲状腺ホルモンに対する心房と心室の両方での Kv チャネル遺伝子の発現応答を検討した．

その結果，電位依存性カリウムチャネル（Kv 1.2, Kv 1.4, Kv 1.5, Kv 2.1, Kv 4.2, erg, LQT 1, minK）のうち，Kv 1.5 mRNA の発現は甲状腺ホルモンで心房，心室ともに増加し，Kv 1.2 mRNA，Kv 1.4 mRNA の発現は心房，心室ともに抑制されることを再確認した．

Ito には Kv 1.4，Kv 4.2，Kv 4.3 が関係し，その減少は活動電位持続時間を延長させる方向に作用する．Kv 1.5 は Ikur として T3により増加した場合は活動電位持続時間をむしろ短縮させる．実際の活動電位持続時間の変化は，これらの発現した K チャネルの相対的な変化で規定されることになる．

本研究で，新たに T3により心房でのみ erg と minK の発現が強く誘導されることが分かった．minK（minimal K channel）は130アミノ酸により構成される膜1回貫通型カリウムチャネルで，この遺伝子を Xenopus oocytes に発現させると，モルモットの心室筋などで記録される活性化の遅い遅延整流カリウム（Iks）に類似した電流が認められることが判明している[12)13)]．さらに近年，Drici らは minK 遺伝子の knock out マウスで心電図上の RR 間隔に対する QT 時間の関係を解析し，RR 間隔が100 msec から400 msec に延長した時の QT 時間は minK knock out マウスの方が対照マウスよりも延長度が大きくなることを報告している[14)]．また，minK は LQT 1または erg とも会合することも免疫沈降法で確認され[15)-17)]，minK と LQT 1を共発現させると Iks 電流に類似した電流を認めること[18)19)]，その電流は erg 単独よりも活性化の速い遅延整流カリウム電流である Ikr に近似してくることも報告されている[17)]．これらのことから，minK は単独であるいは他のカリウムチャネルと会合し複合体を形成することより心筋の活動電位持続時間の制御に働いていると考えられる[17)]．

今回の研究は T3を投与されたラットの心臓では，erg と minK mRNA の発現がともに心房でのみ強く誘導されることが示され，両者が単独あるいは会合しておそらく心房筋において活動電位の持続時間を短縮させている可能性を示した．活動電位持続時間の短縮は，

心房における波長（不応期×伝導速度）を短縮させ，心房細動が発生し易い基盤を作っているものと考えられる[20]．臨床にみる甲状腺機能亢進症では，心房性不整脈とくに心房細動が合併し易いことと関係していると想定される．

一方，甲状腺ホルモンの心臓への作用は，β受容体を介していることも示唆されている[21)22)]．Iks はカテコラミンによって増加することは知られている[21)22)]．T3のβ受容体の発現への作用も検討する必要がある．

甲状腺ホルモンがどのようにして Kv チャネルファミリーの遺伝子発現を調節しているかは明らかではない．甲状腺ホルモンが細胞の核内受容体を介して直接 Kv チャネルファミリーの遺伝子の promoter 領域に結合し，その発現を制御している可能性や他の遺伝子の発現を制御することで Kv チャネルファミリーの遺伝子発現を調節している可能性も考えられる．実際，Kv 1.5 の promoter 領域には甲状腺ホルモン受容体が結合する可能性のある塩基配列が存在する[23]．

限　　界

最近，動物モデルで心房細動を誘発したり，心房を頻回刺激すると心房筋の不応期が短縮すること[24]，カリウムチャネルの発現も変化することが示された[25)26)]．これは頻脈による電気的リモデリングと呼ばれており，その存在は人でも確認されている[27]．

従って T3投与後に明らかに心拍数は上昇していることから，頻拍による電気的リモデリングの影響を考慮する必要がある．頻脈時は，Ito と Ica は減少するとされるが[25)26)28)]，Kv 1.4，Kv 4.2 が T3で減少ないし不変であったことの一部に電気的リモデリングが関係しているかも知れない．ここでは活動電位持続時間（または不応期あるいは QT 間隔）は測定していないことと，実際に各 K チャネルの心筋膜密度を検討していない．しかし心房と心室筋で K チャネルの遺伝子発現に差異を認めたことは重要と思われ，今後の細胞電気生理学的検討を必要としている．

謝　辞

最後に，本研究の御指導，御助力いただきました新潟大学医学部腎研究施設構造病理学分野の山本格教授，矢尾板永信助教授，吉田　貫技官，新潟大学医学部第一内科学教室の阿部　晃博士，山浦正幸博士に深謝いたします．

参 考 文 献

1) **Brown, A.M.**: Cardiac potassium channels in health and disease. Trends Cardiovasc Med., **7**: 118, 1997.

2) **Deal, K.K., England, S.K. and Tamkun, M.M.**: Molecular physiology of cardiac potassium channel. Physiological Reviews, **76**: 49～67, 1996.

3) **Brahmajothi, M.V., Morales, M.J., Liu, S., Rasmusson, R.L., Campbell, D.L. and Strauss, H.C.**: In situ hybridization reveals extensive diversity of K+channel mRNA in isolated ferret cardiac myocytes. Circ. Res., **78**: 1083～1089, 1996.

4) **Brahmajothi, M.V., Morales, M.J., Rasmusson, R.L., Campbell, D.L. and Strauss, H.C.**: Heterogeneity in K+channel transcript expression detected in isolated ferret cardiac myocytes. Pacing Clin Electrophysiol., **20**: 388～396, 1997.

5) **Dixon, J.E. and McKinnon, D.**: Quantitative analysis of potassium channel mRNA expression in atrial and ventricular muscle of rats. Circ. Res., **75**: 252～260, 1994.

6) **Wang, Q., Curran, M.E., Splawski, I., Burn, T.C., Millholland, J.M., VanRaav, T.J., Shen, J., Timothy, K.W. and Vincent, G.M.**: Positional cloning of a novel potassium channel gene: KvLQT 1 mutations cause cardiac arrhythmias. Nature Genet., **12**: 17～23, 1996.

7) **Curran, M.E., Splawski, I., Timothy, K.W., Vincent, G.M., Green, E.D. and Keating, M.T.**: A molecular basis for cardiac arrhythmia: HERG mutations cause long QT syndrome. Cell, **80**: 795～803, 1995.

8) **Arnsdorf, M.F. and Childers, R.W.**: Atrial electrophysiology in experimental hyerthyroidism in rabbits. Circ. Res., **26**: 575, 1970.

9) **Selby, L., Choy, A.M., Mörike, K.E. and Roden, D.M.**: K+channel isoform switching with thyroid hormone treatment, but not with hypothyroidism or amiodarone. Circulation, **90**: I-416～2233, 1994.

10) **Abe, A., Yamamoto, T., Isome, M., Ma, M., Yaoita, E., Kawasaki, K., Kihara, I. and Aizawa, Y.**: Thyroid Hormone Regulates Expression of

shaker-Related potassium channel mRNA in Rat Heart. Biochem Biophys Res Commun., **245**: 226～230, 1998.

11) **Polikar, R., Burger. A.G., Scherrer. U. and Nicod. P.**: The thyroid and the heart. Circulation., **87**: 1435～1441, 1993.

12) **Takumi, T., Moriyoshi, K., Aramori, I., Ishii, T., Oiki, S., Okada, Y., Ohkubo, H. and Nakanishi, S.**: Alteration of channel activities and gating by mutations of slow Isk potassium channel. J. Biol. Chem., **266**: 22192～22198, 1991.

13) **Kaczmarek, L.K. and Blumenthal, E.M.**: Properties and regulation of the mink potassium channel protein. Physiological Reviews., **77**: 627～641, 1997.

14) **Drici, M.D., Arrighi, I., Chouabe, C., Mann, J.R., Lazdunski, M., Romey, G. and Barhanin, J.**: Involvement of Isk-associated K+ channel in heart rate control of repolarization in a murine engineered model of Jervell and Lange-Nielsen syndrome. Circ. Res., **83**: 95～102, 1998.

15) **Po, S., Snyders, D.J., Baker, R., Tamkun, M.M. and Bennett, P.B.**: Functional expression of an inactivating potassium channel cloned from human heart. Circ. Res., **71**: 732～736, 1992.

16) **Barry, D.M., Trimmer, J.S., Merlie, J.P. and Nerbonne, J.M.**: Differential expression of voltage-gated K+channel subunits in adult rat heart relation to functional K+channels? Circ. Res., **77**: 361～369, 1995.

17) **McDonaldd, T.V., Yu, Z., Ming, Z., Palma, E., Meyers, M.B., Wang, K., Goldstein, S.A.N. and Fishman, G.**: A mink-HERG complex regulates the cardiac potassium current Ikr. Nature., **388**: 289～292, 1997.

18) **Barhanin, J., Lesage, F., Guillemare, E., Fink, M., Lazdunski, M. and Romey, G.**: K (V) LQT 1 and Isk (minK) proteins associate to form the I (Ks) cardiac potassium current. Nature, **384**: 78～80, 1996.

19) **Sanguinetti, M.C., Curran, M.E., Zou, A., Shen, J., Spector, P.S., Atkinson, D.L. and Keating, M.T.**: Coassembly of K (V) LQT 1 and minK (IsK) proteins to from cardiac I (Ks) potassium channel. Nature, **384**: 80～3, 1996.

20) **Rensma, P.L., Allessie, M.A., Lammers, W.J.E.P., Bonke, F.I.M. and Schalij, M.J.**: Length of excitation wave and susceptibility to reentrant atrial arrhythmias in normal conscious dogs. Circ. Res., **62**: 395～410, 1988.

21) **Levey, G.S. and Klein, I.**: Catecholamine-thyroid hormone interactions and the cardiovascular manifestations of hyperthyroidism. Am. J. Med., **88**: 642～646, 1990.

22) **Hartzell, H.C.**: Regulation of cardiac ion channels by catecholamines, acetylcholine and second messenger systems. Prog. Biophys. Molec. Biol., **52**: 165～247, 1988.

23) **Mori, Y., Matsubara, H., Folco, E., Siegel, A. and Koren, G.**: The transcription of a mammalian voltage-gated potassium channel is regulated by cAMP in a cell-specific manner. J. Biol. Chem., **268**: 26482～26493, 1993.

24) **Wijffels, M.C.E.F., Kirchhof, C.J.H.J., Dorland, R. and Allessie, M.A.**: Atrial fibrillation begets atrial fibrillation a study in awake chronically instrumented goats. Circulation, **92**: 1954～1968, 1995.

25) **Yue, L., Feng, J., Gaspo, R., Li, G., Wang, Z. and Nattel, S.**: Ionic remodeling underlying action potential changes in a canine model of atrial fibrillation. Circ. Res., **81**: 512～525, 1997.

26) **David, R., Wagoner, V., Pond, A.L., McCarthy, P.M., Trimmer, J.S. and Nerbonne, J.M.**: Outward K^+ current densities and Kv1.5 expression are reduced in chronic human atrial fibrillation. Circ. Res., **80**: 772～781, 1997.

27) **Tanabe, Y., Chinushi, M., Taneda, K., Fujita, S., Kasai, H., Yamaura, M., Imai, S. and Aizawa, Y.**: Recovery of the right atrial effective refractory period after cardioversion of chronic atrial fibrillation. Am. J. Cardiol., (in press) 1999.

28) **Beekman, R.E., Hardeveld, C. and Simonides, W.S.**: Effect of thyroid state on cytosolic free calcium in resting and electrically stimulated cardiac myocytes. Biochim. Biophys. Acta., **969**: 18～27, 1988.

（平成11年11月19日受付）