

〔原 著〕 糖質コルチコイドのタンパク質, アミノ酸 代謝に与える影響

蛭 名 洋 介*

(昭和52年4月1日受付)

要 旨

糖質コルチコイドのタンパク質, アミノ酸代謝に与える影響について, 正常マウスおよびニワトリ胚骨格筋培養細胞を用いて検討を行った。プレドニソロン (0.36mg) をマウス腹腔内に投与すると, 1) 肝臓可溶性タンパク質濃度が投与後1時間から4時間にわたり, 10~15%減少する。2) 肝臓湿重量当りの DNA 量もタンパク質量とほぼ同様に減少する。3) 肝臓の酸可溶性ニンヒドリン陽性物質が単位 DNA 当り, 1時間から4時間にかけて13~35%増量する。プレドニソロンをマウスの皮下に投与すると, 1) 血漿中酸可溶性ニンヒドリン陽性物質が, 1時間から4時間にかけて28%増量する。2) 血漿中に増量したニンヒドリン陽性物質の大部分は, アミノ酸とタウリンであった。3) 血漿中ニンヒドリン陽性物質の増量は, アクチノマイシンDの前処置で阻害されないが, 肝臓チロシンアミノトランスフェラーゼの誘導は完全に阻止された。また, ^{14}C -ロイシンでラベルしたニワトリ胚骨格筋培養細胞(7日目)に 10^{-6}M のヒドロコチゾンを加えると, 4時間後に細胞酸可溶性分画の放射能が対照に比べ, 25%増量しているのがみられた。以上の結果より, 糖質コルチコイドは, 肝臓および肝外組織において, 早期にタンパク質, アミノ酸代謝に影響を与え, その作用機構がステロイドホルモンによる遺伝子活性化による機序とは別の機序で行なわれている可能性を示唆する。

Keywords: プレドニソロン, 血漿中遊離アミノ酸, アクチノマイシンD, 肝臓タンパク質濃度

序 文

糖質コルチコイドはタンパク質, 糖質, 脂質代謝に影響を与えることが報告されている¹⁾。しかし, その作用機構の全容については, 充分な解明が必ずしも行なわれていない。1962年の Jensen ら²⁾によるエストロジェンレセプターの発見に始まる, ステロイドホルモン・レセプター複合体の形成→遺伝子の活性化→作用発現, という作用機序の概念は, Tomkins ら³⁾の肝癌培養細胞を用いての研究によって, 糖質コルチコイドの作用機序の解明にも適用された。また O'Malley ら⁴⁾によるエストロジェン, プロゲステロンの作用機序に関する広汎な研究も, ステロイドホルモンの遺伝子活性化を介しての作

用機序の概念を支持している。しかし, 最近 Kim ら⁵⁾は, *in vitro*の蛋白質合成系で, 糖質コルチコイドが合成阻害をすると報告し, また Bellamy⁶⁾, 須永ら⁷⁾の研究は, 糖質コルチコイドが直接タンパク質, ペプチド等の修飾を行う可能性を示していることから, タンパク質およびアミノ酸代謝に関しては, 遺伝子の活性化以外にも他の作用機構が存在する可能性が考えられる。本研究は1930年から1960年代にかけてほぼ報告されつくしたと思われる全身に対する糖質コルチコイドのタンパク質, アミノ酸代謝に与える影響の再検討をまず行った。その結果, ステロイド投与後早期に肝臓内では, 酸可溶性ニンヒドリン陽性物質が増量し, タンパク質および DNA 含量は減少する。ステロイドの皮下投与後, 1~2時間

* 千葉大学医学部生化学第1教室: 現在所属 山口大学医学部第2生化学教室
YOUSUKE EBINA: Effects of Glucocorticoid on Amino Acids and Protein Metabolism.
First Department of Biochemistry, School of Medicine, Chiba University, Chiba, 280.
Received for publication, April 1, 1977.

という非常に早期に血漿中遊離アミノ酸の増量をとらえ、その発現がアクチノマイシンDで阻止できないことを示した。すなわち、糖質コルチコイドは、遺伝子活性化以外の機構によって、非常に早期より、肝臓内外でタンパク質、アミノ酸代謝に影響を与えている可能性が示唆される。

実験方法

1. 実験動物：

マウスは日本クレアより購入した ddn 系と ICR 系の雌で7~8週齢を用いた。実験2時間前までは自由に飼料を与えた。なお飼料のタンパク質含量は24%で、日本クレアの飼育用を用いた。室温は22°C、照明は午前8時より午後8時まで点灯した。

2. ニワトリ胚骨格筋芽細胞培養：

12日目白色レグホンニワトリ胚下肢骨格筋芽細胞を、守山ら⁹⁾の方法により培養した。

3. 使用薬品：

Prednisolone は武田薬品工業株式会社より供与を受けた。Hydrocortisone 21-sodium succinate, actinomycin D は Sigma 社 (U.S.A.) より、L-[U-¹⁴C] Leucine (2.3mCi/mg) は The Radiochemical Centre より購入した。

4. 動物操作：

プレドニソロン0.36mg を0.1ml の10%エタノールに溶かし、腹腔内または皮下に投与した。対照群として10%エタノールを0.1ml 腹腔内または皮下に投与した。投与開始の時間は午前10時とした。マウスは頸動静脈を切断して採血し、充分放血後肝臓を摘出し、サルトリウス製上皿天秤 ($\frac{1}{100}$ g まで測定) で秤量後、ドライアイス・アセトンに直ちに入れ凍結させた後、-80°C で24時間保存後、分析を行った。血液はヘパリン処理した試験管に入れ、1000×g、10分間遠心後、その上清を血漿試料とした。なお、溶血しているものは除いた。

5) 定量法：

a. 肝臓チロシンアミノトランスフェラーゼ活性測定：

凍結肝臓に0.14M KCl を加えて20%ホモジネート液を作り、これを105000×g、30分遠心し、その上清を100倍希釈して、Diamondstone の方法⁹⁾で測定した。酵素活性は、10分間に蛋白1mg 当り生成するパラヒドロキシフェニルピルビン酸の μ g 数を1単位とした。

b. 肝臓可溶性タンパク質濃度測定：

酵素液中のタンパク質濃度は Lowry 法¹⁰⁾で、bovine

serum albumin (三光純薬) を標準液として測定した。

c. 肝臓 DNA 含量測定：

DNA の抽出は Schneider 法¹¹⁾でおこなった。DNA 量はジフェニルアミン 試薬を使用して測定した。DNA 量は肝臓1g 湿重量当りの mg 数で算出し、それぞれの時間における対照群との%値で示した。

d. 肝臓および血漿酸可溶性ニンヒドリン陽性物質の測定：

肝臓20%ホモジネートおよび血漿に10%トリクロル酢酸を等量加え、1000×g、10分遠心上清をそれぞれ50倍、25倍希釈して Rosen の方法¹²⁾によって、L-アラニン を標準液として測定した。

e. 血漿中遊離アミノ酸量測定：

ステロイド投与および対照群のマウスをそれぞれ12頭ずつより血漿を集め、過クロール酸で除タンパク後、日立 LA-3B 自動アミノ酸分析器を使用して測定した。

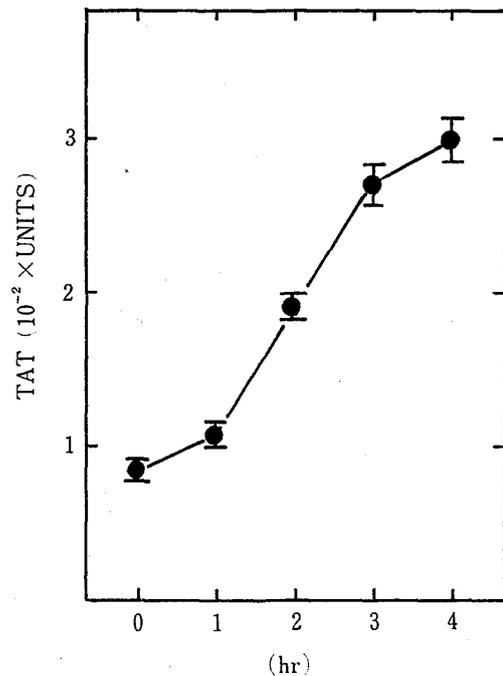


Fig. 1 Induction of hepatic tyrosine aminotransferase (TAT) by prednisolone in intact mice. Intact mice were injected with prednisolone 0.36 mg/mouse intraperitoneally. Animals were sacrificed at different intervals after injections and enzyme activity was determined as described under "Materials and Methods". Each point represents the means of the values obtained from 15 to 30 mice; the brackets indicate the standard error of the mean.

実験成績

1. 肝臓チロシンアミノトランスフェラーゼの誘導:

糖質コルチコイドの肝臓での作用の指標のひとつと考えられるチロシンアミノトランスフェラーゼの誘導を検討した (Fig. 1)。投与後2時間より酵素誘導がみられた。この誘導の機序は Tomkins らにより, ステロイドホルモンによる遺伝子活性化であると説明され, 転写翻訳を介する新しい酵素タンパク質の合成であることが報告されている¹³⁾。この酵素誘導に約1時間の lag phase が必要であるのは, ステロイド・レセプター結合→遺伝子活性化→転写→翻訳という段階を経るためであろうと考えられている。ところが, 酵素液中のタンパク質濃度

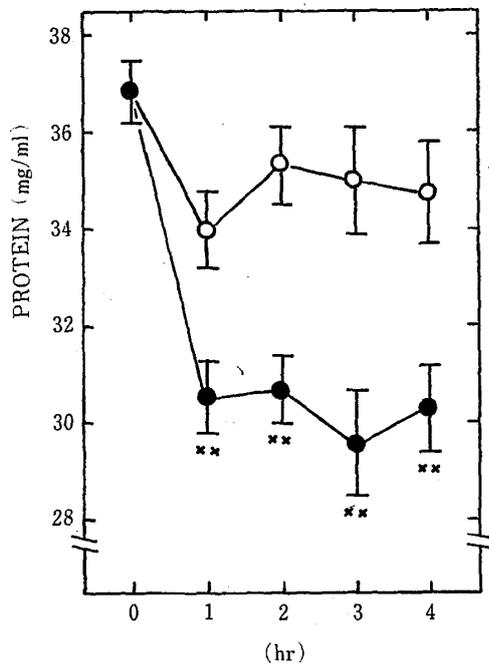


Fig. 2 Concentration of soluble protein in the liver after administration of prednisolone in intact mice. These mice were injected intraperitoneally with prednisone 0.36 mg/mouse (●—●) and with 0.1ml of 10% ethanol (○—○). Animals were sacrificed at different intervals after injections and the concentration of soluble protein was determined as described under "Materials and Methods". Each point represents the means of the values obtained from 15 to 30 mice; the brackets indicate the standard error of the mean. The double asterisks denote significant differences from control mice. ($p < 0.005$)

は, この lag phase と考えられている 時間内にすでに減少していた (Fig. 2)。

2. 肝臓可溶性タンパク質濃度の減少:

従来, 糖質コルチコイドは肝臓でのタンパク質合成を高め, タンパク質含量は増加すると報告されている¹⁴⁾が, Fig. 2の実験成績では, 早期にはむしろタンパク質濃度の減少を示している。

3. 肝臓 DNA 濃度の減少:

プレドニソロン投与後, DNA 濃度も対照群に比べ減少しているのがみられた (Fig. 3)。タンパク質の絶対

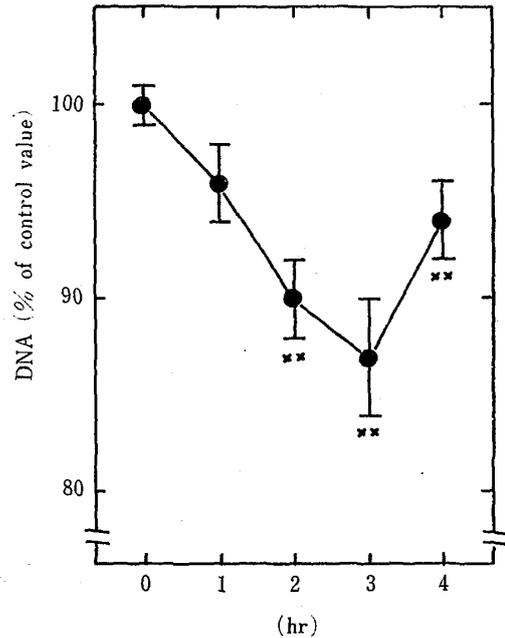


Fig. 3 Content of DNA in the liver after administration of prednisolone in intact mice. Intact mice were injected with prednisolone and 10% ethanol as control as described in Fig. 2. Animals were sacrificed at different intervals after injection and the content of DNA was determined as described under "Materials and Methods". Each point represents percent of control value. DNA value of 0 time mice is 2.84mg per gram wet weight of liver. The double asterisks denote as Fig. 2.

量の変化をみるために, DNA 当りのタンパク質量を算出したが, プレドニソロン投与および対照群ともに, 1~4時間にかけて, 同じように減少しているのが見られ, その間に有意の差はなかった。

DNA の絶対量がこのような短時間で減少するとは考えにくいので, DNA 濃度の減少は, 肝細胞内の水分量の増加によると考える方が最も妥当と思われる。糖質コ

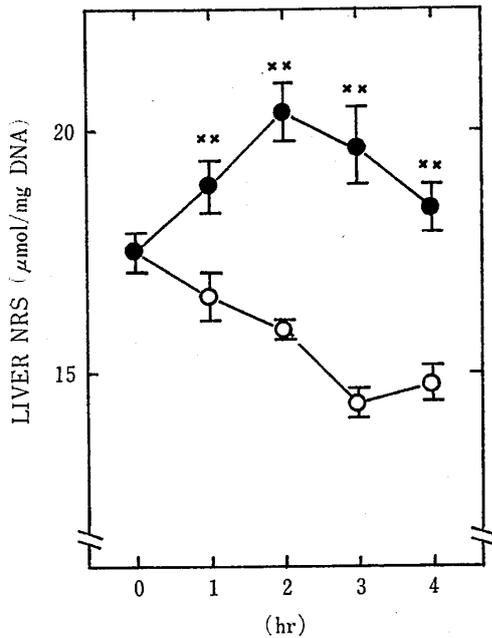


Fig. 4 Increase in ninhydrin-reactive substances (NRS) of liver in acid soluble fraction induced by prednisolone. Mice were injected intraperitoneally with prednisolone (●—●) and 10% ethanol as control (○—○) as described in Fig. 2. The ninhydrin-reactive substances in the liver were estimated as in "Materials and Methods". Each point represents the means of the values obtained from 15 to 30 mice; the brackets indicate the standard error of the mean. The double asterisks denote as in Fig. 2.

ルチコイドは筋肉などでのタンパク質異化作用、脂肪組織での脂肪の異化作用、末梢組織のグルコース利用阻害などにより、血中の遊離脂肪酸、グリセロール、アミノ酸、グルコースが増量し、これらは肝臓へ流入すると考えられている。そこでこの肝外組織から肝臓への基質の移動と、上記の水分の肝臓への移動との間の関係をしらべた。肝臓中のアミノ酸代謝に関連する基質レベルの変化を知るために、まず、肝臓中の酸可溶性ニンヒドリン陽性物質の測定を行った。

4. 肝臓酸可溶性ニンヒドリン陽性物質の増量：

Fig. 4に示すように、ステロイド投与後1~4時間にかけてDNA 1mg当りのニンヒドリン陽性物質が増量しているのがみられた。糖質コルチコイドは、肝臓タンパク質に対しても異化作用があるという報告もあるので⁵⁾、肝内ニンヒドリン陽性物質の増量は、それが原因であるとも考えられるが、血中遊離アミノ酸の増量がよ

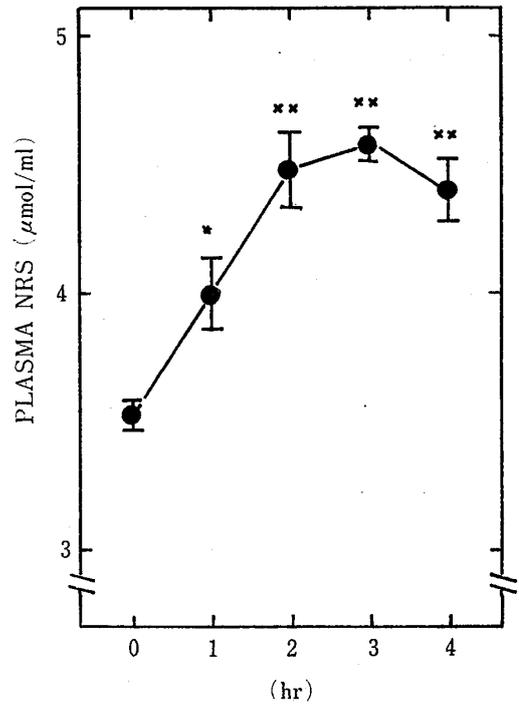


Fig. 5 Increase of ninhydrin reactive substances (NRS) in acid soluble fraction of plasma after subcutaneous administration of prednisolone. The mice were injected with prednisolone 0.36 mg/mouse subcutaneously. Animals were sacrificed at different intervals after injections and the ninhydrin reactive substances was estimated as described under "Materials and Methods". Each point represents the means of the values obtained from 5 to 10 mice; the brackets indicate the standard error of the mean. The single and double asterisks denote significant difference from 0 time control. ($\times \cdot \cdot p < 0.01$, $\times \times \cdot \cdot p < 0.005$)

り早期におこっているのではないかと考え、次の実験を行った。

5. 皮下投与による血漿遊離アミノ酸の早期増量とその発現機序：

Fig. 5に示すようにプレドニソロンを皮下に投与すると、投与後1時間から血漿中ニンヒドリン陽性物質は増加しはじめ、2~4時間にかけて28%増加する。しかし腹腔内投与ではその増量はおくれ、その程度も少なかった。またデオキシコルチコステロン、 β -エストラジオール、プロゲステロン、テストステロン皮下投与では、血漿中ニンヒドリン陽性物質の増量はみられなかったが、コルチコステロン、プレドニソロン投与では増量を

きたした。増量した血漿中ニンヒドリン陽性物質の本体が何であるかを検討するために、アミノ酸分析をおこなった。プレドニソロンあるいは対照群として10%エタノールを皮下に投与して2時間後のマウスの血漿をそれぞれ12頭ずつ集め、除タンパク後、アミノ酸自動分析器で分析を行った。プレドニソロン投与により、全アミノ酸量は21% (0.47 μ mol/ml) 増加したが、アミノ酸以外のニンヒドリン陽性物質であるタウリンが130% (0.35 μ mol/ml) 増加していた。プレドニソロン投与2時間後の血漿中ニンヒドリン陽性物質の増量は0.91 μ mol/mlであるので、その52%はアミノ酸であり、また37%はタウリンである。すなわち、糖質コルチコイドによる血漿中酸可溶性ニンヒドリン陽性物質の増量は50%以上はアミノ酸であり、それは皮下投与例ではより著明にみられる。この事実は、糖質コルチコイドのタンパク質, アミノ酸代謝に対する作用として血漿中に最も早期に現われる指標と考えられる。

6. アクチノマイシンDの効果:

ステロイドホルモンは細胞内に入り、特異的なタンパク質と結合し、遺伝子を直接活性化して、mRNAをつくり、酵素タンパク質などを合成し、そのホルモン特有の作用を発現すると考えられている。アクチノマイシンDは転写段階を阻害するので、アクチノマイシンD投与により、ホルモンの作用発現はおこらないと考えられている。そこでステロイドを投与する60分前に、アクチノ

Table 1 Effects of actinomycin D on the accumulation of plasma ninhydrin-reactive substances (NRS) and the induction of hepatic tyrosine aminotransferase (TAT) by prednisolone.

	Cont.	Act. D	Pred.	Pred. + Act. D
Plasma NRS (μ mol/ml)	3.63 \pm 0.05	3.86 \pm 0.09	4.38 \pm 0.11 (p < 0.005)	4.51 \pm 0.08 (p < 0.005)
Liver TAT (UNITS)	55.1 \pm 4.3	40.7 \pm 2.9	155.0 \pm 7.4 (p < 0.005)	58.4 \pm 3.5

The mice were injected intraperitoneally with 0.1ml of saline suspension of actinomycin D (40 μ g/mouse) 3 hours before killing the mice, and injected subcutaneously with prednisolone (0.36 mg/mouse) 2 hours before killing. The ninhydrin-reactive substances in plasma and hepatic tyrosine aminotransferase activity were estimated as described under "Materials and Methods". The means of the values were obtained from 5 to 6 mice.

Table 2 Effect of hydrocortisone on protein metabolism of chick embryo muscle cells

	Cell sup. of 5% TCA (cpm/ml)		Protein (cpm \times 10 ⁻³ /mg prot.)	
	Control	Steroid	Control	Steroid
120 min	2959 \pm 160	3074 \pm 99	220 \pm 7.9	224 \pm 30
240 min	2853 \pm 158	3516 \pm 124 (p < 0.025)	202 \pm 13	204 \pm 69

The cells were prepared as described in "Materials and Methods". On 4th day, after exchanging fresh medium, ¹⁴C-Leucine (0.5 μ C/dish) was added in the medium. On 6th day the cultures were washed 2 times by fresh medium. On 7th day, after 60 min exchanging fresh medium, hydrocortisone sodium hemisuccinate was added in a final concentration of 10⁻⁶M to the cultures. The cells were collected at 2 or 4 hours after adding the hormone, and homogenized in 5% of trichloroacetic acid. After centrifugation at 1000 \times g for 15 min, the supernatant was added in Bray's scintillator solution and counted. The precipitate was washed by 5% TCA and washed by chloroform, methanol (1:1) in 100°C for 3 min. The precipitate was used as purified protein. The protein was dissolved in 1N NaOH and counted in Bray's solution.

マイシンDを腹腔内に40 μ g投与した。ステロイド投与120分後に血漿中ニンヒドリン陽性物質の量と肝臓チロシンアミノトランスフェラーゼ活性を測定した (Table 1)。糖質コルチコイドによるこの酵素の誘導は、転写レベルを介することが報告されている⁹⁾。プレドニソロン投与1時間前にアクチノマイシンDを投与すると、プレドニソロン投与2時間後には、転写レベルを介するチロシンアミノトランスフェラーゼの活性は完全におさえられるが、血漿中酸可溶性ニンヒドリン陽性物質の増量は、まったく阻害されなかった。また、アクチノマイシンD 40 μ g 腹腔内投与は、肝外組織においても、転写レベルを阻害するのに十分な量であると思われ¹⁵⁾、また、アクチノマイシンDを皮下に投与しても、プレドニソロンによるニンヒドリン陽性物質の増量は阻害されなかった。

以上の結果は、プレドニソロンによる血中アミノ酸の増量は、転写レベルを介さない、従来のステロイドホルモンの作用機構とはちがう機構によることを示唆していると思われる。

7. ニワトリ胚骨格筋培養細胞のタンパク質代謝に与

える糖質コルチコイドの影響:

糖質コルチコイドによる血漿中アミノ酸の増量は、末梢タンパク質、主に筋肉のタンパク質の異化によるものであろうと考えられている¹⁾。しかし、一般に筋肉のタンパク質の代謝回転はおそく¹⁰⁾、*in vivo*の実験で筋肉タンパク質を十分にアイソトープでラベルすることはむずかしい。そこで、この困難を解決するためニワトリ胚筋芽培養細胞を用いた。この系は培養開始後タンパク合成を盛んにおこない、5~7日目には骨格筋細胞を形成することに着目し、筋肉タンパク質代謝に与える糖質コルチコイドの作用を検討した。Table 2に示すように、骨格筋培養細胞を培養4日目より48時間¹⁴C-ロイシンでラベルして、7日目にヒドロコルチゾンを加えると、4時間後に細胞酸可溶性分画の放射能が対照と比較して増加しているのがみられた。

考 察

糖質コルチコイド投与後の血中遊離アミノ酸量の測定成績については多くの報告がある¹⁷⁻¹⁹⁾。しかし、肝臓チロシナミノトランスフェラーゼやトリプトファンピロラーゼの誘導のように早期より血中アミノ酸の増加をとらえた報告はほとんどなかった。その原因は、それらの報告のほとんどのものが、糖質コルチコイドを腹腔内に投与しているためであると思われる。副腎は後腹膜にあり、そこから分泌されるホルモンは、肝臓を通る前に末梢組織を循環する。また肝臓は、糖質コルチコイドの最大の処理臓器であるため²⁰⁾、皮下または、筋肉内に投与した方が、末梢組織に対する効果は強く現われると考えられる。事実、Dubreuil & Timiras によって、糖質コルチコイドの皮下投与2時間後に、血中遊離アミノ酸が増量することが報告されている²¹⁾。しかし彼等はペーパークロマトグラフィー法でアミノ酸量を測定しているために、その定量性が充分でなかった。そこで糖質コルチコイド皮下投与後、血中遊離アミノ酸をアミノ酸自動分析器で定量し、その増量を確認した。このことは、従来糖質コルチコイドの作用の発現として最も早いとされている肝臓酵素誘導と同じ、あるいはこれより早い、しかも肝外組織での作用の指標を確立したことになり、今後、糖質コルチコイドの研究に重要な役割を果すと考えられる。更に、この指標が従来から報告されている多くの指標、すなわち肝グリコーゲンの蓄積²²⁾、肝臓酵素誘導¹³⁾とは異なり、アクチノマイシンDで阻害されなかったことは、作用機序が異なるものであり、糖質コルチコイドは、遺伝子活性化以外の機構で、タンパク質および

アミノ酸代謝に非常に早期より影響を与えている可能性を示唆している。

さらに、血漿中アミノ酸の増量は、主に筋肉組織におけるタンパク質異化作用の結果と考えられ¹⁾、Table 2で示したように、骨格筋培養細胞を用いることにより、糖質コルチコイドのタンパク質異化作用を分子的レベルまで解明できると思われる。

稿を終えるに当たり、主任三浦義彰教授、直接実験の計画および、御指導をいただいた看護学部須永助教授、筋肉培養細胞を心よく提供していただいた守山講師に深く謝意を表す次第である。

本論文は、学位審査論文“プレドニソロン投与早期におけるマウス肝臓可溶性タンパク質および核酸濃度の減少と血漿中ニンヒドリン陽性物質の増量”の一部である。

SUMMARY

The role of glucocorticoid in regulation of amino acids and protein metabolism was studied. After subcutaneous administration of prednisolone in intact mouse, ninhydrin reactive substances in acid soluble fraction of plasma began to increase within 1 hour and a 28% increase was observed within 2 to 4 hours. Amino acids and taurine were ascribable to the ninhydrin reactive substances in plasma that increased 2 hours after the administration of prednisolone. The increase of the ninhydrin reactive substances was not prevented by actinomycin D, which inhibited the induction of hepatic tyrosine aminotransferase by prednisolone under the same conditions.

On the other hand, in the liver after intraperitoneal administration of prednisolone, protein and DNA concentration decreased rapidly and ninhydrin reactive substances in acid soluble fraction increased within 1 hour.

From these results, it is presumed that amino acids might be mobilized by glucocorticoid more rapidly, according to a new mode of action which is not gene activation by glucocorticoid.

文 献

- 1) Baxter, J. D. and Forsham, P. H.: Tissue effects of glucocorticoids. *Am. J. Med.* **53**, 573-589, 1972.
- 2) Jensen, E. V. and DeSombre, E. R.: Estrogen-receptor interaction. *Science* **182**, 126-134, 1973.
- 3) Baxter, J. D., Roussean, G. G., Benson, M. C., Garcea, R. L., Ito, J. and Tomkins, G. M.: Role of DNA and specific cytoplasmic receptors in glucocorticoid action. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **69**, 1892-1896, 1972.
- 4) Harris, S. H., Schwatz, R. J., Tsai, M. J., O'Malley, B. W. and Roy, A. K.: Effect of estrogen on gene expression in the chick oviduct. *J. Biol. Chem.* **251**, 524-529, 1976.
- 5) Kim, Y. S. and Kim, Y.: Glucocorticoid inhibition of protein synthesis *in vivo* and *in vitro*. *J. Biol. Chem.* **256**, 2293-2298, 1975.
- 6) Bellamy, D. and Leonard, R. N.: The action of corticosteroids on proteolysis. *Biochem. J.* **98**, 581-586, 1966.
- 7) Sunaga, K., Koide, S. S. and Tatum, A. H.: Interaction of 21-dehydrocorticosteroids with peptides. *Biochim. Biophys. Acta.* **232**, 347-351, 1971.
- 8) Moriyama, Y., Hasegawa, S. and Murayama, K.: cAMP and cGMP changes associated with the differentiation of cultured chick embryo muscle cells. *Exp. Cell. Res.* **101**, 159-163, 1976.
- 9) Diamondstone, T. I.: Assay of tyrosine transaminase activity by conversion of *p*-hydroxyphenylpyruvate to *p*-hydroxybenzaldehyde. *Anal. Biochem.* **16**, 395-401, 1966.
- 10) Lowry, O. H., Rosebrough, J. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275, 1951.
- 11) Schneider, W. C.: *Methods Enzymol.* **3**, pp. 680-684. Academic Press, New York, 1957.
- 12) Rosen, H.: A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. *Arch. Biochem. Biophys.* **67**, 10-15, 1957.
- 13) Csányi, V., Greengard, O. and Knox, W. E.: The inductions of tyrosine aminotransferase by glucagon and hydrocortisone. *J. Biol.* **242**, 2688-2692, 1967.
- 14) Chem. Feigelson, M., Gross, P. R. and Feigelson, P.: Early effects of cortisone on nucleic acid and protein metabolism of rat liver. *Biochim. Biophys. Acta.* **55**, 495-504, 1962.
- 15) Grmpp, W., Harris, J. B. and Thesleff, S.: Inhibition of denervation changes in skeletal muscle brokers of protein synthesis. *J. Physiol.* **221**, 743-754, 1972.
- 16) Koizumi, T.: Turnover rates of structural proteins of rabbit skeletal muscle. *J. Biochem.* **76**, 431-439, 1974.
- 17) Civen, M. and Knox, W.E.: The independence of hydrocortisone and tryptophan inductions of tryptophan pyrrolase. *J. Biol. Chem.* **234**, 1787-1790, 1959.
- 18) Kaplan, S. A. and Shimizu, C. S. N.: Effects of cortisol on amino acids in skeletal muscle and plasma. *Endocrinology* **72**, 267-272, 1963.
- 19) Bethel, J. J., Feigelson, M. and Feigelson, P.: The differential effects of glucocorticoid on tissue and plasma amino acid levels. *Biochim. Biophys. Acta.* **104**, 92-97, 1965.
- 20) Peterson, R. E.: *The human adrenal cortex.* pp. 87-190, Harper & Row, New York, 1971.
- 21) Dubreuil, R. and Timiras, P. S.: Effect of cortisone on free amino acids in the serum and organs of the rabbit. *Am. J. Physiol.* **174**, 20-26, 1953.
- 22) Greengard, O., Weber, G. and Singhal, R. L.: Glycogen deposition in the liver induced by cortisone: dependence on enzyme synthesis. *Science* **141**, 160-161, 1963.