抗サイロキシン自己抗体を認めた 橋本病の1例について

京都大学放射線科および放射線部

池 窪 勝 治, 小 西 淳 二, 中 島 言 子
遠 藤 啓 吾, 鳥 塚 莞 爾

神戸中央市民病院 内科

森 徹

A Case Report of Hashimoto's Disease with Anti-Thyroxine Autoantibody

Katsuji IKEKUBO, Junji KONISHI, Kotoko NAKAJIMA,
Keigo ENDO and Kanji TORIZUKA

Department of Radiology, Kyoto University School of Medicine

Toru MORI

Department of Internal Medicine, Kobe Central City Hospital

In one case of untreated Hashimoto's disease, serum thyroxine (T_4) value by radioimmunoassay (RIA) was significantly lower than that by competitive protein binding analysis (CPBA). The discrepancy was found to be due to the presence of antithyroxine autoantibody in the serum. This phenomenon was considered to be of practical importance in interpreting the T_4 value by RIA in cases with autoimmune thyroid diseases.

The patient was a 59-year-old woman with a 30-year history of goiter. A diagnosis of Hashimoto's thyroiditis had been established by open biopsy of the thyroid ten years ago. The patient was judged to be euthyroid on the basis of clinical and laboratory evaluation (mean serum T_4 by CPBA (Tetrasorb and Tetratab kit), $5.0 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$; serum T_3 , $165 \text{ ng}/100 \text{ ml}$; T_3 resin uptake, 31.8%; and serum TSH, $2.0 \mu\text{U}/\text{ml}$). TBG binding capacity was $24 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$. Anti-thyroglobulin antibodies (anti-Tg), once positive ten years before, was negative at this time. But the mean T_4 in the serum measured by T_4 RIA and RIA-Mat T_4 kit were 1.7 and $2.9 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, respectively.

Recovery of the T_4 added to the patient's serum evaluated by RIA-Mat T_4 kit, was 71.2%, although the recovery using a control serum was 108%.

Binding of $^{125}\text{I}-T_4$ to the serum or fractions of the serum was studied by using polyethylene glycol (PEG) method, column chromatography, and double antibody precipitation.

The results were as follows:

- 1) The binding of $^{125}\text{I-T}_4$ to the patient's serum was detected by using RIA kit system without addition of anti- T_4 serum.
- 2) On Sephadex G-200 chromatography of $^{125}\text{I-T}_4$ incubated with the serum or the rabbit anti- T_4 antibody in the presence of ANS, an early radioactive peak was observed by using the patient's serum as in the case of the anti- T_4 antibody. When the serum after thermal inactivation of TBG, was incubated with $^{125}\text{I-T}_4$, and was applied to the Sephadex G-200 column, a radioactive peak was observed in the area where 7S fraction was detected by protein peak.
- 3) The binding of $^{125}\text{I-T}_4$ to the patient's IgG was 9.0% by using double antibody method when the binding to a control IgG was 0.5%.
- 4) The binding of $^{125}\text{I-T}_4$ to IgG fractions was also proved by PEG method.
- 5) The binding of $^{125}\text{I-T}_4$ was competitively inhibited by the addition of unlabeled T_4 . The affinity constant was $1.9 \times 10^8 \text{ L/mol}$ and its binding capacity was $0.8 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ serum.

From these data this T_4 binding IgG was considered to be anti- T_4 autoantibody. The cross reaction with T_3 was approximately 8.3%. MIT and DIT did not displace labeled T_4 when tested in amounts varying from 0.1 to 100 ng/assay. By using the paper electrophoresis, the binding of $^{125}\text{I-T}_4$ to the serum or IgG was not detectable. Therefore this method was considered unsuitable for detecting such anti- T_4 antibody.

As we couldn't find any significant binding of $^{125}\text{I-T}_4$ to sera in 37 other patients with Hashimoto's disease by using the PEG method, the incidence of this phenomenon was considered to be low. But the presence of such a case has to be kept in mind to avoid erroneous clinical interpretation of T_4 value by RIA assay after extraction should be performed when the data is discordant with the clinical state, especially in cases with autoimmune thyroid diseases.

I 緒 言

血清中のサイロキシシン (T_4) の大部分は thyroxine-binding globulin (TBG), thyroxine-binding prealbumin (TBPA), albumin, α_1 -および α_2 -リポプロテイン⁽¹⁾ 等と結合して存在することは周知の事実である。一方、従来より橋本病⁽²⁾⁽³⁾や甲状腺癌⁽⁴⁾のあるものでは T_4 が血清の γ -グロブリンと異常に結合することが知られていたが、ごく最近に至って、staeheliらは甲状腺疾患患者の中にはトリヨードサイロニン (T_3) 及び T_4 に対する自己抗体を有するものがあることを報告している。⁽⁵⁾

著者らは radioimmunoassay (RIA) 法による各種甲状腺疾患患者の血清 T_4 濃度測定値について検討するうちにその値が competitive protein binding analysis (CPBA) 法による測定値に比較して著しく低値を示す橋本病の1例を認め、この解離の原因を追求した。その結果、患者血清中に抗 T_4 抗体が存在することによって考えられる成績が得られた。従来、この様な自己抗体によって考えられる RIA 法測定値の低下は T_3 についての sterling⁽⁶⁾ らの報告をみるのみであるが、この様な成績より実地臨床上、RIA 法による血中 T_4 あるいは T_3 濃度の評価に際しては自己抗体の存在による影響を念頭に置く必要がある。以下本症例についての検討成績に若干の考察を加えて報告する。

II 症 例

患者（Y・D）： 59才 主婦

主訴： 甲状腺腫

家族歴： 単純性甲状腺腫（姉），他に肺結核，気管支喘息及び脳卒中あり。

既往歴： 12才時，腸チフス

現病歴： 約30年前から甲状腺腫があり，1965年7月，精査のために本院に入院した。この時，甲状腺のopen biopsyを受け，橋本病の診断のもとに1ヶ月間の甲状腺末による治療を受けた。以後は放置していたが，1975年4月頃から甲状腺腫の増大に気付く，再び本院外来を受診した。

現症： 体格，栄養中等。皮膚正常。脈拍65/分，整，血圧130/80。甲状腺腫：両葉性かつ多結節性で大，弾性硬，圧痛なし，移動性良好。リンパ節触知せず。臨床的に甲状腺機能異常を示す所見を認めず。

Table 1 Laboratory Data

(a)	1965	1975
T_3 RSU (%)	36.0	31.8
PBI ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	5.8	/
T_3 (ng/100ml)	/	165.0
Tetrasorb ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	/	5.4
TSH ($\mu\text{U}/\text{ml}$)	/	2.0
^{131}I Uptake (24 hrs) (%)	18.7	/
Antithyroid antibody		
thyroglobulin	10^6	(-)
microsome	40 (CF)	10×2^8
Precipitation test	(-)	/
Cholesterol (mg/100ml)	136	171
Triglyceride (mg/100ml)	/	404
β -lipoprotein (mm)	/	4.8
TP (g/100ml)	/	7.2
γ -globulin (%)	/	20.9
TBG-max. binding capacity ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	/	24.0

(b) T_4 values obtained by using RIA and CPBA

	RIA	RIA Mat	Tetrasorb	Tetratab
T_4 ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	1.7	2.9	5.4	4.6

Table 1(a)に前回入院時と今回の外来時の検査成績を示す。今回、 T_3 RSU、 T_3 及びTSHは正常。テトラソルブ値は $5.4\mu\text{g}/100\text{ml}$ とやや低値であった。抗サイログロブリン抗体は前回 10^6 倍と高抗体価を示したが、今回陰性。甲状腺組織像は前回と今回で著明な差異はなく、Fig. 1は今回の組織像であり、散在性甲状腺炎の像を示した。

Table 1(b)はRIA法とCPBA法による測定値を示す。テトラソルブ値 $5.4\mu\text{g}/100\text{ml}$ 、テトラタブ値 $4.6\mu\text{g}/100\text{ml}$ に対して T_4 -RIAでは $1.7\mu\text{g}/100\text{ml}$ 、RIA-Matで $2.9\mu\text{g}/100\text{ml}$ といずれも著明な低値を示した。これはそれぞれ少なくとも2回以上の測定によって確認された成績である。

Fig. 1 Histological appearance of the thyroid obtained by needle biopsy

III 実験材料及び実験方法

本患者の血清 T_4 の測定値がRIA法とCPBA法で解離を示す原因について以下の検索を行なった。

(1) 実験材料

a) 血清試料は上記の解離を確認後患者の了解を得て20mlを採血し、この血清を分離凍結して3ヶ月以内に検討に供した。対照血清としては正常人又は橋本病患者血清を用いた。血清の19S及び7S分画は 1.5×90 cmのセファデックスG-200カラムを用い、0.02M、リン酸緩衝食塩液、pH7.6により溶出分離した。IgG分画は33%飽和硫酸沈澱分画を0.01M、リン酸緩衝液、pH7.6を用いて、DEAEセルロースカラムクロマトグラフィーにより精製した。

b) ^{125}I 標識 T_4 ($^{125}\text{I}-T_4$)

$^{125}\text{I}-T_4$ はダイナボット社製のものであり、比放射能は $620\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ であった。

(2) 実験方法

a) $^{125}\text{I}-T_4$ と血清成分の結合についての検討

1) RIAキットを用いる方法

T_4 -RIAキット及びRIA-Mat T_4 キットでそれぞれキットの抗 T_4 抗体を添加せずに被検血清と $^{125}\text{I}-T_4$ の結合を検討した。すなわち T_4 -RIAでは血清50 μl 、RIA-Matでは10 μl の血清にサイロキシン結合蛋白(TBP)の結合阻害剤として前者では三塩化酢酸ナトリウム、後者では8-anilino-1-naphthalene sulfonate(ANS)とペロナルを加えて $^{125}\text{I}-T_4$ とインキュベートした。インキュベート後はそれぞれレジンスポンジ、レジンストリップにより遊離の $^{125}\text{I}-T_4$ を摂取して結合型から分離した。

2) polyethylene glycol (PEG) 法

血清50 μ lに 125 I-T₄の30,000cpm (T₄として約50pg)を加え室温にて30分又は4℃にて20時間インキュベートした。インキュベート後に総放射能量を測定し、これに25%のPEG (Carbowax 6,000)を加えて混和し、最終液量を400 μ l、PEGの濃度を12.5%とした。15分間静置後、冷凍遠沈器で3,000rpm, 20分間遠沈し、上清を除去して沈渣の放射能量を測定し、総放射能量に対する割合を結合率とした。又血清19S, 7S及びIgG分画(各50 μ l)を用いた時はインキュベート後に最終濃度が1mg/mlになるようにヒト γ -グロブリン(NBC Cohn Fraction II)を加えてから血清の場合と同様にPEGを加えて遠沈によりB,Fを分離した。ANS使用時はその濃度が600 μ g/mlとなるように調製して添加した。又TBGの不活性化法としてその他にはsterling⁽⁷⁾に準じ60℃, 2時間の温熱処理を行なった。インキュベーション用緩衝液としては0.075Mのペロナール緩衝液pH8.6を用いた。

3) 抗ヒトIgG抗体を用いる方法

IgG分画に 125 I-T₄を加え、4℃, 20時間インキュベート後、家兎抗ヒトIgG抗体(阪大微研)を加え3時間室温にて反応させた。反応後プラスチックマイクロチューブを用い、Beckman 遠沈器にて10,000 $\times$ g, 5分間遠沈し、沈渣の放射能量を測定し、加えた放射能量との比から結合率を算出した。インキュベーション用緩衝液としては0.075Mのペロナール緩衝液pH8.6を用いた。抗ヒトIgG量はIgGの1 μ l(約10 μ g)につき抗IgGの100~200 μ lを使用した。

4) カラムクロマトグラフィによる方法

血清又はキットの抗体とトレーサ量の 125 I-T₄をANS(600 μ g/ml)の存在下において室温で1時間インキュベート後に1.0 $\times$ 30cmのセファデックスG-200カラムにかけ、ANS(600 μ g/ml)含有の0.075M, ペロナール緩衝液pH8.6で溶出し、15滴ずつ採集した各分画の放射能量を測定した。又60℃, 2時間の温熱処理によりTBGの不活化を行なった血清⁽⁷⁾の0.3mlにトレーサ量の 125 I-T₄を加え、4℃, 20時間インキュベート後に1.5 $\times$ 90cmのセファデックスG-200カラムにて0.02M, リン酸緩衝食塩液pH7.6で溶出し、3.5mlずつ採集し、各分画の蛋白吸光度(280m μ)と放射能量を測定した。

5) ろ紙電気泳動法による方法

Premachandra⁽²⁾に準じて行なった。

b) 患者血清中の抗T₄抗体の特異性に関する検討

1) 各種濃度の非標識T₄, T₃, MITおよびDITを添加した場合の患者IgGと 125 I-T₄の結合におよぼす影響についてPEG法を用いて行なった。

2) 血清又はIgGと 125 I-T₃, 125 I-TSH, 125 I-HGH及び 125 I-Insulinとの結合の検討

T₃についてはT-3-RIAキット(ダイナボット)を用い抗体を加えずに血清又はIgGと 125 I-T₃の結合をみた。TSH, HGH及びInsulinについては第1反応はそれぞれTSHキット(第一ラジオアイソトープ)HGH-RIAキット及びInsulin-RIAキット(何れもダイナボット)を用い、抗体を加えずに反応させた。第2反応は前記のPEG法によりB/Fを分離した。

IV 実験成績

(1) 125 I-T₄と患者血清の結合

T₄-RIA及びRIA-Mat T₄キットを用いた場合の 125 I-T₄と血清の結合はtable 2(a)のように患者ではそれぞれ31.7%及び16.8%と対照に比較して高値であった。又PEG法により無処理の血清, ANS添加及び60℃, 2時間の温熱処理血清について 125 I-T₄との結合を検討したが, table 2-(b)に示すように患者血清では無処理のもので5.7%, ANS添加で15%及び温熱処理で22%といずれも対照に比較して高い結合が認められた。

table 2-(c)に血清と 125 I-T₄を室温, 30分間反応させた後にレジンによりB, Fを分離し全放射能量に対するBの比を求めた結合率と更にこの遊離 125 I-T₄除去後の血清についてPEG法により得られた全放射能

Table 2 Binding of $^{125}\text{I-T}_4$ to serum

(a) Binding of $^{125}\text{I-T}_4$ to serum using T_4 radioimmunoassay kit without addition of provided antibody

	RIA	RIA-Mat
Pt.	31.7%	16.8%
Control (N=5)	$17.4 \pm 1.82(\text{SD})\%$	$6.8 \pm 0.34(\text{SD})\%$

(b) Precipitated $^{125}\text{I-T}_4$ at 12.5% PEG after incubation with serum under various conditions at room temperature for 30 min.

serum	no treated	ANS (600 $\mu\text{g/ml}$)	heat treated
Pt.	5.7%	15.0%	22.0%
Control	1.8%	3.5%	6.3%

(c) Bound $^{125}\text{I-T}_4$ to serum separated by resin strip and PEG method

	% bound by using resin strip	% bound by using PEG
Pt.	69.0%	6.3%
Control	73.8%	1.8%

Fig. 2 Effect of ANS on binding of $^{125}\text{I-T}_4$ to various sera

に対する結合率とを示す。対照の成績からTBPはPEG法ではほとんど沈澱せず、従って患者の血清の69.0%のうち6.3%はTBP以外の結合と考えられTBPとTBP以外の結合能の比は約10:1であった。

(2) $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ と患者、正常者及び妊婦血清との結合に対するANS濃度の影響

RIA-Mat T_4 キットに準じ、 $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ と血清を各種濃度のANS存在下で反応後にレジンによりB, Fを分離した。Fig. 2に示すようにANS存在下では患者血清の $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ 結合率は正常者及び妊婦のものに比し全て若干高い。又ANS非添加では正常者と差はなく、妊婦では高い結合を示した。ANS濃度は $313\sim 1250\mu\text{g}/\text{ml}$ の間で結合率に差はなくキットで採用の $600\mu\text{g}/\text{ml}$ のANSは本患者のTBPに対しても十分その結合阻害効果を有していると考えられた。以上の成績から本患者の血清中にはTBP以外に $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ と結合する因子が存在するものと考えられた。

(3) 本患者血清における T_4 の回収成績

RIA-Mat T_4 キットを用いて患者血清に各濃度の標準 T_4 を加えてその回収率をみると、Fig. 3のように対照ではほぼ100%の回収成績を示したが、患者血清では71.2%と低値であった。従って $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ のみならず非標識 T_4 についても患者血中にはTBP以外に結合する因子が存在すると考えられた。

Fig. 3. Recovery of T_4 added to sera by using RIA-Mat T_4 kit

(4) カラムクロマトグラフィ

$^{125}\text{I}-\text{T}_4$ が患者血清の何れの分画と結合するかをみるためANS存在下においてセファデックスG-200クロマトグラフィを行なうと、Fig. 4に示すように、患者血清では早い分画に $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ のピークが認められた。RIA-Mat T_4 キットの抗 T_4 抗体を用いた場合も丁度この部分に一致してピークが認められたのに対し、正常血清及び $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ のみでは早期のピークは認められなかった。

Fig. 5は熱処理によりTBG不活性化を行なった血清と $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ を反応させた後にセファデックスG-200クロマトグラフィした成績を示すが、患者血清では7 S分画に一致したピークがみられた。対照血清ではこのようなピークはみられなかった。4 S分画に一致した大きなピークは残存TBGおよびTBPAに対する結合と考えられた。なおANSを加えずに $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ と血清を反応させた後セファデックスG-200によるカラムク

ロマトグラフィを行なったが、結合部位を明らかにすることは出来なかった。一方ANS添加、非添加に拘らず $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ と血清を反応させた後ろ紙電気泳動⁽²⁾を行なった場合には γ グロブリン分画への明らかな結合は認められず、精製IgG分画と $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ とを混和した後電気泳動した場合も結合は認められなかった。

Fig. 4 Sephadex G-200 column chromatography of $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ incubated with the serum or rabbit anti- T_4 serum in the presence of ANS.

Fig. 5 Sephadex G-200 column chromatography of $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ incubated with heat treated serum. Protein peaks are shown as broken lines and radioactivity as solid lines.

(5) $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ と血清19S, 7S, 及びIgG分画との結合

血清19S (7.0mg/ml), 7S (7.0mg/ml) 及びIgG (10mg/ml) 分画の50 μ lを用いてPEG法により $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ との結合をみた成績をTable 3-(a)に示す。患者の血清7S分画と $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ は34.0%, IgGとは51.0%の結合が認められたが, 19S分画とは有意の結合は認められなかった。又 $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ とIgGの結合を抗ヒトIgGを用いて検討したがTable 3-(b)のように9.0%と対照に比して明らかに高い結合が認められた。

Table 3

(a) $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ binding to 19S, 7S and IgG fraction by precipitation at 12.5% PEG

	19S	7S	IgG
Pt.	0.5%	34.0%	51.0%
Control	0.2%	6.2%	6.0%

(b) $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ binding to IgG by using double antibody method

	$^{125}\text{I}-\text{T}_4$ precipitated by anti-IgG % bound
Pt.	9.0%
Control	0.5%

(6) $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ とIgGの結合の特異性の検討

Fig. 6は種々の濃度の非標識 T_4 及び T_3 を加えた場合の $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ とIgGの結合(B/F)の用量反応曲線を示す。 T_4 では0.1ng/assayから6.4ng/assayの添加でB/Fはほぼ直線的に減少した。又 T_3 については0.8ng/assay以上の添加でB/Fはゆるやかな減少を示した。又MIT及びDITについては0.2ng/assayから6.4ng/assayまで全く結合抑制を認めず100ng/assayで約10%の抑制を認めたにすぎなかった。

Fig. 6 Dose-response curve. Inhibition of binding of $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ by unlabeled T_4 or T_3 using PEG method.

Fig. 7 Scatchard plot of data on T_4 binding obtained from Fig. 6(7) 患者血清中の抗 T_4 抗体の親和定数と結合能

IgG 分画の Scatchard plot を Fig. 7 に示す。Scatchard plot analysis により算出した T_4 の親和定数 (K_a) は $1.9 \times 10^8 \text{ L/mol}$ でありその結合能は $0.8 \mu\text{g}/100\text{ml}$ である。又 T_3 に対しては親和定数は $1.2 \times 10^7 \text{ L/mol}$ 、結合能は $9.4 \mu\text{g}/100\text{ml}$ であった。RIA-Mat T_4 キットの抗 T_4 血清については親和定数は $1.2 \times 10^9 \text{ L/mol}$ 、結合能は $0.3 \mu\text{g}/100\text{ml}$ であった。

(8) T_3 , TSH, インスリンおよび HGH との結合

Table 4 に示すように $^{125}\text{I}-T_3$ と患者血清又は IgG の結合は対照に比較し若干高い結合率を示した。TSH, インスリンおよび HGH との結合は対照との間に差を認めなかった。

Table 4 Binding of $^{125}\text{I}-T_3$, TSH, Insulin and GH to Serum

	T_3	TSH	Insulin	GH
Normal Serum (IgG)	11.8(%) (5.8)	25.8(%)	6.3(%)	15.3(%)
Patient Serum (IgG)	21.7 (9.12)	30.8	7.1	15.4
Buffer	0.9	8.6	2.6	—

Fig. 8 Binding of $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ to the serum fraction precipitable at 12.5% PEG in the presence of ANS

(9) 橋本病血清と $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ との結合

本患者及び37例の橋本病患者について $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ と血清を 4°C , 20時間のインキュベート後にPEG法により5例の正常者と比較検討した. Fig. 8に示すように本患者以外には正常者に比較して高い結合率を示すものは認められなかった.

V 考 按

臨床的に正常甲状腺機能の1例の橋本病患者においてCPBA法に比しRIA法による血中 T_4 値が著しく低値であることが認められ, その原因につき検索を行なった. その結果 $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ が血中のTBG以外の因子と結合することが示され, しかもこの結合はTBG結合阻害剤や温熱処理によるTBG不活化でより明瞭となった. この結合因子は血清の7S分画に認められIgGであることより抗体と考えられた. 一方本患者血清およびIgGは $^{125}\text{I}-\text{T}_3$ とも若干の結合を示し, IgG分画と $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ の結合は非標識 T_4 のみならず T_3 の添加でも抑制されたがMITおよびDITでは影響がみられなかった. 標識ペプチドホルモン (TSH, Insulin, HGH) はいずれも結合がみられなかった. この様な成績より T_4 および T_3 に対する抗体の存在が考えられたが, T_4 に対する親和定数は $1.9 \times 10^8 \text{L/mol}$ であるのに対し T_3 に対する親和定数は $1.2 \times 10^7 \text{L/mol}$ と小さく T_3 との結合は抗 T_4 抗体との交叉反応 (交叉率8.3%) と考えられた.

抽出法を用いての本患者の血清 T_4 濃度は平均 $5.0 \mu\text{g}/100\text{mL}$ であった. 本患者血清中の抗 T_4 抗体の親和定数はRIA-Mat T_4 キット抗体のそれに比し約1/6であり, 実際に本キットにおいて抗体を加えない場合に10%の $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ 結合が認められた. このことにより本患者血清の T_4 測定に際しては上記 $5.0 \mu\text{g}/100\text{mL}$ に相当するRIA-Mat T_4 キットにおける $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ の結合率56%に患者血清中の抗体による結合10%が加わると考えると66%の結合が得られることになる. この場合得られた測定値は $2.5 \mu\text{g}$ となり実測値と極めてよく合致し, この様な抗 T_4 抗体の存在によりRIA法による T_4 測定値の異常低値が得られたことが十分説明出来る.

TBPの存在下で $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ との結合が電気泳動やカラムクロマトグラフィーで証明できなかったのはこの抗

体が比較的弱い結合力のためと考えられるがIgGとの結合についても電気泳動法では認められなかったことについては本結合が電気泳動操作により解離するものと考えられこのような抗体の検出に電気泳動は適していないものと思われた。

本症例では10年前抗サイログロブリン (Tg) 抗体陽性であったが現在では陰性となっており抗T₄抗体のみがかなり特異的に存在するものと考えられる。staeheli⁽⁵⁾も抗Tg抗体と抗T₃およびT₄抗体の間に相関を認めておらず、抗Tg抗体陰性者にも抗T₃又はT₄抗体の存在することを報告している。Tgで動物を感作した場合に抗Tgの他T₃、T₄に対する抗体が産生されることはこれら抗体の作成に広く応用されており、その程度は個体の反応性およびTgの性状に依存すると考えられている。その他の抗T₄抗体産生の機序として甲状腺末等甲状腺剤の服用も考えられるが本症例では過去10年間治療を受けておらずこの考えは否定的である。

著者らの検索した限りでは橋本病38例中、このような抗T₄抗体をもつものは本症例1例のみであり、頻度は必ずしも高くはないと思われる。しかしstaeheli⁽⁵⁾らは43例中6例に¹²⁵I-T₄の結合を認めており⁽⁵⁾測定法の改良により更に検出率は上昇するものと思われる。

このような抗T₄自己抗体が存在すると標識T₄の結合型が増加し、1抗体法RIAによるT₄測定値が低くなることは明らかであるがTBGより強い親和性を有する自己抗体ではCPBA法でも正しい値 (total T₄) が示されない可能性もあろう。従来本症例の如き著しい低値を示しCPBA法との差の明らかな症例は報告されていない。T₃に関してはsterling⁽⁶⁾の報告がみられる。即ちバセドウ病の1例でRIA法によりT₃が検出されず、エタノール抽出により大量のT₃が検出され抗T₃抗体の存在によるものと考えている。このような症例の存在はRIA法による血中T₄およびT₃の測定値の評価に当たっての十分な注意を喚起するものである。

VI 総括並びに結論

RIA法により測定した血清T₄値がCPBA法の測定値に比較して著明な低値を示した橋本病の1例につきその解離の原因を追求して以下の成績を得た。

- (1) ¹²⁵I-T₄が患者血清の7 S分画、精製IgG分画と結合することがカラムクロマトグラフィ、PEG法および第2抗体法により認められた。この結合力は血中ではTBPとの結合の1/10程度でありTBG結合阻害剤および温熱処理によるTBG不活性化処理により上昇した。
- (2) ¹²⁵I-T₄と患者IgGの結合は非標識T₄およびT₃の添加で抑制されたが、MITおよびDITでは影響がなく、又本患者血清はTSH、HGHおよびInsulin等とはいずれも結合を認めなかった。
- (3) T₄に対する親和定数は 1.9×10^8 L/mol、結合能は0.8 μg/100 mlであった。
- (4) 以上の成績から本患者は抗T₄抗体を有しており、この血清をRIA法で測定する場合標識T₄が自己抗体とも結合するためT₄の測定値が低値を示すものと考えられた。

稿を終るに臨み、本症例の検討にあたって種々御援助、御協力を載いた京大第1内科矢倉俊洋先生に深謝し、又種々御協力下さった京大放射線部同位元素診療部の各位に感謝致します。

本論文の要旨は昭和50年11月1日、第23回日本内分泌学会西部会総会で発表した。

なお本研究の1部は厚生省特定疾患「橋本病」研究費によったことを記し謝意を表する。

文 献

- 1) Miyai, K., K.F. Itoh, H. Abe and Y. Kumahara: Radioimmuno-electrophoretic analysis of thyroxine-binding proteins in normal human sera. Clin Chim Acta, 22: 341-347, 1968.
- 2) Premachandra, B.N., and H.T. Blumenthal: Abnormal binding of thyroid hormone in

- sera from patients with Hashimoto's disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 27: 931-936, 1967.
- 3) Ochi, Y., K. Shiomi, T. Hachiya, M. Yoshimura, and T. Miyazaki: Immunological analysis of abnormal binding of thyroid hormone in the gamma-globulin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 35: 743-752, 1972.
- 4) Robbins, J., J. E. Rall, and R.W. Rawson: An unusual instance of thyroxine-binding by human serum gamma globulin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 16: 573-579, 1956.
- 5) Staeheli V., M. B. Vallotton and A. Burger: Detection of human anti-thyroxine antibodies in different thyroid conditions. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 41: 669-675, 1975.
- 6) Sterling, K., P.O. Milch, D.A. Holub, and A. Berger, evidence that triiodothyronine (T_3) is not the only active form of thyroid hormone, Program of the 40th Annual Meeting of the American Thyroid Association, 1973, p T11 (abstract).
- 7) Stering, K., and P.O. Milch: thermal inactivation of thyroxine-binding globulin for direct radioimmunoassay of triiodothyronine in serum. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 38: 866-875, 1974.
- 8) Chopra, I.J., J. C. Nelson, D.H. Solomon, and G.N. Beall: Production of antibodies specifically binding triiodothyronine and thyroxine. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 32: 299-308, 1971.