糖尿病患者の免疫学的研究

第 四 報

——小児糖尿病患者の抗甲状腺抗体——

京都大学医学部第2内科

長岡 研五, 鍋谷 登, 桜美 武彦

大阪赤十字病院内科

久 野 昭 太 郎

Thyroglobulin and microsomal antibodies
in diabetes mellitus in childhood.**Kengo NAGAOKA, Noboru NABEYA, Takehiko SAKURAMI**

2nd Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kyoto University

Shotaro KUNO

Osaka Red Cross Hospital

The purpose of our study was to determine the incidence of thyroid antibodies in diabetes mellitus in childhood and to discuss the correlation between thyroid antibodies and insulin antibodies.

The sera of 50 children with diabetes mellitus and 437 children as disease controls were tested by thyroglobulin and microsome-coated tanned red cell hemagglutination test (Fuji Zoki Co. Tokyo).

One of the 50 children with diabetes mellitus(2%) was positive with antithyroglobulin antibodies and eleven (22%) were positive with antimicrosomal antibodies compared to 0.4% and 1.1% respectively in 437 disease controls.

To clarify the association of insulin antibodies and thyroid antibodies in diabetes mellitus in childhood, insulin antibodies were demonstrated by using a modified method described by Wright.

One of the 33 children with negative insulin antibody (2.8%) was positive with antithyroglobulin antibodies and eight (24%) were positive antimicrosomal antibodies.

None of the 17 children with positive insulin antibodies were positive with antithyroglobulin antibodies and three (18%) were positive with antimicrosomal antibodies.

No evident correlation was observed between antithyroid antibodies and insulin antibodies.

序 言

小児糖尿病患者のわが国での報告¹⁾²⁾³⁾はその発生頻度において小児10万名に9~11名の割合で存在し、しかもその率は次第に増加していると言われている。従来、小児糖尿病患者のほとんどがインスリン注射を絶対的に必要とする若年型糖尿病と考えられていたが最近では成人と同じく化学的糖尿病やインスリン非依存性糖尿病も存在することが分かってきた。⁴⁾⁵⁾近年、本邦でも各地で小児糖尿病サマーキャンプが定期的に施行され小児糖尿病に対する関心も高まり患者数もかなり多いことが分かってきたが成人の糖尿病と比較するとその病態や治療の面での研究はかなり立ち遅れている。一方、糖尿病と自己免疫との関係を示唆する報告が最近、欧米では相次いでいる。

すなわち糖尿病患者のうち絶対的にインスリンを必要とするインスリン依存性の患者ではインスリン非依存性の患者に比べ抗甲状腺抗体、抗胃壁細胞抗体、抗副腎抗体等の臓器特異的な血中自己抗体の出現率が極めて高いことが報告されている⁶⁾⁷⁾⁸⁾。本邦におけるこの種の研究では糖尿病患者507名につき抗甲状腺抗体を検索したわれわれの報告⁹⁾が最初であるがその際インスリン依存性の糖尿病患者の抗甲状腺抗体は非依存性の患者に比べその出現頻度は極めて高く、またこれら抗甲状腺抗体とインスリン抗体の間に何ら因果関係が認められなかった¹⁰⁾。しかしながらその場合に対象とした糖尿病患者は全例18歳以上であったので、今回小児糖尿病サマーキャンプの施行等により15歳未満で発症した20歳までの小児糖尿病患者50名(平均11歳)につき抗甲状腺抗体を検索する機会を得たのでそれと同時にインスリン抗体を測定しこれら両者の関係につき検討を加えたので報告する。

対象および方法

(対象)

対象とした小児糖尿病患者は第4回近畿地区小児糖尿病サマーキャンプに参加した46名を含め計50名、その内訳は8歳から14歳まで平均11歳の男子21名、女子は3歳から20歳まで平均12歳の29名から成り男女比は1:1.38であり全例インスリンによる治療を受けていた。慢性甲状腺炎を合併していると思われる1名は対象より除外した。尚、対照としていわゆる小児正常健康者の血清採取が実際上困難であったため、何らかの訴えを有し本院外来を受診もしくは入院した0歳から19歳まで平均8.4歳の男子232名、女子205名、計437名を対照とした。甲状腺機能亢進症や慢性甲状腺炎等の甲状腺疾患を有する者は予め除いた。

(方法)

1. Thyroglobulin および Microsome に対する抗体価は Thyroid test (以下 TG と略す) および Microsome test (以下 MS と略す) (富士臓器 K.K. 東京) により Microtiter Kit (Cooke Engineering Co.) の V plate を用いて測定した。

2. インスリン抗体の測定は Wright の変法¹¹⁾によった。¹²⁵I-インスリンは Sephadex G-75 chromatography により 0.1 M 磷酸緩衝液 pH 7.4 で溶出し純化したものを用いた。抗体結合 ¹²⁵I-インスリン(B)と遊離 ¹²⁵I-インスリン(F)の分離にはセルロース吸着法を用い、Parker の補正式¹²⁾に準じ B corrected/F を求めた。

成 績

Table 1 は小児糖尿病患者50名の抗甲状腺抗体の陽性率を示すが Thyroid test (TG) 陽性者は1名のみで2%であったが Microsome test (MS) 陽性者は11名で22%と極めて高い出現頻度を示した。一方対照では TG, MS 陽性者はそれぞれ2名(0.4%), 5名(1.1%)であった。

尚、対照とした437名のうち抗甲状腺抗体が陽性を示した5名は1歳の急性リンパ性白血病の女子、17歳のボタロー管開存症の女子、12歳の気管支炎の男子、14歳の心室中隔欠損症の女子、16歳の特発性側弯症の男子であった。これら5名共、甲状腺腫を有せず本人および家族には抗甲状腺抗体の出現し易い疾患は全く認められなかった。

Table 2 は小児糖尿病患者を男女別に抗甲状腺抗体の出現頻度をみたものであるが男子の TG および MS 陽性率はそれぞれ 0%, 19%, 女子の TG および MS 陽性率は 3%, 24% と女子の方が男子よりもやや高い陽性率を示した。

Fig. 1 は小児糖尿病患者の Microsome test の抗体価を年齢別にみたものであるが最も高い抗体価は 10×2^{10} であった。またこの図から見る限りやや加齢と共に陽性者の抗体価が上昇しているように見受けられるが、20歳以上のインスリン依存性の若年型糖尿病患者では特に加齢と抗体価には相関関係は見られなかった。尚、図には示さなかったが Thyroid test 陽性者は14歳の女子1名のみでありその抗体価は 10×2^4 であった。

Table 3 は小児糖尿病患者50名につきインスリン抗体を測定しインスリン抗体陰性および陽性の2群に分け、その各々における抗甲状腺抗体の陽性率を示すがインスリン抗体陰性患者33名では TG および MS の陽性率は 2.8%, 24%を示したのに比べインスリン抗体陽性患者17名ではそれぞれ 0%, 18%といずれもインスリン抗体陽性患者での抗甲状腺抗体陽性率が特に高いという結果は得られず、むしろインスリン抗体陰性患者において高い陽性率を示した。このようにインスリン抗体と抗甲状腺抗体の出現との間には特に因果関係を見い出すことが出来なかった。次に特に表には示さなかったがインスリン需要量と抗甲状腺抗体の間にも何ら因果関係が見られなかった。

Fig. 1. Titres of microsome test in diabetes mellitus in childhood.

Table 1. Incidence of thyroid antibodies in diabetes mellitus in childhood.

Group	Disease controls no. tested 437	Diabetes mellitus in childhood no. tested 50
Thyroid test Positive	2(0.4%)	1 (2%)
Microsome test Positive	5(1.1%)	11(22%)

Table 2. Incidence of thyroid antibodies in diabetes mellitus in childhood.

Group	Diabetes mellitus in childhood	
	Males no. tested 21	Females no. tested 29
Thyroid test positive	0 (0%)	1 (3%)
Microsome test positive	4 (19%)	7 (24%)

Table 3. Incidence of thyroid antibodies in diabetes mellitus in childhood.

Group	Diabetes mellitus in childhood	
	Negative insulin antibody no. tested 33	Positive insulin antibody no. tested 17
Thyroid test positive	1 (2.8 %)	0 (0 %)
Microsome test positive	8 (24 %)	3 (18 %)

考 按

今回、小児糖尿病患者では対照とした小児に比べ抗甲状腺抗体の出現頻度が極めて高いという結果を得たが欧米では既に Pettit ら¹³⁾ が16歳以下の小児糖尿病患者の抗甲状腺抗体を蛍光抗体法により検索し正常小児 178 名では 1.1 % の陽性率であったが小児糖尿病患者 58 名では 22 % の陽性率であったとしている。

我々は Pettit らの蛍光抗体法による方法とは異なりタンニン酸処理赤血球凝集反応により検索したが、対照小児の抗マイクロゾーム抗体陽性率が 1.1 % であったのに比し、小児糖尿病患者では 22 % の高い陽性率を示し方法の違いはあれ Pettit らの報告に殆んど一致する成績を得た。既に我々はインスリン非依存性の成人の糖尿病患者 473 名での TG および MS 陽性率は、それぞれ 2.3 %, 4.4 % という成績を得ているのでこれと比較しても小児糖尿病患者では 2 %, 22 % であるから特に MS において極めて高い陽性率を示した。

今回は対照として何らかの訴えを有し外来に来院もしくは入院した患者 437 名を対象とし 437 名中、陽性者は 5 名のみでありこれら陽性者は全例甲状腺腫を有せず、また本人および家族には抗甲状腺抗体の出現し易い疾患は全く認められなかった。もし正常健康小児を対照とするならこの TG, MS それぞれ 0.4 %, 1.1 % という陽性率をもっと低くなることが予想されるのでこれら小児糖尿病患者の抗甲状腺抗体の陽性率は極めて高い事が改めて立証されると思われる。尚、われわれが 20~29 歳の正常健康人 740 名に施行した TG および MS の出現頻度はそれぞれ 1.2 %, 1.6 % であった¹⁴⁾。抗甲状腺抗体は慢性甲状腺炎や甲状腺機能亢進症等の甲状腺疾患以外の自己免疫疾患、すなわち重症筋無力症¹⁵⁾、全身性エリテマトーデス、汎発性強皮症、ルポイド肝炎¹⁶⁾等々にも高い頻度で出現する事が知られているが、これらの疾患についての我々の成績をみると慢性甲状腺炎や甲状腺機能亢進症での抗甲状腺抗体、すなわち TG 又は MS の一方もしくは両方共に陽性を示した者の出現率はいずれも 62 % であり¹⁷⁾、それ以外の上述した自己免疫疾患では 19 % ~ 33 % の陽性率を示した。一方、すでに報告した 18 歳以上のインスリン依存性糖尿病患者の抗甲状腺抗体陽性率 29.4 %, および今回の 15 歳未満で発症したインスリン依存性の小児糖尿病患者の抗甲状腺抗体陽性率 22 % は上記各種自己免疫疾患と同じ程度の陽性率を示した。

この様に従来、糖尿病が自己免疫疾患であるとは考えられていなかったのであるが、今回の成績ではインスリンを絶対的に必要とする小児糖尿病および若年型糖尿病では、自己免疫と何らかのかかわり合いを有しているという可能性が示唆された。今回、対象とした小児糖尿病患者は全例インスリン依存性の患者であったが既に述べたように最近、小児糖尿病患者の中にも化学的糖尿病やインスリン非依存性糖尿病の存在する事が分かっている。すなわち Martin ら⁴⁾ は 42 例の肥満小児のうち 12 名 (28 %) が化学的糖尿病であったとしている。従って今回は検索し得なかったが、インスリン非依存性の小児糖尿病患者の抗体についても今後十分に比較検討されなければならない。次にインスリン依存性糖尿病患者での血中自己抗体の高い出現率はインスリン注射によって異種抗体の産生が惹起されると同時にある種の自己抗体の産生を容易にするよ

うな機序が作働するようになるのではないかという事が一応問題になり得ようが抗甲状腺抗体とインスリン抗体の関係は成人の場合と同じく何ら因果関係が見られなかった。従ってこれらインスリン依存性糖尿病患者ではインスリン注射に影響されて自己抗体が産生されたのではなくて、Irvine らの主張するように何らかの遺伝的機序により自己抗体が患者の流血中に既に存在していた事が考えられる。最近 Nissley ら¹⁸⁾は家族調査を行い抗甲状腺抗体、抗胃壁細胞抗体、抗副腎抗体が陽性を示す若年型糖尿病患者の両親や同胞は、これらの抗体が陰性を示す患者の両親や同胞よりもこれら抗体の出現頻度がかなり高いことを示したとしているのでこれら患者の家族の抗体の検索は遺伝学的にも興味ある課題である。又、最近では糖尿病患者についての細胞性免疫の面からの成績により糖尿病の病因に自己免疫機序を想定する研究者が少なくない。

すなわち Nerup ら¹⁹⁾は146例の糖尿病患者、また Cudworth ら²⁰⁾は100名の糖尿病患者につき HL-A 抗原の検索を行い両者共、急性発症の若年型糖尿病では他の自己免疫疾患と同じく HL-A 8, W 15 が多い事を挙げこれをインスリン依存性糖尿病患者の遺伝標識と考えている。MacCuish ら²¹⁾は正常人およびインスリン依存性患者をコントロール良好な患者とコントロール不良の患者との3群に分け、Tリンパ球とBリンパ球とを測定したが特にこの三つのグループに有意差は見られなかったが PHA に対する反応をみみるとコントロール不良の糖尿病患者ではコントロール良好な患者に比し PHA に対する反応性の低下をみたとしている。従って彼らはこの事実は遺伝的な免疫学的異常よりもむしろ代謝障害に起因していると考えている。

また MacCuish ら²²⁾は人臍抽出物を抗原とし白血球遊走阻止試験を行い、インスリン依存性の患者では対照に比し陽性率が高かったが、ラットの肝ミトコンドリアや牛インスリンを抗原として使用した場合には遊走阻止は見られなかったとしている。このように細胞性免疫の面からの糖尿病患者の種々の研究以外に従来より若年型糖尿病の急性型では膵島にリンパ球浸潤があることが Gepts²³⁾、LeCompte ら²⁴⁾により報告されているがこの組織像がウイルス感染時のそれとよく似ているため糖尿病のウイルス病因論がある。すなわち、若年型糖尿病患者では Coxsackie B₄ 抗体価の高値がみられたとする報告がその代表的なものであるが Steinke ら²⁵⁾は何らかのウイルスが膵島のB細胞に直接作用することにより抗原が逸脱し抗体産生が惹起され組織傷害が生ずるというウイルス感染をひき金とする自己免疫機序を一つの可能性として挙げている。今回、ウイルス抗体価の測定は施行していないが糖尿病患者での血液、膵臓ともにウイルスの分離培養には現在までのところ成功していないのでインスリン依存性糖尿病の病因を考える上にウイルス説は根拠に乏しいと言わざるを得ない。

従ってウイルス感染が直接ひき金の役目を果たしているか否かは不明であるにしてもインスリン依存性糖尿病患者では自己免疫機序により膵島が傷害されインスリン分泌障害をきたし糖尿病が発症するのではないかという推論が成り立つ。いずれにしても今回の成績ではインスリン依存性の小児糖尿病患者で抗甲状腺抗体の出現頻度が極めて高く既に報告されている各種自己免疫疾患における抗甲状腺抗体の出現頻度と比較対照してみても糖尿病と自己免疫とのかかわり合いを強く示唆していると考えざるを得ない結果を得た。

結 語

1) インスリン依存性の小児糖尿病患者50名のうち Thyroid test は2%, Microsome test は22%の陽性率が得られた。一方対照小児437名の Thyroid test および Microsome test の陽性率はそれぞれ0.4%, 1.1%であった。

2) Thyroid test, Microsome test 両テスト共、陽性を示した者は男子よりもや女子の方が高い出現率を示した。

3) インスリン抗体と抗甲状腺抗体との間には何ら因果関係が見られなかった。

4) 小児糖尿病患者では他の各種自己免疫疾患と同じく抗甲状腺抗体の高い陽性率を示した。

深瀬政市教授及び倉八博之先生の御指導を深謝します。また第4回近畿地区小児糖尿病サマーキャンプで、この種研究目的を理解し御協力頂いた、国立大阪病院糖尿病センター泉寛治先生、大阪市立大学小児科一色玄先生、大阪市立小児保健センター村上勉先生に感謝します。

本研究費の一部は厚生省特定疾患橋本病調査研究班より援助を受けた。

文 献

- 1) 細迫有昌, 松山恒雄: 八幡製鉄所従業員家族の全小児における糖尿病の頻度. 糖尿病, 9: 160-161, (1966).
- 2) 三木英司, 丸山博: 日本の若年発症糖尿病. 糖尿病, 15: 38-42, (1972).
- 3) 武田倬: 山陰地方における小児糖尿病. 綜合臨牀, 24: 1833-1837, (1975).
- 4) Martin, M.M., Martin, A.L.A.: Obesity, hyperinsulinism and diabetes mellitus in childhood. J. Pediat., 82: 192-201, (1973).
- 5) Drash, A.: Diabetes mellitus in childhood. J. Pediat., 78: 919-941, (1971).
- 6) Irvine, W.J., Clarke, B.F., Scarth, L., Cullen, D.R., Duncan, L.J.P.: Thyroid and gastric autoimmunity in patients with diabetes mellitus. Lancet, 2: 163-168, (1970).
- 7) Nerup, J., Binder, C.: Thyroid, gastric and adrenal autoimmunity in diabetes mellitus. Acta. endocri, 72: 279-286, (1973).
- 8) Ungar, B., Stocks, A.E., Martin, F.I.R., Whittingham, S and Mackay, I.R.: Intrinsic-factor antibody, parietal-cell antibody, and latent pernicious anemia in diabetes mellitus. Lancet, 2: 415-417, (1968).
- 9) 長岡研五, 鍋谷登, 桜美武彦, 深瀬政市, 久野昭太郎: 糖尿病患者の抗甲状腺抗体, 日内分泌誌, 51: 573-579, (1975).
- 10) 長岡研五, 倉八博之, 鍋谷登, 桜美武彦, 深瀬政市, 久野昭太郎: 糖尿病患者の免疫学的研究-第二報-抗甲状腺抗体とインスリン抗体との関連-日内分泌誌 51: 878-886, (1975).
- 11) Wright, P.H., Mallaisse, W.J.: A simple method for the assay of guinea pig anti-insulin serum. Diabetologia, 2: 178-188, (1966).
- 12) Parker, M.L., Mariz, I.K., Daughaday, W.H.: Resistance to human growth hormone in pituitary dwarfism: Clinical and immunologic studies. J. Clin. Endocri, 24: 997-1004, (1964).
- 13) Pettit, M.D., Landing, B.H., Guest, G.M.: Antithyroid antibody in juvenile diabetics. J. Clin. Endocri, 21: 209-210, (1961).
- 14) 長岡研五, 桜美武彦, 深瀬政市, 小川隆三: 正常健康者における抗甲状腺抗体の出現頻度, 日内分泌誌, 51: 98-102, (1975).
- 15) 長岡研五, 難波秀弘, 野口貞子, 鍋谷登, 小川博遊, 桜美武彦, 深瀬政市, 西谷裕: 重症筋無力症患者の抗甲状腺抗体について, 内科室函, 22: 185-190, (1975).
- 16) 長岡研五, 小川博遊, 鍋谷登, 桜美武彦, 川口義夫: 肝疾患における抗甲状腺抗体および抗核抗体とHB抗原との関連・肝臓, 17: 41-46, (1976).
- 17) 長岡研五, 桜美武彦, 深瀬政市: 甲状腺疾患における抗甲状腺抗体, 内科室函, 22: 119-125, (1975).
- 18) Nissley, S.P., Drash, A.L., Blizzard, R.M., Sperling, M., and Childs, B.: Comparison of juvenile diabetes with positive and negative organ specific antibody titers. Diabetes, 22: 63-65, (1973).
- 19) Nerup, J., Platz, P., Anderson, O.O., Christy, M., Lyngse, J., Poulsen, J.E.: HL-A antigens and diabetes mellitus. Lancet, II: 864-866, (1974).
- 20) Cudworth, A.G., Woodrow, J.C.: HL-A system and diabetes mellitus. Diabetes, 24: 345-349, (1975).
- 21) MacCuish, A.C., Urbaniak, S.J., Campbell, C.J., Duncan, L.J.P., Irvine, W.J.: Phytohemagglutinin transformation and circulating lymphocyte subpopulations in insulin-dependent diabetic patients. Diabetes, 23: 708-712, (1974).
- 22) MacCuish, A.C., Jordan, J., Campbell, C.J., Duncan, L.J.P., Irvine, W.J.: Cell-mediated immunity to human pancreas in diabetes mellitus. Diabetes, 23: 693-697, (1974).
- 23) Gepts, W.: Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. Diabetes, 14: 619-633, (1965).
- 24) LeCompte, P.M.: "Insulitis" in early juvenile diabetes. Arch. path, 66: 450-457, (1958).
- 25) Steinke, J., Taylor, K.W.: Viruses and the etiology of diabetes: Diabetes, 23: 631-633, (1974).