甲状腺疾患における抗 TSH 受容体抗体の意義に関する研究

慶應義塾大学 内科学教室

(指導: 本間光夫教授)

有 川 一 美

The Significance of Anti-TSH Receptor Antibodies in Thyroid Diseases

Kazumi ARIKAWA

Department of Medicine, School of Medicine

Keio University, Tokyo, Japan

(Director: Prof. Mitsuo Homma)

Graves' immunoglobulins have been shown to displace labeled TSH bound to thyroid plasma membranes. However, TSH displacing activity (TDA) could not be detected in all of the cases. Its relationship to thyroid function and to clinical symptoms has not yet been clearly demonstrated. The present study was carried out to clarify the specificity and pathogenetic importance of TDA of IgGs mainly found in patients with Graves' disease.

IgG was purified using DEAE cellulose column chromatography. A radioreceptor assay was carried out according to the method of Smith and Hall. Human thyroid adenylate cyclase stimulator (HTACS) activity of IgG was determined according to the method of Orgiazzi et al. with slight modifications. Mean %B/F, calculated as percentage of B/F to that of the control obtained in the absence of IgG, was 98.5 ± 8.3 (SD), 94.7 ± 7.8 , 90.0 ± 9.3 and $75.5 \pm 11.0\%$ in the presence of 1, 5, 10 and 20 mg/ml of normal IgGs, respectively. Since this decrease in %B/F with normal IgGs was considered as a nonspecific inhibitory effect of IgG itself, %B/F of sample IgG was corrected by dividing the obtained data by the mean %B/F of normal IgGs at each concentration, which was designated as corrected %B/F (C-%B/F). The percentage of patients with untreated Graves' disease who showed positive TDA increased as did IgG concentration up to 10 mg/ml of IgG. When assayed at 10 mg/ml of IgG, 40 out of 48 cases (83.3%) were TDA positive in untreated Graves' disease, 3 out of 18 (16.7%) in Hashimoto's thyroiditis, 2 out of 12 (16.7%) in thyroid neoplasm and 5 out of 9 (55.6%) in subacute thyroiditis.

All the untreated patients with Graves' disease including the displacing activity negative ones, showed a dose-dependent decrease in C-%B/F up to 10 mg/ml of IgG. On the other hand, the values obtained in most patients with thyroid neoplasm and Hashimoto's thyroiditis showed random dose-independent variations within normal ranges. In 5 out of 6 patients with subacute thyroiditis, dose-dependent decreases in C-%B/F were observed.

In patients with untreated Graves' disease, TDA was significantly correlated to the size of struma and to the values of Hertel's exophthalmometry. With antithyroid drug treatment, the numbers of TDA positive patients gradually decreased. Among the patients treated for more than a year, only 26% were TDA positive. Six out of 9 patients who had been TDA positive at the time of cessation of therapy relapsed immediately thereafter, while 8 out of 11 TDA negative patients remained euthyroid for more than 9 months. HTACS activity was positive in all of the 8 patients with untreated Graves' disease examined. IgG with stronger TDA tended to show higher HTACS activity.

On the other hand, serum IgG from a mother with nongoitrous hypothyroidism exhibited strongly positive TDA; C-%B/F being 4.1%. IgGs obtained from umbilical cord blood of her hypothyroid neonates (nonidentical twins) demonstrated positive TDA as strong as that of herself, which became undetectable in the surviving baby 6 months after birth, when her thyroid function became normal. Maternal IgG was devoid of HTACS activity, and it definitely inhibited thyroidal adenylate cyclase stimulation induced by TSH. The presence of a blocking antibody to TSH receptor in maternal serum and its trans-placental transfer to her children were suggested.

In summary, correlations between TDA and clinical symptoms, courses, prognosis and HTACS strongly suggested the pathogenetic role of anti-TSH receptor antibody in Graves' disease. However, the presence of a blocking antibody against TSH receptor in nongoitrous hypothyroidism suggested the diversity of anti-TSH receptor antibody concerning biological activity.

結 言

1956年, AdamsとPurves²⁾によるLATSの発見に始まり, バセドウ病患者の血中からは種々の方法によってTSHとは異なる甲状腺刺激物質が検出され, 本疾患の病因物質として注目されてきた。これらの刺激物質はIgGであり, 何らかの甲状腺抗原に対する抗体であることが推測されていた。1973~4年にかけて報告^{21) 16) 27)}されたTSH・甲状腺膜結合阻害活性は, ホルモン受容体研究の成果をふまえ, 刺激物質を抗TSH受容体抗体であると仮定した点で画期的なものであった。

しかし, 本活性は未治療バセドウ病患者の43~100%に陽性であると報告され, 他の方法で測定される刺激物質と同様, 必ずしも全例からは検出されていない。また, 本活性とLATS^{6) 9) 26)}, 甲状腺スライスによるコロイド小滴¹³⁾, あるいはC-AMP産生³⁰⁾, 甲状腺膜アデニル酸シクラーゼ刺激作用^{19) 22)}などの生物活性との相関については一致した成績が得られていない。臨床的にも血中T₃, T₄値などの甲状腺機能亢進の程度とは必ずしも平行しない。これらの問題点を説明しうるものとして, 抗TSH受容体抗体の多様性を示唆する成績が報告されている。すなわち, 結合するが生物活性を有さない抗体^{30) 36)}や, 受容体分子のTSH結合部位以外の部分に結合するために, 結合阻害活性としては検出されない抗体¹²⁾の存在である。

さらに, 陽性率や相関を論じる場合, 測定系の感度や特異性が問題になるが, TSH・甲状腺膜結合阻害活性(TSH displacing activity, 以下TDA)においては, 非特異的結合阻害の存在が

指摘されながら、いまだ十分な検討はなされていなかった。

今回、精製IgGを用いて各種甲状腺疾患患者IgGのTDAを測定し、本測定系の感度、特異性を明確にすることを試みた。さらに、臨床症状、臨床経過、予後との関連、および生物活性との関係から、抗TSH受容体抗体の作用および病因的意義を明らかにすることを目的とした。

実験材料および方法

1. 対 象

対象とした症例は、正常人60例、未治療バセドウ病患者48例、治療中および治療後のバセドウ病患者70例、橋本甲状腺炎患者18例、甲状腺癌患者12例、亜急性甲状腺炎患者9例・家族性新生児一過性甲状腺機能低下症の母児4例の計221例であった。

2. 方 法

1) 細胞膜分画の作成

手術時摘出したバセドウ病甲状腺をただちに氷冷し、ハサミで細切したのち、10mM Tris-HCl緩衝液 pH7.4 (10mM Tris) を組織1g当り5ml加え、Ultra-Turax (JKA, WERK社) を用い、50Vで5秒間、4回ホモジナイズした。ついで同量の10mM Trisを加え、Dounce ホモジナイザーにてホモジナイズしたのち、一層のガーゼで濾した。800gで10分間遠心し、その上清を10,000gで20分間遠心して得られた沈渣を細胞膜分画としてラジオレセプターアッセイに用いた。

2) 標識 TSH の作成

Na 125 I (NEN社, NEZ033H) 1mCi, 0.2Mリン酸緩衝液 pH7.0 (0.2MPB) 5 μ l, 精製 TSH (UCLA, Dr. Pierce より供与されたもの) 5 μ g/5 μ l H $_2$ O, ラクトペルオキシダーゼ (Sigma社) 4 μ g/5 μ l 0.2MPB, 0.2MPBに溶解した 0.176mM H $_2$ O $_2$ 5 μ l を順次加え、混和した。5秒後に 0.2MPB 0.5ml を加え、更に 1mg/ml の牛血清アルブミン (BSA) を含む 10mM Tris (Tris-BSA) 1ml に浮遊した組織1g相当の甲状腺細胞膜分画と混和し、室温で30分間反応させた。ついで、10,000gで10分間遠心し、沈渣を氷冷した 2ml の Tris-BSA に混和、浮遊後、遠心し、これを3回繰返して洗條した。ついで沈渣を 2M NaSCN 0.5ml と混和し、0 $^{\circ}$ C, 1時間放置した。この溶液を 10,000gで20分間遠心し、その上清を 140mM NaCl, 0.02% BSA を含む 2mM リン酸緩衝液 pH7.5 (2mMPB-NaCl-BSA) にて4倍に希釈後、Sephadex G-100, Superfine カラム (1 $\times$ 50cm) で 2mMPB-NaCl-BSA を用いて溶出し、 125 I-TSH のピークを採取した。この 125 I-TSH を、Tris-BSA で 2~5,000cpm/50 μ l に希釈したのち分注し、-20 $^{\circ}$ C で使用時まで保存した。このものは少なくとも4週間は安定であった。

3) IgG の精製

7ml前後の血清を 20mM Tris-HCl 緩衝液 pH7.4 (20mM Tris) にて透析したのち、DEAE セルローズカラム (DE 52, Whatman 社) 2 $\times$ 14cm で 20mM Tris にて溶出し、IgG 分画を採取した。この IgG 分画を精製水で透析し、凍結乾燥した。精製した IgG は、寒天ゲルによる免疫電気泳動にて単一の沈降線を形成した。

4) TDA の測定法

TDA の測定は、Smith らの方法²⁰⁾ を一部改変して行った。すなわち、プラスチックチューブ (エイケン 1 号) に細胞膜分画 (組織 50mg 相当)、精製 IgG を、50mM NaCl を含む 20mM Tris (Tris-NaCl) にて 250 μ l として 35 $^{\circ}$ C で 5 分間インキュベートしたのち、 125 I-TSH 50 μ l を加え、更に 60 分

間インキュベートした。4℃の、1 mg/mlのBSAを含むTris-NaCl 1 mlを加えて反応を停止し、6,000rpm、30分間の遠心により、上清 (F) と沈渣 (B) の放射能をウェル型オートガンマカウンター (Aloka 社, ARC-25) で測定した。

5) Human Thyroid Adenylate Cyclase Stimulator (HTACS) の測定

HTACS の測定は、Orgiazzi らの方法²⁵⁾を一部改変して行った。6 mM MgCl₂, 3 mM ATP (Sigma, A-3127), 10 mM Theophylline (Sigma, T-1633), 10 mM phosphocreatine (Sigma, P-6502), creatine phosphokinase (Sigma, C-3755) 8 U, IgG 1.2 mg, 細胞膜分画 (組織 50 mg 相当) を 1 mg/ml の BSA を含む 25 mM Tris-HCl 緩衝液 pH 7.4 にて総量 220 μ l とし、35℃ で 10 分間インキュベートしたのち、100℃、3 分間の加熱によって反応を停止した。3,000 rpm で 5 分間遠心し、上清中の C-AMP をヤマサ C-AMP ラジオイムノアッセイキットを用いて測定した。

6) TRH 試験および T₃ 抑制試験

TRH 試験は合成 TRH 500 μ g を静注後、経時的に血中 TSH を測定し、前値と頂値の差が 5 μ U/ml 以上の場合を反応陽性とした。

T₃ 抑制試験は、T₃ 75 μ g を 8 日間経口投与し、その前後で¹³¹I 甲状腺 24 時間摂取率を測定した。判定は、T₃ 投与後の¹³¹I 摂取率が 20% 以下、または前値の 1/2 以下の場合を抑制試験陽性とした。

成 績

1) 正常人 IgG による TSH・甲状腺膜結合阻害

26 人の正常人 IgG 添加時には、IgG 非添加時の B/F 比を 100 とした % B/F の平均 $\pm$ 標準偏差 (S D) は、IgG 1, 5, 10, 20 mg/ml でそれぞれ 98.5 ± 8.3 , 94.7 ± 7.8 , 90.0 ± 9.3 , 75.5 ± 11.0 % であった (図 1)。この % B/F の低下を IgG 自体による非特異的結合阻害と考え、得られた結果を IgG 各濃度における正常人平均値を 100% とした Corrected % B/F (C-%B/F) に補正して表わした (C-%B/F = $100 \times \text{検体の \%B/F} / \text{正常人平均 \%B/F}$)。

Fig. 1. Effect of normal IgG on ¹²⁵I-TSH binding to thyroid membrane. (%B/F of control)

2) 甲状腺疾患患者IgGによるTSH・甲状腺膜結合阻害

未治療バセドウ病23例のうち、C-%B/Fが正常人の平均-2SDを越えて低下したTDA陽性例は、図2に示したごとく、IgG濃度に従って増加し、1, 5, 10, 20mg/mlでそれぞれ全体の31.8, 54.5, 68.2, 68.4%であった。いずれの濃度においても正常範囲にとどまった6例の陰性例を含め、全例がIgG 1~10mg/mlにおいて用量反応性の低下を示し、その曲線は非標識TSHによる標準曲線とはほぼ平行した。

Fig. 2. Dose response curves of ^{125}I -TSH displacement with IgG of patients with untreated Graves' disease.

Fig. 3. Dose response curves of ^{125}I -TSH displacement with IgG of patients with Hashimoto's thyroiditis.

Fig. 4. Dose response curves of ^{125}I -TSH displacement with IgG of patients with subacute thyroiditis.

これに対し、18例の橋本甲状腺炎ではほとんどの症例がいずれのIgG濃度においても正常範囲内の値を示し、1例が5~20 mg/mlで軽度に陽性、他の2例が10 mg/mlにおいてのみ陽性であった(図3)。12例の甲状腺癌も、2例がIgG 10および20 mg/mlで軽度に陽性であったほかは、すべて正常範囲内の値を示した。

亜急性甲状腺炎は、IgG 5 mg/mlまでは全例陰性であったが、10 mg/mlで2例、20 mg/mlで3例が軽度に陽性で、6例中5例が用量反応性の低下を示した(図4)。

図5に各疾患毎のC-%B/Fの平均を示した。未治療バセドウ病23例の平均±SDは、IgG濃度1 mg/mlで $87.3 \pm 19.7\%$ とすでに有意($P < 0.01$)に低下し、5, 10, 20 mg/mlではそれぞれ 71.8 ± 27.5 , 59.9 ± 28.1 , $62.0 \pm 31.9\%$ (いずれも $P < 0.001$)であった。橋本甲状腺炎および甲状腺癌のC-%B/Fは、IgG 20 mg/mlにおいてもそれぞれ 94.9 ± 19.7 , $92.7 \pm 22.8\%$ で有意の低下を認めなかった。亜急性甲状腺炎6例は、未治療バセドウ病に比して軽度ではあるが、IgG 1, 5, 10, 20 mg/mlにおいて 94.7 ± 4.9 , 91.8 ± 3.8 , 83.0 ± 12.9 , $76.0 \pm 17.8\%$ ($P < 0.05$, 0.001, 0.01, 0.01)といずれの濃度においても有意の低下を示した。

更に、IgG 10 mg/mlにおいてのみTDAを測定した症例を加え、各疾患におけるTDA陽性率を検討した(図6)。正常人60例のC-%B/Fの平均±2SDは 82.1% で、陽性例は未治療バセドウ病48例中40例83.3%、橋本甲状腺炎18例中3例16.7%、甲状腺癌12例中2例16.7%、亜急性甲状腺炎9例中5例55.6%であった。

橋本甲状腺炎のカラムに中抜き丸で示したTDA強陽性の1例は、甲状腺機能低下症の母親から得られたIgGの成績である。本例の3人の子供は全例が新生児一過性甲状腺機能低下症を経験した。

Fig. 5. The means of ^{125}I -TSH displacement with IgGs of patients with various thyroid diseases.

Fig. 6. ^{125}I -TSH displacement with 10mg/ml of IgG of patients with various thyroid diseases. Open circle in the column of Hashimoto's thyroiditis indicate the result with IgG of nongoitrous hypothyroid mother whose children experienced neonatal transient hypothyroidism.

Fig. 7. Correlations between TSH displacing activity and goiter size or the value of Hertel's exophthalmometry observed in patients with untreated Graves' disease.

3) バセドウ病の臨床症状と TDA

未治療バセドウ病患者の甲状腺腫の大きさと TDA の関係を検討した (図 7)。甲状腺腫の大きさは甲状腺左右各葉の縦横径の積の和³⁰⁾で表わした。甲状腺腫の大きい症例ほど C-%B/F の低い傾向があり、両者の間には $r = -0.484$, $P < 0.001$ の有意の負の相関が認められた。

さらに、Hertel 眼突計を用いて測定した両眼の眼突度の平均値を求めると、TDA と眼突度の間にも $r = -0.508$, $P < 0.01$ の有意の負の相関が認められた (図 7)。

¹³¹I-24時間甲状腺摂取率、血中 T₃、T₄ 濃度、抗サイログロブリン及び抗マイクロゾーム抗体価と TDA の間には有意の相関は認められなかった。

Fig. 8. Duration of antithyroid drug treatment and TSH displacing activity of IgG in patients with Graves' disease.

4) 抗甲状腺剤投与による TDA の変化

抗甲状腺剤 (メチマゾールまたはプロピルチオウラシル) 服用中のバセドウ病患者を、服用期間により 6 か月未満、6 か月以上 1 年未満、1 年以上の 3 群に分け、各群の TDA を検討した (図 8)。48 例の未治療バセドウ病の C-%B/F の平均は $61.2 \pm 23.9\%$ ($M \pm SD$) であったのに比較し、6 か月未満服用群 (平均 3.1 か月, $n = 19$) では $70.7 \pm 18.5\%$, 1 年未満服用群 (平均 8.4 か月, $n = 10$) では $83.7 \pm 14.6\%$ ($P < 0.01$), 1 年以上服用群 (平均 2 年 9 か月, $n = 19$) では $88.6 \pm 19.5\%$ ($P < 0.001$) と治療期間の長い群ほど低下が軽度であった。3 群の TDA 陽性率はそれぞれ 19 例中 15 例, 78.6%, 10 例中 5 例, 50%, 19 例中 5 例, 26.3% であった。

5) バセドウ病の予後と TDA の関係

治療開始後 6 か月以上経過し、抗甲状腺剤 1 錠 (メチマゾール 5 mg, またはプロピルチオウラシル 50 mg) 服用により甲状腺機能が正常に保たれている 22 症例で薬剤を中止し、中止時の TDA とその後の臨床経過との関係を検討した。薬剤中止時の TDA が陰性であった 11 例中 8 例が、最低

9か月間の寛解を保ったのに対し、中止時TDAが陽性であった9例中6例が中止後1か月以内に血中 T_3 が高値を示して増悪した(図9)。この22例をその予後によって増悪、寛解の2群に分け、両群のTDAを検討すると、増悪群10例中7例がTDA陽性であったのに対し、寛解群では12例中9例が陰性であった。両群のC-%B/Fは、前者で $78.5 \pm 16.2\%$ 、後者で $94.1 \pm 13.0\%$ と増悪群で有意($P < 0.05$)に低かった。これらの22症例中15例にはTRH試験を、9例には T_3 抑制試験を、併せて施行した(表1)。TRH試験は増悪6例中5例が無反応であり、寛解9例中7例が正常に反応した。 T_3 抑制試験は増悪4例、寛解5例中、正常に抑制されたのは寛解群の1例のみで、両群を通じ、ほとんどの症例が陰性であった。

6) 未治療バセドウ病患者IgGのヒト甲状腺膜アデニル酸シクラーゼ刺激活性(HTACS)

正常人6例、未治療バセドウ病8例についてHTACSを測定した(図10)。バセドウ病患者IgG添加によるC-AMP産生量は全例が正常人IgGの平均+2SDを越えて上昇し、有意のアデニル酸シクラーゼ刺激作用を示した。HTACS活性の強い症例においては、TDAも強い傾向がみられた。

7) 甲状腺腫を伴わない甲状腺機能低下症における抗TSH受容体抗体

図6の橋本甲状腺炎のカラムに中抜き丸で示した甲状腺機能低下症の母親は、24才で顔面の浮腫を自覚し、甲状腺機能は T_3 30 ng/dl, T_4 2.3 μ g/dl, TSH 146 μ U/mlと著明に低下していたが、甲

Fig. 9. Changes of serum T_3 levels after discontinuation of antithyroid drug in patients with or without TSH displacing activity.

	TDA		TRH Test		T ₃ Suppression	
	(+)	(-)	(+)	(-)	supp.*	non-supp.
RELAPSE	7/10	3/10	1/6	5/6	0/4	4/4
REMISSION	3/12	9/12	7/9	2/9	1/5	4/5

* Suppressible

Table 1. Predictive values of TSH displacing activity, TRH test and T_3 suppression test for the relapse of Graves' disease.

Fig. 10. Comparison of the effects of IgG of patients with untreated Graves' disease on the binding of ^{125}I -TSH to thyroid membrane and on the activation of thyroidal adenylate cyclase.

Fig. 11. Effect of Y-IgG on TSH stimulation of thyroidal adenylate cyclase.

甲状腺腫は解知しなかった。抗サイログロブリン抗体、抗マイクロゾーム抗体、いずれも陽性であることから、橋本甲状腺炎による甲状腺機能低下症と考えられた。28才で出産した第1子は新生児期に甲状腺機能低下をきたしたが、生後3年の現在、甲状腺機能は正常である。第2、3子である2卵性双生児の臍帯血による甲状腺機能は、いずれも T_3 25 ng/dl 以下、 T_4 3.1 μ g/dl、TSH 320 μ U/ml 以上と著明に低下していた。母親の血中IgGおよび双生児の臍帯血IgGのTDAは、いずれもC-%B/F 4.1%と強陽性であった。しかし、児のTDAは生後6か月未満で陰性化し、同じ時期に児の甲状腺機能は正常に復した。

母親のIgG (Y-IgG) は、TDA 強陽性にもかかわらず、それ自体は有意のHTACS活性を示さず、TSHによる甲状腺膜アデニル酸シクラーゼ刺激を阻害した(図11)。9 mU/mlのTSHにより、300 pmole / 10 min. / tubeに上昇したC-AMPは、Y-IgG添加により用量反応的に減少し、1 mg (0.55 mg/ml) 添加時にはTSH非添加時とほぼ等しい値に低下した。

0.05 mg/mlのY-IgG添加により、TSHと甲状腺膜の結合は明らかに阻害されたが、この成績のLineweaver-Burk plotにおいては、Y-IgG添加、非添加時の2本の直線はほぼY軸上で交わった(図12)。同様に、TSHによる甲状腺膜アデニル酸シクラーゼ刺激活性に関し、0.015ないし0.03 mg/tubeのY-IgG添加、非添加時の成績をLineweaver-Burk plotとして検討すると、RRAにて検討した結合阻害の様式とは明らかに異なり、直線はほぼX軸上で交わった(図13)。

Fig. 12. Effect of Y-IgG on 125 I-TSH binding to thyroid membrane shown as Lineweaver-Burk plots.

Fig. 13. Effect of Y-IgG on TSH stimulation of thyroidal adenylate cyclase shown as Lineweaver-Burk plots.

考 案

未治療バセドウ病患者におけるTDAの陽性率は報告により43¹⁵⁾—100%²²⁾と異なるが、60—70%前後であるとしたものが多い^{9) 13) 24) 26) 30) 33)}。従来、IgGとしては硫酸塩析による粗分画を用いた報告がほとんどであるが、この分画にはIgG以外の各種グロブリンが混在し、TSHと受容体の結合を非特異的に阻害することが知られている⁴⁾。また、測定に用いるIgGの濃度は、Smithらの原法に従って20mg/mlを用いたものが多いが^{13) 29) 30) 33)}、1.3¹⁰⁾、3.3⁹⁾、あるいは10mg/ml²⁶⁾を用いた報告もあり、一定していない。今回、DEAEセルローズカラムによる精製IgGを用い、1—20mg/mlまでの各IgG濃度におけるTSH・甲状腺膜結合阻害活性の用量反応性を検討した。その結果、正常人IgG添加時の%B/Fの低下は、10mg/mlで10%前後、20mg/mlにおいても25%前後にとどまり、Beallら⁴⁾が硫酸分画において報告した100%阻害を示す例は認められなかった。

一方、バセドウ病におけるTDA陽性率はIgG濃度の増加に伴って上昇したが、10mg/mlと20mg/mlにおける成績の間にはほとんど差がなく、20mg/mlにおいてはむしろ非特異的結合阻害が増大するため、1点における測定には10mg/mlのIgGを用いることが適切と考えられた。今回48例の未治療バセドウ病におけるTDA陽性率は83%で、従来の報告中でも高いものであったが、その理由としてDEAEセルローズカラムによるIgG精製およびIgGの至適濃度を用いたことがその要因と考えられた。DEAEセルローズカラムによる精製IgGを用いることにより、TDA活性検出の感度が改善することは、Wallら³⁶⁾によっても報告されている。

本研究では、正常人IgGに認められた非特異的結合阻害を補正するため、各疾患における測定値を各濃度における正常人%B/Fの平均値を100%として補正して表現した。したがってこの補正值、C-%B/Fは、各疾患における特異的結合阻害を示すものと考えられた。

今回、この方法を用いて用量反応性を検討したところ、未治療バセドウ病においては、TDA陰性であった6例を含め、全例にC-%B/Fの用量反応性の低下を認めた。正常人の各症例のC-%B/Fは用量反応性の低下を示さなかったことと比較すると、この成績は、TDA陰性のバセドウ病症例もその程度は低いが特異的なTSH結合阻害能を有する可能性を示している。

これに対し、橋本甲状腺炎においては、少数の弱陽性例を認めたのみで、全体の平均値は正常人と差がなかった。また、ほとんどの症例はC-%B/Fの用量反応性の低下を示さず、本疾患患者のIgGはTDA活性を有さないものと考えられた。橋本甲状腺炎患者のTDAに関しては、今回の成績と同様10—20%程度の陽性例を認めたとする報告が多い^{9) 24) 28) 30)}。その意義に関しSugenoyaら³⁰⁾は、TDA陽性の橋本甲状腺炎患者IgGが甲状腺スライスのC-AMP産生を刺激しないことを見出し、この抗TSH受容体抗体はバセドウ病におけるそれとは異なると結論している。今回の検討でTDA陽性であった橋本甲状腺炎患者は、いずれも甲状腺機能亢進を認めなかった。

甲状腺癌症例のほとんどはTDA陰性であり、全例の平均値も正常人と差がなかった。甲状腺癌の抗TSH受容体抗体を検討した報告^{10) 28)}は少ないが、Smithら²⁸⁾は6例中1例の陽性例を見出している。今回、2例16.7%の弱陽性例を認めたが、このような症例においては、癌化した甲状腺細胞における膜構造の異常が何らかの形で抗体産生に関与した可能性も考えられる。

一方、活動期の亜急性甲状腺炎においては6例中3例が10ないし20mg/mlにおいて軽度陽性で、それ以下のIgG濃度においても個々の症例は陰性であるが、全体の平均値は有意に低下していた。また、TDA陰性例も含め、ほぼ全例がC-%B/Fの用量反応性の低下を示したことは、特異的な結合阻害の存在を示唆している。亜急性甲状腺炎においては、抗サイログロブリン抗体や抗マイク

ロゾーム抗体が一過性に出現することも知られており³⁴⁾、炎症による急激な組織破壊の結果、TSH受容体を含む甲状腺細胞の各成分が一時的に遊離して抗原性を獲得した可能性が考えられる。しかし、Wallら³⁶⁾、Sugenoyaら³⁸⁾は、亜急性甲状腺炎患者のIgGが、TDA陽性であっても橋本甲状腺炎の場合と同様、甲状腺組織のC-AMP産生を刺激しないことを見出している。

以上、TDAはその頻度および活性の強さ、いずれの面からもバセドウ病においてもっとも特徴的に見出された。さらに、未治療バセドウ病患者のTDAは主要な臨床症状である甲状腺腫の大きさ、および眼球突出の程度に密接な関連を有していた。

甲状腺腫との関連は、従来同様の検討を試みた報告はないが、Noguchiら²³⁾はLATSに関し、Endoら⁹⁾はTSH結合阻害活性に関し、その活性と甲状腺組織における濾胞上皮増殖の程度との間に、有意の相関を認めている。また、Drexhageら⁸⁾は甲状腺器官培養によりバセドウ病患者IgGに組織増殖作用を認め、その強さは臨床的な甲状腺腫の大きさとよく相関したと報告している。これらの報告も含め、今回の成績はバセドウ病患者IgGが甲状腺に対し、ホルモン産生刺激作用のみならず、TSHと同様に組織増殖作用をも有する可能性を示唆している。

眼球突出症と甲状腺機能亢進症の病因の異同についてはかねてから議論が多い。今回の検討ではTDAと眼球突出の間にも有意の相関が見出された。Wallら³⁵⁾は同様に、臨床的に眼症状を伴うバセドウ病患者では、伴わない患者に比しTDAが有意に高いことを認めているが、Euthyroid Graves'病患者にはTDAがほとんど検出されなかったことから、甲状腺機能亢進と眼球突出は病因が異なると結論している。一方、Wernerら³⁷⁾、Aminoら³⁾は、バセドウ病患者は統計学的にほぼ全例が眼球突出を有すると考えられることを報告しており、これらの成績は、2つの病態に同一の病因が関与している可能性を示唆している。しかし阿部¹⁾は眼窩内脂肪組織にTSH受容体を証明し得なかったことを報告しており、TDAと眼球突出の病因的関係はなお今後に残された問題と考えられる。

¹³¹I-24時間甲状腺摂取率とTDAの間には有意の相関は得られなかったが、機能亢進状態をより良く反映する20分～1時間の初期摂取率とTDAの相関を認めた報告は多い^{9) 13) 22)}。

TDAは抗甲状腺剤の投与期間に従って陰性例の割合が増加した。すでに同様の成績が数か所から報告されているが^{10) 19) 32) 33)}、ヨードの有機化を障害するとされる抗甲状腺剤投与により、TDAが陰性化することの意義は不明である。しかし、抗甲状腺剤投与期間が長いほど本疾患の寛解率が高い、というTamaiらの報告³¹⁾と考え合わせると、抗TSH受容体抗体の病因的意義を否定するものではない。また、McGregorら^{19) 20)}は最近、抗甲状腺剤が甲状腺局所における自己抗体産生を抑制することを報告している。

抗甲状腺剤中止後の再燃が、中止時のTDAの有無と密接に関連していたことも、抗TSH受容体抗体の病因的意義を支持するものである。さらに、TDAは今後、バセドウ病予後判定の一指標として臨床的に用い得るものと考えられた。

従来、未治療バセドウ病患者におけるTDAと甲状腺刺激活性との相関については、あり^{5) 22) 29)}、なし^{6) 9) 13) 15) 30)}、いずれの成績も報告されており、いまだ一致していない。今回、8例の未治療バセドウ病患者IgGにつき、甲状腺細胞膜アデニル酸シクラーゼ刺激活性(HTACS)を併せて測定したところ、全例が有意の活性を示し、TDAの強い症例でHTACSも高い傾向を認めた。すなわち、結合阻害活性を示すIgGが同時に刺激活性を有する可能性が示唆された。しかし、前述したごとく、亜急性甲状腺炎、橋本甲状腺炎においては、刺激活性を有さない抗TSH受容体抗体の存在が考え

られている。バセドウ病で抗甲状腺剤投与中止後寛解を保った症例中に TDA 陽性例を認めたことは、TDA と生物学的刺激作用が必ずしも平行しないことを示している。

更に今回経験した「新生児に一過性甲状腺機能低下症を認めた母子例」では、母親の血中 IgG は TDA 強陽性でありながらそれ自体は刺激作用を示さず、TSH による甲状腺膜アデニル酸シクラーゼ刺激作用を阻害した。また、新生児 IgG も TDA 活性を有し、その後経過とともに TDA 活性が減弱、甲状腺機能は正常化した。このことは、母親が TSH 刺激阻害型の抗 TSH 受容体抗体⁹⁾を有し、この IgG が経胎盤性に児に移行したことによって新生児期に一過性甲状腺機能低下症をきたしたことを示唆している。本症例は、母親が甲状腺腫を伴わなかったことを含め、Matsuura らの報告例¹⁷⁾とほぼ一致していた。この母親の IgG による TSH 結合阻害および刺激阻害の様式を、Lineweaver-Burk plot によって検討した。興味あることに、TSH と甲状腺膜の結合阻害に関しては competitive inhibition に近い成績を示したが、アデニル酸シクラーゼ刺激に対する阻害は明らかにこれと異なり、classical noncompetitive inhibition に近い成績であった。両者の相違がいかなる理由によるものかは現段階では不明であるが、TSH 結合阻害をきたす IgG と TSH 刺激を阻害する IgG が必ずしも同一でない可能性も考えられた。

以上、TDA は甲状腺疾患の中でもバセドウ病患者に特徴的に見出され、IgG が in vitro で示す生物活性、臨床症状、臨床経過、予後との密接な関連から本症の病因に深く関与していると考えられた。しかし、TSH 受容体に結合するが刺激せず、逆に TSH の刺激作用を阻害する抗体が存在する。さらに最近、インスリン抵抗性糖尿病 Type B¹¹⁾や重症筋無力症¹⁴⁾におけると同様に、バセドウ病においても TSH 結合部位以外の受容体分子に対する抗体が存在し、TDA 陰性でありながら甲状腺刺激作用を有することが報告されている¹²⁾。今後、抗受容体抗体の意義を明らかにするため、結合部位および生物活性に関する多様性をさらに追求する必要があると考えられる。

結 論

1) 正常人 IgG 添加時の %B/F は IgG 濃度増加とともに低下し、20 mg/ml では 75.5% であった。この低下を非特異的結合阻害と考え、得られた結果は各 IgG 濃度における正常人平均値を 100% とした C-%B/F に補正して表わした。

2) 未治療バセドウ病患者において C-%B/F が正常人の平均 - 2 SD を越えて低下した TDA 陽性例の割合は 10 mg/ml まで IgG 濃度に従って増加した。IgG 10 mg/ml を用いたときの各甲状腺疾患における TDA 陽性率は、未治療バセドウ病 48 例中 40 例 83.3%、橋本甲状腺炎 18 例中 3 例 16.7%、甲状腺癌 12 例中 2 例 16.7%、亜急性甲状腺炎 9 例中 5 例 55.6% であった。

3) 未治療バセドウ病 23 例では、6 例の TDA 陰性例を含め、全例が IgG 1 ~ 10 mg/ml において C-%B/F の用量反応性の低下を示した。

4) 橋本甲状腺炎、甲状腺癌は、いずれの IgG 濃度においても正常範囲内の値にとどまる症例が多く、用量反応性の低下を示さなかった。両疾患の各 IgG 濃度における平均値は、正常人との間に有意差を認めなかった。これに対し、亜急性甲状腺炎 6 例中 5 例に C-%B/F の用量反応性の低下を認め、1 ~ 20 mg/ml の各 IgG 濃度においてその平均値は有意に低下していた。

5) 未治療バセドウ病患者の TDA は、甲状腺腫の大きさおよび眼球突出の程度と有意に相関した。

6) バセドウ病患者の TDA は、抗甲状腺剤服用期間の長い症例ほど低下した。また、薬剤中止時、TDA 陰性群では 11 例中 8 例が最低 9 か月間の寛解を保ったのに対し、陽性群では 9 例中 6 例が薬

剤中止後ただちに増悪した。

7) 未治療バセドウ病8例で測定したHTACSは全例に陽性で、HTACS活性の強い症例はTDAも強い傾向を示した。

8) 甲状腺腫を伴わない甲状腺機能低下症の母親の血中IgGと、新生児一過性甲状腺機能低下症を呈した2卵性双生児の臍帯血IgGに強陽性のTDAを認めた。このIgGはHTACS活性を示さず、TSHの刺激作用を阻害した。

9) 以上の成績から、TDAとして検出される抗TSH受容体抗体はバセドウ病に高率に見出され、甲状腺機能亢進症の病因に関与していることが強く示唆された。しかし、同時に一部の甲状腺機能低下症の原因となっている可能性も推測され、生物活性に関して多様性を有することが明らかになった。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜りました本間光夫教授に深く感謝いたしますとともに、直接の御指導ならびに御校閲を賜りました市川陽一講師に心より御礼申し上げます。また、種々の御教示、御協力を賜りました伊藤病院院長、伊藤国彦博士に感謝いたします。

本論文の要旨は、第53・54・55回日本内分泌学会総会において発表した。

本研究の一部は厚生省特定疾患ホルモン受容体異常症調査研究班（班長：井村裕夫教授）の研究補助金によった。

文 献

- 1) 阿部好文：甲状腺諸疾患のTSHレセプター・アデニル酸シクラーゼ系に関する研究，第一編：基礎的検討ならびにバセドウ病甲状腺と眼窩内脂肪組織のレセプター・アデニル酸シクラーゼ系，日本内分泌学会雑誌56：739-753，1980
- 2) Adams, D.D. and Purves, H.D.: Abnormal responses in the assay of thyrotropin. *Proc. Univ. Otago Med. School*, 34: 11-12, 1956.
- 3) Amino, N., Yuasa, T., Yabu, Y., Miyai, K. and Kumahara, Y.: Exophthalmos in autoimmune thyroid disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51: 1232-1234, 1980.
- 4) Beall, G.N., Chopra, I.J., Solomon, D.H. and Kruger, S.R.: Serum protein inhibition of thyrotropin binding to human thyroid tissue. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 47: 967-973, 1978.
- 5) Borges, M., Ingbar, J.C., Endo, K., Amir, S., Uchimura, H., Nagataki, S. and Ingbar, S.H.: A new method for assessing the thyrotropin binding inhibitory activity in the immunoglobulins and whole serum of patients with Graves' disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 54: 552-558, 1982.
- 6) Clauge, R., Mukhter, E.D., Pyle, G.A., Nutt, J., Clark, F., Scott, M., Evered, D., Smith, B.R. and Hall, R.: Thyroid stimulating immunoglobulins and the control of thyroid function. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43: 550-556, 1976.
- 7) Davies, T.F., Yeo, P.P.B., Evered, D.C., Clark, F., Smith, B.R. and Hall, R.: Value of thyroid stimulating antibody determinations in predicting short-term thyrotoxic relapse in Graves' disease. *Lancet*, i: 1181-1182, 1977.
- 8) Drexhage, H.A., Bottazzo, G.F. and Doniach, D.: Evidence for thyroid growth stimulating immunoglobulins in some goitrous thyroid diseases. *Lancet*, ii: 287-292, 1980.

- 9) Endo, K., Kasagi, K., Konishi, J., Ikekubo, K., Okuno, T., Takeda, Y., Mori, T. and Torizuka, K.: Detection and properties of TSH-binding inhibitor immunoglobulins in patients with Graves' disease and Hashimotos' thyroiditis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 46: 734-739, 1978.
- 10) Fenzi, G., Hashizume, K., Roudebush, C.P. and DeGroot, L.J.: Changes in thyroid stimulating immunoglobulins during antithyroid drug therapy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 48: 572-576, 1979.
- 11) Harrison, L.E., Flier, J.S., Roth, J., Karlsson, F.A. and Kahn, C.R.: Immunoprecipitation of the insulin receptor: a sensitive assay for receptor antibodies and a specific technique for receptor purification. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 48: 59-65, 1979.
- 12) Ichikawa, Y., Morishita, K., Abe, Y., Shinozawa, T., Kawai, S., Suzuki, Y., Saito, E. and Homma, M.: Immunoprecipitable anti-thyrotropin receptor antibody in Graves' disease. Program and abstracts of sixth international congress of endocrinology. Melbourne, 361, 1980.
- 13) Kuzuya, N., Chiu, S.C., Ikeda, H., Uchimura, H., Ito, K. and Nagataki, S.: Correlation between thyroid stimulators and 3, 5, 3'-triiodothyronine suppressibility in patients during treatment for hyperthyroidism with thionamide drugs: Comparison of assays by thyroid stimulating and thyrotropin-displacing activities. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 48: 706-711, 1979.
- 14) Lindstrom, J.M., Lennon, V.A., Seybold, M.E. and Whittingham, S.: Experimental autoimmune myasthenia gravis: Biochemical and immunochemical aspects. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 274: 254-274, 1976.
- 15) Macchia, E., Fenzi, G.F., Monzani, F., Lippi, F., Vitti, P., Grasso, L., Bartalena, L., Baschieri, L. and Pinchera, A.: Comparison between thyroid stimulating and TSH binding inhibiting immunoglobulins of Graves' disease. *Clin. Endocrinol.*, 15: 175-182, 1981.
- 16) Manley, S.W., Bourke, J.R. and Hawker, R.W.: The thyrotropin receptor in guinea-pig thyroid homogenate: Interaction with the long acting thyroid stimulator. *J. Endocri.*, 61: 437-445, 1974.
- 17) Matsuura, N., Yamada, Y., Nohara, Y., Konishi, J., Kasagi, K., Endo, K., Koshima, H. and Wataya, K.: Familial neonatal transient hypothyroidism due to maternal TSH-binding inhibitor immunoglobulins. *N. Engl. J. Med.*, 303: 738-741, 1980.
- 18) McGregor, A.M., Smith, B.R., Hall, R., Petersen, M.M., Miller, M. and Dewar, P.J.: Prediction of relapse in hyperthyroid Graves' disease. *Lancet*, i: 1101-1103, 1980.
- 19) McGregor, A.M., Petersen, M.M., McLachlan, S.M., Rooke, P., Smith, B.R. and Hall, R.: Carbimazole and the autoimmune response in Graves' disease. *N. Engl. J. Med.*, 303: 302-307, 1980.
- 20) McGregor, A.M., Ibberton, H.K., Smith, B.R. and Hall, R.: Carbimazole and autoantibody synthesis in Hashimotos' thyroiditis. *Brit. Med. J.*, 281: 968-969, 1980.
- 21) Mehdi, S.Q., Nussey, S.S., Gibbons, C.P. and El Kabir, D.J.: Binding of thyroid stimulators to human thyroid membranes. *Biochem. Soc. Trans.*, 1: 1005-1006, 1973.
- 22) Mukhtar, E.D., Smith, B.R., Pyle, G.A. and Hall, R.: Relation of thyroid stimulating immunoglobulins to thyroid function and effects of surgery, radioiodine, and antithyroid drugs. *Lancet*, i: 713-715, 1975.
- 23) Noguchi, A., Kurihara, H. and Sato, S.: Clinical studies on the long acting thyroid stimulator. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 24: 160-165, 1964.
- 24) O'donnell, J., Troukoudes, K.,

- Silverberg, J., Row, V. and Volpé, R.: Thyrotropin displacement activity of serum immunoglobulins from patients with Graves' disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 46: 770-777, 1978.
- 25) Orgiazzi, J., Williams, D.E., Chopra, I.J. and Solomon, D.H.: Human thyroid adenyl cyclase-stimulating activity in immunoglobulin G of patients with Graves' disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 42: 341-354, 1976.
- 26) Ozawa, Y., Maciel, R.M.B., Chopra, I.J., Solomon, D.H. and Beall, G.N.: Relationships among immunoglobulin markers in Graves' disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 48: 381-387, 1979.
- 27) Smith, B.R. and Hall, R.: Binding of thyroid stimulators to thyroid membranes. *FBES letters*, 42: 301-304, 1974.
- 28) Smith, B.R. and Hall, R.: Thyroid stimulating immunoglobulins in Graves' disease. *Lancet*, ii: 427-430, 1974.
- 29) Strakosch, C.R., Joyner, D. and Wall, J.R.: Thyroid stimulating antibodies in patients with autoimmune disorders. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 47: 361-365, 1978.
- 30) Sugeno, A., Kidd, A., Row, V.V. and Volpé, R.: Correlation between thyrotropin displacing activity and human thyroid stimulating activity by immunoglobulins from patients with Graves' disease and other thyroid disorders. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 48: 398-402, 1979.
- 31) Tamai, T., Nakagawa, T., Fukino, O., Ohsako, N., Shinzato, R., Suematsu, H., Kuma, K., Matsuzuka, F. and Nagataki, S.: Thionamide therapy in Graves' disease: Relation of relapse rate to duration of therapy. *Ann. Int. Med.*, 92: 488-490, 1980.
- 32) Teng, C.S. and Yeung, R.T.T.: Changes in thyroid stimulating antibody activity in Graves' disease treated with antithyroid drug and its relationship to relapse: A prospective study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 50: 144-147, 1980.
- 33) Van der Heide, D., Daha, M.R., Bolk, J.H., Bussemaker, J.K., Bruin, T.W.A., Goslings, B.M., Es, L.A. and Querido, A.: Circulating immune complexes and thyroid stimulating immunoglobulins before, during, and after antithyroid drug therapy in patients with Graves' disease. *Lancet*, i: 1376-1380, 1980.
- 34) Wall, J.R., Fang, S.L., Ingbar, S.H. and Braverman, L.E.: Lymphocyte transformation in response to human thyroid extract in patients with subacute thyroiditis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43: 587-590, 1976.
- 35) Wall, J.R., Strakosch, C.R., Fang, S.L., Ingbar, S.H. and Braverman, L.E.: Thyroid binding antibodies and other immunological abnormalities in patients with Graves' ophthalmopathy: Effect of treatment with cyclophosphamide. *Clin. Endocrinol.*, 10: 79-91, 1979.
- 36) Wall, J.R., Strakosch, C.R., Bandy, P. and Bayly, R.: Nature of thyrotropin displacement activity in subacute thyroiditis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 54: 349-353, 1982.
- 37) Werner, S.C., Coleman, D.J. and Franzen, L.A.: Ultrasonographic evidence of a consistent orbital involvement in Graves' disease. *N. Engl. J. Med.*, 290: 1447-1450, 1974.
- 38) Werner, S.C.: Physical examination. 440, Ed. by Werner, S.C. and Ingbar, S.H. *The thyroid*. 4th ed., Harper & Row, Publishers Inc., Hagerstown, Maryland, 1978.

(受付日: 57. 9. 16)