亜急性甲状腺炎における末梢Kリンパ球

東北大学 第二内科

細菌学*

深 澤 洋, 桜 田 俊 郎, 吉 田 克 己
山 本 蒔 子, 海 瀬 和 郎, 海 瀬 信 子
貴田岡 博 史, 鈴 木 道 子, 野 村 隆
斉 藤 慎太郎, 田 村 啓 二,* 海老名 卓三郎*
石 田 名香雄,* 吉 永 馨

Peripheral K Lymphocytes in Patients
with Subacute Thyroiditis

Hiroshi FUKAZAWA, Toshiro SAKURADA, Katsumi YOSHIDA
Makiko YAMAMOTO, Kazuo KAISE, Nobuko KAISE
Hirofumi KITAOKA, Michiko SUZUKI, Takashi NOMURA,
Shintaro SAITO, Keiji TAMURA*, Takusaburo EBINA*,
Nakao ISHIDA* and Kaoru YOSHINAGA

Second Department of Internal Medicine
and Department of Bacteriology*,
Tohoku University School of Medicine,
Sendai, Japan

In a previous study, we showed that immunosuppressive acidic protein (IAP) was markedly increased in the acute phase in patients with subacute thyroiditis (SAT).

In order to investigate the immunological abnormalities in SAT, peripheral K lymphocytes in SAT and hyperthyroidism were measured by the plaque-forming technique using sheep-red-blood cells as a target. The effect of the patients' serum on K-cells in normal lymphocytes was also investigated.

The percentages of K-cells in 5 patients with SAT in the acute and recovery phases were 2.3 ± 1.9 (mean $\pm$ S.D.) and $5.3 \pm 2.2\%$, respectively. The former was significantly lower than the latter ($p < 0.05$). Furthermore, the value in the acute phase showed a significant decrease against that of the normal controls (7.3 ± 3.4 , $n = 14$, $p < 0.01$).

The percentage of K-cells in 16 patients with hyperthyroidism was $2.8 \pm 2.2\%$, which was also significantly lower than that of the normal controls ($p < 0.05$).

The degree of inhibition of K-cells in normal lymphocytes by sera from 12 SAT in the acute and recovery phases was $69 \pm 21\%$ and $35 \pm 22\%$, respectively, which was significantly higher ($p < 0.01$ and $p < 0.05$, respectively) than that in 12 normal sera ($15 \pm 20\%$). Further-

more, the inhibition was markedly higher in the acute phase than in the recovery ($p<0.01$).

The sera from 10 patients with hyperthyroidism also inhibited K-cells of normal lymphocytes ($p<0.01$).

It was suggested that in the sera of SAT and hyperthyroidism there is some factor which inhibits K-cells.

緒 言

著者らは、以前種々の免疫抑制作用を有する免疫抑制酸性蛋白 (IAP) が、種々の甲状腺疾患のうちで急性期の亜急性甲状腺炎 (以下 SAT) のみに、異常高値を示すことを報告^{14) 29)}した。免疫反応による細胞障害機作には、種々の反応系があることが *in vitro* で明らかにされ⁴⁰⁾、最近では、とくに自己免疫、腫瘍免疫および移植免疫における組織障害機作の中心的役割を果たすものとして antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) が注目されている²⁸⁾。今回われわれは、本症の ADCC 活性を測定し、急性期における免疫状態について、興味ある結果を得たので報告する。

尚 ADCC 活性の測定法に関しては、従来 target cell を ^{51}Cr によって標識して行なう radio-immunoassay²⁷⁾ が汎用されてきたが、最近 Biberfeld ら⁶⁾の方法に準じた比較的簡便な plaque 法が開発されたところから、今回はこの plaque 法を用い、ADCC 活性をもつ末梢リンパ球 (K 細胞) の比率 (%) を求め検討した。

対象および方法

1) 対 象

(i) Plaque法による亜急性甲状腺炎、バセドウ病および正常人の K 細胞比率を測定するために、東北大学医学部第二内科、水戸水府病院内科・外科または域外科医院を受診した亜急性甲状腺炎 5 例、未治療バセドウ病 16 例、および正常人 14 例を対象とした。

(ii) K 細胞に及ぼす亜急性甲状腺炎、バセドウ病血清の影響をみるために、上記以外の亜急性甲状腺炎 12 例における急性期および回復期それぞれの血清、上記の未治療バセドウ病を一部含めた 10 例および正常人 12 例の血清を用いた。

2) 方 法

(i) 末梢 K 細胞比率の測定

K 細胞比率の測定は、Biberfeld らの方法⁶⁾を改良したマイクロプレート法 (日本抗体研究所) による plaque 形成法⁴²⁾で行なった。すなわち 3 ml の静脈血をヘパリン加採血し、これに 5 % シリカゲル懸濁液 0.3 ml を加え、37°C で 1 時間の incubation を行なった。この間、10 分おきに検体の転倒混和を行なった。その後、Sodium Metrizoate-Ficoll 混液³⁵⁾ (比重 1.077) 3 ml に末梢血を重層し、1,040 × g, 30 分間室温の遠心によってリンパ球を分離し、リン酸緩衝生理食塩水、pH 7.2, (PBS: Phosphate Buffer Saline) で 3 回洗浄後、20 mM hydroxy ethylpiperazine ethansulfonic acid (HEPES) 加培養液 (Eagle MEM, 5 % 牛胎児血清, FCS, 含有) でリンパ球を 2×10^6 /ml に調整し、これを単球除去末梢血リンパ球浮遊液として使用した。

ADCC 活性の effector cell の 1 つである K 細胞の比率の算定は、ヒツジ赤血球を標的細胞とす

るマイクロプレート法⁴³⁾で行なった。すなわちpoly L-lysine処理マイクロテストプレート上の各wellに、PBSにより 1×10^9 /mlに調整したヒツジ赤血球を $10 \mu\text{l}$ ずつ分注し、ただちに $180 \times g$ で10分間遠心後、PBSを満たした水槽内で、マイクロテストプレートを反転し、過剰の赤血球を除去することにより、各wellにヒツジ赤血球のmonolayerを作製し、これを標的細胞とした。

前述のようにして得た 2×10^6 /mlの被検者単球除去末梢血リンパ球浮遊液 $100 \mu\text{l}$ に、等量の 0.5 mg/dl の抗ヒツジ赤血球家兎血清IgGを加え振盪混合したのち、これをマイクロテストプレートの各wellのヒツジ赤血球mono-layer上に添加し、 37°C 4時間incubateした。その後、 1.0% sea plaque agarose (FMC Corp., Rockland, ME), 0.125% glutaraldehyde, 0.015% brilliant cresyl blue 混合液で固定および染色を同時に行なった。ついでマイクロテストプレートを反転し、各well当りのplaque forming cell (PFC) を400倍で検鏡算定し、全リンパ球数に占めるPFCの百分率PFC (%) = $(\text{total PFC} \times 100) / \text{total lymphocytes}$ をもってK細胞比率を算出した (Fig. 1)。

Fig. 1 Peripheral K cells assay procedure

(ii) K細胞に及ぼす亜急性甲状腺炎、バセドウ病および正常者血清の影響 (K細胞抑制率の算出)

健康男子(血液型O型)肘静脈血より分離したリンパ球をeffector cellとして添加試験を行なった。被検血清はすべて 56°C で30分間非働化したのち、ミリポアフィルター ($0.45 \mu\text{m}$, Millipore Corporation, Bedford MA)により無菌化して用いた。

すなわち、まずヘパリン加採血した健康男子末梢血に、 5% シリカゲル懸濁液を容量にして 10% になるように加えたのちに、 37°C 、60分間incubateし、その後Sodium Metrizoate-Ficollに重層し、リンパ球浮遊液を得³⁵⁾、RPMI 1640 (GIBCO)にて 4×10^6 /mlに調整した。次に、このリンパ球浮遊液 $800 \mu\text{l}$ と前述の無菌化した被検血清 $200 \mu\text{l}$ を、マイクロプレートに加えて、 37°C 、 5% CO_2 in airで3日間培養した (Fig. 2)。この培養リンパ球をRPMI 1640で洗浄したのち、Fig. 3の如く、前述のADCCキットを用い、前述の如く作製したSRBCのmonolayer上加え、以下前述のK細胞比率測定法に従って、PFC (%)を算出した。

検討はすべてtriplicateで行ない、血清添加試験についてはFetal calf serum (FCS)を被検血清と同量添加した場合のK細胞比率を基準とするpercent change即ちinhibition rate (K細胞抑制率) $\text{Inhibition rate} = [1 - \text{Patient K cell} (\%) / \text{FCS K cell} (\%)] \times 100$ で表わした。

Fig. 2. Procedure for inhibition rate of K cells from normal subjects.

Fig. 3. Procedure for inhibition rate of K cells from normal subjects.

なお SAT 回復期とは、甲状腺部の圧痛や自発痛、発熱などの臨床症状の改善、および CRP、血沈、IAP、血中甲状腺ホルモン値などの正常化を指標として判定した。

血中 IAP は抗 IAP 血清を用いた一元放射免疫拡散法^{31) 32)}による IAP プレート (細菌化学研究所製、正常範囲、500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下) で測定したが、血清添加試験に使用した SAT の 12 例中 1 例がまだ 550 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とやや高値であった他は、すべて正常上限の 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下であった。

血清 T_3 および T_4 濃度は、ダイナボット社製 radioimmunoassay (RIA) キット (正常範囲 70~180 ng/100 ml および 4.5~13.0 $\mu\text{g}/100\text{ml}$) により測定し、血中 CRP の測定は、毛細管内沈降反応による栄研化学社製の抗 CRP 血清キットを用い測定した。

また添加 Agents の cell viability に対する影響に関しては、0.4% Trypan blue を用いた dye exclusion test により検討した。

測定値の有意差検定は Student's t test にて行なった。

結 果

(i) 亜急性甲状腺炎およびバセドウ病のK細胞

Table 1 にみるごとく, 14例の正常者のK細胞比率は3.0~16.4%にあり, 平均 $7.3 \pm 3.4\%$ (平均値 $\pm$ S.D.) であった。

SATの急性期5例におけるK細胞比率(Table 2)は, 0.8~5.1%の間にあり, 平均 $2.6 \pm 1.8\%$ であり, 正常者の平均値より有意($P < 0.01$)に低値であった。Case 4 および 5 の2例は, その他の例に比べて血沈値がそれぞれ1時間値が20および6 mmとその促進は軽度で, CRPはともに(±) またIAPは650および625 $\mu\text{g/ml}$ であり, この値は他の3例程高くはなかった。さらに臨床的にも甲状腺部の圧痛や自発痛も軽快しつつあった時期の値であった。

Table 1. Percentages of peripheral K cells in normal subjects

Case No.	Age	Sex	K cell (%)
1	32	M	6.9
2	29	F	5.0
3	60	F	6.1
4	36	F	3.7
5	35	F	3.0
6	42	M	8.9
7	28	F	8.3
8	33	F	7.0
9	35	M	9.1
10	31	M	16.4
11	25	F	3.0
12	35	M	8.1
13	57	F	8.2
14	39	M	7.9
Mean			7.3
S.D.			3.4

M : male F : female

Table 2. Changes of the percentages of K cells, serum T_4 , T_3 , IAP, ESR and CRP during the treatment with salicylate in patients with subacute thyroiditis.

Case	Days	K cell (%)	T_4 ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	T_3 (ng/100ml)	IAP ($\mu\text{g/ml}$)	ESR (mm/h)	CRP
Case 1	30	1.5	20.0	324	1,200	165	4 (+)
	53	8.2	3.2	76	535	7	(-)
	68	3.8	5.0	107	415	5	(-)
	88	4.4	7.9	114	450	5	(-)
Case 2	75	1.7	11.7	191	810	39	1 (+)
	105	4.6	9.9	133	500	24	(-)
	133	3.6	6.4	107	380	—	(-)
Case 3	60	0.8	24 ↑	175	1,130	80	3 (+)
	72	3.8	7.0	87	565	30	(-)
	86	1.8	7.0	122	435	15	(-)
	107	4.0	8.1	155	375	18	(-)
Case 4	10	5.1	8.8	98	650	20	(±)
	25	4.0	7.8	86	480	13	(-)
	45	5.7	7.9	102	375	7	(-)
Case 5	30	3.7	10.2	176	625	6	(±)
	35	2.0	8.3	120	545	6	(-)
	56	9.0	3.4	79	395	2	(-)
Mean $\pm$ S.D.	Before	2.6 *** $\pm$ 1.8	Normal Control : $7.3 \pm 3.4\%$ (N=14) * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** n.s. (vs Normal Controls) (vs Normal Controls)				
	After	5.3 *** $\pm$ 2.2					

Table 3. Percentages of peripheral K cells in hyperthyroidism.

Case No.	Age	Sex	K cell (%)
1	31	M	8.6
2	34	M	4.2
3	37	M	4.0
4	41	F	0.7
5	45	F	3.8
6	44	F	0.1
7	40	F	4.4
8	24	M	2.8
9	48	M	1.6
10	37	F	0.5
11	40	F	1.7
12	37	F	1.5
13	45	F	2.3
14	31	F	2.1
15	70	F	1.0
16	48	F	5.8
Mean			2.8 *
S.D.			2.2

M : male , F : female
* P < 0.01 (vs Normal Controls)

SATの回復期のK細胞比率は、Case 1では、3.8~8.2%、Case 2では3.6~4.6%へと正常範囲内に入った。Case 3および5では、一時1.8および2.0%へと低下をみたが、再び4.0および9.0%へと正常範囲内に入った。Case 4では、初診時に5.1%であったものが5.7%へとわずかに上昇したのみであった。これら5例の急性期および回復期のK細胞比率の平均値は、それぞれ2.6±1.8%および5.3±2.2%であり、両者の間に有意差 (P<0.05) を認めた。回復期のK細胞比率と正常者の平均値との間には有意差はなかった。

バセドウ病16例のK細胞比率は平均2.8±2.2%であり、正常値より有意 (P<0.01) に低値であった (Table 3)。

Table 4. Inhibitory effect of normal (A) and hyperthyroid (B) sera on the activity of K cells from normal subjects.

(A)				(B)			
Case No.	Age	Sex	%	Case No.	Age	Sex	%
1	31	M	14	1	50	F	70
2	38	M	50	2	50	F	40
3	38	M	25	3	65	F	64
4	57	F	41	4	43	M	100
5	28	F	0	5	41	M	67
6	42	M	0	6	30	M	65
7	33	F	0	7	24	M	75
8	35	M	44	8	37	M	79
9	39	M	0	9	45	F	11
10	35	M	0	10	40	F	11
11	35	M	0	Mean			58*
12	40	M	0	S.D.			29
Mean			15*				
S.D.			20				

* p<0.01 (vs Normal Controls)
M : male, F : female

Table 5. Inhibitory effect of sera of patients with subacute thyroiditis during the acute and recovery phases on the activity of K cells from normal subjects.

Case No.	Age	Sex	Inhibition Rate (%)	
			Acute Phase	Recovery Phase
1	38	F	56	29
2	51	M	86	32
3	37	F	90	78
4	38	F	88	63
5	57	F	51	10
6	52	F	37	59
7	47	F	82	27
8	49	F	83	41
9	47	M	52	25
10	48	F	46	0
11	14	F	57	57
12	48	F	100	19
Mean $\pm$ S.D.			69 [*] $\pm$ 21	35 ^{**} $\pm$ 22

Normal Control : 15 $\pm$ 20(%)

* P < 0.01

** P < 0.05

P < 0.01

(ii) 亜急性甲状腺炎およびバセドウ病血清のK細胞に及ぼす影響

健康男子リンパ球を effector cell として、非働化血清添後3日間培養後のK細胞抑制率は、正常人12例では平均15 $\pm$ 20%であった (Table 4)。

Table 5に示す如く SAT 12例の急性および回復期血清を添加すると、K細胞抑制率はそれぞれ69 $\pm$ 21および35 $\pm$ 22%であり、急性期血清では回復期血清よりも、有意 (P<0.01) にK細胞活性の抑制を認めた。また、回復期血清は、正常人の場合よりも、依然としてK細胞活性を有意 (P<0.05) に抑制していた。

バセドウ病血清10例のK細胞抑制率は58 $\pm$ 29%であり、正常人血清に対して有意 (P<0.01) にK細胞活性の抑制を認めた (Table 4)。

Trypan blueによるdye exclusion testでは平均97.6%に細胞の生存を確かめた。

考 案

最近、亜急性甲状腺炎の急性期において、一過性に種々の免疫異常が認められることが報告されている。例えば、SATでは血中にマイクロゾーム抗体やサイログロブリン抗体が低値ながらも一過性に出現するといわれており^{17) 30)}、これは組織の炎症傷害による二次的な免疫異常と考えられている。またStrakoshら³⁰⁾は、SATでTSHレセプター抗体が同じく一過性に高値となることを報告している。さらにWallら³⁷⁾の、甲状腺抗原に対するリンパ球の幼若化反応を指標として細胞性免疫を検討した成績によれば、SATの急性期では7例中の5例に有意なリンパ球の幼若化が認められ、短期間に正常化したという。これらの現象はサプレッサーT細胞の機能が一時的に喪失し、ついで回復したことにもとずくと説明されている^{2) 30) 37)}。またChartierら¹⁰⁾によれば、IgGに対するFcレセプターをもつ血中単核球細胞の比率が、SATの急性期で高く、回復期に低下しており、これは甲状腺抗原に対する特異的な免疫反応と考えられている。さらに、われわれも最近、種々の免疫抑制作用を有する免疫抑制酸性蛋白 (IAP)^{31) 32)}がSATの急性期に異常高値を示し、治療経過と

ともにすみやかに正常値内に回復することを報告¹⁴⁾²⁹⁾し、SATの急性期に免疫能の一時的異常がおこっていることの可能性を再確認した。

一方Antibody dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC)は微量の標的細胞特異抗体を介してtarget cellを破壊する免疫反応であるが、この現象については1965年のMöllerの報告²³⁾以来多くの研究がなされ、癌や自己免疫疾患においてADCCとその病像が相関する^{8) 9) 11) 21) 22) 28)}こと、腎移植においてallograft rejectionのモニターとしてADCCが有益であること^{10) 33)}、妊婦においてはADCC活性が低下しており、またこのADCC活性の低下には妊婦血中液性因子の影響があり、母体免疫反応としてのADCCがその妊娠継続維持機構の一部に重要な役割を果たしていること¹⁵⁾などが認められている。さらに最近Aminoら⁴⁾は、われわれと同じplaque assay法を用い、Basedow病のthyrotoxicの時には、K細胞数が減少しており治療とともに正常化し、Hashimoto病では、大プラーク形成K細胞数が高値を示したことから、Basedow病の寛解およびHashimoto病での甲状腺機能低下にK細胞が関与する可能性のあることを示唆した。しかしながら、SATに関するADCCの研究はほとんどなされていない。

われわれは今回上述の観点から、細胞性免疫と液性免疫とのco-operationとも考えられているADCCが、SATの急性期にみられる免疫能の異常といかに関与しているかにつき、ADCC活性を有するリンパ球(K細胞)の比率を求め検討した。

SATのK細胞比率は、急性期では正常値より有意に低下しており、治療経過とともに正常範囲内に回復したが、このことは、以前われわれがIAPが急性期に高値を示し治療経過とともに回復したこと¹⁴⁾²⁹⁾、SATの急性期における抗甲状腺抗体¹⁷⁾³⁶⁾や、TSHレセプター抗体³⁰⁾、そしてリンパ球幼若化反応³⁷⁾およびIgG Fcレセプター保有単核球に関する報告¹⁰⁾などと同じく、SATの急性期における免疫異常の一面を反映しているものと推察される。

ところでChartierら¹⁰⁾は、K細胞を含む⁴¹⁾ IgGに対するFcレセプター保有単核球比率がSATの急性期に上昇し、回復期には低下すると述べている。しかし彼らが、⁵¹Cr release法で測定したADCC活性は、SATでは正常であったという。彼らの方法ではK細胞と同様にADCC活性を有する単球も測定系に含まれるが、我々のplaque法では単核球中より単球を除去してK細胞のみを特異的に測定している⁴⁾²⁰⁾。実際、ChartierらのいうIgG Fcレセプター保有単核球の大部分はphagocyticであったことから⁴¹⁾、我々の測定したK細胞の動きが、Chartierらの報告と必ずしも矛盾するものとは考えられない。

また一方、Wallら³⁹⁾は、NK活性とADCC活性をともに有するとされているHNK-1 cell¹⁾が、SATでは上昇すると報告しているが、K細胞とNK細胞との異同については、種々の報告がなされている⁴¹⁾ところであり、この点についてはさらに検討が必要と思われる。一方、Iwataniら¹⁹⁾は、SATでは細胞障害性T細胞(cytotoxic T lymphocyte)の活性化に関与するとされるsuppressor Tおよびhelper T cellは量的にはかわりがないという興味ある結果を報告している。

尚Aminoら⁴⁾²⁰⁾は、バセドウ病ではK細胞数と血中甲状腺ホルモン(T_4 , T_3 , Free T_4 IndexおよびFree T_3 Indexなど)は、有意の負の相関を認めたが、destructive thyroiditisではK細胞の減少はなかったことより、甲状腺ホルモンはK細胞の数や比率に影響を及ぼさないのではないかと報告している。われわれの検討では、SATの経過中におけるK細胞比率は血清 T_3 とは有意の負の相関を示したが、血清 T_4 とは有意の相関を示さなかった。甲状腺ホルモンのK細胞に与える影響については、今後の検討が必要と思われる。

つぎに SAT 患者血清の添加試験によって, K細胞活性の抑制を認めたことから, SATにおける K細胞比率の低下の原因の1つとして, SAT 血中に含まれる液性因子が関与していることが考えられた。Mikulski ら²²⁾は, 種々の癌患者血清が ADCC 活性を抑制し, とくに転移癌患者のそれはより強い抑制効果を示すとし, また妊娠時に認められる細胞性²⁰⁾および液性免疫能の低下³⁾に ADCC 活性の低下が影響しているのではないかと報告されている。一方, Calder ら⁷⁾も甲状腺疾患患者の血中抗甲状腺抗体の titer が ADCC 活性と逆相関することを認め, さらに最近 Endo ら¹²⁾は, Hashimoto 病および Basedow 病における K細胞の低下は血中の immune complex の影響にもとづくのではないかと推測しており, これらの結果はいずれも血中液性因子が K細胞に対して影響を及ぼしていることを示唆している。

また, SAT 回復期の血清添加でも正常者より有意に K細胞比率の抑制を認めたが, 臨床症状からみればほとんど回復している状態ではあるが, IAP 値が12例中1例で550 ng/ml とやや高値であったこと, および血沈値が10例中2例で1時間値が24あるいは28 mm となおやや亢進していた時点の血清を用いたためではないかと思われる。また, SAT 血清添加試験に用いた血清は, 12例中10例が prednisolone 投与により, 回復に導かれたものであり, prednisolone による K細胞の抑制^{13) 18)}の影響も考えられる。

さらにまた, Nyulassy ら²⁵⁾は, SAT において HLA-BW 35 抗原の出現頻度が高いことから, SAT 発症に遺伝的要因が加味されていることを示唆しており, SAT では免疫能の低下傾向が最初から存在している可能性も考慮に入れておかねばならないと思われる。

一方, plaque 法により測定した16例の未治療のバセドウ病の K細胞比率は $2.8 \pm 2.2\%$ と正常者14例における $7.3 \pm 3.4\%$ に比し有意に低値を示したことは, Amino ら⁴⁾の報告と同じであった。さらにまた, バセドウ病血清を添加すると, SAT と同じく K細胞活性に対する抑制効果を認め, Endo ら¹²⁾の報告と一致していた。バセドウ病血清添加においては, Endo ら¹²⁾の言う如く K細胞活性には血中 immune complex の影響が考えられるところであるが, 今回 SAT の1例で, immune complex を測定したところ immune complex の増加を認めなかった(未発表)。しかし一般には immune complex や aggregated IgG が, Fc レセプターへの競合阻止という機序に基づき, ADCC 活性を抑制すると考えられている⁴⁰⁾ため, この点については今後さらに検討を重ねる必要があると思われる。

一方, SAT の原因の1つとして1952年 Fraser ら¹³⁾の報告以来, 種々のウィルス感染説³⁸⁾が唱えられており, Austin ら⁵⁾によれば種々のウィルス感染症においても ADCC 活性は低下するという。

以上の如く, SAT においては, K細胞比率が低下していること, またこれには SAT の血中液性因子が関与しているであろうことが考えられた。

結 語

ヒツジ赤血球を target とする plaque 法により亜急性甲状腺炎およびバセドウ病における K細胞比率を測定するとともに, 上記患者血清の K細胞活性に及ぼす影響について検討した。

1) 急性期および回復期の亜急性甲状腺炎の K細胞比率は, それぞれ 2.6 ± 1.8 および 5.3 ± 2.2 (平均 $\pm$ S.D.) % であり, 前者は後者および正常者のそれ ($7.3 \pm 3.4\%$) よりも有意に低値であった。

なおバセドウ病の K細胞比率も $2.8 \pm 2.2\%$ であり, 正常者のそれより有意に低値であった。

2) 正常人末梢リンパ球中の K細胞活性を, 亜急性甲状腺炎の血清は正常人血清より強く抑制した。この際亜急性甲状腺炎の急性期の血清は, 回復期のものよりも強く抑制した。

これらの結果から亜急性甲状腺炎の血中液性因子にK細胞活性の抑制効果のあることが示唆された。

3) バセドウ病血清にも正常人K細胞活性の抑制傾向を認めた。

症例の一部を提供いただいた城外科医院 城 魏博士および水戸水府病院外科 近衛晃賢博士、内科 田代昭男博士および三原章男博士に感謝いたします。またADCCキットの提供ならびに種種御協力下さった日本抗体研究所および大塚アッセイ研究所に感謝いたします。

本研究の一部は、厚生省特定疾患「遅発性ウィルス感染」に関する研究班費によった。

本論文の要旨は第56回日本内分泌学会総会において発表した。

文 献

- 1) Abo, T. and Balch, C.M.: A differentiation antigen of human NK and K cells identified by a monoclonal antibody (HNK-1)¹. *The J. Immunol.*, 127: 1024–1029, 1981.
- 2) Allison, A.C.: Unresponsiveness to self antigens. *The Lancet*, 25: 1401–1403, 1971.
- 3) Amino, N., Tanizawa, O., Miyai, K., Tanaka, F., Hayashi, C., Kawashima, M. and Ichihara, K.: Changes of serum immunoglobulins IgG, IgA, IgM and IgE during pregnancy. *Obstet. Gynecol.*, 52: 415–420, 1978.
- 4) Amino, N., Mori, H., Iwatani, Y., Asari, S., Izumiguchi, Y. and Miyai, K.: Peripheral K lymphocytes in autoimmune thyroid disease: Decrease in Graves' disease and increase in Hashimoto's disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 54: 587–591, 1982.
- 5) Austin, R.M. and Daniels, C.A.: Inhibition by rheumatoid factor, anti-FC and staphylococcal protein A of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity against Herpes simplex virus-infected cells. *J. Immunol.*, 117: 602–607, 1976.
- 6) Biberfeld, P., Wåhlin, B., Perlmann, P. and Biberfeld, G.: A plaque technique for assay and characterization of antibody-dependent cytotoxic effector cells. *Scand. J. Immunol.*, 4: 859–864, 1975.
- 7) Calder, E.A., Penhale, W.J., Mclellan, D., Barnes, E.W. and Irvine, W.J.: Lymphocyte-dependent antibody-mediated cytotoxicity in Hashimoto thyroiditis. *Clin. exp. Immunol.*, 14: 153–158, 1973.
- 8) Calder, E.A., Irvine, W.J., Davidson, N.M. and Wu, F.: T, B and K cells in autoimmune thyroid disease. *Clin. exp. Immunol.*, 25: 17–22, 1976.
- 9) Chan, S.H., Levine, P.H., DE-Thé, G.B., Mulrone, S.E., Lavoue, M.F., Glen, S.P.P., Goh, E.H., Khor, T.H. and Connelly, R.R.: A comparison of the prognostic value of antibody-dependent lymphocyte cytotoxicity and other EBV antibody assays in Chinese patients with nasopharyngeal carcinoma. *Int. J. Cancer*, 23: 181–185, 1979.
- 10) Chartier, B., Bandy, P. and Wall, J.R.: FC Receptor-bearing blood mononuclear cells in thyroid disorders: Increased levels in patients with subacute thyroiditis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51: 1014–1018, 1980.
- 11) Cooper, S.M., Harding, B., Mirick, G.R., Schneider, J., Quismorio, F.P. and Friou, G.J.: Selective decrease in antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in systemic lupus erythematosus and progressive systemic sclerosis. *Clin. exp. Immunol.*, 34: 235–240, 1978.
- 12) Endo, Y., Aratake, Y., Yamamoto, I., Nakagawa, H., Kuribayashi, T. and Ohtaki, S.: Peripheral K cells in Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis in relation to circulating

- immune complexes. Clin. Endocrinol., 18: 187–194, 1983.
- 13) Fraser, R. and Harrison, R.J.: Subacute thyroiditis. The Lancet, 23: 382–386, 1952.
- 14) 深澤 洋, 桜田俊郎, 田村啓二, 山本蒔子, 吉田克己, 貴田岡博史, 海瀬信子, 海瀬和郎, 鈴木道子, 齊藤慎太郎, 吉永 馨, 石田名香雄: 亜急性甲状腺炎における免疫抑制酸性蛋白. 日内分泌会誌, 58: 1005–1017, 1982.
- 15) 二井 栄: 妊婦における Antibody dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) の検討. 三重医学, 24: 654–668, 1981.
- 16) Gailiunas, P., Suthanthiran, M., Person, A., Carpenter, C.B. and Garovoy, M.R.: Immunologic monitoring in the diagnosis of renal allograft rejection. Transplant. Proc., 9: 1823–1825, 1973.
- 17) Green, J.N.: Subacute thyroiditis. The American J. of Med., 51: 97–108, 1971.
- 18) 市川幸延, 笹生 薫, 高屋正敏, 有森 茂: Sjögren 症候群における末梢血 Killer cells (K-cells) に関する研究. リウマチ, 20(4): 253–259, 1980.
- 19) Iwatani, Y., Amino, N., Mori, H., Asari, S., Izumiguchi, Y., Kumahara, Y. and Miyai, K.: T lymphocyte subjects in autoimmune thyroid diseases and subacute thyroiditis detected with monoclonal antibodies. J. Clin. Endocrinol. Metab., 56: 251–254, 1982.
- 20) Leikin, S.: Depressed maternal lymphocyte response to phytohaemagglutinin in pregnancy. Lancet, 2: 43, 1972.
- 21) Mc Credie, J.A., MacDonald, H.R. and Wood, S.B.: Effect of operation and radiotherapy on antibody-dependent cellular cytotoxicity. Cancer, 44: 99–105, 1979.
- 22) Mikulski, S.M., Billing, R. and Terasaki, P.I.: Brief communication: Inhibition of effector cell function in human antibody-dependent cellular cytotoxicity by sera from cancer patients. J. Natl. Cancer Inst., 58: 1485–1487, 1977.
- 23) Möller, E.: Contact-induced cytotoxicity by lymphoid cells containing foreign isoantigens. Science, 147: 873–875, 1965.
- 24) 森 英光, 網野信行, 岩谷良則, 浅利誠志, 泉口康幸, 宮井 潔: 自己免疫性甲状腺疾患における末梢 K-cell に関する検討: K-cell と甲状腺機能との関係について. 臨床免疫, 14(4): 341–348, 1982.
- 25) Nyulassy, S., Hnilica, P., Buc, M., Guman, M., Hirschová, V. and Stefanovic, J.: Subacute (de Quervain's) thyroiditis: Association with HLA-Bw 35 antigen and abnormalities of the complement system, immunoglobulins and other serum proteins. J. Clin. Endocrinol. Metab., 45: 270–274, 1977.
- 26) Pearson, G.R., Johansson, B. and Klein, G.: Antibody-dependent cellular cytotoxicity against Epstein-Barr virus-associated antigens in African patients with nasopharyngeal carcinoma. Int. J. Cancer, 22: 120–125, 1978.
- 27) Perlman, P. and Perlman, H.: Contactual lysis of antibody-coated chicken erythrocytes by purified lymphocytes. Cell. Immunol., 1: 300–315, 1970.
- 28) Perlman, P., Perlman, H., Larsson, Å. and Wåhlin, B.: Antibody dependent cytolytic effector lymphocytes (K cells) in human blood. J. Reticuloendothel. Soc., 17: 241–250, 1975.
- 29) Sakurada, T., Fukazawa, H., Tamura, K., Yamamoto, M., Yoshida, K., Kitaoka, H., Kaise, N., Kaise, K., Suzuki, M., Saito, S., Yoshinaga, K. and Ishida, N. (1983): Increased level of immunosuppressive acidic protein in patients with subacute thyroiditis. In: Current Problems in Thyroid Research edited by Ui, N., Torizuka, K., Nagataki, S. and Miyai, K. Excerpta Medica, Amsterdam, pp.453–456.
- 30) Strakosh, C.R., Joyner, D. and Wall, J.R.: Thyroid stimulating antibodies in patients with subacute thyroiditis. J. Clin. Endocrinol. Metab., 46: 345–

- 348, 1978. 31) 田村啓二, 松田好史, 北目文郎, 石田名香雄: 癌患者血清中の免疫抑制酸性蛋白 (IAP) の定量法. 医学のあゆみ, 105: 668-670, 1978. 32) Tamura, K., Shibata, Y., Matsuda, Y. and Ishida, N.: Isolation and characterization of an immunosuppressive acidic protein from ascitic fluids of cancer patients. Cancer Res., 41: 3244-3252, 1981. 33) Thomas, F., Thomas, J., Mendez, G. and Lee, H.M.: Pretransplant immune monitoring of donor-recipient compatibility. Transplant. Proc., 10: 429-432, 1978. 34) Tötterman, T.H.: Distribution of T-, B-, and thyroglobulin-binding lymphocytes infiltrating the gland in Grave's disease, Hashimoto's Thyroiditis, and de Quervain's Thyroiditis. Clin. Immunol. Immunopathol., 10: 270-277, 1978. 35) 辻 公美: 比重遠心法によるリンパ球の分離. 免疫実験操作法 A. 日本免疫学会, 金沢, 1979, p. 442-450. 36) Volpé, R., Row, V.V. and Erzin, C.: Circulating viral and thyroid antibodies in subacute thyroiditis. J. Clin. Endocrinol. Metab., 27: 1275-1284, 1967. 37) 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. 38) Wall, J.R., Gray, B. and Greenwood, D.M.: Total and "activated" peripheral blood T lymphocytes in patients with thyroid disorders. Acta Endocrinol., 85: 753-759, 1977. 39) Wall, J.R., Baur, R., Schleusener, H. and Bandy-Dafoe, P.: Peripheral blood and intrathyroidal mononuclear cell populations in patients with autoimmune thyroid disorders enumerated using monoclonal antibodies. J. Clin. Endocrinol. Metab., 56: 164-169, 1983. 40) Wells, J.V.: Basic & Clinical Immunology 2nd ed. Los Altos: Lange Medical Publication, 1978. p.267. 41) 矢野啓介: K細胞の作用機序, 80-95. 畔柳武雄, 大高裕一, 松橋 直編集: 新免疫学叢書10, キラー細胞. 医学書院, 東京, 1983. 42) 銭谷幹男, 高橋 弘, 出浦正倫, 清水能一, 相沢良夫, 秋庭真理子, 斉藤礼郎, 飛鳥田一郎, 三枝苗成, 亀田治男, 深町 勇, 浦野敬治, 中島克行: マイクロプレート法によるヒト末梢血中 Killer cell (K-cell) の同定. 医学のあゆみ, 109, 682-684, 1979. 43) 銭谷幹男, 高橋 弘, 相沢良夫, 三枝苗成: マイクロプレートを用いた末梢血 K-cell の微量測定法. 免疫実験操作法 IX (日本免疫学会編), 金沢, 1980, p.2887-2892. 44) Zighelboim, J. and Gale, R.P.: Interspecies variability in antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC). J. Immunol., 113: 1145-1150, 1974. (受付日: 58. 10. 3)