甲状腺細胞質上清抗原を用いた二重免疫 拡散法による甲状腺自己抗体の分析

樋 渡 恒 憲・宮 地 清 光*・前 野 芳 正**
岡 村 和 彦**・三 村 孝***
百 溪 尚 子***・伊 藤 国 彦***

**Three distinct precipitating antibodies in patients with
thyroid diseases against the antigens in cytoplasmic
fraction of human thyroid gland supernatant (HTS)**

Tsunenori Hiwatashi, Kiyomitsu Miyachi*, Yoshimasa Maeno**,
Kazuhiko Okamura**, Takashi Mimura***,
Hisako Momotani*** and Kunihiko Ito***

Hoken Kagaku Research Lab., Keiguu Medical Clinic, Nagoya
Hokeneisei University, School of Medicine**, Ito Hospital****

【Summary】

Autoantibodies in sera from patients with thyroid disease were detected by passive hemagglutination method (PHA) in general. However this method had several problems for the specificity and discrimination of them. In this study, autoantibodies against human thyroid gland were tentatively analyzed by double immunodiffusion (DID) method for the first step to evaluate these subjects. After analysis of 355 sera, three distinct and human-thyroid specific antibodies were observed against the antigens in cytoplasmic fraction of human thyroid gland supernatant (HTS).

Antibodies to HTS-1 antigen appeared within 1 day and were absorbed by HTS. All of the 14 sera containing antibodies to HTS-1 antigen showed positive at 1600 or greater dilution by PHA. Thirteen of 14 sera were found in patients with Hashimoto's thyroiditis. All the data suggested antibodies to HTS-1 antigen were the same as antibodies to thyroglobulin. Interestingly antibodies to HTS-1 antigen were thought to be heterogeneous because of these antibodies showing partial identity by DID method. Antibodies to HTS-2 antigen appeared after two days and were found in small percentage of patients with Hashimoto's thyroiditis and Graves' disease. Antibodies to HTS-3 antigen weekly appeared against condensed HTS after one week. These antibodies were uncertain whether they

were compatible with thyroid microsome antibodies or not. These antibodies were found in 52 patients with Hashimoto's thyroiditis or Graves' disease.

Key words: Double Immunodiffusion (DID),
Thyroglobulin antibody,
Hashimoto's thyroiditis,
Human thyroid gland supernatant (HTS)

【概 要】

甲状腺自己抗体の検出には PHA 法が広く用いられているが、本法には抗体の識別、特異性について不明の点が多い。今回はこれらの点を解明するための第1段階として、ヒト甲状腺細胞質上清 (HTS) 分画を用いた二重免疫拡散法によって甲状腺自己抗体の分析を試みた。その結果、沈降抗体の出現速度により3種に分類した。HTS-1 抗体は HTS 1mg/ml 以下でも24時間以内に沈降線を示した。本抗体はヒト臓器特異性抗体で、吸収試験などの成績から Thyroglobulin 抗体と断定した。本抗体陽性血清は355例中14例 (3.9%) で、PHA 法による Thyroglobulin, Microsome 抗体価はともに 40^2 倍以上であり、このうち13例は橋本病であった。HTS-1 抗体は部分的交差を示すものがあり、その多様性が示唆された。HTS-2 抗体は濃縮 HTS 抗原を用いて48時間後に出現し、低頻度であるが、橋本病、Graves 病に同定された。HTS-3 抗体は濃縮 HTS 抗原と反応1週間後に出現し、355例中52例 (14.6%) に認められた。本抗体は Microsome 抗体と一致するかいなか不明であるが、橋本病および Graves 病患者血清中に高頻度に認められた。

I. はじめに

橋本病および Graves 病は、代表的な臓器特異性自己免疫疾患であり、患者血清中には甲状腺に対する自己抗体が高率に検出される¹⁾。

甲状腺自己抗体には Colloid 成分に対する抗体と甲状腺濾胞上皮細胞に対する抗体が明らかにされ、前者には Thyroglobulin (TG) に対する抗体と TG 以外の成分 (CA₂) に対する抗体²⁾があり後者には Microsome (Mic) 分画に対する抗体が知られている。

また、甲状腺自己抗体の測定法としては、Radioimmuno assay (RIA), 受身感作赤血球凝集反応 (PHA), 蛍光抗体法, 補体結合反応, 沈降反応を利用した方法が知られている。このうち、PHA 法が測定操作が簡便でしかも検出感度が高いので日常検査に広く用いられている³⁾。しかし、この方法には抗体の識別、特異性については不明の点が多く残されている。すなわち、この方法ではヒト甲状腺組織から抽出した TG 分画および Mic 分画成分をタンニン酸処理ヒツジ赤血球に感作し、この感作血球と患者血清との凝集反応をみているため、各分画に含まれている複数抗原に対する抗体を同時に検出している可能性がある。また抗原によっては赤血球に感作され難いものがあり、実際に存在する甲状腺自己抗体を

見逃がしている可能性も考慮しなければならない。このように抗原を完全に分離精製することが困難な場合や抗原の感作が良好にできない場合には二重免疫拡散 (double immuno diffusion, DID) 法が有用である。この方法は原理的には含有されるすべての抗原に対応する抗体を分析同定することが可能である。DID 法は PHA 法に比べて測定感度こそ劣っているが、PHA 法より優れた面も多く持っている。

岡村ら⁴⁾は1980年の日本臨床免疫学会において DID 法による甲状腺自己抗体の分析、特に TG 様抗体 (Ta 抗体、患者の頭文字より Ta と名付けた) を報告した。今回はさらにこれをすすめてヒト甲状腺細胞質上清 (human thyroid gland supernatant, HTS) 抗原と多数の甲状腺患者血清を用い検索した結果、一番容易に検出できる TG 様抗体 (ここでは HTS-1 抗体と名付けた) と今までに報告のない2種以上の HTS に対する沈降抗体を検出した⁵⁾。特に TG 抗体と思われる沈降抗体について標準血清を入手できなかったため、独自に種々の方法で検討し TG 抗体であることを確認した。次にその他甲状腺自己抗体 (HTS-2, HTS-3 抗体と命名) の出現頻度を調べ、また PHA 法による成績との比較検討も行ったので報告する。

II. 対象と方法

1. 血清

伊藤病院を受診した甲状腺疾患患者から 355 名を無作為に抽出した。沈降抗体を認めた 76 血清は臨床症状、血液ならびに病理組織検査により診断分類した。標準血清として名古屋保健衛生大学で同定された甲状腺機能低下症患者 (K.T) 血清と、膠原病患者血清中に出現する代表的な細胞質抗体、ribosomal-Ribonucleoprotein (r-RNP), Sjögren's syndrome A (SS-A)/Ro 抗体血清^{8,9)}と既知の可溶性核抗原 Extractable Nuclear Antigen (ENA) 抗体¹⁰⁾血清を使用した。

2. 自己抗体の検出法

1) 受身感作血球凝集反応 (PHA) 法

富士臓器製 thyroid test および microsome test の Kit を使用した。この方法では TG 抗体 (TGHA) および Mic 抗体 (MCHA) とともに 100 倍以上を陽性と判定した。

2) 二重免疫拡散 (DID) 法

0.1% NaN_3 加 PBS (0.1 M リン酸塩, 0.14 M NaCl, pH 7.2~7.4) にて溶解した 0.6% agarose (半井化学 A 37) 25 ml を 9 cm 径の petridish に分注し、冷室に 1 晩置き、翌日使用した。well の大きさは直径 8 mm, well と well の間隔は 4 mm, 試料は 100 μl 分注し、室温にて 1 日, 4 日, 7 日後に観察した。

3) 蛍光抗体間接法

基質としてヒト、仔牛甲状腺の cryostat 切片を acetone 5 分固定、あるいは 37°C, 30 分乾燥固定した。使用した conjugate は FITC 標識 antihuman IgG goat γ -globulin (MBL 社製) を用いた。

3. 抗原の調整

1) ヒト甲状腺細胞質抗原の作製

ヒト甲状腺自己抗体の検出 (DID 法) に用いた抗原は Graves 病患者の摘出甲状腺からただちに Schneider の方法に従って細胞質 3 分画 Mitochondria (Mit) 分画, Mic 分画, Supernatant (Sup) 分画とし、今回は特にこの Sup 分画 (HTS) を用いた。この HTS には膠原病患者血清中に出現する ENA 抗体を DID 法で検出し得る ENA の混入は認めなかった。

2) SS-A (Ro) 抗原の作製

SS-A (Ro) 抗原は Clark などの方法¹²⁾によりヒト肝より抽出した。

3) 家兔胸腺抽出物 (Rabbit thymus extract, RTE)

膠原病合併例の存在を予測し、膠原病患者血清中の自己抗体同定のため、Pel Freez 社製 acetone 粉末より PBS 可溶性抗原を抽出¹³⁾した。

4. 対応抗原の検討

1) 酵素処理

Deoxyribonuclease (DNase) I, Ribonuclease (RNase) A, Trypsin, Trypsin inhibitor (Sigma 社製) を用いた。HTS 抗原 10 mg/ml に対し最終濃度が DNase I, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (3 mM MgCl_2 加 PBS, pH 7.2~7.4), RNase A, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (PBS), Trypsin, 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (PBS) になるように加え、37°C, 30 分間振盪加温した。次に Trypsin 加 HTS 抗原のみ Trypsin inhibitor (最終濃度 1 mg/ml) を加えた後、3 種類ともさらに 37°C, 30 分振盪加温した。対照として HTS に PBS を加え 37°C, 1 時間振盪加温した。

2) 硫酸分画

冷飽和硫酸を HTS 抗原におおの 30%, 50%, 70%, の割合に加えて stirrer にて冷室で 2 時間攪拌後、1 晩放置、2,000 rpm, 30 分遠心し、おのおの上清および沈渣を PBS にて 3 日間透析したものを抗原とした。

3) DEAE chromatography

DEAE chromatography を用い、HTS 分画中の抗原性を分析した。column は直径 2.5 cm, 長さ 30 cm, 0.01 M Tris buffer pH 7.2 を用い、途中でこの buffer と 0.4 M NaCl で gradient mixer (Pharmacia 製) を用い塩濃度勾配を作り使用した。最後に 1 M NaCl を加え終了した。HTS 抗原を遠心し、上清を蛋白濃度 10 mg/ml に調整し、その 2 ml を 0.01 M Trisbuffer pH 7.2 で透析したものを試料とした。

4) 免疫電気泳動

Hoechst 精製 Agar, Agarose および NaN_3 をそれぞれ 0.6%, 0.6%, 0.1% となるように Veronal buffer (pH 8.6) 中に加温して完全に溶解した。電気泳動の条件は 100 V, 3 mA/cm で、Albumin の spot の中心が原点から 3.2 cm に到達したところ (泳動約 80 分) で泳動を停止した。泳動終了後、溝の寒天を取り除き、抗血清あるいは HTS 抗原を加え、湿潤箱内室温で反応させた。

5) 蛋白量

Lowry 法¹⁵⁾で測定した。HTS 抗原は、100 mg/ml, 1 mg/ml に調整した。

表 1 Reactivity of supernatants from various human organ cell against the serum K.T. and antibody to SS-A

Supernatant from human organ cell	Minimal protein concentration of supernatant giving precipitin reaction against	
	the serum K.T.	antibody to SS-A
thyroid	0.1mg/ml	10 mg/ml
parotid	3.0	25
liver	—	20
spleen	—	12.5
kidney	—	15

表 2 Reactivity of supernatants from human and bovine thyroid gland against the serum K.T. and antibody to r-RNP

Supernatant from thyroid	Minimal protein concentration of supernatant giving precipitin reaction against	
	the serum K.T.	antibody to r-RNP
human	0.1mg/ml	20 mg/ml
bovine	100 mg/ml	10 mg/ml

表 3 Reactivity of cytoplasmic fraction from human thyroid gland against the serum K.T. and antibody to r-RNP

Cytoplasmic fraction from human thyroid gland	Minimal protein concentration of cytoplasmic fraction giving precipitin reaction against	
	the serum K.T.	antibody to r-RNP
Mitochondria	2 mg/ml	4 mg/ml
Microsome	0.8	2
Supernatant	0.1	20

III. 成 績

1. KT 血清と各種ヒト臓器細胞質上清抗原との反応性

KT 血清と、ヒト甲状腺、耳下腺、脾臓、肝臓、腎臓から抽出した細胞質上清抗原との反応を DID 法で検討した (表 1)。本抗体は、甲状腺細胞質上清抗原 (HTS) の最小蛋白濃度、0.1 mg/ml と反応を呈した。耳下腺細胞質上清抗原とは 3 mg/ml と反応したが、本沈降抗体は、HTS との沈降抗体と異なっていた。他の臓器抽出抗原とは蛋白濃度 100 mg/ml 以上でも反応しなかった。対照とした SS-A 抗体陽性血清は各種臓器抽出抗原と 10~20 mg/ml の濃度で反応を示した。

2. KT 血清とヒト、仔牛甲状腺細胞質上清抗原との反応性

KT 血清と、ヒト甲状腺、仔牛甲状腺細胞質上清抗原との反応性を DID 法で検討した (表 2)。本抗体は HTS の最小蛋白濃度が 0.1 mg/ml で沈降抗体を認めた

が仔牛甲状腺細胞質上清抗原 100 mg/ml 以上でも沈降抗体を認めなかった。対照とした SLE に出現する r-RNP 抗体陽性血清の反応性をみると HTS、仔牛甲状腺細胞質上清抗原とは、20~10 mg/ml の抗原濃度を必要とした。

3. KT 血清と、ヒト甲状腺各種細胞質抗原との反応性

KT 血清とヒト甲状腺細胞質各種抗原 Mit 分画、Mic 分画、Sup 分画との反応性を検討した (表 3)。沈降抗体を検出し得る最小蛋白濃度を比較すると、Mit 分画は 2 mg/ml、Mic 分画は 0.8 mg/ml、Sup 分画 (HTS) は 0.1 mg/ml であった。対照とした SLE に出現する r-RNP 抗体陽性血清の反応性をみると、Mit 分画 4 mg/ml、Mic 分画 2 mg/ml、Sup 分画 (HTS) 20 mg/ml であった。

4. KT 血清の蛍光抗体間接法による染色パターン

ヒト甲状腺 cryostat 切片を、KT 血清で染色すると、固定された colloid が染色され、濾胞上皮細胞の細胞質

図1 TG抗体 (HTS-1抗体) の多様性

TK血清中には従来Ta抗体と報告したTG抗体 (HTS-1抗体) が存在する。橋本病患者SM血清は、TK血清中のHTS-1抗体と partial identity を示した。本反応に用いたHTS抗原の蛋白濃度は 1 mg/ml で、Ta抗体以外の沈降抗体の検出は不可能であった。

が fine speckled に染色された。仔牛甲状腺の cryostat 切片を KT 血清で染色すると前者に比し、固定された colloid が弱く染色された。濾胞上皮細胞がわずかに fine speckled に染色された。

5. KT血清とヒト甲状腺精製TGとの反応

Shulmanの方法で精製したヒト甲状腺TG (0.1 mg/ml), HTS (1 mg/ml) を用い KT 血清との反応を DID 法で検討した。ヒト甲状腺精製TGとKT血清との沈降線は、HTSとKT血清との沈降線と完全に一致した。KT血清中の本沈降抗体をHTS-1抗体、対応抗原をHTS-1抗原と命名した。

6. 免疫電気泳動によるHTS-1抗体とHTS-1抗原の性状

HTSと反応し、沈降線を示したKT血清は、免疫電気泳動の結果IgG分画に一致した。またこのHTS-1抗体のIgGと反応するHTS抗原中のHTS-1抗原の電気泳動度はAlbuminにわずかに遅れ、 α_1 -globulinに相当した。

7. HTS-1抗原の硫酸分画と酵素処理

HTS-1抗原は、50%硫酸でほぼ完全に沈殿し、酵素処理ではPNase 1 (最終濃度 100 μ g/ml), RNase A (最終濃度 100 μ g/ml) 37°C, 30分に抵抗性、Trypsin (最終濃度 500 μ g/ml) 37°C, 30分に感受性であった。

8. KT血清の吸収試験

甲状腺細胞質上清抗原で、KT血清を吸収し、TGHA抗体価およびMCHA抗体価をPHA法で測定した。吸収前のTGHA抗体価は640²であったが、吸収後は10²

以下と陰性化し、MCHA抗体価は吸収前後とも640²で変化を認めなかった。

以上1~8の成績よりKT血清中のHTS-1抗体は、ヒト甲状腺TG抗体であることを確認した。

9. HTS-1抗体の多様性

HTSを用いたDID法で、甲状腺患者355例の血清を検索し、76例に沈降抗体が検出された。このうち14例が明らかにHTS-1抗体であり、12例の血清においては、1980年の日本臨床免疫学会で報告したTa抗体と一致したが、2例の血清は沈降線が完全には一致せず、一部交差反応を示し、HTS-1抗体の多様性が示唆された (図1)。

10. HTS-1抗体以外の甲状腺自己抗体

KT血清は、濃縮HTS (10 mg/ml 以上) に対し、24時間以内にHTS-1抗体の沈降線が出現、96時間後には抗原過剰で本沈降抗体は消失したが、抗原側に2本の明瞭な沈降線が出現した (図2)。抗原側の沈降抗体は、MH (橋本病) 血清の沈降抗体と完全に一致した。本抗体はHTS-1抗体より常に遅れて出現するのでHTS-2抗体と命名した。そのほか、反応開始後1週間後に出現する沈降線を多数認めた (1982年の日本臨床免疫学会⁹⁾では患者の頭文字をとりHi抗体と命名した)。この沈降抗体の80%は同一抗体であり、この抗体をHTS-2抗体より遅れて出現するのでHTS-3抗体と命名した。このほか、上記以外の沈降抗体が20例に認められたが、どの程度に一致するか不明であったのでother抗体として一括した。

図 2 HTS-1 抗体と HTS-2 抗体

濃縮 HTS を用い DID 法を行うと、上段のごとく 24 時間後には KT 血清との間に凸レンズ状の HTS-1 抗体が出現した。96 時間後には HTS-1 抗体の沈降線は抗原過剰のため消失したが、新たに KT, MH 血清との間に共通の明瞭な沈降線が出現し、本抗体を HTS-2 抗体と命名した。

11. 甲状腺自己抗体の出現頻度

HTS に対する沈降抗体は 76 例に認められた。そのうち HTS-1 抗体は 14 例に検出され、13 例までが橋本病の患者であり、残り 1 例は Graves 病の患者であった。HTS-3 抗体は 52 例に検出されたが、橋本病、Graves 病に高頻度に認められた。SS-A 抗体は、橋本病 4 例、Graves 病 3 例、計 7 例に認められ、そのうち 1 例は SLE との合併例であった (表 4)。他の 6 例は、膠原病との合併例は不明であった。

12. DID 法と PHA 法との相関

HTS を用いた DID 法で沈降抗体を認めた血清について TGHA 抗体価との相関を検討した (図 3)。HTS-1 陽性血清については 1 例を除いて、TGHA 抗体価および MCHA 抗体価ともに 40^2 倍以上であった。HTS-3 抗体、other 抗体陽性血清はともに TGHA 抗体価に比べ、MCHA 抗体価の方が高い抗体価を示す傾向がみられた。なお DID 法で陽性でありながら、PHA 法による両抗体がともに陰性を示したものが 16 例 (22%) にみられた。

IV. 考 案

今日、甲状腺疾患の日常臨床検査法の 1 つに TG 抗体と Mic 抗体がある。測定法としては Kit の簡便性、測定感度および定量性などの点から PHA 法が広く用いられているが、抗体の識別、特異性については不明な点が多い。

DID 法による甲状腺自己抗体の分析は、過去に検討され、特に沈降性 TG 抗体は橋本病に特異的である¹⁶⁾ことが報告されていた。しかし近年 DID 法による詳細な検討は、岡山大の平川らの甲状腺 Mic 抗体の報告以外にない。そこで今回独自に TG 抗体の同定と、ほかの甲状腺自己抗体の分析を試みた。KT 血清は複数の甲

表 4 Frequency of precipitating antibodies in human thyroid diseases against human thyroid supernatant

Disease	No. of pts	Precipitating antibodies to			
		HTS-1 (Ta)	HTS-3 (Hi)	SS-A	HTS-2 or other
Hashimoto's thyroiditis	34	13	18	4	10
Hashimoto's thyroiditis with thyroid adenoma	7	0	6	0	3
Hashimoto's thyroiditis with cancer	3	0	3	0	0
Graves' disease	31	1	25	3	9
Subacute thyroiditis	1	0	0	0	2
Total	76	14	52	7	24

図3 Correlation of titers between TGHA and MCHA in sera showing precipitating antibodies to human thyroid gland supernatant

甲状腺自己抗体を有していた。1980年に報告した Ta 抗体は、1) ヒト甲状腺細胞抽出抗原とのみ反応し、他の臓器抽出抗原と反応しない、2) ヒト甲状腺抽出抗原と特異的思われ、仔牛甲状腺抽出抗原と反応しなかった、3) ヒト甲状腺細胞抽出抗原中 HTS と強く反応し、4) Shulman による TG 精製抗原、ならびに HTS と KT 血清との沈降抗体は一致した、5) HTS-1 抗原の電気易動度は α_1 -globulin 領域であり、硫酸分画による検討では 50% 飽和硫酸で完全に沈殿し、酵素処理の成績からも globulin であることが想定されていた、6) KT 血清は HTS による吸収により TGHA 抗体価は完全に陰性化した。1)~6) の成績から HTS-1 抗体は、TG 抗体であることを再確認した。HTS-1 抗体は 14 例のうち 13 例までが橋本病患者血清中にみられ、過去に報告されたとおり、診断的価値を有していた。HTS-1 抗体のうち、2 例の血清は沈降線が完全には一致せず、一部交差反応を示した。HTS-1 抗体はともに反応後 7 時間には沈降線が出現することより Immunoglobulin class の差 (IgG, IgM) ではなく、TG 抗体の多様性が示唆された。TG は分子量約 66 万で 125 個の tyrosyl 基を有しているが、抗原決定基は複数に存在し、その一部は共通であ

るものと思われ、DID 法による一部交差を示す可能性が考えられた。さらに興味あることは KT 血清には、TG 抗体以外に、濃縮 HTS 抗原に対し、48 時間以後に出現する 2 本の沈降抗体を認めた。抗原側の沈降抗体は、橋本病患者血清 MH、また Graves 病患者血清 TF と一致した。本抗体は SLE や Sjögren 病に認められる SS-A 抗体と異なること、また RTE とはまったく反応しないことにより、ヒト甲状腺に特異的であると考えられ、HTS-2 抗体と名付けた。本抗体の各甲状腺疾患における出現頻度は低く、CA₂ に対する抗体²⁾の可能性があるが詳細は不明である。橋本病患者 MH 血清は、濃縮 HTS に対し、反応 1 週間後血清側に弱い沈降抗体を認めた。本抗体は、多数の Graves 病患者血清、橋本病患者血清に同定され、HTS-3 抗体と名付けた。本抗体は、岡山大学の平川らの報告^{17,18)}する Mic 抗体と一致するかどうか不明であるが、PHA 法による MCHA 抗体価と本抗体との相関はなかった。本抗体はヒト甲状腺 Mic 分画との反応は認められなかったが、超音波処理以外に、膜を可溶化し検討する必要があると思われた。

DID 法で沈降抗体陽性でありながら、PHA 法による両抗体がともに陰性を示したものが 16 例 (22%) にみ

られた。この16例の沈降抗体が、どの程度に一致するか不明であるが、これらの抗体は、Sjögren's syndrome B (SS-B) 抗原のごとく、タンニン酸処理ヒツジ赤血球に結合しない抗原に対する可能性が考えられた。今後これらの抗体に対する対応抗原の性状を明確にする予定である。

最後に蛍光抗体法による検索では、KT 血清は弱いながら colloid 成分、濾胞上皮細胞の細胞質が染色されて

いた。しかし DID 法による検討では反応を認めないので、非特異的なものと結論した。

この論文作制にあたり、貴重な御示唆を賜った慶応大学医学部内科の本間光夫教授、名古屋保健衛生大学医学部内科の鳥飼勝隆教授、慶応大学医学部生合成代謝の木原弘二教授に感謝致します。

文 献

- 1) Roitt, I.M. : Essential immunology. third edition Blackwell Scientific Publications, 1977.
- 2) Balfour, B.M., Doniach, D., Roitt, I.M., et al. : Fluorescent antibody study in human thyroiditis : Auto-antibodies to an antigen of the thyroid colloid distinct from thyroglobulin. Brit. J. Exp. Pathol., 42 : 307~316, 1962.
- 3) 桜美武彦・長岡研五・沢田賢三・他 : 抗甲状腺抗体 (抗ミクロソーム抗体, 抗サイログロブリン抗体) 臨床免疫, 12 : 743~750, 1980.
- 4) 岡村和彦・鈴木悦子・宮地清光・他 : 甲状腺疾患における自己抗体の分析. 東京, p. 163, 第8回日本臨床免疫学会総会, 講演抄録集, 1980.
- 5) 樋渡恒憲・宮地清光・百溪尚子・他 : 甲状腺自己抗体の分析. 第2報. 第10回日本臨床免疫学会総会, 講演抄録集, 大阪, 1982, p. 171.
- 6) Miyawaki, S., Kohmoto, K., Kurata, N., et al. : Identification and characterization of two new nuclear antigens reactive with sera of patients with connective tissue disease. Arthritis Rheum., 21 : 803~810, 1978.
- 7) Miyachi, K. and Tan, E.M. : Antibodies reacting with ribosomal ribonucleoprotein in connective tissue disease. Arthritis Rheum., 22 : 87~93, 1979.
- 8) Mattioli, M. and Reichlin, M. : Heterogeneity of RNA protein antigens reactive with sera of patients with systemic lupus erythematosus-description of a cytoplasmic nonribosomal antigen. Arthritis Rheum., 17 : 421~429, 1974.
- 9) Alsbaugh, M.A. and Tan, E.M. : Antibodies to cellular antigens in Sjögren's syndrome. J Clin. Invest., 55 : 1067~1073, 1975.
- 10) 東條 毅・富井正邦・岡本 尚 : SLE における非ヒストン核蛋白抗体. 臨床免疫, 11(6) : 417~424, 1979.
- 11) Schneider, W.C. and Hogenboom, G.H. : Intracellular distribution of enzymes further studies on the distribution of cytochrome in rat liver homogenate. J. Biol. Chem., 183 : 123~128, 1950.
- 12) Clark, G., Reichlin, M. and Tomashi, T.B. : Characterization of a soluble cytoplasmic antigen reactive with sera from patients with systemic lupus erythematosus. J. Immunol., 102 : 117~122, 1969.
- 13) Kurata, N. and Tan, E.M. : Identification of antibodies to nuclear acidic antigens by counter-immunoelectrophoresis. Arthritis Rheum., 19 : 574~580, 1976.
- 14) Shulman, S. and Armenia, J.P. : Studies on thyroid proteins. J. Biol. Chem., 238 : 2723~2731, 1963.
- 15) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., et al. : Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193 : 265~275, 1951.
- 16) Goudie, R.B., Anderson J.R., Gray, K.G., et al. : Precipitin test in thyroid disease. Lancet, ii : 976~979, 1957.
- 17) 平川秀三・三浦 洋・都寄和美・他 : 甲状腺膜可溶化抗原に関する研究. 第1報 Counter Immunoelectrophoresis を用いた検討. 日本内分泌学会雑誌, 56 : 564, 1980.
- 18) 平川秀三・砂田光俊・都寄和美・他 : 自己免疫性甲状腺疾患における甲状腺膜抗体についての検討. 第10回日本臨床免疫学会総会講演抄録集, 1982, 大阪, p. 84.