

原 著

バセドウ病における免疫学的研究

第2篇 末梢リンパ球によるヒト甲状腺刺激抗体の 産生, ならびに対応甲状腺抗原の分析

菅 谷 昭
信州大学医学部第二外科学教室
(主任: 降旗力男教授)

IMMUNOLOGICAL STUDIES IN GRAVES' DISEASE

PART 2. STUDIES ON PRODUCTION OF HUMAN THYROID-STIMULATING ANTIBODY (hTSAb) BY LYMPHOCYTES AND ANALYSIS OF APPROPRIATE INTERACTING THYROID ANTIGEN

Akira SUGENOYA

Department of Surgery, Faculty of Medicine,
Shinshu University
(Director: Prof. Rikio FURIHATA)

SUGENOYA, A. *Immunological studies in Graves' disease. Part 2. Studies on production of human thyroid-stimulating antibody (hTSAb) by lymphocytes and analysis of appropriate interacting thyroid antigen.* Shinshu Med. J., 27: 419-427, 1979

In vitro production of human thyroid-stimulating antibody (hTSAb) was studied.

The results were as follows:

1. In the study of hTSAb production by lymphocytes from healthy subjects and patients with Graves' disease, Hashimoto's thyroiditis and toxic adenoma, stimulated *in vitro* with crude thyroid homogenates, the mean percentage in Graves' disease was significantly different from controls ($p < 0.025$).

2. In the further investigation of hTSAb production employing partially purified thyroid subcellular fractions (i. e. 800 g pellet, 50,000 g pellet, 105,000 g pellet and thyroglobulin fractions were tested), the "50,000 g pellet" fraction was the most effective and potent stimulant of hTSAb production by the Graves' lymphocytes.

3. ^{125}I -labelled TSH binding and displacement studies and electron microscopic findings demonstrated that this "50,000 g pellet" fraction contains substantial amounts of thyroid plasma membrane components.

From these foregoing findings including the results of the Part 1, it seems probable that the participation of a primary autoimmune process could be involved in the pathogenesis of Graves' disease.

(Received for publication; April 10, 1979)

Key words : ヒト甲状腺刺激抗体 (human thyroid-stimulating antibody)
 サイクリック AMP (adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate)
 シュ糖密度勾配超遠沈法 (sucrose density gradient ultracentrifugation)
 ラジオリセプターアッセイ (radio-receptor assay)

I 緒 言

著者は第1篇¹⁾において、バセドウ病の自己免疫現象の関与について検討した結果、本症では自己の甲状腺に対する細胞性免疫の成立していることが確認された。

一方、近年になりヒト甲状腺を特異的に刺激する自己抗体 (human thyroid-stimulating antibody: hTSAb) に関する研究も活発となってきた²⁾⁻⁴⁾。そこで著者は第2篇において、A) バセドウ病患者の末梢リンパ球を用い、*in vitro* における甲状腺刺激抗体の産生 (実験A)、ならびに B) 本抗体の産生に必要な甲状腺抗原の分析 (実験B) について、以下の臨床的研究を試みた。

II 対 象

実験A. 各種甲状腺疾患におけるヒト甲状腺刺激抗体 (hTSAb) 産生の検討

対象は、未治療のバセドウ病症例8例、慢性甲状腺炎症例3例、甲状腺中毒性腺腫症例 (toxic adenoma) 2例および健康成人7例である。

実験B. hTSAb 産生に必要な甲状腺抗原の分析

未治療のバセドウ病15例について、種々の甲状腺抗原分画を用い、hTSAb 産生に必要な抗原の分析を検討した。なお、本研究の対照として健康成人6例を用いた。

III 方 法

実験A.

Knox ら⁴⁾の方法に従って、末梢リンパ球と甲状腺抗原とを *in vitro* で培養し、得られた培養上清内の甲状腺刺激活性を、正常ヒト甲状腺組織内における adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate (c-AMP) の生成増加を指標として比較検討した。

1. 抗原およびリンパ球分離

ヒト甲状腺粗抽出抗原は、第1篇の「マクロファージ・リンパ球ロゼット形成試験」の場合と同様の方法で作製した¹⁾。また被験者からのリンパ球分離も、

Hypaque-Ficoll 比重遠沈法⁵⁾によった。

2. リンパ球培養

分離したリンパ球は、 $10\sim 20 \times 10^6$ /culture の細胞数に調整した後、 $50\mu\text{g}/\text{culture}$ の蛋白量に相当する甲状腺抗原とともに、2mlの培養液 (「マクロファージ・リンパ球ロゼット形成試験」¹⁾において用いた培養液と同一組成) にて 37°C 、6日間の静置培養を行った。

3. c-AMP assay および成績判定法

正常ヒト甲状腺スライスを用いた c-AMP assay は、原則として Onaya ら²⁾の方法に準じた。なお、著者は Knox ら⁶⁾により開発された方法を用い、冷凍保存後の甲状腺組織を c-AMP 測定用の甲状腺スライスとして使用した。すなわち、手術時に採取した単純性結節性甲状腺腫の周囲正常甲状腺組織を、Table 1に示すような方法で準備し、使用直前まで -70°C に冷凍保存した。使用時、 37°C にインキュベートし、急速に解凍後、 4°C の生食水で2回洗浄後、Krebs-Ringer bicarbonate buffer (KRB buffer, pH 7.4) 内で、薄層 (0.5~1.0mm) の小組織片を作製し、それらを KRB buffer のもとで、 37°C 、30分間 incubate した。

Table 1. Procedures of thyroid tissue cryo-preservation

1. Washing thyroid tissues in sterile physiological saline at 4°C .
2. Mincing into small pieces with a pair of sharp scissors after trimming of adipose and connective tissues on ice.
3. Weighing out and deviding equally into groups of 100 to 150 mg tissues.
4. Placing into chilled autoanalyser cups containing 2 ml of 15% glycerol in saline.
5. Placing immediately into a liquid nitrogen freezer (-196°C) for 15~20 seconds.
6. Storing aliquots at -70°C until used.

Preincubation 後、滅菌試験管内に 15mg ずつ小組織片を詰め、培養液 1ml および 10^{-8}M テオフィリンを加え、更に 2ml のリンパ球培養上清を添加後、

95% O₂, 5% CO₂ の持続性混合ガスのもとで, 37°C, 30分間の培養を行った。培養終了後, 6% トリクロール酢酸 0.5ml にて組織をホモジェナイズし, 更に 2,000g, 15分間遠沈後, 上清を凍結乾燥して得られた抽出物質を, c-AMP radioimmunoassay (Schwarz/Mann, New York) に用いた。

この方法によって測定された単位組織湿重量当りの c-AMP 量 (picomoles c-AMP/mg wet weight of thyroid tissue) は % basal c-AMP 値, すなわち,

$$\frac{\text{リンパ球培養上清添加時の c-AMP 量} \times 100}{\text{リンパ球培養上清非添加時の c-AMP 量 (basal level)}}$$

で表現し, この値について推計学的分析を行った。また各々のアッセイ系毎に, 冷凍保存甲状腺組織の反応性を確認する目的で, bovine TSH (5 mU および

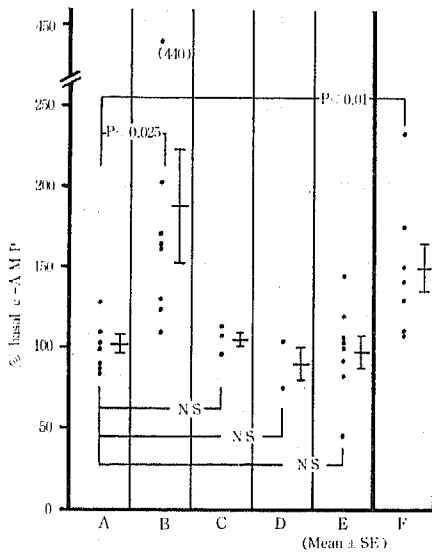


Fig. 1. Comparison of the *in vitro* production of hTSAbs by lymphocytes from patients with Graves' disease and other thyroid diseases.

- A. Healthy controls
- B. Graves' disease
- C. Chronic thyroiditis
- D. Toxic adenoma
- E. Graves' disease (without antigen)
- F. TSH (10 mU/ml)

10 mU, THYROTRON, Canada) による positive control 群を設けた (Fig. 1F, 6G)。

実験B.

1. 抗原分画 (subcellular fractions) の精製

著者は, 800 g pellet, 50,000 g pellet, 105,000 g pellet およびサイログロブリンの4種類の比較的高い抗原分画を用いた。正常甲状腺組織からの各分画の精製操作は, 前3者については, DeRobertisら⁷⁾, および Kamath と Robin⁸⁾ の超遠心分画法で (Fig. 2), またサイログロブリン分画については, Van Herle ら⁹⁾ の Sephadex gel filtration 法に従って行った。

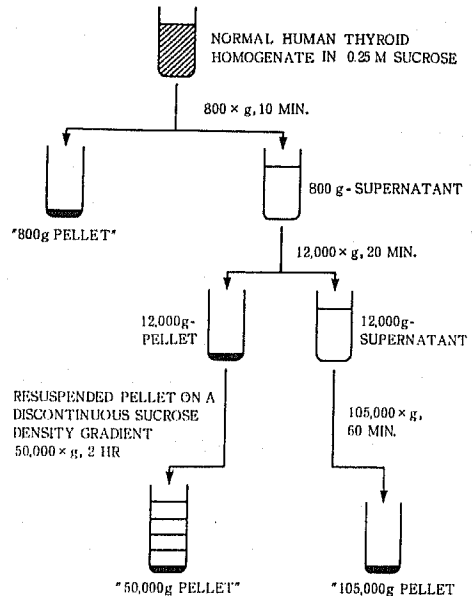


Fig. 2. Purification of thyroid fractions

a. 800 g pellet 分画

1.5 g (湿重量) の甲状腺組織を, 10ml の 0.25M しよ糖内でホモジェナイズ後, 800 g, 10分間遠沈し, その上清を除き, 沈渣 (pellet) を 0.25M しよ糖で洗ったあと, 再度 800 g で遠沈した沈渣を, 800 g pellet 分画として用いた。

b. 50,000 g pellet 分画

800 g pellet 分画を作製の際に得られたすべての遠沈上清を混合し, まず 12,000 g で20分間遠沈した。この操作によって得られた上清は, 次の 105,000 g pellet 分画のために別の容器に保存し, 沈渣は 0.25 M しよ糖で一回洗い, 得られた沈渣を 0.25M しよ糖

内に浮遊させたあと、不連続しよ糖密度勾配溶液上に静かに重層し、50,000 g, 2時間超遠心分離を行った。この操作により、遠心管の底部に集積した沈渣のみを、50,000 g pellet 分画として使用した。

c. 105,000 g pellet 分画

50,000 g pellet 分画採取の際に得られた上清を、105,000 g, 60分間超遠心し、その沈渣を0.25M しよ糖にて洗浄 (soluble protein を除去するため) 後、0.25M しよ糖に再浮遊したものを、105,000 g pellet 分画として用いた。

なお、前述の3分画は蒸留水にて24時間透析後、ただちに凍結乾燥粉末として、 -20°C で保存した。

d. サイログロブリン分画

甲状腺組織をホモジェナイズ後、1,000 g, 10分間遠沈し、その上清を2.5×4.0cmのSephadex G-200 column (Pharmacia, Canada) を用い、phosphate-chloride buffer (0.1 M KCl, 0.02 M phosphate, 0.02 % sodium azide, pH 7.2) にて溶出操作を行った。この溶出分画は、U. V. spectrophotometer (Beckman), 波長280nmで蛋白濃度を比色定量後、3つの分画に分け、蒸留水で24時間透析後、凍結乾燥粉末とした。次にこれらの各分画の抗原性について、サイログロブリン抗体強陽性血清を用い、Ouchterlony 法¹⁰で検討した結果、分画Iが明らかな沈降線を描いたので、この分画について、再度Sephadex G-200 gel filtration による溶出操作を行った。次いで、得られた溶出分画について再びOuchterlony 法¹⁰による検討を行い、最も強い沈降反応を示した分画成分を、高純度の精製サイログロブリン分画として用いた。なお、各抗原分画の蛋白濃度は、Lowry 法¹¹の方法で測定した。

2. リンパ球分離・培養ならびに c-AMP assay

被験者からの末梢リンパ球の分離・培養、ならびにヒト甲状腺組織内における c-AMP 測定は Fig. 3, 4 に示すような方法で行った。なお、対照の健康成人6例においては、後述する理由から、50,000 g pellet 分画についてのみ、hTSAb の産生を検討した。

3. TSH radioreceptor assay

50,000 g pellet 分画に対する標識 TSH (^{125}I -TSH) の特異的結合 (specific binding), ならびに非標識標準 TSH による ^{125}I -TSH の displacement を検討する目的で、O'Donnell 法¹²の方法を用いて、radio-receptor assay を施行した。なお、50,000 g pellet

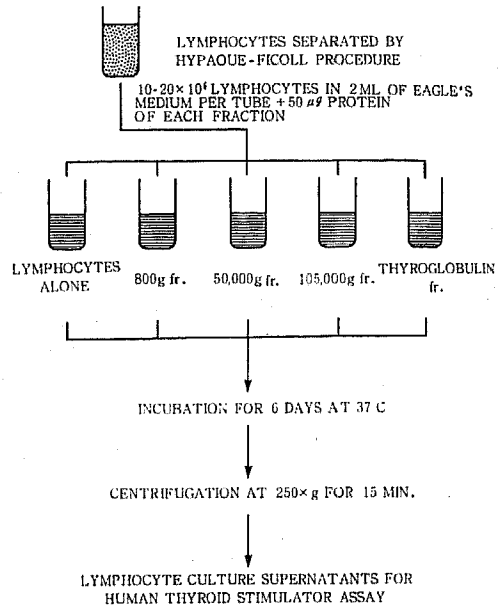


Fig. 3. Lymphocyte cultures

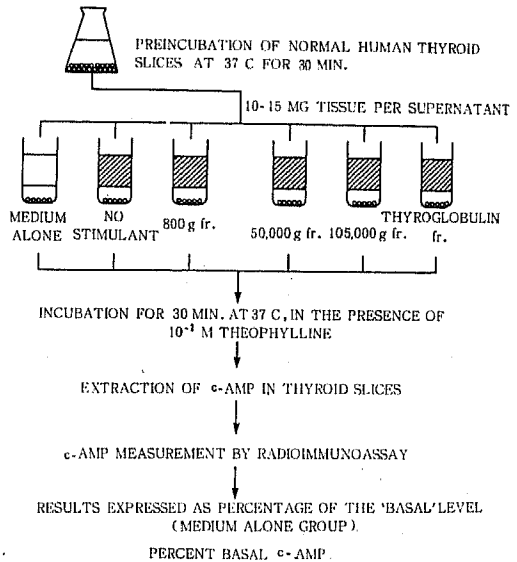


Fig. 4. Human thyroid stimulator assay

分画の比較対照として、ヒト甲状腺粗細胞膜 (crude human thyroid membrane) を使用した。方法は、各濃度に調整した標準 bovine TSH に、25mg 当量の 50,000 g pellet 分画、あるいは粗細胞膜をそれぞれ添加し、 37°C 、10分間培養後、更に lactoperoxidase 法により標識した高純度の bovine TSH (Dr. Pierce

より提供) 75 μ l を加えてよく混和し, 37°C, 60分間の培養を継続した。培養終了後, 20,000 g, 30分間の遠沈を行い, 上清を吸引し, ガンマーカウンターにて沈渣の放射能 (counts per minute ; c. p. m.) を測定した。50,000 g pellet 分画ならびに粗細胞膜における各標準 TSH 濃度の % bound を算定し, displacement curve (Fig. 5) を作製した。

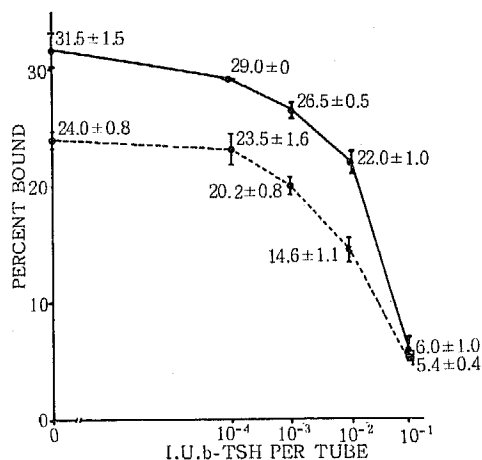


Fig. 5. A typical ¹²⁵I-TSH displacement curve obtained employing crude "thyroid plasma membranes" (dotted line) and the "50,000 g pellet" fraction (solid line) in the radioligand receptor assay.

4. 電子顕微鏡観察

50,000 g pellet 分画精製直後の新鮮な材料を, 2.5 % glutaraldehyde (pH 7.4) で固定した後, 切片標本を電子顕微鏡観察に供した。

IV 成績

実験A.

1. 健康人

甲状腺粗抽出抗原とともに培養した対照の健康成人7例における hTSAb の産生は, Fig. 1 A に示すように, 1例を除き他の6例はいずれも低い % basal 値を示し, その平均は 100.4 ± 5.4% (mean ± S. E.) であった。

2. バセドウ病症例

未治療患者8例の % basal 値は, 1例が異常高値(440%)を示し, 更に残りの7症例も % basal 値は100%以上であり, 平均値は 187.3 ± 35.1% であった。これは, 対照の健康成人と比較すると, P < 0.025

で推計学的に有意差を認めた (Fig. 1 B)。なお, 同一症例のリンパ球による抗原無添加時の hTSAb 産生について検討した結果, % basal 値は46%から144%にわたっており, その平均は 98.8 ± 9.4% で, 健康成人と比較し, 有意差を認めなかった (Fig. 1 E)。

3. 慢性甲状腺炎症例

3例の本疾患における % basal 値は, 96%から113%の範囲にわたっており, その平均値は 105.3 ± 3.3% で, 健康成人のそれと比較し, 有意差を認めなかった (Fig. 1 C)。

4. 甲状腺中毒性腺腫 (toxic adenoma) 症例

わずか2例であるが, % basal 値の平均値は 86.5 ± 10.0% で対照の健康成人と比較し, 有意差を認めなかった (Fig. 1 D)。

実験B.

1. 抗原無添加時のバセドウ病リンパ球による hTSAb 産生

未治療のバセドウ病患者10例の抗原無添加時における hTSAb 産生について検討した結果, % basal c-AMP は53%から124%の範囲にわたっており, その平均は 102.3 ± 6.1% であった (Fig. 6 A)。

2. 800 g pellet 分画添加時のバセドウ病リンパ球による hTSAb 産生

対象バセドウ病患者6例のうち, 5例の % basal 値は100%以下であり, 全体の平均値は 95.8 ± 7.7% であった。これは抗原無添加時の値と比較し, 有意差は全く認められなかった (Fig. 6 B)。

3. 50,000 g pellet 分画添加時のバセドウ病リンパ球による hTSAb 産生

Fig. 6 C に示されるように, 15例のバセドウ病患者のうち, 半数以上に著明な hTSAb 産生を認めた。各 % basal 値は, 63%から181%にわたっており, これは抗原無添加時の値と比較し, P < 0.01 で推計学的に有意差を認めた。

4. 105,000 g pellet 分画添加時のバセドウ病リンパ球による hTSAb 産生

対象バセドウ病患者10例のうち, 数例に中等度の hTSAb 産生を認めたが, 全体の平均は 103.4 ± 11.8% であり, 抗原無添加時の平均値と比べ, 有意差は認められなかった (Fig. 6 D)。

5. サイログロブリン分画添加時のバセドウ病リンパ球による hTSAb 産生

Fig. 6 E に見られるように, サイログロブリン添加においても, 105,000 g pellet 分画の場合と同様

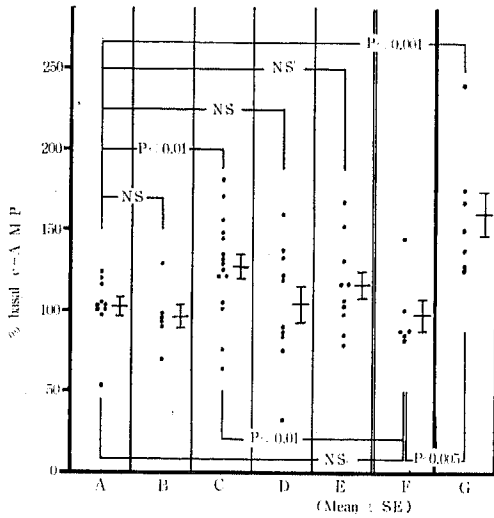


Fig. 6. Comparison of the *in vitro* production of hTSAb by Graves' lymphocytes cultured with and without highly purified various thyroid subcellular fractions.

- A. Graves' lymphocytes without antigen
- B. Graves' lymphocytes with 800 g pellet fraction
- C. Graves' lymphocytes with 50,000 g pellet fraction
- D. Graves' lymphocytes with 105,000 g pellet fraction
- E. Graves' lymphocytes with thyroglobulin
- F. Healthy subjects lymphocytes with 50,000 g fraction
- G. TSH (10^{-6} mU/ml)

に、数例に中等度 hTSAb 産生を認めたが、その平均値は $115.4 \pm 8.8\%$ で、この分画においても、抗原無添加時と比較し有意差を認めなかった。

6. 50,000 g pellet 分画添加時の健康成人リンパ球による hTSAb 産生

4 種類の精製抗原分画を用いて、バセドウ病患者のリンパ球による hTSAb 産生を検討した結果、50,000 g pellet 分画においてのみ有意差を認めたので、この分画を使用し、健康成人のリンパ球による hTSAb 産生について検討した。その結果、6 例中 1 例にのみ高い % basal 値 (144%) を認めたが、全体の平均値は $97.6 \pm 9.6\%$ で、これは 50,000 g pellet 分画添加時のバセドウ病リンパ球による hTSAb 産生の平均値と比較し、 $P < 0.01$ で明らかな有意差を示した。しかし、抗原無添加時のバセドウ病リンパ球の % basal 平均値との間には有意差を認めなかった (Fig. 6 F)。

7. ^{125}I -TSH binding および displacement

hTSAb 産生が最も強く認められた 50,000 g pellet 分画に、甲状腺濾胞上皮細胞膜が含有されているか否かを明らかにする目的で本試験を行った結果、Fig. 5 にみられるように、50,000 g pellet 分画を用いた際にも、粗細胞膜使用時と極めて類似の典型的な displacement curve が得られた。更にこの二つの曲線の zero-binding 値においては、細胞膜使用の場合よりも、50,000 g pellet 分画使用時の方が高値を示したことより、この分画には、より純度の高い多量の甲状腺濾胞上皮細胞膜の存在することが判った。

8. 50,000 g pellet 分画の電子顕微鏡所見

次いで、50,000 g pellet 分画における細胞膜の有

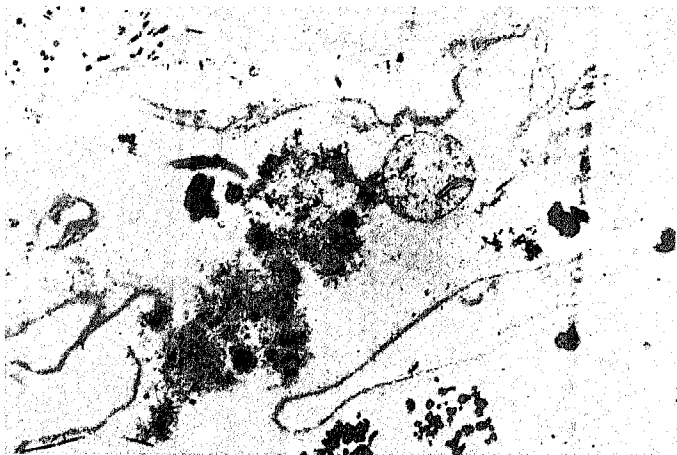


Fig. 7. Electronmicrograph of the "50,000 g pellet" fraction showing thyroid plasma membranes. (Magnification $\times 20,000$)

無を、形態学的に調べた結果、Fig. 7 にみられるように、この分画には明らかに甲状腺濾胞上皮細胞膜が多量に含有されていた。

V 考 察

1976年、Knox らは、バセドウ病患者の末梢リンパ球を、PHA¹³⁾ならびにヒト甲状腺の粗抽出抗原⁴⁾と共に *in vitro* で培養したあとの培養上清を用いて、ヒト甲状腺組織内における c-AMP の産生増加を指標として、甲状腺刺激活性を追究した結果、本症患者の末梢リンパ球より、ヒト甲状腺刺激物質が産生されることを報告した。更に、彼らは抗ヒトガンマーグロブリンヒツジ血清を用いて、この刺激物質の生物学的活性を調べたところ、抗血清添加により刺激活性が失われたことから、この物質は抗原刺激によって感作リンパ球より産生・放出された免疫グロブリン、すなわち、human thyroid-stimulating immunoglobulin であると推論した。

そこで、著者は彼らの方法に準拠し、各種甲状腺疾患における hTSAb の産生を比較検討した。その結果、甲状腺粗抽出抗原によって活性化されたバセドウ病患者由来のリンパ球からは、ヒト甲状腺を刺激する物質が産生されることを確認した。しかし、健康成人および他の甲状腺疾患群では、このような異常刺激物質の産生はみられなかった。ことに、代表的な自己免疫疾患の一つと考えられている慢性甲状腺炎において、甲状腺刺激物質の産生は認められなかったことは注目し得る。またバセドウ病と類似の甲状腺機能亢進症を示す中毒性腺腫 (toxic adenoma) 患者においても同様であった。この事実は、バセドウ病の成因を甲状腺刺激自己抗体依存性の自己免疫疾患の立場から説明する上に重要なことと思われる。

近年、バセドウ病における hTSAb 産生を起こす自己抗原が、濾胞上皮細胞膜に存在すると報告されている¹⁴⁾。そこで著者は、正常ヒト甲状腺組織の 800 g pellet, 50,000 g pellet, 105,000 g pellet およびサイログロブリンの 4 種類の精製分画を用い、これらの各分画とバセドウ病患者由来のリンパ球との混合培養上清によるヒト甲状腺組織内の adenylylase-cyclic AMP 系の刺激活性を指標として、hTSAb の対応抗原の分析を試みた。その結果、上記の 4 種類の抗原分画のうち、50,000 g pellet 分画によってのみ c-AMP 産生の有意の増加が認められた。この事実は、バセドウ病患者の感作リンパ球から、hTSAb の

産生および分泌を最も強く促す抗原成分が、50,000 g pellet 分画の中に存在する可能性を示唆している。なお健康成人のリンパ球と、50,000 g pellet 分画との混合培養上清には、hTSAb 産生は認められなかった事実も上述の推論を支持する。

著者は、精製抗原分画を作製するにあたり、すでに確立されている“シヤ糖密度勾配超遠沈法”および“カラムゲル濾過法”を使用した¹⁵⁾が、これらの方法によっても、得られた各分画が完全に純化されたものであるとは断定できなかった。105,000 g pellet 分画やサイログロブリン分画とリンパ球とを混合培養した際、少数例に hTSAb 産生が認められたことは、恐らくこのためと考えられる。

現在までに、幾多の研究者^{15)~23)}により甲状腺刺激抗体 (LATS も含む) の産生を促す抗原分画に関して種々報告されているが、真の抗原成分については、まだ不明である。彼らは主に McKenzie の方法²⁴⁾を用い、各分画に対する LATS-absorbing activity (LAA) を検討している。この方法による成績では、甲状腺組織の顆粒性分画ならびに可溶性分画の双方に LAA が認められたと報告しているが、可溶性分画にサイログロブリンが関与しているかについては、研究者によって見解が異なっている。極く最近になり、Mehdi ら²⁵⁾は、甲状腺刺激抗体の対応抗原は、甲状腺上皮細胞膜に由来し、TSH リセプターそれ自身、あるいはこのリセプターを含むやや大きな膜成分の一部であろうと主張している。

一方、著者は adenylylase-cyclic AMP 活性を指標とする実験系を用い、抗原として最も強い抗体産生能を示した 50,000 g pellet 分画には、多量の濾胞上皮細胞膜が存在することを機能的 (TSH-binding ならびに displacement) および形態学的方法により証明した。

以上の研究より、バセドウ病患者の末梢リンパ球からは、甲状腺刺激抗体が生成・分泌されること、更にこのような自己免疫現象を惹起する際に必要な抗原成分としては、濾胞上皮細胞膜成分が最も重要であると推測されよう。そこで今後の研究課題としては、より高度に精製純化された膜抗原分画成分を用い、抗原分析に関して多方面からの相互検討が必要であろう。また免疫遺伝学的方法を用い、自己の甲状腺組織成分に対する異常感作リンパ球の出現機序や、種々の治療により治癒したと思われる症例における免疫異常の寛解の誘導機序 (suppressor T リンパ球の機能回復) を

解明することは、バセドウ病の病因究明に役立つであろう。

Ⅶ 結 論

著者は、バセドウ病における自己免疫現象の関与について、ヒト甲状腺刺激抗体 (hTSAb) の産生ならびに自己抗体産生に必要な抗原分析の立場より検討を加え、次のような結論を得た。

1. 甲状腺粗抽出抗原刺激による末梢リンパ球の *in vitro* における hTSAb 産生 (% basal c-AMP) の平均値および標準誤差は、健康成人では $100.4 \pm 5.7\%$ 、バセドウ病患者では $187.3 \pm 35.1\%$ 、慢性甲状腺炎患者では $105.3 \pm 4.3\%$ 、中毒性腺腫症例では $89.5 \pm 10.0\%$ であった。すなわち、バセドウ病患者のリンパ球においてのみ hTSAb 産生が認められた。

2. バセドウ病患者の末梢リンパ球による、各種精製甲状腺抗原分画に対する hTSAb 産生能 (% basal c-AMP) の平均値および標準誤差は、抗原無添加群 $102.3 \pm 6.1\%$ 、800 g pellet 分画添加群 $95.8 \pm 7.7\%$ 、50,000 g pellet 分画添加群 $127.0 \pm 8.2\%$ 、105,000 g pellet 分画添加群 $103.4 \pm 11.8\%$ 、サイログロブリン添加群 $115.4 \pm 8.8\%$ であった。更に 50,000 g pellet 分画には、甲状腺濾胞上皮細胞膜成分が多量に存在することが、機能的ならびに形態学的観察により確認された。なお、健康成人のリンパ球による 50,000 g pellet 分画に対する hTSAb 産生能は $97.6 \pm 9.6\%$ であった。すなわち、甲状腺の 50,000 g pellet を抗原とした場合のみ hTSAb 産生が有意に認められたことより、濾胞上皮細胞膜成分を多量に含有するこの分画に、hTSAb に対する抗原成分が存在すると推定される。

3. 以上の成績を総括すると、バセドウ病患者のリンパ球から、甲状腺濾胞上皮細胞膜成分の抗原刺激によって、ヒト甲状腺を刺激する自己抗体が産生されることが認められた。この事実は、バセドウ病の病因として、自己免疫機序の関与する可能性が極めて強いことを示すものである。

本研究の要旨は、第78回 (1978年4月) 日本外科学会総会、第26回 (1978年9月) 日本内分泌学会東部々会総会ならびに 6th Asia and Oceania Congress of Endocrinology (1978年1月, Singapore) において発表した。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲をいただいた降旗力男教授に深甚の謝意を表します。なお、

本研究は Endocrine Research Laboratory, The Wellesley Hospital and Department of Medicine, University of Toronto, Canada にてなされ、御指導を賜った Dr. Robert Volpé ならびに Mr. Vas V. Row, M. A., M. Sc. に深謝致します。

文 献

- 菅谷 昭: バセドウ病における免疫学的研究, 第1篇 甲状腺抗原に対する細胞性免疫の検討. 信州医誌, 27: 400-418, 1979
- Onaya, T., Kotani, M., Yamada, T. and Ochi, Y.: New *in vitro* test to detect the thyroid stimulation in sera from hyperthyroid patients by measuring colloid droplet formation and cyclic AMP in human thyroid slices. J. clin. Endocr., 36: 859-866, 1973
- Smith, B. R. and Hall, R.: Thyroid-stimulating immunoglobulins in Graves' disease. Lancet, ii: 427-431, 1974
- Knox, A. J. S., von Westarp, C., Row, V. V. and Volpé, R.: Thyroid antigen stimulates lymphocytes from patients with Graves' disease to produce thyroid-stimulating immunoglobulin (TSI). J. clin. Endocr., 43: 330-337, 1976
- Böyum, A.: Separation of leukocytes from blood and bone marrow. Scand. J. clin. Lab. Invest., 21, supplement 97, 1968
- Knox, A. J. S., von Westarp, C., Row, V. V. and Volpé, R.: The use of cryopreserved human thyroid tissue for the *in vitro* assay of thyroid stimulators. Cryobiology, 14: 543-548, 1977
- DeRobertis, E., Pellegrino de Iraldi, A., Rodriguez de Lores Arnaiz, G. and Salganicoff, L.: Cholinergic and non-cholinergic nerve endings in rat brain-I. J. Neurochem., 9: 23-35, 1971
- Kamath, S. A. and Rubin, E.: Interaction of calcium with microsomes: a modified method for the rapid isolation of rat liver microsomes. Biochem. biophys. Res. Commun., 49: 52-59, 1972

- 9) Van Herle, A. J., Uller, R. P., Matthews, N. L. and Brown, J. : Radioimmunoassay for measurement of thyroglobulin in human serum. *J. clin. Invest.*, 52 : 1320-1327, 1973
- 10) Ouchterlony, O. : Handbook of Immunodiffusion and Immunoelectrophoresis, 1st ed., p. 21., Ann Arbor Science Publishers Inc., Ann Arbor, Michigan, 1968
- 11) Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, L. L. : Protein measurements with the Folin phenol reagent. *J. biol. Chem.*, 193 : 265-275, 1951
- 12) O'Donnel, J., Silverberg, J., Trokoudes, K., Row, V. V. and Volpé, R. : Thyrotropin displacement activity of serum immunoglobulins from patients with Graves' disease. *J. clin. Endocr.*, 46 : 770-777, 1978
- 13) Knox, A. J. S., von Westarp, C., Row, V. V. and Volpé, R. : Demonstration of the production of human thyroid-stimulating immunoglobulins (HTSI) by Graves' lymphocytes cultured *in vitro* with phytohaemagglutinin (PHA). *Metabolism*, 25 : 1217-1223, 1976
- 14) Volpé, R. : The pathogenesis of Graves' disease : An overview. *Clinics in Endocrinology and Metabolism*, 7 : 3-29, 1978
- 15) Beall, G. N. and Solomon, D. H. : Inhibition of long-acting thyroid stimulator by thyroid particulate fractions. *J. clin. Invest.*, 55 : 552-561, 1966
- 16) Berumen, F. O., Lobsenz, I. L. and Utiger, R. D. : Neutralization of the long-acting thyroid stimulator by thyroid subcellular fractions. *J. Lab. clin. Med.*, 70 : 640-649, 1967
- 17) Beall, G., Doniach, D., Roitt, I. and El Kabir, D. : Inhibition of the long-acting thyroid stimulator (LATS) by soluble thyroid fractions. *J. Lab. clin. Med.*, 73 : 988-999, 1969
- 18) Benhamou-Glynn, N., El Kabir, D. J., Roitt, I. M. and Doniach, D. : Studies on the antigen reacting with the thyroid-stimulating immunoglobulin (LATS) in thyrotoxicosis. *Immunology*, 16 : 187-204, 1969
- 19) Smith, B. R. : The interaction of the long-acting thyroid stimulator (LATS) with thyroid tissue *in vitro*. *J. Endocr.*, 46 : 45-54, 1970
- 20) Smith, B. R. and Munro, D. S. : The nature of the interaction between thyroid stimulating gamma G-globulin (long-acting thyroid stimulator) and thyroid tissue. *Biochim. biophys. Acta.*, 208 : 285-293, 1970
- 21) Chopra, I. J., Beall, G. N. and Solomon, D. H. : LATS inhibition by a soluble lipoprotein from human thyroid. *J. clin. Endocr.*, 32 : 771-778, 1971
- 22) Sato, S., Noguchi, S. and Noguchi, A. : Purification and characterization of long-acting thyroid stimulator inhibiting factor from human thyroid tissues. *Biochim. biophys. Acta*, 273 : 299-307, 1972
- 23) Dirmikis, S. and Munro, D. S. : Comparative studies on the reduction of the response to the long-acting thyroid stimulator by soluble fractions from human, ovine, bovine and porcine thyroids. *J. Endocr.*, 59 : 579-592, 1973
- 24) McKenzie, J. M. : Fractionation of plasma long-acting thyroid stimulator. *J. biol. Chem.*, 237 : 3751-3752, 1962
- 25) Mehdi, S. Q., Badger, J. and Kriss, J. P. : Thyrotropin binding and long acting thyroid stimulator absorbing activities in subcellular fractions from isolated thyroid cells and thyroid homogenates. *Endocrinology*, 101 : 59-65, 1977

(54. 4. 10 受稿)