

学 位 論 文 題 名

小児期バセドウ病における TSH 受容体抗体に関する研究

- 第 1 編 ラット甲状腺培養細胞を用いた
甲状腺刺激抗体測定法の基礎的検討 —
- 第 2 編 抗甲状腺剤治療による変動と臨床的意義の検討 —

学位論文内容の要旨

I 研究目的

バセドウ病は、その患者血中に異常甲状腺刺激物質が発見されて以来、この刺激物質の解明を中心に病因・病態の研究が行われている。この刺激物質は当初、マウスを用いた生物学的活性として測定され、long-acting thyroid stimulator と呼ばれたが、未治療バセドウ病の約50%に検出されるに過ぎなかった。その後、ヒト甲状腺細胞を用いた高感度甲状腺刺激抗体 (thyroid-stimulating antibodies, TSAb) 活性測定法が開発され、未治療バセドウ病の93%に検出されるようになり、病因としての意義が広く認められるに至った。一方、バセドウ病患者の免疫グロブリン (Ig) が、甲状腺刺激ホルモン (TSH) のヒト甲状腺細胞粗膜分画への結合を阻害することが明らかにされ、TSH 結合阻害性抗体 (TSH-binding inhibitor immunoglobulins, TBII) として現在 radioreceptor assay により測定されている。その後の研究から TSAb, TBII は甲状腺濾胞細胞膜上の TSH 受容体に対する自己抗体、すなわち TSH 受容体抗体 (TSH-receptor antibodies, TRAb) と考えられるに至っている。バセドウ病の病態を検討する上で TRAb の重要性が明らかとなり、特に成人領域のバセドウ病患者においては治療中止、再発予測の指標としてその有用性が報告されている。しかし、小児期バセドウ病では、TRAb 活性測定系の感度が十分ではなかったことから、多数例での検討は行われていなかった。

著者は、小児期バセドウ病での TRAb の臨床的意義を検討するために、現在最も感度が良好とされるラット甲状腺培養細胞 (FRTL-5 細胞) を用いた TSAb 活性測定法を確立した。更に、小児期発症バセドウ病128例について各病期で TSAb, TBII 活性を測定し、それぞれの病態との関係について解析を行った。

II 対象と方法

1. 対象：北海道大学医学部附属病院小児科及び道内関連病院小児内分泌外来で、1981年4月から1990年3月までの9年間に経験した18歳以下発症の小児期バセドウ病患児128例を対象とした。

2. 治療中止基準：維持量の抗甲状腺剤での治療により、血中甲状腺ホルモン値が1年以上正常範囲に保たれている症例について、triiodothyronine (T_3) 抑制試験を行った。 T_3 抑制試験は抗甲状腺剤服用下に、 $L-T_3 75\mu g/day$ 7日間服用後の ^{123}I 甲状腺摂取率の測定を行って、3時間摂取率が10%以下の場合、治療を中止した。10~15%以下の場合、一時治療を中止して1カ月後に thyrotropin-releasing hormone 試験を行い、TSHの反応性が回復した症例で引続き治療中止とした。

III TRAb 活性測定法

1) TSAb 活性測定：患者血清からポリエチレングリコールで抽出した粗グロブリン分画をFRTL-5細胞に反応させ、培養上清中に放出された cyclic adenosine 3', 5' - monophosphate (cAMP)を測定し、このcAMP産生能をTSAb活性とした。標準物質としてウシTSH(bTSH)を用いた用量反応曲線を作成し、患者血清粗グロブリン分画のTSAb活性をこの曲線より読み取り、bTSH当量として表現した。基礎的検討として、bTSHによる標準曲線の再現性を検討したところ、0, 0.1, 1, 10, 100 $\mu U/ml$ 各濃度での測定内変動係数はそれぞれ16.1, 15.0, 16.8, 13.6, 11.5%であった。また日差間測定での変動係数はそれぞれ17.2, 25.9, 29.0, 24.9, 11.8%であった。健常成人30名でのTSAb活性を測定したところ、その平均+2SDは0.1 $\mu U/ml$ bTSH当量未満であったので、以下の検討では0.1 $\mu U/ml$ bTSH当量以上を陽性と判定した。

2) TBII 活性測定：患者血清による可溶化ブタ甲状腺膜TSH受容体への、 ^{125}I 標識TSH結合阻害活性を測定した。正常対照小児123名のTBII活性の平均 $\pm 2SD$ は $-0.36 \pm 9.06\%$ であり、8.7%を超えた場合陽性と判定した。

III 結 果

1. バセドウ病発症時におけるTRAb活性と甲状腺機能

小児期バセドウ病患児の未治療時血清のTRAb活性は、それぞれTSAb 50例中50例(100%)、TBII 51例中49例(96.1%)で陽性であった。TSAb, TBII活性を未治療時の同一血清で測定し

た46例では、両者に $r = 0.342$ と有意 ($p < 0.05$) な正の相関を認めた。この46例中20例は今回の観察期間内に治療を中止した。この20例をその予後により「寛解群」13例、「再発群」7例に分け、その未治療時の TRAb 活性と甲状腺機能を比較検討した。寛解群で thyroxine (T_4) 値が有意に低値であったが、TRAb 活性には有意差がみられなかった。

2. 治療中の TRAb の変動

TBII 値を未治療時から経時的に測定した23例で、甲状腺機能正常化から TBII 値正常化までの期間とその予後を検討した。寛解群は比較的早期に正常化した。再発群には6カ月以内の正常化者はなく、 T_3 抑制試験陰性群あるいは抑制試験未施行群は正常化が2年以上かかるものが多く見られた。

3. 治療中止基準と TRAb

T_3 抑制試験を99例の患児に施行し、治療中止基準により66例(66.7%)の治療を中止した。TSAb・TBII いずれかが陽性であると52例中22例(42.3%)が抑制試験陰性、両活性共に陰性であると24例中18例(75.0%)が抑制試験陽性であった。

4. 寛解・再発と TRAb

治療を中止したのべ66例中寛解群は28例(42.4%)、再発群は27例(40.9%)、治療中止1年以上以降の再発群は8例、予後不明3例であった。 T_3 抑制試験時に、TSAb・TBII いずれかが陽性であると28例中12例(42.9%)が再発した。TBII 陰性で21例中13例(61.9%)が寛解、TSAb 陰性で20例中15例(75.0%)が寛解、両活性陰性であると11例中8例(72.7%)が寛解していた。治療中止時の TRAb 値は TSAb・TBII 共に寛解群で低値であったが、いずれも有意差は認めなかった。

IV 要 約

小児期バセドウ病128例の未治療時甲状腺機能及び抗甲状腺剤治療中の臨床経過と、TSH 受容体抗体活性についてその関連を検討し、次の結論を得た。

1. 未治療時血清の TSAb は50例中50例(100%)、TBII は51例中49例(96.1%)で陽性であり、小児期バセドウ病の発症に TRAb が関与していることが明らかとなった。
2. 抗甲状腺剤治療で甲状腺機能が正常化した後、6カ月以内に TBII が陰性化した症例は寛解する症例が多く、24カ月以上陰性化しない症例は薬物治療で寛解させるのは困難であった。
3. T_3 試験陽性を治療中止の基準とすると、TRAb 陽性者52例中30例、陰性者24例中18例がこの基準に達していた。

4. この検討期間中に中止の基準に達した66例の予後は、寛解28例、再発27例、1年以降の再発8例、予後不明3例で、寛解率42.4%であった。

5. T₃抑制試験、TRAb活性と寛解の関係を検討すると、抑制試験陽性でTBII陰性の61.9%、TRAb陰性の75.0%、両者陰性の72.7%が寛解し、寛解予知の単独の指標としてはTSAbが優れていた。成人のバセドウ病治療・管理の指標として利用されるTSAb測定は小児期バセドウ病の治療中止・寛解予知の指標としても有用であることが明らかになった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 松 本 脩 三
副 査 教 授 古 舘 正 從
副 査 教 授 小 林 邦 彦

バセドウ病は眼球突出、頻脈、甲状腺腫を三主徴とし、甲状腺機能亢進症状を呈する疾患である。その病因として、近年、甲状腺濾胞細胞膜上の甲状腺刺激ホルモン（TSH）受容体に対する自己抗体、すなわちTSH受容体抗体（TRAb）が考えられている。現在臨床応用されているTRAb測定法は、培養甲状腺細胞のcAMP産生を指標とする甲状腺刺激抗体（TSAb）活性測定法と、標識TSHと受容体の結合阻害作用を指標とするTSH結合阻害性抗体（TBII）活性測定法に大別される。成人領域のバセドウ病では、TRAb測定を治療中止、再発予測の指標とするなど臨床応用が進められているが、小児期バセドウ病ではTRAb測定法の感度が十分ではなかったことから、多数例での検討は行われてこなかった。原田氏の今回の研究は、ラット培養甲状腺細胞（FRTL-5細胞）を用いての鋭敏なTSAb測定法の確立と、それを応用して小児のバセドウ病128例を対象に各病期におけるTRAbの推移と病態との関係を検討したものである。

TSAb活性は、患者血清の粗グロブリン分画をFRTL-5細胞に作用させ、反応液中に放出されるcAMP量から測定された。ウシTSHを標準物質として検討した際の再現性も極めて良好であった。健常成人30例のTSAbは平均+2SDが $0.1\mu\text{U}/\text{ml}$ （ウシTSH当量）未満であり、 $0.1\mu\text{U}/\text{ml}$ （ウシTSH当量）以上を陽性と判定した。また、123名の正常新生児で測定したTBII値の平均+2SD以上のものを陽性と判定した。小児期バセドウ病の未治療時血清で測定すると、TSAbは50例中50例（100%）、TBIIは51例中49例（96.1%）で陽性であり、その感

度は十分と考えられる。

次に、抗甲状腺剤による治療を中止した20例を、その予後により「寛解群」13例、「再発群」7例に分け、それぞれの未治療時の TRAb 値と甲状腺機能を比較したが、 T_4 値が寛解群で低値であった以外有意差は認められなかった。治療中の TBII と予後の関係では、甲状腺機能正常化後6カ月以内に TBII が陰性化した症例は寛解し、24カ月以上陰性化の見られない症例は、治療中止が不可能であった。 T_3 抑制試験の TRAb 陽性者52例中30例、陰性者24例中18例が抑制試験陽性であり、TRAb を測定しなかった症例も含め66例で、抑制試験陽性を基準として治療を中止した。その中で、寛解28例、再発27例、治療中止1年以上以降の再発8例、予後不明3例、寛解群42.4%であった。抑制試験時の TBII 陰性の61.9%、TSAb 陰性の75.0%、両者陰性の72.7%に寛解を認め、寛解予知単独の指標としては TSAb が最も優れていた。

以上のように原田氏の研究によって、成人バセドウ病と同様に、小児のそれに於いてもその発症に TRAb が関与していること、TRAb の変動によって抗甲状腺剤治療の効果が予測できること、治療中止の基準として TRAb 陰性化が指標として最も妥当と考えられることが、多数例の検討で今回明らかにされた。このことは小児バセドウ病の治療上極めて有用性の高い結果を供するものであり、学位授与を値する成果と判断された。

副査の古舘教授からは、 T_3 抑制試験は抗甲状腺剤服用下に行われるのか、24時間 ^{125}I 甲状腺摂取率との比較はどうか、等の質問があり、又、小林（邦）教授からはラット甲状腺培養細胞を用いることの適否、TBII と TSAb 活性で解離がみられることの理由、バセドウ病治療にステロイド剤が適切であるか等の質問があったが、いづれに関しても正当な答えがなされたものと考えられた。