

自己免疫性甲状腺疾患における抗単球抗体の検討

産業医科大学 第一内科

是 木 一 也, 藤 平 隆 司, 白 川 文 彦
渡 辺 堅 一, 八 幡 勝 也, 江 藤 澄 哉

産業医科大学 輸血部

坂 本 久 浩

産業医科大学病院

鈴 木 秀 郎

Circulating Monocyte (Macrophage)-Specific Antibodies in Patients with Autoimmune Thyroid Diseases

**Kazuya ZEKI, Takashi FUJIHIRA, Fumihiko SHIRAKAWA,
Kenichi WATANABE, Katsuya YAHATA, Sumiya ETO,
Hisahiro SAKAMOTO* and Hidero SUZUKI****

The First Department of Internal Medicine, School of Medicine,
University of Occupational and Environmental Health

*Blood Transfusion Service, Hospital of University of Occupational and Environmental Health

**Hospital of University of Occupational and Environmental Health

We investigated the presence of circulating monocyte-specific antibodies (monocytotoxic activities) by cytotoxicity tests and also the relationships between these monocytotoxic activities and the clinical data in autoimmune thyroid diseases.

Subjects of this investigation include 16 patients with Graves' disease, 20 patients with Hashimoto's thyroiditis and 10 normal controls. To obtain monocyte-rich population, peripheral blood mononuclear cells of type 0 healthy donor were incubated on culture dishes for 12 hours and dish adherent cells were separated by pipetting. These monocyte-rich population were incubated with sample sera which were previously absorbed by lymphocytes of many different kinds of HLA types to eliminate anti-lymphocyte antibodies, and thereafter cytotoxicity tests were performed by adding rabbit complements. The monocytotoxic activities were expressed by %cytotoxicities and the value of %cytotoxicity over 3.9% (mean + 4SD of %cytotoxicities of normal controls) was considered to be positive in monocytotoxic activity.

The results indicate that; 1) 8 patients (50%) of Graves' disease and 10 patients (50%) of Hashimoto's thyroiditis had positive values of monocytotoxic activity.

2) These positive values of monocytotoxic activity were markedly decreased after absorption of sample sera by monocytes, and these patients who had positive values of mono-

cytotoxic activities to allogenic monocytes also had positive values of monocytoxic activities to autologous monocytes.

3) Patients who had positive monocytoxic activities also had high levels of TSH receptor antibody (TRAb) and anti-microsomal antibody, besides, monocytoxic activity was significantly correlated with levels of TRAb in Graves' disease.

4) Changes of monocytoxic activities were correlated with the changes of titers of TRAb, but not with the changes of values of thyroid hormone in the clinical course of a patient with Graves' disease.

These results suggested that monocytoxic activities increased in some patients with autoimmune thyroid diseases and that the monocyte-specific antibody (monocytoxic activity) was significantly related to the immunological activity of autoimmune thyroid diseases.

緒 言

バセドウ病および橋本病は、臓器特異性自己免疫疾患の代表とされ、種々の液性免疫応答異常や細胞性免疫応答異常が存在する事が知られている¹⁴⁾。さて、抗リンパ球抗体はSLEをはじめとする全身性自己免疫疾患やウイルス感染症の患者など種々の疾患で検出されており³⁾¹³⁾、SLEでは活動性の高い症例ほど高抗体価で、治療により寛解するにつれて抗体価は減少すると報告されている¹²⁾。バセドウ病、橋本病という自己免疫性甲状腺疾患における抗リンパ球抗体についてもすでにいくつかの報告があるが、その存在は確認されているものの疾患活動性との関連やその存在意義については意見の一致をみていない⁴⁾¹⁰⁾。さらに抗単球抗体についての研究は、全身性自己免疫疾患では若干見られるものの⁸⁾⁹⁾、自己免疫性甲状腺疾患では極めて少なかった。

最近我々は活動性SLEの血中に高率に抗単球抗体が存在する事および単球のT細胞に対する補助能の低下と関連がある事を報告した¹¹⁾。そこで今回我々は、自己免疫性甲状腺疾患の患者血清中に抗単球抗体を検出し、本抗体の臨床的意義についても若干の検討を行った。

対象および方法

検討対象はバセドウ病患者16名(機能亢進8名・機能正常8名)、橋本病患者20名(機能低下12名・機能正常8名)、健常対照群10名とした。

O型健常者より得たヘパリン加末梢血よりFicoll-Conray比重遠心法により単核球を採取、これを10%FCS(GIBCO)加RPMI1640(GIBCO)に再浮遊し、FCSで処理したプラスチック製ペトリ皿(Falcon,3002:Becton-Dickinson社)に $1.0 \times 10^7 / 4\text{ml}$ となるように加え、 37°C 5% CO_2 下で12時間培養、PBSにて3回洗浄して非付着細胞を除去した後、ペトリ皿を1時間水冷し、ピペッティングにて付着細胞を浮遊せしめて回収、これを標的単球として検索に用いた。単球の純度はMay-Gruenwald染色およびPeroxidase染色によると94%以上を示し、単球の生存率はtrypan blue dye exclusionにて97%以上であった。次いでこの単球分画 $40\mu\text{l}$ ($5 \times 10^6 / \text{ml}$)をMicroplateに分注し、抗リンパ球抗体吸収後の被検血清 $40\mu\text{l}$ および10倍希釈ウサギ補体(Cedarlane Laboratories Ltd.) $40\mu\text{l}$ を加えて、 37°C にて1時間反応させ、細胞傷害性試験により% cytotoxicityを算出して、健常者のmean+4SDにあたる% cytotoxicity 3.9%以上を抗単球抗体陽性とした。% cytotoxicityはtrypan blue dye exclusionにより以下の式で算出した。

結 果

Fig. 1 に O 型健常者より得た単球に対する自己免疫性甲状腺疾患患者血清と健常対照群血清の傷害性を, 2 名の O 型健常者単球に対する傷害性の平均値をとって%で示した。健常者 2 名より得た単球のいずれに対しても, その血清が 3.9%以上の傷害性を有するのは, バセドウ病患者 16 名中 8 名 (50%), 橋本病患者 20 名中 10 名 (50%) であり, 健常対照群では認められなかった。ウサギ補体の代わりに PBS を 40 μ l 加えると単球傷害性は消失し, 抗単球抗体陽性の橋本病 1 症例では被検血清の希釈に伴い標的単球に対する %cytotoxicity は直線的な dose response curve をえがき減少した (Fig.2)。

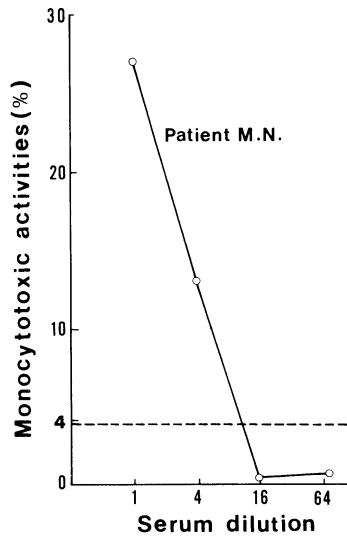


Fig. 2. Response curve of %cytotoxicity to monocyte in a patient with Hashimoto's thyroiditis.

また, この単球傷害性は被検血清に対して単球による吸収操作を加えると著明に減少し (Fig.3) 抗単球抗体陽性例は自己単球に対する細胞傷害性も有していたが (Table1), 末梢血中の単球数の減少は認めなかった。

抗単球抗体陽性例では血小板凝集法により, その血清中に免疫複合体を検出する事はできなかった。

次に, 抗単球抗体と自己免疫性甲状腺疾患の活動性との関連をみると, バセドウ病の抗単球抗体陽性例はいずれもスミスのキットで測定した TSH レセプター抗体 (TRAb) および富士レピオのキットで測定した抗マイクロゾーム抗体は強陽性であり, (Fig.4), しかも抗単球抗体陽性度と TRAb は正の相関を示した (Fig.5)。しかし富士レピオのキットで測定した抗甲状腺抗体 (サイロイド抗体, マイクロゾーム抗体) とは抗単球抗体陽性度はバセドウ病, 橋本病とも有意の相関を認めなかった。

臨床経過との関係では, 経過中再発を来したバセドウ病患者において単球傷害性は TRAb の変動に並行して変化した, 甲状腺ホルモン値の変動とは関係を認めなかった (Fig.6)。

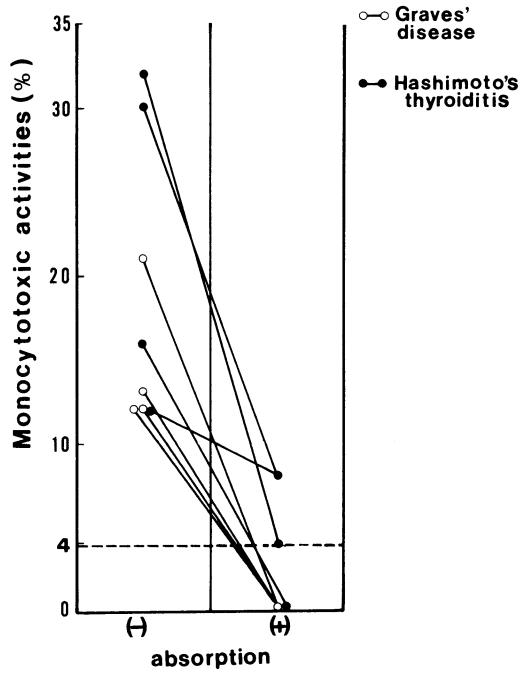


Fig. 3. Changes of monocytoxic activities after absorption by monocytes.

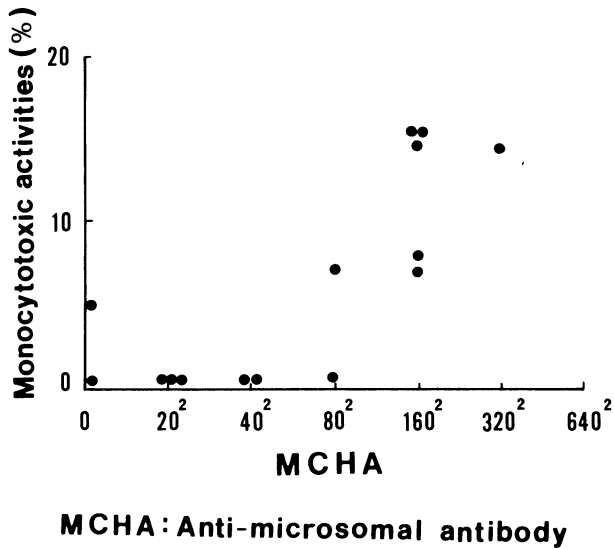


Fig. 4. Correlation between monocytoxic activities and the levels of anti-microsomal antibody in Graves' disease.

Table 1. %cytotoxicity to autologous or allogenic monocyte in autoimmune thyroid diseases.

patient	target monocytes	
	allogenic	autologous
S.M.*	12	20
A.S.*	13	27
T.F.*	13	14
T.N.**	12	64

*:Graves' disease

** :Hashimoto's thyroiditis

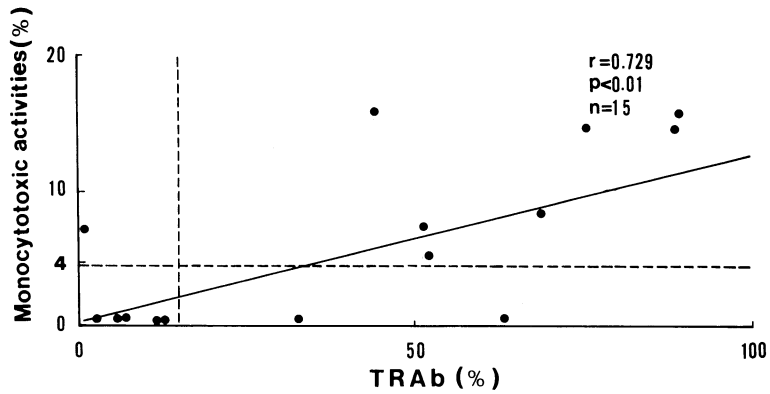


Fig. 5. Correlation between monocytotoxic activities and TRAb in Graves' disease.

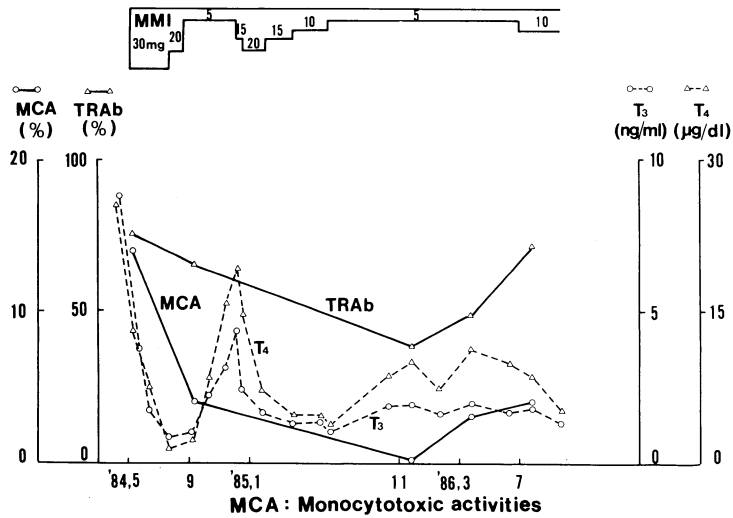


Fig. 6. Changes of monocytotoxic activities in the clinical course of a patient with Graves' disease.

考 察

従来自己免疫疾患において観察される免疫異常については、主として T 及び B リンパ球の機能面より検討がなされ、これらの細胞群の機能異常が病因論的に重視されてきたが、近年全身性自己免疫疾患の代表である SLE やその他の自己免疫疾患において、抗原提示細胞である単球(マクロファージ)や単球(マクロファージ)の産生する IL-1 が、自己免疫疾患の病態成立に重要な意味を持つと考えられるようになってきた。

最近我々は、活動性 SLE の血中で高率に抗単球抗体を検出し、これが単球の T 細胞に対する補助能の低下と関連がある事を報告した¹¹⁾。また原発性胆汁性肝硬変で認められる抗単球抗体の単球機能に及ぼす影響についても報告されたが⁷⁾、今回我々は自己免疫性甲状腺疾患においてもバセドウ病の50%、橋本病の50%に抗単球抗体が存在する事を見出した。

また、この抗単球抗体の性格については単球は健常者血清と補体で傷害性を認めないことより健常者血清中には存在しないこと、自己免疫性甲状腺疾患患者血清単独ではこの傷害性が発現しないことより補体依存性細胞傷害であることを明らかにした。次に Fig.2 に示すように抗体量を変化させて%cytotoxicity の dose response を検討した成績では血清の希釈に従い%cytotoxicity は直線的に減少し、本物質が抗体である事の傍証になると思われた。

さらに標的単球に対する傷害性が、被検血清に対して単球による吸取操作を加えると著明に減弱する事から、抗単球抗体は単球特異的であると考えられた。また抗単球抗体が自己単球に対しても傷害性を有する事から、SLE の抗リンパ球抗体が自己リンパ球に対しても傷害性を有するが如く⁵⁾⁶⁾¹²⁾¹⁵⁾、自己抗体を一部含んでいると思われた。しかしながら、これら抗単球抗体陽性患者では末梢血中の単球数の減少は認めず、この理由は明らかにしえなかったが、抗単球抗体が in vivo で病態成立には深い関連を有していない事を示唆するものと思われた。

抗単球抗体陽性被検血清中に血小板凝集法により免疫複合体は検出できず、この実験系に免疫複合体の影響はないと思われた。

自己免疫性甲状腺疾患における抗単球抗体については、1984年に Pruzanski らが、バセドウ病の27%、橋本病の17%に見出した事を報告しているが、その存在意義については不明であるとしている¹⁰⁾。今回我々は、自己免疫性甲状腺疾患において抗単球抗体を検出し、さらにバセドウ病において抗単球抗体陽性例では TSH レセプター抗体価および抗マイクロゾーム抗体価が高値であり、抗単球抗体陽性度と TSH レセプター抗体価が正の相関を示し、臨床経過上も単球に対する傷害性は甲状腺機能ではなく TSH レセプター抗体価の推移に並行して変動することを見出した。この事は、抗単球抗体が自己免疫性甲状腺疾患の免疫学的活動性と深い関連を有することを示唆している。

自己免疫性甲状腺疾患においては、抗リンパ球抗体の存在は確認されているが、疾患活動性ととの関連やその存在意義については意見の一致をみていない⁴⁾¹⁰⁾。同様に抗単球抗体についても、我々はその存在を確認し、免疫学的活動性と深い関連を有する事を指摘しえたが、その存在意義および単球機能に及ぼす影響については、なお検討を要する。

結 語

バセドウ病患者16名、橋本病患者20名、健常対照群10名を対象とし、血清中の抗単球抗体を検索し、本抗体の臨床的意義についても若干の検討を行い、次の如き成績を得た。

1) バセドウ病患者 8 名 (50%)、橋本病患者10名 (50%)に補体依存性の抗単球抗体を検出したが、

健常対照群では検出しえなかった。

2) 本抗体は, 単球特異的であり一部自己単球と反応する自己抗体を含んでいた。

3) 抗単球抗体陽性のバセドウ病患者では, TSH レセプター抗体価および抗マイクロゾーム抗体価が高値であり, 抗単球抗体陽性度と TSH レセプター抗体価が正の相関を示した。

4) これらの患者では, 臨床経過上も単球に対する傷害性は甲状腺機能ではなく, TSH レセプター抗体価の推移に並行して変動した。

5) 以上より, 自己免疫性甲状腺疾患患者の一部は抗単球抗体を有し, 本抗体が免疫学的な疾患活動性と深い関連を有する事が示唆された。

本文の要旨は第59回日本内分泌学会秋季学術大会および第14回日本臨床免疫学会総会において発表した。

文 献

- 1) Bluestein, H.G. and Zvaifler, N.J.: Brain-reactive lymphocytotoxic antibody in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Invest.*, 57: 509-516, 1976.
- 2) Butler, W.T., Sharp, J.T., Rossen, R.P., Lidsky, M.D., Mittal, K.K. and Gard, D.A.: Relationship of the clinical course of systemic lupus erythematosus to the presence of circulating lymphocytotoxic antibodies. *Arthritis Rheum.*, 15: 231-238, 1972.
- 3) 江口勝美, 福田孝昭, 峰 雅宣, 佐藤 聡: ^{51}Cr release assay 法による抗リンパ球抗体の検討. *日臨免疫誌*, 4: 168-175, 1981.
- 4) 江口勝美, 石川直文, 金沢 一, 峰 雅宣, 福田孝昭, 溝上真由美, 長瀧重信: 自己免疫性甲状腺疾患における抗リンパ球抗体の検討. *臨床免疫*, 15: 77-88, 1983.
- 5) Koike, T., Kobayashi, S., Yoshiki, T., Itoh, T. and Shirai, T.: Erythrocyte rosette inhibition as an assay for naturally occurring T lymphocytotoxic antibody in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 22: 1064-1073, 1979.
- 6) Michlmayr, G., Pathouli, C., Huber, C.M. and Huber, H.: Antibodies for T lymphocytes in systemic lupus erythematosus. *Clin. Exp. Immunol.*, 24: 18-25, 1976.
- 7) 西原利治, 前田 隆, 藤川正直, 富田 昭, 柴枝弘司, 大西三朗, 伊藤憲一: 原発性胆汁性肝硬変で認められる抗単球抗体の単球機能に及ぼす影響. *肝臓*, 27: 1105-1111, 1986.
- 8) Pruzanski, W., Armstrong, M. and Urowitz, M.B.: Heterogeneity of cold- and warm-reacting cytotoxins against lymphocytes, granulocytes and monocytes in rheumatic diseases. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 11: 142-156, 1978.
- 9) Pruzanski, W., Lee, P., Willshire, A., Gladman, D. and Keystone, E.C.: Lymphocytotoxic and phagocytotoxic activity in progressive systemic sclerosis. *J. Rheumatol.*, 10: 55-60, 1983.
- 10) Pruzanski, W., Capes, H., Baur, R., Wenzel, B.E., Row, V.V. and Volpe, R.: Biological activity of lymphocytotoxic antibodies in Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis. *J. Endocrinol. Invest.*, 7: 7-13, 1984.
- 11) Shirakawa, F., Yamashita, U. and Suzuki, H.: Monocyte (macrophage)-specific autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *J. Clin. Immunol.* (in press).
- 12) Stastny, P. and Ziff, M.: Antibodies against cell membrane constituents in systemic lupus erythematosus (SLE) for allogenic and autologous lymphocytes. *Clin. Exp. Immunol.*, 8: 543-550, 1971.
- 13) Terasaki, P.I., Mitteroni, V.D. and Baroett, E.V.:

Cytotoxins in disease. Autocytotoxins in lupus. *N. Engl. J. Med.*, 283: 724–728, 1970.

14) Volpe, R.: Autoimmunity in the endocrine system. *Monographs in Endocrinology*, No. 20, Springer Verlag, Heidelberg, 1981.

15) Winfield, J.B., Winchester, R.J. and Kunkel, H.G.: Association of cold-reactive antilymphocyte antibodies with lymphopenia in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 18: 587–594, 1975.

(受付日: '86. 11. 17)