

153. ^3H -Thymidine による

甲状腺上皮細胞の増殖に関する研究

一第2報：人甲状腺疾患における

上皮細胞の増殖動態について一

宮川 信 飯田 太

(信州大学 丸田外科)

人甲状腺疾患における上皮細胞の増殖動態を解明する目的で *in vitro* ならびに *in vivo* の flash labeling により ^3H -thymidine の autoradiography を行ない検討した。

In vitro labeling は手術により剔出した甲状腺組織から小切片を切り出し、 ^3H -Thymidine $5\mu\text{Ci/cc}$ を加えた Eagle の培養液 2cc の中で 37°C 1 時間 incubate した。また *in vivo* labeling は ^3H -Thymidine を $10\mu\text{Ci/cc}$ の割に生理的食塩水に溶解し、これを Evans-Blue で着色し、この 0.3~0.5cc を手術時、甲状腺組織中に注射し、切除後この部から小切片を切り出した。以上の *in vitro* ならびに *in vivo* の labeling によりえた組織片から第1報において述べた方法にしたがって autoradiogram を作製し、観察した。

甲状腺上皮細胞では generative cell と maturative cell とを形態学的に識別することができないので、対象とした正常甲状腺組織および甲状腺機能亢進症、甲状腺炎などの非腫瘍性疾患では真の意味での標識率は算出できない。そこで便宜上 generative cell および maturative cell の全上皮細胞に対する標識率を算出した。

まず *in vitro* および *in vivo* の成績では両者の間に差が認められないので *in vitro* labeling は信頼できる検査方法である。標識率に関しては対象では全例が 0.8 % 以下の低い標識率を示した。以上の成績から甲状腺機能亢進症では上皮細胞の分裂の著しい亢進はないものと考えられる。

腺腫ならびに乳頭腺癌について標識率を検討すると腺腫はほとんどが 0.8 % 以下で腺腫の組織型と標識率との間には明らかな関係は認められなかった。これに対し乳頭腺癌では、腺腫に比較して明らかに高く、0.8 % から 0.4 % の標識率を示した。以上述べた甲状腺乳頭腺癌の標識率は他臓器の癌と比較して低率である。この事実は甲状腺乳頭腺癌の臨床経過が緩慢な事実と一致し、興味ある成績である。

*

154. 培養された人甲状腺細胞のヨード

摂取能に対する X 線と ^{131}I 照射の影響

小西淳二 桜美武彦 深瀬政市<深瀬内科>

森 徹 鳥塚莞爾 <中央放射線科>

堀川正克 菅原 努<放射能基礎医学>

(京都大学)

人甲状腺細胞に対する X 線の外部照射と ^{131}I による内部照射の影響を初代培養細胞の細胞生存率およびヨード摂取能を指標にして比較検討した。先に報告した方法によりバセドー病甲状腺細胞の単層培養を行ない、3 日目に ^{131}I $5\mu\text{Ci/ml}$ を添加し経時的に細胞 106 コ当りの ^{131}I 摂取を測定すると 5~10 時間で peak に達した。培養開始時に TSH $0.17\mu\text{u/ml}$ を添加した群 (TSH 群) では対照群の 1.5~3 倍の摂取率を示したが 24 時間以後では明らかな差がなかった。摂取された ^{131}I の有機化率は 5 時間で 39~45 % で TSH 群がやや高値を示したが、ヨードアミノ酸組成の上では明らかな差異は認めなかった。5 時間 ^{131}I 摂取能は細胞の source により異なり、また培養初期より急速に低下して、10 日目では第1日の約 10 % となり、以後は徐々に低下した。TSH 群における摂取率の増加は 5 日目まで認められた。

X 線照射群は培養の翌日 200, 400, 600, 800, 1000R の照射を行なった。

^{131}I 照射群では培養液 10cc 当り ^{131}I を 103, 207, 310, 413, $516\mu\text{Ci}$ 加えて 2 日日間 incubate した。この条件で照射線量は計算上、X 線の各群に相当する。2 日後および 6 日後に medium change を行なうと 10 日後の残存 ^{131}I 量は 0.002 % 前後であった。ここでふたたび ^{131}I を添加して細胞の net count より duplicate における retention count を差引いて摂取 ^{131}I 量とした。5 日後については medium change を 1 回のみにして同様な操作を行なった。

照射後 5 日目の細胞生存率および細胞当りの 5 時間 ^{131}I 摂取率は非照射対照群に比し両群ともに変化を認めなかった。10 日後では X 線照射群では 1,000 R で対照の 63.7 % に減少する dose-growth curve を示したが ^{131}I 摂取は対照の 93 % で細胞当りの摂取率ではむしろ照射群で高い値を示した。 ^{131}I 照射群でも $516\mu\text{Ci}$ 群で対照の 60 % に減少する dose-growth curve を示したが ^{131}I 摂取には照射による差が認められなかった。なお X 線照射群につき摂取 ^{131}I の内 TCA 不溶性分画の割合を対照と比較したが 5 日後では不変、10 日後、高線量群

で低下を示すものもあったが一定しなかった。

*

155. 人 TSH の Radioimmunoassay に

関する研究 一基礎検討一

宮井 潔 福地 稔 阿部 裕<阿部内科>

熊原雄一<中央検査部>

(大阪大学)

核医学の進歩は radioimmunoassay を可能にし現在蛋白性ホルモン測定法の主流になりつつある。TSH に関しても 1965年に Odell, Utiger によりその成功が報告されている。われわれも現在 TSH の radioimmunoassay を行ないつつあるが測定法の基礎的問題点に関する検討成績、とくに標識 TSH に関する検討成績を主に報告した。本法の最少測定感度は $0.2\mu\text{U}$ で血中 TSH は $1.0\mu\text{U/ml}$ まで測定可能であった。特異性に関する検討では HCG, HGH, FSH, ACTH および bovine TSH による影響は検討範囲内ではみられなかった。稀釈曲線の検討では高純度の精製 TSH, 粗 TSH (acetone dried human pituitary powder) および原発性甲状腺機能低下症患者血清はいずれも standard curve と明らかな平行性を示した。既知量の TSH を血清に添加したさいの回収率は $102\pm 22.8\%$ で、同一血清試料を 4 回の異なる assay で測定したさいの再現性は variation が $\pm 5.4\%$ であった。TSH の標識は Hunter, Greenwood の方法に準じ行ない、1 回の標識には $5\mu\text{g}$ の TSH および 5mc の ^{131}I または ^{125}I を用いた。 ^{131}I で標識したさい $336\sim 670\text{mc/mg}$ の比活性を有する標識がえられ、 ^{125}I で標識したさいは 225mc/mg の比活性を有する標識 TSH がえられた。 ^{131}I -TSH の場合、標識後 1 週間以内に assay に供したさいの "damaged" ^{131}I -TSH は 9% 前後であったが 3 週間後には 17% に増加し、その結果標準曲線はゆるやかとなった。このような成績は α 線エネルギーが弱く、 β 線放出のみられない ^{125}I で標識したさいにもみられ、5% 前後であった "damaged" ^{125}I -TSH は標識後 5 週間には 19% にまで増加した。これを各々 Sephadex G-100 を用い再精製したところ 2 つの放射能分画がえられ、これらを用い抗体稀釈曲線および標準曲線を検討したところ、かかる状態でも再精製を行なえば充分 assay に供しうることを確めた。しかし ^{131}I -TSH の場合再精製を必要とするものは放射活性が低くなっており、その点半減期の長い ^{125}I -TSH の場合でも使用にさいし何回となく再精製を行ない damage を除

く必要がありいずれも実用上に難点がある。以上の成績から標識には ^{131}I を用い少量頻回に標識し新鮮な状態で assay に供することが望ましい。

*

156. 人 TSH の Radioimmunoassay に

関する研究 一臨床応用一

宮井 潔 福地 稔 松岡 徹

阿部 裕<阿部内科>

熊原雄一<中央検査部>

(大阪大学)

現在われわれは TSH の radioimmunoassay を行ないつつあるがその臨床応用の一環として各種甲状腺疾患を中心にその血中 TSH の測定成績を報告し、臨床に本法が有用であることを示した。

本法による血中 TSH の測定感度は H-TSH research standard A を standard としたさい $1\mu\text{U/ml}$ で、健常人 6 例の血中 TSH は $2.5\mu\text{U/ml}$ 以下であった。妊婦 5 例では $1.7\mu\text{U/ml}$ 以下、非中毒性結節性甲状腺腫 2 例では $1.25\sim 1.5\mu\text{U/ml}$ と正常範囲内にあった。単純性甲状腺腫 8 例では $2.5\sim 7.5\mu\text{U/ml}$ とやや高い値を示し、また甲状腺機能低下症状が明らかでない橋本病 10 例では $2.5\sim 20\mu\text{U/ml}$ とさらに高値を示す傾向がみられた。また原発性甲状腺機能低下症 36 例では $22\sim 800\mu\text{U/ml}$ 、クレチン症の 4 例では $200\sim 700\mu\text{U/ml}$ を著明な高値がえられた。これに対して汎下垂体機能低下症の 6 例、未治療のバセドウ病 11 例やプランマー病 1 例ではほとんどが測定感度以下であった。

原発性甲状腺機能低下症患者 2 例に対し、甲状腺ホルモン (T_3, T_4) を投与したところその血中 TSH は減少し、徐々に前値へ回復することが認められ、甲状腺ホルモンが下垂体 TSH 分泌を regulate していることを確認した。また生物学的測定法 (McKenzie 法) を用いて同一試料を測定したところ、血中 TSH 値は radioimmunoassay により測定した値とほぼ平行することを認めた。

甲状腺機能正常者に抗甲状腺剤を負荷するとその血中 TSH は増加し、次いで甲状腺ホルモンを投与すると減少することを認め、同様の検討を治療により甲状腺機能が正常化した LATS 陽性バセドウ病患者 2 例に行なったところ LATS 活性にはほとんど変化がみられなかったのに対し、血中 TSH は抗甲状腺剤により増加し、次いで T_4 投与で減少することを認め、このような症例に