

《原 著》

TSH の radioreceptor assay による TSH 結合阻害性抗体の測定に関する基礎的検討

飯田 泰啓* 小西 淳二* 高坂 唯子* 御前 隆*

中島 鉄夫* 遠藤 啓吾* 隈 寛二** 鳥塚 荘爾*

要旨 可溶化ブタ甲状腺膜を用いる TSH の radioreceptor assay (Smith キット) による TSH-binding inhibitor immunoglobulins (TBII) の測定に関して基礎的検討を行った。Assay の最少検出感度は $30 \mu\text{U}/\text{ml}$ であった。TBII 測定の変動係数は同一 assay 内で 3.2~4.5%，異なる assay 間で 3.7~25.4% であった。免疫グロブリン (Ig) 分画を用いる TBII の正常域は 92~108% で、未治療バセドウ病 26 例中 22 例 (85%)、特発性粘液水腫 6 例中 2 例 (33.3%) で陽性であった。橋本病、亜急性甲状腺炎、腺腫では全例陰性であった。バセドウ病 31 例の TBII 活性はヒト甲状腺膜を用いての TBII 値と有意の正相関 ($p < 0.001$) を示した。血清を試料として測定した TBII 値も Ig 分画を用いた結果と有意の正相関 ($p < 0.001$) を示した。しかし、非特異的沈殿が増加するため高 Ig グロブリン血症の場合の測定値の評価に注意を要する。試料として血漿を用いると $^{125}\text{I-TSH}$ の結合率が上昇するため TBII 活性を偽陰性と判定する可能性がある。

I. 緒 言

バセドウ病患者の血中には long-acting thyroid stimulator¹⁾ をはじめとする種々の甲状腺刺激性の免疫グロブリン (Ig) が検出され、甲状腺機能亢進症の原因と考えられている。近年 TSH の radioreceptor assay が開発されるとともに、これら患者の IgG が甲状腺刺激ホルモン (TSH) の甲状腺受容体への結合を阻害することが明らかにされ、甲状腺刺激性 Ig は TSH 受容体に対する抗体と考えられるに至っている^{2~13)}。

最近、Smith ら¹³⁾ により TSH の radioreceptor assay がキット化され利用可能となったので、その基礎的検討を行うとともに、これを用いてバセドウ病患者血中に存在する TSH 結合阻害性免疫

グロブリン (TSH-binding inhibitor immunoglobulins; TBII)⁷⁾ の検出を行う場合の問題点を検討した。

II. 測定材料および方法

1. 血清粗 Ig 分画の作成

被検血清 0.5 ml に 30% ポリエチレン・グリコール (#4,000) (PEG) を添加し最終濃度 15% PEG で粗 Ig 分画を沈殿させた。これに 15% PEG をさらに加えて全量を 10 ml とし、よく混和後、4°C にて 1,500 × g、60 分間の遠沈を行いその沈渣を得た。これに 37°C にあらかじめ温めておいた 10 mM Tris, 50 mM NaCl, 0.1% BSA, pH 7.4 (assay buffer) 0.5 ml, を加えて溶解後、室温にて 1,500 × g、10 分間遠沈して不溶物を除いた後、上清を粗 Ig 分画として用いた。

この上清の蛋白濃度については 0.15 M NaCl にて 1/20 に希釈後、280 nm の吸光度が 0.5~0.8 にあることを確かめた。

2. TSH の radioreceptor assay

1.0% Lubrol によって可溶化したブタ甲状腺粗

* 京都大学医学部放射線核医学科

** 隈病院

受付：58年 7月 8日

最終稿受付：58年 9月 2日

別刷請求先：京都市左京区聖護院川原町54 (〒606)

京都大学医学部放射線核医学科

小 西 淳 二

膜分画を TSH 受容体として用いている。この TSH 受容体 $100 \mu\text{l}$ に粗 Ig 分画またはウシ TSH (Thyropar, 米国 Armor 社製) $100 \mu\text{l}$ (または血清 $50 \mu\text{l}$) を添加して室温で 15 分間反応させた後, $^{125}\text{I-TSH}$ $100 \mu\text{l}$ を加えてさらに 37°C で 1 時間反応させた。B·F 分離は、 4°C にあらかじめ冷却しておいた assay buffer $700 \mu\text{l}$ (血清を用いた場合は $750 \mu\text{l}$) を添加後、 1M NaCl に溶解した 30% PEG $1,000 \mu\text{l}$ を加えてよく混和し、 4°C にて $1,500 \times g$ で 45 分間遠沈、上清を吸引除去し沈渣の放射能を測定した。 $^{125}\text{I-TSH}$ の非特異的沈澱は TSH 受容体のかわりに 1.0% Lubrol $100 \mu\text{l}$ を用いて測定した。

TBII 活性の算定は

$$\frac{\text{検体試料存在下における } ^{125}\text{I-TSH の特異的結合 \%}}{\text{健常者プール試料存在下における } ^{125}\text{I-TSH の特異的結合 \%}} \times 100 (\%)$$

により行った。

3. ヒト甲状腺 TSH 受容体を用いる TBII の測定

すでに報告¹²⁾したように、患者血清より DEAE-

Sephadex を用いて精製した Ig G 1mg を用い、手術時に得たバセドウ病患者の甲状腺形質膜分画を 0.5% Triton X-100 により可溶化して得た TSH 受容体を用いる radioreceptor assay にて測定した。

III. 成 績

1. 標準曲線

$^{125}\text{I-TSH}$ と 1% Lubrol を用いて可溶化したブタ甲状腺 TSH 受容体との結合は非標識 TSH の添加により用量反応性に阻害され、非標識 TSH $100 \mu\text{U/ml}$ の添加により有意の結合阻害が認められた (Fig. 1)。Scatchard plot は二相性を示し、その高親和性部の結合定数は $4.7 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、結合能は $4.5 \times 10^{-11} \text{ M}$ であった。

健常者のプール粗 Ig 分画あるいは血清にウシ TSH を加えてこれら蛋白の標準曲線に及ぼす影響を検討した (Fig. 2)。通常の TBII の測定に用いる血清 $100 \mu\text{l}$ 相当の Ig の存在下での標準曲線は assay buffer のみの場合の標準曲線とほとんど感度に変化はなく、血清 $50 \mu\text{l}$ の添加でも、ほぼ同様の標準曲線が得られたが、血清 $100 \mu\text{l}$ の存

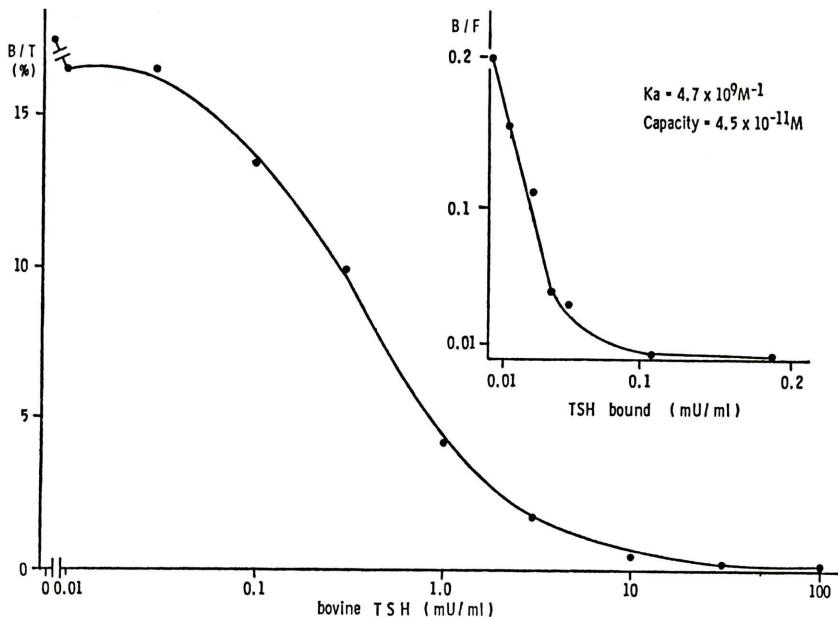


Fig. 1 Inhibition of $^{125}\text{I-TSH}$ binding to the receptor. Inset; Scatchard plot.

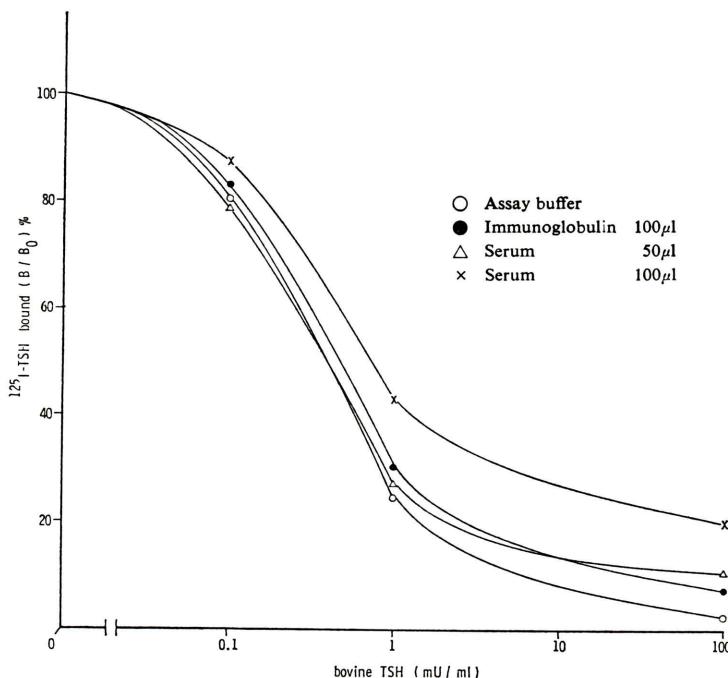


Fig. 2 Inhibition of ^{125}I -TSH binding to the receptor in the absence or presence of normal pool Ig or serum.

Table 1 Intra-assay variation

No.	Sample No.		
	1	2	3
1	31.4	62.4	93.5
2	32.3	64.9	98.4
3	30.8	62.9	102.6
4	30.2	64.3	101.6
5	31.3	59.3	98.0
6	28.3	64.2	96.3
Mean	30.72	63.00	98.40
S.D.	1.37	2.04	3.36
C.V. (%)	4.5	3.2	3.4

在下では、感度は著しく低下した。なお健常者血清 50 µl の存在下での TSH の最小検出感度は最終濃度 30 µU/ml すなわち試料血清中では 180 µU/ml に相当した。

2. 再現性

バセドウ病患者の粗 Ig 分画を用いて TBII 活性の測定における再現性を検討した。TBII 活性の異なる 3 検体についての同一 assay 内の変動係

数は 3.2~4.5% と良好であった (Table 1)。7 検体について 4 ロットを用いて検討した 4~8 回の assay 間の変動係数は、3.7~25.4% で TBII 活性の強い検体で変動係数の大きくなる傾向があった (Table 2)。

またキットの入手後 4 週間までの保存で 5 検体の TBII 測定値に著明な変化は認められなかった。

3. 各種の甲状腺疾患における TBII 活性

粗 Ig 分画を用いた TBII 活性の測定成績を Fig. 3 に示した。健常者 21 例での TBII 活性は、93~106% に分布した平均値 $\pm 2\text{SD}$ を正常範囲とするとき正常域は 92~108% となった。未治療バセドウ病 26 例中 22 例 (85%) で TBII 活性が陽性であった。前脛骨部粘液水腫の 3 例ではいずれも TBII 活性は強陽性であった。その他には特発性粘液水腫の 2 例で強陽性であった以外、慢性甲状腺炎 (14 例)、亜急性甲状腺炎 (6 例)、腺腫 (4 例) では全例が陰性であった。

Table 2 Inter-assay reproducibility

No.	Sample No.						
	1	2	3	4	5	6	7
1	95.2	69.8	59.7	63.6	46.5	28.7	27.7
2	98.7	91.0	80.4	71.1	65.7	33.6	39.1
3	103.8	93.3	69.5	70.0	83.6	48.9	33.1
4	96.4	83.6	67.4	66.8	79.3	35.8	27.6
5	95.0	—	—	77.9	68.7	40.1	40.8
6	100.6	—	—	—	52.3	—	15.8
7	98.4	—	—	—	64.3	—	31.4
8	92.2	—	—	—	53.2	—	36.3
Mean	97.5	84.4	69.3	69.9	64.2	37.4	31.5
S.D.	3.6	10.6	8.5	5.4	13.1	7.6	8.0
C.V. (%)	3.7	12.6	12.3	7.7	20.4	20.4	25.4

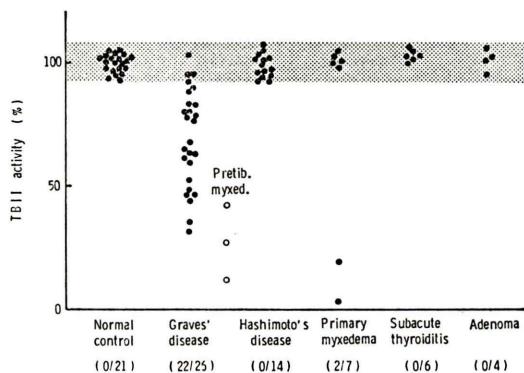


Fig. 3 Detection of TSH-binding inhibitor immunoglobulins (TBII) in the patients with various thyroid disorders.

4. ヒト甲状腺膜レセプターを用いる TBII 活性との比較

未治療バセドウ病患者31例についてキットで測定したTBII活性とTriton X-100を用いて可溶化したヒト甲状腺形質膜分画による成績とを比較した。両者の間には $r=0.684$ と有意の正の相関($p<0.001$)が認められたが、TSH結合阻害の程度はブタ甲状腺膜を用いたキットでより顕著な傾向を示した(Fig. 4)。

5. 血清でのTBII活性の測定

キットのassay系に粗Ig分画に代えて血清50 μ lを加えてTBII活性の測定を行った。バセドウ病患者17例での血清を用いて測定したTBII活性

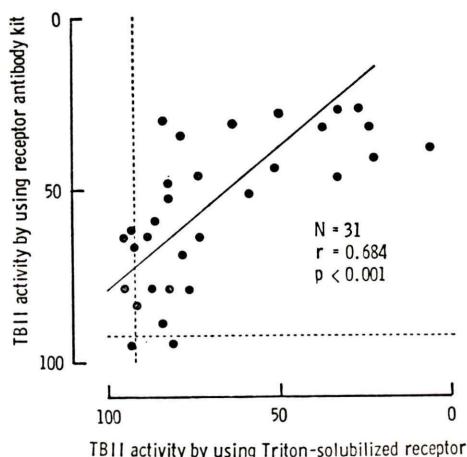


Fig. 4 Relation between TBII detected by the assay using solubilized human receptors and those by the assay using solubilized porcine receptors in untreated patients with Graves' disease.

と粗Ig分画を用いて測定したTBII活性との関係はFig. 5に示すとくであった。血清を用いた際の正常域を健常者20例の平均値 $\pm 2SD$ として求めると83~117%となり粗Ig分画を用いる場合よりも広くなった。しかし両者の測定値はよく一致しており、相関係数 $r=0.937$ と有意の正相関($p<0.001$)が認められた。一方で陰性、他方で陽性となるものはそれぞれ一例ずつみられた。

血清で測定する場合には、血清中の蛋白の影響が問題になる可能性が考えられる。そこで粗Ig

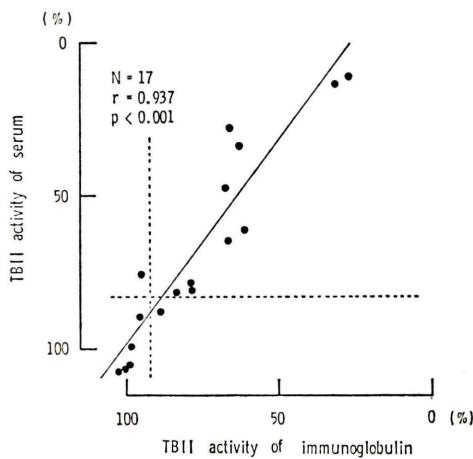


Fig. 5 Relation between TBII detected by using Ig and those by serum samples in the patients with Graves' disease.

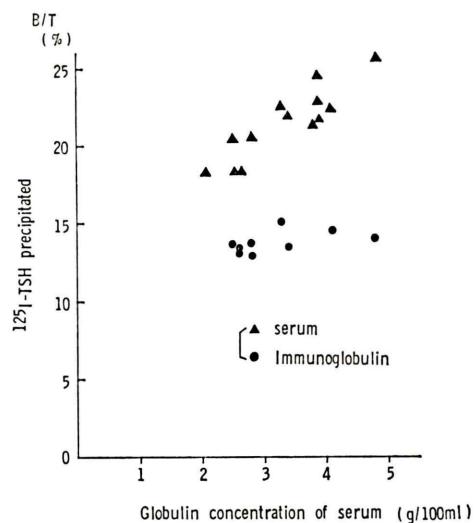


Fig. 7 Non-specific ^{125}I -TSH precipitation in the patients with various serum globulin concentration.

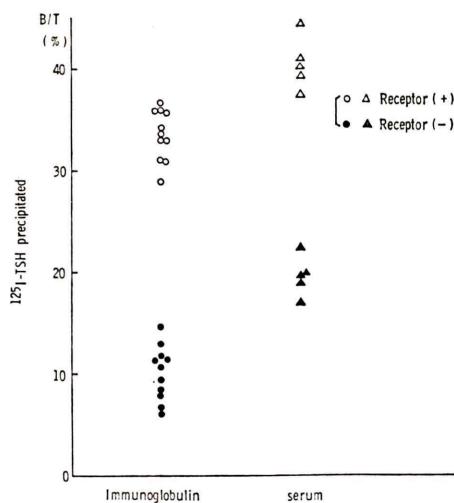


Fig. 6 ^{125}I -TSH precipitation with Ig or whole serum in the absence or presence of TSH receptors.

分画および血清を用いる場合について甲状腺膜受容体への ^{125}I -TSH 結合および受容体の非添加時すなわち非特異的沈澱の割合を比較した (Fig. 6)。粗 Ig 分画と比較して血清を用いた場合には非特異的沈澱の割合が上昇していた。

血清中のグロブリン濃度と粗 Ig 分画および血清を用いる場合の非特異的 ^{125}I -TSH の沈澱率との関係をみると Fig. 7 に示すごとく、粗 Ig 分画

を用いる場合には非特異的沈澱はグロブリン濃度の変化によってほとんど変化しなかったのに比べて、血清ではグロブリン濃度の増加とともに非特異的沈澱の増加が認められた。したがって血清での TBII 測定に際して通常の方法である健常者のプール血清の非特異的結合を差し引いて計算すると、おのおのの試料血清ごとに非特異的結合を求めて補正した真の TBII 活性に比べ、グロブリン濃度が上昇すると高い値が得られることになる。このことは偽陰性の起こり得ることを示し hypergammaglobulinemia を伴うような場合には試料それぞれで非特異的結合を算出して補正する必要がある。実際に肝硬変症を伴ったバセドウ病の一例で自己試料から得た非特異的結合により補正することによって TBII 活性が初めて陽性となる症例がみられた。

6. 血漿での TBII 活性の測定

測定試料として血漿を用いた場合の TBII 値と粗 Ig 分画を用いて測定した場合の TBII 値とを比較した (Fig. 8)。両測定値の間には良好な正の相関関係 ($r=0.518$, $p<0.02$) が認められたが、血漿を用いて測定した TBII 値は粗 Ig 分画を用いて測定した値に比べて高値を示した。Figure 9 は

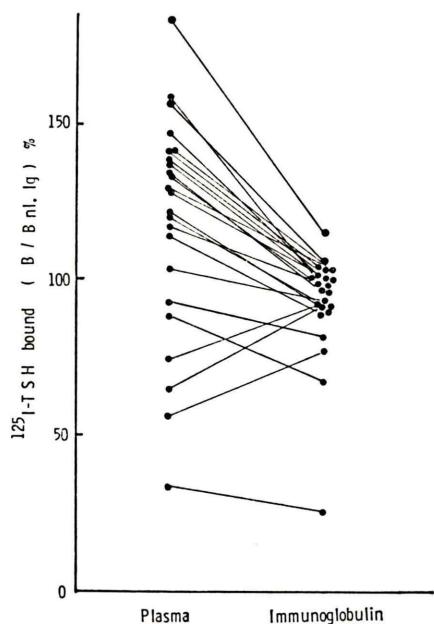


Fig. 8 Relation between relative ^{125}I -TSH binding to the receptor in the presence of plasma or Ig sample.

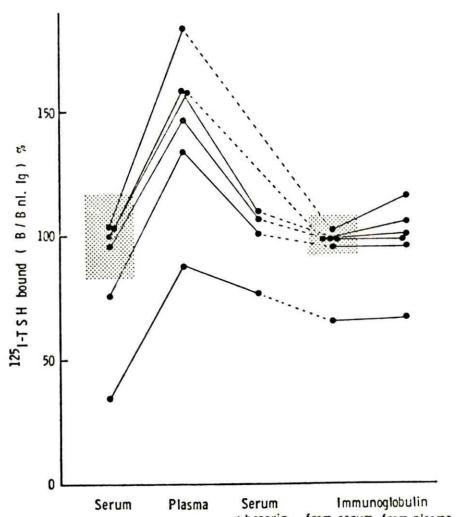


Fig. 9 Relation among relative ^{125}I -TSH binding in the presence of serum, plasma, serum added with heparin and Ig sample.

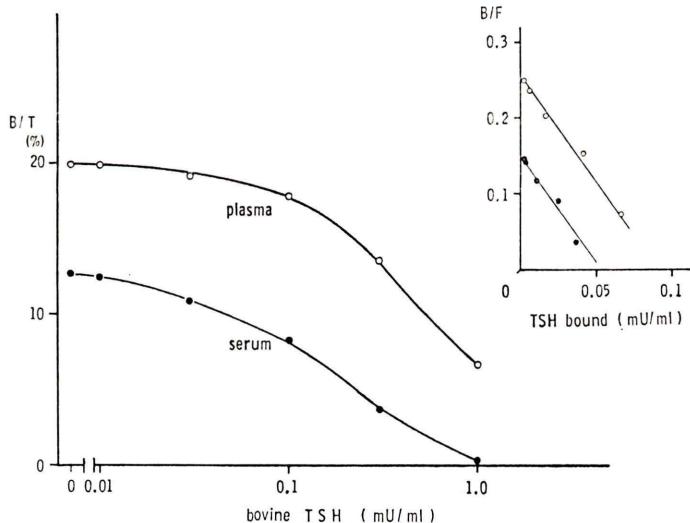


Fig. 10 Inhibition of ^{125}I -TSH binding to the receptor in the presence of normal serum or plasma. Inset; Scatchard plot.

それぞれ血清、血漿、血清にヘパリンを添加した場合、血清および血漿より抽出した粗 Ig 分画を用いた場合の TBII 値を比較したものである。血

漿を用いて測定したもの以外はほとんど TBII の測定値は一致しており、 ^{125}I -TSH の受容体への結合 % が高くなるのはヘパリンの影響ではなく血

漿中の蛋白の影響と考えられた。Figure 10 に健常者血清および血漿 50 μl 存在下での標準曲線およびその Scatchard plot を示した。血漿存在下では TSH 受容体の高親和性部の結合定数は $3.1 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ と血清存在下での親和定数と変化がなかったが、その結合能は $8.2 \times 10^{-11} \text{ M}$ と血清存在下での結合能 $4.7 \times 10^{-11} \text{ M}$ に比べ 1.7 倍に増加していた。

IV. 考 案

Smith ら¹³⁾ により開発されたブタ甲状腺膜を用いる TSH の radioreceptor assay キットおよびこれを用いる TBII 活性の測定についての問題点について検討を行った。

ウシ TSH を用いて得た標準曲線の Scatchard plot による解析ではヒト甲状腺膜受容体を用いる場合と同様な二相性のパターンを示し、高親和性部の結合定数は $4.7 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ とヒト甲状腺膜を用いる場合よりも結合親和性が大であった。血清 100 μl 相当の粗 Ig 分画、血清 50 μl までの添加では assay buffer 下での標準曲線と比べ著明な変動はみられず、これらの存在下での TSH の radioreceptor assay が可能であった。

TBII は主としてバセドウ病患者の血中に存在し、バセドウ病の病因に密接に関連しているものと考えられるが^{2~13)}、予後判定の指標としても有用性が指摘されている¹⁴⁾。本キットでは PEG による簡便な方法で調整された粗 Ig 分画を用いるか、あるいは直接に血清を用いることにより TBII の測定を行う。粗 Ig 分画を用いた TBII 測定の再現性は同一 assay、異なる assay 間のいずれにおいても満足できる結果であった。粗 Ig 分画を用いた場合の正常域は 92~108% と従来の可溶化していない膜分画を用いる方法に比べ狭くなっている。著者ら¹²⁾もヒト甲状腺膜分画を可溶化した場合 TBII の正常域が狭い範囲にとどまる結果を得ている。

臨床測定の結果では特発性粘液水腫の二例に TBII 活性が強陽性であった以外、TBII 活性はバセドウ病患者のみに陽性であった。特発性粘液水

腫にみられた TBII は甲状腺刺激活性をもたない blocking type の TSH 受容体抗体と考えられた^{7,15)}。前脛骨部粘液水腫を有するバセドウ病患者ではいずれも一般のバセドウ病患者に比して強い TBII 活性が検出されたことは、従来の LATS 活性の場合と同様であり TBII の病因的役割を示唆する興味深い所見である。

著者らは従来よりヒト甲状腺膜を用いる radioreceptor assay で精製 IgG を用いて TBII の検出を行ってきた¹²⁾。今回検討したブタ甲状腺膜を用いる assay で得られた TBII 活性はヒト甲状腺での TBII 測定値と良好な正相関を示した。この成績よりこれまで諸家により行われてきた^{2~12)}ヒト甲状腺膜を用いる TBII 活性とほぼ同じ活性がブタ甲状腺膜を用いる assay 系によっても測定されているものと考えられた。TSH 受容体の抗原性においてヒトとブタとの間に共通性がある程度存在することを示唆し興味ある成績である。

血清を用いての TBII の測定は血清蛋白による非特異的な $^{125}\text{I-TSH}$ 結合阻害があるために従来行われなかつたが、可溶化受容体を用いるこの assay 系では血清 50 μl までの添加で $^{125}\text{I-TSH}$ の非特異的結合阻害は軽微で、ウシ TSH を用いる標準曲線の感度も assay buffer 下とほぼ同じであった。血清を用いた場合には健常者の平均値 $\pm 2\text{SD}$ より求めた TBII の正常範囲は 83~117% と粗 Ig 分画の場合に比べやや広くなった。しかし血清による TBII 活性と粗 Ig 分画を用いた assay での TBII 活性の間には有意の正相関がみられ、両者の陽性率にも差異がなかった。したがって血清での TBII 活性の測定も使用に足るものと考えられた。

しかし血清での assay では粗 Ig 分画を用いた場合に比べて $^{125}\text{I-TSH}$ の非特異的沈澱率が高くなり、さらに血中のグロブリン量の増加とともに非特異的沈澱率が高くなることが認められた。したがって健常者プール血清を用いて非特異的結合を求める、これを差し引くことによって TBII 活性を求めるのが陽性または陰性となる場合が生じう

るものと考えられ注意を要する。このような患者ではおののの患者ごとに非特異的結合を差し引いてTBII活性を求める必要があり、血清よりも粗Ig分画でassayを行う方がよいと思われた。

血漿では¹²⁵I-TSHの受容体への結合が増加するため沈渣の放射能が高くなる。したがって血清や粗Ig分画を基準としたTBIIの測定系に血漿検体を加えるとTBII活性の過少評価となるため避けなければならない。

V. 結語

可溶化ブタ甲状腺膜を用いるTSHのradio-receptor assay(Smithキット)によるTBIIの測定について基礎的検討を行った。

- 1) assayの感度はTSH 30 μU/mlであり、健常者の粗Ig分画および血清 50 μlまでの添加でほとんど変化しなかった。
- 2) TBII測定の再現性は満足すべきものであった。
- 3) 未治療バセドウ病26例中22例(85.0%), 特発性粘液水腫の2例でTBIIが陽性であった。橋本病、亜急性甲状腺炎、腺腫では全例が陰性であった。
- 4) 粗Ig分画を用いてのTBII測定値は従来のヒト甲状腺膜を用いて測定した値とよく相関した。
- 5) 血清での測定は血清グロブリン濃度の異なる症例で補正を要する場合が認められたが、スクリーニングに十分用い得るものと考えられた。
- 6) 血漿を試料とする受容体の結合能の増大がみられ、正常血漿を標準としない限りTBII活性を過少評価することになる。したがって血漿試料の測定は避ける必要がある。

以上の成績よりこのキットを用いるTBIIの測定は臨床的に有用と考えられた。

稿を終えるにあたり、キットをご提供頂いた日本トラベノール株式会社に感謝の意を表します。

文献

- 1) Adams DD, Purves HD: Abnormal responses in the assay of thyrotrophin. Proc Univ Otago Med Sch **34**: 11-12, 1956
- 2) Smith BR, Hall R: Thyroid-stimulating immunoglobulins in Graves' disease. Lancet **2**: 427-431, 1974
- 3) Mukhtar ED, Smith BR, Pyle GA, et al: Relation of thyroid stimulating immunoglobulins to thyroid function and effects of surgery, radioiodine, and antithyroid drugs. Lancet **1**: 713-715, 1975
- 4) Davies TF, Yeo PPB, Evered DC, et al: Value of thyroid stimulating antibody determinations in predicting short-term thyrotoxic relapse in Graves' disease. Lancet **1**: 1181-1182, 1977
- 5) Schleusener H, Kotulla H, Adkofer F, et al: Relationship between thyroid status and Graves' disease-specific immunoglobulins. J Clin Endocrinol Metab **47**: 379-384, 1978
- 6) Strakosch CR, Joyner D, Wall JR: Thyroid stimulating antibodies in patients with subacute thyroiditis. J Clin Endocrinol Metab **46**: 345-348, 1978
- 7) Endo K, Kasagi K, Konishi J, et al: Detection and properties of TSH-binding inhibitor immunoglobulins in patients with Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis. J Clin Endocrinol Metab **46**: 734-739, 1978
- 8) O'Donnell J, Trokoudes K, Silverberg J, et al: Thyrotrophin displacement activity of serum immunoglobulins from patients with Graves' disease. J Clin Endocrinol Metab **48**: 381-387, 1978
- 9) Ozawa Y, Maciel RMB, Chopra IJ, et al: Relationships among immunoglobulin markers in Graves' disease. J Clin Endocrinol Metab **48**: 381-387, 1979
- 10) Sugenoya A, Kidd A, Row VV, et al: Correlation between thyrotropin displacing activity and human thyroid stimulating activity by immunoglobulins from patients with Graves' disease and other thyroid disorders. J Clin Endocrinol Metab **48**: 398-402, 1979
- 11) Kuzuya N, Chiu SC, Ikeda H, et al: Correlation between thyroid stimulators and 3, 5, 3'-triiodothyronine suppressibility in patients during treatment for hyperthyroidism with thionamide drugs: Comparison of assays by thyroid stimulating and thyrotropin-displacing activities. J Clin Endocrinol Metab **48**: 706-711, 1979
- 12) Iida Y, Konishi J, Kasagi K, et al: Detection of TSH-binding inhibitor immunoglobulins by using the Triton-solubilized receptor from human thyroid membranes. Endocrinol Japon **29**: 227-231, 1982
- 13) Shewring G, Smith BR: An improved radioimmunoassay for TSH receptor antibodies. Clin Endocrinol **17**: 409-417
- 14) 飯田泰啓, 小西淳二, 笠木寛治, 他: バセドウ病の予後に関する検討—T₃抑制試験及び甲状腺刺激

- 物質測定の意義について——. 日本内分泌学会雑誌
58: 796-806, 1982
- 15) Konishi J, Iida Y, Endo K, et al: Inhibition of thyrotropin-induced adenosine 3' 5'-monophosph-

ate increase by immunoglobulins from patients with primary myxedema. J Clin Endocrinol Metab 57: 544-549, 1983

Summary

Fundamental Studies on Measurement of TSH-binding Inhibitor Immunoglobulins by Using a TSH-radioreceptor Assay

Yasuhiro IIDA*, Junji KONISHI*, Tadako KOUSAKA*, Takashi MISAKI*,
Tetsuo NAKASHIMA*, Keigo ENDO*, Kanji KUMA** and Kanji TORIZUKA*

*Department of Radiology and Nuclear Medicine, Kyoto University School of Medicine, Kyoto
**Kuma Hospital, Kobe, Japan

A TSH-radioreceptor assay which uses Lubrol-solubilized porcine thyroid membrane as receptors (B. R. Smith) was evaluated for its usefulness in detecting TSH-binding inhibitor immunoglobulins (TBII). Sensitivity of the assay was 30 μ U/ml TSH. Intra- and inter-assay C.V.s in the assay of TBII were 3.2-4.5% and 3.7-25.4%, respectively. When immunoglobulin concentrates were used as samples, relative 125 I-TSH binding was $100 \pm 3.6\%$ (mean \pm SD) in 21 normal controls, while 22 out of 26 untreated patients with Graves' disease (85%) showed 125 I-TSH binding less than 92% of controls. Potent TBII were detected in 3 patients with pretibial myxedema and 2 patients with primary myxedema. Results obtained in 31 patients with Graves' disease showed a significant correla-

tion with those obtained by our assay using Triton-solubilized human receptors ($r=0.68$, $p<0.001$). When serum was used as sample, 20 normals ranged $100 \pm 8.3\%$. TBII detected in 17 sera correlated well with those obtained by using immunoglobulins ($r=0.94$, $p<0.001$). However, in the case of serum sample, non-specific precipitation of 125 I-TSH was elevated with the increasing globulin concentration, requiring an appropriate correction for the non-specific precipitation in the cases with hyperglobulinemia. In the case of plasma sample, TBII activity could be underestimated because of the increase of 125 I-TSH precipitation.

Key words: TSH, radioreceptor assay, TSH-binding inhibitor immunoglobulins, Graves' disease.