

## 164 Western blotting後の TSH レセプターと TSH の結合

飛永たまみ、坂本龍則、芦沢潔人、永山雄二、難波裕幸、横山直方、大財茂、桐山健、森本勲夫、岡本純明、和泉元衛、長瀧重信（長崎大 一内）

TSH レセプターの分子量の測定には、TSH レセプターに標識した TSH を結合させ後 SDS-PAGE を用いる方法がとられている。最近、細胞膜を Western blotting で分析し、その blotting 上に存在する細胞膜レセプターが ligand と結合した例が報告されている（LDL レセプター）。そこで、TSH レセプターが、Western blotting 後 TSH に結合するかどうか検討した。手術で得られたバセドウ病甲状腺組織の 10000g 分画を 1% ブローで可溶化し、この可溶化甲状腺細胞膜分画を SDS ゲルで電気泳動後ニトロセルロース膜に転送した。この転送された甲状腺細胞膜分画に TSH を結合させ、この TSH に抗 TSH 抗体を結合させた。結合した抗 TSH 抗体を  $^{125}\text{I}$  プロテイン A で検出した。分子量約  $6.2 \times 10^4$  に一致してバンドが検出された。このバンドは、TSH レセプター抗体陽性バセドウ血清で確認した TSH レセプターの部位と一致した。TSH レセプターは Western blotting 後も TSH と結合する活性を有し、本法は TSH レセプターの研究に有用と思われる。

## 165 バセドウ病 IgG の甲状腺刺激の機構 豚甲状腺可溶性膜分画による検討

井上賢一、福江暘、三橋知明、内村英正、高久史磨（東大三内）、真鍋嘉尚、伊藤国彦（伊藤病院）

バセドウ病 IgG (G-IgG) の甲状腺刺激の機構は充分明らかとは言えない。その機構の解明を目的として甲状腺膜を可溶化し、TSH 及び G-IgG による adenylyl cyclase (Ac) の活性化について以下の検討を試みた。方法：甲状腺可溶性膜分画の調製は、Smith の方法に従った。すなわち甲状腺 10,000g 分画を 0.1% Lubrol-PX, 0.025M Tris, 0.05M NaCl Buffer, PH7.4 にて suspend し 100,000g 1 時間遠沈後、沈渣を 1% Lubrol-PX, 0.025M Tris, 0.05M NaCl Buffer PH7.4 を加え、4°C 16 時間 incubate 後、100,000g で 1 時間遠沈し上清を濃縮したものを用いた。Ac 活性は Steinerらの方法により行い、cAMP はヤマサ社の RIA による。IgG の抽出は Protein A Sepharose affinity column による。成績：①この可溶性蛋白に  $^{125}\text{I}$ -bovine TSH の結合がみられた。②TSH 刺激に対しては 0.01~1mU の間で dose dependent の反応が認められた。③NaF に対する反応性は残っていた。④TBII 陽性の G-IgG の刺激に対しては検討した約半数の例で Ac 活性上昇を認めた。結論：Lubrol で可溶化した場合 TSH receptor から Ac-cAMP 系への伝達機構は存在するが G-IgG によっては被刺激性の認められないものがある。

## 166 自己免疫性甲状腺疾患者に認められる甲状腺刺激抗体 (TSI) と TSH 結合抑制抗体 (Blocking IgG) の相互作用について

福江暘、内村英正、三橋知明、高久史磨（東大三内）岡野繁、金地嘉夫（金地病院）

バセドウ病や機能低下性の橋本病の患者血中に認められる異常 IgG はこれら疾患の病因と関連しており、TSI と TBII の混在の程度で発現する状態が異なることが推測される。この点について in vitro で両者の混合を行って刺激活性と TSH 結合阻害活性の変化を調べた。〔方法〕1 例の粘液水腫患者由来の IgG (TBII 92% で刺激活性なし) (B-IgG) 各量に対して、TSI  $10\text{ng/ml}$  を混和した時の、元の値と混合後の TSI・TBII 両活性の変化について、10 例の未治療バセドウ病患者 IgG について検討した。TSI は豚甲状腺培養細胞の cAMP 産生量で、TBII は Smith の Kit で測定した。〔結果〕(1) 10 例のバセドウ病患者 IgG の TSI 活性は、B-IgG と混和することにより低下した。(2) この時々の TBII 活性はすべて増大した。(3) これら両活性の変化は個々の患者で様々であった。(4) バセドウ病 IgG と B-IgG の混和により、種々の程度の TSI・TBII 活性をもつ IgG が得られた。以上から、〔結語〕自己免疫性甲状腺疾患者の血中異常 IgG において種々の TSI・TBII の混在が示唆された。

## 167 自己免疫性甲状腺疾患者にみとめられる豚甲状腺膜結合性免疫グロブリンについて

— $^{125}\text{I}$ -Protein A を用いた新しい測定法—

内村英正、井上賢一、福江暘、松田健二、三橋知明、佐々木憲夫、高久史磨（東大第 3 内科）

バセドウ病や機能低下性橋本病患者ではその血中に異常の免疫グロブリン (IgG) が存在し病因と関連するものと考えられている。この IgG は TSH 受容体あるいはその近傍の膜蛋白に対する抗体であり種々の方法で検出される。今回、我々は IgG の抗原として豚甲状腺膜を用いこれに結合する IgG として検出する新しい方法を開発したので報告する。〔方法〕豚甲状腺の一万 G 粗膜分画を充分洗滌し膜成分 (PM) とした。患者血清からの IgG の抽出は Protein A Sepharose カラムによる affinity chromatography による。IgG の PM への結合は PM ( $500\mu\text{g}$ )、 $1\text{mg}$  の IgG と  $^{125}\text{I}$ -Protein A と共に 4°C、16 h incubate し一万 G で遠沈後、沈渣の  $^{125}\text{I}$  を測定した。〔成績〕未治療バセドウ病患者 34 例で 70% で高値を示した。治療中の患者では 89% が正常範囲内であった。これら IgG の TSI、TBII 活性と結合の程度とは関連を認めなかった。橋本病 10 例、亜急性甲状腺炎 1 例では正常範囲内であった。〔考案〕この豚甲状腺膜結合性 IgG は甲状腺疾患の中でもバセドウ病の病態と関連する。