

原 著

Euthyroid Graves' disease 患者血清より得られた IgG のヒト甲状腺濾胞  
浮遊培養系における甲状腺ホルモン分泌刺激活性<sup>1</sup>金地病院甲状腺病研究所<sup>2</sup>東京女子医科大学内分泌センター内科（主任：高野加寿恵教授）<sup>3</sup>東京女子医科大学大学院内科系病態治療学（甲状腺・副甲状腺）分野ヤマダ エミコ<sup>1</sup> ヤマザキ カズコ<sup>1</sup> ヤマダ テツ<sup>1</sup> サトウ カンジ<sup>2,3</sup> タカノ カズエ<sup>2</sup>  
山田恵美子<sup>1</sup>・山崎 和子<sup>1</sup>・山田 哲<sup>1</sup>・佐藤 幹二<sup>2,3</sup>・高野加寿恵<sup>2</sup>

（受理 平成 20 年 10 月 27 日）

Immunoglobulin G Obtained from Patients with Euthyroid Graves' Disease Elicits Thyroid  
Hormone-Releasing Activity in Cultured Human Thyroid FolliclesEmiko YAMADA<sup>1</sup>, Kazuko YAMAZAKI<sup>1</sup>, Tetsu YAMADA<sup>1</sup>,  
Kanji SATO<sup>2,3</sup> and Kazue TAKANO<sup>2</sup><sup>1</sup>Thyroid Disease Institute, Kanaji Hospital<sup>2</sup>Department of Medicine (Director: Prof. Kazue TAKANO), Institute of Clinical Endocrinology,  
Tokyo Women's Medical University<sup>3</sup>Field of Pathophysiology and Treatment for Thyroid and Parathyroid Diseases Division of Internal Medicine,  
Graduate School of Medicine, Tokyo Women's Medical University

Graves' disease is characterized by goiter, palpitation and exophthalmus (Merseburg's trias). However, a few patients develop exophthalmus although their thyroid function is normal, and these patients were named as euthyroid Graves' disease (EGD). It remains unknown why these patients are euthyroid, although they have potent thyroid-stimulating antibody (TSAb). To investigate whether the immunoglobulins (IgGs) obtained from EGD patients elicits thyroid hormone-releasing activity (THRA), thyroid follicles obtained from Graves' patients were cultured in suspension in agarose-coated culture dishes, and organic <sup>125</sup>I (mainly de novo synthesized <sup>125</sup>I-T<sub>3</sub> + <sup>125</sup>I-T<sub>4</sub>) released into the culture medium were determined. IgGs obtained from normal subjects (N = 6) and Graves' patients in complete remission (N = 14) had no significant THRA. IgGs obtained from hyperthyroid Graves' disease (HGD; N = 14) has potent THRA equivalent to human TSH (100.4 ± 163.4 μU/ml). This was also the case in patients with EGD (N = 4). There was no significant differences between HGD and EGD. These finding suggest that IgGs obtained from patients with EGD have potent THRA in vitro, however, in vivo, their IgGs are unable to elicit their biological activity in the thyroid gland. Presumably, immunocompetent cells are infiltrated into their thyroid gland, and inflammatory cytokines produced by them synergistically exert inhibitory effect on thyroid function.

**Key words:** euthyroid Graves' disease, immunoglobulin G, thyroid hormone-releasing activity, thyroid-stimulating antibody (TSAb), thyroid follicles

## 緒 言

バセドウ病は、Merseburg の Trias (甲状腺腫、動悸、眼球突出) を主徴とする自己免疫性の甲状腺機能亢進症である<sup>1)</sup>。バセドウ病では、刺激性の TSH 受容体抗体が産生されることにより、TSH 受容体が

長期間にわたり過剰に刺激されているため、甲状腺機能亢進症となる (hyperthyroid Graves' disease : HGD)。しかし、ごく一部のバセドウ病患者では、甲状腺機能が正常 (euthyroid) であるにもかかわらず、眼球突出が生じることがあり、古くから euthyroid

表 EGD 患者の甲状腺機能および甲状腺ホルモン分泌刺激活性

| 年齢<br>(歳) | 性     | TSH<br>( $\mu$ U/ml) | fT4<br>(ng/dl) | T4<br>( $\mu$ g/dl) | fT3<br>(pg/ml) | T3<br>(ng/ml)  | TRAb<br>(%) | TSAb<br>(%) | TPOAb<br>(U/ml) | THRA*<br>( $\mu$ U/ml) |
|-----------|-------|----------------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|-------------|-------------|-----------------|------------------------|
| 1         | 47 女性 | 1.5                  | 1.2            |                     | 2.8            |                | 38.4        | 114         | 16.2            | 6.6                    |
| 2         | 65 女性 | 0.1                  | 1.5            |                     | 3.9            |                | 95.2        | 1,347       | 1,300           | 124                    |
| 3         | 41 男性 | 0.4                  | 1.4            |                     | 3.8            |                | ND          | 305         | ND              | 25                     |
| 4         | 42 女性 | 2.0                  |                | 8.9                 |                | 1.3            | 11.5        | 621         | ND              | 211                    |
| 正常範囲      |       | 0.35 ~<br>3.8        | 0.7 ~<br>1.7   | 5.7 ~<br>11.1       | 2.2 ~<br>4.1   | 0.76 ~<br>1.50 | < 10%       | < 180%      | < 50            | (-)                    |

ND：未測定。THRA：human TSH に換算した濃度 ( $\mu$ U/ml) で表記した。

Graves' disease (EGD) として知られている<sup>2)~4)</sup>。EGD では HGD とは異なり、発汗過多、動悸、頻脈、体重減少などは認められず、目の痛みや複視を訴えて、最初は眼科を受診することが多い。このような EGD 患者では、通常 thyroid-stimulating antibody (TSAb)、TSH receptor antibody (TRAb) が陽性であり<sup>5)</sup>、サイログロブリン抗体や thyroid peroxidase (TPO) 抗体 (TPOAb) も陽性であることが多い。MRI 検査により、外眼筋の肥大や後眼窩の脂肪組織が肥大していることが確認できれば、EGD の診断が確定的となる<sup>2)~4)</sup>。

ところで、甲状腺細胞の TSH 受容体を刺激して second messenger である cyclic AMP 産生刺激作用のある TSAb が弱～強陽性であるにもかかわらず、本症患者では甲状腺ホルモンの分泌が正常であるのは、真に不思議なことである。そこで、TSAb および TRAb 陽性の HGD 患者および EGD 患者より IgG を抽出し、ヒト甲状腺濾胞の浮遊培養系を用いて、本症患者の IgG 分画に無機ヨード (<sup>125</sup>I) を取り込んで、甲状腺ホルモンを de novo に合成・分泌する作用 (甲状腺ホルモン分泌刺激活性：thyroid hormone-releasing activity；THRA) が有るか否かを検討した<sup>6)~10)</sup>。

## 対象および方法

### 1. 対象

金地病院 (2 例)、東京女子医科大学 (1 例) およびオリンピッククリニック (1 例) で EGD と診断された 4 例の EGD 患者より承諾を得たのち、8~10ml を採血した。これらの 4 例の年齢、性、甲状腺機能は表に示す。受診時に甲状腺機能は正常であったので、抗甲状腺剤などの治療は行わず、眼症状がある場合には guanetidine などの点眼薬を処方した。また、正常人 6 例および HGD 患者 14 例より、抗甲状腺剤による治療を開始前、および自然寛解となった時点で採血した。

### 2. 方法

甲状腺機能の測定法は下記のごとくである。

#### 1) TSH

電気化学発光免疫測定法 (electro chemi luminescence immuno assay；ECLIA, シーメンス社) にて測定した。正常値は 0.35~3.80 $\mu$ U/ml である。

#### 2) Free T3

ECLIA 法で測定した。正常値は 2.2~4.1pg/ml である。

#### 3) Free T4

ECLIA 法で測定した。正常値は 0.7~1.7ng/dl である。

#### 4) TSAb

TSAb はヤマサのブタ甲状腺を用いるバイオアッセイ系で測定した<sup>11)</sup>。これは IgG の粗分画をブタ甲状腺細胞の単層培養系に添加して TSH 受容体を刺激されて産生される second messenger (cyclic AMP) を測定するものである。TSH 受容体の刺激活性を測定しているが、測定感度が不十分なためか、当院でのバセドウ病の陽性率は 90% である。正常値は 180% 以下である。

#### 5) TRAb

種々の TRAb が市販されているが、当院では DYNObest TRAb Human キット「ヤマサ」の測定キットを用いている<sup>12)</sup>。本法は TSH 受容体の刺激活性を検討するものではなく、TSH の TSH 受容体への結合阻害率を検討するものである。ヒトの TSH 受容体を使用しており、<sup>125</sup>I 標識 TSH の結合の阻害率を測定する radioreceptor assay である。正常値は 10% 以下である。最近、極めて高感度となり、当院でのバセドウ病での陽性率は 99% である。

#### 6) TPO 抗体

化学発光免疫測定法を用いており、正常値は 50U/ml 以下である。

## 7) THRA 測定法

### ①ヒト甲状腺濾胞の作製法

甲状腺垂全摘術の予定された HGD 患者より、手術前日まで、文書にて説明して informed consent を得た（東京女子医科大学倫理委員会承認番号 710）。甲状腺垂全摘術時に得られた甲状腺組織の一部（10～20g）を Hanks 液に浸したまま実験室に運び、既に報告した方法を用いて甲状腺濾胞を分離した<sup>6)8)～10)</sup>。

### ②IgG の精製法

患者血清 3ml を Protein-A カラムにかけ glycine-HCL buffer (0.1M, pH 3.5) にて IgG 分画を溶出し、pH を 7.0 に調整後、透析膜 (Spectra/por membrane, Spectrum Laboratories) に 6ml を挿入し、0.9%NaCl 溶液 (2L) にて 2 回透析した。その後、 $10^{-8}$ M の NaI を含む F12/RPMI 培養液 (2L) にて透析し、Millipore filter を通したのち、4℃ にて保存した。

### ③ THRA 測定法

甲状腺濾胞をおよそ 400 個/ml になるように培養液中に再浮遊させ、あらかじめアガロースを塗布した 24 穴ディッシュに 1ml ずつ入れて、95%air+5%CO<sub>2</sub> の incubator 中にて数日間培養した。アガロースを塗布された甲状腺濾胞は培養ディッシュに接着することができず、濾胞構造を維持したまま浮遊状態で培養される<sup>13)</sup>。

数日後に、培養液を交換したのち、ウシ TSH (bTSH) または正常人またはバセドウ病患者より精製した IgG を添加した後、<sup>125</sup>I を 1 ディッシュあたり 15,000～20,000cpm になるように添加し、さらに 3 日間培養した。

3 日後に、浮遊している甲状腺濾胞を培養液ごと試験管に移した後、3,000rpm、10 分遠心し、上清を別の試験管に移した。さらに、この培養上清に血清 0.2ml を添加後、15%TCA 液を 1ml 添加し、vortex にて軽く混和したのち、3,000rpm で 10 分遠心し、上清を吸引除去した。その後、生理食塩水にて、甲状腺濾胞を含んだ試験管と TCA による沈澱物を含んだ試験管を洗浄し、甲状腺濾胞に含まれた <sup>125</sup>I および TCA 沈澱物中の <sup>125</sup>I を gamma-counter にて計測した。なお、甲状腺濾胞中の <sup>125</sup>I は monoiodotyrosine, diiodotyrosine, T3, T4 などの有機化された <sup>125</sup>I であり、培養液中に分泌された <sup>125</sup>I (TCA による沈澱物) は de novo に合成・分泌された <sup>125</sup>I-T3, <sup>125</sup>I-T4 であることを薄層クロマトグラフィーにて確認

している<sup>14)～16)</sup>。

甲状腺ホルモン分泌活性 (THRA) は、bTSH を標準物質として検定曲線を描き、THRA 活性が弱い場合には、甲状腺濾胞内に取り込まれた <sup>125</sup>I にて比較した。また THRA 活性が強力な場合には、培養液中に分泌された <sup>125</sup>I で比較して、bTSH equivalent な値として表現した。なお、bTSH は hTSH よりも、このバイオアッセイ系では 6 倍ほど強力であるので<sup>10)</sup>、検定曲線から得られた bTSH の THRA を 6 倍したものが、hTSH に換算した THRA となる。

### 8) 培養甲状腺濾胞の形態学的観察

甲状腺濾胞を上述のごとく TSH を無添加または添加 (30μU/ml) して 7 日間培養し、Karnofsky 固定液で固定してレジンに包埋し、酢酸ウランとクエン酸鉛にて染色後、日立の電顕 (Hitachi H7100 transmission electron microscope) にて微細構造を観察した<sup>17)</sup>。

### 9) 統計処理

HGD 群 と EGD 群 の THRA は、Student's t test にて検定した。また 3 群以上を比較するときには多重比較法にて検定した。p<0.05 を有意差ありと判定した。

## 結 果

### 1. THRA 測定法の基礎的検討

#### 1) 培養開始後に <sup>125</sup>I を添加する時期の検討

甲状腺濾胞の浮遊培養を開始して、1, 3, 5, 7, 9 日目に培養液を変更し、<sup>125</sup>I を添加後、さらに 3 日間ほど培養してから、甲状腺濾胞に取り込まれた <sup>125</sup>I、および培養液中に分泌された有機 <sup>125</sup>I を検討した。図 1 に示すように bTSH を添加しないで培養すると、甲状腺濾胞内に取り込まれる <sup>125</sup>I は経時的に減少した。bTSH を添加すると甲状腺ホルモンに取り込まれた <sup>125</sup>I および有機 <sup>125</sup>I の培養液中への分泌が濃度依存性に増加した。経時的に検討すると、培養 7 日後に <sup>125</sup>I を添加した場合に、最も感度のよい THRA が検出された。

#### 2) 培養甲状腺濾胞の個数が THRA に及ぼす検討

甲状腺濾胞をおよそ 100, 200, 400, 800, および 1,600 個になるように 24 穴ディッシュに入れて、7 日間培養後、<sup>125</sup>I を添加し、さらに 3 日間培養後に、THRA を検討した。図 2 に示すように甲状腺濾胞数が 400 個前後のときが最も高感度であることが明らかになった。

#### 3) 培養甲状腺濾胞の電顕像

培養された甲状腺濾胞は、濾胞構造を維持したま

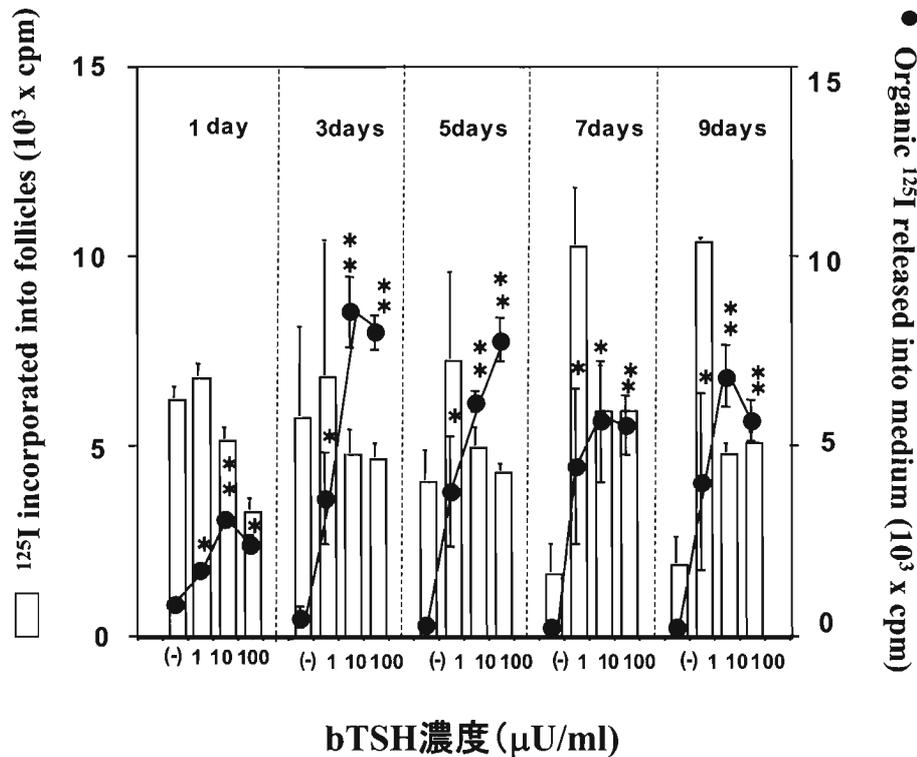


図1  $^{125}\text{I}$ を添加するまでの培養日数の検討

甲状腺濾胞を1, 3, 5, 7, および9日ほど培養したのち $^{125}\text{I}$ を各々の培養穴に $\sim 30,000\text{cpm}$ 添加し, さらに3日間培養後, 甲状腺濾胞に取り込まれた $^{125}\text{I}$  (カラム), および培養液中に分泌された有機 $^{125}\text{I}$  (●) を測定した. データは $\text{mean} \pm \text{SD}$  ( $N = 4$ ), 有機 $^{125}\text{I}$ の分泌: \*  $p < 0.01$ , \*\*  $p < 0.001$ .

ま浮遊状態で培養されている. また, 電顕にて微細構造を観察すると bTSH を添加せずに培養した場合には濾胞腔内の microvilli はほとんど消失している (図3左). しかし bTSH を添加された場合には, 濾胞腔内に多数の microvilli が認められ, 甲状腺ホルモンの合成・分泌が活発に行われている様子が伺えた (図3右).

## 2. HGD 患者および EGD 患者の THRA

以上のような基礎的検討を踏まえて, 甲状腺濾胞を400個ほど24穴ディッシュにて培養後7日目に $^{125}\text{I}$ を添加し, bTSH およびバセドウ病患者 IgG の THRA を測定した (図4). 正常人より抽出した IgG には THRA は全く検出できなかった ( $N=6$ ). 未治療の HGD 患者では全例陽性であり, ヒト TSH に換算して  $100.4 \pm 163.4 \mu\text{U/ml}$  (平均  $\text{SD}$ ,  $N=14$ ) に相当する THRA が検出された. これらの患者が抗甲状腺剤の治療により寛解状態になった時点で THRA はすべて陰性となった (図5). また EGD 患者でも全例陽性でありヒト TSH に換算して  $80.6 \pm 90.24 \mu\text{U/ml}$  (平均  $\pm \text{SD}$ ,  $N=4$ ) の THRA を呈した. これは, HGD 患者と同程度の THRA であり, 両者の THRA には

統計的に有意差は認めなかった ( $p > 0.1$ ).

## 考 察

バセドウ病とは, 患者血中に存在する IgG が甲状腺細胞膜に発現している TSH 受容体を持続的に刺激する結果, 甲状腺ホルモン合成と分泌が亢進し, 甲状腺機能亢進 (hyperthyroid) となる病態である. 事実, HGD 患者より IgG を抽出し, このバイオアッセイ法にて THRA を検討すると, 100% 陽性となる<sup>9)</sup>. TRAb や TSAb が陰性の HGD 患者より得られた IgG でも THRA は陽性となる<sup>9)</sup>. また, 未治療の HGD 患者の THRA は hTSH に換算して  $4.6 \mu\text{U/ml}$  以上であることも判明している<sup>9)</sup>. 一般に健常人の血中 TSH 濃度は  $0.4 \sim 4.0 \mu\text{U/ml}$  であるので, TSH 受容体が常に過剰に刺激されているバセドウ病患者では甲状腺機能亢進症が必発してくる.

今回, EGD 患者血清より得られた IgG をこのバイオアッセイ系を用いて検討したところ, 4例中4例に明らかな THRA が認められた. HGD 患者と EGD 患者から得られた IgG を比較すると, THRA には有意差は認められなかった ( $p > 0.1$ ). つまり, EGD 患者の TSAb は, HGD 患者の TSAb のごとく, in

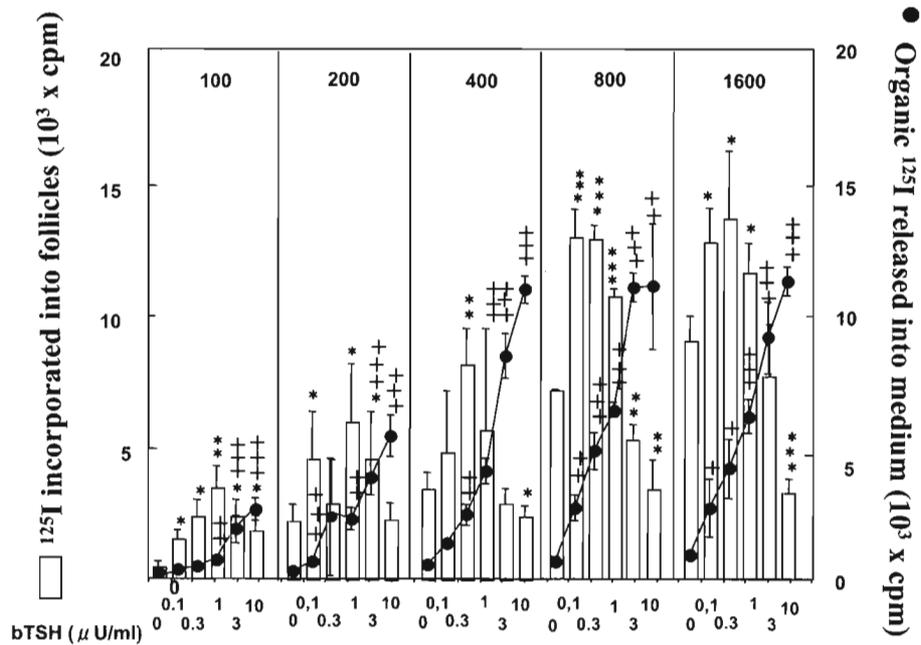


図2 甲状腺濾胞数の THRA に及ぼす影響

甲状腺濾胞を各 well あたり、100、200、400、800、および1,600個ほど入れて7日間ほど培養後、 $^{125}\text{I}$ を各々の培養穴に $\sim 30,000\text{cpm}$ 添加し、さらに3日間培養後、甲状腺濾胞に取り込まれた $^{125}\text{I}$ (カラム)、および培養液中に分泌された有機 $^{125}\text{I}$ (●)を測定した。データはmean $\pm$ SD(N=4)。 $^{125}\text{I}$ の甲状腺濾胞への取り込み: \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001, 有機ヨードの培養液中への分泌: +p<0.05, ++p<0.001, +++p<0.001。

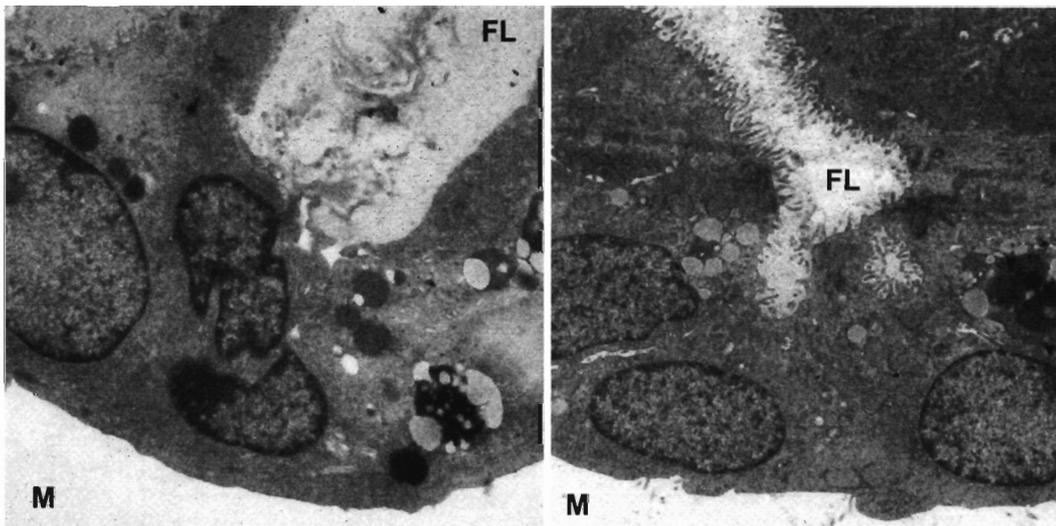


図3 TSH を無添加または添加して培養した時の甲状腺濾胞の微細構造

(左) bTSH を添加せずに7日間培養したときの甲状腺濾胞。

(右) bTSH (30 $\mu\text{U/ml}$ ) を添加して7日間培養したときの甲状腺濾胞。甲状腺の濾胞腔内に夥しい数のmicrovilliが突出しているのが認められる。

M: 培養液, FL: 甲状腺濾胞腔。

in vitro では cyclic AMP の産生を促進するのみならず、THRA を発揮することが判明した。したがって、EGD 患者では甲状腺が TSAb に反応しがたい病態になっているため、甲状腺ホルモンが十分に分泌されず、甲状腺機能が正常に保持されているものと推

測された。

EGD 患者の甲状腺が TSAb に反応しがたいのは、おそらく甲状腺に様々な免疫担当細胞が浸潤しており、様々な炎症性サイトカイン(IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ ) が局所的に産生されて

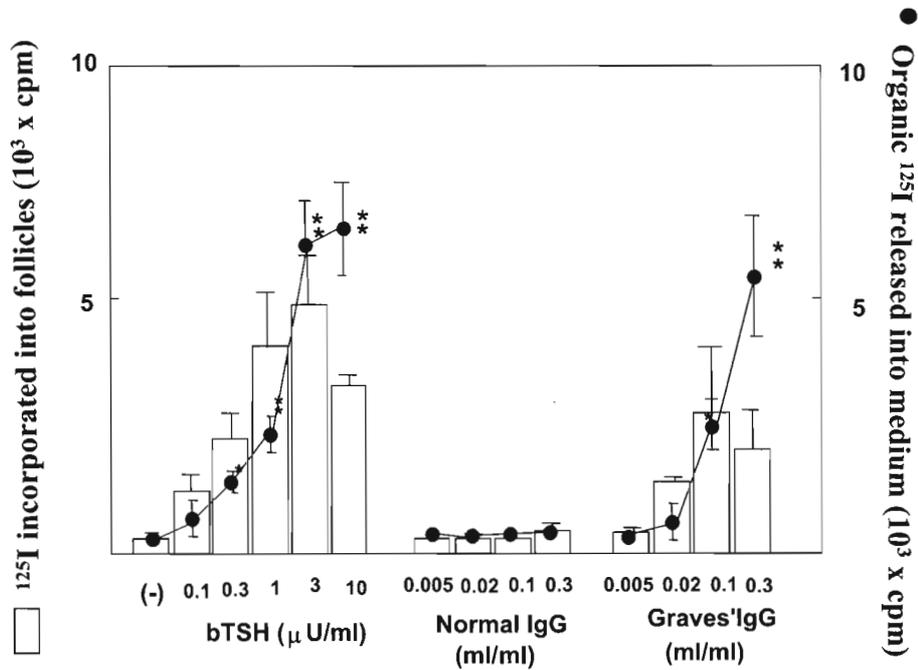


図4 パセドウ病患者と正常人の THRA

正常人およびパセドウ病患者の血清より IgG を抽出して、甲状腺濾胞の浮遊培養系に添加し、7日間培養後、<sup>125</sup>I を添加して、さらに3日間培養後、甲状腺濾胞に取り込まれた <sup>125</sup>I (カラム)、および培養液中に分泌された有機 <sup>125</sup>I (●) を測定した。  
 bTSH : ウシ TSH, Normal IgG : 正常人より抽出した IgG, Graves' IgG : 未治療の HGD 患者より抽出した IgG. データは mean ± SD (N = 4), \* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001.

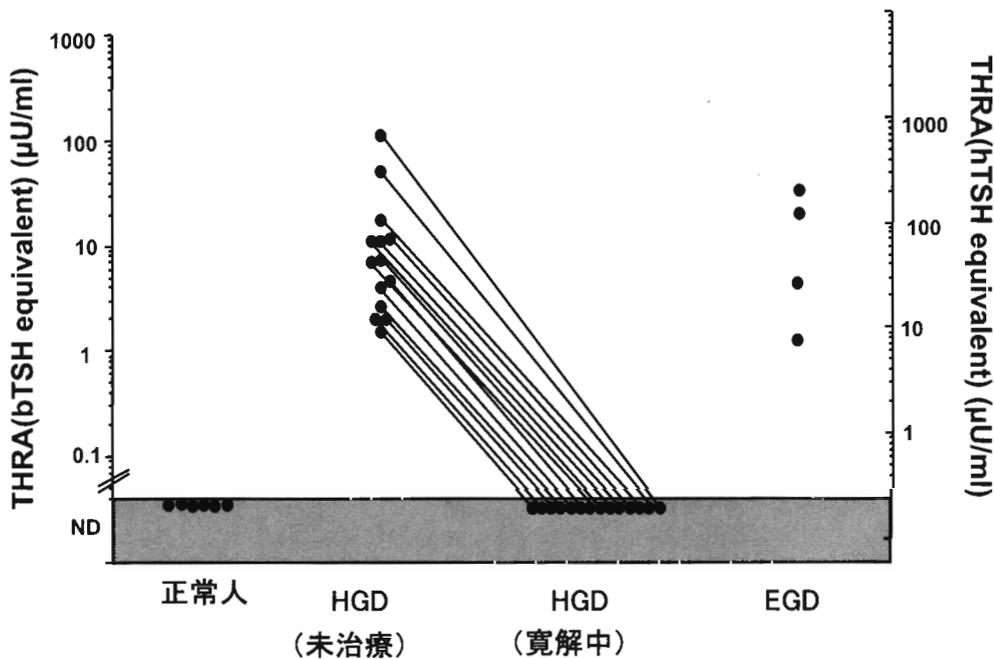


図5 正常人, HGD 患者および EGD 患者より得られた IgG の THRA

正常人 (6 例), HGD 患者 (14 例) の治療前および自然緩解状態となった時 (N = 14), および EGD 患者 (4 例) の血清より IgG を抽出して、甲状腺濾胞の浮遊培養系に添加し、7日間培養後、<sup>125</sup>I を添加して、さらに3日間培養後、甲状腺濾胞に取り込まれた <sup>125</sup>I (カラム)、および培養液中に分泌された有機 <sup>125</sup>I (●) を測定した。THRA は、左側は bTSH に換算した値、右側は hTSH に換算した値で示してある。東京女子医科大学病院内分泌内科でのバイオアッセイ条件では、bTSH の生物活性は hTSH より 6 倍ほど強力である<sup>9)</sup>。  
 ND : 測定感度以下。

いるためと推測される<sup>18)</sup>。なお、これらの炎症性サイトカインが単独で、または相乗的に作用して甲状腺ホルモン合成・分泌を抑制することは、このバイオアッセイ系を用いて報告済みである<sup>14)~16)19)20)</sup>。これらのサイトカインは、TSH受容体を減少させたり、sodium-iodide symporterをはじめ、TPOやサイログロブリンのmRNAの発現を減少させることもcDNA microarrayを用いて明らかとなっている<sup>7)</sup>。

以上のごとく、EGD患者ではTSAbが過剰に存在しているにもかかわらず、甲状腺が反応できない状態となっており、いわば<sup>131</sup>I治療を受けて euthyroidとなっているバセドウ病患者とほぼ同様な病態であることが明らかになった。

### 結 論

甲状腺機能が正常なバセドウ病EGD患者4例より精製されたIgGをヒト甲状腺濾胞の浮遊培養系にてTHRAを検討したところ、全例とも陽性であり、hTSHに換算して $80.6 \pm 90.2 \mu\text{U}/\text{ml}$ に相当した。正常人および自然寛解中のバセドウ病患者では全例THRAは陰性であった。EGD患者と通常の甲状腺機能亢進症を呈するバセドウ病患者のTHRAには有意差が認められなかった。したがって、EGD患者の甲状腺はTSAbに反応しがたい状態になっていると推測された。その成因として、おそらく炎症性サイトカインを産生する免疫担当細胞が甲状腺内に浸潤しており、これらのサイトカインは相乗的に作用して甲状腺機能を抑制的に作用するためと推測された。

### 謝 辞

バセドウ病甲状腺を提供していただいた東京女子医科大学内分泌センター外科小原孝男教授に深謝いたします。また、電顕像の観察を御指導していただいた小坂誠一氏（総合研究所）に深謝いたします。

### 文 献

- 1) 長滝重信：バセドウ病。分冊「内科学」内分泌疾患（鎮目和夫編），pp163-185。南江堂，東京都（1979）
- 2) Burch HB, Wartofsky L: Graves' ophthalmopathy: current concepts regarding pathogenesis and management. *Endocr Rev* **14**: 747-793, 1993
- 3) Bartalena L, Pinchera A, Marcocci C: Management of Graves' ophthalmopathy: reality and perspectives. *Endocr Rev* **21**: 168-199, 2000
- 4) 井上洋一：バセドウ病眼症の診断と治療。「よくわかる甲状腺疾患のすべて」(伴 良雄編)，pp109-118。永井書店，大阪府（2003）
- 5) Kasagi K, Hatabu H, Tokuda Y et al: Studies on thyrotrophin receptor antibodies in patients with euthyroid Graves' disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* **29**: 357-666, 1988
- 6) Sato K, Yamazaki K, Yamada E et al: Immunoglobulin G of untreated Graves' patients with or without TSH receptor antibody (determined by porcine thyrocytes) universally elicit potent thyroid hormone-releasing activity in cultured human thyroid follicles. *Thyroid* **9**: 979-988, 1999
- 7) Sato K, Yamazaki K, Yamada E: DNA microarray analysis of effects of TSH, iodide, cytokines, and therapeutic agents on gene expression in cultured human thyroid follicles. *In Genomics in Endocrinology: DNA Microarray Analysis in Endocrine Health and Disease (Contemporary Endocrinology)* (Handwerker S, Aronow B eds), pp207-218, Humana Press (2007)
- 8) Sato K, Yamazaki K, Shizume K et al: Stimulation by thyroid stimulating hormone and Graves' immunoglobulin G of vascular endothelial growth factor mRNA expression in human thyroid follicles *in vitro* and *flt* mRNA expression in the rat thyroid *in vivo*. *J Clin Invest* **96**: 1295-1302, 1995
- 9) Yamada E, Yamazaki K, Takano K et al: Iodide inhibits vascular endothelial growth factor (VEGF)-A expression in cultured human thyroid follicles: a microarray search for effects of TSH and iodide on angiogenesis factors. *Thyroid* **16**: 545-554, 2006
- 10) Yamazaki K, Sato K, Shizume K et al: Potent thyrotropic activity of human chorionic gonadotropin variants in terms of <sup>125</sup>I incorporation and *de novo*-synthesized thyroid hormone release in human thyroid follicles. *J Clin Endocrinol Metab* **80**: 473-479, 1995
- 11) 長田篤雄, 中村武志, 石毛英幸ほか：甲状腺刺激性自己抗体測定キットの開発。ホルモンと臨床 **41**：1023-1030, 1993
- 12) Costagliola S, Morgenthaler NG, Hoermann R et al: Second generation assay for thyrotropin receptor antibodies has superior diagnostic sensitivity for Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* **84**: 90-97, 1999
- 13) Nitsch L, Wollman SH: Suspension culture of separated follicles consisting of differentiated thyroid epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **77**: 472-476, 1980
- 14) Sato K, Satoh T, Shizume K et al: Inhibition of <sup>125</sup>I organification and thyroid hormone release by interleukin-1, tumor necrosis factor- $\alpha$ , interferon- $\gamma$  in human thyrocytes in suspension culture. *J Clin Endocrinol Metab* **70**: 1735-1743, 1990
- 15) Sato K, Yamazaki K, Shizume K et al: Pathogenesis of autoimmune hypothyroidism induced by lymphokine-activated killer (LAK) cell therapy: *in vitro* inhibition of human thyroid function by interleukin-2 in the presence of autologous intrathyroidal lymphocytes. *Thyroid* **3**: 179-188, 1993
- 16) Yamazaki K, Yamada E, Kanaji Y et al: Interleukin-6 (IL-6) inhibits thyroid function in the presence of soluble IL-6 receptor in cultured human thyroid follicles. *Endocrinology* **137**: 4857-4863,

1996

- 17) **Yamazaki K, Mitsuhashi M, Yamada E et al:** Amiodarone reversibly decreases sodium-iodide symporter mRNA expression at therapeutic concentrations and induces antioxidant responses at supraphysiological concentrations in cultured human thyroid follicles. *Thyroid* **17**: 1189–1200, 2007
  - 18) **Prabhakar BS, Bahn RS, Smith TJ:** Current perspective on the pathogenesis of Graves' disease and ophthalmopathy. *Endocr Rev* **24**: 802–835, 2003
  - 19) **Yamazaki K, Yamakawa Y, Shizume K et al:** Reversible inhibition of interferons alpha and beta of <sup>125</sup>I incorporation and thyroid hormone release by human thyroid follicles in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* **77**: 1439–1441, 1993
  - 20) **Yamazaki K, Suzuki K, Yamada E et al:** Suppression of iodide uptake and thyroid hormone synthesis with stimulation of type I interferon system by double-stranded RNA (dsRNA) in cultured human thyroid follicles. *Endocrinology* **148**: 3226–3235, 2007
-