

研究成果報告書

ヒト甲状腺濾胞培養系における Toll 様受容体
(TLR) の内分泌・免疫学的な役割

(課題番号 17590967)

平成17年度～平成18年度科学研究費補助金

(基盤研究 (C)) 研究成果報告書

研究代表者 佐藤幹二

東京女子医科大学大学院

医学研究科 教授



研究成果報告書

ヒト甲状腺濾胞培養系における Toll 様受容体 (TLR) の内分泌・免疫学的な役割

平成17年度～平成18年度科学研究費補助金
(基盤研究(C)) 研究成果報告書 (課題番号 17590967)

研究代表者 佐藤幹二
東京女子医科大学大学院 医学研究科 教授

目次

	ページ数
1) 表紙	1
2) 目次	2
3) <C-18> はしがき 研究組織および交付決定額	3
4) 研究発表	4
5) 本研究の目的およびその経緯	6
6) 実験方法	7
7) 結果	8
8) 考案	11
9) その他	14
10) 文献	15
11) 日本甲状腺学会抄録	18
12) 米国甲状腺学会抄録	20
<参考文献>	
A) 倫理委員会で承認された被験者への説明文書&承諾書	21
B) 学会誌3の preprint	27
Reviewer からのコメントおよび Rebuttal.	63
Accept の通知	78
C) 出版物2の preprint	79-93
D) 学会誌1の別刷り	
E) 学会誌2の別刷り	
H) 学会誌4の校正刷り	

C-18 <はしがき>

当研究室では、ヒト甲状腺より得られた甲状腺濾胞を浮遊状態のまま培養することにより、TSH 添加により無機ヨードを取り込み、甲状腺ホルモンを de novo に合成・分泌できるバイオアッセイ系を確立している。この浮遊培養系では、toll-like receptor (TLR) が発現しているので、自然免疫機構も機能していると推測される。そこで、ウイルス感染のモデルとして広汎に使用されている polyinosinic-polycytidylic acid (Poly(I:C)) をこの甲状腺濾胞の浮遊培養系に添加して、甲状腺ホルモン代謝や自然免疫系の発現機構に及ぼす影響を検討した。Poly(I:C) は 2 本鎖 RNA の合成 analogue であり、TLR 3 を認識して I 型インターフェロン系を活性化することが知られている。また、ほとんどのウイルスは、細胞内に侵入すると、2 本鎖 RNA を形成することが判明している

このヒト甲状腺濾胞の浮遊培養系に Poly(I:C) を添加すると、1 型インターフェロン系が急激に活性化され、クラス I の MHC 遺伝子発現が亢進した。ヒトの全遺伝子を解析できる Oligo-DNA microarray にて検討すると、Poly(I:C) 添加により甲状腺ホルモン合成に関与している酵素群は統べて抑制されており、¹²⁵I の甲状腺濾胞への取り込みや、培養液中への甲状腺ホルモン (¹²⁵I-T 3 +¹²⁵I-T 4) の分泌も抑制された。このような甲状腺機能抑制作用は、1 本鎖 RNA (TLR7 に結合) や 2 本鎖 DNA (TLR9 に結合) では認められず、2 本鎖 RNA に特徴的な所見であった。

本研究は、ウイルス疾患であるとされる亜急性甲状腺炎の病態を、ヒト甲状腺細胞を用いて分子レベルで始めて再現したものといえる。これまで、亜急性甲状腺炎に特異的なウイルスは知られていなかったが、本研究は、どのようなウイルスであれ、甲状腺細胞内に侵入した場合には、1 型インターフェロン系が活性化され、甲状腺機能は抑制されることを実証した。生体内では免疫担当細胞が介在しているので、甲状腺濾胞が破壊された場合には甲状腺中毒症 (= 亜急性甲状腺炎) が生じるものと推測される。さらに、甲状腺細胞に MHC クラス II 抗原が発現し、獲得免疫系が異常に活性化された場合には、自己免疫疾患が生じるものと推測される。

研究組織

研究代表者：佐藤幹二 (東京女子医科大学 大学院医学研究科 教授)
分担研究者：小原孝男 (東京女子医科大学医学部 教授)
分担研究者：鈴木幸一 (国立感染研究所 室長)

交付決定額 (配分額)

	直接経費	間接経費	合計
平成 17 年度	2,200,000	0	2,200,000
平成 18 年度	1,300,000	0	1,300,000
総計	3,500,000	0	3,500,000

研究発表

学会誌等

1. Yamada E, Yamazaki K, Takano K, Obara T, Sato K
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
2. Sato K, Shiga T, Matsuda N, Onoda N, Takano K, Hagiwara N, Kasanuki H. Mild and short recurrence of type II amiodarone-induced thyrotoxicosis in three patients receiving amiodarone continuously for more than 10 years. *Endocr J* 53:531-538, 2006
3. Yamazaki K, Suzuki K, Emiko Yamada E, Yamada T, Takeshita F, Matsumoto M, Mitsuhashi T, Obara T, Takano K, Sato K. 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* (in revision)
4. Sato K, Ohashi T, Ohmori T, Shiratori K, Kimura H, Takano K
Povidone iodine-induced overt hypothyroidism in a patient with prolonged habitual gargling : Urinary excretion of iodide after gargling in normal subjects. *Inter Med* 2007 (in press).

口頭発表（発表者名、テーマ名、学会等名、年月日）

1. 山崎和子、鈴木幸一、山田恵美子、金地嘉夫、武下文彦、瀬谷司、加藤佳幸、佐藤幹二、高野加寿恵、小原孝男。ヒト甲状腺細胞には toll-like receptor 3 が発現し、ウイルス由来二本鎖 RNA を認識してホルモン合成を抑制する。第 47 回日本甲状腺学会（口演 05）平成 16 年 11 月 11-13 日（於前橋）日本内分泌学会雑誌 80（2）：300、2004
2. 山田恵美子、山崎和子、金地嘉夫、安田剛、渡辺一史、佐藤幹二、高野加寿恵、小原孝男。低～高濃度の無機ヨード (I) が培養ヒト甲状腺細胞の機能と遺伝子発現に及ぼす検討。第 47 回日本甲状腺学会（口演 08）平成 16 年 11 月 11-13 日（於前橋）日本内分泌学会雑誌 80（2）：300、2004
3. 山崎和子、鈴木幸一、山田恵美子、武下文彦、瀬谷司、三橋知明、佐藤幹二、高野加寿恵、小原孝男。2 本鎖 RNA はヒト甲状腺濾胞浮遊培養系において甲状腺機能を抑制し、1 型インターフェロンを誘導する。日本内分泌学会雑誌 82：299（抄録 25）、2006。第 49 回 日本甲状腺学会（於高松市）口演抄録 #24。
- 3) 山田恵美子、山崎和子、山田哲、小原孝男、佐藤幹二、高野加寿恵。

無機ヨードによる甲状腺血流量の減少機序：Angiogenesis factor の産生抑制とその inhibitor の増加作用。第48回日本甲状腺学会 抄録#1 平成17年11月21-22日、品川インターシティイホール。日本内分泌学会雑誌 81：No.2, 313, 2005

- 4) Yamazaki K, Suzuki K, Yamada E, Yamada T, Takeshita F, Seya T, Obara T, Takano K, Sato K. 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. Program Number 73, Thyroid 16(9) p881-882, 2006 The 77th Annual Meeting of American Thyroid Association October 11-15, 2006, Phoenix, AZ

出版物（著者名、書名、出版社名、年月日）

1 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

Handwerker S, editor In : Humana Press, 2006

研究成果による工業所有権の出願・取得状況：なし。

工業所有権の名称、発明者名、権利者名、工業所有権の種類、番号

出願年月日、取得年月日等

＜研究課題＞

ヒト甲状腺濾胞培養系における Toll 様受容体 (TLR) の内分泌・免疫学的な役割 (#17590967)

A) 本研究の目的およびその経緯

甲状腺は自己免疫疾患の多い臓器である。最近、toll-like receptor (TLR) が次々と発見され、生体はバクテリアやウイルスの侵入に対して迅速に自然免疫系が活性化されて、生体防衛的に作用していることが明らかにされてきた。さらに、dendritic cell を介して獲得免疫系が活性化される機序も急速に解明されつつある(1-5)。

当施設では、甲状腺の手術が非常に多く、バセドウ病患者の甲状腺垂全摘出術が年間10数例ある。これまで、当研究室では、このような甲状腺組織より、甲状腺細胞を濾胞のまま浮遊状態で培養する系を確立している(6-11)。この浮遊濾胞培養系は、TSH に対する感受性が極めて良好で、正常人の血中 TSH 濃度に呼応して無機ヨードをとりこみ、甲状腺ホルモンを de novo に合成し、培養液中に T3、T4 を分泌する。さらに、この甲状腺濾胞は大量の無機ヨードに反応して、甲状腺ホルモンの合成・分泌が抑制される性質 (Wolff-Chaikoff 効果) をも保持している(12)。甲状腺の病態を検討する上で理想的なバイオアッセイ系であり、これまで数々の業績を挙げてきた(6-15)。さらに数年前より microarray を導入し(13)、ヒトの甲状腺に発現している全遺伝子を解析している(15)。この仕事は、米国でも高く評価されており、Microarray のモノグラフの分担執筆を依頼されている(出版物1, p.82-96)。この研究中に、ヒト甲状腺濾胞細胞には、toll-like receptor が発現していることをに気付いていた。

平成15年度の日本甲状腺学会にて、国立感染研究所の鈴木幸一博士が、ラットの甲状腺様細胞(FRTL-5)を用いて、FRTL-5細胞にはTLRが発現しており、double-stranded DNA を transfection すると、MHC クラス II 抗原が発現して、自己免疫疾患に関与しているのではないかと興味深い口頭発表があった(16,17)。また、Kohn の研究室でも同様の研究が進行中であった。しかし、FRTL-5細胞はヨードを取り込み性質はあるが、甲状腺ホルモンを合成・分泌する能力はない(18)。また、FRTL-5細胞は濾胞構造を構築しておらず、単層で増殖する甲状腺としては究めて異常な細胞であり、時には正常な甲状腺細胞と正反対の非生理的な反応を呈することもある(19)。

そこで、3年前より、鈴木先生との共同研究を開始し、ようやく臨床的に意義のある新知見が得られた。この論文は、ENDOCRINOLOGY 誌に投稿中であり、何れの reviewer よりも大変面白い研究であるとのコメントを頂いている。まだ、別刷りを添付できる状況ではないので、以下、その要旨を簡単に述べる。なお、3人の査読者のコメントは辛辣ではあるが、いずれも的を得たものである。彼等のコメントとそれに対する rebuttal をも付記した(なお、3月になりようやく受理したのと連絡があった:82ページ参照)。

B) 本研究の実験方法

① バセドウ病甲状腺をこの実験に使用してよいか否かを当大学の倫理委員会に申請し、承認された。種々の要因により甲状腺亜全摘術または全摘術を受けるバセドウ病患者の手術前日に文書を用いて説明し、患者よりの同意書を得た (p. 25-30)。

②手術が終了した時点で、術者より甲状腺の一部 (10-20g) を培養液を入れたボトルに無菌的に分けていただいた。氷冷したまま当研究室に持ち帰り、1-2 時間後に、ハサミで 1x1x1mm 大に細切し、コラゲナーゼ+ディスパーゼ処理し、甲状腺濾胞を得た。

③これらの甲状腺濾胞を、赤色 (赤血球成分) がなくなるまで、低速にて 3 回遠心分離したのち、培養液 (RMPI-1640/F12(1:1)を混和したものに、0.5%ウシ胎仔血清と $\text{NaI}10^{-8}\text{M}$ 添加したもの: 以下 standard medium) にて、再浮遊させた。

④ 上記の甲状腺濾胞を 1000-2000 個/ml になるように調整した後、あらかじめアガロースを塗布した 10cm 培養ディッシュに 10-15ml ほど添加し、 $37^{\circ}\text{C}5\%\text{CO}_2$ 下にて 3~5 日間培養した。甲状腺濾胞はアガロースを塗布していると培養ディッシュ底に接着できず、浮遊状態で培養される。

なお、 ^{125}I の代謝を検討する場合には、RMPI-1640/F12(1:1)にウシ血清アルブミン (2mg/ml)、インスリン (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)、トランスフェリン(5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)、ヒドロコルチゾン (10^{-8}M)を添加した培養液を用いている。

i) Poly(I:C) の遺伝子発現に及ぼす影響

⑤培養数日後に、2 本鎖 RNA [(Poly(I:C)] を添加し、さらに 6~48 時間培養した。

⑥ Total RNA を採取し、分解していないことを電気泳動法にて確認した。

⑦ コントロール群より得られたサンプルを緑色に発色する C5 にて、また Poly(I:C) 処理群より得られたサンプルを赤色に発色する C3 にてラベルした cDNA を作成し、ヒトの全遺伝子を解析できる Agilent 社の oligo-DNA を用いて、2 本鎖 RNA によって誘導される遺伝子の変化を検討した。

⑧ 同時に、total RNA を経時的に採取し、cDNA に変化した後、real-time PCR 法にて、遺伝子の動きをより詳細に解析した。

ii) Poly(I:C)の甲状腺ホルモン代謝に及ぼす検討

同時に、甲状腺濾胞を 24 穴プレートに添加し、種々の濃度の TSH を含んだ培養液中で培養後、種々の pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) (2 本鎖 RNA, 1 本鎖 RNA, 2 本鎖 DNA) を添加した。さらに 1-2 時間後に ^{125}I を添加して、さらに 3 日間培養し、甲状腺濾胞に取り込まれた ^{125}I および培養液中に分泌された甲状腺ホルモン ($^{125}\text{I}\text{-T}_3$ + $^{125}\text{I}\text{-T}_4$) を測定した (20)。

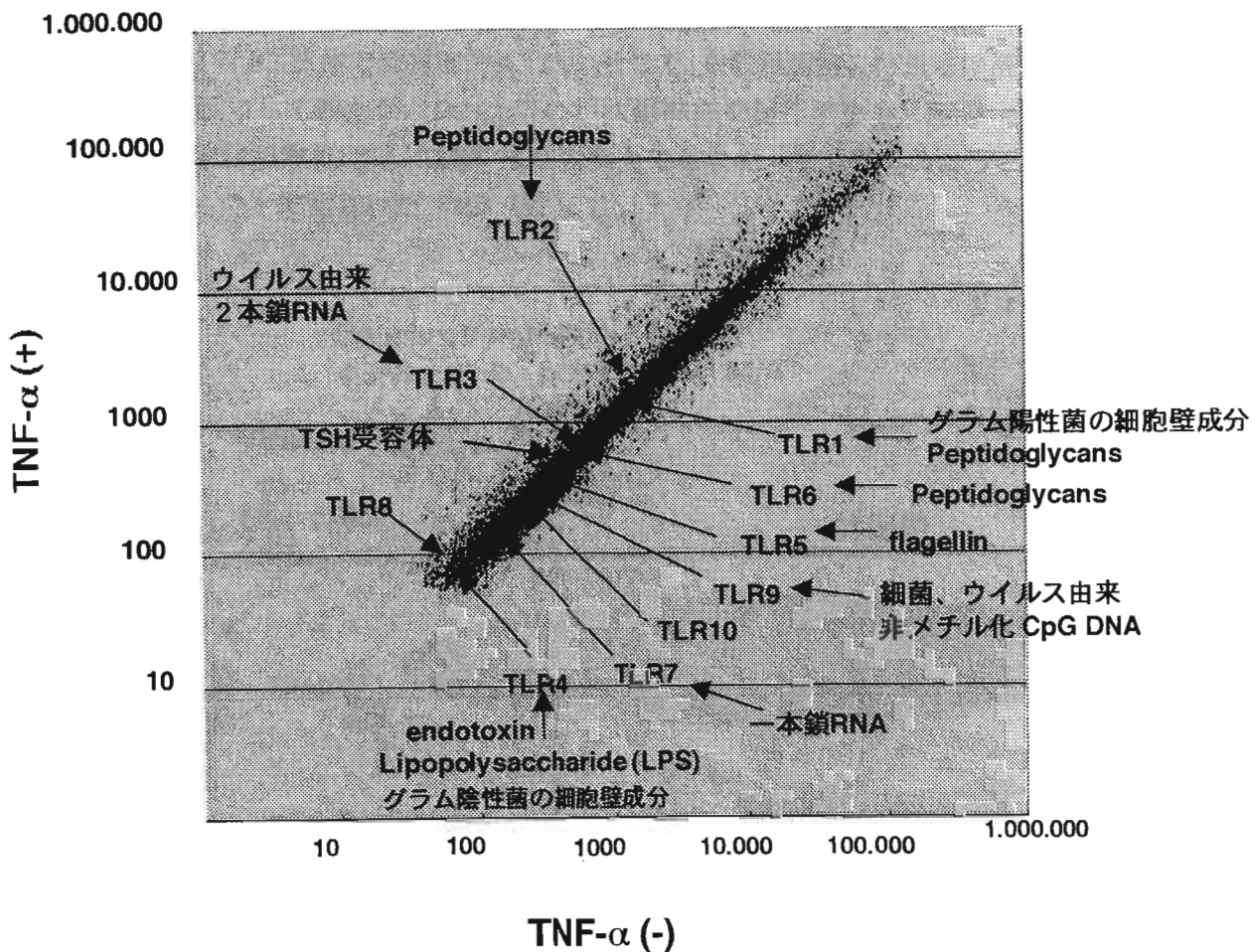
iii) TLR3 の発現部位の免疫組織学的検討

甲状腺濾胞を 10%ホルマリン液にて固定したのち、パラフィン包埋し、抗原露出法にて熱処理 (120°C) した (21)。その後、抗 TLR3 モノクロナル抗体を用いて、甲状腺細胞内に発現している TLR3 の局在を検討した。

C) 結果

Poly(I:C)がヒト甲状腺濾胞の遺伝子発現に及ぼす影響

既報のごとく(15)、ヒト甲状腺濾胞細胞で最も強く発現している遺伝子は thyroglobulin と thyroid peroxidase であった (図1)。ヒト甲状腺濾胞細胞には 10 種類の TLR のうち、dsRNA を特異的に認識する TLR-3 (22) などが比較的多く発現していた (付図1を参照)。その発現レベルは TSH 受容体 (TSHR) とほぼ同程度であった (表1)。また、甲状腺濾胞は、dsRNA の細胞膜上に発現している受容体でもある CD14 を発現していた (23)。dsRNA は細胞内に取り込まれた後、RIG-1 や MDA5 に結合してシグナルを伝達することが判明しているが (24)、これらの遺伝子発現も認められた。



付図1: ヒト甲状腺濾胞における TLR の発現

ヒト甲状腺濾胞を浮遊状態で培養しておき、TNF α を添加して 24 時間後の microarray (未発表データ)。ヒト甲状腺濾胞細胞には、10 種類の TLR のうち主に TLR2、1、6、3が発現している。

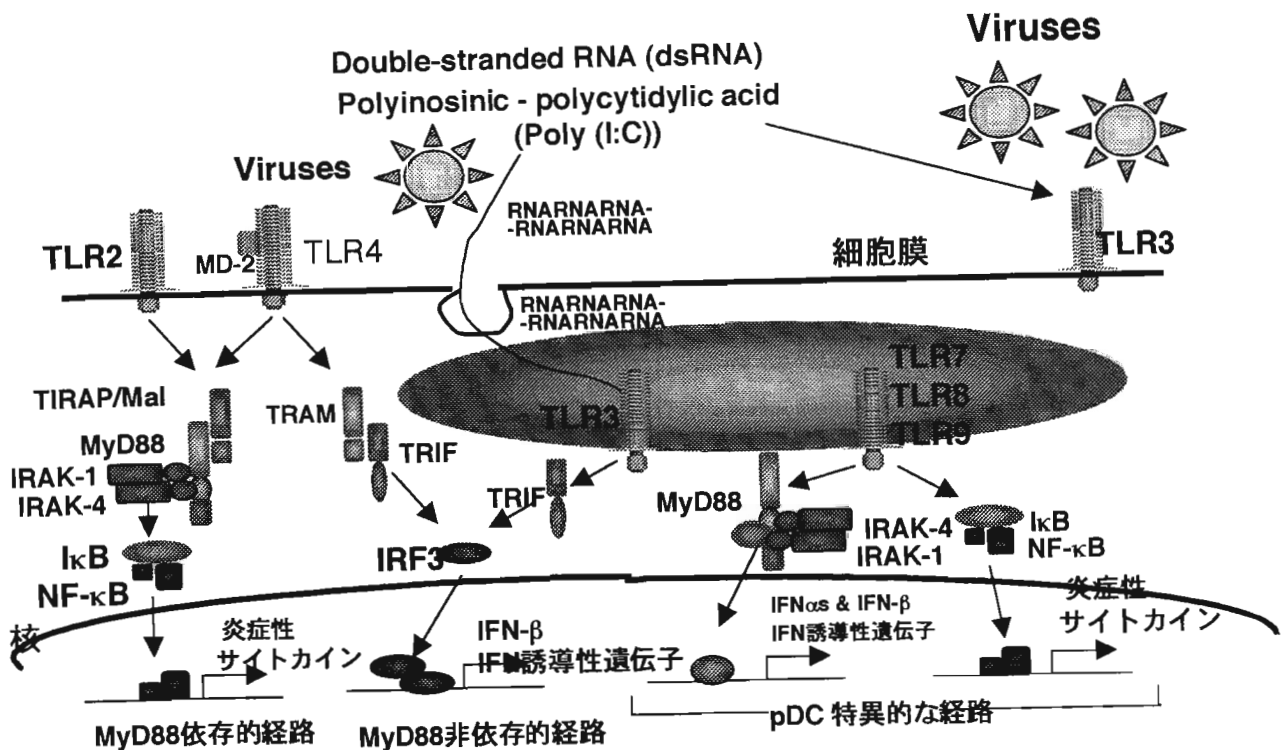
Poly(I:C)を添加後、6時間後には1型 interferon 系の遺伝子が 10-100 倍以上にも増加した (表 2 A)。また MHC クラス I 遺伝子も数多く発現が亢進したが、クラス II 関連抗原には変動が認められなかった (表 2 B)。

甲状腺ホルモン合成・分泌に関連している遺伝子の発現はすべて 1/2 程度に抑制された (表 2 C)。

2) Poly(I:C) の甲状腺機能に及ぼす影響

この microarray の結果と一致して、Poly(I:C)添加により、甲状腺機能 (TSH 存在下での甲状腺濾胞への ^{125}I の取り込み、および培養液中への $^{125}\text{I-T}_3$ + $^{125}\text{I-T}_4$ の分泌) は濃度依存性に抑制され、その比 ($^{125}\text{I-T}_3$ / $^{125}\text{I-T}_4$) も減少した (図 3、4)。しかし、1本鎖 RNA (PolyC) や2本鎖 DNA [Poly(dI:dC)] では影響を受けなかった。

ところで、線維芽細胞などでは TLR3 は細胞膜上に存在しているので、Poly(I:C)の作用は、抗 TLR3 抗体で抑制できる (25)。そこで、甲状腺濾胞の浮遊培養系に前もって抗 TLR3 抗体を添加してみたが、Poly(I:C)の甲状腺機能抑制作用を全く解除できなかった。したがって、甲状腺濾胞では、TLR3 は細胞膜上ではなく、樹状細胞のように主に細胞内に発現しているものと推測された (26) (付図 2)。



付図 2: ウイルス感染時または dsRNA を添加したときの刺激伝達機構

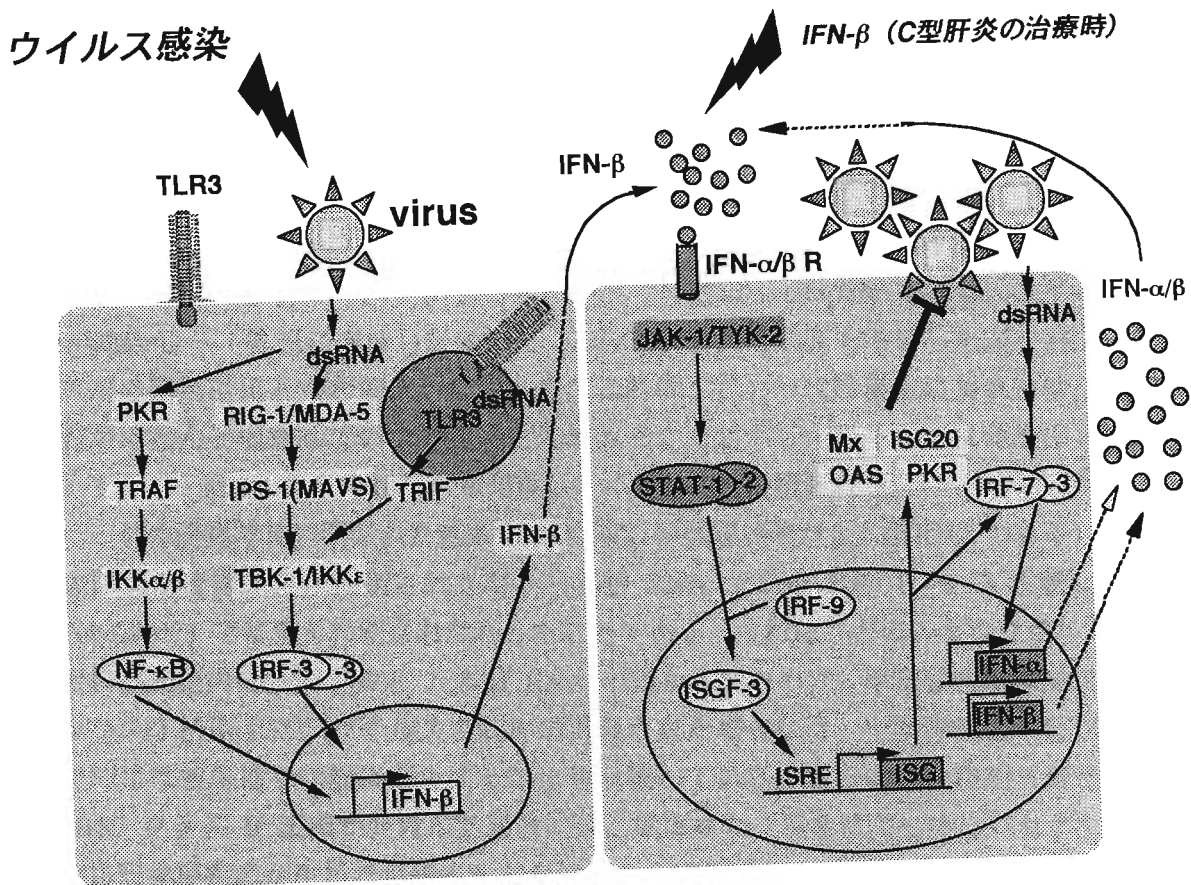
日本内科学会雑誌 65: 1115-1151, 2006 より引用 (一部改変)

3) TLR3 は甲状腺細胞内に発現していることを示す免疫組織染色

そこで、抗 TLR3 モノクロナル抗体を用いて、バセドウ病甲状腺を用いて免疫染色を行なってみた。Kohn らの報告とは異なり (18)、バセドウ病 8 例のうち全例に TLR3 が細胞内に発現しており、特にリンパ球浸潤の強い周辺部に発現が強く認められた (図 6)。

4) Poly(I:C) による甲状腺機能抑制作用の作用機序

Real-time PCR で検討すると、Poly(I:C)添加により、IFN-βの mRNA 発現は 100 倍以上にも亢進し、培養液中の IFN-βも増加した (図 7 A&B)。そこで、抗 IFN-α/β受容体抗体を用いて、Poly(I:C)による抑制作用を解除できるか否かを検討した。IFN-βによる甲状腺機能抑制作用は抗 IFN-α/β抗体添加により部分的に解除されたが、Poly(I:C)による抑制作用は全く影響されなかった。したがって、Poly(I:C)は甲状腺細胞内で直接作用して、甲状腺機能抑制的に作用していることが推測された (付図 3)。



付図 3: ウイルス感染時または外因性に IFN-β を投与した時の刺激伝達機構

D) 考案

生体には、自然免疫系と獲得免疫系が存在している。最近、Toll-like receptor が発見されて、生体は細菌やウイルスに対して迅速に反応して生体防御的に作用していることが判明してきた。なかでも、TLR3 は樹状細胞などの抗原提示細胞に多く発現しており、2 本鎖 RNA を特異的に認識して、その情報を伝達し、獲得免疫系を活性化することが判明してきた (1-5)。

一般に、ウイルスが細胞内に感染すると、それがどのようなウイルスであれ、細胞内に double-stranded RNA が産生される。しかし、研究室ではウイルスを使用できないので、古くから、合成 2 本鎖 RNA である polyinosinic-polycytidylic acid (Poly(I:C))がその代替品として用いられてきた。

前述のごとく、当研究室では、ヒト甲状腺より得られた甲状腺濾胞を浮遊状態のまま培養することにより、血中濃度の TSH に反応してヨードを取り込み、de novo に甲状腺ホルモンを合成・分泌するバイオアッセイ系を確立している。さらに、この培養系では大量の無機ヨードにより、甲状腺ホルモンの合成・分泌が抑制される性質（いわゆる Wolff-Chaikoff 効果）も保持しており (12)、人体内で生じている生理的～病的現象を in vitro で検討できる (15)。そこで、この濾胞培養系を用いて、ヒト甲状腺細胞にウイルスが感染した場合に、どのような変化が起こるかを検討してみた。

予想されていたことではあるが、Poly(I:C) 添加により、1 型インターフェロン系に関与している夥しい数の遺伝子 (IFN- β , interferon-inducible factors, 2',5'-oligoadenylate synthase) が、急速に増加した (27)。MHC クラス I 抗原も増加したが、MHC クラス II 抗原の発現はほとんど変化がなかった。これは、この甲状腺濾胞培養系では、免疫担当細胞がほとんど混在していないためと思われる。しかし、生体内では免疫担当細胞が浸潤してきて、MHC クラス II 抗原も発現してくるものと推測される。

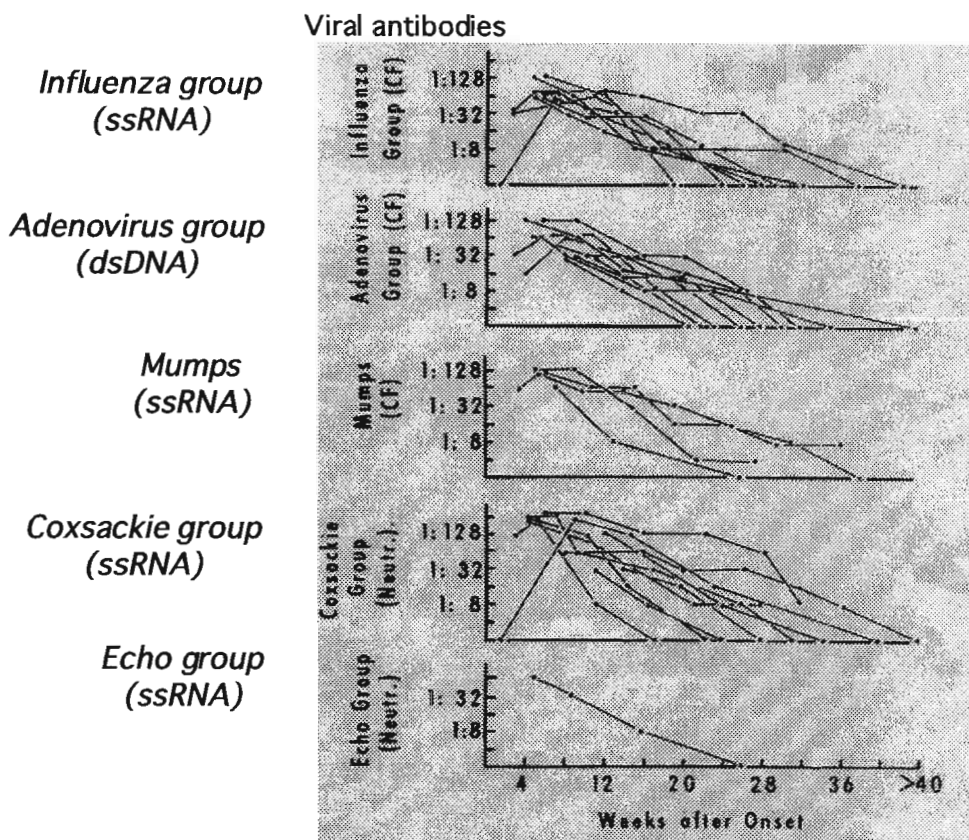
この研究で見いだされた特筆すべき点は、甲状腺機能が 2 本鎖 RNA である Poly(I:C) 添加によりほぼ完全に抑制されたが、一本鎖 RNA である Poly C や 2 本鎖 DNA である Poly(dI:dC) では全く抑制されなかったことである。これは、どのようなウイルスであれ、甲状腺細胞内に浸潤すると 2 本鎖 RNA が産生されるので、甲状腺機能は抑制され、MHC クラス I 抗原上に、ウイルスの断片が提示された場合には、甲状腺濾胞が破壊されて、臨床的には亜急性甲状腺炎が生ずることを示唆している。さらに、免疫担当細胞の共存下で MHC クラス II 抗原が発現した場合には、橋本病や（場合によってはバセドウ病？）などの自己免疫疾患が生じる可能性もあることを示唆している (28-34)。

なお、Poly(I:C) が甲状腺機能を抑制する機序としては、抗 TLR 3 抗体で Poly(I:C) の阻害作用を全く阻止出来なかったことより、まず細胞膜上に発現している CD14 と結合し Poly(I:C)/CD 14 複合体が endocytosis により細胞内に取り込まれると endosome-like vesicle 内に発現している RIG1 や MDA5 と結合して、そのシグナルが NF- κ Bなどを介して、甲

甲状腺機能抑制的に作用するものと推測している(26, 35)。パセドウ病由来ではあるが、ヒト甲状腺濾胞細胞内に TLR3 が局在していることも免疫組織学的に確認されており、甲状腺細胞は線維芽細胞とはやや異なった機序で TLR3 のシグナルを伝達しているものと推測される。

Poly(I:C) を甲状腺濾胞の培養系に添加すると、IFN- β mRNA の発現が 100 倍以上も亢進し、培養液中にも大量の IFN- β が分泌されてくるので、この IFN- β が paracrine 的に作用して、近隣の甲状腺濾胞細胞膜上に発現している IFN- α/β 受容体を介して甲状腺機能抑制的に作用している可能性もある。しかし、Poly(I:C) による甲状腺機能抑制作用は、抗 IFN- α/β 受容体抗体を添加しても、全く影響を受けなかったことより、Poly(I:C) は細胞内でおそらく NF- κ B などを通じて甲状腺機能抑制的に作用しているものと推測される (付図 3 を参照)。

臨床的に、亜急性甲状腺炎の回復期には、種々のウイルスの抗体価が上昇することが Volpe らにより報告されていたが (36) (付図 4)、今回の我々の研究により、どのような



付図 4：亜急性甲状腺炎患者のウイルス抗体価の経時的変化

Volpe R, Row VV, Ezrin C 1967 Circulating viral and thyroid antibodies in subacute thyroiditis. J Clin Endocrinol Metab. 27:1275-284. より引用 (一部改変)

ウイルスであれ、一旦、甲状腺細胞内に侵入した場合には、亜急性甲状腺炎が生じうる可能性を示唆している。

この研究の最中に、前述のごとく、Kohn の研究グループより、Poly(I:C)を強制的に FRTL 細胞を導入させた場合に、1型 IFN 系が活性化され、橋本病などの自己免疫疾患が起こるのではないかと報告がなされている (18)。我々のデータでは、Poly(I:C) を培養液中に添加しただけで1型 IFN 系に一連の変化が起こり、甲状腺機能が抑制されることを示したもので、ヒト甲状腺濾胞をもちいた当研究室のデータの方が、生体内での病態をより良く反映していると思われる。

一般に、亜急性甲状腺炎では、発熱が生じて、破壊性甲状腺炎が起こり、甲状腺ホルモンが過剰になった時点で病院を受診してくる。今回の実験では、亜急性甲状腺炎のごく初期で、甲状腺濾胞がまだ破壊されておらず、TSH も正常である時期に、すでに甲状腺の ^{125}I 吸収率は抑制されていることを示唆している。事実、そのような症例も報告されており (37)、この *in vitro* でのデータは、亜急性甲状腺炎の初期の変化を再現していると思われる。

E) その他

その他、本科学研究費の一部を使用して、下記の論文を発表することができた。

別刷り3

Sato K, Shiga T, Matsuda N, Onoda N, Takano K, Hagiwara N, Kasanuki H. Mild and short recurrence of type II amiodarone-induced thyrotoxicosis in three patients receiving amiodarone continuously for more than 10 years. Endocr J 53:531-538, 2006

当院の循環器内科には、多数の致死性の不整脈患者が通院しており、抗不整脈剤であるアミオダロンを内服している。アミオダロンには甲状腺機能障害作用があることが知られており、10%近くの症例では、アミオダロン誘発性の破壊性甲状腺炎 (amiodarone-induced thyrotoxicosis type II: AIT) が生ずる。しかし、アミオダロンの半減期はおよそ2ヶ月と非常に長く、本剤を中止しても血中濃度が減少するわけでもない。そういう次第で、患者からの強い要望もあり、当院ではAITを起こしても、出来るだけアミオダロンを中止しない方針で対処してきた。

最近、10年以上内服していた患者にAITが再発した3症例を経験したので、その臨床的特徴を報告した（欧米ではAITが生じた場合には、アミオダロンを中止するので、再発例の報告は希である）。いずれの症例も初回のAITに比較して、再発時の甲状腺中毒症は軽度であり、甲状腺ホルモンの過剰な期間も短縮していた。恐らく1回目の破壊性甲状腺炎により甲状腺ホルモンの備蓄量が少なくなっているため、2回目の中毒症は、軽微にすむものと推測される。

別刷り4

Sato K, Ohashi T, Ohmori T, Shiratori K, Kimura H, Takano K Povidone iodine-induced overt hypothyroidism in a patient with prolonged habitual gargling : Urinary excretion of iodide after gargling in normal subjects. Inter Med 2007 (in press).

Povidone iodine はイソジンガーグルとして40年以上市販されている含嗽薬である。長期間にわたり本剤を用いて含嗽していると、一部のものに、ヨード誘発性の甲状腺機能低下症が生ずることは甲状腺専門医には良く知られている。

最近、比較的重い甲状腺機能低下症を経験したので、その一例を報告するとともに、正常人20例に於いて、添付書どおりにイソジンガーグルにて含嗽をしていただき、24時間中に排泄されるヨード量を測定した。男女ともに含嗽前の尿中ヨード排泄量は1日1mg程度であり、含嗽後に5mg程度に増加した。したがって、1日数mgのヨード摂取でもWolff-Chaikoff効果より逸脱できない症例があり、このような者では可逆性のヨード誘発性甲状腺機能低下症が生ずるものと推測された。

F) 文献

1. **Tomer Y, Davies TF** 1993 Infection, thyroid disease, and autoimmunity. *Endocr Rev* 14:107-20
2. **Prummel MF, Strieder T, Wiersinga WM** 2004 The environment and autoimmune thyroid diseases. *Eur J Endocrinol* 150:605-618.
3. **Theofilopoulos AN, Baccala R, Beutler B, Kono DH** 2005 Type I interferons (alpha/beta) in immunity and autoimmunity. *Annu Rev Immunol.*;23:307-336.
4. **Akira S, Uematsu S, Takeuchi O** 2006 Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 124 :783-801.
5. **Kawai T, Akira S** 2006 Innate immune recognition of viral infection. *Nature Immunol* 7:131-137.
6. **Sato K, Satoh T, Shizume K, Ozawa M, Han DC, Imamura H, Tsushima T, Kanaji Y, Ito Y, Obara T, Fujimoto Y, Kanaji Y** 1990 Inhibition of ^{125}I organification and thyroid hormone release by interleukin-1, tumor necrosis factor-alpha, and interferon-gamma in human thyrocytes in suspension culture. *J Clin Endocrinol Metab* 70:1735-1743.
7. **Sato K, Yamazaki K, Shizume K, Yamakawa Y, Satoh T, Kanaji Y. Jr., Obara T, Fujimoto Y, Aiba M, Kakiuchi T, Kanaji Y** 1993 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.
8. **Yamazaki K, Kanaji Y, Shizume K, Yamakawa Y, Kanaji Y, Obara T, Sato K** 1993 Reversible inhibition by interferons alpha and beta of ^{125}I incorporation and thyroid hormone release by human thyroid follicles in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 77:1439-1441.
9. **Yamazaki K, Sato K, Shizume K, Kanaji Y, Ito Y, Obara T, Nakagawa T, Koizumi T, Nishimura R** 1995 Potent thyrotropic activity of human chorionic gonadotropin variants in terms of ^{125}I incorporation and de novo synthesized thyroid hormone release in human thyroid follicles. *J Clin Endocrinol Metab* 80:473-479.
10. **Sato K, Yamazaki K, Shizume K, Kanaji Y, Obara T, Ohsumi K, Yamaguchi S, Shibuya M** 1995 Stimulation by thyroid-stimulating hormone and Grave's 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* 96:1295-302.
11. **Yamazaki K, Yamada E, Kanaji Y, Shizume K, Wang DS, Maruo N, Obara T, Sato K** 1996 Interleukin-6 (IL-6) inhibits thyroid function in the presence of soluble IL-6 receptor in cultured human thyroid follicles. *Endocrinology* 137: 4857-4863.
12. **Nakajima K, Yamazaki K, Yamada E, Kanaji Y, Kosaka S, Sato K, Takano K** 2001 Amiodarone stimulates interleukin-6 production in cultured human thyrocytes, exerting cytotoxic effects on thyroid follicles in suspension culture. *Thyroid* 11:101-109.
13. **Yamazaki Y, Yamada E, Kanaji Y, Yanagisawa T, Kato Y, Takano K, Obara T, Sato K.** 2003 Genes Regulated by TSH and iodide in cultured human thyroid follicles : analysis by cDNA microarray. *Thyroid* 13:149-158.
14. **Yamazaki K, Yamada E, Kanaji Y, Yanagisawa T, Kato Y, Sato K, Takano K, Sakasegawa Y, Kaneko K** Stimulation of Cellular Prion Protein (PrPc) Expression by TSH in Human Thyroid Follicles. *Biochem Biophys Res*

Comm. 305:1034-1039, 2003.

15. **Yamada E, Yamazaki K, Takano K, Obara T, Sato K** 2006 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.
16. **Suzuki K, Mori A, Ishii KJ, Saito J, Singer DS, Klinman DM, Krause PR, Kohn LD** 1999 Activation of target-tissue immune-recognition molecules by double-stranded polynucleotides. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:2285-2290
17. **Suzuki K, Kohn LD** 2006 Differential regulation of apical and basal iodidetransporters in the thyroid by thyroglobulin. *J Endocrinol* 189:247-255
18. **Harii N, Lewis CJ, Vasko V, McCall K, Benavides-Peralta U, Sun X, Ringel MD, Saji M, Giuliani C, Napolitano G, Goetz DJ, Kohn LD** 2005 Thyrocytes express a functional toll-like receptor 3: overexpression can be induced by viral infection and reversed by phenylmethimazole and is associated with Hashimoto's autoimmune thyroiditis. *Mol Endocrinol* 19:1231-1250.
- 19 **Miyagi E, Katoh R, Li X, Lu S, Suzuki K, Maeda S, Shibuya M, Kawaoi A.** 2001 Related Articles, Thyroid stimulating hormone downregulates vascular endothelial growth factor expression in FRTL-5 cells. *Thyroid*. 11:539-43.
20. **Sato K, Robbins J** 1981Thyroid hormone metabolism in primary cultured rat hepatocytes. Effects of glucose, glucagon, and insulin. *J Clin Invest* 68: 475-483.
21. **Katoh R, Bray CE, Suzuki K, Komiyama A, Hemmi A, Kawaoi A, Oyama T, Sugai T, Sasou S.** 1995 Growth activity in hyperplastic and neoplastic human thyroid determined by an immunohistochemical staining procedure using monoclonal antibody MIB-1. *Hum Pathol* 26:139-46.
22. **Alexopoulou L, Holt AC, Medzhitov R, Flavell RA** 2001 Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3. *Nature* 413: 732-738.
23. **Lee HK, Dunzendorfer S, Soldau K, Tobias PS** 2006 Double-stranded RNA-mediated TLR3 activation is enhanced by CD14. *Immunity* 24: 153-163, 2006
24. **Yoneyama M, Kikuchi M, Matsumoto K, Imaizumi T, Miyagishi M, Taira K, Foy E, Loo YM, Gale M, Jr., Akira S, Yonehara S, Kato A, Fujita T** 2005 Shared and unique functions of the DExD/H-box helicases RIG-I, MDA5, and LGP2 in antiviral innate immunity. *J Immunol* 175:2851-2958.
25. **Matsumoto M, Kikkawa S, Kohase M, Miyake K, Seya T** 2002 Establishment of a monoclonal antibody against human Toll-like receptor 3 that blocks double-stranded RNA-mediated signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 293:1364-1369.
26. **Matsumoto M, Funami K, Tanabe M, Oshiumi H, Shingai M, Seto Y, Yamamoto A, Seya T** 2003 Subcellular localization of Toll-like receptor 3 in human dendritic cells. *J Immunol* 171:3154-3162.
27. **Samuel CE** 2001 Antiviral actions of interferons. *Clin Microbiol Rev* 14:778-809.
28. **Klavinskis LS, Notkins AL, Oldstone MB** 1988 Persistent viral infection of the thyroid gland: alteration of thyroid function in the absence of tissue injury. *Endocrinology* 122:567-575.

29. **Klavinskis LS, Oldstone MB** 1987 Lymphocytic choriomeningitis virus can persistently infect thyroid epithelial cells and perturb thyroid hormone production. *J Gen Virol* 68 (Pt 7):1867-1873.
30. **Carter JK, Smith RE** 1983 Rapid induction of hypothyroidism by an avian leukosis virus. *Infect Immun* 40:795-805.
31. **Atta MS, Irving WL, Powell RJ, Todd I** 1995 Enhanced expression of MHC class I molecules on cultured human thyroid follicular cells infected with reovirus through induction of type 1 interferons. *Clin Exp Immunol* 101:121-126.
32. **Neufeld DS, Platzer M, Davies TF** 1989 Reovirus induction of MHC class II antigen in rat thyroid cells. *Endocrinology* 124:543-545.
33. **Khoury EL, Pereira L, Greenspan FS** 1991 Induction of HLA-DR expression on thyroid follicular cells by cytomegalovirus infection in vitro. Evidence for a dual mechanism of induction. *Am J Pathol* 138:1209-1223.
34. **Srinivasappa J, Garzelli C, Onodera T, Ray U, Notkins AL** 1988 Virus-induced thyroiditis. *Endocrinology* 122:563-566.
35. **Guillot L, Le Goffic R, Bloch S, Escriou N, Akira S, Chignard M, Si-Tahar M.** 2005 Involvement of toll-like receptor 3 in the immune response of lung epithelial cells to double-stranded RNA and influenza A virus. *J Biol Chem* 280:5571-5580.
36. **Volpe R, Row VV, Ezrin C** 1967 Circulating viral and thyroid antibodies in subacute thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab.* 27 :1275-284.
37. **Parmar RC, Bavdekar SB, Sahu DR, Warke S, Kamat JR** 2001 Thyroiditis as a presenting feature of mumps. *Pediatr Infect Dis J* 20:637-638.