

# 先天性甲状腺機能異常の発症予測・予防に関する研究

研究協力者 宮 井 潔  
(大阪大学医学部臨床検査診断学)

先天性甲状腺機能異常を予防するにあたっては、まずそのリスクファクターを検索してこれを除く対策を立てること、および、周生期に甲状腺機能を簡単にモニタリングしてその異常を早期に発見することの2点が考えられる。そこで本年度は前者として疫学調査を、後者として高感度サイロキシン測定法の開発を試みた。

## I. 先天性甲状腺形成障害発生の疫学

### —世界各国での季節及び年次発生率—

#### 目 的

先天性甲状腺形成障害には、無甲状腺、甲状腺低形成、異所性甲状腺などがあるが、その原因は現在とくわかっていない。われわれは、すでに日本国内における本症の発生に季節変動があることから、何らかの環境要因が関与しているのではないかとの仮説を提唱している<sup>1)2)</sup>。そこで今回は、世界各国での発生状況を調査した<sup>3)</sup>。

#### 方 法

世界7ヵ国、8地域における先天性甲状腺形成障害例の総数820例について、その生年月日を調査し、本症発生の季節変動および年次別発生率を解析した。

調査は次の2方法で行った。

**病院受診者のアンケート調査 (H) :** 日本 (1957~1976年生)、ペンシルバニア地方 (1973~1978年生) の一部、フランス (1958~1979年生)。

**クレチン症マスキングによる調査 (S) :** 日本 (TSH法 1977~1981年生)、オーストラリア (TSH+T<sub>4</sub>法, 1977~1981年生)、ケベック地方 (T<sub>4</sub>法, 1974~1978年生)、トロント地方 (T<sub>4</sub>+TSH法, 1977~1981年生)、ペンシルバニア地方の一部 (T<sub>4</sub>+TSH法)、ノルウェー (1979~1980年生)、スイス (TSH法, 1977~1980年生)。

データの解析は次の通り行った。すなわち、季節に関しては、1年を任意に4等分し、年次別では、各年毎に全体を通じ、次式により  $\chi^2$  (カイ2乗) 検定を行った。

$$\chi^2 = \sum (E_i - P_i)^2 / E_i, \quad E_i = \sum P_i \times N_i / \sum N_i$$

ここで  $P_i$  は上記の各季節または年次における患者数、 $N_i$  同季節または年次における一般児の出生者数またはマスキング総数で、したがって  $E_i$  は、同季節または年次における患者発生期待数となる。

表1 Seasonal distribution of birth dates of patients with congenital hypothyroidism due to thyroid dysgenesis

Figures are numbers of patients. Values in parentheses are ratios of patients ( $\times 10^6$ )/live birth in the general population.

	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	Total	$\chi^2$ test
Japan 1957-1976: H														
APL.	12	6	9	8	12	14	15	13	11	7	8	9	124	
ECT.	14	6	10	7	10	13	13	12	14	13	6	8	126	
Total	26	12	19	15	22	27	28	25	25	20	14	17	250	
	46 (5.0)			77 (8.9)			70 (8.0)			57 (6.3)				P < 0.01
1977-1981: S														
APL. + ECT.	12	9	5	12	8	9	19	7	10	22	12	15	140	
	26 (12)			29 (13)			36 (16)			49 (23)				P < 0.03
Australia 1977-1981: S														
APL.	6	4	3	3	5	7	7	2	3	11	3	3	57	
	13 (81)			15 (87)			12 (62)			17 (99)				n.s.
ECT.	3	5	1	3	5	7	5	7	8	2	1	3	50	
Total	9	9	4	6	10	14	12	9	11	13	4	6	107	
	22 (138)			30 (174)			32 (166)			23 (135)				n.s.
Quebec 1974-1978: S														
NG	6	5	10	5	4	4	7	7	9	11	12	7	87	
	21 (180)			13 (106)			23 (196)			30 (269)				P < 0.04
Toronto 1977-1981: S														
APL.	2	4	2	1	2	1	1	0	1	3	3	0	20	
	8 (196)			4 (92)			2 (44)			6 (142)				n.s.
ECT.	2	1	1	4	0	1	2	4	6	1	2	0	24	
Total	4	5	3	5	2	2	3	4	7	4	5	0	44	
	12 (294)			9 (208)			14 (311)			9 (214)				n.s.
Pennsylvania 1973-1978: H+S														
NG	2	4	4	4	5	2	7	6	3	4	6	5	52	
	10			11			16			15				
Norway 1979-1980: S														
APL.	0	1	3	1	3	0	1	1	2	0	0	2	14	
ECT.	0	0	2	0	1	0	3	1	1	0	1	0	9	
Total	0	1	5	1	4	0	4	2	3	0	1	2	23	
	3 (123)			10 (350)			6 (232)			4 (167)				n.s.
France 1958-1979: H														
APL.	2	4	2	0	0	3	1	2	3	2	1	3	23	
ECT.	3	6	2	3	4	1	1	4	5	1	0	2	32	
Total	5	10	4	3	4	4	2	6	8	3	1	5	55	
	19			11			16			9				
Switzerland 1977-1980: S														
NG	6	4	4	8	9	6	4	1	5	5	8	2	62	
	14 (190)			23 (300)			10 (140)			15 (220)				n.s.
Total	70	59	58	59	68	68	86	67	81	82	63	59	820	

H: Patients found in hospitals. S: Patients found by mass screening. APL: Thyroid aplasia or hypoplasia. ECT: Ectopic thyroid. NG: Nongoitrous primary hypothyroidism.

表2 Chronological incidence of patients with congenital hypothyroidism due to thyroid dysgenesis found in mass screening

Figures are numbers of patients. Parentheses indicate ratio of patients ( $\times 10^6$ )/number of babies in mass screening or in the general population.

	1974	1975	1976	1977	1978	1979	1980	1981	$\chi^2$ test
Japan : NG						36 (107)	92 (76)	95 (66)	
Osaka City : DY				2 (45)	7 (191)	5 (138)	2 (54)	3 (78)	n.s.
Quebec : NG*	7 (82)	19 (203)	25 (262)	16 (165)	19 (197)				(0.06 < p < 0.07) n.s.
Toronto : DY*				7 (217)	6 (180)	10 (296)	6 (166)	15 (421)	n.s.
Switzerland : NG				16 (245)	14 (196)	24 (333)	8 (109)	19 (253)	(0.06 < p < 0.07) n.s.

\* DY : Thyroid aplasia, of hypoplasia and ectopic thyroid.

NG : Nongoitrous primary hypothyroidism.

### 結果及び考察

本症発生の季節別および年次別の結果は、それぞれ表1および表2に示す通りである。

1. 日本においては1957~1976年は5~6月、をピークとする季節変動が統計的に有意であること ( $p < 0.01$ ) は前回は一部報告しているが、今回の1977~1981年にわたるスクリーニングでも、季節変動は有意であった ( $p < 0.03$ )。ただし、そのピークは10~12月とずれており、何らかの環境因子はあるとしても、単なる気候によるものではないと思われる。

2. 外国においても、オーストラリア (異所性甲状腺、ピークは7~9月生、 $p < 0.05$ )、ケベック地方 (10~12月生、 $p < 0.04$ )、トロント地方 (異所性甲状腺、7~9月生、 $p < 0.05$ ) において有意の変動が認められた。しかし先述の日本の場合と同様に、ピークの時期と気候とは無関係であった。

3. 年次別の本症発生率に変動があるようにも思えるが、発生数が少なく、自由度が大きいためか、統計的には有意ではなかった。

## II. 高感度サイロキシン測定法の開発

### 目 的

先天性甲状腺機能異常を生後早期にモニタリングする方法として、現在わが国では全国的にマススクリーニングが行われている。その方法として、われわれが開発した方法も含め、専ら甲状腺刺激ホルモン (TSH) 測定が用いられているが、一方、二次、三次性や、未熟児などの精査には、サイロキシン ( $T_4$ ) の測定も重要である。 $T_4$  は現在ラジオイムノアッセイ (RIA) やエンザイムイムノアッセイ (EIA) ですでに測定可能ではあるが、周生時期のモニタリングのためには、さらに高感度のアッセイ系が望まれる。高感度アッセイ系の開発手段としてモノクローナル抗体が試みられているが、むしろ親和力が弱く成功していない。

そこで本研究では、観点を変え、ポリクローナル抗体を等電点の差で分画し、そのなかから

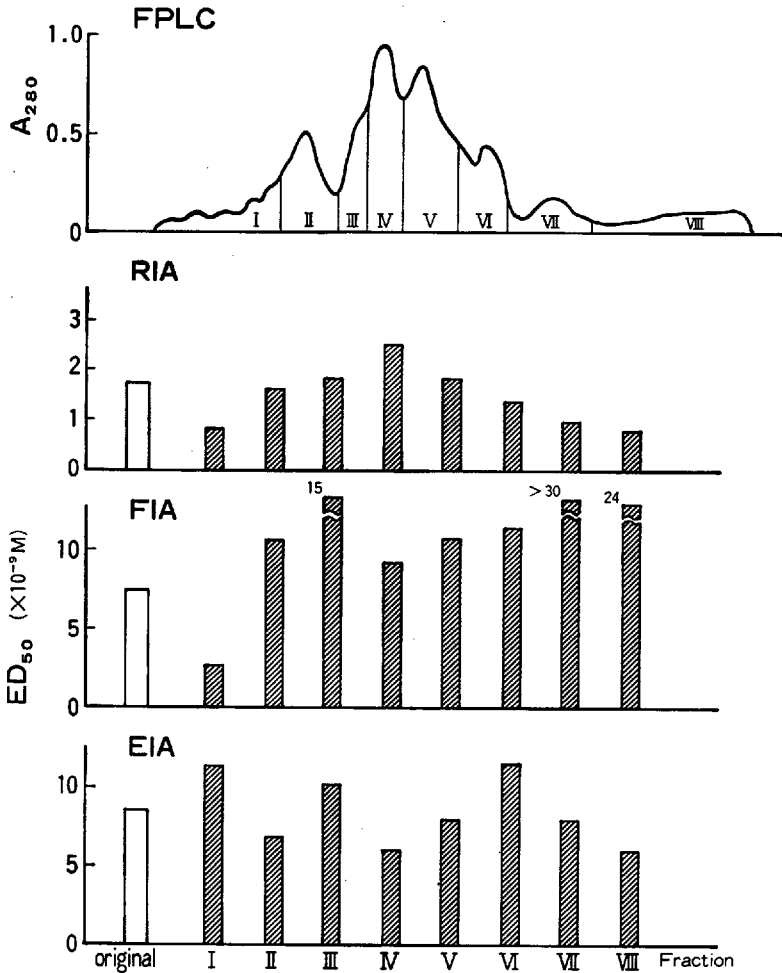


図1 ED<sub>50</sub> in T<sub>4</sub> Immunoassays using clonotype antibodies prepared by FPLC

親和力の強いクロナタイプ抗体を選別し、これを用いて高感度アッセイを試みたのである<sup>4)</sup>。

#### 方 法

抗 T<sub>4</sub> 抗体は、T<sub>4</sub>-牛血清アルブミン結合物で家兎を感作して得た。抗血清を硫酸塩析、ついで DEAE-C によって IgG 分画を得た。この IgG を Pharmacia の Fast Protein Liquid Chromatography (FPLC) システムを用いて、クロマトフォーカシングによって分画した。すなわち 3~6 mg の抗 T<sub>4</sub>-IgG を、あらかじめ pH 9.5 に調整した Mono P™ column にかかけ、未吸着部分を除いた後、pH 6.0 に調整した Polybuffer 96 を用い 36 ml/時の速度で溶出した。

溶出分画のタンパク濃度は 280 nm の吸光度で、抗 T<sub>4</sub> 抗体価は、<sup>125</sup>I T<sub>4</sub> と固相化抗 T<sub>4</sub> を用いた RIA 系での抑制反応で測定した。

また分画中の抗体を用いて、二抗体法による RIA、β-D-galactosidase-T<sub>4</sub> を用いた二抗体

法による EIA, および, FITC-T<sub>4</sub> を用いた蛍光偏光法による FIA を行った。

### 結果及び考察

1. 抗 T<sub>4</sub> IgG のクロマトフォーカシングの結果, pH 6~8 の範囲で, 2 個の大きなピークと数個の小さなピークをもつタンパク像が得られた。分画をプールし, pH の高い方から I~VIII とした。

2. 各分画の抗 T<sub>4</sub> を用いた RIA で Scatchard Plot 解析を行った結果, 原抗血清の曲線よりも直線に近いことからクロノタイプであることがわかった。またその親和定数は  $2.1 \times 10^9 \sim 7.1 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$  で, 原抗血清 ( $2.2 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ ) よりも大きなものが得られた。

3. 各分画を用いて RIA, EIA, FIA を行い, その感度を比較した。50% intercept を計算してみると図 1 の如くなる。すなわち RIA においては分画 I, VIII が, EIA においては I が, FIA においては VIII が 50% intercept が小で, 標準曲線が急峻, すなわち感度のよいことがわかった。このように方法によって適当な抗体が対応することが明らかとなった。

## 結 論

1. 世界各国における先天性甲状腺形成障害の発生率を調査した結果, ところによって季節変動が認められた。ただし, 気候とは無関係であり, それ以外の何らかの環境要因が関与しているものと思われる。今回の調査は, 予備的であり, さらに精査すれば貴重な情報が得られるものと思われる。

2. 抗 T<sub>4</sub>-IgG をクロマトフォーカシング分画した結果, 原抗血清よりも 2~3 倍親和定数の高いクロノタイプ抗体が得られた。このうち適当な抗体を用いることにより, RIA, EIA, FIA において原抗血清を用いた場合よりも高感度のアッセイ系を組立てることが出来た。

御協力いただいた下記の方々に深謝する。

I. John F. Connelly (Department of Clinical Biochemistry, Royal Childrens Hospital, Australia), Thomas P. Foley Jr. (Clinical Research Center, Childrens Hospital of Pittsburgh, U.S.A.) 入江実 (東邦大・内科)

Ruth Illig (Universitäts-Kinderklinik, Switzerland), Sverre O. Lie (Pediatric Research Institute, National Hospital of Norway, Norway), Jean Morissette (Human Genetics, Laval Medical Center, Canada), 中島博徳 (千葉大・小児科)

Pierre Rochiccioli (Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier Régional de Toulouse, France) Paul G. Walfish (Thyroid Research Laboratory and Endocrine Division, Mount Sinai Hospital, Canada)

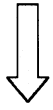
II. 遠藤雄一, 畑直成, 市原清志 (大阪大・臨床検査診断学)

## 文 献

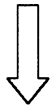
- 1) Miyai, K., Ichihara, K., Amino, N., Nose, O., Yabuuchi, H., Tsuruhara, T., Oura, T. and Kurimura, T.: Seasonality of birth in sporadic cretinism. *Early. Hum. Dev.*, **3**: 85, 1979.
- 2) 宮井 潔, 藪内百治, 野瀬 幸, 福西孝信, 栗村 敬, 鶴原常雄, 中島博徳, 大浦敏明: 先天性甲状腺形成障害の成因に関する環境・遺伝要因の研究—疫学および HLA 測定に

よるモニタリング。厚生省心身障害研究，先天異常のモニタリングに関する研究，昭和57年度研究報告書，p. 146, 1982.

- 3) Miyai, K., Connelly, J.F., Foley, T.P.Jr., Irie, M., Illig, R., Lie, S.O., Morissette, J., Nakajima, H., Rochiccioli, P. and Walfish, P.G. : An analysis for the variation of incidence of congenital dysgenetic hypothyroidism in various countries. *Endocrinol. Japan*, **31** : 77, 1984.
- 4) Miyai, K., Endo, Y., Hata, N. and Ichihara, K. : Comparison of radioimmunoassay with enzyme- and fluorescence-immunoassays. (Proceedings, The Third Asia and Oceania Congress of Nuclear Medicine), *The Korean J. of Nuclear Medicine*, **18** : 61, 1984.



**検索用テキスト** OCR(光学的文字認識)ソフト使用  
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



#### 結論

1. 世界各国における先天性甲状腺形成障害の発生率を調査した結果,ところによって季節変動が認められた。ただし,気候とは無関係であり,それ以外の何らかの環境要因が関与しているものと思われる。今回の調査は,予備的であり,さらに精査すれば貴重な情報が得られるものと思われる。
2. 抗T4-IgGをクロマトフォーカシング分画した結果,原抗血清よりも2~3倍親和定数の高いクロノタイプ抗体が得られた。このうち適当な抗体を用いることにより,RIA,EIA,FIAにおいて原抗血清を用いた場合よりも高感度のアッセイ系を組立てることが出来た。