

갑상선질환에서 갑상선 자극면역글로불린 측정의 의의에 관한 연구

—Micro 법 갑상선세포배양에 의한 측정의 기본적 검토—

서울대학교 의과대학 내과학교실

이명철 · 정준기 · 조보연 · 고창순 · 이문호

고려대학교 의과대학 내과학교실

안 일 민 · 안 희 권

= Abstract =

Thyroid Stimulating Immunoglobulin Bioassay Using Cultured Human Thyroid Cells; A Simplified Micromethod

Myung Chul Lee, M.D., June-Key Chung, M.D., Bo Youn Cho, M.D.

Chang-Soon Koh, M.D. and Munho Lee, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Seoul National University

Il-Min Ahn, M.D. and Hee Kwon Ahn, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Korea University

The activation of adenylate cyclase of human thyrocytes in primary cell culture and the release of c-AMP into the medium are used to detect b-TSH and TSAb in sera of patients with autoimmune thyroid disease. Sera of patients are used directly as a part of cell culture without immunoglobulin precipitation.

In the above TSI bioassay, TSAb pooled serum show c-AMP concentration between that of 1mU/ml and 10 mU/ml b-TSH but normal control pooled serum doesn't show any detectable c-AMP response.

Ninety five percent of untreated Graves' patients shows TSAb activity above normal range, 20% of Hashimoto's and 36% of euthyroid Graves' patients show detectable TSAb activity.

서 론

Graves 병은 TSH 수용체에 대한 자가항체를 생산하고 이 자가항체가 TSH 수용체와 결합하여 TSH 대신 갑상선 세포를 계속적으로 자극하여 갑상선기능항진증

* 본 논문은 1983년도 서울대학교병원 대단위연구비의 보조로 이루어졌음.

이 초래될 수 있는 일종의 기관특이성 자가면역질환으로 알려져 있다.

TSH 수용체에 대한 항체, 즉 갑상선자극항체(Thyroid Stimulating Antibody, TSAb)의 측정은 여러 가지 방법이^{1~7)} 있으나 그 중에서 흔히 쓰이는 측정법은 갑상선 세포막을 분리하여 TSAb가 방사표지된 TSH의 결합을 억제하는 성질을 이용하는 방사수용체법(Thyrotropin Binding Inhibitory Immunoglobu-

lin, TBII)^{7,8)}과 갑상선세포배양으로 TSAb에 의한 수용체 자극후의 전달물질인 c-AMP를 측정하는 방법 (Thyroid Stimulating Immunoglobulin Bioassay) 이⁹⁻¹¹⁾ 있다.

세포배양을 통한 TSAb의 측정은 현재까지는 일차세포배양법이 주로 이용되어 자주 조직을 분리, 배양하여야 하였고 이에 따라 TSI Bioassay를 임상에 이용하는데 불편한 점이 많았다.

이에 저자들은 갑상선자극항체의 측정에 필요한 갑상선 세포의 양을 극소화한 Micro법을 사용하고, 특히 검사법을 간편하게 하기 위하여 번역글로불린의 추출과정을 거치지 않고 환자의 혈청을 직접 배양된 갑상선 세포에 반응시켜서 배양액내 c-AMP의 상승을 측정하고자 하였으며 그 방법의 기본적 검토 및 임상적 의의를 검토하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

1) TSI 표준화 : 갑상선질환의 병력이 없는 정상인 5명의 혈청을 합친 정상대조군 혈청, 그리고 갑상선 기능항진의 증상을 보이는 치료경력이 없는 Graves 환자 5명의 혈청을 합친 TSAb 혼주혈청을 사용하였다(Group I ~ III).

2) 자가면역성 갑상선질환 환자의 TSI Bioassay : 갑상선질환의 병력이 없는 정상대조군 6명, 임상적으로 진단된(갑상선 스캔, 갑상선자극항체 및 갑상선의 이학적 소견) Hashimoto 병 환자 15명, 역시 임상적으로 진단된(갑상선 스캔과 ⁹⁹Tc 섭취율, 갑상선기능검사, 갑상선자가 항체 및 환자의 이학적소견) Graves 병 환자로 기능항진을 보이고 치료경력이 없는 20명, 항갑상선 제제에 의해 2~8개월의 치료후 정상 갑상선 기능을 보이는 Graves 병 환자 25명에서 TSI Bioassay 가 시행되었다(Group IV).

2. 방 법(Fig. 1)

1) 갑상선 세포배양 : 갑상선 선종환자에서 수술후 얻은 선종조직을 5분 이내에 0~4°C의 Phosphate Buffered Saline(PBS)으로 운반하여 가위로 절제조직을 박리하여 잘게 자르고 PBS액(0~4°C)으로 4회를 씻어 적혈구를 제거하였다. 그후에 0.25%의 trypsin이 첨가된 PBS액으로 37°C의 온도에서 한시간동안 소화시켜 세포를 분리하였다. 이때 magnetic bar는 거품이 나지 않는 저회전으로 맞추었고 소화를 시킨

다음 2%의 Fetal Calf Serum(FCS)으로 trypsin의 작용을 중화시켰다. 그후 부유액을 10분간 0~4°C에서 500g로 원심분리한 후 부유액은 버리고 다시 PBS를 첨가 vortex 혼합기로 재현탁시키고 이를 다시 원심분리하는 작업을 2회 반복후 마지막으로 침전된 세포를 0.02 M HEPES, Penicillin(50 U/mL), Streptomycin(0.05 mg/mL), Theophylline(10 mU/mL)을 첨가하고 NaHCO₃로 실내온도에서 pH 7.0~7.2로 맞추어 Media 199에 세포수를 고농도로 유지시켜 혼합시켰다. 그후 세포수를 Hemocytometer를 이용하여 1cc당 6~8×10⁶개로 상기 Media 199을 이용해 다시 희석한 다음 실험군에 따라 Group I에는 자기 다른 농도의 b-TSH(0.1~100 mU/mL)와 보체비활성 처리가 된 정상인의 혼주혈청을 20%의 농도로 첨가하였고 Group II에는 상기 정상인의 혼주혈청만을, 그리고 Group III에는 역시 보체비활성처리된 TSAb 혼주혈청을, 그리고 Group IV에는 각 환자의 혈청을 같은 조건으로 첨가시켰다.

사용한 trypsin은 DIFCO(U.S.A.)사, Media 199는 Flow Lab(U.S.A.), b-TSH는 Calbiochem(U.S.A.)사 제품을 이용하였고 조직배양은 수증기로 포화된 5% CO₂하의 배양기에서 37°C의 온도로 유지시켜 Microwell(Linbro, U.S.A.)에서 시행되었다.

상기 모든 조작은 laminar air flow가 되는 무균조작실에서 이루어졌고 모든 용액은 0.2μ milipore filtration을 거친 3차 증류수를 사용하였다. 또한 각각의 혈청별 혹은 b-TSH의 농도별로 triplicate로 실험이 시행되었고 시간별로 배양액을 뽑아낸 well은 betadine 용액을 첨가 표시하고 다시 이용하지 않았다.

2) c-AMP 측정 : Group I ~ III에서는 세포배양 0, 12, 24, 48, 72, 96, 120시간에 각각 배양액을 채취하였고 Group IV에서는 배양 48시간에 채취하였다. 자기 triplicate된 배양액은 혼합하여 원심분리후 부유액을 -70°C에 냉동시켜 c-AMP 측정시까지 보관하였다.

c-AMP의 측정은 방사면역측정법을 이용하여 Amersham 사 kit로 liquid scintillation counter에서 이루어졌고 자기 표본에서 3회 측정하여 그 평균치를 사용하였다.

3) TSI 표준화 : c-AMP로 표시된 각각의 TSAb의 활성도를 TSI 표준화곡선(Fig. 3)에서 b-TSH 농도로 환산하여 조건이 다른 실험의 결과치와 서로 비교관찰이 가능하도록 하였다.

3. 성 적

1) 갑상선 세포배양 : 선종 1g의 조직에서 약 6×10^8 개의 세포를 분리할 수 있었고 이는 다시 약 300 microwell에서의 TSI Bioassay가 가능하였다. 단중형성은 48시간에서 72시간에 이루어졌으며 b-TSH 100 mU 이하의 갑상선 세포배양에서는 선형세포배열이 이루어지는 것이 관찰되었다(Fig. 2).

2) TSI 표준화 : 각기 다른 농도의 b-TSH를 첨가한 Group I과 TSAb 혼주혈청(Group III) 및 정상대조군(Group II)에서의 갑상선세포배양후 배양액에서의 c-AMP 측정결과를 보면 b-TSH의 농도에 따른 구별이 48시간째에 가장 잘 나타났으며 갑상선 질환이나 갑상력이 없었던 정상 대조군에서는 계속 1.0 pmol/

mL 이하의 c-AMP치를 보이는 반면에 갑상선 기능항진의 증세를 보이는 치료력이 없는 Graves 병 환자의 TSAb 혼주혈청을 이용한 배양에서는 세포배양 48시간에 b-TSH 1 mU/mL과 10 mU/mL 사이에 위치하는 c-AMP의 농도인 18.8 pmol/mL로 TSAb의 활성도가 관찰되었다(Fig. 3).

3) 자가면역성 갑상선질환 환자에서의 TSI 측정 : 정상대조군 6명중 5명에서는 c-AMP가 1.0 pmol/mL 이하로 관찰되었고 1명에서는 7.2 pmol/mL로 측정되어 3 SD인 8.8 pmol/mL을 정상범위로 정하였다.

Hashimoto 병 환자 15명중 13명에서 c-AMP치가 1.0 pmol/mL 이상으로 관찰되었으나 3명에서 정상범 위이상으로 나타났고(범위 1.0이하~39.2 pmol/mL, 평균치 9.2 pmol/mL), 갑상선 기능항진의 증세를 보

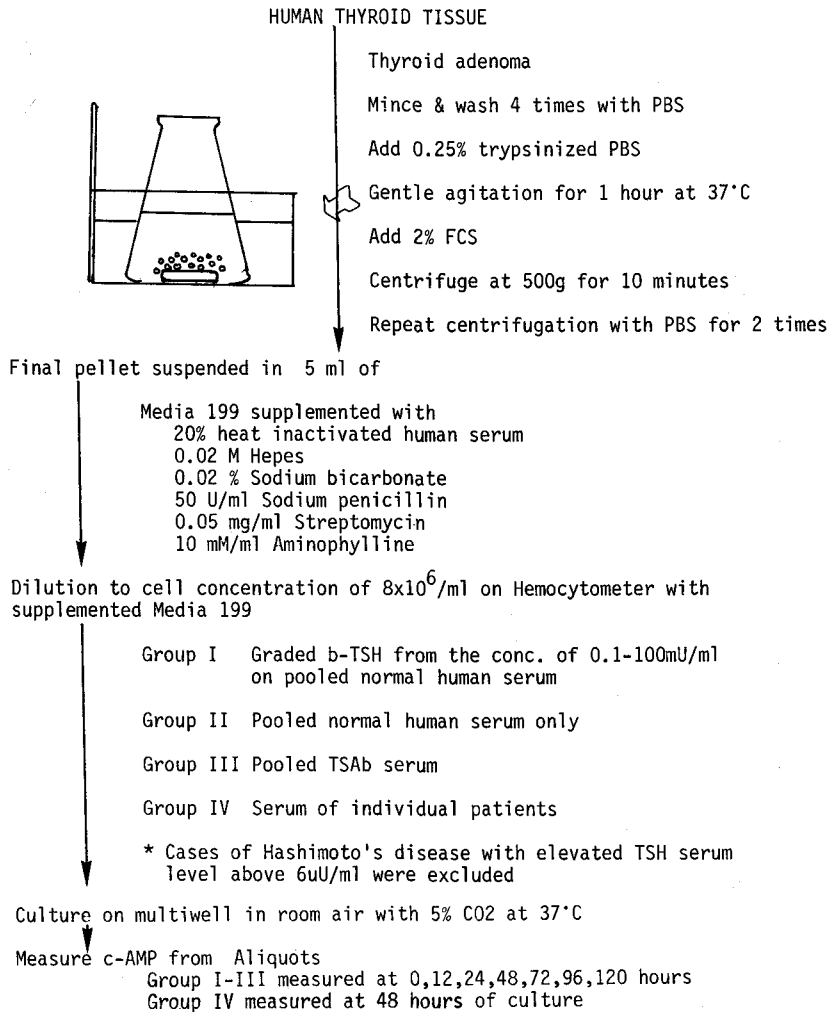


Fig. 1. Flow sheet of culture and experiment.

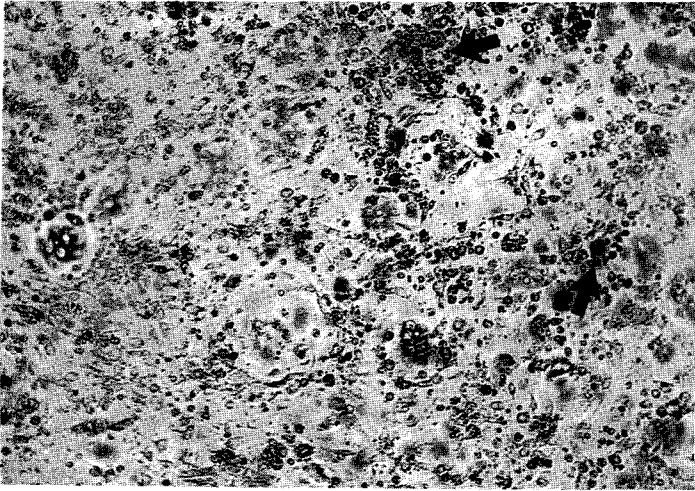


Fig. 2-1.

Microscopic picture of monolayer formation on 60 hours' culture, showing glandular arrangement of thyrocyte on 100 mU of b-TSH addition (Arrow), 1x200.

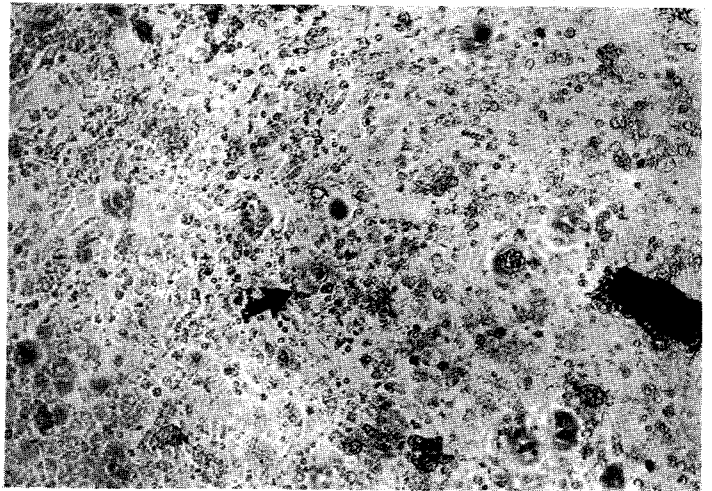


Fig. 2-2. Microscopic picture on 72 hours' culture, showing more confluent monolayer with glandular arrangement, 1x200.

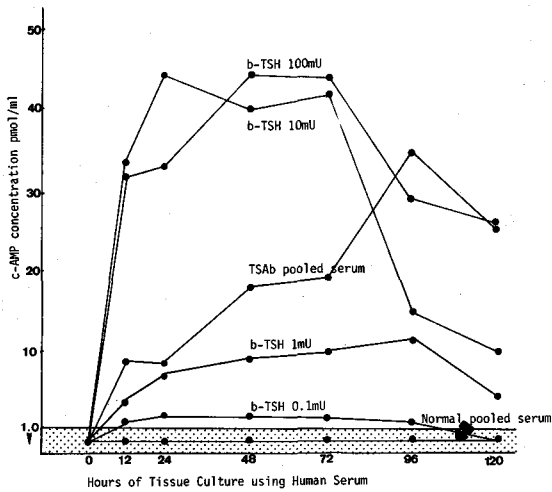


Fig. 3. Time course of thyroid culture c-AMP level to TSAb and graded concentration of b-TSH.

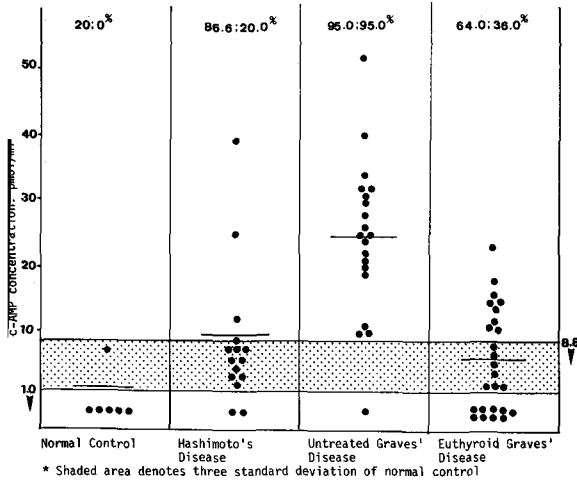


Fig. 4. Results of TSI bioassay in terms of c-AMP concentration in autoimmune thyroid diseases.

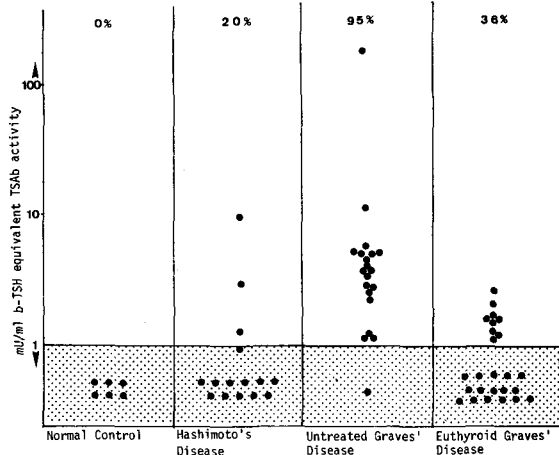


Fig. 5. Results of TSI bioassay in terms of b-TSH equivalent TSAb activity in autoimmune thyroid diseases.

이는 치료력이 없는 Graves 병 환자 20명중 19명에서 c-AMP 치가 1.0 pmol/mL 이상이었고 또한 이 19명 모두가 정상범위 이상이었다(범위 : 1.0이하~52.4 pmol/mL, 평균치 : 24.4 pmol/mL). 치료경력이 있고 갑상선기능은 정상범위인 Graves 병환자 25명에서는 16명에서 c-AMP 치가 1.0 pmol/mL 이상으로 관찰되었고 그중에서 9명이 정상범위 이상으로 나타났다(범위 : 1.0이하~22.7 pmol/mL, 평균치 : 5.4 pmol/mL) (Fig. 4).

4) b-TSH 농도로 표시된 갑상선질환 환자의 TSAb 활성도 : 동시에 시행된 TSI 표준화곡선(Fig. 3)에서 b-TSH 농도에 따른 c-AMP 치가 비교적 잘 구분이 되

는 48시간배양액의 c-AMP 치를 기준으로 하여 각 환자의 TSI bioassay 결과를 b-TSH 농도로 환산하였다.

Hashimoto 병환자군에서는 15명중 3명이 b-TSH 1~10 mU/mL에 상응하는 TSAb 활성도를 나타냈으며(20%), 치료력이 없는 Graves 병환자군 20명중 18명이 b-TSH 1~100 mU/mL에 상응하는 TSAb 활성도를 보였고 1명은 b-TSH 100 mU/mL 이상의 활성도를 나타내어 다른 군보다 월등히 높게 나타났다($p < 0.0005$).

반면에 치료경력이 있고 갑상선기능은 정상범위인 Graves 병환자 25명중 9명이 b-TSH 1~10 mU/mL에 상응하는 TSAb 활성도(36%)를 보였다.

고 안

TSAb의 측정은 처음에는 guinea pigs나 mice에서 bioassay¹⁾되었고 그후에 동물실험이 아닌 in vitro 검사방법이 많이 개발되었다^{2~7)}.

그중에서 1974년에 Smith & Hall에 의해 개발된 방사수용체법⁸⁾은 임상에 이용되어 국내에서도 그 측정이 가능하게 되었다.

그러나 여러 이질성을 지닌다고 생각되는 TSAb의 수용체 자극후의 c-AMP 상승을 측정하는 TSI bioassay는 국내에서는 이루어지지 않았고 외국에서도 몇몇 검사실에서 환자의 혈청에서 면역글로불린의 추출을 거쳐 세포내 c-AMP의 상승을 측정하는 상당히 많은 조직을 요하는 실험으로 측정되었다^{12~15)}.

이에 쉽게 구할 수 없는 인간의 갑상선 조직으로 많은 양의 표본을 간편하게 처리할 수 있게 하기 위하여 필요한 세포의 양을 극소화한 Micro법을 통하여 면역글로불린의 추출이 없이 환자 혈청을 그대로 사용하여 세포배양을 하고 c-AMP 치의 측정도 세포내^{9,16)}가 아닌 배양부유액에서 c-AMP를 측정하여 실험하였다.

이러한 방법으로 선종 1g의 조직에서 약 6×10^8 개의 세포를 분리할 수 있었고 이는 다시 약 300 micro-well 이상의 표본에서 TSI Bioassay를 시행할 수 있게 하였다.

또한 이 방법은 단층을 이룬 다음에 면역글로불린을 첨가하는 다른 방법과 달리 배양의 일부분으로 환자의 혈청을 첨가하게 됨에 따라 세포배양으로 단층을 이루는데 필요한 시간을 절약할 수 있었다. 이 외에 다른 동물의 조직을 이용하지 않고 인간의 갑상선조직을 사용함으로써 수용체의 이질성에 대한 실험상의 결함¹⁷⁾을 피할 수 있도록 하였다.

세포내 c-AMP의 측정을 시행하지 않고 배양부유액에서의 c-AMP의 측정을 택한 이유는 조작이 간편한 점 이외에 세포내 c-AMP의 세포외 공간으로의 방출은 끊임없이 일어나고 있는 자연적인 현상이고 또한 배양액에서의 c-AMP가 항상 세포내 c-AMP의 농도보다 높고 b-TSH나 TSAb의 농도차에 따른 변화를 측정하는데 더 용이하다는 것이 알려져 있기 때문이다^{18,19)}. 본 실험에서 c-AMP의 농도는 72시간 이후에는 점차 감소하는 경향을 보였는데 그것은 단층을 이룬후 갑상선 배양세포들의 사망율의 증가로 인한 세포효소의 방출에 의해서 c-AMP의 생성보다 파괴율이 높아지고, 일정한 체적내의 갑상선세포수의 증가에 따라 세포가 배양액에 접할 수 있는 면적이 감소하여 b-TSH 혹은 TSAb가 TSH 수용체에 반응할 수 있는 기회를 감소시키고 세포내 c-AMP의 방출기회가 감소함에 의한 것으로 사료된다.

본 실험에서 b-TSH 1~10 mU/mL 사이의 c-AMP의 상승보다 b-TSH 10~100 mU/mL 사이의 c-AMP의 상승이 현격하게 적어지는 것은 TSH 치의 상승에 따른 adenylate cyclase system에 대한 negative cooperativity²⁰⁾로 생각되고, b-TSH의 첨가에 비해 TSAb 혼주혈청의 c-AMP의 증가가 뒤늦게 나타나고 최고치로의 상승이 96시간에 관찰되어 TSH 수용체에 TSH와의 반응과는 다른 성질이 있는 것을 보여 주고 있고 처음에 LATS로 표현된 TSAb의 성상에 일치하는 것으로 보여진다.

자가면역성 갑상선 질환에서의 c-AMP의 상승은 본 실험에서 다른 갑상선 세포배양을 통한 TSI bioassay와^{11~13)} 비슷하게 나타내고 있어 치료전 Graves 병 환자의 95%에서 TSAb 활성도가 관찰되었다. 이는 갑상선조직절편을 이용한 bioassay^{3,21)}나 방사수용체법^{7,8)}보다 높은 민감도를 보이고 있음을 알 수 있다. 그러나 면역글로불린 추출후 시행하는 갑상선 세포배양을 통한 TSI bioassay¹²⁾에 비하여서는 c-AMP의 상승이 본 실험에서 훨씬 낮게 나타남을 알 수 있었다. 특히 TSAb의 역가가 높게 나타나는 치료전 Graves 병환자에서의 예민도(95%)에서는 거의 비슷하나 치료후 갑상선기능의 정상화가 이루어진 Graves 환자의 TSAb 발현율(36%)이 면역글로불린 추출후의 TSI bioassay의 그것보다 낮은 것은 본 실험의 예민도가 면역글로불린 추출후의 TSI bioassay보다 낮은 것으로 설명될 수 있을 가능성이 있다.

Hashimoto 병 환자에서 15명중 2명에서는 상당히 높은 c-AMP의 상승을 보여 주고 있다. 여기에는 몇가

지의 설명이 가능한데 우선 TSAb의 이질성으로 TSH 수용체를 점유하고 자극은 않는 항체와 수용체를 자극하는 항체와 공존하는 상태로 설명될 수 있고, Graves 병과 Hashimoto 병이 서로 공존하는 상황에서 자가면역성 갑상선질환의 세포과과성향으로 갑상선조직의 파괴로 인하여 TSH 수용체를 자극하더라도 갑상선 기능상으로는 정상 혹은 저하를 보일 수 밖에 없는 단계에 이른 것으로 설명될 수 있으나 이에 대해서는 더 연구가 진행되어야 할 것 같다.

TSI bioassay의 문제점으로 지적될 수 있는 조직의 변화에 따른 TSAb 활성도치의 변동은 이미 주지되어 있는 바이다²²⁾.

이러한 조직의 변화에 따른 실험결과와 변동성을 피하기 위하여 본 실험에서는 TSI 표준화과정을 통해 TSAb 활성도로 표시하여 조직변화에 따른 차이점을 TSAb 활성도로 비교함으로써 시정하고자 하였다.

그러나 이러한 과정은 조직각각의 b-TSH와 TSAb에 대한 반응도는 일정하다는 전제가 이루어져야 할 것으로 이에 대한 규명도 이루어져야 할 것으로 사료된다.

결 론

Micro 범 갑상선세포 배양을 통한 TSAb의 측정을 위하여 면역글로불린의 추출없이 환자의 혈청을 직접, 배양액의 일부분으로 이용하고 배양부유액의 c-AMP 치의 상승을 보는 TSI bioassay를 시행하였다.

1) 선종 1g의 조직에서 약 6×10^8 개의 세포를 분리할 수 있었으며 이는 다시 약 300 microwell에서의 TSI bioassay가 가능하였고 단층형성은 48~72시간에 이루어졌다.

2) TSAb 혼주혈청에서의 c-AMP 형성은 b-TSH 1 mU/mL과 10 mU/mL 사이에 위치하였고(48시간 배양시) 정상대조군에서는 c-AMP 형성이 측정가능범위하로 나타났다.

3) 자가면역성 갑상선질환 환자에서는 치료력이 없는 Graves 환자에서는 95%, Hashimoto 병환자에서는 20%, 항갑상선제제치료후의 정상갑상선 기능을 보이는 Graves 환자에서는 36%에서 TSAb 활성도가 정상 이상으로 나타났다.

4) 상기 결과를 실험간의 c-AMP 농도의 변화를 시정하기 위하여 b-TSH에 상응하는 TSAb 활성도로 표시하였다.

REFERENCES

- 1) Adams, D.D. and Purves, H.D.: *Abnormal responses in the assay of thyrotrophin. Univ. Otago. Med. School Proc.*, 34:11, 1956.
- 2) Onaya, T., Kotani, M., Yamada, T. & Ochi, Y.: *New in vitro tests to detect the thyroid stimulator in sera from hyperthyroid patients by measuring colloid droplet formation and cyclic AMP in human thyroid slices. J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 36:856, 1973.
- 3) Mc Kenzie, J.M. and Zakarija, M.: *LATS in Graves' disease. Recent Prog. Horm. Res.*, 33: 29, 1977.
- 4) Adams, D.D. and Kennedy, T.H.: *Evidence to suggest that LATS protector stimulates that human thyroid gland. J. Clin. Endocrinol Metab.*, 33:47, 1971.
- 5) Shishiba, Y., Shimizu, T., Yoshimura, S. and Shizume, K.: *Direct evidence for human thyroidal stimulation by LATS protector. J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 36:517, 1973.
- 6) Peterson, V.B., Smith, B.R. and Hall, R.: *A study of thyroid stimulating activity in human serum with the highly sensitive cytochemical assay. J. Clin. Endocrinol. Metab.* 41:199, 1975.
- 7) Smith, B.R. and Hall, R.: *Thyroid stimulating immunoglobulins in Graves' disease. Lancet*, 2:427, 1974.
- 8) Schleusenet, H., Kotulla, P., Simpson, R.D. and Mehdi, S.Q.: *The value of a radioligand receptor assay for the detection of human thyroid stimulating immunoglobulins. Acta. Endocrinol, Suppl.*, 139:4, 1975.
- 9) Rapoport, B.: *Dog thyroid cells in monolayer tissue culture: adenosine 3',5'-cyclic monophosphate response to thyrotropic hormone. Endocrinology*, 98:1189, 1976.
- 10) Bidey, S.P., Marshall, N.T. and Ekins, R.P.: *Characterisation of the cyclic AMP response to thyrotrophin in monolayer cultures of normal human thyroid cells. Acta. Endocrinol.*, 98:370, 1981.
- 11) Stöckle, G., Wahl, R. and Seif, E.J.: *Micro-method of human thyrocyte cultures for detection of thyroid-stimulating antibodies and thyrotrophin. Acta. Endocrinol.*, 97:369, 1981.
- 12) Rapoport, B., Greenspan, F.S., Filetti, S. and Pepitone, M.: *Clinical experience with a human thyroid cell bioassay for thyroid stimulating immunoglobulin. J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 58:332, 1984.
- 13) Toccafondi, R.S., Aterini, S., Medici, M.A., Rotella, C.M., Tanini, A. and Zonefrati, R.: *Thyroid stimulating antibody detected in sera of Graves' patients using human thyroid cell cultures. Clin. Exp. Immunol.*, 40:532, 1980.
- 14) Hinds, W.E., Takai, N., Rapoport, B., Filetti, S. and Clark, O.H.: *Thyroid stimulating immunoglobulin bioassay using cultured human thyroid cells. J. Endocrinol. Metab.*, 52:1204, 1981.
- 15) Kasagi, K., Iida, Y., Konishi, J., Mori, T., Makimoto, K., Kuma, K. and Torizuka, K.: *Human thyroid stimulator assay using cultured human thyroid cells, Program and abstracts of the 6th international congress of endocrinology, Melbourne.*, p.210.
- 16) Etienne-Decerf, J. and Winand, R.: *An easy, sensitive and reproducible technic for the determination of the thyroid stimulating activity (TSI). Ann. Endocrinol.*, 40:6A, 1979.
- 17) Endo, K., Kasagi, K., Konishi, J., Ikekudo, K., Okuno, T., Takeda, Y., Mori, T. and Torizuka, K.: *Detection and properties of TSH-binding inhibitor immunoglobulins in patients with Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis. J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 46: 734, 1978.
- 18) Kaminski, N.I., Broadus, A.E., Hardman, J.G., Jones, D.J. Jr., Ball, J.H., Sutherland, E.W. and Liddle, G.W.: *Effect of parathyroid hormone on plasma and urinary adenosine 3',5'-monophosphate in man. J. Clin. Invest.*, 49: 2387, 1970.

—Myung Chul Lee, et al.: Thyroid Stimulating Immunoglobulin Bioassay Using
Cultured Human Thyroid Cells; A Simplified Micromethod—

- 19) Elkeles, R.S., Lasarus, J.H., Siddle, K. and Campbell, A.K.: *Plasma adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate response to glucagon in thyroid disease. Clin. Sci. Mol. Med.*, 48:27-31, 1976.
- 20) De Meyts, P.: *Cooperative properties of hormone receptors in cell membranes. J. Supramol. Struct.*, 4:241, 1976.
- 21) Atkinson, S. and Taylor, P.K.: *The stimulation of thyroid hormone secretion in vitro by thyroid-stimulating antibodies, J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 53:1263, 1981.
- 22) Kasagi, K., Konishi, J., Endo, K., Mori, T., Nagahara, K., Makimoto, K., Kuma, K. and Torizuka, K.: *Adenylate cyclase activity in thyroid tissue from patients with untreated Graves' disease. J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51:492, 1980.
-