

## 《ノート》

## 血清 3, 3', 5' triiodothyronine (rT<sub>3</sub>) の radioimmunoassay kit の基礎的、臨床的検討

Fundamental and Clinical Studies on The Measurement of Serum 3, 3', 5'-triiodothyronine (reverse T<sub>3</sub>) by A Radioimmunoassay

鈴木 邦治\* 嘉手納成之\* 武内 恵輔\*\*

Hoji SUZUKI, Nariyuki KADENA and Keisuke TAKEUCHI

\*The Second Department of Medicine, Hokkaido University School of Medicine, Sapporo

### いとぐち

3,3',5'-triiodothyronine (reverse T<sub>3</sub>, rT<sub>3</sub>) は正常人の血中に存在する甲状腺ホルモンの 1 つであるが、血中濃度がきわめて低いため測定が困難で、また生物学的活性が少ないため従来臨床的に大きな関心をはらわれることがなかった。

最近アジオイムノアッセイ (RIA) により、特異的で感度の高い血中 rT<sub>3</sub> 濃度の測定法が開発され、その生理学的および臨床的意義についての知見もしだいにふえつつある。

著者らは最近ダイナボット RI 研究所で開発された rT<sub>3</sub> RIA キットにより、2, 3 の基礎的および臨床的検討を行ったので報告する。

### 方法および対象

T<sub>3</sub> RIA の測定手順を Fig. 1 に表示する。

- 1) 被検血清または標準 rT<sub>3</sub> 液 0.1 ml に rT<sub>3</sub>-<sup>125</sup>I 液 0.1 ml を加え混和する。
- 2) これに抗 rT<sub>3</sub> 稀釀血清 0.4 ml を加え混和する。

\* 北海道大学医学部第 2 内科

\*\* 札幌鉄道病院

受付：53 年 10 月 20 日

最終稿受付：54 年 1 月 31 日

別刷請求先：札幌市北区北 14 西 5 (〒060)

北海道大学医学部第 2 内科

鈴木 邦治

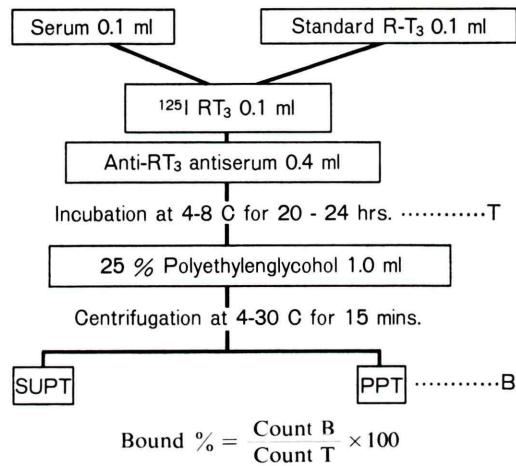


Fig. 1 Procedure for reverse T<sub>3</sub> radioimmunoassay.

- 3) 4~8°C で 20~24 時間インキュベートする。インキュベーション中に数本の試験管について試料の放射能活性をウェル型シンチレーションカウンターで計数し、その平均カウントを T とする。
- 4) インキュベーション終了後、25% ポリエチングリコール液 1.0 ml を加え、混和する。
- 5) 1,000~2,300×g, 約 15 分間、4°C で遠心分離する。分離後ただちに試験管を傾けて上清を捨て、試験管を逆さまに濾紙上に立て 5~10 分間放置する。
- 6) 試験管内の沈殿物の放射能活性を計数し、

Key words: rT<sub>3</sub>, RIA.

そのカウントを **B** とする。

7) 抗原抗体結合率(%)を  $B/T \times 100$  としてあらわし、得られた結合率より標準曲線を作製し、検体の  $rT_3$  濃度を読みとる。

交叉試験には 3,3',5-L-triiodothyronine ( $T_3$ ) および L-thyroxine ( $T_4$ ) (Sigma Co.) を使用した。稀釈試験には、Amberlite CG 400 type 2 を用いて作製した  $rT_3$ -free 血清を使用した。

患者血清は早朝空腹時採血後分離し、 $-20^{\circ}\text{C}$  に凍結保存し、使用直前に解凍した。正常者として、健康志願者および、臨床所見および日常臨床検査所見で器質疾患を除外された神経症患者を用いた。その年齢は 24~58 歳で男 13、女 7 名であった。甲状腺疾患は全例につき、臨床所見、血中  $T_4$ 、 $T_3$  resin 摂取率、抗サイログロブリン抗体、および甲状腺  $^{131}\text{I}$  摂取率を行って、また一部の症例では甲状腺シンチグラム、TRH 試験、 $T_3$  抑制試験、または甲状腺生検などを行って診断を決定した。TBG 欠損症は上記検査のほか TBG 結合能の測定により診断を確認した。

TRH 試験は正常者 11 名に TRH (Prothyrelin® 田辺製薬) 500  $\mu\text{g}$  を 1 回静注し、15~30 分間隔で 2 時間にわたり採血した。TSH 試験はウシ TSH (Thyropar®, Armour) 10 u.s.p 単位 1 回筋注後 12 および 24 時間目に採血した。

胆のう造影剤は iopanoic acid (Telepaque® Winthrop), iodobenzamic acid (Osbil® Stickstock) sodium ipodate (Bilopfin®, Schering) および tyropanoic acid (Tyropaque®, Winthrop) をそれぞれ 1 g 1 回経口投与し、12 時間後に採血した。

## 結 果

### 1. 基礎的検討

#### 1) 標準曲線および感度

異なったロットで 8 回測定を行った時の標準曲線の  $Bo/T\%$  は 59~74%，平均  $67.8 \pm 9.9$  (SE) % であった。同一ロットにつき各 5 回測定時の標準曲線の各濃度における平均値および標準偏差を Fig. 2 に示す。 $Bo/T\%$  の平均値  $\pm 2$  SD 以上の差を測定可能範囲とすると、3 pg/tube (または 3 ng/

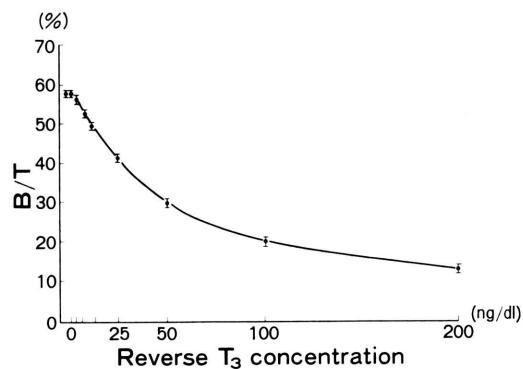


Fig. 2 Radioimmunoassay standard curve for reverse  $T_3$  obtained utilizing data from 5 consecutive assays. Data points with vertical lines represent the mean  $\pm$  SD.

dl) が最小検出可能濃度であった。

#### 2) 再現性

$rT_3$  濃度のことなった三種類の血清 (12.0, 35.4 および 94.0 ng/dl) について、同一アッセイ内でおのの 10 回測定時の変異係数はそれぞれ 4.4%，1.1% および 4.2% であった。また一種類の血清 ( $T_3$  濃度 48.2  $\mu\text{g/dl}$ ) をことなったロットについて 8 回測定時のアッセイ間変異係数は 10.6% であった。

#### 3) 回収率

甲状腺機能低下症患者血清および正常人血清に既知量の  $rT_3$  標準品を添加したときの回収率を Table 1 に示す。いずれもほぼ 100% 近く回収された。

#### 4) 希釈試験

高  $rT_3$  濃度血清を  $rT_3$ -free 血清で倍数希釈した時の測定値は Fig. 3 に示すように良好な直線性を示した。

#### 5) 特異性

$rT_3$  標準品を 100 としたときの relative cross-reactivity は  $L\text{-}T_4$  で 0.01%， $L\text{-}T_3$  で 0.001% 以下であった。

### 2. 臨床的検討

#### 1) 各種疾患における血清 $rT_3$ 値

結果を Fig. 4 に示す。正常者 20 例における値は 15~55 ng/dl, 平均  $27.5 \pm 1.9$  (S.E) ng/dl で、正

Table 1 Recovery of reverse T<sub>3</sub> added to sera of low and high reverse T<sub>3</sub> concentrations

Serum reverse T <sub>3</sub> concentration (ng/dl)		Recovery (%)
Initial	Added	Final
1.3	6.3	6.9
	12.5	12.0
	25.0	24.5
	40.5	6.3
	12.5	62.0
	25.0	68.0

床的に hypothyroid であった 2 例はいずれも低値を示し、また euthyroid と判定された 7 例中 2 例が低値を示した。非中毒性びまん性甲状腺腫患者 9 例における値は 19.0~36.6 ng/dl、平均  $26.7 \pm 1.7$  (SE) ng/dl でいずれも正常範囲内にあった。神経性食欲不振患者 4 例中 1 例が高値、3 例は正常範囲内にあったが、全体として高いものが多く平均値  $38.9 \pm 4.5$  (SE) ng/dl で正常者に比し有意に高かった ( $p < 0.05$ )。TBG 欠損症患者 5 例のうち、

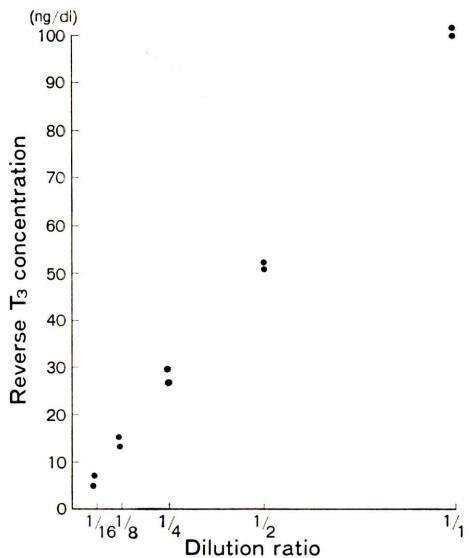


Fig. 3 Dilution of high reverse T<sub>3</sub> serum with reverse T<sub>3</sub>-free serum. Data points represent the duplication of assay.

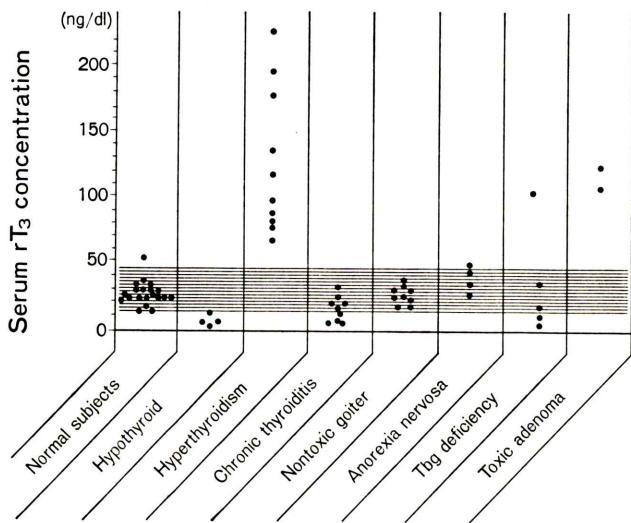


Fig. 4 Serum reverse T<sub>3</sub> concentrations in normal subjects and patients with various disorders. The shaded area indicates normal range expressed as mean  $\pm 2SD$ .

常範囲を  $m \pm 2SD$  とすると 10.5~44.5 ng/dl であった。甲状腺機能低下症 4 例の rT<sub>3</sub> 値は 3~13 ng/dl で 1 例を除き正常範囲以下にあり、その平均値は  $7.3 \pm 2.1$  (SE) ng/dl で、正常者に比し有意に低かった ( $p < 0.05$ )。未治療バセドウ病患者 10 例の rT<sub>3</sub> 値は 68~120 ng/dl で全例正常範囲以上にあり、平均値は  $124.7 \pm 17.7$  (SE) ng/dl で正常者より有意に高かった ( $P < 0.01$ )。甲状腺中毒性腺腫患者 2 例においては 108、および 124 ng/dl と高値を示した。慢性甲状腺炎患者 9 例において 6.0~32.0 ng/dl、平均  $16.8 \pm 2.7$  (S.E) ng/dl で、臨

臨床的に euthyroid であった 4 例の rT<sub>3</sub> 値は  $11.6 \pm 3.4$  (S.E) ng/dl で、2 例が低値を示した。甲状腺機能亢進症を合併した例では 104 ng/dl と高値を示した。

### 2) TRH 投与時の rT<sub>3</sub> の反応

Table 2 に結果を示す。正常者 11 例で TRH 投与後血清 rT<sub>3</sub> は軽度に増加したが、いずれの時間においても、投与前値に比し有意差はなかった。

### 3) TSH 投与時の rT<sub>3</sub> の反応

Table 3 に結果を示す。正常者 5 例で TSH 投与 12 時間および 24 時間後の血清 rT<sub>3</sub> は、いずれ

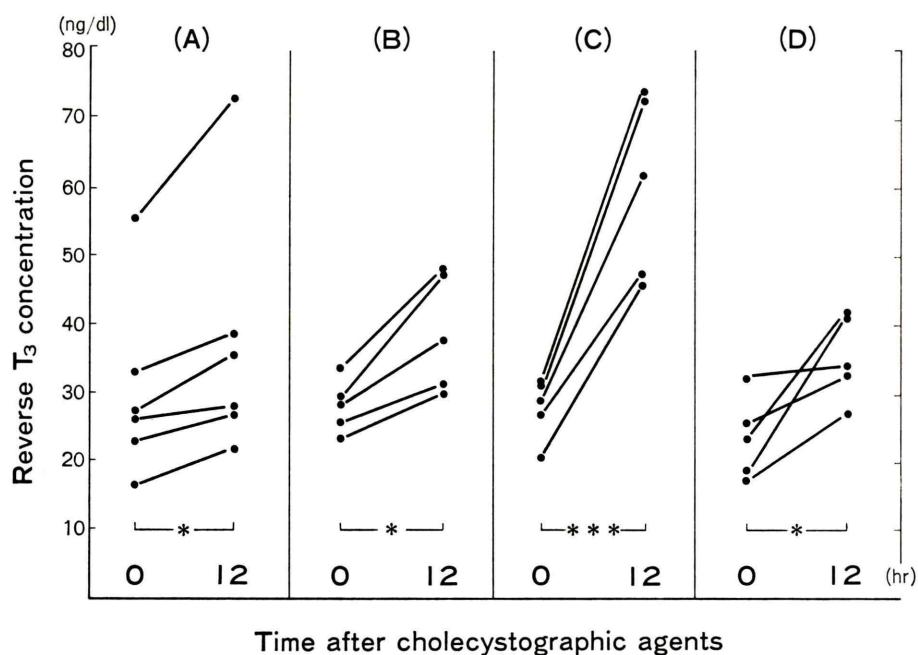


Fig. 5 Changes in serum reverse  $T_3$  concentrations after a single dose of oral cholecystographic agents. (A): Iobenzamic acid, (B): Iopanoic acid, (C): Sodium ipodate, (D): Tyropanoic acid. Asterisks indicate significant change from the pretreatment value,  $*P < 0.05$ ,  $***P < 0.005$ .

Table 2 Effect of TRH on serum reverse  $T_3$  in normal subjects

Time after TRH (hr)	Serum reverse $T_3$ concentration (ng/dl)
0	27.6 $\pm$ 1.9*
15	29.8 $\pm$ 2.0
30	30.1 $\pm$ 1.9
60	29.4 $\pm$ 1.8
90	31.1 $\pm$ 1.6
120	29.8 $\pm$ 1.8

\* Mean  $\pm$  SEM of 11 subjects

も軽度ながら有意 ( $p < 0.05$ ) に上昇した。

#### 4) 胆のう造影剤投与時の $rT_3$ の反応

iodobenzamic acid, iopanoic acid, sodium ipodate および tyropanoic acid 投与後, 血清  $rT_3$  はいずれも有意に上昇した。投与後の  $rT_3$  濃度の変化を前値に対する百分率であらわすと, 上記の順で  $22.8 \pm 19.3\%$ ,  $28.3 \pm 3.8\%$ ,  $14.0 \pm 9.3\%$ ,  $88.6 \pm 12.3\%$  ( $m \pm SE$ ) で, sodium ipodate 投与後の変

Table 3 Effect of bovine TSH on serum reverse  $T_3$

Subjects number	Serum reverse $T_3$ concentration (ng/dl)		
	Time after TSH administration (hr)	0	12
1	15.0	35.0	37.0
2	21.0	28.0	29.5
3	17.0	32.0	35.0
4	25.0	42.0	38.0
5	19.0	27.0	39.0
Mean	19.4	32.9	37.6
SEM	1.7	2.7	1.8
Significance	—	$P < 0.05$	$P < 0.01$

化が最も著明であった。

#### 考 案

血中  $rT_3$  の radioimmunoassay は Chopra ら<sup>1)</sup>により開発され, その後現在まで測定法および臨床成績について多くの報告がある。われわれが使用した RIA-kit はダイナボット社で開発されたも

ので、比較的比放射能の高い標識 rT<sub>3</sub> と、抗 rT<sub>3</sub> 抗体に L-rT<sub>3</sub> 免疫家兎血清を用い、B・F 分離にポリエチレングリコールを使用したもので、血清より rT<sub>3</sub> の抽出操作を要せず、高い感度と特異性をもつといわれる<sup>2)</sup>。われわれの基礎的検討の結果でも、感度、特異性、再現性の点から満足すべき値が得られた。

血清 rT<sub>3</sub> 濃度の“正常値”は測定法および報告者により平均値で 16.7<sup>3)</sup> から 60.0 ng/dl<sup>4)</sup> とことなる。著者らの成績は、自家抗体による満間<sup>5)</sup>や浜田ら<sup>6)</sup>の成績、Biodata 社キットによる奥野ら<sup>7)</sup>、Sereno Lab. キットによる宮本ら<sup>8)</sup>、および本法と同様の assay 系による高木ら<sup>2)</sup>の成績とほぼ同様の正常値を示したが、Chopra<sup>1)</sup>、Nicod<sup>9)</sup>、Burman<sup>4)</sup>らの報告値より低く、また Kaplan<sup>10)</sup>、Wenzel<sup>11)</sup>らの報告値に比して高い傾向を示した。この差はおそらく測定系の差にあるものと思われる。現時点では測定成績の解釈にはこのような測定系による差異を考慮し、またそれぞれの測定法および研究所における正常値を設定しておく必要があろう。

血中 rT<sub>3</sub> の大部分は、甲状腺外で T<sub>4</sub> の脱ヨードによって生ずるが、一部は甲状腺より分泌される。rT<sub>3</sub> は血中で血清蛋白と結合し、末梢組織でベンゼン核の 5' または 5 の位置の脱ヨードにより 3,3' T<sub>2</sub> または 3',5' T<sub>2</sub> に転換するといわれる<sup>11,13)</sup>。したがって血中 rT<sub>3</sub> 濃度は、これらの生成、分泌、崩壊、血中存在様式に関する因子により変化をうけると考えられる。

今まで多くの生理的、および病的状態において rT<sub>3</sub> の変化することが報告されている。各種疾患における著者らの成績では、未治療バセドウ病患者、甲状腺中毒性腺腫、神経性食欲不振症で高値の傾向を、甲状腺機能低下症および TBG 欠損症では低値の傾向を示し、他の報告と同様の傾向を示した。

著者らの成績で、TSH 投与後血清 rT<sub>3</sub> は著明に上昇したが、TRH 投与後の上昇はわずかであった。これはヒトおよびヒツジにおける成績<sup>4)</sup>とほぼ同様の傾向である。このような rT<sub>3</sub> 上昇の説明として、刺激された甲状腺から rT<sub>3</sub> 分泌の増加、

および前駆体である T<sub>4</sub> の分泌増加などの可能性が考えられるが、その詳細な機序は今後の解明に待たねばならない。

血中 rT<sub>3</sub> 濃度を増加させる薬剤として従来 dexamethasone, amiodaron, estrogen, iopanoic acid などが報告されている<sup>11,13)</sup>。著者らの成績から、経口胆のう造影剤として一般に使われている iopanoic acid, iobenzamic acid, tyropanoic acid および sodium ipodate はいずれも血清 rT<sub>3</sub> 濃度を上昇させることができ明らかになった。ヨード造影剤の甲状腺機能検査値におよぼす影響として、甲状腺 <sup>131</sup>I 摂取率の低下と PBI の上昇が良く知られているが、血中甲状腺ホルモン濃度は著明に変化しないとされてきた。著者らは経口胆のう造影剤投与後血中 rT<sub>3</sub> 濃度の上昇に加え、T<sub>3</sub> 濃度の低下、T<sub>4</sub> 濃度の上昇、TSH の基礎値および TRH 刺激に対する反応の増加を明らかにしている<sup>10),14)</sup>。血中 rT<sub>3</sub> 濃度の変動因子として、これらの薬剤の影響を考慮することは臨床上重要であると考える。

本論文の要旨の一部は昭和 53 年甲状腺同好会および第 2 回日本核医学会北海道地方会で発表した。

rT<sub>3</sub> RIA キットを提供いただいたダイナボット RI 研究所、チロパノ酸を提供いただいた鳥居薬品、TRH を提供いただいた田辺製薬に対して感謝します。

## 文 献

- 1) Chopra, IJ: A Radioimmunoassay for Measurement of 3,3',5'-triiodothyronine (reverse T<sub>3</sub>), *J Clin Invest* **54**: 583-592, 1974
- 2) Takagi A, Isozaki Y, Kurata K, and Nagataki S: A Radioimmunoassay for Measurement of 3,3',5'-Triiodothyronine (reverse T<sub>3</sub>). *Jap J Nucl Med* **15**: 275-282, 1978
- 3) Wenzel KW and Meinhold H: Triiodothyronine/reverse triiodothyronine balance and thyroxine metabolism, *Lancet* **II**: 413-413, 1975
- 4) Burman KD, Dimond RC, Wright FD et al: A radioimmunoassay for 3,3',5'-L-Triiodothyronine (reverse T<sub>3</sub>): Assessment of Thyroid Gland Content and Serum Measurement in Conditions of Normal and Altered Thyroid Economy and Following Administration of Thyrotropin Releasing Hormone (TRH) and Thyrotropin (TSH). *J*

- Clin Endocrinol Metab **44**: 660-672, 1977
- 5) 満間照典: ラヂオイムノアツセイによる人血清 3', 5'-triiodothyronine (reverse T<sub>3</sub>) の測定, 核医学 **15**: 605-612, 1978
  - 6) 浜田 哲, 中村浩淑, 井村裕夫他: 各種甲状腺疾患および胎状奇胎における血中 reverse triiodothyronine (rT<sub>3</sub>) について, 第25回日本内分泌西部学会講演抄録集 p. 74, 1977
  - 7) 奥野龍与, 中島言子, 笠木寛治他: 各種甲状腺疾患における新生児における reverse T<sub>3</sub> (rT<sub>3</sub>) 濃度について, 日内分泌会誌 **43**: 445-445, 1977(抄)
  - 8) 宮本義勝, 飯島 敏, 藤岡晨宏他: Reverse T<sub>3</sub> のラジオイムノアッセイについて, 日内分泌会誌 **43**: 444-444, 1977 (抄)
  - 9) Nicod P, Burger A, Staecheli V, et al: A Radioimmunoassay for 3,3',5'-triiodothyronine in Unextracted Serum: Method and Clinical Results. J Clin Endocrinol Metab **42**: 823-829, 1976
  - 10) Kaplan MM, Schimmel M, and Utiger RD: Changes in Serum 3,3',5'-Triiodothyronine (Reverse T<sub>3</sub>) Concentrations with Altered Thyroid Hormone Secretion and Metabolism, J Clin Endocrinol Metab **45**: 447, 1977
  - 11) Cavalieri RP and Rapoport B: Impaired peripheral conversion of thyroxine to triiodothyronine, Ann Rev Med **28**: 57-65, 1977
  - 12) 鈴木邦治, 嘉手納成之, 中畠元伸, 他: 胆のう造影剤の下垂体-甲状腺系におよぼす影響, 日内分泌会誌 **54**: 594-594, 1978 (抄)
  - 13) Braverman LE.: 第11回 河口湖カンファレンス記録, 鎮目和夫, 山田隆司, 宮井潔編集, 医歯薬出版(株), 東京, 1978
  - 14) Suzuki H, Kadena N, Takeuchi K, and Nakagawa, S.: Effect of three-day oral cholecystography on serum iodothyronines and TSH concentrations, Acta endocrinol (in press) 1979