

### 133 尿中 Immunoreactive T-3, T-4 の測定

別府野口病院

野口志郎, 加藤亮二, 上野義博

尿中の甲状腺ホルモンおよびその代謝産物の測定は、甲状腺疾患の診断や甲状腺ホルモンの代謝の研究に有用であると思われる。この方面の研究は従来2, 3の報告があるが、未だ充分に明かにされていない。我々はRadioimmunoassayにより尿中のImmunoreactive T-3, T-4の測定を行った。今回はその方法および血中T-3, T-4との関係について報告する。

〔方法〕一定量の尿に蛋白調整液(血清よりイオン交換樹脂にて甲状腺ホルモンを除いたもの), 抗体, 標識ホルモンを加え室温で2時間インキュベートした後, PEGでB:Fを分離する。本法の再現性はT-3では同一試料測定間の差は $0.1 \text{ ng/ml}$ 以下でありT-4では $0.5 \mu\text{g/dl}$ 以下であった。回収率はT-3で101%, T-4で90%であった。

〔結果〕血中T-3と24時間尿中のT-3をクレアチニンで補正した値(11例)の相関係数は $r=0.601$ であった。24時間の蓄尿は不便であるので午前中の尿の一部で尿中T-3と(79例)クレアチニン補正前で $r=0.88$ , 補正後 $r=0.90$ と高い正の相関を示した。尿中T-4では補正前 $r=0.61$ であったが補正後は $r=0.46$ と低い相関であった。尿中T-4は甲状腺機能亢進症を含む79例中7例では低値のため測定不能であった。

正常者25例の尿中T-3の平均 $\pm$ SDは $0.99 \pm 0.46 \text{ ng/mg}$ クレアチニン(以下単位略)であり、未治療バセドウ病21例では $5.4 \pm 1.9$ , 慢性甲状腺炎15例では $0.98 \pm 0.51$ , 甲状腺良性腫瘍15例で $0.91 \pm 0.44$ であった。甲状腺機能正常の腎疾患患者尿(28例)では蛋白尿および糖尿は尿中T-3には影響しなかった。4例は尿中T-3測定不能であり、その内3例はクレアチニン $20 \text{ mg/dl}$ 以下であった。尿中T-4は上記28例中13例に測定不能であり、腎機能による影響を受けやすいことをうかがわせた。

〔結語〕①尿中T-3は血中T-3と相関する。

②尿中T-4と血中T-4の相関はわるい。

③尿中T-3, T-4の測定は甲状腺ホルモンの代謝の研究に有用と思われる。

### 134 培養ヒト甲状腺細胞を用いた甲状腺刺激物質の測定法について

京都大学 放射線核医学科

笠木寛治, 飯田泰啓, 小西淳二, 鳥塚莞爾

神戸市民病院 内科

森 徹

隈病院

隈 寛二

培養ヒト甲状腺細胞をTSH又はその他の甲状腺刺激物質を含んだmedium中でincubateし、生じたCyclic AMPをradioimmunoassayにて測定することにより、これらの刺激物質の生物学的活性の測定を試みた。甲状腺腺腫の組織をはきみにて細切しPBS(-)にて洗浄後 $37^{\circ}\text{C}$ 30分のCollagenase処理を3回行って上清をガーゼにて濾過後遠沈し遊離細胞を得、 $1 \sim 3 \times 10^5$ /dishの細胞数でMEM, 20%FCSにて培養を行った。アッセイは培養2日目に行い、MEMを吸引除去後単層甲状腺細胞に1.5%BSA, 0.5mM isobutylmethyl xanthine及びTSHその他の甲状腺刺激物質を含むLeibovitz-15(L-15)medium又は種々のmediumを加え1又は2時間incubateした後、細胞及びmedium中のCyclic AMPをTCAにて抽出しradioimmunoassayにて測定した。L-15medium中でのTSH刺激によるCyclic AMPの上昇反応をみると、TSH $10 \mu\text{U/ml}$ で有意のCyclic AMPの上昇が認められ、TSH $100 \mu\text{U/ml}$ ではBasalの3.3 $\sim$ 12.4倍、 $1 \text{ mU/ml}$ で18 $\sim$ 24倍、 $10 \text{ mU/ml}$ で64 $\sim$ 269倍、 $100 \text{ mU/ml}$ では163 $\sim$ 580倍のCyclic AMPの上昇が認められた。Incubation時間の検討においてTSHでは1時間でpeakに達したが、バセドウ病患者IgG(HTS)ではそのpeakは2 $\sim$ 3時間であった。そこでIncubation時間を2時間として、 $10 \text{ mg/ml}$ のIgG濃度でHTSの検出を試みたが、未治療バセドウ病患者の21例中5例にしか検出されなかった。このようにHTSの検出率が低い理由として何等かの原因でHTSの作用がTSHに比べ減弱されている事が考えられた。そこで先ずNaCl濃度の影響について検討を加えた。L-15mediumよりアミノ酸, NaClを除きHepesをbufferとして導入したmodified mediumを作成しTSH刺激によるCyclic AMP反応曲線を求めると、TSH $10 \mu\text{U/ml}$ でBasalの3 $\sim$ 8倍、 $100 \mu\text{U/ml}$ で8 $\sim$ 35倍とL-15mediumを使用した場合及びこのL-15 modified mediumにNaClを加えた場合に比べて著明な感度の上昇が得られた。この測定感度はTSHのradioimmunoassayのそれに近く血清TSHの生物学的活性の測定への応用を現在検討中である。又このようなmodified mediumの使用によりTSH equivalentで求めたHTS活性も上昇し、未治療バセドウ病患者の18例中15例83.3%にHTSが検出された。