

《ノート》

サイログロブリン“栄研”RIA Kitによる血清サイログロブリン
値測定の基礎的検討および臨床的検討Basic and Clinical Evaluation of Serum Thyroglobulin Measurement by
Using Thyroglobulin “Eiken” Radioimmunoassay Kit大塚 誠* 小宮 妙子** 一矢 有一* 桑原 康雄*
和田 誠* 塩崎 宏* 山口 育子** 馬場 裕子**
松浦 啓一*Makoto OTSUKA*, Taeko KOMIYA**, Yuichi ICHIYA*, Yasuo KUWABARA*,
Makoto WADA*, Hiroshi SHIOZAKI*, Ikuko YAMAGUCHI**,
Hiroko BABA** and Keiichi MATSUURA*

Department of Radiology, Faculty of Medicine, Kyushu University

I. はじめに

サイログロブリン (Tg) は甲状腺由来の分子量約56万の糖蛋白であり、従来甲状腺濾胞内のみに存在すると考えられてきた。しかし最近の Radioimmunoassay (RIA) の開発により、微量ながら正常人血清中にも存在し、各種甲状腺疾患で上昇することが知られてきた^{1,2)}。

われわれは二抗体法によるサイログロブリン“栄研”RIA Kitの基礎的検討を行うとともに正常群ならびに各種甲状腺疾患患者の血清 Tg 値を測定し、その臨床的意義について検討した。

II. 対象および方法

正常コントロール群は健常者の中から無作為に選んだ男37例、女53例(年齢20~45歳)の計90例で

ある。臨床的検討は各種甲状腺疾患患者 102 例を対象とした。なお、そのうち10%以上の自己抗体陽性例は正常コントロール群が9例、各種甲状腺疾患患者が71例である。

測定操作の概略は Fig. 1 のとおりである。

III. 結 果

1. 基礎的検討

基礎的検討は再現性、回収試験、希釈試験、インキュベーション時間ならびにインキュベーション温度について行った。

1) 再現性

同時再現性は5種の血清を10回、日差再現性は5種の血清を3回測定した(Table 1)。サンプル2、6といった低濃度の血清の変動係数は27.0%、23.3%と高い値を示したが、その他はほぼ10%程度におさまった。

2) 回収試験

5種類の濃度の異なる標準 Tg を血清 Tg 値

Key words: Serum thyroglobulin, Radioimmunoassay, Thyroid cancer, Graves' disease, Chronic thyroiditis.

* 九州大学医学部放射線科

** 同 放射線部

受付: 58年7月11日

最終稿受付: 58年9月28日

別刷請求先: 福岡市東区馬出3丁目1-1 (☎ 812)

九州大学医学部放射線科

大塚 誠

Sample serum or standard	100 μ l
Anti-Tg antibody	200 μ l
↓ incubated at 25°C for 24 hr.	
¹²⁵ I-Tg	200 μ l
↓ incubated at 25°C for 24 hr.	
Second antibody	100 μ l
↓ incubated at 25°C for 30 min.	
Centrifuge at 3,000 rpm for 30 min. at 4°C	
↓ Counting of the precipitate	

Fig. 1 Assay procedure.

Table 1 Reproducibility

1. Intraassay variance

Sample	n	Mean (ng/ml)	S.D. (ng/ml)	C.V. (%)
No. 1	10	9.0	0.9	10.3
No. 2	10	16.4	4.4	27.0
No. 3	10	49.4	2.4	4.9
No. 4	10	120.9	6.5	5.4
No. 5	10	332.2	39.1	11.8

Mean=11.9

2. Interassay variance

Sample	n	Mean (ng/ml)	S.D. (ng/ml)	C.V. (%)
No. 6	3	9.0	2.1	23.3
No. 7	3	15.6	2.2	14.1
No. 8	3	38.4	3.4	8.9
No. 9	3	72.3	7.5	10.3
No. 10	3	122.7	20.9	17.0

Mean=14.7

23.0, 110.1 ng/ml の 2 種類の前血清に添加して回収率を求めた (Table 2). 平均回収率はそれぞれ 107.0%, 86.1% であった。

3) 希釈試験

Tg 値 369.5 ng/ml および 133.5 ng/ml の 2 種類の血清を蒸留水, 生理食塩水, 0 濃度標準液のそれぞれで 16 倍希釈まで行った (Fig. 2). 生理食塩水を用いた結果が最もバラツキが大きく, 蒸留水, 0 濃度標準液ではほぼ同程度のバラツキを示した。

4) インキュベーション時間

第 1 インキュベーション時間を 3, 6, 12, 18, 24, 48 時間と変えた時の標準曲線と 4 種血清の測定値

Table 2 Recovery Test

Sample	Added (ng/ml)	Measured (ng/ml)	Recovery (%)
No. 11	0	23.0	
	20	22.3	108.0
	40	32.2	103.5
	80	52.3	102.0
	160	97.3	107.3
	320	194.1	114.1

Mean=107.0

Sample	Added (ng/ml)	Measured (ng/ml)	Recovery (%)
No. 12	0	110.1	
	20	66.3	112.5
	40	72.4	86.8
	80	91.0	89.9
	160	111.4	70.4
	320	168.1	70.7

Mean=86.1

を Fig. 3 に示す。この時の第 2 および第 3 インキュベーション時間はそれぞれ 24 時間, 30 分と一定にした。第 1 インキュベーション時間が短いほど測定値は高値を示した。第 1 インキュベーション時間が短いと低濃度での分離が悪く, 長いと高濃度での分離が悪くなる傾向を示した。

第 2 インキュベーション時間を 3, 6, 12, 18, 24, 48 時間と変えた時の標準曲線と 4 種血清の測定値を Fig. 4 に示す。この時の第 1 および第 3 インキュベーション時間はそれぞれ 24 時間, 30 分と一定にした。第 2 インキュベーション時間を変えると測定値は変化した, 特に一定の傾向は示さなかった。

第 3 インキュベーション時間を 0, 15, 30, 60 分と変えた時の標準曲線と 4 種血清の測定値を Fig. 5 に示す。第 1 および第 2 インキュベーション時間はともに 24 時間と一定にした。得られた測定値はほとんど変わらず, 第 3 インキュベーション時間の影響はほとんどなかった。

5) インキュベーション温度

インキュベーション温度を 4°C, 25°C, 37°C と変えた時の標準曲線とその測定値を Fig. 6 に示す。25°C および 37°C で良好な標準曲線が得られ,

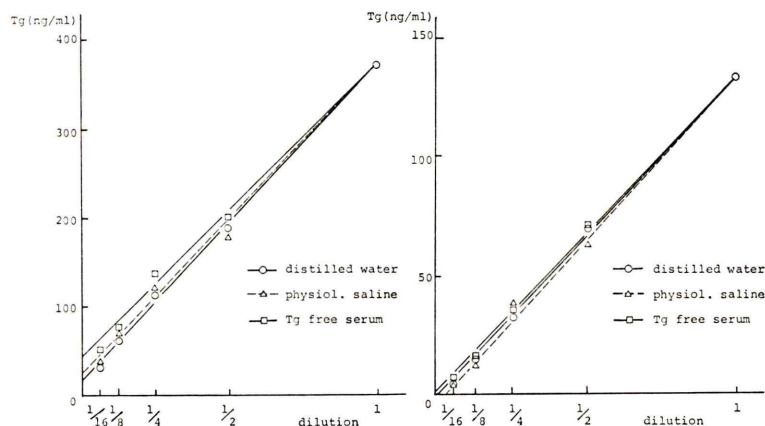


Fig. 2 Dilution curve.

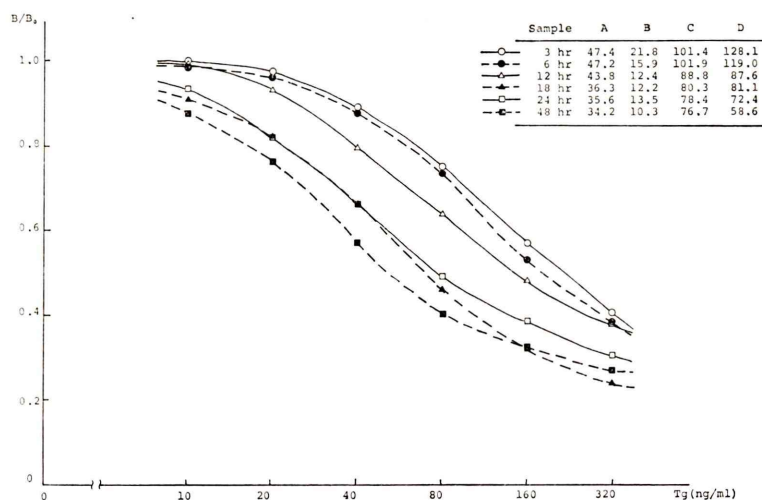


Fig. 3 Influence of first incubation time.

インキュベーション温度は 25°C (室温) で十分と思われた。

以上の結果より以降の臨床的検討では、キット添付の説明書どおり、第 1, 第 2 および第 3 インキュベーション時間はそれぞれ 24 時間、24 時間および 30 分、インキュベーション温度は 25°C (室温) として測定した。また 320 ng/ml 以上の検体は 0 濃度標準液とバラツキの程度が変わらず、容易に入手できる蒸留水で希釈して測定した。

2. 臨床的検討

1) 正常値

正常コントロール群 90 例の平均値 $\pm 2S.D.$ は 8.4 ± 22.2 ng/ml であり、正常値は 30.6 ng/ml 以下であった (Fig. 7)。男女別では男 37 例の平均値 $\pm 2S.D.$ は 5.4 ± 10.4 ng/ml に対して、女 53 例では 10.5 ± 26.8 ng/ml と女性の方が高値を示した ($p < 0.001$)。

全 90 例中自己抗体陽性例 (B/T が 10% 以上) は 9 例あり、それらを除いた 81 例の平均値 $\pm 2S.D.$

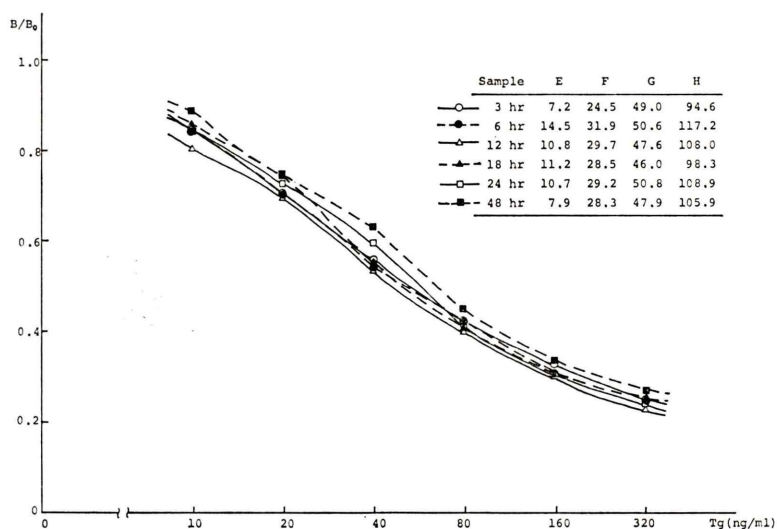


Fig. 4 Influence of second incubation time.

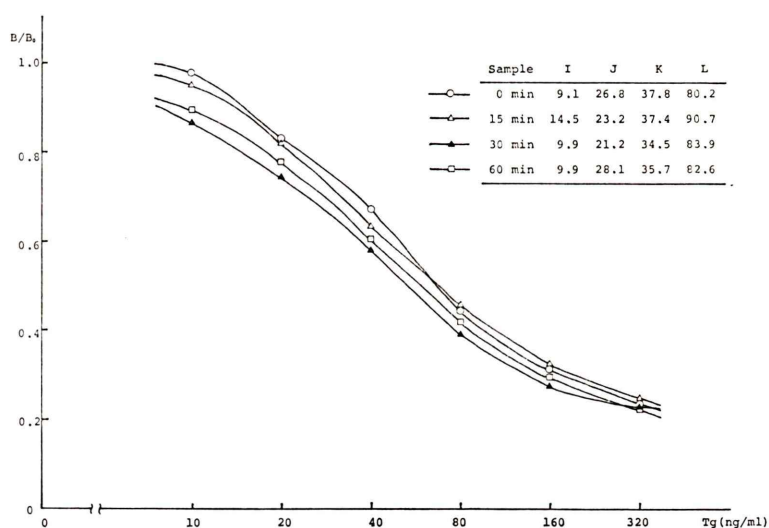


Fig. 5 Influence of third incubation time.

は 7.5 ± 15.0 ng/ml であった (Fig. 8).

2) 各種甲状腺疾患における結果

各種甲状腺疾患 102 例における血清 Tg 値を Fig. 7 に示す。甲状腺癌では転移のないものは 7 例中全例正常範囲内であったが、転移のあるものは 16 例中 14 例が陽性であり、陽性率は 88% であった。転移のある甲状腺癌のうち 3 例は 10,000 ng/

ml 以上の非常な高値をとっており、最高は 93,000 ng/ml であった。甲状腺腺腫は 2 例中 1 例が、腺腫様甲状腺腫では 2 例中 2 例が陽性であった。バセドウ病では 32 例中 23 例が陽性で、陽性率は 72% であった。橋本病では 43 例中 17 例が陽性で、陽性率は 40% であった。今回の結果では良性疾患では Titer は 1,000 ng/ml 以下であり、それ以上の値

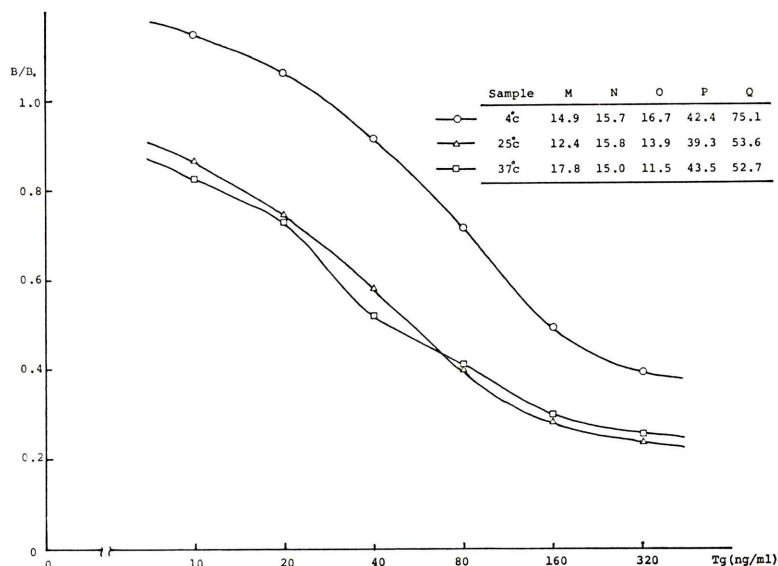


Fig. 6 Influence of incubation temperature.

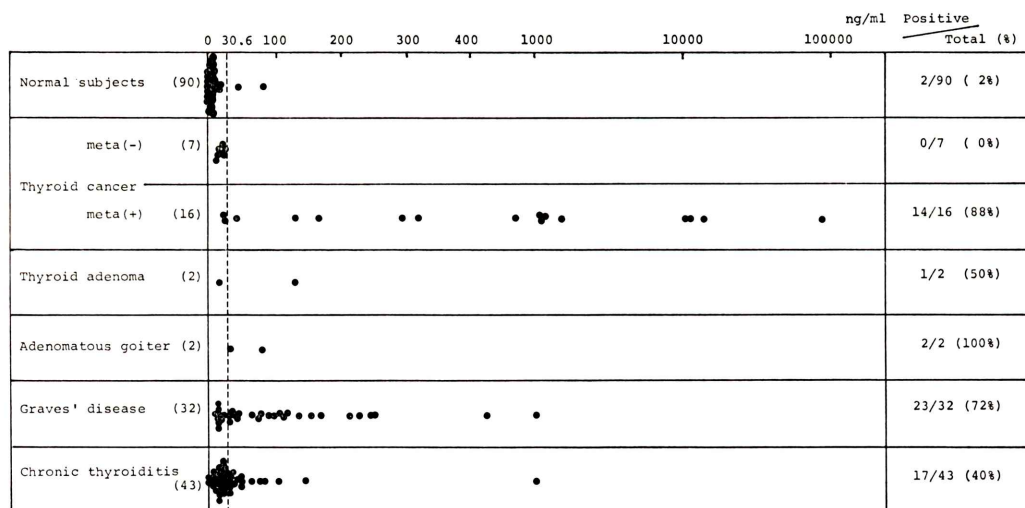


Fig. 7 Serum thyroglobulin levels in normal subjects and various thyroid diseases.

を示したのは転移のある甲状腺癌のみであった。

自己抗体の陽性率は B/T が 10% 以上を陽性とする、正常群 9/90 (10%)、転移のない甲状腺癌 0/7 (0%)、転移のある甲状腺癌 2/16 (12.5%)、甲状腺腺腫 1/2 (50%)、腺腫様甲状腺腫 1/2 (50%)、バセドウ病 24/32 (75%)、橋本病 43/43 (100%) で

あった。

正常群および各種甲状腺疾患のうち自己抗体陰性の 112 例の血清 Tg 値を Fig. 8 に示す。自己抗体の有無を考慮していない Fig. 7 とほぼ同様の傾向を示したが、Fig. 7 に比して正常値が低下したので転移のない癌での陽性率が 43% と高くなった。

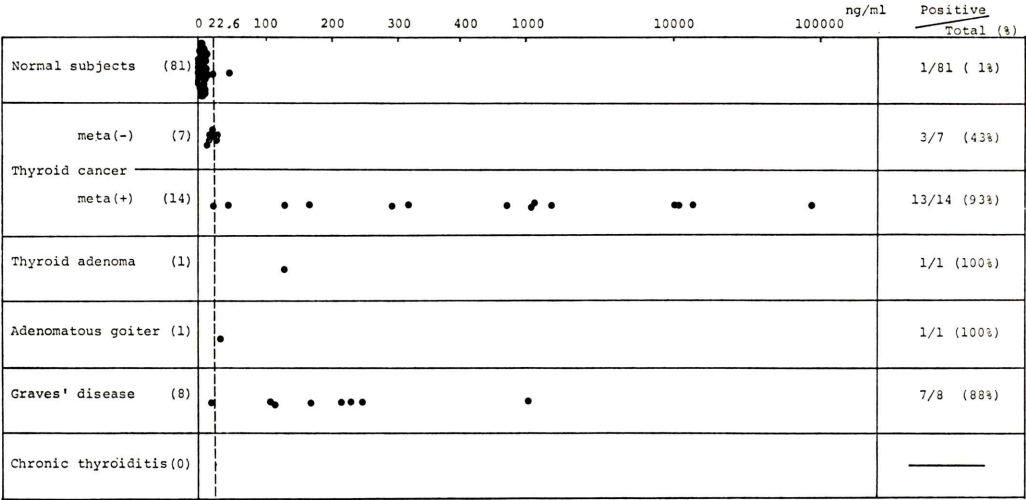


Fig. 8 Serum thyroglobulin levels in normal subjects and various thyroid diseases without anti-thyroglobulin antibodies.

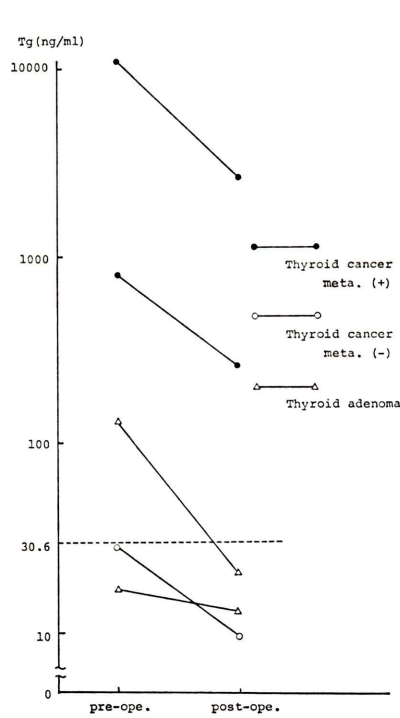


Fig. 9 Serum thyroglobulin levels in patients with thyroid cancer with and without metastasis and thyroid adenoma before and after operation.

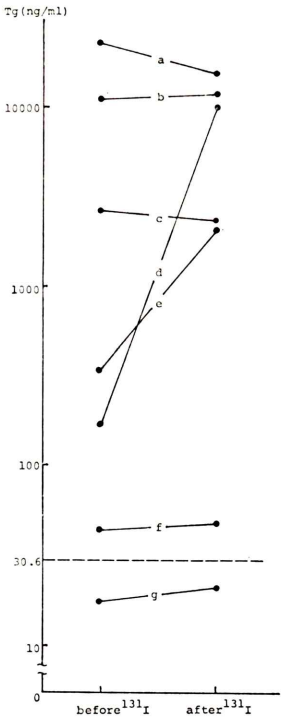


Fig. 10 Serum thyroglobulin levels in patients with metastatic thyroid cancer before and after administration of ¹³¹I.

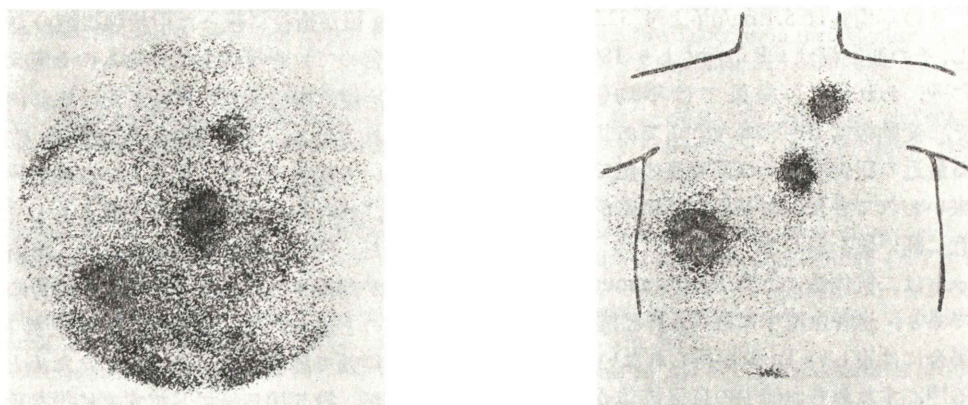


Fig. 11 ^{201}Tl (left) and ^{131}I (right) scintigrams of Fig. 10 Case b show high activity in the lt. clavicle, sternum and rt. ribs. Serum thyroglobulin level of this case is 11,000 ng/ml.

甲状腺癌3例と甲状腺腺腫2例の手術前後における血清 Tg 値の変化を Fig. 9 に示す。転移のある癌2例では術前、術後とも異常値を示したが、手術後の Titer は低下した。甲状腺腺腫の1例では術前の高値が術後には正常化した。転移のない甲状腺癌1例と腫腺の1例では術前より正常範囲内であったが、術後の Titer は低下した。

甲状腺癌7例の ^{131}I 治療前後における血清 Tg 値の変化を Fig. 10 に示す。全例とも転移のある癌で、60~150 mCi の ^{131}I を投与した。治療前の値は投与の数日前のもので、治療後の値は投与してから10日~2か月後に採血したものである。7例中2例(症例 d, e)に治療後の上昇をみた。症例 d, e はそれぞれ投与10日後、2か月後の値である。他の5例では治療前後で大きな変化はなかった。

症例 b の ^{201}Tl , ^{131}I によるシンチグラムを Fig. 11 に示す。症例は42歳の男で、昭和52年7月に甲状腺癌(乳頭腺癌)として甲状腺右半切除を行った。昭和54年5月には前胸壁に腫留を形成し、骨転移と診断し、翌年2月に甲状腺全摘とともに ^{131}I 治療を施行した。Fig. 11 は昭和57年の4回目の ^{131}I 治療に際してのシンチグラムである。 ^{201}Tl , ^{131}I のいずれでも左鎖骨、胸骨、右肋骨に異常集積がみられる。

IV. 考 察

1. 基礎的検討

再現性は低濃度部でややバラツキがみられたが、その他はほぼ良好であった。回収試験および希釈試験もややバラツキがみられ、実際の臨床においてはほぼ問題ないようであるが、今後さらにキットの改良が必要と思われた。また B/Bo がインキュベーション時間、温度によって変化することが示された。特に第1インキュベーション時間の影響は大きく、短すぎても長すぎても標準曲線はやや悪くなり、24時間が適当と思われた。第2インキュベーション時間によっても測定値は変化した。一定の傾向は示さず、指定は24時間であるが、ある程度短縮可能と思われた。インキュベーション温度を変えると、4°C では標準曲線はやや悪く、25°C, 37°C では良好であった。室温の25°C が適当であろう。インキュベーション時間および温度は大きく変えると測定値に影響をおよぼす。しかし多少の変化では差は生ぜず、それらの設定はそれほど厳密にする必要はないようで、施設によってはある程度の差があっても特に問題ないと思われた。

2. 臨床的検討

血清 Tg 値の正常値は報告者により必ずしも一

致せず、その平均値は 5.1 ng/ml より 32.2 ng/ml に分布し、その変動幅は 0.8 ng/ml より 180 ng/ml である²⁻¹²⁾。われわれの結果では平均値は 8.4 ng/ml で、変動幅は 0~85.8 ng/ml であり、本邦における最近の報告¹³⁾とほぼ同程度の値であった。また従来いわれてきたとおり男女間に差があり、女が有意に高い値を示した。

本キットは二抗体法による Radioimmunoassay (RIA) であり、患者血清中に抗 Tg 自己抗体が存在する場合には正しい Tg 値が得られないといわれている¹⁴⁾。すなわち血清中の自己抗体が Tg と結合し、B, F 分離に用いられる第二抗体が自己抗体と反応しなければ、沈殿する標識 Tg 量は少なくなり、測定値は実際より高くなる。一方、第二抗体が自己抗体と反応すれば、測定値は実際より低くなる。現在この問題の完全な解決法はなく、血清 Tg 値は自己抗体陰性血清についてのみ測定されてきた。今回われわれは自己抗体の有無にかかわらず血清 Tg 値を測定し、自己抗体陰性のみの値と比較したが、両者の間に大きな差はみられず、本キットにおける自己抗体の影響は従来考えられてきたほど大きくないと思われた。

血清 Tg 値は良性疾患と悪性疾患との鑑別には有用でないとすでに報告されており^{15,16)}、われわれの検討でも同様の結果であった。すなわち、転移のある甲状腺癌には高値をとるものが多いが、転移のない癌の血清 Tg 値は低値であり、一方良性疾患のバセドウ病や橋本病でも高い血清 Tg 値をとるものがかかりあった。しかし、今回の検討では、1,200 ng/ml 以上の高値をとったのは転移のある癌5例のみで、Titer の高さによって転移のある癌とそれ以外の疾患とを鑑別できる可能性が示唆された。転移のない甲状腺癌では低値で、転移がみられると高値をとる^{15,17)}ことから、甲状腺癌の follow up に血清 Tg 値測定が有用と思われた。

転移のない癌および腺腫の術後の血清 Tg 値は、術前に比して低下し、すべて正常範囲内となった。一方、転移のある癌では術後低下はしたが、なお陽性であり、Schneider ら¹⁶⁾も述べているように、

血清 Tg 値が術後に残った甲状腺組織の量(癌転移巣を含めて)を反映しているものと考えられた。

¹³¹I 治療は甲状腺癌の再発または転移例に対して行われている。¹³¹I 治療後の血清 Tg 値は上昇するという報告¹⁸⁾と低下するという報告^{15,19)}とがあるが、われわれの結果では上昇かもしくは不変であった。¹³¹I 治療が有効であれば、手術と同様の効果が期待され、血清 Tg 値は最終的には低下するものと思われる。血清 Tg 値の上昇は、¹³¹I 治療が無効で腫瘍がさらに増大したためとも考えられるが、投与10日後にしてすでに投与前よりはるかに高い Tg 値をとったことから、¹³¹I 治療により大量の Tg が腫瘍から血清中に放出されたとのほうが考えやすい。つまり ¹³¹I 治療後の血清 Tg 値は一時的に上昇し、治療が有効であればその後減少することが予想できる。このことに関してはさらに検討を要すると思われる。

V. まとめ

二抗体法によるサイログロブリン“榮研”RIA Kit の基礎的検討ならびに臨床的検討を行った。

1) 再現性、回収試験、希釈試験のいずれも十分なものではなく、今後さらにキットの改良が必要と思われた。

2) 各種甲状腺疾患における血清 Tg 値には疾患特異性はみられず、鑑別診断としての意義は少ないと思われた。

3) 血清 Tg 値は転移のある甲状腺癌では異常高値を示すものが多く、甲状腺癌治療後の follow up に有用と思われた。

文 献

- 1) Van Herle AJ, Vassart G, Dumont JE: Control of thyroglobulin synthesis and secretion (First of two parts). *N Eng J Med* 301: 239-249, 1979
- 2) Van Herle AJ, Vassart G, Dumont JE: Control of thyroglobulin synthesis and secretion (Second of two parts). *N Eng J Med* 301: 307-314, 1979
- 3) Ochi Y, Hachiya T, Yoshimura M, et al: Radioimmunoassay for estimation of thyroglobulin in human serum. *Endocrinol Jpn* 22: 351-356, 1975
- 4) Schneider AB, Favus MJ, Stachura ME, et al:

- Plasma thyroglobulin in detecting thyroid carcinoma after childhood head and neck irradiation. *Ann Intern Med* **86**: 29-34, 1977
- 5) Pezzino U, Cozzani P, Filetti S, et al: A radioimmunoassay for human thyroglobulin: methodology and clinical applications. *Eur J Clin Invest* **7**: 503-508, 1977
 - 6) Pacini F, Pinchera A, Grasso L, et al: Serum thyroglobulin in various thyroid disorders. *Ann Endocrinol (Paris)* **38**: 514, 1977
 - 7) Feldt-Rasmussen U, Beck K, Nielsen H, et al: Circulating thyroglobulin, anti-thyroglobulin and immune complexes in patients with thyroid disease. *Ann Endocrinol (Paris)* **38**: 514, 1977
 - 8) Lo Gerfo P, Stillman T, Colacchio D, et al: Serum thyroglobulin and recurrent thyroid cancer. *Lancet* **1**: 881-882, 1977
 - 9) Bodlaender P, Arjonilla JR, Sweat R, et al: A practical radioimmunoassay of thyroglobulin. *Clin Chem* **24**: 267-271, 1978
 - 10) Izumi M, Larsen PR: Correlation of sequential changes in serum thyroglobulin, triiodothyronine, and thyroxine in patients with Graves' disease and subacute thyroiditis. *Metabolism* **27**: 449-460, 1978
 - 11) Osotimehin B, Black EG, Hoffenberg R: Thyroglobulin concentration in neonatal blood: a possible test for neonatal hypothyroidism. *Br Med J* **2**: 1457-1468, 1978
 - 12) Shlossberg AH, Jacobson JC, Ibbertson HK: Serum thyroglobulin in the diagnosis and management of thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol* **10**: 17-27, 1979
 - 13) 山下俊一, 和泉元衛, 森田茂樹, 他: 栄研サイログロブリンRIAキットの基礎的検討. *核医学* **20**: 113-118, 1983
 - 14) Schneider AB, Pervos P: Radioimmunoassay of thyroglobulin. Effect of anti-thyroglobulin antibodies. *J Clin Endocrinol Metab* **47**: 126-137, 1978
 - 15) 玉田 彰, 牧本一男, 新木隆, 他: 甲状腺癌再発の指標としての Thyroglobulin 値. *耳鼻臨床* **75**(3): 811-820, 1982
 - 16) Schneider AB, et al: Characteristics of 108 thyroid cancers detected by screening in a population with a history of head and neck irradiation. *Cancer* **46**: 1218-1227, 1980
 - 17) Van Herle AJ, et al: Elevated serum thyroglobulin: A marker of metastases in differentiated thyroid carcinomas. *J Clin Invest* **56**: 272-277, 1975
 - 18) 池窪勝治, 山田明子, 濱崎利子, 他: 甲状腺腫瘍患者の Follow-up における血中サイログロブリン濃度の評価——サイログロブリン値に影響する諸因子について——. *核医学* **19**: 1354, 1982
 - 19) Tang Fui S. CNG, et al: Serum thyroglobulin concentrations and whole body radioiodine scan in follow-up of differentiated thyroid cancer after thyroid ablation. *Brit Med J* **2**: 298-300, 1976