

《ノート》

Free Triiodothyronine RIA キット (Amerlex) の基礎的 および臨床的検討

Fundamental and Clinical Study of Free Triiodothyronine
RIA Kit (Amerlex)

石井 均* 赤水 尚史* 横田 敏彦* 中村 浩淑*
森 徹* 井村 裕夫*

Hitoshi ISHII, Takashi AKAMIZU, Toshihiko YOKOTA,
Hirotoshi NAKAMURA, Toru MORI and Hiroo IMURA

Second Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kyoto University

I. 緒 言

従来、甲状腺機能の指標として、血中の総 T₄、総 T₃ が測定されてきたが、これらの大部分は血中で蛋白と結合して存在しており、結合蛋白の濃度や結合能が変化する疾患や状態では、これに伴って甲状腺ホルモン濃度が変動し、甲状腺機能を正しく反映しない場合があった。血中で一部の甲状腺ホルモンは蛋白と結合せず遊離型ホルモンとして存在し、その濃度は結合蛋白量の変化をほとんど受けない。したがって遊離型甲状腺ホルモン濃度の測定は甲状腺機能をより正しく反映すると考えられる。最近 T₄ については、RIA キットにより遊離型ホルモン濃度が測定できるようになったが^{1,2)}、今回その応用として開発された遊離型 T₃ (FT₃) 濃度測定キットの検討を行った。

II. 測定原理・方法

本キットの特徴は、Amerlex FT₄ キットと同様 tracer として TBG への結合性の弱い T₃-conjugate

を用いていることおよび抗 T₃ 抗体を粒子に結合させていることである。したがって ¹²⁵I-T₃ conjugate は血中 FT₃ と TBG 結合 T₃ の平衡状態を乱さない。この状態で血中 FT₃ と ¹²⁵I-T₃ conjugate の間で T₃ 抗体に対する競合反応を行わせ、その後抗体結合粒子を遠沈することにより B/F 分離を行う。

実際の方法は、被検血清 100 μ l, ¹²⁵I-T₃ conjugate 500 μ l, 抗 T₃ 抗体 500 μ l を 37°C で 2 時間インキュベートし、1,500 × g で 15 分間遠沈後、上清をデカントして沈渣の放射能を測定する³⁾。

III. 方法および対象

キットの基礎的検討としては、インキュベーション時間および温度の影響を調べた。臨床的には正常者 30 例、パセドウ病 33 例、甲状腺機能低下症 25 例 (一次性 20 例、中枢性 5 例)、TBG 減少症 3 例、low T₃ syndrome 30 例、正常妊婦 29 例 (第 1 期 9 例、第 2 期 10 例、第 3 期 10 例)、慢性腎不全 22 例である。同一血清について、総 T₄、総 T₃、T₃ 摂取率、TSH、FT₄ 濃度をおのおの T₄ RIA II, T₃ RIA II, スパック T₃, 高感度 RIA⁴⁾ および Gammacoat 法で測定した。

Key words: Free triiodothyronine, Radioimmunoassay, Thyroid disease.

* 京都大学医学部第二内科

受付: 59年4月17日

最終稿受付: 60年3月6日

別刷請求先: 京都市左京区聖護院川原町 54 (番 606)

京都大学医学部第二内科

石井 均

IV. 結 果

1. 基礎的検討

A) 温度の影響

インキュベーションを 4°C , 22°C , 37°C で, おのの 2 時間行った結果を Fig. 1 に示す。 $^{125}\text{I-T}_3$ conjugate と抗体との結合率は, Free T_3 標準液の各濃度において温度の上昇とともに増加し, 37°C で最も良好な結合率を示した。

B) 時間の影響

Figure 2 はインキュベーションを, 37°C で 30 分, 1 時間, 2 時間, 3 時間, 4 時間行った結果を示す。 $^{125}\text{I-T}_3$ conjugate と抗体との結合率は時間とともに上昇するが, 2 時間以後は変化が少なく, インキュベーションは 2 時間が適当と考えられた。

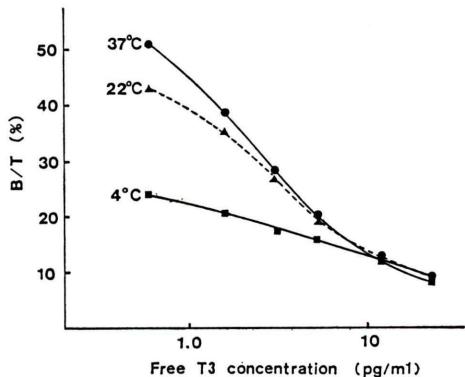


Fig. 1 Effect of incubation temperature.

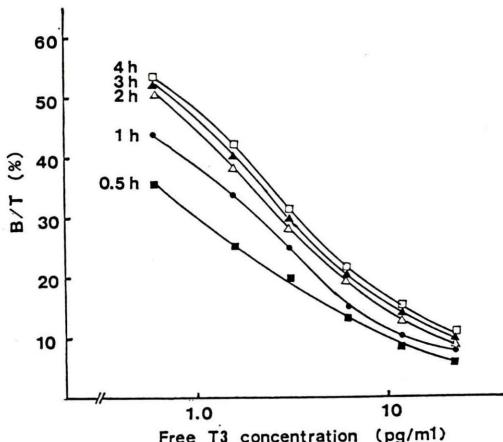


Fig. 2 Effect of incubation time.

C) 標準曲線

Figure 3 は 8 回のアッセイの標準曲線を示す。

最低標準濃度 0.6 pg/ml の B/B_0 は 83%, 最高濃度 23 pg/ml のそれは 16% であった。標準曲線の勾配は十分に急峻であり, 良好的な用量反応性を示した。

D) アッセイ内およびアッセイ間変動係数

FT_3 濃常, 低・中・高 3 血清についてのアッセイ内およびアッセイ間変動係数はそれぞれ 9.3%, 4.8%, 4.2% および 10.8%, 5.5%, 7.8% であった。低濃度血清の変動係数はやや高値であったが, 中・高濃度血清については 10% 以内であり, キットの精度・再現性は高いものと考えられた。

2. 臨床的検討

Figure 4 正常および各種疾患時の FT_3 濃度を示す。正常人 30 例の FT_3 濃度は 2.80 pg/ml から 4.69 pg/ml に分布し, 平均は $3.88 \pm 0.44 \text{ pg/ml}$ であった。よって $\pm 2 \text{ SD}$ をとて, $3.0 \sim 4.8 \text{ pg/ml}$ を正常域と定めた。

バセドウ病患者では甲状腺機能亢進状態にある 33 例が 6.5 pg/ml 以上に分布し, 正常との重なりはなかったが, 23 例は測定域以上であった。甲状腺機能低下症患者では測定感度以下から 4.42 pg/ml に分布し, 平均値 $1.86 \pm 1.02 \text{ pg/ml}$ であったが, 一部正常域との重なり合いが認められた。中

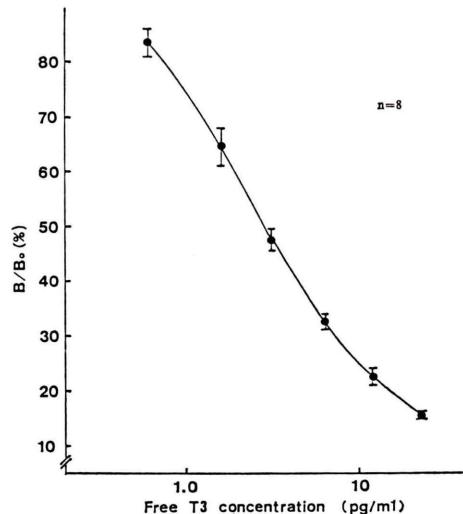
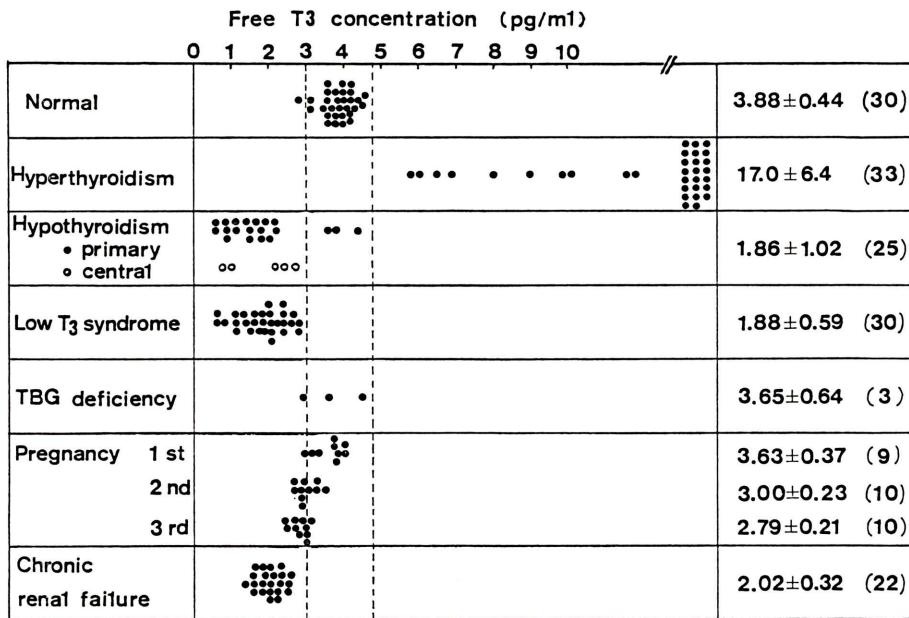
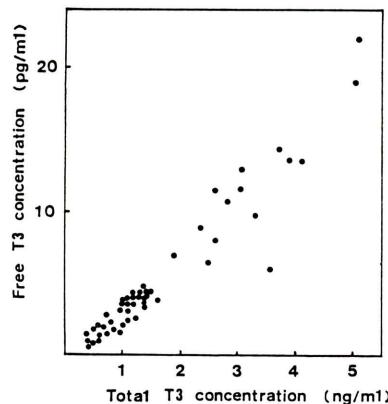
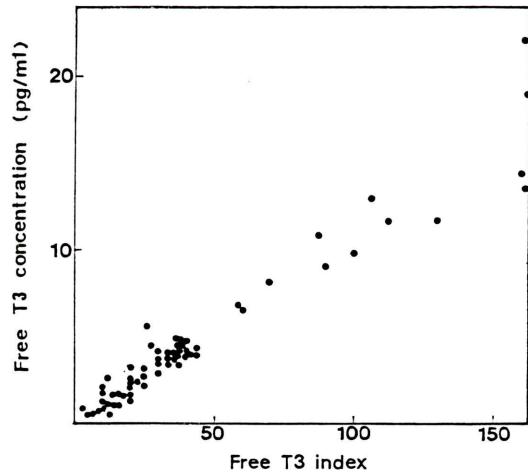


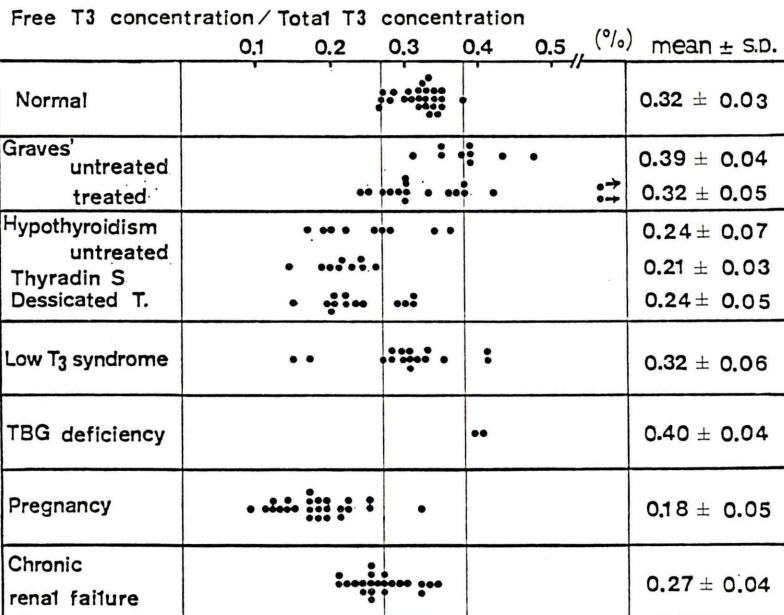
Fig. 3 Standard curve of Amerlex Free T_3 RIA kit.

Fig. 4 Serum free T₃ concentrations in various conditions.Fig. 5 Relationship between FT₃ concentration and TT₃ concentration.

枢性甲状腺機能低下症患者 5 例も、一次性甲状腺機能低下症患者とほぼ同じ範囲内に分布した。神経性食欲不振症および重篤な慢性疾患患者等にみられる low T₃ syndrome 30 例では平均値 1.88 ± 0.59 pg/ml であり、全例正常域よりも低値であった。TBG 低下症 3 例はほぼ正常域に分布した。妊婦との関係では、妊娠月数の経過とともに FT₃ 濃度は低下し、第 3 期では 2.44 pg/ml～3.09 pg/ml に分布し、平均値は 2.79 ± 0.21 pg/ml であり、

Fig. 6 Relationship between FT₃ concentration and FT₃ index.

10 例中 8 例が機能低下域にあった。慢性腎不全患者 22 例はすべて正常より低値域にあり、その平均値は 2.02 ± 0.32 pg/ml であった。なお脂肪酸の測定系に対する影響をみるためにヘパリン添加後の慢性腎不全患者 10 例の血漿の FT₃ 値を測定したが、その平均値は 2.23 ± 0.23 pg/ml であり、ヘパリンを加えない血清との間に有意差を認めなかった。

Fig. 7 FT₃/TT₃ ratio in various conditions.Table 1 A patient with anti-T₃ antibody

Patients S.S.

T₄ : 12.3 μ g/dlFT₄ : 1.97 ng/mlT₃RU: 27.8%TSH : \leq 0.5 μ U/mlT₃ : 42.0 ng/dlFT₃ : 13.0 pg/ml

Precipitate (cpm)

¹²⁵ I-T ₃ -X + patient serum + PEG	10,900
¹²⁵ I-T ₃ -X + control serum + PEG	1,040
¹²⁵ I-T ₃ -X + patient serum + Ab-particle	3,400
¹²⁵ I-T ₃ -X + patient serum + Ab-p. + PEG	10,500

Ab-p.: Antibody particle

Figure 5 には FT₃ と総 T₃ の関係を示す。甲状腺機能亢進症患者、健常者、機能低下症患者を加えると $n = 60$ で $[FT_3 \text{ pg/ml}] = 4.35 [TT_3 \text{ ng/ml}] - 0.37$ であり、 $r = 0.96$ と有意 ($p < 0.01$) の正相関を示した。また健常者のみでは ($n = 30$)、 $[FT_3] = 2.29 [TT_3] + 1.12$ であり、 $r = 0.69$ ($p < 0.01$) であった。

Figure 6 に FT₃ 濃度と Free T₃ index (総 T₃ \times T₃ uptake) の関係を示すが、やはり $r = 0.94$ と有意 ($p < 0.01$) の正相関を示した。

Figure 7 は健常者および各種疾患患者の FT₃ (ng/ml)/総 T₃ (ng/ml) 比を % 表示したものである。正常人の平均は $0.32 \pm 0.03\%$ であり、0.26~0.38% を正常範囲とした。バセドウ病未治療者では $0.39 \pm 0.04\%$ と正常者に比して有意 ($p < 0.01$) に高値であった。この値はバセドウ病患者を治療することによって正常に復した。なおバセドウ病患者で薬物治療中の 2 例で FT₃/TT₃ 値が異常に高値をとったので、その理由につき検討した。これについては次項で述べる。甲状腺機能低下症患

者は正常者に比して低値となった。また甲状腺剤投与中の患者でも低値をとる傾向がみられた。low T₃ syndrome の患者は幅広く分布し、特徴はみられなかった。TBG 減少症の 2 例はやや高値となった。妊娠および腎不全の症例でも有意に低値となった。

Table 1 は FT₃/TT₃ が異常高値となったバセドウ病患者の 1 例の甲状腺機能検査を示す。TT₄ および FT₄ は正常～やや高値であるのに対し、TT₃ は T₃ RIA-II 法ではみかけ上低値、FT₃ は高値となっている。そこで抗 T₃ 抗体の存在が疑われたため、患者血清と ¹²⁵I-T₃ conjugate とをインキュベートしたところ、有意の結合を認めた。さらにこの系にキット抗体を加え、polyethyleneglycol (PEG) で B/F 分離したところ、沈渣カウントは PEG なしでの遠沈に比して大となった。これらの結果より、抗 T₃ 抗体の存在が推測された。

V. 考 素

本キットの測定原理および方法は Amerlex FT₄ キットとほぼ同様であり、測定結果についても精度、再現性は高いものであった。

臨床的検討では、未治療バセドウ病患者では正常者と完全に分離されたが、測定域以上が多数みられ、若干配慮を要すると思われた。甲状腺機能低下症では 25 例中 3 例が正常範囲内に分布したが、これは TSH の効果による T₃ の選択的分泌増加に基づくものであり、甲状腺機能低下症の診断に T₃ 測定のみでは不十分であると考えられた。TBG 減少症では、ほぼ正常範囲に分布したが、妊娠では月数の経過とともにむしろ正常低値をとった。この傾向は Amerlex による FT₄ 測定時にも報告されており⁵⁾、原因として TBG 増加の影響、キットの原理上の問題などが考えられたが、詳細は明らかでない。

FT₃ 測定の TT₃ 測定に対する特徴をみるために FT₃/TT₃ 比を調べたが、バセドウ病、TBG 減少症で正常より高値、甲状腺機能低下症で低値を

とったが、おのおの TBG 減少、増加により TT₃ が FT₃ に対して相対的に低値あるいは高値をとるためと考えられた。妊娠では月数の経過により FT₃ は低値、TT₃ は高値となるため FT₃/TT₃ は有意に低値となった。この理由の詳細は不明であるが、一例としてアルブミン減少により血中 FT₃ と抗体との結合が増加することも関与し得ると考えられた。

VI. 結 論

Amerlex Free T₃ キットを検討し以下の結論を得た。

- 1) 37°C, 2 時間のインキュベーションにより、血中 FT₃ 濃度測定が可能で、キットの再現性、精度は満足すべきものであった。
 - 2) 正常範囲は 3.0～4.8 pg/ml であり、未治療バセドウ病患者では 6.5 pg/ml 以上に分布したが、甲状腺機能低下症では一部に正常との重なりがみられた。
 - 3) TBG 減少症では正常値をとり、妊娠では正常から正常低値となった。
 - 4) 抗 T₃ 抗体陽性患者では、本キットによる FT₃ 値は高値をとった。
 - 5) TT₃ および Free T₃ index との相関は良好であった。
- 以上より本キットは臨床的に有用であると考えられた。

文 献

- 1) Ingbar SH: A new method for measuring the free thyroid hormone in human serum and an analysis of the factors that influence its concentration. *J Clin Invest* **44**: 1679, 1965
- 2) 尾藤早苗, 他: Free Thyroxine RIA キット (Amerlex) の基礎的ならびに臨床的検討. 核医学 **19**: 149, 1982
- 3) Amerlex free T₃ RIA キット使用説明書
- 4) 森 徹, 他: THS ラジオイムノアッセイにおける高感度測定法の検討ならびにその臨床的意義. 日内分泌会誌 **56**: 1231, 1980
- 5) 木下文雄: ラジオイムノアッセイ法による Free T₄ の測定——3 種の Free T₄ kit による測定値の比較検討——. Radioisotope **31**: 41, 1982