

《ノート》

## Radioimmunoassay 法による血清 TBG の測定

—Magnetic TBG 'Corning' RIA キットの検討—

The Measurement of Serum TBG by Radioimmunoassay  
—The Evaluation of Magnetic TBG 'Corning' RIA Kit—

満間 照典\* 茶谷 雅裕\*

Terunori MITSUMA and Masahiro CHAYA

Fourth Department of Internal Medicine, Aichi Medical College

## I. はじめに

Thyroxine binding globulin (TBG) の測定は従来, thyroxine (T<sub>4</sub>) の結合能<sup>1)</sup>として測定されてきた。近年 radioimmunoassay (RIA) 法が TBG の測定法として導入<sup>2)</sup>され, その有用性が諸家<sup>2-13)</sup>によって認められている。今回 Corning 社により T<sub>4</sub>-<sup>125</sup>I を tracer として用い twoside Sandwich 法による radiostereoisotope assay 法で TBG を測定するキットが開発された。本法と在来の RIA 法と比較しながら基礎的ならびに臨床的検討を行ったので報告する。

## II. 方 法

1. Radiostereoisotope assay 法による TBG 測定方法:  
Corning 社製キットを用いた。

- 比放射能が 400~3,000  $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$  の <sup>125</sup>I-T<sub>4</sub> 抗体を用いた。
- プラスチック試験管内で, 被検血清, <sup>125</sup>I-T<sub>4</sub> 抗体を反応させた後 magnetic separator にかけて, その上清を除去した。

- 沈殿部の放射能を  $\gamma$ -counter で測定し, 次式を用いて B/T% を算出する。

$$B/T\% = \frac{\text{沈殿部のカウント}}{\text{全カウント}} \times 100$$

- 標準 TBG 溶液の B/T% より標準曲線を作成, 被検血清の B/T% から TBG 値を算出した。
- 在来 TBG RIA 測定法としてヘキスト社製のリアグノスト TBG RIA キットを用いた。

- <sup>131</sup>I-T<sub>3</sub> レジンスポンジ摂取率 (T<sub>3</sub>RSU)  
ダイナボット社製トリオソルブキットを用いた。
- T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub> の測定方法  
著者らが開発し報告した<sup>14)</sup> T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub> RIA 法を用いて測定した。

- 遊離型 T<sub>4</sub> の測定方法  
Corning 社製の magnetic FT<sub>4</sub> RIA キットで行った。
- T<sub>4</sub>/TBG, T<sub>3</sub>/TBG の計算方法  
T<sub>4</sub>/TBG は T<sub>4</sub>/TBG  $\times 10^3$ , T<sub>3</sub>/TBG は T<sub>3</sub>/TBG  $\times 10^6$  で計算した。

## III. 対象および採血方法

愛知医科大学外来に健康診断に来院し, 臨床症状, 所見および甲状腺機能検査 (T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub>, TSH) を

**Key words:** TBG, Radioimmunoassay, Magnetic separator.

\* 愛知医科大学第四内科

受付: 59年6月27日

最終稿受付: 60年6月12日

別刷請求先: 愛知郡長久手町大字岩作字雁又21

(☎480-111)

愛知医科大学第四内科

満間 照典

含む諸検査にて異常を認めず、正常者と判定した 52 例および、外来、入院患者で臨床症所見および甲状腺機能検査 (T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, TSH, FT<sub>4</sub>, TBG) を含む諸検査にて診断した甲状腺機能亢進症 22 例、甲状腺機能亢進症に抗甲状腺剤投与中で甲状腺機能正常状態にある 52 例、甲状腺機能亢進状態の 6 例、甲状腺機能低下症 15 例、甲状腺機能低下症に T<sub>4</sub> 補償療法中で甲状腺機能正常状態にある 23 例、甲状腺機能低下状態の 7 例、慢性甲状腺炎 22 例、亜急性甲状腺炎 5 例、単純性甲状腺腫 7 例、結節性甲状腺腫 7 例、正常妊娠 (妊娠 20~30 週) 6 例、TBG 低下症 5 例等 241 例である (Fig. 1).

IV. 結 果

1. 基礎的検討

- 1) incubation 温度の標準曲線に及ぼす影響  
B/T% は 4°C で低く、37°C, 22°C では良好な曲線が得られた。
- 2) incubation 時間の標準曲線に及ぼす影響  
5~60 分間 22°C でインキュベートしたところ、30 分以上のインキュベーションで良好な曲線が得られた。
- 3) 標準曲線および高 TBG 血清の希釈曲線  
標準曲線は 5~60 μg/ml まで急峻な曲線を示した。また高 TBG 血清の希釈曲線は標準曲線にほぼ平行であった。

4) 回収率

正常者、TBG 低下症および正常妊娠血清に 10, 20, 30 μg/ml の TBG を添加して回収率を検討したところ、それぞれ、102±4.3%, 100±4.4%, 101±4.5% の良好な回収率であった。

5) intra-assay reproducibility および interassay variation

intra-assay reproducibility を検討した。

Table 1 のごとく、良好な結果であった。また 3 つの濃度の異なる検体について 5 回の測定で検討したところいずれも、満足すべき精度であった。

6) 本法と在来法の相関

r=0.989 と両測定値間に推計学上有意な (p<0.001) 正の相関が認められた。

Table 1 Intraassay reproducibility and interassay variation

Intraassay reproducibility		
Sample	Mean ± SD (μg/ml)	CV (%)
A	19.6 ± 1.65	8.4
B	27.5 ± 1.13	4.1
C	16.7 ± 1.16	6.9
Interassay variation		
Sample	Mean ± SD (μg/ml)	CV (%)
A	19.8 ± 1.30	6.5
B	27.2 ± 1.30	4.8
C	16.5 ± 1.05	6.3

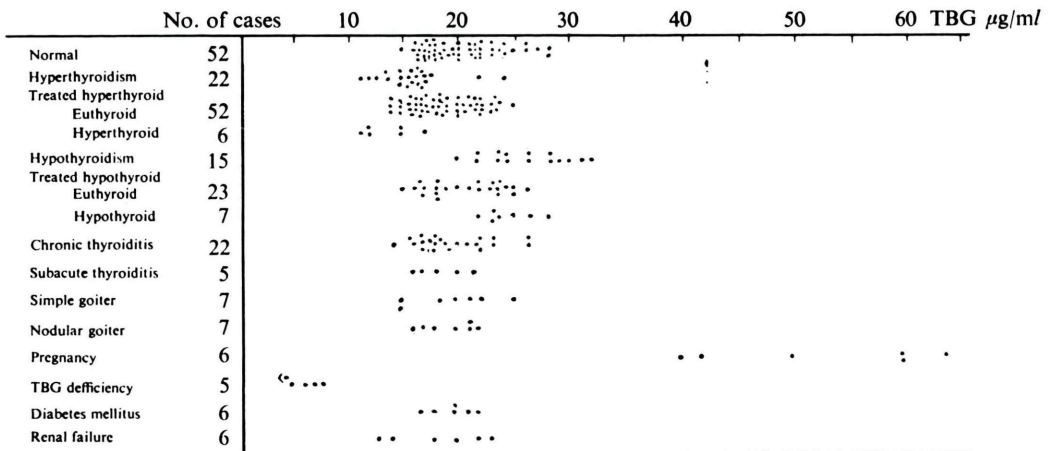


Fig. 1 Serum TBG values in normal subjects and patients with various diseases.

Table 2 T<sub>4</sub>/TBG, T<sub>3</sub>/TBG ratios in normal subjects and patients with various diseases

Subjects	No. of cases	T <sub>4</sub> /TBG × 10 <sup>4</sup>		T <sub>3</sub> /TBG × 10 <sup>6</sup>	
		Range	Mean ± SD	Range	Mean ± SD
Normal	52	2.1-5.5	3.6 ± 0.72	3.8-11.8	7.2 ± 2.0
Hyperthyroidism	22	8.6-18.2	12.9 ± 2.3	20.0-61.5	38.2 ± 13.2
Treated hyperthyroid					
euthyroid	52	2.6-8.1	4.1 ± 1.1	5.2-12.8	7.3 ± 1.8
hyperthyroid	6	8.2-12.7	10.3 ± 1.9	13.3-54.5	28.0 ± 15.9
Hypothyroidism	15	0.3-1.5	0.74 ± 0.37	1.5-4.0	2.6 ± 0.7
Treated hypothyroid					
euthyroid	23	2.1-6.2	3.6 ± 0.8	4.3-10.6	6.8 ± 2.1
hypothyroid	7	1.3-2.1	1.7 ± 0.3	2.5-4.0	3.3 ± 0.5
Chronic thyroiditis	22	1.7-5.6	3.3 ± 1.0	4.3-10.0	7.0 ± 1.8
Subacute thyroiditis	5	3.8-6.1	5.2 ± 1.0	7.6-12.5	10.3 ± 2.3
Simple goiter	7	3.3-4.9	4.1 ± 0.7	5.5-8.0	6.9 ± 1.4
Nodular goiter	7	3.4-4.1	3.8 ± 0.3	5.5-10.0	7.1 ± 1.5
Pregnancy	6	2.0-3.3	2.6 ± 0.5	3.0-4.8	3.6 ± 0.7
TBG deficiency	5	2.4-6.3	3.8 ± 2.0	6.0-12.0	8.6 ± 3.0
Diabetes mellitus	6	3.0-4.0	3.6 ± 0.4	5.0-7.0	5.9 ± 0.8
Renal failure	6	2.6-4.6	3.3 ± 0.8	3.4-7.7	5.6 ± 1.5

## 2. 臨床的検討

### 1) 正常者および各種疾患における TBG 値

甲状腺機能亢進症で低値, 甲状腺機能低下症で高値, 正常妊娠で高値, TBG 低下症で低値を示したが, 慢性甲状腺炎, 単純性甲状腺腫, 結節性甲状腺腫, 糖尿病, 腎不全などでは正常者とほぼ同様な値であった。

### 2) 各種疾患における T<sub>4</sub>/TBG, T<sub>3</sub>/TBG

甲状腺機能亢進症では高値, 甲状腺機能低下症では低値であった。亜急性甲状腺炎ではやや高値, 正常妊娠ではやや低値を示したが, 慢性甲状腺炎, 単純性甲状腺腫, 結節性甲状腺腫, TBG 低下症などでは正常者と同様な値であった。

### 3) TBG と血清 T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub> 値との相関

各種疾患 241 例について TBG と T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub> 値との相関を検討したところ, おおの  $r = -0.07$ ,  $r = 0.098$  と有意な相関を認めなかった。

### 4) TBG と T<sub>3</sub> RSU の相関

各種疾患 156 例について, TBG と T<sub>3</sub> RSU の相関を観察したところ,  $r = -0.525$  と推計学上有意な ( $p < 0.01$ ) 負の相関が認められた。

### 5) T<sub>4</sub>/TBG, T<sub>3</sub>/TBG と FT<sub>4</sub> 値の相関

各種疾患 217 例について T<sub>4</sub>/TBG または T<sub>3</sub>/TBG と FT<sub>4</sub> 値の相関を検討したところ, おおの  $r = 0.878$ ,  $r = 0.612$  と推計学上有意な ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ ) 正の相関が認められた。

## V. 考 察

TBG の測定には従来電気泳動を用い, maximal T<sub>4</sub> binding capacity として測定する方法<sup>1)</sup>が行われていたが, 近年 TBG の測定に RIA が導入され広く用いられている<sup>2-13)</sup>。今回検討を行った Corning 社製キットは TBG の持つ T<sub>4</sub> の結合能を応用して, <sup>125</sup>I-TBG のかわりに <sup>125</sup>I-T<sub>4</sub> を用い, 内因性の TBG に <sup>125</sup>I-T<sub>4</sub> を結合させ, TBG-<sup>125</sup>I-T<sub>4</sub> 結合物を magnetic 粒子に結合させた抗 TBG 抗体と結合させるという, いわゆるサンドイッチ法を用いることを特徴としている。B/F の分離は magnetic 粒子に結合させた抗 TBG 抗体を用いているので, 遠沈を必要とせず magnetic separator で簡単に行えるのも本キットの特徴である。本キットで用いる検体量 25 μl と少量であり, 測定操

作も簡便で、インキュベーションも室温で30分間と短時間である。このように実用上の利点がある。また、intraassay, interassayの変動も少なく回収率も良好であった。さらに他の在来RIAキットとの比較検定でも良好な正の相関が認められた。以上の成績は本キットがTBG測定法として十分用い得る方法であることを示唆したと思われる。

本キットで測定した正常者の血清TBG値の平均は20.7  $\mu\text{g/ml}$ であった。この値は著者らが先に報告<sup>11)</sup>したCorning社製Immophase TBG RIAキットで測定した値とほぼ同様な値であり、Cavalieriら<sup>3)</sup>その他の報告<sup>6-9,12)</sup>とほぼ同様な値であった。しかし、Burrら<sup>5)</sup>の平均12.5  $\mu\text{g/ml}$ やGershengornら<sup>4)</sup>の平均14.8  $\mu\text{g/ml}$ の報告値より高く、Leyら<sup>5)</sup>の平均34  $\mu\text{g/ml}$ より低い値であった。この差異の原因は今回の検討からは明らかでないが、現在TBG純品がなく、用いる標準TBGの差も一因と考えられる。また対象として症例の年齢、性などの差も考えられるので、現在のところ厳密な意味での値の比較は困難と思われる。本キットで測定したTBG値は甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症、正常妊娠、TBG低下症で従来の報告<sup>2-13)</sup>に一致した結果であった。TBG異常例においては血中総ホルモン量を測定しても甲状腺機能状態を把握することは困難である。そこで従来からtotal T<sub>4</sub>とT<sub>3</sub> uptake値より算出されるFree T<sub>4</sub> indexが用いられている。今回TBGとT<sub>4</sub>, T<sub>3</sub>値よりT<sub>4</sub>/TBG, T<sub>3</sub>/TBGを算出し、FT<sub>4</sub>値との相関を検討したところ、良好な正の相関が認められた。さらに正常妊娠、TBG低下症においても正常範囲に分布した。この成績はT<sub>4</sub>/TBG, T<sub>3</sub>/TBGが甲状腺機能状態を良く反映することを示している。

以上の成績から、TBG測定はTBG異常症の診断、TBG異常と甲状腺機能異常の合併例の診断や、T<sub>4</sub>/TBG, T<sub>3</sub>/TBGを算出することによりTBG異常例における甲状腺機能の把握、各種病態におけるTBGの役割などの解明にも有用であることが考えられた。

## VI. 結 語

Corning社製magnetic TBG RIAキットの基礎的および臨床的検討を行い、本キットは少量の血清で短時間に簡便に血清中のTBG濃度を測定出来る方法であることを認めた。また本法は日常臨床においてTBG異常例の診断やT<sub>4</sub>/TBG, T<sub>3</sub>/TBGを算出することにより、TBG異常例における甲状腺機能の把握に有用であることも認められた。

## 文 献

- 1) Robbins J: Reverse-flow zone electrophoresis. A method for determining the thyroxine-binding capacity of serum protein. Arch Biochem Biophys 68: 40-409, 1976
- 2) Levy RP, Marshall JS, Velayo NL: Radioimmunoassay of human thyroxine-binding globulin (TBG). J Clin Endocrinol Metab 32: 372-381, 1971
- 3) Cavalieri RR, McMahon FA, Cattle JN: Preparation of I-labeled human thyroxine-binding alpha globulin and its turnover in normal and hypothyroid subjects. J Clin Invest 56: 79-87, 1975
- 4) Gershengorn MC, Larsen PR, Robbins J: Radioimmunoassay for thyroxine-binding globulin: Results in normal subjects and in patients with hepatocellular carcinoma. J Clin Endocrinol Metab 42: 907-911, 1976
- 5) Burr WA, Ramsden DS, Evans SE, et al: Concentration of thyroxine binding globulin. Brit Med J 19: 485-488, 1977
- 6) 吉政康直, 今村理喜代, 浜田 哲: RIA-gnost TBG キットによる血清サイロキシン結合グロブリン (TBG) のラジオイムノアッセイの基礎的検討ならびにその臨床的評価. ホルモンと臨床 27: 1279-1285, 1979
- 7) 仁瓶礼之, 村田善晴, 池田 靖, 他: TBG ラジオイムノアッセイ法による血中 TBG 値の臨床的意義. ホルモンと臨床 27: 1083-1090, 1979
- 8) 伊藤洋一, 中山次郎, 近藤重信, 他: 血中サイロキシン結合グロブリン (TBG) の測定. ホルモンと臨床 27: 1419-1422, 1979
- 9) 遠藤啓吾, 笠木寛治, 高坂唯子, 他: Radioimmunoassay による血中 TBG 濃度測定 of 基礎的検討ならびに臨床的意義について. 核医学 16: 677-684, 1979
- 10) 森田俊孝, 福地 稔, 永井清保: 固相法 radioimmunoassay 法による血中 TBG (thyroxine-binding globulin) の測定—基礎的ならびに臨床的検討—. ホルモンと臨床 28: 1093-1099, 1980

- 11) 満間照典, 野木森剛: Radioimmunoassay 法による血中 thyroxine-binding globulin 濃度の測定. ホルモンと臨床 **28**: 721-725, 1980
- 12) 海瀬信子, 海瀬和郎, 吉田克己, 他: Immophase TBG radioimmunoassay test system による thyroxine-binding globulin の測定. 核医学 **18**: 885-893,
- 13) 満間照典, 野木森剛: Radioimmunoassay 法による血中 thyroxine-binding globulin の測定——榮研キットの検討——. 医学と薬学 **6**: 1639-1644, 1981
- 14) Mitsuma T, Colucci J, Shenkman L, et al: Rapid simultaneous radioimmunoassay for triiodothyroxine and thyroxine in unextracted serum. Biochem Biophys Res Comm **46**: 2107-2113, 1972