

《ノート》

血中トリヨードサイロニン測定法の検討

—他の甲状腺機能検査値との比較について—

坂井由美子* 浜田 武*

浜 聰** 細木 秀美**

はじめに

1952年, Pitt-Rivers, Gross¹⁾ らによって発見された triiodothyronine (T₃) は Thyroxine (T₄) に比して 2~5 倍作用が強力でかつ速効性であることにより, 甲状腺疾患の病状把握に T₃ の測定の重要性が指摘される様になった. しかし血中 T₃ は T₄ の 1/100 程度と極く微量のため一般臨床検査として T₃ を測定する事は困難であった. 近年 radioimmunoassay (RIA) の著しい発達に伴い, T₃ の測定にも本 RIA が応用され, すでに諸家^{2)~7)} によって報告されている. 今回, われわれは第一ラジオアイソトープ研究所より提供された血中 T₃ の RIA kit (RIA-Mat T₃ kit) を使用する機会を得たので, その有用性について検討を加え, 併せて従来から行なわれている種々の甲状腺機能検査との比較を行ない, 充分一般臨床検査として甲状腺疾患の病状把握に有用であったので報告する.

実験材料および方法

1) T₃ 測定用 kit の内容

(1) T₃ 抗血清 (凍結乾燥品) 1 バイアル
蒸留水 5.5ml で溶解する.

* 細木病院検査科

** 細木病院内科

受付: 52年2月3日

最終稿受付: 52年6月17日

別刷請求先: 高知市大膳町37 (〒780)

細木病院検査科

坂井由美子

(2) 標準 T₃ 溶液 5 バイアル
0, 0.5, 1, 2, 6ng/ml の 5 種類.

(3) T₃-¹²⁵I 溶液 50 バイアル
約 0.02 μCi/vial. ANS (magnesium-8-anilino-1-naphthalene sulfonate) を約 300 μg 含む.

(4) レジンストリップ 50 枚

(5) ピンセット 1 本

2) 使用機具

(1) 0.1ml エッペンドルフピペット

(2) ローター

(3) 恒温槽

(4) well 型 γ -counter

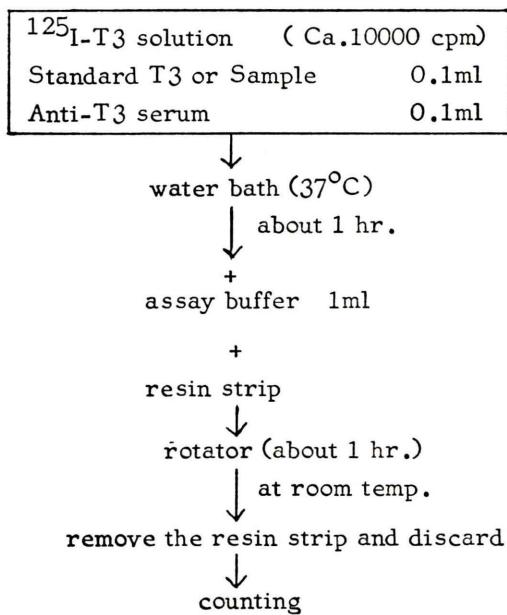
測定方法

1) 血中 T₃ 測定用 RIA

T₃-¹²⁵I 溶液 (ANS を含む) の入った各 vial に 標準 T₃ 溶液または被検血清 0.1ml を duplicate で入れ, それに T₃ 抗血清 0.1ml を加えた後, 軽く振盪後, 37°C 恒温槽中で 1 時間 incubate する. 各 vial に Bound (B) と Free (F) 分離の為のレジンストリップを 1 枚ずつ入れてよく栓をした後, ローターで室温 1 時間 incubate 後, 各 vial 中のレジンストリップをピンセットで除去した後, vial 中に残存する放射能量を well 型 γ -counter で測定した. total count で bound count を除して % で表わし, standard curve より, 各被検血清中の T₃ 濃度を読みとった (Table-1).

2) コレステロール (総コレステロール B テスト

Table 1 測定方法



和光純薬)

- (3) T₃-RSU(トリオソルブテスト ダイナボット RI 研究所)
- (4) T₄-CPBA(テトラソルブテスト ダイナボット RI 研究所)
- (5) T₄-RIA (RIA-Mat T₄ kit, 第一ラジオアイソトープ研究所)
- (6) T7 値: (テトラソルブ×トリオソルブ) ÷ 100, ダイナボット RI 研究所)

結果

1) 標準曲線

本 kit の指示通りに assay を行なった時の典型的な標準曲線は Fig. 1 のごとくなり、充分な感度を有する急峻な曲線が得られた。また、T₃ を高濃度に含む血清の稀釈曲線は標準曲線とよく平行した。

2) 精度

本 kit の accuracy をしらべるために、低濃度と思われる血清 0.1ml に標準 T₃ を 50ng/dl および 300ng/dl になる様に加え、その回収率を見たところ、おのおのの変異係数 8.6%, 13.5% と満足すべ

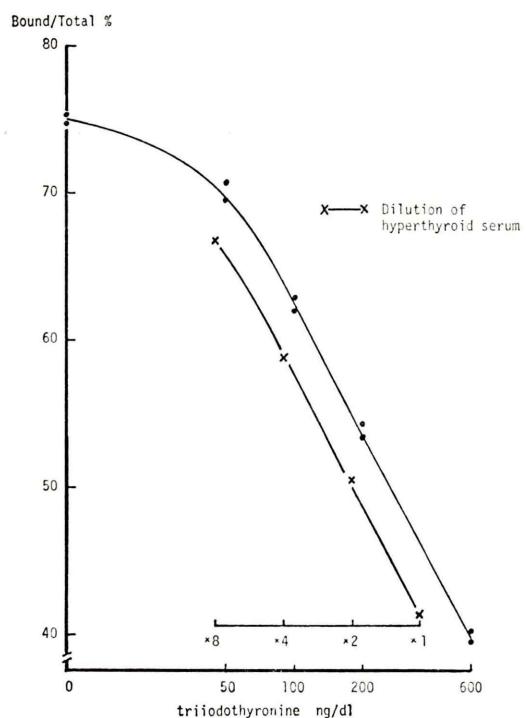


Fig. 1 標準曲線と高 triiodothyronine 血清の稀釈曲線

Table 2 本法の accuracy

sample No.	T ₃ added		ng/dl
	0	50	
1	85.0	125	395
2	72.5	125	500
3	80.0	110	395
4	75.0	135	520
5	70.0	135	505
mean	76.5	130	463.0
SD	6.0	11.2	65.6
SE	2.7	5.0	27.9
CV (%)	7.8	8.6	13.5

き結果が得られた (Table. 2)。

また within assay precision を見るため、T₃ 150 ng/dl 前後を含む血清 (sample A) および T₃ 370 ng/dl 前後を含む血清 (sample B) を同一 assay 内に 7 本ずつ入れて測定したところ、変異係数はおのおの、10.4%, 12.7% と満足すべき値が得られた (Table 3)。

Table 3 本法の within assay precision

sample No.	sample (A)	sample (B) ng/dl
1	170	430
2	135	420
3	145	400
4	160	396
5	150	335
6	140	350
mean	146.4	371.3
SD	15.2	47.0
SE	5.7	16.6
CV (%)	10.4	12.7

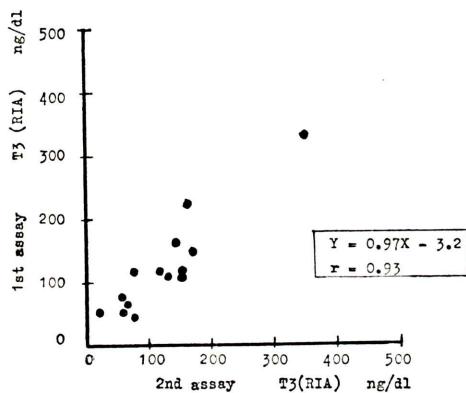


Fig. 2 本法の between assay precision

また、各種の濃度の T_3 を含む試料を測定日をかえて 2 回測定し、その再現性をみる between assay でも回帰直線 $y=0.97x-3.2$, $r=0.93$ となり良好な再現性が認められた (Fig. 2)。

3) 各種甲状腺疾患における血中 T_3 値

本法を用いて測定した各種甲状腺疾患の血中 T_3 値は Fig. 8 に示すとくで、正常人20名(肝・腎疾患および内分泌疾患の認められない男子6名、女子14名)の血中 T_3 値は 131.5 ± 25.7 (mean \pm S.D.) ng/dl ($n=20$) (range : 94.5~178ng/dl) であり、甲状腺機能亢進症では 431.2 ± 125.9 ng/dl ($n=29$) (range : 232~600ng/dl 以上)、甲状腺機能低下症では 52.6 ± 27.0 ng/dl ($n=24$) (range 10~95 ng/dl)、慢性甲状腺炎では 133.6 ± 29.2 ng/dl ($n=5$)、また T_3 -toxicosis の 1 例では 245ng/dl であった。また, Debre-Selèmeaigne 症候群の 1 例では 10ng/dl

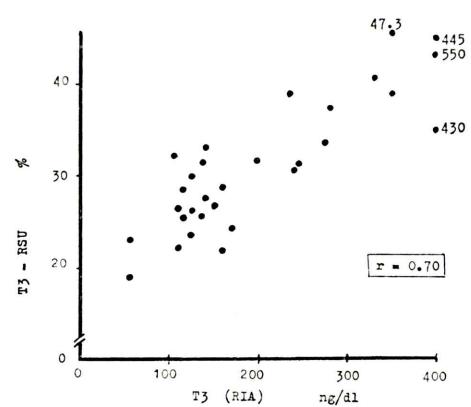


Fig. 3 本法による triiodothyronine 値と triosorb 値との相関

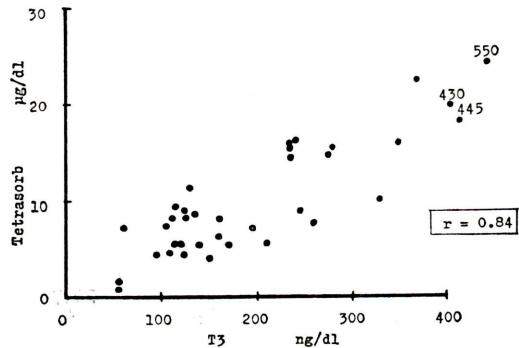


Fig. 4 本法による triiodothyronine 値と tetrasorb 値との相関

であった。

4) トリオソルブテスト、テトラソルブテスト、 T_4 -RIA, T_7 値、血清コレステロール値との相関

本 RIA 法で測定した血中 T_3 値と、従来より行なわれているトリオソルブテスト値との相関は相関係数 $r=0.70$ ($n=30$) であった (Fig. 3)。

また、competitive protein binding analysis (C-PBA) による血中 Thyroxine 測定法であるテトラソルブ値⁹⁾ との相関は相関係数 0.84 ($n=36$) と良好な関係が得られた (Fig. 4)。

近年、開発された Thyroxine との特異抗体を用いた T_4 の RIA によって測定した血中 T_4 値¹¹⁾ との相関は相関係数 0.8 ($n=29$) と満足すべき関係が得られた (Fig. 5)。

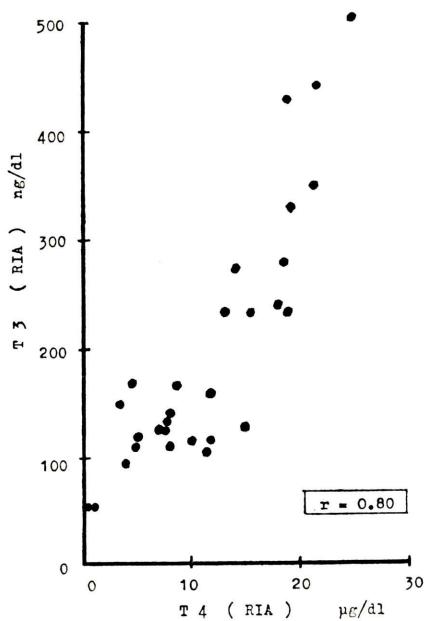


Fig. 5 本法による triiodothyronine 値と radioimmunoassay による thyroxine 値との相関

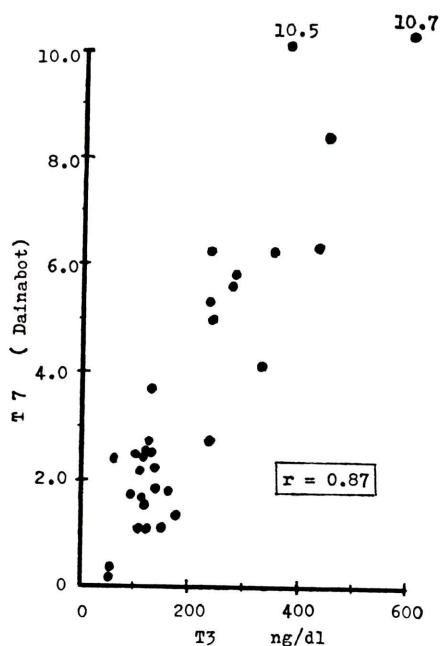


Fig. 6 本法による triiodothyronine 値と T7 値との相関

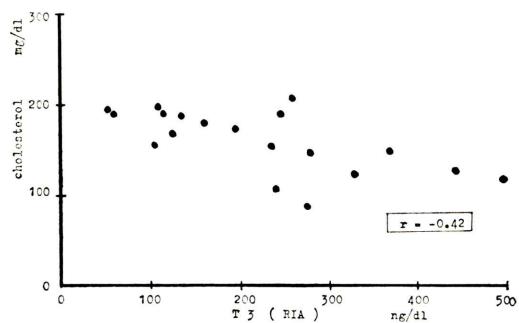


Fig. 7 本法による triiodothyronine 値と 血清 cholesterol 値との相関

また、間接的に free Thyroxine index を表わしているとされている⁸⁾ T₇ 値との相関は相関係数 0.87 (n=34) と良好な関係が得られた (Fig. 6)。

しかし、古くより甲状腺疾患の指標の一つとされてきた血中総コレステロール値との相関は、相関係数 -0.42 (n=19) となり、相関がみられるとは云い難かった (Fig. 7)。

考 案

1970 年 Brown ら⁸⁾が T₃ の methylesterhydrochloride に poly-L-Lysine を carbodiimide を用いて couplingさせそれを用いてウサギに抗 T₃ 抗体を作製することに成功して以来、Charib²⁾、Mitsuma⁴⁾、Larsen⁵⁾、Sakurada⁶⁾、八谷⁷⁾など多くの T₃ に対する特異抗体を用いた T₃-RIA の報告が見られる。ついで 1973 年に入り各社より kit として本 RIA 法が発売されるようになり種々の報告¹³⁾⁻¹⁶⁾がみられるようになった。われわれも第一ラジオアイソトープ研究所製の T₃-RIA kit につきその有用性を確かめるために基礎的検討を加えた結果本 kit は感度も良好で被検血清がわずか 0.1 ml で測定可能であり加えて accuracy も満足すべきものであり、within assay precision も Rodburd¹⁷⁾の報告した範囲内にあり、between assay precision もすぐれたものであった。

また従来から甲状腺機能をよく反映するとされてきた ¹³¹I-T₃ Resin Sponge Uptake (RSU) として代表的 triosorb test 値と本法による T₃ 値の相関は r=0.7 であったが triosorb の値は甲状腺

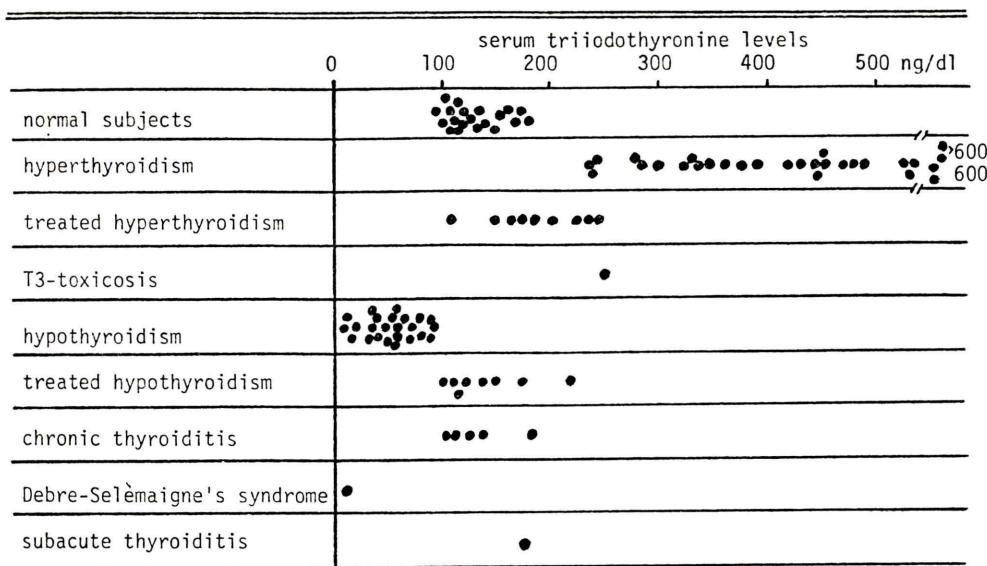


Fig. 8 各種甲状腺疾患における血中 triiodothyronine 値

機能のみでなく、TBG の増減に強く影響をうけることよりややばらつく傾向となったものと思われる。TBG を binding protein とした CPBA による血中 T_4 測定法を発展させた tetrasorb test による血中 T_4 値と本 RIA による T_3 値との相関は 0.84 と満足すべきものであり、また極く最近 T_4 に特異的な抗 T_4 血清を用い感度は CPBA に比してくらべものにはならないほど高い RIA 法による血中 T_4 測定法が開発されたが、この RIA 法によって測定した血中 T_4 値と本 T_3 値との間の相関も相関係数 0.8 と CPBA による T_4 値と同様に良好な相関がみられた。しかし、ここで両者の値を比較した症例中には T_3 と T_4 の間に解離がみられる T_3 -toxicosis¹⁸⁾ と思われるるものや甲状腺機能亢進症の治療中の症例が多数含まれているため、相関をみるには問題があるものと考えられている。また、tetrasorb \times triosorb \div 100 で表わされ、現在、もっとも一般的に free thyroxine index として用いられている T_7 値⁹⁾ と本 T_3 値との間には相関係数 0.87 と良好な関係が認められたことより、本 RIA による測定法は、甲状腺機能異常の病態の把握に一つの新しい方法として充分に臨床的に用い得る方法と考えられる。

血清総コレステロール値との間には良好な相関が認められるとは云い難かったが、このことは血清コレステロールの値が、種々の甲状腺以外の要因（家族性、糖尿病、肝胆道疾患、腎疾患、心脈管系疾患ら）によって変化を受けやすいことと併せ考えれば、むしろ当然のことと思われる。

正常人の血中 T_3 値は従来の報告^{2)~16)} とほぼ同様の範囲であった。また、甲状腺機能亢進症と正常人との間には明らかな血中 T_3 値の相違がみられたが、甲状腺機能低下症と正常人との間には土井ら¹³⁾ が報告したごとく、多少のオーバーラップがみとめられた。

また、12歳の女子で低身長 (137.4 cm)、脱毛、四肢の筋肉の肥大を伴い、かつ、CPK, GOT, GPT 等の諸酵素の異常高値と共に T_3 -RSU 23.2%, T_4 1.6 μ g/dl, T_7 0.37 と異常低値を示し、Debre-Selèmeaigne 症候群と思われる 1 例では当然のことながら T_3 値は 10ng/dl と異常低値を示した。

甲状腺機能亢進症の治療中のもの、また、甲状腺機能低下症の治療中のものでは T_3 値はほぼ、正常範囲であったが、血中 T_3 値は甲状腺機能亢進症の治療中、 T_4 に先行して増減するとの報告や、甲状腺ホルモンとして実際の機能を有するも

のは T_4 ではなくて T_3 であるとも言われている現在、血中 T_3 測定はますます臨床的意義を持つものと考える。

まとめ

T_3 -RIA kit による血中 T_3 値測定の基礎的検討を行ない、充分に臨床的に使用し得る再現性、精度および感度を有し、また従来からの甲状腺機能検査法である T_3 -RSU、血中 T_4 値、 T_7 値、ともほぼ平行したことより、甲状腺疾患の病態把握に今後、重要な役目をはたす検査法の一つと考える。

本 RIA-kit を提供下さいました第一ラジオアイソトープ研究所に感謝します。

(尚、本論文の要旨は第8回中国四国衛生検査学会において発表した)

文 献

- 1) Gross J & R Pitt-Rivers: Lancet I 439, 1952
- 2) Charib H, WE Mayberry and RJ Ryan: J Clin Endocr 31: 709, 1970
- 3) Chopra IJ, DH Solomon and GN Beall: J Clin Invest 50: 2033, 1971

- 4) Mitsuma T, N Nihei, MC Gershengorn and CS Hollander: J Clin Invest 50: 2679, 1971
- 5) Larsen PR: J Clin Invest 51: 1939, 1972
- 6) 桜田俊郎、山口 徹、山本蒔子、出村黎子、出村 博、福地綾逸、斎藤慎太郎: 日内分泌誌 48: 559, 1972
- 7) 八谷 孝: 日内会誌 61: 1384, 1972
- 8) 仙田宏平、今枝孟義: ホルモンと臨床 20: 235, 1972
- 9) ダイナボット RI 研究所: T_4 -Diagnostik kit tetra-sorb-125
- 10) 飯野史郎: 医学のあゆみ 48: 133, 1964
- 11) 第1アイソトープ研究所: RIA-Mat T_4 kit 説明書 ~
- 12) Brown BL, RP Ekins, SM Ellis and WS Reith: Nature 226: 359, 1970
- 13) 土井 啓、萩原俊男、山本智英: ホルモンと臨床 22: 413, 1974
- 14) 満間照典、広岡良文、仁瓶禮之: ホルモンと臨床 22: 557, 1974
- 15) 伴 良雄、井上 健、児島孝典、長島則夫他: ホルモンと臨床 22: 1435, 1974.
- 16) 越智幸男、八谷 孝: 最新医学 30: 191, 1975
- 17) Rodburd D: General principles of radioimmunoassay, p. 43 液体シンチレーション計測法および radioimmunoassay のシンポジウム講演要旨集, 1973
- 18) Sterling K, D Bellabara et al: J Clin Endocr 48: 1150, 1969