

《ノート》

コンスル T₃ RIA による血中トリヨードサイロニンの測定Studies on the Measurement of Serum Triiodothyronine with "KONSUL T₃ TIA" Kit

中川 豪* 信田 憲行** 田口 光雄*

Tsuyoshi NAKAGAWA*, Noriyuki SHINODA** and Mitsuo TAGUCHI*

Department of Radiology, Mie University School of Medicine**Central Clinical Division of Radiology, Mie University Hospital*

緒 言

血中甲状腺ホルモンの測定は、近年、ラジオアッセイの開発により著しい進歩をとげたが、トリヨードサイロニン (T₃) はその血中濃度が低いこと、サイロキシン (T₄) と T₃ の完全な分離が困難で、また、繁雑な操作を要し、また、その間に T₄ より T₃ への転換がおこること^{1,2)} などのため competitive protein-binding assay (CPBA)^{2,3)} によっても測定上の問題点があった。最近、T₃ に特異的な抗体が作製され^{4,5)}、また、T₃ と結合蛋白との結合を阻害する物質を用いることにより抽出操作が不要となり、簡便でしかも少量の血清で測定されるラジオイムノアッセイ (RIA) が開発されるに至り⁵⁻⁹⁾、広く臨床に用いられている。

今回、結合阻害物質に ANS を用い、また、bound および free fraction の分離 (BF 分離) に固相法を用いた Micromedic 社発売のコンスル T₃ RIA を使用する機会を得たので、その基礎的、臨床的検討の成績を報告する。

測 定 法

本キットには、抗 T₃ 家兎血清で内壁を処理し

* 三重大学医学部放射線科

** 三重大学医学部附属病院中央放射線部

受付：53年5月11日

最終稿受付：53年8月14日

別刷請求先：津市江戸橋2-174 (番514)

三重大学医学部放射線医学教室

中 川 豪

た polypropylene 測定 tube が含まれており、標準 T₃ と患者血清中の T₃ あるいは標準血清中の T₃ とはインクベーション中にこの tube 内で壁面に coating された抗体の binding site を競合する。従って、BF の分離は、単に tube 内全液の吸引と洗浄のみで可能である。また、buffer には ANS が含まれており、TBG の T₃ 結合を阻害する。

本キットには、上記 disposable の測定 tube, ¹²⁵I-T₃ tracer solution, buffer (pH 8.6) のほか、標準血清(凍結乾燥) 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0, 6.0 ng/ml (以下 T₃ 濃度を ng/dl で表わす) および正常、異常(高値)のコントロール血清(凍結乾燥)が含まれている。試薬の調整として、¹²⁵I-T₃ tracer solution と buffer solution を混合し、また、標準およびコントロール血清をそれぞれ 5 ml の蒸留水で溶解する。

以下キットの使用書¹⁰⁾ に記載された測定法を記す。

- (1) 標準血清、コントロール血清および患者血清の 50 μ l を測定用 tube にとる。
- (2) 各 tube に buffer で稀釀された ¹²⁵I-T₃ tracer solution を 1000 μ l 分注する。
- (3) 37°C で 90 分インクベーションする。
- (4) 各 tube の内液を吸引除去する。
- (5) 蒸留水 1.3~1.5 ml にて 2 回吸引洗浄する。

Key words: Solid Phase Radioimmunoassay, Triiodothyronine

(6) well counter で tube 内の放射能を測定する。

(7) 横軸に標準 T_3 濃度を対数で、縦軸に B/B_0 (%) (B_0 は 0 ng/dl 濃度の標準血清の結合型の放射能を、 B は他の標準血清あるいは患者血清の結合型の放射能を示す) を実数で、または、logit 変換軸により標準曲線を作成し、検体の B/B_0 (%) から T_3 濃度をよみとる。

標準血清および検体共にすべて duplicate で測定した。試料の測定は Aloka 製自動ウエル型シンチレーションカウンターにて 3 分間の計測をした。

実験方法ならびに対象

標準曲線および検体の測定値についての精度、再現性、感度の算出にはコンスル T_4 RIA の検討²¹⁾と同様の方法を用いた。インクベーション時間の影響は標準曲線に及ぼす影響より検討した。稀釈試験は甲状腺機能亢進症患者血清を 0 ng/dl 濃度の標準血清により稀釈して行なった。回収率の測定において、 T_3 の添加には標準血清を用いたが、 T_3 非添加検体 (original serum) には 0 ng/dl の標準血清を加えて T_3 添加検体と血清蛋白量を、ほぼ、等しくした。抗体の特異性の検討に際しては T_3 類似物質を 0.1% の人血清アルブミンを含む 0.1 N NaOH に種々の濃度に溶解したものを使い、すべての tube に 0 ng/dl の標準血清を $50 \mu\text{l}$ 添加して、 B/B_0 (%) を測定した。また、この方法により作成した自家製の T_3 標準液を用いて、キットの標準液と比較した。

臨床的検討において対象とした症例は合計 189 例で、未治療甲状腺機能亢進症患者 16 例、治療中の甲状腺機能亢進症患者 55 例、未治療甲状腺機能低下症患者 6 例、治療中の機能低下症患者 3 例、慢性甲状腺炎患者 9 例、結節性甲状腺腫患者 14 例、亜急性甲状腺炎患者 3 例、TBG 減少症患者 1 例、ネフローゼ症候群患者 2 例、妊婦 7 例、および甲状腺疾患を疑われた他の各種疾患患者 43 例を含む。また、正常者は三重大学職員 30 例を対象とした。

成 績

1) 標準曲線とその精度、再現性、感度

Fig. 1 は本 T_3 assay 法の標準曲線を示すが、各点は duplicate で 4 回異なる assay を行なって得られた値の平均値とその不偏標準偏差 (s) を示す。 B_0 を 100% とした場合、 600 ng/dl の B は 30% 程度に低下し、良好な標準曲線が得られた。Table 1 に各濃度の T_3 に対する B/B_0 (%) の平均値、精度、再現性、感度を示す。精度は 150 ng/dl 以下では C.V. は 2.1% 以下、 $200\sim600 \text{ ng/dl}$ でも 3.2% 以下であった。再現性においては 150 ng/dl 以下では C.V. 10% 以下、 $200\sim600 \text{ ng/dl}$ では 17% 以下であった。感度は 150 ng/dl 以下では 15 ng/dl 、 $150\sim600 \text{ ng/dl}$ では 30 ng/dl 以下であった。

2) 検体の T_3 濃度測定値の精度および再現性

甲状腺機能正常者および機能亢進症例より得た

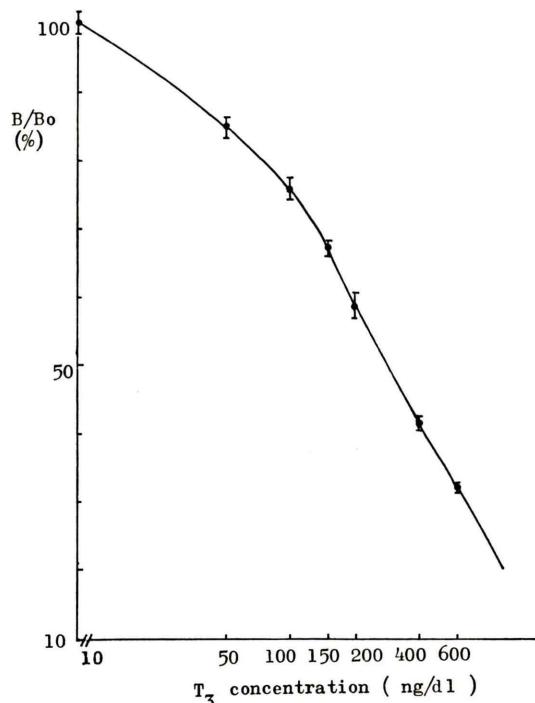


Fig. 1 T_3 assay standard curve

Each point represents the mean \pm s (precision) of duplicate determinations in 4 different assays.

Table 1 Analysis of four T₃ standard curves obtained from different assays performed in duplicate. Precision and reproducibility express the variation within each assay and from assay to assay, respectively. Sensitivity expresses the least amount of T₃ distinguishable from the lower standards.

T ₃ concentration (ng/dl)	B/Bo Mean (%)	Precision		Reproducibility		Sensitivity (ng/dl)
		s (%)	CV(%)	s (%)	CV(%)	
0	100	1.8	1.8	—	—	15
50	84.6	1.5	1.8	3.4	4.0	15
100	75.8	1.6	2.1	5.9	7.7	15
150	67.1	1.2	1.8	6.6	9.8	15
200	58.7	1.9	3.2	6.6	11.3	18
400	41.5	1.0	2.4	6.6	16.0	20
600	32.2	0.7	2.2	5.4	16.9	30

Table 2 Precision and reproducibility estimated with pooled sera.

Precision was estimated by the analysis of 12 replicate determinations in a single assay, whereas reproducibility was estimated from three different assays in triplicate.

Samples	No. of samples	Precision		Reproducibility			
		Mean \pm s (ng/dl)	CV(%)	No. of samples	No. of different assays	Mean \pm s (ng/dl)	CV(%)
Pool 1	12	95.9 \pm 7.0	7.3	9	3	105.7 \pm 12.9	12.2
Pool 2	12	251.7 \pm 13.7	5.4	9	3	239.1 \pm 21.4	8.9

2種類のpool血清について、同一assay内で12回測定した結果より求めた精度は、Table 2に示すごとく、いずれもC.V.が7.3%以下であった。また、triplicateで異なる3回のassayで測定した場合の再現性は、正常血清でC.V. 12.2%，機能亢進症血清で8.9%であった。

3) インクベーション時間の影響

インクベーション時間を30分、45分、60分、90分、120分と変動させて標準曲線に及ぼす影響を観察した結果をFig. 2に示す。いずれのT₃濃度においても、インクベーション時間の延長と共に、B/Bo(%)は軽度低下の傾向がみられたが、特に、インクベーション時間の短いほどその傾向が明らかであった。

4) 稀釀試験

Fig. 3は、3例の甲状腺機能亢進症患者より得た血清を0ng/dlのT₃標準血清で3/4, 1/2, 1/4, 1/8に稀釀して求めた稀釀曲線を示す。いずれも、ほぼ、0点に収斂する直線上に分布した。

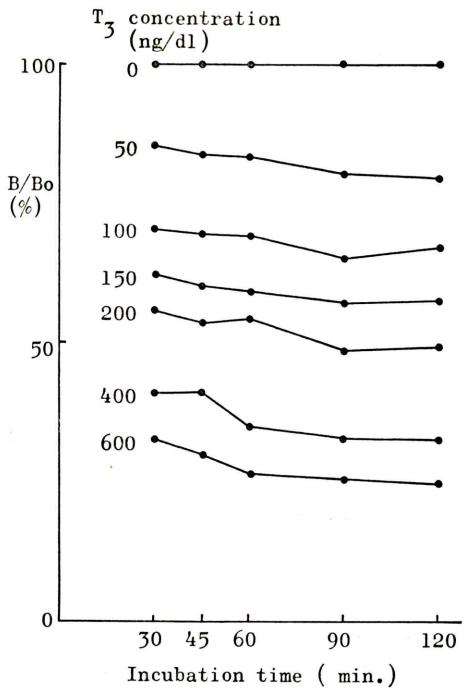


Fig. 2 Effect of incubation time on standard curve.

Table 3 Recovery study. Results are expressed as mean \pm s of the values obtained in four replicate measurements in a single assay. Serum A, B and C are taken from normal subjects, hypothyroid and TBG deficient patients, respectively.

T ₃ added (ng/dl)	T ₃ recovered			Mean \pm s (ng/dl)	Per cent Recovery (%)
	Serum A (ng/dl)	Serum B (ng/dl)	Serum C (ng/dl)		
50	43.2 \pm 6.1	38.0 \pm 7.9	31.8 \pm 3.6	37.1 \pm 7.2	74.2 \pm 14.4
100	98.3 \pm 6.4	122.0 \pm 13.1	101.5 \pm 10.1	107.3 \pm 14.4	107.3 \pm 14.4
200	207.0 \pm 3.1	226.3 \pm 25.5	198.3 \pm 34.0	210.5 \pm 25.4	105.3 \pm 12.7

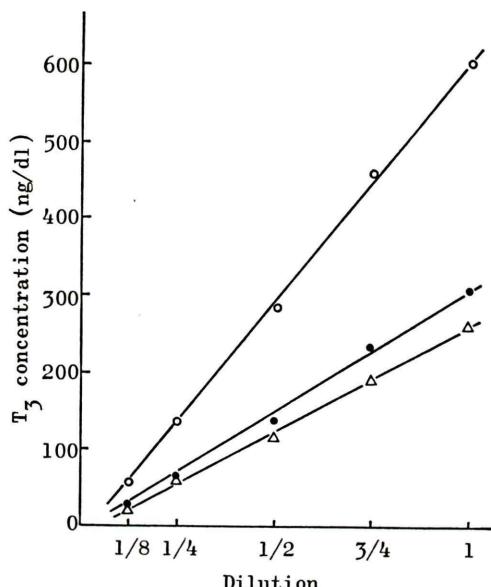


Fig. 3 Effect of dilution on measured T₃ concentration.

5) 回収率

Table 3 は、T₃ 濃度が、それぞれ、90 ng/dl, 34 ng/dl, 40 ng/dl の甲状腺機能正常者、甲状腺機能低下症患者、TBG 減少症患者の 3 例の血清に、それぞれ、50 ng/dl, 100 ng/dl, 200 ng/dl の T₃ を添加して、同一 assay 内で 4 重測定して求めた回収量、回収率の平均値および不偏標準偏差を示す。3 種類の血清についての回収率の平均値は 50 ng/dl, 100 ng/dl, 200 ng/dl 添加群で、それぞれ、74.2 %, 107.3 %, 105.3 % であった。

6) 抗体の特異性

0 ng/dl の標準血清に L-T₄*, 3,5-diiodo-L-thyronine**, DL-thyronine*, 3,5-diiodo-L-tyro-

sine*, 3-iodo-L-tyrosine** を種々の濃度に添加して B/B₀ (%) が 50% を示す濃度より推定した。Table 4 に示すとく、L-T₃ を 100% とした場合の% cross-reactivity は、L-T₄ が 0.2 %, 3,5-diiodo-L-thyronine が 0.05 % を示したほかは、すべて 0.0005 % 以下であった。

* 半井化学特級試薬, ** Sigma 社製

7) 正常者および各種疾患例の T₃ 濃度

Fig. 4 に示すとく、正常者 30 例の平均値および不偏標準偏差は 126 \pm 20 ng/dl に分布した。未治療甲状腺機能亢進症患者では、461 \pm 222 ng/dl に分布し、正常者に比し、0.1% の危険率で有意の高値を示した。また、治療中の機能亢進症患者では、162 \pm 74 ng/dl に分布した。未治療機能低下症患者では、82 \pm 39 ng/dl で 5% の危険率で有意の低値を示した。治療中の機能低下症患者では、131 \pm 34 ng/dl、橋本病患者では 98 \pm 50 ng/dl で低値を示すものがあり、結節性甲状腺腫患者では 118 \pm 37 ng/dl、亜急性甲状腺炎患者では 135 \pm 52 ng/dl、妊婦では 157 \pm 36 ng/dl で高値の傾向がみられ、またネフローゼ症候群患者は 53 \pm 41 ng/dl に分布し、低値の傾向が推察されたが、これらはいずれも正常者に比し有意の差を認めなかった。甲状腺疾患以外の各種疾患においては

Table 4 Cross-reactivity of T₃ antiserum.

Compound	% Cross-reactivity
3,3',5-Triiodo-L-thyronine	100
L-Thyroxine	0.2
3,5-Diiodo-L-thyronine	0.05
D,L-thyronine	0.0005
3,5-Diiodo-L-tyrosine	<0.0001
3-Iodo-L-tyrosine	<0.0001

Fig. 4 Serum T₃ concentration with KONSUL T₃ RIA in various physiologic and pathologic states

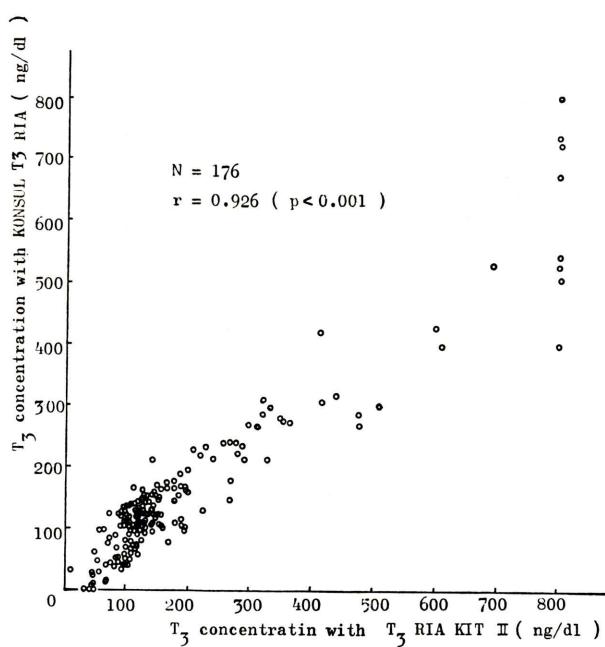


Fig. 5 Correlation between serum T_3 values with KONSUL T_3 RIA and those with T_3 RIA KIT II

81±46 ng/dl に分布し 0.1% の危険率で有意の低値を示した。

8) T_3 RIA キット II による T_3 値との比較

Fig. 5 は対象とした 189 例のうち正常者 10 例、

妊婦 2 例、ネフローゼ症候群患者 1 例を除く 176 例について、コンスル T_3 RIA により測定した T_3 値をダイナポット RI 研究所発売の T_3 RIA キット II により測定した T_3 値と比較した成績を示

す。両者間の相関係数は 0.926 と良好で、0.1% の危険率で有意の相関が認められた。

考 案

固相法による BF 分離は、一般に、簡便かつ敏速で、再現性にもすぐれ、経済的で、自動化にも適している¹¹⁻¹⁴⁾。特に、本法は内壁を抗 T₃ 抗体で coating した polypropylene の測定 tube が用いられているため、この tube 内でインクベーションを行ない、免疫反応の終了後 tube 内の全液を吸引洗浄するのみで BF 分離が行なわれ、操作が単純で他の固相法のように沈殿物を吸上げて誤差となるおそれもなく、敏速に、正確に測定が可能となる。本法の BF 分離に要する時間は 200 検体の処理に 1 人の測定者で 30~40 分、2 人では 20 分で可能であった。

他の固相法と同様に B₀ の total count に対する百分率は 3 回の異なる assay の平均値および標準偏差が 25.0±2.1% で低値の傾向があったが、B/B₀ % により plot した標準曲線は安定しており、その精度はいずれの T₃ 濃度に対しても C.V. が 3.2% 以下であり、再現性も 150 ng/dl 以下では 10% 以下、200~600 ng/dl では 17% 以下であった。検体の測定値においても精度は 7.3% 以下、再現性は 12.2% 以下で、満足すべき値と思われた。最高感度は 15 ng/dl であり、150 ng/dl まで変わらず、150 ng/dl 以上では 20~30 ng/dl に軽度低下した。

インクベーション時間の変化に伴う B/B₀ (%) の変動を標準曲線により検討した結果、B/B₀ % の変動は僅少であるが、時間の延長と共に軽度低下の傾向がみられ、この変動はインクベーション時間の短いほど明らかであった。本法で用いられている 90 分インクベーション以後は変動が比較的少なく、適当なインクベーション時間と思われるが、いずれにしても、インクベーション時間は各 assay 間で等しくし、また、各 assay 内で各測定 tube 共等しくすることが望ましいと思われる。本研究においては、インクベーション時間を 90 分±1 分に保った。

稀釈曲線は、原点に収斂する直線を示したが、この結果は検体の稀釈が測定値に影響しないことを示し、また、検体中の T₃ と標準血清中の T₃ とが、抗体と同一の反応を行なうこと、すなわち、内因性ホルモンが測定されていることを支持する²⁶⁾。3 種類の血清に 50 ng/dl, 100 ng/dl, 200 ng/dl の T₃ を添加して求めた回収率の平均は 95.6 % でほぼ良好であったが、50 ng/dl 添加群の平均回収率は 74.2 % で、やや、低値の傾向が推察された。抗体の特異性に関しては T₄ と 0.2% の交叉反応が認められたが、この値はキットの使用説明書¹⁰⁾に記されている 0.1% より、やや、高値である。この実験に用いた T₄ は半井化学の特級を用いたが、特に純化は行なわなかったので、微量の T₃ の混在が cross-reactivity を高めた可能性を除外できない。いずれにしてもほぼ満足される結果と思われる。なお、この実験と併行して自ら作製した T₃ の標準液(実験方法に記載した)により標準曲線を作成したが、キットの標準曲線とよく一致した。

正常者 30 例の測定値は 126±20 ng/dl (mean±s) に分布したが、mean±2s を正常域とすると 86~166 ng/dl となる。このうち、18 例についてダイナボット RI 研究所の T₃ RIA キット II により測定した結果は 125±16 ng/dl に分布し、本法の正常域との間に有意差を認めなかった。他の RIA 法により測定した報告¹⁵⁻¹⁷⁾もほぼ同様の値を示す。

未治療甲状腺機能亢進症は、正常域とほとんど重なり合いがなく、著しく有意の高値を示したが、未治療甲状腺機能低下症は正常域との重なりがかなりみられた。橋本病の中には低値のものがあり、妊娠は高値の傾向があったが、T₄ に比して正常域との重なり合いが多かった。TBG 減少症、ネフローゼ症候群も低値の傾向を示した。

甲状腺疾患以外の各種疾患で、43 例中 23 例 (53%) が正常域以下の値を示し、推計学的に有意の低値を示したが、これら症例には感染症、腫瘍、胃潰瘍、高血圧症、貧血症、肝疾患、糖尿病などを含み、特定疾患との関連を推察することは

困難である。また、同一検体の T₄ 値をコンスル T₄ RIA キットで測定²¹⁾した結果、T₄結合蛋白の減少に伴う T₄ 値の低下が推察される¹⁸⁻²⁰⁾8 例を除いて正常域にあり、正常者との間にも推計学的に有意の差を認めなかった。また、T₄ が低値を示した 8 例中、T₃ も同様に低値を示した例は 3 例しかなく、これらの事実から、T₃ の低下は必ずしも T₄結合蛋白の減少によるものとは考えられない。他の報告にもこれらの事実は指摘されており、非特定の各種疾患²²⁾、肝疾患^{23,24)}、手術後²²⁾、飢餓状態²⁵⁾などで T₃ 濃度の低下が認められている。これら T₃ 低下の症例で、T₄ は必ずしも低下せず、臨床的にも機能低下症は認められず、年齢の影響、plasma binding によっても必ずしも説明できないと報告され²²⁾、この原因として、末梢での T₄ から T₃ への conversion の低下が推察されている²³⁻²⁵⁾。本研究の成績も、T₃ 濃度の低下によって甲状腺機能の低下を判定することはできないことを示している。

ダイナボット RI 研究所の T₃ RIA キット II により測定した T₃ 値との間には良好な相関 ($r = 0.926$) が認められたが、特に、高値および低値の検体において、本法の T₃ 値は T₃ RIA キット II より低値を示すものがあった。

以上より、本法は基礎的検討においても信頼性の高いキットと考えられ、臨床成績も従来の T₃ 値とよく一致した。本法の測定用 tube およびラックはともにコンスル T₄ RIA と全く同様であり、自動分注装置を用いた測定に適しており、大量の検体を処理する施設で特に有用であろう。

結 語

Micromedic 社のコンスル T₃ RIA による血中 T₃ 測定についての検討を行なった。

本法は血中甲状腺ホルモンとホルモン結合蛋白との結合を ANS を含んだ barbital buffer で阻害し、また BF 分離には内壁を抗体で coating した測定用 tube が用いられているため、測定操作が著しく単純化されている。精度、再現性、稀釈試験、回収率、抗体の特異性のいずれも満足すべき

成績が得られ、臨床成績においてもよく甲状腺機能を反映した。本法は、特に大量の検体を処理する施設において、自動測定システムによる測定を行なうのに適していると考えられる。

終わりにキットを提供された第一ラジオアイソトープ研究所に謝意を表します。

文 献

- 1) Fisher DA, Dussault JH: Contribution of Methodological Artifacts to the Measurement of T₃ Concentration in Serum. *J Clin Endocrinol Metab* **32**: 675-679, 1971
- 2) Larsen PR: Technical Aspects of the Estimation of Triiodothyronine in Human Serum: Evidence of Conversion of Thyroxine to Triiodothyronine During Assay. *Metabolism* **20**: 609-624, 1971
- 3) Sterling K, Bellabarba D, Newman E, et al: Determination of Triiodothyronine Concentration in Human Serum. *J Clin Invest* **48**: 1150-1158, 1969
- 4) Brown BL, Ekins RP, Ellis SM, et al: Specific Antibodies to Triiodothyronine Hormone. *Nature* **226**: 359, 1970
- 5) Gharib H, Ryan RJ, Mayberry WE, et al: Radioimmunoassay for Triiodothyronine (T₃): I. Affinity and Specificity of the Antibody for T₃. *J Clin Endocrinol Metab* **33**: 509-516, 1971
- 6) Mitsuma T, Gershengorn M, Colucci J, et al: Radioimmunoassay of Triiodothyronine in Unextracted Human Serum. *J Clin Endocrinol Metab* **33**: 364-367, 1971
- 7) Lieblich J, Utiger RD: Triiodothyronine Radioimmunoassay. *J Clin Invest* **51**: 157-166, 1972
- 8) Larsen PR: Direct Immunoassay of Triiodothyronine in Human Serum. *J Clin Invest* **51**: 1939-1949, 1972
- 9) Chopra IJ, Solomon DH, and Beall GN: Radioimmunoassay for Measurement of Triiodothyronine in Human Serum. *J Clin Invest* **50**: 2033-2041, 1971
- 10) Micromedic 社: コンスル T₃ RIA 使用説明書
- 11) Catt K, Niall HD, Tregebar GW: Solid Phase Radioimmunoassay. *Nature* **213**: 825-827, 1967
- 12) Miles LEM, Hales CN: Labelled Antibodies and Immunological Assay Systems. *Nature* **219**: 186-189, 1968
- 13) Catt K, Niall HD and Tregebar GW: Solid-Phase Radioimmunoassay of Human Growth Hormone. *Biochem J* **100**: 31 c-33 c, 1966
- 14) Catt K, Tregebar GW: Solid-Phase Radioimmunoassay in Antibody-Coated Tubes. *Science* **158**: 1570-1572, 1967

- 15) 小野芳子, 高坂唯子, 遠藤啓吾他: カラムを用いた T_3 RIA キット “セラリュート T_3 ” の基礎的ならびに臨床的検討. 核医学 **13**: 31-38, 1976
- 16) 嘉手納成之, 鈴木邦治: 科研 T_3 RIA kit を使用した血中 Triiodothyronine (T_3) の測定—その基礎的・臨床的検討. 核医学 **13**: 505-512, 1976
- 17) 分校久志, 杉原政美, 久田欣一: レジンストリップ法によるトリヨードサイロニン・ラジオイムノアッセイキットの基礎的・臨床的検討. 核医学 **15**: 111-115, 1978
- 18) Oppenheimer JH, Squef R, Surks MI, et al: Binding of Thyroxine by Serum Proteins Evaluated by Equilibrium Dialysis and Electrophoretic Techniques. Alteration in Non-thyroidal Illness. *J. Clin Invest* **42**: 1769-1782, 1963
- 19) Woeber KA, Ingbar SH: The Contribution of Thyroxine-Binding Prealbumin to the Binding of Thyroxine in Human Serum, As Assessed by Immunoadsorption. *J. Clin Invest* **47**: 1710-1721, 1968
- 20) Hamada S, Nakagawa T, Mori T, et al: Reevaluation of Thyroxine-Binding and Free Thyroxine in Human Serum by Paper Electrophoresis and Equilibrium Dialysis and a New Free Thyroxine Index. *J. Clin Endocrinol Metab* **31**: 166-179, 1970
- 21) 中川 豊, 信田憲行, 田口光雄: コンスル T_4 RIA による血中サイロキシンの測定. 核医学16卷1号に掲載予定.
- 22) Bermudez F, Surks MI, and Oppenheimer JH: High Incidence of Decreased Serum Triiodothyronine Concentration in Patients with Nonthyroidal Disease. *J. Clin Endocrinol Metab* **41**: 27-40, 1975
- 23) Chopra IJ, Solomon DH, Chopra U, et al: Alterations in Circulating Thyroid Hormones and Thyrotropin in Hepatic Cirrhosis: Evidence for Euthyroidism Despite Subnormal Serum Triiodothyronine. *J. Clin Endocrinol Metab* **39**: 501-511, 1974
- 24) Nomura S, Pittman CS: Hypothyroidism in Liver Patients Due to Failure of the Peripheral Conversion of Thyroxine (T_4) to Triiodothyronine (T_3). *J. Clin Invest* **53**: 57a, 1974 (Abstract)
- 25) Portnay GI, O'Brian JT, Bush J, et al: The Effect of Starvation on the Concentration and Binding of Thyroxine and Triiodothyronine in Serum and the Response to TRH. *J. Clin Endocrinol Metab* **39**: 191-194, 1974
- 26) Yallow RS, Berson SA: Problems of Variadion of Radioimmunoassays, In Odell WD, and Daughaday WH eds., *Principles of Competitive Protein-Binding Assays*, J.B. Lippincott, Philadelphia, and Toronto, 1971, p. 374