

《ノート》

Triiodothyronine, Thyroxine の Radioimmunoassay

— Amerlex T₃, T₄ の基礎的・臨床的検討 —Radioimmunoassay for Triiodothyronine and Thyroxine
—Fundamental and Clinical Studies of Amerlex T₃, T₄—

吉井 弘文* 上野 助義* 矢野 恵補*

Hirobumi YOSHII, Sukeyoshi UENO, Keisuke YANO

Department of Radiology, Kumamoto University Medical School

I. はじめに

各種甲状腺疾患における血清トリヨードサイロニン (T₃) およびサイロキシン (T₄) の測定には、現在では Radioimmunoassay (RIA) が広く臨床に用いられている。^{1,2,3,4)}

著者らも、1976年より T₃, T₄ RIA PAC による測定をおこなってきた²⁾が、今回 assay 法を改良した新 Kit, Amerlex T₃, T₄ (RCC-科研) を入手、使用する機会を得、基礎的、臨床的検討をおこない、有用と思われたので報告する。

II. 対象および方法

測定の対象とした症例は、昭和54年9月以降、熊本大学医学部附属病院放射線科を受診した各種甲状腺疾患々々で、未治療および治療中の機能亢進症52例、原発性および続発性機能低下症20例、¹³¹I 治療後、機能正常となつた症例も一部含む正常者80例の計152例である。

基礎的検討は、上記症例より濃度の異なる3種類の pool 血清を作り測定に供した。臨床的検討

では、上記の症例を、T₃, T₄ RIA PAC と同時に Amerlex T₃, T₄ Kit (T₃ Kit, T₄ Kit と略す) を用いて測定し、比較検討した。

測定法は Fig. 1 に示すとおりで、T₃ Kit では、Incubation に 37°C 1 時間を、T₄ Kit は、室温 45 分を要するほかは、同様の操作である。

III. 測定結果

1. 再現性 (Table 1, 2)

各種濃度8検体について intraassay reproducibility を求めた。T₃ Kit での結果を変動係数 (CV) よりみると、高濃度 1.9%、中濃度 6.7%、低濃度 7.8% となり平均 5.5% であった。T₄ Kit では高濃度より 4.5%、3.7%、4.2% となり平均 4.1% であった。

ロットの異なる5Kitについて interassay variation を測定した。T₃ Kit での CV は高濃度 4.7%、中濃度 7.7%、低濃度 10.0% で平均 7.5%、T₄ Kit では高濃度より 5.3%、6.3%、7.1% となり平均 6.2% であった。

2. 回収率 (Table 3)

回収率は、pool 血清に、Kit 添付の標準血清3種類を加えておこなった。

その結果は、T₃ Kit で 84.2~94.7% で、平均

Key words: Triiodothyronine, Thyroxine, Radioimmunoassay

* 熊本大学医学部放射線医学教室

受付: 55年5月14日

最終稿受付: 55年7月24日

別刷請求先: 熊本市本荘 1-1-1 (☎ 860)

熊本大学医学部放射線医学教室

吉井 弘文

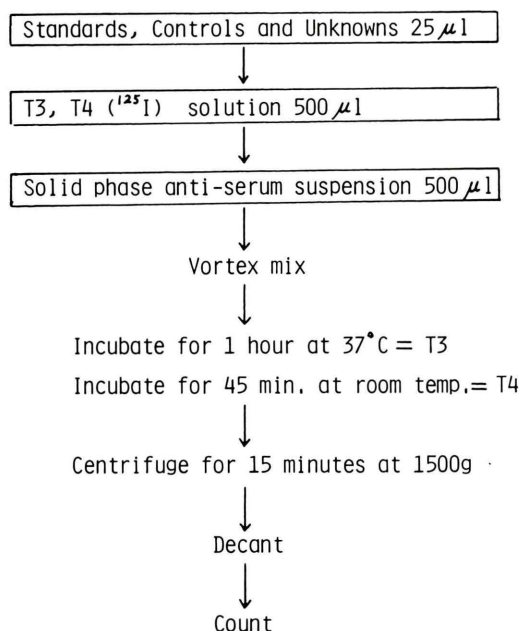


Fig. 1 Assay protocol.

Table 1 Intraassay reproducibility

	Serum	Mean \pm SD	CV (%)
T3 Kit (ng/ml)	H	5.4 \pm 0.1	1.9
	N	1.5 \pm 0.1	6.7
	L	0.9 \pm 0.07	7.8
T4 Kit (μ g/dl)	H	24.3 \pm 1.1	4.5
	N	8.2 \pm 0.3	3.7
	L	2.4 \pm 0.1	4.2

Table 2 Interassay variation

	Serum	Mean \pm SD	CV (%)
T3 Kit (ng/ml)	H	3.6 \pm 0.2	4.7
	N	1.3 \pm 0.1	7.7
	L	0.5 \pm 0.05	10.0
T4 Kit (μ g/dl)	H	16.9 \pm 0.9	5.3
	N	8.0 \pm 0.5	6.3
	L	1.4 \pm 0.1	7.1

88.3% で, 0 濃度血清添加の回収率を 100% とするならば 92.2% の回収率であった。T4 Kit では, 90.1~115.4%, 平均 100.2% の回収率であった。

3. 倍加試験 (Table 4)

Pool 血清を倍量 (50 μ l) 用いたが, その結果を

Table 3 Recovery test

	Sample	Added	Mesured	Recovery (%)
T3 Kit (ng/ml)	1.7	0	1.7	/
		0.9	2.5	88.9
		1.9	3.5	94.7
	0.6	0	0.6	/
		0.9	1.4	88.9
		1.9	2.2	84.2
T4 Kit (μ g/dl)	0.3	0	0.3	/
		0.9	1.1	88.9
		1.9	1.9	84.2
	3.4	1.3	4.8	100.7
		4.1	7.5	100
		12.2	14.4	90.1
	6.3	1.3	7.7	100
		4.1	10.3	97.6
		12.2	17.7	93.4
	13.1	1.3	14.6	115.4
		4.1	17.1	97.6
		12.2	26.1	106.6

Table 4 Addition test

	Sample	$\times 2$ (%)
T3 Kit (ng/ml)	3.4	7.0 (102.9)
	1.2	2.4 (100)
	0.5	0.9 (90.0)
T4 Kit (μ g/dl)	15.1	32.0 (105.9)
	8.0	16.4 (102.4)
	1.3	2.8 (107.7)

計算値に対する比率で示すと, T3 Kit で高濃度 102.9%, 中濃度 100%, 低濃度 90% となり, 平均 97.6% を示し, T4 Kit では高濃度より 105.9%, 102.4%, 107.7% で平均 105.3% であった。

4. 稀釈試験 (Table 5)

Pool 血清を 0 濃度の標準血清で 1/2, 1/3, 1/4 に稀釈した。結果を計算値に対する比率で求めると, T3 Kit では, 全検体が 100%, T4 Kit では 92.7~125% で平均 106.9% であった。

5. Incubation 時間の影響 (Fig. 2)

Incubation 時間は, 30分, 45分, 60分および90分について検討した。T3 Kit において, Incubation 温度 37°C で60分の規準時間に対して 30分値

Table 5 Dilution test

		(%)			
Sample		1	1/2	1/3	1/4
T3 Kit (ng/ml)	H	3.4	1.7 (100)	1.1 (100)	0.9 (100)
	N	1.2	0.6 (100)	0.4 (100)	0.3 (100)
	L	0.5	0.3 (100)	0.2 (100)	0.1 (100)
T4 Kit (μ g/dl)	H	24.3	11.9 (97.5)	8.2 (101.2)	6.5 (106.5)
	N	8.0	4.6 (115)	2.7 (100)	2.2 (110)
	L	1.3	0.8 (114.3)	0.5 (125)	0.3 (92.7)

は 0.4~0.2 ng/ml 低値を示したが、45分値では差を認めなかった。90分値では高低濃度のものが 0.1 ng/ml 低値を示した。

T4 Kit では、Incubation 温度室温 (24°C) で 45 分の規準時間に対して、30分値では、1.0~0.3 μ g/dl 低値を示したが、60, 90 分値で、高濃度のものが 0.3, 1.3 μ g/dl 高値を示し、中低濃度のものは、0.7~0.2 μ g/dl 低値を示した。

また、各時間における標準曲線を Total count に対する結合率 (B/T) でみると、Fig. 2 に示すように、T3, T4 Kit いずれの場合にも時間の短縮につれて、低濃度の結合率が下降する傾向を示した。

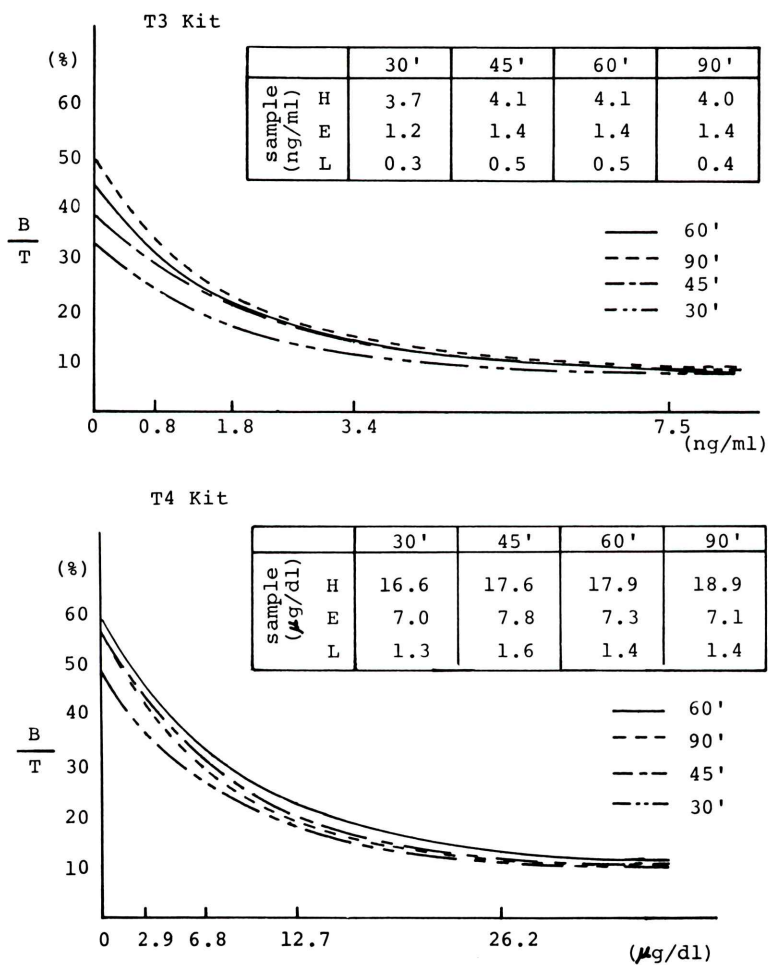


Fig. 2 Effect of incubation time.

6. Incubation 温度の影響 (Fig. 3)

Incubation 温度は, T₃ Kit においては, 24°C, 37°C, 45°C について検討した. T₃ Kit は, Incubation 時間60分で 37°C を規準温度としているが, 24°C で高濃度のものが 0.3 ng/ml 低値を示したがその他の濃度では, 24°C, 45°C 共に 0.1 ng/ml の差を示すのみであった.

T₄ Kit では, 10°C, 24°C, 37°C において検討したが, Incubation 時間45分で規準温度である室温(24°C)に比して, 37°C の低濃度のものは差を認めなかったが, 10°C, 37°C のいずれにおいても 0.7~0.2 µg/dl 高値を示した.

また, 各温度における標準曲線を Total count

に対する結合率(B/T)でみると, Fig. 3 に示すように, T₃ Kit は, 温度が低下し, 標準血清が低濃度になるに従って, 結合率(B/T)も低下する傾向を示したが, T₄ Kit では温度が低下するにつれて, 全体的に結合率(B/T)が低下する傾向を示した.

7. 臨床例 (Table 6)

152 例の正常例および各種甲状腺疾患における測定値をみると, T₃ Kit で, 機能亢進症 52 例は 2.3~7.7 ng/ml の範囲に分布し, 平均値は 4.0 ± 1.7 ng/ml, 80 例の正常例では 0.8~2.3 ng/ml で平均 1.5 ± 0.3 ng/ml, 機能低下症は, 0.1~0.9 ng/ml で 0.5 ± 0.2 ng/ml の平均値を示した.

T₄ Kit では, 機能亢進症52例で14.1~32.0 µg/dl

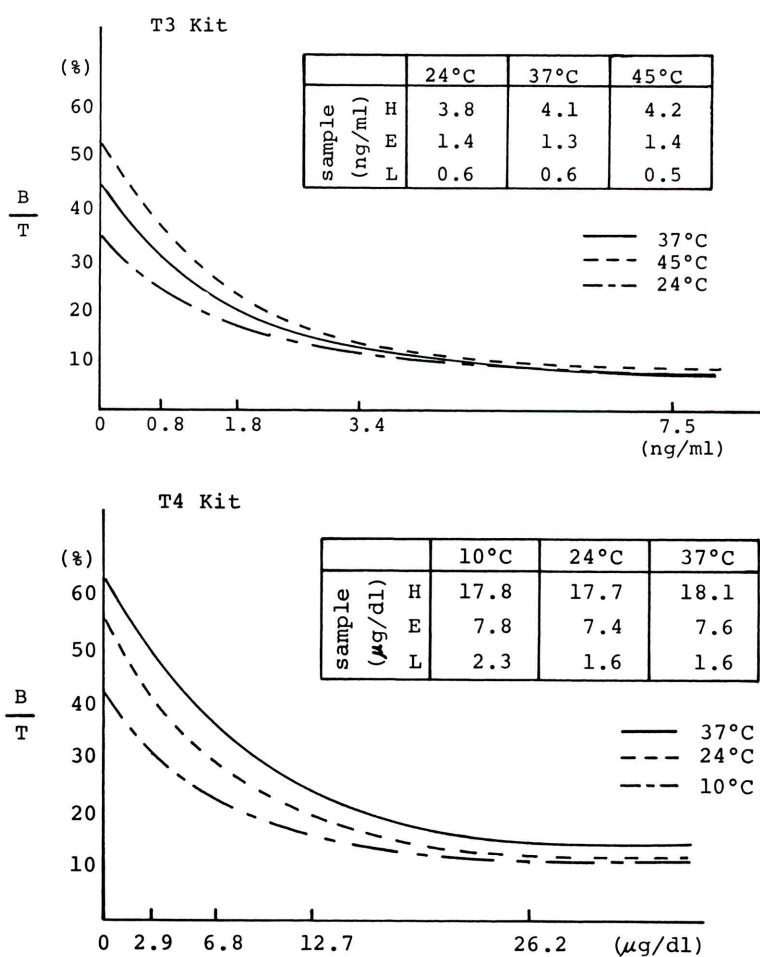


Fig. 3 Effect of incubation temp.

Table 6 T₃, T₄ levels of various thyroid status

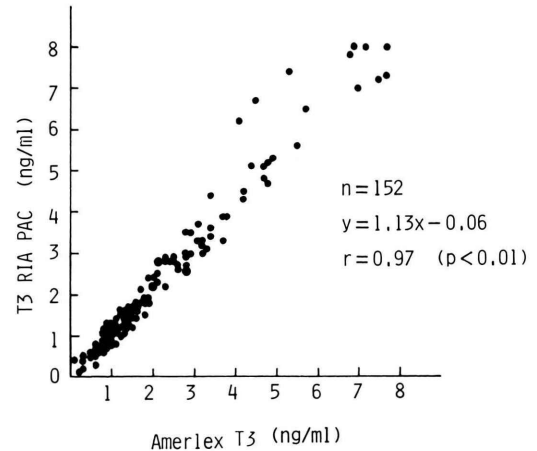
		No. of cases	Range	Mean \pm SD
T ₃ Kit (ng/ml)	Hyper.	52	2.3~ 7.7	4.0 \pm 1.7
	Eu.	80	0.8~ 2.3	1.5 \pm 0.3
	Hypo.	20	0.1~0.9	0.5 \pm 0.2
T ₄ Kit (μ g/dl)	Hyper.	52	14.1~32.0	21.7 \pm 6.3
	Eu.	80	4.9~12.2	8.4 \pm 1.9
	Hypo.	20	0.6~ 4.8	2.5 \pm 1.1

に分布し、平均値は $21.7 \pm 6.3 \mu\text{g/dl}$ 、80 例の正常例は $4.9 \sim 12.2 \mu\text{g/dl}$ で平均値 $8.4 \pm 1.9 \mu\text{g/dl}$ 、機能低下症では $0.6 \sim 4.8 \mu\text{g/dl}$ で、 $2.5 \pm 1.1 \mu\text{g/dl}$ の平均値を示した。

8. 他 Kit との相関 (Fig. 4, 5)

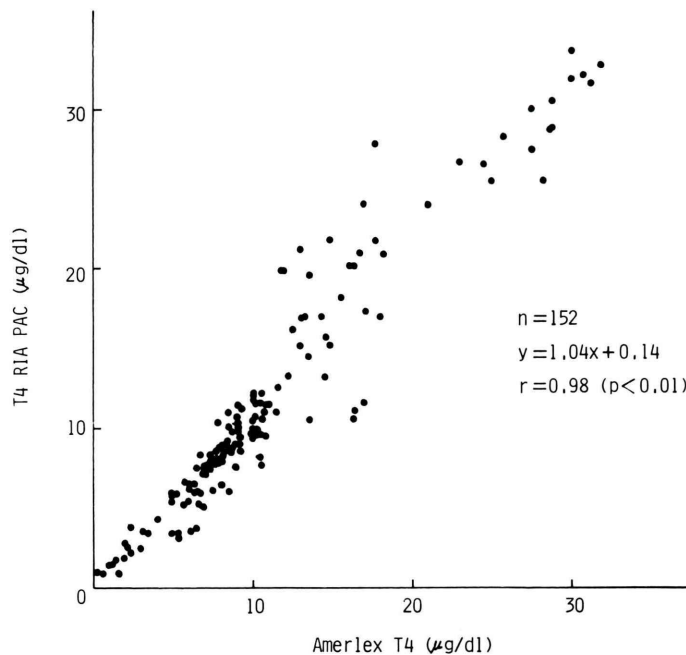
各種甲状腺機能 152 例を用いて、本 Kit と他 Kit (T₃, T₄ RIA PAC) による測定値との相関を見ると、T₃ では、相関係数 0.97、回帰式 $y = 1.13x - 0.06$ となり、全体的には、T₃ RIA PAC より、わずかに低値を示した。

T₄ では、相関係数 0.98、回帰式 $y = 1.04x + 0.14$ で、T₄ RIA PAC よりいく分低値を示した。

**Fig. 4** Correlation between T₃ RIA Kit and T₃ RIA PAC.

IV. 考 案

甲状腺ホルモンの RIA Kit は、すでに臨床検査法として広く用いられ、現在は assay 時間の短縮、操作法の簡略化を計る方向で Kit の改良がすすめられている^{7,8)}。従来の T₃, T₄ RIA PAC Kit

**Fig. 5** Correlation between T₄ RIA Kit and RIA PAC.

は、Incubation 終了後 B.F 分離に1時間を要していたし、T₃, T₄ RIA PAC PEG は、PEG の添加操作があった。

新たに開発された Amerlex T₃, T₄ Kit は、B.F 分離にラテックス粒子を用い、これに、抗 T₃ あるいは T₄ 抗体を coating しているため、B.F 分離剤の添加が省略され、T₃, T₄ RIA PAC において、吸着剤添加後1時間を要していた分離時間も不要となり、さらに、沈降物を計測するため、assay tube と測定 tube が同一であることが利点である。

Kit による測定値の精度、安定度を変動係数によりみると、intraassay reproducibility は、T₃ Kit では低濃度になるにつれて、いく分 CV 値が高くなる傾向は示したが、平均で 5.5% となり、T₄ Kit では濃度差による CV に差はなく、平均 4.1% と良好で従来の Kit と同様の値^{3,4)}を示した。interassay variation は、T₃, T₄ Kit 共に低濃度になるにつれて CV 値が高くなる傾向を示したが、平均値では、T₃ Kit 7.5%, T₄ Kit で 6.2% となり、他 Kit^{2,5,6,9)}に比してかなり良好な値を示した。

倍加試験での測定値は、T₃, T₄ Kit 共に10%以下のばらつきを示すに止まり、低濃度血清の測定に有用と思われる。稀釈試験では各濃度のものを1/4 倍までおこなったが、T₃ Kit では、全測定100%と非常に良好であった。これに対して T₄ Kit では、低濃度のものに、25%のばらつきをみたが、高濃度のものは 6.5% 以下に止まり、临床上はほとんどさしつかえないものと思われる。

回収率は、T₃ Kit で平均 92.2%, T₄ Kit で平均 100.2% となり、T₄ Kit の方が良好であった。

Incubation 時間は、T₃ Kit は、45~90 分では差異を認めなかったが、T₄ Kit では30, 90 分の測定値にばらつきが認められ、45~60分が妥当な時間と思われる。

Incubation 温度の影響は、T₃ Kit では、24°C, 45°C を 37°C と比較しても測定値に大差を認めず T₄ Kit でも、24°C に比して、10°C で低濃度血清がいく分高値を示したが、その他の 10°C, 37°C では、ほとんど差異を認めなかった。T₃, T₄ Kit

いずれも大幅な温度設定が許されるものと思われる。

臨床例において、正常値は、T₃ Kit で、 1.5 ± 0.3 ng/ml であったが、これより 2SD をとれば、 $0.9 \sim 2.1$ ng/ml が正常値域となり、T₃ RIA PAC と一致した値が得られた。T₄ Kit における正常値は、 8.4 ± 1.9 μ g/dl で、これより 2SD をとれば、 $4.6 \sim 12.2$ μ g/dl が正常値域となり、T₄ RIA PAC より、上限がいく分低値を示した。また、T₃, T₄ RIA PAC との相関はそれぞれ、相関係数 0.97, 0.98で、他 Kit^{3,4,5,6)}に比して良好であった。

以上のことより Amerlex T₃, T₄ Kit による測定法は、操作過程が、簡便で、よく甲状腺機能を示す有用な Kit と思われる。

V. 結 語

Amerlex T₃, T₄ Kit による Triiodothyronine および Thyroxine の測定につき基礎的臨床的検討をおこなった。

両 Kit 共、再現性、倍加および回収率試験は良好であったが、T₄ Kit の稀釈試験において、低濃度のものにばらつきが認められた。

Incubation 時間、温度の設定は、厳密にする必要はなさそうである。

T₃ Kit の正常値は $0.9 \sim 2.1$ ng/ml, T₄ Kit は $4.6 \sim 12.2$ μ g/dl であった。T₃, T₄ RIA PAC による測定法との相関係数は、それぞれ、0.97, 0.98 であった。

本論文の要旨は、第15回日本核医学会九州地方会において発表した。測定に協力いただいた岩崎和子嬢に感謝します。

文 献

- 1) 木下文雄, 前川 全, 里和スミエ, 他: Radioimmunoassay による Triiodothyronine の測定. 臨放 21: 673-680, 1976
- 2) 吉井弘文, 福井康太郎, 片山健志, 他: T₄ リアパックによるサイロキシンの測定. Radioisotopes 26: 53-56, 1977
- 3) 小西淳二, 中島言子, 遠藤啓吾, 他: 血中 T₃ の Radioimmunoassay. ホルモンと臨床 27: 231-236, 1979

- 4) 満間照典, 広岡良文, 仁瓶礼之: トリヨードサイロニンのラジオイムノアッセイ, ホルモンと臨床 **22**: 557-562, 1974
- 5) 坂本 治, 佐野博昭, 木村栄司: T₄ PEG リアパックによる血中 T₄ 濃度測定の基礎的, 臨床的検討. 核医学 **15**: 599-603, 1978
- 6) 笠間 純, 進藤俊彦, 大石正雄, 他: T₄ リアキットの基礎的検討. Radioisotopes **25**: 27-30, 1976
- 7) 満間照典, 野木森剛: 固相法を用いたサイロキシンの radioimmunoassay 法. 核医学 **17**: 103-108, 1980
- 8) 平野忠則, 信田憲行, 中川 毅, 他: スパック T₄ RIA キットによる血中サイロキシンの測定法の検討. 核医学 **16**: 943-951, 1979
- 9) 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