

《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者で、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 5 Kit 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

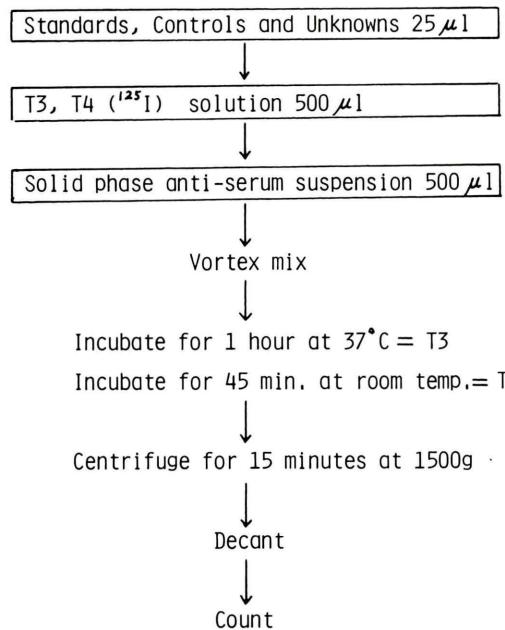


Fig. 1 Assay protocol.

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 (μg/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 (μg/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	Measured	Recovery (%)
T3 Kit (ng/ml)	0	1.7		/
	1.7	0.9	2.5	88.9
		1.9	3.5	94.7
	0	0.6		/
	0.6	0.9	1.4	88.9
		1.9	2.2	84.2
T4 Kit (μg/dl)	0	0.3		/
	0.3	0.9	1.1	88.9
		1.9	1.9	84.2
	1.3	4.8		100.7
	3.4	4.1	7.5	100
		12.2	14.4	90.1
	1.3	7.7		100
	6.3	4.1	10.3	97.6
		12.2	17.7	93.4
	1.3	14.6		115.4
	13.1	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 (μg/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分の標準時間に対して 30分値

Table 5 Dilution test

(%)

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

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。

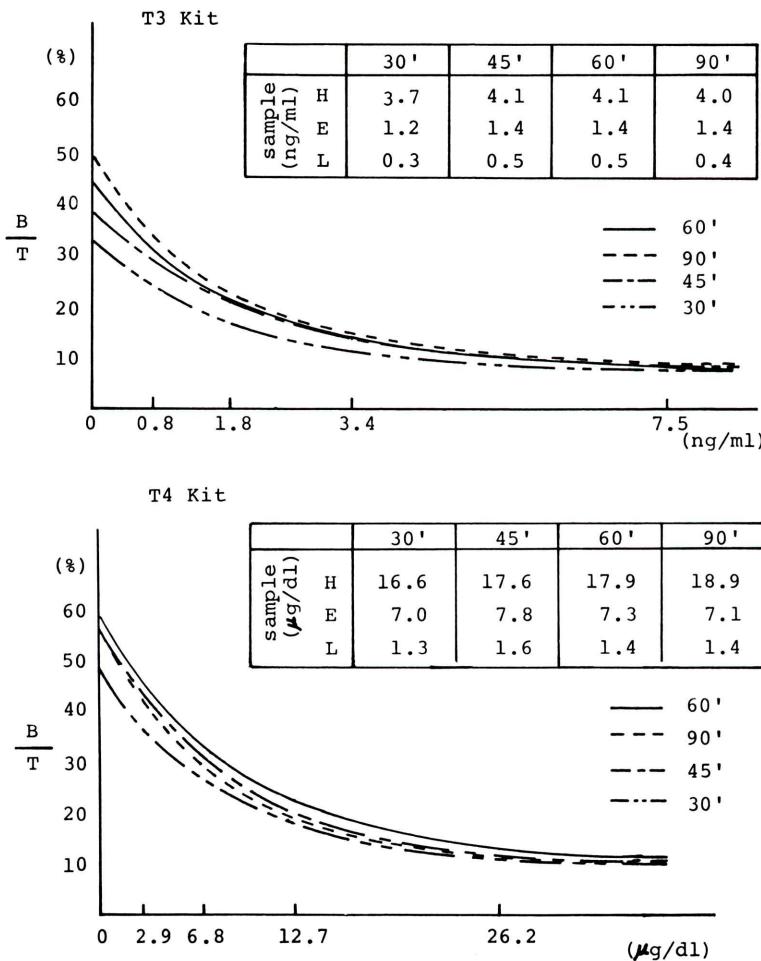


Fig. 2 Effect of incubation time.

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を標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分で標準温度である室温(24°C)に比して、37°Cの低濃度のものは差を認めなかつたが、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つて、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

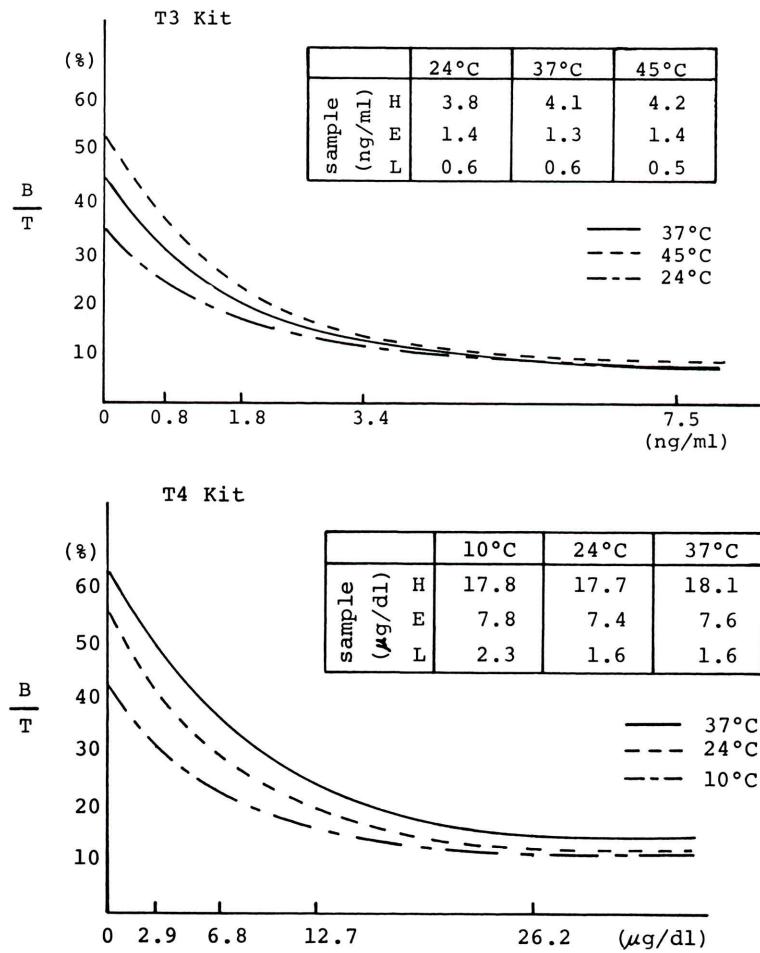


Fig. 3 Effect of incubation temp.

Table 6 T3, T4 levels of various thyroid status

		No. of cases	Range	Mean \pm SD
T3 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
T4 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みると、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 よりいくぶん低値を示した。

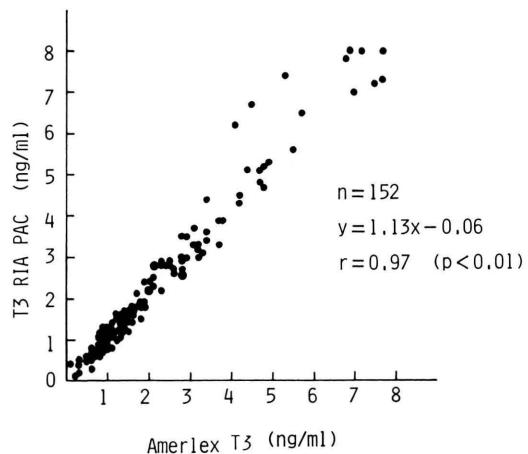


Fig. 4 Correlation between T3 RIA Kit and T3 RIA PAC.

IV. 考 素

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

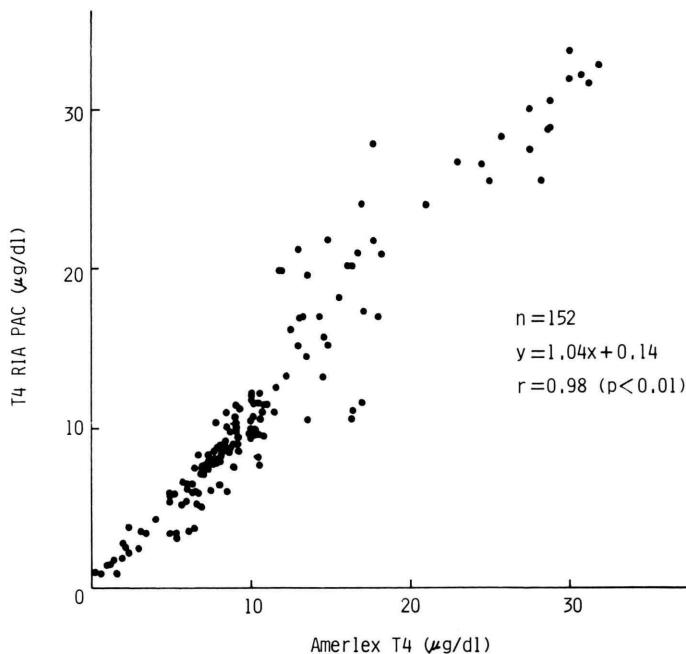


Fig. 5 Correlation between T4 RIA Kit and RIA PAC.

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

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 に差ではなく、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%以下のは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 倍までおこなつたが、T₃ Kit では、全測定 100% と非常に良好であつた。これに対して T₄ Kit では、低濃度のものに、25% のはらつきをみたが、高濃度のものは 6.5% 以下に止まり、臨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つたが、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つた。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 であつたが、これより 2SD をとれば、0.9~2.1 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 μg/dl で、これより 2SD をとれば、4.6~12.2 μg/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)}に比して良好であつた。

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つた。

両 Kit 共、再現性、倍加および回収率試験は良好であつたが、T₄ Kit の稀釈試験において、低濃度のものには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 0.9~2.1 ng/ml, T₄ Kit は 4.6~12.2 μg/dl であつた。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 であつた。

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様に感謝します。

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 radioimmunoassay 法. 核医学 **17**: 103-108, 1980
- 8) 平野忠則, 信田憲行, 中川 純, 他: スパック T₄ RIA キットによる血中サイロキシン測定法の検討. 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