

《ノート》

アマレックスフリー T₃ RIA Kit の使用経験Studies on the Measurement of Serum Free Triiodothyronine
with Amerlex Free T₃ RIA Kit

白石 弘子* 荻野 尚* 北方 勇輔* 今関 恵子**
間宮 敏雄** 宇野 公一** 有水 昇**

Hiroko SHIRAISHI*, Takashi OGINO*, Yusuke KITAKATA*, Keiko IMAZEKI**,
Toshio MAMIYA**, Kimiichi UNO** and Noboru ARIMIZU**

*Kimitsu Central Hospital

**Department of Radiology, Chiba University School of Medicine

I. 緒 言

血中のサイロキシン (T₄), トリヨードサイロニン (T₃) は, 血中の結合タンパクに結合した型と遊離型の 2 つの型で血中に存在し体内を循環している. このうち遊離型がホルモンとしての生理学的作用を示すものと考えられており, その濃度の直接測定に最も関心が寄せられている. 一般に結合型と遊離型は平衡状態にあり, 全ホルモン量に対して遊離型の占める割合はきわめて少ないため^{1,2)}, 臨床的に有用な測定法がみつからなかった.

最近遊離サイロキシン (以下 FT₄ と略す) については, 測定用キットが次々に開発され, 臨床的にも利用されるようになった³⁾. 遊離トリヨードサイロニン (以下 FT₃ と略す) については, 平衡透析法やカラムクロマトグラフィーなどが行われているが, 手技が煩雑であり, 一度に多数の検体を処理することが困難なため, 日常の臨床検査法

として用いられるには至っていない.

今回, われわれは高分子ポリマー (アマレックス粒子) に抗 T₃ 抗体を塗布し, ¹²⁵I-T₃ 誘導体を用いたキット (アマレックスフリー T₃ RIA Kit) を検討する機会を得たので報告する.

II. 対象および方法

1. 対 象

21~50 歳の健常人ボランティア 47 例 (男性 22 例, 女性 25 例) と, 君津中央病院および千葉大病院放射線科を受診した甲状腺疾患患者 91 例の計 138 例を対象とした.

健常ボランティアは FT₄ 値と TSH 値とからいずれも正常甲状腺機能を有すると考えられたものであり, 甲状腺疾患患者 91 例の内訳は, 甲状腺機能亢進症 27 例, 甲状腺機能低下症 10 例, 甲状腺機能正常者 54 例 (単純性甲状腺腫 7 例, 結節性甲状腺腫 13 例, 服薬を中止しても機能正常を維持している甲状腺機能亢進症患者 7 例, 亜急性甲状腺炎 1 例その他甲状腺以外の疾患 2 例を含む) である.

2. 方 法

アマレックスフリー T₃ RIA Kit は, 標準血清

Key words: Free triiodothyronine, Radioimmunoassay, Amerlex Free T₃ RIA Kit.

* 君津中央病院

** 千葉大学医学部放射線科

受付: 59 年 4 月 17 日

最終稿受付: 59 年 6 月 20 日

別刷請求先: 木更津市桜井 1010 (☎292)

君津中央病院放射線科

白 石 弘 子

7 水準 (FT₃ 含有量: 約: 0, 0.5, 1.5, 3, 7, 12, 25 pg/ml), ¹²⁵I-T₃ 誘導体液 (赤色), アマレックス抗 T₃ 血清懸濁液 (青色) より構成されている。測定は, キットの使用説明書に従って行った (Fig. 1)。

III. 結 果

1. 精度および再現性

1) Intra-assay variation (Table 1)

Table 1 に示したごとく, 高中低濃度の各検体について Intra-assay variation を検討した。変動係数 3.97~8.29% と良好な結果が得られた。

2) Inter-assay variation (Table 2)

Table 2 に, コントロール血清(サイトロール)と3種類のプール血清を異なるロット間で測定した結果を示した。コントロール血清では, 変動係数 3.51~12.9%, プール血清では, 6.64~17.8% とほぼ満足しうる結果を得た。

2. インキュベーション時間と温度

1) インキュベーション時間の影響

インキュベーション時間の標準曲線に及ぼす影

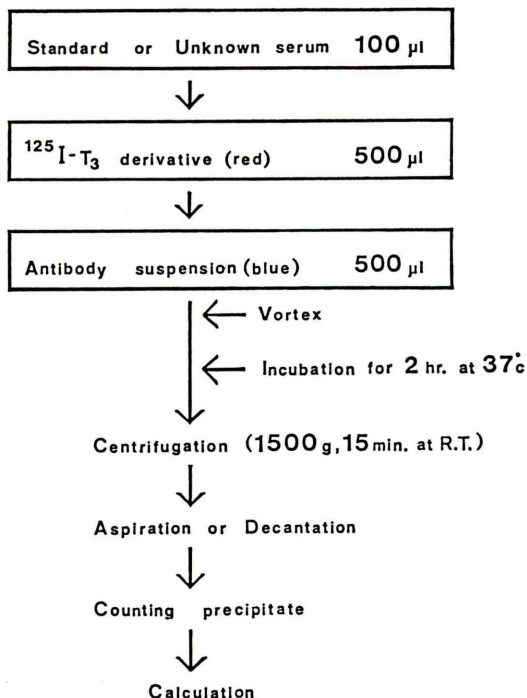


Fig. 1 Protocol of Amerlex Free T₃ RIA Kit.

Table 1 Intra-assay

	Serum A	Serum B	Serum C
1	2.33	3.47	12.2
2	2.39	3.63	11.8
3	2.70	3.90	11.4
4	2.69	3.87	12.3
5	2.14	3.72	12.0
6	2.74	3.56	11.8
7	2.33	3.74	11.8
8	2.61	3.71	12.6
9	2.48	3.48	12.9
10	2.30	3.70	12.6
Mean	2.47	3.68	12.1
S.D.	0.20	0.15	0.48
C.V. (%)	8.29	3.97	4.00

(pg/ml)

Table 2 Inter-assay

i) Control serum

	Control 1	Control 2	Control 3
1	0.96	3.28	7.99
2	1.01	2.96	7.55
3	0.89	3.04	7.62
4	0.80	2.89	8.02
5	0.80	3.39	7.83
6	0.86	2.75	7.70
7	0.87	2.96	7.61
8	0.65	2.77	7.11
Mean	0.86	3.01	7.67
S.D.	0.11	0.23	0.27
C.V. (%)	12.9	7.57	3.51

(pg/ml)

ii) Pool serum

	Serum L	Serum M	Serum H
1	2.33	4.09	15.0
2	1.90	5.66	13.4
3	1.95	4.19	14.2
4	2.00	3.33	12.5
5	2.41	4.71	14.2
6	1.89	4.18	14.8
Mean	2.08	4.36	14.0
S.D.	0.23	0.78	0.93
C.V. (%)	11.0	17.8	6.64

(pg/ml)

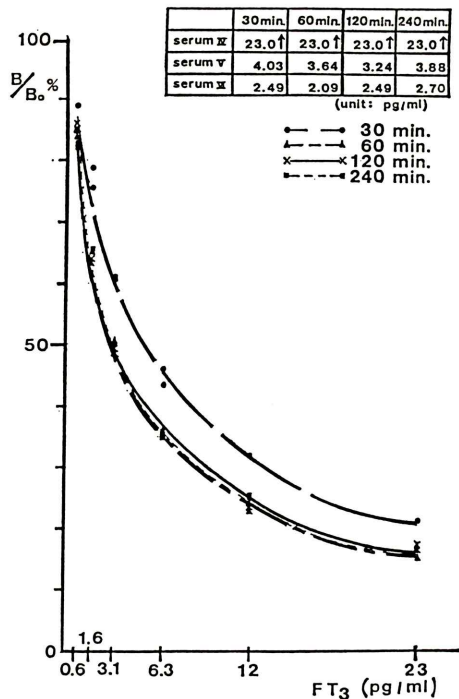


Fig. 2 Effect of incubation time at 37°C on standard curve.

響を検討するために、37°Cで30分、60分、120分、240分と変化させ、測定した結果をFig. 2に示した。30分でB/B₀%が高値を示したのみで、標準曲線の傾斜は変わらず、血清の実測値の差異は約20%以下であり、インキュベーション時間による影響は比較的少ないと考えられた。

2) インキュベーション温度の影響

インキュベーション時間を120分と固定し、5°C、25°C、37°C、45°Cと変化させた場合の標準曲線に対する影響をみた (Fig. 3)。5°Cでは標準曲線の傾斜が小さく25~45°Cではほぼ同様の傾きであった。しかし血清の実測値の差異は、25~45°Cでは約20%以下であるが、5~45°Cでは約40%と増加し、インキュベーション温度の影響は大きかった。

3. 各種甲状腺ホルモン値とFT₃値との相関

1) FT₄値との相関 (Fig. 4)

アマレックスフリー T₄ RIA Kit を用いて測定

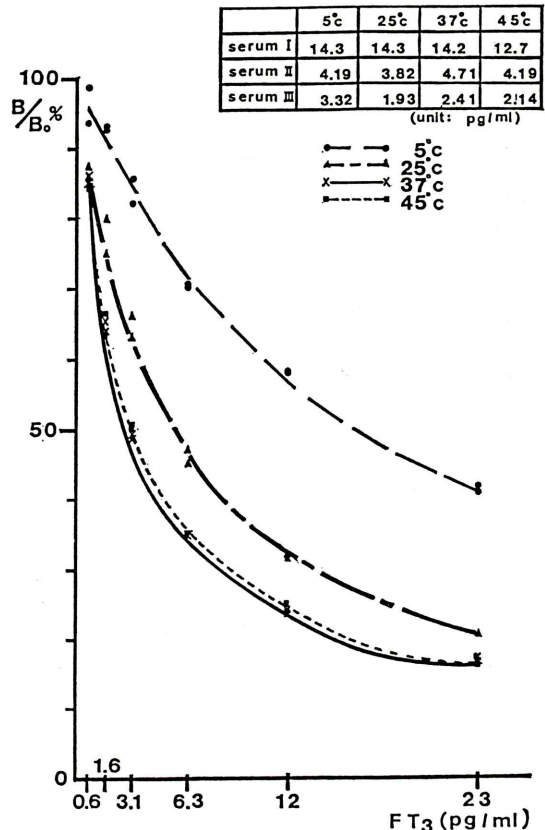


Fig. 3 Effect of incubation temperature on standard curve.

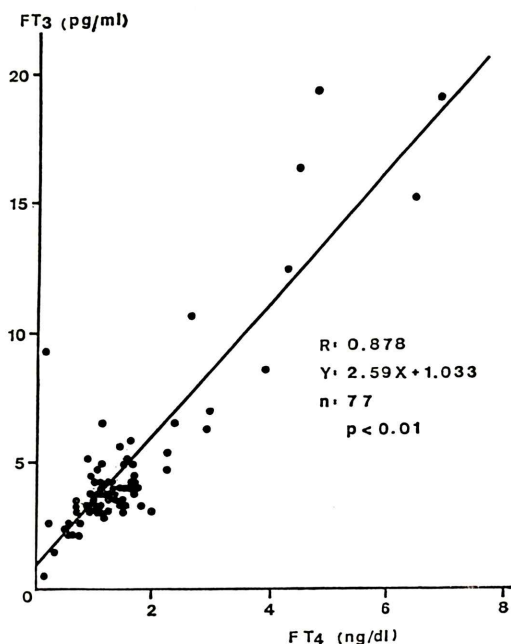
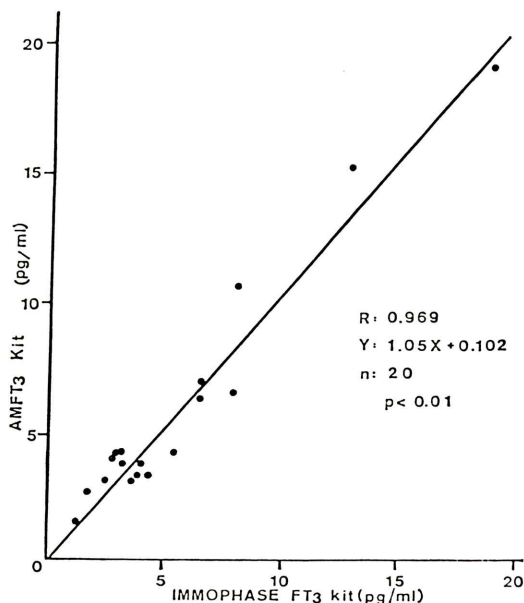
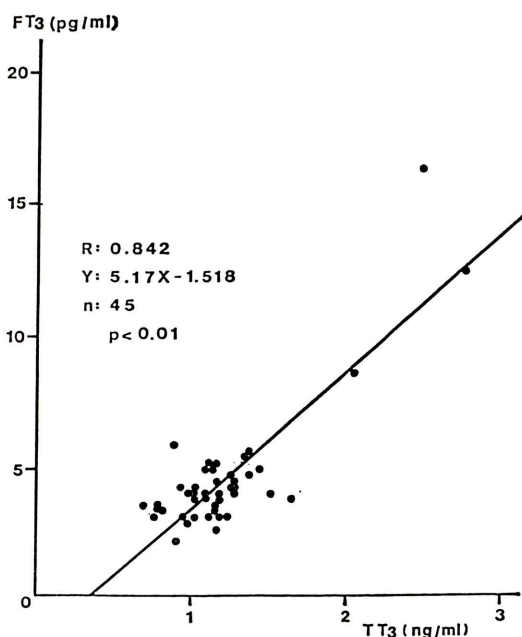
したFT₄値との相関を検討した。対象はすべて未治療の甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症および甲状腺機能正常者の総計77例で、相関係数 $r=0.878$ ($p<0.01$)と有意の相関を認めた。

2) 総トリヨードサイロニン値との相関 (Fig. 5)

アマレックス T₃ RIA キットで測定した総トリヨードサイロニン (以下TT₃と略す) 値とFT₃値の間には、測定し得た45例 (内訳は、未治療の甲状腺機能亢進症4例、未治療の甲状腺機能低下症5例、不投薬甲状腺機能正常者36例である) を対象とした結果、 $r=0.842$ ($p<0.01$)と有意の相関が認められた。

3) Free T₃ index (T₃/TBG) とFT₃値との相関 (Fig. 8)

FT₃値とT₃/TBG ratioとの間には、24例 (内

Fig. 4 Correlation between free T₄ and free T₃.Fig. 6 Correlation of AM. FT₃ values with IMMOPHASE FT₃ values.Fig. 5 Correlation between total T₃ and free T₃.

訳は、未治療の甲状腺機能亢進症 4 例、未治療の甲状腺機能低下症 6 例、不投薬甲状腺機能正常者 14 例である) を対象とした結果、 $r=0.937$ ($p < 0.01$) と良好な正相関が認められた。なお T₃/TBG ratio は TT₃ (ng/dl) と TBG (μ g/ml) の比より算出した。

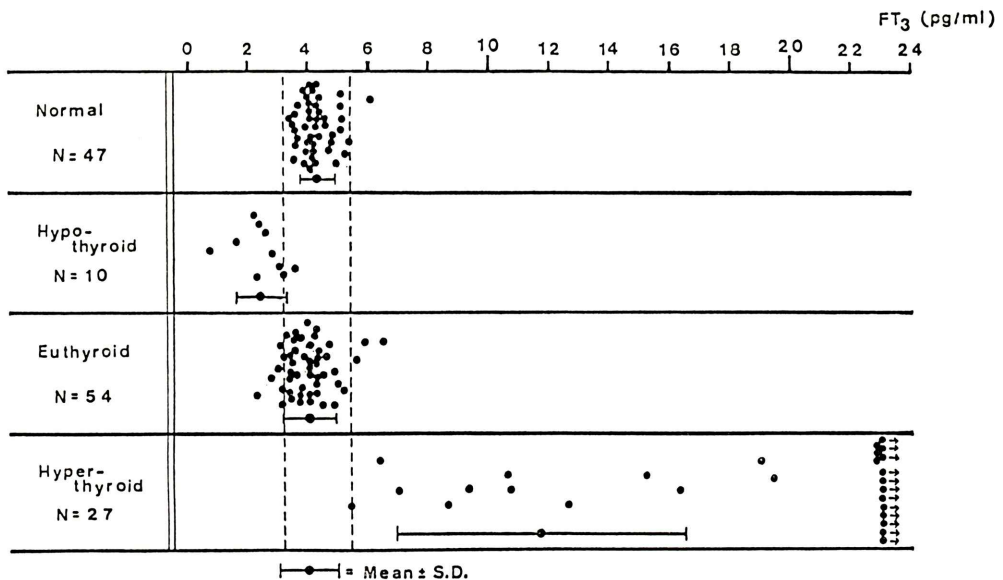
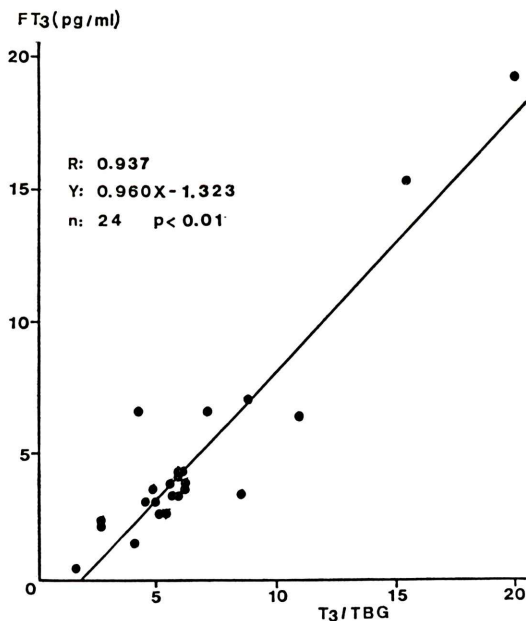
4) コーニング社製 IMMOPHASE FT₃ RIA キットによる FT₃ 値との相関 (Fig. 6)

原理の異なる RIA キットであるコーニング社製 IMMOPHASE FT₃ RIA キットによる FT₃ 値とは、20 例 (内訳は、未治療機能亢進症 5 例、未治療機能低下症 2 例、不投薬甲状腺機能正常者 13 例である) を対象とした結果 $r=0.969$, $y=1.05x+0.102$ となり、両者はほぼ一致した。

4. 臨床的検討

1) FT₃ 正常値

当院職員の 21 歳～50 歳までの男性 22 名、23 歳～46 歳までの女性 25 名の計 47 名の健常者ボランティアについて、FT₃ 値を測定した。全例での平均値は、 4.31 ± 0.56 pg/ml (Mean \pm S.D.) で、

Fig. 7 Serum free T₃ values in various thyroid status.Fig. 8 Correlation between free T₃ and T₃/TBG ratio.

男性では 4.64 ± 0.56 pg/ml, 女性では 4.02 ± 0.37 pg/ml と男性でやや高値となり, 両者間には危険率 1% 以下で有意差が認められた。

2) 各種甲状腺機能状態における FT₃ 値

未治療甲状腺機能亢進症 27 例のうち, 測定上限値 (23.0 pg/ml) を越える値を示した 15 例を除く 12 例の測定値は, 11.7 ± 4.81 pg/ml であり, 正常範囲から明らかに分離して高値を示した。

未治療甲状腺機能低下症 10 例の測定値は 2.45 ± 0.86 pg/ml であり, 正常者と一部重複が認められた。

甲状腺機能正常者 54 例の測定値は 4.03 ± 0.87 pg/ml であり, 健常人ボランティアとの差異は見られなかった。

IV. 考 察

高分子ポリマーを用いて直接 FT₃ を測定できるアマレックスフリー T₃ RIA キットを用いて 2, 3 の検討を行った。

本キットの再現性は, intra-assay で変動係数 8.29 % 以下, inter-assay で 1 例を除き 12.9 % 以下と満足すべき結果であった。

インキュベーション時間を変えた場合, 標準曲線の傾斜は変わらず, 血清の実測値の差異は 20 % 以下であり, 時間による影響は比較的少ないと考えられる。しかしインキュベーション温度を変え

た場合では、5°C では標準曲線の傾きが小さく、37°C を基準とした場合の低濃度における実測値の差異は 37.8 % と増加し、温度の影響は大きいと考えられる。

各種甲状腺機能検査と本キットによる FT₃ 値との相関関係は、TT₃ 値と $r=0.842$ と有意に高い相関が認められ、FT₄ 値とも $r=0.878$ と良好に相関したが、FT₄ 低値で FT₃ 高値を示した T₃ toxicosis の 1 例において相関しなかった。T₃/TBG ratio も FT₃ と $Y=0.937$ と良好な正相関が認められた。原理の異なる FT₃ RIA キットである IMMOPHASE 法に対しては、20 例で $r=0.969$, $y=1.05x+0.102$ と高い相関を示した。

われわれが測定した健常人ボランティア 47 例は、いずれも FT₄, TSH が正常値を示し、肝機能検査、その他の生化学検査で異常を認めなかったものである。これらの FT₃ 値は全例で 4.31 ± 0.56 (Mean \pm S.D.) pg/ml を示し、吉井ら⁴⁾の報告とほぼ一致し、Rennisi ら⁵⁾の Sephadex カラムクロマトグラフィーによる正常値 3.9 ± 0.7 pg/ml に類似するものであった。一方、男性 22 例では 4.64 ± 0.56 pg/ml と女性 25 例の 4.02 ± 0.37 pg/ml より危険率 1% 以下で有意に高い値を示した。正常範囲を Mean \pm 2 S.D. とすると、3.19~5.43 pg/ml となる。未治療甲状腺機能亢進者は 1 例を除いてすべて 6.35 pg/ml 以上を示し、正常範囲からの分離は明確であった。未治療甲状腺機能低下者中の 2 例は FT₃ 値正常であり、これらの TSH 値はいずれも $17.7 \mu\text{U/ml}$ 以上の高値であった。機能低下者における FT₃ 値が一部正常域と重複したことは、諸家の報告^{4,6)}と一致しており、軽症

の機能低下症においては、FT₃ 値のみで機能低下を判断することはむずかしいと考える。

V. 結 論

アマシヤム社製アマレックスフリー T₃ RIA キットを用いて、基礎的ならびに臨床的検討を行った。本法は従来の方と比べて操作が簡便で、再現性も良好であることより、日常の臨床検査法として大いに役立つと思われる。

キットを提供していただいたアマシヤム薬品に深謝します。

文 献

- 1) Ekins, RP: Methods for measurement of free thyroid hormones, pp. 72-92 in Free thyroid hormones. Proceedings of the International symposium held in Venice December 1978, edited by R. Ekins, G. Faglia, F. Pennisi and A. Pinchera. Amsterdam, Excerpta Media, 1979, 298 pp.
- 2) Ross, HA: Symmetric and equilibrium dialysis for the measurement of free iodothyronine and steroid hormones in blood. Ph D Thesis, Catholic University of Nijmegen, April 1980.
- 3) 吉井弘文, 富口静二, 高木善和, 他: “アマレックスフリー T₃ リアキットによる遊離トリヨードサイロニンの測定”. RADIOISOTOPES 32: 637-640, 1983
- 4) Pennisi F, Romelli PB, Vancheni L: Measurement of free thyroid hormones in serum by column adsorption chromatography and radio-immunoassay. In Free thyroid hormones edited by Ekins R, Faglia G, Pennisi F, Pinchera A. 1979, pp. 93-102
- 5) 原田裕美子, 坪井久美子, 関東 繁, 他: “IMMOPHASE F-T₃ RIA キットの基礎的ならびに臨床的検討”. ホルモンと臨床 31: 801-808, 1983