

《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* 萩野 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つた。

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T₃RIA 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値とからいざ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T₃RIA 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 (番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

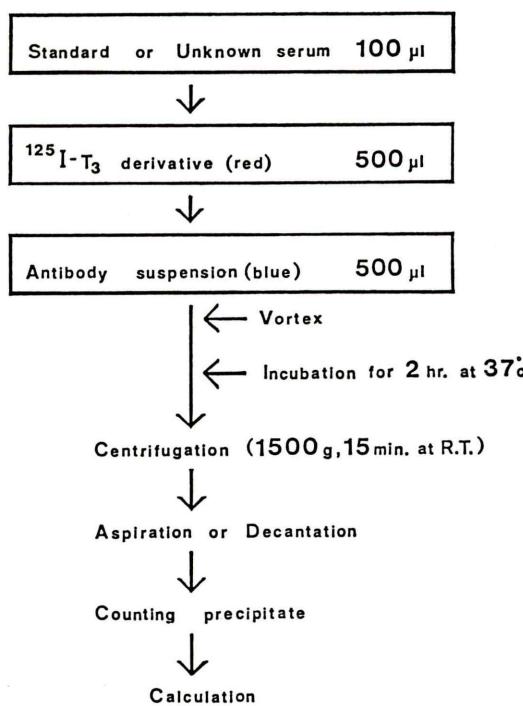


Fig. 1 Protocol of Amerlex Free T₃ RIA Kit.

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)

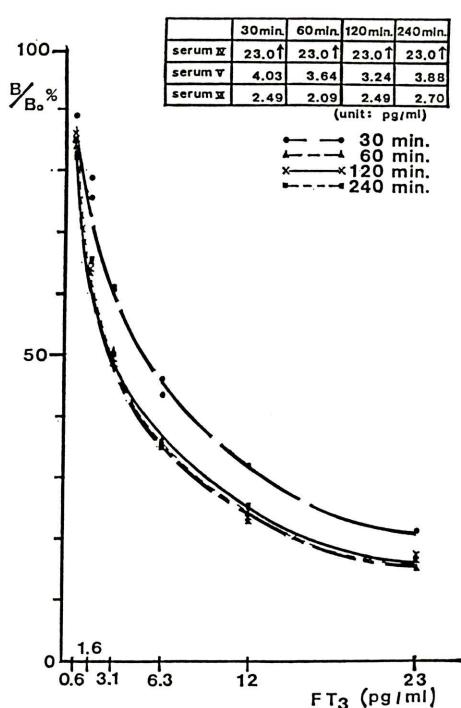


Fig. 2 Effect of incubation time at 37°C on standard curve.

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

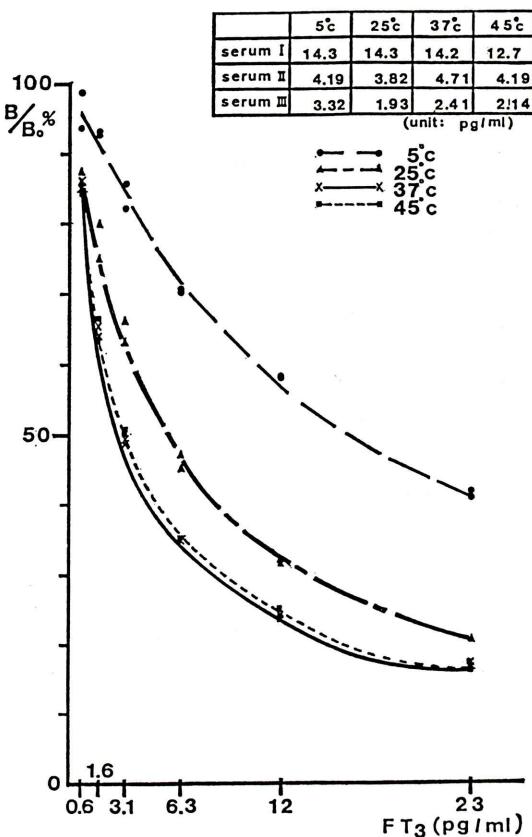


Fig. 3 Effect of incubation temperature on standard curve.

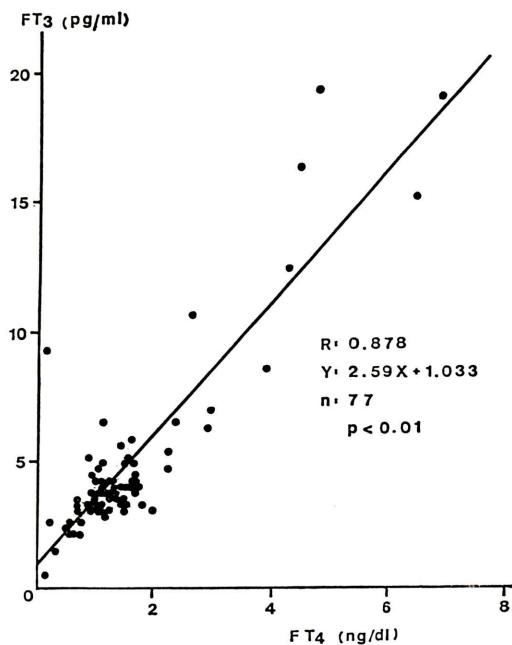
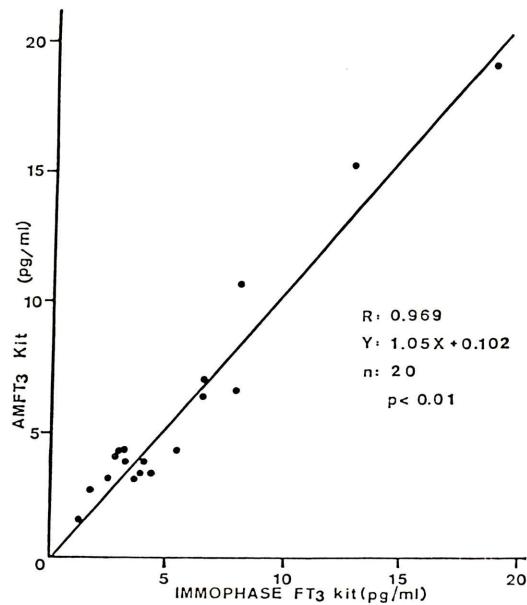
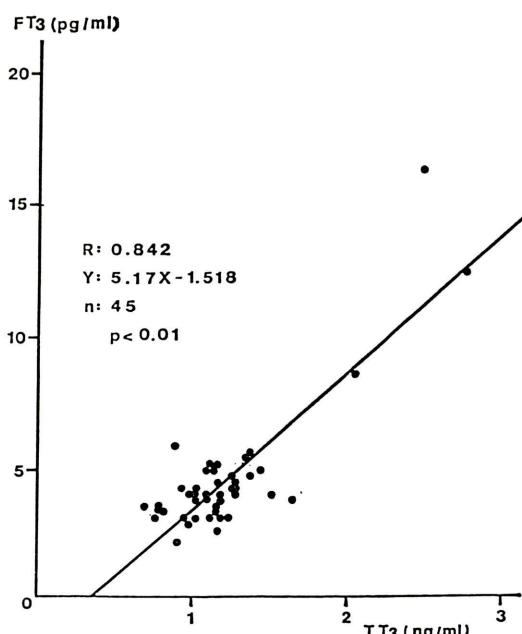
したFT₄値との相関を検討した。対象はすべて未治療の甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症および甲状腺機能正常者の総計77例で、相関係数r=0.878(p<0.01)と有意の相関を認めた。

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値との間には、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。

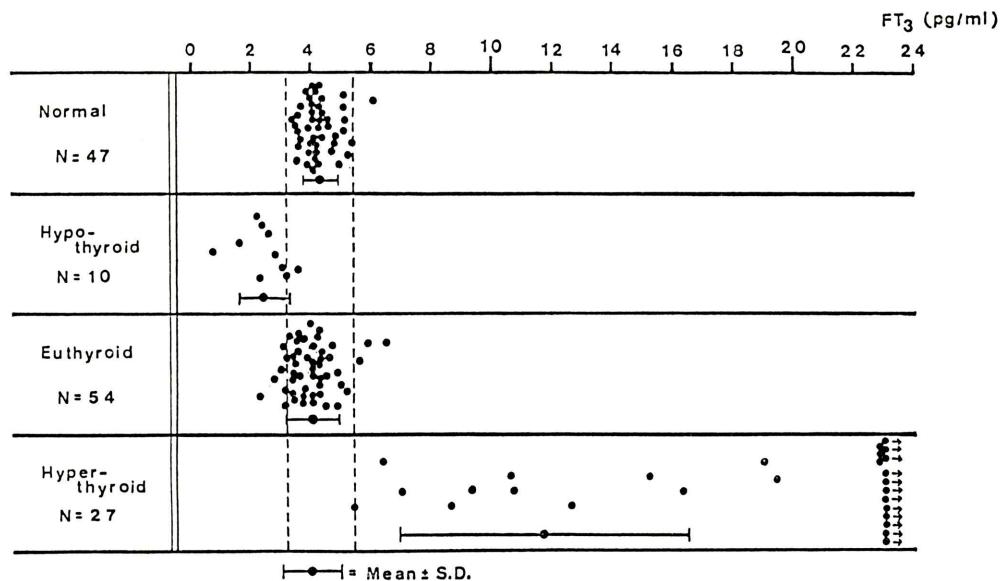
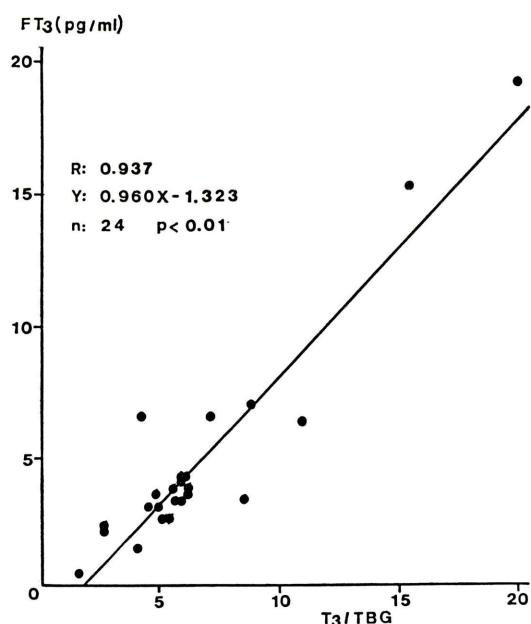
4) コーニング社製 IMMOPHASE FT₃ RIA キットによる FT₃ 値との相関 (Fig. 6)

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 $4.64 \pm 0.56 \text{ pg/ml}$, 女性では $4.02 \pm 0.37 \text{ pg/ml}$ 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, $11.7 \pm 4.81 \text{ pg/ml}$ 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 $2.45 \pm 0.86 \text{ pg/ml}$ 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 $4.03 \pm 0.87 \text{ pg/ml}$ 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

た場合には、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T₃toxicosis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FT₃RIA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つたものである。これらのFT₃値は全例で4.31±0.56(Mean±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±0.7pg/mlに類似するものであった。一方、男性22例では4.64±0.56pg/mlと女性25例の4.02±0.37pg/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±2 S.D.とすると、3.19~5.43pg/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6.35pg/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17.7μU/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

アマシャム社製アマレックスフリーT₃RIAキットを用いて、基礎的ならびに臨床的検討を行った。本法は従来の方法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た。

キットを提供していただいたアマシャ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T₃RIA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, Vancheri L: Measurement of free thyroid hormones in serum by column adsorption chromatography and radio-immunoassay. In Free thyroid hormones edited by Ekins R, Feglia 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-T₃RIA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