

《ノート》

RIA による血中 Free T₃ 濃度測定法に 影響を及ぼす諸因子

Various Factors Affecting the Measurement of Serum Free
T₃ Concentration Using Radioimmunoassay

佐藤 龍次* 伴 良雄* 九島 健二* 原 秀雄*
長倉 穂積*

Ryuji SATO, Yoshio BAN, Kenji KUSHIMA, Hideo HARA
and Hozumi NAGAKURA

The Third Department of Internal Medicine, Showa University School of Medicine

I. 緒 言

甲状腺疾患および非甲状腺疾患の甲状腺機能状態を正確に知るには、血中の遊離型甲状腺ホルモン濃度を測定することが重要である^{1,2)}。しかし遊離型ホルモン濃度は微量であり、その測定法は血清成分による干渉作用を受けることが予測される。

実際に Wilkines³⁾ や Mardell ら⁴⁾は高脂血症血清では、Amerlex Free thyroxine (FT₄) Radioimmunoassay (RIA) キットによる血中 FT₄ 値の低下を報告している。また平衡透折法を用いた FT₃ 値は、非エステル型脂肪酸(以下 NEFA) 添加によって測定値は高値になることも報告されている⁵⁾。

われわれも RIA による各種の FT₄ 測定法が血中脂質によって干渉を受け、FT₄ 値が低値または高値に測定されることを報告した⁶⁾。

今回は Free triiodothyronine (FT₃) RIA キット

による血中 FT₃ 測定値におよぼす可能性のある因子として、アルブミン、脂質および溶血の影響について検討を行ったので、その結果を報告する。

II. 対象および方法

測定対象高脂血症患者16例および低アルブミン血症患者48例を用いた。高脂血症については、T₃U, TT₄, TT₃, TSH および TBG が正常値を示し、血中 NEFA が異常値を示した症例において FT₃ 値を検討した。また低アルブミン血症については、T₃U, TT₄, TT₃, TSH および TBG が正常値を示し、血中アルブミン値が異常値を示した症例において FT₃ 値を検討した。なお血液は採血後に血清分離し、-20°C にて凍結保存後1週間以内に血中 FT₃ 値を測定した。

血中 FT₃ 濃度測定は、Amerlex FT₃ RIA キット(アマシャム薬品)および Immophase FT₃ RIA キット(コーニングメディカル社)を用いた。また T₃U はサイロテスト3(中外製薬)、TT₄, TT₃ は T₄, T₃ RIA キットII(ダイナボット社)、TSH は Amerlex TSH キット(アマシャム薬品)、TBG は RIA-gnost TBG キット(ヘキスト社)を用いて

Key words: Lipids, Albumin, Hemoglobin, Thyroid disease, Free T₃ Radioimmunoassay.

* 昭和大学医学部第三内科

受付: 60年6月4日

最終稿受付: 60年9月26日

別刷請求先: 東京都品川区旗の台1-5-8 (番号142)

昭和大学医学部第三内科

佐藤 龍次

測定した。さらに、血中アルブミン濃度は BCG 法、総コレステロール (TC)、 β -リポ蛋白 (β -LP)、遊離脂肪酸 (NEFA)、中性脂肪 (TG) はいずれも自動分折機にて測定した。ヒトアルブミン (HSA) および精製ヒトヘモグロビン (Hb) は Sigma 製を、オレイン酸 (OA) は和光純薬製を用い、それぞれ 0.01 M リン酸緩衝液にて溶解して用いた。

III. 原理および測定方法

操作方法は Table 1 に示すとくである。

1) Amerlex FT₃ RIA キット

トレーサーとしては、抗 T₃ 抗体には T₃ と同様に結合するが、TBG などの T₃ 結合蛋白に対する親和性が T₃ に比しきわめて小さい ¹²⁵I-標識 T₃ 誘導体を用いている。また固相化抗体としては affinity の高い抗 T₃ 抗体と微量のアマレックス粒子との結合物を用いる点に本法の特徴がある。

2) Immophase FT₃ RIA キット

本法は血清に抗 T₃ 抗体を加えたとき、T₃-抗 T₃ 抗体複合体が形成される速度は血清中に存在する FT₃ の濃度に比例することを原理としたものである。検体に対して 8-anilino 1-naphthalene sulfonate (ANS) 非添加ないしは添加した ¹²⁵I-T₃ を添加し、室温で 20 分間放置後、抗 T₃ 抗体スラリーを添加、B·F 分離を行い %FT₃ を求め、TT₃ 値を別に求めその積から FT₃ 値を算出する。

IV. 成績

1) オレイン酸添加の血中 FT₃ 濃度に及ぼす影響

プール血清に OA を 0.125~4.0 mM の濃度になるように添加した場合の血中 FT₃ 濃度に及ぼす影響を Fig. 1 に示した。Amerlex FT₃ においては OA 0.125~1.0 mM の添加で FT₃ 値はわずかに上昇する傾向がみられた。一方 Immophase FT₃ においては OA 0.125~1.0 mM の添加では血中 TT₃ 値および FT₃ 値には影響はみられず、1.5~4.0 mM の範囲では OA 濃度の上昇とともに TT₃ 値も幾分高値を示し、FT₃ 値は明らかな高値を示した。なお OA 4.0 mM では、FT₃ 値は 2.0 mM 添加時の 4.8 から 7.2 pg/ml と約 50% 増加を示した。

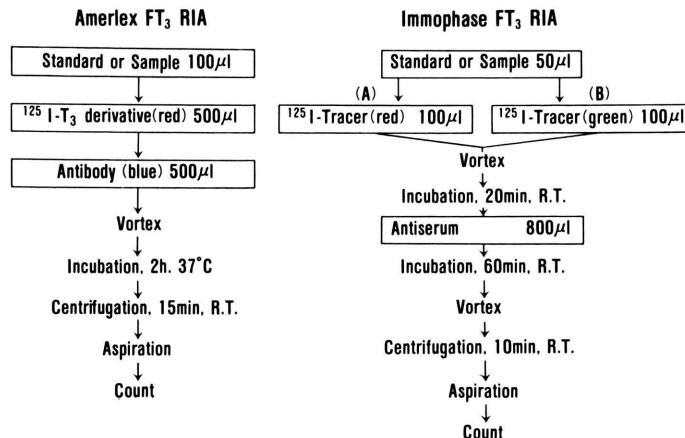
2) 血清脂質濃度と FT₃ 値との相関

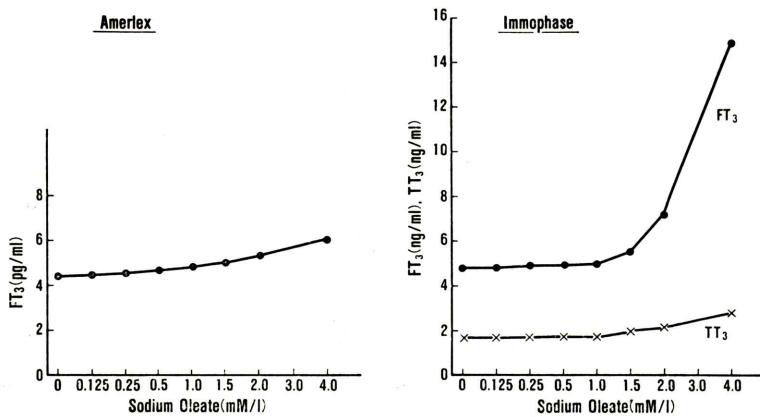
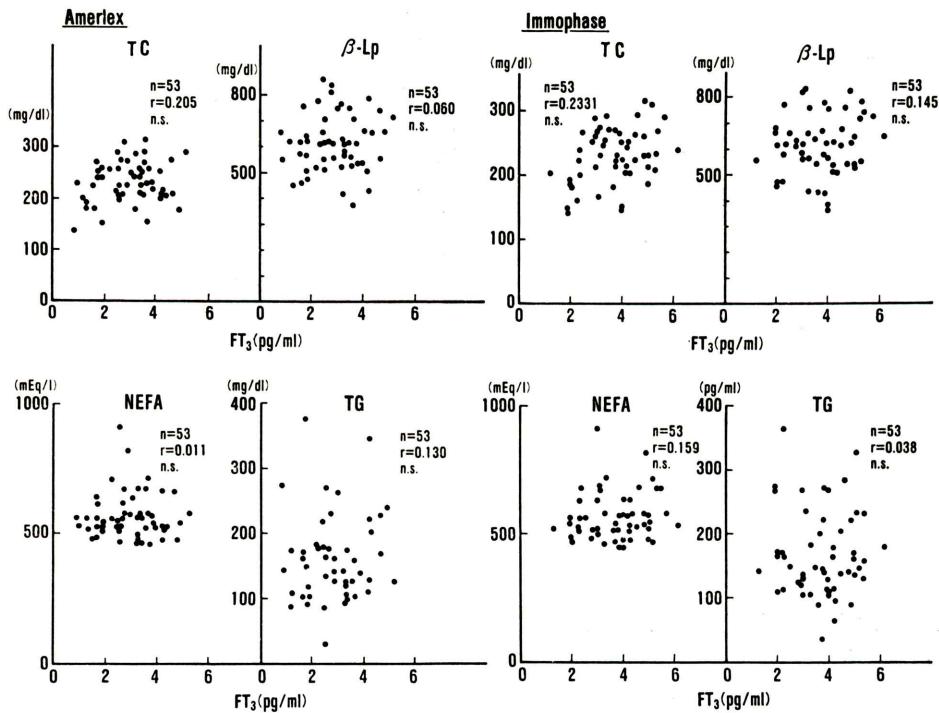
高脂血症 16 例から採血した検体 (n=53) につき血清脂質 (TC, β -LP, NEFA, TG) 濃度と FT₃ 値との相関は Fig. 2 に示したが各脂質濃度と FT₃ 値との相関は両測定法ともに認められなかった。

3) 精製ヒトヘモグロビン添加および溶血血清の血中 FT₃ 値に及ぼす影響

プール血清に精製ヒト Hb 0.15~1.2 g/dl を添加した場合の影響は Fig. 3 (a) に示した。Amerlex FT₃ 値においては、Hb 0.15 g/dl の添加ですでに

Table 1 Assay procedure of FT₃ RIA



Fig. 1 Effect of added sodium oleate on serum FT₃ concentration.Fig. 2 Correlation between serum Lipids and FT₃ concentration.

血中 FT₃ 値は低値を示し、濃度上昇とともに FT₃ 値は明らかに低下した。一方 Immophase FT₃ 値においては、Hb 0.15~0.3 g/dl の添加で軽度の低下がみられ、0.6~1.2 g/dl の添加では濃度上昇とともに明らかに低値を示した。

同一検体の一方を採血時に注射針をつけた状態

で試験管に入れ溶血血清を作製した場合の溶血の有無による血中 FT₃ 値に及ぼす影響は Fig. 3 (b) に示した。Amerlex FT₃ 値においては強度溶血 (約 1 g/dl) では明らかに血中 FT₃ 値は低下し、軽度溶血の 2 例では血中 FT₃ 値の低下は軽度であった。一方 Immophase FT₃ 値においても同様

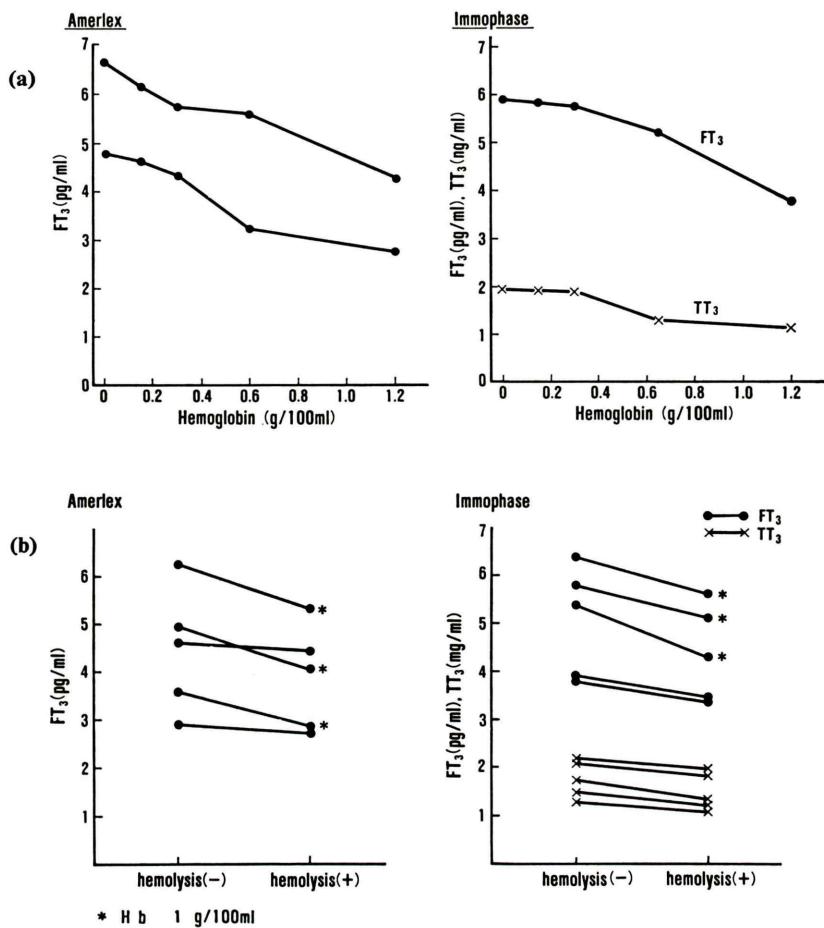


Fig. 3 Effect of added hemoglobin (a) and hemolysis (b) on serum FT₃ concentration.

に、強度溶血検体では明らかに低下し、軽度溶血ではその低下は軽度であった。

4) アルブミン添加および血清アルブミン濃度とFT₃値の相関

血清のかわりに、HSA を 1.25~10 g/dl の濃度に 0.01/M リン酸緩衝液 (pH 7.4) で調製して検討した HSA の B/T% におよぼす影響と、低アルブミン血症患者の血中 FT₃ 値を Fig. 4 に示した。アルブミン低濃度では B/T% は上昇し FT₃ 低値がみられた。また低アルブミン血症および各種疾患患者における血中アルブミン濃度と FT₃ 値の相関係数は Amerlex キットでは $r=0.489$ ($p<0.001$)、Immophase キットでは $r=0.428$ ($p<0.001$)

と有意の相関が得られた。

V. 考 案

血中遊離甲状腺ホルモン濃度測定に関する RIA の開発が進み、FT₄ に次いで FT₃ RIA キットも新たに開発され臨床応用されるに至った^{1,2,8}。

血中遊離ホルモンは血清中では微量であるために、血清成分による干渉作用が予測される。事実われわれも FT₄ 測定値は血清成分による影響が見られることを報告した⁶。

遊離脂肪酸の構成成分であるオレイン酸添加では、Amerlex 1.0 mM 以上で FT₃ 値は上昇傾向を示し、また Immophase においても 1.5~4.0 mM

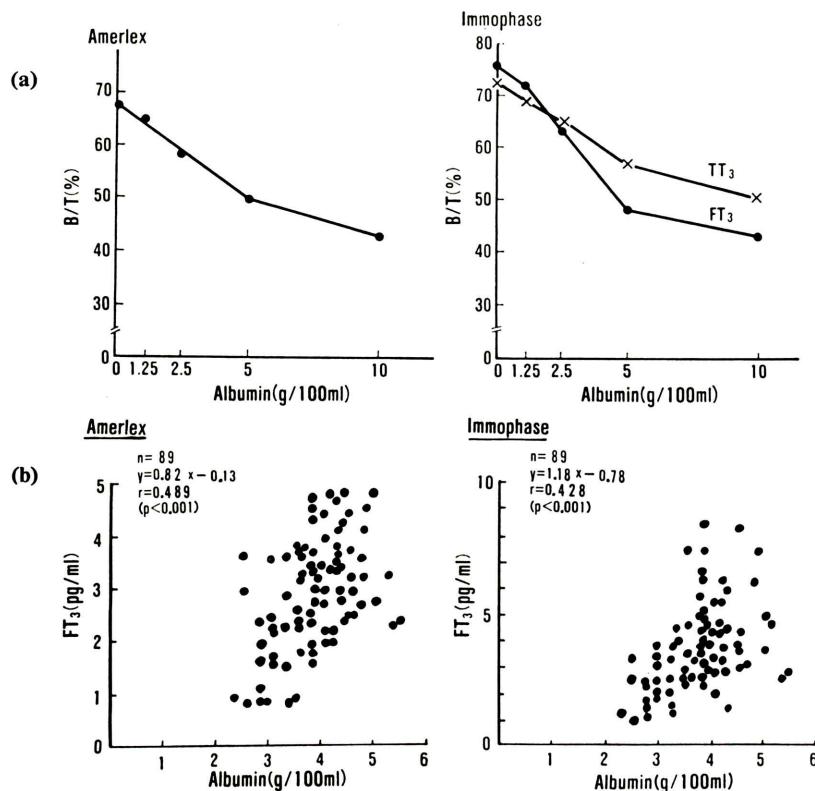


Fig. 4 Effect of added albumin on serum FT₃ concentration (a) and correlation between serum albumin and FT₃ concentration (b).

の範囲で TT₃ 値および FT₃ 値は高値を示す変化がみられた。しかし血中各脂質濃度と FT₃ 値との間には、検討した範囲では相関性はみられず、測定値への影響は少ないものと考えられた。今後高度高脂血症での検討が必要である。

次に、Hb 添加によって両キットとともに、Hb 濃度 0.6~1.2 g/dl の範囲で約 10~20% の測定値の低下が見られ、著しい溶血においても同様に FT₃ 値の低下が見られた。この低下は Hb が ¹²⁵I-T₃ 抗体との結合を阻害することにより、血中 FT₃ 測定値を低下させる要因となっている可能性が大きく、溶血血清での FT₃ 値の判定には十分な注意を要すると考えられた。

アルブミン低濃度では B/T% は上昇し FT₃ 低値がみられ、さきに報告^{6,7)}した FT₄ と同様の結果であった。また各種疾患における低アルブミン

血症において、血中 FT₃ 値は 89 例中 20 例 31% が低値を示した。これは低アルブミンが ¹²⁵I-T₃ と抗体との結合を促進することによりアルブミンが血中 FT₃ 測定値を低下させる要因となっている可能性があり、その測定値の評価には注意が必要である。

VI. 結 論

Free T₃ RIA 測定法に及ぼす諸因子について検討を行い、次の結果を得た。

- 1) オレイン酸添加 (1.5~4.0 mM) によって血中 FT₃ 値は高値を示したが、脂質濃度 TC 40~310 mg/dl, β-LP 380~860 mg/dl, NEFA 460~910 mEq/l, TG 30~380 mg/dl の範囲では、血中 FT₃ 値との相関は認められなかった。

- 2) ヘモグロビン添加 (0.15~1.2 g/dl) および

溶血血清における血中 FT_3 値は 10~20% の低下を示した。

3) アルブミン低濃度では $B/T\%$ は上昇し FT_3 低値がみられた。

稿を終えるにあたり、ご校閲を頂きました新谷博一教授に深謝致します。

本論文の要旨は第 20 回日本核医学会関東甲信越地方会において発表した。

キットを提供して下さいましたアマシャム薬品およびコーニングメディカル社に深謝致します。

文 献

- Braverman LE, Abreau CM, Brock P, et al: Measurement of serum free thyroxine by RIA in Various clinical states. *J Nucl Med* **21**: 233-239, 1980
- 伴 良雄, 九島健二, 原 秀雄, 他: Radioimmunoassay による血中 Free Triiodothyronine 濃度測定法の基礎的ならびに臨床的検討. ホルモンと臨床 **32**: 1227-1231, 1984
- Wilkins TA, Midgley JEM: Interpretation of free thyroxine radioimmunoassay data. *Lancet* **ii**: 324, 1982
- Mardell R, Gamlem TR: Artifactual reduction in circulating free thyroxine concentration by radioimmunoassay. *Lancet* **24**: 973-974, 1982
- 野村 隆, 桜田俊郎, 吉田克之, 他: 血清遊離甲状腺ホルモンに及ぼす NEFA の影響. 日本内分泌学会雑誌 **60**: 540, 1984
- 佐藤龍次, 伴 良雄: 血中 FT_4 測定値に及ぼす脂質濃度の影響. 核医学 **21**: 760, 1984
- 佐藤龍次, 九島健二, 伴 良雄: Free T_3 RIA 測定法に影響を及ぼす諸因子. 核医学 **21**: 773-774, 1984
- 小西淳二, 高坂唯子, 御前 隆, 他: Radioimmunoassay による血中遊離トリヨードサイロニン濃度の測定——IMMOPHASE FT_3 キットに関する検討——. 医学と薬学 **11**: 173-180, 1984