T-4・リアキットによる血中チロキシン測定の基礎的検討†

増岡忠道, 三本重治, 本田義和, 増田由美

日本鋼管病院アイソトープ科

川崎市川崎区鋼管通1-2-1

1975年 6月17日 受理

1. はじめに

血中のチロキシン測定は、日常の各種甲状腺機能検査では最も信頼できる指標の1つとして高く評価されている。competitive protein binding analysis (CPBA) による血清 T_4 測定のための各種 kit が市販されているが、T-4・リアは、resin 法による RIA^{1),2)} として開発され、その特徴として検査に必要な血清量は 0.05 ml と僅少であること、血中の T_4 の抽出操作や遠沈分離の必要がなく、また患者血清中のチロキシン濃度は、コンピューターによって統計処理された標準数値表で測定値が求められるなど多くの利点を有している。今回われわれはダイナボット RI 研究所の好意により kit の提供を受けたので、定量に影響すると思われる諸点の基礎的検討、各種甲状腺疾患の患者血清について T-4・リアによるチロキシン値を求め、また、レゾマット T-4 値との比較検討を試みたので報告する。

2. 測定方法

測定操作は kit の指示に従った。詳細は kit の使用説明書* を参照されたい。他の RIA commercial kit と比較して複雑な手技は必要としない。基礎実験には当院のヒトプール血清を使用し、triplicate で行ない、そのうちの近似の2検体の平均値を代表値として用いた。

3. 成績および結果

3・1 kit に関する基礎的検討

1) TBG 結合阻害剤量と RSU

Fig. 1 は TBG 結合阻害剤量を 0.3, 0.5, 0.7 ml と変化した場合標準曲線に及ぼす影響を示したもので、0.3 ml では 15 $\mu\text{g/dl}$, 20 $\mu\text{g/dl}$ の高濃度の resin sponge uptake (RSU) の低下が認められた。

Fig. 1 Effect of dilution of TBG on the standard curve.

2) 標識チロキシンの加えたものの放置時間と RSU

15分以上放置すれば反応が平衡に達するので、kit の指示どおり18~25分間放置すれば十分と考えられる (Fig. 2)。

3) incubation 時間と RSU

1°C (ice bath), 3~7°C (冷蔵庫) の incubation 時間と RSU の関係を Fig. 3 に示した。3~7°C では incubation 時間の延長とともに緩慢ながら RSU が

† Evaluation of Serum Thyroxine Test (T_4 -RIA). Tadamichi MASUOKA, Shigeharu MIMOTO, Yoshikazu HONDA, Yumi MASUDA: Department of Isotope, Nippon Kokan Hospital, 1-2-1, Kokan-Dori, Kawasaki-ku, Kawasaki-shi.

* Abbott Lab. Pamphlet— T_4 RIA Diagnostic Kit—

Fig. 2 Effect of reaction time and RSU.

増加し、1°Cの場合と比較して slope が急である。このことは incubation 温度および温度変化が反応に大きな要因を示すものと考えられる。

Fig. 3 Effect of incubation time and temperature.

4) 回収試験

回収率は10.1 $\mu\text{g/dl}$ のチロキシンを含む血清に5~20 $\mu\text{g/dl}$ の標準チロキシンを加えて求めたもので、理論値との間にはほぼ45°の直線関係が得られ、標準曲線では84~110%，平均93.6 $\pm$ 9.8%，標準数値表では95.0 $\pm$ 6.7%と良好な成績を得た。

Table 1 Recovery test

Added thyroxine		5	10	15	20
Standard curve	recovery volume ($\mu\text{g/dl}$)	4.2	11.0	13.5	18.1
	recovery rate (%)	8.4	110	90	90.5
Compu.-curve table	recovery volume ($\mu\text{g/dl}$)	4.4	10.6	14.2	18.5
	recovery rate (%)	88	106	94	92

5) 再現性

同一検体を標準曲線、標準数値表で測定したときの変動系数はそれぞれ5.1%，3.3%であった。また、同一 lot の kit で1週間後に測定したとき、異なった lot の kit で測定したときの再現性はTable 2のごと

Table 2 Reproducibility

(A) Multiplex fluctuation (n=5)			
	Standard curve	Compu.-curve table	
Mean±SD	9.9±0.50	10.1±0.33	
CV	5.1	3.3	
(B) Difference of dailyrate (compu.-curve table)			
	sample		
	a (3)	b (3)	c (3)
$\bar{X}\pm\text{SD}$	3.1±0.24	10.1±0.33	15.9±0.98
CV	7.7	3.3	6.1
1 week later			
$\bar{X}\pm\text{SD}$	3.2±0.28	10.3±0.56	15.2±1.02
CV	8.8	5.4	6.7
(C) Variation by kit (compu.-curve table)			
	sample		
	a (3)	b (3)	c (3)
Lot No. 33			
$\bar{X}\pm\text{SD}$	3.1±0.24	10.1±0.33	15.9±0.98
CV	7.7	3.3	6.1
Lot No. 037			
$\bar{X}\pm\text{SD}$	3.1±0.32	10.7±0.64	15.3±0.87
CV	10.4	5.9	5.7

くである。標準曲線、標準数値表両者ともにチロキシン濃度の低い検体ほど CV が高値を示す傾向がみられた。

6) 標準曲線と標準数値表

標準曲線にはオートウエルの電卓(SEIKO-S301M)の検量線を使用してチロキシン濃度を測定した。5点入力では検量線のひずみは仕方がない。コンピューターによって統計処理された標準数値表よりも CV が大きいのは当然のことといえる。しかしチロキシン濃度はほぼ一致し、両法による有意な差はない。

3.2 T-4・リア値とレゾマツ T-4 値との相関

正常人および各種甲状腺疾患58例の成績では、 $r=0.91$ と正の相関を認めた(Fig. 4)。

Fig. 4 Correlation of serum T₄ value between RIA and CPBA.

4. 考 察

甲状腺機能検査としての血清チロキシン測定は, routine 化され広く一般に行なわれている。現在の市販の kit は CPBA 法が用いられ, チロキシンの抽出操作および遠沈分離を必要とするが, ここに報告した T-4・リアはその必要がないので短時間に多量の検体が処理できる優れた方法とさえ考える。測定にあたっては前述したごとく若干の基礎的検討を加えてみたが, kit の使用説明書どおり行なえば, まず問題はないと思われる。しかし, incubation 中の温度および incubation 中の温度変化が反応に大きな影響をもつことから慎重に温度管理する必要がある。回収試験, 再現性を検討した結果はいずれも良好で, 臨床レベルでの測定を満足するものであることをみとめた。実測値をレゾマット T-4 値と比較した場合, 高い値をとる傾向がみられたが測定法の違いによるものと考えられる。しかしいずれの検体も両測定法で高いものは高

く, 低いものは低いという結果から, 他の CPBA 法 kit に劣らず一般的に使用できるものであることを示唆している。とくに使用する血清量が 0.05 ml と僅少量であることは小児領域で試料が採り難い場合でも可能となる利点がある。

5. ま と め

RIA 法による T-4・リアキットについて若干の基礎的検討を行なった。その結果, 基礎的条件をほぼ満足し臨床的に使用可能で, かつ操作手技も簡便で安定した kit であると思われる。

文 献

- 1) Chopra, I.J.: *J. Clin. Endocr.*, **34**, 938 (1972)
- 2) Dunn, R.T. and Foster, L.B.: *Clin. Chem.*, **19**, 1063 (1973)