サイロキシンのラジオイムノアッセイ† —Competitive Protein Binding Assay との比較—

下田新一, 滝沢勝右*, 森 悦子, 木暮美代子*

独協医科大学内分泌内科 栃木県下都賀郡壬生町北小林 880

*総合太田病院 RI 検査室 群馬県太田市八幡町29-5

1975年 7月14日 受理

1. まえがき

血清中に含まれている thyroxine (T_4) を無水エタノールで抽出し, この血清中の T_4 と ^{125}I 標識 T_4 が T_4 結合タンパクに競合的に結合するという原理を応用した血中 T_4 濃度測定法, すなわち competitive protein binding assay (CPBA) が臨床的に広く応用されているが, 最近 Dainabot 社より競合的抗原抗体反応を利用して T_4 濃度を測定するところの T_4 RIA-kit (radioimmunoassay-kit) が発売されたので euthyroid, hyperthyroidism および hypothyroidism の血清を用い CPBA と RIA 法にて同時に T_4 濃度を測定し比較検討すると同時に, RIA 法では $20 \mu\text{g/ml}$ 以上の T_4 濃度は測定不能のため, いろいろの溶液を用いて血清を希釈し, $20 \mu\text{g/ml}$ 以上の T_4 濃度も測定が可能かどうか検討してみたのでその結果を報告する。

2. 方 法

Abbott Lab. pamphlet¹⁾ に従い血清 0.05 ml を用い血清 T_4 濃度を測定し, 同時に同一血清について CPBA で T_4 と radioimmunoassay で T_3 をいずれもダイナボット社 kit を用いて測定し T_4 -radioimmunoassay による T_4 値と比較した。高 T_4 血清中の T_4 濃度を正しく知る目的で血清を 0.05 ml 用いるかわりに 0.025 ml 使用したり, また食塩水, 蒸留水およびチロキシン標準ヒト血清 0 標準液を用いてあらかじめ血清を 2 倍に希釈し, この希釈血清 0.05 ml を用い血清 T_4 濃度の測定を試みた。

3. 結 果

甲状腺機能に異常を認めなかったいわゆる eu-

thyroid 20例の T_4 , RSU (resin sponge T_3 uptake) および T_3 値を Table 1 に示した。正常者の T_4 値は CPBA 法で測定した場合は $7.0 \sim 13.0 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ の間にあり, 20 例の平均値 $\pm$ 標準誤差は $9.6 \pm 0.6 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ であった。同一血清を T_4 -RIA で測定した値は $7.0 \sim 12.0 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ で平均値 $\pm$ 標準誤差は $9.5 \pm 0.3 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ であった。正常者に関するかぎりそれぞれの症例の測定値間には多少の差はあったが全体として CPBA 法と RIA 法の測定値は比較的良く一致していた。これら症例の RSU 値は同じく Table 1 のごとく $30.6 \pm 0.6\%$ で, T_3 は $152 \pm 8 \text{ ng}/100 \text{ ml}$ であった。つぎに甲状腺機能亢進症について調べてみると Table 2 に示したごとく, 20 例の平均値 $\pm$ 標準誤差で, CPBA 法 $17.5 \pm 0.7 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ に対して, RIA 法は $16.0 \pm 2.0 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ と RIA 法のほうがやや低い値を示した。これら症例の T_3 および RSU 値は Table 2 のごとく T_3 が $493 \pm 27 \text{ ng}/100 \text{ ml}$ で, RSU は $45.0 \pm 1.2\%$ であった。本研究に用いた甲状腺機能低下症は全部で 9 例で臨床的には明らかな甲状腺機能低下症状を示し, T_4 , RSU および T_3 値すべて低い値を示した (Table 3)。これら症例の T_4 濃度を RIA および CPBA 両法で測定比較してみると Table 3 のごとく両法で測定した値が良く一致し CPBA 法 $3.1 \pm 0.5 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, RIA 法 $3.2 \pm 0.5 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ であった。本法による上界の測定限界は $20 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ であ

† Radioimmunoassay of Thyroxine as Compared with Competitive Protein Binding Assay. Shin-ichi SHIMODA, Katsusuke TAKIZAWA*, Etsuko MORI*, Miyoko KOGURE*: Department of Endocrinology, Dokkyo University, Mibu-880 Shimotsuga-gun, Tochigi, * RI-Laboratory, Ohta General Hospital, Ohta, Gunma.

Table 1 Serum thyroxine concentration measured by radioimmunoassay (RIA) were compared with value of competitive protein binding assay (CPBA)

(I) Euthyroid(Control)			T ₄		RSU	T ₃
			RIA ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	CPBA ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	(%)	(ng/100ml)
1	F. Terauchi	♀	8.7	10.9	35.9	137
2	M. Watanabe	♀	8.6	7.0	32.7	150
3	F. Kobayashi	♀	10.1	10.3	27.9	231
4	H. Fujisawa	♀	8.5	9.5	27.7	175
5	F. Sukasawa	♀	9.5	11.6	32.4	142
6	T. Miyanaga	♂	7.0	8.7	35.2	110
7	S. Sakaguchi	♀	9.0	10.1	24.1	144
8	T. Watanabe	♀	12.0	12.4	26.6	110
9	M. Mamada	♂	11.8	13.0	26.0	128
10	C. Kumasawa	♀	9.4	11.3	29.4	129
11	A. Takahashi	♂	10.0	8.3	27.8	175
12	T. Harada	♀	10.7	9.7	31.4	187
13	T. Iizuka	♀	7.7	7.3	34.1	129
14	H. Boku	♀	10.6	10.9	29.9	117
15	S. Tsuchiya	♂	9.3	10.4	34.7	128
16	K. Kameda	♀	7.3	6.8	24.8	158
17	Y. Nagae	♂	10.2	11.4	33.2	100
18	T. Suda	♀	10.7	8.1	30.4	211
19	H. Takahashi	♀	7.0	6.3	30.2	117
20	S. Tsuihigi	♀	11.3	7.1	35.9	265
Mean±S.E.			9.5±0.3	9.6±0.6	30.6±0.6	152±8

RSU: T₃-resin sponge uptake

T₃: triiodothyronine

る。そこで 20 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ 以上の高 T₄ 値を示す症例の T₄ 値を正しく求めるかどうか 1/2 血清量 (0.025 ml) および生理食塩水, 0-血清 (チロキシン標準ヒト血清 0 標準液), 蒸留水などで 2 倍に希釈した希釈血清を用いて T₄ 濃度の測定を試みた。これら各測定値を Table 4 に示した。0.05 ml の血清を用いた標準測定法による T₄ 値と血清量を 1/2 とし 0.025 ml を用いたものとを比較してみると No. 1 ~ No. 5 の症例でみると一般に 0.025 ml の血清を用いて測定した値のほうが高い T₄ 値を示す傾向があり, 従ってこの方法により測定した T₄ 値は実際の血中濃度より高く出ると考えなければならない。同様なことは 0 血清, 生理食塩水および蒸留水で血清を希釈した場合にもいえることで一般に RIA 法による血中 T₄ 濃度を測定する場合には RIA 法を用いるかぎり血清 0.05 ml 以下を用いる場

Table 2 Serum thyroxine concentration measured by radioimmunoassay (RIA) were compared with value of competitive protein binding assay (CPBA)

(II) Hyperthyroidism			T ₄		RSU	T ₃
			RIA ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	CPBA ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	(%)	(ng/100ml)
1	K. Shuzui	♀	18.6	19.5	44.9	434
2	T. Inamura	♀	15.7	16.4	37.1	468
3	K. Miyazaki	♀	17.8	18.4	48.9	800
4	C. Ishibashi	♀	15.7	20.5	44.0	645
5	M. Senbongi	♀	17.3	19.2	49.4	800
6	M. Shinozaki	♀	17.4	19.5	49.6	800
7	H. Aoki	♀	14.5	15.5	35.5	298
8	M. Kobayashi	♀	14.2	23.4	48.9	260
9	N. Ohteru	♀	15.0	16.6	43.5	800
10	K. Mogi	♂	18.4	12.0	50.9	255
11	K. Kogure	♀	16.2	14.5	33.5	557
12	U. Kayama	♀	13.9	16.0	37.2	295
13	E. Sato	♀	12.0	14.2	37.1	326
14	Y. Kayama	♀	16.5	14.0	37.1	367
15	F. Shinagawa	♂	20.0	19.3	48.5	760
16	M. Odaka	♀	15.0	15.0	43.2	372
17	T. Ohgami	♀	16.8	25.0	56.7	324
18	K. Aramaki	♀	14.7	21.3	38.4	387
19	A. Kurihara	♀	18.5	17.2	52.3	629
20	F. Takano	♀	17.0	16.5	52.7	290
Mean±S.E.			16.0±2.0	17.5±0.7	45.0±1.2	493±27

Table 3 Serum thyroxine concentration measured by radioimmunoassay (RIA) were compared with value of competitive protein binding assay (CPBA)

(III) Hypothyroidism			T ₄		RSU	T ₃
			RIA ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	CPBA ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	(%)	(ng/100ml)
1	T. Kubota	♀	5.1	4.4	19.6	81
2	A. Shibayama	♀	3.0	4.3	24.2	78
3	T. Nakamura	♂	5.7	5.5	20.6	62
4	F. Yamanoi	♀	1.0	2.0	24.4	60
5	T. Takagi	♀	2.9	2.0	22.0	64
6	U. Tsukagoshi	♀	5.0	5.1	23.9	94
7	K. Murota	♀	1.2	0.8	20.5	20
8	T. Kojima	♀	1.8	2.0	23.2	41
9	R. Hirotsaki	♀	3.1	2.0	18.7	72
Mean±S.E.			3.2±0.5	3.1±0.5	21.8±0.6	64±9

Table 4 Thyroxine radioimmunoassay with diluted serum

Serum volume Patients	Standard (0.05 ml)	One half (0.025 ml)	1/2 diluted by		
			Physiological saline	0-Serum	Distilled water
No. 1	17.5*	15.8** (7.9)	19.2 (9.6)	18.4 (9.2)	19.6 (9.8)
No. 2	17.1	23.8 (11.9)	20.0 (10.0)	20.2 (10.1)	20.8 (10.4)
No. 3	16.8	18.4 (9.2)	20.2 (10.1)	20.8 (10.4)	21.0 (10.5)
No. 4	17.3	17.8 (8.9)	20.4 (10.2)	20.6 (10.3)	21.0 (10.5)
No. 5	14.7	19.2 (9.6)	17.0 (8.5)	18.6 (9.3)	16.6 (8.3)
No. 6	20	28.8 (14.4)	23.4 (11.7)	20.0 (10.0)	26.4 (13.2)
No. 7	20	30.2 (15.1)	28.0 (14.0)	26.0 (13.0)	25.0 (12.5)
No. 8	20	31.2 (15.6)	32.2 (16.1)	30.0 (15.0)	25.2 (12.5)

* Mean value from a duplicate measurement of T_4 of each sample.

** $2 \times$ value indicated by ().

() indicated the value of T_4 measured by RIA using 1/2 serum and serum diluted by saline, 0-serum and distilled water; 0-serum: standard solution without serum.

合その値が実際の血中 T_4 濃度より高い値を示すと考えたほうが良い。No. 6～No. 8 の 3 例の血清 T_4 濃度は血清 0.05 ml を用いて測定したとき $20 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 以上の高い値を示しこれを血清 0.025 ml を用いたりあるいは希釈血清を用いて測定して、測定値は求められてもその値はまちまちで $20 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 以上の高い T_4 濃度の血清中の T_4 量を本法で正確に測定しようという結論は下しえなかった。

4. 考 按

RIA による血中 T_4 濃度の正常値は $5.0 \sim 13.5 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ で Tetrasorb kit による CPBA 法による値とよく一致した。正常者および甲状腺機能低下症の血中 T_4 濃度は RIA および CPBA 法とも良く一致し比較的正しく血中 T_4 濃度を示しているように思われた。これに対して甲状腺機能亢進症については多くの症例で $13.0 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 以上の高い値がえられ臨床的に使用しようと考えられるが、血清量を標準量 (0.05 ml) 以下とするような処理をして RIA 法で血中 T_4 濃度を測定しようとした場合実測値より高い値を示す傾向があり、 $13.0 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 以上の高い T_4 値を示す甲状腺機能亢進症の T_4 濃度を RIA 法で測定した場合血中 T_4 濃度は高いと判定することができても測定値そのものがただちに正しい血中 T_4 濃度を示しているかどうかかなり疑問である。かかる意味ではすでにわれわれが報告したごとく²⁾ CPBA 法のほうが安定した値を示すように思われる。また Table 2 に示したごとく甲状腺機能亢進症の血清を用いた T_4 濃度を RIA 法と CPBA 法を比較してみると 20 例中 13 例では CPBA 法のほうが明らかに高い T_4 濃度を示した。このうち

$2 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 以上の差の生じた症例は (RIA < CPBA) 8 例で、このような意味の差異は正常者ではみられていないので、RIA 法による T_4 測定ではとくに高い値の測定値の正確度について問題があるように思われる。しかしながらすでに良く知られているごとく CPBA 法でも T_4 濃度を正確に測定することはとくに $20 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ をこえるような症例では困難であることはいふまでもないので、かかる意味では両法ともに臨床的診断価値という点からは優劣をつけがたい。

5. 結 語

Dainabot 社発売の radioimmunoassay 用 T_4 -RIA kit を用い、euthyroid, hyperthyroidism および hypothyroidism の血清中 T_4 濃度を測定し、CPBA 法の測定値と比較した。 T_4 濃度が $1 \sim 12 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ の範囲にある hypothyroidism および euthyroid では CPBA 法と RIA 法の測定値は良く一致した。しかし $14 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ 以上の高い T_4 値を示した hyperthyroidism の血清では CPBA のほうが RIA より高い値を示す傾向にあった。

希釈血清あるいは $1/2$ 量の血清を用いて T_4 を測定しようという試みでは CPBA 法のほうが RIA 法より安定性があるように思われた。

RIA 法による正常値は $5 \sim 13.5 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ で CPBA 法のそれとほとんど一致した。

文 献

- 1) Abbott Lab. Pamphlet- T_4 RIA Diagnostic Kit
- 2) 下田新一, 他: ホルモンと臨床, 20, 573(1972)