T₄ リアパックによる血中サイロキシン測定の基礎的検討†

谷内孝次, 吉田泰昭, 千布圭子, 林 富士夫, 向井正彦, 前田恵三, 山口延男

神戸大学医学部附属病院中央検査部

650 神戸市生田区楠町7-13

1977年 3月11日 受理

1. 緒 言

血中 T₄ (thyroxine) の定量法はタンパク結合ヨウ素 (PBI) および competitive protein binding analysis (CPBA) によるものが従来行われており, CPBA 法は広く一般化している。CPBA法では抽出操作を行うことから多検体を処理する場合は複雑な検査であることは間違いない。

近年 radioimmunoassay (RIA) を利用した方法が確立され¹⁾ T₄ (triiodothyronine) 測定ではこの方法が繁用されている。T₄ の RIA 法もキット化され普及しつつある。本法では T₄ の抽出操作がなく, 少量の被検血清から簡単な操作で測定できることが特長である。今回われわれは, この RIA 法による T₄ リアパック (英国 RCC 社) を科研化学株式会社の好意により使用する機会を得, 若干の検討を行ったのでその成績について報告する。

2. 測定方法と対象材料

2.1 キットの内容

T₄ リアパックはつぎのものよりなる。

1) 標準ヒト T₄ 血清 (凍結乾燥品) 0.5ml の水で溶解し, これらのバイアルは 0.15, 4.10, 10.8, 19.2 μg/dl の T₄ 濃度となる。

2) ¹²⁵I-サイロキシン, 1 バイアル (約 6 μCi 以下) 10.5ml の水で溶解

3) 抗 T₄ 羊血清 (凍結乾燥品), 1 バイアル, 10.5ml の水で溶解

4) 吸着剤および T₄ thyroxine binding globulin (TBG) 結合阻害剤の混合粉末, 1 個, 55ml の水で溶解
5) 測定用チューブ 50本。

2.2 測定操作

1) 標準血清または被検血清を 50 μl ずつ試験管に加える。

2) ¹²⁵I-サイロキシン, 抗 T₄ 羊血清のそれぞれ 200 μl ずつを各試験管に加える。

3) 試験管をパラフィルムでカバーし, よく混和する。のち 37°C の温浴中で 1 時間インキュベートする。

4) インキュベート終了後各チューブに吸着剤-T₄, TBG 結合阻害剤の混合懸濁液を攪拌しながら 1 ml 加える。

5) チューブに添付のプラスチック栓を施し, ローテータにより室温にて 60 分間混和する。

6) ローテーション終了後キャップをとって, 10 分以上静置後吸着剤が完全に沈殿したのち, 上澄み 1 ml をカウンティングチューブに移して, ウェル型シンチレーションカウンターにて計測する。

7) 標準血清について得られた標準曲線を作成し, 被検体の T₄ 値を読む。

2.3 対象

本院入院・外来患者, 健康職員を対象とし, 自家製ブール血清を対象材料とした。

3. 成 績

3.1 検体希釈と測定値

本測定法では, 高濃度で標準曲線が平坦となるため, 高値血清では検体希釈を行うことが必要となる。低濃度の血清で被検血清を希釈したときの測定値を Table 1 に示す。2 倍希釈では測定値上ほとんど影響がないが, 4 倍希釈すると低値を示した。

† Fundamental Consideration of T₄ RIA-PAC for Determination of Thyroxine in Human Sera. Koji TANIUCHI, Yasuaki YOSHIDA, Keiko CHIFU, Fujio HAYASHI, Masahiko MUKAI, Keizo MAEDA and Nobuo YAMAGUCHI: Central Laboratory, Kobe University Hospital, 7-13, Kusunoki-cho, Ikuta-ku, Kobe-shi 650.

Table 1 Dilution test

dilution	$\times 1/1$	$\times 1/2$	$\times 1/4$
calculated ($\mu\text{g/dl}$)	11.6	5.8	2.9
measured ($\mu\text{g/dl}$)	11.6	5.5	2.1
% of calc.	100	94.8	72.4

3.2 精密度

3.2.1 同時測定

チロキシン濃度が高・中・低の3本の検体血清および自家製プール血清を用い、同一測定系内で各10本ずつの同時測定の変動係数(CV)を求めた(Table 2)。高濃度血清では平均値($\bar{x}$) $12.6\mu\text{g/dl}$, CV $=\pm 6.9\%$, 中濃度血清では $\bar{x}=8.5\mu\text{g/dl}$, CV $=\pm 5.4\%$, 低濃度血清では $\bar{x}=2.6\mu\text{g/dl}$, CV $=\pm 1.9\%$, 自家製 pool 血清では $\bar{x}=5.74\mu\text{g/dl}$, CV $=\pm 4.8\%$ で、これら平均の変動係数は $\pm 4.75\%$ となった。

Table 2 Reproducibility

Sample	mean $\pm$ SD ($\mu\text{g/dl}$)	CV (%)
high value ($n=10$)	12.6 ± 0.87	6.9
middle value ($n=10$)	8.5 ± 0.46	5.4
low value ($n=10$)	2.6 ± 0.05	1.9

(mean CV 4.7%)

3.2.2 日差変動

自家製 pool 血清を用いての5週間、5回測定の変動係数は $\pm 11.8\%$ であった。これらの精密度は、臨床検査上ほぼ満足できる値であった。

3.3 添加回収率

本法による正確度の確認のために、健康人血清5例にキット添付の4種標準チロキシン溶液を添加して、その回収率をみた。添加標準溶液の濃度に関係なくほぼ同様の回収率を示し、その平均は102.4%と良好な成績を得た。

3.4 他法との相関

健康成人ならびに患者血清135例につき、CPBA法(テトラソルブ, ダイナボット)による測定値との相関を調べた。Fig. 1に示したように、相関係数0.926と良好な相関関係がみられた。また両者の平均値で比較すると、T₄ RIA値は $0.8\mu\text{g/dl}$ と低値を示し、有意の差を認めた。

また患者血清33例につき、同じRIA法であるが二

Fig. 1 Correlation of measured T₄ concentration between CPBA method (Tetrasorb) and RIA method (T₄ RIA PAC). Fig. 2 Correlation of measured T₄ concentration between T₄ RIA-PAC and thyroxine Eiken.

抗体法の“サイロキシン栄研”(栄研ICL)による測定値と比較した結果をFig. 2に示す。両測定法は相関係数0.942と良好な相関を示した。両者の平均値ではサイロキシン栄研のほうが $0.5\mu\text{g/dl}$ 低値を示した。

3.5 正常値

臨床化学検査データに異常を認めない正常人を含む検体77例についてHoffmann法により正常値(clinical reference range)を求めたところ、 $\bar{x}\pm 2\text{SD}$ は $7.7\pm 2.6\mu\text{g/dl}$ となり、正常値を $5.1\sim 10.3\mu\text{g/dl}$ と設定した。

4. 考 察

希釈試験, 精密度, 回収試験を検討した結果, いずれも良好であった。

CPBA法との相関は $r=0.926$, 他社 T_4 -RIA 法での相関は $r=0.942$ といずれの場合にも相関は良好であった。平均値において CPBA 法でテトラソルブ (ダイナボット) と T_4 リアパックでは前者が $0.8\mu\text{g/dl}$ 高値に, T_4 リアパックとサイロキシソ (栄研) とでは前者が $0.5\mu\text{g/dl}$ 高値を示した。CPBA 法の測定値が RIA 法のそれより高値を示す傾向は土井ら²⁾ によっても報告されている。

また抗 T_4 , 抗 T_3 自己抗体が存在する患者血清では RIA 法による T_4 値が著しく低値を示し, 従来の CPBA 法が有用である^{3)~5)} と報告されている。これらの点については今後とも検討されることが望まれる。

5. 結 語

T_4 リアパックを使用し検討を加えた。本法は検体量が $50\mu\text{l}$ と微量で測定が可能であり, CPBA 法での抽出操作が本法では不用であることから簡便性に富み, かつ精度もすぐれている。測定値は従来の CPBA 法のそれとよく相関し, 有用な T_4 測定法であることを認めた。

文 献

- 1) Brown, B.L., et al.: *Nature*, **226**, 359 (1970)
- 2) 土井 啓, 他: 臨床と研究, **53**, 3777 (1976)
- 3) Staeheli, V., et al.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **41**, 669 (1975)
- 4) 宮崎忠芳, 他: 臨床検査, **20**, 1077 (1976)
- 5) 中島言子, 他: 核医学, **14**, 123 (1977)