固相法を利用した T_3 Radioimmunoassay

——スパック T_3 RIA キットの検討——†

関本 寔, 臼井淑恵, 李 陽子, 延原美津子, 間島行春, 赤木弘昭

大阪医科大学放射線医学教室

569 大阪府高槻市大学町2-7

1980年8月15日 受理

Key Words: solid phase method, triiodothyronine radioimmunoassay

1. はじめに

1952年 Gross および Pitt-Rivers¹⁾によって報告された triiodothyronine (T_3) は thyroxine (T_4) に比べ血中にはわずかし存在しないが、その生物学的活性は T_4 の3~5倍と強力で、生体内での半減期も約1日と速く、甲状腺ホルモンの作用発現に主要な役割を果たしている。

血中 T_3 の測定はその量が微量で、測定方法が困難なために一般に普及し得なかったが、近年 RIA の著しい発展により、RIA による測定方法が Brown²⁾, Gharib³⁾, Mitsuma ら⁴⁾によって開発されてからは容易かつ正確となり、すでに各種キットが普及している。

最近、われわれは測定チューブに抗体を固相化した固相化抗体法を利用したスパック T_3 RIA キット（第一ラジオアイソトープ研究所）を使用する機会を得たので、その結果を報告する。

2. 測定対象

測定対象は正常者20例、甲状腺機能亢進症(未治療)19例、甲状腺機能低下症(未治療)4例、慢性甲状腺炎4例、単純性甲状腺腫8例、亜急性甲状腺炎1例、結節性甲状腺腫3例、甲状腺がん3例、総計63例である。

3. 測定方法

スパック T_3 RIA キットの構成は、① ^{125}I - T_3 溶液、

②標準血清、③抗体チューブよりなっている。

測定操作法は、①各標準血清および被検血清 100 μ l を抗体チューブに加える。② ^{125}I - T_3 1 ml を各チューブに加え、数秒間おだやかに混和する。③温浴 (37°C $\pm$ 1°) で 120 $\pm$ 5 分間インキュベートする。④インキュベート後アスピレータを用いてチューブ内溶液を吸引除去する。⑤各チューブの放射能を γ カウンタにて測定する。⑦次式を用いて $B/B_0\%$ を計算する。

$$B/B_0\% = \frac{\text{標準(被検)血清のカウント}}{\text{標準血清 0 ng/dl のカウント}} \times 100$$

各標準血清の $B/B_0\%$ の二重測定による平均値を片対数グラフにプロットして標準曲線 (Fig. 1) を作製後、被検血清の $B/B_0\%$ より標準曲線から読み取り T_3 値を求める。

Fig. 1 Standard curve using SPAC T_3 RIA kit.

† Radioimmunoassay of Triiodothyronine (T_3) by Solid Phase Method —Studies of SPAC T_3 RIA Kit—. Makoto SEKIMOTO, Yoshie USUI, Yoko RI, Mitsuko NOBUHARA, Yukiharu MAJIMA and Hiroaki AKAGI: Dept. of Radiology, Osaka Medical College, Daigaku-cho, 2-7, Takatsuki-shi, Osaka 569, Japan.

4. 結 果

4.1 再現性

4.1.1 Intraassay

各種 T_3 濃度の 5 検体について 5 回ずつ測定し検討した (Table 1)。同一アッセイ内の平均 CV は 5.6% であった。

Table 1 Intraassay reproducibility of the assay

Serum	A	B	C	D	E
T_3 ng/dl	106	175	245	285	640
	122	168	230	330	600
	118	160	245	335	600
	115	172	244	320	680
	125	174	220	330	570
Mean $\pm$ S. D.	117.2 ± 7.3	169.8 ± 6.1	236.8 ± 11.3	320.0 ± 20.3	618.0 ± 42.7
CV %	6.3	3.6	4.8	6.4	6.9

4.1.2 Interassay

低, 中, 高の 3 濃度を三つの異なるロットで測定し検討した (Table 2)。

Table 2 Interassay reproducibility of the assay

Serum Lot	A (ng/dl)	B (ng/dl)	B (ng/dl)
1	50.5	137	356
2	53.0	154	269
3	42.0	144	273
Mean $\pm$ S.D.	48.5 $\pm$ 5.8	145.0 $\pm$ 8.5	299.3 $\pm$ 49.1
CV %	12.0	5.9	16.4

低, 中, 高濃度でのそれぞれの CV は 12.0%, 5.9%, 16.4% を示した。

4.2 回収率 (Table 3)

低, 中, 高の 3 濃度の血清 (86, 128, 313 ng/dl)

Table 3 Rate of recovery (%)

Added T_3 (ng/dl) Serum T_3	50	100	200	400	800
A (86 ng/dl)	102	97	107	109	95
B (128 ng/dl)	115	102	102	100	103
C (313 ng/dl)	124	92	107	101	98
Mean	113.7	97.0	105.3	103.3	98.7

に T_3 を 50, 100, 200, 400, 800 ng/dl それぞれ加えた場合の回収率は 113.7%, 97.0%, 105.3%, 103.3%, 98.7% で良好であった。

4.3 希釈試験 (Fig. 2)

T_3 濃度 640 ng/dl (A) と 437 ng/dl (B) の原血清を T_3 free 血清で 2, 4, 8 倍に希釈して理論値と実測値を対比した。測定値は希釈倍数の増加とともに理論値より高値を示し, 4 倍では理論値の 100%, 122%, 8 倍希釈では 138.8%, 147.3% であった。

Fig. 2 Dilution test of two sera.

Fig. 3 Correlation between T_3 values with SPAC T_3 RIA Kit and those with RIA-MAT T_3 Kit.

4・4 スパック T_3 RIA キットと RIA-MAT T_3 キットの相関 (Fig. 3)

スパック T_3 RIA キットで測定した血中 T_3 値と RIA-MAT T_3 キットで測定した血中 T_3 値を比較した。

両キットによる同一血清の血中 T_3 値の相関は $r=0.984$ で回帰直線式は $y=1.15x-1.14$ であった。

4・5 正常値と各種甲状腺疾患における T_3 値 (Table 4)

本キットを用いた血中 T_3 の正常値は20例で $84 \sim 193$ ng/dl の間にあり 133 ± 29 ng/dl であった。

Table 4 Serum T_3 value in various thyroid states

	No.	Range (ng/dl)	Mean $\pm$ S.D. (ng/dl)
Normal	20	94~193	133 $\pm$ 29
Hyperthyroidism	19	194~685	380 $\pm$ 153
Hypothyroidism	4	28~75	56 $\pm$ 17
Simple diffuse goiter	8	105~191	157 $\pm$ 27
Simple nodular goiter	3	85~191	153 $\pm$ 48
Chronic thyroiditis	4	87~153	124 $\pm$ 25
Subacute thyroiditis	1	388	
Thyroid cancer	3	145~147	146 $\pm$ 1

甲状腺機能亢進症 (未治療) 19例では $194 \sim 685$ (380 ± 153) ng/dl と高値を示し, 甲状腺機能低下症 (未治療) 4例では $28 \sim 75$ (56 ± 17) ng/dl と正常より低値を示した。

単純性甲状腺腫 8例は $105 \sim 191$ (157 ± 27) ng/dl と正常者との間に差を認めなかった。

慢性甲状腺炎 4例では $87 \sim 153$ (124 ± 25) ng/dl, 結節性甲状腺腫 3例では $85 \sim 191$ (153 ± 48) ng/dl, 甲状腺がん 3例では $145 \sim 147$ (146 ± 1) ng/dl であった。

亜急性甲状腺炎 1例は 388 ng/dl と高値を示した。

5. 考案および結論

スパック T_3 RIA キットは固相化抗体法を利用して、遠沈操作を要さず、短時間内に全測定操作を終了し得る特徴を有している。

本キットの標準曲線の測定範囲は $0 \sim 800$ ng/dl で、他のキットと比べて高値まで測定可能である。

再現性については, intraassay と interassay とともに全般に良好で, 回収率, 希釈試験も良好な結果を得た。

スパック T_3 RIA キットと RIA-MAT T_3 キットでは相関係数 $r=0.984$ と良好な相関を示しており, また回帰直線式 $y=1.15x-1.14$ で表現できた。

正常者 20例における T_3 濃度は平均値で 13.3 ± 29 ng/dl で, Mean $\pm$ 2 S.D. を正常範囲とすると正常値は $75 \sim 191$ ng/dl であり, 高原⁵⁾らの値とはほぼ一致した。

未治療の甲状腺機能亢進症では 380 ± 153 ng/dl と正常者群と明確に判別し得た。

甲状腺機能低下症も明確に正常者群と判別し得た。以上のことより本法が臨床検査法として適していると思われる。

文 献

- 1) Gross, J. and Pitt-Rivers, R.: *Lancet*, **1**, 439 (1952)
- 2) Brown, B.L., et al.: *Nature*, **266**, 359 (1970)
- 3) Gharib, H., et al.: *J. Clin. Endocrinol.*, **31**, 709 (1971)
- 4) Mitsuma, T., et al.: *ibid.*, **31**, 709 (1970)
- 5) 高原淑子: ホルモンと臨床, **27**, 97~101 (1979)