SPAC T_3 リアキットによる血中トリヨードサイロニンの測定†

下地朝夫, 今村理喜代, 吉村房子, 石原 明,

中崎利彦, 吉政康直, 山田 秩, 浜田 哲

天理よろづ相談所病院 臨床病理部 RI 部門および内分泌内科

632 天理市三島町200

1980年3月24日 受理

Key Words: triiodothyronine, solid-phase radioimmunoassay, thyroid disease

1. はじめに

トリヨードサイロニン(以下 T_3)は、甲状腺から分泌されるほか、末梢組織においてサイロキシンからの変換によって産生され、活性型ホルモンとして注目されている¹⁾。血中 T_3 はラジオイムノアッセイで測定され、そのBF分離にはいろいろの方法があるが²⁾、今回、抗 T_3 抗体を試験管内壁に固定化したSPAC T_3 リアキットが開発されたので、本キットによる T_3 測定の基礎的検討を行うとともに、他のキットによる測定値との比較および各種甲状腺疾患における血中 T_3 測定を行った。

2. 測定材料および方法

測定試料は、天理よろづ相談所病院で受診した甲状腺疾患患者40名および健康な20歳台の本院職員6名の合計46例で、このほか、種々の濃度のブール血清を作成して使用した。

血清 T_3 の測定に使用した第一ラジオアイソトープ研究所製 SPAC T_3 リアキット(50検体用)は、(1) SPAC T_3 - ^{125}I 液: 0.05M トリス緩衝液に ^{125}I - T_3 を含む(55mL), (2) T_3 標準液: 0, 50, 100, 200, 400, 800ng/100mL 各 0.5mL, (3)抗体チューブ: 抗 T_3 抗体

で内壁をコーティングしてある、からなっている。とくに付記しない場合は下記の標準操作法に従って T_3 を測定した。

- (1) 抗体チューブに各種の標準 T_3 液または患者血清を0.1mLずつ加える。
- (2) 抗体チューブに SPAC T_3 - ^{125}I 液 1.0mL を添加し、37°C 温浴にて2時間インキュベートする。
- (3) チューブの内液を吸引除去する。
- (4) 各チューブの ^{125}I をカウントし、標準曲線を作成して、これより試料の T_3 値を読みとる。

なお、比較のために、同一血清の T_3 濃度をダイナボット研究所製 T_3 リアキットで測定した。

3. 成績

3.1 基礎的検討

3.1.1 インキュベーションの濃度と時間の影響

37°C, 25°C(室温), および4°Cで0濃度 T_3 を3時間インキュベートした場合の結合率の時間的变化をFig. 1に示す。温度が高いほど結合率が高く、37°Cでは2時間後にはほぼプラトーに達した。

Fig. 1 Time course of triiodothyronine binding at various temperatures.

† Determination of Triiodothyronine in Serum by RIA Kit of SPAC T_3 . Asao SHIMOJI, Rikiyo IMAMURA, Fusako YOSHIMURA, Akira ISHIHARA, Toshihiko NAKAZAKI, Yasunao YOSHIMASA, Satoshi YAMADA and Satoshi HAMADA: Tenri Hospital, Radioisotope Division, Department of Clinical Pathology and Department of Endocrinology, 200 Mishima-cho, Tenri-shi, Nara Pref. 632.

3.1.2 インキュベーション時間の標準曲線におよぼす影響

37°C で 1, 2, 3 時間インキュベートすると, Fig. 2 に示すように, $B/B_0\%$ は 2 および 3 時間ではほとんど差異がみられず, 標準曲線およびこれを用いた 2 濃度のプール血清の T_3 値は一致した。これに対して 1 時間のインキュベーションでは $B/B_0\%$ が高く, その標準曲線を用いた T_3 値も高くなるのが認められた。したがって, 2 時間以上のインキュベーションが必要と考えられた。

Fig. 2 Effect of incubation time on standard curves.

3.1.3 洗浄の影響

インキュベーション終了後, チューブ内液を吸引除去のみ行った場合と, 吸引後に生理食塩水 1 ml を加えて洗浄した場合との比較を Fig. 3 に示す。洗浄法では標準曲線は全体として下方に移動するが, 3 濃度のプール血清の T_3 値には差異が認められず, 洗浄は必ずしも必要でないと結論された。

3.1.4 希釈試験

2 種類の高 T_3 濃度血清を, 0 T_3 濃度標準液で倍数希釈した成績を Fig. 4 に示す。いずれも, 原点をとる直線上に位置する良好な成績が得られた。

3.1.5 回収率試験

4 種類の T_3 濃度の異なる血清を添加した場合の回収率は, Table 1 のように平均 103.3% であった。

3.1.6 再現性

3 濃度の T_3 のプール血清について測定した場合の

Fig. 3 Effect of washing on standard curves.

Fig. 4 Dilution test.

Table 1 Recovery test

T_3 (ng/100ml)	T_3 added	Total T_3	Recovery (%)
33	55	94	110.9
33	113	138	92.9
33	183	240	113.1
33	415	432	96.1

Table 2 Intraassay

	(1)	(2)	(3)
n	12	12	12
$\bar{x}$ (ng/100ml)	115	241	450
S D	7.39	15.6	27.6
C V (%)	6.4	6.5	6.1

Table 3 Interassay

	(1)	(2)	(3)
<i>n</i>	10	10	10
$\bar{x}$ (ng/100ml)	76.3	185	613
S D	7.73	13.8	41.9
C V (%)	10.1	7.4	6.8

intraassay および interassay の成績を Table 2 および 3 に示す。前者の CV は 6.1~6.5%, 後者は 6.8~10.1% でいずれも満足すべき成績であった。

3・2 臨床的検討

本キットによる各種の甲状腺疾患患者の血清 T_3 値を Fig. 5 に示す。正常人の平均値 $\pm$ SD は 152.3 ± 18.6 ng/100ml で、甲状腺機能亢進症では高値を、機能低下症では低値を示した。他の疾患では、甲状腺腫の 1 例を除いて正常域に分布した。

これらの患者血清中の T_3 を、本キットおよび T_3 リアキットで測定し、両者を比較した。Fig. 6 に示すように、両者間には直線関係がみられ、相関係数 +0.975, 回帰直線 $y = 0.941x - 0.784$ が得られた。固相法の本キットによる測定値は、ポリエチレングリコール法の T_3 リアキットに比べて、全体的にやや高値であった。

4. 考 案

固相法 RIA はピペッティングの回数が少なく、BF 分離が容易で、とくに本キットのような抗体固定試験管法では内溶液の吸引除去のみでよい利点がある。その反面、反応系が均一でなく、また抗体を定量的に固定する技術が難しいために、しばしば再現性に劣る傾向がみられる。本キットも反応温度に依存性が強いが、37°C 2 時間以上インキュベートすると高い結合率で平衡に達し、一定した成績が得られた。3 濃度のコントロール血清を用いた intraassay および interassay の CV の平均値は 6.3% および 8.1% で満足すべき成績であった。

T_3 測定における回収率は、4 濃度の T_3 添加後の平均値が 103.3% であり、また、希釈試験において測定値は 0 濃度を結ぶ直線上に分布した。したがって、本測定において TBG 結合阻害剤などの影響はないと考えられた。

また試験管壁に反応液が残存して測定値に影響することが考えられたが、3 濃度の測定値は洗浄の有無に

Fig. 5 Serum triiodothyronine values in various thyroid diseases by SPAC T_3 RIA kit.

Fig. 6 Relation between serum triiodothyronine values by SPAC T_3 RIA kit and Dainabbot T_3 RIA kit.

より影響されず、洗浄操作は不要と結論された。

本キットにより測定された各種の甲状腺疾患患者の血清 T_3 値は、均一な反応系で、BF をポリエチレングリコールで分離する他のキットの測定値と直線関係を示した。測定値はやや高い傾向がみられた。また、疾患別の血清 T_3 値の分布はこれまでの他の方法による成績と同一であった。

5. ま と め

本法は 2 回のピペッティング操作で、BF 分離は吸引除去で行われ、再現性も良好であり、日常検査法と

して有用と結論された。

文 献

1) I.J. Chopra, et al.: *Recent Prog. Hormone Res.*,

34, 521 (1978)

2) 入江実: B と F の分離, 新版ラジオイムノアッセイ(鎮目和夫・熊原雄一編) p.57, 朝倉書店, 東京 (1977)