技術報告

Amerlex Free T₄ RIA kit による遊離サイロキシンの測定†

吉井弘文, 福井康太郎, 安永忠正, 高橋睦正

熊本大学医学部放射線医学教室

860 熊本市本荘1-1-1

1981年5月18日 受理

Key Words: free thyroxine, radioimmunoassay

生物学的活性を有する遊離サイロキシン(FT₄)の測定には、従来、平衡透析法しかなく、広く臨床に用いられなかった。最近、ラジオイムノアッセイ(RIA)の進歩により、FT₄ RIA kit がいくつか製品化されている^{1)~10)}。

今回、われわれも、Amerlex Free T₄ RIA kit (RCC-科研)を使用する機会を得、基礎的、臨床的検討を行い、二、三の知見を得たので報告する。

1. 対象および方法

対象とした症例は、当科を受診した正常者55例、未治療および治療中の甲状腺機能亢進症56例、低下症24例、および妊娠例44例の計179例である。

基礎的検討は、低濃度より高濃度に至る3~4種類の検体を用意し、3重測定を行った。Assay法はFig. 1に示すとおりである。

なお、臨床的検討において、いわゆる overscale の測

Fig. 1 Amerlex Free T₄ kit assay protocol.

† Radioimmunoassay of Free Thyroxine by Amerlex Free T₄ RIA Kit. Hirobumi YOSHII, Koutaro FUKUI, Tadamasa YASUNAGA and Mutsumasa TAKAHASHI: Department of Radiology, Faculty of Medicine, Kumamoto University, 1-1-1, Honjo, Kumamoto-shi 860.

定値を示すものについては、回帰式、相関係数の算出に加えなかった。

2. 測定結果

2.1 基礎的検討

2.1.1 再現性 (Table 1, 2)

Assay 内再現性は、変動係数で4.2~5.8%, assay 間変動の変動係数は11.7~20.0%であった。

Table 1 Intraassay reproducibility (n=10)

Sample	Mean ± S.D. (ng/dl)	C.V. (%)
L	0.2 ± 0.01	5.0
N	1.2 ± 0.05	4.2
H	7.7 ± 0.45	5.8

Table 2 Interassay variation (n=5)

Sample	Mean ± S.D. (ng/dl)	C.V. (%)
L	0.2 ± 0.04	20.0
N	1.2 ± 0.14	11.7
H	7.7 ± 0.95	12.3

2.1.2 Incubation 温度の影響 (Fig. 2)

標準血清の結合率は、温度が低くなるにつれて、低濃度領域で低下する傾向を示したが、20°Cから45°Cにかけては、比較的良好な標準曲線を描いた。濃度の異なる4検体について、その測定値をみるとFig. 2に示したように、規定温度に比して、中濃度では有意の差を認めず、低濃度では、温度が低くなるにつれ0.3~0.4 ng/dl と高値を示した。高濃度では、5.9~8.5 ng/dl となり、規定温度の6.9 ng/dl に比し、かなりの差が認められた。

Fig. 2 Effect of incubation temperature.

2.1.3 Incubation 時間の影響 (Fig. 3)

標準血清の結合率は30分でわずかな低下を認めたが、45分以上ではほとんど差がなく、安定した標準曲線が得られた。濃度の異なる4種類の検体においても、中・低濃度では、0.1~0.2 ng/dl とほとんど差は認めず、高濃度で±0.4 ng/dl といくぶんバラツキが認められた。

Fig. 3 Effect of incubation time.

2.2 臨床的検討

2.2.1 他 kit との比較

各種甲状腺疾患41例について、本 kit と SPAC FT₄⁹⁾ との相関をみると、回帰式 $y=1.03x-0.07$ 、相関係数0.98であった。

2.2.2 FT₄ RIA と RT₃U・T₃・T₄ および FTI との相関

各種甲状腺機能179例について、本 kit と RT₃U の相関は回帰式 $y=1.8x+24.9$ 、相関係数0.80。T₃ RIA との相関は回帰式 $y=0.4x+1.2$ 、相関係数0.84であった。T₄ RIA との相関 (Fig. 4) は回帰式 $y=1.4x+7.7$ 、相関係数0.79であった。Free thyroxine index (FTI) との相関 (Fig. 5) は回帰式 $y=0.66x+1.77$ 、相関係数0.89であった。

2.2.3 正常者・妊娠および甲状腺機能別 FT₄ 濃度

正常者55例では、0.7~1.7 ng/dl に分布し、平均値は 1.26 ± 0.37 ng/dl。機能亢進症56例では 2.4 ng/dl 以上に分布し、overscale の値を除いた平均値は、 6.49 ± 3.06 ng/dl。機能低下症24例では 0.1~0.6 ng/dl に分布し、 0.38 ± 0.18 ng/dl であった。妊娠1期5例では 1.1~1.3 ng/dl に分布し、平均値 1.16 ± 0.09 ng/dl、Ⅱ期13例で 0.7~1.4 ng/dl で、 0.97 ± 0.19 ng/dl、Ⅲ期26例で 0.6~1.0 ng/dl で、 0.80 ± 0.11 ng/dl であった。

Fig. 4 Correlation between FT₄ and T₄ RIA.

Fig. 5 Correlation between FT₄ and FTI.

3. 考 案

現在までの FT₄ kit の assay 方法には, coated tube methods^{1)~3)}, membrane separation methods^{3),4)}, あるいは, complex kinetic rate reaction methods^{3),5)~7)} の 3 法がある。Amerlex Free T₄ RIA kit は, 上記とは異なり, thyroxine binding protein (TBP) と結合せず抗体とは T₄ 同様に結合する ¹²⁵I-T₄ 誘導体を用い, TBP の存在下で FT₄ 量を測定する。また, T₄ に対する affinity の高い抗体と高比放射能の ¹²⁵I-T₄ 誘導体を少量用いて, 総 T₄ と TBP の平衡関係に与える影響を極力少なくするようキット化されている。

われわれが行った assay においてもほぼ満足できる成績を示した。再現性は, 同一 assay 内で 5.8% 以下で良好であったが, assay 間の変動は最高 20% となり, 従来⁸⁾の T₃, T₄ kit に比してバラツキが認められた。Incubation 温度は, 規定の 37°C を要するが, 時間は 45 分以上で安定した assay が行われる。

キットの信頼性であるが, RCC によれば平衡透析

法との回帰式 $y = 0.86x + 0.03$, 相関係数 0.98 とされている。われわれは, 平衡透析法の技術を有しないので, よく FT₄ を示すといわれている FTI との相関をみると, 相関係数 0.89 と非常に良好であった。

臨床例では, 正常者の FT₄ 値は, 平均 1.26 ± 0.37 ng/dl で 0.7~1.7 ng/dl 内に分布し, 機能亢進症, 低下症と重なりを認めず区別された。妊娠例をみると, FT₄ 値はいくぶん低値を示す傾向が認められたが, いずれも正常域内に分布した。これらの成績は, TBG 異常時にも, FT₄ 値がよく甲状腺機能を現していることを示唆するものと思われる。

4. ま と め

Amerlex Free T₄ RIA kit を用いて, 二, 三の検討を行い, つぎのような成績を得た。

- (1) Incubation 時間は, 37°C で 45 分以上で十分であり, 再現性もほぼ満足できるものであった。
- (2) FT₄ 値と FTI の相関係数は 0.89 であった。
- (3) 正常者の平均値は, 1.26 ± 0.37 ng/dl で, 正常域は 0.7~1.7 ng/dl と推定される。また, 機能低下症, 機能亢進症と重なりをまったく認めなかった。
- (4) TBG 異常を示す妊娠例についても, その FT₄ 値は正常に分布した。

文 献

- 1) 吉田克己, 他: 核医学, **17**, 229~36 (1980)
- 2) 尾藤早苗, 他: ホと臨, **28**, (11) 11~18 (1980)
- 3) L.R. Witherspoon, et al.: *J. Nucl. Med.*, **21**, 529~39 (1980)
- 4) F.S. Ashkar, et al.: *ibid.*, **20**, 956~60 (1979)
- 5) 池窪勝治, 他: ホと臨, **28**, (10) 109~14 (1980)
- 6) L.E. Braverman, et al.: *J. Nucl. Med.*, **21**, 233~39 (1980)
- 7) J.E.M. Midgley, et al.: *Lancet*, **27**, 704~05 (1980)
- 8) 吉井弘文, 他: 核医学, **18**, 237~44 (1981)
- 9) 満間照典, 他: ホと臨, **28**, (12) 91~96 (1980)
- 10) Jack H. Oppenheimer, et al.: *J. Clin. End.*, **24**, 785~93 (1964)