

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川放射線技師会会誌 (1981) 3巻:33～36.

Amerlex T3-RIA kitの基礎的検討

西部茂美、小川善輝、村上昇

Amerlex T₃ - RIA kitの基礎的検討

旭川医大放射線部核医学部門

西 部 茂 美 小 川 善 輝

村 上 昇

〈目的〉 甲状腺より分泌される甲状腺ホルモンには、トリヨードチロニン（以下T₃）とチロキシン（以下T₄）とがある。T₃はT₄に比べて生理的効果が数倍大きく、かつ速効性である。従ってT₃の動態を知ることは、T₄のそれと同様に臨床上重要である。しかし、血中T₃濃度はT₄の1~2%と非常に微量である為、ガスクロマトグラフィー等による測定では、これを正確に測定することは困難であった。ところが1970年に至りGharibs によってT₃のRIAが開発され、血中T₃微量測定が可能となった。

今回我々は、一定の直径を有する微細粒子（アマレックス粒子）を用いた、血中トリヨードチロニン量測定用RIA kitアマレックスT₃を使用する機会を得たので、二・三の基礎的な検討を加えて報告する。

〈測定法及び機器〉

a 測定器及び計算器 Aloka ARC-500型 Canon Canola SX-350

b 測定方法

- ① 検体を室温にもどす。
- ② 標準又は検体血清25 μ lを加える。
- ③ ¹²⁵I-T₃液 500 μ lを分注する。
- ④ アマレックス抗T₃抗体懸濁液 500 μ lを分注する。

- ⑤ 泡だてないように混合する。
- ⑥ パラフィルム等でカバーをし、37℃で3時間インキュベートする。
- ⑦ 遠心分離する（但し、1500 g 以上、15分間室温）
- ⑧ 上清液をデカントする。
- ⑨ 沈渣計測。

<測定法に関する基礎的検討>

a、インキュベーション時間の検討

インキュベーション温度を原法通り37℃一定とし、標準血清 0 ng/ml 、1.84 ng/ml 、3.76 ng/ml 、7.47 ng/ml の5検体に付き二重測定で0.5時間、1時間、2.5時間、4時間、5時間と変化させてグラフに示したものがFig①である。これから解る様に、0~7.47 ng/ml の標準血清は、2.5時間頃から時間と共にほぼ反応がプラトーに達し、又0.5時間、1時間では、0 ng/ml 、0.78 ng/ml 、1.84 ng/ml の低濃度については、また反応途中の段階

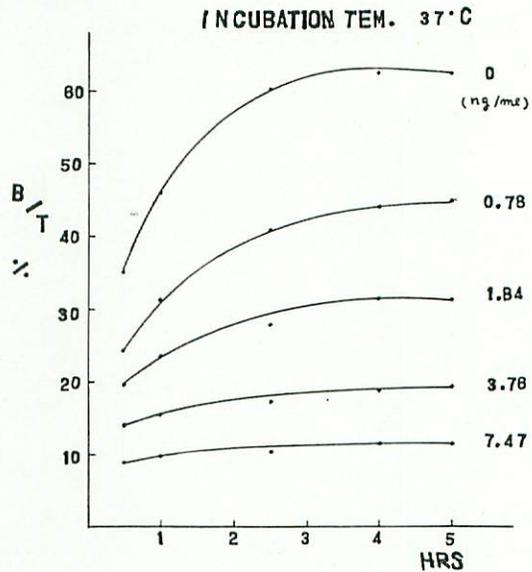
Fig①
にあり、3.76 ng/ml 、7.47 ng/ml の高濃度に付いては、インキュベーション時間に関係なく一定の値を示し、直線関係が得られるようである。この事からインキュベーション時間は少なくとも2.5時間以上必要と思われ、以下のアッセイはすべて3時間とした。

b、インキュベーション温度の検討

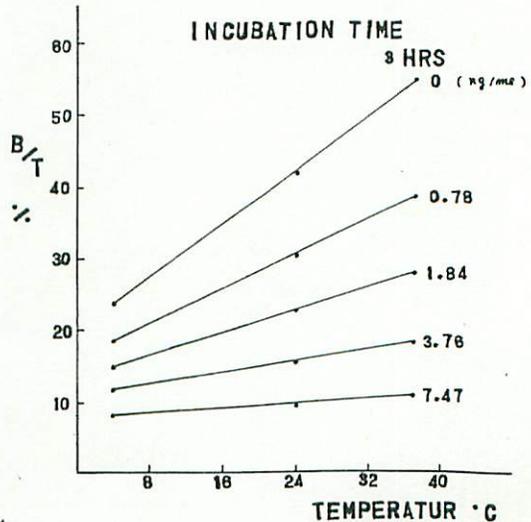
インキュベーション時間を3時間とし、キット付属の標準血清 0 ng/ml 、0.78 ng/ml 、1.84 ng/ml 、7.47 ng/ml の5検体に付き三重測定で4℃、24℃（室温）、37℃と変化させ、グラフを作成したものがFig②である。グラフから、インキュベーション温度が低くなるにつれて、低濃度領域の曲線の感度がにぶくなる傾向にあるにもかかわらず、各濃度とも温度によらずほぼ一定した直線関係が得られている事から、低濃度、高濃度の両方の領域の感度特性を考慮して37℃適切に思われ以下のアッセイはこの条件に従う。

c、希釈試験の検討

ある患者のT₃濃度が高値を示す検体を、キット付属の標準 0 ng/ml 濃度血清及び生食の二種で2倍、4倍、8倍、16倍と変化させ、二重測定をしグラフに示したものがFig③である。黒丸を結んだ直線が生食希釈のものである。両者とも希釈倍数と濃度間で良好な直線関係が得られ、生食希釈の方がより原点に近く、患者のT₃濃度が高値を予想される場合には、キット付属の0 ng/ml



Fig②

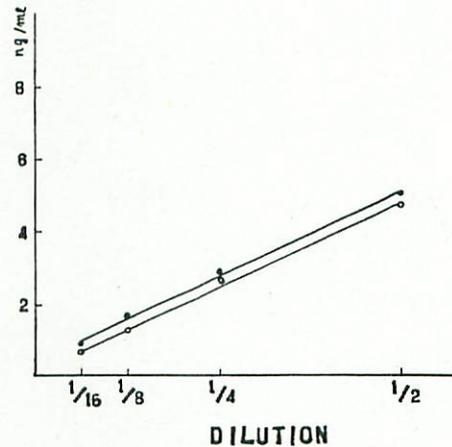


濃度血清希釈よりも生食希釈の方がすぐれているように思われる。

d、回収率の検討

Fig ③

既知量 T₃ 濃度 1.58 ng/ml、の患者血清に、標準血清 0.78 ng/ml、1.84 ng/ml、3.76 ng/ml、添加時における回収率は、三重測定で Fig ④ に示す結果となり、それぞれ 108.97%、89.67%、102.39% で平均 100.34% で平均 100.34% ときわめて良好な値を得た。



e、再現性の検討

① Intra Assay Valuation

T₃ 濃度が三種の患者血清 A、B、C に付き同一アッセイで 10 回繰り返して測定を行なったところ mean, SD, CV は Fig ⑤ に示す通りで、平均変動係数 3.45% ときわめて良好な値を示した。

② Inter Assay Valuation

T₃ 濃度が 6 種の患者血清 D、E、F、G、H、I をロット番号の異なる三キットにつき二重測定を行なった所、mean, SD、CV は Fig ⑥ に示す通りで平均変動係数 3.57% ときわめて良好な値を示した。以上の 2 点から再現性の良いキットである。

ADDED ng/ml	OBSERVED ng/ml	RECOVERED ng/ml	%
0	1.58	—	—
0.78	2.43	0.85	108.97
1.84	3.23	1.65	89.67
3.76	5.43	3.85	102.39
mean recovery			100.34

f、相関の検討

Fig ⑦ は、PHADEBAS T₃ RIA kit 及び SPAC T₃ RIA kit を横軸に、Amerlex T₃ RIA kit

を縦軸に取り、それぞれ患者の血清 13 検体に付き、二重測定で得た値をグラフに示したもので以上の結果から、Amerlex T₃ RIA kit と PHADEBAS T₃ kit との相関が 0.959 となりきわめて相関が良かった。

INTRA ASSAY VALUATION

N	SAMPLE (ng/ml)		
	A	B	C
1	6.2	2.2	1.1
2	6.2	2.3	1.0
3	6.3	2.3	1.1
4	6.1	2.3	1.0
5	6.4	2.2	0.9
6	6.1	2.3	1.0
7	6.2	2.3	1.0
8	6.2	2.3	0.9
9	6.3	2.3	1.0
10	6.3	2.4	0.9
mean	6.23	2.27	0.99
S. D.	0.09	0.04	0.07
C.V.(%)	1.44	1.84	7.07
mean C.V. = 3.45			

g、正常対照群の検討

院内職員の正常者血清 13 検体 (但し性別を問わず) に付き上記の条件下の基にアッセイを行なった所、mean ± 2 SD = 1.2 ± 0.4 ng/ml という値を得、Amerlex T₃ RIA のノーマル値とした。但し年齢が 50 歳を越える者についての値は含んでいず多少のノーマル領域が広がるように予想される。

<結語>

本検査法については、またいくつかの検討等を要するが、従来の検査方法と比し血清量が 25 μl と微量であり、インキュベーション時間も 3 時間と短かくてすみ

INTER ASSAY VALUATION

N	SAMPLE (n \bar{g} /ml)					
	D	E	F	G	H	I
1	5.4	5.6	1.8	1.4	1.4	2.4
2	5.3	5.6	1.8	1.2	1.2	2.5
3	5.3	5.3	1.8	1.3	1.2	2.7
mean	5.33	5.50	1.80	1.30	1.28	2.53
S. D.	0.05	0.14	0.00	0.08	0.09	0.12
C.V. (%)	0.94	2.54	0.00	6.15	7.03	4.74
mean C.V. = 3.57						

インキュベーション時間も3時間と短かくてすみ、尚かつ測定操作も簡便で再現性にすぐれた、きわめて臨床的に有用な甲状腺機能検査法である。最後にF・B分離時の際沈渣が流れやすい傾向にある事から、十分注意を要する。

Fig ⑦ a

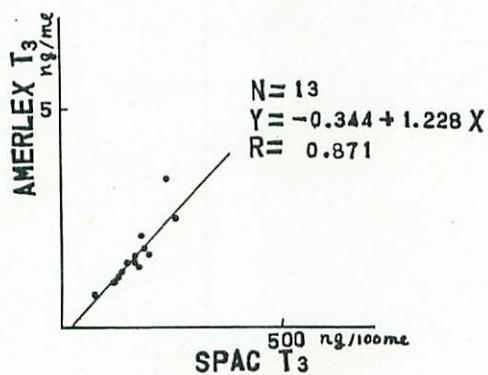


Fig ⑦ b

