

游离甲状腺激素放射免疫法测定浓度在 研究甲状腺疾病中的意义

一般认为血清甲状腺激素的未结合部份是其生理活性成份并决定甲状腺机能状态。

以前,依据两个相互无关的检查来间接测定游离甲状腺激素,即测定总激素量和在血清中加入标记激素以显示弥散部份、凝胶可分离部份或超微过滤部份的比例。这些技术有各种改良方法以避免在标记激素中存在游离放射性碘,与早期测定比较可获较低的计算游离甲状腺激素值。Ellis和Ekins (1975)介绍比较简便的以放射免疫法直接测定血清透析液中 fT_3 和 fT_4 。

本文对这一技术稍加改进,以探讨测定游离甲状腺激素在甲状腺疾病研究中的作用。

方 法

制备抗血清:由兔产生专一的 T_3 抗血清;由绵羊产生 T_4 抗血清。

测定: $^{125}I-T_3$ (2000毫居/毫克)和 $^{125}I-T_4$ (1000毫居/毫克),未进一步纯化。

制备去甲状腺激素人血清:是使正常血清与活性炭混和16小时(每毫升血清加75毫克活性炭),之后以3100克离心1小时,上清液通过微孔滤器过滤二次(孔径0.22微米),除去残余的微量活性炭。血清储存于 $-40^{\circ}C$,血清中98~99%的 T_3 和 T_4 被此法去除。

供作标准的 T_3 和 T_4 的储存液的浓度经紫外线分光比色计测定并储存于 $-40^{\circ}C$ 密封安瓿中。标准溶液二个月内保持稳定。此储存液亦用于交叉反应的右旋 T_3 (rT_3)。

平衡透析:待测或去甲状腺素血清200微升,置5毫升聚四氟乙烯试管内,用2 μ 时透析膜,于康氏振荡温育器中, $37^{\circ}C$ 至少18小时。

试液(用于透析和测定):10mM Hepes缓冲液,106mM氯化钠和1mM叠氮钠(作为制菌剂)加蒸馏水在 $37^{\circ}C$ 用1M NaOH调整pH到7.4。

标准液: T_3 和 T_4 标准液为0~76.8fM和0~64.35fM。示踪剂和抗体以0.1%明胶缓冲液配制。2%明胶液同样以缓冲液配制。

分离用活性炭混悬液:2克活性炭和100毫克甲基纤维素与20毫升缓冲液配制。

测定步骤:(基于Ellis及Ekins法1975)

标准管

1毫升去激素血清透析液

100微升标准液(T_3/T_4)

50微升2%明胶

50微升 $^{125}I-T_3$ (2.3fMol)

50微升 $^{125}I-T_4$ (7.7fMol)

50微升抗血清(最终稀释度 T_3 :1:1500000, T_4 :1:750000)

待测样本

1毫升血清透析液

100微升缓冲液(含0.1%明胶)

其他与标准管同

全部试管(包括对照管)在 $4^{\circ}C$ 温育24小时

于 $4^{\circ}C$ 下加100微升活性炭和甲基纤维素混悬液于各管,

混匀5分钟后在 $4^{\circ}C$ 下离心(1500g)

30分钟

用巴氏吸管将游离与结合部份分离并在自动井型闪烁计数器中测残留活性炭脉冲数。

血清总 T_3 (TT_3) 和血清总 T_4 (TT_4)。本文以放射免疫法, 用测定游离 T_3 / T_4 的同样抗血清测总 T_3 和 T_4 。

结 果

游离 T_3 (fT_3) 和游离 T_4 (fT_4) 测定的可靠性: 全部标准品和待测样品测定三份 (除实验本身精确研究外)。

精确性 (透析和测定):

同批测定——标准曲线的五点 (每点精确地重复八次) 的变异系数全部低于 5%, 实验本身变异平均 3% (fT_3) 和 1.63% (fT_4)。

不同批测定——测定在一定浓度范围内的 T_3 和 T_4 的七个样品, fT_3 和 fT_4 测定间的变异系数各自为 7.2% 和 7.1%。

灵敏度: fT_3 1.38 pmol/l, fT_4 1.42 pmol/l。可信限 $P=0.05$ 。

特异性: fT_3 测定与 T_4 和 rT_3 的交叉反应各为 2.6% 及 0.5%, fT_4 测定与 T_3 和 rT_4 的交叉反应为 0.88% 及 5.5%。

正常人的血清总 T_3 、 fT_3 和总 T_4 、 fT_4 的浓度: 52 名健康成人测定了血清 TT_3 、 fT_3 、 TT_4 和 fT_4 (男 40, 女 12), 系未怀疑有甲状腺疾病的医院职工 (25~47 岁)。可能干扰结果的因素, 包括治疗药物如雌激素, 苯妥英纳等都排除了。全部病例甲状腺激素结合试验正常。结果如下:

TT_3 (nmol/l) 1.66 ± 0.31 (均值 \pm SD)

fT_3 (pmol/l) 10.08 ± 2.80

TT_4 (nmol/l) 10.8 ± 23

fT_4 (pmol/l) 10.35 ± 3.15

游离激素与总激素的平均百分比:

fT_3/TT_3 0.6%

fT_4/TT_4 0.01%

TT_3/TT_4 和 fT_3/fT_4 平均比值分别为 0.015 和 0.97。

甲亢患者血清 TT_3 、 fT_3 和 TT_4 、 fT_4 : 21 名确诊的甲亢患者测定血清 TT_3 、 fT_3 、 TT_4 和 fT_4 的结果:

TT_3 3.33~9.22 nmol/l

fT_3 21.37~53.92 pmol/l

TT_4 204.6~>400 nmol/l

(3 例 > 400)

fT_4 24.20~>64.35 pmol/l

(4 例 > 64.35)

全部与正常组无重叠 (诊断符合率 100%)

甲减患者血清 TT_3 、 fT_3 和 TT_4 、 fT_4 : 21 名症状性甲减患者 (全部病例 TSH 水平显著增高), 结果如下:

TT_3 0.18~2.61 nmol/l (15 名低于正常范围, 5 名为 1~2 nmol/l, 仅 1 名 2.61 nmol/l)

fT_3 3.20~9.83 pmol/l (5 名低于正常范围)

TT_4 2.60~62.1 nmol/l (除 1 名外均低于正常范围)

fT_4 不可测~9.14 pmol/l (15 名低于正常范围, 其中 11 名不可测得。5 名低 fT_3 和低 fT_4 水平同时存在)

其诊断灵敏度 (低于正常范围)

TT_3 、 fT_3 和 TT_4 、 fT_4 的相关性: 研究表明, 在 TT_3 和 TT_4 之间, fT_3 和 fT_4 之间各有很高的相关性, ($r=0.92$, $p<0.001$) 和 ($r=0.91$, $p<0.001$)。

讨 论

直接测定血清透析液中 fT_3 和 fT_4 的放射免疫方法已建立并应用。此法较为简便并避免了早先间接测定存在的问题。平均 fT_4 值 (游离百分率亦同样), 正常情况下明显低于原先间接测定值。本文 fT_4 正常范围

4.05~16.65pmol/l, 而 Ellis 法为9.7~21.9pmol/l (1975)。已注意到fT₄测定中与rT₃的交叉反应为5.5%; 正常血清rT₃平均值0.63_nmol/l; 可透析部份0.26% (Chopra 1975), 因此交叉反应未超过血清fT₄值的1%。从前报告用间接法测血清fT₄值有很大的波动, 这大多是由于用以计算游离部份的TT₃值大幅度变动的缘故, 其技术问题已于绪言中讨论。放射免疫法直接测定血清透析液fT₃, 避免了血清蛋白造成的使得总激素值久久未能一致的问题。仅有的放免测定血清fT₃值(Ellis和Ekins 1975)是5.4~10.0pmol/l, 较本文4.5~15.7pmol/l狭窄, 假定二种方法精确度相似, 则反映小的技术差异及人群选择差异的因素。

本文证实TT₃值是甲亢的高度灵敏的指标, fT₃在同样情况下亦全部显著增高。本文中TT₄和fT₄诊断的符合率达100%, 但此系初步的研究, 仅选取明显的患者。

此法将作为进一步研究T₃甲亢的基础。血清TT₄测定可鉴定大多数显性甲减患者,

与本文观察一致。众所周知, 正常人与甲减患者的TT₃之间存在重叠, 在本文再次得到证实。fT₃与fT₄在甲减诊断符合率较低。已注意到症状性甲减具有正常的游离甲状腺激素浓度, 它冲击了游离甲状腺激素是唯一反映甲状腺机能状的概念。

有趣的是fT₄与fT₃几乎等克分子浓度。而TT₄:TT₃却比例悬殊为65:1。T₄与T₃间联系的性质及影响联系的因素仍然不明。fT₄与fT₃之间及游离激素与总激素之间存在很好的相关性。

初步观察正常人及明显甲状腺病人, 此方法对于甲状腺病的常规检查, 似乎无可能。但它们可能在甲状腺结合蛋白容量改变的患者, 在“病态正常甲状腺机能”患者, 在轻微扰乱甲状腺机能的患者中(即突眼性Grave's病)起一定作用。

(P.P.B.Yeo等; Clin Endocrinol
6, 159~165, 1977 (英文) 李铨生译
林祥通 邱传禄校 张永令审)

癌胚抗原放射免疫测定诊断甲状腺髓样癌的临床检查

作者对各种甲状腺癌及甲状腺良性疾患测定CEA值的结果, 发现髓样癌显示极高的阳性率, 且血中浓度高, 提示这与本病发生起源有关连。

作者采用双抗体法作放射免疫测定, 该法操作简单, 灵敏度高, 测定范围可达4~250毫微克/毫升, 正常值为10毫微克/毫升以下。

13例髓样癌全部CEA阳性(10毫微克/毫升以上), 局限性及转移性癌几乎都显示毫微克/毫升值。乳头状腺癌15例中1例高值, 其它乳头、滤泡状腺癌12例, 滤泡状腺癌6例及未分化癌4例, 包括转移癌CEA均

为阴性。

甲状腺非癌性疾患: 腺瘤9例中1例及慢性甲状腺炎7例中1例CEA值轻度升高, 甲亢14例及甲状腺囊肿2例均为阴性。

甲状腺髓样癌血中CEA值和摘除肿瘤重量的关系: 发现10克左右的局限性肿瘤CEA值很高, 认为在两者之间相关系数+0.74具有有意义的正相关关系。但血中CEA值同有无转移无关。

髓样癌手术前后血中CEA值的变化: 完全切除的病例术后CEA值正常化, 而仅摘除主病灶的不完全切除的病例CEA值降低但不正常化, 仍停留于高值。1例认为完