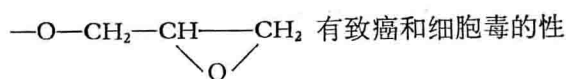
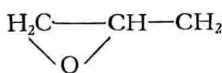


环氧树脂吸收的 HCl 克当量数,这也就是样品环氧树脂的克当量数,则环氧树脂的克当量数

$$= \frac{\text{样品的重量(克)}}{\text{环氧树脂的克当量数}}。$$

环氧树脂粘度大,假如与酸酐混合不均或浸透不充分,都会影响聚合质量而使切片困难,出现颤痕或碎裂。因此必须注意充分搅拌,我们自制简易旋转式标本瓶摇动机,用红外线加温标本瓶。在 30℃ 的条件下摇动约 4 小时,可达到充分浸透。包埋后经 35—45—60℃ 各 24 小时固化。用玻璃刀可以很顺利地切得 500—600 埃的大形连续切片,用 150 网孔/3 毫米的铜网可不用支持膜捞片。

近年来许多实验室不断地寻找低分子量的环氧树脂或活性稀释剂,以求能够克服浸透的困难。但是,环氧化物和环氧树脂的毒性在于二个环氧基功能团,二个环氧基间碳原子越少毒性越大,已知二缩水甘油醚



有致癌和细胞毒的性质。我们使用上述方法,将脱水到无水丙酮那步的组织块直接放入包埋剂浸透。不使用任何活性稀释剂,聚合后的包埋块可达到良好的切片质量。

几年来,我们使用环氧树脂做包埋剂,注意了以下几个环节:测定环氧树脂的环氧当量,注意 A/E 的准确配方,和加温摇动促进浸透,分段加温并延长聚合时间,应用 Epon 812 得到稳定的切片质量(图版 II 的图 4,5)。

参 考 文 献

- [1] Watson, M. L.: *J. Appl. Physics*, **34**, 2507, 1963.
- [2] Luft, J. H.: *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **9**, 409, 1961.
- [3] Luft, J. H.: *Advanced Techniques in Biological Electron Microscopy*, p. 1—31, 1973.
- [4] Burke, C. N. et al.: *J. Ultrastructure Res.*, **36**, 119, 1971.

[本文于 1978 年 2 月 1 日收到]

三碘甲状腺原氨酸的放射免疫测定 及其临床初步应用

连秉钧 许河生

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

何德华 邓守真 朱禧星 林祥通

(上海第一医学院华山医院)

三碘甲状腺原氨酸(简称 T_3)的放射免疫测定方法,是近年来甲状腺功能实验的主要进展之一。对于常见病,多发病的甲状腺患者的早期诊断,疗效观察以及了解患者甲状腺机能动态变化,测定其血清中 T_3 含量是一个重要的客观指标,并对于 T_3 甲亢具有特殊诊断意义。

T_3 是一个半抗原物质,分子量为 650,故不具有抗原性,但当它与蛋白质或多肽形成共价

复合物后,就具备免疫原性^[1]。因此制备高纯度的 T_3 且把它与大分子载体联结,是产生特异性抗血清的关键。我们采用了两种方法联结,并进行了比较。此外,对抗原纯化,标记,免疫反应中游离抗原和结合抗原的分离以及 T_3 与甲状腺结合球蛋白(简称 TBG)的结合阻断剂均作了摸索。现将工作中牵涉的方法学有关问题以及在临床应用的初步结果总结如下。

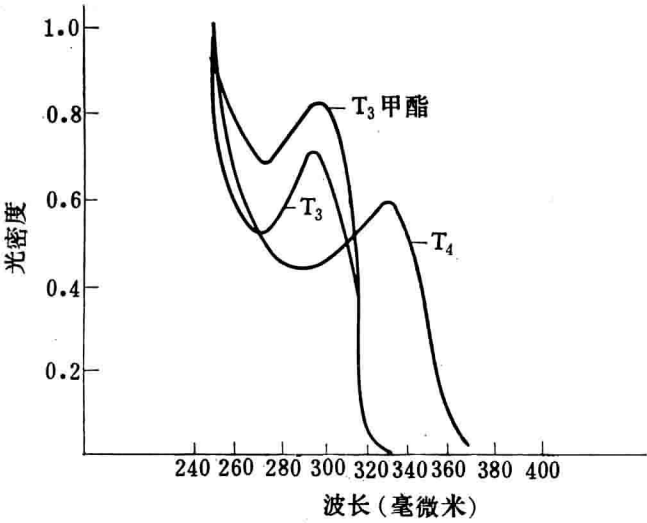


图 1 T_3 和 T_3 衍生物的紫外光谱分析

材 料 与 方 法

1. T_3 半抗原与蛋白质联结

(1) T_3 直接联结法

T_3 半抗原物质 (英国 BDH), 首先鉴定它的纯度, 如果不纯必须进行纯化^[2], 并通过紫外光谱测定 (图 1), 纸层析, 薄板层析 (表 1, 2), 克分子消光系数分析 (表 3), 证明是纯的。称取 40 毫克 T_3 , 用 0.1M 氢氧化钠 2 毫升充分溶解后, 滴加在牛血清白蛋白 (简称 BSA) 的溶液中 (200 毫克 BSA 溶解在 3 毫升蒸馏水) 再加入 200 毫克水溶性羰二亚胺 [1-ethyl-3-(3-dimethyl-amino-propyl)-Carbodiimide, 以下简称 ECD]。用 0.1M 盐酸调至 pH 9, 放置在 5℃, 缓慢搅拌下反应 24 小时。反应物用蒸馏水透析二天, 离心取上清液, 冰冻干燥得 T_3 -BSA 抗原物质 187 毫克。

表 1 T_3 和 T_3 衍生物纸层析

化 合 物	Rf 值
T_3 甲酯 HCl	0.90
T_3	0.42
T_4	0.23

展开剂: 叔戊醇浓氨饱和液

(2) T_3 脂化联结法

T_3 甲脂化 称 250 毫克纯 T_3 , 加 10 毫升无水甲醇放置在两颈瓶中, 一头接氯化氢发生器, 将氯化氢气体缓慢地通入反应瓶中, T_3 即被溶解。然后再通气 40 分钟, 换用回流装置, 在沸水中回流 4 小时, 减压蒸干, 残渣用乙醇抽滤洗几次, 再用乙醚洗几次, 放置在氢氧化钾的干燥器内干燥, 得 T_3 甲酯半抗原 105 毫克。

鉴定 紫外光谱分析见 (图 1), 纸层析, 克分子消光系数测定见表 1, 2。

蛋白质联结 称 150 毫克 BSA, 溶解在 50 毫升蒸馏水中。用 0.1M 盐酸调至 pH 5.5。在缓慢搅拌下加入 50 毫克 ECD, 然后取 25 毫克 T_3 甲酯半抗原物质, 溶解在 5 毫升二甲基甲酰胺, 即滴加在 BSA 溶液中, 滴加完毕后, 再加 30 毫克羰二亚胺, 缓慢搅拌下反应 30 分钟。反应物用蒸馏水透析二天, 离心取上清液, 冰冻干燥, 得 T_3 甲酯-BSA 抗原物质 135 毫克。

表 2 T_3 和 T_3 衍生物薄板层析

化 合 物	Rf 值
T_3	7.4
T_4	5.5

展开剂: 叔戊醇浓氨饱和液

表 3 T_3 和 T_3 衍生物克分消光系数分析

化 合 物	克分消光系数	297/310 毫微米
T_3	4297	1.292
T_3 甲 酯	—	1.272
T_3 文献值	4253	1.276

鉴定 称 5 毫克 T_3 -BSA 和 T_3 甲酯-BSA 各溶解在 10 毫升 0.05M Tris 缓冲液 (pH 8.4) 中, 进行紫外光谱扫描分析 (图 2), 接着用光谱测定法^[3], 计算 T_3 半抗原与 BSA 联结的克分子

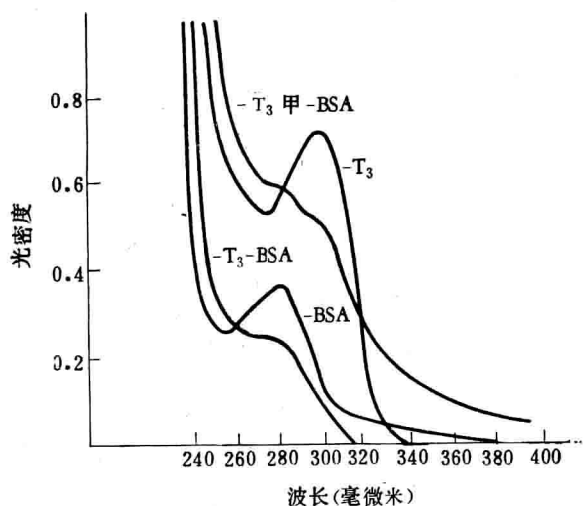


图2 T₃ 甲酯-BSA 和 T₃-BSA 联结物的紫外光谱分析

比数(表4)。

表4 BSA 和 T₃ 联结的克分子比数

化 合 物	T ₃ /BSA
T ₃ -BSA	6:1
T ₃ -BSA	7:1
T ₃ 甲酯-BSA	14:1
T ₃ 甲酯-BSA	16.2:1

2. 抗 T₃ 血清制备及鉴定

(1) 抗血清制备

将上述两种抗原物质,分为两组。各选 10 只雄兔,第一组注射 T₃ 甲酯-BSA,第二组注射 T₃-BSA。每只兔注射 1 毫升 Frennd 佐剂(含 1 毫克 T₃ 抗原),进行皮下多点法免疫。以后每隔两周免疫一次,从第 9 次起,每毫升佐剂内再加用 10⁹ 百日咳菌苗作回忆刺激,各次相隔 40 天,第 11 次后放血滴定效价。第一组除饲养过程中死亡 3 只外,其余 7 只兔均能产生较高效价的特异抗血清。第二组抗血清效价都在 1:500 左右。

(2) 抗血清鉴定

T₃ 甲酯-BSA 和 T₃-BSA 抗血清效价测定见图 3。为鉴定 T₃ 甲酯-BSA 抗血清的

特异性,我们将 T₄ 对 T₃ 抗血清进行竞争抑制试验(图 4),从图中显示出 2 号兔抗血清对 T₄ 交叉仅为 0.5%。对二碘酪氨酸(T₂)交叉更弱为 0.051% (表 5)。同时我们采用了双抗体放射免疫电泳自显影术(图 5),也证明 T₃ 甲酯-BSA 抗血清品质是良好的。

3. 标记抗原的制备

(1) ¹²⁵I-T₃ 标记

称 2 毫克 T₃ 溶解在 2 毫升 0.05 M 磷酸钾(pH 7.4)缓冲液中,加 1 滴 6 M 氢氧化钠,使 T₃ 在碱性溶液里得到充分溶解,然后取 10 微克(10 微升)的 T₃,加到含有 1.8 毫居里 ¹²⁵I-Na 的反应管中,加 200

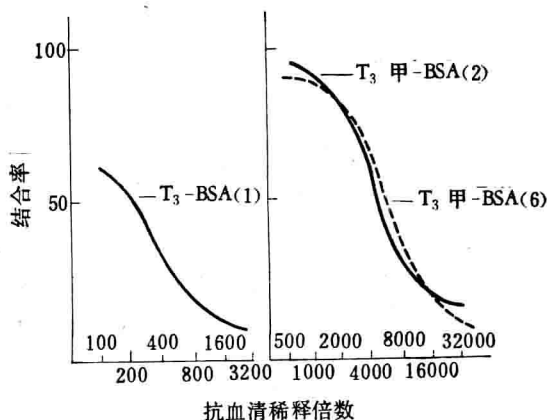


图3 T₃ 甲酯-BSA 和 T₃-BSA 免疫 5 个月的 T₃ 抗血清滴度比较

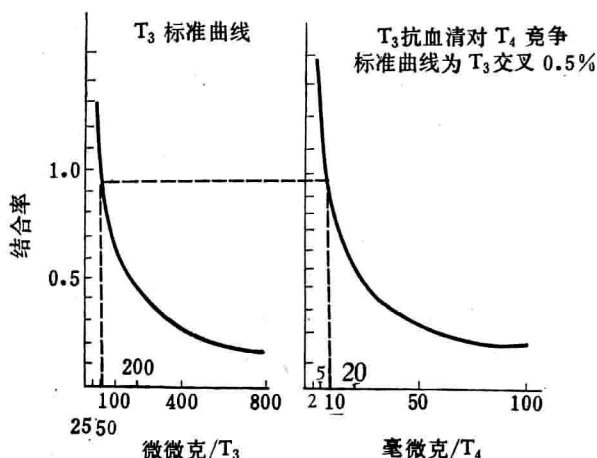


图4 左图是 T₃ 的标准曲线,右图是 T₄ 竞争抑制曲线从图显示出对 T₄ 的交叉为 0.5%。T₃ 抗血清稀释度 1:160,000

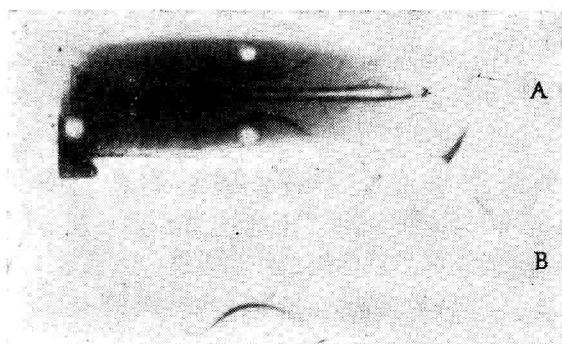


图5 双抗体放射免疫电泳自显影图

A: 上孔加正兔血清;下孔加兔抗 T_3 血清在0.025M 巴比妥缓冲液 (pH 8.4), 电泳45分钟,然后中间槽内加双抗体(羊抗兔 IgG) 出现两条清晰抗兔 γ 球蛋白的沉淀线

B: 将 A 中间槽内双抗体用生理盐水洗尽然后加 $^{125}\text{I}-T_3$ 抗原,曝光三天,专一的对抗下孔 T_3 兔抗血清起曝光作用

表5 T_3 、 T_4 和 T_2 对 T_3 抗血清结合活力的比较

化 合 物	相 对 活 力 (%)
T_3	100
T_4	0.5
T_2	0.051

微克(50微升)氯胺-T(溶解在0.5M磷酸钾 pH 7.4 缓冲液里随用随配),振荡反应90秒钟后,加350微克(50微升)偏重亚硫酸钠终止反应,最后加10微克(50微升)碘化钾,上柱分离(以上溶剂全用0.05M磷酸钾 pH 7.4 缓冲液配制)。

(2) 柱层分离

葡聚糖凝胶 G-25, 用蒸馏水浸泡, 然后装柱(1.2 × 20 厘米), 用0.01M 磷酸氢二钾 (pH 11.9) 平衡, 加0.5毫升1% BSA, 防止吸附效应, 接着加入反应液, 用0.01M 磷酸氢二钾 (pH 11.9) 溶液进行洗脱分离, 使流速控制在每管1毫升/100秒。每管收集液中加入1滴0.1M 盐酸, 使 pH 下降至7.5左右, 取图6中 $^{125}\text{I}-T_3$ 和 $^{125}\text{I}-T_4$ 的高峰管, 保存在含有50%的酒精中, 放置在4℃冰箱内, 按此条件可保存50天左右(表6)。如果抗原中游离 ^{125}I 出现, 用上述分离方法进行纯化即可。图6显示 ^{125}I 的利用率为

89.42%, 其中 $^{125}\text{I}-T_3$ 占48.60%, $^{125}\text{I}-T_4$ 占39.30%, $^{125}\text{I}-T_2$ 占1.62%, 比放射性近似160微居里/微克。

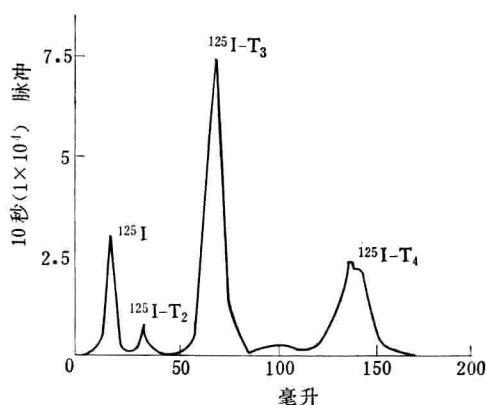


图6 $^{125}\text{I}-T_3$ 和 $^{125}\text{I}-T_4$ 的 Sephadex G-25 分离

[用0.01M 磷酸氢二钾 (pH 11.9) 洗脱]

表6 $^{125}\text{I}-T_3$ 在50%乙醇溶液中不同保存时间的 B/F 值

保存天数(天)	抗血清稀释度	B/F
7	1:6000	0.933
14	1:10000	0.67
21	1:8000	0.90
28	1:8000	0.78
47	1:6000	0.905

4. 放射免疫测定

(1) 去 T_3 正常人血清制备

7.5克 Norit (A) 活性炭加入100毫升正常人血清(内含2万脉冲/每分钟 $^{125}\text{I}-T_3$), 放置在4℃冰箱内24小时, 然后离心1小时(10,000转/分钟), 取上清液再次离心1小时(45,000转/分钟), 取上清液。此方法得到去 T_3 正常人血清, 用 $^{125}\text{I}-T_3$ 示踪证明能减少99%以上。

(2) 水杨酸钠-阻断剂的应用

为阻止血清中甲状腺激素结合球蛋白和抗 T_3 血清对标记抗原的相互竞争干扰, 使用水杨酸钠作为阻断剂。在我们选用的测定条件下, 水杨酸钠对0.1毫升去 T_3 正常人血清中 TBG 最佳阻断浓度为4毫克(图7)。图7说明, 随着水杨酸浓度提高, TBG 与 $^{125}\text{I}-T_3$ 的结合就逐

渐被抑制,但浓度太高后就会影响抗体反应。

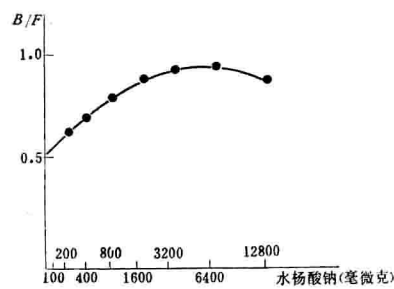


图 7 水杨酸钠浓度对 $^{125}\text{I}-\text{T}_3$ 与 T_3 抗血清结合的影响

(3) 标准曲线

T_3 放射免疫测定的反应条件和工作液稀释

配制等,都用 0.075 M 巴比妥缓冲液 (pH 8.6)。选用抗血清稀释倍数(1:60,000—120,000)。标记抗原每管加样为 (15,000—20,000 脉冲/100 秒)。结合抗原与游离抗原分离用双抗体法(羊抗兔 IgG 血清)。 T_3 标准量加样和测定步骤见表 7, 同时我们进行了不加去 T_3 血清和加去 T_3 血清的两种标准曲线比较, 前者要比后者 B/F 值高(图 8)。因为血清中一些杂质如酶, 蛋白质等会引起干扰作用, 所以在临床测定时必须选用去 T_3 血清作为标准曲线, 更附合样品客观反应条件。

(4) 测定方法学鉴定

表 7 T_3 放射免疫测定的加样步骤

管 数	去 T_3 正常人 血 清	0.01M EDTA 巴比妥 缓冲液	4%正常兔 血清巴比 妥缓冲液	4毫克/水杨 酸钠巴比妥 缓冲液	标 准 T_3	巴比妥 缓冲液	T_3 抗血清	$^{125}\text{I}-\text{T}_3$	4℃ 温 育 二 天 加 第 二 抗 体 100 微 升 过 夜 测 定 分 离 B 和 F
1	100	100	200	100	0	400	0	100	
2	微升	微升	微升	微升		微升		微升	
3					0	300	100		
4						微升	微升		
5					1000微 微克/毫升	275			
6					25微升	微升			
7					50	250			
8					微升	微升			
9					100	200			
10					微升	微升			
11					200	100			
12					微升	微升			
13					4000微 微克/毫升	200			
14					100微升	微升			
15					200	100			
16	↓				微升	微升			
17					0	300			
18		↓	↓	↓		微升	↓	↓	

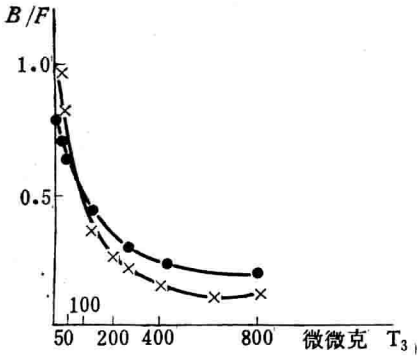


图8 不含去 T_3 血清 (×——×) 和含有去 T_3 血清 (●——●) 的标准曲线比较

回收试验 取正常人血清已知本底为 1 毫升含有 1.3 毫微克 T_3 ，加不同含量已知标准 T_3 ，进行回收试验 (表 8)，回收范围在 95—107%。

表 8 T_3 放射免疫测定的回收试验

正常人血清 含量本底	加入标准 T_3 量	实 测 量	去 回 本 底 收 值	回收率%
1.3毫微克	0.5毫微克	1.8毫微克	0.5毫微克	100%
1.3毫微克	1 毫微克	2.3毫微克	1 毫微克	100%
1.3毫微克	1.5毫微克	2.9毫微克	1.6毫微克	107%
1.3毫微克	4 毫微克	5.1毫微克	3.8毫微克	95%

平行性试验 取已知甲亢患者 100 微升含 T_3 8 毫微克的血清，分别稀释成不同浓度：0.8 毫微克/100 微升、1.6 毫微克/100 微升、3.2 毫

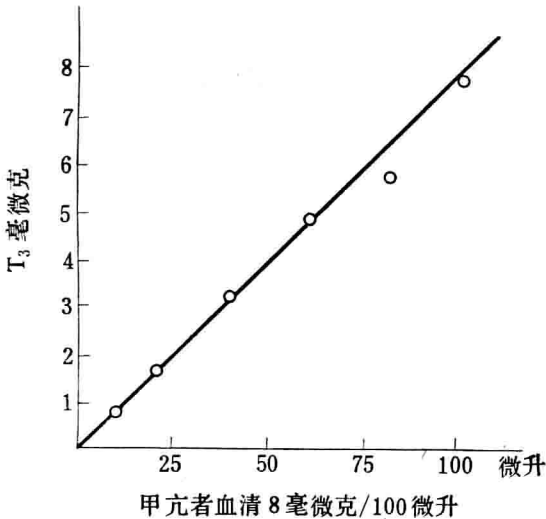


图 9 T_3 放射免疫测定的平行性试验

微克/100 微升、4.8 毫微克/100 微升、6.4 毫微克/100 微升、8 毫微克/100 微升作平行性试验 (图 9)。

灵敏度试验 最小可测量 8—12.5 微微克/管，最大可测量 780 微微克/管。

表 9 各种不同甲状腺情况下血清中 T_3 的含量

甲 状 腺 情 况	人数	血 清 中 T_3 含 量 (毫微克/毫升)	
		均值 $\pm$ SD	范 围
正常人(献血员)	82	1.40 ± 0.36	0.50—2.60
正常人(献血员男)	35	1.40 ± 0.40	0.50—2.60
正常人(献血员女)	47	1.40 ± 0.34	0.50—2.30
正常人(溶血)	16	2.19 ± 0.17	1.40—3.20
甲状腺正常(各种病人)	30	0.94 ± 0.11	0.10—1.50
甲 亢	36	6.74 ± 1.26	3.20—24.00
甲 低	13		<0.08 —1.00
孕妇(各种怀孕期)	19	3.00 ± 0.96	1.20—6.00
服避孕药	5	1.93 ± 0.60	1.05—2.75
脐 血	13	0.57 ± 0.28	0.20—0.90

5. 临床初步应用

正常人以及各种甲状腺患者用放射免疫测定血清总 T_3 的含量见表 9 和分布状况见图 10，从我们的结果显示，82 例正常人(献血员)血清 T_3 平均含量为 1.40 毫微克/毫升，与国际上报道一致。男性和女性正常人 T_3 平均含量并无差别。甲状腺功能正常的各种病人(外伤病人、血液病、冠心病等各种内科疾病)，血清总 T_3 平均值偏低，因治疗过程中使用各种药物，特别是大量激素类药物^[4]，可使 T_3 含量降到 0.1 毫微克/毫升以下。如果正常人血清保存不妥或大量溶血会造成正常值偏高。未经治疗甲状腺患者，血清中 T_4 含量可从 3.20—24.0 毫微克/毫升。检测到甲亢患者最小 T_3 值，近似正常值的 1 倍。甲低患者 13 人 T_3 含量 <0.08 —1.0 毫微克/毫升，对于甲低，诊断 T_4 及 TSH 要比 T_3 更有价值。各种不同怀孕期的孕妇以及服用避孕药的妇女， T_3 含量平均值比正常值高，因为雌激素分泌增多，导致血中 TBG 浓度增高造成血清中 T_3 含量增高，脐带血比正常值偏低。从各种甲状腺情况的血清中 T_3 含量分布 (图 10) 说明以正常人血清 T_3 均值 $\pm$ SD (即 1.04—1.76 毫微克/毫升) 为上下临界界限，36 名甲亢患者

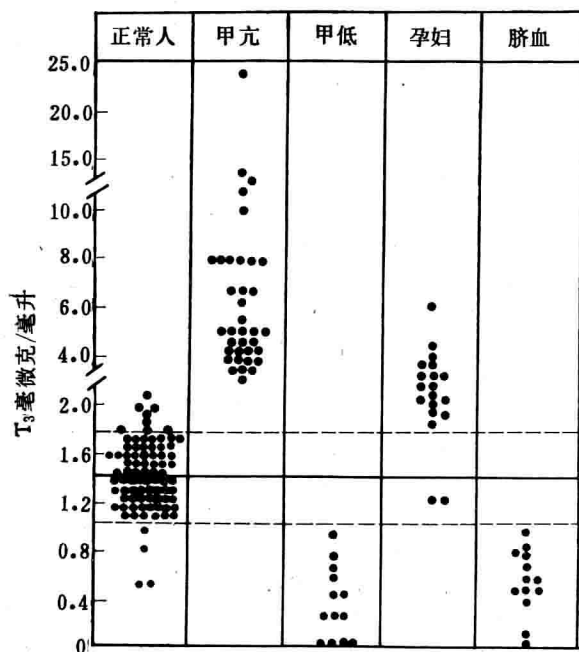


图 10 各种甲状腺情况下血清中 T_3 的分布

全大于正常值,分布在上限,甲低患者均小于正常值,分布在下限,具有明显差别。

讨 论

1. T_3 半抗原与大分子蛋白质联结是产生抗体的关键。B. L. Brown 等人首先使用琥珀酰多聚赖氨酸联结方法,得到抗体效价是 1:600,对 T_4 交叉达 2—5%。以后 I. J. Chopra 等人改进此方法,将 T_3 和 BSA 联结所产生抗血清效价也并不高。从我们两组实验中证实 Hesch^[5] 提出的论点,用甲基、乙基、或丁基封闭 T_3 中羧端,使 BSA 和 ECD 与 T_3 中氨基端定向共价结合,产生高效价抗体,根据计算 T_3 -甲酯-BSA 联结的克分子数比 T_3 -BSA 的联结克分子数高一倍多,而抗体效价相差 25 倍以上,达 1:160,000。

2. T_3 抗血清品质是极为重要的,特别是与 T_4 的交叉反应性,因为人血清中 T_4 含量要比 T_3 大 60—80 倍,如果交叉太多,必然会影

响 T_3 测定准确性,所以在制备抗体时抗原要纯,同时放射免疫测定的标准 T_3 和测 T_4 交叉反应的标准 T_4 也要相当纯。从图 11 看出, T_3 经过纯化一次对纯化一次的 T_4 (A) 和纯化后时间放长的 T_4 (B) 以及未经过纯化 T_4 (C),进行 T_3 抗血清交叉测定,分别为 0.6%、1%、2%,从而证明测定时的交叉反应很大程度上是由于 T_4 标准品不纯含有 T_3 所引起的。R. D. Hesch^[6] 等认为即使非常纯的 T_4 ,用气体色谱分析 T_3 含量仍占 0.4%,对 T_4 交叉大约在 0.3—0.5%。但也有报道,将 T_4 纯化 5 次后,对 T_3 抗体交叉可降至 0.02%,我们认为这是可能的。虽然我们抗血清对 T_4 交叉只有 0.5%,如果再进一步纯化 T_4 、对 T_3 抗血清的交叉将会更低。对于抗血清的鉴定,我们采用了琼脂放射免疫电泳双抗体法和放射自显影相结合,我们认为半抗原物质所产生抗体,用此方法鉴定是比较理想的。

3. $^{125}\text{I}-T_3$ 抗原标记和分离,我们采用 Kjeld 方法^[7],要比目前常用的 M. C. Patel 方法好。其优点可同时得到 $^{125}\text{I}-T_3$ 和 $^{125}\text{I}-T_4$ 两种较纯的标记抗原,并且柱分离不需要有机溶剂洗脱,分离效果好,时间短。我们认为在标记抗原时,氯胺-T 的用量和反应时间应严格掌握,也是决定

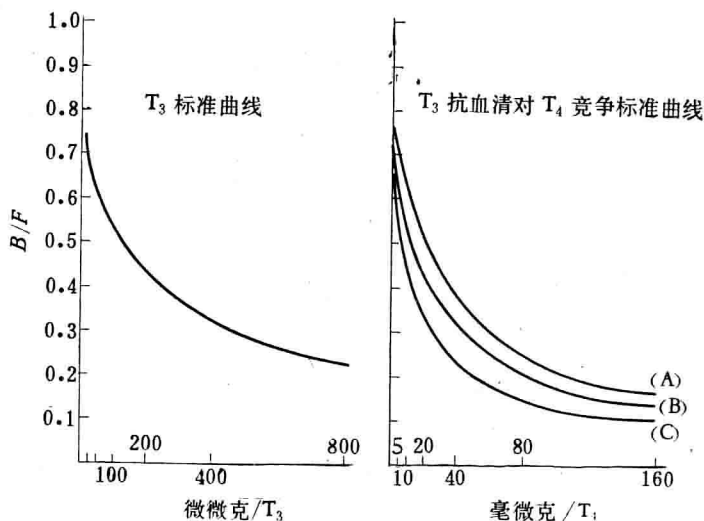


图 11 各种 T_4 纯度对 T_3 抗血清交叉反应的比较

左图 T_3 标准曲线(微微克)右图 T_3 抗血清对 T_4 竞争标准曲线(毫微克)

表 10 不同作者的放射免疫测定方法对各种甲状腺功能测定的 T_3 含量变化

著 者	TBG 阻断剂	B/F	T_3 含 量 $\pm$ SD (毫微克/毫升)		
			正 常 人	甲 亢	甲 低
本 作 者 Larsen (1972) Meinhold (1974) Gharib (1971)	水杨酸钠	DA*	1.40 ± 0.36	6.74 ± 1.26	$<0.08-1.00$
	水杨酸钠	DCC**	1.10 ± 0.25	5.46 ± 4.42	0.24 ± 0.99
	苯胺基萘磺酸	DA	1.15 ± 0.24	4.29 ± 2.52	$<0.18-1.71$
	柳 硫 汞	DA	2.18 ± 0.55	7.60 ± 2.89	0.43 ± 1.03
Balachandran (1976) 各作者正常值波动范围 Stafford (1976)	葡萄糖凝胶 G-25		$0.74-2.64$ $0.74-2.64$ $0.98-1.50$	2.91 ± 7.52	$0-1.21$

* 双抗体法 ** 葡萄糖活性炭吸附法

加成反应和置换反应的关键。通过我们摸索，如果氯胺-T 太多或反应时间延长，造成游离 ^{125}I 增多，甚至标记不上。

4. 影响测定 T_3 值的几个因素

正常人血清中总的 T_3 含量究竟多少？从各个作者报道来看，有所不同，范围也很广，仅举几例说明(表10)。这当然与测定方法不同以及各地区、各民族生活习惯、年龄等都有关系。但除了这些外，从方法学角度来讨论一下有哪些因素会造成如此大的不同。我们认为应该注意以下几点：

(1) T_3 抗血清对 T_4 交叉越小越好，如果对 T_4 交叉为 1% 的话，那么所测定的正常人 T_3 值偏高 60% 左右。

(2) 血清去 T_3 时未能去尽或有残余活性炭细末，会引起数值增高。

(3) 在测定样品中必须除去血清 TBG 对 T_3 抗原和抗体反应的干扰，因此要加入适当量的阻断剂，如果选择阻断剂浓度不当，就会造成数值偏高或偏低。

(4) 正常人血样来源和血样保存不妥也会造成误差。

(5) B/F 的分离方法的选择，会影响灵敏度。据 H. Meinhold 报道，用三种不同方法分离 B/F，第一种葡聚糖-活性炭或葡聚糖-甲基纤维素，第二种用离子交换树脂方法，和用第三种专一性强、灵敏度高的双抗体方法进行比较，最高结合率可相差 20% 左右。

(6) T_3 标记抗原的纯度以及抗体选用滴度

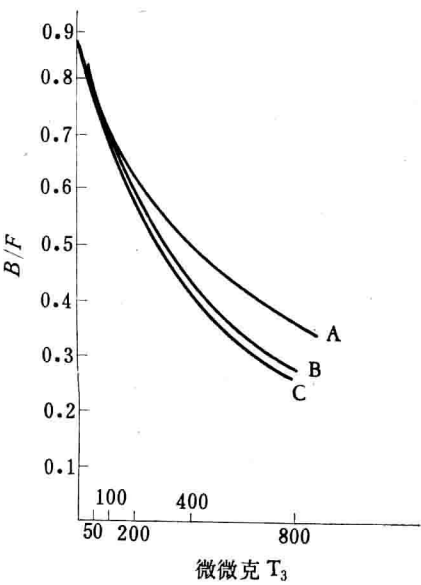


图 12 T_3 标准工作液在 4℃ 保存的时间与标准曲线的行为比较

A——保存 18 天后 4000 微微克/毫升稀释
B——A 母液 100 微微克/毫升稀释
C——即日配制

等都会造成不同程度影响。从实验证明， T_3 标准品保存条件和纯度应当更引起注意(图 12, 13)。未纯化 T_3 和纯化 T_3 作标准曲线，来测定正常值、可相差 24.6%。同时将 T_3 标准工作液 4,000 微微克/毫升(A)，放置在 4℃ 冰箱内两星期与原母液 100 微微克/毫升(B)在测定前进行稀释比较，可使正常值相差 19.3%，但母液和即日新配标准液(C)相差不大。由此启示， T_3 标准工作液不宜存放太久，这误差是 T_3 脱碘造成的。 T_3 放射免疫测定较难于 T_4 放射免疫测定，但只要注意到每个环节以及严格标

准化是可克服的。从我们结果看, T_3 正常值应该在 1.4 毫微克/毫升左右, 符合国际上多数人^[8] 认为正常值在 0.98—1.50 毫微克/毫升水平。

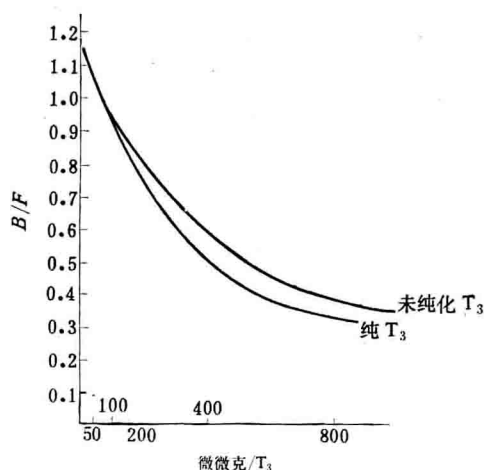


图 13 T_3 纯化与未纯化的标准曲线比较

5. 临床意义

近年来放射免疫测定血清 T_3 含量成功以后, 对以下几方面均有了进一步认识:

(1) 甲状腺激素在甲状腺外的转换。自甲状腺合成和分泌入血的激素以 T_4 为主, 每日约 110 微克, T_3 约 6 微克。血循甲状腺激素进入周围组织如肝、肾和肌肉, 产生效应。在肝和肾中, 部分 T_4 脱碘后转变为 T_3 , 约占血循中 T_3 总量的 2/3—9/10, 血清中结合 T_4 和结合 T_3 之比为 100:1, 而游离部分之比为 10:1, 组织血清 T_3 比度为 4—24, T_4 仅 0.2—0.9。故 T_4 为细胞外主要激素而 T_3 为细胞内主要激素、细胞核内的 T_3 受体和 T_3 的结合力 10 倍于 T_4 , 此可解释 T_3 的生物活性远比 T_4 为强的事实。

(2) 对甲亢的诊断。甲亢患者血清中甲状腺激素均增多, 但 T_3 和 T_4 的增高不成比例, 也

有可能血清 T_4 正常甚至低于正常值, 仅见 T_3 增高, 即所谓 T_3 -甲亢, 因而 T_4 正常时并不能排除甲亢, 进一步诊断尚有赖于血清 T_3 的测定。但 T_3 测定对甲减的诊断意义不如甲亢, 须参考血清 TSH 和 T_4 的含量, 甲减时 T_4 值降低, 但 T_3 可低、可正常, 甚而偏高。

(3) 在抗甲状腺药物治疗过程中, 血清 T_3 水平常能更为正确地反映甲状腺功能状态。在甲状腺手术切除或用 ^{131}I 治疗后及慢性淋巴结甲状腺炎中 T_3/T_4 之比常会增高, T_3 相对增多, 缺碘时 T_3 也能增高, 从而维持基础代谢率正常。甲状腺片治疗时 T_3 也会增高, 同时妊娠、服用甾体避孕药、急慢性肝炎或某些遗传性因素等情况, 可引起血清 TBG 增高, 从而使血清总 T_3 测定结果偏高。反之在雄激素过多, 生长素过多及肢端肥大症, 使用糖类皮质激素, 肾病综合症, 低蛋白血症或遗传所致 TBG 过低, 则使总 T_3 测定结果偏低。这些可能影响 T_3 的因素在临床分析判断时, 必须注意。

参 考 文 献

- [1] Butler, V. P.: *J. Immunol. Methods.*, **7**, 1, 1975.
- [2] Williams, A. D. et al.: *J. Chromatography*, **45**, 371, 1969.
- [3] Erlanger, B. F. et al.: *J. Biol. Chem.*, **228**, 713, 1957.
- [4] Burman, K. D. et al.: *J. Nucl. Med.*, **17**, 665, 1976.
- [4] Hesch, R. D. et al.: *Radioimmunoassay and Related Procedures in Medicine*, **2**, 161, 1973.
- [6] Hesch, R. D. and Hüfner: *Acta Biol. Med. Ger.*, **28**, 561, 1972.
- [7] Kjeld, J. M. et al.: *Clinica Chimica Acta*, **61**, 381, 1975.
- [8] Stafford, et al.: *J. Clin. Path.*, **29**, 642, 1976.

[本文 1978 年 4 月 15 日收到]

(上接第 40 页)

- 1976.
- [7] R. Colin Hughes: *Membrane Glycoprotein*, 1976.
- [8] I. Sissoëff et al.: *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, **31**, 2, 165, 1976.

- [9] J. Schnakenberg: *Thermodynamic Network Analysis of Biological Systems*, 1977.
- [10] Metal Ions in Biological System. Ed. by Helmut Sigel Vol. 3, 1974. Vol. 6, 1976.

[本文于 1978 年 10 月 16 日收到]