

った。さらにプレアルブミンには  $T_3$  よりも強く着くことが多いことがわかった。

〔結論〕 1) *in vitro* で  $T_3$  は従来いわれていた糖たんぱく、アルブミン、以外に  $\alpha_2$ -リポたんぱく、 $\alpha_1$ -リポたんぱくにも結合する。

2) 甲状腺機能亢進症の血清は  $T_3$  を糖たんぱくの部分にわずかしかりとらえず、反対に低下症では多くとり込む。

3) リポたんぱく、アルブミンは機能差はみられない。

4)  $T_3$  は  $T_4$  に比べリポたんぱくに強く結合し、糖たんぱくには弱く結合する。

追加：田中 茂(放医研) 甲状腺機能亢進症で glycoprotein に  $T_4$  が結合していない場合があるとのことだが、これは全然結合していないのではなく、オートグラフを作るときの露出が少ないためと思う。

質問：木村和文(阪大 阿部内科) ① 用いられた  $T_4$  および  $T_3$  の比放射能はどのくらいか、

② 血清に対して添加放射性  $T_4$ 、 $T_3$  の量は生理的な量を越えていないか、

答：川波 寿 ①糖たんぱくの沈降線にまったく、結合しないという意味ではなくて、24時間オートラジオグラムを行なった結果、糖たんぱくの沈降線には黒化していないということである。もちろん、長時間オートラジオグラムをおくと黒化すると思う。② $150\mu\text{Ci/cc}$  のトリオメットを用いた。  $\mu\text{g/dl}$  はいま覚えていないが、血清と  $T_3$  を 3:1 に混合して泳動した。

\*

## 81. 血中遊離型サイロキシンの放射化分析

毛利俊彦 伊藤周平 西川光夫  
(大阪大学 西川内科)

従来から血中の遊離型サイロキシン ( $T_f$ ) は、その生理的意義の重視とともに甲状腺疾患の病態を反映するといわれている。最近平衡透析法等により  $T_f$  の定量法がいくつか報告され、 $T_f$  量は全血清サイロキシン量の約 0.1% に相当し、euthyroid で  $4\mu\text{g}/100\text{ml}$ 、hyperthyroid で  $21\mu\text{g}/100\text{ml}$ 、hypothyroid で  $0.9\mu\text{g}/100\text{ml}$  といわれている。このような超微量のヨードの直接定量には放射化分析を用いるのが至当と考えた。血清から  $T_f$  を分離するために Sterling らの法に準じて血清に対し、等張燐酸緩衝液にて17時間平衡透析を行ない、

透析液を Sephadex G 25 で脱イオン水を溶出液としてゲル透過を行ない、 $I^-$ 、 $Na^+$  その他の電解質をのぞき、次いで第3級アミルアルコールの 2N  $NH_4OH$  飽和溶液(A.A)で  $T_f$  を溶出した。この A.A 部を減圧乾固して試料とした。また放射化された試料に含まれている  $T_f$  以外の成分を除去するために以下の操作をした。照射管中より試料を 2N  $NH_4OH$  3ml にて抽出し 0.04mEq の KI 1ml と血清 1ml を加え10分間静置し  $T_f$  を血清たんぱくにて捕え、その後 5% TCA 2ml、12N HCl 1ml  $Na^+$  を加え遠沈、沈渣を 5% TCA の 1N  $NaNO_3$  溶液にて2回洗浄後測定に供した。なお種々の検討により  $4\sim 5 \times 10^{12}$  neutron/cm<sup>2</sup>sec の中性子束にて1時間照射とした。測定にさいしてわれわれは標準試料として  $NH_4I$  を用いた。標準試料の放射化を行なった場合、マルチチャンネル波高分析によって  $2 \times 10^{-9}$  gr の iodide を 0.45 MeV の光電ピークによって確認し、また low-back G.M counter による  $\beta$  線の減衰曲線を解析し  $2 \times 10^{-10}$ gr の iodide にて25分の半減期をもつ成分を確認した。すなわち  $T_f$  の値の order の iodide が放射化分析により確かに認められた。血清中の  $T_f$  については、血清 4ml より抽出した  $T_f$  の  $\beta$  線の減衰曲線より半減期27分の成分をえたが、誘導放射能値より多く、iodide によるものと確認しにくかった。血清 20ml よりの  $T_f$  の波高分析によって 0.05MeV にピークを認め、標準試料と比較し  $T_f$  は  $10^{-8}\text{gr/ml} \sim 10^{-10}\text{gr/ml}$  の間のもので算出された。平衡透析法による値に比し多く、現在さらに検討を加えている。

追加：毛利俊彦 平衡透析法は血清 5ml を in bag に、5ml の phosphate buffer を out bag とし17時間透析を行ない euthyroid serum 30ml を使用したときのものは、血清 5ml づつを上記の方法にて6回透析したものを濃縮し一つにまとめあげたものである。

\*

## 82. 放射化分析によるたんぱく結合ヨード (PBI) の測定について

浜田 哲 森田陸司 深瀬政市  
<深瀬内科>

浜本 研 鳥塚莞爾<中央放射線部>  
(京都大学)

放射化分析により諸種甲状腺疾患患者の PBI 測定を行ない、従来の比色法との比較を行なうとともに、超微

量のヨードの測定を行なった。

PBI の測定法は、血清 2cc を  $1 \times 10 \text{cm}$  のイオン交換カラムにて脱塩し、これをあらかじめ微量の  $^{131}\text{I}$  を添加した蒸溜フラスコにとる。次にクロム酸および濃硫酸を加えて灰化し、さらに亜磷酸および過酸化水素を加えて蒸溜して、発生するヨードを苛性カリに捕捉する。これを濃縮し、一定量を照射チューブに入れ、ヨードカリのスタンダードとともに原子炉に入れ、 $4 \times 10^{12} \text{n/cm}^2/\text{sec}$  の熱中性子束で15分間の照射を行なった。照射後、ヨードカリの carrier を添加し、次亜塩素酸ソーダによる酸化、メタ重亜硫酸ソーダを加えてヨード分子とし、四塩化炭素にて抽出する。次にメタ重亜硫酸ソーダ還元して iodide とし、硝酸銀を加えてヨウ化銀として沈澱させ、水洗乾燥後、マルチチャンネル波高分析器および GM カウンターで誘導された放射能を測定した。この照射後の分離操作は約30分である。 $^{125}\text{I}$  が減衰したのち、スペクトロメータにて  $^{131}\text{I}$  量を測定して回収率を求め、PBI 値を算出した。本試料はガンマー線スペクトルおよびベータ線線の減衰曲線の測定より、ヨード以外の放射性核種の混入は認められなかった。

本法により測定された諸種甲状腺疾患の PBI 値は、従来の比色法による値とおおむね一致した。

次に、本法により従来の化学的方法では測定しえない超微量のサイロキシン量の測定を試みた。 $^{131}\text{I}$  を添加しない試料を、上述の中性子束で30分間照射を行ない、同様の分離操作を行なって GM カウンターで測定すると、半減期25分の直線がえられ、 $2 \times 10^{-9} \text{g}$  のヨード量が測定された。本ヨード量の計数値より、本法にて  $10^{-10} \text{g}$  のオダのヨード量も測定可能であることを認めた。

質問：田中 茂(放医研) 血清 PBI を放射化分析で測定するのは、Na その他容易に放射化されるものをのぞくために多大の労力を要し、むしろ化学的に測定したほうがよいと思う。しいて放射化分析を行なわれた理由はいかがか。

答：鳥塚莞爾 PBI の測定には activation analysis を用いて行なう必要はない。血中 free thyroxine 量を測定する前段階として行なったものである。

\*

\*

\*

\*

### 83. 甲状腺ホルモンとその関連化合物の放射性ヨード標識法

阿部 裕 宮井 潔 ○木村和文

<阿部内科>

熊原雄一<中央検査部>

(大阪大学)

昨年の本学会総会にて、実験室での  $^{125}\text{I}-\text{T}_4$  の新しい標識法を報告したが、本法は  $\text{T}_4$  のみならず、 $\text{T}_3$ 、DIT MIT の  $^{125}\text{I}$  または  $^{131}\text{I}$  の標識にも応用し、好結果をえたので報告する。

方法は、①  $\text{Na}^{125}\text{I}$  ( $^{131}\text{I}$ ) の酸化、分子状  $^{125}\text{I}_2$  ( $^{131}\text{I}_2$ ) の ether 抽出、② 交換反応、③ 精製の3過程よりなる。①  $\text{Na}^{125}\text{I}$  の酸化は、小試験管内にて、1ml の  $\text{Na}^{125}\text{I}$  液に  $15 \mu\text{g}$  の KI-carrier を加え、1ml の ethyl ether を重ね、次いで conc. HCl 1滴、30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  2滴を加え約2時間放置酸化後水層を除去、ether 層を水で2回洗浄すると最初の放射能の90%以上は  $^{125}\text{I}_2$  として ether 層に抽出されている。② 交換反応は、この  $^{125}\text{I}$  ether 液に被標識化合物 1mg の pH 4~5 (0.02 N acetate buffer) 50% ethanol 溶液 1.2ml を加え(溶液は単層となる)、 $40^\circ\text{C}$  60~90分間 incubate した後液面に温風を送り ether を蒸発させて終了する。交換反応の収率は、 $\text{T}_4$ 、 $\text{T}_3$  約70%、DIT、MIT 約95%であった。③ 精製法は、 $\text{T}_4$  反応液に冷蒸溜水7~8ml を加え、 $\text{T}_4$  を析出させ遠沈、0.001N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  および蒸溜水にて数回洗浄後希アルカリに溶解する。 $\text{T}_3$  は  $\text{T}_4$  と同様に処理した後、混在する  $\text{T}_4$  を幅の広い一次元 paperchromatography にて分離する。 $\text{T}_3$  の位置は autoradiography にて決定する。DIT、MIT も同様に paperchromatography にて精製する。

標識化合物の同定は3種の溶媒による paperchromatography、高圧紙電気泳動法および、 $\text{T}_4$ 、 $\text{T}_3$  については標準化合物と混合して溶解、再結晶の繰返しにて比放射能の低下しないことにより行なった。

本法によると最初に  $^{125}\text{I}$  または  $^{131}\text{I}$  を 5mCi 用いたとき、標識化合物の比放射能は  $\text{T}_4$ 、 $\text{T}_3$  3~3.5mCi/mg DIT、MIT 4~4.5mCi/mg であった。また、本法は従来の Taurog の蒸溜法に比し、収率が高く、反応が安定でかつ容易であり、特別な器具を必要としない等の利点を有する。

この標識法は以上の化合物の他、多くの化合物の放射性ヨード標識法として応用できると思われ、今後検討の予定である。