

《原 著》

Tetrasorb-125 による血中 Thyroxine 量の 測定に関する基礎的ならびに臨床的研究

森 田 陸 司 鳥 塚 莞 爾 浜 本 研
中 川 毅 小 西 淳 二 日 下 部 恒 輔

I. はじめに

血中甲状腺ホルモン測定法には、従来 PBI 法が用いられており、最近では遊離型 thyroxine および triiodothyronine の測定なども試みられているが、いずれも操作が煩雑かつ熟練を要するため、一般には敬遠される傾向がある。一方これに対して、thyroxine (T_4) に特異的に結合する蛋白を利用して、これに標識 T_4 と非標識 T_4 を競合させることにより非標識 T_4 量を測定する competitive protein binding analysis による T_4 測定法がある⁽¹⁾。これは Ekins⁽²⁾ が初め saturation method として開発したものを Murphy^{(3),(4)}、中島⁽⁵⁾、Kennedy⁽⁶⁾ によって、より簡便な方法として改良されたもので、この原理に基づいた血中 T_4 測定法が kit として最近米国 Abbott 社より Tetrasorb-125 として、また Mallinckrodt 社より Res-O-Mat T_4 として発売されている。血中甲状腺ホルモンの測定に操作の簡便な radiostereassay が導入されることは歓迎すべきことであり、著者らはこのうち Tetrasorb-125 の基礎的検討および臨床的应用について検討を試みたのでその成績を報告する。

II. 原 理

^{125}I 標識 thyroxine ($^{125}\text{I}-T_4$) が、標識されていない標準または未知の thyroxine (T_4) と競合して thyroxine 結合蛋白 (TBP) に特異的に結合する事実を応用したもので、一般に competitive protein binding analysis または radiostereassay と呼ばれるものである。即ち血中の T_4 の大部分は TBP と競合して存在し^{(7),(8),(9)}、両

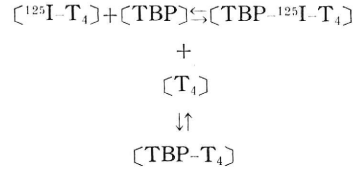


Fig. 1. Competitive protein binding analysis の原理

者の間には、 $[\text{TBP}-T_4] \rightleftharpoons [\text{TBP}] + [T_4]$ なる質量作用の法則に従う可逆反応が成立している。図 1 に示すごとく、 $^{125}\text{I}-T_4$ を TBP に加ると、遊離の $^{125}\text{I}-T_4$ と平衡状態にある TBP 結合 $^{125}\text{I}-T_4$ が作られる。この系に標識されていない T_4 を加えると、非標識 T_4 と $^{125}\text{I}-T_4$ とでは TBP に対する結合性に差異はないので、両者は TBP の同一結合部位に対して平衡に達する迄競合しながら結合し、そのため初めに TBP に結合していた $^{125}\text{I}-T_4$ の一部は遊離してくる。この場合、非標識 T_4 の量が多ければ多いほど遊離 $^{125}\text{I}-T_4$ が増加し、この両者の間に一定の関係が成立する。従って蛋白結合 $^{125}\text{I}-T_4$ と遊離 $^{125}\text{I}-T_4$ とを分離測定すれば、この反応系に加えられた非標識 T_4 量を知ることは可能である。

本法では、試料血清より ethanol にて T_4 を抽出し、それを $^{125}\text{I}-T_4$ -TBG 系に加え、遊離 $^{125}\text{I}-T_4$ を陰イオン交換樹脂に吸着せしめて、その摂取率を標準試料による摂取率と比較することによって、被験血清中 T_4 量を知るものである。

III. 方 法

A. Tetrasorb-125 測定法⁽¹⁰⁾

1) 試 薬

i) Tetrasorb $^{125}\text{I}-T_4$ -TBG 液: Abbott 社の特許で詳細は判らぬが、pool 血清 30ml に $^{125}\text{I}-T_4$ 50 μCi を加え、barbital buffer (pH 8.6) にて 1L に希釈したものと説明されている。

ii) 陰イオン交換樹脂 sponge: sponge もまた

京都大学中央放射線部

受付: 1970年7月

別冊請求先: 京都市左京区聖護院川原町

京都大学医学部中央放射線部

鳥 塚 莞 爾 (〒 606)

Abbott 社の特許で詳細は不明であるが, Amberlite IRA-400 の resin より成ると説明されている,

iii) 抽出用 ethanol: 95% ethanol または無水 ethanol.

2) 測定法

その大略は図2に示すごとくである。まず試料血清 1 ml と抽出用 ethanol 2 ml を vortex mixer にて1分間完全に混和する。その遠心分離後の上澄 0.3 ml を kit 中の polypropylene 試験管に移し, 温浴 (40~45°C) 中にて窒素ガスを通じて ethanol を蒸発乾固させる。乾固物を kit 付属の $^{125}\text{I}-\text{T}_4\text{-TBG}$ 液 1 ml にて溶解し, 室温に10分間放置したのち, 試験管を 4°C の恒温槽に移し, Tetrasorb resin sponge を加え攪拌棒で sponge を押して空気を追い出し, 液を完全に sponge に含ませる。この状態で 4°C, 1時間孵置する。孵置30分後に試験管内の ^{125}I 放射活性を well 型 scintillation counter で計測し, それを 1 st count とする。孵置終了後 resin sponge 以外の液体を陰圧ポンプにより除去し, 更に蒸留水 4~5 ml を加えて, sponge の洗滌を3回繰返す。洗滌後の sponge の ^{125}I 放射活性を計測し, これを 2 nd. count とする。

3) 計算法

$^{125}\text{I}-\text{T}_4$ の resin sponge 摂取率を $\frac{2\text{nd count}}{1\text{st count}} \times 100$ として計算し, T_4 濃度 $5\mu\text{g}/100\text{ml}$ 標準 T_4 液を 0, 0.1 ml, 0.2ml, 0.3ml, 0.4ml の5点について duplicate で同一条件にて測定を行ない, えた標準曲線より検体の T_4 量を読み取り, 抽出溶媒の抽出係数より測定値を補正する。

B. 基礎的検討

1) 抽出溶媒による抽出率および回収率の検討,

pool 血清に tracer 量の $^{131}\text{I}-\text{T}_4$ を加え 37°C, 1時間振盪孵置して $^{131}\text{I}-\text{T}_4$ 血清を作製する。試験管に $^{131}\text{I}-\text{T}_4$ 血清 1ml をとり, ^{131}I 放射活性を測定し, これを 1 st count とする。次に 95% ethanol または 99.5% ethanol 2ml を加え, vortex mixer にて1分間混和し, 2000rpm, 5分間遠心分離後, 上澄 1ml をとり, その ^{131}I 放射活性を測定して 2nd count とし, $\frac{1\text{st count} \times 3}{2\text{nd count}} \times 100$ として抽出率をうる。

次に窒素ガスによる蒸発乾固の操作における T_4 の損失を検討するために, $^{131}\text{I}-\text{T}_4$ の 95% ethanol 抽出液 0.3ml を kit 中の polypropylene 試験管にとり, その ^{131}I 放射活性測定の際に窒素ガスによって抽出液を乾固

せしめた。蒸発乾固後に 95% ethanol 0.3ml を加えて乾固物を溶解し, その ^{131}I 放射活性を測定して両者の計測値を比較した。

更にまた, 上記 ethanol 抽出操作, 蒸発乾固に際して, T_4 以外に無機ヨードその他のヨード化合物のとり態度を検討するために, $^{131}\text{I}-\text{T}_4$ 血清, その ethanol 抽出液および窒素ガスによる乾固物の 95% ethanol 溶解液の3者について butanol-acetic acid-water 系による沓紙 chromatography によってヨードアミノ酸分析を行った。

2) resin sponge の thyroxine 吸着能の検定

i) resin sponge の thyroxine 吸着に対する孵置温度および孵置時間の影響

$^{125}\text{I}-\text{T}_4\text{-TBG}$ 液に carrier T_4 を加えたものについて孵置時間および孵置温度を種々に変えて resin sponge の T_4 吸着能の変化を検討した。

まず孵置温度を 4°C とし, 孵置時間を30分間, 60分間, 70分間, 120分間とした場合の resin sponge の T_4 摂取率を測定した。次に孵置時間を60分間とし, 孵置温度を, 2~4°C, 10~12°C, 20~22°C の3段階について resin sponge の T_4 摂取率を測定し, 各々の有意差を検定した。

ii) resin sponge の相違による T_4 吸着能の差異の検討.

同一 lot 番号の resin sponge 個々の T_4 吸着能の差異および異なる lot 番号の resin sponge との吸着能の差異を, 2コ of 異なる lot 番号の各々20コ of sponge について, carrier T_4 を加えた $^{125}\text{I}-\text{T}_4\text{-TBG}$ 液を用いて, 4°C, 1時間の孵置条件で検討した。

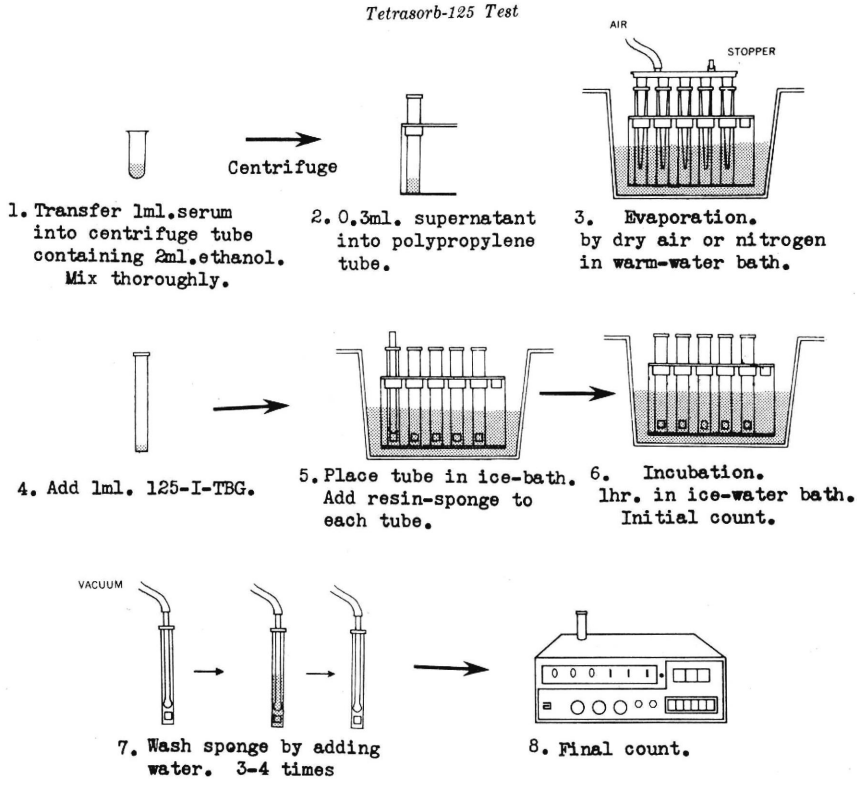
3) $^{125}\text{I}-\text{T}_4\text{-TBG}$ 液の稀釈または albumin 添加による標準曲線の変化

Tetrasorb 値の精度を検討するため, kit 中の $^{125}\text{I}-\text{T}_4\text{-TBG}$ 液に barbital buffer (pH 8.6) を等量加えて1/2稀釈液を作製し, また逆に $^{125}\text{I}-\text{T}_4\text{-TBG}$ 液にヒト血清 albumin を albumin 濃度が $20\mu\text{g}/100\text{ml}$, $50\mu\text{g}/100\text{ml}$ $100\mu\text{g}/100\text{ml}$ になるように加えて, albumin 添加 $^{125}\text{I}-\text{T}_4\text{-TBG}$ 液を作製し, その各々を用いて標準 T_4 液にて規定通りに標準曲線を作製し, それらの比較を行なった。

4) 再現性の検討

甲状腺機能亢進症患者, 正常者および甲状腺機能低下症患者の pool 血清について, kit 中の $^{125}\text{I}-\text{T}_4\text{-TBG}$ 液および barbital buffer によるその 1/2 稀釈液を用いて Tetrasorb 値を測定し, それぞれの再現性を検討した。

Tetrasorb-125 Test



9. CALCULATION:

- 1 Calculate percentage of 125-I uptake for each sponge.
- 2 The concentration of serum T₄ is determined by standard curve. Correct for extraction efficiency.

Fig. 2. Tetrasorb 法の方法

C. 臨床的検討

甲状腺機能亢進症未治療患者13例, 同じく ¹³¹I 療法後患者 4 例, 甲状腺機能低下症 6 例, 単純性甲状腺腫 3 例, 特発性 TBG 減少症 1 例, 蛋白同化 steroid 使用例 2 例, 妊婦 4 例, nephrosis 1 例および正常者26例の計 60例について, Tetrasorb 値, Triosorb 値, PBI 値, 透析法による遊離型 T₄ 量の測定⁽⁹⁾を行ない, また算定式 $\frac{PBI \times Tetrasorb \text{ 値}}{1 - 0.6 \times Triosorb \text{ 値}}$ より free T₄ index を算出した。

IV. 結果

A. 基礎的検討

1) 回収率の検討

同一 pool 血清の 5 検体についての alcohol 抽出率は表 1 A に示すごとく, 95% ethanol では 80.37 ± 0.18%,

RECOVERY

A) Extraction

Sample	95.0 % Ethanol		99.5 % Ethanol	
	Value	SD	Value	SD
1	80.36 %		77.10 %	
2	80.08	±0.18	75.48	±0.71
3	80.46		76.97	
4	80.42		76.48	
5	80.52		77.59	

B) Evaporation

Sample	Value	
	Value	SD
1	99.5 %	
2	99.3	±0.61
3	99.5	
4	99.7	
5	101.0	

C) Paperchromatographic Pattern

	Before Extraction	After Extraction	After Evaporation
Orig	0.02 %	0.01	0
I ⁻	3.0	2.8	3.0
MET	0.6	0.6	0.8
DIT	1.8	1.2	0.2
T ₃ -T ₄	94.5	94.6	96.0

Table 1.

99.5% ethanol では 76.72 ± 0.71% であった。また窒素ガスによる蒸発乾固の段階においては表 1 B に示すご

とく回収率は $99.8 \pm 0.01\%$ で、操作前後において ^{131}I 放射活性の損失はほとんど見られなかった。

$^{131}\text{I}-\text{T}_4$ 血清、95% ethanol 抽出液および乾固物の ethanol 溶解液の濾紙 chromatography による ^{131}I ヨードアミノ酸分析においては、表 1 C に示すごとく無機ヨード (I^-)、moniodotyrosine (MIT)、diiodotyrosine (DIT) および iodothyronine ($\text{T}_3 + \text{T}_4$) 分画の ^{131}I 分布は、3 者の間にほとんど差異は見られなかった。

2) resin sponge の T_4 吸着能の検討

i) 孵置時間および温度の影響

孵置温度 4°C おいて carrier T_4 を加えた $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ -TBG 液と resin sponge の孵置時間と sponge の T_4 摂取率との関係は図 3 に示すごとく、孵置時間の延長と共に T_4 摂取率は増加を示した。そして孵置時間 30 分値と 60 分値の間、70 分値と 90 分値の間に T_4 摂取率に有意差が見られたが、60 分値と 70 分値の間には有意差は見られなかった。

孵置時間 1 時間において、孵置温度と resin sponge の T_4 摂取率との関係は図 4 に示すごとく高温ほど高値を示し、また $2 \sim 4^\circ\text{C}$ 、 $10 \sim 12^\circ\text{C}$ および $20 \sim 22^\circ\text{C}$ の T_4 摂取率の間にはいずれも有意差が見られたが、高温

度に比し低温の方がその変動が少ないことが認められた。

ii) resin sponge による T_4 吸着能の差異

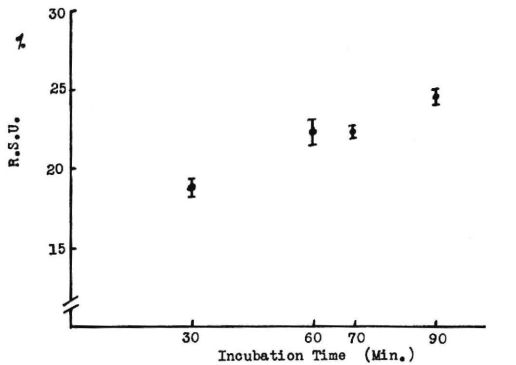
表 2 は異なる 2 コの lot 番号の各々 20 コの sponge について T_4 吸着能の検討を行なった結果を示す。同一 lot 番号内での個々の sponge の T_4 吸着能の差異は、少なくとも実験した 2 種の lot については棄却検定法では有意の差は認められなかったが、異なる lot 間では sponge の T_4 吸着能に有意差が認められた。

3) Tetrasorb 値の精度と再現性について

図 5 は kit 付属の $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ -TBG 液、その barbital buffer 稀釈液および各種濃度の albumin 添加液を用いて作製した標準曲線を示す。1/2 稀釈液の標準曲線は original の $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ -TBG 液に比べて、 T_4 量 $15\mu\text{g}/100\text{ml}$ 迄は勾配が急であるが、それ以上は著るしい平坦化を示し、albumin 添加群の標準曲線は添加量の増加と共に次第に勾配が小となった。

表 3 は甲状腺機能低下症、甲状腺機能亢進症および正常者の pool 血清について、original $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ -TBG 液およびその 1/2 稀釈液を用いて、Tetrasorb 値を測定した成績を示す。同一試料の Tetrasorb 値の標準偏差は、両

EFFECT OF INCUBATION TIME ON RESIN SPONGE UPTAKE

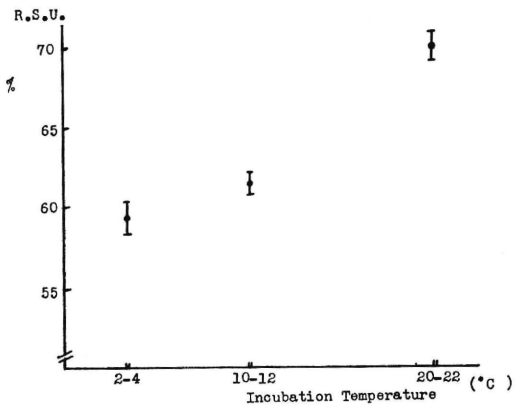


	30 Min.	60 Min.	70 Min.	90 Min.
F.S.U.	17.5	22.3	22.5	24.3
	18.4	24.5	23.0	24.8
	18.7	21.9	22.1	25.0
	19.5	22.1	21.5	23.8
	18.3	21.4	21.7	25.2
	18.5 ± 0.6	22.4 ± 1.0	22.2 ± 0.5	24.6 ± 0.5

Between 30min. Uptake Value and 60min. Uptake Value : $F_0=40.88 > F_1(0.005)$
 Between 60min. Uptake Value and 70min. Uptake Value : $F_0=0.12 < F_1(0.50)$
 Between 70min. Uptake Value and 90min. Uptake Value : $F_0=41.14 > F_1(0.005)$

Fig. 3.

EFFECT OF INCUBATION TEMPERATURE ON RESIN SPONGE UPTAKE



	2 - 4°C	10 - 12°C	20 - 22°C
F.S.U.	60.3	61.3	70.8
	59.2	63.3	69.8
	58.1	61.9	68.8
	58.2	60.7	71.2
	61.0	61.8	
	59.4 ± 1.1	61.5 ± 0.9	70.2 ± 0.9

Between 2-4°C Uptake Value and 10-12°C Uptake Value : $F_0=8.22 > F_1(0.025)$
 Between 10-12°C Uptake Value and 20-22°C Uptake Value : $F_0=15.43 > F_1(0.01)$

Fig. 4.

REPRODUCIBILITY (1)

REPRODUCIBILITY OF RESIN SPONGE UPTAKE

LOT No. 25				LOT No. 48			
No.	RSU %	No.	RSU %	No.	RSU %	No.	RSU %
1	65.5	11	65.7	1	64.1	11	65.1
2	65.7	12	66.5	2	64.3	12	64.8
3	65.1	13	66.5	3	63.7	13	64.3
4	67.3	14	64.3	4	64.7	14	64.1
5	66.4	15	66.5	5	64.5	15	65.4
6	66.9	16	65.3	6	64.3	16	64.6
7	64.6	17	64.5	7	65.4	17	65.1
8	64.1	18	65.9	8	63.9	18	64.4
9	66.7	19	65.1	9	64.6	19	64.0
10	66.7	20	64.6	10	65.4	20	64.7
Mean 65.7				Mean 64.6			
S.D. 0.94				S.D. 0.49			

No. 3: Pr. {F > Fo} > 0.05 No. 4: Pr. {F > Fo} > 0.05
 No. 8: Pr. {F > Fo} > 0.05 No. 8: Pr. {F > Fo} > 0.05
 Between LOT No. 25 and LOT No. 48: Fo = 21.19 > F' 38 (0.005)

Table 2.

STANDARD CURVES IN VARIOUS CONDITIONS

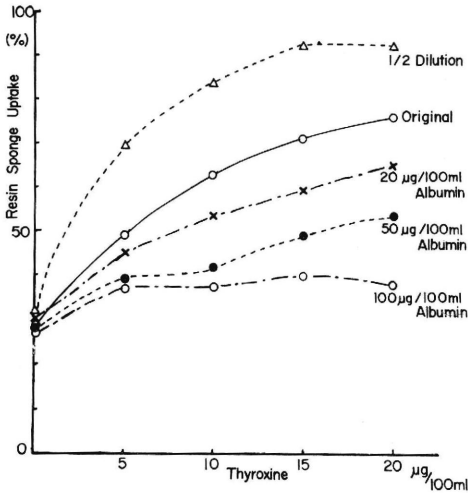


Fig. 5.

液共低値域より高値域の方が大であることが示され、また低値域、正常域での標準偏差は稀釈液による方が小であるが、高値域では却って著しく大となることが認め

REPRODUCIBILITY (2)

1) REPRODUCIBILITY OF TETRASORB VALUE USING STANDARD

¹²⁵I-T₄-TBG SOLUTION IN VARIOUS THYROID FUNCTION

Hypothyroid state	Euthyroid state	Hyperthyroid
3.0 µg/100 ml	10.8 µg/100 ml	22.3 µg/100 ml
2.7 2.8	10.8 10.15	24.3 24.12
	±0.13	±0.45 ±1.17
2.9	9.7	25.9
2.7	9.7	23.6
2.7	10.1	24.5
	9.9	
	10.5	
	9.7	

2) REPRODUCIBILITY OF TETRASORB VALUE USING x2 DILUTED

¹²⁵I-T₄-TBG SOLUTION IN VARIOUS THYROID FUNCTION

Hypothyroid	Euthyroid	Hyperthyroid
2.7 µg/100 ml	5.1 µg/100 ml	25.9 µg/100 ml
2.8	5.6	15.2
2.9 2.77	5.7 5.46	14.3 18.07
	±0.09	±0.33 ±4.93
2.7	4.9	16.8
2.8	5.5	25.9
2.8	5.1	16.8
2.7	4.8	19.5
		25.9
		12.2
		16.2

Table 3.

TETRASORB VALUES IN VARIOUS CONDITIONS

Normal Subjects		Mean 9.61 ± 1.21
Hyperthyroidism		
Hyperthyroidism during Treatment		
Simple Goiter		
Hypothyroidism		
Idiopathic TBG Deficiency		
Subjects Treated with Anabolic Steroid		
Pregnancy		
Nephrosis		

Fig. 6.

られた。

B. 臨床的検討

図6は各種甲状腺疾患および T₄ 結合蛋白の変動を来たす妊婦、特発性 TBG 減少症、蛋白同化 steroid 使用時および nephrosis の Tetrasorb 値の分布を示す。

RELATION BETWEEN PBI & TETRASORB VALUE IN VARIOUS CONDITIONS

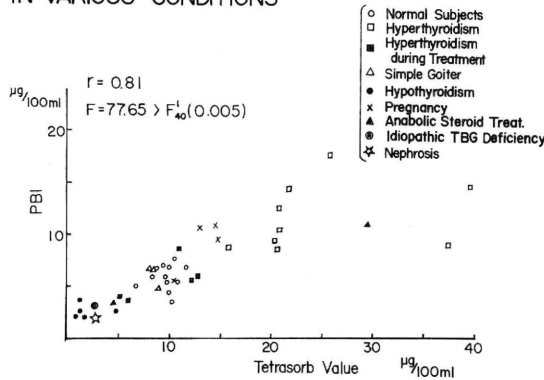


Fig. 7.

FREE THYROXINE INDEX $\left(\frac{\text{TRIORSORB} \times \text{TETRASORB}}{1 - 0.6 \times \text{TRIORSORB}} \right)$ IN VARIOUS CONDITIONS

Normal Subjects		Mean 3.46 ± 0.11
Hyperthyroidism		
Hyperthyroidism during Treatment		
Simple Goiter		
Hypothyroidism		
Idiopathic TBG Deficiency		
Subjects treated with Anabolic Steroid		
Pregnancy		
Nephrosis		

Fig. 8.

正常者は 6 ~ 13 µg/100ml に分布し、甲状腺機能亢進症は高値に、甲状腺機能低下症は低値に、単純性甲状腺腫は正常域に分布し、また T₄ 結合能の減少する特発性 TBG 減少症、蛋白同化 steroid 使用例および nephrosis は低値に分布し、T₄ 結合能の増加する妊婦はやや高値に分布している。

図 7 は PBI 値と Tetrasorb 値との関係を示すが、PBI が高値を示す症例の Tetrasorb 値はかなり巾広い変動を示しているが、全体としては、ほぼ良好な相関が示された。そこで free T₄ index の算定式 $\frac{\text{Triorsorb} \times \text{PBI}}{1 - 0.6 \times \text{Triorsorb}}$ の PBI の代りに Tetrasorb 値を用いて算定すると、図 8 のごとく正常者は 2.0 ~ 5.0 に分布し、甲状腺機能亢進症は高値に、甲状腺機能低下症は低値に分布して 3 者間に重なり合いがなく、また単純性甲状腺腫は正常域に分布し、T₄ 結合蛋白に変化を来たす場合でも、正常甲状腺機能の症例は全て正常域に含ま

RELATION BETWEEN FREE THYROXINE IN SERUM & FREE THYROXINE INDEX

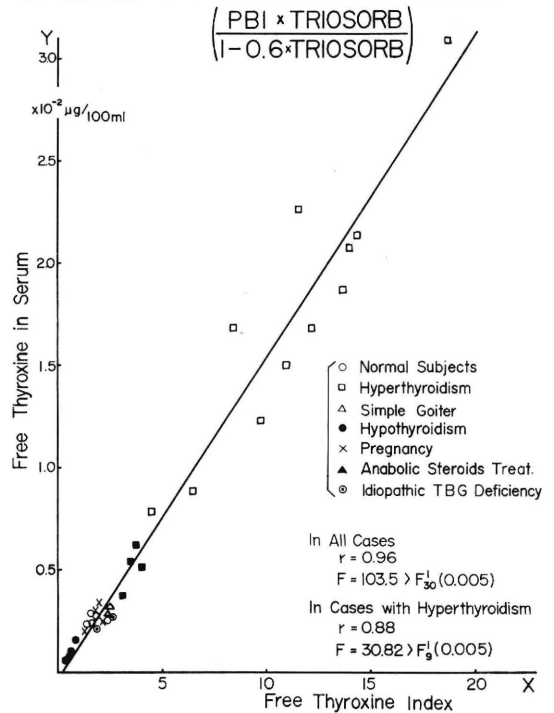


Fig. 9.

RELATION BETWEEN FREE THYROXINE IN SERUM & FREE THYROXINE INDEX $\left(\frac{\text{TRIORSORB} \times \text{TETRASORB}}{1 - 0.6 \times \text{TRIORSORB}} \right)$

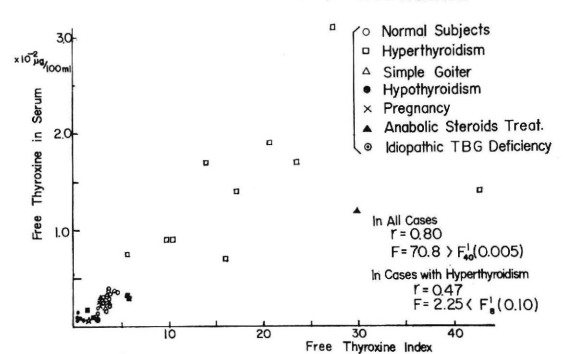


Fig. 10.

れ、1例の蛋白同化 steroid 使用中の甲状腺機能亢進症患者はそれに応じた値を示した。

図 9 は PBI を用いて free T₄ index を算出し、それと透析法によって測定した遊離型 T₄ 量との関係を示したものであるが、両者間の相関係数は全例を通じて r =

0.96と概ね直線関係が認められ、甲状腺機能亢進症の症例のみに限った場合でも $r=0.88$ 良好な相関が認められた。図10は PBI 値の代わりに Tetrasorb 値を用いて算定した free T_4 index と遊離型 T_4 量との間の関係を示すが、全例を通じた場合には $r=0.88$ と良好な相関関係が認められたが、甲状腺機能亢進症のみの症例に限ると両者の間に有意の相関は認められなかった。

V. 考 按

血中甲状腺ホルモン測定法には、蛋白結合ホルモンを血清より分離したのち、そのヨード量を化学的に測定する PBI 法があり、その他遊離型 thyroxine や triiodothyronine の測定などが試みられている。いづれも甲状腺機能を表現する優れた方法ではあるが、操作が煩雑かつ熟練を要し、一般には敬遠される傾向がある。一方これに対し T_4 結合蛋白に標識 T_4 と非標識 T_4 を競合させることにより非標識 T_4 を測定する方法が、1960年 Ekins⁽²⁾ によって開発された。即ち $^{131}\text{I}-T_4$ を加えた血清に、検体より butanol 抽出した T_4 を加え、電気泳動法によって $^{131}\text{I}-T_4$ が TBG より albumin 分画へ移行する程度より T_4 量の測定を行なった。Murphy はこれを gel filtration⁽³⁾ 次いで陰イオン交換樹脂⁽⁴⁾ を用いる方法に改良し、更に Nakazima⁽⁵⁾、Kennedy⁽⁶⁾ らは resin sponge を用いてより簡便な方法で血中 T_4 量の測定を行ない、最近はそれらが kit 化されて米国 Abbott 社より Tetrasorb-125、Mallinckrodt 社より Res-O-Mat T_4 として発売されるに至った。この方法は T_3 resin sponge 摂取率測定法と同様に in vitro の検査であり、1検体の使用 RI 量が $0.05\mu\text{Ci}$ 以下であるため特別の施設を必要とせず、また従来 of PBI 法に比べて操作が簡単であり、血中 T_4 量が routine 検査として容易に測定しうようになることは歓迎すべきものと考えられる。

著者らは Tetrasorb-125 による血中 T_4 の測定に関して種々の基礎的検討を試みて次の結果をえた。

1) 著者らの行なった回収率の検定から、血中の T_4 の ethanol 抽出過程以外には、 T_4 の損失はほとんど認められず、回収率の補正としては抽出率の補正のみを行えばよいの結果がえられた。

2) resin sponge の T_4 摂取率は孵置時間、温度によってかなりの影響をうける。すなわち孵置時間が長いほど、温度は高いほど T_4 摂取率は増加するが、孵置時間は60分前後、孵置温度は低温域が、時間および温度の

変化に対する sponge の T_4 摂取率の変動が少ないため、 $2\sim 4^\circ\text{C}$ 、60分間の孵置条件が妥当と考えられた。

3) sponge 個々の T_4 摂取率は lot 番号によって有意差があることから、異なる lot 番号の kit への sponge の転用は避けるべきと考えられた。

4) 再現性は Tetrasorb 値の低値域、正常値域では可成り良好であるが、高値になるほど悪化する。これは標準曲線の勾配が高値域ほど緩やかなためである。また $^{125}\text{I}-T_4$ -TBG 液を barbital buffer にて稀釈すると TBG への $^{125}\text{I}-T_4$ の飽和度は大となり、標準曲線の立ち上りは急勾配となり、逆に albumin 添加により TBG 飽和度を減少せしめると標準曲線の勾配は平低となる。即ち稀釈液を用いた場合は original の $^{125}\text{I}-T_4$ -TBG 液に比べて、Tetrasorb 値の低値域、正常値域では再現性は向上するが、高値域では却って著しく悪化する。従って $\frac{1}{2}$ 稀釈液は血中 T_4 量 $10\mu\text{g}/100\text{ml}$ 程度迄、ことに低値域での測定に適していると考えられた。

次に臨床的測定結果では、正常者の Tetrasorb 値は $6\sim 13\mu\text{g}/100\text{ml}$ で、単純性甲状腺腫を含めた正常甲状腺機能者は、甲状腺機能亢進症および甲状腺機能低下症との間には重なり合いが少なく、甲状腺機能をよく反映しているが、 T_4 結合蛋白に変動をきたす妊婦、特発性 TBG 減少症、蛋白同化 steroid 使用例、nephrosis では PBI の場合と同様に異常低値または高値を示し、その値は甲状腺機能を反映していない。

Clark ら⁽¹¹⁾ は $\text{PBI} \times \text{Triosorb}$ なる free T_4 index の算出値が種々の甲状腺機能の良い指標となることを述べている。著者ら^{(12),(13)}は遊離型 T_4 量には遊離 thyroxine binding globulin 量および thyroxine binding pre-albumin 量の両者が大きく関与するとしての検討結果より $\frac{\text{PBI} \times \text{Triosorb}}{1 - 0.6 \times \text{Triosorb}}$ なる free thyroxine index の算出法を考案し、この index が妊婦、TBG 減少症、蛋白同化 steroid 使用時および血清蛋白の変動する疾患においても甲状腺機能をよく反映し、同時にこの index は血中遊離型 T_4 量と直線関係を有することより、PBI より導く free T_4 index は血中遊離型 T_4 量に代用しうると考えている。

Tetrasorb 値は甲状腺疾患および TBG に変動をきたす状態を含めて PBI と良好な相関を示すことから、PBI の代わりに Tetrasorb 値を代用して、Tetrasorb 値と Triosorb 値とより $\frac{\text{Triosorb} \times \text{Tetrasorb}}{1 - 0.6 \times \text{Triosorb}}$ なる free T_4 index の算定を試みた。正常者は $2\sim 5$ に分布し、甲状腺機能亢進症および甲状腺機能低下症との間に全く重なり合い

がなく分離しえられ、更に妊婦、TBG 減少症、蛋白同化 steroid 使用例および nephrosis などの甲状腺機能正常者も正常域に分布し、本 index もまた甲状腺機能の優れた指標となりうる成績がえられた。従つて臨床的に甲状腺機能を示す場合には Tetrasorb 値および Triosorb 値の単独よりも free T_4 index として表現することが甲状腺機能状態を簡便かつより正確に反映しうるものと考えられる。

PBI を用いて算定した free T_4 index は、実測した遊離型 T_4 量との間に直線関係があり、甲状腺機能亢進症の症例のみの場合でも良好な相関が保たれているに対し、Tetrasorb 値より求めた free T_4 index は遊離型 T_4 量との間に全症例では良好な相関が示されているにもかかわらず、甲状腺機能亢進症のみでは有意な相関は認められなかった。これは Tetrasorb 値が高値の場合は精度、再現性が極めて悪いことに起因するものであり、甲状腺機能亢進域での値は不正確であることを示すものである。従つてこの場合には ethanol 抽出液を $\frac{1}{2}$ または $\frac{1}{3}$ に減量して、標準曲線の直線部分で測定することが必要である。また甲状腺機能低下症においても Tetrasorb 値は遊離型 T_4 量に比べると一般に低値に過ぎる傾向がある。従つてこの場合も正確な値をうるためには標準曲線をその近傍の点を多く取つて作製するか、ethanol 抽出液を倍量使用することなどの考慮が必要と考えられる。

VI. 結 論

competitive protein binding analysis による血中 thyroxine 量の測定用の Tetrasorb-125 の基礎的ならびに臨床的検討を行なつて次の結果をえた。

- 1) 被験 thyroxine は ethanol 抽出操作以外ではほとんど損失がなく、回収率の補正には抽出率の補正のみを行なえばよい。
- 2) 孵置条件は $2 \sim 4^\circ\text{C}$ 、1 時間が適当である。
- 3) kit 付属の resin sponge T_4 の吸着能は lot によ

つて異なるので、異なる lot への転用は避けるべきである。

4) Tetrasorb 値 $10\mu\text{g}/100\text{ml}$ 以下を測定する場合には $^{125}\text{I}-T_4$ -TBG 液の稀釈液を用いた方が、精度および再現性に優れている。

5) 正常者の Tetrasorb 値は $6 \sim 13\mu\text{g}/100\text{ml}$ に分布し、甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症とは重なり合いが少なく、よく甲状腺機能を反映した。しかしながら TBG に変化をきたす状態では Tetrasorb 値も変動するため、甲状腺機能を表す指標としては、free T_4 index を用いる方がよい。

6) Tetrasorb 値は甲状腺機能亢進症に異常高値を示すものがあり、また甲状腺機能低下症では低値に過ぎる傾向がある。従つてこれらの場合にはそれぞれ抽出液を減量あるいは増加して、標準曲線の直線部分で測定することが望ましい。

文 献

- 1) Murphy, B.E.P. : Nature, 201 : 679, 1964.
- 2) Ekins, R.P. : Clin. Chim. Acta, 5 : 453, 1960.
- 3) Murphy, B.E.P. and C.J. Pattee : J. Clin. Endocr., 24 : 187, 1964.
- 4) Murphy, B.E.P. and C. Jachan : J. Lab. Clin. Med., 66 : 161, 1965.
- 5) Nakazima H., M. Kuramochi, T. Moriguchi and S. Kubo : J. Clin. Endocr., 26 : 99, 1966.
- 6) Kennedy J.A. and D.M. Abelson : J. Clin. Path., 20 : 89, 1967.
- 7) Robbins J. : Arch. Bioch., 63 : 461, 1959.
- 8) Tanaka S. and P. Starr : J. Clin. Endocr., 19 : 84, 1959.
- 9) Sterling K and M.A. Brenner : J. Clin. Invest., 45 : 153, 1966.
- 10) Tetrasorb-125 $^{125}\text{I}-T_4$ レジンスポンジ摂取率による in vitro 血清サイロキシン測定法, ダイナボット RI 研究所
- 11) Clark F. and D.B. Horn : J. Clin. Endocr., 25 : 39, 1965.
- 12) 中川 毅 : 未発表
- 13) 鳥塚莞爾, 浜田 哲 : 日内分泌誌, 42 : 765, 1966.

* * * * *

* * * * *

Fundamental and Clinical Studies on Determination of Serum Thyroxine by Tetrasorb-125

Rikushi Morita, Kanji Torizuka, Ken Hamamoto,
Tsuyoshi Nakagawa, Junji Konishi, Tsunesuke Kusakabe,

*Central Clinical Radioisotope Division and 2nd Division of Internal Medicine,
Kyoto University School of Medicine*

Basic and clinical evaluation for Tetrasorb-125, a diagnostic kit for determination of serum thyroxine by competitive protein binding analysis, were studied and the following results were obtained.

1) Extraction ratios of thyroxine from serum were 80.4% by 95% ethanol and 96.7% by 99.5% ethanol, and the loss of thyroxine in evaporation was negligible.

2) Temperature and duration of incubation influenced the binding of thyroxine to the resin significantly, and it was considered that the incubation at 2-4°C for 60min. was the most stable and practical.

3) The slope of standard curve using diluted ¹²⁵I-TBG solution by barbital buffer (pH 8.6) was greater than that with original TBG-solution, and it was found that in measuring thyroxine amount less than 10μg/100ml in its concentration, the use of diluted TBG solution was better in accuracy and reproducibility than that of original TBG solution.

4) Tetrasorb values in normal subjects were ranged from 6 to 13μg/100ml and were differentiated from those with hyperthyroidism and hypothyroidism.

In the cases with pregnancy, thyroxine binding globulin deficiency, nephrosis and the cases treated with anabolic steroid, Tetrasorb values were higher or lower, and did not reflect the thyroid function accurately. But in these cases, free thyroxine indices expressed as $\frac{\text{Triosorb} \times \text{Tetrasorb}}{1 - 0.6 \times \text{Triosorb}}$, which were ranged 2.0-5.0 in euthyroid individuals, had a good correlation with the absolute concentrations of free thyroxine measured by equilibrium dialysis, and reflected the thyroid function accurately.

5) As the standard curve reached plateau over 20μg/100ml of thyroxine, it was necessary to measure a part of alcohol extraction in cases with hyperthyroidism.

* * * * *

* * * *