

Res-O-Mat T₄ kit による甲状腺機能検査法の臨床的検討

林 田 雅千代 島 田 孝 小 林 哲 郎
大 原 弘 通 和 田 武 雄

緒 言

甲状腺機能の程度を正確に知るためには血中 thyroxine および triiodothyronine 量を直接測定することが必要であるが、これらを直接測定することは現在もおはん雑であり¹⁾、必ずしも容易でない。したがって方法的に簡便で、しかも正確に甲状腺の病態を反映する血中甲状腺ホルモンの測定法を開発することが従来とも急務とされてきた。

われわれはこの意味において Mallincrodt 社で開発された Res-O-Mat T₄ kit を用いて、血中 thyroxine 量 (T₄) を測定する機会をえたので、本法による測定値と各種甲状腺病態、および既存の甲状腺機能検査法との関連について検討を加えた。

Res-O-Mat T₄ kit の原理

Res-O-Mat T₄ kit は Tetrasorb-125 (Abbott Lab.) はおける測定²⁾³⁾と同じく Competitive Protein Binding Analysis⁴⁾、または Saturation Analysis⁵⁾ を原理としている。

Radioactive T₄ を、TBG を含む溶液に加えると、理論的には TBG の結合する範囲内で Radioactive T₄ は TBG と結合する。この Radioactive T₄-TBG 溶液に T₄ (たとえば被検血清)を加えると、加えた T₄ 量に比例して Radioactive T₄ は TBG から置換されてくる。遊離 T₄ と TBG 結合 T₄ とは resin のごとき合成樹脂を加えることにより分離しうる。

札幌医科大学 内科学第一講座

(主任 和田教授)

受付: 1971年1月

別刷請求先: 札幌市南条西16丁目

札幌医科大学第1内科

大 原 弘 通 (〒060)

本法ではその目的に resin strip を用いて遊離 T₄ を resin strip に吸着させるので、resin strip を加える前の放射能と、加えた resin strip を一定時間 incubation 後除去した後の放射能を比較すると、TBG から置換された Radioactive T₄ の量を測定することができる。

以上のように、Radioactive T₄ と cold T₄ との TBG に対する competition から、cold T₄ の量が増していくと、上清に残る Radioactive T₄ 量は相応して減少していく。したがって既知量の T₄ を加えたさいの上清の放射能と、未知量の T₄ を加えたさいの上清の放射能を比較することによって、加えた未知量の T₄ 濃度を知ることができる。

測 定 方 法

1. Res-O-Mat T₄ kit による血清 T₄ 量の測定

備え付けの抽出用アルコール 2ml を入れた遠心管に、被検血清 1ml を徐々に滴下して直ちに密栓する。この混合物を vortex mixer で30秒間混合し、次いで5分間 2500rpm 遠心分離する。

Res-O-Mat T₄ 溶液バイアルの放射能をあらかじめ well type scintillation counter で1分間測定する。(第1回カウント)

遠心分離した上清 0.3ml および 0 ng, 12 ng 標準液 0.3ml をそれぞれ Res-O-Mat T₄ 溶液バイアルに添加する。次に resin strip を1枚ずつそれぞれのバイアルに加えて密栓後、rotator で回転させながら1時間室温で incubate する。

Incubation 終了後、resin strip をとり出して捨てる。検体および標準溶液を加えたそれぞれのバイアルの放射能をカウントする。(第2回カウント)

被検血清比率、あるいは標準 T₄ 比率は次式から求められる。

$$\frac{\text{第1回カウント}}{\text{第2回カウント}}$$

次いで Res-O-Mat T_4 グラフの 0 ng および 12 ng の線上に上記算法によってえられた標準 T_4 溶液の比率をプロットして 2 点を結ぶ直線を引き、標準曲線を作成する。

標準曲線から各検体試料の T_4 量 (r%) を読みとる。
 T_4 -iodine 値は Res-O-Mat T_4 (r%) \times 0.653 により算出する。

2. Protein bound iodine (PBI) 値の測定

Grossmann & Grossmann の Barker 変法⁶⁾ を用いた。

3. 血清 β -Glucuronidase (β -Gase) 値の測定

塚元試薬を用いた榎屋ら⁷⁾ の記載に従った。

4. ^{131}I - T_3 resin sponge uptake rate (T_3 R. S. U.)

T_3 Diagnostic kit "Triosorb test" (Abbott Lab.) を用いた。

5. Tetrasorb-125 kit による血清 T_4 量の測定

T_4 Diagnostic kit "Tetrasorb-125" (Abbott Lab.) を用いた。

実験成績

1. 臨床的検討

a. 甲状腺機能正常対照群の T_4 値 (Fig. 1)

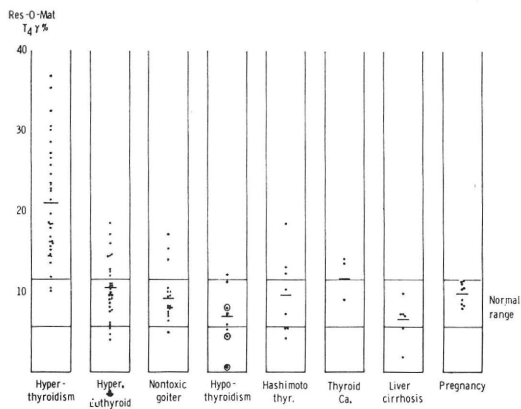


Fig. 1. Res-O-Mat T_4 values of various thyroid diseases. (double circle : untreated hypo-thyroidism)

全く甲状腺機能に異常のない健康成人10例の測定結果は、図中正常域で示したごとく 8.6r% (5.7-11.5r%) であった。

b. 各種甲状腺疾患患者の T_4 値 (Fig. 1)

甲状腺機能亢進症 34 例の測定結果は、平均 20.9r% (13.8-28.0 r%), 治療により臨床症状の正常化した 29

例においては平均 10.4r% (6.7-14.1r%) であった。また非中毒性甲状腺腫18例の平均は 9.3r% (6.1-12.5 r%), 甲状腺機能低下症は 8 例平均 6.9r% (5.7-8.1 r%) 橋本病は 8 例平均 9.7r% (4.9-14.5r%) で甲状腺癌 3 例の平均は 11.7r% (8.3-15.1r%) であった。

c. 妊娠および肝硬変症の T_4 値 (Fig. 1)

妊娠 6 M 以降の 9 例の測定結果は平均 9.8r% (8.5-11.2r%), 肝硬変症は 6 例平均 6.6 r% (4.7-8.5 r%) であった。

d. Res-O-Mat T_4 値と BMR 値 (Fig. 2)

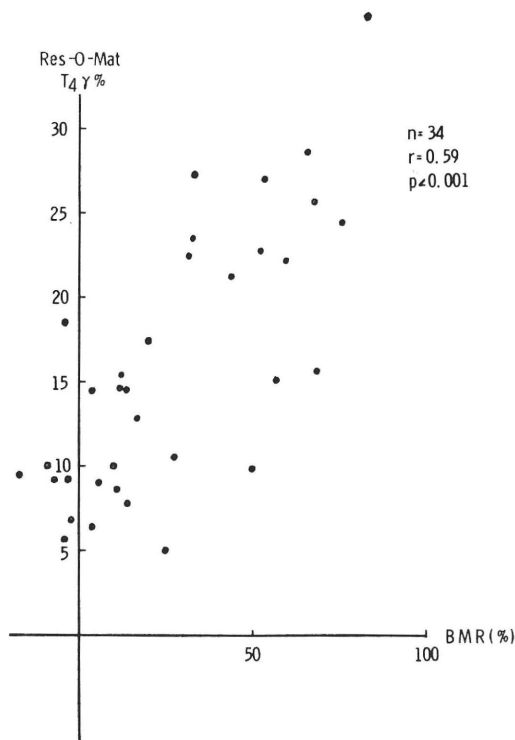


Fig. 2. Correlation between the Res-O-Mat T_4 value and basal metabolic rate (BMR).

各種甲状腺疾患患者34例について、両者を平行して測定した結果、相関係数 $r=0.59$ ($p<0.001$) で有意の正の相関をみとめた。

e. Res-O-Mat T_4 -iodine 値と PBI (Fig. 3)

各種甲状腺疾患患者29例について Res-O-Mat T_4 -iodine 値と PBI 値を比較検討した結果、有意の正の相関をみとめた。 ($r=0.73$ ($p<0.001$))

f. Res-O-Mat T_4 値と血清 β -Glucuronidase 値 (Fig. 4)

各種甲状腺疾患患者34例の測定結果を比較検討した結

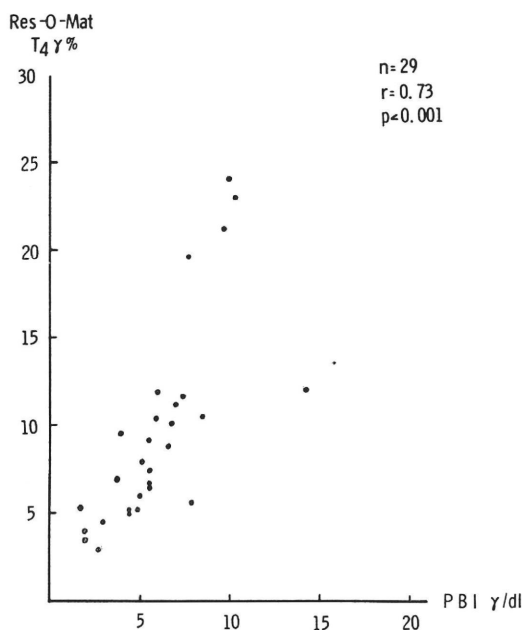


Fig. 3. Correlation between the Res-O-Mat T₄-iodine value and protein bound iodine (PBI).

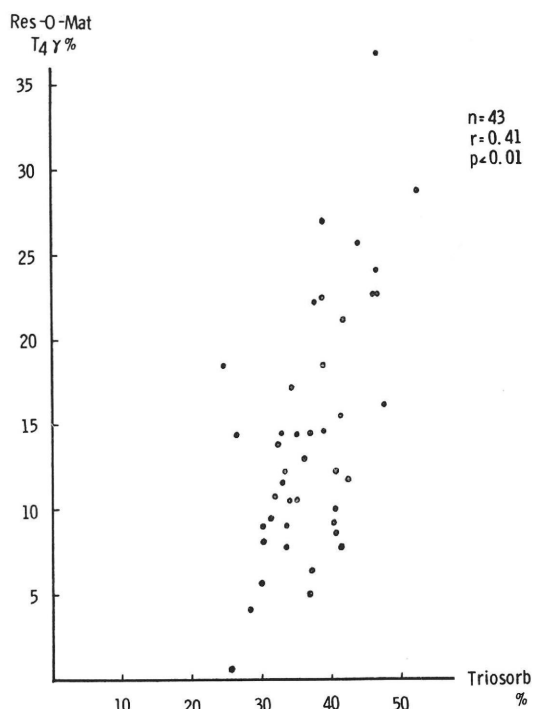


Fig. 5. Correlation between the Res-O-Mat T₄ value and ¹³¹I-triiodothyronine resin sponge uptake rate (T3 RSU).

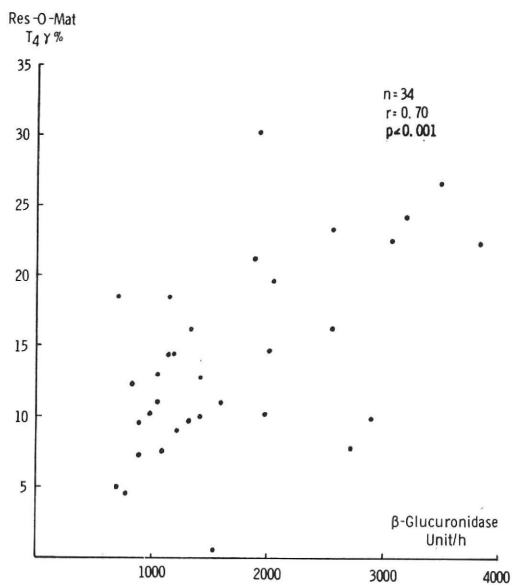


Fig. 4. Correlation between the Res-O-Mat T₄ value and serum β-glucuronidase activity.

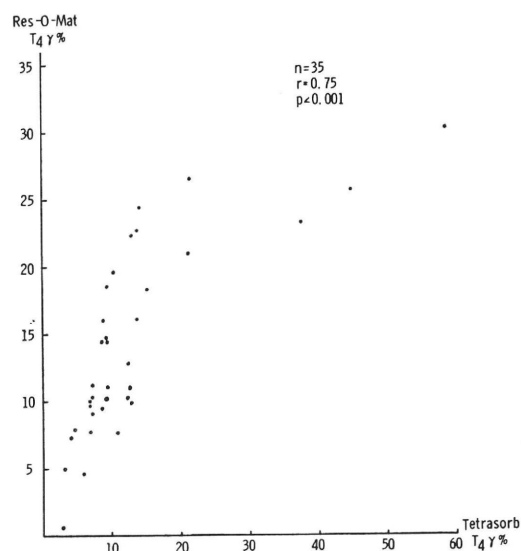


Fig. 6. Correlation between the Res-O-Mat T₄ value and serum T₄ level by means of Tetrasorb-125 kit,

果, 有意の正の相関をみとめた. ($r=0.70$ ($p<0.001$))

g. Res-O-Mat T_4 値と T_3 RSU 値 (Fig. 5)

各種甲状腺疾患患者34例において比較検討した結果, 有意の正の相関をみとめた. ($r=0.41$ ($p<0.01$))

h. Res-O-Mat T_4 値と Tetrasorb 値 (Fig. 6)

各種甲状腺疾患患者35例において比較検討した結果, 有意の正の相関をみとめた. ($r=0.75$ ($p<0.001$))

i. 加療による Res-O-Mat T_4 値の変動 (Fig. 7)

未治療甲状腺機能亢進症患者 7 例において, Meth-

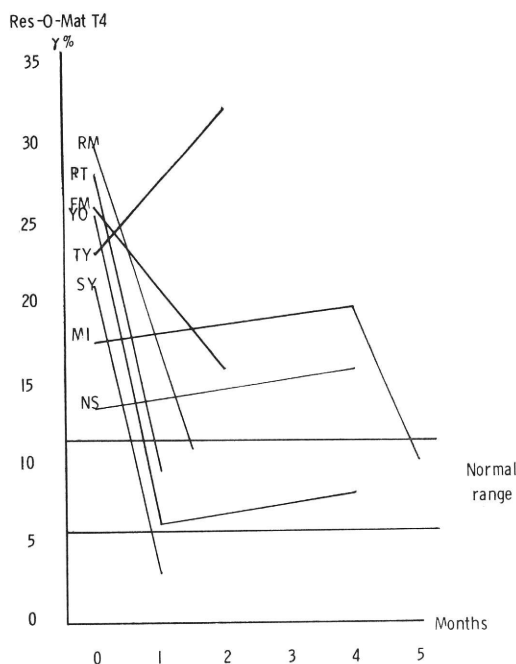


Fig. 7. Changes of the Res-O-Mat T_4 value in hyperthyroidism during treatment.

ylmercaptoimidazole (MMI) または ^{131}I 治療による Res-O-Mat T_4 値の変動を観察した. Fig. 7 にみるように, MMI 30mg を 1~2 カ月間投与し, 臨床症状の改善傾向を示した症例では, それと平行して Res-O-Mat T_4 測定値も急速に低下を示した. Fig. 7 の中で, 経過と共に上昇せる T. Y. 例は, ^{131}I 投与後の 2 カ月目には未だ臨床症状の改善をみない症例であり, また, M. I. 例は MMI 20mg 投与 5 カ月目に臨床症状がようやく改善し, これに伴って本測定値も正常化を示した.

2. Res-O-Mat T_4 kit の基礎的検討

a. Incubation 時間による影響 (Fig. 8)

Incubation 時間を 30 分, 60 分, 120 分および 180 分とした場合, それぞれの Res-O-Mat T_4 値を測定した.

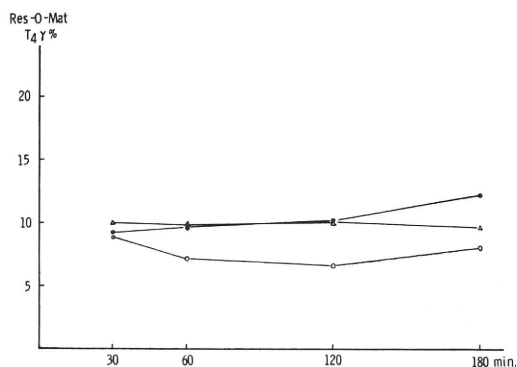


Fig. 8. Influence of incubation periods on the Res-O-Mat T_4 value.

Fig. 8 にみるように, 各 incubation 時間における Res-O-Mat T_4 値にはほとんど差異はなかった.

Fig. 9 は incubation 時間の変化と共に標準曲線の勾配が急になることを示した.

b. 血清の凍結・融解による Res-O-Mat T_4 値の変動 (Fig. 10 (left))

採血時に Res-O-Mat T_4 値を測定した 8 検体を -20°C に凍結・保存した後, 時折融解・凍結を行なって 3~6

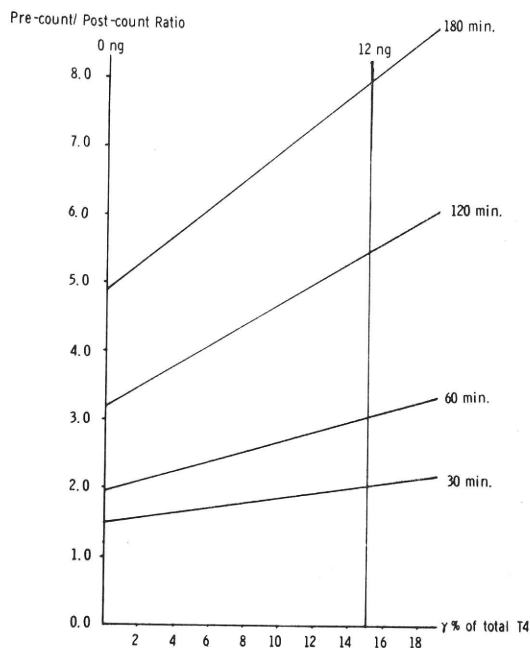


Fig. 9. Changes of standard curves of the Res-O-Mat T_4 kit in various incubation periods.

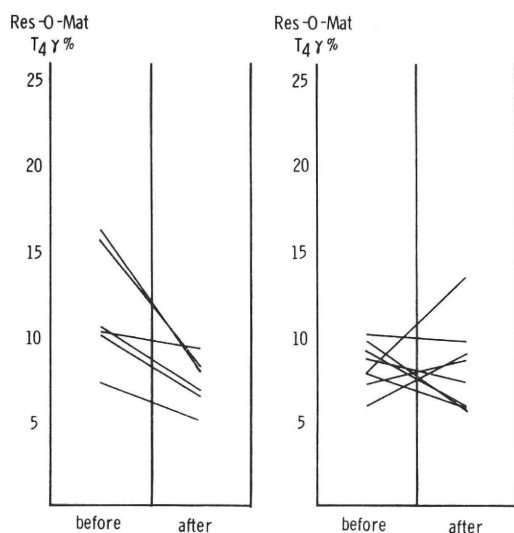


Fig. 10. Left figure : Effect of freezing and thawing of serum samples on the Res-O-Mat T_4 value.

Right figure : Effect of administration of radiological contrast media containing organic iodine (Telepaque & Urograffin) on the Res-O-Mat T_4 value.

カ月間保存した後の変化の有無を検討した。前値平均 11.6% に対して凍結・融解を反復した後の測定値は平均 7.3% であり、両測定値の間には有意な差異をみとめた。(p<0.01)

c. 造影剤投与による影響 (Fig. 10(right))

経静脈的腎盂撮影 (Urograffin) および経口的胆嚢造影剤 (Telepaque) 投与前後に採血を行なった血清 6 検体を用いて Res-O-Mat T_4 値を測定した。投与前値平均 8.3% に対して、投与後値平均 9.3% で両者の間には有意差をみとめなかった。

総括ならびに考按

Res-O-Mat T_4 kit を用いて血中 T_4 値を測定し、本法により測定した血中 T_4 値が各種甲状腺疾患等において正しく病態を反映しているかどうか、さらに既存の各種甲状腺機能検査法との関連、ならびに 2, 3 の基礎的事項について検討を行なった。

本法を用いた血中 T_4 値は、健康正常人においては平均 8.6% (5.7-11.5) で、未治療の甲状腺機能亢進症は 13.8-28.0%, 加療中のものは 6.7-14.1%, 非中毒性甲状腺腫は 6.1-12.5% であった。甲状腺機能低

下症および橋本病における測定値が比較的高い値を示したのは乾燥甲状腺未投与により甲状腺機能の正常化した例を含むため、Fig 1 中○印を付した未治療例はいずれも低値を示した。甲状腺機能亢進症に対して、抗甲状腺剤投与を行なった例では Fig 7 にみるように、1～2 カ月目の早期に血中 T_4 値の著明な低下を来し、臨床症状の改善に先行した。一方、血中 T_4 値の低下をみない症例では臨床症状にも改善がみられず、さらにこの点が裏づけられた。このことは本法による経過追求めが治療効果の判定に有用なことを示すものである。

妊娠例の血中 T_4 値は 8.5-11.2% で、全例正常値の範囲内にある。従来の Triosorb test では妊娠の場合には低値を示し、真の甲状腺機能を知りえない欠点があったが、本法は妊婦の甲状腺機能の指標としても有用と思われる。

本法による血清 T_4 値の測定結果について、今枝⁸⁾は Tetrasorb-125 kit 法による血清 T_4 値よりもやや高値に出ることを報告している。われわれもさきに Tetrasorb-125 による血清 T_4 値の測定成績⁹⁾を発表したが、本法による正常値の測定結果とは極めて近似し、また両者の間に高い相関関係をみとめた。

本法以外の既存の甲状腺機能検査法のうち、BMR, PBI T_3 RSU, Tetrasorb-125 等の関連については、それぞれの相関図に示したようにいずれも高い相関関係を示した。このうち Tetrasorb-125 との間に最も高い相関関係をみとめたが、これは両測定法が同じ測定原理に基づく故当然であろう。両測定法を比較すると、測定操作上本法の測定所要時間が短くてすむという特長がある。

また教室では、血清 β -Glucucuronidase 値が甲状腺病態をよく反映することを観察しているが、本法はこの血清 β -Gase 値との間にも高い相関関係がえられた。

本法は第 1 回目カウンとして incubation vial 中の 1 本を測定すればよいことになっているが、試みに incubation vial の放射能を比較したところ、各 vial 間の放射能にはほとんど差異をみとめなかった。したがって、第 1 回目カウントには 1 本の vial の放射能の測定で代用する点も本法の長所といえよう。

なお、incubation 時間を変化させた場合にも Fig. 8 にみるように標準曲線の勾配が急になる傾向をみとめたが、標準液も同様に同じ時間で incubate する限りにおいては、血中 T_4 値には変化のないことをみとめた。このように本法は測定操作上、簡便さと安定性においてすぐれた方法である。

しかし一方、rotator を用いて incubate する関係上、

incubation vial の cap に試料が付着することを免れえず、これを捨てることによって放射能の損失があること、および resin strip に付着した試料を十分に除くため、vial 壁にふれるさいに汚染の可能性のある点が懸念される。さらに標準曲線の勾配の差異にのみ読みとった測定値に大きい差が出ること、および血清 T_4 値の高い場合には稀釈による誤差の介在することなど、測定操作の上にも工夫が必要であろう。

ヨード含有造影剤使用前後の血清 T_4 値は上昇・下降と一定の傾向を示さず、造影剤の使用は PBI の測定や ^{131}I 甲状腺摂取率と異なって、本法の測定結果に影響を与えないものと考えられる。一方、血清を凍結・融解しつつ、3～6カ月間保存した場合には測定結果に変化がみられ、このことから血清採取後比較的早い時期に測定を行なうことが望まれる。

結 論

Res-O-Mat T_4 kit を用いて諸種甲状腺疾患における血中 T_4 値の測定を行ない、さらに他の甲状腺機能検査法との比較、ならびに2、3の基礎的検討を加えて以下の知見をえた。

1. 本法による血中 T_4 値は、健康成人対照では平均 8.6% (5.7-11.5)，甲状腺機能亢進症では平均 20.9%，甲状腺機能低下症では平均 6.9%，非中毒性甲状腺腫では平均 9.3%，橋本病では平均 9.7%，甲状腺癌では平均 11.7%，および妊娠女子では平均 9.8% であった。

2. 本法は加療による甲状腺機能亢進症の経過追求にさいして、よく加療効果を反映する。

3. BMR, PBI, 血清 β -Glucuronidase 値, T_3 RSU, Tetrasorb-125 kit 等、各種甲状腺機能検査成績および

関連測定値との対比検討において、本法はいずれとの間にも有意の正の相関を示した。

4. ヨード含有造影剤の投与は本法の測定値に影響を与えない。一方、血清の凍結・融解操作により本法の測定値は低下する。

5. Incubation 時間の検討では時間が長くなるほど、標準曲線の勾配が急峻となる傾向があるが、測定値には大きな差異を示さない。

6. 本法の操作上、incubation vial の放射能の分布がほぼ均一のため、第1回目カウントとしてその1本を測定するのみで十分である。

また本法の測定法に関連して2、3の長所ならびに短所にも言及した。

(本実験に使用した Res-O-Mat T_4 kit は第1ラジオアイソトープ研究所より提供をうけた。)

文 献

- 1) B. A. Lamberg : Acta endocrinol. suppl. 124 : 153 (1967)
- 2) 中島博徳・堀口東司・佐々木望 : ホルモンと臨床 17 : 51 (1969)
- 3) 林田雅千代・島田 孝・小林哲郎・大原弘通 : ホルモンと臨床 17 1005 (1969)
- 4) B. E. P. Murphy : Nature 201 : 679 (1964)
- 5) R.P. Ekins : Clin. Chim. Acta 5 : 453 (1960)
- 6) B. A. Grossmann & G. F. Grossmann : J. Clin. Endocr. 15 : 354 (1955)
- 7) 榎屋富一・延永 正・加藤堅一 : 最新医学 16 : 70 (1961)
- 8) 今枝孟義・仙田宏平 : Radioisotopes 19 : 446 (1970)

*

*

*

*

*

*

*

*

*

Summary

Clinical Studies on the Thyroid Function Test by Means of Res-O-Mat T₄

Masachiyo HAYASHIDA, Takashi SHIMADA, Tetsuro KOBAYASHI,
Hiromichi Ohara & Takeo WADA

Department of Internal Medicine (Section 1), Sapporo Medical College

The Res-O-Mat T₄ test, which fundamentally concerned with the competitive protein-binding analysis, was studied as a link in a series of clinical evaluation studies of the thyroid function tests. Patients with hyperthyroidism or hyothyroidism, as well as normal control subjects, patients with simple goiter, Hashimoto's thyroiditis or thyroid carcinoma and pregnancy or other miscellaneous dysproteinemias, were subjected to the study, and the results were compared with the results of other thyroid function tests, i. e., basal metabolic rate (BMR), protein-bound iodine (PBI), ¹³¹I-triiodothyronine resin sponge uptake rate (T₃ RSU), and serum thyroxine level as estimated with the Tetrasorb-125 kit. In addition, the results were compared with serum levels of β -glucuronidase activity, the association of which with functional state of the thyroid has been reported by our institute.

1) Influences of either oral or intravenous administrations of radiological contrast media containing organic iodine and the influences of changes in incubation period were studied, and it was found that these did not affect the results of the Res-O-Mat T_4 test. On the other hand, longterm freezing and thawing of serum samples caused to decrease the Res-O-Mat T_4 value.

2) The mean value and standard deviation in each group are listed below :

euthyroid	8.6±2.9 %
hyperthyroid	20.9±7.1 %
hypothyroid	6.9±1.2 %
non-toxic goiter	9.3±3.2 %
Hashimoto's disease	9.7±4.8 %
thyroid carcinoma	11.7±3.4 %
Pregnancy	9.8±1.3 %
cirrhosis of the liver & nephrotic syndrom	6.6±1.9 %

3) The results were compared with other thyroid function tests and the following coefficients of correlation were obtained :

BMR	34 cases	$r=0.59$ ($p<0.001$)
PBI	29 cases	$r=0.73$ ($p<0.001$)
β -glucuronidase activity	34 cases	$r=0.70$ ($p<0.001$)
T ₃ RSU	43 cases	$r=0.41$ ($p<0.01$)
Tetrasorb-125 kit	35 cases	$r=0.75$ ($p<0.001$)

4) Changes of value of the Res-O-Mat T_4 test in 7 untreated hyperthyroid patients were observed during the administration of anti-thyroid drugs. The values were antecedently decreased in the improved cases of symptoms and reflected the effect of treatment.

5) From these results, it is concluded that this test is sufficiently simple and reliable in estimating the functional states of thyroid.