

《使用経験》

TETRA-TAB-RIA による血中 T_4 の測定

木下 文雄* 前川 全* 船橋 哲哉* 川上 亮二*
 庭野 幸子* 岡本 二郎** 七理 泰** 堀内佳代子**
 鳥屋 城男***

血中サイロキシンの測定は1960年代の前半に Ekins¹⁾や Murphy²⁾らの努力により competitive protein binding analysis が確立し、広く一般臨床検査に利用されてきたが、Radioimmunoassay の進歩により、 T_3 、TSH の測定に遅れて、1971年 Chopra ら^{3,4)}により T_4 の測定も開発され、米国ではすでに広く普及している。本邦でもすでに Abbott の T_4 -RIAKIT⁵⁾、Mallinckrodt の RIA-MAT- T_4 ⁵⁾、RCC の T_4 -RIAPAC⁶⁾、Ames の Seralute T_4 -RIA⁶⁾などの使用経験がすでに発表され、普及してきているが、今回 Nuclear Medical Laboratories (中外製薬)の塩折法を利用したTETRA-TAB-RIA Kit を使用する機会を得たので、その基礎的臨床的検討を報告する。

I. 方 法

① 0.025 N 塩酸を含有する T_4 抽出用液 0.2ml を試験管にとり、これに患者血清 0.01 ml を加え、強く振盪混和し、 T_4 を抽出する。

② これに ^{125}I - T_4 液 0.4 ml を加え、強く振盪混和し、さらに抗 T_4 血清 0.4 ml を加え振盪混和

し、30～60分間室温に静置する。

③ T_4 抗体結合物を沈澱させるために、血清蛋白含有硫酸アンモニウム溶液 2.0 ml を加え栓をし、静かに10回程度転倒混和後、遠心分離 (2,000～2,500 rpm, 10分間) する。

④ 上清を捨て、ペーパータオルなどで液を切り、沈澱物の放射能を計測 (A)。

⑤ 添付されている 6 μ g/dl 標準血清について同様操作を行ない、この沈澱物の放射能を C とすると

$$\text{総計数値} = \frac{C}{6\mu\text{g/dl標準血清の表示結合率}}$$

$$\text{結合率 (\%)} = \frac{A}{\text{総計数値}}$$

得られた結合率を、添付の標準曲線に挿入し、患者血清の T_4 値を知る。

なお、24 μ g/dl 以上の血清の測定は添付の希釈液を用い2倍に希釈し、得られた値を2倍する。

II. 成 績

I. 基礎的検討

① 再現性

正常者、甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症の3群の血清について15回単純繰り返して測定した結果は、Fig. 1のごとくで、平均値 \pm SD(C.V.)はそれぞれ、7.3 \pm 0.1 μ g/dl (1.4%)、23.4 \pm 0.5 μ g/dl (2.1%)、1.7 \pm 0.1 μ g/dl (5.6%) で安定性は良好であった。

また測定日による変動を見るために3日間測定

* 都立大久保病院放射線科

** 同 内科

*** 同 外科

受付: 52年3月4日

最終稿受付: 52年5月16日

別刷請求先: 新宿区西大久保1-461 (〒160)

都立大久保病院放射線科

木 下 文 雄

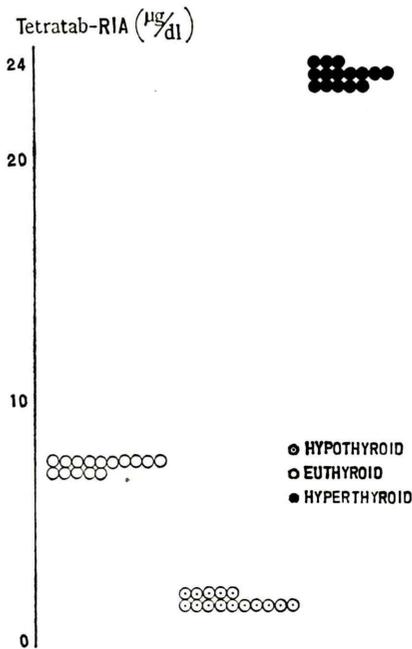


Fig. 1 Reproducibility of T₄ values by Tetratab-RIA kit in Euthyroid, Hyperthyroid and Hypothyroid.

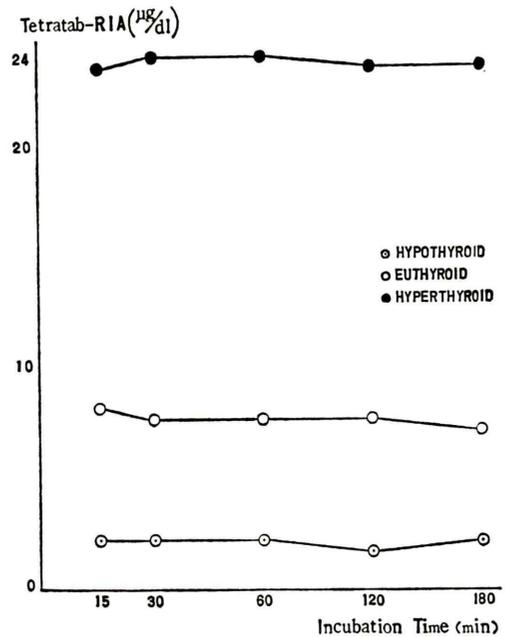


Fig. 2 Influence of incubation time on T₄ values by Tetratab-RIA Kit

Table 1 Reproducibility of T₄ values by Tetratab-RIA kit, determined on different days.

Thyroid Status	T ₄ values (µg/dl)			
	1st day	2nd day	3rd day	Mean±SD (CV)
Euthyroid	7.6	7.3	7.5	7.5±0.2 (2.7)
Hyperthyroid	23.8	23.3	22.9	23.3±0.5 (2.2)
Hypothyroid	1.9	1.6	1.6	1.7±0.2 (1.8)

した結果は Table 1 のごとくで、3群の測定値の変動は 7.5±0.2 µg/dl (2.7%), 23.3±0.5 µg/dl (2.2%), 1.7±0.2 µg/dl (11.8%) で日差による測定値の変動は少なかった。

② Incubation の影響

Incubation 時間の影響を知るために、その時間を 15 分、30 分、60 分、120 分、180 分について T₄ 値の変動を検討した結果は Fig. 2 のごとくで、15分~180分の Incubation 時間で 3群いずれでも有意差はなかった。

Incubation 温度の影響は 15°, 25°, 35°C につい

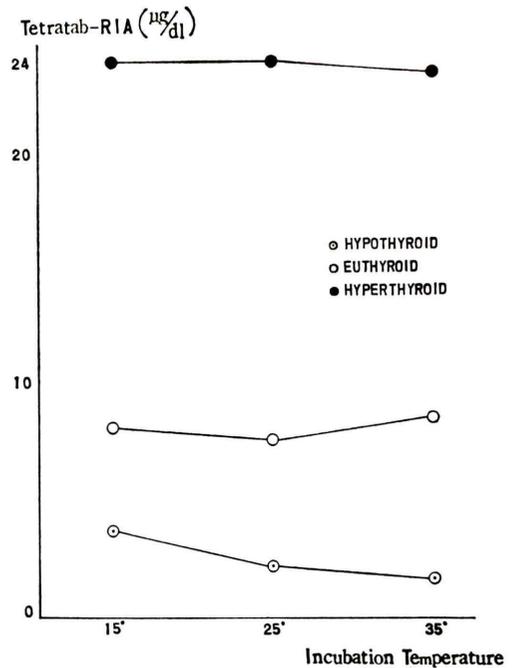


Fig. 3 Influence of incubation temperature on T₄ values by Tetratab-RIA Kit

て検討したが、その成績は Fig. 3 のごとくで、この3条件の範囲では温度の影響はほとんど見られなかった。

③ 沈降液の影響

硫酸アンモニウム溶液による B. F. 分離の際、その液量の影響を検討するために、1.5ml, 2.0 ml, 2.5 ml の液量について前記3群における T₄ 値の変動を調べた結果は Fig. 4 のごとくで、1.5~2.5 ml の沈降液量の間では T₄ 値にほとんど差を認めなかった。

硫酸アンモニウム溶液を添加後、これを放置し、一定時間後これを遠沈するが、この時間を5分、10分、30分、60分、120分について T₄ 値への放置時間の影響を検討した結果は Fig. 5 のごとくで、

5分~120分の間では特に有意差は認めなかった。

④ 希釈液

本測定法の標準法での T₄ の測定可能上限は 24 μg/dl であるが、甲状腺機能亢進症の血清ではしばしば 24 μg/dl 以上を示すので、キットに付属の NaN₃ 含有の希釈液を用い血清を希釈し、その T₄ 値を検討した。その結果は Table 2 のごとくで T₄ 量 6 μg/dl, 12 μg/dl, 18 μg/dl を希釈液によりそれぞれ2倍、4倍に希釈した後の T₄ 値はほぼ 1/2, 1/4 を正しく示した。

2. 臨床成績

① 対象

都立大久保病院に昭和51年2月より7月の間に来院した患者を対象とし、甲状腺疾患の診断は、

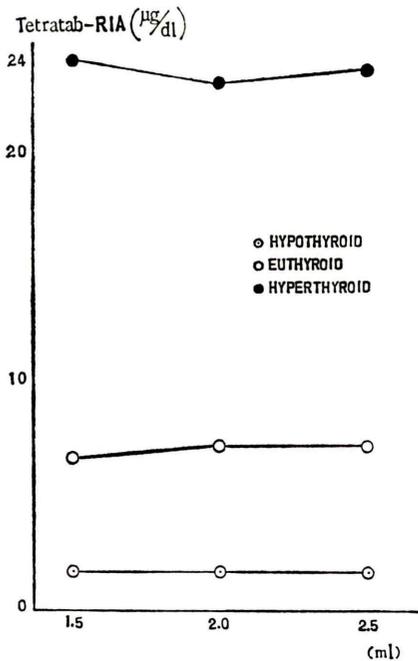


Fig. 4 Influence of precipitant volume on T₄ values.

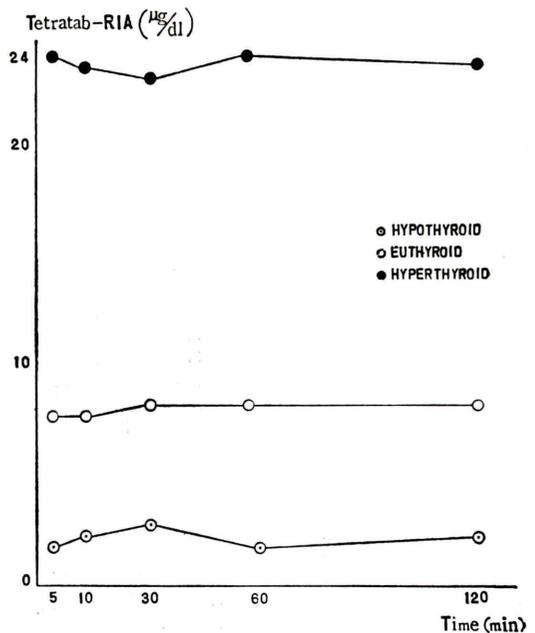


Fig. 5 Influence of incubation time with Ammonium sulfate on T₄ values

Table 2 Influence of dilution on serum T₄ values

Dilution ₄	6 μg/dl	12 μg/dl	18 μg/dl
1/2	2.8±0.2 (5.3)	6.3±0.2 (3.3)	9.1±0.2 (2.6)
1/4	1.4±0.1 (10.5)	3.1±0.2 (5.5)	4.6±0.1 (2.8)

Mean±SD (CV)

Table 3 T₄ values by Tetratab-RIA Kit in various thyroid status.

Thyroid Status	No. of Cases	T ₄ values by Tetratab-RIA (μg/dl)	
		Range	Average
Euthyroid	51	5.2-12.2	8.1±1.7
Hyperthyroid	36	12.6-24.0↑	19.3±4.0
Hypothyroid	11	1.5- 5.5	3.1±1.5
Simple diffuse Goiter	8	6.1-12.9	8.9±2.1
Simple nodular Goiter	16	4.5-10.4	7.8±1.4
Malignant Goiter	6	6.2-13.1	8.7±2.5
Chronic Thyroiditis	21	3.4-13.0	7.4±2.8
Subacute Thyroiditis	3	10.6-16.5	13.7±3.0
Cured Hyperthyroid	38	5.4-13.8	8.9±2.1

臨床症状, 諸検査成績によった. 症例数は正常者 51例, 甲状腺機能亢進症36例, 甲状腺機能低下症 11例, 単純性瀰漫性甲状腺腫 8例, 単純性結節性甲状腺腫16例, 悪性甲状腺腫 6例, 慢性甲状腺炎 21例, 亜急性甲状腺炎 3例, ¹³¹I 治療後治癒せる甲状腺機能亢進症 38例, 計 190例である.

② 正常値

正常者 51例の TETRA-TAB-RIA の T₄ 値は Table 3, Fig. 6 のごとくで, その範囲は 5.2~12.2

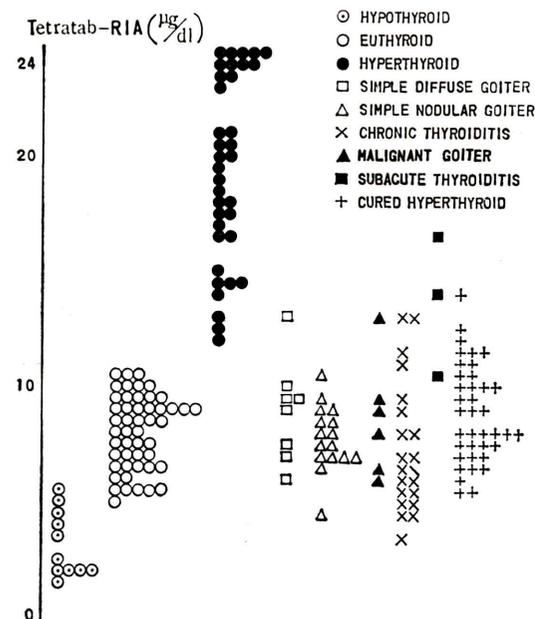


Fig. 6 Distribution of T₄ values in various thyroid status.

μg/dl, 平均値 ±SD は 8.1±1.7 μg/dl で, 平均値 ±2SD を正常範囲とすると, 4.7~11.5 μg/dl となる. 同一血清で測定した Thyopac-4 (CPBA) は 8.3±2.1 μg/dl で, T₄-RIAPAC (RCC 社の RIA) は 8.1±1.8 μg/dl でほぼ同値を示した. なお正常範囲を 5.0~12.0 μg/dl とすると Fig. 6 のごとく正常者の全例がこの範囲であった.

③ 各種甲状腺疾患の T₄ 値

各種甲状腺疾患の TETRA-TAB-TIA による T₄ 値は Table 3, Fig. 6 のごとくである.

甲状腺機能亢進症, 甲状腺機能低下症と正常者の T₄ 値の分離は, かなり良好であり, 単純性瀰漫性甲状腺腫, 単純性結節性甲状腺腫, 悪性甲状腺腫は全例正常範囲の T₄ 値を示した. 慢性甲状腺炎, 亜急性甲状腺炎はその臨床所見, 病状の程度を正しく反映し, ¹³¹I 治療後治癒せる甲状腺機能亢進症も良く臨床像と一致した T₄ 値を示した.

④ 諸種甲状腺機能検査との相関

A. T₄-RIAPAC による T₄ 値

T₄-RIAPAC は RCC の RIA による T₄ 測定 Kit であるが, TETRA-TAB-RIA で測定したのと同じ血清で測定した結果は Table 4 のごとくで, 正常者および各種甲状腺疾患についてほぼ同様の T₄ 値を示し, 両 Kit により測定した T₄ 値の相関は Fig. 7 のごとく高度で $r=+0.98$ であった.

B. Thyopac-4 による T₄ 値

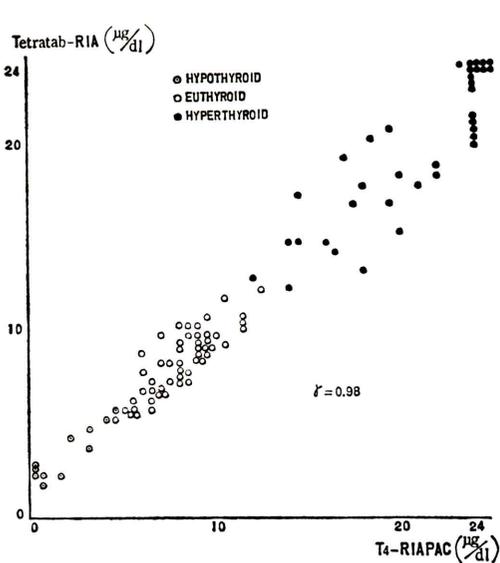
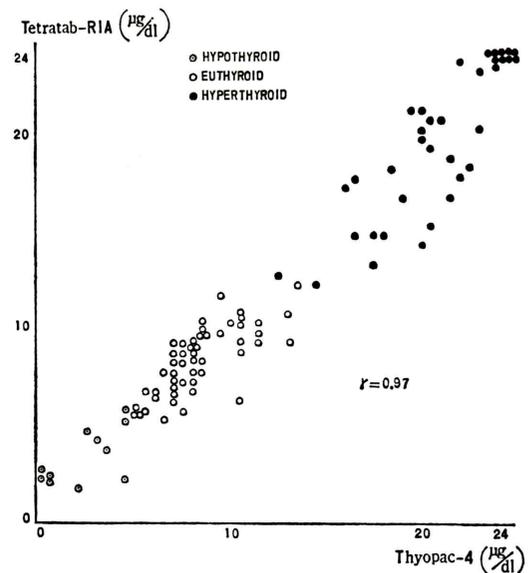
CPBA に基づく T₄ 測定 Kit として比較的数据の安定した Thyopac-4 による T₄ 値との相関も Fig. 8 のごとく著しく高度で $r=+0.97$ であった.

Table 4 T₄ values by T₄-RIAPAC in various thyroid status

Thyroid Status	No. of Cases	T ₄ values by T ₄ -RIAPAC (μg/dl)	
		Range	Average
Euthyroid	51	4.7-12.3	8.1±1.8
Hyperthyroid	36	12.0-24.0	20.6±3.9
Hypothyroid	11	0.0- 4.5	1.7±1.6
Simple diffuse Goiter	8	6.5- 9.8	7.6±2.6
Simple nodular Goiter	16	4.5- 9.6	7.5±1.4
Malignant Goiter	6	5.7- 9.3	8.1±1.3
Chronic Thyroiditis	21	2.7-13.5	7.2±3.0
Subacute Thyroiditis	3	12.5-18.1	15.7±2.9
Cured Hyperthyroid	38	4.7-13.9	8.9±2.3

Table 5 Correlation of T₄ values by Tetratab-RIA Kit with other various thyroid function tests.

	Tetratab-RIA	T ₄ -RIAPAC	Thyopac-4	T ₃ -RIAKIT	Triosorb	¹³¹ I-TUR
Tetratab-RIA		0.98	0.97	0.91	0.84	0.79
T ₄ -RIAPAC	0.98		0.97	0.88	0.89	0.81
Thyopac-4	0.97	0.97		0.88	0.89	0.80
T ₄ -RIAKIT	0.91	0.88	0.88		0.85	0.77
Triosorb	0.87	0.89	0.89	0.85		0.74
¹³¹ I-TUR	0.79	0.81	0.80	0.77	0.74	

Fig. 7 Correlation of T₄ values by Tetratab-RIA Kit with those by T₄-RIAPAC Kit.Fig. 8 Correlation of T₄ values by Tetratab-RIA Kit with those by Thyopac-4 Kit.

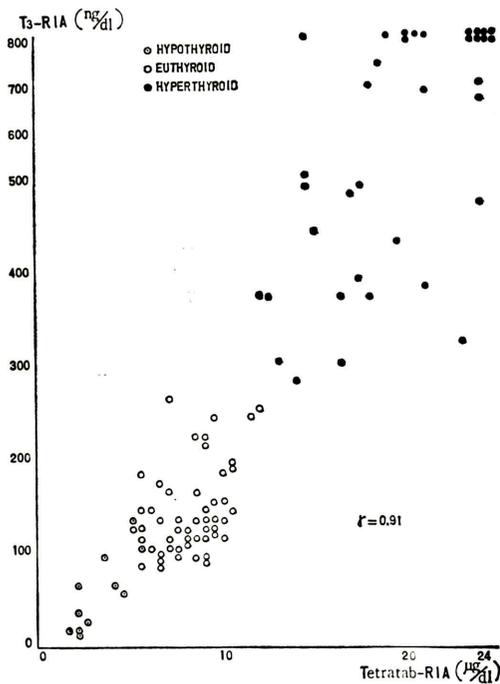


Fig. 9 Correlation of T_4 values by Tetratab-RIA Kit with T_3 values by T_3 -RIA KIT

C. その他の甲状腺機能測定値

T_3 -RIAKIT による T_3 値, ^{131}I - T_3 レジン摂取率としての Triosorb 値, および甲状腺 ^{131}I 摂取率と本測定法による T_4 値との相関は, Table 5, Fig. 9, 10 のごとくで, それぞれ, $r=+0.91$, $+0.87$, $+0.79$ とかなり良い相関を示した。

III. 考 案

血中 T_4 の測定法としては最近はおっぱら RI を利用した *in vitro* 検査が普及してきている。すなわち, 最初は血中の Thyroxine Binding Globulin (TBG) の甲状腺ホルモンとの結合の飽和度を利用し, 間接的に T_4 を推定した saturation analysis, 次に ^{125}I - T_4 と検体血清中の T_4 との間で TBG に対する結合を競合させることにより T_4 を測定する competitive protein binding assay, さらに今回報告した Radioimmunoassay などがあり, それぞれについて種々の Kit が市販されている。RIA による T_4 の測定については, B/F 分離法がそれぞれ

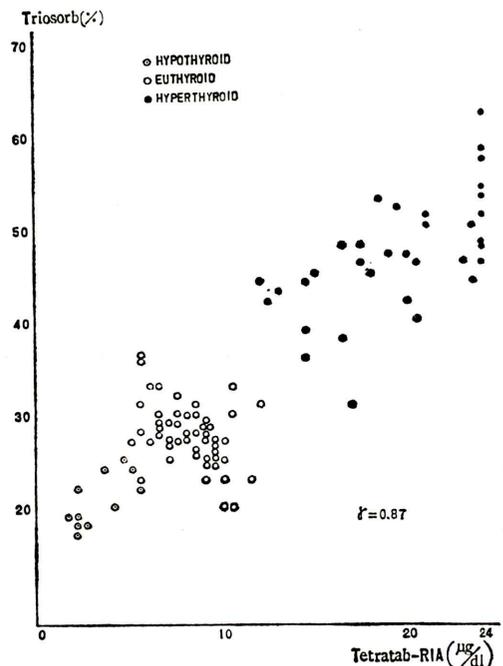


Fig. 10 Correlation of T_4 values by Tetratab RIA Kit with Triosorb values.

異なる, すなわちレジンスポンジにより F を吸着する T_4 -RIAKIT, レジンストリップによる RIA-MAT- T_4 , レジン末による T_4 -RIAPAC, Sephadex column を利用した Seralute T_4 -RIA などがすでに報告されているが, われわれが今回報告した TETRA-TAB-RIA による測定は血中 T_4 の抽出に塩酸を, B/F の分離に Ammonium sulfate を用いた塩析法であるのが特徴である。

本法の基礎的検討としてまず再現性の検討であるが, 前述のごとく, 方法が簡単で, 問題点が少ないこともあり, 単純繰り返り, 日差変動ともに動揺は著しく少なく, 再現性は良好であった。Incubation 時間は 15 分~180 分の間ではほとんど差がなく, また Incubation 温度についても $15^\circ\sim 35^\circ$ では T_4 値にほとんど差がなく, Incubation の時間と温度の正確さについてはそれ程厳密にする必要がないのも利点と考えられた。B/F 分離のための硫酸アンモニウム溶液の添加量は 1.5 ~ 2.5 ml の間では T_4 値に差がなく, またその添

加後より遠沈までの時間も 5 分～120 分の間では T_4 値に有意差はなかった。以上の結果よりわれわれは Incubation 時間は 30～60 分、Incubation 温度は室温、硫酸アンモニウム溶液は 2 ml、添加後遠沈までの時間は約 5 分にして測定を行なった。

甲状腺機能亢進症の場合は T_4 値がしばしば 20 $\mu\text{g}/\text{dl}$ を超えるが、亢進症の諸種加療後の治療効果を知る上に T_4 値を確実に知ることが望ましい。本 Kit にはこれに対し NaN_3 含有の希釈液が Kit に付属しているので、その信頼性を検討したが、2 倍でも 4 倍でも希釈率に一致し、正しく T_4 値を示した。

以上のごとく、本法は方法的に簡便であり、Incubation は 1 回で良く、しかも室温で可能で、短時間で検査を終了し得、方法的に操作上の失敗の要素が少なく、検体血清量も 0.01 ml と少なく、その成績も再現性良好で、方法的に優れた T_4 測定法といえよう。

臨床成績についてはまず正常値であるが、本法による T_4 値の正常範囲は 5～12 $\mu\text{g}/\text{dl}$ と従来広く使用されている CPBA, RIA による測定値とほぼ同様であり、正常者と甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症との data の重なり合いも少なく、優れている。

他の甲状腺疾患の T_4 値についても、単純性甲状腺腫では瀰漫性、結節性の 24 例全例が正常範囲を示し、悪性甲状腺腫 6 例も同様であった。亜急性甲状腺炎では臨床病期に応じ、高値または正常値を正しく示し、慢性甲状腺炎でもその機能に応じた T_4 値を示し、機能低下の判断には TSH 値とともにきわめて有用であり、また ^{131}I 治療後の甲状腺機能亢進症ではその治療状態、すなわち軽度の機能亢進の残存、機能低下の傾向などを正しく反映した。

他の甲状腺機能検査法との相関では、前述のごとく、CPBA に基づく Thyopac-4 による T_4 値とは $r=+0.97$ と、また RCC の RIA による T_4 測定法である T_4 -RIAPAC とは $r=+0.98$ といずれも高度の相関を示した。

以上の成績より、TETRA-TAB-RIA による T_4

の測定値は 1) 使用血清量 0.01 ml と少なく、2) Incubation は室温でしかも 1 回で済み、3) 操作も簡易で短時間で終了し、4) 再現性が優れ、5) 正常者と甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症との data の分離が優れ、6) 従来使用されている CPBA, RIA による T_4 測定値とも高度の相関を示すなど、本法は T_4 測定法の新しい Kit として優れたものと考え報告した。

IV. 要 約

Radioimmunoassay による T_4 の新しい Kit として B/F 分離を硫酸アンモニウム溶液による塩析法を利用した TETRA-TAB-RIA について測定法の基礎的検討を行なうとともに、正常者および各種甲状腺疾患 190 例について T_4 値を測定し、従来の諸種甲状腺機能検査法による成績と比較検討し、本 Kit による成績を評価した。

1) 基礎的検討として再現性は良好であり、Incubation 時間、温度の影響も少なく、硫酸アンモニウムの液量、添加後放置時間による変動も一定範囲の条件では成績は安定しており、希釈液による測定も正しく希釈率を反映した。

2) 正常者 51 例の T_4 値は $8.1 \pm 1.7 \mu\text{g}/\text{dl}$ 、正常範囲は 5.0～12.0 $\mu\text{g}/\text{dl}$ が適当であった。

3) 甲状腺機能亢進症 36 例、甲状腺機能低下症 11 例、正常者 51 例の T_4 値の間では 3 者は良く分離され、また各種甲状腺疾患の T_4 値は臨床症状、諸検査成績と一致して甲状腺機能を正しく反映した。

4) 他の甲状腺機能検査との相関は CPBA に基づく T_4 測定法の 1 つである Thyopac-4 による T_4 値とは、 $r=+0.97$ 、RIA による T_4 測定法である T_4 -RIAPAC による T_4 値とは $r=+0.98$ と高度の相関を示し、 T_3 -RIAKIT による T_3 値とは $r=+0.91$ 、Triosorb 値とは $r=+0.87$ 、甲状腺 ^{131}I 摂取率とは $r=+0.79$ 、とかなり良い相関を示した。

以上のごとく TETRA-TAB-RIA による T_4 の測定は方法が簡単容易で、短時間で終了し、再現性が優れ、既知の T_4 量測定法の成績と高度の相関を示し、正しく甲状腺機能を反映し、今後 T_4

測定のための新しい Kit として広く普及すると考え報告した。

文 献

- 1) Ekins RP: The estimation of thyroxine in human plasma by an electrophoretic technique. *Clin. Chim Acta* **5**: 453, 1960
- 2) Murphy, BP et al: Determination of thyroxine by competitive protein binding analysis employing an anion exchange resin and radiothyroxine. *J Lab & Clin Med* **66**: 161, 1965
- 3) Chopra IJ et al: A radioimmunoassay of thyroxine. *J Clin Endocrinol & Metab.* **33**: 865-1971
- 4) Chopra IJ et al: A radioimmunoassay for measurement of thyroxine in unextracted sera. *J Clin Endocrinol & Metab* **34**: 938, 1972
- 5) 木下文雄他: Radioimmunoassay による Thyroxine の測定. *臨床放射線* **21** (7): 595, 1976
- 6) 木下文雄他: T₄ リアパックおよびセラリユート T₄ リアによる血中 T₄ の測定, *Radioisotopes* **26** (6): 44-46, 1977