

《ノート》

RIA-gnost TBG キットによる Thyroxine-Binding Globulin (TBG) の測定

Measurement of Thyroxine-Binding Globulin (TBG) by RIA-gnost TBG Kit

海瀬 信子* 海瀬 和郎* 山本 蒔子* 貴田岡博史*
桜田 俊郎* 斎藤慎太郎*

Nobuko KAISE*, Kazuro KAISE*, Makiko YAMAMOTO*, Hirofumi KITAOKA*,
Toshiro SAKURADA* and Shintaro SAITO*

*The Second Department of Internal Medicine, Tohoku University, School of Medicine

I. はじめに

Thyroxine-binding globulin (TBG) は血中 thyroxine (T₄) および triiodothyronine (T₃) の特異的な輸送蛋白であり、T₄ の 70% は TBG と結合している。血清 TBG (TBG) の濃度は種々の薬剤、疾患あるいは甲状腺機能などの影響によって変化するため¹⁾、甲状腺機能の診断には T₄、T₃ の測定と共に TBG の測定が必要となる場合がある。

TBG 濃度を知るためには、これまで、TBG の maximal T₄ binding capacity の測定²⁾ が用いられて来たが、手技が煩雑であり、多数の検体を扱うことは困難であった。そこで、これにかわって間接的に TBG を表わす指標として、Triosorb 試験をはじめとする各種の T₃ 摂取率試験の測定が行われ、しかも、T₄ と T₃ 摂取率より求めた遊離 T₄ 指数 (Free T₄ index, F T₄ I) が甲状腺の機能を非常に良く反映するものとされてきたが、TBG が高濃度の場合には、T₃ 摂取率は必ずしも正確には TBG の量を反映しないため、F T₄ I が高値を

示す場合もあった。今回、我々は TBG 測定用の direct radioimmunoassay kit (RIA-gnost TBG) の提供をうけ、試用する機会を得たので、ここにその測定経験と、基礎的ならびに臨床的成績について報告する。

II. 方法ならびに対象

1. キットの構成

- (1) ¹²⁵I TBG : 2 μCi 以下、凍結乾燥品で、使用に際しては 20 ml の蒸留水に溶解する。
- (2) 抗 TBG 血清 : 凍結乾燥品で、20 ml の蒸留水に溶解して使用する。
- (3) TBG 標準品 : おおの 0, 3.8, 7.0, 13.5, 23.0 および 48.0 μg/ml の凍結乾燥品でいずれも 500 μl の蒸留水に溶解して使用する。
- (4) テスト血清 : 26.0 μg/ml の凍結乾燥品で、500 μl の蒸留水に溶解して使用する。
- (5) polyethylene glycol (PEG) 溶液。

2. 測定法

Fig. 1 に示すごとく、本法も通常の radioimmunoassay と変わるところはなく、全操作に必要な時間も 4 時間程度で可能である。沈渣の放射能測定にはウェル型のシンチレーションカウンター

* 東北大学医学部第 2 内科

受付 : 53 年 12 月 4 日

最終稿受付 : 54 年 3 月 19 日

別刷請求先 : 仙台市星陵町 1 番 1 号 (☎980)

東北大学医学部附属病院第 2 内科

海瀬 信子

Key words: TBG, Radioimmunoassay, Thyroid function, T₄/TBG ratio

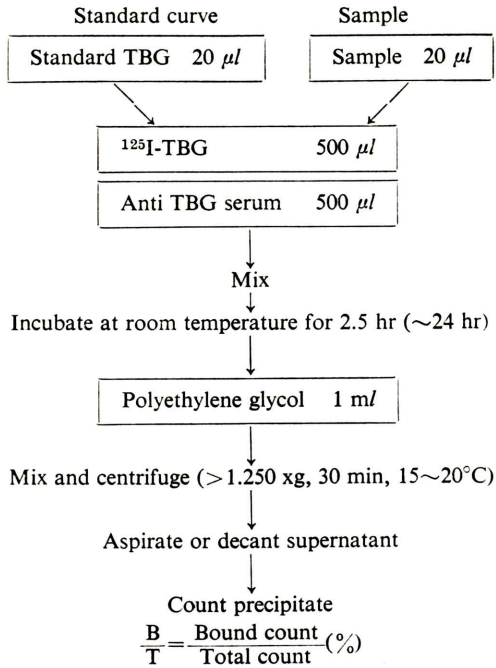


Fig. 1 Assay procedure

を使用した。なお、 T_4 は competitive protein-binding analysis (Tetrasorb-125) により、また、 T_3 摂取率は T_3 -resin sponge uptake (RSU, Trio-sorb 試験) により測定した。

3. 対象

正常者 45 例，妊娠 3~9 カ月の妊婦 7 例，ネフローゼ症候群 3 例，甲状腺機能亢進症 30 例，原発性甲状腺機能低下症 11 例，橋本病 25 例，結節性甲状腺腫 6 例，および TBG 減少症 2 例の 129 例であった。

III. 測定成績

1. 基礎的成績

(1) 標準曲線

室温で 2~4 時間の incubation にて 5 回測定した際の標準曲線を Fig. 2 に示した。良好な再現性が得られ，結合率 (B/T) もほぼ一定した値が得られた。なお，反応の時間と温度をそれぞれ 2.5~48 時間および 16~28°C の範囲で検討したが，いずれもほとんど同一標準曲線上に重なり，測定値

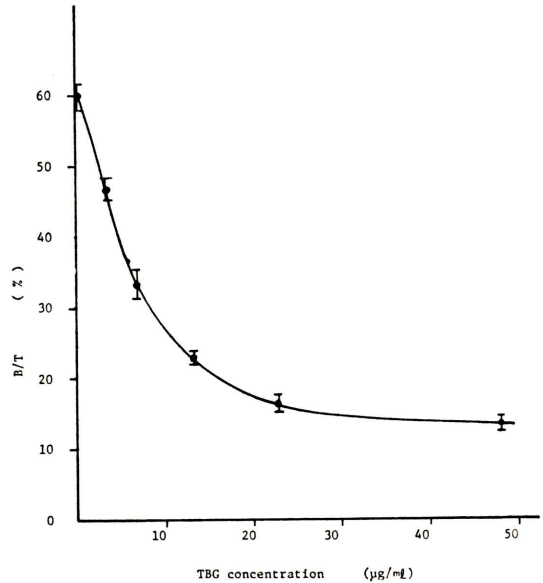


Fig. 2 Standard curve

Table 1 Intrassay variation

	Sample 1 μ g/ml	Sample 2 μ g/ml	Sample 3 μ g/ml
1	2.0	15.4	48
2	1.5	16.0	45
3	1.5	16.2	45
4	1.5	15.9	45
5	1.8	16.4	47
6	1.6	15.8	46
7	1.6		43
8			45
Mean	1.64	15.9	45.5
\pm SD	0.19	0.34	1.51
C.V. (%)	11	2.1	3.3

にも差がなかった。

(2) 同時再現性および日差再現性

Table 1 に示すごとく，TBG が低，中，高濃度の 3 種の血清を用い，6~8 回測定して同時再現性を検討したところ，変動係数 (C.V.) 2.1~11% と良好な結果を得た。また，同じく低いし中濃度の 4 種の血清を用い，それぞれ 5 回ずつ，異なるロットおよび日時で測定して日差再現性を検討した。結果は Table 2 のごとくで，低濃度の血清で

Table 2 Interassay variation

Lot	Sample 1 $\mu\text{g/ml}$	Sample 2 $\mu\text{g/ml}$	Sample 3 $\mu\text{g/ml}$	Sample 4 $\mu\text{g/ml}$
1	1.45	17.7	19.1	23.2
2	2.1	16.2	19.0	24.8
3	2.1	18.0	18.7	21.2
4	1.5	15.8	20.2	24.6
5	2.0	16.4	18.7	20.0
Mean	1.83	16.8	19.1	22.7
$\pm\text{SD}$	0.29	0.97	0.61	2.1
C.V. (%)	15	5.7	3.1	9.2

Table 3 Recovery rate

Added TBG $\mu\text{g/ml}$	TBG concentration $\mu\text{g/ml}$	Estimation of added TBG $\mu\text{g/ml}$	Recovery (%)
0	27		
+3.8	31	4.0	105.2
+7.0	33.8	6.8	97.1
+13.5	41	14	103.7

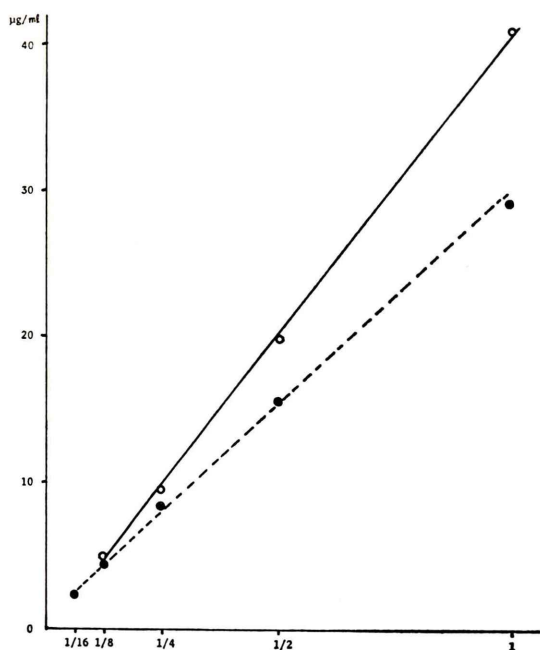


Fig. 3 Dilution curve

は変動係数は15%とやや高かった。その他は3.1%~9.2%と良好であった。

(3) 回収率

Table 3 に示すごとく、TBG の測定値が $27 \mu\text{g/ml}$ の血清に標準 TBG 溶液をそれぞれ、3.8, 7.0, $13.5 \mu\text{g/ml}$ と添加した後に測定したが、回収率は105.2%, 97.1%, 103.7%といずれも良好であった。

(4) 希釈曲線

TBG が中ないし高濃度の血清をそれぞれ0濃度の血清で1/2, 1/4, 1/8 に希釈して測定したが、Fig. 3 に示すごとく、良好な直線性が得られた。

(5) アルブミン濃度の影響

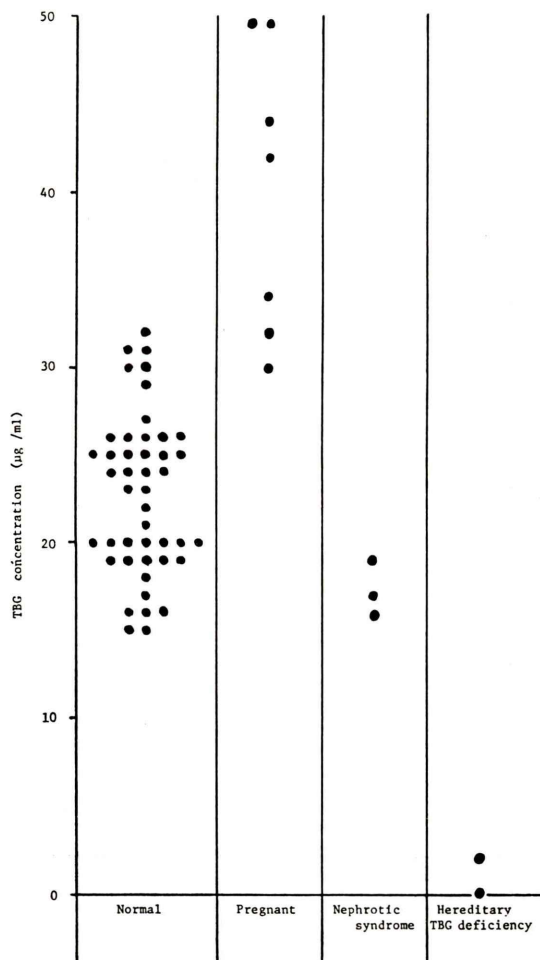


Fig. 4 TBG concentration

血清に1.0~9.0 g/dlの濃度の人アルブミン溶液を血清と同量加えて測定したが、測定値には変化がなかった。

2. 臨床成績

(1) 各臨床例における TBG 濃度

Fig. 4 に対象とした正常者、妊婦、ネフローゼ症候群および TBG 減少症の TBG 濃度を示した。正常者では14.5~31.8 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、平均 $22.6 \pm 4.5 \mu\text{g/ml}$ (Mean \pm SD) であった。平均 $\pm 2\text{SD}$ を正常値にとると、その範囲は13.6~31.6 $\mu\text{g/ml}$

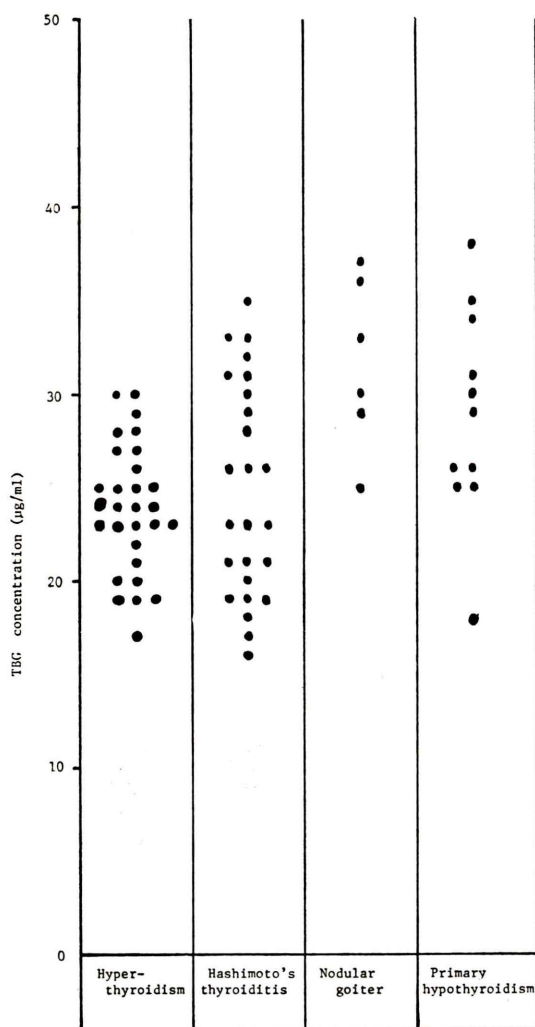


Fig. 5 Serum TBG concentration in various thyroid diseases

であった。妊婦では $39.4 \pm 7.1 \mu\text{g/ml}$ と正常者に比し有意 ($P < 0.01$) に高値を示した。ネフローゼ症候群では低値を示すとされているが、我々の3例では正常低値を示したのみであった。TBG 減少症では1例は測定感度以下、また、他の1例では1.8 $\mu\text{g/ml}$ と低値を示した。

Fig. 5 に対象とした各種甲状腺疾患における TBG 濃度を示した。甲状腺機能亢進症では $23.4 \pm 3.9 \mu\text{g/ml}$ 、橋本病では $24.9 \pm 5.6 \mu\text{g/ml}$ と正常者と差はなかったが、甲状腺機能正常の結節性甲状腺腫では $31.8 \pm 4.2 \mu\text{g/ml}$ 、また、原発性甲状腺機能低下症では $28.8 \pm 5.6 \mu\text{g/ml}$ と正常者に比し有意に高値を示した。

(2) T_4 ないし RSU との相関

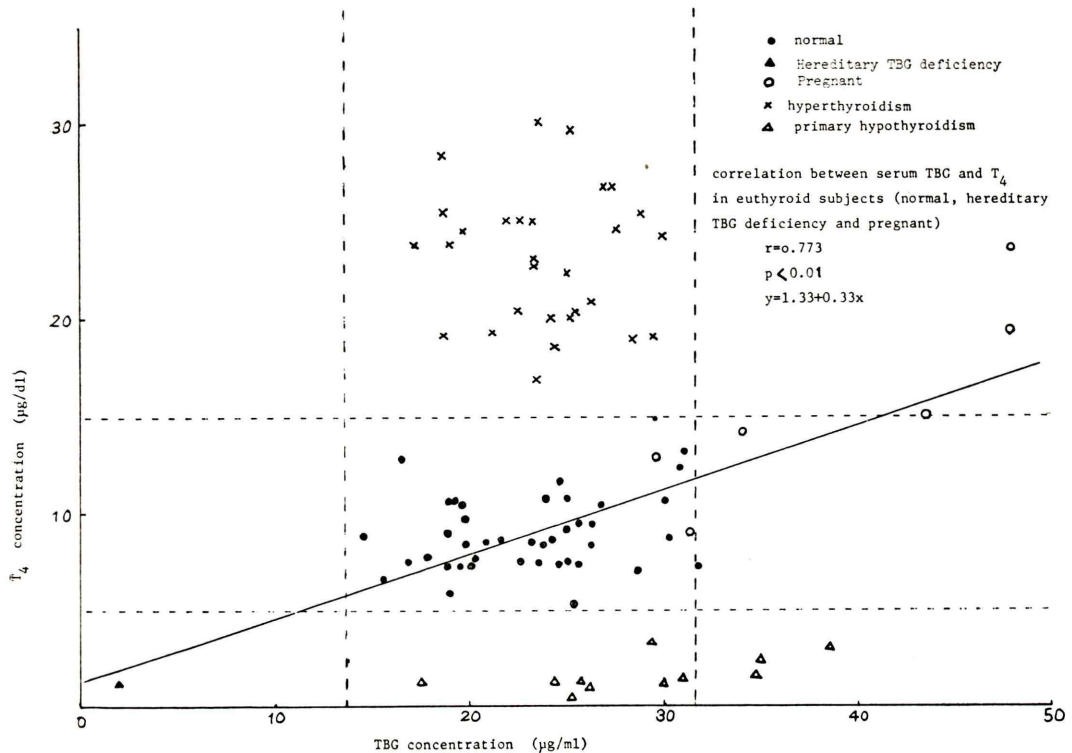
Fig. 6 に正常者、妊婦、TBG 減少症、甲状腺機能亢進症および原発性甲状腺機能低下症の例における T_4 と TBG の値を示した。正常者、妊婦、TBG 減少症においては T_4 と TBG はよく相関し、相関係数 $r = 0.77$ と良好であった。しかし、甲状腺機能亢進症と原発性甲状腺機能低下症では T_4 と TBG との間には相関は認められなかった。

Fig. 7 に正常者、妊婦および TBG 減少症における RSU と TBG の関係を示した。TBG が40 $\mu\text{g/ml}$ 以上の妊婦例では、RSU は TBG の量に比して低下しないため、しだいに RSU の値は一定となり、TBG と相関しなくなった。これらの TBG 高値の例を除いたものでは、RSU と TBG はよく負の相関を示し、相関係数も $r = -0.81$ と良好であった。

(3) $F T_4 I$ および T_4/TBG ratio

Fig. 8 に正常者、甲状腺機能亢進症、原発性甲状腺機能低下症、妊婦、TBG 減少症における $F T_4 I$ を示したが、甲状腺機能亢進症では高値、原発性甲状腺機能低下症では低値であった。妊婦では正常高値を示すものがあり、その平均値は正常者に比してやや高かった。また、TBG 減少症の1例ではやや低値を示した。

Fig. 9 に Fig. 8 と同症例の T_4/TBG ratio を示した。 $F T_4 I$ と同様に甲状腺機能亢進症では高値を、原発性甲状腺機能低下症では低値を示した。

Fig. 6 Correlation between serum TBG and T_4

妊婦ではすべて正常域にあり、 FT_4I がやや高値を示した例でも正常であった。また、 FT_4I が低値を示した TBG 減少症の 1 例でも正常値であった。

IV. 考 案

これまで TBG を直接測定することは一般的ではなく、少量の検体で、しかも、多数の資料を一度に処理出来る radioimmunoassay の開発が待たれていた。この意味で、今回我々が試用したキットでは、検体量は $20 \mu\text{l}$ と少量であり、また測定操作も簡単であり、さらに標準曲線の再現性は良く、同時再現性、日差再現性、回収率なども満足すべき結果であったことより、有用な方法であると思われた。加えて、希釈曲線も良好であり、高 TBG 濃度の検体を、希釈して測定しても、なんら不都合はないと考えられた。したがって、実際

の測定において、妊娠終期の妊婦では scale out する例も多数あるが、希釈を行えば実用的に問題はないと思われる。

我々が測定した正常者の値は $22.6 \pm 4.5 \mu\text{g/ml}$ であり、これは Cavalieri ら³⁾ の $21.5 \pm 5.1 \mu\text{g/ml}$ とほぼ同様の値であったが、Burr ら⁴⁾ の $11.2 \pm 4.9 \mu\text{g/ml}$ (男) および $12.5 \pm 0.75 \mu\text{g/ml}$ (女) や、Gershengorn ら⁵⁾ の $14.8 \pm 4.6 \mu\text{g/ml}$ に比して高く、Levy ら⁶⁾ の $34 \mu\text{g/ml}$ (20~48) に比しては低かった。しかし、現在のところ、世界的に通用する TBG の標準品がないので、厳密な意味で他の報告者の測定値とは比較し得ないものと思われる。

TBG の濃度は甲状腺機能亢進症では低く、原発性甲状腺機能低下症では高いとされているが、我々の場合、原発性甲状腺機能低下症では正常者に比して有意の高値を示したが、甲状腺機能亢進症では正常者に比して差はなかった。また、甲状

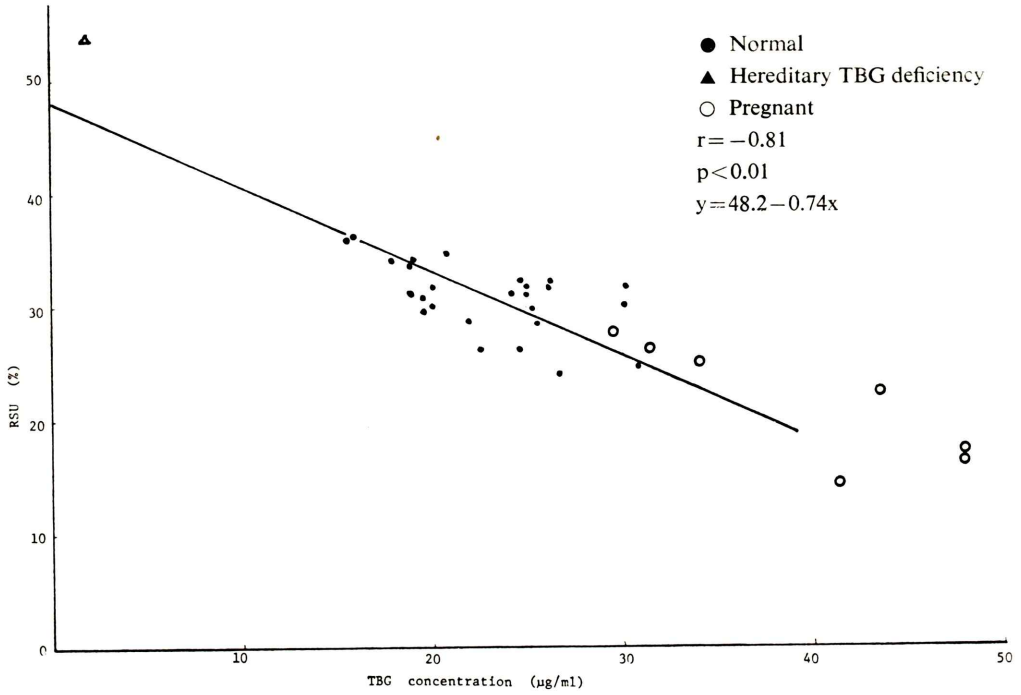


Fig. 7 Correlation between serum TBG and RSU in euthyroid subjects.

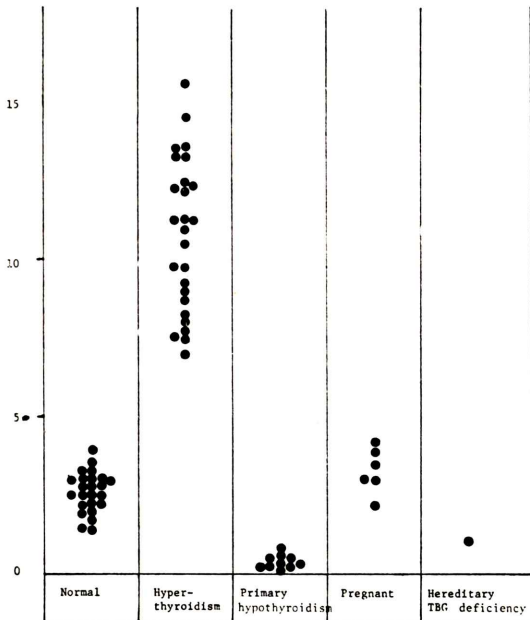


Fig. 8 FT₄I

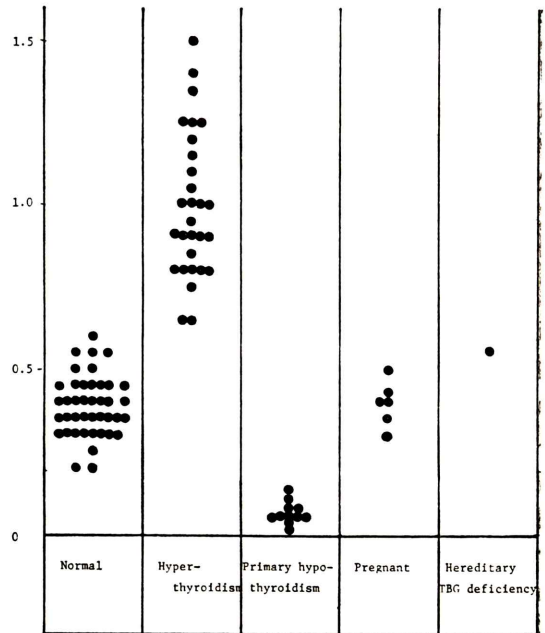


Fig. 9 T₄/TBG ratio

腺機能正常の結節性甲状腺腫でやや高値を示したが、特に TBG 濃度に影響を与える薬剤その他の影響はなく、機序は不明であった。今後さらに多数例について検討する必要があると思われた。

TBG 濃度は妊婦では高く、ネフローゼ症候群では低下するとされているが、我々の場合妊婦では高値であったが、ネフローゼ症候群では正常低値であった。Gavin^らはネフローゼ症候群では TBG は正常と報告しており、尿蛋白量が高度でない場合は、ネフローゼ症候群でも TBG は必ずしも低下しないものと思われた。

次に、 T_4 と TBG は甲状腺機能正常者では良好な相関を示し、TBG が高値となると T_4 も増加するのが認められた。しかし、RSU と TBG では、TBG が高濃度となると RSU はしだいに一定の値をとる様になり、このため、TBG が高値の例では、甲状腺機能が正常であっても、 FT_4I が高値を示す場合があった。今回報告した例でも妊婦には FT_4I がやや高値を示すものがあった。

これに対して、 T_4/TBG ratio では、 T_4 と TBG の相関が高 TBG 濃度の例でもよく直線性を保つため、 FT_4I の場合に見られる様な誤差を示すことは少なかった。すなわち、 FT_4I がやや高値を示した妊婦でも、 T_4/TBG ratio は正常値を示した。また、 FT_4I がやや低値を示した TBG 減少症の 1 例でも正常の値であった。これまで妊婦や薬剤などで TBG に変化がおこる場合や、TBG 異常症などでは、血中甲状腺ホルモンを測定しても甲状腺機能を正しく把握することは困難であったが、TBG を直接測定出来れば TBG の変化を容易に知ることができ、さらに、これより T_4/TBG ratio を求めれば、甲状腺機能を反映する良い指標の 1 つになり得るものと思われた。

V. 結 語

1) TBG の direct radioimmunoassay キットを用いて血清 TBG 濃度を測定した。標準曲線の再現性、同時再現性、日差再現性、回収率、希釈曲線などはいずれも良好であり、有用な方法と思われた。

2) 正常者 45 例では $22.6 \pm 4.5 \mu\text{g/ml}$ で、妊婦では高値を、また、TBG 減少症では低値を示した。甲状腺機能亢進症と橋本病では正常者と差はなかったが、結節性甲状腺腫と原発性甲状腺機能低下症ではやや高値を示した。

3) 妊婦、TBG 減少症を含む甲状腺機能正常者での RSU と TBG、 T_4 と TBG の相関は良好であったが、RSU は TBG が高値になると TBG と平行して低下しないため、妊婦の一部などでは FT_4I が高値となる場合があった。しかし、 T_4/TBG ratio は、TBG が高値であっても正常値を示し、 FT_4I に比してより良い甲状腺機能の指標となると思われた。

本測定に使用したキットの提供はヘキストジャパン株式会社の御好意による。

文 献

- 1) Oppenheimer JH: Role of Plasma Protein in the Binding, Distribution and Metabolism of the Thyroid Hormones. *New England J Med* **278**: 1153, 1968
- 2) Robbins J: Reverse-Flow Zone Electrophoresis. A Method for Determining the Thyroxine-Binding Capacity of Serum Protein. *Arch Biochem Biophys* **63**: 461, 1956
- 3) Cavaliere RR, McMahan FA and Castle JM: Preparation of ^{125}I -Labelled Human Thyroxine-Binding Alpha Globulin and its Turnover in Normal and Hypothyroid Subjects. *J Clin Invest* **56**: 79, 1975
- 4) Burr WA, Ramsden DB, Evans SE, et al: Concentration of thyroxine-binding globulin; value of direct assay. *Brit Med J* **1**: 485, 1977
- 5) Gershengorn MC, Lasen PR and Robbins J: Radioimmunoassay for Serum Thyroxine-Binding Globulins Results in Normal Subjects and in Patients with Hepatocellular Carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* **42**: 907, 1976
- 6) Levy RP, Marshall JS and Velayo NL: Radioimmunoassay of Human Thyroxine-Binding Globulin (TBG). *J Clin Endocrinol Metab* **32**: 372, 1971
- 7) Gavin LA, McMahan FA, Castle JN, et al: Alterations in Serum Thyroid Hormones and Thyroxine-Binding Globulin in Patients with Nephrosis. *J Clin Endocrinol Metab* **46**: 125, 1978