

《ノート》

アマレックスフリー T₄ RIA kit の使用経験Studies on the Measurement of Serum Free Thyroxine
with Amerlex Free T₄ RIA Kit

栗原 重子* 小池 幸子* 日下部きよ子* 出村 黎子*
出村 博* 秋庭 弘道*

Shigeko KURIHARA*, Sachiko KOIKE*, Kiyoko KUSAKABE*, Reiko DEMURA*,
Hiroshi DEMURA* and Hiromichi AKIBA**

*Radioassay Center, Tokyo Women's Medical College

**Faculty of Medicine, Chiba University

I. はじめに

最近血中遊離型サイロキシシン (以下 FT₄) の測定は radioimmunoassay (以下 RIA) 法の開発により一般に普及しつつある。科研化学の Amerlex FT₄ kit も RIA 法であり、測定には従来の抗 T₄ 抗体に比し affinity の高い抗 T₄ 抗体と、きわめて比放射能の高い ¹²⁵I-T₄ 誘導体を使用している。著者らはこの kit の基礎的ならびに臨床的検討をした結果、臨床応用への有用性を認めたのでその成績を報告する。

II. 対 象

健康正常者83例、治療中の甲状腺機能亢進症80例、橋本病25例、末端肥大症6例、下垂体性小人症15例、慢性肝炎14例、肝硬変11例、肝細胞癌7例、慢性腎不全17例、妊婦2例、TRH 負荷試験を施行した治療後の甲状腺機能亢進症34例である。

III. 方法ならびに結果

1. 基礎的検討

FT₄ の操作法はキットに添付されている使用書にしたがい施行した (Fig. 1)。FT₄ kit の検討には異なる10ロット (ロット No. 33~63) を使用し、測定回数は37回であった。また assay ごとの標準血清と管理血清は duplicate、患者血清は single で測定した。T₃ (RIA 法) と TSH (RIA 法) kit は栄研社製、rT₃ (RIA 法) と Triosorb-S (T₃ uptake 法) kit はダイナボット社製、T₄ (RIA 法) kit は科研社製、TBG (RIA 法) kit はコーニング社製を使用した。遊離サイロキシシン指数 (以下 FT₄I) は① $T_4 (\mu\text{g/dl}) \times \text{Triosorb-s}(\%) \times 1/100$ (以下 $T_4 \times T_3\text{U}$)、② $T_4 (\mu\text{g/dl}) \times 1/\text{TBG} (\mu\text{g/ml}) \times 10$ (以下 T_4/TBG) の2式から計算した。

1) 再現性

FT₄ 値が異なる3種類の管理血清で同時再現性を検討した。結果は血清① 0.12 ± 0.006 (Mean \pm SD, N=9) ng/dl、変動係数 (以下 C.V.) 5.4%、血清② 0.99 ± 0.02 ng/dl、C.V. 2.2%、血清③ 2.46 ± 0.08 ng/dl、C.V. 3.4%であった。

* 東京女子医科大学病院ラジオアッセイ科

** 千葉大学医学部

付: 56年11月20日

最終稿受付: 57年1月11日

別刷請求先: 新宿区市谷受田町 10 (☎ 162)

東京女子医科大学病院ラジオアッセイ科
栗原 重子

Key words: Free Thyroxine, Radioimmunoassay, ¹²⁵I-T₄ derivative Free Thyroxine Index.

この3種類の血清を含む5種類の管理血清で日差再現性を検討した。結果はTable 1のごとくC.V.は6.6~12.7%であった。

2) 希釈の影響

血清希釈にはFT₄希釈用リン酸緩衝液pH 7.4(以下希釈液)を使用した。16例の患者血清をそれぞれ希釈液で1/2と1/4に希釈し、希釈前のFT₄値と比較した。結果はFig. 2のごとくX軸を希釈前のFT₄値、Y軸を希釈前後のFT₄値の比率(%)であらわした。1/2と1/4希釈におけるXとYの関係を対数回帰式であらわすと、いずれも有意の負の相関があった。希釈前FT₄値が0.1~2.0

ng/dlの血清を1/2に希釈すると前値に比し127~94%の変動を示し、1/4に希釈すると196~99%の変動を示した。しかしFT₄値としてはほぼ維持されていた。また2.1~9.0 ng/dlの血清を1/2と1/4に希釈するとそれぞれ94~77%(1/2), 99~50%(1/4)の減少を示し、希釈前FT₄値の増加にしがたいFT₄値としても明らかな低値を示した。

希釈前のTBG値と希釈前後のFT₄値との関係を上記16例中2例について検討した。第1例ではFT₄ 1.82 ng/dl, TBG 5.0 µg/mlを示し1/2, 1/4希釈後のFT₄値はそれぞれ1.60 ng/dl, 1.72 ng/dlであった。第2例ではFT₄ 1.17 ng/dl, TBG 35.7 µg/mlを示し希釈後のFT₄値は1.16(1/2), 1.26(1/4) ng/dlであった。

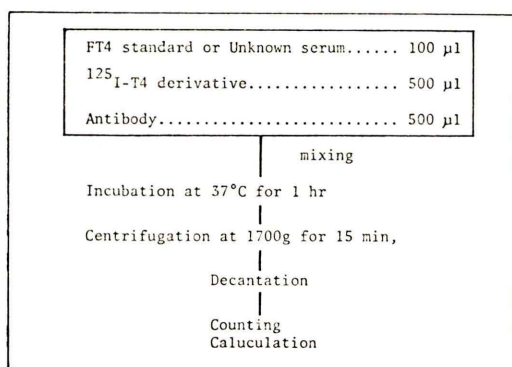
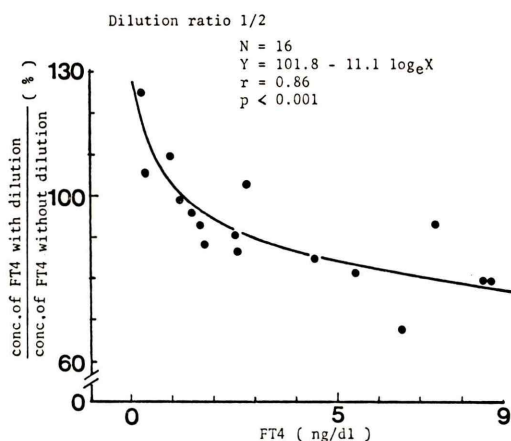


Fig. 1 Assay procedure.

Table 1 Interassay reproducibility of FT₄ concentration

Serum	N*	Mean±S.D. (ng/dl)	C.V. (%)
1	24	0.12±0.01	12.7
2	31	0.99±0.07	7.2
3	32	2.49±0.16	6.6
4	21	3.48±0.34	9.9
5	16	9.29±0.71	7.6

* N: number of assay (duplicate assay)



abscissa : concentration of FT₄ without dilution.

ordinate : ratio of FT₄ concentration of diluted sample to that of undiluted sample.

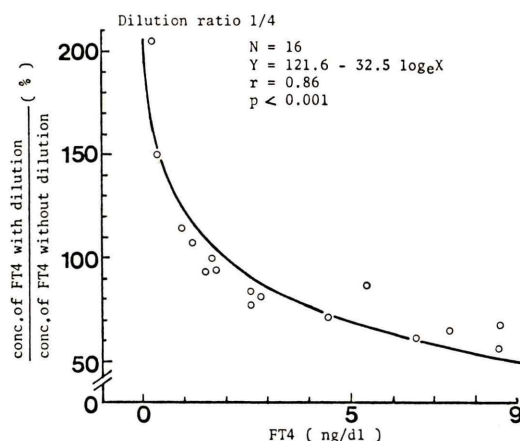


Fig. 2 Effect of dilution on FT₄.

3) ヘパリンの影響

正常者20例の血液 10 ml に対してヘパリンナトリウム液（ノボ社，ウシあるいはブタの腸粘膜由来）40 u を添加し，得られた血漿と血清の FT₄ 値を比較した．血漿の FT₄ 値は 1.34 ± 0.26 (Mean \pm SD) ng/dl で血清の 1.70 ± 0.34 ng/dl に比し有意に低値であった ($p < 0.001$)．他の T₃, T₄, rT₃, T₃U そして FT₄I (T₄ \times T₃U) 値には有意の差がなかった．

2. 臨床的検討

1) FT₄ 値 (Fig. 3)

正常者83例の FT₄ 値は 1.73 ± 0.34 (Mean \pm SD) ng/dl でその 96.4% (80/83) は Mean \pm 2 SD の範囲内にあった．

甲状腺機能亢進症と橋本病における甲状腺機能状態は血中の T₃, T₄, rT₃, TSH, T₃U 値より判定した．結果は Fig. 3 のごとく甲状腺機能亢進症で治療開始後まだ亢進状態にある症例14例の FT₄ 値は全例が異常高値を示した．また正常機能状態にある症例52例中46例 (88.4%) が正常値を示した．さらに低下状態にある症例14例の FT₄ 値は2例を除いて異常低値を示した．橋本病で正常機能状

態にある症例17例中13例 (76.4%) が正常値を示した．また低下状態にある症例8例中1例を除いて異常低値を示した．

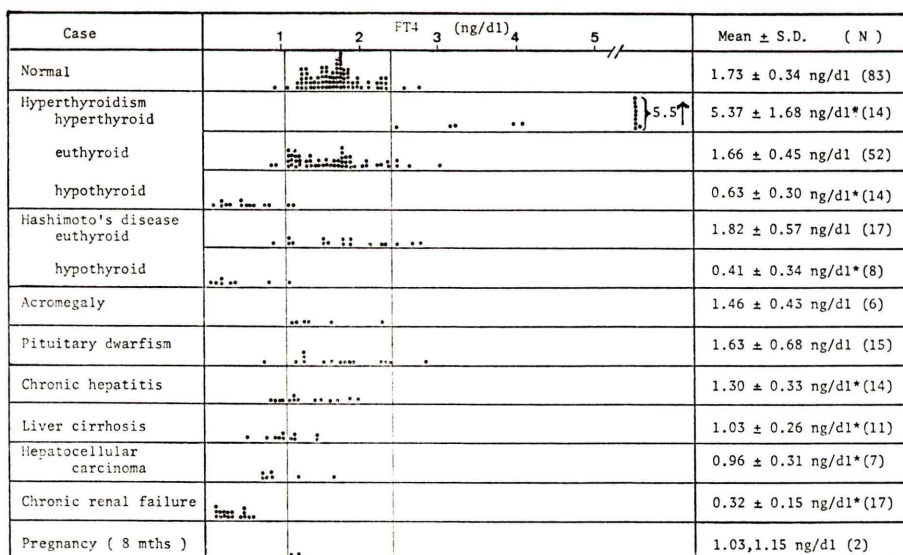
末端肥大症の FT₄ 値は全例が正常値を示した．

ヒト成長ホルモン（以下 hGH）で治療中の下垂体性小人症の FT₄ 値は15例中2例を除いて正常値を示した．また Table 2 のごとく，血中 T₃, T₄, rT₃ 値から成る関連比の T₃/T₄, T₃/rT₃ 値はいずれも有意の高値を示した．しかし rT₃/T₄ 値は有意の低下を示した．

慢性肝炎例の FT₄ 値は14例中10例 (71.4%) が正常値であったが有意の低値を示した．また Table 2 のごとく T₄ 値には有意の差が認められなかったが TBG 値は有意の高値，FT₄I の T₄ \times T₃U 値と T₄/TBG 値はいずれも有意の低値を示した．

肝硬変例の FT₄ 値は11例中5例 (45.4%) が正常値であったが有意の低値を示した．また Table 2 のごとく T₄ 値は有意の低値，TBG 値の分布は広範囲であったが平均値では有意の差がなかった．FT₄I の T₄ \times T₃U 値と T₄/TBG 値はいずれも有意の低値を示した．

肝細胞癌7例では6例が肝硬変を合併しており



* significance $p < 0.001$

Fig. 3 FT₄ concentration in normal and various diseases.

Table 2 Comparison of thyroid test values between normals and various diseases

Case	N	T ₃ (ng/dl)	T ₄ (μg/dl)	rT ₃ (ng/dl)	TNG (μg/ml)	FTI ¹		T ₃ /T ₄	rT ₃ /T ₄	T ₄ /TBG
						T ₄ ×T ₃ U	T ₄ /TBG			
Normal	15	142±24*	8.2±1.5	27.5±6.9	21.3±3.4	2.4 ± 0.37	4.0 ± 0.86	16.9±2.7	3.1±0.76	5.2±1.4
Pituitary dwarfism	15	160±39 ²⁾ **	7.7±2.7 ¹⁾	18.0±7.2 ⁴⁾				21.8±5.4 ⁴⁾	2.4±0.34 ³⁾	9.5±2.9 ⁴⁾
Chronic hepatitis	14		9.0±1.8 ¹⁾		32.1±5.5 ⁴⁾	1.99±0.31 ⁴⁾	2.84±0.55 ⁴⁾			
Liver cirrhosis	11		5.5±2.7 ⁴⁾		23.4±8.0 ¹⁾	1.38±0.55 ⁴⁾	2.28±0.50 ⁴⁾			
Hepatocellular carcinoma	7		8.3±2.9 ¹⁾		30.9±6.5 ⁴⁾	1.79±0.52 ⁴⁾	2.62±0.54 ⁴⁾			
Chronic renal failure	17	80±15 ⁴⁾	4.6±1.3 ⁴⁾	8.8±3.6 ⁴⁾	18.1±3.7 ³⁾	1.44±0.35 ⁴⁾	2.51±0.49 ⁴⁾			
Pregnancy (8 month)	2		12.4, 10.0		43.2, 35.1					

* = Mean ± S.D.

** = Significance ¹⁾ p < 0.05 (n.s.), ²⁾ p = 0.01, ³⁾ 0.001 < p < 0.01, ⁴⁾ p < 0.001.

FT₄ 値は有意の低値を示した。また Table 2 のごとく、T₄ 値には有意の差が認められなかったが、TBG 値は有意の高値を示した。FT₄I の T₄×T₃U 値と T₄/TBG 値はいずれも有意の低値を示した。

慢性腎不全で透析直前の症例 17 例の FT₄ 値は全例が異常低値を示した。FT₄I の T₄×T₃U 値は 10 例 (58.8%)、T₄/TBG 値は 4 例 (23.5%) のみ異常低値を示した。また Table 2 のごとく T₃, T₄, rT₃ そして TBG 値はいずれも有意の低値を示した。TSH 値は 17 例中 3 例がわずかに異常高値 (5.3, 6.3, 6.9 μU/ml) を示したが 14 例は正常値であった。総蛋白量は 6.2±0.57 (Mean±SD) g/dl, アルブミン分画は 57.1±7.0% でいずれも有意の低値を示した。

妊娠 8 か月の 2 例の FT₄ 値はいずれも正常の下限域にあった。また Table 2 のごとく、T₄ 値は正常の上限域にあり、TBG 値は有意の高値を示した。

2) TRH 負荷試験

正常者 20 例に TRH 500 μg を静注し、静注直前値と静注後 15 分、30 分、60 分、90 分の FT₄ 値を比較した (検体はいずれもヘパリン加血漿である)。静注直前の FT₄ 値は 1.34±0.26 (Mean±SD) ng/dl であった。静注後 90 分では 20 例中 16 例が有意の増加を示し Mean±SD は 1.42±0.29 ng/dl であった (p<0.001)。しかし他の採血時間値とは有意の差がなかった。次に静注直前値と静注後 90 分の T₄×T₃U, T₃, T₄ そして rT₃ 値を比較した。T₄×T₃U 値は 20 例中 12 例が 90 分で増加を示したが有意の差がなかった。しかし T₃ (p<0.001), T₄ (0.01<p<0.001) そして rT₃ (p<0.001) 値はいずれも 90 分で有意の増加を示した。

治療後の甲状腺機能亢進症 34 例にて TRH 500 μg を静注した。34 例中 TRH に TSH が無反応あるいは低反応を示したのは (以下低反応群) 16 例 (頂値 1.0 μU/ml 以下; 8 例, 1.0~3.9 μU/ml; 8 例), 正常反応を示したのは (以下正常反応群) 18 例 (頂値 6.7~24.7 μU/ml) であった。この低反応群と正常反応群で TRH 負荷直前の FT₄ 値を比較した。正常反応群の FT₄ 値は 1.44±0.38 (Mean±

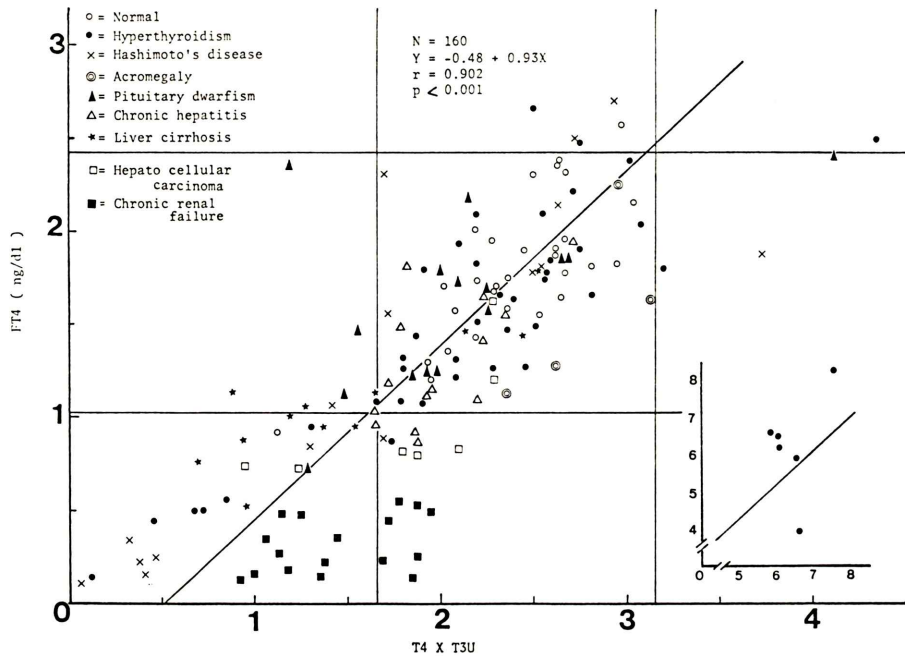


Fig. 4 Correlation between FT₄ concentration and T₄ × T₃U value.

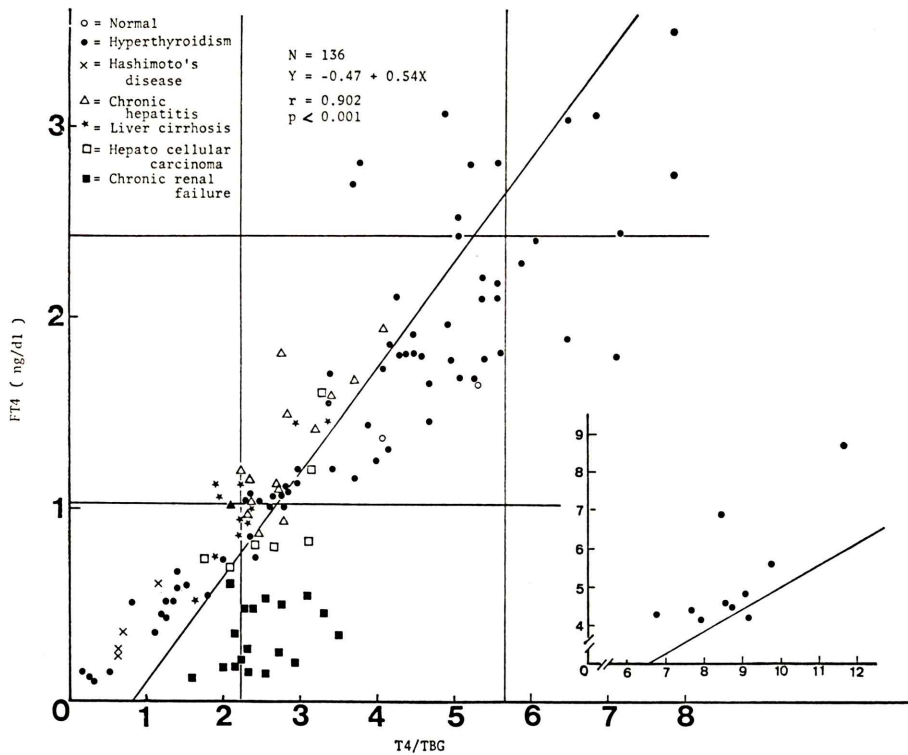


Fig. 5 Correlation between FT₄ concentration and T₄/TBG value.

SD) ng/dl で低反応群の 1.88 ± 0.50 ng/dl に比し有意に低値であった ($0.001 < p < 0.01$)。また正常者の FT₄ 値と比較すると低反応群は有意の差がなく、正常反応群は有意に低値であった ($0.001 < p < 0.01$)。この2群の TRH 負荷直前の T₄×T₃U, T₃そして rT₃ 値には有意の差がなく、また正常者に比しいずれも有意の差がなかった。

3) FT₄I (T₄×T₃U, T₄/TBG 値と FT₄ 値 (Fig. 4, 5) Fig. 4, 5 のごとく FT₄I 値と FT₄ 値は有意の高い正の相関があった。しかし慢性腎不全の全症例が FT₄ 異常低値を示したが、FT₄I 値では正常値を示した症例が認められた。

IV. 考 察

Amerlex FT₄ (以下 A-FT₄) は Midgley らが開発した ¹²⁵I-T₄ 誘導体と T₄ に対する affinity の高い抗体を極少量使用し、T₄ と TBP の平衡関係に与える影響を極力少なくして FT₄ を測定している¹⁾。著者らは実際の内分泌疾患、肝疾患、腎疾患そして正常者の A-FT₄ 値から、この新しい測定項目が臨床に十分応用し得ることを認めた。

A-FT₄ kit の同時再現性は C.V. 5.4% 以内で良好であった。日差再現性の C.V. は 6.6~12.7% で同時再現性に比し大きかった。しかしこれらの C.V. はきわめて少量の FT₄ 測定としては満足できる値と考える。

A-FT₄ 値は平衡透析法と同様の条件下で測定している¹⁾と報告されているが血清希釈においてもその条件が成立するか検討した。その結果希釈率に関係なく希釈 FT₄ 値は希釈前 FT₄ 値が 2.0 ng/dl 以下においてはほぼ維持されていた。しかし明らかな FT₄ 異常高値の際には希釈値の低下が示唆された。この FT₄ 異常高値血清の希釈結果は、Oppenheimer ら²⁾の FT₄ の希釈の影響は理論式にしたがい希釈の度合と total T₄ 値によって変動するが 1/150 希釈でも FT₄ 値の減少はごくわずかであるとの報告とは一致しなかった。著者らは FT₄ 値が 2.0 ng/dl 以下で TBG 値がきよくたんに異なる2例の血清を希釈したが FT₄ 値はよく維持されていた。この結果は FT₄ 異常高

値の希釈値の低下は希釈前の TBG 値は少なくとも関与していないことを示唆した。

通常量のヘパリン加血漿の FT₄ 値は血清値に比し有意に低値であることを認めたが Schatz ら³⁾は in vitro でヘパリンの FT₄ 値への影響はないと報告している。著者らは in vitro でヘパリンナトリウム液を assay tube に各 5, 10, 20U 添加して作成したヘパリン加血清 FT₄ 値と同一の無添加血清 FT₄ 値とを比較したが有意の差は認められなかった。この結果はヘパリン加血漿の FT₄ 値の低下は、A-FT₄ assay 系に対するヘパリンナトリウム液の直接の影響ではないことを示唆した。

正常者の FT₄ 値は 1.73 ± 0.34 ng/dl で本法における満間⁴⁾の 1.28 ± 0.27 ng/dl、玉井⁵⁾の 1.32 ± 0.21 ng/dl、飯田⁶⁾の 1.40 ± 0.33 ng/dl に比し高値であるが、真坂⁷⁾の 1.52 ± 0.27 ng/dl、西川⁸⁾の 1.72 ± 0.34 ng/dl、小西⁹⁾の 1.55 ± 0.38 ng/dl とは近似した。

治療中の甲状腺機能亢進症と橋本病で血中甲状腺ホルモン値が、過剰あるいは低下している場合の FT₄ 値は正常値との分離が良好であり、甲状腺疾患のスクリーニング法としての有用性を認めた。これらの甲状腺疾患で血中甲状腺ホルモン値が正常化している場合の FT₄ 値はそれぞれ 88.4, 76.4% のみ正常値を示した。これは治療後の甲状腺疾患における FT₄ 値と T₃, T₄ 値の動きに時間的差が生じていることを示唆した。この差については現在 T₃, T₄ 値が正常化した時期の TRH 負荷試験の反応結果、ならびに TBG 値を含めて検討中である。

末端肥大症の FT₄ 値について他者の報告に接していない。著者らの成績では甲状腺剤の補償療法をしていないこの疾患の FT₄ 値は正常者と有意の差がなかった。

hGH で補償療法中の下垂体性小人症の値は正常者と有意の差がなかった。本症例では末梢で T₄ からの T₃ conversion 増加, rT₃ 減少が示唆された。この末梢での T₃ と rT₃ 値の reciprocal な関係は才田¹⁰⁾の報告と一致した。またこの関係は Demura ら¹¹⁾の hGH 治療時に T₄ の半減期

は短縮するが T₃ のそれは延長するとの報告からも示唆された。本症例はいずれも甲状腺機能正常状態にあり、末梢での T₃, rT₃ 値の変化があるにもかかわらず FT₄ 値はよく甲状腺状態を反映していることを認めた。

慢性肝炎例の FT₄ 値と FT₄ I 値はいずれも有意の低値を示した。この結果は Iwasaki ら¹²⁾ の FT₄ I 値は対照群と有意の差がないとの報告とは一致しなかったが Schussler ら¹³⁾ の慢性活動型肝炎で甲状腺の自己抗体保有者の FT₄ は低値であるとの結果とは一致した。

肝硬変例の FT₄ 値と FT₄ I 値はいずれも有意の低値を示した。この結果は Green ら¹⁴⁾ の T₄, FT₄ ともに正常値を示すという報告とは一致しなかったが、伊東ら¹⁵⁾ の FT₄ 低値、Iwasaki ら¹²⁾ の非代償性肝硬変での T₄, FT₄ の有意な低値と TBG は正常値であるという結果とは一致した。

7 例中 6 例に肝硬変を合併している肝細胞癌例の FT₄ 値と FT₄ I 値はいずれも有意の低値を示した。

慢性腎不全の FT₄ 値は全例が異常低値を示したが FT₄ I 値には正常値との重なりを認めた。Chopra らは非甲状腺疾患の甲状腺機能診断に、末梢の T₄ 由来の rT₃ 値を重要視している^{16,17)} が著者らの症例の rT₃ 値は全例が異常低値を示した。TSH 値には明らかな異常高値例を認めなかったが T₃, T₄ そして rT₃ 値からは顕著な甲状腺機能低下状態が示唆され、FT₄ 値は FT₄ I 値に比し甲状腺機能状態を severe に反映すると考えた。

妊娠後期の FT₄ 値は正常下限域にあり Midgley ら¹⁸⁾ の大部分正常値を示すが正常者に比し有意に低値であるとの報告と一致した。

正常者の TRH 負荷後の FT₄ 値は負荷前に比し 90 分で有意の増加を示したが FT₄ I 値には変動が認められなかった。しかし FT₄ 値の増加は T₃, T₄ そして rT₃ 値の有意の増加から示唆され、FT₄ 値の方が FT₄ I 値に比し感度がすぐれていると考える。治療により FT₄ I, T₃ そして rT₃ 値が正常化した甲状腺機能亢進症患者では TRH 正常反応群の FT₄ 値が低反応群の値に比し有意に低値であ

ることを認めた。2 群における FT₄ I, T₃ そして rT₃ 値には有意の差が認められず FT₄ 測定の意味が示唆された。

FT₄ 値と FT₄ I 値には有意の高い相関があり前述の慢性腎不全例を除いた他の疾患では特に大きな解離は認められなかった。

V. 結 言

新しい測定概念に基づく A-FT₄ kit はすぐれた再現性を示し、さらに A FT₄ 値は単独で従来の FT₄ I 値と同等あるいはそれ以上に甲状腺機能状態を反映し、この kit の臨床応用への有用性を認めた。

文 献

- 1) Midgley JEM, Wilkins TA: HYPOTHYROIDISM IN PATIENTS ON FENCLOFENAC. Lancet Sept: 27, 1980
- 2) Oppenheimer JH, Surks MI: Determination of Free Thyroxine in Human Serum: A Theoretical and Experimental Analysis. J Clin End 24: 785-793, 1964
- 3) Schatz DL, Sheppard RH, Steiner G, et al: Influence of Heparin on Serum Free Thyroxine. J Clin Clin End 29: 1015-1022, 1969
- 4) 満間照典, 野木森剛: Radioimmunoassay による血中 Free thyroxine の測定. 医学と薬学 5: 603-608, 1981
- 5) 玉井 一, 藤井真一, 松林 直, 他: Amerlex Free T₄ Kit による基礎的, 臨床的検討. 医学と薬学 5: 989-996, 1981
- 6) 飯田 泰啓, 高坂 唯子, 遠藤 啓吾, 他: Radioimmunoassay による Free T₄ 測定に関する検討. 第 24 回日本内分泌学会甲状腺分科会抄録集. 19, 1981
- 7) 真坂美智子, 吉見輝也, 金子昌生: 遊離サイロキシン測定に関する検討. 核医学 18: 1090, 1981
- 8) 西川光重, 稲田満夫, 内藤公一, 他: 平衡透析後高感度 RIA による血中 Free T₄ 濃度の測定. 核医学 18: 1091, 1981
- 9) 小西淳二, 高坂唯子, 御前 隆, 他: RIA による血中遊離サイロキシン濃度測定の有用性に関する検討——TBG 異常症について. 核医学 18: 1092, 1981
- 10) 才田耕基, 佐藤 保: 下垂体性小人症に対する成長ホルモン治療時の甲状腺ホルモン末梢代謝の変化. 第 21 回甲状腺研究同好会抄録集: 18, 1978
- 11) Demura R, Yamaguchi H, Wakabayashi I, et al: The effect of hGH on hypothalamic-pituitary—thyroid function in patients with pituitary dwarfism.

- Acta End **93**: 13–19, 1980
- 12) Iwasaki Y, Satoh H, Ikeda H, et al: An Evaluation of Factors Which Affect Circulating Thyroid Hormone Levels in Liver Diseases. 核医学 **18**: 601–608, 1981
 - 13) Schussler GC, Schaffner F, Korn F, et al: Increased serum thyroid hormone binding and decreased free hormone in chronic active liver disease. N Engl J Med **299**: 510–515, 1978
 - 14) Green JRB, Snitcher EJ, Mowat AG, et al: Thyroid Function and Thyroid Regulation Liver Disease: Evidence of Multiple Abnormalities. Clin End **7**: 453–461, 1977
 - 15) 伊東裕美子, 金子 浩, 榎本仁志, 他: 甲状腺および各種疾患における甲状腺機能. 第24回日本内分泌学会甲状腺分科会抄録集: 29, 1981
 - 16) Chopra IJ, Solomon DH, Hepner GW, et al: Misleadingly Low Free Thyroxine Index and Usefulness of Reverse Triiodothyronine Measurement in Nonthyroidal Illnesses. Annals of Internal Med **90**: 905–912, 1979
 - 17) Chopra IJ: An Assessment of Daily Production and Significance of Thyroidal Secretion of 3, 3', 5'-Triiodothyronine (Reverse T₃) in Man. J Clin Invest **58**: 32–40, 1976
 - 18) Midgley JEM, Wilkins TA: The Direct Estimation of Free Hormones by a Simple Equilibrium Radioimmunoassay. The Radiochemical Centre Amer-sham, England, 1981