

《ノート》

Corning 遊離トリヨードサイロニン RIA kit による 血清遊離トリヨードサイロニン値の測定

——他甲状腺機能との相関および各種疾患時の遊離トリヨードサイロニン値——

Measurement of Free Triiodothyronine in Serum by the Use of Corning Free
Triiodothyronine RIA Kit—Correlations to Other Thyroid Functions
and Serum Levels of Free Triiodothyronine in Various Diseases

鈴木 仁* 平岩 正基* 鈴木 義信* 下田 新一*

Hitoshi SUZUKI*, Masaki HIRAIWA*, Yoshinobu SUZUKI*
and Shinichi SHIMODA*

*Department of Endocrinology, Internal Medicine, Dokkyo University School of Medicine

I. 緒 言

血中に存在する大部分の蛋白結合型甲状腺ホルモンには生理活性が無く^{1,2)}, サイロキシンの場合は全体の 0.02~0.04% 程度存在する遊離サイロキシンが, またトリヨードサイロニンの場合には 0.20~0.40% 程度存在する遊離トリヨードサイロニンが生理活性を有することは従来より良く知られている^{1~3)}. 甲状腺ホルモンの総量が結合蛋白量の多寡によって多大な影響を受けるのに反して, 蛋白と結合していない遊離甲状腺ホルモンが甲状腺機能を直接的に反映していると考えられるのでこの遊離甲状腺ホルモンの測定が重要であると考えられてきた. しかしながら, 遊離甲状腺ホルモンの測定には複雑な操作や長時間を要するため一般臨床で十分応用されるには至らなかった^{4~7)}. 最近, 国内各社より遊離サイロキシンのラジオオイムノ

アッセイキット (RIA kit) が次々と提供されるようになり甲状腺機能の判定に遊離サイロキシンを測定することが一般的になってきた⁸⁾. 遊離トリヨードサイロニンについては, いまだ一般的にはなっていないが今回 Corning 社製遊離トリヨードサイロニン RIA kit を試用する機会を得, 若干の基礎的な検討および臨床的検討を加えたので以下報告する.

II. 対象および方法

今回遊離トリヨードサイロニンの測定を行った試料は独協科大学内分泌内科受診中の未治療甲状腺機能亢進症患者 50 例, 治療中の甲状腺機能亢進症患者 40 例, 未治療甲状腺機能低下症患者 12 例, 治療中の甲状腺機能低下症患者 12 例, 正常甲状腺機能を有すると考えられた健常者 45 例, さらに先天性 TBG 欠損症 1 例, 慢性肝炎患者 17 例, 肝硬変患者 10 例, および他院受診中の正常妊婦 74 例, 悪性腫瘍患者 23 例, 現在透析中の慢性腎不全患者 30 例の総計 319 例の血清を用いた. 甲状腺疾患の診断には他の甲状腺機能検査成績および臨床症状,

* 独協医科大学内分泌内科

受付: 58 年 6 月 14 日

最終稿受付: 58 年 8 月 4 日

別刷請求先: 下都賀郡壬生町大字北小林 880-1

(☎ 321-02)

独協医科大学内分泌内科

鈴木 仁

Key words: free triiodothyronine, radioimmunoassay.

臨床徴候を勘案して、また肝疾患患者では臨床症状、徴候の他に生化学検査成績、シンチグラム所見などを加味して、悪性腫瘍患者、現在透析中の慢性腎不全患者ではおのおのの特異的検査所見より正常妊娠は経過などからおのの総合的に診断を下した。血清総サイロキシンおよび総トリヨードサイロニンは Dainabot 社製 RIA kit を用いて、また血清 TBG 値は Hoechst 社製 RIA kit を用いて、レジネートトリヨードサイロニン摂取率は第一ラジオアイソトープ社の kit を用い、血清遊離サイロキシンはミドリ十字社のマイクロカプセルを用いた RIA kit でおのの測定を行った⁹⁾。総トリヨードサイロニン値とレジネートトリヨードサイロニン摂取率との積を遊離トリヨードサイロニン指数 (FT3I) とした¹⁰⁾。

Corning 社製遊離トリヨードサイロニン RIA kit は A, B 両シリーズから成り B シリーズで総トリヨードサイロニンを測定し、A シリーズでは % 遊離トリヨードサイロニン分画 (%FT3 fraction) を求め、この両者の積として遊離トリヨードサイロニンを求めるように考案されている。

1. Kit の構成

遊離トリヨードサイロニン抗体；ウシ血清アルブミンを添加した磷酸緩衝液中にガラス粒子表面に共役的に結合した家兎抗トリヨードサイロニン抗体を浮遊させてある。125-I 遊離トリヨードサイロニン／総トリヨードサイロニン；ウシ血清アルブミンを添加した磷酸緩衝液中に 125-I で標識したトリヨードサイロニンを溶解し総トリヨードサイロニン用には 8-Anilino-1-naphthalene-sulfonic acid が添加されている。また A シリーズと B シリーズの判別を容易にするため、赤色ないし緑色色素が添加されている。各バイアルとも放射活性は 4 μ Ci 以下に調製されている。遊離／総トリヨードサイロニン用スタンダード；6 種類のスタンダード血清が添付されている。

2. 操作法

先に述べたように本 kit では A シリーズ、B シリーズにわけて測定を行うので以下別々に操作法を述べる (Fig. 1)。被検血清あるいは標準血清を

50 μ l づつ A シリーズ、B シリーズの試験管に分注する。A シリーズには赤く着色した 125-I のトレーサーを 100 μ l 分注し数秒ボルテックス後、室温で 20 分間インキュベートする。終了後トリヨードサイロニン抗体 800 μ l を添加し、再びボルテックス後、室温で 60 分間インキュベート終了後 1,400 g、10 分間遠心する。遠心後、上清を捨ててカウントする。B シリーズへは緑色に着色したトレーサー (ANS 含有) を 100 μ l づつ分注しボルテックスする。室温で 20 分間インキュベートし、800 μ l づつトリヨードサイロニン抗体を加え再びボルテックス後、室温で 60 分間インキュベートする。終了後 1,400 g、10 分間遠心し上清を捨ててカウントする。この B シリーズから総トリヨードサイロニン値を算出し A シリーズで求めた % 遊離トリヨードサイロニン分画を乗じて遊離トリヨードサイロニン値を求める。Figure 2 に示したように、A シリーズの標準曲線は (総トリヨードサイロニン値) \times (cpm A / total count A) \times 100 の式から求めたものである。

平衡透析法による遊離トリヨードサイロニン値の測定は Sterling らの方法¹¹⁾に準じて行い pH 7.4、

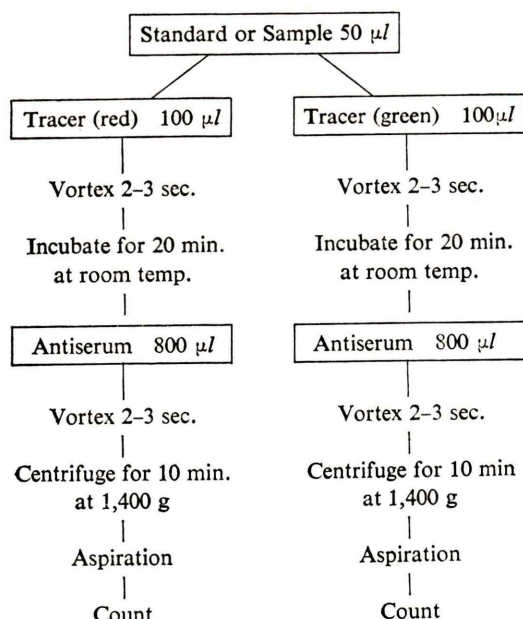


Fig. 1 Assay procedure of Corning FT3 RIA kit.

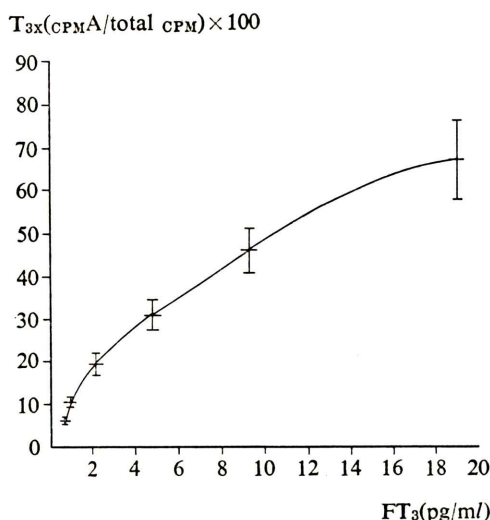


Fig. 2 FT3 standard curve.
Each plot denotes Mean+SD

0.063 M 磷酸緩衝液 3.2 ml に被検血清 0.1 ml を加え、さらに 125-Iトリヨードサイロニン溶液(New England Nuclear 社, Specific activity 750~1,250 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$) 0.025 ml を添加し、この内 3.0 ml を透析チューブにいれ pH 7.4, 0.063 M 磷酸緩衝液 5.0 ml に対して 37°C で 18 時間平衡透析を行った。透析終了後、透析外液 3.0 ml に Carrier として 0.033 N NaOH 液中にサイロキシシン 100 mg + トリヨードサイロニン 5 mg/dl を溶解した溶液 2.0 ml を加え、塩化マグネシウム液 (10% $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ -0.05 M-Tris-0.1M NaCl, pH 9.3) 1 ml で沈澱を生ぜしめ 2,000 g, 15 分間の遠心後 pH 8.7 の 10% $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ -0.05 M Tris-0.1M NaCl 液で数回の洗浄後この沈澱をカウントして %遊離トリヨードサイロニン分画を算出して求めた。透析容器として 50 ml 用セルロース・ニトレート製遠心管を用いた。結果の統計学的処理には分散分析, *t* 検定, 相関分析などを用いた。

III. 結 果

1. 標準曲線

本キットでは、A シリーズおよび B シリーズと二系列に分けて遊離トリヨードサイロニンを測定

するように企画されており、方法のところで述べたごとく B シリーズでは総トリヨードサイロニンを測定し A シリーズでは遊離トリヨードサイロニン分画 (% free triiodothyronine) を測定しこの両者の積として遊離トリヨードサイロニンを求める。Figure 2 に示したごとく、18 回の測定における標準曲線全体での変動係数は高濃度域で多少大きくなるものの、ほぼ 10% 程度で各濃度間での分離もきわめて良かった。

1) Incubation 時間および Incubation 温度の影響

Second Incubation における時間と温度の影響について、B シリーズで検討を行った。本キット添付の説明書では 60 分の Incubation time を設定してあるが、これを 30 分、90 分、120 分にかえて測定値に及ぼす影響を検討した。Table 1 に示し

Table 1 Effect of incubation time on FT3 values

Sample No.	Incubation time			
	30'	60'	90'	120'
1	13.47	9.29	9.45	8.42
	12.50	9.04	8.49	9.12
2	12.03	10.64	9.09	8.56
	12.59	9.28	9.39	9.61
3	13.21	11.27	10.78	10.55
	12.50	9.78	10.99	9.94
4	10.17	9.28	9.67	8.24
	9.64	8.78	10.44	9.84
5	0.66	0.35	0.28	0.21
	0.73	0.38	0.26	0.27
6	1.68	1.25	1.17	0.79
	1.72	1.24	1.09	0.87
7	4.52	3.65	3.65	3.04
	3.80	3.42	3.03	2.88
8	4.64	3.73	4.02	3.90
	4.46	3.99	3.82	3.99
9	3.97	3.29	2.95	2.25
	3.13	2.92	3.20	2.31
10	3.48	3.24	2.82	2.24
	3.41	2.81	2.88	2.06

Two way analysis of variance

F (Incubation time)=55.4 (>F (.05))

F (Sample)=730.3 (>F (.05))

たごとく Incubation 時間 60 分ないし 90 分では有意の差異を認めなかったが、Incubation 時間 30 分では測定値が有意に高く、Incubation 時間 120 分では有意に低くなる結果をえた。これは本法が固定化抗体を用い一定時間での抗体反応をもとにトリヨードサイロニン濃度を算出している点を考慮に入れれば、おこり得る結果と思われた。次に Incubation 温度について操作法に示してある室温以外に 37°C ないし 4°C の 3 種類の温度条件を設定して検討した。Table 2 に結果を示したが、10 検体について 3 群間の有意差検定を行った。室温と 37°C では両者の測定値間に有意差を認めなかった。4°C で Incubate した群は他の 2 群に比較して有意の高値 ($p < 0.01$) を認めた。

2. 精度および再現性

1) Intra-assay variation (Table 3)

Table 3 に示したごとく、6 検体について Intra-assay variation を検討した。変動係数は 6.94% から 11.44% とほぼ満足しうる結果をえた。

2) Inter-assay variation (Table 4)

Table 4 にプール血清を異なる lot 間で測定した結果を示した。4 回の測定で群間の有意差の有無を検討したが $F = 0.512$ と有意差は認めなかった。

3) 測定者間の変動 (Table 5)

3 名の測定者間で異なる 8 検体について測定を行った。検体間での有意差は認められたが、測定者間では $F = 0.8651$ と有意の差は認めなかった。

3. アルブミンおよびヘモグロビン添加による測定値の変動 (Fig. 3)

プール血清を用いて最大 4 g/dl のアルブミンないしヘモグロビンを添加して遊離トリヨードサイ

Table 2 Effect of incubation temperature on FT3 values

Sample No.	Incubation temperature		
	4°C	R.T.	37°C
1	13.47	12.11	9.29
	13.57	12.76	9.20
2	11.80	9.97	10.19
	12.72	10.39	9.61
3	15.75	13.07	12.78
	14.89	11.84	11.08
4	9.44	9.48	7.41
	10.24	9.16	8.21
5	0.84	0.32	0.44
	0.88	0.39	0.36
6	1.91	0.94	1.41
	2.12	1.12	1.27
7	4.55	3.37	2.93
	4.85	3.24	3.55
8	5.00	4.11	3.56
	4.74	3.82	3.67
9	4.21	3.01	2.91
	4.05	2.92	3.45
10	4.04	3.04	2.41
	4.01	2.88	2.46

| $p < 0.01$ | | n.s. |

Two way analysis of variance

F (Temperature) = 112.8 ($> F (.50)$)

F (Sample) = 807.3 ($> F (.50)$)

Table 3 Intra-assay variance

Sample	1	2	3	4	5
No.	8	8	8	9	8
Mean \pm S.D.	10.79 \pm 0.74	12.00 \pm 0.73	4.88 \pm 0.55	4.19 \pm 0.36	2.76 \pm 0.27
CV (%)	6.94	6.10	11.44	8.73	9.93

Table 4 Inter-assay variance

Assay No.	1	2	3	4
Mean \pm S.D.	4.98 \pm 0.35	4.57 \pm 0.18	4.73 \pm 0.59	4.75 \pm 0.55
No.	5	4	10	4

$F = 0.512$ ($< F (.050)$)

ロニン値の変動を検討した。Figure 3 (a), (b) に示したようにアルブミン添加では 2 g/dl 時に危険率 1% 以下で、またヘモグロビンでは 2 g/dl と

Table 5 Variance of FT3 values by persons performing FT3 assay

Sample No.	Hiraiwa	Suzuki	Shinohara
1	14.95	15.88	13.88
	14.02	14.05	14.69
	18.63	23.61	18.89
2	22.54	20.95	23.07
	5.83	5.04	6.04
3	5.14	5.66	6.22
	4.53	4.98	4.01
4	6.99	5.15	4.82
	3.41	7.17	5.17
5	4.55	5.19	4.73
	1.78	2.04	2.73
6	1.73	1.38	1.97
	2.60	3.31	3.23
7	2.99	3.49	3.57
	0.05	0.04	0.04
8	0.02	0.04	0.15

Two way analysis of variance

F (Person)=0.865 (<F (.05))

F (Sample)=249.98 (>F (.05))

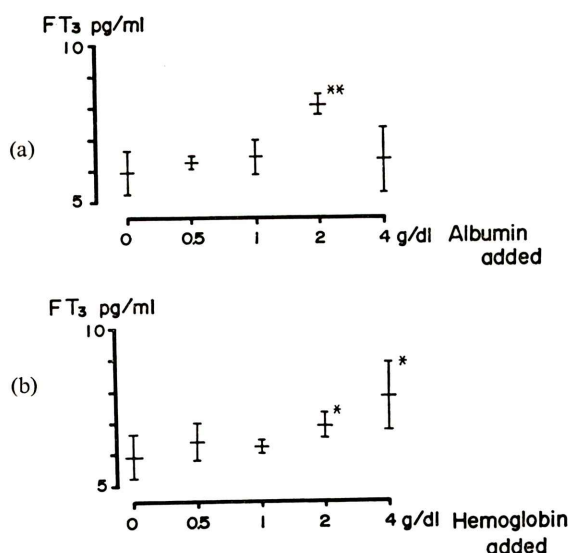


Fig. 3 Effect of hemoglobin or albumin addition on the FT3 assay system.

(a) Addition of hemoglobin

(b) Addition of albumin

*p<0.05, **p<0.01

4 g/dl 時に危険率 5% 以下で有意の上昇を認めた。アルブミン添加では 4 g/dl 時には有意差を認めなかった。全体としては、アルブミン添加による遊離トリヨードサイロニン値への影響は少ないと考えられた。ヘモグロビン添加では高濃度で測定量の上昇が認められ、高度の溶血では本 kit による測定系への干渉を示すものと思われた。

4. 各種甲状腺ホルモン測定値と本 kit による遊離トリヨードサイロニン値との相関

1) 透析法による遊離トリヨードサイロニン値との相関 (Fig. 4)

遊離甲状腺ホルモンの測定は従来より平衡透析法によって行われてたが、手技の複雑さから一般臨床で十分繁用されるに至らなかった。しかしながら、遊離甲状腺ホルモン測定法の標準法として現在も用いられているので本 kit を用いて測定した遊離トリヨードサイロニン値との相関を検討した。Figure 4 に示したように甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症および正常甲状腺機能を有すると考えられる正常者計 70 例を対象として両測定値間の相関をもとめた。相関係数 $r=0.8973$ と危険率 1% 以下で有意の相関をみとめた。

2) 総トリヨードサイロニン値との相関 (Fig. 5)

本 kit を用いても総トリヨードサイロニン値を測定出来るが、Dainabot 社の kit を用いて測定し

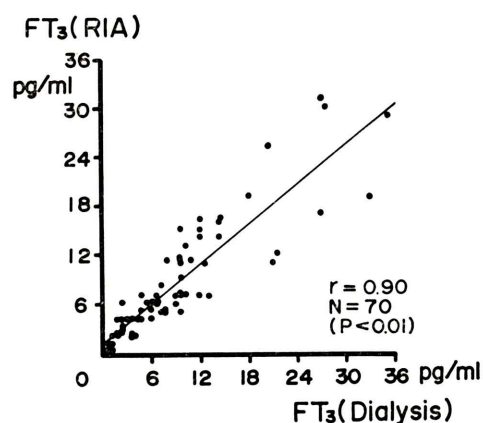


Fig. 4 Correlation between FT3 values measured by equilibrium dialysis and FT3 value by Corning RIA kit.

た総トリヨードサイロニン値との相関を検討した。対象は甲状腺機能亢進症患者、甲状腺機能低下症患者および正常甲状腺機能を有する健常者の総計130例で相関係数 $r=0.8479$ と危険率1%以下で有意の相関を認めた。

3) 遊離サイロキシシンと遊離トリヨードサイロニンとの相関 (Fig. 6)

ミドリ十字社のマイクロカプセルを用いたRIA kit で測定した遊離サイロキシシン値と遊離トリヨードサイロニン値との相関を総トリヨードサイロ

ニン値と同様に、130例を対象として検討した。遊離サイロキシシン値は6 ng/dl までを測定範囲として値を算出したため6 ng/dl 以上のものについても6 ng/dl として処理を行った。そのため高濃度の遊離サイロキシシン値でのばらつきが大きく、相関係数 $r=0.7930$ を得た。この両者間の相関もやはり危険率1%以下で有意であった。

4) 総サイロキシシン値との相関 (Fig. 7)

2), 3)での検討と同様に130例を対象として相関をもとめた。甲状腺機能亢進症および甲状腺機能低下症にサイロキシシン値、トリヨードサイロニン値の解離する例があったためか、相関係数 $r=0.7353$ ($p<0.01$) と比較的低値に留まった。

5) レンジ摂取率との相関 (Fig. 8)

2)から4)までの検討と同様に130例を対象とした検討を行った。遊離サイロキシシンとレンジ摂取率との相関係数が $r=0.8242$ ($p<0.01$) であったのに比較して遊離トリヨードサイロニンとは $r=0.6991$ ($p<0.01$) と低値で未飽和甲状腺ホルモン結合蛋白量の関与が遊離サイロキシシンに比し、より少ないことが示唆された。

6) サイロキシシン結合グロブリン(TBG)との相関 (Fig. 9)

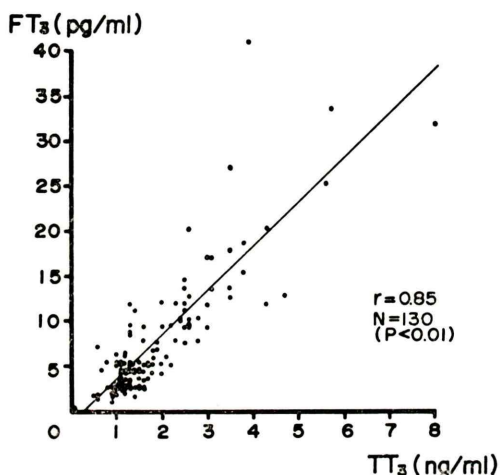


Fig. 5 Correlation between total T3 and free T3.

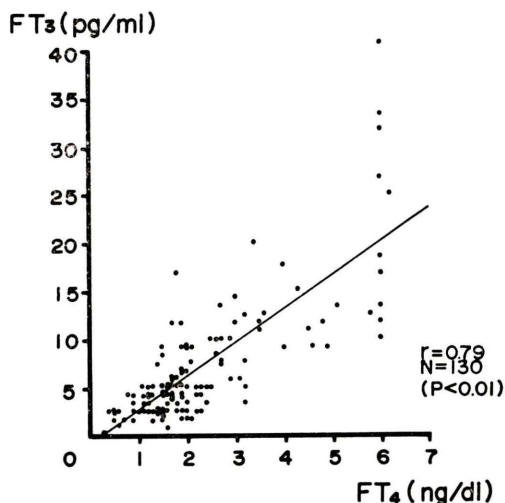


Fig. 6 Correlation between free T4 and free T3.

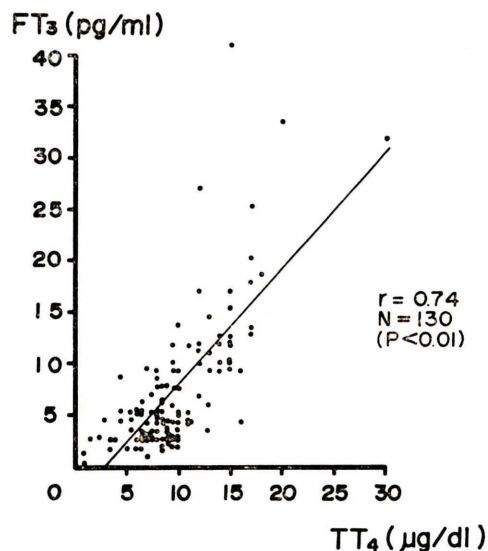


Fig. 7 Correlation between total T4 and free T3.

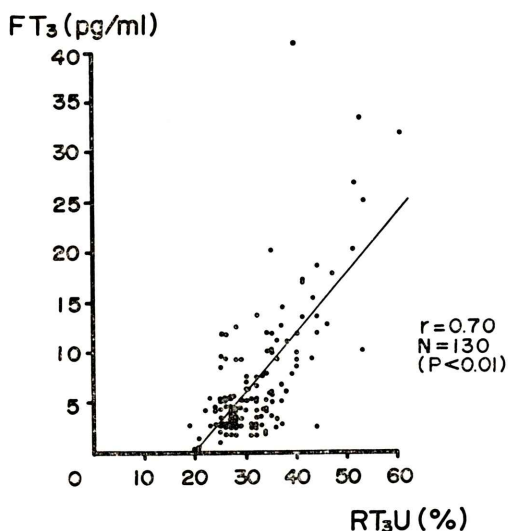


Fig. 8 Correlation between T3 resin uptake and free T3.

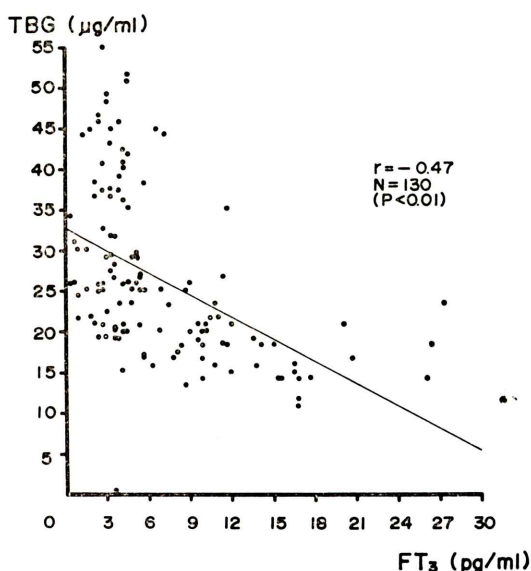


Fig. 9 Correlation between TBG and free T3.

妊婦30例, 先天性TBG欠損症1例と無作為に抽出した甲状腺機能亢進症, 甲状腺機能低下症および健常者を加えた130例について遊離トリヨードサイロニン値とTBG値との相関を検討した。相関係数 $r = -0.486$ と有意の負相関 ($p < 0.01$) を

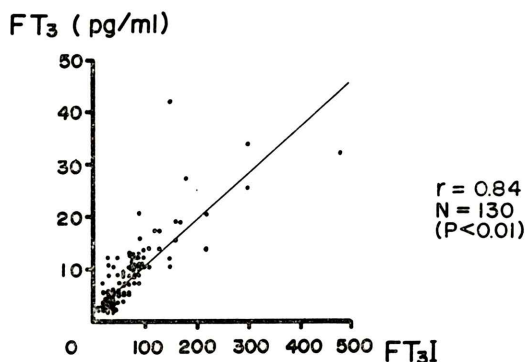


Fig. 10 Correlation between free T3 index (FT3I) and free T3.

認めた。

7) 遊離トリヨードサイロニン指数 (FT3I) との相関 (Fig. 10)

レジントリヨードサイロニン摂取率とトリヨードサイロニン値から求めた遊離トリヨードサイロニン指数と遊離トリヨードサイロニン値との相関を2)から5)までで用いた130例について求めた。相関係数 $r = 0.8386$ ($p < 0.01$) と高度の正相関を認めた。

5. 臨床的検討 (Fig. 11)

1) 当研究室の遊離トリヨードサイロニン正常値

男性16名, 女性29名の計45名の健常者について遊離トリヨードサイロニン値を測定した。全例での平均値は 4.01 ± 1.17 pg/ml (Mean \pm SD) で男性例では 4.30 ± 1.43 pg/ml, 女性例では 3.85 ± 0.99 pg/ml と男性でやや高値の傾向を認めたが, 両者間に有意差は無かった。

2) 甲状腺機能亢進症ないし甲状腺機能低下症の遊離トリヨードサイロニン値

未治療甲状腺機能亢進症および未治療甲状腺機能低下症では遊離トリヨードサイロニン値はおの 16.32 ± 5.95 pg/ml, 1.40 ± 0.88 pg/ml でともに危険率1%以下で正常者と有意の差異を認めた。これら両疾患はそれぞれ抗甲状腺剤ないし甲状腺ホルモン補充療法によって 5.44 ± 1.82 pg/ml ないし 4.33 ± 2.07 pg/ml と治療前に比べ有意の改善を

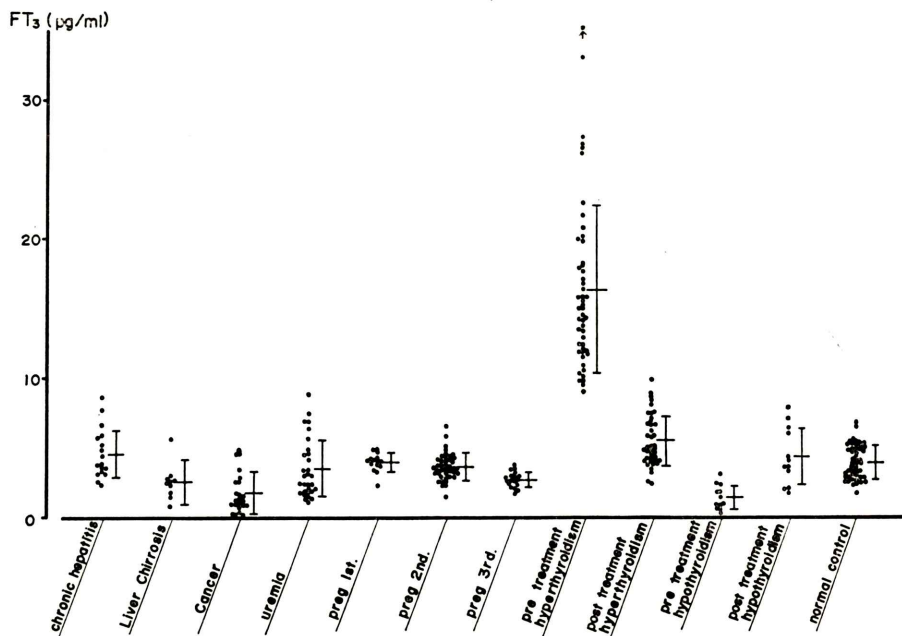


Fig. 11 Serum levels of free T3 in various diseases and pregnancy.

認めた。

3) 慢性腎不全患者の遊離トリヨードサイロニン値

長期にわたって血液透析をうけている慢性腎不全患者30例について遊離トリヨードサイロニン値を測定したが、 $3.45 \pm 2.08 \text{ pg/ml}$ とこの検討では正常者と有意の差を認めなかった。

4) 肝疾患患者の遊離トリヨードサイロニン値

17例の慢性肝炎および10例の肝硬変について遊離トリヨードサイロニン値を測定した。慢性肝炎では $4.57 \pm 1.78 \text{ pg/ml}$ と正常者と有意差を認めなかった肝硬変では $2.53 \pm 1.28 \text{ pg/ml}$ と危険率1%以下で有意の低下を認めた。

5) 悪性腫瘍患者の遊離トリヨードサイロニン値

消化管原発の悪性腫瘍患者23例について測定を行った。遊離トリヨードサイロニン値は $1.73 \pm 1.44 \text{ pg/ml}$ と正常値に比し危険率1%以下で有意の低値を示した。

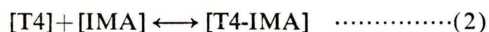
6) 正常妊婦の遊離トリヨードサイロニン値

妊娠週数のまちまちな正常妊婦74例について測定を行った。妊娠週数によって妊婦を3群にわけると妊娠初期15例、妊娠中期41例、妊娠後期18例となったが、おのおのの遊離トリヨードサイロニン値は $3.98 \pm 0.63 \text{ pg/ml}$, $3.63 \pm 0.95 \text{ pg/ml}$, $2.68 \pm 0.54 \text{ pg/ml}$ で妊娠初期および中期では正常値と有意差を認めなかったが、妊娠後期では危険率1%以下で有意の低値を認めた。

IV. 考 案

Robbins と Rall^{1,2)}が甲状腺ホルモンには蛋白結合型と遊離型の2種類が存在することを報告して以来、アルブミン、TBG、TBPAなどの結合蛋白量の多寡に左右されない遊離甲状腺ホルモンがより正確に個体の甲状腺機能状態を示すことから、この遊離甲状腺ホルモンの測定法が種々考えられてきた。これまで、ゲル濾過法⁷⁾、炭素末吸着法⁶⁾、限外濾過法⁵⁾、ガスクロマトグラフィー法¹³⁾、平衡透析法^{4,11,12)}などの測定が報告されており、最近では透析外液の直接RIAによる方法も報告され

ている^{14,15)}。しかしながらこれら遊離甲状腺ホルモンの測定法がどれも複雑な操作を要し、またある程度の設備を要することから一般臨床では繁用されず、RIA による総甲状腺ホルモンの測定やレジネートリヨードサイロニン摂取率と総甲状腺ホルモン値から遊離甲状腺ホルモン指数 (Free thyroid hormone index; FT4I, FT3I) を算出^{10,16)}して実際の測定の代用としてきた。現在一般的には平衡透析法が最も標準的な遊離甲状腺ホルモン測定法として用いられているが、サイロキシンについては最近数社から遊離サイロキシン測定用 RIA kit が発売され臨床においても遊離サイロキシン値が甲状腺機能の指標として繁用されるようになってきた^{9,17,18)}。ところがこれら RIA kit では血清中に抗甲状腺ホルモン抗体を添加するため、以下に示す (1) 式と (2) 式から求めた (3) 式の新たな平衡関係が生ずることから kit 自体から遊離甲状腺ホルモン濃度を得ることはできない。



(IMA: immobilized antibody)

$$[T4] = K1 \cdot [T4-TBG] / [u-TBG] + K2 \cdot [T4-IMA] / [IMA] \quad \cdots \cdots \cdots (3)$$

そこで遊離甲状腺ホルモン測定用 RIA kit も平衡透析法によって得た遊離甲状腺ホルモン濃度を基準としてスタンダード血清の遊離甲状腺ホルモンの値を決めている。遊離甲状腺ホルモンが最も良く個々の甲状腺機能状態を表すことから遊離トリヨードサイロニンも簡便に測定できれば遊離サイロキシンと合わせて遊離甲状腺ホルモンを測定することによって甲状腺機能の判定がより簡単になるが、これまでは遊離トリヨードサイロニンの RIA kit の入手が国内では困難であった。今回 Corning 社製 RIA kit を試用する機会を得、その測定値を平衡透析法で求めた値と比較検討した。結果にも示したように Intra-assay variance および Inter-assay variance はともに臨床的使用に十分耐え得るものと考えられた。本 kit も通常のイムノアッセイ同様、抗原抗体反応を基盤としているので低温での Incubation では Table 2 に示したごと

く測定値に誤差を生ずるものと考えられた。操作マニュアルには室温で Incubate するようになっていたが今回の検討では 37°C の Incubate でも測定値間には有意差を認めなかった。本 kit は先にも述べたごとく平衡透析法による測定値を外的基準においているわけであるが、Hertl らの報告¹⁹⁾のごとく、(4) 式で示されるように一定時間の固定化抗体-トリヨードサイロニン複合体生成量が初期遊離トリヨードサイロニン濃度に比例することを測定原理としている点から短時間 (30') の Incubate では測定値が高く、また長時間 (120') の Incubate では測定値が低くなることが予想されわれわれの検討でもこれを支持する結果を得た。

$$f [IMA-T3] = K \cdot [FT3] \cdot t \quad \cdots \cdots \cdots (4)$$

([IMA-T3]: 固定化抗体-トリヨードサイロニン複合体, K: 平衡常数, [FT3]: 遊離トリヨードサイロニン初期濃度, t: 反応時間)

われわれの研究室で行った同一血清についての平衡透析法と本 RIA kit とによる遊離トリヨードサイロニン値の検討では、Fig. 4 に示したごとく $Y(\text{RIA 法}) = 1.1 + 8.8 \cdot X(\text{透析法})$ と RIA 法による測定値がやや低くでもものの相関係数は 0.8973 と高度の相関を認めた。現在臨床で一般的に測定されている他の甲状腺ホルモンおよびレジネートリヨードサイロニン摂取率、TBG についてもこの遊離トリヨードサイロニン値との相関を検討した。トリヨードサイロニンとは $r = 0.8479$ 、また遊離トリヨードサイロニン指数とは $r = 0.8386$ と甲状腺疾患および正常者を対象とした検討では高度の相関を認めた。サイロキシンおよび遊離サイロキシンとはおのおの $r = 0.7353$, $r = 0.7930$ とトリヨードサイロニンの場合同様高度の相関を認めた。代表的な甲状腺ホルモン結合蛋白である TBG 量および未飽和 TBG 量と逆相関すると考えられているレジネートリヨードサイロニン摂取率とはおのおの $r = -0.486$, $r = 0.6991$ とサイロキシンに比し低い相関に留まった。今回の検討で遊離トリヨードサイロニンの正常値として $4.01 \pm 1.17 \text{ pg/ml}$ (Mean \pm 1 SD) を得たが、これは従来より報告されてきた値にほぼ一致する結果であった。1972年

の Hollander ら²⁰⁾の平衡透析法による報告では正常値は $1.0\sim 5.0\text{pg/ml}$ と設定されており, Roux ら²¹⁾の 67 例の Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィーによる検討でも $3.6\pm 1.1\text{pg/ml}$ の値をえている. 同様の方法で Pennisi ら²²⁾は 96 例の正常者について測定を行い $3.9\pm 0.7\text{pg/ml}$ を正常値として設定している. Finucane & Griffiths ら²³⁾ Sephadex G 25 ゲルを用いたマイクログラムで $5.92\pm 1.43\text{pg/ml}$ を, Langer ら²⁴⁾は Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィーで $5.3\pm 0.9\text{pg/ml}$ を正常値としている. Smals ら²⁵⁾は Christensen ら²⁶⁾の報告した方法に準じて半透膜で仕切った Chamber 間のトレーサーの移行率で測定を行う Symmetric dialysis 法によって $2.6\pm 0.4\text{pg/ml}$ の値を得ている. Carayon ら¹⁵⁾は Sephadex LH-20 カラムを用いて遊離甲状腺ホルモンを分離しこれを RIA で測定している. 彼らの報告では $2.4\sim 4.9\text{pg/ml}$ が正常値とされている. この他にも限外濾過法を用いた報告²⁷⁾もあるがこの報告では正常値は $1.87\pm 0.54\text{pg/ml}$ とやや低めの結果が示されている. Lewis²⁸⁾は平衡透析法によって平衡に達した透析外液の RIA を行い遊離トリヨードサイロニン値を決定している. この方法では一般に遊離サイロキシンはやや低値を示すとされるが遊離トリヨードサイロニンの正常値は $6.58\pm 1.82\text{pg/ml}$ とやや高値を示した.

Figure 11 に示したごとく甲状腺機能亢進症および甲状腺機能低下症と正常者との分離はきわめて良好で遊離サイロキシンと同様結合蛋白量の多寡で直接的に影響を受けることの無い点からも甲状腺疾患の診断および経過追跡に有用と考えられた. Carayon ら¹⁵⁾は個々の甲状腺ホルモン検査値の診断上の有用性について因子分析を行っているが, 彼らの報告によれば単一の甲状腺ホルモン検査の診断能として甲状腺機能亢進症では遊離トリヨードサイロニン>遊離サイロキシン=総トリヨードサイロニンの順に, また甲状腺機能低下症では甲状腺刺激ホルモン>遊離サイロキシン=遊離トリヨードサイロニンの順に診断上の価値があるとしており 3 因子の測定としては甲状腺刺激ホル

モン, 遊離サイロキシン, 遊離トリヨードサイロニンの組合わせが甲状腺機能亢進症および甲状腺機能低下症の診断に有用とされている. 今回は重篤な非甲状腺疾患においても遊離トリヨードサイロニンの測定を行ったが, 肝硬変, 悪性腫瘍では甲状腺機能低下症に匹敵する低値を認めた. 重篤な非甲状腺疾患では Chopra ら^{30~32)}の報告にもみられるごとく遊離甲状腺ホルモン指数と実際に測定した遊離甲状腺ホルモンの間に解離が認められ総甲状腺ホルモンの測定のみでは甲状腺機能の判定が困難な場合もあり遊離甲状腺ホルモンの RIA kit による遊離甲状腺ホルモンの測定がますます重要となってくるものと考えられる. 正常妊婦の遊離トリヨードサイロニンの測定で妊娠後期で有意の低値が認められたが, 平衡透析法¹²⁾による測定あるいは RIA による測定でも低値をとるとの報告³³⁾と正常者と変わらないとする報告²²⁾が認められ今後の検討がさらに必要と考えられた. 妊娠婦人では血清蛋白中のアルブミンの減少と β -グロブリンの増加, 遊離脂肪酸の著増などが認められるわけであるがこれらの因子の測定系に及ぼす干渉作用についての検討も合わせて必要と考えられた. アルブミン量の多寡の測定値に及ぼす影響は今回の検討では少ないと考えられた. またヘモグロビンの添加によって測定値に変動の認められることから高度の溶血は測定上避けることが必要と思われた.

V. 結 論

Corning 社製遊離トリヨードサイロニン RIA kit の基礎的ならびに臨床的検討を行ったが再現性, 甲状腺疾患弁別性に優れ, その理論的背景からも今後臨床的にも繁用されるものと思われた.

文 献

- 1) Robbins J, Rall JE: The interaction of thyroid hormones and protein in biological fluids. *Recent Progr Hormone Res* 13: 161-208, 1957
- 2) Robbins J, Rall JE: Proteins associated with the thyroid hormones. *Physiol Rev* 40: 415-489, 1960
- 3) Ingbar SH, Freinkel N: Regulation of the periph-

- eral metabolism of the thyroid hormones. *Recent Progr Hormone Res* **16**: 353–403, 1960
- 4) Sterling K, Hegedus A: Measurement of free thyroxine concentration in human serum. *J Clin Invest* **41**: 1031–1040, 1962
 - 5) Schussler GC, Plager JE: Effect of preliminary purification of ^{131}I thyroxine on the determination of free thyroxine in serum. *J Clin Endocrinol Metab* **27**: 242–250, 1967
 - 6) Kumagami LF, Jubiz W, Jessop CD: A simple and rapid method for determining free thyroxine by charcoal adsorption. *Clin Res* **15**: 124, 1967
 - 7) Lee ND, Henry RJ, Golub OJ: Determination of the free thyroxine content of serum. *J Clin Endocrinol Metab* **24**: 486–495, 1964
 - 8) 鈴木 仁, 下田新一: 各種フリーサイロキシン測定法の特徴. *ホと臨床* **30**: 23–27, 1982
 - 9) 菅間範子, 鈴木 仁, 下田新一, 他: 透析膜マイクロカプセルを用いた free thyroxine RIA kit の使用経験. *ホと臨床* **30**: 107–110, 1982
 - 10) Sawin CT, Chopra D, Albano J, et al: The free triiodothyronine (T_3) index. *Ann Intern Med* **88**: 474–477, 1978
 - 11) Sterling K, Brenner MA: Free thyroxine in human serum: Simplified measurement with aid of magnesium precipitation. *J Clin Invest* **45**: 153–163, 1966
 - 12) 今野則道, 萩原康司, 田口英雄, 他: 血中 free triiodothyronine の測定とその意義. *核医学* **11**: 497–502, 1974
 - 13) Petersen BA, Giese RW, Larsen PR, et al: Measurement of free thyroid hormones in serum by dialysis and gas chromatography. *Clin Chem* **23**: 1389–1396, 1977
 - 14) Ellis S, Ekins R: The direct measurement by radioimmunoassay of the free thyroid hormone concentrations in serum. *Acta Endocrinol (Suppl.)* **177**: 106, 1973
 - 15) Carayon P, Castanas E, Guibout M, Codaccioni J-L: Assessment and clinical significance of free thyroid hormone radioimmunoassays. In *Free thyroid hormones* edited by Ekins R, Faglia G, Pennisi F, Pinchera A. 1979, pp. 181–193
 - 16) Clark F, Horn DB: Assessment of thyroid function by the combined use of the serum protein-bound iodide and resin uptake of ^{131}I triiodothyronine. *J Clin Endocrinol Metab* **25**: 39–45, 1965
 - 17) 浜田 哲, 今村理喜代, 吉政康直: Gamma Coat total/free T_4 ラジオイムノアッセイキットによる血清 “Free T_4 ” の測定の意義. *核医学* **18**: 521–531, 1981
 - 18) 鈴木 仁, 鈴木義信, 平岩正基, 他: Corning 社製 free thyroxine RIA kit の使用経験. *ホと臨床* **30**: 1037–1040, 1982
 - 19) Hertl W, Odstrchel G: Kinetic and thermodynamic studies of antigenantibody interactions in heterogeneous reaction phase-I: l-thyroxine (T_4) with specific antibody immobilized on controlled pore glass. *Mol Immunol* **16**: 173–178, 1979
 - 20) Hollander CS, Mitsuma T, Nihei N, et al: Clinical and laboratory observations in cases of triiodothyronine toxicosis confirmed by radio-immunoassay. *Lancet* **1**: 609–611, 1972
 - 21) Roux F, Sauvan R, San Marco JL, et al: Clinical merit in the radio-immunoassay of free serum tetraiodothyronine (FT_4) and free serum triiodothyronine (FT_3). *Int J Nucl Med Biol* **7**: 386–390, 1980
 - 22) Pennisi F, Romelli PB, Vancheri L: Measurement of free thyroid hormones in serum by column adsorption chromatography and radio-immunoassay. In *Free thyroid hormones* edited by Ekins R, Faglia G, Pennisi F, Pinchera A. 1979, pp. 93–102
 - 23) Finucane JF, Griffiths RS: A rapid and simple method for simultaneous measurement of serum free thyroxine and triiodothyronine fractions. *J Clin Path* **29**: 949–954, 1976
 - 24) Langer M, Madeddu G, Costanza C: Free thyroxine (FT_4) and free triiodothyronine (FT_3) in autonomous thyroid nodules. *Clin Endocr* **11**: 461–464, 1979
 - 25) Smals AGH, Ross AH, Kloppenborg PWC: Dichotomy between serum free thyroxine concentrations in familial thyroxine-binding globulin deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* **53**: 917–922, 1981
 - 26) Christensen LK: A method for the determination of free, non-protein bound thyroxine in serum. *Scand J Clin Lab Invest* **11**: 326–331, 1959
 - 27) Sophianopoulos J, Jerkunica I, Lee CN, et al: An improved ultrafiltration method for free thyroxine and triiodothyronine in serum. *Clin Chem* **26**: 159–162, 1980
 - 28) Bermudez F, Surks MI, Oppenheimer JH: High incidence of decreased serum triiodothyronine concentration in patients with nonthyroidal disease. *J Clin Endocrinol Metab* **41**: 27–40, 1975
 - 29) Chopra IJ, Solomon DH, Hepner GW, et al: Misleadingly low free thyroxine index and usefulness of reverse triiodothyronine measurement in nonthyroidal illnesses. *Ann Intern Med* **90**: 905–912, 1979
 - 30) Chopra IJ, Van Herle AJ, Chua Teco GN, et al: Serum free thyroxine in thyroidal and nonthyroidal illness: A comparison of measurements by radio-

- immunoassay, equilibrium dialysis, and free thyroxine index. *J Clin Endocrinol Metab* **51**: 135–143, 1980
- 31) Kaptein EM, Macintyre SS, Weiner JM, et al: Free thyroxine estimates in nonthyroidal illness: Comparison of eight methods. *J Clin Endocrinol Metab* **52**: 1073–1077, 1981
- 32) Chopra IJ, Solomon DH, Chua Teco GN, et al: An inhibitor of the binding of thyroid hormones to serum proteins is present in extrathyroidal tissues. *Science* **215**: 407–409, 1982
- 33) Yeo PPB, Green VE, Lewis M, et al: Serum free thyroid hormone concentrations in pregnancy and oral contraceptive therapy. *J Endocr* **73**: 45, 1977