

## 《ノート》

# Amerlex Free T<sub>3</sub> Radioimmunoassay Kit に関する 基礎的ならびに臨床的検討

## Fundamental and Clinical Evaluation of Serum Free T<sub>3</sub> Radioimmunoassay

末廣美津子\* 西川 彰治\* 石村 順治\* 福地 稔\*

Mitsuko SUEHIRO\*, Akiharu NISHIKAWA\*, Junji ISHIMURA\*  
and Minoru FUKUCHI\*

\*Division of Nuclear Medicine, RI Center, Hyogo College of Medicine, Nishinomiya, Hyogo

### I. はじめに

活性型甲状腺ホルモンとして triiodothyronine (T<sub>3</sub>)<sup>1)</sup>, と thyroxine (T<sub>4</sub>)<sup>2,3)</sup>, の2種類が存在し, 血中濃度でみると T<sub>3</sub>:T<sub>4</sub>=1:50 と T<sub>4</sub> が断然多い.

血中での甲状腺ホルモンは, そのほとんどが甲状腺ホルモン結合蛋白と結合して存在し<sup>4)</sup>, 実際にホルモン作用の主役は, 蛋白と結合していない遊離型の甲状腺ホルモンであると考えられている<sup>5,6)</sup>. したがって, 臨床的には遊離型の甲状腺ホルモン量を測定することは, きわめて意義のあることだといえる.

近年, radioimmunoassay (以下 RIA と略)の発展普及に伴い, 甲状腺ホルモンに関しても, 血中 total T<sub>4</sub> (以下 TT<sub>4</sub> と略)<sup>7)</sup>, 血中 total T<sub>3</sub> (以下 TT<sub>3</sub> と略)<sup>8-10)</sup> および 血中 free T<sub>4</sub> (以下 FT<sub>4</sub> と略)<sup>11)</sup> の測定が容易となり, 広く臨床的に活用されている. ところが甲状腺ホルモンは, 甲状腺内および末梢において, T<sub>4</sub> から T<sub>3</sub> へ転換する事実が広く認識されるにつれ<sup>12)</sup>, 生理的にも, また病態生理的にも, TT<sub>3</sub> とりわけ生物活性の主役と考えら

れる血中 free T<sub>3</sub> (以下 FT<sub>3</sub> と略)の動態に関心が向けられるようになった. ところが, FT<sub>3</sub> を測定するためには, 操作が複雑な平衡透析法<sup>13,14)</sup>等に頼らざるを得ないため臨床的に応用するまでに至らなかった. そこで, FT<sub>3</sub> の測定についても, RIA による簡便な測定法の開発と普及が待たれていた.

われわれは, 最近開発された血中 FT<sub>3</sub> の RIA につき, その基礎的ならびに臨床的検討を行ったので, その成績につき報告する.

### II. 方法および対象

検討には Amerlex Free T<sub>3</sub> RIA Kit を用い, 実際の測定手順は Table 1 に示す如くに行った.

#### 1. 基礎的検討

異なる 8 回の測定で得られた標準曲線を平均±標準偏差で求め, その安定性, 再現性, 最少測定感度および測定範囲につき検討した.

インキュベーション時間, およびインキュベーション温度が, 本測定系に与える影響につき, 標準曲線を指標に検討した. すなわち, インキュベーション温度を 37°C と一定にして, インキュベーション時間を 1 時間, 2 時間, および 3 時間と変えた際のそれぞれの標準曲線につき比較検討し

\* 兵庫医科大学病院 RI センター診療部

受付: 58 年 9 月 5 日

最終稿受付: 58 年 10 月 19 日

別刷請求先: 西宮市武庫川町 1-1 (☎ 663)

兵庫医科大学病院 RI センター診療部

福地 稔

**Key words:** radioimmunoassay, free T<sub>3</sub>, solid phase, amerlex.

**Table 1** Assay Procedure of Amerlex Free T<sub>3</sub> RIA Kit

1) Standards or assay samples	100 $\mu$ l
2) I-125-T <sub>3</sub> solution	500 $\mu$ l
3) Amerlex coated anti-T <sub>3</sub> antibody solution	500 $\mu$ l
↓ Mix with vortex mixer	
4) Incubate for 2 hours at 37°C	
5) Centrifuge for 15 min at 1,500 g	
6) Decant & aspirate the supernatant	
7) Count and calculate the assay results	

た。一方、インキュベーション時間を2時間と一定にして、インキュベーション温度を、37°C、4°C および室温 (25±2°C) と変えた際のそれぞれの標準曲線についても比較検討した。

同一測定内 (n=5) における再現性をみる目的で、濃度の異なる A, B, C の3種類の血清試料を用い検討した。また、異なる5回の測定間における再現性についても、濃度の異なる D, E, F, G の4種類の血清試料を用い検討した。

比較的血中 FT<sub>3</sub> 濃度が高値を示す血清試料を用い希釈試験を試みた。すなわち、2種類の血清試料を用い一方を生理食塩水にて、また他方を0濃度の FT<sub>3</sub> 標準溶液にて、それぞれ 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 と段階的に希釈して検討した。

## 2. 臨床的検討

本測定法の正常値を求めるために、当院の教職員を主とする健常人62名の血中 FT<sub>3</sub> 値を本測定法で測定した。これら健常人の内訳は男子50名、女子12名、また年齢分布は20歳から79歳までの間に分布し、平均33.8歳であった。

本測定法を用い、127症例を対象に、その血中 FT<sub>3</sub> 値を測定した。これらの症例の内訳は、甲状腺機能亢進症33例、甲状腺機能低下症33例、euthyroid state にある慢性甲状腺炎28例、単純性甲状腺腫8例、非中毒性結節性甲状腺腫18例、TBG 異常症7例であった。なお、TBG 異常性7例の内訳は、TBG 增多症4例、TBG 減少症2例、TBG 欠損症1例である。

さらに、血中 TBG 値と血中 FT<sub>3</sub> 値の関連をみる目的で、妊婦7名についても、本測定法でその血中 FT<sub>3</sub> 値を測定した。

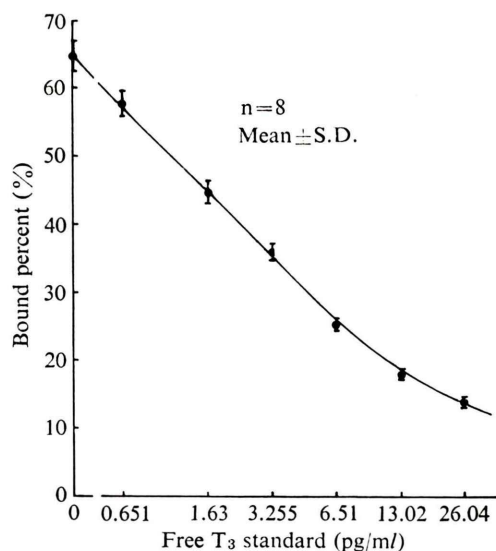
本測定法で得られる血中 FT<sub>3</sub> 値の客観的評価を目的に、本測定法で血中 FT<sub>3</sub> 値を測定した症例のうち、38例については同時に血中 FT<sub>4</sub> 値を測定し、得られた両測定値の比較を行った。一方、本測定法で血中 FT<sub>3</sub> 値を測定した125例については、同時に血中 TT<sub>3</sub> 値を測定し、得られた両測定値の比較を行った。

さらに、本測定法と、従来、血中 FT<sub>3</sub> 値の測定に利用されてきた方法との比較を目的に、本測定法で血中 FT<sub>3</sub> 値を測定した症例のうち、38例については同時に平衡透析法でも血中 FT<sub>3</sub> 値を測定し、両測定法で得られた測定値を比較した。

## III. 成 績

### 1. 基礎的検討成績

異なる8回の測定で得られた標準曲線を平均±標準偏差で求め Fig. 1 に示した。Figure. 1 でも明らかな如く、ほぼ直線性を示す安定した再現性の良好な標準曲線が得られることが確められた。最少測定感度については、標準 FT<sub>3</sub> の 0 pg/ml における B% の平均値 (n=8) と標準偏差を求めたところ 64.6±2.3% との成績が得られた。この成績を基に平均値 -2 S.D. を最少測定感度とす

**Fig. 1** Standard curve of Amerlex Free T<sub>3</sub> RIA Kit.

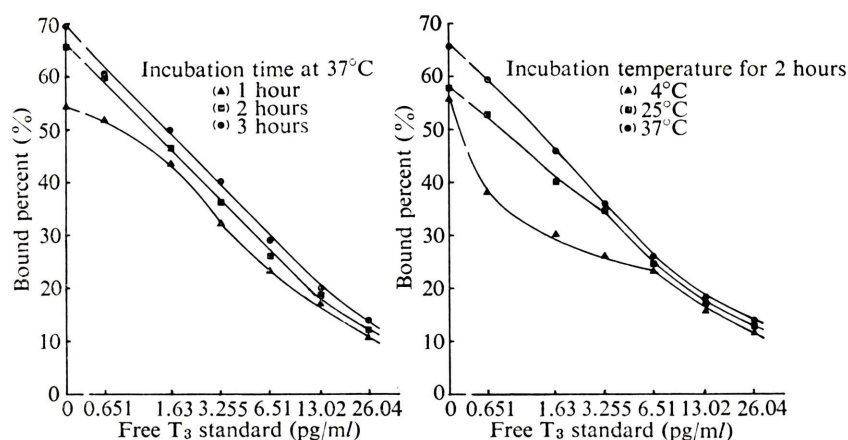


Fig. 2 Effect of incubation time and incubation temperature on standard curve of Amerlex Free T<sub>3</sub> RIA Kit.

Table 2 Intraassay and Interassay Reproducibility of Amerlex Free T<sub>3</sub> RIA Kit

(1) Intraassay reproducibility

	Assay results (pg/ml)					Mean	S.D.	C.V. (%)
	1	2	3	4	5			
Serum A	1.24	1.32	1.33	1.19	1.09	1.23	0.09	7.18
Serum B	4.77	1.78	4.04	4.13	3.80	4.30	0.40	9.28
Serum C	12.53	11.97	12.36	11.27	13.50	12.33	0.73	5.92

(2) Interassay reproducibility

	Assay results (pg/ml)					Mean	S.D.	C.V. (%)
	1	2	3	4	5			
Serum D	0.98	0.98	1.00	0.98	0.95	0.98	0.02	1.65
Serum E	1.19	1.11	1.14	1.24	1.26	1.19	0.06	4.81
Serum F	24.99	25.21	27.42	23.00	24.51	25.03	1.42	5.69
Serum G	28.84	26.79	30.12	29.74	27.41	28.58	1.29	4.52

ると 0.325 pg/ml との成績が得られ、また、平均値  $\pm 3$  S.D. を最少測定感度とすると 0.488 pg/ml との成績が得られた。

インキュベーション時間、およびインキュベーション温度が本測定系の標準曲線に与える影響につき検討し、その成績を Fig. 2 に一括した。Figure. 2 でも明らかな如く、37°C におけるインキュベーション時間に関する検討では、2 時間と 3 時間で良好な標準曲線が得られ、両者の間には良好な平行性が認められ B% でみても有意な差異

はみられないとの成績であった。一方、インキュベーション時間 2 時間におけるインキュベーション温度に関する検討では、Fig. 2 で示した如く、37°C でも最も良好な標準曲線が得られ、25°C および 40°C では満足できる標準曲線は得られなかった。

同一測定および異なる測定間における再現性に関する検討成績を Table 2 で示した。同一測定内における再現性を C.V. でみると 7.18%, 9.28%, および 5.92%, また、異なる測定間における再現



性をC.V. でみると1.65%, 4.81%, 5.69%および4.52%との結果であった。

血中FT<sub>3</sub>値が比較的高値を示す血清試料 A, B

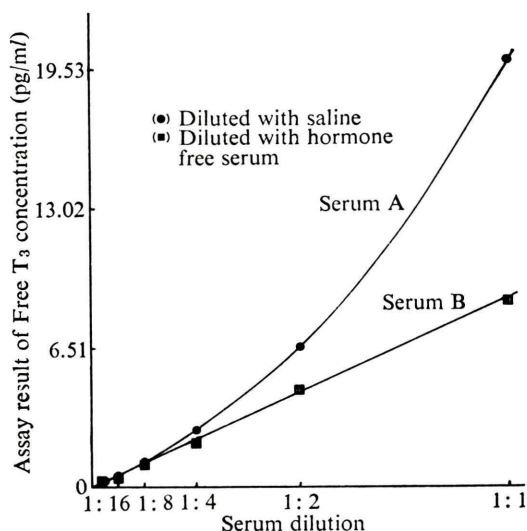


Fig. 3 Dilution test of serum Free T<sub>3</sub> measured by Amerlex Free T<sub>3</sub> RIA Kit.

を用い希釈試験に関する検討成績を Fig. 3 で一括した。Figure 3 でも明らかな如く、血清試料を生理食塩水で希釈した際の血清Aの希釈曲線は、ゆるやかな曲線を示したが、一方、0濃度の標準FT<sub>3</sub>溶液で希釈した際の血清Bの希釈曲線は直線性を示し、原点を通る成績であった。

## 2. 臨床的検討成績

健常人62名、甲状腺疾患を主とする各種疾患127例、および妊婦7名を対象に本測定法で血中FT<sub>3</sub>値を測定した結果を Fig. 4 で一括した。健常人62名における血中FT<sub>3</sub>値は、2.48 pg/ml から6.41 pg/mlの範囲に分布し、平均 $4.15 \pm 0.83$  pg/mlであった。平均値 $\pm 2S.D.$ を正常値とすると2.49 pg/ml から5.81 pg/mlの範囲が正常値と考えられた。甲状腺機能亢進症33例における血中FT<sub>3</sub>値は、6.88 pg/ml から51.59 pg/mlの範囲に分布し、平均 $14.47 \pm 6.91$  pg/mlで全例で健常人の血中FT<sub>3</sub>値との分離が容易であった。なお、甲状腺機能亢進症5例では、26.04 pg/ml以上を示したため、希釈して再測定した。甲状腺機能低

	Serum Free T <sub>3</sub> concentration (pg/ml)				
	0	6.51	13.0	19.5	26.0
Normal subjects (n=62)					4.15 $\pm$ 0.83†
Hyperthyroidism (n=33)					14.47 $\pm$ 6.91†
Hypothyroidism (n=33)					1.51 $\pm$ 0.73†
Chr. thyroiditis (n=28)					3.66 $\pm$ 0.96†
Simple goiter (n=8)					4.22 $\pm$ 0.59†
NTNG* (n=18)					3.94 $\pm$ 0.74†
Patients with increased TBG (n=4)					3.05 $\pm$ 0.28†
Patients with decreased TBG (n=3)**					1.90 $\pm$ 0.30†
Pregnant women (n=7)					2.80 $\pm$ 0.41†

(\*): nontoxic nodular goiter; (\*\*): including TBG deficiency ▲; (†): Mean $\pm$ S.D.

Fig. 4 Assay results of serum Free T<sub>3</sub> concentration with Amerlex Free T<sub>3</sub> RIA Kit in normal subjects, various thyroid diseases and pregnant women.

下症33例における血中 FT<sub>3</sub> 値は、0.52 pg/ml から 3.44 pg/ml の範囲に分布し、平均  $1.51 \pm 0.73$  pg/ml であった。甲状腺機能低下症33例中3例(9.09%)で正常値との重複がみられた。甲状腺機能が正常な、慢性甲状腺炎28例における血中 FT<sub>3</sub> 値は、2.40 pg/ml から 6.24 pg/ml の範囲に分布し、平均  $3.66 \pm 0.96$  pg/ml を、また、単純性甲状腺腫8例における血中 FT<sub>3</sub> 値は、3.55 pg/ml から 5.36 pg/ml の範囲に分布し、平均  $4.22 \pm 0.59$  pg/ml を、また、非中毒性結節性甲状腺腫18例における血中 FT<sub>3</sub> 値は 2.91 pg/ml から 5.29 pg/ml の範囲に分布し、平均  $3.94 \pm 0.74$  pg/ml を示し、これらいずれの疾患も正常値の範囲内に分布することが確められた。一方、TBG 増多症4例における血中 FT<sub>3</sub> 値は、2.60 pg/ml から 3.33 pg/ml の範囲に分布し、平均  $3.05 \pm 0.28$  pg/ml で正常値の範囲に分布することが確められた。ところが、TBG 欠損症1例を含む TBG 減少症3例では、

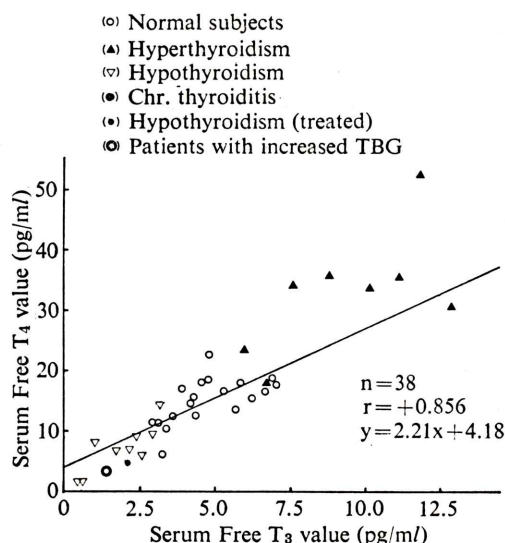


Fig. 5 Correlation between serum Free T<sub>4</sub> value and serum Free T<sub>3</sub> value measured by radioimmunoassay.

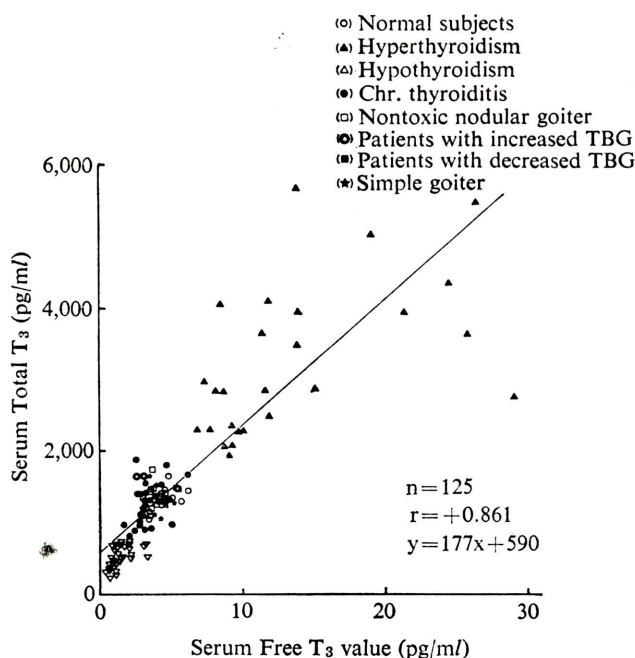


Fig. 6 Correlation between serum Total T<sub>3</sub> value and serum Free T<sub>3</sub> value measured by radioimmunoassay.

その血中  $FT_3$  値は  $1.50 \text{ pg/ml}$  から  $2.22 \text{ pg/ml}$  の範囲に分布し、平均  $1.90 \pm 0.30 \text{ pg/ml}$  を示し、いずれの症例も正常値より低値を示す結果であった。さらに、妊婦7名の血中  $FT_3$  値を測定したところ、 $2.31 \text{ pg/ml}$  から  $3.70 \text{ pg/ml}$  の範囲に分布し、平均  $2.80 \pm 0.41 \text{ pg/ml}$  であった。これを正常値と比較するとほぼ全例が正常値の範囲内に分布することが確かめられた。

本測定法で血中  $FT_3$  値を測定した38例については、同時に血中  $FT_4$  値を測定し、両測定法で得られた測定値を比較した成績を Fig. 5 で示した。両者の間には、相関係数  $r = +0.856$ 、回帰直線  $y = 2.21x + 4.18$  と良好な相関を示すことが確かめられた。

さらに、本測定法で血中  $FT_3$  値を測定した症例のうち、125例については同時に血中  $TT_3$  値を測定し、得られた両測定値を比較した成績を Fig. 6 で示した。Figure 6 でも明らかな如く、高値領域でバラツキがみられるものの、両者の間には相関係数  $r = +0.861$ 、回帰直線  $y = 177x + 590$  と良好な相関が認められた。

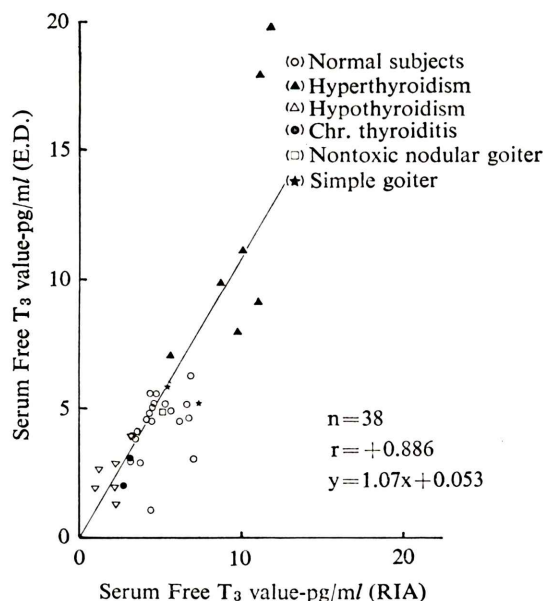


Fig. 7 Correlation of assay results between equilibrium dialysis and radioimmunoassay.

本測定法で血中  $FT_3$  値を測定した症例のうち、38例についてはさらに、従来血中  $FT_3$  値の測定に利用されてきた平衡透析法でもその血中  $FT_3$  値を測定し、得られた両測定値の比較を行った成績を Fig. 7 で示した。Figure 7 でも明らかな如く、高値領域ではやや平衡透析法で高値となる成績であったが、全体としては相関係数  $r = +0.886$ 、回帰直線  $y = 1.07x + 0.053$  と良好な相関が認められた。

#### IV. 考 察

甲状腺疾患は、内分泌疾患のなかで最も多く日常臨床上しばしば経験する疾患である。一方、甲状腺疾患との鑑別を要する他の疾患も比較的多い。日常臨床上、甲状腺疾患の病態把握には、多くのすぐれた手段を活用することが現在容易となっている。例えば、血中  $TT_3$  の測定、血中  $TT_4$  の測定、血中  $FT_4$  の測定、甲状腺ホルモン結合蛋白である血中  $TBG$  の測定、これらを調節している血中  $TSH$  の測定などを挙げることができる。ところが、血中  $FT_3$  の測定のみが今まで簡便に行えない現状にあった。もちろん、研究的には平衡透析法を主とする方法<sup>13,14)</sup>による測定が利用されてきたが、血清試料が多量に必要であり、さらに操作が煩雑で大量の検体の処理が困難であるなど臨床検査法として利用するには種々の難点があった。血中  $FT_4$  の測定が、RIA により可能になったのを契機にして<sup>11)</sup>、血中  $FT_3$  の測定法としても RIA にその期待が寄せられてきた。ところが、血中  $FT_3$  は血中  $FT_4$  に比べるとときわめて微量であり、その測定法として RIA を確立するためには課題が多かった。血中甲状腺ホルモンには  $T_3$  と  $T_4$  があり<sup>1-3)</sup>、血中ではそのほとんどが  $TBG$  を主とする甲状腺ホルモン結合蛋白と結合し循環し、ごくわずかな量が遊離型として存在する。それが血中  $FT_4$  であり、また血中  $FT_3$  である。ところが、実際に生物学的作用の主役は、これら遊離型の甲状腺ホルモンであるとされており<sup>5,6)</sup>、病態解析上でもその測定が重要となる。すでに血中  $FT_4$  については RIA によりその測定が可能と



なり<sup>11)</sup>、現在広く活用されている。末梢や甲状腺内で T<sub>3</sub> のほとんどが T<sub>4</sub> から転換することから<sup>12)</sup>、生理的にも、また病態生理的にも血中 T<sub>3</sub> とりわけ血中 FT<sub>3</sub> の動態を把握することが重要なことと考えられてきた。今回、開発された血中 FT<sub>3</sub> の RIA が、特に臨床的に強い関心を集めているのも、これらの背景が理由となっているものと解釈できる。ところが、血中 FT<sub>3</sub> を測定することの臨床的意義については、理論的にはともかく実際には必ずしも明らかでない面が少なくない。血中 FT<sub>3</sub> 値の測定が容易になったことにより、今後広く臨床的に活用され、TT<sub>4</sub>、FT<sub>4</sub>、TT<sub>3</sub>、TSH、および TBG などとの関連で、その意義が解明されていくものと期待されている。今回われわれが検討した測定法の測定原理は、TBG などの甲状腺ホルモン結合蛋白 (TBP) との結合力が、きわめて弱い T<sub>3</sub> 誘導体、いわゆる T<sub>3</sub>-X を標識抗原として用いることにより、血清試料中の TBP と結合している T<sub>3</sub> と、Free の T<sub>3</sub> の割合に変化を与えることなく、Free T<sub>3</sub> と標識 T<sub>3</sub>-X とを抗 T<sub>3</sub> 抗体と競合させ血中 Free T<sub>3</sub> 分画を測定する方法である。問題は、この血中 FT<sub>3</sub> の RIA が測定法に要求される諸条件を満足するか否かであり、またその臨床応用の成績がどのような結果を示すかということにあるといえる。これらに関する今回のわれわれの検討成績では、すでに成績の項で触れた如く満足できるものであった。すなわち、基礎的検討成績では、安定した感度のすぐれた標準曲線が得られた。インキュベーション温度は 37°C、インキュベーション時間 2 時間で良好な標準曲線が得られることから短時間に測定結果を得ることができ、臨床検査法としては望ましい方法であることが確められた。再現性もよく、希釈試験の結果も 0 濃度の標準 FT<sub>3</sub> 溶液で希釈した場合、ほぼ良好であった。このような遊離型ホルモンの希釈試験は、甲状腺ホルモン結合蛋白および結合型のホルモンとの関係が希釈することにより複雑となるため、検討項目として取りあげる必要性については疑問もある。われわれもその点については十分認識しているが検討結果が良好であっ

たことは、少なくとも必要があれば希釈して測定しても得られる測定値は十分臨床的に利用できることを示している。一方、臨床的検討成績では、正常値は 2.49 pg/ml から 5.81 pg/ml との成績であった。この値を基に他の病態での測定値をみると、甲状腺機能亢進症では正常値との重複は全くみられなかった。ところが甲状腺機能低下症では、33 例中 3 例で正常低値領域との重複がみられた。このような重複はすでに血中 FT<sub>4</sub> の測定でも指摘されており、遊離型のホルモン量が静的な生体情報ではなく、動的な生体情報であると考えれば、あるいは当然の結果といえるかも知れない。これに対し、慢性甲状腺炎、単純性甲状腺腫、非中毒性結節性甲状腺腫などの euthyroid state の甲状腺疾患では、いずれも正常値の範囲であった。問題の TBG 增多症では、血中 FT<sub>3</sub> 値は正常範囲にあり、同じく TBG 增多を示す妊婦でも同様の成績であった。ところが TBG 減少症では、いずれも正常値より低値を示す成績で特に TBG 欠損症で最も低い値が得られた。以上の臨床的検討成績から血中 FT<sub>3</sub> の RIA は多くの甲状腺疾患での応用上には全く問題はないが、TBG 減少症では測定結果がやや低値となる傾向があるといえる。このことは平衡透析法で問題とされてきたことであり、その点 TBG 減少症の測定では共通の問題点をかかえているといえる。特に強調してよいのは、平衡透析法との測定値の比較で両者の間に良好な相関が得られたことである。このことは、血中 FT<sub>3</sub> の RIA で得られる測定値が少なくとも平衡透析法で得られるそれと同程度の意義を有することを意味しているといえる。しかも、RIA が平衡透析法に比べ、簡便であり、少量の検体量でよく、一度に大量の検体処理が可能であり、しかも短時間に測定結果を得ることができるなど多くの利点を有している。これらの特徴を考えると、平衡透析法に代わる血中 FT<sub>3</sub> の測定法として、今後広く臨床的に利用されるものと思われる。

## V. 結 語

Amerlex Free T<sub>3</sub> RIA Kit に関し、基礎的なら

びに臨床的検討を行い、以下の結論を得た。

1) 本測定法は、測定法に要求される諸条件を満足するものであることが確められた。

2) 本測定法の正常値は 2.49 pg/ml から 5.81 pg/ml の範囲であり、慢性甲状腺炎、単純性甲状腺腫、非中毒性結節性甲状腺腫、TBG 増多症および妊婦では総て正常範囲に分布した。

3) 甲状腺機能亢進症では、総ての症例で高値を示し、正常値との重複はみられなかった。甲状腺機能低下症では、ほとんどの症例が低値であったが一部の症例で正常値との重複がみられた。

4) TBG 減少症では、いずれの症例も正常値より低値を示した。

5) 平衡透析法と測定値の比較を行ったところ、両者の間には良好な相関が認められた。

稿を終えるにあたり、Amerlex FT<sub>3</sub> RIA Kit の提供をいただいたアマシャム薬品株式会社に謝意を表します。

#### 文 献

- 1) Gross J, Pitt-Rivers R: The identification of 3, 5, 3'-L-triiodothyronine in human plasma. *Lancet* **1**: 439-441, 1952
- 2) Kendall EC: The isolation in crystalline form of the compound containing iodine which occurs in the thyroid. *J Amer Med Assoc* **64**: 2042, 1915
- 3) Harrington CR: Chemistry of thyroxine, I. Isolation of thyroxine from the thyroid gland. *Bioch J* **20**: 293-299, 1926
- 4) Robbins J, Rall JE: The interaction of thyroid hormones and protein in biological fluids. *Recent Prog Horm Res* **13**: 161-208, 1957
- 5) Christensen LK: A method for the determination of free, non-protein bound thyroxine in serum. *Scandinay J Clin & Lab Invest* **11**: 326-331, 1959
- 6) Sterling K, Hegedus C: Measurement of free thyroxine concentration in human serum. *J Clin Invest* **41**: 1031-1040, 1962
- 7) Chopra IJ, Solmon DH, Ho RS: A radioimmunoassay of thyroxine. *J Clin Endocr* **33**: 865-868, 1971
- 8) Ghario H, Ryan RJ, Mayberry WE, et al: Radioimmunoassay for triiodothyronine (T<sub>3</sub>): I. Affinity and specificity of the antibody for T<sub>3</sub>. *J Clin Endocr* **33**: 509-516, 1971
- 9) Mitsuma T, Gershengorn M, Colucci J, et al: Radioimmunoassay of triiodothyronine in unextracted human serum. *J Clin Endocr* **33**: 364-367, 1971
- 10) Mitsuma T, Colucci J, Shenkman L, et al: Rapid simultaneous radioimmunoassay for triiodothyronine and thyroxine in unextracted serum. *Bioch Biophys Res Comm* **46**: 2107-2113, 1972
- 11) Henneman G, Doctoer R, Krenning EP, et al: Raised total thyroxine and free thyroxine index but normal free thyroxine: A serum abnormality due to inherited increased affinity of iodothyronines for serum binding protein. *Lancet* **I**: 639-642, 1979
- 12) Braverman LE, Ingbar SH, Sterling K: Conversion of thyroxine (T<sub>4</sub>) to triiodothyronine (T<sub>3</sub>) in athyreotic human subjects. *J Clin Invest* **49**: 855-864, 1970
- 13) Oppenheimer JH, Squef R, Surks MI, et al: Binding of thyroxine by serum proteins evaluated by equilibrium dialysis and electrophoretic techniques: Alterations in non-thyroidal illness. *J Clin Invest* **42**: 1769-1782, 1963
- 14) Ingbar SH, Braverman LE, Dawber NA, et al: A new method for measuring the free thyroid hormone in human serum and an analysis of the factors that influence its concentration. *J Clin Invest* **44**: 1679-1686, 1965