

《原 著》

Amerlex Free T₃ Kit および平衡透析法による血中遊離 Triiodothyronine 濃度測定法の比較

今野 則道* 今 寛* 萩原 康司** 田口 英雄**

要旨 種々の病態における血清遊離 T₃(FT₃)を平衡透析法(ED)および T₃ 誘導体を用いた Amerlex FT₃ RIA kit により測定し、両者について比較検討した。三種類の FT₃ 濃度をもつコントロール血清での inter-および intraassay CV(%)は、両法で 9.0% 以下であった。両法について、血清を希釈した場合および血清に T₃ を加えた場合の %FT₃ をしらべたが、いずれにおいても変化はなく、本 kit では、希釈血清を用いて高 FT₃ 値を測定できると考えられた。125 名の正常人から得た FT₃ の正常範囲は RIA で 3.5-9.1 p mol/l, ED で 2.1-7.2 p mol/l であった。甲状腺機能亢進症(n=33), 甲状腺機能低下症(25), 3rd trimester 妊婦(17), 甲状腺機能亢進症を合併した妊婦(4), 低 TBG 血症(4), 27 甲状腺疾患(NTI)全体についての両法による FT₃ の相関は良好であった(r=0.971, p<0.001)。甲状腺疾患, 低 TBG 症, 正常 T₃ NTI 群では両法の FT₃ 値の分布は良く一致したが、妊婦および低 T₃ NTI 群では、ED 法による FT₃ がほぼ正常であったのに反し、RIA 法では正常下限から正常以下に分布した。以上から RIA 法による FT₃ 測定は、甲状腺機能異常症の FT₃ 値を知る上できわめて有用であるが、妊婦, 低 T₃ NTI 群では ED 法に比し低値をとり、その評価には慎重を要することが示唆された。

I. はじめに

甲状腺ホルモンの生物学的作用は遊離型ホルモンによって発現されるとする Free Hormone Hypothesis が一般に認められている^{1,2)}。したがって、遊離型 thyroxine (T₄) および triiodothyronine (T₃) を測定することは臨床的にきわめて重要である。遊離型 T₃ (FT₃) の測定は主として平衡透析法³⁾, ゲル濾過法⁴⁾, ガスクロマトグラフィー⁵⁾, 限外濾過⁶⁾ 等によって行われてきたが、これらの方法は煩雑であることから、FT₃ の間接的指標として FT₃ index, T₃: T₄ 結合グロブリン (TBG) 比が臨床的に用いられてきた⁷⁻⁹⁾。最近 FT₃ RIA

が開発され臨床的に利用されつつある。以下は Amerlex free T₃ kit による FT₃ の測定法を平衡透析法(ED)と比較することによって、本キットの臨床的有用性について比較検討してみた。

II. 対象および測定方法

ホルモン濃度測定法

すべての被験血清について T₄, T₃, TSH, および TBG をすでに報告した方法によって測定した^{9,10)}。T₃ の free fraction (%FT₃) は Sterling および Brenner の方法¹¹⁾ に若干の改良を加えて測定した^{9,12)}。MgCl₂ による [¹²⁵I] T₃ の回収率は 81.5% であった。また希釈血清を用いた際の %FT₃ の変動を血清 3.0 ml と 0.1 ml との間で比較したが、%FT₃ に差異は認められなかった(後述)。したがって %FT₃ は回収率によってのみ補正した。%FT₃ の算出方法は Oppenheimier らの式によった¹³⁾。Amerlex FT₃ RIA kit の測定方法および測定原理は Amerlex FT₄ RIA kit のそれに

* 北海道社会保険中央病院内科

** 同 放射線部

受付: 59年1月23日

最終稿受付: 59年2月27日

別刷請求先: 札幌市豊平区中の島一条8丁目 (☎062)

北海道社会保険中央病院内科

今野 則道

準じており、詳細はすでに報告されている¹⁴⁾。すなわち甲状腺ホルモン結合蛋白との親和恒数はきわめて低いが、抗 T₃ 抗体との結合は正常な T₃-誘導体を用い、これに ¹²⁵I を標識し、free T₃ とこの T₃-誘導体が平衡になった時点で抗体結合と抗体非結合 T₃-誘導体の分離を行い、標準曲線から FT₃ 値を求めようとするものである。

対 象

正常対照群として、当院にて健康診断を終えた対象のうち、全く異常を認めなかった 125 名 (男 71 名, 女 54 名, 年齢 18-63 歳) を用いた。これらの対象の血清濃度は次の通りであった。T₄; 125 ± 23 n mol/l (mean ± S. D.), T₃; 1.9 ± 0.3 n mol/l, TSH; 4.8 mU/l 以下, TBG; 20.4 ± 2.5 mg/l。甲状腺疾患対象として 20 名の高 T₄ (301 ± 101 n mol/l) および高 T₃ (8.1 ± 3.2 n mol/l) を伴う機能亢進症, 13 名の正常 T₄ (114 ± 32 n mol/l), および高 T₃ (4.2 ± 0.8 n mol/l) を伴う機能亢進症, 17 名の低 T₄ (26 ± 13 n mol/l), および高 TSH (7.6-55.0 mU/l) を伴う機能低下症, 8 名の正常, T₄ (81 ± 18 n mol/l), 正常 T₃ (1.7 ± 0.3 n mol/l) および高 TSH (7.6-174 mU/l) を伴う機能低下症を含めた。高 TBG 血症対象として 3rd trimester の正常妊婦 17 名 (T₄; 195 ± 29 n mol/l, T₃; 2.6 ± 0.5 n mol/l, TBG; 78 ± 13 mg/l), および甲状腺機能亢進症を合併した妊婦 4 名 (T₄ 397.6 ± 209 n mol/l, T₃; 9.1 ± 5.8 n mol/l, TBG; 62.5 ± 28 mg/l) を含めた。低 TBG 症 4 名の血清測定値は T₄; 48.2 ± 32.2 n mol/l, T₃; 1.1 ± 0.4 n mol/l, TBG;

6.6 ± 3.4 mg/l であった。この他に非甲状腺疾患 (non-thyroidal illness, NTI) として正常 T₃ NTI 15 名 (T₄; 126 ± 35 n mol/l, T₃; 1.7 ± 0.3 n mol/l) および低 T₃ NTI 12 名 (T₄; 93 ± 26 n mol/l, T₃; 0.85 ± 0.1 n mol/l) を含めた。これらの対象の年齢は 22-75 歳であった。T₄, T₃ および TBG の interassay C.V. (%) は 10% 以下であった。

統計的分析は Student's t-test によった。

III. 結 果

基礎的検討

本 kit 標準液中の T₄, T₃ および TBG 濃度を測定した (Table 1)。%FT₃ 値は平衡透析法 (ED), および本 kit に示されている FT₃ 値と T₃ 濃度から算出した値のいずれにおいても略一定であった。また TBG 濃度も S₂-S₇ で差異はなかった。ただし %FT₃ 値では、本 kit における値の方が、筆者らの ED 法での %FT₃ に比べ高かった。T₄ は、S₄-S₇ で略一定であった。これに対し T₃ 濃度は nominal FT₃ に比例して高かった。これらの結果から本 kit の FT₃ 値は主として T₃ 濃度を上げることによって決められていると考えられる。

本 kit の測定条件のうちインキュベーション時間, 温度, 血清量および抗体液量について検討した (Fig. 1)。FT₃ 値は血清量に比例して直線的に上昇し (A), 37°C でインキュベーション時間を検討したところ 120 分以上で B/Bo 値はプラトーに達した (B)。また 15°C, 20°C, 25°C, 37°C の各温度でインキュベートした際の標準曲線をみる

Table 1 Concentrations and characteristics of the Amerlex FT₃ RIA kit standard

| | Normal FT ₃ (p mol/l) | FT ₃ by equilibrium dialysis (p mol/l) | % free T ₃ | | T ₃ ^b (n mol/l) | T ₄ ^b (n mol/l) | TBG ^c (mg/l) |
|----------------|-------------------------------------|--|-------------------------|------|--|--|----------------------------|
| | | | RIA ^a (%) | ED | | | |
| S ₂ | 0.92 | 0.57 | 0.30 | 0.19 | 0.31 | 25.7 | 22.2 |
| S ₃ | 2.46 | 1.38 | 0.36 | 0.20 | 0.69 | 56.6 | 22.3 |
| S ₄ | 4.77 | 3.86 | 0.26 | 0.21 | 1.85 | 100.4 | 22.3 |
| S ₅ | 9.70 | 6.18 | 0.34 | 0.22 | 2.85 | 110.7 | 23.1 |
| S ₆ | 18.48 | 13.61 | 0.29 | 0.21 | 6.39 | 110.7 | 23.5 |
| S ₇ | 35.42 | 22.22 | 0.31 | 0.20 | 11.40 | 110.7 | 23.5 |

^a FT₃ (Amerlex) divided by total T₃ concentration. ^b T₃ and T₄ were measured by radioimmunoassay (Dainabot RIA kit). ^c TBG was measured by radioimmunoassay (Riagnost TBG).

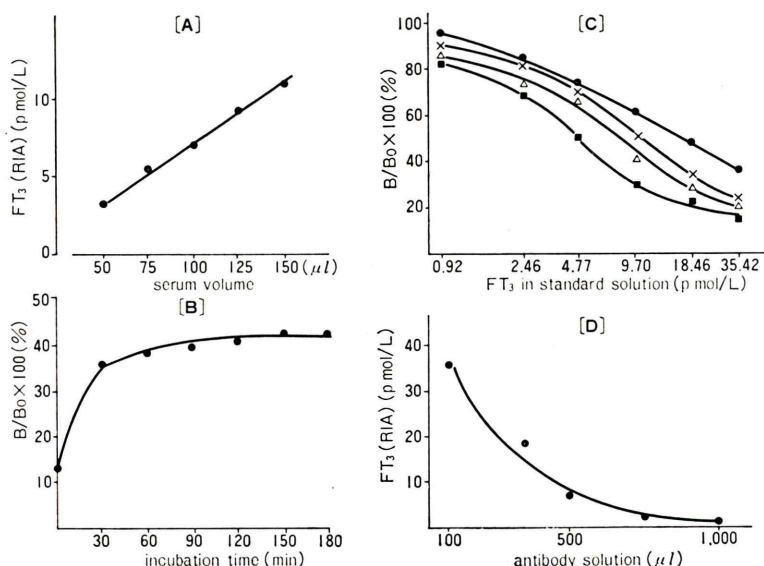


Fig. 1 Effects of serum volume (A), incubation time (B), incubation temperature (C) (●—●, 15°C; ×—×, 20°C; △—△, 25°C; ■—■ 37°C) and the volume of antibody solution (D) on free T₃ measurement by Amerlex FT₃ RIA kit.

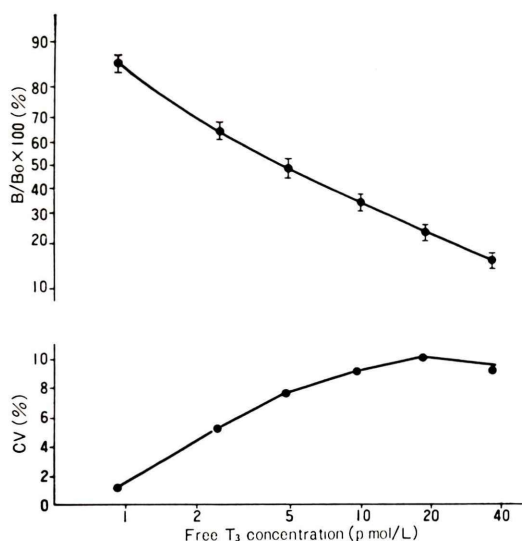


Fig. 2 Standard curve and interassay coefficient of variation (CV) for Amerlex FT₃ RIA kit (n=6).

と 37°C で最も感度の良い曲線が得られた (C). さらに抗 T₃ 抗体液量の差異によって FT₃ 値が大きく変動することが明らかになった (D). これら

の結果から測定条件として 37°C, 2 時間にて, 血清量 100 μl, 抗体液量 500 μl を用いてインキュベートすることとした.

本 kit の標準曲線を log-logit で表わし, 各点における interassay C.V. (n=6) を算出した (Fig. 2). log-logit 法で表わした標準曲線はほぼ直線を示し, C.V. は 10% 以下であった. 次に血清稀釈の影響を検討した. 血清を 2% BSA で稀釈した際の本 kit による FT₃ 値の変動を ED 法と比較した (Fig. 3). 種々の対象の血清の稀釈直線は全例において原点を通り (Fig. 3-A), また ED 法では %FT₃ は稀釈によって低下しなかった (Fig. 3-B). 本 kit の稀釈直線が原点を通ることは, % free T₃ が一定であることを示しており, 血清稀釈によって T₃ 値が低下しても free T₃ の占める割合に変化がないものと考えられる. そこで正常人血清に種々濃度の T₃ を加え本 kit の %FT₃ と ED 法の %FT₃ を比較した (Fig. 4). いずれにおいても血清 T₃ 濃度 7 n mol/l までしらべた範囲で %FT₃ 値は一定であった. 本 kit と ED 法による FT₃ 測定の intraassay および interassay

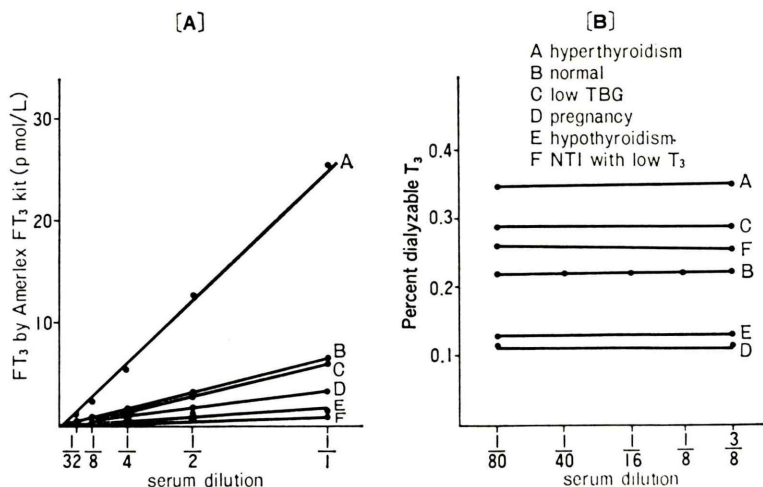


Fig. 3 Effect of serum dilution on FT₃ concentration by Amerlex FT₃ RIA kit (A) and on dialyzable T₃ fraction by equilibrium dialysis (B) in various sera. For Amerlex FT₃ RIA kit, serum was diluted with 2% BSA in saline, and for equilibrium dialysis method, serum was diluted with phosphate buffer.

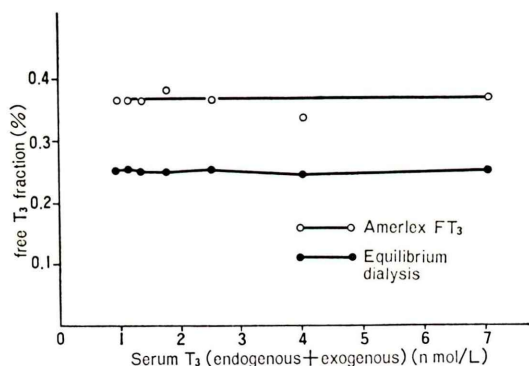


Fig. 4 Effects of added T₃ on free T₃ fraction by Amerlex FT₃ RIA kit and by equilibrium dialysis method.

C.V. を比較した (Table 2). いずれの C.V. も 10% 以下であり, 再現性は良好であった.

臨床的検討

正常人 125 名の FT₃ 値を示す (Fig. 5). ED 法の正常範囲は 2.1-7.2 p mol/l であるのに対し, 本 kit でのそれは 3.5-9.1 p mol/l で ED 法に比べ高かった. 各対象全体について ED 法による FT₃ と本 kit による FT₃ の相関は $r=0.971$ できわめて高い相関関係にあった. 両者の勾配は 1.14

で, 対象全体で本 kit の FT₃ は ED 法のそれに比し約 14% 高かった (Fig. 6). 甲状腺機能異常症を 4 群に分け, FT₃ の異常値を示す割合を算出した (Table 3). いずれの群においても本 kit と ED 法との間に差異は認められず, 本 kit の FT₃ は ED 法のそれと同様に甲状腺機能異常の FT₃ の変動を正確にあらわすものと考えられる. これに対し高 TBG を伴う妊婦では, ED 法の FT₃ 値が一例を除き正常範囲内にあったのに反し, 本法では約 50% が正常以下に分布していた (Fig. 7).

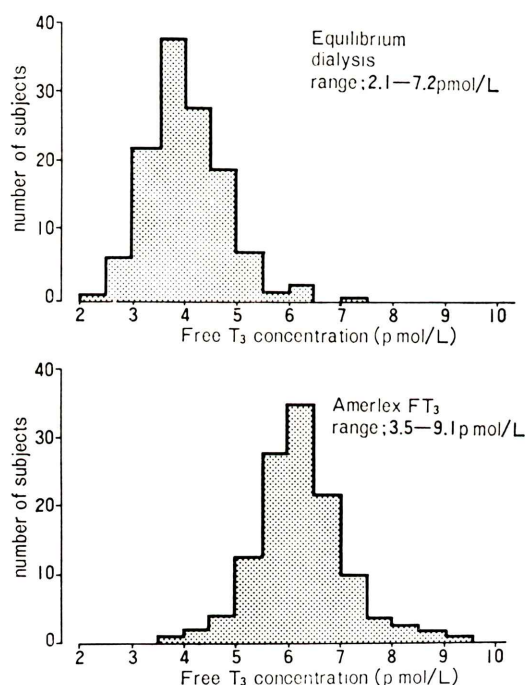
しかし, 甲状腺機能亢進症を合併した妊婦では TBG 濃度が高いにもかかわらず高 FT₃ 値を示し ED 法の FT₃ 値とよく一致した. さらに低 TBG 症および正常 T₃ NTI 群でも両法の FT₃ 値の分布は一致した. しかし, 低 T₃ NTI 群では, ED 法の FT₃ が略正常であったのに反し, 本 kit の FT₃ は全例が正常範囲以下であった.

IV. 考 察

Amerlex FT₃ RIA kit による血清 FT₃ の正常範囲は ED 法に比し高かった. 本 kit の標準液の FT₃ 値も筆者らの用いている ED 法で得た FT₃

Table 2 Intraassay and interassay precisions of free T₃ measurement by Amerlex FT₃ RIA kit and equilibrium dialysis method

| | Intraassay | | | Interassay | |
|---|------------|---------|---------|------------|---------|
| | Serum A | Serum B | Serum C | Serum D | Serum E |
| Amerlex (p mol/l) | | | | | |
| n | 6 | 6 | 6 | 4 | 5 |
| Mean | 2.32 | 6.75 | 8.95 | 2.37 | 6.56 |
| S.D. | 0.12 | 0.08 | 0.45 | 0.05 | 0.23 |
| C.V. (%) | 5.2 | 1.2 | 5.0 | 2.1 | 3.5 |
| Equilibrium dialysis (% free T ₃) | | | | | |
| n | | 5 | 5 | 8 | 8 |
| Mean | | 0.21 | 0.31 | 0.20 | 0.43 |
| S.D. | | 0.006 | 0.007 | 0.012 | 0.04 |
| C.V. (%) | | 2.9 | 2.3 | 6.0 | 9.0 |

**Fig. 5** Normal ranges of serum FT₃ concentration (n=125).

値に比し高かった。本 kit の標準 FT₃ 値は ED 法で決められたというから¹⁵⁾、FT₃ 値の差異は ED 法自体の測定結果の差異によるものと考えられる。過去の報告によると、ED 法による %FT₃ の正常値について少なからず差異が認められる¹⁶⁾。現在までのところ FT₃ の国際的標準品が

ないため、FT₃ 値の正常範囲は各施設で決定せざるを得ない。以前から ED 法によって FT₃ を測定する場合、血清を buffer で希釈すると %FT₃ 値が低下することが知られている^{3,17)}。しかし最近これを否定する結果も報告されている¹⁸⁾。Bacci らは MgCl₂¹⁸⁾ の代わりに三塩化酢酸法を用いているが、希釈の影響はなかったとしている¹⁸⁾。MgCl₃ を用いた今回の結果でも、血清希釈による %FT₃ の低下は認められなかった。血清希釈の影響についての相異の原因は不明であるが、今回筆者らの得た FT₃ の正常範囲は Bacci らの報告した値および symmetric dialysis を用いた Smals らの値に近いものであった¹⁹⁾。

本 kit の血清希釈の影響を種々の血清についてしらべたが、いずれも原点を通る直線が得られた。また種々の濃度の T₃ を加えた際の %FT₃ を ED 法と比較したが、いずれの方法においても %FT₃ 値はほぼ一定であった。したがって本 kit によって得た FT₃ と T₃ との比率は血清 T₃ 濃度の高低で変動することはなく、高 FT₃ 血清では、血清を希釈することによって FT₃ 値を求めることができるものと考えられる。

本 kit および ED 法で得た FT₃ 値の間の相関は対象全体について分析する限りきわめて高かった。しかしおのおのの対象群について比較した場合、両法の FT₃ 値の分布は必ずしも一致しているとは限らない。TBG に大きな変動のない甲状

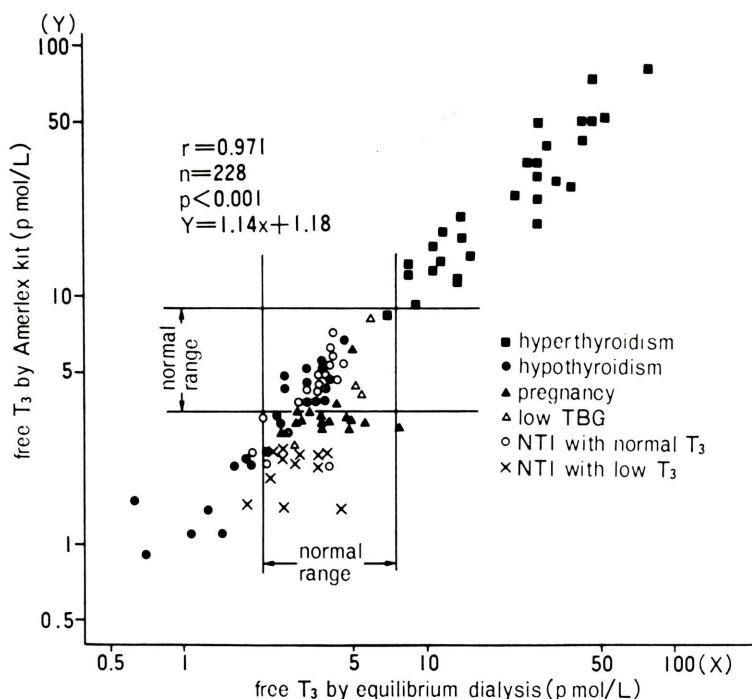


Fig. 6 Correlation between serum FT₃ concentration by equilibrium dialysis method and by Amerlex FT₃ RIA kit.

Table 3 The percentages of patients with hyper- and hypothyroidism whose free T₃ values lie outside the normal ranges

| | Hyperthyroidism | | Hypothyroidism | | Normal range (p mol/l) |
|---------------------------------|--|---------------------|---------------------------------|---|---------------------------|
| | High T ₄ and T ₃ | High T ₃ | Low T ₄ and high TSH | Normal T ₄ and T ₃ , and high TSH | |
| (n) | (20) | (13) | (17) | (8) | |
| Amerlex FT ₃ RIA kit | 100 | 100 | 53 | 0 | 3.5-9.1 |
| Equilibrium dialysis | 100 | 100 | 76 | 0 | 2.1-7.2 |

腺機能異常および甲状腺機能亢進症を伴った妊婦では両測定法による FT₃ 値の分布はきわめてよく一致した。したがって甲状腺機能異常の FT₃ 値を知る方法として本 kit の有用性はきわめて高いものであろう。しかるに高 TBG 血症の一つである妊婦では本 kit による FT₃ 値の約 50% は正常範囲以下に分布していた。3rd trimester の妊婦の FT₃ 値を ED 法で測定した報告は多く、いずれも正常範囲内に分布するとしている^{12,20-23}。

一方 Prince および Ramsden らの数式モデルから算出した FT₃ は、正常人に比して明らかに低いとする報告もある²⁴⁻²⁶。現在のところいずれが真の FT₃ 濃度を示すものか明らかではない。Amino らは Amerlex FT₄ RIA kit による FT₄ が 3rd trimester の妊婦で低下する理由を、本対象の低アルブミン血症にもとめている²⁷。したがって本 kit の FT₃ 低下を同じ原因で説明できるかも知れない。いずれにしても 3rd trimester の妊婦

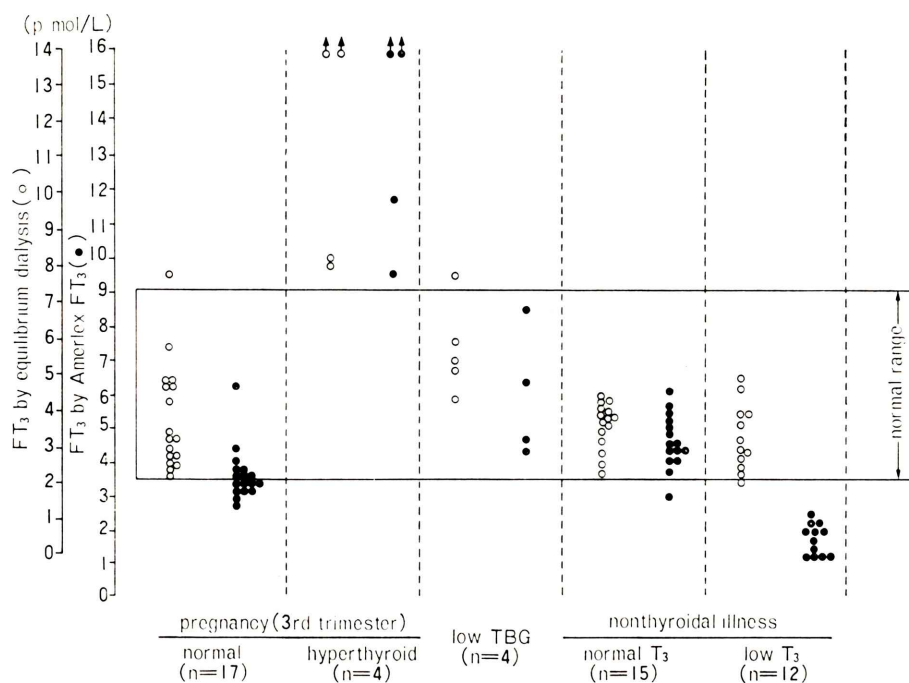


Fig. 7 A comparison of FT₃ concentration by equilibrium dialysis (○) and Amerlex FT₃ RIA kit (●) in TBG abnormalities and in non-thyroidal illnesses.

の FT₃ 値については、本 kit を用いて測定する限り独自の正常範囲を設定しなくてはならないと考えられる。

低 T₃ NTI 群の FT₃ 濃度は ED 法で測定する限り、今回の結果と同様正常あるいは正常以下に分布するとする報告が多い²⁸⁾。これは T₃ が正常以下であるのに対し、%FT₃ が正常あるいは正常以上に分布していることによる。筆者らは先に低 T₃ NTI 群以外では %T₃ と T₃ uptake ratio は比例して変動し、両者の比はほぼ一定であるが、低 T₃ NTI 群では %FT₃ の方が T₃ uptake ratio にくらべてより高くなることを報告した²⁹⁾。この結果は先に Oppenheimer らが報告した inhibitory ratio の変動に一致するもので、低 T₃ NTI 群では T₃ と血清蛋白との結合を阻害する物質の存在を想定することによって説明されている^{30,31)}。一方本 kit で得たこの群の FT₃ は全例正常以下に分布していた。これは T₃ 誘導体と抗体との結合がより促進された結果であると考えられる。同様

の現象は Amerlex free T₄ RIA kit によってこの群の FT₄ を測定した場合にもみられ、Stockigt らは低親和性、高容量の血清中の T₄ 結合蛋白の変動により、T₄ 誘導体と抗体の結合が影響を受けた結果であろうと説明している³²⁾。同様の説明は FT₃ についても可能かも知れない。また前述の阻害物質は、T₃ 誘導体と結合蛋白との間では、その効果は発現されないのかも知れない。Wilkins らによると遊離脂肪酸は ED 法による FT₄ 測定値を上昇させ、アルブミンと T₄ との結合阻害物質として作用するが、T₄ 誘導体を用いた FT₄ 測定系では影響を与えないとしている¹⁴⁾。いずれにしても同様な現象が FT₃ においても認められる可能性があり、これが ED 法と RIA 法による低 T₃ NTI 群での FT₃ 値の相異の理由になるのかも知れない。現在までのところ、FT₃ の基準値を ED 法で求める以外に適当な方法が見い出されておらず、したがってこの群の euthyroidism を正しく診断するためには、本 kit の FT₃ 値のみでは

不十分であり、他の方法、例えば TSH の測定などにより総合的に判断されなくてはならないであろう。

終わりに Amerlex FT₃ RIA kit の提供をいただいた Amersham 薬品 K.K. に感謝致します。

文 献

- Robbins J, Rall JE: Proteins associated with the thyroid hormones. *Physiol Rev* **40**: 415-489, 1960
- Ekins R, Edwards P, Newman B: The role of binding-proteins in hormone delivery. A Albertini and RP Ekins eds. *Free hormones in blood*, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, New York, Oxford, 1982, pp 3-26
- Nauman JA, Nauman A, Werner SC: Total and free triiodothyronine in human serum. *J Clin Invest* **46**: 1346-1355, 1967
- Snyder SW, Cavalieri RR, Ingbar SH: Simultaneous measurement of percentage free thyroxine and triiodothyronine: comparison of equilibrium dialysis and Sephadex chromatography. *J Nucl Med* **17**: 660-664, 1976
- 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
- Larsen PR: Salicylate-induced increase in free triiodothyronine in human serum. *J Clin Invest* **51**: 1125-1134, 1972
- 今野則道: Free triiodothyronine index について. *日内分泌誌* **50**: 711-718, 1974
- Sawin CT, Chopra D, Albano J, et al: The free triiodothyronine index. *Ann Intern Med* **88**: 474-477, 1978
- 田口英雄, 萩原康司, 今野則道: 血中 free triiodothyronine の間接的指標としての free T₃ index および T₃: TBG 比の有用性の比較検討. *核医学* **20**: 775-783, 1983
- Konno N, Morikawa K: Seasonal variation of serum thyrotropin concentration and thyrotropin response to thyrotropin-releasing hormone in patients with primary hypothyroidism on constant replacement dosage of thyroxine. *J Clin Endocrinol Metab* **54**: 1118-1124, 1982
- Sterling K, Brenner MA: Free thyroxine in human serum: simplified measurement with the aid of magnesium precipitation. *J Clin Invest* **45**: 153-163, 1966
- 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**: 497-501, 1974
- Oppenheimer JH, Squef R, Surks MI: Binding of thyroxine by serum proteins evaluated by equilibrium dialysis and electrophoretic techniques. Alterations in nonthyroidal illness. *J Clin Invest* **42**: 1769-1782, 1963
- Wilkins TA, Midgley JEM, Giles AF, et al: Recent developments with the structurally modified ligand tracer free hormone assay method. Albertini A and Ekins RP eds. *Free hormones in blood*. Elsevier biomedical press, Amsterdam, New York, Oxford. 1982, pp 129-138
- Midgley JEM: personal communication.
- Ekins RP: Methods for the measurement of free thyroid hormones. Ekins R, Faglia G, Pennisi F, Pinchera A. eds. *Free thyroid hormones*. Excerpta medica, Amsterdam, 1979, pp 72-92
- Pedersen KO: Simultaneous determination of the free thyroxine and triiodothyronine fractions in serum. *Scand J Clin Lab Invest* **35**: 242-246, 1975
- Bacci V, Schussler GC, Kaplan TB: The relationship between serum triiodothyronine and thyrotropin during systemic illness. *J Clin Endocrinol Metab* **54**: 1229-1235, 1982
- Smals AGH, Ross AH, Kloppenborg PWC: Dichotomy between serum free triiodothyronine and free thyroxine concentrations in familial thyroxine-binding globulin deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* **53**: 917-922, 1981
- Parslow ME, Oddie TH, Fisher DA: Evaluation of serum triiodothyronine and adjusted triiodothyronine (free triiodothyronine index) in pregnancy. *Clin Chem* **23**: 490-492, 1977
- Osathanondh R, Tulchinsky D, Chopra IJ: Total and free thyroxine and triiodothyronine in normal and complicated pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* **42**: 98-104, 1976
- Baldet L, Jaffiol C: Clinical implication of the measurement of free thyroid hormones in thyroid disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* **13**: 393-400, 1980
- Yamamoto T, Amino N, Tanizawa O, et al: Longitudinal study of serum thyroid hormones, chorionic gonadotrophin, during and after normal pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf)* **10**: 459-463, 1979
- Princé HP, Ramsden DB: A new theoretical description of the binding of thyroid hormones by serum proteins. *Clin Endocrinol (Oxf)* **7**: 307-324, 1977
- Fresco G, Curti G, Biggi A, et al: Comparison of calculated and measured free thyroid hormones in serum in health and in abnormal states. *Clin Chem* **28**: 1325-1329, 1982
- Franklyn JA, Sheppard MC, Ramsden DB, et al:

- Free triiodothyronine and free thyroxine in sera of pregnant women and subjects with congenitally increased or decreased thyroxine-binding globulin. Clin Chem 29: 1527-1530, 1983
- 27) Amino N, Nishi K, Nakatani K, et al: Effect of albumin concentration on the assay of serum free thyroxine by equilibrium radioimmunoassay with labeled thyroxine analog (Amerlex free T₄). Clin Chem 29: 321-325, 1983
- 28) Wartofsky L, Burman KD: Alterations in thyroid function in patients with systemic illness: the "euthyroid sick syndrome". Endocr Rev 3: 164-217, 1982
- 29) Konno N, Nakazato T, Hagiwara H, et al: A comparison of measurements of serum free T₃ concentration by equilibrium dialysis, free T₃ index, and T₃: TBG ratio in thyroidal and non-thyroidal illnesses. Acta Endocrinol (Copenh) 103: 501-508, 1983
- 30) Oppenheimer JH, Schwartz HL, Mariash CN, et al: Evidence for a factor in the sera of patients with nonthyroidal disease which inhibits iodothyronine binding by solid matrices, serum proteins, and rat hepatocytes. J Clin Endocrinol Metab 54: 757-766, 1982
- 31) Chopra IJ, Solomon DH, Chua Teco GN, et al: An inhibitor of the binding of thyroid hormones to serum proteins is present in extra-thyroidal tissues. Science 215: 407-409, 1982
- 32) Stockigt JR, De Garis M, Cricsmann J, et al: Limitation of a new free thyroxine assay (Amerlex free T₄). Clin Endocrinol (Oxf) 15: 313-318, 1981

Summary

A Comparison of the Measurements of Serum Free Triiodothyronine Concentration by Amerlex Free T₃ RIA Kit and by Equilibrium Dialysis Method

Norimichi KONNO*, Hiroshi KON*, Kohji HAGIWARA** and Hideo TAGUCHI**

**Department of Internal Medicine, and **Radiology, Hokkaido Central Hospital for Social Health Insurance, Nakanoshima, Sapporo, 062, Japan*

We have assessed a new method of free T₃ measurement (Amerlex FT₃ RIA kit) and the results obtained were compared with those by equilibrium dialysis method (ED). This method uses a T₃-labeled analogue, said to be unreactive with T₃-binding proteins in serum, together with an antibody that binds both the analogue and T₃. FT₃ is assessed by competitive binding of free T₃ and the analogue to the antibody binding sites. FT₃ was measured in 125 healthy subjects, 33 patients with hyperthyroidism, 25 patients with hypothyroidism, 17 women in the 3rd trimester of pregnancy, 4 pregnant women with hyperthyroidism, 4 subjects with low thyroxine-binding globulin (TBG), and 27 patients with non-thyroidal illnesses (NTI). Inter- and intraassay precisions (CV) for both RIA and ED methods were less than 9% at three different FT₃ levels. Serum FT₃ fraction was unchanged for both methods when serum was diluted or enriched with different concentration

of T₃, indicating that FT₃ levels can be measured in the diluted sera when FT₃ is expected to be higher than the upper limit of RIA standard curve. The normal ranges were 3.5-9.1 p mol/l for RIA, and 2.1-7.2 p mol/l for ED. There was an excellent correlation between FT₃ by RIA and ED ($r=0.971$, $n=228$, $p<0.001$). The RIA method gave the expected FT₃ levels in hyper- and hypothyroidism, in low TBG, and in NTI with normal serum T₃ concentration. However, FT₃ by RIA ranged from normal to subnormal in pregnancy and in NTI with low T₃ where FT₃ by ED were essentially within the normal range. These results indicate that FT₃ by Amerlex kit is a rapid and reliable method for quantifying the FT₃ levels in hyper- and hypothyroidism, but the FT₃ by RIA tends to be lower than that by ED in pregnancy and in NTI with low T₃ concentration in serum.

Key words: Free T₃, RIA, Equilibrium dialysis, Diagnostic aids.