

## 《原 著》

## 低蛋白血症における free T<sub>4</sub> RIA 測定値 の信頼性に関する検討

松村 要\* 中川 肇\* 信田 憲行\*\* 服部 孝雄\*

奥田 康之\* 田口 光雄\* 山口 信夫\*

**要旨** 血清蛋白に変動のある症例における free T<sub>4</sub> RIA 測定値の信頼性を検討するため、4種の RIA キット [GammaCoat 2-step 法 (GC-2), LiquiSol (LS), Amerlex (AM), GammaCoat 1-step 法 (GC-1)] を用いて、低蛋白、低アルブミン血症の老人19人の血中 free T<sub>4</sub> 値を測定した。透析法による free T<sub>4</sub> 値は正常域に分布し、これらが正常甲状腺機能であることを示した。LS による free T<sub>4</sub> 値は TBG 低下群のみ著しく有意の低値 ( $p < 0.001$ ) となり、TBG 濃度の測定値への影響が疑われ、AM と GC-1 は、TEG 正常群、低下群ともに有意の低値 ( $p < 0.01 \sim 0.001$ ) となり、アルブミン濃度の測定値への影響が疑われた。LS, AM, GC-1 では検体量を減少させると  $B/B_0$  は増加し、同様の変化がホルモンフリー血清でも見られ、低蛋白血症血清に TBG, アルブミンを添加して正常濃度とすると、free T<sub>4</sub> 値も正常域に復したことから、TBG, アルブミンとトレーサーの結合反応が測定値に影響すると考えた。しかし、GC-2 はこのような変動が見られず、測定値も正常域に分布し、透析法による値と良好な相関を示した ( $r = 0.80, p < 0.001$ )。

### I. 緒 言

血中遊離型サイロキシン (free T<sub>4</sub>) は末梢代謝に関与する活性型ホルモンであると考えられ、その甲状腺機能診断上の価値については多くの研究で確認されている<sup>1~5)</sup>。最近、種々の free T<sub>4</sub> 測定用 RIA キットが開発され、従来の平衡透析法<sup>3,4)</sup>、限外濾過法<sup>5)</sup>等に比して、短時間で容易に測定することが可能となり、free T<sub>4</sub> が日常検査で測定されるようになった。

われわれは、すでに数種のキットについて検討を行い、種々の疾患、状態についてほぼ満足すべき成績を得ている<sup>6~9)</sup>が、甲状腺疾患以外の重症疾患等の一部の症例では必ずしも甲状腺機能を正確に反映した値が得られないという成績を得てい

る。諸家の free T<sub>4</sub> RIA キットの検討においても、いわゆる nonthyroidal illness、特に血清蛋白濃度の異常を伴う場合に、その測定値の評価に議論の余地があるとする報告が多い<sup>10~14)</sup>が、その原因については十分に検討されていない。この点について検討するため、低蛋白血症を伴った老人を対象として、4種の free T<sub>4</sub> 測定用 RIA キット、すなわち、GammaCoat 2-step 法 (GC-2), LiquiSol (LS), Amerlex (AM), Gamma Coat 1-step 法 (GC-1) にて測定した free T<sub>4</sub> 値を透析法による測定値と比較して検討した。

### II. 実験方法ならびに対象

対象は、62歳~90歳(平均78歳)の老人で、男性8例、女性11例の計19例であり、脳血管障害等にて入院している、いわゆる寝たきり老人である。これらの SMAC による血清総蛋白濃度は 5.03 ± 0.66 g/dl (mean ± S.D.) と、全例が正常域 6.5~8.0 g/dl 以下に分布し、血清アルブミン濃度は 2.29 ± 0.68 g/dl と、1例 (3.6 g/dl) を除き全例が正常域 3.5~5.0 g/dl 以下に分布した。その他の血液生化

\* 三重大学医学部放射線科

\*\* 同 附属病院中央放射線部

受付：58年3月7日

最終稿受付：60年1月25日

別刷請求先：三重県津市江戸橋2-174 (番514)

三重大学医学部放射線科

松 村 要

学所見では、BUN、クレアチニンの軽度上昇を認めた者2例を含むが、明らかな肝硬変症、腎不全は含まれていない。

甲状腺機能の指標として、total T<sub>4</sub>をGamma-Coat T<sub>4</sub>キット、T<sub>3</sub>をT<sub>3</sub>RIAキットII、reverse T<sub>3</sub>をリバースT<sub>3</sub>キット、TBGをRIAgost TBGキット、T<sub>3</sub>摂取率をRes-O-Mat T<sub>3</sub>キット、TSHをTSH第一キットにより測定した。平衡透析法によるpercent free T<sub>4</sub>をSterling法<sup>3)</sup>の変法を用いて測定した<sup>2,6,15)</sup>。

透析法によるfree T<sub>4</sub>濃度は、上記のpercent free T<sub>4</sub>値にGammaCoat T<sub>4</sub>値を乗じて求めた。RIAによるfree T<sub>4</sub>濃度は、GC-1, GC-2(Clinical Assays), LS(CIS), AM(Amersham)の4種のキットを用いて測定した。

各種甲状腺機能検査、およびfree T<sub>4</sub>の正常値は、三重大学職員29名より得、mean±2 S.D.を正常域とした。各測定は2重測定法を用い、カウントはアロカ社ウェル型カウンターを用いた。

### III. 結 果

#### 1. 各種甲状腺機能の指標

対象とした19例の各種甲状腺機能の指標をFig. 1に示す。T<sub>4</sub>値低下の明らかな症例を区別して検討するため、T<sub>4</sub>値が6.0 μg/dl以下の症例8例(A群)を黒丸、6.0 μg/dl以上の症例11例(B群)を白丸で表示した。

T<sub>4</sub>値は2.2 μg/dlより10.3 μg/dlまで広く分布した。このうちA群は4.4±1.5 μg/dl、B群は8.0±1.3 μg/dlにそれぞれ分布し、正常値8.5±1.0 μg/dlに比して、A群は有意の低値( $p<0.001$ )を示した。T<sub>3</sub>値は10 ng/dlより95 ng/dlに分布した。このうちA群は24±13 ng/dl、B群は68±17 ng/dlに分布し、両群間には有意の差( $p<0.001$ )が認められたが、両群とも正常値101±17.6 ng/dlに比して、有意の低値(ともに $p<0.001$ )となった。Reverse T<sub>3</sub>値は、A群は53.4±19.3 ng/dl、B群は49.8±30.6 ng/dlと、ともに正常域から高値域

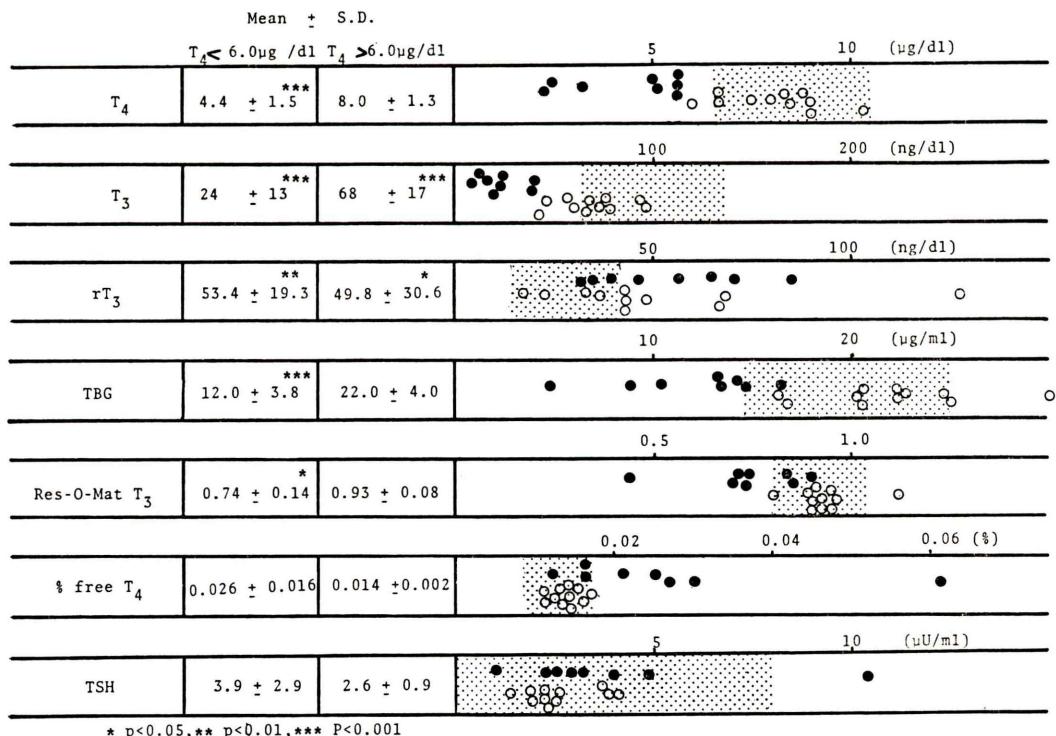
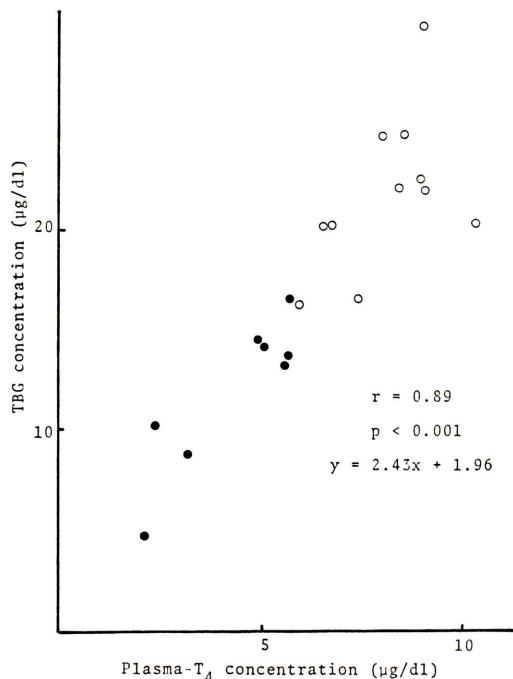


Fig. 1 Thyroid function tests in patients with low serum protein levels.

に分布し、正常値  $27.9 \pm 6.9$  ng/dl に比して有意の高値（それぞれ  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ）を示した。

TBG 値は  $4.8 \mu\text{g}/\text{ml}$  の低値より、 $30.5 \mu\text{g}/\text{ml}$  の高値にまで分布し、A 群は  $12.0 \pm 3.8 \mu\text{g}/\text{ml}$  に分布し、正常値  $19.8 \pm 2.6 \mu\text{g}/\text{ml}$  に比して有意の低値 ( $p < 0.001$ ) を示したのに対して、B 群は  $22.0$



**Fig. 2** Correlation between TBG concentration and total T<sub>4</sub> concentration.

$\pm 4.0 \mu\text{g/dl}$  に分布し、正常値との間に有意差を認めなかった。Res-O-Mat T<sub>3</sub> 値は、A 群は  $0.74 \pm 0.14$  に分布し、正常値  $0.93 \pm 0.06$  に比して有意の低値 ( $p < 0.05$ ) を示したのに対して、B 群は  $0.93 \pm 0.08$  に分布し、正常値との間に有意差を認めなかった。percent free T<sub>4</sub> 値は、A 群は  $0.026 \pm 0.016\%$  と正常域から高値域まで広く分布し、B 群は  $0.014 \pm 0.002\%$  とほぼ正常域に分布した。両群とも正常値  $0.014 \pm 0.003\%$  との間に有意差は認めなかった。

TSH は、1 例が  $10.4 \mu\text{U}/\text{ml}$  と軽度ながら高値を示したが、他は  $8 \mu\text{U}/\text{ml}$  以下の正常域に分布した。

Figure 2 に  $T_4$  値と TBG 値の関係を示す。相関係数  $r=0.885$  と良好な相関を示し、回帰直線は  $Y=0.412X-0.807$  となり、ほぼ原点を通る直線関係が示された。

## 2. 各種測定法による free T<sub>4</sub> 値

平衡透析法および各種 RIA キットにより測定した free T<sub>4</sub> 値の成績を Fig. 3 に示す。Fig. 1 と同様、T<sub>4</sub> 値が 6.0 μg/dl 以下の症例を黒丸 (A 群)、6.0 μg/dl 以上の症例を白丸 (B 群) で表示した。

平衡透析法による free T<sub>4</sub> 値は、A 群が 0.99±0.30 ng/dl, B 群が 1.10±0.21 ng/dl に分布し、ともに正常値 1.11±0.20 ng/dl との間に有意差を認めなかつた。TSH が軽度高値を示した 1 例は、0.65 ng/dl とやや低値を示し、軽度の甲状腺機能

	Mean $\pm$ S.D.		(ng/dl)
	$T_4 < 6.0 \mu\text{g}/\text{dl}$	$T_4 > 6.0 \mu\text{g}/\text{dl}$	
Dialysis	$0.99 \pm 0.30$	$1.10 \pm 0.21$	
GammaCoat 2-step	$1.47 \pm 0.41$	$1.65 \pm 0.20$	
LiquiSol	$1.24 \pm 0.20^{***}$	$1.70 \pm 0.21$	
Amerlex	$0.64 \pm 0.20^{***}$	$0.93 \pm 0.15^{**}$	
GammaCoat 1-step	$0.36 \pm 0.25^{***}$	$0.81 \pm 0.19^{***}$	

\*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$

**Fig. 3** Free T<sub>4</sub> concentration as measured by equilibrium dialysis and RIA kits.

低下が疑われたが、他は正常域内に広く分布し、正常甲状腺機能であることを示した。

GC-2では、A群が $1.47 \pm 0.21 \text{ ng/dl}$ 、B群が $1.65 \pm 0.20 \text{ ng/dl}$ に分布し、ともに正常値 $1.69 \pm 0.34 \text{ ng/dl}$ との間に有意差を認めず、TSHが高値を示した1例が $0.88 \text{ ng/dl}$ と軽度低値を示した他は、正常域に広く分布した。

LSでは、A群が $1.24 \pm 2.20 \text{ ng/dl}$ に分布し、正常値 $1.73 \pm 0.26 \text{ ng/dl}$ に比して著しく有意の低値( $p < 0.001$ )を示し、3例が正常域以下に分布した。しかし、B群は $1.70 \pm 0.21 \text{ ng/dl}$ に分布し、正常値との間に有意差を認めず、全例が正常域に分布した。

AMでは、A群が $0.64 \pm 0.20 \text{ ng/dl}$ に分布し、正常値 $1.18 \pm 0.20 \text{ ng/dl}$ に比して著しく有意の低値( $p < 0.001$ )となり、8例中5例が正常域以下に分布した。また、B群は $0.93 \pm 0.15 \text{ ng/dl}$ に分布し、A群に比し有意( $p < 0.01$ )の高値を示したが、正常値に比して有意の低値( $p < 0.01$ )となり、11例中2例が正常域以下に分布した。

GC-1では、A群が $0.36 \pm 0.25 \text{ ng/dl}$ に分布し、正常値 $1.58 \pm 0.25 \text{ ng/dl}$ に比して著しく有意の低値( $p < 0.001$ )となり、全例が正常域以下に分布

した。また、B群は $0.81 \pm 0.19 \text{ ng/dl}$ に分布し、A群に比し有意の高値( $p < 0.001$ )を示したが、正常値に比して著しく有意の低値( $p < 0.001$ )となり、1例を除く全例が正常域以下に分布した。

### 3. RIAによるfree T<sub>4</sub>値に及ぼす検体量の影響

各種free T<sub>4</sub> RIAキットを用いて、ホルモンフリー血清、正常血清、低蛋白血清の3種の血清の検体量をそれぞれ変化させて測定し、B/B<sub>0</sub>への影響を検討した。

GC-2では、Fig. 4に示すごとく、いずれの血清においても検体量の変動によるB/B<sub>0</sub>の変動はほとんど見られなかった。LSでは、いずれの血清においても検体量を原法の $25 \mu\text{l}$ から $10 \mu\text{l}$ 、 $5 \mu\text{l}$ と減少させると、B/B<sub>0</sub>は軽度増加したが、 $50 \mu\text{l}$ 、 $100 \mu\text{l}$ と増加させてもB/B<sub>0</sub>に大きな変化を認めなかった。

AMでは、Fig. 5に示すごとく、ホルモンフリー血清、正常血清、低蛋白血清のいずれでも検体量を $200 \mu\text{l}$ 、 $100 \mu\text{l}$ (原法)、 $50 \mu\text{l}$ と減少させるに従い、B/B<sub>0</sub>は著明に増加した。低蛋白血清 $100 \mu\text{l}$ に $4\%$ ヒト血清アルブミン(HSA)を $25 \mu\text{l}$ 、 $50 \mu\text{l}$ 、 $100 \mu\text{l}$ と加えてB/B<sub>0</sub>を測定した結果、添

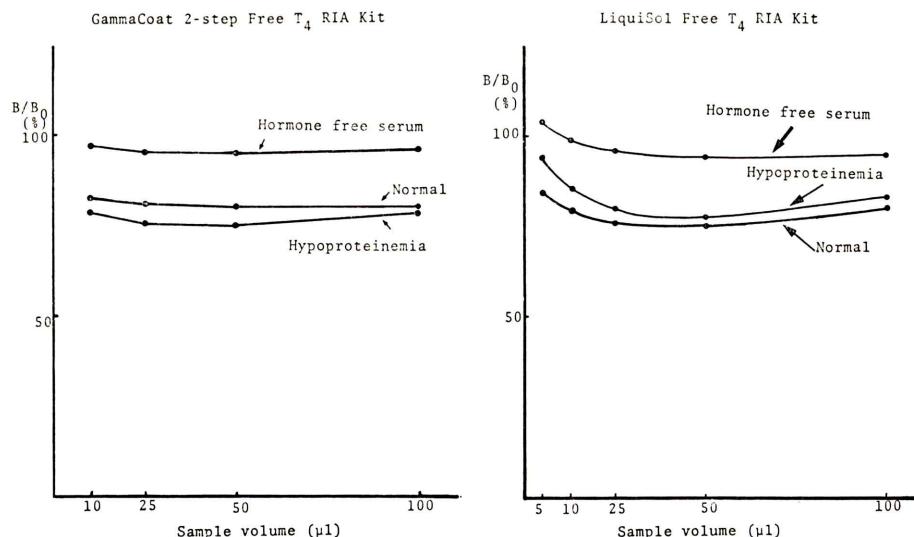


Fig. 4 Effect of a sample volume on the value for free T<sub>4</sub> (expressed as B/B<sub>0</sub>) estimated in the GammaCoat 2-step method and LiquiSol free T<sub>4</sub> RIA kits.

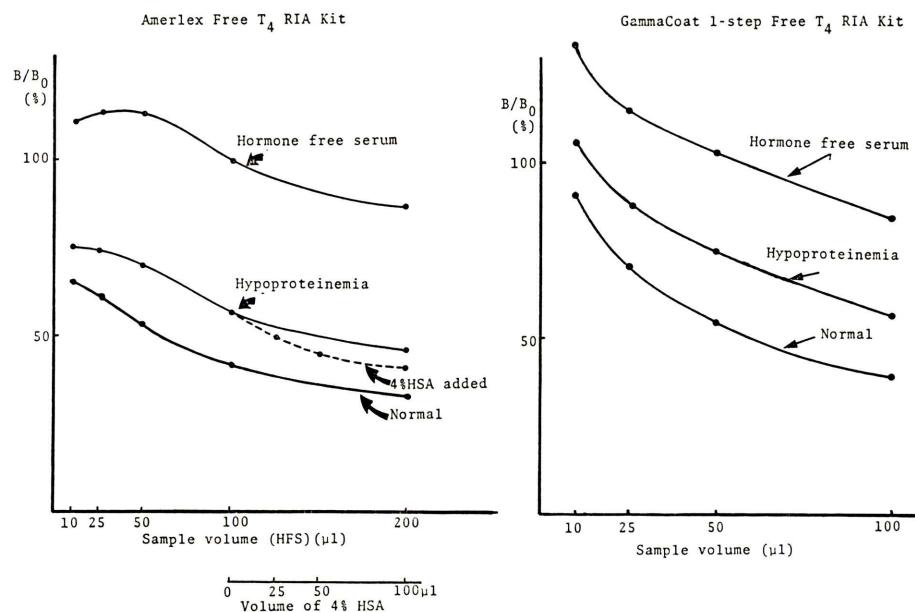


Fig. 5 Effect of a sample volume of the value for free T<sub>4</sub> (expressed as B/B<sub>0</sub>) estimated in Amerlex and in the GammaCoat 1-step method free T<sub>4</sub> RIA kits.

Method	No. of cases	Added protein	Mean $\pm$ S.D.		Free T <sub>4</sub> concentration 1.0 ng/dl 2.0 ng/dl	p value
			Original serum (●)	Protein added serum (○)		
GammaCoat 2-step	5	TBG	1.33 $\pm$ 0.49	1.40 $\pm$ 0.36		N.S.
LiquiSol	5	TBG	1.15 $\pm$ 0.21	1.39 $\pm$ 0.18		p<0.05
GammaCoat 2-step	7	Albumin	1.46 $\pm$ 0.19	1.50 $\pm$ 0.15		N.S.
Amerlex	7	Albumin	0.77 $\pm$ 0.18	1.49 $\pm$ 0.28		p<0.001
GammaCoat 1-step	7	Albumin	0.76 $\pm$ 0.18	2.05 $\pm$ 0.20		p<0.001

Fig. 6 Effect of correction of the serum TBG and albumin concentrations on free T<sub>4</sub> values in sera with markedly decreased concentrations of the respective proteins.

加する HSA を増加させるに従って  $B/B_0$  はさらに低下した(点線で示す)。

GC-1においても同様にいずれの血清を用いても検体量を  $100 \mu\text{l}$ ,  $50 \mu\text{l}$ (原法),  $25 \mu\text{l}$ と減少させるに従って  $B/B_0$  は明らかに増加する傾向が見られ、その程度は最も高度であった。

#### 4. RIA による free T<sub>4</sub> 測定値に及ぼす血清蛋白濃度補正の影響

検体中、特に TBG 濃度低下の著しい血清5例に TBG (RIAgnost TBG キットの標準血清) を加え、TBG 濃度が  $20 \mu\text{g}/\text{ml}$  になるように補正し、また、アルブミン濃度低下の著しい症例7例に 8%アルブミンを加え、アルブミン濃度が  $4 \text{ g}/\text{dl}$  になるように補正した。これら検体の補正前(原血清)、補正後の試料を各 free T<sub>4</sub> RIA により同一アッセイ内で測定した結果を Fig. 6 に示す。補正前の測定値を黒丸、同一血清の補正後の測定値をその右、または左に対応させて白丸で示す。

GC-2では TBG およびアルブミンによる補正前後で測定値に大きな変動を認めず、paired t-test にて有意差を認めなかった。LS では TBG 濃度補正により測定値は有意の増加( $p<0.05$ )を認め、

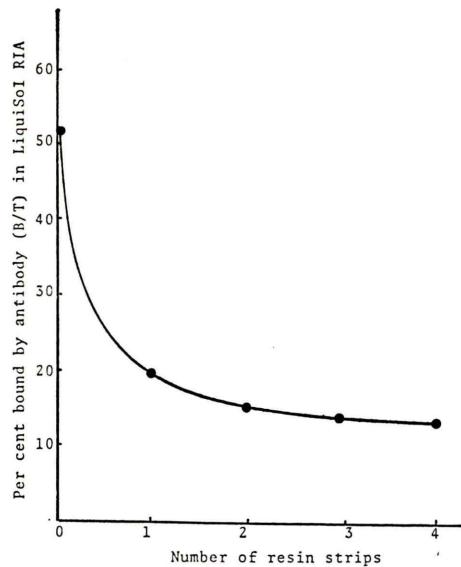


Fig. 7 Percent bound by the antibody (B/T) as function of a number of resin strips added into the assay tube in LiquiSol RIA.

補正後では5例とも正常範囲に分布した。AM および GC-1 では、アルブミン濃度補正によりそれぞれ free T<sub>4</sub> 値は著しく有意に増加し(それぞれ  $p<0.001$ )、正常域、または、やや高値に分布した。

#### 5. LS のマイクロカプセル内トレーサーに及ぼすトレーサー結合物質の影響

LS のマイクロカプセル懸濁液  $500 \mu\text{l}$  に Res-O-Mat T<sub>3</sub> 測定用レジンストリップを 1, 2, 3, 4 枚と加え、90分インキュベーション後、レジンストリップを除去し、マイクロカプセルを遠沈、デカントして B/T を求めた。その結果、Fig. 7 に示すごとく、レジンストリップの枚数の増加に従って B/T は減少したが、その変動率はレジンストリップの枚数の増加に従って減少した。

#### IV. 考案

從来から平衡透析法<sup>3,4)</sup>などで確認されている free T<sub>4</sub> 測定の一般的な価値の一つは、T<sub>4</sub> 濃度に比して、機能異常の程度がより高感度に示されることである。これは T<sub>4</sub> 濃度と不飽和 TBG の両者の変動が関与するためで、軽症の機能異常が正常域と重なり合うことなく鑑別され、治療経過の観察にも有利である。他の価値として、T<sub>4</sub> 濃度が血中 T<sub>4</sub> 結合蛋白濃度の影響を受けるのに対し、free T<sub>4</sub> はこの影響を受けず、診断が容易、かつ、正確となることが挙げられる。われわれは現在までに数種のキットについて検討した結果、前者の価値については平衡透析法ともよく相關し、良好な結果を得たが、後者の価値については測定法により必ずしも満足した結果が得られなかつたので<sup>6~9)</sup>、本研究ではその原因を明らかにすることを目的とした。

対象として低蛋白、低アルブミン血症の老人を用いた。肝、腎疾患、悪性腫瘍等の重症患者では血中に binding inhibitor を有するものがあり、そのため、free T<sub>4</sub> 値は平衡透析法によても高値となるものが報告され<sup>16~18)</sup>、われわれも肝疾患で数例経験している。本研究は free T<sub>4</sub> 測定法の検討を目的としたので、これら inhibitor の存在

する可能性のある疾患を除き、単に血清蛋白の変動を伴う症例を対象とした。

これら対象例の一部では、T<sub>4</sub> および TBG の濃度、Res-O-Mat T<sub>3</sub> 値が低下し、percent free T<sub>4</sub> が増加した。TBG と T<sub>4</sub> 濃度との良好な相関関係 ( $r=0.89$ ) から上記変動は TBG の変動に伴うものと推察された。また、T<sub>3</sub> 濃度は有意の低値、reverse T<sub>3</sub> 濃度は有意の高値を示したが、この変動は高齢者、低蛋白血症における末梢での T<sub>4</sub> の conversion の障害<sup>19~21)</sup> によると推察される。TSH は 1 例において軽度の高値を示した他は正常域に分布し、平衡透析法による free T<sub>4</sub> の測定値もこの 1 例が軽度低値を示した他は正常域に分布した。また、臨床的観点からも明らかな甲状腺機能低下を示すものはなかったことから、対象としたこれらの症例はおおむね正常甲状腺機能であると考えられた。TSH が高値を示した 1 例については軽度甲状腺機能低下の可能性があるが、老人では正常甲状腺機能でも TSH が軽度増加する例が見られるという報告<sup>22)</sup> もあり、この点は明らかではない。

用いた 4 種の free T<sub>4</sub> 測定キットによる測定値の検討に次の方法を用いた。すなわち、1) 平衡透析法による測定値との相関関係を求める。2) 臨床成績から、その影響が推察される TBG、アルブミン濃度と各キットによる free T<sub>4</sub> 測定値との関係を検討する。3) TBG、アルブミンの減少した例に TBG、アルブミンを添加して正常域にした場合に free T<sub>4</sub> 値が正常域に復するか否かを検討する。4) 檢体量を変動させた場合の free T<sub>4</sub> 測定値への影響を観察する等である。

上記検討法のうち、4) の検体量を変動させて検討した理由は以下のとおりである。T<sub>4</sub> と TBG との結合反応は質量作用の法則に従った可逆反応であることが種々の検討から明らかにされており<sup>1,2)</sup>、その結果から、free T<sub>4</sub> 濃度は T<sub>4</sub> 濃度に比例し、不飽和の T<sub>4</sub> 結合蛋白、特に不飽和 TBG 濃度に逆比例することが示されている。すなわち、free T<sub>4</sub> は両者の比によって決定される。検体量を変動させると測定チューブ内の T<sub>4</sub> 濃度、不飽

和結合蛋白濃度は平行して変動するため、free T<sub>4</sub> 濃度は一定のはずである。平衡透析法によって検討した結果、検体をある程度まで希釈しても free T<sub>4</sub> 値は一定値を示した<sup>23)</sup>。したがって、本検討方法を満足させることは、free T<sub>4</sub> が正しく測定されるための必要条件と考えられる。この検体量変動の検討に際してホルモンフリー血清についても検討したのは、もし抗体のトレーサー結合率 ( $B/B_0$  で検討) が検体量の変動によって変動すれば、ホルモンとは無関係にトレーサーと血清蛋白との何らかの結合反応が free T<sub>4</sub> 測定値に影響していると判定されるからである。

GC-2 では対象とした低蛋白血清で平衡透析法と最もよく相関し ( $r=0.80, p<0.001$ )、TBG、アルブミンの濃度異常にかかわらず正常域に分布し (1 例の TSH 高値を示した症例は低値)、TBG、アルブミンを添加しても有意の変動は認められなかった。検体量を変動させても  $B/B_0$  にほとんど変動が見られず、期待した条件を満たしていた。なお、添加した TBG 溶液には TBG と T<sub>4</sub> がほぼ正常の濃度の比で存在したので、この場合、検体量の変動と同様の条件と考えられた。

この GC-2 では第 1 インキュベーションで血中の free T<sub>4</sub> を抗体に結合させた後に、いったん、血清を吸引除去、洗浄し、その後、トレーサーの <sup>125</sup>I-T<sub>4</sub> を加えて free T<sub>4</sub> との競合結合反応を観察する方法を用いている。したがって、トレーサーと血清蛋白との結合反応は存在し得ない。

LS では平衡透析法との相関は低下し ( $r=0.55, p<0.02$ )、この原因として TBG 濃度の影響が推察された。すなわち、T<sub>4</sub>、TBG 低下群で free T<sub>4</sub> は有意の低値となり、TBG 濃度と free T<sub>4</sub> 濃度との間に有意の正相関 ( $r=0.64, p<0.01$ ) が認められ、TBG 減少例に TBG を添加して正常濃度とすると free T<sub>4</sub> も正常値に復したこと等である。本法ではアルブミン濃度と free T<sub>4</sub> 値との間には有意の相関を認めなかった。検体量を変動させると原法の 25  $\mu$ l 以下では軽度ながら  $B/B_0$  は増加し、測定値の低下が認められた。この場合、ホルモンフリー血清の値も変動していることから、血清蛋

白とトレーサーとの結合の影響が最も強く疑われた。

LS では  $^{125}\text{I-T}_4$  をトレーザーとし、これを抗  $\text{T}_4$  抗体に結合させて透析膜のマイクロカプセル中に封入したものが用いられている。検体中の free  $\text{T}_4$  が透析膜を通過して抗体からトレーザーを displace する状態を観察する測定原理であるが、この際、Fig. 7 に示すように反応液中に何らかの結合物質が存在すると、free  $\text{T}_4$  により displace されたり、あるいは、本来微量に存在する遊離のトレーザーを結合するため、さらにトレーザーの遊出が促進されるという状態が起こると推察される。これはちょうど透析に際し、透析外液を増加したり、たびたび交換して透析を促進させる状態に似ていると思われる。検体中には不飽和 TBG が存在するため、トレーザーの  $^{125}\text{I-T}_4$  を結合することが当然考えられる。アルブミンは  $\text{T}_4$  との親和性が低いので主たる結合物質とはなり得ない。以上から、TBG 濃度が free  $\text{T}_4$  値に影響する理由が説明されるが、Fig. 3 の臨床データ、Fig. 4 の検体量の変動の成績から見て、その影響の程度は軽く、高度の TBG の変動ではじめて軽度の影響があるものと思われた。

AM および GC-1 では平衡透析法による測定値との相関はそれぞれ  $r=0.57$  ( $p<0.02$ )、 $r=0.35$  と低下し、後者では有意の相関は見られなかった。臨床データでは、TBG 濃度のいかんによらず有意の低値を示し、AM では free  $\text{T}_4$  値とアルブミン濃度との間に  $r=0.52$  ( $p<0.05$ )、GC-1 では  $r=0.74$  ( $p<0.001$ ) と、ともに有意の相関が認められた。また、両法とも検体にアルブミンを添加して正常濃度とすると、free  $\text{T}_4$  濃度も正常域に分布した。これらの成績から血中アルブミン濃度の影響が推察された。検体量を変動させると患者血清、ホルモンフリー血清とともに著しい変動が見られ、血清蛋白とトレーザーとの結合反応の影響が推察され、その勾配から推察して血清蛋白濃度の影響は LS より著しいと思われた。

AM および GC-1 ではともに TBG には結合しないが抗  $\text{T}_4$  抗体には結合する物質 “X” がトレ

ーザーとして用いられている。この物質 “X” が free  $\text{T}_4$  と抗体の結合 site を競合するという原理が用いられ、操作的には簡便であるが、この物質は軽度ながらアルブミンと結合すると推察される。実際に信田ら<sup>9)</sup>は GC-1 における B·F 分離後の上清のトレーザーがアルブミンと結合していることを電気泳動法、カラムクロマトグラフィで証明している。

以上の成績から血清蛋白濃度、特に TBG アルブミンに著しい変動のある症例の free  $\text{T}_4$  測定に際しては、各 free  $\text{T}_4$  キットの特徴をよく知った上で測定値の判定を行うことが必要であると考えられた。

## V. まとめ

(1) GC-2, LS, AM, GC-1 の 4 種の free  $\text{T}_4$  RIA による free  $\text{T}_4$  測定値に及ぼす血清蛋白濃度の影響を検討した。

(2) 対象として低蛋白、低アルブミン血症の老人を用い、1) 平衡透析法による測定値との比較、2) 血中 TBG、アルブミン濃度と free  $\text{T}_4$  値との比較、3) 検体量変動の影響観察等の方法により検討した。

(3) GC-2 は平衡透析と最も良い相関 ( $r=0.80$ ) が見られ、血清蛋白濃度の影響は認められなかつた。LS では軽度ながら TBG 濃度の影響が認められ、AM および GC-1 では明らかなアルブミン濃度の影響が認められた。

(4) ホルモンフリー血清と並行して行った検体量変動の成績から、この原因として LS ではトレーザー ( $^{125}\text{I-T}_4$ ) と血中 TBG との結合が、AM および GC-1 ではこれらキットのトレーザー “X” とアルブミンとの結合が示唆された。GC-2 では測定原理からも実験結果からもトレーザーと血清蛋白との結合は生じないとと思われた。

## 文 献

- Robbins J, Rall JE: Proteins associated with the thyroid hormones. Physiol Revs 40: 415-489, 1960
- Hamada S, Nakagawa T, Mori T, et al: Re-evaluation of thyroxine binding and free thyroxine in

- human serum by paper electrophoresis and equilibrium dialysis, and a new free thyroxine index. *J Clin Endocrinol Metab* **31**: 166-179, 1970
- 3) Sterling K, Brenner MA: Free thyroxine in human serum: Simplified measurement with the aid of magnesium precipitation. *J Clin Invest* **45**: 153-163, 1966
- 4) Ingbar SH, Braverman LE, Damber 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**: 1679-1689, 1965
- 5) Schussler GC, Plager JE: Effect of preliminary purification of <sup>131</sup>I-thyroxine on the determination of free thyroxine in serum. *J Clin Endocrinol Metab* **27**: 242-250, 1967
- 6) 中川 肇, 信田憲行, 松村 要, 他: Radioimmunoassay による血中遊離型サイロキシンの測定——Gamma Coat Free T<sub>4</sub> kit による検討——. 核医学 **18**: 385-400, 1981
- 7) 松村 要, 中川 肇, 信田憲行, 他: Radioimmunoassay による血中遊離型サイロキシンの測定——Amerlex Free T<sub>4</sub> kit による検討——. 医学と薬学 **7**: 1789-1796, 1982
- 8) 松村 要, 中川 肇, 信田憲行, 他: Radioimmunoassay による血中遊離型サイロキシンの測定——LiquiSol Free T<sub>4</sub> kit による検討——. ホルモンと臨床 **31**: 81-89, 1983
- 9) 信田憲行, 松村 要, 中川 肇, 他: Radioimmunoassay による血中遊離型サイロキシンの測定——GammaCoat Free T<sub>4</sub> 1-Step 法 kit による検討——. 核医学 **19**: 1353, 1982
- 10) Melmed S, Geola FL, Reed AW, et al: A comparison of methods for assessing thyroid function in nonthyroid illness. *J Clin Endocrinol Metab* **54**: 300-306, 1982
- 11) 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
- 12) Wood DG, Cyrus J, Samolos E: Low T<sub>4</sub> and low FT<sub>4I</sub> in serious ill patients: Concise communication. *J Nucl Med* **21**: 432-435, 1980
- 13) Braverman LE, Abrean CM, Brock P, et al: Measurement of serum free thyroxine by RIA in various clinical states. *J Nucl Med* **21**: 233-239, 1980
- 14) Chopra IJ, Van Herle AJ, Chua Teco GN, et al: Serum free thyroxine in thyroid and nonthyroidal illness: A comparison of measurements by radioimmunoassay, equilibrium dialysis, and free thyroxine index. *J Clin Endocrinol Metab* **51**: 135-143, 1980
- 15) 中川 肇: 血中遊離型 thyroxine に関する研究(第2編). 各種疾患における血中遊離型 thyroxine 量並びにその臨床的意義に関する研究. 内科宝函 **20**: 381-396, 1973
- 16) Chopra IJ, Chua Teco GN, Nguyen AH, et al: In search of an inhibitor of thyroid hormone binding to serum proteins in nonthyroid illness. *J Clin Endocrinol Metab* **49**: 63-69, 1979
- 17) Woeber KA, Maddux BA: Thyroid hormone binding in nonthyroid illness. *Metabolism* **30**: 412-416, 1981
- 18) 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 hepatocyte. *J Clin Endocrinol Metab* **54**: 757-766, 1982
- 19) Nicod P, Burger A, Staeheli V, et al: A radioimmunoassay for 3,3',5'-triiodo-1-thyronine in unextracted serum; Method and clinical results. *J Clin Endocrinol Metab* **42**: 823-829, 1976
- 20) Chopra IJ, Chopra U, Smith SS, et al: Reciprocal changes in serum concentrations of 3,3',5'-triiodothyronine (reverse T<sub>3</sub>) and 3,3',5'-triiodothyronine (T<sub>3</sub>) in systemic illness. *J Clin Endocrinol Metab* **41**: 1043-1049, 1975
- 21) Cavalieri RR, Rapoport B: Impaired peripheral conversion of thyroxine to triiodothyronine. *Ann Rev Med* **28**: 57-65, 1977
- 22) Swain CT, Chopra D, Azizi F, et al: The aging thyroid, increased prevalence of elevated serum thyrotropin levels in the elderly. *JAMA* **242**: 247-250, 1979
- 23) 中川 肇, 松村 要, 信田憲行, 他: 各種フリーサイロキシン測定法の特徴——結合反応の比較——. ホルモンと臨床 **30**: 9-13, 1982

## Summary

### Evaluation of Free Thyroxine Radioimmunoassays for Assessing Thyroid Function in Hypoproteinemia

Kaname MATSUMURA\*, Tsuyoshi NAKAGAWA\*, Noriyuki SHINODA\*\*,  
Takao HATTORI\*, Yasuyuki OKUDA\*, Mitsuo TAGUCHI\* and Nobuo YAMAGUCHI\*

*\*Department of Radiology, Mie University Medical School*

*\*\*Central Clinical Division of Radiology, Mie University Hospital, Tsu, Mie Prefecture*

Four commercial free T<sub>4</sub> RIA kits [Gamma-Coat by the two-step method (GC-2), Gamma-Coat by the one-step method (GC-1), LiquiSol (LS) and Amerlex (AM)] were evaluated both from clinical data in hypoproteinemia and binding reactions in the assay systems in comparison with equilibrium dialysis. Sera were obtained from 19 geriatric inpatients with hypoalbuminemia due to malnutrition. These patients were divided into two groups, A in which serum total T<sub>4</sub> was less than 6 µg/dl (8 cases) and group B in which total T<sub>4</sub> was 6 µg/dl or more (11 cases).

The serum TBG concentration of group A was significantly decreased ( $p<0.001$ ) while that in group B was within normal limits. The free T<sub>4</sub> values by equilibrium dialysis were within normal limits in both groups, supporting these patients were euthyroidism.

The free T<sub>4</sub> values by GC-2 were consistently within normal limits in both groups. The free T<sub>4</sub> values by LS in group B were within normal limits while those in group A were significantly decreased ( $p<0.001$ ). There was a significant correlation between the free T<sub>4</sub> values by LS and the TBG concentrations ( $r=0.64$ ,  $p<0.01$ ). Thus the free T<sub>4</sub> value by LS RIA was considered to be affected by the TBG concentration. The free T<sub>4</sub> values by AM

were significantly decreased in both group A and B ( $p<0.001$ ,  $p<0.01$ , respectively) and those by GC-1 were also significantly decreased in both groups (both  $p<0.001$ ). There was a significant correlation between free T<sub>4</sub> values by AM and by GC-1 and the serum albumin concentrations ( $r=0.52$ ,  $p<0.05$  and  $r=0.74$ ,  $p<0.001$ , respectively). In these two methods, the free T<sub>4</sub> value was considered to be affected by the serum albumin concentration. The effect of the serum TBG and albumin concentrations in these kits was, by an experiment, further confirmed to be within normal range after correction of the protein concentrations.

The effect of a sample volume on the value for free T<sub>4</sub> was evaluated in 4 RIA kits. The value was constant in all sera in GC-2 RIA, as predicted by mass law equation, while it changed in response to a sample volume in the other 3 RIA kits. From the fact that the changes in patient sera were similar to those in hormone free serum, it was concluded that the binding of tracer by TBG and albumin was the cause of the abnormal value in hypoproteinemia.

**Key words:** Radioimmunoassay, Free T<sub>4</sub>, Hypoproteinemia, TBG.