

《原 著》

血清フリーサイロキシン濃度測定 of 臨床的意義

—未希釈血清を用いる限外濾過法および平衡透析法による検討—

今野 則道* 萩原 康司** 中田 匡信* 田口 英雄**

要旨 未希釈血清を平衡透析し、透析液中の T_4 濃度を高感度 RIA で測定する Free thyroxine (FT_4) 測定法 (ED/RIA) を検討し、あわせて未希釈血清を限外濾過し、その濾過液の T_4 を同様に RIA で測定する方法 (UF/RIA) の結果と比較検討した。 T_4 RIA の最小測定濃度は 1.35 ng/L または 1.1 pg/tube であった。両法の精度および再現性はいずれも CV で 10% 以下であった。正常範囲は ED/RIA で 13.0–35.6 ng/L, UF/RIA で 7.1–22.6 ng/L であった。正常人、甲状腺機能異常、妊婦、低 TBG 血症、非甲状腺疾患 (NTI) を含めた対象全体での両法の FT_4 濃度の相関は有意であった ($r=0.831$, $p<0.001$, $n=99$)。妊婦の FT_4 濃度は妊娠初期の一例を除き、両法において全例正常範囲内であり、また低 TBG 症の FT_4 値も正常であった。NTI では UF/RIA による FT_4 は全例正常または正常以上であったが、ED/RIA では low T_4 syndrome において一部正常以下の例があった。NTI における両法の FT_4 値の間には有意な相関関係があった ($r=0.416$, $p<0.05$, $n=24$)。以上から ED/RIA による FT_4 測定法は、NTI の一部を除き UF/RIA 法の結果とよく一致し、しかも従来から煩雑とされてきた ED 法を簡便化した点で、臨床的有用性が高く、 FT_4 測定の標準的方法として広く用いられ得るものと考えられる。

I. はじめに

甲状腺ホルモンの生物学的活性は遊離型ホルモン (フリーホルモン) によって発現されると考えられている (Free hormone hypothesis)¹⁻³⁾。したがって、血中フリーホルモン濃度の測定は甲状腺疾患の診療に欠かすことのできないものである。現在まで多くのフリーサイロキシン (FT_4) 測定法が開発され、臨床的に広く利用されているにも拘らず、標準的な方法とされているものは平衡透析 (ED) および限外濾過 (UF) 法である⁴⁾。しかしこれらの方法は、その手技が煩雑であることから、ルーチン検査法として用いられるには至っていない。

従来用いられている ED あるいは UF 法では、一部の報告⁵⁻⁷⁾を除けば、標識 T_4 を用いて間接的に FT_4 を測定する方法が広く用いられている⁸⁻¹³⁾。しかし透析液 (Dialysate) あるいは濾過液 (Ultrafiltrate) 中の標識 T_4 を分離する方法は煩雑であり、これがルーチン化されない原因の一つになっている。したがって、標識 T_4 を用いることなく、かつ簡便な ED あるいは UF 法による FT_4 測定用 Kit の開発が望まれていた。今回筆者らは未希釈血清を平衡透析し、 FT_4 濃度を RIA で測定する FT_4 測定法 (ED/RIA) を検討する機会を得た。そこでこの方法を検討するとともに、あわせて以前に筆者らが報告した限外濾過法¹³⁾ を改良し、未希釈血清を限外濾過し、その濾過液中の T_4 濃度を RIA で測定する FT_4 測定法 (UF/RIA) を考案し、その結果と本平衡透析法の結果とを比較検討した。

* 北海道社会保険中央病院 内科

** 同 放射線部

受付: 3年2月4日

最終稿受付: 3年3月29日

別刷請求先: 札幌市豊平区中の島一条八丁目 (☎ 062)

北海道社会保険中央病院 内科

今野 則道

II. 対象および方法

1) 透析方法および透析液中の T₄ Radioimmunoassay

本法の測定器具および試薬は全て Nichols Institute Diagnostics (San Juan Capistrano CA, USA) で作成されたもので、測定方法についてはすでに報告されている⁶⁾。Dialysis Cell は透析用バイアルとメンブランシリンダーとから成り立っていて、メンブランシリンダーには透析膜 (Spectropor No. 2, 分子量 Cutoff 12-14 kDa; Van Water & Rogers, Norwalk, CA, USA) が装着されている。透析用 Buffer 中には pH Buffer として 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine ethanesulfonate (HEPES acid/sodium HEPES; Calbiochem-Behring Corp., La Jolla, CA) が含まれており、この他に抗生物質、T₄ と Dialysis Cell との吸着を防ぐための Gelatin とウサギ IgG、および生理的濃度の種々の電解質が含まれている。

2.4 ml の透析用 Buffer を透析用バイアルに入れ、血清 0.2 ml をメンブランシリンダー内に入れた後、37°C にて 16-20 時間 Incubate する。Incubation 終了後、透析液を T₄ 測定に使用するまで冷蔵庫内で保存する。本透析法では血清は希釈せずに用いるが、透析液により最終的に13倍に希釈されたことになる。

T₄ RIA は抗 T₄ 抗体をコーティングした試験管内でおこなう。検体およびコントロール血清の透析液、および標準 T₄ 溶液をおのおの 800 μ l 分注する。その後 ¹²⁵I-T₄ 液 (Specific Activity 約 4,000 μ Ci/ μ g) 50 μ l を加え、ヴォルテックスにて混和し、室温にて 3 時間 Incubate する。次に 2.0 ml の洗浄液にて各試験管を洗浄し、試験管内の液を吸引して除き、そのカウントを計測し、標準曲線上から測定値を読む。この RIA に用いられる抗 T₄ 抗体の Triiodothyronine (T₃) との交叉反応は 0.005% であった。⁶⁾

2) その他の測定法

血清 T₄, T₃, TBG (Thyroxine Binding Globulin), TSH 濃度はいずれも RIA にて測定した¹³⁾。また

対象の一部については限外濾過法により FT₄ 濃度を測定した。この限外濾過法は先に報告した方法¹³⁾をもとに Centricon-10 (Amicon Corp., Lexington, Mass, USA) を用い、血清を希釈せずに行う方法である。すなわち血清 1.0-2.0 ml を Centricon に入れ、37°C に保ち、CO₂ で Centricon の上下管内を充満し、500 \times g で 90 分、37°C で遠沈した。この方法で約 100-250 μ l の濾過液が得られた。この限外濾過液を T₄ RIA 用試験管に分注し HEPES Buffer を加え 800 μ l とし、その T₄ 濃度を RIA にて測定し FT₄ 濃度 (ng/L) をもとめた。

3) 対象

健常人対象は当院健診センターにて成人病健診を受けた中から、甲状腺機能をはじめ、種々の血清生化学検査、尿検査、心電図、胸部および消化管の画像診断において異常を認めなかった91名を選んだ(男性 51 名, 女性 40 名, 年齢 42.6 \pm 6.5 歳, Mean \pm SD)。甲状腺機能異常症は臨床所見および血中甲状腺ホルモン濃度および甲状腺刺激ホルモン (TSH) 濃度により診断した未治療甲状腺機能低下症 9 名, 甲状腺機能亢進症 21 名, および T₄ 投与により TSH 抑制療法中の甲状腺癌切除患者 (Suppressive T₄) 41 名であった。この他に種々の妊娠周期の正常妊婦 35 名, 特発性 TBG 低下症 (TBG 濃度: 測定感度以下) 7 名, 非甲状腺疾患患者 (Nonthyroidal illnesses, NTI) 46 名を含めた。この NTI 群にはヘパリン, アスピリンおよびドーパミン使用中の対象は無く, 血清 T₄, T₃ 濃度により 3 群に分けて分析した。また NTI の基礎疾患は悪性腫瘍 (18 名), 心疾患 (10 名), 肝疾患 (8 名), 肺疾患 (6 名), その他 (4 名) であった。

4) 統計分析法

各測定群間の相関関係は最小自乗法による回帰分析により、また各群の差は Student's t-test により検定した。

III. 結果

1) 透析方法および T₄ 測定条件の検討

透析操作に関するいくつかの条件を検討した

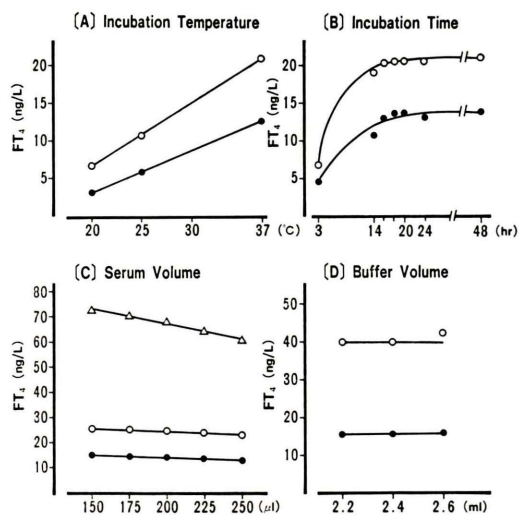


Fig. 1 Alterations in dialysis conditions for free thyroxine (FT₄) measurement by equilibrium dialysis.

(Fig. 1). FT₄ 濃度は Incubation 温度とともに上昇し (Fig. 1A), Incubation 時間 16–20 時間で平衡に達した (Fig. 1B)。これらの結果から、透析条件として 37°C で 18 時間 Incubate する方法を選んだ。また血清量を変えても、測定値に大きな変化は無かったが、高 FT₄ 血清では血清量を上げると測定値が約 15% 低下した (Fig. 1C)。Buffer 量の変動による FT₄ 濃度の変化は認められなかった (Fig. 1D)。

T₄ RIA の Incubation 温度および振盪の影響を検討した (Fig. 2A)。三種類の血清について Incubation 温度 37°C と 25°C とを比較すると、両者の FT₄ 値に差異はなかったが、いずれの温度下においても振盪 (200 rpm) しながら Incubate した方が高値を示した。実際に 9 種類の血清について 25°C で Incubate し、振盪の影響を検討したが、振盪なしの場合の FT₄ 濃度は 15.9 ± 3.4 ng/L (Mean ± SD) であり、一方、振盪した場合は 20.6 ± 3.9 ng/L で、後者は約 30% 高かった (p < 0.001)。したがって、以後の FT₄ RIA 測定の条件として、25°C で 3 時間、振盪しながら Incubate することとした。

次に、透析液の希釈の影響を検討した (Fig. 2B)。

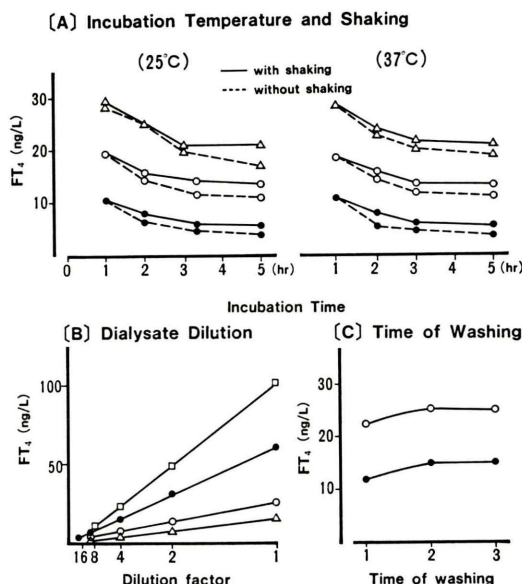


Fig. 2 Alterations in assay conditions for sensitive T₄ measurement by radioimmunoassay.

4 種類の血清すべてが原点を通る直線を示した。また洗浄回数は 2 回で充分であった (Fig. 2C)。

以上の条件で得られた FT₄ RIA の標準曲線を示すと Fig. 3 のごとくなる。本 Kit の FT₄ 濃度の測定可能範囲は 2.7–100.0 ng/L 血清、または 2.2–80 pg/800 μl 透析液とされているが、限外濾過液中の T₄ 濃度測定のために、標準 T₄ 液のうち 2.7 ng/L の液を HEPES Buffer にて 2 倍に希釈して標準曲線を作成した。Fig. 3 に示すごとく T₄ 濃度 1.1 pg/tube まで測定可能であった。

2) ED/RIA および UF/RIA の精度および再現性

3 種類の FT₄ 濃度の血清について ED/RIA 法の精度および再現性をみると、Intra-assay CV (%) は 5.1–10.5%、Inter-assay CV は 3.3–9.1% であった。また健常血清を用いての UF/RIA における Inter-assay CV および Intra-assay CV は何れも 10% 以下であった。

3) 血清希釈による FT₄ 濃度の変動

血清希釈の FT₄ 濃度に与える影響を検討した (Fig. 4)。健康人、甲状腺機能亢進症および NTI

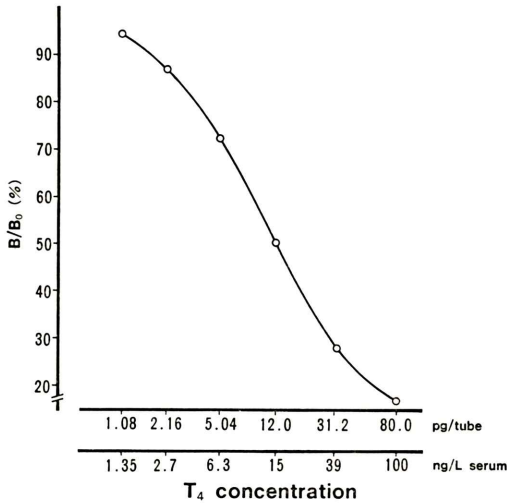
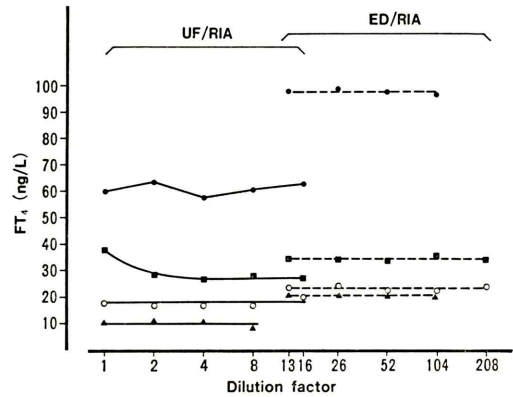


Fig. 3 Standard curve for sensitive T₄ radioimmunoassay.



○ Normal, ● Hyperthyroidism, ■ NTI (low T₃), ▲ NTI (low T₄)

Fig. 4 Effect of serum dilution on FT₄ concentration using ED/RIA and UF/RIA methods in sera from normal subject, hyperthyroidism, and patients with nonthyroidal illnesses.

Table 1 Results of thyroid function test in various groups of patients

	T ₄ (μg/dl)	T ₃ (ng/dl)	TSH (mU/L)	Free T ₄ (ng/L)	
				ED/RIA	UF/RIA
Normal	8.9±1.6 (73)	124.7±22.4 (73)	1.72±0.92 (73)	22.8±4.8 (91)	14.5±4.4 (18)
Hyperthyroid	21.7±7.2 ^a (21)	464.2±256.8 ^a (21)	<0.01 ^a (21)	149.1±176.0 ^a (21)	43.9±21.9 ^a (12)
Hypothyroid	4.3±1.3 ^a (9)	83.7±32.8 ^a (9)	71.1±31.6 ^a (9)	6.6±3.3 ^a (9)	4.6±2.1 ^a (6)
Suppressive T ₄ treatment	15.1±2.5 ^a (41)	156.3±70.0 ^a (41)	<0.08 ^a (41)	57.1±21.2 ^a (40)	—
Pregnancy					
1st trimester	11.2±3.2 ^a (11)	135.9±30.5 ^a (11)	1.94±1.12 (11)	19.6±5.7 (11)	9.9±2.2 ^a (11)
2nd trimester	14.0±1.8 ^a (11)	165.9±25.5 ^a (11)	3.1±1.50 ^a (11)	17.1±2.5 (11)	9.8±1.7 (11)
3rd trimester	13.3±2.9 ^a (13)	160.0±26.0 ^a (13)	3.0±1.24 ^a (13)	19.4±5.7 (13)	9.9±1.5 (13)
Low TBG	4.3±1.4 ^a (7)	66.7±19.4 ^a (7)	1.47±0.82 (7)	25.3±3.1 ^a (7)	15.0±6.8 (3)
NTI					
Normal T ₄ , T ₃	8.2±1.5 (13)	91.9±26.1 ^a (13)	1.57±0.94 (13)	29.1±11.6 ^a (13)	—
Low T ₃	5.9±1.8 ^a (14)	52.4±12.5 ^a (14)	2.15±1.46 (14)	25.2±10.3 (24)	17.7±9.2 (16)
Low T ₄	3.7±3.0 ^a (9)	47.8±28.4 ^a (9)	0.99±1.04 (5)	20.6±14.5 (9)	20.9±8.2 ^a (8)

a: p<0.01 vs. control (): number of subjects

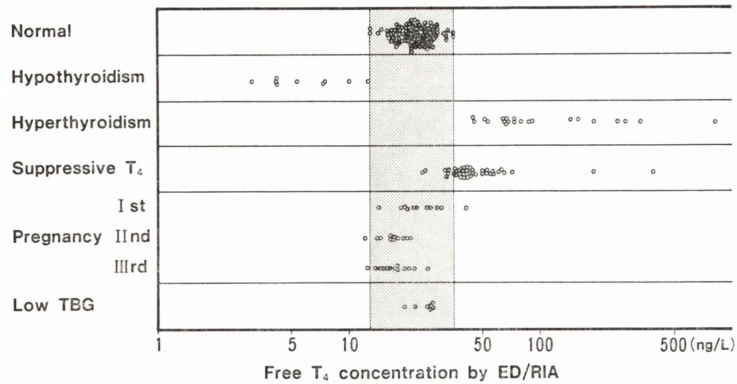


Fig. 5 Serum FT₄ concentration in various groups of patients as measured by equilibrium dialysis/RIA (ED/RIA) method.

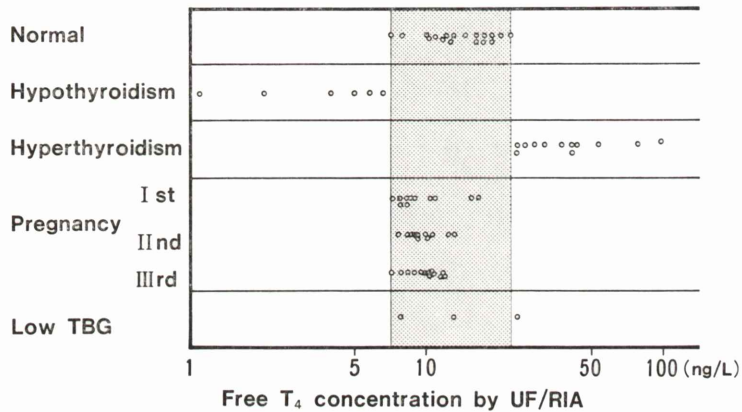


Fig. 6 Serum FT₄ concentration in various groups of patients as measured by ultrafiltration/RIA (UF/RIA) method.

の血清を ED/RIA 用の HEPES buffer で希釈した。この方法では希釈による電解質の変動は無かった。UF/RIA については希釈倍数 1-16 まで、ED/RIA については、本 Kit の最小希釈倍数 13 から 208 まで検討した。健常人、甲状腺機能亢進症および Low T₄ syndrome の一例では両法で希釈の影響は認められなかったが、Low T₃ syndrome の一例では UF/RIA で未希釈血清の FT₄ 濃度は希釈血清のそれより高かった。一方 ED/RIA では希釈の影響はこの血清でも認められなかった。

4) 各種疾患の血清 FT₄ 濃度

各種疾患の血清 T₄, T₃, TSH, FT₄ 濃度は Table 1 に示す通りである。また ED/RIA 法および UF/

RIA による血清 FT₄ 濃度のうち、NTI を除く各群の分布は Fig. 5, 6 に示した通りである。

91 名の成人健常者から得た ED/RIA 法による FT₄ の正常範囲は 13.0-35.6 ng/L であって、これは UF/RIA 方法による正常範囲 (7.1-22.6 ng/L) に比べ幾分高値を示した。また ED/RIA 法による正常 FT₄ 濃度は正規分布を示した。甲状腺機能亢進症の FT₄ 濃度は全例が高く、機能低下症では低かった。また Suppressive T₄ 投与中の症例では大部分が高値を示した。妊婦の FT₄ 濃度は妊娠初期で一部高値を示したが、妊娠中期、および後期ではいずれも正常範囲内にあった (Fig. 7)。ED/RIA 法による妊婦の FT₄ 値と UF/RIA 法による FT₄

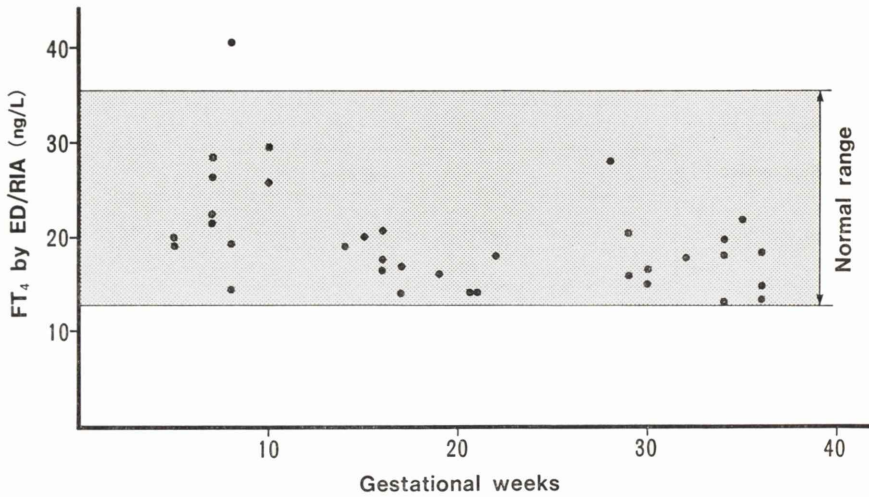


Fig. 7 FT₄ concentrations in pregnant women as measured by equilibrium dialysis/RIA method.

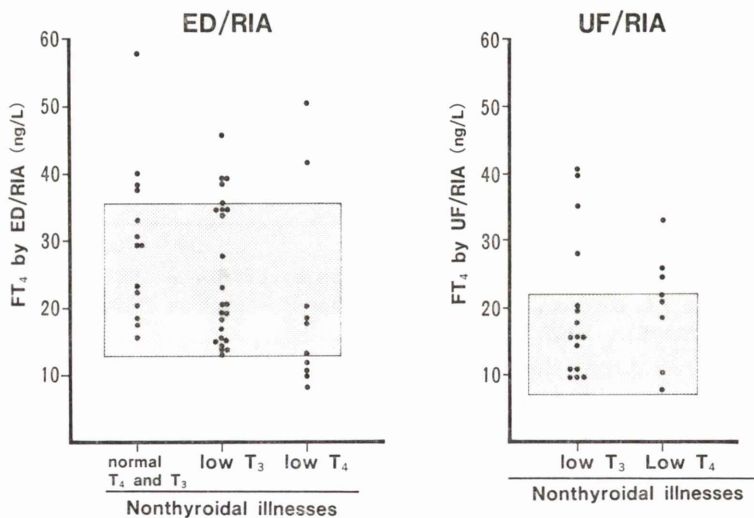


Fig. 8 Serum FT₄ concentration in nonthyroidal illnesses as measured by ED/RIA and UF/RIA methods.

値の間には有意な相関があった ($r=0.592$, $p<0.01$).

また7例の特発性TBG低下症のFT₄濃度は、両法において全例正常範囲内に分布した。

種々の原因疾患をもつ非甲状腺疾患(NTI)を血清T₄, T₃濃度により3群に分け、FT₄濃度を比

較した(Fig. 8). T₄, T₃ともに正常なNTIおよびLow T₃ syndromeでは、両法によるFT₄濃度は正常範囲および正常以上に分布していた。これに対してT₄, T₃ともに低値のNTI(Low T₄ syndrome)では、ED/RIA法では4例が正常以下であったが、UF/RIA法では全例が正常または正常以

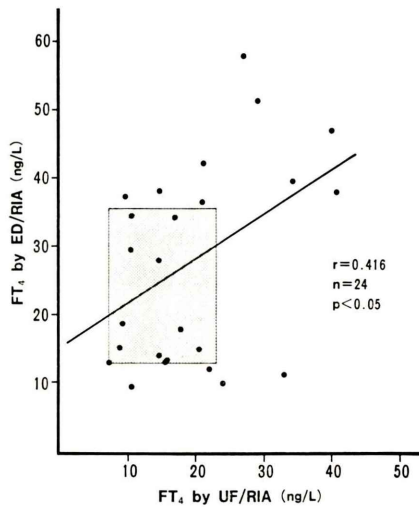


Fig. 9 Correlation between serum FT₄ concentration by UF/RIA and that by ED/RIA methods in nonthyroidal illnesses.

上で、正常範囲以下の例は無かった。両法による NTI の FT₄ 濃度の相関関係は有意であった (Fig. 9, $r=0.416$, $p<0.05$)。

対象全例についての両測定法による FT₄ 濃度の相関関係は有意であった ($r=0.831$, $p<0.001$)。

IV. 考 察

血清 FT₄ 濃度の測定が甲状腺疾患の診断、治療に不可欠であることは言うまでもない。現在広く用いられている One-step RIA, あるいは Analog RIA FT₄ 測定法には依然としていくつかの問題点があり、その結果の解釈には、これらの測定法に影響を与える因子の存在の有無に関して考慮することが必要である。とくに TBG, Albumin 濃度の変動を伴う病態ではこの点が重要である^{14,15}。したがって、こうした点を考慮をせずに真の FT₄ 濃度を測定しようとする場合は、UF あるいは ED 法を用いることが必要になる⁴。今回筆者らが検討した ED/RIA 法は従来用いられていた ED 法に比べ、その操作がきわめて簡便であり、その精度および再現性にすぐれ、臨床的に広く使用できるものとして高く評価できるものであった。

本 ED/RIA 法による FT₄ の正常範囲 (13.0–35.6

ng/L) は Nelson らが同様な方法を用いて報告した範囲⁶より幾分高かった。この原因の一つに T₄ RIA 測定時の振盪の影響があげられるかも知れない。今回の検討では、振盪により測定値が上昇することを示したが、Nelson らの報告では振盪せずに測定しており、これが正常範囲を幾分高めた原因の一つであると思われる。振盪により測定値が上昇した理由は明かでないが、抗体に対する標識 T₄ の結合率が低下した結果と考えられ、これが固相化された抗体のどのような変化によるものかについては、今後検討されるべきであろう。

筆者らが種々な方法で求めた FT₄ 濃度の正常範囲をみると、標識 T₄ を用いた ED 法では 7.6–18.0 ng/L¹⁵、UF/RIA では 7.2–22.6 ng/L、標識 T₄ をもちいた UF では 8.0–18.3 ng/L¹³、そして Mathematical calculation では 7.4–17.0 ng/L¹³ であり、これらの値よりも今回の ED/RIA による正常範囲は幾分高かった。

ED 法は透析液の存在のため、血清中の成分の希釈は避けられない。このような点を解決して、より in vivo に近い条件で FT₄ を測定する方法として、未希釈血清を限外濾過する方法が真の FT₄ 濃度を与えるとする考えがある⁷。血清希釈の FT₄ 濃度を与える影響は理論的にも実験的にも証明されている^{12,13,16–18}。ただし理論的には、健常人血清の場合、希釈倍数が約 600 以上ではじめて FT₄ 濃度の低下が認められるのに対し、従来の標識 T₄ を用いた UD あるいは ED 法では、希釈倍数がきわめて低くても FT₄ の低下が認められた^{12,13,18}。Nelson らによると、これは透析液あるいは濾過液中の ¹²⁵I の混入のためだと言う¹⁸。今回 ED/RIA および UF/RIA について、健常人、甲状腺機能亢進症、NTI について検討した結果、NTI の一例では UF/RIA 法で希釈により FT₄ の低下が認められたが、他の NTI および健常人、甲状腺機能亢進症では全く変動が無かった。NTI では血清の希釈による FT₄ の低下の程度は、症例によって異なることが知られており¹⁸、これは T₄ binding inhibitors の存在の程度によるものとされている¹⁸。NTI 血清を除けば、本 ED/RIA

法による FT₄ 濃度は、未希釈血清のそれと同じ値と考えてよく、ED/RIA、UF/RIA 法のいずれも、血清希釈の影響の点では理論式とよく一致していると考えられる。

今回筆者らが考案した未希釈血清を用いる UF/RIA 法は、先に報告した標識 T₄ を用いる UF 法¹³⁾を改良したものである。この方法は Centricon 10 に対する T₄ の吸着もきわめて少なく、また Albumin を用いてしらべた蛋白の漏出の程度も著しく低く、良好な FT₄ 測定法であった¹³⁾。この方法において濾過液中の T₄ 濃度を測定するためには、極めて高感度の T₄ RIA が必要である。今回は ED/RIA に添付されている T₄ RIA の感度を上げるために、2.7 ng/L の標準 T₄ 液を希釈して 1.35 ng/L または 1.08 pg/tube まで測定可能な標準曲線を作成できた。これは従来の血清 T₄ 測定法にくらべ、約 3,700 倍高感度であり、著しい低 FT₄ 血症 (2.0 ng/L 以下) 以外の FT₄ 濃度の測定が可能であった。また ED/RIA 法による FT₄ 濃度との間に高い相関関係があった。

未希釈血清の FT₄ を UF で測定した際の正常範囲の報告は少ない^{7,19,20)}。Faber らは 13-51 ng/L¹⁹⁾、Surks らは 6-29 ng/L²⁰⁾、そして Weeke らは 7-30 ng/L⁷⁾ としており、今回筆者らが得た正常範囲とよく一致した。ただし、Surks らも報告しているように²⁰⁾、UF 法では ED 法による正常範囲より幾分低かったが、この理由は明かでない。

ED/RIA 法による正常妊婦および低 TBG 血症の FT₄ 濃度は、いずれも標識 T₄ を用いた ED 法による結果と一致した^{13,21-23)}。特に妊婦では妊娠初期には正常以上の例があるが、妊娠後期でも正常以下になる例は無かった。さらに妊婦の血清 FT₄ では、UF/RIA 法による FT₄ 濃度との間に有意な相関があった。妊婦では血清 TBG、および Albumin 濃度に変動があり、これが FT₄ 測定値に影響を与えることが知られている⁵⁾。したがって UF/RIA、ED/RIA 法のいずれによる FT₄ 測定値も血清 TBG、Albumin の変動の影響を受けないと考えてよいであろう。

NTI の FT₄ 濃度は測定法により様々な結果が

報告されている^{14,15,24)}。この原因には血中の T₄ 結合蛋白 (TBP) 濃度の変化^{14,25)}、TBP の T₄ に対する Affinity の変化¹⁵⁾、T₄ と TBP との結合を阻害する物質 (T₄-binding inhibitors) の存在²⁶⁾ などがあげられている。したがって Analog RIA のごとく TBP 濃度の影響を受ける測定系では、FT₄ 濃度は低く見積られるし^{14,15)}、また血清の希釈が避けられない ED でも同様な結果が得られる可能性がある^{6,13)}。そこでこのような場合に、未希釈血清を限外濾過する FT₄ 測定法の意義がある^{7,19,20)}。しかも濾過液中の T₄ 濃度を正確に測定するために、RIA を用いたり⁷⁾、標識 T₄ を Chromatography で同定する方法^{19,20)}が報告されている。今回筆者らは濾過液中の T₄ を ED/RIA に添付されている高感度 RIA で測定することを試みた。この方法による NTI の FT₄ 濃度は全例が正常または正常以上であった。とくに Low T₄ syndrome では ED/RIA による FT₄ の一部が正常以下に分布していたのと対照的であった。これは血清希釈の結果で示したように、血清中の T₄ binding inhibitors の影響が ED/RIA の場合より UF/RIA で、より強くあらわれたものと推定される。また今回の NTI では血中 TSH 濃度が全例正常であったことから、これらの NTI の病態は Euthyroid であると考えてよいかも知れない²⁰⁾。以上のごとく NTI の FT₄ 濃度をみると、ED/RIA 法を用いても Low T₄ syndrome の一部では正常以下に見積られる例があり、こうした場合には UF/RIA により、真の FT₄ 濃度を確認することが必要になるであろう。

以上のごとく、FT₄ 測定用 ED/RIA Kit は、従来煩雑とされてきた平衡透析法をきわめて簡便化した点で、臨床的有用性が高く、しかも NTI の一部を除き、未希釈血清を用いた UF/RIA 法による結果ともよく一致し、真の FT₄ を測定する標準的な方法となりうると思われる。

V. 要約

未希釈血清を平衡透析あるいは限外濾過し、その透析液および濾過液中の T₄ を高感度 RIA で測

定する FT₄ 測定法を用い、種々の疾患の血中 FT₄ 濃度を測定し、比較検討した。

1. 測定感度は 1.35 ng/L あるいは 1.08 pg/tube であり、両法の精度および再現性の変動係数 (CV) は、いずれも 10% 以下であった。

2. 正常範囲は ED/RIA 法で 13.0–35.6 ng/L, UF/RIA 法で 7.2–22.6 ng/L であった。

3. 両測定法による FT₄ 濃度の相関は、対象全体で有意であった { $r=0.831$, $p<0.001$ ($n=99$)} であった。

4. 妊婦及び TBG 低下症の FT₄ 濃度は、両法において正常範囲内であった。

5. 両法について、血清希釈の FT₄ 濃度に対する影響を検討すると、ED/RIA では変化が無かったが、UF/RIA では Low T₃ syndrome の血清で希釈による FT₄ 濃度の低下がみられた。

6. NTI では両法による FT₄ 濃度の間に有意な相関関係があった ($r=0.416$, $p<0.05$)。しかし、Low T₄ syndrome の FT₄ 濃度は ED/RIA では一部正常以下を示す例があったが、UF/RIA では全例が正常または正常以上に分布した。

謝辞：

最後に FT₄ 測定用平衡透析/RIA キット (モデル FT₄ キット) の提供をいただいた日本メジフィジックス株式会社 に感謝いたします。

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, in *Free Hormones in Blood*, pp. 3–43, Albertini A and Ekins RP, eds, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, New York, Oxford, 1982
- Mendel CM: The free hormone hypothesis: a physiologically based mathematical model. *Endocrine Rev* **10**: 232–273, 1989
- Larsen PR, Alexander NM, Chopra IJ, et al: Revised nomenclature for tests of thyroid hormones and thyroid-related proteins in serum. *J Clin Endocrinol Metab* **64**: 1089–1092, 1987
- Helenius T, Liewendahl K: Improved dialysis method for free thyroxine in serum compared with five commercial radioimmunoassays in nonthyroidal illness and subjects with abnormal concentrations of thyroxine-binding globulin. *Clin Chem* **29**: 816–822, 1983
- Nelson JC, Tomei RT: Direct determination of free thyroxine in undiluted serum by equilibrium dialysis/radioimmunoassay. *Clin Chem* **34**: 1737–1744, 1988
- Weeke J, Boye V, Orskov: Ultrafiltration method for direct radioimmunoassay measurement of free thyroxine and free triiodothyronine in serum. *Scand J Clin Lab Invest* **46**: 381–389, 1986
- 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**: 1679–1689, 1965
- Sterling K, Brenner MA: Free thyroxine in human serum: simplified measurement with the aid of magnesium precipitation. *J Clin Invest* **45**: 153–163, 1966
- Shannon N, Woolf PD: Determination of free thyroxine in serum by ultrafiltration: validation of a method and preliminary results. *Clin Chem* **30**: 1770–1773, 1984
- Wang YS, Hershman JM, Pekary AE: Improved ultrafiltration method for simultaneous measurement of free thyroxine and free triiodothyronine in serum. *Clin Chem* **31**: 517–522, 1985
- 今野則道, 萩原康司, 今 寛: Equilibrium dialysis による血清 free thyroxine 測定法. *核医学* **10**: 487–493, 1973
- Konno N, Hagiwara K, Taguchi H, et al: Measurement of serum free thyroid hormone concentrations by ultrafiltration—a comparison with equilibrium dialysis and mathematical calculation—. *Ann Nucl Med* **1**: 14–22, 1987
- Csako G, Zweig MH, Benson C, et al: On the albumin-dependence of measurements of free thyroxine, II. patients with nonthyroidal illness. *Clin Chem* **33**: 87–92, 1987
- Konno N, Hirokawa J, Tsuji M, et al: Concentration of free thyroxine in serum during nonthyroidal illness—calculation or measurement?. *Clin Chem* **35**: 159–163, 1989
- Prince HP, and Ramsden DB: A new theoretical description of the binding of the thyroid hormones by serum proteins. *Clin Endocrinol (Oxford)* **7**: 307–324, 1977
- Kamikubo K, Komai T, Nakamura S, et al: Theoretical consideration of the effects of dilution on estimates of free thyroid hormones in serum. *Clin Chem* **30**: 634–636, 1984
- Nelson JC, Weiss RM: The effect of serum dilution on free thyroxine (T₄) concentration in the low T₄

- syndrome of nonthyroidal illness. *J Clin Endocrinol Metab* **61**: 239-246, 1985
- 19) Faber J, Kirkegaard C, Westh RH, et al: Pituitary-thyroid axis in critical illness. *J Clin Endocrinol Metab* **65**: 315-320, 1987
 - 20) Surks MI, Hurpart KH, Pan C, et al: Normal free thyroxine in critical nonthyroidal illnesses measured by ultrafiltration of undiluted serum and equilibrium dialysis. *J Clin Endocrinol Metab* **67**: 1031-1039, 1988
 - 21) Guillaume J, Schussler GC, Goldman J: Components of the total serum thyroid hormone concentrations during pregnancy: high free thyroxine and blunted thyrotropin (TSH) response to TSH-releasing hormone in the first trimester. *J Clin Endocrinol Metab* **60**: 678-684, 1985
 - 22) Yamamoto T, Amino N, Tanizawa, et al: Longitudinal study of serum thyroid hormone, chorionic gonadotropin and thyrotropin during and after normal pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxford)* **10**: 459-464, 1979
 - 23) Osathanondh R, Tulchinsky D, Chopra IJ: Total and free thyroxine and triiodothyronine in normal and complicated pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* **42**: 98-106, 1975
 - 24) Kaptein EM, MacIntyre SS, Weiner J, et al: Free thyroxine estimates in nonthyroidal illness: comparison of eight methods. *J Clin Endocrinol Metab* **52**: 1073-1077, 1981
 - 25) Konno N, Taguchi H, Hagiwara K: Discrepancy between uptake of serum triiodothyronine as measured by albumin and charcoal methods in nonthyroidal illness. *Clin Chem* **32**: 2183-2187, 1986
 - 26) Chopra IJ, Huang TS, Beredo A, et al: Serum thyroid hormone binding inhibitor in nonthyroidal illnesses. *Metabolism* **35**: 152-159, 1986

Summary

A Comparison of Measurements of Serum Free Thyroxine Concentration by Equilibrium Dialysis and Ultrafiltration Using Undiluted Serum

Norimichi KONNO, Kohji HAGIWARA, Masanobu NAKATA and Hideo TAGUCHI

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

We have examined the clinical usefulness for free thyroxine (FT₄) measurement by equilibrium dialysis of undiluted serum and by radio-immunoassay of T₄ concentration in the dialysate (ED/RIA). The results were compared with those by ultrafiltration of undiluted serum (UF/RIA), which is believed to offer the best possible approach towards estimation of in vitro serum level of FT₄. The precision with both methods was excellent. There was a high degree of correlation of FT₄ concentration by both methods ($r=0.831$, $p<0.001$, $n=99$). FT₄ concentration by ED/RIA and UF/RIA methods agreed well for hyperthyroidism, hypothyroidism, normal pregnancy, and for low T₄-binding globulin concentration. In nonthyroidal illness (NTI), FT₄ levels were all within or above normal for UF/ED method, while some FT₄ values in low T₄ syndrome were below normal for ED/

RIA method. The effect of progressive serum dilution on FT₄ concentration was also examined for both methods. There was no fall in FT₄ concentration in sera from normal, hyperthyroid patient and in serum with low T₄ syndrome for both methods, but in a serum from low T₃ syndrome, there was a fall in FT₄ concentration by dilution with UF/RIA method, indicating that serum dilution with ED/RIA method might underestimate FT₄ concentration in some NTI sera. From these results it is concluded that the present ED/RIA method is adaptable to clinical laboratory use as a reference standard method for FT₄ measurement.

Key words: Free thyroxine, Equilibrium dialysis, Ultrafiltration, Radioimmunoassay, Clinical utility.