

## 《ノート》

透析膜マイクロカプセルを用いた血中遊離サイロキシン濃度  
測定法についてRadioimmunoassay of Free Thyroxine with Microencapsulated  
Anti-T<sub>4</sub> Specific Antibody

笠木 寛治\* 小西 淳二\* 高坂 唯子\* 飯田 泰啓\*  
池窪 勝治\* 鳥塚 莞爾\*

Kanji KASAGI, Junji KONISHI, Tadako KOUSAKA, Yasuhiro IIDA,  
Katsuji IKEKUBO and Kanji TORIZUKA

*Department of Nuclear Medicine and Radiology, Kyoto University School of Medicine*

## I. はじめに

血中 thyroxne (T<sub>4</sub>) および triiodothyronine (T<sub>3</sub>) は大部分が thyroxne binding globulin (TBG) を主とする血清蛋白と結合しており、これらのごく一部分のみが free の形で存在している。この free T<sub>4</sub> および T<sub>3</sub> が実際に組織で利用されることによりホルモン作用が発揮されるものと考えられ、従って甲状腺機能の検査法としては total T<sub>4</sub> および T<sub>3</sub> の測定よりも free T<sub>4</sub> および T<sub>3</sub> の測定の方が重要と思われる。

free T<sub>4</sub> (FT<sub>4</sub>) の測定には平衡透析法<sup>1-3)</sup>、限外濾過法<sup>4)</sup>、ゲル濾過法<sup>5,6)</sup> 等があるが、いずれも手技が煩雑で熟練を要するために日常検査として充分普及していない。これに代わる検査法として従来より総 T<sub>4</sub> 濃度と T<sub>3</sub> 摂取率より算出される free thyroxine index (FT<sub>4</sub>I<sup>7,8)</sup>) が用いられている。さらに近年 free T<sub>4</sub> を radioimmunoassay にて直接測定しようとする試みがなされており<sup>9-12)</sup>、わが国

においても現在 2, 3 の測定用キット<sup>9,10)</sup> が使用可能である。今回著者らは CIS (DAMON DIAGNOSTICS 社製) の free T<sub>4</sub> radioimmunoassay (RIA) キット (Liquisol™) を試用する機会を得、その基礎的検討を行うと共に臨床的有用性につき検討を行ったので、その成績を報告する。

## II. 測定原理

本法は従来の FT<sub>4</sub> 測定法である平衡透析法<sup>1-3)</sup> に最も近い状態で直接血中の FT<sub>4</sub> を RIA にて測定する迅速かつ簡単な方法である。即ち、1) <sup>125</sup>I-T<sub>4</sub> および抗 T<sub>4</sub> 抗体を封入した透析膜マイクロカプセル (直径 20~80μm)<sup>11,12)</sup> の懸濁液に検体を加え、インキュベートする。2) インキュベーション中に検体中の FT<sub>4</sub> (分子量 777) は透析膜を通過し、マイクロカプセル内において <sup>125</sup>I-T<sub>4</sub> と置換する。3) その後遠心分離し、マイクロカプセル内の <sup>125</sup>I-T<sub>4</sub> の放射能を測定する。

TBG (分子量 58,000) 等の血清蛋白に結合した T<sub>4</sub> は透析膜 (分子量 20,000 以下の物質が通過可能<sup>12)</sup>) を通過できないため、検体中の FT<sub>4</sub> の量に比例してマイクロカプセル内の放射能のカウント

\* 京都大学医学部核医学科

受付: 55 年 12 月 24 日

最終稿受付: 56 年 2 月 19 日

別刷請求先: 京都市左京区聖護院川原町 (☎ 606)

京都大学医学部核医学科

笠木 寛治

**Key words:** Free thyroxine, Microencapsulated anti-T<sub>4</sub> antibody, Radioimmunoassay

が低下する。以上のような原理に基づいて、FT<sub>4</sub>の測定が行われる。

### III. 測定方法

キット指定の原法による測定方法の概要をFig. 1に示した。

1) マイクロカプセル懸濁液 0.8 ml に、検体、標準 T<sub>4</sub> またはコントロール血清 0.025 ml を加え、ボルテックスミキサーにて、4 秒間攪拌する。

2) 37°C 1 時間インキュベートする。その後、全試験管をボルテックスミキサーにて、4 秒間攪拌し、再び 37°C 1 時間のインキュベーションを行う(第 1 インキュベーション)。

3) 各試験管に洗浄液(ポリエチレンイミン液) 1 ml を加え、4 秒間ボルテックスミキサーで攪拌後、室温で 20 分間放置する(第 2 インキュベーション)。

4) 室温で 1,400 g, 10 分間遠心分離する。

5) 上清を吸引除去し、沈渣の放射能を測定する。

6) 標準 T<sub>4</sub> について得られたカウントより B/B<sub>0.1</sub> (%) (B<sub>0.1</sub> は標準 T<sub>4</sub> 0.1 ng/dl 添加時の結合カウントを示す) を求め、それを縦軸に、FT<sub>4</sub> 濃度を横軸にプロットし、標準曲線を作成し、被検血清の B/B<sub>0.1</sub> (%) より FT<sub>4</sub> 濃度を読みとる。

基礎的検討: インキュベーション時間および温度の影響、交叉反応、測定値の再現性等について

検討した。

臨床的検討: 臨床的有用性に関しては、健常人 32 例、甲状腺機能亢進症 9 例、甲状腺機能低下症 12 例、正常妊婦 4 例、TBG 減少症 3 例、その他の疾患として肝硬変 5 例、急性肝炎 6 例、慢性腎不全 4 例、悪性疾患(癌、悪性リンパ腫、白血病等) 18 例の血中 FT<sub>4</sub> 濃度を測定し検討した。一部の検体においてこれらの測定値と FT<sub>4</sub>I 値(Gamma Coat T<sub>4</sub> RIA キットを用いて得られた T<sub>4</sub> 濃度と Gamma Coat T<sub>3</sub> Uptake により得られた T<sub>3</sub> 摂取率との積を 35 で除したもの)<sup>10,13)</sup>、Gamma Coat Free T<sub>4</sub> RIA キット(トラベノール社)を用い測定した FT<sub>4</sub> 値、および平衡透析法による測定値とを比較検討した。なお平衡透析は Sterling らの方法<sup>1)</sup>に以下のような改良を加えて行った。すなわち緩衝液としては磷酸緩衝生理食塩水を用い、<sup>125</sup>I-T<sub>4</sub> は人血清アルブミンと混合して予め透析精製したものを用いた。また平衡透析後の処理にはマグネシウム沈殿法の代わりにプール血清を添加して TCA により沈殿させる方法を用いた。

さらにバセドウ病アイソトープ治療後の患者 38 例において血中 FT<sub>4</sub> 濃度を測定し、血中 TSH 濃度<sup>14)</sup>、FT<sub>4</sub>I 値<sup>15)</sup>(TRI-TAB(サイロテスト 4)および TETRA-TAB(サイロテスト 4)両キットの測定値の積として計算)および TRH テストの結果等との関係を検討した。また橋本病による原発性甲状腺機能低下症の患者 7 例において、未治療時、甲状腺ホルモン補充療法時の血中 FT<sub>4</sub> 濃度を測定し、血中 TSH 濃度<sup>14)</sup>、T<sub>4</sub> 濃度<sup>16)</sup>(PEG 法) T<sub>3</sub> 濃度<sup>17)</sup>(PEG 法)との関係を検討した。

測定には採血後血清分離し、-20°C に凍結保存された検体を融解して用いた。

### IV. 結果

#### 1) 基礎的検討

##### (1) インキュベーション温度の影響

第 1 インキュベーションの温度を 4°C、25°C および 37°C と変えて、各種濃度の標準 FT<sub>4</sub> 添加時の結合カウントを見た。B<sub>0.1</sub>/T (%) は 4°C で

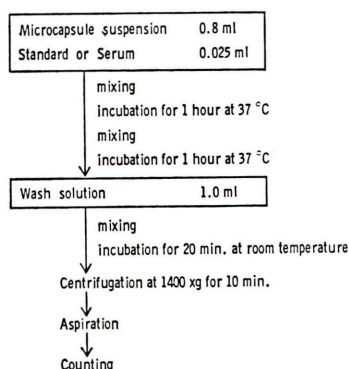


Fig. 1 The original assay procedure recommended by the manufacturer.

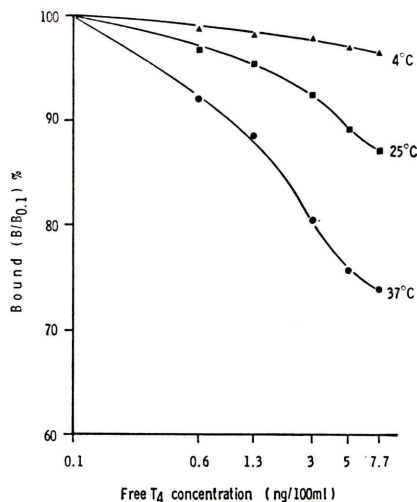


Fig. 2 Effect of temperature during the first incubation on the standard curve.

65.5%, 25°Cで59.3%, 37°Cで47.2%と低下した。B/B<sub>0.1</sub>(%)を縦軸にとって標準曲線を描いた場合、Fig. 2に示す如く4°Cでは標準曲線の勾配が緩やかであり、原法通り37°Cで最も感度の良い標準曲線が得られた。

次に第1インキュベーションの温度を原法通り37°Cとして、第2インキュベーションの温度を4°C、25°Cおよび37°Cと変化させてみた。B<sub>0.1</sub>/T(%)は4°Cで47.2%, 25°C47.2%であったが、37°Cの場合42.5%と軽度の低下を示した。B/B<sub>0.1</sub>(%)を縦軸にとって標準曲線を描くと、Fig. 3に示す如く、37°Cの場合は4°C、25°Cの場合に比べて標準曲線の感度の低下が認められた。

## (2) インキュベーション時間の影響

インキュベーション温度を原法通りとして第1インキュベーション時間を1時間、2時間、3時間および4時間と変えて各種濃度の標準FT<sub>4</sub>添加時の結合カウントを見た。B<sub>0.1</sub>/T(%)は1時間で51.6%, 2時間で45.0%, 3時間で41.7%, 4時間で38.6%と低下した。B/B<sub>0.1</sub>(%)を縦軸にとって標準曲線を描くと、Fig. 4の如くであり、インキュベーション時間の経過と共に、標準曲線の勾配が急峻となり、4時間インキュベーションで最も感度の良い標準曲線が得られた。一方、同時に

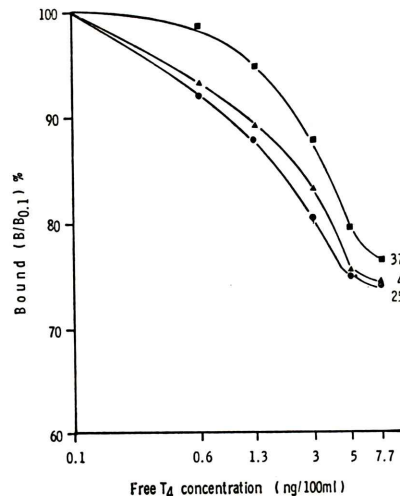


Fig. 3 Effect of temperature during the second incubation.

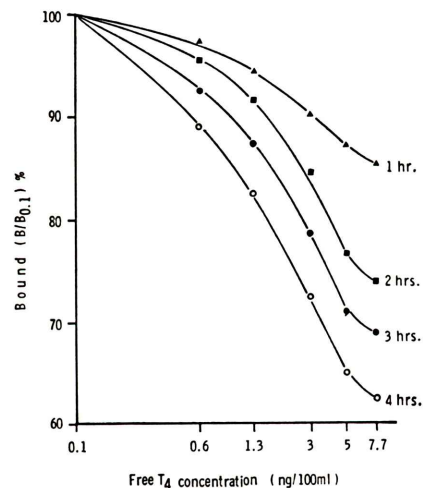


Fig. 4 Effect of the first incubation time on the standard curve (at 37°C).

測定した2つのコントロール血清のFT<sub>4</sub>値は、2、3および4時間でほぼ同じであった。そこで感度をなるべく上げ、かつ早い測定が行える時間として3時間が適当と考えられた。試験管の攪拌は1時間毎となっているが20分毎に行っても標準曲線には差がみられなかった。連続振盪すると、標準曲線はむしろ平坦化した。次に第1インキュベーション時間を3時間として、第2インキュ



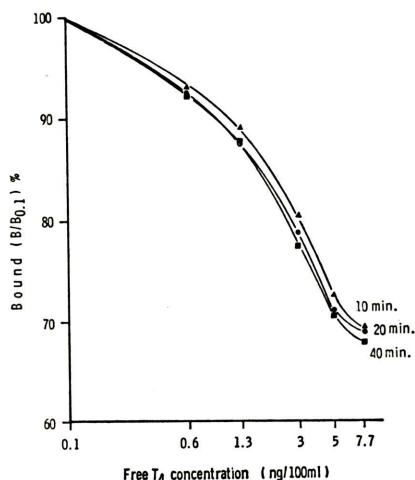


Fig. 5 Effect of the second incubation time on the standard curve (at 25°C).

Table 1 Cross-reactivity of various agents against anti-T<sub>4</sub> antibody.

Compound	% cross Reactivity
L-Thyroxine	100.0
L-Triiodothyronine	2.6
Reverse Triiodothyronine	22.4
Monoiodotyrosine	<0.01
Diiodotyrosine	<0.01

ベーション時間を10分、20分、40分と変化させ、各種 FT<sub>4</sub> 濃度での結合カウントおよび標準曲線を比較したが、いずれも3者間で特に差は認められなかった (Fig. 5).

### (3) 交叉反応

アッセイ系に検体にかえベロナール緩衝液 (0.02M, pH 8.0) に溶解した L-T<sub>4</sub> (0.1~20 ng/100 ml), L-T<sub>3</sub>, reverse T<sub>3</sub>, MIT, DIT (いずれも1~10,000 ng/100 ml) を添加して、<sup>125</sup>I-T<sub>4</sub> の結合におよぼす影響を検討した (Table 1). 特異的結合の50%抑制を示す濃度より交叉反応性を計算すると、L-T<sub>3</sub> とは2.6%, reverse T<sub>3</sub> とは22.4%の交叉を示した。一方、MIT および DIT とは全く交叉反応性を示さなかった。

### (4) 測定値の再現性

キットに添付されている2種類のコントロール血清を用い同一キット内および異なるキット間に

Table 2 Precision and reproducibility estimated with two pooled sera.

Intra-assay			
No.	Serum	1	2
1		1.82	3.00
2		1.90	3.20
3		1.76	3.35
4		1.68	3.40
5		1.45	3.00
6		1.64	3.30
7		1.68	3.25
8		1.92	3.35
9		1.55	2.95
10		1.66	3.30
Mean		1.706	3.210
S.D.		0.148	0.166
C.V. (%)		8.7	5.2

Inter-assay			
No.	Serum	1	2
1		1.47	2.70
2		1.82	2.73
3		1.86	2.85
4		1.96	2.82
5		1.50	2.65
6		1.60	2.55
7		1.71	3.21
Mean		1.703	2.787
S.D.		0.187	0.212
C.V. (%)		11.0	7.6

おける測定値の再現性をみた。Table 2 に示す如く同一キット内での変動係数は各々 8.7% および 5.2%, 異なるキット間での変動係数は 11.0% および 7.6% であった。

## 2) 臨床的検討

### (1) 健康者および各種疾患患者における血中 FT<sub>4</sub> 濃度 (Fig. 6).

20~50 歳迄の健康者 32 例における血中 FT<sub>4</sub> 濃度は、1.06~2.08 ng/100 ml に分布しその平均 ±SD は 1.61±0.21 ng/100 ml であった。平均 ±2SD の範囲を正常値とすると 1.19~2.03 ng/100 ml となる。甲状腺機能亢進症 9 例では 2.59~7.70 ng/100 ml 以上に分布し、全例高値 (7.70 ng/ml 以上) を示した例を除いた 8 例の平均は、4.70±

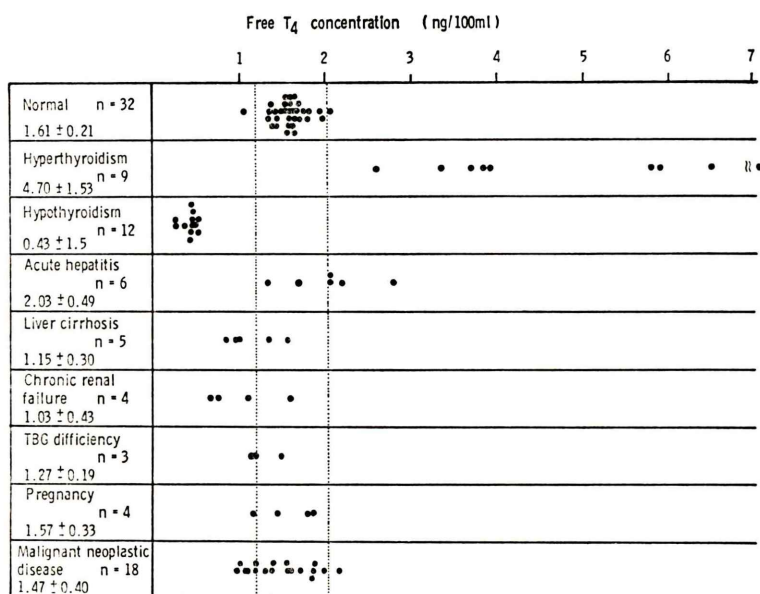


Fig. 6 Serum free T<sub>4</sub> concentration in various physiological and pathological conditions.

1.53 (SD) ng/ml), 甲状腺機能低下症 12 例では 0.26~0.53 ng/100 ml に分布し, 全例低値を示し, いずれも健康者群との間に重なり合いは認められなかった. 正常妊婦 4 例では 1.16~1.87 ng/100 ml とほぼ正常範囲内に分布した. TBG 減少症 3 例では各々 1.12, 1.21, 1.49 ng/100 ml であり 1 例でやや低値を示した. 甲状腺以外の疾患として, 肝硬変 5 例では 0.86~1.57 ng/100 ml で, 正常または低値, 急性肝炎 6 例では 1.34~2.79 ng/100 ml で正常または高値を, 慢性腎不全 4 例では 0.67~1.61 ng/100 ml で正常または低値を示した. 悪性疾患 18 例では 0.65~2.16 ng/100 ml で 1 例で軽度高値, 4 例で軽度低値を示し, 他の 13 例は全例正常範囲内に分布した.

## (2) FT<sub>4</sub>I との関係

これらのうち, 59 例の症例において, 総 T<sub>4</sub> 濃度および T<sub>3</sub> 摂取率を測定して FT<sub>4</sub>I<sup>10,13)</sup> (Gamma Coat T<sub>4</sub> × Gamma Coat T<sub>3</sub> Uptake/35) を算出し本法により得られた測定値と比較した. Fig. 7 に示す如く, 全体として両者間に  $r=0.922$  の良い正相関が認められた. FT<sub>4</sub>I の正常値を 7.1~11.8<sup>10)</sup> とすると, 急性肝炎において, FT<sub>4</sub>I がほぼ正常範

囲内に分布しているのに比し, FT<sub>4</sub> でやや高値を, 正常妊婦および TBG 減少症で FT<sub>4</sub>I が低値を示しているのに比し, FT<sub>4</sub> でほぼ正常値を示した. 他の疾患群では両者間で特に解離は認められなかった.

## (3) Gamma Coat FT<sub>4</sub> 測定キットによる測定値との比較

同じ 59 例の症例において, トラベノール社の Gamma Coat FT<sub>4</sub> キット<sup>10)</sup> を用いて, FT<sub>4</sub> 値を測定し, 本法による測定値との関係をみると, Fig. 8 に示す如くであり, 両者間に良好な正相関が認められた ( $r=0.913$ ). 本キットによる測定値が, Gamma Coat FT<sub>4</sub> キットによる測定値に比べて, 低値域において高い傾向を示した.

## (4) 平衡透析法による FT<sub>4</sub> 値との関係

18 例について, 平衡透析法により, FT<sub>4</sub> の測定を行い, 本法による測定値との関係を検討した. Fig. 9 に示す如く, 両者の間にはきわめて良好な正相関が認められた ( $r=0.965$ ).

## (5) パセドウ病アイソトープ治療後の甲状腺機能低下症の診断における FT<sub>4</sub> 測定の意義 パセドウ病アイソトープ治療後の患者において,

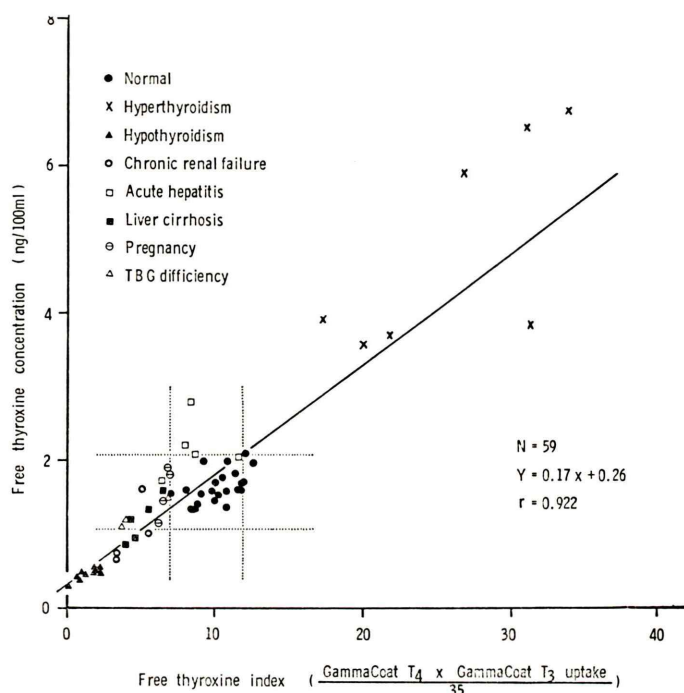


Fig. 7 Correlation between free thyroxine index and free  $T_4$  concentration.

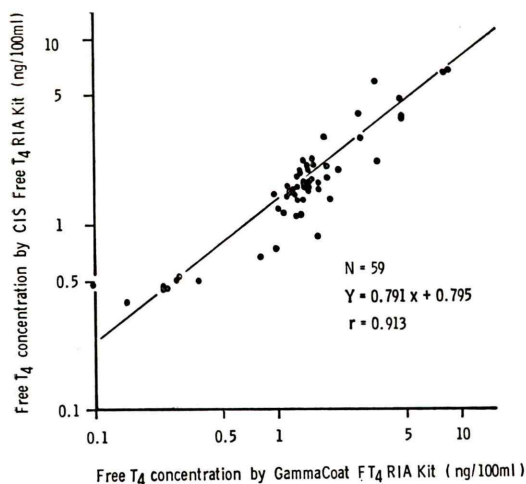


Fig. 8 Correlation between free  $T_4$  values by Gamma Coat RIA Kit and those by CIS RIA Kit.

血中 TSH 濃度<sup>14)</sup>  $FT_4I$  値<sup>15)</sup> (TRI-TAB (サイロテスト 3) および TETRA-TAB (サイロテスト 4) 両キットの測定値の積として計算, 正常値 2.0~4.4) を測定し, このうち  $FT_4I$  が 2.0 以下を示す明らか

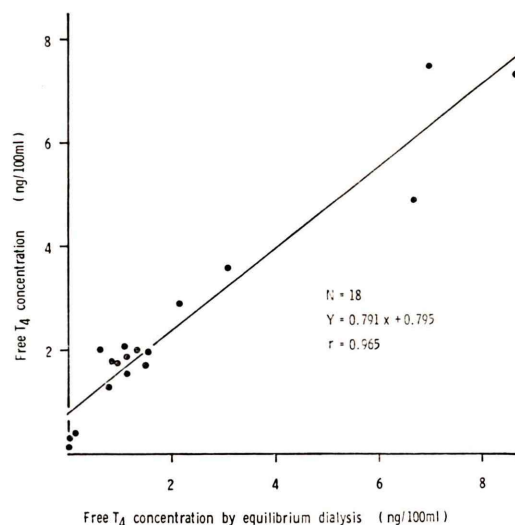


Fig. 9 Correlation between free  $T_4$  values by equilibrium dialysis and those by CIS RIA Kit.

な hypothyroidism (全例 TSH 高値) および  $FT_4I$  が 4.4 以上を示す hyperthyroidism の患者を除外した計 38 人の患者を以下の如く 4 群に分けた。

(A) TRH テストにて、低反応 (TSH の頂値が  $5 \mu\text{U/ml}$  以下) または無反応でバセドウ病がまだ完治していないと思われる群 5 例, (B)  $\text{TSH} \leq 5 \mu\text{U/ml}$  以下で TRH テストにて TSH の頂値が  $35 \mu\text{U/ml}$  以下を示す正常と思われる群 10 例, (C)  $\text{TSH} \leq 5 \mu\text{U/ml}$  で TRH テストでの TSH の頂値が  $35 \mu\text{U/ml}$  以上を示す群 2 例, (D)  $\text{TSH} > 5 \mu\text{U/ml}$  を示す潜在性甲状腺機能低下症の群 21 例.

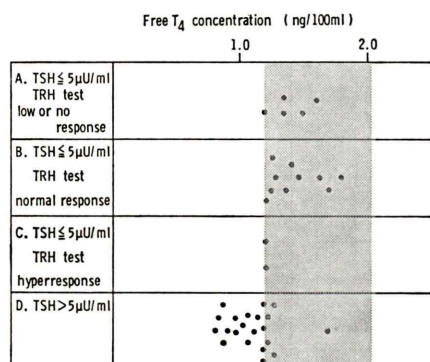


Fig. 10 Serum free  $\text{T}_4$  concentration in patients with Graves' disease after radioiodine therapy. All the patients (A-D) showed normal free thyroxine index (2.0-4.4)<sup>15)</sup>. The shaded area indicates normal range.

Fig. 10 に、これらの 4 群の患部の血中  $\text{FT}_4$  濃度の値を示した。A 群および B 群の症例は全例正常範囲内に分布した。C 群の 2 例は正常低値を示した。D 群の 21 例中、16 例 (76.2%) が低値、4 例が正常低値を示した。D 群での  $\text{FT}_4$  値の平均は、 $1.09 \pm 0.20$  (Mean  $\pm$  SD) ng/100 ml であり、正常群 B 群での  $\text{FT}_4$  値 ( $1.43 \pm 0.21$  ng/100 ml) に比べ、有意に低値であった ( $p < 0.001$ )。

#### (6) 原発性甲状腺機能低下症補充療法前後の血中 $\text{FT}_4$ 濃度

橋本病による原発性甲状腺機能低下症の患者 7 例において、未治療時および甲状腺ホルモン補充療法中の血中  $\text{FT}_4$  濃度を測定し、総  $\text{T}_4$  濃度 (正常値  $5.1 \sim 12.8 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ )<sup>16)</sup>、総  $\text{T}_3$  濃度 (正常値  $96 \sim 192 \text{ ng}/100 \text{ ml}$ )<sup>17)</sup>、TSH 濃度 (正常値  $5 \mu\text{U/ml}$  以下)<sup>14)</sup> との関係を検討した (Table 3)。未治療時全例において  $\text{T}_4$ 、 $\text{FT}_4$  濃度が低値、TSH 濃度が高値を示したのに比し、治療後では全例  $\text{T}_3$ 、 $\text{T}_4$ 、TSH 濃度は、正常値を示した。しかし、このような症例の  $\text{FT}_4$  濃度をみると、チラージン S にて治療中の 2 例、すなわち S.H. および H.S. 症例において TSH 濃度が  $0.5 \mu\text{U/ml}$  以下と検出限界以下を示した時点で  $\text{FT}_4$  濃度がそれぞれ 2.11 お

Table 3 Serum free  $\text{T}_4$  concentration in patients with primary hypothyroidism before and after replacement therapy with thyroid hormones. The assay was performed at two different periods after the treatment in cases 1, 4, and 5.

Patients (drug)	untreated				treated			
	$\text{T}_4$	$\text{T}_3$	TSH	Free $\text{T}_4$	$\text{T}_4$	$\text{T}_3$	TSH	Free $\text{T}_4$
1. S. H. (Thyradin S)	5.5	83	23	1.13	10.5 9.9	123 117	1.5 0.5>	1.81 2.11
2. K. O. (Thyradin S)	4.1	—	113	0.67	8.5	—	0.5	1.70
3. S. K. (Thyradin S)	2.7	—	95	0.54	10.2	109	2.0	2.05
4. H. S. (Thyradin S)	0	5	139	0.13	9.1 11.8	144 —	0.9 0.5>	1.78 2.36
5. T. W. (Thyroid Sicca)	3.9	72	82.9	0.56	8.3 9.2	117 162	1.2 0.5>	1.33 1.71
6. F. N. (Thyradin S)	1.5	80	125	0.26	11.7	151	1.0	1.64
7. Y. E. (Thyradin S)	4.7	119	22	0.69	8.3	120	0.8	1.30

$\text{T}_4$  ( $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ),  $\text{T}_3$  (ng/100 ml), TSH ( $\mu\text{U/ml}$ ), Free  $\text{T}_4$  (ng/100 ml)



よび 2.36 ng/100 ml と高値を示した。一方、甲状腺末にて治療中の T.W. の症例では、TSH 濃度が 0.5  $\mu$ U/ml 以下の値を示した時の FT<sub>4</sub> 濃度は 1.71 ng/100 ml と正常範囲内の値を示した。TSH 濃度が 0.5~5  $\mu$ U/ml の値を示した血清中の FT<sub>4</sub> 濃度はほとんど正常範囲内に分布していた。

## V. 考 察

FT<sub>4</sub> を RIA にて測定する最初の試みとしては、平衡透析を行いその外液中の T<sub>4</sub> を測定する方法<sup>18,19)</sup> が 1977 年に開発された。しかし平衡透析の手技が煩雑であることより、RIA による直接的な FT<sub>4</sub> 測定法の開発が望まれていた。近年このようなアッセイ法として、固相化抗 T<sub>4</sub> 抗体に FT<sub>4</sub> を結合させて、TBG 結合 T<sub>4</sub> を除いた後 <sup>125</sup>I-T<sub>4</sub> と競合させる方法<sup>10)</sup>、被検血清に加えた <sup>125</sup>I-T<sub>4</sub> と抗 T<sub>4</sub> 抗体との結合率より遊離 T<sub>4</sub> 分画を求め、別に RIA で求めた総 T<sub>4</sub> 濃度より FT<sub>4</sub> 濃度を算出する方法<sup>9)</sup> 等が開発された。本法は透析膜マイクロカプセル内で free T<sub>4</sub> が <sup>125</sup>I-T<sub>4</sub> 結合抗 T<sub>4</sub> 抗体と競合的に結合することを利用して FT<sub>4</sub> を測定する方法であり、従来よりの平衡透析法に最も近い原理で測定される方法であると考えられる。この透析膜は分子量 20,000 以下の物質が通過可能<sup>12)</sup> であり、TBG 等の血清蛋白に結合した状態で T<sub>4</sub> はカプセル内に入ることが不可能である。このマイクロカプセルの透析膜は従来の透析膜に比べてうすくまた表面積が広いのが特色であり<sup>11,12)</sup>、それだけ Free T<sub>4</sub> のカプセル内への進入が容易であり、このことがアッセイ時間短縮の要因ともなっている。このようなマイクロカプセルを用いる方法として他に Digoxin の RIA がすでに開発されており<sup>20)</sup>、血清中に結合蛋白を有するホルモン（性ホルモン、ステロイドホルモン、ビタミン D<sub>3</sub> 等）の遊離型測定の RIA への応用が今後可能であると考えられる。

測定法に関する基礎的検討では、先ず第 1 インキュベーションの温度について検討したが、温度の上昇とともに、カプセル内で <sup>125</sup>I-T<sub>4</sub> と Free-T<sub>4</sub> の置換が進み、結合カウントが低下、37°C で

標準曲線が最も高感度であった。一方、第 2 インキュベーションの温度は、37°C より 4°C または 25°C の方が適当であり、手技の簡便さから原法通り室温で充分と考えられた。

第 2 反応時に使用するポリエチレンジアミン液は、膜に作用し、FT<sub>4</sub> 等の低分子物質の膜透過を不可能にする作用があり、37°C ではこの作用が障害されるものと考えられた。次に第 1 インキュベーションの時間について、4 時間まで検討したが、時間の経過と共に Free T<sub>4</sub> と <sup>125</sup>I-T<sub>4</sub> の置換を反映して、各種 FT<sub>4</sub> 濃度での結合カウントは低下し、標準曲線を比較すると、インキュベーション時間が長いほど、高感度であった。しかし 2 時間以後は測定値がよく一致していたこと、およびアッセイ時間の短縮のため、著者らはインキュベーション時間として 3 時間を選んだ。第 2 インキュベーション時間については、10 分~40 分の間で、特に結果に差は認められなかった。

抗 T<sub>4</sub> 抗体の特異性の検討では、T<sub>3</sub> との間に 2.6%、rT<sub>3</sub> との間に 22.4% の交叉反応性が認められたが、健常人において Free T<sub>3</sub> 濃度および Free rT<sub>3</sub> 濃度は、Free T<sub>4</sub> 濃度の各々約 13% および 3% に相当し<sup>21)</sup>、臨床上是問題とならないと考えられる。

測定の精度、および再現性はいずれも満足すべきものであった。

そこで臨床例についての測定を行い、測定値の妥当性について検討を加えた。

20~50 歳の健常者における FT<sub>4</sub> 濃度は  $1.61 \pm 0.21$  ng/100 ml で正常域は 1.19~2.03 ng/100 ml と考えられた。甲状腺機能亢進症では全例 2.59 ng/100 ml 以上、甲状腺機能低下症では 0.53 ng/100 ml 以下であり、いずれも健常者との重なり合いは全くみられなかった。

正常妊婦ではほぼ正常範囲の値を示した。TBG 減少症では 3 例中 2 例が正常範囲内であったが、従来の報告<sup>22,23)</sup> にみられる如く、やや低値を示す傾向が認められた。甲状腺以外の疾患においては、肝硬変で正常または低値、急性肝炎で正常または高値、慢性腎不全では正常または低値、悪性



疾患18例中1例が軽度高値、4例が軽度低値で他の13例は正常範囲内に分布した。一般にこれらの甲状腺以外の疾患、いわゆる *nonthyroidal illness* の場合には、腎不全を除いて、平衡透析法で測定した血中  $FT_4$  濃度は、正常または高値を示すと言われており<sup>21,24)</sup>、著者らの成績、特に肝硬変で低値を示したこととは一致しない。しかし、Chopra<sup>25)</sup>らは Corning 社の  $FT_4$  RIA キットを用いた成績で *nonthyroidal illness* での  $FT_4$  濃度が正常または低値であったと述べている。急性肝炎に関しては、血中 TBG 濃度の上昇と共に、total  $T_4$  濃度が高値を示すことが知られているが<sup>26)</sup>、 $FT_4$  濃度についての詳細な報告はまだ見られていない。本法では、急性肝炎で高値、肝硬変で低値と互いに異なる傾向がみられたが、著者らの選んだ急性肝炎および肝硬変の症例の中には種々の程度の肝障害を有するものがあり、これらの症例の臨床的な再検討、および平衡透析法による測定値との比較等が必要と思われる。慢性腎不全については、 $FT_4$  濃度が正常であるという報告<sup>21)</sup>、やや低いという報告<sup>27)</sup>等があり、本法での測定値も低値の傾向を示した。一方、重症疾患を合併した甲状腺機能低下症患者で Free  $T_4$  RIA 測定値がしばしば正常値を示すという報告<sup>28)</sup>や、*nonthyroidal illness* で RIA による  $FT_4$  濃度と平衡透析法による  $FT_4$  濃度の相関が悪いという報告<sup>25)</sup>等があり、このような症例における甲状腺機能の評価における RIA 測定値の意義については、今後、さらに検討を要する。

$T_4$  と  $T_3$  摂取率より求めた  $FT_4I$  と  $FT_4$  値との間には、良好な正相関関係があった。しかし、急性肝炎、正常妊婦、および TBG 減少症では両者間に解離が認められた。本法による測定値と平衡透析法による  $FT_4$  測定値、および Gamma Coat  $FT_4$  RIA キットによる測定値との間にも、良好な正相関関係が認められた。本法による健常者の正常値は平衡透析法による正常値 ( $1.10 \pm 0.18$  ng/100 ml)<sup>10)</sup> よりも高かったが、Gamma Coat  $FT_4$  RIA キットによる正常値 ( $1.50 \pm 0.29$  ng/100 ml)<sup>10)</sup> とほぼ同じ値を示した。

バセドウ病アイソトープ治療後の患者における血中  $FT_4$  濃度の測定成績では Fig. 10 に示す如く、 $FT_4I$  が正常で TSH 濃度が高値を示した症例の多くで  $FT_4$  濃度が低値であった。従ってアイソトープ治療後の甲状腺機能低下症の早期診断に、 $FT_4$  測定が有用であると考えられた。

原発性甲状腺機能低下症で甲状腺ホルモンによる治療経過において、著者らは通常、TSH および  $T_4(T_3)$  の測定を行っており、これらの両者が正常範囲に入るように投薬量を決定している。これらの症例において、 $FT_4$  を測定したところ、チラーゲン S 投与中の2症例で血中  $T_4$ 、 $T_3$ 、TSH 濃度 ( $0.5 \mu U/ml$  以下) が正常範囲にもかかわらず  $FT_4$  濃度が高値であった。この2症例において TRH テストを施行しておらず、投薬過剰であることを確認しえなかったが、現在市販されている TSH RIA キットは感度が不十分であり、正常値の下限がないため、このように  $T_4$ 、 $T_3$ 、TSH の測定だけでは、投薬過剰を check することができないと考えられる。甲状腺未投与の1症例で、TSH が  $0.5 \mu U/ml$  以下を示した時の  $FT_4$  濃度は、正常値を示したがこの症例では甲状腺末中に含まれる  $T_3$  の影響で  $T_3$  濃度が  $162$  ng/100 ml とやや高く、そのために TSH が  $0.5 \mu U/ml$  以下の値を示したのではないかと考えられた。これらの症例における  $FT_4I$  は検討していないが、少なくとも原発性甲状腺機能低下症において特に  $T_4$  補充療法時の治療経過および投薬量の決定には  $FT_4$  と TSH の測定の方が  $T_4$ 、TSH、 $T_3$  あるいは  $T_3RU$  よりも簡単で有用であると考えられた。

## VI. 結 語

マイクロカプセル透析膜を用いる CIS (DA-MON DIAGNOSTICS) 社製  $FT_4$  RIA キットを試用し、基礎的ならびに臨床的検討を行い以下の成績を得た。

1) 規定の温度、時間条件で良好な標準曲線が得られたが、第1インキュベーション時間に関しては、規定の2時間よりは、3,4時間の方が急峻な標準曲線が得られた。測定の精度、再現性およ

び抗体の特異性も満足すべきものであった。

2) 本キットによる健常者の  $FT_4$  値は  $1.61 \pm 0.21$  ng/100 ml で甲状腺機能亢進症および低下症患者における値との重なり合いは全くみられなかった。

3) 本法による測定値は、TBG 異常症においても甲状腺機能をよく反映していると考えられたが、甲状腺以外の疾患時における甲状腺機能診断上の意義についてはさらに検討を要すると考えられた。

4) 本法による  $FT_4$  値は、 $FT_4I$ , Gamma Coat RIA キットによる  $FT_4$  値および平衡透析法による  $FT_4$  値と良好な正相関関係を示した。

5) 本法による  $FT_4$  濃度の測定は、バセドウ病アイソトープ治療後の甲状腺機能低下症の早期診断、原発性甲状腺機能低下症の  $T_4$  補充療法時の経過観察および投薬量の決定に、血中 TSH 測定と共に有用であると思われた。

おわりに平衡透析法による  $FT_4$  の測定をして頂いた三重大学医学部放射線科中川毅助教授に謝意を表します。

## 文 献

- 1) Sterling K, Brenner MA: Free thyroxine in human serum: Simplified measurement with the aid of magnesium precipitation. *J Clin Invest* **45**: 153-163, 1966
- 2) Oppenheimer JH, Squef R, Surks MI, et al: Binding of thyroxine by serum proteins evaluated by equilibrium dialysis and electrophoretic techniques. Alterations in nonthyroidal illness. *J Clin Invest* **42**: 1769-1782, 1963
- 3) 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
- 4) Schussler GC, Plager JE: Effect of preliminary purification of  $^{131}I$ -thyroxine on the determination of free thyroxine in serum. *J Clin Endocr* **27**: 242-250, 1967
- 5) Lee ND, Henry RJ, Golub OJ: Determination of the free thyroxine content of serum. *J Clin Endocr* **24**: 486-495, 1964
- 6) McDonald LJ, Robin NI, Siegel L: Free thyroxine in serum as estimated by polyacrylamide gel filtration. *Clin Chem* **24**: 652-656, 1978
- 7) Clark F, Horn DB: Assessment of thyroid function by the combined use of the serum protein-bound iodine and resin uptake of  $^{131}I$ -triiodothyronine. *J Clin Endocr* **25**: 39-45, 1965
- 8) 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 Endocr* **31**: 166-179, 1970
- 9) 池窪勝治, 高坂唯子, 飯田泰啓, 他: Free  $T_4$  RIA kit(Corning) による血中遊離サイロキシン濃度の測定について. *ホルモンと臨床* **28**: 109-114, 1980
- 10) 小西淳二, 高坂唯子, 飯田泰啓, 他: 固相法 radioimmunoassay による血中遊離サイロキシン測定の基礎的検討と臨床応用. *核医学* **17**: 963-970, 1980
- 11) Ashkar FS, Buehler RJ, Chan T, et al: Radioimmunoassay of free thyroxine with prebound anti- $T_4$  microcapsules. *J Nucl Med* **20**: 956-960, 1979
- 12) Halpern EP, Bordens RW: Microencapsulated antibodies in radioimmunoassay-II. Determination of free thyroxine. *Clin Chem* **25**: 1561-1563, 1979
- 13) Gamma Coat ( $^{125}I$ ) $T_4$  Radioimmunoassay Kit 使用説明書 Clinical Assays
- 14) 森 徹, 笠木寛治, 遠藤啓吾, 他: TSH (付LATS および TSI)——その数値をどうよむか——. *日本臨床* **34**: 444-455, 1975 増刊号
- 15) 小西淳二, 中島言子, 森田陸司, 他: TRI-TAB, TETRA-TAB キットによる  $T_3$  摂取率および血中  $T_4$  濃度測定の基礎的検討ならびに臨床的評価. *ホルモンと臨床* **24**: 449-462, 1976
- 16) T-4 RIA KIT II 使用説明書, ダイナボット RI 研究所
- 17) T-3 リアキット II 使用説明書, ダイナボット RI 研究所
- 18) Jiang N, Tue KA: Determination of free thyroxine in serum by radioimmunoassay. *Clin Chem* **23**: 1679-1683, 1977
- 19) Yeo PPB, Lewis M, Evered DC: Radioimmunoassay of free thyroid hormone concentrations in the investigation of thyroid disease. *Clin Endocr* **6**: 159-165, 1977
- 20) Halpern EP, Bordens RW: Microencapsulated antibodies in radioimmunoassay—I, Determination of digoxin. *Clin Chem* **25**: 860-862, 1979
- 21) Chopra IJ, Chopra U, Smith SR, et al: Reciprocal changes in serum concentrations of 3,3',5'-triiodothyronine (reverse  $T_3$ ) and 3,3',5-triiodothyronine ( $T_3$ ) in systemic illnesses. *J Clin Endocrinol Metab* **41**: 1043-1049, 1975
- 22) Bayley AT, Higgins PH, Row VV, et al: The metabolic significance of thyroxine-binding globulin. Studies in a family with decreased thyroxine-binding globulin. *Acta Endocrinol* **61**: 137-150, 1969
- 23) Heinonen OP, Lamberg BA, Virtamo J: Inherited

- decrease of the binding capacity of thyroxine-binding globulin (TBG). *Acta Endocrinol* **64**: 171–180, 1970
- 24) Chopra IJ, Solomon DH, Gershen WH, et al: Misleadingly low free thyroxine index and usefulness of reverse triiodothyronine measurement in nonthyroidal illness. *Annals Intern Med* **90**: 905–912, 1979
- 25) Chopra IJ, Herle JV, Teco GNC, et al: Serum free thyroxine in thyroidal and nonthyroidal illnesses: A comparison of measurements by radioimmunoassay, equilibrium dialysis, and free thyroxine index. *J Clin Endocrinol Metab* **51**: 135–143, 1980
- 26) Gregerman RI, Davis PJ: Intrinsic physiologic variables and non thyroid illness, *The Thyroid*, Harper & Row, P235, fourth edition
- 27) Kershner AJ, Wassner SJ, Buckingham BA, et al: Thyroid function in children with chronic renal failure. *Nephron* **19**: 236–241, 1977
- 28) Wood DG, Cyrus J, Samols E: Low T<sub>4</sub> and low FT<sub>4</sub>I in seriously ill patients: Concise communication. *J Nucl Med* **21**: 432–435, 1980