技術報告

ラジオイムノアッセイ法による free T_4 の測定—Amerlex free T_4 RIA kit による free T_4 の測定—[†]

木下文雄, 川上亮二, 高橋日和*, 岡田 清**
 東京都立大久保病院放射線科, *内科, **産婦人科
 160 新宿区歌舞伎町2-44-1
 1981年9月16日 受理

Key Words: free thyroxine, radioimmunoassay

血液中のサイロキシン(T_4)は大部分がサイロキシン結合タンパク(TBP)と結合し, TBPと結合していない free の T_4 は総 T_4 の 0.02~0.04% に過ぎない。血液中の総 T_4 量は TBP の影響を受けるが, free T_4 量はその影響を受けず, 甲状腺機能を正しく反映する。Free T_4 は従来は平衡透析法などにより測定されていたが, 操作が煩雑で, 多数検体の処理も困難で, 日常臨床検査法としては普及し得なかった。最近, ラジオイムノアッセイ法(RIA)により free T_4 の測定も可能になり¹⁾, その測定用 kit も数社により開発され, 漸次普及の傾向を示してきている。われわれもこれらを使用する機会を得たが, 今回はそのうち Amerlex free T_4 RIA kit (科研化学)により free T_4 を測定し, その基礎的, 臨床的検討を加えたので報告する。

1. 原理と方法

原理²⁾: TBP とはほとんど結合せず, T_4 抗体とは T_4 と同様に結合する比放射能のきわめて高い¹²⁵I- T_4 誘導体と, TBP 結合 T_4 と free T_4 の平衡関係に与える影響を抑えるために, きわめて少量の親和性の高い T_4 抗体を用いることにより, free T_4 をつぎの方法で正確に測定することができる。抗体はアマレックス粒子に結合しており, RIA の固相法で測定する。

方法: ①検体血清または標準血清 100 μ l, ¹²⁵I- T_4 誘導体液 500 μ l, アマレックス抗 T_4 抗体懸濁液 500 μ l

を順次同一試験管に分注し混合, ②パラフィルムなどで試験管にカバーし, 37°C, 1時間 incubate, ③遠心分離後(1500 g 以上, 15分間), 上澄みを decant, ④沈渣(B)の放射能を計測し, 標準曲線より free T_4 濃度を読みとる。

2. 成績

2.1 基礎的検討

2.1.1 再現性

単純繰り返し: 甲状腺機能亢進症のA血清, 甲状腺機能正常のB血清, 甲状腺機能低下症のC血清について, それぞれ10回測定した結果, 2.5 $\pm$ 0.14ng/dl (C.V. 5.6%), 1.0 $\pm$ 0.04ng/dl (C.V. 4.0%), 0.15 $\pm$ 0.01ng/dl (C.V. 6.7%)の値を得, 単純繰り返しによる再現性は良好であった。

日差変動: 上記と同じA, B, C血清について, 1週間隔で3回測定し比較検討した。測定は各条件についてそれぞれ5回ずつ測定し, その平均値をTable 1に示したが, A, B, C血清の測定値の日差変動はいずれもきわめて小でほとんど差を認めなかった。

Table 1 Reproducibility of free T_4 values determined by Amerlex free T_4 RIA kit on different days

	Free T_4 values (ng/dl)		
	1st	2nd	3rd
A serum	2.5 $\pm$ 0.07 (2.8)	2.5 $\pm$ 0.08 (3.2)	2.5 $\pm$ 0.07 (2.8)
B serum	1.0 $\pm$ 0.04 (4.0)	1.0 $\pm$ 0.05 (5.0)	1.0 $\pm$ 0.04 (4.0)
C serum	0.15 $\pm$ 0.01 (6.7)	0.14 $\pm$ 0.01 (7.1)	0.14 $\pm$ 0.01 (7.1)

[†] Determination of Free Thyroxine by Radioimmunoassay—Determination of free thyroxine by Amerlex free T_4 RIA kit—. Fumio KINOSHITA, Ryoji KAWAKAMI, Hiyori TAKAHASHI and Kiyoshi OKADA: Tokyo Metropolitan Ohkubo Hospital, 2-44-1, Kabuki-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 160, Japan.

ロット間変動：異なった日に送られてきた、lot 番号の異なった3種の kit について A, B, C 血清を各条件それぞれ5回ずつ測定した結果は Table 2 のごとくで、いずれの血清の測定値にもロット間変動はほとんど認められなかった。

Table 2 Difference of free T_4 values on different lots of Amerlex free T_4 RIA kit

	Free T_4 values (ng/dl)		
	Lot No. 44	Lot No. 54A	Lot No. 55
A serum	2.4±0.13 (5.4)	2.5±0.11 (4.4)	2.5±0.07 (2.8)
B serum	1.0±0.05 (5.0)	1.0±0.05 (5.0)	1.0±0.04 (4.0)
C serum	0.11±0.01 (9.1)	0.13±0.01 (7.7)	0.15±0.01 (8.7)

2.1.2 Incubation

時間：Incubation 時間は1時間と指定されているが、われわれは15, 30, 60, 120分について検討した。A, B, C の血清について各条件それぞれ5回ずつ測定し、その平均値をFig. 1 に示した。いずれの時間でも、3者は明確に分離され、また各血清の測定値は時間によって大差はなかったが、高値のA血清のみは15～30分でやや低値を示した。

Fig. 1 Influence of incubation time on free T_4 values by Amerlex free T_4 RIA kit.

温度：Incubation 温度は37°Cと指定されているが、われわれは4°C, 15°C, 25°C, 37°Cについて検討した。A, B, C の血清について各条件それぞれ5回ずつ測定し、その平均値をFig. 2 に示した。いずれの温度でも、3者は明確に分離され、また各血清の測定値に温度によって大差はなかったが、A血清では4°C, 15°Cでやや低い傾向を示した。

2.2 臨床成績

正常者32例，甲状腺機能亢進症30例，甲状腺機能低

Fig. 2 Influence of incubation temperature on free T_4 values by Amerlex free T_4 RIA kit.

Table 3 Free T_4 values by Amerlex free T_4 RIA kit in various thyroid status

Thyroid status	No. of cases	Free T_4 values (ng/dl)	
		Range	Average
Euthyroid	32	0.8~1.8	1.25±0.24
Hyperthyroid	30	2.6~9.0↑	5.58±2.37
Hypothyroid	18	0.1~0.5	0.28±0.15
Simple diffuse goiter	2	1.1~1.8	1.45±0.50
Simple nodular goiter	13	1.0~1.7	1.31±0.20
Malignant goiter	2	1.3~2.2	1.75±0.64
Chronic thyroiditis	13	0.2~1.6	0.82±0.38
Pregnant women	13	0.8~1.1	0.88±0.11

下症18例，その他の甲状腺疾患30例，妊婦13例，計123例の血清を使用し検討した。

2.2.1 正常値

正常者32例の free T_4 (FT_4) 値は Table 3, Fig. 3 のごとく0.8~1.8 ng/dl (平均1.25±0.24 ng/dl) で、±2 S.D. を正常範囲とすると0.8~1.7 ng/dl となった。

2.2.2 各種甲状腺疾患の FT_4 値

甲状腺機能亢進症30例では全例が2.6 ng/dl 以上であり，甲状腺機能低下症18例では全例が0.5 ng/dl 以下で，正常者との間に測定値の重なり合いはまったく見られなかった。その他，単純性甲状腺腫，悪性甲状腺腫は正常範囲，慢性甲状腺炎はその程度により正常範囲～低値を示した。妊婦はすべて27週以上であったが， FT_4 値はいずれも正常範囲内で，やや低値を示した。

2.2.3 他の検査成績との相関

Fig. 3 Distribution of free T_4 values by Amerlex free T_4 RIA kit in various thyroid status.

FT $_4$ を測定した全血清について, GammaCoat kit による T_4 および FT $_4$, T-3 RIA KIT II によるトリヨードサイロニン(T_3), Triosorb S と GammaCoat T_4 kit による T_4 値から FT $_4$ Index を算定し, 前述の甲状腺機能亢進症30例, 正常者32例, 甲状腺機能低下症18例の血清について各相関を検討した。

GammaCoat kit による T_4 値との相関は $r=0.94$, FT $_4$ 値との相関は $r=0.96$ (Fig. 4), T-3 RIAKIT II による T_3 値との相関は $r=0.93$, FT $_4$ Index との相関は $r=0.96$ といずれも高度の相関を示した。

Fig. 4 Correlation of free T_4 values by Amerlex free T_4 RIA kit with those by GammaCoat free T_4 kit.

2.3 考案

T_4 , T_3 uptake は甲状腺機能をよく反映するが, 血中 TBP の影響を避けられない。すなわち, TBP の増

加する妊娠, TBG 増加症, エストロジェン投与などでは血清 T_4 値は高値を, T_3 uptake は低値を示し, TBP の減少する重症肝腎疾患, TBG 減少症, アンドロジェン投与などの場合は逆に血清 T_4 値は低値を, T_3 uptake は高値を示す。このような場合, FT $_4$ 値を測定するのが最も優れているが, 最近までは, 平衡透析法など一般臨床検査に不適当な煩雑な方法しかなかった。RIA による FT $_4$ の測定が開発されたことにより, 一般病院でも容易に日常検査として測定し得る可能性ができ, 今後の甲状腺機能検査に重要な役割を占めることと考えられ, GammaCoat FT $_4$ kit についてはすでに発表³⁾したので, 今回は, その kit の1つとして Amerlex free T_4 RIA kit の検討を行った。

基礎的検討の結果は前述のごとくで, 再現性は単純繰り返し, 日差変動, ロット間変動のいずれの検討でも優れた成績を示した。Incubation 時間については15~120分のいずれもA, B, C血清の測定値を明確に分離はしたが, 60~120分の測定値がA, B, C3血清とも安定した値を示し, 60分が適当と認められた。Incubation 温度については, B, C血清では4~37°Cでほとんど差がなかったが, A血清では4°C, 15°Cでやや低値で, 25°C, 37°Cは安定していた。これは普通の室温なら37°Cでなくてもよいことを示しているが, 体温と同じ温度であれば, T_4 のTBPに対する結合など安定していることと考えられ, また, 標準曲線も急峻で測定が正確に行われる可能性が高いことから37°Cが適当と認められた。

臨床的検討ではまず正常値であるが, 0.8~1.7ng/dl (average ± 2 S.D.) の成績は本 kit による他の報告⁴⁾に比しやや低いが, およそ同様である。甲状腺機能亢進症, 甲状腺機能低下症と正常者の測定値の重なり合いはなく, 慢性甲状腺炎でも他の検査成績とよく比例し, その機能程度を示した。TBP の増加する妊婦の FT $_4$ 値はすべて妊娠27週以上の妊娠後期の症例であったが, 全例正常範囲内低値を示し, 従来用いられた T_4 , T_3 , T_3 uptake などの測定値と異なり甲状腺機能を正しく反映したが, このやや低値を示す原因は今後検討したい。

他の甲状腺機能測定値との相関は, GammaCoat kit による T_4 値, FT $_4$ 値, T-3 RIA KIT II との T_3 値, T_4 値と Triosorb S による T_3 uptake との FT $_4$ Index など, 従来広く利用されている諸種甲状腺機能検査で得られる値と高度の相関を示し, 本 kit による FT $_4$ 測定値が甲状腺機能を正しく反映することが確かめられた。

2・4 要約

血中 TBP の影響を受けない FT₄ 測定のために開発された Amerlex free T₄ RIA kit について基礎的、臨床的検討を加えた結果、本 kit は FT₄ 測定に有用な優れた kit であり、今後、広く甲状腺機能検査に普及利用されるものと思われる。

文 献

- 1) Henneman, G., et al.: *Lancet*, **1**, 634 (1979)
 - 2) Midgley, J., et al.: *ibid.*, **2**, 704 (1980)
 - 3) 木下文雄：核医学, **16** (suppl.), 105 (1980)
 - 4) 満間照典, 他：医学と薬学, **5**, 603 (1981)
-