

放射免疫測定법에 의한 血中 遊離 Thyroxine 濃度測定の 臨床的 意義에 對한 檢討

大邱保健專門大學 放射線科

李 準 逸

Abstract

Studies on the Clinical Significance of Free Thyroxine Concentration in Serum by Radioimmunoassay

Joon Il Lee

*Dept. of Radiotechnology, Daegu Health Junior College
Daegu, Korea*

Studies on the clinical significance with Amerlex FT₄ RIA kit observing the determination of FT₄ were investigated using a tracer as ¹²⁵I-T₄ derivative which is not almostly bound to thyroxine binding globulin, etc.

The results are followed;

1. FT₄ value(1.55 ± 0.38ng/100ml) of normal group was not accorded that of hyperthyroidism with Amerlex FT₄ RIA kit, and was higher than that of hypothyroidism.
2. FT₄ value was lower level in chronic-kidney dysfunction syndromè whereas, it was normal in a cancer patient, a woman in pregnancy and a patient in TBG dysfunction.
3. The value of this method is a good corelationship at that of equilibrium dialysis method. (r=0.931)
4. FT₄ value by this kit was linear relationship to those of the other kit (Gamma Coat and Liquisol), and the normal value of each methods was also similar.

As mentioned above, this method is more simple and rapid, compared to the other method. Therefore, it was thought that this method is a very useful clinically.

I. 緒 論

血中 Thyroxine (T₄) 및 Triiodothyronin (T₃)의 대부분은 Thyroxine Binding Globulin (TBG)을 주로 하는 Thyroxine Binding Protein (TBP)에 結合되어

있으므로 正常血清에서는 全T₄의 0.03 ~ 0.05%, T₃의 약 0.2%가 遊離型으로 存在¹⁾하는데 불가하다. 그러나 이 少量의 遊離T₄(FT₄)나 遊離T₃가 실제의 組織에 利用되어 作用을 發現하고 있다고 생각되며, 甲狀腺의 機能狀態를 가장 잘 反映하는 指標로

되어 있다.

지금까지 臨床에서는 血中 총 T_4 및 총 T_3 濃度の 測定이 널리 行해지고 있으나 이는 妊娠을 비롯한 各種 疾患과 藥劑의 영향 등에 의하여 TBG 量이 變化된 경우에는 그 測定值가 機能狀態와 一致하지 않는 단점을 가지고 있다.

FT_4 의 測定法으로는 종래에 주로 利用되었던 平衡 透析法^{1,4)} 외에 限外濾過法⁵⁾이나 gel 濾過法⁶⁾ 등도 있으나 어느 것이든 檢査方法이 복잡하여 熟練을 必要로 하므로 一常的인 檢査方法으로는 별로 利用되지 못하였다.

이를 대신하여 임상에서는 총 T_4 濃도와 T_3 攝取率을 利用하여 計算된 遊離 T_4 指數 (free thyroxine index, FT_4I)^{1,7,8)}를 利用하였다.

近年, 放射免疫測定法 (radioimmunoassay, RIA)에 의해 血中 FT_4 를 直接 測定하려는 기대와 노력으로 여러 會社에서 kit가 開發되어 市販되고 있다.

著者は 이미 外國에서 發表된 몇 회사의 kit에 對한 검토문헌⁹⁻¹¹⁾을 접하였으나 금번 TBG 등의 結合蛋白質에 대부분 結合되지 않는 T_4 誘導體를 標識 tracer로 使用한 FT_4 測定法, Amerlex FT_4 RIA kit (Amersham International 製)를 使用하여 檢査를 실시하였기에 그 臨床的인 檢討結果를 報告하는 바이다.

II. 測定原理 및 測定方法

이 測定法의 特徵은, T_4 結合蛋白質에 거의 結合되지 않으나, 抗 T_4 抗體에는 T_4 와 같은 交叉反應性을 나타내는 ^{125}I - T_4 誘導體를 tracer로 使用하고 있다는 점이다.¹²⁾

이와같은 標識物質을 利用하면 血中の FT_4 와 ^{125}I - T_4 誘導體와의 사이에서 結合蛋白質과는 關係없이 抗 T_4 抗體에 대해서 通常의 RIA와 같은 競合反應이 이루어 지므로 일단계의 操作으로 신속하게 測定이 行해진다. 또 抗 T_4 抗體는 微細粒子에 結合(固相化)되어 있으므로 B·F分離는 遠心操作에 의해 간단하게 行해진다.

測定方法은 다음과 같으며, 그 概要를 Fig. 1에 나타내었다.

1) 標準血清 또는 被檢血清 100 μ l ^{125}I - T_4 誘導體를 포함한 용액(赤色) 500 μ l 및 抗 T_4 抗體懸濁液

(青色) 500 μ l를 試驗管에 加해 振盪混和하여 37°C로 60分間 incubate 한다.

2) 各 試驗管을 室溫에서 1,500g 以上으로 15分間 遠心하여 B·F를 分離한다.

3) 上清液을 decantation 한 후 各 試驗管의 放射能을 測定한다.

4) 標準血清의 計數를 利用하여 標準曲線을 그린 후 被檢血清의 FT_4 值를 구한다.

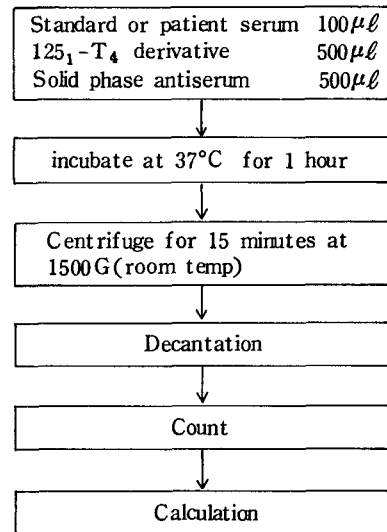


Fig. 1 Assay protocol of Amerlex free T_4 RIA kit

III. 實驗對象 및 實驗方法

臨床的 有用性에 대하여 健康 정상자 29例, 甲狀腺機能亢進症 25例, 甲狀腺機能低下症 25例, TBG 減少症 2例, 正常妊婦 43例, 慢性腎不全 10例, 癌 14例로 計 146例에 대하여 血中 FT_4 를 測定하여 甲狀腺機能과의 關係를 檢討하였다.

一部 檢體에 대해서는 이 測定值와 平衡透析法에 의한 FT_4 值 및 FT_4I (T_4 濃도와 T_3 攝取率의 곱으로 구한 값)와의 相關을 비교하였다. 그리고 平衡透析에 의한 FT_4 는 Sterling 등의 方法⁴⁾의 變法을 利用하여 測定하였다.²⁾ 妊婦에 대해서는 血中 TBG 濃度を 測定하여 T_4 /TBG比와 FT_4 值와의 關係를 檢討하였다. 또한 본 kit에 의한 測定值와 Gamma Coat FT_4 RIA kit 및 Liquisol FT_4 kit에 의한 測定值와의 比較檢討를 실시 하였다.

血液은 肘靜脈에서 채혈하여, 가급적 빨리 血清(또는 血漿)을 分離한 후 -20°C 냉동고에 보관 하였다가 測定時에는 각 kit의 사용 설명서에 충실 하였으며, 모든 測定은 duplicate로 실시하였다.

IV. 結 果

1. 건강 정상자 및 各種 疾患에 있어서의 FT_4 測定成績

Fig. 2에 臨床例에 있어서의 血中 FT_4 濃度の 測定成績을 나타내었다. 건강 정상자 29例에서는 $0.88 \sim 2.10 \text{ ng}/100\text{m}\ell$ 사이에 分布하였으며 平均 1.55 ± 0.38 (S.D.) $\text{ ng}/100\text{m}\ell$ 였다. 正常範圍에 있어서 平均値 ± 2 S.D.를 取하면 $0.79 \sim 2.3 \text{ ng}/100\text{m}\ell$ 가 된다.

甲狀腺機能亢進 症例에서는 $2.56 \sim 9.0 \text{ ng}/100\text{m}\ell$ 이상으로 全例에서 높은 값을 나타내었다. 한편 甲狀腺機能低下 症例에서는 $0 \sim 0.83 \text{ ng}/100\text{m}\ell$ 로 1例를 除外한 24例에서 낮은 값을 나타내었다.

TBG減少症 2例는 모두 正常値였다. 妊婦에서는 妊娠 個月數의 증가에 따라 FT_4 値는 低下하는 傾向을 나타내어, 第1期에서는 平均 $1.14 \text{ ng}/100\text{m}\ell$ 로 全例

가 正常範圍였는데 비해, 第3期에서는 平均 $0.08 \text{ ng}/100\text{m}\ell$ 로 約 半數가 낮은 값을 나타내었다. 이 점에 대하여 다시 檢討하기 위해 이들 妊婦의 血中 TBG 濃度を 測定하여 妊婦 各期의 T_4/TBG 比를 구하였다. 妊娠 第1期에서는 0.34 ± 0.03 (mean \pm S.D.)으로 건강 정상자 (0.39 ± 0.52)¹³⁾와 비슷한 結果였으나, 第2期에서는 0.29 ± 0.04 , 第3期에서는 0.25 ± 0.05 로서 第2期以後에는 有意하게 低下하고 있는 것이 인정되었다.

慢性腎不全 10例에서는 全例가 낮은 값을 나타내었다.

各種 암환자 14例에서는 모두 正常値였다.

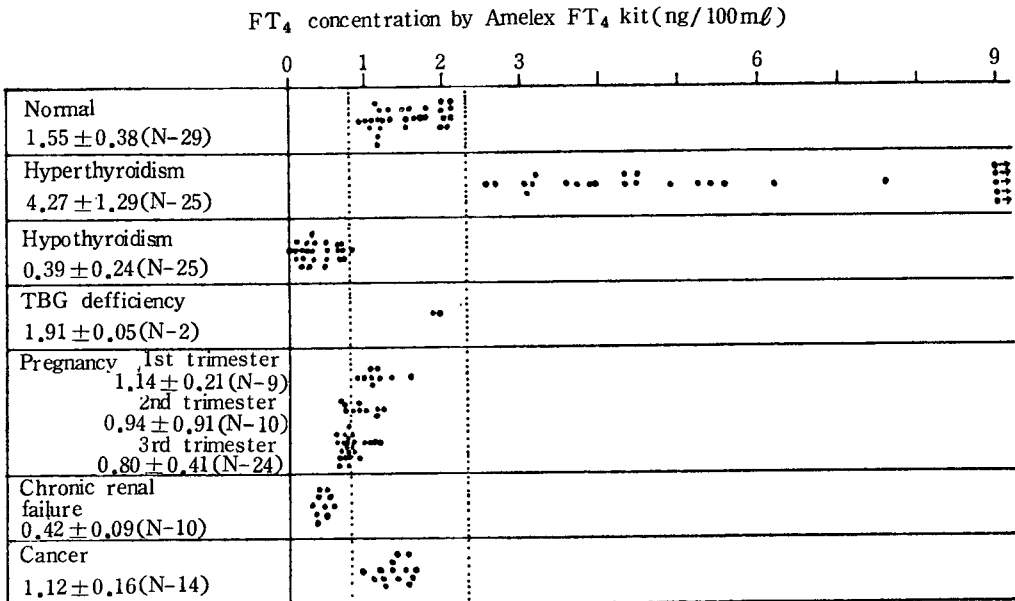
2. 平均透析法에 의한 FT_4 値와의 關係

29例에 대하여 平衡透析法에 의한 FT_4 測定値와 본 kit에 의한 測定値와의 關係를 檢討하였다.

Fig. 3에 나타낸 것과 같이 兩者 사이에 著극히 양호한 相關關係가 인정되었다($\gamma = 0.931$).

3. FT_4I 와의 關係

60例에 대하여 FT_4I 를 구하여 본 kit에 의한 FT_4 値와의 關係를 檢討하였다. Fig. 4에 나타낸 것



• Values over 9 ng 100mℓ were not included for the calculation.

Fig. 2. Serum free T₄ concentration in various physiological and pathological conditions

과 같이全體로서 兩者 사이에는 $\gamma = 0.941$ 의 양호한 相關關係가 인정되었다. 그러나 一部の 妊婦와 慢性 腎不全 患者에서는 FT_4 値가 낮은 값을 나타내는 데 비하여, FT_4 I는 정상범위에 있는 등 兩者의 사이에 차이를 나타내었다.

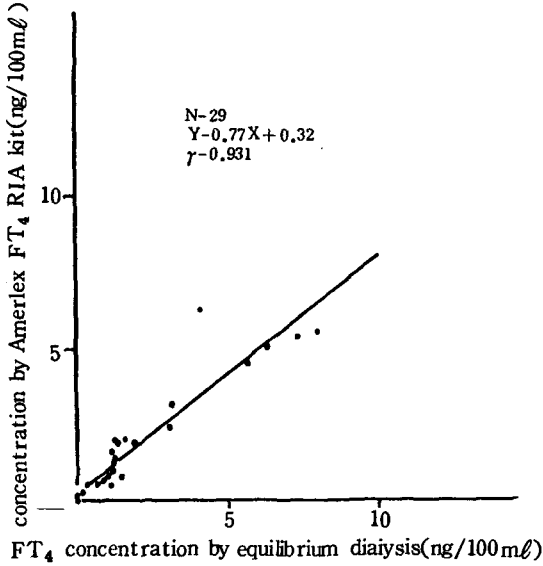


Fig. 3. Correlation between free T_4 values by equilibrium dialysis and those by Amerlex RIA kit

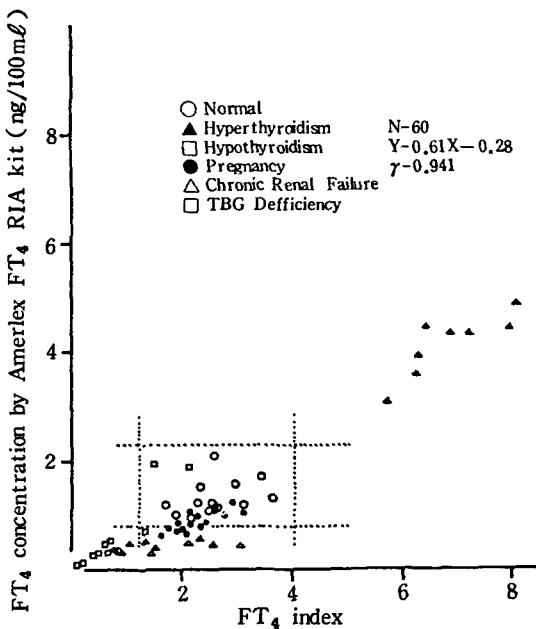


Fig. 4. Correlation between free thyroxine index and free T_4 concentration measured by Amerlex RIA kit

4. 다른 FT_4 RIA kit에 의한 測定値와의 比較

Gamma Coat FT_4 kit 및 Liquisol FT_4 kit에 의한 測定値와 본 kit에 의한 測定値와의 關係를 各 Fig. 5 및 6에 나타내었다. 相關係數는 各

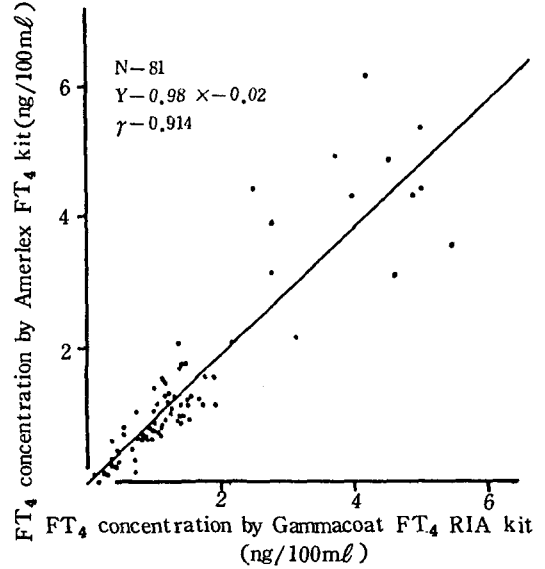


Fig. 5. Correlation between free T_4 values by Gamma Coat RIA kit and those by Amerlex RIA kit

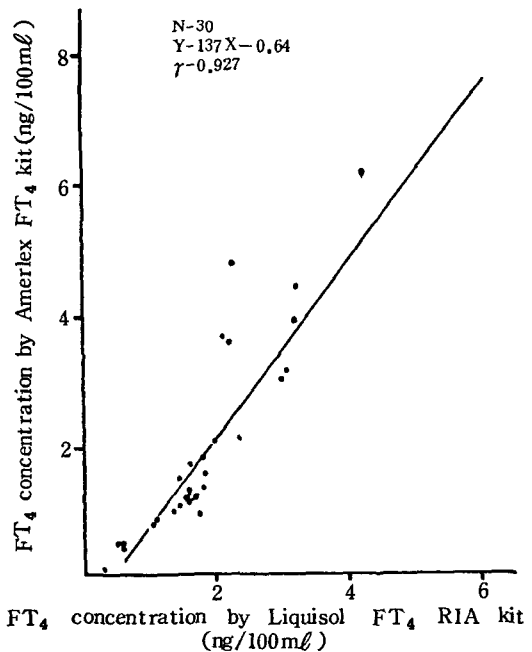


Fig. 6. Correlation between free T_4 values by Liquisol RIA kit and those by Amerlex RIA kit

0.914 및 0.927 이었고, 前者와는 그 絕對値에 있어서도 거의 일치된 결과가 얻어졌다. Liquisol kit에 의한 測定値와의 사이에는 症例數가 충분하지는 못하였으나 정상범위 이하에서 본 kit의 測定値가 보다 낮고, 높은 값 영역에서는 높은 傾向이 인정되었다.

V. 考 察

RIA를 利用하여 FT₄를 測定하고자 하기 以前부터 平衡透析을 行하여 그 外液 中の T₄를 測定하는 方法^{14,15)}이 檢討되었으나, 平衡透析의 手技가 복잡하기 때문에 多數檢體의 處理에 부적합하므로 日常 檢査로는 利用되지 않았다.

이 FT₄ 測定에 의하여 近年 RIA에 의한 直接的인 測定法이 연이어 開發되어 그 評價가 향상 되어지고 있다.

FT₄는 血中에서 結合蛋白과 一定한 平衡關係에 있으므로 FT₄의 測定에 있어서는 그 平衡의 혼란을 最少限으로 하여, FT₄를 抗體와 ¹²⁵I-T₄와의 競合反應을 어떻게 시키느냐가 問題이다. 또 標識 T₄와 T₄ 結合蛋白의 直接的인 접촉을 防止하기 위한 노력도 必要하다.

금번에 檢討한 Amerler FT₄ RIA kit에 使用되어 있는 ¹²⁵I-T₄ 誘導體는 TBG 및 TBPA에 대한 結合의 세기가 T₄에 비해 각각 3.4% 및 2.6%¹⁶⁾로, 거의 有意한 結合을 나타내지 않고 있다. 그러므로 直接 tracer와 血清을 混合하여 抗體와 FT₄의 反應이 可能하므로 操作은 1段階로, 反應時間도 短縮되어 지금까지의 方法中 가장 간편하고 신속한 測定方法으로 생각된다.

臨床測定에서의 結果는 健康 정상자에 있어서 FT₄ 濃度は 1.55 ± 0.38 (S.D.) ng/100mℓ 로, 정상범위는 0.79 ~ 2.3 ng/100mℓ 로 판단된다.

甲狀腺機能亢進症에서는 2.56 ng/100mℓ 以上으로 全例에서 높은 값을 나타내었다. 이에 比하여 甲狀腺機能低下症에서는 정상범위와 약간의 겹침이 인정되었다. 透析外液의 FT₄를 RIA로 測定한 Yeo¹⁵⁾ 등도 같은 成績을 報告하고 있으며, 이와같은 境界例에는 TSH의 測定을 併行할 必要가 있다고 생각된다.

TBG 減少症에서는 全例에서 正常値를 나타내었다. 한편 臨床적으로 甲狀腺機能이 正常인 妊婦에서는, 妊

娠 第1期에는 全例가 정상범위에 속하였으나, 第2期, 第3期로 進行되어 감에 따라 平均 FT₄ 値는 低下를 나타내며, 第3期에는 約 半數가 낮은 값을 나타내었다. 妊娠期間과 FT₄와의 關係에 대한 詳細한 報告는 아직까지 보지 못하였으나, TBG增加의 경우 FT₄I 보다 좋은 指標가 될 T₄/TBG比¹⁷⁾가 全적으로 이와 平行하여 변동되고 있으며, Corning社의 FT₄ RIA Kit에 의한 測定値에서도 妊娠 第3期에서 低下된다는 사실이 報告되어 있다.¹⁸⁾ 그리고 Ekins 등¹⁹⁾도 Sephadex[®] 固相化 抗體를 使用한 RIA로 妊娠 後半期에 FT₄ 測定値가 前半에 비해 低下한다는 것을 報告하고 있다.

慢性 腎不全症에서는 全例에서 낮은 값을 나타내었으나, 이제까지의 平衡透析法에 의한 成績으로는 正常²⁰⁾ 혹은 약간 낮은 값²¹⁾으로 報告되어 있다. 이와같은 狀態下에서 나타나는 血清蛋白의 異常이 FT₄ 測定値에 영향을 미치는 것으로 생각된다. 특히, 본 kit에 使用되고 있는 ¹²⁵I-T₄ 誘導體가 albumin에 輕度도 結合하는 점보다 albumin의 減少가 測定値를 低下시키는 한 원인이 되고 있을 가능성도 생각된다. 특히 腎不全 患者의 試料은 血漿이었으므로 heparin의 영향을 檢討하였으나 通常量에서는 測定値에 전혀 영향을 나타내지 않았다.

암환자는 轉移가 있는 重症患者가 포함되어 있었으나 全例에서 正常値를 나타내었다.

T₄와 T₃ 攝取率에서 求한 FT₄I와 FT₄ 値와의 사이에는 양호한 相關關係를 나타내었으나, 妊娠 3期の 妊婦나 慢性 腎不全 患者 등에서는 FT₄ 値가 낮은 값을 나타내고 있는데도 불구하고 FT₄I는 정상범위를 나타내고 있어 兩者의 차이가 인정되었다.

이 方法에 의한 測定値는 平衡透析法에 의한 FT₄ 測定値와 양호한 相關關係를 나타내었다. 또한 다른 RIA kit에 의한 測定値와의 相關關係도 良好하였다. 이 方法에 의한 健康 정상자의 測定値는 平衡透析法에 의한 正常値(1.10 ± 0.18 ng/100mℓ)¹¹⁾보다 높았으나, Gamma Coat FT₄ RIA kit 및 Liquisol FT₄ RIA kit에 의한 正常値(각각 1.50 ± 0.29¹¹⁾, 1.61 ± 0.21 ng/100mℓ⁹⁾)와 거의 같은 값이었다.

VI. 結 論

TBG 등의 結合蛋白에 거의 結合되지 않는 ¹²⁵I

-T₄ 誘導體를 tracer 로 使用하여 FT₄ 의 測定을 行한 Amerlex FT₄ RIA kit에 대한 臨床的 意義에 對한 檢討를 실시하여 다음과 같은 成績을 얻었다.

1) 본 kit에 의한 건강 정상자의 FT₄ 値는 1.55 ± 0.38 (S.D.) ng/100mℓ 로, 甲狀腺機能亢進症 患者에서의 값과는 겹쳐지지 않았다. 甲狀腺機能低下症에서는 1例만이 정상범위였고 나머지 全例에서 낮은 값을 나타내었다.

2) TBG 減少症에서는 正常値를 나타내었으나, 妊婦에서는 妊娠의 進行과 함께 정상범위의 낮은 값에서 낮은 값의 범위를 나타내었다. 慢性 腎不全症에서는 낮은 값을, 入院者에서는 正常値를 나타내었다.

3) 이 方法에 의한 測定値는 平衡透析法에 의한 FT₄ 値와 良好한 相關關係를 나타내었다($r = 0.931$).

4) 본 kit에 의한 FT₄ 値는 다른 RIA kit(Gamma Coat 및 Liquisol)에 의한 測定値와 良好한 相關關係를 나타내었으며, 正常値도 거의 一致되고 있었다.

以上과 같이 이 方法은 종래에 利用되던 方法에 비해서 簡便하며, 迅速한 FT₄ 測定法으로서 그 測定値는 平衡透析法에 의한 값과 良好한 相關關係를 나타내므로 臨床的으로 有用한 測定法이라 생각된다.

參 考 文 獻

1. 이준일 : 핵의학 기술학, 대학서림, p. 436~438. 1986.
2. Oppenheimer JH, Squel R, Surks MI, et al: Binding of thyroxine by serum proteins evaluated by equilibrium dialysis and electrophoretic techniques. Alteration in non-thyroidal 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. Sterling K, Brenner MA: Free thyroxine in human serum: Simplified measurement with the acid of magnesium precipitation. J. Clin. Invest. 45: 153-163, 1966.
5. Schussler GC, Plager JE: Effect of preliminary purification of ¹³¹I-thyroxine on the determination of free thyroxine in serum. J. Clin. Endocrinol. Metab. 27:242-250, 1967.
6. Lee ND, Henry RJ, Golub OJ: Determination of the free thyroxine content of serum. J. Clin. Endocrinol. Metab. 24: 486-495, 1964.
7. 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.
8. Clark F, Horn DB: Assessment of thyroid function by the combined use of the serum proteinbound iodine and resin uptake of ¹³¹I-triiodothyronine. J. Clin. Endocrinol. Metab. 25: 39-45, 1965.
9. 笠木寬治 小西淳二, 高坂唯子, 外: 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, 核醫學, 18: 973-983, 1981
10. 池窪勝治, 高坂唯子, 飯田泰啓 外: Free T₄ RIA Kit (Coring) 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: 1259-1264, 1980
11. 小西淳二, 高坂唯子, 飯田泰啓 外: 固相法 radioimmunoassay kit 「Gamma coat FT₄」 による遊離サイロキシン測定の基礎的検討と臨床應用. 核醫學, 17: 963-970, 1980
12. Midgley JEM, Wilkins TA: Hypothyroidism in patients on fenclofenac. Lancet ii: 704-705,
13. 遠藤啓吾, 笠木寬治, 高坂唯子 外: Radioimmunoassay による血中 TBG濃度 測定の基礎的検討ならびに臨床的意義について. 核醫學, 16: 677-684, 1979.
14. Jiang N, Tue KA: Determination of free thyroxine in serum by radioimmunoassay. Clin. Chem. 23: 1679-1683, 1977.

15. Yeo PPB, Lewis M, Evered DC: Radio-immunosassay of free thyroid hormone concentrtrions in the investigation of thyroid disease. *Clin.Endocr.*6:159-165, 1977.
16. Whitworth AS, Robbins CM, Wilkins TA: Estimation of T₄-X binding strength to TBG and prealbumin relative to that of T₄. Amerlex Free T₄ RIA Kit 資料, The Radiochemical Center, 1981.
17. Burr WA, Evans SE, Lee J, et al.: The ratio of thyroxine to thyroxine-binding globulin in the assessment of thyroid function. *Clin.Endoor.*11,333-342, 1979.
18. Boss M, Kingstone D: Serum free thyroxine in pregnancy. *Brit.Med.J.*2:550, 1979.
19. Kurtz A, Dwter K, Ekins R: Serum free thyroxine in pregnancy. *Brit.Med.J.*2: 550-551, 1979.
20. Chopra IJ, Chopra V, Smith SR, et al: Reciprocal changes in serum concentrations of 3,3', 5' triiodothyronine (reverse T₃) and 3,3', 5-triiodothyronine (T₃) in systemic illness. *J. Clin.Eendocrinol.Metab.*41: 1043-1049, 1975.
21. Wassner SJ, Buckingham BA, Kershner AJ, et al: Thyroid function in children with chronic renal failure. *Nephron.*19:236-241, 1977.