

## 濾紙血液フリー $T_4$ 測定によるクレチン症 マス・スクリーニングの検討

Mass screening for congenital hypothyroidism  
by measuring of free thyroxine using dried  
blood on filter paper

福士 勝 荒井 修 水嶋 好清 南波三紀子  
北島 紀世 前田 博之 青木 襄 高杉 信男

Masaru Fukushi, Osamu Arai, Yoshikiyo Mizushima,  
Mikiko Nanba, Noriyo Kitajima, Hiroyuki Maeda,  
Minoru Aoki and Nobuo Takasugi

### 目 的

クレチン症のマス・スクリーニングは、濾紙血液を用いてTSH測定により行われているが、二次性、三次性の検出には $T_4$ 測定によるスクリーニングではクレチン症児と同様に低出生体重児やTBG低下症でも $T_4$ 低値となるため偽陽性が多い欠点がある。このため $T_4$ 測定にTBG測定を併せて行うことが必要であり、スクリーニング法として簡便性、経済性などに問題がある。そこで、血中の甲状腺ホルモン活性を表わすとされているフリー $T_4$ を指標としたスクリーニングの検討と $T_4$ によるスクリーニングとの比較を行った。

### 対象と方法

#### 1 対 象

測定法の検討には、甲状腺機能亢進、低下症および正常人の血液を用いた。さらに、TSH、 $T_4$ 測定を行った新生児5,195例（低出生体重児264例を含む）について25回のアッセイによりフリー $T_4$ によるスクリーニングを行った。

#### 2 使用試薬

フリー $T_4$ はアマレックスフリー $T_4$ RIAキッ

ト、TSHはN-TSHコーニング、 $T_4$ はクレチン $T_4$ 栄研、TBGはコーニングTBG RIAキットを使用した。

#### 3 測定方法

フリー $T_4$ は3mmディスク2枚に $^{125}\text{I}-T_4$ 誘導体、固相化 $T_4$ 抗体をそれぞれ100 $\mu\text{l}$ 加え、室温で2時間インキュベート後、生理食塩水2mlを加えて2,000 $\times g$ で10分間遠心し上清を吸引除去した。濾紙血液標準フリー $T_4$ はMizutaら<sup>1)</sup>の報告に準じて作製した。TSH、 $T_4$ 、TBGは既報に従って測定した<sup>2), 3), 4)</sup>

### 結 果

#### 1 測定法の検討

1) インキュベート時間を一定とすると25 $^{\circ}\text{C}$ より37 $^{\circ}\text{C}$ での結合率が高く、温度を一定とするとインキュベート時間の増加とともに結合率は増加した。37 $^{\circ}\text{C}$ 1時間と25 $^{\circ}\text{C}$ 2時間での結合率は全濃度域ではほぼ一致した（図1）。

2)  $^{125}\text{I}-T_4$ 誘導体添加から固相化 $T_4$ 抗体分注までの時間を0から180分まで変えても結合率に変化は認められなかった（図2）。

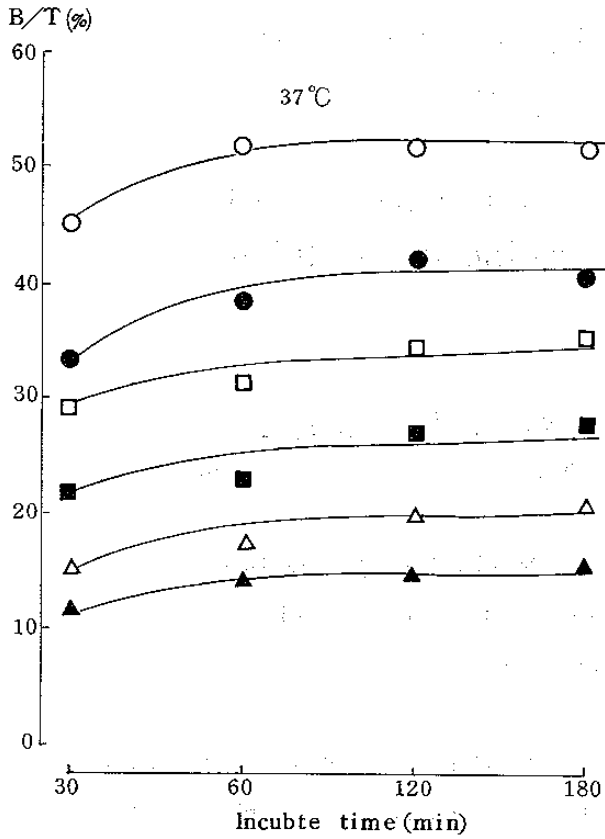


図1 インキュベート温度および時間の結合率への影響

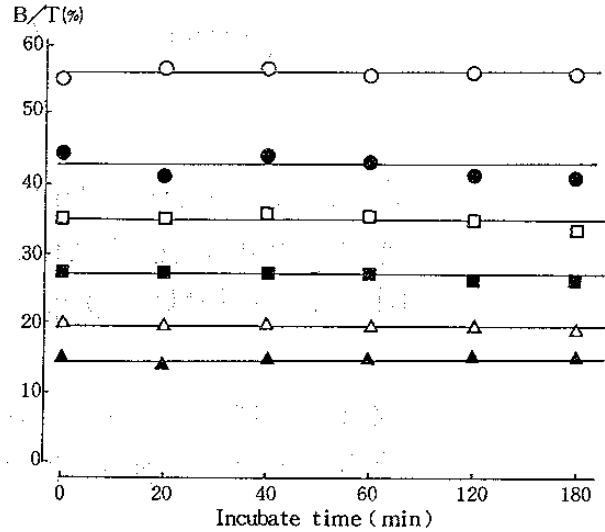
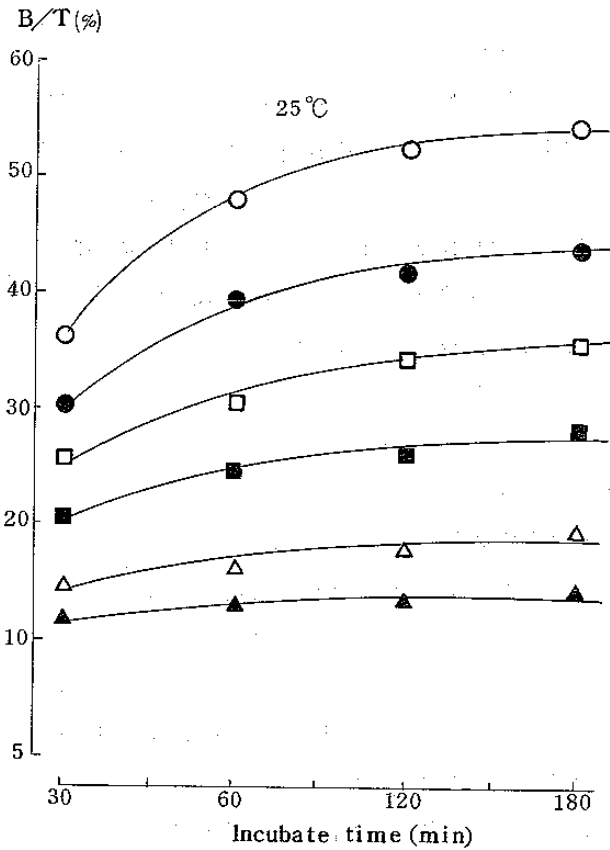


図2 抽出時間の結合率への影響

3) 本法の測定感度は90パーセント点で0.3 ng/dl, 50パーセント点が2.5 ng/dlであった。

4) Precision profile より得られた測定内変動係数は0.6 ng/dl以下および5 ng/dl以上では10%以上となったが, 0.6~5 ng/dlでは7.0~10%であった(図3)。

測定間変動係数は低濃度で10%以上, 1~3 ng/dlでは7.1~9.0%であった(表1)。

5) 同一検体による血清値と濾紙血液との相関は,  $r = 0.989$ , 回帰式  $Y(\text{濾紙血液}) = 0.963 X(\text{血清}) + 0.058$  と両者の値はほぼ一致した(図4)。

表1 測定間変動

Sample	FT <sub>4</sub> (ng/dl)	C.V. (%)
1	0.495* ± 0.072**	14.6
2	0.754 ± 0.089	11.7
3	1.038 ± 0.098	9.0
4	1.786 ± 0.127	7.1
5	2.653 ± 0.196	7.4

\* : Mean, \*\* : SD

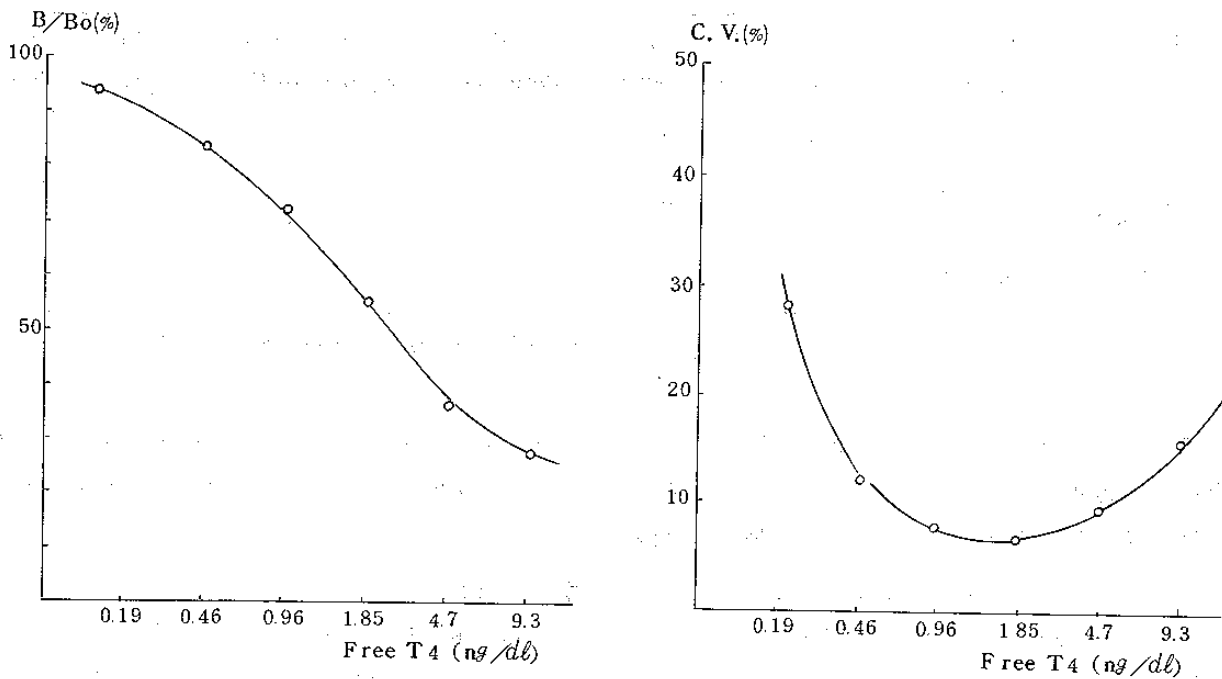


図3 標準曲線と Precision profile

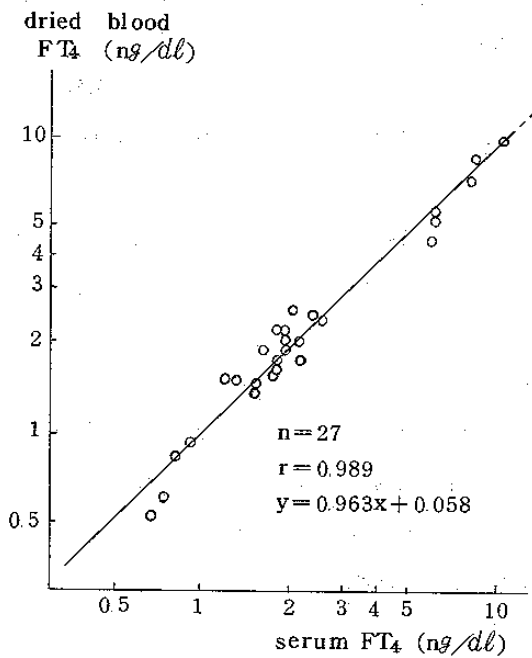


図4 血清フリーT<sub>4</sub>と涙紙血液フリーT<sub>4</sub>との相関

## 2 新生児スクリーニングへの応用

新生児 5,195 例を生下時体重別に 4 群に分類し、それぞれの平均値と標準偏差を求めた。

1,000 ~ 1,499 g は 16 例で  $1.14 \pm 0.35 \text{ ng/dl}$  ,  
 1,500 ~ 1,999 g は 40 例で  $1.59 \pm 0.52 \text{ ng/dl}$  ,  
 2,000 ~ 2,499 g は 208 例で  $1.86 \pm 0.54 \text{ ng/dl}$  ,  
 2,500 g 以上は 4,931 例で  $2.12 \pm 0.49 \text{ ng/dl}$  であり、生下時体重とフリーT<sub>4</sub> 値間に正の相関が認められた(表 2)。

表2 生下時体重によるフリーT<sub>4</sub>値の変化

Birth weight (g)	N	FT <sub>4</sub> (ng/dl)
1,000 ~ 1,499	16	$1.14^* \pm 0.35^{**}$
1,500 ~ 1,999	40	$1.59 \pm 0.52$
2,000 ~ 2,499	208	$1.86 \pm 0.54$
2,500 ~ 5,000	4,931	$2.12 \pm 0.49$

\* : Mean, \*\* : SD

表3 フリーT<sub>4</sub>, T<sub>4</sub>, TBGおよびTSH測定による新生児スクリーニングの結果の比較

Item	Cut off value	No. of recall	Low birth weight infants	TBG deficiency	Congenital hypothyroidism	Transient hyper TSHemia
FT <sub>4</sub>	- 2.5 SD	20 (0.38%)	13	3	1	-
T <sub>4</sub> T <sub>4</sub> /TBG Index	- 2.0 SD 2.5	17 (0.33%)	12	0	1	-
TSH	99 Percentile	44 (0.85%)	2	-	1	3

No. of newborn screened: 5,195

フリーT<sub>4</sub>のカットオフ値を-2.5 SDとすると、再採血は20例(0.38%)で、1例がクレチン症、13例が低出生体重児、3例がTBG欠損症、3例は正常であった。T<sub>4</sub>のカットオフ値を-2 SD、T<sub>4</sub>/TBG Indexのカットオフ値を2.5とすると再採血は17例(0.33%)で、1例がクレチン症、12例が低出生体重児、4例が正常であった。

TSHを指標とした場合、カットオフ値を初回3パーセントイル、再検1パーセントイルとすると再採血は44例(0.85%)で、クレチン症1例、一過性高TSH血症3例、母親バセドウ症1例、低出生体重児2例(高TSH血症1例を含む)、38例は正常であった。フリーT<sub>4</sub>, T<sub>4</sub>, TSHともに異常値を示したのはクレチン症の1例のみであり、低出生体重児でフリーT<sub>4</sub>, T<sub>4</sub>低値、TSH高値をとる例は見られなかった(表3)。

#### 考察及び結論

1) 沍紙血液フリーT<sub>4</sub>の測定は迅速、簡便でコストも低く、測定感度や再現性も良好であり、測定法として満足できるものである。

2) 新生児沍紙血液フリーT<sub>4</sub>値は正規分布を示し、平均値は2.12 ng/dlであった。未熟児ではT<sub>4</sub>と同様に低値であり偽陽性が多く<sup>5)</sup>、さらに、軽症クレチン症では正常値をとることから、フリーT<sub>4</sub>単独測定によるクレチン症マス・スクリーニングは不適當である。

3) TBG低下症でフリーT<sub>4</sub>低値を示す例があり、この原因については今後の検討が必要である。

#### 文 献

- 1) Mizuta, H., Miyai, K., Ichihara, K., Amino, N., Harada, T., Nose, T. and Tanizawa, O.: Clin. Chem., **28**, 505 ~ 508 (1982).
- 2) 水嶋好清, 荒井 修, 福士 勝, 南波三紀子, 佐藤敏雄, 林 英夫, 高杉信男: ホルモンと臨床, **30**, 461 ~ 465 (1982).
- 3) 荒井 修, 福士 勝, 水嶋好清, 佐藤敏雄, 林 英夫, 高杉信男: Biomedical Journal, **4**, 657 ~ 662 (1980).
- 4) 福士 勝, 荒井 修, 水嶋好清, 南波三紀子, 土屋美登里, 佐藤勇次, 林 英夫, 高杉信男: 医学と薬学, **9**, 243 ~ 246 (1983).
- 5) Wilson, D.M., Hopper, A.O., McDougall, I.R., Bayer, M.F., Hintz, R.L., Stevenson, D.K. and Rosenfeld, R.G.: J. Pediatr., **101**, 113 ~ 117 (1982).