

# 健康犬血清中甲状腺関連ホルモン濃度と 抗甲状腺ホルモン自己抗体の実態調査

*Investigation of serum thyroxine and thyrotropin concentrations and  
anti-thyroglobulin auto-antibody in Japanese healthy dogs*

土屋 亮

麻布大学獣医学部

Ryo Tsuchiya

School of Veterinary Medicine, Azabu University

**Abstract.** Serum thyroxine ( $T_4$ ) and thyrotropin (TSH) concentrations were measured in 159 Japanese healthy dogs using Chemiluminescence Enzyme Immunoassay (CLEIA) systems for canine samples. Free  $T_4$  (F- $T_4$ ) in the same population was measured using a Chemiluminescence Immunoassay (CLIA) system for human samples. In addition, anti-thyroglobulin auto-antibody (TGAA) was measured by using a commercial ELISA kit. Five dogs were established as TGAA positive. The  $T_4$  and F- $T_4$  data were normal distributed and TSH results followed lognormal distribution. Reference ranges of  $T_4$ , F- $T_4$  and TSH were calculated from the mean  $\pm$  2SD (log transformed data were used for TSH) after eliminating the data from the TGAA positive dogs. The reference ranges obtained were 0.61-3.30  $\mu\text{g}/\text{dl}$  for  $T_4$ , 0-0.50 ng/ml for TSH and 0.52-1.97 ng/dl for F- $T_4$ .

In addition, serum  $T_4$  and TSH were measured in 33 experimental beagle dogs and 35 patient dogs with severe illnesses. The results indicated subclinical primary hypothyroidism in the beagle dogs and a high rate of euthyroid sick syndrome in the patient dogs.

**Key words:** CLEIA, dog, reference range,  $T_4$ , TSH.

## 1. 目的

犬の血清サイロキシン ( $T_4$ ) あるいは遊離サイロキシン (F- $T_4$ ) と、甲状腺刺激ホルモン (TSH) 濃度の測定系として近年、化学発光酵素免疫測定 (CLEIA) 法による犬用検査システムが開発され、国内にも導入されている。そこで、国内犬における CLEIA 法による血清  $T_4$  ならびに TSH 濃度の基準範囲を設定した。

次に、若干数の実験用ビーグル犬および重度疾患

犬についても  $T_4$  および TSH 濃度の測定を行い、基準範囲設定に用いた健康家庭犬の成績と比較した。

なお、上記 CLEIA 法システムには犬用血清 F- $T_4$  濃度測定系が組み込まれていないので、同じサンプルを用いて、ヒト用の化学発光免疫測定 (CLIA) 法による血清 F- $T_4$  参考濃度の基準範囲も設定した。

## 2. 方法

対象動物：健康家庭犬は、群馬県、静岡県、石川県  
の動物病院3施設に来院した159頭を用いた (健

康家庭犬群)。内訳は年齢7カ月齢～15歳(平均4.5歳), 体重1.5～49 kg(平均17.4 kg), 雄81頭(うち去勢手術済み25頭), 雌78頭(うち避妊手術済み37頭)であった。品種は雑種犬61頭, 純粋犬が98頭で, 内訳はゴールデン・リトリバー18頭, ラブラドル・リトリバー15頭, ミニチュア・ダックス14頭, シーズー9頭, ビーグル6頭, シェルティーおよび柴犬各5頭, グレート・ピレニーズおよびミニチュア・シュナウザー各4頭など, 25犬種に及んだ。

実験用ビーグル犬は, 麻布大学内で飼育している健康な個体33頭を用いた(ビーグル犬群)。内訳は年齢1歳～9歳(平均3.4歳), 体重7～19 kg(平均12.9 kg), 雄14頭・雌19頭であった。

重度疾患犬は, 主として皮膚疾患あるいは消化器疾患に罹患し麻布大学獣医学部附属動物病院に来院した35頭を対象とした(疾患犬群)。内訳は年齢8カ月齢～14歳(平均6.2歳), 体重1.5～68.5 kg(平均12.8 kg), 雄17頭(うち去勢手術済み4頭), 雌18頭(うち避妊手術済み8頭)であった。

測定法: 血清 $T_4$ およびTSH濃度は, 米国Diagnostic Products社のCLEIA装置Immulyzeと同機種用純正キットIMMULITE Canine Total  $T_4$ および同canine TSHにより測定した。又, 健康家庭犬群についてのみ, F- $T_4$ 参考濃度の人用CLIAシステムによる測定を検査機関に依頼し, ケミルミACS-FT $_4$ (バイエルメディカル株)にて測定した。

さらに健康家庭犬群については抗サイログロブリン自己抗体(TgAA)の有無も確認した。測定には米国Oxford LaboratoriesのVT 10 Canine Thyroglobulinキットおよび米国Bio-Rad社のマイクロプレート・ELISAリーダー550型を用いた。

基準範囲設定: 測定値の基準範囲は, アメリカ臨床検査標準委員会(NCCLS)の指針に従い, パラメトリック法にて次の手順により設定した[3, 6, 12]。

まず, 基準値設定に適さないサンプルの除外を行った。前述したTgAA陽性サンプルは, ホルモン濃度の如何に関わらず除外した。残ったデータのうち全体からかけ離れたものについては, Dixonの検定およびGrubbs-Smirnovの棄却検定[3, 12]を行い, 外れ値か否かを確認した。いずれか1項目でも外れ

値とされた個体は甲状腺に何らかの異常を持つ可能性があるものと考え, 上記3項目の基準値設定サンプルから除外した。

次にデータの分布型を推定した。得られたデータの上限值から下限値までを10又は11度数に分けてヒストグラムを描き, その形状が正規分布型を示すか否か検討した。正規分布型を描かない場合は, 個々のデータを自然対数変換して, そのヒストグラムを作成した。そして, それが正規分布様の型を示す場合は対数正規分布と推定した。

正規分布性又は対数正規分布性の確認には, 正規確率紙あるいは対数正規確率紙(米国ReliaSoft Corporation)を用いた。すなわち, 度数分布から相対累積度数を求め, 上記のとおり推定された分布型によって選んだ確率紙上にデータをプロットした。そして相対累積度数70%以上まで直線性を示すものを, 正規分布型ないしは対数正規分布型と判定した[4]。さらに正規(対数正規)分布性を再確認するため, 標本歪度と標本尖度を求める方法も併用した[12]。

基準範囲は, 標本が正規分布する場合は平均値 $\pm 2 \times$ 標準偏差( $M \pm 2SD$ )から求めた。対数正規分布の場合は, 変換データの $M \pm 2SD$ を求め, その上下限界値を実数に逆変換して, 基準範囲の上限および下限とした[4, 12]。

健康犬の甲状腺関連ホルモン濃度に対する各種個体要因の影響: TgAA陽性5検体および外れ値サンプルを除くすべてのデータを, 犬種, 室内飼育と室外飼育の別, 年齢, 性別, 過体重傾向の有無および飼育地域などの要因によって群分けして比較した。そしてこれらの要因によって測定値に差が生じるか否かを検討した[2, 9, 11]。差の有意性については, 米国GraphPad Software社の統計処理ソフトPrismを用いて, 一元配置分散分析[8]により検定した。

なお, 体格の区分けは, 純粋種についてはMedium-breed以上を, 又, 雑種については体重12 kg以上を中・大型犬とした。又, 年齢の区分けは1歳以下, 2～3歳, 4～5歳および6歳以上の4群とした。

ビーグル犬群および疾患犬群の血清 $T_4$ およびTSH濃度: 両群の平均値をそれぞれ, 健康家庭犬群のそ

れと un-paired t test [6] で有意差検定した。

### 3. 結果と考察

TgAA：健康家庭犬血清のうち、陽性が5検体(2.6%)に認められた。

CLEIA法によるTSHおよびT<sub>4</sub>濃度測定の信頼性：従来法(RIA法)とCLEIA法で測定した40頭のデータについて相関係数(r)と一時回帰式を求めたところ、T<sub>4</sub>濃度では $r = 0.94$ ,  $y = 0.76x + 0.17$ , TSH濃度では $r = 0.98$ ,  $y = 1.02 - 0.002x$ という良好な結果が得られた。

基準範囲設定：まず、測定したホルモン濃度の分布型を調べた。血清T<sub>4</sub>濃度およびF-T<sub>4</sub>参考濃度においては、同一の1検体が、又、TSH濃度においては他の3検体が外れ値と判定された。これら4検体と上記のTgAA陽性5検体の計9検体を、基準範囲設定サンプルから除外した。

残ったT<sub>4</sub>およびF-T<sub>4</sub>濃度のヒストグラムは、いずれも正規分布型と推定された(データは示さない)。TSH濃度については、残ったデータのヒストグラムは正規分布型ではなかったが、自然対数変換データのヒストグラムは正規分布様の型を示し、対数正規分布型と推定された(データは示さない)。

次にT<sub>4</sub>濃度とF-T<sub>4</sub>参考濃度の正規分布性およびTSH濃度の対数正規分布性を検定した。3項目のデータの相対累積度数を、T<sub>4</sub>とF-T<sub>4</sub>については正規確率紙に、又TSHについては対数正規確率紙にそれぞれプロットした。その結果、いずれの項目においても相対累積度数70%以上まで直線性を示した(データは示さない)。

又、標本歪度と標本尖度からも、T<sub>4</sub>濃度およびF-T<sub>4</sub>参考濃度の正規分布性とTSH濃度の対数正規分布性が確認された(データは示さない)。

最後に、基準範囲をM ± 2SDから求めた。T<sub>4</sub>濃度(μg/dl)の平均値は1.95、標準偏差は0.67となり、基準範囲は0.61 ~ 3.30 μg/dlと設定した。TSH濃度(ng/ml)については、個々のデータを自然対数に変換してそのM ± 2SDを求め、その限界値(-3.71および-0.70)を逆変換した。その結果、下限値は0.02、上限値は0.50であった。ただしこの測定系の

Table 1. Serum T<sub>4</sub> and Free T<sub>4</sub> concentrations of medium to large and small to toy breed/sized dogs

| Dog size                | Means ± standard deviations |                            |
|-------------------------|-----------------------------|----------------------------|
|                         | T <sub>4</sub> (μg/dl)**    | F-T <sub>4</sub> (ng/dl)** |
| medium to large(n = 86) | 1.77 ± 0.58                 | 1.12 ± 0.30                |
| small to toy (n = 64)   | 2.17 ± 0.75                 | 1.39 ± 0.39                |

\*\* : significantly different (p<0.01) between the groups.

検出下限値は0.03であるため、基準範囲は0 ~ 0.50 ng/mlと設定した。又、F-T<sub>4</sub>参考濃度(ng/dl)の平均値は1.24、標準偏差は0.36となり、基準範囲は0.52 ~ 1.97 ng/dlと設定した。

今回用いたCLEIAシステムのメーカーでは、46頭の健康犬の成績から得られた仮の基準範囲を示しているのみであり、正規の基準範囲設定は各ユーザーに委ねられている。したがって今後、本システムで国内犬のサンプルを測定する場合は、今回我々が設定した上記の基準範囲に照らして評価することが適当である。又、F-T<sub>4</sub>参考濃度の基準範囲は、今後、犬の甲状腺機能低下症診断における非透析法による測定意義を検討する際に有用であろう。

甲状腺関連ホルモン濃度に対する各種個体要因の影響：健康家庭犬群の全個体を、前述した各種個体要因によって群分けして比較した。その結果、Table 1のとおり、T<sub>4</sub>濃度ならびにF-T<sub>4</sub>参考濃度において中・大型犬の成績が小型犬のそれよりも有意に低かった。又年齢により4群に分けて比較したところ、Table 2のとおり3項目のいずれにおいても有意な年齢間の差が認められた。その他の個体要因において、測定値に影響するものは認められなかった。

3群の血清T<sub>4</sub>およびTSH濃度比較：健康家庭犬、ビーグル犬および疾患犬の各群の測定値分布をFigure 1およびFigure 2に示した。

健康家庭犬群においても、T<sub>4</sub>低値が7例、TSH高値が3例に認められ、原発性甲状腺機能低下症が国内犬にも広く潜在している可能性が示唆された。

ビーグル犬群においては、血清TSH濃度が前述の基準範囲より高いものが3例存在し、平均値も健康家庭犬群のそれより有意に高かった。血清T<sub>4</sub>はすべて基準範囲内に含まれたが、平均値を健康家庭犬群

Table 2. Serum T<sub>4</sub>, F-T<sub>4</sub> and TSH concentrations in dogs at different age.

| Age (years)    | Means ± standard deviations |               |                           |
|----------------|-----------------------------|---------------|---------------------------|
|                | T <sub>4</sub> (μg/dl)**    | TSH (ng/ml)** | F-T <sub>4</sub> (ng/dl)* |
| ~ 1 (n = 25)   | 2.24 ± 0.83                 | 0.08 ± 0.05   | 1.37 ± 0.42               |
| 2 ~ 3 (n = 43) | 2.08 ± 0.66                 | 0.15 ± 0.21   | 1.32 ± 0.37               |
| 4 ~ 5 (n = 37) | 1.84 ± 0.57                 | 0.13 ± 0.11   | 1.18 ± 0.31               |
| 6 ~ (n = 40)   | 1.77 ± 0.62                 | 0.20 ± 0.17   | 1.16 ± 0.35               |

Significantly different among the groups at different age (\*\*: p<0.01, \*: 0.01 ≤ p<0.05) by one way ANOVA.

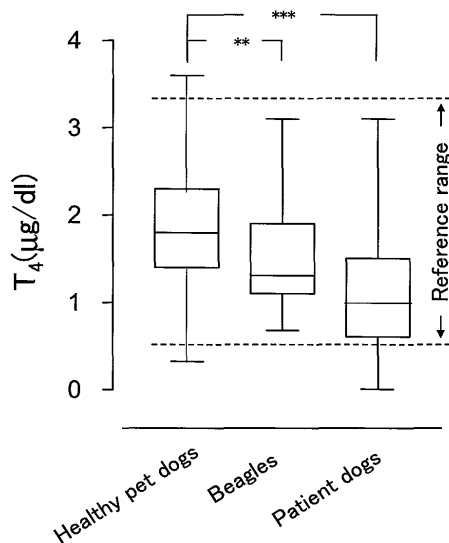


Figure 1 Serum T<sub>4</sub> concentrations of the three dog groups (healthy pets, beagles, and patient pets). The reference range was established by present study. Boxes indicate 25 to 75percentile range and lines in the boxes indicate median. Whiskers indicate maximum and minimum. \*\*,0.001 ≤ p<0.01; \*\*\*,p<0.001 by un-paired t test between the healthy pet dogs and the other groups. (same in Figure 2)

のそれと比較すると、有意に低い結果となった。

そこで、T<sub>4</sub>が1 μg/dl未満の7例（うち、TSH異常高値のもの2例）についてTSH刺激試験を実施したところ、1例については明らかな刺激反応の低下が認められ（データは示さない）、しかもこれはTSH濃度が著しい高値（6.2 ng/ml）を示した個体であった。以上のことから、今回のビーグル犬群には、本犬種に多発するといわれる原発性甲状腺機能低下症[1]が、一般家庭犬よりも高率に潜在していることが示唆された。

疾患犬群では、血清T<sub>4</sub>濃度の基準範囲以下のものが7例（20%）に認められ、又健康家庭犬群と比べ

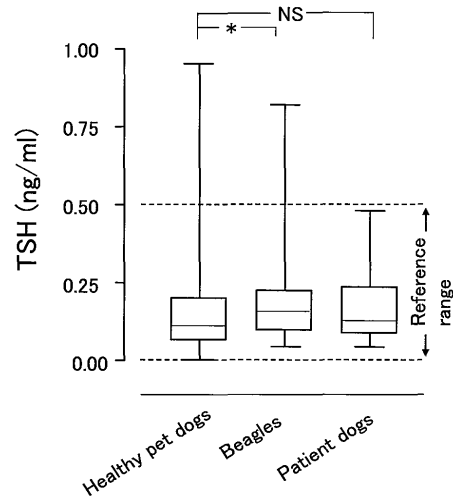


Figure 2 Serum TSH concentrations of the three dog groups. \*,0.01 ≤ p<0.05; NS,not significant.

て平均値も有意に低かった。しかしながらTSH濃度は、すべての検体が基準範囲内に含まれ、その平均値についても、健康家庭犬群のそれとの間に有意差を認めなかった。

T<sub>4</sub>異常低値を示した健康家庭犬群と疾患犬群の各7例について、原発性甲状腺機能低下症と偽甲状腺機能低下症候群（euthyroid sick syndrome ; ESS）[5, 10, 13]の簡易鑑別指標であるT<sub>4</sub>（nmol/L）/TSH（ng/ml）比[11]を求めた。その結果、疾患犬群全体の8.3%にあたる3例が、ESS診断指標とされる45を超えていたが、健康家庭犬群において45を超えた個体は1例（0.6%）に留まった。以上のことから、今回の疾患症例には少なからずESSが存在したものと推定される。

#### 4. 要約

159頭の健康家庭犬血清を採取して、市販のELISAキットを用いて抗サイログロブリン自己抗体

保有状況を調査するとともに、犬用の化学発光酵素免疫 (CLEIA) システムによるサイロキシン ( $T_4$ ) および甲状腺刺激ホルモン (TSH) 濃度の基準範囲を設定した。又、人用の化学発光免疫 (CLIA) システムを用いて、遊離  $T_4$  (F- $T_4$ ) 濃度の参考基準範囲も設定した。 $T_4$  と F- $T_4$  濃度のデータは正規分布を、又 TSH 濃度のそれは対数正規分布を示した。そこで、常法に従い、各項目の平均値  $\pm 2 \times$  標準偏差 (TSH は対数変換データで計算) を基準範囲とした。サイログロブリン自己抗体は 5 頭の犬で検出された。これら 5 頭を除外して基準範囲を求めた結果、 $T_4$  濃度は  $0.61 \sim 3.30 \mu\text{g/dl}$ 、TSH 濃度は  $0 \sim 0.50 \text{ ng/ml}$ 、又 F- $T_4$  参考濃度は  $0.52 \sim 1.97 \text{ ng/dl}$  であった。

上記健康家庭犬の  $T_4$  および TSH 濃度と、実験用ビーグル犬 33 頭および重度疾患犬 35 頭のそれを比較した。その結果、ビーグル犬群には原発性甲状腺機能低下症の潜在が、又疾患犬群には少なからず偽甲状腺機能低下症候群の存在することが示唆された。

#### 文 献

- 1) Benjamin SA, Stephens LC, Hamilton BF, Saunders WJ, Lee AC, Angleton GM, Mallinkrodt CH: Vet Pathol 33, 486-494 (1996).
- 2) Daminet S, Jeusette I, Duchateau L, Diez M, Maele VD, Rick AD: J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med, 50, 213-218 (2003).
- 3) 細萱茂実: 検査と技術, 28, 1361-1365 (2000).
- 4) 井上喜美雄: 臨床検査, 7, 727-738 (1963).
- 5) Kantrowitz LB, Peterson ME, Melian C, Nichols R: J Am Vet Med Assoc, 219, 765-769 (2001).
- 6) 北村清吉, 内山幸信: 臨床検査ハンドブック 1, 51-63, 薬事日報社, 東京 (1994).
- 7) Motulsky H: Intuitive Biostatistics, 207-216, Oxford University Press, NY (1995).
- 8) Motulsky H: Intuitive Biostatistics, 255-262. Oxford University Press, NY (1995).
- 9) Reimers TJ, Lawler DF, Sutaria PM, Correa MT, Erb HN: Am J Vet Res, 51, 454-457 (1990).
- 10) Scott-Moncrieff JC, Nelson RW, Bruner JM, Williams DA: J Am Vet Med Assoc, 212, 387-391 (1998).
- 11) Stockham SL, Scott MA: Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology, 540-554, Iowa State Press IA (2002).
- 12) 丹後俊郎: 臨床検査への統計学, 31-64, 朝倉書店, 東京 (1986).
- 13) Torres SM, Feeney DA, Lekcharoensuk C, Fletcher TF, Clarkson CE, Nash NL, Hayden DW: J Am Vet Med Assoc, 222, 1079-1085 (2003).