乾燥濾紙血液を用いた TSH ラジオイムノアッセイ による先天性甲状腺機能低下症の 早期発見に関する研究

東邦大学医学部第一内科

(指導: 入江 実教授)

梅 田 みほ子, 榎 本 仁 志, 伊 東 裕美子

Early Detection of Congenital Hypothyroidism
by TSH Radioimmunoassay Using Filter Paper Blood Samples

Mihoko UMEDA, Hitoshi ENOMOTO and Yumiko ITO

The First Department of Internal Medicine,
Toho University, School of Medicine

(Director: Minoru Irie)

It has been reported that mental retardation due to congenital hypothyroidism can be prevented by early detection and early adequate replacement therapy. We have developed a radioimmunoassay for TSH using the dried blood spot and have started screening for newborn congenital hypothyroidism using a part of sample of the inborn metabolic error screening.

(1) The dried blood spot TSH of 61,000 newborn infants was assayed in the first half of our screening and that of 74,505 newborn infants was assayed in the latter half of our screening. As a result, although we were not able to detect any cases in the first screening, we were able to detect 9 cases of congenital hypothyroidism in the latter screening. From the results obtained through our investigation of the thyroid function of these 9 infants, we confirmed that mild hypothyroidism can be better detected by the screening of TSH.

(2) As to the program of the screening, we chose from the latter half of our screening all the samples in which TSH concentrations contained above 3 percent of each assay and were remeasured on the next assay.

(3) As we confirmed that the sensitivity of measurement was increased at very low concentrations, when the volume of antibodies, radioisotopes and eluates used for each assay were decreased, we measured TSH successfully using two 3 mm discs.

(4) As we can perform very simple screening by the 3 mm disc method, we are changing the screening method from that with 10 mm disc to one with two 3 mm discs.

We intend to extend our screening, and will make every effort to prevent mental retardation due to congenital hypothyroidism.

緒 言

先天性甲状腺機能低下症による知能障害は、従来の研究によると、生後早期の甲状腺ホルモン補充療法により防ぎ得ると考えられており⁹⁾¹⁸⁾、早期診断が極めて重要であるが、患者によっては、新生児期、乳児期前期には特異的な臨床症状が現われていないため、早期診断が困難なことがあり、何らかの適切な方法でマス・スクリーニングを施行することは、先天性甲状腺機能低下症の早期発見のために非常に有意義である。

1975年、我々は先天性一次性甲状腺機能低下症の診断のために、乾燥濾紙血液を用いた TSH の測定法を開発し¹⁶⁾¹⁷⁾、新生児代謝異常スクリーニング²⁰⁾の検体を用いてマス・スクリーニングを開始した。1975年9月より1977年1月までに施行した61,000例においては残念ながら患児を見出し得なかったが、1977年2月より1978年7月までの74,505例のうちでは9例の患児を見出した。その9例中2例はスクリーニング時の濾紙 TSH 値が軽度上昇を示すのみであり、4例は小児科初診時の血清 T_4 値が正常であった。以上の結果から、本スクリーニングによって、重症例はもとより、軽度又は subclinical な一次性甲状腺機能低下症をも見出し得るということが明らかになった。一方、アッセイに使用する抗体と¹²⁵I-TSHを減量することにより、微量域において感度が鋭敏になることを確認し、3 mm ディスク（約2 μ l の血液を含む）2枚を用いて測定を試み、良い結果を得たので、これらの詳細につき併せて報告する。

目的及び材料と方法

(1). 先天性一次性甲状腺機能低下症スクリーニング

1. スクリーニングの実際

a. 検体

新生児代謝異常スクリーニングの目的で各地から国立精神衛生研究所へ郵送されて来た生後4～7日の新生児血液濾紙の一部を用いた。この乾燥濾紙血液による新生児代謝異常スクリーニング法は1963年、アメリカの Guthrie が厚手の濾紙に新生児から微量の血液を採取して自然乾燥し、その一部を検体として bacterial inhibitory assay を開発したことが始まりである¹⁹⁾。その後、ガラクトース血症、楓糖尿症、ホモシスチン尿症、チロジン血症等のスクリーニングにも用いられるようになり、我国においても1973年より試みられ²⁰⁾、1977年10月よりこれらの代謝異常疾患については全国的にスクリーニングが行なわれている。

b. 測定方法

TSH の測定は我々がすでに発表した方法¹⁰⁾¹⁶⁾¹⁷⁾によって行なった。すなわち、血液濾紙を直径10 mm のパンチャーで切り抜き、PH 7.4 磷酸緩衝液 0.6 ml で4℃一昼夜抽出後、濾紙を取り除き、希釈抗人 TSH 抗体（第一抗体）及び希釈¹²⁵I-TSH を各々100 μ l ずつ加え、4℃、4日間インキュベーションした後、抗家兎 γ グロブリン山羊抗血清（第2抗体）100 μ l を加え、4℃一昼夜インキュベーション後遠沈し、上清を除去して沈渣の放射活性を測定し、血清用の標準曲線により TSH の濃度を計算した。測定に用いたキットは第1ラジオアイソトープ研究所のものである。

c. スクリーニングの方法

1975年9月から1977年1月までの61,000例（正確な統計処理をした例は46,236例）においては、濾紙 TSH 値20 μ u/ml 以上を異常高値として残りのディスクで再検し、再び20 μ u/ml 以上を示した例は、後日再採血し測定するという方式をとった。又、1977年2月より1978年7月までの74,505

例においては、毎回のアッセイの上値 3 % 以上の濾紙 TSH 値を示した例について、残りのディスクを次回のアッセイに加えて再検し、再び上値 3 % 以上を示したものには再採血要求、あるいは直接小児科において精密検査を受けるよう担当の産院に通知した。

2. 検体保存に関する検討

濾紙を検体とする本スクリーニングにおいては、検体を各地の産院から郵送により容易に収集することができるということが大きな利点であるが、採血から測定までの日数、郵送及び保存の条件により、検体のホルモン測定値が低下する場合も考慮されるので、以下の検討を行なった。

検体として、正常人又は甲状腺疾患を有する成人から採血された乾燥濾紙血液を用い、① -20°C 、② 4°C 、③郵送後 -20°C 、④空調設備のある室内、⑤空調設備のない室内、⑥日中のみ空調設備のある室内、⑦ 37°C 、⑧室内と 4°C の頻回の出入れの各条件下に 2 ヶ月おき、前後の測定値を比較した。

3. cut off point の検討

前半のスクリーニングにおいては $20\text{ }\mu\text{g/ml}$ を cut off point として、 $20\text{ }\mu\text{g/ml}$ 以上の検体を再検するという方式をとったが、毎回のアッセイにコントロールとして種々の濃度の血液濾紙を加え、7 ヶ月間 (S. 51, 9 ~ S. 52, 4) のアッセイ間の値の変動をみた。

(2). 乾燥濾紙血液 TSH 測定法の改善 (3 mm ディスク 2 枚を用いる測定法)

スクリーニングを広くすすめていくためには測定法をできるだけ自動化し、人手を省くことが必要である。新生児代謝異常スクリーニングは 3 mm ディスクを用いて行なわれており、我々の甲状腺機能低下症スクリーニングにおいても、3 mm ディスクを用いて、更に簡便な測定法が可能であるかどうかを検討した。

a. 検体

正常人又は甲状腺疾患を有する患者より採取された血液濾紙の、直径 3 mm のディスク 2 枚を検体とした。この 3 mm ディスク 2 枚には約 $4\text{ }\mu\text{l}$ の血液が含まれており、従来の 10 mm ディスクに含まれる血液量の約 5 分の 1 に相当する。

b. 3 mm ディスク法による至適抗体量及び ^{125}I -TSH 量の検討

前述のように 3 mm ディスク 2 枚では、含まれる血液量が更に微量であるため、測定に用いる第一抗体と ^{125}I -TSH の減量を試みた。すなわち、希釈 ^{125}I -TSH を従来の 2 分の 1 の $50\text{ }\mu\text{l}$ とし、希釈第一抗体の量を $50\text{ }\mu\text{l}$ 、 $25\text{ }\mu\text{l}$ 、 $20\text{ }\mu\text{l}$ 、 $10\text{ }\mu\text{l}$ と減量して得られる標準曲線を比較した。

c. 3 mm ディスク法による抽出液量の検討

希釈第一抗体 $20\text{ }\mu\text{l}$ を含む $50\sim 300\text{ }\mu\text{l}$ の磷酸緩衝液で一昼夜抽出後、 ^{125}I -TSH $50\text{ }\mu\text{l}$ を加えるという方法で測定を行ない、この時抽出液量を減量することにより、測定感度がどのように変化するかを比較した。

d. 測定法

以上の検討から、測定法は Fig. 1 に示すように、3 mm ディスク 2 枚を試験管に入れ、磷酸緩衝液 $80\text{ }\mu\text{l}$ + 希釈第一抗体 $20\text{ }\mu\text{l}$ の混合液を分注したのち、一昼夜 4°C で抽出。希釈 ^{125}I -TSH $50\text{ }\mu\text{l}$ を加え、 4°C にて 3 日間インキュベーションした後、牛 γ -グロブリン 0.5 mg 及び $\text{PH } 8.5$, 0.09 M トリス緩衝液を溶媒とする 14 % PEG 溶液 1.5 ml を加え⁴⁾、濾紙を除去せず B-F 分離し、沈渣の放射活性を測定した。スタンダードとしては、 $320\text{ }\mu\text{g/ml}$ の標準液用乾燥物質を EDTA を加えた TSH free の血液 (バセドウ病患者の血液) 1 ml で溶解後、同血液で倍数希釈し、各々を濾紙に浸み込ませて、0, 5, 10, 20, 40, 80, 160, $320\text{ }\mu\text{g/ml}$ の濃度の血液濾紙を作製した。

Fig. 1. The method of TSH assay using two 3mm dried blood spots.

Table 1. Distribution of blood TSH values of 46,236 newborn infants (upper row) and the screening program for neonatal hypothyroidism (lower row).

TSH x 5 μ U/ml	<10	10 ≤ <20	20 ≤	Total
Cases	45,412	539	285	46,236
Incidence	98.2	1.18	0.62	100 %

The Screening Program for Neonatal Hypothyroidism

結 果

(1). 先天性一次性甲状腺機能低下症スクリーニング

1. スクリーニングの実際

Table. 1 に前半に施行した 61,000 例のうち, 統計的に処理したもの 46,236 例の濾紙 TSH 値分布を示す。20 μ u/ml 以上は 285 例で全体の 0.62% に相当する。この 285 例中 64 例は同一濾紙の別のディスクで再検したが, 濾紙 TSH 値は 20 μ u/ml 以下であった。又, 14 例について後日の再採血濾紙にて再検した結果も, 全例 20 μ u/ml 以下であった。再検あるいは再採血の率が非常に低かった。発見された一例は濾紙 TSH 値が 20 μ u/ml であり, スクリーニングの結果判明と follow up 開始前の生後 22 日目に, 臨床症状から先天性甲状腺機能低下症を疑われ, 精査の結果本症と診断された例で, これはスクリーニングで発見されたとは言えない。しかし, 一応疑いを持たれた症例とは言えよう。同患者の小児科初診時の甲状腺機能は, T_4 1.0 μ g/dl, T_3 30 ng/dl, TSH 97.7 μ u/ml で, 生後 54 日目より治療を始められている。

Table 2. Distribution of blood TSH values of 74,505 newborn infants (upper row) and the screening program for neonatal hypothyroidism (lower row).

TSH μ u/ml	<10	10 $\leq$ <20	20 $\leq$	Total
Cases	66,329	7,310	866	74,505
Incidence	89.0%	9.8%	1.2%	100%

The Screening Program for Neonatal Hypothyroidism

次に、後半74,505例のスクリーニングにおける濾紙 TSH 値分布を Table. 2 上段に示す。後半のスクリーニングは前述のように、毎回のアッセイにおいて上値3%以内に含まれた例を次回のアッセイに加えて再検するという方式である。再検された3%の2219例中、再び上値3%以内に含まれたものが623例あり、再採血依頼によりそのうちの598例の検体が回収され、再び異常値を示した7例が小児科にて精査をうけ、このうち3例が一次性甲状腺機能低下症と診断された。又、著明な高値を示した6例については直接小児科にて精査を受けるように指示し、6例全例が一次性甲状腺機能低下症と診断された (Table. 2 下段)。前半スクリーニングの1例と後半の9例の患児は、現在治療中あるいは経過観察中で、Fig. 2 はその臨床経過を示している。症例1から4ではスクリーニング時の濾紙 TSH 値が著明な高値を示し、症例1、2及び3では血清 T_4 値が明らかに低値である。症例4においても血清 T_4 は軽度の低下が認められる。症例2は甲状腺無形成、症例3及び4は異所性甲状腺と診断されている。症例5は前半のスクリーニングの例で、スクリーニング時の濾紙 TSH 値が $20 \mu\text{u/ml}$ と極めて軽度の上昇であったことが注目される。症例6、7もスクリーニング時の濾紙 TSH 値は $60 \mu\text{u/ml}$, $34 \mu\text{u/ml}$ と中等度又は軽度の上昇を認めたのみであり、血清 T_4 値もほぼ正常であったが、治療を試験的に中断すると TSH の著明な増加と T_4 の減少が認められた。軽度の先天性一次性甲状腺機能低下症と思われる。症例8、9及び10は小児科初診時、血清 T_4 , T_3 とも正常であったが、TSH は高値であった。症例8は異所性甲状腺と診断されている。又、症例9ではスクリーニング時の濾紙 TSH 値は $85 \mu\text{u/ml}$ と高値であったが、3ヶ月後の血清 TSH 値は $17.8 \mu\text{u/ml}$ となった。この時点での TRH テストでは血清 TSH 値が前値23, 15分値57, 30分値56, 60分値55, 90分値46, 120分値 $42 \mu\text{u/ml}$ と過剰遅延反応を示しており興味のある症例で、今後更に経過観察を要するものと思われる。

Fig. 2. The clinical courses of 9 patients detected by our screening (case 1-4, 6-10) and a patient diagnosed by clinical findings (case 5).

Fig. 3. TSH values of discs preserved at various conditions for 2 months.

Fig. 4. Variation of TSH values of different assays.

2. 検体保存に関する検討

2ヶ月間各TSH濃度の検体(n=11)を①-20°C, ②4°C, ③郵送後-20°C, ④空調設備のある室内A, ⑤空調設備のない室内B, ⑥日中のみ空調設備のある室内C, ⑦37°C, ⑧室内と4°Cの頻回の出し入れの条件下におき, 前値を100%とした場合の2ヶ月後の値の変化をみると, -20°C及び4°Cで最も安定しており, 37°C及び室温と4°Cの出し入れをくり返した場合には値の減少が認められた(Fig. 3)。このことから, 検体は4°C又は-20°Cの一定の温度下に保存されることがのぞましく, 又, 夏季における検体の保存には特に注意が必要であると思われる。前半のスクリーニングにおいて発見率の低かった原因には, 収集した検体を長期に室温においたり, 冷凍庫からの頻回の出し入れ, 小包による転送, 及び採血から測定, 再検査に約2ヶ月を要し, 又, 異常値を示した例のfollow upが不完全であったことなどが考えられる。

3. cut off point の検討

毎回のアッセイにコントロールとして加えた種々の濾紙TSH値は, Fig. 4に示すようにいずれの濃度においても変動がみられた。血清用の標準曲線を用いて濾紙TSH値を計算することも変動を大きくする原因ではないかと考えられるが, いずれにしてもこの結果より, cut off pointを一定値に決めることは好ましくないと考えられる。

Fig. 5. Difference of standard curves by changing antibody volume.

Fig. 6. Difference of standard curves by changing eluate volume.

(2). 乾燥濾紙血液 TSH 測定法の改良 (3 mm ディスク 2 枚を用いる測定法)

a. 3 mm ディスク法による至適抗体量及び ^{125}I -TSH 量の検討

希釈 ^{125}I -TSH は従来の方法の 2 分の 1 の $50\mu\text{l}$ を用い, 希釈第一抗体の量を $50\mu\text{l}$, $25\mu\text{l}$, $20\mu\text{l}$, $10\mu\text{l}$ と減量して測定を試みた (Fig. 5)。希釈第一抗体が $25\mu\text{l}$, $20\mu\text{l}$ の場合に微量域において曲線が急峻になっており, $20\mu\text{l}$ を用いて測定を行なった。

b. 3 mm ディスク法による抽出液量の検討

Fig. 6 は希釈第一抗体 $20\mu\text{l}$ を含む抽出液 (磷酸緩衝液を溶媒とする) の量を $300\mu\text{l}$, $200\mu\text{l}$, $100\mu\text{l}$, $50\mu\text{l}$ と減量した場合の標準曲線を示している。液量を減らすに従い結合率が増加しており, $50\mu\text{l}$ の場合に最も高いが, 微量域において安定している $100\mu\text{l}$ を選んだ。

Fig. 7. Difference of standard curves by changing incubation time.

Fig. 8. Standard curves by two 3mm discs method.

c. インキュベーション時間の検討

抗体を含む燐酸緩衝液で検体を抽出(4℃, 一昼夜)し, ^{125}I -TSHを加えた後, 牛 γ -グロブリンを加えるまでのインキュベーション時間を2日, 3日, 4日とした場合の標準曲線を比較した(Fig. 7)。時間が長くなるに従い結合率が増加するが, 3日と4日の場合, 標準曲線はほぼ平行であると考え, インキュベーション時間は3日とした。

d. 3 mm ディスク法による基礎検討

以上の結果から, 前述の方法(Fig. 1)により測定を試みた。Fig. 8にその標準曲線を示す。0濃度を100%として表わし, 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320 $\mu\text{u/ml}$ の標準濾紙血液を測定した曲線($n=5$)で, いずれの濃度においても変動が少なかった。

又, 血清 TSH 値が測定感度以下 $\sim 310 \mu\text{u/ml}$ の種々の検体について assay 内(Fig. 9 左), 及び assay 間(Fig. 9 右)の濾紙 TSH 値の変動($n=5$)をみると, Fig. 9 上図に示されるように20 $\mu\text{u/ml}$ 以上では変動係数が低くなり安定している。Fig. 9 下図は assay 内及び assay 間の測定における濾紙 TSH 値の平均と血清値を比較したものであるが, 相関係数は各々 $r=0.996$ ($n=18$), 0.989 ($n=13$)と極めて良好であった。更に詳しく血清と濾紙のTSH値を比較したものをFig. 10に示す。例数48において相関係数 $r=0.98$ と極めて良好であった。

duplicate で測定した各々の値の間においても, 例数50で相関係数 $r=0.996$ と非常に良い相関が認められ, スクリーニングは1例に1検体の測定で可能であると考えられた(Fig. 11)。

又, Table. 3 は回収率を示している。標準曲線用濾紙を作る際のバセドウ病患者血液を用いる代わりに, TSH 高値の血液を用いて320 $\mu\text{u/ml}$ の標準曲線用乾燥物質を溶解して, 同様の血液濾紙を作り測定したものである。%回収率は平均 $97.6 \pm 7.8\%$ と良好であった。

次に新生児858例の血液濾紙検体を測定し, その濃度分布をみた(Table. 4)。濾紙 TSH 値が10 $\mu\text{u/ml}$ 未満のものは96.7%, 10 $\sim$ 20 $\mu\text{u/ml}$ のものは3%, 20 $\mu\text{u/ml}$ 以上のものが0.3% (2例)であった。2例の測定値は20及び24 $\mu\text{u/ml}$ である。

Fig. 9. Variability of within assay (left side) and between assay (right side) at various samples. Coefficient variation of each sample is represented in upper rows.

Fig. 10. Correlation between the TSH values obtained by two 3mm discs method and those obtained by the measurement of serum samples from the same subjects.

Fig. 11. Correlation between two values of TSH in two samples obtained from the same individuals.

又、現在スクリーニングに用いている10mmディスク法による測定値と3mmディスク法による測定値を比較し、例数54において相関係数 $r=0.97$ と良好な相関が認められた (Fig. 12)。以上の結果より、3mmディスク法は十分に良い感度を持つ、安定した測定法であると考えられる。従来の10mmディスクによる測定法とくらべて改善された点は、①濾紙の切り抜き、引き上げなどの手作業がなくなり、測定を簡略化できる。②抽出から測定までの日数が6日から4日に短縮される。③抗体、 ^{125}I -TSHの使用量が各々5分の1、2分の1と少く経済的なこと、などである。以上のように3mmディスク法は広般なスクリーニングを行なう為に、10mmディスク法より更に適した方法であり、現在実際にスクリーニングを3mmディスク法に切り換えつつある。

Table 3. Recovery of TSH added to hypothyroid blood.

TSH added ($\mu\text{U/ml}$)	TSH measured ($\mu\text{U/ml}$)	Recovery (%)
0	59	—
5	54	84.4
10	64.5	93.5
20	75	94.9
40	94	94.9
80	140	100.7
160	240	109.6
320	400	105.5

Table 4. Distribution of newborn blood TSH values measured by two 3mm discs method.

Total	TSH < 5	$5 \leq < 10$	$10 \leq < 20$	$20 \leq \text{TSH } (\mu\text{U/ml})$
858	730	100	26	2 (Cases)
100 %	85.0%	11.7 %	3 %	0.3 %

Fig. 12. Correlation between TSH values of 10mm disc and two 3mm discs obtained from the same individuals.

考 察

新生児先天性甲状腺機能低下症スクリーニングは1973年のDussault ら⁵⁾の報告以来、種々の方法で試みられている。彼らは生後3～5日の新生児濾紙血液を用いて T_4 を測定し、甲状腺機能低下症スクリーニングを開始した^{6) 7) 8)}。Larsen らも濾紙血液の T_4 測定によるスクリーニングを報告している²⁾。

一方、TSH に関しては、1975年、我々が乾燥濾紙血液を用いた TSH の測定法を開発し^{16) 17)}、同年9月より生後4～6日の先天性代謝異常スクリーニングの行なわれている乾燥濾紙血液を用いて、一次性甲状腺機能低下症のスクリーニングを開始した¹⁰⁾。又、Klein¹⁹⁾、Foley¹³⁾、Walfish ら^{30) 31)}は臍帯血清のTSHを測定することにより、先天性甲状腺機能低下症のスクリーニングを報告しており、Delange ら²⁾は1977年より生後3～5日の新生児血清 TSH の測定によりスクリーニングを試みている。

現在、アメリカ及びカナダでは、新生児濾紙血液で、 T_4 測定を一次検査とし、異常低値を示した例の再検査に TSH 測定を用いて甲状腺機能低下症を見い出すためスクリーニングを行っており²⁾、我国においては我々が、乾燥濾紙血液を用いた TSH の測定による新生児先天性一次性甲状腺機能低下症のスクリーニングを開始し、前述のように9例の患児を発見、乾燥濾紙血液を用いた TSH の測定による同スクリーニングが各施設で行なわれている^{20) 23) 24)}。

新生児期のスクリーニングでは、成人の場合と異なり、①採血が容易で採血量が微量であること②個々の産院から検査センターへの検体の収集が容易であること、③早期発見ならびに早期診断がなされること、などが必須の条件であるが、①②の点において乾燥濾紙血液は血清より優れていると考えられる。③の点に関して、新生児甲状腺機能低下症スクリーニングについて以下に言及する。

臍帯血を用いる場合、極めて早期に診断され得ることは利点であるが、新生児の甲状腺機能と比較的相関の低いとされている¹⁹⁾ TSH においても、その正常値は測定感度以下 $\sim 60 \mu\text{u/ml}$ と巾広く、又、分娩時の過度のストレス、児の低酸素血症によって値が増加すると報告されており³¹⁾、これらの場合、false positive になり得ると思われる。

又、生後の新生児の TSH 動態について、Fisher らの報告¹¹⁾では、TSH は出生直後に上昇し、10～30分後にピーク ($65\sim 94 \mu\text{u/ml}$) に達し、2時間後までに急速に減少、24～48時間後に平均 $13 \mu\text{u/ml}$ に戻るとされており、中井ら²⁵⁾は、出生時 TSH は $4.9 \pm 2.7 \mu\text{u/ml}$ 、15分後 $36.2 \pm 18 \mu\text{u/ml}$ 、30分後 $44.6 \pm 12.4 \mu\text{u/ml}$ 、60分後 $40.1 \pm 19.7 \mu\text{u/ml}$ と上昇し、120分後に $25 \pm 9.1 \mu\text{u/ml}$ 、24時間後に $8.5 \pm 3 \mu\text{u/ml}$ に減少したと報告している。我々も濾紙血液を用いて、正常新生児4例の出生直後から新生児期の TSH 動態を観察した (Fig. 13) が、生後30分で最も高値であり、生後2日までに全例 $20 \mu\text{u/ml}$ 以下に減少するという結果を得ている。以上の結果、TSH によるスクリーニングに関しては、新生児の採血時期は生後2日以降が適していると考えられ、現在我々の行なっているスクリーニングは生後4～6日に施行される先天代謝異常スクリーニングの一部の検体を用いており、適切な採血時期のものであると思われる¹²⁾。

又、従来の10 mm ディスクを用いる方法から3 mm ディスク2枚を用いる測定法への改良は、3 mm ディスク法がスクリーニングとして十分な感度を有していること、更に①¹²⁵I-TSH、第一抗体の減量と第2抗体の代わりに PEG を用いることにより、検査に要する費用が下がる。②操作が簡便であり、機械を広く応用できる。③測定日数が短縮される。などの利点を持っているのでスクリーニングの拡大を可能にした。

Fig. 13. Serial measurements of dried blood disc TSH in newborns.

新生児甲状腺機能低下症スクリーニングを乾燥濾紙血液の、TSH 測定により行なうべきか、あるいは T_4 測定により行なうべきかは現在のところ決め難い。TSH 測定によるスクリーニングは、一次性甲状腺機能低下症に関しては、同疾患において TSH が鋭敏に上昇するので、重症はもとより、極めて軽度の例をも発見できるということが利点であり、このことは、実際に我々のスクリーニングにおいて証明された。特に先天性甲状腺機能低下症の原因の26~63%¹⁾¹⁴⁾²²⁾²⁸⁾を占めると報告されている異所性甲状腺は、生後早期には軽度の甲状腺機能低下を示すのみの場合も多く、それらの例は臨床症状や T_4 によるスクリーニングでは見逃される場合があると考えられる。一方、TSH の測定においては、二次性及び三次性甲状腺機能低下症は発見され得ないということが欠点である。しかし、その頻度は低く、Dussault ら⁸⁾は、二次性甲状腺機能低下症は212,000例中3例（約1/71,000）の頻度であると報告している。

又、最近、Delange ら³⁾は、未熟児及び呼吸障害を示した新生児に一過性の T_4 低下と TSH 上昇を伴った症例を報告しているが、これらの症例は TSH, T_4 のいずれのスクリーニングにおいても false positive になるであろう。逆に、新生児期の甲状腺機能が正常であっても、乳児期から甲状腺機能低下症が発症する例も存在するであろうと思われるので、生後1ヶ月あるいは3ヶ月などに臨床症状のチェック等が必要である。

更に、現在までの TSH 測定によるスクリーニングにおいて、臨床症状、 T_3 , T_4 は正常で TSH のみ高値を示す例を見い出しており、逆に TSH 上昇は軽度で T_4 低下と甲状腺腫を有する新生児の症例も報告されている²⁹⁾。新生児甲状腺機能低下症スクリーニングによって、新生児甲状腺の未知の病態が明らかにされるということも意義のあることである。

甲状腺機能低下症は治療可能な疾患であるにもかかわらず、患児の早期発見、早期治療がなされないために、知能障害をひきおこすということは誠に遺憾であり、新生児甲状腺機能低下症スクリーニングが今後更に普及されることがのぞまれる。

結 論

乾燥濾紙血液を用いた TSH の測定により、新生児甲状腺機能低下症スクリーニングを施行、且つ測定法の改良について検討し、以下の知見を得た。

1. 10 mm ディスクを用いた測定法により、前半の61,000例中には患児を見い出し得なかったが、後半の74,505例中において9例の患児を見い出した。

2. 発見された 9 例の患児の中には、血清 T_3 , T_4 は正常範囲で TSH のみ高値を示した例もあり、乾燥濾紙血液の TSH 測定によるスクリーニングは、極めて軽度の症例をも見出し得るといことが明らかになった。

3. cut off point は assay 間の測定値の変動を考慮すると、毎回の assay 中の上値数パーセントを異常例として再検するという方式の方が見逃しが少ないと考えられ、後半のスクリーニングでは上値 3 % を再検した。

4. 採血された濾紙の保存性はほぼ安定であるが、37℃ 及び温度差のある場所での保存はのぞましくなく、夏季における検体の取り扱いには注意を要する。前半のスクリーニングにおいて患児を見出し得なかった原因には、上記のような検体の取り扱いが不注意であったことも考えられる。

5. 3 mm ディスク 2 枚を用いる TSH の測定法を開発した (3 mm ディスク法)。

6. 3 mm ディスク法は感度が良く、安定しており、測定に要する日数が短く、測定用試薬が少量であり、且つ測定操作の自動化が可能であるので、10 mm ディスク法より更にマス・スクリーニングに適した方法である。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜った入江実教授に深謝致します。又、御協力頂いた国立神経センター成瀬浩部長、東邦大学第一内科内分泌研究班各位、スクリーニングに携って頂いた坂井由美、松戸秀子両氏、発見された患児の精査治療を受け持って頂いた千葉大小児科中島博徳教授、名城病院川村正彦先生、貴重な検体を提供して下さい下さった伊藤病院 伊藤国彦先生、同病院検査室諸氏に深謝致します。

尚、本研究の一部は厚生省心身障害 (慢性疾患) 研究分担研究の「先天性甲状腺機能低下症の早期発見に関する研究班」(班長: 入江実教授) に対する研究費及び、東邦大学医学部プロジェクト研究費によった。

又、本研究に用いた TSH の一部は米国 National Institutes of Health の提供によるものでありここに感謝する。

本論文の要旨は、第49回日本内分泌学会総会 (1976. 東京)、第50回日本内分泌学会総会 (1977. 福岡)、第51回日本内分泌学会総会 (1978. 東京)、第26回日本内分泌学会東部部会 (1978. 前橋) において発表した。

文 献

- 1) Ahuja, M.S., Chopra, I.J. and Sridhar, C.B.: Sporadic cretinism and juvenile hypothyroidism, *Metabolism*, 18: 488-496, 1969.
- 2) Delange, F., Camus, M., Winkler, M., Dodion, J. and Ermans, A.: Serum thyrotropin determination on day 5 of life as screening procedure for congenital hypothyroidism, *Arch. Dis. Child.*, 52: 89-96, 1977.
- 3) Delange, F., Dodion, J., Wolter, R., Bourdoux, P., Dalhem, A., Glinoe, D. and Ermans, A.: Transient hypothyroidism in the newborn infant, *J. Pediatr.*, 92: 974-976, 1978.
- 4) Desbuquois, B. and Aurbach, G.D.: Use of polyethylene glycol to separate free and antibody-bound peptide hormones in radioimmunoassays, *J. Clin. Endocr.*, 33: 732-738, 1971.
- 5) Dussault, J.H. et Laberge, C.: Dosage de la thyroxine (T_4) par méthode

- radio-immunologique dans l'eluat de sang séché: Nouvelle méthode de dépistage de l'hypothyroïdie neonatale?, *Union Med. Can.*, 102: 2062–2064, 1973.
- 6) Dussault, J.H., Coulombe, P., Laberge, C., Letarte, J., Guida, H. and Khoury, K.: Preliminary report on a mass screening program for neonatal hypothyroidism, *J. Pediatr.*, 86: 670–674, 1975. 7) Dussault, J.H., Letarte, J., Guida, H. and Laberge, C.: Thyroid function in neonatal hypothyroidism, *J. Pediatr.*, 89: 541–544, 1976.
- 8) Dussault, J.H., Morissette, J., Letarte, J., Guida, H. and Laberge, C.: Modification of a screening program for neonatal hypothyroidism, *J. Pediatr.*, 92: 274–277, 1978.
- 9) Eayrs, D.A.: Age as a factor determining the severity and reversibility of the effects of thyroid deprivation in the rat, *J. Endocrinol.*, 22: 409–419, 1961.
- 10) 榎本和子, 榎本仁志, 梅田みほ子, 入江 実: 先天性甲状腺機能低下症のスクリーニング法による早期発見, *ホルモンと臨*, 25: 1097–1103, 1977. 11) Fisher, D.A. and Odell, W.D.: Acute release of thyrotropin in the newborn, *J. Clin. Invest.*, 48: 1670–1677, 1969.
- 12) Fisher, D.A. and Sack, J.: Thyroid function in the neonate and possible approaches to newborn screening for hypothyroidism, 197–209. Ed. by D.A. Fisher and G.N. Burrow, *Perinatal Thyroid Physiology and Disease*, Raven Press Books, Ltd., New York, 1975.
- 13) Foley, T.P.Jr., Klein, A.H., Augustin, A.V. and Hopwood, N.J.: Screening for congenital hypothyroidism by the determination of thyrotropin levels, 255–261, Ed. by D.A. Fisher and G.N. Burrow, *Perinatal Thyroid Physiology and Disease*, Raven Press Books, Ltd., New York, 1975. 14) Gabr, M.: The role of thyroid dysgenesis and maldescent in the etiology of sporadic cretinism, *J. Pediatr.*, 60: 830–835, 1962.
- 15) Guthrie, R. and Susi, A.: A simple phenylketonuria screening method for newborn infants, *Pediatr.*, 32: 338–343, 1963. 16) Irie, M., Enomoto, K. and Naruse, H.: Measurement of thyroid-stimulating hormone in dried blood spot, *Lancet*, ii: 1233–1234, 1975. 17) 入江 実, 榎本和子, 榎本仁志, 梅田みほ子, 成瀬 浩: 乾燥濾紙血液を用いる血中甲状腺刺激ホルモン (TSH) の測定, *日内分泌会誌*, 52: 243–247, 1976.
- 18) Klein, A.V., Meltzer, S. and Kenny, F.M.: Improved prognosis in congenital hypothyroidism treated before age three months, *J. Pediatr.* 81: 912–915, 1972.
- 19) Klein, A.H., Augustin, A.V. and Foley, T.P. Jr.: Successful laboratory screening for congenital hypothyroidism, *Lancet*, ii: 77–79, 1974. 20) 近藤昌子, 林 真夫, 山下文雄: 先天性甲状腺機能低下症のスクリーニング, *ホルモンと臨*, 25: 953–957, 1977.
- 21) Larsen, P.R. and Broskin, K.: Thyroxine (T_4) immunoassay using filter paper blood samples of screening of neonate for hypothyroidism, *Pediatr. Res.*, 9: 604–609, 1975.
- 22) Maenpää, J.: Congenital hypothyroidism, *Arch. Dis. Child.*, 47: 914–923, 1972.
- 23) 宮井 潔, 西 啓子, 川島 実, 大浦敏明, 鶴原常雄: クレチン症のマス・スクリーニング, *医学のあゆみ*, 97: 295–300, 1976. 24) 宮井 潔, 網野信行, 市原清志, 西 啓子, 藤江富子, 大浦敏明, 鶴原常雄, 長谷 豊, 川島 実, 前田紀夫, 佐竹律子, 小豆沢端夫, 野瀬 〇: TSH 測定によるクレチン症のマス・スクリーニング, *ホルモンと臨*, 25: 958–963, 1977.
- 25) 中井利昭, 山田律爾: 周産期の下垂体一甲状腺機能の特性, *ホルモンと臨*, 25: 1105–1114, 1977. 26) 成瀬 浩: 先天性代謝異常の早期発見と精神薄弱の予防, *周産期医学*,

4: 961-971, 1974.

27) Scriver, C.R., Feingold, M., Mamunes, P. and Nadler, H.L.: Screening for congenital metabolic disorders in the newborn infant: Congenital deficiency of thyroid hormone and hyperphenylalaninemia, *Pediatr.*, 60: Suppl., 389-395, 1977.28) 諏訪城三, 田中敏章, 前坂機江, 梅津幹夫, 藤生英夫, 大竹一男: 先天性甲状腺機能低下症の成因と病態に関する臨床的検討, *ホルモンと臨*, 25: 1067-1080, 1977.29) 竹内 豊, 小林道生, 久保美智子, 牧野定夫, 林 幹朗, 新美仁男: 生後 4 日より治療を開始した先天性甲状腺腫性クレチン症の 1 例, *ホルモンと臨*, 25: 805-809, 1977.30) Walfish, P.G.: Screening for neonatal hypothyroidism using cord serum TSH measurements: Comparison to cord serum and neonatal capillary dried blood thyroxine (T_4) screening methods, 263-269. Ed, by D.A. Fisher and G.N. Burrow, *Perinatal Thyroid Physiology and Disease*, Raven Press Books, Ltd., New York 1975.31) Walfish, P.G.: Evaluation of three thyroid function screening tests for detecting neonatal hypothyroidism, *Lancet*, i: 1208-1211, 1976.

日本内分泌学会雑誌 第55巻 第11号

昭和54年11月15日印刷 昭和54年11月20日発行
(毎月1回発行) 1年金7000円

発行所 日本内分泌学会 (振替京都12902番)

〒602 京都市上京区荒神橋西詰下ル

京都府立医科大学 青蓮会館内

TEL. (075)256-0136

編集兼 佐 野 豊
発行人

印刷人 近 浪 廣

印刷所 日本コンベンションサービス株式会社

東京都千代田区内幸町2-2-1

日本プレスセンタービル 8階