高感度 TSH-RIA のルチン使用経験

神戸市立中央市民病院 内科

森 徹, 石 原 隆

神戸市立中央市民病院 核医学科

尾 藤 早 苗, 池 窪 勝 治

Clinical Evaluation of Routinely Applied Highly Sensitive TSH RIA

**Toru MORI*, Takashi ISHIHARA*,
Sanae BITO** and Katsuji IKEKUBO****

Department of Internal Medicine* and Nuclear Medicine**,
Kobe Central Municipal Hospital,
Kobe, Japan

Forty-one routine TSH assays were carried out by applying newly developed, highly sensitive TSH RIA (T. Mori, et al., Folia Endocrinol. Jap., 56: 1231, 1980).

B/B₀ percent of the least standard point (0.156 μ U/ml) was consistently lower than B₀ and higher than that of 0.31 μ U/ml.

The distributions of assayed TSH concentrations in 1394 sera revealed that 34.8% of the total were in an undetectable range when measured by conventional method ($<1.0 \mu$ U/ml), but this method picked up 16.4% (0.156 ~ 1.0 μ U/ml), and only 5.4% exceeded the upper limit (20 μ U/ml).

TRH test results (500 μ g i.v. bolus) in 45 cases of thyroid disorders with low or normal basal TSH revealed that the peak TSH of those with basal TSH of 0.156 ~ 1.0 μ U/ml ($8.98 \pm 4.15 \mu$ U/ml) was significantly different from those of less than 0.156 μ U/ml or 1.0 ~ 3.2 μ U/ml.

Further, TSH concentrations in 19 patients after T₃ administration (75 μ g $\times$ 7 days) were $0.183 \pm 0.073 \mu$ U/ml, and all but one (0.43 μ U/ml) showed values lower than the normal range (0.31 ~ 3.2 μ U/ml).

Thyroid hormone concentrations in cases with TSH of 0.156 ~ 1.0 μ U/ml were limited in the ranges of less than 300 ng/dl T₃ and/or less than 15 μ g/dl T₄, and these were considered to be the threshold of definite TSH inhibition. TSH concentrations of less than 0.31 μ U/ml were generally associated with clinical conditions or laboratory findings of decreased TSH secretion, although there were a few cases showing undetectable TSH with normal or low T₄ and T₃.

In conclusion, this highly sensitive TSH RIA could detect 76.2% of serum TSH in various thyroid states, and detection of a lower TSH range was found quite meaningful. Routine application of this assay should be strongly recommended.

緒 言

著者ら⁴⁾は，市販の TSH—RIA キットに若干の改良を加えることにより，極めて高感度な測定が可能であることを認めて報告した。

この高感度法を開発してから，著者らの施設では全てのルチン TSH 測定検査に本法を応用している。本論文では，ルチン応用開始時約 11 ヶ月間の経験から，TSH の高感度測定の臨床的意義について報告する。

1. 方 法

1) TSH 高感度 RIA

既報⁴⁾のごとく，第一ラジオアイソトープ研究所の TSH—RIA キットを用いた。キャリアー蛋白としては，未治療バセドウ病患者血清を混合しないで用いた³⁾。抗 TSH 抗体は 2 倍希釈して使用した。先づ血清または標準物質を希釈抗体と 4℃ 4 日間反応させ，その後に¹²⁵I—TSH を添加して 1 日間反応させ，第二抗体にて B・F 分離を行なった。本法の感度は 0.156 μ U/ml であり，20 名の正常人では，0.31～3.2 μ U/ml（平均 1.48 $\pm$ 0.65 μ U/ml）に分布し，全例で TSH が検出された。

神戸市立中央市民病院 RI 検査室において，1979 年 11 月より翌年 9 月までの 11 ヶ月間に TSH の測定を依頼された 1394 例について，本法を用いて 41 回にわたる測定が行なわれた。なお，本法の測定上界は 20 μ U/ml であり，高感度法で上界を越したものについては，短時間法⁵⁾で再検した。

2) TRH テスト

合成 TRH 製剤（ヒルトニン，武田薬品）500 μ g 1 回静注投与前と 30，60，90，120 分後の TSH を高感度法で測定した。

3) T₃ 抑制試験

バセドウ病の寛解判定，甲状腺機能の TSH 依存性の判定を目的として，20 例において T₃ 75 μ g / 日 7 日間投与下での抑制試験を行なった。T₃ 投与前後に ^{99m}TcO₄⁻ を用いて甲状腺摂取率²⁾を測定するとともに，T₃ 投与終了後の TSH および T₃ の測定を行なった。なお，摂取率における T₃ 抑制陽性の判定は，T₃ 投与後に前値の 50% 以上の下降がみられ，かつ後値が正常範囲（0.4～2.5%）であることの 2 条件でなされた。

4) その他の甲状腺機能検査

T₄ は T₄ RIA II，T₃ は T₃ RIA II キットによって測定した。なお，全ての統計処理には Student の t テストを用いた。

2. 成 績

Fig. 1 は，全 41 回の測定における 0～2.50 μ U/ml の各標準点の B/B₀% を示す。0.156 μ U/ml の B/B₀ は 96.42 $\pm$ 1.995 (S.D.) % で，0 点※ (100 $\pm$ 1.397) および 0.313 μ U/ml (93.50 $\pm$ 2.81) とそれぞれ有意差を示した。また，全測定を通じて，0.156 μ U/ml の点が 0 点より高い，または 0.313 μ U/ml の点より低いなどの不都合はみられなかった。

※ 2 重測定の各測定値のバラつき

Fig. 1. Standard curves of 41 consecutive sensitive TSH RIA.

Fig. 2. Routine TSH assay results using sensitive RIA.

Fig. 2 は、全1394例の測定結果をTSHレベル毎に示したものである。従来のTSH-RIA検出下界 ($1 \mu\text{U/ml}$) 以下を示したものは、全体の34.8%であり、このうち18.4%は本法でも検出不能であったが、約半数の16.4%に $0.156 \sim 1.0 \mu\text{U/ml}$ の値が測定された。一方、検出上界を越すものは5.4%に過ぎなかった。甲状腺機能の季節的変動を考慮し月毎のTSHを比較したが、12~4月の寒期に若干 $20 \mu\text{U/ml}$ を越すものの比率が増加する傾向を認めたが、どの月においてもこの比率が $0.156 \sim 1.0 \mu\text{U/ml}$ の比率を上廻ることはなく、年間を通じて本法を用いて支障ないと判断した。

Fig. 3. TRH test results in relation with basal TSH level in patients with various thyroid disorders.

Fig. 3 は, TRH 負荷前の TSH が $3.2 \mu\text{U/ml}$ (正常上界) 以下を示した各種甲状腺疾患患者 31 症例における, TRH テスト後の TSH の変動を示す。TSH の前値によって, I 群 ($<0.156 \mu\text{U/ml}$), II 群 ($0.156 \sim 1.0 \mu\text{U/ml}$) および III 群 ($1.0 \sim 3.0 \mu\text{U/ml}$) に区別した。I 群では 12 例中 5 例は無反応であったが, 7 例には反応がみられ, 30 分値は最高 $6.5 \mu\text{U/ml}$, 平均 $3.37 \pm 1.40 \mu\text{U/ml}$ (7 例のみ) を示し, I 群にはなお 2 つの subgroup があることが示された。

II 群では, 30 分値は $3.9 \sim 18.0 \mu\text{U/ml}$ の間に分布し, 平均 $8.98 \pm 4.15 \mu\text{U/ml}$ で, I 群で反応した 7 例の成績と 1% レベルで有意差を示した。さらに, III 群では, 30 分値は $6.5 \sim 26.7 \mu\text{U/ml}$, 平均 $17.17 \pm 6.11 \mu\text{U/ml}$ で II 群と 0.5% レベルで有意差を示した。(なお, Fig. 3 の TSH は片対数で表示されている。) 即ち, 本法をルチン応用することによって新しく検出可能となった II 群は, I 群および III 群とは TSH 分泌予備能に有意差を示した。

Table 1 は, T_3 抑制試験を行なった 20 症例の成績を示す。抑制陽性と判定されたのは, No. 14, 15, 17, 19 および 20 の 5 例であった。 T_3 7 日間服用後の T_3 濃度は, No. 15 の 1 例を除けば大旨 300 ng/dl を越す高値を示した ($399.8 \pm 90.0 \text{ ng/dl}$)。これに対して, TSH は 13 例で $0.156 \mu\text{U/ml}$ 以下, 5 例に正常下界以下の低値を示し, No. 20 の例のみに $0.43 \mu\text{U/ml}$ と正常値がみられ, 平均 $0.183 \pm 0.070 \mu\text{U/ml}$ であった。なお, No. 15 は T_3 服用不十分として統計処理から省いた。

Fig. 4 は, TSH が $0.156 \mu\text{U/ml}$ 以下であった 234 例 (全 256 例中重複を省いた) の疾患別 T_4 , T_3 濃度を示す。未治療バセドウ病および亜急性甲状腺炎では全例に T_4 , T_3 とも高値を認めた。その他の甲状腺疾患や治療中の症例では, 概して T_3 が上昇する傾向はあるが, 必ずしも甲状腺ホルモンの上昇が認められず, 一部には T_4 , T_3 とも低値をとるものもみられた。一方, 視床下部下垂体疾患の 1 例に中枢性機能低下症を認め, また, 神経性食思不振症, クッシング症候群およびステロイド大量投与例に T_4 , T_3 ともに T_3 低値が認められた。

Table 1. Result of T3 suppression test in 20 patients.

Pt.No.	Diagnosis	thyroid $^{99}\text{TcO}_4^-$ uptake(%)*		Values after T3 administration	
		before	after	TSH($\mu\text{U/ml}$)	T3(ng/dl)
1	Hashitoxicosis	6.2	8.0	~ 0.156	612
2	treated Graves'	12.2	4.4	~ 0.156	369
3	treated Graves'	5.7	4.2	0.29	345
4	treated Graves'	3.5	3.8	~ 0.156	643
5	euthyroid Graves'	2.8	3.5	~ 0.156	373
6	treated Graves'	3.5	2.8	~ 0.156	-
7	euthyroid Graves'	3.3	2.8	0.18	351
8	euthyroid Graves'	3.3	2.8	~ 0.156	-
9	euthyroid Graves'	2.6	2.8	~ 0.156	440
10	treated Graves'	7.3	2.4	0.21	372
11	treated Graves'	3.1	1.9	~ 0.156	350
12	treated Graves'	2.5	1.9	0.19	370
13	treated Graves'	2.5	1.9	~ 0.156	367
14	treated Graves'	4.2	1.8	~ 0.156	406
15	Hashimoto's disease	8.0	1.5	0.63**	100
16	treated Graves'	1.9	1.5	~ 0.156	362
17	treated Graves'	8.1	0.9	0.23	383
18	treated Graves'	1.0	0.6	~ 0.156	369
19	euthyroid Graves'	1.3	0.07	~ 0.156	270
20	thyroid tumor	0.8	0.07	0.43	414
				0.183	399.8
				$\pm 0.070^{***}$	± 90.0

* normal range : 0.4 ~ 2.5%

** was not included in the statistical analysis

*** mean $\pm$ s.d.For the statistical analysis, 0.156 was given in case of ~ 0.156 .

Fig. 4. Thyroid hormone levels in patients with undetectable TSH by sensitive RIA.

Fig. 5. Comparison of thyroid hormone levels between undetectable and low TSH group.

Fig. 5 は、各種疾患患者における $TSH < 0.156 \mu U/ml$ の群と $0.156 \sim 1.0 \mu U/ml$ の群についての T_4 と T_3 の相関を示す。 $TSH < 0.156 \mu U/ml$ の場合、多くは T_4 、 T_3 とも高値を示すが、正常または低値を示すものもみられる。一方、 $0.156 \sim 1.0 \mu U/ml$ の群の分布をみると、1 例を除き T_4 および T_3 とも極端な高値をとらないことがうかがわれ、 T_4 で $15 \mu g/dl$ 、 T_3 では $300 ng/dl$ 以上のものは殆んどなかった。従って、このレベルが TSH を $0.156 \mu U/ml$ 以下に抑制しうる境界と推定された。なお、 T_4 、 T_3 とも高値を示し TSH が $0.32 \mu U/ml$ であった未治療バセドウ病の 1 例は、TRH 負荷試験にて TSH の上昇を認めず T_3 $75 \mu g \times 7$ 日投与後にも下降しないことから血清による RIA 系への非特異的抑制作用に基づく TSH の過大評価と考えられた。

3. 考 按

著者らが開発した高感度 TSH —RIA 法⁴⁾をルチン応用した 11 ヶ月間、41 回、1394 試料の測定成績を検討した。全 41 回を通じ、最少標準点 ($0.156 \mu U/ml$) は、0 点および $0.313 \mu U/ml$ の標準点とつねに明瞭に識別され、本法の安定性が示された。本法を用いれば正常人の TSH レベルが検出され、未治療バセドウ病ではなお測定感度以下の低値が認められ、 TSH の正常と低値を識別できる。先に高感度法を報告した Pekary ら⁷⁾、Smith ら⁹⁾も正常人およびバセドウ病の TSH について著者らの成績に近い成績を報じている。しかし、高感度法は従来法に比して操作、時間、結合カウントなどの面で劣るものであり、これをルチン測定に応用するにはえられるメリットの大きさが問題となる。

測定範囲から言って、本法では従来法に比して $0.156\sim1.0\mu\text{U}/\text{ml}$ の範囲を新しく検出することになるが、一方、当然のことながら最高検出域が $20\mu\text{U}/\text{ml}$ に低下してくる。本シリーズの経験では $0.156\sim1.0\mu\text{U}/\text{ml}$ の測定値を示したものは16.4%であり、これは $20\mu\text{U}/\text{ml}$ 以上を示した5.4%を数の上でも上廻っている。臨床的には原発性甲状腺機能低下症の診断上は $\text{TSH}>20\mu\text{U}/\text{ml}$ の情報で十分である。(実際には、これらは改めて短時間法で測定し後刻数値を報告した。)従って、新しく検出されるようになった $0.156\sim1.0\mu\text{U}/\text{ml}$ という値に意味があれば、高感度法がルチンのにもより有用性が高いと判定されよう。

TRH $500\mu\text{g}$ 静注に対する反応性の比較からは、 $0.156\sim1.0\mu\text{U}/\text{ml}$ の群は、 <0.156 または $1.0\sim3.2\mu\text{U}/\text{ml}$ の群とそれぞれ有意に異なる頂値を示し、この群のTSH分泌予備能がより低値群または高値群と差があることが認められた。また、 $\text{T}_375\mu\text{g}/\text{日}$ 7日間服用後においても、TSHは正常レベル以下に下降することが示された。Adamsら¹⁾は抽出法を用いて $0.28\mu\text{U}/\text{ml}$ 、Petersenら⁸⁾はcytochemical assayを用いて $0.02\mu\text{U}/\text{ml}$ 以下と報告し、 T_3 服用後のTSHレベルはなお文献的にも一致してはいないが、著者らの成績からは、正常より低いバセドウ病よりはやや高いことが推測された。

以上の如く、高感度法ではTSHの正常と低値をかなり明瞭に識別できると言える。しかし、TSHの低値が直接臨床診断とつながらないことも確かである。TSHが $0.156\mu\text{U}/\text{ml}$ 以下を示した234例においても、未治療バセドウ病や亜急性甲状腺炎急性期で T_4 、 T_3 とも高値を示すもののみではなく、橋本病や腫瘍にも低TSHが認められ、治療中の症例をも含めると、 T_4 や T_3 が正常乃至低値でありながらTSHも低い例が少なからずみられた。甲状腺剤で補償中の例ではTSHの低値が過剰補償の一指標になろうが、バセドウ病治療例ではことに T_4 、 T_3 の幅が大きく、TSHの測定が診療経過の指標としてどれだけ有用かはなお不明である。これは、TSHの上昇時にも言えることであり、治療中には急激なホルモンレベルの変動があり、下垂体一甲状腺系のフィードバック機構は血中ホルモンの急速な変動に即応しきれないものと考えられる。神経性食思不振症、クッシング症候群およびステロイド大量投与時に甲状腺ホルモン(ことに T_3)の低下とともにTSHも低下しうことは既に知られているところである⁶⁾。

T_4 や T_3 がどのレベルまで上昇すればTSHを十分に抑制しうるかも興味ある点である。 T_3 服用のデータからも推測されたが、 T_3 では $300\text{ng}/\text{dl}$ 以上になると T_4 に関係なくTSHを抑制するようである。一方、 T_4 は $15\mu\text{g}/\text{dl}$ が境と考えられ、ともに正常上界よりやや高い点が示唆された。即ち、このレベルを越すものではもはやTSH測定の意義はないとも考えられ、高感度TSH-RIAは正常とこの境界点の間の症例について、TSHの分泌の程度を明らかにしうるものと言える。

4. 結 論

高感度TSH-RIA法をルチン検査に応用し、11ヶ月、41回、1394例の測定を行なった成績を検討し以下の結論をえた。

- 1) 本法の最少検出域は $0.156\mu\text{U}/\text{ml}$ であり、標準曲線は安定していた。
- 2) 本法によるTSH測定成績の分布は、 0.156 以下18.4%、 $0.156\sim1.0$ 、16.4%、 $20\mu\text{U}/\text{ml}$ 以上5.4%であり、従来法より検出率が上昇した。
- 3) $0.156\sim1.0\mu\text{U}/\text{ml}$ の群はTRH-TSHの頂値において <0.156 および $1.0\sim3.2\mu\text{U}/\text{ml}$ の群と有意差を示した。また、 $\text{T}_375\mu\text{g}/\text{日}$ 7日服用後の19例においてTSHは $0.183\pm0.070\mu\text{U}/\text{ml}$ と低値を示した。

4) $<0.156 \mu\text{U/ml}$ および $0.156 \sim 1.0 \mu\text{U/ml}$ の症例の検討から, TSH 低値は必ずしも T_4 や T_3 の上昇を伴わず, 直ちに臨床診断とは結びつかないが, T_4 で $15 \mu\text{g/dl}$, T_3 で 300ng/dl を越す場合には TSH が抑制されると判断された。

5) 以上の成績から, 高感度法をルチン測定に応用することの有用性を認めた。

文 献

- 1) Adams, D.D., T.H. Kennedy and R.D. Utiger: Comparison of bioassay and immunoassay measurements of serum thyrotropin (TSH) and study of TSH levels by radioimmunoassay of serum concentrates. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 34: 1074–1079, 1972. 2) 藤田 透, 森 徹, 高坂唯子, 小西淳二, 森田陸司, 笠木寛治, 奥野龍魏, 遠藤啓吾, 竹田洋介, 池窪勝治, 鳥塚莞爾: ^{99m}Tc -pertechnetate による甲状腺ルチン検査。核医学, 14: 827–840, 1977.
- 3) 尾藤早苗ほか: 核医学投稿中。 4) 森 徹, 玉木長良, 石原 隆, 尾藤早苗, 伊藤秀臣, 森本義人, 大城徳成: TSH ラジオイムノアッセイにおける高感度測定法の検討ならびにその臨床的意義。日内分泌誌, 56: 1231–1239, 1980. 5) 森 徹, 小野芳子, 千種貞子, 遠藤啓吾, 小西淳二: 二抗体法 HTSH キットを用いた室温短時間インキュベーション法の検討。核医学, 12: 301–305, 1975. 6) 森 徹: TSH。日本臨床, 1980 春季増刊号, 463–471, 1980.
- 7) Pekary, A.E., J.M. Hershman and A.F. Parlow: A sensitive and precise radioimmunoassay for human thyroid-stimulating hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 41: 676–684, 1975. 8) Petersen, V., B.R. Smith and R. Hall: A study of thyroid stimulating activity in human serum with the highly sensitive cytochemical bioassay. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 41: 199–202, 1975. 9) Smith, S.R., D.W. Burton and J.L. Izenstark: Levels of serum thyroid-stimulating hormone in hyperthyroidism. *Arch. Intern. Med.*, 139: 757–760, 1979. (受付日: 57. 11. 22)