RIA の 精 度 管 理

——多種目コントロール血清の諸値と再現性の検討[†]——

黒田 彰, 矢田部タミ, 稲葉妙子, 山田英夫, 飯尾正宏

東京都養育院付属病院核医学放射線部

117 東京都板橋区栄町35-2

1977年 3月7日 受理

RI *in vitro* 検査において, 精度管理用血清の使用は, 検査の正確さ, 再現性をチェックするうえで必要である。当検査室においては, 従来の自家製プール血清と併用し, HBsAg 陰性といわれる NMS-I, NMS-II (栄研化学) をルーチン検査に用いて, コントロール血清の再現性を検討し, 当検査室でルーチン化されている項目についてそれぞれの値を測定した。また添付の表示値と, われわれの測定値との間に生じた差の原因を明らかにするため, 異なるキットにより, コントロール血清を測定し, 検討した。

1. 方 法

日常検査時に, 自家製プール血清 (以下プール血清と略) およびコントロール血清 NMS-I, NMS-II を挿入測定し, その再現性について, プール血清と NMS-I, NMS-II を比較し, バイアル間の差を検討した。

測定した検査項目は, IRI, HGH, TSH, T-3RSU, T₃RIA, IgE, LH, FSH, サイロキシン, ガストリン, コーチゾール, ジゴキシン, AFP, CEA, アンギオテンシン-I, である。また, インシュリンについて, 種類の異なるキットにより測定し, 測定値を比較した。とくに断らないかぎり, 本論文の測定内変動は, combined within-assay variance¹⁾ を意味する。精度管理用チャートは, 前回までのすべての平均に今回の測定値を加えて平均するという cumulative average を用いて作成した。

2. 結 果

1) 再現性の検討

a) サイロキシンと NMS-I, NMS-II, プール血清
サイオバック-4 (科研化学) を用いて連続21回の日常検査を行ったサイロキシンの結果, 各比較血清の測定間変動はプール血清 $9.99 \pm 0.94 \mu\text{g/dL}$, CV 9.41%, NMS-I $12.91 \pm 0.99 \mu\text{g/dL}$, CV 6.79% と満足すべきものであった (Fig. 1)。

Fig. 1 Quality control chart of thyroxine study. A white triangle represents a value obtained in each assay. Closed circles represent cumulative averages of all previous assays. Dotted bands represent over all means plus and minus one standard deviation.

b) インシュリンと NMS-I, NMS-II, プール血清
つぎにインシュリンを RIA キット (ダイナボット社) で50回以上連続してルーチン測定を行った (Fig. 2)。プール血清, NMS-I, NMS-II いずれにおいても測定値のバラツキはほとんど同じであった。図の帯は $\pm 1\text{SD}$, 実線は, cumulative average を表す。各比較血清の変動は Table 1 に示したとおりで, いずれも大差はなかった。

c) NMS-I, NMS-II とプール NMS-I, プール NMS-II の比較

[†] Quality Control in Radioimmunoassay—Values and Reproducibility of Commercial Control Sera —. Akira KURODA, Tami YATABE, Taeko INABA, Hideo YAMADA and Masahiro IIO: Dept. Nucl. Med. and Rad. Science, Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital, 35-2, Sakae-cho, Itabashi-ku, Tokyo 117.

Fig. 2 Quality control chart of IRI study.

Table 1 Between-assay and within-assay variability of IRI for control sera

	Between-assay		Within-assay		Mean μU/ml
	SD	CV(%)	SD	CV(%)	
Pooled	4.63	14.46	2.95	9.21	32.0
NMS-I	3.79	13.72	2.66	9.64	27.6
NMS-II	14.40	13.29	9.91	9.51	108.3

NMS-I, NMS-II と、数バイアルの凍結乾燥コントロール血清を溶解し小分けにして作成したプールNMS-I, プール NMS-II をルーチン検査に挿入, 9回連続して測定した。結果は, 測定間変動としてプールNMS-I $25.6 \pm 2.18 \mu\text{U/ml}$, CV 12.93%, プール NMS-II $118.1 \pm 13.18 \mu\text{U/ml}$, CV 14.39%であった。

2) その他の検査項目の測定値の検討

Fig. 3 に TSH の測定値を示した。5~6キットごとに値が異なるように見える。Rで示した部分は, N SB も異常に高く, 他に比較して著明な差が認められたため, 再検査の扱いとした。この測定に関しては, さらに長期間の検討が必要と考えられる。

Fig. 3 Quality control chart of TSH assay.

Table 2 Values of NMS-I and NMS-II for listed assays determined in our laboratory.

Assay	Pooled	NMS-I	NMS-II
IRI D ($\mu\text{U/ml}$)	32.04 ± 4.63	27.59 ± 3.79	108.3 ± 14.4
HGH D (ng/ml)		3.11 ± 0.74	5.51 ± 0.65
FSH C (mIU/ml)		35.26 ± 2.00	32.36 ± 3.31
Gastrin C (pg/ml)		53.58 ± 8.85	128.7 ± 19.87
IgE P (U/ml)		128.8 ± 10.28	117.8 ± 13.85
AFP D (ng/ml)	5.14 ± 1.20	17.82 ± 3.14	10.89 ± 2.68
Angiotensin-I C (ng/ml/h)	2.88 ± 0.99	5.32 ± 1.12	5.40 ± 1.23
TSH DI ($\mu\text{U/ml}$)	13.24 ± 2.73	6.63 ± 1.38	6.59 ± 1.72
Thyroxine R ($\mu\text{g/dl}$)	9.99 ± 0.94	12.91 ± 0.90	
T-3RSU D (%)		0.98 ± 9.05	1.48 ± 0.07
Cortisol S ($\mu\text{g}\%$)	13.54 ± 2.60	16.30 ± 2.61	31.59 ± 5.90
Prolactin C (ng/ml)	$11. \pm 72.15$	7.9 ± 20.92	9.48 ± 0.91
T-3RIA D (ng/dl)		137.0 ± 14.3	over 800
Digoxin D (ng/ml)	0.84 ± 0.61	1.08 ± 0.09	2.61 ± 0.08
CEA D (ng/ml)	3.62 ± 0.32	3.62 ± 0.32	2.84 ± 3.41

DI: Daiichi radioisotope, R: RCC, D: Dainabot, S: Schwarz Mann, C: CIS, P: Pharmacia

Table 2 に各種目ごとのプール血清, NMS-I, NMS-II の測定値を示した。表中より測定値と表示値とが NMS-I, NMS-II とともに一致した項目はシゴキシン 1 種目だけであった。またどちらか一方が一致したものは, NMS-I ではコーチゾール, NMS-II では HGH と FSH であった。インシュリンでは両者とも表示値より高値を示した。また, NMS-I の T-3RSU, NMS-II の TSH は表示値とはほぼ同様の値を示した。T₃RIA の NMS-II, LH の NMS-I, NMS-II はいずれもスケールアウトし, 異常の高値を示した。

3) 表示値と測定値の差に関する検討

表示値と測定値との間に差が見られた原因を解明する手段のひとつとして製造元の異なったキットによって, インシュリン測定を行った (Table 3)。D に比して P はすべて低値を示し, プール血清で 20%, NMS-I, NMS-II ではともに 50% 近く低値であった。また C も D に比して低値を示した。D 社のキットではプール血清と NMS-I とが同じ値を示したが, P および C 社のキットにおいては, NMS-I がプール血清に比して低値を示し, この差は推計学的に有為であった。

Table 3 IRI values of pooled serum, NMS-I and NMS-II determined using three different kinds of kit

Kits	Assay No.	Pooled	NMS-I	NMS-II
D	8(n=20)	30.2±5.86	31.0±4.39	108.9±14.0
P	5(n=14)	23.0±1.09	16.8±1.09	51.8±10.1
C	5(n=16)	13.6±2.09	9.94±1.70	66.0±9.95

4) HBsAg の汚染について

NMS-I, NMS-IIについて高感度のRIAによって9回測定を行ったが、いずれの場合も陰性であった。

3. 考 案

サイロキシシンおよびインシュリン測定において、多数回測定されたコントロール血清とプール血清の変動は大差なく、ともに満足すべき再現性を得た。インシュリンの測定内変動係数(combined)は、10%以下であった。著者らのインシュリン測定においては、1回の測定内のCV%は、すべての範囲にわたり未知検体も含めて5~7%の範囲にある。

その他の項目について、測定値とコントロール血清の表示値とがともに一致したものは少なかった。しかし、測定値のバラツキは一般に小さく、その点では満足すべき値を得た。

表示値と測定値との差には、抗原や抗体の多様性、標準品の力価、標識抗原の問題、ホルモン、フリー血清の添加の有無、コントロール血清中インシュリンのheterogeneity、血清中の抗体の有無、キット、手技のいずれにも原因となり得る要素が含まれている。二抗体法はチャーコール法、レジン法に比して有為の高値を示すとの報告もあるが²⁾今回の比較は、二抗体法と

一抗体法および第一抗体と第二抗体をあらかじめ結合してある二抗体法によってなされたものである。このD社とP社の測定値の比較については、良く一致したとの報告もあるが³⁾また、著者らと同様に、D社の値がP社に比して高いとした報告もある⁴⁾。

RIAの測定も、現在では広く行われるようになってきている。同一測定においても、何種類もの試薬が発売されているが、各試薬間の測定値の比較検討は十分になされていない。また Sealy ら⁵⁾は、アンギオテンシン-I の測定において、市販キットの標準物質の力価に差があることを報告している。このような問題も含めて、再検討する必要があると考えられる。

4. 結 語

1) コントロール血清 NMS-I, NMS-II の再現性は、ほぼ満足すべきものであった。

2) 添付の表示値とわれわれの測定値には、かなりの差を示すものが多かった。

3) この差の原因は複雑であると思われるが、われわれの検討したインシュリンにおいては、キット間の差が大きい可能性を示した。

文 献

- 1) D. Rodbard: *Clin. Chem.*, **20**, 1255 (1974)
- 2) R. Malvano, et al.: *J. Nucl. Med.*, **15**, 80 (1974)
- 3) 安沢竜徳, 他: *ホルモンと臨床*, **18**, 637 (1970)
- 4) 鬼原 彰, 他: *基礎と臨床*, **6**, 1549 (1972)
- 5) J.E. Sealy and J.H. Laragh: *Amer. J. Med.*, **55**, 303 (1973)