総 説

ラジオアイソトープを用いる臨床検体検査 (インビトロテスト)の最近の趨勢†

宮 井 潔

大阪大学医学部臨床検査診断学・中央臨床検査部

553 大阪市福島区福島1-1-50

Key Words: radioisotope *in vitro* test, free thyroxine, competitive radioassay, tumor marker, mass screening

1. ラジオアイソトープ検体検査の概観

新しい技術の導入が学問に画期的な進歩をもたらすことはいうまでもない。ラジオアイソトープ(RI)の導入も、臨床医学の分野にはかりしれない恩恵をもたらした。とくに RI をマーカーとして用いる測定法は患者材料中の微量物質を検出できる 特長を有するため、広く臨床検査にも応用されるようになった。これがいわゆる RI 検体検査 (RI *in vitro* test) である。ちなみに、最近のわが国における RI 検体検査の利用は年間 2,700 万件におよぶというから国民 4 人に 1 人はその恩恵を受けている計算となる。さらに現在においても、その進歩、発展は留まるところを知らない。いまその方向をさぐってみると図 1 のようになるであろう。すなわち、現在 RI 検体検査の主流をなすラジオイムノアッセイ (radioimmunoassay; RIA) だけをとってみても、表 1 に示すように、当初はタンパク性ホルモンの測定で始まったが、その後、低分子物質についても、それをハプテンとして抗体を作製することが可能となった。現在 RIA で測定し得る物質は、ホルモ

ン、微量活性物質 (cyclic nucleotide など)、薬剤、酵素、ウイルス、腫瘍抗原、種々の抗体、血清タンパク成分など、非常に広範囲にわたっている。そして現在もなお、つぎつぎと新しい物質の測定が開発されているのである。

さて RI 検体検査を測定法の原理別に分類すると、表 1, 2 のようになり、このうち臨床的に用いられるおもなものは表 1 中の I ~ III である。competitive radioassay は、RI 標識物質とこれに特異的に結合する結合体との反応に対し、非標識物質を競合させるものである。表 2 に示すように結合体が抗体の場合が RIA であり、特異結合タンパクの場合が competitive protein binding analysis (CPBA)、組織にある受容体の場合がラジオレセプターアッセイ (radioreceptor assay; RRA)、酵素の場合が radioenzymatic assay である。一方、標準物質と標識物質とを競合させない noncompetitive radioassay の代表的なものがサンドイッチ法で、これも広義の RIA に含まれる。そのほか RI を直接被検体に添加し、その状態を分析するのが direct saturation analysis である。このように RI 検体検査には、種々の原理による方法が知られているわけであるが、さらに感度、特異性、簡便性、迅速性、経済性、省力化などを目標に測定法の開発、改良が行われている。

さらに RI 検体検査が臨床検査として利用されるにつれ、その測定値の再現性が強く要求されるようになった。そこでつねに一定の測定値が得られるよう規準化が志向され、その精度管理が重要視されるようになった。また精度を向上し、省力化をはかるため、データ処理法も種々くふうされている。

さて一方、RI 検体検査の応用面もまたすばらしい進展をみせている。すなわち、従来のような単なる患者の一般診断だけではなく、特殊疾患の病態の解析や

図 1 RI 検体検査の発展

† Recent Progress in Radioisotope *in vitro* test. Kiyoshi MIYAI: Department of Laboratory Medicine and Central Laboratory for Clinical Investigation, Osaka University Medical School 1-1-50, Fukushima, Fukushima-ku, Osaka 553, Japan.

表 1 RI 検体検査一覧 (例はおもなもののみ)

I. Competitive radioassay (radiostereassay)

A. ラジオイムノアッセイ (radioimmunoassay, RIA):

TSH 放出ホルモン (TRH), LH 放出ホルモン (LH-RH), 成長ホルモン (GH), 乳腺刺激ホルモン (PRL), 甲状腺刺激ホルモン (TSH), 卵胞刺激ホルモン (FSH), 黄体形成ホルモン (LH), メラニン細胞刺激ホルモン (MSH), 副腎皮質刺激ホルモン (ACTH), vasopressin, oxytocin, 絨毛性ゴナドトロピン (hCG), 胎盤性ラクトゲン (hPL), insulin, proinsulin, C-peptide, cholecystokinin-pancreozymin, gastrin, glucagon, vasointestinal peptide, angiotensin, bradykinin, 副甲状腺刺激ホルモン (PTH), カルシトニン (calcitonin), thyroxine (T_4), 3,5,3'-triiodothyronine (T_3), 3,3',5'-triiodothyronine (reverse T_3), thyroglobulin, cortisol, aldosterone, testosterone, DOC, 2-hydroxyestrone, progesterone 内因子, cyclic AMP, digitoxine, HB 抗原, VA 結合タンパク, prostaglandin, β_2 -microglobulin, IgG, IgA, IgM, IgE, T_4 結合グロブリン (TBG) alkaline phosphatase, acid phosphatase, amylase

B. Competitive protein binding analysis (CPBA):

T_4 , T_3 cortisol, corticosterone, progesterone, testosterone, VB_{12} , 葉酸, cyclic AMP, messenger RNA

C. ラジオレセプターアッセイ (radioreceptor assay, RRA):

LH-RH, TRH, TSH, PRL, ACTH, GH, LH, FSH, oxytocin, vasopressin, hCG, insulin, glucagon, calcitonin, PTH, angiotensin, VD

D. Radioenzymatic assay:

葉酸, norepinephrine

II. Non competitive radioassay (例: サンドイッチ法)

CEA, α fetoprotein

III. Direct saturation analysis とその類似検査

A. 遊離型・結合型の測定

T_4 , T_3 cortisol

B. Direct saturation analysis

^{125}I - T_3 レジンスポンジ摂取率ほか, 不飽和鉄結合能 (UIBC), 最大 T_4 結合能, cortisol 結合能

IV. 同位体希釈法 (isotope dilution method)

A. 直接希釈分析法

B. 逆希釈分析法

C. 二重希釈分析法

V. アイソトープ誘導体法 (isotope derivative method):

ステロイドホルモン

VI. 放射分析 (radiometric analysis):

酵素活性

VII. 放射化分析 (radioactivation analysis):

組織中微量元素 (Na, K, As, Hg, Fe, Au, Zn など)

VIII. オートラジオグラフィ (autoradiography):

組織検査

表 2 Competitive radioassay の反応系と標識

測 定 法	反 応 系	標識→検出法
Competitive radioassay ○Radioimmunoassay (RIA) ○Competitive protein binding analysis (CPBA) ○Radioreceptor assay (RRA) ○Radio enzymatic assay	抗原—抗体 物質—特異結合タンパク 生理活性物質—受容体 基質—酵素	RI→放射能
Non isotopic immunoassay ○Enzyme (Labelled) (Linked) (Coupled) immunoassay ○Spin immunoassay ○Fluorescence immunoassay ○Viroimmunoassay	抗原—抗体	酵素→酵素活性 遊離基→常磁性体共鳴 (ESR) 蛍光物質→蛍光 バクテリオファージ→菌破壊

マスキングへの応用など、その対象はますます広がっている。

このような RI 利用の発展は、必然的に従事者の放射線防護、環境汚染の防止に十分な配慮が伴わなければならない。そのための機器、設備の発展もみられる。さらには、本稿では触れないが、エンザイムイムノアッセイ (enzyme immunoassay; EIA), 蛍光イムノアッセイ (fluoroimmunoassay; FIA), ヴィロイムノアッセイ (viroimmunoassay), スピンイムノアッセイ (spin immunoassay), ネフエロメトリー (nephelometry) など、RI を用いないイムノアッセイの開発も、とくにわが国を中心にしてさかんに研究開発されつつある。

さて以上のような RI 検体検査の発展について、そのすべてを網羅することは不可能なので、本稿においては、そのうちいくつかの話題をとりあげて紹介したのち、最近とくにその応用面で注目されている RIA による先天異常マスキングについて述べることにする。

2. RI 検体検査の最近の話題

2・1 新しい物質の測定——腫瘍関連物質の RIA

臨床医学における腫瘍診断の重要性は今さらいうまでもない。最近では CT スキャンなど画像診断法の進歩により腫瘍の解剖学的診断がかなり進んでいるものの、やはりより特異的にしかも早期に診断するためには、腫瘍関連物質の直接測定が望ましい。しかし、一口に腫瘍関連物質といってもその本質は多様である。すなわち腫瘍そのものから出される物質や、腫瘍の結果生じた異常物質を測定する一方、腫瘍に罹患した患者におこった変化を検査するなどである。ところでこのような物質、いわゆる腫瘍マーカー (tumor marker) の濃度は臨床検査材料として繁用される血液中には非常に微量であることが多い。そこで特異性と感度の点ですぐれた RIA が用いられているのである。

(1) α -フェトプロテイン (Alfa-fetoprotein; AFP)

がん胎児性タンパク (carcino-fetal-, carcinoembryonal-oncodevelopmental-protein) の代表的な一つである AFP は、1963 年 Abelev によって肝がんマウスに見出され、わが国では平井・西らの精力的な研究の結果、純化抗体作製して RIA の確立が行われた¹⁾。そしてヒトの原発性肝がんでは 80% 以上が陽性となるほか、卵巣嚢腫瘍 (yolk sac tumor) や辜丸腫瘍、肝芽腫 (hepatoblastoma) で高値となるため、これら疾患の診断に一般検査として用いられているのは周知のことで

ある。ただ肝硬変、慢性肝炎、劇症肝炎などでも高値となるので、けっして二者択一的なものでないことはいうまでもない。なお、AFP はその本質から考え当然妊婦中にも増量するが、胎児が神経管奇形の場合、さらに高値となるので、後述するように本症のマスキングに利用されている。

(2) がん胎児性抗原 (Carcinoembryonic antigen; CEA)

CEA は、1965 年 Gold らによりヒト大腸がん抽出液に見出されたがん特異抗原で、胎児の結腸組織にも存在することから、がん胎児性抗原 (CEA) と名付けられ、その後 RIA も確立されて、広く臨床検査として用いられるようになったのは周知の事実である。ただ現在用いられている CEA の RIA では、つぎのようないくつかの CEA 関連抗原が交差反応を示すことが知られている。

① NCA (nonspecific cross-reacting antigen): これは正常肺・脾組織中にも存在し、CEA と交差する。ただ NCA に特有の抗原決定基も見出されており、それに対する抗体を用いて骨髄性白血病の診断に利用する試みがある。

② NFA (normal fecal antigen): 正常ヒト糞便中には、CEA とは交差するが NCA とは異なる関連抗原があり、松岡らによって見出された。またこの中にもいろいろな抗原性が知られている。

③ BGP-I (biliary glycoprotein I): ヒト胆汁中に含まれ CEA, NCA と交差反応を示す抗原である。

以上のことから、NCA などと交差しない真に CEA に特異的な抗体を作製する試みがある。

(3) 塩基性胎児タンパク (Basic fetoprotein; BFP)

BFP は 1974 年、石井によってヒト胎児血清および腸組織抽出物に見出された胎児性タンパクで、その後、精製と抗体作製が行われ RIA が確立された²⁾。本物質は、種々ながん患者で増加するのでその診断に有用とされている。ただがん胎児性抗原のつねとして、がん患者で疑陰性 (約半数)、非がん患者とくに肝疾患で疑陽性を示すので留意しなければならない。

(4) フェリチン (Ferritin)

フェリチンは、鉄結合組織タンパクで subunit から成るので電気泳動的に不均一である。もちろん正常組織内に存在するわけであるが、悪性腫瘍で、とくに酸性側に移動する分画が増加することから、腫瘍マーカーとして注目されるようになった。現在このフェリチンは RIA で測定され、肝・脾・肺がん、急性骨髄性白血病などで陽性率が高いが、一方、肝疾患、鉄過剰

症などの非がん患者で疑陽性を示すので診断上限界がある。

(5) ホルモン

種々の内分泌腺腫瘍によって、該当するホルモンの過剰分泌がみられる場合があるのは当然で、たとえば甲状腺髄様がんのときの血中カルシトニン(calcitonin)上昇などは診断上有用な指標である。そのほか、本来ホルモンを産生しない臓器でも、腫瘍化によって、いわゆる異所性ホルモン産生を来す場合がある。たとえば肺がんにおける副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)、カルシトニン、絨毛性ゴナドトロピン(hCG)³⁾、抗利尿ホルモン(ADH)などで、いずれもRIAで測定できるため補助的診断として考えられている。

(6) 酵素

アルカリフォスファターゼ(alkaline phosphatase)、乳酸脱水素酵素(lactate dehydrogenase; LDH)、 γ -glutamyl transpeptidase(γ -GTP)などの種々の酵素について電気泳動によるアイソザイムが調べられ、腫瘍由来、あるいは腫瘍に伴う変化に特徴があるため、腫瘍マーカーに利用されているのは周知の事実である。

ところが最近では、酵素タンパクそのもののRIAを開発し、その抗原特異性によって腫瘍診断に役立てようという試みがある。たとえばVihko⁴⁾は、前立腺に特異的な酸性フォスファターゼのRIAを確立し、血中濃度を測定し、前立腺がんの診断に有用であるとしている。今後、腫瘍診断のみならず、組織に特異的な酵素のRIAも有望であろう。

2.2 測定法の改良——特異抗体を用いたRIA——

RIAが抗原抗体反応の特異性を利用したものである限り、用いる抗体の特異性が本測定法の価値を左右するものであることは想像にかたくない。とくに、作製した抗体が、目的とする抗原以外の物質と交差反応する場合には、それだけ特異性が劣ることとなる。従来は、得られた抗体へ交差性抗原を添加することによって吸収する方法がよく用いられてきたが、これとても、交差の程度が大きければ限度がある。そこで最近では特異性の高い抗体を得るべく種々な試みがなされているが、以下、その一部を紹介する。

(1) 単クローン性抗体(Monoclonal antibody)

ある抗原で動物を感作したさいに生じる抗体は、種類のクローンによるものである。したがって、とくに腫瘍抗原、ウイルス、細胞膜のように多種類の抗原決定基を有する抗原に対しては、種々な交差を示す抗体を生じる。そこでこの中から、とくに目標とする抗原

とのみ反応する単クローン性の抗体を得ようとする試みが数年来さかんに行われ、すでに多くの種類の抗体が得られてRIAへも応用されつつある。

単クローン性抗体の産生は、すでによく知られているように、1950年大阪大学の岡田善雄教授によって発見された細胞融合現象を、1975年 Köhler らが抗体産生細胞に応用して以来、可能となったものである。まず抗原を動物に投与すると多クローンの抗体が産生されてくる。そこでこの動物の抗体産生細胞(たとえば脾臓細胞)をとり出し、培養可能な腫瘍細胞と融合させる。融合は最初 Sendai virus によっておこることが見出されたわけであるが、最近ではもっぱらポリエチレングリコールなどが用いられている。融合後の細胞は、それぞれのクローンの抗体を産生していくが、クローニングを繰り返して、目標とする単クローン性抗体を持続的に産生する細胞株を培養し続けるわけである。単クローン性抗体は、とくに多糖体、脂質、酵素タンパク、類似構造をもつハプテン、腫瘍抗原、ウイルス、リンパ球の膜抗原などについて作製され、RIAにも利用されつつある。ホルモンの測定にも応用され、たとえば最近の Ivanyi の成績によると、ヒト成長ホルモンに対する単クローン性抗体を用い、ヒト chorionic somatomammotropin と区別できるとしている⁵⁾。

(2) D-GL ハプテンを用いた抗体

最近、大阪大学の浜岡利之教授は、あるハプテンとD-グルタミン酸-Dリジン重合体(D-GL)との結合物を動物に投与すると、そのハプテンに特異的なB細胞が不活化されることを見出した。そこで交差反応を示すハプテンとD-GLとの結合物をあらかじめ投与して、それに対する抗体産生を抑制しておき、ついで目標とするハプテンで免疫すれば、交差性の少ない抗体を得ることができるわけである。たとえば当教室の立石らの研究によると⁶⁾、testosterone(T)のみで抗体を作ると、類似構造をもつ5 α -dihydrotestosterone(DHT)とは40%の交差性を示すが、あらかじめDHT-D-GLで動物を処置しておいてからTで免疫すると、DHTに対する交差性は8.5%に著減した。同様にDHTに対する抗体を従来の方法で作製すると、Tに対し90%もの交差性を示すが、あらかじめT-D-GLを投与しておいた動物にDHTを投与して作製した抗体は、Tに対する交差性が38%と減少した。そしてこの低交差性抗体を用いてTとDHTのRIAを確立している。このように本法は、今後、低交差性のRIAの開発に有用と考えられる。

2.3 測定法の改良——抗 T_4 を用いた遊離型 T_4 の測定——

周知のように、主要甲状腺ホルモンであるサイロキシン (thyroxine; T_4) の大部分は T_4 結合タンパク (TBP) と結合しており (結合型)、ごく一部が結合しない遊離型として存在している (図2)。一方、TBP の方からみれば、その一部に T_4 が結合し、他の部分は T_4 が結合しておらず、さらに T_4 を結合する能力を有している (未結合部位 unoccupied site, または不飽和結合部位 unsaturated binding site)。

図2 T_4 の Direct saturation analysis およびその類似検査

さて、総 T_4 を RIA で測定する場合は、この結合型+遊離型(ただし遊離型は0.05%以下)をみている。また、TBP の変動については、主たる TBP である T_4 結合グロブリン (TBG) の RIA が普及しつつある。ただ、これまで TBG の直接測定ができなかったので、図に示すように、 ^{131}I - (または ^{125}I) 標識 T_3 を血清に添加してその一部を TBP の未結合部位に結合させ、他の部分をレジンスポンジのような吸着剤に結合させ、吸着剤の方か、あるいは血清の方かいずれかの放射能を測定することによって、間接的に結合状態をみる方法が繁用されてきた。これが direct saturation analysis で、トリオソルブをはじめ種々のキットが市販されているのは周知のとおりである。

ところで遊離型 T_4 はごくわずかではあるが、実際に生物学的活性を発揮する部分であるので、その測定は臨床上重要である。従来は図2に示すように、 $^{131}\text{I}-T_4$ 添加血清をセロファン膜で透析する平衡透析法が基準的な方法とされてきた。しかし、本法は操作が複雑なため一般臨床検査には使用できなかった。そこで、限外ろ過法やゲルろ過法も報告されたが、一般に

普及するまでには至らなかった。ところが最近、固定化抗 T_4 を用いた簡易測定法が開発され、種々のキットが市販されるようになった。すなわち添加した $^{125}\text{I}-T_4$ が抗 T_4 に結合するさいに遊離型 T_4 が競合する反応を利用したものであるが、結局、原理的には先に述べた direct saturation analysis と大差ないことになる。ただ、基準法である平衡透析法で決めた標準物質を同時に測定して、遊離型 T_4 の絶対値を表現できるようになっている。抗 T_4 の固相化には、いろいろな方法が用いられ、試験管(トラベノール)、ガラス粒子 (コーニング)、マイクロカプセル (CIS)(科研) など種々なキットが市販されつつある。ただこの中には TBG 欠損症患者血清などで、必ずしも平衡透析法と一致しないものがあり、今後の検討課題となっている。もっともアマレックス(科研製のマイクロカプセル)などは、特殊な方法でその欠点を補っているとされている。いずれにしても、さらに簡便かつ正確な遊離型 T_4 測定法の開発が望まれる。

2.4 RIA 反応の解析とデータ処理・精度管理

RIAにおける抗原抗体反応は、非常に低濃度で反応するため、“抗原・抗体はともに一価で、かつ両者は1:1で可逆的に反応する”という仮定のもとに理論づけられていた。しかし最近、当教室の市原は、①甲状腺刺激ホルモン(TSH)のRIAにおいて RI 標識抗原と非標識抗原を同時に抗体と反応させた場合、②RI 標識抗原をあとから加えた場合、③RI 標識抗原を先に加えた場合、の三者について標準曲線を比較すると大きく差があり、しかも incubation の時間を延長しても一致する傾向がないことから、実質的には非可逆的になっていることを明らかにした⁷⁾。しかも図3に示すように、この非可逆性は抗原分子量大きいほど著明で、したがって、RI 標識抗原をあとから加える方法で、より高感度測定ができるのは、この原理によるとしている。

一方、RIAの広範囲な応用に伴い、データのコンピュータ処理が要求されている。そのためには検量線の回帰モデルが必要で、従来 Rodbard が中心となり、

$$\text{logit-log 一次多項式 } \text{logit } y = a_0 + a_1 \log x \\ (\text{logit } y = \log y / 1 - y)$$

4 係数 logistic 曲線 $y = a - d / (1 + (x/c)^b + d)$ をはじめ多種類のモデルが提唱されている。ところが市原は、RIAでの適合度を表す“不適合指数”を設定して、種々な RIA で実際に調べてみると、うまく適合しない場合が多いことが分かった。そこで、logit-log

図 3 RIA における抗原分子量と反応の可逆性 (著者ら⁷⁾)

A: 同時添加, B: RI 標識抗原遅延添加, C: 非標識抗原遅延添加

二次多項式 $\text{logit } y = a_0 + a_1 \log x + a_2 (\log x)^2$ を導入してみると図 4 のように、だいたいどの RIA にもうまく適合することが分かった⁸⁾。実際には同じ RIA でも、毎回アッセイごとに適合度が異なるので、コンピュータで最もよく適合する回帰式を選択し、不適合指数でチェックするプログラムを作製して実用化している。

		Scatchard plot のパターン		
		FSH-T ₃	TSH-cortisol	LH-insulin
回帰モデル	4係数logistic曲線	○	○	△
	logit-log 2次多項式	○	○	○
	logit-log 1次多項式	○	×	×

図 4 RIA の反応特性と回帰モデルの適合度 (著者ら⁸⁾)

精度管理についても最近、response error relationship (RER), precision profile など種々なパラメータが提唱されている。今後このような方法についても、理論だけでなく、実際の RIA での有用性を検討すべきであろう。

3. RIA による先天異常マスキング

さきに述べたように、RIA が分析法そのものとして

改良され、多種類の物質の微量測定が可能となったため、内分泌疾患のみならず、消化器、循環器、神経、血液などあらゆる臓器において、また腫瘍、感染、代謝異常など、種々な疾病の診断に用いられるようになった。しかしこれらの利用は、あくまでも医師が患者を対象として行う検査である。これに対して、一見健康と思われる一般人を対象とし、その全員についてふるい分け的な検査を行い、その中から異常を見つけ出すという方法は、いわゆるマスキングと呼ばれる。患者の早期発見、予防という見地から非常に注目されている。マスキングが最も効果的なのは先天性疾患で、生後ただちに新生児全員についてある物質を測定し、先天異常を早期に発見、治療することによって、その障害を予防しようとするもので、フェニルケトン尿症などが、その典型的な例である。さらに最近になって、この分野にも RIA が登場するに至ったのである。ところで、マスキングはどのような疾患にも有効というわけではない。多数検体を測定するための膨大な経費、労力が必要で、大がかりなシステムを組まねばならぬゆえ、よほどその効果が大きい場合でなければ意味がない。そこで一般的にマスキングが有効なためには、つぎのような条件が満たされなければならない。すなわち、①放置すると非可逆的障害を来す。②早期に処置すれば、それが予防できる。③臨床症状からだけでは早期診断が困難である。④発症頻度が、ある程度高い。⑤出生児全員をチェックできる簡便で信頼性のある検査法が開発されている、などである。

このような意味で、現在マスキングの分野で RIA が最もよく用いられているのは、先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）であり、そのほか先天性副腎性器症候群や神経管奇形のスクリーニングが試みられている。以下、後二者について簡単に紹介したのち、クレチン症について詳述する。

3・1 先天性副腎性器症候群 (Congenital adrenogenital syndrome)

先天性副腎性器症候群は副腎皮質ホルモン合成酵素の先天的な欠如によっておこる疾病で、21-hydroxylase 欠損、11 β -hydroxylase 欠損、3 β -hydroxysteroid dehydrogenase 欠損の順に多い。21-hydroxylase 欠損は Na 喪失型と単純男性化型がある。progesterone から desoxycorticosterone (DOC) への転換が阻害されると、DOC を經由しての aldosterone の合成が障害されるため Na 喪失を来し、嘔吐、下痢、脱水、体重減

少を来たし、乳児期に死亡しやすい。それほどでなくとも、 17α -OH-progesterone から 11 -desoxycortisol への転換が阻害され、一方、dehydroepiandrosterone への経路が進んで男性化を来す。

そこで本症を新生児期に発見し、副腎皮質ホルモンの投与により早期に治療するため、マススクリーニングの試みがなされている。方法は、増加した 17α -OH progesterone を、ろ紙血液を用いて測定しようとするものである。Pangら⁹⁾によると、 17α -OH progesterone の 7 の位置に carrier protein をつけて抗体を作製、RI 標識は $1,2^3\text{H}\cdot 17\alpha$ -OH progesterone を用い、B・F 分離は dextran coated charcoal で行っている。乾燥ろ紙血液 (3 mm ディスク) を材料とし、以上の方法で 17α -OH progesterone を測定すると、一般新生児では、 $<1.2\sim 3.6\text{ng/ml}$ であるのに対し、6 例の先天性 21 -hydroxylase 欠損では $67\sim 360\text{ng/ml}$ と増加し両者を区別できたという。

3・2 神経管奇形 (Neural tube defect)

胎齢 19~20 日でできた神経板は 22~25 日で癒合するが、これが障害されると頭蓋裂や脊椎裂という奇形を来す。最近このような奇形児をもった妊婦では、妊婦血中の α -fetoprotein (AFP) が上昇することが見出され、本症の出生前診断の可能性があると注目されるようになった。すなわち Leightonら¹⁰⁾によると、正常妊婦血中 AFP を RIA で測定すると、妊娠週とともに増加して 32 週で極大となる (範囲: $75\sim 795$, 平均 $250\mu\text{g/l}$, 95 percentile, $500\mu\text{g/l}$)。これに対して胎児が本疾患に罹患していると、その母体血中 AFP は早期に上昇し、たとえば 16~26 週で、正常の 95 percentile を超える例は 32 例中 31 例が無脳児 (anencephalus) で、12 例中 11 例が二分脊椎 (*spina bifida*) であったという。本症の場合、たとえ発見しても、中絶以外に有効な治療法がないのが問題であるが、最近注目されている RIA のマススクリーニングの一例である。

3・3 先天性甲状腺機能低下症 (Congenital hypothyroidism) (クレチン症, Cretinism)

クレチン症は、先天的に甲状腺ホルモンが欠乏するため、身体の発育遅延と知能低下を来す疾患であり、この知能低下は非可逆的で精神遅滞児となることが多いため、大きな社会問題となっている。ところが本症を生後早期に発見して甲状腺ホルモンを投与すれば、この知能低下がかなり防げることが分かり、早期診断が望まれるようになった。しかし症状だけで早期

診断することはかなりむずかしいので、他の先天代謝異常と同じように、出生児全員について検査をして患者を発見しようとする、いわゆるマススクリーニングが注目されるようになったのである。諸外国においては 1974 年頃から、アメリカ、カナダを中心に、主としてろ紙血液サイロキシン (T_4) を測定する方法が発表された。わが国においては、これとほぼ同時期 1974 年に、筆者らが臍帯血の TSH 測定によるスクリーニングを開始した。さらにろ紙血液 TSH 測定法が入江¹¹⁾や筆者ら^{12), 13)}により発表されて以来、これを用いて東京地区 (入江、成瀬、中島ら) と大阪地区 (大浦、宮井、野瀬ら) で pilot study がすすめられ、1977 年に筆者らにより第一症例が見出された。そして厚生省研究班の成果をもとに厚生省母子衛生課を中心とした尽力の結果、1980 年から全国で行政実施されるに至ったのである。1980 年カナダで行われた国際会議においても、本法の優秀性が認められ、クレチン症マススクリーニングの主目標を原発性におき、① T_4 、② TSH を測定する 2 段階法、③ TSH のみを測定する方法、の両法が勧告された。最近では諸外国においても TSH によるマススクリーニングに関する報告が相ついでいる。以下、概略を述べる。

(1) 材料・測定方法

マススクリーニングの条件として、見逃し (false negative) は絶対に避けたいが、一方、疾患でない者の呼出し (false positive) も、できるだけ少なくしなければならない。指標としては表 3 に示すようにクレチン症のうち、ごくまれな末梢性を除くと、 T_4 低下が共通で最もよいように思われる。しかし軽症クレチン症では、 T_4 がそれほど低くならないので false positive が多くなってしまい、また治療が不必要な TBG 減少症も含む (false positive) 欠点がある。その点、クレチン症の大部分を占める原発性では、ネガティブフィードバックによって TSH が著明に上昇するので、鋭敏で優れた指標である。ただ視床下部、下垂体性 (三次性、二次性) を見逃すことは避けられない。

表 3 クレチン症の病型と血中 T_4 , TSH

病 型	全クレチン症中の頻度	T_4	TSH
視床下部性 (三次性)	<10%	↓	↓
下垂体性 (二次性)		↓	↓
甲状腺性 (原発性)	>90%	↓↓	↑↑↑
末梢性 (甲状腺ホルモン不応症)	ごくまれ	↑	↑

材料として、臍帯血は大量得られ測定が楽な点優れているが、現在の先天異常のマススクリーニングシステムの一環として組み込むためには、生後5～7日での紙上に採血、郵送されるろ紙血液を用いる方が便利である。

ろ紙血液量は非常に微量でそれに含まれる TSH もごく微量であるため、その測定にはもっぱら RIA が用いられている。そして実際測定にあたっては、つぎのような諸条件を考慮する必要がある。①高感度かつ簡便・迅速な測定法を用いる。②測定間変動が大きいので、十分な精度管理を行う。③False negative と false positive を少なくし、測定間変動を避けるため、再検または呼出しの規準となるカットオフポイントの設定を合理的に行う。われわれは、RI 標識抗原遅延添加による高感度測定を用い、カットオフポイント(4 percentile)以上を示した場合、再測定し、さらに同様の結果となった場合に患者を直接呼び出し、血清中 T_4 , T_3 , TSH を測定して精査している。また初期には第1回目の測定を、2人分合わせて測定する paired assay 法も開発し省力化した。

(2) TSH-RIA によるクレチン症マススクリーニングの結果と評価

大阪地区で行った pilot study の結果は表4に示すとおりである。1975年11月に本格的なスクリーニングを開始し、1977年にはわが国での第1例が見出され、またその後、 T_4 が正常でありながら TSH のみが高値で4～9か月後に自然回復する乳児一過性高 TSH 血症 (infantile transient hyperthyrotropinemia) という“新しい病態”もわれわれによって発見された。1980年12月現在、総数17万人余をスクリーニングし、異常例を47例(うちクレチン症37例)見出しているが、他国の報告に比べ呼出し率は1/1,000と少なく呼び出した $\frac{1}{4}$ は異常児で、クレチン症発見率1/4,700と非常にすぐれたマススクリーニング法であると評価できよう。なお、全国的な行政実施は着々と普及し成果をあげており、すでにクレチン症が100例近く見出されている。ただ本法の普及に伴い、以下のようないろいろな問題

が生じている。

① 規準化：現在国際的にはカナダの学会で、またわが国でも独自の立場で指針が発表されており、これらは最大公約数的意見の集約として十分尊重されるべきであろう。しかしすべてが、機械的に勧告案とまったく同じでなければならないというような硬直的な考え方は早計で、ケースバイケースによって改良されねばならない。

② RIA測定法の改良と選択：精度、感度、簡易度、経済性などを勘案して改良選択されるべきである。

③ 精度管理：マススクリーニングの結果に対しては、臨床の場合からのフィードバックがないため、十分な精度管理が必要である。やがてコントロールサーベイも行われなければならない。

④ カットオフポイント：今後の患者の follow up により、どの程度の患者をピックアップすべきかを決め、それに適合したカットオフポイントの再検討が必要である。

⑤ 検査時期：④と同様にして、採血時期も1回でよいかどうか検討すべきである。

⑥ False negative：マススクリーニングの目的は、能率よく1人でも多くの患者を見出すことであり、ある程度の見逃しはやむを得ないとしても、その実態を知らなければならない。

⑦ 非放射性免疫測定法の開発¹⁴⁾：国土の狭隘なわが国では、できるだけ RI を用いない方が望ましいので、エンザイムイムノアッセイなどによる TSH 測定法の開発が行われ、その普及も近い。

4. 結 語

以上、RI 検体検査の現況につき、いくつかの話題をとりあげて概説した。紙面の都合上十分に論述できなかったうえ、このほかにも、ウイルス・細菌・薬剤 cyclic nucleotide, prostaglandin, β_2 microglobulin などの RIA をはじめ、radioreceptor assay; radioenzymatic assay の発展、RIA の自動化等々、まだまだ述べるべきことが山積している。それだけこの方面の発展は目覚ましく、将来が期待される。

文 献

- 1) Nishi, S. and Hirai, H.: *GANN Monogr. on Cancer Res.*, **14**, 79 (1973)
- 2) Ishii, M.: *Scand. J. Immunol.*, **8**, (suppl. 8), 611 (1978)
- 3) Yoshimoto, Y., Wolfson, A.R. and Odell, W.D.:

表 4 大阪市地区におけるクレチン症マススクリーニングの結果(1975年11月～1980年12月)

対象一般新生児	174,000人
呼出し精査	171(1/1,000)
異常児	47(1/3,700)
{ クレチン症	{ 37(1/4,700)
{ 乳児一過性高 TSH 血症	{ 9(1/19,300)

- Am. J. Med.*, **67**, 414 (1979)
- 4) Vihko, P., Sajanti, E., Jaenne, O., Peltonen, L. and Vihko, R.: *Clin. Chem.*, **24**, 1915 (1978)
- 5) Ivanyi, J. and Davis, P.: *Molecular Immunol.*, **17**, 287 (1980)
- 6) Tateishi, K., Hamaoka, T., Takatsu, K. and Hayashi, C.: *J. Steroid Bioch.*, **13**, 951 (1980)
- 7) Ichihara, K., Yamamoto, T., Azukizawa, M. and Miyai, K.: *Clin. Chim. Acta*, **98**, 87 (1979)
- 8) Ichihara, K., Yamamoto, T., Kumahara, Y. and Miyai, K.: *ibid.*, **79**, 331 (1977)
- 9) Pang, S., Hotchkiss, J., Drash, A.L., Levine, L.S. and New, M.I.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **45**, 1003 (1977)
- 10) Leighton, P.C., Gordon, Y.B., Kitau, M.J., Leek, A.E. and Chard, T.: *Lancet*, **2**, 1012 (1975)
- 11) Irie, M., Enomoto, K. and Naruse, H.: *ibid.*, **2**, 1233 (1975)
- 12) Miyai, K., Nishi, K., Kawashima, M., Oura, T. and Tsuruhara, T.: *Clin. Chim. Acta*, **73**, 241 (1976)
- 13) Miyai, K., Oura, T., Kawashima, M., Tsuruhara, T., Hase, Y., Ichihara, K., Amino, N., Nishi, K., Fujie, T., Nakatani, K., Azukizawa, M. and Nose, O.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **47**, 1028 (1978)
- 14) Ishikawa, E., Kawai, T. and Miyai, K. eds.: "Enzyme immunoassay", Igaku-Shoin, Tokyo-New York (1981)
-