技術報告

沈殿安定剤法による TSH リアキットの基礎的検討[†]

金森勇雄, 柳瀬みき子, 樋口ちづ子, 矢橋俊丈,
市川秀男, 木村得次, 中野 哲*
大垣市民病院特殊放射線センター * 同病院第二内科
503 大垣市南瀬町4-86
1983年2月18日 受理

Key Words: thyroid stimulating hormone, radioimmunoassay, precipitate stabilizer method

1. はじめに

ヒト甲状腺刺激ホルモン (TSH) のラジオイムノアッセイ (RIA) による測定は, 二抗体法が Odell らにより確立されて以来, 本邦においても二抗体法による測定が主流となり, 下垂体-甲状腺系の病態把握を一段と容易にしている^{1)~6)}。

しかし, 二抗体法は一般的に測定結果を得るのに長時間を要することから, 最近では簡便性や即時性を求めて幾多の改善が多くなされてきている⁶⁾。

今回われわれは, 現在数多く市販されている TSH リアキットのうち, 沈殿安定剤を使用して2日間 (1昼夜) で測定結果が得られる TSH キット「第一」の基礎的検討を行ったので報告する。

2. 対象および方法

2.1 対象

大垣市民病院に来院した患者血清および当院職員の血清を対象とした。なお, 採血は肘静脈にて行い, 可及的速やかに血清を分離し-20°Cで保存, 測定時に室温に戻し二重測定した。

2.2 測定方法

二抗体法であり, Fig. 1 に示すように, 標準曲線より TSH 濃度を求める。

Fig. 1 Assay procedure of TSH.

3. 結果

3.1 標準曲線

8回測定で各 TSH 濃度での $B/B_0\%$ の $\text{mean} \pm \text{S.D.}$ は $1.25 \mu\text{U/ml}$ で $92.7 \pm 1.2\%$, $320.0 \mu\text{U/ml}$ で $11.0 \pm 1.2\%$ であり急峻で良好な曲線が得られた。

また, 各測定濃度における $B/B_0\%$ の変動係数 (C.V.) は $1.3 \sim 10.9\%$ の間にあり良好な結果であった。

3.2 インキュベーション時間

Fig. 2 に示すような設定条件の検討で, プレインキュベーションは3時間, 第1回インキュベーションは

[†] Fundamental Studies of TSH RIA Kit by Precipitate Stabilizer Method. Isao KANAMORI, Mikiko YANASE, Chizuko HIGUCHI, Toshitake YABASHI, Hideo ICHIKAWA, Tokuji KIMURA and Satoshi NAKANO*: Dept. of Radionuclear Medicine, *Second Dept. of Internal, Ohgaki Municipal Hospital, 4-86, Minaminokawa-machi, Ohgaki-shi, 503.

Fig. 2 Incubation time.

Fig. 3 Incubation temperature.

Fig. 4 Correlation.

18~24時間、第2回インキュベーションは15~120分の間で、いずれのインキュベーションとも他の設定時間に比し最も急峻で良好な勾配の標準曲線が得られた。

3.3 インキュベーション温度

Fig. 3に示すような設定条件の検討では、プレ、第1回、第2回インキュベーションともに設定温度4~25°Cの間では、いずれの標準曲線とも著明な変化は認められず、室温25°Cでのインキュベーション設定で十分良好な測定結果が得られる。

3.4 回収率

TSH標準濃度液を添加、検討すると、おのおののサンプル血清での回収率は92.5~113.8%, 86.2~105.9%の間にあり、平均回収率もおのおの107.3%, 97.9%で良好な回収率が得られた。

3.5 希釈試験

生理的食塩水での希釈試験では、サンプル血清A, Bともに原点に集約する良好な直線性を示し、ほぼ理論値と一致する結果が得られた。

3.6 再現性

Table 1に示すように、6回測定における同時再現性のC.V.はおのおののサンプル血清で10.5%, 5.3%, 9.4%であった。

また、ロット番号の異なるキットで測定日を変えての日差再現性のC.V.はおのおののサンプル血清で6.5%, 4.0%, 9.1%であった。

同時、日差再現性ともに良好な結果が得られた。

3.7 本法と他社リアキットの相関

3.7.1 本法とガンマダブ TSHキット（日本トラベノール㈱）の相関

両キット間の相関は $r=0.956$ ($p<0.01$, $n=58$)であり、推計学的に有意な正の相関が認められた。また、回帰直線は $y=0.527x+3.514$ であった。

3.7.2 本法とファデバス TSH キット（塩野義製薬㈱）の相関

両キット間の相関は $r=0.938$ ($p<0.01$, n

Fig. 5 Normal subjects.

Table 1 Reproducibility
Intraassay variance

Tube No.	TSH ($\mu\text{U/ml}$)		
	Sample A	Sample B	Sample C
1	18.6	66.4	166.6
2	20.8	65.3	188.1
3	18.7	66.5	139.7
4	18.1	60.7	166.6
5	21.6	67.7	172.5
6	15.9	59.6	170.4
Mean	19.0	64.4	167.3
S.D.	2.0	3.4	15.7
C.V. (%)	10.5	5.3	9.4

Interassay variance

Assay day	TSH ($\mu\text{U/ml}$)		
	Sample D	Sample E	Sample F
1	8.1	25.5	44.5
2	7.3	27.3	51.3
3	7.1	27.5	52.0
4	7.5	27.8	53.3
5	7.6	28.4	57.5
6	8.4		
Mean	7.7	27.3	51.7
S.D.	0.5	1.1	4.7
C.V. (%)	6.5	4.0	9.1

=38) であり, 推計学的に有意な正の相関が認められた。また, 回帰直線は $y = 0.736x + 2.185$ であった (Fig. 4)。

3.8 正常域

健常と思われる当院職員の早朝空腹時血清での TSH 濃度は $\text{mean} \pm \text{S.D.}$ で $2.52 \pm 0.56 \mu\text{U/ml}$ であった (Fig. 5)。

4. 考 案

血中 TSH の測定は原発性甲状腺機能低下症と続発性甲状腺機能低下症の鑑別, 甲状腺機能亢進症や甲状腺機能低下症の治療効果の評価, 潜在性甲状腺機能低下症の発見や, 先天性甲状腺機能低下症の早期発見のためのマススクリーニング, 下垂体機能検査, TSH 産生腫瘍の診断や治療効果の判定など, 臨床的にきわめて重要な意義をもつ²⁾。われわれの施設においても, 臨床的に広く普及し活用されるようになってきている。そのうえ, TSH 関連検査項目 T_3 , T_4 , TBG, Free T_4 等が RIA にて測定されていることから, また臨床

的にはこれら関連検査項目を同時に知りたい症例も多く²⁾, これらに合わせ TSH 関連検査項目は同時並列的に測定する必要が生じるとともに, その各検査の測定結果が得られる日時を合致させる必要も生じる。この点からも TSH 測定の迅速法が望まれ, 他の TSH 関連検査においても, 同様に多くのキットの開発がなされてきている。

RIA の基礎的検討の基本となる標準曲線の検討で本法での再現性 (C.V.) は $2.5 \sim 15.9\%$ ²⁾, $4.59 \sim 10.99\%$ ⁴⁾ の報告があり, われわれの検討でもとくに低濃度領域ほど C.V. は良好であり, RIA としては理想的な標準曲線であると考ええる。また, 測定可能範囲においても $50 \mu\text{U/ml}$ 程度までのキットが多く, 臨床的には血中 TSH 濃度が $50 \mu\text{U/ml}$ 以上を呈する症例もかなりあり²⁾, われわれの施設においてもほぼ全例において希釈再測定の必要を生じ, 日常の検査としてはきわめて煩雑であった。この点でも本法は希釈操作を必要とする再測定を極端に少なくすることができ, 日常業務を一段と簡略でき得る方法であると考ええる。

一方, 抗原抗体反応において, デキストランのような重合体の添加は B/F 分離を容易にすることから, 本法は第二抗体をデキストラン含有緩衝液とともに添加する, 沈殿安定剤を使用することが最大の特徴であり, 二抗体法による短時間測定を可能にしている。また, 福地ら²⁾ は沈殿安定剤添加迅速測定法に最初から標識 TSH を添加する normal addition 法と, 本法の 3 時間ブレインキュベーション後に添加する delayed addition 法があるが, 両法ともに良好な結果が得られたと報告している。われわれの検討は delayed addition 法のみを検討であるが, 再現性, 希釈試験, 回収率ともに満足すべき良好な結果が得られたと考えている。

また, インキュベーション設定条件においても本法はインキュベーション時間は日常の業務時間に合わせて測定操作が可能となるよう考慮されており, インキュベーション温度も設定温度の許容範囲が広く, インキュベーション設定温度が常にある一定範囲で変動すると考えられる室温でのインキュベーションも可能としている。この点でも測定術者の業務をより一層簡便, 簡略化したキットであると考ええる。

一方, 従来より市販されている他社キットおよび第一ラジオアイソトープ社の従来法との相関においても $r = 0.97 (n = 39)$ ¹⁾, $r = 0.986 (n = 76)$ ²⁾, $r = 0.98 (n = 46)$ ³⁾, $r = 0.995 (n = 70)$ ⁴⁾, $r = 0.995 (n = 40)$ ⁵⁾, $r = 0.986 (n = 129)$ ⁶⁾ であり, いずれのキット

からでも混乱なく迅速法に切り換えることが可能であることが考えられる。

5. 結 語

今回われわれは、1昼夜にて血中 TSH 濃度測定が可能である沈殿安定剤を使用する二抗体法の TSH リアキット「第一」の基礎的検討を行い、つぎに示す結論を得た。

5・1 標準曲線

急峻で良好な曲線で、C.V. も1.3~10.9%の間にあり良好な成績が得られた。

5・2 インキュベーション条件

インキュベーション温度はいずれのインキュベーションも室温(25°C)設定が可能である。

インキュベーション時間はプレ3時間。第1回20時間。第2回30分で良好な測定結果が得られる。

5・3 回収率および再現性

いずれも良好な結果が得られた。

5・4 本法と他のリアキットの相関

ガンマードブキット間では $r=0.956$ ($p<0.01$, $n=58$), ファデバス TSH キット間では $r=0.938$ ($p<0.01$, $n=38$) であり、ともに良好な相関関係にあった。

5・4 正常域

早朝空腹時血清で $2.52 \pm 0.56 \mu\text{U/ml}$ (mean $\pm$ S.D.) であった。

以上のごとく、本キットは再現性等も優れ、手技的にも簡便であることから日常の TSH 測定用キットとして十分活用でき得るものとする。

なお、本論文の要旨は日本核医学会第4回中部地方会(昭和58年2月、名古屋市)において報告した。

文 献

- 1) 大口 学, 他: 核医学, **17**, 707~10 (1980)
- 2) 福地 稔, 他: ホと臨, **28**, 1493~99 (1980)
- 3) 佐藤龍次, 伴 良雄: 同上, **28**, 1355~39 (1980)
- 4) 宇佐見政栄, 他: 現代の診療, **22**, 517~25 (1980)
- 5) 中島公雄, 他: ホと臨, **28**, 703~10 (1980)
- 6) 早川清也, 他: 同上, **28**, 711~15 (1980)