2・4 キットD: TSH キット第一

第一ラジオアイソトープ社が開発した2抗体法による従来のTSH測定用キット。血清100 μ l を第1抗体とインキュベート(3時間, 室温)した後, 125 I-標識TSHを加えてさらにインキュベート(20時間, 室温)する。最後に第2抗体とBF分離試薬を加えてインキュベートした後, 4°Cで遠心分離し沈殿の放射能を測定する。

以上の方法により, 標準曲線の再現性, 同時再現性, 日差再現性, 希釈試験, 添加回収試験, キット間の相関性について検討を行った。

3. 結 果

3・1 標準曲線の再現性

8回の測定の実値と標準偏差をFig. 1に示す。キットB 10 μ U/ml, キットC 0.2 μ U/ml における変動

Fig. 1 Comparison of the standard curves.

がやや大きかったことを除いて良好な結果が得られた。健常者の血中TSH濃度は約0.5-4.0 μ U/mlである¹³⁾から高感度法のキットA, B, Cを用いれば健常者と甲状腺機能亢進症患者との判別は可能であると考えられる。

3・2 同時再現性・日差再現性

同一アッセイ内での10重測定, 異なるアッセイでの8重測定の結果をTable 1に示す。アッセイ内, アッ

Fig. 2 Dilution test of serum TSH.

Table 1 Reproducibility

Kit		Intraassay variance (n=10)			Interassay variance (n=8)		
		Sample A	Sample B	Sample C	Sample D	Sample E	Sample F
A	mean	0.39	1.78	33.5	0.82	7.08	31.6
	S.D.	0.027	0.050	1.19	0.022	0.21	1.64
	C.V. (%)	6.9	2.8	3.6	2.7	3.0	5.2
B	mean	0.56	2.19	38.0	1.45	8.65	36.6
	S.D.	0.026	0.045	0.56	0.150	0.67	3.66
	C.V. (%)	4.6	2.1	1.5	10.3	7.7	10.0
C	mean	0.68	1.62	31.6	1.60	7.53	32.5
	S.D.	0.078	0.067	1.16	0.137	0.41	1.52
	C.V. (%)	11.5	4.1	3.7	8.6	5.4	4.7
D	mean	0.99	3.35	37.8	2.91	9.95	39.0
	S.D.	0.105	0.200	1.91	0.249	0.57	1.32
	C.V. (%)	10.6	6.0	5.1	8.6	5.7	3.4

(μ U/ml)

Table 2 Recovery test

Kit A				Kit B			
Serum	TSH concentration (μ U/ml)		Recovery (%)	Serum	TSH concentration (μ U/ml)		Recovery (%)
	Added	Measured			Added	Measured	
I	0	0.42	—	IV	0	0.56	—
	0.05	0.47	98.0		0.50	0.98	84.0
	0.03	0.70	78.0		2.00	2.75	109.5
	2.00	2.18	86.7	V	0	4.37	—
II	0	3.35	—		0.50	4.87	100.0
	2.00	5.13	89.0		2.00	6.43	103.0
	15.0	17.9	97.0		6.25	11.1	107.7
III	0	15.8	—	VI	0	15.6	—
	2.00	17.7	95.0		2.00	17.8	110.0
	15.0	31.0	101.3		6.25	22.1	104.0
					25.00	40.3	98.8
Kit C				Kit D			
Serum	TSH concentration (μ U/ml)		Recovery (%)	Serum	TSH concentration (μ U/ml)		Recovery (%)
	Added	Measured			Added	Measured	
VII	0	0.78	—	X	0	1.54	—
	0.40	1.21	107.5		0.625	2.27	116.8
	1.60	2.27	93.1		1.25	2.77	98.4
VIII	0	3.84	—		2.50	3.93	95.6
	0.40	4.21	92.5	XI	0	5.17	—
	1.60	5.49	103.1		1.25	6.46	103.2
	6.40	10.3	100.9		2.50	7.86	107.6
IX	0	14.7	—		5.00	10.5	106.6
	1.60	16.1	87.5	XII	0	20.0	—
	6.40	20.8	95.3		5.0	25.4	108.0
	25.6	42.5	108.6		10.0	30.5	105.0
					20.0	40.6	103.0

Table 3 Correlation of TSH concentrations measured by kits A-D

Correlation between				
A and B	$B=1.34 A+0.62$,	$r=0.98$:	$\ln B=0.88 \ln A+0.57$,	$r=0.98$
A and C	$C=0.81 A+0.93$,	$r=0.96$:	$\ln C=0.92 \ln A+0.16$,	$r=0.97$
A and D	$D=0.90 A+2.43$,	$r=0.96$:	$\ln D=0.74 \ln A+0.89$,	$r=0.96$
B and C	$C=0.60 B+0.56$,	$r=0.97$:	$\ln C=1.02 \ln B-0.41$,	$r=0.98$
B and D	$D=0.67 B+2.03$,	$r=0.97$:	$\ln D=0.83 \ln B+0.42$,	$r=0.98$
C and D	$D=1.11 C+1.46$,	$r=0.99$:	$\ln D=0.79 \ln C+0.78$,	$r=0.97$

セイ間の変動係数はおのおの1.5-11.5%, 2.7-10.3%であった。

3.3 希釈試験

2種類の血清について生理食塩水で256倍までの希釈試験を行った。Fig. 2に示したように一部高濃度域を除いてよい直線性が得られた。

3.4 添加回収試験

3種類の血清についておのおののキットに添付されたTSH標準液を等量加えて回収率を検討した。

Table 2に示したように良好な結果を得た。

3.5 相関

Table 3にキット間の相関を示す。測定は患者、健常者合せて204検体で行った。いずれの場合も高い相関が認められた。

4. 考 察

今回使用した3社のTSH高感度測定用キットは、従来のキットに比して明らかに低濃度域での測定にすぐれ、従来法では困難であった健常者と甲状腺機能亢

進症患者との判別が可能である。操作性の面からみて、キット A, C が 2 回の洗浄とインキュベーション (合計 4 時間) を必要とするのに対し、キット B は 2 回のインキュベーション (合計 2 時間 20 分) と 3 回の遠心分離、キット D は 3 回のインキュベーション (合計 23 時間 20 分) と 1 回の遠心分離を必要とし、高感度法では所要時間が格段に短縮されている。第一ラジオアイソトープ社のキット B は、同社の従来法であるキット D^{13), 14)} の他、ペーリング社¹³⁾ やトラベノール社¹⁴⁾ のキット (RIA gnost TSH IRMA および Ventrex) との比較が報告されている。今回の測定において、キット B-D 間の相関は、報告値 ($\ln B = 1.10 \ln D - 0.433$, $r = 0.955$; $B = 1.35D - 0.87$, $r = 0.984$) とよく一致していた。また、低濃度域 ($\sim 5 \mu\text{U/ml}$) においては、キット $D > B > C > A$ の順に高値を示す傾向にあった。キット A は 2 種類のモノクローナル抗体を使用しており、両者を結合し得る構造を持つ物質のみ測定されるが、必ずしもこれらのエピトープを有していなくても TSH 様活性を持つ物質が存在する可能性の高いことが報告されている¹⁵⁾。キット A の測定値が他のポリクローナル抗体を併用するキットと比べてやや低かったことの一因はこの点にあると思われる。特異性の高いモノクローナル抗体の導入によって測定感度が高められることは望ましい限りである。しかし、モノクローナル抗体が認識するのは抗原そのものではなく、抗原上のただ一つのエピトープだけであり、そのエピトープが対象抗原に固有であるか否かはさらに検討の余地があり得る。より適切なモノクローナル抗体の選択によって、よりすぐれた感度や精度を有するキットの開発が期待される。

文 献

- 1) Condliffe, P.G.: *Endocrinology*, **72**, 893-896 (1963)
- 2) Utiger, R.D., Odell, W.D. and Condliffe, P.G.: *ibid.*, **73**, 359-365 (1963)
- 3) Odell, W.D., Wilbert, J.F. and Paul, W.E.: *J. Clin. Endocrinol.*, **25**, 1179-1188 (1965)
- 4) 小豆沢瑞夫, 宮井 潔, 小豆沢久子, 他: 核医学, **12**, 377-383 (1975)
- 5) 満間照典, 野木森 剛, 鰐部春松, 他: ホルモンと臨床, **27**, 329-334 (1979)
- 6) 満間照典, 野木森 剛: 同上, **28**, 1329-1333 (1981)
- 7) 笠木寛治, 高坂唯子, 飯田泰啓, 他: 同上, **29**, 1001-1006 (1981)
- 8) 伴 良雄, 木村 肇, 井上 健, 他: 医学と薬学, **1**, 107-118 (1979)
- 9) Pekary, A.E., Hershman, J.M. and Parlow, A.F.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **41**, 676-684 (1975)
- 10) Smith, S.R., Burton, D.M. and Izenstark, J.L.: *Arch. Intern. Med.*, **139**, 757-760 (1979)
- 11) 森 徹, 玉木長良, 石原 隆, 他: 日内分泌会誌, **56**, 1231-1239 (1980)
- 12) 小西淳二, 高坂唯子, 飯田泰啓, 他: ホルモンと臨床, **34**, 833-839 (1986)
- 13) 長田篤雄, 上野雅子: 同上, **34**, 871-878 (1986)
- 14) 米満京子, 桜田俊郎, 深沢 洋, 他: 同上, **34**, 879-886 (1986)
- 15) 森 徹, 平野かおり, 小杉真司, 他: 同上, **34**, 859-869 (1986)

Abstract

Evaluation and Comparison of High-sensitivity Immunoradiometric Assay Kits for Thyroid Stimulating Hormone. Ikuko TSUKAMOTO, Sadatoshi YASUDA, Ichiro HINO, Yoshiro KAWASE, Hiroyuki SEO, Setsuo NAKASE, Misao NAKANO*, Toyosato TAMAI and Masatada TANABE: Department of Radiology and *Department of Pharmacy, Kagawa Medical School Hospital, 1750-1, Ikenobe, Miki-cho, Kita-gun, Kagawa Pref. 761-07, Japan.

Fundamental and clinical characteristics of 3 kinds of high-sensitivity immunoradiometric assay (IRMA) kits for thyroid stimulating hormone (TSH). i.e., RIA BEADS II (kit A), TSH kit Daiichi II (kit B) and Ab tube TSH 'Eiken' (kit C) and one conventional radioimmunoassay (RIA) kit, i.e., TSH kit Daiichi (kit D), were studied. In the recovery test and the reproducibility test, there was no significant difference between the 4 kits. The sensitivities of kits A, B and C were much higher than that of kit D, and those IRMA kits were sensitive enough to distinguish hyperthyroidism from normal samples. For low concentrations of TSH ($< 5 \mu\text{U/ml}$), the data from kits D, B, C and A tended to show higher values in that order. The correlation between the data measured by kits B and D, and the tendency of kit A toward lower values agreed well with other reports.

(Received February 9, 1987)