

《ノート》

高感度 Thyrotropin (TSH) 測定キット (RIA-gnost hTSH) の臨床使用経験

Clinical Experience of a Sensitive Immunoradiometric
Thyrotropin (TSH) Assay Kit (RIA-gnost hTSH)

中村佐栄子* 地曳 和子* 出村 黎子* 小池 幸子*
栗原 重子* 小田桐恵美* 出村 博*

Saeko NAKAMURA, Kazuko JIBIKI, Reiko DEMURA, Sachiko KOIKE,
Shigeko KURIHARA, Emi ODAGIRI and Hiroshi DEMURA

Radioassay Center, Tokyo Women's Medical College, Tokyo, Japan

I. はじめに

甲状腺刺激ホルモン (TSH) は下垂体前葉から分泌される糖蛋白ホルモンでその測定は視床下部 - 下垂体 - 甲状腺機能診断に欠くことのできないものである。Odell¹⁾によって TSH のラジオイムノアッセイが開発され、広く日常検査に用いられ臨床応用されている。しかし測定感度は十分とはいはず、より高感度のイムノアッセイが必要とされてきた。近年イムノラジオメトリックアッセイ (IRMA) による高感度 TSH 測定法が相次いで報告されている^{2~4)}。今回われわれは IRMA を用いたヘキスト社の「RIA-gnost hTSH」を使用する機会を得たのでその検討成績について報告する。

II. 方法および対象

本キットは ^{125}I をトレーサーとしたサンドイッチ法によるワンステップアッセイである。抗 hTSH 抗体を塗付した試験管に被血清と ^{125}I 標識

抗 hTSH 抗体を加え、反応後未反応 ^{125}I 標識抗 hTSH 抗体を除去し、試験管への結合物の放射能を測定するものである。

1. キット内容と調整法

1 キット 100 サンプル用に含まれる試薬は下記のとおりである。

- 1) 抗 hTSH 抗体 (マウスモノクローナル抗体塗付試験管, 100 本)
- 2) ^{125}I 標識抗 hTSH 抗体 (マウスモノクローナル抗体、水溶液, 10.3 ml)
- 3) hTSH 標準品 (0, 0.15, 0.5, 1.5, 15, 50 $\mu\text{U}/\text{ml}$, 水溶液, 各 1 ml)
- 4) TSH コントロール血清 (水溶液, 1 ml, 1 本)
- 5) バッファー錠剤 (3 個, 1 個を 100 ml の蒸留水にて溶解し, PH 7.2, 0.05 M リン酸緩衝生理食塩水の洗浄バッファーとする)

2. 操作法

- 1) hTSH 標準液および被血清 200 μl を抗 hTSH 抗体塗付試験管に採取する。
- 2) ^{125}I 標識抗 hTSH 抗体 100 μl を各試験管に加え室温にて振盪しながら 2 時間インキュベーションする。

Key words: Thyrotropin, Immunoradiometric assay, Graves' disease.

* 東京女子医科大学ラジオアッセイ科
受付：61年8月12日

最終稿受付：61年11月28日

別刷請求先：東京都新宿区河田町 8-1 (郵 162)

東京女子医科大学ラジオアッセイ科
中 村 佐栄子

3) インキュベーション終了後、バッファー 1ml を加え洗浄し、洗浄液を除去する。さらにこの操作を1回繰り返す。

4) 各試験管の放射能を測定する。

3. 甲状腺機能検査法

トリヨードサイロニン(T_3)はトリヨードサイロニン(T_3)‘栄研’(栄研ICL), チロキシン(T_4)はアマレックス T_4 (アマシャム薬品株式会社), フリー T_4 はアマレックスフリー T_4 (アマシャム薬

品株式会社)を用いて測定した。TRH負荷試験は合成TRH(Thyrotropin releasing hormone)500 μg を静注後経時的に血中TSH値を測定した。

4. 対象

健常者35例(男子22例21~60歳、女子13例21~39歳)、未治療バセドウ病28例、治療経過中バセドウ病43例、治療経過中原発性甲状腺機能低下症25例、甲状腺機能低下を伴う下垂体性の下垂体機能低下症11例(未治療4例、治療中7例)、視

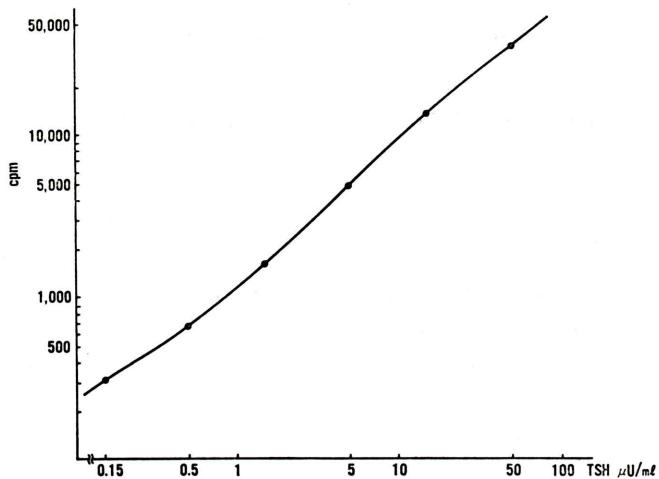


Fig. 1-A Standard curve-1.

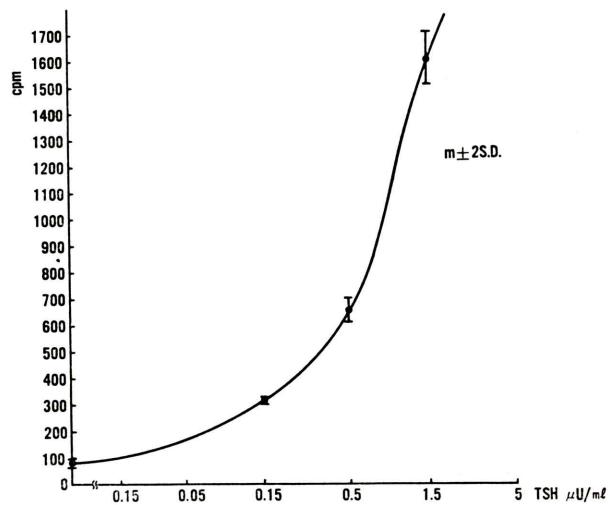


Fig. 1-B Standard curve-2.

床下部性の下垂体機能低下症17例（未治療7例、治療中10例）を対象とした。

III. 結 果

1. 基礎的検討

1) 標準曲線と測定感度

4重測定した標準曲線を Fig. 1-A に示したが 0.15~50 μU/ml の範囲で良好な標準曲線が得られた。また 1.5 μU/ml 以下の低濃度域について 4重測定した結果（平均 ± 2 S.D.）を拡大して Fig. 1-B に示した。0 および 0.15 μU/ml の標準試料の計測値 (cpm) は、それぞれ 86.9 ± 13.8 , 313.3 ± 9.2 と有意に異なり ($p < 0.01$)、本法による最少測定感度は 0.03 μU/ml であった。

2) 再現性に関する検討

(1) アッセイ内変動

濃度の異なる患者プール血清 4種類を同一キットで 5回同時に測定したところ変動係数 (C.V.) はそれぞれ 6.8, 1.1, 2.6, 3.8% であった。

(2) アッセイ間変動

濃度の異なる患者プール血清 4種類について日

をおいて 8回のアッセイを行った時の変動係数 (C.V.) はそれぞれ 26.7, 8.8, 5.0, 7.8% であった (Table 1)。

3) 希釈試験に関する検討

4種類の血清試料を 0 濃度標準液で 2~10 倍に希釈して測定を行った。Fig. 2 に示すように原点を通る良好な希釈直線が得られた。

4) 二抗体法による TSH 濃度との相関

本キットの測定上限値 50 μU/ml と二抗体法の TSH 測定キット（栄研イムノケミカル研究所、TSH ‘栄研’）の測定感度 1.0 μU/ml の間に分布する 53 検体の TSH 値の相関係数は $r = 0.985$ ($p < 0.001$)、回帰直線は $y = 1.17x + 0.27$ であった。本キットは二抗体法での測定値と良好な相関を示した。

2. 臨床的検討

1) 基礎値

健常者 35 例の TSH 値を測定したところ 0.23 μU/ml~2.93 μU/ml に分布し、log 変換して算出した平均値は 0.74 μU/ml で 95% 信頼限界は 0.17~3.21 μU/ml であった。未治療バセドウ病 28

Table 1 Intraassay variance, Interassay variance
Intraassay variance

Sample No.	n	Mean (μU/ml)	S.D. (μU/ml)	C.V. (%)
1	5	0.19	0.01	6.8
2	5	6.09	0.07	1.1
3	5	11.19	0.29	2.6
4	5	25.30	0.97	3.8

Interassay variance

Sample No.	n	Mean (μU/ml)	S.D. (μU/ml)	C.V. (%)
1	8	0.13	0.03	26.7
2	8	5.14	0.45	8.8
3	8	10.18	0.51	5.0
4	8	21.85	1.70	7.8

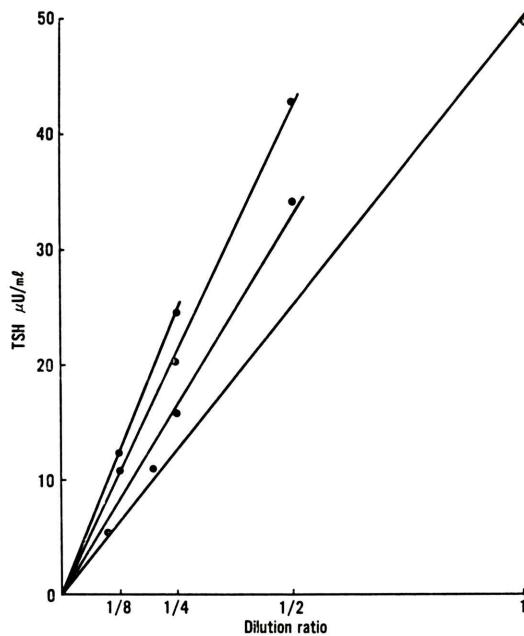


Fig. 2 Dilution test.

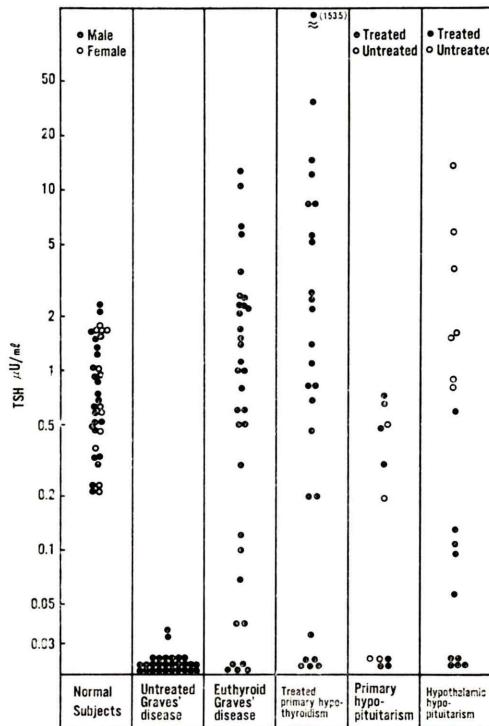


Fig. 3 Serum TSH levels in normal subjects and various diseases.

例では全例が $0.04 \mu\text{U}/\text{ml}$ 以下に分布し、健常者とバセドウ病との識別が可能であった。甲状腺ホルモンが正常範囲にコントロールされたバセドウ病33例では測定感度以下から $12.40 \mu\text{U}/\text{ml}$ に分布した。治療中の原発性甲状腺機能低下症では測定感度以下から $153.5 \mu\text{U}/\text{ml}$ に広く分布した。甲状腺機能低下を伴う下垂体性の下垂体機能低下症未治療4例では測定感度以下から $0.50 \mu\text{U}/\text{ml}$ 、チラジン服用中7例では測定感度以下から $0.73 \mu\text{U}/\text{ml}$ 、視床下部性の下垂体機能低下症未治療7例では $0.80 \mu\text{U}/\text{ml}$ から $13.5 \mu\text{U}/\text{ml}$ 、チラジン服用中10例では測定感度以下から $0.59 \mu\text{U}/\text{ml}$ に分布した(Fig. 3)。

2) バセドウ病治療経過中フリー T_4 値と TSH 値の変動

8例のバセドウ病の初診時から抗甲状腺剤服用中の血中フリー T_4 値と TSH 値の変動を4か月～

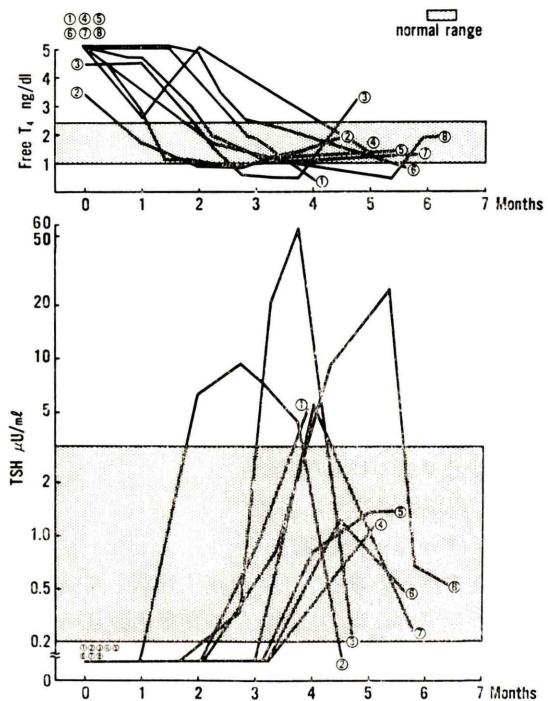


Fig. 4 Changes in serum Free T_4 and TSH levels in Graves' disease during treatment.

6か月にわたり観察した。Fig. 4 の中で症例②、⑦はプロピルチオウラシル服用例、他はメチマゾール服用例である。症例④、⑥、⑦はフリー T_4 が正常にコントロールされると間もなく TSH が正常範囲の値を示したが他の症例①、②、③、⑤、⑧はフリー T_4 値が正常下界以下の低値を示してからはじめて TSH 値は測定感度以下から上昇し、正常範囲の値または高値を示した。

3) TRH 負荷試験の TSH 値

治療中で甲状腺機能が正常化しているバセドウ病10例のTRH試験の成績をFig. 5に示した。投与前値は7例が測定感度以下であり、そのうち6例は負荷後も測定感度以下であり、1例はわずかに上昇した。その他の3例は30分値を頂値として反応したがわれわれがすでに報告⁵⁾した正常反応頂値下界 $5 \mu\text{U}/\text{ml}$ 以下の低反応であった。次に甲状腺機能低下を伴う未治療下垂体性の下垂体

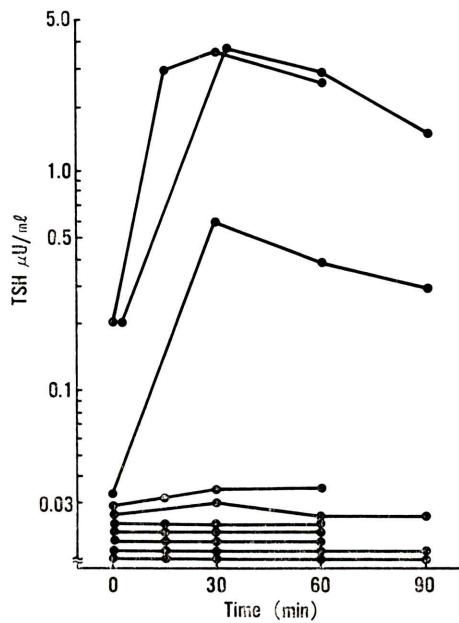


Fig. 5 TSH response to TRH in treated Graves' disease.

機能低下症 4 例、視床下部性の下垂体機能低下症 7 例の TRH 試験の成績を Fig. 6 に示した。下垂体性の下垂体機能低下症では負荷前値は測定感度以下から $0.50 \mu\text{U}/\text{ml}$ に分布し、反応頂値は $0.05 \sim 1.80 \mu\text{U}/\text{ml}$ に分布した。視床下部性の下垂体機能低下症では負荷前値は $0.80 \sim 13.5 \mu\text{U}/\text{ml}$ に分布し、反応頂値は $4.25 \sim 135.3 \mu\text{U}/\text{ml}$ に分布した。

IV. 考 察

本キットは 2 種類のモノクローナル抗体を使った IRMA によるものである。本法の最少測定感度は $0.03 \mu\text{U}/\text{ml}$ であり、測定の精度および再現性は良好であった。本法を用いて血中 TSH の基礎値を測定すると未治療バセドウ病では $0.04 \mu\text{U}/\text{ml}$ 以下で、健常者との間に一例の重なりもなく識別が可能であった。従来から広く使用されている TSH 測定法では測定感度が劣るために正常値の下限を規定することができなかったが、本キットでは健常者の TSH 値は $0.23 \sim 2.93 \mu\text{U}/\text{ml}$ に分布し 95% 信頼限界は $0.17 \sim 3.21 \mu\text{U}/\text{ml}$ で正常下限の設定が可能であった。本キットを用いた諸家

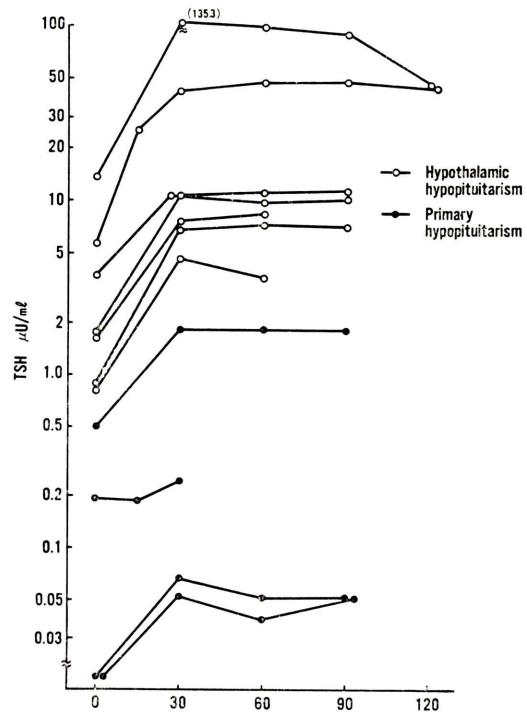


Fig. 6 TSH response to TRH in untreated hypopituitarism.

の報告^{6~8)}においても同様に、正常下限の設定ならびに未治療バセドウ病と健常者との識別が可能であるとしている。

甲状腺ホルモンが正常範囲にコントロールされたバセドウ病 33 例の TSH 値は測定感度以下の低値から $12.4 \mu\text{U}/\text{ml}$ の高値の間に幅広く分布し甲状腺ホルモン値が正常化したのちにも、半数近くが TSH 値が上昇しなかったり逆に正常範囲を超える高値であった。また治療経過中の TSH の変動においても同様のことが観察された。すなわちフリー T₄ 値の正常化に伴ってすぐ TSH 値が正常化する例、TSH 値がそのまま抑制されている例、TSH 値が高値になる例があり、バセドウ病においては視床下部 - 下垂体 - 甲状腺系における甲状腺ホルモンのネガティブフィードバック作動状態は個体により大きな相違があると推測された。すなわち抑制の解除には個人差があり、さらに TSH 以外の甲状腺刺激物質も関与していると

思われた⁵⁾。バセドウ病においては TSH 基礎値は TRH 負荷後の反応頂値を反映しており、これは他の報告^{2,3)}ともよく一致していた。

甲状腺機能低下を伴う下垂体機能低下症では TSH 値は測定感度以下から正常範囲を超える高値にわたり分布し、従来法に比しはあるかに詳細に TSH 基礎分泌状態を知ることができた。また下垂体性と視床下部性の下垂体機能低下の鑑別においても従来の報告どおり、基礎値では視床下部性の下垂体機能低下症が下垂体性より高値を示すものが多く、TRH 試験では下垂体性の下垂体機能低下症は低反応、視床下部性では正常～遅延反応を示す例が多く両者の鑑別に有用であった。下垂体性でも基礎値が正常範囲内にとどまっている例もあり、TRH に対して低値内で若干の反応が保たれている場合が多く、逆に視床下部性でも低反応な例が認められ、基礎値、TRH 試験で鑑別しにくい場合もあった。これは病変の部位、拡がり、下垂体残存組織の大きさ、発症後の時期の違いなどによると思われた。しかし本法では低値内での変化を詳細に観察でき臨床上きわめて有用であった。

V. 結論

今回の検討からヘキスト社「RIA-gnost hTSH」キットは感度、再現性ともに良好であり、短時間で測定でき、バセドウ病および下垂体機能低下症の診断、治療経過観察に臨上有用であった。

稿を終えるにあたり、本キットを提供していただいたヘキスト社に感謝の意を表します。

文献

- 1) Odell WD, Wilber JF, Paul WE: Radioimmunoassay of thyrotropin in human serum. *J Clin Endocr Metab* **25**: 1179-1188, 1965
- 2) Cobb WE, Lamberton RP, Jackson I: Use of a rapid, sensitive immunoradiometric assay for thyrotropin to distinguish normal from hyperthyroid subjects. *Clin Chem* **30**: 1558-1560, 1984
- 3) Seth J, Kellett HA, Caldwell G, et al: A sensitive immunoradiometric assay for serum thyroid stimulating hormone: a replacement for the thyrotropin releasing hormone test? *Brit Med J* **289**: 1334-1336, 1984
- 4) Caldwell G, Kellett HA, Gow SM, et al: A new strategy for thyroid function testing. *Lancet* **1**: 1117-1119, 1985
- 5) 野村武則、出村黎子、出村 博、他：甲状腺機能亢進症の治療経過中の TRH に対する TSH の反応について。医学と薬学 **7**: 188-192, 1982
- 6) 今野則道、田口英雄、中島 詳、他：高感度ラジオメトリックアッセイ(RIA-gnost hTSH)による血中甲状腺刺激ホルモンの測定。核医学 **23**: 273-280, 1986
- 7) 板垣洋一、桜田俊郎、吉田克己、他：高感度 TSH 測定 RIA キット RIA-gnost hTSH の基礎的および臨床的検討。核医学 **23**: 439-446, 1986
- 8) 石原静盛、元木純子、金尾啓右、他：サイロトロビン(TSH)の高感度測定用 immunoradiometric assay 法キット‘リアグノスト TSH’の基礎的検討。Radioisotopes **35**: 433-436, 1986