

《ノート》

## RIA-gnost TSH テストキットの使用経験

Radioimmunoassay for Serum TSH by RIA-gnost TSH test

海瀬 和郎\* 海瀬 信子\* 吉田 克己\* 貴田岡博史\*  
深沢 洋\* 山本 蒼子\* 桜田 俊郎\* 斎藤慎太郎\*

Kazuro KAISE, Nobuko KAISE, Katumi YOSHIDA, Hirofumi KITAOKA,  
Hiroshi FUKASAWA, Makiko YAMAMOTO, Toshiro SAKURADA and Shintaro SAITO

*The Second Department of Internal Medicine,  
Tohoku University School of Medicine, Sendai*

### I. はじめに

血中甲状腺刺激ホルモン(TSH)の測定は Radioimmunoassay (RIA)による方法が開発されて以来、現在では2,3のキットによって臨床検査として広く普及している。最近、Hoechst社よりポリエチレンゲリコールを用いた RIA-gnost TSH テストキットが発売されることになり、われわれも入手する機会を得たので基礎的および臨床的検討を行った。

### II. 方 法

#### 1) キットの内容

- (1)  $^{125}\text{I}$ -TSH 凍結乾燥品 ( $\sim 8 \text{ ng}$ ,  $< 2 \mu\text{Ci}$ ) 1バイアル
- (2) 抗 TSH 抗血清凍結乾燥品 1バイアル
- (3) 標準 TSH 凍結乾燥品 (0, 2, 4, 8, 20, 40,  $80 \mu\text{U}/\text{ml}$ ) 各1バイアル
- (4) テスト血清凍結乾燥品 1バイアル
- (5) 希釈用血清凍結乾燥品 1バイアル
- (6) ポリエチレンゲリコール液 110 ml

\* 東北大学医学部第二内科

受付：55年8月19日

最終稿受付：55年10月31日

別刷請求先：仙台市星陵町 1-1 (番号 980)

東北大学医学部第二内科

海瀬 和郎

#### 2) 試薬の調製

- (1)  $^{125}\text{I}$ -TSH および TSH 抗血清はそれぞれ 10 ml の蒸留水にて溶解する。
  - (2) 標準 TSH はそれぞれ 0.5 ml の希釈用血清にて溶解する。
  - (3) 希釈用血清は 4 ml の蒸留水にて溶解する。
  - (4) テスト血清は 0.5 ml の蒸留水にて溶解する。
- #### 3) 測定手技
- (1) 試験管に各濃度の標準 TSH, テスト血清および被検血清の各 0.1 ml を分注する。
  - (2)  $^{125}\text{I}$ -TSH 液 0.1 ml を全ての試験管に加える。
  - (3) 抗 TSH 抗血清液 0.1 ml を全ての試験管に加え、充分に混和する。
  - (4) 室温にて 17~24 時間インキュベーションした後ポリエチレンゲリコール液 1 ml を各試験管に加え、激しく混和する。
  - (5)  $1500 \times G$  15~20 分遠心した後上清を吸引除去する。
  - (6) 各試験管の沈渣の放射能を  $\gamma$ カウンターにて測定し、次式により  $B/Bo\%$  を求め、

$$B/Bo (\%) = \frac{\text{標準 TSH または被検血清のカウント}}{\text{標準 TSH } 0 \mu\text{U}/\text{ml} \text{ のカウント}} \times 100$$

**Key words:** TSH, Radioimmunoassay, Hyperthyroidism, Hypothyroidism

各標準TSHにおけるB/Bo%を片対数方眼紙にプロットして標準曲線を描き、被検血清のB/Bo%よりTSH濃度を読みとる。

#### 4) 第一ラジオアイソトープ社製 TSH RIA キット(第一)による測定

従来の方法にて行った<sup>3)</sup>。

5) hGHはダイナボット社製RIAキットの、また、FSHおよびLHは第一ラジオアイソトープ社製RIAキットの標準品を用いた。

### III. 対象

対象として、正常人30例、甲状腺機能亢進症15例、原発性甲状腺機能低下症14例、橋本病10例および下垂体性甲状腺機能低下症5例を選んだ。

### IV. 結果

#### 1. 標準曲線の検討

代表的な標準曲線をFig.1に示す。2~80 μU/mlの間でゆるいsigmoid curveを描いた。5回の異った測定における標準TSHの各濃度におけるB/Boの変動係数の平均は5.7%であった。また、0 μU/mlにおけるBo/Tの平均は39.4%であった。同一assay内で4回測定した標準TSH 0 μU/mlおよび2 μU/mlにおけるB/Boの平均値±SDは、それぞれ100±0.5%および91.8±1.7%であり、この二つの値の間には明かに有意( $p<0.01$ )の差を認めたことから、最小検出感度を2 μU/mlとした。

#### 2. インキュベーション温度および時間の検討

室温24時間、4°C 24時間および4°C 78時間にて測定した時の標準曲線をFig.2に示す。室温24時間および4°C 78時間の条件下では、標準曲線は殆んど変化を示さなかった。しかし4°C 24時間のインキュベーションでは、各濃度におけるB/Boは、他の二つの場合の値に較べて高値となる傾向を認めた。

#### 3. 抗体の特異性について

hGH、FSHおよびLHをそれぞれ標準TSHの代りに用いて測定したところ、高濃度hGHの場合に多少B/Boの低下を認めたが無視できる程度

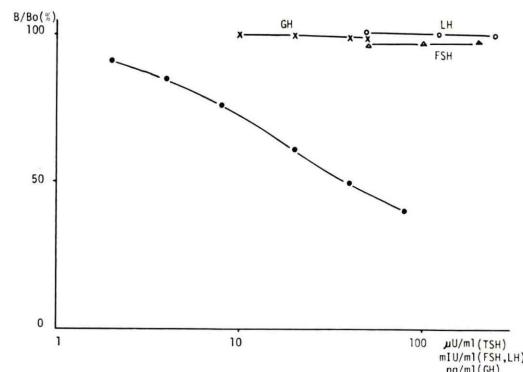


Fig. 1. Standard curve and cross reaction with GH, FSH, and LH.

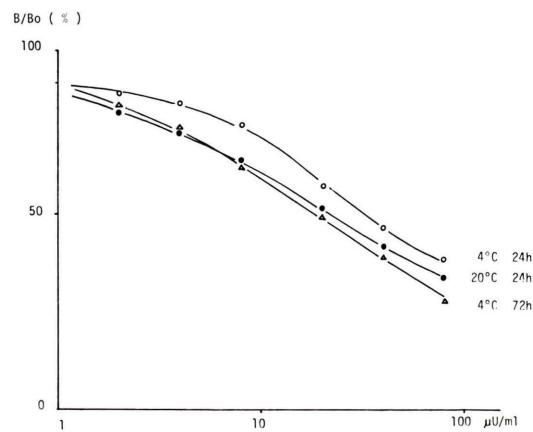


Fig. 2 Effects of incubation time and temperature.

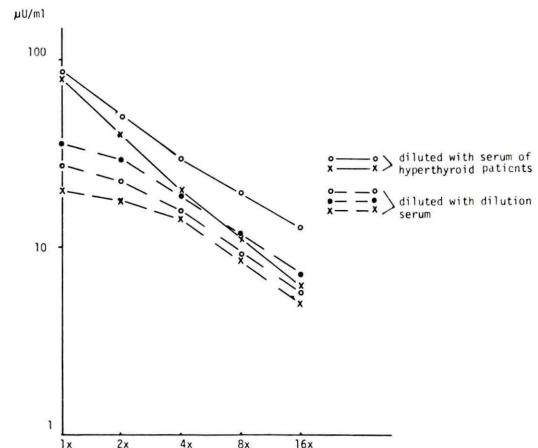


Fig. 3 Effect of Dilution.

であった。FSH および LH との間には交叉反応は認められなかった (Fig. 1)。

#### 4. 希釈の検討

高濃度 TSH を有する血清を、希釈用血清あるいは甲状腺機能亢進症患者血清にて希釈して測定した結果を Fig. 3 に示す。希釈用血清を用いた場合には高目に測定されるのに対して、甲状腺機能亢進症患者血清を用いると良好な結果となった。

#### 5. 回収率

2.0  $\mu\text{U}/\text{ml}$  および 3.0  $\mu\text{U}/\text{ml}$  の TSH 濃度を有する血清に、1, 4 および 20  $\mu\text{U}/\text{ml}$  の標準 TSH を添加した時の回収率 (Table 1) は 78~145% であった。

#### 6. Intraassay variation

TSH 濃度 28.4  $\mu\text{U}/\text{ml}$  (sample No. 1), 12.8  $\mu\text{U}/\text{ml}$  (sample No. 2) および 3.9  $\mu\text{U}/\text{ml}$  (sample No. 3) の血清を同一キットにて各々 9 回測定した場合の

Table 1 Recovery

Added TSH	TSH values Calculated $\mu\text{U}/\text{ml}$	Measured $\mu\text{U}/\text{ml}$	Recovery %
Sample serum		2.0	
1.0	3.0	3.1	104
4.0	6.0	4.7	78
20	22	18.9	86
Sample serum		3.0	
1.0	4.0	5.8	145
4.0	7.0	6.3	90
20	23	18	78

Table 2 Reproducibility

#### 1. Intraassay variation ( $n=9$ )

Sample No.	Mean ( $\mu\text{U}/\text{ml}$ )	SD	CV(%)
1	28.4	2.6	9.1
2	12.8	1.1	8.6
3	3.9	0.6	15.4
4	ND		

#### 2. Interassay variation ( $n=5$ )

Sample No.	Mean ( $\mu\text{U}/\text{ml}$ )	SD	CV(%)
1	25.9	2.2	8.4
2	11.3	0.7	6.1
3	5.8	0.6	10.3
4	ND		

ND: not detectable

変動係数は、それぞれ 9.1%, 8.6%, および 15.4% であった。同様に測定した甲状腺機能亢進症患者血清 (sample No. 4) では全て測定感度以下であった (Table 2)。

#### 7. Interassay variation

TSH 濃度がそれぞれ 25.9  $\mu\text{U}/\text{ml}$  (sample No. 1), 11.3  $\mu\text{U}/\text{ml}$  (sample No. 2) および 5.8  $\mu\text{U}/\text{ml}$  (sample No. 3) の血清を異なるキットにて各 5 回測定し

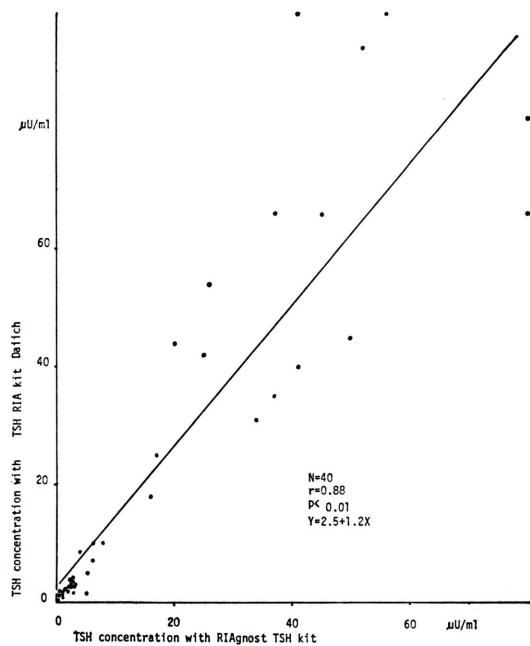


Fig. 4 Correlation between values for TSH concentration as measured with RIA-gnost TSH test kit and TSH RIA Kit Daiichi.

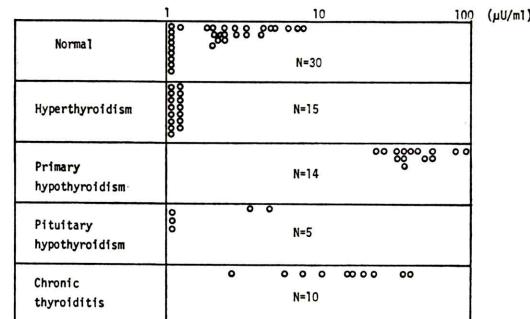


Fig. 5 Serum TSH concentrations in thyroid diseases.

た場合の変動係数は、それぞれ8.4%, 6.1%, 10.3%と良好であった。同様に測定した甲状腺機能亢進症患者血清(sample No. 4)の測定値は全て測定感度以下であった(Table 2)。

### 8. TSH キット(第一)による測定値との相関

TSH キット(第一)による測定値と本キットを用いて測定した場合の測定値との間には  $r = 0.88$ ,  $y = 2.5 + 1.2x$  の良好な相関を呈したが (Fig. 4), RIA-gnost TSH テストキットを用いた場合には、高濃度 TSH を有する血清は幾分低目に測定される傾向にあった。

### 9. 臨床的検討

正常人における血清 TSH の平均値  $\pm SD$  は、測定感度以下の場合を  $0 \mu\text{U}/\text{ml}$  として計算すると、 $2.5 \pm 2.3 \mu\text{U}/\text{ml}$  となり、正常範囲を正常者の平均値  $\pm 2 SD$  とすれば、本キットにおける正常範囲は  $7.1 \mu\text{U}/\text{ml}$  以下となった。甲状腺機能亢進症では全例測定感度以下であった。しかし、正常者のうち10例は測定感度以下の値となり、甲状腺機能亢進症と正常者との間では明かな TSH 濃度の分離は得られなかった。原発性甲状腺機能低下症では  $25 \mu\text{U}/\text{ml}$  から  $80 \mu\text{U}/\text{ml}$  以上に分布し、明かに正常者に較べ高値であった。橋本病においては、 $2.7 \mu\text{U}/\text{ml}$  から  $41 \mu\text{U}/\text{ml}$  に分布し、正常者および原発性甲状腺機能低下症の値と重複した。下垂体性甲状腺機能低下症では測定感度以下から  $4.7 \mu\text{U}/\text{ml}$  と正常範囲であった (Fig. 5)。

## V. 考案

Odell ら<sup>1)</sup>および Utiger<sup>2)</sup>により RIA による TSH の測定法が開発されて以来、現在では血中 TSH の測定は広く臨床検査として普及している。RIA による血中 TSH の測定において、遊離型と結合型標識ホルモンとを分離(B.F 分離)するためには種々の方法が用いられているが、今回検討した RIA-gnost TSH テストキットではポリエチレングリコール法が用いられている。この方法の利点は、短時間にしかも容易に B.F 分離を行うことができる点にある。

本キットによる測定においては、標準曲線の再

現性は良好であり、また、インキュベーション温度および時間の影響についての検討から、室温24時間のインキュベーションで充分であると思われた。この時の Bo/T も 39.4% と従来のキットにおける値と差のないものであった。希釈による測定では、キットに添付されている希釈用血清を用いた場合には希釈後の値が高目となったが、甲状腺機能亢進症患者血清を用いた場合には良好な結果が得られた。蛋白濃度による非特異的な結合抑制が認められるため、従来より希釈用として、charcoal 処理血清、未治療甲状腺機能亢進症患者血清等<sup>3)</sup> が使われている。本キットの希釈用血清としては charcoal 処理血清が使われており、蛋白濃度以外の因子により影響されたと考えられる。今回の検討からは、未治療甲状腺機能亢進症患者血清を用いた方が望ましいと思われた。

本キットによる測定では再現性は良好であり、また、回収率は 78~145% と幾分ばらつきはあるものの従来の方法と概ね同程度であった。また、TSH テスト(第一)による測定値との間の相関も良好であった。

本キットを用いて測定した場合の正帯者における血清 TSH の平均値は  $2.5 \pm 2.3 \mu\text{U}/\text{ml} (\pm SD)$  であった。また正常範囲は  $7.1 \mu\text{U}/\text{ml}$  以下となり、従来の方法による測定値と同様の値であった<sup>3), 4), 5)</sup>。最小測定濃度は  $2 \mu\text{U}/\text{ml}$  であり、甲状腺機能亢進症患者と正常者の間では血清 TSH の境界は認められなかった。下垂体性甲状腺機能低下症では、血清 TSH は 5 例中 2 例で測定可能であったが正常範囲であり、明らかに血清 TSH が高値であった原発性甲状腺機能低下症とは鑑別が可能であった。

以上の結果より RIA-gnost TSH テストキットは臨床検査法として充分に使用できるものと考えられた。

## VI. まとめ

RIA-gnost TSH テストキットの基礎的臨床的検討を行った。インキュベーション温度および時間は室温 24 時間で充分であり、回収率および再現

性は良好であった。正常者の血清 TSH の平均は  $2.5 \pm 2.3 \mu\text{U}/\text{ml}$ 、正常範囲は  $7.1 \mu\text{U}/\text{ml}$  以下であった。

### 文 献

- 1) Odell WD, Wilber JF, Paul WE: Radioimmunoassay of Thyrotropin in Human Serum. *J Clin Endocr* **25**: 1179-1188, 1965
- 2) Utiger RD: Radioimmunoassay of Human Plasma Thyrotropin. *J Clin Invest* **44**: 1277-1285, 1965
- 3) 竹田洋祐, 池窪勝治, 鳥塚莞爾, 清水百合, 森 徹: 二抗体 TSH Kit の使用経験。ホルモンと臨床, **22**: 313-318, 1974
- 4) 小豆沢瑞夫, 宮井 潔, 小豆沢久子, 熊原雄一: HTSH Radioimmunoassay の臨床応用に関する基礎的検討。核医学, **12**: 377-383, 1975
- 5) 海瀬和郎, 吉田克己, 斎藤慎太郎: Phadebas TSH Test キットによる血清 TSH の測定経験。Radioisotopes, **25**: 56-59, 1976