

《ノート》

マグネチック TSH「コーニング」キット による血中 TSH 測定法の検討

The Assessment of Magnetic TSH Corning Kit for Measuring Serum TSH

小堺加智夫* 井上 和子** 佐藤かづ未* 田中 直子*
丸山 雄三* 佐々木康人***

Kachio KOZAKAI*, Kazuko INOUE**, Kazumi SATO*, Naoko TANAKA*,
Yuzo MARUYAMA* and Yasuhito SASAKI***

*Central Radio Isotope Laboratory, **Department of Internal Medicine,
***Department of Radiology, Toho University School of Medicine

I. はじめに

Odell ら¹⁾によるラジオイムノアッセイ法の確立以来、甲状腺刺激ホルモンの血中濃度測定は日常臨床検査として繁用されている。特に甲状腺機能低下症の診断や治療経過観察に不可欠で、今日わが国で実施されている核医学 in vitro 検査では、CEA、インスリン、HBs 抗原、AFP、T₄ に次いで第六番目に繁用されている検査項目となっている²⁾。われわれは、今回、B・F 分離に帶磁性の鉄微粒子を用いるマグネチック TSH キット（コーニングメディカル社提供）を使用する機会を得たので、その基礎的および臨床的検討の結果を報告する。

II. 方 法

1. キットの内容 (100 検体用)

100 本の検体測定用に供給される本キットには下記の試薬が含まれる。(1) ¹²⁵I 標識家兎 TSH 抗

* 東邦大学医学部附属大森病院中放核医学検査室

** 同 内科

*** 同 放射線科

受付：59年4月9日

最終稿受付：59年8月20日

別刷請求先：大田区大森西 6-11-1 (番 143)

東邦大学医学部附属大森病院

中放核医学検査室

小 堀 加 智 夫

体 1 バイアル (10 ml) (2) 抗ヒト TSH ヤギ血清を鉄微粒子に結合したバインダー 1 バイアル (50 ml) (3) 標識 TSH 血清は 7 濃度 (0, 1.5, 3, 6, 15, 30, 60, μ IU/ml) のものが各 1 バイアル (1.0 ml) 用意されている。

2. 測定原理と操作法

本キットでは、まず過剰の¹²⁵I-抗 TSH 抗体と試料中の TSH を反応させる。次いで鉄微粒子に共有結合させた抗 TSH 抗体を TSH-標識抗体結合物と反応させる。すなわち一種の固相法である。磁石の間に試験管を立て放置すると、鉄微粒子に結合した TSH-¹²⁵I-抗体結合体のみが試験管底に吸着する。磁石と試験管の組み合わせ全体を吸収紙上で倒立させ、遊離の¹²⁵I-抗体を除去して B・F の分離を行う。

測定はキット指定の測定操作 (Fig. 1) に準じて実施した。100 μ l の検体に¹²⁵I 標識抗体を加え、室温で 2 時間反応させた後、500 μ l のバインダーを添加してさらに室温で 30 分、インキュベーションする。精製水 500 μ l を添加し、磁気分離器上で 3 分間 B・F 分離後その放射能を測定する。

本キットの評価のために一連の基礎的検討を行い、次いで臨床的有用性を検討した。

Key words: TSH, Magnetic TSH "Corning" kit, Thyroidal disease.

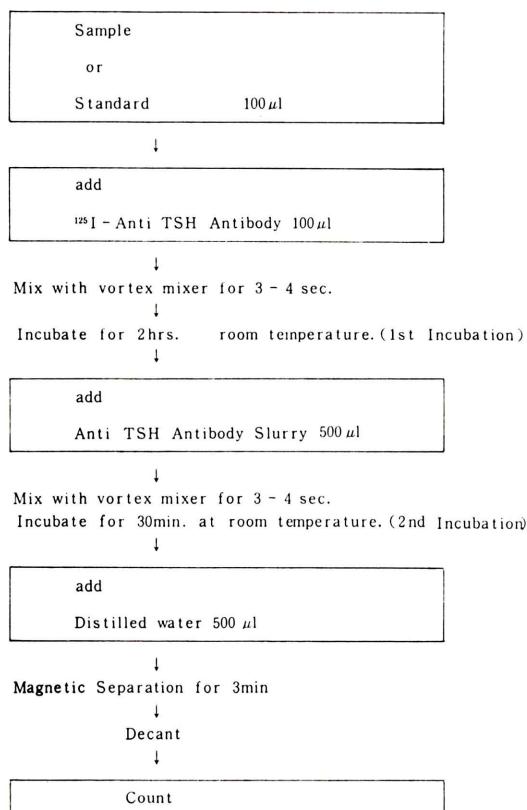


Fig. 1 Assay procedure of Magnetic TSH-Corning kit.

III. 対 象

健常志願者53名より得た53検体、および東邦大学大森病院入院または外来患者82例より得た103検体の測定を行った。患者のうちわけは甲状腺機能亢進症26例（そのうち10例は治療中で機能正常）、甲状腺機能低下症15例（治療中で機能正常11例を含む）、橋本病3例、妊娠女性38例（1st trimester 13例、2nd trimester 8例、3rd trimester 17例）の計82例である。うち5症例にTRH負荷試験を行った。

IV. 結 果

1. 基礎的検討

1) 標準曲線と交叉反応

本キットでは $60 \mu\text{IU}/\text{ml}$ 濃度の \mathbf{B}_{60} に対する各濃度の \mathbf{B}_x の百分率を計算する。すなわち $\mathbf{B}_x/\mathbf{B}_{60}$

$\times 100$ をY軸にとって標準曲線を作製する。代表的標準曲線をFig. 2に示す。 $1.5 \sim 60 \mu\text{IU}/\text{ml}$ の範囲で急峻な標準曲線が得られた（Fig. 2）。各種濃度の黄体形成ホルモン（LH）、卵胞刺激ホルモン（FSH）または成長ホルモン（GH）を標準TSHの代わりに用いて反応させると、濃度による $\mathbf{B}\%$ はほとんど変化せず、抗TSH抗体との交叉反応はほとんど見られなかった（Fig. 2）。

2) インキュベーション条件の影響

第1インキュベーション時間をキット指定の2時間の他 $1, 1.5, 2.5$ 時間に変えて標準曲線を作製した。TSH濃度が $10 \mu\text{IU}/\text{ml}$ 以上では、4本の標準曲線はほぼ一致し、 $10 \mu\text{IU}/\text{ml}$ 以下のTSH濃度では2時間で他に比し高い結合率が得られた。また、濃度の異なる3種の検体の測定値は、低濃度検体でインキュベーション時間の延長とともに僅かに高値となる傾向（ $4.0 \sim 4.5 \mu\text{IU}/\text{ml}$ ）が見られた。中、高値検体はほぼ一定の測定値を示した（Fig. 3）。同様に第2インキュベーション時間を30分の他、 $15, 45, 60$ 分と変化させたが、標準曲線と検体測定値とともに大きな変化はみられなかった。インキュベーション温度をキット指定の 25°C の他、 $37^\circ\text{C}, 4^\circ\text{C}$ と変化させた場合、3種の検体の測定値にほとんど変化はみとめられなかった。

3) 精度と再現性

3種の異なる濃度の血清を同時に10回測定して得た測定内誤差は、平均濃度 $46.75, 17.57, 6.65 \mu\text{IU}/\text{ml}$ で、それぞれの変動係数（C.V.）は $1.60, 2.33, 4.96\%$ であった（Table 1）。同じ3種検体を5回の異なる機会に測定して得た測定間誤差は、平均濃度 $48.32, 17.62, 6.24 \mu\text{IU}/\text{ml}$ で、C.V.が $2.94, 1.65, 6.09\%$ と良好な再現性が得られた（Table 2）。

4) 回収試験

TSH濃度 $8.6, 14.3, 34.2 \mu\text{IU}/\text{ml}$ の3種の血清に $1.5, 3.0, 7.5, 15.0, 30.0 \mu\text{IU}/\text{ml}$ の標準TSH溶液を添加し、測定して得た回収率をTable 3に示す。 $1.5 \mu\text{IU}/\text{ml}$ の標準溶液を添加した場合を除いて、回収率は $84.0 \sim 123.5\%$ で平均回収率は $90 \sim 108\%$ に分布し比較的良好であった。 $1.5 \mu\text{IU}/\text{ml}$

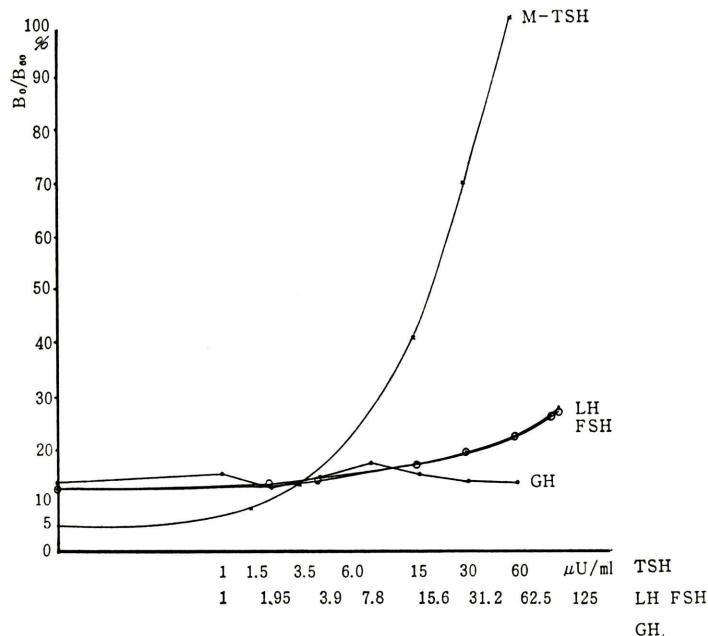


Fig. 2 Specificity of Magnetic TSH Corning kit.

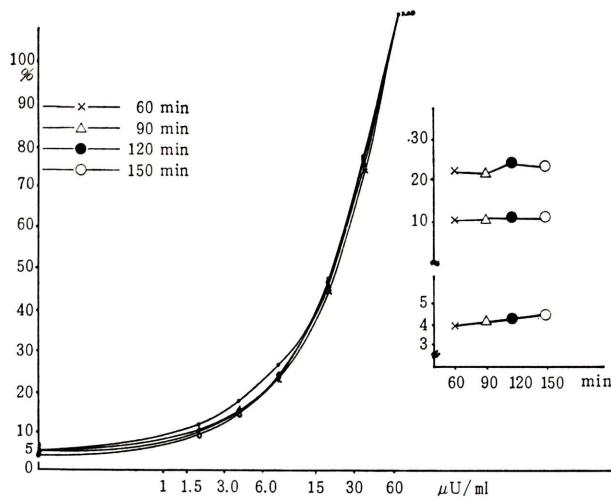


Fig. 3 Influence of first incubation time on percent B.

Table 1 Within assay variation

No.	Sample		
	Serum 1	Serum 2	Serum 3
1	47.62	17.26	6.75
2	47.57	17.43	6.36
3	47.72	18.09	6.95
4	46.48	16.96	6.26
5	46.12	17.54	7.41
6	46.61	17.53	6.38
7	47.20	17.70	6.84
8	45.88	17.83	6.37
9	45.43	17.04	6.62
10	46.84	18.31	6.55
Mean	46.75	17.57	6.65
S.D.	0.75	0.41	0.33
C.V. (%)	1.60	2.33	4.96

Table 2 Between assay variation

No.	Sample		
	Serum 1	Serum 2	Serum 3
1	49.1	18.0	6.4
2	47.7	17.3	6.5
3	50.7	17.3	5.9
4	47.3	17.9	5.7
5	46.8	17.6	6.7
Mean	48.32	17.62	6.24
S.D.	1.42	0.29	0.38
C.V. (%)	2.94	1.65	6.09

Table 3 Recovery test

Sample	Added	0	1.5	3.0	7.5	15.0	30.0	*M±SD
A	Measured	8.6	9.7	11.4	15.1	21.2	37.6	
	Recovery value		1.1	2.8	6.5	12.6	29.0	
	Recovery rate	73.3	93.3	86.7	84.0	96.7		90.18±5.85
B	Measured	14.3	15.5	18.0	23.0	29.0	42.7	
	Recovery value		1.2	3.7	8.7	14.7	28.4	
	Recovery rate	80.0	123.3	116.0	98.0	94.7		108.0±13.84
C	Measured	34.2	35.1	37.8	41.4	49.0	60.8	
	Recovery value		0.9	3.6	7.2	14.8	26.6	
	Recovery rate	60.0	120.0	96.0	98.7	88.7		100.85±13.45

*The addition of 1.5 μ IU was excluded from calculation of the mean

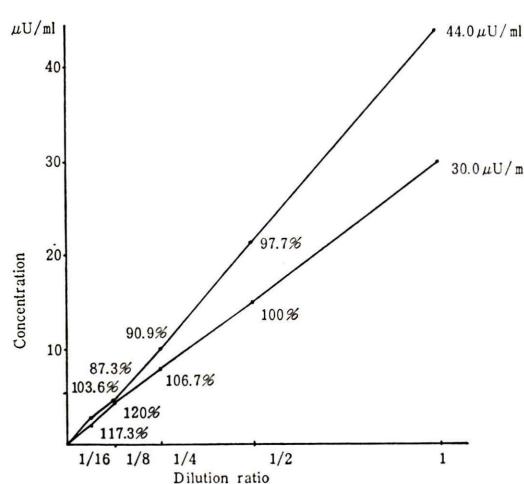


Fig. 4 Dilution test of high concentration sera.

添加では回収率は 60.0~80.0% と低かった。

5) 希釈試験

TSH が高値を示した患者血清をゼロ濃度標準溶液で希釈して測定した結果を Fig. 4 に示す。測定値が 5 μ IU/ml 以上ではほぼ期待値に近い値 (91~106%) が得られたが、それ以下では期待値の 87.3~120% となった。

6) 他キットとの相関

本法と TSH キット第一 (第一 RI 研究所製) の双方で測定し得た 152 検体の測定値の相関をみた。回帰直線 y (第一) = $1.10x$ (マグネチック) - 1.82 で相関係数 $r=0.979$ の良好な相関関係が得られた (Fig. 5)。しかし、その他にコーニングキットで 1~2 μ IU/ml の測定値が得られながら TSH 第

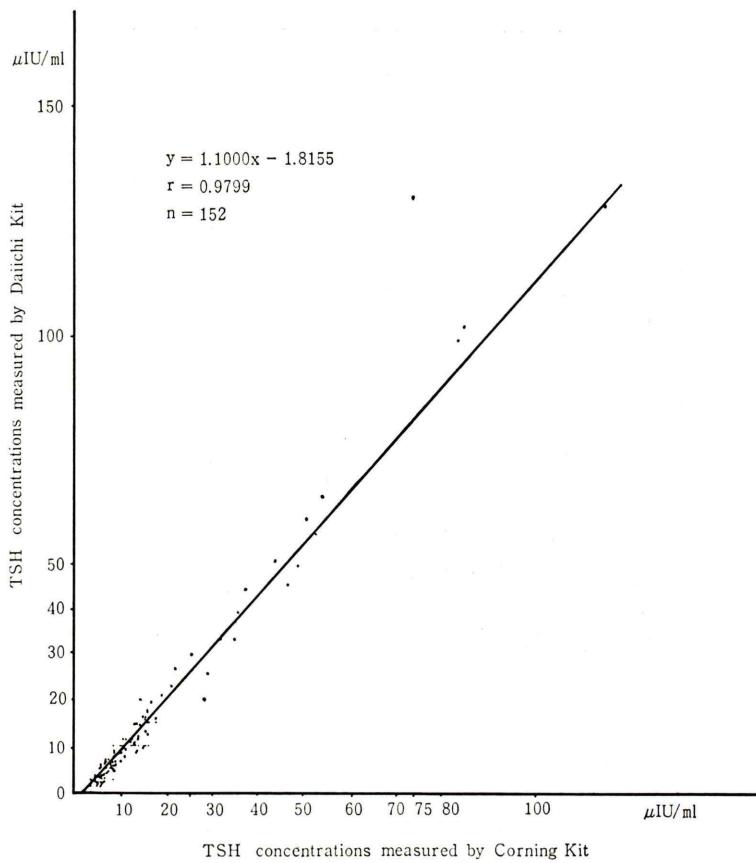


Fig. 5 Correlation between values for TSH concentration as measured with Magnetic TSH Corning kit and TSH kit Daiichi.

一では検出不能であった検体が約20本であった。

2. 臨床的検討

1) 健常対照の血清 TSH 濃度

健常志願者 53 人（男 31, 女 22, 年齢 20~60 平均 29.1 歳）より得た血清中の TSH 濃度は $3.12 \pm 1.07 \mu\text{IU}/\text{ml}$ (Mean \pm S.D.) であった。正常域の範囲を Mean ± 2 S.D. とすると, $0.98 \sim 5.26 \mu\text{IU}/\text{ml}$ となる。

2) 各種病態における血清 TSH 濃度

グレーブス病で甲状腺機能亢進状態にあり、治療開始前に血清 TSH を測定した 16 例中 7 例は $2.0 \mu\text{IU}/\text{ml}$ 以下の低値を示した。残り 9 例も $4.7 \mu\text{IU}/\text{ml}$ 以下であった。一方治療中の 10 例の血清 TSH は $2.0 \sim 6.3 \mu\text{IU}/\text{ml}$ に分布し、健常対照

の TSH 値とほぼ同じ範囲に分布した。治療開始前の甲状腺機能低下症患者の血清 TSH は全例 $10.0 \mu\text{IU}/\text{ml}$ 以下の高値で、治療中の機能低下症では $1.9 \sim 10.8 \mu\text{IU}/\text{ml}$ の広い範囲に分布した。橋本病の 3 例は $3.4 \sim 5.9 \mu\text{IU}/\text{ml}$ であった (Fig. 6)。妊娠女性 38 例について 1st trimester 13 例の平均 \pm S.D. は $1.43 \pm 0.97 \mu\text{IU}/\text{ml}$, 2nd trimester 8 例については、 $2.80 \pm 1.21 \mu\text{IU}/\text{ml}$, 3rd trimester 17 例は $2.63 \pm 1.10 \mu\text{IU}/\text{ml}$ で、1st trimester に比し、2nd, 3rd trimester で TSH の測定値がやや高い傾向が見られた。

3) TRH 負荷試験

TRH 負荷試験を実施した 4 症例の TSH 測定値の変化を Fig. 7 に示す。症例 1 は甲状腺機能亢

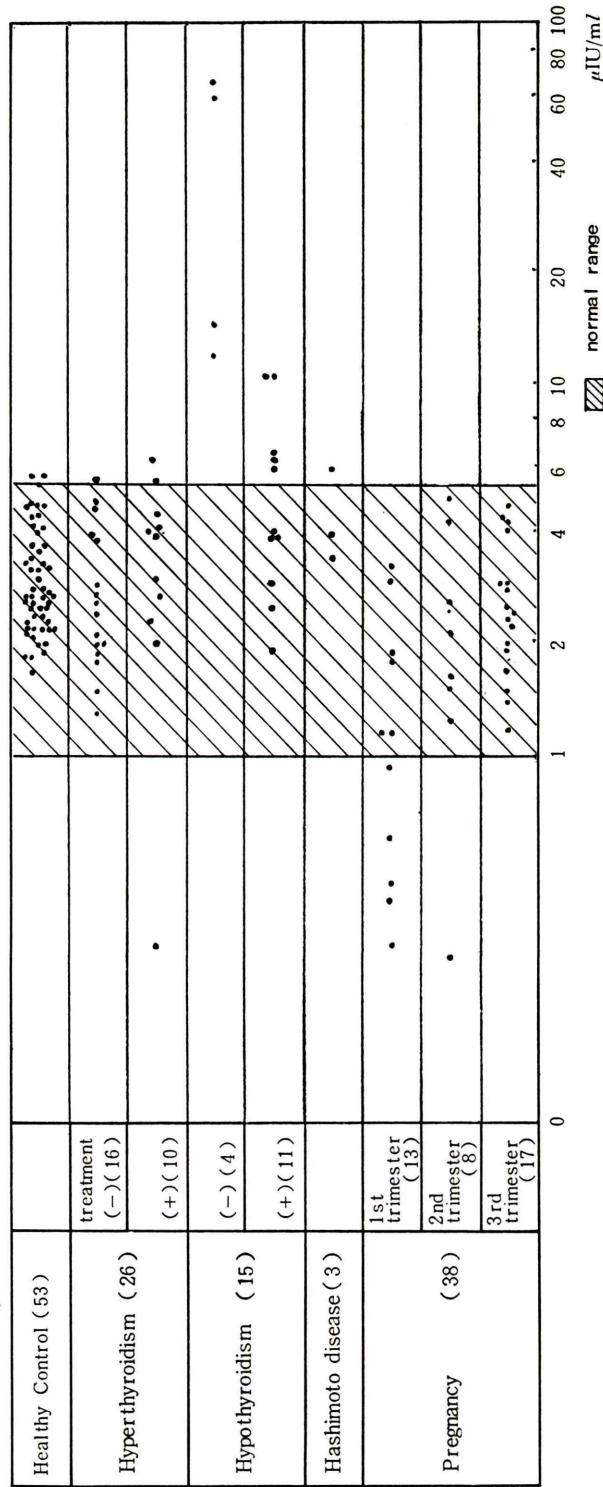


Fig. 6 Serum TSH concentration in various thyroid diseases.

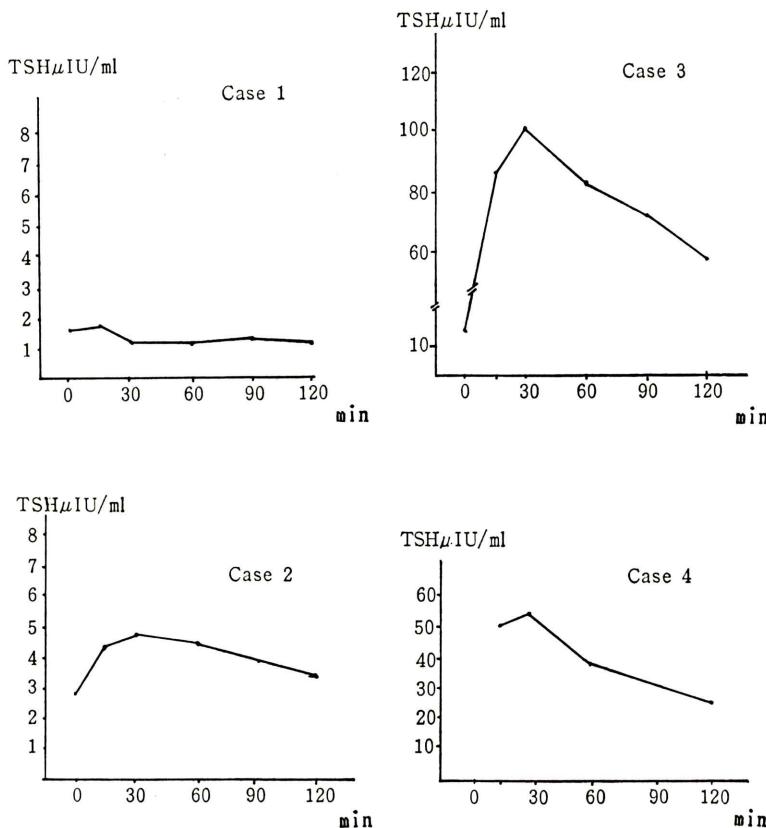


Fig. 7 TRH test.

進状態のグレーブス病で無反応であった。症例 2 は治療により euthyroid 状態にあるグレーブス病であるが TRH には低反応であった。症例 3 は原発性甲状腺機能低下症であり過剰遅延反応を示している。症例 4 は橋本病で末梢血中甲状腺ホルモン値は euthyroid 状態にあるが TRH に対してはやや機能低下症に似た反応を示していた。

V. 結 語

血中 TSH 濃度の測定は Utiger³⁾, Odell¹⁾ らにより開発され現在多くのキットが発売されている。今回われわれはコーニング社のマグネチック TSH キットを用いて検討を行った。本キットの特徴は鉄微粒子を固相として抗 TSH 抗体を結合させたサンドイッチ法であり、磁石を用いて B・F の分離操作を簡便かつ短時間にしたことにある。

鉄微粒子表面は、その水酸基をアミノシラン誘導体で処理した後、このアミノ基と蛋白のアミノ基の間をグルタルアルデハイドで固定化してある。インキュベーション条件に関してはキット指定の温度、時間を適当とみなした。測定値の、測定内変動、測定間変動とも C.V. が 6.1% 以下で良い精度と再現性を示した。3.0 μIU/ml 以下で希釈がバラつき、回収率が低かったのは測定率の感度の限界に近づいたためかもしれない。また回収率、希釈試験とも 3.0 μIU/ml 以上ではほぼ満足すべき結果が得られた。今回検討した健常対象 53 症例の測定値は $3.12 \pm 1.07 \mu\text{IU}/\text{ml}$ となり、平均 $\pm 2\text{S.D.}$ を正常範囲とすれば、 $0.98 \sim 5.26 \mu\text{IU}/\text{ml}$ となる。この値は、藤井ら⁴⁾の $5.7 \mu\text{IU}/\text{ml}$, RCC キットを用いた野木森ら⁵⁾の $4.2 \pm 2.7 \mu\text{IU}/\text{ml}$ に比し低値である。IMMOPHASE TSH「コーニング」

キット⁶⁾を用いて測定した健常志願者の血清 TSH は $2.53 \pm 0.73 \mu\text{IU}/\text{ml}$ であった。患者血清を用いた TSH 第一との比較ではよく相関したが本キットの方がやや高値を示す傾向がみられた。未治療の甲状腺機能亢進症では 16 例中 7 例が $2 \mu\text{IU}/\text{ml}$ 以下の低値を、未治療の甲状腺機能低下症は全例 $10 \mu\text{IU}/\text{ml}$ 以上の高値を呈した。したがって甲状腺機能の指標として本法による TSH 測定は臨床上の要請を十分に満たすと考えられる。

文 献

1) Odell WD, Wilber JF, Paul WE: Radioimmunoassay

of thyrotropin in human serum. *J Clin Endocrinol Metab* **25**: 1179, 1965

- 2) 日本アイソトープ協会医学・薬学部会核医学用語分類専門委員会: 医療行為の国際分類(ICPM)コード利用による全国核医学診療実態調査報告. *Radioisotopes* **32**: 454, 1983
- 3) Utiger RD: Radioimmunoassay of human plasma thyrotropin. *J Clin Invest* **44**: 1277, 1965
- 4) 藤井厚男, 奥田 清: TSH「コーニング」キットの使用経験. *Biomedical J* **5**: 255
- 5) 野木森剛, 満間照典: RIA 法による TSH の測定ホルモン. ホルモンと臨床 **28**: 107, 1980
- 6) 小堺加智夫, 須江直子, 佐々木康人, 他: TSH「コーニング」キットによる血中 TSH 測定法の検討. ホルモンと臨床 **32**: 189, 1984