

#### 44. 各種高感度 TSH RIA 系で用いられているスタンダードの相互比較と血清影響について

芦田 信之 市原 清志 西 啓子

遠藤 雄一 網野 信行 宮井 潔

(大阪大・中検・臨検)

はじめに：最近，多数の高感度 TSH 測定キットが開発されているが，感度が向上した要因として，(1) モノクローナル抗体による特異性の向上，(2) サンドイッチ法という測定系のもつ理論的な高感度性，(3) 従来の競合反応を利用した方法と比べ血清影響の出方が異なること，(4) 標準液が血清に近い組成になっていることなどが考えられる．今回，(3) について従来法と4種の高感度法を比較するとともに，(4) の標準液の組成の違いが測定値に及ぼす影響につき検討した．

方法：(1) 各測定法の血清影響を調べるため，緩衝液で溶解した標準液と，それに TSH free 血清としてのバセドウ病患者血清を添加した標準液を作製し，各測定法で測定した．(2) 多数例のバセドウ血清の TSH 値が，それぞれの測定法において，群としてどのように分布するかを調べた．(3) 各高感度測定キットの0濃度血清の組成を調べ，その血清の示す反応値(結合率)とバセドウ血清のそれを比較した．

結果：(1) 競合反応を利用した従来法では，バセドウ血清添加により，その結合率は低下し，その低下の割合は，各濃度において88～95%とほぼ一定であった．このため，従来法では血清影響は正の誤差を生じ，その程度は低値であるほどより著明であった．一方，サンドイッチ法を用いた高感度法では，血清影響は検量線の全域できわめて軽度であった．(2) バセドウ病患者42例の血中 TSH 値は従来法では0から1.25  $\mu\text{U}/\text{ml}$  に分布し，健康人の分布との重なりは約10%と少なかった．高感度法では，バセドウ血清値は全例0.15  $\mu\text{U}/\text{ml}$  以下となり，健康人との重なりは全くなかった．(3) 各高感度測定キットの0濃度血清を電気泳動にかけたところ，正常血清に近いパターンを示すものから，グロブリン分画の多いもの，アルブミンのみのものと様々であった．また0濃度血清の反応性(結合率)に軽度ながら明らかな差がみられ，その組成が測定感度の設定とバセドウ病患者血清の測定値の解釈にとって重要であると考えられる．

#### 45. FRTL-5 細胞を用いる甲状腺刺激抗体の測定法

笠木 寛治 徳田 康孝 新井 圭輔

飯田 泰啓 遠藤 啓吾 小西 淳二

鳥塚 莞爾

(京都大・放核)

バセドウ病患者血中に含まれる甲状腺刺激抗体，Thyroid Stimulating Antibodies (TSAb) の測定法として，ラット甲状腺 cell line である FRTL-5 細胞を用いその cAMP 上昇を指標とする方法を開発した．

〔方法〕 NIH の Dr. Kohn より得られた FRTL-5 細胞を 5% calf serum, 1 mU / ml bovine TSH, 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  insulin, 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  transferrin, 10 ng / ml somatostatin, 10 ng / ml glycyl-L-histidyl-L-lysine を含む Coon's modified Ham F (6H) メディウムにて24穴プレート内で Confluency に達するまで増殖させる．メディウムを6Hより5H(6HよりTSHを取り除いたもの)に変更し，さらに7日間の培養を行った後，細胞に血清250  $\mu\text{l}$  より15% polyethylene glycol (PEG) にて抽出した粗グロブリン分画を加え，2時間のインキュベーションの間に，NaCl (－) Hanks メディウム中に release された cAMP 量を RIA にて測定した．

〔結果〕 Hanks と NaCl (－) Hanks とで TSAb 刺激による cAMP 増加反応を比較したところ15例の TSAb による cAMP 増加率は前者で  $6.3 \pm 4.8$  (SD) 倍，後者で  $89.9 \pm 96.2$  倍であった．本法では1  $\mu\text{U}/\text{ml}$  TSH で約3.5倍，10  $\mu\text{U}/\text{ml}$  では約30倍の cAMP 増加が認められた．TSAb 活性は未治療バセドウ病患者50例および Ophthalmic Graves 病患者24例の全例に検出された．橋本病でも24例中9例(37.5%)が陽性を示したが，これらの症例はいずれも血清 TSH 濃度の高い(>30  $\mu\text{U}/\text{ml}$ ) 症例であり，血清 TSH の一部が PEG 抽出グロブリン分画に混入したために陽性を示したのと考えられた．これらの血清をあらかじめ抗 TSH 抗体で処理した場合の活性は陰性であった．以上高感度簡易化 TSAb 測定法を開発した．