

## 《ノート》

## Ventrex TSH キットに関する基礎的ならびに臨床的検討

## Fundamental and Clinical Evaluation of Immunoradiometric Assay for Serum TSH by Ventrex TSH Kit

深澤 洋\* 桜田 俊郎\* 米満 京子\* 吉田 克己\*  
 海瀬 和郎\* 海瀬 信子\* 野村 隆\* 板垣 洋一\*  
 山本 蒼子\* 斎藤慎太郎\* 吉永 馨\*

Hiroshi FUKAZAWA, Toshiro SAKURADA, Kyoko YONEMITSU, Katsumi YOSHIDA,  
 Kazuro KAISE, Nobuko KAISE, Takashi NOMURA, Yoichi ITAGAKI,  
 Makiko YAMAMOTO, Shintaro SAITO and Kaoru YOSHINAGA

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

## I. 緒 言

RIA による血中 TSH 測定は、現在、日常臨床検査の一つとして広く<sup>1~4)</sup>行われている。しかし、現在市販されている TSH RIA キットは TSH の增量を確認するにとどまり、その測定感度上の限界から正常値と低値を区別することが困難である。また従来のいわゆる高感度アッセイ<sup>5)</sup>、ないし、従来のキットを用い測定法を変更しての高感度アッセイ<sup>6)</sup>は、手技が繁雑で、測定結果を得るまでに日数を要するなどの難点があり、広く一般化するには至らなかった。このたび、われわれは、血中 TSH 濃度を簡便に測定できる two-sites immunoradiometric assay kit (Ventrex TSH kit) を使用する機会を得、基礎的および臨床的検討を行ったので報告する。

## II. 方 法

## 1. キットの内容 (1 キット 100 テスト用)

## (1) TSH 抗体チューブ (赤色)

チューブの内壁に抗 TSH マウスモノクローナル抗体が被覆されている (100 本)。

(2) <sup>125</sup>I トレー (黄色溶液)

1 バイアルにつき 10 μCi の <sup>125</sup>I-抗 TSH 羊ポリクローナル抗体溶液 10 ml が 2 バイアル。これには、protein stabilizer および 0.015 M Sodium azide が保存剤として添加されている。

## (3) 標準 TSH 血清

標準 TSH の 0, 1.5, 5, 10, 25 および 50 μIU/ml, 各 2.0 ml。また、オプションとして 0.5 および 100 μIU/ml (各 2.0 ml)。

## 2. 測定手技

キットに示された方法に従い、Fig. 1 で示すごとく行った。

## III. 実験内容および対象

基礎的検討として、インキュベーション時間および温度の標準曲線への影響、同一測定内ならび

\* 東北大学医学部第二内科

受付：61年6月27日

最終稿受付：62年1月21日

別刷請求先：仙台市星陵町1-1 (郵980)

東北大学医学部第二内科

深澤 洋

**Key words:** TSH, Immunoradiometric assay.

に異なる測定間の再現性、回収率、被検血清希釈の影響および抗体の特異性、などについて検討を行った。

臨床的検討は、当院第二内科受診の未治療バセドウ病30例、原発性甲状腺機能低下症20例、亜急性甲状腺炎(急性期)10例、妊婦13例(うち、未治療バセドウ病の妊婦8例)、TBG低下症2例および正常人30例を対象とした。さらに一部の症例では、従来より用いているTSHキット「第一」(第一ラジオアイソトープ社)および最近開発されたTSHキット「第一」II(第一ラジオアイソトープ社、Immunoradiometric assay法)による測定値との比較検討も行った。

#### IV. 結 果

##### 1. 基礎的検討

###### 1) インキュベーション時間の検討(Fig. 2)

37°Cにて、インキュベーション時間を30、60、90、120および150分とした時の標準曲線はFig. 2のごとくであり、時間とともに標準曲線の勾配は急となり、感度が上昇することが認められた。特に30分間のインキュベーションでは、低および中濃度においてもすでに感度が低下することを認めた。60~150分では、インキュベーション時間の

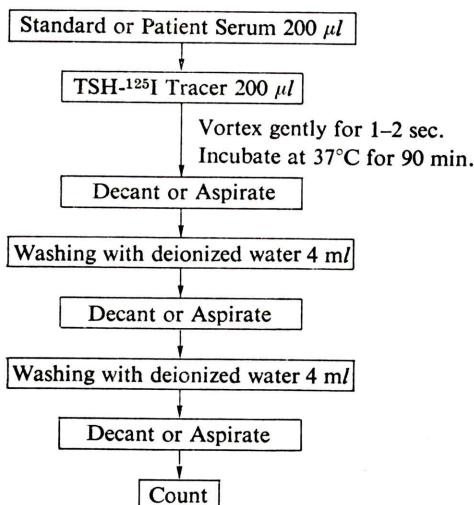


Fig. 1 Assay procedure of Ventrex TSH kit.

変化による低および中濃度の標準曲線の勾配に大きな差異はなく、いずれのインキュベーション時間においても良好な標準曲線が得られた。

###### 2) インキュベーション温度の検討(Fig. 3)

インキュベーション時間を90分とし、4°C、22°Cおよび37°Cで行ったときの標準曲線は、Fig. 3のごとくである。反応温度の上昇とともに標準曲線は急峻な勾配を示し、37°Cで最も良い結果が得られた。

###### 3) 回 収 率 (Table 1)

2種類の血清に、濃度の異なる5種類のキット添付標準TSH血清を添加して、その回収率を求め

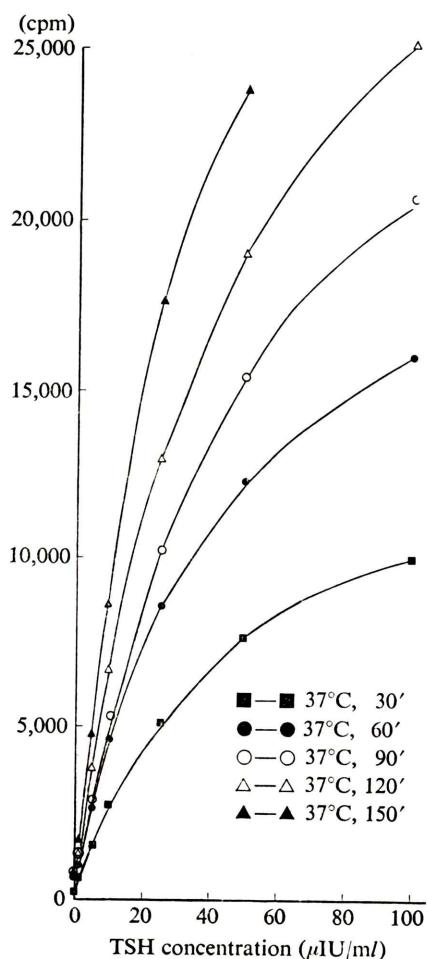


Fig. 2 Effect of length of the incubation time on standard curve.

た成績を Table 1 に示した。平均回収率は 103.0% と良好であった。

#### 4) 希釈試験 (Fig. 4)

血清 TSH が低、中および高濃度の 3 血清をキット添付の TSHO 濃度血清にて 2~32 倍に希釈

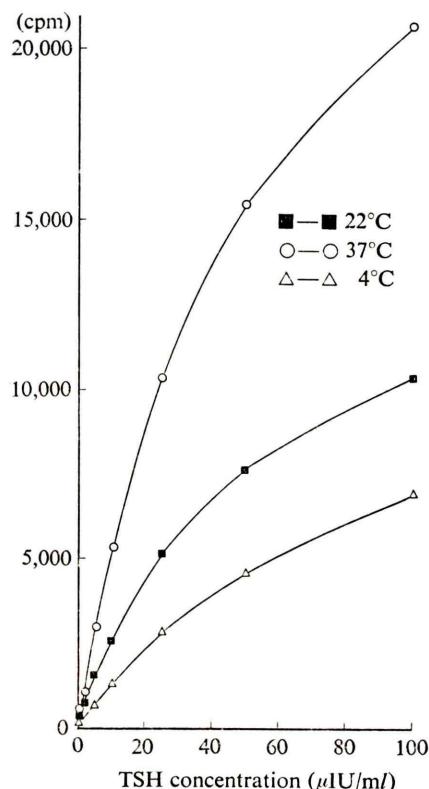


Fig. 3 Effect of temperature during the incubation on standard curve.

し、その TSH 濃度を測定した。結果は、Fig. 4 のごとくであり、いずれも原点に集束するほぼ直線性の分布を示した。

#### 5) 測定値の再現性 (Table 2)

##### (1) Intraassay variation

TSH 濃度の異なる 3 種類の血清を用いて、それぞれ 5 重測定し、その変動係数 (C.V.) を求めた。その C.V. は 5.85~8.87% とほぼ良好であった。

##### (2) Interassay variation

3 種類の血清について、ロットの異なるキットを用いて 5 回測定した結果を示す。その C.V. は 1.87~4.08% と良好であった。

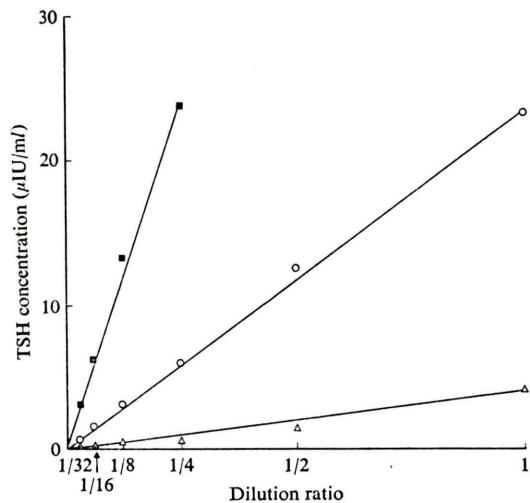


Fig. 4 Effect of dilution.

Table 1 Recovery test

Serum TSH (μIU/ml)	Added TSH (μIU/ml)					
	0	0.75	2.5	5.0	12.5	25
1.19	Expected	1.19	1.94	3.69	6.19	13.69
	Measured	—	2.04	3.74	6.09	13.36
	Recovered	—	0.85	2.55	4.90	12.17
	Recovery (%)	—	113.3	102.0	98.0	97.4
4.00	Expected	4.00	4.75	6.50	9.00	16.50
	Measured	—	4.68	6.86	9.48	17.71
	Recovered	—	0.69	2.86	5.48	13.71
	Recovery (%)	—	90.7	114.4	109.6	109.7
Mean Recovery 103.0±10.3 (Mean±S.D.)						

Table 2 Reproducibility of the assay

Serum No.	Serum TSH ( $\mu\text{IU}/\text{ml}$ )					
	Intra-Assay			Inter-Assay		
	A	B	C	D	E	F
1	3.39	11.67	34.56	1.84	6.93	21.46
2	3.59	10.43	35.85	1.84	6.83	22.62
3	3.31	11.92	36.87	1.77	6.33	21.91
4	3.48	11.69	30.46	1.86	6.74	22.95
5	3.84	12.79	30.58	1.83	6.38	20.84
Mean	3.52	11.70	33.66	1.83	6.64	21.96
S.D.	0.21	0.84	2.98	0.03	0.27	0.85
C.V. (%)	5.85	7.22	8.87	1.87	4.08	3.89

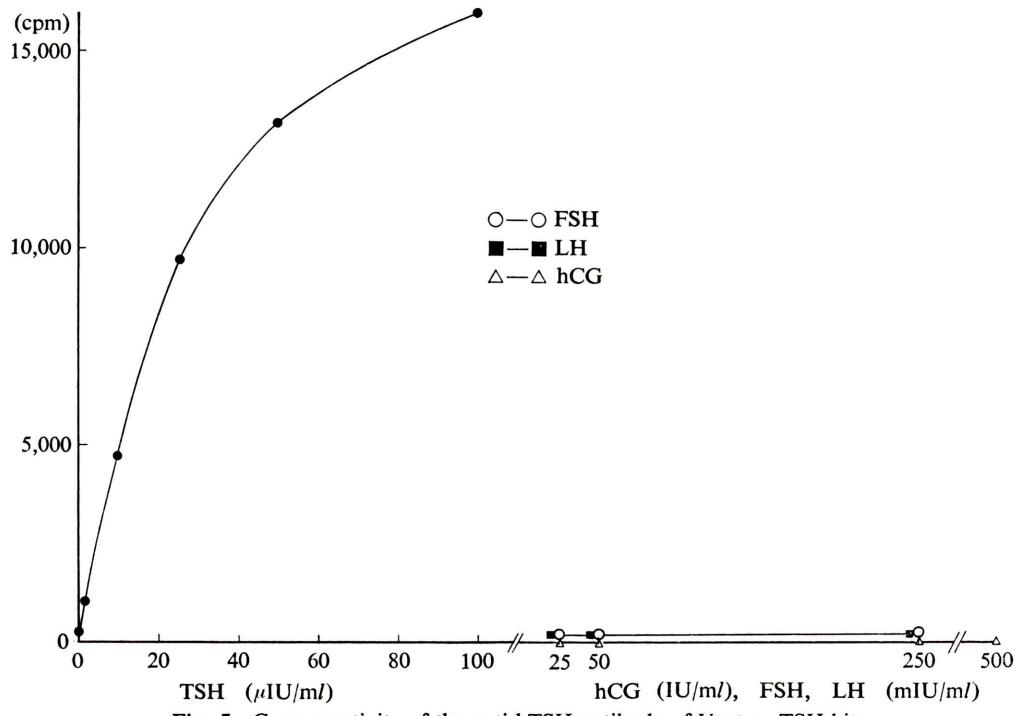


Fig. 5 Cross reactivity of the anti-hTSH antibody of Ventrex TSH kit.

## 6) 測定感度

TSH 濃度が  $0 \mu\text{IU}/\text{ml}$  の標準血清 8 サンプルを測定したカウント数の mean + 2 S.D. より算出した最低測定感度は  $0.07 \mu\text{IU}/\text{ml}$  であった。

## 7) 交叉反応試験

標準 FSH, および LH 溶液 (第一ラジオアイソトープ社) および hCG (Sigma 社) を本アッセイ

系に添加して、抗体の特異性につき検討した。

Fig. 5 に示すごとく、hCG の  $500 \text{ IU}/\text{ml}$  まで全く交叉反応を認めなかった。また FSH および LH も  $25 \sim 50 \text{ mIU}/\text{ml}$  の間では、本抗体とほとんど交叉反応を認めず、FSH および LH  $250 \text{ mIU}/\text{ml}$  で TSH  $0.08 \mu\text{IU}/\text{ml}$  程度に相当する交叉性が認められた。

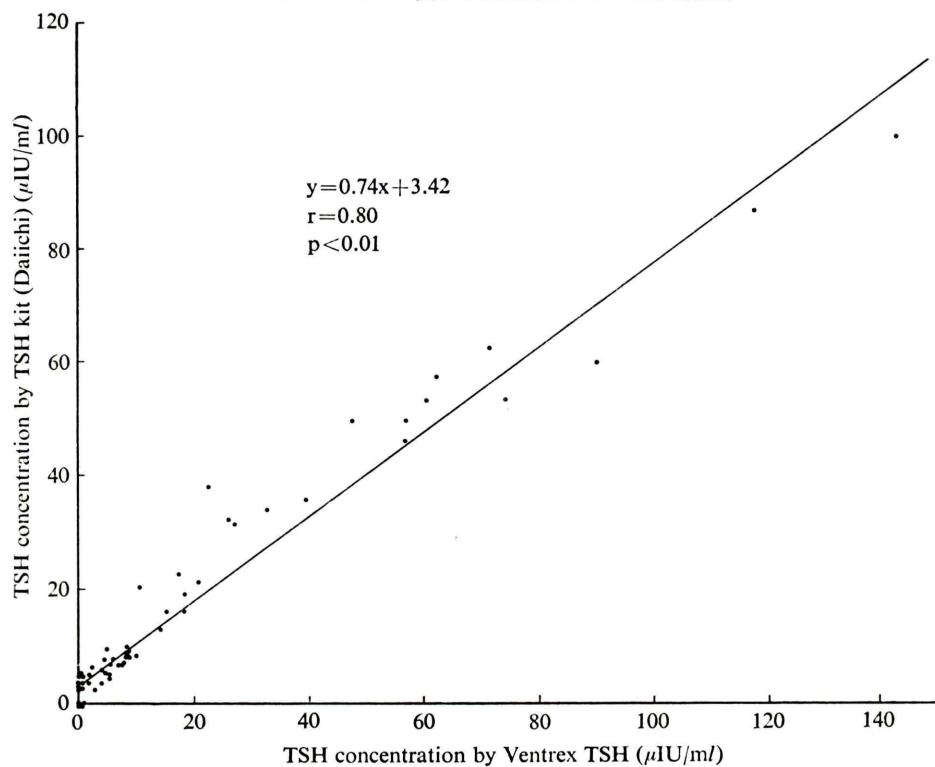
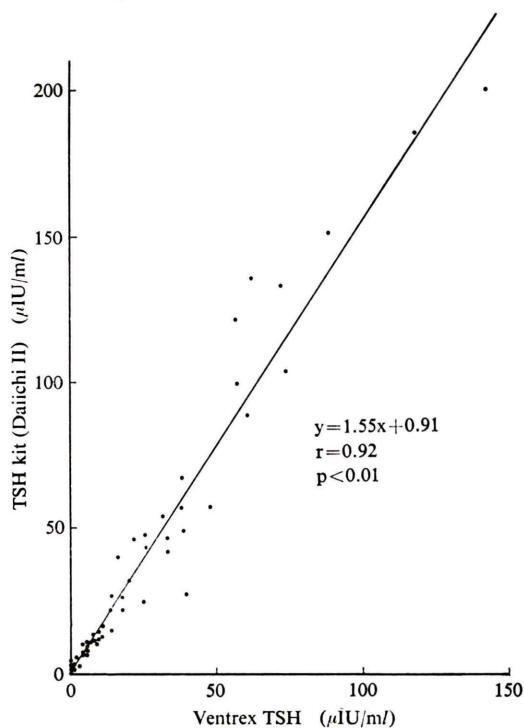


Fig. 6 Relation of serum TSH values obtained by TSH kit (Daiichi) and those by Ventrex TSH kit.



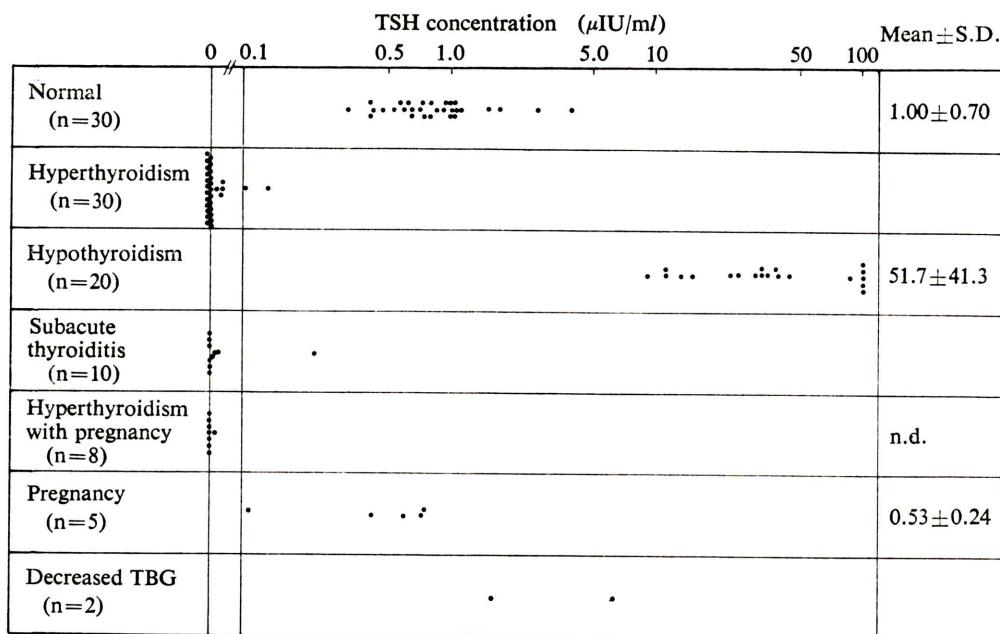
#### 8) 本キットと他の TSH 測定キットによる測定値の比較

正常人および各種甲状腺疾患74例について本キットによる測定値と TSH キット「第一」による測定値を比較した (Fig. 6). 両キットによる測定値との間には相関係数  $r = +0.80$  と良い正相関が認められた。

TSH キット「第一」によって、30例の正常人の値がその測定下界  $1.2 \mu\text{IU}/\text{ml}$  以下であった10例の TSH 値はすべて、本キットによって測定可能であった。

なお、TSH キット「第一」II と本キットによる測定値を同様に 76 例において比較検討した (Fig. 7). 両キットによる測定値との間には相関係数  $r = +0.92$  ときわめて良い正相関が認められた。

Fig. 7 Relation of serum TSH values obtained by TSH kit (Daiichi II), and those by Ventrex TSH kit.



n.d.=not detectable

Fig. 8 Serum TSH concentration in normal controls, patients with various thyroid diseases and pregnant women measured by Ventrex TSH kit.

## 2. 臨床的検討

### 1) 各種甲状腺疾患患者および正常人における血中 TSH 濃度 (Fig. 8)

本キットを用いて測定した正常人 30 例の血清 TSH 濃度は  $0.32 \sim 3.84 \mu\text{IU}/\text{ml}$  に分布し mean  $\pm$  S.D. は  $1.00 \pm 0.70 \mu\text{IU}/\text{ml}$  であった。これらの log TSH 値は正規分布を示し、対数変換後の mean  $\pm$  2 S.D. から求めた正常範囲は  $0.30 \sim 2.43 \mu\text{IU}/\text{ml}$  であった。

未治療バセドウ病では測定感度以下から  $0.13 \mu\text{IU}/\text{ml}$  に分布し、正常人との間には重なり合いを認めず、正常人より有意に低値であった。未治療バセドウ病患者に行った TRH テスト (TRH 500  $\mu\text{g}$ , i.v. 30 分値) では、5 例全例の本測定法による TSH 値は無反応で常に測定感度以下であった。hCG が高値となる妊娠バセドウ病においても全例測定感度以下であった。

原発性甲状腺機能低下症 20 例では、全例が  $9.35 \mu\text{IU}/\text{ml}$  以上で、正常人に比し明らかな高値を示した。

亜急性甲状腺炎の急性期では、1 例のみが  $0.23 \mu\text{IU}/\text{ml}$  であったが、残りの 9 例では測定感度以下と全例低値であった。

TBG 減少症の 1 例および妊婦 5 例中 4 例ではいずれも正常値の範囲を示した。

妊婦の平均値は  $0.53 \pm 0.24$  (S.D.)  $\mu\text{IU}/\text{ml}$  であった。

## V. 考 案

本キットは、Tube の内壁にモノクローナル抗体が、また Tracer にはポリクローナル抗体が結合されており、この二つの抗体が TSH と結合してサンドイッチを形成することにより血中 TSH が測定される。このような測定原理の改良や、特異性の高い抗体を用いることにより TSH の測定感度が上昇した。さらに本法は簡便かつ短時間に施行でき、日常の臨床的使用に適していると考えられた。

基礎的検討では、インキュベーション時間は、キットに指示されている 90 分で良好な結果が得ら

れることを確認した。インキュベーション温度も  $37^{\circ}\text{C}$  で最も良好な結果が得られた。

同一測定内および異なる測定間での測定値の再現性は、いずれもきわめて良好であった。

測定感度は  $0.07 \mu\text{IU}/\text{ml}$  であり、現在市販されている TSH キットの測定感度が  $1\sim2 \mu\text{IU}/\text{ml}$  前後である<sup>1,3)</sup> ことと比較して高感度といえる。また、他社の高感度 TSH キットの測定感度も  $0.05 \mu\text{IU}/\text{ml}$  前後である<sup>7)</sup> ことから、臨床応用上、ほぼ同程度の対応が可能だと考える。

添加 TSH の回収率は満足すべきものであった。また血清の希釈曲線も直線性を示した。したがって、本法による測定値は内因性 TSH をよく反映するものと考えられた。抗体の特異性に関しては、hCG とは交叉反応は認められず、FSH と LH でも交叉反応はごく軽度であったため、臨床的に考えられるこれらホルモン濃度の TSH 測定値に与える影響は無視し得ると考えられた。

本キットにより測定した血清 TSH 濃度は正常人で  $0.32\sim3.84 \mu\text{IU}/\text{ml}$  に分布し、平均  $1.00\pm0.70 \mu\text{IU}/\text{ml}$  であった。これまでの報告にみられる TSH の正常平均値とその分布は、それぞれ  $1.48\pm0.65 (\text{S.D.})$ 、 $0.31\sim3.20^{6)}$ 、 $1.49\pm0.10 (\text{S.E.})$ 、 $0.50\sim4.50^{8)}$  および  $2.0\pm0.2 (\text{S.E.})$ 、 $0.5\sim5.6 \mu\text{IU}/\text{ml}^{9)}$  であり、本法による測定値の方が若干低値の傾向にあった。他社の高感度 TSH キットでは  $1.19\pm0.81 (\text{S.D.})$ 、 $0.21\sim5.23 \mu\text{IU}/\text{ml}^{7)}$  であったことからも、ほぼ同程度の値であった。

未治療バセドウ病では、ほぼ全例で測定感度以下を示し、正常人との重なりは認められなかった。従来の測定法では、TSH 値による正常人とバセドウ病患者との鑑別は困難であったが、本法によりそれが可能となった。また高感度 TSH アッセイによる TSH 基礎値と TRH テストの結果が一致することにより、甲状腺機能亢進症の診断には TRH テストの必要性が少なくなったとの報告<sup>10)</sup>があり、本法を用いた場合も同じであると思われた。

亜急性甲状腺炎の急性期ではほとんどの例で血中 TSH は低値であり、甲状腺ホルモン上昇後短

期間内に下垂体-甲状腺系のフィードバック機構により、TSH 分泌が抑制されることが示唆された。

hCG が高値となる妊娠初期において、本測定法の抗体と hCG との交叉反応は認められないことから、hCG の本キットにおける TSH 値への影響は無視できると考えられ、free T4 や free T3<sup>11)</sup>とともに妊娠時の甲状腺機能の指標になると考えられた。

本キットと従来の TSH キット「第一」との比較では、両キットによって得られた TSH 値との間には、良好な相関関係を認め、さらに TSH キット「第一」では測定感度以下の例でも本キットでは測定可能であった。さらに最近開発された TSH キット「第一」 II とも良い正の相関が認められた。

## VI. 結 語

Ventrex TSH キットについて基礎的ならびに臨床的検討を行い、以下のような結論を得た。

(1) インキュベーションの条件としては  $37^{\circ}\text{C}$ 、90分間のときに良好な結果が得られた。

(2) 抗体の特異性は良好で、回収率、希釈試験の結果も満足でき最低測定感度は  $0.07 \mu\text{IU}/\text{ml}$  であった。

(3) 測定値の再現性は、同一測定内および異なる測定間ともに良好であった。

(4) 正常人の平均値は  $1.00\pm0.70 \mu\text{IU}/\text{ml}$  であり、未治療バセドウ病の値より有意に高く、TSH 基礎値のみで正常人と未治療バセドウ病との区別が可能であった。

(5) 他の高感度 TSH 測定キットによる測定値とも良い相関関係が認められた。

キットをご提供頂いたトラベノール社に感謝します。

## 文 献

- 1) 小西淳二、高坂唯子、飯田泰啓、他：Radioimmunoassay によるヒト血清 TSH の測定—ThyroShure キットの検討—。核医学 **18**: 995-1001, 1981

- 2) 森 徹, 笠木寛治, 遠藤啓吾, 他: TSH(付, LATS および TSI). 日本臨床 **34**: 2212, 1975
- 3) 海瀬和郎, 海瀬信子, 吉田克己, 他: RIA-gnost TSH テストキットの使用経験. 核医学 **18**: 555-559, 1981
- 4) 伴 良雄, 田上光益, 飯野史郎: アマレックス TSH キットによる血中 TSH 濃度測定法の基礎的なならびに臨床的検討. 核医学 **20**: 223-229, 1983
- 5) Pekary AE, Hershman JM, Parlow AF: A sensitive and precise radioimmunoassay for human thyroid-stimulating hormone. J Clin Endocrinol Metab **41**: 676-684, 1975
- 6) 森 徹, 玉木長良, 石原 隆, 他: TSH ラジオイムノアッセイにおける高感度測定法の検討ならびにその臨床的意義. 日内分泌会誌 **56**: 1231-1239, 1980
- 7) 板垣洋一, 桜田俊郎, 吉田克己, 他: 高感度 TSH 測定 RIA kit RIA-gnost hTSH の基礎的および臨床的検討. 核医学 **23**: 439-446, 1986
- 8) Wehmann RE, Rubenstein HA, Pugeat MM, et al: Extended clinical utility of a sensitive and reliable radioimmunoassay of thyroid-stimulating hormone. Southern Med J **76**: 969-976, 1983
- 9) 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
- 10) 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
- 11) 桜田俊郎, 吉田克己, 深澤 洋, 他: Free T<sub>3</sub> の甲状腺機能異常症診断上の意義. ホルモンと臨床 **33**: 81-100, 1985