

## 化学発光免疫測定法による乾燥濾紙血液中 TSH の 測定と妊婦スクリーニングへの導入

扇谷 陽子 三上 篤 荒井 修 福士 勝  
清水 良夫 菊地由生子

### 要 旨

乾燥濾紙血液をサンプルとした妊婦甲状腺機能検査に化学発光免疫測定法 (CLIA) による TSH 測定法を導入し、1年間スクリーニングを実施した。この方法は検出感度が  $0.14 \mu\text{IU}/\text{ml}$ 、測定内及び測定間の変動係数が  $2.9-7.7\%$  と高感度で再現性が良く、スクリーニングされた妊婦の TSH 値を妊娠週数別に比較すると、妊娠前期にその平均値の減少が認められた。FT<sub>4</sub> 高値のバセドウ病妊婦では、TSH 値が感度以下に抑制され、甲状腺機能低下症の検出率は従来法とほとんど変わらなかった。

### 1. 緒 言

TSH の検出感度は、数年前まで  $2 \mu\text{IU}/\text{ml}$  程度であったが、最近著しく進歩している<sup>1)</sup>。その中でも検出系に吸光度法や蛍光法より高感度な化学発光法を用い、特異性の高い抗原抗体反応を組み合わせた CLIA は感度が高く、この CLIA を主原理とするベリラックス TSH の最小検出感度は  $0.005 \mu\text{IU}/\text{ml}$  と報告されている<sup>2),3)</sup>。札幌市では平成 4 年 4 月より妊婦甲状腺機能検査における TSH 測定にこの方法を導入した。そこでこの測定方法と一年間のスクリーニング結果について報告する。

### 2. 材 料

#### 2-1 キットの構成

測定にはベリラックス TSH (ペーリングベルケ社) を用いた。このキットは

- アクリジニウムアシルスルホンアミド標識抗 TSH マウス単クローン抗体
  - 抗 TSH マウス単クローン抗体固相チューブ
  - 標準品
  - 洗浄剤
- により構成されている。

#### 2-2 サンプル

サンプルは洗浄赤血球に標準溶液を加えて作成した乾燥濾紙血液及び妊婦甲状腺機能スクリーニングに使用した乾燥濾紙血液を用いた。

### 3. 方 法

測定操作は以下に示すとおりで、キットの仕様書による方法では血清  $100 \mu\text{l}$  を使用するところを、乾燥濾紙血液検体  $4.3 \text{ mm}$  ディスク 1 枚とリン酸緩衝生理食塩液 (以下 PBS と略)  $100 \mu\text{l}$  とする点のみ変更した。

#### 3-1 操作方法

- チューブに乾燥濾紙血液検体  $4.3 \text{ mm}$  ディスク 1 枚をパンチする
- PBS  $100 \mu\text{l}$  及びトレーサー溶液  $200 \mu\text{l}$  を分注する。
- 室温で 2 時間振盪し、溶出及び反応を行う。
- 濾紙を除き洗浄する。
- 測定装置 (ペーリングベルケ社 Berilux Analyzer 250) にチューブをセットし、 $0.5\%$  過酸化水素溶液及び  $1\%$  水酸化ナトリウム溶液各  $300 \mu\text{l}$  を分注、発生する光子量を測定する。
- 標準曲線より測定値を算出する。

### 4. 結果と考察

#### 4-1 標準曲線

標準曲線は、TSH 標準品に洗浄赤血球を加えて作成したスタンダード 6 点により作成した。この標準曲線は図 1 に示すとおり、最高濃度の  $52.0 \mu\text{IU}/\text{ml}$  (血清値) までほぼ直線となった。

#### 4-2 測定感度

$0 \mu\text{IU}/\text{ml}$  の発光強度 ( $n=8$ ) の平均値  $+2 \text{ S.D.}$  より求めた測定感度は  $0.14 \mu\text{IU}/\text{ml}$  であった。

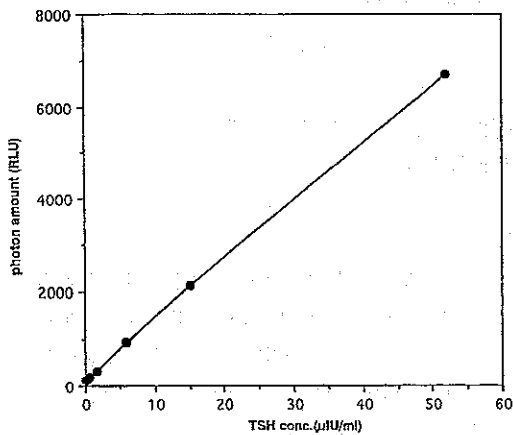


図1 標準曲線

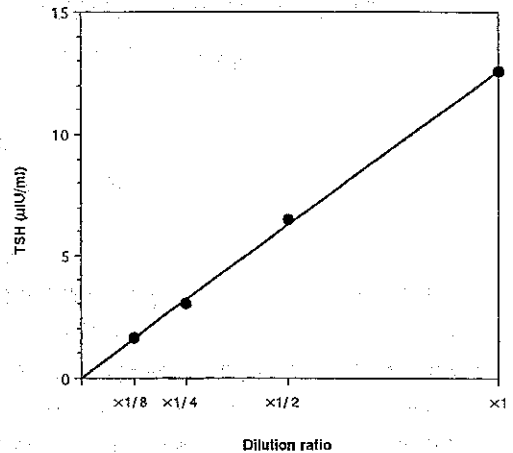


図2 希釈試験

#### 4-3 再現性

測定の内再現性は、測定内と測定間の変動係数 (n=8) が表1に示すとおり2.9-7.7%と低く、良好であった。

#### 4-4 希釈試験

乾燥濾紙血液から溶出したサンプルを2-8倍に希釈して測定したところ、図2に示すとおり、ほぼ直線関係が得られた。

#### 4-5 保存安定性

サンプルを-20, 4, 25, 37°Cで1カ月間保存し、保存安定性を調べた。結果は図3に示すとおり、4°Cで保存した場合には安定であったが、37°Cでの保存では1カ月で4割近く測定値が低下した。

#### 4-6 他法との相関

妊婦78名のTSH値を従来用いていたデルフィアTSHでの測定値と比較した。結果は図4に示すとおり

り回帰直線  $Y=0.81X+0.74$  (X:デルフィアTSH, Y:ベリラックスTSH)、相関係数  $r=0.88$  の良好な相関関係を認めた。

#### 4-7 妊娠週数別の平均値

スクリーニングを実施した妊婦のうち、FT<sub>4</sub>が0.6-2.2 ng/dlの範囲にありTSH値がカットオフ値(6.0 μIU/ml)以下の妊婦5583名の平均値及びS.D.値は  $1.5 \pm 1.2 \mu\text{IU/ml}$  で、妊娠週数別に分類した平均値は、図5に示すとおり妊娠週数7週目からその平均値が減少し、17週目からほぼ一定となった。

#### 4-8 甲状腺機能異常者の測定値

TSH低値の甲状腺機能異常者の測定状態を調べる目的で、平成3年度デルフィアTSHで測定していた際にスクリーニングで発見された甲状腺機能亢進症19例のTSH値を本法で測定した。その値は全て測定感度以下に抑制されていた。また、平成4年度本方法を使用してのスクリーニングで発見した14例も同様であった。次にTSH高値の甲状腺機能異常者の測定状態を調べる目的で平成3年度スクリーニングにより発見された甲状腺機能低下症13例について測定した。これらはいずれもカットオフ値を越える高値であった。平成4年度は、スクリーニングでカットオフ値を越える高値で、精密検査結果の報告で甲状腺機能低下症と診断されている妊婦は、現在までのところ11例である。

表1 測定内及び測定間の変動

assays	No.	TSH concentration (Mean±S.D.) (μIU/ml serum)	C.V (%)
intraassay			
sample 1	8	5.1±0.3	5.9
sample 2	8	10.3±0.3	2.9
interassay			
sample 3	8	5.2±0.4	7.7
sample 4	8	10.7±0.8	7.5

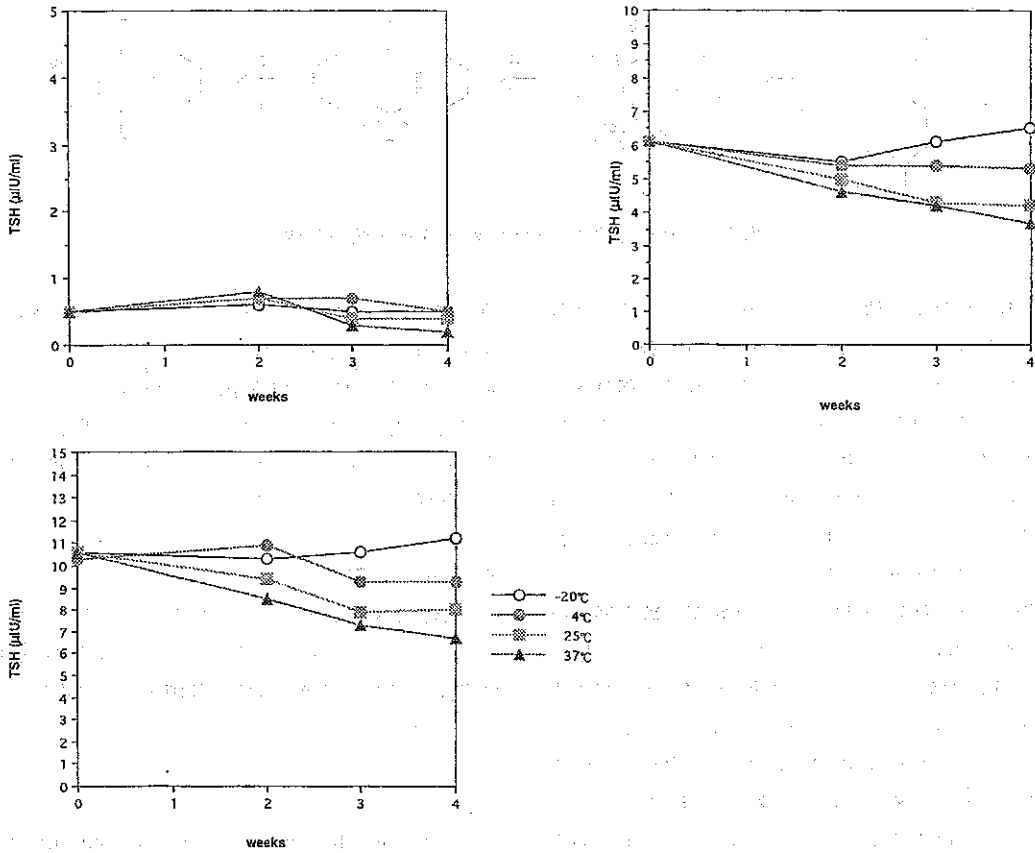


図3 保存試験

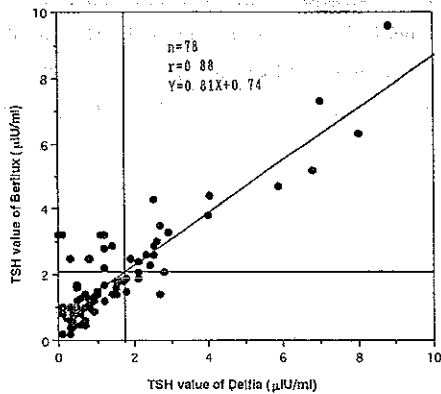


図4 デルフィア TSH とベリラックス TSH における TSH 値の相関

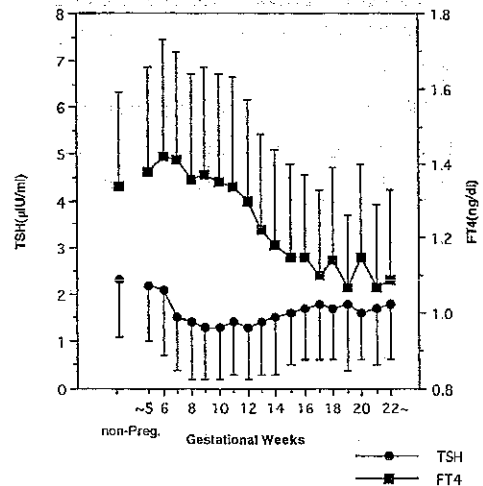


図5 妊娠週数による FT<sub>4</sub> 値と TSH 値の推移

## 5. 考 察

ベリラックス TSH における発光反応は、図 6 に示すとおりアクリジニウムアシルスルホンアミドをアルカリ性下過酸化水素で酸化することにより励起させ、

励起状態の N-メチルアクリドンが基底状態に戻るときに光子を発生するもので、単純な酸化反応による発

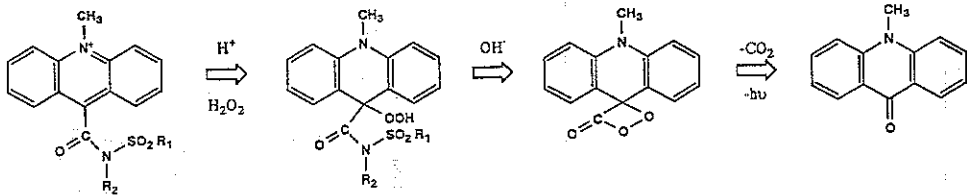


図6 ペリラックス TSH における化学発光反応

光であるため反応を妨害する可能性のある触媒の添加を必要としない。さらに発光は、わずか0.2秒位でピークに達し約2秒で終了するため迅速に検体を処理することができる。また、このキットのイムノアッセイは高感度なサンドイッチ法で、チューブとトレーサーにTSH- $\beta$ -サブユニットに特異的なマウス単クローン抗体を用いている。以上によりこの方法では高感度で再現性の高い測定が可能となる。

従来法では、妊婦のTSH値は全妊娠週数を通じほとんど変化が認められなかったが、本方法の使用により、FT<sub>4</sub>が軽度上昇する妊娠前期にTSHが減少する傾向が認められた。このことは、血清値での報告<sup>5)</sup>と合致するものでありTSHが高感度に測定されていることを示すものと考えられる。また、FT<sub>4</sub>が高値でスクリーニングにより発見された未治療のバセドウ病患者のTSH値が平成3年及び平成4年スクリーニング分について全例測定感度以下に抑制されていたことも本方法が高感度に精度良く測定されていることを示すものと考えられる。

TSH高値の測定に関しては、平成3年度デルフィアTSHにより測定していた際にスクリーニングで発見された甲状腺機能低下症の測定値が全てカットオフ

値を越えていたことから良好と考えられる。さらに平成4年度の検出率0.14% (11例) とスクリーニング開始来1992年3月までの検出率0.14%が等しいことから測定方法の変更はスクリーニングに影響がないと考えられる。しかしこの点については今後もデータを蓄積し比較を続けたいと考えている。

## 6. 結 語

化学発光を主原理としたTSH測定法を導入し一年間スクリーニングした。その結果、本方法は高感度で再現性が高く、甲状腺機能を評価する上で有用であることが知れた。

## 7. 文 献

- 1) 内海英正・医学のあゆみ, 157(1), 58-61, 1991.
- 2) 福村幸仁, 他・新薬と臨床, 42, 648-655, 1993.
- 3) 小林功・臨床検査, 37(6), 591-596, 1993.
- 4) Fukushi, M., et al: Progress in thyroidology, Korea medical publishing Co. Ltd, 379-382, 1989
- 5) 市原清志, 他・ホルモンと臨床, 35(6), 691-698, 1987.

# Immunochemiluminometric Assay of TSH in Dried Blood Samples and Its Application to Thyroid Function Screening in Pregnant Women.

Yoko Ogiya, Atushi Mikami, Osamu Arai,  
Masaru Fukushi, Yoshio Shimizu, Yuko Kikuchi

We evaluated TSH analysis of dried blood samples by using an immunochemiluminometric assay kit which is used in TSH analysis of serum samples.

This method was considered sensitive (the minimal detectable level:  $0.14\mu\text{U/ml}$ ), and the reproducibility was adequate for practical use (C. V.: 2.9–7.7%).

From the results obtained from screening pregnant women's thyroid function, we were able to detect a reduction in the TSH mean value in early pregnancy. Detection of hypothyroidism was the same as in previous methods.

These results demonstrate that this method is useful and practical for screening thyroid function in pregnant women.