

クレチン症スクリーニングにおける基準物質の問題(2)

—リコンビナント-h-TSHのロット差の検討—

(分担研究：外部標準検体の作成、発送、回収)

成瀬 浩<sup>1)</sup>、鈴木恵美子<sup>1)</sup>、五十嵐優子<sup>1)</sup>、渡辺倫子<sup>1)</sup>、入江 實<sup>2)</sup>、上芝 元<sup>2)</sup>

【要約】 人の下垂体より抽出されたTSHは、その個体により差があり、また、その力価は、NIHやWHOより配布されている高純度TSHを基準にして測定されるが、全く同一の力価を持つTSHを得るのは難しい。最近、安定したTSHの供給のため、mammalian cell cultureによるリコンビナント-h-TSH(R-hTSH)が市販された。1997年になり、アメリカのNational Academy of Clinical Biochemistryのガイドラインは、標準物質としてR-hTSHの使用を推薦した。我々は、1996年度よりR-hTSHの使用の可否について検討を開始し、今年、Genzyme社のR-hTSHのロット差(D50120、M21831、M22269)についての検討を実施した。その結果、R-hTSHの2ロット(D50120、M21831)は、NIH-TSHにほぼ近似していると考えられ、そのロット差は、10%程度であったが、この2ロットとM22269の間には30%以上の差があった。M22269のSpecific Activityは、他ロットの65%であり、もし仮にSpecific Activityに差がないとすれば、この3ロットは一致するのではないかと考えられるが、ロット差の原因については、今後の検討が必要である。ロット差が改善され、安定したロットの供給が可能になれば、R-hTSHが使用できると考えている。

見出し語：新生児マスキング、標準物質、リコンビナント-h-TSH、ロット差

【研究方法】

表1には、今回使用したR-hTSHを示した。Genzyme社より入手したD50120、M21831、M22269の3ロットである。3ロットとも1mlのイオン交換水にて溶解し、-80℃にて保存した。

M22269のSpecific Activityは、他のロットと比べ低いと記されており他の2ロットの平均の約65%となる。

濾紙血基準物質の作製には、当施設で調整したヘマトクリット55%の人全血に、R-hTSH液を血液量の1%加え9濃度(0.5、1、3、6、10、20、30、50、100 $\mu$ U/ml)を作製した。

1) 杏林大学 東京総合医学研究所

2) 東邦大学 第一内科

測定には、国内で市販されているA、B、C、3社のELISAキットを用い、杏林大学作製の精度管理検体 (Lot. T9707、以下精度管理検体と略) を測定した。検体は、K-I、K-II、K-III、K-IVの4濃度 (TSH5、8、16、37  $\mu$ U/m l) である。

【結果】

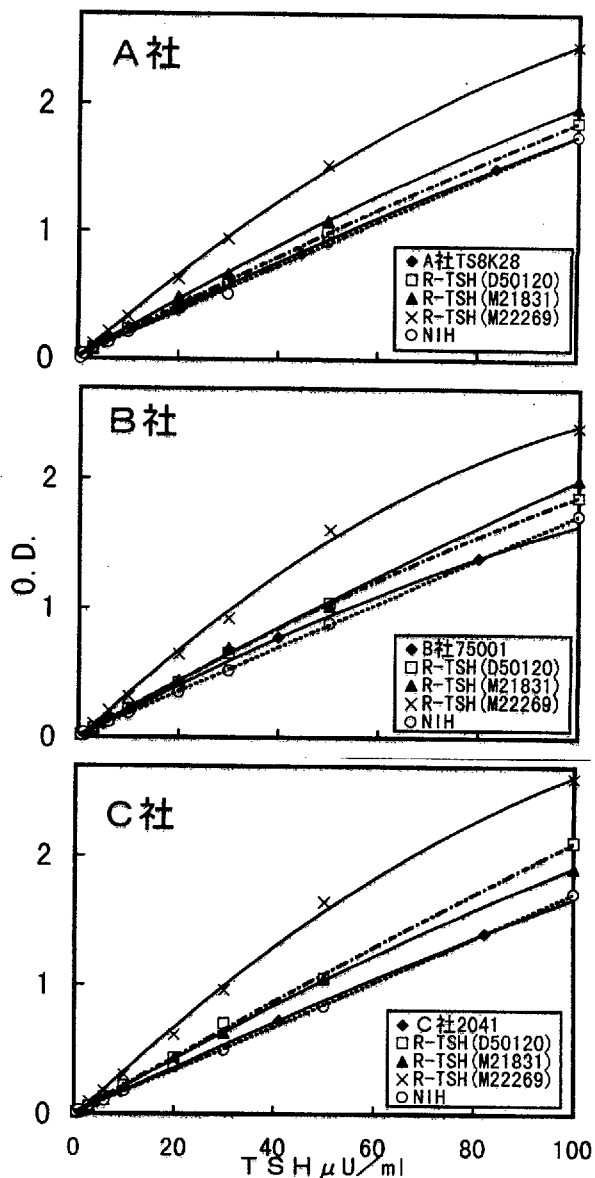
図に、各社キットを用いて得た基準曲線を示した。上段はA社の試薬を使用した場合で、1つのグラフの中には、キット添付のもの、R-hTSHの3ロット、および NIH と合計5種の濾紙血基準曲線を示した。図中の◆実線は、キット添付、□破線はR-hTSH(D50120)、▲実線はR-hTSH(M21831)、×実線はR-hTSH(M22269)、○点線は、NIHのTSH基準曲線である。同様に、B、C、社の試薬を使用した場合の結果を示した。各社ともR-hTSH(M22269)の基準曲線が他と比較し著しい差を示した。

表2には、各社キットを用い、精度管理検体を前述の5種の基準曲線 (キット添付のもの、R-hTSHの3ロットおよびNIH) より測定した値を示した。A、B、C社の試薬で、K-IからK-IVまでの4濃度 (TSH5、8、16、37) の精度管理検体を測定した結果である。各社ともR-hTSH(M22269)より得た値が著しく異なった。

この表をわかりやすくするために R-hTSH(D50120) による精度管理検体の値を100として、他の4種のTSHによる測定値の比を求めた (表3)。上段からA、B、C社、精度管理検体は、K-IからK-IVまでの4濃度 (TSH5、8、16、37) である。

カットオフ値に近いK-IIを読んだとき、A社

図 基準曲線



における測定値比は、M22269の場合63%、その他は90~108%であった。B社における測定値比は、M22269の場合67%、NIHでは117%その他は96、110%であった。C社における測定値比は M22269の場合68%、キット添付及びNIHでは117%、113

%であった。

【まとめ】

以上のように、Genzyme社のD50120とM21831を比較した場合、その差は各社試薬で±10%以内であるが、M22269との間には、32から37%の差が認められた。D50120とM21831の2ロットに関しては、NIHにほぼ近似しているのではないかと考えられる。

遺伝子組み替え技術によって作製されたTSHは、ロット差の少ない事が期待されるが今回R-hTSHとして、Genzyme社より入手したD50120、M21831、M22269の3ロットの検討を行ったところでは、ロット差が確認された。表1で示したようにM22269のSpecific Activityは、他2ロットの約65%であり、仮にSpecific Activityに差がないとすれば、この3ロットは一致すると考えられる。ロット差の原因分析のためには、Specific Activityの測定法の再検討の必要性も指摘されており、今後の研究が必要である。ロット差が改善され、安定したロットの供給が可能になれば、R-hTSHの使用により、現状の各社毎の基準物質の差による問題が改善されると考えている。

表1

Lot.No	Specific Activity IU/mg protein	Amount μg protein/vial	Purity % by SDS PAGE
D50120	7.15	112.6	>95
M21831	8.7	100	>95
M22269	5.50	100	>95

(Genzyme社による)

表2 杏林精度管理検体測定値

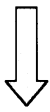
	K-I	K-II	K-III	K-IV
<b>A社 TS8K28</b>	5.42 ± 0.19	8.76 ± 0.79	16.12 ± 0.58	39.33 ± 1.40
R-TSH(D50120)	4.94 ± 0.30	8.13 ± 0.64	15.25 ± 0.85	37.40 ± 1.35
R-TSH(M21831)	4.44 ± 0.30	7.28 ± 0.59	13.53 ± 0.87	33.34 ± 1.66
R-TSH(M22269)	3.26 ± 0.26	5.16 ± 0.43	9.41 ± 0.58	23.01 ± 0.65
NIH*	5.41 ± 0.35	8.18 ± 0.30	16.62 ± 0.93	39.21 ± 0.52
<b>B社 63001</b>	5.33 ± 0.12	8.36 ± 0.22	15.54 ± 0.48	37.39 ± 1.49
R-TSH(D50120)	4.80 ± 0.22	7.59 ± 0.36	14.24 ± 1.24	33.91 ± 1.15
R-TSH(M21831)	4.49 ± 0.22	7.29 ± 0.29	13.92 ± 0.91	33.58 ± 1.66
R-TSH(M22269)	3.37 ± 0.04	5.12 ± 0.26	9.21 ± 0.58	21.59 ± 1.52
NIH*	5.42 ± 0.21	8.89 ± 0.00	16.38 ± 0.39	40.12 ± 1.57
<b>C社 2041</b>	4.98 ± 0.23	7.53 ± 0.73	15.35 ± 0.77	38.10 ± 1.18
R-TSH(D50120)	4.20 ± 0.19	6.46 ± 0.71	13.35 ± 0.55	32.84 ± 1.04
R-TSH(M21831)	4.66 ± 0.26	6.99 ± 0.65	14.12 ± 0.49	34.46 ± 0.40
R-TSH(M22269)	3.18 ± 0.16	4.37 ± 0.24	8.81 ± 0.54	21.18 ± 1.09
NIH*	4.62 ± 0.78	7.31 ± 0.80	15.55 ± 0.84	39.14 ± 1.79

Lot. T9707 n=5, \*印は、n=2 (TSH μU/ml)

表3 杏林精度管理検体の測定値比

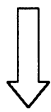
	K-I	K-II	K-III	K-IV
<b>A社 TS8K28</b>	110	108	106	105
R-TSH (D50120)	100	100	100	100
R-TSH (M21831)	90	90	89	89
R-TSH (M22269)	66	63	62	62
NIH*	110	101	109	105
<b>B社 75001</b>	111	110	109	110
R-TSH (D50120)	100	100	100	100
R-TSH (M21831)	94	96	98	99
R-TSH (M22269)	70	67	65	64
NIH*	113	117	115	118
<b>C社 2041</b>	119	117	115	116
R-TSH (D50120)	100	100	100	100
R-TSH (M21831)	111	108	106	105
R-TSH (M22269)	75	68	66	64
NIH*	110	113	116	119

Lot. T9707 n=5, \*印は、n=2 (96)  
R-TSH (Lot. D50120)で読んだK-I~K-IVの値を100として他を読んだときの割合



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



【要約】 人の下垂体より抽出された TSH は、その個体により差があり、また、その力価は、NIH や WHO より配布されている高純度 TSH を基準にして測定されるが、全く同一の力価を持つ TSH を得るのは難しい。最近、安定した TSH の供給のため、mammalian cell culture によるリコンビナント-h-TSH(R-hTSH)が市販された。1997 年になり、アメリカの National Academy of Clinical Biochemistry のガイドラインは、標準物質として R-hTSH の使用を推薦した。我々は、1996 年度より R-hTSH の使用の可否について検討を開始し、今年、Genzyme 社の R-hTSH のロット差(D50120、M21831、M22269)についての検討を実施した。その結果、R-hTSH の 2 ロット(D 50120、M21831)は、NIH-TSH にほぼ近似していると考えられ、そのロット差は、10%程度であったが、この 2 ロットと M22269 の間には 30% 以上の差があった。M22269 の Specific Activity は、他ロットの 65%であり、もし仮に Specific Activity に差がないとすれば、この 3 ロットは一致するのではないかと考えられるが、ロット差の原因については、今後の検討が必要である。ロット差が改善され、安定したロットの供給が可能になれば、R-hTSH が使用できると考えている。