

エンザイムイムノアッセイによる

汙紙血液中 TBG 測定法の開発

宮 井 潔 , 畑 直 成 , 伊 藤 正 雄
(大阪大 臨床検査診断学)

研 究 目 的

クレチン症マスキングにおいて、とくにサイロキシン (T_4) を指標とする場合、サイロキシン結合グロブリン (TBG) 欠損 (減少) 症による偽陽性をさけるため、汙紙血液中 TBG のラジオイムノアッセイ (RIA) による測定が行なわれている。しかし、多数検体を処理しなければならないマスキングにおいては、RI を用いないことが望ましい。そこでわれわれはエンザイムイムノアッセイ (EIA) 法を開発した。

研 究 方 法

TBG は健常人血清より、affinity chromatography を用いて精製した。次に m-maleimido-benzoyl-N-hydroxysuccinimide (MBS) を用いて、TBG と β -galactosidase (GAL) を結合させた。

標準汙紙血液は、洗滌血球と、TBG free serum (affinity chromatography で作製) とを等量混じ、汙紙上にスポットしたものをを用い、その TBG 濃度は、血清当りとして表現した。

操作方法は、標準または被検体の血液汙紙ディスク 3 mm 径 2 枚をとり、抗 TBG 含有正常家兔血清溶液 200 μ l を加え、室温 30 分間静置後、TBG-GAL 結合物 100 μ l を加え、室温 20 時間静置した。次いで抗家兔 γ グロブリン山羊血清 (第二抗体) 100 μ l を加え、30 分静置後、洗滌液 3 ml を加え、1000 g 30 分遠心後、沈殿を 2 回洗滌した。次いで基質 O-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside (メタノール含) を入れ、37°C 2 時間反応後、NaCO₃ 液 1 ml を加え、405 nm で比色した。

研 究 結 果

- 1) 標準曲線 3.3 ~ 52 μ g/ml の範囲で測定可能であった。(図 1)
- 2) 汙紙血液を種々な条件で保存して、EIA による TBG 測定の安定性をみたが、乾燥状態なら室温 4 週間保存での変化は 15 % 以内であった。(図 2)
- 3) 測定内、同時再現性は C.V. 4.0 ~ 9.9 % , 測定間、日差再現性は C.V. 4.8 ~ 6.8 % であった。
- 4) 26 検体について本 EIA 法による汙紙血液中 TBG 濃度 (X) (血清当り) と、血清中 TBG を EIA で測定した値 (Y_E) および RIA で測定した値 (Y_R) との相関をみると、 $Y_E = 0.81 X - 1.01$, $r = 0.96$; $Y_R = 0.96 X - 2.05$, $r = 0.95$ という結果を得た。(図 3)

5) 各種濾紙血液中TBGを本EIA法で測定した結果は、健常成人(10例) $23.9 \pm 6.8 \mu\text{g}/\text{ml}$, 健常新生児(10例) $26.5 \pm 4.2 \mu\text{g}/\text{ml}$, 妊婦(10例) $50.0 \pm 11.2 \mu\text{g}/\text{ml}$, TBG減少症(10例) $3.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ (測定感度)以下であった。

考 察

われわれの開発したTBG・EIA法は、操作はまだ繁雑ではあるが、RIを用いず、濾紙血液中TBGを $3.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ の感度で測定することができる。また濾紙中TBGは乾燥状態なら安定で郵送可能であり、測定の再現性も変動係数10%以内と良好である。血清TBGともよく相関した。したがってクレチン症マスキングで、 T_4 を指標とした際、もし T_4 が低値の場合、TBG減少症を診断して偽陽性を少なくするという目的には応用できるものと思われる。

文 献

- 1) K. Miyai, M. Ito, N. Hata : Enzyme immunoassay of thyroxine-binding globulin. Clin. Chem. 28 : 2408 ~ 2411. 1982.
- 2) N. Hata, M. Ito, H. Mizuta, O. Nose, K. Miyai : Enzyme immunoassay of thyroxine-binding globulin in dried blood samples on filter paper. Clin. Chem. 29 : 1437 ~ 1440. 1983.

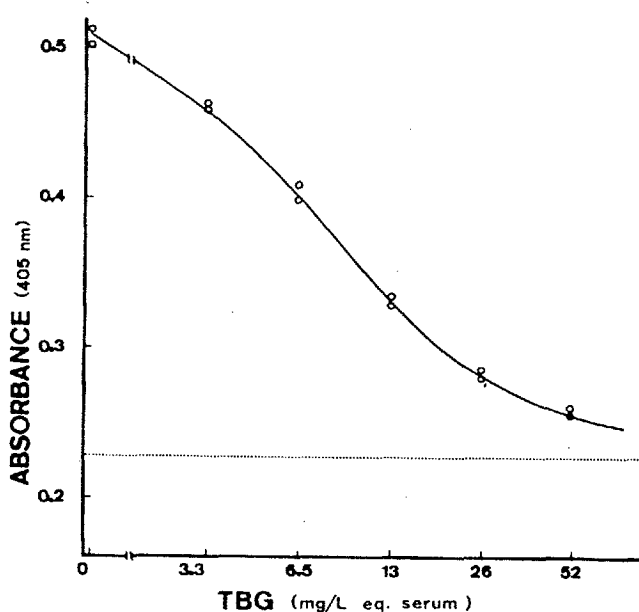


図1. TBG エンザイムノアッセイ(濾紙血液)の標準曲線..... Blank 値

図2. 保存による滌紙血液中

TBG の安定性

- 20 °C (△ ▲)

室 温 (□ ■)

30 °C (○ ●)

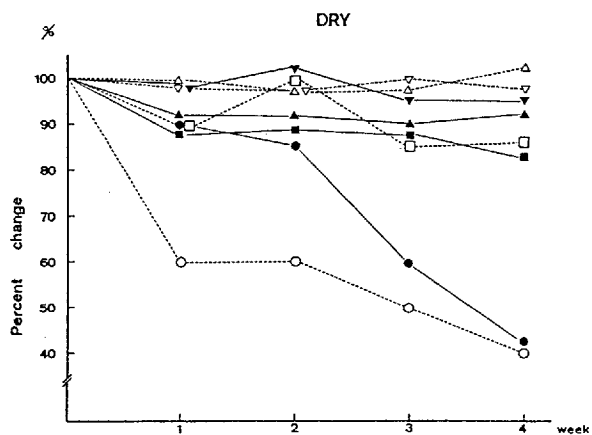
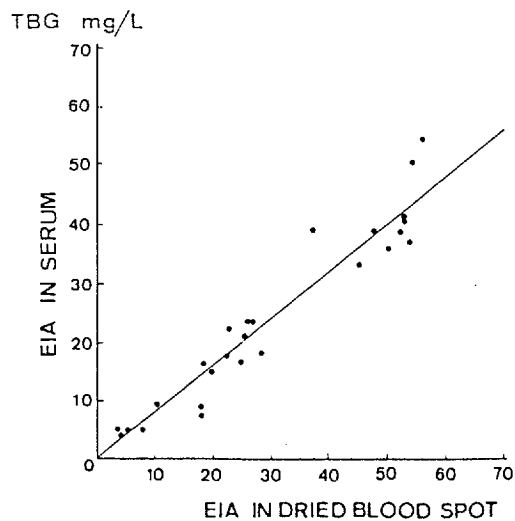
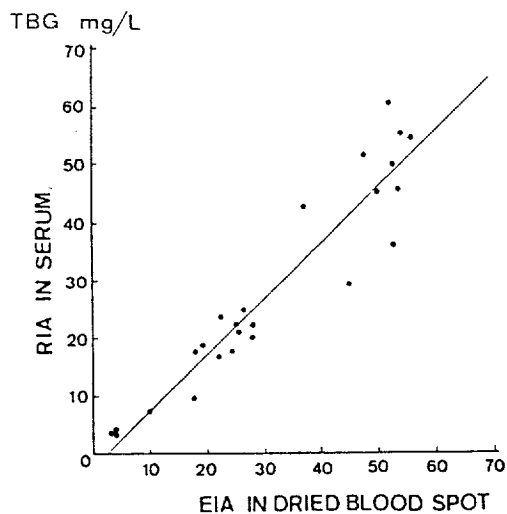


図3. EIAとRIAの相関

滌紙血液TBG→EIA (x)

血清TBG →RIA (Y_R)

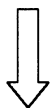
血清TBG →EIA (Y_E)





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



研究目的

クレチン症マススクリーニングにおいて、とくにサイロキシン(T4)を指標とする場合、サイロキシン結合グロブリン(TBG)欠損(減少)症による偽陽性をさけるため、ろ紙血液中 TBG のラジオイムノアッセイ(RIA)による測定が行なわれている。しかし、多数検体を処理しなければならないマススクリーニングにおいては、RI を用いないことが望ましい。そこでわれわれはエンザイムイムノアッセイ(EIA)法を開発した。