

## Delfia TSH kit を用いる乾燥濾紙血及び血中 TSH 測定

鈴木麻美、宮地幸隆、大和尚子、日下部真理子、松戸秀子、松井一雄、  
金子 浩、布施養善、難波 修、入江 実

(研究目的)

Radioimmuno assay 法 (以下RIA) の開発によりホルモンをはじめ、多くの微量物質の測定が可能となった。しかし、TSH などでは、新生児期及び病的状態などの変動を知る為には、現在行なわれている TSH RIA より高感度の測定が要求されている。今回私達は、高感度の flunroimmunometric assay (以下FIMA) を用いて<sup>1)</sup>、血中及び乾燥濾紙中の TSH を測定したので報告する。

(研究方法)

対象：新生児乾燥濾紙血及び血清、健康正常人乾燥濾紙血、老人性痴呆患者血清、植物状態患者血清を用いて、TSH を測定した。

方法：TSH の FIMA としては、sandwich 法である DELFIA kit (LKB 社) を用いた。この FIMA では、抗 TSH monoclonal 抗体を固有化した microwell に、europium chelate で標識した抗 TSH 抗体及び血清あるいは直径 3 mm に punch out した濾紙血 1 枚を加えて incubation 後、固相抗体-TSH 複合物に結合した europium 標識抗体の Fluorecence を測定する。なお固相化した monoclonal 抗体の europium 標識 monoclonal 抗体は TSH 上の異なった epitope を認識するものである。

microwell に試料、標準品を加え mix 後、4℃ で一夜 incubate し、ついで未反応の標識抗体などを吸引除去後、enhancement 溶液を加え、固相抗体-TSH-標識抗体複合物から europium chelate を遊離させる。ミセル状態になっている europium に 340 nm のパルス励起を行ない、613 nm の蛍光を fluornmeter

(1230 Arcus Fluorometer LKB 社) により測定した。

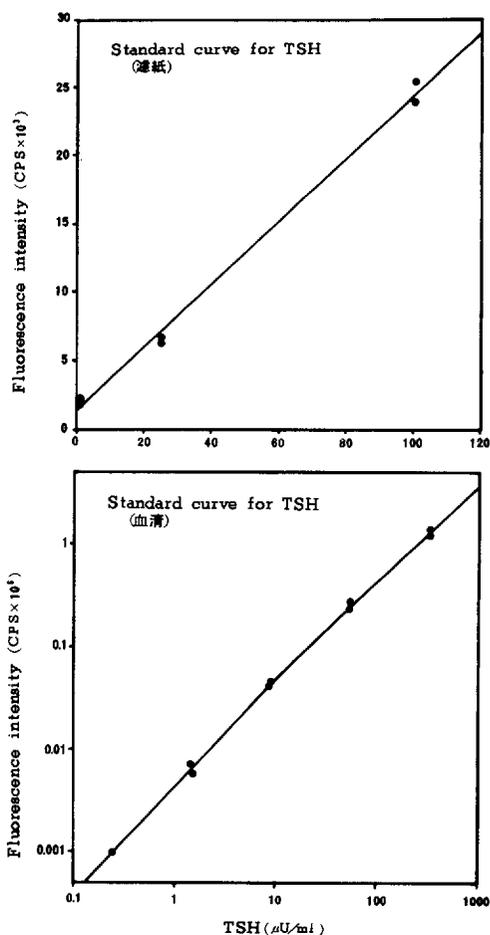


図1. 濾紙と血清を用いたFIMAの標準曲線  
(上段は濾紙、下段は血清)

濾紙血と血清を用いた際の FIMA の標準曲線は、TSH 濃度を横軸に、fluorescence intensity を縦軸にとると、直線関係になり、未知の試料中の fluorescence intensity から TSH 濃度を読みとった。(図1) 血清での TSH FIMA の感度は、 $0.1 \mu\text{U}/\text{ml}$  以下と高感度であり、また測定範囲は少なくとも  $0.25 \sim 324 \mu\text{U}/\text{ml}$  と、広い範囲が測定可能である。

(研究結果)

新生児血中 TSH を FIMA と immunoradiometric assay (以下 FIRMA) により求めた値は、よく一致し、両者の相関関係は、 $Y = 1.24X - 0.31$  であり、

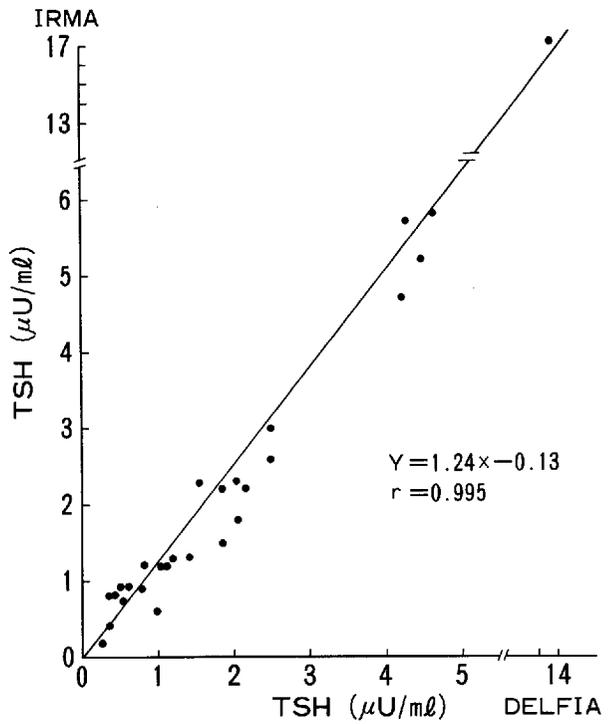


図2. 新生児血中 TSH, DELFIA と IRMA の相関

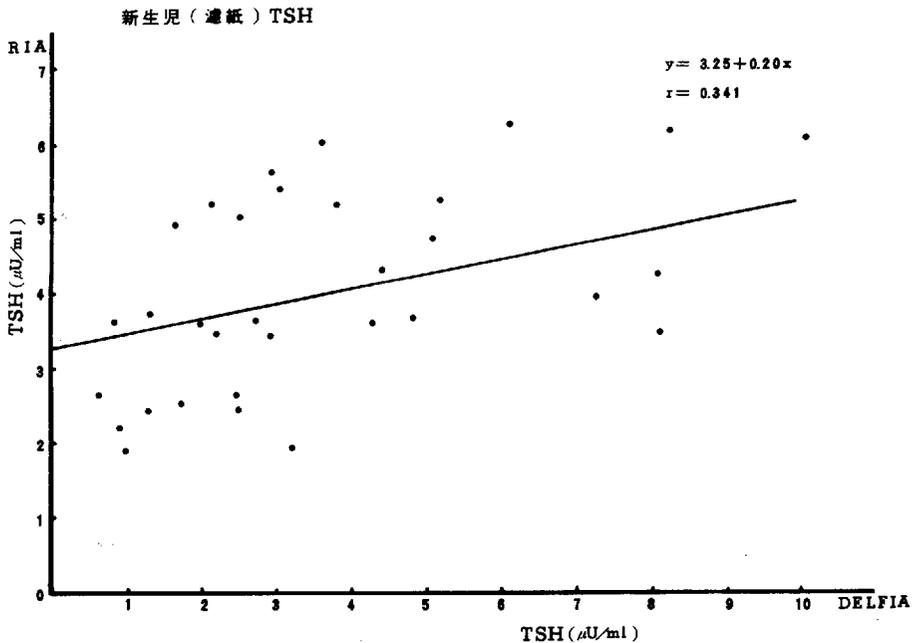


図3. 新生児濾紙血 TSH, DELFIA と RIA の相関

$r = 0.995, P < 0.01$ と極めて良好な相関関係が得られた。(図2)

濾紙血でのFIMAとRIAの相関を求めたが、弱い相関がみられた。(図3)。

同一新生児濾紙血を用いてFIMAによりTSHを、enzyme immunoassayによりFree T<sub>4</sub>を測定してみたが、低い相関を認めた。

FIMAにより23歳から54歳の健康正常人(n=69)の濾紙血でのTSHを測定し、加齢による変化をみた。平均値はそれぞれ、20歳代 $2.58 \pm 1.18$ (n=10)、30歳代 $2.26 \pm 1.35$ (n=9)、40歳代 $2.20 \pm 1.58$ (n=24)、50歳代 $3.48 \pm 1.51$ (n=6)(M±SD)  $\mu\text{u/ml}$ を示しており、以前我々がIRMAによって測定した結果<sup>2)</sup>とほぼ同様に、加齢とともに統計学的有意な変化は認めなかった。

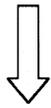
健康正常人23歳から54歳の乾燥濾紙血(n=69)植物状態患者41歳から86歳の血清(n=22)、老人性痴呆患者64歳から96歳の血清(n=59)のFIMAによりTSHを測定した。健康正常人では $2.39 \pm 1.47 \mu\text{u/ml}$ (M±SD)、植物状態患者では $2.32 \pm 1.17 \mu\text{u/ml}$ (M±SD)と差がみられなかったが老人性痴呆群では $1.32 \pm 0.90 \mu\text{u/ml}$ (M±SD)と低値傾向を認めた。老人性痴呆群を年代別にわけてみると、60歳代から90歳代の患者で、加齢による差異はなく、すべての年代で低値だった。

#### (考 按)

FIMAによるTSHの測定は、操作が簡便でアイソトープを使用する必要もなく、感度もIRMAに劣らぬ程度良好だった。高感度アッセイが要求される新生児の血中あるいは乾燥濾紙血のTSH測定にも有用であると思われる。また、老人性痴呆患者の血中TSHが低値を認めたことは、興味深く、今後TSH低値での臨床的研究においては、従来のRIAにかわってFIMAを含め高感度TSH測定により再検討される必要があると思われる。

#### (文 献)

- 1) Soini, E. Pulsed Light, Time-Resolved Fluorometric Immunoassay, In Monoclonal Antibodies and New Trends in Immunoassays, (ed. Ch. A. Bizollon), Elsevier Science Publishers B. V., 1984, p197
- 2) 金子 浩、関東 繁、坪井久美子、他：低濃度TSH測定とその臨床的意義、ホと臨34：151 - 156, 1986



**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)

Radioimmuno assay 法(以下 RIA)の開発によりホルモンをはじめ、多くの微量物質の測定が可能となった。しかし、TSH などでは、新生児期及び病的状態左どの変動を知る為には、現在行なわれている TSH RIA より高感度の測定が要求されている。今回私達は、高感度の flunroimmunometric assay(以下 FIMA)を用いて、血中及び乾燥濾紙中の TSH を測定したので報告する。