

モノクローナル抗体を用いる乾燥濾紙血液TSH測定法の
キット間及び施設間の比較
(分担研究：現行マススクリーニングのシステムの問題点に関する研究)

高杉信男*, 福士 勝**, 扇谷陽子**, 水嶋好清**,
菊地由生子**, 松浦信夫***, 藤枝憲二***

【要約】

現在国内で市販されているクレチン症マススクリーニング用の乾燥濾紙血液TSH測定キットでモノクローナル抗体を用いている5種類のキットの比較では、キット間で内因性TSHと精製標準TSHに対する反応性が異なることが示唆された。また、キット間の再現性の相違とともに、同一キットで同一ロットを用いている施設間での再現性にも大きな差が認められた。実際のスクリーニングでのカットオフ値と再採血率は各スクリーニング施設により大きく異なっていた。以上の結果から標準TSH乾燥濾紙血液作成用TSHの再検討とともに、試薬メーカーの安定したロットの供給と各スクリーニング施設の検査担当者への定期的な研修が必要と考えられた。

見出し語：クレチン症マススクリーニング、TSH、モノクローナル抗体、再現性

【研究方法】

対象スクリーニングセンターは現在国内で市販されている乾燥濾紙血液TSH測定キットで、モノクローナル抗体を用いている5種類のキット(A, B, C, D, E)を使用している20施設とした。

送付した乾燥濾紙血液検体は、TRH負荷試験で得られたC-1 ($2-3\mu\text{U/ml}$)、C-2 ($9-12\mu\text{U/ml}$)、C-3 ($35-45\mu\text{U/ml}$)の3種類と正常成人血液に精製標準TSH(Calbiochem社)を添加したC-4 ($15-25\mu\text{U/ml}$)の合計4種類とし、各スクリーニングセンターに1週間に1回合計5回送付した。結果の報告は、送付検体のTSH測定値と、同時に測定し

た新生児検体のTSHの分布、カットオフ値、再採血率についても行った。

検討項目はキット間のTSH値の比較、同一施設の測定間の再現性と同一キットの施設間の再現性、各施設の新生児検体のTSHの分布、カットオフ値と再採血率の比較を行った。

【研究結果】

1) 各スクリーニング施設の使用キットと製造ロットの変化

キットA、B、C、DはELISA法、キットEはTR-FIA法で、施設1-6はキットA、施設7-12はキットB、施設13-18はキットC、施設19はキットD、施設20はキットEを使用し

*札幌市衛生局、**札幌市衛生研究所、***北海道大学医学部小児科

ていた。20施設中10施設が5週間同一ロットを使用しており、残りの10施設も1回の変更であった(表1)。

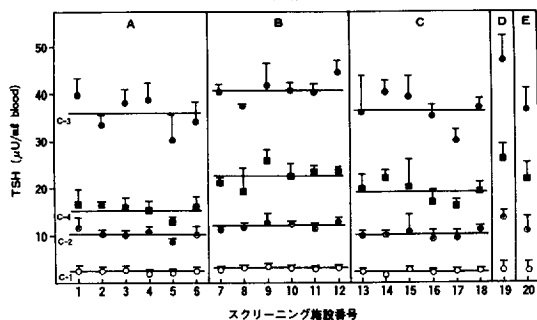
表1. 使用キットと製造ロットの変化

施設番号	使用キット	アッセイ1	アッセイ2	アッセイ3	アッセイ4	アッセイ5
1	A	T9A019K	T9CB19K	-	-	-
2	A	T2C019K	-	-	-	-
3	A	T2D5H20	T5H2E20	-	-	-
4	A	T2C019K	-	-	-	-
5	A	T2C019K	-	-	-	-
6	A	T9A019K	-	-	-	-
7	B	YL00203	-	-	YL00506	-
8	B	-	YL00405	-	-	-
9	B	YL00203	-	-	-	-
10	B	YL00203	-	-	-	YL00404
11	B	YL00203	-	-	-	-
12	B	YL00203	-	-	-	YL00404
13	C	03002	05001	-	-	-
14	C	04002	-	-	-	040040
15	C	04002	-	-	05001	-
16	C	04001	-	04002	-	-
17	C	04002	-	-	05001	-
18	C	04002	-	05001	-	-
19	D	K2007	-	-	-	-
20	E	005111	-	-	-	-

2) 使用キット別による各スクリーニング施設のTSH測定値の比較

キットA、C、Eでは管理検体C-1、2、3はそれぞれ2.5-2.7 μ U/ml、10.1-11.2 μ U/ml、35.6-36.1 μ U/mlと一致していたが、C-4はキットAで15.6 μ U/ml、キットCで19.0 μ U/ml、キットEで21.8 μ U/mlと有意差が認められた($P<0.01$)。キットBはC-1からC-4で、それぞれ3.1、12.1、40.6、22.6 μ U/ml、キットDは3.9、13.6、46.9、26.9 μ U/mlといずれもキットA、C、Eと比較して高値を示した(図1)。

図1. キット別スクリーニング施設のTSH測定値の比較

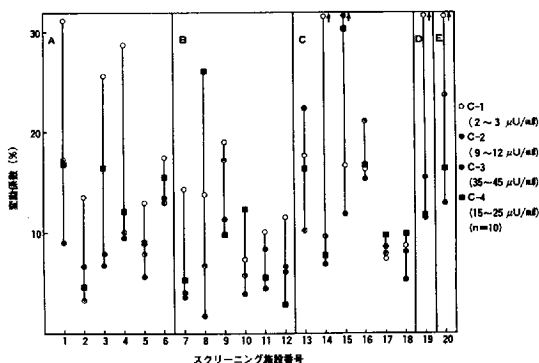


3) 各スクリーニング施設のアッセイ間の再現性

各スクリーニング施設の5回のアッセイ

の測定間変動係数は、キットA使用施設は管理検体C-2、3、4は18%以下、キットB使用施設は施設8を除いてすべての管理検体で18%以下、キットCは施設17、18がすべての管理検体で10%以下であるのに対して施設13から16は10-20%を示し、30%を越える施設もあった。キットD、EはいずれもC-1以外の検体では20%以下であった(図2)。

図2. 使用キット別スクリーニング施設の測定間の再現性の比較



4) 使用キット別の施設間の再現性

キットA、B、C、を用いている各6施設間の5回のアッセイの変動係数は、キットAはC-1を除くC-2からC-4は20%以下、キットBは全検体が20%以下、キットCは5回のアッセイ中1回はいずれかの検体が20%以上を示した(図3)。

5) 使用キット別による新生児検体のTSHの分布

各スクリーニング施設の5回のアッセイで測定された新生児検体のTSHの分布ををキット別に集計した。各キットの平均値±標準偏差はキットA、B、C、D、Eでそれぞれ2.7±2.0、2.4±2.0、2.0±2.0、2.8±2.0、2.8±2.4 μ U/mlであった(図4)。また10 μ U/ml以上の検体はキットA、B、C、D、Eでそれぞれ

1.6、1.0、1.0、2.5、1.8%であった。

図3. 使用キット別の各測定施設間の再現性の比較

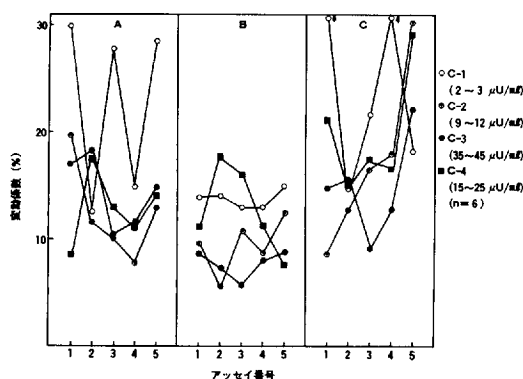
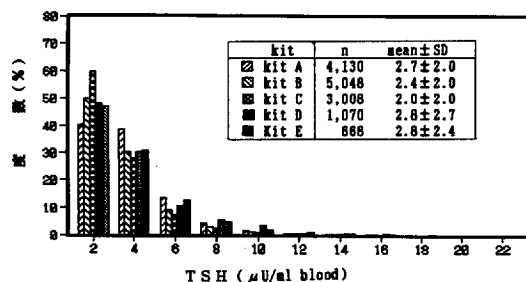


図4. 使用キット別新生児検体のTSH分布



6) 各スクリーニング施設のカットオフ値と再検査率

初回検査時のカットオフ値はパーセントイル法では95-97、絶対値法では6-12 μ U/mlであり、カットオフ値を越える例は施設により0-11.2%と大きな差があった。再検査による再採血要求のカットオフ値はパーセントイル法では97-99、絶対値法では8-12 μ U/mlであり、再採血率も0-2.5%と施設に大きな差が見られた(表2)。

【考案】

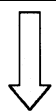
クレチン症マススクリーニングはTSHを指標としてRIA法により開始されたが、近年アイソトープを使用しないELISA法やTR-FIA法が開発され、

表2. 各スクリーニング施設のカットオフ値と再採血率

施設 番号	使用 キット	初回検査 カットオフ値	スクリーニング 陽性率	初回検査カットオフ 値以上の陽性数	再検査 カットオフ値	再検査陽性率
1	A	95 th -セタイル	875	17(2.0%)	95 th -セタイル, 10 μ U/ml	15(1.7%)
2	A	95 th -セタイル	810	34(4.2%)	10.0 μ U/ml	15(1.8%)
3	A	9.4 μ U/ml	1495	10(0.7%)	10.0 μ U/ml	4(0.3%)
4	A	8.0 μ U/ml	257	12(4.7%)	9.4 μ U/ml	5(1.9%)
5	A	10.0 μ U/ml	276	0	10.0 μ U/ml	0
6	A	10.0 μ U/ml	791	8(1.0%)	10.0 μ U/ml	8(1.0%)
7	B	9.0 μ U/ml	437	49(11.2%)	8.0 μ U/ml	8(1.8%)
8	B	12.0 μ U/ml	404	6(1.5%)	12.0 μ U/ml	8(1.9%)
9	B	97 th -セタイル	1085	61(5.6%)	10.0 μ U/ml	15(1.4%)
10	B	97 th -セタイル, 7 μ U/ml	531	33(6.2%)	8.0 μ U/ml	12(2.3%)
11	B	97 th -セタイル	995	31(3.1%)	8.0 μ U/ml	18(1.8%)
12	B	95 th -セタイル, 8 μ U/ml	538	7(1.3%)	10.0 μ U/ml	4(0.7%)
13	C	97 th -セタイル, 8 μ U/ml	599	24(4.0%)	95 th -セタイル, 9 μ U/ml	13(2.2%)
14	C	95 th -セタイル	519	30(5.8%)	10.0 μ U/ml	7(1.3%)
15	C	50 th イル/1 st イル	300	25(8.3%)	95 th -セタイル, 10 μ U/ml	3(1.0%)
16	C	8.0 μ U/ml	334	8(2.4%)	8.0 μ U/ml	8(2.4%)
17	C	97 th -セタイル	844	25(3.0%)	10.0 μ U/ml	4(0.5%)
18	C	97 th -セタイル	812	28(3.4%)	10.0 μ U/ml	18(2.2%)
19	D	97 th -セタイル, 9 μ U/ml	1070	36(3.3%)	97 th -セタイル, 8 μ U/ml	18(1.6%)
20	E	97 th -セタイル	868	21(2.4%)	10.0 μ U/ml	8(0.9%)

従来よりも高感度な測定が可能となり、カットオフ値である5-15 μ U/mlの低濃度域の測定精度が向上して来ている。事実今回のサーベイランスでも、従来のRIA法と比較するとキット間の差は多少あるものの、TSH 10 μ U/ml以上の管理検体ではアッセイ間及び施設間の変動係数は20%以下と良好であった。しかし、同一キット同一ロットを使用していても施設により再現性に差が認められた。これはキットの使用法を含めて、各施設の測定手技上の問題と考えられることから、検査担当者を対象とした技術研修会等による定期的な教育訓練が必要と考えられた。さらに、内因性TSH検体と精製標準TSH添加検体では、モノクローナル抗体の特異性及び認識部位の相違によると思われるTSHの測定値への影響が見られたことから、今後各キットのメーカーが使用している標準乾燥濾紙血液作成用精製標準TSHに対する反応性の検討が必要である。

新生児検体のTSH分布はキット間で比較すると、平均値が大きいほどTSHが10 μ U/ml以上の例の割合は高く、カットオフ値も施設により大きく異なり、再採血率も0.2%から2.7%とかなり高い施設もあり、さらに検討されなければならない。



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】

現在国内で市販されているクレチン症マススクリーニング用の乾燥濾紙血液 TSH 測定キットでモノクローナル抗体を用いている 5 種類のキットの比較では、キット間で内因性 TSH と精製標準 TSH に対する反応性が異なることが示唆された。また、キット間の再現性の相違とともに、同一キットで同一ロットを用いている施設間での再現性にも大きな差が認められた。実際のスクリーニングでのカットオフ値と再採血率は各スクリーニング施設により大きく異なっていた。以上の結果から標準 TSH 乾燥濾紙血液作成用 TSH の再検討とともに、試薬メーカーの安定したロットの供給と各スクリーニング施設の検査担当者への定期的な研修が必要と考えられた。