

クレチン症スクリーニングにおける基準物質の問題
—リコンビナント-h-TSHの使用の可否についての検討—
(分担研究：スクリーニングの精度管理のあり方に関する研究)

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

【要約】クレチン症スクリーニングにおいて、開始当時から、試薬キット間差があり、試薬による測定値の違いがあった。原因は、市販のTSHの差によることが主な原因と考えられ、標準物質の統一が強く望まれた。最近、セルカルチャーによるリコンビナント-h-TSH（以下R-TSH）が市販されたので、これが現在のTSHと比較して、使用可能かどうか検討した。さらに、現在各社は、濾紙血基準物質用の血液も異なり、作製方法も多少の差がある。そこで、R-TSHを用い、各社の現行の方法どおりに作製した濾紙血基準物質が、どの程度のバラツキを示すか検討した。今回使用したのは、Genzyme社のR-TSHであり、今回の検討では現在のTSHにほぼ近似しているのではないかと考えられた。また、R-TSHが標準物質として使用可能と思われるが、今回、ロット差の検討が実施できなかつたので、今後、この検討も含め研究を継続中である。

見出し語：新生児マススクリーニング、標準物質、リコンビナント-h-TSH

【研究方法】

現在市販されているTSHは、人の下垂体より抽出されたものでその個体により差があり、その力価は、NIHやWHOより配布されている高純度を基準として測定されるが、抗体の多様性の問題などで全く同一の力価を持つTSH

を市販するのは難しいと思われる。最近、安定したTSHの供給のため mammalian cell culture により得られたR-TSHが市販されたので、現在のTSHと比較した。使用したものは、Genzyme社のR-TSHである。宮井らも以前、R-TSHを作製したが、現在は市販されていないので、Genzyme社のもの（Lot. D50120）を使用した。

1) 杏林大学、東京総合医学研究所

2) 東邦大学 第一内科

1 血液濾紙キャリブレーションの作製

初回の実験では、杏林大学で調整したヘマトクリット (Ht) 55% 人全血に、R-TSH 液を血液量の 1% 加え 9 濃度 (0.5、1、3、6、10、20、30、50、100 $\mu\text{U}/\text{ml}$) のキャリブレーションを作製した。

第二の実験では、A 社により調整された Ht 55% の血液、B 社により調整された Ht 55% の血液、C 社方式により杏林大学で調整した Ht 55% の MAP 血液 (血液から大部分の血しょうを除去後、アデニン、マンニトールを含む赤血球保存用添加液を加えたもの) および杏林大学で調整した人全血を用いて、初回同様、9 濃度を作製した。C 社については、現在は人全血を用いているが今後 MAP 血液に変更予定ということなので今回 MAP 血液を使用した。また、B 社については、調整血液の入手が遅れたため測定回数が少ない。R-TSH 液の添加量は、A 社では血液量の 10% なので、最終的には、Ht 50% となる。その他の社での血清添加量は 1% である。

2. 測定

測定には、A、B、C 社の各社キットを用い、杏林大学作製精度管理検体 (Lot. T9606, 以下精度管理検体と略) を測定した。

図 1 基準曲線

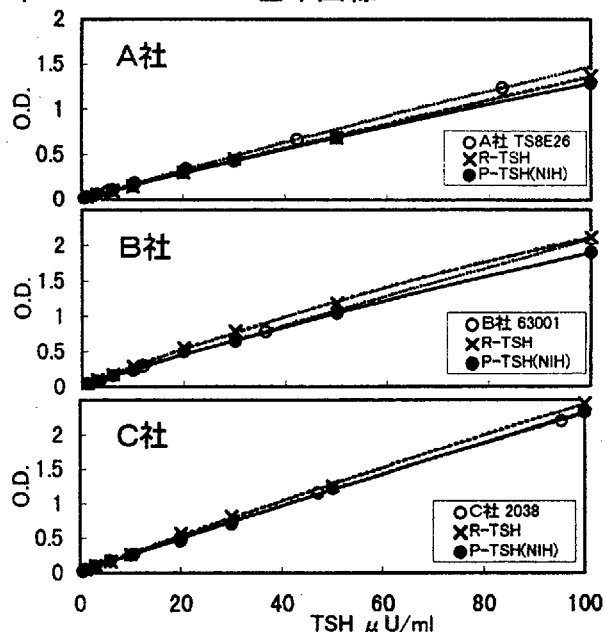


表 1 杏林精度管理検体測定値

A社 (n=3)	K-I	K-II	K-III	K-IV
A社 TS8E26	5.47 ± 0.25	9.93 ± 0.85	17.11 ± 0.61	45.05 ± 1.39
R-TSH	5.60 ± 0.47	10.73 ± 0.91	19.01 ± 2.06	50.43 ± 4.56
P-TSH (NIH)	5.59 ± 0.34	10.74 ± 0.65	19.04 ± 0.07	51.55 ± 3.73
B社 (n=2)	K-I	K-II	K-III	K-IV
B社 63001	5.49 ± 0.18	9.48 ± 0.53	19.14 ± 0.03	42.98 ± 0.53
R-TSH	4.20 ± 0.02	7.55 ± 0.33	15.78 ± 0.77	36.97 ± 1.70
P-TSH (NIH)	5.11 ± 0.11	9.07 ± 0.81	18.69 ± 0.79	44.01 ± 2.28
C社 (n=3)	K-I	K-II	K-III	K-IV
C社 2038	5.44 ± 0.51	9.37 ± 0.74	17.12 ± 0.52	42.60 ± 2.40
R-TSH	4.48 ± 0.32	8.20 ± 0.70	15.48 ± 0.15	39.56 ± 2.40
P-TSH (NIH)	4.82 ± 0.30	8.83 ± 1.34	16.66 ± 1.11	42.70 ± 1.46

Lot. T9606

(TSH $\mu\text{U}/\text{ml}$)

【結果】

初回実験 図 1 に、各社キットを用いて得たカーブを示した。上段は、A 社の試薬を使用した場合で、実線がキット添付の基準物質、破線が R-TSH、点線が NIH の TSH を使用したときの基準曲線である。同様に、B 社、C 社の試薬を使用した場合の基準曲線を示した。キットによりカーブに多少の差がみられる。

表 1 には、各社キット添付の TSH、R-TSH、NIH-TSH で読み出した精度管理検

体の値をまとめた。上段から、キット添付のキャリブレーターで読んだ値、R-TSH、NIHで読んだ値である。測定値に、少し差がみられるが、これをわかりやすくするために、次表を示す。表2としては、NIHを基準として読み出した精度管理検体(KI~KIV)の値を100とした時の、測定値比をまとめた。A社、C社の試薬では、キット添付のTSH、R-TSH、NIH-TSHであまり差がないようであるが、B社では、15%を越える差がみられる。

第二の実験 図2には、A社、B社調整血液、C社方式および杏林大調整血液を用いてR-TSHのキャリブレーターを作製し、各社の試薬を使用して得たカーブを示した。B、C社では、キット添付のTSHとR-TSHの基準曲線では、差がみられる。

表3には、各社の試薬を用い、各社TSH、R-TSHで読み出した精度管理検体の値を示した。上段から、キット添付のキャリブレーターで読んだ値、各会社調整血液にR-TSH添加したもの、および杏林調整血液にR-TSHを添

表2 杏林精度管理検体の測定値比

A社 (n=3)		K-I	K-II	K-III	K-IV
A社 TS8E26		98	92	90	87
R-TSH		100	100	100	98
P-TSH (NIH)		100	100	100	100
B社 (n=2)		K-I	K-II	K-III	K-IV
B社 63001		107	105	102	98
R-TSH		82	83	84	84
P-TSH (NIH)		100	100	100	100
C社 (n=3)		K-I	K-II	K-III	K-IV
C社 2038		113	106	103	100
R-TSH		93	93	93	93
P-TSH (NIH)		100	100	100	100

Lot. T9606 (%)

P-TSH(NIH)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

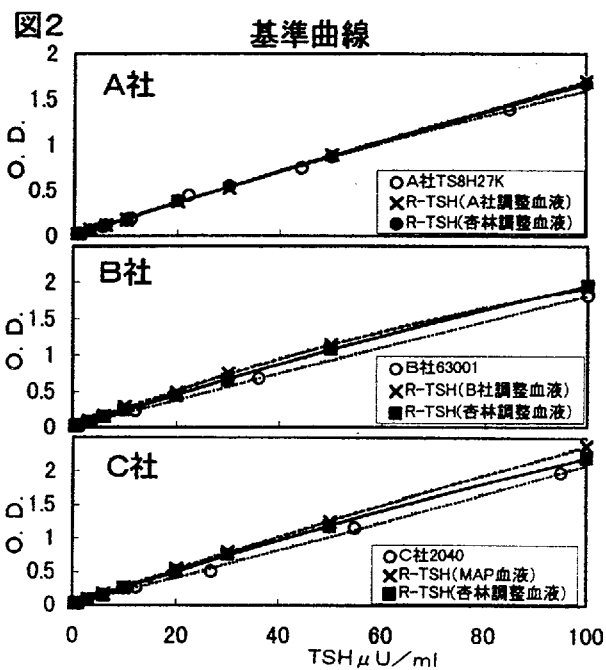


表3 杏林精度管理検体測定値

A社		K-I	K-II	K-III	K-IV
A社 TS8H27K		5.76 ± 0.72	9.42 ± 0.30	19.54 ± 0.80	41.58 ± 1.71
R-TSH(A社調整血液)		5.69 ± 0.49	9.17 ± 0.50	18.75 ± 1.50	39.63 ± 2.01
R-TSH(杏林調整血液)		5.55 ± 0.69	9.05 ± 0.47	18.84 ± 0.81	39.03 ± 2.77
B社		K-I	K-II	K-III	K-IV
B社 63001		5.49 ± 0.17	8.54 ± 0.56	17.32 ± 0.21	37.32 ± 1.25
R-TSH(B社調整血液)*		4.17 ± 0.23	6.58 ± 0.78	13.50 ± 1.01	29.95 ± 3.27
R-TSH(杏林調整血液)		4.79 ± 0.05	7.13 ± 0.62	13.87 ± 0.66	30.48 ± 1.42
C社		K-I	K-II	K-III	K-IV
C社 2040		5.46 ± 0.61	9.20 ± 0.65	18.30 ± 0.87	41.60 ± 1.85
R-TSH(MAP血液)		4.37 ± 0.57	7.36 ± 0.65	14.33 ± 0.75	34.06 ± 2.34
R-TSH(杏林調整血液)		4.63 ± 0.43	7.66 ± 0.75	15.15 ± 1.27	33.58 ± 1.28

Lot. T9606 n=5, *別は, n=2 (TSH μU/ml)

加したもので読んだ値である。

表4には、前表をもとに、R-TSH（杏林調整血）で読み出した値を100とした時の、各比をまとめた。A社キットでは、R-TSH（A社調整血）とR-TSH（杏林調整血）では、差が見られない。また、B社キットにおいてもR-TSH（B社調整血）とR-TSH（杏林調整血）では、差は少なく、C社キットにおいても差は少ない。

次に、各社添付のTSHとR-TSH（杏林調整血）との比較では、A社においては差が少ないが、B、C社においては20%程度の差が見られる。

【まとめ】

現在のTSHとR-TSHを比較した検討の結果から、R-TSH Lot. D50120は、NIH-TSHにほぼ近似しているのではないかと考えられる。

また、現在各社は濾紙血基準物質用の血液が異なり、作製方法にも多少の差があるため、今回、R-TSHを用い各社の現行の方法通りに濾紙血基準物質を作製し、それらがどの程度差を示すか検討した。その結果、各社の方法通りに作製した濾紙血基準物質R-TSH（A社調整血）、R-TSH（B社調整血）およびR-TSH（MAP血液）と、R-TSH（杏林調整血液）のあいだには大差はないようである。

キット添付のTSHとR-TSHの比較では、

表4 杏林精度管理検体の測定値比

A社	K-I	K-II	K-III	K-IV
A社 TS8H27K	104	104	104	107
R-TSH(A社調整血液)	103	101	100	102
R-TSH(杏林調整血液)	100	100	100	100
B社	K-I	K-II	K-III	K-IV
B社 63001	115	120	125	122
R-TSH(B社調整血液)*	87	92	97	98
R-TSH(杏林調整血液)	100	100	100	100
C社	K-I	K-II	K-III	K-IV
C社 2040	118	120	121	124
R-TSH(MAP血液)	94	96	95	101
R-TSH(杏林調整血液)	100	100	100	100
Lot. T9606 n=5, *n=2				(%)

R-TSH（杏林調整血）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

A社のものとはあまり大きな差はないが、B、C社では差があった。これは、抗原と抗体の結合率によるものと考えられ、各社が同じ抗原を用いて抗体を作製しない限り差は残ると考えられる。また、仮に抗原を統一しても、抗体や他の条件が異なれば、完全なる一致は難しいであろう。ただ、抗原を統一することができれば、意義深いと考えられる。

現在、成長ホルモンでは、リコンビナントGHが臨床的に使用されているとのことであり、TSHに関しても、リコンビナントが使用可能と思われるが、市場には、今回1ロットしか存在せず、ロット差の検討が実施できなかったため、今後、いくつかのロットを入手し、この検討を継続して行きたいと考えている。



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】クレチン症スクリーニングにおいて、開始当時から、試薬キット間差があり、試薬による測定値の違いがあった。原因は、市販の TSH の差によることが主な原因と考えられ、標準物質の統一が強く望まれた。最近、セルカルチャーによるリコンビナント-h-TSH (以下 R-TSH) が市販されたので、これが現在の TSH と比較して、使用可能かどうか検討した。さらに、現在各社は、濾紙血基準物質用の血液も異なり、作製方法も多少の差がある。そこで、R-TSH を用い、各社の現行の方法どおりに作製した濾紙血基準物質が、どの程度のバラツキを示すか検討した。今回使用したのは、Genzyme 社の R-TSH であり、今回の検討では現在の TSH にほぼ近似しているのではないかと考えられた。また、R-TSH が標準物質として使用可能と思われるが、今回、ロット差の検討が実施できなかったため、今後、この検討も含め研究を継続中である。