

HISCL TSH 試薬, FT4 試薬, FT3 試薬の概要

シスメックス株式会社 診断薬開発本部 土屋 博

はじめに

甲状腺疾患の検査においては、遊離甲状腺ホルモン (FT₄, FT₃) と、それらの分泌量を調整する甲状腺刺激ホルモン (TSH) の測定が欠かせないものとして日常実施されている。

今回、全自動免疫測定装置 HISCL-2000i (以下、HISCL-2000i) システムにおいて甲状腺 3 項目 (TSH, FT₄, FT₃) の測定を行う試薬を発売した。

本稿では、HISCL TSH 試薬、HISCL FT4 試薬および HISCL FT3 試薬の概要について、測定原理と特長を主として紹介する。

開発コンセプト

HISCL シリーズ共通のコンセプトに従い、微量検体・高感度・迅速測定を実現した。

特に、TSH は免疫測定法の中で最も高感度が要求される項目の一つであり、開発初期から世界トップレベルの感度を目標とした。また、同時に、微量検体・迅速測定による患者負担の軽減および診療前検査に貢献できるよう開発した。

測定原理

HISCL 試薬共通の原理として、B/F 分離に磁性粒子を利用し、高感度な化学発光基質 CDP-*Star*[®] を使用する化学発光酵素免疫測定法を採用している。

HISCL TSH 試薬は、1 ステップサンドイッチ法を用いている。まず、検体中の TSH と ALP 標識抗 TSH モノクローナル抗体 (マウス) を結合させ、ストレプトアビジン結合磁性粒子を添加した後、ビオチン結合抗 TSH モノクローナル抗体 (マウス) を添加し、磁性粒子-抗体-TSH-抗体-ALP の複合体を形成させる。B/F 分離により未反応の成分を洗浄・除去した後、酵素反応させて生じた化学発光を測定する。

HISCL FT4 試薬は、1 ステップ競合法を用いている。まず、検体中の FT₄ とビオチン結合抗 T₄ モノクローナル抗体 (マウス) を結合させ、ストレプトアビジン結合磁性粒子を添加し、磁性粒子-抗体-T₄ の複合体を形成させる。次に、T₄ が結合していない抗体に ALP 標識 T₃ を交差反応を利用して結合させ、B/F 分離により未反応成分を洗浄・除去した後、酵素反応させて生じた化学発光を測定する。

HISCL FT3 試薬も 1 ステップ競合法を用いており、FT₄ とほぼ同じ原理である。T₃ との結合が極めて強固なビオチン結合抗 T₃ モノクローナル抗体 (ヒツジ) を採用しており、ALP 標識 T₃ と特異的に反応させている。(図 1, 2)

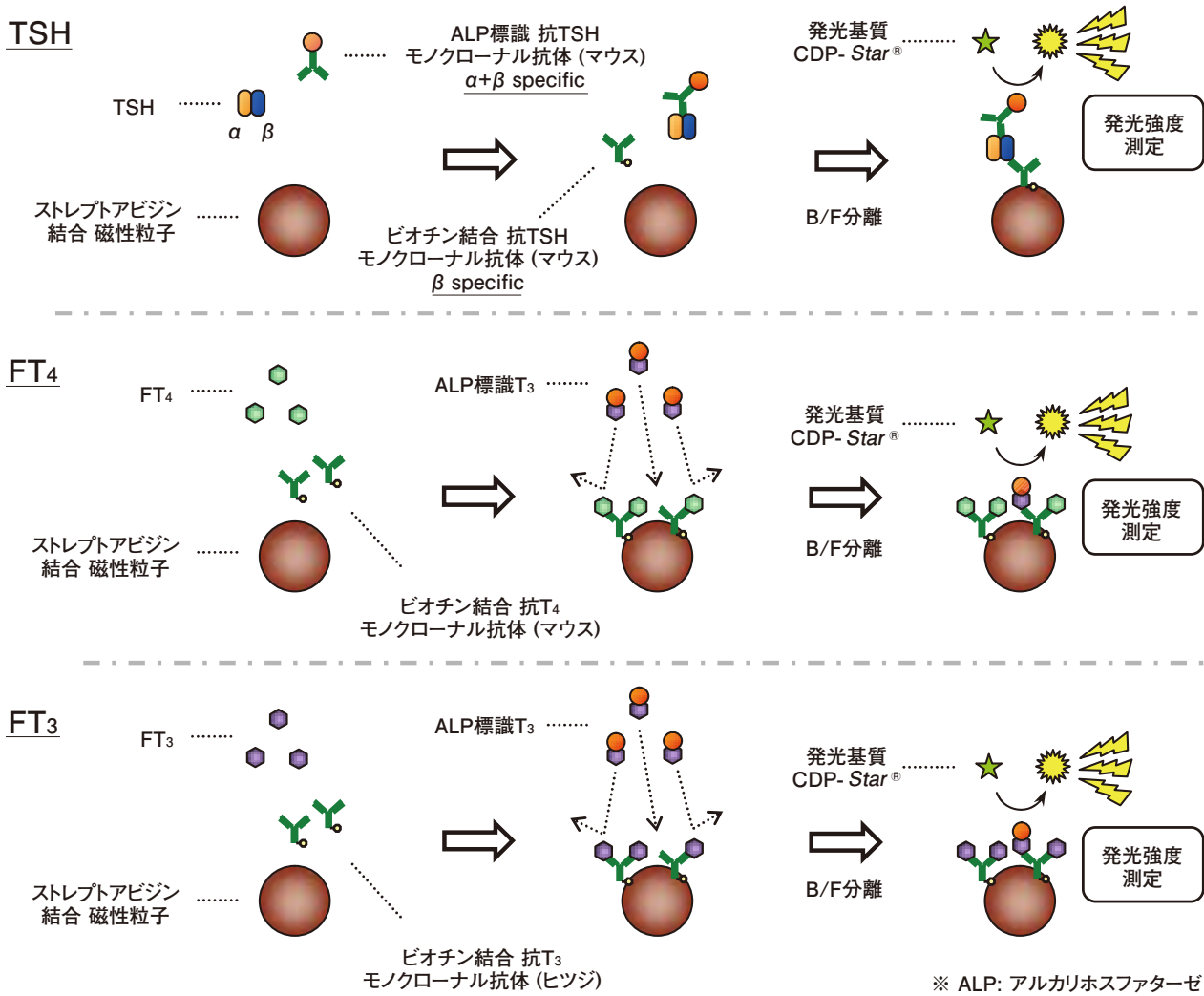


図1. 測定原理

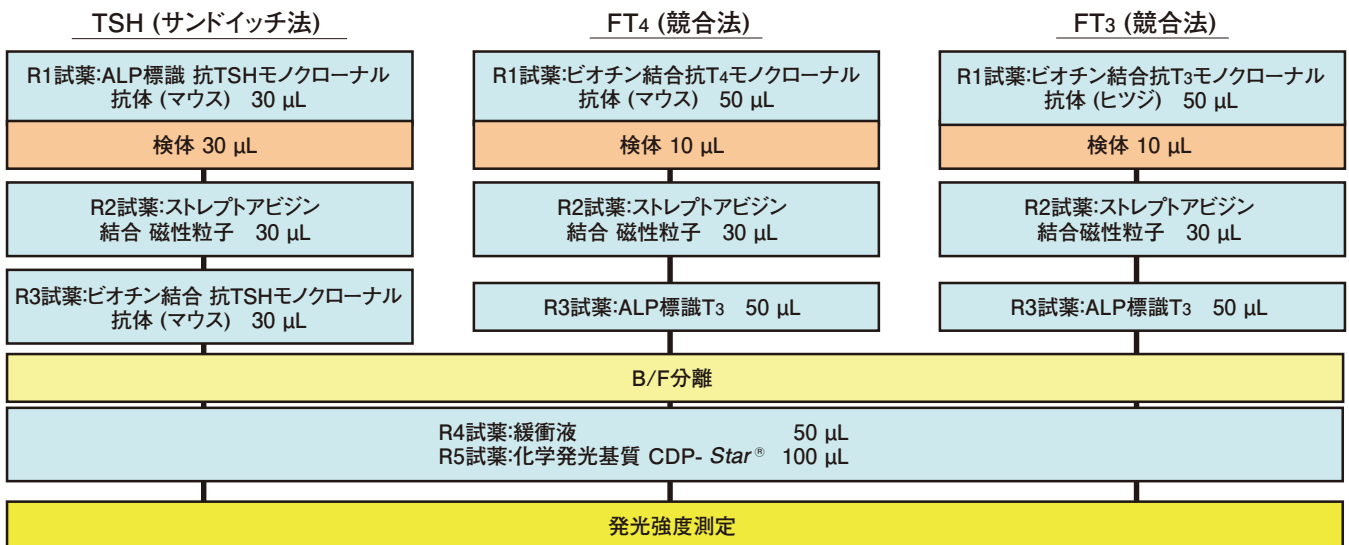


図2. 反応フロー

特長

1. 感度

高感度 TSH の登場により、甲状腺中毒症においてバセドウ病では TSH がほとんど 0 になるが、破壊性甲状腺炎では僅かに TSH が分泌されることがわかってきている。そのため、高感度化によりこれらの鑑別に有用な情報を得られることが期待されている。

TSH の感度は、通常、日差再現性から求めた実効感度により評価される。Spencer ら¹⁾の提唱に従って、2 ロットの試薬を用い、6 週間かけて 10 回測定し、日差再現性の CV が 20% となる TSH 濃度を実効感度として求めたところ、0.00189 μ IU/mL であった(図3)。

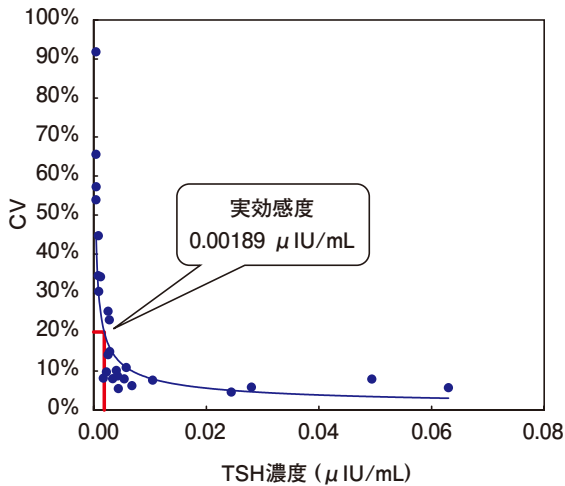


図3. TSH 実効感度

2. 測定範囲

TSH の測定範囲は 0.002 ~ 200 μ IU/mL で、測定範囲を超えた場合には専用希釈液 (HISCL 検体希釈液) で希釈して測定することができる(図4)。また、プロゾーン現象は 1,287 μ IU/mL まで認められないことを確認している(図5)。

FT₄ の測定範囲は 0.25 ~ 6.00 ng/dL, FT₃ の測定範囲は 1.00 ~ 30.00 pg/mL である。遊離ホルモンの測定においては、血清中の平衡状態を変化させてしまうため、希釈測定はできない。

3. 特異性 (交差反応性)

TSH は下垂体ホルモンであり、2つのサブユニット (α , β) のうち α サブユニットは、他の下垂体ホルモン

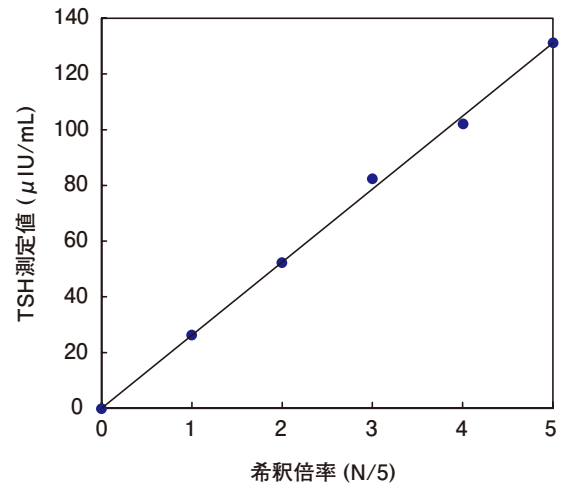


図4. TSH 希釈直線性

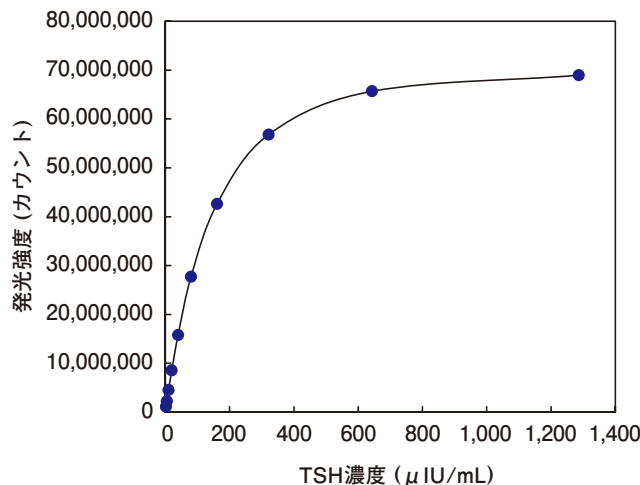


図5. TSH プロゾーン試験

(hCG, LH, FSH など)と共通である。HISCL TSH 試薬では、ビオチン結合抗体は β に特異的、ALP 標識抗体は $\alpha + \beta$ (α と β が結合した状態) に特異的に反応する抗体を用いているため、他の下垂体ホルモンとの交差反応性は極めて小さい(表 1 a)。

FT₄ と FT₃ は互いに構造が類似しており、相互に対する交差反応率はそれぞれ 3.454%、0.271% であった。両者の存在比を考慮すると、測定値に対する影響は 1% 程度であり、ほとんど無視できると考えられる(表 1 b)。

4. 検体

1 テスト当たりの使用検体量は、TSH : 30 μ L, FT₄ : 10 μ L, FT₃ : 10 μ L と微量であり、合計 50 μ L で甲状腺 3 項目の測定を実施できるため、患者負担をより軽減できると期待される。

検体は、血清の他にも TSH ではヘパリン採血血漿、FT₄、FT₃ ではヘパリンまたは EDTA 採血血漿が使用できる。

5. 反応時間

HISCL シリーズ共通で、約 17 分の反応時間で測定が可能である。HISCL-2000i では、3 項目の測定を検体分注開始から約 18 分で完了することができる。

6. 相関性

D 社測定法との相関性を検討したところ、図 6 で示す通り良好な結果が得られた。(ただし、FT₄、FT₃ については公的な標準物質がないため、各メーカーの測定値にキット間差が大きいのが現状である。)

7. ユーザビリティ

試薬は他の HISCL 用試薬と同様、容易に取り扱うことができ、開封後の有効期間は 30 日である。検量線は、作成から 30 日間有効である。

HISCL FT₄ キャリブレーションプレート、および HISCL FT₃ キャリブレーションプレートは、ロット毎に表示値が異なるが、HISCL-2000i ではキャリブレーション登録時に使用説明書に印刷されているバーコードを読み込ませることで、表示値を正しく簡便に入力できるように工夫されている。

表 1. 交差反応性

a. TSH

| 試料 | TSH測定値 |
|--------------------|-------------------|
| FSH 1,000 mIU/mL | 0.000 μ IU/mL |
| hCG 300,000 mIU/mL | 0.000 μ IU/mL |
| LH 1,000 mIU/mL | 0.000 μ IU/mL |

b. FT₄, FT₃

| 試料 | 交差反応率 | |
|--|-----------------|-----------------|
| | HISCL試薬 | |
| | FT ₄ | FT ₃ |
| L-Thyroxine (T ₄) | 100% | 0.271% |
| 3,3',5-Triiodo-L-thyronine (T ₃) | 3.454% | 100% |

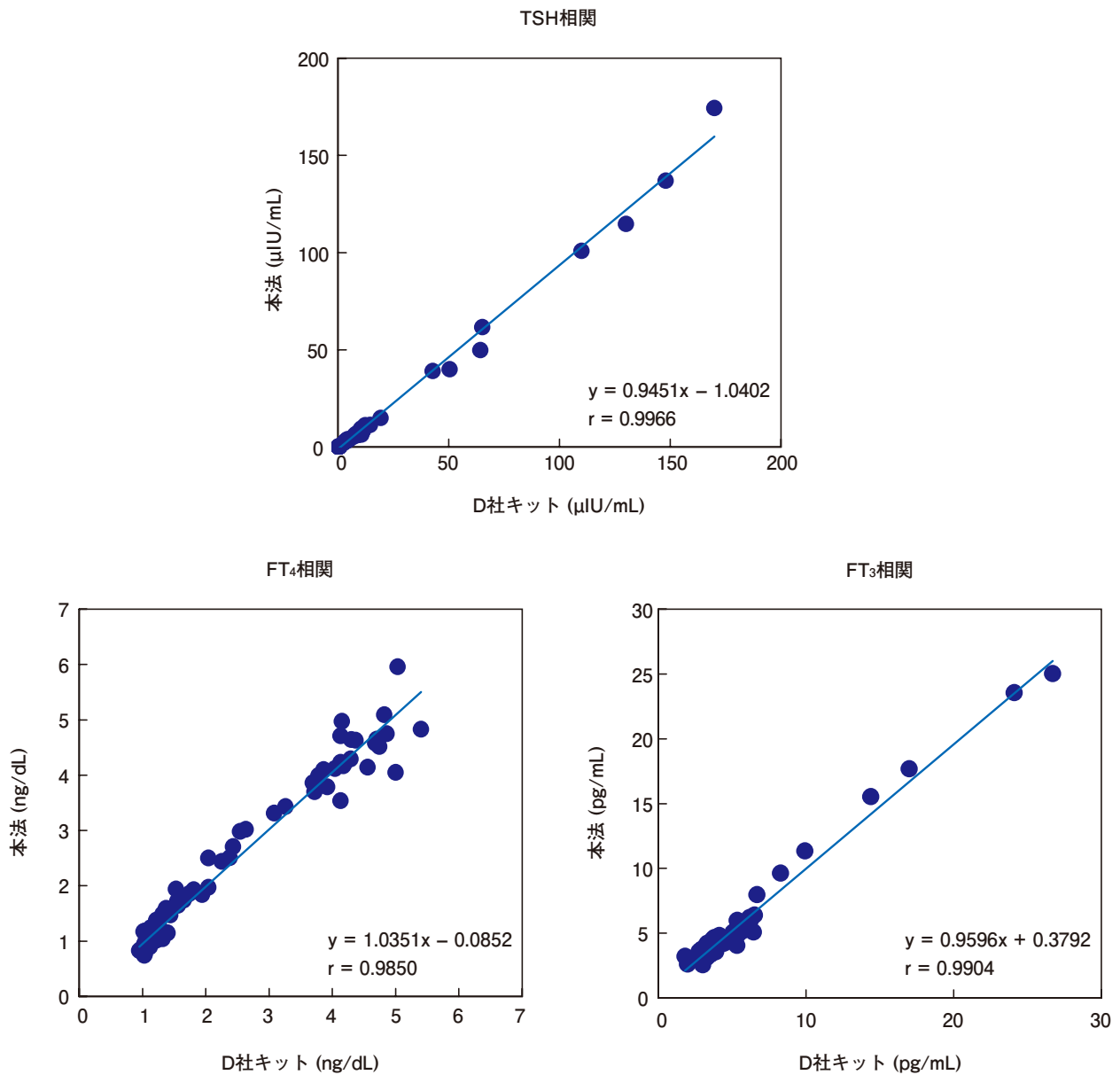


図6. 相関性

おわりに

HISCL TSH 試薬, FT₄ 試薬, および FT₃ 試薬は, HISCL 試薬の目指すコンセプトである微量検体・高感度・迅速測定を目標として開発, 製品化されたものであり, 日常検査において十分有用である。さらに, 甲状腺 3 項目の診療前検査が可能となることにより, より質の高い医療に貢献できるものと期待される。

参考文献

- 1) Spencer CA, Takeuchi M, Mazarosyan M. Current status and performance goals for serum thyrotropin (TSH) assays. *Clinical Chemistry*. 1996 ; 42 (1) : 140-145.