

## 研究

## 「エクルーシス試薬 TgⅡ」の基礎的検討

錦織昌明, 森田明子, 小笠原 愛, 佐野菜穂, 岩田祐紀, 北尾政光, 内田 靖

松江赤十字病院 検査部

# Evaluation of Fundamental Analytics on Serum Thyroglobulin Measurement by “ECLusys TgⅡ”

## 要旨

当院では平成 24 年から電気化学発光免疫測定法 (ECLIA) を原理とする分析装置モジュラーアナリティクス E170 によるサイログロブリン測定を行っている。今回、改良試薬である「エクルーシス試薬 TgⅡ」に変更するにあたり日常検査法としての性能評価を目的に基礎的実験を行った。

全体的に良好な成績であり、従来法からの変更に伴う問題はないと思われた。なお、測定値はやや低値となるため基準範囲の変更が必要である。

Masaaki Nishikori, et al : ISSN 1343-2311 Nisseki Kensa 49 : 23—26, 2016 (2015.6.9 受理)

## KEYWORDS

サイログロブリン, 電気化学発光免疫測定法 (ECLIA), エクルーシス試薬 TgⅡ

## はじめに

サイログロブリン (Thyroglobulin: Tg) は甲状腺濾胞細胞で合成される分子量 660kDa の糖タンパク質である。Tg は甲状腺ホルモンの生成・貯蔵という機能を持ち、その上昇は①甲状腺における産生異常②甲状腺刺激物質の有無や活性の程度③甲状腺内あるいは近傍の腫瘍・炎症など破壊性病変の有無や程度などを反映する<sup>1)</sup>。

当院では平成 24 年から電気化学発光免疫測定法 (ECLIA) を原理とする分析装置モジュラーアナリティクス E170 によるサイログロブリン測定を行っている。今回、改良試薬である「エクルーシス試薬 TgⅡ」に変更するにあたり日常検査法としての性能評価を目的に基礎的実験を行ったのでその成績を報告する。

## 【機器・試薬】

機器・試薬は全てロシュ・ダイアグノスティッ

クス社製である。

機器：モジュラーアナリティクス E170

試薬：従来法…エクルーシス試薬 Tg

検討法…エクルーシス試薬 TgⅡ

(おもな変更を図 1 に示す)

希釈液：従来法…エクルーシス検体希釈液

(TP 1.4g/dL, ALB 0.2g/dL)

検討法…エクルーシス希釈液 MA

(TP 7.7g/dL, ALB 2.5g/dL)

コントロール試料：エクルーシスプレチコントロール U

(U1 & U2 の 2 濃度)

図 1 新旧試薬の比較

	従来法 エクルーシス試薬 Tg	検討法 エクルーシス試薬 TgⅡ
検体量	20μL	35μL
測定範囲	0.1—1,000ng/mL	0.04—500ng/mL
実効感度 (CV10%)	0.5ng/mL	0.034ng/mL
検体希釈液	エクルーシス検体希釈液 (TP 1.4g/dL, ALB 0.2g/dL)	エクルーシス希釈液 MA (TP 7.7g/dL, ALB 2.5g/dL)

### 【測定原理】

検討法は電気化学発光免疫測定法(ECLIA)を原理とし測定時間 18 分の血清・血漿中サイログロブリン測定法である。

第 1 反応として、検体、ビオチン化抗 Tg マウスモノクローナル抗体、トリス (2, 2'-ビピリジル) ルテニウム (II) 標識抗 Tg マウスモノクローナル抗体 1 およびトリス (2, 2'-ビピリジル) ルテニウム (II) 標識抗 Tg マウスモノクローナル抗体 2 を加えてインキュベートする。

次に、第 2 反応としてストレプトアビジンコーティング磁性マイクロパーティクルを加えインキュベートし、反応混合液を測定セルに吸引して磁力により結合させトリプロピルアミンを吸引することで B/F 分離を行う。

トリス (2, 2'-ビピリジル) ルテニウム (II) は電極への荷電による酸化とトリプロピルアミンによる還元反応により励起発光を繰り返す。一定時間の発光強度を光電子倍増管で測定し、予め同様の操作によるキャリブレーション測定から作成した検量線によって検体中の Tg 濃度を算出するものである。本測定法は校正用基準物質として IRMM (BCR-457) を使用している。

### 【方法および結果】

#### ①併行精度

2 例のプール血清を各々 10 回同時測定して求めた。その結果、CV0.9~1.3%と良好であった。(表 1)

表 1 併行精度

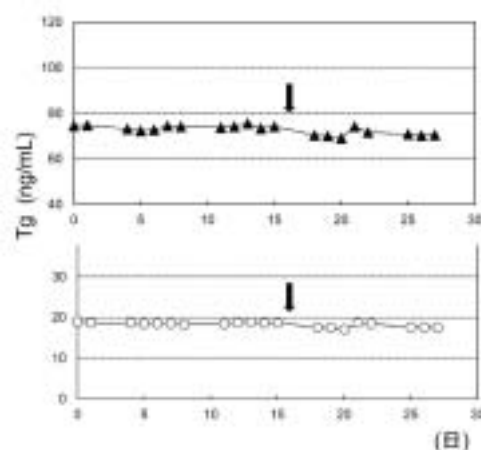
	pooled sera	
	sample 1	sample 2
1	7.6	108.5
2	7.5	105.8
3	7.7	105.7
4	7.6	105.5
5	7.7	106.5
6	7.6	104.6
7	7.6	105.3
8	7.5	104.1
9	7.6	104.2
10	7.6	104.4
mean (ng/mL)	7.58	105.46
SD (ng/mL)	0.07	1.33
CV (%)	0.9	1.3

#### ②日差再現性

エクルーシスプレチコントロール U を

用い 27 日間に渡って測定した。なお、校正は初日にのみ実施し、この間に同ロットの試薬交換を一度行った。その結果、検討期間内はメーカー指定の許容範囲内で安定して推移し、CV2.7~3.1%と良好であった。(図 2)

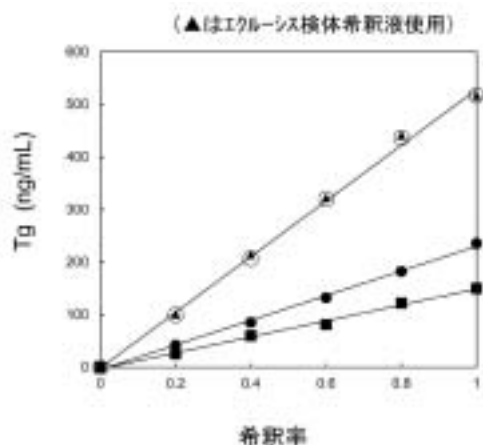
図 2 日差再現性 (○: U1 ▲: U2)  
(↓のときに試薬交換をした)



#### ③用手法による希釈試験

検討法では高蛋白濃度のエクルーシス希釈液 MA (TP 7.7g/dL, ALB 2.5g/dL) を用いるよう指定されている。3 例の患者血清について用手法にて希釈系列を作成して測定した。その結果、いずれも原点に収束する良好な直線性を認めた。また、1 例について従来法に使用していたエクルーシス検体希釈液 (TP 1.4g/dL, ALB 0.2g/dL) を用いて希釈系列を作成し測定して比較したところほぼ同様な結果を得た。(図 3)

図 3 用手法による希釈試験

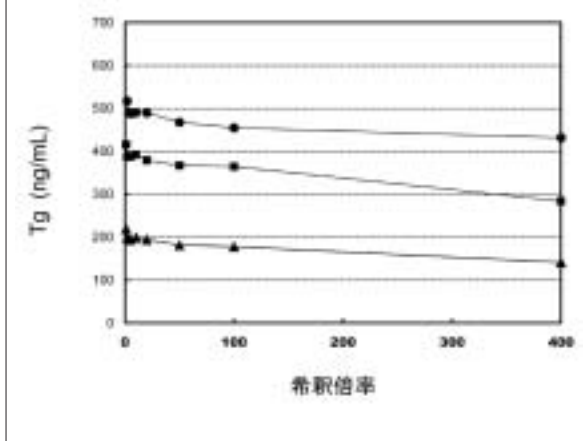


#### ④自動希釈試験

モジュラーアナリティクス E170 には自

動希釈機能が設定されているため、日常検査で有効に活用している。3例の患者血清を用いて、自動希釈機能による希釈測定（2倍～400倍）を実施した結果、得られた報告値は希釈倍率の上昇とともに低値となる傾向を認めた。（図4）

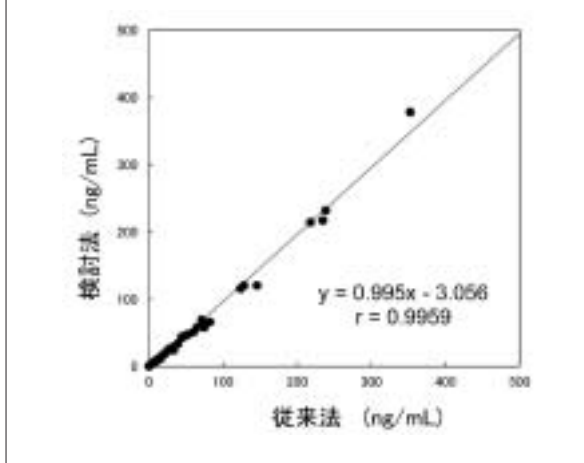
図4 自動希釈試験



#### ⑤従来法との相関

患者血清（54例）を用いて従来法との相関関係を求めた結果、大きく乖離する例も認めず  $y=0.995x-3.056$ ，相関係数 0.9959 と良好な相関関係を認めた。（図5）

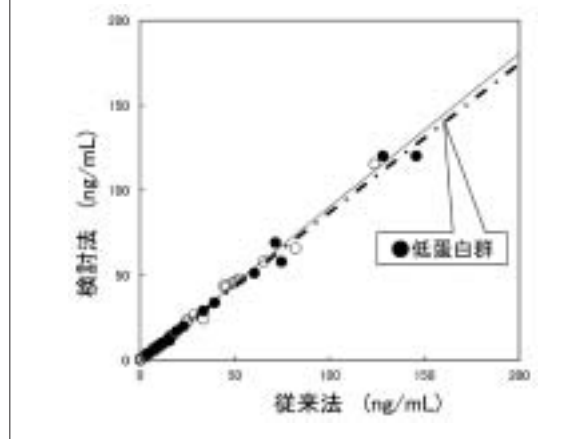
図5 従来法との相関



#### ⑥低蛋白検体を用いた相関

検討法では高蛋白濃度の希釈液に変更されたことから低蛋白検体における影響が懸念される。そこで、当院の基準範囲下限値以下（TP<6.0g/dL& ALB<3.7g/dL）を低蛋白群として、それ以上の蛋白濃度群との相関性によって比較した。その結果、両群に有意な差は認めなかった。（図6）

図6 低蛋白検体を用いた相関



#### 【考察】

今回、改良試薬である「エクルーシス試薬 Tg II」に変更するにあたり日常検査法としての性能評価を目的に基礎的実験を行った。測定精度、希釈試験、従来法との相関関係など全体的に良好な成績であり、従来法からの変更に伴う問題はないと考えた。しかし、自動希釈機能を用いる場合には、希釈倍率が高くなるにつれ得られた報告値は低下する傾向を認めたため、低倍率の希釈から慎重に実施した方がよいと考えた。

検討法では検体希釈液として高蛋白溶液のエクルーシス希釈液 MAを用いるように指定されている。我々は免疫学的測定法において、特に低蛋白検体による測定値への影響を認めた例を過去に経験している<sup>2,3)</sup>。また、頸部リンパ節腫瘍が甲状腺由来か否かを判定する場合などに穿刺液を生理的食塩水で希釈したものを試料として Tg の測定をする場合があるため、検討法における低蛋白検体の動態を確認することとした。その結果、低蛋白群とそれ以上の蛋白濃度群との相関性に有意な差は認められなかった。また、用手法による希釈試験の結果、低蛋白溶液のエクルーシス検体希釈液でも良好な成績であったことから検討法における低蛋白の影響は少ないと考えた。

以上、「エクルーシス試薬 Tg II」を用いた Tg 測定法は、日常検査法として十分な性能を有しており、試薬の変更に伴う問題はないと考えた。ただ、得られる測定値は従来法よりやや低値となるため基準範囲の変更が必要である。

**【文献】**

- 1) 家入蒼生夫：サイログロブリン (Tg).  
内科 81：1404-1405,1998
  - 2) 錦織昌明, 水智美, 深田靖彦：「エンチ  
ムンテスト T3」を用いた T3 測定法に  
ついて. JJCLA 19：113-116. 1994
  - 3) 錦織昌明, 水智美, 深田靖彦：Latex  
Photometric Immunoassay を用いた  
LPIA-200 による CEA 測定法について  
－IMx 法との乖離例についての検索－.  
JJCLA 20：43-48. 1995
-