

臨床報告

副甲状腺腫摘出術中における intact PTH の迅速診断法の検討

¹⁾東京女子医科大学 ラジオアイソトープ検査科²⁾同 内分泌外科ジビキ カズコ オダギリエミ デムラ レイコ
地曳 和子¹⁾・小田桐恵美¹⁾・出村 黎子¹⁾カンベ マサコ オバラ タカオ
神戸 雅子²⁾・小原 孝男²⁾

(受付 平成10年7月31日)

緒言

原発性副甲状腺機能亢進症 (PHPT) は副甲状腺に生じた腺腫、過形成あるいは癌が副甲状腺ホルモン (PTH) を過剰分泌し、高Ca・低P血症などCa代謝の異常をきたす疾患である。血清Ca測定がルーチン検査として行われるようになり、PHPTと診断される例が多くなってきた。PHPTの治療法としては、外科的な病的副甲状腺摘除が有用である。一方、PTHの測定はC端PTH、N端PTH、M-PTHに続いてインタクトPTH (1-84) の測定法が開発され、副甲状腺の分泌、機能状態を正確に把握できるため、現在はimmuno-radiometric assay (IRMA) 法によるインタクトPTHの測定が主となってきた。

インタクトPTHの血中半減期は3～5分と短く、腺腫摘出術中の血中PTHの推移をリアルタイムに反映する術中の血中インタクトPTHの迅速測定法 (quick assay) が効果判定に有用と考え検討した。

対象および方法

症例は原発性副甲状腺機能亢進症10例で、男性6例、女性4例、年齢は20～69歳であった。その臨床病型は生化学型6例、腎結石型4例で、病理診断は腺腫9例、過形成1例であった (表1)。

測定はデイド・ペーリング社 (D) および日本メ

ジフィジックス社 (A) のIRMA法によるインタクトPTHキットを使用した。通常の測定方法は、検体または標準PTH 200 μ lにPTH抗体¹²⁵I 100 μ lを分注混和後、PTH抗体ビーズを添加し、室温で21～22時間インキュベーションを行い、反応液を除去し、2回洗浄液で洗浄後、 γ -シンチレーションカウンターで測定した。一方、quick法は45および37°Cで、120rpmで振とうし、インキュベーション時間の短縮を検討した。以後の操作は通常法に準じて行った。

結果

1. 反応条件の検討

D社キットを使用した通常法の標準曲線およびquick法の45°Cで反応時間を10, 15, 20, 30分とし

表1 対象

症例	性	年齢(歳)	臨床病型	病理診断
1	M	37	腎結石型	左上副甲状腺腺腫
2	M	68	腎結石型	左上副甲状腺腺腫
3	M	53	腎結石型	左上副甲状腺腺腫
4	M	49	生化学型	右下副甲状腺腺腫
5	F	69	生化学型	右下副甲状腺腺腫
6	F	60	生化学型	左上副甲状腺腺腫
7	F	61	生化学型	左下副甲状腺腺腫
8	M	20	MEN I 腎結石型	左下副甲状腺過形成
9	F	59	生化学型	左下副甲状腺腺腫
10	M	51	生化学型	左下副甲状腺腺腫

Kazuko JIBIKI¹⁾, Emi ODAGIRI¹⁾, Reiko DEMURA¹⁾, Masako KANBE²⁾ and Takao OBARA²⁾

(¹⁾Radioisotope Center, ²⁾Department of Endocrine Surgery, Tokyo Women's Medical University, School of Medicine): Study on quick assay of intact parathyroid hormone during parathyroidectomy

た結果を図1に示した。Quick法ではPTH 1,700 pg/ml相当の高値でも通常法の4%程度のカウントしか得られず、測定感度は通常法の5pg/mlに対し、quick法では37pg/mlであった。Quick法では時間の短縮と共に感度およびbound cpmはさらに低下した。

次にA社キットとの比較検討を行った(図2)。通常法では両社キットともほとんど差がなかったが、quick法の45°CではD社に比べてA社の結合率は高かった。37°C15分の条件でも45°C10分と同様に、A社がD社に比べて高い結合率を示した。

そこで、A社キットを用いて時間と温度を変えて検討した。37°C5分では結合率は低く測定は不可能と考えられたが、10分で16pg/ml、15分で8.5pg/mlと時間と共に測定感度は良好となった。45°C10分では37°C10分に比し好成績が得られた(図3)。

以上の結果より、術中のquick PTH assayはA社キットを使用し以下の条件で行った(表2)。採血後、検体を搬送し遠心分離後、測定を開始し、37°C120rpmで15分インキュベーション後、反応液を洗浄除去し、 γ -シンチレーションカウンターで測定後、結果報告まで所要時間は55~60分必要であった。

2. 腺腫摘出前後の血中インタクトPTHの推移

腺腫摘出前後の臨床成績を図4に示した。PTH

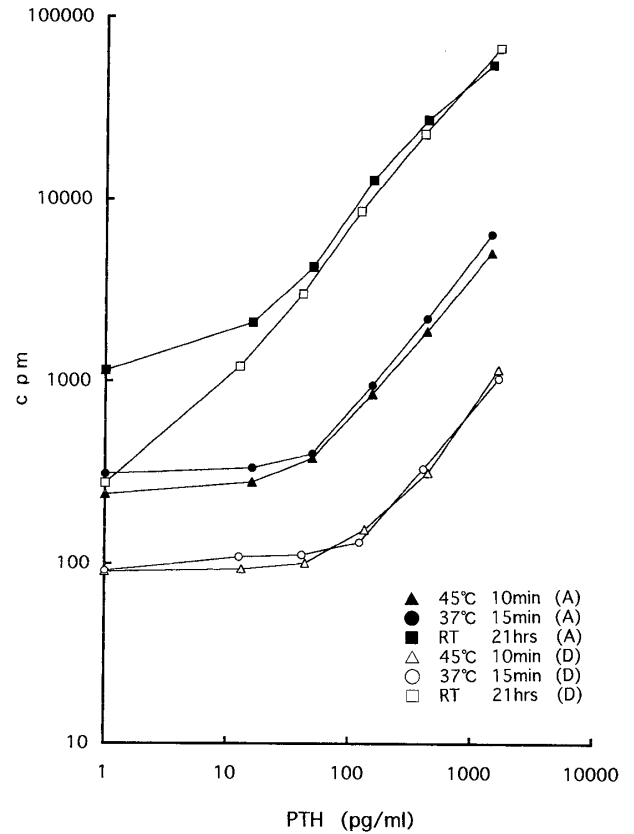


図2 A社およびD社キットによる標準曲線の比較

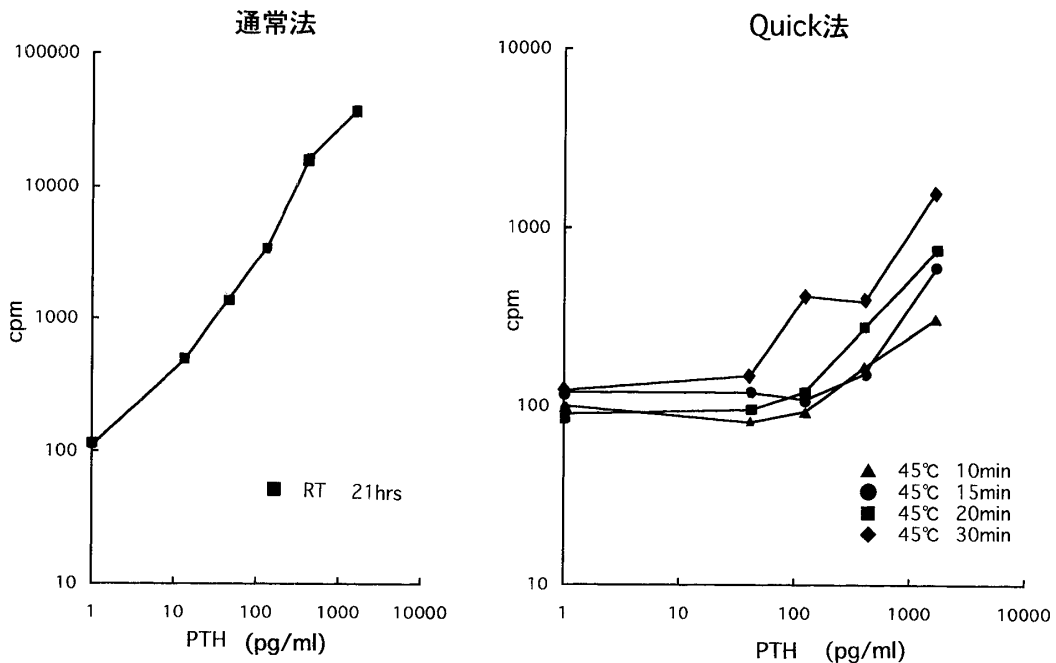


図1 D社キットの通常法およびquick法(45°C)の標準曲線

は正常範囲内の1例を除いてすべて高値であったが術後急速に低下した。Ca値は6例が高値で4例は正常範囲内であったが、術後は2例が正常、8例が低値となった。血清Pは低値から正常値のも

のが術後はほぼ正常範囲内に上昇した。ALPは6例が高値で術後も4例が高値を示した。Creは4例でやや低めの値であったが他は正常値を示した。

通常の測定法による原発性副甲状腺機能亢進症10例の腺腫摘出前および5, 10, 15分の血中PTH値を左に、その%changeを右側に示した(図5)。マイアミ大学のIrvinら¹⁾によれば、腺腫の有効な摘出の基準は術後5分で前値の50%以下とされている。今回の結果では10例とも5分後13~49%、10分後15~34%、15分後7~31%に低下し、全例5分で50%以上低下という条件を満たしていた。

Quick法による測定値と%changeを図6に示した。9例は5分後には前値の8~45%、10分後13~29%、15分後には15~27%と低下したが、1

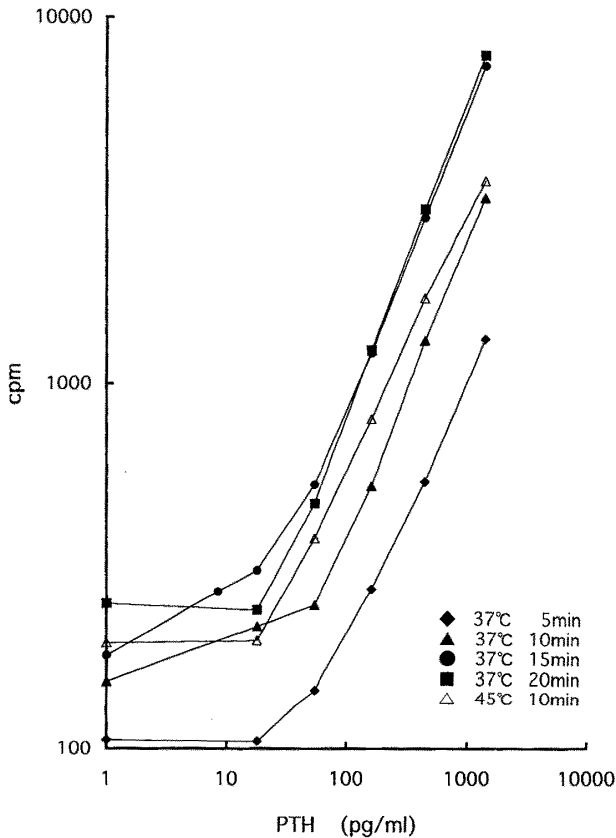


図3 A社キットのquick法の反応条件の比較

表2 Quick PTH assay のプロトコール

1. 術前, 副甲状腺腫摘出後(5, 10, 15分後)採血	10~15分
2. ラジオアイソトープ検査科へ検体搬送	5分
3. 検体の遠心分離	5分
4. 検体および試薬類のサンプリング	5分
5. 37°C120rpm15分インキュベーション	15分
6. 反応液除去後, 2回洗浄	5分
7. γ -シンチレーションカウンターで測定	10分
8. 結果報告	

計 55~60分

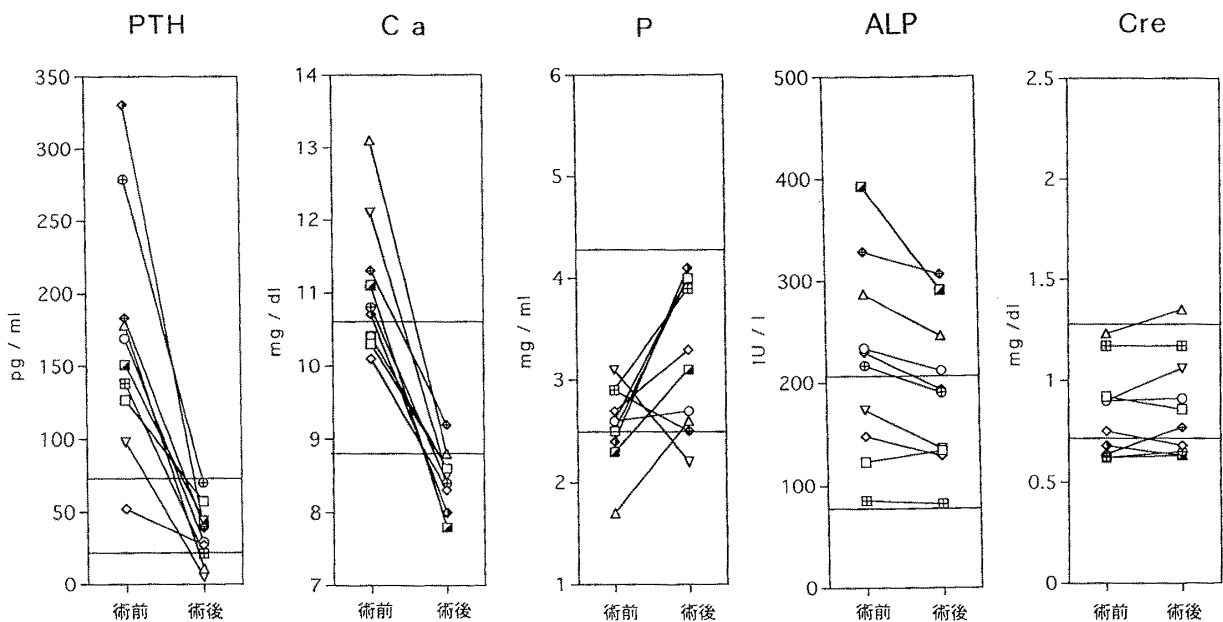


図4 腫瘍摘出前後の臨床成績

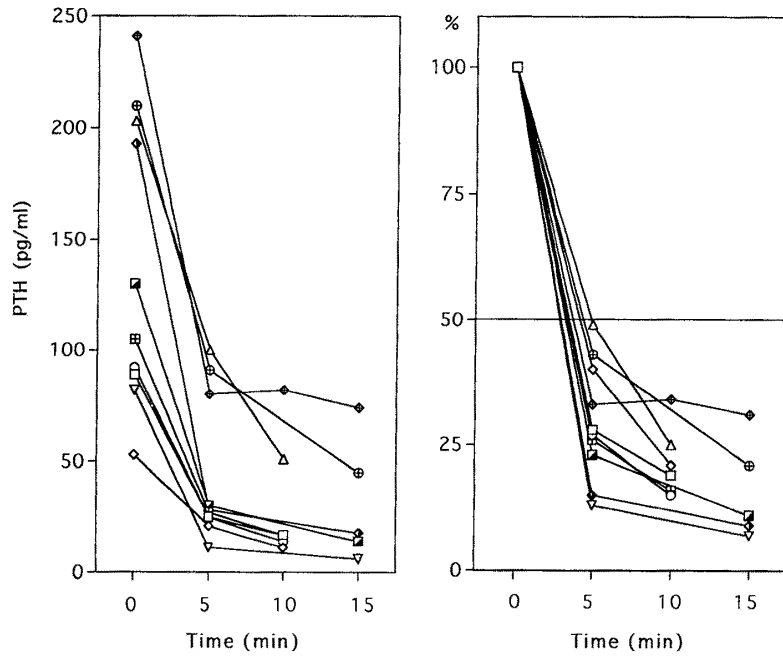


図5 腫瘍摘出前後の通常法による血中 PTH 値の推移

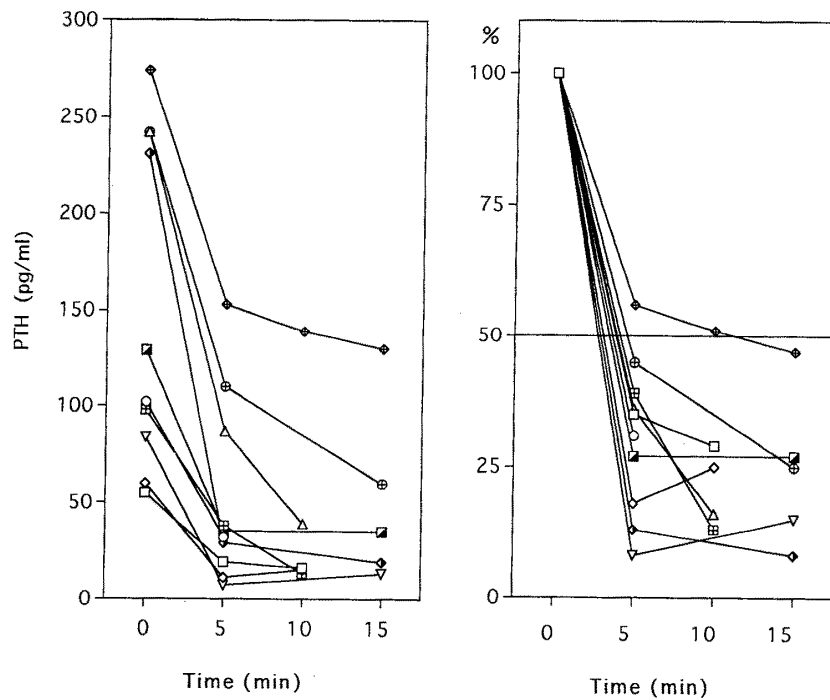


図6 腫瘍摘出前後の quick 法による血中 PTH 値の推移

例では PTH 値の低下が遅れ15分後に始めて50%となったが、通常法とはよく対比した。

3. 通常法との相関

対象症例およびその他の40例について、血中インタクト PTH を quick 法と通常法により測定した。両法の相関は $y=1.038x+1.043$ $r=0.994$ で

あった (図7)。

考 案

インタクト PTH の測定が Nassbaum ら²⁾により IRMA 法で開発され、副甲状腺疾患の鑑別診断がより確実となってきた。PTH は副甲状腺より1-84 PTH の形で分泌され、血中でさらに種々のフ

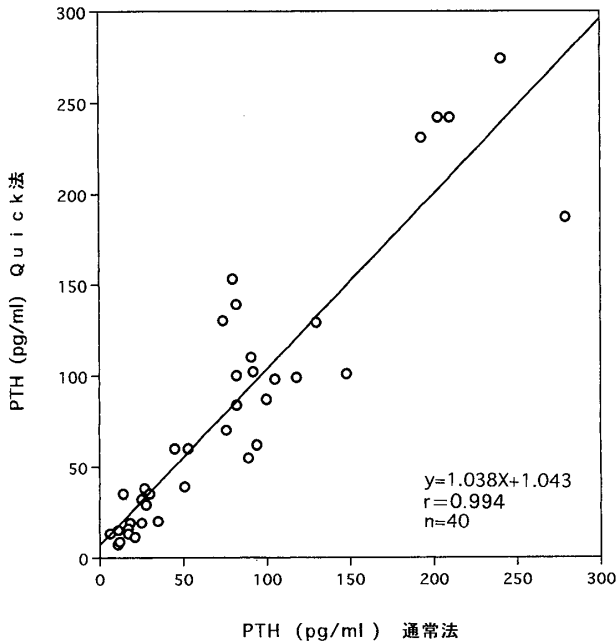


図7 Quick法と通常法による血中PTH値の相関

ラグメントに分解されるため、当初は半減期が長く安定であるC端PTHの測定法が開発された。しかしC端PTHの測定は腎機能の影響を受け生物学的に不活性なフラグメントを認識し、更に測定感度が低いため正常と副甲状腺機能低下症の鑑別診断が難しいとの欠点を有した。一方、N端PTHは生物活性を反映するが、不安定であるためルーチンの測定には使用されなかった。PTHの中間部を認識する抗体を用いたM-PTHもC端PTHより感度および副甲状腺疾患の鑑別診断には良いが、腎機能の影響を受け生物活性のないフラグメントを認識するため問題があった。インタクトPTHの血中半減期は5分以内と短く、副甲状腺からのPTHの分泌状態を反映するため、術中の腫瘍摘出の推移を追うには最適と考えられた。

Quick PTH assayの反応条件の検討では、ルーチンに使用しているD社キットがA社キットと比較し通常法ではほとんど差がなかった。しかし、quick法ではA社キットがD社キットに比較し標準曲線のカウントが高く測定感度も良好であったが、通常法に比べると10分の1のカウント数に留まった。両キットのquick法での差の理由として、抗体の相違なども考えられたが、両キット共

に抗PTH- ^{125}I としてPTHの1-34を、固相抗体は39-84と認識部位は同一であったため、両者の相違は抗体の結合能の差ではないかと推測された。

測定条件については、我々は種々の条件での検討の結果、A社キットを使用し 37°C 120rpm 15分で行うこととしたが、Irvinらは 47°C 600rpm 10分³⁾、 50°C 800rpm 6分または10分⁴⁾および 45°C 400rpm 7分¹⁾の条件で行ったと報告している。高坂ら⁵⁾は我々と同様A社キットを使用し、 37°C 振とう下15分で検討し通常法と良好な相関を示し、M-PTHが腫瘍摘出後緩慢な低下を示したのに関わらず、インタクトPTHの消失曲線は速やかであったと報告している。

腺腫摘出術中の末梢血中インタクトPTHの推移は、quick法では9例は通常法とほとんど変わらない結果で十分臨床に应用可能と考えられた。しかし、1例は5分で56%しか低下せず、15分後に50%以下となったが、通常法では5分で33%に低下しており、両者の差はquick法の測定感度の影響と思われた。

Irvinらはimmunochemiluminometric assay (ICMA)を用い手術室の隣室で測定を行い、IRMA法より更に短時間で結果報告を可能とした。今回の我々の迅速法プロトコールでは、採血から検体搬送を含め結果報告まで約1時間かかるため、測定感度と共にこの点の改善が必要と考えられた。

まとめ

Quick法の測定条件を検討し、測定条件 37°C 120rpm 15分で、結果は10例中1例を除いて通常法とほとんど差のない結果を得、術中の腺腫の有効な摘出の判定に有用であるとの成績を得た。

しかし、現法では結果提出まで約1時間かかるため、更に測定感度の改善と時間短縮の工夫の必要があると考えられた。

文献

- 1) Irvin GL, Deriso GT: A new, practical intraoperative parathyroid hormone assay. Am J Surg 168: 466-468, 1994
- 2) Nassbaum SR, Zahradnik RJ, Lavigne JR et al: Highly sensitive two-site immunoradiometric assay of parathyrin, and its clinical

utility in evaluating patients with hypercalcemia. Clin Chem 33 : 1364-1367, 1987

- 3) **Irvin GL, Dembrow VD, Prudhomme DL:** Operative monitoring of parathyroid gland hyperfunction. Am J Surg 162 : 299-302, 1991
- 4) **Irvin GL, Dembrow VD, Prudhomme DL:** Clinical usefulness of an intraoperative "quick parathyroid hormone" assay. Surgery 114 :

1019-1023, 1993

- 5) **高坂唯子, 滋野長平, 北村暢康ほか:** Immunoradiometric assay によるヒト副甲状腺ホルモン(1-84)の迅速測定法の確立および術中測定法としての応用. 核医 27 : 117-124, 1990