

## 臨床検査シリーズ

# 免疫測定法による血中微量成分の検査： 感染症，腫瘍マーカー，ホルモンの検査について

岸野好純<sup>1</sup> 上裕俊法<sup>2</sup>

<sup>1</sup>近畿大学医学部附属病院中央臨床検査部 <sup>2</sup>同 臨床検査医学部

### はじめに

近畿大学医学部附属病院中央臨床検査部の血清検査担当部門では，かつて感染症抗体や自己免疫関連の検査，補体関連検査，免疫グロブリン関連検査等を業務の主体として実施してきた。しかし，時代とともに臨床が求める検査内容は変化し，また，検査法の進歩によって手法から自動化法へ，より高感度かつ迅速な測定法へと変遷している。そのような状況下で，中央臨床検査部では効率的な運用を目指して組織内での業務分担を幾度となく見直し，今日の業務内容を担う検査室となった。現在の血清検査担当部門（以下当検査室）は，従来からの業務として抗核抗体検査や感染症検査（梅毒，肝炎ウイルス）など，いわゆる“免疫血清検査”を実施する一方で，高感度な免疫測定法を用いて腫瘍マーカーおよびホルモンの分析を行っている。特に近年では pg/ml ~ ng/ml レベルの微量成分が高感度かつ短時間で分析できるようになり，診察前検査としての利用も定着してきた。

この稿では，当検査室が担う業務のうち，高感度免疫測定法を用いて実施している感染症検査，腫瘍マーカーおよびホルモン検査の概要を紹介するとともに，検査結果を解釈するうえで知っておいた方がよいと思われる情報やピットフォール等についても述べ，それに関連したいくつかの事例を紹介する。

### 高感度免疫測定法の原理

当検査室にて使用している分析装置とその検査項目の一覧を表1に示した。すべて抗原抗体反応を利用した免疫学的測定法であるが，免疫反応の結果をどのようなシグナルで検出するかによって，測定原理の名称が異なっている。これらの差異についてはRIA法（radio immunoassay）とEIA法（enzyme immunoassay）を基本に整理すると理解しやすい。例えば，CLIA法（chemiluminescence immunoas-

say）はRIA法のアイソトープの代わりに化学発光物質（アクリジニウムエステルなど）を標識物質として使用し，アルカリ+過酸化水素のトリガー添加によって発生した光を検出する方法である。また，EIA法の最も古典的な検出系は発色基質を用いた吸光度の測定であるが，この基質が酵素反応によって光を発生する物質（オキセタン誘導体など）であれば，CLEIA法（chemiluminescence enzyme immunoassay）と呼ばれる。ECLIA法（electrochemiluminescence immunoassay）は，電気的エネルギーによって標識物質を発光させるユニークな方式である。具体的には，電子供与物質であるトリプロピルアミン（TPA）の存在下で標識物質である2価のルテニウムピリジン錯体  $[Ru(bpy)_3^{2+}]$  を電極で酸化還元することにより励起状態とし，基底状態に戻る際の発光を検出する方法である<sup>1</sup>（図1）。これらの測定法は，シグナル検出系の工夫によってRIA法やEIA法を凌ぐ検出感度を達成してきたわけであるが，それと同時にシグナル検出に至るまでの反応プロセス，すなわち，抗原抗体反応の最適化についても研究が重ねられてきた。その結果，当検査室で採用している自動免疫測定法ではサンプリングから結果出力までに要する時間が20~30分と迅速であり，患者試料受付から前処理も含め，最短1時間程度で結果報告ができるようになった。現在，これらの測定法を用いて腫瘍マーカーおよびホルモン検査の至急対応を実施している。

### 各 論

1) B型肝炎，C型肝炎，梅毒の検査と検査結果の判断

術前の感染症のスクリーニング検査として当検査室ではHBs抗原，HCV抗体および梅毒抗体（RPR・TP抗体）検査を実施しており，月間の依頼件数はそれぞれ約1800件である。これら3項目のうちで病原体を検出しようとするものはHBs抗原検

表1 血清検査室で使用している高感度免疫測定法と測定項目一覧

項目	測定原理	測定機器	メーカー
〈感染症関連〉			
TP Ab HBs Ag HBs Ab HBe Ag HBe Ab HBe Ab HCV Ab	CLIA 法	アーキテクトアナライザ - i2000SR	アボットジャパン株式会社
〈腫瘍マーカー関連〉			
CEA AFP CA19-9 CA125 PSA CA15-3 NSE CYFRA Thyroglobulin ProGRP	ECLIA 法 FEIA 法	モジュラーアナリティク ス EE ELSIA-FS1200	ロシュダイアグノスティックス 株式会社 シスメックス株式会社
〈ホルモン関連〉			
HCG (血液・尿) BNP (※) Cortisol GH	FEIA 法	AIA-1800ST	東ソー株式会社
ACTH	CLIA 法	イムライズ1000	シーメンスメディカルソリュー ションズ・ダイアグノスティッ クス株式会社
LH FSH Prolactin TSH FT3 FT4 T3 T4 PTH-I Estradiol Progesterone	ECLIA 法	モジュラーアナリティク ス EE	ロシュダイアグノスティックス 株式会社
〈その他〉			
IgE Ferritin	FEIA 法	AIA-1800ST	東ソー株式会社

CLIA 法：chemiluminescence immunoassay 化学発光免疫測定法

CLEIA 法：chemiluminescence enzyme immunoassay 化学発光酵素免疫測定法

ECLIA 法：electro chemiluminescence immunoassay 電気化学発光免疫測定法

FEIA 法：fluorescence enzyme immunoassay 蛍光酵素免疫測定法

(※) 時間外の BNP 測定は CLEIA 法 (PATH FAST；三菱化学メディエンス株式会社) にて実施

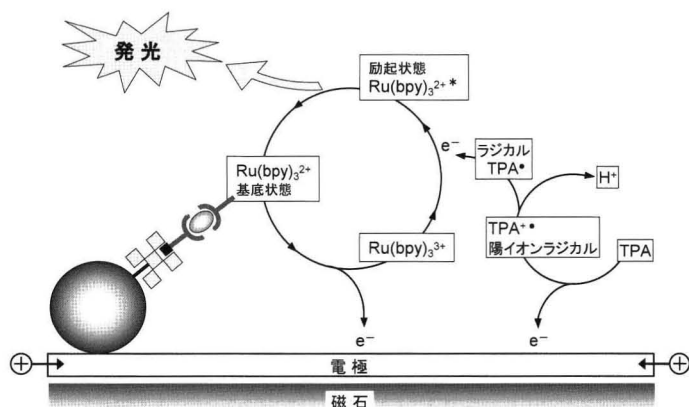


図1 ECLIA法の発光メカニズム

査のみであり、他の2項目は感染による宿主の免疫反応の結果生じた抗体を検出しているに過ぎない。したがって、HBs抗原検査はHBV感染を推定するうえで信憑性の高い検査と考えられるが、HCV抗体および梅毒抗体検査については、病原体を保有している“可能性”を示しているだけであり、特にHCV抗体の弱陽性例や梅毒抗体検査のRPR陰性・TP抗体陽性例ではそれぞれ過去の感染を示していることが多い。さらに、過去の感染についても“可能性”の域を脱することはできない。なぜなら、生体は種々の抗原刺激によって抗体を産生するが、ポリクローナルに産生された抗体の特異性はさまざま

までであるため、HCVや梅毒トレポネーマとはまったく関係のない抗原刺激によって産生された抗体が交差反応性を示す場合があるためである。また、免疫測定法の検査試薬には動物由来の抗体や種々のタンパク成分が含まれており、その成分と患者の抗体が反応することによって稀に偽陽性を呈する場合もあるので注意が必要である。したがって、これらの検査が陽性となった場合は「スクリーニング検査陽性」と判定されるが、それぞれの感染を確定するためには他の検査による確認が必要となる。HBVおよびHCVについてはHBV-DNAあるいはHCV-RNAを検出することによって感染を確定できる

が、梅毒では第一期梅毒における局所からのトレポネーマ検出を除き、血清学的検査（抗体検査）に頼らざるを得ない。スクリーニング検査の陽性反応が梅毒特異的であることを確認するためにはFTA-ABS法（fluorescent treponemal antibody-absorption test）等の追加検査が望ましく、また、現在の感染を推定するためにはSTS（serological tests for syphilis；脂質抗原カルジオリピンを用いた抗体検出系の総称）の成績が参考となる。

ところで、HBVの感染形態のうち、一過性感染ではウイルスの排除によって治癒すると考えられてきたが、最近ではこのような感染例においても体内にHBVが潜伏感染し続けることが明らかとなってきた。このような観点から、HBV感染履歴を示すマーカーとしてのHBc抗体検査は重要と考えられるが、その結果解釈にも近年変化が見られる。従来より、HBV急性肝炎とキャリアからの急性増悪の判別にはHBc抗体の低抗体価／高抗体価による分類が利用されてきた。しかし、その後の研究や測定法の変遷によってこの分類法の意義は失われつつあり、今日ではその判別にIgM-HBc抗体の測定が推奨されている<sup>2</sup>。

#### Case 1 TP抗体偽陽性を呈した乳児の症例

生後4ヶ月の女児においてRPR陰性・TP抗体陽性の結果が得られた。母親のTP抗体は陰性であったことから移行抗体である可能性は否定され、非特異反応による偽陽性と推定された。他の梅毒関連検査では、FTA-ABS法およびTPHAともに陰性であった。試薬製造メーカーによる精査の結果、非特異的な吸着を防止する目的で試薬に添加されているブロッキング剤の糖タンパクと患児抗体が反応し、偽陽性を呈していたことが判明した。この事例のように、明らかに非特異反応が疑われる場合は確認のための精査を実施することも可能であるが、すべての陽性患者についてこのような確認作業を実施することは事実上困難である。RPRに代表されるSTS法ではしばしば生物学的偽陽性（BFP：biological false positive）を経験するが、トレポネーマ特異抗体の検出系であってもこの事例のような非特異反応や上述した交差反応性によって偽陽性を呈することがあるので注意が必要である。

#### 2) 腫瘍マーカー検査と検査結果の判断

当検査室にて実施している腫瘍マーカー検査（表1）のうち、依頼件数が多い項目はCEA（月間約1900件）、CA19-9（約1200件）、AFP（約800件）、CA125およびPSA（各約500件）などである。CEAおよびCA19-9は全国的に最も多く測定されている腫瘍マ

ーカーであるが、この2つのマーカーは測定法間での乖離が認められる項目であり、診療の現場では結果判断に注意を要する。

CEAは、分子量約18万の糖タンパク質であり、組成のほぼ半分を糖鎖が占めている。種々の消化器癌、肺癌、乳癌等において高い陽性率を示すことから広範囲な腫瘍マーカーとして利用されているが、その一方で炎症性疾患や良性的な各種消化器疾患、糖尿病、甲状腺機能低下症等によっても上昇することが知られている。また、ヒト血中あるいは組織中にはCEAと類似構造を有するCEA関連抗原の存在が確認されており、NCA（Non-specific cross-reacting antigen）、NCA-2、NFA-1（Normal fecal antigen-1）、NFA-2等が挙げられる。そのなかで、NCA-2は分化最終段階の胎児大腸上皮細胞によって産生されて胎便に検出される抗原であるが、この物質が成人の各種癌においても高値化することが知られている<sup>3,4</sup>。このような理由から、現在市販されているCEA検査試薬にはNCA-2とも反応する測定系と反応しない測定系が混在しており、この特異性の違いは各試薬メーカーによって意図的にデザインされたものである。これに関しては、国際的にも一致した見解が得られておらず、CEA測定法間での乖離の原因となっている。

CA19-9はモノクローナル抗体NS19-9が認識するI型糖鎖抗原で、ルイス式血液型Le<sup>a</sup>糖鎖にシアロ酸が結合したシアリルルイスAの構造を示す。膵癌および胆嚢・胆管癌において高い陽性率を示すほか、胃癌、大腸癌、卵巣癌においても有用性が認められる。一方、良性疾患では肝胆道疾患、糖尿病、呼吸器疾患、関節リウマチ等で高値を示し、近年では消化器用剤のスクラルファート服薬による上昇が報告されている<sup>5</sup>。CA19-9抗原糖鎖は、血液中にいて巨大なシアロムチンとして存在するが、その分子量は40万以下から100万以上と幅広く不均一である。癌由来のCA19-9には100万を超える高分子が多く、逆に良性疾患に見られるCA19-9の多くは低分子である。CA19-9測定試薬のほとんどは、同一のNS19-9マウスモノクローナル抗体を使用しているが、各反応系の設計に由来する反応特性の違いによって、分子量と反応性の関係が測定法間で一定ではない<sup>6</sup>。このことが、CA19-9測定法間での主な乖離原因となっている。また、現在一般的に用いられているCA19-9のカットオフ値は37 U/mlであるが、血中CA19-9レベルはルイス式血液型を決定するルイス遺伝子（Le/le）と分泌型遺伝子（Se/se）の組み合わせによって異なることが知られている。すなわち、健常者におけるLe（a+b-）の血中CA19-9

レベルは Le (a-b+) よりも高値を示し、また、日本人の約10%を占める Le (a-b-) ではほとんど CA19-9 を産生しない<sup>7</sup>。このように、本来ならば遺伝子型の組み合わせごとに異なる血中 CA19-9 レベルを一律37 U/ml のカットオフ値で評価することになるため、特にグレーゾーンの判断においては注意が必要である。Le (a-b-) の場合、膵癌があっても CA19-9 は上昇せずに極めて低値を維持する。このような症例では CA19-9 の測定を行わず、SPan-1 や DUPAN-2 などの腫瘍マーカーへの変更を検討すべきである。

### Case 2 CEA 値が測定法間で乖離した一症例

当院にて CEA 26.3 ng/ml の患者が他院の検査結果ではカットオフ値以下 (5.0>ng/ml) と乖離したため主治医より問い合わせがあった。

マウスモノクローナル抗体に対する異好抗体の影響を疑ったが、希釈直線性や酢酸抽出処理の結果では特に問題なかったため、NCA-2 とも交差反応を示す測定法 3 種類および反応しない測定法 2 種類による測定を実施した。NCA-2 と交差反応性がある測定法での CEA 値は26.3, 26.1, 27.6 ng/ml であったが、交差反応性がない測定法では2.9および4.8 ng/ml であったことから、乖離原因は NCA-2 との交差反応性の有無によるものと推定された。なお、この症例では各種画像診断においては明らかな腫瘍は確認されなかった。

### Case 3 異好抗体の影響により CA19-9 が著しい偽高値を呈した症例

2ヶ月前に下部胆管癌の診断で膵頭十二指腸切除術が施行された症例において、術前の CA19-9 値391 U/ml に比べ、今回 (術後2ヶ月) の値が247 U/ml と予測されるレベルまで低下を示さなかった。そこで、希釈測定による再検査を実施した結果著しい直線性不良を認め、真値は30 U/ml 程度と低値であることが推定された (図2)。免疫グロブリン等の沈殿除去に用いられる PEG (polyethylene glycol) 処理では通常の場合 CA19-9 は沈殿しないが、この患者の CA19-9 はほとんどが沈殿除去された。また、この CA19-9 はプロテインGと結合しノイラミナーゼ処理によって抗原性を失わなかった。以上の事から、偽高値の原因は患者 IgG が異好抗体として測定系に干渉したためと考えられた。

### 3) ホルモン検査

下垂体-性腺関連、甲状腺関連など、表1に示した種々のホルモン検査を院内実施しているが、なかでも TSH および freeT4 が月間約1400件、freeT3 が月間約1100件、BNP が月間約800件と依頼が多い。

	(U/ml)	
希釈率	実測値	換算値
x1	247	247
x2	44	88
x4	12	48
x8	5	40
x16	2	32

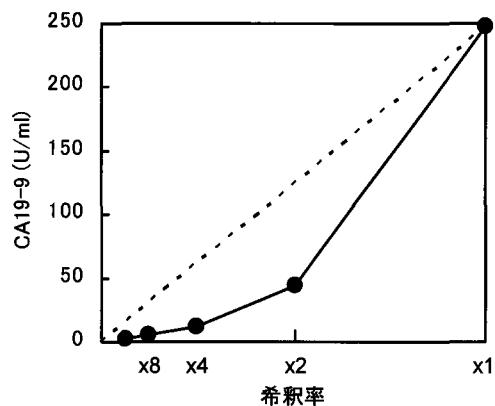


図2 Case 3 の CA19-9 希釈直線性不良

BNP に関しては、2004年の院内検査導入時に月間250件程度であったものが、約4年間で3倍以上に増加している。これは、2007年6月より従来の「心不全の病態把握」に加えて「心不全の診断」も保険適用となったこともあり、循環器系以外の診療科にも客観的指標として広く利用されるようになったためと考えられる。なお、2007年8月からは、時間外においても緊急検査室でBNP検査が実施できるようになった。

ホルモンはペプチドホルモン、ステロイドホルモンおよびアミノホルモンに大別される。これらのうち、ペプチドホルモンは高分子の多価抗原であり、優れた特異性を持つモノクローナル抗体が利用できる今日の免疫測定法においては、類似ホルモンとの交差反応が問題となることは少ない。例えば、hCG測定においてLHの交差反応を回避することがかつては困難であったが、現在では薬局で市販されている妊娠反応検査薬においてさえもLHと交差反応を示すことはない。一方、ステロイドホルモンやアミノホルモンは低分子のハプテンであり、検査試薬中の抗体が反応するための抗原決定基が極めて少ない。したがって、抗体はごく限られた部位の立体構造を認識せざるを得ず、しばしば類似物質との交差反応性が問題となる。甲状腺ホルモン測定法の主流がRIA法からnon-RIA法へと移行していた2000年頃、数社のfreeT3測定系がNSAIDsのジクロフェナクナトリウムと交差反応を示し、偽高値となることが問題となった。該当メーカーは速やかに試薬抗体の見直しや吸収用抗体の添加などによって

表2 各種コルチゾール免疫測定法における類似物質との交差反応性

	(交差率 %)				
	A法	B法	C法	D法	E法
プレドニゾロン	12.3	35.0	47.5	77.0	62.6
プレドニゾン	0.6	0.7	2.7	0.2	1.9
6-メチルプレドニゾロン	0.1	2.9	3.4	43.0	104.6
デキサメサゾン	0.0	0.4	0.1>	0.2	1.0>
コルチコステロン	0.9	6.3	2.6	0.4>	2.5
コルチゾン	2.7	2.5	34.3	0.4>	1.4
11-デオキシコルチゾール	1.9	8.5	12.7	—	11.1

影響を回避し、現在では一応収束している。このように、検査試薬はフィールドで多数の患者試料測定に使用される中で、問題点の抽出と改善が繰り返されることにより、その性能は高められていく。しかし、例えばコルチゾールの免疫測定法のように、現在の技術水準では十分な特異性を得ることが難しい検査項目も存在する。表2に各社コルチゾール免疫測定法が示す類似物質との交差反応性について添付文書から抜粋した。その記述によれば、合成ステロイドのプレドニゾロンはすべての試薬において交差率が高く、デキサメサゾンでは交差反応を認めない。その他、6-メチルプレドニゾロンやコルチゾンと高い交差率を示す特徴的な測定系もある。モノクローナル抗体を用いたA法は、プレドニゾロンを始めとする各種ステロイドとの交差反応性が最も低いが、表2には示していないフルドロコルチゾンで36.6%の交差率を認めることが添付文書に記されている。ただし、これらの成績は各種ステロイドの添加実験によって得られたものであり、生体へ投与した際に生じる代謝産物までも考慮すると、その影響はさらに複雑なものとなる。以上のことから、コルチゾールの免疫測定法ではステロイド投薬患者の内因性コルチゾールを正しく反映しない可能性があることを念頭に置いて利用する必要がある。

ペプチドホルモンの測定では、前述のように類似物質との交差反応性が問題となることは少ないが、そのホルモンの前駆物質や分解産物が血中に混在する場合、あるいはホルモン自体の存在形態が通常と異なる場合などでは測定法間での反応性に差が生じ、乖離が認められることがある。例えば、ACTHの測定にはN端およびC端を認識する2種類の抗体を用いて測定対象物を挟み込むサンドイッチ法が用いられるが、これらの抗体が認識する範囲は試薬メーカーごとにそれぞれ異なっている。したがって、ACTHの前駆物質であるPOMC (pro-opiomelanocortin) や分解産物の一つであるCLIP

(corticotropin-like intermediate lobe peptide) 等との交差反応性が測定法ごとに異なるため、測定結果が一致しない場合がある<sup>8</sup>。また、Cペプチドは血中において比較的安定であるが、尿中では断片化されやすく、特に酸性尿や保管温度の上昇、細菌の増殖により分解が促進される<sup>9</sup>。かつてCペプチドの測定に繁用されていたRIA法は、ペプチドの一領域のみを認識する抗体を用いて検出(二抗体法)していたが、non-RIA法では前述のACTHと同様にペプチドの2カ所を捉えるサンドイッチ法が用いられる。したがって、血中のCペプチド測定値は測定法間で比較的良く一致するが、尿中CペプチドはRIA法とnon-RIA法で相関が低く、さらに同じnon-RIA法間においても抗体の認識部位が異なれば乖離する場合がある。この現象は採取後から測定までに長時間経過する蓄尿においてより顕著となる。その他、LHβ鎖のアミノ酸置換による構造異常<sup>10</sup>やGH、プロラクチン、インスリン等に見られるホルモナー抗体複合物の形成などによって、測定法間での反応性に差が生じる場合がある。

#### Case 4 グナゾール投薬患者に認められたエストラジオールの偽高値例

3種類のエストラジオール免疫測定法A～Cにおいて、A法が8 pg/mlと低値、BおよびC法が237 pg/mlおよび201 pg/mlと高値を示す乖離例を認めた。投薬履歴から、子宮内膜症治療薬のグナゾールの影響が疑われたため、他のグナゾール服薬患者試料についても比較したところ、程度はさまざまであるが同様の傾向で乖離した。質量分析法(LC-MS/MS)の測定結果はA法と一致し、高値を示していたBおよびC法の偽高値が判明した。グナゾール原薬の添加実験ではその影響は僅かであったが、アルカリ処理によってグナゾールのイソキサゾール環を開裂させると交差反応性が上昇したことから、代謝産物による影響が示唆された。試薬開発の段階では、種々の類似物質を用いた添加実験によって交差反応性が検討されているが、この事例のように代謝産物の影響については試薬メーカーも把握することは困難である。

#### Case 5 免疫測定法間で乖離を認めたマクロプロラクチン血症の1例

健康者ボランティアの試料を測定中に、複数の免疫測定法において乖離する有経女性の試料があった。その乖離例は最も低値を示した測定法の結果においても基準範囲より高く、高値に乖離した測定法ではさらに異常高値を示していたが、月経異常や乳汁漏出症など高プロラクチン血症を示唆する臨床的徴候を認めなかった。非乖離例を対照としてゲル濾

過クロマトグラフィーによる分析を実施した結果、対照のプロラクチンは23 kD (モノマー) および40 kD (ダイマー) のみであったが、乖離例では約200 kD にピークを認めた(図3)。この200 kD ピークはプロテインGによって吸収され、また、酸性処理によって消失するとともに23 kD ピークへと移行した。これらの結果より、乖離例の血中にはIgG-プロラクチン複合体 (big big prolactin) が存在し、測定法間での乖離原因となっていることが判明した<sup>11)</sup>。

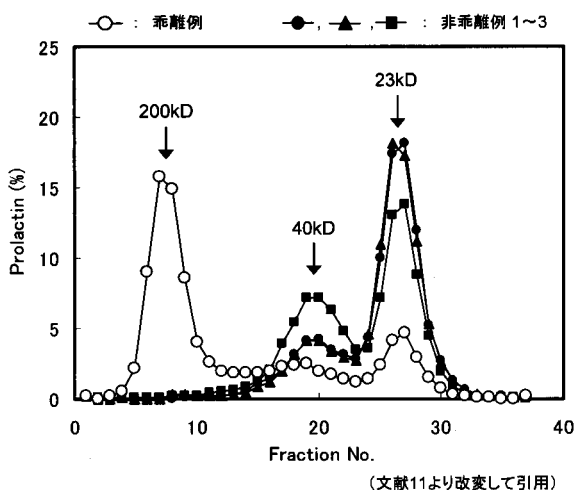


図3 ゲル濾過クロマトグラフィーによるプロラクチン分子量の解析

測定値の標準化と精度管理について

表3に当検査室が採用している測定法について、各検査項目とその準拠標準物質を列挙した。

ホルモン検査項目については、大部分の項目がWHO標準品に準拠しており、感染症関連検査では定量測定 of HBs Ag/Ab がWHO標準品によって標準化されている。腫瘍マーカーではCEA, AFP, PSA, Thyroglobulin に関しては準拠標準品が統一されているが、その他の項目について候補となる標準物質がないため、各社にて調整された標準品に基づいて値付けされている。試薬の開発時期に流通していた標準品が各測定法に採用されているため、例えばLHではWHO 1st IRP 68/40 とWHO 2nd IS 80/552の2種類、FSHではWHO 2nd IRP 78/549 とWHO 94/632の2種類、プロラクチンではWHO 1st IRP 75/504, WHO 2nd IS 83/562 およびWHO 3rd IS 84/500の3種類に準拠した検査試薬が混在している。PSAは専門学会の主導によって積極的な標準化が進められた項目であり準拠すべき標準品の統一および試薬の反応性がfree-PSAとPSA-ACTに対して等モル反応であることを規定するなど、腫瘍マーカーのなかでは最も標準化が具体化した検査項目である。

臨床検査における施設間差是正のための事業として、日本医師会、日本臨床衛生検査技師会、各都道

表3 各検査項目における準拠標準物質一覧

項目	準拠標準物質	項目	準拠標準物質
〈感染症関連〉		〈ホルモン関連〉	
TP Ab	自社調整品	HCG	WHO 1st IRP 75/537
HBs Ag	WHO 80/549	BNP	自社調製品
HBs Ab	WHO 1st IRP W1042	Cortisol	自社調製品
HBe Ag	Paul-Ehrlich Institute 参照血清	GH	WHO 2nd IS 98/574
HBe Ab	Paul-Ehrlich Institute 参照血清	ACTH	NIBSC 74/555
HBc Ab	Paul-Ehrlich Institute 参照血清	LH	2nd IS (NIBSC) 80/552
HCV Ab	自社調整品	FSH	WHO 2nd IRP 78/549
〈腫瘍マーカー関連〉		Prolactin	WHO 3rd IRP 84/500
CEA	WHO 1st IRP 73/601	Estradiol	IRMM (BCR-576, 577, 578)
AFP	WHO 1st IRP 72/225	Progesterone	CRM 347/348
CA19-9	自社調整品	TSH	WHO 2nd IRP 80/558
CA125	自社調整品	FT3	自社調製品
CA15-3	自社調整品	FT4	自社調製品
NSE	自社調整品	T3	United States Pharmacopeia
CYFRA	自社調整品	T4	United States Pharmacopeia
ProGRP	自社調整品	PTH-I	自社調製品
Thyroglobulin	CRM 457	〈その他〉	
PSA	Stanford reference standard/WHO 96/670	IgE	WHO 2nd IRP 75/502
		Ferritin	WHO 1st IS 80/602

府県医師会などの主催による外部精度管理調査が実施されている。しかし、これらの調査における対象項目は限られており、ホルモンおよび腫瘍マーカー検査関連ではTSH、FT4、CEA、AFP、CA19-9、CA125、PSA、フェリチンのみである。一方、規模は小さいが、日本アイソトープ協会もイムノアッセイ検査全国コントロールサーベイを行っており、ホルモン検査24項目、腫瘍マーカー9項目に関して精度管理調査を行っている。

第29回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2007年）の報告<sup>12</sup>より、各検査項目におけるnon-RIA測定法間の変動係数（CV%）を以下に列挙する。ホルモン検査では、LH（WHO 2nd IS 80/552 準拠試薬）で11.4～15.1%、プロラクチン（WHO 3rd IRP 84/500 準拠試薬）で17.6～19.0%、TSHで12.2～14.4%、FT4で16.3～23.0%などとなっている。腫瘍マーカーでは、CEAで10.3～13.8%、AFPで9.2～11.7%、CA19-9で44.5～50.6%、CA125で19.8～26.4%、PSAで7.7～12.6%などであり、特にCA19-9における測定法間差が大きい。大量供給されるサーベイ用試料は種々の添加物や凍結乾燥によるタンパクの変性など必ずしも患者血清の挙動を反映しない可能性もあるが、いかに測定法間で検査値が異なるかを示す参考データになると考えられる。同一の標準品に準拠している測定法間でも測定値が一致しない原因としては一次標準品から日常標準品へと値を継承していく過程で生じる誤差が考えられるほか、標準品と患者血清との性状の違いによる影響も推定される。免疫測定法では、溶液中に含まれる目的物質の量が同じでも溶媒の性状（マトリクス）が異なれば測定値が変わってしまう現象をしばしば経験する。したがって目的物質の量は正しく継承されていてもマトリクスの影響によって一次標準品の値付けが患者血清には正しく反映されない場合があり、その影響の程度も測定法間で異なると考えられる。このように、測定法によって検査値が異なる現状においては、測定法の選択は重要な問題である。新規測定法の採用にあたってはその基本性能のみならず値付けが妥当であるか、また将来的にも広く普及し続ける測定法であるかを考慮し、検査部門として臨床科と協議のうえで選定すべきと考える。

#### より安全な検査結果の提供

検査室は正確かつ迅速に検査結果を臨床へ提供しなくてはならない。そのためには日頃より機器の保守や内部および外部精度管理を実施し、正しい検査結果を得るための基盤を整えておく必要がある。さらに、それらの備えでは完全に排除できないような

偶発的エラーや個々の患者特有の異常反応等についても可能な限り検出できるよう工夫しながら日常検査を実施している。例えば、当検査室における結果報告業務では、基本的に過去データ（時系列データ）を参照したうえで結果を送信している。これにより、結果として得られた数値がただ単に「低い」「高い」だけの評価ではなく、「前回に比べてどうか」「今までの変動傾向に比べてどうか」を検証し、さらに必要に応じて治療歴や投薬歴等も参考とすることによって、奇異なデータに気づく機会を増やすことができる。また、検査項目ごとの特性に応じた確認方法を実施する場合もある。HBs Agは検査の性格上、高感度な測定系となっているため、非特異反応もしくはコンタミネーションによる偽陽性を呈する可能性がある。そこで、カットオフ値付近の弱陽性例では、他の採取容器からの試料を用いた再検査や、HBc抗体の追加測定、専用のHBs Ag確認試薬による特異的反応の検証を実施したうえで報告している。腫瘍マーカー検査では、例えば過去履歴がなくカットオフ値の2倍を超える結果であれば再検査の対象となるが、そのままの試料を再検査するのではなく、測定範囲内であっても希釈再検を実施している。これは上述のCase 3に示したように、異好抗体などの患者抗体に由来する非特異反応の多くは希釈直線性不良によって容易に検出できるので、これらの影響についても同時に検出できるように配慮しているためである。なお、希釈測定ができないFT3およびFT4において異好抗体などの影響を確認する場合は、PEG処理を実施している。25～30%のPEG（MW6000）溶液を血清試料と等量混合し、攪拌・遠心分離することによって、IgG、A、Mのほとんどを沈殿除去することができる。

#### おわりに

血清検査室が取扱う高感度免疫測定法の概要について、また、その代表的な検査項目である感染症、腫瘍マーカーおよびホルモン検査について紹介した。これら微量成分の検査が一般病院や診療所においても広く実施できるようになった背景には、高感度免疫測定法の技術的な進歩および多様な要望に対応した測定機器の開発が挙げられる。測定系に抗原抗体反応を用いる理由はその高い特異性にあるが、今回紹介した事例のように、交差反応や異好抗体の影響など種々の要因によって本来の結果が得られないケースも存在する。また、外部精度管理調査の成績より、腫瘍マーカーやホルモン検査における標準化が十分なレベルに達していないことも明らかである。免疫測定法の利便性とその裏側にあるこれら諸

問題について理解することは、誤った結果解釈を回避し、臨床検査をより効果的に利用するうえで有用と考える。

#### 文 献

1. 金澤健一 (1999) 電気化学連続発光の原理およびその応用. 医学と薬学41: 718-724
2. 日本消化器病学会 肝機能研究班 (2006) 肝疾患における肝炎ウイルスマーカーの選択基準(4版). 日消誌103: 1403-1412
3. Suzuki N, Kondo K, Tominaga S, Kuroki M, Matsuo-ka Y (1987) Heterogeneity of circulating carcinoembryonic antigen analyzed by sandwich-enzyme immunoassays with different specificities. *Cancer Res* 47: 4782-4787
4. Paus E, Almasbak H, Borner OP, Warren DJ (2003) A single-chain-Fv-based immunofluorometric assay specific for the CEA variant NCA-2. *J Immunol Methods* 283: 125-139
5. 河野通盛, 山田貞子, 汐田剛史, 前田佳子, 奥村剛清, 三浦裕和, 小林淳子, 吉村禎二, 山田 稔 (2002) スクラルファート長期内服により血清 CA19-9 値上昇を示した 6 例の検討. 臨検46: 929-932
6. 新井智子, 塚田敏彦, 中山年正 (1993) 肝疾患検体にみられる CA19-9 EIA 法偽陽性とその分子量に関する検討. 臨検42: 238-243
7. Narimatsu H, Iwasaki H, Nakayama F, Ikehara Y, Kudo T, Nishihara S, Sugano K, Okura H, Fujita S, Hirohashi S (1998) Lewis and Secretor gene dosages affect CA19-9 and DU-PAN-2 serum levels in normal individuals and colorectal cancer patients. *Cancer Res* 58: 512-518
8. 沖 隆 (2005) ACTH 測定値の解釈. 内分泌糖尿病21: 552-557
9. 関根武司, 石田美佐, 笠原良彦 (1996) 保存における尿中 C-ペプチドの安定性について. 医と薬学36: 797-802
10. Furui K, Suganuma N, Tsukahara S, Asada Y, Kikkawa F, Tanaka M, Ozawa T, Tomoda Y (1994) Identification of two point mutations in the gene coding luteinizing hormone (LH)  $\beta$ -subunit: Associated with immunologically anomalous LH variants. *J Clin Endocrinol Metab* 78: 107-113
11. 岸野好純, 秋山利行, 星合 昊 (2006) 血中 prolactin の多様性と各種 immunoassay の反応性: big big prolactin および普遍的な prolactin を含有する血清試料を用いた検討. 医学検査55: 1092-1105
12. 社団法人日本アイソトープ協会 医学・薬学部会 インビトロテスト専門委員会, イムノアッセイ研究会 (2008) 第29回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ成績報告要旨 (2007年). *Radioisotopes* 57: 617-668