

国際医療福祉大学審査学位論文（博士）

大学院医療福祉学研究科博士課程

日常検査における非特異反応の原因究明と
対応法に関する研究

2022 年度

保健医療学専攻 臨床検査学分野 臨床検査学領域

氏名：中野恵一

日常検査における非特異反応の原因究明と対応法に関する研究

中野恵一

要旨

日常検査において患者の病態を反映しない非特異反応が発生することがある。しかし、その発見や原因究明には豊富な見識と技術が要求される場合が多く、見逃され、誤診原因になっている例が少なくないと考えられる。本研究では、第一に、非特異反応の検出方法について文献的に調査した。その結果、非特異反応発見の発端は、汎用生化学自動分析装置のシステムによる検出、臨床検査情報システムによる検出、システムに依存しない検出の3つに大別することができた。第二に、IgE測定値の試薬間差（研究I・II）、心筋トロポニンIとTの乖離（研究III・IV）、臨床経過と矛盾するCA19-9（研究V）及びプロラクチン（研究VI）の異常高値、ミコフェノール酸代謝産物の交差反応（研究VII）の研究によって、個々の非特異反応の原因や頻度を調査した。第三に、文献調査と研究I～VIIを基にして、非特異反応の発見から原因究明までの一連の対応法をまとめ、提案した。

キーワード

日常検査、非特異反応、解析手法、対応チャート

Research on the causes of non-specific reactions in laboratory examinations and methods of analysis

Keiichi Nakano

Abstract

Laboratory examinations may produce non-specific reactions that do not reflect a patient's pathophysiology. In many cases, extensive knowledge and skills are often required to determine the cause of the phenomenon, and many cases are believed to have been overlooked, causing misdiagnosis. In this study, I conducted a literature survey and summarized methods for detecting non-specific reactions in routine laboratory tests. As a result, initiation of non-specific reaction findings can be broadly classified into three categories: detection by general-purpose biochemical autoanalyzers, detection by laboratory information systems, and system-independent detection. Differences in IgE measurements between reagents (Studies I and II), discrepancies between cardiac troponin I and T (Studies III and IV), elevated CA19-9 (Study V) and prolactin (Study VI) levels inconsistent with clinical course and cross-reactivity of mycophenolic acid metabolites (Study VII), as well as the causes and frequency of individual nonspecific reactions were investigated. Furthermore, a series of response methods associated with identified non-specific reactions and investigation of their causes were summarized and presented based on the literature review and Studies I - VII.

Keywords:

laboratory examinations, non-specific reactions, analytical methods, chart of investigation

目次

第1章 序論.....	1
1.1. 今日の日常検査.....	1
1.2. 日常検査における非特異反応.....	1
1.2.1. 異好抗体.....	1
1.2.2. 自己抗体.....	1
1.2.3. リウマトイド因子やモノクローナル蛋白などの異常蛋白.....	1
1.2.4. 薬剤.....	2
1.3. 非特異反応の問題点.....	2
1.4. 目的.....	2
1.5. 本研究の構成.....	2
1.6. 倫理的配慮.....	2
第2章 非特異反応の検出（文献調査）.....	4
2.1. 汎用生化学自動分析装置のシステムによる検出.....	4
2.1.1. 終点分析法におけるエラー検出.....	5
2.1.2. レート（速度）分析法におけるエラー検出.....	5
2.1.3. 演算方法に依存しないプロゾーンエラー検出.....	5
2.2. 臨床検査情報システムによる検出.....	5
2.2.1. 前回値チェック.....	5
2.2.2. 項目間チェック.....	5
2.2.3. 極端値チェック.....	5
2.3. システムに依存しない検出.....	6
2.3.1. 臨床経過と検査結果の乖離.....	6
2.3.2. 分析装置・測定試薬変更時における測定値の乖離.....	6
2.3.3. 初検値と再検値の乖離.....	6
第3章 非特異反応の検出と原因究明の例.....	7
研究Ⅰ. IgE 測定値の試薬間差の究明.....	7
研究Ⅱ. IgG4-IgE 複合体の保有頻度と臨床的特徴に関する実態調査.....	9
研究Ⅲ. cTnI と cTnT の乖離の究明.....	12
研究Ⅳ. 抗 cTnI 抗体と抗 cTnT 抗体の保有頻度と測定値への影響に関する実態調査.....	14
研究Ⅴ. 臨床経過と矛盾する CA19-9 高値の究明.....	18
研究Ⅵ. 臨床経過と矛盾する PRL 高値の究明.....	22
研究Ⅶ. ミコフェノール酸代謝産物の交差反応に関する調査.....	24
第4章 非特異反応に関する対応法の提案.....	27
4.1. 汎用生化学自動分析装置による反応タイムコースの確認.....	27
4.2. 異なる原理・試薬での測定.....	27
4.3. 臨床経過と検査結果の確認.....	27

4.4. 原因検索	27
4.4.1. 試薬と検体の混合試験.....	27
4.4.2. 希釈直線性試験.....	28
4.4.3. 血清蛋白・アインザイム電気泳動	29
4.4.4. 添加回収試験	29
4.4.5. 免疫グロブリン吸収試験.....	30
4.4.6. 還元処理試験	30
4.4.7. 異好抗体吸収試験.....	31
4.4.8. ゲルろ過分析	31
4.5. 非特異反応の検出から原因検索までの対応チャート.....	32
第5章 考察.....	33
5.1. 非特異反応の検出（文献調査）	33
5.2. 非特異反応の検出と原因究明の例.....	33
5.3. 非特異反応の検出から原因検索までの対応法.....	33
5.4. 研究の限界	34
5.5. 研究の意義	34
第6章 結論.....	35
謝辞.....	35
参考文献一覧.....	36

第1章 序論

1.1. 今日の日常検査

今日の日常検査では、大量の検体を正確に測定し、結果を迅速に臨床へ報告することが求められている。臨床化学・免疫検査では、蛋白質、脂質、電解質、ホルモン、腫瘍マーカーなどを定量測定している。特に微量物質を測定する免疫学的検査では、酵素免疫測定法、酵素免疫吸着測定法、化学発光酵素免疫測定法、蛍光酵素免疫測定法、免疫比濁法、免疫比ろう法、ラテックス凝集免疫比濁法などの測定原理を主として測定されてきた。そして、これらの項目は、新たな測定方法の開発や測定試薬・分析装置の改良が繰り返し行われ、日進月歩で変化する医療を支えている。

1.2. 日常検査における非特異反応

日常検査では患者の病態を反映しない非特異反応が発生することがある。非特異反応は、患者検体、分析装置、測定試薬、測定環境など様々な要因によって発生する。最も頻度が多い非特異反応は、患者検体中に存在する成分に起因することから、本研究では患者体内に存在する干渉物質に焦点を当てる。免疫学的非特異反応の原因となり得る物質として、以下のようなものが報告されている。

1.2.1. 異好抗体

異好抗体は異種動物に対する抗体と定義されている。現在の測定試薬に用いられている抗体の多くは、マウス由来のモノクローナル抗体である。このため、患者検体中にヒト抗マウス抗体（HAMA）が存在する場合、非特異的な反応が起こる可能性がある。HAMA以外にも、試薬中に含まれているウサギ^{1,2)}、ヒツジ¹⁾、ヤギ³⁾などの免疫グロブリンに対する異好抗体が存在する。

従来から癌治療に使用されたマウスモノクローナル抗体に対して産生された HAMA の存在が報告されている^{4,5)}。現在は、臓器移植⁶⁾、輸血後⁷⁾、動物接触⁸⁾など様々な要因に関する症例が報告されているが、明確に原因がわからない場合も多い。

1.2.2. 自己抗体

自己免疫疾患において抗核抗体や抗サイログロブリン抗体が測定されているが、それとは別に血中の各種成分に対する抗体が発生して複合体を形成することがある。このような自己抗体と測定対象物質が結合した複合体は、測定系への干渉や血中クリアランス遅延などの原因となり、臨床経過と矛盾した非特異的な検査結果を引き起こすことがある。自己抗体による非特異反応は、測定原理や干渉様式により偽低値または偽高値の双方向に影響する。非特異反応事例として、酵素⁹⁻¹¹⁾、ホルモン¹²⁻¹⁴⁾、腫瘍マーカー^{15,16)}などに対する自己抗体が報告がされている。

1.2.3. リウマトイド因子やモノクローナル蛋白などの異常蛋白

リウマトイド因子（RF）やモノクローナル蛋白（M蛋白）などの異常蛋白が原因となる非特異反応は、試薬中の抗体と検体中の抗原が結合した結合型と結合していない遊離型を分離しないホモジニアスな測定系に発生することが多い。特に、試薬中に添加されているポリエチレングリコ

ールや界面活性剤などが原因である場合が多く、RF¹⁷⁻¹⁹⁾や M 蛋白^{20,21)}に関する非特異反応が報告されている。

1.2.4. 薬剤

薬剤は代謝の過程で、測定対象物質と類似する構造を保ちながら順次変化し代謝される。このため、免疫学的測定法による抗体の認識部位が保たれている場合では交差反応が発生する可能性があり、インスリン製剤による交差反応^{22,23)}が報告されてきた。現在は、特異性を高めた抗体への改良が進んでいるが、薬剤の投与量が多い場合は交差反応による偽高値が発生する可能性がある。

1.3. 非特異反応の問題点

非特異反応による誤報告は、更なる追加検査や必要のない医療行為につながる可能性がある。これは患者に更なる心理的かつ肉体的な苦痛を強いるものであるとともに、医療経済的観点からも大きな問題である。

2001 年日本ではじめて IgG4 関連疾患に関する概念が提唱されたが²⁴⁾、発見の発端は日常検査で実施された電気泳動の異常パターンである。したがって、臨床検査における非特異反応の裏には医学的に貴重な症例が潜んでいる可能性がある。しかし、非特異反応を検出し、その原因を究明するには豊富な見識と技術が要求される場合が多く、今日の日常検査には見過ごされている非特異反応が少なくないと考えられる。このような背景を踏まえると、医学的に意義のある現象を見過ごしている可能性が否定できないことは、臨床検査の大きな課題である。

また、現在まで個々の非特異反応に関する症例報告がされてきたが²⁵⁻³¹⁾、発見から原因究明し、非特異反応に関する対応法を体系的にまとめた研究はない。

1.4. 目的

本研究では、日常検査における非特異反応の検出法をまとめ、個々の非特異反応の原因や頻度の調査（評価、検討）を基にして、対応法を提案することを目的とする。

1.5. 本研究の構成

本研究は第一に、日常検査における非特異反応の検出方法について文献調査した。第二に、非特異反応の検出と原因究明の例として、IgE 測定値の試薬間差（研究I・II）、心筋トロポニン（cTn）I と cTnT の乖離（研究III・IV）に関する非特異反応について原因究明とそれらの実態を調査した。また、極めて稀な一過性の CA19-9 偽高値（研究V）と持続する小児プロラクチン（PRL）高値（研究VI）の原因や薬剤代謝産物の交差反応に影響する因子を解析（研究VII）した。第三に、文献調査と研究I～VIIを基にして、日常検査に遭遇する非特異反応に関する対応法をまとめ、対応法を提案した。

1.6. 倫理的配慮

本研究は 1975 年のヘルシンキ宣言の倫理指針に準拠し、「国際医療福祉大学 大学倫理審査施設委員会（承認番号 21-Ig-192）」及び「北海道大学病院 生命・医学系研究倫理審査委員会（014-

0175、016-0351、019-0352)」の倫理審査にて承認された。症例研究は、患者または代諾者に症例解析の同意を取得した。研究I・IIは2015年-2022年、研究III・IVは2015年-2022年、研究Vは2014年-2015年、研究VIは2011年-2014年、研究VIIは2014年-2017年に実施した。

第2章 非特異反応の検出（文献調査）

医中誌 web、J-STAGE を用いて、文献検索を実施した。検索キーワードは、「非特異反応」、「異常検出」、「反応タイムコース」とし、原著論文、本文があるものに限定し、全期間を対象とした。採択基準は、「非特異反応の検出または発見」の経緯が記述されているものとした。対象文献は、論文に加え、症例報告・会議録も採用した。

文献調査の結果、選定された文献は 68 件であった（表 1）。その内訳は、汎用生化学自動分析装置のシステムによる検出が合計 10 件、臨床検査情報システムによる検出が合計 19 件、システムに依存しない検出が合計 39 件であった。

表 1. 非特異反応の検出別文献収録数

汎用生化学自動分析装置のシステムによる検出	
終点分析法におけるエラー検出	3
レート（速度）分析法におけるエラー検出	1
演算方法に依存しないプロゾーンエラー検出	6
臨床検査情報システムによる検出	
前回値チェック	3
項目間チェック	7
極端値チェック	9
システムに依存しない検出	
臨床経過と検査結果の乖離	13
分析装置・測定試薬変更時における測定値の乖離	25
初検値と再検値の乖離	1

以下では文献調査によって分類された項目別に、非特異反応の検出についてその内容を概説する。

2.1. 汎用生化学自動分析装置のシステムによる検出

現在の汎用生化学自動分析装置は、試料と試薬が反応セルに入った反応開始から反応終了までに、一定間隔で吸光度変化を複数の波長で測定している。これらの吸光度を線をつないだ反応タイムコースは、可視化することができるため、測定反応の全容をモニタリングすることができる。

各装置は、試料と試薬が反応セルに分注・混合された溶液の色調から、血清情報を取得している。各装置システムにおいて、独自の換算式により混濁度、溶血度、黄色度の度合いや指数を算出し、血清情報として検査システムへ報告している。混濁は高濃度遊離グリセロールの存在、溶血は赤血球成分の存在を意味するものとして利用されている。特に、溶血があった場合、K, LDH, AST は正誤差となり、大きく検査値に影響するため血清情報の取得が大変有用であり、多くの施設で活用されている。しかし、これらの血清情報は試薬メーカーや装置によって演算方法や報告数値が異なり、標準化されていないという問題点が報告されている³²⁾。

2.1.1. 終点分析法におけるエラー検出

終点分析法は、反応終了時と第二試薬分注直前の吸光度差から、測定値を算出している。本分析において、反応の平衡状態を判定する尺度として、反応最後の数ポイントのばらつきを評価し、あらかじめ設定した閾値を超えた場合、エラーを発生させる³³⁾。光源ランプの不良や、反応が終点に達していないなどのエラーの発見が可能である。

2.1.2. レート（速度）分析法におけるエラー検出

レート分析法は、反応溶液の吸光度を一定間隔で測定し、1分間あたりの吸光度変化率（反応速度）から、測定値を算出している。本分析において、近似式上の吸光度と実際の吸光度との差を残差（分散）として評価し、あらかじめ設定した閾値を超えた場合、エラーを発生させる³⁴⁾。観測区間の反応タイムコースが直線的、つまり酵素の活性速度が一定であるかを判定している。

2.1.3. 演算方法に依存しないプロゾーンエラー検出

地帯現象は抗原過剰のポストゾーン、抗体過剰のプロゾーンに分類されるが、慣例的に抗原過剰に起因する現象もプロゾーンと総称されている。プロゾーンの場合、抗原または抗体が過剰のため、濁り（濁度）が発生せず、吸光度変化が生じないことで、偽低値となる。本現象を検出する方法として、2区間の吸光度変化量を求め、両者の比を算出し、あらかじめ設定した閾値を超えた場合、エラーを発生させる³⁵⁾。

2.2. 臨床検査情報システムによる検出

2.2.1. 前回値チェック

前回値と今回値を比較し、あらかじめ設定した許容限界を超える場合は臨床検査情報システム（LIS）にてエラーを発生させるシステムである。前回値チェックの設定は多くの施設が導入しているが、その許容限界は施設により大きく異なる。許容限界の設定は、病態変動や生理的変動を考慮し、多数の検体で十分検討する必要がある。

2.2.2. 項目間チェック

関連する複数の検査項目の測定値を比較し、あらかじめ設定した許容限界を超えた場合は LIS にてエラーを発生させるシステムである。運用されている項目間チェック例として、Na と Cl、Cre と BUN、AST と ALT、T-BiL と D-BiL、CK と CK-MB、TP と Alb などが設定され、有効性が報告されている^{36,37)}。しかし前回値チェック同様、項目間チェックの許容限界も、施設により大きく異なっている。

2.2.3. 極端値チェック

極端値とは基準範囲よりも大きく逸脱した値（測定値のマイナス打ちなど）と定義されるが、システムによる設定では年齢・性別を考慮する必要がある。例えば、性ホルモンであるエストラジオールについて、妊婦であれば上昇していても問題がないが、閉経後の高齢女性において極端

に上昇していれば非特異反応を疑う検査結果である³⁸⁾。しかし、極端値チェックは経験則により設定されている場合が多いが、有効なチェック機能として多くの施設が導入している。

2.3. システムに依存しない検出

2.3.1. 臨床経過と検査結果の乖離

日常検査において、臨床経過と検査結果が乖離する事例に遭遇したり、報告された結果の妥当性について臨床医から問い合わせを受けたりする場合がある。これらを発端に、精査した結果、非特異反応が発見された事例が報告されている³⁹⁾。

2.3.2. 分析装置・測定試薬変更時における測定値の乖離

日常検査において、異なる原理・試薬において同一項目を測定することは稀である。しかし、装置の更新や測定試薬の変更により、異なる原理・試薬の両者を比較検討する機会がある。このような検討において、偶発的に測定値の乖離に遭遇し、非特異反応発見の発端となった事例が報告されている⁴⁰⁻⁴³⁾。

2.3.3. 初検値と再検値の乖離

何らかの要因で時間が経過した後には再測定すると、測定すると両方で測定値が乖離することがある。例えば、冷蔵保存していた検体で補体価を追加検査した場合、コールドアクチベーションにより本来の測定値から低下することや総ビリルビンを再検査した場合、光による分解により本来の値から低下することなどが考えられる。また、前回値から大きく乖離した検体は異なる原理で再検査する仕組みを取り入れている施設もあり、初検値と再検値で乖離する事例が報告されている⁴⁴⁾。

第3章 非特異反応の検出と原因究明の例

研究I. IgE 測定値の試薬間差の究明

I-1. 症例

症例は81歳男性で病理組織学的所見から、IgG4関連疾患 (IgG4-RD) および組織学所見から自己免疫性膵炎 (AIP) と診断された。IgG4は675 mg/dLであった。IgE測定値は、イアトロエース IgE (LSI メディエンス株式会社) を用いて測定すると60.9 IU/mL、エクルーシス試薬 IgE (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社) を用いて測定すると1287.0 IU/mL、Eテスト「TOSOH」II (IgE II) (東ソー株式会社) を用いて測定すると、420.0 IU/mLであった。

I-2. 非特異反応検出

発端は、IgE測定試薬の変更時に、測定値が大きく乖離した症例を発見したことであった。

I-3. 方法

I-3.1. 免疫グロブリン吸収試験

血清40 µLを100 mM sodium phosphate buffer (PBS, pH 7.4) 360 µLで希釈後、100 µLの抗IgG4抗体が結合した CaptureSelect™ IgG4 (Hu) Affinity Matrix (Thermo Fisher Scientific)と混合した。ローテーターにて4°C、一晚反応後、PBSを添加し、溶出液を回収した (非結合分画)。マトリックスを洗浄後、1M Glycine-HCL (pH 3.0)を添加し、溶出液を回収した (結合分画)。各分画のIgE濃度をイアトロエース IgEにて測定した。

I-3.2. ゲルろ過高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

カラムは Superdex 200 Increase 10/300 GL column (10 × 300 mm, Cytiva)、装置は AKTA Explorer 100 System (GE Healthcare)を使用した。溶離液は150 mM NaCl, 10 mM phosphate buffer (pH 7.4)を用いた。

I-4. 結果

I-4.1. 免疫グロブリン吸収試験

IgG4とIgEが結合しているかを調べるために、抗IgG4抗体結合粒子を用いて、IgG4の吸収試験を行った。患者の結合分画IgEは49.0 IU/mL (87.8%)、非結合分画IgEは6.8 IU/mL (12.2%)であった。一方、対照患者の結合分画IgEは1.6 IU/mL (0.8%)、非結合分画IgEは200.8 IU/mL (99.2%)であった。

I-4.2. ゲルろ過 HPLC

IgE分子の多様性がIgE測定の乖離に影響しているかを検証するために、ゲルろ過 HPLCの各分画のIgE濃度を測定し、測定試薬との反応性を検証した。患者検体では、IgEは単一ピーク (640 kDa)として溶出された (図1A)。また、IgG4はIgEのピークと同位置である小さなピーク (640 kDa)と大きいピーク (170 kDa)に溶出された。

一方、対照患者では、IgEの溶出ピークの位置が2つの試薬で異なっていた (図1B)。エクルー

シスで測定した IgE のピークは、イアトロエースで測定したピークよりも早く溶出した。IgE のピークと IgG4 のピークは一致せず、IgG4 が IgE と結合していないという免疫グロブリン吸収試験の結果を裏付けるものであった。

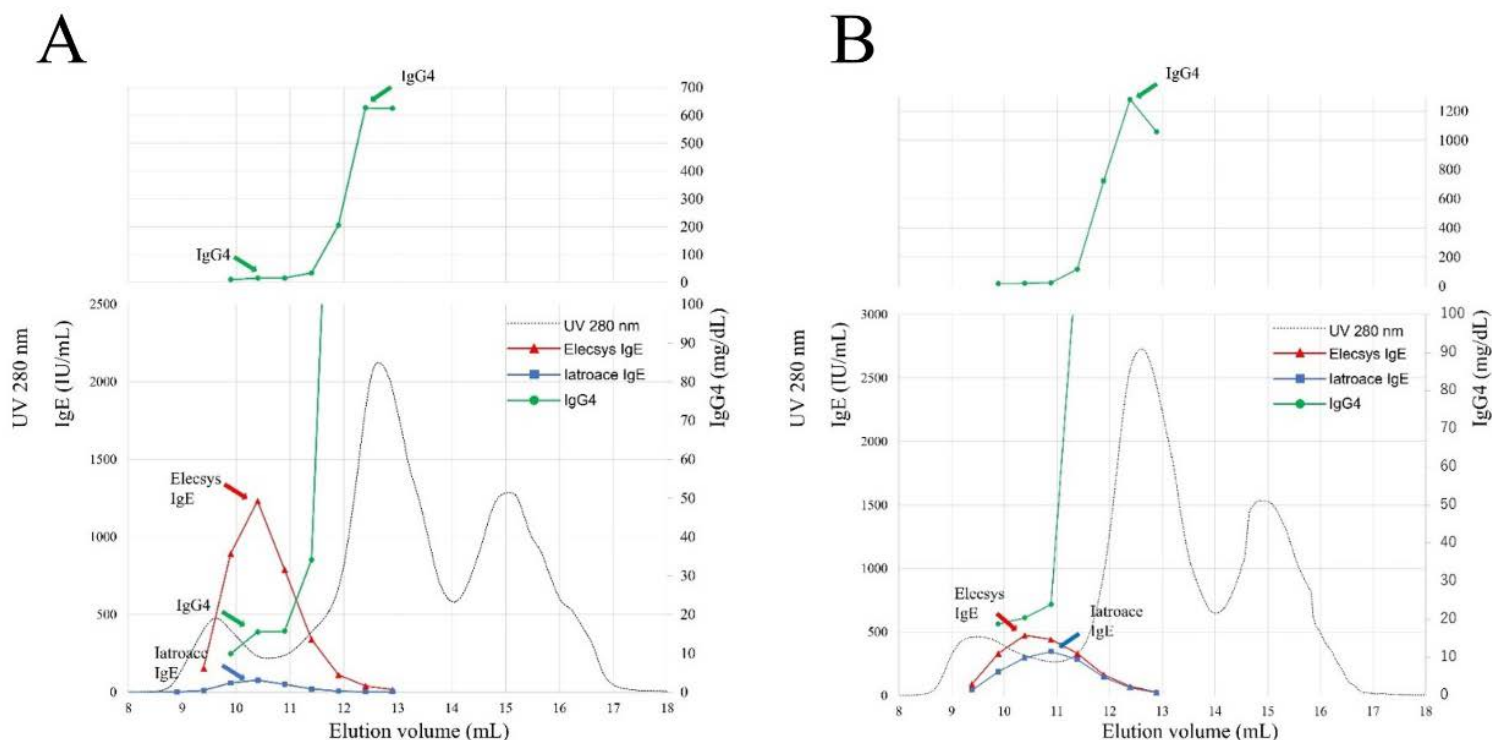


図 1. ゲルろ過 HPLC 溶出パターン

IgE、IgG4 の HPLC 溶出パターン. エクルーシス試薬 IgE (赤実線)、イアトロエース IgE (青実線)、IgG4 (緑実線)、蛋白質 (黒点線)。A. 患者、B. 対照患者

Nakano K et al. Clin Chim Acta. 2022; 528: 52-55. [45]より引用

I-5. 小括

免疫グロブリン吸収試験において、IgG4 と結合した IgE の比率が 87.8%であり、大部分の IgE が IgG4 と結合していることが明らかになった。また、ゲルろ過 HPLC 溶出パターンにおいて IgE と IgG4 の溶出位置が一致したことから、IgG4-IgE 複合体を形成していることが裏付けられた。

ゲルろ過 HPLC の各分画の IgE は、イアトロエースでの測定値が、エクルーシスでの測定値よりも極端に低値であった。つまり、IgG4 と IgE が結合した複合体は、試薬中の抗体が IgE と結合することを阻害し、結果としてイアトロエースを用いて測定すると、偽低値化するという非特異反応が発生していることが明らかになった。

本研究によって、IgE 測定試薬間の乖離は、IgG4-IgE 複合体に起因していることが明らかになった。さらに、イアトロエースで IgE を測定すると偽低値化することから、本研究は IgE 測定試薬の改良に貢献することが期待される⁴⁵⁾。

研究II. IgG4-IgE 複合体の保有頻度と臨床的特徴に関する実態調査

II-1. 目的

IgG4-IgE 複合体の実態調査として、保有頻度と臨床的特徴を明らかにすることを目的とした。

II-2. 対象

北海道大学病院にて IgG4 と IgE を測定し、無作為抽出した患者 50 症例を対象とした。

II-3. 方法

II-3.1. 免疫グロブリン吸収試験

血清 40 μ L を 100 mM sodium phosphate buffer (PBS, pH 7.4) 360 μ L で希釈後、100 μ L の抗 IgG4 抗体が結合した CaptureSelect™ IgG4 (Hu) Affinity Matrix (Thermo Fisher Scientific) と混合した。ローテーターにて 4°C、一晩反応後、PBS を添加し、溶出液を回収した (非結合分画)。マトリックスを洗浄後、1M Glycine-HCL (pH 3.0) を添加し、溶出液を回収した (結合分画)。各分画は、IgE 濃度を E テスト「TOSOH」II (IgE II) (東ソー株式会社) にて測定した。

IgG4 と結合した結合 IgE (結合分画) と遊離している非結合 IgE (非結合分画) の比率 (IgE 比) は、以下の式で算出した。

$$\text{IgE 比} = \frac{\text{IgE 結合分画}}{\text{IgE 非結合分画}}$$

II-3.2. 統計解析

IgG4-IgE 複合体陽性群と陰性群の群間差は Mann-Whitney U 検定とカイ二乗検定にて評価した。統計解析は JMP v16.0.0 (SAS Institute Inc) を用いた。

II-4. 結果

II-4.1. IgE 比

IgE 比の中央値は、IgG4-RD 患者では 0.13、非 IgG4-RD 患者では 0.09 であった。IgG4-RD の患者 7 名は IgE 比 > 1.0 であったが、非 IgG4-RD 患者は全例 IgE 比 \leq 1.0 であった (表 2)。

表 2. IgE 比

	IgG4-RD 患者	非 IgG4-RD 患者	全体	<i>p</i> 値
n	33	17	50	
IgG4-IgE 複合体陽性 (IgE ratio > 1.0)	7 (21.2)	0 (0)	7 (14.0)	0.041
IgE 非結合分画 (IU/mL)	44.5 (15.8-193.0)	44.9 (7.7-60.9)	44.7 (8.7-101.9)	0.193
IgE 結合分画 (IU/mL)	7.8 (<3.0-19.9)	<3.0 (<3.0-<3.0)	<3.0 (<3.0-13.4)	0.002
IgE 比	0.13 (0.04-0.52)	0.09 (0.05-0.39)	0.13 (0.05-0.44)	0.660

数値は n 数または中央値 (四分位範囲または%) で表記

Nakano K et al. Clin Chim Acta. 2022; 531: 261-264. [47]より引用し一部改変

II-4.2. IgG4-IgE 複合体保有頻度

IgE 比 > 1.0 の患者を IgG4-IgE 複合体陽性群、IgE 比 ≤ 1.0 の患者を IgG4-IgE 複合体陰性群として 2 群に分けた。IgG4-RD 患者における IgG4-IgE 複合体形成頻度は、非 IgG4-RD 患者に比べ統計学的に有意に高値 (21.2% vs. 0%) であった (表 2)。

II-4.3. IgG4-RD における臨床検査所見の比較

IgG4-IgE 複合体陽性群では 5 名、陰性群では 14 名が男性であり、糖尿病を合併している患者がそれぞれ 6 名、12 名、プレドニゾロンを内服している患者はそれぞれ 3 名、15 名であった。IgG4-IgE 複合体陽性群と陰性群における年齢、IgG、IgG4、IgE、推算糸球体濾過量 (eGFR) の中央値はそれぞれ 71 歳と 68 歳、1867 mg/dL と 1411 mg/dL、515 mg/dL と 231 mg/dL、240.6 IU/mL と 280.8 IU/mL、58.0 mL/min/1.73 m² と 68.7 mL/min/1.73 m² であった (表 3)。臨床所見および検査所見は、両群間に統計学的に有意差は認められなかった。

表 3. IgG4 関連疾患における臨床・検査所見の比較

	IgG4-IgE 複合体陽性	IgG4-IgE 複合体陰性	<i>p</i> 値
n	7	26	-
年齢 (歳)	71 (71-78)	68 (61-74)	0.134
性別 (男性/女性)	5/2	14/12	0.404
糖尿病罹患	6 (85.7)	12 (46.2)	0.062
プレドニゾロン内服	3 (42.9)	15 (57.7)	0.484
IgG (mg/dL)	1867 (1516-2396)	1411 (1254-2077)	0.407
IgG4 (mg/dL)	515 (357-706)	231 (125-443)	0.094
IgE (IU/mL)	240.6 (197.5-472.9)	280.8 (115.4-988.7)	0.965
eGFR (mL/min/1.73m ²)	58.0 (51.9-61.1)	68.7 (56.8-79.2)	0.146

数値は n 数または中央値 (四分位範囲または%) で表記

Nakano K et al. Clin Chim Acta. 2022; 531: 261-264. [47]より引用し一部改変

II-4.4. IgG4-RD における罹患臓器の比較

膵臓病変の頻度は、IgG4-IgE 複合体陽性群 (85.7%) が陰性群 (42.3%) よりも統計学的に有意に高頻度であった (表 4)。一方、後腹膜線維/動脈周囲病変の罹患頻度は、IgG4-IgE 複合体陽性群 (0%) が陰性群 (42.3%) より統計学的に有意に低頻度であった (表 4)。

表 4. IgG4 関連疾患における罹患臓器の比較

	IgG4-IgE 複合体 陽性	IgG4-IgE 複合体 陰性	<i>p</i> 値
n	7	26	-
膵臓	6 (85.7)	11 (42.3)	0.041
胆管	4 (57.1)	6 (23.1)	0.082
後腹膜線維/動脈周囲	0 (0)	10 (38.5)	0.049
唾液腺	1 (14.3)	11 (42.3)	0.171
肺	0 (0)	5 (19.2)	0.208
腎臓	1 (14.3)	4 (15.4)	0.943
涙腺	1 (14.3)	4 (15.4)	0.943
下垂体	0 (0)	3 (11.5)	0.346

数値は n 数 (%) で表記

Nakano K et al. Clin Chim Acta. 2022; 531: 261-264. [47]より引用し一部改変

II-5. 小括

抗 IgG4 抗体結合粒子を用いた免疫グロブリン吸収試験により、50 症例中 7 症例で IgG4-IgE 複合体が確認された。IgG4-IgE 複合体は、全解析患者の 14.0%、IgG4-RD 患者の 21.2%に認められた。IgG4-IgE 複合体は IgG4-RD 患者に限定して認められたことから、IgG4-IgE 複合体は IgG4-RD に特異的な病態に関与している可能性がある。

AIP 患者の約半数にアレルギー症状が確認され、AIP の発症にアレルギーが関与している可能性が示唆されている⁴⁶⁾。一方、本研究における IgG4 および IgE の血中濃度は、IgG4-IgE 複合体陽性群 (515 mg/dL, 240.6 IU/mL) と陰性群 (231 mg/dL, 280.8 IU/mL) では、統計学的に有意差はなかった (表 3)。したがって、IgG4-IgE 複合体の存在は、必ずしも量的な異常に起因しているのではなく、免疫グロブリン自体やそれを取り巻く環境に起因する可能性が考えられた。

以上のことから、本研究は IgG4-IgE 複合体は IgG4-RD 患者に限定して存在することが明らかとなり、IgG4-RD の病因・病態の解明に何らかの手がかりとなる可能性がある⁴⁷⁾。

研究Ⅲ. cTnI と cTnT の乖離の究明

Ⅲ-1. 症例

症例は 65 歳男性で 3 年前に冠動脈狭窄に対し、ステントが留置されていた。胸痛増悪のため当院受診したが、冠動脈造影検査にて有意な狭窄を認めず、高感度 (hs)-cTnI (アボットジャパン株式会社) は 3369.3 pg/mL であった。一方、hs-cTnT (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社) は 37.0 pg/mL であった。

Ⅲ-2. 非特異反応検出

発端は、日常検査で測定している hs-cTnI と hs-cTnT の測定値が大きく乖離 (項目間チェック) した症例を発見したことであった。

Ⅲ-3. 方法

Ⅲ-3.1. 免疫グロブリン吸収試験

血清 200 μ L と抗 IgG 抗体 (Dako 株式会社) 400 μ L または IgM 抗体 (Dako 株式会社) 200 μ L を混合した。ローテーターにて 4°C、一晚反応後、12,000 G、5 分間遠心し、上清の hs-cTnI の濃度を測定した。

Ⅲ-3.2. 異好抗体吸収試験

血清 200 μ L と異好抗体阻止試薬である Heterophilic-Blocking Reagent 1(HBR-1, Scantibodies Laboratory) 200 μ L を混合した。ローテーターにて 4°C、一晚反応後、12,000 G、5 分間遠心し、上清の hs-cTnI の濃度を測定した。

Ⅲ-4. 結果

Ⅲ-4.1. 免疫グロブリン吸収試験

cTnI が IgG または IgM と結合しているかを検証するために、抗 IgG、IgM 抗体を用いた吸収試験を行った。患者における抗 IgG 抗体および抗 IgM 抗体処理後の hs-cTnI は 394.8 pg/mL (回収率 12.0%) および 4069.4 pg/mL (回収率 124.0%) であった (表 5)。また、対照患者における抗 IgG 抗体および抗 IgM 抗体処理後の hs-cTnI は 299.7 pg/mL (回収率 70.3%) および 453.6 pg/mL (回収率 106.5%) であった (表 5)。

Ⅲ-4.2. 異好抗体吸収試験

hs-cTnI がマウス由来成分と反応するかを調べるために、HBR-1 を用いた吸収試験を行った。患者における HBR-1 添加後の hs-cTnI は 3160.8 pg/mL (回収率 96.3%) であった (表 5)。一方、対照患者における HBR-1 添加後の hs-cTnI は 495.2 pg/mL (回収率 116.2%) であった (表 5)。

表 5. 免疫グロブリン吸収試験及び異好抗体吸収試験

	患者		対照患者	
	hs-cTnI (pg/mL)	回収率 (%)	hs-cTnI (pg/mL)	回収率 (%)
未処理	3281.2	-	426.1	-
抗 IgG 抗体	394.8	12.0	299.7	70.3
抗 IgM 抗体	4069.4	124.0	453.6	106.5
HBR-1	3160.8	96.3	495.2	116.2

III-5. 小括

抗 IgG 抗体を用いた吸収試験において、抗 IgG 抗体処理後の hs-cTnI が 394.8 pg/mL と著明に低下し、回収率は 12.0% と低値であった。本結果から、cTnI と IgG が結合していることが明らかになった。また、HBR-1 を用いた吸収試験の結果から、hs-cTnI の測定に異好抗体の関与はないと考えられた。

以上の結果から、本症例の hs-cTnI と hs-cTnT の測定値乖離は、cTnI に対する IgG 型の自己抗体が結合し、血中のクリアランスが遅延したことに起因していると考えられた⁴⁸⁾。

研究IV. 抗 cTnI 抗体と抗 cTnT 抗体の保有頻度と測定値への影響に関する実態調査

IV-1. 目的

抗 cTnI 抗体と cTnT 抗体の保有頻度を調査し、測定値への影響を解析することを目的とした。

IV-2. 対象

北海道大学病院にて虚血性心疾患を疑い cTn を測定し、無作為抽出した 52 症例を対象とした。

IV-3. 方法

IV-3.1. cTn 測定

IV-3.1.1. cTnI

測定試薬は、化学発光免疫測定法を測定原理とする high sensitive トロポニン I ・アボット (アボットジャパン株式会社) を用い、分析装置は Alinity i (アボットジャパン株式会社) を使用した。

IV-3.1.2. cTnT

測定試薬は、電気化学免疫測定法を測定原理とするエクルーシス試薬 トロポニン T hs (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社) を用い、分析装置は cobas e801 (ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社) を使用した。

IV-3.2. IgG 吸収試験

100 μ L の protein G Sepharose 4 Fast Flow (Cytiva) と 500 μ L の 20 mM sodium phosphate buffer (PBS, pH 7.0) 混合し、500 G、2 分間遠心した。ペレットに血清 100 μ L、PBS 300 μ L 添加し、ローテーターにて 4°C、一晚反応させた。500 G、4 分間遠心後、上清を回収し、hs-cTnI と hs-cTnT の濃度を測定した。cTn の回収率は、以下の式で算出した。

$$\text{回収率 (\%)} = \frac{\text{IgG 吸収後の cTn} \times \text{希釈倍数}}{\text{IgG 吸収前の cTn}} \times 100$$

IV-3.3. ゲルろ過 HPLC

カラムは Superdex 200 Increase 10/300 GL column (10 \times 300 mm, Cytiva)、装置は AKTA Explorer 100 System (GE Healthcare) を使用した。溶離液は 150 mM NaCl, 10 mM phosphate buffer (pH 7.4) を用いた。

IV-4. 結果

IV-4.1. IgG 吸収試験

IgG 吸収試験の回収率と hs-cTnI または hs-TnT の分布は以下のものであった (図 2)。

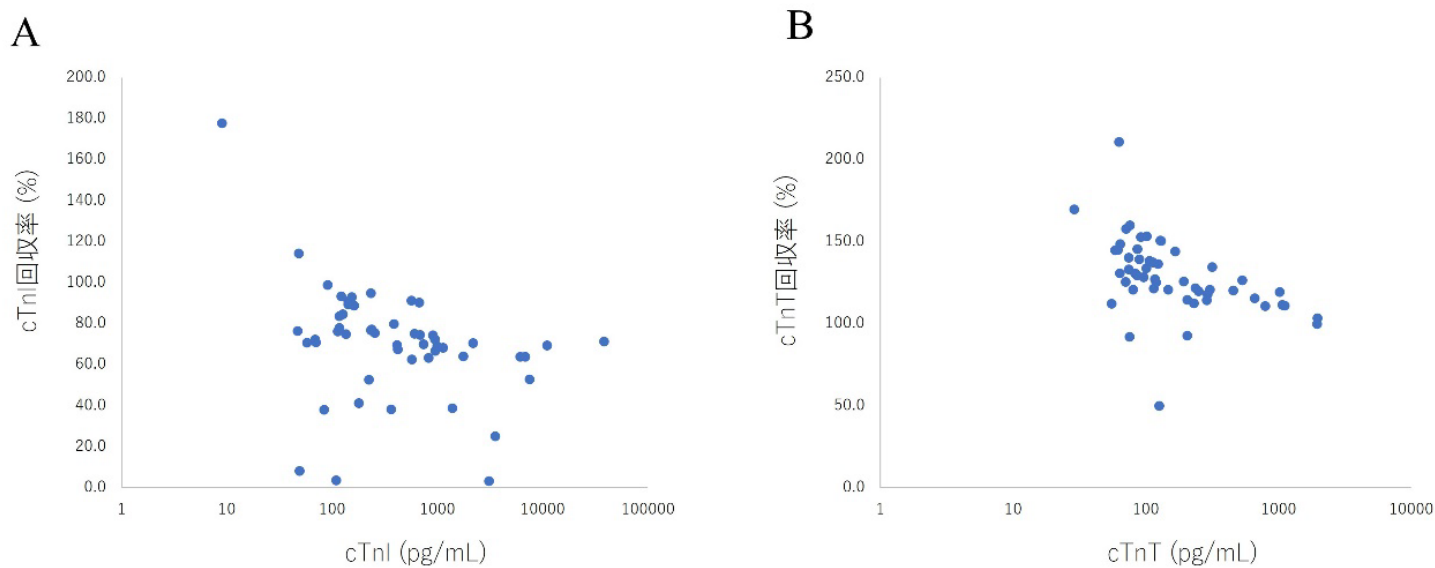


図 2. cTn の回収率と測定値

A. cTnI、B. cTnT

Nakano et al. Lab Med. 2022. [49]より引用し一部改変

IV-4.2. ゲルろ過 HPLC

IgG 吸収試験の回収率が低値であった 15 症例について、ゲルろ過分析を実施し、溶出パターンから、自己抗体なし群 (図 3A)、抗 cTnI 抗体群 (図 3B、C)、抗 cTnI 抗体と抗 cTnT 抗体群 (図 3D) に分類した。また hs-cTnI と hs-cTnT の測定に異好抗体の関与は確認されなかった。

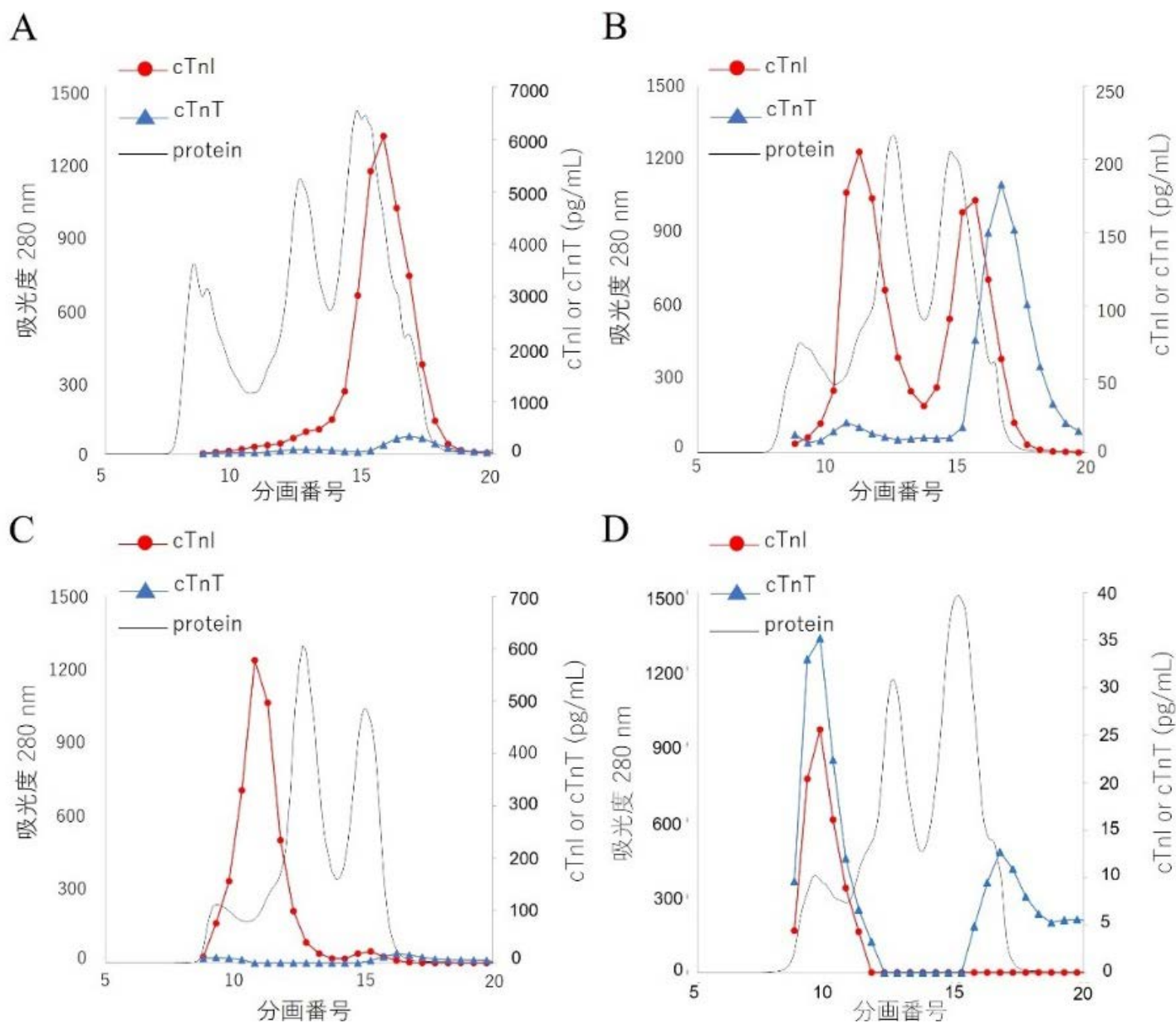


図3. ゲルろ過 HPLC 溶出パターン

cTn の HPLC 溶出パターン. cTnI (赤実線)、cTnT (青実線)、蛋白質 (黒実線)

A. 自己抗体なし、B, C. 抗 cTnI 抗体、D. 抗 cTnI 抗体と抗 cTnT 抗体

Nakano et al. Lab Med. 2022. [49]より引用し一部改変

IV-4.3. 抗 cTnI 抗体と抗 cTnT 抗体陽性率の比較

抗 cTnI 抗体と抗 cTnT 抗体の有無は IgG 吸収試験の回収率にて評価し、回収率の閾値は receiver operating characteristic (ROC) 解析より算出した。cTnI は、area under the curve (AUC) : 1.000、上限 : 49.8%であった。これらの閾値をもとに、抗 cTnI 抗体と抗 cTnT 抗体の陽性率を評価すると、cTnI は 15.4%、cTnT は 1.9%であった。

IV-4.4. cTnI と cTnT の線形回帰分析

cTnI または cTnT の測定における自己抗体の干渉の程度を評価するため、cTnI と cTnT の線形回帰分析から 95%信頼区間を算出した。抗 cTnI 抗体を保有する 1 症例が 95%信頼区間から逸脱したが、その他の症例は全て 95%信頼区間内であった。

IV-4.5. 抗 cTnI 抗体の有無における cTnI/cTnT 比の比較

抗 cTnI 抗体保有群と非保有群の cTnI/cTnT 比を比較すると、中央値は抗 cTnI 抗体保有群で 3.8、非保有群で 2.4 であり、両群間に統計学的な有意差はなかった。

IV-5. 小括

cTnI に対する自己抗体の頻度 (15.4%) は、cTnT に対する頻度 (1.9%) よりも数倍高いことが明らかとなった。また、線形回帰分析による 95%信頼区間では、52 症例中 1 症例が 95%信頼区間から逸脱した。本症例の hs-cTnI 値は 3096.0 pg/mL、hs-cTnT 値は 96.6 pg/mL であり、IgG 吸収試験、ゲルろ過分析の結果から、抗 cTnI 抗体の存在が、両者の乖離に起因していることが明らかとなった。しかし、cTnI/cTnT 比は、抗 cTnI 抗体の保有の有無で統計学的な有意差はなかった。

以上の結果から、本研究は自己抗体の存在が必ずしも cTnI や cTnT の測定値の乖離に影響しないことを示しており、cTnI と cTnT の結果の解釈については、両者の特異性を十分考慮することが必要であると考えられた⁴⁹⁾。

研究V. 臨床経過と矛盾する CA19-9 高値の究明

V-1. 症例

症例は 64 歳男性で、4 年前に直腸癌の肝転移に対し切除術を施行後、抗癌剤による治療を継続していた。大動脈周囲リンパ節摘出除前の CA19-9 測定は 16.0 U/mL であったが、手術後 22 日目の CA19-9 測定値は >400.0 U/mL と著明に上昇していた。

V-2. 非特異反応検出

発端は、測定値と前回値の比較（前回値チェック）にて発見したことであった。

V-3. 方法

V-3.1. CA19-9 測定

V-3.1.1. E テスト

測定試薬は、酵素免疫法を測定原理とする E テスト「TOSOH」II (CA19-9) (東ソー株式会社)、分析装置は AIA1800 (東ソー株式会社) を使用した。

V-3.1.2. GI モニター

測定試薬は、化学発光酵素免疫測定法を測定原理とするアクセス GI モニター (ベックマン・コールター株式会社) を用い、分析装置はユニセル DxI 800 (ベックマン・コールター株式会社) を使用した。

V-3.2. 希釈直線性試験

希釈直線性は 150 mM NaCl にて 2、5、10 倍希釈し、CA19-9 濃度を測定した。

V-3.3. 免疫グロブリン吸収試験

血清 100 μ L と抗 IgM (Dako 株式会社) 100 μ L を混合した。ローテーターにて 4°C、一晚反応後、12,000 G、5 分間遠心し、上清の CA19-9 濃度を E テストにて測定した。

V-3.4. 異好抗体吸収試験

血清 100 μ L と E テスト「TOSOH」II (ミオグロビン) (東ソー株式会社) に使用されているマウス免疫グロブリン 100 μ L を混合した。ローテーターにて 4°C、一晚反応後、12,000 G、5 分間遠心し、上清の CA19-9 濃度を E テストにて測定した。

V-3.5. ゲルろ過 HPLC

カラムは Superose 12 column (10 \times 300 mm, GE Healthcare)、装置は AKTA Explorer System (GE Healthcare) を使用した。溶離液は 150 mM NaCl, 16 mM phosphate buffer (pH 7.4) を用いた。

V-4. 結果

V-4.1. CA19-9、IgM の推移

手術前後の CA19-9、IgM の推移は、CA19-9 は手術後 22 日をピークにその後漸減していたが、IgM には大きな変動は認められなかった (図 4)。

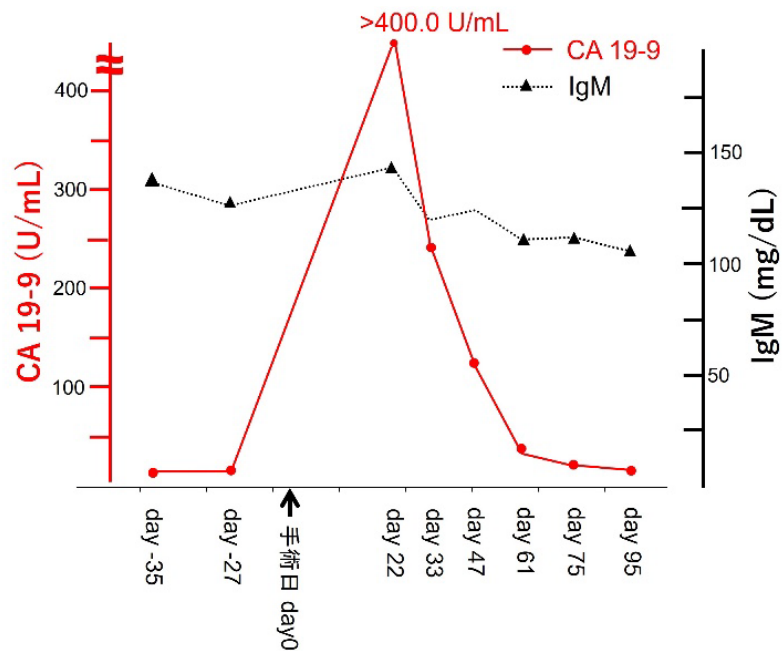


図 4. CA19-9、IgM の推移. CA19-9 (赤実線)、IgM (黒点線)

Nakano K et al. Ann Clin Biochem. 2016; 53: 511-515. [50]より引用し一部改変

V-4.2. 異なる原理・試薬での測定

CA19-9 の測定値は、E テストで測定すると、>400.0 U/mL であったが、GI モニターで測定すると、9.5 U/mL であった。

V-4.3. 希釈直線性試験

希釈直線性を検証した結果、希釈直線性は得られなかった。

V-4.4. 免疫グロブリン吸収試験

患者血清中の非特異反応物質が IgM であるかを調べるために、抗 IgM 抗体を用いて吸収試験を行った。患者における抗 IgM 抗体処理後の CA19-9 は 4.3 U/mL (回収率 3.2%) であった。一方、対照患者における抗 IgM 抗体処理後の CA19-9 は 98.8 U/mL (回収率 90.0%) であった (表 6)。

V-4.5. 異好抗体吸収試験

患者血清中に異好抗体が存在するか検証するために、異好抗体阻止試薬としてマウス免疫グロブリンを用いた吸収試験を行った。患者血清におけるマウス免疫グロブリン添加後の CA19-9 は 18.9 U/mL (回収率 14.2%) であった。一方、対照患者では、CA19-9 は 108.4 U/mL (回収率 98.7%) であった (表 6)。

表 6. 免疫グロブリン吸収試験・異好抗体吸収試験

	患者		対照患者	
	CA19-9 (U/mL)	回収率 (%)	CA19-9 (U/mL)	回収率 (%)
未処理	265.4	-	219.6	-
抗 IgM 抗体	4.3	3.2	98.8	90.0
マウス免疫グロブリン	18.9	14.2	108.4	98.7

Nakano K et al. Ann Clin Biochem. 2016; 53: 511-515. [50]より引用し一部改変

V-4.6. ゲルろ過 HPLC

CA19-9 として測定されている物資の分子量を検証するために、ゲルろ過 HPLC の各分画の濃度を測定した。CA19-9 は IgM の溶出ピークと同じ溶出位置に、単一ピーク (900 kDa) として分離された (図 5)。

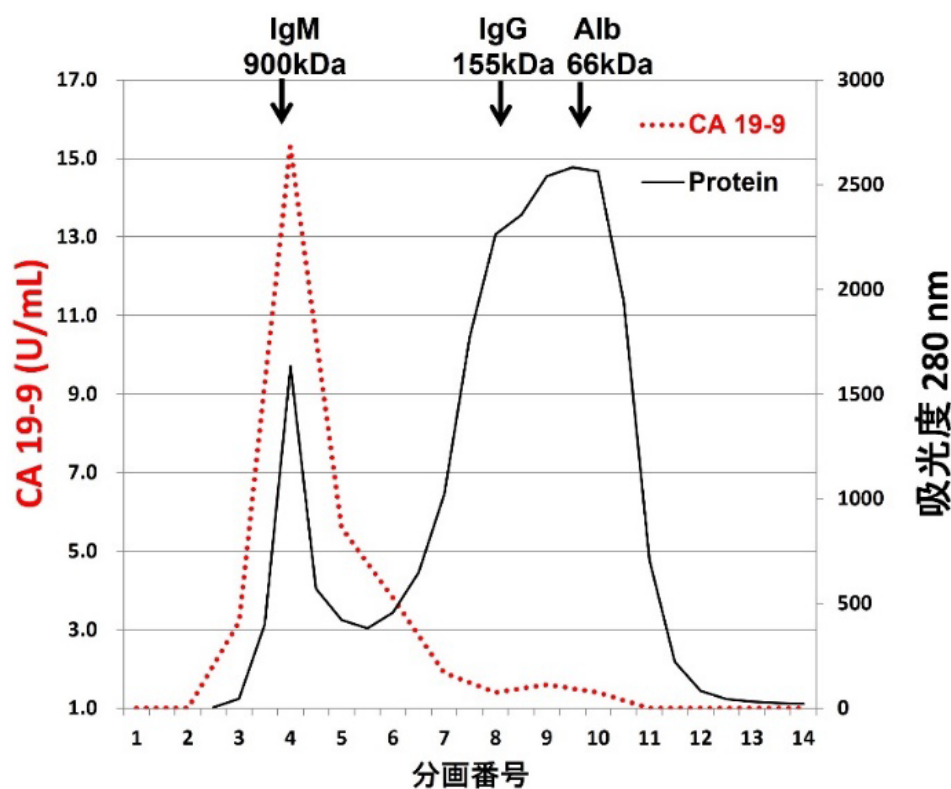


図 5. ゲルろ過 HPLC 溶出パターン

CA19-9 の HPLC 溶出パターン. CA19-9 (赤点線)、蛋白質 (黒実線)

Nakano K et al. Ann Clin Biochem. 2016; 53: 511-515. [50]より引用し一部改変

V-5. 小括

E テストとは異なる測定試薬である GI モニターにて CA19-9 を測定した結果、CA19-9 は 9.5 U/mL であったこと、及び、希釈直線性試験にて直線性が得られなかったことから、干渉物質が存在することが示唆された。

IgM 吸収試験、及び、異好抗体吸収試験にて CA19-9 の回収率が極端に低値であったことから、IgM 型の HAMA が非特異反応に影響していることが明らかになった。さらにゲルろ過 HPLC による CA19-9 溶出パターンを検証した結果、IgM に相当する位置に CA 19-9 の単一のピークが確認された。この結果は免疫グロブリン吸収試験の結果と一致するものであった。

以上の結果から、IgM 型 HAMA の出現に起因した非特異反応が発生し、CA19-9 が偽高値となっていることが明らかとなった⁵⁰⁾。

研究VI. 臨床経過と矛盾する PRL 高値の究明

VI-1. 症例

症例は8歳女性で PRL (E テスト「TOSOH」II (PRL) 東ソー株式会社) は 90.6 ng/mL であったが、他の内分泌検学的検査、下垂体 MRI 検査、身体所見に異常は認められなかった。

VI-2. 非特異反応検出

発端は、小児では想定し得ない測定値 (極端値チェック) を発見したことであった。

VI-3. 方法

VI-3.1. 免疫グロブリン吸収試験

血清 10 μ L または 20 μ L と抗 IgG、IgA、IgM、 κ 鎖、 λ 鎖 (Dako 株式会社) 抗体 200 μ L を混合した。ローテーターにて 4°C、一晚インキュベーション後、12,000 G、5 分間遠心し、上清の PRL 濃度を測定した。

VI-3.2. ゲルろ過 HPLC

カラムは Superose 12 column (10 \times 300 mm, GE Healthcare)、装置は AKTA Explorer System (GE Healthcare) を使用した。溶離液は 150 mM NaCl, 16 mM phosphate buffer (pH 7.4) を用いた。

VI-4. 結果

VI-4.1. 免疫グロブリン吸収試験

免疫グロブリンが非特異反応に関与しているかを調べるために、各種抗血清を用いて吸収試験を行った。抗血清処理後の PRL は、抗 IgG 抗体で <1.0 ng/mL (回収率 <1.0%)、抗 IgA 抗体で 105.6 ng/mL (回収率 116.6%)、抗 IgM 抗体で 97.9 ng/mL (回収率 108.1%)、抗 κ 鎖抗体で 51.7 ng/mL (回収率 57.1%)、抗 λ 鎖抗体で 100.1 ng/mL (回収率 110.5%) であった (表 7)。

表 7. 免疫グロブリン吸収試験

	未処理	抗 IgG 抗体	抗 IgA 抗体	抗 IgM 抗体	抗 κ 鎖抗体	抗 λ 鎖抗体
PRL (ng/mL)	90.6	<1.0	105.6	97.9	51.7	100.1
回収率 (%)	-	<1.0	116.6	108.1	57.1	110.5

Nakano K et al. Clin Chim Acta. 2014; 433: 206-208. [51]より引用し一部改変

VI-4.2. ゲルろ過 HPLC

PRL の分子量を検証するために、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン (TRH) 負荷試験前と負荷 15 分後の検体について、ゲルろ過 HPLC の各分画における PRL 濃度を測定した。TRH 負荷前の PRL は単一のピーク (210 kDa) に溶出された (図 6A)。一方、TRH 負荷 15 分後の PRL は、2 峰

性のピーク（210 kDa と 23 kDa）に溶出された（図 6B）。

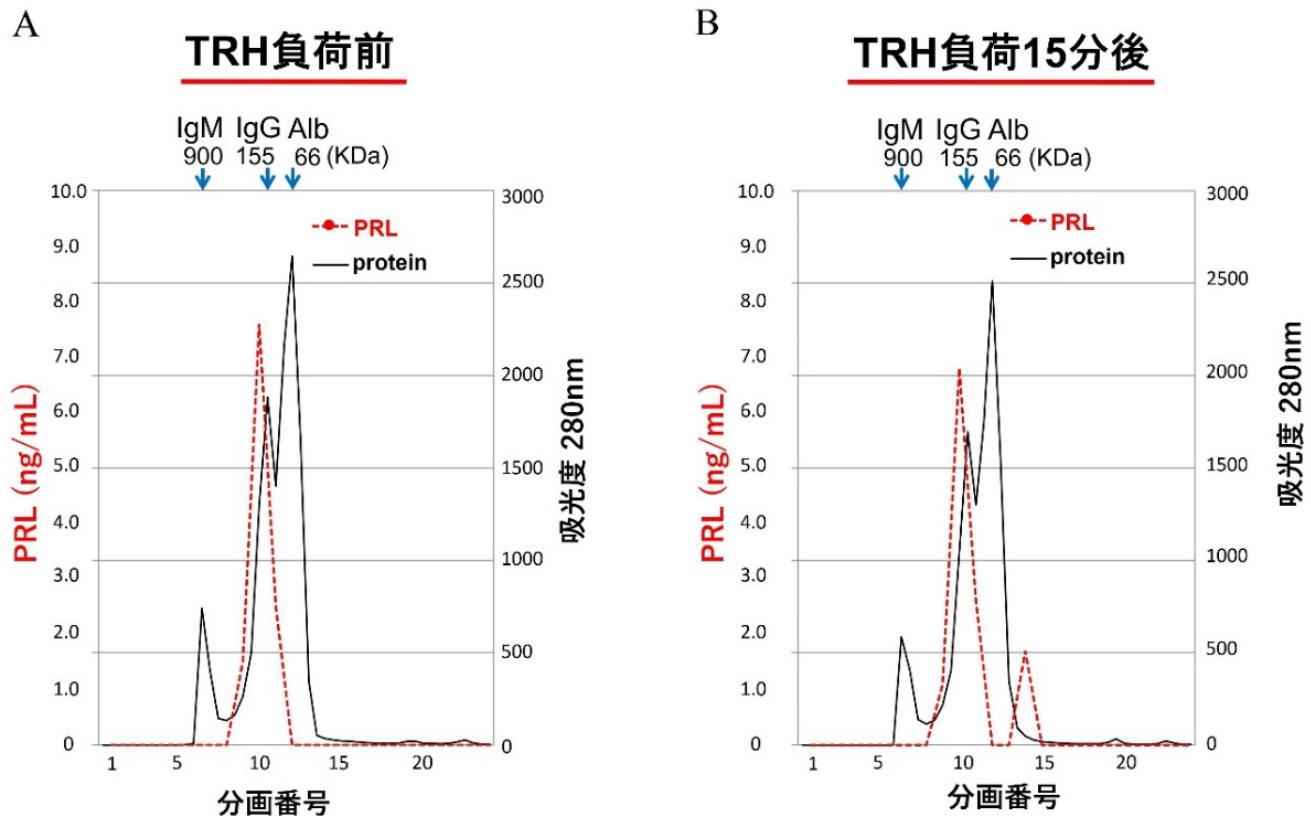


図 6. ゲルろ過 HPLC 溶出パターン

PRL の HPLC 溶出パターン. PRL (赤点線)、蛋白質 (黒実線)

Nakano K et al. Clin Chim Acta. 2014; 433: 206-208. [51]より引用し一部改変

VI-5. 小括

免疫グロブリン吸収試験において、抗 IgG 抗体、抗 κ 鎖抗体の上清 PRL 濃度が著明に低下したという結果から、患者の IgG- κ と PRL が結合していることが明らかになった。

またゲルろ過 HPLC において、TRH 負荷前の PRL は IgG より高分子位置の 210 kDa に分離されたことから、IgG- κ と PRL が結合し複合体を形成していることが裏付けられた。さらに、本結果から、HAMA による非特異的な干渉ではないことが確認された。

以上の結果から、臨床経過と矛盾して持続した PRL 上昇は IgG-型の自己抗体と PRL が結合し、血中クリアランスが遅延したことに起因していることが明らかになった⁵¹⁾。

研究VII. ミコフェノール酸代謝産物の交差反応に関する調査

VII-1. 目的

臨床背景（eGFR と併用カルシニューリン阻害薬（CNI））が MPA-グルクロニド（MPAG）の交差反応に及ぼす影響を評価し、particle-enhanced turbidimetric inhibition immunoassay（PETINA）法にて測定した PETINA-MPA から HPLC 法にて測定した HPLC-MPA の濃度をより正確に反映するための補正式を作成することを目的とした。

VII-2. 対象

ミコフェノール酸モフェチル（MMF）とタクロリムス（TAC）またはシクロスポリン（CsA）を併用投与され、無作為抽出した腎移植患者 13 症例と肝移植患者 26 症例を対象とした。

VII-3. 非特異反応検出

発端は、ミコフェノール酸（MPA）測定法の変更時に、測定値が系統的に高値化したことを発見したことであった。

VII-4. 方法

VII-4.1. MPA 測定

VII-4.1.1. HPLC 法

カラムは ERC ODS-1161 column (6×100 mm、横浜理化株式会社)、装置は Shimadzu LC-10ADLP system (株式会社島津製作所)を使用した。溶離液はアセトニトリル/60 mM リン酸緩衝液 (40/60) を用いた。

VII-4.1.2. PETINA 法

測定試薬は、免疫比濁法を測定原理とするフレックスカートリッジ ミコフェノール酸 MPAT（シーメンスヘルスケア株式会社）を用い、分析装置は Dimension Xpand Plus（シーメンスヘルスケア株式会社）を使用した。

VII-4.2. MPAG 測定

HPLC 法にて測定し、カラムは ERC ODS-1161 column (6×100 mm、横浜理化株式会社)、装置は Shimadzu LC-10ADLP system (島津製作所)を使用した。溶離液はアセトニトリル/60 mM リン酸緩衝液 (23/77) を用いた。

VII-4.3. 統計解析

HPLC-MPA と PETINA-MPA の差は T 検定にて評価した。また数値変数間の相関性は線形相関分析を用いた。単変量および多変量同時線形回帰分析を行い、PETINA-MPA から HPLC-MPA を換算する計算式を作成した。統計解析は SPSS version 22 (SPSS Inc.)を用いた。

VII-5. 結果

VII-5.1. MMF 投与量または eGFR と HPLC-MPA または MPAG との相関

MPAG と MMF 投与量には統計学的に有意な正の相関があったが、HPLC-MPA と MMF 投与量には統計学的に有意な相関関係は認められなかった (図 7A)。さらに、MPAG 濃度は eGFR と統計学的に有意な負の相関関係を認めたが、HPLC-MPA 濃度と eGFR には統計学的に有意な相関関係は認められなかった (図 7B)。

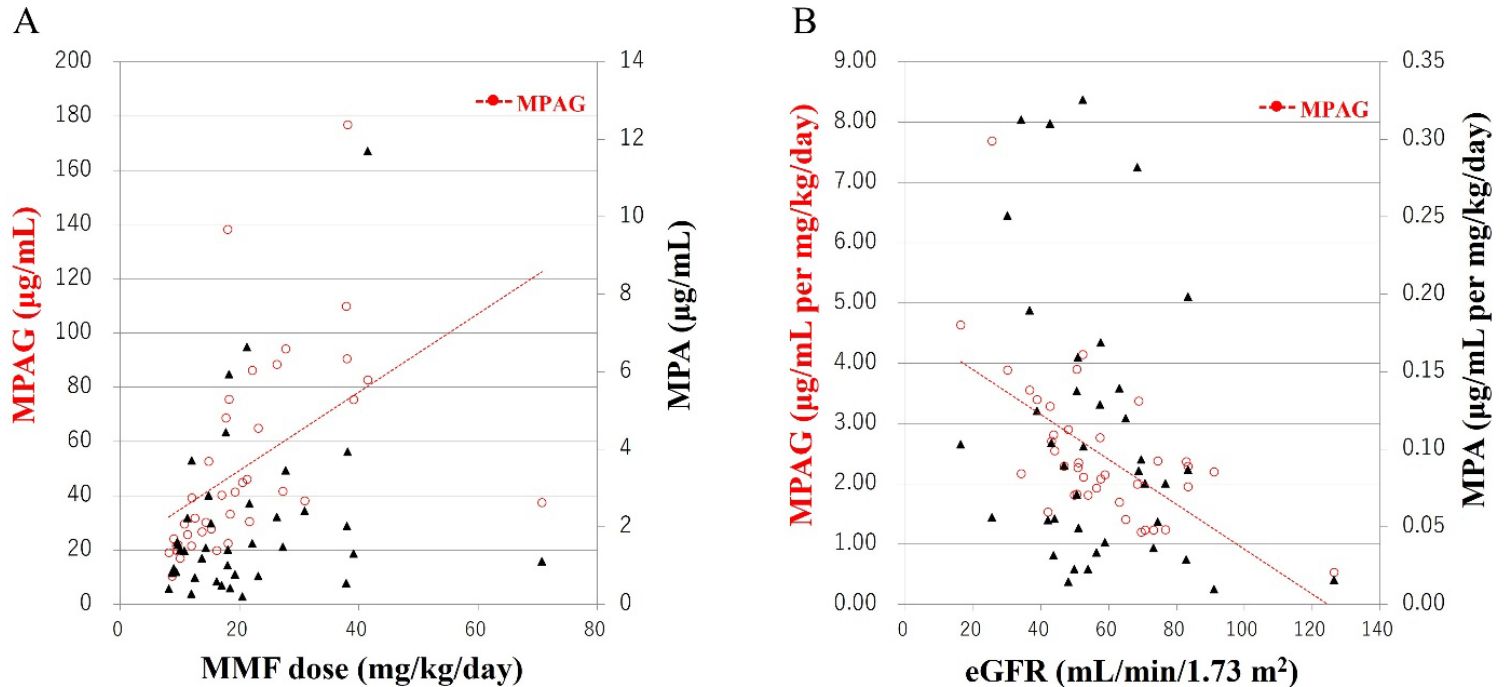


図 7. HPLC-MPA または MPAG と MMF 投与量または eGFR との相関

A. HPLC-MPA または MPAG と MMF 投与量との相関図. B. HPLC-MPA または MPAG と eGFR との相関図。

Nakano K et al. Transplant Direct. 2018; 4: e337. [54]より引用し一部改変

VII-5.2. CNI による HPLC-MPA または MPAG の影響の比較

HPLC-MPA は TAC 群で $0.09 \mu\text{g/mL/mg/kg/day}$ 、CsA 群で $0.08 \mu\text{g/mL/mg/kg/day}$ と統計学的な有意差は認められなかった。また、MPAG は TAC 群で $2.20 \mu\text{g/mL/mg/kg/day}$ 、CsA 群で $2.84 \mu\text{g/kg/day}$ と、CsA を併用した患者が TAC を併用した患者よりも高い傾向がみられたが、統計学的な有意差は認められなかった (表 8)。

表 8. CNI による HPLC-MPA または MPAG の影響の比較

	TAC n=31	CsA n=8	p 値
移植 (腎臓 : 肝臓)	6:25	7:1	0.002
評価年齢 (歳)	52 (20-70)	40 (23-64)	0.328
性別 (男性 : 女性)	16:15	3:5	0.550
1 日体重あたりの MMF 投与量 (mg/kg/day)	17.0 (8.1-70.7)	24.2 (10.0-41.5)	0.142
eGFR (mL/min/1.73 m ²)	52.3 (16.3-126.4)	56.8 (25.5-66.8)	0.986
MMF 投与量あたり MPA (µg/mL per mg/kg/day)	0.09 (0.01-0.33)	0.08 (0.01-0.28)	0.825
MMF 投与量あたり MPAG (µg/mL per mg/kg/day)	2.20 (0.53-4.64)	2.84 (1.70-7.69)	0.184

Nakano K et al. Transplant Direct. 2018; 4: e337. [54]より引用し一部改変

VII-5.3. HPLC-MPA と PETINA-MPA の比較

PETINA-MPA の中央値 (0.11 µg/mL) は、HPLC-MPA の中央値 (0.09 µg/mL) と比較し、統計学的に有意に高値であった。

VII-5.4. PETINA-MPA から HPLC-MPA の換算式

単回帰及び重回帰分析により、PETINA-MPA と eGFR が独立した予測因子であることが確認された。eGFR を独立した予測因子に採用する場合と採用しない換算式は下記の通りである。

換算式 1: 推定 MPA (eMPA) = 0.048 + 0.798 × PETINA-MPA

換算式 2: 推定 MPA (eMPA) = -0.059 + 0.800 × PETINA-MPA + 0.002 × eGFR

換算式 1 および 2 による eMPA は HPLC-MPA と良好な相関関係が認められたが、eGFR を換算式に用いても、換算式 1 (決定係数=0.981) と比較して換算式 2 (決定係数=0.984) の決定係数に大きな差は認められなかった。

VII-6. 小括

PETINA 法では交差反応により MPAG の一部が MPA として検出されるため、HPLC 法と比較して PETINA 法を用いた場合、MPA のモニタリングが難しい^{52,53)}。本研究では、腎機能および CNI の併用が、PETINA 法においてどのような影響を及ぼすかを評価した。

本研究によって、MPAG は eGFR と統計学的に有意な負の相関関係があり、HPLC-MPA は eGFR と統計学的に有意な相関関係がないこと、つまり、MPAG は腎機能の悪化に伴って血中に蓄積するが、MPA は腎機能の影響を受けないが明らかになった。さらに、eGFR を換算式に組み入れた換算式 2 は、組み入れない換算式 1 と比較して、大きな差はなかった。しかし、腎機能に関わらず PETINA-MPA は HPLC-MPA と比較し、約 1.2 倍高値傾向となる。つまり測定方法が HPLC 法から PETINA 法へ変更されることで、従来からモニタリングしていた値が変動し、臨床現場では混乱が予想される。

本研究によって算出された換算式を用いていることで、PETINA-MPA から HPLC-MPA を推定することが可能となる⁵⁴⁾。

第4章 非特異反応に関する対応法の提案

非特異反応の原因究明には、確かな知識と技量が必要で時間を要する場合が多い。したがって、既に誤った結果を報告している場合は、原因究明されていない段階であっても、早急に測定結果が正しくないこと、非特異反応の可能性があることを臨床側へ報告する必要がある。また、非特異反応を疑い・検出した際は、非特異反応の原因究明することが重要である。文献調査と研究I～VIIから、非特異反応の検出から原因検索では、以下の対応を順次実施することが有用と考える。

4.1. 汎用生化学自動分析装置による反応タイムコースの確認

反応タイムコースは、試料と試薬が反応してから、反応が終了するまでの吸光度を時系列で確認することができる。このため、試料と第一試薬が反応した直後に異常が認められた場合、第一試薬の成分または検体成分による異常を疑うことができる⁵⁵⁾。反応タイムコースの確認は非特異反応を疑う重要な手がかりとなるが、反応タイムコースの判別が難しい場合が多く、正常反応と対比し見比べることが重要である。一方、反応タイムコースが正常であったとしても、非特異反応が起こっていないと判断することはできず、注意が必要である。

4.2. 異なる原理・試薬での測定

研究Iと研究Vでは異なる試薬間で測定値の乖離が確認された。さらに、研究IIIでは本来パラレルに推移するcTnIとcTnTの乖離、つまり測定値の比較によって非特異反応が確認された。非特異反応の原因検索では、特別な装置・試薬を必要とする場合が多いが、異なる原理・試薬での測定は、外注検査等で比較的簡単に実施することができる。このため、非特異反応が発生しているかを検証するための第一ステップとして、異なる原理・試薬で測定することは有効である。

4.3. 臨床経過と検査結果の確認

研究Vと研究VIでは臨床経過と検査結果が一致しないことが、非特異反応発見の発端となった。研究Vのように異なる原理・試薬での測定で乖離する事例も存在するが、免疫グロブリンが結合した酵素の多くの場合は、異なる原理・試薬で測定しても一致する事例が多い。これらは、血中のクリアランスが遅延しているため、実際に測定値に相当する酵素が存在するが、患者の臨床経過とは乖離している。このように、非特異反応は偽高値・偽低値に限定されず、真値であっても患者の臨床経過と乖離している可能性があり、非特異反応を疑った際は、最終的に臨床経過と一致しているかを確認することが必要である。

4.4. 原因検索

4.4.1. 試薬と検体の混合試験

試薬成分と検体成分が反応し、白濁することで非特異反応が起こっている事例が報告されている^{56,57)}。試薬中には反応増強剤としてポリエチレングリコールや溶解性を高めるために界面活性剤が添加されており、これらが検体中の成分(M蛋白、異常脂質など)と反応する場合が多い。

汎用生化学自動分析装置において、このような白濁は反応タイムコースにて確認することができる。図 8B は R1 試薬添加後に吸光度が上昇した異常反応タイムコースである。どの時点で異常が発生するかを確認することができるため、その原因を推定することができる。また、分析装置内で行われている反応を要手法にて実施し、白濁を目視で確認することも有効である。さらに、これら非特異反応物質の同定には、実際に被験物質が含まれている試薬と含まない試薬を用意し、各々を比較することも有効である。

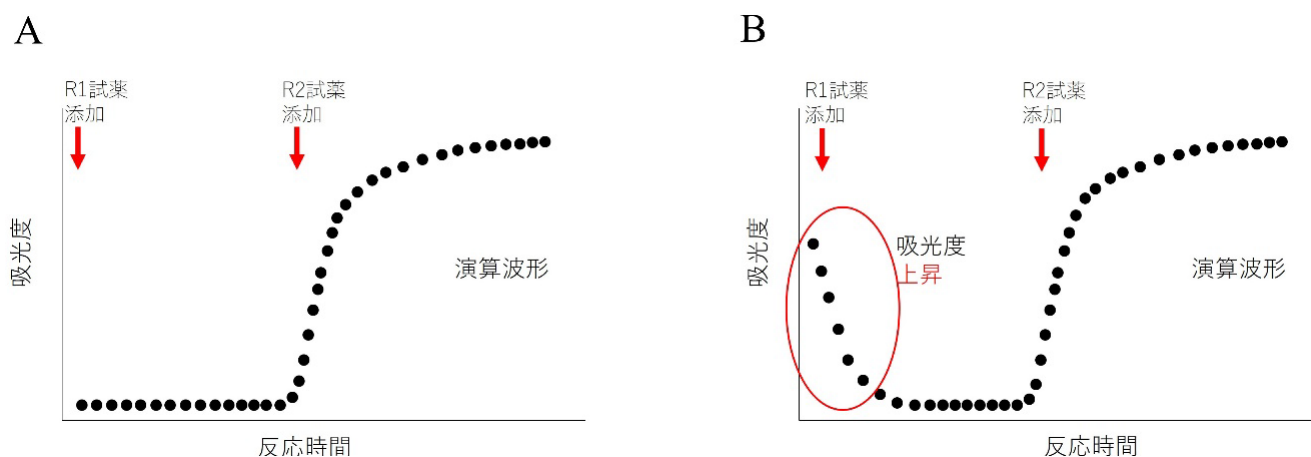


図 8. 反応タイムコース

A. 正常反応タイムコース. B 異常反応タイムコース

4.4.2. 希釈直線性試験

希釈直線性試験は、阻害・干渉物質が存在するかを推定する方法であり、研究Vでは本試験にて、非特異反応が発生していると推察した。

希釈直線性試験は、非特異反応の原因物質が希釈され、その影響が弱まることで、非特異反応が発生している場合は、希釈直線性が得られない場合が多い (図 9B)。一方、海原らは、CA19-9 測定の 2 法を比較検討したところ、A 法が極端に高値の症例は希釈直線性が得られ、B 法が極端に高値の症例は希釈直線性が得られなかったと報告している⁴⁾。つまり、既報のように非特異反応が発生している場合であっても、希釈倍率や阻害様式によっては、希釈直線性試験が得られる可能性があり (図 9A)、注意が必要である。直線性の評価は、測定値と希釈倍数をプロットし視覚的に確認する方法、希釈換算値と原血清の差が ± 10 または 20%以内であったことを評価する方法などがある。また、希釈直線性試験では、希釈することで非特異反応物質の影響が軽減することが出来るため、ある程度正確な参考値が得られる場合も多い。しかし、免疫測定項目などではマトリックスの影響を考慮し、専用の希釈液で希釈することが必要である場合も多く、対照検体と比較し評価することが重要である。

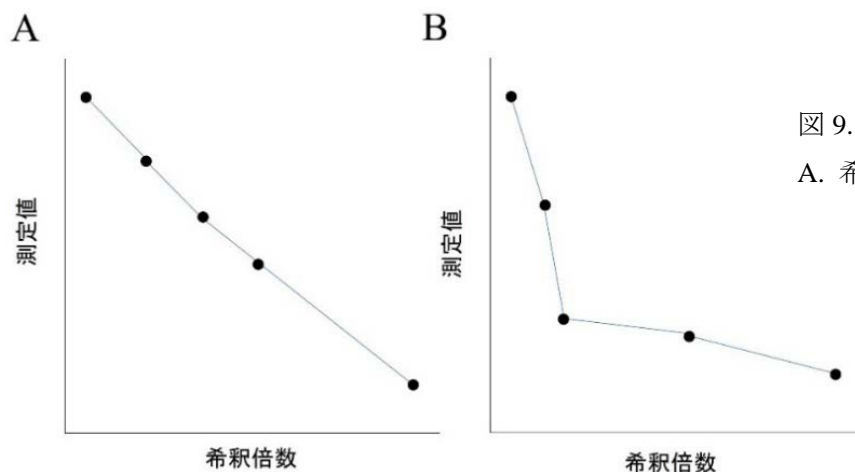


図9. 希釈直線性試験
A. 希釈直線性あり. B. 希釈直線性なし

4.4.3. 血清蛋白・アイソザイム電気泳動

従来から電気泳動法は検査室で利用され、蛋白分画電気泳動法、免疫電気泳動法、免疫固定電気泳動法など多様な方法が存在する。試料中に特異な物質が存在した場合、電気泳動像に特異なパターンが認められるため、非特異反応物質を推定することができる。特に、免疫グロブリンが結合した酵素や遺伝的酵素アノマリーを保有する患者血清では、アイソザイム電気泳動による特異な泳動像（図10）を確認することができる⁵⁸⁻⁶¹。しかし、電気泳動を実施している施設は減少しており、日常検査として実施することが困難な場合も少なくない。

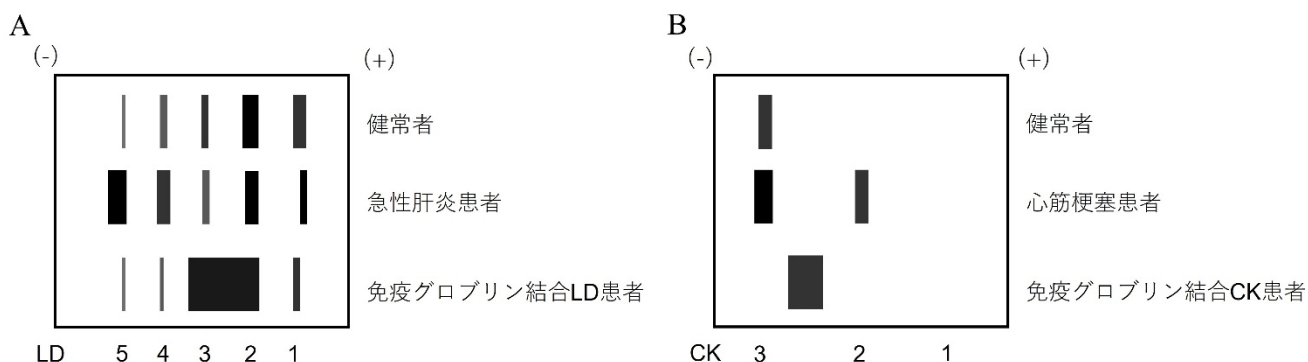


図10. アイソザイム電気泳動パターン

A. LD アイソザイム電気泳動. B. CK アイソザイム電気泳動

4.4.4. 添加回収試験

添加回収試験は、試料に非特異反応に起因すると考えられる物質を添加し、添加後の濃度を測定する。試料に試薬の標準物質などを添加し、非特異反応が発生しているかを推定するために、利用される場合もある。回収率は、以下の方法で算出し、評価する。

$$\text{回収率 (\%)} = \frac{\text{添加試料の測定値} - \text{無添加試料の測定値}}{\text{添加量}} \times 100$$

回収率が低値であれば、非特異反応を疑うことができる。しかし、目的成分以外の組成が変化しないよう、添加量に注意すること、回収率の評価は事前に十分検討しておく必要がある^{62,63)}。

4.4.5. 免疫グロブリン吸収試験

免疫グロブリンが関与する非特異反応事例は多く、研究I、II、III、IV、V、VIでは免疫グロブリン吸収試験を実施し、免疫グロブリンが関与した非特異反応と判断した。

免疫グロブリンの吸収試験は、抗血清を用いる方法と **protein G, A** という抗体に特異的に結合する細菌由来の蛋白質を用いる方法がある。

抗血清を使用する場合、抗原と抗体の最適比、および、抗血清中に存在する由来動物の成分が測定対象物質と交差反応しないことを事前に確認する必要がある。抗血清を用いた吸収試験では、免疫沈降法にて抗原・抗体複合体を沈降させ、上清の残存率を回収率として評価する方法がある。

Protein G, A を使用する場合、各々の特異性を把握することが必要であり、**protein A** はヒト IgG3 に対する反応性が弱く、IgG3 を十分吸収できない可能性がある。**Protein G, A** はカラムに充填し、アフィニティクロマトグラフィーとして使用する方法とビーズなどの担体に結合させて使用する方法がある。評価は **protein G, A** に結合した分画と結合していない分画を比較する方法や回収率を算出する方法などがある。図 11 に示すように、測定対象物質に結合した自己抗体（研究IV）の **protein G** 処理では、IgG 結合物質が吸収されるため、IgG と結合していない本来の測定対象物質のみを測定することができる。

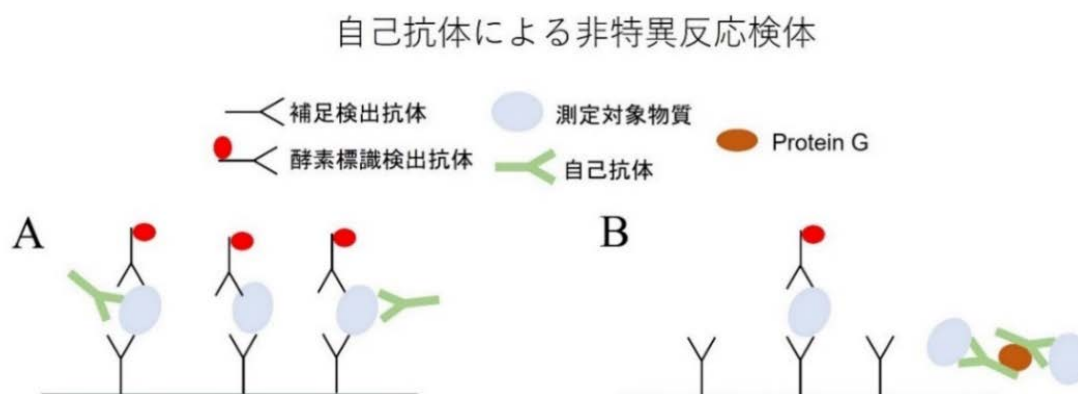


図 11. Protein G 処理

A. Protein G 未処理. B. Protein G 処理

4.4.6. 還元処理試験

還元処理試験は、IgM が関与した非特異反応かどうか確認する方法であり、その有効性が報告されている^{30,64,65)}。

還元処理に使用されるジチオトレイトール (DTT) や 2-メルカプトエタノールは、蛋白質の S-S 結合を切断するため、5 量体で存在する IgM の各サブユニット間の結合を切断する。図 12 に

示すように、IgM が関与した非特異反応の場合には、DTT 処理によって IgM の複合体が切断されるため、非特異反応が解消される。

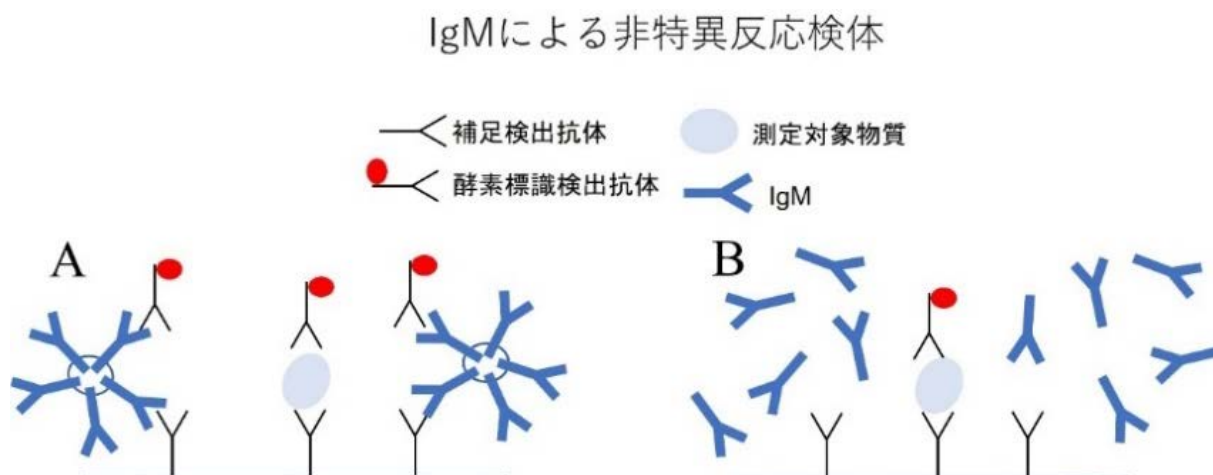


図. 12 DTT 処理

A. DTT 未処理. B. DTT 処理

4.4.7. 異好抗体吸収試験

研究III、Vでは異好抗体吸収試験を実施し、異好抗体に由来する非特異反応が発生しているかを判断した。阿部は、3種のHAMA吸収試薬の有効性を比較した結果、試薬により反応性が大きく異なることを報告している⁶⁶⁾。したがって、異好抗体阻止試薬は、異種動物由来（マウス・ラット等）の成分を含有する試薬として様々な製品が販売されているが、動物種やRFとの結合性など特異性が異なるため注意が必要である。

4.4.8. ゲルろ過分析

研究I、研究IV、研究V、研究VIでは、ゲルろ過分析を行い、各溶出分画を測定することで測定対象物質の分子量やその多様性を検証した。分子の大きさにより物質を分離するゲルろ過分析は、実際に測定された物質がどのような物質かを推定することができるため、非特異反応の解析には有効である。

溶出時間をX軸、測定濃度をY軸にプロットし、分子量マーカ―や対照検体と比較することで、分子量や測定物質を推定することができる。また、分子量を推定することができるため、測定物質の存在様式や多様性を検証することができる。さらに、免疫グロブリン吸収処理や還元処理後の試料をゲルろ過分析で解析することで、その処理の有効性や化学的性状を確認することもできる。以上のように、ゲルろ過分析は非特異反応の解析に利用価値が高いが、高額な装置や特異性に応じたカラム選択など、簡単に実施することができない欠点がある。

4.5. 非特異反応の検出から原因検索までの対応チャート

文献調査と研究I～VIIを基にして、非特異反応の検出から原因検索までの対応チャートを作成した（図13）。

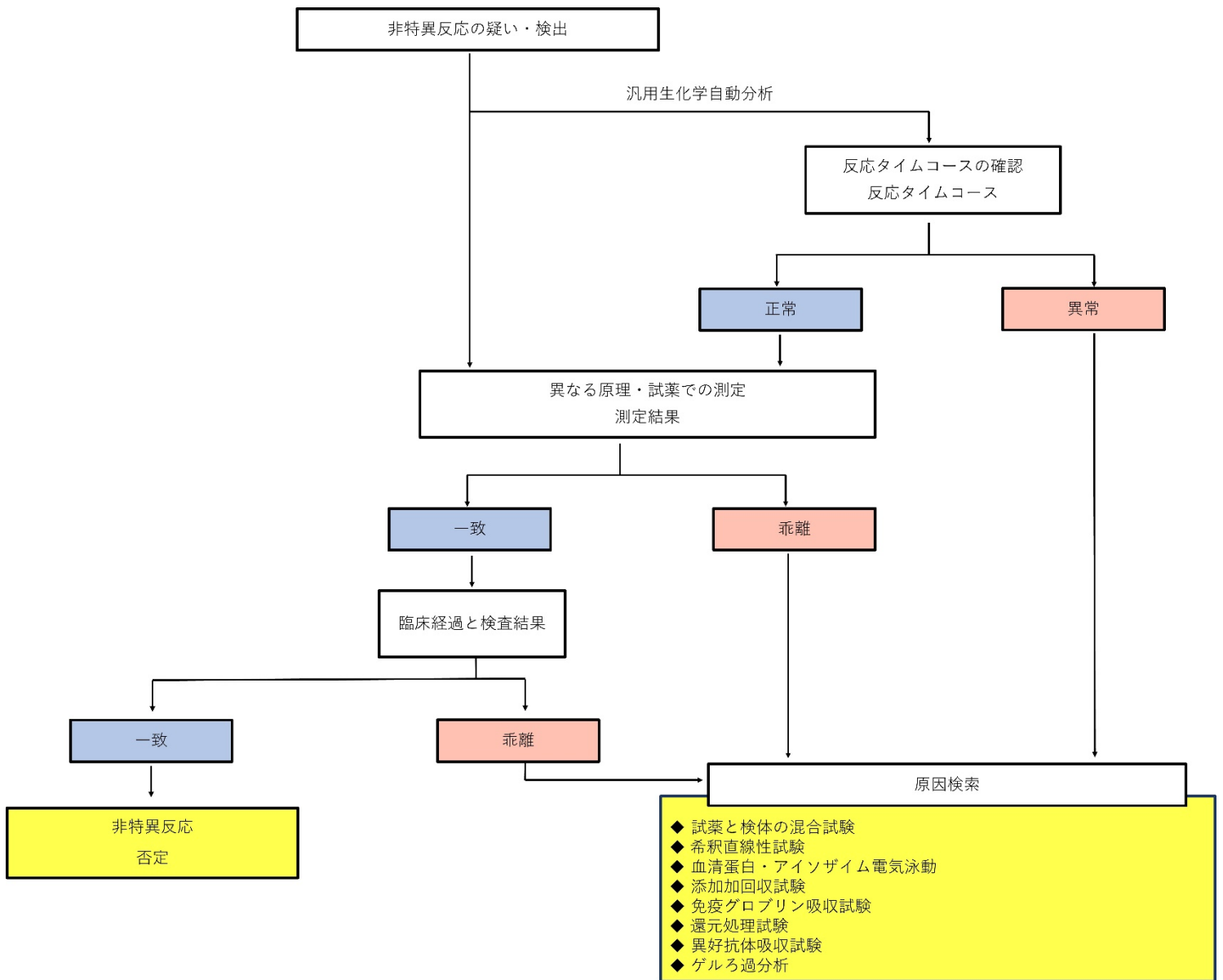


図13. 非特異反応の対応チャート

第5章 考察

5.1. 非特異反応の検出（文献調査）

非特異反応は、分析装置・測定試薬変更時における測定値の乖離を発端とした検出が最も多いことが明らかになった。日常検査では、同一の測定項目を複数の装置または試薬で測定することは稀であり、解明されていない非特異反応が潜んでいる可能性がある。また、文献調査では、文献報告された事例を抽出しているため、これらは日常検査で発生している非特異反応の氷山の一角であると考えられる。したがって、本研究からは非特異反応の全容は明らかになっていない。

さらに、汎用生化学自動分析装置および LIS によるシステム検出とは異なり、システムによって検出できない非特異反応が多数存在することが明らかになった。したがって、非特異反応を見逃さないために、人為的な手段によらないシステムを構築する余地があると考えられる。

5.2. 非特異反応の検出と原因究明の例

非特異反応の検出は、研究I・VIIが分析装置・測定試薬変更時における測定値の乖離、研究IIIが項目間チェック、研究Vが前回値チェック、研究VIが極端値チェックであった。非特異反応を示す検体の解析を通じて得られてた成果は、医学的に貴重な症例の発見や試薬改良へと繋がる可能性があることから、非特異反応を疑い・発見した際は、その原因を追及することが重要であると考えられた。

5.3. 非特異反応の検出から原因検索までの対応法

今日の日常検査では、分析装置や LIS による異常判定等によって日常検査における非特異反応を検出しても、原因特定まで至らず、報告されていない例は多いと想定される。また、解析の目的や意義が分からないまま、解析を進め、限りある検体を消費してしまう場合もあると考えられる。そこで、本研究では、文献調査と研究I～VIIを基にして、日常検査において非特異反応を疑い・発見した際の対応法をまとめ、原因究明までの一連の対応チャートを作成した。

汎用生化学自動分析装置における非特異反応では、どの時点で異常が起きているかを特定し、原因物質を推定するために、第一に反応タイムコースを確認することが重要である。反応タイムコースの異常が認められた場合は、原因検索へ進む。一方、正常波形であっても非特異反応が起っていないと断定することはできない。

異常反応タイムコースが認められなかった場合や反応タイムコースなどの情報が得られない免疫学的分析装置等による測定の場合は、異なる原理・試薬にて測定することが有効である。両者の測定値に乖離が認められた場合は、原因検索へ進む。一方、測定値が同程度であっても非特異反応が起っていないと断定することは難しく、臨床経過と検査結果が一致しているかを確認することが必要である。最終的に両者が一致していれば、非特異反応をほぼ否定することができる。

作成したチャートの流れで解析を進めることで、限りある試料・検体を無駄なく有効に解析することができる。しかし、本法では、専門的な技術や装置が必要なものも含まれ、さらに詳細な解析を実施しないと原因究明できない場合も想定される。このため、自施設で解決することができない場合には、試薬・装置メーカーや、対応学会等に相談することも有効である。

5.4. 研究の限界

本研究で提案した対応法は、日常検査で発生する全ての非特異反応について、対応することはできないという限界が存在する。つまり、作成した対応チャートに沿って解析しても、必ずしも原因の特定に至るとは限らない。したがって、原因特定に至らない場合は、試薬・装置メーカーや、対応学会等に相談することも必要である。最も重要なことは、非特異反応を発見した際は、そのままにするのではなく、原因特定に向けて、最善を尽くすことである。

5.5. 研究の意義

非特異反応を発見し対応することは、誤報告の防止につながり、検査の信頼性の向上に寄与できる。また非特異反応を示す検体の解析は、研究Iのように医学的に新たな症例の発見に繋がる可能性がある。さらに研究IIのように、非特異反応の解析から試薬改良へと繋がる可能性もある。すなわち膨大な臨床検査試料の中には沢山の宝が埋まっている。したがって、日常検査における非特異反応を発見・対処することで臨床検査学の発展につながる可能性がある。以上のことから、日常検査で非特異反応を疑い・検出し、原因究明へ至る対応法を提案した本研究は、非特異反応解析の一助となり得ると考える。

第6章 結論

本研究は、日常検査で遭遇する個々の非特異反応の検出や原因の解明を通じて、一連の対応法を提案することができた。

謝辞

本研究を遂行し学位論文をまとめにあたり、多大なご支援とご指導を賜りました清宮正徳教授に深謝致します。

参考文献一覽

- 1) Check JH, Ubelacker L, Lauer CC. Falsely elevated steroidal assay levels related to heterophile antibodies against various animal species. *Gynecol Obstet Invest* 1995; 40(2): 139-140
- 2) Prin Mathieu C, Renoult E, Kennel De March A, et al. Serum anti-rabbit and anti-horse IgG, IgA, and IgM in kidney transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12(10): 2133-2139
- 3) Vladutiu AO, Sulewski JM, Pudlak KA, et al. Heterophilic antibodies interfering with radioimmunoassay. A false-positive pregnancy test. *JAMA* 1982; 248(19): 2489-2490
- 4) Shawler DL, Bartholomew RM, Smith LM, et al. Human immune response to multiple injections of murine monoclonal IgG. *J Immunol* 1985; 135(2): 1530-1535
- 5) Dillman RO, Beauregard J, Shawler DL, et al. Continuous infusion of T101 monoclonal antibody in chronic lymphocytic leukemia and cutaneous T-cell lymphoma. *J Biol Response Mod* 1986; 5(5): 394-410
- 6) Kano K, Loza U, Gerbasi JR, et al. Studies on heterophile antibodies in transplantation sera. *Transplantation* 1975; 19(1): 20-26
- 7) Hawkins BR, Saueracker GC, Dawkins RL, et al. Population study of heterophile antibodies. *Vox Sang* 1980; 39(6): 339-342
- 8) Howanitz PJ, Howanitz JH, Lamberson HV, et al. Incidence and mechanism of spurious increase in serum thyrotropin. *Clin Chem* 1982; 28(3): 427-431
- 9) Moriyama T, Tamura S, Nakano K, et al. Laboratory and clinical features of abnormal macroenzymes found in human sera. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1854(6): 658-667
- 10) Gonzalez Raya A, Coca Zuniga R, Martin Salido E. Isolated elevation of aspartate aminotransferase (AST) in an asymptomatic patient due to macro-AST. *J Clin Lab Anal* 2019; 33(2): e22690
- 11) Devine JE, Minton JS, Lipe AL. Macro lactate dehydrogenase (LD) due to protein binding of LD isoenzyme 1. *Enzyme* 1984; 32(3): 184-187
- 12) Lautenbach N, Muntener M, Zanoni P, et al. Prevalence and causes of abnormal PSA recovery. *Clin Chem Lab Med* 2018; 56(2): 341-349
- 13) Fukushima M, Watanabe N, Yoshimura Noh J, et al. A case of macro-TSH consisting of IgA-bound TSH. *Endocr J* 2021; 68(10): 1241-1246
- 14) Chihara K, Hattori N, Matsuda T, et al. Procedures for the diagnosis of macro-follicle stimulating hormone (FSH) in a patient with high serum FSH concentrations. *Clin Chem Lab Med* 2020; 58(2): e40-e43
- 15) Cramer DW, O'Rourke DJ, Vitonis AF, et al. CA125 immune complexes in ovarian cancer patients with low CA125 concentrations. *Clin Chem* 2010; 56(12): 1889-1892
- 16) Jin Y, Kim SC, Kim HJ, et al. Use of autoantibodies against tumor-associated antigens as serum biomarkers for primary screening of cervical cancer. *Oncotarget* 2017; 8(62): 105425-105439
- 17) Muller W, Mierau R, Wohltmann D. Interference of IgM rheumatoid factor with nephelometric C-reactive protein determinations. *J Immunol Methods* 1985; 80(1): 77-90

- 18) Barcelo Martin B, Marquet P, Ferrer JM, et al. Rheumatoid factor interference in a tacrolimus immunoassay. *Ther Drug Monit* 2009; 31(6): 743-745
- 19) Meurman OH, Ziola BR. IgM-class rheumatoid factor interference in the solid-phase radioimmunoassay of rubella-specific IgM antibodies. *J Clin Pathol* 1978; 31(5): 483-487
- 20) Schnebelen A, Sweat K, Marshall J, et al. Alleviation of IgM monoclonal protein interference in nephelometric assays by sample treatment with reducing agent in a chaotropic salt solution. *Am J Clin Pathol* 2012; 137(1): 26-28
- 21) Tichy M, Friedecky B, Budina M, et al. Interference of IgM-lambda paraprotein with biuret-type assay for total serum protein quantification. *Clin Chem Lab Med* 2009; 47(2): 235-236
- 22) Moriyama M, Hayashi N, Ohyabu C, et al. Performance evaluation and cross-reactivity from insulin analogs with the ARCHITECT insulin assay. *Clin Chem* 2006; 52(7): 1423-1426
- 23) Bowsher RR, Lynch RA, Brown-Augsburger P, et al. Sensitive RIA for the specific determination of insulin lispro. *Clin Chem* 1999; 45(1): 104-110
- 24) Hamano H, Kawa S, Horiuchi A, et al. High serum IgG4 concentrations in patients with sclerosing pancreatitis. *N Engl J Med* 2001; 344(10): 732-738
- 25) Kellerman PS, Thornbery JM. Pseudohyperkalemia due to pneumatic tube transport in a leukemic patient. *Am J Kidney Dis* 2005; 46(4): 746-748
- 26) 清宮 正徳, 澤部 祐司, 澤井 摂ら. 視神経脊髄炎の治療経過中に、著明な一過性クリオフィブリノーゲン血症を呈した一症例. *臨床病理* 2011; 59(補冊): 241
- 27) Pantanowitz L, Horowitz GL, Upalakalin JN, et al. Artifactual hyperbilirubinemia due to paraprotein interference. *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127(1): 55-59
- 28) 阿部 正樹, 俵木 美幸, 阿部 郁朗ら. IgM 型 HAMA による DUPAN-2 偽高値について. *臨床病理* 2012; 60(11): 1065-1069
- 29) 阿部 正樹, 松浦 知和, 俵木 美幸ら. 癌免疫細胞療法実施後に CEA 偽高値を呈した患者血清の検討. *臨床病理* 2011; 59(8): 763-769
- 30) 森山 隆則, 上原 聡, 鷲尾 明子ら. ヒト IgM 型抗マウス抗体(HAMA)による血清 CA-125 測定における偽陽性反応の解析. *臨床検査* 1996; 40(5): 607-610
- 31) 阿部 正樹, 歳川 伸一, 塩谷 美江子ら. Dimension によるタクロリムス測定における偽高値の解析. *医学検査* 2012; 61(5): 844-849
- 32) 藤本 一満. 血清情報統一の取り組み 溶血度判定基準の確立. *日本臨床検査自動化学会会誌* 2012; 37(1): 53-58
- 33) 小島 和茂. 【検査機器・試薬・技術の新たな展開】Bio Majesty シリーズにおけるリアルタイム異常反応検出技術. *生物試料分析* 2015; 38(5): 309-317
- 34) 小島 和茂. 【自動分析装置における反応タイムコースの基礎と活用事例】生化学自動分析装置機器メーカーにおけるタイムコースの利用法 日本電子株式会社. *医療検査と自動化* 2020; 45(Suppl.1): 55-61
- 35) 宮下 徹夫, 石沢 天, 荒木 秀夫ら. 汎用生化学自動分析装置におけるプロゾーン現象検出法の評価 日立 7600 形自動分析装置について. *日本臨床検査自動化学会会誌* 1998; 23(4): 340

- 36) 濱野 高行. Whole PTH と intact PTH の逆転現象について(New molecular form PTH の存在). 大阪透析研究会会誌 2007; 25(1): 79-83
- 37) 上野 信弥, 奥井 靖子, 久保田 浩ら. 異常反応を認めた高ヒアルロン酸血症の一例. 日本臨床検査自動化学会会誌 2015; 40(4): 475
- 38) Mebes I, Graf M, Kellner M, et al. High Estradiol Levels During Postmenopause - Pitfalls in Laboratory Analysis. Geburtshilfe Frauenheilkd 2015; 75(9): 941-944
- 39) 志賀 道子, 松尾 博憲, 道満 恵ら. 腫瘍マーカーCA19-9 の異常高値症例の経験. 日本臨床検査自動化学会会誌 2012; 37(3): 352-356
- 40) 片川 一之, 尾瀨 美弥子, 木村 孝司ら. 血中コルチゾール測定において乖離を認めた症例の検討 TDx と ACS-180 において. 医学検査 1999; 48(12): 1700-1703
- 41) 海原 和己, 坂東 昌代, 猪野 由美子ら. CLIA 法による CA19-9 測定値乖離例における非特異反応の系統的解析. 日本臨床検査自動化学会会誌 2010; 35(5): 884-887
- 42) 高尾 マユミ, 光井 健, 田中 祐子ら. 血清カルシウム測定試薬 4 法についての基礎的検討. 日本臨床検査自動化学会会誌 2010; 35(1): 93-98
- 43) 大澤 進, 小野 香織, 清宮 正徳ら. Acarbose の尿中アミラーゼ活性への阻害. 日本臨床検査自動化学会会誌 2003; 28(3): 179-183
- 44) 荒川 幸子, 北野 充繪, 米山 彰子. 酸加熱処理により回避できた CEA 偽高値例の HPLC による解析. 日本臨床検査自動化学会会誌 2007; 32(1): 47-50
- 45) Nakano K, Sugita J, Mafune N, et al. IgG4-IgE complex in a patient with IgG4-related disease. Clin Chim Acta 2022; 528: 52-55
- 46) Kamisawa T, Anjiki H, Egawa N, et al. Allergic manifestations in autoimmune pancreatitis. Eur J Gastroenterol Hepatol 2009; 21(10): 1136-1139
- 47) Nakano K, Sugita J, Seimiya M, et al. IgG4-IgE complex in patients with IgG4-related disease. Clin Chim Acta 2022; 531: 261-264
- 48) 中野 恵一, 眞船 直樹, 安田 慶子ら. トロポニン T・I 測定値の乖離から考えるトロポニン測定の課題. 臨床化学 2019; 48(2): 130-136
- 49) Nakano K, Sugawa S, Seimiya M, et al. Frequencies of Anti-Troponin I vs Anti-Troponin T Autoantibodies and Degrees of Interference on Troponin Assays. Lab Med 2022
- 50) Nakano K, Yasuda K, Shibuya H, et al. Transient human anti-mouse antibody generated with immune enhancement in a carbohydrate antigen 19-9 immunoassay after surgical resection of recurrent cancer. Ann Clin Biochem 2016; 53(Pt 4): 511-515
- 51) Nakano K, Moriyama T, Yasuda K, et al. Identification of IgG-kappa type macroprolactin found in the serum of an 8-year-old girl. Clin Chim Acta 2014; 433: 206-208
- 52) Shipkova M, Schutz E, Armstrong VW, et al. Overestimation of mycophenolic acid by EMIT correlates with MPA metabolite. Transplant Proc 1999; 31(1-2): 1135-1137
- 53) Schutz E, Shipkova M, Armstrong VW, et al. Therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid: comparison of HPLC and immunoassay reveals new MPA metabolites. Transplant Proc 1998; 30(4): 1185-1187

- 54) Nakano K, Iwami D, Yamada T, et al. Development of a Formula to Correct Particle-Enhanced Turbidimetric Inhibition Immunoassay Values so That it More Precisely Reflects High-Performance Liquid Chromatography Values for Mycophenolic Acid. *Transplant Direct* 2018; 4(1): e337
- 55) Seimiya M, Suzuki Y, Yoshida T, et al. The abnormal reaction data-detecting function of the automated biochemical analyzer was useful to prevent erroneous total-bilirubin measurement and to identify monoclonal proteins. *Clin Chim Acta* 2015; 441: 44-46
- 56) 松田 親史, 森山 英彦, 柴田 宏ら. 免疫グロブリン値と蛋白分画において乖離を認めた1症例の原因解析と対策方法についての検討. *島根医学検査* 2012; 40(1): 28-32
- 57) 岩田 祐紀, 糸原 智生, 柳樂 治希ら. 高 IgM 血症により血中リパーゼが偽高値を示した1症例. *島根医学検査* 2020; 48(1): 19-23
- 58) Wada Y, Tanigawa J, Ishizaka N. Macro-CK and CK-BB Contributing to Sham CK-MB Elevation. *Internal Medicine* 2017; 56(11): 1449-1450
- 59) 遠藤 八千代, 清宮 正徳, 渡邊 万里子ら. 当院で検出された ALP アイソザイムのアノマリー症例についての検討. *生物試料分析* 2016; 39(1): 75
- 60) 青木 義政, 坂口 恵理, 櫻井 博文ら. 自動分析装置での反応過程異常を契機として見出した AST 結合性免疫グロブリンの1例. *医学検査* 1999; 48(11): 1584-1588
- 61) 森山 隆則, 安彦 裕実, 村尾 咲音ら. マクロエンザイム 5 年間の集計結果 特にマクロ AST について. *電気泳動* 2021; 65(Suppl.): s63
- 62) 俵木 美幸, 阿部 正樹, 荒木 早紀子ら. CEA 低値検体における抗 CEA 自己抗体の重要性に関する検討. *日本臨床検査自動化学会会誌* 2012; 37(1): 17-20
- 63) 渡辺 勝紀, 羽角 安夫, 吉野 学ら. ラテックス凝集免疫比濁法における干渉反応の解析. *日本臨床検査自動化学会会誌* 2001; 26(1): 26-32
- 64) 鈴木 晴美, 八木 道隆, 阿部 正樹ら. ラテックス凝集免疫比濁法による梅毒 TP 抗体検出法における非特異反応の解析. *日本臨床検査自動化学会会誌* 2017; 42(3): 221-226
- 65) 北秋 翔子, 林 伸英, 佐藤 伊都子ら. ラテックス凝集比濁法によるマトリックスメタロプロテイナーゼ-3 測定試薬における非特異反応の解析. *臨床病理* 2015; 63(4): 427-434
- 66) 大澤 進, 細萱 茂実, 飯塚 儀明ら. 免疫化学検査の異常データの解釈と対応の仕方 Ver.1.0(2015.6.1). *日本臨床検査自動化学会会誌* 2015; 40(Suppl.1): 3-116