

〈特集：ワークショップ2・第26回年次学術集会〉

## 免疫検査とは？日常検査における免疫検査の位置付け

和出 弘章

### “Immunoassay”: the utility of immunoassay in the routine work

Hiroaki Wade

**Summary** Devices and reagents showing excellent operability and rapidity have recently been developed for immunoassays conducted in the clinic. Immunoassays differ from serum chemistry. It is difficult to maintain accuracy over the long-term because numeric data varies depending on the reagent lot. Additionally, measurement values differ between laboratories because of the use of reagents from different manufacturers. Therefore, this method must be standardized.

In our routine work, the influence of the heterophil antibody, which is characteristic of the immune response, must be considered. In clinical practice, serum chemistry tests are carried out for screening in many cases, while immunoassays for hormone, biomarker, and infectious disease tests can be conducted to explain a diagnosis. The information obtained from immunoassays is used by emergency medicine and outpatient clinics and is important for clinical diagnosis. This method must be carefully conducted to prevent false interpretation, and clinicians should have a thorough understanding of immune reactions and the information these assays provide.

**Key words:** immunity, Immunoassay, antigen-antibody reaction, diagnostic aid, TINN (Tokai Immunology Navigators' Network)

#### I. はじめに

免疫の概念は紀元前にはじまり、18世紀後半に入りE.Jenner（英）によって発明された種痘法や、L.Pasteur（仏）によるワクチン製造方法の確立<sup>1)</sup>が免疫学の起源となった。その後、20世紀に入り、抗原や抗体の研究が一層進み、今日では体内における微量な物質であるホルモンや感染症、バイオマーカーなど様々な免疫学的検査領域に応用されている。また、近年では分析装置および試薬の開発により、精度はもちろ

んのこと、コンパクトな装置で、短時間で結果が得られるようになり、多くの医療機関で緊急検査や診察前検査に用いられ診療支援に貢献している。

しかしながら、免疫反応を原理としていることから、生化学的な定量分析のような長期的な安定性は得られず、ときには非特異的な反応に遭遇し対処に困るようなケースも見受けられる。現在、愛知県において免疫検査の発展ならびに疾患に関連する検査だけでなく治療までも網羅した東海エリアからの情報発信を目的とし

トヨタ記念病院 臨床検査科  
〒471-8513 愛知県豊田市平和町1-1  
TEL : (0565)28-0100 FAX : (0565)24-7177  
E-mail : hiroaki\_wade@mail.toyota.co.jp

Department of Clinical Laboratory, Toyota Memorial Hospital  
1-1, Heiwa-cho, Toyota-shi, Aichi, 471-8513, Japan

てTINN (Tokai Immunology Navigators' Network) を発足し、研究会開催などの活動を行っている。本特集においてTINN幹事の先生方から免疫検査であるが故に生じる免疫検査の課題や問題点、開発の立場から臨床検査の現場へのアプローチについて述べられており、本稿では免疫検査が日常業務になくしてはならない身近な存在である免疫検査の現状について報告し、改めて見つけ直す機会としたい。

## II. 日常で用いられる免疫検査

### 1. 自動分析機の特長（汎用機との比較）

生化学分析装置を用い免疫比濁法 (turbidimetric immunoassay ; TIA) やラテックス凝集比濁法 (latex agglutination turbidimetry ; LA) を原理として、日常的に幅広く利用されている項目にCRPや免疫グロブリン、補体関連の項目が挙げられる。汎用型の分析装置の特長として、機器に依存することなく多くの試薬を搭載でき使用試薬の選択肢が広がるものの、検出方法が吸光度変化量を捉えることから測定検出感度は決して高いとはいえず、g、mg領域に限られてくる。一方、体内に微量に存在するマーカーやホルモン検査、抗体検査においてはng、pg領域の、より高感度な検出が必要となるため、測定系には暗視野で光を検出する測定系を有する化学発光免疫測定法 (chemiluminescent immunoassay ; CLIA)、化学発光酵素免疫測定法 (chemiluminescent enzyme immunoassay ; CLEIA)、酵素免疫測定法 (enzyme immunoassay ; EIA) などが利用されている。(Table 1)

自動免疫装置に適用される試薬のほとんどが専用試薬で、汎用性はなく測定項目が制限されるが、年々メーカーの技術開発の進歩もあり、今では、検査所要時間も20分足らずで汎用機と

同等に結果が得られるようになった。感染症項目や甲状腺ホルモン、心臓関連のバイオマーカーなどの項目においても、多くの医療機関において24時間対応で利用され診療に貢献している。

### 2. 感染症検査

咽頭、上気道からの分泌物、尿、糞便などを材料として細菌やウイルスの感染症検査として行われている検査にはイムノクロマト法やEIA法が利用されている。代表的なイムノクロマト法について紹介するが、原理としては試料中に存在する抗原（抗体）が試料滴下部において金コロイドなどで標識された抗体と免疫複合体を形成してセルロース膜上に沿って移動し、判定部に固相化された抗体とサンドイッチ複合体を形成し、呈色されたラインとして判定するものである。(Fig. 1)

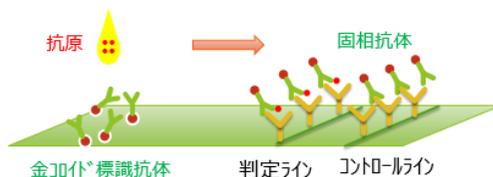


Fig. 1 イムノクロマト法の原理

これらの検査の利点としては、特別な器具、自動分析機を必要とせず、作業スペースとしては机上のわずかなスペースで行えることもあり診療室での検査も可能となる。また、単包装であり試薬のロスも少なく、5～20分程度で結果が得られ、操作性も簡便であることが挙げられる。欠点としては、定量性がなく、目視判定のため特に発色が弱い場合には、技師間差が生じる恐れがある。近年、この点を改善すべく判定用の装置が登場する検査キットも存在するが、

Table 1 主な測定方法と測定対象物質

測定感度	単位	測定方法	測定物質
低	mg/dL ug/dL	免疫比濁法 (TIA) ネフェロメトリー ラテックス凝集法 (LA)	免疫グロブリンなどの 血漿蛋白
高	ng/mL pg/mL	化学発光免疫測定法 (CLIA) 化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA) 酵素免疫測定法 (EIA)	腫瘍マーカー 心筋マーカー 甲状腺ホルモン 性腺ホルモン

多検体向きではなくマンパワーに委ねられているのが現状である。

当院で使用している感染症の迅速診断検査キットを紹介するが (Table 2)、多種多様化の傾向がある。

Table 2 代表的な感染症迅速診断検査キット

鼻腔・咽頭拭い液	尿・糞便
インフルエンザ抗原	便中ロタウイルス抗原
鼻腔肺炎球菌抗原	ノロウイルス抗原
マイコプラズマ抗原	尿中肺炎球菌抗原
RSウイルス抗原	尿中レジオネラ抗原
ヒトメタニューモウイルス抗原	
アデノウイルス抗原	
A群β溶連菌群抗原	

また、検体採取に際しサンプリング量の差異によって検出感度に影響を及ぼすことから検査キットごとに付属された指定の採取用綿棒を使用する必要がある。鼻腔や咽頭からの検体採取時の侵襲度を考慮すると、サンプリング試料を共有することが可能な同シリーズの検査キットを選択することもひとつである。これらの迅速診断検査キットを用いて外来診療、入院管理など目的は様々であるが、インフルエンザシーズンを例にとると、38℃以上の突然発症の高熱、全身倦怠感、上気道炎症状や関節痛、家族歴など患者背景や臨床症状だけでの診断が付けば容易であるが、典型症状を示さないことも多く、迅速診断検査の使用により他のウイルス・細菌感染との鑑別が可能となる。ただし、感染初期のウイルス量が少ない時期には迅速診断陰性で半日から1日後に陽性化する<sup>2)</sup>ことがあるため検査結果を過信することなく、あくまでも検査は補助診断の一環であり、検査実施のタイミングが発症からどの程度時間が経過しているのかを念頭に置く必要がある。

血液 (血清) を材料として行われる肝炎ウイルス、HIVなどの感染症検査では、CLIA法やCLEIA法などの自動免疫装置での測定が主流となっている。病院の規模、診療科によってはイムノクロマト法などの簡易検査キットが用いられているが、イムノクロマト法は年々、感度、特異度が向上しているとはいえ自動免疫装置での測定と比較するとやはり検出感度が劣る傾向にある。精度管理調査などにおいても低濃度域

の試料において自動分析機で陽性、イムノクロマト法で陰性といった乖離する事例がしばしば見受けられる。やはりスクリーニング検査としての位置付けで陽性反応を示す場合にはあくまでも「感染の可能性あり」という認識にとどめ、それぞれのDNA、RNAの検出を目的とする遺伝子検査など確認検査を用いて確定診断を行う必要がある。また、感染から検出感度以上の抗体価になるまでには時間を要し、感染の初期で検査を受けても陰性という結果が得られる時期 (ウインドウ期) が存在し<sup>3)</sup>、抗原検査よりも抗体検査のほうがその期間は長くなる。つまり、抗原検査であっても、どれだけ高感度の検査を使用しようともウインドウ期は例外なく存在することを念頭に置く必要がある。

その他にも免疫反応を利用しているが故、必ず非特異反応が存在するとはいえ、特にHIVのような項目には特段の注意が必要である。HIV関連検査として第3世代のHIV1/2抗体検出タイプ (イムノクロマト法) では0.3～0.5%、第4世代のHIV抗原抗体同時検出タイプにおいても0.2～0.4%という報告がある<sup>4)</sup>。精査の結果が出るまでの数日から一週間の間、偽陽性の可能性があったとしても、パートナー間での二次感染の可能性、患者の心身的ストレスは測りしれない。検査結果を報告する検査室側としても誤解のないように主治医へ適切な情報を報告し、必要な確認検査を行っていくことが重要である。

### 3. 輸血・移植関連検査

輸血・移植領域では、安全かつ適切な輸血療法を行えるよう施設における輸血管理体制の整備が求められる。国内においては平成24年3月に改訂版の「輸血療法の実施に関する指針」及び「血液製剤の使用指針」に準じて各医療機関で取り組まれている。不適合輸血を防ぐために輸血前検査として重要な検査として血液型 (ABO式、Rh式) 検査、不規則抗体検査、交差適合試験が挙げられる。血液型検査を例にとると、赤血球膜上の抗原を調べるオモテ検査、患者血漿 (血清) 中に存在する規則抗体 (抗A、抗B) を調べるウラ検査の両者が行われるが、市販のモノクローナル抗体やポリクローナル抗体や既知の市販血球を用いて行われる。試験管

内で抗原抗体反応によって生じた赤血球凝集を視覚的に判定することとなる。近年、輸血領域においても全自動装置としてカラム法が普及されつつあるが、原理としては試験管法と同様である。試薬、機器の導入によって試験管法に比し、コスト増になるものの効率化、技師間差は正には効果的であり、ヒューマンエラーのリスク低減には有用であると思われる。日常検査において免疫反応は分野を問わず様々利用されており、免疫学の発展なくして臨床検査の進歩はなかったであろうと改めて感じさせられる。

### Ⅲ. 免疫検査における課題

呈色反応を基本とする生化学検査とは異なり、免疫検査においては抗原抗体反応を基本とする測定系である。免疫反応であるが故生じてくる課題も様々である。詳細については後述の項に委ね、簡単に紹介したい。

#### 1. 試薬性能

磁性粒子や酵素標識を試薬組成に含み、抗原抗体反応を原理とするため、生化学検査のような2点検量で得られるような直線的な反応性は得られず、多点検量が基本となる。そのために濃度域によっては一定の精度（再現性）を得ることは容易ではない。また、試薬Lot変更時に校正することが基本とするが、試薬に起因するLot間差を認めることがあり、内部精度管理では管理値設定に悩まされているのが現状である。項目によっては施設での使用量を考慮し、同一の試薬Lotを確保する、変動幅の大きい特定の試薬Lotについて棄却するなど対処を取り決めておく必要がある。

#### 2. 基準値

免疫項目は標準化されていない項目が多く存在し、使用する抗体の作用部位、組成、反応性が異なるため、試薬メーカー間差は濃度域によっても程度は様々であり、相対する比較は難しい。その一方、施設で使用する基準値に関してはおおよそ収束した基準値が用いられているため、自施設で使用している試薬の特性を把握しておく必要があると思われる。日常診療においては、他院からの紹介患者の診療に際し、前医

での検査値と比較する場合にこれらのことに注意する必要があることを診療医に周知することが重要と思われる。

#### 3. 非特異反応

免疫反応特有の問題として患者個々に起因する異好抗体の存在が懸念される。異好抗体の中でも代表的なものにヒト抗マウス抗体（human anti mouse antibody；HAMA）がある。その他にもヒト抗ヒツジ抗体（human anti sheep antibody；HASA）、ヒト抗ウサギ抗体（human anti rabbit antibody；HARA）、ヒト抗ヤギ抗体（human anti goat antibody；HAGA）などが存在し、検査値への影響は様々である。近年、試薬メーカーの技術開発により、それらの影響を回避することが可能となりつつあるが、異常なデータに遭遇した場合には希釈による定量性の確認や中和試験などの対処が必要である。また、疾患に由来するM蛋白やリウマチ因子などが血中に存在する場合も注意を要する。

### Ⅳ. 診療への貢献

医師は患者から身体の異常の訴えを受け、現病歴、既往歴や家族歴などの問診と様々な身体所見を通じて病態を想定する。さらに採血や画像などの各種検査所見を得て診断を行い、その後の治療方針を立てていく。検体検査領域では生化学項目は一般的なスクリーニング要素が強いが、項目を組み合わせることで病態を推定することができ、特に24時間体制で行われている一般的な緊急検査項目に限っては生命に直結する極めて重要な要素を占めている。免疫検査においては24時間対応が望まれる検査として、虚血性心疾患の診断の一つとして位置付けられる心筋マーカーや心負荷のストレスマーカーであるBNP、NT-proBNP、細菌やウイルス感染症の診断として利用される迅速簡易検査も含めた感染症検査などが挙げられる。生化学検査に対し、免疫検査は心筋障害、心負荷の把握、ウイルスの存在など確定診断の決め手として利用されている。

心臓関連マーカーとしては大きく細胞質可溶性マーカー、筋原繊維マーカー、心筋ストレスマーカーの3つに分けられる（Fig. 2）。

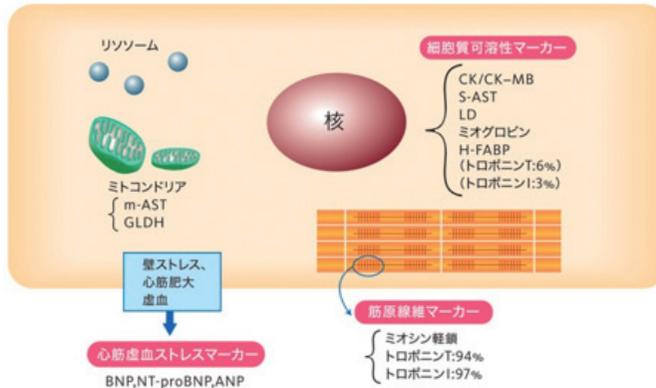


Fig. 2 心臓関連マーカー

次に、急性期虚血性心疾患のバイオマーカーの推移を示す (Fig. 3)。

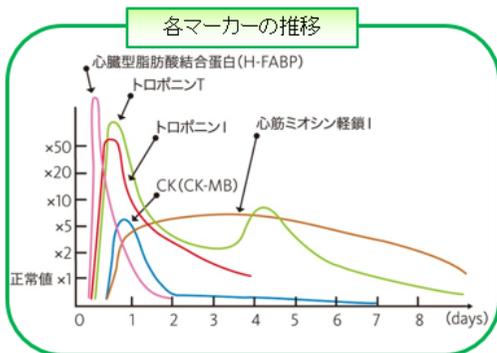


Fig. 3 急性期虚血性心疾患に関するバイオマーカーの推移

心筋虚血を疑う症状を示す患者には初期評価の一つとして心筋マーカーの検査は推奨されている。医療機関においてもトロポニン測定は、超急性期においては、特異性に優れるもののミオグロビンやH-FABPに比し十分とは言えなかった<sup>5)</sup>。近年、健康者の99パーセントタイル値におけるCVが10%以内の精度を有する高感度トロポニンの登場により、超急性期においても推奨されることとなった。平成26年度の診療報酬改定に至っては緊急性を踏まえた評価の見直しとして、従来経皮的冠動脈形成術、経皮的冠動脈ステント留置術の加算要件の一つとして新たに心筋トロポニンの測定が加えられた (Table 3)。

Table 3 経皮的冠動脈術に関する診療報酬改定 (平成26年度)

K546 経皮的冠動脈形成術	22,000点	(緊急性を踏まえた点数設定なし)
K549 経皮的冠動脈ステント留置術	24,380点	
次のいずれにも該当すること		
ア 心筋トロポニン(TnT)または心筋トロポニンが高値であることまたは心筋トロポニン若しくは心筋トロポニンIの測定ができない場合であって、CK-MBが高値であること。		
イ 次のいずれかに該当すること。		
(イ) 胸痛等の虚血症状、(ロ)新規のST-T変化または新規の左胸ブロック、(ハ)新規の異常Q波の出現(ニ)心臓超音波検査又は左室造影で認められる新規の心筋の可能性の低下又は壁運動異常、(ホ)冠動脈造影で認められる冠動脈内の血栓		
ウ 次のいずれかに該当すること。		
(イ) 症状発現後12時間以内に来院し、来院からバルーンカテーテルによる責任病変の再開通までの時間(door to balloon time)が90分以内であること。		
(ロ) 症状発現後36時間以内に来院し、心原性ショック(Killip分類classⅣ)であること。		
*ただし、ウのみ満たさず、来院から24時間以内に当該手術を開始した場合は、「2」の不安定狭心症に対するものに準じて算定する。		
K546 経皮的冠動脈形成術	次のいずれにも該当すること	
2 不安定狭心症に対するもの	ア 非ST上昇型急性冠症候群ガイドラインにおける不安定狭心症の分類で重症度classⅠ、classⅡ又はclassⅢであること。	
K549 経皮的冠動脈ステント留置術	イ 非ST上昇型急性冠症候群ガイドラインにおける急性冠症候群の短期リスク評価が高リスク又は中等度リスクあること。	
2 不安定狭心症に対するもの	ウ 来院から24時間以内に当該手術を開始すること。	

非ST上昇型心筋梗塞 (non-ST-segment elevation myocardial infarction ; NSTEMI) のような心電図では異常を捉えられず、心筋バイオマーカーが診断の決め手になるケースもある。また、急性冠症候群 (acute coronary syndrome ; ACS) では早期の治療介入が求められ、再灌流が早ければ早いほど心機能の回復も期待できることから迅速な対応が望まれる。

今日の免疫検査は、放射性免疫測定法 (radioimmunoassay ; RIA) から特別な設備環境を必要としない化学発光免疫測定法の普及により救急医療、外来診療において診察前検査、緊急検査として一般医療機関でも活用されるようになった。日常診療における免疫検査の種類も多種多様化が進み、検査機能の充実化が求められるようになることが今後予想される。検査技術を扱う我々の責務として適切に検査が行えるだけでなく、正しい解釈・判断が求められる。

## V. おわりに

近年、臨床検査領域では機器・試薬の開発、様々な研究成果によって新たな検査項目が次々と開発されている。臨床現場ではエビデンスに

基づいた診療が求められるようになり各種診療ガイドラインが策定されるなか、免疫検査の有用性も高まり、緊急検査および診察前検査への期待度も増々高くなっている。そのため免疫検査を扱う以上、免疫反応であるために生じる特性を理解する必要がある。臨床検査において誤った解釈は時として患者にとって不利益な事態を招きかねず、迅速な結果報告はもちろんのこと適切な情報提供が求められる。

## 文献

- 1) 松橋直、浅川英男、戸澤秀樹編：最新臨床免疫学, 1-8, 講談社サイエンティフィク, 1994
- 2) 日本臨床内科医会インフルエンザ研究班編：インフルエンザ診療マニュアル2013-2014年シーズン版 (第8版), 11-14, 2013
- 3) 松永直久他：感染症専門医からみた迅速診断の位置づけ, MEDICAL TECHNOLOGY, vol.36 No.13, 医歯薬出版株式会社, 2008
- 4) 加藤真吾、今井光信他：HIV検査相談体制の充実と活用に関する研究. 保健所等におけるHIV即日検査のガイドライン第3版, 6-9, 2012
- 5) 木村一雄他：2012年度合同研究班報告, ST上昇型急性心筋梗塞の診療に関するガイドライン (2013年改訂版), 18-20, 2012