

全自動化学発光酵素免疫測定装置AIA-CLのULフラグを用いたマイクロフィブリンを含む発光異常値の検出効果

Effectiveness of the UL flag function of the AIA-CL immunoassay analyzer for detecting abnormal luminescence associated with microfibrin

宮本博康¹⁾, 堀井節子²⁾, 池田勇一²⁾, 越智小枝^{2),3)}

要旨 免疫測定法を原理とする測定装置において、マイクロフィブリンは日常的に遭遇しやすい非特異反応の一つである。本研究では、CEAおよびTSHの測定において、化学発光基質の発光強度を基に設定したULフラグを用いることで、マイクロフィブリンの関与が示唆される検体（以下、マイクロフィブリン）のうち、全体の79.2%を、検出可能であることが確認された。ULフラグは、再検結果や前回の検査結果との比較や臨床からの照会といった追加情報がなくても、マイクロフィブリンの影響を疑うことができた。したがって、クリーンなデータを報告する上で、極めて有用なアラート機能であると評価された。

Key words microfibrin, UL flag, AIA-CL, CLEIA, nonspecific reaction

1. はじめに

検体検査は、スクリーニング、確定診断、治療効果のモニタリングなど、診療のあらゆる段階で活用されており、高い精度が求められる。そのため、採血から結果の報告・解釈に至るまでの一連の工程を適切に管理する必要があり、いずれかの工程が不適切であると、検査の信頼性が損なわれる。したがって、臨床検査技師にはこれら全工程を管理する責任がある^{1,2)}。

微量物質の測定には高感度な免疫測定法が広く利用されているが、抗原抗体反応を利用する特性上、非特異的成分による干渉を受けやすい。その結果、非特異反応による偽高値あるいは偽低値が発生することがある。こうした干渉物質の一例として、目視で確認することが困難な微細なフィブリンである「マイクロフィブリン」がある³⁻⁷⁾。血液の凝固では、

フィブリノゲンがトロンビンの作用によりフィブリノマーとなり、自己重合してフィブリンポリマーを形成する。さらに、第XIII因子が活性化され(XIIIa)、これらのフィブリンポリマー間に架橋結合(D-D結合)が形成されることで、安定したフィブリンが完成する⁸⁾。マイクロフィブリンは、採血管内でこの凝固過程が不完全な状態で遠心を行った時に血清中に残存する微細なフィブリンのこと、これが試薬中の磁性粒子と凝集塊を形成することで、洗浄工程で標識抗体が十分に除去されず、偽高値や偽低値となる⁷⁾。

当院では2017年10月よりAIA-CL2400を導入しているが、2023年9月以降、癌胎児性抗原(CEA)および甲状腺刺激ホルモン(TSH)において、初回検査結果と再検査結果との乖離が、それぞれ従来の0.01%程度からCEAで0.09%、TSHで0.07%へと有意に増加した。これにより、測定装置に起因す

Received Aug. 29, 2025; Accepted Nov. 26, 2025

Hiroyasu MIYAMOTO¹⁾, Setsuko HORII²⁾,
Yuichi IKEDA²⁾, Sae OCHI^{2),3)}

¹⁾ 東京慈恵会医科大学附属第三病院 中央検査部
Department of Central Clinical Laboratory, Jikei University Daisan Hospital

²⁾ 東京慈恵会医科大学附属病院 中央検査部
Department of Central Clinical Laboratory, Jikei University Hospital

³⁾ 東京慈恵会医科大学 臨床検査医学講座
Department of Laboratory Medicine, The Jikei University School of Medicine
〒201-8601 東京都狛江市和泉本町4-11-1
Corresponding Author (連絡責任者): 宮本博康
TEL: 03-3480-1151 (内線3428)
FAX: 03-3480-5700
E-mail: miyamoto_h@jikei.ac.jp

る偶発的な誤差が疑われた。しかしながら、装置や試薬、採血管、搬送装置などに変更はなく、また、メーカーによる複数回の点検でも装置に異常は認められなかった。このような状況から原因の特定には至らなかったものの、マイクロフィブリンの関与が強く示唆された。これらの検体を精査したところ、共通した発光異常が認められたため、その影響を回避する手段として、東ソー株式会社が開発した発光異常検出機能（ULフラグ）を活用することとした。

本研究では、CEA、TSHの測定において、マイクロフィブリンを含む発光異常の干渉により偽高値となった検体を解析し、東ソー株式会社が開発した発光異常検知機能（以下、ULフラグ）の有用性を検討した結果について報告する。

2. 対象

2023年11月から2024年8月までの期間に、東京慈恵会医科大学附属病院中央検査部で測定された血清検体のうち、CEA（25,847件）およびTSH（35,737件）の検査データを対象とした。なお、本研究は東京慈恵会医科大学倫理委員会の承認を受けて実施した（承認番号：36-234〔12343〕）。

3. 材料

1) 測定試薬・機器

本研究で使用した測定試薬は、AIA-パックCL CEAおよびAIA-パックCL TSH（いずれも東ソー株式会社）である。測定機器は、全自动化学発光酵素免疫測定装置AIA-CL2400（東ソー株式会社）を2台使用した。検体搬送はCLINILOG V4（エイアンドティー株式会社）を使用した。採血管は高速凝固促進剤入りのインセパックII-D（積水メディカル株式会社）を使用し、遠心処理には遠心機H60-R（コクサン株式会社）を用いた。

2) 検体の前処理

採血後、採血管を数回転倒混和し、10分間静置したのち、遠心機により10分1650Gで遠心し、血清を分離した。遠心後は、搬送システムによって自動開栓され、血清が子分注されたのち、AIA-CL2400に搬送されてサンプリングが実施された。

3) CEA、TSH測定原理

CEAおよびTSHの測定には、いずれも2ステップサンドイッチ法を原理とする化学発光酵素免疫測定法（Chemiluminescent enzyme immunoassay: CLEIA法）が用いられる。本試薬では、あらかじ

め校正されたマスターカーブに基づいて、各検体の濃度が算出される。

4. 方法

1) マイクロフィブリンの判定

初回検査結果と再検結果の間に20%を超える乖離が認められ^{3,9,10)}、かつその乖離が再現されない（すなわち、再検と再々検の結果が一致する）場合を、「マイクロフィブリン³⁻⁷⁾の関与が示唆される」と判定した。以下、本研究においてこのような異常所見を示した検体を「マイクロフィブリン」と表記する。なお、再検または再々検においても測定値の乖離が継続して認められた検体や、再遠心、希釈測定、別法測定、添加回収試験、吸着試験などの追加検討を実施した結果、マイクロフィブリン以外の非特異反応による影響と判断された検体については、いずれもあらかじめ分析対象から除外している。再検査については、AIA-CL装置にデフォルトで搭載されているULフラグによる発光異常が検知された場合、または、測定値の前回値からの著しい乖離といった条件を基に、当院で設定した再検ロジックにより自動的に判定・実施されている。

2) ULフラグの設定方法

AIA-CLシステムでは、化学発光基質の発光強度を経時的に4ポイントで取得しており（RLU: Relative Light Unit）、試薬の較正や検体の測定には、エンドポイントである4点目（RLU4）の発光強度が使用される。ULフラグはもともと、マイクロフィブリンに限らず、発光異常全般の兆候を捉える目的で、機器側に搭載された異常検知機能である。その検出ロジックは、初期発光（RLU1）と最終発光（RLU4）の強度比（RLU1/RLU4）に着目し、発光の急峻な立ち上がりが認められた場合（=異常値の可能性がある場合）にフラグを立てるロジックである。マイクロフィブリンの影響を受けた測定では、磁性粒子の凝集により洗浄が不十分となり、標識抗体が除去されずに残存する。その結果、発光強度が異常に上昇し、偽高値または偽低値を示すことがある。このような場合、RLU1/RLU4比の低下として現れる傾向があり、ULフラグの反応機序と一致する。本研究では、東ソー株式会社が開発したULフラグ機能を活用し、我々が新たに設定したRLU1/RLU4比の閾値に基づいて、マイクロフィブリンの検出スキームを構築し、その検出性能を評価した。その代表例として、同一検体において、RLU1/RLU4比が正常な値（報告値）およびマイクロフィ

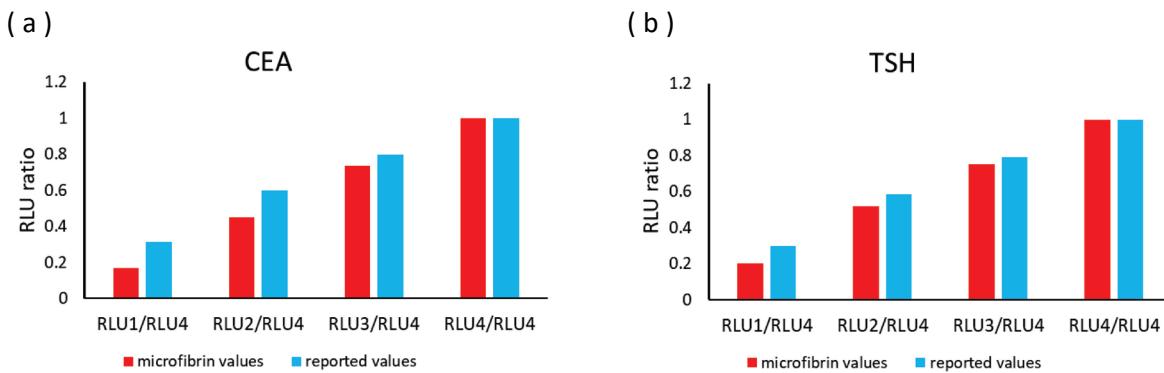


Fig. 1 Distribution of RLU1/RLU4 Ratios in CEA and TSH Assays Using Samples With and Without Microfibrin Interference

The representative distributions of RLU ratios calculated as RLU (1-4) divided by RLU4 for CEA (a) and TSH (b) measurements in the same set of specimens. Red bars indicate microfibrin values (abnormal values), while blue bars indicate reportable values (unaffected measurements). A marked decrease in the RLU1/RLU4 ratio is specifically observed in samples affected by microfibrin, which is the parameter used to trigger the UL flag.

ブリンの影響による異常値を示した症例を Fig. 1a, b に示す。UL フラグの検出性能評価にあたっては、まず対象期間に測定された全検体 (CEA : 25,847 件, TSH : 35,737 件) について RLU1/RLU4 比を算出し、その分布に基づき、正常検体のうち 0.1% を除外できる水準を基準として、閾値を CEA で 0.280, TSH で 0.265 に設定した。さらに、報告値がカットオフ未満であった低濃度検体 (CEA : 5.8 ng/mL 未満, TSH : 0.1 μ IU/mL 未満) については、発光強度が極めて低く UL フラグ判定の信頼性が低下すると判断し、UL フラグ陽性例を含めて解析対象から除外した。なお、4 ポイントの RLU データは測定装置から抽出し、RLU1/RLU4 比の算出は東ソー株式会社カスタマーサポートセンターに依頼して実施した。

3) UL フラグによる発光異常の検知状況とその正確性
 UL フラグには、装置にあらかじめ設定されているデフォルト閾値に基づき自動でフラグが付与される機能があるが、本研究ではこれとは別に、当院独自に設定した RLU1/RLU4 比の閾値により発光異常が検出された場合、または再検ロジック (LH チェック、前回値チェック、測定機器アラート) によりマイクロフィブリンの存在が示唆された場合の測定値を「マイクロフィブリン値」、異常が認められず報告された測定値を「報告値」と定義し、CEA および TSH における UL フラグによるマイクロフィブリンの検知率とその正確性を評価した。

なお、「マイクロフィブリン値」には、マイクロフィブリンと判定された検体に加え、正常検体であ

っても UL フラグが付与されたもの（偽陽性）も含まれる。また、感度および特異度の算出には、「2. 対象」で示した全検体 (CEA : 25,847 件, TSH : 35,737 件) のうち、「4. 方法」で定義したマイクロフィブリン検体を陽性群、それ以外の正常検体を陰性群として用いた。

5. 結果

1) UL フラグの設定

CEA および TSH について、測定値と RLU1/RLU4 比の分布を Fig. 2a, b に示す。RLU1/RLU4 比は、いずれの項目においても、濃度が低いほど分布のばらつきが大きくなる傾向が認められた。まず、対象期間に測定された全検体 (CEA : 25,847 件, TSH : 35,737 件) について RLU1/RLU4 比を算出し、その分布から正常検体の 0.1% を除外できる水準を基準に、閾値を CEA で 0.280, TSH で 0.265 と設定した。そのうえで、CEA は当院で使用しているカットオフ値 (5.8 ng/mL), TSH は甲状腺機能亢進症のカットオフ値 (0.1 μ IU/mL)¹¹⁾ 以下のデータを UL フラグ対象から除外した。以上より、各カットオフ値を超える検体のうち、RLU1/RLU4 比がそれぞれの閾値を下回った場合に UL フラグを付与する設定とした。

2) マイクロフィブリン発生頻度

マイクロフィブリンの発生頻度は、CEA で 25,847 件中 24 件 (0.09%), TSH で 35,737 件中 24 件 (0.07%) であった。なお、対象期間中の再検率は、CEA で

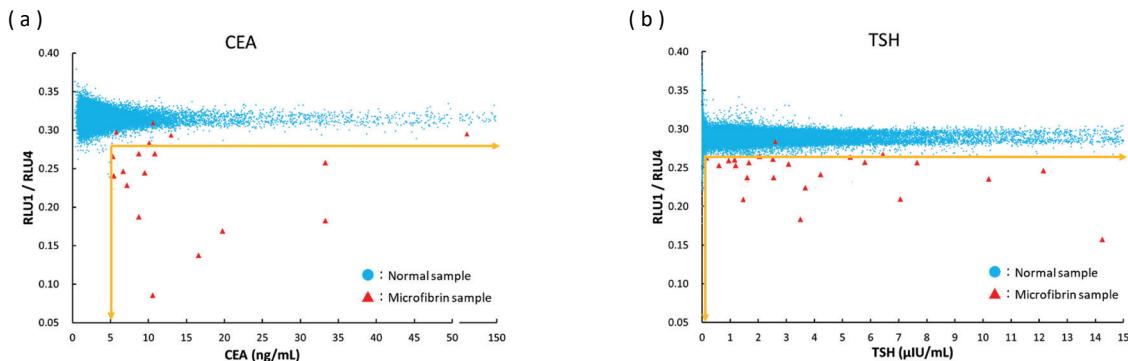


Fig. 2 Scatter Plot of RLU1/RLU4 Ratio versus Analyte Concentration in Samples With and Without Fibrin Interference (CEA and TSH)

The data points are scatter-plotted with x-axis of analyte concentration and y-axis of the RLU1/RLU4 ratio (y-axis) for CEA (a) and TSH (b) assays. Blue dots represent unaffected samples (normal values), and red triangles indicate samples determined to be positive for microfibrin interference. The yellow horizontal line represents the UL flag threshold for luminescence abnormalities (0.280 for CEA and 0.265 for TSH). The yellow vertical line indicates the cutoff value below which samples were excluded from the UL flag evaluation (CEA: <5.8 ng/mL; TSH: <0.1 μIU/mL). Although approximately 0.1% of normal samples may theoretically be flagged by the UL threshold, the implementation of an additional low-concentration exclusion criterion ensures that the vast majority of normal samples are distributed outside of the flag zone.

約4%, TSHで約8%であった。

3) UL フラグによるマイクロフィブリンの検知状況と検知の正確性

CEAでは、マイクロフィブリンと判定された24件中19件にULフラグが付与されており、感度は79.2%であった。一方、正常検体25,823件のうち、ULフラグが付与された例は認められず、特異度は100%であった。TSHでは、マイクロフィブリンと判定された24件中22件にULフラグが付与され、感度は91.7%であった。正常検体35,713件のうち、5件(0.01%)にULフラグが付与されており、特異度は99.99%であった(Table 1)。ULフラグの閾値と、正常検体およびマイクロフィブリン検体におけるRLU1/RLU4比の分布状況をFig. 2に示す。ULフラグは、初回検査結果と再検結果の乖離に基づきマイクロフィブリンが関与すると判定された検体の多くを正確に抽出しており、正常検体の大多数では閾値未満に収まっていた。

CEAおよびTSHにおける、マイクロフィブリン値と報告値を比較した結果をFig. 3a, bに示す。すべての検体において、マイクロフィブリン値は報告値よりも高値を示しており、ULフラグの付与と測定濃度との間に明確な関連は認めなかった。なお、正常検体におけるULフラグの付与についても、測定濃度に一定の関連は確認されなかった。

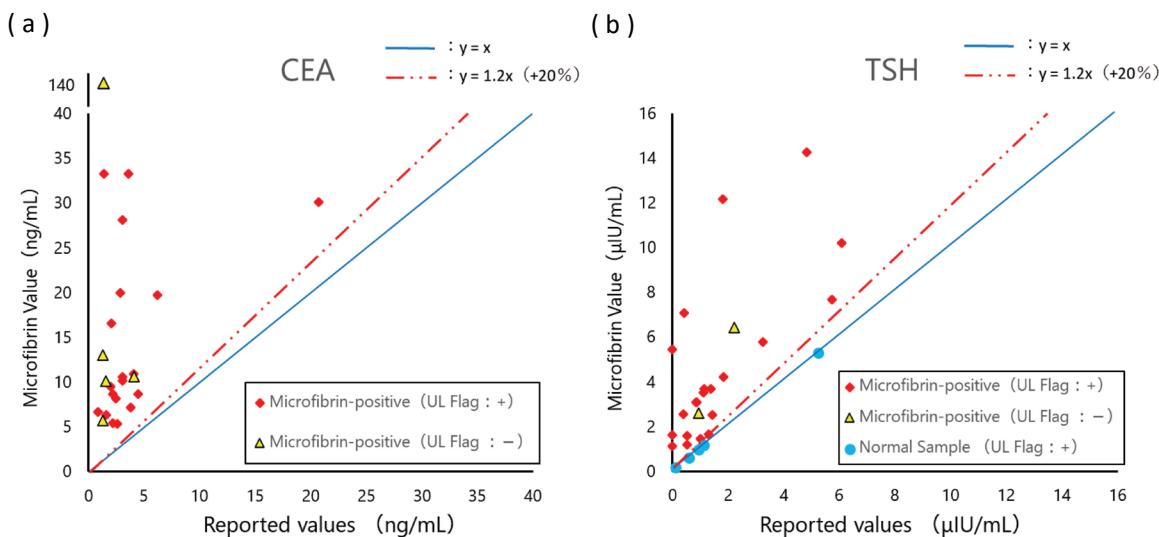
6. 考察

本研究は、新しく設定したULフラグのマイクロフィブリン検出に対する有用性を示したものである。マイクロフィブリンは、ULフラグにより全体で85.4%の検知が可能であり、その内訳はCEAで79.2%, TSHで91.7%であった。マイクロフィブリン値と報告値を比較した結果(Fig. 3a, b)に示すように、CEAでは正常検体にULフラグが付与されることとはなかったが、マイクロフィブリン検体のうち20.8%ではフラグが付与されなかった。一方、TSHでは正常検体の0.01%にULフラグが付与される例が認められたものの、マイクロフィブリン検体を91.7%と高率に検出できていた。このような結果を踏まえると、ULフラグの誤検知件数は検査現場での確認負担や臨床現場での報告遅延といった観点から見ても、大きな問題とはなりにくいと考えられる。なお、マイクロフィブリンは再検ロジックにより検出される場合もあるが、当該ロジックは、個別データ管理(リアルタイム精度管理)¹²⁾として、測定誤差に加え、検体取り違えなどの検査過程における過誤も含めて包括的に検出する仕組みである。しかしながら、マイクロフィブリンは一定の濃度で発生するものではないため、これに特化した再検ロジックの構築は困難である。したがって、マイクロフィブリンによる影響を直接的に検出できるULフラグを設定することは、検査の信頼性向上に寄与する

Table 1 Detection Performance of the UL Flag for Identifying Microfibrin-Containing Samples

Analyte	No. of Tests	No. Microfibrin-Positive Samples	Incidence of Microfibrin (%)	Microfibrin Cases Detected by UL Flag (n)	Detection Sensitivity of UL Flag (%)	False Positives by UL Flag (Normal Samples)
CEA	25,847	24	0.09	19	79.17	0
TSH	35,737	24	0.07	22	91.67	5

The number of microfibrin-positive samples among total CEA and TSH tests, along with the sensitivity and specificity of detection using the UL flag, are shown.

**Fig. 3** Comparison of Reported and Microfibrin Values for CEA and TSH

Comparison between the reported values and microfibrin values for each sample in CEA (a) and TSH (b). The blue line represents $y = x$, and the red dashed line represents $y = 1.2x$ (+20%). Microfibrin values (MF) refer to measurements flagged with the UL flag or identified as microfibrin-positive by the retesting logic. In TSH (b), microfibrin values also include several normal samples with UL flagging, as part of the verification set; no such data points are present in CEA (a).

重要な手段であると考えられる。

本研究では、メーカーが推奨する日常点検および、検体数に応じたメーカー点検を実施しており、これにより測定装置の精度は維持されていると考えられる。ただし、測定装置に起因する偶発的な誤差が完全に排除されているとは限らず、その可能性は否定できない。このため、測定装置の点検に加えて個別データ管理も行い、信頼性の高いデータの報告に努めている。UL フラグの閾値設定および検出性能の評価は、2023年11月から2024年8月までの検査データを用いた解析を実施した。同一データセットを用いて閾値の設定と検出性能評価を実施しているため、感度および特異度が過大に推定される可能性があることには留意が必要である。特に、UL フラグ

の閾値設定後、報告値がカットオフ値未満の低濃度検体を分析対象から除外している。これは、RLU1/RLU4 比が低濃度域では不安定となり、真の発光異常との識別が困難になることに加え、TSH では臨床上感度が求められる濃度域であるが、低濃度域における RLU 比の変動が結果値に与える影響が相対的に小さいと判断されるためである。このため、理論上 0.1% に相当する UL フラグ陽性例は CEA および TSH の最終的な分析対象に含まれておらず、CEA では特異度が 100% と算出されている。また、マイクロフィブリンの発生件数が限られたことから、対象を分割して設定用と検証用に分けることは困難であったが、今後はデータの蓄積に応じて、交差検証や外部検証を通じて、より一般化可能な閾

値設定と検出性能の確認が必要である。なお、本研究は日常検査結果を対象とした後ろ向き研究であり、すべての検体に再検査が実施されていない点、ならびに検討対象がCEA およびTSHの2項目に限られている点は、限界として留意すべきである。また、「マイクロフィブリン」と表記した検体は、発光異常の所見と過去の報告に基づき、マイクロフィブリンの関与が示唆されたものであり、物理化学的手法などによる直接的な確認を行ったわけではない。今後は、他の測定項目へのUL フラグの応用可能性とあわせて、マイクロフィブリンの影響機序のさらなる解明についても検討が望まれる。

免疫測定法を原理とする自動分析装置は、高感度で微量な物質を測定できる一方で、異好抗体や自己抗体など多種多様な物質の影響を受けやすく、非特異反応を生じやすい。そのため、偽低値や偽高値の検出は検査の信頼性確保において重要な課題である。なかでも、非特異反応の一つであるマイクロフィブリンの検出には、初回検査結果と再検結果の乖離、前回値との不整合、希釈直線性の異常、臨床症状や治療結果との不一致に基づく医師からの指摘など、二次的情報が必要とされる。このため、検査工程における品質管理の徹底が不可欠である。マイクロフィブリンの影響を軽減する手法としては、遠心条件や検体処理の工夫が挙げられる。たとえば、遠心時間が長いほどその影響は軽減されるとする石沢らの報告¹³⁾や、採血管からの直接サンプリングではなく、分注後の再遠心処理により、その発生頻度が低下したとする戸来らの報告¹⁴⁾からも、標準的な10分間の遠心¹⁵⁾および小分注処理の有効性が示唆されている。しかしながら、検査工程を適切に管理しても、初回検査結果のみでマイクロフィブリンを特定するのは困難であり、見逃しが発生する可能性も否定できない^{3,9,16-20)}。さらに、マイクロフィブリンを検出する専用のアラート機能については、既報の文献調査および従来の免疫測定装置（アボット社、シーメンス社、ロシュ社、シスメックス社、富士レビオ社、富士フイルム和光純薬社）の仕様書においても、いずれにも明記されていない。本研究で評価したUL フラグは、マイクロフィブリンの存在をリアルタイムで示唆する機能として、他社装置には搭載されていない特長を有する可能性がある。

この機能により、臨床現場では不要な追加精査（経過観察・画像診断など）を防止する効果が期待される。実際、検査現場において、CEA 初回検査結果が10.5 ng/mL、再検結果が1.5 ng/mLと乖離していた例では、再々検査結果を確認しない限り、どちら

の結果を報告すべきか判断するのは困難であった。しかし、初回検査結果にUL フラグが付与されていれば、マイクロフィブリンによる影響を疑い、再検結果を報告する判断が可能となり、不要な再々検査を回避することができたと考えられる。

本研究の結果、UL フラグの設定によりマイクロフィブリンの検出精度が向上することが示された。マイクロフィブリンによる検査結果への影響は、日常の精度保証だけでは完全に防ぎきることが難しい。UL フラグのようにリアルタイムに異常を示唆できるアラート機能は、誤った検査結果の報告を未然に防ぐ上で有用であり、その活用は高く評価された。

結語

免疫測定法を原理とする測定装置において、マイクロフィブリンは日常的に遭遇しやすい非特異反応の一つである。今回設定したUL フラグは、再検結果や前回の検査結果との比較、あるいは臨床側からの照会といった追加情報がなくても、マイクロフィブリンの影響を疑うことが可能となり、従来にはない特長を有している。このことから、クリーンなデータを報告する上で極めて有用なアラート機能である。したがって、本機能により、不要な精査（経過観察・画像診断など）を回避することが可能となつた。

本論文の一部は日本医療検査科学会第56回大会にて発表した。

本論文の発表に関連して、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

謝辞

本研究においてUL フラグの設定にご尽力いただいた、東ソー株式会社カスタマーサポートセンター部のスタッフの皆様に深謝申し上げます。

文献

- 1) 高木 康, 精度保証の概念, 日本臨床衛生検査技師会編, 臨床検査精度管理教本, 第2版, 日本臨床衛生検査技師会: 東京, 2019; 7-10
- 2) 濱崎 直孝, 高木 康編; 臨床検査の正しい仕方—検体採取から測定まで—宇宙堂八木書店, 東京, 2008
- 3) Wauthier, Loris, Plebani, Mario and Favresse, Julien. "Interferences in immunoassays: review

- and practical algorithm" Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), 2022; 60(6), 808-820
- 4) Dimeski G. Evidence on the cause of false positive troponin I results with the Beckman AccuTnI method. Clin Chem Lab Med. 2011 Jun;49(6):1079-80
- 5) Lippi G, von Meyer A, Cadamuro J, Simundic AM.. Blood sample quality. Diagnosis (Berl). 2019;6(1):25-31.
- 6) 齊藤 翠: 日常業務で遭遇しやすい非特異反応とその確認方法, 生物試料分析 2017;40(3):156-161
- 7) 河野 正臣, 臨床化学検査でピットフォールに落ちないために 6) 測定前処理 (遠心, マイクロフィブリンの影響など), Medical Technology 48(6):587-589, 2020.
- 8) 橋口 照人, フィブリノゲンと D-dimer, 治療 103 (1):74-78, 2021.
- 9) Sturgeon CM, Viljoen A. Analytical error and interference in immunoassay: minimizing risk. Annals of Clinical Biochemistry. 2011;48 (5):418-432
- 10) Ricos C, Alvarez V, Cava F, et al. Current databases on biological variation: pros, cons, and progress. Clin Chem 1999;45:434-440.
- 11) 菅沼 昭: 甲状腺疾患診断ガイドライン 2021 日本甲状腺学会, <https://www.japanthyroid.jp/doctor/guideline/japanese.html> October 24, 2024.
- 12) 山本慶和, 個別データ管理, 日本臨床衛生検査技師会編, 臨床検査精度管理教本, 第2版, 日本臨床衛生検査技師会: 東京, 2019; 96-101
- 13) 石沢修二, 熊切春男, 望月照次ほか, 採血管使用の問題点 1.HBs 抗原測定について, 医学検査 2004; 53(5):767-770,
- 14) 戸来 孝, 川崎理一, 米山彰子, ルミパルス Presto II における PIVKA-II 偽高値, 日本臨床検査自動化学会会誌 2010;35(1):65-69
- 15) 臨床検査学教育研究会. 血液学の検査法, 臨床検査学教育研究会編. 臨床検査法提要, 第34版, 金原出版; 東京, 2022; 80-81.
- 16) Ungerer JPJ, Pretorius CJ, Dimeski G, O'Rourke PK, Tyack SA. Falsely elevated troponin I results due to outliers indicate a lack of analytical robustness. Annals of Clinical Biochemistry. 2010;47(3):242-247
- 17) 阿部正樹, 検体検査のピットフォールー免疫学の検査-, 臨床病理 2016;64(6):573-580
- 18) Wauthier L, Plebani M, Favresse J. Interferences in immunoassays: Review and practical algorithm. Clin Chem Lab Med 2022;60:808-820.
- 19) Tate J, Ward G. Interferences in immunoassay. Clin Biochem Rev 2004;25:105-120.
- 20) Dodig S. Interferences in quantitative immunochemical methods. Biochimia Medica. 2009;19(1):50-62.