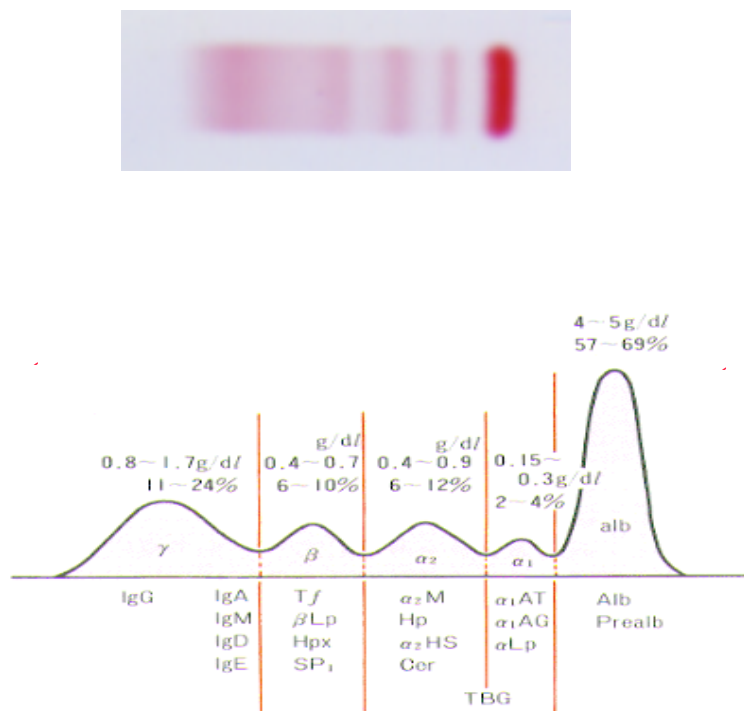


血清蛋白異常症における電気泳動解析の基礎と判読のポイント

血清蛋白はヒト血清中に約8%の濃度で含まれ、現在、微量成分も含めて構造や性状の異なる約100種類以上のものが確認されている。これらの蛋白は種々の機能を有しており、体液の浸透圧維持、物質の結合と輸送、補体活性、血液凝固能、抗体活性など成分により機能分担があり、生体内における生命維持に大きな役割を演じている。また、さまざまな病態に際してこれらの蛋白は量的、あるいは質的に特徴的な変化を示す。従って、血清蛋白の異常を見逃すことなくとらえ、適切に検索を進めることは患者の病態を正しく把握する上できわめて大切なことである。日常の血清蛋白異常症のスクリーニング検査としては、血清総蛋白量の測定やセルロースアセテート膜(セ・ア膜)電気泳動法による蛋白分画検査が知られている。これらの検査や臨床所見などから血清蛋白異常症の存在が示唆される場合は、血清蛋白の量的、質的、あるいは構造上の異常を確認する必要がある、その分析法として免疫電気泳動法、免疫固定電気泳動法、Western blotting 法などが一般的に用いられている。

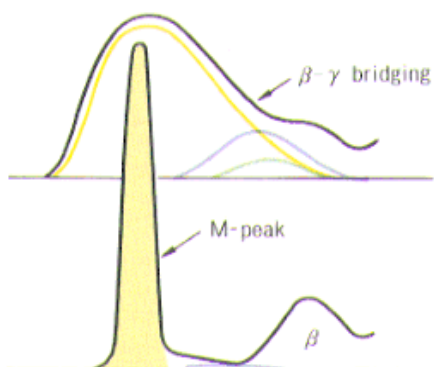
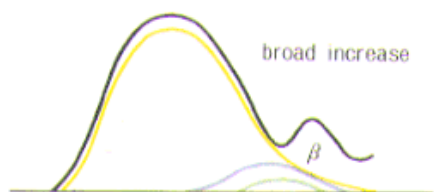
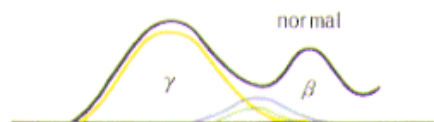
血清蛋白分画検査

血清蛋白分画の測定には、セ・ア膜電気泳動法が広く用いられており、アルブミン、および α_1 、 α_2 、 β 、 γ の各グロブリンの分画比とデンストメトリーによる峰の形状によって病態を把握する。各分画の参考基準値は使用するセ・ア膜の種類、泳動条件および年齢などにより異なる。



1. 異常蛋白分画像—量的異常—

① **急性炎症型**: 急性の炎症により, 急性相反応物質とよばれる糖蛋白が増加することにより生じる。分画像の特徴は, α_1 分画, α_2 分画の増加が認められる。また, 多くの場合 β 分画は減少傾向を示す。血清総蛋白濃度, アルブミン分画は減少傾向を示す。



② **慢性炎症型**: 炎症が慢性的に持続するため急性相反応物質の増加のみならず, 慢性の刺激による反応の結果として, 幅広い γ 分画像を示す多クローン性免疫グロブリンの増加が観察される。また, 消耗性疾患としての様相もおびているため蛋白不足型となり, アルブミン分画, β 分画は減少する。

③ **慢性肝障害型**: 高度の肝細胞障害により, 肝臓で生成される蛋白が著しく低下し, 免疫グロブリンは多クローン性に増加する。蛋白分画では γ 分画の幅広い増加, 他の分画はすべて減少するため, β 分画と γ 分画の分離が不明瞭となる。このような分画像を β - γ bridging (β - γ linking) とよぶ。この β -bridging は慢性肝障害型, とくに肝硬変で多く観察される。

④ **ネフローゼ型**: 選択性蛋白漏出型ともよばれており, 腎糸球体基底膜による分子篩効果が著明であるため, 比較的低分子量の蛋白が選択的に尿中へ排泄される。したがって, 著しい低蛋白血症であり, 蛋白分画像ではアルブミンの著明な減少, α_1 分画の減少, α_2 分画の著明な増加, γ 分画の低下が認められる。 β 分画は症例により異なる。この分子篩効果が低下すると, 早晚, 非選択性蛋白漏出型の血清蛋白分画像を呈する。

⑤ **蛋白不足型**: 蛋白合成に必要なアミノ酸が不足する栄養不良の場合, および血清蛋白が血管外, 体外に失われる蛋白漏出性胃腸症などで認められる。血清総蛋白濃度の低下とアルブミン分画の著しい減少, β 分画の減少が認められる。 α_1 , α_2 分画は正常もしくは軽度の減少傾向をとるが, 蛋白不足の進行とともにその減少はより著明となる。

⑥ **γ 分画欠乏型**: 原発性および続発性免疫不全症候群でみられ, 前者は産生の先天的欠如, 後者は基礎疾患の影響による産生の低下であると考えられている。蛋白分画像では γ 分画の著しい低下もしくは欠損がみら

れる。また生体内の免疫機構が低下しているため、しばしば急性炎症型の変化を伴うことが多い。

2. 異常蛋白分画像—質的異常—

① **2峰性アルブミン**：遺伝性のアルブミン異常症であり、アルブミン分画が2峰性を示す。正常アルブミンの移動度と比較して、陽極よりのものを fast type, 陰極よりのものを slow type と分類している。その原因の1つとし



て、アミノ酸が1個ないし数個が正常と異なることが報告されている。臨床的意義は少ない。黄疸血清やペニシリンなどの薬剤投与によりアルブミン

の移動度が陽極側にのびたり、幅広い分画像を呈することがある。この場合は明瞭な2峰性とはならず、また2峰性アルブミンの場合、両者のアルブミン濃度はほぼ等しいとされているので鑑別は困難ではない。

② **カギ型アルブミン**：血清塗布位置から陽極側に向かって認められ、とくにアルブミンバンドの両端が直角に陽極側へカギ型を呈する。ヒアルロン酸に起因しており、新生児期、臍帯血および悪性腫瘍などでまれに観察される。

③ **α -フェトプロテイン**： α -fetoprotein が多量に存在する場合、アルブミン分画と α_1 分画の間に明瞭な蛋白帯として認められることがある。

④ **M蛋白血症**：単クローン性免疫グロブリン血症(monoclonal immunoglobulinemia)ともよばれ、支持体電気泳動上幅狭い蛋白帯を形成し、しかも免疫学的に単一な種類のH鎖および(あるいは)L鎖から成る病的免疫グロ



ブリンである。M蛋白は、その一部が多発性骨髄腫、原発性マクログロブリン血症等の腫瘍性疾患と関係するため、その検出は診断的価

値が大きい。M蛋白が検出された場合、そのM蛋白が腫瘍性増殖による悪性M蛋白なのか、反応性増殖で出現する良性M蛋白といわれるMGUS (Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance)かを鑑別しなければならない。MGUSはM蛋白血症の約3/4を占める。しかし、両者を明確に鑑別できる手段は現時点でみつかっていない。一般に検査上悪性と診断できる基準としては、① M蛋白の著増、② M蛋白以外の他の免疫グロブリン量の著減、③ Bence Jones 蛋白(BJP)の存在、④ 比較的短期間のM蛋白の急激な増加などがあげられている。しかし、①から④までの所見がまったくないような微量M蛋白血症でも悪性の可能性は否定できない。

3. 異常値に対する対応の仕方

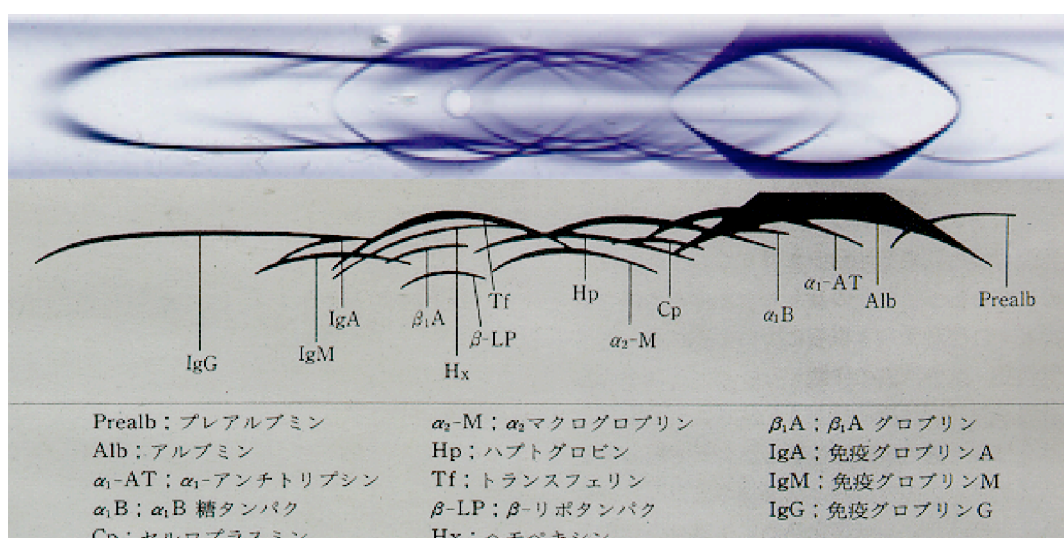
蛋白分画濃度比によって異常を判定する場合、セ・ア膜の種類や緩衝液、電気泳動条件によってその数値は異

なるので、数値のわずかな増減をもって一概に異常とはいえない。増減をきたした分画の詳細な分析には免疫電気泳動検査などを行いその異常蛋白を確認する。

免疫電気泳動検査(Grabar-Williams 法)

免疫電気泳動とは、ゲル内沈降反応の一つの様式であって、抗原抗体反応にあずかる反応因子(抗原または抗体、その両方)が電気泳動法によって分離される過程とゲル内沈降反応とが組み合わされた分析方法を総称している。一般的には免疫電気泳動法という場合 Grabar-Williams の方法を指す。

蛋白成分の質的な変化、特に免疫グロブリンが均一な成分として血中に増量した場合の M 蛋白の同定、型判定、尿中 BJP の有無やその型を判定する上で重要な検査法である。また、未知の蛋白の同定やその電氣的易動度などを知る上でも有力な手段として用いることができる。市販の抗血清を用いた場合、正常血清では通常 20〜30 本の沈降線が観察される。形成された沈降線は、その太さや濃さ、および長さなどにより半定量的に蛋白の増減が判定される。M 蛋白は、免疫電気泳動検査で正常の免疫グロブリンの沈降線とは異なる形態 (M-bow) を呈するか、全く新しい沈降線として観察される。



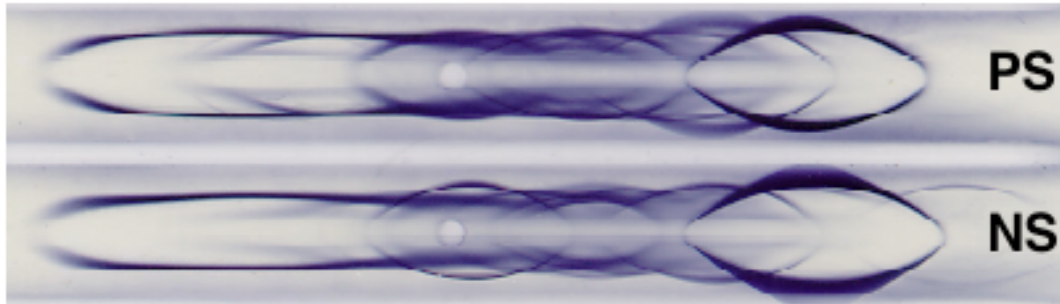
1. 各種病態の免疫電気泳動像

免疫電気泳動法が診断上もっとも有力な武器となるのは、質的異常を示す M 蛋白血症や蛋白欠乏症であるが、泳動条件、操作法を一定にすることにより量的異常を示す異蛋白血症の分析にも有用である。

① 急性炎症型: アルブミン、トランスフェリンの減少、 α_1 -アンチトリプシン、ハプトグロビンなどの急性相反応物質の増加、IgM の増加が特徴であり、急性感染症、外傷、術後、悪性腫瘍などにみられる。急性相反応物質は、肝でサイトカインによりその合成が誘導される。

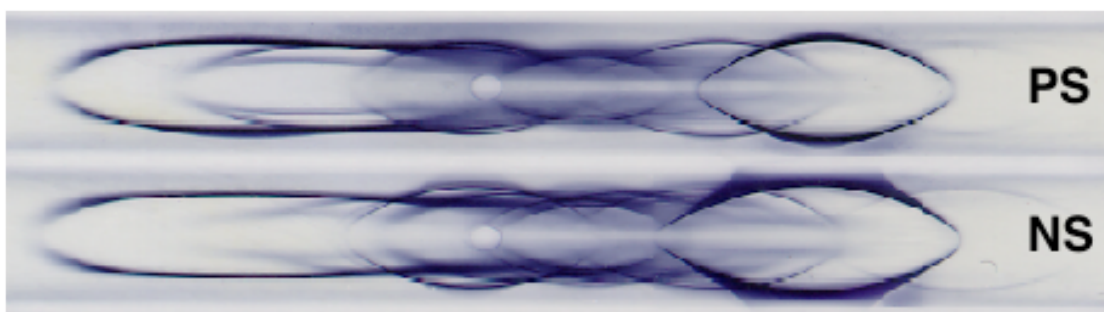
② **慢性炎症型**: 急性炎症型の変化に免疫グロブリン(特に IgG)の増加を伴った型で, 慢性感染症, 自己免疫性疾患, 悪性腫瘍などにみられる。免疫グロブリンの広範囲(多クローン性)の増加は, 免疫グロブリンを作っている形質細胞(B細胞系の分化細胞)のたくさんのクローンの増殖を意味している。

PS: 悪性腫瘍(胃癌)



③ **ネフローゼ型**: 選択性蛋白漏出型とも呼ばれ, アルブミン, トランスフェリン, IgG の減少と α_2 -マクログロブリン, β -リポ蛋白, IgM の増加が特徴的である。腎糸球体の分子ふるい効果により, 比較的小さな分子量をもつ血清蛋白成分は体外へ失われ, 分子量の大きい蛋白は血中に残るためである。ネフローゼ症候群で観察される。

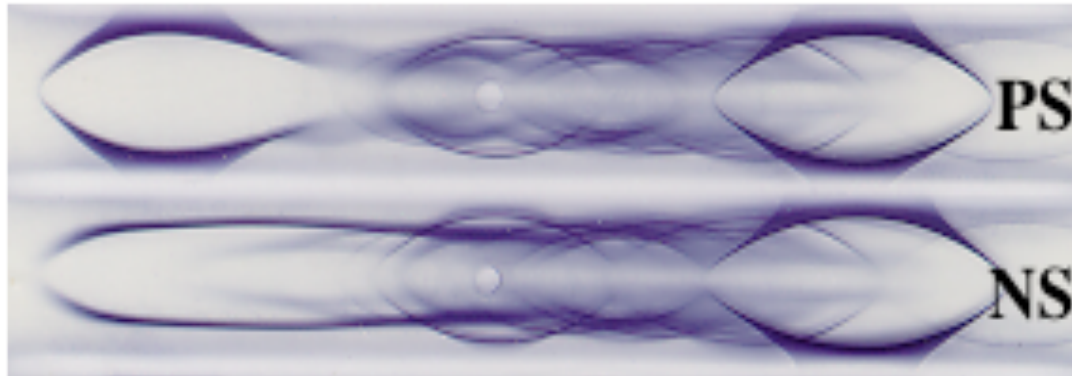
④ **慢性肝障害型**: IgG, IgA および IgM の多クローン性の増加が認められるが, それ以外の大部分の血清蛋白は減少傾向を示す。特にハプトグロビン(HP)は著減, ないしは欠如として観察される。これは, 免疫グロブリン以外の血清蛋白の大部分を合成している肝臓がその合成能低下をきたすことによる変化と, 肝病変によって免疫グロブリン合成量が増加するためである。慢性肝炎, 肝硬変などにみられる。



PS: アルコール性肝硬変

⑤ **M 蛋白血症型**: 血清蛋白分画で M 蛋白帯が観察され, 免疫グロブリンクラスに特異的な抗血清を用いた免疫電気泳動によりそのクラスおよびタイプが同定される。多発性骨髄腫, 原発性マクログロブリン血症, H 鎖病,

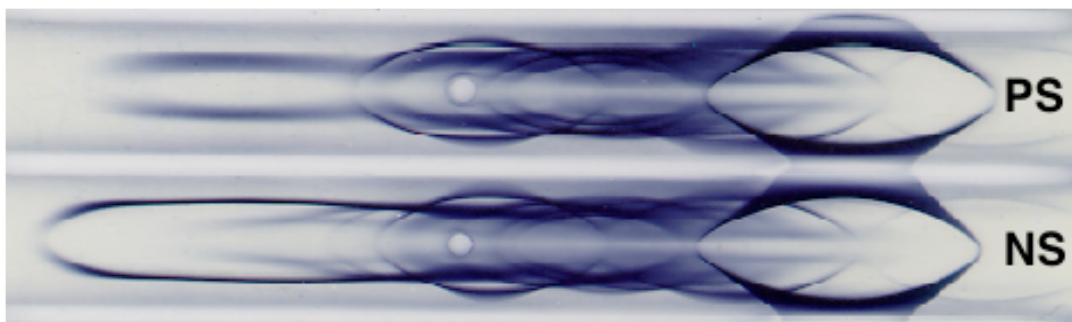
本態性 M 蛋白血症(MGUS)などにみられる。M 蛋白における免疫グロブリンの増加(単クローン性)は、形質細胞の1つのクローンだけの増殖を意味している。



PS:IgG 型多発性骨髄腫

⑥ **蛋白欠乏型**: 正常血清において検出される特定の蛋白成分が、稀に、全く欠如する場合がある。多くは先天性疾患である。

⑦ **免疫不全症型**: 原発性および続発性免疫不全症候群でみられ、前者は産生の先天性欠如、後者は基礎疾患の影響による産生の低下であると考えられている。



PS: 伴性高 IgM 症候群

2. M 蛋白の同定の仕方

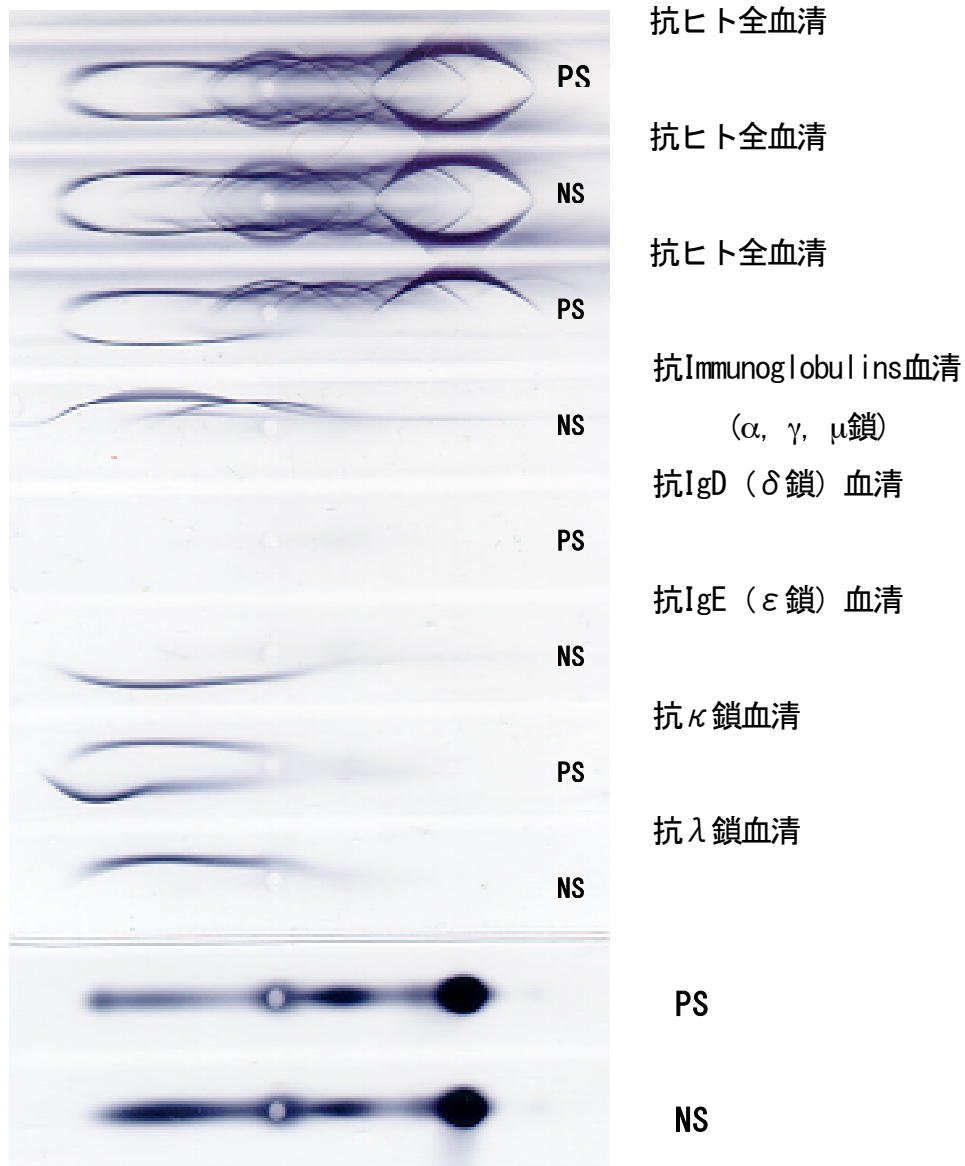
① **H 鎖の同定**: 抗ヒト全血清により、易動度および沈降線の形態などから M 蛋白のクラスを推測し得たならば、それに対する特異抗血清を用い同定する。すなわち、抗 IgG(γ 鎖)、抗 IgA(α 鎖)、抗 IgM(μ 鎖)、抗 IgD(δ 鎖)、抗 IgE(ϵ 鎖)のいずれかである。もし、M 蛋白がこれら抗 H 鎖血清のいずれとも反応しない場合は、BJP がもっとも疑われるので抗 L 鎖血清により確認する。なお、M 蛋白のクラスの同定に用いる特異抗血清には H 鎖のみに

反応する抗血清と、H 鎖と L 鎖とが一緒に反応する抗血清があるので使用するときには十分表示に注意しなければならない。

② **L 鎖の同定**: 免疫グロブリンの L 鎖に対する特異抗血清として抗 κ 鎖および抗 λ 鎖血清の 2 種類があるので、これらの抗血清を用い M 蛋白の L 鎖のタイプを同定する。抗 L 鎖血清は M 蛋白の同定には不可欠であり、H 鎖病にみられる H 鎖蛋白の同定においては、抗 L 鎖血清に反応しないことを必ず確認する。

なお、IgM 型 M 蛋白の L 鎖の同定はしばしば困難であり、このような時には、被検血清を 2-メルカプトエタノール処理 (2-ME 処理) を行って同定に用いる。2-ME 処理の簡単な方法は、0.1mol/l 2-ME 1 滴を血清 0.3ml に加え、37°C 2 時間 incubate する。これにより IgM は沈降定数 19S から 7S に分解され、抗 L 鎖血清と容易に反応できるようになる。

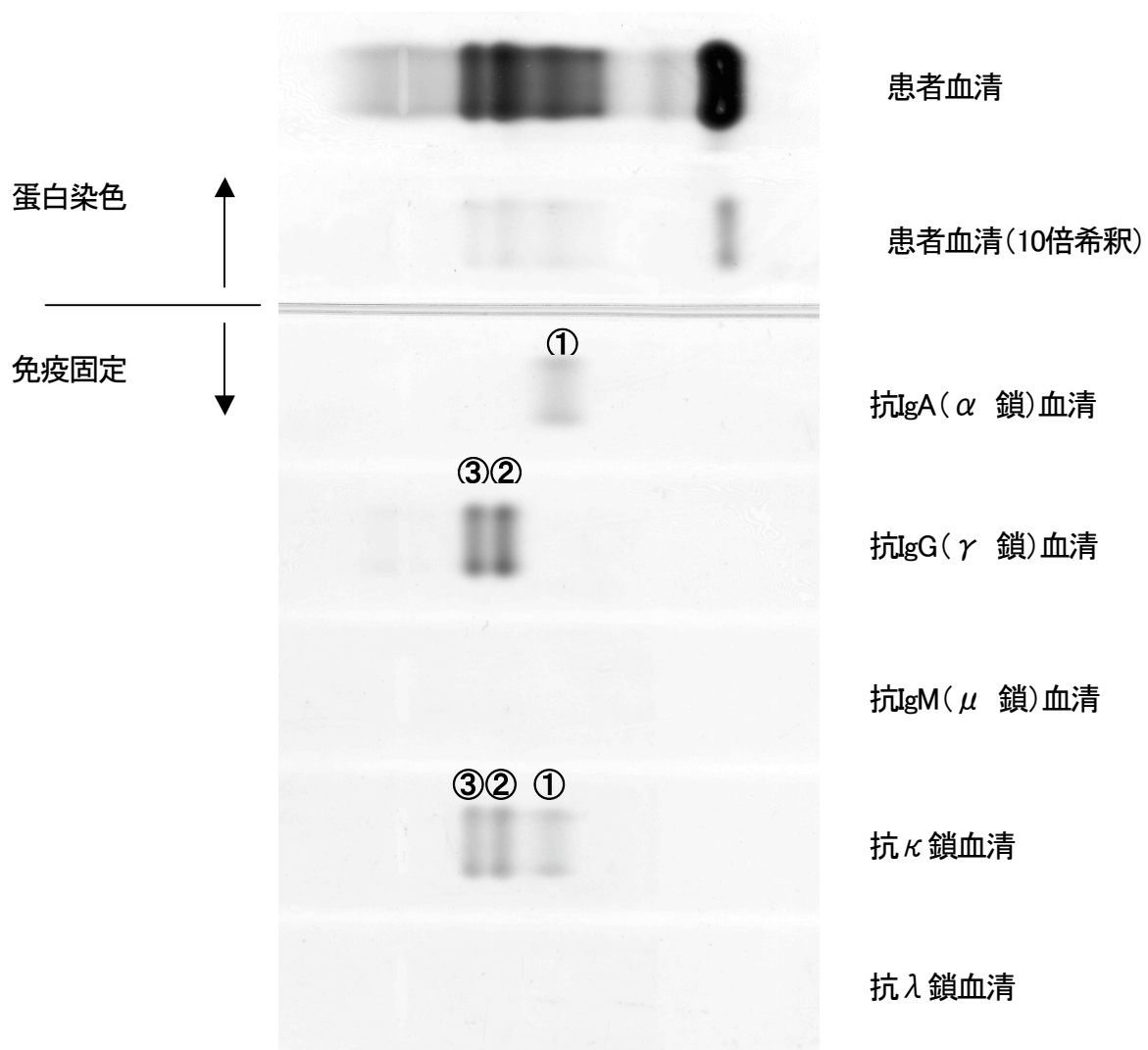
PS:BJP- λ 型多発性骨髄腫



免疫固定電気泳動法

原理は支持体電気泳動法により試料を分離したのち、支持体上に目的とする特異抗血清を作用させて免疫固定を行うもので、M 蛋白の同定や遺伝型を有する蛋白の同定、検出にはきわめて有効な手段となり得る。特に微量な M 蛋白の同定や複数の M 蛋白の存在する例などで威力を発揮する。免疫電気泳動法では抗原抗体が最適比のところまで拡散して沈降線を形成するのに対し、本法の場合、抗原上で直接反応するため抗体過剰で行う必要がある。そのため、試料はある程度希釈して最適比になるよう調整する。

患者：複合型(IgA- κ , IgG- κ) M 蛋白血症



①: IgA- κ 型M蛋白, ②③: IgG- κ 型M蛋白