

博士(医学) 高橋建二

学位論文題名

諸疾患における血清フェリチンH-,
L-サブユニット測定の臨床的意義

-ELISA法による検討-

学位論文内容の要旨

〔緒言〕可溶性蛋白であるフェリチンは、本来組織内にあっては過剰鉄を貯蔵するという性質を有し、肝実質細胞のほか肝、脾、骨髓などの網内系細胞などほぼ全身の臓器・組織に存在している。従って鉄代謝に異常を来たす疾患以外に肝疾患、感染症、炎症、悪性腫瘍など種々の疾患において変動することが知られ、血清フェリチンの測定は診断、予後の判定、病態の解析に有用と考えられている。従来、血清フェリチンの微量測定はimmunoradiometric assay法など、肝、脾、のフェリチンを抗原とした塩基性イソフェリチンassayが広く利用されてきた。しかし酸性イソフェリチンについてはサブユニットの構造が塩基性フェリチンより heterogeneousであり、免疫学的に多様性があることから従来のポリクロナール assayでは測定上の異同が多く、臨床上用いられることは少なかった。フェリチン分子は SDS polyacrylamidegel 電気泳動 (SDS-PAGE)による検討から、分子量の異なるH、L 2種類のサブユニットから構成されることが明らかにされているが、近年、ArosioらによりH-、L-サブユニットに対するモノクロナール抗体が開発され、hibrid蛋白であるイソフェリチンのより直接的な評価が可能となった。本研究では血清フェリチンH-、L-サブユニット量を各々のモノクロナール抗体を用いた2抗体サンドイッチELISA法により直接測定し、各種疾患における臨床的意義が検討された。

〔対象および方法〕対象は非腫瘍性疾患155例、腫瘍性疾患148例、及び健常人80例の計383例で、ELISA法による測定は被検血清を還元しない状態で測定するため、標準フェリチンとしてnativeの肝フェリチンを用い、この肝フェリチンをSDS-PAGE後、デンシトメーターで測定すると、"比 16:84であったので、測定値はこれにより換算して各サブユニット値を求めた。

〔結果および考察〕健常人では、H-サブユニットはL-サブユニットに比較して低値であり、Cazzolaらの成績にはほぼ一致していた。各平均値を男女間で比較すると、女性のL-サブユニットは男性に比較して有意に低値を示し、女性における潜在性鉄欠乏症を反映するものと考えられた。非腫瘍性疾患において、肝疾患では慢性肝炎、肝硬変、急性肝炎、アルコール性肝障害のいずれにおいても健常人コントロールに対して、L-サブユニットが有意に高値であり、従来の成績と一致したが、慢性肝疾患で

はH-サブユニットも有意に高値を示し、さらに肝硬変では^H/_L比が有意に上昇していた。肝硬変では出血傾向や消化管合併症のため鉄欠乏性貧血を伴っている例が多くいたため、慢性肝疾患について血清フェリチン値に対する貧血の影響を男女別に検討した。貧血合併群は貧血のない群にくらべ、特にL-サブユニットの低下が著明で、肝硬変における^H/_L比の上昇は鉄欠乏に起因することが大なることが示唆された。急性肝炎の重症例でH-サブユニットの高値と^H/_L比の上昇を認めたが、貧血合併者を除いた肝疾患の検討で男性患者のGOTとH-サブユニットとに相関が認められ、肝障害の重症度との関連が示唆された。劇症肝炎における酸性フェリチン上昇の報告もあり、今後の検討が必要と考えられた。炎症性疾患では出血による影響が考えられる潰瘍性大腸炎を除いて急性肺炎、急性胆囊炎、伝染性単核球症、慢性関節リウマチのいずれにおいてもL-サブユニットは有意に上昇しており、さらに、急性肺炎、慢性関節リウマチでは^H/_L比も有意に低下し、従来の成績と一致する結果であった。伝染性単核球症では他の感染症と異なり、L-サブユニットとともにH-サブユニットの著明な高値、^H/_L比の上昇を認め、注目された。Vezzoniらによると、immature T cellでは通常のリンパ球に比較してH-サブユニットが増加するとされ、今回の結果を説明するものかもしれない。慢性腎不全では、L-サブユニットの上昇と^H/_L比の低下に有意差を認めたが、糖尿病、高血圧症、慢性肺気腫などの非炎症性慢性疾患ではH-、L-サブユニット、^H/_L比ともコントロールとの間に有意差が認められなかつた。心・肺はH-サブユニットの豊富な臓器であるが、心筋梗塞、慢性肺炎ではともに少数例ではあるが、H-サブユニット、^H/_L比に有意差を認めなかつた。腫瘍性疾患では、H-、L-サブユニットは固型癌では肝癌と腎癌において、造血器腫瘍では急性骨髓性白血病(AML)、悪性リンパ腫、慢性骨髓性白血病(CML)のいずれにおいてもコントロールに対して有意に高値を示した。胃癌では出血による貧血合併例が多く、他の固型癌よりL-サブユニットの低値例が多かつた。健常人全体のカットオフ値に対しH-、L-いずれかが上限を越えた場合を陽性として陽性率を検討すると、固型癌に比較してAML、CMLでは80%以上の高い陽性率を示し、H-、L-サブユニットの同時測定は特に造血器腫瘍の診断において臨床的に有用と考えられた。^H/_L比は肝癌において有意に高値を示し、肺癌でも高い傾向を認め、さらに他の腫瘍性疾患とは異なり、H-、L-サブユニット間の相関係数は低く、これらの疾患におけるH-サブユニットの産生の増加が示唆されたが、^H/_L比がカットオフ値上限を越える症例は少なく、各腫瘍性疾患における^H/_L比のtumor markerとしての意義は十分とは言い難かつた。一方、AMLでは、L-サブユニットの相対的増加により、^H/_L比の低下に有意差を認め、Worwoodらや、Dezzaらの報告と一致し、白血病細胞におけるL-サブユニット産生の可能性が示唆された。悪性リンパ腫ではH-、L-サブユニットの陽性率はAML、CMLより低値であり、病型による差はなく、従来の成績と一致したが、H-、L-サブユニット間に $r=0.93$ ($p<0.01$)と高度の相関を認め、Cazzolaらのホジキン病における成績と同様で、AMLとは異なったフェリチン産生のメカニズムが示唆された。固型癌の追跡症例では、肝癌で動脈塞栓術(TAE)後、H-サブユニットの低下を認め、病状の悪化とともにAFPと平行して再上昇したが、L-サブユニット

には変化がなかった。従来の塩基性フェリチンassayではT A E後、肝壊死のため血清フェリチンはむしろ上昇するとされ、H-サブユニットは肝癌における病勢のモニタリングにも有用と考えられた。一方、子宮癌の肝転移例では、T A E後、腫瘍の縮小とともにC E Aと平行してH-、L-サブユニットの低下を認め、従来の報告と一致する結果であった。

〔結語〕以上の結果から、血清フェリチンH-、L-サブユニットの測定は諸疾患において診断、予後の判定、病態の解析に有用であることが示唆された。

学位論文審査の要旨

主査教授 宮崎 保
副査教授 西 信三
副査教授 石橋 輝雄

学位論文題名

諸疾患における血清フェリチンH-, L-サブユニット測定の臨床的意義 —ELISA法による検討—

I、研究目的

鉄貯蔵蛋白であるフェリチンは、肝実質細胞のほか網内系細胞に広く存在し、鉄代謝に異常を来たす疾患のほか、肝疾患、感染症、炎症、悪性腫瘍など種々の疾患において変動することが知られているが、従来の測定法では酸性フェリチンに対して、免疫学的な多様性から一様な結果は得られていなかった。このため本研究では近年開発されたフェリチンH-、L-サブユニットに対するモノクロナール抗体を用いた2抗体サンドイッチELISA法により、各々のサブユニットを直接測定し各種疾患における臨床的意義を検討した。

II、対象及び方法

対象は非腫瘍性疾患155例、腫瘍性疾患148例、及び健常人80例の計383例で、ELISA法による測定は被検血清を還元しない状態で測定するため、標準フェリチンとしてnativeの肝フェリチンを用い、この肝フェリチンをSDS-PAGE後、デンシトメーターで測定すると、H/L比16:84であったので、H、L各々のELISA系で得られた測定値をこれにより換算して各サブユニット値を求めた。

III、結果及び考察

1) 健常人における血清フェリチンは、L-サブユニット優位であり、H-サブユニットは低濃度で、モノクロナール抗体を用いたCazzolaらの報告に一致していた。又、男女間に性差を認め、健常人女性における潜在性鉄欠乏症を反映するものと考えられた。

2) 炎症性疾患では、出血による影響が考えられる潰瘍性大腸炎を除いて、急性肺炎、急性胆囊炎、伝染性单核球症、慢性関節リウマチのいずれにおいても健常人コン

トロールに対し、L-サブユニットの有意な上昇を認め、慢性関節リウマチでは、更にH/L比も有意に低下し、従来の成績と一致していたが、伝染性单核球症では他の感染症と異なり、H-サブユニットの上昇が著明で、H/L比も有意に高値であった。これまでの報告にこの様な成績はなかったが、immature Tcellでは正常のリンパ球に比較してH-サブユニットが上昇するという報告もあり注目された。

3) 肝疾患における塩基性フェリチンの上昇はこれまで広く認められており、慢性肝炎、肝硬変、急性肝炎、アルコール性肝障害のすべてにおいてコントロールに対しL-サブユニットに有意の上昇を認めた今回の成績は一致する結果であったが、慢性肝疾患では更にH-サブユニットも有意に高く、急性肝炎重症例でのH/L比の上昇と共に肝障害重症度との関連を推測させるものであった。肝硬変におけるH/L比の上昇については鉄欠乏の影響も示唆されたが、貧血のない肝疾患の検討で、男性患者のGOTとH-サブユニットにL-サブユニットより高い相関を認め、劇症肝炎における酸性フェリチン上昇の報告もあり、今後の検討が必要と考えられた。

4) 腫瘍性疾患では、出血による影響が考えられる胃癌を除いてH-サブユニット、L-サブユニットともコントロールに対し高い傾向であったが、固型癌では肝癌と腎癌において、造血器腫瘍ではAML、悪性リンパ腫、CMLのいずれも有意に高値であった。陽性率の検討では固型癌に比較してAML、CMLでは80%以上の高い陽性率を示し、H-、L-サブユニットの同時測定はH、L単独の測定より陽性率の向上が期待され、特に造血器腫瘍の診断において有用と考えられた。

5) 肝癌と脾癌では、H/L比の上昇に加え他の腫瘍性疾患とは異なりH-、L-サブユニット間の相関係数が低く、これらの癌におけるH-サブユニット産生の増加が示唆されたが、H/L比がカットオフ値を越える症例は少なく、H/L比のtumor markerとしての意義は十分とは言えなかった。

6) AMLでは他の腫瘍性疾患と異なり、L-サブユニットの相対的高値例が多く、H/L比の低下に有意差を認め、Dezzzaらの白血病細胞中のL-サブユニットの増加の成績を支持するものと考えられた。

7) 肝癌における追跡症例で、動脈塞栓術後、原発性肝癌ではH-サブユニットがAFPと平行して減少し、転移性肝癌ではH-、L-サブユニットがCEAと平行して減少したことは、H-、L-サブユニットの測定が個々の癌患者における病勢モニタリングにも有用であることを示唆するものであった。

IV、結語

以上の結果から、各病態におけるイソフェリチンプロファイルの相違は基本的にH-、L-サブユニット量の変化として表現されるものと考えられ、血清フェリチンH-、L-サブユニットの測定は諸疾患において診断、予後の判定、病態の解析に有用であることが示唆された。

以上より、本研究は博士（医学）の学位論文として妥当なものと判断される。