〔特集：アミロイド蛋白の基礎と臨床〕

アミロイドーシスの臨床検査

山 田 俊 幸*

自治医科大学 臨床検査医学

(受付 2010 年 2 月 8 日, 受理 2010 年 4 月 8 日)

SUMMARY

Although amyloidosis is diagnosed pathologically, there are several biochemical approaches. Detection of Bence Jones protein is critical for AL type. Gene polymorphism of serum amyloid A can suggest susceptibility for AA type. Detection of variant transthyretin for ATTR type is getting accelerated using mass spectrometry. β_2 -microglobulin is measured to evaluate the efficiency of dialysis in $A\beta_2m$ type.

Key words: Amyloidosis, Bence Jones protein, Serum amyloid A, Transthyretin, β_2 -microglobulin

はじめに

アミロイドーシスという組織にアミロイド沈着を認める全ての病態が含まれるが、ここでは全身性アミロイドーシス、つまり血漿蛋白がその病原体になっているものを取りあげる。なお、全身性アミロイドーシスの分類とその検査の要点を Table 1 にまとめた。

1. アミロイドーシスであることを確定する検査

アミロイド沈着の証明は病理形態学的に行われる。生検した組織切片の HE 染色で、無構造のエオジン好性の沈着物を認め、確定はその沈着物がコンゴレッド染色で赤色に染まり、偏光フィルターをかけた際に緑色に見えることによる。他のアミロイド特異的な染色法もあるが一般的にはコンゴレッド染色が行われる。可能なら電子顕微鏡所見も確定診断になる。生検部位としては、例えば蛋白尿があるなら腎臓、というように障害臓器が選択されることが多いが、以下に述べるように全身性アミロイドーシスと考えて良い場合は、陽性率の高い消化管粘膜や、陽性率はやや劣るが施行の簡便性から腹壁皮下脂肪が選択されることもある。

2. アミロイドーシス病型診断のための検査

多くの場合、臨床病型との対応でどのタイプのアミロイ

ドーシスであるかは推定可能である。また次項で述べる前駆物質へのアプローチも当然診断に使われる。推定が難しい場合、または、より確定的にするためには、生検組織において、既知のアミロイド物質に対する抗体を使った免疫染色が行われる。しかし、一般的に入手できる抗体はアミロイド蛋白の前駆体に反応するが、蛋白分解、変性を経て沈着しているアミロイド蛋白に反応しないこともある。また未知のアミロイド蛋白に対しては無効である。したがって最終的な沈着蛋白同定は、組織より得られた蛋白の一次構造の解析によってなされる¹⁾。これはまだ一般的ではないが、微量解析技術の進歩により、臨床試料への応用が一部可能になっている。

3. アミロイド前駆蛋白へのアプローチ

(1) ALアミロイドーシス

多発性骨髄腫の先行がある場合の診断は容易であるが、原発性 AL アミロイドーシスの診断にはしばしば難渋する。免疫染色においては市販の抗 L 鎖抗体で判定できない場合がある。沈着線維の前駆体である Bence Jones 蛋白 (BJP) の検出が鍵となるが、原発性 AL アミロイドーシスでの BJP は微量であることが多く、免疫電気泳動法や免疫固定法では、濃縮尿を用いて検出されていた。またこれらの従来法では血中の微量 BJP の検出は不可能である。筆者らは、キャピラリー電気泳動で抗体 (抗 κ 鎖, 抗 λ 鎖) を前反応させ

Laboratory test for amyloidosis

Toshiyuki Yamada

Clinical Laboratory Medicine, Jichi Medical University

* Corresponding author: Clinical Laboratory Medicine, Jichi Medical University, 3311 Yakushiji, Shimotsuke, Tochigi 329-0498, Japan

E-mail: toshiyam@jichi.ac.jp

第60回日本電気泳動学会総会・シンポジウム

Table 1. 全身性アミロイドーシスの分類と診断のための臨床検査

病型	臨床的特徴	主要な検査
AL	多発性骨髄腫に合併, または原発性. 心不全, ネフローゼ症候群, 消化器症状, 手根管症候群など	組織の免疫染色は困難な場合もある. 血清, 尿中の M 蛋白, とくに Bence Jones 蛋白の検出が重要. 新規遊離 L 鎖定量法による血中 BJP を検索
AA	慢性炎症性疾患 (本邦では殆どが関接リウマチ) に合併. ネフローゼ症候群, 消化器症状など	組織の免疫染色で診断可能. リスクファクターとしての SAA1 遺伝子多型
ATTR (遺伝性)	末梢神経症状, 眼症状がよくみられるが変異の種類によっては心不全, 髄膜炎なども	組織の免疫染色で診断可能. 血清の質量分析で変異 TTR を検出. 最終的には TTR 遺伝子の解析
ATTR (非遺伝性高齢発症)	心不全症状. 高齢者に多い	上記検索で異型 TTR を否定
A β_2 m	長期透析の合併症. 手根管症候群.	透析による β_2 m 排除評価のための血清 β_2 m 測定
その他遺伝性		遺伝子診断

て分析することにより, 尿原で BJP を検出できる可能性が示している²⁾. また遊離 L 鎖に特異的な L 鎖定量法が開発され, κ/λ 比の偏移で BJP を検出できるようになった³⁾. この方法は血中 BJP をも検出可能である.

(2) AA アミロイドーシス

線維の前駆蛋白である serum amyloid A (SAA)⁴⁾ は CRP と並ぶ第一級の急性期蛋白で, その濃度のモニターはアミロイドーシスに対する予防的意味はあるが, 存在診断にはならない. SAA の主要アイソタイプである SAA1 の対立遺伝子多型がアミロイドーシス感受性因子であることが示され, 危険度把握のための遺伝子診断となる可能性がある⁵⁾.

AA アミロイドーシス診断には胃十二指腸粘膜生検が多用されるが, 組織診断は, 採取部位, または作製切片によるバラツキがある. 筆者らは生検組織中の SAA/AA 蛋白定量を試みており, 組織診陰性でも定量陽性である例を経験するなど, 本法が組織診を補完する可能性を示している⁶⁾.

(3) ATTR アミロイドーシス

異型 TTR によって起こされるタイプの診断は TTR の遺伝子解析が中心となる. 本邦では hot spot はあるが, それ以外の変異部位も多く見いだされていることから 3 つのエクソンを PCR 増幅し, ダイレクトシーケンシングにより同定するのが一般的である. また, 血清試料から TTR を粗精製し, 質量分析することによって異型 TTR を検出することが可能となり⁷⁾, スクリーニング的に用いられる.

免疫染色で TTR 陽性になって, 遺伝子に変異がない場合は TTR 染色の非特異も考慮必要であるが, wild type の TTR も高齢者の心を中心にアミロイド沈着を起こすことが明らかになっているため, 臨床像と対比させた評価が必要である.

(4) A β_2 m アミロイドーシス

長期透析患者の合併症であり, 危険因子としての血中 β_2

ミクログロブリン濃度の評価が行われる. 透析患者においては透析効率だけでなく, 感冒などによっても同蛋白の濃度が上昇する⁸⁾.

(5) その他のアミロイドーシス

変異蛋白によるアミロイドーシス (アポ AI, ゲルソリン, リゾチーム, など) は遺伝子解析が必要となる⁹⁾.

4. アミロイドーシスの病勢評価のための検査

生検診断がスタンダードではあるが, サンプリングエラー, 臓器によっては繰り返し施行がやり難いなどの問題点がある. アミロイド沈着に親和性のある物質を標識して体表シンチすることにより全身のアミロイドロード, 病変の拡がりを診断する試みがあるが¹⁰⁾, 本邦ではまだ施行例がない.

文 献

- Murphy CL, Eulitz M, Hrnec R, Sletten K, Westermark P, Williams T, Macy SD, Wooliver C, Wall J, Weiss DT, Solomon A. Chemical typing of amyloid protein contained in formalin-fixed paraffin-embedded biopsy specimens. *Am J Pathol* 2001;116:135-142.
- 山田俊幸, 三宅紀子, 伊東喜久. 尿中 Bence-Jones 蛋白検出におけるキャピラリー電気泳動の有用性. *臨床病理* 2006;54 (補):204.
- Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Tang LX, Showell PJ, Drayson MT, Drew R. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem* 2001;47:673-680.
- Yamada T. Serum amyloid A (SAA): a concise review of biology, assay methods and clinical significance. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:381-388.
- 山田俊幸. 血清アミロイド A の多型. *臨床検査* 2002;46:1021-1024.
- 山田俊幸, 奥田恭章. AA アミロイドーシスにおける消化管生検試料中のアミロイド A 定量の評価. *臨床病理* 2008;56 (補):166.

- 7) 清水 章. 変異蛋白質の質量分析による検出. 臨床検査への応用. 臨床病理 2003;51:29-42.
- 8) Yamada T, Sotoh T. Changes in individual serum beta2-microglobulin in regular hemodialysis. Clin Nephrol 2003;60: 63-64.
- 9) Lachmann HJ, Booth DR, Booth SE, Bybee A, Gilbertson JA, Gillmore JD, Pepys MB, Hawkins PN. Misdiagnosis of hereditary amyloidosis as AL (primary) amyloidosis. N Engl J Med 2002;346:1786-1791.
- 10) Hawkins PN. Serum amyloid P component scintigraphy for diagnosis and monitoring amyloidosis. Curr Opin Nephrol Hypertens 2002;11:649-655.