血清蛋白質の分画別抽出法による正常値

(文部省科学試験研究費による研究)

橋敏也, 増山幸男, 玉井温子 (聖路加病院・内科)
杉 本 良 一 (東京慈恵会医科大学・生理学教室)
宮 本 璋 (東京医科歯科大学・医学部・生理学教室)
浅 田 敏 雄 (東邦大学・医学部・生化学教室)
有 賀 槐 三 (日本大学・医学部・内科)
土 屋 豊 (順天堂大学・医学部・放射線科)
小 林 茂 三 郎 (東京医科歯科大学・歯学部・生化学教室)
島 尾 和 男 (東京医科歯科大学・国府台分校)
幾 島 明 (虎ノ門共済病院・内科)
伊 藤 斉 (慶応大学・医学部・精神科)
阿 部 正 和 (東京慈恵会医科大学・生理学教室)

Normal Value of Serum Protein Fractions by Fractionating Elution Method

Toshiya Tatibana	Clinic of Internal Medicine, St. Lukes International Hospital.
Ryoiti Sugimoto	Department of Physiologie, Jikei-kai University school of Medicine.
Akira Miyamoto	Department of Physiology, Tokyo Medical and Dental University.
Toshio Asada	Department of Biochemistry, Toho University School of Medicine.
Kaizo Ariga	Department of Internal Medicine, Nihon University School of Medicine.
Yutaka Tsutiya	Department of Radiology, Juntendo University School of Medicine.
Mosaburō Kobayashi	Department of Biochemistry, Tokyo Medical and Dental University.
Kazuo Shimao	Faculty of Pre-medical and Pre-dental courses, Tokyo Medical and Dental University.
Akira Ikushima	Clinic of Internal Medicine, Toranomon Hospital.
Akira Ito	Department of Pschyatry, Keio-Gijuku University School of Medicine.
Masakazu Abe	Department of Physiologie, Tokyo Jikei-kai University School of Medicine.

血清蛋白質の分画別抽出法による正常値

Normal Value of Serum Protein Fractions by Fractionating Elution Method

濾紙電気泳動法によつて分析された血清蛋白分画の濃度比の再現性を、できる限り良好ならしめる操作法の案出を目的として、昭和 32 年電気泳動学会内に濾紙電気泳動標準操作法小委員会が設置され、その試案が第 8 回電気泳動学会総会において発表された¹⁾。このさいこの試案に則つて東京都内の 14 カ所の研究施設が同じ血清試料を用いて泳動し、実験結果を比較検討したところ、albumin+ α_1 -globulin の濃度比(%)の変動範囲(最大 9%-最小 9%)が 20% 以上もあつた。そこでさらにこの問題の本質を衝くべく、文部省の昭和 33 年度科学試験研究費の援助を得て新しく研究班が結成された。この研究の目的は、前述の大きなバラツキの原因を明らかにし、初期の目標である良好な再現性をもつ標準操作法を確立することであつた。

濾紙電気泳動法による血清蛋白質の大きなバラツキの原因については、既に昭和 32 年の標準操作法小委員会の協同実験による研究によつて、densitometry にあることが明らかにされていたが、文部省の科学試験研究費による研究班の追試験検討は、この点を更に明らかにし、濾紙電気泳動法による血清蛋白分画の濃度比に大きなバラツキを生ずる原因の 1 つは、実に densitometer および densitometry のテクニックにあることを明らかにした。これらの事実から、densitometer の性能の統一、densitometry のテクニックの厳密な標準化の必要性が強調されるに至つた。

以上の如く、濾紙電気泳動法による血清蛋白分画の再現性の低さの原因が、densitometry にあることに鑑み、これに代るものとして橘ら²⁾³⁾は densitometry を用い

ない分画別抽出法(fractionating elution method)を試みていたが、昭和 33 年度の試験研究費によつて、この分画別抽出法をとり上げて検討を行うこととした。そしてこの研究班の分画別抽出法に関する結論は次のようなものであつたり。すなわち、分画別抽出法は densitometry に比較してきわめて再現性が良好であるということであつた。しかし、この結果は実験者数の少なかつたことから決定的なことはいえないが、将来その実施法の簡単な点を考慮すれば利用価値が大なる可能性のあることも考えられ、抽出操作の基礎的資料を早急に集積することと、分画別抽出法による血清蛋白分画の正常値を提出することの必要性が考えられた。たまたま、昭和 34 年度の文部省科学試験研究費の援助が得られることになつたので、分画別抽出法に関する研究を更に進展することになつたものである。この度の研究では、分画別抽出法による血清蛋白分画の正常値を得ること、および 2,3 の疾患についての血清蛋白分画値を densitometry 法と分画別抽出法とで比較を行うことに重点がおかれたのである。

実験方法

濾紙電気泳動、乾燥、BPB染色、脱色はすでに発表された濾紙電気泳動標準操作法試案¹⁾によつた。

分画別抽出法および比色法は、橘らの方法⁵⁾に準拠した。

実験成績並に考察

1. 分画別抽出法と densitometry との比較

第1表 正常血清蛋白分画値

番号	分画別抽出法					densitometry				
	alb. %	glob. %				alb. %	glob. %			
		α_1	α_2	β	γ		α_1	α_2	β	γ
1	71.5	3.3	5.3	6.6	13.3	58.4	4.6	6.5	9.2	21.3
2	69.0	1.4	5.2	8.9	15.5	60.0	3.5	4.3	10.4	21.8
3	68.6	4.5	5.8	8.5	12.6	65.9	2.0	6.1	7.1	19.2
4	62.8	4.8	5.4	9.3	17.7	52.8	5.3	8.1	10.2	23.6
5	61.8	7.0	6.0	9.2	11.0	55.5	4.2	7.1	18.2	15.5
6	61.7	5.7	6.4	9.4	16.8	56.9	6.1	7.5	10.3	19.2
7	61.2	4.5	6.6	9.3	18.4	51.5	4.0	7.6	11.6	25.2
8	70.4		5.5	7.6	14.5	70.5		5.5	8.4	15.6

第2表 ネフローゼ血清蛋白分画値

番 号	分 画 別 抽 出 法					densitometry				
	alb. %	glob. %				alb. %	glob. %			
		α_1	α_2	β	γ		α_1	α_2	β	γ
1	17.8	4.2	36.7	26.3	15.0	22.4	4.2	33.0	25.5	14.9
2	27.7	6.2	26.5	20.9	18.7	29.0	5.8	23.3	25.6	16.3
3	39.5	6.2	18.1	15.5	20.7	36.7	5.3	19.5	13.6	24.9
4	41.0	5.7	16.0	15.7	21.6	36.2	5.1	22.2	14.8	21.7
5	45.7		18.1	15.5	20.7	42.0		19.5	13.6	24.9

第3表 肝硬変血清蛋白分画値

番 号	分 画 別 抽 出 法					densitometry				
	alb. %	glob. %				alb. %	alb. %			
		α_1	α_2	β	γ		α_1	α_2	β	γ
1	48.1	3.1	4.5	9.4	35.0	38.8	4.4	5.5	11.1	40.2
2	48.2	3.3	4.7	9.2	34.6	39.2	4.0	5.8	9.2	41.8
3	51.7	3.5	3.9	7.7	33.3	44.1	3.2	4.8	9.0	35.9
4	51.1		4.5	9.4	35.0	43.3		5.3	11.1	40.3

1) 正常血清

8例の正常血清を資料として分画値を上げると第1表の如くである。

これをとくに albumin および γ -globulin について整理してみると、次のようになる。

すなわち、albumin について全例において分画別抽出法による方が高値を示し、両方法による差は最大 13.1%，最小 2.7%，平均 8.0% となつた。また、 γ -globulin については全例において densitometry 法による値が高値を示し、その差は最大 8.0%，最小 1.1%，平均 5.2% であつた。

2) ネフローゼ血清

5例のネフローゼ血清について分画別抽出法と densitometer による分画値を上げたのが第2表である。

これをさらに albumin および α_2 -globulin の両分画について整理してみると次のようになる。すなわち、albumin については、分画別抽出法の方が高値を示すもの3例、densitometry の方が高値を示すもの2例であつた。 α_2 -globulin についても、分画別抽出法の方が高値を示すもの2例、densitometry の方が高値を示すもの3例であつた。

3) 肝硬変血清

肝硬変血清4例についての血清蛋白分画値を上げたのが第3表である。

これをさらに albumin および γ -globulin の両分画に

ついて整理してみると次のようになる。

すなわち、albumin については分画別抽出法が常に高く、その差は平均 8.6% であつた。また、 γ -globulin については逆に densitometry の方が常に高値を示し、その差は平均 5.1% であつた。

以上分画別抽出法と densitometry による血清蛋白分画値の比較を、正常血清8例、ネフローゼ血清5例、肝硬変血清4例について行つたが、正常血清では albumin は常に抽出法が高く、 γ -globulin は常に densitometry 法が高い。ネフローゼ血清については、その albumin の低いものほど抽出法による値が低い傾向を示している。ネフローゼ血清の α_2 -globulin についても、はつきりした傾向がみられていない。さらに肝硬変血清では albumin は常に抽出法が、 γ -globulin は常に densitometry による値が高い。

一般に抽出法は densitometry 法に比べ albumin が高く、 γ -globulin の低く出る傾向を示すが、ネフローゼのように albumin がいちじるしく低下する疾患では、densitometry 法との差が小さくなり、albumin が極度に低くなると、遂には逆転して densitometry によつて得られる値の方が高く出る。 γ -globulin についてもこの傾向がみとめられ、 γ -globulin の高く出る疾患、たとえば肝硬変の血清では densitometry による値の方が抽出法よりも高く出る傾向が示された。

このように分画別抽出法と densitometry による分画

第4表 分画別抽出法による年代別血清蛋白分画の正常値

年 代	例 数	alb.	glob.				血清蛋白濃度
			α_1	α_2	β	γ	
18~19	62人	58.7±2.9%	6.3±1.0%	8.4±1.3%	10.4±0.9%	16.2±1.1%	7.6±0.5 g/dl
20~29	18	62.8±3.9	5.4±1.1	7.0±1.3	8.6±1.3	16.2±2.4	7.5±0.3
30~39	7	65.9±3.9	4.5±0.7	5.7±0.7	8.4±1.3	15.5±2.3	7.7±0.3
40~49	27	64.3±3.6	5.3±0.7	6.7±1.0	8.9±1.0	14.8±2.6	7.3±0.5
50~59	12	62.6±4.6	5.9±1.4	7.0±1.0	8.3±1.0	16.2±3.4	7.3±0.4
60~69	4	62.3±1.4	6.3±1.5	6.8±0.9	9.2±0.7	15.4±0.7	7.2±0.2
平 均	130	62.8±1.2	5.6±0.6	6.9±0.7	9.0±0.8	15.7±0.5	7.4±0.2

第5表 分画別抽出法による血清蛋白分画値の性別

性 別	例	alb.	glob.				血清蛋白濃度
			α_1	α_2	β	γ	
男	8人	64.9±5.0%	4.7±1.1%	6.3±0.7%	8.3±1.3%	15.8±3.3%	7.4±0.2 g/dl
女	10	61.1±5.3	6.0±2.8	7.5±0.6	8.9±1.4	16.5±1.8	7.6±0.5

値の差は常に一定とは限らないので、どちらかの成績、たとえば densitometry による分画値から抽出法による値を推定することは不可能のようである。この事実、成績の評価に当つては常に同一の方法で得られたものについて比較しなければ意味のないことを示している。従つて将来分画別抽出法による各種疾患についての成績をもとめて発表しておくことが必要であらう。

2. 分画別抽出法による正常値

S女子短大入学試験応募者のうち、病歴、一般身体検査、一般検尿、一般血球計算、血沈、梅毒血清反応、胸部レントゲン検査のすべてに合格した18~19才の女子学生62人、およびS病院勤務の医師、看護婦、検査室技術士の正常者とみなされる者、人間ドックにおいて正常者とみとめた人達68人、計130人について、その血清蛋白を濾紙電気泳動法によつて分析し、分画別抽出法に基づいて血清蛋白分画値を求めてみた。その成績は第4表に示すとおりである。

年代による有意の差はみとめられない。130人の平均値は albumin 62.8±1.2%, α_1 -globulin 5.6±0.6%, α_2 -globulin 6.9±0.7%, β -globulin 9.0±0.8%, γ -globulin 15.7±0.5%であつた。

さらに20~29才代の被検者について性別を検討してみると第5表に示すとおりとなつた。この表にみられるように男女間にはとくに有意の差がみとめられない。

1) 正常血清、ネフローゼ血清、硬変血清について濾紙電気泳動分析を実施し、分画別抽出法と densitometry によつて得られる血清蛋白分画値を比較検討した。

2) 正常血清についてみると、分画別抽出法は densitometry に比べて albumin が約8%高く、 γ -globulin は約5%低い値を得た。しかし、ネフローゼ血清、肝硬変血清ではこの傾向がみとめられず、時に逆の結果の得られることもめつた。

3) 18才より69才に至る正常者130名の血清について、分画別抽出法による血清蛋白分画値を求めると、その平均値を求めると、その平均値は albumin 62.8±1.2%, α_1 -globulin 5.6±0.6%, α_2 -globulin 6.9±0.7%, β -globulin 9.0±0.8%, γ -globulin 15.7±0.5%であり、各年代別にとくに有意な差がみとめられず、また20才代における男女間の比較では、やはり有意の差はみとめなかつた。

文 献

- 1) 阿部正和：生物物理化学 4, 62, (1958)
- 2) 橋敏也：濾紙電気泳動シンポジウム第1集，文光堂，109, (昭33)
- 3) 橋敏也：生物物理化学 5, 77, (1958)
- 4) 杉本良一：生物物理化学 5, 99, (1958)
- 5) 橋敏也：生物物理化学 6, 63, (1959)

総 括