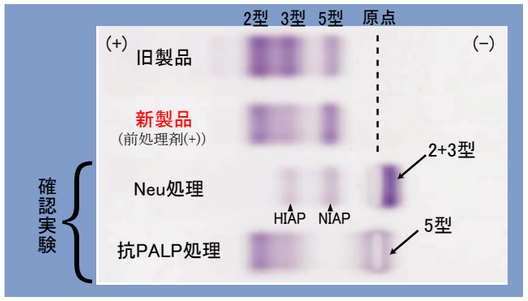
新製品のおしらせ① ALPアイソザイム用試薬

クイックジェルALP試薬

アガロース支持体用のALPアイソザイム試薬新製品を、2004年12月1日より販売開始いたしました。

電気泳動においては、小腸型(5型)ALPの一部である高分子ALP(HIAP)が骨型(3型)ALPに重なり、骨型の値(%)が見かけ上高くなってしまう可能性がありました。

クイックジェルALP試薬は検体に前処理剤(プロテアーゼ)を加えることにより、HIAPが通常型(NIAP)の位置に移動し、より正確な骨型ALPアイソザイムの値(%)を得る事ができます。クイックジェル支持体用(J846:12枚用,J847:20枚用)、およびREP支持体用(J848)をご用意いたしました。



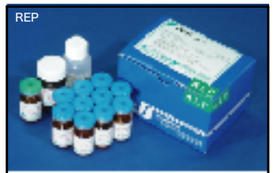
乖離検体例 (REP ALP-30プレート使用時:弊社社内データ)
※Neu処理:clostridium由来ノイラミニダーゼ処理
※抗PALP処理:抗胎盤型ALP抗体処理

J846:クイックジェルALP試薬(QG)
12枚用

■基質剤(試薬A)	1.5mL用×3本
■基質溶解液	5mL×1本
■発色試液(試薬B)	3mL×3本
■前処理剤	1.0mL用×3本

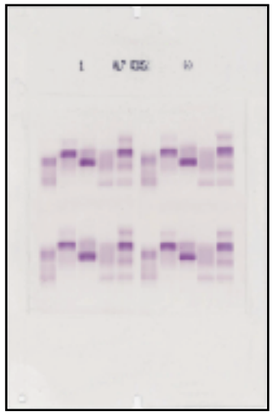
J847:クイックジェルALP試薬(QG)
20枚用

■基質剤(試薬A)	2.0mL用×4本
■基質溶解液	8mL×1本
■発色試液(試薬B)	4mL×4本
■前処理剤	1.5mL用×2本



J848:クイックジェルALP試薬(REP)
300検体用

■基質剤	1.5mL用×10本
■基質溶解液	15mL×1本
■発色試液	15mL×1本
■前処理剤	3.0mL用×1本



ALPパターン例:クイックジェルALP使用

◀左図解説

旧製品:3型のバンド上にHIAPが重なり、本来の3型以上に見かけ上染色されている。
新製品:HIAPが5型の位置にシフトし、本来の3型の染色像が得られている。
Neu処理:小腸型ALPはノイラミニダーゼ処理によって電気的移動度が変化しないため、HIAPとNIAPが残存している。
抗PALP抗体:小腸型ALPと交叉反応を起こすため、免疫複合体を形成し塗布点残渣として染色される。

新製品のおしらせ② IFE用支持体、抗血清セット

クイックジェルIFEキット

免疫固定法(IFE) は、国際骨髄腫作業グループ(IMWG)のM蛋白分類基準のレポート(2003)※において、M蛋白型判定の“ゴールデンスタンダード”であると紹介され、今やM蛋白型判定法として確固たる地位を築いています。

弊社ではIFEを簡単に、より早く、より多くの検体数処理ができるようクイックジェルIFEキットを開発し、2005年1月5日より販売開始致しました。

この支持体は従来からの用手法に加え、自動機器にも対応するなど以下のような数々の特徴を持っています。M蛋白を多数処理する施設等では、特にこのキットをお勧めします。

※Br J Haematol. 2003 Jun;121(5):749-757

特徴

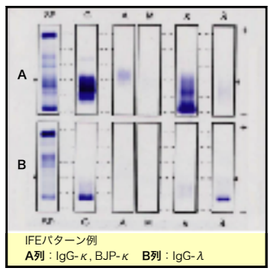
- **バッファー準備の必要がなく、操作が簡単です。**
- **支持体1枚で2検体同時に測定できる他、1検体当たりの抗血清の使用量も少量で済むため、時間、コスト共に削減できます。**
- **自動化に対応しています(エパライザ2に対応)。**

J9031 クイックジェルIFEアガロースセット(QG)
支持体、染色液、ブロッターのセットです。

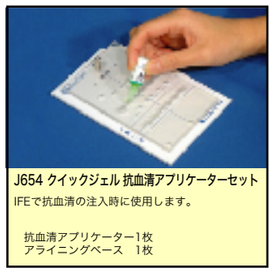
支持体	10枚	ブロッターB	30枚
染色液50mL	1本	ブロッターD	40枚

J9032 クイックジェルIFE抗血清セット(QG)
抗原抗体反応用抗血清と蛋白固定液のセットです。

蛋白固定液	1.0mL	抗ヒトIgM血清	0.75mL
抗ヒトIgG血清	0.75mL	抗ヒトκ型血清	0.75mL
抗ヒトIgA血清	0.75mL	抗ヒトλ型血清	0.75mL



IFEパターン例
A列:IgG-κ、BJP-κ **B列**:IgG-λ



J654 クイックジェル 抗血清アプリケーターセット
IFEで抗血清の注入時に使用します。

抗血清アプリケーター1枚
アライニングベース 1枚

各製品の詳細につきましては、弊社営業部(048-833-3208)までお問い合わせください。

ヘレナ・ラボラトリーズ・グループは、アメリカに本社をおき、世界中の医療界で活躍する医療機器・試薬メーカーです。

Helena Update Japan Vol.10 No.2 (2005)

HELENA UPDATE JAPAN

発行所 株式会社ヘレナ研究所(年3回発行)
住 所 〒330-0061
埼玉県さいたま市浦和区常盤9-21-19
電話番号 048-833-3208
編集者 営業部企画課 宮下真一
9507(1)

株式会社ヘレナ研究所ホームページ

弊社製品の機器情報、アイソザイム・脂質分画・蛋白分画・免疫電気泳動等の検査項目に関する情報、トピックス等が掲載されています。是非御覧下さい。

www.helena.co.jp

2005年 2月号 **Vol.10 No.2**

◆主な内容◆

第36回日本臨床検査自動化学会の報告

シリーズ:アルカリホスファターゼ③
アルカリホスファターゼの各アイソザイムについて

新製品のおしらせ① ALPアイソザイム用試薬
新製品のおしらせ② IFE用支持体、抗血清セット

第36回日本臨床検査自動化学会の報告

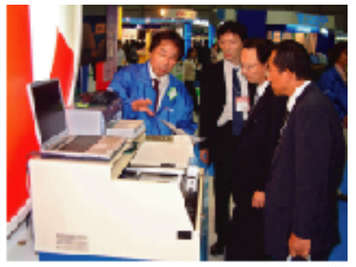
第36回日本臨床検査自動化学会が、9月29日(水)から10月1日(金)にかけて、パシフィコ横浜(神奈川県)において開催され、学会、展示会併せて6,645名の入場者があり、盛況の内に終了しました。

弊社では共催展示会において、アガロース支持体『クイックジェル』を用いた全自動電気泳動分析装置『エパライザ2』、そして新発売の免疫固定法(IFE)の自動電気泳動装置『SPIFE 3000』を中心に展示を致しました。

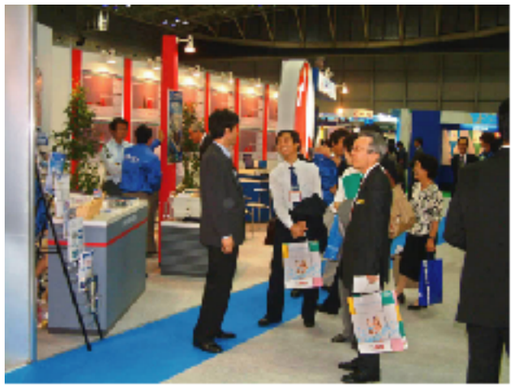
エパライザ2はアガロース支持体を用いた世界初の全自動電気泳動装置であり、国内はもちろん、海外からも多くの見学者がありました。

またIFEは簡便にM蛋白の検出ができる事が特徴であり、多検体処理が求められていましたが、SPIFE3000では支持体1枚につき6検体と、大量に処理が行えることから、M蛋白の検査を多く行っている施設に好評価でした。

SPIFE 3000



エパライザ2



ヘレナブース

■訂正とお詫び
前回Update Japan (2004年9月号)の特集「アルカリフォスファターゼの測定法について」において誤りがありました。
文中で小腸型ALPの緩衝液中での反応性について、
「EAE＞DEA＞MEG≒AMP」と説明しましたが、これは、「EAE≒MEG＞AMP≒DEA」の誤りです。訂正しお詫び申し上げます。

シリーズ：アルカリフォスファターゼ③

ALPアイソザイムまとめ　ー肝型ALPと高分子型ALPー

ALPアイソザイムは、セルロースアセテート／アガロース支持体において、大まかに5種類に分離されますが、蛋白構造の違いから小腸型、胎盤型、臓器非特異型の3種類のアイソザイムとして分類されます。臓器非特異型は更に遺伝子翻訳後の糖鎖付加などの修飾により電気泳動的に異なるバンドとして出現し、全部で5つのバンドに分類されます。

今回から、ALPの各アイソザイムについて解説しますが、今回は臓器非特異型ALPの一つである肝機能の指標となる肝型ALP（ALP2）と、同じく肝型関連の高分子型ALP（ALP1）について、他の肝機能マーカーと併せて解説いたします。

表1　各ALPアイソザイムの特徴

	ALP1	ALP2	ALP3	ALP4	ALP5
電気的易動度	α_1	α_2	$\alpha_2\beta$（ブロード）	$\alpha_2\beta$（シャープ）	β
抗原性	臓器非特異型	臓器非特異型	臓器非特異型	胎盤型	小腸型
由来臓器	肝臓	肝臓	骨	胎盤	小腸
分子量	100万[1]	16万	16万	12～13万	14万

肝型ALP（ALP2）の上昇と関連項目[2]

通常健常人血清のALPの主要バンドです。各種の肝・胆道系疾患で、特に肝毛細胆管での合成が亢進するため血中でALPが増量します。ALP1の上昇を伴わないALP2の上昇は、胆管内圧の上昇は認めるものの、胆汁の逆流を認める程ではなく、胆管内圧上昇あるいは不明の原因によるALP誘導性の化学的因子（胆汁酸成分との説がある[3]）によって肝でのALP産生亢進が見られた場合に起こります。このことからALPは誘導酵素とも言われます。肝胆道系の誘導酵素としては他にγ-GT、LAPが存在します。

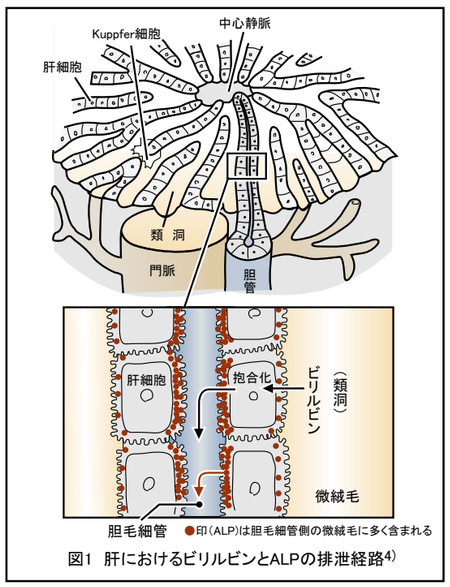


図1　肝におけるビリルビンとALPの排泄経路[4]

①逸脱酵素

AST（GOT）、ALT（GPT）、LDHは逸脱酵素と呼ばれ、細胞の破壊などで細胞質中のこれら酵素が血中に遊出し、その障害程度によって活性が上昇します（細胞膜透過性の亢進とも言われる）。肝炎などで肝細胞が破壊された時はこれら逸脱酵素の活性が上昇します。肝炎ではALPも軽度上昇しますが、この理由は破壊された細胞からの遊出よりも、肝炎の刺激による間接的なALP産生の亢進によるものが主と考えられています。

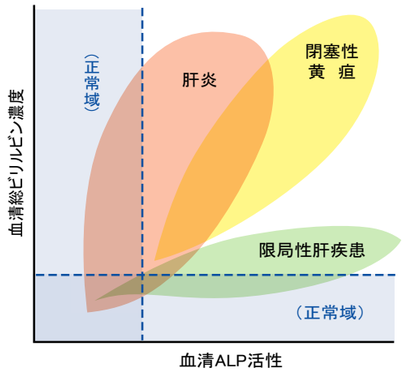


図2　肝疾患における血清総ビリルビンとALPの相関[4]

②ビリルビン[2)4]

肝型ALPやLAP、γ-GT等の胆道系酵素は胆汁鬱滞時にビリルビンの上昇と平行して血中に増加しますが、限局性肝疾患（肝癌、肝膿瘍；占有性病変）では、ビリルビンは健常な細胞に再度取り込まれ胆汁中に再摂取される為あまり上昇せず、ALPとの間に解離が認められます。 肝硬変の場合も限局性肝疾患と似たような変動（黄疸と比較して血中ALPの上昇が強い）を起こします。原発性胆汁性肝硬変の場合にはALP1の上昇を伴うものと伴わないものがありますが、これは、胆管病変の広がりによってALP1が出現してくると考えられています。この時肝型ALPの上昇とは別に小腸型ALPが上昇する場合があります（詳細は別途記載予定）。一方肝炎ではビリルビンが上昇してもALPは軽度上昇に留まります（図2）。

③γ-GT[4]

アルコール性肝障害によるALPの上昇は比較的軽度で、AST,ALTが上昇し、特にASTの上昇が顕著です[3]。また他の肝炎と異なりγ-GTが高値を示します。ALPやその他肝機能検査が正常でγ-GTのみ上昇という症例はアルコール常飲者に多く見られます。これはアルコールがγ-GTを誘導する働きがある事が理由で飲酒をやめると速やかにγ-GTは低下します。

表2　ミクロソーム酵素誘導を起こす薬剤[2]

薬剤の種類	薬剤
抗てんかん剤	フェノバルビタール、フェニトイン
消炎鎮痛剤	アミノピリン、フェニルブタゾン
抗生物質	リファンピシン
嗜好剤	アルコール、マリファナ
経口避妊剤	プロゲステロン
多環状炭化水素	タバコ、コールタール
殺虫剤	DDT
鎮痛剤	バルビタール
抗凝固剤	ワーファリン
経口血糖降下剤	トルブタマイド、アセトヘキサミド

④薬剤[2]

各種薬剤でミクロソームの酵素を誘導する事が知られています。肝型ALPは肝臓中のミクロソーム分画（小胞体を多く含む）に存在するため、これら薬剤でALP（主に肝型）が誘導されます（表2参照）。

高分子型（ALP1）の上昇と注意点[2)4)5]

ALP1上昇時は必ずALP2の上昇を伴います。肝外胆道閉塞や、転移性肝癌などで中程度から高度に出現し、場合によってはALP2と同程度まで上昇することもあります。肝内閉塞性黄疸、ヘパトーマ（原発性肝癌）では出現しても軽度です。

ALP1は胆道が閉塞した為肝細胞に胆汁が逆流し、血中胆汁成分が放出され出現します。胆道の細胞膜上に存在する肝型ALPが何らかの理由で高分子化し、ALP1として血管に流入する他、肝細胞中でも胆汁うっ滞の原因による肝型ALPの産生が亢進するといわれています。

ALP1はアエロジル処理（後述）で影響を受けず、PIPLC（イノシトールリン酸特異的ホスホリパーゼC）によって通常の肝型ALPに変換されますが、このことからALP1は疎水性領域であるGPIアンカー（膜貫通ドメイン）は持つが細胞膜は持たないALPであり、疎水性であるGPIアンカー同士が絡み合って高分子化した肝型ALPであると推測されています（図3）[6]。

①ALP1と膜酵素複合体[7]

高分子ALPは通常ALP1を指しますが、これとは別に電気泳動では多様な易動度を持つ複合体型が存在し、分けて考える必要があります。この複合体はALP活性の他LAPやγ-GT活性も持ち、電子顕微鏡では多様な細胞膜様の微小片として観察されます。この事から木沢[7]は、このALP活性を持つ物質を“膜酵素複合体”と呼びました。ALPの存在様式（図3）から考えて、細胞膜断片が脱落するような病態で出現し易いものと考えられます。ALP1がα1位に比較的シャープなバンドで一定な易動度を示すのに対し、膜酵素複合体はALP1から塗布点まで多彩な易動度を持ち、出現時は複数のバンドを伴うことが多いようです（図4参照）。ちなみに膜酵素複合体は細胞膜と強い結合性を持つシリカ処理（アエロジル処理）によって消失しますが、ALP1は影響を受けません。木沢は閉塞性黄疸患者で高率に認めたと報告しています。堀井[8]も細胞膜と結合した原点位からアルブミン位まで幅広くテーリングしたALPを4例報告していますが、原疾患は異なるものの全員肺炎により死亡し、その直前に出現したとの事です。

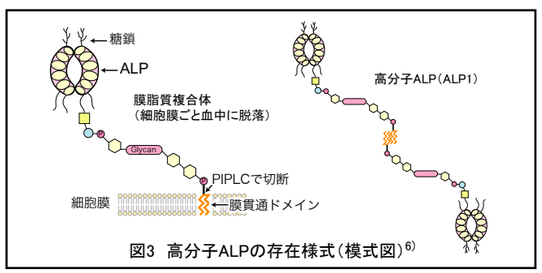


図3　高分子ALPの存在様式（模式図）[6]

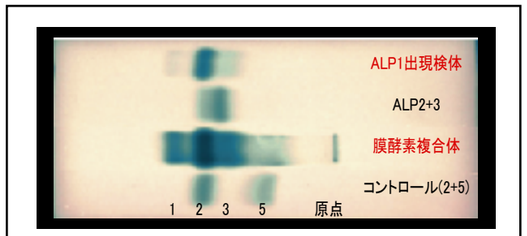


図4　ALP1、および膜酵素複合体例（タイタンⅢ　社内データ）

②特殊型（見かけ上ALP1にみえるもの）

以下の例はALP1位付近に易動度を持ちながら、高分子型ALPでないものです。ALP1と異なる特徴を持ちます。見かけ上ALP1＞ALP2に見える検体ではこれらの可能性が高くなります。

● Kasaharaアイソザイム

腫瘍由来のALPで、原発性肝癌の約10～30%に出現するといわれます[4]。Triton X-100で易動度変化せず、ノイラミニダーゼ処理で陰極側にシフトするのが特徴です。

● 小腸型でALP1位に易動するもの

下行結腸癌患者で症例が報告されています[9]。ノイラミニダーゼ感受性がないのがKasaharaアイソザイムとの唯一の違いです。成人型の小腸ALPと同様の性質を持ちながら易動度はALP1付近に出現します。

●その他

今回詳細は省きますが、一過性高ALP血症ではALP2位を挟んで陽極側と陰極側にバンドが出現する為、ALP1、2と見間違う可能性があり、注意を要します。

参考文献

1）与芝　真：ALPアイソザイム　北里大学ホームページ、内科診断検査アクセス http://bme.ahs.kitasato-u.ac.jp/qrs/imd/imd00281.html
2）深津俊明：アルカリフォスファターゼ　臨床病理レビュー特集第116号 2001,p27-35
3）北村元仕：血清酵素の異常　病態へのアプローチ　医学書院1985, p29-62
4）河合ら編：異常値の出るメカニズム(第2版)　医学書院1989　p193-261
5）飯野四郎：アルカリフォスファターゼ(ALP)　臨床検査MOOK31,1988 p30-42
6）菰田、坂岸：アルカリ性ホスファターゼ研究の進歩　生物物理化学　33(1) 1989 p9-15
7）木沢仙次：血清中ALPの存在様式と脂質遊離　衛生検査　36(9)1987, p1369-1375
8）堀井康司：原点よりアルブミン易動度まで幅広い活性を認めた異常ALPの4例　生物物理化学30(2)1986,p134
9）鈴木ら、：下行結腸癌患者に見出された易動度の速い小腸型ALPアイソザイム異常バンド　生物物理化学　40,1996 p35-38