

氏 名（本籍）	三 浦 利 彦
学位の種類	博 士（医 学）
学位記番号	医 第 2691 号
学位授与年月日	平成 6 年 9 月 7 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 2 項該当
最 終 学 歴	昭和 51 年 3 月 8 日 東北大学医療技術短期大学部卒業
学位論文題目	キャピラリー電気泳動法によるヒト血清蛋白の分 析

(主 査)

論文審査委員	教授 佐々木 毅	教授 佐々木 英 忠
	教授 林 典 夫	

論 文 内 容 要 旨

未処理溶融シリカキャピラリーを用いたキャピラリー電気泳動が開発されている。本法は超微量の試料を簡便な手法により、短い時間で分析でき、かつ高分解能の結果が得られるなどの長所を有する。しかし、血清蛋白の分析では、蛋白がキャピラリー内壁に非特異的に吸着しやすく、再現性ある所見が得られにくいなどが指摘され、臨床応用が困難であった。

本研究ではキャピラリー電気泳動における泳動緩衝液の pH や添加剤等の分析条件について検討し、臨床応用への可能性を求めた。その結果、泳動緩衝液として zwitterion である 1.0M Zl-methyl 含有の 50mM ホウ酸ナトリウム緩衝液 (pH10.0) を、洗浄液として 0.1M 水酸化リチウム液を用いることにより、再現性のある分離分析が可能であることを見出した。この分析法によりヒト血清はアルブミン (Alb), α_1 -グロブリン (α_1 -gl), α_2 -グロブリン (α_2 -gl), β -グロブリン (β -gl), γ -グロブリン (γ -gl) ならびにいくつかのサブグループに明確に分離され、各分画の再現性および定量性も良好であった。患者血清について、セルロースアセテート膜電気泳動と比較検討したところ、Alb と γ -gl において良好な相関を有したが、 α_1 -gl, α_2 -gl 及び β -gl では低い相関を示した。さらに、両法による泳動パターンについて比較した結果、セルロースアセテート膜電気泳動に比べてキャピラリー電気泳動のほうが優れた分離能を示した。特に、セルロースアセテート膜電気泳動において、M 蛋白を検出することができなかった形質細胞腫等の患者血清中の微量 M 蛋白を検出することが可能であった。これらより、本法は微量 M 蛋白をはじめとするヒト血清蛋白異常を診断する上で、優れた方法として臨床応用可能であることを示唆した。

審査結果の要旨

キャピラリー（毛細管）電気泳動はキャピラリーを分離の場とする電気泳動である。この方法を用いると超微量の試料を、簡便な手法により、短い分析時間で、高分解能の結果が得られるなどの長所を有するとされる。このため、これまでに有機酸らの低分子からの医薬品関係あるいは蛋白、ペプチドなどの生体試料の分析にも応用されてきた。しかし、蛋白の分析においては、ピークのテーリング（分離能の低下）や再現性の欠如など種々の問題が含まれていた。

本研究では、未処理溶融シリカキャピラリー電気泳動による、精製血清蛋白の分析条件を検討し、本法の臨床応用のための方法の開発を試みた。まず泳動緩衝液等の種々の測定条件を検討した。その結果、緩衝液としては、1.0M Zlmethyl 含有の 50mM ホウ酸ナトリウム緩衝液（pH10.0）、洗浄液として、0.1M 水酸化ナトリウム液を用いることにより、精製血清蛋白について再現性のある分離分析が可能になった。これに基づき血清試料の分析を試み、アルブミン、 α_1 -グロブリン、 α_2 -グロブリン、 β_1 -グロブリン、 γ_1 -グロブリン、ならびにいくつかのサブグループに分離できることを認めた。いずれも再現性も確かめられた。本法はセルロースアセテート膜電気泳動に比べて感度、分析能力共に優れていると考えられ、特に臨床試料の分析において、セルロースアセテート膜電気泳動においては、検出困難であった蛋白の分析が可能である例を見出した。すなわち、血清試料で、M 蛋白を検出することができず、免疫電気泳動でも M-bow 検出が容易でなかった上咽頭癌、形質細胞腫、Crow-Fukase 症候群、原発性マクログロブリン血症の 4 症例において、本法により微量 M 蛋白の検出が可能とされた。このように本研究は臨床応用を目的とした血清蛋白の新しい分析方法の開発を行った。かつ、従来のセルロースアセテート膜法では検出しえなかった微量 M 蛋白をはじめとするヒト血清の蛋白異常の診断に極めて有用であることを示す新知見を認めており、学位論文に相応しい研究とみなされる。