

新規に保険収載された検査法 免疫グロブリン遊離L鎖 κ/λ 比

Immunoglobulin κ/λ free light chain ratio

ふじ た きよ たか たか はし かつ のり さくら ばやし いくのすけ
藤 田 清 貴¹⁾ : 高 橋 克 典¹⁾ : 櫻 林 郁之介²⁾
Kiyotaka FUJITA Katsunori TAKAHASHI Ikunosuke SAKURABAYASHI

そこで本稿では、FLC、 κ/λ 比の測定原理、臨床的意義、および問題点などについて述べる。

はじめに

免疫グロブリンはリンパ・形質細胞系で合成され、生体内における体液性免疫機構を担当する蛋白でIgG, IgA, IgM, IgD, IgEの5つのクラスが知られている。1つの形質細胞からは、1種類のH鎖と、1種類のL鎖が産生される。それぞれのH鎖を γ , α , μ , δ , ϵ と称し、L鎖は κ 鎖、 λ 鎖の2つのタイプに分類されている。多発性骨髄腫をはじめとする単クローン性免疫グロブリン血症 (monoclonal immunoglobulinemia: M蛋白血症) などにおいては、単クローン性の形質細胞が増殖し、 κ 型、あるいは λ 型のどちらかのL鎖の増加がみられ、 κ/λ 比は異常を示す。また、L鎖はH鎖よりも約40%過剰に産生されるため、H鎖と結合できないL鎖は遊離L鎖 (free light chain: FLC) と呼ばれ細胞外へ放出される。

このことから、血清および (あるいは) 尿中のFLC量と κ/λ 比を測定し、多発性骨髄腫などの疾患の早期診断や経過観察に活用する検討がなされていたが、FLCのみを選択的に測定する手法は確立されていなかった。近年、結合型L鎖との交差反応性がないFLC測定キットがBinding Site社から開発されたことから、欧米では診断目的のみならず、治療効果の判定を含む疾患モニタリングとして積極的に利用されるようになった¹⁾。わが国でも、M蛋白血症の診断補助検査として、「免疫グロブリン遊離L鎖 κ/λ の算出」が2011年に保険適用 (400点) となったことから、FLC測定を積極的に臨床へ導入しようとする試みがなされている。

I. 血清および尿中におけるFLC、 κ/λ 比

免疫グロブリンのFLCは血清および尿中に微量に存在し、 κ/λ 比はほぼ一定である。分子量は、通常44,000の二量体 (dimer) として認められ、他に分子量22,000の単量体 (monomer)、稀に四量体 (tetramer) もみられる。四量体のものは腎糸球体膜を通過しにくい、それ以外は分子量が小さいので尿中に排出されやすい。FLCは、単クローン性 (monoclonal) に存在するものと多クローン性 (polyclonal) のものがある。それらは免疫固定電気泳動法 (IFE法) や免疫電気泳動法 (IEP法) により判別は比較的容易であるが、温度依存性蛋白質としての特性には差を認めない。すなわち、FLCは56~60℃の熱処理で混濁し、100℃付近で再溶解するという特異な熱凝固性を示す。単クローン性のFLCはBence Jones蛋白 (BJP) として知られ、多発性骨髄腫や原発性マクログロブリン血症などの悪性M蛋白血症で検出される頻度が高い。またM蛋白血症では、特定の免疫グロブリンおよびFLCだけが突出して産生されるため κ/λ 比に異常が現れる。一方、多クローン性のFLCは、少しずつ構造が変化した多数のFLCとして存在し、 κ 型FLCと λ 型FLCはほぼ同程度に混在している。

II. FLC、 κ/λ 比の測定原理

FLC、 κ/λ 比の測定は、ラテックス免疫比ろう

1) 群馬パース大学 保健科学部
〒370-0006 群馬県高崎市問屋町1-7-1

2) 自治医科大学 名誉教授
〒329-0498 栃木県下野市薬師寺3311-1

1) Faculty of Health Science, Gunma Paz College
(1-7-1 Tonyamachi, Takasaki-shi, Gunma)

2) Jichi Medical School
(3311-1 Yakushiji, Shimotsuke-shi, Tochigi)

法を原理とした方法が用いられている。図1に示した如く、ラテックス粒子に結合させた抗体（抗 FLC 抗体）に検体（血清あるいは尿中）の抗原（FLC）を反応させ、抗 FLC 抗体-FLC 複合物を形成させる。その複合物を散乱光の強度で測定することで、検体中に含まれる FLC を定量する。

Binding Site 社から発売された FLC 測定キット（FREELITE™）では、免疫グロブリン L 鎖の定常領域部内面（hidden surface）の蛋白構造を認識する独自の polyclonal 抗体を用いている（図2）。完全型免疫グロブリンの L 鎖においては、その構造上、hidden surface が抗原性を発揮することはないが、FLC は hidden surface が露出しているため、この抗体では、FLC のみを選択的に測定することが可能となる²⁾。

問題点としては、抗原抗体反応を原理としているため、抗原過剰の問題に十分留意する必要がある。事実、BJP 型多発性骨髄腫患者³⁾において尿中に多量の BJP が検出されたにもかかわらず、FLC 濃度が低値を示しこれが抗原過剰による偽低値であったという。

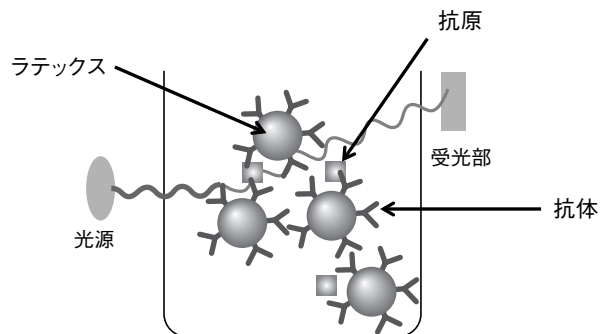


図1 ラテックス免疫比濁法の原理

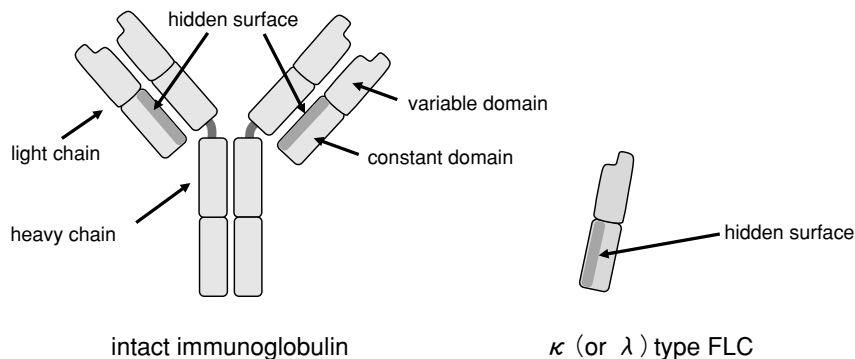


図2 完全型免疫グロブリン（intact immunoglobulin）と遊離 L 鎖（FLC）の構造

Ⅲ. FLC、 κ/λ 比の基準範囲、測定感度および有用性

1. 基準範囲および測定感度

健常人における血清 FLC、 κ/λ 比の基準範囲は、 κ 型 FLC が 3.3 ~ 19.4mg/L、 λ 型 FLC が 5.7 ~ 26.3mg/L、 κ/λ 比が 0.26 ~ 1.65 と報告されている⁴⁾。また、M 蛋白の検出感度は、血清蛋白電気泳動法（SPE 法）で 500 ~ 2000mg/L 程度であるのに対し、FREELITE™ を用いた FLC 測定法は 5mg/L と極めて高い。これまで比較的高感度とされてきた IFE 法の感度 150 ~ 500mg/L をはるかに上回る。このことは、M 蛋白量の少ない初期の多発性骨髄腫や MGUS (monoclonal gammopathy of undetermined significance) などの骨髄腫類縁疾患の早期診断において有用である。

島崎らの報告⁵⁾では、健常者 178 例、M 蛋白血症 150 例、多クローン性 γ -グロブリン血症 184 例を対象とした場合、M 蛋白血症における感度は 88.0%、特異度は 96.1% であり、測定感度は IEP 法より 100 倍以上高く、SPE 法、IEP 法との組み合わせで 99% の症例が診断可能であったという。さらに、SPE 法、IFE 法、IEP 法が視覚的判定によってなされているのに対し、血清 FLC 測定は定量評価が可能で客観性が高いという点も評価されている。

留意点として、測定された FLC 量には単クローン性のものだけでなく、正常な多クローン性の FLC も含まれていることに注意が必要である。Nowroussian ら⁶⁾は、BJP 型多発性骨髄腫患者において、BJP

の尿中排泄の増加に伴い多クローン性の FLC の尿中排泄も亢進すると報告している。

2. 有用性

血清 FLC は、免疫グロブリン産生の増減に影響を受けるため、感染による免疫刺激や薬剤による免疫抑制作用などがあると基準範囲から逸脱する可能性が高い。また、腎機能障害においてもクリアランス低下に伴い血中濃度の上昇が起こりうる。しかし、これらの変動は、免疫グロブリンの増減に応じた FLC の量的変化であるため、 κ/λ 比には変化が生じず基準範囲に留まる。 κ/λ 比に変化が生じるのは、あくまで単クローン性の増殖性疾患に限られる(図3)⁷⁾。すなわち、総 FLC 値が基準値以上を示しているにもかかわらず、 κ/λ 比が基準範囲内の場合、多発性骨髄腫以外の腎機能障害などの病態である可能性が高く、逆に、総 FLC 値が基準範囲内であっても κ/λ 比に異常が認められる場合は、多発性骨髄腫などの単クローン性の増殖性疾患が考えられる。さらに、 κ/λ 比が 1.65 以上の場合は κ 型 FLC の単クローン性の増加が示唆され、0.26 以下の場合には λ 型 FLC の単クローン性の増加が考えられる。これらのことから、 κ/λ 比は、多発性骨髄腫などの単クローン性の増殖性疾患の存在を評価できる有用なパラメーターとなりうる。

留意点として、H鎖とL鎖の産生バランスが1：1である多発性骨髄腫患者においては、FLC値に異常が認められない可能性があり注意が必要である。

IV. FLC、 κ/λ 比の臨床的意義

1. 非分泌型多発性骨髄腫

多発性骨髄腫は、腰部、背部、胸部、四肢などの骨痛を主訴とし、X線検査において多くの患者に骨折や骨粗鬆症などの溶骨性変化を認める病態で、その診断には従来から SPE 法や IEP 法、あるいは IFE 法などが用いられている。しかし、非分泌型多発性骨髄腫の診断には、これら電気泳動法だけでは困難である。非分泌型は多発性骨髄腫患者の約3%を占める病型で、骨病変を含む臓器障害が存在し、骨髄中には単クローン性の形質細胞が10%以上存在するにもかかわらず血清あるいは尿中に IFE 法で M 蛋白を認めない。Drayson ら⁸⁾は、非分泌型多発性骨髄腫の2/3の患者で血清 FLC の測定が診断に有用であったと報告している。

2. BJP 型多発性骨髄腫

多発性骨髄腫の約13%は BJP 型であるといわれているが⁹⁾、多くの場合、BJP は低分子で尿中に排

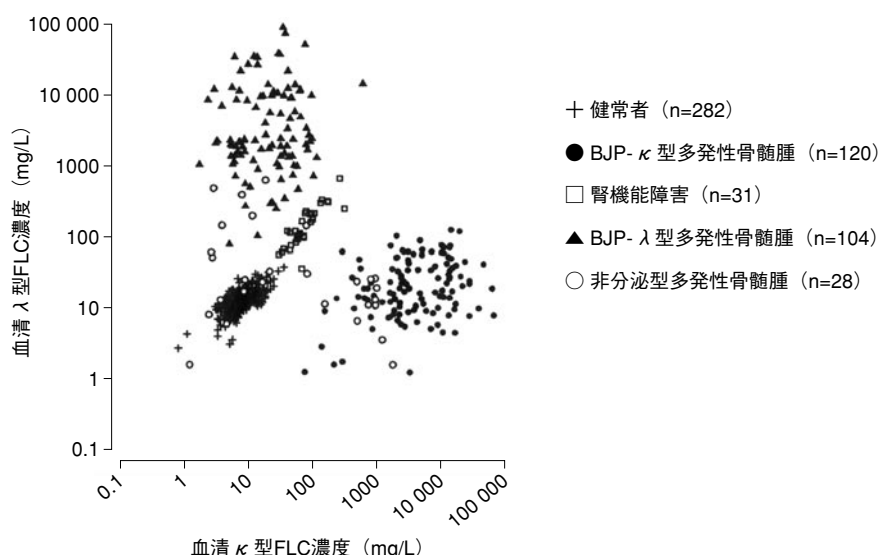


図3 健常者と多発性骨髄腫患者における血清 FLC 値の分布 (文献7から引用)

健常者と腎機能障害患者においては κ/λ 比が基準範囲内に分布しているが、多発性骨髄腫患者における κ/λ 比は異常値を示す。

泄され血中 BJP 量は微量であるため、通常の SPE 法での検出は難しい。したがって、BJP 型多発性骨髄腫の診断では、尿を検査材料とし煩雑な濃縮操作が必要となる。さらに、BJP 濃度が微量になってくると IEP 法でも検出できないことが多い。Abraham ら¹⁰⁾ は、血清 FLC 量と尿中 M 蛋白量には強い相関がみられると報告している。すなわち、血清 FLC 量の測定は BJP 型多発性骨髄腫の病勢評価に有用であると考えられる。一方、FLC の産生が 10～30g/day 以下で腎機能が正常の場合、尿中 FLC は検出されないため、尿中 FLC 濃度測定の意義は乏しいという報告¹¹⁾ もある。

3. AL アミロイドーシス

AL アミロイドーシスは、単クローン性 FLC あるいはその断片が血管外へ漏出し、アミロイド変性したものが心臓、腎臓、肝臓などの全身諸臓器に蓄積して不可逆性の機能障害をきたす疾患で、M 蛋白血症の約 10% を占め、診断からの平均余命は約 1 年と予後は極めて悪い。アミロイドの原因となる FLC は、多くの場合に骨髄中の異常形質細胞から産生されると考えられている。しかし、多発性骨髄腫とは異なり、その量は通常微量であるため IFE 法を用いても検出できないことが多い。Bradwell ら¹²⁾ は、IFE 法により血清および尿中に M 蛋白が検出できなかった 86% の AL アミロイドーシス患者に FLC 値の異常が見られたことから、FLC 測定法の高感度が AL アミロイドーシスの診断に有用であると報告している。

4. MGUS

MGUS は M 蛋白血症の 56% を占める病型で臓器障害を認めず、骨髄における形質細胞 10% 未満、血清 M 蛋白量 3g/dL 未満と定義され、無症候性骨髄腫と区別されている。Kyle ら¹³⁾ による大規模住民調査では、50 歳以上の 3.2%、70 歳以上の 5.3% が MGUS と診断されている。また、MGUS の患者は年 1% の割合で多発性骨髄腫、悪性リンパ腫、アミロイドーシス、慢性リンパ性白血病、あるいは形質細胞腫へ進展するという¹⁴⁾。また、 κ/λ 比に異常のある MGUS 患者は、異常のない患者に比べ悪性疾患への進展リスクが高いことから、MGUS における FLC、 κ/λ 比測定には有用性があると報告¹⁵⁾ している。

V. 疾患モニタリングにおける有用性

患者病態の動的把握のためには、指標となる血清成分の半減期が重要なファクターとなる。例えば、レチノール結合蛋白やトランスサイレチンの半減期はそれぞれ 0.5 日、1.9 日と短いため、栄養状態をリアルタイムに評価する栄養アセスメント蛋白として利用されている。これに対し、多発性骨髄腫の病勢評価および治療効果判定に利用されている M 蛋白の半減期は、IgG で 21 日、IgA で 6 日、もっとも短い IgD で 3 日であるため、治療効果の短時間での判定評価は難しい。その点、血清 FLC の半減期は κ 型 FLC で 2～4 時間、 λ 型 FLC で 3～6 時間と極めて短い¹⁶⁾ ことから、多発性骨髄腫の疾患モニタリングとしての有用性が検討されている。Junghans ら¹⁷⁾ は、IgG- κ 型 MM 患者の治療による血清 IgG と血清 κ 型 FLC の経時的変化を調べたところ、 κ 型 FLC の増加と減少に遅れて IgG の増加と減少が起こると報告している。同様に、Mösbauer ら¹⁸⁾ は、FLC の減少が IFE 法での M 蛋白陰性化より 128 日早期に認められ、再発時は IFE 法での M 蛋白陽性化より 98 日前に FLC の増加を認めたことから、M 蛋白血症での疾患モニタリングとして、血清 FLC の測定には有用性があると報告している (図 4)。

VI. 予後予測因子としての有用性

血清 FLC の高値 (75mg/dL 以上) 例は、 $\beta 2$ ミクログロブリン高値 (3.5mg/L 以上)、骨髄形質細胞数増加 (30% 以上)、クレアチニン高値 (2mg/dL 以上)、LDH 高値 (190U/L 以上) と相関すると報告¹⁹⁾ している。さらに、治療前の高 FLC 値患者で、治療によって急峻な FLC の低下をきたす例は予後不良¹⁹⁾ であったという。また、Dispenzrei ら²⁰⁾ は、自家末梢血幹細胞移植を行った AL アミロイドーシスの患者において、FLC 高値 (≥ 152 mg/L) 群は FLC 低値 (< 152 mg/L) 群に比べ、明らかに生存率が低いとしており (図 5)、アミロイドーシスの予後予測因子とし FLC の有用性が示唆されている。

また、予後予測因子として κ/λ 比の有用性を示唆する報告もある。Dingli ら²¹⁾ は孤立性形質細胞腫患者の 47% に κ/λ 比の異常を認め、5 年、10 年、

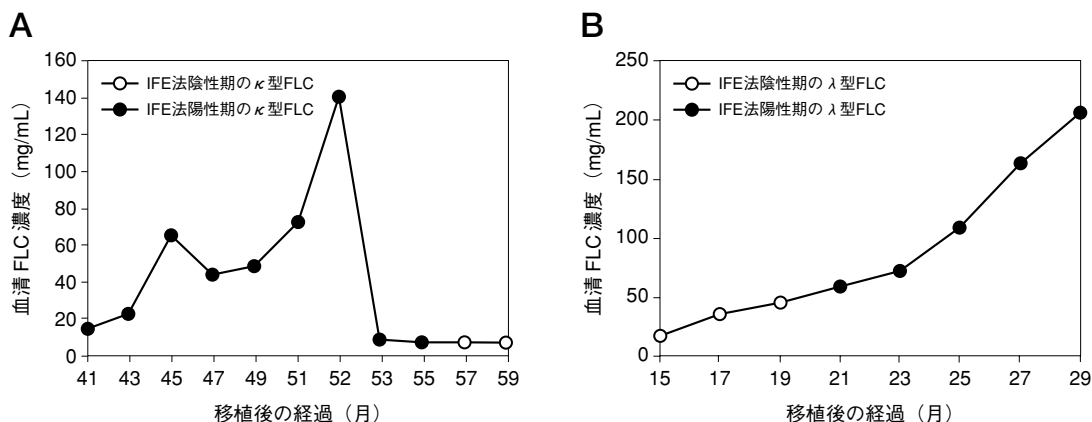


図4 血清FLCによる疾患モニタリングの有用性 (文献18から引用)

- A: IgG-κ型多発性骨髄腫の経過観察中にIFE法でM蛋白が陰性になった症例における血清FLC値の推移
- B: BJP-λ型多発性骨髄腫の経過観察中にIFE法でM蛋白が陽性になった症例における血清FLC値の推移

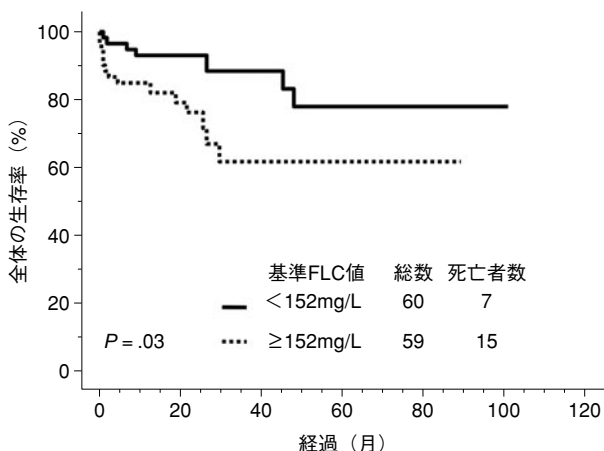


図5 血清FLCの予後予測因子としての有用性 (文献20から引用)

自家末梢血幹細胞移植を実施したALアミロイドーシスの患者をFLC高値群 (≥152mg/L) とFLC低値群 (<152mg/L) とに分類したときの群別生存率推移

15年の進展率および死亡率は、いずれも血清κ/λ比正常群に比べ、κ/λ比異常群が有意に高いという。さらに、Rajkumarら¹⁵⁾は、MGUS患者の予後予測因子としてのκ/λ比の有用性を報告している。すなわち、MGUS患者の33%はκ/λ比に異常を認め、κ/λ比正常群より有意に多発性骨髄腫やその類縁疾患への進展率が高く、κ/λ比正常群の10年後、20年後の進展率がそれぞれ5.3%、12.6%であるのに対し、κ/λ比異常群では16.7%、35%であったという。

おわりに

FLCは半減期が短く、治療に対する反応が早いことから、欧米では、一般的な検査法として多発性骨髄腫やその類縁疾患の診断だけでなく、治療効果の判定やモニタリングなどに広く用いられている。わが国においては、その認知度が低く欧米に後れを取っていたが、保健適用をうけ、FLC、κ/λ比に対する臨床評価は大きく変わろうとしている。FLC測定法は、従来活用されてきたIFE法やIEP法に比べ迅速性、鋭敏度、定量性などにおいて優れている。しかしながら、多発性骨髄腫患者でもFLC、κ/λ比に異常を認めない例が存在すること、M蛋白血症でもH鎖のみが単クローン性に増殖するH鎖病ではFLC、κ/λ比に異常を認めないことなどから、これらのような病態には、IFE法やIEP法などの電気泳動分析法が必要不可欠である。したがって、日常診療におけるM蛋白血症の鑑別診断は、FLC、κ/λ比の測定結果だけから判断することなく、従来の電気泳動分析法を組み合わせ総合的に判断すべきと思われる。

文献

- 1) Dispenzieri A, Kyle RA, Merlini G, et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. International Myeloma Working Group guidelines.

- Leukemia. **23** (2) : 215-224, 2009.
- 2) Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, et al. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem.* **47** (4) : 673-680, 2001.
 - 3) Murata K, Clark RJ, Lockington KS, et al. Sharply increased serum free light-chain concentrations after treatment for multiple myeloma. *Clin Chem.* **56** (1) : 16-18, 2010.
 - 4) Katzmann JA, Clark RJ, Abraham RS, et al. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains : relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin Chem.* **48** (9) : 1437-1444, 2002.
 - 5) 島崎千尋, 村上博和, 澤村守夫, 他. 単クローン性 γ グロブリン血症における血清遊離軽鎖測定 of 臨床的有用性. *臨床血液.* **51** : 245-252, 2010.
 - 6) Nowrouzian MR, Brandhorst D, Sammet C, et al. Serum free light chain analysis and urine immunofixation electrophoresis in patients with multiple myeloma. *Clin Cancer Res.* **11** (24) : 8706-8714, 2005.
 - 7) Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, et al. Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma. *Lancet.* **361** (9356) : 489-491, 2003.
 - 8) Drayson M, Tang LX, Drew R, et al. Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood.* **97** (9) : 2900-2902, 2001.
 - 9) Shimizu K, Nagura E, Takatsuki K; Japan Myeloma Study Group. Management of patients with multiple myeloma in Japan: data of 1,383 patients from 16 hospitals and 1 treatment group. *Leuk Lymphoma.* **45** (12) : 2465-2469, 2004.
 - 10) Abraham RS, Clark RJ, Bryant SC, et al. Correlation of serum immunoglobulin free light chain quantification with urinary Bence Jones protein in light chain myeloma. *Clin Chem.* **48** (4) : 655-657, 2002.
 - 11) Pratt G. The evolving use of serum free light chain assays in haematology. *Br J Haematol.* **141** (4) : 413-422, 2008.
 - 12) Bradwell AR. Free Light Chain Normal Ranges and Reference Intervals. In : Bradwell AR, editor. *Serum Free Light Chain Analysis.* 4th edition. The Binding Site Ltd. 39-46, 2006.
 - 13) Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med.* **354** (13) : 1362-1369, 2006.
 - 14) Kyle RA, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Br J Haematol.* **134** (6) : 573-589, 2006.
 - 15) Rajkumar SV, Kyle RA, Therneau TM, et al. Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood.* **106** (3) : 812-817, 2005.
 - 16) Wochner RD, Strober W, Waldmann TA. The role of the kidney in the catabolism of Bence Jones proteins and immunoglobulin fragments. *J Exp Med.* **126** (2) : 207-221, 1967.
 - 17) Junghans RP, Anderson CL. The protection receptor for IgG catabolism is the beta2-microglobulin-containing neonatal intestinal transport receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **93** (11) : 5512-5516, 1996.
 - 18) Mösbauer U, Ayuk F, Schieder H, et al. Monitoring serum free light chains in patients with multiple myeloma who achieved negative immunofixation after allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica.* **92** (2) : 275-276, 2007.
 - 19) van Rhee F, Bolejack V, Hollmig K, et al. High serum-free light chain levels and their rapid reduction in response to therapy define an aggressive multiple myeloma subtype with poor prognosis. *Blood.* **110** (3) : 827-832, 2007.
 - 20) Dispenzieri A, Lacy MQ, Katzmann JA, et al. Absolute values of immunoglobulin free light chains are prognostic in patients with primary systemic amyloidosis undergoing peripheral blood stem cell transplantation. *Blood.* **107** (8) : 3378-3383, 2006.
 - 21) Dingli D, Kyle RA, Rajkumar SV, et al. Immunoglobulin free light chains and solitary plasmacytoma of bone. *Blood.* **108** (6) : 1979-1983, 2006.