ヒト用ラジオイムノアッセイによる各種動物の血清中 α -フェトプロテイン値の測定

柴田 浩* 川上 初子*

(昭和 55 年 12 月 19 日受理)

Measurement of Serum α -Fetoprotein Levels in Several Species of Animals by
Radioimmunoassay for Human α -Fetoprotein

HIROSHI SHIBATA and HATSUKO KAWAKAMI

(Laboratory of Veterinary Pharmacology, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University)

SUMMARY

Serum α -fetoprotein (AFP) levels in several species of animals were measured by the polyethylene glycol method of radioimmunoassay for human AFP. The serum AFP level was less than 15 ng/ml in normal adult dogs, cats, cows, goats, horses, mice, rats, guinea pigs, rabbits, chickens and human beings.

In newborn puppies, kittens, and calves it was high at birth and decreased rapidly within 24 hours and then gradually with an advance in age. In newborn rats and chicks it was low at birth and decreased gradually with an advance in age.

No significant changes occurred in the maternal serum AFP level of normal pregnant dogs and cows in any stage of pregnancy. Radioimmunoassay seemed to be available for investigation of changes of AFP level in animals in which AFPs were strongly cross-reactive with the anti-human AFP.

要 約

ポリエチレングリコール法を用いたヒト用ラジオイムノアッセイ (radioimmunoassay, 以下 RIA) 系により各種動物の血清中の α -フェトプロテイン (α -fetoprotein, 以下 AFP) 値を測定した結果, 次のような成績を得た.

1. イヌ, ネコ, ウシ, ヤギ, ウマ, マウス, ラット, モルモット, ウサギ, ニワトリおよびヒトの正常成体の血清中 AFP 値は, いずれも 15 ng/ml 以下であった.
2. イヌ, ネコ, ウシ, ラットおよびニワトリの出生直後からの新生児の血清中 AFP 値の消長は, イヌ, ネコ, ウシでは出生直後は高値を示すが, 24 時間以内に急激に減少し, その後は緩やかに減少した. いっぽう, ラット, ニワトリでは出生直後から値は低く, その後は急激な変化をみせず徐々に減少した.
3. イヌおよびウシの正常妊娠母体の血清中 AFP 値は, 各妊娠段階において有意な変化を示さなかった.
4. 本研究に使用した RIA は, 抗ヒト AFP と交叉反応性の高い動物の AFP の動態を調べる研究に利用できると思われた.

胎児細胞では産生されるが, 正常成人ではほとんど産生されず, ある種の癌化細胞で再び合成出現してくる蛋白を癌胎児性蛋白 (carcino-embryonic proteins) という. そのなかでも α -フェトプロテイン (α -fetoprotein, 以下 AFP と略す) は, 原発性肝癌をはじめとする肝疾患の診断や治療効果の判定, 異常妊娠の診断など, その臨床的価値が認められ, 日常検査にとり入れられるようになった⁵⁾. 最近, 獣医領域でもウシやブタの AFP について調べられ, 胎児期との関係などが明らかにされているが^{1,2,8,10)}, まだこの方面の研究は少ない.

血清中に微量に存在する AFP を測定するには, 現在のところ, ラジオイムノアッセイ (radioimmunoassay, 以下 RIA と略す) がすぐれている. 各種動物の AFP の RIA 系を確立するには, それぞれの動物について, AFP の精製, 特異抗体の作製, 放射性同位体による標識などの困難な操作を必要とする. いっぽう, AFP は, 動物種により種特異的な抗原決定基とともに, 各動物に共通の抗原決定基を有することが知られている^{12,13,14,15)}. そこで, 本研究では人医面で用いられている AFP の RIA を利用することとし, 各種動物の血清中の AFP 値について検討した.

* 山口大学農学部 (山口市吉田1677-1)

1. 実験材料および方法

イヌ (雑種), ネコ (日本猫), ウシ (ホルスタイン種), ヤギ (ザーネン種), ウマ (サラブレッド種), マウス (ddY 系), ラット (ウィスター系), モルモット (ハートレイ系), ウサギ (日本白色種), ニワトリ (白色レグホーン種) およびヒトの正常成体の血清中 AFP 値を求めた。また, イヌ, ネコ, ウシ, ラットおよびニワトリについては, 出生直後から経時的に採血し, 新生児の血清中 AFP 値の消長を調べた。さらに, イヌおよびウシについては, 妊娠各週齢の母体の血清中 AFP 値を測定した。供試動物数は, それぞれの表に示す。

AFP は, 著者ら¹⁸⁾がすでにその測定方法について基礎的検討を行なった, ダイナボット RI 研究所製のポリエチレングリコール法を用いた RIA により測定した。本法における抗 AFP は抗ヒト AFP ヤギ血清, 標準 AFP はヒト AFP である。測定は三重測定を原則とし, 各種動物の AFP 値はヒト AFP 相当値として表わした。

2. 実験成績

1) 正常成体の血清中 AFP 値

各種動物の血清中の AFP 値は表 1 に示すように, いずれの動物でも 15 ng/ml 以下であった。

2) 出生後の新生児血清中 AFP 値の消長

出生直後からの血清中 AFP 値の消長は, 表 2 に示すようになった。

(1) イヌ: 出生直後 113.6±5.8 ng/ml あった AFP 値は急激に減少し, 24 時間後には 57.0±10.7 ng/ml となった。以後 2 週齢まではほとんどそのレベルを維持し, 2 週齢から 2 カ月齢まで緩やかに減少し, 12.3±1.9 ng/ml になったが, その後は徐々に減少して, 9 カ月齢

表 1 各種動物の正常成体血清中 α -fetoprotein 値

動物種	動物数	α -fetoprotein (ng/ml)	
		平均値±SD	範囲
イヌ	14	4.6±2.6	2.0~13.2
ネコ	5	4.8±1.3	3.2~7.2
ウシ	20	1.2±0.9	0.5~4.2
ヤギ	14	1.9±1.2	1.2~7.2
ウマ	3	2.0±1.4	1.2~4.0
ニワトリ	6	0.9±0.8	0.5~3.2
マウス	6	1.4±0.7	0.5~4.0
ラット	6	1.5±0.8	0.5~4.2
モルモット	6	1.4±0.8	1.2~4.2
ウサギ	8	2.9±1.9	1.0~9.0
ヒト	11	3.4±1.6	2.2~11.2

(8.6±3.1 ng/ml) でほぼ成犬のレベルになった。なお, 生後 5 週齢まで雌雄の値について比較したが, 両者に有意な差は認められなかった。

(2) ネコ: 出生直後 109.0±13.0 ng/ml あった AFP 値は, 24 時間後には 39.0±5.3 ng/ml と急減し, その後は 2 週齢までそのレベルを保った。その後徐々に減少し, 5 カ月齢で 8.7±1.7 ng/ml となった。

(3) ウシ: 出生直後から 24 時間後までに, 138.8±83.2 ng/ml から 24.7±11.8 ng/ml と急激に減少したが, その値はイヌおよびネコと異なり, 個体間の差が大きかった。2 日齢以後は大きな変動はなく徐々に減少し, 個体間の差は小さくなった。

(4) ラット: 出生直後は 13.3±4.7 ng/ml と低く, 24 時間後もその値はほとんど変化なかった。1 週齢では 7.8±2.3 ng/ml となり, 以後 2 カ月齢まで徐々に減少した。

(5) ニワトリ: 孵化 12 時間以内では, 7.0±4.1 ng/ml であったが, 24 時間後には 3.5±2.1 ng/ml と

表 2 イヌ, ネコ, ウシ, ラットおよびニワトリの新生児血清中 α -fetoprotein 値の消長

年 齢	α -fetoprotein (ng/ml, 平均値±SD)				
	イヌ (8)*	ネコ (4)*	ウシ (4)*	ラット (6)*	ニワトリ (6)*
日 齢					
0	113.6±5.8	109.0±13.0	138.8±83.2	13.3±4.7	7.0±4.1
1	57.0±10.7	39.0±5.3	24.7±11.8	12.0±2.1	3.5±2.1
2	50.4±11.2	—	9.0±6.2	—	3.0±1.6
3	52.4±9.3	34.5±8.4	8.8±2.8	—	—
4	50.4±8.9	—	8.6±3.0	8.5±2.4	3.3±1.7
週 齢					
1	53.1±4.6	34.5±3.6	7.0±3.0	7.8±2.3	2.7±1.4
2	53.1±5.1	32.0±4.3	6.5±2.1	7.2±1.8	2.3±0.8
月 齢					
1	35.1±5.2	—	2.0±1.0	5.5±1.5	1.8±0.8
2	12.3±1.9	16.8±1.3	—	2.8±1.2	0.8±0.4
5	11.6±1.7	8.7±1.7	1.5±0.8	—	—

*: () 内数字は動物数を示す

表3 イヌの妊娠母体血清中の α -fetoprotein 値

妊娠週齢	動物数	α -fetoprotein (ng/ml) 平均値 $\pm$ SD
非妊娠	4	5.5 $\pm$ 3.4
1	4	5.3 $\pm$ 3.9
2	4	6.8 $\pm$ 5.4
3	4	5.5 $\pm$ 3.6
4	4	5.3 $\pm$ 3.6
5	4	5.3 $\pm$ 3.9
6	4	5.0 $\pm$ 3.0
7	4	8.5 $\pm$ 6.2
8	4	6.0 $\pm$ 4.0
出産直後	4	6.0 $\pm$ 4.3

表4 ウシの妊娠母体血清中の α -fetoprotein 値

妊娠週齢	動物数	α -fetoprotein (ng/ml) 平均値 $\pm$ SD
非妊娠	15	0.9 $\pm$ 0.5
1~5	15	1.1 $\pm$ 0.7
6~10	11	1.3 $\pm$ 0.7
11~15	18	1.7 $\pm$ 1.0
16~20	19	1.6 $\pm$ 1.0
21~25	10	1.2 $\pm$ 0.7
26~30	10	1.3 $\pm$ 1.0
31~35	12	1.1 $\pm$ 0.6
36~40	9	1.9 $\pm$ 0.9
出産直後	9	1.6 $\pm$ 0.8

減少し、4日齢までほぼそのレベルを維持した。その後漸次減少し、2カ月齢で成鶏とほぼ同じレベルに達した。

3) 正常妊娠時における母体血清中AFP値の動態

イヌおよびウシについて妊娠中の母体の血清中AFP値を調べたところ、両者とも各妊娠週齢、出産直後において、非妊娠時のレベルと比較して有意な変動は認められなかった(表3, 4)。

3. 考 察

本研究では、人医面で用いられているAFPのRIAを利用し、各種動物の正常成体の血清中AFP値、出生後の新生児の血清中AFP値の消長および妊娠中の母体血清中AFP値の動態について調べた。

AFPは、発見当初は正常成人には存在しないといわれていたが、その後、RUOSLAHTIら¹⁶⁾の二抗体法を用いたRIAをはじめとする数々の測定方法の開発に伴い、微量ではあるが正常成人にも存在することが明らかとなった。ポリエチレングリコール法を用いたRIAによる研究として、渡辺ら¹⁹⁾は正常成人の血清中のAFP値は3.8 $\pm$ 2.1(範囲0.5~11.3) ng/ml、15 ng/ml以上がAFP陽性例であると報告している。本研究でのヒト11例の平均値は3.4 $\pm$ 1.6 ng/mlとなり、前記の報告に近

い値が得られた。ヒト以外の動物については、いずれの動物でも15 ng/ml以下であった。本研究の測定にはヒトAFPのRIAを用いており、抗ヒトAFPとの交叉反応性を考慮すると、各動物のAFPの実際の値は今回の測定値よりも高いことが考えられる。

出生直後からのAFP値の消長をみると、イヌ、ネコおよびウシでは、いずれも出生直後は高値を示し、その後は急激に減少する傾向を示した。いっぽう、ラットおよびニワトリでは出生直後から値は低く、その後徐々に減少する傾向を示した。各種動物によるAFP値の違いは、主として今回使用した抗ヒトAFPとの交叉反応性の違いによると思われるが、いっぽう、出生時の新生児の発生学的な成熟の程度の違い²⁰⁾も考えられる。また、ウシでは出生直後の値に大きな個体差が認められたことについては、阿部ら³⁾のウシ出生時のAFP量と在胎日数の間に有意の負の相関があるという報告があり、在胎日数の違いから生じたものと考えられる。

ヒトの妊婦血清中には通常よりも高値のAFPが検出される^{7, 10)}。また、異常妊娠、たとえば無脳児⁴⁾、先天性ネフローゼ¹⁷⁾、双胎妊娠⁷⁾では正常妊娠よりもさらに高いAFP値を示すと報告されている。妊娠血清中のAFPの由来は、胎児血清からの移行であるとされている。したがって、動物においても妊娠母体血清中のAFP値は上昇する可能性が考えられるが、本研究のイヌおよびウシではそれがみられなかった。これはヒトAFPのRIAを用いたためとも考えられるが、むしろ動物種により胎児から母体へのAFPの胎盤通過性が異なることによると考えられる。木内¹⁰⁾も妊娠牛で血清中にAFPをみることができなかったが、アカバネウイルスを実験的に感染させた妊娠牛では胎盤通過性に変化が起こり、血清中にAFPを検出したと報告している。

西ら^{13, 14)}は、抗ヒトAFPニワトリ血清を抗体として、イヌ、ウサギ、マウスおよびラットのAFPをMANCINI法¹¹⁾で定量的に検討した結果、その交叉反応性は、ヒトAFPを100%とすると、それぞれ71%, 43%, 39%, 26%であることを明らかにした。抗ヒトAFP血清を用いて測定した本研究でも出生直後のイヌ、ネコ、ウシ、ラットおよびニワトリで有意のAFP値が得られ、これらの動物のAFPは抗ヒトAFPと交叉反応すること、そしてその交叉反応性はイヌ、ネコで比較的高く、ラット、ニワトリで低いと思われた。

人医面ではRIAによるAFPの測定が臨床面に盛んに応用されている。たとえば、血清中AFPの測定による原発性肝癌の診断、羊水中AFPの測定による胎児の先天性疾患の予知などである⁵⁾。これに対し、家畜におけるAFPの研究は極めて少なく、臨床面への応用はまったくなされていない。各種動物についてそれぞれのRIAあるいはその他の方法によるAFPの微量測定法

を開発することが望ましいが、いっぽう、抗ヒト AFP と交叉反応性の高い動物については、AFP の動態を調べる研究では本研究に用いたヒト AFP の RIA が利用できると思われた。動物種の異なる AFP を測定に用いた例としては、阿部ら²⁾は抗ウシ AFP でブタ AFP を、FORRESTER ら³⁾は抗ヒト AFP でサル AFP を測定し、AFP の動態を調べている。したがって、今後の動物 AFP の研究としては、各種動物それぞれの RIA あるいはその他の有用な測定方法を確立することが必要であるが、いっぽう、AFP の動態を調べる研究では、交叉反応性の高い他の動物の RIA などを利用することも考えられよう。各種動物における AFP と疾病・妊娠などの関係が明らかにされれば、AFP の測定は人医面と同様に獣医臨床領域においても大いに応用されるであろう。

稿を終わるにあたり、血清試料の採取にご協力いただいた山口大学家畜内科学・外科学・病理学の各研究室の方々、船方牧場の関係者の皆様に謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) ABE, T., KOMATSU, M., TAKEISHI, M., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 38, 339~345 (1976).
- 2) 阿部恒夫, 大石孝雄, 小松正憲, ほか: 日畜会報, 48, 629~633 (1977).
- 3) 阿部恒夫, 居在家義昭, 菅 徹行, ほか: 家畜繁殖誌, 24, 135~136 (1978).
- 4) BROCK, D.J.H.: *Carcino-Embryonic Proteins*, Vol. I, LEHMANN, F. G., editor, 199~207, New York, Elsevier/North-Holland Biomedical Press (1979).
- 5) 遠藤康夫: 生物物理化学, 20(3) 217~220 (1970).
- 6) FORRESTER, P. I., LAI, P.C.W., NANCOCK, R. L., et al.: *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.*, 57, 57~61 (1978).
- 7) 日野陸夫, 西 信三, 山下幸紀: 医学のあゆみ, 82, 512~513 (1972).
- 8) KARLSSON, B. W.: *Life Sci.*, 11, 169~176 (1972).
- 9) 笠島慶樹: 住友医誌, 2, 23~26 (1975).
- 10) 木内明男: 家畜衛研会報, 6, 26~34 (1977).
- 11) MANCINI, G., CARBONARA, A. O., HEREMANS, J. F.: *Immunochemistry*, 2, 235~254 (1965).
- 12) NISHI, S., WATABE, H., HIRAI, H.: *J. Immunol.*, 109, 957~960 (1972).
- 13) NISHI, S., WATABE, H., HIRAI, H.: *Tumor Res.*, 8, 17~22 (1973).
- 14) NISHI, S., WATABE, H., HIRAI, H.: *Ann. New York Acad. Sci.*, 259, 109~118 (1975).
- 15) 西 信三: 生物物理化学, 19, 279~288 (1975).
- 16) RUOSLAHTI, E., SEPPÄLÄ, M.: *Nature (Lond.)*, 235, 161~162 (1972).
- 17) SEPPÄLÄ, M.: *Carcino-Embryonic Proteins*, Vol. I, LEHMANN, F. G., editor, 191~198, New York, Elsevier/North-Holland Biomedical Press (1979).
- 18) SHIBATA, H., OBARA, J.: *Bull. Fac. Agric. Yamaguchi Univ.*, 31, 41~53 (1980).
- 19) 渡辺清次, 筒井一哉: 現代医療, 9, 381~387 (1977).
- 20) ZIZKOVSKY, V., MASOPUST, J., PROKES, J.: *Protides Biol. Fluids*, 18, 49~54 (1971).

動物用ワクチンの概要とその正しい使い方 (XVII)

18. 牛 疫 ワ ク チ ン

花 木 琢 磨*

1. 牛疫の現状と予防注射

牛疫は牛疫ウイルスに起因する、偶蹄類動物の急性、熱性伝染病で、家畜伝染病予防法で法定家畜伝染病に指定されている。その伝染性および致死性は家畜伝染病中で随一とされ、とくに牛および水牛では、患者はほとんど死亡するため、最も恐れられているものの一つである。

本病の発生は古く、紀元前にさかのぼるとされており、世界各地で大流行を繰り返していた。

その後、種々のワクチンの開発・普及、殺処分を含む強力な防疫措置などによって流行地域は著しく縮小され、現在ではインドおよび西南アジアの一部に小流行を残すだけとなった。

わが国では 1872 年に初めて発生し、翌年には 2 府 20 県で 40,000 頭以上の牛が冒されたが、最終記録は 1924 年で、以後の発生はみられていない。

わが国の牛疫発生はアジア大陸からのウイルス侵入に起因しており、その防除は患者の徹底した殺処分と、厳重な海港検疫の励行により、なしとげられたものであった。

牛疫ウイルスは Paramyxoviridae の Morbillivirus 属

* 農林水産省動物医薬品検査所 (東京都分寺市戸倉 1-15-6)