α -フェトプロテイン(AFP)“栄研”RIAキットの臨床経験†

遠 藤 康 夫

東京大学医学部第一内科 113 東京都文京区本郷7-3-1

1977年11月1日受理

1. 緒 言

α -フェトプロテイン(AFP)を指標とする免疫学的方法は、現在肝細胞がんおよび胎児性がんの特異的診断法として広くルーチンに用いられてきている。AFPは胎生期に特異的に存在する血清タンパクであって健康成人血中には通常存在しない。このものが上記疾患のさいに特異的かつ高率に出現することがソ連のアベレフ¹⁾によって発見され、その後世界各国で広く追試が行われ有用性が確かめられたわけである。最初用いられたAFPの検出法は、寒天ゲル内二重拡散法および一元免疫拡散法であった。これらの方法によると肝細胞がんにおける陽性率は約70%であり、30%前後の陰性例が存在した^{2),3)}。これらが、はたして真にAFP陰性なのか、あるいは測定法の感度が低いために陰性となっているのが問題となり、測定感度の向上のため種々の方法が考案された。1971年西ら⁴⁾、石井ら⁵⁾によってAFPが精製されるに及んで、AFPのラジオイムノアッセイ法が考案され微量の血中AFP(10 ng/ml 前後)をも検出することが可能となり、肝がんの早期発見の可能性が増したしだいである。1972年来、われわれもAFPのラジオイムノアッセイを行ってきたが、今回、栄研化学株式会社製 α -フェトプロテイン・ラジオイムノアッセイ・キットを試用検討する機会を得たのでわれわれの測定法と比較検討した成績についてのべる。

2. 測定法

1) 栄研化学社製 α -フェトプロテイン(AFP)栄研 Lot No. I-LLII 使用

(a) 試薬の調製

抗AFP血清は凍結乾燥品に10.5ml蒸留水を加え溶解した。¹²⁵I-AFPは凍結乾燥品に5.4ml蒸留水を加え

溶解した。第2抗体は凍結乾燥品に5.4ml蒸留水を加え溶解した。標準AFP溶液(0~160 ng/ml)はそのまま使用。なお160 ng/ml以上の値を示した被検血清については通常の $\frac{1}{10}$ 量(10 μ l)あるいは生食水希釈液(適当濃度に希釈しその10 μ l)を用い、それにAFP陰性の正常ブール血清100 μ lを加えた。

(b) 操作

RIA用小試験管に被検血清あるいは、標準血清100 μ lを入れ、これに抗AFP血清200 μ lを加え攪拌、それに¹²⁵I-AFP 100 μ lを加え攪拌、室温で24時間反応させる。その後第2抗体100 μ lを加え、室温で20分反応させたのち、3,000rpm、30分間遠沈し、上澄みを吸引除去し、沈さをウエル型シンチレーションカウンターにかけ放射能を測定した(B)。

なお、¹²⁵I-AFP 100 μ lのみのものについて同時に総放射能(T)を測定した。測定はダブルで行った。それぞれについてB/T%を求め、標準曲線にあてはめて、被検血清のAFP量を算定した。

急を要する場合には室温3時間で第1次反応を終了させた。

2) 比較のため、通常われわれの用いているRIA法を同時に行った。測定は二抗体法で、詳細は既報のごとくである⁶⁾。

3. 成績ならびに考案

1) 特異性および測定範囲について

AFP“栄研”ラジオイムノアッセイ・キットの特異性を検討する目的で下記実験を行った。

(i)血清(われわれの測定法でAFP 10 ng/ml以下のもの)に精製AFPを添加し、AFP“栄研”で測定した。その結果10 ng/mlから200 ng/mlまでdose-response curveを示した(Fig.1)。

精製アルブミン(市販)あるいはラットAFPを添加したものでは、dose-responseはみられなかった。ヘパトーマ血清を2倍、4倍、8倍、と希釈したものについてはdose-responseが認められた。

以上によりヒトAFPに対する特異性は高いものと

† Determination of α -fetoprotein (AFP) by “Eiken” RIA Kit. Yasuo ENDO: First Department of Internal Medicine, Tokyo University Medical School, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan.

Fig. 1 Specificity of AFP Kit "Eiken"
(assayed with AFP "Eiken").

考えられる。

キット添付の標準血清は0~160 ng/ml の範囲である。この範囲のうち、今回の測定では10 ng/ml~160 ng/ml に関してはおよそ直線性に近いカーブ(標準曲線)が得られた (Fig.1)。従ってこの範囲内での測定には、とくに支障はない。

160 ng/ml 以上のものについては、

- 被検血清を10 μ l とり測定する (160~1,600 ng/ml の場合)。
- 被検血清を生食水で希釈、その10 μ l をとり測定する (1,600 ng/ml 以上の場合)。

の2通りの再検を行った。いずれの場合も測定系における血清タンパク量をおよそ一定にする目的で馬血清100 μ l (または正常ヒト血清100 μ l, AFP 10 ng/ml 以下をチェックずみのもの) を添加した。

この方法では測定の再現性はきわめて良好であった。

(ii) 測定系に及ぼす温度と時間(とくに第1次反応系のインキュベーション・タイム)について検討した (Fig.2)。室温 (20~25°C) と4°C とにおける比較では24時間アッセイでは著しい差はみられなかった。

一次反応の時間と B/T % の関係は Fig. 2 に示すごとくで反応は12時間でおおよそ終了するが、緊急時には3時間のインキュベーションでも、最終値には著しい影響(差)を与えないものと考えられた。

2) われわれの測定法と、AFP "栄研" 法とによる

測定値の比較

血清51サンプルについて AFP "栄研" 法による測定値とわれわれの方法による測定値との比較を行った。測定は同時に、ダブルで行った。結果は Fig. 3 に示すごとくで、AFP "栄研" 値のほうが、われわれの測定法によるものより若干低値にでる傾向を示すが、両者はきわめてよく相関しているものと考えられる。

3) 臨床成績

対象とした患者は Table 1 に示すごとく、原発性肝がん(肝細胞がんおよび胆管細胞がん) 23例を含む悪性腫瘍患者 117 例、肝炎、肝硬変を含む良性疾患患者 202 例に献血者血清 120 例計 439例である。

Table 2 に、AFP "栄研" により測定した各種疾患時の血中 AFP 値を陰

Fig. 2 B/T Ratio and reaction time.

性 (10 ng/ml 以下)、軽度増加 (11~100 ng/ml)、中等度増加 (101~10,000 ng/ml)、および高度増加 (10,000 ng/ml 以上) に大別して示した。高度増加例は、二重拡散法および一元免疫拡散法レベルでも陽性である。このような著明な AFP 増加は、肝細胞がんと胎児性がんにおいて認められ(それぞれ20例中12例、4例中2例)、他の疾患では認められなかった。原発性肝がん

Fig. 3 Correlation between assay-data at Tokyo Univ* and at Eiken Laboratory**.

* determined according to the method described in Gann Monogr. on Cancer Res. Vol. 14; 67 (Y. Endo, et al.)

** determined using AFP “Eiken”.

のうち、胆管細胞がんに関しては全例 AFP 値は 10 ng/ml 以下であった。

転移性肝がん例で時として高値の AFP を示す例が報告されているが、今回の調査例に関しては軽度増加を示した例が15例中4例にみとめられた。

Table 1

Diseases	Cases
Primary liver cancer	
hepatocellular carcinoma	
histologically confirmed	15
clinically diagnosed (scintigram, angiogram)	5
cholangiocellular carcinoma	3
Metastatic liver cancer	15
Embryonal cancer	4
Miscellaneous malignancies	
solid type (including gastric cancer)	61
leukemias, malignant lymphomas	14
Acute hepatitis (including fulminant hepatitis)	5
Chronic hepatitis	65
Liver cirrhosis	70
Miscellaneous benign diseases	62
Healthy adults	120
Total	439

良性疾患のうち、急性肝炎の2例、肝硬変の10例に中等度 (101~10,000 ng/ml) の AFP 増加を示すのがみられた。急性肝炎の2例は激症の経過をとったもので、その回復期に一過性に AFP 増加を示したものである (Table 3)。

Table 2 AFP in various diseases*

Diseases	No. of Cases	Serum AFP levels			
		-10	11-100	101-10,000	10,001-
Primary liver cancer					
hepatocellular carcinoma					
histologically confirmed	15	2	2	3	8
clinically diagnosed (scinti, angio)	5	0	0	1	3
cholangiocellular carcinoma	3	3	0	0	0
Metastatic liver cancer	15	11	4	0	0
Embryonal cancer	4	0	0	3	1
Malignant tumors (solid type)	61	55	6	0	0
Leukemia, Lymphoma	14	14	0	0	0
Hepatitis, acute (including fulminant)	5	2	1	2	0
chronic	65	49	16	0	0
Liver cirrhosis	70	35	25	10	0
Other benign diseases	62	62	0	0	0
Healthy adults	120	120	0	0	0
Total	439	353	54	19	13

* assayed with AFP “Eiken”

Table 3 Serum AFP in fulminant hepatitis (due to adriamycin)

T.S. 52 yrs male,	AFP in serum (ng/ml)
Sep. 29th 1976	33
Oct. 2nd 1976	2,000
5th	2,200
13th	1,900
18th	1,050
22nd	280

Determined on freeze-stored sera using AFP“Eiken” Kit.

肝硬変の症例ではその約50%に軽度ないし中等度の血中 AFP 増加がみられるが、その多くは400 ng/ml 以下で、100 ng/ml を常時示している肝硬変例から肝がんの発生がみられているので、定期的 AFP 測定により追跡するのが必要である。肝硬変の一時的悪化のさいにも血中 AFP が著しく増加し、時として1,000 ng/ml をこえることがある。このようなさいには肝がんが発生したのか否かとの鑑別が大切になってくるが、肝硬変の一時的悪化のさいには症状改善とともに、AFP の低下がみられるので、経時的測定により、肝がんの存在は否定しうることが多い。

以上、AFP “栄研” を用いた二抗体法 RIA による

臨床成績についてのべたが、本法は、従来より用いられている Dainabot 社キットあるいは、われわれの用いている方法と比較しても遜色のない優秀なキットと考えられる。また各試薬溶液に着色し、操作ミスを防ぐなどの細かい配慮もなされており、使用法も簡便である。

また緊急を要するさいには4時間ほどで結果をうるなど、実用向けの臨床試薬キットといえよう。ただ、測定範囲が0~160ng/ml と従来のものに比し幾分せまい点が難点といえるが、これも、希釈測定による再現性が高い点で十分カバーできると考えられる。

文 献

- 1) Abelev, G.I., et al.: *Transplanation*, 1, 174 (1963)
- 2) 遠藤康夫, 他: 肝臓, 10, 143 (1969)
- 3) 石井 勝, 他: 診療と新薬, 8, (7) 111 (1971)
- 4) 西 信三, 他: 免疫実験操作法別刷, p. 215 (1971)
- 5) 石井 勝, 他: 医学のあゆみ, 79, (2)77 (1971)
- 6) Endo, Y., et al.: *Gann Monogr. on Cancer Res.*, 14, 67 (1972)