〔シンポジウム：AFP 研究—その後の進展〕

AFP のレクチン結合性分析の臨床応用

遠 藤 康 夫

SUMMARY

Human AFP molecule has one asparagine-linked sugar chain. Recently, the difference in these sugar chain exists between several diseases, has been revealed. In order to study changes in these sugar chains, Con A, LCA and PHA-E4 lectins have been used. By Con A lectin-binding analysis of AFP, it was possible to distinguish HCC from YST and metastatic liver cancer, but impossible to differentiate HCC from liver cirrhosis. By LCA and PHA-E4 lectin-binding analyses of AFP, HCC was distinguished from liver cirrhosis in many cases. The increase of LCA or PHA-E4 bound AFP fraction strongly suggested HCC development in very near future in the patients with liver cirrhosis.

Key words: AFP, lectin-binding, HCC.

AFP は肝細胞癌やヨークザック腫瘍のさい特異的に血中に増加してくるためこれら疾患の診断指標として広く用いられてきている。

成人において著しい増加を示している場合には肝細胞癌であることが多いが、軽度の増加は肝硬変などにおいても観察される。これらの疾患のさいに出現する AFP と、肝細胞癌のさいの AFP に関しては、量的な点で区別することは困難であり、質的な面を含めての両者の鑑別が大切になってくる。日本においては肝硬変は肝細胞癌発生に関して、ハイ・リスクと考えられており、肝硬変患者についての AFP の定期的測定と画像診断による定期的観察により、早期の肝細胞癌が発見され早期治療をうけ、予後の延長がもたらされてきているのが現状である。

AFP は 590 個のアミノ酸よりなり、N 末端より数

えて 232 番目のアミノ酸の位置に 1 本のアスパラギン糖鎖を有している¹⁾。この糖鎖に関して、疾患による差の存在が報告されている^{2,3)}。これら AFP 糖鎖の差を、いくつかのレクチンとの結合性を利用して分析し、臨床的に AFP の質的面からの鑑別を行う試みを行ってきている^{4,5)}。これまでに得られた成績を、総括する。なお、タチナタマメ・レクチン (Con A) を用いた成績については、重複するが以前発表したものを使用しており⁶⁾、今回はレンズマメ・レクチン (LCA) およびインゲンマメ・レクチン (PHA-E4) を用いた成績による肝細胞癌の早期診断、予知を中心に報告する。

対象ならびに方法

対象は主として血中 AFP 増加を示す肝疾患患者およびヨークザック腫瘍患者である。とくに肝硬変・慢

Clinical application of lectin-binding analysis of AFP.

Yasuo Endo ; 東京都教職員互助会三楽病院

Correspondence address: Yasuo Endo, Sanraku Hospital, 2-5 Kanda Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101, Japan.
略号一覧: AFP, α -fetoprotein; Con A, Concanavalin A; LCA, Lens culinaris agglutinin; PHA-E4, Phytohemagglutinin; LCA (+), LCA bound AFP fraction exceeds 20% of total AFP; L3, LCA bound AFP; PHA-E4 (+), PHA-E4 bound AFP fraction exceeds 10% of total AFP; P4, PHA-E4 bound AFP; HCC, hepatocellular carcinoma; YST, yolk sac tumor.

第 45 回日本電気泳動学会総会・シンポジウム

図 1. 肝細胞癌発生をみた肝硬変例

血中 AFP 増加を示していた B 型肝炎硬変患者で、1986 年後半より血中 AFP の急増をみると、画像診断で腫瘍が発見され、TAE 後肝癌切除をうけた。凍結保存の血清についてのレクチン結合性分析から、腫瘍発生の 2 年以上前からレクチン結合パターンは肝細胞癌型を示していた。

図 2. 肝細胞癌発生をみない肝硬変例

血中 AFP 増加を示す C 型肝炎硬変患者で、血中 AFP は動揺をくりかえしながら推移している。レクチン結合性分析では、肝細胞癌型を示すことなく経過しており、画像診断上も腫瘍の存在をみとめていない。

図 3. 肝細胞癌発生をみた肝硬変例における AFP レクチン結合型分画の推移

血中 AFP 増加を示す肝硬変患者で、経過を追うにつれ L₃, P₄ 分画の増加がみられ、画像診断でも肝細胞癌の存在が確認された。

性肝炎患者についてはいくつかの症例について経過を追って観察し、経過中肝細胞癌の発生をみた例とみななかった例に分けて分析を行った。

AFP のレクチン結合性分析は、武田らの抗体親和プロット法を組み合わせたレクチン電気泳動法によった。この方法では血中 AFP 濃度が 20 ng/ml 前後のものまでの分析が可能である。用いたレクチンは、タチナタマメ・レクチン (Con A), レンズマメ・レクチン (LCA), およびインゲンマメ・レクチン (PHA-E₄) である。Con A 分析では非結合 (C₁) および結合 (C₂) に分かれ、肝細胞癌では C₂ の増加が著しいが、肝硬変と肝細胞癌の鑑別は困難である。LCA 分析では非結合 (L₁) と結合 (L₂, L₃) の 3 分画に分かれ、肝細胞癌では L₃ 分画の増加が著しい。PHA-E₄ 分析では非結合 (P₁, P₂) および結合 (P₃, P₄, P₅) の 5 分画に分かれ、肝細胞癌では P₄ 分画の出現、増加がみられる。肝硬変と肝細胞癌の鑑別には L₃, P₄ が有用であり、それぞれ L₃ が 20% 以上、P₄ が 10% 以上を肝細胞癌型 AFP として検討した*。

成 績

1. Con A を用いた分析

臍帯血、先天性胆道閉鎖症、乳児肝炎、肝硬変、肝芽腫、肝細胞癌などの疾患のさいの AFP は、ほとんどが Con A 結合性分画から成り立っており、Con A 非結合性分画の占める比率は 10% 以下である。これに対し、転移性肝癌、ヨークザック腫瘍などの AFP は Con A 非結合性 AFP 分画の比率がふえ 50% 前後を占めるようになる。Con A による結合性分析では、転移性肝癌、ヨークザック腫瘍と肝細胞癌の鑑別は可能であるが、肝硬変と肝細胞癌の鑑別は不可能である。

2. LCA, PHA-E₄ を用いた分析

これまでの成績から肝硬変と肝細胞癌の AFP を鑑別するには LCA, PHA-E₄ レクチンを用いるのが有用である。症例を供覧する。

症例 1 は 68 歳の B 型肝硬変患者で、1984 年から 10 年以上経過をみている患者である (図 1)。初診時当時血中 AFP 値は 30~100 ng/ml あり、1986 年後半より血中 AFP の著増をみ、超音波検査、CT 検査にて腫瘤を発見され、血管撮影を施行した。3 cm 前後の腫瘤に対し TAE 治療および、腫瘤切除が行われている。これまでに凍結保存されていた血清について、レクチン結合性分析を行ったのが図 1 の左下に記載してあるが、血中 AFP が 30~100 ng/ml 前後であった 1984 年、1985 年当時すでに LCA, PHA-E₄ との結合性パターン

*AFP-LCA 分画テストワーク検討委員会での分析では ROC 曲線などから考えて、LCA 結合型 AFP (L₃) 分画 15% をカットオフ値と設定するのが妥当であるとの意見に達している。委員は並木正義、関谷千尋 (旭川医大 3 内)、河合忠 (自治医大臨床病理)、遠藤康夫 (三楽病院)、故平井秀松、多賀弘子 (腫瘍研)、武田和久 (岡大公衆衛生)、谷川久一、田中正俊 (久留米大 2 内)、小路敏彦、石井伸子、中田恵輔 (長崎大保健センター、1 内) である。

ンは肝細胞癌型を示しているのがうかがわれる。腫瘍切除後血中 AFP は正常域に下降し、7 年以上経過した現在も AFP の増加をみとめず、また画像診断上も変化を認めていない。

第 2 例は 61 歳の C 型肝硬変患者で、血中 AFP の動揺をくりかえしている例で、10 年近くの経過観察でも肝細胞癌発生をみとめていない患者である (図 2)。AFP のレクチン結合性分析は、経過期間中一度も肝細胞癌型を示すことなく、また画像診断でも、腫瘍の存在を疑わせたことはない。

これら LCA 結合型 (L₃)、PHA-E₄ 結合型 (P₄) 分画は病状の進行にともなって増加することが多く (症例 3, 図 3) それが契機で肝細胞癌の発見されることがある⁷⁾。

3. LCA, PHA-E₄ 結合性分析による肝細胞癌の予知

肝硬変患者のうち、定期的に血中 AFP 検査のできている 44 例について、レクチン結合性分析と、肝細胞癌発生の関係を検討した。

44 例中、経過中に肝細胞癌発生をみたのが 35 例、肝細胞癌発生をみなかったのが 9 例である。肝細胞癌発生をみた 35 例のうち、21 例は検討開始後 1 年以内に肝細胞癌の発生をみたため除外し、残り 14 例について検討した結果が図 4 である。14 例のうち、2 例では L₃、P₄ が最初から肝細胞癌型を呈しており、1 例では L₃ の出現が P₄ の出現に先行していた。これに対し P₄ の出現が先行し L₃ がそれに続いたものが 5 例、P₄ の出現のみ観察されたのが 4 例であった。また 2 例においては LCA も PHA-E₄ も肝細胞癌型を呈しないまま肝

図 4. AFP のレクチン結合性分画の変化

肝硬変の経過中肝細胞癌の発生をみた症例である。14 例中 2 例のみが L₃、P₄ の増加をみとめていない。他の 12 例では L₃、P₄ が 1 年以上前から肝細胞癌型を呈している。

L₃もP₄も観察されなかった例(9例)

		AFP (ng/mL)	
Y.M.	2y 1y	236	肝硬変症
T.S.		230	肝硬変症
H.K.		137	肝硬変症
H.I.		46	慢性肝炎
T.T.		41	肝硬変症
T.T.		41	肝硬変症
K.T.		36	肝硬変症
T.I.		35	慢性肝炎
H.M.		35	肝硬変症

図5. AFPのレクチン結合性分画の変化

肝硬変の経過中肝細胞癌の発生をみなかった症例である。9例全例において、L₃、P₄の増加は認められず、肝細胞癌型を呈したものはなかった。

図6. AFPレクチン分画の変動パターンによる区分分類ごとの生存率

治療後のAFPレクチン分画(AFP-L₃)の変動を区分1(持続陰性群), 区分2(治療後に陰性化する群), 区分3(治療後に変動する群), 区分4(治療後の経過で増加する群), 区分5(治療後も持続陽性の群)の5群に分け検討した。区分1, 2では区分4, 5に比し有意に生存率が高かった。

細胞癌の発生をみている。これに対し、経過中肝細胞癌の発生をみなかった肝硬変患者9例においては、全例LCAもPHA-E₄も肝細胞癌型を示すことがなかった(図5)。

以上のことから画像診断によって肝細胞癌の存在が確認される1年以上前から血中AFPのレクチン結合パターンが肝細胞癌型を呈している症例の存在することが判明した。このことは、逆に、AFPのレクチン結合パターンが肝細胞癌型を示していると、近い将来に肝細胞癌の発生をみる危険性が高いと推察できよう。

4. AFPレクチン分画と肝細胞癌の予後

AFP-LCA分画テストワーク検討委員会の分析結

果⁸⁾に興味ある成績が得られているが、当委員会の一員である久留米大学医学部第2内科では肝細胞癌治療後のAFPレクチン分画(L₃)の変動パターンにより5区分に分け、肝細胞癌の予後を検討した⁹⁾。この区分ごとの生存率は図6に示すごとくで、治療前からL₃が陰性(区分1)の群と、治療後にL₃が陰性化した群とでは、高い生存率が得られているのに対し、治療後もL₃の高値を持続したり、さらに増加する群(区分4, 5)では生存率が有意に低かった。

同様の成績は石塚ら¹⁰⁾によっても観察されており、肝細胞癌の治療効果および治療後の予後の判定にAFPのレクチン結合性分析が有用であることが示されている。

結 論

血中AFPのレクチン結合性分析により、疾患によるAFP糖鎖の変化を比較的容易に知ることが可能となり、疾患の鑑別診断および早期診断に有用であることが判明した。

Con Aを用いることにより肝細胞癌と転移性肝癌、ヨークザック腫瘍とが鑑別可能であり、LCA, PHA-E₄を用いることにより肝硬変患者における肝細胞癌発生の予知が可能であった。

腫瘍研究所多賀弘子博士に深謝いたします。

文 献

- 1) Morinaga T, Sakai M, Wegmann TG, Tamaoki T. The primary structures of human α -fetoprotein and its mRNA. Proc Natl Acad Sci USA 1983; 80: 4604-8.

- 2) Yoshima H, Mizouchi T, Ishii M, Kobata A. Structure of the asparagine-linked sugar chains of α -fetoprotein purified from human ascites fluid. *Cancer Res* 1980 ; 40 : 4276-81.
- 3) Yamashita K, Hitoi A, Tsuchida Y, Nishi S, Kobata A. Sugar chain of α -fetoprotein produced in human yolk sac tumor. *Cancer Res* 1983 ; 43 : 4691-5.
- 4) 宮崎 純, 遠藤康夫, 織田敏次. Crossed immuno-affino-electrophoresis による α -フェトプロテインのレクチン親和性の分析. *肝臓* 1981 ; 22 : 1559-68.
- 5) Endo Y. Lectin-binding analysis of serum alpha-fetoprotein : predictive importance of the change of AFP sugar chain in the development of hepatocellular carcinoma. In: Tobe T, Kameda H, Okudaira M, Ohto M, Endo Y, Mito M, Okamoto E, Tanikawa K, Kojiro M, editors. *Primary liver cancer in Japan*. Tokyo /Berlin/Heidelberg/New York/London/Paris/Hong Kong/Barcelona : Springer-Verlag, 1992 : 163-173.
- 6) 遠藤康夫. 肝疾患およびヨークザック腫瘍における AFP の意義—とくにレクチン親和電気泳動法による分析—. *生物物理化学* 1986 ; 30 : 165-72.
- 7) Sato Y, Nakata K, Kato Y, Shima M, Ishii N, Koji T, Taketa K, Endo Y, Nagataki S. Early recognition of hepatocellular carcinoma based on altered profiles of alpha-fetoprotein. *N Engl J Med* 1993 ; 328 : 1802-6.
- 8) Taketa K, Endo Y, Sekiya C, Tanikawa K, Koji T, Taga H, Satomura S, Matsuura S, Kawai T, Hirai H. A collaborative study for the evaluation of lectin-reactive α -fetoprotein in early detection of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 1993 ; 53 : 5419-23.
- 9) 田中正俊, 里村慎二, 山下文彦, 黒松亮子, 谷川久一. 肝細胞癌患者の予後判定因子としての AFP レクチン分画測定の意味. 第 30 回日本肝臓学会総会. 旭川, 1994.7.
- 10) 石塚英夫, 中山朋基, 小川眞広, 後藤伊織, 山本義信, 森山光彦, 田中直英, 奥山泰史, 大久保仁, 小野良樹, 荒川泰行. AFP のアイソフォーム分析による TAE 療法の効果判定と再 TAE 開始時期の判定. 第 30 回日本肝癌研究会. 旭川, 1994.7.