

-53- フェリチンの radioimmunoassay

神戸大学第2内科

○中村 功, 小島幹代, 中治隆宏,
馬場茂明

(目的) フェリチンの微量測定法としての radioimmunoassay 法の確立を目的とした。

(方法) ①精製フェリチン: 肝 30g を homogenate し, Chauveau の細胞分画法にて, microsome 分画を取り出した。この microsome 沈澱を緩衝液にて溶解ろ過した。この資料 2mℓ を Pevikon C870 を支持体とし, 0.025M Veronal 緩衝液を用いた Broc 型の電気泳動を行った。泳動後陽極より 1cm 間隔で Broc を切り出し, 比較的茶褐色を呈した α_2 分画の Broc を集め Pevikon 粒子より蛋白を溶離した。この蛋白を溶離後濃縮し, $1/15$ M リン酸緩衝液を用いた sephadex G 200, Column Chromatography を施行, 各分画の O.D. 280m μ の吸収から蛋白分画を取り出し, 抗正常ヒト血清との 2 元拡散法, 電気向流法にて, 血清蛋白の混入しない分画を取り出した。②特異フェリチン抗体の作製は精製フェリチン 50 μ g を 1 週間隔で家兎に免疫して作製した。この抗血清は Granick 法により得たフェリチン自験法により得たフェリチンと反応し, その沈降線は完全に癒合した。③標識方法は, 精製フェリチン 100 μ g ~ 200 μ g に標識基として 500 μ Ci の I^{125} を用い, Hunter 等の方法で標識, sephadex G200 Column Chromatography により I^{125} フェリチンを分離した。④測定方法, 結合 I^{125} フェリチンと遊離 I^{125} フェリチンの分離は 2 抗体法を採用し, 測定系は各基準フェリチン 0.1mℓ に I^{125} フェリチン希釈液 0.1mℓ を添加, 0.5mℓ の 1% BSA-PBS (PH 7.6) で全量 0.8mℓ とし第 1 反応を行う。その後, 正常家兎血清 100 倍希釈液 0.1mℓ, 第 2 抗体 (抗家兎 γ -Gℓ ヤギ血清) 希釈液 0.1mℓ を加えて第 2 反応を行った。その後, 全放射能を測定し, 結合放射能百分率を算出した。

(成績) 1) 標識フェリチンの比放射能は 0.42mCi/mg であった。2) 測定条件の検討及び成績 (I) 標識フェリチン量, 20 ng (約 10000 cpm), 40 ng (約 20000 cpm) について検討し 20 ng を採用 (II) 第 1 抗体濃度, 4000 倍, 8000 倍, 16000 倍希釈について検討し, 検出感度及び B% 減少率より 8000 倍希釈が適当であった。 (III) 第 1 反応時間, 6, 24, 48, 72, 96 時間について B% を求め 48 時間を最適とした。 (IV) 第 2 抗体濃度, 5, 10, 20 倍希釈について行い, 10 倍希釈が最高の結合率が得られた。 (V) 第 2 反応時間 16, 24, 48 時間で検討 B% が 16, 24 時間で一定であるので 24 時間を採用した。3) 上記検討より得た条件で測定法を確立し, 標準曲線を作製すると, 基準フェリチンの場合, フェリチン濃度と B% の間に容量反応曲線を示した。フェリチン測定範囲感度は, 31ng/mℓ 以上であった。

-54- 脳腫瘍における α -fetoprotein (AFP) 測定の経験

千大 放

今関恵子, 能勢忠男, 内山 暁, 有水 昇
脳外
堀江 武

Radioimmunoassay 法による血中 α -feto-protein (AFP) の定量法が開発されて以来 AFP が正常人でも極く微量ながら証明され, 特に原発性肝癌において特異的に高値を示すことが認められている。また睾丸, 卵巣などに発生する悪性奇形腫においても AFP が高値に検出されたとの報告もある。しかし脳腫瘍における AFP に関する報告は少い。今回, 演者らが経験した脳腫瘍例の AFP 測定値を報告し, その臨床的意味について検討を加えたい。

〔方法〕

ダイナボット社の α -フェト-125 キットを使用した。方法は使用説明書に従った。

〔対象〕

glioma 群・9 例, non glioma 群・6 例である。

〔結果〕

脳腫瘍例中 AFP が高値に検出された症例は 1 例もない。

〔考察〕

これまでの報告例の中には赤血球凝集反応を用いて脳腫瘍 50 例に AFP を定量し, glioma 12 例中 10 例に, embryonal carcinoma 2 例全例に AFP 陽性であり, AFP 陽性例中, 術后又は ^{60}Co 照射後 AFP が検出されなくなることも, および glioma の cyst 内容液中 glioma 標本中にも AFP を有することから, glioma 及び embryonal carcinoma は AFP を産生している可能性を示唆すると結論しているものもある。しかし今回の演者らの結果からはより高感度の検査法である, Radioimmunoassay によるにもかかわらず 1 例の陽性例もみない。

〔結論〕

演者らの経験する限り AFP は脳腫瘍の診断, 予後判定上の意義は悲観的にならざるを得ないのではないかと考えるが, 症例数が未だ少く, 更に例数をふやし検討をかさねたい。