

-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し過した。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適合した。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 125 I を用い, Hunter 等の方法で標識, sephadex G200 Column Chromatography により 125 I フェリチンを分離した。④測定方法, 結合 125 I フェリチンと遊離 125 I 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 125 I 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 -G μ ルヤギ血清)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, 20ng(約10000 cpm), 40ng(約20000 cpm) について検討し20ng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に関する報告は少ない。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を, 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, 予后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。