

&lt;原著&gt;

# Radioimmunoassay 法による $\alpha$ -fetoprotein の測定について

中村 護, 沢井 義一, 阿部 光延

## はじめに

$\alpha$ -fetoprotein (以下 AFP) は胎児特有の蛋白であり胎児の肝臓において合成され血清中の濃度は Gitlin 等によれば胎生期の13週に最高濃度となり、その後次第に減少し、34~37週で最高値の約20%に減少し、生後1週目は半減期5日、2週目以降では半減期3日で減少する<sup>1)</sup>。1963年 Abelev はマウスの実験肝癌の血清より AFP を証明し<sup>2)</sup>、1964年、Tatarinov 等<sup>3)</sup>が人の肝癌患者の血清から AFP を見出してから肝癌と AFP の関連が多く研究者により報告されるようになった。人の AFP は平井等によると分子量 64,600、多糖類含量 3% のアルブミンに近い蛋白であり電気泳動法ではアルブミンと、 $\gamma$ -グロブリンの間に易動度を示す。アミノ酸分析の結果は胎児 AFP と hepatoma の間に差異を認めないといいう<sup>4)5)6)</sup>。

AFP の検索は特異的抗血清による抗原抗体反応により行なわれるが、その主な方法としては、(1) Micro Ouchterlony 法、(2) Single radial immuno-diffusion 法、(3) Immunoelectrosyneresis 法 (IES 法) (4) 融光電気免疫抗散法 (FIES 法) (5) 融光抗体法、(6) として最高の感度を持つ Radioimmunoassay 法 (以下 RIA 法) があり、本法は 1969 年 purves<sup>7)</sup>、1971 年石井等<sup>8)</sup>、西等<sup>9)</sup>により発表され、1972 年には Seppälä 等<sup>10)11)12)</sup>の報告がある。RIA 法は従来の方法に比して感度が高く肝癌における陽性率が向上するという。従来の Micro Ouchterlony 法等では原発性肝癌、胎児性癌以外で AFP を証明することは極めて稀なこととされていたが、RIA 法によると肝炎、肝硬変症、一部の悪性腫瘍肝転

移、妊娠等にも血清中から AFP が証明される<sup>8)9)</sup>。肝硬変症に肝癌の合併が見られることから、 AFP の感度の高い測定法は意味があると思われる。

## 本法の原理

アイソトープで標識された AFP と非標識 AFP は抗 AFP 血清に対して競合的に反応する。被検血清、一定量の  $^{125}\text{I}$ -AFP 及び抗 AFP 家兔血清 (第一抗体) を反応させると非標識 AFP-抗体及び  $^{125}\text{I}$ -AFP-抗体の抗原抗体結合物が生ずる。若し、被検血清中に非標識 AFP が多いと第一抗体に結合する  $^{125}\text{I}$ -AFP (Bound: B) は減少し、遊離の  $^{125}\text{I}$ -AFP (Free: F) は増加する。適当な方法を用いて B と F を分離出来れば各濃度における F/B または B/B+F が算出出来る。

本法においては第 2 抗体 (抗家兔、 $\gamma$ -Globulin、山羊血清) を用いて AFP-抗体、 $^{125}\text{I}$ -AFP-抗体の結合物を不溶性の凝集物として沈殿させる。反応終了後、全放射能を測定し、遠心分離後、上澄を捨て沈殿の放射能を測定すれば沈殿の結合% は

$$\frac{\text{沈殿の計数値 (B)}}{\text{全計数値 (B + F)}} \times 100\%$$

となる。これを濃度の予め知れている AFP を用いて、 AFP 濃度と結合% による標準曲線を作成すれば検体の結合% より血中 AFP を求めることが出来る。

## 本法の手技

AFP の RIA 測定用のキット (ダイナボット RI 研究所製) を用いる。

キットの内容は

- (1)  $^{125}\text{I}$ -AFP 5.5 ml (約 0.09  $\mu\text{Ci}/\text{ml}$ )
- (2) 第一抗体 (抗 AFP 家兔血清) 5.5 ml
- (3) 第二抗体 (抗家兔  $\gamma$ -Globulin 山羊血清) 5.5 ml
- (4) AFP 標準液 640  $\text{m}\mu\text{g}/\text{ml}$
- (5) 馬血清 2.5 ml
- (6) 0.5 Borate Buffer 原液 10 ml

東北大学医学部附属病院放射線科

(教授 星野文彦)

受付: 47年10月

別刷請求先: 仙台市星陵町 1-1 (〒980)

東北大学医学部附属病院放射線科

中 村 護

からなる。1キットは50検体用である。キットは使用するまで凍結保存する。

本法の手技の主なものは

(1) 試薬の調整

(2) 標準 AFP 溶液の調整

(3) 検体の操作: 第1反応, 第2反応による B (Bound) と F (Free) の分離及び放射能測定と結合%の算出

(4) 標準曲線の作成と検体の結合%からの AFP 濃度の算出である。

次に実際の方法について述べる。

(1) 試薬の調整

(i)  $^{125}\text{I}$ -AFP, 第1抗体, 第2抗体は使用直前に氷解後, よく振って液を均一化する。

(ii) 緩衝液の調整は, 緩衝液 10 ml に脱イオン水 40 ml 加え, 0.1 M Borate Buffer pH 8.6 (0.5 % BSA 含有) として使用する。

(2) 標準 AFP 溶液の調整

640  $\mu\text{g}/\text{ml}$  を順次稀釀して行き, 320, 160, 80.0, 40.0, 20.0, 10.0, 5.0, 0.00  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の AFP 溶液を得る。

(3) 検体の操作

## I 第1反応

(i) 各試験管に Buffer 0.5 ml (標準曲線用には Buffer 0.4 ml に馬血清 0.1 ml を加える) を入れ, 標準 AFP 溶液または被検血清 0.1 ml を加える。標準曲線は各点2本づつで行なうのが望ましい。

(ii)  $^{125}\text{I}$ -AFP 溶液 0.1 ml を加え, 次に第1抗体 0.1 ml 加え, よく混和した後  $4^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  で 24~48時間 incubate する。

## II 第2反応

(i) 第2抗体を 0.1 ml 加え, よく混和し,  $4^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  24時間 incubate する。

(ii) 沈殿の分離, 結合%の算出, incubate 終了後, 各試験管のカウントを測定する。次に 3,000 rpm 30 分間遠心分離後, 上澄を捨て, 試験管を逆に立て 5~10 分放置し, 水滴を除き最後に管口附近の水滴を汎紙でぬぐいさる。この沈殿の残った試験管の放射能を測定する。沈殿の結合%は  $\frac{\text{沈殿カウント}}{\text{全カウント}} \times 100\%$  となる。

(4) 標準曲線を作成し, 被検血清の結合%より血清中の AFP 濃度を求める。

## 結果

代表的な標準曲線を Fig. 1 に示す。原発性肝癌, その他の悪性腫瘍, 肝炎, 肝硬変症, 正常人における測定結果を Fig. 2 に示す。次に代表的な症例を示す。

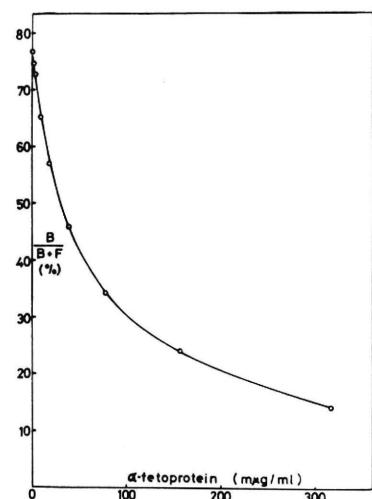


Fig. 1. Standard curve for RIA of AFP.

## 症例

症例 I 10カ月の女児

生後 7 カ月目で腹部の腫瘍に気付いた。肝シンチグラムにより (Fig. 3, A) 左葉に欠損像を認めた。hepatoma として左葉切除を受けた。組織像は hepatoblastoma であった。術後 3 月目に肝腫大を認め再発を疑われ肝シンチグラム施行 (Fig. 3, B) AFP 700  $\mu\text{g}/\text{ml}$  と上昇していた。

症例 II 20才女性

昭和46, 12, 腹水貯溜を認め, 昭47, 1, Budd-Chiari 氏症候群として入院した。昭47, 2, 肝シンチグラムにて欠損像を認め AFP 15,000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  と上昇していた。(Fig. 4) 手術所見では腫瘍は結節型であり切除不能であった。組織診で hepatoma であった。

症例 III 52才男子

長年肝硬変症として治療をうけていたが, AFP は 6,000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  と上昇, 肝癌を合併していた。肝シンチグラムを Fig. 5 に示す。

症例 IV 70才男子

hepatoma を疑われ, 肝シンチグラム施行, 大きな欠

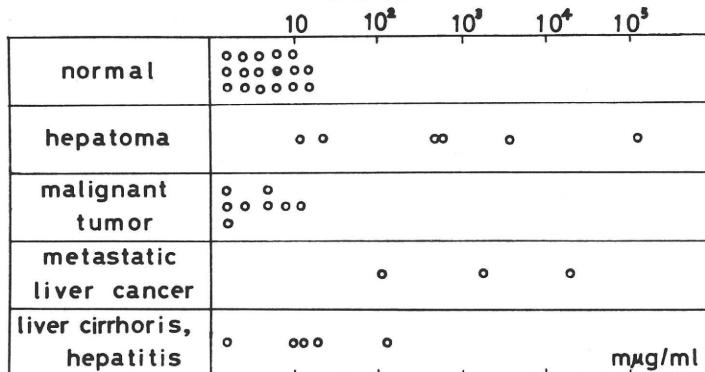
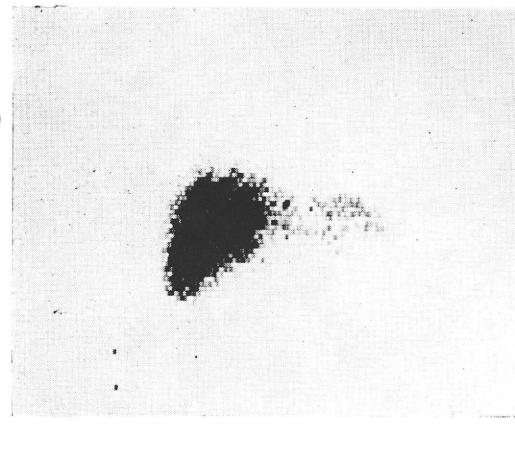
AFP concentration in normal subjects  
and in various diseases

Fig. 2. Serum AFP concentration in normal subjects and in patient with hepatitis, liver cirrhosis, malignant tumor and hepatoma.

(A)



(B)

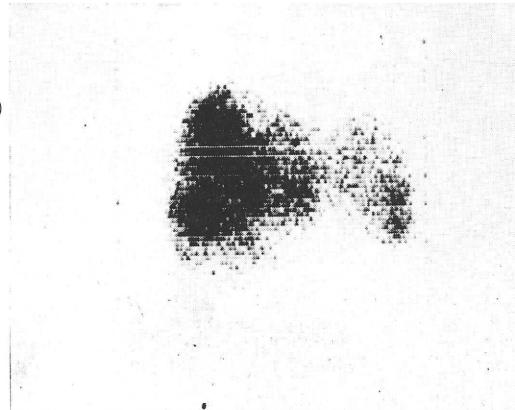


Fig. 3. Liver scan of case I.

(A) initial scan (B) follow-up scan.

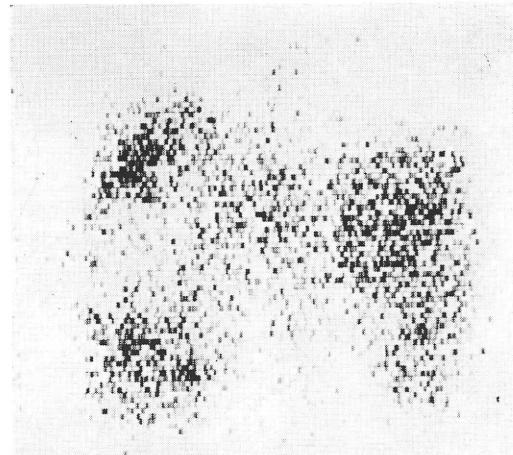


Fig. 4. Liver scan of case II. AFP was 15,000 mug/ml.

損像を認め, AFP は 800 mug/ml であった. (Fig. 6) 肝の生検により hepatoma であった. 本例は RIA 法以外では AFP 隆性であった.

## 症例 V 46 才女性

胃癌の手術を受けているが, 肝シンチグラムにて大きな欠損像を認め, AFP は 30,000 mug/ml と上昇していた. (Fig. 7) 本例は組織学的に胃癌の肝転移か肝癌が別に存在したかは認められていない.

## 考 按

## I AFP

AFP の生成機序については Abelev による総説があ

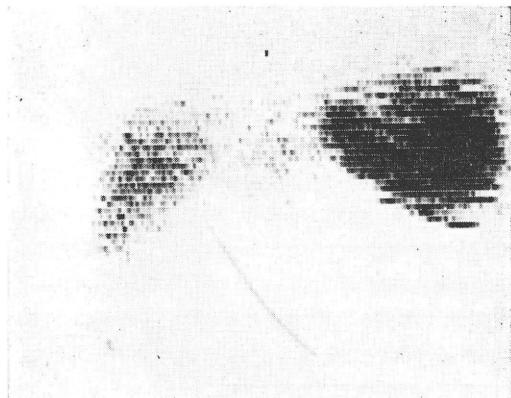


Fig. 5. Liver scan of case III. AFP was 6,000 m $\mu$ g/ml.

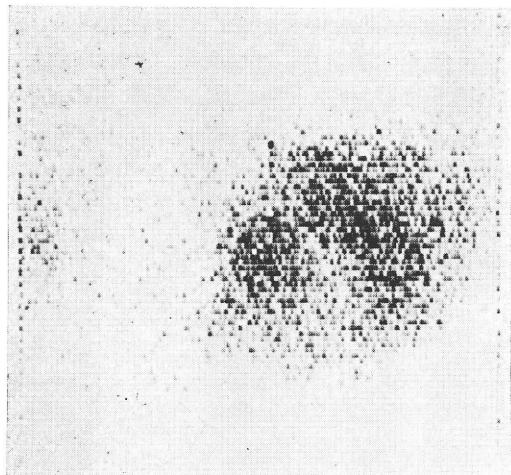


Fig. 6. Liver scan of case IV. The diagnosis of hepatoma was established by biopsy, AFP was 800 m $\mu$ g/ml.

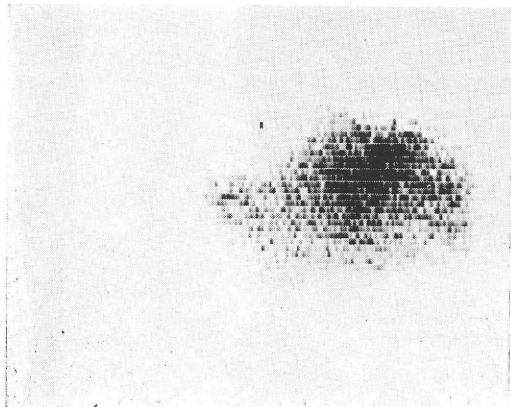


Fig. 7. Liver scan of case V. AFP was 30,000 m $\mu$ g/ml.

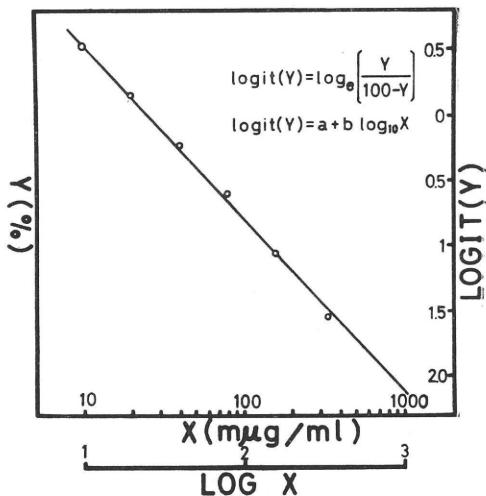


Fig. 8. Logit-log plot of standard curve for RIA of AFP.

る<sup>13)</sup>。それによると AFP の合成部位は Immunoelectrophoresis と  $^{14}\text{C}$ -glycine による radioautography により radioactive AFP として示される。

Gitlin らによると人の胎児、ラットの胎児および新生児において radioactive AFP は人の肝、ラットの肝、ラット卵黄嚢に見られるが、人およびラットの脳、肺、心、腎、腸、筋肉、皮膚、胎盤には見られない<sup>14)</sup>。再生肝による AFP の合成についてはマウス肝の部分切除により 2 日目に AFP が見出され、また、 $\text{CCl}_4$  をマウスに吸入させることによっても AFP が血清中に見出される。この現象は大人のマウスにおいても同様であるが大人のラットではマウスと異なり、肝切除、 $\text{CCl}_4$  吸入によって AFP は産生されない。ラットでは生後 5 週目に肝切除が行なわれると AFP が生成される<sup>13)</sup>。生後のラットにおける肝の増殖と AFP 量の関係は生後 1 週では肝の重さは増加せず増殖しないが、第 2 ～ 3 週に肝は最も増殖が盛んとなりその後も増殖を続けるが次第にその速度が遅くなる。

一方、 $^{14}\text{C}$  glycine による AFP の生成量を見ると、第 1 週から第 2 週にかけて最も高く、25 日目では肝は増殖を続けているが、 AFP の合成を止めてしまう<sup>13)</sup>。また、マウス hepatoma の培養を重ねて行くと細胞分裂を行なっているのに AFP の産生を止めてしまう<sup>15)</sup>。

これらのこととは AFP の生成機序の第一の仮説としての静止状態 (resting) から増殖状態 (proliferating) へ移行することが、 AFP の産生を引起す唯一の原因でないことを示しており、 AFP の生成は増殖している肝細

胞で起っているという考え方では説明出来ない。

AFP の生成機序について第2の仮説は肝細胞の分化は mitosis の数の函数であるというものであり, mitosis が多くなれば AFP の合成は減少し, 一方成人血清中に見られる albumin, transferin 等の合成率が高くなる。低分化 (less differentiated) な肝癌 (hepatoblastoma) はより分化した (more differentiated) な肝癌 (hepatocytoma) より成長は早く AFP の合成も高くなる。in vitro における hepatoma 培養において AFP の合成が失なわれることは hepatocyte への移行と考える。

他の事実, たとえば肝切除, CCl<sub>4</sub> 吸入によるマウスの AFP 合成や AFP 産生しない hepatoma を in vitro で移植すると AFP の合成を始めるこを説明するには hepatocyte が hepatoblast に逆戻り出来るというあまり可能性がない仮定が必要になる<sup>13)</sup>。第3の仮説は, hepatocyte が hepatoblast に逆戻りしなくともいろいろな事実が説明出来る考え方がある。

AFP を産生する細胞は hepatoblast, albumin, transferin 等を産生するのは hepatocyte とし, これらは, 共通な stem cell から分化した終末成熟細胞であり, その分化の方向付けはホルモン, 外的要素により支配される。この考え方では hepatoma はある stem cell から成っており, 肿瘍の種類, または外的要因により hepatoblastom か hepatocytoma へ分化する。 AFP 量が高いのは hepatoblastoma に近く, AFP 隆性のものは hepatocytoma に近い。 AFP と albumin の合成は異なった細胞で行なわれ, それはおそらく hormonal なものにより細胞の分化が支配されていると考える<sup>13)</sup>。

第4の仮説として AFP の産生, 抑制は同一の肝細胞の異なった機能の表現であるとするものである。その機能は外的誘発や抑制により決められる。 AFP の生成を抑制する制御子 (repressor 仮説的なもの) が破壊され, AFP の生成が再開され, しかもこの現象は random なものとする考え方である<sup>13)</sup>。このように AFP の生成機序についていろいろの考え方があり, 今後の問題として残されている。

AFP と Au 抗原の関係については, Au 抗原は肝炎, 肝硬変症, 肝癌に多く見出され, 西岡ら<sup>16)17)</sup>によると, AFP 隆性肝癌 169 例中 43.8% に Au 抗原陽性, AFP 隆性肝癌 40 例中 17.5% が Au 抗原陽性であり AFP 隆性群の Au 抗原陽性率が高い。これらの事実は AFP, Au 抗原の測定による肝癌の早期発見の可能性を示すと考えられる。小児肝癌では Au 抗原の陽性率は

極めて低い。

ラット実験肝癌発生過程における AFP の消長については, ラットに DAB (diethyl amino benzene) を与えると平井ら<sup>18)</sup>によると 3 週目から AFP が出現し 7 週迄上昇し 10~11 週目に消失する。この次期を一次反応と称し, 癌細胞は見られない。12 週以後 hepatoma 発生期に入り AFP が再び現われる。DAB 投与を 7 週目で中止すると発癌しないが, 11 週目に中止しても癌化が起るという。人の場合には肝炎, 肝硬変症が一次反応の時期に相当すると考えられている。人の肝癌細胞における AFP の局在を高橋らは<sup>19)20)</sup>, 融光抗体法により証明している。 AFP 特異蛍光は癌細胞全体に認められる例と, 斑紋状に見られる場合があるという。西岡ら<sup>21)</sup>によると, AFP 隆性, 肿瘍細胞は全腫瘍細胞の 20% 以下であるという。 AFP 特異蛍光は正常肝細胞, 結合組織, 偽胆管に認められず, これらの細胞が AFP を産生しているとは思われず, 特異蛍光が見られる腫瘍細胞は胎児肝細胞に認められる AFP 含有細胞に類似しているという。

## II RIA 法と他の方法の比較について

従来から行なわれている方法と RIA 法の感度について比較すると次の如くである。

### (1) Micro Ouchterlony

測定限界は 1~3 mg/dl であり, 肝癌胎児性癌以外に本法で AFP を証明することは極めて稀なこととされている。 O'Conor ら<sup>22)</sup>によると, 本法によると肝癌 231 例中 65.4% に AFP を証明, また, 2 例の teratocarcinoma に AFP を証明している。

### (2) Single radial immunodiffusion 法

感度は 1~2 mg/dl である。向島ら<sup>23)</sup>によると, 本法により原発性肝癌 40 例中 33 例に陽性。 Ouchterlony 法では同じ症例について 40 例中, 31 例に陽性であったという。

### (3) Immunoelectrosyneresis (IES 法)

感度は Ouchterlony 法の 10~40 倍といわれている。 Alpert 等は<sup>24)</sup>, 肝細胞癌 117 例中 50.5% に Ouchterlony 法で AFP 隆性, IES 法では 71.2% に陽性と報告している。

### (4) 融光電気免疫抗散法 (FIES 法)

西岡ら<sup>25)</sup>によると感度は 0.05 mg/dl である。

### (5) RIA 法

今回使用した kit では 1~2 m $\mu$ g/ml の AFP を検出することが可能である。 Seppälä 等の<sup>10)11)12)</sup>の方法は

0.25 m $\mu$ g/ml まで検出出来る RIA 法である。石井ら<sup>8)</sup>によると Single radial immuno-diffusion 法で 44 例中 80% AFP 陽性, RIA 法で 51 例中 93% 陽性と本法による検出率の向上を報告している。このように感度が高くなったため、従来 AFP がほとんど証明されなかった肝炎、肝硬変症、悪性腫瘍肝転移、妊婦においても AFP が証明されるようになった。正常人においても 1 ~ 10 m $\mu$ g/ml の値が得られるが、これは正常人の血清中に微量の AFP が存在するためではなく、二抗体法ではしばしば見られるなんらかの原因による沈降阻害が原因と考えられている<sup>9)</sup>。

西ら<sup>9)</sup>によると正常血清から AFP を除く操作を行なっても RIA 法によると微量の AFP が見出されるという。Seppälä, Ruoslahti<sup>10)11)12)</sup>は同様に RIA 法により正常血清中に 2 ~ 16 m $\mu$ g/ml の AFP を検出し、正常成人においても AFP を産生する細胞の機能が完全に抑制されてないためと主張している。彼等の RIA 法は 0.25 m $\mu$ g/ml から 25 m $\mu$ g/ml までを検出するようになっており今回我々が使用した kit より感度が高い。

正常血清中に AFP が真に存在するかどうかは今後検討を要する問題であろう。実際に RIA 法により AFP を測定する際は正常血清についても同時に測定し比較しながら判定するのが適当と考えられる。

RIA 法の如く高感度な測定法において AFP は、肝癌、胎児性癌に限らず、肝癌、肝硬変症、一部の転移性肝癌にも見出されるようになり、その診断的特異性はやや薄れて来たが、 AFP を証明することは原発性肝癌の診断、治療効果、予後の判定に重要な指標を与えるものといえよう。

RIA 法による測定については、このような微量測定によってのみ AFP が見出される症例があることから意味があると考えられる。

### III (1) 原発性肝癌における陽性率について

肝癌における AFP の陽性率は Table 1 の如くであり、40~100% である。本邦においての平井らの集計によると 78% である<sup>18)</sup>。胆管細胞癌 (cholangio cellular carcinoma) において AFP が証明されることはない。 AFP 陽性率は地域人種により、アフリカ、中国、日本では AFP が高率に認められる。白人では陽性率は低い傾向にある。我々の症例では肝癌 6 例全例に AFP が証明された。

Alpert ら<sup>24)</sup>はオクタロニー法、IES 法により米国における白人 (caucasian) 非白人 (non-caucasian) の

Table 1. Results of serologic test for alpha-feto protein in cases of hepatoma

Author	Country	No. of cases	Positive %
Tatarinov <sup>3)</sup>	U. S. S. R.	6	100
Abelev <sup>13)</sup>	S. S. S. R.	37	59
Alpert <sup>26)</sup>	Uganda	40	50
Uriel	Kenya	28	46
	Congo	30	77
	Senegal	111	70
Purves <sup>28)</sup>	South Africa	130	78
Smith <sup>29)</sup>	Hong Kong	32	59
Hull <sup>3)</sup>	U. S. A.	39	38
Foli <sup>31)</sup>	England	35	40
Hirai <sup>18)</sup>	Japan	227	78
Teres <sup>32)</sup>	Spain	17	42
Economopoulos <sup>33)</sup>	Greek	35	51.4
	French	30	60
Kresno <sup>34)</sup>	Indonesia	100	87
Alpert <sup>24)</sup>	Caucasian	41	51.2
	non-Caucasian	64	84.3
O'Conor <sup>22)</sup>	Singapore	32	75
	Kingston	6	66.7

肝癌における陽性率を比較しているが、オクタロニー法により白人 41 例中 39.2%, IES 法 51.2%, 非白人 64 例中オクタロニー法 67.2%, IES 法 84.5% であり、白人においては検出感度を高めても非白人に比して陽性率は低いといふ。Alpert らはアフリカにおいては Carcinogen としての aflatoxin が多く摂取されたため肝癌の発生が高いのではないかと推測している<sup>35)</sup>。

### III (2) AFP 陽性率と年令性の関係について

小児期肝癌の陽性率及び AFP 値は成人に比して高い。Mawas 等<sup>36)</sup>によると 15 才以下、24 例中 90%, 22 才から 75 才迄では 47 例中 70% に陽性と報告しており、肝癌について 15 才以下の hepatocarcinom では 14 例中 13 例、hepatoblastoma 10 例中 9 例の AFP 陽性を認めたといふ。

Bagshawe 等<sup>37)</sup>は、10 ~ 20 才 2 例中 100%, 21 才 ~ 30 才、7 例中 100%, 31 才 ~ 40 才 6 例中 66%, 40 才

以上で9例中 22% の陽性率を報告している。

Alpert 等<sup>24)</sup>によると20才以下7例中 71.4%, 21才～40才, 27例中74.1%, 41才～60才31例中64.5%, 60才以上24例中62.5%と若年者の方が陽性率が高い傾向にあるが, その差は統計的には有意差がないといふ。性別では男性の方が陽性率が高いが統計的には有意差がないといふ<sup>24)</sup>。

### III (3) 肝癌の性質と AFP

肝癌の大きさと AFP 陽性率, 量は直接相関せず症例によって異なると言われているが, Alpert<sup>24)</sup>等の剖検例について肝の重量を比較した報告では AFP 強陽性の肝癌の肝の重さは平均 3.25 kg (9例), AFP 弱陽性は 2.47 kg (7例), AFP 陰性例では 2.14 kg (3例) と AFP 強陽性例の肝の重量が多くその差に統計的に有意差があるといふ。今回経験した症例 IV ではシンチグラム上大きな欠損像を呈したが AFP 値は比較的の低値であった。

肝癌を肉眼的に massive, nodular, diffuse に分類すると AFP 量の平均値は massive 24 mg/100 ml, nodular 45 mg/100 ml, diffuse 18 mg/100 ml であり nodular なものが高い<sup>30)</sup>。我々の症例 II は nodular type の肝癌であったが 15,000 m $\mu$ g/ml と高値であった。組織像との関係では anaplastic (16 mg/100 ml), poorly differentiated (32 mg/100 ml), well differentiated (25 mg/100 ml) であり, 低分化なものが値が高い<sup>38)</sup>。肝癌と肝硬変症における陽性率では, 肝硬変を合併したものでは 81%, 合併していないものは 53% であるが末期ではその差は少くなり, 肝硬変を伴うものは 89% 合併しないもの 70% となる<sup>38)</sup>。

Edmondson の分類基準と AFP の関係は AFP 陰性または低値例は Ed II 型に多く, AFP 陽性は Ed III 型に多い。 AFP 陰性は組織学的には完全分化型と高度の未分化型に見られるといえよう<sup>39)40)</sup>。

### III (4) AFP 値と臨床経過

同一症例について AFP 値測定を繰返えすと病状を反映した値が得られるといふ。

化学療法が効果がある症例では AFP 値が低下する<sup>41)42)43)</sup>。 Purves 等の報告したある症例では AFP の低下と平行して alkaline phosphatase, lactic dehydrogenase, GOT も低下したが, AFP の低下に比して 1 カ月の遅れがあったといふ<sup>38)</sup>。腫瘍を手術により完全に摘出すれば AFP は減少し再発すれば上昇する。再発時には肝シンチグラム, 血清酵素の異常を生ずる 1～4 カ

月前に AFP が見出されるといふ。

内野ら<sup>42)</sup>は肝癌摘出後の AFP の血中から消失の半減期を 6 日, 向島ら<sup>43)</sup>は 3 例についてそれぞれ 3.69, 5.35, 6.79 日と報告しており, 半減期の短かい方が予後が良い長いものは再発が早期に発生するとしている。

### III (5) 原発性肝癌以外の悪性腫瘍における AFP 陽性例について

肝癌以外で AFP が見出される疾患としては, 胎児性癌があり, 部位としては睾丸, 卵巣, 尾部が報告されている<sup>44)45)</sup>。 Abelev ら<sup>13)</sup>の報告によると睾丸腫瘍で胎児性組織に富んでいる腫瘍 (teratoblastoma with the features of embryonal carcinoma) において陽性率が高く, 18 例中 8 例に AFP が認められたが, seminoma では 15 例全例陰性であったといふ。

Mawas ら<sup>36)</sup>の症例においては 0～15 才の teratocarcinoma 21 例中 65% に陽性であったといふ。実験的な teratoma では Kahan ら<sup>46)</sup>によるとマウスの primary teratoma では AFP は見出されないが, 移植可能な teratoma (SV 6965) では hepatoma に比して量は少ないが AFP が見出され免疫学的にマウス肝癌の AFP と同一である。

マウスの primary teratoma は通常, 非増殖性の完全に分化した組織から成っており, 一方移植可能な teratoma は低分化の stem cell から成っている。 AFP は分裂している。 teratoma cell か, undifferentiated stem cell によって合成されている可能性を示している。 teratocarcinoma の in vitro 培養においても AFP の合成が見られる。これらのことから, 人の胎児性癌における AFP の合成は, (1) 腫瘍細胞が胎児性肝細胞に変化して AFP 生成を行なっているとは考えられず, (2) 腫瘍細胞が宿主の肝に作用して AFP の合成を再開させているのでもないと考えられる<sup>46)</sup>。

転移性肝癌においても AFP が見出されることがあり, 原発巣としては胃癌が殆んどである<sup>47)</sup>。これらの症例では最終的に胃癌と肝癌の重複, 肝癌の胃転移が組織学的に否定される必要がある。赤井ら<sup>48)</sup>の集計によると剖検で肝癌の合併が否定された胃癌肝転移 13 例の AFP 陽性例を報告しており, その陽性率は 7.2% と比較的の高率である。肝転移の見られない胃癌において AFP 陽性例の報告もある。

胃癌肝転移における AFP の生成機序について, (1) 胃癌の細胞の異所性 AFP 产生, (2) 肝転移に伴う肝再生時の AFP 产生の可能性等が考えられている<sup>49)</sup>。その他,

肺臓癌, 卵巣癌等で AFP 陽性という報告もある<sup>48)</sup>.

#### IV RIA curve の直線化について

このキットにおける standard curve の上限は, 320  $\mu\text{g}/\text{ml}$  であり, 肝癌における AFP 量は平井等によると  $2\text{--}10^7 \mu\text{g}/\text{ml}$  と広い範囲に分布しており, キットの上限の  $320 \mu\text{g}/\text{ml}$  を越える事も少なく, 原発性肝癌が疑われる際は血清を  $10\text{--}100$  倍に稀釀したものについて検定すれば, この standard curve 内で読み出すことが出来る.

このような操作を省くには standard curve を直線化すれば, グラフから読み出すことが出来る. RIA の standard curve の直線化について様々な方法が報告されている<sup>50)</sup>. その一つとして logit-log 法を試みたが我々の得た standard curve についてもかなりの直線性が得られた. (Fig. 8) このような方法によれば, 標準曲線を描く際に, ある程度正確さが失なわれるが, 8点ではなく, 3~4点の標準値を用いても良いと思う.

#### 結論

RIA 法により血清 AFP の測定を行なった.

本法は定量的な優れた方法であり感度は  $1\text{--}2 \mu\text{g}/\text{ml}$  である.

#### 文献

- 1) Gitlin, D. and Boesma, M.: Serum  $\alpha$ -fetoprotein in the human conceptus., J. Clin. Invest., 45., 1826, 1966
- 2) Abelev, G. I., Perova, S., Khramkova, N., Postnikova, Z. and Irlin, Y.: Production of embryonal  $\alpha$ -globulin by transplantable mouse hepatomas., Transplantation, 1, 174, 1963
- 3) Tatarinov, Ju. S.: Detection of embryospecific  $\alpha$ -globulin in the blood sera of patient with primary liver tumor., Vops. Med. Klin., 10: 9, 1964
- 4) 平井秀松:  $\alpha$ -フェトプロテインの生化学. 医学のあゆみ; 80, 813, 1972
- 5) 平井秀松, 西 信三, 渡部博之, 塚田 裕:  $\alpha$ -グロブリンの生化学的, 臨床的研究., Medical Postgraduates; 9, No. 6, 28, 1971
- 6) 平井秀松: 肝癌患者血清中の胎児性  $\alpha$ -グロブリン., 臨床検査, 14, 1061, 1970
- 7) Purves, L. R. and Berson, I.: Radioimmunoassay of alpha feto-protein., Proc. South African association of Pathologist; p. 67, July, 1969
- 8) 石井 勝, 池原英夫, 戸沢辰雄, 井上英士, 新光毅:  $\alpha$ -fetoprotein の Radioimmunoassay とその臨床的意義; 医学のあゆみ, 79, No. 77, 昭46
- 9) 西 信三, 平井秀松:  $\alpha$ -fetoprotein の Radioimmunoassay について., 免疫実験操作法, 215, 1971, 免疫学会編
- 10) Ruoslahti, E. and Seppälä, M.: Studies of carcino-fetal protein III. Development of a radioimmunoassay for  $\alpha$ -fetoprotein, Demonstration of  $\alpha$ -fetoprotein in serum of healthy human adult., Int. J. cancer, 8, 374, 1971
- 11) Ruoslahti, E. and Seppälä, M.:  $\alpha$ -fetoprotein in normal human serum., Nature, 235, Jan. 21, 161, 1972
- 12) Seppälä, M. and Ruoslahti, E.: Radioimmunoassay of maternal serum alpha fetoprotein during pregnancy and delivery., Am. J. Obstet. Gynecol., 112, 208, 1972
- 13) Abelev, G. I.: Production of embryonal serum  $\alpha$ -globulin by hepatomas. Review of experimental and clinical data., Cacer Research; 28, 1344, 1968
- 14) Gitlin, D. and Boesman, M.: Sites of serum  $\alpha$ -fetoprotein synthesis in the human and in the infant; J. Clin. Invest., 46, 1010, 1967
- 15) Irlin, I. S. and Abelev, G. I.: Changes in the biological and biochemical properties of normal hepatoma during long-term cultivation in vitro; Int. J. Cancer., 1, 337, 1966
- 16) 西岡久寿弥: 原発性肝癌患者血清における Australia 抗原と  $\alpha$ -フェトプロテインの相関. 医学のあゆみ: 80, 816, 1972
- 17) 西岡久寿弥他. 肝がんと Australia 抗原の関連性について. 日本臨床; 30, 1154, 1972
- 18) 平井秀松:  $\alpha$ -グロブリンの生化学的臨床的研究, 日本合同癌会議シンポジウム記録 p. 48, 1970, 10, 大阪
- 19) 高橋正宣, 川口昭恵, 安間嗣郎, 谷中 誠, 河内国士: Medical postgraduates; 9, 249, 1971
- 20) 高橋正宣:  $\alpha$ -フェトプロテイン蛍光抗体法による

- 肝癌の病理学的知見；医学のあゆみ., 81, 28, 1972
- 21) 西岡幹夫, 沖田 極, 藤田輝雄：蛍光抗体法による肝癌組織内  $\alpha$ -フェトプロテインの検討；医学のあゆみ, 81, 29, 1972
- 22) O'Conor, G. T., Tatarinov, Yu. S., Abelev, G. I. and Uriel, J.: A collative study of the evaluation of a serologic test for primary liver cancer. Cancer; 25: 1091, 19
- 23) 向島達夫, 大平克子, 服部 信, 長谷川 博, 北岡久三： $\alpha$ -1-Fetoglobulin による原発性肝癌の診断. 肝臓; 11, 325, 1970
- 24) Alpert, E., Hershberg, P., Schur, P. H. and Isselbacher, K. J.:  $\alpha$ -fetoprotein in human hepatoma improvid detection in serum and quantitative studies using a new sensitive technique. Gastroenterology., 61, 137, 1971
- 25) 西岡幹夫, 宮里 薫, 沖田 極, 藤田輝雄： $\alpha$ -fetoprotein の蛍光電気免疫拡散法による検出. 医学のあゆみ; 77, 672, 昭46
- 26) Alpert, E., Uriel, J., de Nechaud, B.: Alpha-1-fetoglobulin in the diagnosis of human hepatoma. New. Eng. J. Med.. 278, 984, 1968
- 27) Uriel, J., de Neu chau, B., Stanislawski-Bieoncwaig, M., Masseryeff, R., Leblanc, L., Quenum, C., Loisillier, F. and Grabar, P.: Antigenes embryonaires et Cancer du foie chez C'homme Assocition de la  $\alpha$ -fetoproteine serique avec l'hepatoma primaire. Compt. Rend. Acad. Sci. Paris., 265, 75, 1967
- 28) Purves, L. R., Macnab, M., Geddes, E. W. and Bersohn, I.: Serum- $\alpha$ -fetoprotein and primary hepatic cancer. Lancet; April, 27, 1968, 921
- 29) Smith, J. B. and Todd, D.: Fetoglobulin and primary liver cancer. Lancet., Oct, 12, 1968, 833
- 30) Hull, E. W., Carbone, P. P., Moerlel, C. G. and O'conor, G. T. : Serum  $\alpha$ -fetoprotein in the U.S.A. Lancet., April, 11, 1970, 979
- 31) Foli, A. K. and Sherloch, S.: Serum  $\alpha$ -fetoprotein in patients with liver disease. Lancet., Dec. 13, 1969, 1267
- 32) Teres, J., Bortra, A., Mas, A. and Gras, J.:  $\alpha$ -fetoprotein in Spain. Lancet., 11, Aug. 29, 465, 1970
- 33) Economopoulos, P., Theodoropoulos, G. and Sakellaropoulos, N:  $\alpha$ -fetoprotein in Greece and France. Lancet., 1, June 20, 1337, 1970
- 34) Kresno, S. B., Gandasoeturata, R. and Reinhe, P. H.: Serum  $\alpha$ -fetoprotein in Indonesia. Lancet, May 30, 1178, 1970
- 35) Alpert, M. I., Wogan, G. and Parsidson, C. S.: Aflatoxin and hepatoma in Uganda. Gastroenterology., 54, 149, 1968
- 36) Mawas, C., Buflen, D. and Burtin, P.: Influence of age on  $\alpha$ -fetoprotein incidence. Lancet., June 13, 1292, 1970
- 37) Bagshawe, A. and Parher, A. M.: Age-distribution of  $\alpha$ -fetoprotein in hepatocellular carcinoma. Lancet 1, 260, 1970
- 38) Purves, L. R., Bersohn, I. and Geddes, E. W.: Serum alpha-feto-protein and primary cancer of the liver in man. Cancer., 25, 1261, 1970
- 39) 佐々木憲一： $\alpha$ -フェトプロテインと肝細胞癌の組織学的異型度. 医学のあゆみ., 81, No. 1, 26, 1972
- 40) 葛西洋一, 水戸建郎, 宮川 明, 佐々木憲一: AFP と肝癌の臨床病理学的検討. 日本臨床., 80, 1186, 1972
- 41) 三浦 健, 杉浦光雄, 石田正純, 遠藤康夫, 織田敏次: 原発性肝癌の肝動脈内注入化学療法と  $\alpha$ -fetoprotein. 日本臨床., 30, 1201, 1972
- 42) 内野純一, 葛西洋一, 泰 温信, 西 信三, 武田武夫: 小児期肝癌と  $\alpha$ -フェトプロテイン. 外科., 34, No. 148, 1972
- 43) 間島 達, 長谷川 博, 服部 仁: 手術患者における  $\alpha$ -fetoglobulin の減少率とその予後. 医学のあゆみ., 75, 48, 昭45
- 44) 服部 信, 長谷川 博: 胎児性癌と  $\alpha$ -フェトプロテイン. 医学のあゆみ., 80, 820, 1972
- 45) 土田嘉昭: 胎児性癌と  $\alpha$ -フェトプロテイン. 医学のあゆみ., 80; 821, 1972
- 46) Kahan, B. and Levine, L.: The occurrence

- of a serum fetal  $\alpha$ -protein in developing mice and murine hepatomas and teratomas. *Cancer Research.*, 31, 930, 1971
- 47) 折田薰三, 相原栄爾: 日本医事新報., No. 2509, 11, 1972
- 48) 赤井貞彦, 加藤 清: 転移性癌と  $\alpha$ -フェトプロテイン. *医学のあゆみ.*, 80, 819, 1972
- 49) 北岡久三, 服部信三, 向島 達:  $\alpha$ -fetoprotein と転移性癌. *医学のあゆみ.*, 79, No. 3, 129, 昭46
- 50) 井村裕夫: Radioimmunoassay および, その他の competitive radioassay. *内科.*, 29, 686, 1972

### Summary

### Radioimmunoassay of alpha fetoprotein

Mamoru NAKAMURA, Yoshikazu SAWAI and Mitsunobu ABE

*Department of Radiology, School of Medicine, Tohoku University*

(Director: Prof. F. Hoshino)

Alpha fetoprotein has been measured by a radioimmunoassay method. The general procedure is as follows. 0.5 ml of buffer solution or 0.4 ml of buffer solution and 0.1 ml of horse serum is added to a tube, the former is for an unknown sample, the latter for construction of standard curve. Then a known amount of 0.1 ml of AFP or a sample containing an unknown amount of AFP is added. In next step, 0.1 ml of  $^{125}\text{I}$ -AFP and the first antibody are added. The mixture is stirred well and incubated at 4°C for 24 hours. After an incubation period, 0.1 ml of the second antibody is added to the tube and incubated again at 4°C for 24 hours. Incubation is stopped and the first count is measured. The tube is centrifuged for thirty minutes at 3,000 r.p.m.. The supernatant is decanted. The second count is measured. For construction of a standard curve, 1st count/2nd count is plotted for a known concentration of standard alpha fetoprotein. The concent-

ration of standard alpha fetoprotein is 320, 160, 80, 40, 20, 10, 0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . The concentration of alpha fetoprotein in an unknown sample is obtained from the observed binding of labelled alpha fetoprotein in the sample by reference to the standard curve. It is possible to detect a level of 1-2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  of alpha fetoprotein. Alpha fetoprotein in human serum has been considered to be characteristic of the fetal and early neonatal periods and of certain types of malignant tumors. A radioimmunoassay for the determination of alpha fetoprotein is more sensitive than other methods and demonstrates alpha-fetoprotein in serum of patients with hepatitis and liver cirrhosis.

In six cases of hepatoma, AFP was demonstrated in all. This commercially available radioimmunoassay kit for determination of alpha fetoprotein (provided by "Dianabot Radioisotope Lab.") is excellent because of its high sensitivity and precise quantification.