

5. スクリーニングのための乾燥濾紙血液を用いたRIAによる血中 α -フェトプロテイン測定の基礎的検討

Fundamental Studies on the Determination of Blood α -Fetoprotein by RIA Using Dried Blood Filter Paper for Screening

岸 信夫 福士 勝 荒井 修
佐藤 敏雄 林 英夫 高杉 信男

Nobuo Kishi, Masaru Fukushi, Osamu Arai, Toshio Sato,
Hideo Hayashi and Nobuo Takasugi

1. 緒 言

血中 α -フェトプロテイン(AFP)レベルの測定は、原発性肝癌、生殖腺癌、肝炎等の診断および治療指針として有用である^{1~6)}。

また、妊娠中に胎児奇形特に神経管欠損のある場合、羊水および血中AFPレベルが高値となり^{7~12)}、その出生前診断に妊婦の血中AFPレベルの測定が有効であるとの報告が最近米国、英国、北欧等でなされている^{13~15)}。

そこでわれわれは、これらの報告に着目し、AFP測定を、広く簡便に行うために、乾燥濾紙血液を用いた2抗体法RIAによる血中AFP測定の基礎的検討を行い、この方法で測定が可能であることが判明したので報告する。

2. 実験方法

2.1 標準AFP濾紙血液

無AFP、ヘマトクリット値38の血液に高濃度AFP血清を加え、2倍希釈により、各濃度の標準AFP血液をつくった。

これを先天性代謝異常スクリーニング用の濾紙

に50 μ l ずつ滴下吸着させ、乾燥後、4℃および-20℃で保存した。

2.2 使用キットおよび試薬の調製

キットは血清用AFPリアキット(AFP「栄研」)を使用した。

また、AFP抗血清、¹²⁵I標識AFP、第2抗体等の希釈には0.5%牛血清アルブミンを含んだ0.05Mリン酸緩衝液(pH 8.0)を用いた。

2.3 測定法

乾燥濾紙血液：血清用2抗体法RIAに準じたが、試薬量および反応時間を変えて行った。乾燥濾紙血液の4.25mm デスク1枚をディスプレイ・ポリスチレンチューブ(丸底8~10×72mm)内でAFP抗血清と反応させ、順次¹²⁵I標識AFP、第2抗体を加えた(図1)

放射能活性はガンマ・シンチレーションカウンターで計測した。

血清：血清用キットAFP「栄研」のフローシートに従った。

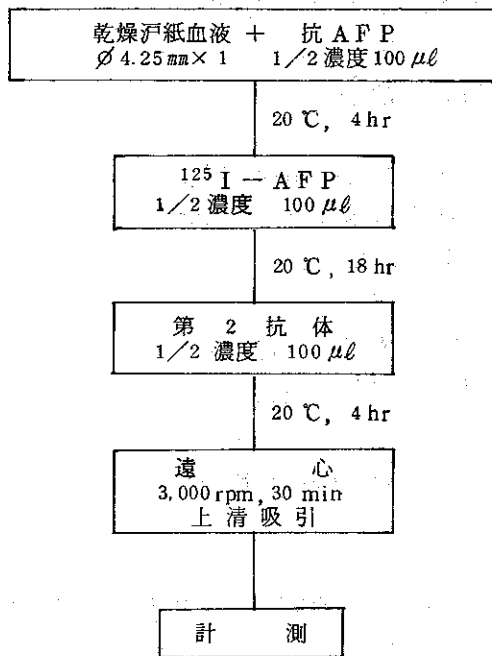


図1 測定法

3. 結果

3.1 標準曲線

乾燥濾紙血液中のAFPは4℃および-20℃では比較的安定であり、また濃度0 ng/mlでの抗原抗体結合率は約50%であった。

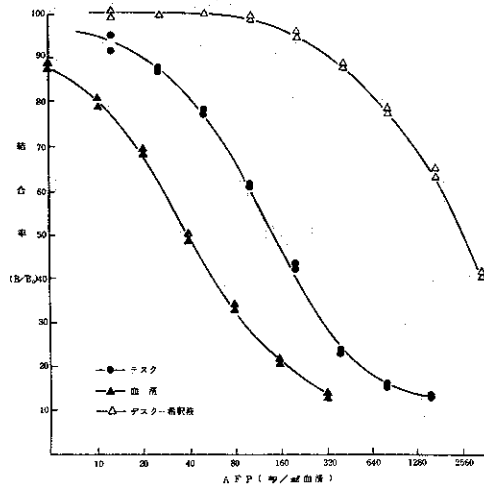


図2 標準曲線の比較

4.25 mm ディスク1枚で得られた標準曲線は、血清での標準曲線と同じような曲線となり、その測定可能範囲は20~500 ng/mlであった(図2)。

血清の測定系で、血清の代わりに4.25 mm ディスク1枚と希釈液100 μlを用いた場合は、AFP濃度200 ng/ml以上の測定には使えるかも知れないが、それ以下のAFP濃度では測定不能であった。

3.2 乾燥濾紙血液AFP値と血清AFP値との相関関係

乾燥濾紙血液AFP値と血清AFP値との相関を検討したところ、相関係数 $r = 0.95$ と良好な相関が得られた。

また、血清AFP値で10 ng/ml以下と低い値を示した26例については、乾燥濾紙血液AFP値でも全例検出限界の20 ng/ml以下であった。

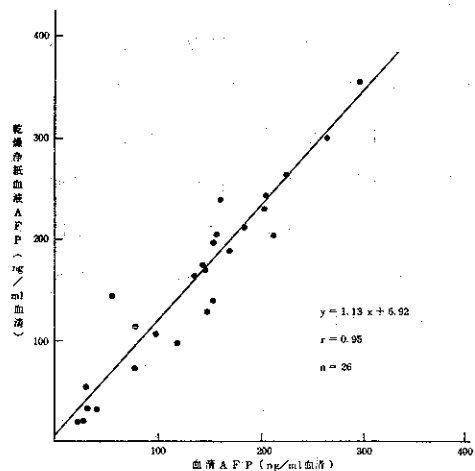


図3 乾燥濾紙血液AFP値と血清AFP値との相関

4. 考察

正常成人の血中AFPレベルは20 ng/ml以下であり、また妊娠週令16~18週の妊婦AFPレベルは大部分が20~200 ng/mlの間である^{13~16)}ことから、乾燥濾紙血液による測定範囲はほぼ満足すべき範囲である。

しかも、従来の血清検体による測定と比較して、

感度、測定所要日数は同等であり、キット、試薬の使用量は少なく、かつ多数の検体を一度に処理することができる。したがって、経費は安くなり、スクリーニングのためには最も適した測定法といえる。

特に検体として乾燥紙血液を用いたことは、血液が微量でよく、検体として安定であり、取り扱いが簡単で郵送も可能である。

5. 結 語

乾燥紙血液を用いた2抗体法RIAによる血中AFPの測定は、肝疾患および生殖腺癌等の早期発見、胎児奇形の出生前診断等のスクリーニングに最適な方法であると考えられる。

6. 文 献

- 1) Hidematsu HIRAI, Shinzo NISHI, Hiroyuki WATABE, and Yutaka TSUKADA: Gann Mono. Cancer Res. 14, 19, (1973)
- 2) Yasuo ENDO, Koichi KANAI, Shiro IINO, and Toshitsugu ODA: *ibid.* 14, 67, (1973)
- 3) Shinzo NISHI and Hidematsu HIRAI: *ibid.* 14, 79, (1973)
- 4) Masaru ISHII: *ibid.* 14, 89, (1973)
- 5) Katsuhiko SUGAHARA, Akiyosi KASHII, and Nobuhiro KAWANO: *ibid.* 14, 99, (1973)
- 6) 谷内 昭: 医学のあゆみ, 106, 5, 235, (1978)
- 7) BROCK, D. J. H., and SUCLIFFE, R. G.: Lancet, July 29, 197, (1972)
- 8) SEPPÄLÄ, M., AHO, I., WIDHOLM, O., and RUOSLAHI, E.: Am. J. Obstet. Gynecol. 113, 3, 323, (1972)
- 9) 日野陸雄, 西信三, 山下幸紀: 医学のあゆみ, 82, 8, 512, (1972)
- 10) WALD, N. J., BROCK, D. J. H., and BONNAR, J.: Lancet, April 27, 765, (1974)
- 11) NORIN, P., DELAVEST, P., ABOU, S., GUÉRIS, J., and TÉCHENET, J.: J. Gyn. Obst. Biol. Repr. 6, 193, (1977)
- 12) KING, C. R., and PRESCOTT, G. H.: Am. J. Obstet. Gynecol. 130, 3, 279, (1978)
- 13) SEPPÄLÄ, M., and RUOSLAHTI, E.: Contr. Gynec. Obstet. 2, 143, Karger (Basel), (1976)
- 14) Report of U.K. Collaborative Study on Alphafetoprotein in Relation to Neural-tube Defects.: Lancet, June 25, 1323, (1977)
- 15) MILUNSKY, A., and ALPERT, E.: N. Eng. J. Med. 298(13), 738, (1978)
- 16) 西 信三: 総合臨床, 27, 増刊号, 425, (1978)