



## 私の $\alpha$ -フェトプロテイン小史(10)

香川医科大学 名誉教授 西岡 幹夫

### 実験助手

大学院生時代には実験は自分自身で行うが、大学の助手になると診療などもあり、また、研究効率を上げるためにも、実験助手に実験を補助してもらう。当時、彼らをラボランチンと呼んでいた。彼らの仕事はさまざま、試験管やピペットなど実験器具の洗浄や滅菌などの雑用から、中にはいろいろなテクニックをマスターして実験にも関与した。高校や短大等を卒業した女性が多く、その中には実験の呑み込みが早く、また、研究自体に興味を持つ実験助手もいた。

私は AFP 研究において、2 人の実験助手に大変お世話になった。その 1 人は山縣敏枝さんで、山口大学時代、私が AFP 研究に着手した昭和 41 年頃の数年であった。AFP、人胎児タンパクや臓器組織タンパクの精製、その抗体の作成などを手伝ってもらう。オクテルロニー法（免疫沈降反応）による抗原や抗体の同定、また、少々熟練が必要だったが、免疫電気泳動法、感作羊赤血球を用いた補体結合反応による抗体の測定なども願う。彼女は自分のことの様に熱心に、また、責任を持って実験に関わり、大変頼りになる。そして、良い成績が出ると、あたかも自分のことのように喜んだものだ。彼女のノートには生の実験データや工夫してまとめた所見が、丁寧な細かい字で書かれており、その数冊は今も私の書斎にある。

市川えり子さんは香川大学保健管理センターで武田和久教授の実験助手として、1980 年から約 10 年間、一貫して AFP 関連の多くに研究に関わる。彼女はレクチン親和電気泳動を終えた AFP を転写する際に、プロットングの器械を用いなくても、つまり通電しなくても、AFP 抗体をつけたメンブレンに AFP を転写できる簡単な方法を確立した。偶

然の機会に気付いたらしいが、以後、この方法は広く普及した。そして、武田先生は多くの学術論文を市川さんと共著で書かれていることは特記しておく。

武田先生は岡山大転任に際し、市川さんを私に紹介された。それ以降、彼女は約 10 年間、香川医科大学第三内科（現 香川大学消化器・神経内科）で働き、実験助手として大学院生の面倒を見てもらう。ここでも、市川さんは自身が開発に関与した AFP-L3 分画テストワコーの臨床応用にも携わり、肝細胞癌の早期診断におけるその意義について発表した<sup>1)</sup>。

### AFP グリコフォームの解析

米国において最も早く AFP 臨床研究を手がけた Alpert E は、等電点泳動などによって、肝癌患者血清ならびに胎児の AFP は 2 つ分画を持つと報告した<sup>2)</sup>。既に述べたように、患者血清の AFP は抗 AFP 抗体と完全に一本の沈降線を形成するので、私にとっては些か驚きであった。しかし、Alpert によると、これら 2 つの AFP 分画は免疫学的には同一で、それぞれ等電点、4.85 と 5.2 を持ち、さらに、その AFP を neuraminidases 処理すると AFP は homogeneous な分画となる。この研究はレクチン結合による糖鎖構造の解析に繋がった。

その後、Johnson PH らは等電点電気泳動法により、AFP には 9 つの分画を認めた。これらアイソフォームの内、AFP+I は慢性肝炎患、HCC や妊娠後期に、AFP+II は HCC に、AFP+III は非精上皮腫性胚細胞腫瘍に認められ、これら疾患の鑑別にも役立つと指摘した<sup>3)</sup>。しかし、市川さんの等電点電気泳動法による AFP の解析では、Johnson PH らに言うような AFP アイソフォームは必ずしも HCC に特異的とは言えなかった。

そこで、市川さんは E-PHA レクチンの入った

寒天を用いて各種患者血清のAFPの一次元の電気泳動を行い、そのサンプルを二次元で等電点電気泳動で検討し、AFPのグリコフォームを解析した。多彩な泳動パターンが観察され、その成績はElectrophoresisに発表した<sup>4)</sup>。胎盤血清AFPでは、-I-P2、+I-P2、+II-P4、+I-P5のスポットとして(図1a)、肝硬変AFPでは、+I-P2、+II-P2が主として認められ(図省略)、肝細胞がんAFPでは+II-P4が特異的に出現するものの、図1(c、d)のように非常に多様なスポットが認められ、多様なグリコフォームの存在が示唆される。HCCにおけるAFPの糖鎖構造は多様性を示し、これらは武田先生の言う「肝細胞癌におけるAFPの糖鎖構造の不均一性を」を物語るものであろう。以上から、①AFP+I-P2は胎盤血清や肝硬変などの良性肝疾患に、AFP+II-P4はHCC特異的である、②P5分画は量的に少ないものの、AFP+I-P5やAFP+II-P5に関してはさらなる解析が必要であると考えた<sup>4)</sup>。この研究には、われわれの教室に留学中の金玉姫(Jim Yuji, 白求恩医科大学)が加わった(図2)。市川さんには外国からの留学生の実験補助をお願いしていたので、今も彼らと会うと、市川さんの動静を尋ね、自らの留学時代のことを懐かしむ。

また、neuraminidases処理後のAFP(臍帯血)の二次元電気泳動を行い、AFPの糖鎖構造を解析した<sup>4)</sup>。本酵素処理前のAFPはdisialo-AFPで、AFP-P2、AFP-Iが主体である(図1a)。本酵素の処理濃度を増やすとmonosialo-AFP、さらにasialo-AFPが増え、AFP-P4、AFP-II(+IIc-P4)、さらにAFP-III、(+III-P4)などが認められる(図1b)。AFPは1分子あたり1本のアスパラギン結合型糖鎖を有する糖たんぱくであり、そのシアル酸結合の不均一性がAFPのアイソフォームと関連し、疾患特異的なAFPグリコフォームとして表現されるのであろう。市川さんが「肝がんは何故AFPを作り、また、なぜ糖鎖を変えるのか」と不思議がっていたことを思い出す。

### 腫瘍抗原フォーラムの開催

近年、新しい腫瘍抗原の検査も可能となり、平成10年、AFP-L3分画テストワコーは日常の臨床検査

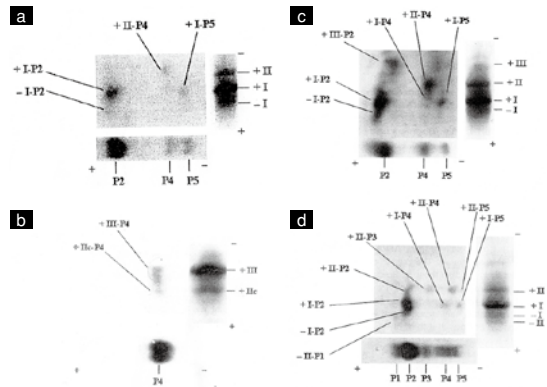


図1 1次元親和電気泳動ならびに2次元等電点電気泳動によるAFPグリコフォーム

として保険適応となる。この分野は急速に進歩したので混乱もないわけではない。この問題に対応するため、AFP研究に長年携わる3名の大御所、遠藤康夫先生、西信三先生、武田和久先生(図3)の参加を得て、肝癌腫瘍マーカーのフォーラムが高松市で平成12年12月開催された。

加藤亮二先生(香川県立医療短大臨床検査学)は腫瘍マーカー、胎児タンパク、酵素、ホルモン、糖鎖抗原、腫瘍産生性タンパクなどについて総論的に話題を提供した。

渡辺精四郎君(香川医大第三内科)はHCCにおけるAFPとPIVKA IIとのcombination assayの有用性、また、HCC最大径とPIVKA II値との相関性を指摘した。

黒河内和貴君(香川医大第三内科)はAFP-L3分画(%、絶対値)はHCCのEdmondson分類I、II型よりIII、IV型において高値を呈し、分化度と相関することを示した。

遠藤康夫先生(三楽病院名誉院長)はAFP研究の歩み、1968年頃、流産組織抽出液を家兔に免疫しAFP抗体を作成して臨床応用した当時の研究について、また、AFPレクチン分画のHCC早期診断としての意義についても述べた。

西信三先生(北海道大学大学院医学研究科 分子生化学講座)はAFPを産生するトランスジェニックマウスを樹立する。これらマウスにおいては、メチル化アルブミン関節内投与による自己免疫性関節炎や、また、ペルオキシダーゼ投与による甲状腺炎

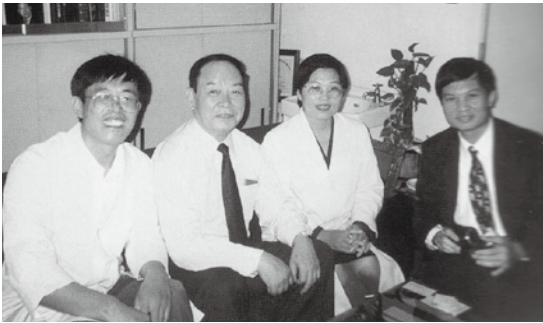


図2 海外留学生とともに（1999年10月 教授室）  
右から Mai Hong Bang(ハノイ大学)、金 玉姫(白求  
思医科大学)、筆者、ト 平(揚州医学院)



図3 腫瘍抗原フォーラムの懇親会（2000年12月）  
右から筆者、西 信三、遠藤康夫、武田和久先生

の発症が有意に抑えられること、つまり、これらの発症を AFP が抑制すること、AFP の細胞性免疫能の抑制について報告した。私は既に述べたように、1975年頃、AFP の免疫抑制に関する実験をラットやヒトでおこない、ネガティブの所見を得ただけに、これらの成果に驚いていた。また、この領域の研究のその後の進展も著しい。

武田和久先生（井原市民病院）は① AFP は HCC 発生の高危険群の予知マーカー、②糖鎖構造を異にする AFP-L3および AFP-P4は HCC 特異的なマーカー、③ AFP-L3が陰性、AFP-P4陽性 HCC が存在することなど指摘した。

## おわりに

今から10年も前だが、日本癌病態治療研究会の会長から本誌に随筆の執筆を頼まれた。

その頃、本書の「自分の研究歴」の項なども面白く読んでいたので、若い時代に夢中になった AFP について書くことにした<sup>5)</sup>。2、3編で執筆を終えるつもりであったが、次々と研究会会長から引き続き執筆を依頼され、その気になり、長いシリーズとなった。

私は大学院時代に「胆汁の逆流機序」の研究で学位を受理するが、原発性胆汁性肝硬変症と亜急性肝炎の症例から“肝炎の慢性化”に興味を持つようになる。肝炎ウイルスはまだ発見されておらず、これらの原因として「自己免疫」が注目されつつあった。そして、京都大学に出かけ濱島義博先生に蛍光抗体法を習い、自己免疫現象の解析を始める。ちょ

うどその頃、教室の故藤田輝雄教授から AFP の抗体作製を依頼され、AFP 研究にも関心を持つ。この研究を通じて、University of Washington に於いて faculty として2年間、腫瘍免疫学の研究に携わる。それ以来、肝疾患、特に自己免疫肝疾患や肝癌の病態生理と治療に関する研究に免疫学的アプローチを行ってきた。

若い時代のインパクトは大きい。楽しかった日々と忘れえぬ人々に感謝しているこの頃である。

おわり

## 文献

- 1) 市川えり子、宮内嘉明、西岡幹夫：AFP 陽性慢性肝疾患の長期経過観察－レンズマメレクチン反応性 AFP-L3 の有用性 腫瘍マーカー研究会誌 12:205-206、1998。
- 2) Alpert E, Drysdale JW, Isselbacher KJ & Schur PH : Human  $\alpha$ -fetoprotein, Isolation, Characterization and demonstration of microheterogeneity. J of Biological Chemistry 247: 3792-3798, 1972.
- 3) Johnson PJ, Ho S, Cheng P, Chan A, Leung T & Yuen J : Germ cell tumors express a specific alpha-fetoprotein variant detectable by Isoelectric focusing. Cancer 75:1664-1668, 1995.
- 4) Ichikawa E, Kuriyama S, Masaki T, Uchida N, Nishioka M & Taketa K : Further resolution of  $\alpha$ -fetoprotein glycoforms by two-dimensional isoelectric focusing and lectin affinity electrophoresis. Electrophoresis 27:3480-3487, 2006.
- 5) 西岡幹夫：私の  $\alpha$ -フェトプロテイン小史（1） W' Waves 11:38-42、2005。