

図 1 良性肝疾患ならびに HCC における AFP 上昇の分布比較

第 16 回全国原発性肝癌追跡調査報告で AFP 15 ng/mL 以上を示した 11,496 例の AFP 濃度分布と、当科における HCC を否定した良性肝疾患 291 例の分布の両者を示す。

AFP 濃度の臨床的意義

1. AFP 濃度による HCC 診断能

17,538 例を集計した第 16 回全国原発性肝癌追跡調査報告(2000 ~ 2001 の全国集計)によれば、AFP の陽性率(今回より AFP 15 ng/mL 以上が陽性)は 66 %と報告され、いまだその診断的価値が高いことを示している³⁰⁾。図 1 はこれらの報告を各濃度域別に階層化したものであるが、AFP 陽性を示した 11,496 例の HCC のうち 56 %が 200 ng/mL 未満のレンジで診断に供している。また、1,000 ng/mL 以上で診断されている割合は AFP 産生 HCC のうちわずか 25 %であった。

2. 良性肝疾患での AFP 上昇

AFP 測定法の高感度化にともなう良性肝疾患における AFP の軽微な上昇が報告されるに至ったが^{31)~33)}、それらのなかで特に問題となるのは進行した慢性肝疾患、特に LC 単独での上昇と

HCC 合併との鑑別である。図 1 に当科における HCC を否定した慢性肝疾患、主に LC での AFP 上昇を合わせて示す。この結果では 55 %が 200 ng/mL 未満の間に分布し、1,000 ng/mL 以上の症例は 9 %であった。すなわち、200 ng/mL 未満のレンジに AFP 陽性の HCC の半数以上が分布し、良性肝疾患との鑑別が単回の濃度測定ではきわめて困難であることを示している。

AFP 糖鎖による鑑別

1. AFP の糖鎖構造

ヒト AFP にはアミノ末端より 233 ~ 235 番目に N-グリコシド型糖鎖の認識構造である Asn-(Phe)-Thr が存在し³⁴⁾、この 233 番目のアスパラギンに糖鎖が結合していることが知られている。そして、一般の血清糖蛋白と同様、AFP 糖鎖は二分岐型複合糖鎖を基本形とし、各種の修飾が加わると報告されている³⁵⁾³⁶⁾。

表1 AFP 糖鎖構造とレンズマメレクチン結合性

糖鎖構造	疾患	レンズマメレクチン結合性
二分岐型複合型 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-2 Man α 1-6	良性肝疾患	L1*
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-2 Man α 1-3		Man β 1-4 GlcNAc β 1-4 GlcNAc-Asn (-)
フコシル化二分岐型複合型 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-2 Man α 1-6	HCC	L3
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-2 Man α 1-3		Fuc α 1-6 Man β 1-4 GlcNAc β 1-4 GlcNAc-Asn (+)

* : Taketa らのレクチン分画分類

2. AFP の microheterogeneity

AFP の microheterogeneity の研究は、1969 年の電気泳動法による Purves らの報告にさかのぼる³⁷⁾。また、AFP の由来する種についてもマウス、ラット、ヒトなど多くの報告があり、電価の差によるものや分子量の異なる分子種などを認めている³⁸⁾⁻⁵¹⁾。また、Ruoslahti らは胎生期の時期による AFP の産生の場により糖鎖が異なることを報告し⁵²⁾⁵³⁾、糖鎖を指標とした識別の可能性が示唆されていた⁵⁴⁾⁵⁵⁾。

筆者らは、HCC 特異的な AFP 分子種の同定を目的として癌性ならびに良性肝疾患由来 AFP の比較構造解析を行ったが、蛋白部分には明らかな差を認めなかった。しかし、糖鎖組成分析で差を認める可能性を報告するに至った⁵⁶⁾。引き続き、糖鎖構造を間接的に反映する各種レクチンを用いた検討を行い、レンズマメレクチンに対する反応性の違いで両由来 AFP の識別が可能であることを報告した⁵⁷⁾⁻⁵⁹⁾。そして、最終的には HCC に特異性の高い分子種の糖鎖構造が還元末端の N-アセチルグルコサミンに α 1-6 の結合形式でフコースが付加されていることを明らかにした(表 1)⁶⁰⁾⁶¹⁾。

3. L3 (フコシル化 AFP) 分画計測方法

現在、フコシル化 AFP 分画測定は Taketa らによりキット化された親和性電気泳動法による L3 分画測定法として保険収載されている⁶²⁾⁶³⁾。また、最近ではその高感度自動化システムとしてレンズマメレクチンと糖鎖結合部近傍認識モノクローナル抗体を利用した、LBA (liquid binding assay) 法が大規模な臨床検査センターには導入され、本法による計測が一般臨床に用いられている⁶⁴⁾。本法による計測では L3 分画の割合にもよるが、10 ~ 30 ng/mL の AFP 濃度においても L3 の定量が可能とされている。この方法論の骨格は Suzuki らによって報告されたものであり、これを自動化した機器である⁶⁵⁾⁶⁶⁾。

4. L3 (フコシル化 AFP) 分画による鑑別

図 2-A は HCC 診断時の AFP 値が 500 ng/mL 以下の症例 227 例と、同じく AFP 500 ng/mL 以下で各種画像診断により腫瘍の存在を否定しえた良性肝疾患 231 例の血清 AFP 値のプロットである。平均値は HCC, 良性肝疾患それぞれ 183 ± 120 , 174 ± 120 ng/mL で有意差はなく、両疾患の鑑別は困難である。しかしながら、同症例でのフコシル化 AFP 分画のプロットでは(図 2-B), HCC; 良性肝疾患それぞれ 30 ± 29 , 4.6 ± 7.0 % と

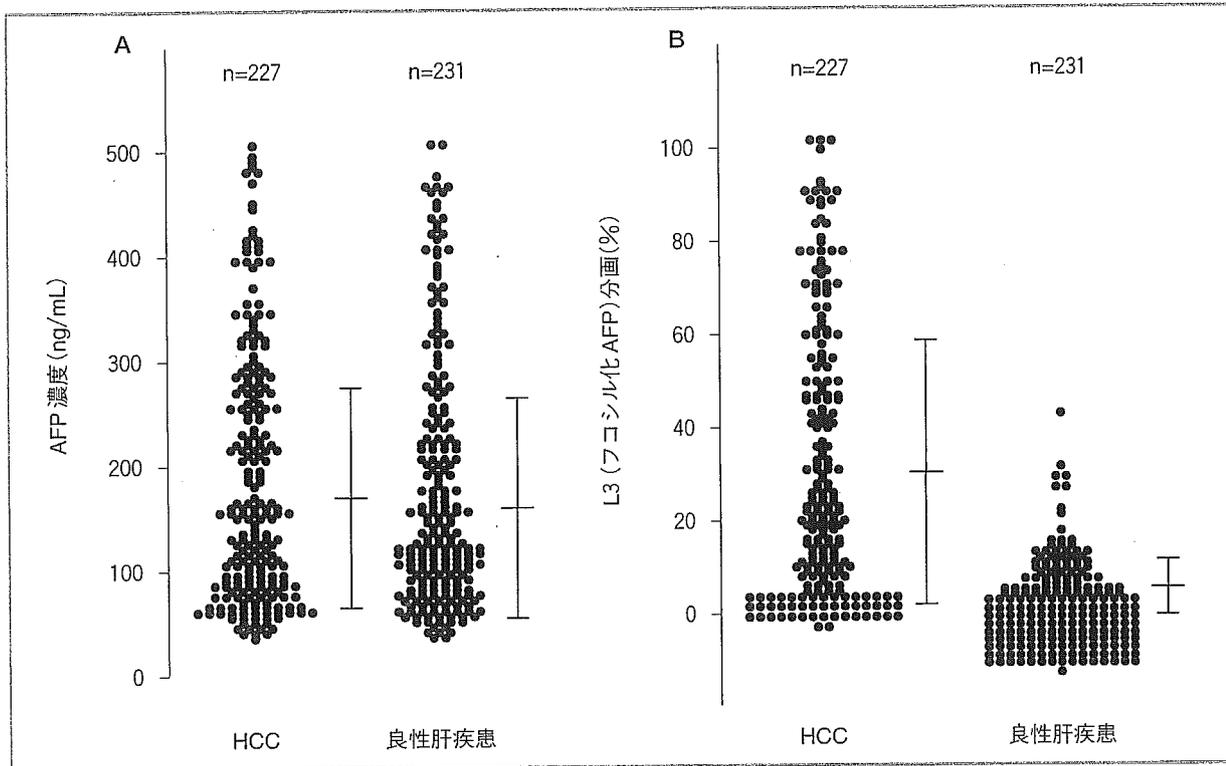


図2 L3 (フコシル化AFP) 分画による HCC と良性肝疾患の鑑別

A : HCC 診断時の AFP 値が 500 ng/mL 以下の症例 227 例と各種画像診断により癌の存在を否定した良性肝疾患 231 例の血清 AFP 値のプロット。異なる AFP の絶対量では両疾患の鑑別は困難であることを示している。B : 同対象でのフコシル化率のプロット。HCC と良性肝疾患の鑑別が可能であることを示す。

有意な HCC 群での上昇を認め、両疾患の鑑別は可能であると考えられる⁶⁷⁾。

5. AFP 濃度と L3 (フコシル化 AFP) 分画

図 3 に HCC 患者血清における AFP 濃度とフコシル化 AFP のプロットを示すが、両者には有意な関連は認められず、互いに独立した因子と考えられる⁵⁹⁾。

L3 (フコシル化 AFP) 分画の経過観察の意義

慢性肝疾患長期観察例のなかで LC 時に AFP 上昇を認め、その際の各種画像診断により HCC の存在が否定され、最長 109 ヶ月の期間において AFP 再上昇を来し HCC へ進展した例が報告されている。4 例の LC 時の AFP のフコシル化

AFP は $4 \pm 6\%$ であったのに対して、HCC へ進展後は $31 \pm 24\%$ と有意な上昇を認めている。これらは、同一個体において癌化にともなう AFP 糖鎖のフコシル化の活性化を確認しえたことを示している⁶⁸⁾。

L3 (フコシル化 AFP) 分画による HCC 予知の可能性

Sato らの報告では 361 例のウイルス性 LC の平均約 3 年の前向きな経過観察で、33 例の HCC を診断し、そのなかの 73% に L3 分画を含む糖鎖変異を認めている。そして、その糖鎖変異の指摘は、画像上の HCC 指摘より 3 ~ 18 ヶ月先行していた。また、診断時の HCC の最大径も 72% が単発の 3 cm 以下であった⁶⁹⁾。同様のフコシル化 AFP を指標とした HCC 予知の可能性は、AFP

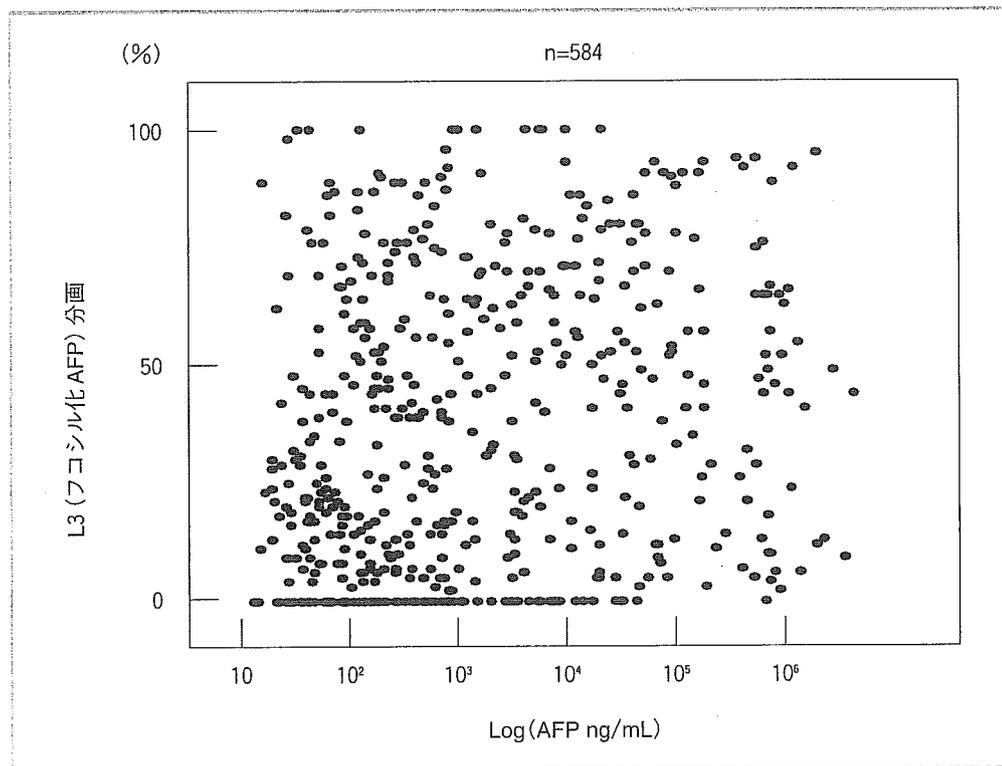


図3 HCC 584例における血清AFP濃度とフコシル化率のプロット
両者には有意な相関は認められず、互いに独立した因子と考えられる。

持続陽性 C 型肝硬変例の prospective な経過観察例において認められる。すなわち、最長、画像診断より 4 年先行してフコシル化 AFP 上昇を来し、HCC の存在を予知した症例が報告されている⁷⁰⁾。Endo, Shiraki らによる同様な報告も認められ⁷¹⁾⁷²⁾、これらの事実は、AFP 産生性ならびにフコース転移酵素の活性化の形質が、きわめて早期の HCC においても認められる場合があることを示している。

L3(フコシル化AFP)による腫瘍の生物学的悪性度評価

1. L3(フコシル化AFP)分画のHCC予後規定因子としての意義

腫瘍マーカーは本来、悪性腫瘍の診断、治療効果判定ならびに再発診断などに用いられてきた。しかしながら、現在ではこれに加え、その腫瘍の生物学的悪性度などの情報が推定できるようにな

り、予後予測やその治療法への反映が試みられている。AFPについても、質の変化であるL3(フコシル化)分画については、癌に特異的な分子種であるがゆえに、その出現の有無が予後を反映するということが次第に明らかにされてきた⁷³⁾⁻⁷⁹⁾。

Yamashita らは、治療前 L3 分画陰性の 55 例の HCC 症例に対して経皮的エタノール注入療法を主とする治療を行い、L3 分画の推移と経過、再発を検討した。その結果、23 例では経過中 L3 分画は陽性化し、門脈腫瘍塞栓や多発性の再発を認めている。他方、L3 分画陰性を維持した 32 例においては門脈腫瘍塞栓をともしない単発性の再発を認めた。さらに、4 年間の経過観察において、最終的な生存率は明らかに L3 分画陽性化群において不良であった⁷³⁾。

他方、Cox の比例ハザードモデルを用いた検討においてもフコシル化 AFP が有意な予後因子であることが報告されている。すなわち、119 例



の AFP 産生 HCC の検討で、フコシル化 AFP 高値群と低値群の間に、有意な生存率の差を認めている⁷⁴⁾。また、この報告では、同一 Stage にかぎっても、Stage I では有意差を認めなかったが、Stage II, III, IVA, IVB においては、フコシル化 AFP 高値群は明らかに低値群に比較して予後不良であった。同一 Stage 内の AFP 濃度での検討では、Stage IVA にのみ有意な生存率の差が認められた。

以上の事実は、フコシル化 AFP の多寡が腫瘍細胞の悪性度を表しているものと考えられる。すなわち、日常診療において、HCC 症例の予後を決定する際は解剖学的な進展度、すなわち、Stage 評価を各種画像診断で行う場合が大半であるが、腫瘍マーカーの prognostic indicator としての役割を評価し、治療法の選択にも役立つことが重要であると考えられる。

2. 脱分化因子としての血流との関係

HCC の多段階発育の過程において、脱分化の程度と腫瘍動脈血流の増加は相関することが知られている。Kumada らは二酸化炭素注入下の超音波検査による腫瘍動脈血流ならびに門脈造影下 CT による門脈血流の有無と L3 分画との関係を報告している。すなわち、門脈血流低下と腫瘍動脈血流増加を認める群において、それを認めない群に比較すると有意な L3 の上昇を呈したと報告している⁷⁹⁾。すなわち、L3 陽性群は明らかに腫瘍動脈血流の増加群と一致するものと考えられる。

治療目標における

L3(フコシル化 AFP)分画の意義

AFP 濃度の評価においては、AFP の非癌部からの産生の可能性を含め非特異的要素が含まれるが、フコシル化を受けた AFP の分子種は肝癌細胞にきわめて特異的であると思われる。よって、HCC の治療目標をフコシル化 AFP の低下ないし陰性化とすることが妥当と考えられる。留意すべ

き点は、フコシル化 AFP の陰性化は必要条件ではあるが、十分条件ではないことだと考えられる。さらに、本分子種が上昇を示すかぎり十分な治療ではないことを念頭に置く必要がある⁸⁰⁾。

フコシル化の酵素学的背景

フコシル化 L3 分画の酵素学的背景である α 1-6 フコース転移酵素は、Taniguchi らのグループによりクローニングされ⁸¹⁾、その活性も蛍光基質を用いた高速液体クロマトグラフィーで測定可能である⁸²⁾。Noda らの報告では、組織中の酵素活性は慢性肝疾患、特に LC 群においてすでに活性化が認められ、HCC 群との間に差は認めていない⁸³⁾。また、Miyoshi らの肝細胞癌培養細胞 HepB 3 における α 1-6 フコース転移酵素過剰発現実験においては、転移能は抑制される結果であり、AFP などの修飾を受けた product の増加が生物学的悪性度を増すという現象とは逆の結果と考えられる⁸⁴⁾。

Mita らの報告では、本酵素の組織活性は非癌部に比較して癌部に高い傾向を認め、フコシル化 AFP 量とも関連を示し酵素活性と product の関係として矛盾しない結果であった⁸⁵⁾。しかしながら、疾患群として本酵素活性を計測すると慢性肝炎や LC においてすでに高値を呈しており、AFP で認められたフコシル化分画ほど際立った差は得られていない。

今後、酵素活性と product としてのフコシル化の差を生ずる調節機構の解明が必要と考えられる。

他の糖鎖変異

1. AFP 糖鎖の多分岐化

AFP 糖鎖においては、フコシル化とともにバイセクト型を含む多分岐化とその疾患特異性が知られている。これらの多分岐化糖鎖は trimannosyl core に *N*-アセチルグルコサミンが付加され、

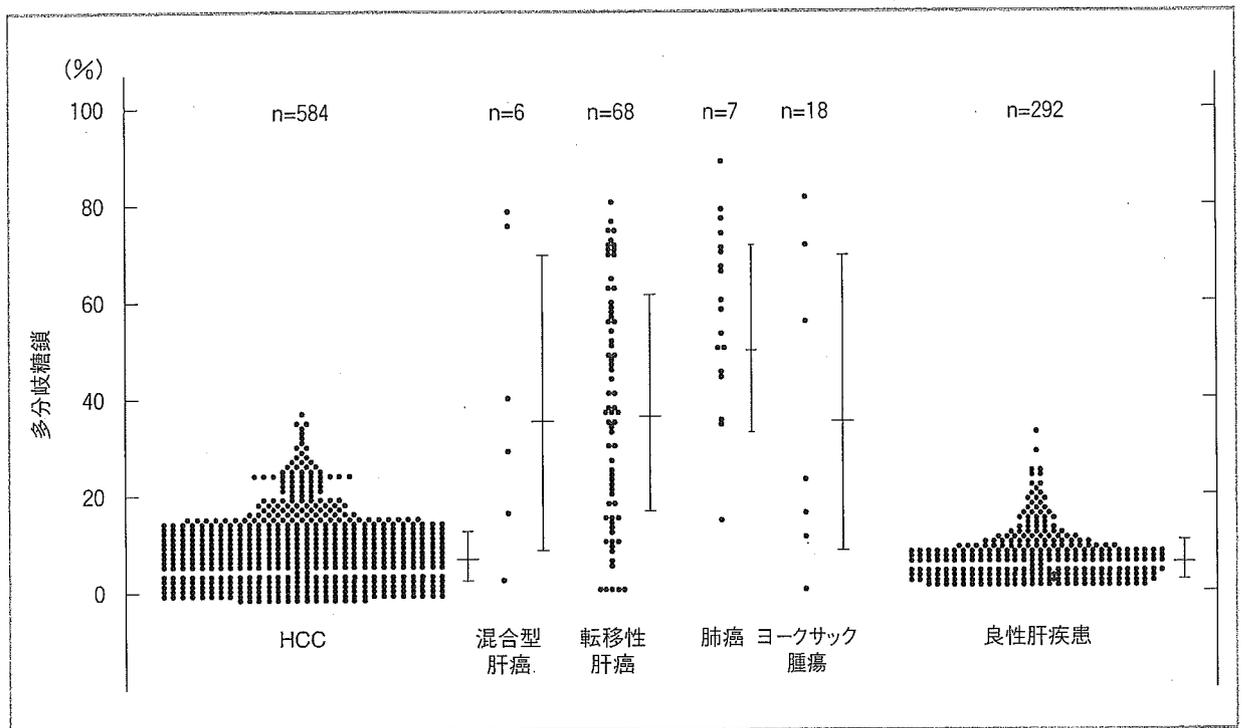


図4 HCC, 良性肝疾患, AFP 産生性各種疾患における多分岐化糖鎖の割合のプロット

HCC, 良性肝疾患では、それぞれ $n=7$, 3 ± 5 %と上昇を示さないのに対して、AFP 産生性各種疾患の転移性や混合型肝癌では、 38 ± 24 , 38 ± 31 %と、前2者に対して有意な上昇を示す。

コンカナバリン A (Con A) に反応性を有しなくなるため、総 AFP に対する Con A 非結合性分画の割合として測定できる⁸⁶⁾⁻⁸⁸⁾。また、Taketa らの親和性電気泳動の分画では、L2 分画として L1 と L3 分画の間に出現するバンドとしてとらえることができる。しかし、このバンドは L3 寄りに泳動されるため、分離の不十分な場合は正確な値の算定は困難である。加うるに、この L2 分画はフコシル化を受けた多分岐型糖鎖であることより、フコシル化を受けない多分岐型糖鎖を含まないと推定され、正確には Con A に対する反応性で評価すべきと考えられる。また、LBA 法を用いた自動化システムでは L3 分画として認識されるため注意を要する。

この多分岐型糖鎖、主にバイセクト型糖鎖は、胃癌を主とする消化管由来 AFP 産生性腫瘍やヨークサック腫瘍において認められるものであり、その鑑別診断に有用である⁸⁷⁾⁻⁸⁹⁾⁻⁹⁹⁾。しかしながら、

AFP 産生性の胃癌などにおいても、細胞の分化が肝細胞に近い形態を取るものではその糖鎖も HCC と同じ糖鎖、すなわち Con A に対して結合性を有する糖鎖をもつことが報告されている⁹⁸⁾⁻⁹⁹⁾。

また、本論の論旨よりやや離れるが、Con A に対する結合性を欠く多分岐型糖鎖は、神経管欠損などの胎児異常の診断に有用と報告されている¹⁰⁰⁾⁻¹⁰⁷⁾。

2. 多分岐化の酵素学的背景

多分岐糖鎖を形成するグルコサミン転移酵素は III, IV, V 型の 3 種があり、活性も蛍光基質を用いて高速液体クロマトグラフィーで測定可能である¹⁰⁸⁾。III 型グルコサミン転移酵素活性は HCC において上昇を示す報告が認められるが、その上昇の程度は顕著ではなく、補助的診断と考えるのが妥当と思われる¹⁰⁹⁾⁻¹¹¹⁾。また、V 型活性は HCC をはじめ、各種の悪性腫瘍で腫瘍の浸潤能とよく

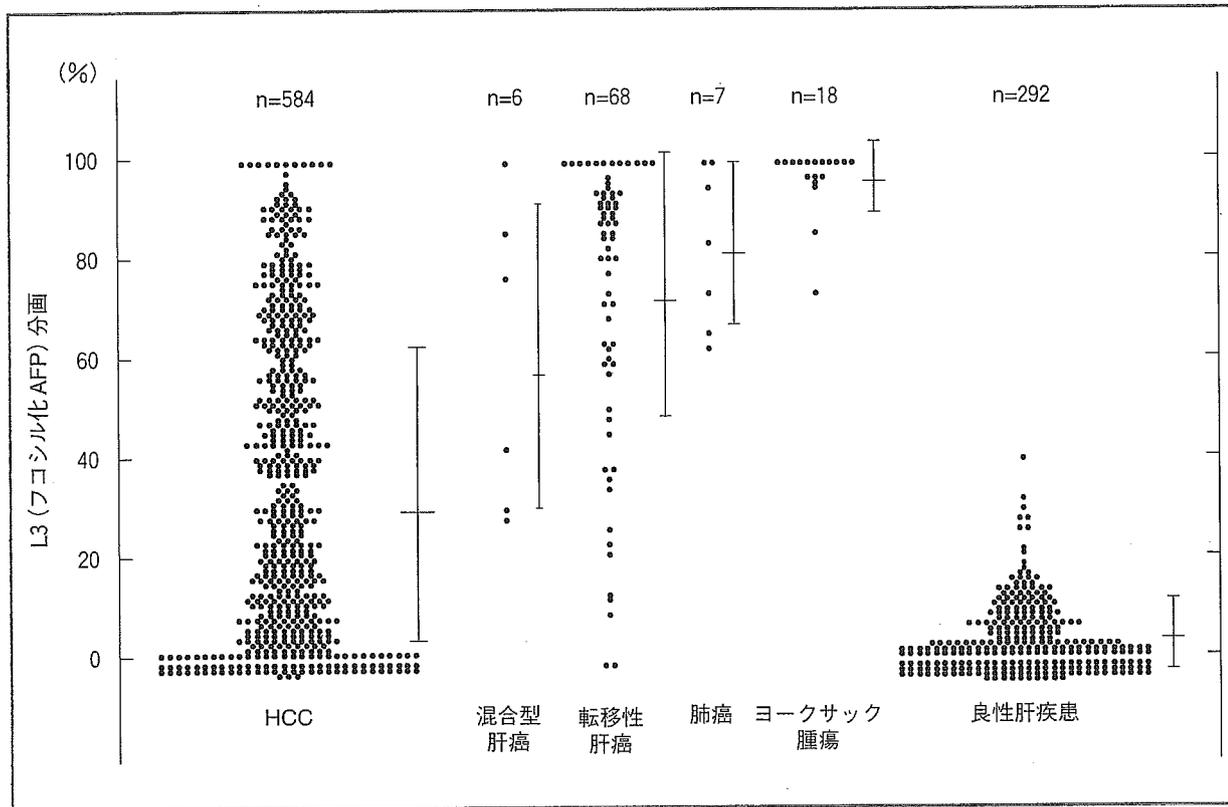


図5 図4と同一カテゴリーでのL3 (フコシル化AFP)のプロット

ヨークサック腫瘍や転移性肝癌においては、多分岐化と併せてフコシル化の亢進が著明で、これらの糖鎖の特徴であることを示す。

相関するとの報告が多数認められる¹¹²⁾⁻¹¹⁶⁾。しかし、ヒトの生体内においては、エリスロポエチンなどの特殊な糖鎖以外、このV型グルコサミン転移酵素のプロダクトである糖鎖構造がみつからないことも事実で、フコシル化転移酵素の場合同様、糖鎖転移酵素の評価にはいまだ難しい点が多くあると考えられる。また、IV型活性についての臨床的な意義は定かではない。

AFP糖鎖の疾患特異性

図4は各種AFP産生性疾患における多分岐化糖鎖の割合をプロットしたものであるが、HCC、良性肝疾患ではそれぞれ 5 ± 7 、 3 ± 5 %と上昇を示さないのに対して、AFP産生性消化器癌の肝転移や混合型肝癌では 39 ± 24 、 38 ± 31 %と、前2者に

対して有意な上昇を示している。すなわち、肝腫瘍の鑑別という立場よりは原発性か転移性の鑑別に有用と考えられる。また、これらのほかにもヨークサック腫瘍においても上昇を示し、ヨークサック型 glycosylation の特徴とされる。図5に、図4と同一カテゴリーの疾患でのフコシル化AFP糖鎖のプロットを示すが、ヨークサック腫瘍や転移性肝癌においては、多分岐化と併せてフコシル化の亢進がHCCに比べてもさらに著明で、これらの糖鎖の特徴であると報告されている⁹⁾。

図6はフコシル化(X軸)と多分岐化(Y軸)の二次元プロットを良性肝疾患(図6-A)とHCC(図6-B)について行ったものである。良性肝疾患においては基本糖鎖である二分岐複合型糖鎖にフコシル化、多分岐化のいずれの修飾も受けない糖鎖が主体であるのに対して、HCCにおいてはフコシ

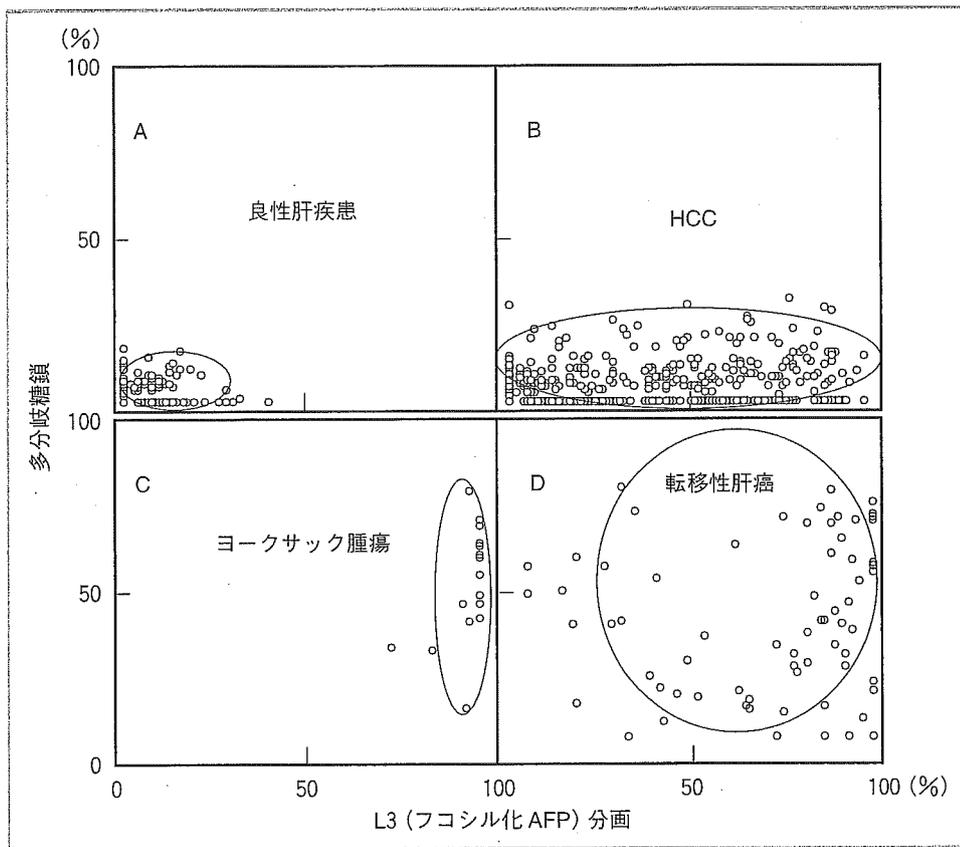


図6 各種AFP産生疾患におけるフコシル化(X軸)と多分岐化(Y軸)の二次元プロット
 良性肝疾患(A)においては基本糖鎖である二分岐糖型糖鎖にフコシル化、多分岐化のいずれの修飾も受けず、糖鎖が全体であるのに対して、HCC(B)においてはフコシル化の上昇を認めるが、多分岐型糖鎖の出現頻度が高ければ等しい。X軸方向に広がりを示す。他方、分化経路の肝転移や混合型肝癌では、フコシル化の増加に伴って多分岐化の両者の上昇が認められる(D)。ヨークサックの腫瘍においては多分岐化と顕著なフコシル化の両方を認める(C)。

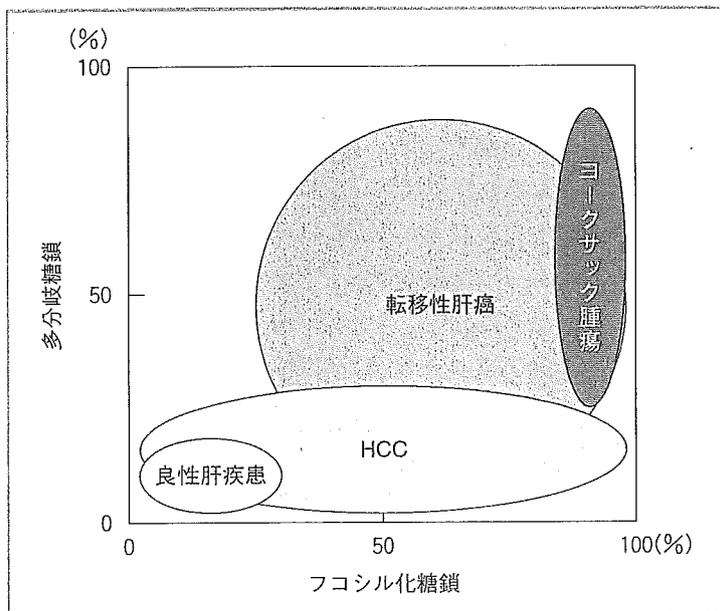


図7 各種AFP産生疾患におけるフコシル化(X軸)、多分岐化(Y軸)の疾患カテゴリー別二次元プロットの模式図

AFP糖鎖において、その疾患特異性が増進し、その診断的意義が理解できる。



表2 AFP糖鎖のフコシル化, 多分岐化とその疾患特異性

フコシル化		
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-2 Man α 1-6	Man β 1-4 GlcNAc β 1-4 GlcNAc	良性肝疾患*
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-2 Man α 1-3		
多分岐化		
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-2 Man α 1-6	Man β 1-4 GlcNAc β 1-4 GlcNAc	HCC
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-2 Man α 1-3		
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-2 Man α 1-6	Man β 1-4 GlcNAc β 1-4 GlcNAc	ヨークサック腫瘍
GlcNAc β 1-4		
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-2 Man α 1-6	Man β 1-4 GlcNAc β 1-4 GlcNAc	消化器癌
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-2 Man α 1-6		
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-2 Man α 1-6	Man β 1-4 GlcNAc β 1-4 GlcNAc	肺癌, 腎癌
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-4		
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-2	Man β 1-4 GlcNAc β 1-4 GlcNAc	混合型肝癌
Man α 1-3		
多分岐化		
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-2 Man α 1-6	Man β 1-4 GlcNAc β 1-4 GlcNAc	消化器癌
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-4		
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-2	Man β 1-4 GlcNAc β 1-4 GlcNAc	混合型肝癌
Man α 1-3		
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-2 Man α 1-6	Man β 1-4 GlcNAc β 1-4 GlcNAc	腎癌
GlcNAc β 1-4		
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-2 Man α 1-3	Man β 1-4 GlcNAc β 1-4 GlcNAc	
Man α 1-3		

*: 劇症肝炎を除く

ル化の上昇を認めるが, 多分岐型糖鎖の出現頻度はそれほど高くなく, X軸方向に広く分布する。他方, 消化器癌の肝転移や混合型肝癌では, フコシル化ならびに多分岐化の両者の上昇が認められる(図6-D)。ヨークサック腫瘍においては多分岐化と顕著なフコシル化の亢進を認める(図6-C)。これらのプロットの疾患カテゴリー別の模式図を図7に示すが, AFPの糖鎖のみをみてもその疾患特異性が認められ, その診断的意義が理解できる。表2にAFPの糖鎖構造とその疾患特異性ならびにレクチン結合性をまとめて示す。

生理的血清糖蛋白質糖鎖のフコシル化

生理的に存在する血清糖蛋白質である α_1 -アンチトリプシンやトランスフェリンにおいても, HCC血清ではAFPと同じ糖鎖変異であるフコシル化, 多分岐化の亢進が起きていることが報告されている¹¹⁷⁾⁻¹¹⁹⁾。この事実は, 複合型糖鎖のフコシル化という事象が癌化において普遍的に起きていることを示しており, AFP非産生HCCの診断に用いることができる¹²⁰⁾。

おわりに

AFP という 1 種類の腫瘍マーカーは、その quantity としての濃度変化と quality としての糖鎖変異の 2 つの情報を有している。臨床的には平均濃度は腫瘍の Stage の進行に関連し、糖鎖変異である L3 分画は腫瘍細胞の悪性度と相関を示す。さらに、糖鎖変異については、フコシル化のみならず数種の多分岐化という変化が存在する。しかしながら、その糖鎖変異と疾患特異性はきわめて厳格に保たれている。これらの与えられた情報をわれわれがいかに解釈し、治療、診断に適用していくかが求められている。

References

- 1) Gitlin D, Boesman M : Serum alpha-fetoprotein, albumin, and γ G-globulin in the human conceptus. *J Clin Invest* 45 : 1826-1838, 1966
- 2) Uriel J, de Nechaude B, Dupiers M : Estrogen-binding properties of rat, mouse, and man fetospecific serum protein. Demonstration by immunautoradiographic methods. *Biochem Biophys Res Commun* 46 : 1175-1180, 1972
- 3) Nunez E, Vallette G, Benassayag C, Jayle M-F : Comparative study on the binding of estrogen by human and rat serum proteins in development. *Biochem Biophys Res Commun* 57 : 126-133, 1974
- 4) Endo Y, Kanai K, Iino S, Oda T : Dye binding property of alpha-fetoprotein. In Massayeff R (ed) : *Colloques L'alpha-fetoproteine*. Institute National de Science et Recherche Medicale, pp.47-54, 1974
- 5) Murgita RA, Tomasi TB Jr : Suppression of the immune response by alpha-fetoprotein. I. The effect of mouse alpha-fetoprotein on the primary and secondary antibody response. *J Exp Med* 141 : 269-286, 1975
- 6) Murgita RA, Tomasi TB Jr : Suppression of the immune response by alpha-fetoprotein. II. The effect of mouse alpha-fetoprotein on mixed lymphocyte reactivity and mitogen-induced lymphocyte transformation. *J Exp Med* 141 : 440-452, 1975
- 7) Mizejewski GJ, Grimley PM : Abortogenic activity of antiserum to alpha-fetoprotein. *Nature* 259 : 222-224, 1976
- 8) Yachnin S : Demonstration of the inhibitory effect of human alpha-fetoprotein on *in vitro* transformation of human lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci* 73 : 2857-2861, 1976
- 9) Parmely MJ, Thompson JS : Effect of alpha-fetoprotein and other serum factors derived from hepatoma-bearing rats on the mixed lymphocyte response. *J Immunol* 117 : 1832-1837, 1976
- 10) Zimmerman EF, Voorting-Hawking M, Michael JG : Immunosuppression by mouse sialylated alpha-fetoprotein. *Nature* 265 : 354-356, 1977
- 11) Gupta S, Good RA : Alpha-fetoprotein and human lymphocyte subpopulations. *J Immunol* 118 : 405-408, 1977
- 12) Sheppard HW Jr, Sell S, Trefts Bahu R : Effects of alpha-fetoprotein on murine immune responses. I. Studies on mice. *J Immunol* 119 : 91-97, 1977
- 13) Sell S, Sheppard HW Jr, Poler M : Effects of alpha-fetoprotein on murine immune responses. I. Studies on rats. *J Immunol* 119 : 98-103, 1977
- 14) Goeken NE, Thompson JS : Conditions affecting the immunosuppressive properties of human alpha-fetoprotein. *J Immunol* 119 : 139-142, 1977
- 15) Charpentier B, Guttmann RD, Shuster J, Gold P : Augmentation of proliferation of human mixed lymphocyte culture by human alpha-fetoprotein. *J Immunol* 119 : 897-900, 1977
- 16) Aoyagi Y, Ikenaka T, Ichida F : Copper (II)-binding ability of human alpha-fetoprotein. *Cancer Res* 38 : 3483-3486, 1978
- 17) Parmelee DC, Evenson MA, Deutsch HF : The presence of fatty acids in human alpha-fetoprotein. *J Biol Chem* 253 : 2114-2119, 1978
- 18) Aoyagi Y, Ikenaka T, Ichida F : alpha-Fetoprotein as a carrier protein in plasma and its bilirubin-binding ability. *Cancer Res* 39 : 3571-3574, 1979
- 19) Hsia JC, Er SS, Tan CT, et al : Alpha-fetoprotein binding specificity for arachidonate, bilirubin, docosahexaenolate, and palmitate. *J Biol Chem* 255 : 4224-4227, 1980
- 20) Aoyagi Y, Takahashi T, Odani S, et al : Inhibitory effect of alpha-fetoprotein on protein synthesis in a reticulocyte lysate cell-free system. *J Biol Chem* 257 : 9566-9569, 1982
- 21) Lau Sj, Laussac JP, Sarkar B : Synthesis and copper (II)-binding properties of the N-terminal peptide of human alpha-fetoprotein. *Biochem J* 257 : 745-750, 1989



- 22) Abelev GI, Perova S, Khramkova N, et al : Production of embryonal alpha-globulin by transplantable mouse hepatomas. *Transplantation* 1 : 174-180, 1963
- 23) Abelev GI : Production of embryonal serum alpha-globulin by hepatomas : review of experimental and clinical data. *Cancer Res* 28 : 1344-1355, 1968
- 24) Tatarinov YS : Content of embryo-specific antigenic components of human blood serum. *Vopr Med Khim* 11 : 20-24, 1965
- 25) Alpert ME, Uriel J, de Nechaud B : Alpha 1-fetoglobulin in the diagnosis of human hepatoma. *N Engl J Med* 278 : 984-986, 1968
- 26) Masopust J, Kithier K, Radl J, et al : Occurrence of fetoprotein in patients with neoplasma and nonneoplastic diseases. *Int J Cancer* 3 : 364-373, 1968
- 27) O'Connor GI, Tatarinov YS, Abelev GI, Uriel J : A collaborative study for the evaluation of a serologic test for primary liver cancer. *Cancer* 25 : 1091-1098, 1970
- 28) Ruoslahti E, Seppala M : Studies of carcino-fetal proteins. III. Development of a radioimmunoassay for alpha-fetoprotein : demonstration of alpha-fetoprotein in serum of healthy human adults. *Int J Cancer* 8 : 374-383, 1971
- 29) Nishi S, Hirai H : Radioimmunoassay of alpha-fetoprotein in hepatoma, other liver diseases, and pregnancy. *Gann Monogr* 14 : 79-87, 1973
- 30) 第16回全国原発性肝癌追跡調査報告. 日本肝癌研究会, 肝癌追跡調査委員会: 進行印刷出版株式会社, 2004
- 31) Karvountzis GG, Redeker AG : Relation of alpha-fetoprotein in acute hepatitis to severity and prognosis. *Intern Med* 80 : 156-160, 1974
- 32) Chen D-S, Sung J-L : Serum alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 40 : 779-783, 1977
- 33) Alpert E, Feller ER : Alpha-fetoprotein (AFP) in benign liver diseases. Evidence that normal liver regeneration does not induce AFP synthesis. *Gastroenterology* 74 : 856-858, 1978
- 34) Pucci P, Siciliano R, Malorni A, et al : Human alpha-fetoprotein primary structure : A mass spectrometric study. *Biochemistry* 30 : 5061-5066, 1990
- 35) Yoshima H, Mizuochi T, Ishii M, Kobata A : Structure of the asparagine-linked sugar chains of alpha-fetoprotein purified from human ascites fluid. *Cancer Res* 40 : 4276-4281, 1980
- 36) Yamashita K, Hitoi A, Tsuchida Y, et al : Sugar chain of alpha-fetoprotein produced in human yolk sac tumor. *Cancer Res* 43 : 4691-4695, 1983
- 37) Purves LR, MacNab M, Rolle M, Bersohn I : Serum alpha-fetoprotein. III Electrophoresis of sera from cases of primary cancer of the liver : An electrophoretic variant. *S Afr Med J* 43 : 1194-1196, 1969
- 38) Purves LR, Merwe EVD, Bersohn I : Variants of alpha-fetoprotein. *Lancet* 2 : 464-465, 1970
- 39) Purves LR, Merwe EVD, Bersohn I : Variants of alpha-fetoprotein. Serum alpha-fetoprotein. V. The bulk preparation and some some properties of alpha-feto-protein obtained from patients with primary cancer of the liver. *S Afr Med J* 44 : 1264-1268, 1970
- 40) Alpert E, Drysdale JW, Isselbacher KJ, Schur PH : Human alpha-fetoprotein. Isolation, characterization and demonstration of microheterogeneity. *J Biol Chem* 247 : 3792-3798, 1972
- 41) Smith CJ, Kelleher PC : Alpha 1-fetoprotein : Separation of two molecular variants by affinity chromatography with concanavalin A-agarose. *Biochim Biophys Acta* 317 : 231-235, 1973
- 42) Gustine DL, Zimmerman EF : Developmental changes in microheterogeneity of foetal plasma glycoproteins of mice. *Biochem J* 132 : 541-551, 1973
- 43) Zimmerman EF, Bowen D, Wilson JR, Madappally MM : Developmental microheterogeneity of mouse alpha-fetoproteins : Purification and partial characterization. *Biochemistry* 15 : 5534-5543, 1976
- 44) Bayard B, Kerckaert J-P : Characterization and isolation of nine rat alpha-fetoprotein variants by gel electrophoresis and lectin affinity chromatography. *Biochem Biophys Res Commun* 77 : 489-495, 1977
- 45) Smith CJ, Morris HP, Kelleher PC : Concanavalin A affinity molecular variants of alpha-fetoprotein in neonatal rat serum and in the serum of rats bearing hepatomas. *Cancer Res* 37 : 2651-2656, 1977
- 46) Kerckaert J-P, Bayard B, Debray H, et al : Rat alpha-fetoprotein heterogeneity. Comparative chemical study of the two electrophoretic variants and their Ricinus lectin-binding properties. *Biochim Biophys Acta* 493 : 293-303, 1977
- 47) Lester EP, Miller B, Yachnin S : A postsynthetic modification of human alpha-fetoprotein controls its immunosuppressive potency. *Proc Natl Acad Sci* 74 : 3988-3992, 1977
- 48) Bayard B, Kerckaert J-P, Biserte G : Differences in the molecular heterogeneity of alpha-fetoprotein from uterus and serum of immature rats. *Biochem Biophys Res Commun* 85 : 47-54, 1978
- 49) Lester EP, Miller B, Yachnin S : Heterogeneity of

- human alpha-fetoprotein as revealed by isoelectric focusing in urea-containing gels. *Biochim Biophys Acta* 536 : 165-171, 1978
- 50) Kerckaert J-P, Bayard B, Biserte G : Microheterogeneity of rat, mouse and human alpha 1-fetoprotein as revealed by polyacrylamide gel electrophoresis and by crossed immuno-affino-electrophoresis with different lectins. *Biochim Biophys Acta* 576 : 99-108, 1979
 - 51) Itami T, Ema M, Sakamoto J, Kawasaki H : Microheterogeneity of rat alpha-fetoprotein on a copper chelate column. *J Chromat* 417 : 168-172, 1987
 - 52) Ruoslahti E, Engvall E, Pekkala A, Seppala M : Developmental changes in carbohydrate moiety of human alpha-fetoprotein. *Int J Cancer* 22 : 515-520, 1978
 - 53) Ruoslahti E, Adamson E : Alpha-fetoproteins produced by the yolk sac and the liver are glycosylated differently. *Biochem Biophys Res Commun* 85 : 1622-1630, 1978
 - 54) Breborowicz J, Mackiewicz A, Breborowicz D : Microheterogeneity of alpha-fetoprotein in patient serum as demonstrated by lectin affino-electrophoresis. *Scand J Immunol* 14 : 15-20, 1981
 - 55) Miyazaki J, Endo Y, Oda T : Lectin affinities of alpha-fetoprotein in liver cirrhosis, hepatocellular carcinoma and metastatic liver tumors. *Acta Hepatol Jpn* 22 : 1559-1568, 1981 (in Japanese)
 - 56) Aoyagi Y, Ikenaka T, Ichida F : Comparative chemical structures of human alpha-fetoprotein from fetal serum and from ascites fluid of a patient with hepatoma. *Cancer Res* 37 : 3663-3667, 1977
 - 57) Aoyagi Y, Suzuki Y, Isemura M, et al : Differential reactivity of alpha-fetoprotein with lectins and evaluation of its usefulness in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Gann* 75 : 809-815, 1984
 - 58) Aoyagi Y, Isemura M, Suzuki Y, et al : Fucosylated alpha-fetoprotein as marker of early hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2 : 1353-1354, 1985
 - 59) Aoyagi Y, Suzuki Y, Isemura M, et al : The fucosylation index of alpha-fetoprotein and its usefulness in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 61 : 769-774, 1988
 - 60) Aoyagi Y, Isemura M, Yosizawa Z, et al : Fucosylation of serum alpha-fetoprotein in patient with primary hepatocellular carcinoma. *Biochim Biophys Acta* 830 : 217-223, 1985
 - 61) Aoyagi Y, Suzuki Y, Igarashi K, et al : Carbohydrate structures of human alpha-fetoprotein of patients with hepatocellular carcinoma : Presence of fucosylated and non-fucosylated triantennary glycans. *Brit J Cancer* 67 : 486-492, 1993
 - 62) Taketa K, Hirai H : Lectin affinity electrophoresis of alpha-fetoprotein in cancer diagnosis. *Electrophoresis* 10 : 562-567, 1989
 - 63) Taketa K, Sekiya C, Namiki M, et al : Lectin-reactive profiles of alpha-fetoprotein characterizing hepatocellular carcinoma and related conditions. *Gastroenterology* 99 : 508-518, 1990
 - 64) Yamagata Y, Shimizu K, Nakamura K, et al : Simultaneous determination of percentage of *Lens culinaris* agglutinin-reactive alpha-fetoprotein and alpha-fetoprotein concentration using the LiBASys clinical auto-analyzer. *Clin Chim Acta* 327 : 59-67, 2003
 - 65) Suzuki Y, Aoyagi Y, Muramatsu M, et al : Close topographical relationship in alpha-fetoprotein (AFP) between a *lens culinaris* binding glycan and the epitope recognized by AFP-reactive monoclonal antibody, 18 H 4. *Brit J Cancer* 55 : 147-152, 1987
 - 66) Suzuki Y, Aoyagi Y, Muramatsu M, et al : A lectin-based monoclonal enzyme immunoassay to distinguish fucosylated and non-fucosylated alpha-fetoprotein molecular variants. *Ann Clin Biochem* 27 : 121-128, 1990
 - 67) Aoyagi Y : Carbohydrate-based measurement on alpha-fetoprotein in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. Mini-Review. *Glycoconjugate Journal* 12 : 194-199, 1995
 - 68) Aoyagi Y, Isemura M, Suzuki Y, et al : Change in fucosylation of alpha-fetoprotein on malignant transformation of liver cells. *Lancet* 1 : 210, 1986
 - 69) Sato Y, Nakata K, Kato Y, et al : Early recognition of hepatocellular carcinoma based on altered profiles of alpha-fetoprotein. *N Engl J Med* 328 : 1802-1806, 1993
 - 70) Aoyagi Y, Saitoh A, Suzuki Y, et al : Fucosylation index of alpha-fetoprotein, a possible aid in early recognition of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Hepatology* 17 : 50-52, 1993
 - 71) Endo Y : Lectin-binding analysis of serum alpha-fetoprotein : Predictive importance of the change of AFP sugar chain in the development of hepatocellular carcinoma. In : Primary liver cancer in Japan. Tobe T, Kameda H, Okudaira M, et al (eds) : Springer-Verlag, pp.163-173, 1992
 - 72) Shiraki K, Takase K, Tameda Y, et al : A clinical study of lectin-reactive alpha-fetoprotein as an early indicator of hepatocellular carcinoma in the follow-up



- of cirrhotic patients. *Hepatology* 22 : 802-807, 1995
- 73) Yamashita F, Tanaka M, Satomura S, et al : Prognostic significance of *Lens culinaris* agglutinin A-reactive alpha-fetoprotein in small hepatocellular carcinomas. *Gastroenterology* 111 : 996-1001, 1996
- 74) Aoyagi Y, Isokawa O, Suda T, et al : The fucosylation index of alpha-fetoprotein as a possible prognostic indicator for patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 83 : 2076-2082, 1998
- 75) Sassa T, Kumada T, Nakano S, Uematsu T : Clinical utility of simultaneous measurement of serum high-sensitivity des-gamma-carboxy prothrombin and *Lens culinaris* agglutinin A-reactive alpha-fetoprotein in patients with small hepatocellular carcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 11 : 1387-1392, 1999
- 76) Hayashi K, Kumada T, Nakano S, et al : Usefulness of measurement of *Lens culinaris* agglutinin-reactive fraction of alpha-fetoprotein as a marker of prognosis and recurrence of small hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 94 : 3028-3033, 1999
- 77) Song BC, Suh DJ, Yang SH, et al : *Lens culinaris* agglutinin-reactive alpha-fetoprotein as a prognostic marker in patients with hepatocellular carcinoma undergoing transcatheter arterial chemoembolization. *J Clin Gastroenterol*. Nov-Dec 35 : 398-402, 2002
- 78) Oka H, Saito A, Ito K, et al : Collaborative Hepato-Oncology Study Group of Japan. Multicenter prospective analysis of newly diagnosed hepatocellular carcinoma with respect to the percentage of *Lens culinaris* agglutinin-reactive alpha-fetoprotein. *J Gastroenterol Hepatol* 16 : 1378-1383, 2001
- 79) Kumada T, Nakano S, Takeda I, et al : Clinical utility of *Lens culinaris* agglutinin-reactive alpha-fetoprotein in small hepatocellular carcinoma : special reference to imaging diagnosis. *J Hepatol* 30 : 125-130, 1999
- 80) Aoyagi Y, Mita Y, Suda T, et al : The fucosylation index of serum alpha-fetoprotein as useful prognostic factor in patients with hepatocellular carcinoma in special reference to chronological changes. *Hepatology Res* 23 : 287-295, 2002
- 81) Uozumi N, Yanagidani S, Miyoshi E, et al : Purification and cDNA cloning of porcine brain GDP-L-Fuc : N-acetyl-beta-D-glucosaminide alpha 1-6 fucosyltransferase. *J Biol Chem* 271 : 27810-27817, 1996
- 82) Uozumi N, Teshima T, Yamamoto T, et al : A fluorescent assay method for GDP-L-Fuc : N-acetyl-beta-D-glucosaminide alpha 1-6 fucosyltransferase activity, involving high performance liquid chromatography. *J Biochem* 120 : 385-392, 1996
- 83) Noda K, Miyoshi E, Uozumi N, et al : Gene expression of alpha 1-6 fucosyltransferase in human hepatoma tissues : a possible implication for increased fucosylation of alpha-fetoprotein. *Hepatology* 28 : 944-952, 1998
- 84) Miyoshi E, Noda K, Ko JH, et al : Overexpression of alpha 1-6 fucosyltransferase in hepatoma cells suppresses intrahepatic metastasis after splenic injection in athymic mice. *Cancer Res* 59 : 2237-2243, 1999
- 85) Mita Y, Aoyagi Y, Suda T, Asakura H : Plasma fucosyltransferase activity in patients with hepatocellular carcinoma, with special reference to correlation with fucosylated species of alpha-fetoprotein. *J Hepatology* 32 : 946-954, 2000
- 86) Krusius T, Ruoslahti E : Carbohydrate structure of the concanavalin A molecular variants of alpha-fetoprotein. *J Biol Chem* 257 : 3453-3457, 1982
- 87) Bayard B, Kerckaert JP : Uniformity of carbohydrate chains within molecular variants of rat alpha 1-fetoprotein with distinct affinity for concanavalin A. *Eur J Biochem* 113 : 405-414, 1981
- 88) Bayard B, Kerckaert JP, Streckler G, et al : Structure determination of the carbohydrate chains of rat alpha-fetoprotein. *Eur J Biochem* 137 : 319-323, 1983
- 89) Alpert E, Pinn VW, Isselbacher KJ : Alpha-fetoprotein in a patient with gastric carcinoma metastatic to the liver. *N Engl J Med* 285 : 1058-1059, 1971
- 90) McIntire KR, Waldmann TA, Moertel CG, Go VLW : Serum alpha-fetoprotein in patients with neoplasms of the gastrointestinal tract. *Cancer Res* 35 : 991-996, 1975
- 91) Alpert E : Serum alpha-fetoprotein (AFP) in benign and malignant gastrointestinal diseases : Evaluation of an immunoenzymatic assay. *Clin Chim Acta* 58 : 77-83, 1975
- 92) Ishiguro T, Sugitachi I, Sakaguchi H, Itani S : Serum alpha-fetoprotein subfractions in patients with primary hepatoma or hepatic metastasis of gastric cancer. *Cancer* 55 : 156-159, 1985
- 93) Ishiguro T, Sakaguchi H, Fukui M, Sugitachi I : Serum alpha-fetoprotein subfractions in hepatic malignancies identified by different reactivities with concanavalin A, lentil lectin or Phytohemagglutinin-E. *Jpn J Surg* 16 : 16-21, 1986
- 94) Tsuchida Y, Yamashita K, Kobata A, et al : Structure of the sugar chain of alpha-fetoprotein purified from a human yolk sac and its reactivity with concanavalin A. *Tumor Biol* 5 : 33-40, 1984

- 95) Tsuchida Y, Fukui M, Sakaguchi H, Ishiguro T : Analysis of lectin affinity immunoelectrophoretic profiles of serum alpha-fetoprotein from patients with yolk sac tumors and carcinoma of the gastrointestinal tract : Correlations with molecular structures. *Tumor Biol* 10 : 289-296, 1989
- 96) Aoyagi Y, Suzuki Y, Igarashi K, et al : The usefulness of the simultaneous determination of glucosamination and fucosylation indices of alpha-fetoprotein in the differential diagnosis of neoplastic diseases of the liver. *Cancer* 67 : 2390-2394, 1991
- 97) Aoyagi Y, Suzuki Y, Igarashi K, et al : Highly enhanced fucosylation of alpha-fetoprotein in patients with germ cell tumor. *Cancer* 27 : 615-618, 1993
- 98) Ishikura H, Fukasawa Y, Ogasawara K, et al : An AFP-producing gastric carcinoma with features of hepatic differentiation. *Cancer* 56 : 840-848, 1985
- 99) Ishikura H, Ishiguro T, Enatsu C, et al : Hepatoid adenocarcinoma of the renal pelvis producing alpha-fetoprotein of hepatic type and bile pigment. *Cancer* 67 : 3051-3056, 1991
- 100) Smith CJP, Kelleher PC, Belanger L, Dallaire L : Reactivity of amniotic fluid alpha-fetoprotein with concanavalin A in diagnosis of neural tube defects. *Br Med J* 1 : 920-921, 1979
- 101) Ruoslahti E, Pekkala A, Comings DE : Determination of subfractions of amniotic fluid alpha-fetoprotein in diagnosing spina bifida and congenital nephrosis. *Br Med J* 2 : 768-769, 1979
- 102) Toftager-Larsen K, Kjaersgaard E, Jacobsen JC, Norgaard-Pedersen B : Reactivity of amniotic fluid alpha-fetoprotein with concanavalin A in relation to gestational age : Clinical Implications. *Clin Chem* 26 : 1656-1659, 1980
- 103) Buamah PK, Taylor P, Ward AM : Concanavalin A binding of alpha-fetoprotein in amniotic fluid as an aid in the diagnosis of neural tube defects. *Clin Chem* 27 : 1658-1660, 1981
- 104) Toftager-Larsen K, Kjaersgaard E, Norgaard-Pedersen B : Comparison of amniotic fluid alpha-fetoprotein reactivity to Lens culinaris agglutinin and concanavalin A in crossed affinity immunoelectrophoresis : Ancillary tests in the prenatal diagnosis of severe fetal malformations. *Clin Chem* 29 : 21-24, 1983
- 105) Ishiguro T, Sakaguchi H, Sugitachi I : Developmental changes of amniotic alpha-fetoprotein subfractions in early gestation. *Am J Reprod Immunol* 3 : 61-64, 1983
- 106) Mackiewicz A, Jakubek P, Sajadak S, Breborowicz J : Microheterogeneity forms of alpha-fetoprotein present in amniotic fluid. *Placenta* 5 : 373-380, 1984
- 107) Ishiguro T, Sakaguchi H, Fukui M, Sugitachi I : Alpha-fetoprotein subfractions in amniotic fluid identified by a modification of the method of concanavalin A, lentil lectin or phytohemagglutinin-E affinity crossed-line immunoelectrophoresis. *Tumor Biol* 6 : 195-205, 1985
- 108) Taniguchi N, Nishikawa A, Fujii S, Gu JG : Glycosyltransferase assays using pyridylaminated acceptors : N-acetylglucosaminyltransferase III, IV, and V. *Methods Enzymol* 179 : 397-408, 1989
- 109) Ishibashi K, Nishikawa A, Hayashi N, et al : N-acetylglucosaminyltransferase III in human serum, and liver and hepatoma tissues : increased activity in liver cirrhosis and hepatoma patients. *Clin Chim Acta* 185 : 325-332, 1989
- 110) Nishikawa A, Fujii S, Sugiyama T, et al : High expression of an N-acetylglucosaminyltransferase III in 3'-methyl DAB-induced hepatoma and ascites hepatoma. *Biochem Biophys Res Commun* 152 : 107-112, 1988
- 111) Mori S, Aoyagi Y, Yanagi M, et al : N-acetylglucosaminyltransferase III activities in hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 13 : 610-619, 1998
- 112) Yamamoto H, Swoger J, Greene S, et al : Beta 1,6-N-acetylglucosamine-bearing N-glycans in human gliomas : implications for a role in regulating invasivity. *Cancer Res* 60 : 134-142, 2000
- 113) Murata K, Miyoshi E, Kameyama M, et al : Expression of N-acetylglucosaminyltransferase V in colorectal cancer correlates with metastasis and poor prognosis. *Clin Cancer Res* 6 : 1772-1777, 2000
- 114) Yanagi M, Aoyagi Y, Suda T, et al : N-Acetylglucosaminyltransferase V as a possible aid for the evaluation of tumor invasiveness in patients with hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 16 : 1282-1289, 2001
- 115) Dosaka-Akita H, Miyoshi E, Suzuki O, et al : Expression of N-acetylglucosaminyltransferase v is associated with prognosis and histology in non-small cell lung cancers. *Clin Cancer Res* 10 : 1773-1779, 2004
- 116) Murata K, Miyoshi E, Ihara S, et al : Attachment of human colon cancer cells to vascular endothelium is enhanced by N-acetylglucosaminyltransferase v. *Oncology* 66 : 492-501, 2004
- 117) Sekine C, Aoyagi Y, Suzuki Y, Ichida F : The reac-



- tivity of alpha-1-antitrypsin with *Lens culinaris* agglutinin and its usefulness in the diagnosis of neoplastic diseases of the liver. *Brit J Cancer* 56 : 371-375, 1987
- 118) Saitoh A, Aoyagi Y, Asakura H : Structural analysis on the sugar chains of alpha-1-antitrypsin : Presence of fucosylated biantennary glycan in hepatocellular carcinoma. *Arch Biochem Biophys* 303 : 281-287, 1993
- 119) Suzuki Y, Aoyagi Y, Mori S, et al : Microheterogeneity of serum transferrin in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 11 : 358-365, 1996
- 120) Naitoh A, Aoyagi Y, Asakura H : Highly enhanced fucosylation of serum glycoproteins in patients with hepatocellular carcinoma, correlation of the fucosylations between alpha-fetoprotein, alpha-1-antitrypsin and transferrin. *J Gastroenterol Hepatol* 14 : 432-441, 1999

XII 腫瘍マーカー

肝癌の腫瘍マーカー

Measurement of α -fetoprotein with L3 fraction in the early diagnosis of patients with hepatocellular carcinoma

青柳 豊 窪田智之

Key words: 肝細胞癌, α -フェトプロテイン, L3分画, フコシル化, 腫瘍マーカー

1. 検査の目的

我が国における肝細胞癌(HCC)による死亡者数は年間約34,000人余りに及んでおり, その早期診断を目的に α -フェトプロテイン(AFP)と特異性を改善したL3(フコシル化AFP)分画の定期的測定が行われている。

2. 基準値

AFPの基準値はその測定キット(各種自動化凝集法, 酵素抗体法, 化学発光法など)により異なるが, 10-20 ng/mlの間に設定されているものが多い。また, L3分画については10%と設定されているが, 15%以上を異常値とすることが妥当と考えられる。

3. 試料の採取方法, 保存条件

AFPとL3分画ともに糖蛋白質としての性質が保持できる条件として-20℃の凍結で極めて再現性良く測定可能である。

4. 生理的変動

一般成人では基準値以下であるが, 妊婦血中では胎児からの移行で, 10週頃より上昇し, 33-34週を最大値(200-500 ng/ml)としてその後低下に転ずる。

5. AFP測定法

かつては酵素抗体法などによっていたが近年, ラテックス近赤外免疫比濁法などの自動化凝集法や電気化学発光測定法(ECLIA法), 化学発光

酵素免疫測定法(CLEIA)などの化学発光法に変わってきている。

6. L3分画測定法

現在行われている測定法には大きく分けてTaketaらの開発したLCA存在下の親和性電気泳動法¹⁾とイオン交換カラムを用いてLCA結合性AFPを分画するLBA(liquid-phase binding assay)法の2種類が存在する²⁾。注意点として, LBAワコーL3法においては電気泳動法と異なり, ヨークサック腫瘍や胃癌の肝転移で認められる多分岐糖鎖を有するL2分画は算定されない。本法は, あらかじめLCAを反応させることにより, 立体障害的に糖鎖近傍認識モノクローナル抗体が結合できないという原理を利用した測定法である^{3,4)}。

7. AFPの臨床的意義

a. HCC診断能

AFPの基準値を15 ng/mlとすると, 17,538例を集計した第16回全国原発性肝癌追跡調査報告(2000-01年の全国集計)によれば, AFPの陽性率は66%と報告され, いまだその診断的価値が高いことを示している⁵⁾。図1はこれらの報告を各濃度域別に階層化したものであるが, AFP陽性を示した11,496例のHCCのうちの56%が200 ng/ml未満のレンジで診断に供している。

b. 進行度別陽性率

図2は当科でのstage別AFP陽性率を示すが, 早期のHCCである2 cm以下のstage Iの178症例中92例(52%)が陽性を示している。そし

Yutaka Aoyagi, Tomoyuki Kubota: Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Cellular Function, Course for Molecular and Cellular Medicine, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata University
新潟大学大学院医歯学総合研究科 分子細胞医学専攻 細胞機能講座 消化器内科学分野(第3内科)

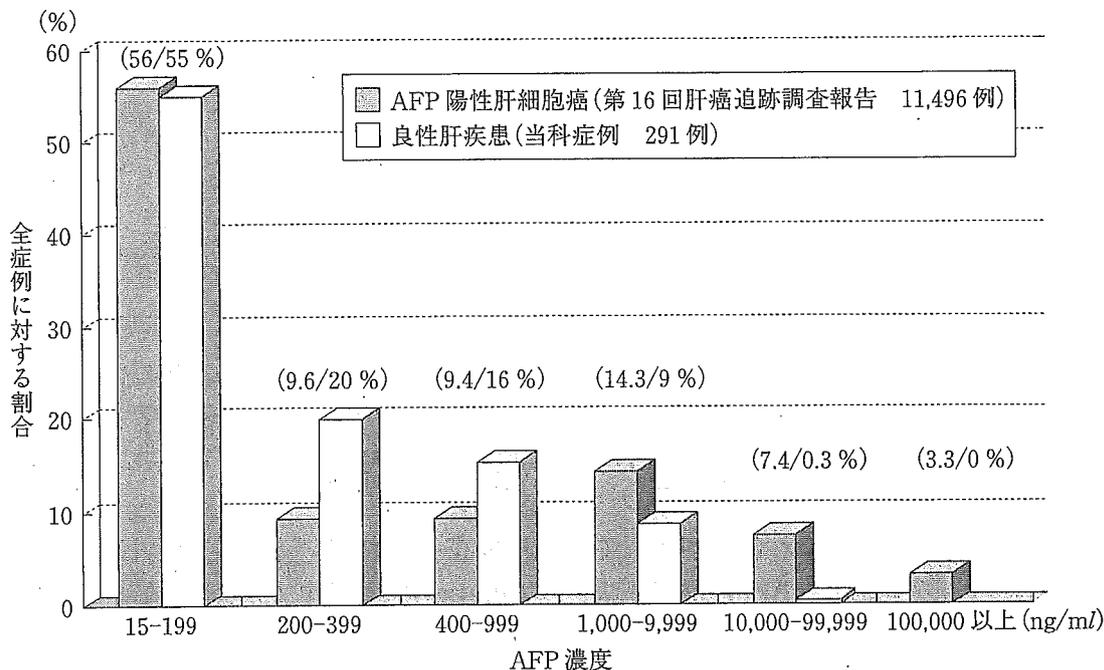


図1 良性肝疾患ならびにHCCにおけるAFP上昇の分布比較
 第16回全国原発性肝癌追跡調査報告でAFP 15ng/ml以上を示した11,496例のAFP濃度分布と当科におけるHCCを否定し得た良性肝疾患291例の分布の両者を示す。

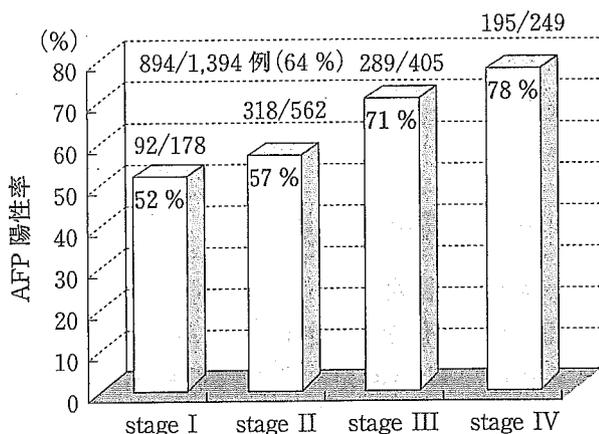


図2 当科でのHCCのstage別AFP陽性率

て、AFP陽性率はstageの進行に伴って上昇し、stage IIの57%、stage IIIの71%と増加し、stage IVでは249例中195例(78%)が陽性を示している。

c. AFPの特異性

HCCの発生母地である肝硬変(LC)などの良性肝疾患においてもその軽度な上昇を認める。図1に当科におけるHCCを否定した良性肝疾患、主にLCでのAFP上昇を合わせて示す。この結

果では55%が200ng/ml以下の間に分布し、1,000ng/ml以上の症例は9.3%であった。すなわち、単回の濃度測定ではHCCと良性肝疾患に伴うAFP上昇との鑑別は困難であることを示している。

8. AFPのフコシル化

HCC由来AFPでは、良性肝疾患由来AFPに比較して二分岐型複合型糖鎖の還元末端側のN-アセチルグルコサミンにα1-6のフコースが結合した分画が増加していることが明らかにされており⁶⁻⁸⁾、このフコシル化AFP分画はL3分画として用いられている。

9. L3分画の臨床的意義

a. L3分画の診断能

図3-aは、現在HCC診断に供しているAFP濃度域である200ng/ml以下の症例160例と、同じく200ng/ml以下の良性肝疾患162例の血清AFP濃度のプロットである。平均濃度ではHCC(98±46ng/ml)、良性肝疾患(102±44ng/ml)の鑑別は困難であるが、同症例でのL3分画のプロ

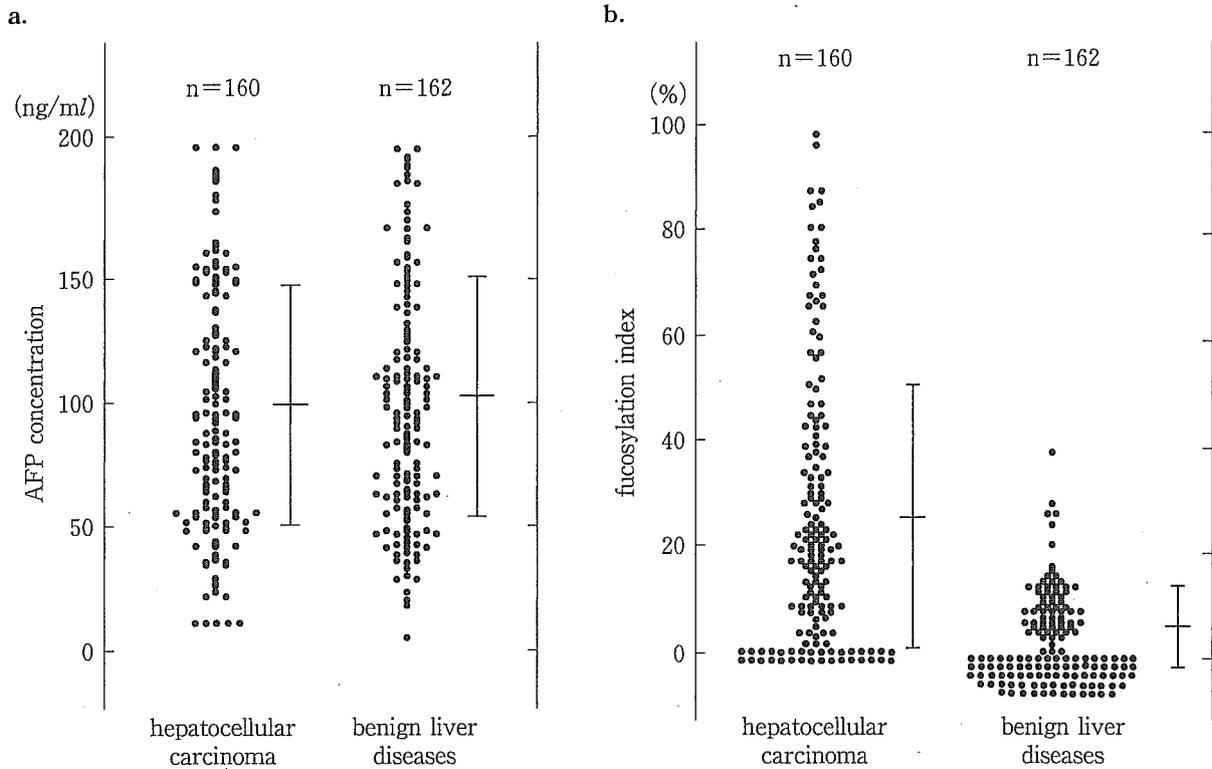


図3 HCCと良性肝疾患におけるAFP濃度とL3分画のプロット

a: HCC診断時のAFP値が200ng/ml以下のHCC症例160例と、同じく200ng/ml以下の良性肝疾患162例の血清AFP値のプロット。b: 同症例でのL3分画プロット。

ットでは(図3-b), HCC, 良性肝疾患それぞれ26±26, 5±8%と有意なHCC群での上昇を認め、両疾患の鑑別が可能であった。当科でのL3分画の診断能を検討すると(15%をカットオフ), 感度(sensitivity)65%, LC, 慢性肝炎を対照とした特異性(specificity)は96%で正診率(total accuracy)は74%であった。良性肝疾患でL3分画20%以上を示した例は自己免疫性肝炎を含む重症型急性肝炎または慢性肝炎の急性増悪や活動性LCの例が多く, 臨床的に鑑別可能例が大半であった。

b. L3分画解釈上の注意点

LCなどにおける本分画の上昇(15%以上)はHCCが存在することを前提に各種画像診断を行う必要がある。また, 10%を超えた症例も注意深く経過観察する必要がある。更に, 重要なことは, 低値がすなわちHCCの否定にはつながら

ないことに留意すべきである。当科のデータではHCCの約30%が本分画が10%以下を示している。

c. 生物学的悪性度の指標としてのL3分画

L3分画はHCCならびに良性肝疾患の鑑別以外にも, その生物学的悪性度を表すマーカーとしての意義が明らかになってきた⁹⁾。当科で治療後経過観察を行ったHCC 299例での検討では診断時のL3分画のカットオフを15%とすると, 高値群で, 低値群に比較し有意な生存率の低下を認めている。また, この生存率の低下は, 腫瘍進展度(tumor stage)とは関係がなかった。図4にHCC 299例中, AFP濃度が100ng/ml以下の110例, 50ng/ml以下の70例, 30ng/ml以下の38例, 25ng/ml以下の29例の結果を示すが, この傾向はAFP濃度が極めて低い数症例においても認められた¹⁰⁾。

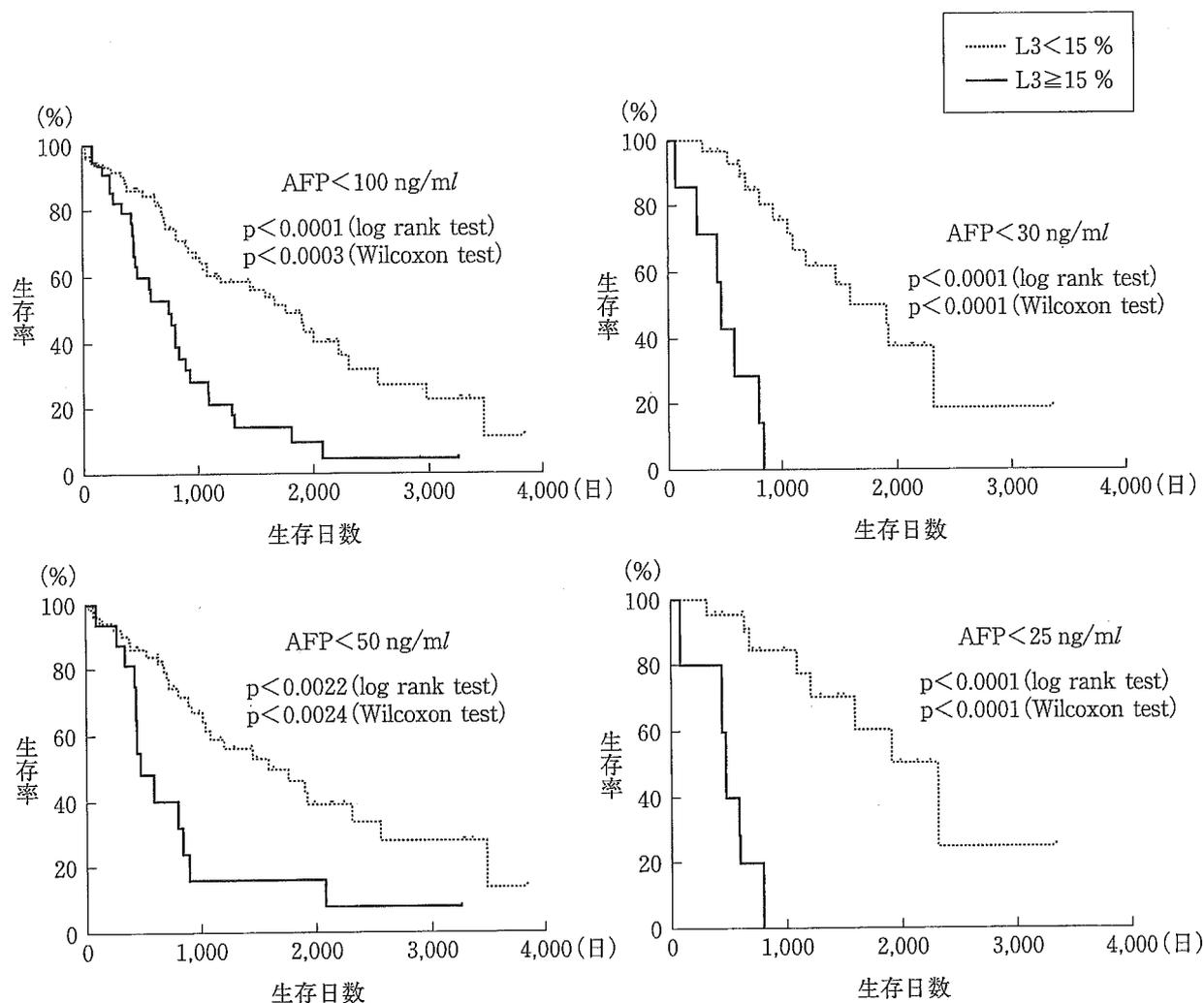


図4 AFP低濃度症例におけるL3分画高値、低値HCC群の生存率の比較

文献

- 1) Taketa K, et al: *Electrophoresis* 6: 492-497, 1985.
- 2) Yamagata Y, et al: *Clin Chim Acta* 327: 59-67, 2003.
- 3) Suzuki Y, et al: *Br J Cancer* 55: 147-152, 1987.
- 4) Suzuki Y, et al: *Ann Clin Biochem* 27: 121-128, 1990.
- 5) 日本肝癌研究会, 肝癌追跡調査委員会: 第16回全国原発性肝癌追跡調査報告, 進行印刷出版, 2004.
- 6) Aoyagi Y, et al: *Lancet* ii: 1353-1354, 1985.
- 7) Aoyagi Y, et al: *Cancer* 61: 769-774, 1988.
- 8) Aoyagi Y, et al: *Br J Cancer* 67: 486-492, 1993.
- 9) Yamashita F, et al: *Gastroenterology* 111: 996-1001, 1996.
- 10) Aoyagi Y, et al: *Cancer* 83: 2076-2082, 1998.

肝臓癌の腫瘍マーカー 1. AFPとL3分画

青柳 豊¹⁾

〔SUMMARY〕 肝癌早期診断を目的にアルファフェトプロテイン(AFP)は広く計測されており、その陽性率は60%を越えている。しかしながら、軽微な上昇は肝硬変などにおいても認められ、その特異性に問題を有していた。この問題を解決する目的でL3分画の測定が用いられており、特異性向上に寄与している。この目的以外にもL3分画は肝癌の生物学的悪性度の指標として、肝癌の予後推定因子としての意義が明らかにされている。〔臨床検査 49:1211-1217, 2005〕

〔KEYWORDS〕 アルファフェトプロテイン(AFP)、肝癌、L3分画、フコシル化分画

はじめに

わが国における肝細胞癌(HCC)による死亡者数は年間約34,000人に及んでおり、その大半はウイルス性肝硬変(LC)で、主にC型を発生母地としている。そして、HCC早期診断を目的に定期的な画像診断ならびに腫瘍マーカーの測定が行われている。本稿では、HCCの腫瘍マーカーであるアルファフェトプロテイン(AFP)とそのHCCに対する特異性を改善したL3分画(フコシル化AFP分画)の読み方について概説する。

AFP

1. AFP濃度によるHCC診断能

17,538例を集計した第16回全国原発性肝癌追跡調査報告(2000~2001の全国集計)によれば、

AFPの陽性率(第16回よりAFP 15 ng/ml以上を陽性)は66%と報告され、その診断的価値が高いことを示している¹⁾。図1はこれらの報告を各濃度により階層化したものであるが、AFP陽性を示した11,496例のHCCのうちの56%が200 ng/ml未満のレンジでHCCの診断に供している。

2. AFPの早期診断における意義

図2に当科でのStage別AFP陽性率を示す。早期のHCCと考えられる2 cm以下単発、脈管侵襲を認めないStage Iの症例において178例中92例、52%が陽性を示している。すなわち、20 ng/mlをカットオフ値とした場合、早期のHCCの約半数がAFP陽性を示すと考えられる。

3. 進行度別陽性率

AFP陽性率は解剖学的進展度であるStageの進行に伴って上昇する。図2に示すごとく、Stages Iの52%よりIIの57%、IIIの71%と増加し、Stage IVでは249例中195例78%が陽性を示している。

4. 高分化型HCCでのAFP陽性率

高分化型HCCにおけるAFP陽性率は30~40%と低い報告が多く、当科における高分化型HCCにおいても21 ng/ml以上を示した割合はわずか42%であり、2 cm以下単発の陽性率に比較して低い値を示している。すなわち、サイズと組織学的分化度は異なる因子としてとらえる必要がある。

5. AFPの特異性(慢性肝疾患でのAFP上昇)
AFPのカットオフ値を20 ng/mlとした場合、

1) AOYAGI Yutaka 新潟大学大学院医歯学総合研究科 分子細胞医学専攻 細胞機能講座 消化器内科学分野(第三内科)・教授