

氏名	山 片 ゆかり
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	薬 学
学位授与番号	博乙第3878号
学位授与の日付	平成15年 9月30日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)
学位論文の題目	Automated immunoassays for determination of alpha-fetoprotein concentration and its subspecies based on liquid-phase binding assay (液相結合アッセイ法を用いた α -フェトプロテインとその亜種の自動免疫測定法)
論文審査委員	教授 土屋 友房 教授 岡本 敬の介 教授 森山 芳則

学位論文内容の要旨

肝細胞癌の診断マーカーとして有用な α -フェトプロテイン (AFP) の新規自動測定法として、AFP濃度測定法と、AFP濃度とAFP亜種であるレクチン反応性AFP含量 (AFP-L3%) の同時分別測定法を開発した。二法とも、溶液中で抗原抗体反応を行い、免疫複合体の分離分析の為に硫酸化チロシンペプチド結合抗体と陰イオン交換クロマトグラフィーを利用した。

AFP濃度測定法は、PODないし硫酸化チロシンオクタマーを標識した二種類の抗AFPモノクローナルFab'抗体と血清を反応させた。抗原抗体反応は2分以内に完結し、カラム分析時間は3分以内であった。AFP分子は等量のPOD分子の活性量として検出されるため、検量線は原点を通り、7500ng/mlまでの直線となった。再現性や市販キットとの相関も良好であり、共存物質やHAMAの影響も認めなかった。

AFP濃度とAFP-L3%の同時分別測定法は、新規開発した自動免疫測定装置LiBASysへの適用を行った。本法は、AFP-L3糖鎖上でのレクチンと抗体分子の競合反応を利用している。測定結果は、3.4分毎に連続的に印字された。AFP-L3%が測定できるAFP濃度範囲は10-1000 ng/mlであった。再現性や市販キットとの相関は良好であった。600mg/dl以上のグルコースでAFP-L3%に僅かな負誤差を認めた他は、共存物質の影響は認めなかった。HAMAの影響も見られなかった。

肝細胞癌の効果的な治療には早期発見が不可欠であり、術後の監視を含めた長期フォローが必要となる。AFPは肝細胞癌を発症するリスクが高い集団の監視に有用である。一方、AFP-L3%は、より悪性度の高い癌を特異的に検出するマーカーとして臨床応用されている。LiBASysを用いた本自動測定法は、現在、日本の臨床現場で使用されており、肝細胞癌の診断に貢献している。

論文審査結果の要旨

B型肝炎ウイルスやC型肝炎ウイルスの拡大などにより、肝がんの脅威が増えている。肝がんについては早期診断、早期治療が極めて大事である。 α -フェトプロテインは肝細胞がんのマーカーとして知られている。従って、 α -フェトプロテインの微量・迅速測定ができれば、肝がんの早期診断に極めて有用である。

この論文の著者は、液相結合測定法による α -フェトプロテインに関する新しい自動測定法を2つ開発した。1つは α -フェトプロテインの濃度測定法であり、もう1つは α -フェトプロテインと亜種であるレンズ豆レクチン反応性 α -フェトプロテインの分別測定法である。

液相結合測定法は溶液中で抗原抗体反応を行うものであり、標識抗体濃度やpHなどの反応条件を容易に検討し至適化できるという利点があった。また反応は1対1で進行することから、検量線は原点を通直線となる。数分以内という極めて短時間の内に反応と分離・分析を行うことができた。また、これまでの方法の8倍程度の広い濃度範囲で測定が可能であった。さらに、検体を希釈することなくそのまま測定することが可能であった。分別測定法においては、レクチンと競合する抗体と競合しない抗体を組み合わせ用い、満足すべき分別測定を可能とした。

本論文に記載されているこれらの成果は学術的にも臨床応用的にも極めて興味深く、博士の学位に値するものと判断する。