

癌化における血清糖蛋白糖鎖変異の臨床的意義と
その molecular basis, アルファフェトプロテインの
フコシル化糖鎖変異を中心に

青 柳 豊

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 (内科学第三教室)

**Altered Glycosylation of Serum Glycoproteins,
Especially Fucosylation of Alpha - Fetoprotein,
in the Neoplastic Diseases of the Liver**

Yutaka AOYAGI

*Division of gastroenterology and hepatology,
Department of cellular function, Course for molecular and cellular medicine,
Graduate school of medical and dental sciences, Niigata University*

Abstract

The quantitative determinations of alpha - fetoprotein (AFP) has been extensively used for the detection of hepatocellular carcinoma (HCC). However, the serum concentration of AFP also increases in neoplastic diseases of gastrointestinal tract metastatic to the liver and nonneoplastic liver diseases. Moreover, the serum concentrations of AFP in HCC at the time of initial diagnosis became lower recently owing to the advancement of imaging modalities. These clinical circumstances have lead to the need of molecular discrimination of AFP between these diseases. This has been attained by determining the carbohydrate structures of AFP with the reactivity to the lectins, *Lens culinaris* agglutinin (LCA) and concanavalin A (Con A). The percentage of LCA-reactive species of AFP is higher in HCC than in benign liver diseases with statistical significance.

Reprint requests to: Yutaka AOYAGI
Division of gastroenterology and hepatology
Department of cellular function
Course for molecular and cellular medicine
Graduate school of medical and dental sciences
Niigata University
1 - 757 Asahimachi - dori,
Niigata 951 - 8122 Japan

別刷請求先： 〒951 - 8122 新潟市旭町通り 1 - 757
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 (内科学第三教室)
青 柳 豊

The alpha1-6 fucosylation of sugar chain at innermost N-acetylglucosamine is molecular basis of this variation. Therefore, the terms "fucosylation index" have been introduced to express the percentages of LCA-reactive species of AFP. This index is useful for the diagnosis of HCC even if the carcinoma is at an early stage. Furthermore, they seem to serve the prediction of HCC in the follow-up course of chronic liver diseases. On the other hand, Con A-nonreactive species of AFP was significantly higher in AFP-producing gastrointestinal carcinoma than HCC and benign liver diseases. Molecular basis of Con A-nonreactive variants is the N-acetylglucosaminylation of the mannose residue at the trimannosyl core although the position to be modified is different. Therefore, the terms "fucosylation and glucosaminylation indices" were adopted to express the percentages of LCA-reactive and Con A-nonreactive species of AFP, respectively. Thus, not only qualitative but also quantitative measurements provide us very valuable information in the differential diagnosis of various AFP-producing diseases.

Keywords: hepatocellular carcinoma, alpha-fetoprotein, Lens culinaris agglutinin, fucosylation,

はじめに

本邦においては、ウイルス起因性、特にC型肝炎ウイルスによる肝硬変を発生母地とした肝細胞癌(HCC)が増加傾向を示し、年間32,000人あまりが死亡している。本死亡者数は悪性新生物総死亡の臓器別順位で第3番目に位置する¹⁾。これらの事実はウイルス性慢性肝疾患、特に肝硬変経過観察におけるHCC早期診断が臨床上きわめて重要である事を示している。そして、HCC早期診断を目的に、腹部超音波検査をはじめとする各種画像診断ならびにアルファフェトプロテイン(AFP)、PIVKA-IIなどの腫瘍マーカーによる血清学的診断が広く行われてきた²⁾⁻⁵⁾。しかしながら、AFPは良性肝疾患においてもしばしば上昇することが知られており、その特異性が低い欠点を有していた⁶⁾⁷⁾。

1. HCC由来ならびに胎児性AFP蛋白化学的比較研究

著者らは先にAFPのHCC特異性向上と生理的蛋白としての生物学的機能解明を目的に、HCC由来ならびに胎児性AFPの精製、純化および両者の蛋白化学的characterizationを行ってきた。その結果、AFPの蛋白一次構造にはHCC由来、胎児性の両者に大きな違いは無いこと⁸⁾、また、銅イオン⁹⁾やビリルビン¹⁰⁾を結合する能力を有

する事、ならびに、グロビン合成を阻害する能力を有することを報告した¹¹⁾。これらの生理活性や蛋白一次構造においてはHCC由来ならびに胎児性AFPの間に差は認められなかったが、糖組成に差がある結果を認めた⁸⁾。

2. 糖鎖を指標とした分子識別の試み

前記した事実に着目し、各種レクチンを用い、糖鎖を指標として両者の分子識別を試みた。その結果、HCC由来AFPにおいて、レンズマメレクチン(LCA)結合性分画が肝硬変などの良性肝疾患由来AFPに比較し有意な増加を示し、HCCの早期診断に有用であることを報告した¹²⁾⁻¹⁶⁾。

3. 糖鎖構造解析

HCCにおいて有意に上昇するLCA結合性分画の糖鎖組成解析により、本分画はフコース結合糖鎖であることを報告した¹⁷⁾。つぎに、糖鎖構造解析を目的とした糖鎖微量蛍光標識法であるピリジルアミノ化法と高速液体クロマトグラフィーによる分析で、このLCA結合性AFPの糖鎖構造が二分岐型複合糖鎖の還元末端側のN-アセチルグルコサミンにフコース残基が、 α 1-6の形式で結合したものであることを明らかにした¹⁸⁾。そして、総AFPに対するLCA結合性分画の割合、すなわちフコシル化AFP分画の測定が、肝硬変をはじめとする慢性肝疾患経過観察中におけるHCCの早期診断に有用であることを提唱してきた¹⁹⁾²⁰⁾。

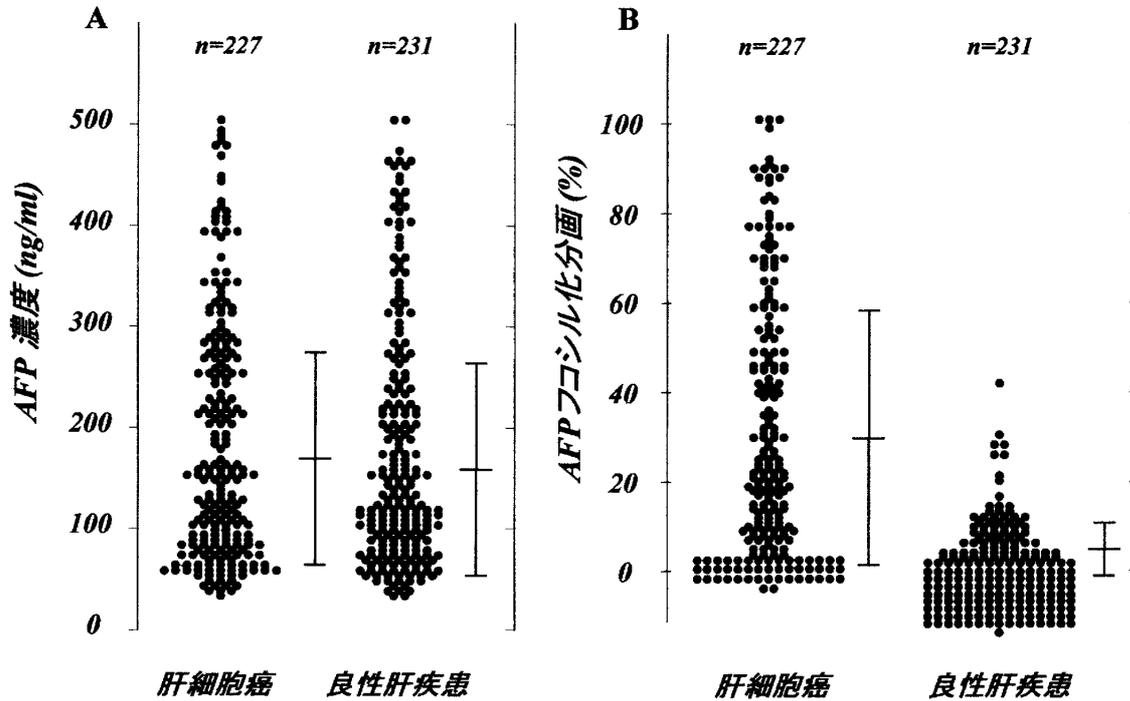


図 1

A : HCC 診断時の AFP 値が 500ng/ml 以下の症例 227 例と各種画像診断により腫瘍の存在を否定し得た良性肝疾患 (BLD) 231 例の血清 AFP 値をプロットしたものの、単なる 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 AFP フコシル分画のプロットで、両疾患の鑑別が可能である事を示す。

4. フコシル化 AFP による鑑別

図 1A は 500ng/ml を上限として、当科での HCC ならびに肝硬変を主とする良性肝疾患の AFP 濃度をプロットしたものである。濃度での両疾患の識別は困難であることが理解できる。

図 1B は AFP 濃度では極めてオーバーラップが多かった HCC 診断時の AFP 値が 500ng/ml 以下良性肝疾患のフコシル化 AFP 分画の割合をプロットしたものである。同症例でのフコシル化率の平均は、HCC、良性肝疾患で、それぞれ 30 ± 29 , $4 \pm 7\%$ (mean \pm SD) で、有意な HCC 群での上昇を認めた。著者らが現在まで行った HCC 584 例、良性肝疾患 292 例の結果では、HCC 群のフコシル化率は $36 \pm 30\%$ (mean \pm SD) で良性肝疾患群の $4.7 \pm 7\%$ に比較して有意な上昇を認めた。早期の HCC である最大径 3cm 以下で AFP 値 400ng/ml 以下の 44 例、2cm 以下で 400ng/ml 以下の 18 例においてもそのフコシル化

率は、おのおの、 32 ± 29 , $29 \pm 30\%$ と有意な上昇を呈した。すなわち、AFP 濃度では困難な両疾患の鑑別がフコシル化率で可能である事を示している。また、フコシル化分画と濃度とは弱い相関関係を認めるのみで、互いに独立した因子としてみなすべきと考えられる。

5. フコシル化率による HCC 予知の可能性

AFP 持続陽性 C 型肝硬変例の prospective な経過観察において、画像診断より 4 年先行してフコシル化率上昇をきたし、HCC の出現を予知した症例をあわせて報告している²¹⁾。

6. 他の血清糖蛋白のフコシル化

生理的に存在する血清糖蛋白である $\alpha 1$ アンチトリプシン²²⁾ やトランスフェリン²³⁾²⁴⁾ 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の亢進が起きていることを報告している。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事を示して

おり、AFP非産生HCCの診断に用いる事が出来る^{25) - 27)}。

7. HCC 予後規定因子としての意義

当科にて内科的治療を行ったHCC 302例における予後とそれに影響をおよぼす因子をCoxの比例ハザードモデルを用いて検討するとTumor Stageや肝予備能を示す因子の他に、フコシル化率が有意な因子として認められる。カプランマイヤー法による検討では、著者らのHCCと良性肝疾患のcutoff lineである18%を基準と設定した場合、フコシル化率高値群と低値群の間に、有意な生存率の差が認められた²⁸⁾。

8. 生物学的悪性度を示す指標

さらに同一Stageに限ったカプランマイヤー法による検討でも、Stage Iでは有意差を認めなかったが、Stages II, III, IV A, IV Bにおいてフコシル化率高値群は明らかに低値群に比較して予後不良であった。この事実は、本分画が腫瘍の生物学的悪性度を評価出来るマーカーである事を示していると考えられる²⁹⁾。

9. フコシル化AFPよりみたHCCの治療目標

フコシル化を受けたAFPの分子種は肝癌細胞に極めて特異的であり、腫瘍の悪性度を示すマーカーであることより、治療後本分画を低下し得たHCC群では、非低下群に比較して明らかに生命予後の改善を認めた²⁹⁾。すなわち、HCCの治療目標をフコシル化AFPの低下ないし陰性化を目指す事が妥当と考えられる。

10. フコシル化の酵素学的背景

フコシル化の酵素学背景である α 1-6フコース転移酵素の血漿中活性とAFPのフコシル化率の関連を検討すると、両者には有意な正の相関々係が存在し酵素活性とproductの関係として矛盾しない結果である。また、HCC組織中活性は周辺非癌部肝硬変組織に比較して高値を示す傾向にある³⁰⁾。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肝硬変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ほど際だった差は得られなかった。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。

11. 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変異が各種AFP産生性腫瘍で認められる。これらの多分岐化糖鎖はtri-mannosyl coreにN-アセチルグルコサミンが付加され、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をglucosaminylation index(グルコサミニル化率)として表記している。この変化は胃癌を主とする消化管由来AFP産生転移性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。著者らはAFPのレクチン分画測定の際は、フコシル化を評価するレンズマメレクチンと多分岐化の糖鎖を測定するCon Aの二者をペアーで行っている¹²⁾¹⁶⁾³¹⁾。

12. 多分岐化糖鎖とその酵素学的背景の臨床的意義

グルコサミニル化率をHCC、良性肝疾患ならびにAFP産生性各種疾患につき検討すると、HCC、良性肝疾患では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、前二者に対して有意な上昇を示した。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、これらの他にもyolk sac tumorにおいても上昇を示し、yolk sac型glycosylationの特徴と考えられる³¹⁾。また、これら多分岐型糖鎖の酵素学的背景であるIII, V型グルコサミン転移酵素がAFP産生性腎癌ならびにHCCの診断や転移浸潤能を評価する因子として臨床的に有用である結果を報告している^{32) - 34)}。

12. AFP糖鎖の疾患特異性

表1は各種AFP産生性腫瘍ならびに良性肝疾患のフコシル化、多分岐化の疾患特異性を示す。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(グルコサミニル化)のいずれの修飾も受けない糖鎖が主体である。これに対して、HCC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はそれほど高くない。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出現が認められる。ヨークサックサック腫瘍にお

表 1 AFP糖鎖のフコシル化, 多分岐化とその疾患特異性

基本糖鎖		
Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1-6	Man β 1-4GlcNAc β 1-4GlcNAc	良性肝疾患
Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1-3		
フコシル化		
Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1-6	Man β 1-4GlcNAc β 1-4GlcNAc	Fuc α 1-6
Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1-3		肝細胞癌
Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1-6	Man β 1-4GlcNAc β 1-4GlcNAc	Fuc α 1-6
Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1-6 GlcNAc β 1-4		ヨークサック腫瘍
Gal β 1-4GlcNAc β 1-2 Man α 1-6	Man β 1-4GlcNAc β 1-4GlcNAc	Fuc α 1-6
Gal β 1-4GlcNAc β 1-4 Man α 1-6		消化器癌
Gal β 1-4GlcNAc β 1-2 Man α 1-3	Man β 1-4GlcNAc β 1-4GlcNAc	Fuc α 1-6
Gal β 1-4GlcNAc β 1-2 Man α 1-3		混合型肝癌
Gal β 1-4GlcNAc β 1-2	Man β 1-4GlcNAc β 1-4GlcNAc	Fuc α 1-6
Gal β 1-4GlcNAc β 1-2		肺癌, 腎癌
多分岐化 (グルコサミニル化)		
Gal β 1-4GlcNAc β 1-2 Man α 1-6	Man β 1-4GlcNAc β 1-4GlcNAc	消化器癌
Gal β 1-4GlcNAc β 1-4 Man α 1-3		
Gal β 1-4GlcNAc β 1-2	Man β 1-4GlcNAc β 1-4GlcNAc	混合型肝癌
Gal β 1-4GlcNAc β 1-2		
Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1-6	Man β 1-4GlcNAc β 1-4GlcNAc	腎癌
Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man α 1-3 GlcNAc β 1-4		

いては多分岐化と顕著なフコシル化の亢進を認める²⁰⁾。

このように 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。

おわりに

現在 AFP は, その濃度のみならず質的变化である糖鎖変異による情報が得られるようになった。この AFP 糖鎖の疾患特異性は AFP 産生性消化器疾患の鑑別診断において有用であるのみならず, 特にフコシル化分画は HCC の予後の指標として用いることが出来ることが明らかになってきた。

現在, AFP のフコシル化分画は AFP, L3 分画³⁵⁾として電気泳動法やモノクローナル抗体を用いた自動化装置による測定法が保健収載^{36) - 38)}され日常診療に用いられていることが出来る。

文 献

- 1) 肝癌白書, 編集・発行: 日本肝臓学会, 平成 11 年. 廣濟堂
- 2) Abelev GI, Perova S, Khramkova N, Postnikova Z and Irlin Y: Production of embryonal alpha-globulin by transplantable mouse hepatomas. Transplantation 1: 174-180 1963.
- 3) Liebman HA, Furie BC, Tong MJ, Blanchard RA, Lo KJ, Lee SD, Coleman MS and Furie B: Des-γ-carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma. N Eng J Med 310: 1427-1431 1984.
- 4) Aoyagi Y, Oguro M, Yanagi Y, Mita Y, Suda S, Suzuki Y, Hata K, Ichii, K and Asakura H: Clinical significance of simultaneous determinations of alpha-fetoprotein and des-gamma-carboxy prothrombin in monitoring recurrence of patients with hepatocellular carcinoma. Cancer 77: 1781-1786 1996.

- 5) Mita Y, Aoyagi Y, Yanagi M, Suda T, Suzuki Y and Asakura H: Usefulness of sensitive determination of des-gamma-carboxy prothrombin in the early diagnosis of patients with hepatocellular carcinoma *Cancer* 82: 1643-1648 1998.
- 6) Karvountzis GG and Redeker AG: Relation of alpha-fetoprotein in acute hepatitis to severity and prognosis. *Intern Med* 80: 156-160 1974.
- 7) Alpert E and Feller ER: Alpha-fetoprotein (AFP) in benign liver diseases. Evidence that normal liver regeneration does not induce AFP synthesis. *Gastroenterology* 74: 856-858 1978.
- 8) Aoyagi Y, Ikenaka T and 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.
- 9) Aoyagi Y, Ikenaka T and Ichida F: Copper (II)-binding ability of human alpha-fetoprotein. *Cancer Res* 38: 3483-3486 1978.
- 10) Aoyagi Y, Ikenaka T and Ichida F: alpha-Fetoprotein as a carrier protein in plasma and its bilirubin-binding ability. *Cancer Res* 39: 3571-3574 1979.
- 11) Aoyagi Y, Takahashi T, Odani S, Ogata K, Ono T and Ichida F: Inhibitory effect of alpha-fetoprotein on protein synthesis in a reticulocyte lysate cell-free system. *J Biol Chem* 257: 9566-9569 1982.
- 12) Aoyagi Y, Suzuki Y, Isemura M, Soga K, Ozaki T, Ichida T, Inoue K, Sasaki H and Ichida F: Differential reactivity of alpha-fetoprotein with lectins and evaluation of its usefulness in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Gann* 75: 809-815 1984.
- 13) Aoyagi Y, Isemura M, Suzuki Y, Sekine C, Soga K, Ozaki K and Ichida F: Fucosylated alpha-fetoprotein as marker of early hepatocellular carcinoma. *Lancet* ii: 1353-1354 1985
- 14) Aoyagi Y, Isemura M, Suzuki Y, Sekine C, Soga K, Ozaki K and Ichida F: Change in fucosylation of alpha-fetoprotein on malignant transformation of liver cells. *Lancet* i: 210 1986.
- 15) Aoyagi Y, Suzuki Y, Isemura M, Nomoto M, Sekine C, Igarashi K and Ichida F: The fucosylation index of alpha-fetoprotein and its usefulness in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 61: 769-774 1988.
- 16) Aoyagi Y, Suzuki Y, Igarashi K, Saitoh A, Isemura M, Oguro M, Yokota T, Nomoto M and Asakura H: The usefulness of the simultaneous determination of glucosamylation and fucosylation indices of alpha-fetoprotein in the differential diagnosis of neoplastic diseases of the liver. *Cancer* 67: 2390-2394 1991
- 17) Aoyagi Y, Isemura M, Yosizawa Z, Suzuki Y, Sekine C, Ono T and Ichida F: Fucosylation of serum alpha-fetoprotein in patient with primary hepatocellular carcinoma. *Biochim. Biophys. Acta* 830: 217-223 1985
- 18) Aoyagi Y, Suzuki Y, Igarashi K, Saitoh A, Oguro M, Yokota T, Mori S, Suda T, Isemura M and Asakura H: 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.
- 19) Aoyagi Y: Carbohydrate-based measurement on alpha-fetoprotein in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. Mini-Review. *Glycoconj J* 12: 194-199 1995
- 20) Aoyagi Y: Molecular discrimination between alpha-fetoprotein from patients with hepatocellular carcinoma and nonneoplastic liver diseases by their carbohydrate structures. *Int J Oncology* 4: 369-383 1994. Review
- 21) Aoyagi Y, Saitoh A, Suzuki Y, Igarashi K, Oguro M, Yokota T, Mori S, Suda T, Isemura M and Asakura H: Fucosylation index of alpha-fetoprotein, a possible aid in early recognition of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Hepatology* 17: 50-52 1993.
- 22) Sekine C, Aoyagi Y, Suzuki Y and Ichida F: The reactivity 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.
- 23) Suzuki Y, Aoyagi Y, Naitoh A, Isokawa O,

- Igarashi H, Yanagi M, Suda T, Mori S, and Asakura H: Microheterogeneity analysis of serum transferrin before and after therapies to hepatocellular carcinoma. *Int Hepatol Commun* 4: 109 - 194 1995.
- 24) Suzuki Y, Aoyagi Y, Mori S, Suda T, Yanagi M, and Asakura H: Microheterogeneity of serum transferrin in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 11: 358 - 365 1996.
- 25) Saitoh A, Aoyagi Y and 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.
- 26) Saitoh A, Aoyagi Y, Oguro M, Igarashi K, Yokota T, Mori S, Suda T, Suzuki Y, Sekine C, Kamimura T and Asakura H: Structural analysis on the sugar chains of alpha - 1 - antitrypsin from the patients with hepatocellular carcinoma. *Int Hepatol Commun* 1: 5 - 10 1993.
- 27) Naitoh A, Aoyagi Y and 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.
- 28) Aoyagi Y, Isokawa O, Suda T, Watanabe M, Suzuki Y and Asakura H: Fucosylation index of alpha - fetoprotein as a possible prognostic indicator in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 83: 2076 - 2082 1998.
- 29) Aoyagi Y, Mita Y, Suda T, Kawai K, Kuroiwa T, Igarashi M, Kobayashi M, Waguri N and Asakura H: 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.
- 30) Mita Y, Aoyagi Y, Suda T and 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.
- 31) Aoyagi Y, Suzuki Y, Igarashi K, Yokota T, Mori S, Suda T, Isemura M and Asakura H: Highly enhanced fucosylation of alpha - fetoprotein in patients with germ cell tumor. *Cancer* 72: 615 - 618 1993.
- 32) Mori S, Aoyagi Y, Yanagi M, Suzuki Y and Asakura H: N - acetylglucosaminyl - transferase III activities in hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 13: 610 - 619 1998.
- 33) Yanagi M, Aoyagi Y, Suda T, Mita Y and Asakura H: N - acetylglucosaminyl - transferase V as a possible aid for the evaluation of tumor invasiveness in patients with hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 16: 1282 - 1289 2001.
- 34) Aoyagi Y, Mori S, Naitoh A, Yanagi M, Suzuki Y, Suda T, Isokawa O, Igarashi, H, Takahashi T, Isemura M and Asakura H: Alpha - fetoprotein producing renal cell carcinoma with the increased activity of N - acetylglucosaminyl - transferase III, *Nephron* 74: 409 - 414 1996.
- 35) Taketa K, Ichikawa E, Taga H and Hirai H: Antibody - affinity blotting, a sensitive technique for the detection of alpha - fetoprotein separated by lectin affinity electrophoresis in agarose gels. *Electrophoresis* 6: 492 - 497 1985.
- 36) Suzuki Y, Aoyagi Y, Muramatsu M, Isemura M and Ichida F: Close topographical relationship in alpha - foetoprotein (AFP) between a lens culinaris binding glycan and the epitope recognized by AFP - reactive monoclonal antibody, 18H4. *Brit J Cancer* 55: 147 - 152 1987.
- 37) Suzuki Y, Aoyagi Y, Muramatsu M, Igarashi K, Saitoh A, Oguro M, Isemura M and Asakura H: A lectin - based monoclonal enzyme immunoassay to distinguish fucosylated and non - fucosylated alpha - fetoprotein molecular variants. *Ann Clin Biochem* 27: 121 - 128 1990.
- 38) 里村慎二, 林正佳 全自動分析装置 LiBASys を用いた AFP と AFP - L3 % の同時測定. *日本臨床検査自動化学会誌* 24: 237 - 238 1999.