リストセチンによる血小板凝集に対する
IgG₁(λ) M たんぱくの阻害作用

中村 治雄* 阿部 帥*

Inhibitory effect of monoclonal and monomeric IgG₁ (λ)
on the ristocetin-induced platelet aggregation

Haruo NAKAMURA* and Tsukasa ABE*

Key words: ristocetin, platelet aggregation, monoclonal
IgG, acquired von Willebrand's disease,
multiple myeloma

The authors examined the effect of IgG₁ (λ) on the ristocetin-induced platelet aggregation in a patient with multiple myeloma associated with acquired von Willebrand's disease.

We isolated monomeric IgG with the combined procedure of ammonium sulfate fractionation and column chromatography on DEAE-cellulose, as aggregated IgG inhibited the ristocetin-induced platelet aggregation. We found that IgG₁ (λ) from the patient's plasma inhibited ristocetin-induced platelet aggregation but IgG from normal human plasma hardly inhibited. Molecular weights of heavy chain and light chain of IgG₁ (λ) from the patient's plasma were estimated to be approximately 58,000 and 35,000, respectively. On the other hand, molecular weights of heavy chain and light chain of IgG from normal human plasma were estimated to be approximately 58,000 and 30,000, respectively. Therefore, the difference in molecular weight of light chains might be correlated with the inhibitory activity of IgG₁ (λ) on the ristocetin-induced platelet aggregation. Furthermore, the inhibitory activity of IgG₁ (λ) molecules might be derived from interfering in the interaction of ristocetin, von Willebrand factor and blood platelets.

* 筑波大学臨床医学系〔〒305 茨城県新治郡桜村天王台〕, Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan.

はじめに

リストセチンによる血小板凝集は von Willebrand 病の診断に有用とされている¹⁾。われわれは後天性 von Willebrand 病を呈した IgG₁(λ) 型骨髄腫症例において、血小板リストセチン凝集におよぼすMたんぱくの影響を検討した。

I. 方 法

(1) IgG の精製・性状：健常者新鮮凍結血漿および患者血漿を出発材料とし、硫酸分画（20～40% 飽和画分）および DEAE-セルロースカラムクロマトグラフィーにより IgG を精製した。IgG およびそのサブクラスは免疫電気泳動法および単一拡散法により同定した。分子量は SDS-ゲル電気泳動法 (SDS-PAGE)²⁾ および Sephadex G-200 クロマトグラフィーを用いて推定した。

(2) 血小板凝集：健常者血漿および被検 IgG 溶液を含む洗滌血小板浮遊液 400 μ l にリストセチン 14 μ l を加え、Sienco 社製血小板凝集計を用い、最大凝集率を求めた。

II. 結 果

(1) 精製 IgG の性状。

患者血漿から精製した IgG(λ) は IgG₁(λ) であった。Sephadex G-200 クロマトグラフィーから求めた分子量は 22 万 (健常者の場合、20 万)、SDS-PAGE により推定した分子量は H 鎖 58,000(58,000) および L 鎖 35,000(30,000) であった。

(2) リストセチン凝集への IgG の影響 (図 1-a, b)。

IgG を終濃度 20mg/ml 含む血小板浮遊液中の添加健常者血漿量を変化させた (図 1-a)。健常者 IgG の場合、添加健常者血漿量を増加させた時、最大凝集率は 50% まで増加した。しかし、患者 IgG の場合、最大凝集率は 19% までしか増加しなかった。健常者血漿 150 μ l を含む血小板浮遊液への添加 IgG 量を増加させた時、健常者 IgG に比べ、患者 IgG の場合、最大凝集率は著明に低下した (図 1-b)。

III. 考 察

IgG₁(λ) 型多発性骨髄腫において、この IgG

Fig. 1 Effect of normal human plasma (a) and of IgG (b) on ristocetin-induced platelet aggregation.

Platelet aggregation was observed under the following conditions: the final concentration of IgG was 20 mg/ml (a) and the plasma volume added to the suspension medium was 150 μ l (b). Open circle showed the mixture which contained IgG₁(λ) from the patient's plasma. Open square showed the mixture of normal human plasma and IgG prepared from normal human plasma. Open triangle showed the mixture of normal human plasma and Tris-HCl-saline buffer.

(λ)M たんぱくがリストセチン凝集を阻害することを示した。IgG₁(λ) はゲルクロマトグラフィーの結果から単量体であり, aggregated IgG による阻害³⁾ ではないことが示された。したがって, 健常者血漿から精製した IgG と比較し, IgG₁(λ)M たんぱくのゲルクロマトグラフィーでえられた分子量の差, すなわち L 鎖分子量の差あるいは M たんぱくの質的な差がリストセチン凝集の阻害作用に関与していると考えられた。この IgG₁(λ)M たんぱくの阻害作用の機序は不詳であるが, von Willebrand 因子もしくはリストセチンと血小板との結合あるいはリストセチンと von Willebrand 因子との結合反応に IgG₁(λ)M たんぱくが影響したためと考察された。

文 献

- 1) Howard, M.A. & Firkin, B.G.: Ristocetin-A new tool in the investigation of platelet aggregation. *Thrombos. Diathes. Haemorrh.*, **26**: 362~369, 1971.
- 2) Laemli, U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T 4. *Nature*, **227**: 680~685, 1970.
- 3) Moore, A., Ross, G.D. & Nachman, R.L.: Interaction of platelet membrane receptors with von Willebrand factor, ristocetin and the Fc region of immunoglobulin G. *J. Clin. Invest.*, **62**: 1053~1060, 1978.

● 周産(生)期感染症の臨床指針書!

妊婦・胎児・新生児の感染症

編集 日本周産(生)期医学研究会 専門医91氏分担執筆

B5判 289頁 図102 表175 定価9,800円(〒240円)

本書は周産(生)期医学の立場に立って問題の多い妊婦, 胎児, 新生児の感染症を再検討し, ウィルス, マイコプラズマ, 原虫, 細菌を含めて, 新しく見出された疾患, 従来より知られた感染症を現代の進歩したウィルス学, 細菌学および免疫学より洗い直し, 産婦人科医, 小児科医の実地診療上必要な感染症の臨床指針書である。

●内容: 【妊婦の感染症】1. 妊婦感染症, 2. 化学療法, 3. 産褥感染症, 4. 妊婦慢性腎盂腎炎, 【胎児の感染症】1. 胎児感染症の化学療法, 2. 先天性トキソプラズマ症, 3. サイトロメガロウィルス感染症, 4. HBs抗原と垂直感染, 5. B型肝炎ウィルスの垂直感染, 6. B型肝炎ウィルスの母児間伝播, 7. 前期破水, 分娩遅延と未熟児感染症, 8. 感染の母児相関, 9. 新生児肺炎と産科的異常, 10. 妊婦予防接種の胎児への影響, 【新生児の感染症】1. 新生児感染症, 2. 新生児と抗生物質, 3. 新生児感染症の診断と治療, 4. 先天性免疫不全症と新生児敗血症, 5. 予後不良であった新生児細菌感染症, 6. 未熟児室における感染症の集団発生, 7. 新生児室内感染, 8. 細菌培養と感受性検査, 【周産期感染症と免疫】1. 妊婦の感染と免疫, 2. 胎児感染と免疫, 3. 新生児感染症と免疫, 4. 初乳の免疫に関する役割。