各種内科疾患における白血球凝集素について

慶応義塾大学医学部内科学教室（指導】三方一沢教授）

高 橋 隆 一

LEUKOAGGLUTININS IN VARIOUS INTERNAL DISEASES

BY

Ryuichi Takahashi

Department of Internal Medicine,
School of Medicine, Keio University
(Prof.: I. Mikata)

梗概 木村の重層遠心分離法によつて純粹に分離した白血球を使用し、100例の諸内科疾患について Dausset 法により白血球凝集素を検索した。11例（11%）に陽性を認めたが、輸血の影響を検討する目的で輸血、非輸血2群に分けて検討した。その結果、陽性例は明らかに輸血群に多く、しかも輸血量が多い程陽性率の高くなる傾向のあることを知つた。又従来陽性例の報告のない胃潰瘍、胃癌、潰瘍性大腸炎、慢性腎炎の4疾患に陽性例を認めたが、いずれも輸血例であり、輸血による同種抗体と考えられる。非輸血陽性例では、白血球減少を認めたが、輸血陽性例では不定であつた。

近年血液学の分野において免疫血液学の発展にはめざましいものがあり、従来原因不明とされていた一群の血液疾患に種々の抗体が証明され、その病因が免疫学的に説明される様になつた。しかし、最近までその研究対象は赤血球のみであつた。赤血球以外の血液成分に対する自家抗体の証明は、1951年 Harrington 等による抗血小板抗体の証明が初めてであるが、抗白血球抗体も同1951年に Moeschlin¹⁾により証明された。すなわち、ピラミドンによる顆粒球減少症患者の血清が、白血球を凝集し、健康人に患者血液を輸血すると一時的に顆粒球減少をおこすことを認め、患者血清中に抗白血球抗体の存在することを明らかにした。その後白血球凝集試験の術式²⁾³⁾が確立されて、白血球凝集素の性質が明らかにされると共に、白血球減少を示す諸疾患についてその検索が行なわれた。その結果、顆粒球減少症の他に、ビールス性肺炎、伝染性単核症、発作性夜間血色素尿症、白血病、播種性紅斑性狼瘡、脾結核等にも白

血球凝集素が証明された。しかし、今日ではこれらの疾患に証明された白血球凝集素の一部が、自家抗体ではなく輸血による同種抗体であろうとする批判的研究も報告されつつある。

私は、血液疾患を主とする各種内科疾患100例について白血球凝集素を検索し、従来報告のない二、三の疾患に陽性例を認め、そのいずれも多量輸血例である点から、陽性率と輸血の有無、量に関して若干の知見を得たのでここに報告する。

I 検査方法

従来広く行なわれているのは、Dausset 法²⁾であるが、本法による白血球浮遊液を使用すると、かなりの赤血球が混在して白血球凝集の判定上支障をきたすことが少なくない。そのため白血球分離には、木村の重層遠心分離法⁴⁾を採用してより純粹に分離し、その後 Dausset 法にならつて凝集の有無を検査した。

a) 白血球分離法

被検血液とABO同型の健康者から静脈血50cc

を採血し、小ガラス球約10コを入れたエルレンマイヤーのフランスコで脱線維を行ない、大型遠沈管にて 2,500r.p.m. 20分間遠沈する。その後血球成分の最上部にある白血球層 (buffy coat) をピペットで採り、生理的食塩水で2倍に稀釈し、試料とする。

一方pH 7.4, 比重 1.068~1.070 (15°Cにおいて)のアラビヤゴム溶液を調製する。私の経験では比重 1.070が最適であつた。つぎに10cc容遠沈管にアラビヤゴム溶液 2 ccをとり、その上に試料約 3 ccを静かに重層し、Spinco 型超遠心分離器で 8,000r.p.m. 15分間遠沈すると白血球部分のみがアラビヤゴム溶液の界面上に浮上し、赤血球は管底に沈澱する。白血球部分のみをピペットで採り、生理的食塩水に浮遊し軽く遠沈して白血球を得る。それを約2倍に稀釈し、凝集試験に使用する。本法によると白血球 100コに対し、赤血球 1~3コを混在するにすぎない。

b) 白血球凝集試験

被検血清を56°C, 30分不活化し、その2滴を白血球浮遊液 1 滴と共に小試験管 (内径 0.7~0.8 cm) に入れて混合し、37°C, 1時間放置する。その後管内容を軽くふつてからスライドに移し、カ

Fig. 1

バーグラスをかけて鏡見 (30×) し、凝集の有無を判定した。位相差顕微鏡を使用すると判定は容易である。なお赤血球を混在しないので1%醋酸を加える必要はない。判定基準は Fig. 1 に示すごとくで、+, ++を陽性とした。なお、白血球浮遊液に不活化しない血清、生理的食塩水をそれぞれ加えて対照とし、各検体については少なくとも2回は凝集を調べた。

II 成績

Table 1 に示すごとく、血液疾患を主とする

Table 1. Groups of Diseases investigated of Leukoagglutinins

Groups of Diseases Investigated	Number of Patients Examined
Blood disorders	76
Collagen diseases	6
Malignant neoplasms	6
Disorders of the gastroint. tract	3
Renal diseases	4
Miscellaneous	5
Total	100

Table 2. Patients with Leukoagglutinins

Diseases	Volume of Transf. Blood	Leucocytes Count
acut. myelo. Leuk.	7600	11800
acut. myelo. Leuk.	9000	1800
chron. myelo. Leuk.	3800	9800
I.T.P.	3500	3000
S.L.E.	0	3600
S.L.E.	1800	5400
malig. Lymphom	0	4000
Cancer of the Stomach	5200	4200
gastric ulcer	4500	5100
ulcerative Colitis	3000	5600
chron. Nephritis	4400	3900

各種内科疾患 100例について検索した。

a) 各種疾患別の成績

陽性例は 100例中11例 (11%) に認めたが、その内訳を疾患別に述べる。

i) 血液疾患

急性骨髄性白血病14例中2例に陽性を認めた。

いずれも大量輸血例で、それぞれ 7,600cc, 9,000 ccの輸血を受けている。後者は入院時すでに輸血 (量不明) を受けていたが当時は陰性、その後瀕回の輸血を受けている間に陽性となり、プレドニソロン大量使用中にもかかわらず8カ月後死亡する迄毎回陽性であつた。慢性白血病4例中1例に陽性を認めたが、3,800ccの輸血を受けている。血小板減少性紫斑病4例中1例に陽性を認めたが、輸血前陰性、3,500cc輸血後陽性となり、プレドニソロン使用中にもかかわらず1カ月後の

Table 3. Relation between Blood Transfusions and Leukoagglutinins

Blood Transfusion	No. Patients	Without Leukoaggl.	With Leukoaggl.
Transfused	50	41	9 (18%)
Not Transfused	50	48	2 (4%)

Table 4. Relation of Volume of Transfused Blood to Percentage of Positivity

Volume of Transfused Blood	Total No. of Patients	No. Patients with Agglutinins	Per cent of Positivity
0 cc	51	2	3.9
1~2000	14	1	7.1
2001~4000	7	3	42.8
4001~6000	6	3	50.0
Morethan 6001	4	2	50.0

退院迄陽性を示していた。顆粒球減少症については4例経験したが、いずれも陰性であった。なおいずれも発病後4日以上経過した症例である。その他鉄欠乏性貧血16例、パンチ症候群3例、再生不良性貧血18例、先天性及び後天性溶血性貧血各1例、巨赤芽球性貧血2例、赤白血病2例、赤血球増加症2例、慢性白血球減少3例、血管性紫斑病2例について検索したが、いずれも陰性であった。

ii) 膠原病

播種性紅斑性狼瘡5例中2例に陽性を認めたが、1例は非輸血例であり、他1例は1,800ccの輸血を受けている。いずれも白血球凝集素とL.E.細胞を同時に検索して経過をみたが、両者の陽性は平行しない。強皮症1例は陰性であった。

iii) 悪性腫瘍

悪性リンパ腫4例中1例に陽性を認めたが、非輸血例である。癌2例中1例に陽性を認めたが、5,200ccの輸血を受けている。

iv) 消化器疾患

胃潰瘍2例中1例、潰瘍性大腸炎1例に陽性を認めたが、それぞれ4,500cc、3,000ccの輸血例である。

v) 腎疾患

慢性腎炎4例、いずれも瀕回の交換輸血を受けているが、その1例に陽性を認めた。この例は1,700cc輸血時には陰性であったが、4,400cc輸血後陽性となった例である。

vi) その他の疾患

ビールス性肺炎、ヒステリー、肝硬変、胸膜炎、伝染性単核症各1例について検索したが、いずれも陰性であった。

b) 陽性率と輸血との関係

白血球凝集素の陽性率を、輸血群、非輸血群の2例に分けて比較してみると、輸血群では50例中9例(18%)に、非輸血群では50例中2例(4%)に陽性を認め、輸血群に陽性率が高く、両群の間には推計学的に有意の差を認める。更に輸血量と陽性率との関係を見ると、例数が少ないため統計的処理は無理であるが、輸血量の増加と共に陽性率が高くなる傾向を示し、特に2,000cc以上の輸血例ではその傾向が著明である。

c) 白血球数との関係

陽性例の白血球数を輸血、非輸血2群に分けてみると、輸血陽性例の白血球数は1,800から11,800の間に分布しているが、非輸血陽性例2例では3,600、4,000であった。

III 考 案

白血球凝集素が証明された場合、それがいかなる抗体であるかが問題となる。すなわち、白血球に対する自家抗体、同種抗体、更に薬物による顆粒球減少症の場合には Miescher のいわゆるアレルギー抗体が白血球凝集素として証明される可能性がある。従つて、

1) 各種疾患別に証明された白血球凝集素が同種抗体、自家抗体のいずれであるか。

2) 輸血との関係

3) 白血球型

4) 陽性例と白血球数との関係

について従来の文献を総括しつゝ考案してみた。

1) 各種疾患について

i) 血液疾患

a) 白血病

Dausset²⁾, Goudsmit 及び Van Loghem⁵⁾ がいずれも非白血性白血病について初めて報告したが、自家抗体、同種抗体のいずれか不明である。Miescher⁶⁾ は、自家抗体と輸血による同種抗体との区別が困難であることを強調しているが、白血病の場合には自家抗体が高率に証明される可能性があることを唱えている。すなわち、白血病細胞が生体に対して異物として働き、それに対する自家抗体ができると考えたが、まだ充分には証明されていない。Killman⁷⁾ は、急性単球性白血病の1例において白血球凝集素を経過をおつて観察し、白血性の時期には証明されないが、非白血性の時期には証明されたと報告し、輸血によるものではないので自家抗体と考えている。その後も Killman⁸⁾ は2例の白血病について報告し、1例は非輸血例で明らかに自家抗体であり、他の1例は2回の輸血を受けてはいるが、自家凝集を認め、凝集価が高く、プレドニソロンにより白血性となった点から自家抗体であろうと報告している。一方 Payne⁹⁾ は、各種白血病77例中10例に陽性を認めたが、その中非輸血例は1例のみであったと報告し、輸血による影響を強調している。

この様に白血病の場合には、自家抗体、同種抗体の両者が関与することが多く、その区別には慎重でなければならない。私の経験した急性骨髄性2例、慢性骨髄性1例はいずれも頻回輸血例であるが、うち急性の1例は入院時陰性で、輸血量の増加と共に陽性となり、大量のプレドニソロン使用にもかかわらず常に陽性であった点から、輸血による同種抗体と考えられる。他2例については明らかでない。

b) 顆粒球減少症

Moeschlin¹⁾ のピラミドンによる顆粒球減少症についての報告以来、本症についての報告が最も多い。すなわち、ピラミドン、サルファ剤、水銀利尿剤、サイオユラシル等による本症に白血球凝集素が証明されている。しかし、本症に証明される凝集素は、原因となる薬物の投与後にのみ一

時的に証明され、被検血清を不活化しなくとも凝集を認める点で通常の白血球凝集素と性質を異にするので¹⁰⁾、それを区別するために Miescher はアレルギー抗体と名付けている。原因薬物の種類により差があるかもしれないが、薬物中止後4乃至5日経過すると白血球凝集は認められなくなる¹⁰⁾。更に発病後一定時間経過して凝集が認められない場合には、原因薬物の少量投与後に検索するが、投与後8時間には凝集が強く、24時間後にはかなり弱くなり、60時間後には証明されにくいという¹⁰⁾。私の経験した4例はいずれも発病後4日以上を経過しているために証明できなかったのであろう。

c) 再生不良性貧血

本症の多くの場合には病因不明であるが、免疫血液学の進歩と共に本症の病因に免疫学的機構が関与するのではないかと考えられ、三血球成分に対する抗体の検索が行なわれた。Dausset¹⁰⁾ は、三血球成分に対する抗体を同時に証明し得た症例を初めて報告したが、いずれも輸血例であり、それらの抗体が自家抗体、同種抗体のいずれであるかは不明である。Miescher⁶⁾ は、白血球凝集素を証明し得た症例を報告しているが、赤血球、血小板に対する抗体は証明できず、しかも白血球凝集素も輸血による同種抗体であろうとしている。Weinreich 及び Müller¹¹⁾ は、27例の汎骨髄嚢について免疫血液学的検索を行ない、12例に白血球凝集素を証明している。しかし、うち10例は輸血例、1例はピラミドン投与後のみ証明され、残る1例は、非輸血例で赤血球及び血小板に対する抗体も同時に証明されたが、骨髄は過形成で脾腫を認め、本邦で日常みられる再生不良性貧血とは異なる型の汎骨髄嚢である。従つて現在迄本症に証明されている白血球凝集素は、輸血による同種抗体と考えられ、明らかに自家抗体と考えられる凝集素は証明されていない。私の経験した18例は、いずれも大量輸血例であるが、いずれにも白血球凝集素を証明できなかった。

d) 後天性溶血性貧血

本症において赤血球に対する抗体が生ずるのと同様の機序により、白血球抗体を生ずる可能性がある。本症に白血球凝集素を証明し得た例は少なくなく⁵⁾⁹⁾、しかも輸血を受けておらず明らかに自家抗体と考えられる例も報告されている。特に寒冷自家抗体による本症では、しばしば白血球減少をともしない白血球凝集素が証明されるが、Miescher⁶⁾は、赤血球凝集により白血球も共に凝集され誤つて白血球凝集素陽性とされる可能性があり、注意すべきであるといっている。この点でも凝集を調べる際に、白血球をなるべく純粋に分離して使用すべきである。

私の経験した後天性溶血性貧血の1例では、白血球凝集素を証明できなかった。

e) その他の血液疾患

発作性夜間血色素尿症²⁾、低色素性貧血²⁾、血小板減少性紫斑病⁶⁾、慢性白血球減少症⁶⁾等に証明したとの報告がみられるが、その多くは輸血による同種抗体と考えられる。私の経験した血小板減少性紫斑病の1例も輸血前陰性で、3,500cc輸血後に初めて陽性となったもので、輸血による同種抗体と考えられる。

ii) 膠原病

主として播種性紅斑性狼瘡⁵⁾¹²⁾、Felty 症候群¹²⁾について陽性例が報告されている。特に播種性紅斑性狼瘡には、白血球核物質、赤血球、血小板、トロンボプラスチン等に対する自家抗体が証明されているが、白血球凝集素陽性例の報告も少なくない。抗白血球核抗体が白血球に作用して白血球凝集をおこすのではないかと考えられたが、吸収試験の結果白血球凝集素とは異なるものであることが明らかになった。本症の多数例について報告している Killman¹²⁾によれば、陽性例の半数は非輸血例で自家抗体と考えられたが、L.E. 因子とは関係がないと報告している。私は、輸血、非輸血各1例に陽性を認めているが、L.E. 細胞の消長とは平行していない。

iii) 悪性腫瘍

悪性腫瘍としては、骨髓腫¹³⁾、ホジキン病²⁾、

リンパ肉芽腫²⁾等について陽性例の報告があり、Moeschlin¹³⁾はこれら腫瘍の際に生ずる Paraprotein がハプテンとなつて抗体を産生するのであろうと推定しているが証明されてはいない。私は悪性リンパ腫、胃癌の各1例に陽性を認めた。前者は非輸血例で自家抗体と考えられるが、後者は5,200ccの大量輸血例であるが、輸血前に検索を行なっていないので自家抗体、同種抗体のいずれかは不明である。なお胃癌についてはこれ迄報告がない。

iv) 消化器疾患

消化器疾患について陽性例の報告は殆どみられない。私は、従来報告のない胃潰瘍、潰瘍性大腸炎の各1例に陽性を認めた。いずれもそれぞれ4,500cc、3,000ccの輸血を受けており、輸血による同種抗体の可能性が強い。

v) 腎疾患

腎炎が自家免疫性疾患であることはよく知られているが、白血球凝集素を認めた報告はない。慢性腎炎の1例に陽性を認めたが、本例は1,700cc輸血後には陰性であつたが、4,400cc輸血後には陽性となり、輸血による同種抗体と考えられる。なお同時期に教室の高田²⁰⁾は、溶血素を証明しており、瀕回の輸血により各種の抗体の産生が高まることを示す1例として興味がある。

vi) その他の疾患

ビールス性肺炎¹³⁾、伝染性単核症¹³⁾、慢性脾結核¹³⁾、慢性脾パング等に陽性例の報告があり、Moeschlin¹³⁾は、ビールス又は細菌がハプテンとして作用し、抗体を産生するのであろうと考えている。ビールス性肺炎、伝染性単核症の各1例について検索したが、いずれも陰性であつた。

以上白血球凝集素陽性の疾患について考察したが、証明された抗体が、自家抗体、同種抗体のいずれであるかを区別するのは難かしい。輸血の既往がなく、自家白血球凝集の強い場合には自家抗体といい得るが、自家抗体は必ずしも自家白血球凝集を示さないとの報告もある。両抗体を区別する時には、その他コーチゾン製剤治療による凝集

素価と白血球数との変動、洗滌自家白血球との凝集の有無等が参考になると思われる⁸⁾が、Van Loghemは、血清と等量の1%パパイン液を加えると同種抗体の場合には凝集がおこらないので両抗体を区別できると報告している。

2) 輸血との関係

従来報告のない二、三の疾患に陽性例を認め、しかもそれらがいずれも輸血例であることから、頻回大量の輸血が抗体産生に何らかの影響を及ぼすのではないかと考え、輸血と陽性率との関係を検討した。輸血例に明らかに陽性率が高く、しかも輸血量が多い程陽性率が高くなる傾向を認めた。Dausset¹⁴⁾は、白血球凝集素陽性例60例中の90%が頻回の輸血を受けていることを示して、陽性率と輸血が密接な関係にあることを示唆し、Payne⁹⁾も陽性例38例中非輸血例は4例にすぎず、輸血回数が多い程陽性率の高くなる傾向を示すことを明らかにし、Killman¹²⁾は、輸血陽性例について白血球凝集素価の消長を調べて、輸血中に凝集素価が上昇することを認めている。

Payne⁹⁾は、従来報告のない数種の疾患に陽性例を認めて、その大部分が輸血例であることから輸血によつて陽性を示す疾患の範囲が広がる可能性のあることを示しているが、私もこれ迄報告のない胃癌、胃潰瘍、潰瘍性大腸炎、慢性腎炎に陽性例を認め、それらがいずれも大量輸血例であることは興味がある。

つぎに疾患によつて輸血による抗体産生に差があるかどうかを考察してみよう。一般に抗体産生は、宿主と抗原の条件、宿主と抗原が接する頻度により決定される。同一抗原で同回数感作しても個体により抗体産生の異なることはよく知られており、更に病的状態では正常の時とは異なる態度を示す可能性がある。Larson及びTomlinson¹⁵⁾は、肺炎球菌多糖類を使用して白血病及び悪性リンパ腫患者における抗体産生を研究し、未治療の急性白血病の場合には抗体産生が増加しているが、慢性リンパ性白血病では逆に低下し、悪性リンパ腫では正常と同様であつたと報告している。

従つて輸血による抗体産生にも疾患により差のある可能性があるが、現在迄その点に関する報告はない。

最近輸血の副作用と白血球凝集素との関係が漸次明らかになつてきた。Payne¹⁶⁾は、陽性例32例中13例に副作用を認めたが、副作用と凝集素価は必ずしも相関しないと報告しているが、その後副作用は白血球凝集素価の高い例に多く、その場合白血球を除いて輸血すると副作用を防止できる点から両者の関係が密接であることが明らかとなつた。

3) 白血球型

赤血球に関してA B O同型の輸血を行なつても白血球に対する同種抗体が産生される点から、白血球には赤血球と異なる型があるのではないかと考えられ、白血球型に関する研究が行なわれる様になつた。

Moeschlin 及び Schmid³⁾は、30例の患者についてその血清と白血球との間に頻回の交叉試験を行なつて、A B O不適合の組合せの34%、適合の組合せの5%に白血球凝集を認め、Daussetは、白血球凝集素陽性例21例の血清と12人の白血球との間で交叉試験を行ない、白血球には多くの型の存在することを報告して赤血球と異なる型の存在を示唆している¹⁷⁾。しかし、Killman¹⁸⁾は、50例の正常人血清と7人のO型白血球との交叉試験では、全例凝集を認めなかつたと報告している。Wichels 及び Lampe¹⁹⁾は、A型の白血病患者白血球を使用してA抗原の存在を明らかにし、その後の研究により白血球にもA又はB抗原を有するもののあることが確実となり、Ballowitzは、白血球にもRh抗原が存在するのではないかと報告している。結局現在まだ十分に証明されてはいないが、白血球には赤血球と異なる型が存在するであろうことは明らかである。

4) 陽性例と白血球数との関係

白血球凝集素陽性例でも、それが自家抗体と考えられる場合には白血球減少、好中球減少を認める例が多いが、輸血による同種抗体の場合には不定であるとの報告が多い⁹⁾¹²⁾。私の陽性例でも同

様の傾向を示しているが、大量の輸血を受けていた急性骨髄性白血病の1例では凝集素陽性でありながら11,800と白血球増多を示していたのは興味深い。

IV 結 論

血液疾患を主とする各種内科疾患 100例について、Dausset 法により白血球凝集素を検索して次の結果を得た。

(1) 11例 (11%) に陽性を認めた。

(2) 陽性例は明らかに輸血群に多く、輸血量が多い程陽性率の高くなる傾向がある。

(3) 非輸血陽性例は、播種性紅斑性狼瘡、悪性リンパ腫の各1例であり、輸血陽性例は、急性骨髄性白血病2例、慢性骨髄性白血病、血小板減少性紫斑病、播種性紅斑性狼瘡、胃癌、胃潰瘍、潰瘍性大腸炎、慢性腎炎の各1例で、後4者については従来報告がみられない。

(4) 非輸血陽性例では白血球減少を認めたが、輸血陽性例では不定である。

(本論文の要旨は昭和34年度秋季日本血液学会において報告した)。

文 献

- 1) Moeschlin, S. & Wagner, K.: Acta Haemat. 8 : 29, 1952. — 2) Dausset, J. et al: Blood. 9 : 696, 1954. — 3) Moeschlin, S. & Schmid, E.: Acta Haemat. 11 : 241, 1954. — 4) Kimura, E.: Jap. J. Physiol. 3 : 25, 1952. — 5) Goudsmit, R. & Van Loghem, J.J.: Vox Sanguin. 3 : 58, 1953. — 6) Miescher, P.: Ergeb. Inn. Med. u. Kinderheilkunde. 7 : 170, 1956. — 7) Killman, S.-Å.: Acta Haemat. 17 : 360, 1957. — 8) Killman, S.-Å.: Acta med. Scand. 163 : 207, 1959. — 9) Payne, R. Arch. Int. Med. 99 : 587, 1957. — 10) Dausset, J. et al: Rev. Hematol. 8 : 316, 1953. — 11) Müller, W. & Weinreich, J.: Klin. Wochschr. 34 : 505, 1956. — 12) Killman, S.-Å.: Acta med. Scand. 163 : 449, 1959. — 13) Moeschlin, S.: Acta Haemat. 18 : 13, 1957. — 14) Dausset, J.: Vox Sang. 4 : 190, 1954. — 15) Larson, D.L. & Tomlinson, L.J.: J. Clin. Invest. 32 : 317, 1953. — 16) Payne, R.: Vox Sang. 2 : 233, 1957. — 17) Cited from Miescher, P. & Vorlander, K.O.: Immunopathologie in Klinik u. Forschung. Georg Thieme. Stuttgart. 1957. — 18) Killman, S.-Å.: Acta med. Scand. 163 : 445, 1959. — 19) Wichels, P. & Lampe, W.: Klin. Wochschr. 1741, 1928. — 20) 高田：慶応医学, 37 : 762, 1960.