凍瘡様皮疹を主徴とした本態性 IgA cryoglobulin 血症

京都府立医科大学公衆衛生

山口 希[◇] 川井 啓市

京都府立医科大学皮膚科

加賀美 潔

京都府立医科大学第三内科

安芸 宏信

京都大学医学部第一内科

加納 正

A CASE OF IDIOPATHIC MONOCLONAL IgA CRYOGLOBULINEMIA

Nozomi YAMAGUCHI, MD, and Keiichi KAWAI, MD

Department of Preventive Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto

Kiyoshi KAGAMI, MD

Department of Dermatology, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto

Hironobu AKI, MD

The Third Department of Internal Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto

Tadashi KANO, MD

The First Department of Internal Medicine, Kyoto University, Kyoto

概要 Cryoglobulinにかんする知見は次第に集積されつつある。IgG, IgA, IgMの単独あるいは混合型 cryoglobulinに加えてBence Jones蛋白から成るcryoglobulinが知られているが、なかでもIgA単独から成るcryoglobulinはBence Jones cryoglobulinとならんで極めて少なく、これまでに5例の報告をみるにすぎない。いずれも骨髄腫例で本例のように骨髄像や全身骨X線所見などから骨髄腫が否定された idiopathic cryoglobulin血症に属する例は未だ報告がなく、本邦初の報告例と思う。症例は65才、女性。約6年前から冬期になると治療に抗する頑固な凍瘡、紅斑、水疱などをとくに皮膚露出部(手足、顔面、耳朶など)に生じ、夏期には消失する。血清蛋白分画で β 領域にIgA-L型M成分が認められ、4℃内に保存された血清のgel化によりcryoglobulinの存在が確認された。精製の結果、IgA単独から成るcryoglobulinであることが判明した。血清の相対比粘度は4℃で20(対照2.0)10℃で10(対照1.8)を示し、超遠心分析では6.2S, 9.3S, 13.7Sにpeakを認め、2, 3分子重合したpolymer型IgAであることを確認した。この精製cryogelにはリウマチ因子活性や抗免疫グロブリン活性などは証明されず、cryogel化は2ME, GSH(還元型glutathion)で阻止された。現在副腎皮質ホルモン、GSH剤の使用により自覚症状、皮疹、血清相対比粘度ともに著明に改善されつつあり、経過観察中である。

〔昭和51年6月30日受稿〕

緒 言

血清が寒冷条件で沈降ないしgel化し、そのコロイド可溶性が変化するものとしてcryoglobulinが知られている。最初の報告はWintrobeらの骨髓腫例¹⁾で、Lernerらが紫斑病例で同様の蛋白をみ出しcryoglobulinと命名した²⁾。cryoglobulinの寒冷沈降は保存血清の注意深い観察によつてしばしば検出される現象で、多くの疾患に合併する。最も頻度の高い疾患は多発性骨髓腫およびその類縁疾患で、そのcryoglobulinの組成はいわゆる単クローン性免疫グロブリンから成っている。一方、肝硬変、悪性リンパ腫、SLE、RA、Sjögren症候群などに検出されるcryoglobulinは混合型が希でなく、ときには補体成分や α_2 -macroglobulin、 β -lipoproteinなどを含む例もあり混合型cryoglobulinと呼ばれ、種々の組み合わせが知られている。最近ではこのようなcryoglobulinはimmune complex diseasesの一つとして解釈されている。著者らは過去6年間にわたる難治性のpernio様皮膚症状を冬期寒冷時期にのみ訴え、治療に用いたGSH製剤(還元型glutathion)に極めてよく反応した本態性IgA cryoglobulin血症の1例を経験したので報告する。われわれの調べた範囲では本態性IgA cryoglobulinの報告は本邦初のものである。

症 例

患者： 65才、女性。

主訴： 凍瘡様皮疹。

家族歴： 5女に冬期に出現する難治性凍瘡様皮疹を認める。父は胃潰瘍、母は肉腫で死亡している。

既往歴： 幼少時から凍瘡が出来やすい体質であつたが、6年前までは異常を感じることなく生活している。

現病歴： 約6年前から冬期になると顔面、耳朶、手足背などの皮膚の露出部位に図1に示す凍瘡様皮疹を認めるようになり皮膚科で副腎皮質ホルモン軟膏療法を試みていた。著明な痒感と軽度の知覚異常を訴えている。血液検査を受け、血

図1. 足背、手背に凍瘡様皮疹をみとめる。水疱形成、出血が認められる。

清蛋白分画の β 領域に少量のM成分が検出され、4℃冷蔵庫内に保存された血清のgel化によりcryoglobulin血症の疑いがもたれ精査をはじめた。

外来受診時現症： 身長153cm、体重47kg、体温36.5℃、脈拍70/分、血圧126/70mmHgであり、顔面、耳朶、手背から前腕、足背から膝関節部にかけての皮膚露出部に痒感の強い凍瘡様皮疹、水疱、小出血を認め、治癒部位には軽度の色素沈着を残していた。躯幹には皮膚病変は全く観察されなかつた。結膜に貧血、黄疸の所見はなく、両眼に初期老人性白内障を認めるが眼底に出血斑、癍痕、血管の怒張などの異常はなかつた。甲状腺腫、表在リンパ節腫大は認められず、胸部打聴診所見にも異常はなかつた。腹部所見にも特記すべき異常は認められず、手掌の軽い知覚異常以外に神経学的異常所見もみい出せなかつた。

検査成績： 一般臨床検査成績を表1に示す。

表1. 臨床検査成績

Urinalysis	ESR: 10 mm/hr	Bone survey: normal
protein (-)	ASLO 12 Todd u.	punched out lesion (-)
glucose (-)	RAT (-)	Bone marrow findings
sediment np	TAT (-)	NCC not done
CBC	LET (-)	Myeloblast 0.6 %
RBC 374×10 ⁴ /mm ³	ANF (-)	N.Promyelo. 1.5
Hb 11.9 g/dl	Coombs' test	N.Myelo. 5.4
Ht 34.0 %	direct (-)	N.Metamyelo. 11.7
WBC 5,800/mm ³	indirect (-)	N.Stab. 24.6
N.B. 10 %	Wasserman R(-)	N.Seg. 24.3
N.S. 40	T.Chol. 136 mg/dl	E.Seg. 0.3
Eosin. 1	Trigly. 132 mg/dl	Monocyte 0.3
Baso. 0	GOT 23 u.	Lymphocyte 13.6
Lymph. 43	GPT 9 u.	Plasma cell 5.4
Mono. 6	LDH 240 u.	Macroblast 0.3
Protoprogram	ZTT 3.9	Normoblast 12.0
T.Prot. 7.8 g/dl	TTT 0.7	Immunological data
Alb. 54.0 %	Tuberculin test:	IgG 10.92 mg/ml
α_1 -glob. 3.0	14 mm, positive	IgA 12.96
α_2 -glob. 7.4	ECG: normal	IgM 1.76
β -glob. 9.0	Finger plethysmo-	C3 0.60
γ -glob. 26.6	graphy: abnormal	C4 0.31
A/G 1.2

図2. 患者血清の相対比粘度を示す。

貧血もなく肝機能検査にも異常はない。骨X線所見でもpunched outなどの病的所見はなかつたが、骨髓像には軽度のplasmocytosisを認め典型的なflame cellが多数観察された。次に主な検査成績を示す。

i) 低温における患者血清の相対比粘度の変化； Ostwald粘度計を使用し温度条件を変えながら蒸留水に対する相対比粘度を測定した（図2）。4°Cでは比粘度20の結果を得た。次に、患者血清を4°Cに2昼夜保存した後、4°C、20,000rpm30分間の遠心操作を加えcrude IgA cryogelを分離し、これを生食水（20°C）に溶解した後4°Cに1昼夜静置し再び4°C20,000rpm30分間遠心しcryogelを得る。この操作を3回反復してcryoglobulinを純化した。この間にcryogelの収量は次第に減少した。純化したcryogelは4°C内で約2分間で完全に凝固し、37°Cに加温すれば透明液状になった。純化すると室温でも容易にcryogel化している。本例のcryoglobulinはgelatinousな状態でみられ、precipitateの状態は一度も観察されなかつた。

ii) cryoglobulinの免疫学的検索； 原血清、純化cryogelの免疫電気泳動像を図3に示す。検出されたM成分および純化cryogelはIgA-λ型で、他の抗血清とは反応せずIgA単独から成るcryoglobulinであることが判明した。cryoglobulin除去前後の血清IgAを測定しIgAのうちIgA cryoglobulinの占

図3. 患者血清および精製cryoglobulinの免疫電気泳動像を示す。

ULTRACENTRIFUGATION OF CRUDE CRYOGLOBULIN

図4. Albuminを少量含有するcryoglobulinの超遠心分析像を示す。左は2ME処理前、右は2ME処理後の分析像である。

める割合を測定すると48.8%であった。この精製IgA cryoglobulinは原血清と同一の条件で泳動しても易動度を異にしていた。このcryoglobulinは2ME (mercaptoethanol) およびGSH剤で処理するとその性格を失なつた。濃縮した尿、唾液中にもIgA cryoglobulinを認めた。

iii) 沈降係数の測定； 少量のalbuminを含むIgA cryoglobulinを59,780rpmで超遠心分析すると図4に示す様に6.2S、9.3S、13.7Sにpeakを認め、polymer IgAの存在を確認した。このpolymeric IgAは2MEの添加によりmonomer（6.1S）に移行した。

iv) 骨髓像； May-Giemsa染色標本では5%のplasma cellを認め（図5）、flame cellやgrape cell様細胞も散見されたが、骨髓腫を思わせる悪

図5. 骨髓形質細胞像を示す。胞体はきわめて大きくsignet ring cellのように見える細胞やgrape cell様細胞も認める。大型で25~40 μ にもおよぶ。(×100)

図6. FITC標識抗ヒトIgA抗血清で染色(直接法)した骨髓IgA産生細胞を示す。(×40) IgAが細胞膜より放出される様子が明らかである。

PLETHYSMOGRAPHY

図7. 指趾の脈波を示す。循環障害を認める(冬期に検査したもの)。

性所見は観察されなかった。骨髓IgA産生細胞をFITC標識抗ヒトIgA抗血清で直接法で染色すると(図6)極めて大型(25~40 μ)の細胞が大多数を占め、大きな胞体の中に顆粒状のIgAが観察された。この標本をMay-Giemsaで後染色し全形

質細胞に対するIgA含有細胞の占める割合を算定すると38%であつた。

v) 指頭脈波； 左右差はないが、全体に低電位で立ち上りが悪く(図7)、循環障害のあることを示唆したが、GSH剤、副腎皮質ホルモンの投

図8. 皮膚組織のH-E染色像。大きな水泡形成を
みとめ、血管周囲細胞浸潤は中等度であつた。

与によつて皮膚病変のみならず指頭脈波所見も著しく改善された。

vi) 皮膚生検の組織学的所見； 生検は足背に生じた新鮮な水泡形成部分で実施した。図8に示すように大きなsubepidermal and intraepidermal bullaeを認め、中には好中球、リンパ球が多数認められた。水泡下層にはリンパ・組織球浸潤のある肉芽組織が観察され、中等度の血管周囲細胞浸潤を認めた。蛍光抗体法では抗IgAで特異的に染色されるintravascular depositsは証明されなかつた。

考 案

Thermoproteinのうちcryoglobulinは臨床症状を惹起する点でより注目されている。初めて記載されたのは1933年に発表されたWintrobeらの骨髓腫例¹⁾で、以来cryoglobulinの物理化学的、免疫学的検討にかんする報告は少なくない。cryoglobulinが血清中に証明される場合、基礎疾患のない本態性のものと、基礎疾患のある症候性のcryoglobulinとに大別され、前者はより少ない。通常cryoglobulinは注意深い観察により4℃に保存された血清中に希ならず発見されるものである。Lernerの報告では4℃以下に保存した121例の血清を詳細に観察した結果、微量のcryoprecipitateを含めて35例(29%)に確認出来たと述べている³⁾。本症例をもとにcryoglobulinにかんする近年の免疫学的

知見を中心に考察する。

(1) 臨床症状について： 症候群cryoglobulin血症では、その臨床症状は個々に極めて多彩であるが、本態性cryoglobulin血症を含めてcryoglobulinの存在そのものが惹起する症状には、その病態生理の面から次の様な例が知られている。紫斑、寒冷蕁麻疹、丘疹、水疱、皮膚潰瘍などの皮膚病変のほか、Raynaud現象、関節症状、腎障害、神経症状、出血や小動脈血栓症などである⁴⁾⁵⁾。本症例では紫斑、Raynaud現象は認められず寒冷テストも陰性であつたが凍瘡様皮疹、小丘疹、小水疱、浅在性潰瘍の形成が顔面、耳朶、四肢の露出部位に観察された。これらの皮膚病変は気温の上昇とともに自然に治癒し、軽度の色素沈着を除けばほとんど瘢痕も残さず消失した。皮膚病変部の生検組織検査では細胞浸潤をともなつた大きな水泡形成と血管周囲細胞浸潤が観察されたが血管内hyaline depositsや蛍光抗体法でFITC標識抗IgAによつて特異的に染色される血管内物質は証明されなかつた。皮膚病変とIgA-cryoglobulinの直接の因果関係は証明されなかつたが、本症例では冬期でも副腎皮質ステロイドやGSH剤による治療が皮膚病変に奏効したことは両者が密接に関係していたことを示唆する。

(2) 免疫化学的知見： 諸家の報告^{4)~8)}をもとにcryoglobulinをその組成から表2のように分類した。このうち骨髓腫などに合併するI型cryoglobulinは精製されると、免疫電気泳動で原血清の示すM成分と同位置に同じ形の沈降線を形成し、L鎖の型も一致するのを原則としている。Ⅲ型の場合にはM-bowの形成はなくL鎖は κ , λ 両型を示す。本例のI型IgA cryoglobulinは精製する

表2. Cryoglobulinの分類

Type I	Monoclonal cryoglobulin	IgG IgA IgM Bence Jones prot.
Type II	Mixed cryoglobulin with a monoclonal component	IgG-IgG IgM-IgG IgA-IgG
Type III	Mixed polyclonal cryoglobulin	IgG-IgM IgG-IgA-IgM IgG-IgM-Complement Igs-lipoprotein

と電気泳動で易動度が速くなりM-bowも変形した。これは血清成分と結合しやすいIgAの特性と無関係ではないと思われる。ところで周知の如く、M成分に抗体活性のある例が報告されているが、この現象はcryoglobulinにも認められ注目されている。例えばリウマチ患者に検出されたIgG cryoglobulinにRF活性が証明された場合があり⁹⁾、これに2 MEを作用させるとその性格を失い、透析で2 MEを除去すると再び元の性格にもどり、寒冷沈降性に-SS-結合が関与していることを示唆し、その本体の解明に重要な知見を与えている。またGreyらはcryoglobulinはimmune complexではないかという疑問をいただき、7例のIgG骨髓腫蛋白から成るcryoglobulinの抗IgG抗体活性の有無をRA test, ¹²⁵I標識正常ヒトIgGにcryoglobulinのF(ab)₂を混合したときのcryoglobulin F(ab)₂の沈降係数の変化などを指標に検討し、5例に陽性所見を得、IgG cryoglobulinの抗IgG活性はFab部分にある事実を報告している¹⁰⁾。この様なcryoglobulinの抗免疫グロブリン活性にかんする報告は少なくなく、臼井ら¹¹⁾によっても詳細に検討されており、とくに混合型(Ⅱ, Ⅲ) cryoglobulinの例に詳しい。例えば寒冷蕁麻疹例に証明されたIgA-IgG cryoglobulinではIgAに抗IgG活性が判明しているし¹²⁾、原発性macroglobulin血症に認められたIgM-IgG cryoglobulinではIgMに抗IgG活性が証明されている¹³⁾。またPeetoomらのIgG-IgM cryoglobulin血症12例の詳細な分析では、正常なIgGを抗原とした場合このIgMとの間にLatex凝集反応で12例、寒天内免疫拡散法で12例、Rh抗体感作赤血球凝集では8例に、モルモット補体とヒト白血球を用いたimmune adherenceでは6例に陽性を呈し、IgMに抗IgGの性格がありこれが何らかの機作で寒冷時にのみIgG-IgM immune complexを作り沈降ゲルあるいはprecipitateを作るのであろうと述べ、IgGに対する自己抗体であらうと推論している¹⁴⁾。臨床的にもこの種のcryoglobulinを持つ患者には何らかの自己免疫疾患を思わせる症状が観察されることがある。たと

えば、IgG-IgM cryoglobulin症例では、しばしばimmune complexに帰因する慢性糸球体腎炎と思われる所見が観察される。その腎組織は蛍光抗体法で抗IgG, 抗IgM, 抗 β_2 C抗血清で特異的に染色され、一方、糸球体に沈着した免疫グロブリンと同一の蛋白がcryoglobulinにも証明されるとともに血清補体価の低下もあり、immune complex glomerulonephritisと考えられている¹⁵⁾。なおこの様な補体成分を含む混合型cryoglobulinは56°C30分間の加温により寒冷沈降量が著しく減少し、補体成分を添加すると再び回復することにより発見されている。さらに松橋らのIgG-IgA cryoglobulin血症では精製したcryoglobulinを37°CでDEAE cellulose columnにapplyしIgGとIgAに分離するとIgGのL鎖は κ , λ 両型を示し、IgAは λ 型の単クローン性M成分でこれらの分画は単独では寒冷沈降性を持たず、両者を混合するか或はこのIgAに正常ヒトIgGを加えるとはじめて寒冷沈降性を示し、Bence Jones蛋白、ウサギIgG、ウマIgGを混合しても寒冷沈降性はおきず、ヒトIgGに対してのみ特異的であつたと報告されている¹⁵⁾。Bluestoneらの報告した6例中4例のIgG-IgM本態性cryoglobulinにはDNA様物質と抗DNA抗体が証明され、この抗DNA活性はIgMにのみ存在し、加えてIgMには抗IgG活性をも検出されており興味ある症例である¹⁶⁾。ところで本例のようにIgA単独から成るcryoglobulin血症の報告は極めて少なく、これまでに骨髓腫に合併したものが数例知られているにすぎない^{17,18)}。精製したヒトIgG, IgA, IgM, IgDをO型血球にcoatしpassive hemagglutinationおよびinhibition testで抗免疫グロブリン抗体活性の有無を本例の精製IgA cryoglobulinについて検討した結果、これらの抗体活性は全く陰性で、RF活性や寒冷凝集素なども証明されなかつた。2 MEにはsensitiveでGSH剤を用いてもその寒冷沈降性は消失した。GSH剤(還元型glutathion)にはin vivoでも有効性をみとめた。本例は非骨髓腫性疾患であるが、濃縮した尿、唾液中にもやはりcryogelが証明された。cryoglobulinは

血清以外にも証明され、関節液中に検出された報告もある。たとえばCracchioloはRA患者21例の関節液を観察し、血清中には証明されないcryoprecipitateが全例に検出され、IgG-IgM混合型12例、IgG単独6例、polyclonal IgG型1例、polyclonal IgM型1例、1例は κ , λ 両型のL鎖のみから成るcryoglobulinであつたと述べている¹⁷⁾。

(3) 物理化学的知見： 前述した様に寒冷沈降に補体成分を必要とする例があるが、大部分のcryoglobulinは56°C30分間の加温によつても影響を受けない。また寒冷沈降と37°Cでの溶解を反復しても寒冷沈降性にはほとんど変化をみないが、沈降量はこの反復操作によつて次第に減少するように思われる。cryoglobulinの寒冷沈降性にはその蛋白濃度も重要な関係を持つている¹¹⁾¹⁸⁾。例えばAlperらのdimer Bence Jones proteinから成るcryoglobulin血症例¹⁸⁾の寒冷沈降性は蛋白濃度依存性で、3.5 g/ μ l以上の濃度を要している。河合らの例では5.2 g/ μ l以上、白井らの例¹¹⁾では2.8 g/ μ l以上ではじめて寒冷沈降している。一般には蛋白濃度が高い程容易に寒冷沈降し、かつ沈降開始温度が比較的高いが、逆に蛋白濃度が高すぎると沈降しない特殊な例もmacroglobulin血症で証明されている。本例の精製cryoglobulinは30°Cで約20分間、4°C内であれば約2分間で寒冷凝固した。そのほかcryoglobulinの寒冷沈降性はpHによつても左右され、pH 5.5~7.0で最も大きく、pH 4.3以下や10.0以上では沈降しないことが知られている。イオン強度との関係においても一般にイオン強度が低い程寒冷沈降性は高く、イオン強度0.4以上ではほとんど沈降を認めなくなる。Alperらの報告¹⁸⁾ではcryo-Bence Jones蛋白はpH 9.0ではイオン強度の低い程gel化しやすく、イオン強度の高い程precipitateを形成しやすいと述べ、イオン強度の強弱によつても沈降状態に違いの生じる点にも言及している。次にin vitroでcryoglobulinの寒冷沈降性に大きな影響を与えるものに2 ME, cysteineなどのSH化合物がある。IgG単独から成るcryoglobulinではこれらの薬剤による寒冷沈降

性の变化はほとんど認められないが、IgA型、IgM型、IgG-IgM混合型などではcryoglobulinの性格を失うものが少なくない。透析でこれらの試薬を除去すると再び寒冷沈降性を回復するようである。このことは-SS-結合によるdimerやpolymerの状態が、cryoglobulinの性格を有するための条件の一端を負っていることを示唆していると思われる。そこでこの様なpolymerの存在を知る為に超遠心分析が試みられ、多くの興味ある事実が報告されている。例えばRF活性の証明されたIgG cryoglobulin例では7 Sのpeak以外に10~40 Sに渡る幅広いpeakが認められ、これを2 MEで処理すると10~15 Sに減り、RF活性は変化せずにcryoglobulinの性格のみが減弱したと述べられている⁹⁾。PrasadらのIgM cryoglobulin例¹⁹⁾では19 Sが70%、28 Sと33 Sが残り占めたが、2 ME処理により寒冷沈降性が消失すると共に、7 Sが85%、19 Sが15%を示す結果を得ている。Ausherらの骨髓腫例⁶⁾に検出されたIgA単独から成るcryoglobulinの場合には、6.75 S, 9.5 S, 11.7 S, 13.4 Sにpeakが証明され、cysteineを加えると6.75 Sのpeakは増大したが9.5 Sは影響を受けなかつたと報告されている。本例でもpolymerの存在を確認し、2 ME処理でpolymerの消失と6.2 S, peakの増大および寒冷沈降性の消失をみた。

その他にcryoglobulinの性格を解明するために、アミノ酸分析やcarbohydrateの含有量の測定が試みられている。Zinnemanの報告したIgGが κ , λ 両型でIgMが κ 型であつたIgG-IgM混合型cryoglobulin血症例²⁰⁾では、IgMがアミノ酸もcarbohydrateの組成も正常IgMと全く同じであつたのに対し、IgGにはsialic acidが全く欠如しhexosamine, hexoseは正常のわずか20%しか含まれていず、このIgMには正常ヒトIgGを加えるよりもneuramidase処理でsialic acidを全く除去してしまつたIgGを加えた方がより寒冷沈降性を増したと述べ、このことよりIgMはsialic acidを失なう形で変化したIgGに対する抗体であろうと推論し

ている。

結 語

これらの知見にもかかわらず、cryoglobulinの寒冷沈降機構にかんする結論は未だ得られていない。しかし種々溶媒中での寒冷沈降性、超遠心分析、SH基の測定などから寒冷沈降性発現の要因にpolypeptide鎖のfolding様式も問題になる一方、L鎖のみから成るcryoglobulinの存在は寒冷沈降にとって分子の大きさは本質的因子でないことを示し、むしろその沈降性は実はL鎖にこそあるのではないかと思わせる症例も発表され、次第に本質の解明に近づきつつある。将来はさらにIgD, IgEから成るcryoglobulinも発見され、その解析に役立つものと思われる。

文 献

- 1) Wintrobe, MM and Buell, MV: Hyperproteinemia associated with multiple myeloma. With report of a case in which an extraordinary hyperproteinemia was associated with thrombosis of the retinal veins and symptoms suggesting Raynaud's disease. *Bull Johns Hopkins Hosp* 52: 156, 1933. —2) Lerner, AB and Watson, CJ: Studies of cryoglobulins. I. Unusual purpura associated with the presence of a high concentration of cryoglobulin (cold precipitable serum globulin). *Amer J Med Sci* 214: 410, 1947. —3) Lerner, AB et al: Studies of cryoglobulins. II. The spontaneous precipitation of protein from serum at 5°C in various disease states. *Amer J Med Sci* 214:416, 1947. —4) Brouet, J-C et al: Biologic and clinical significance of cryoglobulins. A report of 86 cases. *Amer J Med* 57: 775, 1974. —5) McIntosh, RM et al: Cryoglobulins. I. Studies on the nature, incidence, and clinical significance of serum cryoproteins in glomerulonephritis. *J Lab clin Med* 75: 566, 1970. —6) Auscher, C and Guinand, S: Etude d'une β_2A -globuline cryo-precipitable. *Clin chim Acta* 9: 40, 1964. —7) Meltzer, M and Franklin, EC: Cryoglobulinemia—A study of twenty-nine patients. I. IgG and IgM cryoglobulins and factors affecting cryoprecipitability. *Amer J Med* 40: 828, 1966. —8) Grey, HM and Kohler, PF: Cryoimmunoglobulins, *Seminars in Hematology* 10: 87, 1973. —9) Melzer, M et al: Cryoglobulinemia—A clinical and laboratory study. II. Cryoglobulins with rheumatoid factor activity. *Amer J Med* 40: 837, 1966. —10) Grey, HM et al: Human monoclonal γ G-cryoglobulins with anti- γ -globulin activity. *J clin Invest* 47: 1875, 1968. —11) 白井美津子: Cryoglobulin 医学のあゆみ 62: 947, 1967. —12) Wager, O et al: Mixed IgA-IgG cryoglobulinemia. Immunological studies and case reports of three patients. *Amer J Med* 44: 179, 1968. —13) Bonomo, L et al: Waldenström's macroglobulinemia with anti-IgG activity. A series of five cases. *Clin Exp Immunol* 6: 531, 1970. —14) Peetoom, F and Loghem-Langereis, E: IgM-IgG (M-7S) cryoglobulinemia. An autoimmune phenomenon, *Vox Sang* 10: 281, 1965. —15) Matuhashi, T et al: γ A- γ G mixed cryoglobulin. *J J Exp Med* 38: 205, 1968. —16) Bluestone, R et al: Detection and characterization of DNA in mixed (IgG-IgM) cryoglobulins. *Int Arch Allergy* 39: 16, 1970. —17) Barnett, EV et al: Cryoglobulinemia and disease. *Ann Intern Med* 73: 95, 1970. —18) Alper, CA: Cryoglobulinuria: Studies of a cryo-Bence Jones protein. *Acta med Scand* 179: 200, 1966. (suppl. 445). —19) Prasad, AS et al: Studies in macrocryoglobulinemia: Possible role of SH groups in cryoprecipitation. *J Lab clin Med* 69: 456, 1967. —20) Zinneman, HH et al: On the nature of cryoglobulins. *J Immunol* 100: 594, 1968.