単クローン性免疫グロブリン血症を伴った
自己免疫性好中球減少症

九州大学医学部第三内科

小鶴 三男[◇] 中島 泰代 蔵田 孝雄
金子 周司 井林 博AUTOIMMUNE NEUTROPENIA ASSOCIATED WITH
MONOCLONAL GAMMOPATHYMitsuo KOZURU, MD, Yasuyo NAKASHIMA, MD, Takao KURATA, MD,
Shushi KANEKO, MD and Hiroshi IBAYASHI, MD

The Third Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka

概要 好中球減少症（35才，男性）において，副腎皮質ステロイド使用後に増加してきた自己成熟好中球に対する凝集素をLalezariの方法によつて検索し，本症が自己免疫性好中球抗体に起因することを証明した．本例の成熟好中球は末梢血および骨髓中に著減を示したが，骨髓芽球，好中球系の前骨髓球および骨髓球は減少を認めず，Robinson & Pike法による骨髓細胞の軟寒天培養法でコロニー形成細胞（colony forming cell in culture, CFU-C）が， $506/2 \times 10^5$ cellsと正常骨髓細胞（ $110 \pm 46/2 \times 10^5$ cells）より著増していた．高 γ -グロブリン血症（血清総蛋白6.9 g/dl， γ -グロブリン22.8%，IgG 1800mg/dl，IgA 333mg/dl，IgM 516mg/dl，TTT 13.5，ZTT 21.2）を合併し，セルロースアセテート膜電気泳動で鋭鋭なピークが認められ，免疫電気泳動でIgM（ κ ）のM成分と同定された．従つて，好中球自己抗体が単クローン性IgM（ κ ）にあるのか否かを追究する目的で，患者血清を薄層等電点分画法によつてIgGとIgMに分離した後，Lalezariの方法によつて白血球凝集素を検索したところ，好中球抗体はIgGにあることが判明した．副腎皮質ステロイドに極めて良く反応し，プレドニゾン40mg/日の投与で1週間後には好中球数 $396/\text{mm}^3$ から $2840/\text{mm}^3$ と著増した．血清の白血球凝集素は2048倍以上から，ステロイド使用後急速に低下して陰性化した．以上，本邦第1例の自己免疫性好中球減少症を報告すると共に，好中球抗体の検索法，好中球特異抗原，同種新生児好中球減少症，Felty症候群，SLEなどの鑑別診断などについて考察した．

緒 言

赤血球自己抗体によつて自己免疫性溶血性貧血が惹起され，また特発性血小板減少性紫斑病におけるごとく血小板自己抗体によつて血小板減少症が招来されることは良く知られた事実である．しかし，好中球減少症における自己抗体の存在に関しては1952年頃から追究されてきたが，その検出

法に疑義がもたれていた．Lalezariらは，leucoagglutinin testの改良法を開発し¹⁾，1975年，2才少女の自己免疫性好中球減少症の症例²⁾を報告して以来，約10例の自己免疫性好中球減少症が報告されている．著者らはLalezariらの方法によつて，35才，男性の好中球減少症が自己抗体によることを実証したので臨床経過を含めて報告する．なお，本症例は本邦第1番目の自己免疫性好中球減少症の報告例であり，血清中に単クローン性免

疫グロブリン血症を伴っている点では現在文献的に唯一の症例である。

症 例

患者： R M, 35才, 男性 (教師)。

主訴： 発熱。

家族歴： 特記すべき事なし。

生活歴： 飲酒 3 合/週, 喫煙 20 本/日, 常用薬 (－)。

既往歴： 昭和52年10月, 椎間板ヘルニア。アレルギー (－), 輸血 (－)。

現病歴： 元来, 上気道炎に罹患しやすかつたが, 52年11月11日頃より高熱と咽頭痛があり, 近医で下熱剤の投与を受ける (アスピリン等) も軽快せず, 1週間後の検査で初めて好中球減少 (白血球2900好中球3%) を指摘された。ステロイド薬投与にて症状軽快するも減量すると好中球減少が生じるため, 精査の目的で53年2月27日九大第三内科に入院した。

入院時現症： 身長163cm, 体重60kg. 意識清明, 脈拍72/分整, 貧血, 黄疸なし, 咽頭発赤なし, 扁桃肥大なし, 頸部リンパ節腫脹なし, 甲状腺腫なし, 胸部異常なし, 腹部肝脾腎触知せず, 下肢浮腫なし, 神経学的所見異常なし, 関節異常なし, 血圧124/74mmHg.

一般検査成績： 検便, 検尿で異常なく, 血沈は1時間8mm, 2時間22mm. 検血ではHb 14.2 g/dl, RBC 452×10^4 , WBC 2200で, 好中球 (桿状核5%, 分葉核9%, 好酸球0%, 好塩基球0%, 単球7%, リンパ球75%), 血小板 19.6×10^4 であり, 好中球減少症が明らかに認められた。血清生化学的検査では, コレステロール180mg/dl, glucose 100mg/dl, BUN 7.5mg/dl, 尿酸6.7mg/dl, クレアチニン0.8mg/dl, 総ビリルビン0.4mg/dl, アルカリフォスファターゼ60mU/ml, LDH 160mU/ml, GPT 30mU/ml, GOT 35mU/ml, トリグリセライド234mg/dl, 磷脂質203mg/dl, アミラーゼ118Unit, 血清鉄100μg/dl, Ca 9.0mg/dl, Na 138mEq/l, K 4.3mEq/l, Cl 105mEq/l. 血清総蛋白6.9 g/dl, ALb 56.8%, α_1 -gl 3.8%, α_2 -gl

5.8%, β -gl 10.5%, γ -gl 22.8%で, 軽度の γ -グロブリンの増加があり, セルローズアセテート膜電気泳動で γ -グロブリンの陰極側に炎鋭なピークが認められた。TTT 13.5, ZTT 21.2と著増をみた。

骨髓像 および 顆粒球単球系造血幹細胞 (CFU-C);

九大第三内科入院後副腎皮質ステロイドを中止した時点 (昭和53年3月2日) の骨髓有核細胞 6.3×10^4 中, 顆粒球は45.4%を占め, Mbl 4.8% 好中球系のPromy. 13.6%, My. 10.0%, Meta 5.2%, Band 5.0%, Seg. 5.4%と好中球の成熟型が少なく, 一見いわゆる“maturation arrest”の像であつた (表1)。

Robinson & Pike⁴⁾ による骨髓細胞の軟寒天培養法では5月10日のステロイド使用前にはCFU-

表1. ステロイド使用前後の骨髓像

骨髓像:

治療前 NCC $6.3 \times 10^4/\text{mm}^3$ Mbk 22/ mm^3

Neutrophils	Mbl	4.8	Mono	6.4		B	0
	Pro	13.6	Lympho	19.6	Macr	P	0.8
	Myel	10.0	Plasma	2.0		O	0
	Meta	5.2	Reticulum	0.4		B	1.4
	St	5.0	Hist-B	0	Norm	P	22.0
	Sg	5.4	Mbk	0.2		O	1.2
Eosinophils	Pro	0	Other	0	Mitosis		0.6
	Myel	0.2					
	Meta	0					
	St	0.4					
	Sg	0.4					
Baso		0					
Mitosis		0.4					
Total		45.4	Total	28.6	Total		26.0

治療後 NCC $10.8 \times 10^4/\text{mm}^3$ Mbk 0/ mm^3

Neutrophils	Mbl	0.6	Mono	4.8		B	0
	Pro	3.4	Lympho	20.0	Macr	P	0.2
	Myel	8.6	Plasma	1.0		O	0
	Meta	6.6	Reticulum	0.6		B	0.6
	St	15.2	Hist-B	0	Norm	P	12.0
	Sg	22.8	Mbk	+0		O	1.8
Eosinophils	Pro	0	Other	0	Mitosis		0.4
	Myel	0					
	Meta	0.4					
	St	0.2					
	Sg	0.8					
Baso		0					
Mitosis		0					
Total		58.6	Total	26.4	Total		15.0

表2. 骨髓細胞中のコロニー形成細胞 (CFU-C)

	Mar. 10	Jul. 20	Normal range.
CFU-c Incidence	506/2x10 ⁵	68/2x10 ⁵	110±46/2x10 ⁵ cells
Small-colony	33%	47%	40±11%
Medium-colony	31%	29%	43±7%
Large-colony	36%	24%	17±8%
Compact-colony	52%	33%	2±11%
Intermediate-colony	40%	42%	4±9%
Loose-colony	8%	19%	22±6%

C (colony forming cell in culture) は506/2×10⁵ cellsと正常骨髓より増加し, 特にcompact colonyの増加を認め, ステロイド使用後に骨髓像および, CFU-Cはともに正常化した (表2).

血清学的検査; CRP (-), ASLO 125, RA (+), LE-テスト (-), クームステスト (直接法) (-), 抗核抗体 (+), 8x, クリオグロブリン (-), HB抗原 (-), ワッセルマン反応 (-), 免疫グロブリンでは, IgG 1800mg/dl, IgA 333mg/dl, IgM 516mg/dlで, 特にIgMの著増をみた. 血清蛋白の免疫電気泳動では, IgM (κ) のMbow が明らかに認められた (図1).

Immunoelectrophoresis

P : Patient, Autoimmune Neutropenia (Matsunaga)

N : Normal Human Serum

図1. 血清の免疫電気泳動

白血球凝集素に関する検索; ステロイド使用前の血清を-20℃に保存しておき, ステロイド使用後に増加してきた自己の成熟好中球に対する白血球凝集素leucoagglutininの有無をLalezariの方法¹⁾によつて検索し, 陽性の所見を得た.

末梢血20mlをヘパリン採血し, 注射器のまま37℃, 1~2時間倒立し, 白血球層を採取し, Ficoll-Diatrizoate (Ficoll-Paque; Pharmacia) に重層し, 1800rpm, 30分間遠沈し最下層の沈渣 (顆粒球+赤血球) を分離した. さらにACD液にて2回洗浄 (1400rpm, 10分および1200rpm, 10分) し, トリスNH₄Cl (A) NH₄Cl 0.8g/1000ml H₂O, (B) トリス緩衝液-トリス 20.6g/100 ml H₂O, 濃塩酸でpH 7.2~7.4に調整-A : Bを9容 : 1容に混合) で, 37℃, 5分間処置して赤血球を溶血させ, ACD液にて2回洗浄後, 0.01M, pH 7.2 phosphate buffered salineにて1回洗浄後, 5% ヒトアルブミンに浮遊させ細胞数を4000/mm³に調整し, 10% EDTAを9 : 1の割合に加えた.

直径7.5mmの小試験管 (non-siliconized) に検体血清0.1mlを生理的食塩水により倍数希釈し, EDTA添加好中球浮遊液0.05mlを加えて, パラフィルムで封じ, 37℃水槽中に孵置し, 5時間後または18時間後に倒立顕微鏡で観察した. 倍率100倍の視野で観察し, 約100%の細胞が凝集している時 (4+), 約75%のとき (3+), 約50%のとき (2+), 約25%のとき (1+), 顆粒球凝集の

表3. 血清, IgGおよびIgMの白血球凝集素価

Leukocyte Agglutinin Titer							
(Incubation Time : 5 hours)							
Dilution	Patient's Serum before treatment	Patient's Serum after treatment	Normal Serum	IgG No. 4 (1.50 mg/ml)	IgG No. 7 (0.27 mg/ml)	IgM No. 25 (0.16 mg/ml)	IgM No. 26 (0.21 mg/ml)
1	1+	-	-	2+	2+	-	-
2	1+	-	-	2+	2+	-	-
4	1+	-	-	1+	1+	-	-
8	1+	-	-	1+	±	-	-
16	1+	-	-	±	-	-	-
32	1+	-	-	-	-	-	-
64	1+	-	-	-	-	-	-
128	2+	-	-	-	-	-	-
256	2+	-	-	-	-	-	-
512	3+	-	-	-	-	-	-
1024	3+	-	-	-	-	-	-
2048	2+	-	-	-	-	-	-
Titer	>2048	0	0	16	8	0	0

2 a

2 b

図 2. a) 白血球凝集反応陽性 (患者血清)
b) 白血球凝集反応陰性 (正常人血清)
(写真は暗視野で 5 × 20 倍撮影)

全く見られない時 (—) と記載した。結果は表 3 に示す如く、ステロイド使用中止の 3 月には 2048 倍以上の白血球凝集素価を示したが、ステロイド治療により好中球が増加した 10 月 3 日には血清白血球凝集素は陰性化した。毎度、正常対照群として正常人血清とその自己成熟好中球との間で白血球凝集素を検索したが、常に陰性であつた。図 2 に白血球凝集素陽性像を示した。次いで本症例の血清中には IgM (κ) の単クローン性の増加があり、白血球凝集素が単クローン性 IgM (κ) に存在するか否かを検索する目的で、IgG と IgM とを分離した。患者血清 3 ml を薄層等電点分画法 (flat bed electrofocusing)⁵⁾ によつて、等電点 5 ~ 8 で 30 分画に分離すると、IgG は主として、No. 1 ~

FLAT BED ELECTROFOCUSING

(Patient's Serum : 3.0 ml)

Fraction Number from Anode

図 3. 血清 IgG および IgM の薄層等電点電気泳動による分離

9 分画に、IgM は主として No. 25, No. 26 の両分画にそれぞれ分画された。No. 26 は IgM-IgG の複合体を形成していると考えられ、RA 陽性所見に合致した (図 3)。この中、No. 4 と No. 7 を IgG 分画として、No. 25 と No. 26 を IgM 分画 (単クローン性) として白血球凝集素を検索した。結果は表 3 に示す如く、IgG 分画は白血球凝集素を有し、一方、単クローン性 IgM には白血球凝集素の

図4. 臨床経過

存在しないことが明らかにされた。

臨床経過： 2月27日入院後プレドニソロンを中止して検索をすすめ、4月19日からプレドニン40mg/日を開始したところ、1週間後には好中球数 $396/\text{mm}^3$ から $2840/\text{mm}^3$ と著増した。5月11日よりcyclophosphamideを併用したところ、骨髄抑制の副作用が現われたため、プレドニソロン20mg/日の単独投与に変更し以後良好に経過している（図4）。3月には2048倍以上を示した血清白血球凝集素は、9月には陰性化し、ステロイド中止中の高 γ -グロブリン血症、TTTおよびZSTの高値、RA陽性などの異常所見もすべてプレドニソロン使用後に急速な正常化をみた。

考 案

本例は成熟好中球の減少，骨髓細胞中CFU-Cの増加，骨髓芽球および好中球系前骨髓球，骨髓球の正常または増加，高 γ -グロブリン血症，IgM(κ)の単クローン性免疫グロブリン血症を伴い，副腎皮質ステロイド剤に極めて良く反応した，IgG型白血球凝集素を有する自己免疫性好中球減少症(autoimmune neutropenia)である。

赤血球又は血小板に対する自己抗体によつて、自己免疫性溶血性貧血又は一部の特発性血小板減少性紫斑病が惹起されることは周知の事実である。従つて自己抗体による好中球減少症の存在についても従来諸家により推定され、1952年以来、

好中球自己抗体を検索が行なわれてきたが⁶⁾⁷⁾、白血球凝集素の検査法自体に方法論的な疑義が提起されてきた。1975年にLalezariら²⁾は、白血球凝集素の改良検査を用いて、2才、女子の好中球減少症（好中球数 $495/\text{mm}^3$ ）の血清中にIgG型白血球凝集素を発見した。この白血球凝集素は好中球のみを凝集し好酸球を凝集しないこと、NA2に特異的であることが証明され、患者自体の好中球がNA2抗原を有していることが判明したため、自己免疫性好中球減少症の診断が確立された。本報告例の好中球抗体は、Lalezariの方法と同様の方法で実証したものであり、自己の好中球に対するIgG型leucoagglutininであるが、好中球特異抗原（neutrophil-specific antigens）に関してはなお未検索である。

Lalezariのleucocyte-agglutination法は赤血球の抗グロブリン試験と異なり、好中球抗体によって遊走能が活発化し、好中球が動員され凝集を形成する⁸⁾。従つて、好中球の運動を阻害する高温または低温を避けること、細胞の死滅や分解を防止するEDTAの添加などが必要条件である。leucocyte-agglutination法以外に好中球抗体を検出する方法として、蛍光抗体法⁹⁾や抗グロブリン試験¹⁰⁾なども発表されているが、信頼性にかかる欠点が指摘される。最近、Boxer³⁾らは、好中球抗体が好中球膜に結合後の好中球機能を判定する鋭敏な方法を開発し注目される。すなわち、オプソニン化した好中球が他のマクロファージに貪食される所見や、好中球のlipopolysaccharideで被覆したパラフィン油滴貪食能に対する抑制効果を示標とする方法である。

1975年Lalezariの症例報告以来、自己免疫性好中球減少症の症例は現在まで文献的に10例を数えるに過ぎない^{(11)~(14)}。年齢は生後5カ月から72才に及び、10例中9例が女性例である点が注目される。われわれの報告例は男性で、しかもIgM (κ)型の単クローン性免疫グロブリン異常症を伴っている点でユニークな症例と考える。本例は、SLE、Felty症候群、関節リウマチ、脾機能亢進症など

表 4. 自己免疫性好中球減少症の報告例の要約

(Author)	(Patient)	Autoimmune Neutropenia (W B C)				(Response to Steroid)	(Leukocyte Antibody)
		(Immunoglobulin)					
			IgG	IgA	IgM		
1. Lalezary, P. et al 1975	2 years, f	9900 Neutro. 10 %	1340,	42,	250 (mg/dl)	good	Leukoagglutinin, NA 2
2. Nepo, A. G. et al 1975	8 month, f	6600 Neutro. 12 %	780,	94,	120	good	Opsonizing, Anti-Phagocytic
3. Boxer, L. et al 1975	20 years, m	Neutro. 70 - 672				good	Opsonizing, Anti-Phagocytic
4. Boxer, L. et al 1975	72 years, f	1000 Neutro. 2 %				splenectomy +	Opsonizing
5. Boxer, L. et al 1975	8 month, f	Neutro. 285				good	Opsonizing, Anti-Phagocytic
6. Boxer, L. et al 1975	45 years, f	900 Neutro. 12 %				splenectomy +	Opsonizing
7. Boxer, L. et al 1975	50 years, f	Granulocyte 1600				good	Opsonizing, Anti-Phagocytic
8. Kay, A. B. et al 1976	5 month, f	6900 Neutro. 3 %	1200,	110,	154	good	Leukoagglutinin, IgG & IgM
9. Lightsey, A. L. et al 1977	45 years, f	7200 Neutro. 2 %					Neutrophil- binding IgG
10. Thompson, A. L. et al 1978	9 month, f	9900 Neutro. 1 %	1130,	180,	112	good	Leukoagglutinin, Cytotoxic
11. Kozuru, M. et al 1978	35 years, m	2200 Neutro. 14 %	1180,	353,	516	good	Leukoagglutinin, IgG

の基礎疾患を欠き¹⁵⁾, 明らかな化学薬品, 放射線照射, 感染症などの既往歴もなく, いわゆる特発性自己免疫性好中球減少症と考えられる。しかし, 高 γ -グロブリン血症, IgM (κ) 型単クローン性免疫グロブリン血症, RA弱陽性などの広範な免疫グロブリン異常症を伴っており, 今後の注意深い経過観察が必要である。

自己免疫性好中球減少症の治療には主に副腎皮質ホルモン剤が適用され, 文献上の従来報告では症例10例中7例は文献的に副腎皮質ステロイド剤が有効と判定されている。本例も副腎皮質ステロイド剤に極めて良好な反応を示し, ステロイド剤の中止により好中球減少症の再発傾向を認めた(表4)。

免疫性好中球減少症 (immune neutropenia) には自己免疫性好中球減少症 (autoimmune neutropenia) の他, 新生児の同種免疫性好中球減少症 (isoimmune neonatal neutropenia, INN) が知られている。INNの場合には胎児の好中球が胎盤経由で母体を感作し, この好中球抗体IgGが胎盤を通過して胎児に作用して新生児の好中球減少症を惹起する。このINN 19症例の詳細な検索から, うち18例に好中球特異抗原の存在が明らかにされ, 現在NA1 18例, NA2 1例, NB1 7

例, Vaz 2例など4種類の好中球特異抗原が同定されるに至っている⁸⁾。一方, 自己免疫性好中球減少症では10例中わずか1例において好中球特異抗原が分析され²⁾, NA2特異性であることが指摘されており, 今後この方面の検索も必要と考える。

結 語

単クローン性免疫グロブリン血症IgM (κ) を伴った自己免疫性好中球減少症の1例(35才, 男)を報告し, 特に白血球凝集素はIgGに存在することを明らかにした。本例は自己免疫性好中球減少症の本邦第1番目の報告例と思われるが, Lalezariの報告(1975年)以来の外国での症例10例の臨床像も要約して示した。好中球抗体の検索には幾多の方法が考案されているが, 本報告に示したLalezariの方法は比較的簡易で信頼のおける方法であり, 好中球抗体の検索の普及に伴って自己免疫性好中球減少症の診断例も次第に増加するものと期待される。

文 献

- 1) Lalezari P and Bernard G: Improved leucocyte antibody detection with prolonged incubation. Vox Sang 9: 664, 1964.
- 2) Lalezari P et al: Chronic autoimmune neutropenia due to anti-NA2 antibody. New

- Engl J Med 293: 744, 1975.
- 3) Boxer LA, et al: Autoimmune neutropenia. New Engl J Med 293: 748, 1975.
 - 4) Robinson WA and Pike BL: Colony growth of human bone marrow cells in vitro, "Symposium on Hemopoietic cellular Differentiation" ed. by Stohlman F, 1970, Grune & Stratton, New York, p249.
 - 5) Radola BJ: Isoelectric focusing in layers of granulated gels 1, Thin layer isoelectric focusing of proteins. BBA 295: 412, 1973.
 - 6) Butler JJ: Chronic idiopathic immunoneutropenia. Amer J Med 24: 145, 1952.
 - 7) Dausset JN: Auto-antileukocyte ribosomal fraction in leukoneutropenia. Ann N Y Acad Sci 124: 550, 1965.
 - 8) Lalezari P and Radel E: Neutrophil-specific antigens: Immunology and clinical significance. Seminars in Hemat 11: 281, 1974.
 - 9) Verheugt FWA, et al: The detection of granulocyte alloantibodies with an indirect immunofluorescence test. Brit J Haemat 36: 533, 1977.
 - 10) van Loghem, et al: The incidence and significance of complete and incomplete white cell antibodies with special reference to the use of the Coombs consumption test. Vox Sang 3: 203, 1958.
 - 11) Nepo AG, et al: Autoimmune neutropenia in an infant. J of Pediatrics 87: 251, 1975.
 - 12) Kay AB, et al: Leucocyte function in a case of chronic benign neutropenia of infancy associated with circulating leucoagglutinins. Brit J Haemat 32: 451, 1976.
 - 13) Thompson DS, et al: Auto-immune neutropenia in an infant. Postgrad Med J 54: 278, 1978.
 - 14) Lightsey AL, et al: Immune neutropenia. Ann Intern Med 86: 60, 1977.
 - 15) Cline MJ and Golde DW: Immune suppression of hematopoiesis. Amer J Med 64: 301, 1978.