シンポジウム 免疫異常症とその制御

（5）単クローンガンマグロブリン異常症におけるイデオタイプ

金沢医科大学血液免疫内科

菅井 進

SYMPOSIUM ON IMMUNOLOGIC DISORDERS AND THEIR CONTROL

（5）IDIOTYPE IN PATIENTS WITH MONOCLONAL GAMMOPATHY

Susumu SUGAI, MD

The Division of Hematology and Immunology, Department of Internal Medicine,
Kanazawa Medical University, Uchinada-machi, Ishikawa Pref

はじめに

イデオタイプ (Id) とは免疫グロブリン (Ig) の可変部にある抗原決定基を指し、個々の Ig に個有であり、単クローン性 Ig (M 蛋白) のマーカーとして有用であるが、さらに、Id は抗体の抗原結合部である超可変部と強い関連がある事より、抗原のレセプターとして免疫反応の基本にかかわっている。近年、Id は Ig や B 細胞表面のみならず、実験動物においては T 細胞、T 細胞亜群や T 細胞因子等にも存在する事が明らかにされる一方、Id は自己に対しても抗原性を有し、Id に対する抗体産生や T 細胞性の免疫反応を惹起する事が証明された¹⁾。そして免疫反応の膨大な調節機構が、Jerne の Id-抗 Id ネットワーク説²⁾ に説明される様に Id を介して行なわれていることが明らかとなりつつある。我々は単クローンガンマグロブリン異常症 (M 蛋白血症) の M 蛋白 Id について検討を行なつて来たが、Id は M 蛋白のみならず、B 細胞、T 細胞上にも表現され、Id を標的とする細胞性の免疫反応や、Id と反応する T 細胞が認められたので以下の項目について述べ、ヒトの M 蛋白血症における Id を介する免疫反応の可能性について述べたい。

1. 血清中および細胞内 M 蛋白 Id

- (1) 血清 M 蛋白 Id の沈降反応
- (2) 細胞内 M 蛋白 Id (骨髄, リンパ節, 唾液腺)
- (3) 抗体活性 M 蛋白 Id と抗原結合性 (リウマチ因子)
2. T, B 細胞表面 Id
 - (1) 末梢血リンパ球表面 Id
 - (2) B 細胞表面 Id
 - (3) T 細胞表面 Id
3. 細胞表面 Id 保有細胞より M 蛋白産生細胞への分化
4. 抗 Id 免疫反応
 - (1) M 蛋白 Id と反応する T 細胞
 - (2) B/W マウスの Id に対する細胞性抗腫瘍免疫

対象と方法

(1) 対象: ヒトでは以下の疾患の M 蛋白について検討した。

骨髄腫 (MM)	9 例
マクログロブリン血症 (MW)	8 例
良性単クローン γ -gl 血症 (BMG)	3 例
リンパ肉腫 (LS)	5 例
慢性リンパ性白血病 (CLL)	2 例
Sjögren 症候群 (SS) に伴った M 蛋白血症	5 例
分類不能型免疫不全症 (CVID)	1 例
薬物アレルギー	1 例

計 34 例

マウスはニュージーランド黒 (NZB) と白 (NZW) のF₁雑種 (B/W) を使用した。

(2) 抗Id抗体: M蛋白を家兎にFreund完全アジュバントと共に3回免疫して得た抗血清を、プール正常血清、他のM蛋白血清、セファロース4B結合Ig等で吸収し、13万G、60分超遠心し、一部はセファデックスG-200カラムで7S分画として使用した。特異性はオクタロニー法、蛍光抗体法、受身赤血球凝集反応等で検討した。

(3) 混合ロゼット法: (a) T細胞表面Idの検出はT細胞を抗Id抗体と反応させてから、FITC標識羊赤血球 (FITC-SRBC) とプロティンA (SPA) 結合牛赤血球 (ORBC-SPA) との混合ロゼット形成細胞を観察した。又、SRBCとグルタルアルデヒド (GA) 処理ORBC-SPAとの混合ロゼットも観察した。(b) Id反応性T細胞の検出はSRBCと、M蛋白結合GA・ORBCとの混合ロゼット形成細胞を観察した。両反応共にSRBCの代わりにORBC-抗ORBC (IgG) やSRBC-抗SRBC (IgM) を使い、T γ 、T μ 細胞を観察した。

(4) 培養によるM蛋白産生細胞: 末梢血T細胞 (1×10^5), non-T細胞 (B) (5×10^4) をPWM ($\times 10$) 20 μ lの存在下に1週間培養し、全Ig (Wlg) とId陽性細胞を蛍光抗体法で染色して1wellの陽性細胞数を算出した。

(5) 腫瘍移植の拒絶反応: マクログロブリン血症を伴ったB/Wマウスのリンパ腫を使った。予めM蛋白をFreund完全アジュバントと共に免疫した同系マウスにリンパ腫細胞を移植し、その拒絶反応を観察した。拒絶したマウスの脾細胞を使ってCr放出細胞傷害テストを行なった。

結 果

1. 血清中および細胞内M蛋白Id

(1) 血清M蛋白Idの沈降反応: 34例のM蛋白中18例の抗Id抗体は、オクタロニー法で特異的であつた。その1例を図1に示す。又、血清中に二つのM蛋白 (IgMK, IgGK) を有するSSの症例の二つのM蛋白は、それぞれに対する抗Id抗体と独立に反応し、交叉反応性のないことより2クロ

図1. 抗Id抗血清の作製. マクログロブリン血症の患者血清 (PS) の19S分画 (19) に対して作製した抗血清 (A) は、オクタロニー法で患者血清 (S) と、19S分画 (19) と反応する以外に、他のマクログロブリン血症血清 (1, 2, 3, 4) とも反応するが、吸収した抗Id抗血清 (A) はSと19にのみ反応する。免疫電気泳動の所見も同様である。

ーン性である事が確認された。

(2) 細胞内M蛋白Id (骨髓、リンパ節、唾液腺): M蛋白血症の骨髓細胞内に種々のパーセントでId産生細胞が認められ、MWでは病変リンパ節細胞内に、M蛋白を伴ったSSでは唾液腺の浸潤細胞内にId陽性細胞が証明された。

(3) 抗体活性M蛋白Idと抗原結合性 (リウマチ因子): リウマチ因子 (RF) 活性を有する3例のM蛋白 (IgAL, IgMK 2例) では、それぞれの抗Id抗体はWaller-Roseテストを特異的に阻止することより、これらの抗Id抗体はM蛋白の抗原結合部に反応することが確かめられた。又1例 (IgAL) のIdは他の疾患にみられたRF (4例) と交叉反応が認められ³⁾、これらのRFは均一な自己抗体であることを示した。

表1. M蛋白血症における末梢血, T, B細胞表面イデオタイプおよびイデオタイプ反応性T細胞

Pt	Age/Sex	Diag	M-Protein		Cell Surface Ig & Id (%)		Id-Bearing Cells (%)	Id-Reactive Cells (%)
			Class Type	g/dl	SmIg	SmId	T (T γ /T μ)	T (T γ /T μ)
K T	68/F	MM	G·K	2.8	10 (G)	11		
S T	50/F	MM	G·L	7.7	6 (G)	14		
T N	47/M	MM	G·K	6.0		4 (B 15)	2.6	-(1.4*/0*)
S I	53/F	MM	G·K	2.7	-(B 43)	-(B 8)	0	0
K M	62/F	MM	G·L	2.1			-(0.5/0.3)	-(1.9/1.7)
T T	48/F	MM	A·K	2.2	49	20		
M T	70/M	MW	M·K	5.5	12	3	-(1.0/0.9)	-(1.0/1.6)
A M	36/M	MW, SS	M·K	2.3		10 (B 12)	-(1.0/0)	-(1.0/1.0)
T K	72/F	BMG	G·K	1.5	48	26	0.8	
F K	46/F	BMG	G·L	2.7	26	6	1.1	
F S	49/F	SS	A·L	1.8	16	12		
T O	67/F	SS	M·K	0.5	3 (M)	6		
A H	/F	SS	G·K/M·K	3.3/0.5		3/-		
B S	83/M	L·MW	M·K	2.0		27 (CId 15)	0	
S H	60/F	L·MW	M·K	2.3	69	46 (CId 56)		
T	/M	L·"MW"	G·K	4.0	67 (G)	57 (CId 3)		
K M	46/M	L·LS	M·L	0.3	72	56 (CId 22)	0.6	-(0/0)
K I	34/M	L·LS	M·L	0.2	53 (M)	38		3.0#

SmIg, SmId and CId; surface membrane immunoglobulin, idiotype and cytoplasmic idiotype

B; B cell fraction

L·MW and L·LS; leukemic state of Waldenström's macroglobulinemia and lymphosarcoma,

#; spleen cell

*; against F(ab')₂ fragment of monoclonal IgG

2. T, B細胞表面Id

(1) 末梢血リンパ球 (PBL) 表面Id: 表1に示す如く, MM, MW, BMG, SSの計12例のPBLは細胞表面にM蛋白Idを有する事が蛍光抗体法で示された⁴⁾. これらは主にB細胞表面Idを表わしていると考えられる. 白血化しているMWやLSでは末梢血中異常細胞表面と胞体内にIdが認められた.

(2) B細胞表面Id: 表1の3例で, マクロファージとT細胞を除いたB細胞分画の8~15%にM蛋白Id陽性細胞が認められた. これは, M蛋白血症は単クローン性のプラズマ細胞ないしプラズマ細胞様細胞の異常増殖によるIg異常とされるが, プラズマ細胞のみならず, その前駆細胞であるB細胞レベルでも単クローン性の異常が起こっている事を示している.

図2. 混合ロゼット形成リンパ球. リンパ球は, 蛍光抗体法でFITC-SRBCと反応し (a), 位相差像でORBC-SPAと反応する (b) ことより, T細胞がIdを有している.

(3) T細胞表面Id⁵⁾: PBLのT細胞分画を抗Id抗体と反応させてから, T細胞マーカーとしてFITC-SRBCを, 抗IdのFc部分に対する反応としてORBC-SPAを反応させると, 図2の如く両者

と混合ロゼットを形成する細胞がみられた。又SRBC, 又はORBC-抗ORBC (IgG), 又はSRBC-抗SRBC (IgM) とGA・ORBC-SPAを使用する事により表1の如く9例中7例にT (T_γ , T_μ) 細胞表面にIdの存在が認められた。一部の症例では蛍光抗体法でE-RFCがIdを保有することを確認した。

3. 細胞表面Id保有細胞よりM蛋白産生細胞への分化

CLL⁶⁾や培養B細胞⁷⁾が正常T細胞やPWM刺激でIg産生細胞へ分化することが知られており、我々はM蛋白血症にみられる末梢血B細胞がT細胞の補助でIg産生細胞へ分化するかどうかを検討した。正常およびM蛋白血症(10例)で、T, nonT (B) 細胞を組み合せ、PWM存在下で培養すると図3の如く3例でId陽性細胞が認められた。Case 2はMWで末梢血中に細胞内Id陽性細胞が14.6%認められたので、この細胞の増殖と考えられるが、Case 3 (BMG), 5 (MW) では培養前に細胞内Id陽性細胞はなく、少数ではあるがT細胞によりB細胞がM蛋白産生細胞へ分化した事が考えられる。

4. 抗Id免疫反応

(1) M蛋白Idと反応するT細胞⁸⁾: ヒトでM蛋白Idに対する免疫反応を調べるため、血清中の抗Id抗体を調べたが検出出来なかつた。そこでT細胞性の免疫反応をみる目的で、T細胞をSRBCとGA・ORBC-M蛋白とを反応させ、混合ロゼットを形成する細胞があるかどうかを検討した。又、ORBC-抗ORBC (IgG), SRBC-抗SRBC (IgM) を使用し、 T_γ と T_μ 細胞を調べると図4の如くId反応性 T_γ , T_μ 細胞の存在を認めた。表1の如く、4例の末梢血T細胞中にIdと反応する T_γ , T_μ 細胞を認め、1例(KI)の脾細胞中にId反応性T細胞を認めた。又、1例(TN)ではIgGM蛋白のF(ab')₂部分に対する反応を確認した。

(2) B/WマウスのIdに対する細胞性抗腫瘍免疫⁸⁾: B/WマウスはヒトのSLEやSSの動物モデルと考えられるが、このマウスに加齢と共にマクログロブリン血症がみられる⁹⁾。その1例はIgM

図3. T, B細胞培養によるM蛋白Id陽性細胞。Bn, TnおよびBp, Tp: 正常および患者B, T細胞, BnTnの全Ig陽性細胞数に対する百分率で表わしている。

図4. M蛋白結合GA・ORBC(濃い赤血球)とORBC-抗ORBC (IgG)と反応するId反応性 T_γ 細胞 (a) および、M蛋白結合GA・ORBC(濃い赤血球)とSRBC-抗SRBC (IgM)と反応するId反応性 T_μ 細胞 (b)。

産生リンパ腫で、細胞膜表面にIdを保有していた。このIgMで予め免疫したB/Wマウスは、リンパ腫細胞で移植しても腫瘍は全然発育しないか、一旦大きくなつてから退縮消失した。この機序を調べたところ免疫マウスの脾細胞はCr放出細胞傷害テストでIgM Idに対して特異的に傷害性を示した。すなわち、膜表面IgM Idは腫瘍抗原として働き、細胞性の免疫反応を同系マウスに惹起した。

考 案

ヒトのM蛋白血症におけるIdは、1に述べた如く、血中M蛋白や、B細胞性増殖疾患のマーカーとして単クローン性の証明に、又、病変の組織レベルでの広がりや治療や、再発の指標として利用される。自己抗体活性M蛋白はIdの共通性を利用することにより、自己抗体産生機序の解明に有力な手段を提供している。又、2, 3, 4で述べた

如く、M蛋白IdはT、B細胞表面にあり、これらはM蛋白産生に関与し、Idと反応するT細胞の存在は、Idを標的とする免疫反応が存在し作動している可能性を示している。

動物レベルではサプレッサー、ヘルパーT細胞上のId¹¹やサプレッサー因子上のId¹⁰が証明され、Idを介して抗体産生が調節されていることが明らかにされている。M蛋白血症における細胞表面Id保有T細胞とはどのような細胞であろうか。上に述べたヒトの抗体活性M蛋白や均一自己抗体の存在、ヒトで免疫による単クローン抗体が惹起出来る事¹¹等を考えると、一つの可能性としてヒトのM蛋白血症でも、M蛋白産生クローンの増殖に対する調節T細胞が考えられる。このようなT細胞があるとしても我々の症例にみられたT、B細胞の培養においてM蛋白産生に何らかの働きをしたかどうかはわからないが、今後追求されるべき課題であろう。

M蛋白血症でIdに対する免疫反応の存在は、動物レベルで、我々のB/WマウスやBalb/cマウス等でも明らかにされて来ているが¹²、ヒトの場合は未だ不明である。我々が認めたId反応性T細胞がM蛋白Idを標的とする免疫反応か、M蛋白Idを膜表面に有する単クローン性のクローンの増殖に対して何らかの抑制性の免疫反応を行なっているかは不明であるが、もしそのような機構があるとするならば、临床上、散見されるMMやMWの10年以上の長期生存例の存在する病態を説明することが出来るかもしれない。今後、ヒトのM蛋白血症においてもIdを介する調節T細胞や、Idを標的とする免疫反応について解明していく必要がある。

文 献

- 1) Eichmann K: Expression and function of idiotypes on lymphocytes. *Adv Immunol* 26: 195, 1978.
- 2) Jerne NK: Network theory of the immune system. *Ann Immunol (Inst Pasteur)* 125C: 373, 1974.
- 3) Sugai S, et al: Non-IgM monoclonal gammopathy in patients with Sjögren's syndrome. *Amer J Med* 68: 861, 1980.
- 4) Sugai S and Konda S: Idiotypic-bearing lymphocytes in the peripheral blood of patients with monoclonal gammopathy. *Acta Haematol Jap* 42: 24, 1979.
- 5) 菅井 進, 紺田 進: M蛋白血症におけるT細胞表面 idiotype (Id) と Id 反応性T細胞. 日本免疫学会記録 10: 181, 1980.
- 6) Fu SM, et al: Induction of in vitro differentiation and immunoglobulin synthesis of human leukemic B lymphocytes. *J Exp Med* 148: 1570, 1978.
- 7) 岸本忠三: 第4章 抗体産生細胞分化機構の生化学的解析. 日本の免疫学 I (日本の免疫学編集委員会編), 日本学術振興会, 東京, 1980, p 69.
- 8) Sugai S, et al: Protective and cellular immune responses to idiotypic determinants on cells from a spontaneous lymphoma of NZB/NZW F₁ mice. *J Exp Med* 140: 1547, 1974.
- 9) Sugai S, et al: Monoclonal macroglobulinemia in NZB/NZW F₁ mice. *J Exp Med* 138: 989, 1973.
- 10) Tada T and Okumura K: The role of antigen-specific T cell factors in the immune response. *Adv Immunol* 28: 1, 1979.
- 11) Kunkel HG, et al: Individual antigenic specificity of isolated antibodies. *Science* 140: 1218, 1963.
- 12) Bona C and Paul WE: Cellular basis of regulation of expression of idiotype. I. T-suppressor cells specific for MOPC460 idiotype regulate the expression of cells secreting anti-TNP antibodies bearing 460 idiotype. *J Exp Med* 149: 592, 1979.