——〔シンポジウム〕免疫グロブリンの基礎と臨床——

5. 免疫グロブリンの代謝*

平 山 千 里**

免疫 glob (Ig) は、リンパ節の胚芽中心、形質細胞、幼弱細胞など生成されたあと血中にはいり、血漿蛋白代謝プールで代謝される。この場合、標識免疫 glob を投与すると、非標識免疫 glob と混合したあと、代謝されるので、血中又は尿中の標識物質を追跡すると、その代謝プール、異化率を算出することができる。ただ、定常状態においては、異化率は生成率に等しいので、生成率も算出することができる。

一般に諸種疾患時には、血清中の免疫 glob 濃度に変化するが、これは、免疫 glob 生成、異化、病的排泄などの諸因子による結果である。著者らは ^{131}I 標識免疫 glob および Bence-Jones 蛋白 (BJP) の代謝について検討を重ねてきたが、本稿ではその方法、正常代謝量、又病的変動などについて報告する。

1. 免疫グロブリンの調製と標識^{1-3,7)}

免疫 glob 調製の試料は、骨髓腫又はマクログロブリン血清が便利である。ただ IgG 調製には、正常血清を用いてもよい。一般に、免疫 glob の代謝を決定する因子は H 鎖にふくまれるので、正常の Ig と monoclonal な Ig とは理論的にいって差がみつめられないからである。

著者が用いた免疫 glob および BJP の調製法は次のようである。すなわち、IgG は、正常人血清から、1/3 飽和硫酸沈殿物を分離したあと、DEAE セルローズカラムで、0.01M リン酸緩衝液 pH 7.5 で溶出する。IgA は、A 型骨髓腫血清から 1/2 飽和硫酸沈殿物を分離し、あと殿粉ブロック電気泳動法 (ペロナル緩衝液, pH 8.6, $\mu=0.05$) で β_2 位の M 峰を分離する。一方 IgM (Putnum 教授, 右田教授の御好意による) は、マクログロブリン血症血清から、溜水による沈殿をくりかえしてえたものであるが、一般には、硫酸沈殿物を Sephadex G-200 により分離する方法などが考えられる。BJP は、患者尿中より 1/3 飽和硫酸沈降物をあつめ、DEAE Sephadex により精製して用いた。

分離された免疫 glob および BJP は、超遠心沈降法、

殿粉ゲル電気泳動法、又免疫電気泳動法でその純度をチェックし、不純であれば精製をくりかえす。図 1-3 に、

図 1 免疫グロブリンGの超遠心分析像

図 2 免疫グロブリンAの殿粉ゲル電気泳動像

図 3 Bence-Jones 蛋白免疫電気泳動像

* Metabolism of immunoglobulins

** Chisato Hirayama, 九州大学医学部第 3 内科

IgG, IgA, BJP の検定成績を示した。免疫 glob のうち IgA, 又 BJP は, monomer と polymer の形で存在しているので, その分子サイズを決定する必要がある。この目的のためには, 超遠心沈降法が確実であるが, 検査室的には, Sephadex ゲル濾過がより有用である。IgA, BJP をゲル濾過すると, 前者は monomer, 後者は monomer と dimer の混合物であった。尚 BJP は, K 型と L 型を用いた。

血清蛋白の標識法として現在広く用いられているのは, ^{125}I または ^{131}I による外部標識法である。われわれが行っている方法を紹介しますと次のようになる。

1N HCl 1.0ml, 0.01M ヨー化カリ 0.08ml に $300\mu\text{C}$ の ^{131}I をまぜ, これに 0.1M 亜硝酸ソーダ 0.08ml を加え十分混和する。5 分後更に 1N NaOH 1ml を加え中和し, これに免疫 glob 20mg の溶液をゆっくり攪拌しながら加える。(免疫 glob 溶液は, 免疫 glob 5~10mg を生理食塩水 1ml 溶解し, 0.2M 硼酸緩衝液 pH 8.0 で透析したものを用いる)。20 分後生理食塩水で透析し, 遊離の ^{131}I を除いたあと, 15,000RPM, 60 分遠心した上清をとる。通常この方法で, 蛋白 1 分子当り約 0.5 原子のヨードが標識される。標識量が多いと蛋白の変性を来し, 代謝の観察には不適当である。この標識蛋白の性状をしらべるのには, 殿粉ゲル電気泳動法, 免疫電気泳動法が有用である。図 1-3 に, ^{131}I 標識 IgG, IgA および BJP の性状を示したが, 標識によってその性状に変化をみとめなかった。

2. 代謝観察法^{3,5)}

実験 2 日前より検査中, ヨー化ナトリウムを投与して甲状腺をブロックしておくことが必要である。検査に当っては, およそ $50\sim 100\mu\text{C}$ の標識蛋白を静注し, 経時的に血清および尿中の ^{131}I を測定する。血清の ^{131}I は殆んど蛋白結合型である。又尿中 ^{131}I も遊離型であるが, 蛋白尿を伴う患者, 又 BJP 投与時には蛋白結合型としても排泄されるので, 普通 3 塩化酢酸を用い, 遊離型, 蛋白結合型として測定する。尿にも一部 (尿の 2~3%) 排泄されるが, 一般には無視して差支えない。

血清中の免疫 glob および BJP の消失曲線は図 4 に示した。血中の標識蛋白は, まず血中の非標識蛋白とよく混合したあと (混合期), ゆるやかなカーブを描いて減少するが, これは血管外への拡散と異化によるものである (分布期)。静注 10 分後混合期とみなし, 血中 ^{131}I 量を測定し循環血漿量を算出する。分布期のあと血中 ^{131}I は直線的に減少するが, これは代謝期に相当するものである。

図 4 ^{131}I 標識免疫グロブリンおよび Bence-Jones 蛋白の血中消失曲線

半減期の計算法は次のように行なう。すなわち, 代謝期の直線を延長して縦軸と交る点の 1/2 の点を求め, これに相当する時間 (日) をもってあらわす。全身量は投与量から尿中排泄量を減じて求める。血管内量の求め方は, 以前は, 代謝期の直線延長部が縦軸と交る点で求めたが, 現在, 血清蛋白の異化部位が主として血管内で行なわれるという成績から次の 2 つの方法で行なわれるようになった。すなわち, 分布期の曲線进行分析して血管内外量を直接計算するか, 又は, 尿中 ^{131}I 排泄量 (血管内量との比) が一定に達する点において, 全身量, 血管量, 血管内量から求めるかである。われわれは, 原則的には前者で計算したが, IgA, IgM では分布期曲線の影響が困難なため後者によった。実験がうまく行なわれた場合は, その成績はよく一致する。具体的には両者を併せ観察しておくことがのぞましいわけである。

IgG の分布期の曲線进行分析すると, 血管内プール 0.64, 血管外プールは 2 つにわかれ第 1 の血管外プール 0.05, 第 2 血管外プール 0.41 (g/kg 体重) の数値がえられる。異化率は, 血管内プールから尿中への ^{131}I 移行量であらわすが, この計算も分布期のカーブ进行分析してえられる。尿中 ^{131}I 排泄量から求める場合は, 尿中 ^{131}I 量/血管内 ^{131}I 量比が一定に達した点で求める。一方 BJP は, 正常血清中には殆んど存在していないが, ^{131}I 標識 BJP

を投与すると血中から速やかに消失する。半減期は血中¹³¹I 消失曲線から求める。尿中¹³¹I の大部分は遊離型であるが、一部蛋白結合型であるので、別々に定量し、前者を異化率、後者を蛋白尿率としてあらわす。体内量は、投与量から尿中排泄量を減じて求める。

一般に¹³¹I 標識蛋白を用いて計算されるのは異化率であるが、定常状態では生成率は異化率に等しい。通常異化率としては%/日であらわし、生成率は、これに血管内プールを乗じてmg/体重kg/日であらわす。すなわち、この方法で、具体的な免疫 glob 生成量を知ることができるわけである。

3. 免疫グロブリン Bence Jones

蛋白の代謝^{1,2,7)}

著者らが測定した免疫 glob および BJP の代謝を表 1 に示した。IgA, IgM は IgG に比べ半減期が著明に短い

か、BJP は更に短い。一般に血漿蛋白の半減期を規定する因子の 1 つに、その分子量があげられる。ただ免疫 glob ではこの法則にあてはまらない所から、免疫 glob 中の H 鎖に代謝決定基があると考えなければならない。BJP 殊にその monomer は、分子量が小さい所から、尿中に排泄されることを考えなければならないが、われわれの成績では、排泄率は異化率の 10% 以下にすぎない。すなわち、H 鎖を欠くため異化率が著明に高いとも考えることができる。

今日われわれが用いた免疫 glob のうち、IgA, IgM は monoclonal な免疫 glob であった。IgG によるわれわれの成績では、monoclonal IgG の半減期は 3 例平均 11.5 日で、やや短い。この成績から考えると、monoclonal な免疫 glob の代謝は正常免疫 glob の代謝とやや異なることも考えられるが、この点については今後尚検討する必要がある。

表 1 ¹³¹I 標識免疫グロブリン, Bence Jones 蛋白の代謝

標識タンパク	IgG	IgA	IgM	B. J. P.
例数	5	5	4	5
血清濃度 (mg/ml)	13.2±1.1	2.9±1.4	0.8±0.3	—
半減期 (日)	14.1±3.3	6.2±1.5	5.8±1.1	0.62±0.09
代謝プール (mg/kg)	1010±50	217±172	46±20	—
(%, 血管内)	57±4	61±17	79±9	—
異化率 (%/日)	8±2	27±13	16±3	*
合成率 (mg/kg/日)	52±6	29±5	6±1	—

* 異化率 24.1±3.0(%/時) タンパク尿率 1.9±0.7 (%/時)

4. 疾患時免疫グロブリン代謝の変動^{4,6,7)}

疾患時においては一般に免疫 glob 生成量の変動し、血清免疫 glob 濃度、代謝プールも変動する。各種疾患時における IgG の代謝プールと、生成量との関係を図 5 に示した。すなわち、IgG の代謝プールは、その生成量に従い変動することは確実である。

IgG の生成が亢進する状態、たとえば G 型骨髄腫、肝硬変症などにおいては、IgG の代謝プールが増加するが、この場合、まず血管内プールが増加したあと、血管外プールが増加する。異化率も、生成相の変動に応じて変動する。一方、IgG の生成が低下する Agammaglobulinemia においても、生成率、異化率の低下がみとめられる。いずれにせよ、IgG の代謝にはフィードバック的制御がはたらいっていることになる。ただネフローゼ症では、IgG の異化率 30%、蛋白尿率 15% であり、代謝プールの減少にもかかわらず異化率は亢進していることになる。

図 5 免疫グロブリン G の代謝プールと合成率との関係

IgA の病的状態における代謝変動については報告がすくない。われわれは、血清 IgA レベルの増加する肝硬変症 2 例について、¹³¹I-IgA の代謝を検討した。その結果、2 例平均で半減期 3.8 日、代謝プール 522mg/kg、異化率 35%/日、生成率 125mg/kg/日の成績をえた。すなわち、対照値 (表 1) に比べると、生成率の増加 (+33%) によって、代謝プールの増加を来しているのは明らかである。ただこの場合、異化率の増加は +30% 程度にすぎないので、IgA の代謝は IgG の代謝とかなり様相が異なっていることがわかる。すなわち、IgA の代謝プール乃至血清濃度は、生成相の変化をより明瞭にあらわすものと考えなければならない。

一方 IgM についても、その病的状態においては IgA と同様の代謝が行なわれている。要するに、IgA, IgM については、IgG にみられるようなフィードバック制御がうまく働いていないことになるわけである。

次に BJP の代謝を、ネフローゼ症候群および Bence-Jones 蛋白血症各 1 例について検討すると、半減期は夫々 0.8 日、0.95 日とやや延長している。異化率は夫々 12.7, 12.6 (%/時) でやや減少するが、蛋白尿率は夫々 21.7, 15.6 (%/時) で、Bence-Jones 蛋白血症では蛋白尿率が著明に上昇していることがわかった。Bence-Jones 蛋白血症における血中 BJP 濃度は 3.8mg/ml であったので、血管内プール、生成率を計算すると、夫々 219mg/kg, 1.48g/kg/日 であった。すなわち、本症例における BJP の生成量は、G 型骨髄腫の IgG 生成量 (図 4) より多いことになる。

5. 治療による IgG および Bence-Jones 蛋白代謝の変動

骨髄腫、肝硬変など、免疫 glob 量の変動する疾患では、治療の目的で、副腎皮質ホルモン、抗腫瘍剤などが投与されている。この場合には当然、免疫 glob や BJP の代謝の変動を来すことが予想される。

われわれは、副腎皮質ホルモン治療中の慢性活動性肝炎および肝硬変症について、IgG の代謝を検討し、非治療群の例の IgG 代謝の成績を比較した。又 G 型骨髄腫 1 例について、副腎皮質ホルモン治療前後の IgG 代謝を検討した。その結果表 2 に示すように、治療群では一般に IgG の代謝プールが減少するが、これは生成率の減少と異化率の増加によることを明らかにすることができた。この場合、一般に血管内プール (相対比) は増加の傾向を示すが、これは、IgG 代謝の変動を示すもう一つの所見ということができよう。

次に Bence-Jones 蛋白血症患者 1 例に cyclophosph-

amide を投与し、治療前後の BJP 代謝を観察した (表 2)。その結果 BJP の半減期は延長したが、代謝プールの著明な減少をみとめた。この代謝プールの変化は、合

表 2 治療による ¹³¹I 標識 IgG および Bence-Jones 蛋白代謝の変動*

治 療 法	副腎皮質ホルモン		抗腫瘍剤
疾 患	肝疾患	G-骨髄腫	骨 髄 腫
タンパク	IgG	IgG	ベンスジョーンズタンパク
半減期	91	113	153
代謝プール	69	32	18
血管内プール	104	125	—
異化率	118	136	156†
合成率	82	28	14

* 数字は対照の百分率であらわした
† タンパク尿率は 22

成率の低下によるものであるが、同時に異化率の増加、蛋白尿率の低下を来すことは注目すべき所見ということができよう。

一般に副腎皮質ホルモンや抗腫瘍剤は、一次的に免疫 glob 又は BJP の生成相を変化させるが、同時に異化相をも変化させることは明らかである。このような成績から考えると、免疫 glob 代謝の研究は薬剤の効果判定にも重要な資料となるものと考えられる。

参 考 文 献

1) Hirayama, C.: Acta Haematol. Jap. 25, 427 (1962)
2) 平山, 福田, 広瀬: 医学のあゆみ 44, 94 (1963)
3) 平山, 右田, 福田: 診療 16, 665 (1963)
4) 平山, 福田, 吉川, 古賀: 代謝 1, 572 (1964)
5) 平山: タンパク質, アミノ酸の栄養学, 中川, 島菌編 p. 232 (1964)
6) 平山, 多田, 福田, 広瀬, 河辺, 川崎, 古賀, 戸田: 最新医学 21, 1789 (1966)
7) 福田, 平山: 医学のあゆみ 62, 995 (1967)