

# Common varied immunodeficiency 患者に みられた 3 段階の B 細胞分化障害について

岸 本 忠 三

佐 伯 修

(大阪大学医学部病理病態学)

R.A. Good

P. Ralph

(スローン・ケッタリング癌研究所)

B 細胞は、抗原刺激を受け最終的に抗体産生細胞へと分裂分化する。最近人の B 細胞の分裂と分化を別の現象としてとらえる試みがなされ、人においても B 細胞が抗体産生細胞へ分化するためには少なくとも二つ以上のシグナルが必要なことが明らかにされつつある。今回、細胞表面免疫グロブリン陽性 B 細胞を有する、common varied immunodeficiency 患者について、staphylococcus aureus Cowan I 株 (Cowan I) と部分精製した T 細胞因子 (TRF) を用いて、B 細胞の分裂および分化の障害について解析を行った。

## 方 法

細胞の分離：Ficoll H で末梢血リンパ球を分離後、E ロゼット形成を行い T 細胞分画と非 T 細胞分画に分けた。

B cell mitogen：ホルムアルデヒドおよび熱で処理した staphylococcus aureus Cowan I 株 (ベーリンガー社) を用いた。

T 細胞因子：脾細胞を 1,000 rad 照射した後 PWM で 2 日間刺激し、その上清を採集した。さらに 33~80% の硫酸分画を取り、セファデックス G100 カラムより得た、分子量 10~15 K の分画を T 細胞因子 (TRF) として用いた。

細胞分裂の測定：DNA 合成の測定は、細胞を 3 日間培養し、培養終了前 4 時間に  $^3\text{H}$  サイミジンパルスをパルスし、細胞に取り込まれた  $^3\text{H}$  の radioactivity を測ることにより行った。

抗体産生細胞の測定：培養 6 日目に、細胞を回収しリバーズプラークアッセイを用いて IgM, IgG および IgA 分泌細胞の測定を行った。検出する抗体産生細胞のクラス特異性はそれぞれの免疫グロブリンを分泌する継代培養株を用いて確認した。

患者：年齢、性、血中の IgM, IgG および IgA 値および、末梢血中の免疫グロブリン陽性細胞は、表 1 に記載されている。

7 人の患者は低  $\gamma\text{G}$  血症を呈し、易感染性の認められる common varied immunodeficiency

表1 Cowan I と TRF によるB細胞の分裂と分化の誘導

Cells	Mitogen	DNA synthesis	IgM-PFC
B	—	228 ± 8	0
B	Cowan I	2,050 ± 277	0
B	TRF (PHA)	198 ± 26	0
B	C+TRF	843 ± 122	391 ± 27

1×10<sup>5</sup> のB細胞を Cowan I と TRF で培養し、DNA 合成は3日目に、IgMPFC/10<sup>4</sup>MNC は6日目に測定した。

表2 C.V.I. 患者の臨床検査データ

Patient	Age	Sex	Serum Ig <sup>a)</sup>			% B cells <sup>b)</sup>
			IgM	IgG	IgA	
1	37	F	160	276	0	4.5
2	40	F	137	470	97	10.5
3	33	M	9	130	0	7
4	33	M	24	288	32	9
5	17	M	33	409	98	4.1
6	24	F	20	140	0	9.4
7	67	F	31	222	23	3.2

- a) 各種免疫グロブリンの正常値は IgM (80~350mg/dl), IgG (800~1,800mg/dl), IgA (90~450mg/dl) である。  
 b) B細胞の測定にはポリバレント抗 Ig 抗体を用い、正常値は3~20%である。

(CVI) 患者である。

## 結 果

T細胞と Mφ を除去したB細胞を Cowan I で刺激すると、分裂が誘導されるが、Cowan I 単独では抗体産生細胞への分化は誘導されない(表2)。

部分精製したT細胞因子(TRF)で、同じB細胞を刺激しても、分裂および分化誘導は認められない。Cowan I に TRF を添加させることによりB細胞に抗体産生が誘導される。

以上のことは、Cowan I で刺激することにより T independent なB細胞の分裂の測定が、また Cowan I と TRF を共存させることにより、抗体産生細胞への分化能の測定が可能なることを示唆している。

CVI 患者7人について Cowan I とT細胞因子を用いてB細胞の分裂と分化における障害

表3 C.V.I. 患者末梢血におけるB細胞の分裂, 分化障害

Group	Patient	Mitogen response, cpm		IgSC induced per 10 <sup>4</sup> cells		
		—	Cowan I	IgM	IgG	IgA
I	1	177 ± 47	1,677 ± 291	318 ± 26	2 ± 1	0
	2	206 ± 19	2,960 ± 680	408 ± 23	0	0
II	3	194 ± 21	8,021 ± 174	0	0	0
	4	216 ± 9	7,155 ± 394	0	0	0
III	5	331 ± 104	485 ± 214	0	0	0
	6	486 ± 152	601 ± 144	0	0	0
	7	619 ± 400	430 ± 205	0	0	0
Normal		1,229 ± 506	29,438 ± 2,481	558 ± 16	436 ± 102	278 ± 46

1×10<sup>5</sup> の末梢血リンパ球を Cowan I で刺激し, 3 日目に <sup>3</sup>H サイミジンの取り込みを測定した。抗体産生はリバースブランク法より 6 日目に測定した。

表4 B細胞分裂に与えるT細胞の影響

Group	Patient	sIgM <sup>+</sup> cells, %	Mitogenic response, cpm	
			—	Cowan I
I	2	35.3	110 ± 23	2,072 ± 88
II	3	29.8	252 ± 16	2,761 ± 268
III	7	21.4	408 ± 164	593 ± 214
Normal		38.4	251 ± 51	2,116 ± 233

E ロゼットにより, T細胞を除去した。

について検討を行った。患者はいずれも B細胞障害を有しており, その程度により大きく三つに分けることが出来た (表3)。

グループ I は, Cowan I により分裂が認められかつ IgM 分泌細胞への分化が認められたが, IgG および IgA 分泌細胞への分化は認められなかったもので 7 例中 2 例がこのグループに属した (1~2)。

グループ II は, Cowan I による分裂は認められたが, 抗体産生細胞への分化は, 認められなかったもので 2 例みられた (3~4)。

グループ III は, 分裂および分化する両方の過程がともに障害されているもので 3 例みられた (5~7)。

表3にみられた異常が, B細胞自身の障害によるものか, あるいは他の細胞の影響によるものかの検討を行った (表4)。はじめに T細胞を除去し, T細胞が Cowan I による分裂能に与える影響をみた。正常およびグループ I, II においては, T細胞除去によっても Cowan

表5 正常T細胞及び TRF による C.V.I. 患者  
B細胞の分化の誘導

Exp.	Group	B-cell donor	T-cell donor	IgSC per 10 <sup>4</sup> initial B-cell population		
				IgM	IgG	IgA
A	I	1	1	318 ± 20	0	0
			N	396 ± 17	4 ± 2	2 ± 1
	III	7	7	0		0
			N	0		0
B <sup>a)</sup>	I	2	T-cell factor	130 ± 24	0	0
	II	3		0	0	0
	III	5		0	0	0
		6		0	0	0
		7		0	0	0

a) B細胞を Cowan I と T細胞 (実験A) または部分精製した T細胞因子 (実験B) で刺激し, 6 日目に抗体産生をリバースプラークにより測定した。

表6 B細胞の分裂, 分化障害による C.V.I. 患者の分類

Type	Response to mitogen	Differentiation to IgSC			Stage of B-cell differentiation
	Cowan I	IgM	IgG	IgA	
Normal	+	+	+	+	Normal mature
I	+	+	-	-	IgM differentiation only
II	+	-	-	-	
III	-	-	-	-	Unresponsive B cells

IgSC, 抗体産生細胞。

IによりB細胞に分裂は認められた。グループIIIの患者7においてはT細胞除去によって, sIgM<sup>+</sup> B細胞は, 21.4%と高められたが, Cowan Iによる分裂は認められなかった。次にT細胞を除去したB細胞分画に正常T細胞および, TRFを加えて抗体産生細胞への分化に与える影響をみた(表5)。グループIの患者1, 2, のB細胞分画に, 正常T細胞および TRFを加えても, IgM分泌細胞への分化が認められただけで, IgGおよびIgA分泌細胞へと分化誘導が認められなかった。他のグループII, IIIのB細胞に, 正常T細胞シグナルを加えても

抗体産生細胞への分化を誘導することが出来なかった。

正常人T細胞よりマイトジェン刺激により得たT細胞因子は、正常B細胞に、IgM, IgG および IgA 分泌細胞への分化を誘導出来た。

表には示していないが、Sephadex G10 column を通して、M $\phi$  を除去しても、分裂分化障害への影響は認められなかった。

## ま と め

種々の多様性を有する CVI において、B細胞機能測定により、表6のように大きく3群に分類出来ることが示唆された。

グループ I は、B cell mitogen に反応し、かつ IgM 分泌細胞へ分化しうるが、IgG および IgA 分泌細胞の出現が認められず、IgM より IgG および IgA 分泌細胞へ class switch をする過程に異常があることが推測される。

グループ II は、正常T細胞因子の添加によっても抗体産生細胞への分化が認められず、T cell signal の受容または細胞内における伝達に異常があることが推測される。

グループ III は、Cowan I かつ T細胞因子を共存させても、分化は起こらない。この場合は、膜面より内部へのシグナル伝達に異常があることが推測される。顕微鏡下に、Cowan I は、グループ III の B細胞膜に結合していることは認められた。

今回調べた範囲では、これら15人の CVID 患者の T細胞、マクロファージ機能に異常は認められず、認められた異常はB細胞自身の分裂および分化障害に起因することが示唆された。

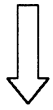
## 文 献

- 1) Saiki, O. and Ralph, P. : Induction of human immunoglobulin secretion. I. Synergic effect of B-cell mitogen Cowan I plus T-cell mitogens or factors in induction of immunoglobulin secretion. J. Immunol., **127** : 1044, 1981.
- 2) Saiki, O., Ralph, P., Cunningham-Rundless, C. and Good, R.A. : Three distinct stages of B-cell defects in common varied immunodeficiency. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., **79** : 6008, 1982.



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



### まとめ

種々の多様性を有する CVI において, B 細胞機能測定により, 表 6 のように大きく 3 群に分類出来ることが示唆された。

グループ は, B cell mitogen に反応し, かつ IgM 分泌細胞へ分化しうるが, IgG および IgA 分泌細胞の出現が認められず, IgM より IgG および IgA 分泌細胞へ class switch をする過程に異常があることが推測される。

グループ は, 正常 T 細胞因子の添加によっても抗体産生細胞への分化が認められず, T cell signal の受容または細胞内における伝達に異常があることが推測される。

グループ は, Cowan I かつ T 細胞因子を共存させても, 分化は起こらない。この場合は, 膜面より内部へのシグナル伝達に異常があることが推測される。顕微鏡下に, Cowan I は, グループ の B 細胞膜に結合していることは認められた。

今回調べた範囲では, これら 15 人の CVI 患者の T 細胞, マクロファージ機能に異常は認められず, 認められた異常は B 細胞自身の分裂および分化障害に起因することが示唆された。