

Association of immunoglobulin G4 and free light chain  
with idiopathic pleural effusion

原因不明胸水における IgG4 と遊離軽鎖の関連

氏名 村田 順之

所属 山口大学医学系研究科

応用医工学専攻 器官病態内科学

平成 30 年 1 月

## 目次

1.	要旨	1
2.	研究の背景	2
3.	目的	3
4.	方法	
	対象	3
	方法	3-4
	解析	5
5.	結果	5-9
6.	考察	10-11
7.	結語	11
8.	謝辞	12
9.	参考文献	12-16

## 1. 要旨

【背景】胸水貯留例の約 15%は精査にもかかわらず原因不明といわれる。近年、胸膜を含む諸臓器に炎症や線維化を呈する Immunoglobulin G4(IgG4)関連疾患が報告されている。そこで、これまで原因不明とされてきた胸水症例の中に IgG4 が関与する病態が含まれていないか調べた。【対象】2000 年から 2012 年まで山口宇部医療センターで集積した 830 例の胸水患者のうち、胸膜生検を施行しても診断がつかなかった 35 例を対象とした。【結果】胸膜の IgG4 免疫染色では 12 例(35%)で IgG4 陽性形質細胞を認めた(IgG4 陽性群)。胸水の IgG4 値は IgG4 陽性群で中央値 41 mg/dl, IgG4 陰性群で 27 mg/dl であった( $P < 0.01$ )。IgG4 陽性群の患者胸水から精製した IgG4 抗体の二次元電気泳動を行ったところ、軽鎖と重鎖は多数のスポットに分離され、IgG4 抗体は単クローン性でないことが示された。また  $\kappa$  軽鎖の方が  $\lambda$  軽鎖よりも高い不均一性を示したため、胸水の  $\kappa$  および  $\lambda$  遊離軽鎖を測定したところ、IgG4 陽性群と陰性群では、遊離  $\kappa$  軽鎖(中央値 28.0 vs 9.1 mg/dl,  $P < 0.01$ )及び  $\kappa/\lambda$  比(中央値 2.0 vs 1.2,  $P < 0.001$ )で有意な差を認めた。さらに IgG4 陽性群において、 $\kappa/\lambda$  比は胸膜組織の IgG4/IgG 陽性形質細胞比と相関を認めた。これらの結果は、原因不明胸水の一部では IgG4 が関与していることを示し、IgG4 関連胸水の診断、病態および治療法に関する理解の手掛かりを与える。

## 2. 研究の背景

胸水は日常診療よく遭遇するが、うっ血性心不全、肺炎、癌など含む多彩な病因によって生じる<sup>1</sup>。胸水の診断アルゴリズムについては Light らが提唱したものが広く使われており<sup>2</sup>、それは英国胸部学会の胸膜疾患ガイドラインでも推奨されている<sup>3</sup>。しかし滲出性胸水の一部は病歴聴取や身体所見、胸水の検査や細胞診など行ってもその原因が不明なことがあり<sup>4-6</sup>、胸腔鏡や開胸による胸膜生検といった侵襲的な処置を行っても15%以上は診断がつかないとされている<sup>4,6-7</sup>。それゆえに、そうした診断がつかない胸水の原因を確定するために新しいアプローチが必要とされている<sup>8-11</sup>。

Immunoglobulin G4(以後 IgG4 と表記)関連疾患は肺や胸膜を含む諸臓器に起こりうる炎症性線維性疾患と特徴づけられている<sup>12,13</sup>。そのため IgG4 が原因不明胸水の一部に関与している可能性がある。

浜野らが自己免疫性膵炎で血清 IgG4 値が高値を示すことを報告し<sup>14</sup>、IgG4 関連の自己免疫疾患が IgG4 陽性形質細胞の浸潤を特徴とする新たな臨床病理学的な病態として定義された<sup>15</sup>。以降、血清 IgG4 値の高値と IgG4 陽性形質細胞の浸潤は唾液腺や涙腺を含む他臓器でも報告された<sup>15-18</sup>。IgG4 関連疾患の肺における診断基準は確立されていないが、血清 IgG4 値が高値で、IgG4 陽性のリンパ球や形質細胞の浸潤と線維化といった病理学的な特徴がその診断項目に推奨されている<sup>19-21</sup>。谷口らは自己免疫性膵炎に間質性肺炎を伴った症例で、肺胞隔壁に IgG4 陽性形質細胞が著明に浸潤している症例を報告している<sup>22</sup>。IgG4 関連肺疾患の通常の画像所見は、肺門縦隔リンパ節腫大やリンパ間質の肥厚、気管支血管束の線維化を伴う陰影などが挙げられる<sup>23</sup>。

全身性の IgG4 関連疾患における胸水が報告されており<sup>16, 24-30</sup>、更に少ないながら胸水病変のみの IgG4 関連疾患も報告されている<sup>26,31,32</sup>。しかし胸水における IgG4 のかかわりはまだ分かっていない。

### 3. 目的

本研究では、原因不明胸水の中に IgG4 が関連する病態が含まれており、原因不明胸水の患者の一部に IgG4 陽性形質細胞を胸膜に認めるのではないかと、この仮説を立て、それを実証すること及びその病態について解明することを目的とした。

### 4. 方法

#### 対象

本研究については、国立病院機構山口宇部医療センター倫理委員会の承認を得た(承認番号 No.26-2)。患者のデータやサンプル使用に関しては、患者または近親者から十分な説明の後、文書による同意を取得した。

原因不明胸水の定義は、身体診察や胸水の検査、画像所見、生検組織での病理学的検査などを行っても診断がつかなかった滲出性胸水とした。過去の報告から<sup>4,7,33-36</sup>、悪性胸膜中皮腫や癌性胸水の除外のため最低でも1年以上(範囲:1-10年)CTなど含めたフォローアップを行った。2000年から2012年まで国立病院機構山口宇部医療センターで830例の胸水サンプルを集め、そのうち胸膜生検を行っても診断がつかなかった症例のうちフォローアップ中に悪性腫瘍が見つかった3例を除く、35例を対象とした。血液、胸水の検査データは胸腔穿刺を施行した際のものを用いた。胸水の性状、細菌学的検査、細胞診や組織診、CTなどでは、悪性胸水や感染による胸水を示す所見はなかった。患者の胸水は本研究使用まで-80℃で保存したものを使用した。

#### 方法(IgG4 免疫染色)

患者の胸膜については生検で採取したものを用いた。IgG や IgG4 の免疫染色については、IgG 抗体はポリクローナル抗ヒト IgG( $\gamma$ 鎖) ウサギ抗体(DAKO, A0423)、IgG4 抗体はビオチン化マウス抗ヒト IgG4 モノクローナル抗体(Sigma, B3648)を用いて行った。IgG4 陽性形質細胞数は3か所の強視野(HPF: High power field)における平均とし、組織の IgG4 陽性形質細胞数/HPF > 10 かつ IgG4 /IgG 陽性細胞比 > 40% を IgG4 陽性群と定義した。

#### 方法(胸水の免疫グロブリン解析)

Bio-Plex Pro Assays Human Isotyping 7-Plex(Bio-Rad 製)を用いて胸水の IgG1・IgG2・IgG3・IgG4・IgM・IgA・IgE を測定した。Bio-Plex Array System は Bio-Plex Manager(version 6.0)に則って操作した。

#### 方法(胸水 IgG4 抗体の精製)

胸水 IgG4 の精製は、ジエチルアミノエチル(DEAE)-セルロースイオン交換クロマトグラフィーと抗 IgG4 抗体結合セファロース-4 を用いた親和クロマトグラフィーにより行った。胸水を 0.01 M リン酸緩衝液(pH 7.0)で透析した。DEAE セルロースカラム(直径 1 x 30 cm、DE52, ワットマンバイオシステム)を 0.01 M リン酸緩衝液(pH 7.0)で平衡化した。透析した胸水(20 ml)を DEAE カラムに通して IgG を分離した。モノクローナル抗 IgG4 抗体(Sigma, clone HP-6025)を CNBr 活性化セファロース-4 に結合した抗 IgG4 抗体結合セファロース-4 を用いて IgG 抗体から IgG4 抗体を精製した。結合した IgG4 抗体は 0.1 M グリシン-塩酸(pH 2.7)で溶出し、速やかに 1 M Tris で中和した。

#### 方法(胸水 IgG4 抗体の二次元電気泳動：2-DE)

精製した IgG4 抗体の 2-DE は以前報告した方法に準じて行った<sup>40,41</sup>。概略を記す。等電点分画法(IEF)ゲルは、事前に 8.5 M 尿素、アクリルアミド/ビス(5% T, 3% C), 10%グリセロール, 1.3 mM リジン, ファルマライト pH 3-10 (1.25%)と pH 5-8 (1.25%)を含む溶液を脱気後、過硫酸アンモニウムと N,N,N',N'- テトラメチルエチレンジアミン(TEMED)をそれぞれ 0.05%、0.1%濃度に加え室温で 30 分間重合した。精製した IgG4 抗体に 5% β-メルカプトエタノールを加え 1 時間室温でインキュベートし還元後、尿素を 8.5 M に加え、直ちに IEFゲル毛細管 (直径 1 mm x 5 cm)に添加した。IEFは Mini-PROTEAN Electrophoresis 2-D Cell(Bio-Rad)を用い、上槽に陽極液 10 mM リン酸、下槽に陰極液 100 mM NaOH を加え、200 V で 15 分、400 V で 15 分、750 V で 2.5 時間行った。IEF 終了後、IEFゲルを毛細管からゲル排出器で押し出し、SDS ポリアクリルアミドゲル上に載せ、5%β-メルカプトエタノールを含む SDS (sodium dodecyl sulfate)サンプル緩衝液で 30 分間平衡化した。SDS 泳動用緩衝液で IEFゲルを洗浄した後、再び SDS サンプル緩衝液を添加し、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE)を 25 mA/ゲルで行った。

タンパクを PVDF 膜に Trans-Blot SD Semi-Dry Transfer Cell (Bio-Rad) を用いて転写後、プロット上の γ4 鎖, κ 鎖, λ 鎖をそれぞれビオチン化抗 IgG4 (Sigma, B3648)と西洋ワサビペルオキシダーゼ結合アビジン(Sigma, E2886), 及びペルオキシダーゼ結合抗 κ 鎖または抗 λ 鎖抗体 (Bio-Rad, STAR127P, STAR129P)を用いて検出した。

#### 方法(胸水の遊離軽鎖測定)

胸水中の κ, λ 軽鎖の値は Freelite kappa kit および Freelite lambda kit(The Binding Site)を用いたラテックスイムノアッセイで測定した。Freelite による測定は SRL に依頼した。血清の κ 遊離軽鎖, λ 遊離軽鎖, 軽鎖の κ/λ 比の基準値は、それぞれ 3.3-19.4 mg/l, 5.7-26.3 mg/l, 0.26-1.65 を過去の報告より用いた<sup>42</sup>。

## 統計学的解析

IgG4 陽性群と陰性群の群間における、検査データ、胸水の免疫グロブリン、遊離軽鎖の比較には Mann-Whitney *U* test を用いた。免疫グロブリンのデータは中央値および 4 分位数 (IQR : Interquartile range) で表示した。相関係数はピアソンの積率相関を用いた。 $P < 0.05$  を統計学的に有意とした。統計ソフトは SPSS (version 22.0, IBM) を用いた。

## 5. 結果

### 患者の血清及び胸水データ

原因不明胸水 35 例のデータを表 1・表 2 に示す。壁側胸膜の生検標本ではびまん性の炎症所見は見られるが、悪性細胞は見られなかった。線維化は胸壁側優位であったが、花筈様線維化は見られなかった。びまん性の形質細胞浸潤は 35 例中 16 例で見られた(図 1. a,b)。閉塞性静脈炎は見られなかった。35 例の胸膜組織に IgG4 陽性形質細胞が存在するか、IgG4 免疫染色で調べた(図 1.c-h)。Case 1(図 1 a,e,f)は胸水 IgG4 値が 1133.1 mg/dl, Case 2(図 2 b,g,h)は胸水 IgG4 値が 20.3 mg/dl であった。IgG4 陽性とするカットオフは、生検組織で提唱されている IgG4 陽性形質細胞数/HPF > 10 とした<sup>23,39</sup>。35 例中 12 例で IgG4 陽性形質細胞数/HPF > 10 であり、その 12 例を IgG4 陽性群に割り当てた(中央値 31, 範囲 : 20-70, 表 1,2)。IgG4 陽性群では全例で IgG4 陽性細胞と IgG 陽性細胞の比が 40%を超えていた(表 2)。IgG4 陽性群は年齢中央値 76 歳でやや高齢男性が多く、胸水中の LDH および CRP の中央値が IgG4 陰性群より低い傾向が見られた(表 1)。

	IgG4 <sup>-</sup> group (n = 23)	IgG4 <sup>+</sup> group (n = 12)	P
Age (years)	70 (63-78)	76 (73-80)	0.092
Sex (male/female)	22/1	12/0	0.851
Serum			
Total protein (g/dl)	7.1 (6.4-7.3)	7.2 (6.7-7.6)	0.420
Albumin/globulin	1.00 (0.80-1.30)	1.05 (0.85-1.20)	0.932
LDH (IU/l)	186 (164-235)	181 (164-227)	0.797
CRP (mg/dl)	1.48 (0.75-2.14)	0.83 (0.27-1.83)	0.161
Pleural fluid			
Total protein (g/dl)	4.3 (3.9-5.0)	4.5 (3.6-5.2)	1.000
LDH (IU/l)	356 (197-577)	221 (145-340)	0.049
CRP (mg/dl)	0.89 (0.51-1.24)	0.34 (0.17-1.31)	0.085
ADA (U/l)	21.7 (16.4-23.5)	21.5 (15.9-29.5)	0.719
LDH in pleural fluid/serum	1.60 (1.29-3.00)	1.19 (0.77-1.95)	0.079

表 1. IgG4 陽性群・陰性群における血清および胸水データ(中央値および IQR を示す)

n	Age/sex	Effusion IgG4, mg/dl	IgG4 <sup>+</sup> PC counts/HPF*	IgG4 <sup>+</sup> /IgG <sup>+</sup> PC ratio (%)	Respiratory symptom	CT scan findings					Follow-up period (years)
						Pleura	Pulmonary lesion	Mediastinal lymphadenopathy	Extrapulmonary lesion		
1	75M	1133.1	48	85	Dyspnoea on effort	(-)	(-)	(-)	(-)	6	
2	81M	20.3	70	93	Abnormality of X-ray	Pleural plaque	(-)	(-)	(-)	2	
3	68M	239.6	45	75	Dyspnoea on effort	Pleural plaque and thickening	Ground glass attenuation	(-)	(-)	5	
4	76M	44.1	31	48	Abnormality of X-ray	Pleural thickening	Fibrosis	(-)	(-)	3	
5	73M	60.1	24	65	Cough	Pleural thickening	Consolidation	(-)	(-)	9	
6	73M	37.6	20	75	Abnormality of X-ray	Pleural plaque	Round atelectasis	(-)	(-)	10	
7	73M	26.7	22	70	Abnormality of X-ray	(-)	Pneumoconiosis nodule	(-)	(-)	9	
8	84M	36.3	26	81	Abnormality of X-ray	Pleural plaque and thickening	(-)	(-)	(-)	3	
9	77M	36.5	31	69	Abnormality of X-ray	(-)	Consolidation	(-)	(-)	3	
10	78M	36.3	29	54	Abnormality of X-ray	Pleural plaque	(-)	(-)	(-)	5	
11	67M	50.7	35	79	Dyspnoea on effort	Pleural plaque	(-)	(-)	(-)	6	
12	81M	50.6	57	51	Abnormality of X-ray	(-)	(-)	(-)	(-)	1	

表 2. IgG4 陽性群 12 例の臨床背景および IgG4 免疫染色の結果

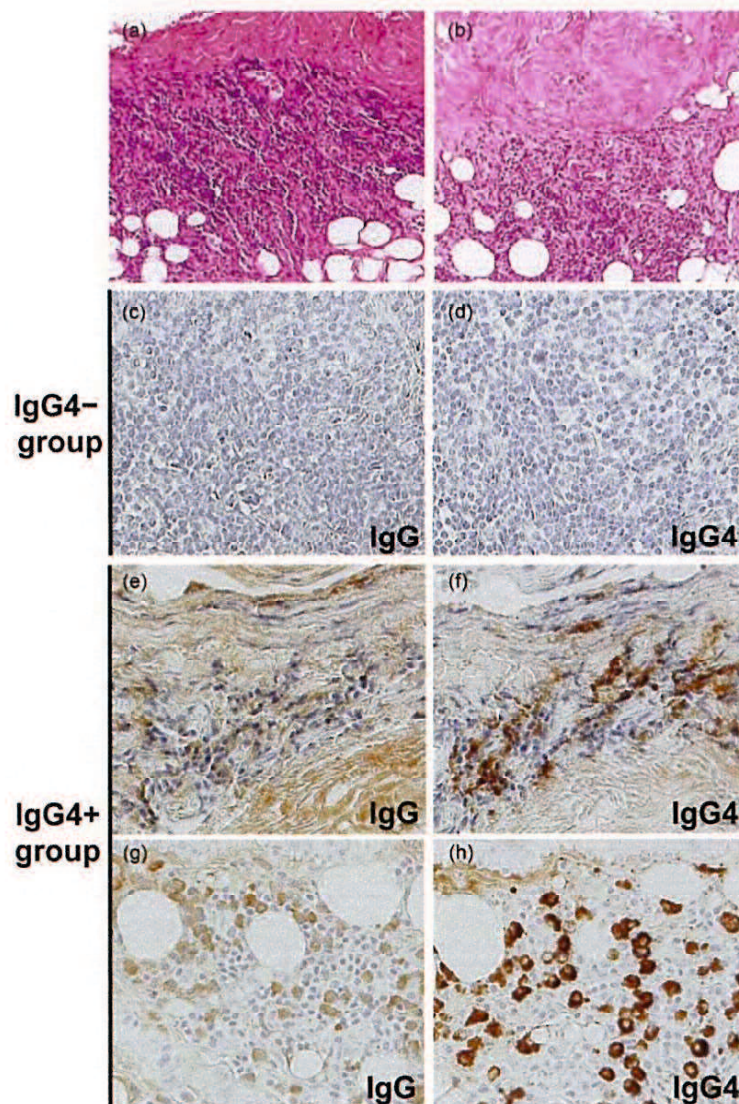


図 1. 原因不明胸水における壁側胸膜の組織所見  
(a, b x100, c-h x200)



### 胸水の免疫グロブリン解析

胸水の IgG4 値は IgG4 陰性群に比べ IgG4 陽性群で有意に高値を示した(中央値 41 vs. 27 mg/dl,  $P < 0.01$ , 図 2 d)。IgG4/IgG 比も IgG4 陽性群で有意に高く(中央値 3.2 vs. 1.9%,  $P < 0.01$ , 図 2 h), IgG4 陽性群では IgG4 産生量の亢進が示された。IgG1 や IgG2, IgG3, IgM, IgE (図 2 a-c,e,g)に比べ, 胸水 IgA は IgG4 陽性群で高かった(中央値 403 vs. 193 mg/dl, 図 2 f)。

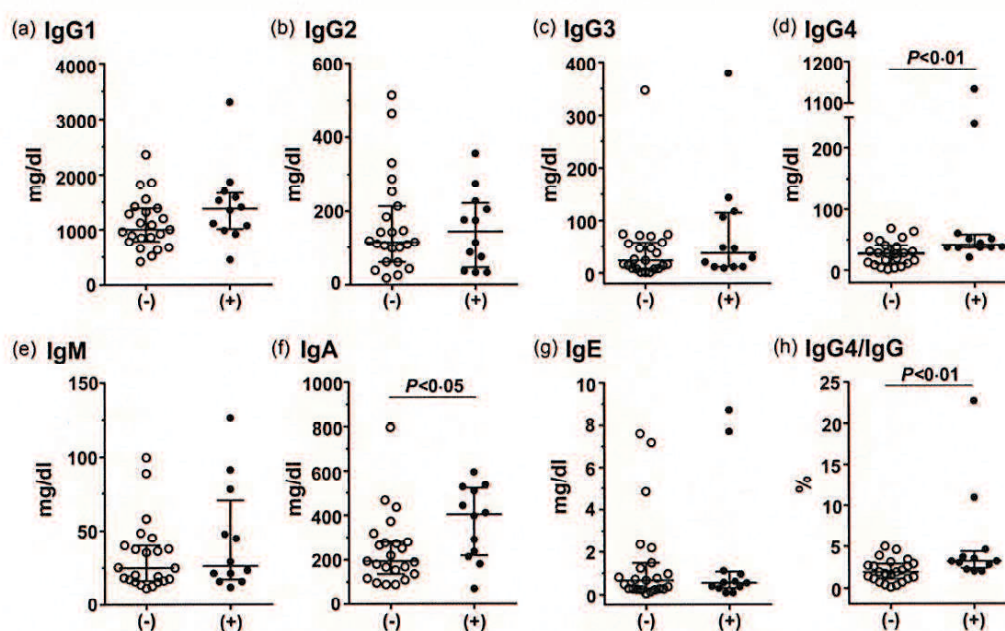


図 2. IgG4 陽性群(+)およびIgG4 陰性群(-)における胸水中の免疫グロブリンの比較(中央値および IQR を表示)

### IgG4 陽性群の患者における IgG4 抗体のクローナリティー

悪性リンパ腫, 多発性骨髄腫の可能性を除外するため, IgG4 陽性群の患者における胸水 IgG4 のクローナリティーを 2-DE で調べた(図 3)。コントロールとしてヒト IgG4  $\kappa$  骨髄腫蛋白を用いた。モノクローナル  $\gamma$ 4 重鎖は等電点の異なる 4 つのスポットに分かれ,  $\kappa$  軽鎖は 1 つの主たるスポットとして検出されたが,  $\lambda$  軽鎖のスポットは検出されなかった(図 3 a-c)。対照的に患者の IgG4 抗体では重鎖, 軽鎖とも等電点及び分子量に関して多数のスポットに分かれた(図 3 d-i)。特に  $\kappa$  及び  $\lambda$  軽鎖の両方とも検出され, IgG4 抗体がポリクローナルであることが示された。 $\kappa$ ,  $\lambda$  鎖のスポット数はそれぞれ 10 と 5-6 であり, 患者の胸水 IgG4 では  $\kappa$  鎖が優位であることが示唆された。

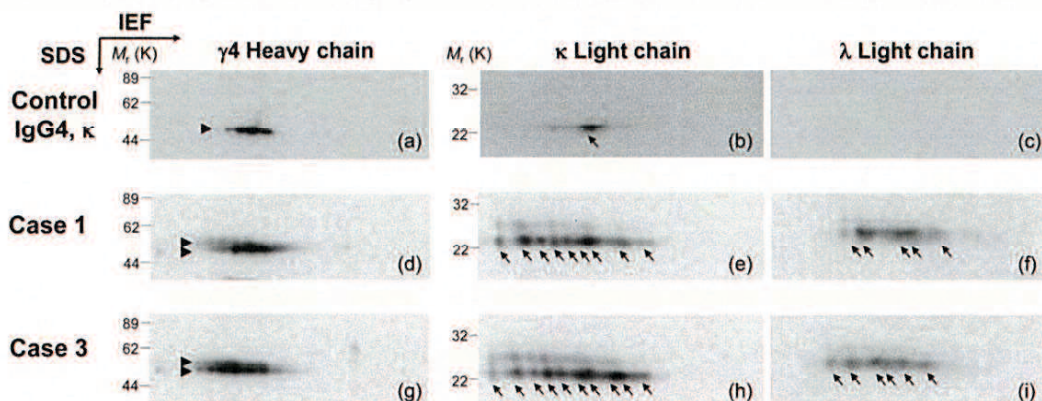


図 3. 二次元電気泳動による IgG4 陽性群の患者における  
胸水 IgG4 のクローナリティーの解析

#### 胸水の遊離軽鎖の解析

患者の IgG4 重鎖には  $\kappa$  鎖が優位に結合していたため(図 3), IgG4 陽性群の胸水中の遊離軽鎖(以下 FLCs)でも  $\kappa$  タイプが優位であることが推察された。FLCs は、免疫グロブリン合成の過程で過剰に産生されて H 鎖に結合できずに細胞外に分泌された L 鎖である。元来、FLC 測定は L 鎖産生多発性骨髄腫の診断で応用されており、一方の L 鎖のアイソタイプの過剰発現を評価するために  $\kappa/\lambda$  比を代用マーカーとして用いる<sup>43-45</sup>。興味深いことに、 $\kappa$  FLC 値は IgG4 陰性群に比べ IgG4 陽性群で高値を示した(中央値 30.1 vs. 9.1 mg/dl,  $P < 0.01$ ) (図 4 a)。一方で  $\lambda$  FLC 値の中央値は有意差がなかった(図 4 b)。 $\kappa/\lambda$  FLC 比は IgG4 陰性群に比べ IgG4 陽性群で、正常範囲を越えて有意に高かった(2.0 vs. 1.2,  $P < 0.001$ ) (図 4 c)。

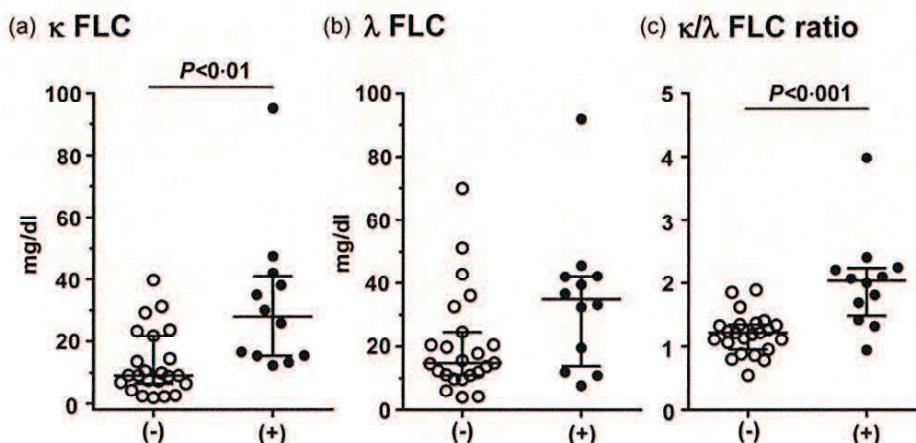


図 4. 胸水の  $\kappa$  および  $\lambda$  遊離軽鎖(a,b)と  $\kappa/\lambda$  比(c)の比較  
(中央値及び IQR)

IgG4 陽性群と陰性群を比べた際に、 $\kappa/\lambda$  比の ROC 曲線ではカットオフ 1.42 で AUC 0.88, 感度 0.87, 特異度 0.83 であった(図 5)。IgG4/IgG 比はカットオフ 2.75% で AUC 0.8, 感度 0.75, 特異度 0.74 であった。

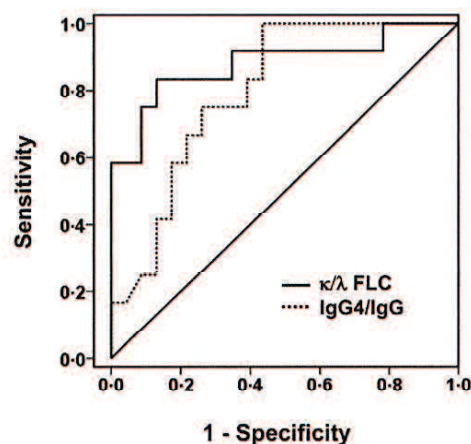


図 5. IgG4 陽性群と陰性群の診断における  
胸水 IgG4/IgG 比と胸水  $\kappa/\lambda$  比の ROC 曲線

さらに  $\kappa/\lambda$  FLC 比は IgG4 陽性群における胸膜の IgG4 陽性形質細胞の数および IgG4/IgG 陽性形質細胞比に相関を示した(図 6)。これらの結果は図 3 で示した胸水 IgG4 抗体の 2-DE において  $\kappa$  鎖が優位であった結果と整合性があるといえる。

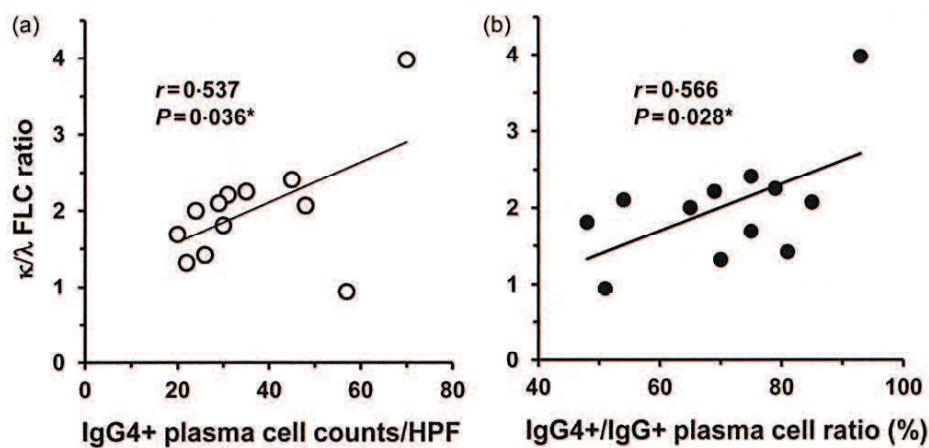


図 6. IgG4 陽性群における胸水の  $\kappa/\lambda$  FLC 比と  
胸膜の IgG4 陽性形質細胞数(a), IgG4/IgG 陽性形質細胞比の相関(b)

## 6. 考察

滲出性胸水の病因は胸腔鏡や胸膜生検組織の病理所見でも時に不明なことがある。本研究では原因不明胸水の34%にIgG4の関与が見られた。我々が検索した限り、本研究は原因不明胸水とIgG4の関係を調べた最初の研究である。また、こうした胸水の診断に有用と考えられる胸水のマーカーも検討した。

胸水が一部の全身性IgG4関連疾患に合併することは知られており、過去の症例報告でも膵臓や唾液腺などの全身性IgG4関連疾患における一つの症状として胸水があることが報告されている。結節や気管支血管束肥厚が主な肺病変であるが、様々な肺の異常陰影の組み合わせが同じ患者でも報告されている<sup>23,46,47</sup>。対照的に本研究の患者においては、胸膜炎以外の他臓器病変が見られなかった。しかし胸水のIgG4値、胸膜組織におけるIgG4陽性形質細胞数、IgG4/IgG陽性形質細胞比が高値を示したことから(表2)、本研究のIgG4陽性群患者にはIgG4に関連した病態があったことは明白である。IgG4陽性群の患者は陰性群の患者に比べ、高齢で胸膜炎の程度が低い傾向が見られたが(表1)、これらはIgG4関連疾患の特徴として高齢の男性に多く炎症所見も比較的弱いことに一致している<sup>48</sup>。IgG4抗体は一般的に抗炎症性であると考えられているが<sup>49-50</sup>、炎症性作用もまた報告されている<sup>51,52</sup>。現在のところ、IgG4抗体の産生増加が胸水との因果関係があるのか、慢性的な炎症反応に伴って上昇しているだけなのかは分かっていない。

鑑別診断としてサルコイドーシスや多発中心性キャスルマン病があるが、臨床所見や肺門縦隔リンパ節腫脹を含む胸部X線や胸部CTといった画像所見から除外した(表2)。またIgG4値が著明に高い場合はリンパ腫や骨髄腫も疑われるが、本研究ではIgG4抗体がポリクローナルであること、少なくとも1年(中央値5年、表2)のフォローアップで悪性腫瘍を発症した症例はなかった。また興味深いことに胸水のIgG4値は胸膜におけるIgG4陽性形質細胞数と相関が乏しかった(Case 1と2、図1、表2)。Case 2(IgG4陽性群)の胸水IgG4値は20.3 mg/dlと低いにも関わらず、IgG4免疫染色では胸膜に著明なIgG4陽性形質細胞の浸潤が見られた(図1 h)。血清IgG4値と免疫組織化学染色結果の乖離はIgG4関連疾患でも報告されている<sup>53</sup>。そのため、IgG4以外の診断マーカーが必要であり、我々は胸水FLC測定の有用性を検証した。

FLC値の上昇(図4 a,b)は胸膜に浸潤したポリクローナルB細胞の活性化を反映していると考えられ、IgG4陽性群で $\kappa$  FLC値や $\kappa/\lambda$ 比が陰性群よりも高いことから、IgG4関連胸水の診断に有用と考えられる(図4)。血清FLCの過剰産生や血清 $\kappa/\lambda$ 比が高いことは全身性エリテマトーデスや関節リウマチ、シェーグレン症候群といった疾患の活動性に相関していることが近年わかっている<sup>54-56</sup>。しかしこうした疾患で $\kappa/\lambda$ 比がなぜ高くなるのかは分かっていない。IgG4陽性群で $\kappa/\lambda$ 比が高値を示した理由の一つとして、胸膜炎を起こしたと考えられる抗原によりV $\kappa$ 遺伝子が優位に選択された可能性がある。自己免疫性肺胞蛋

白症の患者血清における GM-CSF 自己抗体の  $\kappa/\lambda$  比は疾患重症度に相関するとの報告がある<sup>57</sup>。その研究は、末梢リンパ組織における  $\lambda$  タイプ抗 GM-CSF 抗体陽性 B 細胞クローンの選択的増殖を示唆している。しかし IgG4 関連疾患においては自己抗原や疾患特異的な IgG4 抗体は同定されていない。二つ目に考えられるのは、胸水の IgG4 および IgA が有意に高いことから(図 2)、 $\gamma 4$  重鎖および  $\alpha$  重鎖が  $\kappa$  軽鎖と優先的に結合する可能性である。659 人の IgG 骨髄腫患者血清、176 人の IgG 骨髄腫蛋白と 62 人の IgA 骨髄腫蛋白についての L 鎖サブクラス分布を解析したところ、 $\kappa$  軽鎖は IgG4 と IgA の重鎖に優先的に結合していることが分かっている<sup>58-59</sup>。これらの研究では IgG4 骨髄腫蛋白(n= 11)での  $\kappa/\lambda$  比は 3.0(n =24)<sup>58</sup>, 2.7(n = 11)<sup>59</sup> であり、IgA では 2.1(n= 42)<sup>59</sup> であった。胸水の  $\kappa/\lambda$  FLC 比と胸膜内 IgG4 陽性形質細胞数や IgG4/IgG 陽性形質細胞比の間に相関が示されたこともこの説明と一致する(図 6)。マウスにおいて FLC は肥満細胞依存性過敏性を引き起こすことが報告されており、また  $\kappa$  FLC モノマーとダイマー値の上昇や  $\kappa/\lambda$  比の上昇は多発性硬化症患者の脳脊髄液で見られることも報告されている<sup>60-61</sup>。IgG4 陽性群の胸水は  $\kappa$  FLC の集積によるものかもしれない。

IgG4 関連胸膜病変はステロイド治療に反応することが報告されている<sup>26,32,62</sup>。本研究では、胸水貯留の要因が B 細胞の活性化による可能性があると考えられるため、我々の症例でも同様に免疫抑制剤が有用かもしれない。IgG4 陽性群の 1 症例(Case 1, 表 2)では胸水貯留に対して糖質ステロイド投与を行い、胸水の改善を得た。逆に患者の一部では胸水は自然に消失しているため、他臓器の IgG4 関連疾患でも報告されているように、軽度の胸水貯留や症状がない場合は慎重な経過観察も一部の患者では適切な対応と考えられる。しかし IgG4 関連胸水の治療を判断する基準が将来的には前向き研究で確立されるべきである。

本研究には幾つかの制限がある。少人数の患者による後方視的研究であること、胸膜の潜在的悪性腫瘍の診断には 1 年以上のフォローアップが推奨されているが<sup>7,33,36</sup>、一人の患者は 1 年のフォローアップであった。またフォローアップ中、すべての患者で胸膜外の IgG4 関連病変の有無を評価することはできなかった。血清検体の収集はなく、血清の IgG4 値、 $\kappa$  および  $\lambda$  FLC は測定できていない。IgG4 を含む免疫グロブリンはサンドイッチ ELISA 法で測定しており、過去の文献で用いられた免疫比濁法と異なるため、本研究の IgG4 濃度を過去の IgG4 関連疾患における報告のものと直接比較することはできない。

## 7. 結語

原因不明胸水の中に IgG4 が関与する症例が含まれており、それらの群を診断する際に、胸水の  $\kappa$  遊離軽鎖および  $\kappa/\lambda$  比が有用であることが示唆された。

## 8. 謝辞

本研究の遂行に当たり、御指導、御助言いただきました器官病態内科学 矢野雅文 教授に感謝申し上げます。また、同専攻 小林茂樹 准教授には指導教官として本研究の実施の機会を与えて戴き、その遂行にあたって終始、御指導を戴きここに深謝の意を表します。さらに、山口宇部医療センター 上岡博 元院長、松本常男 院長、三村雄輔 臨床研究部長、青江啓介 内科系診療部長、三村由香 研究員にも終始、御助言を戴くとともに本論文の細部にわたり御指導を戴き、多大の感謝を申し上げます。

## 9. 参考文献

1. Porcel JM, Azzopardi M, Koegelenberg CF, Maldonado F, Rahman NM, Lee YC. The diagnosis of pleural effusions. *Expert Rev Respir Med* 2015; 9:801–15.
2. Light RW. *Pleural diseases*, 6th edn. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2013.
3. Hooper C, Lee YC, Maskell N, BTS Pleural Guideline Group. Investigation of a unilateral pleural effusion in adults: British Thoracic Society Pleural Disease Guideline 2010. *Thorax* 2010; 65: ii4–17.
4. Ferrer JS, Munoz XG, Orriols RM, Light RW, Morell FB. Evolution of idiopathic pleural effusion: a prospective, long-term follow-up study. *Chest* 1996; 109:1508–13.
5. Light RW. The undiagnosed pleural effusion. *Clin Chest Med* 2006; 27:309–19.
6. Aleman C, Sanchez L, Alegre J et al. Differentiating between malignant and idiopathic pleural effusions: the value of diagnostic procedures. *Q J Med* 2007; 100:351–9.
7. Davies HE, Nicholson JE, Rahman NM, Wilkinson EM, Davies RJ, Lee YC. Outcome of patients with nonspecific pleuritis/ fibrosis on thoracoscopic pleural biopsies. *Eur J Cardiothorac Surg* 2010; 38:472–7.
8. Aoe K, Hiraki A, Murakami T et al. Diagnostic significance of interferon-gamma in tuberculous pleural effusions. *Chest* 2003; 123:740–4.
9. Aoe K, Hiraki A, Murakami T et al. Relative abundance and patterns of correlation among six cytokines in pleural fluid measured by cytometric bead array. *Int J Mol Med* 2003; 12: 193–8.
10. Aoe K, Hiraki A, Maeda T et al. Soluble receptor-binding cancer antigen expressed on SiSo cells in pleural fluid: a potential diagnostic marker for malignant pleural

- effusion. *Chest* 2004; 126: 1195–7.
11. Porcel JM. Pleural fluid biomarkers: beyond the Light criteria. *Clin Chest Med* 2013; 34:27–37.
  12. Stone JH, Zen Y, Deshpande V. IgG4-related disease. *N Engl J Med* 2012; 366:539–51.
  13. Della-Torre E, Lanzillotta M, Doglioni C. Immunology of IgG4-related disease. *Clin Exp Immunol* 2015; 181:191–206.
  14. Hamano H, Kawa S, Horiuchi A et al. High serum IgG4 concentrations in patients with sclerosing pancreatitis. *N Engl J Med* 2001; 344:732–8.
  15. Kamisawa T, Funata N, Hayashi Y et al. A new clinicopathological entity of IgG4-related autoimmune disease. *J Gastroenterol* 2003; 38:982–4.
  16. Zen Y, Inoue D, Kitao A et al. IgG4-related lung and pleural disease: a clinicopathologic study of 21 cases. *Am J Surg Pathol* 2009; 33:1886–93.
  17. Stone JH, Khosroshahi A, Hilgenberg A, Spooner A, Isselbacher EM, Stone JR. IgG4-related systemic disease and lymphoplasmacytic aortitis. *Arthritis Rheum* 2009; 60:3139–45.
  18. Yamamoto M, Ohara M, Suzuki C et al. Elevated IgG4 concentrations in serum of patients with Mikulicz's disease. *Scand J Rheumatol* 2004; 33:432–3.
  19. Masaki Y, Dong L, Kurose N et al. Proposal for a new clinical entity, IgG4-positive multiorgan lymphoproliferative syndrome: analysis of 64 cases of IgG4-related disorders. *Ann Rheum Dis* 2009; 68:1310–5.
  20. Umehara H, Okazaki K, Masaki Y et al. A novel clinical entity, IgG4-related disease (IgG4RD): general concept and details. *Mod Rheumatol* 2012; 22:1–14.
  21. Matsui S, Yamamoto H, Minamoto S, Waseda Y, Mishima M, Kubo K. Proposed diagnostic criteria for IgG4-related respiratory disease. *Respir Investig* 2016; 54:130–2.
  22. Taniguchi T, Ko M, Seko S et al. Interstitial pneumonia associated with autoimmune pancreatitis. *Gut* 2004; 53:770; author reply 770–1.
  23. Matsui S, Hebisawa A, Sakai F et al. Immunoglobulin G4-related lung disease: clinicoradiological and pathological features. *Respirology* 2013; 18:480–7.
  24. Miyake K, Moriyama M, Aizawa K et al. Peripheral CD41 T cells showing a Th2 phenotype in a patient with Mikulicz's disease associated with lymphadenopathy and pleural effusion. *Mod Rheumatol* 2008; 18:86–90.
  25. Rossi G, Marchioni A, Guicciardi N, Cadioli A, Cavazza A. Recurrent pleural and pericardium effusions in a white woman with IgG4-related syndrome. *Am J Surg Pathol* 2009; 33:802–3.

26. Yamamoto H, Suzuki T, Yasuo M et al. IgG4-related pleural disease diagnosed by a re-evaluation of chronic bilateral pleuritis in a patient who experienced occasional acute left bacterial pleuritis. *Intern Med* 2011; 50:893–7.
27. Sekiguchi H, Horie R, Utz JP, Ryu JH. IgG4-related systemic disease presenting with lung entrapment and constrictive pericarditis. *Chest* 2012; 142:781–3.
28. Ishida M, Hodohara K, Furuya A et al. Concomitant occurrence of IgG4-related pleuritis and periaortitis: a case report with review of the literature. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7:808–14.
29. Choi JH, Sim JK, Oh JY et al. A case of IgG4-related disease presenting as massive pleural effusion and thrombophlebitis. *Tuberc Respir Dis (Seoul)* 2014; 76:179–83.
30. Waheed W, Nickerson J, Ambaye AB, Babi MA, Tandan R. IgG4-related neuromyopathy associated with recurrent pleural effusion. *J Clin Neuromuscul Dis* 2015; 16:210–9.
31. Kojima M, Nakazato Y, Kaneko Y, Sugihara S, Masawa N, Nakamura N. Cytological findings of IgG4-related pleural effusion: a case report. *Cytopathology* 2013; 24:338–40.
32. Corcoran JP, Culver EL, Psallidas I et al. A 63-year-old man with a recurrent right-sided pleural effusion. *Thorax* 2015; 70: 504–7.
33. El Solh AA, Abdo T, Pineda L, Ramadan F, Berbary E. A longitudinal study of idiopathic exudative lymphocytic pleural effusion in older people. *J Am Geriatr Soc* 2005; 53:1957–60.
34. Bintcliffe OJ, Hooper CE, Rider IJ et al. Unilateral pleural effusions with more than one apparent etiology. A prospective observational study. *Ann Am Thorac Soc* 2016; 13:1050–6.
35. DePew ZS, Verma A, Wigle D, Mullon JJ, Nichols FC, Maldonado F. Nonspecific pleuritis: optimal duration of followup. *Ann Thorac Surg* 2014; 97:1867–71.
36. Janssen JP, Ramlal S, Mravunac M. The long-term follow up of exudative pleural effusion after nondiagnostic thoracoscopy. *J Bronchol* 2004; 11:169–74.
37. Pifferi M, Di Cicco M, Bush A, Caramella D, Chilosi M, Boner AL. Uncommon pulmonary presentation of IgG4-related disease in a 15-year-old boy. *Chest* 2013; 144:669–71.
38. Deshpande V, Zen Y, Chan JK et al. Consensus statement on the pathology of IgG4-related disease. *Mod Pathol* 2012; 25: 1181–92.
39. Chari ST. Diagnosis of autoimmune pancreatitis using its five cardinal features: introducing the Mayo Clinic’s HISORT criteria. *J Gastroenterol* 2007; 42:39–41.
40. Mimura Y, Kabat EA, Tanaka T, Fujimoto M, Takeo K, Nakamura K.



- Microheterogeneity of mouse antidextran monoclonal antibodies. *Electrophoresis* 1995; 16:116–23.
41. Mimura Y, Nakamura K, Tanaka T, Fujimoto M. Evidence of intra- and extracellular modifications of monoclonal IgG polypeptide chains generating charge heterogeneity. *Electrophoresis* 1998; 19:767–75.
  42. Katzmann JA, Clark RJ, Abraham RS et al. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin Chem* 2002; 48:1437–44.
  43. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP et al. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem* 2001; 47:673–80.
  44. Drayson M, Tang LX, Drew R, Mead GP, Carr-Smith H, Bradwell AR. Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. *Blood* 2001; 97:2900–2.
  45. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Harvey TC, Drayson MT. Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma. *Lancet* 2003; 361:489–91.
  46. Fujinaga Y, Kadoya M, Kawa S et al. Characteristic findings in images of extra-pancreatic lesions associated with autoimmune pancreatitis. *Eur J Radiol* 2010; 76:228–38.
  47. Hamano H, Arakura N, Muraki T, Ozaki Y, Kiyosawa K, Kawa S. Prevalence and distribution of extrapancreatic lesions complicating autoimmune pancreatitis. *J Gastroenterol* 2006; 41:1197–205.
  48. Umehara H, Nakajima A, Nakamura T et al. IgG4-related disease and its pathogenesis-cross-talk between innate and acquired immunity. *Int Immunol* 2014; 26:585–95.
  49. Aalberse RC, Stapel SO, Schuurman J, Rispens T. Immunoglobulin G4: an odd antibody. *Clin Exp Allergy* 2009; 39: 469–77.
  50. van der Neut Kolfschoten M, Schuurman J, Losen M et al. Anti-inflammatory activity of human IgG4 antibodies by dynamic Fab arm exchange. *Science* 2007; 317:1554–7.
  51. Cornell LD, Chicano SL, Deshpande V et al. Pseudotumors due to IgG4 immune-complex tubulointerstitial nephritis associated with autoimmune pancreatocentric disease. *Am J Surg Pathol* 2007; 31:1586–97.
  52. Deshpande V, Chicano S, Finkelberg D et al. Autoimmune pancreatitis: a systemic immune complex mediated disease. *Am J Surg Pathol* 2006; 30:1537–45.
  53. Sah RP, Chari ST. Serologic issues in IgG4-related systemic disease and autoimmune pancreatitis. *Curr Opin Rheumatol* 2011; 23:108–13.

54. Aggarwal R, Sequeira W, Kokebie R et al. Serum free light chains as biomarkers for systemic lupus erythematosus disease activity. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2011; 63:891–8.
55. Gottenberg JE, Aucouturier F, Goetz J et al. Serum immunoglobulin free light chain assessment in rheumatoid arthritis and primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2007; 66:23–7.
56. Grados A, Ebbo M, Boucraut J et al. Serum immunoglobulin free light chain assessment in IgG4-related disease. *Int J Rheumatol* 2013; 2013:426759.
57. Nei T, Urano S, Itoh Y et al. Light chain (kappa/lambda) ratio of GM-CSF autoantibodies is associated with disease severity in autoimmune pulmonary alveolar proteinosis. *Clin Immunol* 2013; 149:357–64.
58. Skvaril F, Morell A, Barandun S. The IgG subclass distribution in 659 myeloma sera. *Vox Sang* 1972; 23:546–51.
59. Aucouturier P, Preud'Homme JL. Subclass distribution of human myeloma proteins as determined with monoclonal antibodies. *Immunol Lett* 1987; 16:55–7.
60. Redegeld FA, van der Heijden MW, Kool M et al. Immunoglobulin-free light chains elicit immediate hypersensitivity-like responses. *Nat Med* 2002; 8:694–701.
61. Kaplan B, Livneh A, Sela BA. Immunoglobulin free light chain dimers in human diseases. *ScientificWorldJournal* 2011; 11: 726–35.
62. Gajewska ME, Rychwicka-Kielek BA, Sorensen K, Kubik M, Hilberg O, Bendstrup E. Immunoglobulin G4-related pleuritis - a case report. *Respir Med Case Rep* 2016; 19: 18–20.
63. Khosroshahi A, Wallace ZS, Crowe JL, et al. International consensus guidance statement on the management and treatment of IgG4-related disease. *Arthritis Rheumatol* 2015; 67: 1688–99.