

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09888

研究課題名(和文)パセドウ病における新規エピトープ認識機構に基づく抗原特異的免疫制御に関する研究

研究課題名(英文) Epitope specific therapy in Graves' disease

研究代表者

稲葉 秀文 (Hidefumi, Inaba)

和歌山県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：70447770

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：パセドウ病(GD)の詳細な発症機構は未解明である。また、新規治療法の開発が望まれている。我々は、ヒトTSH受容体(TSHR)AA78-94がエピトープであることを報告した。本研究の結果1)胸腺やHLA分子の役割と甲状腺自己抗原に着目し、GD、橋本病、免疫チェックポイント阻害剤による甲状腺障害および内分泌障害における様々な抗原や疾患感受性HLAが明らかとなった。2)変異TSHRペプチド数種類を作成して、改良型GD病モデルHLA-DR3TGマウスに接種し、投与間隔、経路並びに溶媒を検討した結果、37mを投与した際に治療効果を認め抗原特異的免疫制御による治療が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、GD並びにGD眼症に関する各個体における詳細かつ確かな病態解析を行い、将来的に安全かつ効果的な治療の開発を目指すものである。本計画の連続的治療戦略は中枢性並びに末梢性免疫抑制を組み合わせ、全身的免疫異常を制御できる。また、治療が困難であり時に致死的であるGDの加療において長期的かつ根本的な治癒をもたらす可能性がある。また、本治療法の確立が、難治性自己免疫疾患に関する治療法の発展につながる。

研究成果の概要(英文)：The detailed mechanism in the development of Graves' disease (GD) is unclear. And novel therapies of GD is warranted. We have previously reported that human TSH receptor (AA78-94) was an important epitope. The aim of this study is 1) to elucidate novel epitope presentation in GD as the complex of thymus, HLA, and autoantigen, and 2) to establish various epitope specific therapy for GD. After the epitope identification study in GD, Hashimoto's thyroiditis, thyroid dysfunction by immune-checkpoint inhibitors (ICIs), and other endocrine diseases by ICIs, various antigen and disease-specific HLAs were identified. Therapeutic role of the mutant human TSH receptor peptide: 37m, was evaluated in this study. GD model of HLA-DR3 transgenic mice was treated with 37m. The thyrotoxicosis was improved, TRAb production was suppressed, and proportion of regulatory T-cells in the spleen was increased.

研究分野：内分泌学

キーワード：パセドウ病

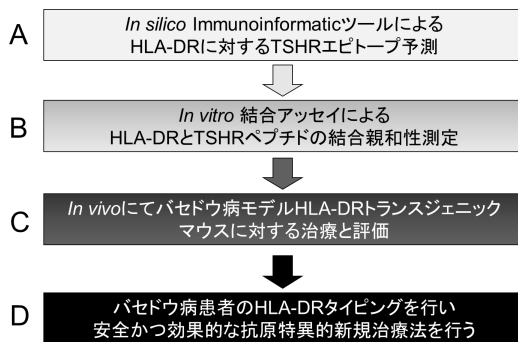
1. 研究開始当初の背景

バセドウ病(GD)は臨床的に最も高頻度に起こる臓器特異的自己免疫疾患である。しかし、その発症機構は未だ解明されていない上に、治療法によっては死亡例もあるため、改善すべき点が多い。

GD は刺激型抗 TSHR 抗体 (TRAb) が甲状腺濾胞細胞を刺激するため甲状腺機能亢進症をきたす疾患である。GD において HLA-class II の関与は重要であり、Caucasian では HLA-DR3 が最も大きな影響を有する。日本人では HLA-DR8 あるいは DR14、HLA-DP5 が疾患発症に関与している。さらに、HLA-class I の中では HLA-B35 や B46 が日本人 GD 危険因子として同定されている。

血中の TSHR 細胞外ドメイン (TSHR-ECD) は、抗原提示細胞 (APC) にエンドサイトーシスされプロセッシングを受ける。GD の主病態は、その後 TSHR-ECD ペプチドが HLA-DR 分子と結合しヘルパー T 細胞 (Th) に提示されることによる、B 細胞からの TRAb の産生である。さらに、制御性 T 細胞 (Treg) が Th の機能を制御している。

図1:バセドウ病に関する研究計画の流れ



2. 研究の目的

申請者は、GD における TSH 受容体 (TSHR) 抗原と HLA-DR 結合モチーフを解明し、新規免疫寛容誘導ペプチドを開発した。

本研究の目的は、それらの知見を基盤として、

1) GD における胸腺や HLA 分子の役割と甲状腺自己抗原に着目し、新たなエピトープ認識機構を明らかにすること、

2) 抗原特異的免疫制御による治療法開発を段階に分けて行うことである。

本研究は、GD 並びに GD 眼症に関する各個体における詳細かつ的確な病態解析を行なうことで、将来的に安全かつ効果的な治療の開発を目指している。

3. 研究の方法

GD に加えて、甲状腺疾患のコントロールとして橋本病 (HT)、免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) による甲状腺障害を検討対象として、さらに、対照として ICI による内分泌障害及び正常コントロールを検討対象に加えて、以下を検討する。

1) 胸腺や HLA-class I 及び II 分子による甲状腺自己抗原提示に着目し、新たなエピトープ認識機構を明らかにすること、

2) その知見を基盤とした GD・GD 眼症の新規治療法として抗原特異的免疫制御を多面的かつ段階的に行うことである。

以下の手順で研究を進めた。

我々の実績に基づく分子免疫プロテオミクス手法を中心とした GD の抗原解析

GD に対する中枢性免疫寛容誘導及び末梢性免疫寛容誘導

抗原特異的 Treg の拡張発展

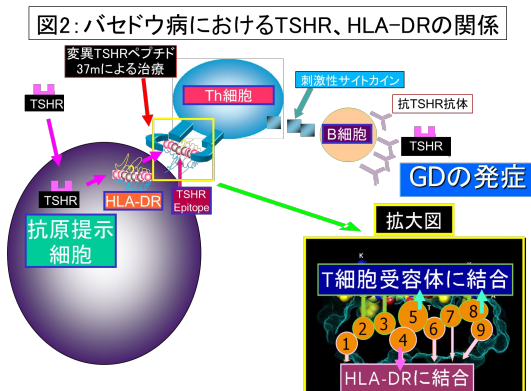
抗原特異的 B 細胞の機能抑制

という副作用の少なく効果の高い治療開発・創薬型開発である。

なお、上記の免疫寛容誘導に関連して、申請者が開発した新規免疫寛容誘導ペプチド：37mについて概説する。

上述のGDのエピトープである hTSHR(AA78-94)の改変ペプチド：37m: ISRIYVSIDATLSQLES は、HLA-DR3TG マウスにおいて、hTSHR37 単独での免疫に比して、37mを共に免疫した場合は、B細胞反応性とT細胞反応性に対する抑制効果が報告されている。

Inaba H, Endocrinology:2013;154:2234-2243)。



4. 研究成果

我々の実績に基づく分子免疫プロテオミクス手法を中心とした甲状腺疾患の抗原解析：GD、HT、免疫チェックポイント阻害剤による甲状腺障害および内分泌障害におけるいくつかの抗原、エピトープ、疾患感受性 HLA に関連した臨床および基礎的特徴が明らかとなった。

GD に対する中枢性免疫寛容誘導及び末梢性免疫寛容誘導の研究成果：

最初に、TSHR-ECD の一部が組み込まれたアデノウィルスを用いた HLA-DR3 トランスジェニックマウスに免疫し GD モデル HLA-DR3 トランスジェニックマウスの作成を試みた。当初は細胞レベルにおける TSHR-ECD の蛋白発現量が少なく、GD としてのフェノタイプの発現に乏しかったため、数回クローニングやシーケンス解析と機能解析をこころみた。

その結果、改良型の GD モデル HLA-DR3 トランスジェニックマウスの作成に成功した。

TRAb 陽性あるいは TSAb 陽性と甲状腺機能亢進症を認め、組織学的には甲状腺濾胞上皮細胞の円柱化とコロイド増大とコロイド内空胞増加を認めた。よって、ヒト臨床モデルに近い GD モデルマウスが作成された。

引き続き、改良型 GD モデル HLA-DR3 トランスジェニックマウスに対して 37m を接種し、その免疫調節作用を評価した。そのコントロールとしては、いくつかの変異 TSHR-ECD ペプチドに加えて、脂溶性および水溶性の他の合成ペプチドやスクランブルペプチドを用いた。

37m の投与経路並びに溶媒を検討した結果、37m を CFA などの脂溶性溶媒に溶解して投与するよりも、水溶性溶媒に溶解して投与した際に甲状腺中毒症と TRAb 産生の抑制、脾臓細胞中の Treg 分画の増加を認めた。

よって、37m は GD モデル HLA-DR3 トランスジェニックマウスにおいて治療効果を有すると思われる。

現在、

抗原特異的 Treg の拡張発展および
抗原特異的 B 細胞の機能抑制
に関する研究を継続している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 9件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Kawai Shintaro, Ariyasu Hiroyuki, Uraki Shinsuke, Takeshima Ken, Morita Shuhei, Inaba Hidefumi, Iwakura Hiroshi, Doi Asako, Ohashi Takuya, Kawago Mitsumasa, Matsuoka Naoki, Okamura Shintaro, Tsujii Satoru, Akamizu Takashi	4. 巻 103
2. 論文標題 Imbalanced Expression of IGF2 and PCSK4 Is Associated With Overproduction of Big IGF2 in SFT With NICTH: A Pilot Study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism	6. 最初と最後の頁 2728-2734
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/jc.2018-00593	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ueda Yoko, Iwakura Hiroshi, Bando Mika, Doi Asako, Ariyasu Hiroyuki, Inaba Hidefumi, Morita Shuhei, Akamizu Takashi	4. 巻 13
2. 論文標題 Differential role of GPR142 in tryptophan-mediated enhancement of insulin secretion in obese and lean mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 198762-198762
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0198762	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takeshima Ken, Ariyasu Hiroyuki, Iwakura Hiroshi, Kawai Shintaro, Uraki Shinsuke, Inaba Hidefumi, Furuta Machi, Warigaya Kenji, Murata Shin-ichi, Akamizu Takashi	4. 巻 9
2. 論文標題 Predominant Improvement of Alpha Cell Function after Steroid Therapy in a Patient with Autoimmune Pancreatitis: Case Report	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Diabetes Therapy	6. 最初と最後の頁 1385-1395
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13300-018-0434-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Shiba Michiru, Inaba Hidefumi, Ariyasu Hiroyuki, Kawai Shintaro, Inagaki Yuko, Matsuno Shohei, Iwakura Hiroshi, Yamamoto Yuki, Nishi Masahiro, Akamizu Takashi	4. 巻 57
2. 論文標題 Fulminant Type 1 Diabetes Mellitus Accompanied by Positive Conversion of Anti-insulin Antibody after the Administration of Anti-CTLA-4 Antibody Following the Discontinuation of Anti-PD-1 Antibody	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 2029-2034
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.9518-17	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ariyasu H, Inaba H, Ota T, Yamaoka H, Furukawa Y, Iwakura H, Doi N, Yamamoto Y, Akamizu T.	4. 巻 32
2. 論文標題 Thyrotoxicosis and Adrenocortical Hormone Deficiency During Immune-checkpoint Inhibitor Treatment for Malignant Melanoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 In Vivo	6. 最初と最後の頁 345-351
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/invivo.11244	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Inaba H, Akamizu T.	4. 巻 2018
2. 論文標題 Postpartum Thyroiditis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, Koch C, Korbonits M, McLachlan R, New M, editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc	6. 最初と最後の頁 1-2
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Inaba H, Ariyasu H, Okuhira H, Yamamoto Y, Akamatsu H, Katsuda M, Jinnin M, Hara I, and Akamizu T.	4. 巻 May
2. 論文標題 Endocrine dysfunctions during treatment of immune-checkpoint inhibitors	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Trends in Immunotherapy	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 稲葉秀文、赤水尚史	4. 巻 9
2. 論文標題 サイトカイン治療による甲状腺機能異常症	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本臨床	6. 最初と最後の頁 543-547
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 稲葉秀文、有安宏之、栗本千晶、岩倉浩、赤水尚史	4. 巻 45
2. 論文標題 免疫チェックポイント阻害剤による内分泌障害	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 癌と化学療法	6. 最初と最後の頁 1031-1035
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ueda Y, Uraki S, Inaba H, Nakashima S, Ariyasu H, Iwakura H, Ota T, Furuta H, Nishi M, Akamizu T.	4. 巻 56
2. 論文標題 Graves' Disease in Pediatric and Elderly Patients with 22q11.2 Deletion Syndrome.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Intern Medicine	6. 最初と最後の頁 1169-1173
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.56.7927	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Bando M, Iwakura H, Ueda Y, Ariyasu H, Inaba H, Furukawa Y, Furuta H, Nishi M, Akamizu T.	4. 巻 447
2. 論文標題 IL-1 directly suppress ghrelin mRNA expression in ghrelin-producing cells.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Mol Cell Endocrinol	6. 最初と最後の頁 45-51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mce.2017.02.032.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 稲葉秀文、有安宏之、赤水尚史	4. 巻 6
2. 論文標題 免疫チェックポイント阻害療法の副作用と対策マネジメント	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 6月17日号
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 稲葉秀文、有安宏之、赤水尚史	4. 巻 10
2. 論文標題 免疫チェックポイント阻害剤と甲状腺機能障害・副腎機能障害	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 10月7日号
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 稲葉秀文、有安宏之、赤水尚史
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害剤における甲状腺障害
3. 学会等名 第91回 日本内分泌学会学術総会 4/26-28 宮崎フェニックス・シーガイア・リゾート (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 稲葉秀文
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害剤における内分泌障害
3. 学会等名 第38回日本皮膚悪性腫瘍学会 7/6-8 浜松アクトシティ (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 稲葉秀文
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害剤による内分泌関連有害事象の傾向と対策
3. 学会等名 糖尿病内分泌連携カンファレンス 11/8 ホテル日航奈良 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 稲葉秀文
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害剤による内分泌関連有害事象の傾向と対策
3. 学会等名 第2回 irAEチーム医療 連携セミナー 11/16 宮崎MRT-micc (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 稲葉秀文
2. 発表標題 甲状腺自己免疫における免疫チェックポイント分子 とHLA拘束性エピトープの研究
3. 学会等名 第61回 日本甲状腺学会 コスミック研究創成賞優秀賞 11/22-24 ウエスタ川越 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hidefumi Inaba, Hiroshi Iwakura, Hiroyuki Ariyasu, Asako Doi, Takayuki Ota, Ken Takeshima, Hiroto Furuta, Masahiro Nishi, and Takashi Akamizu
2. 発表標題 A mutant TSH receptor peptide for treatment of HLA-DR3 transgenic mice with Grave ' s disease
3. 学会等名 第99回 アメリカ内分泌学会 4/1- 4/4 米国オーランド (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 稲葉秀文
2. 発表標題 「パネルディスカッション7 免疫チェックポイント阻害薬の副作用対策 -専門医との連携を焦点に-免疫チェックポイント阻害剤による劇症1型糖尿病への対応」
3. 学会等名 第55回日本癌治療学会学術集会 10/22 パシフィコ横浜 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hidefumi Inaba, Hiroshi Iwakura, Hiroyuki Ariyasu, Asako Doi, Ken Takeshima, Hiroto Furuta, Masahiro Nishi, and Takashi Akamizu
2. 発表標題 Novel peptide treatment for HLA-DR3 transgenic mice with Graves' disease
3. 学会等名 The 12th Asia and Oceania Thyroid Association Congress Busan, Korea 3月16-19日 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 稲葉秀文、山岡博之、竹島健、太田敬之、古川安志、土井麻子、有安宏之、岩倉浩、古田浩人、西理宏、赤水尚史
2. 発表標題 変異TSH受容体ペプチドによるバセドウ病の抗原特異的治療
3. 学会等名 第90回日本内分泌学会学術総会 4月21-23日 京都ロームシアター
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 稲葉秀文
2. 発表標題 甲状腺自己免疫における免疫チェックポイント分子の機能解析
3. 学会等名 2017年10月5-7日 第60回 日本甲状腺学会 コスミック研究創成賞選定講演
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考