

令和 4 年 5 月 2 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07749

研究課題名(和文) AlphaLISA法による免疫介在性有害事象に特異的な自己抗体の探索

研究課題名(英文) Identification of Specific Autoantibodies for imAE by AlphaLISA assay

研究代表者

岩澤 俊一郎 (IWASAWA, Shunichiro)

千葉大学・大学院医学研究院・特任教授

研究者番号：00527913

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：2022年3月時点で180例以上の症例登録と検体確保が得られ、2021年度内にスクリーニングを実施しており、結果が得られ次第、解析を実施する。

今後の解析については、多数の研究経験を有する千葉大学大学院医学研究院 呼吸器内科学・遺伝子生化学の教官からの協力を得ながら実施し、スクリーニング結果をもってirAEに関連する自己抗体の同定を実施する。

免疫介在性有害事象の診断、本研究の解析によって得られた知見についての解釈については、基礎研究面でのサポートとともに、臨床面では千葉大学医学部附属病院にチーム支援体制が構築されており、各領域の臨床専門家の助言を得て、今後検討を行う。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、免疫チェックポイント阻害薬が幅広いがん種に臨床応用され、がん診療に大きな進歩をもたらしている一方で、時に致命的となる免疫介在性有害事象という新たな病態への対応が大きな課題となっている。その病態解明と対策の確立が急務であるが、発症機序やリスク因子などは未だ明らかとなっていない。一部の免疫介在性有害事象に関しては自己抗体との関連が推測されていたが、その関与については明らかにされておらず、本研究によって免疫介在性有害事象の発症に関与する特異的自己抗体の探索が行われ、その関与の可能性についての新規治験を得ることによって、今後の免疫介在性有害事象の予測、発症機序解明に寄与した。

研究成果の概要(英文)：This study is a prospective cohort study to identify specific autoantibodies involved in immune-mediated adverse events by comprehensive analysis by the AlphaLISA method.

As of March 2022, more than 180 cases were registered and samples were secured, and the cumulative number of cases with immune-mediated adverse events was about 15 cases, which was slightly smaller than expected. Furthermore, due to the diversity of immune-mediated adverse events, the primary screening was delayed due to the dispersion of multiple immune-mediated adverse events, but the screening was conducted within 2021, and results were obtained. The analysis will be carried out as soon as it is received. The diagnosis of immune-mediated adverse events and the interpretation of the findings obtained from this study have been analyzed by the Chiba University Clinical Expert Team. Further studies will be conducted with the advice of clinical experts in the field.

研究分野：臨床腫瘍学

キーワード：免疫介在性有害事象 自己抗体 免疫チェックポイント阻害薬 AlphaLISA 悪性腫瘍

1. 研究開始当初の背景

免疫チェックポイント阻害薬は、免疫抑制性分子である programmed cell death-1 (PD-1)・programmed cell death-ligand 1 (PD-L1)・cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4)などに対する抗体薬であり、抑制された抗腫瘍免疫応答を賦活化することによって抗腫瘍効果を発揮する(Pardoll DM. Nat Rev Cancer. 12: 252-64; 2012)。一方で、免疫抑制分子が本来抑制している過剰な自己免疫応答を誘導する場合があります。これらは免疫介在性有害事象と総称され、軽度のものまで含めると、免疫チェックポイント阻害薬が投与された症例の半数以上に発現し、時に致死的となる。

免疫チェックポイント阻害薬は、主に T 細胞の活性化を介してその作用を発揮するが、一部の免疫介在性有害事象では、既存の自己免疫疾患で知見が得られている自己抗体との関連が推測されている(Michot JM, et al. Eur J Cancer. 54: 139-48; 2016)。しかし、免疫介在性有害事象発症後に、これらの自己抗体が検出された症例においても既存の自己免疫性疾患とは異なる病状を示すことも多く、自己抗体が発症および病態に与えている意義は不明確である。さらに、多くの免疫介在性有害事象では、自己抗体の存在の有無そのものや、病態との関連性について明らかにされていない。

一部の施設では、免疫チェックポイント阻害薬の投与前に、不顕性の自己免疫性疾患の検出などの目的で、自己抗体検査が実施されている場合がある。しかし、未発症症例での自己抗体の存在が免疫介在性有害事象発症の危険因子となり得るかは明らかではなく、リスク評価としての事前検査の妥当性と、治療適応判断における意義を検証する必要がある。免疫介在性有害事象の発症と免疫チェックポイント阻害薬の抗腫瘍効果との間には、正の相関関係が示されている(Haratani K, et al. JAMA Oncol. 4: 374-387; 2018)。個々の病態に特異的な自己抗体の同定がなされれば、免疫介在性有害事象の発症リスクの評価・早期診断などが可能となり、適正なベネフィット・リスク評価を通して診療の向上に寄与できる。

逆説的ではあるが、免疫介在性有害事象は、がん免疫療法の過程で希少な自己免疫性疾患を病原性に発症させていると捉えることもできる。免疫介在性有害事象の病態解明は、既存の自己免疫疾患の病態解明にも寄与する可能性がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、AlphaLISA 法による網羅的解析により、免疫介在性有害事象に關する特異的自己抗体の有無を明らかにするとともに、特異的自己抗体の同定を行うことによって、免疫介在性有害事象の診断・発症リスクの適切な評価方法の確立・病態解明に寄与することを目的とした。

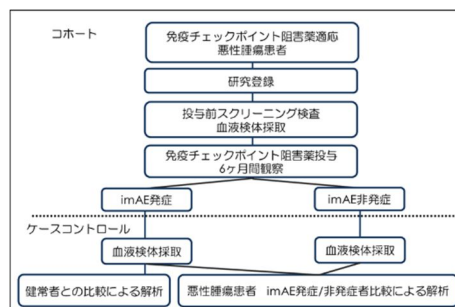
3. 研究の方法

本研究では、前向きコホート研究とすることにより、免疫チェックポイント阻害薬投与前の血液検体を確保し、免疫介在性有害事象発症後の自己抗体およびリスク因子の特定にあたって、健常者および非発症群との比較検証を行うことを可能とした。

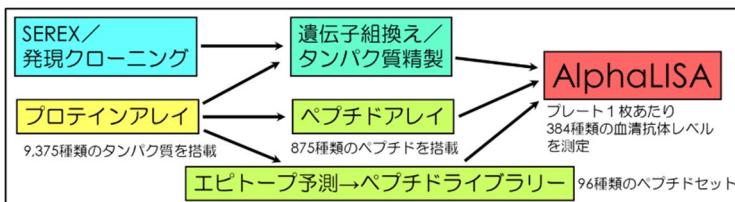
さらに、症例の臨床情報との関連性を検証することができるため、発症リスクのバイオマーカーの探索とともに、臨床背景からのリスク因子検討の確度を高めることができると考えた(図1)。

症例の集積については、本研究の研究代表者は、多様な免疫関連有害事象に対応するための対策支援チームを千葉大学医学部附属病院内に構築し、免疫チェックポイント阻害薬を使用する全ての診療科および協力関係医療機関と連携を行った。診療情報の収集・共有と、診断・治療対応の体制が整っており、対象症例の効率的な集積が可能であり、また、本研究で得られた自己抗体、及び、臨床情報の知見の解釈について、この支援体制に協力する各領域の専門家からの多面的な評価を得ることとした。

免疫関連有害事象に関する特異的自己抗体の網羅的検索についての報告がないことの要因のひとつは自己抗体の網羅的探索が極めて困難な作業であるためだが、1次スクリーニングにプロテインアレイ法を用い、段階的なスクリーニング法によって効率的な研究推進に努めた(図2)。



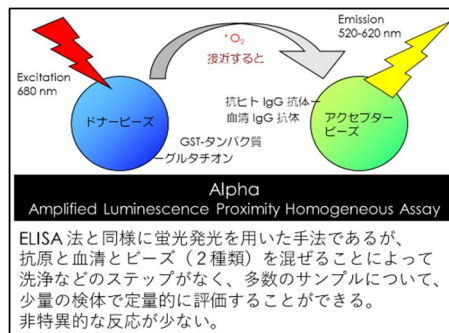
【図1: 研究デザインの概要】



【図2: 自己抗体の1次・2次スクリーニングの概要】

候補が検出された後は、AlphaLISA法を用いて、従来のELISA法では困難であった多数の抗体の定量的評価を行い、効率的に網羅的解析を実施した（図3）。

AlphaLISA法は技術的難度が高く、世界的にも実施可能施設が極めて限られている手法である。既に手技を確立し、AlphaLISA法による研究成果を得ている(Kobayashi S, et al. Oncotarget. 7: 82493-82503; 2016)千葉大学大学院医学研究院遺伝子生化学教室の協力を得て実施した。



免疫介在性有害事象としては、間質性肺障害、大腸炎、【図3: AlphaLISA法の概要】

甲状腺機能低下症、肝障害、皮疹、下垂体炎、1型糖尿病

、腎機能障害、重症筋無力症、筋炎、末梢神経障害、ぶどう膜炎などが代表的であるが、本研究においては、その他の有害事象についても、対象者の身体所見および臨床検査所見から担当医が免疫介在性有害事象であると診断したものと定義し、下痢・皮疹などの軽微なものについては他疾患との鑑別が困難であることから除外した。

1) 免疫介在性有害事象を発症した症例における特異的抗体の探索

1次スクリーニング:

免疫介在性有害事象を合併した症例の血清と、非合併症例血清、健常者血清、各5例をプロテインアレイ法またはSEREX/発現クローニング法で比較し、発症症例において高値となるタンパク・抗体の選別を行った。

2次スクリーニング:

抗原タンパク質、及び、抗原ペプチドを調製し、免疫介在性有害事象を合併した症例、非合併症例血清、健常者血清を用いて、AlphaLISA法により抗体レベルを定量的に比較し、発症群において有意に高い値を示す抗体マーカーを選別する。

3次スクリーニング:

症例集積を継続し、可能な限り多数の免疫介在性有害事象発症症例の集積を図り、2次スクリーニングで得られた結果の再現性について検証を行う予定であった。

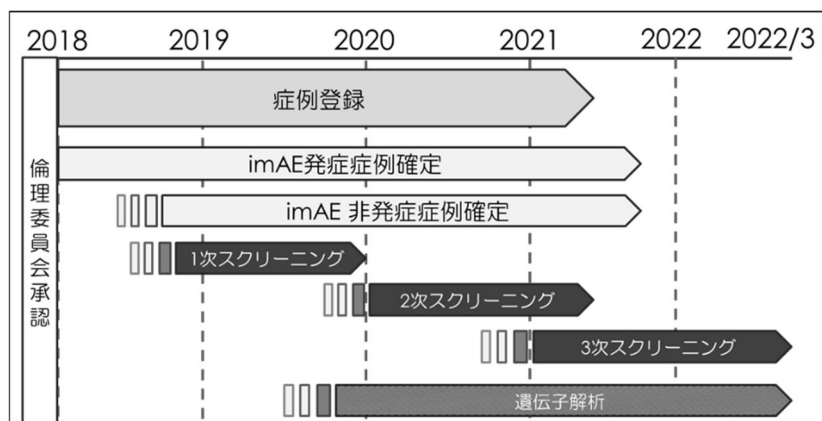
免疫介在性有害事象発症例における臨床背景との相関に関する研究:

- によって得られた免疫介在性有害事象発症症例の特異的抗体と臨床背景についての相関関係について、提供された診療情報をもとに検証を行う。さらに、特異的抗体の定量的評価と免疫介在性有害事象の臨床像・治療反応性・重症度との関連性について検討を行う。

以下については、本研究の結果に基づいて探索的に追加検討が行われる可能性がある。

遺伝子解析:

血清よりタカラバイオ株式会社 NucleoSpin Plasma XS®などを用いて微量循環DNSを抽出し、標的とする遺伝子型、および、網羅的解析として次世代シーケンサによる解析を実施する。免疫介在性有害事象の発症と相関する遺伝子については現時点では明らかとはなっていないが、近い将来にその知見が集積されるものと想定している。現時点で標的遺伝子を確定することは困難であるため、新規知見を収集することによって対象を選定し、網羅的解析を含めた検証について計画する。



【図4: 本研究計画のスケジュールの概要】

4. 研究成果

本研究の目的は、AlphaLISA法による網羅的解析により、免疫介在性有害事象に関与する特異的自己抗体の有無を明らかにするとともに、特異的自己抗体の同定を行うことによって、免疫介在性有害事象の診断・発症リスクの適切な評価方法の確立・病態解明に寄与することである。

本研究は前向きコホート研究となっており、研究責任者の所属する千葉大学医学部附属病院

の各診療科、多数のがん種についての症例登録と、研究協力医療機関である千葉県がんセンター呼吸器内科からの症例登録を進めた。

COVID-19の影響により登録進捗が大幅に遅延したものの、2022年3月時点で180例以上の症例登録と検体確保が得られ、免疫介在性有害事象発症症例については、15例ほどと、想定よりやや累積数は少なかった。さらに、免疫介在性有害事象の多様性から、複数の免疫介在性有害事象に分散していることから、1次スクリーニングの実施が遅延したが、2021年度内にスクリーニングを実施しており、結果が得られ次第、解析を実施する。

今後の解析については、多数の研究経験を有する千葉大学大学院医学研究院 呼吸器内科学・遺伝子生化学の教官からの協力を得ながら実施し、スクリーニング結果をもってirAEに関連する自己抗体の同定を実施する。

免疫介在性有害事象の診断、本研究の解析によって得られた知見についての解釈については、基礎研究面でのサポートとともに、臨床面では千葉大学医学部附属病院にチーム支援体制が構築されており、各領域の臨床専門家の助言を得て、今後検討を行う。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 岩澤俊一郎, 齋藤, 鹿野幸平, 日野葵	4. 巻 3
2. 論文標題 免疫介在性有害事象 (imAE) 発症のリスク因子についての考察	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Precision Medicine	6. 最初と最後の頁 97-101
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0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------