

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K08779

研究課題名(和文) 抗PD-1抗体投与による濾胞性ヘルパーT細胞とCD4+T細胞の変動の意義

研究課題名(英文) T follicular helper cell changes after immune checkpoint inhibitor treatment in melanoma

研究代表者

加藤 潤史 (Kato, Junji)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：00464488

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：免疫チェックポイント阻害薬投与前および投与中の末梢血を用いて解析した。治療によりTfh細胞の数は変わらないが、活性化したTfh細胞は増えている症例が観察された。Tfh細胞の活性化は免疫チェックポイント阻害薬投与後の早期(2週間後)に観察されていた。解析の結果、治療後にTfh細胞の活性化が"奏効例や副作用がみられた症例"で確認された。また、PD-1単剤よりもCTLA-4抗体を併用した症例でより顕著に活性化がみられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫チェックポイント阻害薬(ICI)の効果や副作用にはCD8+T細胞が重要であるが、CD4+T細胞の関連性は未だ不明なことが多い。今回の研究は免疫チェックポイント阻害薬投与前および投与中の末梢血を用いてCD4+T細胞のなか濾胞性ヘルパーT (Tfh) 細胞に注目して研究を行った。研究でTfh細胞の活性化が免疫チェックポイント阻害薬投与後におこった患者で、免疫が動く(効果や副作用がみられる)ことが観察できた。Tfh細胞の活性化は投与後早期(2週間後)に観察されることがわかった。そのため、活性化がおこるかどうかの評価は治療前と投与後約2週間後のツーポイントで行うことで評価ができそうと考えた。

研究成果の概要(英文)：T follicular helper (Tfh) cells are a subset of CD4+ T cells that regulate mainly antibody production by B cells in the follicular center. The proliferation of circulating Tfh (cTfh) cells is observed in autoimmune diseases including rheumatoid arthritis and immunoglobulin G4 (IgG4)-related diseases. Immune checkpoint inhibitors (ICIs) induce various autoimmune adverse events, but the underlying mechanism is not fully understood. We examined the changes of cTfh cells, the activated cTfh ([ICOS]⁺ cTfh cells), and circulating Tfr (cTfr, Foxp3⁺ cTfh) cells including their relationships with the clinical response and immune-related adverse events (irAEs) in ICI treatment. The cTfh cells did not change after ICI treatment (p=0.476) in any patient, whereas the activated cTfh cells were significantly increased after ICI treatments in four patients who achieved a clinical response or exhibited serious irAEs compared to the other patients.

研究分野：皮膚がん

キーワード：Tfh細胞 免疫チェックポイント阻害薬 悪性黒色腫

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

抗 PD-1 抗体は様々ながん腫 (悪性黒色腫、肺がん、腎細胞癌、ホジキンリンパ腫、頭頸部癌、胃がん) に用いられているが、腫瘍組織中の CD8⁺細胞の浸潤が免疫チェックポイント阻害薬の治療効果のバイオマーカーとして報告がされている。しかし、抗 PD-1 抗体治療と CD4⁺細胞の関連はまだ明らかでない。特に、末梢血中の CD4⁺細胞サブセットの変化や動態については全く解明されていない。また、腫瘍細胞の MHC クラス I の発現は抗 PD-1 抗体の効果発現の予測因子として知られているが、最近、MHC クラス II と抗 PD-1 抗体の治療効果の関連も注目されている。つまり、CD8⁺T 細胞だけではなく、それを制御している CD4⁺ヘルパー T 細胞の役割を解析する必要性が出てきている。

過去に研究代表者は腫瘍細胞における MHC クラス II の発現の、その後に再投与した PD-1 抗体が著効した症例を報告した。そのため、MHC クラス I 及び CD8⁺T 細胞だけでなく、MHC クラス II および CD4⁺T 細胞についても検討が必要と考えた。特 CD4⁺T 細胞のサブセットである濾胞性ヘルパー T 細胞 (Tfh 細胞) がどのように変化するかどうかは不明なことが多く、濾胞性ヘルパー T 細胞には、PD-1 など機能調節に関わる細胞表面分子群が多く発現していることから、抗 PD-1 抗体の投与に伴う濾胞性ヘルパー T 細胞の機能変容が治療効果や副作用発生と関連している可能性があると考えた。今回の研究では、免疫チェックポイント阻害薬治療患者において、Tfh 細胞が治療効果や副作用の予測マーカーとして応用できるかどうかを解明したいと考え研究を開始した。

2. 研究の目的

免疫チェックポイント阻害薬の投与前後の末梢血 CD4⁺細胞サブセットである濾胞性ヘルパー T 細胞 (CD4⁺CXCR5⁺) の変動を解析し、その動態を明らかにする。

3. 研究の方法

研究同意を得られた悪性黒色腫患者に対して、免疫チェックポイント阻害薬投与前および投与中 (2 週間 4 週間 8 週間) の末梢血を用いてフローサイトメトリーで解析した。Tfh 細胞以外にも、その制御にかかわっている Tfr 細胞 (FOXP3⁺Tfh 細胞) についても解析をお行った。治療効果ならびに副作用が出現した群 (免疫が動いた群) と 効果も副作用もでなかった群 (免疫が動かなかった群) とに分けて解析した。

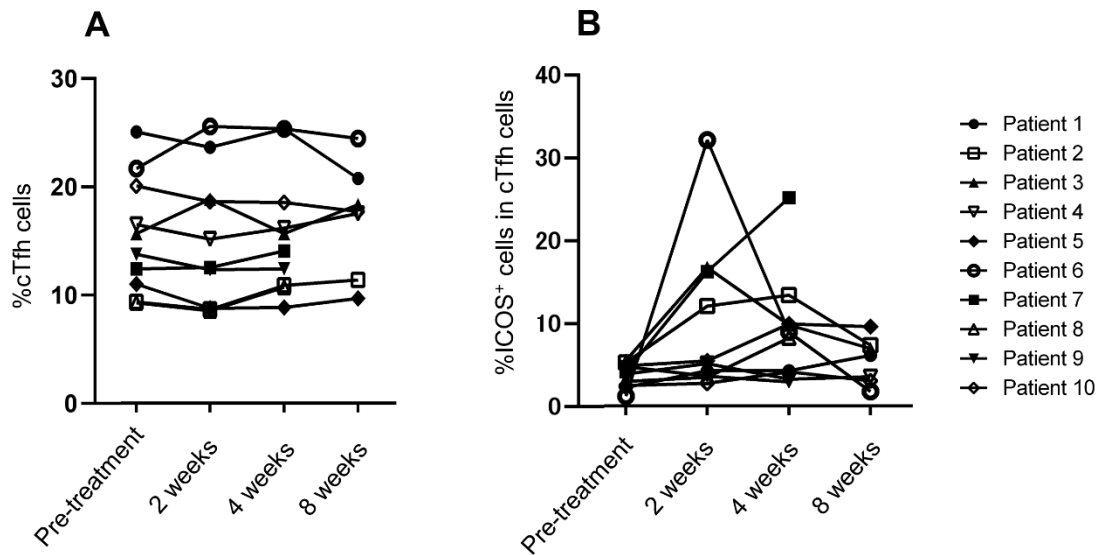
4. 研究成果

同研究の結果は現在英文論文を投稿中。

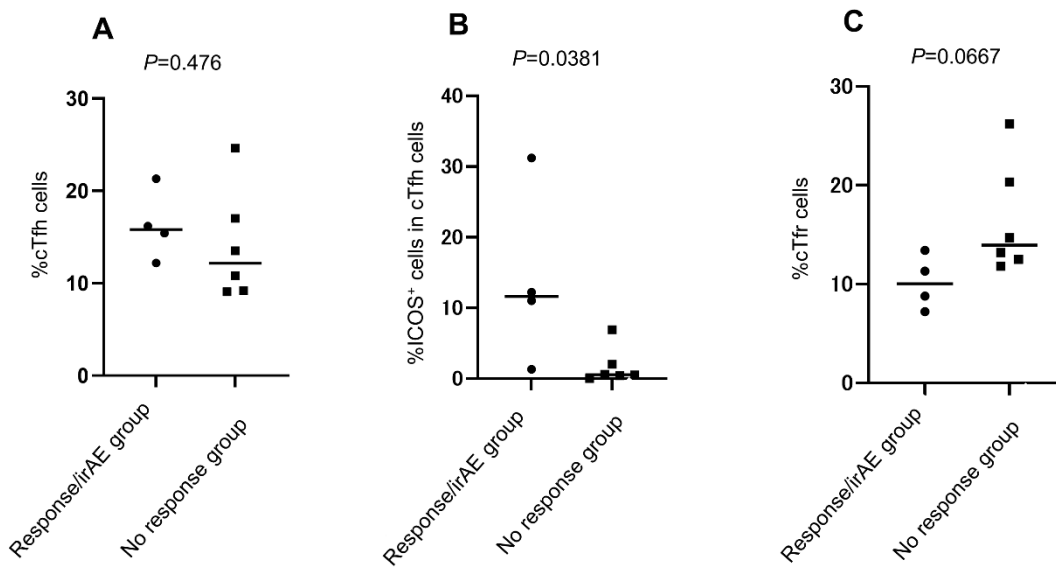
T follicular helper cell changes after immune checkpoint inhibitor treatment in patients with melanoma

We examined the changes of cTfh cells, the activated cTfh ([ICOS]⁺ cTfh cells), and circulating Tfr (cTfr, Foxp3⁺cTfh) cells including their relationships with the clinical response and immune-related adverse events (irAEs) in ICI treatment. Peripheral blood samples were obtained from 10 patients with melanoma at the time points of pre-treatment and 2, 4, and 8 weeks after the administration of ICI therapy. The cTfh cells did not change after ICI treatment (p=0.476) in any patient, whereas the activated cTfh cells were significantly increased after ICI treatments in four patients who achieved a

clinical response or exhibited serious irAEs compared to the other six patients ($p=0.0381$). The regulatory cTfh cells were low (but not significantly, $p=0.0667$) in four patients who achieved a clinical response or experienced a severe irAE. We then examined the change of the cell surface markers of Tfh cells by anti-PD-1 antibody (nivolumab) in vitro. Both the expression and the mean fluorescence intensity of PD-1 in cTfh cells were increased by nivolumab, indicating that nivolumab directly induced the activation of cTfh cells.



A: Percentage of circulating T follicular helper (cTfh) cells in CD4⁺ T cells at pretreatment and at 2, 4, and 8 weeks of ICI treatment. **B:** The percentage of inducible T-cell co-stimulator (ICOS⁺) cells in cTfh cells at pretreatment and at 2, 4, and 8 weeks of ICI treatment. Patients #6 and #7 received a combination of anti-PD-1 and anti-CTLA-4 treatment; the other patients received anti-PD-1 monotherapy.



A: The percentages of cTfh cells in CD4⁺ T cells before treatment (baseline) in the response/irAE group and the no-response group. **B:** The percentages of ICOS⁺ cells in cTfh cells at 2 weeks after the initiation of ICI treatment in the response/irAE group and no-response group. **C:** Baseline levels of circulating T follicular regulatory (cTfr) cells before treatment in the response/irAE and no-response groups.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
研究分担者	亀倉 隆太 (Kamekura Ryuta) (70404697)	札幌医科大学・医学部・講師 (20101)	

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