

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：13901

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2022

課題番号：19K23843

研究課題名(和文) 免疫チェックポイント分子に注目した劇症型心筋炎治療法の開発

研究課題名(英文) Development of novel treatment for fulminant myocarditis focusing on immune checkpoint molecules

研究代表者

平岩 宏章 (Hiraiwa, Hiroaki)

名古屋大学・医学部附属病院 循環器内科・病院助教

研究者番号：10844904

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,100,000円

研究成果の概要(和文)：リンパ球性劇症型心筋炎(FM)は機序不明の致死性の疾患である。本研究は、16人のFM患者を対象に、CD4、CD8、FoxP3、PD-1陽性T細胞数、心筋細胞におけるPD-L1の発現と心イベントとの関連を調べた。心臓イベントのあった患者のCD8陽性T細胞数やCD8陽性/CD4陽性T細胞比が有意に高く、PD-L1高発現群やCD8高値-PD-L1高発現群では生存率が低かった。また、CD8陽性T細胞とPD-L1の発現を組み合わせることで、心イベントのリスク層別化が可能であることが示唆された。本研究は、FM患者の予後を予測するための新たな知見を提供し、将来的に新たな治療戦略の開発に役立つことが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

リンパ球性劇症型心筋炎(FM)は致死的な疾患であり、劇症化メカニズムや治療開発に対する社会的ニーズが非常に高い。本研究では、T細胞プロファイルおよび免疫チェックポイント分子であるPD-1およびPD-L1の発現に注目した。結果、FM患者のうち、CD8陽性T細胞数およびCD8陽性/CD4陽性T細胞比が高い群で予後が悪いこと、PD-L1高発現群やCD8高値-PD-L1高発現群で生存率が低く、CD8陽性T細胞とPD-L1の発現を組み合わせることで、予後層別化が可能であることを示した。本研究の結果は、FM患者の予後を予測するための新たな知見を提供し、将来的に新たな治療戦略の開発に役立つことが期待される。

研究成果の概要(英文)：This study investigated the relationship between T cell markers and PD-L1 expression in myocardial tissue and the prognosis of patients with fulminant lymphocytic myocarditis (FM). We analyzed 16 FM patients and found that the number of CD8+ T cells and CD8+/CD4+ T cell ratio were significantly higher in the group with cardiac events (composite of cardiac death and left ventricular assist device implantation). Additionally, the number of FoxP3+ T cells was higher in the cardiac event group, and PD-L1 expression in myocardial cells was also higher in the same group. Kaplan-Meier survival analysis revealed that high CD8+ T cell count or high PD-L1 expression in the myocardium could be poor prognostic factors in FM. Combining the expression of CD8+ T cells and PD-L1 could potentially help stratify the risk of cardiac events in FM. This study provides new insights into the mechanism and prognosis of fatal FM, which could aid in the development of new treatment strategies in the future.

研究分野：重症心不全

キーワード：劇症型心筋炎 リンパ球性心筋炎 免疫チェックポイント分子 PD-1, PD-L1 活性化T細胞 予後

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 心筋炎発症・重症化の正確な分子生物学的機序はいまだに不明である。

心筋炎の発症要因は様々であるが、実臨床上最も多いとされるウイルス性心筋炎においても、ウイルス抗体価陽性率は10%に過ぎず、PCR法による原因ウイルスの特定や感染臓器の同定も容易ではない。重症化には外的要因に対する過剰な自己免疫応答が関与するとされるが詳細なメカニズムは明らかではない(Nat Med. 2003)。また炎症性サイトカインや一酸化窒素は高濃度になると心筋細胞の機能を抑制し、さらには細胞傷害をも惹起をするためステロイド短期大量療法や大量免疫グロブリン療法による介入法が検討されるものの、効果については評価が定まっていない(JCS 2009 急性および慢性心筋炎の診断・治療に関するガイドライン)。

### (2) 心筋炎発症時にみられる PD-1 および PD-L1 の発現亢進は過剰な炎症を抑制する。

免疫チェックポイント分子である PD-1 および PD-L1 は免疫応答の調整に重要な働きをしており、心筋炎モデルマウスでの検討では PD-L1 は心筋内皮細胞に過剰発現しており、抗 PD-1 抗体投与にて PD-1 機能の抑制を行うと心筋内の IFN- $\gamma$  や CD40 発現はさらに上昇するとされる(Cardiovasc Res. 2007, Circulation. 2007)。

### (3) 抗がん剤である免疫チェックポイント阻害薬使用による心筋炎合併の報告が散見される。

近年、イピリムマブやニボルマブなどの免疫チェックポイント阻害薬は、その卓越した抗がん作用にて使用頻度が急増しているが、合併症の一つである心筋炎が問題視されている。薬剤使用による心筋炎発症頻度は0.06%、重症心筋炎は0.01%未満と報告されていたが(N Engl J Med. 2016)、それを上回る報告がある。研究代表者らが経験したニボルマブ(抗 PD-1 抗体)使用後に発症した劇症型心筋炎症例では、心筋への PD-1 陰性の T 細胞浸潤および、PD-L1 発現の著明な亢進を認めた(Can J Cardiol. 2018)。このことから、ニボルマブによって過剰な心筋炎症・障害が生じたと考えられた。

### (4) 免疫チェックポイント阻害薬使用に関わらず心筋炎発症・劇症化進展に PD-1、PD-L1 発現が関与している可能性がある。

PD-1 は活性化 T 細胞の表面に発現する受容体であり、T リンパ球の過剰な活性化を抑制する。コクサッキーウイルス B3 を感染させたウイルス性心筋炎モデルマウスでは心筋炎症は抗 PD-1 抗体で増強し、PD-L1 刺激抗体で減弱したという報告がある(Cardiovasc Res. 2007)。さらに研究代表者らが経験した数例の心筋炎症例では、炎症の重症度に比例して心筋細胞での PD-L1 発現は上昇する一方、炎症が遷延する劇症化症例では浸潤リンパ球の PD-1 発現は低いことを見出した。以上から心筋に対する T リンパ球による過剰な攻撃を終息させるためには、T リンパ球の PD-1 発現と、心筋組織での PD-L1 発現が必須であり、重症化する心筋炎症例では浸潤リンパ球での PD-1 発現が低いいため、十分な PD-1 発現を誘導する方法の検索は心筋炎に対する新規治療法に繋がる可能性を秘めている。

## 2. 研究の目的

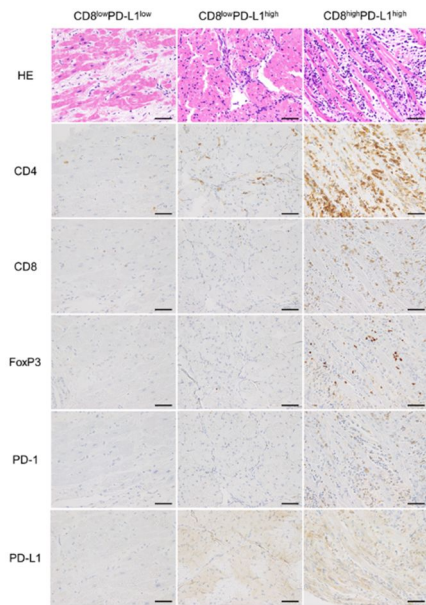
- (1) 急性心筋炎における PD-1、PD-L1 発現が心筋炎発症や劇症化へ関与しているかを検証すること
- (2) 検証結果を基に、免疫応答を介した特異的な心筋炎治療法を開発すること

## 3. 研究の方法

- (1) 組織学的診断した免疫チェックポイント阻害薬使用歴の無いリンパ球性劇症型心筋炎患者16例を対象とした。
- (2) 心筋炎急性期における心筋生検で得られたパラフィン標本を用いて心筋病理組織における免疫染色(CD4、CD8、FoxP3、PD-1、PD-L1)を行い、T細胞プロファイルおよびPD-1、PD-L1陽性率を計測した。
- (3) 心筋における免疫細胞の発現と予後との関連を調査の影響を検討した。心イベントは、心臓死と左室補助循環装置(LVAD)の植込みの複合イベントと定義した。

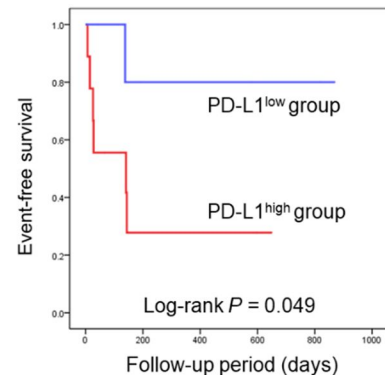
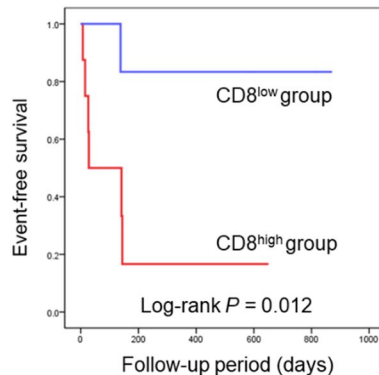
#### 4. 研究成果

- (1) リンパ球性の劇症型心筋炎 (FM) 患者における CD4、CD8、FoxP3 または PD-1 陽性 T 細胞数、および心筋細胞における PD-L1 の発現と予後への影響を検討した。2018 年 6 月から 2020 年 3 月までに入院した FM 患者 16 名について解析した。フォローアップ期間の中央値は 140 日であった。心イベントは、心臓死と左室補助循環装置 (LVAD) の植込みの複合と定義した。発症時に心筋生検により採取した心筋組織標本に対して、CD4、CD8、FoxP3、PD-1、PD-L1 の免疫染色を行った。

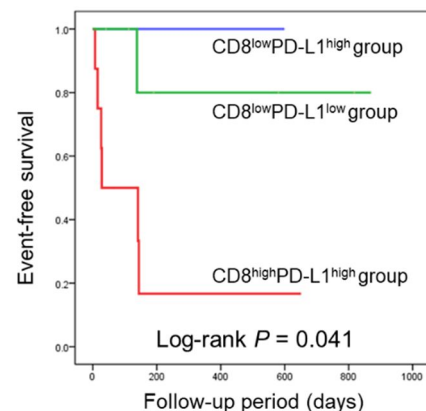


- (2) 年齢中央値は 52 歳、男性 7 名、女性 9 名、7 名で心イベントを認めた (院内死亡 6 名、LVAD 植込み 1 名)。心イベント群と心イベントなし群の比較では CD4+T 細胞数に有意差はなかったが、CD8+T 細胞数および CD8+/CD4+T 細胞比は心イベント群で有意に高かった ( $P=0.048$  および  $P=0.022$ )。FoxP3+T 細胞数は心イベント群で多かった。PD-1+細胞数には両群間に有意差はなかったが、心筋細胞の PD-L1 発現は心イベント群で高かった。Kaplan-Meier 生存解析では、CD8+T 細胞

数高値群 ( $P=0.012$ )、PD-L1 高発現群 ( $P=0.049$ ) で生存率が有意に低かった。



- (3) CD8+T 細胞数と PD-L1 発現量に基づき、CD8<sup>high</sup>-PD-L1<sup>high</sup>、CD8<sup>low</sup>-PD-L1<sup>high</sup>、CD8<sup>low</sup>-PD-L1<sup>low</sup> の 3 群に分けたところ、CD8<sup>high</sup>-PD-L1<sup>high</sup> 群は予後が最も悪かったが、CD8<sup>low</sup>-PD-L1<sup>high</sup> 群は有意に予後が良好だった ( $P=0.041$ )。FM 患者において心筋での CD8+T 細胞または PD-L1 の高発現は予後不良因子である可能性がある。さらに、CD8+T 細胞と PD-L1 の発現を組み合わせることで、FM における心イベントのリスク層別化が可能になる可能性が示唆された。本研究では、新たな心筋炎治療法の開発まで到達することはできなかったが、本研究結果は、リンパ球性劇症型心筋炎患者の予後を予測するための新たな知見を提供し、将来的に新たな治療戦略の開発に役立つことが期待される。



- (4) 主な発表論文等

今後、本研究結果について、学会発表予定である。また論文化し、現在投稿中である。また本研究の中で経験した一症例について症例報告し、論文化した。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Hiraiwa H, Furusawa K, Kazama S, Kimura Y, Shibata N, Arai Y, Oishi H, Kato H, Kuwayama T, Yamaguchi S, Kondo T, Sawamura A, Morimoto R, Okumura T, Murohara T.	4. 巻 82(3)
2. 論文標題 Fulminant myocarditis with myositis of ocular and respiratory muscles	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nagoya J Med Sci.	6. 最初と最後の頁 585-593
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18999/nagjms.82.3.585.	査読の有無 有
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 該当する

〔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
---------	---------