

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08785

研究課題名(和文) 免疫チェックポイント阻害療法副作用マネージメントのための免疫モニタリング法の樹立

研究課題名(英文) Immunological monitoring of the management of the immune-related adverse events

研究代表者

川畑 仁人 (KAWAHATA, Kimito)

聖マリアンナ医科大学・医学部・教授

研究者番号：70334406

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：免疫チェックポイント阻害療法施行前後で保存された末梢血単核球(62例、免疫関連有害事象(irAE)は22例)を用いて、FACSによりTph細胞や自己免疫関連B細胞(T-bet+B細胞)の同定を行った。これらの細胞は免疫チェックポイント阻害療法後もしくはirAE後に有意に上昇してはいなかった。しかし末梢血中でこれらのリンパ球が顕著に変動する症例も見いだされた。ペムブロリズマブ投与中に筋炎を発症した例では、CD19陽性細胞中、自己免疫関連B細胞の割合は発症前3.5%であったが発症後(irAE発症後10日)は10.5%であった。また細胞障害性分子を有するTph細胞の検出も多くの例で認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究はがん免疫治療副作用マネージメントへの免疫モニタリングの導入であり、従来の副作用マネージメントとは全く発想が異なる。疾患が生じてから、症候や検査値異常をもとにそれを発見しマネージメントを開始するのではなく、本治療法により増大する自己免疫関連T細胞およびB細胞の出現を検出する方法であり、独自性、汎用性が高い。すなわち早期発見とともにがん免疫療法再開の判断などに役立つ。更に、本研究は、薬剤投与からT細胞の活性化、B細胞への影響までを通して明らかにできる点で、ヒト免疫学、特に自己免疫疾患の病態理解への貢献が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Tph cells (CD200 + CXCR5-PD-1 + CD4 + T cells) and autoimmune-related B cells (CD21lowCD11c+T-bet+B cells) in peripheral blood mononuclear cells (62 patients, 22 of whom had immune-related adverse events) were identified using FACS. These cells were not significantly elevated after immune checkpoint inhibition therapy or immune-related adverse events. However, some cases were found in which the proportion of these autoimmune-related lymphocytes were remarkably elevated. In patients who developed immune-related adverse events of myositis during pembrolizumab administration, the percentage of autoimmune-related B cells among CD19-positive cells was 3.5% before onset, but after onset (10 days after onset of immune-related adverse events) was 10.5%. We also detected Tph cells with cytotoxic molecules in many cases.

研究分野：リウマチ学、膠原病学

キーワード：免疫関連有害事象 PD-1 免疫チェックポイント阻害療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

免疫チェックポイント阻害薬は、悪性腫瘍の治療において、従来の手術、化学療法/抗癌剤、放射線療法の3大療法とは全く異なる第4の柱と位置付けられている。しかし、高頻度に皮膚炎、腸炎、間質性肺炎などの様々な自己免疫疾患(各薬剤60~85%、併用時95%)が生じることが明らかになってきた。これが免疫関連有害事象(irAEs; Immune related adverse effects)と呼ばれる副作用である。この病態は十分に解明されておらず、モニタリング法が確立していないため、発生してから対応するのみで、治療上大きな問題となっている。

近年、海外の研究者(Nature. 2017;542:110.)および研究代表者(Sci Rep. 2017;7:46037.)らが独立に自己免疫疾患に関係する新規T細胞サブセットであるPD-1+CXCR5-CD4+ T細胞(TPH細胞)を明らかにした。我々は、自己免疫マウスモデルでTPH細胞が抗PD-1抗体により増大すること、自己免疫疾患を生じるヒトCLTA4部分欠損症でTPH細胞が出現することを明らかにしており、抗PD-1抗体や抗CTLA-4抗体を用いる免疫チェックポイント阻害療法におけるirAE出現にTPH細胞が重要な役割を担っていると考えられる。また自己免疫関連B細胞としてT-bet+CD11c+B細胞(ABCs; age-associated B cells)も同定されるようになってきた。そこで、本研究では、免疫チェックポイント阻害薬使用前後の患者末梢血を用いて、この新規T細胞およびB細胞サブセットの動態を確認し、irAE発現との関係を明らかにすることを着想した。

2. 研究の目的

本研究は、免疫チェックポイント阻害薬使用前後の検体を用いて、自己免疫疾患関連新規T細胞およびB細胞サブセットの動態とirAEとの関連につき明らかにすることを目的とする。これにより、irAEの病態が明らかになり、副作用モニタリング法の開発とともに将来的な治療ターゲットの同定・開発につながる重要な知見を得ることができる。この研究の目指しているのは腫瘍治療マネージメントへの免疫モニタリングの導入であり、従来の副作用マネージメントとは全く発想が異なる。疾患が生じてから、症候や検査値異常をもとにそれを発見しマネージメントを開始するのではなく、免疫チェックポイント阻害療法の作用により増大する自己免疫関連T細胞およびB細胞の出現を早期に検出する方法である。

3. 研究の方法

免疫チェックポイント阻害療法前後の患者末梢血におけるTPH細胞および自己免疫関連B細胞をフローサイトメトリーを用いて検出する。Tph細胞はCD200+CXCR5-PD-1+CD4+T細胞として、自己免疫関連B細胞はCD11c+T-bet+B細胞として同定する。経時的に検討し、これらのリンパ球サブセット頻度とirAE出現との関連を明らかにする。TPH細胞についてはさらGranzymeやPerforinなどの細胞障害性分子を発現している細胞群と発現を認めない細胞群にわかれていることを掴んでおり、これらの分子の発現も検討する。

当院を受診した患者で免疫関連有害事象患者と診断または疑いの患者、及び免疫チェックポイント阻害薬治療を予定の患者に研究の説明を行い、患者本人の自由意思による同意を文書で得る。患者末梢血単核球を用いてFACSによりTPH細胞、自己免疫関連B細胞を同定し、患者臨床データ(悪性腫瘍の種類、irAEの重症度、自己抗体価、画像所見、治療反応性など)との関連性を解析する。検体の採取時期に関しては、irAEと診断された方の場合、irAE発症時とirAEに対する治療開始4週間(±2週)後、8週間(±2週)後の計3回行う。免疫チェックポイント阻害薬新規開始の場合には、免疫チェックポイント阻害薬開始前と、阻害薬開始4週間(±2週)後、8週間(±2週)後、16週間(±2週)後、24週間(±2週)後の計5回、検体を採取する。

4. 研究成果

免疫チェックポイント阻害療法施行前後で保存された末梢血単核球(62例、免疫関連有害事象は22例)を用いて、FACSによりTph細胞(CD200+CXCR5-PD-1+CD4+T細胞)や自己免疫関連B細胞(CD11c+T-bet+B細胞)の同定を行った。これらの細胞は免疫チェックポイント阻害療法後もしくは免疫関連有害事象後、統計学的に有意な上昇は示せなかったものの、末梢血中でこれらの自己免疫関連リンパ球が顕著に増加する症例も見いだされた。

ペムプロリズマブ投与中に筋炎の免疫関連有害事象を発症した例では、CD19陽性細胞中、自己免疫関連B細胞の割合は発症前3.5%であったが発症後(免疫関連有害事象発症後10日)は10.5%であった(図1)。また細胞障害性分子を有するTph細胞の検出もその多くの例で認められた。またアテゾリムマブ投与により発症した筋炎例でもCD19陽性のうち、自己免疫関連B細胞の割合は投与前(免疫関連有害事象発症前118日)16.8%から投与128日後(免疫関連有害事象発症後10日)29.5%と増加を認めた。

Tph細胞もニボルマブ(図2ではopsi)やペンプロリズマブ(図2ではPemb)使用后、種々の免疫関連有害事象後に上昇を認めた例も確認された。通常Tph細胞はCD4T細胞の3%前後であるが、これらの例では図2に示すように7.5~15%と上昇を認めている。

以上より、本研究で行ったTph細胞や自己免疫関連B細胞の検出を行う免疫学的モニタリング

は症例により免疫関連有害事象と密接な関連があったことより、今後の免疫チェックポイント阻害療法の副作用モニタリングに有用であることが示唆された。一方で統計学的な有意差が示せなかったことは、その理由として多様な免疫関連有害事象がありその病態も多様であった可能性が考えられる。今後、どのような症例にこの免疫モニタリングが有用化を明らかにするには更なる症例の蓄積が必要と考える。

図 1 ; 自己免疫関連 B 細胞が免疫関連有害事象発症後上昇した例

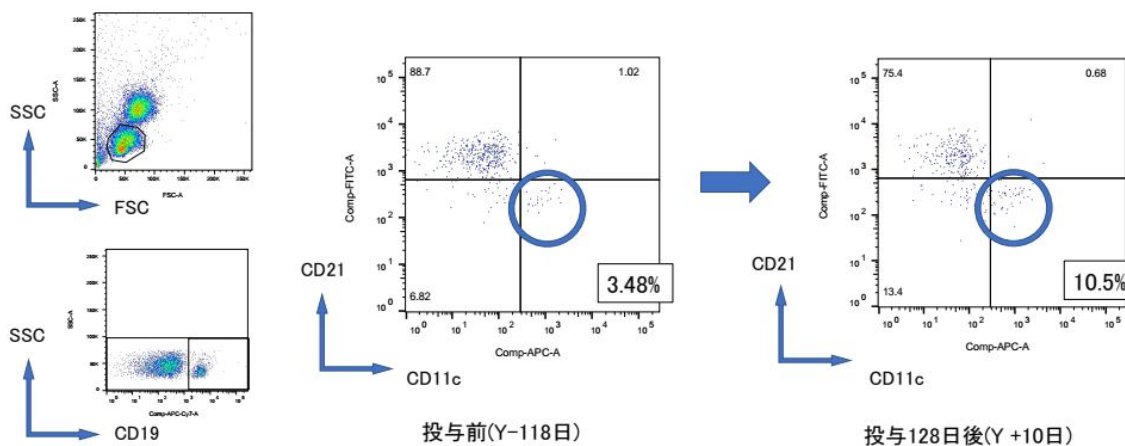
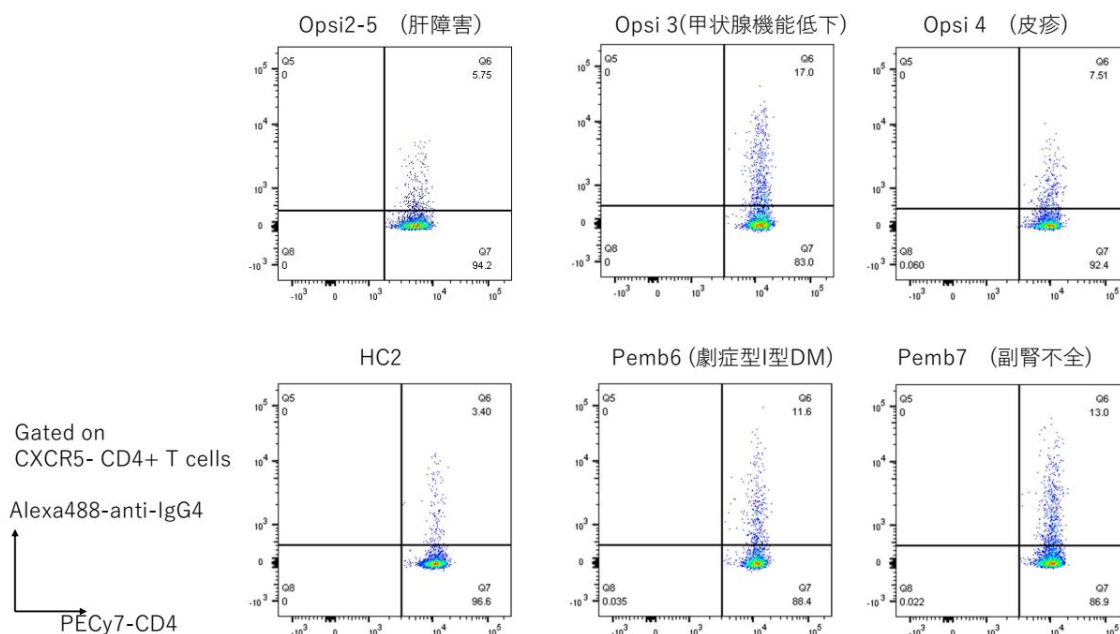


図 2 ; Tph 細胞が免疫関連有害事象発症後に上昇した例



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計27件（うち査読付論文 27件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 14件）

1. 著者名 Nagafuchi H, Goto Y, Kiyokawa T, Ooka S, Kawahata K.	4. 巻 41
2. 論文標題 Pregnancy outcomes in patients with rheumatoid arthritis who discontinue methotrexate treatment to conceive.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clin Rheumatol	6. 最初と最後の頁 669-675
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10067-021-05985-0	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 -
1. 著者名 Nagafuchi H, Goto Y, Suzuki S, Sakurai K, Imamura M, Suzuki T, Yamasaki Y, Shibata T, Kawahata K.	4. 巻 31
2. 論文標題 Rheumatoid arthritis relapse in patients with other iatrogenic immunodeficiency-associated lymphoproliferative disorders and its treatment.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 1087-1093
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/14397595.2021.1879367	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 Ishizaki Y, Ooka S, Doi S, Kawasaki T, Sakurai K, Mizushima M, Kiyokawa T, Takakuwa Y, Tonooka K, Kawahata K.	4. 巻 60
2. 論文標題 Treatment of myocardial fibrosis in systemic sclerosis with tocilizumab.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Rheumatology	6. 最初と最後の頁 e205-e206
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/rheumatology/keaa865	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 -
1. 著者名 Kiyokawa T, Hanaoka H, Iida H, Ishimori K, Takakuwa Y, Okazaki T, Ozaki S, Kawahata K.	4. 巻 30
2. 論文標題 High plasma mycophenolate acid concentration in the early phase of induction therapy predicts good renal outcome in lupus nephritis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 517-524
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/14397595.2019.1623435	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 -

1. 著者名 Nagafuchi H, Goto Y, Kiyokawa T, Kawahata K.	4. 巻 63
2. 論文標題 Reasons for discontinuation of methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis and challenges of methotrexate resumption: a single-center, retrospective study.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Egyptian Rheumatology and Rehabilitation,	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s43166-022-00162-w.	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 -

1. 著者名 Takakuwa Y, Yamasaki Y, Matsushita H, Kiyokawa T, Mizushima M, Tonooka K, Nagafuchi H, Matsuoka S, Ooka S, Kawahata K.	4. 巻 26
2. 論文標題 Long-term survival, causes of death, and prognostic factors for mortality in patients with microscopic polyangiitis and those with anti-neutrophil cytoplasmic antibody-positive interstitial lung disease: A single-center retrospective study.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Int J Rheum Dis.	6. 最初と最後の頁 446-453
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1756-185X.14532.	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 -

1. 著者名 Yamasaki Y, Iida H, Ando T, Goto Y, Suzuki S, Kawasaki T, Ishizaki Y, Sakurai K, Kiyokawa T, Mizushima M, Takakuwa Y, Tonooka K, Yamazaki K, Imamura M, Ooka S, Nagafuchi H, Kawahata K.	4. 巻 34
2. 論文標題 Long-term outcomes and chronological lung volumes in patients with interstitial lung disease with anti-aminoacyl tRNA synthetase antibodies and anti-melanoma differentiation-associated gene 5 antibodies	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clin Rheumatol Rel Res.	6. 最初と最後の頁 152-165.
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 Suzuki S, Imamura M, Mouri M, Tsuchida T, Tomita H, Matsuoka S, Takita M, Kakinuma K, Kawasaki T, Sakurai K, Yamazaki K, Kurokawa MS, Kunishima H, Matsuda T, Mineshita M, Takemura H, Fujitani S, Ooka S, Sugihara T, Kato T, Kawahata K.	4. 巻 60
2. 論文標題 Serum gasdermin D levels are associated with the chest computed tomography findings and severity of COVID-19.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Respir Investig.	6. 最初と最後の頁 750-761.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.resinv.2022.06.007.	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 Mouri M, Imamura M, Suzuki S, Kawasaki T, Ishizaki Y, Sakurai K, Nagafuchi H, Matsumura N, Uchida M, Ando T, Yoshioka K, Ooka S, Sugihara T, Miyoshi H, Mori M, Okada T, Yamaguchi M, Kunishima H, Kato M, Kawahata K.	4. 巻 71
2. 論文標題 Serum polyethylene glycol-specific IgE and IgG in patients with hypersensitivity to COVID-19 mRNA vaccines.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Allergol Int.	6. 最初と最後の頁 512-519
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2022.05.007.	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 -

〔学会発表〕 計72件 (うち招待講演 15件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 川畑仁人
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害薬による自己免疫病態
3. 学会等名 第50回日本臨床免疫学会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石崎克樹, 櫻井恵一, 水島万智子, 遠藤信幸, 後藤由多加, 川崎達也, 品川尚志, 鈴木翔太郎, 清川智史, 高桑由希子, 殿岡久美子, 山崎和子, 今村充, 杉原毅彦, 永淵裕子, 大岡正道, 森雅亮, 川畑仁人.
2. 発表標題 アテゾリズマブによるirAEの多発筋炎の一例.
3. 学会等名 第66回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計8件

1. 著者名 川畑仁人	4. 発行年 2021年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 145
3. 書名 メディカルスタッフのためのライフステージに応じた関節リウマチ患者支援ガイド	

1. 著者名 川畑仁人	4. 発行年 2023年
2. 出版社 診断と治療社	5. 総ページ数 108
3. 書名 成人スチル病ガイドライン2017年度版[2023年Update]	

〔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