

令和 5 年 5 月 30 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：2021～2022

課題番号：21K20899

研究課題名（和文）抗PD-1抗体による甲状腺での免疫関連有害事象の非再発機序の解明

研究課題名（英文）Elucidation of mechanism underlying non-recurrence of thyroid-irAE by readministration of anti PD-1 antibody

研究代表者

安田 康紀（Yasuda, Yoshinori）

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20905830

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000 円

研究成果の概要（和文）：免疫チェックポイント阻害薬である抗PD-1抗体によって甲状腺の免疫関連有害事象（irAE）が発症した後、抗PD-1抗体を再投与しても甲状腺irAEが再発しにくいことが報告されているが、機序は不明である。抗PD-1抗体による甲状腺irAEマウスモデルを用いた実験の結果では、抗PD-1抗体再投与後に甲状腺irAEの悪化は認められず、また抗PD-1抗体再投与後の甲状腺ではCD11b陽性マクロファージの浸潤が多く認められた。CD11b陽性マクロファージが甲状腺irAEの非再発機序としての抗炎症作用に関与している可能性が考えられたため、今後は詳細な機序についての検討が重要と考えられた。

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である抗PD-1抗体の再投与では、甲状腺の有害事象(irAE)が発症しにくいことが報告されている。しかし、その機序は不明であるため、本研究では抗PD-1抗体による甲状腺irAEマウスモデルを用いて、甲状腺irAE発症後に抗PD-1抗体を再投与する実験を行った。結果は、抗PD-1抗体の再投与後に甲状腺irAEの増悪は認められなかった。本研究で甲状腺irAEの非再発機序における抗炎症作用やT細胞の疲弊についての詳細な機序を解明することで、甲状腺以外のirAEの発症機序の解明にもつながることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Mechanism underlying non-recurrence of thyroid-irAE by readministration of anti PD-1 antibody remain unclear. In histopathological analysis, mice didn't show recurrence of thyroid-irAE by readministration of anti PD-1 antibody. The number of CD11b+ macrophage was high in the thyroid of mice with retreatment of anti PD-1 antibody. We hypothesize that CD11b+ macrophage could contribute to suppress the recurrence of thyroid-irAE.

研究分野：内分泌学

キーワード：PD-1 甲状腺 免疫関連有害事象（irAE）

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（Immune checkpoint inhibitors: ICIs）によって免疫関連有害事象（immune related adverse events: irAE）を発症した際、軽度の irAE であれば ICIs 治療を継続することは可能とされている。しかし、その後の ICIs の再投与によって、これまでに腸炎や肝炎、肺臓炎、皮膚炎などの irAE は高い再発率が報告されているが、一方で甲状腺 irAE の再発率は低いことが報告されている。しかし、甲状腺 irAE の非再発機序を基礎研究によって検討した報告はなく、その機序は不明である。

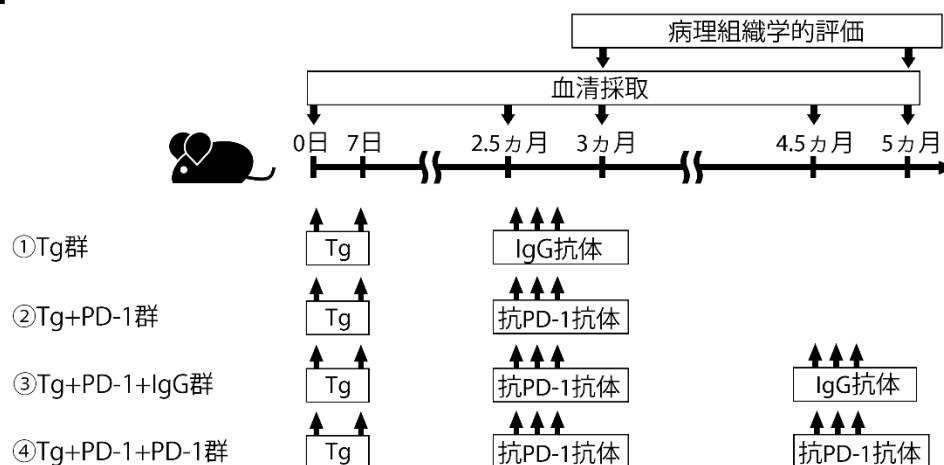
2．研究の目的

本研究の目的は、研究代表者らがこれまでに開発した抗 PD-1 抗体誘発破壊性甲状腺炎発症マウスモデルを用いて、ICIs による甲状腺 irAE の非再発機序を解明することである。

3．研究の方法

研究代表者らがすでに報告した抗 PD-1 抗体誘発破壊性甲状腺炎マウスモデルを用いて、破壊性甲状腺炎が発症した 1.5 カ月後（図 1、4.5 カ月）に抗 PD-1 抗体を再投与し、その 2 週間後のマウスの破壊性甲状腺炎の重症度を病理組織学的に評価する。

【図 1】



（ 1 ）抗 PD-1 抗体再投与による破壊性甲状腺炎の再発および非再発の検討

マウスにサイログロブリン蛋白 (Tg) を免疫した 2.5 カ月後に抗 PD-1 抗体を投与し、抗 PD-1 抗体誘発破壊性甲状腺炎を発症させ（図 1、Tg+PD-1 群）さらに 2 週間後に抗 PD-1 抗体を再投与し（図 1、Tg+PD-1+PD-1 群）5 カ月時点での甲状腺炎の重症度を評価した。甲状腺濾胞構造の破壊や血球細胞浸潤を H.E. 染色，甲状腺での CD4・CD8 陽性 T 細胞の浸潤を免疫組織化学染色（IHC）で評価。また、Tg+PD-1+PD-1 群の 1 回目の抗 PD-1 抗体と 2 回目投与後のそれぞれの甲状腺ホルモン（サイロキシン，T4）を ELISA で評価。

（ 2 ）抗 PD-1 抗体再投与による破壊性甲状腺炎の非再発機序の検討

抗 PD-1 抗体の再投与による破壊性甲状腺炎の非再発機序の解明として、抗炎症作用について検討を行った。はじめに制御性 T 細胞の浸潤について、Tg+PD-1 群と Tg+PD-1+PD-1 群のそれぞれの甲状腺での浸潤を評価。また、これまで研究代表者らは PD-1 のリガンドである PD-L1 を発現している細胞についての検討で、Tg 免疫 2.5 カ月後の抗 PD-1 抗体投与前のマウス甲状腺では CD11b 陽性マクロファージが PD-L1 を多く発現していることを報告している。マクロファージの発現する PD-L1 は T 細胞の活性化を抑制することから、破壊性甲状腺炎の非再発機序の抗炎症作用に PD-L1 を発現するマクロファージが関与している可能性を想定し、各群の甲状腺での浸潤を蛍光免疫染色で評価した。

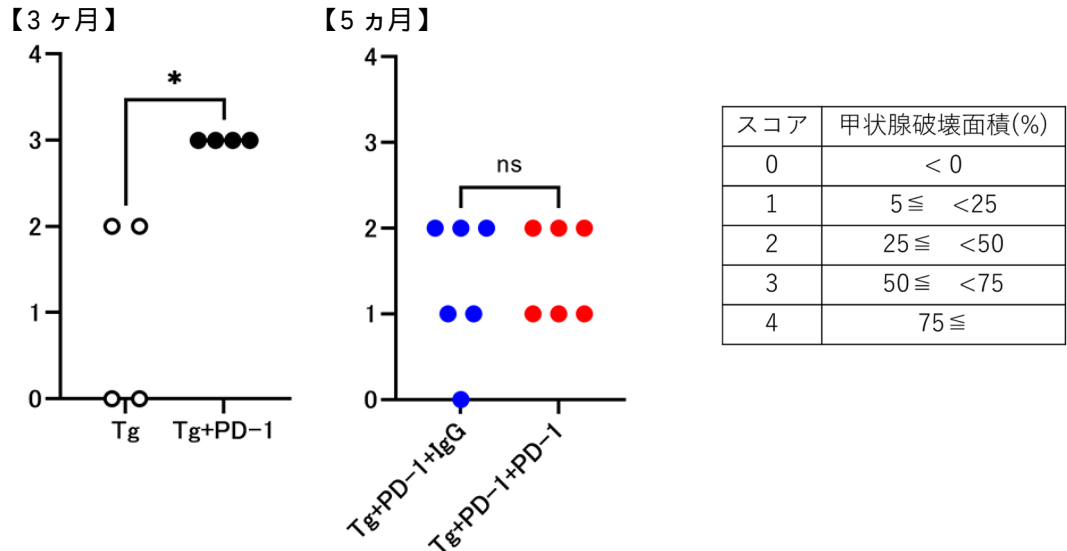
4．研究成果

（ 1 ）抗 PD-1 抗体再投与による破壊性甲状腺炎再発症の再発および非再発の検討

これまで研究代表者らが報告した結果同様、Tg 群に比べて、Tg+PD-1 群では有意に破壊性甲状腺

炎の重症度が高かった。また、Tg+PD-1+PD-1 群では Tg+PD-1 群に比べて、甲状腺炎の重症度の低下が認められ、Tg+PD-1+PD-1 群と 2 回目の抗 PD-1 抗体の代わりにコントロール抗体を投与した群 (Tg+PD-1+IgG 群) との間に有意な甲状腺炎の重症度の差は認められなかった (図 2)。

【図 2】<破壊性甲状腺炎の重症度>

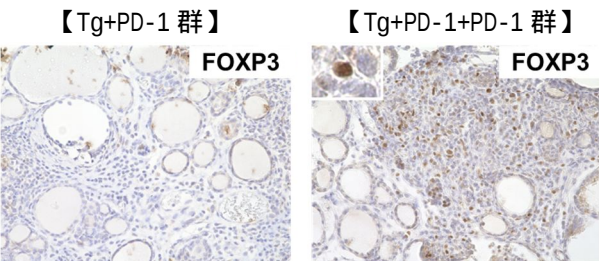


また Tg+PD-1+PD-1 群で血清 T4 を経時的に評価した結果、抗 PD-1 抗体の初回投与後に比べて、再投与後の方が T4 の値が低い傾向が認められた。各群の甲状腺での CD4・8 陽性 T 細胞の浸潤を IHC で評価したところ、Tg+PD-1 群に比べて Tg+PD-1+PD-1 群で CD4・CD8 陽性 T 細胞の減少が認められた。これらの結果から、抗 PD-1 抗体の再投与による破壊性甲状腺炎の非再発が支持された。

(2) 抗 PD-1 抗体再投与による破壊性甲状腺炎の非再発機序の検討

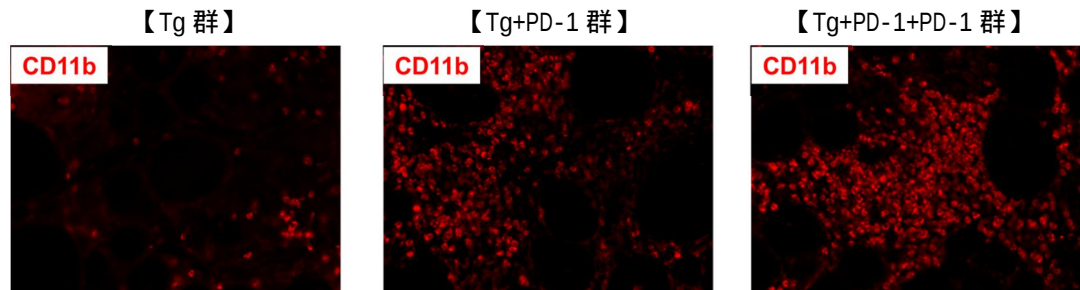
抗 PD-1 抗体の再投与による破壊性甲状腺炎の非再発機序での抗炎症作用の検討として、各群のマウス甲状腺での制御性 T 細胞の浸潤について FOXP3 を用いた IHC で評価した結果、Tg+PD-1 群に比べて Tg+PD-1+PD-1 群で減少が認められ (図 3) 非再発機序における制御性 T 細胞の関与は否定的であった。

【図 3】甲状腺での FOXP3 の浸潤



また、各群の甲状腺での CD11b 陽性マクロファージの浸潤を評価したところ、Tg 群に比べて Tg+PD-1 群で増加し、Tg+PD-1+PD-1 群においては Tg+PD-1 群と同程度またはそれ以上の浸潤が認められた (図 4)。

【図 4】マウス甲状腺での CD11b 陽性マクロファージの浸潤



この結果から抗 PD-1 抗体の再投与による破壊性甲状腺炎の非再発機序の 1 つとして、甲状腺に浸潤した CD11b 陽性マクロファージの関与が示唆され、それらが発現する免疫チェックポイント分子や分泌するサイトカインの関与を想定した。今後は抗 PD-1 抗体の再投与前に CD11b 陽性マクロファージを除去することで、破壊性甲状腺炎が再発するかについて検討を行うとともに、甲状腺または所属リンパ節での T 細胞の疲弊についても評価予定である。

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 安田 康紀、岩間 信太郎、有馬 寛	4 . 巻 111
2 . 論文標題 特集 甲状腺疾患アップデート:明日から役立つ最新知見 トピックス 薬剤性甲状腺機能異常症:抗PD-1抗体による甲状腺障害の基礎と臨床	5 . 発行年 2023年
3 . 雑誌名 診断と治療	6 . 最初と最後の頁 665 ~ 668
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.34433/dt.0000000264	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
---------	---------