

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23942

研究課題名（和文）免疫チェックポイント阻害薬による内分泌障害：臨床像から発症機序に迫る

研究課題名（英文）Endocrine-related adverse events induced by immune checkpoint inhibitors: from clinical features to mechanistic insights

研究代表者

山内 一郎 (Yamauchi, Ichiro)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：20844715

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：自施設の患者データを用いた臨床研究を行い、これまで不明であった抗PD-1抗体による下垂体irAEの臨床像について検討した。当院のニボルマブ使用症例の解析から、抗CTLA-4抗体による下垂体炎とは異なる特徴を有し、特殊な甲状腺機能異常を伴うことも見出した（Clin Endocrinol(Oxf), 2021）。甲状腺irAEが予後因子であるという先行研究から「甲状腺と癌の共通抗原に対する自己抗体が産生される」という仮説を立て、新規の自己抗体の探索を行った。共免疫沈降のアッセイ系を構築し、甲状腺irAE発症例の血清に報告のない自己抗体が含まれることを報告した（bioRxiv, 2021）。

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の使用症例の増加に伴い、特有の有害事象（irAE）の中でも10%以上の高い頻度で生じる内分泌障害のマネジメントは不可欠である。最も普及し多くの症例に使われている抗PD-1抗体について臨床研究を行い、これまで報告してきた甲状腺irAEだけでなく、下垂体irAEについても臨床像を明らかにした。さらには発症機序として、新規自己抗体が関与する可能性を示すデータを得た。

研究成果の概要（英文）：We conducted a clinical study using real-world data of Kyoto University Hospital. This study revealed distinct clinical features of immune-related adverse events involving the pituitary gland (pituitary irAEs) induced by anti-PD-1 antibody. Pituitary irAEs by PD-1 blockade are dissimilar to those by CTLA-4 blockade: the most impressive point is the concomitant thyroid dysfunction (Clin Endocrinol(Oxf), 2021). On the other hand, we set a hypothesis "Autoantibodies recognizing antigens common to the thyroid gland and cancers are produced in thyroid irAEs," suggested by the clinical finding that thyroid irAE is a prognostic factor. We performed co-immunoprecipitation assay using sera from patients with thyroid irAEs and found novel autoantibodies (bioRxiv, 2021).

研究分野：内分泌学

キーワード：免疫チェックポイント阻害薬 PD-1 甲状腺 下垂体 自己抗体 irAE ニボルマブ

1. 研究開始当初の背景

免疫チェックポイント阻害薬は、癌免疫応答の増強を介して抗腫瘍効果を発揮する新しい機序の薬剤である。従来の細胞障害性抗癌剤と異なる点の一つとして、免疫に関連した特徴的な有害事象 (immune-related Adverse Effect : irAE) が挙げられる。そして、内分泌障害は irAE の中でも 10%以上と頻度が高く、対策が課題である。免疫チェックポイント阻害薬の種類により内分泌障害のパターンは異なるが、現在最も多く使用されている抗 PD-1 抗体の場合、甲状腺機能異常 (甲状腺 irAE)、下垂体機能低下 (下垂体 irAE)、1 型糖尿病の順に頻度が高く、甲状腺 irAE は自施設の検討では 13.5%に上る。

これまでに我々は、抗 PD-1 抗体であるニボルマブ使用中に甲状腺 irAE を発症した症例をケースシリーズにて検討し、「甲状腺機能亢進症ではなく一過性の甲状腺中毒症を治療開始後早期に発症し、永続的な甲状腺機能低下症を続発する」という特徴を初めて報告した (Yamauchi et al. *Thyroid*, 2017)。続いてニボルマブ使用患者のレトロスペクティブコホート研究を行い、甲状腺 irAE の発症頻度・好発時期などの臨床像に加え、甲状腺 irAE 発症患者は非発症患者と比較して全生存期間が長いという興味深い知見を得た (Yamauchi et al. *PLOS ONE*, 2019)。甲状腺 irAE は重篤例が稀で対処が容易であり、甲状腺 irAE を発症しやすい患者に抗 PD-1 抗体を投与することの意義、すなわち甲状腺 irAE 発症リスクが抗 PD-1 抗体の奏功予測マーカーとなる可能性が示された。

免疫チェックポイント阻害薬は次々に新薬が上市され、適応拡大も続く。内分泌障害が今後増加する中、甲状腺 irAE だけでなく、下垂体 irAE や 1 型糖尿病も含めてマネジメントを確立することは喫緊の課題である。さらには、治療前に判定できる irAE 発症リスクを明らかにできれば、その因子が免疫チェックポイント阻害薬の奏功予測マーカーとなる可能性が示されており、この点でも研究を行う意義は大きいと考えた。

一方、内分泌障害の発症機序を考える上で、甲状腺 irAE 発症患者で抗 PD-1 抗体による抗腫瘍効果が良好であることから、甲状腺と腫瘍における共通抗原に対して自己抗体が産生されているという仮説を立てた。甲状腺 irAE 発症と全生存期間は肺癌患者では関連し、悪性黒色腫患者では関連しないという相反する結果も得られているが、甲状腺と肺に共通な抗原に対する自己抗体が産生されると仮定すれば説明可能である。

2. 研究の目的

免疫チェックポイント阻害薬による癌治療に対して、有害事象として一定数生じる内分泌障害の観点から有用な臨床的知見を提供し、さらには作業仮説を得て内分泌障害の発症機序に迫ることを目的とする。具体的には、irAE の発症リスクや原因となる新規の自己抗体を同定し、内分泌領域における新たな研究分野を開拓し、癌治療の奏功予測マーカーを提供することを目指している。

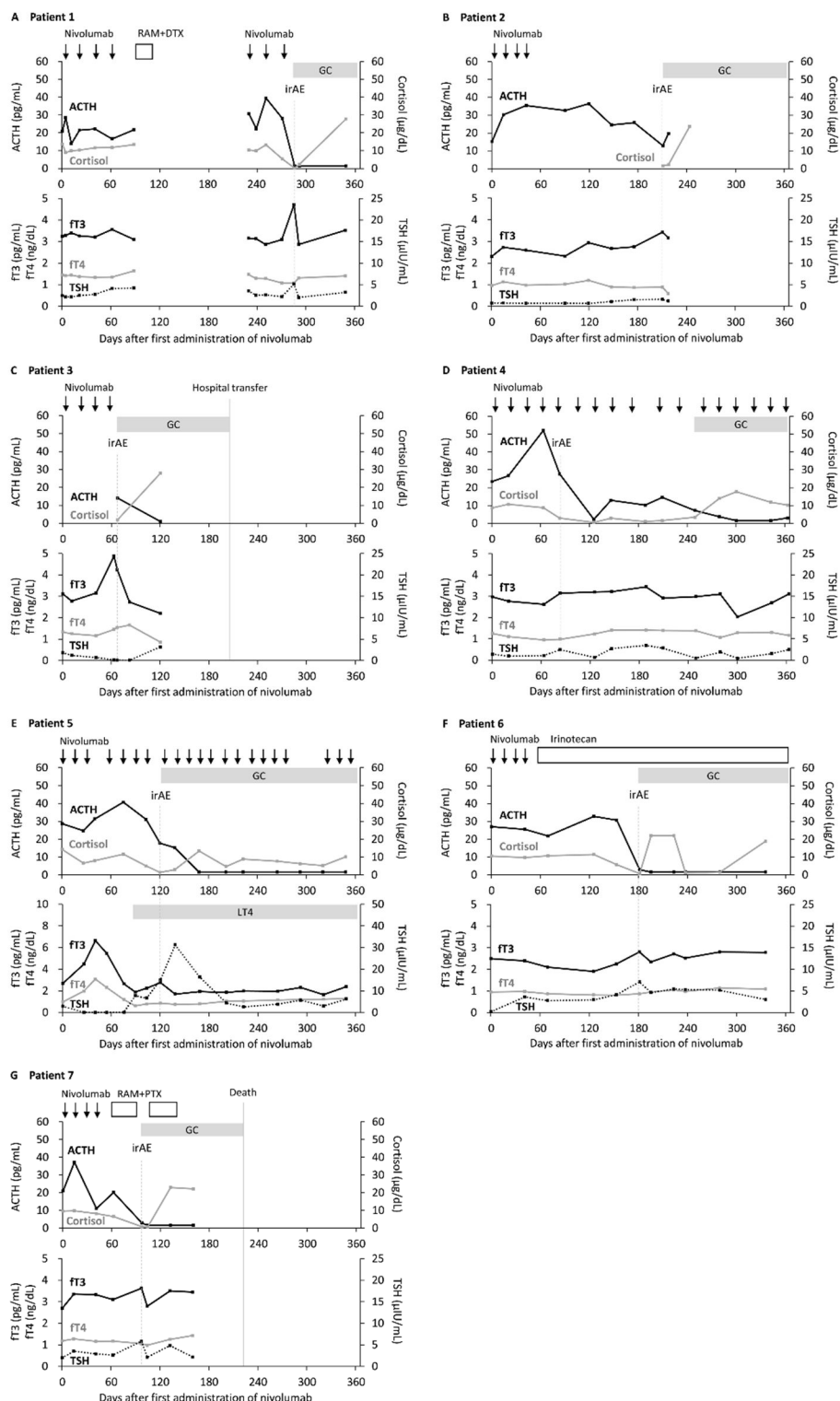
3. 研究の方法

先行研究 (Yamauchi et al. *PLOS ONE*, 2019) では 200 例のニボルマブに限定したコホートを用いたが、現在自施設における免疫チェックポイント阻害薬の使用症例は 500 例以上に達している。このコホートを用いたレトロスペクティブ研究により、下垂体 irAE の疫学と臨床像を明らかにする。

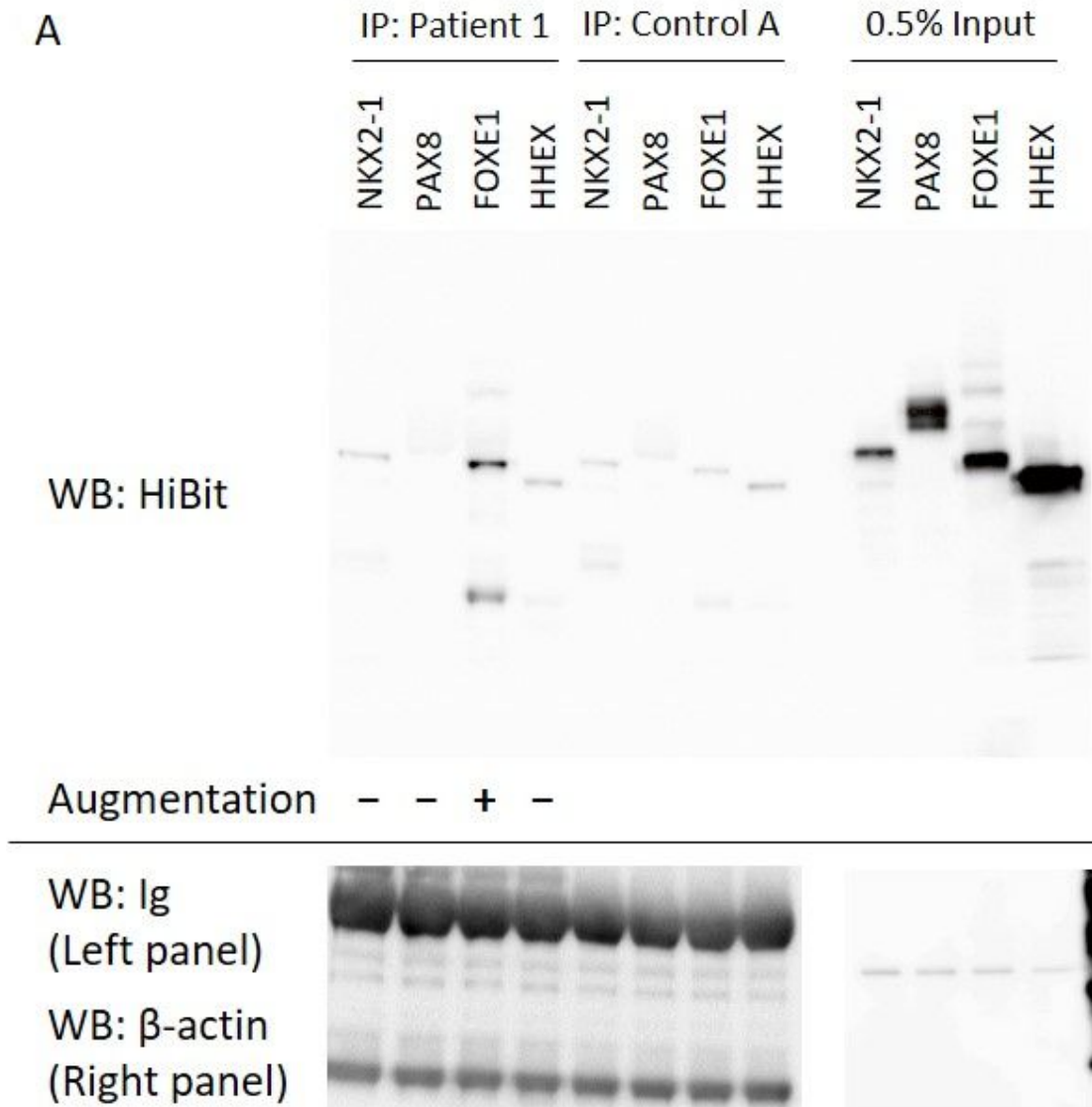
また、本研究に先行して、甲状腺 irAE 発症患者の血清由来 IgG を一次抗体として、ウェスタンブロット法により甲状腺ライセートに対するスクリーニングを行った。得られた特異的なバンドの分子量や臓器発現パターンなどを元に候補蛋白を複数設定し、患者血清を用いた共免疫沈降による検証を行った。

4. 研究成果

免疫チェックポイント阻害薬の前治療歴がある症例を除外して、ニボルマブ使用患者の解析を行った。374 例中 7 例 (1.9%) が下垂体 irAE を発症し、全 7 例が ACTH 単独欠損型であった。下垂体 irAE 診断時に 7 例中 4 例で ACTH はなお正常域にあった (12.9、14.1、27.6、17.7 pg/mL)。甲状腺機能の推移を検討したところ、下垂体 irAE 診断時には fT3 の上昇を認めるも TSH は抑制されておらず、1 例は SITSH を呈していた (fT3 4.60 pg/mL、fT4 1.080 ng/dL、TSH 5.060 μ IU/mL)。これらの変化はグルココルチコイド補充により速やかに軽快した。下垂体 irAE は ACTH 単独欠損型が多く、発症時に ACTH が必ずしも低値を呈さないことはピットフォールとなることが示唆された。また随伴するグルココルチコイド作用不全による甲状腺機能異常について、甲状腺 irAE とパターンが異なり、SITSH の原因となることも新たに見出した。



HEK293T 細胞にて候補とした抗原タンパク (NKX2-1、PAX8、FOXE1、HHEX) を強制発現させ、その細胞ライセートと甲状腺 irAE 発症患者の血清を用いてプロテイン G ビーズによる共免疫沈降を行った。回収した IgG 分画をウェスタンブロット法にて解析した。健常人血清と比較して、症例 1 では FOXE1、症例 2 では PAX8、症例 3 では PAX8、FOXE1 のバンドの増強を認め、血清中にこれらのタンパクを認識する抗体が存在することを明らかにした。症例 3 の血清 200 μ l 由来の IgG 分画を C57BL/6 マウスに 2 週間毎に投与し、4 週間後に甲状腺組織を採取して観察したが有意な変化は認めなかった。以上の検討により、甲状腺 irAE 発症患者血清から、PAX8、FOXE1 に対する新規自己抗体を検出することに成功したが、その病態に対する意義については今後の検討課題である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Yamauchi Ichiro, Taura Daisuke, Hakata Takuro, Fujita Haruka, Okamoto Kentaro, Ueda Yohei, Fujii Toshihito, Inagaki Nobuya | 4. 巻 94 |
| 2. 論文標題 Clinical features and thyroid dysfunction in adverse events involving the pituitary gland during PD-1 blockade therapy | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Clinical Endocrinology | 6. 最初と最後の頁 258 ~ 268 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cen.14349 | 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 Yamauchi Ichiro, Yasoda Akihiro, Hakata Takuro, Yamashita Takafumi, Hirota Keisho, Ueda Yohei, Fujii Toshihito, Taura Daisuke, Sone Masakatsu, Inagaki Nobuya | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Novel Thyroid-Specific Autoantibodies in Patients with Immune-Related Adverse Events Involving the Thyroid Gland | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 bioRxiv | 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） 10.1101/2021.01.14.426670 | 査読の有無 無 |
| 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8件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 山内 一郎、八十田 明宏、山下 貴史、植田 洋平、藤井 寿人、田浦 大輔、曾根 正勝、稲垣 暢也 |
| 2. 発表標題 抗PD-1抗体による甲状腺機能異常の発症機序：新規自己抗体の意義 |
| 3. 学会等名 第93回日本内分泌学会学術総会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 藤田 晴香、山内 一郎、伯田 琢郎、岡本 健太郎、植田 洋平、藤井 寿人、田浦 大輔、稲垣 暢也 |
| 2. 発表標題 Ipilimumab/Nivolumab併用療法による下垂体関連有害事象の検討 |
| 3. 学会等名 第30回臨床内分泌代謝Update |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 山内 一郎、田浦 大輔、伯田 琢郎、藤田 晴香、岡本 健太郎、植田 洋平、藤井 寿人、稲垣 暢也 |
| 2. 発表標題 抗PD-1抗体による下垂体関連有害事象は甲状腺機能異常を合併する |
| 3. 学会等名 第63回日本甲状腺学会学術集会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 1.Yamauchi I, Yasoda A, Yamashita T, Ueda Y, Fujii T, Taura D, Sone M, Inagaki N. |
| 2. 発表標題 Novel Autoantibodies for Thyroid-Specific Transcriptional Factors in Patients with Immune-Related Adverse Events Involving the Thyroid Gland |
| 3. 学会等名 102nd ENDO Annual Meeting 2020 (国際学会) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 山内 一郎，八十田 明宏，藤井 寿人，田浦 大輔，曾根 正勝，稲垣 暢也 |
| 2. 発表標題 抗PD-1抗体による甲状腺機能異常の発症リスクと生命予後との関連 |
| 3. 学会等名 第62回日本甲状腺学会学術集会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 4.岡本 健太郎，山内 一郎，八十田 明宏，植木 絢子，小倉 雅仁，藤井 寿人，田浦 大輔，曾根 正勝，稲垣 暢也 |
| 2. 発表標題 甲状腺、下垂体、睪にニボルマブの免疫関連有害事象を生じた1例 |
| 3. 学会等名 第28回臨床内分泌代謝Update |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 57. 藤田 晴香, 山内 一郎, 田浦 大輔, 臼井 亮太, 藤井 寿人, 曾根 正勝, 稲垣 暢也 |
| 2. 発表標題 イビリムマブ・ニボルマブ併用中に発症した続発性副腎不全の一例 |
| 3. 学会等名 第28回臨床内分泌代謝Update |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 山内 一郎, 八十田 明宏, 藤井 寿人, 田浦 大輔, 曾根 正勝, 稲垣 暢也 |
| 2. 発表標題 抗PD-1抗体による甲状腺機能異常：生命予後との関連を中心に |
| 3. 学会等名 第28回臨床内分泌代謝Update |
| 4. 発表年 2019年 |

〔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 |
|---------|---------|
|---------|---------|