

令和 4 年 5 月 17 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08976

研究課題名(和文) 抗PD-1抗体誘発甲状腺炎マウスモデルを用いた免疫関連有害事象の発症機序の解明

研究課題名(英文) Study of the mechanism in the development of destructive thyroiditis induced by anti-PD-1 antibody

研究代表者

岩間 信太郎 (Iwama, Shintaro)

名古屋大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：00733536

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：抗PD-1抗体療法では破壊性甲状腺炎が高率に発症するがその機序は不明であった。本研究では、サイログロブリン(Tg)を皮下投与した後に抗PD-1抗体を投与し、破壊性甲状腺炎マウスモデルを確立した。本モデルにおいて、発症時にCD4陽性メモリーT細胞の増加、CD4陽性T細胞のTg特異的反応性および細胞傷害蛋白の発現が示された。破壊性甲状腺炎の発症はCD4陽性T細胞の除去により完全に抑制されたこと、発症マウス由来CD4陽性T細胞の移植によりレシピエントマウスで甲状腺濾胞の破壊が認められたことから、抗PD-1抗体による破壊性甲状腺炎の発症には細胞傷害性CD4陽性T細胞が必須であることが示された。

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は細胞傷害作用を有するCD8陽性T細胞の活性化を介して抗腫瘍作用を発揮するが、免疫機序の関与する有害事象(irAEs)の発生が問題となっている。本研究より、抗PD-1抗体による破壊性甲状腺炎の発症には細胞傷害作用を示すCD4陽性T細胞が必須の役割を果たしていることが明らかとなった。本結果は、現在広く使用されている抗PD-1抗体による副作用の機序の解明およびその予防法の確立に繋がる成果と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Anti-PD-1 antibodies (PD-1-Ab) often cause destructive thyroiditis (DT). However, the T cell subsets involved in this situation remain unclear. PD-1-Ab injections after immunization with thyroglobulin induced DT. DT was completely prevented by previous depletion of CD4 T cells. The frequencies of central and effector memory CD4 T cell subsets were increased in mice with DT compared with controls. CD4 T cells expressed granzyme B in thyroid glands in mice with DT. Adoptive transfer of CD4 T cells from cervical lymph nodes in mice developing DT caused destruction of thyroid follicular architecture in the recipient mice. Flow cytometric analyses showed that the frequencies of central and effector memory CD4 T cells expressing the cytotoxic marker CD27 were higher in peripheral blood collected from patients with DT induced by PD-1-Ab versus those without. These data suggest a critical role for cytotoxic memory CD4 T cells in the pathogenesis of DT induced by PD-1-Ab.

研究分野：内分泌学

キーワード：甲状腺炎 PD-1 免疫チェックポイント

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 (ICIs) を用いたがん免疫療法では、自己免疫機序が想定される免疫関連有害事象 (irAEs) の発生が課題であるが、その発症機序は不明で、解析に有用な動物モデルもないのが現状であった。最も広く使用されている ICIs である抗 PD-1 抗体では irAEs として甲状腺機能異常症の頻度が高い。我々は irAEs マウスモデルの開発に取り組んでおり、サイログロブリン (Tg) を予め皮下投与した後に抗 PD-1 抗体を投与したところ著明な破壊性甲状腺炎が誘導された。しかしながら、発症に関与するリンパ球の特徴など、詳細な機序は明らかではない。

2. 研究の目的

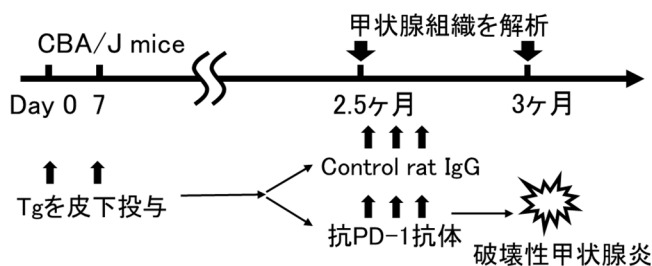
本研究の目的は、抗 PD-1 抗体による irAEs の発症機序を解明するため、抗 PD-1 抗体誘発甲状腺炎マウスモデルを確立し、病態に直接的に関与すると考えられる甲状腺に浸潤したリンパ球を用いて irAEs 特異的リンパ球サブセットを同定することである。

3. 研究の方法

(1) 抗 PD-1 抗体誘発甲状腺炎マウスモデルの確立

CBA/J マウスに予め Tg を皮下投与し、その 2.5 ヶ月後に抗 PD-1 抗体またはコントロール抗体 (ラット IgG) を投与した。Tg 免疫 2.5 または 3 ヶ月後に甲状腺を摘出し、病理組織学的解析を施行した。

図 1 動物実験プロトコール



(2) 細胞性免疫、液性免疫の関与

抗 PD-1 抗体による破壊性甲状腺炎に細胞性免疫または液性免疫のいずれが関与するかを検討するため、抗 PD-1 抗体投与前に抗 CD4 抗体、抗 CD8 抗体または抗 CD20 抗体を投与し、CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞または CD20 陽性 B 細胞をそれぞれ除去し、破壊性甲状腺炎の発症について解析した。

(3) 抗 PD-1 抗体誘発甲状腺炎におけるリンパ球動態解析

抗 PD-1 抗体誘発甲状腺炎の発症に特異的なリンパ球動態を同定するため、甲状腺炎マウスモデルの甲状腺近傍頸部リンパ節から単核球を抽出し、フローサイトメトリーにより種々の T 細胞分画の動態を解析した。特に、CD4 陽性 CD44 陽性 CD62L 陰性のエフェクターメモリー T 細胞 (EM) および CD4 陽性 CD44 陽性 CD62L 陽性のセントラルメモリー T 細胞 (CM) について解析を施行した。

(4) 抗 PD-1 抗体誘発甲状腺炎マウスモデルの甲状腺における病理組織学的解析

甲状腺に浸潤した炎症細胞の特徴および細胞傷害性タンパクの発現について免疫組織化学により解析した。

4. 研究成果

(1) 抗 PD-1 抗体誘発甲状腺炎マウスモデルの確立

Tg を予め皮下投与した後に抗 PD-1 抗体を投与した結果 (図 1)、甲状腺に著明な破壊性甲状腺炎が誘導された。一方、抗 PD-1 抗体投与のみでは甲状腺炎は誘導されなかった。すなわち、抗 PD-1 抗体投与前に甲状腺関連蛋白である Tg に対する免疫応答が存在することが重要と考えられた。

(2) 細胞性免疫、液性免疫の関与

抗 PD-1 抗体前に抗 CD4 抗体を投与し、CD4 陽性 T 細胞を除去した結果、破壊性甲状腺炎の発症は完全に抑制された (図 2)。また、抗 CD8 抗体を投与し、CD8 陽性 T 細胞を除去した結果、破壊性甲状腺炎の発症は認められたものの、病理組織学的解析による炎症の程度は部分的に

抑制された。一方、抗 CD20 抗体の投与による CD20 陽性 B 細胞の除去では、破壊性甲状腺炎の発症は抑制されなかった。以上より、抗 PD-1 抗体誘発甲状腺炎の発症には CD4 陽性 T 細胞が必須であることが示された。

(3) 抗 PD-1 抗体誘発甲状腺炎におけるリンパ球動態解析

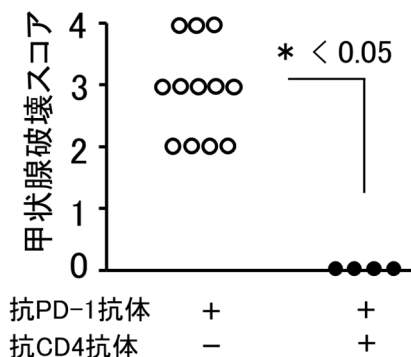
抗 PD-1 抗体誘発甲状腺炎の発症前後のマウス頸部リンパ節において、CD4 陽性 CD44 陽性 CD62L 陰性の EM T 細胞および CD4 陽性 CD44 陽性 CD62L 陽性の CM T 細胞が甲状腺炎発症群で対照群に比し有意に増加していた。

(4) 抗 PD-1 抗体誘発甲状腺炎マウスモデルの甲状腺における病理組織学的解析

甲状腺に浸潤した CD4 陽性 T 細胞は MHC クラス陽性甲状腺濾胞上皮細胞に接して存在しており、細胞傷害性蛋白であるグランザイム B の発現が認められた。

以上の結果から、抗 PD-1 抗体による破壊性甲状腺炎マウスモデルにおいて、細胞傷害作用を有する CD4 陽性 T 細胞が発症に必須の役割を果たしていることが示された。

図 2 CD4 陽性 T 細胞の除去は抗 PD-1 抗体誘発破壊性甲状腺炎の発症を抑制する



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 3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 岩間信太郎、有馬寛	4. 巻 109
2. 論文標題 特集：内分泌疾患と電解質異常 トピックス : 低ナトリウム血症と内分泌疾患	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本内科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 705-711
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 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 -
1. 著者名 小林朋子、岩間信太郎、有馬寛	4. 巻 35
2. 論文標題 免疫チェックポイント阻害薬による内分泌障害	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 臨床消化器内科	6. 最初と最後の頁 506-510
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 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 -
1. 著者名 岩間信太郎、有馬寛	4. 巻 -
2. 論文標題 低ナトリウム血症、高ナトリウム血症	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 今日の診断指針第8版	6. 最初と最後の頁 107-110
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 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 -
1. 著者名 岩間信太郎	4. 巻 -
2. 論文標題 下垂体機能障害（コンサルとされた視点から）	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 免疫チェックポイント阻害薬実践ガイドブック	6. 最初と最後の頁 99-102
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 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 -

1. 著者名 岩間信太郎、有馬寛	4. 巻 276
2. 論文標題 下垂体の免疫関連有害事象	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 782-785
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 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 -

1. 著者名 Yasuda Yoshinori, Iwama Shintaro, Sugiyama Daisuke, Nishikawa Hiroyoshi, Arima Hiroshi, et al.,	4. 巻 13
2. 論文標題 CD4 + T cells are essential for the development of destructive thyroiditis induced by anti?PD-1 antibody in thyroglobulin-immunized mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Translational Medicine	6. 最初と最後の頁 eabb7495
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/scitranslmed.abb7495	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 Iwama Shintaro, Kobayashi Tomoko, Yasuda Yoshinori, Arima Hiroshi, et al.,	4. 巻 107
2. 論文標題 Increased Risk of Thyroid Dysfunction by PD-1 and CTLA-4 Blockade in Patients Without Thyroid Autoantibodies at Baseline	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism	6. 最初と最後の頁 e1620 ~ e1630
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/clinem/dgab829	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 Iwama Shintaro, Kobayashi Tomoko, Arima Hiroshi	4. 巻 36
2. 論文標題 Clinical Characteristics, Management, and Potential Biomarkers of Endocrine Dysfunction Induced by Immune Checkpoint Inhibitors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Endocrinology and Metabolism	6. 最初と最後の頁 312 ~ 321
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3803/EnM.2021.1007	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 -

〔学会発表〕 計26件（うち招待講演 20件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 石井 あずさ, 田中 一大, 榊原 利博, 松井 利憲, 小林 朋子, 岩間 信太郎, 進藤 有一郎, 森瀬 昌宏, 若原 恵子, 有馬 寛, 橋本 直純
2. 発表標題 抗PD-1抗体既治療非小細胞肺癌における抗PD-L1抗体治療の有用性の検討
3. 学会等名 第117回日本内科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩間信太郎、有馬寛
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害薬による甲状腺機能異常
3. 学会等名 第93回日本内分泌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡田則男、岩間信太郎、伊藤雅晃、奥地剛之、小林朋子、安田康紀、有馬寛
2. 発表標題 甲状腺の内部エコー不均一は甲状腺自己抗体陽性者における抗PD-1抗体関連甲状腺障害の高リスクマーカーとなる
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 奥地剛之、岩間信太郎、杉山大介、伊藤雅晃、岡田則男、小林朋子、安田康紀、西川博嘉、有馬寛
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害薬による下垂体障害に関連する自己抗体の網羅的解析
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 岩間信太郎
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害薬による内分泌障害 ~ 甲状腺障害・下垂体障害・1型糖尿病の対処法 ~
3. 学会等名 第28回日本乳癌学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩間信太郎
2. 発表標題 免疫チェックポイント製剤使用時における irAEマネジメント ~ 内分泌障害に関して・内分泌代謝科専門医の立場から ~
3. 学会等名 第58回日本癌治療学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩間信太郎、有馬寛
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害薬と内分泌代謝障害
3. 学会等名 第30回臨床内分泌代謝Update (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩間信太郎
2. 発表標題 自己免疫と炎症が関与する 視床下部下垂体疾患の研究
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 岩間信太郎
2. 発表標題 抗PD-1抗体による破壊性甲状腺炎の発症に関与するリンパ球分画の同定
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 岩間信太郎、有馬寛
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害薬による下垂体機能低下症の基礎と臨床
3. 学会等名 第92回 日本内分泌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩間信太郎，安田康紀，奥地剛之，杉山大介，岡田則男，小林朋子，西川博嘉，有馬寛
2. 発表標題 抗PD-1抗体誘発甲状腺炎マウスモデルの開発とリンパ球動態の解析
3. 学会等名 第92回 日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shintaro Iwama
2. 発表標題 日韓内分泌学会特別口演セッション/Plenary Oral Session/Anti-pituitary antibodies in pituitary diseases
3. 学会等名 第92回 日本内分泌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shintaro Iwama
2. 発表標題 Adverse events in pituitary and thyroid glands induced by immune checkpoint inhibitors
3. 学会等名 The 7th Annual Meeting of the International Cytokine & Interferon Society (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩間信太郎
2. 発表標題 内科医の立場から: 知っておくべき内分泌副作用と対処法
3. 学会等名 第73回国立病院総合医学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩間信太郎
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害薬による甲状腺機能異常症の臨床像、高リスク因子、発症機序
3. 学会等名 第29回臨床内分泌代謝Update in Kochi (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩間信太郎
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害剤による内分泌有害事象のマネジメント -名古屋大学医学部附属病院での取り組み-
3. 学会等名 第60回日本肺癌学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩間信太郎
2. 発表標題 内分泌関連の有害事象とその対策
3. 学会等名 第60回日本肺癌学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩間信太郎
2. 発表標題 内分泌irAEの特徴と高リスクマーカー
3. 学会等名 第109回日本泌尿器科学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩間信太郎
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害薬関連 内分泌irAEsのバイオマーカーと発症機序
3. 学会等名 第31回臨床内分泌代謝Update（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩間信太郎
2. 発表標題 抗PD-1抗体誘発破壊性甲状腺炎マウスモデルの開発と発症機序の解明
3. 学会等名 第64回日本甲状腺学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩間信太郎
2. 発表標題 抗PD-1抗体による甲状腺障害の基礎と臨床
3. 学会等名 第64回日本甲状腺学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩間信太郎
2. 発表標題 「内分泌」 irAEを学ぶ
3. 学会等名 日本臨床腫瘍学会がん免疫療法エキスパートセミナー（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩間信太郎、有馬寛
2. 発表標題 抗PD-1抗体、抗CTLA-4抗体による下垂体機能低下症の病型とバイオマーカー
3. 学会等名 第47回日本神経内分泌学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩間信太郎
2. 発表標題 自己免疫が関与する下垂体疾患の研究
3. 学会等名 第47回日本神経内分泌学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩間信太郎
2. 発表標題 内分泌障害の臨床像と発症予測
3. 学会等名 第59回日本癌治療学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩間信太郎
2. 発表標題 下垂体炎の鑑別
3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計17件

1. 著者名 有馬 寛, 小林 朋子, 岩間 信太郎	4. 発行年 2019年
2. 出版社 日本内科学会	5. 総ページ数 5
3. 書名 日本内科学会雑誌	

1. 著者名 岩間 信太郎	4. 発行年 2019年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 5
3. 書名 リウマチ科	

1. 著者名 岩間 信太郎	4. 発行年 2019年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 5
3. 書名 腫瘍内科	

1. 著者名 岩間 信太郎	4. 発行年 2019年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 3
3. 書名 内分泌・糖尿病・代謝内科	

1. 著者名 岩間 信太郎	4. 発行年 2019年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 4
3. 書名 内科	

1. 著者名 岩間 信太郎	4. 発行年 2020年
2. 出版社 癌と化学療法社	5. 総ページ数 4
3. 書名 癌と化学療法	

1. 著者名 岩間 信太郎	4. 発行年 2020年
2. 出版社 文光堂	5. 総ページ数 7
3. 書名 Medical Practice	

1. 著者名 小林 朋子, 岩間 信太郎, 有馬 寛	4. 発行年 2019年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 5
3. 書名 内分泌・糖尿病・代謝内科	

1. 著者名 岩間信太郎	4. 発行年 2021年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 11
3. 書名 糖尿病・内分泌代謝科/自己免疫性視床下部下垂体炎および関連疾患の病因と病態	

1. 著者名 岩間信太郎	4. 発行年 2021年
2. 出版社 文光堂	5. 総ページ数 1
3. 書名 Medical Practice/免疫チェックポイント阻害薬による副作用を事前に予測する	

1. 著者名 岩間信太郎、有馬寛	4. 発行年 2021年
2. 出版社 診断と治療社	5. 総ページ数 5
3. 書名 下垂体疾患診療マニュアル改訂第3版/中枢性尿崩症	

1. 著者名 岩間信太郎、有馬寛	4. 発行年 2021年
2. 出版社 日本医事新報社	5. 総ページ数 2
3. 書名 日本医事新報/私の治療/免疫チェックポイント阻害薬による内分泌代謝異常	

1. 著者名 岩間信太郎、有馬寛	4. 発行年 2021年
2. 出版社 日本医師会	5. 総ページ数 5
3. 書名 日本医師会雑誌 内分泌疾患・糖尿病・代謝疾患 診療のエッセンス/免疫チェックポイント阻害薬の副作用としての内分泌疾患	

1. 著者名 岩間信太郎、有馬寛	4. 発行年 2021年
2. 出版社 総合医学社	5. 総ページ数 8
3. 書名 最新ガイドラインに基づく代謝・内分泌疾患 診療指針 2021-'22/免疫チェックポイント阻害薬治療に関連した内分泌疾患	

1. 著者名 岩間信太郎	4. 発行年 2021年
2. 出版社 国立医療学会	5. 総ページ数 4
3. 書名 医療/免疫チェックポイント阻害薬による有害事象：知っておくべき内分泌障害	

1. 著者名 岩間信太郎	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 7
3. 書名 臨床検査/電解質異常をきたす内分泌疾患 ナトリウム異常と内分泌疾患	

1. 著者名 岩間信太郎	4. 発行年 2021年
2. 出版社 日本臨床社	5. 総ページ数 4
3. 書名 日本臨牀「皮膚悪性腫瘍（第2版）上」/irAEの治療-下垂体機能低下症	

〔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	有馬 寛 (Arima Hiroshi) (50422770)	名古屋大学・医学系研究科・教授 (13901)	

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
---------	---------