

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：72696

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K07669

研究課題名（和文）免疫療法関連副作用における自己抗体と免疫細胞活性化の関連を明らかにする

研究課題名（英文）Elucidating the relationship between autoantibodies and immune cell activation in immune-related adverse events induced by immune checkpoint inhibitors

研究代表者

三浦 裕司（Miura, Yuji）

（財）冲中記念成人病研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：10453698

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、irAEの発症機序の解明と発症予測バイオマーカーの確立を試みた。先行研究では血漿抗CD74抗体とirAE肺臓炎の相関を解明したため、今回はその機序の解明と日本人コホートで追試を行った。市販の抗CD74抗体ではマクロファージの活性を認めたが、irAE発症例のIgGでは活性を示さなかった。また、日本人コホートにおける抗CD74自己抗体はirAE肺臓炎やirAE全般の発症に相関を認めなかった。一方で、血漿サイトカイン、ケモカインの網羅的解析を行ったところ、CXCL10とirAE発症に相関を認めた。irAE発症機序にマクロファージが何らかの関係を持つこと示唆されたが、更なる研究を要する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、免疫チェックポイント阻害薬の開発により、様々ながん種においてその予後が改善した。しかしながら、免疫関連有害事象（irAE）は時に致死的となり、実臨床の課題の一つである。そのため、発症機序の解明と発症予測バイオマーカーの開発が求められている。本研究では、マクロファージが発症機序に関わっている可能性と血漿CXCL10が発症予測につながる可能性を示唆した。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to elucidate the pathogenesis of immune-related adverse events (irAEs) and establish predictive biomarkers for their occurrence. Previous research has clarified the correlation between plasma anti-CD74 antibodies and irAE-related pneumonitis. Therefore, this study focused on elucidating the mechanism and replicating the findings in a Japanese cohort. While commercially available anti-CD74 antibodies showed macrophage activation, IgG from patients with irAEs did not exhibit such activity. Moreover, in the Japanese cohort, anti-CD74 autoantibodies did not correlate with the occurrence of irAE-related pneumonitis or irAEs in general. However, a comprehensive analysis of plasma cytokines and chemokines revealed a correlation between CXCL10 and irAE development. The results suggest that macrophages may be involved in the pathogenesis of irAEs, but further research is required.

研究分野：がん免疫

キーワード：免疫関連有害事象 免疫チェックポイント阻害薬 マクロファージ バイオマーカー CXCL10 CD74 自己抗体

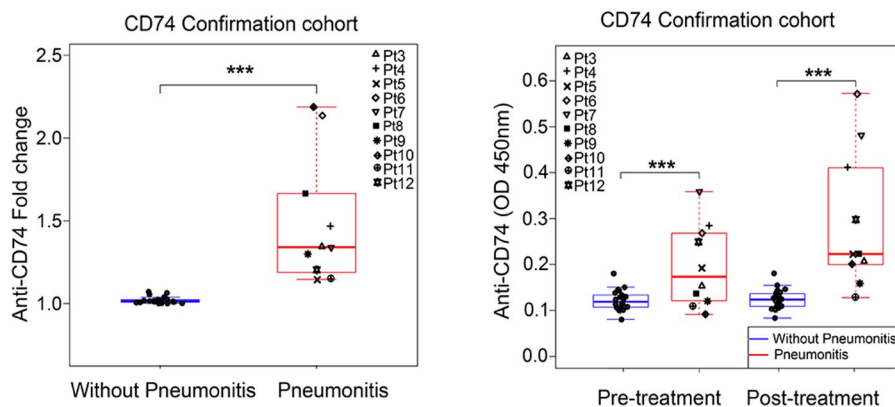
科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) はがん治療におけるパラダイムシフトを起こし、予後の改善に寄与してきた。しかしながら、ICI による免疫関連有害事象 (irAE) が一定数発症することが知られており、臨床的な課題と考えられている。申請者は、irAE を発症した症例の血液から、自己抗体を探索するプロジェクトに参加していた。その過程で、下垂体炎には抗 ITM2B 抗体、抗 GNAL 抗体が、肺臓炎には抗 CD74 抗体が関与している可能性が示唆された (Tahir SA, Miura Y, et al. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019, PMID: 31611368)。しかしながら、これらの自己抗体がどのように irAE を引き起こすかについての詳細な解析はまだ行っていない。

以前から、間質性肺臓炎組織には多数マクロファージが存在しており、その病態形成過程にはマクロファージの活性化が重要な役割を果たしていることが示唆されている (Eur Respir J. 2019 PMID: 31439723)。irAE 肺臓炎症例から採取された肺胞洗浄液や経気管支的生検検体の研究では、マクロファージの増加を認めている (J Thorac Oncol. 2016, PMID: 26723243) ことから、irAE 肺臓炎にマクロファージが何らかの影響を与えている可能性が示唆される。

右図の説明) irAE 肺臓炎患者では血中抗 CD74 抗体が増加していた。



また、CD74 は MHC class II 分子のシャペロンとして知られているが、同時に、macrophage migration inhibitory factor (MIF) をリガンドとする膜型受容体としても知られている (Henne et al. *Immunology* 1995, Leng et al. *J Exp Med* 2003)。そして、irAE 肺臓炎の肺生検サンプルを用いて CD74 の免疫染色を行ったところマクロファージに CD74 が高発現していた (Tahir SA, Miura Y, et al. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019, PMID: 31611368)。

このように、irAE 肺臓炎の発症メカニズムとして、CD74 を介したマクロファージの活性化が関係している可能性が示唆される。

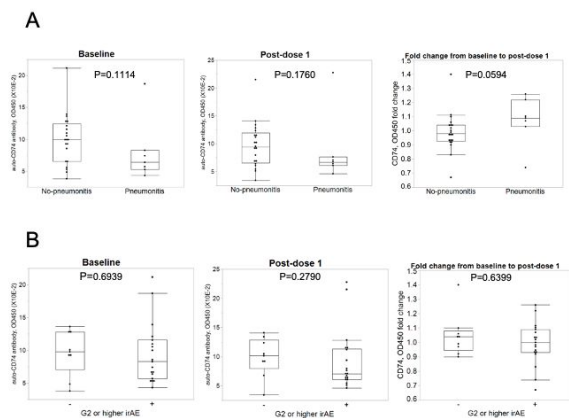
2. 研究の目的

本研究では、irAE 肺臓炎に注目し、抗 CD74 自己抗体と肺線維症の関連性について、主に培養細胞や抗体、患者血清を用いて詳細な解析を加える。抗 CD74 自己抗体が肺線維症を引き起こすメカニズムを解明することで、irAE 肺臓炎の予防や治療に有用な知見が得られると期待される。

3. 研究の方法、4. 研究成果

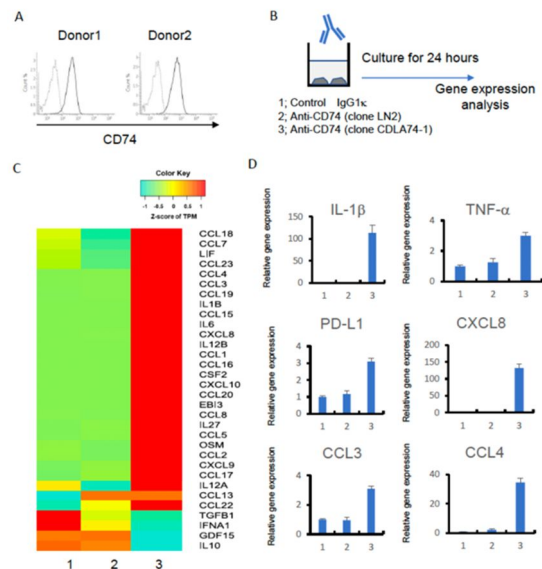
研究 1) Microbiol Immunol. 2023;67:345, PMID 36975091

irAE 肺臓炎を起こした 8 症例と irAE 未発症もしくはグレード 2 未満の irAE 発症例の血漿を使用して、ELISA 法を用いて抗 CD74 自己抗体を測定した。しかしながら、ICI 投与前後共に、irAE 肺臓炎との関連を認めなかった。また、肺臓炎以外の irAE 全般の発症例も含めて解析を行ったが、同様に相関を認めなかった。



研究 2) Unpublished data

市販の抗 CD74 抗体 (blocking 抗体: clone LN2, agonistic 抗体: clone CDLA74-1)を用いて、ヒトマクロファージの培養実験を行った。抗 CD74 agonistic 抗体は、RNA sequence の結果 (右図 C) CXCL10 を含む多くのケモカイン、サイトカインを up-regulate したが、IL-10, IFN-a など一部の遺伝子は down-regulate した。また、qRT-PCR では(右図 D)、IL-1 , TNF , PDL1, CXCL8, CCL3, CCL4 の mRNA が発現した。これらの所見から、抗 CD74 agonistic 抗体は、ヒトマクロファージを活性化させることが分かった。



研究 3) Microbiol Immunol. 2023;67:345, PMID 36975091

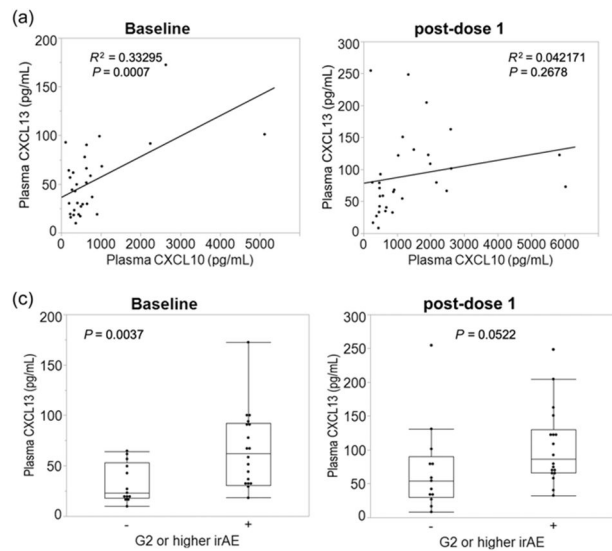
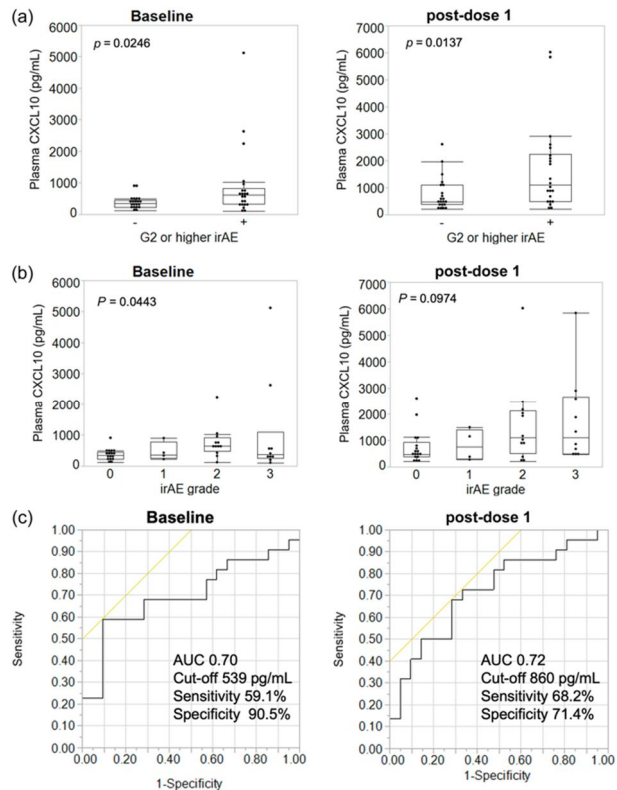
上記結果を踏まえ、10 人の腎癌、2 例の尿路上皮癌、1 例の肺癌を含む探索コホート 13 人 (Grade2 以上の irAE 発症 10 人、未発症 3 人)の血漿を用い、CXCL1, IL-17A, IL-1 , IL-

6, IL-8, CXCL10, MCP-1 CCL2, TNF を測定した。その結果、ICI 投与後の血漿 CXCL10 と Grade 2 以上の irAE 発症に相関を認めた ($P=0.0413$)。

次に、拡大コホートとして 43 人の腎癌症例 (Grade 2 以上の irAE 発症 22 人、未発症 21 人) の血漿を用い、CXCL10 を測定した。このコホートには、イピリムマブ + ニボルマブ併用療法が 20 人、VEGFR 阻害薬 + ICI 併用療法が 13 人、ニボルマブ単剤療法が 10 人含まれていた。ICI 投与前後ともに、血漿 CXCL10 は、Grade 2 以上の irAE 発症と統計学的有意に相関を認めた ($P=0.0246$, $P=0.0137$) (右図 a)。

また、血漿 CXCL10 は irAE のグレードの悪化に伴い増加する傾向を認めた (右図 b)。しかしながら、ROC 解析を実施したところ、ICI 投与前後にてそれぞれ、AUC は 0.70, 0.72 (右図 c) と臨床応用するには、更なる改善が必要と考えられた。

次に、我々の先行研究において、ELISA 法を用いて測定した血漿 CXCL13 と、本研究で測定した CXCL10 の相関を検討した。ICI 投与前の検体において、両者は統計学的有意に相関した ($P=0.0007$) (右図 a)。また、血漿 CXCL13 は ICIs 投与前後ともに、Grade 2 以上の irAE 発症と相関する傾向を認めた ($P=0.0037$, $P=0.0522$) (右図 c)。



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 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Miura Yuji, Motoshima Takanobu, Anami Toshiki, Yano Hiromu, Mito Remi, Pan Cheng, Urakami Shinji, Kinowaki Keiichi, Tsukamoto Hirotake, Kurahashi Ryoma, Murakami Yoji, Yatsuda Junji, Fujiwara Yukio, Kamba Tomomi, Komohara Yoshihiro	4. 巻 67
2. 論文標題 Predictive value of CXCL10 for the occurrence of immune related adverse events in patient with renal cell carcinoma	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbiology and Immunology	6. 最初と最後の頁 345 ~ 354
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1348-0421.13067	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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yuji Miura; Takanobu Motoshima; Toshiki Anami; Hiromu Yano; Remi Mito; Shinji Urakami; Keiichi Kinowaki; Hirotake Tsukamoto; Ryoma Kurahashi; Yoji Murakami; Junji Yatsuda; Yukio Fujiwara; Tomomi Kamba; Yoshihiro Komohara
2. 発表標題 Predictive value of CXCL10 for the occurrence of immune related adverse events in patient with renal cell carcinoma
3. 学会等名 American Association for Cancer Research (国際学会)
4. 発表年 2023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
研究分担者	菰原 義弘 (Komohara Yoshihiro) (40449921)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・教授 (17401)	
研究分担者	元島 崇信 (Motoshima Takanobu) (60726355)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・助教 (17401)	

6. 研究組織（つづき）

	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	田辺 裕子 (Tanabe Yuko) (00743692)	(財) 冲中記念成人病研究所・その他部局等・研究員 (72696)	

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