免疫チェックポイント阻害薬関連心筋炎のサイトカイン・自己抗体プロファイリング

田尻　和子

臨床薬理の進歩 2026 別刷
公益財団法人臨床薬理研究振興財団

免疫チェックポイント阻害薬関連心筋炎のサイトカイン・自己抗体プロファイリング

Cytokine and autoantibody profiling of immune checkpoint inhibitor-associated myocarditis

田尻　和子*1

Key words：免疫関連有害事象、心筋炎、免疫チェックポイント阻害薬、サイトカイン、自己抗体

要　　旨

目的　免疫チェックポイント阻害薬（ICI）関連心筋炎は致死的な免疫関連有害事象であるが、その発症メカニズムは十分に解明されておらず、有効なバイオマーカーは存在しない。本研究の目的は、ICI 心筋炎発症の背景を患者血清中サイトカインや自己抗体の網羅的解析により明らかにすることである。

方法と結果　本研究は ICI 心筋炎 6 例と ICI 治療後に心筋炎を発症しなかった 10 例の対照群を比較検討した。ICI 投与前のサイトカインプロファイルは群間で異なり、G-CSF、IL-6、CXCL13 を含む 43 種類のサイトカインが心筋炎群で有意に高値、IL-10 は低値であった。ICI 治療後には CXCL13、IL-6、レプチンを含む 23 種類のサイトカイン値が心筋炎群で対照群より有意に高値であった。自己抗体の網羅的解析を行った ICI 心筋炎患者 3 例全員から Notch シグナル関連核内転写因子 RBPJ に対する自己抗体が検出された。

結論　ICI 心筋炎の発症時にはサイトカインプロファイルが劇的に変化することが明らかになり、投与前の免疫異常や ICI 治療に対する反応性の亢進が心筋炎発症に寄与している可能性が示唆された。さらに、抗 RBPJ 抗体が ICI 心筋炎の発症リスクやメカニズムに関連する可能性が示唆された。

はじめに

免疫チェックポイント分子（CTLA-4 や PD-1 など）は抑制性共シグナルを伝達することによって免疫細胞の活性化を抑制し、自己に対する免疫寛容状態の維持や免疫反応の収束を行い、免疫応答の恒常性を維持している分子群である。免疫チェックポイント阻害薬（ICI）により抗腫瘍免疫が活性化され抗腫瘍効果がもたらされる一方、免疫細胞の賦活化によると考えられる免疫関連有害事象（irAE）の発生が問題となっている。irAE の中でも心筋炎は 20 ～ 50% が致死的となるため病態の解明が急務である [1]。

これまでの研究から、宿主の免疫活性と irAE の発症との間に関連があり、血清サイトカインが irAE の予測因子として機能する可能性があることを示唆されている [2,3]。ICI 投与前の低 IL-6 値や ICI 投与後の IL-6 の上昇が irAE の発症と関連していることが報告された [2]。また、irAE を発症した肺がん患者では、ベースラインの IL-1β、IL-5、IL-12p70、IL-10、および IL-8 の高値や、G-CSF の低値などのサイトカイン異常が観察された [3]。このように、ICI 開始前および開始後の血清サイトカイン値は、その後の irAE の発症と相関している可能性があるが、心筋炎における検討はなされていない。

*1 Tajiri Kazuko　　国立がん研究センター東病院　循環器科

一般的な心筋炎や炎症性心筋症の患者からは、心臓組織に特異的あるいは非特異的な自己抗原に対する自己抗体がしばしば検出され、それらのうちのいくつかは心筋炎／心筋症の病態生理に直接関連することが報告されている[4,5]。ICI心筋炎の患者における自己抗体に関する報告は限られており、抗アセチルコリン受容体（AChR）抗体の保有率が高く、重症化との関連も示唆されている[6]。しかし、その他の自己抗体も含めてICI心筋炎との関連性を網羅的に検討した研究はこれまで行われていない。

そこで本研究の目的は、ICI心筋炎発症の背景を患者血清中サイトカインや自己抗体の網羅的解析により明らかにすることである。

対象と方法

臨床情報の収集および検体採取

本研究では、ICI心筋炎と診断された連続6例と、ICI治療後に心筋炎を発症しなかった連続10例の対照群を対象とした。心筋炎を発症した6例全例が、Bonacaら[7]の基準に基づき、心筋炎と診断された。本研究プロトコルは筑波大学附属病院倫理委員会（H30-221、R1-071）の承認を受け、対象者全員から書面によるインフォームドコンセントを得た。

ベースラインの炎症状態を評価するため、ICI開始前1ヶ月以内に全患者から血液検体を採取した。対照群におけるICI開始後の測定には、ICI投与開始2～3週間後（2サイクル目開始直前）の血液検体を使用した。心筋炎群におけるICI後の測定には、心筋炎診断日に最も近い日付で、かつステロイド療法開始前の血液サンプルを使用した。採取した血清サンプルは分注し、分析まで－80℃で保存した。

血清サイトカインプロファイリング

半定量的サイトカインアレイ解析（Human Cytokine Antibody Array、ab133998：Abcam）を実施し、80種類のヒトサイトカインを検出した。製品に添付されたプロトコルに従って実施し、化学発光はImageQuant LAS-4000（GE Healthcare）を用いて検出し、濃度測定データはImageQuant TLソフトウェア（GE Healthcare）を用いて解析した。

血清自己抗体プロファイリング

血清自己抗体プロファイリングはHuProt™ Human Proteome Microarray v3.1（CDI Laboratories, Inc）を用いて実施した。プロファイリングには、サンプルごとに1枚のアレイを使用した。すべての血清サンプルは1：1000希釈でアレイにプローブされ、洗浄後、抗IgG抗体でプローブした。CDIソフトウェアを用いて、アレイ上の特定のタンパク質に対する各サンプルの特異性をZスコアに基づいて定量化した。陽性ヒットはZスコア＞3.0と定義した。ICI心筋炎発症後に増加した自己抗体は、以下のように定義した：ベースラインとICI心筋炎発症後との間に統計学的差異（$p < 0.05$）がありかつ2倍以上に上昇したもの。

統計解析

統計解析はGraphPad Prism 8.0（GraphPad Software）を用いて実施した。連続変数はShapiro-Wilk検定を用いて正規分布を評価し、正規分布に従う場合は平均値と標準偏差（SD）、従わない場合は中央値と四分位範囲（IQR）として示した。2群間の比較には、正規分布に従う場合はtwo-tailed unpaired Student's t検定を、非正規分布の場合はMann-Whitney U検定を用いた。統計学的有意性は$p < 0.05$と定義した。

結　果

表1にICI心筋炎患者と対照群の臨床的特徴をまとめた。ICI開始から心筋炎発症までの期間の中

央値は 25 日（IQR：22 ～ 28 日）、心筋炎グレードの中央値は 3（IQR：2 ～ 3）であった。対照群のうち、中央値 356 日（IQR：247 ～ 511 日）の追跡期間中に、7 例の患者（70%）が心筋炎以外の irAE を発症し、そのグレードの中央値は 3 であった。

図 1 に、ICI 治療前（ベースライン）と心筋炎発症時に採取したサンプルを比較した、ICI 心筋炎患者のサイトカインプロファイルを示す。ベースラインの血清サンプルは ICI 開始の中央値 7 日前（IQR：6 ～ 8 日前）に採取し、心筋炎発症時のサンプルは中央値 25 日後（IQR：22 ～ 27 日後）に採取した。**図 1B** に示すように、心筋炎発症時には IL-1 β と IL-2 の血清レベルが有意に上昇したが、IL-10 を含む 7 つのサイトカインレベルは有意に低下した。MIG/CXCL9 と IP-10/CXCL10 の血清レベルは心筋炎発症時にそれぞれ 5.3 倍と 1.8 倍に顕著に上昇したが、統計学的に有意な差ではなかった。

図 2 は、対照群 ICI 開始前と開始後の血清サイトカイン濃度の変化を示している。ICI 開始後に IL-1 β、IL-2、IL-15 の濃度は有意に上昇したが、IL-10 を含む 9 種類のサイトカインは有意に低下した。

ICI 投与後、両群において共通して上昇したサイトカインは IL-1 β と IL-2 であった（**図 3A**）。IL-15 は対照群においてのみ有意に上昇した。一方、angiogenin、MIP-1 β/CCL4、ENA-78/CXCL5、EGF、IL-10 は ICI 開始後、両群において有意に

表1　患者背景

	心筋炎群 (n = 6)	対象群 (n = 10)
年齢（歳）	72 (60–76)	72 (69–74)
女性	2 (33)	1 (10)
がん種		
腎細胞癌	1 (17)	1 (10)
非小細胞肺癌	2 (33)	1 (10)
膀胱癌	2 (33)	1 (10)
悪性黒色腫	0 (0)	5 (50)
喉頭癌	0 (0)	2 (20)
胃癌	1 (17)	0 (0)
遠隔転移	3 (50)	9 (90)
ICI		
抗PD-1抗体	3 (50)	3 (30)
抗PD-L1抗体	1 (17)	2 (20)
抗CTLA-4抗体 + 抗PD-1抗体	1 (17)	0 (0)
他のirAE	5 (83)	7 (70)
筋炎	3 (50)	0 (0)
重症筋無力症	1 (17)	0 (0)
間質性肺炎	1 (17)	0 (0)
副腎不全	0 (0)	1 (10)
汎血球減少	0 (0)	1 (10)
急性腎障害	0 (0)	1 (10)
関節炎	0 (0)	2 (20)
肝機能障害	0 (0)	2 (20)
甲状腺炎	0 (0)	1 (10)
ICI開始からirAE発症までの日数（日）	25 (22–28)	48 (37–76)
irAEのCTCAEグレード	3 (2–3)	3 (3–3)

データは数（%）または数（四分位範囲）で記載した。

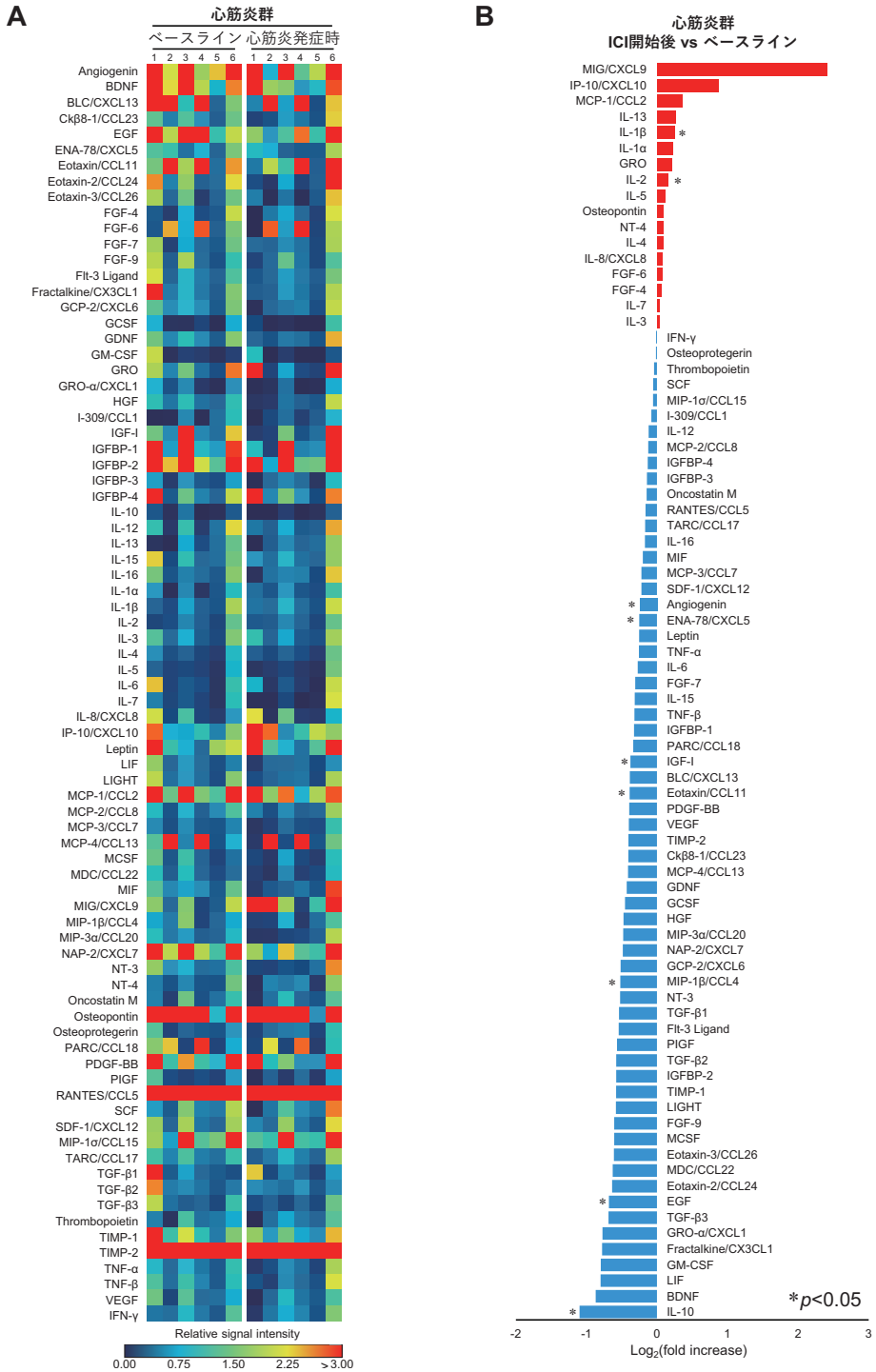


図1　ICI心筋炎患者における血清サイトカインプロファイル

A　心筋炎を発症した患者におけるベースライン時および心筋炎発症時の血清サイトカイン濃度を示すヒートマップ。

B　ベースラインと比較した心筋炎発症時のサイトカインシグナル強度の変化率。Mann-Whitney U検定。文献17）より引用、改変。

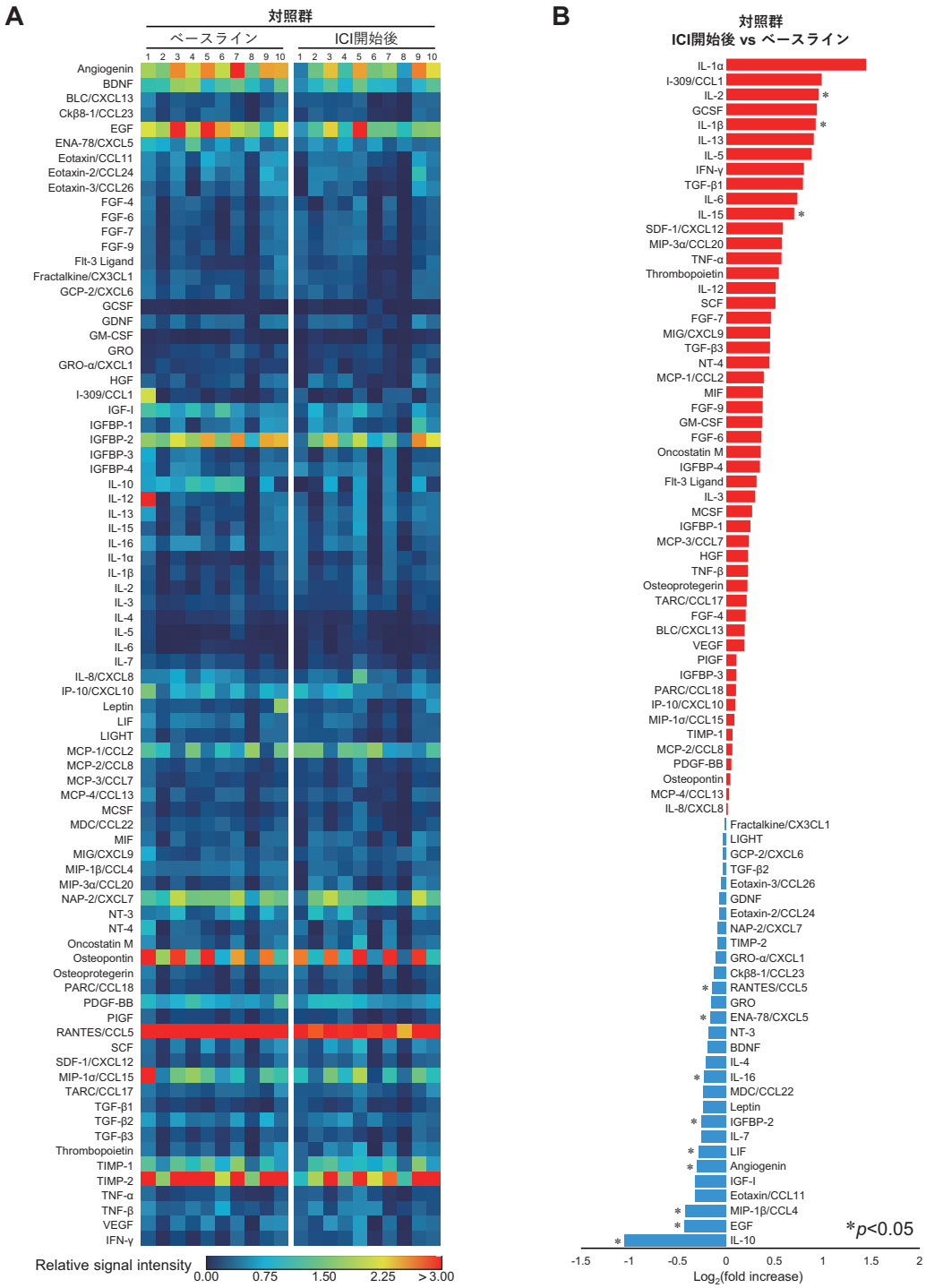


図 2　対照患者における血清サイトカインプロファイル

A　ICI 治療を受けた対照患者におけるベースラインおよび ICI 治療中の血清サイトカイン濃度を示すヒートマップ。

B　ICI 治療後のサイトカインシグナル強度のベースラインと比較した変化率。Mann-Whitney U 検定。文献 17）より引用、改変。

減少した。心筋炎群では eotaxin/CCL11 および IGF-1 が有意に減少したのに対し、対照群では RANTES/CCL5、LIF、IL-16、IGFBP-2 が有意に減少した（**図 3B**）。

さらに、心筋炎患者と非心筋炎患者のサイトカイン濃度を比較した。ベースラインでは、心筋炎群では対照群と比較して 52 種のサイトカインの血清濃度が有意に上昇していた（**図 4A**）。最も有意に上昇したサイトカインは、G-CSF、IL-6 および BCL/CXCL13 であった。逆に、IL-10 濃度は心筋炎群で対照群よりも有意に低下していた。ICI 開始後、心筋炎群では対照群と比較して 29 種のサイトカインの血清濃度が有意に上昇していた（**図 4B**）。上昇した上位 5 つのサイトカインは、MIG/CXCL9、BLC/CXCL13、IL-6、レプチン、および GRO であった。ICI 後、心筋炎群では IL-10 濃度が低下する傾向があったが、その差は統計学的に有意ではなかった。

最後に、3 名の心筋炎患者の自己抗体プロファイリングを行った。ベースラインでは、症例 1、2、3 の血清サンプル中の IgG に対して、それぞれ 116、296、154 の自己抗原が陽性反応を示した。これらのタンパク質のうち、RBPJ は 3 つのサンプルすべてで認識され、32 の自己抗原は 3 つのサンプルのうち少なくとも 2 つのサンプルで認識された（**図 5A**）。ICI 心筋炎発症時には、症例 1、2、3 の血清サンプル中の IgG に対して、それぞれ 122、250、143 の自己抗原が陽性反応を示した。これらのタンパク質のうち、RBPJ は 3 つのサンプルすべてで認識され、29 の自己抗原は 3 つのサンプルのうち任意の 2 つで認識された（**図 5B**）。

考　察

本研究で、ICI 心筋炎発症時に増加あるいは減少するサイトカイン／ケモカインが明らかになった。心筋炎発症時に有意に上昇していた IL-1β は、マウスの ICI 心筋炎モデルでも高値を示し、その阻害により心筋炎が軽減したと報告されている[8]。活性化 T 細胞によって産生される IL-2 も心筋炎発症時に増加していた。高用量 IL-2 を用いたがん免疫療法により心筋炎が生じた過去の複数の報告からも[9,10]、IL-2 が心筋炎の発症および進展に関与していることが示唆される。CXCL9／CXCL10 は統計学的有意差を認めなかったものの、心筋炎発症時に顕著に増加していた。最近の研究では、CXCL9／CXCL10 を産生するマクロファージが ICI 心筋炎の病態に重要な役割を果たすことが示唆されている[11]。ICI 心筋炎マウスモデルでは、心臓の CXCL9／CXCL10 産生マクロファージは CCR2 陽性単球に由来し、T 細胞が産生する IFN-γ に応答して分化することが示されている[11]。ICI

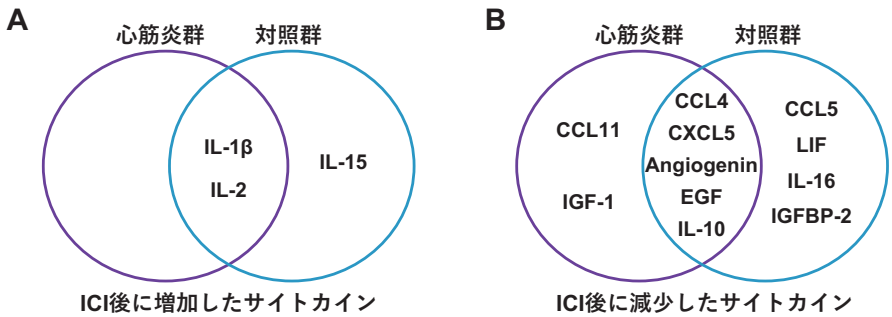


図 3　ICI 治療後に有意に増加または減少したサイトカインを示すベン図
ICI 治療前 **A** と治療後 **B**。文献 17）より引用、改変。

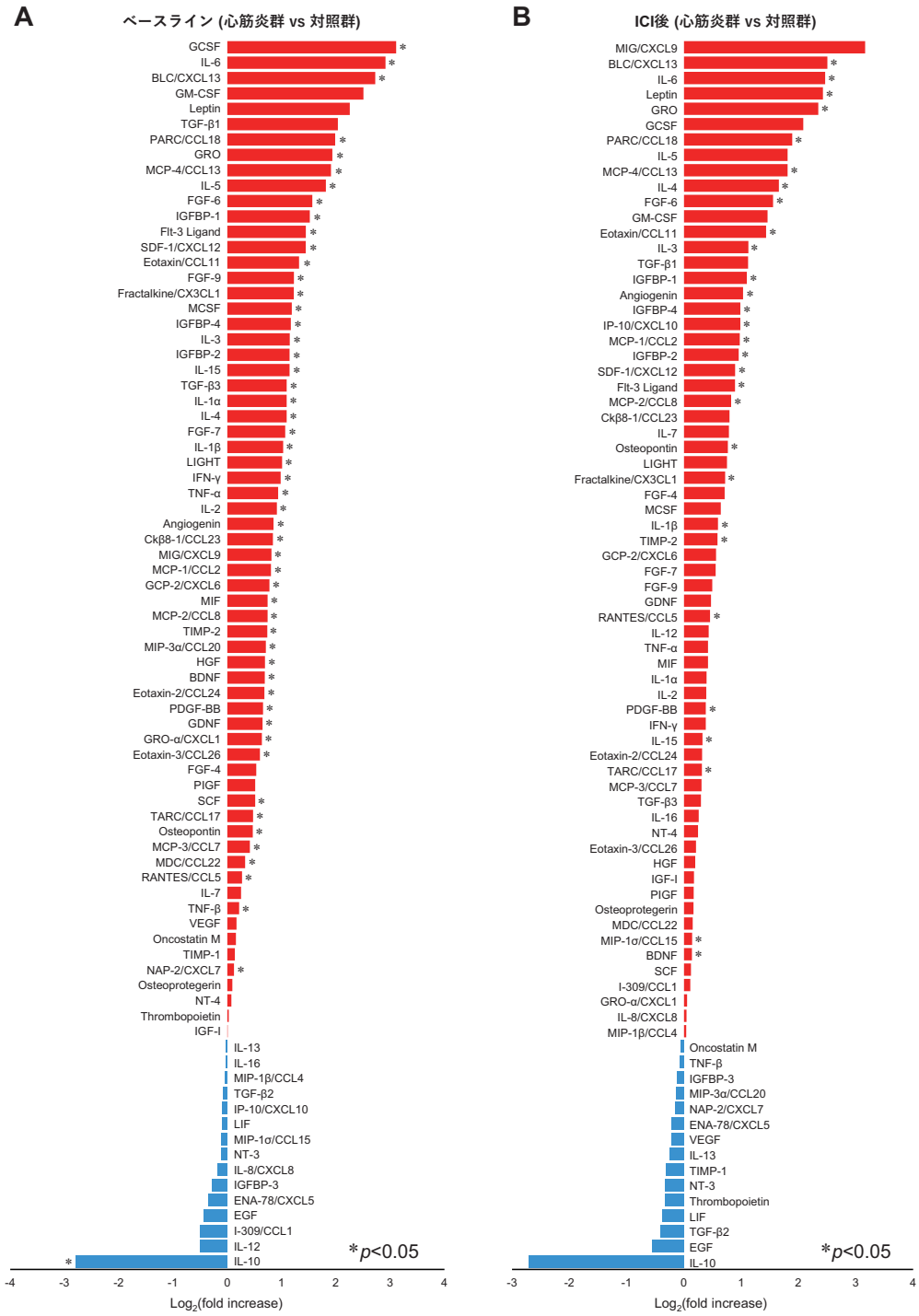


図 4　ICI 心筋炎患者と対照患者におけるサイトカインの比較

A　ベースライン時のサイトカイン濃度の比較。**B**　ICI 治療後のサイトカイン濃度の比較。Mann-Whitney U 検定。文献 17）より引用、改変。

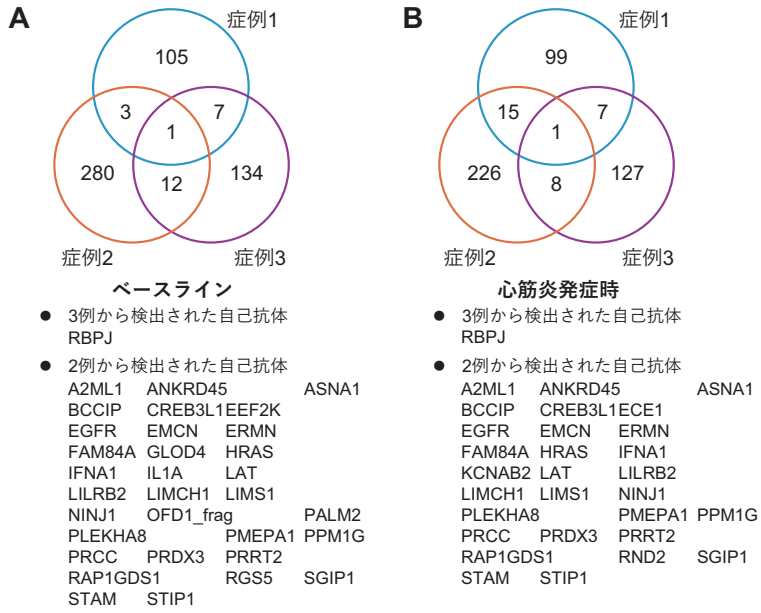


図5　プロテオームマイクロアレイによって同定された心筋炎患者の自己抗体のベン図
A　ICI 治療前、**B**　ICI 心筋炎発症時。文献 16）より引用、改変。

心筋炎患者では、心筋には CXCL9 ／ CXCL10 の受容体である CXCR3 を発現する T 細胞の浸潤が増加しており [12,13]、この T 細胞が産生する IFN-γ と、CXCL9 ／ CXCL10 産生マクロファージとが相互に作用して正のフィードバックループを形成し、心筋炎を悪化させると推定されている [11]。また本研究では、抗炎症性サイトカインである IL-10 が心筋炎発症時に顕著に減少しており、心筋炎の増悪に寄与していることが示唆された。

ICI 心筋炎と対照群のベースラインのサイトカイン値の比較では、心筋炎群で G-CSF、IL-6、CXCL13、GM-CSF が有意に高く、抗炎症性サイトカインである IL-10 が低値であった。ICI 開始後のサイトカインの比較では、心筋炎患者で CXCL13、IL-6、レプチンなどの炎症性サイトカインが対照群に比べて有意に上昇していた。両群の患者背景が異なり、サンプル数も少ないという研究の限界はあるが、本知見は ICI 開始前からの免疫異常や ICI に対する過剰反応が心筋炎の発症に関連している可能性を示唆している。さらに、特定のサイトカインが ICI 心筋炎の発症予測バイオマーカーとなり得ることが示唆された。

3 例の ICI 心筋炎患者血清から RBPJ に対する自己抗体が検出された。RBPJ は Notch シグナル伝達経路で重要な役割を果たす転写因子である。RBPJ を介する Notch 経路は、細胞運命決定、分化、増殖、アポトーシスなどの様々な細胞プロセスに関与しており、胚発生、組織恒常性、がんや心疾患などの病態において重要な役割を担っている [14]。抗 RBPJ 抗体に関する報告は少なく、その臨床的意義はほとんど明らかになっていない。Nickenig らは、健康者の 31% および拡張型心筋症患者の 70.6% に抗 RBPJ 抗体が存在したという興味深い知見を報告しているが [15]、ICI 心筋炎において、抗 RBPJ 抗体の発症バイオマーカーとしての可能性や、病態への関与の有無を明らかにするためにはさらなる研究が必要である。

本研究の限界を以下に示す。第一に、本研究は

単施設の後向きパイロット研究でありサンプル数が少ないため、得られた知見の一般化には限界がある。第二に、対照は無作為に選択したものの変数のマッチングは行っておらず、結果に影響を与えた可能性がある。特に、ICI の種類やがん種が心筋炎群と対照群で大きく異なっていたため、両群間の比較結果の解釈には注意が必要である。第三に、サイトカインや自己抗体は半定量的に測定したため絶対値は不明である。これらの知見を検証するには、適切な対照を備えた大規模コホートでの定量解析が不可欠である。

追　記

本研究は *Frontiers in Immunology* 誌と *Molecular Biology Reports* 誌に発表した[16,17]。

謝　辞

本研究を実施するにあたり、研究助成を賜りました公益財団法人臨床薬理研究振興財団に心より感謝申し上げます。

利益相反

著者の田尻はブリストル・マイヤーズ スクイブ、ファイザー、小野薬品工業、中外製薬、アストラゼネカから講演料を受領している。

文　献

1) Tajiri K, Aonuma K, Sekine I. Immune checkpoint inhibitor-related myocarditis. *Jpn J Clin Oncol* 2018; **48**: 7-12.

2) Wang M, Zhai X, Li J, Guan J, Xu S, Li YY, et al. The role of cytokines in predicting the response and adverse events related to immune checkpoint inhibitors. *Front Immunol* 2021; **12**: 670391.

3) Schindler H, Lusky F, Daniello L, Elshiaty M, Gaissmaier L, Benesova K, et al. Serum cytokines predict efficacy and toxicity, but are not useful for disease monitoring in lung cancer treated with PD-(L)1 inhibitors. *Front Oncol* 2022; **12**: 1010660.

4) Mone K, Reddy J. The knowns and unknowns of cardiac autoimmunity in viral myocarditis. *Rev Med Virol* 2023; **33**: e2478.

5) Asatryan B, Asimaki A, Landstrom AP, Khanji MY, Odening KE, Cooper LT, et al. Inflammation and immune response in arrhythmogenic cardiomyopathy: State-of-the-art review. *Circulation* 2021; **144**: 1646-55.

6) Fenioux C, Abbar B, Boussouar S, Bretagne M, Power JR, Moslehi JJ, et al. Thymus alterations and susceptibility to immune checkpoint inhibitor myocarditis. *Nat Med* 2023; **29**: 3100-10.

7) Bonaca MP, Olenchock BA, Salem JE, Wiviott SD, Ederhy S, Cohen A, et al. Myocarditis in the setting of cancer therapeutics: Proposed case definitions for emerging clinical syndromes in cardio-oncology. *Circulation* 2019; **140**: 80-91.

8) Talele NP, Kumra H, Gomes-Santos IL, Ho WW, Andersson P, Siwicki M, et al. IL-1 β blockade prevents cardiotoxicity and improves the efficacy of immune checkpoint blockers and chemotherapy against pancreatic cancer in mice with obesity. *J Immunother Cancer* 2025; **13**: e011404.

9) Tan MCC, Ortega-Legaspi JM, Cheng SF, Patton KK. Acute myocarditis following high-dose interleukin-2 treatment. *J Cardiol Cases* 2017; **15**: 28-31.

10) Eisner RM, Husain A, Clark JI. Case report and brief review: IL-2-induced myocarditis. *Cancer Invest* 2004; **22**: 401-4.

11) Ma P, Liu J, Qin J, Lai L, Heo GS, Luehmann H, et al. Expansion of pathogenic cardiac macrophages in immune checkpoint inhibitor myocarditis. *Circulation* 2024; **149**: 48-66.

12) Zhu H, Galdos FX, Lee D, Waliany S, Huang YV, Ryan J, et al. Identification of pathogenic immune cell subsets associated with checkpoint inhibitor-induced myocarditis. *Circulation* 2022; **146**: 316-35.

13) Boughdad S, Latifyan S, Fenwick C, Bouchaab H, Suffiotti M, Moslehi JJ, et al. 68 Ga-DOTATOC PET/CT to detect immune checkpoint inhibitor-related myocarditis. *J Immunother cancer* 2021; **9**: e003594.

14) Siebel C, Lendahl U. Notch signaling in development, tissue homeostasis, and disease. *Physiol Rev* 2017; **97**: 1235-94.

15) Borggrefe T, Oswald F. The Notch signaling pathway: Transcriptional regulation at Notch target genes. *Cell Mol Life Sci* 2009; **66**: 1631-46.

16) Li S, Xu DZ, Murakoshi N, Yuan Z, Imaoka T, Tajiri K. Autoantibody profiling of patients with immune checkpoint inhibitor-associated myocarditis: a pilot study. *Front Immunol* 2024; **15**: 1423622.

17) Li S, Tajiri K, Ishizuka Y, Murakata Y, Yuan Z, Xu D, et al. Cytokine profiling of patients with immune checkpoint inhibitor-associated myocarditis: a pilot study. *Mol Biol Rep* 2025; **52**: 983.