



Title	免疫チェックポイント阻害剤の単剤投与に関連する肝炎の頻度・臨床経過・予測因子に関する研究
Author(s)	北潟谷, 隆
Description	配架番号 : 2733
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15202号
Issue Date	2022-09-26
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k15202
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/88265
Type	doctoral thesis
File Information	KITAGATAYA_Takashi.pdf



学 位 論 文

免疫チェックポイント阻害剤の単剤投与に関連する肝炎の
頻度・臨床経過・予測因子に関する研究

(Studies on prevalence, clinical course, and predictive
factors of immune checkpoint inhibitor monotherapy-
associated hepatitis)

2022 年 9 月

北 海 道 大 学

北 潟 谷 隆

学 位 論 文

免疫チェックポイント阻害剤の単剤投与に関連する肝炎の
頻度・臨床経過・予測因子に関する研究

(Studies on prevalence, clinical course, and predictive
factors of immune checkpoint inhibitor monotherapy-
associated hepatitis)

2022 年 9 月

北 海 道 大 学

北 潟 谷 隆

目 次

発表論文目録及び学会発表目録	1 頁
要旨	2 頁
略語集	4 頁
緒言	6 頁
方法	11 頁
結果	17 頁
考察	30 頁
結論	35 頁
謝辞	37 頁
利益相反	38 頁
引用文献	39 頁

発表論文目録及び学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した。

1. Takashi Kitagataya, Goki Suda, Kazunori Nagashima, Takehiko Katsurada, Koji Yamamoto, Megumi Kimura, Osamu Maehara, Ren Yamada, Taku Shigesawa, Kazuharu Suzuki, Akihisa Nakamura, Masatsugu Ohara, Machiko Umemura, Naoki Kawagishi, Masato Nakai, Takuya Sho, Mitsuteru Natsuizaka, Kenichi Morikawa, Koji Ogawa, Shunsuke Ohnishi, Yoshito Komatsu, Hiroo Hata, Satoshi Takeuchi, Takashige Abe, Jun Sakakibara-Konishi, Takanori Teshima, Akihiro Homma, Naoya Sakamoto.

Prevalence, clinical course, and predictive factors of immune checkpoint inhibitor monotherapy-associated hepatitis in Japan

Journal of Gastroenterology and Hepatology; 35 (10): 1782-1788, 2020.

本研究の一部は以下の学会に発表した。

1. Takashi Kitagataya, Goki Suda, Ren Yamada, Taku Shigesawa, Kazuharu Suzuki, Akihisa Nakamura, Machiko Umemura, Masato Nakai, Takuya Sho, Kenichi Morikawa, Koji Ogawa and Naoya Sakamoto

Prevalence, clinical course, and predictive factors of immune checkpoint inhibitor monotherapy-associated hepatitis in Japan

AASLD The Liver Meeting Digital Experience 2020/11/13-16

要 旨

【背景と目的】免疫チェックポイント阻害剤（Immune checkpoint inhibitor; ICI）の登場は癌治療に革命をもたらし、近年その使用頻度は増加してきている。ICI は肝臓を含む様々な臓器で免疫関連有害事象（immune-related adverse event; irAE）を引き起こす可能性があることが知られているが、その発症率や予測因子は未だ明らかにされていない。本研究では、ICI で治療された日本人患者にみられた irAE 肝炎の発症率や臨床経過を評価すること、ならびに irAE 肝炎の予測因子について検討することを目的とした。

【対象と方法】後方視的に、2014 年 8 月から 2019 年 12 月までに北海道大学病院で治療された悪性腫瘍患者に対し ICI 単剤療法を施行された患者をスクリーニングした。20 歳未満であること、マルチキナーゼ阻害剤や細胞障害性薬剤を含む他の化学療法薬が併用されていること、irAE 評価に必要な臨床情報が欠落していること、ICI 併用療法が施行されていることを除外基準とした。ICI 投与開始時における、ICI レジメン、性別、年齢、原発癌、転移の有無、ICI 治療前の治療効果や irAE 肝炎を含む有害事象の頻度、irAE 肝炎の臨床経過、ならびに irAE 肝炎と患者因子（年齢、性別、ICI レジメン、血液生化学所見、腸腰筋指数（Psoas muscle mass index; PMI）に基づいた骨格筋量等）との関連性について検討を行なった。

【結果】356 例がスクリーニングされ、そのうち 81 例を除外基準に従って除外し、最終的に 275 例を解析した。年齢の中央値は 67（25-92）歳、64.7%（178/275 例）が男性で、原発巣は肺癌が 101 例、悪性黒色腫が 72 例、腎細胞癌が 38 例、頭頸部癌が 31 例、胃癌が 11 例、口腔癌が 6 例、その他の癌が 16 例であった。使用された ICI はニボルマブが 182 例、ペンブロリズマブが 57 例、イピリムマブが 17 例、アテゾリズマブが 11 例、デュルバルマブが 7 例、アベルマブが 1 例であった。過去に ICI 治療歴が 1 回ないしは 2 回ある症例はそれぞれ全体の 7.3%（20 例）と 2.2%（6 例）で、ICI 治療歴のある 26 例のうち、20 例は病勢進行により、6 例は副作用のため前治療が終了となっていた。治療効果は完全奏功、部分奏功、安定、進行、評価不能がそれぞれ 4 例、57 例、84 例、126 例、4 例であった。観察期間の中央値は 428（3-1405）日で、HBV 感染状況は陰性、既感染、キャリアがそれぞれ 169 例、101 例、5 例であった。PMI の中央値は男性が 4.64（ cm^2/m^2 ）（1.35-9.15）、女性が 3.03（ cm^2/m^2 ）（1.18-6.89）で、PMI 低値は 19.6%（54 例）であった。全 Grade の irAE 肝炎は 8.7%（24/275 例）の患者に、Grade 3/4 の irAE 肝炎は 4.0%（11/275 例）の患者に認められた。irAE 肝炎発症までの期間はそれぞれ中央値で全 Grade の irAE 肝炎では 42 日、Grade 3/4 の irAE 肝炎では 36 日であった。全 Grade の irAE 肝炎の発症に細胞傷害性 T リンパ球抗原-4（Cytotoxic T-lymphocyte antigen-4; CTLA-4）阻害剤の投与（ $p=0.026$, OR: 3.66

[95% CI: 1.2-11.3]) と ICI 治療歴 (p=0.046, OR: 2.28 [95% CI: 1.08-8.12]) が有意に関連していた。また、女性であること (p=0.011, OR: 4.94 [95% CI: 1.46-17.5]) と ICI 治療歴 (p=0.033, OR: 4.11 [95% CI: 1.1-15.2]) は Grade 3/4 の irAE 肝炎発症と有意に関連していた。Grade 3/4 の irAE 肝炎患者では 6 例 (54.5%) でステロイドが投与され、2 例 (18.2%) でステロイド投与後にミコフェノール酸モフェチル (Mycophenolate mofetil; MMF) の追加投与が必要であった。Grade 3/4 の irAE 肝炎患者のうち 2 例 (18.2%) で ICI 再投与が行われていたが、その後の irAE 肝炎の再燃は認めなかった。irAE 肝炎による死亡は認められず、後治療としては 1 例で転移巣の切除後に CR となり長期生存が得られた症例を認めた他、別の ICI 治療 (2 例)、化学療法 (1 例)、放射線治療 (1 例)、後治療なし (4 例) であった。Grade 3/4 の irAE 肝炎患者の 2 例で経皮的肝生検が施行され、いずれの症例でも門脈域に CD3 陽性細胞が多く浸潤し、T 細胞主体の炎症細胞浸潤を示す所見であった。

【考察】今回解析した Grade 3/4 の irAE 肝炎患者の 54.5% がステロイド治療を行わずに肝炎が改善していた。Grade 3/4 の irAE 肝炎患者の 38% は自然に軽快したとの報告があるが、ステロイドや MMF が必要な患者像は未だ明らかではなく、現状では Grade 3/4 の irAE 肝炎に対してはステロイド治療が重要と考えられた。女性であることと ICI 治療歴があることが Grade 3/4 の irAE 肝炎発症と有意に関連していたが、女性であることは重度の irAE の発症のリスク因子であるとの報告もあり、今回の解析結果と矛盾しなかった。また、2 種類の ICI の連続投与例では 2 剤目の投与時により高率に肝機能障害が認められたといった報告があり、ICI による再治療の際は、注意深く経過を観察する必要があると考えられた。いずれの ICI でも irAE を引き起こすが、irAE 有病率と重症度は CTLA-4 阻害剤が最も高いと報告され、今回の解析でも全 Grade の irAE 肝炎の発症に CTLA-4 阻害剤の投与と ICI 治療歴が有意に関連しており、CTLA-4 阻害剤を投与する際には irAE 肝炎の発症に一層の注意が必要であると考えられた。本研究では、irAE 肝炎の発症率だけでなく、irAE 肝炎の臨床経過や治療効果、予測因子を解析している点に新規性がある。一方で、後方視的な単一施設での研究であり、対象患者は癌種や使用した ICI が不均一な集団であったこと、対象患者数が限定されており、特に Grade 3/4 の irAE 肝炎の患者数が限定されていたこと、Grade 3/4 の irAE 肝炎患者に対する治療は肝臓専門医によって決定されていない場合があったこと、肝生検を施行した症例が限られており、病理組織学的所見に関する検討が不足していたことといったリミテーションがあった。

【結論】ICI 治療を受けた患者における全 Grade ならびに Grade 3/4 の irAE 肝炎の発症率は、それぞれ 8.7% (24/275 例)、4.0% (11/275 例) であった。Grade 3/4 の irAE 肝炎の臨床経過は概ね良好であったが、2 例 (18.2%) でステロイド投与後も MMF の追加投与が必要であった。女性であることと、ICI 治療歴があることが、Grade 3/4 の irAE 肝炎の発症率と有意に関連していた。

略 語 集

本文中および図表に記載した略語は以下の通りである。

ALT	Alanine aminotransferase
AST	Aspartate aminotransferase
Atezo	Atezolizumab
Ave	Avelumab
CLIA	Chemiluminescence immunoassay
CR	Complete response
CT	Computed tomography
CTCAE	National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events
CTLA-4	Cytotoxic T-lymphocyte antigen-4
DDW-J	Digestive Disease Week Japan
DNA	Deoxyribonucleic acid
Dur	Durvalumab
eGFR	estimated glomerular filtration rate
Eosino	Eosinophil
HAV	Hepatitis A virus
HBV	Hepatitis B virus
HCV	Hepatitis C virus
ICI	Immune checkpoint inhibitor
IL	Interleukin
Ipi	Ipilimumab
irAE	immune-related adverse event
LEfSe	Liner discriminant analysis effect size
Lymph	Lymphocyte
MHC	Major histocompatibility complex
MMF	Mycophenolate mofetil
MSI-H	Microsatellite Instability-High
NE	Not evaluated
Neut	Neutrophil
Nivo	Nivolumab

NLR	Neutrophil-to-Lymphocyte ratio
n. s.	not significant
PD	Progressive disease
PD-1	Programmed cell death protein-1
PD-L1	Programmed cell death protein-ligand 1
Pem	Pembrolizumab
PMI	Psoas muscle mass index
PR	Partial response
PSL	Prednisolone
SD	Stable disease
T-Bil	Total-bilirubin
TCR	T cell receptor
Treg	regulatory T cell
ULN	Upper limit of normal
WBC	White blood cell

緒 言

がんは世界の死亡原因の第2位であり、毎年約960万人の人ががんによって死亡している (Bray et al., 2018)。本邦においても、高齢化に伴いがん死亡数は近年増加し、1981年以降日本人の死因の第一位はがんとなっており、近年では約3人に1人ががんによって死亡している (厚生労働省, 2019)。近年、がんの克服に向けた診断や治療法にさまざまな進歩があり、患者の予後は改善され、がんの年齢調整死亡率も低下している (厚生労働省, 2019)。がん治療の方法には、手術、薬物療法、放射線治療などがあるが、その中でも、がん免疫のダウンレギュレーターを標的とした免疫チェックポイント阻害剤 (Immune checkpoint inhibitor; ICI) の開発により、免疫療法に対する関心が高まっている。

がん免疫応答における一連の流れは、①腫瘍細胞死に伴うがん抗原の放出、②樹状細胞によるがん抗原の取り込みとそれに伴う抗原提示細胞への成熟化とリンパ節への遊走、③主要組織適合遺伝子複合体 (Major histocompatibility complex; MHC) を介したT細胞のプライミングと活性化、④活性化T細胞の腫瘍への遊走、⑤活性化T細胞の腫瘍組織への浸潤、⑥活性化T細胞によるがん細胞の認識、⑦活性化T細胞によるがん細胞の破壊、の7つのステップからなるがん免疫サイクルとして知られている (Chen et al., 2013)。ステップ⑦の結果、がん抗原が放出されることで再びステップ①へと進み、がん免疫サイクルは機能し、がん組織の排除を促進している。

このがん免疫サイクルは複数の免疫チェックポイント分子により制御されており (Chen et al., 2013)、それらは免疫の恒常性を保つために自己に対する免疫応答を抑制するとともに、過剰な免疫反応を抑制する働きを持っている (Qin et al., 2019)。現在、免疫チェックポイント分子のうち、プログラム細胞死タンパク質-1 (Programmed cell death protein-1; PD-1) と細胞傷害性Tリンパ球抗原-4 (Cytotoxic T-lymphocyte antigen-4; CTLA-4)、そしてPD-1のリガンドであるプログラム細胞死タンパク質-リガンド1 (Programmed cell death protein-ligand; PD-L1) に対する抗体薬がICIとして臨床応用されている。

通常、ステップ③では抗原提示細胞上のMHCとT細胞上のT細胞受容体 (T cell receptor; TCR) を介した抗原提示というシグナルと、T細胞上の分化抗原群 (Cluster of differentiation; CD) 28と抗原提示細胞上のB7を介した共刺激の2つのシグナルによって、T細胞が活性化される (Chen et al., 2013)。そしてステップ⑦では活性化したT細胞がTCRを介して、腫瘍組織内でがん細胞上のMHCが提示するがん抗原を認識し、がん細胞を攻撃している。PD-1はT細胞上に発現する免疫チェックポイント分子であり、標的自己細胞や抗原提示細胞上に存在するPD-L1と結

合することで T 細胞活性を抑制し、自己に対する免疫応答を抑制する (Okazaki et al., 2001)。がん細胞表面にもこの PD-L1 が発現しており、ステップ⑦において活性化 T 細胞上の PD-1 と結合することで、がん細胞に対する T 細胞活性を抑制する (Iwai et al., 2002) (Figure 1a)。抗 PD-1 抗体薬や抗 PD-L1 抗体薬は、がん細胞と T 細胞間、あるいは抗原提示細胞と T 細胞間の PD-1/PD-L1 シグナルを介した T 細胞活性の抑制を阻害し、T 細胞活性を回復させることで抗腫瘍効果を発揮する (Figure 1b)。CTLA-4 は T 細胞の活性化に伴い発現が誘導される免疫チェックポイント分子で、CTLA-4 の発現が上昇すると B7 と CD28 の結合と競合し、抗原提示細胞による T 細胞の活性化が抑制される (Buchbinder et al., 2016) (Figure 1c)。CTLA-4 は制御性 T 細胞 (regulatory T cell; Treg) 上にも恒常的に発現しており、同じく B7 と CD28 の結合と競合する他、抗原提示細胞上の B7 の発現を抑制することで抗原提示細胞の成熟を抑制している (Wing et al., 2008)。抗 CTLA-4 抗体薬は CTLA-4 と B7 との結合を阻害し、ステップ③において共刺激を回復させ T 細胞の活性化を促進させ (Figure 1d)、また、Treg による抗原提示細胞の抑制を阻害し抗原提示細胞の成熟を促進させることで抗腫瘍効果を発揮する。ICI による免疫療法では、既存の化学療法と比較し高い治療効果が得られること (Robert et al., 2015) や、ICI 治療によって従来の化学療法では得られなかった持続的な効果を得られる症例がある (Gettinger et al., 2018) ことが報告され、ICI の使用頻度は高まっており、悪性黒色腫など一部の癌では抗 PD-1 抗体薬と抗 CTLA-4 抗体薬の併用療法も行われている。

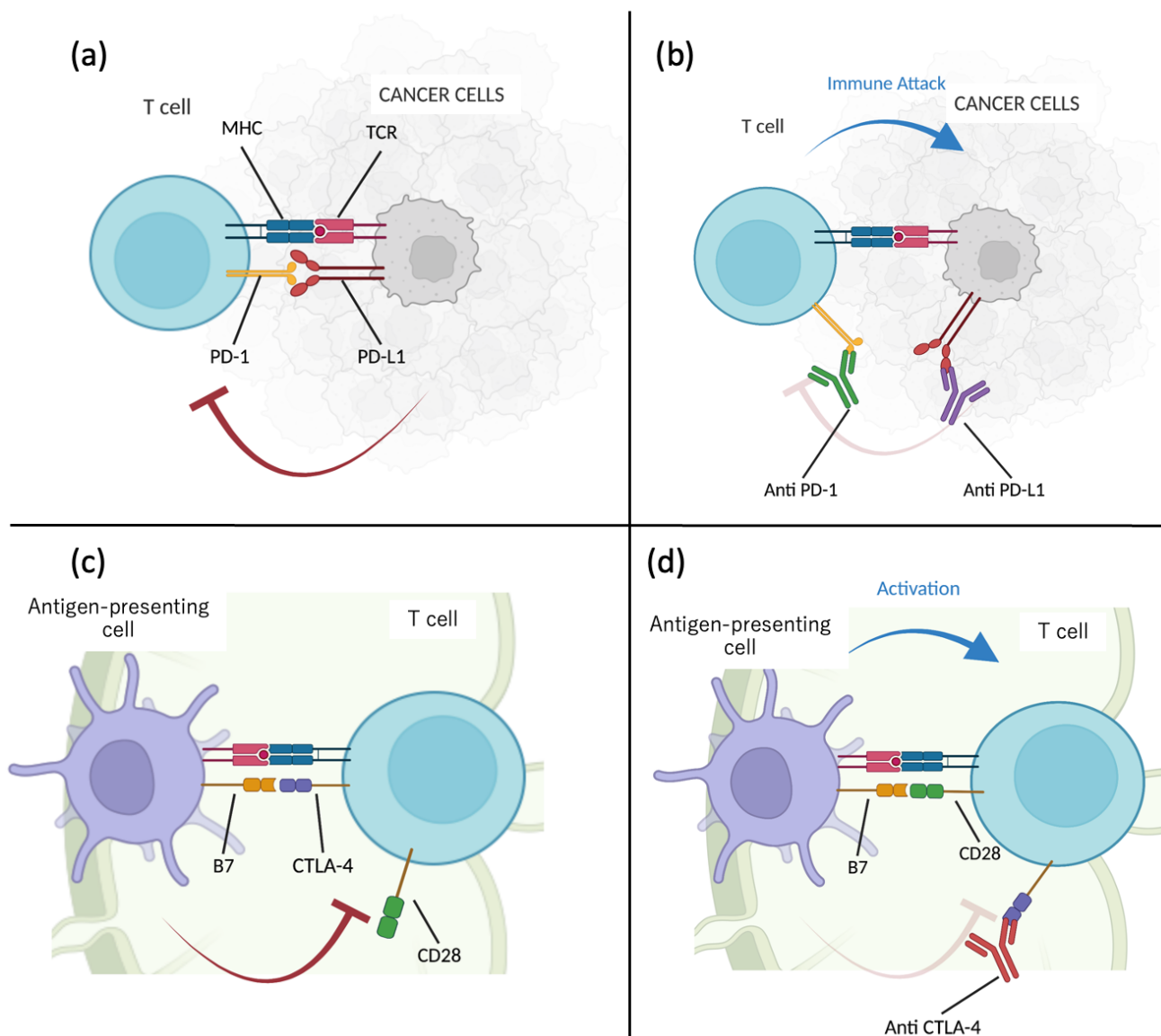


Figure 1. Mechanism of ICI

腫瘍組織内で癌細胞が PD-L1 を発現し、T 細胞上の PD-1 と結合することでその活性が抑制される (a) 。抗 PD-1/PD-L1 抗体薬は PD-1/PD-L1 シグナルを阻害することで T 細胞による免疫反応を増強させ抗腫瘍効果を発揮する (b) 。CTLA-4 は T 細胞上に発現し、B7 と CD28 の結合を阻害することで抗原提示細胞による T 細胞の活性化が抑制される (c) 。抗 CTLA-4 抗体薬は CTLA-4 と B7 の結合を阻害し、抗原提示細胞による T 細胞の活性化を促進することで抗腫瘍効果を発揮する (d) 。

一方で、ICI による免疫療法では他の化学療法にはみられない、免疫関連有害事象 (immune-related adverse event; irAE) と呼ばれる副作用が引き起こされることがある (Nakamura., 2019) 。irAE の発症機序としては腫瘍や健常組織に存在する抗原に対する T 細胞活性の増加、既存の自己抗体の増加、炎症性サイトカインの増加、正

常組織に発現している免疫チェックポイント分子に対する直接結合による補体介在性炎症の増強などが考えられている (Figure 2) (Postow et al., 2018) が、未だ明らかではない。irAE 全体の発症頻度は抗 PD-1 抗体薬、抗 PD-L1 抗体薬では 40-60%、抗 CTLA-4 抗体薬では 60-70%と比較的高頻度であるが、その多くは軽症例である (Das et al., 2019)。しかし、致死的な経過をたどる irAE が抗 PD-1 抗体薬、抗 PD-L1 抗体薬では 0.36-0.38%、抗 CTLA-4 抗体薬では 1.08%に認められたとの報告もあり (Wang et al., 2018)、注意が必要な副作用である。

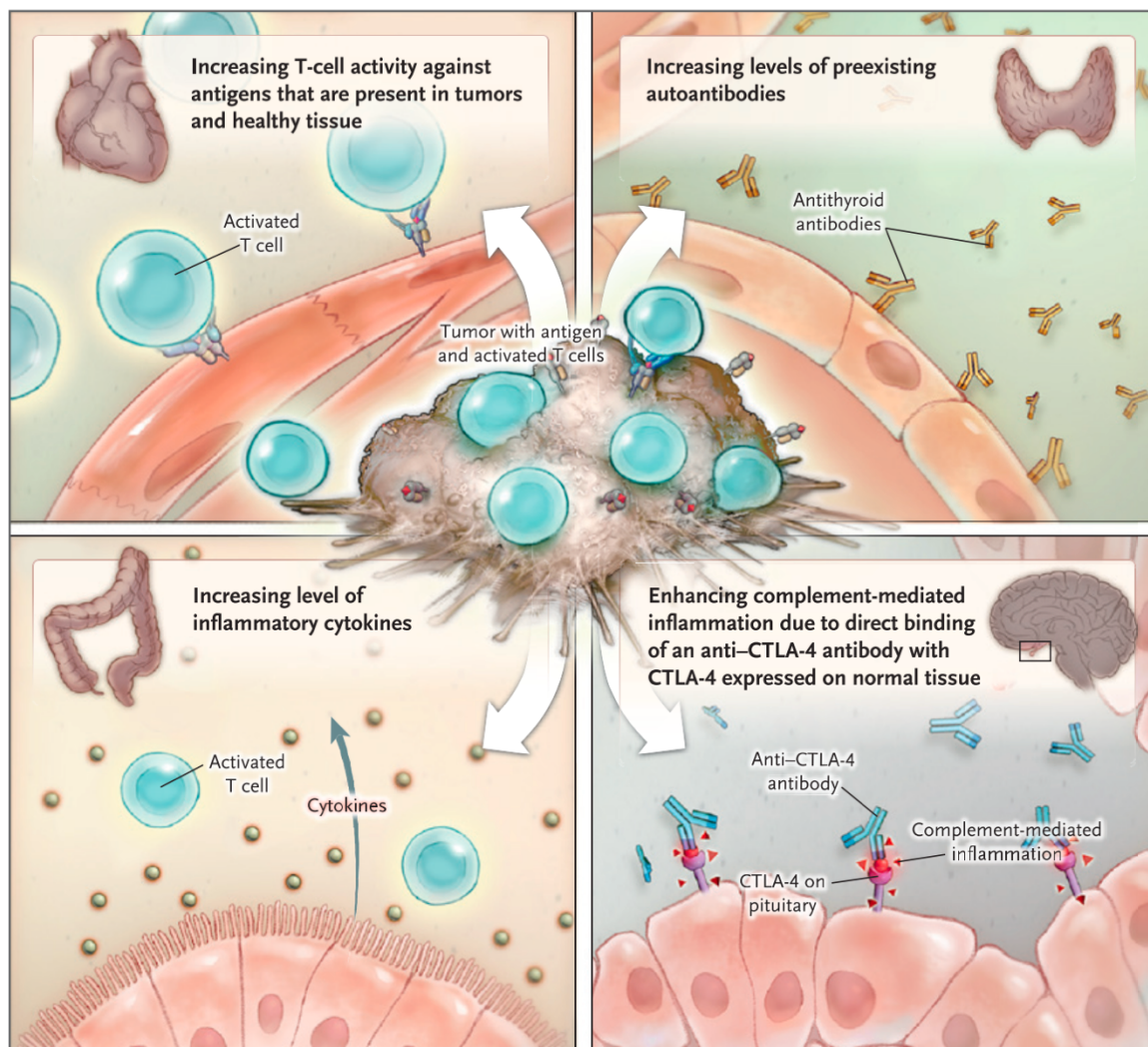


Figure 2. Possible Mechanisms of irAE

irAE の原因と考えられる機序には、腫瘍や健常組織に存在する抗原に対する T 細胞活性の増加、既存の自己抗体の増加、炎症性サイトカインの増加、正常組織に発現している免疫チェックポイント分子に対する直接結合による補体介在性炎症の増強がある (Postow et al., 2018)。

irAE はあらゆる臓器で観察される可能性があるが、その中では大腸炎と皮膚障害

の頻度が比較的高く、抗 PD-1 抗体薬ではいずれも 15%に、抗 CTLA-4 抗体薬では大腸炎は 35%、皮膚障害は 30%に認められたと報告されている (De, Martin et al., 2020)。それらと比較すると、irAE 肝炎の頻度は 5-7%と比較的低い (De, Martin et al., 2020) が、悪性黒色腫や非小細胞肺癌といった非肝癌患者と肝癌患者を比較すると、ICI 投与による irAE 肝炎の頻度は前者が 3.3-3.8%であったのに対し、後方で 13-16%と肝癌患者で irAE 肝炎を認める頻度が高かった (Brown et al., 2017)。肝癌では、既存の化学療法であるソラフェニブと比較し、PD-L1 阻害剤のひとつであるアテゾリズマブと抗血管内皮細胞増殖因子阻害剤のひとつであるベバシズマブの併用療法に全生存期間と無増悪生存期間で優位性を認め (Finn et al., 2020)、肝癌患者に対する ICI 投与の機会は増加している現状があり、irAE 肝炎は増加してくることが予想される。また、劇症 irAE 肝炎の症例報告 (Inamori et al., 2019; Kubo et al., 2021) もあるが、irAE 肝炎を合併する症例は胆癌患者であることから肝移植の適応とならないため、劇症化した際には高率に救命困難となることが予想される。さらに irAE 肝炎による死亡を 0.2%で認めたとする報告 (Suzman et al., 2018) もあり、irAE 肝炎は注意が必要な irAE である。

現在までの irAE 肝炎に関する既報は、欧米人を対象に行われているものが主体であり、日本人を対象に irAE 肝炎の頻度や臨床経過は明らかにされていない。また、臨床試験 (Finn et al., 2020) では除外されていたような、肝機能障害や腎機能障害、貧血、血小板減少などの合併症を有する患者にも、実臨床では ICI を投与する機会があるが、こうした合併症を有した患者における irAE 肝炎の頻度や臨床経過も明らかにされていない。irAE の発症率に人種差があったとする報告 (Peravali et al., 2021) もあり、日本人を対象に実臨床データに基づいて irAE 肝炎の頻度や臨床経過について検討することには意義があると考ええる。

また、ICI を用いた治療の効果予測因子に関する報告は数多くあるものの、irAE の予測因子に関するデータは現在限られている (Nakamura., 2019)。現時点で報告されている irAE の予測因子としては、サルコペニア (Daly et al., 2017)、女性 (Valpione et al., 2018)、血清インターロイキン (Interleukin; IL) -6 値 (Chaput et al., 2017)、腸内細菌 (Chaput et al., 2017)、白血球数の変化 (Fujisawa et al., 2017)、好酸球数 (Nakamura et al., 2019) などが報告されているが、これらは irAE 全体を対象に解析されたものであり、irAE 肝炎の予測因子は明らかにされていない。従って、irAE 肝炎の発症を予測する因子について検討することにも意義があると考ええる。

そこで本研究では、実臨床において ICI で治療された日本人患者にみられた irAE 肝炎の発症率や臨床経過を評価すること、ならびに irAE 肝炎の予測因子について検討することを目的とした。

方 法

1. 研究の種類・デザイン

単施設後方視的観察研究

2. 対象となる患者

対象者のうち、以下の選択基準（1）を全て満たし、かつ除外基準（2）のいずれにも該当しない場合を適格とした。

（1） 選択基準

- ① 北海道大学病院にて悪性腫瘍に対し ICI 単剤療法を施行された患者
- ② 本研究への参加について自由意志による同意が得られた患者、もしくは研究の参加について拒否しなかった患者

（2） 除外基準

- ① 治療開始時の年齢が 20 歳未満の患者
- ② マルチキナーゼ阻害剤や細胞障害性薬剤を含む他の化学療法薬が併用されている患者
- ③ irAE 評価に必要な臨床情報が欠落している患者
- ④ ICI 併用療法が施行された患者

3. 検討項目

2014 年 8 月から 2019 年 12 月までに北海道大学病院で悪性腫瘍に対し ICI 単剤療法が施行された連続した患者を対象とし、治療効果や irAE 肝炎を含む有害事象の頻度、irAE 肝炎の臨床経過、ならびに irAE 肝炎と患者因子（年齢、性別、ICI レジメン、ICI 投与歴、治療効果、観察期間、骨格筋量、B 型肝炎ウイルス（Hepatitis B virus; HBV）感染ステータス、血液生化学所見）との関連性について検討を行なった。

4. 観察項目

診療録を用いて ICI 投与開始時における、ICI レジメン、性別、年齢、原発癌、転移の有無、ICI 治療前の治療プロトコール（解析対象となる癌腫に対する前治療で、前治療の内容や前治療からの期間の制限は設けない）、血球数、生化学所見、腎機能、腸腰筋指数（Psoas muscle mass index; PMI）に基づいた骨格筋量、HBV 感染状

態についての情報を 2-3 週ごとに定期的に評価した。

腎機能は estimated glomerular filtration rate (eGFR)を用いて評価した。

eGFR 計算式 (単位: mL/min/1.73 m²) : $194 \times \text{血清クレアチニン}^{-1.094} \times \text{年齢}^{-0.287} \times 0.739$ (女性の場合)

5. 治療レジメン

治療レジメンとしては、肺癌患者では抗 PD-1 抗体薬であるニボルマブ 3mg/kg の 2 週間毎投与 (48 例)、抗 PD-1 抗体薬であるペンブロリスマブ 200mg/body の 3 週間毎投与 (35 例)、抗 PD-L1 抗体薬であるデュルバルマブ 10mg/kg の 2 週間毎投与 (7 例) が行われていた。抗 PD-L1 抗体薬であるアテゾリスマブ 1200mg/body の 3 週間毎投与 (11 例) が行われていた。悪性黒色腫患者では抗 PD-1 抗体薬であるニボルマブ 2mg/kg の 3 週間毎投与 (46 例)、抗 PD-1 抗体薬であるペンブロリスマブ 2mg/kg の 2 週間毎投与 (9 例)、抗 CTLA-4 抗体薬であるイピリムマブ 3mg/kg の 3 週間毎投与 (17 例) が行われていた。腎細胞癌患者では抗 PD-1 抗体薬であるニボルマブ 3mg/kg の 2 週間毎投与 (31 例)、抗 PD-1 抗体薬であるペンブロリスマブ 200mg/body の 3 週間毎投与 (7 例) が行われていた。口腔癌患者 (6 例)、胃癌患者 (11 例)、頭頸部癌患者 (31 例)、原発不明癌患者 (1 例)、耳下腺癌患者 (2 例)、胸膜中皮腫 (1 例)、嗅神経芽細胞腫 (1 例) では抗 PD-1 抗体薬であるニボルマブ 3mg/kg の 2 週間毎投与が行われていた。外耳道癌患者 (3 例)、悪性リンパ腫患者 (1 例) では抗 PD-1 抗体薬であるニボルマブ 240mg/body の 2 週間毎投与が行われていた。膀胱癌患者 (3 例) では抗 PD-1 抗体薬であるペンブロリスマブ 200mg/body の 3 週間毎投与が行われていた。高頻度マイクロサテライト不安定性 (Microsatellite Instability-High; MSI-H) 固形癌として大腸癌 (1 例)、子宮体癌 (1 例)、虫垂癌 (1 例) では抗 PD-1 抗体薬であるペンブロリスマブ 200mg/body の 3 週間毎投与が行われていた。メルケル細胞癌患者 (1 例) では抗 PD-L1 抗体薬であるアベルマブ 10mg/kg の 2 週間毎投与が行われていた。

6. irAE 肝炎の診断

ICI 投与中、並びに投与終了後に正常値上限以上の肝機能障害を認めた患者を対象に、次項 (「7. irAE 肝炎の重症度」) に記載する重症度判定に従い判定を行なった。grade 2 以上の肝機能障害をきたした全ての患者を対象に、アルコール摂取歴の確認、HBV 検査、C 型肝炎ウイルス (Hepatitis C virus; HCV) 検査、A 型肝炎ウイルス (Hepatitis A virus; HAV) 検査、サイトメガロウイルス検査、エプスタイン-バーウイルス検査、抗核抗体検査、抗ミトコンドリア抗体検査、腹部エコー検査や

コンピュータ断層撮影 (Computed tomography; CT) 検査による胆道閉塞病変や転移性肝腫瘍の評価を行い、それらと併せて Digestive Disease Week Japan 2004 (DDW-J) スケール (Table 1) を用いて評価を行った。DDW-J スケールは薬剤性肝障害の診断目的に作成されたもので、スケールに基づいてスコアを算出し、薬剤性肝障害の可能性において総スコアが 2 点以下を「可能性が低い」、3-4 点を「可能性がある」、5 点以上を「可能性が高い」と診断する (Takikawa et al., 2005)。アルコール摂取やウイルス感染、胆道閉塞疾患、転移性肝腫瘍の増大が除外され、かつ DDW-J スコア 3 点以上の症例を irAE 肝炎と定義した (Sawada et al., 2020)。

Table 1. DDW-J scale

Scale	Definition		DDW-J
	Hepatocellular type	Cholestasis type	
Time to onset			
From the beginning of the drug administration	5-90 days	5-90 days	+2
	< 5 days, or > 90days	< 5 days, or > 90days	+1
From cessation of the drug	≤15 days	≤30 days	+1
	>15 days	>30 days	0
Course of the reaction			
Differentiation between the peak of ALT or ALT and upper limit of normal values	>50% decrease within 8 days	-	+3
	>50% decrease within 30 days	>50% decrease within 180 days	+2
	-	<50% decrease within 180 days	+1
	<50% decrease within 30 days	Unchanged or re-elevation	0
	<50% decrease 30 days after cession	-	-2
Risk factor	Alcohol	Alcohol/Pregnant	+1
Other causes *	All causes of group1 and 2 can be excluded		+2
	All causes of group1 can be excluded		+1
	4 or 5 causes of group1 can be excluded		0
	<3 causes of group1 can be excluded		-2
	Causes except for drug is highly suspected		-3
Previous information on hepatotoxicity	Yes		+1
Eosinophilia	Yes		+1
DLST	Positive		+2
	False-positive		+1
	Negative or not examined		0
Response to occasional re-administration			
Re-administration without comedication	Doubled in ALT value	Doubled in ALP value	+3
Re-administration with comedication	Doubled in ALT value	Doubled in ALP value	+1
Re-administration with/without comedication	Within normal range in ALT value	Within normal range in ALP value	-2

* Group1 includes HAV, HBV, HCV, biliary obstruction, alcoholism, and acute recent hypotension history.

Group2 includes Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus.

7. irAE 肝炎の重症度

irAE 肝炎の重症度については、National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE; version 4.0) と、American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline (Brahmer et al., 2018) に基づき、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (Aspartate aminotransferase; AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (Alanine aminotransferase; ALT)、総ビリルビン値 (Total-bilirubin; T-Bil) を用い Grade1 から Grade5 に分類した。

Grade1: AST or ALT $\rightarrow$ 1.0-3.0 $\times$ 正常上限値 (upper limit of normal; ULN)
and/or

T-Bil $\rightarrow$ 1.0-1.5 $\times$ ULN

Grade2: AST or ALT $\rightarrow$ 3.0-5.0 $\times$ ULN
and/or

T-Bil $\rightarrow$ 1.5-3.0 $\times$ ULN

Grade3: AST or ALT $\rightarrow$ 5.0-20.0 $\times$ ULN
and/or

T-Bil $\rightarrow$ 3.0-10.0 $\times$ ULN

Grade4: AST or ALT $\rightarrow$ ≥ 20 $\times$ ULN
and/or

T-Bil $\rightarrow$ ≥ 10.0 $\times$ ULN

Grade5: Death

8. 骨格筋量の評価

骨格筋量の低下が irAE の発症に関連していたとの報告 (Daly et al., 2017) があり、CT 画像を用いた PMI によって骨格筋量を評価した。PMI は第三腰椎レベルの両側腸腰筋の横断面積を manual trace 法を用いて測定し、身長²で除して算出した (Hamaguchi et al., 2016) (Figure 2)。骨格筋量低下を示す PMI のカットオフ値は既報に基づき、女性は 2.29 (cm²/m²) 未満、男性は 3.74 (cm²/m²) 未満とした (Ohara et al., 2020)。

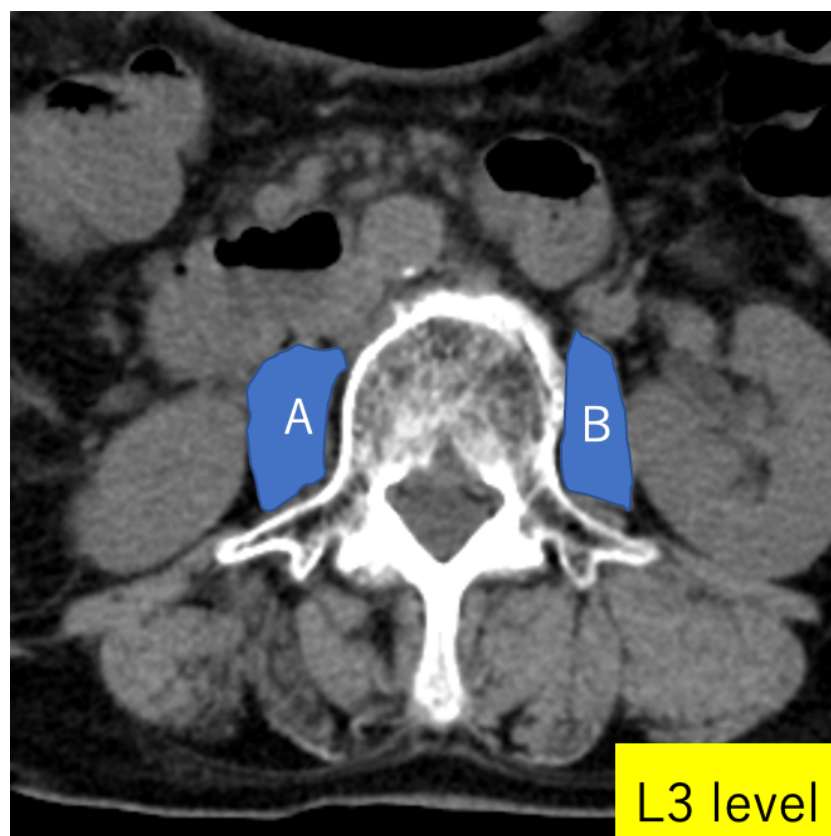


Figure 2. PMI on CT image

PMI (cm^2/m^2) = [第三腰椎レベルの両側腸腰筋 (A+B) の横断面積 (cm^2)] / [身長 (m)]² として算出した.

9. 倫理的遵守事項

本研究は「ヘルシンキ宣言（2013 年 10 月改定）」及び「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（平成 26 年文部科学省・厚生労働省告示第 3 号）」を遵守して実施され、あらかじめ臨床研究実施計画書と患者説明同意文書を北海道大学病院長へ提出し、研究の実施に関して自主臨床研究審査委員会の承認及び病院の許可を得て行われた（自主臨床研究番号: 自 018-0405）。研究参加に対して書面による同意が得られた症例、または参加を辞退しなかった症例を対象とした。

10. 統計解析

カテゴリー変数における統計解析はカイ二乗検定を、連続変数においてはマン・ホイットニーの U 検定を用いて行なった。いずれの検定においても、両側検定で、p 値が 0.05 未満の場合に統計学的に有意とした。また、カテゴリー変数の解析ではオッズ比と 95%信頼区間を算出した。統計解析は Prism 7.03 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA) を用いて行なった。

結 果

1. 患者背景

本研究では、2014 年 8 月から 2019 年 12 月までに北海道大学病院において ICI 単剤で治療された悪性腫瘍患者 356 例のうち、適切な irAE 評価が行われていない、または irAE 評価のための臨床情報が不十分であった 38 例、化学療法薬との併用であった 35 例、ICI 併用療法が行われた 8 例の患者を除外した 275 例を解析対象とした (Figure 3)。

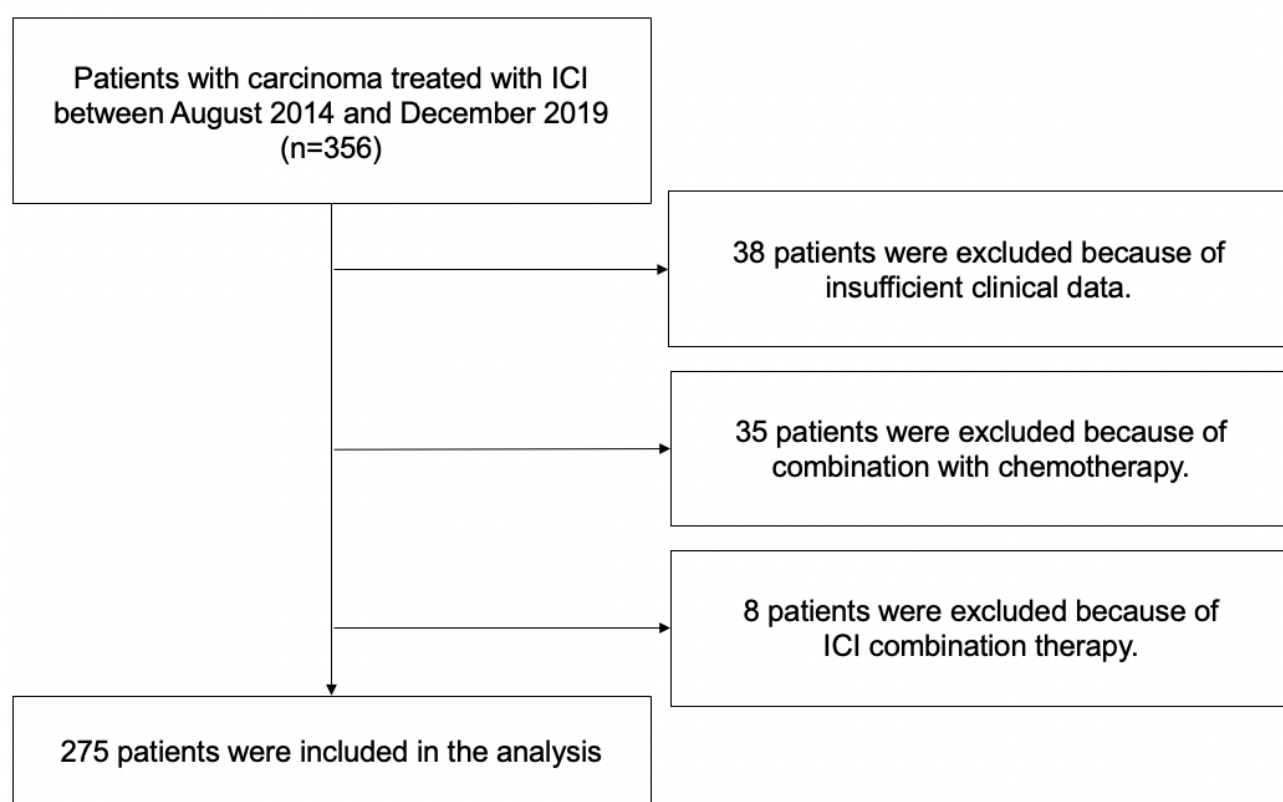


Figure 3. Study flow

解析を行なった 275 例の患者背景は、年齢中央値は 67 (25-92) 歳、64.7% (178/275 例) が男性で、原発巣は肺癌が 101 例、悪性黒色腫が 72 例、腎細胞癌が 38 例、頭頸部癌が 31 例、胃癌が 11 例、口腔癌が 6 例、その他に外耳道癌が 3 例、膀胱癌が 3 例、耳下腺癌が 2 例、悪性リンパ腫、メルケル細胞癌、原発不明癌、胸膜中皮腫、嗅神経芽細胞腫、MSI-H 固形癌であった大腸癌、子宮体癌、虫垂癌がそれぞれ 1 例ずつであった。使用された ICI は抗 PD-1 抗体薬であるニボルマブが 182 例、抗 PD-1 抗体薬であるペンブロリズマブが 57 例、抗 CTLA-4 抗体薬であるイピリムマブ

が 17 例、抗 PD-L1 抗体薬であるアテゾリズマブが 11 例、抗 PD-L1 抗体薬であるデュルバルマブが 7 例、抗 PD-L1 抗体薬であるアベルマブが 1 例であった。過去に ICI 治療歴が 1 回ないしは 2 回ある症例はそれぞれ全体の 7.3% (20 例) と 2.2% (6 例) であった。治療歴が 1 回ある症例では、前回 ICI はニボルマブが 17 例、ペンブロリズマブが 3 例、2 回あった症例では、前回 ICI はニボルマブ+ペンブロリズマブが 2 例、ニボルマブ+イピリムマブが 3 例、ペンブロリズマブ+イピリムマブが 1 例であった。ICI 治療歴のある 26 例のうち、22 例は病勢進行により、4 例は副作用のため前治療が終了となっていた。治療効果は完全奏功 (Complete Response; CR)、部分奏功 (Partial Response; PR)、安定 (Stable Disease; SD)、進行 (Progressive Disease; PD)、評価不能 (Not Evaluated; NE) がそれぞれ 4 例、57 例、84 例、126 例、4 例であった。観察期間の中央値は 428 (3-1405 日) 日で、HBV 感染状況は陰性、既感染、キャリアがそれぞれ 169 例、101 例、5 例であった。PMI の中央値は男性が 4.54 (cm^2/m^2) (1.35-9.15)、女性が 3.03 (cm^2/m^2) (1.18-6.89) で、PMI 低値は 19.6% (54 例) であった (Table 2)。

Table 2. Baseline characteristics

Total number (n=275)	
Age (years) ^a	67 (25–92)
Sex (male/female)	178/97
Primary malignancy (lung/melanoma/kidney/pharyngeal/stomach/oral/others)	101/72/38/31/11/6/16
ICI (Nivo/Pem/Ipi/Atezo/Dur/Ave)	182/57/17/11/7/1
History of ICI treatment (0/1/2)	249/20/6
Treatment response (CR/PR/SD/PD/NE)	4/57/84/126/4
Observation period (days) ^a	428 (3–1405)
HBV status (negative/past infection/carrier)	169/101/5
PMI (cm ² /m ²) ^a	4.01 (1.18–9.15)
Male (cm ² /m ²) ^a	4.54 (1.35–9.15)
Female (cm ² /m ²) ^a	3.03 (1.18–6.89)
Low PMI (%)	19.6
Baseline white blood cell count ^a	5600 (1300–25200)
Baseline red blood cell count (×10 ⁴) ^a	389 (178–530)
Baseline platelet count (×10 ³) ^a	24.2 (5.1–75.1)
Baseline Total protein (g/dL) ^a	6.7 (3.9–8.8)
Baseline Albumin (g/dL) ^a	3.8 (1.4–5.3)
Baseline T-Bil (mg/dL) ^a	0.6 (0.2–4.8)
Baseline AST level (IU/L) ^a	22 (8–96)
Baseline ALT level (IU/L) ^a	15 (5–92)
Baseline Lactate dehydrogenase (IU/L) ^a	210 (44–3129)
Baseline Alkaline Phosphatase (IU/mL) ^a	251 (91–2393)
Baseline γ -Glutamyl Transpeptidase (IU/L) ^a	30 (6–700)
Baseline Blood Urea Nitrogen (mg/dL) ^a	15 (4–61)
Baseline eGFR (mL/min/1.73 m ²) ^a	69.9 (3.6–136)
Baseline C-Reactive Protein (mg/dL) ^a	0.41 (0.02–19.8)

Nivo: Nivolumab, Pem: Pembrolizumab, Ipi: Ipilimumab, Atezo: Atezolizumab, Dur: Durvalumab, Ave: Avelumab, ICI: Immune checkpoint inhibitor, CR: Complete response, PR: Partial response, SD: Stable disease, PD: Progressive disease, HBV: Hepatitis B virus, PMI: Psoas muscle mass index, T-Bil: Total bilirubin, AST: Aspartate aminotransferase, ALT: Alanine aminotransferase, eGFR: estimated glomerular filtration rate

^a Data are shown as median (range)

2. irAE 肝炎の発症率とその発症に関わる因子

全体の 8.7% (24/275 例) の患者 (年齢中央値は 66.5 [25-82] 歳、女性が 37.5% [9/24 例]) に irAE 肝炎が認められ、Grade 別では 1/2/3/4 がそれぞれ 11/2/9/2 例であった。全体の 4.0% (11/202 例) の患者 (年齢中央値は 61 [25-79] 歳、女性が 72.7% [8/11 例]) に Grade 3/4 の irAE 肝炎を認めた。全 Grade の irAE 肝炎においては、抗 PD-1 抗体薬ないしは抗 PD-L1 抗体薬が 20 例、抗 CTLA-4 抗体薬が 4 例、ICI 治療歴がある症例が 5 例、治療効果が CR ないしは PR であった症例が 8 例、HBV 既感染ないしはキャリアが 12 例、DDW-J score は 3/4/5/6/7/8 がそれぞれ 7/5/4/3/2/3 例、ICI 治療開始時から irAE 肝炎発症までの期間の中央値は 42 (14-434) 日であった。Grade 3/4 の irAE 肝炎においては、抗 PD-1 抗体薬ないしは抗 PD-L1 抗体薬が 9 例、抗 CTLA-4 抗体薬が 2 例、ICI 治療歴がある症例が 3 例、治療効果が CR ないしは PR であった症例が 4 例、HBV 既感染ないしはキャリアが 6 例、DDW-J score は 3/4/5/6/7/8 がそれぞれ 1/2/3/2/2/1 例、ICI 治療開始時から irAE 肝炎発症までの期間の中央値は 36 (14-100) 日であった (Table 3)。

また、ベースラインにおける患者背景のなかで、抗 CTLA-4 抗体薬の投与 ($p=0.026$, OR: 3.66 [95% CI: 1.2-11.3]) と ICI 治療歴 ($p=0.046$, OR: 2.88 [95% CI: 1.08-8.12]) は全 Grade の irAE 肝炎の発症と有意に関連していた。全 Grade の irAE 肝炎の発症において、年齢、性別、治療効果、観察期間、HBV 感染ステータス、PMI 値や筋肉量低下の有無には全て有意な関連を認めなかった。また、女性であること ($p=0.011$, OR: 4.94 [95% CI: 1.46-17.5]) と、ICI 治療歴 ($p=0.033$, OR: 4.11 [95% CI: 1.1-15.2]) が、Grade 3/4 の irAE 肝炎の発生と有意に関連していた。Grade 3/4 の irAE 肝炎の発症においては、年齢、ICI の種類、治療効果、観察期間、HBV 感染ステータス、PMI 値や筋肉量低下の有無には全て有意な関連を認めなかった。また、治療開始時の血球数や生化学的所見と irAE 肝炎発症には有意な関連を認めなかった (Table 4)。

白血球 (White blood cell; WBC) 数、好中球 (Neutrophil; Neut) 数、リンパ球 (Lymphocyte; Lymph) 数、好中球・リンパ球比 (Neutrophil-to-Lymphocyte ratio; NLR)、好酸球 (Eosinophil; Eosino) 数における、ICI 投与時から 4 週後と 8 週後までの変化量と irAE 肝炎発症には有意な関連を認めなかった (Table 5)。

Table 3. Incidence and characteristics of irAE hepatitis

Grade	Prevalence, %	Age, years ^a	Sex (M/F)	ICI (PD-1 or PD-L1 /CTLA-4)	History of ICI (0/1/2)	Treatment response (CR/PR/SD/PD)	Baseline			Status of hepatitis				
							AST ^a (IU/L)	ALT ^a (IU/L)	HBV status (negative/ past infection or carrier)	AST ^a (IU/L)	ALT ^a (IU/L)	Grade (1/2/3/4)	DDW-J score (3/4/5/6/7/8)	Onset of hepatitis, days ^a
Any grade	8.7 (24/275)	66.5 (25–82)	15/9	20/4	19/4/1	1/7/4/12	24 (11–51)	17 (5–76)	12/12	143 (21–2591)	144 (61–2488)	1/2/9/2	7/5/4/3/2/3	42 (14–434)
G3/4	4.0 (11/275)	61 (25–79)	3/8	9/2	8/2/1	1/3/1/6	24 (16–36)	17 (11–49)	5/6	234 (155–2591)	280 (152–2488)	0/0/9/2	1/2/3/2/2/1	36 (14–100)

ICI: Immune checkpoint inhibitor, PD-1: Programmed cell death protein-1, PD-L1: Programmed cell death protein-ligand 1, CTLA-4:

Cytotoxic T-lymphocyte antigen-4, CR: Complete response, PR: Partial response, SD: Stable disease, PD: Progressive disease, AST:

Aspartate aminotransferase, ALT: Alanine aminotransferase, HBV: Hepatitis B virus, DDW-J: Digestive Disease Week Japan

^a Data are shown as median (range)

Table 4. Factors associated with the incidence of irAE hepatitis

	Non hepatitis	Hepatitis (Any grade)	Hepatitis (Grade 3/4)	p value (Odds ratio [95% CI])	p value (Odds ratio [95% CI])
Total number (%)	251 (91.3%)	24 (8.7%)	11 (4.0%)	Non vs. Any grade	Non vs. Grade 3/4
Age (years) ^a	68 (29–92)	66.5 (25–82)	61 (25–79)	n. s.	n. s.
Sex (male/female)	163/88	15/9	3/8	n. s.	0.011 (4.94 [1.46–17.5])
ICI (PD-1 or PD-L1/CTLA-4)	238/13	20/4	9/2	0.026 (3.66 [1.2–11.3])	n. s.
History of ICI treatment (0/≥1)	230/21	19/5	8/3	0.046 (2.88 [1.08–8.12])	0.033 (4.11 [1.1–15.2])
Treatment response (CR or PR/SD or PD or NE)	53/198	8/16	4/7	n. s.	n. s.
Observation period (days) ^a	425 (3–1405)	453 (71–1259)	420 (94–1259)	n. s.	n. s.
HBV status (negative/past infection or carrier)	157/94	12/12	5/6	n. s.	n. s.
PMI ^a	3.93 (1.18–9.15)	4.8 (2.57–7.39)	3.14 (2.57–7.22)	n. s.	n. s.
Low PMI (%)	20.7	8.3	0	n. s.	n. s.
White blood cell count ^a	5600 (1300–25200)	6600 (4100–11600)	6600 (4100–11600)	n. s.	n. s.
Red blood cell count (x10 ⁴) ^a	389 (178–530)	394 (281–494)	400 (281–494)	n. s.	n. s.
Platelet count (x10 ³) ^a	24.1 (5.1–75.1)	25 (11.7–49.3)	31.6 (16.7–49.3)	n. s.	n. s.
Total protein (g/dL) ^a	6.7 (3.9–8.8)	6.8 (5.4–7.7)	6.7 (5.4–7.7)	n. s.	n. s.
Albumin (g/dL) ^a	3.8 (1.4–5.3)	3.8 (2.9–4.5)	3.9 (3.4–4.5)	n. s.	n. s.

T-Bil (mg/dL) ^a	0.6 (0.2–4.8)	0.5 (0.3–1.6)	0.5 (0.3–1.6)	n. s.	n. s.
AST level (IU/L) ^a	22 (8–96)	23.5 (11–51)	24 (16–36)	n. s.	n. s.
ALT level (IU/L) ^a	15 (5–92)	17 (9–76)	17 (11–49)	n. s.	n. s.
Lactate dehydrogenase (IU/L) ^a	207 (44–3129)	231 (152–1047)	232 (169–963)	n. s.	n. s.
Alkaline Phosphatase (IU/mL) ^a	255 (91–2393)	231 (111–546)	238 (136–328)	n. s.	n. s.
γ -Glutamyl Transpeptidase (IU/L) ^a	29.5 (6–700)	31.5 (14–110)	25 (14–96)	n. s.	n. s.
Blood Urea Nitrogen (mg/dL) ^a	15 (4–61)	14.5 (10–22)	14 (10–22)	n. s.	n. s.
eGFR (mL/min/1.73 m ²) ^a	69.2 (3.6–135.5)	75.6 (34.9–110.3)	77.4 (34.9–110.3)	n. s.	n. s.
C-Reactive Protein (mg/dL) ^a	0.41 (0.02–19.8)	0.52 (0.02–11.2)	0.14 (0.02–1.54)	n. s.	n. s.
Neutrophil count ^a	3598 (598–19685)	4026 (2353–10521)	4012 (2353–10521)	n. s.	n. s.
Lymphocyte count ^a	1187 (164–3832)	1386 (432–2268)	1386 (891–1836)	n. s.	n. s.
NLR ^a	3.3 (0.9–29)	3 (1.5–11)	2.67 (1.82–10.8)	n. s.	n. s.
Eosinophil count ^a	132 (0–1163)	140 (0–1122)	140 (0–1122)	n. s.	n. s.

ICI: Immune checkpoint inhibitor, PD-1: Programmed cell death protein-1, PD-L1: Programmed cell death protein-ligand 1, CTLA-4:

Cytotoxic T-lymphocyte antigen-4, CR: Complete response, PR: Partial response, SD: Stable disease, PD: Progressive disease, NE: Not evaluated, HBV: Hepatitis B virus, PMI: Psoas muscle mass index, T-Bil: Total bilirubin, AST: Aspartate aminotransferase, ALT: Alanine aminotransferase, eGFR: estimated glomerular filtration rate, NLR: Neutrophil-to-Lymphocyte ratio

^a Data are shown as median (range)

Table 5. Changes in blood cell count and incidence of irAE hepatitis

	Non hepatitis	Hepatitis (Any grade)	Hepatitis (Grade 3/4)	p value (Non vs. Any grade)	p value (Non vs. Grade 3/4)
Total number (%)	251 (91.3%)	24 (8.7%)	11 (4.0%)		
Δ WBC 0-4w ^a	700 (-12900 to 12300)	900 (-1300 to 7800)	800 (-1300 to 7800)	n. s.	n. s.
Δ WBC 0-8w ^a	500 (-16400 to 16500)	400 (-1700 to 4100)	500 (-1700 to 4100)	n. s.	n. s.
Δ Neut 0-4w ^a	470 (-11619 to 12048)	680 (-2910 to 5183)	680 (-2910 to 4203)	n. s.	n. s.
Δ Neut 0-8w ^a	348 (-12529 to 28921)	156 (- 2027 to 4137)	498 (-2027 to 4137)	n. s.	n. s.
Δ Lymph 0-4w ^a	130 (-1961 to 15931)	56 (-624 to 2750)	39 (-566 to 2750)	n. s.	n. s.
Δ Lymph 0-8w ^a	101 (-2103 to 2059)	26 (-846 to 1822)	-80 (-846 to 873)	n. s.	n. s.
Δ NLR 0-4w ^a	0.06 (-15.8 to 11.7)	0.4 (-6.8 to 3.5)	0.3 (-6.8 to 2.5)	n. s.	n. s.
Δ NLR 0-8w ^a	0.01 (-13.1 to 40.9)	-0.05 (-4.7 to 8.1)	0.9 (-4.2 to 3.2)	n. s.	n. s.
Δ Eosino 0-4w ^a	35 (-798 to 2947)	11 (-472 to 196)	11 (-122 to 196)	n. s.	n. s.
Δ Eosino 0-8w ^a	30 (-877 to 5139)	19 (-192 to 1888)	19 (-138 to 1888)	n. s.	n. s.

WBC: White blood cell count, Neut: Neutrophil count, Lymph: Lymphocyte count, NLR: Neutrophil-to-Lymphocyte ratio, Eosino: Eosinophil count

^a Data are shown as median (range)

3. irAE 肝炎とその他の irAE との関連

現在までに irAE 肝炎とその他の irAE との関連については十分に明らかにされておらず、今回、その検討を行なった。非 irAE 肝炎群では 85 例 (45.9%) に、irAE 肝炎群全体では 17 例 (41.2%) に、Grade 3/4 の irAE 肝炎群では 3 例 (37.5%) に他の irAE 発症を認めた。非 irAE 患者群では、肺臓炎 (23 例) と甲状腺機能障害 (26 例) が多く認められ、続いて大腸炎 (10 例)、腎炎 (3 例)、1 型糖尿病 (3 例)、原発性副腎機能不全 (3 例)、下垂体 (4 例)、皮疹 (5 例)、そして味覚障害と好酸球増多を 2 例ずつ、関節炎とぶどう膜炎と特発性血小板減少性紫斑病と口内炎を 1 例ずつ認めた。irAE 肝炎群全体では肺臓炎が 2 例、大腸炎と原発性副腎機能不全と関節痛と顔面神経麻痺と腭炎を 1 例ずつ認め、その内 Grade 3/4 の irAE 肝炎群では大腸炎と顔面神経麻痺と腭炎を 1 例ずつ認めた (Table 6)。

Table 6. Relationship between irAE hepatitis and the other irAEs

	Non hepatitis	Hepatitis (Any grade)	Hepatitis (Grade 3/4)
Total number	251	24	11
All of irAEs (%)	85 (33.9%)	7 (39.2%)	3 (27.3%)
Pneumonitis	23	2	0
Colitis	10	1	1
Nephritis	3	0	0
Thyroid grand disorder	26	0	0
Type1 Diabetes merits	3	0	0
Primary adrenal insufficiency	3	1	0
Hypophysitis	4	0	0
Rash	5	0	0
Dysgeusia	2	0	0
Eosinophilia	2	0	0
Arthritis	1	1	0
Uveitis	1	0	0
Idiopathic thrombocytopenic purpura	1	0	0
Stomatitis	1	0	0
Facial nerve paralysis	0	1	1
Pancreatitis	0	1	1

4. irAE 肝炎患者の臨床的特徴と臨床経過

Table 7 は Grade 3/4 の irAE 肝炎患者 11 例の患者背景と臨床経過を示している。発症までの期間の中央値は 36 日（14-329 日）で、11 例のうち 6 例にプレドニゾロン（Prednisolone; PSL）が投与され（1-2mg/kg/日または、1000mg/日を 3 日間投与ののうち 1mg/kg/日）、PSL による治療を受けた 6 例のうち 2 例は PSL 治療後にミコフェノール酸モフェチル（Mycophenolate mofetil; MMF）による追加治療を必要とした。PSL 治療が行われていなかった症例が 5 例あり、ウルソデオキシコール酸やグリチロン酸の投与ないしは経過観察が行われていた。全例で肝炎は改善しており、Grade 1 に改善するまでの期間の中央値は 20 日（5-56 日）であった。10 例で irAE 肝炎後は ICI 投与が中止となり、2 例で再投与が行われていたが、その後の irAE 肝炎の再燃は認められなかった。irAE 肝炎による死亡は認められず、1 例で転移巣の切除後に CR となり長期生存が得られた症例（No. 2）を認めた。その他の後治療は別の ICI 治療（2 例）、化学療法（1 例）、放射線治療（1 例）、後治療なし（4 例）であった（Table 7）。

本研究で解析対象となった症例の中で、irAE 肝炎発症時に経皮的肝生検が施行されたのは 2 例であった（Table 7 の症例 8・症例 10）。症例 8 の組織学的所見としては門脈域の炎症細胞浸潤を軽度認め、interface hepatitis は認められなかった。小葉内の肝細胞には核の腫大化や細胞質の淡明化を認め、小葉中心性の壊死を伴う肝炎型の炎症像であった（Figure 4a）。免疫組織学的所見としては、門脈域には CD20 陽性細胞（Figure 4c）と比較し CD3 陽性細胞（Figure 4b）が多く浸潤しており、T 細胞主体の炎症細胞浸潤を示す所見であった。また、門脈域における CD8 陽性細胞数（Figure 4d）と CD4 陽性細胞数（Figure 4e）には大きな差は認めなかった。症例 10 の組織学的所見としては門脈域に軽度から中等度の炎症細胞浸潤がみられ、肝細胞には ballooning や spotty necrosis は認められず、肝細胞の淡明化を認め門脈周囲炎を示す肝炎像であった（Figure 5a）。免疫組織学的所見としては門脈域には CD20 陽性細胞（Figure 5c）と比較し CD3 陽性細胞（Figure 5b）が多く浸潤し、また CD4 陽性細胞（Figure 5e）と比較し CD8 陽性細胞（Figure 5d）を多く認め、細胞障害性 T 細胞主体の炎症細胞浸潤を示す所見であった。

Table 7. Principal characteristics of eight patients with G3/4 irAE hepatitis1

	Age	Sex	Primary malignancy	ICI	Response	HBV status	Grade	DDW-J score	Onset of hepatitis, days	Treatment for irAE hepatitis	Duration to improve to G1	ICI treatment	Post irAE treatment	Survival after treatment
1	47	F	Melanoma	Ipi	PD	Past infection	G3	6	42	Glycyrrhizic acid	39	Discontinuation	None	951
2	47	F	Melanoma	Nivo	PD	Past infection	G3	5	24	–	21	Discontinuation	Operation	762
3	79	F	Lung	Pem	PD	Negative	G3	7	36	Ursodeoxycholic acid	5	Discontinuation	Another ICI	58
4	52	F	Melanoma	Ipi	SD	Past infection	G4	5	15	PSL 2mg/kg/day + MMF	18	Discontinuation	Another ICI	1244
5	78	F	Melanoma	Nivo	PD	Negative	G3	7	21	Ursodeoxycholic acid	20	Discontinuation	None	80
6	25	M	Lymphoma	Nivo	PD	Negative	G4	4	97	PSL 1000mg	56	Discontinuation	Radiation	323
7	66	F	Melanoma	Nivo	PD	Negative	G3	8	14	PSL 1mg/kg/day	6	Discontinuation	None	156
8	68	F	Extra auditory canal	Nivo	PR	Past infection	G3	3	19	PSL 2mg/kg/day + MMF	49	Discontinuation	Chemotherapy	182
9	78	M	Kidney	Nivo	PR	Negative	G3	5	70	PSL 1mg/kg/day	17	Resumption	Same ICI	856
10	61	M	Pharyngeal	Nivo	CR	Negative	G3	6	156	PSL 2mg/kg/day	22	Discontinuation	None	232
11	59	F	Melanoma	Pem	PR	Past infection	G3	4	329	Ursodeoxycholic acid	15	Resumption	Same ICI	458

ICI: Immune checkpoint inhibitor, PD-1: Programmed cell death protein-1, PD-L1: Programmed cell death protein-ligand 1, CTLA-4: Cytotoxic T-lymphocyte antigen-4, CR: Complete response, PR: Partial response, SD: Stable disease, PD: Progressive disease, HBV: Hepatitis B virus, DDW-J: Digestive Disease Week Japan, irAE: immune-related adverse event, PSL: Prednisolone, MMF: Mycophenolate mofetil

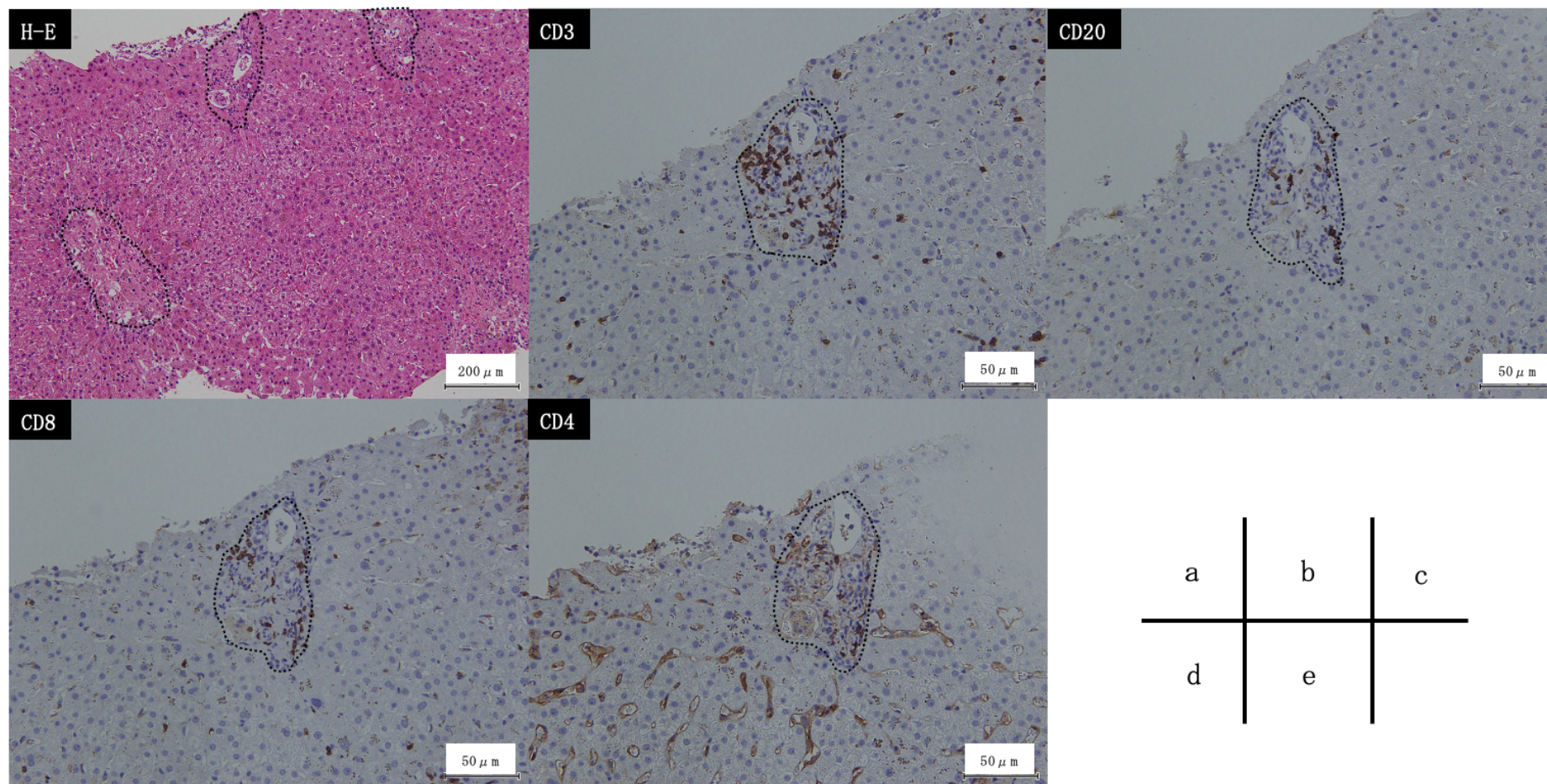


Figure 4. Histological findings on liver biopsy (case No.8)

門脈域（破線領域）の炎症細胞浸潤は軽度で、interface hepatitisや線維性拡大は認めない。小葉内の肝細胞には核の腫大化や細胞質の淡明化を認める（a）。門脈域にはCD20陽性細胞（c）と比較しCD3陽性細胞が多く浸潤している（b）。門脈域におけるCD8陽性細胞数（d）とCD4陽性細胞数（e）には明らかな差は認めない。

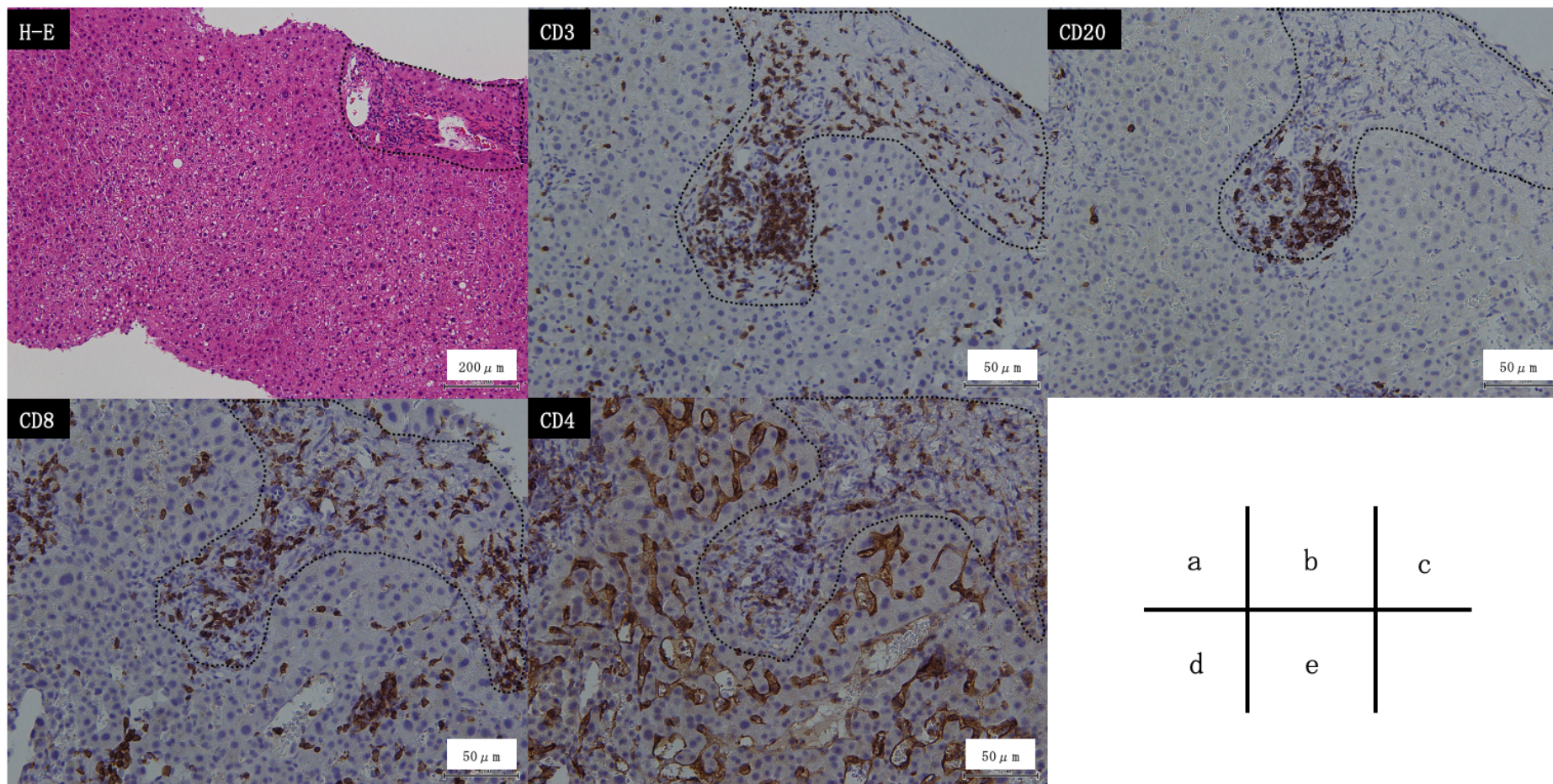


Figure 5. Histological findings on liver biopsy (case No.10)

門脈域（破線領域）は軽度から中等度のリンパ球浸潤を認め、肝細胞には ballooning や spotty necrosis は認められない（a）。門脈域には CD20 陽性細胞（c）と比較し CD3 陽性細胞（b）が多く浸潤し、また CD4 陽性細胞（e）と比較し CD8 陽性細胞（d）が多く浸潤している。

考 察

ICI は癌治療に革命をもたらし、近年その使用頻度は増加してきている (Mazza et al., 2017; Fehrenbacher et al., 2016)。ICI 治療では時に様々な臓器に irAE を引き起こすことがあり、現在のところその予測は困難である (Nakamura, 2019)。irAE の中で肝炎は比較的頻度は低いものの、劇症化や死亡例の報告がある (Inamori et al., 2019; Kubo et al., 2021)。また、近年肝癌に対しても ICI 治療が行われる機会が増えてきているが、肝癌症例では非肝癌症例と比較し irAE 肝炎の発症率が高いと報告されており (Brown et al., 2017)、今後、irAE 肝炎患者は増加すると考えられるため注意が必要な irAE の一つである。しかし、これまでに報告された irAE 肝炎に関する検討の多くは欧米人を対象としたものであり、日本人における ICI 治療時の irAE 肝炎に関する頻度や臨床像は明らかになっていない。また、irAE 肝炎の予測因子に関しても明らかになっていない。そこで本研究では、日本人患者を対象に ICI 単剤で治療された症例における irAE 肝炎の発症率・臨床経過とその予測因子について検討を行なった。その結果、irAE 肝炎は全 Grade が 8.7% (24/275 例)、Grade 3/4 が 4.0% (11/275 例) にみられ、女性であることと ICI 治療歴があることが Grade 3/4 の irAE 肝炎の発症と有意に関連していた。irAE 肝炎の臨床経過は概ね良好であったが、54.5% の患者が PSL の投与を受けており、18.1% の患者が MMF の追加投与を必要としていた。

現在のところ、irAE 肝炎の確立された診断法はなく、各種ガイドライン (Brahmer et al., 2018; Haanen et al., 2017) でもウイルス性肝炎や薬物、アルコールの摂取、自己免疫性肝疾患、胆道閉塞や肝転移巣の増大といった点を除外することで irAE 肝炎と診断するとされている。DDW-J スケールはもともと薬剤性肝障害の診断目的に開発されたスケールで、開発当時 ICI は臨床応用されておらず、irAE 肝炎の診断のために開発されたものではないが、Sawada ら (Sawada et al., 2019) は、irAE 肝炎の診断に対する DDW-J スケールの有用性を報告している。DDW-J スケールにはウイルス性肝炎やアルコール摂取、胆道閉塞の評価もその評価項目に含まれており、現状の irAE 診断方法とも矛盾しないスケールであると考えられる。また、肝生検による病理組織学的検討も irAE 肝炎診断に有用である可能性があり、3-4 日間のステロイド治療にも関わらず Grade 2 の肝炎が遷延している患者、また、Grade 3/4 の肝炎がある患者においては肝生検の施行を考慮すべきとされている (Sanjeevaiah et al., 2018)。irAE 肝炎の組織学的所見の特徴は軽度の門脈域の炎症所見や小葉炎とされ、小葉内に patchy necrosis や好酸体が散見され、癒合性壊死は見られないこととされる (Karamchandani et al., 2018)。本研究で観察された組織学的所見もこう

した報告と矛盾しないものであった。また、薬剤性肝障害における組織学的所見では小葉の癒合性壊死や好酸球浸潤が多く認められるとする報告があり (Zen et al., 2018)、薬剤性肝障害と irAE 肝炎の鑑別に有用である可能性がある。irAE 肝炎の免疫組織学的所見の特徴は門脈域において B 細胞を示す CD20 陽性細胞と比較し、T 細胞を示す CD3 陽性細胞を多く認め、またヘルパー T 細胞を示す CD4 陽性細胞と比較し細胞障害性 T 細胞を示す CD8 陽性細胞を多く認めることから、細胞障害性 T 細胞主体の炎症細胞浸潤とされ、形質細胞浸潤が多く見られる自己免疫性肝炎との組織学的な鑑別点となりうると報告されている (Zen et al., 2018)。本研究で検討した 2 例では、門脈域において CD20 陽性細胞と比較し CD3 陽性細胞を多く認め、T 細胞主体の炎症細胞浸潤を示す所見であった。CD8 陽性細胞主体の炎症細胞浸潤を示す所見は症例 8 では明らかではなかったが、症例 10 では CD4 陽性細胞と比較し CD8 陽性細胞が多く浸潤しており、既報に矛盾しない所見と考えられた。本研究で肝生検が施行された症例は 2 例に限られており、今後さらなる症例を集積し検討を進める必要があると考える。

本研究で検討した症例では、治療方法に関しては各種ガイドラインや患者状態などを参考にして決定されており、最近の重症 irAE 肝炎患者の多くは肝臓専門医へ紹介され治療方針決定がなされていたが、観察期間の初期段階の症例の中には肝臓専門医ではない主治医によって治療方針が決定されていた症例も含まれていた。irAE 肝炎に対する治療法は、Grade 2 では ICI 投与を中断し 3 日以内に肝障害が改善しない場合、ないしは症候性の場合には 0.5-1.0mg/kg/day の PSL 治療を行うこと、Grade 3/4 では ICI 投与を中止し、1-2mg/kg/day の PSL 治療を行うことが推奨されており、さらに、PSL 治療にて改善が得られない場合には MMF 投与を追加することが推奨されている (Brahmer et al., 2018; Haanen et al., 2017)。しかし、今回認めた Grade 3/4 の irAE 肝炎患者の内、PSL 治療が施行されたのは約半数の症例であり、残る半数では経過観察ないしは肝底護薬の投与のみで肝炎が改善していた。Grade 3/4 の irAE 肝炎患者の 38% は PSL 治療を受けずに自然に軽快したとの報告 (De Martin et al., 2018) もあり、Grade 3/4 の irAE 肝炎患者の中にステロイド治療が必要ではない患者群が含まれている可能性がある。しかし、それがどのような臨床像を持つ患者群なのかという点については未だ明らかになっておらず、現時点では Grade 3/4 の irAE 肝炎患者に対しては PSL による治療を速やかに導入することが重要と考える。また、Grade 3/4 の irAE 肝炎患者のうち、DDW-J スコアが高値である症例ではステロイド治療の必要性が高い可能性があるとする報告 (Sawada et al., 2019) があるが、本研究でみられた Grade 3/4 の irAE 肝炎患者ではそのような傾向は認められず、今後の症例集積によってさらなる検討を進める必要があると考える。

今回の検討では全 Grade の irAE 肝炎の発症と抗 CTLA-4 抗体薬の投与が有意に関

連していた。既報でも抗 CTLA-4 抗体薬は抗 PD-1 抗体薬と比較し、全 Grade および Grade 3/4 の irAE 肝炎の頻度が高かったとする報告があり (Wang et al., 2017)、本研究も矛盾しない結果と考えられた。抗 CTLA-4 抗体薬は、抗 PD-1 抗体薬・抗 PD-L1 抗体薬と同様に T 細胞活性を回復させるという作用機序を持つことに加え、抗 PD-1 抗体薬・抗 PD-L1 抗体薬にはない Treg への抑制作用を有する薬剤である点が、自己反応性 T 細胞の活性亢進に寄与している可能性が考えられている (Suzman et al., 2018)。

また、本研究では Grade 3/4 の irAE 肝炎の発症率は男性と比較し女性で有意に高かった。いくつかの報告では、irAE の発症率と治療効果は性別によって影響を受ける可能性があることが明らかにされており、Valpione ら (Valpione et al., 2018) は抗 CTLA-4 抗体薬で治療を受けた悪性黒色腫患者において、女性であることが有意に重度の irAE 発症のリスクを高めると報告している。女性であることは、自己免疫性肝炎を含むいくつかの自己免疫疾患のリスクファクターでもあり (Tingting et al., 2019)、その機序のひとつとしてエストロゲンの代謝物が T 細胞の活性化に関連していることから (Kanda et al., 1999)、ホルモンにおける性差が免疫機構に影響を与えている可能性が考えられる。

ICI の投与歴は全 Grade ならびに Grade 3/4 の irAE 肝炎発症に有意に関連していた。Weber ら (Weber et al., 2016) は、抗 PD-1 抗体薬と抗 CTLA-4 抗体薬を順次投与すると、肝機能障害の頻度は前者より後者の投与時に高かったと報告しており、その機序としては、抗 PD-1 抗体薬は PD-1 と長期間結合しているのに対し、抗 CTLA-4 抗体薬は CTLA-4 と結合後速やかに細胞内へ取り込まれるという薬物動態の違いから、抗 PD-1 抗体薬による治療を先行した場合、次の抗 CTLA-4 抗体薬の治療時にその効果が持続している可能性があると考えられている。また、irAE のほとんどは ICI 投与開始後 3-6 ヶ月以内に観察され (Weber JS et al., 2017; Weber JS et al., 2013)、irAE 肝炎においては ICI 投与開始後、全 Grade では中央値 7.3 週間 (Weber JS et al., 2017)、Grade 3/4 では 5 週間で発症すると報告されている (De Martin et al., 2018) が、ICI 投与開始から約 1 年後に初めて irAE 肝炎が発症したとの報告もあり (De Martin et al., 2018)、ICI による前治療に伴う irAE が次の治療時に発生する可能性も考えられる。

Daly らは (Daly et al., 2017)、CT の横断画像を用いて診断したサルコペニア患者では、非サルコペニア患者と比較してイピリムマブによる重症 irAE のリスクが有意に高かったことを報告している。その機序としては、サルコペニアに関連した低栄養状態や肥満が薬物動態に影響を及ぼした結果として薬剤の分布や代謝、排泄などに変化をもたらして irAE のリスクを高めている可能性や、サルコペニアの背景に全身性炎症が関与しており、ICI 投与により全身性炎症が増悪することで irAE のリスク

が高まっている可能性などが考えられている (Daly et al., 2017)。PMI は CT 横断画像を用いて測定した第 3 腰椎レベルの両側腸腰筋面積を利用したサルコペニアの評価方法であり、Hamaguchi ら (Hamaguchi et al., 2016) によって、アジア人集団において全身骨格筋量と相関しており、サルコペニアの診断において有用であると報告されている。本研究では PMI を用いて筋肉量を評価し、サルコペニアが irAE 肝炎発症と関連があるかを検討したが、両者に有意な関連は認めなかった。その考察としては、Daly らがサルコペニアの評価時には第 3 腰椎レベルの全骨格筋量を測定しており測定方法が異なることや、Daly らの検討した症例は全て悪性黒色腫症例に対してイピリムマブ治療を行った症例であり、本検討との患者背景の差異が関係している可能性が考えられる。

ICI 投与開始時のリンパ球数 (Diehl et al., 2017)、好酸球数 (Nakamura et al., 2019)、ICI 投与開始後の白血球数の増加や NLR の上昇 (Fujisawa et al., 2017) が、irAE 発症のリスク因子であったとの報告がある。その機序としては、リンパ球数が多い症例では irAE 発症に関わる T 細胞数も相対的に増加している可能性や、ICI 治療後の炎症性サイトカイン増加を反映して相対的好中球数が増えるといった可能性が考えられる。そこで、本検討でも ICI 治療開始時の血球数や治療中の血球数の変化が irAE 肝炎の発症を予測因子となりうるか検討を行なったが、結果はいずれの項目にも有意な関連は認めなかった。Nakamura ら (Nakamura et al., 2019) や Fujisawa ら (Fujisawa et al., 2017) の報告は悪性黒色腫に対して抗 PD-1 抗体薬を投与した症例を対象としており、本検討では対象や治療内容がより多様であったことが既報との違いとして現れた可能性が考えられる。

Dubey ら (Dubey et al., 2020) は 1834 例の ICI 投与患者を対象に神経学的 irAE について検討した報告のなかで、神経学的 irAE に他の irAE が併発した症例は 68% であったと報告しており、複数の irAE が同一患者で起こることが報告されている。irAE の発症機序の一つに T 細胞などの免疫細胞が関与している可能性を考慮すると、同一症例で複数の臓器に irAE が発症することは容易に予想される。irAE による死亡症例を対象に行われた検討のなかで、52 例の心筋炎のうち重症筋無力症が 5 例 (10%) に併発し、その他の irAE よりも高率であったと報告されており (Wang et al., 2018)、併発するリスクの高い irAE の組み合わせが存在する可能性はあるが、未だ明らかではない。本検討では、irAE 肝炎に併発した他の irAE は 7 例 (39.2%) のみであるが、症例数が少なく十分な検討ができていない。今後、多数例による更なる検討が必要と考える。

近年、irAE と腸内細菌の関連に関する報告がいくつかなされている。Chaput らは (Chaput et al., 2017)、ICI 投与開始時に腸内細菌叢における *Faecalibacterium* 属の割合が高い症例で irAE 大腸炎の発症頻度が高かったと報告しているほか、Dubin

ら (Dubin et al., 2016) は、*Bacteroidetes* 門の割合が高い症例ではイピリムマブ投与時の irAE 大腸炎の発症頻度が低かったと報告している。腸内細菌由来の代謝産物が Treg の分化に関与していることが報告され (Fujisawa et al., 2013)、腸内細菌と irAE の関連を説明しうる一つの機序と考えられる。腸管と肝臓は門脈を介した腸管循環により密接に関連しており、腸内細菌叢の働きが irAE 肝炎の発症にも関与している可能性が考えられ、irAE 肝炎と腸内細菌叢との関連は今後検討されるべき課題である。

また、Tanaka ら (Tanaka et al., 2017) は、ニボルマブで治療された悪性黒色腫患者において、治療後の血清 IL-6 値の上昇が irAE 発症と有意に関連していたと報告している。IL-6 は C-X-C motif chemokine ligand 10 などのケモカインを介して組織への T 細胞浸潤を引き起こすことが報告されており (McLoughlin et al., 2005)、IL-6 が irAE 発症に関与していることを説明しうる機序の一つと考えられる。irAE 肝炎の発症と血清 IL-6 値の変化に関連がある可能性が考えられ、今後、検討されるべき課題である。

本研究では、日本人集団における irAE 肝炎の発症率について示しているだけではなく、その臨床経過や予測因子について示している点に新規性がある。一方で、いくつかのリミテーションも存在する。第一に、後方視的な単一施設での研究であり、対象患者は癌種や使用した ICI が不均一な集団であった。第二に、対象患者数が限定されており、特に Grade 3/4 の irAE 肝炎の患者数が限定されていた。第三に、Grade 3/4 の irAE 肝炎患者に対する治療は肝臓専門医によって決定されていない場合があった。最後に、肝生検を施行した症例が限られており、病理組織学的所見に関する検討が不足していた。したがって、今回の結果を検証するためには、より多くの患者を含む前向き研究が必要である。

結 論

① 得られた新たな知見

- ・ ICI 治療を受けた日本人患者における全 Grade ならびに Grade 3/4 の irAE 肝炎の発症率は、それぞれ 8.7% (24/275 例)、4.0% (11/275 例) であった。
- ・ CTLA-4 阻害剤の投与と ICI 治療歴が、全 Grade の irAE 肝炎の発症率と有意に関連していた。
- ・ 女性であることと ICI 治療歴が、Grade 3/4 の irAE 肝炎の発症率と有意に関連していた。
- ・ Grade 3/4 の irAE 肝炎患者 11 例のうち、5 例は PSL 治療を必要とせず肝炎が改善しており、残りの 6 例では PSL 治療が行われ、そのうち 2 例で PSL 投与後に MMF の追加投与が必要であった。

② 新たな知見の意義

今回の研究で、日本の実臨床患者における irAE 肝炎の発症率・臨床経過、予測因子を示すことができた。これまで ICI 治療の効果や有害事象に関する報告は海外からのものが主体で、特に irAE 肝炎に関する本邦からの報告は少なく、本研究で得られた知見が本邦における ICI 治療時の参考となるものと考ええる。

③ 今後の研究の展望・課題

今回明らかにした irAE 肝炎の予測因子はいずれも介入不可能な背景因子であり、介入可能な因子が同定されればそれらの因子に対して介入を行うことで irAE 肝炎の発症を抑制することができる可能性がある。腸内細菌が他の irAE の発症と関連しているとの報告 (Chaput et al., 2017) のほか、腸内細菌叢が抗 PD-1 抗体薬の治療効果に影響を及ぼしたとの報告 (Gopalakrishnan et al., 2018) や、糞便移植による腸内細菌叢への介入により ICI の治療効果が高まったとする報告 (Davar et al., 2021) もあり、腸内細菌叢と ICI 治療の関連性に注目が集まっている。現在のところ irAE 肝炎発症に関連する腸内細菌叢の検討は報告がなく、現在、私は irAE 肝炎発症と腸内細菌との関連を明らかにしていくことを目的に、irAE 肝炎をきたした患者群の腸内細菌叢の特徴に関する検討を自主臨床研究審査委員会の承認及び病院の許可を得た上で、前向き観察研究として 2018 年 5 月より研究を開始している。患者の同意を得て ICI 投与開始時に便検体を回収し、その後の臨床経過を観察し irAE 肝炎があった群となかった群における腸内細菌叢の違いについて検討を行なっているが、現時点で 53 例の研究同意が得られており、その中で同意撤回症例や ICI 投与がなされなかつ

た症例、ICI 投与前後で便検体が採取できなかった症例を除いた 43 例で便検体を採取した。

これらの 43 例を対象に腸内細菌叢について中間解析を行なった。43 例のうち 8 例で irAE 肝炎が発症し、そのうち 3 例が Grade 3/4 の irAE 肝炎であった。非肝炎群と比較し Grade 3/4 の irAE 肝炎群で α 多様性が有意に高く、含まれる菌種数も有意に高かった。また、非肝炎群と肝炎群では β 多様性にも有意な差があり、腸内細菌叢の群間差が示唆された。Liner discriminant analysis effect size (LEfSe) 解析では *Faecalitalea* 属などいくつかの菌種が肝炎群の腸内細菌叢に多く含まれており、バイオマーカーとなる可能性が示唆された (Figure 5)。今後、検体数を増やしながらか検討を継続し、論文化を目指している。

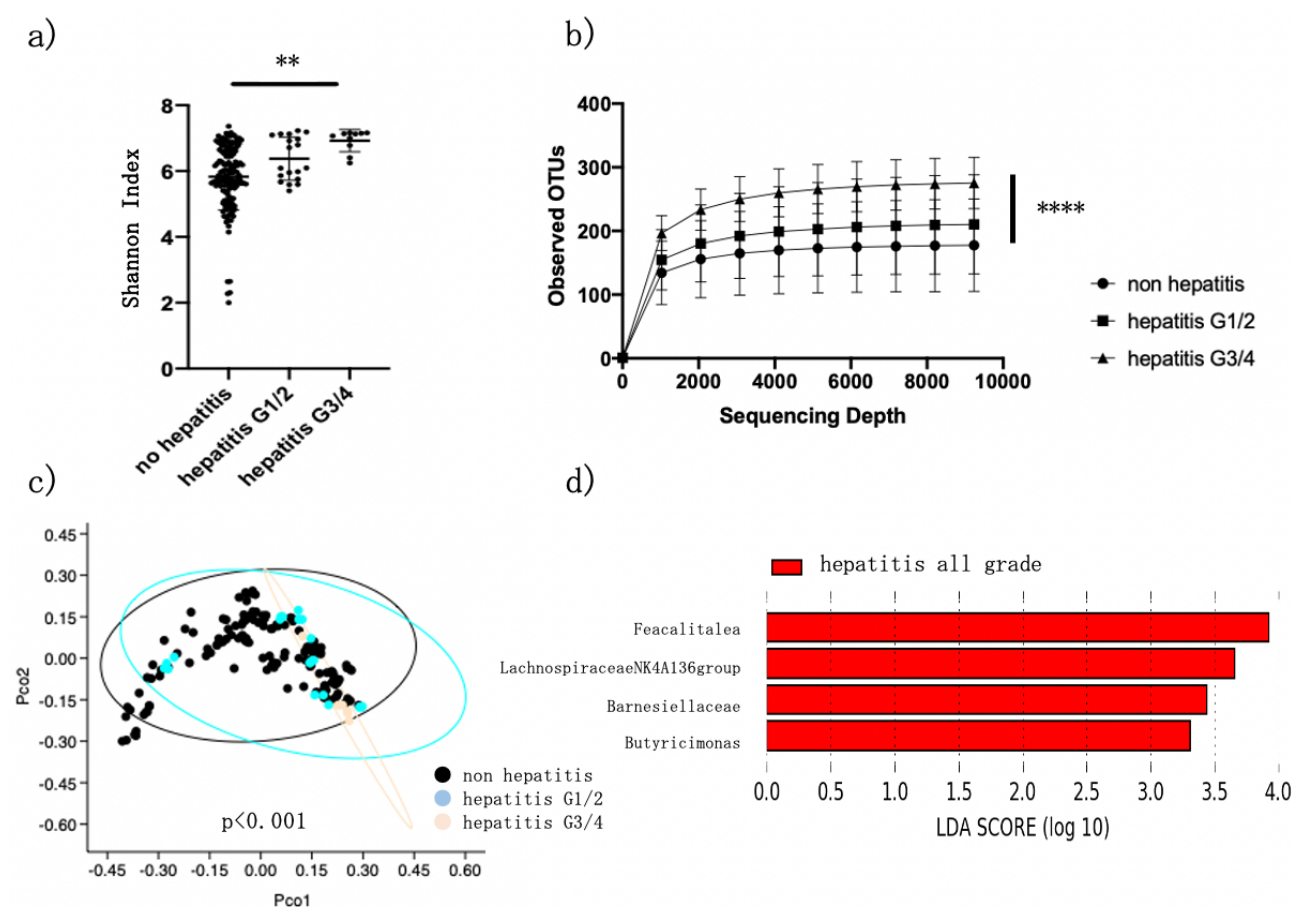


Figure 5. Microbiome analysis in irAE hepatitis

- a) 非肝炎群、Grade 1/2 の irAE 肝炎群、Grade 3/4 の irAE 肝炎群における Shannon index に基づく α 多様性 b) 非肝炎群、Grade 1/2 の irAE 肝炎群、Grade 3/4 の irAE 肝炎群における α 希釈化解析 c) 非肝炎群、Grade 1/2 の irAE 肝炎群、Grade 3/4 の irAE 肝炎群における β 多様性 d) irAE 肝炎群における LEfSe 解析 (LDA score: >3.0) (**: $p < 0.01$, ****: $p < 0.0001$)

謝 辞

本研究にご協力頂いた全ての患者様とそこそご家族に心より感謝申し上げます。

本研究を遂行するにあたり、有益な御指導・御助言をいただきました北海道大学大学院医学研究院内科学分野消化器内科学教室 坂本直哉教授に深謝いたします。

研究に対する心構えや信念、実験方法、データ解釈、論文作成など、様々な面において御指導・御援助頂きました北海道大学病院消化器内科特任助教 須田剛生先生には感謝の念に堪えません。厚く御礼申し上げます。

また、臨床における技術指導や、検体の採取などにご尽力頂きました、北海道大学病院消化器内科の諸先生に、心より深く感謝申し上げます。

また、症例集積にご尽力いただきました、北海道大学大学院医学研究院皮膚科学教室 秦洋郎先生、北海道大学大学院医学研究院腫瘍内科学教室 竹内哲先生、北海道大学大学院医学研究院腎泌尿器外科学教室 安部崇重先生、北海道大学大学院医学研究院呼吸器内科学教室 榑原純先生、北海道大学大学院医学研究院血液内科学教室 豊嶋崇徳教授、北海道大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教室 本間明宏教授に心より深く感謝申し上げます。

本研究の一部は国立研究開発法人日本医療研究開発機構（Japan Agency for Medical Research and Development; AMED）の課題番号 19fk0210022h0103、19fk0210018h0003、19fk0310101s0503、19fk0210048s0501、19fk0210058h0001、19fk0210047s0401、並びに JSPS 科研費 19K08458 の支援を受けたものである。

2022 年 7 月

北潟谷 隆

利 益 相 反

開示すべき利益相反状態はない。

引 用 文 献

- Brahmer, J.R., Lacchetti, C., Schneider, B.J., Atkins, M.B., Brassil, K.J., Caterino, J.M., Chau, I., Ernstoff, M.S., Gardner, J.M., Ginex, P., et al. (2018). Management of Immune-Related Adverse Events in Patients Treated With Immune Checkpoint Inhibitor Therapy: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J. Clin. Oncol.* *36*, 1714-1768.
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A., Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* *68*, 394-424.
- Brown, Z.J., Heinrich, B., Steinberg, S.M., Yu, S.J., Greten, TF. (2017). Safety in treatment of hepatocellular carcinoma with immune checkpoint inhibitors as compared to melanoma and non-small cell lung cancer. *J. Immunother. Cancer.* *5*, 93.
- Buchbinder, E.I., Desai, A. (2016). CTLA-4 and PD-1 Pathways: Similarities, Differences, and Implications of Their Inhibition. *Am. J. Clin. Oncol.* *39*, 98-106.
- Chaput, N., Lepage, P., Coutzac, C., Soularue, E., Le, Roux, K., Monot, C., Boselli, L., Routier, E., Cassard, L., Collins, M., et al. (2017). Baseline gut microbiota predicts clinical response and colitis in metastatic melanoma patients treated with ipilimumab. *Ann. Oncol.* *28*, 1368-1379.
- Chen, D.S., Mellman, I. (2013). Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity.* *39*, 1-10.
- Chen, L., Flies, DB. (2013). Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. *Nat. Rev. Immunol.* *13*, 227-242.
- Daly, L.E., Power, D.G., O' Reilly, Á., Donnellan, P., Cushen, S.J.,

- O' Sullivan, K., Twomey, M., Woodlock, D.P., Redmond, H.P., Ryan, A.M. (2017). The impact of body composition parameters on ipilimumab toxicity and survival in patients with metastatic melanoma. *Br. J. Cancer.* *116*, 310-317.
- Das, S., Johnson, D.B. (2019). Immune-related adverse events and anti-tumor efficacy of immune checkpoint inhibitors. *J. Immunother. Cancer.* *7*, 306.
- Davar, D, Dzutsev, A.K., McCulloch, J.A., Rodrigues, R.R., Chauvin, J.M., Morrison, R.M, Deblasio, R.N., Menna, C., Ding, Q., Pagliano, O., Zidi, B., et al. (2021). Fecal microbiota transplant overcomes resistance to anti-PD-1 therapy in melanoma patients. *Science.* *371*, 595-602.
- De, Martin, E., Michot, J.M., Papouin, B., Champiat, S., Mateus, C., Lambotte, O., Roche, B., Antonini, T.M., Coilly, A., Laghouati, S., et al. (2018). *J. Hepatol.* *68*, 1181-1190.
- De, Martin, E., Michot, J.M., Rosmorduc, O., Guettier, C., Samuel, D. (2020). Liver toxicity as a limiting factor to the increasing use of immune checkpoint inhibitors. *JHEP Rep.* *2*, 100170.
- De, Velasco, G., Je, Y., Bossé, D., Awad, M.M., Ott, P.A., Moreira, R.B., Schutz, F., Bellmunt, J., Sonpavde, G.P., Hodi, F.S., et al. (2017). Comprehensive Meta-analysis of Key Immune-Related Adverse Events from CTLA-4 and PD-1/PD-L1 Inhibitors in Cancer Patients. *Cancer Immunol. Res.* *5*, 312-318.
- Diehl, A., Yarchoan, M., Hopkins, A., Jaffee, E., Grossman, SA. (2017). Relationships between lymphocyte counts and treatment-related toxicities and clinical responses in patients with solid tumors treated with PD-1 checkpoint inhibitors. *Oncotarget.* *8*, 114268-114280.
- Dubey, D., David, W.S., Reynolds, K.L., Chute, D.F., Clement, N.F., Cohen, J.V., Lawrence, D.P., Mooradian, M.J., Sullivan, R.J., Guidon, A.C. (2020). Severe Neurological Toxicity of Immune Checkpoint Inhibitors: Growing Spectrum. *Ann. Neurol.* *87*, 659-669.

Dubin, K., Callahan, M.K., Ren, B., Khanin, R., Viale, A., Ling, L., No, D., Gobourne, A., Littmann, E., Huttenhower, C., et al. (2016). Intestinal microbiome analyses identify melanoma patients at risk for checkpoint-blockade-induced colitis. *Nat. Commun.* 7, 10391.

Fehrenbacher, L., Spira, A., Ballinger, M., Kowanetz, M., Vansteenkiste, J., Mazieres, J., Park, K., Smith, D., Artal-Cortes, A., Lewanski, C., et al. (2016). Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomized controlled trial. *Lancet.* 387, 1837-1846.

Finn, R.S., Qin, S., Ikeda, M., Galle, P.R., Ducreux, M., Kim, T.Y., Kudo, M., Breder, V., Merle, P., Kaseb, A.O., et al. (2020). Atezolizumab plus Bevacizumab in Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 382, 1894-1905.

Fujisawa, Y., Yoshino, K., Otsuka, A., Funakoshi, T., Fujimura, T., Yamamoto, Y., Hata, H., Goshō, M., Tanaka, R., Yamaguchi, K., et al. (2017). Fluctuations in routine blood count might signal severe immune-related adverse events in melanoma patients treated with nivolumab. *J. Dermatol. Sci.* 88, 225-231.

Gandhi, L., Rodríguez-Abreu, D., Gadgeel, S., Esteban, E., Felip, E., De, Angelis, F., Domine, M., Clingan, P., Hochmair, M.J., Powell, S.F., et al. (2018). Pembrolizumab plus Chemotherapy in Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *N. Engl. J. Med.* 378, 2078-2092.

Gettinger, S., Horn, L., Jackman, D., Spigel, D., Antonia, S., Hellmann, M., Powderly, J., Heist, R., Sequist, L.V., Smith, D.C., et al. (2018). Five-Year Follow-Up of Nivolumab in Previously Treated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: Results From the CA209-003 Study. *J. Clin. Oncol.* 36, 1675-1684.

Gopalakrishnan, V., Spencer, C.N., Nezi, L., Reuben, A., Andrews, M.C.,

- Karpinets, T.V., Prieto, P.A., Vicente, D., Hoffman, K., Wei, S.C., et al. (2018). Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science*. *359*, 97-103.
- Haanen, J.B.A.G., Carbonnel, F., Robert, C., Kerr, K.M., Peters, S., Larkin, J., Jordan, K. (2017). ESMO Guidelines Committee. Management of toxicities from immunotherapy: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann. Oncol.* *28*, iv119-iv142.
- Hamaguchi, Y., Kaido, T., Okumura, S., Kobayashi, A., Hammad, A., Tamai, Y., Inagaki, N., Uemoto, S. (2016). Proposal for new diagnostic criteria for low skeletal muscle mass based on computed tomography imaging in Asian adults. *Nutrition*. *32*, 1200-1205.
- Hiraoka, A., Aibiki, T., Okudaira, T., Toshimori, A., Kawamura, T., Nakahara, H., Suga, Y., Azemoto, N., Miyata, H., Miyamoto, Y., et al. (2015). Muscle atrophy as pre-sarcopenia in Japanese patients with chronic liver disease: computed tomography is useful for evaluation. *J. Gastroenterol.* *50*, 1206-1213.
- Inamori, O., Miyagawa-Hayashino, A., Ueno, A., Hongo, F., Sonobe, Y., Hojo, T., Konishi, E. (2019). Fulminant hepatitis as an immune-related adverse event after nivolumab treatment. *Pathol. Int.* *69*, 434-436.
- Iwai, Y., Ishida, M., Tanaka, Y., Okazaki, T., Honjo, T., Minato, N. (2002). Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *99*, 12293-12297.
- Jamal S, Hudson M, Fifi-Mah A, Ye C. (2020). Immune-related Adverse Events Associated with Cancer Immunotherapy: A Review for the Practicing Rheumatologist. *J. Rheumatol.* *47*, 166-175.
- Kanda, N., Tsuchida, T., Tamaki, K. (1999). Estrogen enhancement of anti-double-stranded DNA antibody and immunoglobulin G production in peripheral

blood mononuclear cells from patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* *42*, 328-337.

Karamchandani, D.M., Chetty, R. (2018). Immune checkpoint inhibitor-induced gastrointestinal and hepatic injury: pathologists' perspective. *J. Clin. Pathol.* *71*, 665-671.

Kubo, T., Sugawara, T., Shinkawa, T., Kurisu, T., Kouzen, N., Tanaka, T., Fukuta, F., Yamasaki, K., Sugita, S., Matsuo, K., et al. (2021). Fatal fulminant hepatitis induced by combined ipilimumab and nivolumab therapy despite favorable histologic response and confirmed by autopsy in a patient with clear cell renal cell carcinoma. *Immunol. Med.* *44*, 136-141.

Lv, T., Li, M., Zeng, N., Zhang, J., Li, S., Chen, S., Zhang, C., Shan, S., Duan, W., Wang, Q., et al. (2019). Systematic review and meta-analysis on the incidence and prevalence of autoimmune hepatitis in Asian, European, and American population. *J. Gastroenterol. Hepatol.* *34*, 1676-1684.

Mazza, C., Escudier, B., Albiges, L. (2017). Nivolumab in renal cell carcinoma: latest evidence and clinical potential. *Ther. Adv. Med. Oncol.* *9*, 171-181.

McLoughlin, R.M., Jenkins, B.J., Grail, D., Williams, A.S., Fielding, C.A., Parker, C.R., Ernst, M., Topley, N., Jones, S.A. (2005). IL-6 trans-signaling via STAT3 directs T cell infiltration in acute inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *102*, 9589-9594.

Motzer, R.J., Tannir, N.M., McDermott, D.F., Arén, Frontera, O., Melichar, B., Choueiri, T.K., Plimack, E.R., Barthélémy, P., Porta, C., George, S, et al. (2018). Nivolumab plus Ipilimumab versus Sunitinib in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N. Engl. J. Med.* *378*, 1277-1290.

Nakamura, Y., Tanaka, R., Maruyama, H., Ishitsuka, Y., Okiyama, N., Watanabe, R., Fujimoto, M., Fujisawa, Y. (2019). Correlation between blood cell count and outcome of melanoma patients treated with anti-PD-1

antibodies. *Jpn. J. Clin. Oncol.* *49*, 431-437.

Nakamura, Y. (2019). Biomarkers for Immune Checkpoint Inhibitor-Mediated Tumor Response and Adverse Events. *Front Med (Lausanne)*. *6*, 119.

Nosrati, A., Tsai, K.K., Goldinger, S.M., Tumei, P., Grimes, B., Loo, K., Algazi, A.P., Nguyen-Kim, T.D.L., Levesque, M., Dummer, R., et al. (2017). A. Evaluation of clinicopathological factors in PD-1 response: derivation and validation of a prediction scale for response to PD-1 monotherapy. *Br. J. Cancer*. *116*, 1141-1147.

Okazaki, T., Maeda, A., Nishimura, H., Kurosaki, T., Honjo, T. (2001). PD-1 immunoreceptor inhibits B cell receptor-mediated signaling by recruiting src homology 2-domain-containing tyrosine phosphatase 2 to phosphotyrosine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *98*, 13866-13871.

Ohara, M., Suda, G., Kimura, M., Maehara, O., Shimazaki, T., Shigesawa, T., Suzuki, K., Nakamura, A., Kawagishi, N., Nakai, M., et al. (2020). Analysis of the optimal psoas muscle mass index cut-off values, as measured by computed tomography, for the diagnosis of loss of skeletal muscle mass in Japanese people. *Hepatol. Res.* *50*, 715-725.

Peravali, M., Gomes-Lima, C., Tefera, E., Baker, M., Sherchan, M., Farid, S., Burman, K., Constantinescu, F., Veytsman I. (2021). Racial disparities in immune-related adverse events of immune checkpoint inhibitors and association with survival based on clinical and biochemical responses. *World J. Clin. Oncol.* *12*, 103-114.

Postow, M.A., Sidlow, R., Hellmann, M.D. (2018). Immune-Related Adverse Events Associated with Immune Checkpoint Blockade. *N. Engl. J. Med.* *378*, 158-168.

Qin, S., Xu, L., Yi, M., Yu, S., Wu, K., Luo, S. (2019). Novel immune checkpoint targets: moving beyond PD-1 and CTLA-4. *Mol. Cancer*. *18*, 155.

Riveiro-Barciela, M., Muñoz-Couselo, E., Fernandez-Sojo, J., Diaz-Mejia, N., Parra-López, R., Buti, M. (2019). Acute liver failure due to immune-mediated hepatitis successfully managed with plasma exchange: new settings call for new treatment strategies? *J. Hepatol.* *70*, 564-566.

Robert, C., Long, G.V., Brady, B., Dutriaux, C., Maio, M., Mortier, L., Hassel, J.C., Rutkowski, P., McNeil, C., Kalinka-Warzocha, E., et al. (2015). Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation. *N. Engl. J. Med.* *372*, 320-330.

Sanjeevaiah, A., Kerr, T., Beg, MS. (2018). Approach and management of checkpoint inhibitor-related immune hepatitis. *J. Gastrointest. Oncol.* *9*, 220-224.

Sawada, K., Hayashi, H., Nakajima, S., Hasebe, T., Fujiya, M., Okumura, T. (2020). Non-alcoholic fatty liver disease is a potential risk factor for liver injury caused by immune checkpoint inhibitor. *J. Gastroenterol. Hepatol.* *35*, 1042-1048.

Suzman, D.L., Pelosof, L., Rosenberg, A., Avigan, MI. (2018). Hepatotoxicity of immune checkpoint inhibitors: An evolving picture of risk associated with a vital class of immunotherapy agents. *Liver Int.* *38*, 976-987.

Takikawa, H., Onji, M. (2005). A proposal of the diagnostic scale of drug-induced liver injury. *Hepatol. Res.* *32*, 250-251.

Tanaka, R., Okiyama, N., Okune, M., Ishitsuka, Y., Watanabe, R., Furuta, J., Ohtsuka, M., Otsuka, A., Maruyama, H., Fujisawa, Y., et al. (2017). Serum level of interleukin-6 is increased in nivolumab-associated psoriasiform dermatitis and tumor necrosis factor- α is a biomarker of nivolumab reactivity. *J. Dermatol. Sci.* *86*, 71-73.

Valpione, S., Pasquali, S., Campana, L.G., Piccin, L., Mocellin, S., Pigozzo, J., Chiarion-Sileni, V. (2018). Sex and interleukin-6 are prognostic factors for autoimmune toxicity following treatment with anti-

CTLA4 blockade. *J. Transl. Med.* *16*, 94.

Wang, D.Y., Salem, J.E., Cohen, J.V., Chandra, S., Menzer, C., Ye, F., Zhao, S., Das, S., Beckermann, K.E., Ha, L., et al. (2018). Fatal Toxic Effects Associated With Immune Checkpoint Inhibitors: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol.* *4*, 1721-1728.

Wang, W., Lie, P., Guo, M., He, J. (2017). Risk of hepatotoxicity in cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors: A systematic review and meta-analysis of published data. *Int. J. Cancer.* *141*, 1018-1028.

Weber, J.S., Dummer, R., de, Pril, V., Lebbé, C., Hodi, F.S.; MDX010-20 Investigators. (2013). Patterns of onset and resolution of immune-related adverse events of special interest with ipilimumab: detailed safety analysis from a phase 3 trial in patients with advanced melanoma. *Cancer.* *119*, 1675-1682.

Weber, J.S., Gibney, G., Sullivan, R.J., Sosman, J.A., Slingluff, C.L. Jr., Lawrence, D.P., Logan, T.F., Schuchter, L.M., Nair, S., Fecher, L., et al. (2016). Sequential administration of nivolumab and ipilimumab with a planned switch in patients with advanced melanoma (CheckMate 064): an open-label, randomized, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* *17*, 943-955.

Weber, J.S., Hodi, F.S., Wolchok, J.D., Topalian, S.L., Schadendorf, D., Larkin, J., Sznol, M., Long, G.V., Li, H., Waxman, I.M., et al. (2017). Safety Profile of Nivolumab Monotherapy: A Pooled Analysis of Patients With Advanced Melanoma. *J. Clin. Oncol.* *35*, 785-792.

Wing, K., Onishi, Y., Prieto-Martin, P., Yamaguchi, T., Miyara, M., Fehervari, Z., Nomura, T., Sakaguchi, S. (2008). CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science.* *322*, 271-275.

Wu, Y., Ju, Q., Jia, K., Yu, J., Shi, H., Wu, H., Jiang, M. (2018). Correlation between sex and efficacy of immune checkpoint inhibitors (PD-1 and CTLA-4 inhibitors). *Int. J. Cancer.* *143*, 45-51.

Zen, Y., Yeh, M.M. (2018). Hepatotoxicity of immune checkpoint inhibitors: a histology study of seven cases in comparison with autoimmune hepatitis and idiosyncratic drug-induced liver injury. *Mod. Pathol.* 31, 965-973.

厚生労働省. (2019). 平成 30 年 (2018) 人口動態統計 (確定数) の概況.
www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/kakutei18/index.html. (アクセス日
2019 年 11 月 28 日).