



続報・肺転移のあるイヌ悪性黒色腫に 抗 PD-L1 抗体が有効であることをはじめて実証

～イヌ用免疫チェックポイント阻害薬の実現に大きく前進～

ポイント

- ・悪性黒色腫を含む各種イヌ悪性腫瘍において高率に PD-L1 が発現していることを確認。
- ・肺転移のある悪性黒色腫をもつイヌに対してイヌキメラ抗 PD-L1 抗体の臨床研究を継続実施。
- ・一部のイヌで肺転移巣を含む腫瘍の退縮を確認，生存期間の延長も見込まれることを解明。

概要

北海道大学大学院獣医学研究院の前川直也特任助教及び今内 覚准教授らの研究グループは、イヌ PD-L1 を特異的に検出する免疫組織化学染色法*1 を樹立し、免疫チェックポイント阻害薬*2 である抗 PD-L1 抗体を用いた治療が肺転移した悪性黒色腫*3 を持つイヌに対して一定の有効性と安全性を示すことを明らかにしました。

近年、長寿命化に伴い悪性腫瘍（がん）によって命を落とすイヌが増えており、既存の治療法に加えて新たな治療戦略の開発が望まれています。ヒト医療では、外科療法・放射線療法・化学療法に加え、免疫療法の応用が進んでおり、特に抗 PD-1 抗体や抗 PD-L1 抗体といった免疫チェックポイント阻害薬は、悪性黒色腫や肺がんなどの多くのがん種に対して良好な治療成績が報告されています。これまでにイヌの悪性腫瘍においても PD-1/PD-L1 経路による免疫抑制が起きていること、また世界初のイヌ用免疫チェックポイント阻害薬であるイヌキメラ抗 PD-L1 抗体*4 (c4G12) が一部のイヌにおいて腫瘍の退縮をもたらすことを同大学動物医療センターにおける臨床研究によって明らかにしてきました。しかし、どのような腫瘍で PD-L1 が発現しており治療の標的となるのか、また抗 PD-L1 抗体の治療効果や安全性についてはいまだ情報が少なく、より大規模な検討が必要でした。

そこで本研究では、まずイヌ PD-L1 を特異的に検出する免疫組織化学染色法を樹立し、発現解析を行ったところ、悪性黒色腫をはじめとする様々な種類のがんで高率に PD-L1 の発現が認められました。また、肺に転移した悪性黒色腫をもつイヌ 29 頭に対し、抗 PD-L1 抗体による試験的治療を行ったところ、一部のイヌで肺転移巣を含む腫瘍の退縮が観察されたほか、同センターにおいて治療した過去の症例と比べ、抗 PD-L1 抗体治療群では有意に生存期間が長いことが明らかになりました。本成果は、イヌ腫瘍治療に免疫療法という選択肢をもたらすための大きな一歩であり、イヌでの免疫チェックポイント阻害薬の実用化に向けた重要な知見となります。

なお、本研究の一部は文部科学省科学研究費助成事業及び AMED 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業）の支援の下、東北大学と共同で行いました。

なお、本研究成果は、日本時間 2021 年 2 月 12 日（金）公開の *npj Precision Oncology* 誌に掲載されました。

【背景】

ヒトと同様にイヌにおいても高齢化が進み、腫瘍と診断される動物の数は近年増加傾向にあります。同時に、より高度な獣医療が求められるようになっており、従来の外科療法、放射線療法、化学療法に加えて新たな治療法の研究開発が急務となっています。ヒト医療では、近年免疫チェックポイント阻害薬（抗 PD-1 抗体、抗 PD-L1 抗体、抗 CTLA-4 抗体など）に代表される免疫療法の適用が進んでおり、悪性黒色腫や肺がんをはじめとした様々な腫瘍の治療法として確立されています。

イヌにおいても、悪性黒色腫や扁平上皮がん、骨肉腫など様々な悪性腫瘍がありますが、浸潤・転移の状況や各治療法（薬）への感受性の有無、また副作用の問題から治療法が制限される場合も多くあります。特に口腔内に発生する悪性黒色腫は、肺に転移をすると予後が非常に悪いことが知られており、罹患したイヌの半数がおよそ2か月で亡くなってしまいます。そこで、北海道大学、病理組織検査ノースラボ、東北大学、扶桑薬品工業株式会社による研究グループ（代表：北海道大学大学院獣医学研究院 今内 寛准教授）では、免疫チェックポイント分子の一つである PD-L1 を標的としたイヌ用抗体薬（イヌキメラ抗 PD-L1 抗体：c4G12）を世界で初めて開発し、イヌ腫瘍に対する新規免疫療法としてその安全性や有効性の検討を行ってきました（図1）。これまでにイヌ悪性黒色腫及び未分化肉腫に罹患した一部のイヌで腫瘍の退縮効果を報告しましたが（以下参照）、詳細な解析にはより大規模な臨床研究が必要と考えられました。また、抗 PD-L1 治療の標的となるがんを選定するために、イヌ腫瘍における PD-L1 発現解析法の樹立が求められていました。

北海道大学和文プレスリリース（2017年8月25日（金））

イヌのがん治療に有効な免疫チェックポイント阻害薬（抗 PD-L1 抗体）の開発にはじめて成功～北海道大学動物医療センターにおける臨床研究成果～

https://lab-inf.vetmed.hokudai.ac.jp/content/files/Research/2017.8.25_jyu.pdf

北海道大学英文プレスリリース（2017年8月25日（金））

New therapeutic anti body for dog cancers

<https://www.global.hokudai.ac.jp/blog/new-therapeutic-antibody-for-dog-cancers/>

【研究手法】

本研究では、まずイヌ PD-L1 を特異的に認識するラットモノクローナル抗体^{*5}6C11-3A11 を用いた免疫組織化学染色法を樹立し、各種イヌ腫瘍における PD-L1 の発現解析を行いました。また、北海道大学動物医療センターにおいて、口腔内に原発し肺転移を有する悪性黒色腫（ステージ IV）に罹患したイヌ 29 頭に対し、イヌキメラ抗 PD-L1 抗体 c4G12 を投与する臨床研究を実施し、その安全性と治療効果を検討しました。

【研究成果】

樹立した免疫組織化学染色法により、扁平上皮がんや鼻腔内腺がん、移行上皮がん含む各種イヌ悪性腫瘍（12 種類中 11 種類）において高率に PD-L1 の発現が認められました（図 2）。特に口腔内悪性黒色腫では発現率が 95%（20 検体中 19 検体で陽性）と非常に高く、抗 PD-L1 抗体を用いた治療の標的となりうることが確認されました。抗 PD-L1 抗体を用いた臨床研究では、グレード 3 の治療関連有害事象^{*6}が治療した 29 頭のうち 4 頭（13.8%）に認められましたが、ヒト用抗 PD-L1 抗体薬における報告と同様であり安全性に大きな問題はないと考えられました。また、治療した 29 頭のうち 5 頭（17.2%）

において画像上で腫瘍の縮小が認められ、測定可能病変*7を持つ13頭のうち1頭(7.7%)では完全奏効と判断されました(図3)。測定可能病変を持たない他の16頭のうち2頭では、すべての検出可能な腫瘍が消失し、1年以上生存しました。同センターにおいて過去(2013-2016年)に治療した同様のイヌ(歴史的対照群*8, n=15, 中央生存期間54日)と比較して、抗PD-L1抗体治療を受けたイヌでは肺転移を認めてからの生存期間が有意に長く(n=29, 中央生存期間143日, P=0.00006)、抗体治療による生存期間の延長効果が示唆されました(図4)。

【今後への期待】

本研究で樹立したPD-L1免疫組織化学染色法は、抗PD-L1抗体治療の適用となるがんを選定するための診断ツールとしての利用が期待されます。また、イヌキメラ抗PD-L1抗体は肺転移のある悪性黒色腫に対する新たな免疫療法としての実用化が期待されるだけでなく、他のPD-L1陽性腫瘍においても治療薬として有用である可能性があり、今後の検討が待たれます。免疫チェックポイント阻害薬は、その作用機序から放射線療法や他の薬剤(がんワクチン、分子標的薬など)との併用で相乗効果が得られる可能性があり、本抗体を使用した応用研究も今後行っていく予定です。さらに、イヌの自然発生腫瘍はヒトの腫瘍と類似点が多く、ヒト腫瘍の治療モデルとして本抗体を用いた臨床研究を行うことも可能であると考えられます。

北海道大学動物医療センターでは、今後も伴侶動物医療の向上を目指した応用研究を展開していく予定です。

論文情報

論文名	PD-L1 immunohistochemistry for canine cancers and clinical benefit of anti-PD-L1 antibody in dogs with pulmonary metastatic oral malignant melanoma (イヌ腫瘍のためのPD-L1免疫組織化学染色法の開発と肺転移を有するイヌ口腔内悪性黒色腫に対する抗PD-L1抗体の臨床的効果)
著者名	前川直也 ¹ , 今内 覚 ^{1,2} , 西村麻紀 ³ , 賀川由美子 ³ , 高木 哲 ^{4,5} , 細谷謙次 ⁴ , 大田 寛 ⁴ , 金 尚昊 ⁴ , 岡川朋弘 ¹ , 和泉雄介 ⁴ , 出口辰弥 ⁴ , 加藤幸成 ^{6,7} , 山本知史 ^{1,8} , 山本啓一 ^{1,8} , 戸田幹洋 ^{1,8} , 中島千絵 ^{1,9} , 鈴木定彦 ^{1,9,10} , 村田史郎 ^{1,2} , 大橋和彦 ^{1,2}
	(¹ 北海道大学大学院獣医学研究院先端創薬分野, ² 北海道大学大学院獣医学研究院病原制御学分野, ³ 病理組織検査ノースラボ, ⁴ 北海道大学大学院獣医学研究院附属動物病院(動物医療センター), ⁵ 麻布大学獣医学部小動物外科学研究室, ⁶ 東北大学大学院医学系研究科抗体創薬研究分野, ⁷ 東北大学未来科学技術共同研究センター, ⁸ 扶桑薬品工業株式会社, ⁹ 北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター, ¹⁰ 国際連携研究教育局(GI-CoRE)人獣共通感染症グローバルステーション)
雑誌名	<i>npj Precision Oncology</i> (腫瘍学の専門誌)
DOI	10.1038/s41698-021-00147-6
公表日	日本時間2021年2月12日(金)(オンライン公開)

お問い合わせ先

【北海道大学動物医療センターでの抗 PD-L1 抗体による腫瘍免疫療法について（臨床研究）】

臨床研究担当者 准教授 今内 覚（こんないさとる）

メール huvcr@vetmed.hokudai.ac.jp

【研究内容に関すること】

北海道大学大学院獣医学研究院 准教授 今内 覚（こんないさとる）

T E L 011-706-5216 F A X 011-706-5217 メール konnai@vetmed.hokudai.ac.jp

U R L <https://lab-inf.vetmed.hokudai.ac.jp/>

麻布大学獣医学部 准教授 高木 哲（たかぎさとし）

メール s-takagi@azabu-u.ac.jp

病理組織検査ノースラボ 賀川由美子（かがわゆみこ）

メール northlab@me.com

U R L <http://www.northlab.net/page2.html>

東北大学未来科学技術共同研究センター/大学院医学系研究科抗体創薬研究分野

教授 加藤幸成（かとうゆきなり）

T E L 022-717-8207 F A X 022-717-8207 メール yukinarikato@med.tohoku.ac.jp

扶桑薬品工業株式会社研究開発センター知的財産課 山本啓一（やまもとけいいち）

T E L 06-6969-3131 F A X 06-6969-0918

メール k-yamamoto@fuso-pharm.co.jp

U R L <https://www.fuso-pharm.co.jp/index.html>

配信元

北海道大学総務企画部広報課（〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目）

T E L 011-706-2162 F A X 011-706-2092 メール kouhou@jimuhokudai.ac.jp

【参考図】

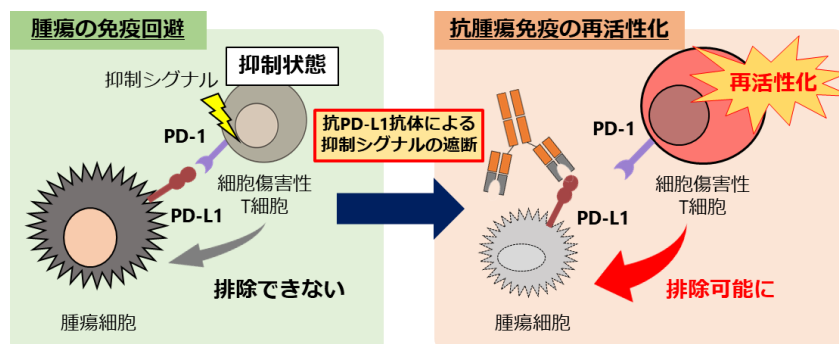


図 1. PD-L1（免疫チェックポイント分子）による腫瘍の免疫抑制メカニズムと抗 PD-L1 抗体による治療。（左）免疫抑制性受容体 PD-1 に PD-L1 が結合すると、細胞傷害性 T 細胞の機能が低下し腫瘍を排除できなくなる。（右）抗 PD-L1 抗体により PD-1/PD-L1 結合を阻害すると、抗腫瘍免疫が再活性化する。

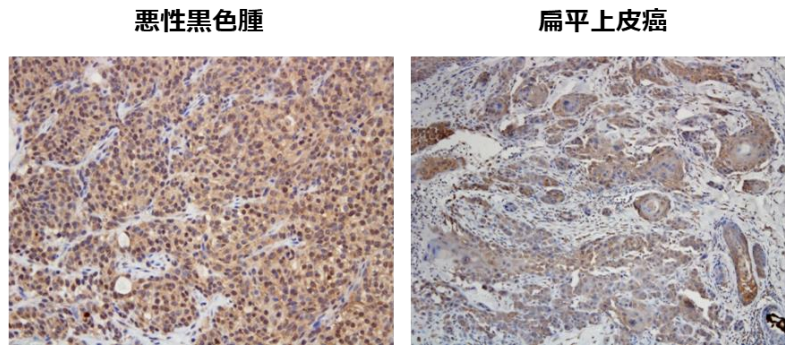


図 2. イヌ腫瘍における PD-L1 発現解析代表的な口腔内悪性黒色腫（左）及び皮膚扁平上皮がん（右）における PD-L1 免疫組織化学染色像。腫瘍細胞が褐色に染まっており、PD-L1 陽性であることがわかる。

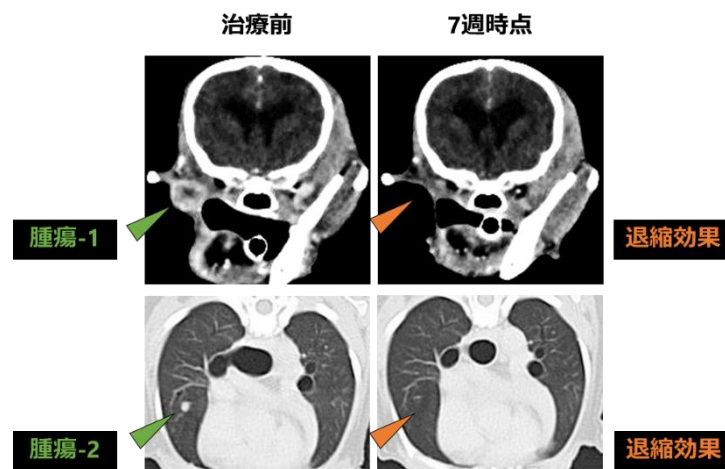


図 3. 肺転移のある口腔内悪性黒色腫に対する抗 PD-L1 抗体の抗腫瘍効果ポメラニアン（12 歳，雄）に認められた口腔内悪性黒色腫（左上）とその肺転移巣（左下）の CT 画像。抗 PD-L1 抗体による治療を行った結果，すべての腫瘍が画像上認められなくなった（右上及び右下，完全奏効）。

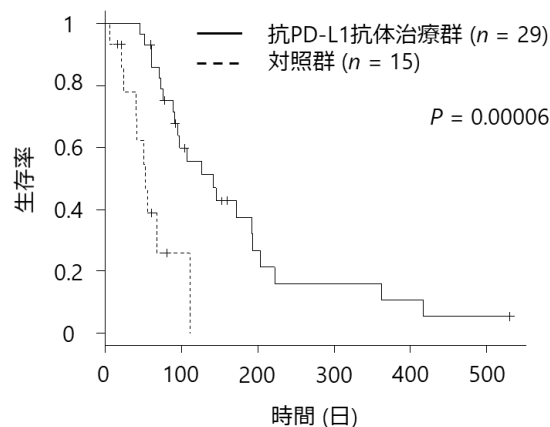


図 4. 口腔内悪性黒色腫に罹患したイヌにおける肺転移を認めてからの生存期間の比較。抗 PD-L1 抗体治療群（ $n=29$ ）では，過去に同センターで治療したイヌ（対照群， $n=15$ ）と比べ肺転移を認めてからの生存期間が有意に長かった。抗体治療群における中央生存期間は 143 日，対照群では 54 日であった。

【用語解説】

- *1 免疫組織化学染色法 … 抗体を用いて、組織サンプルにおけるタンパク質などの特定の因子の発現を解析する手法のこと。外科手術や生体組織診断（バイオプシー）によって得られた組織など、構造を保持したサンプルを解析できることから、解析対象因子の局在や発現する細胞種などの情報が得られる。
- *2 免疫チェックポイント阻害薬 … がん細胞は通常、免疫応答による排除を受けるが、一部のがんは免疫を回避（抑制）する機構を獲得することがある。例えば免疫細胞（T細胞）にあるPD-1というタンパク質（受容体）と、がん細胞のPD-L1というタンパク質（リガンド）が結合すると、免疫細胞はがん細胞に対する攻撃をやめてしまう。一方で、抗PD-1抗体や抗PD-L1抗体はPD-1とPD-L1の結合を阻害することで抗腫瘍免疫を活性化することができる（免疫療法）。PD-1やPD-L1などは免疫応答の調節に重要な役割を担うことから免疫チェックポイント分子と呼ばれ、それらを標的とした薬剤は免疫チェックポイント阻害薬と総称されている。
- *3 悪性黒色腫 … 皮膚や粘膜などに発生する、色素細胞（メラノサイト）に由来する悪性腫瘍のこと。メラノーマとも呼ばれる。
- *4 イヌキメラ抗PD-L1抗体 … ラット抗PD-L1抗体の定常領域（PD-L1への結合に関与しない部分）をイヌ由来のタンパク質に置き換えた組換え抗体のこと。ラット抗PD-L1抗体と比較して、イヌ体内での効果の持続時間が延び、副作用の軽減も期待できる。
- *5 モノクローナル抗体 … 対象の特定の部位にのみ結合する抗体のこと。
- *6 治療関連有害事象 … 観察期間中に生じた好ましくないすべての医療上の事柄を有害事象と呼び、その中でも治療との関連が疑われるもののこと。
- *7 測定可能病変 … 腫瘍の退縮を客観的に評価するためのガイドライン（Response evaluation criteria for solid tumors in dogs）において、測定可能と定義された病変のこと。例えば、CTスキャン画像において10mm以上であることなどが必要である。
- *8 歴史的対照群 … 既存の臨床試験や、病院のカルテ情報などから抽出した、過去の同様の症例を集めた対照データのこと。ヒストリカルコントロール群とも呼ばれる。