

イヌ悪性黒色腫に対して放射線治療との併用で 抗 PD-L1 抗体の効果が高まることをはじめて報告

～イヌ用免疫チェックポイント阻害薬のより良い使用法の実現に期待～

ポイント

- ・肺転移を持つ口腔内悪性黒色腫に罹患したイヌにおいて抗 PD-L1 抗体の治療効果を回顧的に解析。
- ・放射線治療歴の有無やそのタイミングが抗 PD-L1 抗体の治療効果と相関することを発見。
- ・抗 PD-L1 抗体治療開始前に放射線治療を受けることでより良い治療効果が得られる可能性。

概要

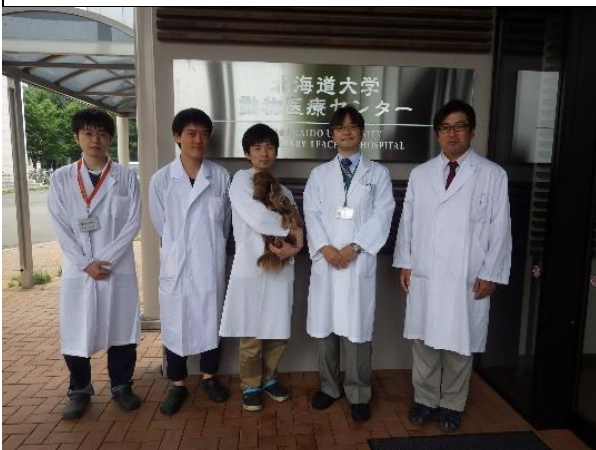
北海道大学大学院獣医学研究院の出口辰弥特任助教、前川直也特任助教及び今内 覚教授、東北大学大学院医学系研究科の加藤幸成教授らの研究グループは、肺転移を持つ口腔内悪性黒色腫*¹に罹患したイヌにおいて、免疫チェックポイント阻害薬*²である抗 PD-L1 抗体の治療効果を回顧的に解析*³し、抗 PD-L1 抗体治療開始前に放射線治療を受けていた群でより良い治療効果が得られたことを明らかにしました。

イヌの腫瘍は外科手術や放射線療法などによって治療されますが、ヒト医療における現状と同様に完治に至らないケースも多く、新規治療法の確立が望まれています。研究グループではこれまでに、抗 PD-L1 抗体が一部のイヌにおいて腫瘍の退縮をもたらすことを北海道大学動物医療センターにおける臨床研究として世界に先駆けて報告してきました。しかし、奏効が得られるイヌは一部にとどまっていました。

そこで本研究では、これまでに抗 PD-L1 抗体による治療を行った、肺転移のある口腔内悪性黒色腫のイヌについて回顧的な解析を行うことで、低分割放射線療法*⁴と抗 PD-L1 抗体療法の組み合わせがより良い治療効果に繋がるかを検討しました。その結果、放射線治療歴の有無やそのタイミングが抗 PD-L1 抗体の治療効果と相関することを発見しました。

本研究成果は、抗 PD-L1 治療の開始前に放射線治療を行うことで免疫療法の効果が増す可能性を示し、イヌでの免疫チェックポイント阻害薬のより良い使用法の解明に繋がる重要な知見となります。

なお、本研究成果は、2023年6月1日（木）公開の *Cancers* 誌にオンライン掲載されました。



北海道大学動物医療センター前にて。
右から今内教授、高木教授、出口特任
助教、前川特任助教、和泉博士。

【背景】

獣医療の発展により、近年では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増えていきます。ペット保険の普及などの後押しもあり、より高度な獣医療の提供が求められています。イヌの腫瘍に対しては、外科手術、放射線療法、化学療法による治療が一般的に行われますが、十分な治療効果が得られない場合も多く、新たな治療法の開発が急務です。一部のがん種では分子標的薬などの使用も進んでいますが、免疫療法については未だ研究段階であり一般に使われる治療法（薬）はありません。

ヒト医療では抗 PD-1 抗体や抗 PD-L1 抗体などの免疫チェックポイント阻害薬（図 1）に代表される免疫療法の開発が進んでおり、悪性黒色腫や肺がんをはじめとした様々な腫瘍において単独、もしくは既存の治療法との併用として良好な治療成績が報告されています。

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、特に口腔内に発生する悪性黒色腫は浸潤・転移を起こす傾向が強く、肺に転移をするとおよそ 2 ヶ月で半数の動物が亡くなってしまいう予後の悪い病気です。

そこで、北海道大学を中心とした今回の研究グループでは、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免疫チェックポイント阻害薬（イヌキメラ抗 PD-L1 抗体^{*5}: 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を同大学動物医療センターにおける臨床研究として報告してきました（後述する「関連するプレスリリース」を参照）。

抗 PD-L1 抗体は肺転移のある口腔内悪性黒色腫のイヌに対しても腫瘍の退縮を誘導し、生存期間を延ばす可能性があることが示されましたが、奏効が得られるイヌは一部にとどまったことから、抗 PD-L1 抗体による治療効果を最大限に得るためにはさらなる使用方法の工夫が必要と考えられました。

【研究手法】

低分割放射線療法（例：週 1 回、各 6–9Gy、3–6 回の分割照射）は、イヌ悪性黒色腫に対する局所療法として有効な治療法です。ヒトにおける最近の臨床研究では、放射線療法は腫瘍における免疫原性細胞死^{*6}を介して抗腫瘍免疫応答を引き起こすため、放射線療法と免疫チェックポイント阻害薬の組み合わせが、がん患者において強力な全身性の抗腫瘍免疫を誘導することが示唆されています。本研究では、放射線療法と抗 PD-L1 抗体の組み合わせが悪性黒色腫に罹患したイヌにおいて、より良好な全身性の抗腫瘍免疫を誘導するかを調べるため、イヌキメラ抗 PD-L1 抗体（c4G12）で治療した、肺転移を有する口腔内悪性黒色腫に罹患したイヌ（ $n = 39$ ）において、肺転移病変に対する臨床的有用率（縮小・維持を認めた率）及び抗 PD-L1 抗体治療開始からの全生存期間について、低分割放射線治療歴の有無とそのタイミングに着目して回顧的に解析しました。

【研究成果】

解析に含まれた 39 頭について、放射線治療（Radiation Therapy: RT）の影響がないと考えられた「RT なし群」（ $n = 20$ ）、抗 PD-L1 抗体初回投与の前 8 週間以内に放射線治療を受けていた「RT 前治療群」（ $n = 9$ ）、放射線治療の初回照射の前後 1 週間以内に抗 PD-L1 抗体治療を開始した「RT 同時治療群」（ $n = 10$ ）の 3 群に分けて解析を行いました。

「RT なし群」では、20 頭中 2 頭で肺転移病変が抗 PD-L1 抗体治療に反応し（完全奏効 1 頭及び維持 1 頭）、臨床的有用率^{*7}は 10.0%でした。「RT 前治療群」では、9 頭中 4 頭で完全奏効及び 1 頭で維持／部分奏効が認められ、肺転移病変の臨床的有用率は 55.6%となり、これは「RT なし群」と比較して有意に高い比率でした（ $P = 0.016$ ）。「RT 同時治療群」では、10 頭中 2 頭で維持／部分奏効と判断され、臨床的有用率は 20.0%と他の群と比較して統計学的な有意差はありませんでした。さらに、「RT 前治療

群」の全生存期間*⁸の中央値は283.5日（95%信頼区間：61-NA日）であり、「RTなし群」の全生存期間の中央値185日（95%信頼区間：53-152日）と比較して有意に長いことが明らかとなりました（ $P=0.036$ ）。一方、「RT同時治療群」の全生存期間の中央値は129日（95%信頼区間：2-NA日）であり、他の群と比較して有意な差はありませんでした（図2）。

抗PD-L1抗体治療またはRTに関連する有害事象*⁹は一部のイヌで認められましたが、それぞれの単独治療で報告された有害事象と組み合わせ治療時に報告された有害事象は種類、頻度、程度ともに同等であり、許容可能な範囲と考えられました。

【今後への期待】

本研究では、抗PD-L1抗体を開始する直前（8週間以内）に放射線治療を受けていたイヌで肺転移病変の反応率が高く、また免疫療法における生存期間も長くなる傾向が認められました。この組み合わせ療法において安全性にも大きな問題は認められなかったことから、放射線治療を免疫チェックポイント阻害薬の開始前に適用することで、より良い治療効果が得られる新しい治療法となる可能性があります。本研究成果は、低分割放射線療法が適用される他のがんにも適用できる可能性があり、免疫チェックポイント阻害薬の適用拡大と併せて検討を進めることでイヌの腫瘍に対するより良い治療の提供に繋がるものと期待されます。

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抗PD-L1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。

【関連するプレスリリース】

プレスリリース①：

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～（2017年8月25日（金））

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

プレスリリース②：

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～（2021年2月15日（金））

URL: https://www.hokudai.ac.jp/news/pdf/210215_pr.pdf

【謝辞】

なお、本研究の一部は文部科学省科学研究費助成事業（15J01989; 16K15042; 19H03114; 19K15969; 19K23702; 21K1498301）、AMED創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業（BINDS-1; JP19am0101078）及びAMED生命科学・創薬研究支援基盤事業（BINDS-2; JP22ama121008）の支援を受け、行われました。

論文情報

論文名 Enhanced systemic antitumour immunity by hypofractionated radiotherapy and anti-PD-L1 therapy in dogs with pulmonary metastatic oral malignant melanoma (低分割放射線療法と抗 PD-L1 治療は肺転移のある口腔内悪性黒色腫のイヌにおいて全身性の抗腫瘍免疫を増強する)

著者名 出口辰弥¹、前川直也²、今内 覚^{2,3}、大脇 稜¹、細谷謙次¹、森下啓太郎¹、中村基司¹、岡川朋弘²、竹内寛人³、金 尚昊¹、木之下怜平¹、立花由莉加¹、横川まどか¹、高木 哲⁴、加藤幸成^{5,6}、鈴木定彦^{7,8}、村田史郎^{2,3}、大橋和彦^{2,3} (1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)、²北海道大学大学院獣医学研究院先端創薬分野、³北海道大学大学院獣医学研究院病原制御学分野、⁴麻布大学獣医学部小動物外科学研究室、⁵東北大学大学院医学系研究科抗体創薬共同研究講座、⁶東北大学大学院医学系研究科分子薬理学分野、⁷北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所、⁸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 *Cancers* (腫瘍学の専門誌)

DOI 10.3390/cancers15113013

公表日 2023年6月1日(木) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院獣医学研究院 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

※ただし、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はこちら (huvcr@vetmed.hokudai.ac.jp) にご連絡ください。

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

東北大学大学院医学系研究科 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 yukinari.kato.e6@tohoku.ac.jp

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

東北大学医学部広報室 (〒980-8575 宮城県仙台市青葉区星陵町2-1)

T E L 022-717-7891 F A X 022-717-8187 メール press@pr.med.tohoku.ac.jp

【参考図】

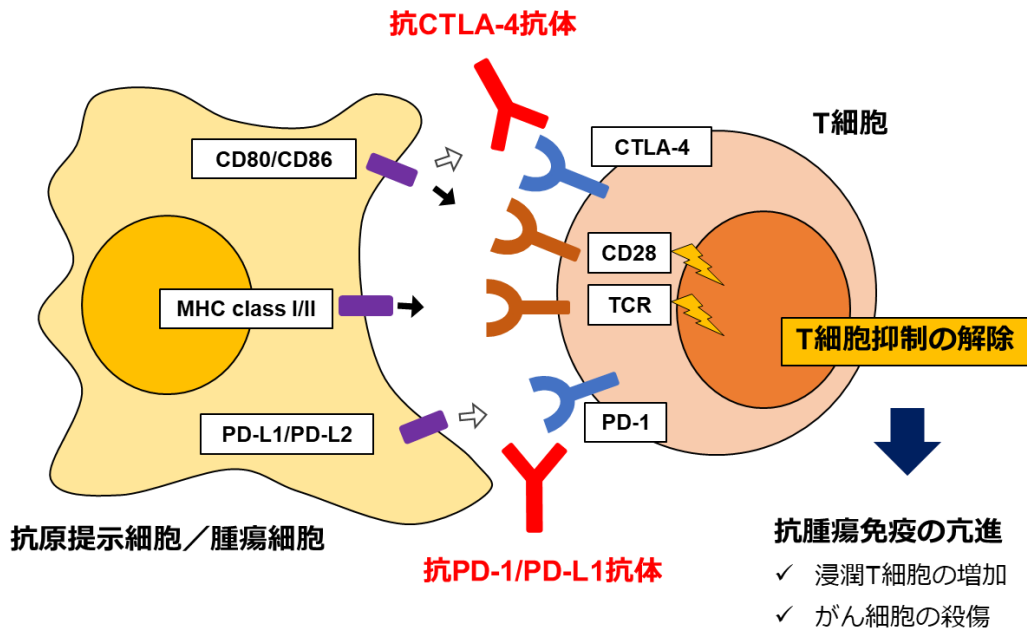


図 1. 免疫チェックポイント分子による腫瘍の免疫抑制メカニズムとその阻害薬による治療。

PD-1 及び CTLA-4 は T 細胞（免疫細胞）における抑制性受容体（免疫チェックポイント分子）であり、抗腫瘍免疫を低下させる。抗 PD-1/PD-L1 抗体、及び抗 CTLA-4 抗体は免疫チェックポイント分子の機能を阻害することで抗腫瘍免疫を活性化させる。

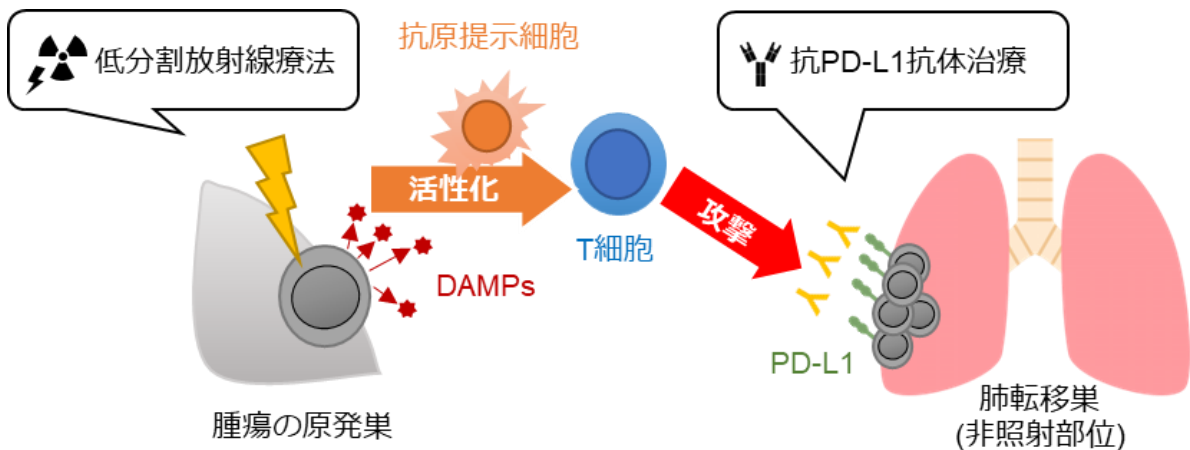


図 2. 放射線療法と免疫チェックポイント阻害薬（抗 PD-L1 抗体）の組み合わせにおける抗腫瘍免疫増強の想定されるメカニズム。

放射線療法により腫瘍細胞に免疫原性細胞死が誘導され、DAMPs（ダメージ関連分子パターン）が放出される。DAMPs は抗原提示細胞を活性化し、続いて腫瘍抗原を特異的に認識して攻撃をする T 細胞が活性化される。抗 PD-L1 抗体は活性化した T 細胞が、全身で腫瘍細胞を攻撃する際に抑制状態に陥ることを防ぎ、結果としてより良い全身性抗腫瘍免疫が誘導される。

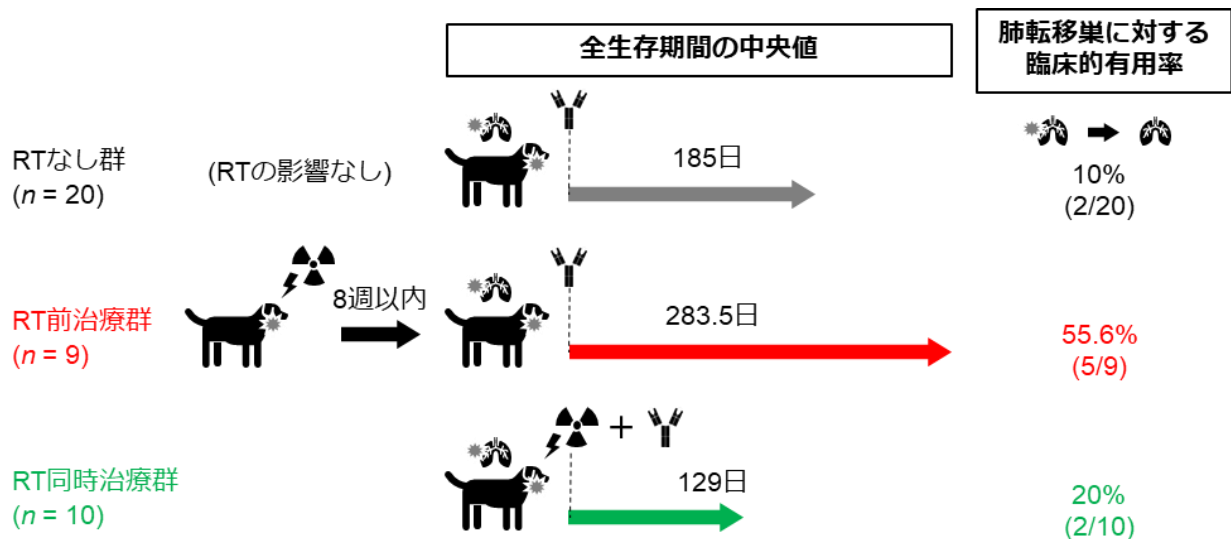


図 3. 低分割放射線療法による治療歴の有無及びそのタイミングによる抗 PD-L1 抗体治療の効果の比較。

肺転移のある口腔内悪性黒色腫のイヌに対して抗 PD-L1 抗体治療を行った ($n = 39$)。RT の影響がないと考えられた「RT なし群」と比較して、抗 PD-L1 抗体治療開始の前 8 週間以内に放射線治療を受けていた「RT 前治療群」では、抗体治療における全生存期間が長く、肺転移巣が縮小もしくは維持された率（臨床的有用率）が高い傾向にあった ($P < 0.05$)。一方、放射線治療の初回照射の前後 1 週間以内に抗 PD-L1 抗体治療を開始した「RT 同時治療群」では、「RT なし群」と比較して全生存期間及び肺転移巣に対する臨床的有効率は同等であった。

【用語解説】

- *1 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。
- *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 回顧的に解析 … レトロスペクティブ解析、後ろ向き研究ともいう、症例データの解析方法の一つ。調査を開始した時点から、過去のデータを遡って情報を収集し、解析を行う手法。今回は、既に治療を行ったイヌのデータを、過去の情報(カルテに記載)をもとに分類し解析した。
- *4 低分割放射線療法 … 放射線療法では、正常組織への傷害を抑えつつ腫瘍への殺傷効果を最大限に得るために、通常複数回にわたって照射を行う分割照射が行われる。イヌの放射線治療においては照射のたびに全身麻酔が必要であることから、1回あたりの照射線量を大きくして分割の回数を減

らした低分割照射が行われることがある。

- *5 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。
- *6 免疫原性細胞死 … いくつかの抗がん剤や放射線療法では、腫瘍細胞が殺傷された際に免疫応答を惹起しやすいタイプの細胞死を誘導する。アポトーシスやネクローシスといった細胞死の分類の一つ。
- *7 臨床的有用率 … クリニカル・ベネフィット・レート（clinical benefit rate、CBR）とも呼ばれる。腫瘍の薬剤に対する反応のうち、完全奏効（腫瘍の消失）、部分奏効（腫瘍の縮小）、または維持（腫瘍サイズが一定期間変わらない）のいずれかに該当する率をいい、良い治療効果が得られたことの指標となる。
- *8 全生存期間 … 治療の開始から、対象動物が死亡するまでの期間をいう。死因は問わない。
- *9 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、臨床研究において安全性の指標としてその種類や重症度、発生数などが記録される。