

## 2025 年度臨床研究推進研究費報告書

提出年月日: 2026 年 3 月 6 日

代表者	氏名	今内 覚	所属	感染症学教室
	内線	5274	e-mail	konnai@vetmed.hokudai.ac.jp
研究課題	ウマの腫瘍疾患に対する新規免疫療法の開発			
研究チーム参加者	氏名	所属		役割
	今内 覚	感染症学教室		治療用抗体薬の開発・産生、臨床試験
	前川 直也	感染症学教室		治療用抗体薬の生物活性解析
	片桐 成二	繁殖学教室		臨床診断
	柳川 洋二郎	繁殖学教室		臨床診断
研究期間	2025 年 6 月 ~ 2026 年 3 月			
研究目的と成果の概要 (400 字以内)	ウマの腫瘍疾患の治療法としては主に外科的切除や一部の化学療法が用いられるが、転移を伴う進行がんに対する治療法は非常に限られている。我々はこれまで、ウマの悪性黒色腫で免疫チェックポイント因子 programmed death-ligand 1 (PD-L1) が過剰発現し、programmed death-1 (PD-1) を介して T 細胞の疲弊化を誘導して腫瘍の免疫回避機序を担うことを示してきた。そこで本研究では、ウマの悪性腫瘍に対するがん免疫療法の確立を目指して、抗 PD-L1 ウマキメラ抗体を樹立し、抗体の活性や免疫活性化効果、抗腫瘍効果を評価した。作製した抗 PD-L1 ウマキメラ抗体は、PBMC からの IFN- $\gamma$ や IL-2 の産生を増強した。さらに、抗 PD-L1 ウマキメラ抗体を精上皮腫罹患馬に投与すると IFN- $\gamma$ の産生量が投与後に上昇し、原発腫瘍病変の退縮が認められた (部分奏功)。			

研究方法、結果、考察、成果の公表 (上記書式、図表を含めて 3 ページ以内に纏めて下さい)

### 【方法】

#### ① 抗 PD-L1 ウマキメラ抗体の大量生産法の樹立

タンパク質高発現用の哺乳類細胞株 (CHO-DG44 細胞) にキメラ抗体の発現プラスミドを導入し、細胞株のクローニング (1 回) と、薬剤による抗体遺伝子の増幅 (2 回) により、抗 PD-L1 ウマキメラ抗体の高発現細胞株を選抜した。

#### ② 抗 PD-L1 ウマキメラ抗体の生物活性の解析

臨床試験に先立ち、ウマの免疫細胞 (末梢血単核球) に対して本キメラ抗体を作用させ、T 細胞応答の活性化効果を調べた。以上の解析により、大量生産した抗 PD-L1 ウマキメラ抗体が目的の生物活性を有しているかを確認した。

#### ③ ウマの腫瘍疾患における抗 PD-L1 ウマキメラ抗体の臨床試験

悪性腫瘍のウマを対象として、抗 PD-L1 ウマキメラ抗体の臨床試験 (生体投与試験) を行い、生体への安全性、免疫活性化効果ならびに治療効果 (抗腫瘍効果) を検証した。悪性腫瘍に罹患したウマに対して、抗 PD-L1 ウマキメラ抗体 (2 mg/kg) を 2 週間間隔で静脈内投与した。初回投与前と、投与後 2 週間おきに 1 回ずつ血液を採取し、副作用の有無 (一般状態、血液検査) や免疫応答の状態を評価した。また、抗腫瘍効果については、体表腫瘍の大きさを測定し、退縮の有無を評価した。なお、本臨床試験は、社台ホースクリニックに来院した悪性腫瘍に罹患したウマに対して実施した。

### 【結果】

抗 PD-L1 ラットモノクローナル抗体の可変領域とウマ IgG1 の定常領域を融合させた、抗 PD-L1 ウマキメラ抗体を作製した。次に、キメラ抗体によるウマ PD-1/PD-L1 結合の阻害活性およびウマの末梢血単核球 (PBMC) に対する免疫活性化効果を解析した。最後に、精上皮腫に罹患したウマに抗 PD-L1 ウマキメラ抗体 (2 mg/kg) を 2 週間に 1 回投与し、免疫活性化効果と抗腫瘍効果を解析した。その結果、本研究で作製した抗 PD-L1 ウマキメラ抗体は、元のラット抗体と同等に、ウマ PD-1/PD-L1 結合を阻害し、PBMC からの IFN- $\gamma$  や IL-2 の産生を増強した。さらに、抗 PD-L1 ウマキメラ抗体を精上皮腫罹患馬に投与すると、PBMC からの IFN- $\gamma$  の産生量が投与後に上昇し、原発腫瘍病変の退縮が認められた (部分奏功)。

#### 【考察】

本研究では、ウマの PD-L1 を標的とした免疫チェックポイント阻害抗体を樹立し、PD-L1 阻害がウマの生体内において免疫活性化効果ならびに抗腫瘍効果を発揮することを証明した。今後は、精上皮腫以外の腫瘍に対しても抗腫瘍効果が得られるかを検証するために、さらに臨床研究を進めていきたい

#### 【成果の公表 (代表的なもの)】

##### ・論文発表

投稿準備中

##### ・学会発表

堀川壮琉<sup>1</sup>、岡川朋弘<sup>1,2</sup>、Otgontuya Ganbaatar<sup>1</sup>、Wisa Tiyananee<sup>1</sup>、前川直也<sup>1</sup>、北内 諒<sup>3</sup>、山家 崇史<sup>3</sup>、鈴木定彦<sup>4,5</sup>、賀川由美子<sup>6</sup>、村田史郎<sup>1</sup>、大橋和彦<sup>1,7</sup>、加藤幸成<sup>8</sup>、加藤史樹<sup>3</sup>、今内 寛<sup>1,4</sup>  
(<sup>1</sup>北大・獣医・感染症、<sup>2</sup>株式会社ファスマック、<sup>3</sup>社台ホースクリニック、<sup>4</sup>北大・ワクチン研究開発拠点、<sup>5</sup>北大・人獣共通感染症国際共同研究所、<sup>6</sup>ノースラボ、<sup>7</sup>北大・獣医・国際連携推進室、<sup>8</sup>東北大・医・抗体創薬)、抗 PD-L1 ウマキメラ抗体の樹立およびウマの悪性腫瘍に対する抗腫瘍効果の検証、第 168 回日本獣医学会、2025、学術集会優秀発表賞受賞 (微生物学分科会)