

イヌの癌及び慢性疾患に対する診断・治療用抗体の開発

Development of antibodies for diagnosis and treatment of tumors and chronic diseases in dog

生物資源科学部 獣医学科 魚病学研究室 教授 中西 照幸
Teruyuki Nakanishi, Department of Veterinary Medicine, College of Bioresource Sciences, Nihon University

目的・背景

現在イヌの死亡原因のトップに癌が含まれており、本学部動物病院における診断件数においてもアレルギーや免疫介在性疾患とともに上位を占めている。

イヌにおいてはこれらの疾患の診断および治療法が確立されていないため予後は悪く、発症機序の解明や効果的な治療法の開発については極めて遅れており、ヒトで使われている抗癌剤や免疫抑制剤を試行錯誤的に使用しているのが現状である。一方、医学においては、病態形成に関わる特定の標的分子の機能をピンポイントで制御する分子標的治療が可能となり、治療効果が飛躍的に向上している。

そこで、本研究においては、イヌの癌や慢性疾患の診断・治療のためモノクローナル抗体(mAb)の作製を試みた。

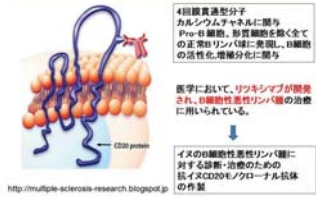
世界医薬品売上高ランキング

2013年Top10				2012年Top10				2011年Top10					
順位	製品名	13年売上	前期比	順位	製品名	12年売上	前期比	順位	製品名	11年売上	前期比		
1	ヒュミラ	1,024	15%	1	ヒュミラ	9,603	17%	1	リビトール	10,860			
2	レミケード	1,727	7%	2	レミケード	9,071	1%	2	アラビックス	9,729			
3	リツキサン	1,906	23%	3	エンブレ	8,476	7%	3	レミケード	9,016			
4	エンブレ	8,791	4%	4	アドエア	8,216	4%	4	ヒュミラ	8,242			
5	アドエア	8,756	7%	5	クレストール	7,430	6%	5	クレストール	7,919			
6	ランタス	7,967	20%	6	リツキサン	7,227	-2%	6	エンブレ	7,902			
7	アバスタン	VEGF	6,223	6%	7	ランタス	6,555	19%	7	アドエア	7,891		
8	ハーセプチン	HER2	6,227	6%	8	ハーセプチン	6,444	11%	8	リツキサン	7,386		
9	クレストール	6,718	-10%	9	アバスタン	6,307	6%	9	ディオバン	6,984			
10	ジャヌビア	6,263	1%	10	ジャヌビア	6,208	22%	10	セロクエル	6,167			
合計			81,902	8%	合計			75,537	8%	合計			82,116
バイオ割合			60,165	12%	バイオ割合			53,683	65%	バイオ割合			32,546
バイオ割合			73.5%	バイオ割合			71.1%	バイオ割合			39.6%		

上位10薬剤中5つが抗体医薬!

※セジテム・ストラテジックデータ(株)調べ

CD20分子に対するモノクローナル抗体の作製



CD20 mAb
作製の背景

IL-6受容体(IL-6R)に対するモノクローナル抗体の作製



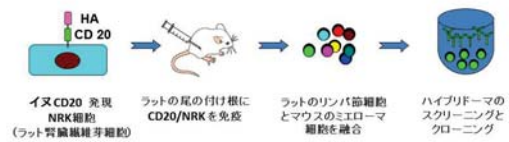
IL-6R mAb
作製の背景

原理・方法

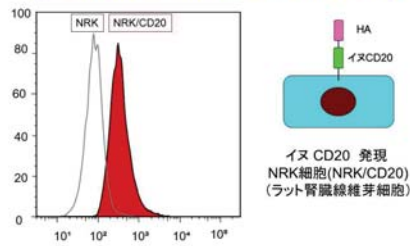
ヒトCD20抗体はイヌの固定した組織に交差反応し、病理組織学的解析に使えるが、生きた細胞には反応しない。細胞の動態の解析や抗体医薬として用いるには、生きた細胞表面に発現する抗原を認識する抗体が必要である。

我々が採用した方法は、イヌの細胞表面抗原をコードする遺伝子を含む発現ベクターを作製しラット腎臓繊維芽細胞(NRK細胞)に発現させ、このイヌ由来分子を発現するNRK細胞を同系のラットに免疫して抗体を作製するというものであり、細胞表面抗原に対する抗体作製において極めて有効である。

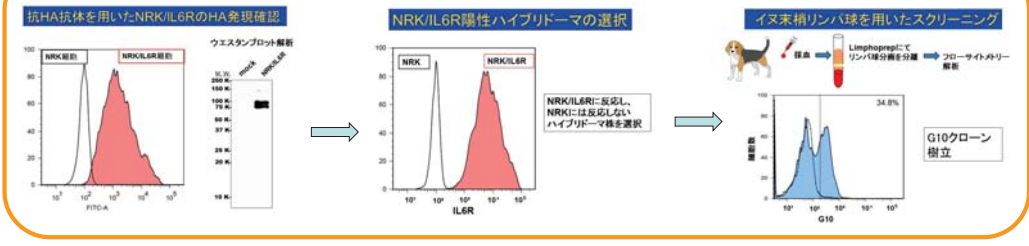
ラット腸骨リンパ節法によるモノクローナル抗体作製手順



CD20発現NRK細胞(NRK/CD20)の作製



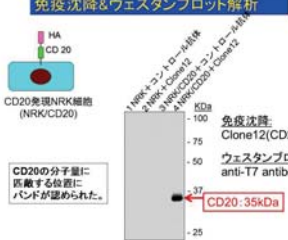
抗イヌIL-6R mAb作製手順



結果・まとめ

抗イヌCD20 mAb

NRK/CD20およびNRK細胞を用いた免疫沈降とウエスタンブロット解析

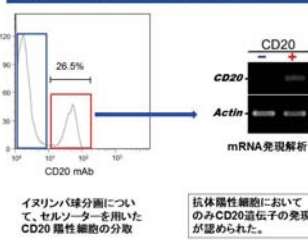


イヌ末梢リンパ球(PBL)を用いた免疫沈降とウエスタンブロット解析

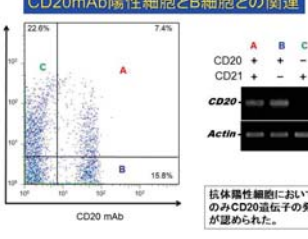


抗イヌCD20 mAbは、イヌのBリンパ球を含む白血球表面に発現するCD20分子を認識することが判った。

抗体陽性細胞における遺伝子発現解析

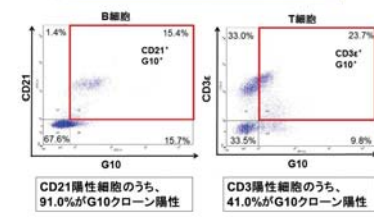


CD20mAb陽性細胞とB細胞との関連

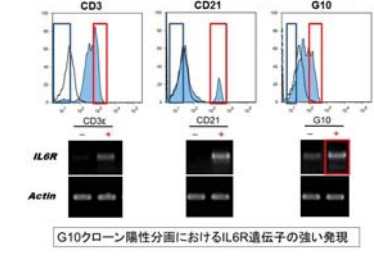


抗イヌIL-6R mAb

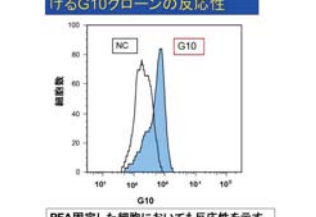
B細胞、T細胞とG10クローンとの反応性



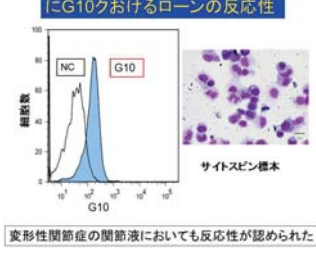
イヌ末梢リンパ球における発現解析



固定したイヌ末梢リンパ球におけるG10クローンの反応性



変形性関節症罹患犬の関節液にG10クローンにおけるローンの反応性



抗イヌIL-6R mAbは、イヌのBリンパ球を含む白血球表面に発現するIL-6R分子を認識することが判った。

応用分野・用途

- 抗イヌCD20 mAb (クローン12): ヒト:リツキシマブ B細胞性悪性リンパ腫の診断

- 抗イヌIL-6R mAb (G10クローン): ヒト:トシリズマブ 関節リウマチ、各種関節炎の診断・治療