



วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข.

KKU Veterinary Journal

ISSN 0858-2297



REVIEW ARTICLE

Trends in immunotherapy approach for oral melanoma (OM) in dog

Tanawadee Mekvimol¹, Supawadee Piratae^{2*}

¹Faculty of Veterinary Sciences, Mahasarakham University, Maha Sarakham, Thailand 44000

²One Health Research Unit, Faculty of Veterinary Sciences, Mahasarakham University, Maha Sarakham, Thailand 44000

*Corresponding author E-mail: bios.tah@gmail.com

Received 25 July 2018, Accepted 16 October 2018, Published 31 October 2018

Abstract

Oral melanoma (OM) in dog is occurred by dramatically increasing of melanocytes, the melanin producing cells, where located in the epidermis, dermis, mucous membrane, and ocular areas. Mostly of OM are found in the oral cavity of dogs and frequently spreads to the adjacent organs, especially mandible. OM often found in old dogs 8-11 years old or black hair and black skin types. The OM therapeutic approaches include surgery, radiation therapy and chemotherapy. However, recent advanced molecular knowledge has altered and focused on new targeted therapy using stimulating antibodies such as immunotherapy. Immunotherapy by vaccination with tyrosinase DNA vaccine is a new treatment that introduces cancer liked antigen into dog's cell to stimulate dog's immune system for potentially able to destroy cancer cells. Moreover, antibodies against programmed death 1 (PD-1) and PD-ligand 1 (PD-L1) have been developed to block PD-1/PD-L1 and stimulate T cell activity which caused T cell to secrete cytokines or chemokines. This review focuses on the novel therapy treatment of OM by using specific antibodies that has been verified to be benefit to patients in the later stages of cancer with pulmonary metastasis.

Keywords: oral melanoma (OM), immunotherapy, DNA vaccine, chimerised anti-PD-L1 monoclonal antibody

ทิศทางการรักษาโรค oral melanoma (OM) ในสุนัขโดยใช้ภูมิคุ้มกันบำบัด

ธนาวิทย์ เมฆวิมล¹, สุภาวดี ปิระเต²¹คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม 44000²หน่วยวิจัยสุขภาพหนึ่งเดียว คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม 44000

*ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ อีเมล: bios.tah@gmail.com

บทคัดย่อ

โรคมะเร็งเมลาโนมาในช่องปาก (oral melanoma; OM) ในสุนัขเกิดจากการเพิ่มจำนวนที่มากเกินไปของเซลล์เมลาโนไซต์ ซึ่งเป็นเซลล์ที่สร้างเม็ดสีเมลานิน โดยมะเร็งชนิดนี้เกิดได้ในบริเวณผิวหนังทั่วไป รวมทั้งบริเวณตา เยื่อเมือก และช่องปากของสุนัข ซึ่งมะเร็งมักมีการแพร่กระจายไปยังบริเวณอวัยวะข้างเคียงโดยเฉพาะกระดูกงู มีรายงานว่าพบได้มากในสุนัขช่วงอายุ 8-11 ปี และมีสีขนสีดำหรือมีผิวหนังสีดำ มีการรักษาโรค OM ด้วยวิธีการผ่าตัด การใช้รังสีรักษา การใช้สารเคมี รวมทั้งมีการรักษาร่วมกันหลายวิธี แต่พบว่ามะเร็งระยะ 3 และ 4 มักไม่การตอบสนองต่อการรักษาแบบเก่า ปัจจุบันเมื่อความรู้ระดับโมเลกุลมากขึ้น มีการคิดค้นการรักษา OM ที่ทันสมัยขึ้นและเน้นการรักษาแบบมุ่งเป้าโดยการใช้ภูมิคุ้มกันบำบัด การรักษาที่ทันสมัยในปัจจุบันมีการใช้ไทโรซีนเอสตีเอ็นเอวคีน (huTyr) ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับแอนติเจนของเซลล์มะเร็งฉีดให้กับสุนัขเพื่อกระตุ้นให้สุนัขสร้างภูมิคุ้มกันที่สามารถออกฤทธิ์ทำลายเซลล์มะเร็งได้เอง รวมทั้งมีการพัฒนาแอนติบอดีที่สามารถเข้าขัดขวางการจับกันระหว่าง checkpoint protein ชนิด programmed death 1 (PD-1) ของเซลล์ภูมิคุ้มกัน กับ PD-ligand 1 (PD-L1) ในเซลล์มะเร็ง ซึ่งการเข้าขัดขวางการจับกันระหว่าง PD-1 และ PD-L1 นี้จะสามารถกระตุ้นการทำงานของ T cell และทำให้ T cell สามารถหลั่ง cytokine หรือ chemokine ออกมาทำลายมะเร็ง การรักษา OM ด้วยการใช้แอนติบอดีที่เฉพาะเจาะจงนี้เป็นวิธีการรักษา OM ด้วยภูมิคุ้มกัน ซึ่งกำลังเป็นที่สนใจและมีการพิสูจน์ว่าสามารถใช้กับรายที่เป็น OM ในระยะท้ายที่มีการแพร่กระจายมะเร็งไปยังปอดได้ เหมาะแก่การศึกษาเพื่อพัฒนาให้สามารถนำมาใช้ได้อย่างแพร่หลายมากขึ้น

คำสำคัญ: มะเร็งเมลาโนมาในช่องปาก, ภูมิคุ้มกันรักษามะเร็ง, ดีเอ็นเอวคีน, chimerised anti-PD-L1 โมโนโคลนอลแอนติบอดี

บทนำ

โรคมะเร็งเมลาโนมาในมนุษย์เกิดจาก DNA ของเซลล์เมลาโนไซต์ที่ผิวหนังถูกทำลาย มักเกิดจากรังสี UV แต่ในสุนัขโรคมะเร็งเมลาโนมาเกิดจากการเกิดที่ยังไม่ทราบแน่ชัด (Modiano et al., 1999) และมักพบการเกิดโรคนี้ในช่องปาก เรียก Oral melanoma (OM) (Teixeira et al., 2014) มีรายงานว่าพบได้มากในสุนัขช่วงอายุ 8-11 ปี (Teixeira, 2010) ปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคในสุนัข ได้แก่ การบาดเจ็บ การได้รับสารเคมี ฮอร์โมน และ พันธุกรรม โดยสายพันธุ์สุนัขที่มักมีรายงานการเกิดโรค ได้แก่ Doberman Pinscher, Springer Spaniel, Cocker Spaniel, Airedale, Boston Terrier, Scottish Terrier รวมทั้งสุนัขที่บริเวณเยื่อเมือกในช่องปากมีเม็ดสีจำนวนมาก เช่น Poodle และ Chow chows (Dobson, 2013) อาการแสดงของโรค OM ได้แก่ ปากบวม เหงือกบวม เหงือกมีสีเข้มขึ้น มีน้ำลายไหลมาก มีก้อนมะเร็งที่มีสีผิดปกติในช่องปาก นอกจากนี้ยังสามารถพบอาการอื่นๆ เช่น น้ำหนักลด หายใจลำบาก มีการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนตามแผลหลุมในปาก มีเนื้อตายในช่องปาก (Gillard et al., 2014) เป็นต้น การวินิจฉัยโรคสามารถใช้เทคนิคการเจาะดูดเซลล์ หรือตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจเพื่อยืนยันชนิดของมะเร็ง และประเมินการแพร่กระจายของมะเร็งโดยการเอกซเรย์ และทำ CT scan ลักษณะของมะเร็ง melanoma จะมีอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งที่รวดเร็ว สามารถเจริญไปทั่วทั้งปากลงลึกไปยังกระดูกกรามล่างไปยังต่อมน้ำเหลืองบริเวณข้างเคียง และแพร่กระจายไปยังส่วนอื่นของร่างกายได้ การรักษา OM ในสุนัข มีทั้งการผ่าตัด การใช้รังสีรักษา การใช้เคมีบำบัด และการผสมผสานทั้ง 3 วิธีการเข้าด้วยกัน อย่างไรก็ตามวิธีการเหล่านี้เป็นการรักษาที่ไม่มีความเฉพาะเจาะจงต่อโรค และส่งผลกระทบต่อเนื้อเยื่อปกติจากกระบวนการในการรักษา

ปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการรักษาแบบภูมิคุ้มกันบำบัด (immunotherapy) ซึ่งมีความเฉพาะเจาะจงในการรักษามากขึ้น สามารถเพิ่มระยะเวลาการรอดชีวิต (survival time) ของสุนัขที่ป่วยได้ (Blanchard et al., 2013; Nishiya et al., 2016) โดยมีการใช้ human tyrosinase DNA vaccine เป็นแอนติเจนในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสุนัข ทำให้ T cell ที่ได้รับการกระตุ้นมีการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันและเกิดการทำลายเซลล์มะเร็ง (Bergman et al., 2003) รวมทั้งมีการพัฒนาใช้ chimerised anti-PD-L1 monoclonal antibody เข้าไปจับกับ PD-L1 ของเซลล์ melanoma เพื่อขัดขวางกระบวนการยับยั้งการทำงานของ T cell จากเซลล์มะเร็ง ทำให้ T cell ไม่ถูกยับยั้งและสามารถหลั่งสารจำพวก cytokine หรือ chemokine ออกมาทำลายเซลล์มะเร็งได้ (Hartley et al., 2017) นอกจากนี้แอนติบอดีชนิดนี้ยัง

สามารถทำให้สุนัขที่เป็น OM ในระยะที่ 4 ร่วมกับมีการแพร่กระจายมะเร็งไปยังปอดแล้วนั้น มีระยะเวลาการรอดชีวิตที่ยาวนานขึ้น โดยทดลองในสุนัขพันธุ์ Miniature Dachshunds, Pug และ Golden Retriever (Maekawa et al., 2017)

การรักษา oral melanoma (OM) ด้วยวิธีการดั้งเดิม (conventional therapy)

WHO แบ่งระยะของโรค OM ในสุนัขออกเป็น 4 ระยะตามระดับความรุนแรงของโรค โดย OM ระยะที่ 1 จะมีขนาดของก้อนมะเร็งเล็กกว่า 2 ซม. OM ระยะที่ 2 จะมีขนาดของก้อนมะเร็งอยู่ระหว่าง 2-4 ซม. OM ระยะที่ 3 จะมีขนาดของก้อนมะเร็งใหญ่กว่า 4 ซม. หรือมีขนาดอยู่ระหว่าง 2-4 ซม. ร่วมกับมีการแพร่กระจายของมะเร็งเข้าไปในต่อมน้ำเหลือง ส่วน OM ระยะที่ 4 จะมีก้อนมะเร็งขนาดใดก็ได้ ร่วมกับมีการแพร่กระจายของมะเร็งเข้าไปในต่อมน้ำเหลืองและแพร่กระจายเข้าไปยังอวัยวะอื่น (Brockley et al., 2013)

การผ่าตัดเป็นวิธีการแรกที่น่ามารักษาโรค OM ในสุนัข การผ่าตัดจะได้ผลที่น่าพอใจเมื่อเป็น OM ในระยะที่ 1 และ 2 โดยพบว่าระยะเวลาการรอดชีวิตหลังจากการผ่าตัดในกรณีที่ผ่าตัดส่วนของมะเร็ง OM ระยะที่ 1 ออกได้ทั้งหมด จะมีค่าเฉลี่ยประมาณ 17-18 เดือน (MacEwen et al., 1986) อย่างไรก็ตามการรักษาด้วยการผ่าตัดมักจะไม่สามารถตัดส่วนของมะเร็งออกได้บางส่วน จึงไม่สามารถรักษาให้หายจากโรคได้อย่างสมบูรณ์และเป็นวิธีที่มีความเสี่ยงสูงเนื่องจากการวางยาสลบแบบทั่วร่างกาย (Lee et al., 2013) รวมทั้งการผ่าตัดก้อนมะเร็งในปากมักจะต้องผ่าตัดกระดูกบริเวณนั้นออกด้วย

ในทางสัตวแพทย์เริ่มใช้รังสีรักษาในช่วงศตวรรษที่ 20 เรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน ในสุนัขที่เป็นมะเร็งระยะที่ 1 มีรายงานการฉายรังสีทุกสัปดาห์เป็นจำนวน 6 ครั้ง โดยให้มีการดูดซับรังสีจำนวน 6 เกรย์ (Gy) ร่วมกับการให้อาตุ cobalt-60 (Freeman et al., 2003) การฉายรังสีถูกเลือกใช้ในกรณีที่ผ่าตัดมะเร็ง OM ออกได้ไม่สมบูรณ์ และมักใช้รังสีรักษาทดแทนการผ่าตัดครั้งต่อไป ปัจจุบันมีการใช้เครื่องมือที่พัฒนาขึ้น ได้แก่ CT scan และ MRI ช่วยในการระบุประเภทและตำแหน่งของเนื้องอกที่ชัดเจนขึ้น ทำให้การฉายรังสีรักษา OM มีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยสามารถฉายรังสีเอกซเรย์ที่มีความเข้มสูงได้ตรงจุดเพื่อกระตุ้นให้เซลล์มะเร็งเกิดกระบวนการตาย และฉายซ้ำได้หลายครั้งเพื่อเพิ่มโอกาสในการยับยั้งของก้อนมะเร็ง

การรักษาด้วยเคมีบำบัดมักใช้ร่วมกับการรักษาด้วยวิธีรังสีรักษา มีรายงานการให้ยา cisplatin (10–30 mg/m²) หรือ

carboplatin (90 mg/m²) ฉีดเข้าเส้นเลือดก่อนการทำการฉายรังสีรักษาเป็นเวลา 60 นาทีแก่สุนัขที่เป็น OM (Freeman et al., 2003) มีรายงานว่าการใช้เคมีบำบัดนั้นไม่นิยมใช้ในการรักษา มะเร็งเมลาโนมาเนื่องจากสุนัขส่วนใหญ่ตอบสนองต่อยาได้ไม่ดี และไม่ได้ประสิทธิภาพ (Maekawa et al., 2016) และมีรายงานความผิดปกติของไตเนื่องจากผลข้างเคียงที่เกิดจากการรักษาด้วยวิธีเคมีบำบัด (Boria et al., 2004) รวมทั้งการลดการทำงานของไขกระดูกทำให้สร้างเม็ดเลือดขาวได้น้อยลงภายใน 7-10 วันหลังจากให้ยา ดังนั้นสิ่งที่ต้องคำนึงถึงเมื่อมีการใช้เคมีบำบัดคือการตรวจทางโลหิตวิทยาอย่างสม่ำเสมอในระหว่างการรักษาในสุนัขบางตัวอาจรักษา OM ด้วยวิธีการผสมผสาน โดยทำการผ่าตัดร่วมกับรังสีรักษา ใช้ยาเคมีบำบัดร่วมกับการใช้รังสีรักษา หรือการผ่าตัดร่วมกับการใช้เคมีบำบัด (Freeman et al., 2003; Treggiari et al., 2016) การรักษา OM ด้วยวิธีการดั้งเดิมแม้จะสามารถทำให้อาการของโรคในสุนัขดีขึ้นได้แต่ยังพบว่ามีอาการกลับมาเป็นซ้ำได้อีก การรักษามะเร็งจึงถูกพัฒนาให้มีความเฉพาะเจาะจงมากขึ้น และมีแนวโน้มในการใช้ DNA วัคซีน และแอนติบอดีกระตุ้นเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกันในการรักษามะเร็ง (ตารางที่ 1)

การรักษา oral melanoma ด้วยวิธีการที่ทันสมัยโดยใช้ภูมิคุ้มกันบำบัด (Immunotherapy)

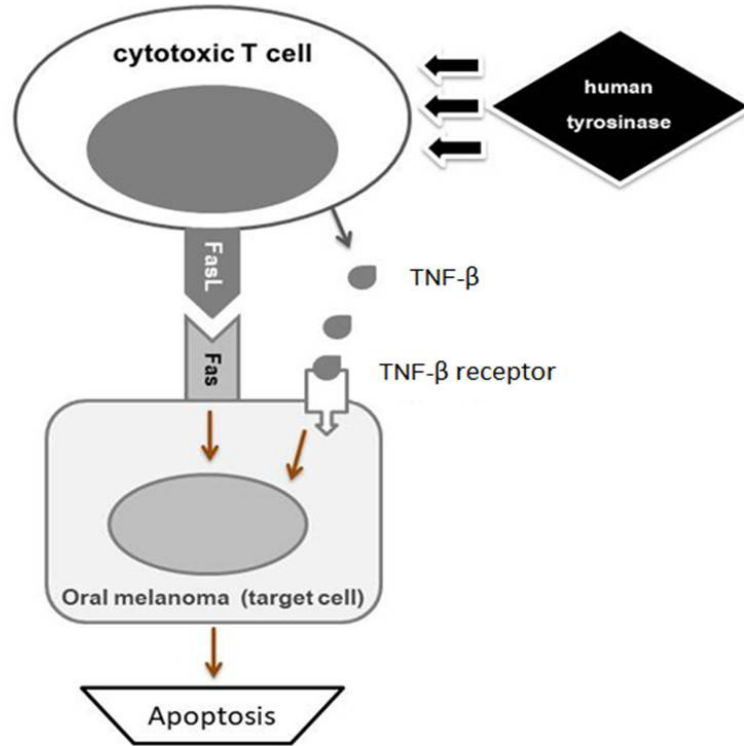
1. การรักษาโดยใช้วัคซีน (human tyrosinase DNA vaccine)

การใช้วัคซีนรักษา OM เริ่มต้นในปี ค.ศ. 2003 โดยมีการฉีด DNA วัคซีนที่มียีน human tyrosinase หรือ human tyrosinase DNA vaccine (huTyr) เข้าไปสร้างไทโรซิเนสในบริเวณเซลล์มะเร็ง OM ซึ่งเป็นเซลล์เป้าหมาย (Bergman et al., 2003; Riccardo et al., 2014) เพื่อกระตุ้นเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันให้เหนี่ยวนำการหลั่งเข้ามาของ cytotoxic T cell โดยใช้เวลาประมาณ 1-3 วัน จึงจะเข้าสู่กระบวนการทำลายเซลล์มะเร็งให้เกิดการตาย (Liao et al., 2006) เนื่องจาก cytotoxic T cell มีลิแกนด์คือ FasL ซึ่งจะจับกับตัวรับ Fas (CD95) ที่พบบนเซลล์มะเร็ง OM (ภาพที่ 1) เมื่อ cytotoxic T cell เข้ามายังบริเวณที่เกิด OM จะเกิดการจับกันระหว่าง Fas/FasL กระตุ้นให้ cytotoxic T cell หลั่งสาร tumor necrosis factor-beta (TNF-β) ออก

ตารางที่ 1. แสดงระยะเวลาการรอดชีวิตของสุนัขเมื่อทำการรักษา OM ด้วยวิธีการที่ต่างกัน

ระยะของ OM	วิธีการรักษา	ระยะเวลาการรอดชีวิต (วัน)	ที่มาข้อมูล
ระยะที่ 1	การผ่าตัด	510-540**	(MacEwen et al., 1986)
	รังสีรักษา	758*	(Kawabe et al., 2015)
	รังสีรักษา ร่วมกับเคมีบำบัด (cisplatin)	363*	(Freeman et al., 2003)
	การผ่าตัดร่วมกับรังสีรักษาและ DNA vaccination	373*	(Treggiari et al., 2016)
ระยะที่ 2	การผ่าตัด	150-180**	(MacEwen et al., 1986)
	รังสีรักษา	278*	(Kawabe et al., 2015)
	การผ่าตัดร่วมกับรังสีรักษาและ DNA vaccination	383*	(Treggiari et al., 2016)
ระยะที่ 3	การผ่าตัด	90*	(MacEwen et al., 1986)
	รังสีรักษา	163*	(Kawabe et al., 2015)
	การผ่าตัดร่วมกับรังสีรักษาและ DNA vaccination	189*	(Treggiari et al., 2016)
ระยะที่ 4	รังสีรักษา	80*	(Kawabe et al., 2015)
	DNA vaccination	171-288**	(Verganti et al., 2017)
ระยะที่ 4 (พบการแพร่กระจายไปยังปอด)	monoclonal antibody c4G12	93.5*, 89-220**	(Maekawa et al., 2017)

* ระยะเวลาการรอดชีวิตโดยเฉลี่ย (median survival time; MST) และ ** ช่วงระยะเวลาการรอดชีวิต (survival time range; ST)



ภาพที่ 1. ดีเอ็นเอวัคซีน (huTyR) กระตุ้นการตายของเซลล์ (apoptosis) ผ่านกระบวนการ Fas และ FasL

มาเสริมการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันและกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์เนื้องอก

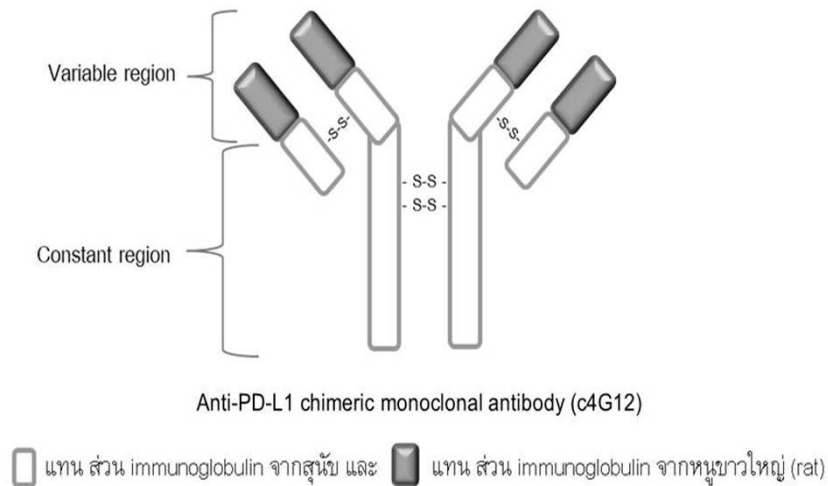
การใช้ huTyR ในสุนัขได้ผลการทดสอบว่าไม่มีผลกระทบต่อเซลล์ปกติของร่างกาย และออกฤทธิ์ในการรักษาได้ดี สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้ทั้งแบบ humoral immunity และ cell-mediated immunity โดยทำการฉีดวัคซีน huTyR ที่ด้านในของต้นขาหลังของสุนัขทุก 2 สัปดาห์ ทั้งหมด 4 ครั้ง หลังจากนั้นกระตุ้นซ้ำวัคซีนทุก 6 เดือน แล้วติดตามผลการรักษาด้วยการสำรวจช่องปากหรือ CT scan พบว่าการใช้วัคซีนทำให้สุนัขมีระยะเวลาการอยู่รอดเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (McLean and Lobetti, 2015; Verganti et al., 2017) นอกจากนั้นการใช้วัคซีนร่วมกับการผ่าตัดเพิ่มระยะเวลาการรอดชีวิตให้กับสุนัขที่เป็น OM อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน อย่างไรก็ตามวัคซีน huTyR ใช้ได้ผลดีใน OM ระยะที่ 1 และ 2 แต่ในรายที่เป็น OM ระยะที่ 3 หรือ 4 ร่วมกับมีการแพร่กระจายมะเร็งไปยังอวัยวะอื่นจะมีระยะเวลาการรอดชีวิตน้อยกว่า (Manley et al., 2011) มีรายงานผลข้างเคียงของวัคซีนที่ทำให้เกิดการง่วงซึม ใช้ เกิดการอักเสบ เกิดการแพ้ บวมแดงและปวดเล็กน้อยบริเวณที่ทำการฉีด

วัคซีน (Zitvogel and Kroemer, 2012; Finocchiaro et al., 2015)

2. การรักษา โดยใช้ canine-chimerised anti-PD-L1 monoclonal antibody (mAb)

ในปี ค.ศ. 2017 มีการพัฒนา chimeric anti-PD-L1 antibody ที่มีการตัดต่ออิมมูโนโกลบูลินมาจากหนูขาวใหญ่ (4G12) และสุนัข (IgG) (ภาพที่ 2) ให้ได้เป็น rat-dog chimeric antibody (c4G12) เพื่อช่วยหลีกเลี่ยงการแพ้เมื่อฉีดให้สุนัข ซึ่ง c4G12 ทำให้ระยะเวลาการรอดชีวิตของสุนัขที่เป็น OM ทุกระยะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในสุนัขที่เป็น OM จะมีการแสดงออกของลิแกนด์ programmed cell death ligand-1 (PD-L1) สูงมาก ซึ่งจะจับกับตัวรับ programmed cell death 1 (PD-1) บน T cell รวมถึงเซลล์ที่มีการแสดงออกของ CD8 และ CD4 (Maekawa et al., 2014) โดยทั่วไปโมเลกุล PD-1 ที่แสดงออกบน T cell ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของ T cell ที่มากเกินไป เพื่อให้เกิดการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันที่พอดีไม่ทำลายเซลล์ปกติของร่างกาย และยังเป็นที่โปรตีนควบคุมการเจริญพัฒนาของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน ดังนั้นเมื่อจับกับลิแกนด์แล้วมีผลให้เกิดการหยุดการพัฒนาของ



ภาพที่ 2. แสดงส่วนประกอบของ c4G12 (anti-PD-L1 monoclonal antibody)

T cell ให้ไม่สามารถผลิต cytokine และ chemokine ออกมา (Maekawa et al., 2016; Maekawa et al., 2017) จึงมีการพัฒนา chimeric anti-PD-L1 antibody (c4G12) สำหรับขัดขวางการจับกันระหว่าง PD-1 กับ PD-L1 ดังนั้นการต่อต้านการจับกันระหว่าง PD-1/PD-L1 ใช้รักษาการคงอยู่ของระดับการทำงานของ T cell ไม่ให้ถูกยับยั้ง ช่วยเพิ่มจำนวนและออกฤทธิ์ในการต่อต้านการเกิดมะเร็งได้ (Wong et al., 2007) นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้ c4G12 แล้วได้ผลการรักษาที่ดีในสุนัขที่เป็นโรค osteosarcoma, hemangiosarcoma, mast cell tumor, mammary adenocarcinoma รวมทั้ง prostate adenocarcinoma (Maekawa et al., 2016)

การรักษามะเร็งโดยวิธี immunotherapy เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษามะเร็งในสุนัขที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา (refractory cancer) ทั้งนี้มีการรายงานว่าไม่พบการเกิดพิษจากแอนติบอดีนี้ สามารถฉีดซ้ำในสุนัขได้โดยไม่พบภาวะภูมิต่อต้านตนเอง เมื่อเปรียบเทียบการรักษาในสุนัขเป็น OM ระยะที่ 4 พบว่าการรักษาลดความรุนแรงของอาการทางคลินิก ลดขนาดมะเร็ง บรรเทาอาการและไม่พบการกลับมาเป็นซ้ำในช่วงเวลาการทดลอง (Maekawa et al., 2017) ดังนั้นการใช้แอนติบอดีตัวใหม่นี้รักษา OM ทำให้ระยะเวลาการรอดชีวิตของสุนัขยาวนานขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการรักษาด้วยวิธีอื่น ๆ การศึกษาผลการใช้ c4G12 เพื่อรักษามะเร็งชนิดนี้จึงเป็นรากฐานและเป็นประโยชน์เพื่อการพัฒนาทางเลือกในการรักษามะเร็งในสุนัขต่อไป (Topalian et al., 2012; Maekawa et al., 2014; Maekawa et al., 2016)

เอกสารอ้างอิง

Bergman, P.J., McKnight, J., Novosad, A., Charney, S., Farrelly, J., Craft, D., Wulderk, M., Jeffers, Y., Sadelain, M., Hohenhaus, A.E., Segal, N., Gregor, P., Engelhorn, M., Riviere, I., Houghton, A.N. and Wolchok J.D. 2003. Long-term survival of dogs with advanced malignant melanoma after DNA vaccination with xenogeneic human tyrosinase: a phase I trial. *Clinical Cancer Research* 9(4), 1284-1290.

Bergman, P.J. 2007. Canine oral melanoma. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 22(2), 55-60.

Blanchard, T., Srivastava, P.K. and Duan F. 2013. Vaccines against advanced melanoma. *Clinics in Dermatology* 31(2), 179-190.

Boria, P.A., Murry, D.J., Bennett, P.F., Glickman, N.W., Snyder, P.W., Merkel, B.L., Schlittler, D.L., Mutsaers, A.J., Thomas, R.M. and Knapp, D.W. 2004. Evaluation of cisplatin combined with piroxicam for the treatment of oral malignant melanoma and oral squamous cell carcinoma in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 224(3), 388-394.

Brockley, L.K., Cooper, M.A., Bennett, P.F. 2013. Malignant melanoma in 63 dogs (2001–2011): the effect of carboplatin chemotherapy on survival. *New Zealand Veterinary Journal* 61(1), 25-31.

Dobson, J.M. 2013. Breed-predispositions to cancer in pedigree dogs. *ISRN Veterinary Science* 1-23.

Finocchiaro, L.M., Fondello, C., Gil-Cardesa M.L., Rossi U.A., Villaverde M.S., Riveros M.D. and Glikin G.C. 2015. Cytokine-enhanced vaccine and interferon- β plus suicide

- gene therapy as surgery adjuvant treatments for spontaneous canine melanoma. *Human Gene Therapy* 26(6), 367-376.
- Freeman, K.P., Hahn, K.A., Harris, F.D. and King, G.K. 2003. Treatment of dogs with oral melanoma by hypofractionated radiation therapy and platinum-based chemotherapy (1987–1997). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 17(1), 96-101.
- Gillard, M., Cadieu, E., De Brito, C., Abadie, J., Vergier, B., Devauchelle, P., Degorce, F., Dréano, S., Primot, A., Dorso, L., Lagadic, M., Galibert, F., Hédan, B., Galibert, M.-D. and André, C. 2014. Naturally occurring melanomas in dogs as models for non-UV pathways of human melanomas. *Pigment Cell & Melanoma Research* 27(1), 90-102.
- Hartley, G., Faulhaber, E., Caldwell, A., Coy, J., Kurihara, J., Guth, A., Regan, D. and Dow, S. 2017. Immune regulation of canine tumour and macrophage PD-L1 expression. *Veterinary and Comparative Oncology* 15(2), 534-549.
- Kawabe, M., Mori, T., Ito, Y., Murakami, M., Sakai, H., Yanai, T. and Maruo K. 2015. Outcomes of dogs undergoing radiotherapy for treatment of oral malignant melanoma: 111 cases (2006-2012). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 247(10), 1146-1153.
- Lee, C., Collichio, F., Ollila, D. and Moschos, S. 2013. Historical review of melanoma treatment and outcomes. *Clinics in Dermatology* 31(2), 141-147.
- Liao, J.C.F., Gregor P., Wolchok J.D., Orlandi F., Craft D., Leung C., Houghton A.N. and Bergman P.J. 2006. Vaccination with human tyrosinase DNA induces antibody responses in dogs with advanced melanoma. *Cancer Immunity* 6(1), 8.
- MacEwen, E.G.; Patnaik, A.K.; Harvey, H.J.; Hayes, A.A.; Matus, R. 1986. Canine oral melanoma: Comparison of surgery versus surgery plus *Corynebacterium parvum*. *Cancer Investigation* 4, 397-402.
- Maekawa, N., Konnai, S., Ikebuchi, R., Okagawa, T., Adachi, M., Takagi, S., Kagawa, Y., Nakajima, C., Suzuki, Y., Murata, S. and Ohashi, K. 2014. Expression of PD-L1 on canine tumor cells and enhancement of IFN-gamma production from tumor-infiltrating cells by PD-L1 blockade. *PLoS One* 9(6), e98415.
- Maekawa, N., Konnai, S., Okagawa, T., Nishimori, A., Ikebuchi, R., Izumi, Y., Takagi, S., Kagawa, Y., Nakajima, C., Suzuki, Y., Kato, Y., Murata, S. and Ohashi, K. 2016. Immunohistochemical analysis of PD-L1 expression in canine malignant cancers and PD-1 expression on lymphocytes in canine oral melanoma. *PLoS One* 11(6), e0157176.
- Maekawa, N., Konnai, S., Takagi, S., Kagawa, Y., Okagawa, T., Nishimori, A., Ikebuchi, R., Izumi, Y., Deguchi, T., Nakajima, C., Kato, Y., Yamamoto, K., Uemura, H., Suzuki, Y., Murata, S. and Ohashi, K. 2017. A canine chimeric monoclonal antibody targeting PD-L1 and its clinical efficacy in canine oral malignant melanoma or undifferentiated sarcoma. *Scientific Reports* 7(1), 8951.
- Manley, C.A., Leibman, N.F., Wolchok, J.D., Riviere, I.C., Bartido, S., Craft, D.M. and Bergman, P.J. 2011. Xenogeneic murine tyrosinase DNA vaccine for malignant melanoma of the digit of dogs. *Journal of veterinary internal medicine* 25(1), 94-99.
- McLean, J.L. and Lobetti R.G. 2015. Use of the melanoma vaccine in 38 dogs: The South African experience. *Journal of the South African Veterinary Association* 86(1), 1-4.
- Modiano, J.F., Ritt, M.G. and Wojcieszyn, J. 1999. The molecular basis of canine melanoma: pathogenesis and trends in diagnosis and therapy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 13(3), 163-174.
- Nishiya, A.T., Massoco, C.O., Felizzola, C.R., Perlmann, E., Batschinski, K., Tedardi, M.V., Garcia, J.S., Mendonça, P.P., Teixeira, T.F. and Zaidan Dagli, M.L. 2016. Comparative aspects of canine melanoma. *Veterinary Sciences* 3(1), 7.
- Ottnod, J.M., Smedley R.C., Walshaw R., Hauptman J.G., Kiupel M. and Obradovich, J.E.. 2013. A retrospective analysis of the efficacy of Oncept vaccine for the adjunct treatment of canine oral malignant melanoma. *Veterinary and Comparative Oncology* 11(3), 219-229.
- Riccardo, F., Iussich, S., Maniscalco, L., Mayayo, S.L, La Rosa, G., Arigoni, M., De Maria, R., Gattino, F., Lanzardo, S., Lardone, E., Martano, M., Morello, E., Prestigio, S., Fiore, A., Quagliano, E., Zabarino, S., Ferrone, S., Buracco, P. and Cavallo, F. 2014. CSPG4-Specific immunity and survival prolongation in dogs with oral malignant melanoma immunized with human CSPG4 DNA. *Clinical Cancer Research* 20(14), 3753-3762.
- Teixeira, T.F., Silva, T.C.D., Cogliati, B., Nagamine, M.K., and Dagli, M.L.Z. 2010. Retrospective study of melanocytic neoplasms in dogs and cats. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology* 3, 100-104.
- Teixeira, T.F., Gentile, L.B., Da Silva, T.C., Mennecier, G., Chaible, L.M., Cogliati, B., Roman, M.A., Gioso, M.A. and Dagli, M.L. 2014. Cell proliferation and expression of connexins differ in melanotic and amelanotic canine oral melanomas. *Veterinary Research Communications* 38(1), 29-38.
- Topalian, S.L., Hodi F.S., Brahmer, J.R., Gettinger, S.N., Smith, D.C., McDermott, D.F., Powderly, J.D., Carvajal, R.D., Sosman, J.A., Atkins, M.B., Leming, P.D., Spigel, D.R., Antonia, S.J., Horn, L., Drake, C.G., Pardoll, D.M., Chen, L., Sharfman, W.H., Anders, R.A., Taube, J.M., McMiller, T.L., Xu, H., Korman, A.J., Jure-Kunkel, M., Agrawal, S.,

McDonald, D., Kollia, G.D., Gupta, A., Wigginton, J.M. and Sznoi, M. 2012. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *The New England Journal of Medicine* 366(26), 2443-2454.

Treggiari, E., Grant, J.P. and North S.M. 2016. A retrospective review of outcome and survival following surgery and adjuvant xenogeneic DNA vaccination in 32 dogs with oral malignant melanoma. *The Journal of Veterinary Medical Science* 78(5), 845-850.

Verganti, S., Berlato, D., Blackwood, L., Amores-Fuster, I., Polton, G.A., Elders, R., Doyle, R., Taylor, A. and Murphy S. 2017. Use of Oncept melanoma vaccine in 69 canine oral malignant melanomas in the UK. *Journal of Small Animal Practice* 58(1), 10-16.

Wong, R.M., Scotland, R.R., Lau, R.L., Wang, C., Korman, A.J., Kast, W.M. and Weber, J.S. 2007. Programmed death-1 blockade enhances expansion and functional capacity of human melanoma antigen-specific CTLs. *International Immunology* 19(10), 1223-1234.

Zitvogel, L. and Kroemer, G. 2012. Targeting PD-1/PD-L1 interactions for cancer immunotherapy. *Oncoimmunology* 1, 1223-1225.