

- 4) 山崎直也, 山本明史, 和田隆, 石川博士: 進行期悪性黒色腫に対する Dacarbazine, ACNU, Cisplatin 及び Tamoxifen 併用化学療法 有効例と投与スケジュールの実際. *Skin Cancer* 13: 53-56, 1998.
- 5) 山崎直也, 佐々木英也, 浅野一, 石原和之: 進行期悪性黒色腫に対する cisplatin-dacarbazine-vindesine 併用化学療法 21 例の投与経験. *日皮会誌* 105: 1439-1444, 1995.
- 6) Paul MJ, Summers Y, Calvert AH, Rustin G, Brampton MH, Thatcher N and Middleton MR: Effect of temozolomide on central nervous system relapse in patients with advanced melanoma. *Melanoma Res* 12: 175-178, 2002.
- 7) Middleton MR, Grob JJ, Aaronson N, Fierlbeck G, Tilgen W, Seiter S, Gore M, Aamdal S, Cebon J, Coates A, Dreno B, Henz M, Schadendorf D, Kapp A, Weiss J, Fraass U, Statkevich P, Muller M and Thatcher N: Randomized phase III study of temozolomide versus dacarbazine in the treatment of patients with advanced metastatic malignant melanoma. *J Clin Oncol* 18: 158-166, 2000.
- 8) Avril MF, Aamdal S, Grob JJ, Hauschild A, Mohr P, Bonerandi JJ, Weichenthal M, Neuber K, Bieber T, Gilde K, Guillem Porta V, Fra J, Bonnetterre J, Saiag P, Kamanabrou D, Pehamberger H, Sufliarsky J, Gonzalez Larriba JL, Scherrer A and Menu Y: Fotemustine compared with dacarbazine in patients with disseminated malignant melanoma: a phase III study. *J Clin Oncol* 22: 1118-1125, 2004.
- 9) Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP: Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nat Med.* 10: 909-915, 2004.
- 10) Dudley ME, Wunderlich JR, Yang JC, Sherry RM, Topalian SL, Restifo NP, Royal RE, Kammula U, White DE, Mavroukakis SA, Rogers LJ, Gracia GJ, Jones SA, Mangiameli DP, Pelletier MM, Gea-Banacloche J, Robinson MR, Berman DM, Filie AC, Abati A and Rosenberg SA: Adoptive cell transfer therapy following non-myeloablative but lymphodepleting chemotherapy for the treatment of patients with refractory metastatic melanoma. *J Clin Oncol.* 23: 2346-2357, 2005.
- 11) Peggs KS, Quezada SA, Korman AJ and Allison JP: Principles and use of anti-CTLA4 antibody in human cancer immunotherapy. *Curr Opin Immunol.* 18: 206-213, 2006.
- 12) Hodi FS, Friedlander P, Corless CL, Heinrich MC, MacRae S, Kruse A, Jagannathan J, Van den Abbeele AD, Velazquez EF, Demetri GD and Fisher DE: Major response to imatinib mesylate in KIT-mutated melanoma. *J Clin Oncol.* 26: 2046-2051, 2008.

プロフィール

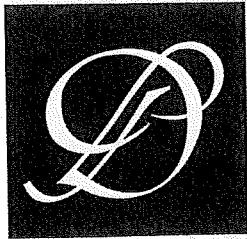
師井 洋一 (もろい よういち)

九州大学准教授 (大学院医学研究院皮膚科学分野). 医学博士.

◆略歴: 1960年福岡市貝塚団地で生る. 1986年熊本大学医学部卒業. 九州大学医学部皮膚科入局. 1993年九州大学大学院 (生医研免疫・野本亀久雄教授) 修了. 1993年国家公務員等共済組合連合会新小倉病院医長. 1994年九州大学医学部皮膚科助手. 1995年米国ニューヨーク医科大学研究員. 1996年米国スローン・ケタリング記念癌センター研究員. 1999年新日鐵八幡記念病院皮膚科医長. 2000年九州厚生年金病院皮膚科部長. 2001年九州大学医学部附属病院皮膚科講師. 2002年九州大学病院皮膚科講師. 2007年より現職.

◆研究テーマと抱負: 悪性黒色腫が研究の中心になっています. 予後不良なこの疾患を皮膚免疫学, 腫瘍免疫学, 皮膚外科学を駆使して, 克服したいと考えています.

◆趣味: スポーツ観戦, テニス, 読書



◆特集／新しい皮膚科検査法 実践マニュアル

IV. 画像・手術による検査法

センチネルリンパ節の同定と転移診断

師井洋一*

Key words : センチネルリンパ節生検 (sentinel lymph node biopsy), 悪性黒色腫 (malignant melanoma), 組織学的診断 (histopathological diagnosis)

Abstract センチネルリンパ節理論を基に, 悪性黒色腫の手術療法において治療のスタンダードとなってきたセンチネルリンパ節生検について総説した. その適応症例の選択から手技の実際を解説するとともに, 最近行われるようになった RI を用いないリンパマッピングも簡単に紹介する. 本邦, 海外での現状を報告し, 当科で施行した症例の経験を紹介する. センチネルリンパ節の転移検索において, 当科では通常の HE 標本だけではなく, HMB45 に加えて MART-1, チロシナーゼ, MITF-M の免疫組織化学染色を併用し, さらに補助診断としてチロシナーゼ, MART-1, gp100 を標的に RT-PCR 法を利用している. 免疫組織化学ではチロシナーゼ, MITF-M の優位性が示唆され, RT-PCR 法は補助診断として有用であった. 最後に, 日本では報告のない色素法による副作用報告を紹介し, 実施の際の注意点にも言及した.

悪性黒色腫におけるセンチネルリンパ節生検

「腫瘍から最初にリンパ流を受けるリンパ節に最初の微小転移が生じる」このリンパ節をセンチネルリンパ節 (sentinel node または sentinel lymph node ; SLN) と呼び, 「癌の転移はまずこのセンチネルリンパ節から始まる」という仮説がセンチネルリンパ節理論 (sentinel node concept) として紹介された (図 1). 1992 年, アメリカ西海岸の外科医 Morton と病理医 Cochran らが, 悪性黒色腫における術中リンパ節転移診断をこの手技を用いて, 報告した¹⁾. 当初, 彼らは色素法のみでセンチネルリンパ節を同定し, その有用性を報告していたが, 1994 年には術前リンパシンチグラフィの併用による同定率の向上が示され, 翌 1995 年にはガンマプローブ併用が報告された. 現在, センチネルリンパ節生検を含め一連の手技

は sentinel node navigation surgery (SNNS) と呼ばれている. その後, 悪性黒色腫を対象とした多くの報告が蓄積されると, 乳癌をはじめとするその他の固形癌に対してもその概念が導入され, 一般化してきた.

まずは現在, 本邦で広く実施されるようになった悪性黒色腫におけるセンチネルリンパ節生検の実際を紹介する.

センチネルリンパ節生検の実際

1. 被験者の適格基準および選定方法

選択基準 : 臨床的 (術前の診察や画像検査による) にリンパ節や内臓臓器に転移がない悪性黒色腫患者で, かつ, 以下の条件のいずれかを満たすもの. 触診, ダーモスコピー, エコー, CT, MRI などの画像検査によって原発巣の厚さが 1 mm 以上あるいは原発巣の浸潤が真皮内に及ぶと予測される場合, または原発巣表面にびらん潰瘍を伴う場合.

除外基準 : 何らかの転移病巣を持つ場合. 重篤

* Yoichi MOROI, 〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1 九州大学大学院医学研究院皮膚科学, 准教授

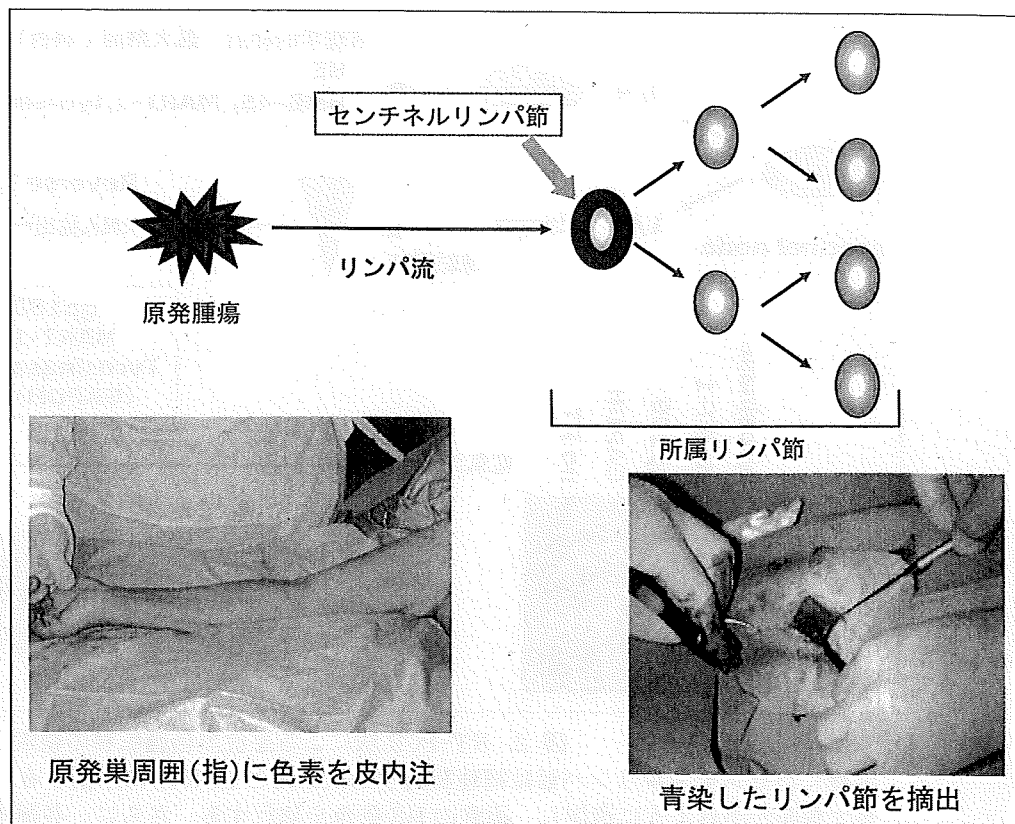


図 1.

センチネル(歩哨)リンパ節の概念
リンパ流は必ずセンチネルリンパ節(sentinel node)と呼ばれる所属リンパ節内の特定のリンパ節に最初に流入する。このことを利用して、センチネルリンパ節を同定・生検することにより、悪性腫瘍のリンパ節転移を明らかにし、不必要な郭清術を回避することができる。

な肝腎機能低下のある患者。

被験者の選定：選択基準を満たす原発巣を持つ悪性黒色腫患者について、原発巣以外の臓器転移の有無について検索し、理学的・画像的に転移がない場合に本検査についての説明を行う。本人の同意が得られれば本検査の対象とする。

2. 施行手順

原則として手術前日に原発巣周囲の皮内に 99mTc で標識したフチン酸(富士フィルム RI ファーマ)またはスズコロイド(日本メジフィジックス社)を $0.4\text{ml}(=37\text{MBq}/0.1\text{ml})$ 注射する。センチネルリンパ節は早期に RI の集積を認めるので、可能な限り、投与後1~30分間はガンマカメラでの撮影を行うことが望ましい。投与後1時間を超えると、センチネルリンパ節とそれ以降の2次、3次リンパ節との区別が困難となる場合がある。その後、ガンマプローブで RI 集積部(センチネルリンパ節の存在部位)を同定し、マーキングする。手術当日は、原発巣周囲の皮内に生体色素(院内調整1%パテントブルー)を1~2ml注射する。再度ガンマプローブで RI 集積部を確認後、同部に皮膚切開を加えると、脂肪織内に青染するリンパ管とセンチネルリンパ節が確認でき

る。ガンマプローブでセンチネルリンパ節であることを確認した後に摘出する。シンチカメラではなく、SPECTと呼ばれるCT画像との合成可能なシステムも存在し、より確実に同定が可能な装置も開発されている。

最近、RIを用いずにSNNSを行う方法が報告されている²⁾。最新のCTでは、短時間に四肢をスキャンすることが可能であるため、造影剤(ヨード系)を直接皮内に投与することで、センチネルリンパ節を同定することが可能となる。この方法なら、シンチカメラやRIが不要となるため、施行可能な施設は格段に増加することになる。また、インドシアニングリーンという蛍光色素と赤外線観察カメラシステム(photo-dynamic eye; PDE)を組み合わせるセンチネルリンパ節を同定する方法も報告されている³⁾。

転移の検索

摘出したリンパ節は永久標本として、最大断面でHE標本による病理学的検討、および免疫組織化学染色(抗S-100蛋白、HMB-45抗体、抗チロシナーゼ抗体、抗MART-1抗体など)を行い、腫瘍細胞を検索する。後述のように、通常のHE標

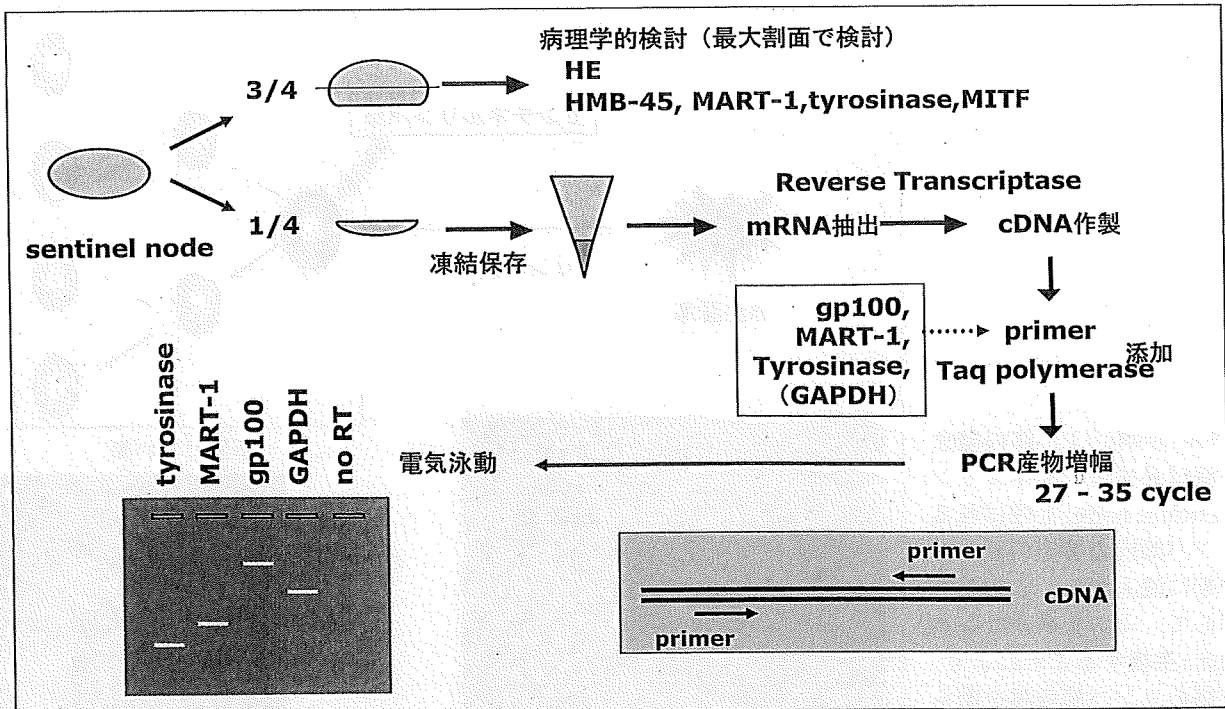


図 2. RT-PCR 法による悪性黒色腫転移の検索

生検したセンチネルリンパ節は病理組織学的検索用と PCR 用に分割する。病理検索用はリンパ節の最大断面が出るように薄切し、通常の HE 染色を施行する。さらに、各種抗体を用いて免疫組織化学的に検討する。凍結保存したリンパ節は後日解凍し、乱切後 RNA 抽出キットを用いて RNA を抽出・精製。1 mg の RNA を RNA PCR キットで cDNA 作製後、それぞれチロシナーゼ、MART-1、gp-100 のプライマーセットを用いて増幅する。ハウスキーピングジーン(GAPDH)などのプライマーセットを用いて、陽性コントロールとする。

本でも、ときに転移診断は困難であるので、術中迅速での転移評価は世界的に行われていない。また、我々など一部の施設ではリンパ節の一部を凍結保存し、mRNA を抽出後、黒色腫に特異的に発現するチロシナーゼ、gp100、MART-1 などの各遺伝子を RT-PCR 法で増幅し、検出する方法を併用している⁴⁾(図 2)。

症例を提示する。69 歳、女性、左膝の TT=4.0 mm の結節型黒色腫。通常の HE 標本では転移下腫瘍細胞は同定できなかったが、RT-PCR 法ではすべてのプローブが増幅され陽性となり、免疫組織化学では、チロシナーゼと MITF-M のみ陽性の腫瘍細胞がリンパ節辺縁に認められた(図 3)。現在、このように、免疫組織化学染色の一部や、RT-PCR 法のみで陽性となった場合は、HE 標本に戻り、明らかな異型細胞が同部に認められれば転移陽性とすべき、とのコンセンサスが厚生労働省がん研究助成金会議で得られている。それに従い、再度 HE 標本も見直してみると、確かに免疫組織化学染色で陽性になった部位に明かな

異型細胞の散在を認めた(図 4)。一方、この HE 標本の所見のみでは転移と診断することは困難である。このことより、通常の HE 標本のみでなく、免疫組織学的検索が必須であること、また、RT-PCR 法は補助診断として極めて有用であることが示された。

以上の方法でセンチネルリンパ節に転移陽性と診断された症例に関しては、リンパ節郭清を可能な限り行う。陰性の場合には、郭清を行わず、経過観察とする。

本邦・海外での動向

厚生労働省がん研究助成金 15-10(主任研究者：斎田俊明教授(信州大学医学部皮膚科))の 2003～2006 年までの検討では、340 症例中、330 例(97.1%)でセンチネルリンパ節が同定された。センチネルリンパ節に転移がなく、根治的リンパ節廓清を省略できた症例は 207 例(全症例の 60.8%)あったが、その後に残存リンパ節に転移を生じてきたものは 5 例(2.4%)のみであった。

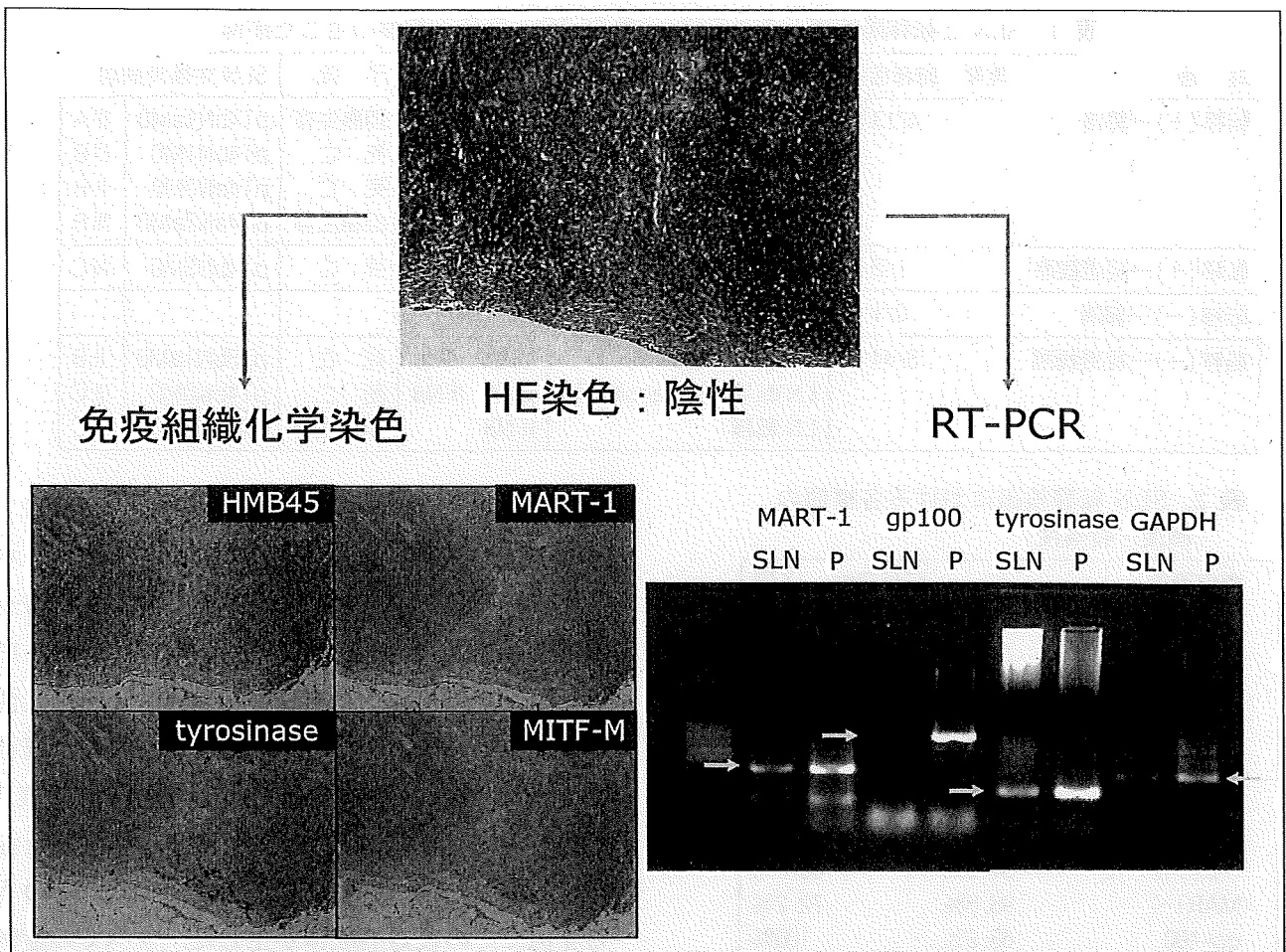


図 3. 69 歳, 女性. 左膝の TT=4.0 mm の結節型黒色腫

通常の HE 標本では転移下腫瘍細胞は同定できなかったが, RT-PCR 法ではすべてのプローブが増幅され陽性となり, 免疫組織化学染色では, チロシナーゼと MITF-M のみ陽性の腫瘍胞巣がリンパ節辺縁に認められた。

センチネルリンパ節生検によって, 従来であれば予防的リンパ節廓清を受ける可能性のあった患者の約 60% は生検のみですみ, 患者の身体的負担を大幅に軽減できたということになる。残りの 40% は生検したセンチネルリンパ節に微小転移が発見され, 根治的なリンパ節廓清を受けたが, この集団は, 従来であれば術前検査でリンパ節転移なしと判断され, 手術することなく経過をみていた可能性のある群である。従って, この集団についても, センチネルリンパ節生検によって早期に微小転移が発見でき, 早期に根治的なリンパ節廓清を受けられたことになり, 有益であったと考える。センチネルリンパ節の同定を行ってみると, 従来予想もしなかった領域のリンパ節に原発巣からのリンパ管が流入することが少なくないことが判明した。従って, 所属リンパ節領域の手術を行う際には, センチネルリンパ節の同定検査は必須

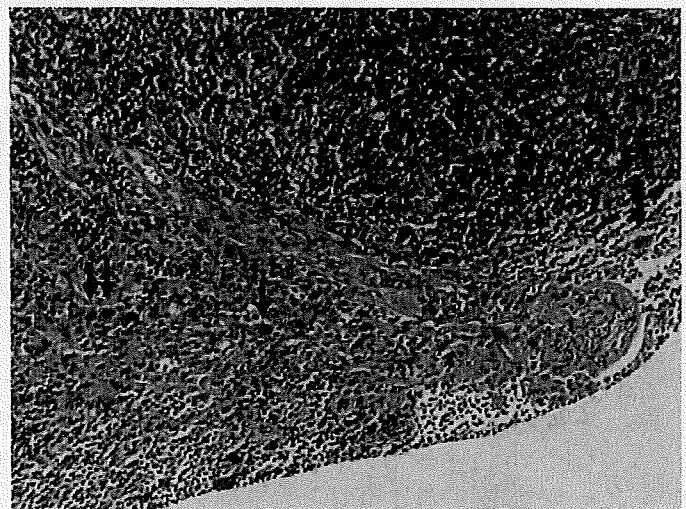


図 4. 図 3 と同一症例

免疫組織化学染色で陽性であった部位を, 再度 HE 標本で確認したところ, 明らかな異型細胞の散在を認めた(矢印)。通常の HE 標本だけでは, この所見を転移と診断するのは困難である。

表 1. SLN と転移陽性率とその予後(総数 55 例) 再発・転移の生じた症例

経過	再発・転移症例	転移	治療	予後	SLN 生検時病期
転移(+) →郭清	4/13 例	遠隔転移	切除	担癌生存	pT4bN1aM0 III A
		遠隔転移	無治療	死亡	pT4bN1M0 III B
		遠隔転移	化学療法	死亡	pT4aN0M0 II B
		遠隔転移	化学療法	担癌生存	pT4aN2aM0 III B
転移(+) →経過観察	1/2 例	LN 転移+遠隔転移	切除, IFN β	死亡	pT4bN3M0 III C
転移(-) →郭清	0/1 例				
転移(-) →経過観察	3/44 例	in transit 転移	切除, IFN β	死亡	pT3bN1aM0 II B
		LN 転移+in transit 転移	切除, IFN β	死亡	pT4bN0M0 II C
		LN 転移	IFN β	担癌生存	pT4aN0M0 II C

表 2. SLN 転移検出における各標的の感度・特異度

免疫染色	転移陽性 17 例	
	感度	特異度
チロシナーゼ	76.5%	100%
MART-1	70.6%	91.7%
HMB45	52.9%	100%
MITF-M	82.4%	92.3%
RT-PCR	転移陽性 16 例(1 例未施行)	
	感度	特異度
チロシナーゼ	81.3%	69.2%
MART-1	93.8%	72.2%
gp-100	68.9%	100%

である。また、被験者の安全性については、前記の 340 症例において、特に問題となる有害事象は報告されていない。

米国では、Morton らが、1269 例を対象に、センチネルリンパ節生検を行った群と、検査を行わずに原発巣の処理のみで経過をみた群とについて、予後についてランダム化比較試験を行っている⁵⁾。結果はセンチネルリンパ節生検による早期治療群が勝っており、またセンチネルリンパ節の転移の有無は極めて重要な予後因子情報になることを報告している。

当院におけるセンチネルリンパ節生検

実際に当科では 2002 年 4 月～2008 年 4 月まで計 72 例の早期悪性黒色腫症例にセンチネルリンパ節生検を施行した。メラノーマ班会議で推奨されているリンパシンチ、術中プローブ法、色素法の 3 種を用いて行った症例が 66 例、そのうち、pT1 以上の 55 例について詳細に検討した。同定率は 55 例中 55 例の 100%であり、手技的にはほ

ぼ確立した方法と考えられる。センチネルリンパ節の平均数は 2.81 個であり、複数のリンパ節が検出されることがほとんどであった。55 例中 15 例をセンチネルリンパ節転移と診断し、転移陰性と診断したものの、その後同所属リンパ節に転移を生じた false negative 症例を 2 例認めた(表 1 の最下段 2 症例)。センチネル陽性と判断した症例のうち 13 例に根治的郭清を施行した。そのうち 4 例にその後遠隔転移が生じた。すべての症例が pT4 以上であった。高齢などの理由により郭清しなかった 2 例においても、1 例に同部リンパ節転移・遠隔転移を生じ、死亡に至ったが、他 1 例は再発なく存命中である。転移陰性と判断し、その後多数の in transit 転移を生じ死亡した症例を 1 例認めた。その他の症例ではその後の再発転移はない。

各種検出方法による転移検出について検討した(表 2)。免疫染色では抗 MITF-M 抗体による染色が感度 82.4%、特異度 92.3%で、また抗チロシナーゼ抗体による染色が感度 76.5%、特異度 100%で最も有用と考えられた。現在、悪性黒色腫に対する特異的抗体として広く使用されている HMB45 染色は、特異度は 100%と高いものの感度が 52.9%とかなり低かった。HMB45 染色のみではほぼ半数の症例で転移を見落とすことになる。RT-PCR 法はおおむね良好な感度で、補助診断として有用であるが、チロシナーゼ、MART-1 に関しては false positive が多く、特異度が低かった。

また、被験者の安全性については、当科で施行した全 72 症例において、問題となる有害事象は経験していない。

副作用報告と留意点

前記のように本邦では幸い、センチネルリンパ節における副作用・合併症は報告されていないが、海外報告について検討した。PubMedで検索すると多数の副作用報告が検出でき、その多くは、色素法によるアレルギー反応である。我々も使用し、世界的に使われているパテントブルーはアナフィラキシーをはじめとする、さまざまなアレルギー反応の報告がある。幸い死に至った報告はないが、十分な注意が必要である。興味深いものとして、メチレンブルーはセンチネルリンパ節の描出はパテントブルーと遜色なく、アレルギー報告が少ないことより、第一選択として使用すべきという報告があった⁶⁾。一方、色素に比べ、RIトレーサーによるアレルギー報告は極端に少なく、調べた限り、本邦ではあまり使用されないテクネシウムアルブミンコロイドによるものが1報のみであった⁷⁾。世界保健機構の下部組織が公表している発癌物質のリストにパテントブルーは掲載されている。それによると、ラットの皮下に繰り返し投与することで投与部位に線維肉腫が発生したとのことであった。しかし、現在までヒトでの同様な有害事象の報告はなく、センチネルリンパ節生検での使用法を考えると、重大な問題にはならないと考えられる。

以上の副作用報告を考慮したうえで、色素法を行う際はアレルギー反応の起こりえることに留意し、局所麻酔下で行わずに麻酔医管理の下で行い、麻酔科医にも十分にアレルギー反応が起こりうることを周知する必要がある。発癌の可能性はほとんどないものの、安全性を高めるため、RIトレーサーや色素は腫瘍原発巣周囲の切除範囲内(切除マージン内)に投与する、といった注意が必要である。

センチネルリンパ節生検は早期悪性黒色腫患者における治療のスタンダードとなっている。しかし、腫瘍の微小転移を検出するためにはルーチンの病理学的検討に加えて詳細な検討が不可欠で、特に、悪性黒色腫の場合、免疫組織学的検索を施行する必要がある。RT-PCR法はその補助的診断として極めて有用である。さらに、リンパ節転移の可能性の高い他の皮膚悪性腫瘍についても適応が拡大している。当科でも、リンパ節転移の予想される有棘細胞癌、乳房外パジェット病、汗腺悪性腫瘍などでセンチネルリンパ節生検を施行している。

文 献

- 1) Morton DL, Wen DR, Wong JH et al : Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg*, 127 : 392-399, 1992.
- 2) 菅 一能, 狩野裕一, 河上康彦ほか : CT リンパグラフィによるセンチネルリンパ節生検. *リンパ学*, 28(2) : 92-98, 2005.
- 3) Kitai T, Inomoto T, Miwa M et al : Fluorescence navigation with indocyanine green for detecting sentinel lymph nodes in breast cancer. *Breast Cancer*, 12 : 211-215, 2005.
- 4) 師井洋一, 小幡千景, 藤田尚平ほか : メラノーマ患者における RT-PCR 法を用いたセンチネルリンパ節微小転移発見の試み. *西日本皮膚*, 64 : 211-217, 2002.
- 5) Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ et al : Sentinel-node biopsy or nodal observation in melanoma. *N Eng J Med*, 355 : 1307-1317, 2006.
- 6) Golshan M, Nakhli F : Can methylene blue only be used in sentinel lymph node biopsy for breast cancer? *Breast J*, 12(5) : 428-430, 2006.
- 7) Chicken DW, Mansouri R, Ell PJ et al : Allergy to technetium-labelled nanocolloidal albumin for sentinel node identification. *Ann R Coll Surg Engl*, 89(2) : W12-13, 2007.

特集

● 難治性皮膚悪性腫瘍の治療戦略 ●

進行期悪性黒色腫に対する樹状細胞療法 —現状と展望—

九州大学大学院医学研究院・皮膚科学分野

師井 洋一

要旨 悪性黒色腫は予後不良の皮膚悪性腫瘍である。しかし、一方でこの腫瘍は様々なメラノーマ特異的な腫瘍抗原を発現することなどより、免疫療法の格好の標的として、世界中の研究者がその克服に取り組んでいる。わが国でも腫瘍特異的免疫療法として、様々な施設でペプチドワクチン、樹状細胞療法が試行されている。全世界で期待を込めて行われてきた樹状細胞療法について、その概要を概説するとともに、これまでの結果について報告したメタアナリシスを紹介する。期待された効果を上げていない樹状細胞療法について、その原因を考察する。近年、注目されている分子標的療法と今後の樹状細胞療法、免疫療法の未来について概説した。

[Biotherapy 23 (6) : 436-440, November, 2009]

Dendritic Cell Therapy Against Malignant Melanoma: Current Status and Future Outlook

Yoichi Moroi

*Department of Dermatology, Graduate School of Medical Science, Kyushu University***Summary**

Dendritic cells (DCs) play a pivotal role in the initiation, programming and regulation of tumor-specific immune responses. However, DC therapy for malignant melanoma has had only limited clinical success. The low efficacy of a vaccine strategy against melanoma is discussed. Combination therapy with novel molecular-targeted therapy and vaccine therapy might be promising.

Key words: Dendritic cell vaccine, Lymphodepletion, Treg, Anti-CTLA-4 antibody, Molecular-targeted therapy
Address request for reprints to: Dr. Yoichi Moroi, Department of Dermatology, Graduate School of Medical Science, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan

はじめに

1990年代から、癌抗原同定方法の開発によって¹⁾様々なペプチド抗原が明らかになり、免疫療法の格好の標的である悪性黒色腫に対してペプチド単独または+アジュバント、さらに樹状細胞を併用したワクチン療法が世界中で開始された。しかし2004年、これらワクチン療法の奏効率はわずか2.6%であったと報告された²⁾。現在までの解析では、ワクチン療法より末梢血中の抗腫瘍前駆細胞(腫瘍を認識、破壊できるCD8⁺T細胞)の増加は誘導できるが、腫瘍局所ではそれらの細胞が機能不全に陥っていることが明らかとなっている。すなわち、能動免疫療法で腫瘍拒絶を起こすためには、全身性、腫瘍局所での抗腫瘍免疫阻害環境を是正することが重要である。一方Rosenbergらは、腫瘍内に浸潤していた腫瘍浸潤リンパ球(TIL)を骨髄前処置した患者に輸注する方法を開発し³⁾、さらに放射線照射を追加することで奏効率は72%まで改善すると報告した⁴⁾。また、活性化T細胞の抑制に関連する分子CTLA-4を阻害する抗CTLA-4抗体がワクチン療法との併用で臨床試験され、治療効果が認められつつある⁵⁾。さらには、CTLA-4に類似した機能をもつPD-1分子の阻害剤などが注目されている。さらに、近年のメラノーマにおける発生、増殖にかかわる遺伝子の異常が明らかにされ、分子標的療法や癌幹細胞、上皮-間葉形質転換に標的を絞った治療法の開発が進み、これらの新規治療法は免疫療法との併用が期待できる。以上、樹状細胞療法の今後の展望について概説する。

I. 樹状細胞療法とは

Nestleらによりメラノーマに対する有効性が報告されて⁶⁾、2000年ごろより全世界で行われているのが樹状細胞療法である。簡単にその概要を説明する。アフエレーシスなどで大量の末梢血単核球細胞を採取し、プラスチック接着細胞、CD14またはCD34⁺細胞などに選別する。GM-CSFとIL-4を添加した培養液で5日間培養する。誘導された未熟樹状細胞に抗原(ペプチド抗原または自己腫瘍溶解液)を取り込ませ、様々な因子で活性化させた後、主に皮内に投与する方法が通常行

われるが、直接未熟樹状細胞を腫瘍内に投与する場合もある。未熟樹状細胞を直接腫瘍内投与する場合には、放射線療法、化学療法、凍結療法など様々な前処置をして腫瘍のapoptosis/necrosisを誘導しておき、樹状細胞の抗原取り込み効率を上げることと、投与局所に何らかの炎症反応を誘導し投与した樹状細胞の活性化を促す必要があると考えられている。

2009年、世界中で報告されたメラノーマに対する樹状細胞療法のメタアナリシスが発表された⁷⁾。1996~2007年までに報告された38の論文、626症例に対する樹状細胞療法をデンマークのグループが総括した。全体の奏効率は、完全寛解(CR)3%、部分寛解(PR)6%で奏効率(CR+PR)は9%であった。病状不変(SD)は21%と比較的高かったが、各施設での治療効果判定の基準が一定ではなく、一概に評価することはできないとしている。同じメラノーマに対する樹状細胞とはいえ各施設で様々な改変を加えているため、これらの多彩な因子、症例の背景などと治療効果の相関について検討している。良好な治療効果(CR+PD+SD)との有意な相関を認めたものは、腫瘍特異的なT細胞の活性化(ELISPOT, tetramerなどで確認)($p=0.0004$)、CD4エピトープとなる抗原(keyhole limpet hemocyanin (KLH)、破傷風毒素など)の添加+アジュバントとしてのIL-2投与の追加($p=0.002$)、腫瘍溶解液よりはペプチドを抗原として免疫すること($p=0.03$)であった。成熟樹状細胞より未熟な樹状細胞であること($p=0.08$)、アジュバントとしてIL-2投与単独($p=0.09$)に関しては有意差はなかったものの、ある程度の傾向で奏効率に相関を認めた。一方で、病期、樹状細胞の培養法、樹状細胞前駆細胞はCD34⁺のみとするかどうか、投与方法(皮下、皮内、リンパ節内など)は、それらの選択によって奏効率が上がるような相関を認めなかった。やはり、われわれが感じていた印象と合致する点が多い。CD4抗原と、抗原としての腫瘍溶解液に関しては、制御性T細胞が認識する抗原の関与が考えられる。通常ペプチド抗原(すべてCD8抗原)で免疫する場合KLHを追加し、腫瘍溶解液では外来抗原を添加しない場合が多い。腫瘍溶解液ではそのなかに含まれる免疫抑制性抗原(制御

表1 腫瘍免疫におけるエスケープ機構

1. 腫瘍細胞自体が抑制性サイトカインを産生
IL-10, IL-6, TGF- β , PGE₂, Th2 cytokines
2. 遺伝子変異などによる抗原, MHC (関連) 分子の発現低下, 消失
3. CTLA-4 や PD-1 などが関与する免疫抑制性メカニズム
4. 制御性 T 細胞の出現, 腫瘍内浸潤
5. 骨髄由来抑制性細胞 (腫瘍浸潤マクロファージなど) による免疫抑制, 転移促進

性 T 細胞が認識する CD4 抗原) への免疫誘導 (免疫抑制性の反応) が起こりやすく, 抗腫瘍免疫がうまく誘導されないのではと考えている。一方, 外来性の強い CD4 抗原 (KLH など) を添加することで腫瘍抗原内の制御性抗原の提示をマスクする可能性があり, これらの結果につながった可能性がある。IL-2 に関しては同じく制御性 T 細胞の誘導を促す可能性があり, 現時点では使用に関して統一した見解はないが, その投与量が問題 (比較的大量で活性化, 低用量で制御性 T 細胞誘導?) なのかもしれない。

II. 米国国立がん研究所の免疫療法

米国国立がん研究所の Rosenberg らは, 画期的な免疫療法を開発した³⁾。ミニ移植などで用いられる非破壊性骨髄前処置 (シクロホスファミドとフルダラビンを投与) をした患者に, 腫瘍内に浸潤していた T 細胞 (TIL) を実験室内で大量に培養・増殖させて輸注後, 大量の IL-2 を投与する方法で高い奏効率を認めたと報告した。樹状細胞療法などのワクチン療法 (能動免疫療法) とは異なり, 直接作用する免疫担当細胞または蛋白質 (エフェクター) を投与する受動細胞療法 (養子免疫療法) となる。したがって, この場合の IL-2 は能動免疫賦活作用を期待するものではなく, 高濃度 IL-2 環境下で培養されてきた培養 TIL が生体内で長期生存するために使用される。TIL のうち CD8⁺ 細胞のみを輸注しても効果はなく, CD8⁺ 細胞と CD4⁺ 細胞の両者が必要であるとしている。奏効率は 50% を超え, 従来ありとあらゆる治療法の中なかでも最強な方法と考えられる。さらに, 全身放射線照射を併用することで (この処置の追加により破壊性骨髄前処置となる), 奏効率は 2 Gy 追加照射で 52%, 12 Gy 追加照射で 72% まで向上すると報告している⁴⁾。担癌患者で

は腫瘍に対する免疫反応を抑制する様々な細胞の活性が上昇しており, 骨髄前処置によってそれら細胞が消去され, 輸注した TIL が効率よく腫瘍局所に浸潤し, キラー活性を発揮すると想定されている。また, IL-7 や IL-15 が関与する homeostatic proliferation の作動などが関与しているらしい。この受動免疫療法をさらに強化するために, 腫瘍抗原認識 T 細胞受容体 (TCR) 遺伝子の導入により人工的に作製した短期培養抗腫瘍 T 細胞の使用が計画されている。すでに MART-1 特異的 TCR 遺伝子を導入した T 細胞を用いた養子免疫療法が実施され, 抗腫瘍効果が示されている⁵⁾。さらに, NY-ESO-1 抗原特異的 TCR 遺伝子導入 T 細胞の作製, 導入した TCR α/β のペアリングや発現量を増やすための各種工夫, 抗原ノックアウトマウスを用いた高親和性 TCR の単離, CDR 2/3 領域のアミノ酸置換による高親和性 TCR の作製などが精力的に行われており, 養子免疫療法のさらなる抗腫瘍効果の増強, 抵抗癌種の拡大が試みられている⁶⁾。

III. 抗腫瘍免疫の抑制機構に対する試み

前述のように, 免疫機能, ワクチン療法が十分に働かないことに関して, 従来から様々な理由が考えられている (表 1)。今後は, これら抑制機構の排除, コントロールが免疫療法の大きなテーマになると思われる。

制御性 T 細胞は CD4⁺CD25⁺ で, Foxp3 という遺伝子産物 (転写因子) を発現しており, 定常状態では自己免疫反応を抑制している。腫瘍免疫においては, これらの細胞を抑制することによってワクチン効果が増強することが期待される。この方法として, CD25 に結合する IL-2 のアミノ酸配列にジフテリア毒素を結合させた製剤 (denileukin diftitox, 商品名: ONTAK[®]) が臨床検討

され、単独投与では期待された臨床効果はなかったが¹⁰⁾、末梢血中の制御性 T 細胞は確実に減少しており、遅延型過敏反応、免疫された腫瘍抗原ペプチドに反応する T 細胞数は投与後に増強、増数していたという報告もあり¹¹⁾、可能性は残されている。マウスでは制御性 T 細胞を消去するために汎用されている抗 CD25 抗体は、ヒトでは現在のところ、造血器悪性腫瘍または移植後の拒絶反応の治療に用いられているのみである。

近年注目されている骨髄由来抑制性細胞 (myeloid derived suppressor cells, MDSC) は、腫瘍増殖、免疫抑制において大きな役割を果たしていると考えられている。産生する一酸化窒素やアルギナーゼなどによって、T 細胞免疫を抑制することが判明している。現在、これらの細胞を標的とした治療法 (補助療法) が試みられており、抗癌剤の gemcitabine や COX-2 阻害剤、VEGF 阻害剤などが有望とされている¹²⁾。

IV. 抗 CTLA-4 抗体への期待

腫瘍免疫抑制のメカニズムとして、CTLA-4 や PD-1 が注目されている。どちらも抗原提示細胞上の B7 分子などに結合し、T 細胞側に増殖抑制など負のシグナルを供給する。これらは通常、免疫反応の過剰な暴走を止めるために働いているが、担癌患者ではしばしばこの負の経路が優位になっている場合が多いとされている。現在有望なのは抗 CTLA-4 抗体で、制御性 T 細胞の機能にも関連するといわれるこの分子を阻害することで、抗腫瘍免疫が活性化することが期待されている⁵⁾。事実、単独投与でも有効例が報告されており、またペプチドワクチンとの併用療法での初期臨床試験が終了しており、現在大規模試験が欧米で進行中である¹³⁾。制御性 T 細胞の機能に関連する分子ではあるが、抗体投与によって制御性 T 細胞の数や機能が抑制されるわけではなく、T 細胞全般の活性化による効果のようである¹⁴⁾。副作用の点では、T 細胞免疫を非特異的に活性化すると起こりやすい腸炎 (下痢、下血) が頻発する。腸管穿孔をはじめとする重症副作用が初期には認められたが、現在は用量の適正な設定で安全に使用できるようになっている。PD-1 と PD-L1 の結合も同様に負のシグナルを伝えるが、この結合

を阻害する製剤がリンパ腫領域で臨床試験され¹⁵⁾、有効例の報告があり、今後適応が拡大する可能性がある。

V. 分子標的療法併用の可能性

各種悪性腫瘍に対して、その生物学的な発癌メカニズムの解析により、様々な分子標的療法が開発されている。メラノーマでは、分化において重要な役割を果たしている *c-kit* に関して、遺伝子変異は少ないとされていた。しかし、近年の詳細な検討により、欧米人に多い表在拡大型では *c-kit* 変異はほとんど検出されないのに対して、末端黒子型や粘膜型では多数認められることが明らかとなった¹⁶⁾。すなわち、*c-kit* 変異に対し有効性を示すチロシンキナーゼ阻害剤が、ある種のメラノーマに有効である可能性がでてきた。事実、有効例の報告がある¹⁷⁾が無効例の報告もあり、症例の選択には単に *c-kit* 蛋白の過剰発現だけではなく、遺伝子変異を確実に検出する必要があるであろう。また、一方でチロシンキナーゼ阻害剤そのものが Treg や MDSC の誘導を抑制し、抑制性サイトカインの産生を抑制して免疫抑制状態を是正に貢献するというマウス実験の報告¹⁸⁾もあり、今後適応がますます拡大する可能性がある。

おわりに

樹状細胞単独療法における治療効果は限界があることが判明した。Rosenberg らの治療法は魅力的だが、どこでもできる治療ではなく、またリスクも大きい。彼らの成功例を基に免疫抑制状態を是正し、メラノーマを克服したいと世界中の臨床医が願っている。

文 献

- 1) Van den Eynde, B.J. and Boon, T.: Tumor antigens recognized by T lymphocytes. *Int. J. Clin. Lab. Res.* 27(2): 81-86, 1997.
- 2) Rosenberg, S.A., Yang, J.C. and Restifo, N.P.: Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nat. Med.* 10(9): 909-915, 2004.
- 3) Dudley, M.E., Wunderlich, J.R., Robbins, P.F., et al.: Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes. *Science* 298(5594): 850-854, 2002.
- 4) Dudley, M.E., Wunderlich, J.R., Yang, J.C., et al.:

- Adoptive cell transfer therapy following non-myeloablative but lymphodepleting chemotherapy for the treatment of patients with refractory metastatic melanoma. *J. Clin. Oncol.* **23** (10): 2346-2357, 2005.
- 5) Peggs, K.S., Quezada, S.A., Korman, A.J., *et al.*: Principles and use of anti-CTLA4 antibody in human cancer immunotherapy. *Curr. Opin. Immunol.* **18**(2): 206-213, 2006.
 - 6) Nestle, F.O., Alijagic, S., Gilliet, M., *et al.*: Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumorlysate-pulsed dendritic cells. *Nat. Med.* **4** (3): 328-332, 1998.
 - 7) Engell-Noerregaard, L., Hansen, T.H., Andersen, M.H., *et al.*: Review of clinical studies on dendritic cell-based vaccination of patients with malignant melanoma: assessment of correlation between clinical response and vaccine parameters. *Cancer Immunol. Immunother.* **58**(1): 1-14, 2009.
 - 8) Morgan, R.A., Dudley, M.E., Wunderlich, J.R., *et al.*: Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science* **314**(5796): 126-129, 2006.
 - 9) Gattinoni, L., Powell, D.J. Jr., Rosenberg, S.A., *et al.*: Adoptive immunotherapy for cancer: building on success. *Nat. Rev. Immunol.* **6**(5): 383-393, 2006.
 - 10) Attia, P., Maker, A.V., Haworth, L.R., *et al.*: Inability of a fusion protein of IL-2 and diphtheria toxin (Denileukin Diftitox, DAB389IL-2, ONTAK) to eliminate regulatory T lymphocytes in patients with melanoma. *J. Immunother.* **28**(6): 582-592, 2005.
 - 11) Mahnke, K., Schönfeld, K., Fondel, S., *et al.*: Depletion of CD4⁺CD25⁺ human regulatory T cells *in vivo*: kinetics of Treg depletion and alterations in immune functions *in vivo* and *in vitro*. *Int. J. Cancer* **120**(12): 2723-2733, 2007.
 - 12) Gabrilovich, D.I. and Nagaraj, S.: Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* **9**(3): 162-174, 2009.
 - 13) Dougan, M. and Dranoff, G.: Immune therapy for cancer. *Annu. Rev. Immunol.* **27**: 83-117, 2009.
 - 14) Maker, A.V., Attia, P. and Rosenberg, S.A.: Analysis of the cellular mechanism of antitumor responses and autoimmunity in patients treated with CTLA-4 blockade. *J. Immunol.* **175**(11): 7746-7754, 2005.
 - 15) Keir, M.E., Butte, M.J., Freeman, G.J., *et al.*: PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu. Rev. Immunol.* **26**: 677-704, 2008.
 - 16) Fecher, L.A., Cummings, S.D., Keefe, M.J., *et al.*: Toward a molecular classification of melanoma. *J. Clin. Oncol.* **25**(12): 1606-1620, 2007.
 - 17) Hodi, F.S. and Friedlander, P.: Major response to imatinib mesylate in *KIT*-mutated melanoma. *J. Clin. Oncol.* **26**(12): 2046-2051, 2008.
 - 18) Ozao-Choy, J., Ma, G., Kao, J., *et al.*: The novel role of tyrosine kinase inhibitor in the reversal of immune suppression and modulation of tumor microenvironment for immune-based cancer therapies. *Cancer Res.* **69**(6): 2514-2522, 2009.
-

樹状細胞療法—今後の展望—

師井 洋一

九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野

要旨 全世界で期待を込めて行われてきたメラノーマに対する樹状細胞療法について、その概要、これまでの結果について報告したメタアナリシスを紹介する。樹状細胞療法がメラノーマに対して奏率が上がらない原因について、現在、世界最強と考えられる米国国立癌研究所の治療法を紹介しながら、考察する。近年、注目されている分子標的療法の現状などをふまえ、今後の樹状細胞療法、免疫療法の未来について概説した。

Dendritic cell therapy : a future aspect

Yoichi MOROI

Department of Dermatology, Graduate School of Medical Science, Kyushu University

Dendritic cells (DCs) play a pivotal role in the initiation, programming and regulation of tumor-specific immune responses. However, the DC therapy for malignant melanoma has yielded only limited clinical success. The low efficacy of vaccine strategy against melanoma will be discussed. The combination therapy with novel molecular targeted therapy and vaccine therapy might be promising. [*Skin Cancer (Japan)* 2009 ; 24 : 153-158]

Key words : Dendritic cell vaccine, Lymphodepletion, Treg, Anti-CTLA-4 antibody, Molecular targeted therapy

はじめに

1990年代から癌抗原同定方法の開発によって¹⁾、様々なペプチド抗原が明らかになり、ペプチド単独または+アジュバント、さらに樹状細胞を併用したワクチン療法が世界中で開始された。しかし、2004年これらワクチン療法の奏率はわずか2.6%であったと報告された²⁾。現在までの解析では、ワクチン療法より末梢血中の抗腫瘍前駆細胞（腫瘍を認識・破壊できるCD8+T細胞）の増加は誘導できるが、腫瘍局所ではそれらの細胞が機能不全に陥っていることが明らかとなっている。すなわち、能動免疫療法で腫瘍拒絶を起こすためには、全身性・腫瘍局所での抗腫瘍免疫阻害環境を是正すること

が重要である。一方、Rosenbergらは腫瘍内に浸潤していたTIL（腫瘍浸潤リンパ球）を大量に培養・増殖させて、骨髓前処置をした患者に輸注する方法を開発し³⁾、さらに放射線照射を追加することで奏率は72%まで改善すると報告した⁴⁾。担癌患者では腫瘍に対する免疫反応を抑制する免疫抑制性の細胞の活性が上昇しており、骨髓前処置によって、それらの細胞が抑制・消去されると想定されている。活性化T細胞の抑制に関連する分子CTLA-4を阻害する抗CTLA-4抗体がワクチン療法との併用で臨床試験され、治療効果が認められつつある。さらには、抗腫瘍免疫を抑制するTGF- β の阻害剤やCTLA-4に類似した機能を持つPD-1分子の阻害剤などが注目されている。さらに、近年のメラノーマにおける発生・増殖にかかわ

る遺伝子の異常が明らかにされ、分子標的療法やがん幹細胞、上皮-間葉形質転換に標的を絞った治療法の開発が進み、これらの新規治療法は免疫療法との併用が期待できる。以上、樹状細胞療法の今後の展望について概説する。

腫瘍免疫の基本

現在考えられている腫瘍免疫のシステムを図1に示す。腫瘍細胞は活発な分裂・増殖をするとともに、様々な誘因で常にアポトーシスやネクローシスを起こしている。それらの腫瘍細胞の残骸の一部は抗原提示細胞である樹状細胞に取り込まれて所属リンパ節に運ばれる。その経過の中で断片化された腫瘍抗原がMHCのクラスII、またはクラスI（クロスプレゼンター

ション)上に提示される。リンパ節内では、それら抗原を認識できるT細胞が適切な共刺激分子の刺激を受け、活性化し増殖する。その後、腫瘍局所からのケモカインなどの影響で腫瘍細胞を破壊すべく遊走する。もちろん、様々な補助的な因子やイベントが関与しているが、大筋ではこのように考えてよいと思われる。

樹状細胞療法とは

Nestleらよりメラノーマに対する有効性が報告されて⁵⁾、2000年頃より全世界で行われているのが樹状細胞療法である。簡単にその概要を説明する(図2)。アフエレーシスなどで大量の末梢血単核球細胞を採取し、プラスチック接着細胞、CD14またはCD34陽性細胞などに

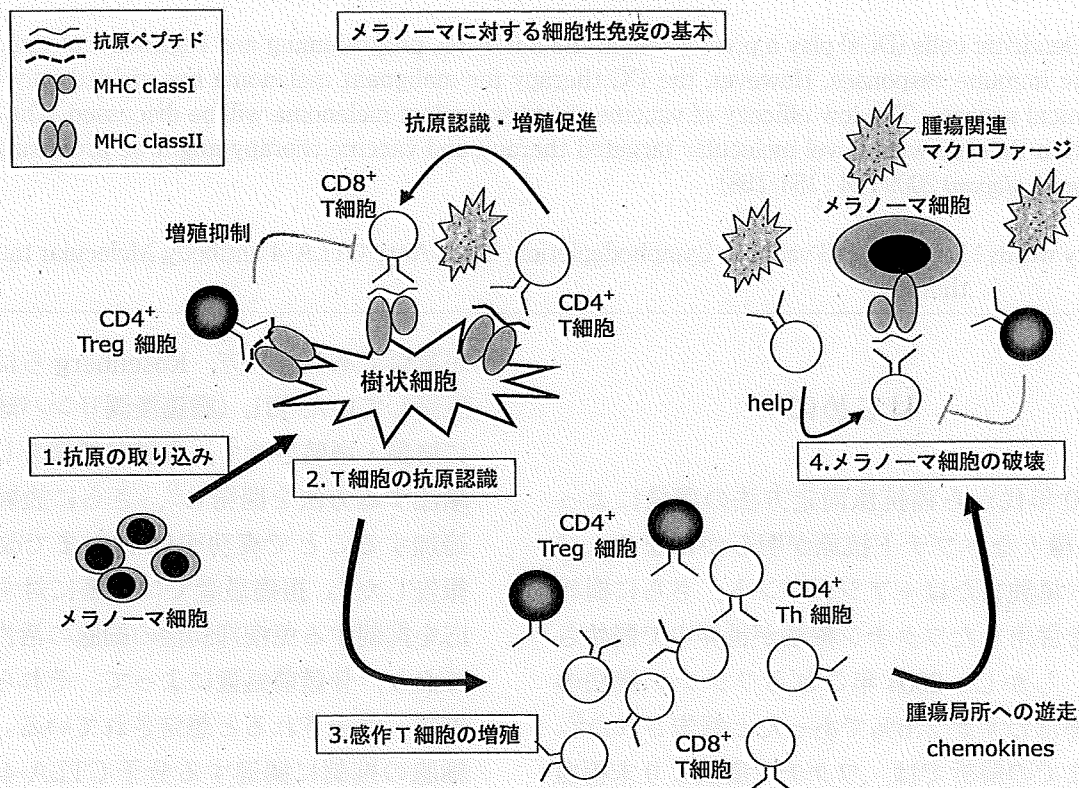


図1. 腫瘍免疫の概略

1. アポトーシスまたはネクローシスした腫瘍細胞が抗原提示細胞に取り込まれ、プロセッシングを受けてMHCとともに提示される(クロスプレゼンテーション)
2. リンパ節内へ移動した後、認識できるレセプターを持つT細胞へ抗原提示する。その際には、CD8陽性T細胞だけでなく、CD4陽性ヘルパーT細胞および制御性T細胞へも抗原提示されると考えられている
3. 活性化したT細胞は増殖し、ケモカインなどにより腫瘍局所へ遊走する
4. 腫瘍表面の抗原+MHCを認識して腫瘍細胞を破壊するが、腫瘍関連マクロファージや制御性T細胞が妨害する

選別する。GM-CSF と IL-4 を添加した培養液で5日間培養する。誘導された未熟樹状細胞に抗原を取り込ませ、様々な因子で活性化させた後、主に皮内に投与する方法が通常行われるが、直接未熟樹状細胞を皮内や腫瘍内に投与する場合もある。未熟樹状細胞を直接腫瘍内投与する場合には、放射線、化学療法、凍結療法など様々な前処置をして腫瘍の apoptosis/necrosis を誘導しておき、樹状細胞の抗原取り込み効率を上げることと、投与局所に何らかの炎症反応を誘導し投与した樹状細胞の活性化を促す必要があると考えられている。

2009年、世界中で報告されたメラノーマに対する樹状細胞療法のメタアナリシスが発表された⁶⁾。デンマークのグループが、1996年から2007年までに報告された38の論文、626症例に対する樹状細胞療法を総括した。全体の奏功率は完全寛解 (CR) 3%、部分寛解 (PR) 6% で奏功率は9%であった。病状不変 (SD) は

21%と比較的高かったが、各施設での治療効果判定の基準が一定ではなく、一概に評価することはできないとしている。同じメラノーマに対する樹状細胞とはいえ、各施設で様々な改変を加えているため、これらの多彩な因子、症例の背景などと治療効果の相関について検討している。良好な治療効果 (CR+PD+SD) との有差を持った相関を認めたものは、腫瘍特異的なT細胞の活性化 (ELISPOT, tetramerなどで確認) ($p=0.0004$)、CD4エピトープとなる抗原 (KLH: keyhole limpet hemocyanin, 破傷風毒素など) の添加+アジュバントとしてのIL-2の投与の追加 ($p=0.002$)、腫瘍溶解液よりはペプチドを抗原として免疫すること ($p=0.03$) であった。成熟樹状細胞より未熟な樹状細胞であること ($p=0.08$)、アジュバントとしてIL-2を投与単独 ($p=0.09$) に関しては、有意差はなかったものの、ある程度の傾向で奏功率に相関を認めた。一方で、病期、樹状細胞の

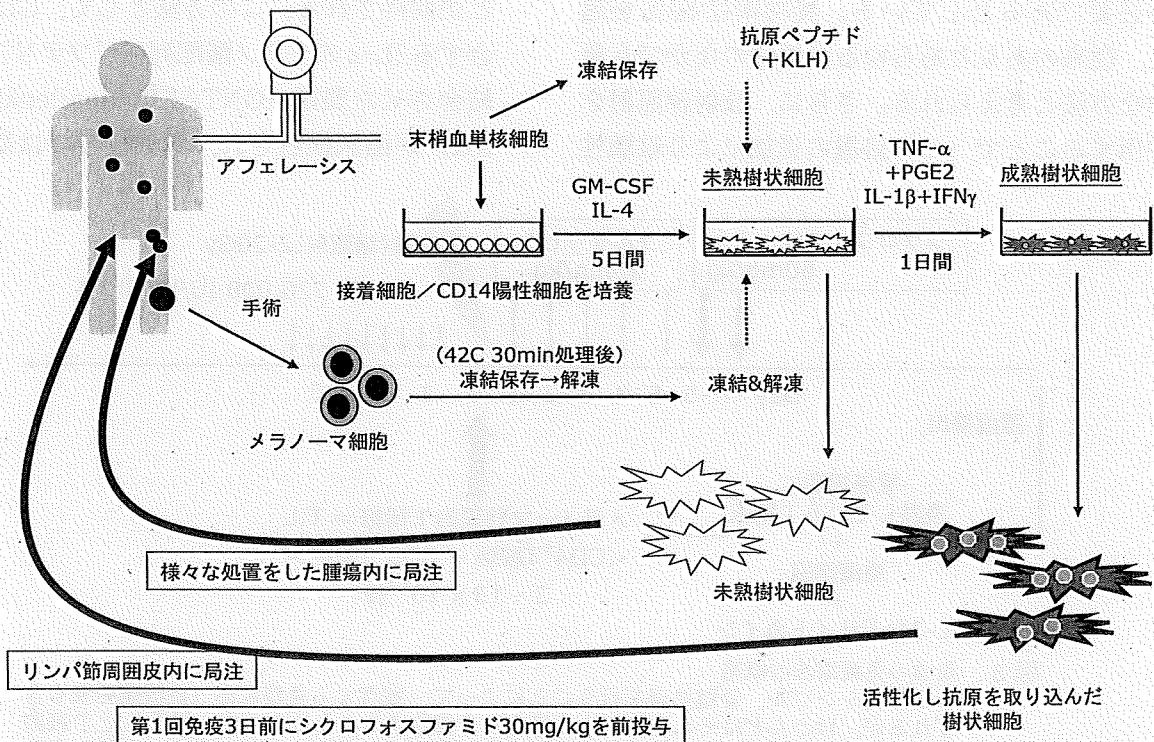


図2. 樹状細胞療法の概略

患者末梢血を選別後、GM-CSF と IL-4 によって未熟樹状細胞に分化させる。通常、腫瘍抗原 (腫瘍細胞の溶解液、または抗原ペプチド) を添加した後、TNF- α を代表とする様々な活性化因子で活性化した後、投与させる。リンパ節周囲の皮内が一般的だが、直接リンパ節へ投与する場合もある。未熟樹状細胞を、様々な腫瘍傷害処置 (放射線、化学療法、凍結、温熱療法) をした後に、直接腫瘍局所に投与する方法も試行されている

培養法，樹状細胞前駆細胞は CD34 陽性のみとするかどうか，投与方法（皮下，皮内，リンパ節内など）は，それらの選択によって奏率が上がるような相関を認めなかった。

最強の免疫療法

この分野の第一人者であるアメリカ国立癌研究所の Rosenberg 博士らは画期的な免疫療法を開発した³⁾。腫瘍内に浸潤していた T 細胞 (TIL) を実験室内で大量に培養・増殖させて，ミニ移植などで用いられる非破壊性骨髄前処置をした患者に輸注後，大量の IL-2 を投与する方法で，高い奏率を認めたと報告した (図3)。この場合の IL-2 は免疫賦活作用を期待するものではなく，高濃度 IL-2 環境下で培養されてきた輸注 TIL が生存するために使用される。TIL のうち CD8 陽性細胞のみを輸注しては効果なく，CD8 陽性細胞と CD4 陽性細胞の両者が必要であるとしている。奏率は 50% を超え，従来のありとあらゆる治療法のなかでも最強な方法と考えられる。さらに，放射線照射を併用することで (この処置の追加により破壊性

骨髄前処置となる)，奏率は 2Gy 追加照射で 52%，12Gy 追加照射で 72% まで向上すると報告している⁴⁾。担癌患者では腫瘍に対する免疫反応を抑制する制御性細胞の活性が上昇しており，骨髄前処置によって，それら細胞が消去されると想定されている。

抗腫瘍免疫の抑制機構

前述のように，免疫機能・ワクチン療法が十分に働かないことに関して，従来から様々な理由が考えられている (表1)。今後は，これら抑制機構の排除，コントロールが免疫療法の大きなテーマになると思われる。

制御性 T 細胞は CD4 陽性 CD25 陽性で，Foxp3 という遺伝子産物 (転写因子) を発現しており，定常状態では自己免疫反応を抑制している。腫瘍免疫においてはこれらの細胞を抑制することによって，ワクチン効果が増強することが期待される。この方法として，CD25 に結合する IL-2 のアミノ酸配列にジフテリア毒素を結合させた製剤 (ONTAK[®]: denileukin diftotox) が臨床検討され，単独投与では期待され

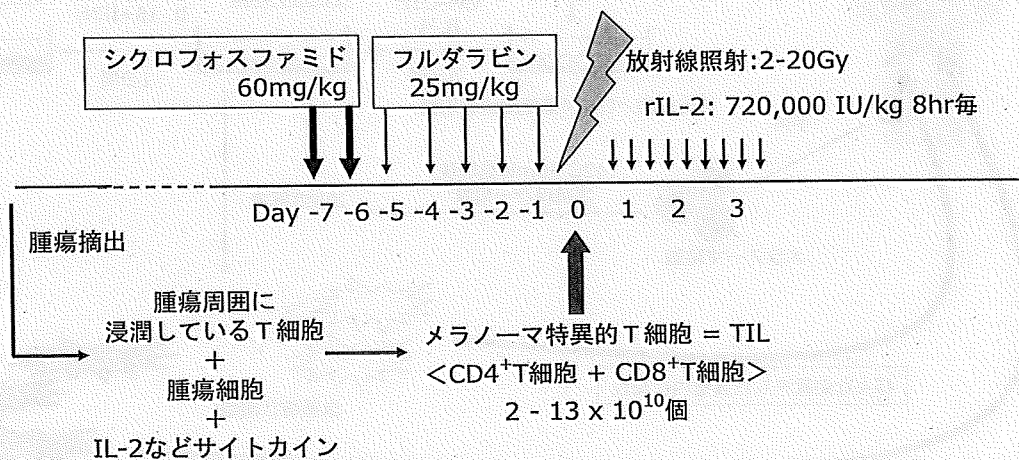


図3. 最強の免疫療法の概略

考え方はシンプル。骨髄処置を行うことによって，残存する免疫反応 (抗腫瘍免疫も含まれるが，ほとんどはそれを抑制する反応) を排除することによって，移入した T 細胞 (TIL) の寿命を延ばすとともに，それらの腫瘍局所への集積も可能とした。当初は大量化学療法のための骨髄非破壊処置としていたが，その後，放射線照射を追加することでさらに奏率が向上した。腫瘍局所へ TIL の集積→局所 IFN の増加→抗原・MHC の発現増強をも誘導し，腫瘍の免疫エスケープの一因である抗原，MHC の発現低下を克服できるため，抗腫瘍効果が高まっている。細胞移入後の IL-2 投与は，移入した TIL のアポトーシス (培養中の高濃度 IL-2 環境下から，体内の低 IL-2 環境へ移動するとアポトーシスを生じる) を抑制するために使用される

表 1. 腫瘍免疫におけるエスケープ機構

- 1) 腫瘍細胞自体が抑制性サイトカインを産生
IL-10, TGF- β , PGE2, Th2 cytokines
- 2) 遺伝子変異などによる抗原・MHC (関連) 分子の発現低下・消失
- 3) CTLA-4 や PD-1 などが関与する免疫抑制性メカニズム
- 4) 制御性 T 細胞の出現, 腫瘍内浸潤
- 5) 腫瘍浸潤マクロファージ (骨髄由来抑制細胞) による免疫抑制・転移促進

た臨床効果はなかったが⁷⁾, 末梢血中の制御性 T 細胞は確実に減少しており, 遅延型過敏反応, 免疫された腫瘍抗原ペプチドに反応する T 細胞数は投与後に増強・増数していたという報告もあり⁸⁾, 可能性は残されている。

抗 CTLA-4 抗体への期待

腫瘍免疫抑制のメカニズムとして CTLA-4 や PD-1 が注目されている。どちらも抗原提示細胞上の B7 分子などに結合し, T 細胞側に増殖抑制など負のシグナルを供給する。これらは通常免疫反応の過剰な暴走を止めるために働いているが, 担癌患者ではしばしばこの負の経路が優位になっている場合が多いとされている。現在有望なのは抗 CTLA-4 抗体で, 制御性 T 細胞の機能にも関連するといわれるこの分子を阻害することで抗腫瘍免疫が活性化することが期待されている⁹⁾。事実, 単独投与でも有効例が報告されており, またペプチドワクチンとの併用療法での初期臨床試験が終了しており, 現在大規模試験が欧米で進行中である¹⁰⁾。副作用の点では, T 細胞免疫を非特異的に活性化すると起こりやすい腸炎 (下痢, 下血) が程度の差はあれ, ほぼ必発する。腸管穿孔をはじめとする重症副作用を併発する例が初期には認められたが, 現在は容量の適正な設定で安全に使用できるようになっている。PD-1 と PD-L1 の結合も同様に負のシグナルを伝えるが, この結合を阻害する製剤がリンパ腫領域で臨床試験され¹⁰⁾, 有効例の報告があり, 今後適応が拡大する可能性がある。

標的細胞の検討

再生医療で脚光を浴びる幹細胞であるが, 癌の領域にも幹細胞 (cancer stem cell) または原始細胞 (initiating cell) が注目されている。癌は, ごく少数の幹細胞の性質を持った細胞から生じると考えられ, その他大勢のがん細胞を治療により撃退しても, がん幹細胞が残れば再発, 転移するという考え方である。幹細胞は, 抗原や MHC などの発現を押さえて, 免疫システムから逃避しているが, 特異的なマーカーを発現している。そのなかには ABCB5, CD133 (Prominin-1), PAX3 などが候補としてあげられており, ABCB5 に関してはこの分子を標的とした免疫療法の効果が期待されている¹¹⁾。一方, 局所で増殖したがん細胞が転移を起こすときに, 上皮-間葉転換 (epithelial mesenchymal transition: EMT) と呼ばれる形質転換を生じることが知られている。この形質転換によってがん細胞自体の性質変化とともに, 免疫抑制を誘導するメカニズムも同時に発動されることが示唆されており, この EMT を誘導する蛋白 (snail, SPARC など) が新たな免疫療法のターゲットとなる可能性がある¹²⁾。

分子標的療法の可能性, 併用

各種悪性腫瘍に対して, その生物学的な発癌メカニズムの解析により, 様々な分子標的療法が開発されている。メラノーマでは, 分化において重要な役割をはたしている *c-kit* に関して, 遺伝子変異は少ないとされていた。しかし, 近

年の詳細な検討により、欧米人に多い表在拡大型では *c-kit* 変異は少なく、BRAF/NRAS の変異が多いのに対して、末端黒子型や粘膜型では、その逆の傾向がみられることが明らかとなった¹³⁾。すなわち、*c-kit* 変異に対し有効性を示すチロシンキナーゼ阻害剤がメラノーマに有効である可能性が出てきた。事実、有効例の報告がある¹⁴⁾が、無効例の報告もあり、症例の選択には、単に *c-Kit* の過剰発現だけではなく、遺伝子変異を確実に検出する必要がありそうである。また、一方でチロシンキナーゼ阻害剤そのものが、Treg や腫瘍関連マクロファージの誘導を抑制し、抑制性サイトカインの産生を抑制し、免疫抑制状態の是正に貢献するという報告¹⁵⁾もあり、今後適応がますます拡大する可能性がある。

まとめ

樹状細胞単独療法における治療効果は限られていることが判明した。Rosenberg らの治療法は魅力的だが、どこでもできる治療ではなく、またリスクも大きい。彼らの成功例をもとに、免疫抑制状態を是正し、メラノーマを克服したいと世界中の臨床医が願っている。

文 献

- 1) Van den Eynde BJ, Boon T: Tumor antigens recognized by T lymphocytes. *Int J Clin Lab Res*, 27: 81-86, 1997
- 2) Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP: Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nat Med*, 10: 909-915, 2004
- 3) Dudley ME, Wunderlich JR, Robbins PF, et al: Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes. *Science*, 298: 850-854, 2002
- 4) Dudley ME, Wunderlich JR, Yang JC, et al: Adoptive cell transfer therapy following non-myeloablative but lymphodepleting chemotherapy for the treatment of patients with refractory metastatic melanoma. *J Clin Oncol*, 23: 2346-2357, 2005
- 5) Nestle FO, Alijagic S, Gilliet M, et al: Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells. *Nat Med*, 4: 328-332, 1998
- 6) Engell-Noerregaard L, Hansen TH, Andersen MH, et al: Review of clinical studies on dendritic cell-based vaccination of patients with malignant melanoma: assessment of correlation between clinical response and vaccine parameters. *Cancer Immunol Immunother*, 58: 1-14, 2009
- 7) Attia P, Maker AV, Haworth LR, et al: Inability of a fusion protein of IL-2 and diphtheria toxin (Denileukin Diftitox, DAB389IL-2, ONTAK) to eliminate regulatory T lymphocytes in patients with melanoma. *J Immunother*, 28: 582-592, 2005
- 8) Mahnke K, Schönfeld K, Fondel S, et al: Depletion of CD4+CD25+ human regulatory T cells in vivo: kinetics of Treg depletion and alterations in immune functions in vivo and in vitro. *Int J Cancer*, 120: 2723-2733, 2007
- 9) Peggs KS, Quezada SA, Korman AJ, et al: Principles and use of anti-CTLA4 antibody in human cancer immunotherapy. *Curr Opin Immunol*, 18: 206-213, 2006
- 10) Dougan M, Dranoff G: Immune therapy for cancer. *Annu Rev Immunol*, 27: 83-117, 2009
- 11) Schatton T, Murphy GF, Frank NY, et al: Identification of cells initiating human melanomas. *Nature*, 451: 345-349, 2008
- 12) Kudo-Saito C, Shirako H, Takeuchi T, et al: Cancer metastasis is accelerated through immunosuppression during Snail-induced EMT of cancer cells. *Cancer Cell*, 15: 195-206, 2009
- 13) Fecher LA, Cummings SD, Keefe MJ, et al: Toward a molecular classification of melanoma. *J Clin Oncol*, 25: 1606-1620, 2007
- 14) Hodi FS, Friedlander P, Corless CL, et al: Major response to imatinib mesylate in KIT-mutated melanoma. *J Clin Oncol*, 26: 2046-2051, 2008
- 15) Ozao-Choy J, Ma G, Kao J, et al: The novel role of tyrosine kinase inhibitor in the reversal of immune suppression and modulation of tumor microenvironment for immune-based cancer therapies. *Cancer Res*, 69: 2514-2522, 2009

EL26—3 皮膚悪性腫瘍のトピックス

化学療法：新しい投与方法

—動注と外用—

師井 洋一

はじめに

化学療法はすべてのがん治療において中心的な役割をはたしている治療法である。近年、血管内治療の適応が広まり、選択的動注化学療法が注目を浴びている。従来から施行されて一般的な肝臓腫瘍に対する治療から、頭頸部、骨盤内、消化器にいたるまでその適応が広がっている。我々は、一期的な手術療法での治療が困難と考えられる SCC 症例を中心に、放射線科の協力のもと、選択的動注化学療法を施行した。症例を供覧するとともに、その長所、問題点を概説する。

また、新規外用治療薬イミキモドは樹状細胞などの免疫担当細胞に作用して局所に大量のインターフェロンを誘導する。現時点では、尖圭コンジローマにのみ適応をもっているが、その作用機序を考えると大きな可能性をもった薬剤である。我々は、数例の前癌病変(汗孔角化症・放射線角化症)に対し、患者さんの同意を得て、イミキモド外用を試行してみた。症例を供覧し、5FU 軟膏との比較や、特別な問題点の少ないこの治療法について紹介する。

選択的動注化学療法

動注化学療法は静脈投与による全身投与に比べ、数倍から数百倍の局所濃度を達成する事が可能で、頭頸部、肝臓を中心に骨盤内、消化管などその適応は拡大している。1970年にはカテーテル技術の向上により、選択的動注化学療法が報告され¹⁾、1992年には頭頸部癌に対する高容量シスプラチン動注療法が極めて高い有効性を示す²⁾と、選択的動注化学療法が広く施行されるようになった。この治療法の利点は、局所制御に優れる事で、皮膚科領域でも再発の可能性の高い症例や、機能的整容的に再建が困難とも考えられる症例など適応は比較的多いと考えられる。

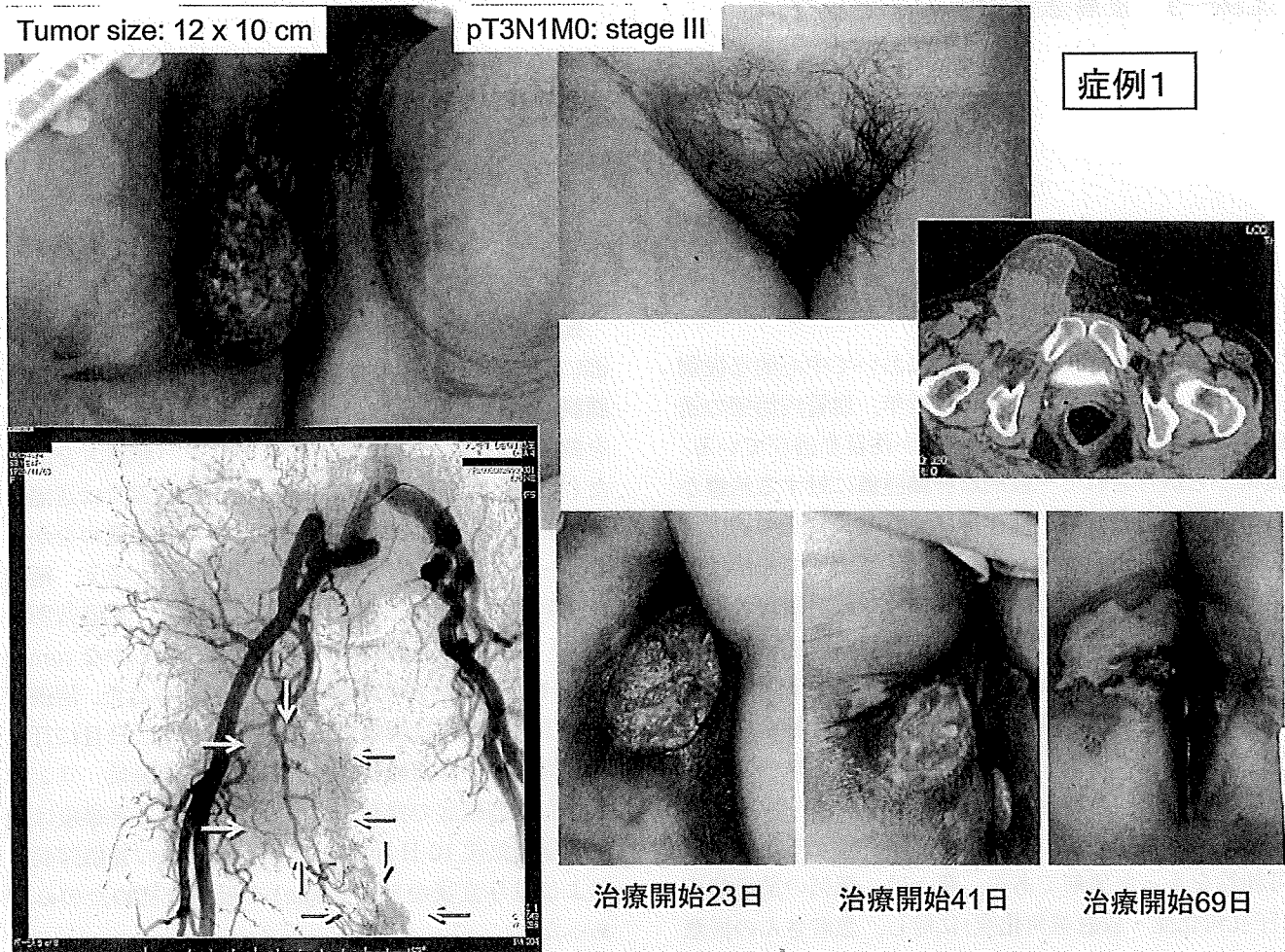
症例を供覧する。症例1：68歳女性。4年前より右臀部に腫瘤が出現、3カ月前より潰瘍化し、右鼠径部にも腫脹が出現。右会陰部に12×10cmの大きな紅色腫瘍を認め、右鼠径部には10cm大のリンパ節腫大を認めた(共に有棘細胞癌 SCC, 図1)。全身検索では遠隔転移、骨盤内リンパ節転移を疑わせる所見を認めなかった。一期的手術では再発の可能性が高いと考え、術前に化学療法と放射線療法の併用を計画し、血管造影検査で、原発巣、転移リンパ節ともに、明らかな tumor stain を認め、動注化学療法可能と判断された。治療開始後100日頃には腫瘍は消失し(図1)、122日目に行った手術での切除組織には病理学的にも原発巣、リンパ節とも腫瘍細胞の残存を認めなかった。有害事象は動注化学療法後10日目前後で grade 3~4 の骨髄抑制、および投与直後からの grade 1 の吐気を認めたのみであった。

動注化学療法の適応は遠隔転移がなく、腫瘍の栄養血管が同定できる症例となっている。皮膚 SCC では pT3 以上(径5cmよりも大きい)の大きな原発巣が対象となりそうである。放射線療法との併用、特に放射線感受性をあげる薬剤(白金製剤、タキサン系など)との併用において、奏率が向上する事が判明している。その他、縮小手術が可能になり、QOL 低下を最小限にとどめること(顔面部の変形、四肢の切断、肛門周囲の人工肛門造設等)、腫瘍の活動性を低下させ、手術中の腫瘍播種を抑制することなどが利点としてあげられる。欠点は、放射線治療+手術となるため、治療期間が長期となり、数カ月から半年となる場合もある。また、治療の影響で、切除後の肉芽形成が遷延し、植皮術まで2カ月要した症例もあった。

イミキモド外用

イミキモド imiquimod はイミダゾキノリン類に属する低分子化学合成物質であり、樹状細胞などに発現している Toll like receptor (TLR)-7 に直接結合し、シグナルを伝えることによって、様々なサイトカインを誘導し自然免疫を活性化する。本邦では平成19年末、

九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野
著者連絡先：(〒812-8582)福岡市東区馬出3-1-1
九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 師井 洋一



症例1

図 1

症例1：68歳女性。右会陰部の12×10cm紅色腫瘍と右鼠径部の10cm大のリンパ節腫大。血管造影で明らかな tumor stain (→) を2カ所(上：リンパ節，下：原発巣)認め、放射線併用，動注化学療法を施行した。放射線療法としてX線：61Gy(前後対向二門)，電子線：8Gy(前一門)，total = 69Gy。動注化学療法：CA療法：CDDP 65mg/m² + DXR 30mg/m² one shot, 第1回 day 11, 第2回 day 51。外陰部動脈分岐直前の main feeder と内陰部動脈へ1:1で注入。治療開始後，腫瘍は急速に縮小し，100日頃には腫瘍は消失し，122日に行った手術での切除組織には病理学的にも原発巣，リンパ節とも腫瘍細胞の残存を認めなかった。有害事象は，予想されたもので，軽度であった。

ベセルナクリーム5%®として尖圭コンジローマ治療薬として販売開始された。その特徴的な作用機序から，コンジローマの他，表在型基底細胞癌，日光角化症，ボーエン病など表在性の皮膚悪性腫瘍でも有効性が認められつつある。事実，欧米では表在型基底細胞癌，日光角化症が適応疾患として追加承認されている。

われわれも日光角化症における有効例を経験しているが，その他の疾患に対するイミキモド有効例を紹介する。症例2は64歳男性。10年前より左前額部に環状

紅斑。徐々に拡大。生検で汗孔角化症の診断。ステロイド，ビタミンD3，トレチノイン外用や，Q-switchルビーレーザー治療にも軽快せず。同意を得た上で，5%イミキモドクリームを週3回，就寝前に外用し，翌朝洗顔していただいた(図2上)。外用開始2週間にはびらんとなり，血痂を付着していた。ヒリツキはあるものの外用続行には問題なかった。外用は4週間で終了し，その2週間後には上皮化した。治療終了2年経過するが，再発は認めない。