

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：秋野 幸

専攻分野：皮膚科学

指導教授：門野 岳史

主論文の題目：
悪性黒色腫における BRAF/MEK 阻害薬の免疫学的影響

共著者：

岡野 達郎、宮垣 朝光、玉置 真弓、門野 岳史

緒言

悪性黒色腫は、皮膚由来の悪性腫瘍の中でも特に予後不良な腫瘍であり、近年、日本人の悪性黒色腫の 20-30%に BRAF 遺伝子変異が認められることが明らかとなった。これに基づき BRAF および MEK 阻害薬の併用が臨床応用されるようになった。これらの併用療法は発熱や CRP 上昇を中心とした副作用が高頻度にみられ、機序は未解明だがサイトカインの変動が関与しているとされている。また、BRAF/MEK 阻害薬は免疫細胞にも作用することが報告されていることから、今回我々は BRAF/MEK 阻害薬がヒトおよびマウスリンパ球に及ぼす影響を解析し、当院での後方視的臨床データから治療に伴う炎症性マーカーの変動との関連について検討した。

方法・対象

2016 年 6 月から 2025 年 3 月に当院皮膚科で BRAF/MEK 阻害薬である dabrafenib+trametinib (DT) または encorafenib+binimetinib (EB) を投与された悪性黒色腫患者 14 名を対象に、治療開始前と開始 1、2、4 週後の血液検査データを後方視的に解析した。また、マウス脾臓リンパ球に MEK 阻害薬単剤 (trametinib) または BRAF/MEK 阻害薬 (dabrafenib+trametinib) を、健常ヒトリンパ球に MEK 阻害薬単剤 (trametinib) または BRAF/MEK 阻害薬 (dabrafenib+trametinib、encorafenib+binimetinib) を添加し mRNA 産生の変化を網羅的に解析した。さらに、ヒトリンパ球に MEK 阻害薬単剤 (trametinib) または BRAF/MEK 阻害薬 (dabrafenib+trametinib、encorafenib+binimetinib) を加えて培養した上清から ELISA を行い TNF- α 、IL-6、IL-10、IL-4 のサイトカイン濃度の変化を検討した。

統計は Mann-Whitney U 検定または Wilcoxon 符号付順位検定を経て Holm 法にて多重比較補正を行い、ELISA においては Kruskal-Wallis 検定を経て Steel-Dwass 法にて多重比較補正を行なった。統計的有意差は p 値が 0.05 未満と定義した。

本研究は聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会の承認（承認：6908 号）および聖マリアンナ医科大学動物実験委員会の承認（承認：2402006 号）を得たものである。

結果

後方視的研究では、BRAF/MEK 阻害薬を投与した全体群および、DT 群のすべての時点で治療前と比較し CRP 値が有意に上昇していた ($p<0.05$)。D-dimer、白血球数、好中球数については有意な変化はみられなかったが、リンパ球数は DT 群において治療開始後早期に有意に増加した ($p<0.05$)。

健常ヒトリンパ球およびマウスリンパ球に MEK 阻害薬単剤または BRAF/MEK 阻害薬を添加した際の遺伝子発現解析では、マウスでは IL-6、IL-18 が、ヒトでは IL-6 受容体、TLR4 の増加がみられた一方、TNF- α の発現は抑制されていた。また、ヒトとマウスに共通して全ての群で発現が上昇していたのは CXCL16、GADD45B、PIK3CG であった。ELISA では、TNF- α 産生が減少した。IL-6 産生はわずかながら低下し、IL-10 の産生が増加したが、いずれも対照群と各治療群との間に有意差はみられず、IL-4 は全例で検出限界未満であった。

考察

後方視的研究では、治療開始後に CRP 値の上昇を有意に認め、リンパ球数が治療早期に有意に上昇したことから、BRAF/MEK 阻害薬が炎症を惹起する方向に働き、発熱や CRP 上昇をもたらすことを示唆した。

マウスおよびヒトリンパ球を用いた網羅的遺伝子発現解析では、マウスでは IL-6、IL-18 が、ヒトでは IL-6 受容体、TLR4 の増加がみられ、IL-6 に関連する遺伝子が発現上昇したことから、IL-6 の経路を中心とする遺伝子の変動が炎症を惹起する可能性が考えられた。また、TNF- α はマウス・ヒト共通して発現低下しており、BRAF/MEK 阻害薬による発熱に TNF- α は関与しないと考えた。マウスとヒトに共通して発現した CXCL16、GADD45B は炎症性サイトカインと関連しており、BRAF/MEK 阻害薬による炎症や発熱への関与が示唆された。

結論

BRAF/MEK 阻害薬は臨床においては CRP 上昇といった炎症を惹起し、マウスおよびヒトリンパ球を用いた *in vitro* の実験からは、IL-6 の経路を中心とする遺伝子の変動が炎症の惹起に関与する可能性が示唆された。