

綜 説

メラノーマ研究の最近の進歩

高 田 実

信州大学医学部皮膚科学教室

Recent Advances in Melanoma Research

Minoru TAKATA

Department of Dermatology, Shinshu University School of Medicine

Key words: melanoma, epidemiology, ultraviolet light, oncogene mutation, gene amplification

悪性黒色腫, 疫学, 紫外線, 癌遺伝子変異, 遺伝子増幅

はじめに

メラノーマはすべての皮膚癌の4%を占めるに過ぎないが、皮膚癌による死亡の80%はメラノーマによる¹⁾。欧米では近年患者数が急激に増加しており、その予防や治療に対する社会的な関心が高い。本稿でははじめにメラノーマの疫学と病型分類について簡単に触れ、次いでその分子発癌機序に関する最近の研究の進歩を紹介したい。

I メラノーマの疫学

メラノーマは人種間で著明な発生頻度の差があり、またその好発部位も著しく異なる。人口10万人あたりのおよその年間患者発生数は、白人で15、日本人2、黒人では0.5と見積もられている²⁾。この発生頻度の差は皮膚のメラニン色素量の違いによる。白人は皮膚のメラニン色素量が少ないために、日光紫外線によるメラノーマの発生が有色人種に比較して極端に多い。

しかし、紫外線とメラノーマの発生の関係は単純ではない。メラノーマは体幹や四肢の近位部などの被覆部にも多数生ずる³⁾ (表1)。また、戸外労働者よりもホワイトカラーにおける発生率が高い。これらの疫学的事実から、メラノーマの発生には持続的、蓄積的な紫外線暴露よりもむしろ特に小児期における間歇的な

強い日焼けが重要な危険因子と考えられている⁴⁾。すなわち、メラニン色素量が少ない白人がバカンスなどで被覆部を露出し、強く日焼けすることが問題のようである。近年、欧米ではメラノーマの発生率が急増し、社会問題となっている⁵⁾。これは、オゾン層の破壊による紫外線量の増加とともに、肌を露出する衣服の着用や、余暇を紫外線の強いリゾート地で過ごすという近代の生活様式の変化も重要な役割を演じているものと考えられる。

一方、有色人種では、メラノーマの発生に対する紫外線の関与は少ない⁶⁾。表1に示すように、日本人のメ

表1 メラノーマの部位別発生率

部位	日本人*	白人**
顔・頭頸部	164 (14%)	130 (20%)
体幹 (臀部を含む)	153 (13%)	292 (44%)
上肢	58 (5%)	130 (20%)
手・手指・爪部	164 (15%)	5 (0.7%)
外陰部	19 (2%)	0
下肢	139 (12%)	85 (13%)
足背・趾背	75 (7%)	14 (2%)
足底・足趾・爪部	368 (32%)	4 (0.6%)
合計	1,140	660

* 文献7)より引用

** 文献3)より引用

別刷請求先: 高田 実 〒390-8621

松本市旭3-1-1 信州大学医学部皮膚科学教室

メラノーマもその過半数が掌蹠、手足の爪、外陰部などの紫外線の当たらない部位に発生している⁷⁾。肢端部のメラノーマ患者の発生数はすべての人種においてほぼ一定であり、人種間の差はない⁸⁾。日本人では紫外線の関与する体幹・四肢のメラノーマが白人に比べて圧倒的に少ないために、相対的に肢端部のメラノーマの頻度が高くなるものと考えられる。

II メラノーマの病型分類

Clark ら⁹⁾はメラノーマを臨床病理学的特徴により悪性黒子型、表在拡大型、肢端黒子型、結節型の4型に分類した(図1, 表2)。結節型以外の病型にはそれぞれ好発部位があり、悪性黒子型は頭頸部に、表在拡大型は体幹・四肢に多く、肢端黒子型は掌蹠と爪部に発生する。表2に示すように、日本人と白人の病型別頻度には顕著な差異が認められるが、このことは日本人と白人のメラノーマの好発部位が異なることを考えれば容易に理解できる。

当初、この病型分類は予後と相関するとされ、結節

型が最も予後が悪く、表在拡大型と肢端黒子型がこれに次ぎ、悪性黒子型が最も予後が良いとされた。すなわち Clark らの分類はメラノーマの生物学的多様性も反映すると考えられてきた。その後、しかし、原発腫瘍の浸潤度、すなわち tumor thickness を揃えれば、病型間で予後の差がないことが明らかにされた。また、4つの病型のいずれにも分類することができない症例も確かに存在する。これらの事実を根拠に Ackerman と David¹⁰⁾は“melanoma unifying concept”を提唱し、この Clark らの病型分類の意義を否定している。Ackerman はメラノーマには Clark らの分類のような臨床病理学的な多様性があることは認めながらも、それはメラノーマの生物学的多様性を反映するのではなく、単にその発生部位の解剖学的特徴により生じたものとした。このメラノーマの病型分類の妥当性に関する長年の論争は未だ決着をみていないが、最近の分子生物学的研究はこの問題点に関して極めて興味深い成績を得ている。

Curtin ら¹¹⁾は126例のメラノーマの原発腫瘍を紫外

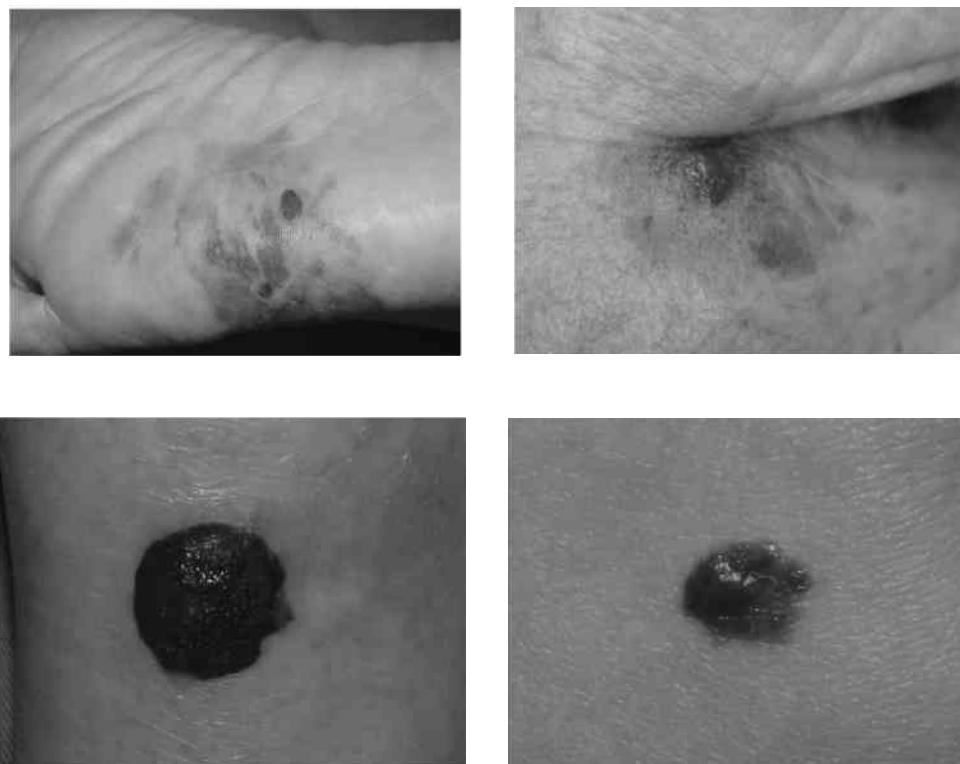


図1 メラノーマの4病型の臨床像

肢端黒子型 (左上): 足底の大型, 不整形色素斑。着色の濃淡が顕著。

悪性黒子型 (右上): 高齢者の顔面の色素斑と小結節。

結節型 (左下): 色素斑を伴わない黒色結節。

表在拡大型 (右下): 膝内側の色素斑と結節。

表2 黒色腫の病型とその疫学的, 病理学的特徴

病型	主な発生部位	臨床的特徴	病理組織学的特徴	相対頻度	
				日本人	白人
表在拡大型	体幹・四肢	若年発症 色素細胞母斑 の多発	表皮肥厚を伴い表皮の全層に類上皮細胞型腫瘍細胞の増殖。通常, 真皮の日光性弾力線維変性を伴わない。	17 %	70 %
悪性黒子型	頭頸部	高齢発症 日光角化症の 合併が多い	萎縮した表皮の基底層を中心に短紡錘形腫瘍細胞が増殖。真皮に強い日光性弾力線維変性を伴う。	8 %	5 %
肢端黒子型	掌蹠・爪部	高齢発症 人種間で発生 数に差はなし	肥厚した表皮の下層を中心に紡錘形腫瘍細胞が増殖。	49 %	10 %
結節型	好発部位なし	特徴なし	表皮内異型メラノサイトの増殖が結節に隣接した表皮突起3個以内に限局	26 %	15 %

表3 メラノーマの発生部位と遺伝子異常*

発生部位	主な病型	<i>BRAF</i> / <i>NRAS</i> 変異	染色体異常*
慢性紫外線障害の認められる有毛部皮膚	表在拡大型	59 % / 22 %	6p, 7, 8q, 17q, 20q のコピー数増加 9p, <u>10</u> , 21q のコピー数減少
慢性紫外線障害の認められない有毛部皮膚	悪性黒子型	11 % / 15 %	6p, 11q13, 17q, 20q のコピー数増加 6q, 8p, 9p, 13, 21q のコピー数減少
掌蹠および爪部	肢端黒色腫	23 % / 10 %	<u>6p</u> , 7, 8q, 17q, 20q のコピー数増加 5p15, 5p13, <u>11q13</u> , 12q14の増幅 6q, 9p, <u>10</u> , 11q, 21q のコピー数減少
粘膜	分類不能	11 % / 5 %	<u>1q</u> , <u>6p</u> , 7, 8q, <u>11q13</u> , 17q, 20q のコピー数増加 1q31, 4q12, <u>12q14</u> の増幅 <u>3q</u> , 4q, 6q, <u>8p</u> , 9p, <u>10</u> , 11p, 11q, 21q のコピー数減少

* 文献11) より引用

** 下線は特に頻度の高い異常

線暴露の程度により①慢性紫外線障害の認められる有毛部皮膚発生例(ほとんどが悪性黒子型)②慢性紫外線障害の認められない有毛部皮膚発生例(ほとんどが表在拡大型)③手掌, 足底および手足の爪部発生例(ほとんどが肢端黒子型, 少数の表在拡大型を含む)④粘膜黒色腫の4群に分け, Array CGH法による遺伝子コピー数の網羅的解析と*NRAS*および*BRAF*遺伝子変異の解析を行っている。その結果, 4群のメラノーマの遺伝子異常には明らかな差異が認められ, 紫外線暴露の程度に関連してメラノーマには複数の異なる発癌経路が存在することが示唆された(表3)。この成績からはClarkらの病型分類の妥当性が支持されるが, Curtinらのメラノーマのグループ分けとClarkらの病型分類は完全には一致しておらず, 例え

ば, 第3群の肢端および爪部のメラノーマ36例には5例の表在拡大型黒色腫が含まれている。したがって, メラノーマの発生部位と臨床病理学的特徴の関連性を指摘したAckermanの学説¹⁰⁾もある意味では正しいといえる。いずれにしても, メラノーマには遺伝子異常の観点からも多様性が存在することは疑いのない事実であり, それはメラノーマの分子発癌経路の解明や新しい治療法の開発に重要な意味を持つ。

III 表在拡大型黒色腫の発生における 遺伝的因子と環境発癌因子

慢性紫外線障害の認められない体幹・四肢の間歇的露光部に発生するメラノーマはそのほとんどが表在拡大型で, これらには高頻度に*BRAF*遺伝子変異が検

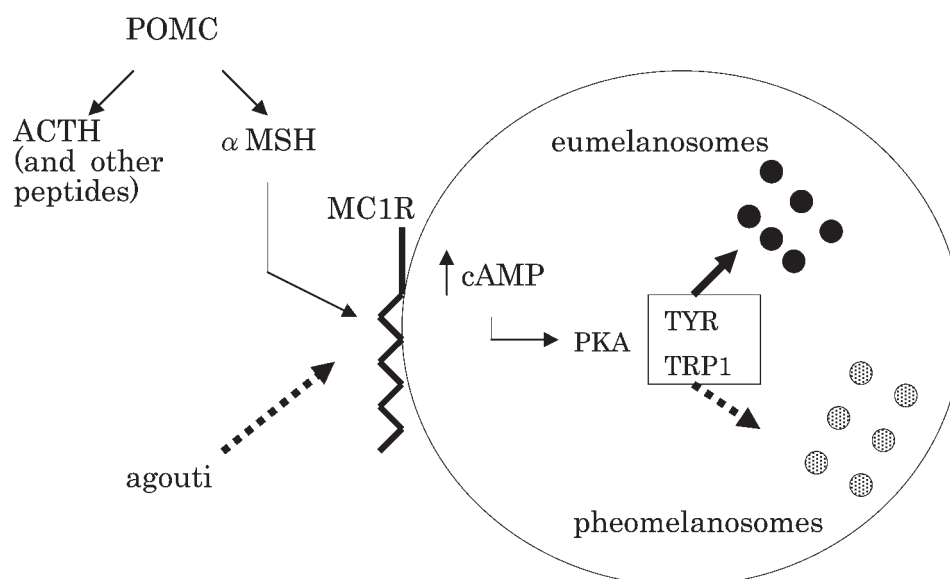


図2 メラノサイトにおける MC1R 受容体と細胞内のシグナル伝達 (文献14より引用)
Proopiomelanocortin (POMC) 由来の α -MSH の結合によりチロジナーゼ (TYR) およびチロジナーゼ関連
蛋白 1 (TRP1) の酵素活性が高まり、ユーメラニンの合成が増加する。一方、Agouti シグナル蛋白は負の制御を行う。

出される¹¹⁾ (表 2, 3)。検出される BRAF 遺伝子変異の95%以上はコドン600における T→A 塩基置換で、この点突然変異によりコドン600のアミノ酸はヴァリンからグルタミン酸へ置換される¹²⁾。このグループのメラノーマは、白人のメラノーマの大多数を占め、比較的若年に発症し、持続的な露光よりもむしろ間断的な露光による強い日焼けが発症の危険因子となっている⁴⁾。したがって、表在拡大型黒色腫における高頻度の BRAF 遺伝子変異の獲得には、白人に特有の感受性因子が関与している可能性が高い。ごく最近、Landiら¹³⁾はこの感受性因子のひとつが melanocortin-1 受容体 (MC1R) であることを明らかにした。

MC1R は G 蛋白結合受容体であり、紫外線暴露により分泌される α -メラノサイト刺激ホルモン (α -MSH) が結合すると、cyclic AMP の合成や転写因子である microphthalmia-associated transcriptional factor (MITF) のリン酸化を介して黒色のユーメラニンの合成を促進する (図 2)。白人の MC1R 遺伝子は著しい多形を示し、その多くは MC1R の機能低下や消失を来す。両側の対立アレルがいずれも MC1R の機能消失性変異を示す人々では、ユーメラニンの産生が著しく減少し、赤黄色のフェオメラニンの比率が高くなる。その結果、赤毛や日焼けしやすくソバカス様小色素斑の多発する白い皮膚という北欧の白人に多くみられる特有の表現型を示す。さらに、MC1R は

ケラチノサイト、血管内皮細胞、肥満細胞、線維芽細胞、脂肪細胞などメラノサイト以外の皮膚の細胞にも広く発現しており、その遺伝子多形は皮膚や毛の色などの表現型とは独立したメラノーマ発症の危険因子でもあることが示されている¹⁴⁾。

Landi ら¹³⁾によれば、対立アレルの両方に MC1R 遺伝子の機能低下または消失を来す多形を有する人は、野生型の人に比べてメラノーマ発症のオッズ比は17.0と極めて高く、発症したメラノーマの80%以上が BRAF 遺伝子の変異を有する。すなわち、MC1R 遺伝子多形という特定の遺伝的素因が、慢性紫外線障害の認められない有毛部皮膚に好発し BRAF 遺伝子変異を高率に示すという臨床的・分子生物学的特徴を有する一群のメラノーマの発生に密接に関わっていることが明らかにされたわけである。

MC1R の多形がこのような BRAF 遺伝子に特定の変異を引き起こす機序は明らかではないが、MC1R の機能の消失や低下によりユーメラニンの産生が減少し、フェオメラニンが優位となることが重要な役割を演じていることは間違いない。メラニン色素には功罪両面があり、ユーメラニンは紫外線による DNA 損傷を防ぐが、フェオメラニンは紫外線暴露により活性酸素を産生し細胞障害性に働く¹⁵⁾。したがって、フェオメラニンが優位のメラノサイトが紫外線に暴露されることで細胞内に増加した活性酸素が直接的に BRAF

遺伝子のコドン600におけるT→A塩基置換を起こしている可能性が考えられる¹³⁾。

疫学的研究により多くの癌で環境発癌因子が同定されているが、癌細胞の有する遺伝子異常は多彩であり発癌因子との関係は必ずしも明確ではない。本研究は、癌細胞の遺伝子異常の多様性の背景に特定の環境発癌因子の影響を受けやすい患者自身の遺伝的素因が介在することを初めて示した画期的なものといえる。

IV 肢端黒色腫の特異な遺伝子異常

白人とは異なり、日本人では間歇的露光部に発生する表在拡大型黒色腫は少なく、肢端黒色腫が全黒色腫の約半数を占めている⁷⁾。すでに述べたように、この病型のメラノーマの発生数はすべての人種においてほぼ一定であり、人種間の差はない⁸⁾。したがって、表在拡大型黒色腫とは異なり、肢端黒色腫の発生には人種間の遺伝的背景の差異は関与しないと考えられる。肢端黒色腫の発生に関与する発癌因子は明らかではないが、足底や爪部のメラノーマでは腫瘍発生部位への外傷の既往が稀ならず認められることは注目に値する¹⁶⁾。

表3に示すように、肢端黒色腫は表在拡大型黒色腫とは異なり、BRAF および NRAS 遺伝子変異が少ない¹¹⁾。さらに、11q13, 5p15, 5p13, 12q14など特定の染色体領域の遺伝子増幅を高頻度に示す¹¹⁾¹⁷⁾。粘膜黒色腫も遺伝子増幅を高頻度に示すが、12q14以外は増幅がみられる染色体領域が異なる¹¹⁾。11q13および12q14にはそれぞれ細胞周期の制御因子である cyclin D1 と cyclin-dependent kinase 4 (CDK4) が、5p15には細胞の不死化を司る human telomerase reverse transcriptase (hTERT) が存在しており、これらが肢端黒色腫の癌遺伝子として働いていることが強く示唆される。さらに、興味深いことに、これらの遺伝子増幅は肢端黒色腫の初期病変である表皮内病巣や、病理組織学的にメラノサイトの異型性や異常増殖がまだ明らかでないさらに早期の病変からも検出される¹⁸⁾¹⁹⁾。遺伝子増幅は一般に癌の進展段階の後期に出現することが多いので、このように発癌の早期から特定の遺伝子の増幅を示す肢端黒色腫は極めて特異な癌といえる。

V 肢端黒色腫における mitogen-activated protein kinase (MAPK) シグナル経路の活性化

すでに述べたように白人に多い表在拡大型黒色腫ではBRAFおよびNRAS遺伝子変異によるMAPKシグ

ナル経路の活性化が高頻度に認められるので、進行期黒色腫の新しい治療法としてMAPK経路を標的としたシグナル伝達阻害剤が注目されている。特にRAF蛋白の阻害剤であるBAY43-9006 (Sorafenib) は白金製剤やタキサン系抗がん剤との併用で優れた抗腫瘍効果が認められ、現在欧米で第III相の臨床試験が行われている²⁰⁾。他方、日本人に多い肢端黒色腫はBRAF および NRAS 遺伝子変異が少ないので、MAPKシグナル阻害剤の適応となりうるかは不明であった。しかし、肢端黒色腫の臨床検体をWestern blot法で検討した最近の研究では、MAPK経路活性化の指標であるリン酸化ERK蛋白の発現が14例中11例(79%)に認められた²¹⁾。この成績から、肢端黒色腫では恐らくRASSF1AなどのMAPK経路の抑制因子の不活性化²²⁾や野生型BRAF蛋白の過剰発現²³⁾などBRAF および NRAS 遺伝子変異以外の機序によりMAPK経路が活性化されていることが示唆された。なお、リン酸化ERK蛋白が検出されなかった3例ではいずれもCyclin D1 遺伝子の増幅または蛋白の過剰発現が認められており、MAPK経路の下流標的分子の過剰発現が相補的にERK蛋白のリン酸化と同様の効果をもたらしている可能性が考えられた²¹⁾。本研究の成績は、肢端黒色腫に対するMAPKシグナル阻害剤治療の論理的根拠を与えるものであり、本邦においても今後の臨床試験に向けた取り組みが期待される。

VI 新しい肢端黒色腫細胞株 SMYM-PRGP の樹立と解析

肢端黒色腫の分子異常をさらに詳細に解明するためには細胞株を用いた研究が不可欠であるが、肢端黒色腫の樹立細胞株は世界的にみてもごく少数しか存在しない。筆者らは足底に発生した黒色腫の斑状病巣から新しい細胞株SMYM-PRGPを樹立した。この細胞株は発癌の早期段階である表皮内黒色腫の生物学的性状を有しており、ヌードマウスにおける造腫瘍性はなく、ケラチノサイトの産生するメラノサイト増殖因子のひとつであるエンドセリン-1 (ET-1) による強い増殖依存性を示す。遺伝子解析ではBRAF および NRAS遺伝子はいずれも野生型であり、array CGH解析で5p15 および 11q13に局限した遺伝子増幅が認められた。さらに、FISH法によりCyclin D1 (11q13) とhTERT (5p15) の遺伝子増幅が確認された。一方、RT-PCR法による解析ではstem cell factor (SCF),

c-Kit, ETA 受容体および ETB 受容体の発現が認められた。さらに ETA および ETB 受容体の阻害剤を用いた実験により, SMYM-PRGP は ETB 受容体を介した増殖シグナルを用いていることが明らかにされた。以上の成績から, この細胞株では SCF/c-Kit 受容体の autocrine loop によりその生存が維持され, ET1/ETB 受容体を介するシグナル経路により強い増殖が誘導されることが示唆された。このように, SMYM-PRGP は正常メラノサイトの性質を残しつつも肢端黒色腫に特徴的な遺伝子異常を示す極めて興味深い細胞株であり, 肢端黒色腫の分子発癌経路の解明に役立つことが期待される。

おわりに

メラノーマをはじめとする皮膚癌は, 発癌の極めて早期段階から病変を肉眼的に認識できること, 紫外線という強力な環境発癌因子がその発症に関与することなど, 他臓器の癌には認められないユニークな特徴を有する。皮膚癌の発癌過程の分子レベルにおける解明は, 癌研究全般に様々な示唆を与えるであろう。

謝 辞

本研究は厚生労働省がん研究助成金 (15-10) の補助を受けた。共同研究者の信州大学医学部皮膚科, 斎田俊明教授および村田 浩, 芦田敦子, 後藤康文, 中藤奈美, 山浦麻貴の各氏に感謝いたします。

文 献

- 1) Miller AJ, Mihm MC Jr : Melanoma. *N Engl J Med* 355 : 51-65, 2006
- 2) Berwick M, Halpern A : Melanoma epidemiology. *Curr Opin Oncol* 9 : 178-182, 1997
- 3) Elwood JM, Gallagher RP : Body site distribution of cutaneous malignant melanoma in relationship to patterns of sun exposure. *Int J Cancer* 78 : 276-280, 1998
- 4) Elwood JM, Jopson J : Melanoma and sun exposure : an overview of published studies. *Int J Cancer* 73 : 198-203, 1997
- 5) Berwick M, Wiggins C : The current epidemiology of cutaneous malignant melanoma. *Front Biosci* 11 : 1244-1254, 2006
- 6) Eide MJ, Weinstock MA : Association of UV index, latitude, and melanoma incidence in nonwhite populations- US Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program, 1992 to 2001. *Arch Dermatol* 141 : 477-481, 2005
- 7) Ishihara K, Saida T, Yamamoto A : Updated statistical data for malignant melanoma in Japan. *Int J Clin Oncol* 6 : 109-116, 2001
- 8) Stevens NG, Liff JM, Weiss NS : Plantar melanoma : is the incidence of melanoma of the sole of the foot really higher in blacks than whites ? *Int J Cancer* 45 : 691-693, 1990
- 9) Clark WH Jr, Elder DE, Van Horn M : The biologic forms of malignant melanoma. *Hum Pathol* 17 : 443-450, 1986
- 10) Ackerman AB, David KM : A unifying concept of malignant melanoma : biologic aspects. *Hum Pathol* 17 : 438-440, 1986
- 11) Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H, Cho KH, Aiba S, Brocker EB, LeBoit PE, Pinkel D, Bastian BC : Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med* 353 : 2135-2147, 2005
- 12) Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, Teague J, Woffendin H, Garnett MJ, Bottomley W, Davis N, Dicks E, Ewing R, Floyd Y, Gray K, Hall S, Hawes R, Hughes J, Kosmidou V, Menzies A, Mould C, Parker A, Stevens C, Watt S, Hooper S, Wilson R, Jayatilake H, Gusterson BA, Cooper C, Shipley J, Hargrave D, Pritchard-Jones K, Maitland N, Chenevix-Trench G, Riggins GJ, Bigner DD, Palmieri G, Cossu A, Flanagan A, Nicholson A, Ho JW, Leung SY, Yuen ST, Weber BL, Seigler HF, Darrow TL, Paterson H, Marais R, Marshall CJ, Wooster R, Stratton MR, Futreal PA : Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 417 : 949-954, 2002
- 13) Landi MT, Bauer J, Pfeiffer RM, Elder DE, Hulley B, Minghetti P, Calista D, Kanetsky PA, Pinkel D, Bastian BC : MC1R germline variants confer risk for BRAF-mutant melanoma. *Science* 313 : 521-522, 2006
- 14) Rees JL : The melanocortin 1 receptor (MC1R) : more than just red hair. *Pigment Cell Res* 13 : 135-140, 2000
- 15) Agar N, Young AR : Melanogenesis : a photoprotective response to DNA damage ? *Mutat Res* 571 : 121-132, 2005

- 16) Saida T : Recent advances in melanoma research. *J Dermatol Sci* 26 : 1-13, 2001
- 17) Bastian BC, Olshen AB, LeBoit PE, Pinkel D : Classifying melanocytic tumors based on DNA copy number changes. *Am J Pathol* 163 : 1765-1770, 2003
- 18) Bastian BC, Kashani-Sabet M, Hamm H, Godfrey T, Moore DH 2nd, Brocker EB, LeBoit PE, Pinkel D : Gene amplifications characterize acral melanoma and permit the detection of occult tumor cells in the surrounding skin. *Cancer Res* 60 : 1968-1973, 2000
- 19) Yamaura M, Takata M, Miyazaki A, Saida T : Specific dermoscopy patterns and amplifications of the cyclin D1 gene to define histopathologically unrecognizable early lesions of acral melanoma in situ. *Arch Dermatol* 141 : 1413-1418, 2005
- 20) Strumberg D : Preclinical and clinical development of the oral multikinase inhibitor sorafenib in cancer treatment. *Drugs Today (Barc)* 41 : 773-784, 2005
- 21) Takata M, Goto Y, Ichii N, Yamaura M, Murata H, Koga H, Fujimoto A, Saida T : Constitutive activation of the mitogen-activated protein kinase signaling pathway in acral melanomas. *J Invest Dermatol* 125 : 318-322, 2005
- 22) Spugnardi M, Tommasi S, Dammann R, Pfeifer GP, Hoon DS : Epigenetic inactivation of RAS association domain family protein 1 (RASSF1A) in malignant cutaneous melanoma. *Cancer Res* 63 : 1639-1643, 2003
- 23) Tanami H, Imoto I, Hirasawa A, Yuki Y, Sonoda I, Inoue J, Yasui K, Misawa-Furihata A, Kawakami Y, Inazawa J : Involvement of overexpressed wild-type BRAF in the growth of malignant melanoma cell lines. *Oncogene* 23 : 8796-8804, 2004

(H 18. 9. 4 受稿)
