

# 使用树突状细胞疗法（DC 疗法）等替代疗法治疗犬口腔内恶性黑色素瘤（口腔黑色素瘤），治疗过程良好的一例

伊藤宏泰（KAMO 动物医院：东广岛市）

## 前言

恶性黑色素瘤是犬口腔内恶性肿瘤中发生率最高、转移病灶形成率高的恶性肿瘤，1 年生存率在 35% 以下，多数预后差。虽然，放射线疗法对恶性黑色素瘤有效，但大多数病例会形成转移病灶，生存期中间值为 7 ~ 8 个月。单独使用化学疗法时，几乎没有效果，而外科手术由于涉及范围广，大多数的宠物主人对此感到为难。肿瘤的 3 大疗法对犬口腔黑色素瘤的治疗效果都不理想。

对于肿瘤患者的治疗，我院积极采用辅助替代疗法，并取得了良好成绩。此次，对于犬口腔内恶性黑色素瘤Ⅲ期（WHO）的病例，采用了树突状细胞疗法、温热疗法、羽扇豆醇、冬虫夏草进行治疗，治疗开始两个月后，肿瘤消失，之后的 6 个月（2013 年 2 月底）未发现复发。此次治疗取得了良好疗效，故作为病例报告。

## 病例

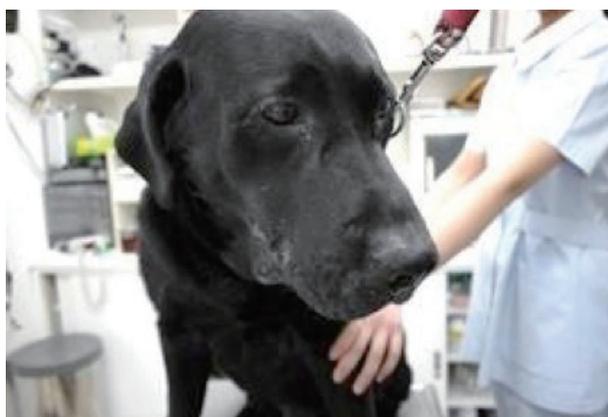


图 1 病例外貌

动物种类：犬

品种：拉布拉多寻回犬（图 1）

年龄：12 岁零 4 个月

性别：雄性

体重：39kg

主诉

- 3 个月前出现口腔内出血。
- 1 个月前，家庭医生会诊时进行了病理检查，诊断为左下颌骨口腔内恶性黑色素瘤，建议实施大范围的外科切除术和化学疗法。
- 家人商量后，决定长期护理，但不选择外科手术治疗。作为第二选择，来到了积极采用替代疗法的我院寻求治疗。（以在我院初诊的日期作为第 1 病日）。

## 初诊时所见



图 2 初诊时的肿瘤外观

临床血液生化学常规检查无异常。发现左下颌犬齿周围有直径约 4cm 的肿瘤（图 2）。



图3 X光图片(初诊时)

未发现体表淋巴结肿大。胸部X光检查发现支气管上有小结节，但未发现恶性黑色素瘤的转移病灶(图3)。

根据以上检查结果，诊断为口腔内恶性黑色素瘤Ⅲ期(WHO)。

### 知情同意和治疗计划

向家属说明：恶性黑色素瘤具有局部反复复发，导致体表淋巴结肿大和肺部转移而致命的特征。采用替代疗法治疗肿瘤患者时，为了取得良好的治疗效果，需要根据肿瘤的实际情况，综合考虑免疫力、抗癌能力、肿瘤血管生成抑制、抗氧化力、肠内环境这5方面因素(1)来实施治疗。另外，我们充分考虑了宠物主人“希望能不切除下颌”的愿望。

针对原发性肿瘤对策、抗癌能力、肿瘤血管生成抑制，使用了小动物专用的患部消融装置「AMTC200:株式会社 AdMeTech」进行温热疗法；针对局部复发、远距离转移对策、抗癌能力、血管生成抑制、抗氧化能力，选择了羽扇豆醇治疗；针对远距离转移对策、免疫力、抗氧化能力、肠内环境，选择了冬虫夏草治疗。为了使以上治疗方法合理发挥效果，激发更强的免疫应答，我们向家属建议实施树突状细胞疗法，并请家属1周时间考虑。

### 树突状细胞疗法的治疗计划

一般情况，树突状细胞疗法的治疗周期为每3个月进行一次，但是，根据复发、转移的情况，也可能会缩短或延长治疗周期。就以上内容向家属做了说明(此病例在55病日之后未发现复发和转移，因此第二次的治疗时间定在6个月后)。

### 治疗及过程



图4 第1次消融治疗(第8病日:消融中)



图5 第1次消融治疗(第8病日:消融后)

家属经商量后决定接受替代疗法治疗。第8病日，镇静下(使用盐酸右美托咪定、酒石酸布托诺啡)采取患处直径5mm以上的肿瘤细胞，作为树突状细胞的抗原提呈细胞。按照株式会社J-ARM的细胞培养程序，培养树突状细胞。

细胞采取后，使用AMTC200消融针以约7mm的间隔穿刺，实施65℃下8分钟消融(图4图5)。

消融后，给予羽扇豆醇15mL/m<sup>2</sup>(株式会社坂本BIO)。局部给药5mL，皮下给药

## 犬的口腔内黑色素瘤的代替治疗

10mL。

使用具有抗癌效果的中药冬虫夏草培养物 (Cordy M: 株式会社 MONOLITH), 1日1次, 每次 10g (0.3g/kg)。叮嘱家属将虫夏草培养物混合在饲料中服。

第 12、15、22 病日, 羽扇豆醇 15mL 皮下给药。

第 25 病日, 由于确认有复发, 镇静下实施消融治疗 (图 6)。



图 6 第 2 次消融治疗 (第 25 病日)

消融治疗后, 在肿瘤患部周围多处注射培养后的树突状细胞, 近端部分注射 IL-12 (10ng) (图 7)。



图 7 树突状细胞给药 (第 25 病日)

第 35、48 病日, 羽扇豆醇 15mL 皮下给药。

第 55 病日, 由于确认有复发, 镇静下实施消融治疗 (图 8 图 9), 羽扇豆醇局部给药 5mL, 皮下给药 15mL。之后, 每两周进行一次羽扇豆醇皮下给药, 并叮嘱家属每天服用冬虫夏草。



图 8 第 3 次消融治疗 (第 55 病日: 治疗前)



图 9 第 3 次消融治疗 (第 55 病日: 治疗后)

第 142 病日, X 光检查, 未发现转移病灶 (图 10)。

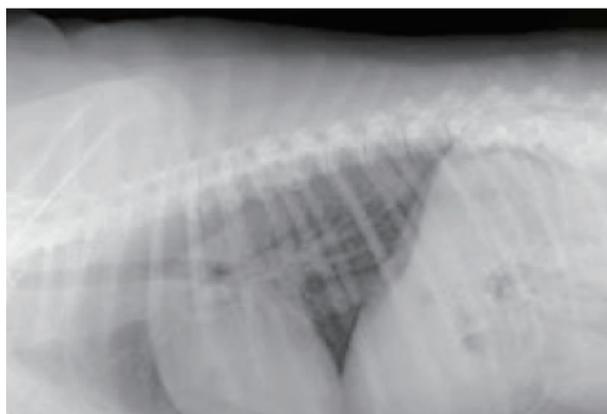


图 10 X 光图片 (第 142 病日)

第 212 病日 (自第 1 次给药后, 经过了 6 个月), 在下颌和前胸部给予按株式会社 J-ARM 细胞培养程序培养的树突状细胞和 IL-12 (10mg)。

第 238 病日 (2013 年 2 月 28 日), 未发现复发和远距离转移, 治疗过程良好 (图 11 图 12)。



图 11 肿瘤部位外观 (第 99 病日)



图 12 肿瘤部位外观 (第 238 病日)

### 树突状细胞疗法等替代疗法的选择背景

对于肿瘤患者的治疗，我院积极采用辅助替代疗法。为使治疗最大程度地满足宠物主人的需求，我们在提供治疗方案时，综合考虑①免疫力、②抗癌能力、③肿瘤血管生成抑制、④抗氧化能力、⑤肠内环境这 5 方面的因素 (1)。

犬的口腔内恶性黑色素瘤是最常见的口腔内恶性肿瘤 (2)。与良性的皮肤黑色素瘤不同，犬的口腔内黑色素瘤多为恶性 (3)。口腔内恶性黑色素瘤的转移率非常高，多数发生于临床 I 期和 II 期期间，经过外科切除后，不久之后往往又复发。不同患者的转移病变的增殖率各不相同，这种差异也决定了患者的生存时间 (4)。

对于口腔内恶性黑色素瘤的治疗，一般采取下颌骨切除术、上颌骨切除术等外科手术，生存期中间值为 7.3 ~ 9.1 个月 (5)。放射线疗法对于局部控制有效，1 年生存率为 35%，2 年生存率为 14.3% (6)。近年来，

作为补充治疗方法的免疫疗法受到关注，有报告显示它对生存期的延长、QOL 的上升有效 (7)。

有关肿瘤组织的不均一性 (heterogeneity) 的理论中，目前“肿瘤干细胞假说”的理论比较流行，即少数肿瘤细胞具有与正常组织干细胞类似的自我复制的分化能力，以这些肿瘤细胞为起源构成了整个肿瘤组织 (8)。但是，对人的恶性黑色素瘤的研究表明，几乎所有的肿瘤都是恶性黑色素瘤的起源细胞，显示出它随机形成肿瘤的能力 (9)。

并且，具有肿瘤形成能力的癌细胞群和不具有肿瘤形成能力的癌细胞群处于动态移动状态，因此，也有人认为癌症干细胞学说并不适用于肿瘤组织的维持机制 (10)。

根据上述最新学说，我们认为恶性黑色素瘤通过不同于其他肿瘤的细胞形成机制形成肿瘤，因此，对于恶性黑色素瘤的治疗，免疫细胞疗法显得尤为重要。

### 树突状细胞疗法的选择

树突状细胞是骨髓中未成熟的前体细胞分化出的一种白细胞，因其末梢组织在生长过程中形成树枝状突起而被命名。树突状细胞分布于体内各个组织与器官中。但是，不同部位的树突状细胞以不同的形态存在，如分布于表皮的树突状细胞为郎格汉斯细胞，位于胸腺髓质或淋巴结的副皮质细胞为指状嵌入突起细胞，输入淋巴管内的细胞为隐蔽细胞。

树突状细胞能时常出现主要组织相容性复合体 (MHC)。由于其末梢分布着的未成熟细胞具有吞噬功能，当它向所属淋巴器官 T 细胞领域移动时，吞噬的物质与 MHC 分子结合并提示给 T 细胞。因此，在诱导适当的免疫应答的过程中，树突状细胞担负着必不可少的抗原提呈细胞的作用 (11)。

1996 年前，由于末梢血的白细胞中树突状细胞的量不足 0.1%，树突状细胞疗法难

## 犬的口腔内黑色素瘤的代替治疗

以实施。如今，对树突状细胞具有成熟、活化作用的 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、PGE2 等 13 种 TLR 物质相继被发现，使得树突状细胞疗法的实施成为可能 (12)。树突状细胞疗法用于人体时，其疗效为几个月至 1 年左右。

树突状细胞疗法用于人的恶性黑色素瘤时的优越性还没有得到证实。抗原提呈和癌的免疫逃避控制等将成为今后的研究课题。与温热疗法结合使用时，由出现的 HSP70 (heat Shock protein 70) 诱导的树突状细胞结合性 IL-15 对于活化树突状细胞 T 细胞回路、对非依赖性抗原的记忆保持等的协同作用值得期待 (11)。

### 小动物专用患部消融装置 AMTC200 的选择及治疗方法



图 13 AMTC200 消融装置

将癌细胞加热至 42.5 $^{\circ}\text{C}$  以上时，其生存率急速下降，诱发 HSP (13)。使用温热疗法治疗口腔内恶性黑色素瘤时，由于癌细胞动态存在，因此需要进行大范围的同时加热。并且，假设口腔内恶性黑色素瘤的干细胞存在，笔者认为它也同时存在于骨髓、齿髓中。AMTC200(图 13)为温热疗法装置，该装置的消融针自身为发热体，可以直接刺入患部进行 65 $^{\circ}\text{C}$  的缓和加热，同时进行患部的消融和正常组织的血管扩张，这种疗法对肿瘤和肿瘤干细胞两方面的细胞凋亡作用值得期待。

第 1 次治疗在第 8 病日，以减少肿瘤体积为主进行了消融治疗。第 2 次治疗同时考虑了正常组织的恢复情况，选择在第 25 病日进行。第 2 次治疗时，为了达到骨髓中的肿瘤细胞和肿瘤干细胞凋亡的目的，采用了刺入消融针，使消融针与下颌骨相接触的消融治疗法。第 3 次治疗由于确认到了复发，选择在第 55 病日进行。第三次治疗时，为了使骨髓、齿髓的肿瘤细胞和肿瘤干细胞凋亡，采用了刺入消融针，使消融针与下颌骨、前臼齿、犬齿相接触的消融治疗法。

### 羽扇豆醇的选择



图 14 羽扇豆醇

羽扇豆醇 (图 14)，是 lupane 型三萜类物质的一种，分子量为 426.724，存在于多数菊科植物中，有报道显示该物质具有抗炎和促进抗癌作用 (14)。最近的研究表明，该物质通过黑色素形成细胞的增殖抑制、细胞凋亡诱导活性，血管内皮细胞的毛细血管网生成来抑制产生肿瘤转移血管生成抑制作用 (15)。已有研究表明，羽扇豆醇对于恶性黑色素瘤的运动性具有抑制作用，已作为肿瘤转移抑制剂被使用 (16)。

### 冬虫夏草 (Cordy M) 的选择



图 15 Cordy M

Cordy M (图 15) 是以产于日本的冬虫夏草为原料的具有癌抑制作用的保健品, 研究表明它含有先天免疫促进活性物质 (17)。所谓先天免疫, 是指在癌抑制方面起着最初作用的免疫, 由于它具有不依赖免疫记忆识别异物并进行攻击的能力, 因此具有能排除临时性异物的特点。这种能力对于排除体内不断产生的错误细胞起着非常重要的作用。被促进的先天免疫, 能持续活化后天免疫。对于癌症, Cordy M 可能具有综合强化免疫力的作用。

保健品可以在家服用, 因此, 宠物主人也可以参与治疗, 这对于信心维持也具有作用。

今后, 仍将密切观察病情, 以期不发生复发和转移。

### 致谢

兽医再生医疗研究会、兽医学领域羽扇豆醇研究会、株式会社 J-ARM、株式会社 AdMeTech、株式会社坂本 BIO、株式会社 MONOLITH 为本病例提供了大力的协助和丰富的资料, 在此表示感谢。

### 参考文献

- 1) 星野泰三. 星野式温热淋巴细胞治疗. Metamor 出版, 2010:159-162
- 2) GoldSchmidt MH, Benign and melanocytic neoplasmas of domestic animals. Am J Dermatopathol.1985;7:203-212
- 3) Bostock DE, Prognosis after surgical excision of canine melanomas. Vet Pathol.1979;16:32-40
- 4) 桃井康行监译. 犬的肿瘤. interzoo, 2008:430
- 5) Salisbury SK, Lantz GC, Long-term result of partial mandibulectomy for Treatment of oral tumors in 30 dogs.JAAHA.1988;24:285-294
- 6) Azuma C, RuSlander DM, Brown MA, et al. Hyofractionated radiation therapy in the treatment of oral melanoma in dogs. Personal Communication.2004.
- 7) MacEwen EG, Patnaik AK, Harvey HJ, et al, Canine oral melanoma. Comparison of Surgery versus surgery plus Corynebacterium parvum. Cancer Inwst.1986;4:p397-p402
- 8) Dick JE, Looking ahead in cancer Stem cell research.Nat Biotechnol.2009;27 (1) :44-46
- 9) Quintana E, Efficient tumour formation by single human melanoma cells. Nature.2008;456 (7222) :593-598
- 10) 山中伸弥、中内启光, 干细胞. 日本再生医疗学会. 2012; 1: 119
- 11) 秋山信一郎、阿部博幸, 最新癌免疫细胞疗法. 永井书店. 2011
- 12) David W, O' Neill, Sylvia A, et al, Manipulating dendritic cell biology for the Active immunotherapy of cancer. Blood.2004;104:2235-2246
- 13) Ben-Hur E, Elikind MM, Bronck BV, 5Thermally enhanced response of cultured Chinese hamster cells;inhibition of repair of

## 犬的口腔内黑色素瘤的代替治疗

sublethal damage and enhancement of lethal damage. *Radiat Res.* 1974;58:38-51

14) 畠惠司、高桥沙织、堀一之, Lupane 型三萜的色素细胞分化诱导. *生药学杂志* 2006;60 (1) : 9-14

15) Scott G, Leopardis, *Pigment Cell Res.* 2003;16:139-148

16) Hata K, Hori K, Murata J, et al, *J Biochem*, 2005;38:467-472

17) 片冈启子. 通过蚕肌肉收缩试验, 对冬虫夏草成分的自然免疫活性的评价 实验报告书. 2011