

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591720

研究課題名(和文) Radiosurgeryが脳血管内皮細胞および脳循環に与える影響に関する研究

研究課題名(英文) Effect of radiosurgery on the neurovascular endothelial cells.

研究代表者

栗田 浩樹 (KURITA HIROKI)

埼玉医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70262003

研究成果の概要(和文)：本研究はラットの脳動静脈奇形モデルを用いて、一回大量照射(radiosurgery)が血管内皮細胞に与える急性期、及び慢性期の機能障害と血管構築の形態学的変化を明らかにした。具体的には放射線照射により protein kinase C (PKC)活性の亢進によるサイトカインの産生増加、vascular endothelial growth factor (VEGF)による血管透過性の亢進が惹起され、これが内皮細胞の tight gap junction の破綻を引き起こる事を証明した。

研究成果の概要(英文) To clarify the biological effect of radiosurgery (single high-dose irradiation), we investigated morphological and physiological change of neurovascular endothelial cells. Irradiation induced activation of both protein kinase C (PKC) and vascular endothelial growth factor (VEGF), which resulted in impaired tight gap junction of endothelium and contributed to brain edema.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・形成科学

キーワード：脳動静脈奇形、radiosurgery、血管内皮細胞、PKC、GFAP、放射線障害、脳血流

1. 研究開始当初の背景

定位的手法を用いて病変に局限した一回大量照射を行うRadiosurgery(定位的放射線治療)は近年脳神経外科領域で急速に普及し、従来の分割照射では治療し得なかった血管性病変にも臨床明らかな有効性が確認されている。特に小型の脳動静脈奇形(AVM)に対しては従来の開頭手術にかわる低侵襲な治療法とし

て確立し、治療件数も飛躍的に増加しているが、その作用機序に関しては未だ解明されておらず、一回大量照射が正常脳血管に与える生物学的効果に関する基礎的知識も極めて乏しい。一方、治療件数の飛躍的増加に伴い、radiosurgery後に病変周囲に高頻度に脳浮腫を生じ、時に重篤化する事も臨床経験され

ているが、一回大量照射が脳循環に与える影響に関するデータは今まで皆無である。

我々は現在までの研究で、中枢神経系において髄鞘の形成や維持に関わるoligodendrogliaが一回大量照射数時間後に選択的にapoptosisに陥る事を大脳(Neurol Res 23: 869-874, 2001)及び視神経(Neurol Res 27: 346-350 2005)において証明し、この急性期障害が遅発性の脱髄性白質脳症や放射線壊死のtriggerになっている事(H15-18年科学研究費補助金研究成果報告書:15591548)など明らかにしてきたが、本現象のみで脳浮腫や血管病変への治療効果を説明する事はできず、血管内皮障害を中心とする一回大量照射によるvasculopathyの機序の解明が急務である。

2. 研究の目的

本研究は、ラットの頸動静脈吻合による脳動静脈奇形モデルを作成してradiosurgeryを行い、血管が閉塞するまでの形態学的変化およびその分子機構の一端を明らかにし、それが脳循環に与える影響を定量化して解析する事を目的とした。具体的には血管内皮細胞に注目し、その機能障害の指標として照射後のprotein kinase C (PKC)活性の亢進によるサイトカインの産生増加、特に強い血管透過性亢進作用を有するvascular endothelial growth factor (VEGF)の増加を定量化し、照射線量や血管閉塞との関係を明らかにする。また血管の形態学的変化と平行して脳血流量(CBF)を経時的に測定し、放射線によるvasculopathyによる脳循環障害を証明する。本研究により各線量における血管内皮障害の程度と血管閉塞や脳循環障害との関連を明らかにできれば、脳血管病変に対するradiosurgeryの臨床応用に際して必要不可欠な基礎的データとなるはずである。またその機序を明らかにできれば、そのpathwayを種々の方法で増強したりblockしたりする事により、治療効果を高めたり放射線障害を低く抑えうる可能性があり、より安全で効果的なradiosurgeryの臨床応用に貢献する事を目的とした。

3. 研究の方法

(1) ラット脳動静脈奇形モデルの作成

体重300gの雄Wister Ratに顕微鏡下に内頸動脈と頸静脈を血管吻合して動静脈シャントを形成する(N=300)。一ヶ月後に手術傷を開いて脳動静脈シャントが開存しているもの(約1/3, N=100)を脳動静脈奇形モデルとして採用した。

(2) radiosurgeryの施行

ラット用のstereotactic deviceに頭部

を固定し、LINACにより血管奇形部位を中心に0, 10, 20, 30, 50Gyの局所一回大量照射(radiosurgery)を20体ずつ行なった。

(3) 急性血管内皮障害の評価

照射1日後および1, 3, 6ヶ月後にsacrificeして灌流固定し、照射範囲内の血管構築の変化を、内皮細胞(CD34)、血管平滑筋(SMA)、内弾性板(EVG)、基底膜(Collagen IV)の各障害マーカーで免疫組織学的に検索して障害部位を同定した。また、protein kinase C (PKC)およびvascular endothelial growth factor (VEGF)の発現をin situで免疫組織学的に定量化し、血管新生の程度を把握した。

(4) 慢性期血管内皮障害・血管構築の評価

照射12, および24ヶ月後にsacrificeして同様に照射範囲内の血管構築の変化、PKCおよびVEGFの発現をin situで免疫組織学的に定量化し、引き続き血管閉塞と血管内皮障害の関係を経時的に定量化した。また各スライスをコンピュータに取り込んで画像解析ソフトを用いて脳浮腫の体積を計算し、各線量における脳循環障害の程度を定量化した。

4. 研究成果

本研究では、ラットの頸動静脈吻合による脳動静脈奇形モデルを作成して radiosurgery を行い、血管が閉塞するまでの形態学的変化およびその分子機構の一端を明らかにした。具体的には血管内皮細胞において protein kinase C (PKC)活性の亢進によるサイトカインの産生増加、特に血管透過性亢進作用を有する vascular endothelial growth factor (VEGF)の有意な増加が確認され、それが照射線量や血管閉塞と有意に創刊する事が明らかになった。また電子顕微鏡の観察で放射線による内皮細胞の tight gap junction の破綻を証明した。また、照射範囲内の血管構築の変化を、内皮細胞(CD34)、血管平滑筋(SMA)、内弾性板(EVG)、基底膜(Collagen IV)の各障害マーカーで免疫組織学に検索し、内皮細胞障害の後、血管変性が内弾性板、基底膜に及び、おもに内皮下組織の増殖を惹起させる事により、血管内腔の狭窄や閉塞を生じる事も明らかとなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計13件)

- ① 新田勇介、栗田浩樹、宮崎寛、塩川芳昭、乳児期に破裂したAVMの1例、脳卒中、査読有、33巻、2011、135-139
- ② 竹田理子、栗田浩樹、イラストでばっちり学べる脳神経外科手術 くも膜下出血
①クリッピング術、Brain Nursing、査読無、26巻、2010、10-13
- ③ 福田信、栗田浩樹、塩川芳昭、慢性期にposterior petrosal approachでclippingした破裂BA-AICA動脈瘤の一例、脳神経外科速報、査読有、20巻、2010、835-840
- ④ Nagayama K, Kurita H, Tonari A, Takayama M, Shiokawa Y, Radiosurgery for cerebral arteriovenous malformation during pregnancy: a case report focusing on fetal exposure to radiations. Asian J Neurosurg, 査読有、11巻、2010、73-77
- ⑤ Nagayama K, Kurita H, symmetrical cerebral arteriovenous malformations in bilateral basal ganglia, Cerebrovasc Dis, 査読有、29巻、2010、4120
- ⑥ 栗田浩樹、佐藤栄志、塩川芳昭、重量破裂脳動脈瘤急性期治療の実際とその成績について、脳外誌、査読有、19巻、2010、126-132
- ⑦ 栗田浩樹、rt-PA時代の超急性期脳梗塞の画像診断で把握しておくべきガイドライン、臨床画像、査読無、26巻、2010、366-371
- ⑧ Nagane M, Nozue K, Shimizu S, Waha A, Miyazaki H, Kurita H, Homori M, Fujioka Y, Shiokawa Y, Prolonged and severe thrombocytopenia with pancytopenia induced by radiation-combined temozolomide therapy in a patient with newly diagnosed glioblastoma - analysis of O6-methylguanine-DNA methyltransferase status, J Neurooncol, 査読有、92巻、2009、227-232
- ⑨ Kurita H, Shiokawa Y, Yamaguchi R, Seyama H, Nishiyama K, Yamada S, Matsumoto Y, Shimotomai Y, Niina Y, Yamaguchi Y, Analysis of clinical outcome of aneurismal subarachnoid hemorrhage: a single institution experience with 1268 patients, Int J Stroke, 査読有、3巻、2008、412-413
- ⑩ Kurita H, Shiokawa Y, Yamaguchi R,

- Seyama H, Nishiyama K, Yamada S, Momma H, Matsumoto Y, Shimotomai Y, Kato M, Yamaguchi Y, Functional carotid artery trapping and reconstruction with radial artery graft for ruptured carotid blister-like aneurysms of the anterior wall: long-term results, 査読有、J Stroke Cerebrovasc Dis, 17巻、2008、90-91
- ⑪ 栗田浩樹、山口竜一、池田俊貴、原田洋一、塩川芳昭、脳動脈瘤手術における血行再建術の応用—適応と治療成績について、脳卒中の外科、査読有、36巻、2008、271-276
 - ⑫ 栗田浩樹、若年者の脳出血—脳動静脈奇形を中心に、分子脳血管病、査読無、7巻、2008、39-43
 - ⑬ 栗田浩樹、麻痺と感覚障害の画像診断、臨床リハ、査読無、17巻、2008、15-19

[学会発表] (計28件)

- ① Kurita H: Surgical salvage for symptomatic degenerate AVMs after radiosurgery: an update. 4th World ICH Conference (2011/5/2-5, NewcastleGateshead, UK)
- ② 栗田浩樹: AVMのバリエーションと基本手技. 第20回脳神経外科手術と機器学会 (2011/4/8-9 徳島)
- ③ 栗田浩樹: AVM手術の基本手技とバリエーション: 脳血管外科医が目指すもの. 横浜市立大学脳神経外科講演会 (2011/2/21 横浜)
- ④ Kurita H: Salvage surgery for symptomatic degenerate AVMs after radiosurgery: an update. 4th International Winter Neurosurgical Congress (2011/2/7-11, Rusutsu Resort, Japan)
- ⑤ 栗田浩樹: 破裂AVMに対する急性期手術: 適応、手術手技、治療成績とpitfallについて. 第16回日本脳神経外科救急学会 (2011/1/29-30 名古屋)
- ⑥ Kurita H: Symptomatic degenerate AVMs after radiosurgery: clinical presentations, surgical salvage, and etiological considerations. 8th Asian Congress of Neurological Surgeons (2010/11/22-24, Kuala Lumpur, Malaysia)
- ⑦ 竹田理々子: 直達術を行った前頭蓋底硬膜動静脈奇形症例の検討: 適確なshunt point extirpationのために. 第69回日本脳神経外科学会総会 (2010/10/27-29 福岡)

- ⑧ Kurita H: Symptomatic degenerate AVMs after radiosurgery: clinical presentations, surgical salvage, and etiological considerations. 7th World Stroke Congress (2010/10/13-16, Seoul, Korea)
- ⑨ Kurita H: Symptomatic degenerate AVMs after radiosurgery: clinical presentations, surgical salvage, and etiological considerations. XIX European Stroke Conference (2010/5/25-28, Barcelona, Spain)
- ⑩ 栗田浩樹: AVM手術の基本と合併症回避のポイント. 第30回日本脳神経外科コンgres総会 (2010/5/7-9 横浜)
- ⑪ 栗田浩樹: Radiosurgery時代におけるAVMの外科治療戦略と手術手技. 第3回NMS Neurosurgery update (2010/3/16、東京)
- ⑫ 栗田浩樹: AVMに対する外科治療戦略と手術手技について. 第68回札幌脳外科集談話会 (2009/11/28 札幌)
- ⑬ Kurita H: Urgent/Early surgery for ruptured cerebral arteriovenous malformations: Technical aspects and surgical results. The 9th International Conference on Cerebrovascular Surgery (ICCVS 2009). (2009/11/11-13, Nagoya, Japan)
- ⑭ 栗田浩樹: 出血で発症した Eloquent area AVMの急性期手術手技-Surgical management of eloquent area AVMs: Technical aspects and clinical results. 第68回日本脳神経外科学会総会 (2009/10/14-16 東京)
- ⑮ 永山和樹: 胃癌からの脳転移病変に対する定位的放射線治療. 第18回日本定位的放射線治療学会 (2009/7/17 仙台)
- ⑯ 栗田浩樹: AVM手術における術中echoの有用性について. 第58回関東脳神経外科懇話会 (2009/6/27 東京)
- ⑰ 栗田浩樹: 直達術で治療した高齢者の硬膜動静脈奇形の一例. 第22回日本老年脳神経外科学会 (2009/3/27 広島)
- ⑱ 栗田浩樹: 救命救急・脳卒中センターにおける破裂AVMの臨床像と急性期外科治療. 第34回日本脳卒中学会総会・第38回日本脳卒中の外科学会総会 (2009/3/20-22 松江)
- ⑲ 栗田浩樹: 破裂AVMに対する急性期手術のポイント. 第25回白馬脳神経外科セミナー (2009/2/5-7 八方尾根)
- ⑳ 平岩直也: 静脈性梗塞で発症した完全血栓化AVMの1例. 第107回日本脳神経外科学会関東支部会 (2008/12/13 東京)
- 21 栗田浩樹: 破裂AVMに対する急性期手術. 第67回日本脳神経外科学会総会 (2008/10/1-3 盛岡)
- 22 栗田浩樹: AVMの外科治療戦略. 第100回日本脳神経外科学会九州支部会 (2008/9/6)
- 23 Kurita H: Update of surgical technique on ruptured cerebral arteriovenous malformations. The 9th Japanese & Korean Friendship Conference on Surgery for Cerebral Stroke (JKFC) (2008/6/6-7, Daegu, Korea)
- 24 栗田浩樹: 破裂脳動静脈奇形の急性期手術のポイント. 第17回脳神経外科手術を機器学会 (2008/4/11-12 長崎)
- 25 栗田浩樹: 破裂AVMに対する急性期手術. 第37回日本脳卒中の外科学会総会 (2008/3/18-20 京都)
- 26 栗田浩樹: 救命救急センターにおける破裂AVMの臨床像と急性期治療. 第33回日本脳卒中学会総会、(2008/3/18-20 京都)
- 27 Yamaguchi R: Treatment of ruptured anterior chroidal artery aneurysms: 12-year experience with 20 cases. The 5th Asia Pacific Conference Against Stroke (2008/3/13-15, Pasig City, Philippines)
- 28 Kurita H: Acute Craniotomy for hemorrhagic intracranial arteriovenous malformations: Technical aspects and clinical results. The 5th Asia Pacific Conference Against Stroke (2008/3/13-15, Pasig City, Philippines)
- [図書] (計6件)
- ① 杉山達也、大井川秀聡、栗田浩樹、中外医学社、A脳血管障害の急性期治療. EBM脳神経外科疾患の治療 2010-2011、2010、pp. 7-10
- ② 栗田浩樹、南江堂、III-7 脳動静脈奇形. 神経疾患最新の治療 2009-2011、2010、pp. 100-102
- ③ 栗田浩樹、医学書院、VII章: ガンマナイフ. 佐々木富男(編); 聴神経腫瘍、2009、pp. 145-148
- ④ 栗田浩樹、MedicalView社、脳虚血治療のなかのrt-PA静注療法の位置づけ-riskとbenefit. 即活用! rt-PA静注療法 実践マ

スターガイド 適応・診断・管理のコツ、
2009、pp. 2-7

- ⑤ 栗田浩樹、塩川芳昭、南江堂、VI 疾患別
各論<脳疾患> 7. 脳動静脈奇形. 神
経疾患最新の治療 2009-2011、2008、pp.
100-102
- ⑥ 栗田浩樹、医療科学社、各論 IV. 血管障害
3. 脳動静脈奇形. 臨床研修医のための
画像医学教室 脳神経領域、2008、
pp. 86-90

6. 研究組織

(1) 研究代表者

栗田 浩樹 (KURITA HIROKI)
埼玉医科大学・医学部・准教授
研究者番号：70262003

(3) 連携研究者

池田 俊貴 (IKEDA TOSHIKI)
杏林大学・医学部・助教
研究者番号：90406968
山口 竜一 (YAMAGUCHI RYUICHI)
杏林大学・医学部・助教
研究者番号：20439194
塩川 芳昭 (SHIOKAWA YOSHIAKI)
杏林大学・医学部・教授
研究者番号：20245450