

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462222

研究課題名(和文) 難治性放射線壊死の克服 ベバシズマブ治療とbeyond bevacizumab

研究課題名(英文) Overcome of intractable radiation necrosis. Bevacizumab therapy and beyond bevacizumab

研究代表者

古瀬 元雅 (Furuse, Motomasa)

大阪医科大学・医学部・講師

研究者番号：70340560

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：放射線壊死を克服するために、基礎および臨床研究を行った。基礎研究ではラットの大脳に安定して脳放射線壊死を発生させるモデルを確立することに成功した。65Gyの単回照射において照射後6ヶ月で放射線壊死の安定した形成を認めた。今後は、このモデルを用いて脳放射線壊死形成の鍵となる分子の同定にあたる。臨床研究では、放射線治療後髄膜腫に対するベバシズマブ治療により放射線壊死が抑制され、再発腫瘍の鑑別が可能となる所見を得た。さらに放射線壊死に対するベバシズマブの効果は6ヶ月持続することが判明した。また、既知の放射線壊死病理所見をまとめ、レビューを行った。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to conquer radiation necrosis of the brain. In a laboratory study, an optimal radiation dose for formation of radiation necrosis was clarified in rats. Radiation necrosis stably appeared 6 months after 65 Gy of a single fraction. In the next study, key molecules for radiation necrosis will be elucidated using this model. In a clinical study, bevacizumab suppressed radiation necrosis, but not tumor tissue in previously irradiated meningioma. Recurrent meningioma could be distinguished from radiation necrosis by administration of bevacizumab. In radiation necrosis, efficacy of bevacizumab lasted 6 months after completion of bevacizumab therapy. And we reported pathological review of brain radiation necrosis.

研究分野：脳腫瘍

キーワード：放射線壊死 ベバシズマブ 神経膠腫 髄膜腫 VEGF

## 1. 研究開始当初の背景

分子標的薬を筆頭に化学療法の進歩が目覚ましい中、悪性脳腫瘍に対しては、放射線治療の開発に期待が寄せられている。陽子線、炭素線、硼素中性子捕捉療法などの粒子線は一部先進医療にも指定され、期待が寄せられる。また既存 X 線照射も強度変調放射線治療やトモセラピーなど 3 次元の照射が可能となり、局所へ高線量照射が可能となった。しかし、その腫瘍選択性には限界があり、特に治療効果が得られ、長期生存が可能となった場合には放射線壊死を合併する頻度も高率となる。難治性悪性脳腫瘍をたとえ制御し得ても、放射線壊死によって患者の QOL を低下させてしまうのであれば、その治療効果は患者の満足度には反映されない。QOL が低下した状態で、OS や PFS の延長が得られても、それは治療者の自己満足にしかならない。

放射線壊死に対する治療には副腎皮質ステロイドがよく使用されるが、進行性放射線壊死にはその効果は限定的である。2007 年に放射線壊死に対してベバシズマブが有効であるとの報告が米国より発表された。我々もベバシズマブの投与によって放射線壊死により生じた脳浮腫が軽減し、患者の performance status が改善したことを経験した。しかしベバシズマブの放射線壊死への使用は薬事承認であり、高額な薬剤費は患者の自己負担となっている。放射線壊死に対するベバシズマブの薬事承認の追い風となるようなデータを蓄積するとともに、放射線治療に対するベバシズマブの効果が期待できる症例やベバシズマブに代わる新たな治療薬の開発が求められる。

## 2. 研究の目的

ベバシズマブが放射線壊死に有効であることは間違いないと思われるが、客観的な効果の評価方法が必要である。特に悪性神経膠腫においては、再発腫瘍と放射線壊死の鑑別を行うことなく使用される可能性がある。ベ

バシズマブは造影される腫瘍が造影されなくなるため、腫瘍への使用の評価も以前より使用されていた評価方法では評価できず、近年 RANO criteria が提唱された。しかし、RANO criteria も FLAIR の高信号域に関しては増大、不変、改善などと大まかにしか規定されていない。特に放射線壊死では、造影域の変化より FLAIR 高信号域の変化が重要であり、RANO criteria では放射線壊死に対するベバシズマブの治療効果判定には不十分である。放射線壊死に対するベバシズマブの治療効果を正しく評価することが必要であり、薬事承認へ向けて重要なデータとなると考えた。

また、新たな治療薬の創薬には、動物実験による放射線壊死形成過程の解明が今後の課題である。放射線壊死の動物モデルの安定した作成を踏まえ、その分子機構を解明する。また VEGF を介さない another pathway からの治療やさらには放射線壊死の予防を目的とした molecular targeting therapy を目指し、治療実験を行うことを目指した。

## 3. 研究の方法

### (1) ベバシズマブ治療の評価

内科的治療（ステロイド等）に不応性の症候を呈する放射線壊死に対してベバシズマブの投与を行った症例の蓄積を行う。また、悪性神経膠腫に対してベバシズマブの投与を行った症例も集積する。これらの症例のベバシズマブ投与前および 3 回投与後、6 回投与後の MRI やアミノ酸 PET の撮影を行う。MRI にて T2 もしくは FLAIR 高信号領域の評価を行う。Image J もしくは Osirix にて各スライスの高信号域の面積を測定し、浮腫体積を算出する。同時に Macdonald criteria による測定を行う。また同様に、悪性神経膠腫のベバシズマブ投与症例についてもデータを収集する。

### (2) 動物実験による放射線壊死モデルの確立

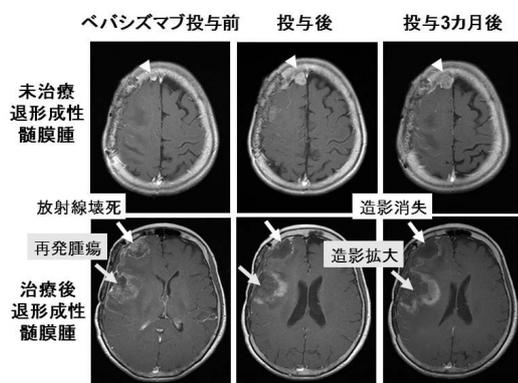
## と新規治療の検索

Wister rat (Male, 8-10wks) の左大脳半球に X 線を用いて上下方向の 1 門照射を行う。照射範囲は 10mm x 10mm で、1 回照射とし、照射線量にて 70Gy、80Gy、90Gy と 3 群に分けて検討する。照射は大阪府立大学獣医臨床センターのラジオフレックス 350 を用いて行う。各グループ照射 4 週後、週後および 8 週後に京都大学の放射性同位元素総合センターの 1.5T の MRI を用いて MRI を撮影し、放射線障害の発現状態を確認する。今までの我々の経験では 80Gy 照射後 13 週にて放射線壊死の形成を確認している。MRI 撮影と共に 4 週、8 週、12 週、16 週後の組織にて病理標本を作成する。今までの臨床検体で発現を認めている HIF-1、VEGF、CXCL12、CXCR4、IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B の免疫染色を行い、どの時期にどの分子が発現しているかを確認する。

## 4. 研究成果

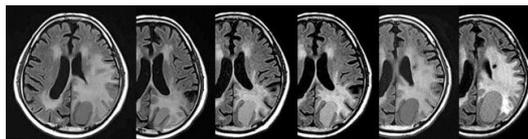
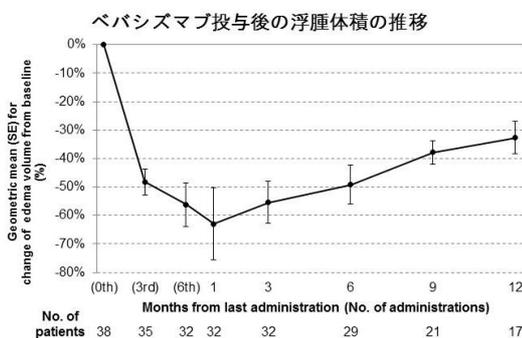
### (1) ベバシズマブ治療の評価

当初はグリオーマの放射線壊死症例と再発症例のベバシズマブの効果の相違を検討する予定であった。しかし、髄膜腫は再発と壊死の鑑別がつきやすく、まずは髄膜腫の症例にてデータの集積を行った。症例には悪性髄膜腫症例が含まれており、放射線未照射の新規病変も含まれていた。未照射腫瘍、照射後腫瘍および脳実質放射線壊死のそれぞれの造影病変のベバシズマブへの反応性を比較検討した。未照射の悪性髄膜腫症例ではベバシズマブの効果は全く認められなかった。腫瘍と放射線壊死が混在する症例では、ベバシズマブの治療により放射線壊死が改善し、腫瘍部分が残存することから、治療効果の判定は残存腫瘍の診断に有用と思われた。

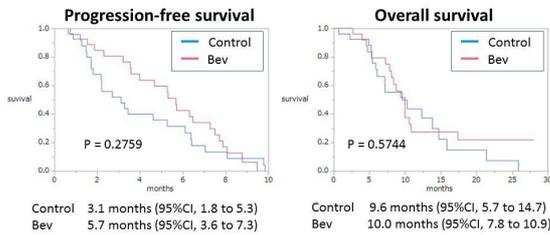


ベバシズマブ投与前、治療後髄膜腫は放射線壊死と再発腫瘍の区別がつかなかったが、ベバシズマブの投与後変化にて両者の鑑別が可能となった。

放射線壊死に対するベバシズマブの浮腫抑制効果は、多施設共同試験の結果がまとまり、明らかになった。投与後より浮腫は軽減されるが、その効果は約 6 ヶ月継続した。その後浮腫は再増大を示すも、投与終了 12 ヶ月の時点でも治療前よりも改善を認めた。



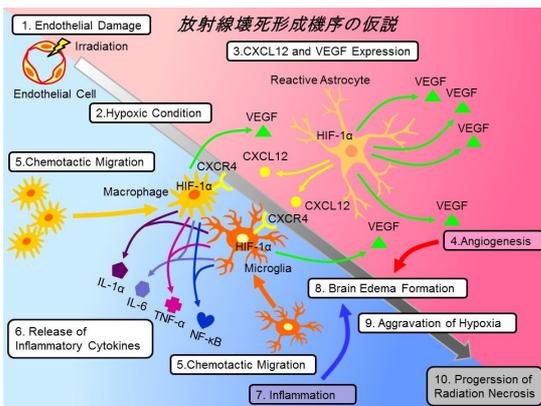
続いて当院での神経膠腫症例の治療効果を検討した。2013 年 6 月から 2016 年 2 月までの間に 52 例の神経膠腫に対してベバシズマブを投与した。放射線壊死と最も鑑別が困難となる再発神経膠芽腫 29 例を中心にデータを収集した。再発神経膠芽腫症例のみで、まずは生存について、ベバシズマブ投与症例とそれ以前のベバシズマブが投与されていない症例(コントロール群)の比較を行った。再発後の全生存はともに約 10 ヶ月であり、ベバシズマブ投与群とコントロール群で差を認めなかった。無増悪生存期間はベバシズマブ群で延長する傾向を認めたが、有意差はなかった。



今後はこれらのデータと放射線壊死群との治療効果を比較し、放射線壊死に対するベバシズマブの有効性を改めて検証する予定である。

また、放射線壊死に対してベバシズマブの投与を行った再発中枢神経原発リンパ腫症例では、難治性再発腫瘍にニボルマブが奏功し、放射線壊死に対してアバスチンを投与し、現在も完解状態を維持できたため、症例報告した。

また、今までの我々の研究成果を含めた放射線壊死の病理学的所見をまとめ、放射線壊死形成のメカニズムのレビューを報告した。



(2) 動物実験による放射線壊死モデルの確立と新規治療の検索

ラットの大脳にX線を単回照射する系でX線のdose escalationを行い、55Gy以上の照射によってラットの白質組織にもヒトの病理組織像を模倣する遅発性の脳放射線壊死が誘導できることを示し、55Gy～65Gyでは約6ヵ月、75Gyでは約4ヵ月、80Gyでは約3ヵ月で壊死病変が生じることが判明した。

組織学的または画像のRN出現時期

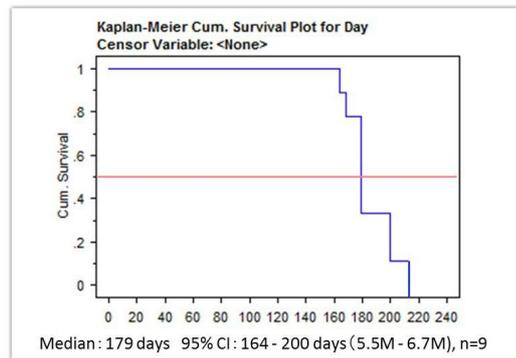
線量 Gy	組織	MRI				組織			
		3M	4M	5M	6M	3M	4M	5M	6M
55		-	-	-	+	-	-	-	+
70		-	-	+	+	-	-	+	+
80		+	+	+	+	+	+	+	+

M: 照射後の経過月数

このうち照射した動物全例(100%)に壊死病変が形成されるのは65Gy以上であり、かつ壊死周囲のグリオースス層の形成・壊死部および周囲のmicrogliaの増生・拡張した毛細血管の新生と組織内微小出血の多発といったヒトの遅発性脳放射線壊死で共通して見られる病理組織像を最も忠実に再現できるのが65Gy照射であるとの結論に至った。

ラットの脳に1cm四方の範囲に65Gyの単回照射を行い、1ヵ月毎にsacrificeして脳を観察した。5ヵ月目から放射線壊死の形成を認め、7-8ヶ月でピークとなった。壊死形成までの中央値は6.0ヶ月であった。

放射線壊死出現時期(65Gy)



今後この放射線壊死モデルを用いてラットからRNAを抽出し、壊死形成に有意に発現している遺伝子を解析する予定である。

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9件)

Furuse M, Nonoguchi N, Omura N, Shirahata M, Iwasaki K, Inui T, Kuroiwa T, Kuwabara H, Miyatake SI, Immunotherapy of nivolumab with dendritic cell vaccination is effective against intractable recurrent primary central nervous system lymphoma: A case report, *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 査読有, 57巻, 2017, 191-197, DOI: 10.2176/nmc.cr.2016-0330

Furuse M, Nonoguchi N, Kawabata S, Miyatake SI, Kuroiwa T, Delayed brain radiation necrosis: Pathological review and new molecular targets for treatment, *Med Mol Morphol*, 査読有, 48

巻, 2015, 183-190  
Furuse M, Nonoguchi N, Kawabata S, Miyata T, Toho T, Kuoriwa T, Miyatake SI, Intratumoral and peritumoral post-irradiation changes, but not viable tumor tissue, may respond to bevacizumab in previously irradiated meningiomas, *Radiat Oncol*, 査読有, 10 巻, 2015, 156, DOI: 10.1186/s13014-015-0446-0  
Miyatake SI, Nonoguchi N, Furuse M, Yoritsune E, Miyata T, Kawabata S, Kuroiwa T, Pathophysiology, diagnosis and treatment of radiation necrosis in the brain, *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 査読有, 55 巻, 2015 年, 50-59, DOI: 10.2176/nmc.ra.2014-0188  
野々口 直助, 古瀬 元雅, 宮武 伸一, 脳放射線壊死とミクログリア, *Clinical Neuroscience*, 査読無, 33 巻, 2015 年, 1377-1381  
古瀬 元雅, 川端 信司, 黒岩 敏彦, 宮武伸一, 進行性放射線壊死に対するベバシズマブ治療 自験例および臨床試験の経過報告, 定位放射線治療, 査読無, 18 巻, 2014, 147-152  
Miyatake SI, Kawabata S, Hiramatsu R, Furuse M, Kuroiwa T, Suzuki M, Boron neutron capture therapy with bevacizumab may prolong the survival of recurrent malignant glioma patients: four cases, *Radiat Oncol*, 査読有, 9 巻, 2014, 1-6, DOI: 10.1186/1748-717X-9-6  
Yoritsune E, Furuse M, Kuwabara H, Miyata T, Nonoguchi N, Kawabata S, Hayasaki H, Kuroiwa T, Ono K, Shibayama Y, Miyatake SI, Inflammation as well as angiogenesis may participate in the pathophysiology of brain radiation necrosis, *J Radiat Res*, 査読有, 55 巻, 2014, 803-811, 10.1093/jrr/rru017  
宮武 伸一, 古瀬 元雅, 野々口 直助, 黒岩 敏彦, XVIII 脳放射線壊死の成因, 診断, 治療, 別冊日本臨床 神経症候群 (第 2 版) - その他の神経疾患を含めて - III, 査読無, 第 2 版, 2014 年, 873-876

[学会発表](計 14 件)

Furuse M, Bevacizumab for brain radiation necrosis, 13<sup>th</sup> Asian Society for Neuro-Oncology meeting, 2016 年 9 月 11 日~14 日, Sydney (Australia)  
古瀬 元雅, PS 不良再発神経膠芽腫におけるベバシズマブの治療効果, 日本脳神経外科学会 第 75 回学術総会, 2016 年 9 月 29 日~10 月 1 日, 福岡国際会議場(博多)  
Furuse M, Treatment efficacy of bevacizumab on malignant glioma in

patients with poor performance status, 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016 年 10 月 6 日~8 日, パシフィコ横浜(横浜)  
古瀬 元雅, PS 不良再発神経膠芽腫におけるベバシズマブの治療効果, 第 34 回日本脳腫瘍学会学術総会, 2016 年 12 月 4 日~6 日, 甲府富士屋ホテル(甲府)  
Furuse M, Efficacy of bevacizumab on radiation necrosis diagnosed by PET, 15<sup>th</sup> International Congress of Radiation Research, 2015 年 5 月 25 日~29 日, Kyoto (Japan)  
古瀬 元雅, 再発髄膜腫に対する放射線治療と bevacizumab の役割, 第 20 回日本脳腫瘍の外科学会, 2015 年 9 月 25 日~26 日, 名古屋観光ホテル(名古屋)  
Furuse M, Multicenter clinical trial of bevacizumab for patients with surgically untreatable symptomatic brain radiation necrosis, 第 74 回日本癌学会学術集会, 2015 年 10 月 8 日~10 日, 名古屋国際会議場(名古屋)  
古瀬 元雅, 遅発性脳放射線壊死に対するベバシズマブ治療 多施設共同臨床試験のサブ解析, 日本脳神経外科学会 第 74 回学術総会, 2015 年 10 月 14 日~16 日, ロイトン札幌(札幌)  
Furuse M, A prospective multicenter single-arm clinical trial of bevacizumab for patients with surgically untreatable symptomatic brain radiation necrosis, 20<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Society for Neuro-Oncology, 2015 年 11 月 19 日~22 日, San Antonio (USA)  
古瀬 元雅, 症候性脳放射線壊死に対するベバシズマブ治療 多施設共同前向き臨床試験, 第 33 回日本脳腫瘍学会学術集会, 2015 年 12 月 6 日~8 日, グランドプリンスホテル京都(京都)  
古瀬 元雅, 放射線壊死 -診断と治療-, 第 27 回関西脳外科セミナー, 2014 年 7 月 4 日, 新阪急ホテル(大阪市)  
Furuse M, Bevacizumab for malignant glioma. A single-institution experience, 第 73 回日本癌学会学術総会, 2014 年 9 月 25 日~27 日, パシフィコ横浜(横浜)  
古瀬 元雅, 悪性神経膠腫に対するベバシズマブ治療 自験例の検討, 日本脳神経外科学会 第 73 回学術総会, 2014 年 10 月 9 日~11 日, グランドプリンスホテル新高輪(東京)  
古瀬 元雅, ベバシズマブは髄膜腫に有効か?, 第 32 回日本脳腫瘍学会学術集会, 2014 年 11 月 30 日~12 月 2 日, シェラントングランデトーキョーベイホテル(蒲安)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

古瀬 元雅 ( FURUSE Motomasa )  
大阪医科大学・医学部・講師  
研究者番号：7034056

(2) 研究分担者

川端 信司 ( KAWABATA Shinji )  
大阪医科大学・医学部・講師  
研究者番号：20340549

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者

野々口 直助 ( NONOGUCHI Naosuke )  
東保 太一郎 ( TOHO Taichiro )  
辻 優一郎 ( TSUJI Yuichiro )  
福村 匡央 ( FUKUMURA Masao )  
吉川 将史 ( YOSHIKAWA Masashi )