

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 25 日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592145

研究課題名(和文) 脳放射線壊死の新規診断法とベバシズマブを用いた新規治療法の研究

研究課題名(英文) New treatment using bevacizumab and novel diagnostic method for radiation necrosis

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) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：脳放射線壊死に対するベバシズマブの治療効果とF-BPA-PETの集積には相関があり、F-BPA-PETの有効性を認めた。ベバシズマブによる脳浮腫の抑制が患者の臨床症状の改善に寄与した。病理学的検討では、反応性のastrocyteとmonocyteにHIF-1、VEGF、CXCR4、CXCL12、PDGF、PDGF-Rの発現を認め、脳放射線壊死の主役となっていることが明らかとなった。脳放射線壊死動物モデルは難航しており、現在作成中である。

研究成果の概要(英文)：There was a significant correlation between effectiveness of bevacizumab and uptake of F-BPA-PET in radiation necrosis. Reduction of perilesional edema by bevacizumab contributed to improvement of performance status in patients with radiation necrosis. In pathological study, reactive astrocytes and monocytes played important roles, expressing HIF-1 α , VEGF, CXCR4, CXCL12, PDGF, and PDGF-R. We have still tried to establish experimental radiation necrosis in rats.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：放射線壊死 血管新生 ベバシズマブ アミノ酸PET 炎症 血管内皮増殖因子

1. 研究開始当初の背景

近年、脳腫瘍の放射線治療として、定位放射線治療、強度変調放射線治療、またプロトン、カーボンなどの粒子線治療の出現により、脳腫瘍に対する局所高線量放射線照射が可能となってきた。悪性グリオーマをはじめとする難治性悪性脳腫瘍では、これらの治療を用いて腫瘍の局所制御を成し得ても、脳放射線壊死を合併し、結果として不幸な転帰をたどる例も少なくはない。また、転移性脳腫瘍例では、分子標的薬などの新規化学療法薬の効果によって原発巣の生命予後が延長し、遅発性放射線障害である放射線壊死に遭遇する機会も増えたと思われる。

放射線治療のさらなる成績向上のためには、脳放射線壊死の病態解明をはじめ、非侵襲的診断方法ならびに効果的な新規治療が必要と考える。脳放射線壊死の制御が可能となれば、今後中枢神経系脳腫瘍に対する放射線治療のさらなる飛躍に貢献し、難治性悪性脳腫瘍の克服へつなげられると思われる。

2. 研究の目的

悪性グリオーマは単独の放射線治療のみでは局所制御は難しく、化学療法を併用しても再発は必至である。再発例に対する放射線再照射の治療効果も示されているが、既放射線治療例では高率な放射線障害が問題となる。また、外科的摘出が困難な機能野の転移性脳腫瘍では、複数回の放射線治療が行われる。このような症例でも近年の原発癌の予後改善から、放射線壊死が問題とされている。放射線治療の向上には、それぞれの治療の改善を期待するだけでなく、合併症である放射線壊死を制御することも求められる。脳放射線壊死が制御できれば、患者のQOLが改善し、延長された生命予後が有意義なものになる。

脳放射線壊死の詳細な病態は知られていない。また非侵襲的手段による診断も確立しておらず、通常MRIでは腫瘍の再発と脳放射線壊死の鑑別には困難を要する。我々は、鑑別の際に、アミノ酸PETであるF-BPA-PETを使用している。F-BPAは悪性グリオーマで高い集積を示し、放射線壊死との鑑別に有効であると考えている。本研究では、F-BPA-PETの鑑別診断能を検証する。

脳放射線壊死の治療には、教科書では、副腎皮質ステロイドと壊死巣除去術が挙げられている。副腎皮質ステロイドは急性期放射線障害には有効であるが、遅発性放射線障害である脳放射線壊死、特に進行する例ではほとんど効果を示さない。また機能野など手術による切除困難部位の病変に対して放射線治療が多用されるため、壊死巣除去術は高リスクの治療となる。近年、血管新生阻害薬であるベバシズマブが放射線壊死に有効であることが報告され、期待されている。本研究では、自験例をまとめ、ベバシズマブの放射線壊死に対する有効性を検討する。

脳放射線壊死の病態解明として、壊死巣除去術で得られた臨床検体の免疫染色と、脳放射線壊死の動物モデルを作成し、発現分子を特定することを行う。病態を解明することで、新たな診断方法や治療方法の開発への道となることを期待される。

3. 研究の方法

(1) F-BPA-PETを用いた非侵襲的診断法の確立

脳放射線壊死症例の術前もしくはベバシズマブ治療前に¹⁸F-BPA-PETを撮影する。時間的に可能であれば、¹¹C-Met-PETも撮影する。MRIの所見とそれぞれの画像での所見と比較検討する。以前にBNCTを照射した症例では、そのときのF-BPA-PETとの比較も行う。

(2) 脳放射線壊死に対するベバシズマブの有効性の検討

壊死巣除去術不能例に対してベバシズマブの投与を行う。脳浮腫の軽減効果を治療前後のMRIにて比較検討し、脳浮腫の縮小率を計算する。

(3) 脳放射線壊死臨床検体の病理学的検討
過去に壊死巣除去術を施行し、得られた臨床検体の免疫染色を行う。GFAP、VEGF、PDGF、HIF-1、VEGF、各種サイトカインの免疫染色を行う。

(4) 脳放射線壊死動物モデルの作成

新規脳放射線壊死の症例の数によっては、平成23年度は過去の症例の解析と動物実験が中心になると思われる。動物実験では、ラットの正常脳に対してWangらの方法によって30Gyの放射線を照射する(Wang S et al. *Cancer Res* 69: 1190-1198, 2009)。彼らの報告では、16週以降に壊死が出現しているため、16週、24週、32週、48週後の組織にて病理標本を作成する。上記と同様の染色を行い評価する。放射線壊死の時期による分子の発現の違い、発現部位などを検討する。

4. 研究成果

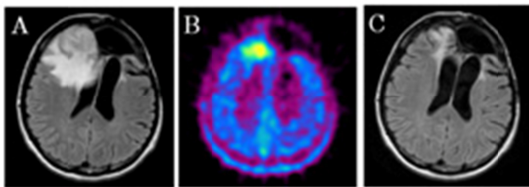
(1) F-BPA-PETによる非侵襲的診断とベバシズマブによる治療

13例の放射線壊死症例に対してベバシズマブの治療を行った。MRIおよび臨床経過より脳放射線壊死と判断した症例に対して、F-BPA-PETを用いて病変部と対側正常脳のuptakeの比(L/N比)を算出した。L/N比は、1.5から2.2で、中央値は1.8であった。ベバシズマブを5mg/kgを隔週毎に3回投与し、MRIにて画像評価を行った。効果を認めた場合6回まで投与を行った。2例で有害事象を認め、治療を中止した。1例は無症候の頭蓋内出血であり、もう1例は突然の心肺停止であった。ベバシズマブの投与回数は6回5例、5回、4回が1例、3回が4例であった。MRIのFLAIR画像にて脳浮腫の体積を算出した。治療前の脳浮腫体積は12.9 cm³~151.0 cm³(中央値65.0 cm³)であった。治療後の脳浮腫体積は3.3 cm³~93.9 cm³(23.6 cm³)であ

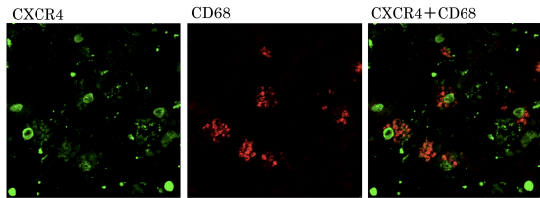
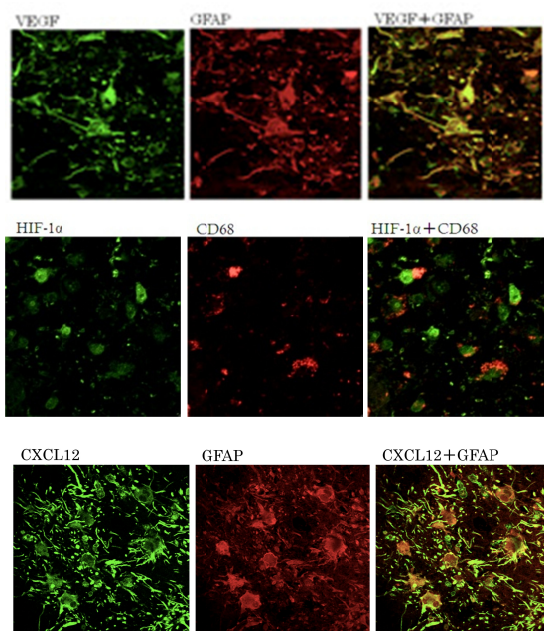
った。脳浮腫の縮小率は中央値が 65.5%であった。治療後 6 例で Karnofsky Performance Status (KPS) が改善したが、5 例では不変であった。単変量解析を行うと、脳浮腫の縮小率と相関を示したのは F-BPA-PET の L/N 比 ($p=0.0084$) と KPS の改善 ($p=0.0228$) であった。脳浮腫と F-BPA-PET の L/N 比は負の相関を示し、L/N 比が低値であるほどベバシズマブが有効であるということであり、F-BPA-PET が放射線壊死の診断に有用であることが示唆された。代表例を呈示する。

27 歳の女性。

左前頭葉の anaplastic astrocytoma に対して術後硼素中性子捕捉療法および X 線照射を行う。4 年後、痙攣発作を認め、MRI にて著明な浮腫を認めた (Fig. A)。 ^{18}F -BPA-PET の L/N ratio は 1.6 と低値であり放射線壊死と診断した (Fig. B)。アバスチン 5 mg/kg を 2 週間毎に 6 回投与した。投与後、浮腫は劇的に改善し (Fig. C)、痙攣発作も消失した。

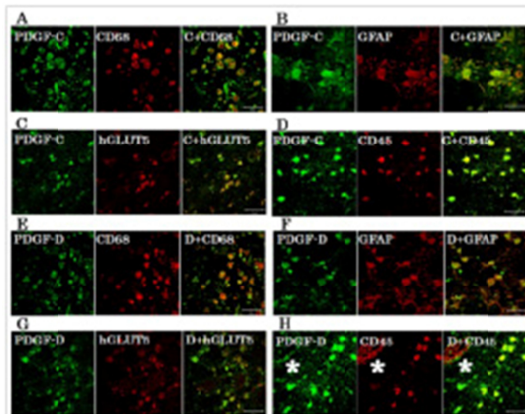


(2) 脳放射線壊死臨床検体の病理学的検討
原疾患が頭頸部癌(耳下腺癌) 神経膠芽腫、転移性脳腫瘍の放射線壊死例にて免疫染色を行った。壊死周囲脳には GFAP 陽性細胞及び CD68/hGLUT5 陽性細胞の 2 種類の細胞が集簇していた。さらに蛍光二重染色の結果、GFAP 陽性細胞は VEGF、CXCL12 を発現しており、一方、CD68/hGLUT5 陽性細胞は HIF-1、CXCR4、IL-1、IL-6、TNF- α 、NF- κB を発現していた。



周囲脳の反応性の astrocyte および monocyte が重要な役割を担っていることが示唆された。HIF-1 により astrocyte が VEGF を発現し、血管新生が生じていると思われる。また、chemokine の働きによって炎症や血管新生が生じていることも示唆された。また monocyte にて cytokine の発現を多数認め、炎症の主役となっていると思われる。

PDGFs は全て壊死周囲脳に陽性を呈する細胞が集簇しており、形態学的に PDGF-A と-B は monocyte と血管内皮で陽性を示した。PDGF-C と-D は monocyte、血管内皮だけでなく、reactive astrocyte で陽性を示した。また、PDGFs は非損傷脳では観察できなかった。PDGFR- は周囲脳の血管内皮、monocyte、そして reactive astrocyte に発現していたが、PDGFR- は周囲脳の血管内皮に限らず、UB でも同様に血管内皮に限局して陽性を呈していた。統計学的に各 isoform の発現頻度を比較すると、PDGF-C と-D は PDGF-A と-B に比べ、優位に発現頻度は高かった ($p < 0.0001$, Steel-Dwass test)。PDGFs と PDGFRs は脳放射線壊死に関与しており、特に、PDGFs と PDGFR- は macrophage、microglia、reactive astrocyte、lymphocyte、血管内皮細胞に発現しており脳放射線壊死において炎症、血管新生、繊維化を促していることを示唆された。



(3) 脳放射線壊死動物モデルの作成

ラットを用いて京都大学原子炉実験所で照射実験を行ったが、安定して脳放射線壊死モデルを作成することができなかった。Spring-8 にて照射実験も行ったが、やはり安定したモデルが作成できなかった。平成 25 年より大阪府立大学獣医臨床センターにある動物照射用治療装置を用いて照射実験を

行っている。60Gyの照射で約6カ月後に放射線壊死が作成されていることをMRIによる画像検査および組織学的に確認した。MRIでは脳浮腫と思われる高信号域が出現し、組織標本では、壊死巣および浮腫、出血や血管新生を認めた。現在ラット数を増やして安定したモデルが作成できることを確認中である。

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 11件)

Miyata T, Furuse M, et al. (9人中4番目)

The roles of platelet-derived growth factors and their receptors in brain radiation necrosis, *Radiat Oncol*, 査読有、9、2014、51

Yoritsune E, Furuse M, et al. (11人中2番目)、Inflammation as well as angiogenesis may participate in the pathophysiology of brain radiation necrosis. *J Radiat Res*, 査読有、2014, in press

古瀬 元雅、宮武 伸一、III. 各種疾患 3. 脳腫瘍 1) 脳放射線壊死に対するペバシズマブ(アバスチン)療法、鈴木則宏ら(編) *Annual Review 神経*, 査読無、中外医学社: 2013、150-155

Furuse M, et al. (7人中1番目)、Bevacizumab treatment for symptomatic radiation necrosis diagnosed by amino acid PET, *Jpn J Clin Oncol*, 査読有、43(3)、2013、337-341

宮武 伸一、古瀬 元雅、専門医に求められる最新の知識 . 脳腫瘍 . 脳放射線治療の診断と治療の最新の治験 ペバシズマブによる治療効果、*脳神経外科速報*, 査読無、23、2013、530-536

古瀬 元雅、宮武 伸一、放射線脳壊死の病態と治療法、*Clinical Neuroscience*, 査読無、2013、10、1177-1178

古瀬 元雅、宮武 伸一、放射線壊死と画像診断、*PET journal*, 査読無、17、2012、42-44

宮武 伸一、古瀬 元雅、脳放射線壊死の成因と治療 .-高度医療(第3項先進医療)の申請-、*脳神経外科ジャーナル*, 査読無、21、2012、472-480

宮武 伸一、古瀬 元雅、高度医療(第3項先進医療)制度を用いた症候性脳放射線壊死の診断と治療、*PET journal*, 査読無、18、2012、11-13

古瀬 元雅、宮武 伸一、PET/CTをどう使いこなすか? 経験豊富な施設からの報告 3) 脳神経 アミノ酸 PETを中心に、月間 *INNERVISION*, 査読無、27(12)、2012、15-18

松下 葉子、古瀬 元雅ら(7人中4番目)、¹⁸F-BPA-PETを用いたグリオーマの悪性度診断、*CT研*, 査読無、34、2012、163-167

[学会発表](計 16件)

Furuse M、Bevacizumab for progressive radiation necrosis、*Joint Neurosurgical Convention 2013*、The 6th International Mt. BANDAI symposium for Neuroscience、The 7th Pan-pacific neurosurgery Congress、2013年1月29-2月3日、Hilton Waikoloa Village、Waikoloa、Hawaii.

古瀬 元雅、進行性放射線壊死に対するアバスチン治療 . 自験例および臨床試験の経過報告、第22回日本定位放射線治療学会、2013年5月24-25日、長嶋温泉 ホテル花水木、桑名

古瀬 元雅、転移性脳腫瘍の放射線障害に対するペバシズマブの効果、第72回日本癌学会学術総会、2013年10月3-5日、パシフィコ横浜、横浜

古瀬 元雅、転移性脳腫瘍の放射線障害に対するペバシズマブ療法、日本脳神経外科学会第72回学術総会、2013年10月16-18日、パシフィコ横浜、横浜

古瀬 元雅、放射線壊死に対するベバシズマブの治療効果、第14回日本分子脳神経外科学会、2013年10月18-19日、パシフィコ横浜、横浜

Furuse M、Bevacizumab for radiation injury in metastatic brain tumors and meningiomas、4th Quadrennial Meeting of the World Federation of Neuro-Oncology in conjunction with the 18th Annual Meeting of the Society for Neuro-Oncology、2013年11月21-24日、Marriott Marquis Hotel、San Francisco、CA

古瀬 元雅、放射線障害に対するベバシズマブ療法 転移性脳腫瘍と髄膜腫の比較、第31回日本脳腫瘍学会学術集会、2013年12月8-10日、フェニックス・シーガイア・リゾート、宮崎

Furuse M、Bevacizumab for progressive radiation necrosis: Preliminary results and ongoing clinical trial、10th meeting of the European Association of NeuroOncology、2012年9月6-9日、PARC CHANOT - Marseille Exhibition and Convention centre、Marseille

古瀬 元雅、症候性放射線壊死に対するアバチン療法 -preliminary results-、第71回日本癌学会学術総会、2012年9月19-21日、ロイトン札幌、札幌

古瀬 元雅、進行性放射線壊死に対するアバチンの治療効果 自験例および臨床試験の経過報告、第50回日本癌治療学会学術集会、2012年10月25-27日、パシフィコ横浜、横浜

Furuse M、Bevacizumab for progressive radiation necrosis: Preliminary results and ongoing clinical trial、17th annual scientific meeting of the Society for Neuro-Oncology、2012年11月15-18日、Hilton Hotel、Washington、

D.C.

古瀬 元雅、ベバシズマブによる症候性脳放射線壊死の治療 臨床試験経過報告、第30回日本脳腫瘍学会学術集会、2012年11月25-27日、グランドプリンスホテル広島、広島

古瀬 元雅、ベバシズマブによる脳放射線壊死の治療、第29回日本脳腫瘍病理学会、2011年5月20日-21日、タワーホール船堀、東京

Furuse M、Bevacizumab as a new treatment for radiation necrosis、2011 Annual meeting of Congress of Neurological Surgeons、2011年10月1-6日、Walter E. Washington Convention Center、Washington D.C.

古瀬 元雅、放射線壊死に対するベバシズマブの治療効果 preliminary results -、(社)日本脳神経外科学会第70回学術総会、2011年10月12-14日、パシフィコ横浜、横浜

古瀬 元雅、放射線壊死に対するベバシズマブの治療効果の予測、第29回日本脳腫瘍学会学術集会、2011年11月27-29日、下呂温泉 水明館、岐阜

6. 研究組織

(1) 研究代表者

古瀬 元雅 (FURUSE Motomasa)
大阪医科大学・医学部脳神経外科・講師(准)
研究者番号: 70340560

(2) 研究分担者

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