

令和 6 年 5 月 23 日現在

機関番号：37303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07609

研究課題名(和文) 脳腫瘍の集学的治療時に生じる認知機能障害と脳内毛細血管密度の解析

研究課題名(英文) Analysis of cognitive dysfunction and intracerebral capillary density during multidisciplinary treatment of brain tumors

研究代表者

高井 伸彦 (Takai, Nobuhiko)

長崎国際大学・薬学部・教授

研究者番号：70373389

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、海馬における放射線誘発性の血管透過性の亢進生じさせる線量を照射した場合、海馬神経細胞数の低下には毛細血管密度の低下が関与していることを明らかにした。またこのことは脳および海馬内においても放射線に脆弱な部位があることが推察されるに至った。放射線による記憶に重要な海馬の脆弱性を調べるため、HPLC(高速液体クロマトグラフィー)による種々のアミノ酸の一斉分析を試みたところ、興奮性アミノ酸(グルタミン酸)の線量依存的な増加、抑制性アミノ酸(GABA)の低下を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

放射線による脳や小腸(腸管)の組織障害において、炭素線照射による興奮性アミノ酸や抑制性アミノ酸の経時変化をHPLC(高速液体クロマトグラフィー)によって一斉分析を行なったことで、細胞壊死に関わるNMDA受容体の活性化にはグルタミン酸の有意な増加と抑制性アミノ酸GABAの減少が伴っていることが明らかとなった。このことは、脳腫瘍放射線治療後に生じる高次脳機能の低下や放射線脳壊死を防ぐためには、NMDA受容体の活性化の効率的に抑制する必要があることを示唆しており、これらの研究成果によって、NMDA受容体の活性化を防ぐ防護薬の最適投与時間の推定が可能となったと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We developed the HPLC method for the determination of six amino acids and related compounds; glycine, serine, aspartic acid, glutamic acid, taurine, and  $\gamma$ -aminobutyric acid; in the mouse with pre-column derivatization with fluorogenic reagent, NBD-F (4-Fluoro-7-nitrobenzofurazan). After carbon-ion irradiation, the concentration of taurine significantly decreased with time. Taurine, a sulfur-containing amino acid-related compound, has been reported to have a radioprotective effect. Therefore, the decrease in Tau concentration was inferred to be a decrease in radioprotective ability in the mouse. On the contrary, the concentration of Glu significantly increased with time dependence by the irradiation. These results suggested that the increase in glutamate concentration after irradiation induces the activation of NMDA receptors; thus, radiation-induced intestinal injuries could be suppressed by NMDA receptor antagonists as radioprotective agents after carbon-ion irradiation.

研究分野：放射線医療学

キーワード：放射線脳壊死 高次脳機能障害 炭素線治療 重粒子線治療

## 1. 研究開始当初の背景

悪性脳腫瘍(Grade IV)は、放射線治療や化学療法単独では5年生存率を向上できておらず、様々な治療を組み合わせた集学的治療が必要とされているが、放射線治療や化学療法のどちらにおいても、治療中や治療後における認知記憶や集中力の低下が報告されており、脳腫瘍治療に限らず乳がんや大腸がんなどのがんサバイバーの約8割の患者が抱える副作用の1つである。化学療法による認知機能の低下(ケモブレイン)においては、未だその病態メカニズムは国内外問わず記憶に関わる海馬領域の神経発生の減少とする仮説の域にとどまっている。我々は放射線照射後の早期の変化を検出し、照射後の認知機能低下との関連性を示した新たに創出した脳内毛細血管密度の画像診断技術を利用し、放射線(重粒子線)脳壊死モデルを用いて、認知機能を維持できる許容線量の推定や化学療法との組み合わせによる影響を解析する。また記憶に重要な役割を持つN-methyl-D-aspartate (NMDA)受容体は、脳だけでなく腸全般に存在しており、これまでの我々の研究成果から、NMDA受容体阻害剤が腹部の放射線被曝の影響を軽減することを明らかにしてきた。この研究課題では、放射線治療と化学療法の集学的治療時に生じる脳機能障害の機序を明らかにし、その防護および軽減方法を、集学的治療時の許容線量の推定ならびにNMDA受容体関連薬物による防護効果を通して明らかにする。

## 2. 研究の目的

脳腫瘍の放射線療法および化学療法併用に伴う脳壊死および高次脳機能障害の軽減を目的とし、我々が新たに創出した脳機能に関わる脳内毛細血管密度の画像診断技術を応用することで、脳内脆弱部位の障害機序を明らかにする。また種々の抗がん剤併用による放射線の脳機能影響について、脳内神経受容体および毛細血管密度の観点から高次脳機能障害の機序を明らかにする。さらに粒子線治療における分割回数および分割時間の検討を行い、脳浮腫や壊死などの中枢神経障害の予測ならびに脳機能(認知・記憶・注意力)障害を軽減し、より副作用の少ない新しい治療法の提言とがん患者の生活の質(Quality of Life(QOL))の向上に向けた研究を実施する。

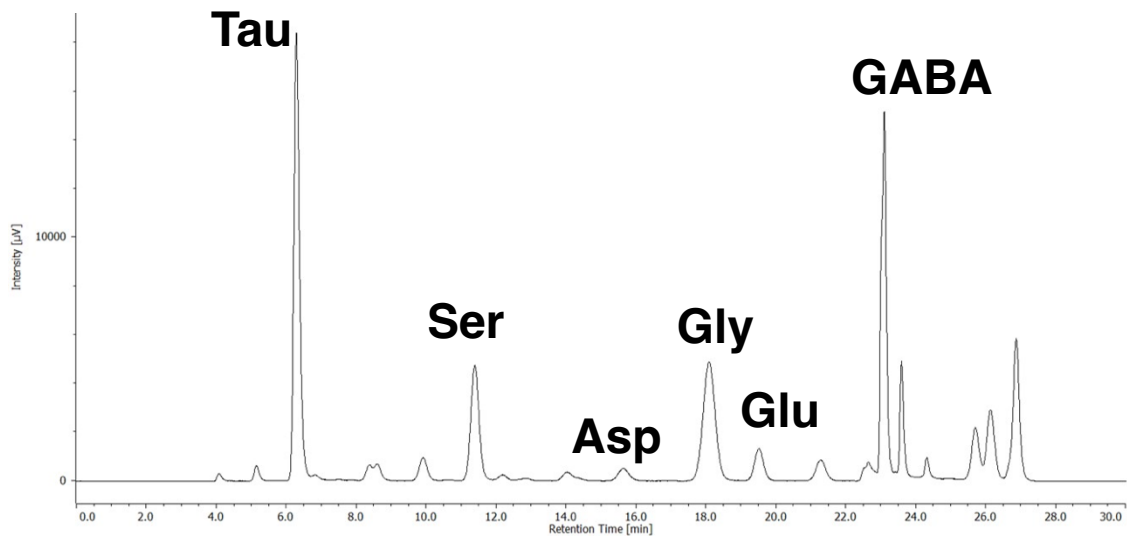
## 3. 研究の方法

重粒子線がん治療装置を用いて、マウス脳局所に脳壊死を誘発する線量である60Gy、腫瘍の浸潤領域となる腫瘍周辺部の予防照射線量として総線量の1/2の線量である30Gを想定、晩発性の認知機能の低下が報告されている20Gy、我々の研究結果から脳内毛細血管密度の低下を生じさせる10Gyなどの線量を用いる。また脳腫瘍の化学療法で用いられるテロゾロミドやニムスチンなどの用量は、すでにMaris, S(2012)らが海馬領域の神経発生と認知機能の影響の解析に使用された用量を用いる。これらを組み合わせた照射実験を実施し、放射線脳壊死モデル動物を長崎国際大学に輸送する。オープンフィールド、高架式十字迷路、Y字迷路、モリス水迷路を用いて、網羅的に情動行動や認知機能を経時的に観察し、重粒子線照射単独と抗がん剤併用時との認知機能障害の違いや特徴を、照射早期(1週間後)、中期(1ヶ月後)、特に晩期(3ヶ月後)を中心とした解析により明らかにする。さらに同じ期間においてHPLC(高速液体クロマトグラフィー)による種々のアミノ酸分析を実施し、脳機能障害との関連性を明らかにする。

## 4. 研究成果

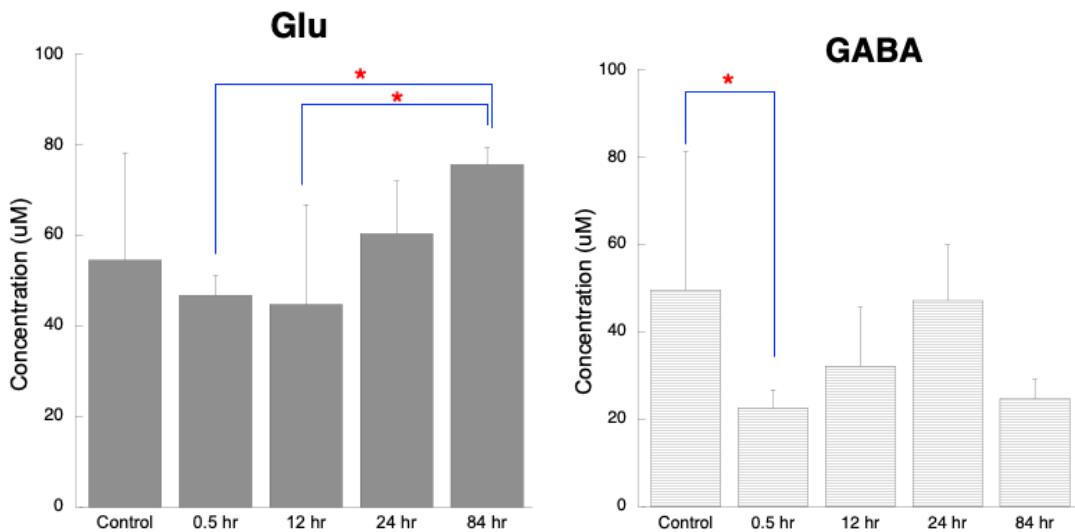
我々は、海馬における放射線誘発性の血管透過性の亢進を生じさせる線量を照射した場合、海馬神経細胞数の低下には毛細血管密度の低下が関与していることを明らかにしてきた。また脳および海馬内においても放射線に脆弱な部位があることが推察されるに至った。

放射線による記憶に重要な海馬の脆弱性を調べるため、HPLC(高速液体クロマトグラフィー)による種々のアミノ酸の一斉分析を試みたところFig.1、興奮性アミノ酸(グルタミン酸)の線量依存的な増加、抑制性アミノ酸(GABA)の低下を明らかにした。また同様に、放射線による小腸(腸管)の組織障害において、炭素線照射による興奮性アミノ酸や抑制性アミノ酸の経時的変化をHPLCによって一斉分析を行なったことで、細胞壊死に関わるNMDA受容体の活性化にはグルタミン酸(Glu)の有意な増加と抑制性アミノ酸GABAの減少が伴っていることが明らかとなったFig.2。このことは、脳腫瘍の放射線治療後に生じる高次脳機能の低下や放射線脳壊死や腹部腫瘍の放射線治療による腸障害を防ぐためには、NMDA受容体の活性化の効率的に抑制する必要があることを示唆しており、これらの研究成果によって、NMDA受容体の活性化を防ぐ防護薬の最適投与時間の推定が可能となったと考えられる。



**Fig.1 Chromatogram of non-irradiated mouse small intestine**

Amino acids in the mouse intestine were analyzed by HPLC-fluorescence analysis using NBD-F. Six amino acids (Tau, Ser, Asp, Gly, Glu and GABA) were well separated and detected. The absolute calibration methods of those amino acids showed good linearity ( $r \geq 0.997$ ).



**Fig.2 Changes in Various amino acid concentrations in the small intestine after irradiation.**

Data are given as means  $\pm$  SD ( $n = 4$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ ). Statistical analyses were performed by non-parametric multiple comparison (Scheffe's test). A  $p$ -value of less than 0.05 was considered to be statistically significant. The taurine showed a slight increase after 0.5 hours, but the taurine concentrations decreased significantly in a time-dependent manner. On the other hand, The glutamic acid increased significantly from 0.5 hours to 84 hours after irradiation. The glycine increased only at 24 hours after irradiation, the serine and aspartic acid were not affected by irradiation. The  $\gamma$ -aminobutyric acid decreased significantly only 0.5 hours after irradiation.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 3件）

|   |                     |
|---|---------------------|
| 1. 著者名<br>Saori Nakamura, Nobuhiko Takai, Yoshino Katsuki, Akiko Uzawa, Ryoichi Hirayama, Yoshihito Ohb   | 4. 巻<br>8           |
| 2. 論文標題<br>CHANGES IN VARIOUS AMINO ACID CONCENTRATIONS IN THE SMALL INTESTINE AND PATHOGENESIS OF INTESTINAL INJURY CAUSED BY CARBON ION IRRADIATION | 5. 発行年<br>2023年     |
| 3. 雑誌名<br>RapProc   | 6. 最初と最後の頁<br>15-19 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.37392/RapProc.2023.04  | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-           |

|  |                 |
|--|-----------------|
| 1. 著者名<br>Natsuko Kondo, Yoshinori Sakurai, Takushi Takata, Kuniyuki Kano, Kyo Kume, Munetoshi Maeda, Nobuhiko Takai, Shugo Suzuki, Fumihito Eto, Kenji Kikushima, Hideki Wanibuchi, Shin Ichi Miyatake, Takayuki Kajihara, Shoji Oda, Mitsutoshi Setou, Junken Aoki & Minoru Suzuki | 4. 巻<br>12      |
| 2. 論文標題<br>Persistent elevation of lysophosphatidylcholine promotes radiation brain necrosis with microglial recruitment by P2RX4 activation.  | 5. 発行年<br>2022年 |
| 3. 雑誌名<br>Scientific Reports   | 6. 最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41598-022-12293-3   | 査読の有無<br>有      |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-       |

|   |                     |
|---|---------------------|
| 1. 著者名<br>高井伸彦  | 4. 巻<br>18          |
| 2. 論文標題<br>放射線教育の道しるべ   | 5. 発行年<br>2022年     |
| 3. 雑誌名<br>産学官連携ジャーナル8月号 国立研究開発法人科学技術振興機構                      | 6. 最初と最後の頁<br>25-26 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1241/sangakukanjournal.18.8_25 | 査読の有無<br>無          |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)                        | 国際共著<br>-           |

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>高井伸彦                               |
| 2. 発表標題<br>アミノ酸受容体の活性化機序の解析-重粒子線照射による腸管および脳障害 |
| 3. 学会等名<br>第59回放射線影響懇話会                       |
| 4. 発表年<br>2022年                               |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>高井伸彦                              |
| 2. 発表標題<br>炭素線脳局所照射による認知機能障害と遅発性脳壊死との関連性について |
| 3. 学会等名<br>第2回日本量子医科学会（招待講演）                 |
| 4. 発表年<br>2023年                              |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>高井伸彦                            |
| 2. 発表標題<br>脳腫瘍の放射線治療に伴う副作用の機序の解析           |
| 3. 学会等名<br>第21回学術研究報告会 長崎国際大学（Web開催）（招待講演） |
| 4. 発表年<br>2021年                            |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Saori Nakamura, Nobuhiko Takai, Yoshino Katsuki, Akiko Uzawa, Ryoichi Hirayama, Yoshihito Ohba.  |
| 2. 発表標題<br>Changes in various amino acid concentrations in the small intestine and pathogenesis of intestinal injury caused by carbon ion irradiation |
| 3. 学会等名<br>International conference on radiation applications（国際学会）   |
| 4. 発表年<br>2023年   |

|                                 |
|---------------------------------|
| 1. 発表者名<br>佛坂菜摘 梅木茉音 香月優奈 高井伸彦  |
| 2. 発表標題<br>浸潤性膀胱癌におけるPET/CTの可能性 |
| 3. 学会等名<br>第60回放射線影響懇話会         |
| 4. 発表年<br>2023年                 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|  | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|