

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592111

研究課題名(和文) ガンマナイフとグリオーマ細胞吸着療法を組み合わせた効率的腫瘍根絶療法の基礎研究

研究課題名(英文) Malignant glioma absorption therapy with radiation therapy

研究代表者

浅野 研一郎 (Asano, kenichiro)

弘前大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90312496

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：グリオーマ細胞の浸潤を防止し、一カ所に遊走沈着すれば効率的に治療を行える。分子標的治療薬AG1478包含高濃度プロテオグリカン人工基質を重層し、腫瘍を人工基質へ吸着させる。そこに放射線を照射すれば効率的に腫瘍を根絶できる。

In vitroでは至適人工基質とAG 1478の濃度は15mM, 20mMと決定。至適放射線量として単回照射の5Gyと決定。病理組織では放射線により効率的に処理されていることを確認。人工基質を摘出し照射しない群と人工基質を摘出せず照射する群に分け検討を行い、後者が有効であった。平均生存期間は65日と87日と有意差が見られた。

研究成果の概要(英文)：If we would protect glioma cell invasion and gather one part, we could treat them more effectively. After proteoglycan artificial matrix with molecular target medicine AG1478 were completed, tumor cells were absorbed in artificial matrix. After that, when radiotherapy was done, tumor cell would be killed effectively. In vitro experiment, the optimal concentration of artificial matrix and AG1478 were 15mM and 20mM respectively. The optimal radiation dose was 5Gy. We could confirm tumor cell were treated effectively in pathological findings. Survival analysis was better survival of the radiation group with artificial matrix than of radiation group without artificial matrix. Statistical analysis was significant different. Average of survival were 65 days and 87days respectively.

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：プロテオグリカン 悪性グリオーマ 細胞吸着療法 放射線治療

## 1. 研究開始当初の背景

悪性グリオーマは脳腫瘍の中でも生命予後が極めて不良の疾患である。その原因としてグリオーマ細胞の浸潤性の強さにより、手術にて全摘したにもかかわらず約9割に局所再発を来すことが原因の1つとも考えられる。

そこでグリオーマ細胞の浸潤を防止し、一カ所に遊走沈着させることができれば効率的な治療を行うことができるという仮説のもと、著者等は腫瘍摘出術後、前処置としてグリオーマ細胞に間接的細胞接着因子増強作用があることが報告された分子標的治療薬を摘出面に塗布し腫瘍細胞を凝集させ、高濃度プロテオグリカン人工基質を重層し、グリオーマ細胞を人工基質へ吸着させ治療する実験モデルを開発した。

しかしこのモデルの欠点として、腫瘍細胞が吸着した高濃度プロテオグリカン人工基質へは化学療法が無効であることや、手術にて摘出が必要なこと等、手間がかかる難点があり改良が必要であった

## 2. 研究の目的

腫瘍細胞を高濃度プロテオグリカン人工基質に吸着させ、この部位のみに放射線を照射すれば、効率的に残存腫瘍を根絶でき、かつ周囲脳組織の放射線障害を最小限に防ぐことが可能と予想される。そのため手術摘出せずに腫瘍が含まれた人工基質を放射線にて治療が完結するか検討することとした。

## 3. 研究の方法

平成 23 年度

In vitro の実験系において放射線による高濃度プロテオグリカン人工基質の耐術性と安全性の確認をめざす。

- 1) あらかじめ C6 グリオーマ細胞を浸潤させておいた人工基底膜に、EGFR チロシンキナーゼ阻害薬の1つである AG1478

を投与し、C6 グリオーマ細胞の殺細胞効果と間接的 N-カドヘリン増強作用により C6 グリオーマ細胞を凝集させる。

- 2) C6 グリオーマ細胞を吸着することが確かめられている高濃度プロテオグリカンの人工基質を重層し、人工基質へ腫瘍細胞を遊走沈着させる。
- 3) 放射線を照射し、C6 グリオーマ細胞の放射線による変化と高濃度プロテオグリカン人工基質の放射線照射による変化を検討する。

以上を in vitro の実験系で確かめる。

平成 24 年度

In vivo の実験系において放射線による脳内高濃度プロテオグリカン人工基質の処理が安全にできるか確認する。

- 1) ラット脳腫瘍移植モデルを作り、脳腫瘍摘出術を行う。
- 2) 腫瘍摘出腔壁に AG1478 と高濃度プロテオグリカン人工基質を注入する。
- 3) 実際に放射線を照射し、最適な放射線量を決定する。
- 4) 病理学的に高濃度プロテオグリカン内の腫瘍細胞が放射線により処理されていることと、周囲脳組織の浮腫の状態、周辺脳組織の放射線障害がないことを確認し、in vivo の実験系の確立をめざす。

平成 25 年度

治療有効性と生存率向上を明らかにする。

- 1) 治療の有効性の確認。以下二群に分ける。
  - ①高濃度プロテオグリカン人工基質を摘出し放射線を照射しない群
  - ②高濃度プロテオグリカン人工基質を摘出せず放射線を照射する群

以上2群を比較し、本実験の有効性を確認する。

## 2) 生存率の確認

1)と同様に実験を行い、生存率を求め、一連の実験効果を明らかにする。再発したものは、その再発様式を明らかとする。

## 4 . 研究成果

平成 23 年度

1) あらかじめC6 グリオーマ細胞を浸潤させておいた人工基底膜に、EGFR チロシンキナーゼ阻害薬の 1 つである AG1478 を投与し、C6 グリオーマ細胞の殺細胞効果と間接的 N-カドヘリン増強作用により C6 グリオーマ細胞を凝集させることに成功した。至適人工基質と AG 1478 の濃度は 15mM, 20mM であった。

2) C6 グリオーマ細胞を吸着することが確かめられている高濃度プロテオグリカンの人工基質を重層し、人工基質へ腫瘍細胞を遊走沈着させ、その遊走を定量的に確認した (Fig.1)。

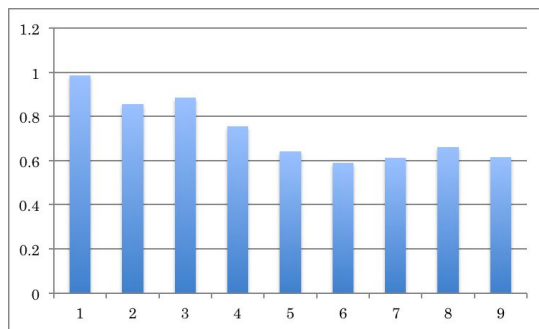


Fig.1

3) 放射線を照射し、放射線による細胞の変化と高濃度プロテオグリカン人工基質の放射線照射による変化と AG1478 の放射線増感作用も確認した。

平成 24 年度

In vitro の実験で放射線を照射し、その至適放射線量は 5Gy であると判明した。その後 in vivo の実験を行い実験モデルを完成させた。放射線照射はまず通常の X 線照射を行い、病

理的に高濃度プロテオグリカン内の腫瘍細胞が放射線により処理されていることを確認した (Fig.2)。

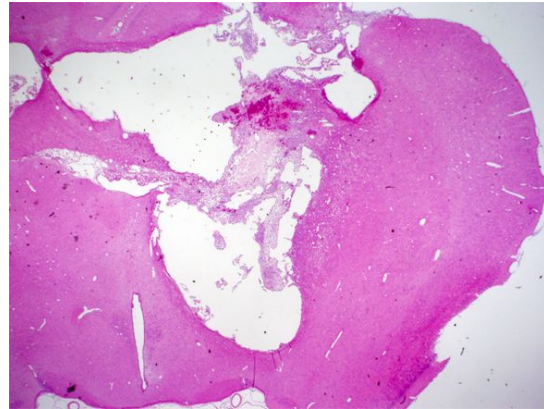


Fig.2 腫瘍は人工基質に吸収され効率よく処理されていることがわかる。

周囲脳組織の浮腫の状態、周辺脳組織の放射線障害がないことを確認した。しかし少々プロテオグリカンの肉芽反応が強いことが確認された (Fig.3)。

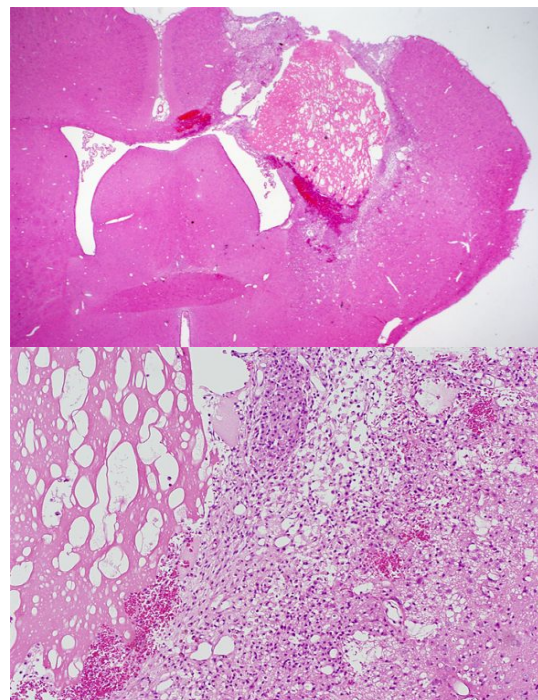
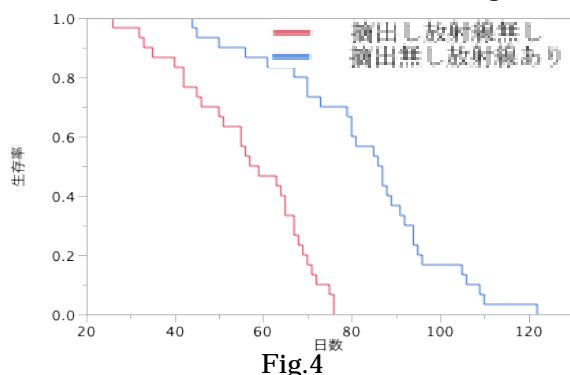


Fig.3 しかし症例により、基質の周辺肉芽反応が強くなる。拡大図では腫瘍再発ではなく、形質細胞とマクロファージであることがわかる。

平成 25 年度

人工基質を摘出し照射しない群と人工基質を摘出せず照射する群に分け検討を行い、人工基質を摘出せず放射線照射する群が有効であることがわかった。長期生存実験でも平均生

存期間は 65 日 (26~76 日) と 87 日 (44~122 日) であり有意差が見られた (Fig.4)。



#### 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 12 件)  
以下は全て査読あり

1. Matsuda N, Naraoka M, Munakata S, Asano K, Ohkuma H. Role of oxidized LDL and lectin-like oxidized LDL receptor-1 in cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. J Neurosurg. [in press]
2. Uzuka T, Asano K, Sasajima T, Sakurada K, Kumabe T, Beppu T, Ichikawa M, Kitanaka C, Aoki H, Saito K, Ogasawara K, Tominaga T, Mizoi K, Ohkuma H, Fujii Y, Kayama T; Tohoku Brain Tumor Study Group. Treatment outcomes in glioblastoma patients aged 76 years or older: a multicenter retrospective cohort study. J Neurooncol 116:299-306, 2014
3. Katayama K, Asano K, Ohkuma H, Terui K, Sasaki S, Sato T, Ito E, Komori T. A case of pediatric optic pathway oligodendroglioma presenting widespread invasion and dissemination in the cerebrospinal fluid. Brain Tumor Pathol 2013 Aug 31. [Epub ahead of print]
4. Sato J, Shimamura N, Naraoka M, Terui K, Asano K, Itou E, Ohkuma H. Long-term tumor-free survival case of congenital embryonal tumor with various pathological components. Childs Nerv Syst 29: 921-926, 2013
5. Katayama K, Asano K, Shimamura N, Ogasawara Y, Naraoka M, Ohkuma H, Kurose A. A case of pleomorphic xanthoastrocytoma with anaplastic features in the pineal gland. Brain Tumor Pathol 2013 Mar 5. doi: 10.1007/s10014-013-0137-1. Epub 2013 Mar 5.
6. Hirohata T, Asano K, Ogawa Y, Takano S, Amano K, Isozaki O, Iwai Y, Sakata K, Fukuhara N, Nishioka H, Yamada S, Fujio S, Arita K, Takano K, Tominaga A, Hizuka N, Ikeda H, Osamura RY, Tahara S, Ishii Y, Kawamata T, Shimatsu A, Teramoto A, Matsuno A. DNA mismatch repair protein (MSH6) correlated with the responses of atypical pituitary adenomas and pituitary carcinomas to temozolomide: the national cooperative study by the Japan Society for Hypothalamic and Pituitary Tumors. J Clin Endocrinol Metab 98:1130-1136, 2013
7. Asano K, Sato J, Matsuda N, Ohkuma H. A rare case of primary bone xanthoma of the clivus. Brain Tumor

- Pathol 29: 123-128, 2012
8. Nakano T, Munakata A, Shimaura N, **Asano K**, Ohkuma H: Augmentation index is related to white matter lesions. Hypertens Res 35: 729-732, 2012
  9. **Asano K**, Ohkuma H, Epithelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor prevents infiltration and cerebrospinal fluid dissemination in malignant glioma: An experimental study. Neurosurgery 69: 399-410, 2011
  10. Shibahara I, Kawaguchi T, Kanamori M, Yonezawa S, Takazawa H, **Asano K**, Ohkuma H, Kaimori M, Sasaki T, Nishijima M. Pilocytic astrocytoma with histological malignant features without previous radiation therapy: case report. Neurol Med Chir (Tokyo) 51: 144-147, 2011
  11. **Asano K**, Kudo K, Mori F, Ohkuma H, Wakabayashi K. A case of anaplastic clear-cell ependymoma presenting with high erythropoietin concentration and 1p/19q deletions. Brain Tumor Pathol 28: 317-327, 2011
  12. Takeda T, Nakano T, **Asano K**, Shimamura N, Ohkuma H. Usefulness of thallium-201 SPECT in the evaluation of tumor natures in intracranial meningiomas. Neuroradiology 53: 867-873, 2011
- 〔学会発表〕（計 7件）
- 1) 第 31 回日本脳腫瘍病理学会  
2013年5月24日(金)・25日(土)  
KFC Hall 国際ファッションセンター  
悪性神経膠腫における放射線、TMZ、VCR、IFN 併用における免疫染色における予後の検討  
浅野研一郎、片山耕輔、中野高広、大熊洋揮、黒瀬顕
  - 2) 第 30 回日本脳腫瘍学会学術会  
2012年11月25日(日)～27日(火)  
グランドプリンスホテル広島  
悪性グリオーマにおける放射線 TMZ VCR IFN 併用療法の治療成績：単独施設での連続症例  
浅野研一郎、片山耕輔、中野高広、嶋村則人、大熊洋揮、黒瀬顕
  - 3) 第 30 回日本脳腫瘍病理学会  
2012年5月24日(木)～26日(土)  
名古屋国際会議場  
膠芽腫が根治しているにもかかわらず、広範に大脳白質変性を認めた1剖検例  
浅野研一郎、菊地潤、佐藤純子、片山耕輔、大熊洋揮、黒瀬顕、若林孝一
  - 4) 第 3 回日本ニューロリハビリテーション学会学術集会  
2012年2月25日(土)  
パシフィコ横浜  
英語シンポジウム  
The project of the multimodality system brain tumor surgery for the postoperative good functional recovery.  
-Visual assistance and evaluation of the prognosis-  
Kenichiro Asano, Hiroki Ohkuma, Jyun Kikuchi, Kousuke Katayama

5) 第 29 回日本脳腫瘍学会学術集会

2011 年 11 月 27 日(日)～29 日(火)

下呂温泉 水明館

プロテオグリカンを用いたグリオーマ腫瘍細胞吸着療法の可能性について

浅野研一郎、片山耕輔、菊地潤、小笠原ゆかり、松田尚也、大熊洋揮

6) (社)日本脳神経外科学会 第 70 回学術総会

ランチョンセミナーLS26

2012 年 10 月 14 日(金)

パシフィコ横浜

フィブリングルーによるくも膜と硬膜閉鎖法  
浅野研一郎、大熊洋揮

7) 第 29 回日本脳腫瘍病理学会

2011 年 5 月 20 日(金)・21 日(土)

タワーホール船堀

長期生存膠芽腫症例と予後不良膠芽腫症例の臨床病理学的因子の統計学的検討

浅野研一郎、佐藤純子、松田尚也、大熊洋揮

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

浅野研一郎 (Asano, Kenichiro)

弘前大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90312496