

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 1 日現在

機関番号：	34401
研究種目：	挑戦的萌芽研究(学術研究助成基金助成金)
研究期間：	2011～2011
課題番号：	23659596
研究課題名（和文）	脳放射線壊死の病態解析（治療戦略の構築に向けて）
研究課題名（英文）	Patho-physiology of the radiation necrosis in the brain
研究代表者	
	宮武 伸一（Miyatake Shinichi）
	大阪医科大学・医学部・准教授
	研究者番号： 90209916

研究成果の概要（和文）：悪性脳腫瘍に対する近年の高線量放射線治療の進歩はその治療成績の向上に寄与しているが、症候性脳放射線壊死が大きな問題となっている。本研究では遅発性脳放射線壊死という診断で necrotomy を行った臨床組織標本の解析を通じて、本病態の機序の解明を目的とした。組織学的検索は通常の H&E 染色の他、各種免疫組織染色を行った。壊死による浮腫の発生は脆弱な血管新生と炎症が病態に深く関与していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Radiation necrosis in the brain became a serious problem after high-dose irradiation for malignant brain tumors. We analyzed the surgically removed specimen of symptomatic radiation necrosis of the human patients, by H & E staining and immunohistochemistry. From the analysis, it is revealed that fragile and leaky angiogenesis and inflammation were the major cause of peri-lesional edema in the radiation necrosis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：脳放射線壊死、血管新生、炎症、アストロサイト、マクロファージ、VEGF、HIF-1 α

1. 研究開始当初の背景

悪性脳腫瘍に対する近年の高線量放射線治療の進歩はその治療成績の向上に寄与しているが、症候性脳放射線壊死が大きな問題となっている。しかしながら、その病態は不明な点が多く、有効な治療法は確立されていない。

2. 研究の目的

本研究では遅発性脳放射線壊死という診断で壊死巣除去を行った臨床組織標本の解析を通じて、本病態の機序の解明を目的とした。

3. 研究の方法

過去 5 年間に大阪医科大学で壊死巣除去を行った 18 例の病理組織を検討した。放射線治療を受ける原因となった腫瘍は、悪性神経

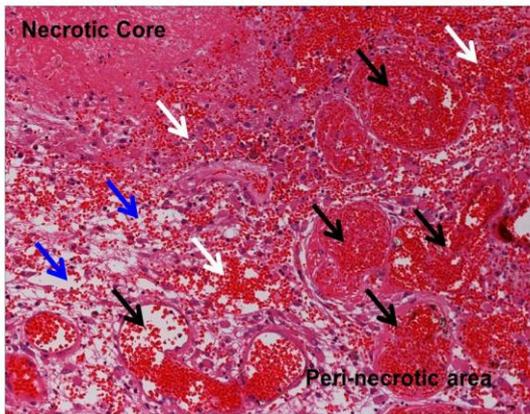
膠腫、悪性髄膜腫、転移性脳腫瘍、頭頸部癌など様々であり、また用いた放射線治療も通常の X 線分割照射、ガンマナイフ等の定位放射線治療、陽子線、ホウ素中性子捕捉療法等である。組織学的検索は通常の H&E 染色、抗 VEGF、抗 HIF-1 α 、抗 GFAP、抗 CD68、抗 CXCL12、CXCR4、抗 IL-1 α 抗体を用いた免疫組織染色を行った。

4. 研究成果

もとの腫瘍型や用いた放射線治療法の異なる壊死巣でも壊死巣周囲の壊死巣辺縁領域に、拡張した毛細血管様の新生血管（telangiectasia）を認め、共通した組織像を示していた。この拡張した telangiectasia 周囲間質には血漿成分の漏出によると思われる浮腫を認め、これが脳放射線壊死におけ

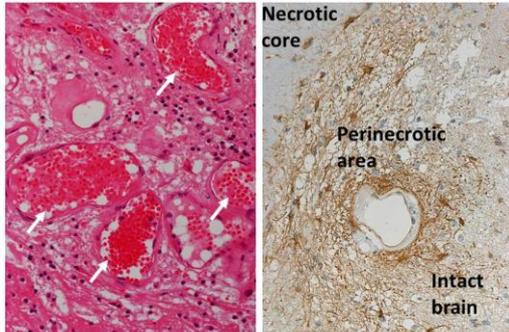
る脳浮腫の原因と考えられた (図1)。

図1 壊死巣周囲脳における組織変化(H&E染色)



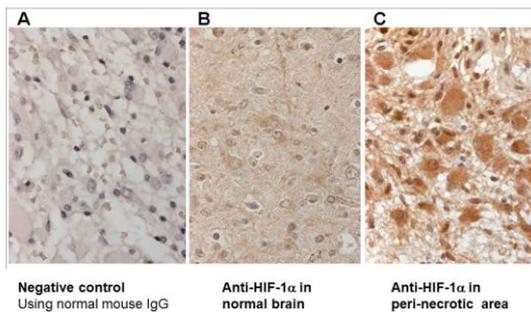
壊死巣辺縁領域では GFAP 陽性の反応性アストロサイトと思われる細胞が VEGF を産生し、その周囲に血管新生を認めていた (図2)。

図2 何故放射線壊死では広範な浮腫が起こるのか？
Metastatic brain tumors derived from breast cancer treated by SRS
顕著な血管新生 抗VEGF免疫染色



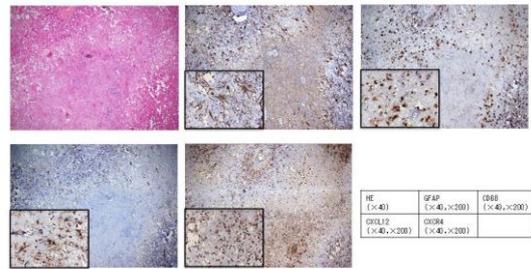
これらの変化は 18 例全例で認め、元々の腫瘍型や放射線治療の種類を問わなかった。更には、虚血性転写因子 HIF-1 α の発現も壊死巣辺縁領域 で亢進していた (図3)。

図3 Anti-HIF-1 α IHC in typical radiation necrosis



壊死巣周囲には 2 種類の細胞浸潤を認め、一つは GFAP 陽性の反応性アストロサイトであり、いまひとつは CD68 陽性のマクロファージであった。前者は CXCL12 を発現し、後者は CXCR4 を発現していた (図4)。

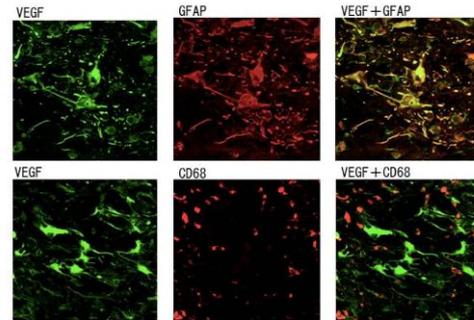
図4 放射線壊死組織における細胞浸潤



壊死巣周囲にはGFAP陽性のアストロサイトとCD68陽性のマクロファージが浸潤し、前者にはCXCL12が後者にはCXCR4が発現している。

次に、この2種類の細胞のうち、どちらが VEGF を発現しているのか、蛍光2重染色により解析したところ、GFAP 陽性のアストロサイトが VEGF を産生していることが判明した (図5)。

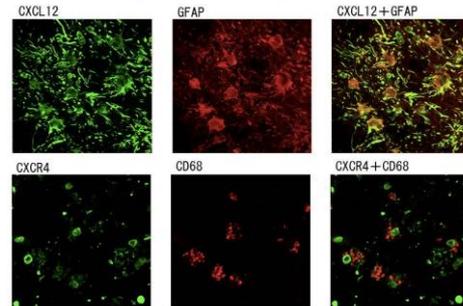
図5 VEGFとGFAP,CD68の蛍光2重染色



VEGFはアストロサイトが産生している

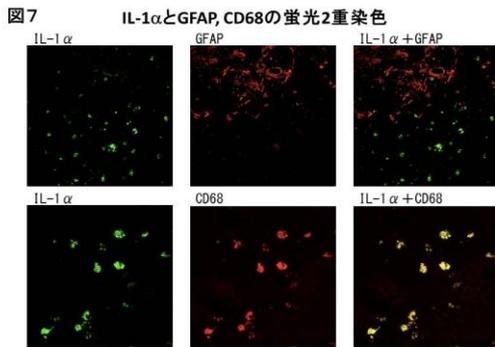
さらに同様の解析により CXCL12, CXCR4 の発現を蛍光2重染色により解析したところ、アストロサイトが前者を、マクロファージが後者を発現していることがわかった (図6)。

図6 CXCL12,GFAP,およびCXCR4,CD68の蛍光2重染色



アストロサイトがCXCL12を、マクロファージがCXCR4を発現している。

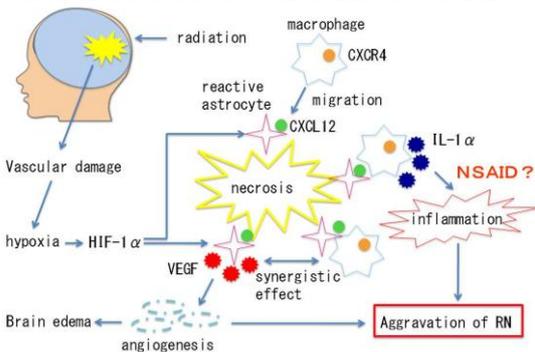
最後にマクロファージの壊死増悪にかかわる役割を解析するために、各種炎症性サイトカインの発現を蛍光2重染色で解析したところ、マクロファージは IL-1 α を発現していることが判明した (図7)。



IL-1 α はマクロファージが産生している。

以上の観察より、われわれの仮説を図8として紹介する。すなわち、放射線治療により腫瘍がダメージを受けるのみならず、腫瘍周囲の血管もダメージを受け、虚血が生じる。これにより、虚血性転写因子である、HIF-1 α が活性化され、その下流の VEGF の発現がアストロサイトで亢進し、脆弱な血管新生が惹起され、脳浮腫が発生する。さらに HIF-1 の制御下に CXCL12 がアストロサイトで発現し、その受容体である CXCR4 陽性のマクロファージが壊死巣周囲に動員される。このマクロファージが炎症性サイトカインである IL-1 α を産生し、さらに放射線壊死時の浮腫を増悪させる(図8)。

図8 Patho-physiology of the brain radiation necrosis



以上のように放射線壊死の病態は血管新生と炎症が複雑に絡み合い、その発症に関与していると示唆された。

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 9 件)

- ① Nonoguchi N, Miyatake S-I, et al. The distribution of vascular endothelial growth factor-producing cells in clinical radiation necrosis

of the brain. - Pathological consideration of their potential roles. J Neuro-Oncol 105: 423-431, 2011. 査読有
DOI: 10.1007/s11060-011-0610-9

- ② Furuse M, Miyatake S-I, et al. Repeated treatments with bevacizumab for recurrent radiation necrosis in patients with malignant brain tumors: a report of 2 cases. J Neuro-Oncol 102: 471-475, 2011. 査読有 DOI: 10.1007/s11060-010-0333-3
- ③ Kawabata S, Miyatake S-I, et al. Phase II clinical study of boron neutron capture therapy combined with X-ray radiotherapy/temozolomide in patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme-Study design and current status report. Appl Radiat Isot. 69: 1796-1799, 2011. 査読有 DOI: 10.1016/j.apradiso.2011.03.014
- ④ Takahashi K, Miyatake S-I, et al. Enhanced expression of coproporphyrinogen oxidase in malignant brain tumors: CPOX expression and 5-ALA-induced fluorescence. Neuro-Oncol 13: 1234-1243, 2011. 査読有 DOI: 10.1093/neuonc/nor116
- ⑤ Hiramatsu R, Miyatake S-I, et al. Application of a novel boronated porphyrin (H2OCP) as a dual sensitizer for both PDT and BNCT. Lasers in Surgery & Medicine 43: 52-58, 2011. 査読有 DOI: 10.1002/lsm.21026
- ⑥ Miyata S, Miyatake S-I, et al. CT imaging of transferrin targeting liposomes encapsulating both boron and iodine contrast agent by CED to F98 rat glioma for boron neutron capture therapy. Neurosurgery 68: 1380-1387, 2011. 査読有 DOI: 10.1227/NEU.0b013e31820b52aa
- ⑦ Esaki S, Miyatake S-I, et al. Hepatocyte growth factor incorporated into herpes simplex virus vector accelerates facial nerve regeneration after crush injury. Gene Therapy 18: 1063-1069, 2011. 査読有 DOI: 10.1038/gt.2011.57

〔学会発表〕（計 8 件）

- ① 宮武伸一：ホウ素中性子捕捉療法と症候性脳放射線壊死に対する抗血管新生薬による新規治療法。第 3 回日本放射線外科学会、教育講演。H24 年 1 月 14 日。大阪
- ② 宮武伸一：BNCT, Heavy particle. 第 24 回国際がん研究シンポジウム。H23 年 11 月 24 日。東京
- ③ 宮武伸一：脳腫瘍の放射線治療に伴う脳壊死—機序と対策—。第 24 回日本放射線学会学術総会 シンポジウム。H23 年 11 月 18 日。神戸
- ④ 宮武伸一：高度医療（第 3 項先進医療）「症候性脳放射線壊死に対する核医学的診断とベバシズマブの静脈内投与による治療」について。第 70 回日本脳神経外科学会学術総会 シンポジウム。H23 年 10 月 30 日。横浜
- ⑤ 宮武伸一：高度医療（第 3 項先進医療）「症候性脳放射線壊死に対する核医学的診断とベバシズマブの静脈内投与による治療」について。第 51 回日本核医学会学術総会 ワークショップ。H23 年 10 月 27 日。つくば
- ⑥ 宮武伸一：高度医療（第 3 項先進医療）「症候性脳放射線壊死に対する核医学的診断とベバシズマブの静脈内投与による治療」について。第 8 回日本中性子捕捉療法学会学術大会。H23 年 9 月 17 日。徳島
- ⑦ Shin-Ichi Miyatake : Review of BNCT studies related to treatment of malignant brain tumors BNCT: Past, Current and Future. 14th International Congress of Radiation Research Satellite Symposium. H23 年 8 月 31 日。ワルシャワ
- ⑧ 宮武伸一：症候性脳放射線壊死に対するベバシズマブの静脈内投与による治療（高度医療評価制度の利用）第 20 回日本定位放射線学会 シンポジウム。H23 年 7 月 29 日。名古屋

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮武 伸一 (Miyatake Shinichi)
大阪医科大学・医学部・准教授
研究者番号：90209916

(2) 研究分担者

野々口 直助 (Nonoguchi Naosuke)
大阪医科大学・医学部・助教
研究者番号：70388263