

平成 26 年 6 月 25 日現在

機関番号：34401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659658

研究課題名(和文)脳放射線壊死の病態解析と治療への応用

研究課題名(英文)Not only angiogenesis but also inflammation participate in the pathophysiology of brain radiation necrosis

研究代表者

宮武 伸一 (Miyatake, Shin-Ichi)

大阪医科大学・医学部・教授

研究者番号：90209916

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト放射線壊死の摘出標本より解析の結果以下の結果を得た。放射線治療により腫瘍そのものはダメージを受けるが、周囲の血管も損傷され、虚血が生じる。そこから虚血性転写因子HIF-1aが活性化され、かたや反応性アストロサイトからVEGFが産生され、脆弱な新生血管からの間質浮腫が形成され、方やミクログリアが産生するケモカインによるchemotaxisと炎症性サイトカインによる炎症が更なる浮腫の増悪を引き起こす。今後は動物モデルを用いた治療実験を行いたい。

研究成果の概要(英文)：Surgical specimens of symptomatic RN in the brain were retrospectively reviewed by histological and immunohistochemical analyses using hematoxylin and eosin (H&E) staining as well as immunohistochemical staining. The most prominent vasculature was identified as thin-walled leaky angiogenesis, i.e., telangiectasis surrounded by prominent interstitial edema. Two major cell phenotypes infiltrated the perinecrotic area: GFAP-positive reactive astrocytes and CD68/hGLUT-5-positive cells (mainly microglia). VEGF caused leaky angiogenesis followed by perilesional edema in RN. GFAP-positive cells expressing CXCL12 might attract CXCR4-expressing CD68/hGLUT5-positive cells into the perinecrotic area. These accumulated CD68/hGLUT5-positive cells expressing pro-inflammatory cytokines seemed to aggravate the RN edema. Both angiogenesis and inflammation might be caused by the regulation of HIF-1a, which is well known as a transcription factor of VEGF and of the CXCL12/CXCR4 chemokine axis.

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：脳放射線壊死 VEGF bevacizumab 炎症 虚血

1. 研究開始当初の背景

悪性脳腫瘍は全摘出が困難な例が多く、手術摘出による治療効果には限界がある。一方、放射線治療方法が発達し、腫瘍に対して高線量の照射が可能となり、またその定位性も改善され、悪性脳腫瘍の治療成績が改善してきている。しかしながら、長期生存例が増えてくると、遅発性放射線障害に遭遇する機会が増えてきている。その典型が脳放射線壊死であり、既存の治療法では脳放射線壊死に対して有効な方法はないのが現状である。そもそも何故放射線壊死では脳浮腫が惹起されるのか、その病態がどのようなものかが解明されておらず、臨床的には症候性放射線壊死に対してはステロイドホルモン、高浸透圧利尿剤の投与等が行われているが、症状の改善はきたしがたく、時には生命も危険にさらされる。現行では壊死巣除去が可能であれば、これが gold standard として推奨されるが、何故外科的切除が脳浮腫を軽減するのか、また病変のどの部分を除去すれば最も効果的であるかすら解明されていない。

2. 研究の目的

抗血管新生薬であるベバシズマブ(抗 VEGF 抗体)が脳放射線壊死に効果を示したという報告が最近なされ (Gonzalez et al, Effect of bevacizumab on radiation necrosis of the brain. *Int J Rad Biol Phys*: 67:323-326, 2007) 実際にわれわれが使用した経験でも、脳放射線壊死に対してベバシズマブを投与すると、早期に効果が出現し症状が著明に改善した。高い治療効果が期待できる薬剤ではあるが、現段階では報告もわずかで、どのような症例に効果があるのか、何故効果があるのか、他に有効な治療法は存在するのかという点は不明である。よって当施設および協力医療機関の過去の放射線壊死症例を選び出し、その手術摘出標本を retrospective に検討を加えることにより、脳放射線壊死での浮腫の成因を解析し、ひいては治療法の解明を行うことが本研究の目的である。

3. 研究の方法

症候性脳放射線壊死の手術摘出標本を用いた病理組織学的検索
大阪医科大学脳神経外科で過去4年間に手術加療を加えた症候性放射線壊死の症例は23例に及ぶ。その半数は再発悪性神経膠腫であり、X線加療後の再発に対して、BNCTを施行した症例である。またその他の症例には、神経膠芽腫の陽子線加療後の放射線壊死や、転位性脳腫瘍に対する定位放射線治療後の症候性脳放射線壊死、また頭頸部癌に対する複数回 BNCT 後の放射線壊死手術摘出標本が含まれる。
上記高度医療評価制度に基づき多施設臨床研究には、強度変調放射線治療 (IMRT) によ

る高線量 X 線照射を悪性神経膠腫の治療としてルーチンに行っている施設も多く、多くの症候性脳放射線壊死の手術摘出標本が供給される。これらの手術摘出標本を用いて、病理組織学的検索を行い、放射線治療の対象疾患、組織型や加療に用いた放射線治療の modality の種類を問わず、血管新生が不変的に認められるのか、検討を行う。

この際、もともと頭蓋内病変を認めない頭頸部癌の症例での症候性脳放射線壊死の病理標本は腫瘍内の血管新生や腫瘍から分泌される一切の血管新生因子の影響を受けない標本として貴重な所見を与えてくれるものと思われる。

症候性脳放射線壊死の手術摘出標本を用いた免疫組織学的検索
上記1)において血管新生の有無を確認したのち、VEGF、PDGF、HGF、FGF-2、Angiopoietin、Erythropoietin(EPO)、PDVFP、Aquaporin、HIF-1、HIF-2、VEGF-R、EPO-R等の発現とその分布の解析を行う。

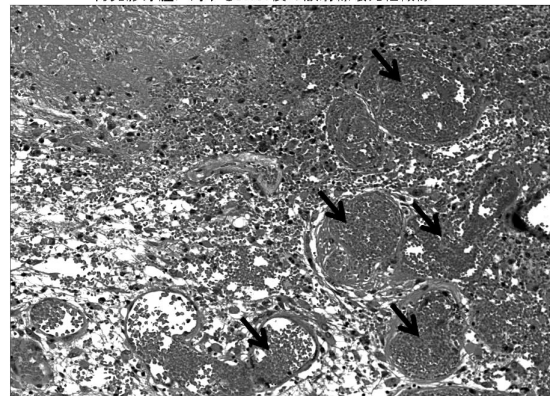
4. 研究成果

放射線壊死の組織像

用いた放射線の種類や、原因となった疾患の如何にかかわらず、その組織像は以下のようであった。

図1

再発膠芽腫に対するBNCT後の放射線壊死組織像



すなわち、もとの腫瘍部位は組織学的に凝固壊死を認め、その周辺に新生血管、微小出血像を認め、さらに新生血管周囲には間質の浮腫を認めた。

2重蛍光染色でその詳細を観察すると下図2のように HIF-1a が壊死巣周囲のミクログリアで高発現し、反応性アストログリアが CXCL12、VEGF を高発現していた。さらにミクログリアは CXCR4 を発現し、このアストロサイトをミクログリア双方が chemotaxis により引き寄せあいながら、浮腫の原因となっていた。

さらにはこのミクログリアが図3に示すように炎症性サイトカインである、TNF- α 、IL-1、IL-6 を発現することで更なる浮腫の原因となっていた。

図 2

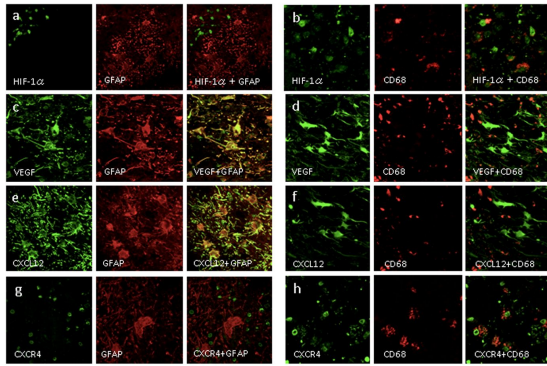
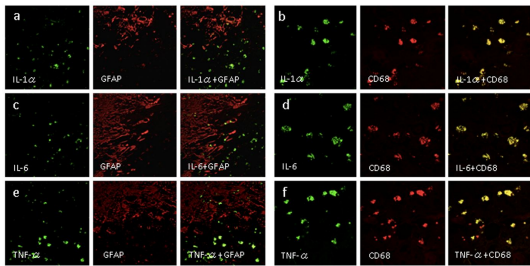
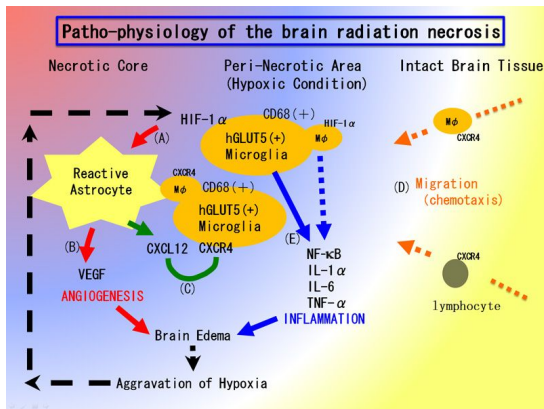


図 3



以上より以下の仮説を図 4 として提唱する。

図 4



すなわち、放射線治療により腫瘍そのものはダメージを受けるが、周囲の血管も損傷され、虚血が生じる。そこから虚血性転写因子 HIF-1a が活性化され、かたや VEGF が産生され、脆弱な新生血管からの間質浮腫が形成され、方やケモカインによる chemotaxis と炎症性サイトカインによる炎症が更なる浮腫の増悪を引き起こす。今後は動物モデルを用いた治療実験を行いたい。

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 7件)

1) High linear-energy-transfer radiation can overcome radioresistance of glioma stem-like cells to low linear-energy-transfer radiation.

Hirota Y, Masunaga SI, Kondo N, Kawabata S, Hirakawa H, Yajima H, Fujimori A, Ono K, Kuroiwa T, Miyatake SI.

J Radiat Res. 2014 Jan 1;55(1):75-83.

2) The roles of Platelet-Derived Growth Factors and their receptors in brain radiation necrosis.

Miyata T, Toho T, Nonoguchi N, Furuse M, Kuwabara H, Yoritsune E, Kawabata S, Kuroiwa T, and Miyatake S. Radiation Oncology 2014 Feb 11;9:51.

3) Boron neutron capture therapy with bevacizumab may prolong the survival of recurrent malignant glioma patients: four cases.

Miyatake SI, Kawabata S, Hiramatsu R, Furuse M, Kuroiwa T, Suzuki M. Radiat Oncol. 2014 Jan 6;9(1):6.

4) Bevacizumab treatment of symptomatic pseudoprogression after boron neutron capture therapy for recurrent malignant gliomas. Report of 2 cases. Miyatake SI, Furuse M, Kawabata S, Maruyama T, Kumabe T, Kuroiwa T, Ono K.

Neuro Oncol. 2013 Jun;15(6):650-5

5) Symptomatic Radiation Necrosis Diagnosed by Amino Acid PET Motomasa Furuse, Naosuke Nonoguchi, Shinji Kawabata, Erina Yoritsune, Masatsugu Takahashi, Taisuke Inomata, Toshihiko Kuroiwa and Shin-Ichi Miyatake

Bevacizumab Treatment for Jpn J Clin Oncol. 2013 Mar;43(3):337-41.

6) Boron neutron capture therapy for recurrent high-grade meningiomas. Kawabata S, Hiramatsu R, Kuroiwa T, Ono K, Miyatake SI.

J Neurosurg. 2013 Oct;119(4):837-44.

7) Identification of early and distinct glioblastoma response patterns treated by boron neutron capture therapy not

predicted by standard radiographic assessment using functional diffusion map.

Hiramatsu R, Kawabata S, Furuse M, Miyatake S, Kuroiwa T.

Radiat Oncol. 2013 Aug 1;8(1):192

〔学会発表〕(計 5 件)

- 1) 宮武伸一、他 16 名：「症候性脳放射線壊死の核医学的診断とベバシズマブの静脈内投与による治療」薬事承認を目指した多施設共同研究、第 3 項先進医療 JASTRO 2013 2013 年 10 月 20 日、青森
- 2) 宮武伸一：症候性脳放射線壊死に対する診断と治療 第 72 回日本医学放射線学会総会 教育講演、2013 年 4 月 12 日、横浜
- 3) 宮武伸一：悪性脳腫瘍に対するホウ素中性子捕捉療法の現状と未来第 31 回日本脳腫瘍学会 2013 年 12 月 9 日、宮崎
- 4) 宮武伸一、他 16 名：薬事承認を目指した多施設共同研究、第 3 項先進医療「症候性脳放射線壊死の核医学的診断とベバシズマブの静脈内投与による治療」日本脳神経外科学会 第 7 2 回学術総会シンポジウム 2013 年 10 月 18 日、横浜
- 5) Miyatake S: Bevacizumab for progressive radiation necrosis with the nuclear medicine diagnosis: institutional results and ongoing nation-wide clinical trial SNO meeting 2013 年 11 月 23 日, San Fransisco

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮武 伸一 (MIYATAKE Shin-Ichi)
大阪医科大学・医学部・教授
研究者番号：9 0 2 0 9 9 1 6

(2) 研究分担者

佐々木 良平 (SASAKI Ryohei)
神戸大学・医学部・教授
研究者番号：30346267