

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08135

研究課題名(和文) 臨床的グリオーマ実験モデルを使用した放射線脳壊死への免疫応答の解明

研究課題名(英文) Elucidation of immune response to radiation brain necrosis using a clinical glioma experimental model

研究代表者

中松 清志 (NAKAMATSU, KIYOSHI)

近畿大学・医学部・准教授

研究者番号：80351633

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：今回の研究では、臨床的に脳神経膠芽腫に対する線量増加試験を行い、安全で適切な照射線量を確立するための基礎データを集積することが出来た。

野生型マウスをもちいて実験的に放射線脳壊死が誘導されることを確認し、このモデルがヒト放射線脳壊死時に見られる組織破壊・血管新生・周囲浮腫を伴っていることをMRIにて検出可能であることを確認した。また、放射線脳壊死組織内では細胞遊走因子の発現が亢進し、慢性炎症を惹起する細胞群M2マクロファージが浸潤し、かつこれらの細胞では新規免疫チェックポイント分子B7-H3およびB7-H5の発現が亢進していることを見いだした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳原発悪性グリオーマに対する治療成績は高線量放射線治療の進歩により向上してきた。その一方で放射線性脳壊死を生ずる症例も増加傾向にある。放射線脳壊死に伴う浮腫は死亡の大きな原因であり、主因の一つがVEGFであることが知られている。そのため抗VEGF抗体が治療に用いられているが、治療効果は限定的である。現在VEGF以外には標的細胞/標的分子が同定されていない。本研究の学術的意義は放射線脳壊死の臨床像を再現した実験モデルを構築し、脳壊死に対する全く新しい治療方法を確立することにある。また、この研究成果は多くの脳原発悪性グリオーマ患者の治療成績を向上させるという大きな社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)： In this study, we conducted a dose-increase test for glioblastoma clinically and were able to collect basic data to establish a safe and appropriate irradiation dose.

We experimentally confirmed that radiation brain necrosis is induced in normal mice, and confirmed that MRI can detect that this model is accompanied by tissue destruction, angiogenesis, and peri-edema seen during human radiation brain necrosis. We found that cell migration factor CXCL12 chemokine expression is enhanced in radiation brain necrosis tissues, cell group M2 macrophages that cause chronic inflammation in a CXCL12-dependent manner are infiltrated, and that the expression of novel immune checkpoint molecules B7-H3 and B7-H5 is increased in these cells.

研究分野： 脳原発悪性グリオーマ

キーワード： 脳原発悪性グリオーマ 放射線治療 脳壊死 脳浮腫

## 1. 研究開始当初の背景

研究代表者・中松は任意の形状の高線量域と低線量域をつくり出すことが可能となる強度変調放射線治療 (IMRT: Intensity Modulated Radiotherapy) の臨床的応用を悪性脳神経膠腫に対し行っており、腫瘍体積: gross tumor volume (GTV) への1回線量増加を目的とした新たなSIB-IMRT法の開発に着手していた。このような悪性グリオーマに対する治療成績は放射線治療の進歩により向上してきた。しかしその一方で放射線照射による脳壊死の症例が存在することも事実である。放射線による脳壊死は周囲に浮腫を伴うことで様々な神経脱落症状を呈し、最終的には生命の危機を呈する。現在、臨床では抗 VEGF 抗体による治療が薬事認証され使用されているが、脳壊死再発を来す症例もあり本病態がすべて解明されているわけではない。共同研究者である藤田は脳壊死組織内で集積亢進している M2 マクロファージでは B7-H3、B7-H5 といった免疫抑制分子の発現が亢進していることを示した。同様にグリオーマ放射線脳壊死マウスモデルにおいても同分子の発現亢進が見られ、これらが浮腫の原因となることを示した。また、共同研究者の土井は、マウスを用いた実験的放射線照射についての研究に着手しており、マウスを用いた様々な実験手法の確立を目指していた。

## 2. 研究の目的

(1)、マウスモデルを用いた放射線性脳壊死の条件検討を継続し、最適な実験系の確立を目指す。最終的には臨床像を再現するべくグリオーマ放射線脳壊死マウスモデルを構築し、免疫細胞遊走因子である各種ケモカインおよびその遺伝子発現を解析することで新たな治療方法を確立する。

(2)、原発性脳腫瘍に対する照射の臨床データを基に、1回線量と合計線量に関係する腫瘍への影響および有害事象の解析を行う。

## 3. 研究の方法

マウスの脳に小動物放射線治療装置ラジオフィックス 350 を用いて 60 Gy の外照射を加え、60 日程度の経過で放射線脳壊死が誘導される。このモデルはヒト放射線脳壊死時に見られる組織破壊・血管新生・周囲浮腫を伴っており、かつ同病変は動物用MRIにて検出可能である。我々はこのモデルを用いて照射実験を行った。

また我々は *Sleeping Beauty* (SB) トランスポゾン系を用いた自発型脳腫瘍マウスモデルを使用しており、*shP53*、*EGFR*、*NRas* など複数のがん遺伝子を新生児マウス脳室内より投与し、脳室周囲に存在する神経幹細胞を悪性転換させ、グリオーマに酷似した腫瘍を発生誘導する。本手法で誘導したマウス脳腫瘍に対し、上記外照射を行い、グリオーマ放射線治療における免疫応答の評価を行った。

加えて臨床データの解析としては、小児の代表的疾患かつ少線量を用いる胚細胞腫瘍と、高線量が必要となる膠芽腫症例の照射後データを比較解析し、1回線量と合計線量における脳への影響および免疫応答を評価した。

#### 4 . 研究成果

(1) 研究代表者・中松らは、若年者に多く生じ、照射線量の少ない脳腫瘍についての臨床データをまとめ、これらの症例では遅発性脳壊死が極めて生じにくいことを報告した。

(2) 膠芽腫に対放射線治療では高線量を用いるが、照射強度をコントロールすることで遅発性脳壊死が制御しうることを見出した。現在データ解析と論文作成段階である。

(3) 研究分担者・藤田らは、脳腫瘍マウスモデルにおいては、脳壊死組織内で集積亢進している M2 マクロファージでの B7-H3、B7-H5 といった免疫抑制分子の発現亢進が示された。同様にグリオーマ放射線脳壊死マウスモデルにおいても同分子の発現亢進が見られ、これらがグリオーマ放射線治療後の脳浮腫の原因であることが示唆された。

(4) 研究者分担者・土井らは、放射線照射による慢性炎症性マウスモデルを用い、放射線照射に伴う肺線維化を確認した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Hiroshi Doi , Mikoto Tamura , Kiyoshi Nakamatsu , Hajime Monzen , Yasumasa Nishimura  | 4. 巻<br>40(4)           |
| 2. 論文標題<br>Experimental animal model of re-irradiation to evaluate radiation-induced damage in the normal intestine.  | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Anticancer research   | 6. 最初と最後の頁<br>1981-1988 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.21873/anticancerres.14153.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-               |
| 1. 著者名<br>Kubota M, Ito K, Tomimoto K, Kanazaki M, Tsukiyama K, Kubota A, Kuroki H, Fujita M, Vandenplas Y.   | 4. 巻<br>12              |
| 2. 論文標題<br>Lactobacillus reuteri DSM 17938 and Magnesium Oxide in Children with Functional Chronic Constipation: A Double-Blind and Randomized Clinical Trial | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Nutrients   | 6. 最初と最後の頁<br>225       |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.3390/nu12010225   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-               |
| 1. 著者名<br>Takayuki Nakao , Takeshi Okuda , Hiromasa Yoshioka , Mitsugu Fujita   | 4. 巻<br>40(8)           |
| 2. 論文標題<br>Clinical Outcomes of Surgical Resection for Brain Metastases from Non-small Cell Lung Cancer   | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Anticancer Res  | 6. 最初と最後の頁<br>4801-4804 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.21873/anticancerres.14483   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-               |
| 1. 著者名<br>Hiroshi Doi , Mikoto Tamura , Kiyoshi Nakamatsu , Hajime Monzen , Yasumasa Nishimura  | 4. 巻<br>40(4)           |
| 2. 論文標題<br>Experimental Animal Model of Re-irradiation to Evaluate Radiation-induced Damage in the Normal Intestine   | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Anticancer Res  | 6. 最初と最後の頁<br>1981-1988 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1038/s41417-020-00282-5   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-               |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Doi H, Tamura M, Nakamatsu K, et al.   | 4. 巻<br>40(4)           |
| 2. 論文標題<br>Experimental animal model of re-irradiation to evaluate radiation-induced damage in the normal intestine. | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Anticancer research  | 6. 最初と最後の頁<br>1981-1988 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.21873/anticanres.14153.   | 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>-               |

〔学会発表〕 計2件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>中松清志                                     |
| 2. 発表標題<br>EGFR陽性切除不能NSCLCに対するゲフィチニブ+放射線同時併用の第II相試験 |
| 3. 学会等名<br>第33回日本放射線腫瘍学会                            |
| 4. 発表年<br>2020年                                     |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>中松清志                          |
| 2. 発表標題<br>頭蓋内胚細胞腫(Germinoma)に対する放射線治療成績 |
| 3. 学会等名<br>第32回日本放射線腫瘍学会                 |
| 4. 発表年<br>2019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 |
|-------|--|-------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 藤田 貢<br><br>(FUJITA MITSUGU)<br><br>(40609997) | 近畿大学・医学部・准教授<br><br><br><br>(34419) |    |

6. 研究組織（つづき）

|       | 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 |
|-------|--|------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 土井 啓至<br><br>(DOI HIROSHI)<br><br>(50529047) | 近畿大学・医学部・講師<br><br><br><br>(34419) |    |

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 |
|---------|---------|
|         |         |