

## 論文審査の結果の要旨

氏名：花 島 裕 也

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：Lenalidomide による悪性神経膠腫細胞株への抗腫瘍効果の検討

審査委員：（主 査） 教授 木 下 浩 作

（副 査） 教授 内 山 真 教授 岩 崎 賢 一

教授 鈴 木 孝 浩

悪性神経膠腫は高い増殖能と浸潤能を有する悪性の脳腫瘍で、手術や化学療法と放射線治療を組み合わせた集学的治療でも、予後不良な疾患である。Thalidomide 誘導体である lenalidomide の血液腫瘍に対する抗腫瘍効果を検討した研究は数多くあるが、悪性神経膠腫に対する lenalidomide の抗腫瘍効果を検討した報告は少ない。本論文は、lenalidomide の悪性神経膠腫細胞株への抗腫瘍効果について検討した独創性のある研究である。

**対象・方法**：6 種類の悪性神経膠腫細胞株（A-172、AM-38、T98G、U-138MG、U-251MG、YH-13）を用いて、lenalidomide 処理による細胞増殖抑制実験を行った。Coulter counter を使用して生存細胞の細胞数を計測した。Lenalidomide の抗腫瘍作用機序の検討には、A-172 と AM-38 を用いて fluorescence-activated cell sorter (FACS) による細胞周期分布解析と apoptosis 誘導解析を行った。細胞周期停止と apoptosis 誘導の評価には、Western blot によるタンパク質の発現解析、Real-time qRT-PCR による RNA の発現解析を行った。

**結果**：Lenalidomide 処理により、全ての悪性神経膠腫細胞株は濃度依存的な細胞増殖抑制効果を認めた。細胞数の 50%阻害濃度は、A-172; 84.1  $\mu$ M、AM-38; 22.9  $\mu$ M、T98G; 49.6  $\mu$ M、U-138MG; 138.6  $\mu$ M、U-251MG; 95.0  $\mu$ M であった。Lenalidomide 処理による細胞周期分布解析では、A-172 では処理後 24 時間の control 群で G0/G1 期（細胞周期停止期）の細胞割合が 50.7%であったのに対し、lenalidomide 処理群で 54.5%と有意( $p<0.05$ )に G0/G1 期細胞が増加した。AM-38 において、処理後 24 時間の control 群で 46.1%であった G0/G1 期細胞割合は、lenalidomide 処理群で 56.5%になり有意( $p<0.05$ )に増加した。Control 群で 54.1%であった G0/G1 期細胞割合は lenalidomide 処理群では 58.4%に有意( $p<0.01$ )に増加した。Western blot において p53 のリン酸化の増加と p21 発現の増加が確認され、RNA 発現解析で p53、p21 の発現が増加した。Apoptosis 誘導解析では外因系経路である cleaved Caspase-8 は lenalidomide 処理によっても変化せず、内因系経路である Bax の発現増加、Caspase-9、Caspase-3 の cleavage が確認されたが、最終的な apoptosis の実行を行う cleaved poly polymerase は Western blot において確認されなかった。また、FACS による apoptosis 誘導も認めなかった。

**結語**：Lenalidomide は、悪性神経膠腫細胞の細胞周期を停止させる効果がある。この結果は、血液腫瘍に対する lenalidomide の抗腫瘍効果メカニズムとは異なることから、悪性神経膠腫に対する臨床応用による新たな効果が期待できる、極めて価値のある論文である。

よって本論文は、博士（医学）の学位を授与されるに値するものと認める。

以 上

令和 2 年 2 月 19 日