

## 論文の内容の要旨

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

悪性神経膠腫は高度な増殖能と浸潤能を有する悪性の脳腫瘍である。手術、および temozolomide による化学療法と放射線治療を組み合わせた集学的治療にも関わらず、いまだに予後不良な疾患である。

Lenalidomide は thalidomide 誘導体であり、thalidomide の副作用を減らし抗腫瘍効果を高める目的で開発された薬剤である。血液系の腫瘍に対して予後の改善効果が示され、現在の臨床現場で多く使用されている。血液腫瘍に対する lenalidomide の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。今回我々は、lenalidomide が悪性神経膠腫に対する新規治療薬となる可能性があるかと仮説を立て、本研究を計画した。Lenalidomide の悪性神経膠腫に対する治療効果を検証するために、悪性神経膠腫細胞株への抗腫瘍効果について検討を行った。

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。実験は coulter counter を使用して行い、生存細胞の細胞数を計測した。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。

悪性神経膠腫細胞に対する lenalidomide の抗腫瘍作用の機序を検討するために、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。また細胞周期停止と apoptosis 誘導について評価する目的で、Western blot によるタンパク質の発現解析、real-time quantitative reverse transcriptional polymerase chain reaction による RNA の発現解析を行った。

細胞周期分布解析では、A-172 と AM-38 双方の細胞株において lenalidomide 処理により細胞周期の停止を意味する G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期の細胞が増加していた。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 の発現が増加していた。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とが示唆された。

一方、apoptosis 誘導解析では外因系経路である cleaved Caspase-8 の程度は lenalidomide 処理によって変化しなかった。また、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 [adenosine diphosphate - ribose] polymerase は Western blot において確認されなかった。FACS による apoptosis 誘導解析においても、apoptosis 誘導は認めなかった。この結果は、血液腫瘍に対する lenalidomide の抗腫瘍効果のメカニズムと異なっている可能性が示唆された。

悪性神経膠腫細胞株において、lenalidomide は細胞周期を停止させることによる抗腫瘍効果を持つことが示された。Lenalidomide は悪性神経膠腫に対する新たな治療戦略になり得ることが示唆された。