




学位論文審査の結果の要旨

令和 6 年 2 月



審査委員	主査	上野 正樹 		
	副主査	星川 広史 		
	副主査	門田 球一 		
願出者	専攻	医学	部門	(平成27年度以前入学者のみ記入)
	学籍番号	18D717	氏名	鈴木健太
論文題目	Antiproliferative effects of D-allose associated with reduced cell division frequency in glioblastoma.			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格 <input type="radio"/> 不合格 (該当するものを○で囲むこと。)			

〔 要 旨 〕

膠芽腫Glioblastoma (GBM) は予後不良な脳腫瘍の一つである。希少糖D-alloseは近年、肝癌、肺癌、頭頸部癌などにおいて抗腫瘍効果を持つことが知られている。今回、D-alloseのGBMに対する抗腫瘍効果につき検討した。

In vitroにおいて、GBM細胞株 (U251MG、U87MG) をD-allose、D-glucose処理して各種検討を行った。WST-1 assayでは両株ともに用量依存性に細胞増殖が抑制された ($p < 0.01$ 、10-50mM)。同様な処理を行ったマウス胚線維芽細胞MEFにおいては、増殖抑制効果はなかった。Cell cycle arrestおよびApoptosis誘導についてflow cytometryで評価したが、ともに有意差はつかなかった。細胞分裂回数についてはlabel retaining assayの手法で検討し、U251MG ($p < 0.05$) およびU87MG ($p < 0.01$) と有意に抑制されていた。In vivoにおいては、マウス皮下腫瘍モデル(U87MG)を用いて、生食あるいはD-alloseを30日間連日腹腔内投与し、後方で腫瘍体積が有意に抑制された ($p < 0.05$)、HE、Ki67、 γ H2AXの各染色において明らかな変化を認めなかった。

本研究では、In vitroおよびIn vivoともに、D-alloseによるGBM細胞株の増殖抑制効果が示された。細胞分裂回数の減少しているものの、apoptosis誘導やcell cycle arrest誘導との関連は低く、cell cycle全体が減速している可能性が示唆された。

本研究に関する学位論文審査委員会は令和6年2月8日に行われた。

本研究は、膠芽腫における希少糖D-alloseの抗腫瘍効果が、細胞分裂回数の減少によるものであることを指摘したもので、結果に対する十分な考察もなされている。本研究で得られた成果は、根治的な治療が難しい膠芽腫治療において、臨床応用を目指した今後の研究において元となるものであり、学術的意義が高い。

審査においては、

Q) プロトコル毎に D-allose 処理期間が異なるのはなぜか？

A) Cell proliferation assay の際、48 時間処理で有意な差がついた。これを軸として、例えば、label staining assay ではより群間差が確認されるように 96 時間で検討するなど工夫した。さらに、過去の他の癌腫の希少糖論文で適用されている処理時間を参考にした。実際のところは、Cell cycle や Apoptosis については、24~96 時間で様々な濃度を検討した。

Q) 病理検討において数値的な差異はあるか？また GBM の特徴である壊死や血管増生はどうか？他の臓器については検討したか？

A) 今回は皮下腫瘍のみの検討であり、他臓器については未検討である。また、皮下腫瘍検体の固定上の technical error のため、各群 3 検体ずつのみでしか検討しえなかった。そのため割合などの数値的な検討が行えておらず、細胞分布などの定性的な評価にとどまった。微小血管増生などについても概ね群間変化はなかったように記憶している。

Q) 他癌腫では D-allose 単独での強い抗腫瘍効果はないような印象だが、GBM ではどうか？

A) 同感である。臨床応用を考える上では、単独での治療というよりも併用療法としての位置づけが妥当と考える。その意味で今後、標準治療とされる放射線療法や化学療法との併用療法についての検討が必要である。

Q) 糖浸透圧の影響についてはどうか？

A) D-allose 自体がもつ糖浸透圧の影響を抗腫瘍効果と誤認せぬよう、同濃度の D-glucose を対照として検討し、その群間でも有意な差がついている。糖毒性自体は 50~60mM 前後から影響でるとの論文もあるが、今回実験では対照を用意することで解決させた。

Q) 一部の結果では、「有意差」はなくとも「傾向」はあるようにも捉えることはできるが、この点についてはどうか？

A) その通りである。しかし、Cell proliferation assay で確認された群間有意差を説明しうるだけのインパクトとは考えにくい。Cell cycle arrest や Apoptosis は弱く影響している可能性は否定できないが、最たるものはやはり分裂速度の遅延に伴うものと考えた。

等、多数の質問が行われ、申請者はそれぞれに適切に回答した。

本審査委員会では審査員全員一致して博士（医学）論文に相応しいものと判断し、合格とした。

掲載誌名	Scientific Reports, (2023) 13: 19515, (https://doi.org/10.1038/s41598-023-46796-4)		
(公表予定) 掲載年月	2023 年 11 月	出版社(等)名	Nature research

(備考) 要旨は、1, 500 字以内にまとめてください。