The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Ganglioside GM3 inhibits proliferation and invasion of glioma
Author(s)	藤本, 康倫
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45512
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【100】

氏　　名	藤本康倫（ふじもとやすのり）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　19333　号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Ganglioside GM3 inhibits proliferation and invasion of glioma （ガングリオシドGM3のグリオーマに対する増殖及び浸潤能抑制効果）
論文審査委員	（主査） 教　授　吉峰　俊樹 （副査） 教　授　佐古田三郎　　教　授　青笹　克之

論文内容の要旨

［目的］

悪性グリオーマは腫瘍周辺の正常脳組織に浸潤するため外科的全摘出が困難であり、また各種の補助療法にも抵抗性を示すため未だ治療法は確立されていない。そこで私達はスフィンゴ糖脂質の一種で元来神経系に多く存在するガングリオシドが細胞膜機能や癌化に影響を与えていることに注目した。GM3はガングリオシドの一種で、内因性のGM3は中枢神経系において細胞の接着、増殖、分化に関与し、一方外因性のGM3は細胞・細胞間また細胞・細胞外マトリックス間の接着を制御し、増殖しているアストサイトにアポトーシスを誘導する。本研究では*in vitro*及び*in vivo*の系を用いてGM3のグリオーマ増殖能抑制効果を検討した。また生体の細胞外マトリックスが保たれ、細胞浸潤を見るうえでより*in vivo*に近い系であるbrain slice cultureを用いてGM3のグリオーマの浸潤能に対する効果を解析した。

［方法ならびに成績］

グリオーマ細胞として4種類のグリオーマのcell line（T98G、A172、U373MG、C6）と3人の患者から得たprimary cultureのグリオーマ細胞を用いた。MTT assayによりグリオーマ細胞の増殖はGM3の濃度及び接触時間依存性に抑制されることが示された。またmeningeal gliomatosis modelラットに対してGM3を髄腔内投与するとコントロール群に比較して生存日数の延長が認められた（コントロール群19.5日、GM3投与群22.0日；$p<0.05$）。また両実験系においてTUNEL法によりGM3がグリオーマ細胞にアポトーシスを誘導していることが示された。次にラットbrain slice culture上にPKH67で蛍光染色したグリオーマcell lineのspheroidを置き、共焦点レーザー顕微鏡を用いてグリオーマ細胞の動きを経時的に（0、6、8、12時間後）観察した。その結果、GM3によってグリオーマ細胞の浸潤能が最大約40%抑制された。また*in vitro* assayではGM3投与後24時間以内には増殖抑制は認められず、アポトーシスの誘導や増殖抑制効果が出現するよりも早期に浸潤抑制効果が現れることが示された。

［総括］

本研究において、外因性GM3はグリオーマ細胞にアポトーシスを誘導して増殖を抑制することが示された。また

brain slice culture は腫瘍細胞浸潤の解析に非常に有用であり、本 assay により浸潤能に対しても抑制効果を持つことが示された。悪性グリオーマの補助療法としての化学療法は実際の臨床において正常組織に対し毒性を及ぼすことで副作用を生じさせ、それが薬品投与量、投与方法を制限している。GM3 のグリオーマ増殖・浸潤能抑制の機序の詳細はいまだ解明されていないが、GM3 は元来生体に存在する物質であり、将来副作用の少ない新しい補助療法の候補となる可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

GM3 は中枢神経系の細胞膜に多く存在するガングリオシドの一種であり、本来細胞の接着、増殖、分化などに関わっている。本研究は外因性の GM3 が増殖しているアストロサイトに対し増殖抑制効果を持つことに着目し、グリオーマに対して増殖抑制効果と浸潤抑制効果を持つかどうか検討を加えたものである。

グリオーマ細胞として４種の株化細胞と３人からの初代継代細胞を用い、MTT アッセイにより GM3 の濃度・接触時間依存性にグリオーマ細胞の増殖が抑制されることが示された。その機序は TUNEL 法によりアポトーシスが関係していると考えられた。また髄膜膠腫症ラットモデルに GM3 を髄腔内投与すると生存日数の延長が認められた。さらに brain slice culture を用いて GM3 がグリオーマ細胞の浸潤を抑制することも明らかとなった。

本研究は高濃度の GM3 がグリオーマに対して増殖及び浸潤抑制効果を持ち、副作用の少ない新しい有効な治療法になりうる事を示唆しており、学位に値すると考える。