

**【目的】** 神経膠腫（グリオーマ）のアルキル化剤治療後に生じる DNA 高変異状態と悪性転化の機序解明を図ること、また DNA 高変異状態を呈したグリオーマに対する治療標的の探求を図ることを研究目的に掲げた。

**【方法】** 本研究期間では DNA 高変異モデルの作製と樹立細胞に対する薬剤感受性試験を中心とした検討を図った。具体的にはアルキル化剤である temozolomide (TMZ) を独自に樹立した IDH1 変異グリオーマ細胞株に投与することで外因的な DNA 高変異モデルの樹立を試みた。また DNA 高変異状態が腫瘍形成促進に及ぼす影響を検証した。さらにはエクソームシーケンスにより変異パターンを解析するとともに、ドライバー遺伝子候補を検討した。加えて high-throughput drug screening (HTS) を行い、コントロールモデルとの対比を通じて治療薬剤候補を探求した。その他内因性 DNA 高変異グリオーマ (YMG6R) に対して経時的に採取した腫瘍から細胞株樹立を行いドライバー遺伝子異常の同定と DNA 高変異がどのように変化するか検討した。

**【結果】** 独自に樹立した内因性 IDH1 変異グリオーマ MGG152 細胞を用いて mismatch repair 遺伝子の一つである MSH6 のノックダウンを図った。この細胞とコントロール細胞に対し TMZ を長期間にわたり連続投与した。Whole exome sequencing (WES) を用いて変異状態を検討したところ、コントロール細胞と比較して tumor mutational burden がおおよそ 80 倍と上昇しており、またアルキル化剤投与後に特有の塩基置換パターンが確認されたことから TMZ 誘発性に DNA hypermutation phenotype (HM) が発生した可能性が強く示唆された。次に MGG152 細胞に対し同様の条件で TMZ を投与後、DNA を採取した。WES 解析の結果 MMR 変異が内因性に発生しており、また HM の存在が確認された。これらのペア腫瘍細胞モデルはいずれも *in vitro* 培養下で安定して増殖可能となった。これにより DNA 高変異状態の及ぼす生物学的特徴を検証可能な IDH1 変異グリオーマ細胞株の樹立を世界に先駆けて成功した。その結果、DNA 高変異状態への移行プロセスを研究レベルでモニタリング可能となった。これらの細胞に対して HTS を行い、複数の化合物を候補薬剤として見出ししており、現在さらなる解析を進めている。またコントロール細胞と TMZ 長期投与後 HM を呈した MGG152 細胞をマウス脳内に定位的に移植し生存分析を行ったが、両群間で予後に有意な差は認められなかった。加えて内因性 DNA 高変異グリオーマモデル (YMG6R) から細胞株を作製した。経時的に得られた再発検体と細胞株をそれぞれ検討したところ、HM は可逆的な変化を示した。このことから HM 自体がグリオーマの悪性化促進に及ぼす影響は乏しいことが判明した。

temozolomide 誘発性 DNA hypermutation phenotype

