

審査の結果の要旨

氏名 鈴木 辰典

本研究は膵発癌過程において重要な役割を演じていると考えられる *KRAS* 遺伝子変異がもたらす生物学的意義を明らかにするため、ヒト膵管上皮細胞に *KRAS* 変異を導入した系にて *KRAS* 変異がもたらす代謝変化の解析を行ったものであり下記の結果を得ている。

1. 正常のヒト膵管上皮細胞に CRISPR/Cas9 を用いて *KRAS* (G12V)変異を導入し、限界希釈と Droplet Digital PCR による判定を用いて *KRAS* (G12V)変異を有するモノクローナルな細胞を抽出した。対照としてレンチウイルスベクターを用いて *KRAS*(G12V)強制発現細胞を樹立した。*KRAS* 変異細胞では MAPK 経路が亢進し、細胞増殖が亢進することが示された。
2. *KRAS* 変異細胞の増殖はグルコース、グルタミンに依存していた。解糖系酵素の発現は有意差を認めなかったが、*KRAS* 変異細胞ではグルタミン代謝に関わるアミノ基転移酵素の発現が亢進しており、グルタミン代謝を変化させ、エネルギー産生の増加、アミノ酸プールの調整、酸化ストレスの軽減など細胞増殖にとって有利となるような代謝リプログラミングを行うことが示唆された。
3. メタボローム解析では *KRAS* 変異細胞でアミノ酸が全体的に減少しており、特にアスパラギン、プロリンの減少が目立った。*KRAS* 変異細胞はアミノ酸トランスポーターの発現を亢進させ、細胞外からアミノ酸の取り込みを行いつつ、蛋白合成を亢進させ、原料となるアミノ酸を消費する結果、アミノ酸が著減することが推定された。
4. 代償機構としてアミノ酸のリサイクル機構としてのオートファジーが亢進していることが示唆され、オートファジー阻害薬であるクロロキンを投与すると *KRAS* 変異細胞での増殖が抑制される傾向が示唆された。

以上、本論文はヒト膵管上皮細胞における *KRAS* 変異が代謝リプログラミングおよびそれに伴う代償的なオートファジーを引き起こし、細胞増殖にとって有利な環境を整え、発癌への経過を促進する可能性を示した。よって本論文は博士(医学)の学位請求論文として合格と認められる。