

論文内容要旨

論文題目

Glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP) が大腸癌細胞の増殖能活性に与える影響の解析

責任講座：内科学第二（消化器内科学）講座
氏 名： 渡部貴大

【内容要旨】（1,200 字以内）

【緒言】近年、我が国の大腸癌の罹患率は増加しており、このリスクを上げる要因に肥満、特に内臓脂肪蓄積型肥満がある。この肥満と大腸腫瘍の関連性に関する新しい因子に血中 GIP 濃度上昇があることを当講座では報告してきた。この GIP は小腸に分布する K 細胞から分泌され、高脂肪食負荷マウスでは血中濃度が上昇し、脂肪細胞へのエネルギー蓄積に関与するとされる。またヒト大腸癌細胞に GIP 受容体があり、GIP はマウス大腸癌細胞の増殖を促進させる。しかしながらヒト大腸癌へ GIP がどのような影響を与えるかは不明な点が多い。そこで GIP がヒト大腸癌細胞株の増殖活性に与える影響を検討した。【方法】ヒト大腸癌細胞株（HT29、HCT116）へ、GIP または insulin (Ins) を 24 時間投与し、Premix WST-1 を加えインキュベーションし、マイクロプレートリーダーで測定した吸光度から細胞増殖活性を定量し、溶媒投与群とで比較した。また細胞から RNA を抽出し、Short read sequencer および Long read sequencer で RNA シークエンスを行い、各群の mRNA 発現の特徴を検討した。【結果】HT29/HCT116 の増殖活性は、溶媒群に比し GIP 投与群で 1.12 ± 0.12 ($p = 0.90$) / 1.25 ± 0.09 ($p < 0.01$)、Ins 投与群では 1.62 ± 0.12 ($p < 0.001$) / 1.66 ± 0.09 ($p < 0.01$) 倍上昇した。両投与群で有意な上昇があった HCT116 を用い RNA シークエンスを行った。Short read sequencer データによる階層的クラスタリング解析および主成分分析では各群が明確に分かれた。GIP 投与群では *DDIT3* および *DDIT4* の発現亢進があり、Pathway 解析で小胞体ストレスに対するアポトーシスシグナル伝達経路、RNA ポリメラーゼ II プロモーターからの転写調節経路が有意に亢進していた。GIP 受容体の発現差はなかった。Ins 投与群では *SPRR2D*、*CHAC1*、*IL20RB*、*UPP1*、*DDIT3* の発現が亢進し、Pathway 解析では RNA ポリメラーゼ II プロモーターからの転写調節経路が有意に亢進していた。*IRS1*、*IRS2* の発現に変化はなかった。Long read sequencer データから、*DDIT3* の 8 つのスプライシングアイソフォームが同定でき、GIP 投与群と Ins 投与群とは異なるアイソフォームに発現亢進がみられた。【結論】GIP はインスリンとは異なる遺伝子や mRNA アイソフォームの発現亢進と関連して、大腸癌細胞の増殖活性を上昇させた。大腸癌の発育進展機序に GIP は重要な役割を果たす可能性がある。

2024年 12月 19日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：渡部 貴大

論文題目：Glucose-dependent insulintropic polypeptide(GIP)が大腸癌細胞の増殖能活性に与える影響の解析

審査委員：主審査委員 横山 寿行

副審査委員 園田 順彦

副審査委員 北中 千史



審査終了日： 2024年 12月 16日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

本学位論文は、Glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP) が大腸癌細胞の増殖に与える影響を検討したものである。血中 GIP の上昇は、肥満と大腸腫瘍の関連を説明する因子の一つとして報告されており、マウス大腸癌細胞の増殖を促進することが示されている。一方で、GIP がヒト大腸癌細胞に及ぼす影響については十分に明らかにされておらず、本研究目的の新規性が認められる。しかし、以下の問題点が指摘された。

1. GIP はインスリン分泌を刺激することが知られているが、GIP がヒト大腸癌細胞に及ぼす影響がインスリンを介したもののか、またはインスリンとは独立した GIP の直接的な効果であるのかを研究開始当初から検討する必要がある。引用などにより、この点について論文内で言及する必要がある。

2. 論文結果の冒頭に示されている、早期大腸癌患者の血中 GIP 濃度と内臓脂肪面積、HOMA-IR との相関 (図 1) については、相関関係が弱く、P 値も有意でない。また、本研究の目的と必ずしも一致しないため、これを示す必要はない。

3. 細胞株 HCT116 に GIP を投与し増殖活性を検討した結果において、異なる GIP 濃度や刺激時間での結果も示すことが望ましい。また、得られた知見の一般化の観点からは他の多くの大腸癌細胞株でも HCT116 と同様に GIP の増殖刺激効果が得られるかは重要な情報と考えられるが、その前提として、そもそも大腸癌組織で GIP 受容体の発現が認められるか、可能な限り文献的検討が望まれる。

4. GIP 刺激後に発現が上昇する DDIT3 遺伝子は、BCL2 の抑制を介してアポトーシスを促進するとされており、この点は「GIP が大腸癌増殖を促進する (抗アポトーシスの的に作用する)」との当初の仮説と矛盾する。この点について十分な考察が必要である。GIP 刺激でスプライシングバリエーションが増加するとの結果が得られており、バリエーションがドミナントネガティブに作用する可能性を示せば、この仮説との相違を説明する根拠として用いることができるかもしれない。過去の文献を引用するなどして議論を深めることが求められる。

申請者は審査員からの質問に対して誠実かつ的確に回答しており、上記の指摘について修正を行うことで、「条件付きで学位論文に値する」と判断した。