



Title	Porphyromonas gingivalis感染がヒト口腔癌細胞の浸潤におよぼす影響
Author(s)	杉田, 英之
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/34359
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏名 (杉田英之)	
論文題名	<i>Porphyromonas gingivalis</i> 感染がヒト口腔癌細胞の浸潤におよぼす影響
論文内容の要旨	
<p>【目的】 IV型コラーゲンを分解するゼラチナーゼ群であるマトリックスメタロプロテアーゼ2、9 (MMP2、MMP9) は、現在同定されている20種類以上のMMPの中でも癌の浸潤・転移において重要な役割を担う細胞外マトリックス分解酵素として知られている。近年の疫学研究により、歯周病と口腔扁平上皮癌 (OSCC) 発症との間の密接な関連が示唆されている。また、癌病理組織からは歯周病菌<i>Porphyromonas gingivalis</i>が高頻度で検出されている。しかし、両疾患を関連づける分子基盤についての検討は十分ではない。そこで本研究では、口腔癌の浸潤におよぼす<i>P. gingivalis</i>の影響について検討を加えた。</p>	
<p>【材料と方法】</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 使用した細菌と細胞 <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC33277株、<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC25586株、ヒト口腔扁平上皮癌細胞SASを用いた。 2) マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) 活性測定 SAS培養培地中のMMP-2、9の活性測定にはゼラチンザイモグラフィーを用いた。 3) 癌細胞浸潤試験 癌細胞の浸潤能の評価にはマトリゲルインベーションチャンバーを用いて評価した。 4) 細胞シグナル伝達経路解析 MMP9の発現に関するシグナルタンパク質のリン酸化はウェスタンブロッティングにより解析した。シグナル伝達阻害剤として、PDTC:ピロリジンジチオカルバメート (NF-κB阻害剤)、SB202190 (p38阻害剤)、SP600125 (JNK阻害剤)、PD98059 (ERK1/2阻害剤) を用いた。 	
<p>【結果と考察】</p> <p><i>P. gingivalis</i>に感染したSAS細胞では、前駆体MMP9の産生が増加し、培養培地中の活性化が認められた。SAS細胞を培養した回収培地中に<i>P. gingivalis</i>を添加すると、培地中の前駆体MMP9が活性化されたことから、SAS細胞から分泌された前駆体MMP9が<i>P. gingivalis</i>によって活性化されると考えられた。また、<i>P. gingivalis</i>に感染したSAS細胞の浸潤能は顕著に亢進した。一方、MMP2の産生量の増加ならびに活性化は認められなかった。</p> <p>大腸癌のリンパ節転移への関与が示されている<i>F. nucleatum</i>に同様の検討を加えたところ、MMP2および9産生量の増加ならびに活性化は認められず、感染SAS細胞の浸潤能の亢進も認められなかった。</p> <p><i>P. gingivalis</i>感染SAS細胞では、MAPKシグナル伝達経路を構成するERK1/2、p38、JNKのリン酸化が認められた。またIκBαのリン酸化ならびに細胞核分画のNF-κB量が増加した。p38、ERK1/2、JNKまたNF-κBに対するシグナル伝達阻害剤の添加により、前駆体MMP9の産生は顕著に抑制され、前駆体MMP9の産生誘導には複数のMAPK経路が関与していることが示唆された。</p>	

*P. gingivalis*はシステインプロテアーゼであるアルギニンジンジパイン (Rgp) とリジンジンジパイン (Kgp) を発現している。*P. gingivalis*感染によるSAS細胞の前駆体MMP9産生誘導については、Rgp欠損株あるいはKgp欠損株と野生株との間に有意な差は認められなかつたが、Rgp/Kgpダブル欠損株では前駆体MMP9の産生誘導は認められなかつた。また、Rgp欠損株、Kgp欠損株、Rgp/Kgp欠損株のいずれかを感染させたSAS細胞では、前駆体MMP9の活性化も浸潤能の亢進も認められなかつた。このことから前駆体MMP9の発現はRgpとKgpのいずれかにより誘導されるが、MMP9の活性化にはRgpとKgpの両方が必要であると考えられた。これらの結果から、*P. gingivalis*のジンジパインが前駆体MMP9の産生誘導ならびに活性化を果たし、癌細胞浸潤を促進していることが示唆された。

【結論】

*P. gingivalis*感染により、ERK1/2、p38、ならびにPAR2/NF-κB経路が活性化され前駆体MMP9の産生が誘導される。さらに*P. gingivalis* が産生するジンジパインにより、細胞外に分泌された前駆体MMP9が活性化されることが示された。活性化されたMMP9は基底膜を破壊し、口腔扁平上皮癌細胞の浸潤の亢進に関与することが示唆された。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名 (杉田英之)	
	(職) 氏名
論文審査担当者	主査 教授 天野敦雄 副査 教授 川端重忠 副査 准教授 仲野和彦 副査 講師 墨哲郎
論文審査の結果の要旨	
<p>本研究では、ヒト口腔扁平上皮癌細胞の浸潤に <i>Porphyromonas gingivalis</i> が与える影響について検討を加えた。その結果、高浸潤性ヒト口腔扁平上皮癌細胞株への <i>P. gingivalis</i> 感染により、癌細胞の浸潤ならびに転移を促進することが知られるマトリックスメタロプロテアーゼ 9 の産生が誘導されるとともにその活性化が亢進し、本菌によりヒト口腔扁平上皮癌細胞の浸潤が促進される可能性が示された。</p> <p>以上の研究成果は、歯周炎と口腔癌の進行を関連付ける分子基盤の一端を明らかにするものであり、博士（歯学）の学位論文に値するものと認める。</p>	