



Title	Epithelial-mesenchymal transition in oral cancer cells induced by chronic <i>Fusobacterium nucleatum</i> infection [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	中野, 晋太郎
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15960号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/92433">https://hdl.handle.net/2115/92433</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Shintaro_Nakano_review.pdf, 審査の要旨



# 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏名 中野 晋太郎

審査担当者 主査 教授 長谷部 晃  
副査 教授 大廣 洋一  
副査 教授 樋田 京子

## 学位論文題名

Epithelial-mesenchymal transition in oral cancer cells induced by chronic  
*Fusobacterium nucleatum* infection  
(*Fusobacterium nucleatum* の慢性感染による口腔癌細胞の上皮間葉転換)

審査は、審査担当者全員の出席のもと、Web形式の公聴会として行われた。はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ、審査担当者が論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。

以下に論文内容と審査の要旨を述べる。

*Fusobacterium nucleatum* の感染が細胞の上皮間葉転換を誘導するという報告は少なく、さらに、これまでの研究は短期間の感染に限定されていた。口腔癌細胞は常に口腔常在菌にさらされているため、長期間かつ持続的な感染による影響を検討する必要がある。本研究では、*Fusobacterium nucleatum* の長期持続感染が口腔癌細胞に及ぼす影響を検討した。

HSC-3（ヒト舌扁平上皮癌細胞）に*Fusobacterium nucleatum* を感染させ続け、4週間感染、2週間感染、無感染の細胞を実験により比較した。細胞の増殖はCCK-8で調べ、浸潤、遊走能はwound healing assayならびにTranswell を用いて確認した。上皮間葉転換は、それぞれに特異的な抗体を用いてウェスタンブロッティング法により確認し、がん幹細胞マーカーの発現はリアルタイムRT-PCRより調べた。

*Fusobacterium nucleatum* の長期持続感染により、増殖能、浸潤能、遊走能が上昇した。また、上皮性マーカーの発現レベルが低下し、間葉性マーカーの発現レベルがそれぞれ感染時間依存的に上昇し、細胞が細長い形態に変化し細胞間が分離したことから、上皮間葉転換が感染時間依存的に起こることが示唆された。さらに、癌幹細胞マーカーのmRNAレベルが感染時間依存的に上昇した。しかし、デキサメタゾン存在下で*Fusobacterium nucleatum* に4週間感染させた場合、*Fusobacterium nucleatum* 感染による上皮間葉転換は抑制された。

したがって、HSC-3の上皮間葉転換は、*Fusobacterium nucleatum* の長期持続感染により感染時間依存的に誘導されるが、デキサメタゾンにより抑制されることが確認されたことから、この上皮間葉転換においてJAK/STAT経路が関与していることが示唆された。これらの

結果から、腫瘍の浸潤と転移を制御するためには、口腔の日常的な衛生管理が重要であることが示された。また、上皮間葉転換の抑制にステロイドが有効であることも示されたが、免疫抑制状態で腫瘍の悪性を抑制するのは難しいこともあるため、今後*Fusobacterium nucleatum* が口腔癌細胞に上皮間葉転換を誘導するメカニズムについてのさらなる解明が必要である。

論文審査にあたっては、申請者による学位論文要旨についての説明後、担当者により研究内容および関連事項についての質問を行った。主な質問事項については以下の通りである。

1. Wound healing assayの浸潤能と増殖能の評価と考察について
2. HSC-3が癌幹細胞の性質を獲得したとする根拠とそれを証明するその他の実験方法について
3. Wound healing assayとTranswell migration assayの浸潤能と遊走能の解釈について
4. デキサメタゾン存在下の実験でのポジティブコントロールとしての*Fusobacterium nucleatum* 感染サンプルの有無について
5. 今回の実験結果の臨床的価値、臨床応用について
6. 細胞に影響を及ぼす*Fusobacterium nucleatum* 以外の細菌についての報告について
7. これまで報告されている*Fusobacterium nucleatum* が影響を与える悪性腫瘍の部位、細胞種について
8. 大腸、膵臓など消化器官の研究の際に検出される*Fusobacterium nucleatum* の由来の報告について
9. *Fusobacterium nucleatum* が細胞に影響を与える様式について、*Fusobacterium nucleatum* の細胞内への侵入の可能性について
10. *Fusobacterium nucleatum* が細胞に影響を与える*Fusobacterium nucleatum* 内の因子や構成成分について

これらの質問に対して申請者から適切かつ明快な回答および説明が得られ、研究の立案と遂行ならびに結果の収集とその評価について、申請者が十分な能力を有していることが確認された。本研究により、*Fusobacterium nucleatum* の長期持続感染により口腔癌細胞に上皮間葉転換が感染時間依存的に起こり、それにJAK/STAT経路が関与していることを明らかにした。本研究は、口腔衛生状態の重要性についてあらためて示唆しただけでなく、また、口腔癌の増悪抑制など今後の口腔癌研究に非常に貢献することが期待された。申請者は関連分野にも十分な学識を有していることが確認され、発展的研究に対しての意欲においても将来有望であると評価された。したがって審査担当者全員は、学位申請者が博士(歯学)の学位を授与されるに相応しいと認めた。