



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Porphyromonas gingivalisによる血管内皮細胞間接着の低下を介した腫瘍転移誘導 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	赤堀, 永倫香
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第16458号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95075
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Erika_Akahori_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 赤堀 永倫香

主査 教授 樋田 京子
審査担当者 副査 教授 宮本 郁也
副査 教授 大廣 洋一

学 位 論 文 題 名

Porphyromonas gingivalis による血管内皮細胞間接着の低下を介した腫瘍転移誘導

審査は審査担当者全員出席の下、対面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た。その内容を以下に示す。

がんは、我が国の死因第一位を占める疾患であるが、その原因の大部分は転移によるもので特に血行性転移が多い。がん患者の生存率向上のためには、血行性転移を促進する危険因子の同定とその標的化が重要な課題である。

歯周病は世界的に罹患率の高い感染症であり、*Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) はその代表的な原因菌である。近年、様々ながんで腫瘍部に*P. gingivalis*が検出されており、生存率低下や予後不良と関連することが報告されている。そのメカニズムとしては、腫瘍細胞の増殖・遊走能の亢進など腫瘍細胞への直接的な作用が多く知られているものの、転移の重要な経路を担う血管における転移促進メカニズムの詳細は未知のままである。

我々は以前、*Streptococcus mutans*が遠隔臓器の血管炎症と血管バリア機能低下を誘導し転移を促進すること、すなわち口腔常在菌による血管内皮細胞の形質変化と転移増加の関連を報告した。一方で、*P. gingivalis*はその病原因子gingipainの強力なタンパク分解作用による内皮間接着分子の分解と血管バリア機能低下への寄与が示されているが、転移に及ぼす影響については不明である。そこで本研究では、*P. gingivalis*が血管内皮細胞に及ぼす作用と腫瘍転移への影響を明らかにすることを目的とした。

in vitroで血管内皮細胞（MS-1）を*P. gingivalis*刺激するとNF- κ Bがリン酸化され、IL-6、IL-8、TNF- α などの炎症性サイトカインmRNA発現が亢進した。一方でNF- κ B阻害によりこれらサイトカインmRNA発現は低下した。よって*P. gingivalis*は血管内皮細胞にNF- κ B活性化を介した炎症性変化をもたらすことが示唆された。血行性転移の成立のためには、腫瘍細胞が血管内皮細胞への接着を経て血管内皮間を浸潤することが不可欠である。そこでまず、腫瘍細胞と血管内皮細胞の接着に重要なICAM-1 mRNA発現について評価したところ、MS-1におけるICAM-1 mRNA発現は*P. gingivalis*によって亢進した。また、*P. gingivalis*刺激MS-1に対して腫瘍細胞を播種すると、腫瘍細胞のMS-1への接着が増加した。このことは、*P. gingivalis*によって誘導された血管炎症が、ICAM-1発現増強を介して腫瘍細胞の血管内皮細胞への接着亢進を誘導し、転移の促進に寄与する可能性を示している。

次に、Gingipainの、血管透過性を制御する血管内皮細胞間接着分子VE-cadherinタンパクへの影響を解析した。*P. gingivalis*によりMS-1のVE-cadherin mRNA発現レベルはほとんど変化しなかったが、免疫細胞染色およびWestern BlottingによってVE-cadherinタンパクレベルの減少が示され

た. なお*P. gingivalis* gingipain欠損株 (KDP136) では変化を認めなかったことから, gingipainによる血管内皮細胞のVE-cadherinタンパク分解が示唆された. また, *P. gingivalis*によりMS-1モノレイヤーにおける電気抵抗値が低下したことから, 血管バリア機能の低下が示された. さらに, *P. gingivalis*刺激MS-1に対して腫瘍細胞を播種すると腫瘍細胞の内皮間遊走数が増加した. これらのことより, gingipainがVE-cadherin分解による細胞間接着の低下をもたらし, その結果として腫瘍細胞の血管内皮間浸潤を増加させることが示唆された.

続いて, in vivoで担がんマウスに*P. gingivalis*を静注し, 腫瘍転移について解析した. 肺転移についてex vivoイメージングシステムにより解析したところ, Control群と比較し*P. gingivalis*群における有意な肺転移増加がみられた. さらに*P. gingivalis*静注群では, Control群と比較して原発腫瘍および肺におけるCD45陽性炎症性細胞浸潤が増加しており, *P. gingivalis*による炎症性変化の誘導が示唆された. また, in vivo 血管内皮細胞間接着分子への影響を検討するため, VE-cadherinにならんで重要な血管内皮細胞間接着分子CD31の免疫組織学的染色を行った. その結果, 腫瘍組織および肺におけるCD31陽性領域は*P. gingivalis*群で有意に減少していた.

以上より, *P. gingivalis*は, 血管内皮細胞の炎症性変化による腫瘍細胞との接着の増加, 血管内皮細胞間接着の低下による腫瘍細胞の血管内皮間浸潤の増加によって血行性転移を促進させることが示された. 本研究により, がん患者の口腔衛生管理は転移抑制にもつながることが示唆された.

審査は提出論文の内容及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. 以下にその項目を示す.

- 1) Gingipain が細胞に与える直接的な影響について
- 2) *P. gingivalis* 以外の歯周病原菌による腫瘍進展に関するメカニズムについて
- 3) 偏性嫌気性菌である *P. gingivalis* の血中での生存動態について
- 4) *P. gingivalis* 尾静脈投与による肺炎誘導の機序について
- 5) ICAM-1 以外に腫瘍細胞の内皮間遊走に影響する分子について
- 6) 口腔内細菌が直接口腔がんに与える影響について
- 7) 大腸のような免疫機能が高い臓器で *P. gingivalis* が生存しうる理由について
- 8) 本研究結果から考えられる糖尿病と歯周病の病態悪化に関する考察について
- 9) 上皮細胞に対する *P. gingivalis* の侵入と生存の可否について
- 10) 本研究結果を臨床応用する際に介入すべきがん治療の段階について

本研究は*P. gingivalis*の病原因子gingipainによる血管内皮細胞の形質変化ががん転移促進の新しい機序となる可能性を示し, がん患者における口腔衛生の重要性を明確に示したものと評価された. また, 上記の質疑応答から申請者は本研究内容を中心とした専門分野はもとより, 関連分野について十分な理解と知識を有していることが確認された.

以上のことから, 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値するものと認めた.