



Title	Prevotella intermedia 由来タンパク質による口腔扁平上皮がん細胞株HSC-3 の増殖抑制
Author(s)	柏原, みゆき
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。利用可能日以前の閲覧方法は https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/ をご参照ください。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第16939号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16939
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99784
Type	doctoral thesis
File Information	Miyuki_Kashiwabara_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



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 柏原 みゆき

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

学 位 論 文 題 名

Prevotella intermedia 由来タンパク質による口腔舌扁平上皮がん細胞株 HSC-3 の増殖抑制

審査は、審査担当者全員の出席のもと、対面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。

近年、口腔内微生物と悪性腫瘍の関係について多数の報告がある。*Prevotella intermedia* は慢性歯周炎の原因菌の一つであり、胃がんや大腸がんでは腫瘍の促進に関与しているという報告がある。しかし、口腔の悪性腫瘍との関係性はまだ完全には明らかになっておらず、口腔扁平上皮がん細胞株に対する影響について検討する必要がある。本研究では、*P. intermedia* がヒト舌扁平上皮がん細胞株である HSC-3 に与える影響を菌体、培養上清濃縮液、加熱処理菌体、分画した菌体由来タンパク質を用い、細胞増殖能や細胞周期への影響を検討した。

まず、*P. intermedia* が口腔扁平上皮がん細胞株の増殖に及ぼす影響を調べた。*P. intermedia* は菌体表層に分泌装置としてIX型分泌系を有するが、multiplicity of infection (MOI) 100 の条件下で処理することにより、IX型分泌系の有無にかかわらず HSC-3 の細胞増殖を有意に抑制した。さらにスクラッチアッセイにおいても創傷閉鎖率を有意に低下させた。しかし、同じ口腔がん細胞株である SAS や HSC-2 に対しては同様の処理条件下でも明確な影響を示さなかった。したがって、同じ口腔扁平上皮がん細胞系の細胞株であっても、これらの細胞の中では HSC-3 にのみに増殖抑制活性を示すことがわかった。また、*P. intermedia* による HSC-3 の細胞増殖抑制活性が、HSC-3 への細胞死の誘導によるものであることが考えられたため、細胞培養上清中の LDH の量を測定すると、*P. intermedia* は HSC-3 に細胞死を誘導しないことが示唆された。これらの結果から、*P. intermedia* が細胞株特異的に増殖を抑制し、それは細胞死の誘導によるものではないことが示唆された。

P. intermedia 由来分泌物が細胞増殖にあたえる影響を確認したところ、菌体の培養上清濃縮液では HSC-3 の細胞増殖抑制効果は認められなかった。また、加熱処理した *P. intermedia* を用いた実験では、MOI 100 の条件下での HSC-3 の細胞増殖抑制効果が消失したことから、*P. intermedia* による細胞増殖抑制効果は菌体のタンパク質に依存していることが示唆された。そこでそのタンパク質を同定する目的で、モノサイトウエスタンブロッティング法により細胞増殖抑制効果を有するタンパク質を分画した。*P. intermedia* 由来タンパク質のうち複数の分画で HSC-3 の増殖抑制効果が確認された。以上のことから HSC-3 の細胞増殖抑制効果はこれらの分子量帯の構造タンパク質によるもの、あるいはこれらのタンパク質に共通の因子が関与している可能性が示唆された。また我々は *P.*

intermedia が HSC-3 の細胞周期に及ぼす影響を調べた。その結果、*P. intermedia* 処理群では G0/G1 期の細胞割合が有意に増加しており、細胞周期の G1 期での停止を介して細胞増殖を抑制している可能性が示唆された。以上の結果から、*P. intermedia* は HSC-3 に対して細胞増殖抑制効果を示し、その作用は細胞死誘導によるものではなく G1 期での細胞周期停止に関与していることが示された。さらに本活性は菌体由来のタンパク質によることが示唆された。今後、これらのタンパク質の同定やがん細胞表面に発現している受容体などの比較解析を進める必要がある。

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. *P. intermedia* の影響が細胞株ごとに異なることについて
2. *P. intermedia* や他の口腔常在菌が口腔常在菌叢を介して及ぼす影響について
3. *P. intermedia* の口腔常在菌叢における割合や役割について
4. *P. intermedia* IX型分泌装置欠損株について
5. CCK-8 アッセイとスクラッチアッセイの解釈について
6. モノサイトウエスタンブロットティングにおけるタンパク質の定量性について
7. *P. intermedia* 由来タンパク質に対する HSC-3 細胞の受容体について
8. この研究における将来的な展望について

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、*Prevotella intermedia* はその菌体に HSC-3 細胞特異的に細胞増殖を抑制するタンパク質を有しており、その増殖抑制活性は細胞死誘導によるものではなく G1 期における細胞周期の停止に関与していることが示唆された。今後は、この *P. intermedia* 由来タンパク質の同定が必要であるだけでなく、さらにこのタンパク質による増殖抑制活性の作用メカニズムや細胞特異性を明らかにすることにより、口腔癌の増悪抑制につながる薬剤の開発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。