

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K18692

研究課題名（和文）口腔癌の浸潤・転移メカニズムにおける歯周病原菌の役割の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the role of periodontal pathogens in the invasion and metastasis mechanisms of oral cancer.

研究代表者

西山 今日子 (Nishiyama, Kyoko)

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：70846542

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：近年、歯周病疾患は口腔癌の発病リスクファクターとなることが示唆されており、歯周病原菌が原因の一つと考えられている。ヒト口腔扁平上皮癌細胞株であるSAS細胞に歯周病原菌P. gingivalis処理を行い、次世代シーケンサーを用いて解析を行った。解析はFold Changeが2.0以上もしくは0.5以下になった遺伝子をCell migrationのキーワードで遺伝子を絞っていき、The Cancer Genome Atlas(TCGA)データを用い予後予測因子の検討を行った。BMPER、SEMA3A、TMSB15Bの遺伝子の発現の高さが、生存率低下と関連していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、歯周病疾患は口腔癌の発病リスクファクターとなることが示唆されており、歯周病原菌が原因の一つと考えられている。本研究によって、BMPER、SEMA3A、TMSB15B遺伝子の高発現はTCGA-HNSCC患者の生存率低下と密接に関連することが明らかになった。その中でも、TMSB15Bは歯周病原菌と関連したHNSCC患者の予後を予測する有望なバイオマーカー遺伝子としての可能性が期待される。

研究成果の概要（英文）：Recently, periodontal disease has been suggested to be a risk factor for the development of oral cancer, and periodontal pathogens are thought to be one of the causes. We treated SAS cells, a human oral squamous cell carcinoma cell line, with periodontal pathogen P. gingivalis and analyzed them using a next-generation sequencer. The Cancer Genome Atlas (TCGA) data were used to examine prognostic factors. The high expression of BMPER, SEMA3A, and TMSB15B genes significantly decreased the survival rate in TCGA-HNSCC data.

研究分野：口腔癌

キーワード：口腔癌 歯周病原菌 浸潤・転移 癌微小環境

1. 研究開始当初の背景

癌の浸潤・転移は患者の生命予後を損なう要因であり、その制御機構を明らかにすることは急務である。口腔癌研究において、癌悪性化機構は解明されつつあるが、周囲口腔環境と癌悪性度の相関性やその誘導メカニズムは依然不明な点が多い。口腔微生物もその一つと考えられており、いくつかの作用メカニズムが示唆されている。

近年、歯周病罹患は口腔癌および食道癌の発病リスクファクターとなることが示唆されており、歯周病原菌が原因の一つと考えられている。頭頸部癌の死亡率は、歯周病罹患患者、または歯周病原菌 *P. gingivalis* 保有者では高い値を示しており、*P. gingivalis* 抗原は口腔および上部消化管癌の特異的バイオマーカーと成り得る可能性が示唆されている。我々はこれまでに *P. gingivalis* が口腔扁平上皮癌細胞株の浸潤能を亢進することを報告してきたが、歯周病原菌や歯周病に伴う口腔環境の変化が口腔扁平上皮癌細胞株にもたらす影響を明らかにすることが重要と考えた。

2. 研究の目的

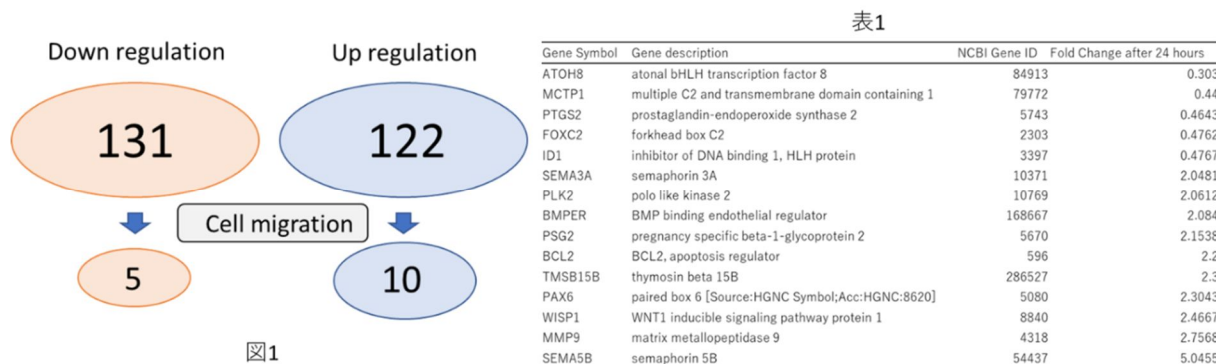
口腔癌の浸潤・転移メカニズムにおける歯周病原菌の役割を解明するために、ヒト口腔扁平上皮癌細胞株である SAS 細胞に歯周病原菌 *P. gingivalis* 処理を行い、浸潤能における歯周病原菌の役割を検討した。

3. 研究の方法

ヒト口腔扁平上皮癌細胞である SAS 細胞を用いた。歯周病原菌として *P. gingivalis* を用いた。SAS 細胞を *P. gingivalis* MOI: 1 で処理し TRIsure を用いて RNA を抽出した。その後次世代シーケンサーを用いて解析を行った。解析は Fold Change が 2.0 以上もしくは 0.5 以下になった遺伝子のうち Cell migration のキーワードで遺伝子を絞っていき、The Cancer Genome Atlas (TCGA) データを用い予後予測因子の検討を行った。

4. 研究成果

(1) ヒト口腔扁平上皮癌細胞である SAS 細胞を歯周病原菌 *P. gingivalis* を MOI: 1 で 24 時間処理し、コントロールと比較したところ、2 倍以上増加した遺伝子は 122 遺伝子、0.5 以下に減少した遺伝子は 131 遺伝子認めた (図 1)。その中から Cell migration のキーワードで絞り込みを行い、5 の減少した遺伝子、10 の増加した遺伝子を抽出した (表 1)。



(2) ピックアップした 15 の遺伝子について TCGA COAD study の RNA-seq データ ((primary solid tumor, n = 499; solid tissue normal, n = 44) から頭頸部扁平上皮癌 (HNSCC) における各遺伝子の発現を解析したところ、FOXC2、MCTP1、MMP9、SEMA5B、TMSB15B、WISP1 では正常組織にくらべ腫瘍組織で発現が多く、逆に ATOH8 では正常組織にくらべ腫瘍組織で発現が少なかった。

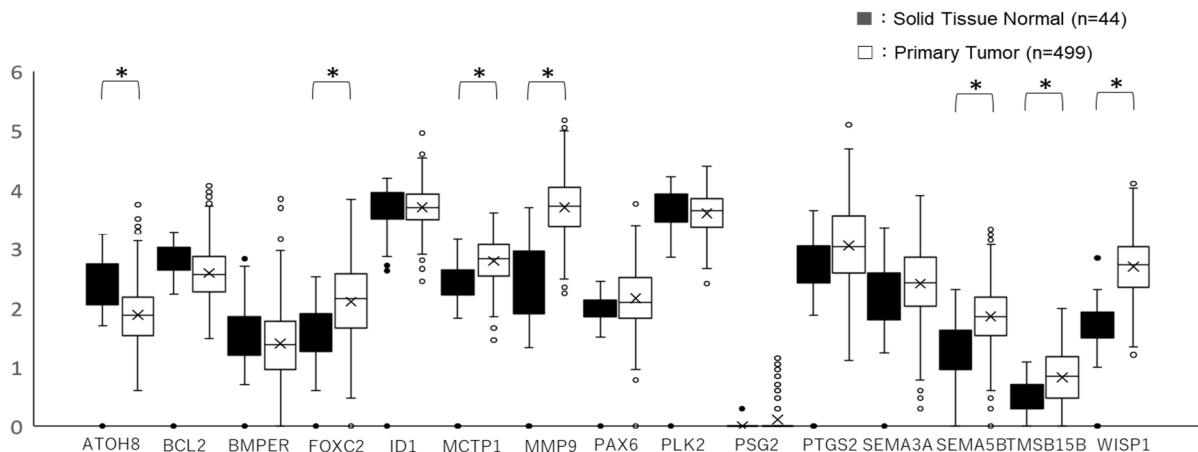


図 2

(3)各遺伝子のヒートマップを示す。

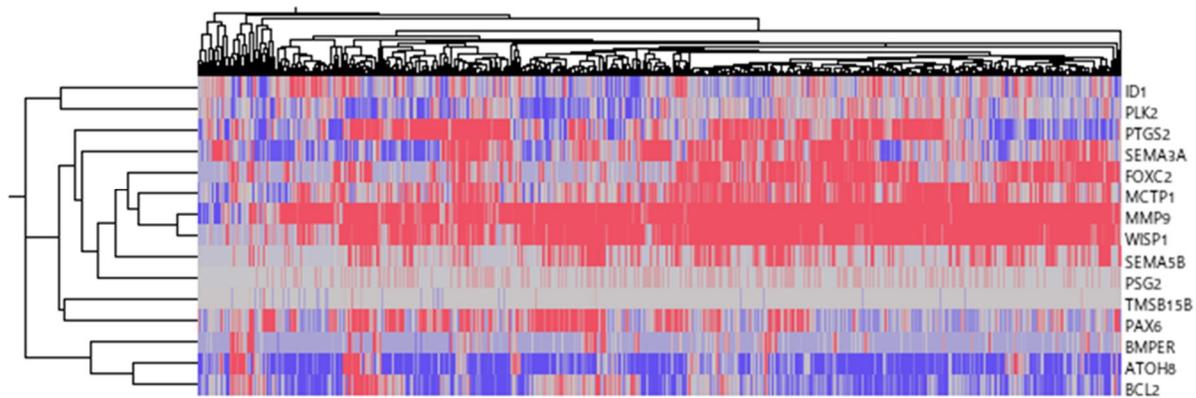


図 3

(4) PSG2 は発現量がかなり少なく除外して検討を行った。つまり 14 遺伝子について TCGA データベース中の HNSCC において生命予後を検討した結果、C: BMPER、K: SEMA3A、M: TMSB15B の発現の高さが生命予後の悪さと関連していることが明らかになった。

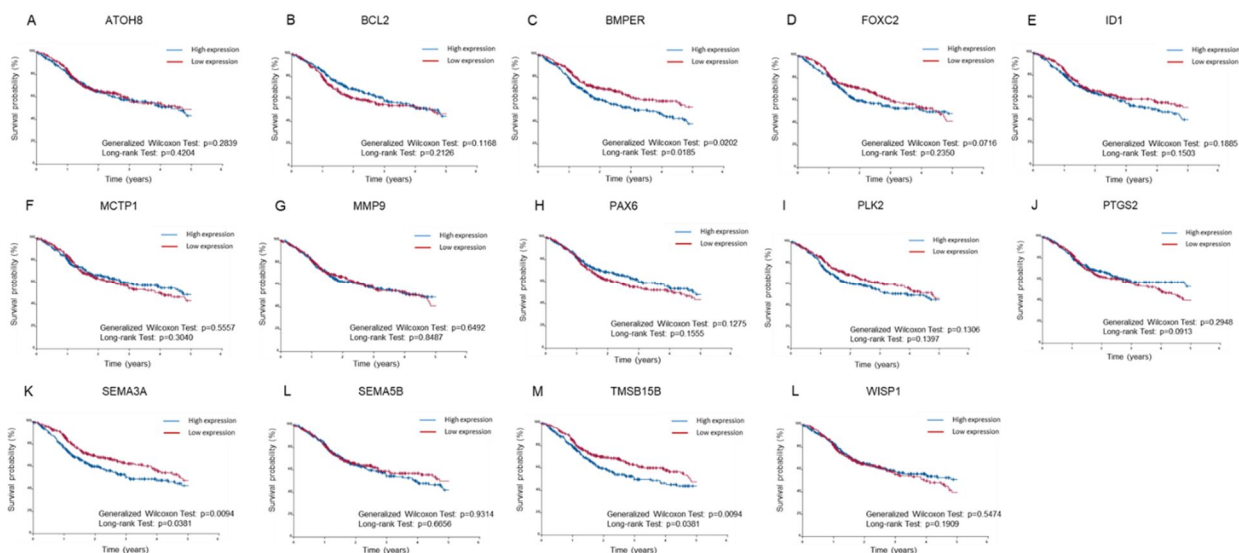


図 4

(5) 最後に図 2 で有意差を認め、かつ図 4 で生命予後に関連を認めた TMSB15B について性別、タバコの有無、飲酒の有無についてさらに生命予後因子について Kaplan-Meier で検討を行った。男女差では女性群、タバコは喫煙歴がない群、飲酒は飲酒しない群で生命予後に関連していた。

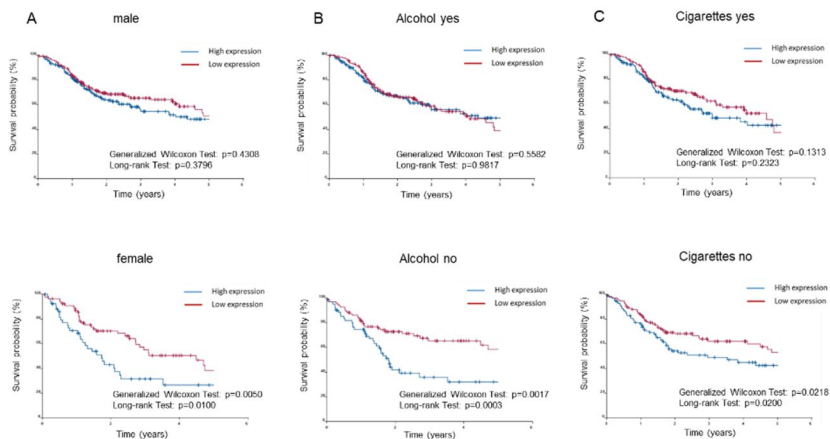


図 5

以上より、ヒト口腔扁平上皮癌細胞株である SAS 細胞に歯周病原菌 *P. gingivalis* 処理を行い、影響を受けた遺伝子を検討した結果、TMSB15B が生命予後に関連することが明らかとなった。さらに性別、タバコの有無、飲酒の有無についてさらに生命予後因子について Kaplan-Meier で検討を行ったところ、男女差では女性群、タバコは喫煙歴がない群、飲酒は飲酒しない群で生命予後に関連していた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hamada Masakazu, Inaba Hiroaki, Nishiyama Kyoko, Yoshida Sho, Yura Yoshiaki, Matsumoto-Nakano Michiyo, Uzawa Narikazu	4. 巻 11
2. 論文標題 Prognostic association of starvation-induced gene expression in head and neck cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-98544-1	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 濱田正和、西山今日子、鶴澤成一
2. 発表標題 TCGA データの解析に基づく口腔癌における SphK1, 2 and CERK の標的化
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西山今日子、稲葉裕明、濱田正和、吉田翔、仲野道代
2. 発表標題 血清飢餓状態が頭頸部癌細胞株に及ぼす影響と飢餓誘導遺伝子の予後との関連性
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 濱田正和、西山今日子、鶴澤成一
2. 発表標題 Prognostic association of starvation-induced genes in head and neck cancer based on analysis of TCGA data
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------