

## 学 位 論 文 要 旨

## 研究題目

Bacterial Lipopolysaccharide Induces PD-L1 Expression and  
an Invasive Phenotype of Oral Squamous Cell Carcinoma Cells  
(細菌性リポ多糖による口腔扁平上皮癌細胞の PD-L1 発現と浸潤様式の誘導)

兵庫医科大学大学院医学研究科

医科学専攻

器官・代謝制御系

口腔科学 (指導教授 岸本裕充 )

氏 名 大森 雄司

口腔内細菌である *Porphyromonas gingivalis* (*P. g*) は歯周病の原因菌の中で最も病原性の高い細菌群に位置している。先行研究で *P. g* により MMP-9 が誘導され、oral squamous cell carcinoma (OSCC) の浸潤を促進することが明らかにされているが、浸潤、転移に関与するメカニズムを探求する必要があった。腫瘍に発現する PD-L1 は免疫逃避と悪性化に関与し、予後不良因子であることが知られている。Toll Like Receptor 4 (TLR4) は、リポ多糖 (LPS) による刺激により、PD-L1 の発現を誘導することが知られており、近年では、がんの発生、進行において遺伝子変化を伴う epigenetic な異常が注目されている。本研究は OSCC 細胞株において、細菌由来の LPS によって誘導される PD-L1 の発現と部分的上皮間葉転換 (pEMT) について検討した。

12 種類の OSCC 細胞株の TLR4 の発現を解析し、TLR4 発現のあった OSC20、OSC19、SAS と TLR4 発現のなかった Ca9-22 を本研究に使用した。*P. g* または *Escherichia coli* (*E. coli*) の LPS 添加による PD-L1 の発現と pEMT 誘導を Western Blot および RT-PCR で解析した。TGF- $\beta$  添加の EMT 誘導を陽性対照として、LPS 添加時の EMT 誘導の違いを比較した。可逆性を見るために、LPS を添加し EMT を誘導したのちに LPS 無添加の培地に交換し、PD-L1 発現の変化を解析した。LPS の添加による細胞形態、増殖能、遊走能、浸潤能の変化を解析した。Exosomes (EXOs) はさまざまなシグナル伝達や転移に適した環境の形成に関与していることから、OSCC 細胞株の EXOs 内の PD-L1 発現を解析し、LPS 添加による EXOs 内の PD-L1 の発現量の変化を比較した。

TLR4 発現 OSCC 細胞株において、*P. g* または *E. coli* の LPS によって PD-L1 発現が増加した。TGF- $\beta$  の添加は、MMP-2、MMP-9 などのゼラチナーゼ群や SNAI、ZEB などの EMT-TF 系の発現を増加させた。*P. g* の LPS を添加した場合にも同様の発現増加を認めた。LPS 添加により pEMT 誘導が観察された。LPS 無添加の培地に交換することで、TLR4 発現 OSCC 細胞株において PD-L1 発現の可逆性を示した。LPS 添加により細胞形態、増殖能、遊走能は変化しなかった。浸潤能は LPS 添加の OSCC 細胞株において増加したが、*P. g* と *E. coli* との間に有意差は認められなかった。EXOs の実験では、LPS を添加した OSCC 細胞株の EXOs の方が PD-L1 の発現の増加を認めた。

細菌性 LPS は OSCC 細胞株の浸潤能の亢進に関与し、PD-L1 の発現と pEMT を誘導していた。さらに、LPS を添加した OSCC 細胞株の EXOs は PD-L1 を高発現したことから、EXOs が PD-L1 のキャリアとして関与している可能性が示唆された。