食を支える口腔恒常性の維持・破綻機構の解明

塚崎雅之

東京大学大学院医学系研究科 骨免疫学寄付講座 特任准教授 (現 昭和大学歯学部口腔生化学講座 教授)

緒言

食を支える口腔の健康保持は、全てのヒトが何歳になっても美味しく食事を楽しみ、社会に参画し元気に過ごすという、豊かな人生設計を描ける理想社会の実現を目指す上で重要な課題である。口腔恒常性を破綻させ、歯の喪失を引き起こす最大の原因は歯周病に伴う炎症性骨破壊である。また、口腔がんは世界で6番目に頻度の高い悪性腫瘍であり、顎骨に浸潤することで患者の生命予後とQOLを著しく増悪する。

我々は、歯周病と口腔がんの病態に関わる多細胞連関や、骨破壊の実行役である破骨細胞の制御機構の研究をつうじて、口腔疾患のメカニズム理解や新規制御法開発に貢献するだけでなく、「炎症性骨破壊の意義と起源」や「非免疫細胞による抗腫瘍効果」など、一般性の高い概念を切り拓いてきた。ここでは、口腔という特殊な切り口から普遍的なサイエンスへの展開を目指す、我々のグループの研究内容を概説する。

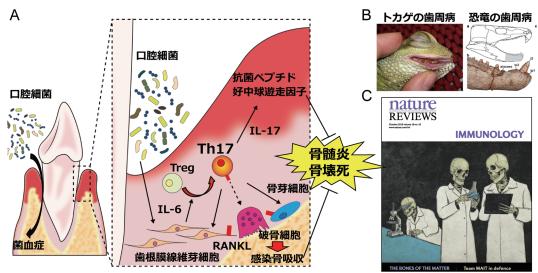
目的、方法および結果

口腔は粘膜と骨が接する人体で唯一の特殊な臓器であり、口腔を舞台に発症する疾患(歯周病、口腔がんなど)の病態形成には、骨代謝系・免疫系・粘膜系・口腔細菌叢の複雑な相互作用が関与する。我々は、口腔疾患をモデルとして扱い、その病態の裏に潜む多細胞連関を統合的に解析するアプローチで研究を進めてきた。

我々はまず、マウス歯周病モデルを用いた解析から、 重篤な歯周炎組織からは口腔細菌が血流に侵入し菌血症 が起こること、その際に歯と骨をつなぐ靭帯(歯根膜) の線維芽細胞が免疫系細胞と協調し、炎症性サイトカインIL-6や破骨細胞分化因子RANKLを発現することで、 破骨細胞による感染歯周囲骨の吸収を促し、骨髄や遠隔 臓器への細菌感染の波及を防ぐというユニークな生体防 御機構を解明した¹⁾(図1A)。トカゲのような多生歯性 (歯がなんども生え変わる)動物でも歯周病は認められ、 炎症性骨破壊の最古の証拠はペルム紀の恐竜の歯周病であることから²⁾(図1B)、炎症性骨破壊は生体で最も細菌の侵入をうけやすい歯周粘膜バリアに備わった原始的な生体防御機構である可能性を提唱した²⁾。本仮説をまとめた論文は、Nature Reviews誌の表紙に選出された²⁾(図1C)。本知見が重要なエビデンスとなり、米国では遺伝性の歯周病患者(高度な顎骨吸収により20代で全ての歯を失う)に対する生物学的製剤の治験が開始されている²⁾(Clinical Trials, gov Identifier; NCT03366142)。

生体内で骨吸収を担う唯一の細胞である破骨細胞は、運動器の恒常性維持において中心的な役割を担うが、その過剰な活性化は骨粗鬆症や関節リウマチ、歯周病、がん骨転移など、様々な疾患に伴う病的骨破壊の原因になる。我々は、世界ではじめて破骨細胞の形成機構を1細胞解像度で明らかにし、破骨細胞を抑制する新規治療標的を同定した³⁾。さらに、scRNAseq解析とマウス遺伝学を組み合わせた研究アプローチにより、骨をつくりつつ破骨細胞を抑制する新たな骨芽細胞サブセットの同定に成功し、本細胞が骨疾患の新たな治療標的となる可能性を見出した⁴⁾。

口腔外科や整形外科の臨床現場では、骨折修復時に骨を包む「骨膜」を温存することが良好な予後をもたらすことが古くから知られていたが、骨膜に存在する細胞の多様性やその機能に関しては不明な点が多かった。我々は、骨膜に存在する幹細胞(骨膜幹細胞)が、可溶性の成長因子であるIhhを高発現しており、これが骨内部に存在する別の種類の幹細胞(成長板幹細胞)を制御することで骨の成長に寄与することを発見し、骨の成長や修復は「幹細胞クロストーク」により制御されるという新たな概念を提唱した⁵⁾。また、骨膜と連続し関節周囲を包む「滑膜」にも着目し、関節リウマチの組織破壊をもたらす線維芽細胞と、その形成を司るマスター転写因子Etslを同定した。滑膜線維芽細胞におけるEtslが、関節リウマチに伴う骨破壊と軟骨破壊を同時に抑える有用

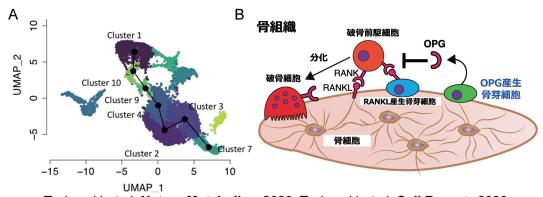


Tsukasaki et al. Nature Commun 2018, Tsukasaki et al. Nature Rev Immunol 2019

図1 歯周病の病態解明と、炎症性骨破壊の意義および起源の提唱

(A) 歯周病の免疫学的メカニズム。(B) トカゲの歯周病と恐竜の顎骨における歯周病骨破壊と歯の脱落の証拠。(C) Nature Rev Immunol 2019年10月号の表紙。

Tsukasaki et al. Nature Commun 2018, Tsukasaki et al. Nature Rev Immunol 2019



Tsukasaki et al. Nature Metabolism 2020, Tsukasaki et al. Cell Reports 2020

図2 破骨細胞の分化経路解明と、新規骨芽細胞サブセットの同定

(A) シングルセル解析による破骨細胞分化経路の解明。cluster1 (前駆細胞) からcluster7 (破骨細胞) へ多段階的に分化が進行。(B) 骨を保護する骨芽細胞の同定。

Tsukasaki et al. Nature Metabolism 2020, Tsukasaki et al. Cell Reports 2020

な治療標的となる可能性があり、今後の展開が期待される 6 。

上述のように我々のグループでは、歯の周囲の「歯根膜」、骨を包む「骨膜」、関節を包む「滑膜」など、これまであまり注目されてこなかった膜組織に存在する間質細胞の機能を解明してきた。そこで新たな展開として、口腔領域で重要な疾患である頭頸部扁平上皮がん(head and neck squamous cell carcinoma; HNSCC)に着目した研究プロジェクトを立ち上げた。HNSCCは世界で6番目に罹患率の高い悪性腫瘍として年間89万人が新た

に罹患し、45万人が命を落としている。HNSCCの発生 部位として最も多いのが舌、歯肉、口底などの口腔粘膜 であり、その最大の特徴が隣接する顎骨に直接浸潤する ことである。

HNSCCが骨浸潤を起こすと、リンパ節転移や遠隔転移の有無に関わらずTNM分類でstage 4に分類され、生命予後は顕著に悪化する。手術が可能なケースであっても顎骨切除と再建が必要となり、再発リスク上昇や骨痛の発生も含め、患者のQOL低下は著しい。しかしながら、HNSCC骨浸潤の分子メカニズムに関しては不明

な点が多く、病態理解と有効な制御法の確立が急務と なっている。

多くの研究がなされてきた血行性がん骨転移と異なり、口腔がん骨浸潤では粘膜で発生した腫瘍が骨膜を越えて骨内部へと侵入する。骨膜が介在するという点において、口腔がん骨浸潤と他の腫瘍の骨転移では腫瘍の進展機序や腫瘍に対する生体応答が異なると考えられるが、HNSCC進展メカニズムや生体応答機構に関する理解は遅れているのが現状であった。

我々はまず、東京大学医学部附属病院口腔外科で手術を受けた口腔がん患者の検体を詳細に解析したところ、HNSCCが骨に近接した浸潤前組織では、骨膜の厚みが3~4倍に増加することを見出した⁷⁾(図4) 腫瘍近接に伴う骨膜肥厚の生物学的意義およびメカニズムを解明するため、HNSCC骨浸潤マウスモデルを確立し、scRNAseqによりマウスHNSCC病変を解析したところ、コントロールと比較してHNSCCが近接した骨組織では骨膜細胞のクラスターが増加しており、遺伝子発現パターンも

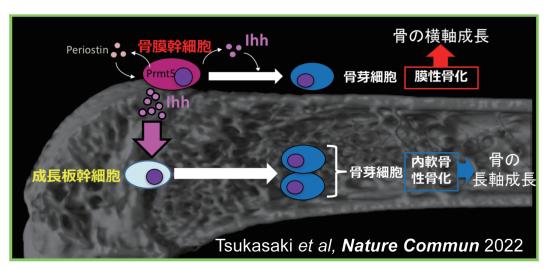


図3 骨膜幹細胞による骨成長制御

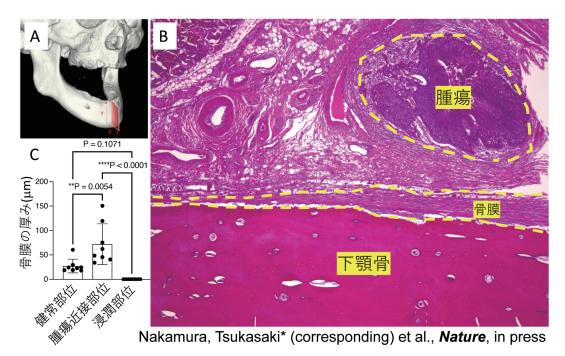


図4 口腔がん近接部位の骨膜肥厚

(A) 患者顕蓋骨のCT所見,赤四角;組織解析部位。(B) H&E染色像。(C) 骨膜肥厚の定量評価(HNSCC患者8名)。 Nakamura, Tsukasaki* (corresponding) et al., *Nature*, in press

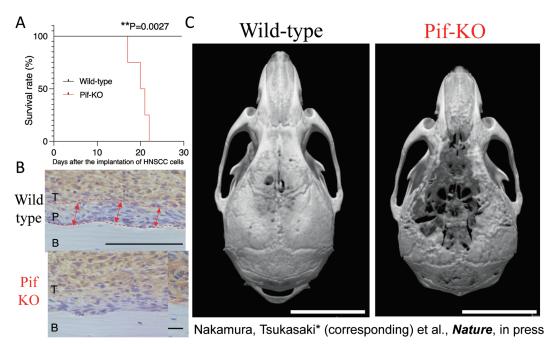


図5 Pif欠損マウスでは骨膜肥厚が起こらずHNSCC骨浸潤が増悪する

(A) HNSCC移植後の生存曲線。(B) 骨膜の組織像T: tumor(pan-keratin抗体で茶染), P; periosteum(骨膜), B; bone(骨). (C) HNSCC移植後の頭蓋骨CT像。

Nakamura, Tsukasaki* (corresponding) et al., Nature, in press

大きく変化することが明らかとなった $^{7)}$ 。HNSCC近接に伴い、骨膜細胞クラスターで最も顕著に発現が上昇した遺伝子としてプロテアーゼ阻害因子(protease inhibitory factor; Pif)を同定し、Pifを欠損したマウスではHNSCC近接に伴う骨膜肥厚が完全に阻害され、骨浸潤が著名に進行し、野生型マウスよりも早期に死亡することを見出した $^{7)}$ (図5)。

以上より、骨膜細胞は腫瘍近接に応じてPifを放出することで微小環境のプロテアーゼを阻害し、細胞外基質の蓄積を促すことで骨膜を肥厚させ、物理的に口腔がん進展を抑制するというユニークな現象を見出し、非免疫系ストロマ細胞による全く新しい抗腫瘍機構「stromal defense against cancer: SDAC」という概念を提唱した⁷⁾。このSDAC機構の発見は、非免疫細胞による抗腫瘍効果の重要性を生体レベルではじめて示したものであり、腫瘍生物学・免疫学の新たなフロンティアを切り拓くものと期待される。口腔がん以外の腫瘍におけるSDAC機構の解明や、SDAC機構を駆動する分子メカニズムの解明、そしてSDACの制御による腫瘍浸潤抑制戦略の開発が今後の重要な課題である。

考察、要約

口からものを食べることは多細胞生物の根源的な性質

であり、生命機能の維持に必須のシステムとして進化してきた。ヒトにおいて、口腔には咀嚼、嚥下、呼吸といった生命活動に必須の機能と、顔貌、表情、発声、味覚といった社会活動に重要な機能が集中しており、口腔疾患はこれらを脅かすことで患者のQOLを増悪する。口腔科学研究は、口腔疾患の理解と制御により人類の福祉に貢献するだけでなく、口腔という特殊性から普遍的なサイエンスの創出へと突き抜ける可能性も秘めており、今後さらなる展開が期待される。

謝辞

この度、名誉ある三島海雲学術賞をいただきましたことを大変光栄に感じると同時に深く感謝しております。また、10年間に渡りご指導いただきました研究の師匠である高柳広先生、高柳研の先輩後輩、学外の共同研究者の先生方、そして私の研究グループのメンバーに感謝申し上げます。

文 献

 Masayuki Tsukasaki, Noriko Komatsu, Kazuki Nagashima, Takeshi Nitta, Warunee Pluemsakunthai, Chisa Shukunami, Yoichiro Iwakura, Tomoki Nakashima, Kazuo Okamoto & Hiroshi Takayanagi, 「Host defense against oral microbiota by bone-

- damaging T cells \(\) *Nature Communications* 16; 9(1): 701. 2018.
- - Nature Reviews Immunology 19(10): 626-642. 2019.
- 3) Masayuki Tsukasaki, Nam Cong-Nhat Huynh, Kazuo Okamoto, Ryunosuke Muro, Asuka Terashima, Yoshitaka Kurikawa, Noriko Komatsu, Warunee Pluemsakunthai, Takeshi Nitta, Takaya Abe, Hiroshi Kiyonari, Tadashi Okamura, Mashito Sakai, Toshiya Matsukawa, Michihiro Matsumoto, Yasuhiro Kobayashi, Josef M. Penninger & Hiroshi Takayanagi, 「Stepwise cell fate decision pathways during osteoclastogenesis at single-cell resolution」
 - Nature Metabolism 2(12): 1382-1390, 2020.
- 4) Masayuki Tsukasaki, Tatsuo Asano, Ryunosuke Muro, Nam Cong-Nhat Huynh, Noriko Komatsu, Kazuo Okamoto, Kenta Nakano, Tadashi Okamura, Takeshi Nitta & Hiroshi Takayanagi, 「OPG Production Matters Where It Happened」
 - Cell Reports 32(10): 108124-108124. 2020.
- 5) Masayuki Tsukasaki, Noriko Komatsu, Takako Negishi-Koga, Nam Cong-Nhat Huynh, Ryunosuke Muro, Yutaro Ando, Yuka Seki, Asuka Terashima, Warunee Pluemsakunthai, Takeshi Nitta, Takashi Nakamura,

- Tomoki Nakashima, Shinsuke Ohba, Haruhiko Akiyama, Kazuo Okamoto, Roland Baron & Hiroshi Takayanagi, [Periosteal stem cells control growth plate stem cells during postnatal skeletal growth.]

 Nature Communications 13(1): 4166. 2022.
- 6) Minglu Yan, Noriko Komatsu, Ryunosuke Muro, Nam Cong-Nhat Huynh, Yoshihiko Tomofuji, Yukinori Okada, Hiroshi I. Suzuki, Hiroyuki Takaba, Riko Kitazawa, Sohei Kitazawa, Warunee Pluemsakunthai, Yuichi Mitsui, Takashi Satoh, Tadashi Okamura, Takeshi Nitta, Sin-Hyeog Im, Chan Johng Kim, George Kollias, Sakae Tanaka, Kazuo Okamoto, Masayuki Tsukasaki & Hiroshi Takayanagi, [ETS1 governs pathological tissue-remodeling programs in diseaseassociated fibroblasts]
 - Nature Immunology 23(9): 1330-1341. 2022.
- 7) Kazutaka Nakamura, Masayuki Tsukasaki* (corresponding), Takaaki Tsunematsu, Minglu Yan, Yutaro Ando, Nam Cong-Nhat Huynh, Kyoko Hashimoto, Qiao Gou, Ryunosuke Muro, Ayumi Itabashi, Takahiro Iguchi, Kazuo Okamoto, Takashi Nakamura, Kenta Nakano, Tadashi Okamura, Tomoya Ueno, Kosei Ito, Naozumi Ishimaru, Kazuto Hoshi & Hiroshi Takayanagi, 「The periosteum provides a stromal defence against cancer invasion into the bone」 Nature, in press.

著者紹介



塚崎 雅之 (ツカサキ マサユキ)

2013年3月 昭和大学歯学部 卒業

2015年4月 日本学術振興会 特別研究員 (DC1)

2018年4月 日本学術振興会 特別研究員 (PD)

2020年12月 東京大学大学院医学系研究科 免疫学 特任助教

2021年10月 革新的先端研究開発支援事業 AMED-Prime 研究代表

2022年11月 東京大学大学院医学系研究科 骨免疫学寄付講座 特任助教

2024年4月 東京大学大学院医学系研究科 骨免疫学寄付講座 特任准教授

2024年10月 昭和大学歯学部 口腔生化学講座 教授