

40. Ⅲ型インターフェロンによる小腸上皮細胞死の誘導機構の解明

東京科学大学 大学院医歯学総合研究科疾患生理機能解析学分野 准教授 松沢 優

概要

クローン病は消化管に潰瘍や線維化を生じる難治性疾患であり、その発症機構の解明と新規治療標的の同定が重要な課題である。本研究では、欧米の先行研究でクローン病との関連が指摘されているⅢ型インターフェロン(Interferon- λ : IFN λ)に着目し、小腸上皮細胞死の誘導機構を解明することを目的とした。野生型マウス由来小腸オルガノイドを用いた解析により、IFN λ をTNF α と併用すると、本来細胞死に対して耐性を示す野生型小腸上皮細胞においても細胞死感受性が著しく亢進することを見出した。組織学的解析の結果、杯細胞数には大きな変化がみられない一方でパネート細胞数が減少しており、特にパネート細胞がIFN λ 刺激に対して高い感受性を示すことが示唆された。さらに電子顕微鏡解析により、IFN λ とTNF α の共刺激により小腸上皮細胞内に異常ミトコンドリアが蓄積することが明らかとなった。これらの結果はヒト小腸オルガノイドにおいても再現された。本研究により、IFN λ が腸管上皮細胞死を増強し、特にパネート細胞に影響を及ぼす可能性が示唆された。今後は細胞死関連分子やストレス応答分子の関与を含めた詳細な分子機構を解明することで、IFN λ シグナルを標的とした新たなクローン病治療戦略の構築につながることが期待される。

背景および目的

腸管上皮は消化管内腔を覆う単層細胞からなる組織であり、栄養吸収と外来異物の侵入防御という相反する機能を担う重要なバリア組織である¹。腸管上皮細胞死が過剰に誘導されるとバリア機能が破綻し、炎症性腸疾患(IBD)の発症につながると考えられている²。近年、欧米のクローン病患者ではⅢ型インターフェロンであるIFN λ の血中濃度が健常人と比べて高いこと、小腸上皮特にパネート細胞におけるIFN λ 発現亢進が報告された³。しかしながら、腸管上皮におけるIFN λ の機能や病態への関与については十分に解明されていない。

本研究では、IFN λ が小腸上皮細胞死をどのように制御するかを明らかにし、クローン病の新たな病態機構の解明につなげることを目的とした。

方法

野生型マウス由来の小腸オルガノイドを用いて、IFN λ とTNF α 刺激による小腸上皮細胞死の誘導を解析した⁴。細胞死の評価には形態学的解析と免疫組織化学染色を用いた。細胞死メカニズム解析のため、小腸オルガノイドを用いたRNA-Seq解析による網羅的な遺伝子発現解析を行なった。次に、オルガノイド内の細胞系譜を評価するため、パネート細胞および杯細胞マーカーの免疫染色を行い、細胞集団ごとの感受性を検討した。さらに細胞内構造の詳細な解析のため、オルガノイドの電子顕微鏡解析を行った。一方、東京科学大学病院に通院するクローン病および非クローン病患者由来のヒト小腸オルガノイドを用いて、IFN λ とTNF α 刺激による同様の細胞死解析を行なった⁵。

結果および考察

IFN λ を TNF α と併用して共刺激すると、通常は細胞死に対して耐性を示す野生型マウス由来の小腸オルガノイドにおいても細胞死が著しく増強された。RNA-Seq 解析では、IFN λ +TNF α 共刺激条件下では、細胞ストレス関連遺伝子とオートファジー関連遺伝子の発現亢進が認められた (図 1)。

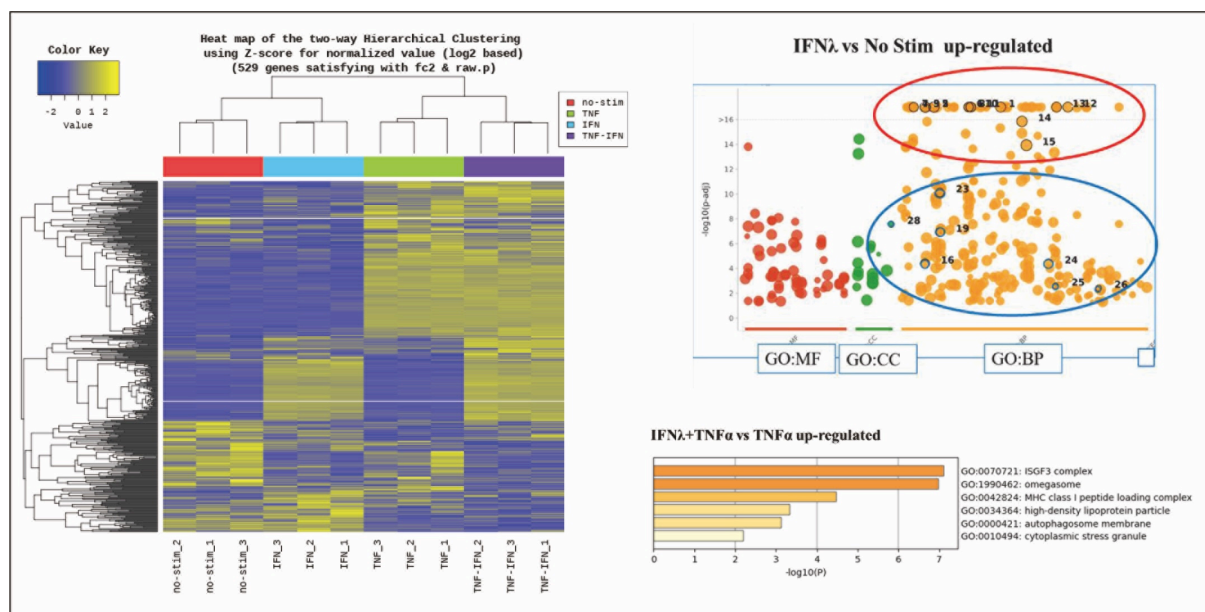


図 1. 野生型マウス由来の小腸オルガノイドを用いた RNA-Sequencing analysis

野生型 (wild type; WT) マウスから作製した小腸オルガノイドを 3 日目培養し、TNF α または IFN λ 単独で刺激、もしくは IFN λ で 1 時間前処理後に TNF α 刺激し、RNA を回収して解析した。

一方、オルガノイドの組織学的解析では、杯細胞数には大きな変化がみられなかった一方、パネート細胞数が減少しており、パネート細胞が特に IFN λ 刺激に対して高い感受性を示す可能性が示唆された (図 2)。

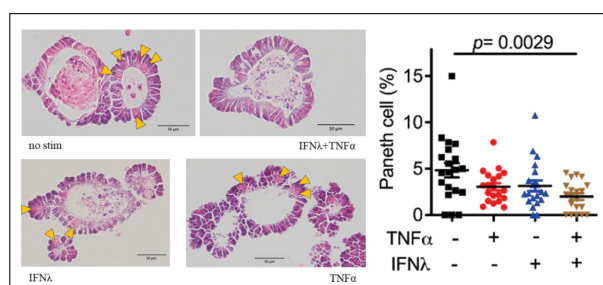


図 2. パネート細胞における IFN λ +TNF α 共刺激の解析

野生型マウス由来の小腸オルガノイドを培養 3 日後、TNF α または IFN λ 単独もしくは共刺激してオルガノイドを回収、凍結切片を作製し染色を行った。

さらに電子顕微鏡解析では、IFN λ と TNF α 共刺激後の小腸上皮細胞内に、腫大した異常ミトコンドリアが蓄積していることが観察された (図 3)。

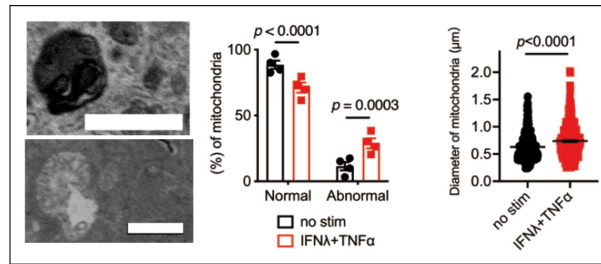


図 3. IFN λ +TNF α 刺激時の小腸オルガノイドにおける電子顕微鏡解析

野生型マウス由来の小腸オルガノイドを培養 3 日後、TNF α または IFN λ 単独もしくは共刺激してオルガノイドを回収、電子顕微鏡的な解析を行った。左は共刺激されたオルガノイド内の異常ミトコンドリアの代表的な写真、中央は正常／異常ミトコンドリアの割合、右はミトコンドリア直径の解析。

以上の結果より、IFN λ が細胞内ストレス応答を誘導することで、小腸上皮細胞死を促進していることが示された。

また IFN λ 添加による TNF α 誘導性細胞死の増強はヒト小腸オルガノイドにおいても確認され、ヒト腸管上皮においても同様の分子機構が存在する可能性が示された。これらの結果から、IFN λ シグナルは腸管上皮細胞死を増強する重要な因子であり、特にパネート細胞の恒常性維持に影響を及ぼす可能性が示唆された。ATG16L1 T300A 変異のような欧米人に多い遺伝的的感受性がない日本人であっても、ウイルス感染などの環境要因によって小腸上皮に IFN シグナルが加わることで TNF α に高感受性となり、腸管バリアの破綻からクローン病の発症に寄与し得ること、JAK-STAT 阻害薬と抗 TNF α 抗体製剤の併用が有効である可能性も考えられ、興味深い知見であると考えられた (図 4)。

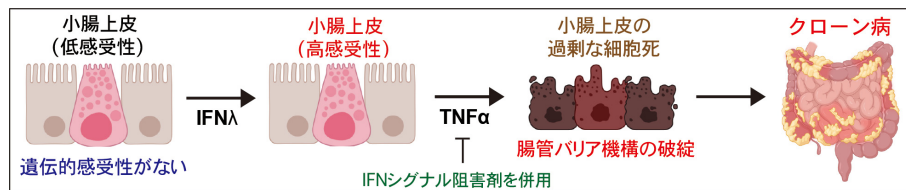


図 4. 本研究のまとめ

遺伝的的感受性がない宿主の小腸上皮は TNF α に低感受性であるが、ウイルス感染などによって上皮に IFN シグナルが加わることで TNF α 誘導性細胞死に高感受性となり、小腸上皮が過剰な細胞死を起こしてクローン病の発症につながる。JAK-STAT 阻害薬などで IFN シグナルを阻害することで、抗 TNF α 抗体単独より効果的に小腸上皮を保護できると考えられる。

謝辞

本研究の遂行にあたり、三菱財団からの研究助成によりオルガノイド培養系および顕微鏡解析環境を整備することができ、本研究が大きく推進されました。心より御礼を申し上げます。

(完)

発表論文

- 1) Bernard-Raichon L, Matsuzawa-Ishimoto Y, Cadwell K, et al. Type I and III interferons synergize with TNF to promote virally-triggered damage to the intestinal epithelium. bioRxiv (Preprint), 2026

引用文献

- 1) Lockhart, A., Mucida, D. & Bilate, A. M. Intraepithelial Lymphocytes of the Intestine. *Annu Rev Immunol* 42, 289-316 (2024). <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-090222-100246>
- 2) Rieder, F., Zimmermann, E. M., Remzi, F. H. & Sandborn, W. J. Crohn's disease complicated by strictures: a systematic review. *Gut* 62, 1072-1084 (2013). <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-304353>
- 3) Gunther, C. et al. Interferon Lambda Promotes Paneth Cell Death Via STAT1 Signaling in Mice and Is Increased in Inflamed Ileal Tissues of Patients With Crohn's Disease. *Gastroenterology* 157, 1310-1322 e1313 (2019). <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.07.031>
- 4) Matsuzawa-Ishimoto, Y. et al. Autophagy protein ATG16L1 prevents necroptosis in the intestinal epithelium. *J Exp Med* 214, 3687-3705 (2017). <https://doi.org/10.1084/jem.20170558>
- 5) Matsuzawa-Ishimoto, Y. et al. An intestinal organoid-based platform that recreates susceptibility to T-cell-mediated tissue injury. *Blood* 135, 2388-2401 (2020). <https://doi.org/10.1182/blood.2019004116>