

胆道閉鎖症の病理と発生

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2017-10-03 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 中沼, 安二, 原田, 憲一 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/29708

■ 特集 胆道閉鎖症—診断・治療・研究の最先端

胆道閉鎖症の病理と発生

中 沼 安 二* 原 田 憲 一

はじめに

胆道閉鎖症 (biliary atresia) は乳児に発生する進行性の胆汁うっ滞症であり、肝外胆管の閉塞と硬化が特徴的であり、病変はさらに肝門部胆管、肝内胆管へと波及するとされている¹⁾。代表的な重症小児肝胆道疾患である。複数の原因が考えられており、ひとつは肝外の奇形、形成異常、染色体異常に関連するもので embryo/fetal type (胎児型) と呼ばれる。他のひとつは perinatal type (分娩時型) あるいは acquired type (獲得型) であり肝外の奇形病変を通常伴わない。後者は、頻度的には圧倒的に多く、正常の胆管系が出生直前後に炎症性、線維化性の病変で二次的に閉塞すると考えられており、その原因として、ウイルス感染の関与が示唆されている^{2~7)}。近年、動物実験を用いた検討から出生前後におけるレオウイルス属ウイルスの一過性の感染、その後発生する自己免疫機序が胆道閉鎖症の発生、進展に関連するのではないかとされている^{8~12)}。

本稿では、胆道閉鎖症、とくに perinatal type の肝胆管病変の病理所見、免疫病理所見を簡単に述べ、次いで 2 本鎖 RNA ウイルスと胆道系自然免疫、さらに胆道閉鎖症での胆管上皮障害、とくにアポトーシスとの関連性に関して述べる。なお、胆管系は肝内胆管および肝外胆管系に大きく 2 分され、肝内胆管は左右肝管の肝内の分枝であり、肝内胆管はさらに、左右肝管の 1~3 次分枝までの肝内大型胆管とそれより末梢の肝内小型胆管に分けられる¹³⁾。肝内大型胆管には胆管周囲付属腺が分布している。肝内小型胆管は隔壁胆管、小葉

間胆管、さらに細胆管に分類される。

1. 胆道閉鎖症 (perinatal type) の病理所見、免疫病理所見

1. 病理所見

障害胆管では進行性の胆管上皮の障害、脱落、それに胆管壁およびその周囲に線維化をみる¹⁾。いわゆる閉塞性胆管障害 (obliterative cholangiopathy) の 1 種である¹⁴⁾。進行した症例では、障害胆管は線維芯に置き換わり、内腔が閉塞している。胆道閉鎖症では肝外胆管が障害され、次いで肝門部胆管、肝内胆管へと病変が波及する例がある。障害胆管周囲にリンパ球やその他の炎症性細胞の浸潤があり、胆管本幹の崩壊とともに、胆管付属腺組織のみが遺残している例もある。胆管閉塞に伴う二次的な肝病変として、進行性で高度の胆汁うっ滞、胆汁性肝線維化あるいは胆汁性肝硬変が出現し、拡大した門脈域では小型胆管の増生や細胆管増生もみられる。さらに胆管板に類似する増生胆管もみられ、実際、胆道閉鎖症の病態のひとつとして ductal plate malformation の関与も注目されている¹⁾。

2. 免疫病理所見

病変部胆管では、CD4⁺、CD8⁺T リンパ球やマクロファージの浸潤がみられる^{10,11)}。また、病変部は IFN- γ 、オステオポンチンや TNF- α などの Th1 優位の向炎症性サイトカイン環境にあるとされ、CD8⁺細胞障害性 T 細胞の浸潤と胆管障害との関係が注目されている。さらに、障害胆管には HLA-DR などの免疫関連分子の異常発現も知られている。オステオポンチンと門脈域線維化や細胆管増生との関連性も注目されている。

* 金沢大学大学院医学系研究科形態機能病理学
〔〒920-8640 金沢市宝町 13-1〕

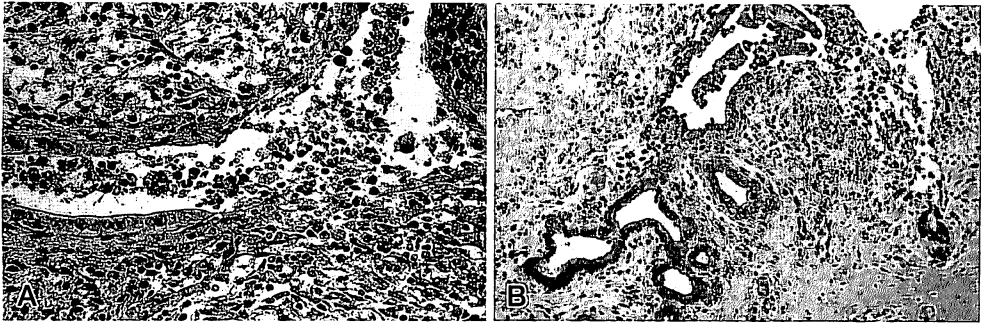


図 1 A. 胆道閉鎖症の肝外胆管にみられた胆管上皮の障害と脱落。B. TRAIL の免疫組織化学的染色：胆道閉鎖症の肝外胆管では、障害胆管に TRAIL の発現亢進がみられる。

3. アポトーシスによる胆管破壊

胆管上皮には種々の障害像や脱落像がみられ(図 1A), 障害胆管は最終的に線維性に閉塞する。胆道閉鎖症での胆管破壊のプロセスとして, 胆管上皮のアポトーシスが重要とされ, 他の胆道系疾患に比べ, 胆道閉鎖症の障害胆管でアポトーシスが亢進している¹⁵⁾。Funaki ら¹⁶⁾, Sasaki ら¹⁷⁾も, 胆道閉鎖症における胆管細胞アポトーシスはそれぞれ 48.9%, また 50~60%であったとしている。従来, 胆道閉鎖症でのアポトーシス機序として, Fas/FasL を介した系の関与が注目されてきたが, 最近, 胆道閉鎖症の病因としてロタウイルス等の 2 本鎖 RNA ウイルスの関与が注目されており, このウイルス感染では tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) 系を介したアポトーシスの系の関与が注目されている。TRAIL のレセプタとして DR4, DR5 があり, 細胞質内に death domain を有している。胆道閉鎖症および対照肝の肝外胆管上皮には TRAIL の発現があり, 胆道閉鎖症でその発現が亢進していた¹⁵⁾(図 1B)。TRAIL 系も胆道閉鎖症の胆管アポトーシスとして重要であると思われる。

II. 胆道閉鎖症とロタウイルス感染 (2 本鎖 RNA ウイルス感染)

胆道閉鎖症の原因, 進行性の病態として, 2 本鎖 RNA ウイルス, とくにレオウイルス, C 群ロタウイルスの一過性の胆道感染が胆道閉鎖症の発生に関係しているとの報告がなされている^{3,4,8,9)}。とくにロタウイルス感染の胆道系への一過性感

染, あるいはこのウイルス感染がトリガーとなった自己免疫機序の関与が, 主に実験動物を用いた研究から注目されている^{10~12)}。

1. 胆道閉鎖症と 2 本鎖 RNA ウイルス感染

従来, 免疫染色, 電顕, RT-PCR などを用いた方法で胆道閉鎖症の肝・胆管組織からウイルスの検出が試みられてきた^{3~7)}。Tyler ら³⁾は, 胆道閉鎖症の 50%の患者の肝組織で, レオウイルスが検出できたとし, Riepenhoff-Talty ら⁴⁾は, C 群ロタウイルスの関与を報告している。しかし, 2 本鎖 RNA ウイルスの検出に関して, 否定的な報告も最近なされており, この問題の解決には新たな方法論を用いた研究が必要と思われる^{5~7)}。

2. 動物モデル

ロタウイルス, レオウイルスはマウスで新生児肝炎, 胆管炎を起こすことが知られている^{8,9)}。新生 Balb/c マウスに A 型アカゲザルロタウイルスや 3 型レオウイルス (Adney 株) を感染 (経口, 腹腔内) させると胆道閉鎖症に類似した胆管炎と線維硬化性の胆管障害, 胆管破壊 (ヒト胆道閉鎖に類似する), そして致死的な胆汁うっ滞が発生する。ヒト胆道閉鎖症においてもレオウイルス属 (3 型レオウイルスや C 型ロタウイルス) の一過性の胆道感染, その後に発生する自己免疫機序による胆管障害がその発症に関連するのではないかと考えられている。とくに, 胆道閉鎖症の動物モデルでは胆管上皮に対する自己抗体も検出され, 一過性のウイルス感染後, 胆管上皮を標的とした, 胆管上皮の抗原に対する自己免疫機序が発生し, 進行性の胆管消失に関与している可能性があ

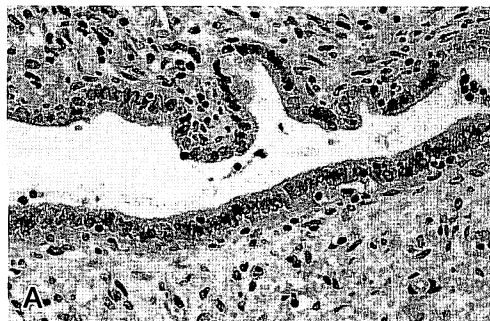
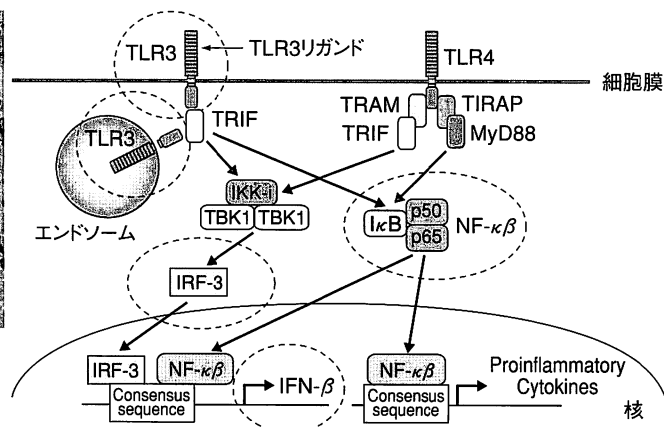


図 2 A. TLR3 の免疫組織化学的染色：肝外胆管の胆管上皮に TLR3 の発現を認める。B. TLR3 刺激後の細胞内シグナル伝達：TLR3 は、細胞膜よりむしろエンドソームに主に存在する。TLR3 刺激後は、TLR4 と同様、NF- κ B および IRF-3 の転写因子が活性化され、炎症性サイトカインや IFN- β の産生が誘導される。



る^{10~12)}。

近年、ウイルス誘導性の自己抗原反応型の T 細胞を介した胆管障害が注目されている¹¹⁾。ロタウイルス感染実験を用いた動物実験では、IFN- γ が、胆管障害の発生に重要であることが知られている¹⁸⁾。その病態として、IFN γ 産生性の CD4⁺や CD8⁺リンパ球が胆管の炎症反応、線維化、破壊に関連し、肝外胆管の閉塞と黄疸が生じ、マウスが死亡する。胆管上皮の自己抗原に対して反応する T リンパ球を非感染新生児マウスに transfer すると、胆道閉鎖症病変が発生することが明らかとなり、このことからマウス胆道閉鎖症モデルの胆管病変は自己免疫機序で発生、進展すると考えられている¹²⁾。

3. 胆道系の自然免疫

自然免疫に関連する分子として、トル様受容体 (Toll-like receptor : TLR) が注目されている。微生物成分 (pathogen-associated molecular patterns : PAMPs) が TLR と反応し、TLR が活性化され、核へと向かうシグナル伝達が発生し、炎症や感染症の病態形成に関連するサイトカインなどの分子が産生される。ヒトの肝内外胆管系にもディフェンシン、リゾチームなどの自然免疫に関連する分子の発現が知られており、最近肝内胆管上皮には 2 本鎖 RNA (2 本鎖 RNA ウイルスを含む) と反応する TLR3 の発現があることが明らか

となっている^{19,20)}。われわれは最近、TLR3 が正常および胆道閉鎖症の肝外胆管に発現することを免疫組織学的に明らかにした (図 2A)。TLR3 の活性化は NF- κ B や interferon regulatory factor 3 (IRF-3) 等の転写因子の活性化をきたし、結果として種々のサイトカインや増殖因子の産生、分泌に関連することが知られている。

4. 2 本鎖 RNA に対する胆管上皮の反応

われわれは、胆道閉鎖症の発生における胆道系の自然免疫と 2 本鎖 RNA ウイルスの関与を、人体材料と培養細胞を用いて検討した¹⁵⁾。なお、本研究では 2 本鎖 RNA ウイルスの合成アナログである polyinosinic-polycytidylic acid [poly (I : C)] を用いた実験を行い以下の成績を得ている。まず、TLR3 の活性化に伴う細胞内シグナル伝達系の活性化を検討した。従来の検討から図 2B に示す経路が知られている。そこで、このシグナル伝達系における○で囲んだ分子の活性化を検討した。ヒト胆管細胞に Poly (I : C) を培地中に添加すると、NF- κ B が活性化され、また IRF-3 が磷酸化され、さらにはこれらの分子の核内への移動がみられた。これら転写因子が TLR3 を介して 2 本鎖 RNA で活性化され、核内へ移動することを示すものである。また、実際の人体例の胆道閉鎖症でも、NF- κ B や IRF-3 の核内での発現が対照肝である総胆管拡張症に比べ、亢進しており、胆道閉鎖症の胆管病変の発生に 2 本鎖 RNA ウイルスが関与していても矛盾しない所見である。

1) TLR3 を介した自然免疫反応

さらに 2 本鎖 RNA ウイルスの合成アナログ poly (I : C) を用いた実験から, 2 本鎖 RNA は TLR3 を介して胆管上皮を刺激し, IFN- β 1 や MxA 等の抗ウイルス作用を示す物質の産生亢進のあることが明らかになりつつあり¹⁵⁾, 胆管上皮の自然免疫としての機能の 1 つと思われる。

なお, TLR3 以外にも細胞質内には 2 本鎖 RNA と結合することが知られている受容体 IFN-inducible interferon regulatory protein 1 (RIG-I) や melanoma differentiation-associated gene-5 (MDA-5) が分布する。これらの受容体は I 型 IFN-介在性の反応を調節し, serine/threonine protein kinase である dsRNA-activated protein kinase R (PKR) が, 2 本鎖 RNA に対する反応において中心的な役割を演ずる。これらの細胞質内受容体と 2 本鎖 RNA ウイルス感染, さらには胆道閉鎖症との関連性は今後の研究課題である。

2) 2 本鎖 RNA と胆管上皮アポトーシス

従来, レオウイルスなどの 2 本鎖 RNA ウイルス感染により, 胆管上皮にアポトーシスの発生することが示唆されている^{21,22)}。すなわち, 培地中に 2 本鎖 RNA である poly (I : C) を添加すると, 胆管上皮培養細胞では, TRAIL の mRNA の発現が亢進し, 蛋白量も増加する。これらの所見は, NF- κ B の阻害剤である isohelenin の同時添加で消失するので, これらの所見の発生には, poly (I : C) による TLR3 活性化, および NF- κ B を介したシグナル伝達が必要であることが示唆される¹⁵⁾。さらにこの poly (I : C) 添加実験により, 培養胆管上皮にアポトーシスの亢進がみられた。培養胆管細胞では TRAIL のレセプタである DR4, DR5 の発現 (少なくとも mRNA レベル) があるので, 培養胆管上皮が産生した TRAIL が自ら発現するレセプタと結合し, アポトーシスに陥ることが示唆される。さらにこのアポトーシスの系には caspase が重要な役割を担っていると理解される¹⁵⁾。レオウイルスは, TRAIL の系を介して, また NF- κ B を介して胆管上皮のアポトーシスを誘導することが知られており^{21,22)}, また上述したごとく, 胆道閉鎖症患者の障害胆管で

は TRAIL および NF- κ B の発現が亢進しており, 胆道閉鎖症での胆管上皮アポトーシスの発生に, 2 本鎖 RNA ウイルスの関与の可能性があることを示唆する。

おわりに

胆道閉鎖症の肝・胆管系の病理所見, 免疫病理像を述べ, さらに胆道系の自然免疫と TLR3 および 2 本鎖 RNA ウイルス感染との関連性を述べた。そして, TRAIL に関連した胆管上皮アポトーシスが胆道閉鎖症での胆管破壊に関連している可能性を述べた。今後, 2 本鎖 RNA ウイルス感染と自己免疫の観点からの研究が胆道閉鎖症の病態解析に必要と考えられた。

文 献

- 1) Portman BC, Roberts EA : Developmental abnormalities and liver disease in childhood. In Burt AD, Portman BC, Ferrell LD, et al (eds) : MacSween's Pathology of the Liver, 5th ed, 147-197, Churchill Livingstone, London, 2006
- 2) Morecki R, Glaser JH, Johnson AB, et al : Detection of reovirus type 3 in the porta hepatis of an infant with extrahepatic biliary atresia : ultrastructural and immunocytochemical study. *Hepatology* 4 : 1137-1142, 1984
- 3) Tyler KL, Sokol RJ, Oberhaus SM, et al : Detection of reovirus RNA in hepatobiliary tissues from patients with extrahepatic biliary atresia and choledochal cysts. *Hepatology* 27 : 1475-1482, 1998
- 4) Riepenhoff-Talty M, Gouvea V, Evans MJ, et al : Detection of group C rotavirus in infants with extrahepatic biliary atresia. *J Infect Dis* 174 : 8-15, 1996
- 5) Steele MI, Marshall CM, et al : Reovirus 3 not detected by reverse transcriptase-mediated polymerase chain reaction analysis of preserved tissue from infants with cholestatic liver disease. *Hepatology* 21 : 697-702, 1995
- 6) Saito T, Shinozaki K, Matsunaga T, et al : Lack of evidence for reovirus infection in tissues from patients with biliary atresia and congenital dilatation of the bile duct. *J Hepatol* 40 : 203-211, 2004
- 7) Bobo L, Ojeh C, Chiu D, et al : Lack of evidence for rotavirus by polymerase chain reaction/enzyme immunoassay of hepatobiliary samples

- from children with biliary atresia. *Pediatr Res* **41** : 229-234, 1997
- 8) Riepenhoff-Talty M, Schaekel K, Clark HF, et al : Group A rotaviruses produce extrahepatic biliary obstruction in orally inoculated newborn mice. *Pediatr Res* **33** : 394-399, 1993
 - 9) Szavay PO, Leonhardt J, Czech-Schmidt G, et al : The role of reovirus type 3 infection in an established murine model for biliary atresia. *Eur J Pediatr Surg* **12** : 248-250, 2002
 - 10) Mack CL, Tucker RM, Sokol RJ, et al : Biliary atresia is associated with CD4+Th1 cell-mediated portal tract inflammation. *Pediatr Res* **56** : 79-87, 2004
 - 11) Mack CL, Falta MT, Sullivan AK, et al : Oligoclonal expansions of CD4+ and CD8+T-cells in the target organ of patients with biliary atresia. *Gastroenterology* **133** : 278-287, 2007
 - 12) Mack CL, Tucker RM, Lu BR, et al : Cellular and humoral autoimmunity directed at bile duct epithelia in murine biliary atresia. *Hepatology* **44** : 1231-1239, 2006
 - 13) Nakanuma Y, Hosono M, Sanzen T, et al : Microstructure and development of the normal and pathologic biliary tract in humans, including blood supply. *Microsc Res Tech* **38** : 552-570, 1997
 - 14) Portman BC, Nakanuma Y : Diseases of bile ducts. Burt AD, Portman BC, Ferrell LD, et al (eds) : *MacSween's Pathology of the Liver*, 5th ed, 517-581, Churchill Livingstone, 2006
 - 15) Harada K, Sato Y, Itatsu K, et al : Innate immunity response to double-stranded RNA in biliary epithelial cells is associated with the pathogenesis of biliary atresia. *Hepatology*, 2007 (in press)
 - 16) Funaki N, Sasano H, Shizawa S, et al : Apoptosis and cell proliferation in biliary atresia. *J Pathol* **186** : 429-433, 1998
 - 17) Sasaki H, Nio M, Iwami D, et al : E-cadherin, alpha-catenin and beta-catenin in biliary atresia : correlation with apoptosis and cell cycle. *Pathol Int* **51** : 923-932, 2001
 - 18) Shivakumar P, Campbell KM, Sabla GE, et al : Obstruction of extrahepatic bile ducts by lymphocytes is regulated by IFN-gamma in experimental biliary atresia. *J Clin Invest* **114** : 322-329, 2004
 - 19) Harada K, Ohba K, Ozaki S, et al : Peptide antibiotic human beta-defensin-1 and-2 contribute to antimicrobial defense of the intrahepatic biliary tree. *Hepatology* **40** : 925-932, 2004
 - 20) Harada K, Ohira S, Isse K, et al : Lipopolysaccharide activates nuclear factor-kappaB through toll-like receptors and related molecules in cultured biliary epithelial cells. *Lab Invest* **83** : 1657-1667, 2003
 - 21) Connolly JL, Rodgers SE, Clarke P, et al : Reovirus-induced apoptosis requires activation of transcription factor NF-kappaB. *J Virol* **74** : 2981-2989, 2000
 - 22) Clarke P, Meintzer SM, Gibson S, et al : Free in PMCREovirus-induced apoptosis is mediated by TRAIL. *J Virol* **74** : 8135-8139, 2000

Pathology and Pathogenesis of Biliary Atresia

YASUNI NAKANUMA, KENICHI HARADA

Department of Human Pathology, Kanazawa University Graduate School of Medicine

Key words : Biliary atresia, Double strand RNA virus, Biliary innate immunity, TLR3, Apoptosis.

Jpn. J. Pediatr. Surg., 40(1) ; 7~11, 2008.

Biliary atresia which affects neonate is characterized by progressive fibrous obliteration of the extrahepatic bile duct. Recently, double strand RNA virus infection of the biliary tree is postulated as an important pathogenesis of this disease. Toll-like receptor 3 (TLR3) could be involved in the development of biliary apoptosis related to double strand RNA virus infection. Further studies including immunological analysis are mandatory to evaluate the pathogenesis of this intractable biliary disease.