

Pathogenesis of Caroli's disease and congenital hepatic fibrosis-Current knowledge obtained from an orthologous PCK rat model

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/35529

【総説】

Caroli病と先天性肝線維症の病態解析
—動物モデルPCKラットから得られた新たな知見

Pathogenesis of Caroli's disease and congenital hepatic fibrosis - Current knowledge obtained from an orthologous PCK rat model

金沢大学大学院医学系研究科がん医科学専攻形態機能病理学
(病理学第二)

佐藤 保 則

はじめに

肝内胆管系の形成異常あるいは嚢胞形成を示す疾患として、多嚢胞肝やCaroli病(先天性肝内胆管拡張症)、先天性肝線維症(congenital hepatic fibrosis, CHF)、総胆管嚢腫などがある。これらは単独あるいはさまざまな組み合わせで診断され、一連の疾患群を肝線維性嚢胞性疾患と総称する。肝内胆管形成異常症は、肝外胆管の異常に伴うものと肝内胆管のみに異常を認めるものとに大別され、胆道形成異常として先天性胆道拡張症や膽管合流異常症がよく知られている。先天性胆道拡張症のうち肝内胆管に限局して胆管拡張を認める代表的疾患がCaroli病である。

Caroli病は1958年にCaroliらが肝内胆管の拡張を示す13歳男性の症例を報告したのが最初であり、先天性肝内胆管の多発性、嚢状の拡張を特徴とする。彼らは本症を(1)肝内胆管の多発性、部分的な嚢状拡張、(2)結石、胆管炎、肝膿瘍の頻発、(3)肝硬変や門脈圧亢進症の欠如、(4)嚢胞性腎疾患や腎尿細管の拡張を伴うものと定義した。その後、Caroliらは本症を2つの亜型、すなわち門脈域に変化がなく門脈圧亢進症を伴わないもの(純型)と、門脈域に線維化があり門脈圧亢進症を伴うもの(線維化合併型)とに分類した。

CHFは1961年にKerrらにより報告された小児期の門脈圧亢進症の一種で、末梢門脈域を中心に進行性の肝線維化をきたす疾患である。Caroli病の多くの症例はCHFを合併し、門脈圧亢進症のない純型Caroli病の頻度はまれである。Caroli病/CHFは常染色体劣性多発嚢胞腎(autosomal recessive polycystic kidney disease, ARPKD)の肝胆管病変と考えられており、現在はARPKD/CHFという一つの概念に包括されつつある。

ARPKDは20,000人に1人発症し、20~45%の症例は生後15年以内に腎不全に至る。腎不全を来さなかった小児・成人期の症例は、肝胆管病変による症状が主体となる。Caroli病/CHFの臨床症状として肝腫大や門脈圧亢進症、胆管炎、肝膿瘍、敗血症、肝内結石症が重要で、5~10%の症例では肝内胆管癌を合併する。

Caroli病/CHFはまれな疾患であり、その病因病態に関する研究はこれまでほとんど行われてこなかったが、Caroli病/CHFの動物モデルとしてpolycystic kidney (PCK) ラットが見出されて以降、その研究は飛躍的に進歩した。本稿では、PCKラットを用いた研究により明らかとなったCaroli病/CHFの病理病態について、特に肝内胆管拡張と肝線維化の機序に関するわれわれの知見を中心に紹介する²⁾。

PCKラット

PCKラットはCrj:CD (Sprague-Dawley, SD) ラットのコロニーから見出された突然変異動物で、多発性、進行性の肝内胆管拡張と進行性の肝線維化、集合管に由来す

る多発性腎嚢胞の形成を示す(図1)。肝臓は腫大するが肝細胞の変化はほとんどなく、肝腫大は主に胆管の拡張と肝線維化に起因している。その病理形態はヒトのCaroli病/CHFときわめてよく類似しており、われわれは病理形態学的な観察からPCKラットがCaroli病/CHFとARPKDの動物モデルとなることを2001年に報告した³⁾。時期を同じくして、米国Mayo ClinicからPCKラットが常染色体優性多発嚢胞腎(autosomal dominant polycystic kidney disease, ADPKD)の動物モデルであるという報告がなされたが、2002年にPCKラットにおいてヒトARPKDの責任遺伝子であるPKHD1の相同遺伝子(Pkhd1)の変異が示され、PCKラットはARPKDのオーソログモデルであることが明らかとなった。

発生過程での異常

肝内胆管系は肝芽細胞に由来する胆管板(ductal plate)のリモデリングにより形成される。Caroli病の肝内胆管拡張には胎児期における胆管板のリモデリング異常(ductal plate malformation, DPM)が深く関与していると考えられる。実際、PCKラットの胎児肝では胆管板の遺残と拡張が明瞭に認められる(図2)。PCKラットでは胎児期から胆管細胞の細胞増殖活性が亢進し、それと同時にアポトーシスの不均衡が存在しており、生後も細胞増殖制御の不調和に基づく肝内胆管拡張が進行する⁴⁾。

Alagille症候群ではNotch2やNotchリガンドであるJagged1の欠失により肝内胆管が減少するように、正常の肝内胆管の発生にはNotchシグナル伝達系が重要である。PCKラットではその発生過程において、門脈域に α -smooth muscle actin (α -SMA)に陽性を示す筋線維芽細胞が多く出現する。この筋線維芽細胞はJagged1を発現し、さらに胆管細胞はNotch2を発現している。このことから、PCKラットの肝胆管病変の形成と進展には、発生段階や生後初期におけるNotchシグナル伝達系の活性化を介した筋線維芽細胞と胆管細胞の相互作用が関与

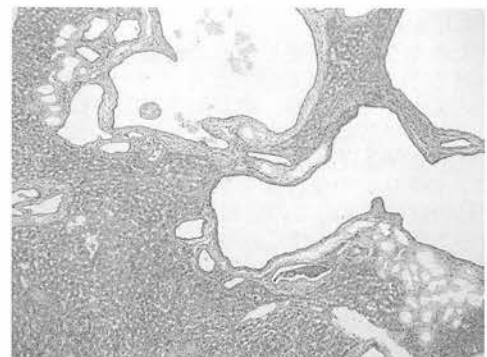


図1. PCKラットの肝臓組織像
肝内胆管の多発性、嚢状の拡張と門脈域に線維化を認める。HE染色。

することが示唆される⁴⁾.

肝内胆管の拡張機序

1. 胆管細胞の細胞内シグナル伝達異常

PCKラットの肝門部より胆管細胞を単離し培養を行うと、胆管細胞はコラーゲンゲル上でシート状に増殖し、また、コラーゲンゲル内で包埋培養するとspheroidsを形成する⁵⁾。この細胞は胆管細胞マーカーであるcytokeratin 7 (CK7) と γ -glutamyl transpeptidaseを発現し、胆管細胞としての形質を保持している。PCKラット培養胆管細胞の倍加時間は、正常 (SD) ラットから単離した培養胆管細胞の約1/3であり、細胞増殖活性が著明に亢進している。

PCKラットの培養胆管細胞を用いたcDNAマイクロアレイによる遺伝子発現の解析結果では、正常ラットと比較してepidermal growth factor (EGF) の細胞増殖シグナル伝達経路の一つであるmitogen activated protein kinase (MAPK) 経路に含まれるMAPK/extracellular signal-regulated protein kinase (ERK) kinase 5 (MEK5), ならびに細胞増殖に関連するtransforming growth factor (TGF)- β 3 やTGF- β receptor type 1 の遺伝子発現の亢進を認める⁶⁾。

MEK5の過剰発現に関連して、PCKラット胆管細胞ではその下流に位置するERK5のリン酸化が亢進している。MEK5 mRNAに対するsmall interfering RNA (siRNA) はPCKラット培養胆管細胞の過剰な増殖を抑制するが、MEK1/2阻害剤 (PD98059, U0126) はそれを抑制しない。さらにEGF receptor (EGFR) チロシキナーゼ阻害剤であるgefitinbはPCKラット培養胆管細胞の過剰増殖を抑制する。このことからPCKラットの肝内胆管拡張には、EGFRとMEK5-ERK5経路の活性化による胆管細胞の過

剰な増殖が関与していると考えられる (図3)。PCKラット肝の線維性間質には肥満細胞が多く局在しており、この肥満細胞がEGFを発現している。なお、いくつかのARPKD動物モデルではEGFRの細胞局在の異常やリン酸化の亢進が指摘されているが、PCKラットでこうしたEGFRの局在異常やリン酸化亢進はみられない。

これ以外にもPCKラット胆管細胞ではphosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) やAkt, mammalian target of rapamycin (mTOR) のリン酸化の亢進がみられる。mTOR complex 1 (mTORC1) 阻害剤 (sirolimus, everolimus) あるいはPI3KとmTORC1/2の阻害剤 (NVP-BEZ235) はPCKラット培養胆管細胞の過剰な増殖を抑制し、この過程にはアポトーシスやオートファジーの誘導が関与している。このようにPI3K/Akt/mTOR経路の活性化もPCKラットの胆管病変の形成に関与するが、sirolimus, everolimusよりNVP-BEZ235が胆管細胞に対してより強力な細胞増殖抑制効果を示すことから、治療の観点からは単一の細胞内シグナル伝達経路ではなく複数の伝達経路の抑制が有効と思われる。

PKHD1 の遺伝子産物であるfibrocystin/polyductinは、正常では腎尿管のprimary ciliaや肝内胆管に発現し、primary ciliaの基底小体においてADPKDの原因蛋白の一つであるpolycystin-2と共発現し、osmosensor, chemosensor, mechanosensorとして細胞内Ca²⁺やadenosine 3',5'-cyclic monophosphate (cAMP) を調節する⁷⁾。正常ラットの胆管細胞ではprimary ciliaにfibrocystin/polyductinが局在しているが、PCKラットの胆管細胞のprimary ciliaはfibrocystin/polyductinの発現を欠如し、primary ciliaの形態も異常を示す (図4)。このprimary ciliaの異常 (cholangiociliopathies) により細胞内Ca²⁺の低下、cAMPの増加をきたし、胆管細胞の細胞増殖活性が亢進する。このことも肝内胆管拡張の原因として重要視されている。

2. 胆道感染の関与

Caroli病/CHFは胆管内腔と交通性を有する胆管拡張症であり、胆道感染をしばしば合併し、それに関連して肝膿瘍や敗血症をきたす。胆道感染は肝内胆管癌の合併やCHFに伴う門脈圧亢進症とともに、患者の生命予後を規定する重要な因子の一つである。胆道感染による化膿性胆管炎では、病理組織学的に拡張した胆管内腔に微小膿瘍状の好中球の集簇がみられ、胆管周囲に好中球、リンパ球を主体とする炎症細胞浸潤を認める。ときに胆管内腔に細菌コロニーが検出される。

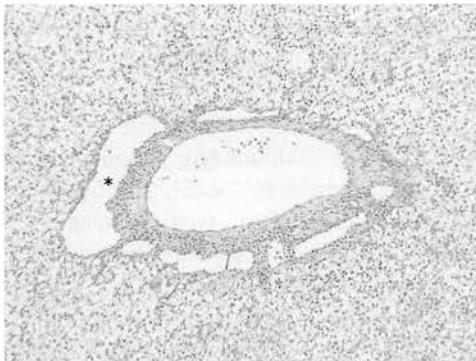


図2. PCKラット胎児肝の胆管板リモデリング異常。胆管板の遺残と拡張が明らかである (*). HE染色。

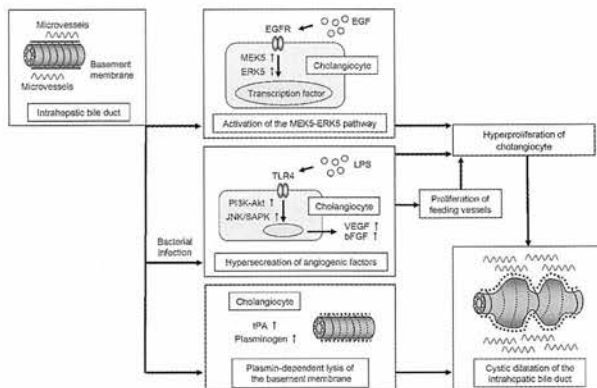


図3. PCKラットの肝内胆管拡張機序

PCKラットの肝内胆管拡張には、胆管細胞におけるMEK5-ERK5経路の活性化や胆道感染、胆管基底膜の脆弱化が関与する。

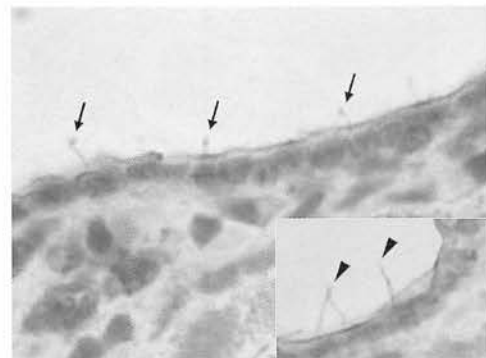


図4. PCKラット胆管細胞のprimary cilia

正常ラット胆管細胞のprimary cilia (インセット、矢頭) と比較して、PCKラットではprimary ciliaの短縮、形態異常がみられる (矢印)。Tubulin免疫染色。

PCKラットの肝内胆管でも慢性胆管炎や化膿性胆管炎を認める(図5)。週齢の若いラットに胆管炎は認めないが、6週齢頃から胆管炎が出現し、12か月齢ではほぼ全ての個体に胆管炎を認める⁹⁾。胆管炎を起こしたPCKラットの胆管内腔にはグラム陽性菌や陰性菌を認めることがある(図5、矢印)。また、PCKラットの胆汁を解析するとグラム陽性菌(*Corynebacterium*, *Enterococcus faecalis*)やグラム陰性菌(*Pasteurella pneumotropica*)が検出される。

炎症巣では一般に毛細血管の増生を伴うことが多いが、胆管炎を伴うPCKラットの拡張胆管周囲では毛細血管がよく発達している。この胆管周囲毛細血管はPCKラットの週齢とともにその数が増加し、かつ胆管炎の程度が強い部位に多く観察される。このことと関連して、PCKラットの胆管細胞は血管新生を促進するvascular endothelial growth factor (VEGF)を過剰に発現し、VEGFの過剰発現は胆管炎の強い部位の胆管細胞でより顕著に認められる⁹⁾。血管新生を促進するbasic fibroblast growth factor (bFGF)もPCKラットの胆管細胞でその発現が亢進している。

病原微生物が宿主の体内に侵入するとToll-like receptor (TLR)がその構成成分を特異的に認識し自然免疫応答を惹起する。細菌感染に関連したものとして、TLR2はグラム陽性菌の細胞壁に含まれるリポタンパク質、TLR4はグラム陰性菌の細胞壁成分であるリポ多糖(lipopolysaccharide, LPS)などを認識する。PCKラットの胆管細胞はTLR2, TLR4を発現している。

LPSはPCKラット培養胆管細胞でAktとJNK/SAPKのリン酸化を促進し、VEGFの発現を誘導する。PI3K阻害剤(LY294002)とJNK阻害剤(JNK inhibitor-I, -II)はLPSによるVEGFの誘導を有意に抑制することから、PI3K-AktとJNK/SAPKを介した細胞内シグナル伝達がVEGFの誘導に関与していると思われる。しかし、LPSがこの伝達系を介して直接的にVEGFを誘導しているかどうかは不明である。なお、LPSはPCKラット胆管細胞においてnuclear factor (NF)- κ Bの活性化、核内への移行を誘導し、NF- κ B阻害薬であるisoheleninはLPSによるNF- κ Bの核内への移行を抑制するが、VEGFの発現誘導は抑制しないことから、LPSによるVEGFの誘導におけるNF- κ Bの関与は低いと考えられる。

PCKラット胆管細胞はTLR4とともにVEGF receptor (VEGFR)を発現しているが、LPSとVEGFはいずれもPCKラットの培養胆管細胞に対して細胞増殖を亢進させる効果を有する。この細胞増殖の促進効果は、VEGF

siRNAやVEGFRチロシンキナーゼ阻害剤(SU5614)によって有意に阻害される。LPS自体が胆管細胞の増殖を直接促進するかどうかは不明だが、LPSによる胆管細胞の増殖促進効果の少なくとも一部は、LPSにより誘導されるVEGFの作用によると言える。

PCKラット培養胆管細胞がVEGFを高発現していることと関連して、その培養上清は高い濃度のVEGFを含んでいる。この培養上清をラット培養血管内皮細胞に反応させると、血管内皮細胞の細胞増殖活性は有意に亢進し、さらに血管内皮細胞の遊走およびtube formation assayで測定した血管内皮細胞のbranchingもPCKラット胆管細胞の培養上清の添加により促進する。これらのことから、PCKラット胆管細胞で産生されたVEGFは胆管周囲における血管新生に深く関与すると考えられる。

以上より、胆道感染に由来するLPSはPCKラット胆管細胞にVEGFの産生を誘導し、VEGFが胆管細胞の細胞増殖を促進し、胆管の嚢状拡張が進行する機序が示唆される(図3)。さらにVEGFは胆管周囲の血管新生を促進し、栄養血管の増生により胆管細胞の増殖がさらに亢進することが推測される(図3)。このように、胆道感染はPCKラットの肝内胆管拡張に対して増悪因子として働いている可能性が高いと思われる。

3. 胆管基底膜の脆弱化

肝内胆管の正常な発生には、胆管基底膜の発達や胆管細胞と胆管基底膜の接触、タンパク分解酵素による細胞外マトリックスの調和のとれた分解が重要な要素と考えられる。PCKラットの拡張胆管周囲では胆管基底膜の主要構成成分であるlamininとtype IV collagenの部分的な消失、断裂がみられる(図6)¹⁰⁾。これは胆管拡張の程度が強い胆管周囲においてより顕著に認められる。PCKラットの胎児肝では胆管周囲のlamininの発現低下は明らかでないが、type IV collagenは胎児期からその発現低下が観察される。

細胞外マトリックス分解に関連した分子として、PCKラット培養胆管細胞ではtissue type plasminogen activator (tPA)とplasminogenが過剰に発現している。PCKラット胆管細胞をMatrigel (laminin, type IV collagenを主成分とする)に包埋培養し、培養後にMatrigelに含まれるlamininとtype IV collagenを定量すると、正常ラット胆管細胞を培養した場合よりMatrigel中のlaminin, type IV collagen量は低下する。このlamininとtype IV collagenの分解はplasmin阻害剤(α 2-antiplasmin)の添加により抑制される。以上よりPCKラット胆管細胞はtPAと

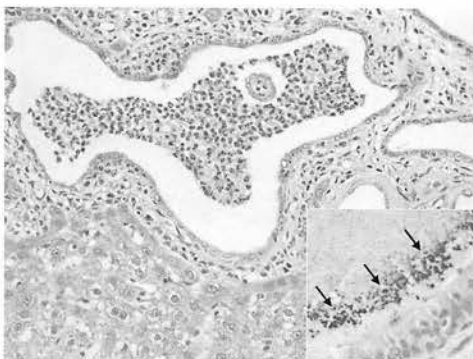


図5. PCKラットの化膿性胆管炎
胆管内腔に多核白血球の集簇を伴う化膿性胆管炎。インセットは胆管内腔に認めるグラム陽性菌(矢印)。HE染色。インセットはグラム染色。

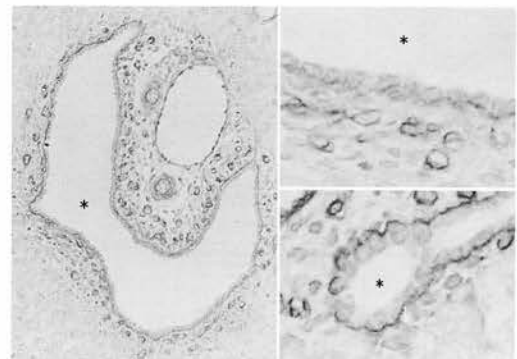


図6. PCKラットの胆管基底膜でのlamininの発現低下
正常ラット(右下)と比較して、PCKラットの拡張胆管周囲(左、右上)では胆管基底膜でのlamininの発現が低下している。*は胆管内腔。Laminin免疫染色。

plasminogenを過剰に発現し、plasminが胆管基底膜を分解、脆弱化させることで肝内胆管が拡張しやすい状態にあると考えられる(図3)。また、かりに胆管内に上皮内癌が発生した場合、上皮内癌から浸潤癌へと進展しやすい微小環境にあることも推測される。

肝線維化の機序

Caroli病/CHFの肝小葉を分画する線維帯は主に膠原線維からなり、拡大した線維性間質にはconnective tissue growth factor (CTGF) や heparan sulfate proteoglycan (HSPG) が豊富に分布している¹⁰⁾。一般に肝内での主要なcollagen産生細胞は活性化肝星細胞であり、ウイルス性肝炎などでは免疫染色で肝実質内に α -SMA陽性を示す活性化肝星細胞を多数認める。一方、PCKラットでは肝実質内における肝星細胞の活性化の所見に乏しく、その肝線維化の機序はウイルス性肝炎などの慢性肝疾患とは本質的に異なることが予測される。

興味深いことに、PCKラットの肝内胆管には通常の立方上皮からなる胆管細胞(cuboidal-shaped cholangiocyte, 以下、C型胆管と略称)に加えて、紡錘形~扁平な形態を示す胆管細胞からなる胆管(flat-shaped cholangiocyte, 以下、F型胆管)が混在して存在する(図7)。C型胆管は進行性の拡張を示し、その周囲にしばしば炎症細胞浸潤を伴う。一方、F型胆管はほとんど拡張を示さず、その周囲に緻密な線維化を伴っている。Caroli病/CHFは胆管との交通性のある肝内胆管の嚢状拡張であるが、文献的にPCKラット肝には胆管の嚢状拡張だけではなく胆管と交通性のない真の嚢胞が存在することが報告されている。病理組織学的にF型胆管は原則として胆管炎を伴わず、内腔に好中球の集簇を認めることもないことから、F型胆管が真の嚢胞である可能性が高い。このF型胆管は一見すると細胞老化を起こした細胞のように見え、免疫染色で検討するとp21をしばしば発現しているが、細胞老化マーカーであるsenescence-associated β -galactosidaseの発現はなく、細胞老化とは異なると考えられる。

現在まで全身のさまざまな臓器において、上皮細胞の間葉系細胞への形質転換、すなわち上皮間葉移行(epithelial-mesenchymal transition, EMT)の観点から線維化機序の解明が試みられている。EMTでは上皮細胞が紡錘形へと細胞形態の変化を示し、さらにさまざまな間葉系マーカーや細胞外マトリックスを産生して線維化を進行させる。PCKラットで肝星細胞の活性化が乏しいことは、それ以外の細胞の肝線維化への関与を示唆しているが、PCKラットにみられる紡錘形の胆管細胞から

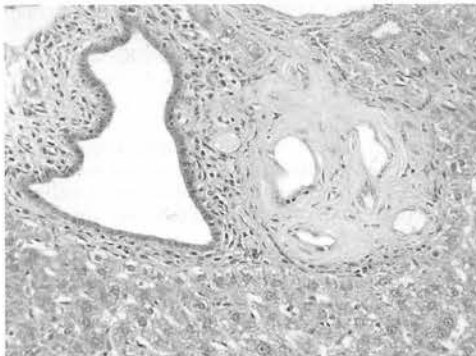


図7. PCKラットの肝内胆管を構成する2種類の胆管
通常の立方上皮からなる胆管(写真左)と扁平~紡錘形の細胞からなる胆管(写真右)の2種類が混在する。HE染色。

り周囲に線維化を伴うF型胆管は、形態学的に判断して胆管細胞のEMTを反映している可能性がある。

PCKラットの肝組織切片を用いて免疫染色を行うと、F型胆管では胆管細胞マーカーであるCK19の発現低下、および間葉系マーカーのvimentinの発現を認める¹²⁾。また、F型胆管には細胞外マトリックスのfibronectinが発現している。培養胆管細胞を用いた検討で、PCKラット胆管細胞にEMT誘導因子であるTGF- β 1を反応させるとCK19の発現低下、vimentinとfibronectinの発現亢進がみられる。しかし、TGF- β 1の作用により胆管細胞の細胞形態が上皮様から紡錘形に変化することはなく、E-cadherinやzonula occludens-1の発現にも変動は認めない。また、胆管細胞に α -SMAの発現が誘導されることもない。PCKラットの腎臓については間質線維化の原因が尿細管のEMTであるとした文献報告があるが、肝線維化に関してはPCKラット胆管細胞にみられる一連の変化はEMTに類似しているものの、発生過程で出現するような純粋なEMTとは異なる現象と考えている(図8)。なお、ヒトの肝組織ではvimentinの発現を示す上皮細胞として細胆管が知られているが、PCKラットの肝組織でみられるvimentinの発現を示すF型胆管がヒト肝臓のどの細胞に相当するかはよくわかっていない。

発癌機序の解析

Caroli病/CHFでは難治性消化器癌の一つである肝内胆管癌が発生することから、その発癌機序の解析は重要な研究課題である。胆管拡張にしばしば合併する胆管炎やうっ滞胆汁との接触による胆管細胞の傷害が発癌に深く関与していることが推測される。先天性胆道拡張症では拡張胆管壁からの癌発生、先天性胆道拡張症にしばしば合併する膵管胆管合流異常症では胆嚢癌の発生頻度が高いが、膵管胆管合流異常症での胆嚢癌発生には、化生や過形成性上皮を基盤とするdysplasia-carcinoma sequenceが想定されており、この過程にはK-ras遺伝子やp53遺伝子変異の関与が指摘されている。

Caroli病/CHFはまれな疾患であり、これまでに発癌機序に関する研究的な知見はほとんど得られていない。その解析には動物モデルでの検討が有効な方策となるが、PCKラットは胆管炎の合併は高率であるものの、われわれは胆管癌を自然発症した個体を経験していない。PCKラットでも胆管癌のリスクファクターである肝内結石症がみられるが、胆管炎と比較して肝内結石症の合併率ははるかに低い。化生上皮との関連では、PCKラットの胆管細胞には胆管炎に伴って腸上皮化生がしばしば出現し、TLR4リガンド(LPS)やTLR2リガンド(peptidoglycans,

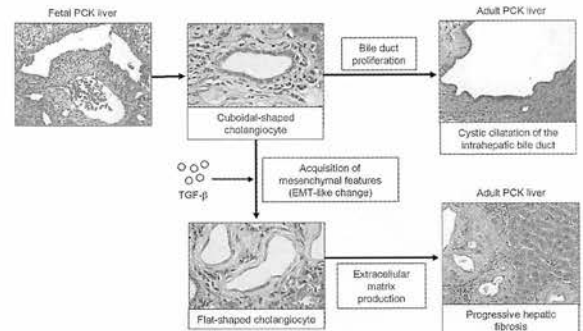


図8. PCKラットの肝線維化機序

胆管細胞にTGF- β が作用すると上皮間葉移行(EMT)に類似した変化が生じ、胆管細胞が細胞外マトリックスを産生することで肝線維化が進行する。

LTA, Pam3Cys) は、PCKラット培養胆管細胞に腸上皮化生関連の蛋白質であるMUC2やCDX2の発現を誘導する⁸⁾。胆道感染が腸上皮化生に関与していると思われるが、この腸上皮化生と発癌との関連は不明である。

動物モデルでの発癌には何らかのsecond hitが必要と思われる。PCKラットに発癌物質であるアゾ色素系癌原性物質 (3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene) を投与すると、肝臓にoval cell hyperplasia, 胆管上皮に腸型化生を示すものが出現するが、胆管癌は発生しない。同様にPCKラットにthioacetamideを投与すると、肝内に広範囲に線維化を生じ、同時に腸型化生を示すものを含む小型胆管が多数増生し、cholangiofibrosisと呼ばれる病態が再現される。正常ラットよりPCKラットのほうがcholangiofibrosisの程度が強く現れるが、thioacetamideの投与によっても胆管癌は誘発されない。現在、胆管癌の動物発癌モデルとして一般に広く用いられるものは存在しないが、PCKラットにおいても実験的に胆管癌を誘発することはできておらず、これがCaroli病/CHFの発癌研究を進行する上で妨げとなっている。

薬物療法の探索

EGFRチロシンキナーゼ阻害剤 (gefitinib) はPCKラット培養胆管細胞の細胞増殖活性を著明に抑制するという成績に一致して、PCKラットにin vivoでgefitinibを投与すると肝内胆管の拡張は有意に抑制される (図9)¹³⁾。胆管拡張の抑制と同時に肝線維化も軽減し、このことは肝線維化の進行における胆管細胞の関与を示唆している。しかし、予想に反して腎嚢胞の形成は不変、もしくはむしろ増悪する傾向を示す。

EGFRチロシンキナーゼ阻害剤の投与によりPCKラットの腎嚢胞が増悪するという成績は、他の研究室からも報告されており、肝内胆管の拡張機序と腎嚢胞の形成機序は異なる可能性がある。例えば、文献的にPCKラットにvasopressin V2 receptor (VPV2R) のアンタゴニストを投与すると、腎臓ではcAMPの低下により腎嚢胞形成が抑制されるが、肝臓にはVPV2Rの発現がないことから胆管拡張の抑制効果はみられない。現在までにPCKラットの腎嚢胞と肝胆管病変 (胆管拡張と肝線維化) を同時に改善する薬剤として、somatostatinアナログ (octreotide, pasireotide) やperoxisome proliferator activator receptor gammaアゴニスト (pioglitazone), cell division cycle 25A phosphataseを阻害するvitamin K3, Src/Abl kinase阻害剤のbosutinibなどが報告されている。

ヒトを対象とした多発性嚢胞腎や多嚢胞肝の臨床治療では、動物実験から期待される治療効果が必ずしも得られないことも多い。これまでの検討結果から、PCKラットの肝線維化は胆管拡張を抑制することである程度は制御できそうである。胆管拡張の抑制に関しては、特定の一つの細胞内シグナル伝達系だけではなく、腎嚢胞の形

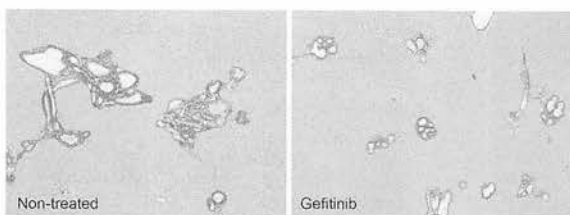


図9. PCKラットに対するEGFRチロシンキナーゼ阻害剤 (gefitinib) の投与効果
Gefitinibの投与は肝内胆管の拡張と肝線維化を軽減する。Picrosirius red染色。

成機序も考慮に入れた複数の伝達系を同時に阻害する必要があるように思われる。今後はPI3K/Akt/mTOR経路の阻害剤のin vivoでの投与効果について、PCKラットを用いて検証を行いたいと考えている。

おわりに

PCKラットを用いた研究で得られたCaroli病/CHFの病因病態に関する知見について述べた。まだ明らかにすべき課題は多く残されているが、Caroli病/CHFは肝移植の適応となることもあり、まれな疾患ではあるがその病態改善や合併症の予防につながる研究を継続して行く必要がある。PCKラットはCaroli病/CHFとARPKDの病態を再現するきわめて優れた動物モデルであり、臨床的に貢献度の高い研究成果が得られることを期待して今後も研究を継続していきたい。

謝 辞

本総説の執筆にあたり、終始研究のご指導を賜りました金沢大学大学院医学系研究科形態機能病理学 (病理学第二) 中沼安二教授ならびに教室員、関係の先生方に深甚なる謝意を表します。また、執筆の機会を与えてくださいました金沢大学十全医学会編集委員長 井関尚一教授ならびに関係の方々にも厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 1) Nakanuma Y, Harada K, Sato Y, Ikeda H. Recent progress in the etiopathogenesis of pediatric biliary disease, particularly Caroli's disease with congenital hepatic fibrosis and biliary atresia. *Histol Histopathol* 25: 223-235, 2010
- 2) Sato Y, Ren XS, Nakanuma Y. Caroli's Disease: Current knowledge of its biliary pathogenesis obtained from an orthologous rat model. *Int J Hepatol* 107945, 2012
- 3) Sanzen T, Harada K, Yasoshima M, Kawamura Y, Ishibashi M, Nakanuma Y. Polycystic kidney rat is a novel animal model of Caroli's disease associated with congenital hepatic fibrosis. *Am J Pathol* 158: 1605-1612, 2001
- 4) Furubo S, Sato Y, Harada K, Nakanuma Y. Roles of myofibroblasts and Notch and Hedgehog signaling pathways in formation of intrahepatic bile duct lesions of the polycystic kidney rat. *Pediatr Dev Pathol* 2013 (in press)
- 5) Nakanuma Y, Sato Y, Harada K. Tissue culture correlational study of genetic cholangiopathy of autosomal recessive polycystic kidney disease. *Methods Mol Biol* 945: 303-318, 2013
- 6) Sato Y, Harada K, Kizawa K, Sanzen T, Furubo S, Yasoshima M, Ozaki S, Ishibashi M, Nakanuma Y. Activation of the MEK5/ERK5 cascade is responsible for biliary dysgenesis in a rat model of Caroli's disease. *Am J Pathol* 166: 49-60, 2005
- 7) Zhang MZ, Mai W, Li C, Cho SY, Hao C, Moeckel G, Zhao R, Kim I, Wang J, Xiong H, Wang H, Sato Y, Wu Y, Nakanuma Y, Lilova M, Pei Y, Harris RC, Li S, Coffey RJ, Sun L, Wu D, Chen XZ, Breyer MD, Zhao ZJ, McKanna JA, Wu G. PKHD1 protein encoded by the gene for autosomal recessive polycystic kidney disease associates with basal bodies and primary cilia in renal epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101: 2311-2316, 2004
- 8) Ikeda H, Sasaki M, Ishikawa A, Sato Y, Harada K, Zen Y, Kazumori H, Nakanuma Y. Interaction of Toll-like receptors with bacterial components induces expression of CDX2 and MUC2 in rat biliary epithelium in vivo and in culture. *Lab Invest* 87: 559-571, 2007
- 9) Ren XS, Sato Y, Harada K, Sasaki M, Yoneda N, Lin ZH, Nakanuma Y. Biliary infection may exacerbate biliary cystogenesis through the induction of VEGF in cholangiocytes of the polycystic kidney (PCK) rat. *Am J Pathol* 179: 2845-2854, 2011
- 10) Yasoshima M, Sato Y, Furubo S, Kizawa K, Sanzen T, Ozaki S, Harada K, Nakanuma Y. Matrix proteins of basement membrane of intrahepatic bile ducts are degraded in congenital hepatic fibrosis and Caroli's disease. *J Pathol* 217: 442-451, 2009
- 11) Ozaki S, Sato Y, Yasoshima M, Harada K, Nakanuma Y. Diffuse expression of heparan sulfate proteoglycan and connective tissue growth factor in fibrous septa with many mast cells relate to unresolving hepatic fibrosis of congenital hepatic fibrosis. *Liver Int* 25: 817-828, 2005
- 12) Sato Y, Harada K, Ozaki S, Furubo S, Kizawa K, Sanzen T, Yasoshima M, Ikeda H, Sasaki M, Nakanuma Y. Cholangiocytes with mesenchymal features contribute to progressive hepatic fibrosis of the polycystic kidney rat. *Am J Pathol* 171: 1859-1871, 2007
- 13) Sato Y, Harada K, Furubo S, Kizawa K, Sanzen T, Yasoshima M, Ozaki S, Isse K, Sasaki M, Nakanuma Y. Inhibition of intrahepatic bile duct dilation of the polycystic kidney rat with a novel tyrosine kinase inhibitor gefitinib. *Am J Pathol* 169: 1238-1250, 2006