

Biliary innate immunity in the pathogenesis of biliary diseases

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/2297/17321

【総説】

胆管系自然免疫からみた胆道系疾患の新たな病態解析

Biliary innate immunity in the pathogenesis of biliary diseases

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)

原 田 憲 一

はじめに

肝臓は生体内の代謝および蛋白合成を担う重要な臓器であり、胆管は肝細胞から毛細胆管内に分泌された胆汁を十二指腸乳頭部まで排出する導管である。胆管を病変の主座とする疾患として、原発性胆汁性肝硬変 (PBC)、原発性硬化性胆管炎 (PSC)、肝内結石症、さらに小児では胆道閉鎖症や胆道拡張症など原因不明の疾患が多く、単なる導管と考えられてきた胆管がなぜ様々な疾患の発生源になるのかは不思議である。以前より我々の教室では、肝組織を用いた病理組織学的検討に加え、げっし動物やヒトの正常胆管細胞を用いて、胆管細胞の病態生理について検討してきた。その結果、胆管細胞は単なる胆汁排泄の導管としての役割だけではなく、あらゆる免疫応答に起因する炎症の場となり、さらに胆管細胞自らが免疫応答の主角を演ずることがわかってきた。また、PBC、肝内結石症、胆道閉鎖症では、病因または病態形成への因子として細菌やウイルス感染が推定されており、現在国内外において自然免疫の観点からこれらの疾患の病態解析がなされている。自然免疫はマクロファージや樹状細胞など免疫担当細胞を中心に研究がなされてきているが、我々は微生物に対する胆道系独自の自然免疫機構が存在していると仮説を立て、胆管細胞における自然免疫機構を解析してきた。本稿では、胆管細胞の自然免疫機構および胆道系疾患の病態形成における自然免疫応答の関与について、我々の成績を紹介する。

胆道系自然免疫

胆汁は通常無菌と考えられているが、胆道系疾患のみならず非胆道系疾患においてもリポポリサッカライド(LPS)などの菌体壁構成成分や細菌由来の遺伝子が胆汁中から検出され、さらに肝胆道系疾患では培養可能な細菌も胆汁中から検出される。腸管由来の菌体成分が門脈を介して肝臓へ流入後、最終的に胆汁中に排泄されることから、胆管上皮は断片化および修飾を受けた菌体成分に曝されていると推測される。さらに、解剖学的に胆道系は十二指腸へ開口していることから、十二指腸から上行性に細菌性胆管炎を来しやすく、このような病態が胆道感染症や肝内結石症の慢性増殖性胆管炎の成因に強く関与していると考えられる。したがって、胆管上皮は、気管や腸管と同様、粘膜上皮としてとらえることができ、外界からの病原体侵入に対して、抗菌物質 (サーファクタント蛋白-D, ラクトフェリン, リゾチームなど)、粘液、分泌型IgAなど粘膜免疫としての防御機構を有することが以前から知られており、胆道は微生物からの防御に独自の自然免疫機構を有していると容易に推測される。

さて、胆道系は解剖学的に肝内胆管と肝外胆管とに大別され、

肝内胆管は大きさと肝との位置的關係から肉眼的に同定しうる肝内大型胆管と顕微鏡下で同定しうる肝内小型胆管 (隔壁胆管、小葉間胆管、細胆管) とに亜分類される。また、肝外胆管および肝内大型胆管には胆管付属腺も分布する。肝内大型胆管から隔壁胆管レベルには、胆管壁が見られ、核上部の胞体には微細な粘液顆粒が見られる。しかし、小葉間胆管には胆管壁や固有の支持組織はなく、粘液顆粒も見られない。粘液産生は粘膜における最も基本的な生体防御機構であるが、この点からは末梢に較べ中枢側の胆管上皮の方が防御機構を兼ね備えていると解釈できる。細胆管は肝小葉辺縁部限界板の肝細胞と門脈域内の小葉間胆管とを結ぶ胆管成分であり、肝内及び肝外の種々の病的状態にて非特異的に増加する。また、敗血症に伴う胆汁うっ滞性肝障害で見られる遷延性胆管炎(cholangitis lenta)は細胆管レベルを中心に出現し、その組織発生にエンドトシキンに対する胆管細胞の自然免疫応答が関与している¹⁾。このように各胆管区分は形態のみならず自然免疫を含めた機能面にも相違が見られる。

胆道系自然免疫

病原体 (細菌、真菌、ウイルス) の侵入に対する防御を担う自然免疫は、昆虫から哺乳類まですべての生物が有する免疫機構であり、脊椎動物のみが有する獲得免疫と対向して用いられる。自然免疫は、免疫担当細胞や上皮細胞から産生される抗菌ペプチドなどの液性因子およびマクロファージなどの食食作用による細胞性因子からなる。自然免疫の分子標的は、病原体の発生学的に変化に乏しい分子パターン (Pathogen-Associated Molecular Patterns, PAMPs) と呼ばれ、近年、PAMPsを認識する受容体 (Pattern Recognition Receptors, PRRs) の一つとして、Toll様受容体 (TLR) family がクローニングされ、自然免疫の病原体認識にかかわるシグナル伝達経路の解明、さらには生体防御による生命維持のみならず慢性炎症性腸疾患や自己免疫疾患への関与についても自然免疫の重要性が注目されている。このTLRはマクロファージや樹状細胞などの免疫担当細胞のみならず、肺胞上皮や腸管上皮などの上皮細胞にも存在し、臓器特異的な生体防御機構を形成することがわかってきた。

現在、ヒトでは10種類のTLR (TLR1~TLR10) が確認されている。我々は、ヒト培養胆管細胞およびヒト肝組織を用いた検討にて、胆管細胞は少なくともTLR1~TLR6、またTLR4に結合する分子MD-2、細胞内のシグナル伝達アダプター分子であるMyD88やIRAKを恒常的に発現しており、胆道系においてほぼ普遍的に発現していることを明らかにした (図1)。また、ヒト培養胆管細胞をPam3CSK4 (TLR1/2リガンド)、MALP-2 (TLR2/6リガンド)、ペプチドグリカン (TLR2リガンド) などの

細菌性PAMPsで刺激すると、TLRの下流に存在する主要な転写因子NF- κ Bが活性化することから、TLRは機能的に発現していることが示唆される。更に、NF- κ B依存性に抗菌ペプチドであるデフェンシンの産生が誘導され、自然免疫本来の目的である感染防御に備える。デフェンシンは細菌、真菌など広範囲に抗微生物活性を有する塩基性抗菌ペプチドであり、特にヒト β デフェンシン (hBD、現在までhBD1からhBD6が同定) は気道や皮膚などの上皮細胞から産生され、粘膜における感染防御機構の重要な役割を担う。肝内胆管上皮ではhBD1のびまん性発現を認めるが、hBD2は肝内結石症や胆道感染症に見られる化膿性胆管炎の上皮細胞に発現があり、これらのhBDは胆汁中からも検出される (図1)⁹。事実、我々の培養胆管細胞を用いた検討でも、hBD1は恒常的に発現していたが、hBD2は大腸菌やLPS刺激で初めて発現誘導される⁹。したがって、hBD1、hBD2共に抗菌ペプチドとして胆道系の感染防御にかかわっているが、hBD2は胆道感染発生時に新たに胆管上皮から産生され、局所的な感染防御に関与していると推測される。また、細菌のみならずロタウイルスやレオウイルスに代表される2本鎖RNAウイルスに対しても胆管細胞は自然免疫応答を示す。胆管細胞は2本鎖RNAの認識受容体であるTLR3を発現しており、合成2本鎖RNAであるpoly(I:C)で刺激すると、NF- κ Bのみならずinterferon regulatory factor-3 (IRF-3)の転写因子も活性化し、抗ウイルス作用を示すIFN- β の産生が見られる⁹。このように胆管細胞は細菌のみならずウイルスに対しても自然免疫応答を示し、PAMPs由来に準じて微生物に対する液性因子を産生し、適切な感染防御が作動する。また、このような所見はマクロファージなどの免疫担当細胞の助けを借りることなく、胆管細胞自身が自然免疫応答を示し、病原体に対して即座に生体防御機構を示すことを示唆する。さらに、胆管細胞は自然免疫応答にて、抗微生物因子のみならず、IL-6、IL-8、fractalkine、CXCL16などの炎症性サイトカインやケモカインも産生し (図1)、胆管周囲でのサイトカイン環境の形成と免疫担当細胞の動員により、自然免疫から獲得免疫へと受け継がれていく。

自然免疫トレランス機構

PAMPs、特にエンドトキシンであるLPSはマクロファージを活性化させるが、同時にその活性を抑制する機構も誘導され、エンドキシントレランスとして知られている。このトレランス機構は、感染症発症時のショック回避のみならず、腸管ホメオスタシスの維持にも重要である。すなわち、腸管上皮は正常の腸内細菌叢に対して寛容になっており、腸炎を引き起こすことはない。生体内の胆道系も、腸内細菌叢由来の菌体成分に曝されているにもかかわらず、生理的状態では炎症性変化は見られない。腸管と同様、トレランス状態が胆道系ホメオスタシスの維持に関与していると推測される。ヒト培養胆管細胞を用いた検討にて、LPSなどの細菌性PAMPs刺激によるNF- κ Bの活性化やTNF- α mRNAの発現亢進は時間の経過とともに減弱し、またLPSで事前に刺激しておくとも再刺激後の反応性は著明に抑制され、容易にトレランス状態を誘導できる⁹。このトレランスの誘導機序として、細胞内シグナル伝達の抑制分子であるIL-1R-associated kinase (IRAK)-Mが、細菌性PAMPs刺激とともに発現が誘導され、さらにトレランス誘導状態でも発現亢進が維持されることから、トレランス誘導の主要分子のひとつと考えられる⁹。したがって、自然免疫応答の発動と同時に、応答を負に制御する機構も作動し、過剰な免疫応答による高サイ

トカイン環境や組織障害を回避していると推測される。また、脂肪細胞分化と糖代謝に関わるステロイドホルモン核内受容体スーパーファミリーの核内転写因子であるperoxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ は、NF- κ Bレベルでシグナル伝達を抑制し、抗炎症因子として作用する。我々は、このPPAR γ が培養胆管細胞で恒常的に発現しており、内因性PPAR γ リガンドである15d-PGJ2存在下では細菌性PAMPs刺激に対するNF- κ Bの活性化やIL-6産生が著明に抑制されることを見出し、胆管細胞ではPPAR γ もトレランス誘導因子として挙げられる⁹。IRAK-M、PPAR γ とも肝内胆管上皮で恒常的かつびまん性に発現しており、非病原性の常在性細菌性PAMPsに対して胆管細胞はトレランスとなっており、生理的状態下での胆道系自然免疫の恒常性が維持されていると考えられる⁹。

次に、2本鎖RNAウイルスに対するトレランスを検討した結果、細菌性PAMPsで見られたような寛容は見られなかった。すなわち、胆管細胞をpoly(I:C)で2段階刺激しても、再刺激後のNF- κ B活性やIFN- β 産生の抑制は全く見られず、むしろIFN- β 産生は単独刺激よりも亢進した。また、LPS前処理後のpoly(I:C)刺激、poly(I:C)前処理後のLPS刺激双方とも、刺激後

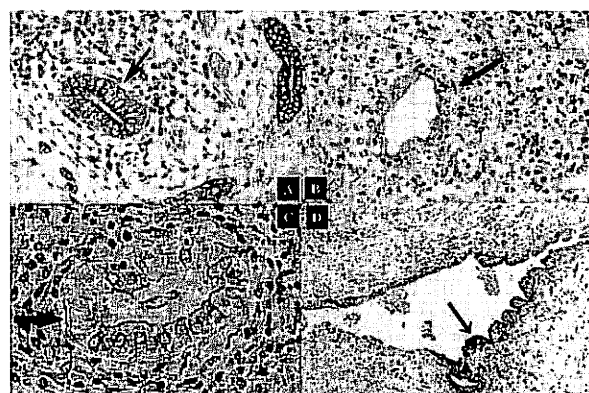


図1. 免疫組織化学的染色。A: PBC. TLR4染色。小葉間胆管の胆管細胞にTLR4の膜状の発現を認める。B: PBC. IL-6染色。傷害胆管の胆管上皮にIL-6の発現を認める。C: PBC. Fractalkine染色。小葉間胆管にfractalkineの発現を認める。D: 肝内結石症。 β -defensin 2染色。肝門部大型胆管の被覆上皮に β -defensin 2の発現を認める。

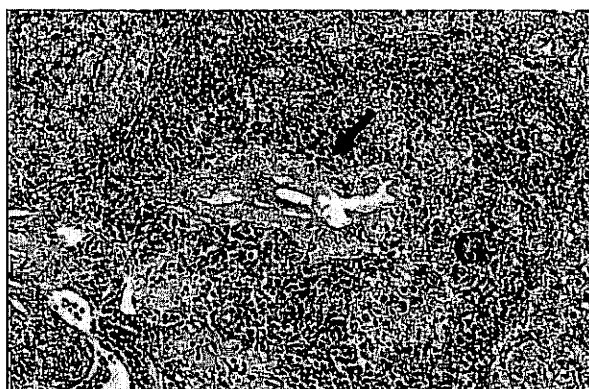


図2. PBCの胆管病変。慢性非化膿性破壊性胆管炎と呼ばれる胆管傷害(矢印)の周囲に肉芽腫形成(G)を認める。

のNF- κ B活性化に前処理の影響は全く見られず、TLR3とTLR4の間でのいわゆるクロストランスは存在しなかった⁶⁾。胆管細胞はロタウイルスやレオウイルスなどの2本鎖RNAウイルスに対する自然免疫のトランス機構が存在しないことより、ウイルスが完全に排除されるまで自然免疫応答が持続し、胆管傷害も進行すると推測される。

PBC

原発性胆汁性肝硬変(PBC)は、免疫機序による肝内小型胆管の進行性破壊(慢性非化膿性破壊性胆管炎,CNSDC)(図2)と消失および自己抗体であるミトコンドリア抗体(AMA)の出現で特徴付けられる。AMAの主要対応抗原は、ミトコンドリア内膜に粗に結合する2-oxo-acid dehydrogenase complex (2-OADC)の構成成分であるピルビン酸脱水素酵素複合体E2成分(PDC-E2)である。このPDC-E2、特にinner lipoyl domainは種を越えてよく保存されており、また、AMAが大腸菌などの微生物由来PDC-E2に対して交差反応性を示すことから、PBCの病態発生の病因として外来抗原、特に菌体成分との分子相同性が注目されている⁷⁾。また、PBCの組織学的特徴である肉芽腫(図2)や胆汁中には*P.acnes*などの腸内細菌由来の菌体成分が検出される⁸⁾。近年、クローン病や潰瘍性大腸炎などの慢性炎症性腸疾患では自然免疫の破綻または異常が病態形成に関与していると推測されている。我々はPBCの病態形成における胆道系自然免疫の関与について検討し、PBC胆管における自然免疫と胆管周囲微小環境との関連性が見えてきた。

CD4陽性T細胞は、それらの産生するサイトカインパターンによりTh1型とTh2型に大別され、Th1/Th2バランスの異常が自己免疫疾患の病態形成に関与している。PBCの障害胆管周囲ではTh1型サイトカインが優位な状態であり、Th1型サイトカインが細胞障害性T細胞の分化・誘導を促し、胆管障害に関与していると考えられる。前述の如く、胆管細胞は自然免疫応答にて獲得免疫形成に関与するサイトカインやケモカインを産生するが、胆管細胞自身も自らが発現しているサイトカイン受容体を介して胆管周囲のサイトカイン環境に反応することから、自然免疫と獲得免疫との相互の制御機構の存在が示唆される。すなわち、胆管細胞はTh1型サイトカインであるIFN- γ 刺激でTLR2~TLR5の発現が亢進し、Th2型サイトカインであるIL-4刺激では有意な変化は認めない⁹⁾。また、IL-4存在下で抗炎症因子PPAR γ の発現が増強し、IFN- γ 刺激では24時間後に発現が

低下する⁵⁾。さらに、IFN- γ は胆管細胞のPPAR γ 発現低下やTLR発現亢進とともにPAMPs刺激に対する反応性を亢進させ、また内因性PPAR γ リガンドによる抑制効果も減弱させることから、PAMPsに対する感受性を亢進させる事が示唆される^{5a)}。事実、PBCの傷害胆管ではPPAR γ の発現低下およびTLR4の発現亢進が見られ、PBC胆管周囲ではTh1型偏位による細胞性免疫亢進にもなって胆道系自然免疫の亢進(またはトランスの破綻)も誘導されていることが示唆される⁵⁾。すなわち、PBCの胆管周囲でのTh1型サイトカインへの偏位は、胆管細胞における菌体成分に対する感受性を亢進させ、寛容の破綻をもたらし、その結果NF- κ B活性化を介した炎症性サイトカインの産生亢進が胆管炎の発生に加担していると推測される。

さらに近年、Th1、Th2細胞に加え第3の病原性Th細胞としてTh17細胞が新たに分類され、自己免疫性疾患などでの慢性炎症への関与が注目されている。このTh17細胞は、IL-6、IL-1 β (マウスではTGF- β)の存在下で前駆T細胞から分化誘導、IL-23で維持され、分化後はIL-17などの炎症性サイトカイン産生を特徴とする。通常培養下の胆管細胞は、このようなサイトカインをほとんど発現していないが、細菌性PAMPs(LPS, Pam3CSK4)刺激でIL-6、IL-1 β 、IL-23 p19およびIL-23/IL-12 p40の発現誘導が見られる。また免疫組織学的検討にて、IL-17陽性細胞をTh17細胞として同定した結果、PBCの胆管炎周囲にIL-17陽性細胞が散見される。また、IL-23 p19は恒常的に肝内胆管で発現しているが、IL-6、IL-1 β の発現はPBCの傷害胆管で発現が亢進している。以上の結果より、細菌に対する自然免疫応答にて胆管細胞はIL-6、IL-1 β 、IL-23を産生し、胆管周囲の樹状細胞でのTh17細胞分化誘導に関与すると推測され、胆管における自然免疫応答が胆管周囲のTh17細胞の分化誘導に加担していると考えられる(図3)。また、Th17細胞から産生されるIL-17は上皮細胞、血管内皮、線維芽細胞に作用し、IL-1 β 、TNF- α 、IL-8、iNOSなどの炎症性メディエータやケモカインの誘導により慢性炎症に関与する。胆管細胞はIL-17受容体(IL-17RA, IL-17RC)を恒常的に発現しており、IL-17刺激にてIL-6、IL-1 β およびケモカインの発現誘導が見られる事から、自然免疫応答に加えて胆管周囲のTh17細胞からもIL-17依存性にTh17細胞誘導が助長され、またケモカイン作用も加担して、炎症が持続すると推測される(図3)。

胆道閉鎖症

胆道閉鎖症は小児胆道系疾患の代表であり、病態により先天型(20%)と後天型(80%)に分類され、未だ病因については不明である。先天型は他の先天異常を伴う肝外胆管の形成異常と考えられており、後天型は新生児期における肝外胆管の硬化性胆管炎(高度の炎症細胞浸潤、線維化、上皮の剥離など)と線維性閉塞が基本病態である(図4)。また、胆道閉鎖症の肝外胆管上皮では細胞増殖活性の亢進およびアポトーシスによる細胞死の亢進も見られ、細胞動態の不均衡により胆管閉塞を来すと考えられている。また、硬化性病変を来す機序として、胆管上皮でのEpithelial-Mesenchymal Transition (EMT)現象が、胆道閉鎖症を含め慢性肝胆道系疾患の病態形成に関与しているとの報告がある。未だ胆道閉鎖症の原因については不明であるが、実験動物にてレオウイルス感染が胆道閉鎖症様の胆管炎を来すことや胆道閉鎖症の患者血清中に抗3型レオウイルス抗体が高頻度(62%)に検出されること、さらにKasai procedure(葛西手術)と称される胆管腸管吻合術の際に採取される肝外胆管や肝組織の

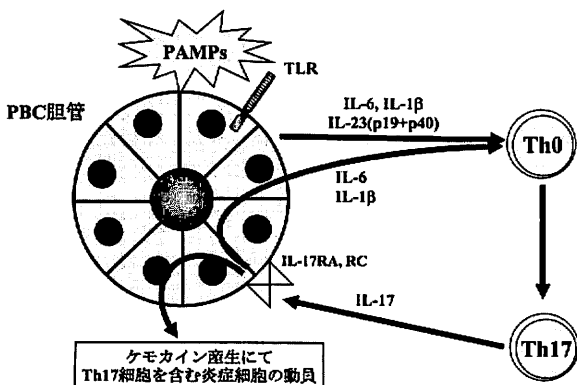


図3. PBCにおける自然免疫とTh17型環境との関連性

病理検体からレオウイルス科ウイルスが証明され、病態発生におけるウイルスの関与が注目されている。

レオウイルス科ウイルス (レオウイルス, ロタウイルスが属する) は上皮親和性があり, また腸管上皮細胞に対してアポトーシス誘導分子tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)およびNF- κ B活性化を介してアポトーシスを誘導することが証明されている。ウイルスに対する自然免疫応答が, 直接上皮傷害や細胞死に関与することを示唆する。我々は, poly(I:C)刺激後の胆管細胞を検討した結果, TRAILの発現亢進

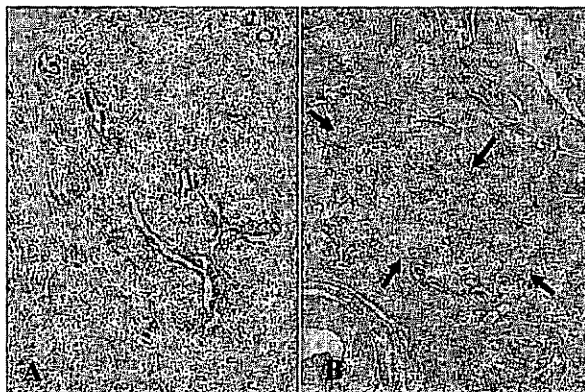


図4. 胆道閉鎖症の肝外胆管の組織像。A: 胆管の狭小化, 胆管壁およびその周囲の炎症および線維化を認める。B: 閉塞した胆管は線維 (線維芯) で置き換わっている (矢印)。

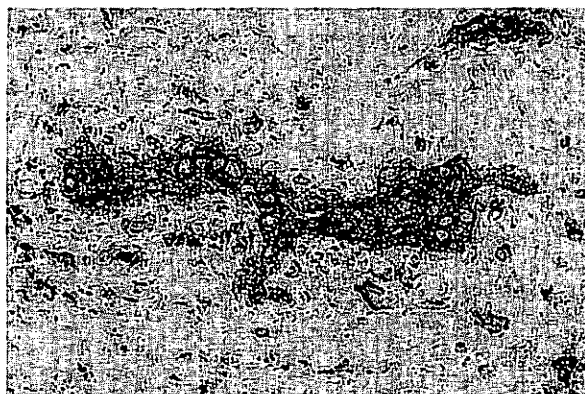
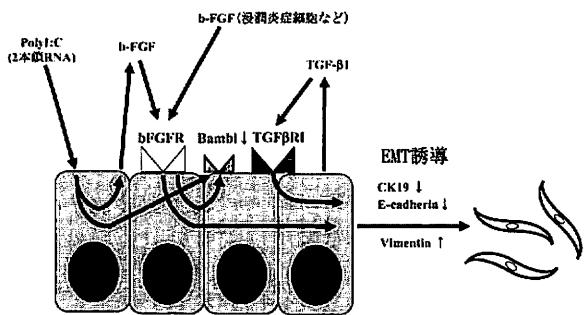


図5. 胆道閉鎖症. Vimentin染色. ほぼ閉塞した肝外胆管上皮にVimentinの発現を認める。



胆道閉鎖症の肝外胆管上皮
図6. 胆道閉鎖症における胆管細胞のEMT誘導機序

とアポトーシスによる細胞死の誘導を確認した⁹⁾。また, 胆道閉鎖症患児の肝外胆管上皮には, 2本鎖RNA認識受容体であるTLR3の発現に加え, 活性化NF- κ BやIRF-3の発現, TRAIL発現の亢進, アポトーシスが見られる。これらの所見はレオウイルスやロタウイルスの感染またはウイルス遺伝子のphagocytosisにて, 胆管細胞はTRAILを介してautocrineまたはparacrine的にアポトーシスが誘導されることを示しており, 2本鎖RNAウイルスが胆道閉鎖症の胆管細胞消失に直接関与していると想定される。

EMTは, 上皮系細胞が間葉系細胞へ形質転換する現象であり, 癌転移, 創傷治癒, 個体発生過程, 疾患の病態形成に関与する。EMT誘導因子としてTransforming growth factor- β 1 (TGF- β 1)やbasic fibroblast growth factor (bFGF)がある。また, TGF- β 1のpseudoreceptorであるbone morphogenic protein and activin membrane-bound inhibitor (Bambl)の発現が自然免疫応答にて発現が低下し, TGF- β 1に対する感受性が亢進することも報告されており¹⁰⁾, Bamblの発現変化もEMTの誘導に関与すると推測される。我々は, ヒト培養胆管細胞を用いてEMT現象を検討した結果, poly(I:C)刺激で胆管型サイトケラチンであるCK19と一般的上皮系マーカーであるE-cadherinの発現が経時的に減弱し, 上皮としての特徴を失いつつあることを見出した¹¹⁾。また, 胆管細胞はEMT誘導因子TGF- β 1と受容体であるTGF- β R1を恒常的に発現していたが, 自然免疫応答による発現の挙動は認めなかった¹¹⁾。しかし, Bamblはpoly(I:C)刺激での自然免疫応答にて発現が低下し, その結果TGF- β 1に対する感受性が亢進すると推測された。もう一つのEMT誘導因子であるbFGFは, poly(I:C)刺激で発現が誘導された。また胆管細胞はTGF- β 1やbFGF刺激にて, 上皮系マーカーの発現低下, 間葉系マーカーの発現誘導が見られ, TGF- β 1+bFGF共刺激では間葉系細胞に特徴的な紡錘形細胞へのすみやかな変化が認められた¹¹⁾。また, 胆道閉鎖症の肝外胆管および付属腺の被覆上皮には, EMT関連の転写因子であるSmad3の核発現 (活性型を意味) を傷害胆管に散見し, また胆管炎や傷害像を示す胆管上皮を中心に, 上皮系マーカー (CK19, E-cadherin) の減弱または消失, 間葉系マーカー (vimentin) の異常発現 (図5), bFGFの発現を認めた¹¹⁾。このような肝外胆管での表現型の変化, 活性化転写因子およびEMT誘導因子の発現は, 培養胆管細胞で見られたEMT現象を示唆するものであり, 胆道閉鎖症の硬化性病変の形成に胆道系自然免疫を介したEMTが関与していると推測される (図6)。

前述の如く, 2本鎖RNAに対する胆管細胞の自然免疫応答にはトランス機構は存在しない。したがって, 2本鎖RNA (ウイルス) が存在する限り自然免疫応答は持続し, TRAILを介したアポトーシス誘導および生存細胞に対するEMT誘導により完全に胆管が消失・閉塞すると推測され, ウイルスに対する胆管細胞の自然免疫応答が胆道閉鎖症の病態形成に直接関わっていると考えられる。

おわりに

本稿では, 胆管上皮における自然免疫の分子機構と胆道系疾患の病態形成における関与について述べた。腸管系自然免疫に較べるとまだまだ不明な点が多いが, 胆道系の解剖学的特性および胆道系自然免疫の存在が胆管における炎症や病態の場を規定し, 胆道系疾患の病態形成に深くかかわっているがわかってきた。しかし, 自然免疫だけで胆道系疾患の病態全容は説明で

きるわけがなく、自然免疫と獲得免疫から解析すべきである。また、自然免疫応答は病態発生の初段階時にinitiationとして関与するだけで、引き続いておこる獲得免疫に起因する胆管病変には微生物の存在は必要としないのかもしれない。今後、いろいろな切り口から胆道系疾患を研究する必要がある、まだまだ胆管細胞に関する課題は山積みである。微力ながら尽力していきたい。

謝 辞

本総説執筆にあたり、長きにわたり肝胆道系疾患の研究に携わってこられました金沢大学医学系研究科形態機能病理(旧 第二病理)の諸先輩方ならびに中沼教授、現医局員の方々に感謝いたします。また、今回の執筆の機会を与えていただき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方々に厚く御礼申し上げます。

参 考 文 献

- 1) Isse K, Harada K, Nakanuma Y. IL-8 expression by biliary epithelial cells is associated with neutrophilic infiltration and reactive bile ductules. *Liver Int* 27: 672-80, 2007
- 2) 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
- 3) Harada K, Sato Y, Itatsu K, et al. Innate immune response to double-stranded RNA in biliary epithelial cells is associated with the pathogenesis of biliary atresia. *Hepatology* 46: 1146-1154, 2007
- 4) Harada K, Isse K, Sato Y, et al. Endotoxin tolerance in human intrahepatic biliary epithelial cells is induced by upregulation of IRAK-M. *Liver Int* 26: 935-42, 2006
- 5) Harada K, Isse K, Kamihira T, et al. Th1 cytokine-induced downregulation of PPARgamma in human biliary cells relates to cholangitis in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 41: 1329-38, 2005
- 6) Harada K, Sato Y, Isse K, et al. Induction of innate immune response and absence of subsequent tolerance to dsRNA in biliary epithelial cells relate to the pathogenesis of biliary atresia. *Liver Int* 28: 614-21, 2008
- 7) Shimoda S, Nakamura M, Ishibashi H, et al. HLA DRB4 0101-restricted immunodominant T cell autoepitope of pyruvate dehydrogenase complex in primary biliary cirrhosis: evidence of molecular mimicry in human autoimmune diseases. *J Exp Med* 181: 1835-45, 1995
- 8) Harada K, Tsuneyama K, Sudo Y, et al. Molecular identification of bacterial 16S ribosomal RNA gene in liver tissue of primary biliary cirrhosis: is *Propionibacterium acnes* involved in granuloma formation? *Hepatology* 33: 530-6, 2001
- 9) Harada K, Isse K, Nakanuma Y. Interferon gamma accelerates NF-kappaB activation of biliary epithelial cells induced by Toll-like receptor and ligand interaction. *J Clin Pathol* 59: 184-90, 2006
- 10) Seki E, De Minicis S, Osterreicher CH, et al. TLR4 enhances TGF-beta signaling and hepatic fibrosis. *Nat Med* 13: 1324-32, 2007
- 11) Harada K, Sato Y, Ikeda K, et al. Epithelial-mesenchymal transition induced by biliary innate immunity contributes to the sclerosing cholangiopathy of biliary atresia. *J Pathol* (in press),