

粘液産生からみた肝内結石

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 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/2297/40427

肝内結石症の成因をめぐって

粘液産生からみた肝内結石*

池田 博子¹⁾・全 陽²⁾・佐々木素子¹⁾・中沼 安二¹⁾

要約：肝内結石症の成因に関して、肝内胆管上皮からの粘液（ムチン）の過分泌は結石形成の重要な因子であると考えられている。病理組織学的には肝内結石症の慢性増殖性胆管炎において、粘液腺の増生と肝内胆管上皮からの粘液の過分泌がみられ、結石はビリルビン色素層と粘液層が年輪状に混在する。肝内結石症ではムチンコア蛋白（MUC）の発現パターンに特徴があり、MUC 2（大腸型ムチン）および MUC 5 AC, MUC 6（胃型ムチン）の発現が亢進する。従来より、細菌感染と胆汁うっ滞は肝内結石形成の重要な因子であるとされているが、これらと胆管上皮細胞における粘液産生の関与が示唆されている。In vitro では、胆道系上皮細胞においてリポポリサッカライドがムチン、さらにゲル形成能を有する MUC 2, MUC 5 AC の発現を誘導すると報告されており、その発現分子機構として、TNF- α の産生およびプロテインキナーゼ C の活性化やアラキドン酸代謝の活性化が考えられる。

Key words：肝内結石，粘液，MUC，細菌感染

はじめに

肝内結石症は日本を含む東アジア地区にみられる疾患であり、その診断、治療は進歩してきてはいるものの、依然として結石遺残や再発が多く、難治性である。さらに患者の 5~10% に肝内胆管癌を合併することも問題となっており、予防および治療法の確立のためにはその成因解明が待たれる。

肝内結石症の成因に関しては、従来より胆汁うっ滞と細菌感染が結石形成の重要な因子であるとされているが¹⁾、それらに加え、肝内胆管上皮からの粘液（ムチン）、特に硫酸ムチンの過分泌が結石形成に深く関与していることが知られている^{2,3)}。ムチンは主として上皮組織に発現する巨大分子であり、生体内において、外来刺激に対する上皮のバリア機構として重要な役割を果たしている。そのムチン分子は共通の蛋白骨格であるムチンコア蛋白（mucin core protein, MUC）および糖鎖より構成され、MUC は現在までに 14 種類の遺

伝子が報告されている⁴⁾。これらのうち MUC 1-4, MUC 5 B, MUC 5 AC, MUC 6, MUC 7 に関してはその機能解析がなされており⁵⁾、それぞれ臓器特異的、細胞特異的に発現分布している。さらに、いくつかの炎症性、腫瘍性疾患では MUC の発現パターンが大きく変動することが知られており⁶⁻⁸⁾、MUC 発現の考察は病態解明の手がかりとなり得る。

本稿では、まず肝内結石症の肝内胆管病変における病理組織像を粘液の分泌に注目して述べる。次いで、肝内結石症における MUC の発現パターンからの病態の考察と、細菌感染および胆汁成分と粘液産生の関連性について述べる。さらに最近報告されている胆管上皮における粘液産生亢進の分子機構を紹介する。

I. 肝内結石症の病理形態像

結石を含む肝内大型胆管では、胆管壁は線維性に肥厚し、周囲に慢性炎症細胞浸潤がみられる。また、胆管壁内外で付属線、特に粘液腺が著しく増生し、過形成性の胆管被覆上皮に大量の粘液が証明される。粘液は酸性（シアロムチン，スルホムチン）>中性で、胆管腔内への過剰分泌がみられる⁹⁾。これらの変化は慢性増殖性胆管炎（chronic proliferative cholangitis）と

* Hepatolithiasis and Mucin

1) 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）

2) 福井県済生会病院病理

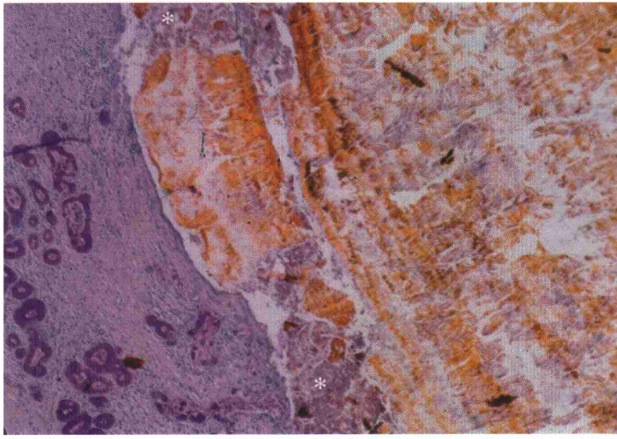


図 1 肝内結石と接する胆管壁 (PAS 染色)
胆管壁 (左側) では粘液腺の増生をみる。結石 (右側) ではビリルビン色素層と粘液層が混在し、結石と壁の間に、粘液とビリルビン色素の泥状物 (*) をみる

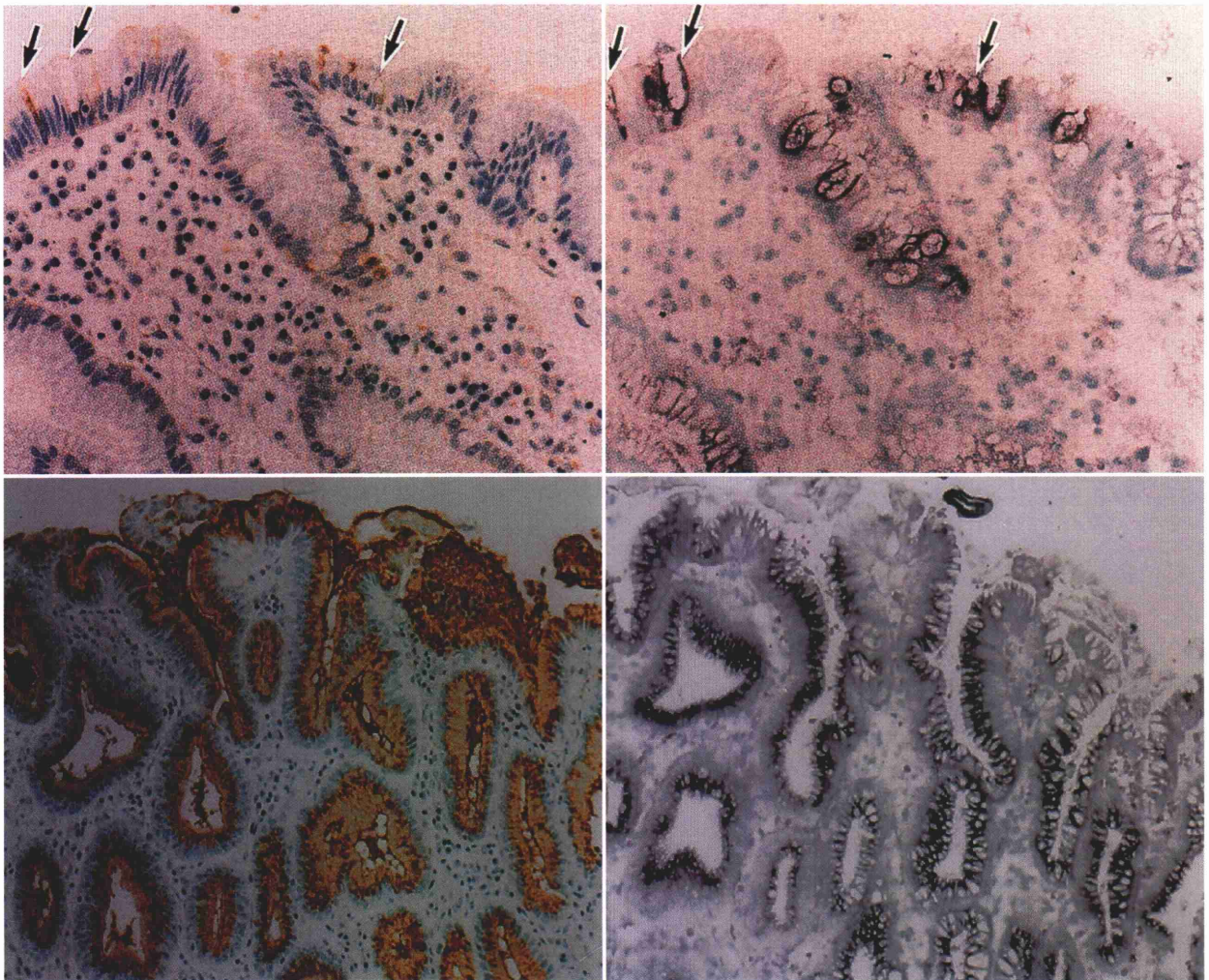


図 2 肝内結石症の肝内大型胆管上皮における MUC 2, MUC 5 AC の発現 a|b
c|d
MUC 2 は過形成性上皮や goblet cell (矢印) に、MUC 5 AC は表層上皮と壁内腺に発現をみる。蛋白の発現と mRNA の発現は一致している
a : MUC 2, 免疫染色 b : MUC 2, in situ hybridization
c : MUC 5 AC, 免疫染色 d : MUC 5 AC, in situ hybridization

呼ばれ、肝内結石症に特徴的な病理組織学的所見とされている¹⁰⁾。肝内結石はそのほとんどがビリルビンカルシウム石であり、その断面はビリルビン色素層と粘液層が年輪状に混在する¹¹⁾ (図 1)。

これらの組織像から結石形成の成熟過程にはムチン過分泌が重要な役割を担っていることがうかがわれる。また、増生した腺組織には胃の幽門腺に類似するものも多くみられ、後述する MUC の発現パターンと

ともに興味深い現象である。

II. 肝内結石症における MUC の発現

胆管系では 6 種の MUC (MUC 1, MUC 2, MUC 3, MUC 5 AC, MUC 5 B, MUC 6) の発現が報告されており¹²⁾, 肝内大型胆管に関しては, 正常肝では MUC 3 が発現しているが, MUC 1, MUC 2, MUC 5/6 の発現はみられない¹³⁾。それに対し, 肝内結石症では慢性増殖性胆管炎を呈する大型胆管において MUC 3 に加え MUC 2, MUC 5 および MUC 6 が, また, 胆管壁内外で増生している腺組織では MUC 3 に加え, MUC 6 の高度の発現と MUC 2 の部分的な発現がある。これらの発現亢進は免疫組織学的に蛋白レベルでも, RT-PCR 法¹⁴⁾あるいは in situ hybridization 法⁷⁾を用いた mRNA レベルの検討でも報告されている (図 2)。

MUC 2 は大腸型ムチンとして知られており, 肝内結石症の胆管上皮では過形成性上皮や goblet cell に発現がある。MUC 5 AC は胃表層上皮型, MUC 6 は胃固有腺上皮型ムチンであり⁶⁾, 肝内結石症における増生付属腺での MUC 6 の著しい発現は, 組織学的にこれらの付属腺が幽門腺に類似していることと相反しない。さらに MUC 5 の発現は, 特に結石を有する胆管の被覆上皮にみられ, 肝内結石症の大型胆管でみられる MUC 5, MUC 6 の発現の分布は胃粘膜のそれと類似している。つまり, 肝内結石症の肝内胆管には, 胃粘膜化生が生じていることが示唆される。一方, MUC 2 と MUC 5 AC はいずれも分泌型ムチンであり, ゲル形成能を有し, 粘液層の粘稠性を高めていると考えられている⁶⁾。したがって正常胆管ではみられない MUC 2 および MUC 5 AC の過剰発現は, 粘稠な胆汁の形成に寄与していると推測され, 結石形成だけでなく, 胆汁うっ滞にも影響している可能性がある。

III. 細菌感染と粘液

従来より, 肝内結石症での結石形成過程には細菌感染と粘液の相互作用が結石の増大を含め, 重要であると考えられている^{11,11)}。実際に生体内では胆石にまわりつくように胆管壁より分泌された粘液と細菌叢, それにビリルビン色素が認められる⁹⁾。

肝内結石症の患者の胆汁からは主に *Klebsiella* 属, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* 属が¹⁵⁾, 胆管上皮からは *Campylobacter* 属菌が検出されており¹⁸⁾, 肝内結石の形成とこれらグラム陰性菌の関与が注目されてきたが, 最近, グラム陰性菌の壁構成成分であるリポポリ

サッカライド (LPS) と上皮における粘液産生との関係が in vitro の研究で明らかになりつつある。胆道系では LPS を培養胆管上皮細胞に作用させると粘液の分泌が増加すると報告されており^{17,18)}, さらにマウス胆管上皮細胞を用いた実験では LPS 刺激により MUC 2 および MUC 5 AC の発現が亢進することが分子生物学的に示されている¹⁹⁾。

これらの報告は, グラム陰性菌感染が粘液の分泌を促し, さらにその粘性を大きくしている可能性を示唆している。グラム陰性菌の作用は結石形成の成因としての粘液産生機構において重要な因子であると思われる。

IV. 胆汁と粘液

胆汁の主な有機成分は胆汁酸塩と胆汁色素で, その他コレステロール, レシチン (リン脂質) などを含む。肝内結石症では胆汁うっ滞もその成因における重要な因子であり, 胆汁成分についてもさまざまな角度から検討がなされている。これらのうち胆汁酸と胆管上皮からの粘液分泌との関与が報告されている。デオキシコール酸を用いた in vitro の実験において胆汁酸による胆管上皮のムチン分泌増加²⁰⁾, あるいは胆管上皮ムチンコア蛋白 (MUC 1, MUC 2, MUC 3, MUC 5 AC) の発現の亢進がみられる²¹⁾。

したがって, 胆汁酸が粘液産生を介した結石形成に関与している可能性があるが, しかし, その作用機序に関しては詳細な検討はなされておらず, 今後のさらなる研究が必要であると思われる。

V. 粘液産生亢進の分子機構

結石形成の要因である粘液過分泌を誘導する因子の解明が試みられており, しだいに明らかになりつつある。ここでは LPS による MUC の発現の分子機構とアラキドン酸活性化を介した粘液分泌亢進について述べる。

1. LPS による MUC 発現の分子機構

当教室のマウス培養胆管上皮細胞を用いた実験では LPS 刺激による胆管上皮の MUC 2, MUC 5 AC の発現亢進過程には上皮細胞からの TNF- α 産生と細胞内シグナルとして protein kinase C (PKC) の活性化が関与していることが示唆された (図 3)。すなわち, 培地内に添加された LPS は培養胆管上皮と CD 14 を介して反応し, 細胞内シグナルを介して TNF- α の転写活性を促し, さらに TNF- α の細胞外分泌が亢進

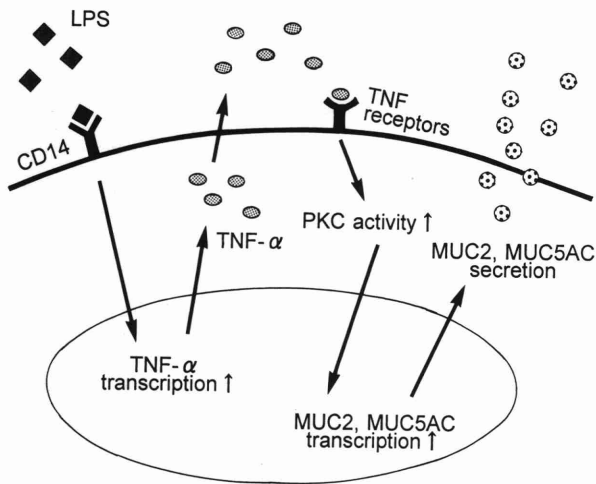


図 3 MUC 2, MUC 5 AC 発現の分子機構

する。培地内に分泌された TNF- α は autocrine, paracrine 的な作用により、培養胆管上皮と TNF レセプター (CD 120 a, CD 120 b) を介して反応する。その後、細胞内 PKC の活性化を介して MUC 2, MUC 5 AC の転写活性が誘導されると考えられた¹⁹⁾。

MUC 2 と MUC 5 AC 発現の分子機構については、粘液過分泌がその病態と深く関連する呼吸器系あるいは大腸上皮細胞において多くの検討がなされており、TNF- α および PKC を介した MUC 2, MUC 5 AC の発現以外に、細胞内情報伝達系として MEK 1/2-MAPK の関与が示唆されている。近年、MUC 2 と MUC 5 AC の遺伝子は染色体 11 p 15.5 の 400 kb の領域に近接して存在することが明らかにされており²²⁾、また、MUC 2 と MUC 5 AC の発現パターンは類似していることが知られている。したがって、MUC 2, MUC 5 AC の発現は共通の細胞内シグナルで制御されていると推測され、これらゲル形成能を有する MUC の発現の抑制を考える上で、さらなる伝達機構の解析が必要であると思われる。

2. アラキドン酸代謝の活性化

アラキドン酸を基質としてシクロオキシゲナーゼ (cylooxygenase ; COX) が活性化することにより合成されるプロスタグランジン (prostaglandin ; PG) は細胞機能調節や炎症、分化・増殖に深く関わっている。特に COX-2 は炎症性サイトカインなどで誘導される酵素で、その作用は多種多様である。

最近、粘液産生においても COX-2 の関与があると報告されており、胆道系においてもムチンの分泌亢進は COX-2 を介することが示唆されている¹⁸⁾。田中らの報告によると、肝内結石症例の慢性増殖性胆管炎を呈する肝内胆管では分泌型低分子ホスホリパーゼ A₂ (sPLA₂)、COX-2、PGE レセプター (EP) の発現が亢

進しており、さらに、培養胆管上皮細胞を用いた実験では EP 4 アンタゴニスト添加により細胞のムチン分泌能が減少している²³⁾。PLA₂ はリン脂質を加水分解する酵素であり、遊離アラキドン酸を産生する。結石形成部位においてアラキドン酸代謝は活性化しており、ムチン過剰分泌の病態因子であると推測される。また、気道上皮細胞を用いた実験では IL-1 β 刺激による MUC 2 および MUC 5 AC の発現亢進は COX-2 を介する²⁴⁾と報告しており、胆管上皮細胞における MUC 2, MUC 5 AC の過剰発現にも COX-2 が関与している可能性がある。

COX-2 選択的阻害薬は臨床的有用性が認められており、アラキドン酸代謝の活性化が肝内結石症における粘液過分泌の病態因子として明らかとなれば、肝内結石症に対する薬物療法に応用できる可能性がある。現在、肝内結石症の治療法は外科的切除が主流であり、肝内結石症の治療につながる COX-2 と結石形成の関与のさらなる検討が望まれる。

おわりに

肝内結石症の成因は多因子かつ複雑であるが、少しずつその病態の解析が進み、結石の成因としての粘液産生の機序がしだいに明らかになりつつある。本稿では、胆管系からの粘液分泌の機序と結石形成への役割に関して述べた。肝内結石症の病態解明は、肝内結石症のみならず、肝内胆管系疾患そのものの病態の解明につながる重要な研究テーマであり、今後のさらなる分子病理学的・遺伝学的研究が必要と思われる。

参考文献

- 1) Maki T : Pathogenesis of calcium bilirubinate stone : role of *E. coli*, β -glucuronidase and coagulation by inorganic ions, polyelectrolytes and agitation. *Ann Surg* **164** : 90-100, 1966.
- 2) Nagashima H, Masubuchi M, Yoshizawa Z : Sulfated glycoproteins capable of coagulating calcium carbonate isolated from pathological human bile. *J Biochem* **75** : 779-786, 1974.
- 3) 正田純一, 加納雅仁, 浅野 徹, ほか : 肝内結石症におけるホスホリパーゼ A₂ とムチン遺伝子の発現. *胆と膵* **19** : 1037-1041, 1998.
- 4) Ringel J, Lohr M : The muc gene family : Their role in diagnosis and early detection of pancreatic cancer. *Mol Cancer* **2** : 9, 2003.
- 5) Gendler SL, Spicer AP : Epithelial mucin genes. *Annu Rev Physiol* **57** : 607-634, 1995.
- 6) Kim YS, Gum JR : Diversity of mucin genes, struc-

- ture, function, and expression. *Gastroenterology* **109** : 999-1013, 1995.
- 7) Sasaki M, Nakanuma Y, Kim YS : Expression of apomucins in the intrahepatic biliary tree in hepatolithiasis differs from that in normal liver and extrahepatic obstruction. *Hepatology* **27** : 54-61, 1988.
 - 8) Sasaki M, Nakanuma Y, Kim YS : Characterization of apomucin expression in intrahepatic cholangiocarcinomas nad their precursor lesions : an immunohistochemical study. *Hepatology* **24** : 1074-1078, 1996.
 - 9) Terada T, Nakanuma Y : Morphological examination of intrahepatic bile ducts in hepatolithiasis. *Virchow Archiv A* **414** : 167-176, 1988.
 - 10) Nakanuma Y, Yamaguti K, Ohta G, et al. : Pathologic features of hepatolithiasis in Lapan. *Hum Pathol* **19** : 1181-1186, 1988.
 - 11) Maki T, Nakamura N : Histological study on mucopolysaccharides in calcium stones. *Tohoku L Exp Med* **98** : 81-86, 1969.
 - 12) Vandenhoute B, Buisine MP, Aubert JP, et al. : Mucin gene expression in biliary epithelial cells. *J Hepatol* **27** : 1057-1066, 1997.
 - 13) Sasali M, Nakanuma Y, Kim YS, et al. : Biliary epithelial expression of MUC 1, MUC 2, MUC 3 and MUC 5/6 apomucins during intrahepatic bile ducts development and muturation : an immunohistochemical study. *Am J Pathol* **147** : 574-579, 1995.
 - 14) Shoda J, Kano M, Tanaka N, et al. : Secretary low-molecular-weight phospholipases A₂ and their specific receptor in bile ducts of patients with intrahepatic calculi : facters of chronic proliferative cholangitis. *Hepatology* **29** : 1026-1036, 1999.
 - 15) Sheen-Chen S, Chen W, Lee T, et al. : Bacteriology and antimicrobial choice in hepatolithiasis. *Am J Infect Control* **28** : 298-301, 2000.
 - 16) Harada K, Ozaki S, Nakanuma Y, et al. : Frequent molecular identification of *Campylobacter* but not *Helicobacter* genus in bile and biliary epithelium in hepatolithiasis. *J Pathol* **193** : 218-223, 2001.
 - 17) Choi J, Klinkspoor H, Lee SP, et al. : Lipopolysaccharide from *Escherichia Coli* stimulates mucin secretion by cultured dog gallbladder epithelial cells. *Hepatology* **29** : 1352-1357, 1999.
 - 18) Kim HJ, Lee SK, Min YI, et al. : Cyclooxygenase-2 mediates mucin secretion from epithelial cells of lipopolysaccharide-treated canine gallbladder. *Dig Dis Sci* **48** : 726-32, 2003.
 - 19) Zen Y, Harada K, Nakanuma Y, et al. : Lipopolysaccharide induces overexpression of MUC 2 and MUC 5 AC in cultured biliary epithelial cells. *Am L Pathol* **161** : 1475-1484, 2002.
 - 20) Klinkspoor JH, Yoshida T, Lee SP : Bile salts stimulate mucin secretion by cultured dog gallbladder epithelial cells independent of their detergent effect. *Biochem J* **332** : 257-262, 1998.
 - 21) 全 陽, 片柳和義, 中沼安二, ほか : 菌体成分刺激による培養肝内胆管上皮でのムチン産生の変化. 厚生省特定疾患肝内結石症調査研究斑平成 11 年度研究報告書, 2000.
 - 22) Pigny P, Guyonnet-Duperat V, Porchet N : Human mucin genes assigned to 11 p 15.5 : identification and organization of acluster of genes. *Genomics* **38** : 340-352, 1996.
 - 23) 田中直見 : 慢性増殖性胆管炎—新しい病態因子の解析とそれらの治療への応用. 厚生労働省特定疾患肝内結石症調査研究斑, 平成 14 年度研究報告書, 40-47, 2003.
 - 24) Kim Y, Kwon E, Beak S, et al. Interleukin-1 β induces MUC 2 and MUC 5 AC synthesis through cyclooxygenase-2 in NCI-H 292 cells. *Mol Pharm* **62** : 1112-1118, 2002.

* * *