

# Expression of Toll-like Receptor on Biliary Mucosa and its Dysregulation: Molecular Pathological Study by Using Cultured Biliary Epithelial Cells and Hepato-Biliary Tissue

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: Nakanuma, Yasuni メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.24517/00034728">https://doi.org/10.24517/00034728</a>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



---

胆管粘膜でのToll-like receptorの発現とその制御異常  
—培養胆管上皮および肝・胆管組織を用いた分子病理学的研究—

---

15390114

平成15年度～平成18年度科学研究費補助金  
(基盤研究(B)) 研究成果報告書

金沢大学附属図書館



0800-04415-0

平成19年5月

研究代表者 中沼安二  
金沢大学医学系研究科教授

## はじめに

研究代表者 中沼安二  
(金沢大学医学系研究科形態機能病理学研究分野・教授)

自然免疫は外界に対する生体防御、特に感染防御の第一線に位置する。自然免疫研究は従来、主に古典的な炎症性細胞を用いて進められて来た。また近年、自然免疫に関連する細胞が Toll-like receptor (TLR)ファミリーやその他の自然免疫受容体を介して病原体成分 PAMPs(Pathogen associated molecular patterns)を特異的に認識し、細胞内シグナル伝達を介し、炎症・免疫応答を誘導し、その後の獲得免疫活性化に深く関与していることが明らかとなりつつある。自然免疫受容体は、内因性物質や合成物質をも認識し、合成あるいは内因性リガンドを用いた免疫療法も試みられている。

胆管系は、その解剖学的特性から、外界（胃腸管）に対する自然免疫の拠点を形成しており、病態形成における自然免疫の関与を研究するモデル臓器と言える。そこで本研究では、胆管粘膜での TLR の発現とその制御異常を、培養胆管上皮および肝・胆管組織を用いて、分子病理学的に研究する。胆管系の生体防御と病態形成における TLR を中心とした自然免疫の関与を明らかにし、さらに自然免疫制御による新しい胆管疾患の治療法の開発を模索する。

### 結果の概要

- ① 胆管系自然免疫とトレランスの解析：肝細胞および胆管細胞は機能的なTLRを発現し、細菌菌体成分などのPAMPs刺激に対して自然免疫応答を示す。しかし、生理的状态では常在菌体成分に対する不応答性(トレランス)が組織のホメオスターシスの維持に重要である。培養胆管細胞を用いた検討にて、TLR4リガンドであるLPSで2段階刺激を行いエンドトキシントレランスが誘導されることを明らかにし、更にTLR細胞内シグナル伝達の負の制御因子であるIL-1R-associated kinase-M(IRAK-M)がトレランス誘導に関与していることも明らかにした。肝胆道における生理的ホメオスターシスの維持にPAMPsに対するトレランスが重要であり、このトレランスの破綻が疾患特異な病態を形成する可能性も想定される。
- ② サイトカイン環境が自然免疫に及ぼす影響：慢性炎症性疾患の病態形成におけるTh1/Th2サイトカインバランスの関与が知られているが、肝胆道系疾患においてもサイトカインバランスの偏位が報告されている。このようなサイトカイン環境が自然免疫に及ぼす影響を検討した結果、胆管細胞はTh1型サイトカイン環境下でTLR発現が亢進し、さらにPAMPs刺激に対する感受性も亢進することを明らかにした。この結果は、自己免疫などの獲得免疫に起因する自然免疫の異常が胆道系疾患の病態形成に関与していることを示唆する。
- ③ 胆道閉鎖症におけるレオウイルス科ウイルスの関与：胆道閉鎖症の原因として二本鎖RNAウイルスであるレオウイルス科ウイルスの感染が推測されている。培養胆管細胞は二本鎖RNAの認識受容体であるTLR3を発現し、二本鎖RNAの合成アナログ(Poly(I:C))刺激にてNF- $\kappa$ B活性化およびIFN- $\beta$ 1産生が誘導され、さらにアポトーシス誘導分子であるTRAILの発現亢進がみられた。またin vivoの検討においても肝外胆管は恒常的にTLR3とTRAILを発現し、また胆道閉鎖症の胆管上皮におけるNF- $\kappa$ Bの活性化が証明された。これらの結果より、胆管細胞は二本鎖RNAウイルスに対する自然免疫応答を有しているが、アポトーシスを介した胆管細胞

死の感受性亢進も誘導され、レオウイルス科ウイルス感染が胆道閉鎖症の胆管消失に直接関与していることが示唆された。

- ④ 胆管炎に対する**PPAR $\gamma$** リガンド療法の開発：**PPAR $\gamma$** は抗炎症作用を示す因子であるが、原発性胆汁性肝硬変の傷害胆管で発現が低下している。**PPAR $\gamma$** の内因性リガンドおよび合成リガンドが、培養胆管細胞における**PAMPs**刺激誘導性自然免疫応答を抑制する事を明らかにした。さらに、**PPAR $\gamma$** リガンドが**MRL/lpr**マウスの胆管炎を軽減させ、またフラクタルカインの制御が炎症の軽減に重要であることを見出した。ヒトへの応用に向け、培養細胞および動物モデルので基礎的データを更に蓄積中である。

#### まとめ

胆管疾患の病態形成への **TLR** を中心とした自然免疫の関与と自然免疫制御による治療法の開発に新知見を得つつあり、具体的な疾患において臨床応用の可能性が出て来た。

## 目次

はじめに.....	2
研究組織.....	5
交付決定額（配分額） .....	5
研究発表.....	5
ア. 学会誌発表 .....	5
イ. 口頭発表.....	7
ウ. 出版物発表.....	8
研究成果による工業所有権の出願・取得状況.....	8
研究成果.....	9

## 研究組織

研究者代表 : 中沼安二 (金沢大学医学系研究科教授)  
研究分担者 : 佐々木素子 (金沢大学医学系研究科准教授)  
研究分担者 : 原田憲一 (金沢大学医学系研究科准教授)  
研究分担者 : 佐藤保則 (金沢大学医学系研究科講師)

## 交付決定額 (配分額)

	直接経費	間接経費	合計
平成 15 年度	7,700,000	0	7,700,000
平成 16 年度	4,500,000	0	4,500,000
平成 17 年度	1,100,000	0	1,100,000
平成 18 年度	800,000	0	800,000
総計	14,100,000	0	14,100,000

## 研究発表

### ア. 学会誌発表

M. Sasaki, SF. Huang, YY. Jan, TS. Yeh, A. Ishikawa, J. Mollenhauer, A. Poustka, K. Tsuneyama, Y. Nimura, K. Oda, Y. Nakanuma Expression of deleted in malignant brain tumor-1 (DMBT1) molecule in biliary epithelium is augmented in hepatolithiasis: possible participation in lithogenesis Dig Dis Sci 2003 Jul; 48(7): 1234-1240

K. Harada, S. Ohira, K. Isse, S. Ozaki, Y. Zen, Y. Sato, Y. Nakanuma Lipopolysaccharide activates nuclear factor-kappaB through Toll-like receptors and related molecules in cultured biliary epithelial cells Lab Invest 2003 Nov; 83(11): 1657-1667

MZ. Zhang, W. Mai, C. Li, SY. Cho, C. Hao, G. Moeckel, R. Zhao, I. Kim, J. Wang, H. Xiong, Wang, Y. Sato, Y. Wu, Y. Nakanuma, M. Lilova, Y. Pei, RC. Harris, S. Li, RJ. Coffey, L. Sun, D. Wu, XZ. Chem, MD. Breyer, Z. I. Zhao, JA. McKanna, G. Wu PKHDI protein encoded by the gene for autosomal recessive polycystic kidney disease associates with basal bodies primary cilia in renal epithelial cells Proc Natl Acad Sci USA 2004 Feb 24 ; 101(8): 2311-2316

M. Sasaki, H. Ikeda, S. Ohira, A. Ishikawa, Y. Nakanuma Expression of trefoil factor family 1,2 and 3 peptide is augmented in hepatolithiasis  
Peptides 2004; 25 : 763-770

佐田 通夫, 久持 顕子, 中沼 安二, 鹿毛 政義, 各務 伸一, 沖田 極  
痩せ薬・健康食品による薬物性肝障害 2次全国調査集計結果 (日本肝臓学会主催)  
肝臓 2004 ; 45(2): 96-108

中沼 安二 PBC, PSCの最近の話題: 編集後記 肝胆膵 2004 ; 49(2): 276

佐々木 素子 原発性胆汁性肝硬変 (PBC) における胆管消失の分子機構: 胆管消失は再生不良によるか? 金沢大学十全医学会雑誌 2004 Jun ; 113(2): 61-65

U. Yoshida-Koide, T. Matsuda, K. Saikawa, Y. Nakanuma, T. Yokota, M. Asashima, H. Koide Involvement of Ras in extraembryonic endoderm differentiation of embryonic stem cells  
Biochem Biophys Res Commun 2004 Jan 16; 313(3): 475-481

K. Isse, K. Harada, Y. Zen, T. Kamihira, S. Simoda, M. Harada, Y. Nakanuma Fractalkine and CX3CR1 are involved in the recruitment of intraepithelial lymphocytes of intrahepatic bile ducts  
Hepatology 2005 Feb 22; 41(3): 506-516

青山 肇, 中沼 安二 原発性硬化性胆管炎の病理組織と類縁疾患  
消化器画像 2005; 7(3): 339-346

一瀬 久美子, 原田 憲一, 中沼 安二 胆管に発現するケモカイン, サイトカイン  
肝胆膵 2005; 51(4): 497-504

K. Harada, K. Isse, Y. Nakanuma Interferon- $\gamma$  accelerates NF- $\kappa$ B activation of biliary epithelial cells induced by Toll-like receptor and ligands interaction  
J Clin Pathol 2006 Feb; 59(2): 184-190

S. Ohira, K. Itatsu, M. Sasaki, K. Harada, Y. Sato, Y. Zen, A. Ishikawa, K. Oda, N. Nagasaka, Y. Nimura, Y. Nakanuma Local balance of transforming growth factor- $\beta$ 1 secreted from cholangiocarcinoma cells and stromal-derived factor-1 secreted from stromal fibroblasts is a factor involved in invasion of cholangiocarcinoma  
Pathol Int 2006 Jul; 56(7): 381-389

Y. Zen, Y. Nakanuma A case of multifocal fibrosclerosis involving posterior

mediastinal fibrosis, retroperitoneal fibrosis, and a left seminal vesicle with elevated serum IgG4-reply Hum Pathol 2006 Sep; 37(9): 1239-1240

中沼 安二, 一瀬 久美子, 全 陽 胆道 病理と臨床 2006; 24(臨時増刊号): 102-111

佐藤 保則, 原田 憲一, 中沼 安二 増殖因子/受容体発現異常と胆管疾患 肝胆膵 2006 Dec; 53(6): 1109-1116

全 陽, 吉川 成一, 中沼 安二 硬化性胆管炎の病理学的鑑別 肝胆膵 2007; 54(2):249-259

M. Sasaki, H. Ikeda, S. Sawada, Y. Sato, Y. Nakanuma Naturally-occurring regulatory T cells are increased in inflamed portal tracts with cholangiopathy in primary biliary cirrhosis J Clin Pathol 発表予定

M. Sasaki, K. Itatsu, H. Minato, H. Takamura, T Ohta, Y. Nakanuma Flare-up of nonalcoholic steatohepatitis after hepatectomy resulted in hepatic failure in a patient with type 2 diabetes mellitus Dig Dis Sci 発表予定

## イ. 口頭発表

中沼 安二 宿題報告：肝内胆管の病理—原発性胆汁性肝硬変を中心に—  
第93回日本病理学会 平成16年6月

小坂 一斗, 中沼 安二, 松井 修 肝腫瘍部/非腫瘍部肝実質インターフェイスの病理：門脈域の変化を中心に 第40回日本肝癌研究会 平成16年6月

原田 憲一, 一瀬 久美子, 尾崎 聡, 中沼 安二 培養胆管上皮細胞におけるエンドトキシントレランスの誘導 第8回日本肝臓学会大会 平成16年10月

富士井 孝彦 肝細胞癌, 肝門部肝内胆管癌重複癌の1剖検例  
第41回日本肝癌研究会 平成17年6月

中沼 安二 パネルディスカッション「自己免疫膵炎における胆道病変」基調講演：自己免疫性膵炎の膵外病変 第6回臨床消化器病研究会 平成17年7月

中沼 安二, 全 陽, 北川 諭, 富士井 孝彦, 板津 慶太, 石川 玲 ワークショップ「粘液産生性乳頭状胆管腫瘍」肝内胆管内腔にみられる乳頭状腫瘍



第 41 回日本胆道学会学術集会 平成 17 年 9 月

澤田 星子, 佐々木 素子, 原田 憲一, 佐藤 保則, 中沼 安二 黄色肉芽腫性胆嚢炎における大腸菌感染, スカベンジャー受容体の関与 第 36 回日本肝臓学会西部会 平成 17 年 11 月

小坂 一斗, 寺山 昇, 小林 聡, 眞田 順一郎, 蒲田 敏文, 松井 修, 中沼 安二, 北川 清秀, 川森 康博, 堀地 肝腫瘍部/非腫瘍部肝実質インターフェイスにおける病理 (門脈域の変化) と画像の対比梯 第 12 回肝血流動態イメージ研究会 平成 18 年 1 月

佐藤 保則, 中沼 安二 小児期胆汁うっ滞の病理 第 95 回日本病理学会総会 平成 18 年 4 月

古坊 真一, 野崎 佑介, 原田 憲一, 八十島 満枝, 中沼 安二 先天性肝線維症合併カロリー病動物モデル PCK ラット肝における Notch シグナル関連分子の発現とその意義 (第 2 報) 第 95 回日本病理学会総会 平成 18 年 4 月

佐々木 素子, 池田 博子, 澤田 星子, 佐藤 保則, 中沼 安二 原発性胆汁性肝硬変における制御性 T 細胞 (Treg) の肝内分布とその意義 第 42 回日本肝臓学会総会 平成 18 年 5 月

佐藤 保則, 全 陽, 原田 憲一, 佐々木 素子, 中沼 安二 肝限局性結節性過形成 (FNH) における中心癒痕の形成機序に関する検討 第 96 回日本病理学会総会 平成 19 年 3 月

## ウ. 出版物発表

BC. Portmann, Y. Nakanuma Diseases of the bile ducts  
In: MacSween's Pathology of the Liver 5<sup>th</sup> Ed, Eds: AD Burt, BC Pormann, LD Ferrell, Churchill Livingstone Elsevier, pp517-581, 2006

## 研究成果による工業所有権の出願・取得状況

なし