



Breach of tolerance versus burden of bile acids : Resolving the conundrum in the immunopathogenesis and natural history of primary biliary cholangitis

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2024-10-15 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 山下, 真帆 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/0002000248

博士（医学）山下 真帆

論文題目

Breach of tolerance versus burden of bile acids: Resolving the conundrum in the immunopathogenesis and natural history of primary biliary cholangitis

（免疫寛容破綻と胆汁酸負荷：原発性胆汁性胆管炎の免疫病態と自然経過における難問を解決する）

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

生体は、自己抗原とは反応しないという免疫寛容のシステムを有している。これが破綻すると、自己抗原に対しても免疫応答を起こし、自己免疫疾患が惹起される。

原発性胆汁性胆管炎（PBC）は、肝内小型胆管の炎症や破壊によって引き起こされる慢性胆汁うっ滞型の自己免疫性肝疾患で、最終的には肝硬変から肝不全に至る。現在、治療薬として、ウルソデオキシコール酸が第一選択として使用されているが、原因・発症機序は未だ不明であり、完全寛解をもたらす薬剤はない。我々は、抗ミトコンドリア抗体（AMA）の対応抗原類似構造化学物質 2-octynoic acid（2OA）をマウスの腹腔内に投与し免疫寛容を破綻する方法で、PBC モデルマウスを作成してきた。このモデルマウスでは、AMA の出現と肝内に PBC 様の胆管炎所見が出現するが、肝線維化進展・肝硬変に至る事はなかった。

我々は、この要因の一つとして、マウスとヒトの胆汁酸組成が異なることがあると考えた。マウスでは、6 β 水酸化酵素である Cytochrome（Cyp）2c70 によりケノデオキシコール酸（CDCA）を親水性で細胞保護作用の高いミュリコール酸（MCA）に変換し、また 7 α 水酸化酵素 Cyp2a12 により、二次胆汁酸デオキシコール酸（DCA）を一次胆汁酸コール酸（CA）にしている。近年、この 2 つの水酸化酵素をノックアウトした double knockout（DKO）マウスが報告された。この DKO マウスは、従来のマウスと胆汁酸の組成が異なり、CDCA・DCA が多く、ヒトの胆汁酸組成に近いモデルマウスである。この DKO マウスを用いて、PBC モデルマウスの作成を行い、胆汁酸が胆管炎や肝線維化に及ぼす影響について検討した。

〔材料ならびに方法〕

実験開始時（0 週）と 2 週後に、C57BL/6 マウス（WT）と DKO マウスに 2OA を投与して PBC モデルマウスを作成した。コントロール群には PBS を投与した。8 週もしくは 24 週後に採血、肝臓・胆嚢を摘出し、胆管炎と肝線維化について評価した。本学動物実験委員会（承認番号：2019005）の承認のもと実験を実施した。

[結果]

2OA 投与 8 週後の DKO + 2OA 群は、従来の WT + 2OA 群よりも病理組織学的に portal inflammation、bile duct damage の有意な増悪を認めた。また、肝組織中の炎症性サイトカイン tumor necrosis factor α (TNF α)、ケモカイン C-X3-C motif chemokine ligand 1 (CX3CL1) の発現も有意に増加した。

肝線維化について、Sirius Red 染色で評価すると、従来の WT マウスに 2OA を投与しても肝線維化進展は認めなかったが、DKO マウスに 2OA を投与すると有意な肝線維化の進行を認めた。また、WT + 2OA マウスよりも肝線維化マーカーである collagen type I α 1 Chain (Col1A1)、transforming growth factor β 1 (TGF- β 1)、matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) の上昇を認めた。

マウスの血清肝胆道系酵素を測定すると、2OA の投与に関わらず、WT マウスより DKO マウスで、aspartate transaminase (AST) と alanine transaminase (ALT) の上昇を認めた。

2OA を投与すると、DKO マウスの血清総胆汁酸量の増加と胆汁中総胆汁酸量の低下を認めた。WT マウス、DKO マウスともに、2OA を投与しても、胆汁酸組成に変化は見られなかった。

肝組織中の核内受容体・関連因子を PCR で評価すると、multidrug resistance-associated protein (Mrp) 3、organic solute transporter β (Ost β)、multidrug resistance protein (Mdr) 2 や Mdr1a などの胆汁酸排泄トランスポーターや、pregnane X receptor (PXR) の標的遺伝子である Cyp3a11 の発現増加を認めた。一方、胆汁酸生合成経路に関わる Cyp7a1、Cyp8b1 の発現は有意に低下を認めた。

胆汁酸の長期作用をみた 24 週群では、DKO マウスでは control 群においても 8 週群と比較して、portal inflammation、bile duct damage、lobular inflammation の増悪を認めた。さらに 2OA を投与すると、portal inflammation、bile duct damage、lobular inflammation、granuloma の増悪を認めた。また、肝組織中の炎症性サイトカイン TNF α 、TNF α の発現も有意に増加した。線維化スコアは、有意差は見られなかったが、増悪傾向にあり、線維化マーカーの TGF- β 1 の上昇を認めた。24 週群においても、2OA 投与により、DKO マウスの血清総胆汁酸濃度の増加が見られた。8 週群同様、2OA 投与により AST、ALT の変化は見られなかった。

[考察]

マウスの胆汁酸組成をヒトに類似した疎水性胆汁酸に変化させたことにより、2OA-PBC モデルマウスの胆管炎の増悪と肝線維化の進展をきたした。さらに疎水性胆汁酸が長期作用することで胆管炎・線維化の増悪を認めた。DKO + 2OA マウスでは肝細胞障害は認めず、胆汁うっ滞により血清総胆汁酸濃度が上昇した。また、DKO + 2OA マウスでは肝組織中の総胆汁酸量の上昇は見られず、胆汁酸排泄トランスポーターの発現が亢進し、取り込みトランスポーターや胆汁酸合成経路の主要酵素の発現が低下していることから、肝細胞への疎水性胆汁

酸の蓄積を防ぐ防御機構が活性化されていることが示唆される。

本研究より、免疫寛容の破綻が PBC 発症を誘導し、胆汁うっ滞による疎水性胆汁酸の作用が PBC の病態を進行させていると考えられた。免疫寛容の破綻と疎水性胆汁酸の両者が PBC の自然発症に不可欠であると考ええる。

〔結論〕

ヒト胆汁酸組成に近づけた Cyp2c70/Cyp2a12 DKO マウスを用いた 2OA-PBC モデルは従来の 2OA-PBC モデルマウスよりも胆管炎の増悪し肝線維化進展も認めた。本モデルマウスは今後 PBC の病態解明、肝線維化研究を進めるうえで有用である。