

# 論文内容要旨

## Usefulness of serum amyloid A as an inflammatory biomarker in ulcerative colitis and its expression mechanism in intestinal epithelium

(血清アミロイド A の潰瘍性大腸炎における炎症性バイオマーカーとしての有用性とその腸管上皮における発現機構の解析)

### 1) Serum amyloid A is a better predictive biomarker of mucosal healing than C-reactive protein in ulcerative colitis in clinical remission

(臨床的寛解期にある潰瘍性大腸炎において、SAA は CRP よりも優れた粘膜治癒の予測バイオマーカーである)

BMC Gastroenterology, 20:85, 2020.

### 2) Promoting mechanism of serum amyloid a family expression in mouse intestinal epithelial cells

(マウス腸管上皮細胞における血清アミロイドAの発現メカニズム)

PLoS ONE, 17(3), 2022.

主指導教員：岡 志郎 教授

(医系科学研究科 消化器内科学)

副指導教員：伊藤 公訓 教授

(広島大学病院 総合診療医学)

副指導教員：相方 浩 准教授

(医系科学研究科 消化器内科学)

若井 雅貴

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

## 【背景】

ヒト SAA は SAA1-4 が存在しており、SAA1 と SAA2 は炎症性蛋白として発現、SAA3 は偽遺伝子であり人では発現していない。SAA4 は HDL の構成タンパク質で炎症時には変動しない。

SAA は特定の疾患において、CRP より優れた炎症性バイオマーカーとされるが、潰瘍性大腸炎(UC)においては不明である。

一方で SAA はただの炎症反応性タンパク質ではなく、炎症誘導の一端を担っていると報告されている。既報では SAA1 は Th17 の分化を促し、IL-17 等のサイトカインを産生し炎症を誘導するとされる。

SAA は肝臓だけでなく炎症局所でも発現する点で CRP と異なり、腸管上皮においても発現が確認されている。腸管上皮において SAA の発現を促進する炎症性サイトカインとして癌細胞株では IL1、IL-6、TNF- $\alpha$ 、LPS の報告があるが、正常細胞においては IL-22 が SAA1 発現を促進する報告があるのみで知見が不足しており、腸管上皮における発現機構についてはまだ不明な点が多い。

## 【目的】

Study1: SAA が CRP と比較して UC の内視鏡的活動性を予測する有用なマーカーかどうか検討した。

Study2: 腸炎における SAA の主な発現臓器と、正常腸管における SAA の発現メカニズムについて検討した。

## 【対象と方法】

Study1: 2010/4/1～2017/3/31 に広島大学病院で施行した臨床的寛解期の UC 患者のうち、SAA と CRP の測定が内視鏡検査の前後 1 ヶ月以内に行われ、またその間に新規治療を導入していない患者 108 名、内視鏡検査 199 件を対象とし検討を行った。SAA、CRP と内視鏡所見との相関、また粘膜炎症に対する SAA、CRP の感度、特異度を算出した。

Study2: SAA は SAA1-4 存在するが、ヒトとマウスの SAA1 は相同性が高いため、本研究では、主に SAA1 の腸炎における役割に着目した。デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘発腸炎マウスモデルを用いて肝臓と腸管各所での SAA と CRP の発現を PCR にて比較した。また、マウス正常小腸オルガノイドを各種サイトカインや TLR リガンドで刺激し、SAA の発現を PCR、蛍光免疫染色で調べた。5-アセチルサリチル酸(5-ASA) の NF- $\kappa$ B 経路における p65 のリン酸化を抑制するとの薬理作用に着目し、小腸オルガノイドにおいてフラジェリンで NF- $\kappa$ B の刺激を行った上で、5-ASA を添加し SAA の

発現が抑制されるかどうか PCR にて解析を行った。さらに 5-ASA が実際に p65 のリン酸化を抑制したか確認するためウエスタン・ブロッティング (WB) を行った。

#### 【結果】

**Study1:** 臨床的寛解期 UC 患者において内視鏡所見と SAA には CRP よりも強い相関が認められた(スピアマンの順位相関係数:  $r=0.614$ (SAA),  $r=0.352$ (CRP))。SAA、CRP の曲線下面積 (AUC) は SAA で 0.807、CRP で 0.701 であり SAA の方が統計学的有意差を持って粘膜炎症を予測する優れたマーカーだった。また、SAA は感度 0.722、特異度 0.850、CRP は感度 0.620、特異度 0.758 でありいずれも SAA の方が優れていた。

**Study2:** DSS 誘発腸炎マウスモデルにおいて、SAA 発現は腸管にも認められたが、主に肝臓で発現していた。一方で CRP は腸管において発現を認めなかった。

IL-22 以外に IL-6、TNF- $\alpha$  も、正常な腸管上皮において統計学的有意差をもって SAA1 発現を促進した。また、TLR リガンドであるフラジェリンは SAA1 の発現レベルを有意に上昇させた。さらに NF- $\kappa$ B 阻害剤の添加により、その発現を抑制した。SAA1 の蛋白発現については小腸オルガノイドの蛍光免疫染色を行いフラジェリンが SAA1 の発現を強く誘導すること、NF- $\kappa$ B 阻害剤が SAA1 発現を抑制することを確認した。

また、正常小腸オルガノイドにおいて 5-ASA を添加することでフラジェリン刺激による SAA1 の発現が抑制されること、フラジェリン刺激後 3 時間で 5-ASA による p65 のリン酸化が抑制されることを WB で確認した。以上から、フラジェリンによる TLR 刺激は NF- $\kappa$ B を介し SAA1 の発現を促進するが、5-ASA はこの経路を阻害し SAA1 の発現を抑制することが確認できた。

#### 【結論】

臨床的寛解 UC において、SAA は CRP より優れた炎症性バイオマーカーである。SAA は腸管でその発現が認められ、また CRP と比較し様々なサイトカインや TLR リガンドで発現誘導される。このことは SAA が優れたバイオマーカーである理由の 1 つであると考えられた。また、NF- $\kappa$ B 経路を介した 5-ASA による SAA 抑制は、抗炎症作用を有する 5-ASA の薬理作用の一つである可能性がある。