

## 審査の結果の要旨

氏名 相原美紀

本研究は種々の消化器(性)疾患との関連が明らかにされている *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) の感染にともなう胃粘膜局所で引き起こされる炎症反応において、重要な役割を果たしている IL-8 (Interleukin-8) の遺伝子転写調節を胃癌細胞株を用いて調べたものであり、下記の結果を得ている。

1. 種々の胃癌細胞株を *H. pylori* 生菌と co-culture すると IL-8 の産生が惹起された。またその産生は細胞と *H. pylori* 生菌を接着させた場合のみ誘導されることを明らかにし、cell-cell contact が重要であることを示唆した。さらに、その産生誘導は mRNA の発現増強をともなうことより、遺伝子転写レベルで起こることを示した。
2. *H. pylori* による IL-8 産生誘導の細胞内シグナル伝達を各種 protein kinase 阻害剤を用いて調べたところ、protein kinase A 阻害剤である H89 および protein kinase C 阻害剤である staurosporine で前処理した場合は *H. pylori* による IL-8 産生誘導に影響を与えなかったが、protein tyrosine kinase (PTK) 阻害剤である herbimycin は 0~1 $\mu$ M の濃度で用量依存的にその産生量を抑制することを示した。この事は、*H. pylori* による胃癌細胞からの IL-8 の産生誘導に PTK が重要に関与していることを示唆している。
3. *H. pylori* による IL-8 遺伝子転写調節機構を解析するために、IL-8 の遺伝子転写活性化に重要な転写調節領域である NF- $\kappa$ B, NF-IL-6, AP-1 を含んだルシフェラーゼ発現プラスミドを MKN45 細胞に導入しルシフェラーゼアッセイを行ったところ、wild type では *H. pylori* 刺激

によって顕著にルシフェラーゼ活性が誘導されたが、NF- $\kappa$ B 結合部位に点突然変異を含むプラスミドを導入した細胞ではその活性がほとんど消失し、AP-1 結合部位に点突然変異を含むプラスミドではその活性の 70~80%が阻害された。これらのことより MKN45 細胞における *H. pylori* による IL-8 転写領域の活性化には NF- $\kappa$ B、AP-1 の結合部位が重要であることを明らかにした。

4. *H. pylori* で刺激した MKN45 細胞の核内蛋白を抽出し、NF- $\kappa$ B の oligonucleotide をプローブとして EMSA (Electrophoretic Mobility Shift Assay)を行ったところ、細胞の核蛋白からは 2 つの複合体が検出され、特異性試験よりこの本体は NF- $\kappa$ B であることが示された。これらの結果から、*H. pylori* による IL-8 遺伝子転写活性化には NF- $\kappa$ B の活性が必須であることが示された。

以上のように、*H. pylori* によりヒト胃癌細胞株における IL-8 遺伝子の転写調節の変化の機構を明らかにした。本研究はこれまで明らかではなかった、*H. pylori* による胃粘膜傷害における IL-8 の役割の理解に重要な貢献をなすと考えられ、学位(医学)の授与に値するものである。