

[別紙 2]

### 審査の結果の要旨

氏名 平田 喜裕

*Helicobacter pylori* (以下 *H. pylori*) 感染は宿主におけるさまざまな反応を惹起し病態形成に関与している。本研究は *H. pylori* 感染により観察される上皮の細胞増殖反応のメカニズムを明らかにするため、細胞周期関連分子の発現および細胞内シグナルを解析しており、下記の結果を得ている。

- 1 *H. pylori* を培養細胞に感染させ、サイクリンD1 遺伝子の発現が亢進することをノーザンブロットで明らかにした。この変化は時間および *H. pylori* の菌量依存性であった。またサイクリンD1 遺伝子のプロモーター領域をもつレポータープラスミドを用い、*H. pylori* 感染がプロモーターを活性化することを明らかにした。
- 2 *H. pylori* の病原因子としては *cagPAI* がサイクリンD1 プロモーターの活性化、遺伝子発現に重要であった。
- 3 ノーザンブロットおよびレポーターアッセイにより *H. pylori* 感染によるサイクリンD1 遺伝子の発現増加には、*H. pylori* 感染が活性化する MAPK カスケードが重要であることを明らかにした。
- 4 *cagPAI* 遺伝子依存性の細胞増殖シグナル活性化の原因を明らかにするため、CagA 蛋白を一過性に培養細胞内に発現させる実験を行い、serum

response element (SRE) および serum response factor (SRF) からの転写が亢進することを明らかにした。

- 5 EMSA および ウェスタンブロットを行い、CagA 蛋白は転写因子の Elk1 蛋白のリン酸化を亢進し DNA 結合能を増加させることにより SRE からの転写を亢進させることを示した。
- 6 CagA 蛋白を truncate し SRE 活性化に関与するアミノ酸配列を検討し、872-950 アミノ酸の部分が重要であることを明らかにした。またチロシン残基の変異蛋白を発現させることにより、CagA 蛋白のチロシンリン酸化はこの活性化に関与しないことを示した。
- 7 CagA 蛋白の SRE の活性化は、Ras、MEKK など MAPK カスケードを介していた。さらに CagA 蛋白の発現によりサイクリン D1 プロモーターが活性化された。

以上、本論文は *H. pylori* 感染が活性化する細胞増殖メカニズムを、細胞周期関連遺伝子の発現、制御および *H. pylori* の病原因子を含め詳細に検討した初めての論文であり、学位の授与に値すると考えられる。