【　　】

氏名	林　松　男
授与した学位	博　　士
専攻分野の名称	医　　学
学位授与番号	博甲第　２７６７　号
学位授与の日付	平成１６年３月３１日
学位授与の要件	医学研究科病理系細菌学専攻 （学位規則第４条第１項該当）
学位論文題目	*Helicobacter pylori* 感染細胞で認められるIL-8の産生誘導におよぼす熱ショック蛋白質の影響
論文審査委員	教授　吉野　正　教授　白鳥　康史　教授　保田　立二

学位論文内容の要旨

H. pylori の感染はIL-8などのサイトカイン分泌を惹起し、好中球による急性の炎症をきたすことが報告されている。我々はこれまで、熱ショック蛋白質60KDa (HSP60) が *H. pylori* に対する免疫反応に重要な抗原であることを報告してきた。今回の実験では、*H. pylori*-HSP60 とマクロファージ活性化との関係を調べるため、HSP60 のリコンビナント蛋白質を作製し、ヒト単球系細胞(U937)との反応性を検討した。HSP60 リコンビナント蛋白質としては、全長を発現したもの(rHSPw)と、２つの部分を発現したもの（rHSP2、 rHSP4-5）をGST融合蛋白質として得た。また、HSP4-５領域のペプチドを６種類（A〜F）作製した。さらに、rHSP4-5 をマウスに免疫し、２つのモノクローナル抗体を得た（2E7、7B5)。生菌、および加熱死菌をこれらモノクローナル抗体と反応後、U937 培養上清中の IL-8 を ELISA 法により測定した。6 種類の HSP4-５領域のペプチドとの反応性も検討した。*H. pylori* の生菌、死菌、および rHSPw や rHSP4-5、また、ペプチド A の刺激により U937 細胞からの IL-8 の産生が誘発された。この菌体による IL-8 の産生誘発は、抗 HSP60 ポリクローナル抗体や、rHSP4-5 に対するモノクローナル抗体 2E7 により顕著に阻害された。以上の事より、HSP60 は *H. pylori* 感染における炎症に重要な抗原であり、炎症と深く関わることが示唆された。

論文審査結果の要旨

本研究は、Helicobacter pylori の熱ショックたんぱく質 60Kda(HSP60)とマクロファージとの関係を追究したものである。 HSP60 のリコンビナントたんぱく質を作成し、ヒト単球系細胞株 U937 との反応性を検討している。HSP60 リコンビナント蛋白としては全長を発現するものと２つの部分（rHSP2, rHSP4-5)を発現する GST 融合蛋白質を得ている。また、rHSP4-5 に対するマウス単クローン抗体も作成した。H. pylori 生菌、死菌、HSP60 と U937 と培養し、上清中の IL-8 を検出した。この結果、H. pylori の生菌、死菌、rHSP 全長、rHSP4-5 とその一部のペプチドにより U937 より IL-8 が誘導された。この誘導は HSP60 に対するポリクローナル抗体や単クローン抗体のひとつにより阻害された。以上、U937 より IL-8 が H.pylori HSP60 により産生誘導されることが明らかとなった。

実験の目的、手法、結果とその解釈とも適切になされており、Helicobacter HSP60 の炎症に果たす役割について重要な知見を得たものと評価される。

よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。