

# *Helicobacter pylori* *cagA* 遺伝子導入マウスを用いた 胃発癌機構の解析

## 学位論文内容の要旨

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) はヒト胃粘膜に感染する Gram 陰性の螺旋状短桿菌であり、その持続感染は消化性潰瘍、萎縮性胃炎、胃癌ならびに胃 MALT リンパ腫の発症に深く関与することが知られている。*H. pylori* は *cagA* 遺伝子を保有する *cagA* 陽性株と保有しない *cagA* 陰性株に大別される。このうち、*cagA* 陽性株の感染はより悪性度の高い胃粘膜病変発症と強い相関を示すことから、*cagA* 遺伝子産物である CagA は *H. pylori* の重要な病原因子、特に胃癌発症を決定づける重要な細菌側因子の一つとして注目されてきた。

CagA は単離される *H. pylori* 菌株間で多様な分子多型を示す 120-145kDa のタンパク質で、その C 端側に EPIYA (Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala) モチーフと呼ばれる特徴的な配列を含む繰り返し配列が存在する。CagA は *cagA* 陽性 *H. pylori* が胃上皮細胞に接着した際、IV 型分泌機構と呼ばれる注射針状の分子集合体を介して宿主細胞内に直接注入された後、内在性 Src ファミリーチロシンキナーゼ (SFK) により EPIYA モチーフ内のチロシン残基がリン酸化修飾を受ける。チロシンリン酸化された CagA は、細胞増殖や細胞運動を正に制御する癌タンパク質 SHP-2 と複合体を形成し、細胞内増殖シグナル伝達系に干渉することが明らかにされている。一方、最近の知見では、CagA がチロシンリン酸非依存的に PAR1b と複合体を形成し、そのキナーゼ活性を抑制することで細胞極性を崩壊することが明らかにされている。

*cagA* 陽性 *H. pylori* は CagA 依存的な宿主細胞内情報伝達系の脱制御を介して、胃癌をはじめとする種々の胃粘膜病変を引き起こす可能性が示唆される。しかしながら、疫学的研究や培養細胞を用いた *in vitro* 実験系による CagA の機能解明が進む一方、個体レベルにおける CagA の胃粘膜病変発症への寄与に関しては未だ検証されていない。そこで、本研究では CagA を発現する *cagA* トランスジェニックマウスを作製し、生体内における CagA の病原性、特に発癌への関与を検討した。

第1章では、ヒト化 *cagA* (*cagA<sup>hs</sup>*) 遺伝子を用いて *cagA<sup>hs</sup>* トランスジェニックマウスを作製した。*cagA<sup>hs</sup>* トランスジェニックマウスの胃上皮細胞は CagA 発現により増殖能が亢進し、その結果胃粘膜が肥厚することを示した。また、胃粘膜肥厚を呈した *cagA<sup>hs</sup>* トランスジェニックマウス胃上皮細胞内において SHP-2 の主要な下流シグナル

伝達分子である Erk1/2 MAP キナーゼの活性化が認められることを示した。

第2章では *cagA<sup>Hs</sup>* トランスジェニックマウスの経時的観察を行い、48 週齢以降において消化管上皮に過形成性ポリープならびに腺癌が発症することを示した。加えて、*cagA<sup>Hs</sup>* トランスジェニックマウスは血液細胞系の分化・増殖機構に異常を呈し、骨髄性白血病、B 細胞リンパ腫および T 細胞リンパ腫を発症することを明らかにした。さらに、*cagA<sup>Hs</sup>* トランスジェニックマウス由来造血系細胞において Erk1/2 MAP キナーゼの活性化が認められることを明らかにし、CagA による血液細胞の悪性化においても SHP-2 の機能的脱制御が関与する可能性を示唆した。

第3章ではチロシンリン酸耐性型 *cagA<sup>Hs</sup>* トランスジェニックマウスを作製した。まず、チロシンリン酸化耐性型 *cagA<sup>Hs</sup>* トランスジェニックマウスは、胃上皮細胞の増殖亢進所見を示さないことを明らかにした。さらに、長期観察後においても消化管上皮ならびに血液細胞系に発癌は認められないことを示し、*cagA<sup>Hs</sup>* トランスジェニックマウスで認められた表現型は CagA のチロシンリン酸化に依存して発生していることを明らかにした。

以上、本研究により CagA は生体内において細胞増殖を促進することが明らかにされ、CagA が宿主細胞に示す生物学的機能について新たな知見が得られた。さらに、CagA 発現に依存してマウス消化管上皮ならびに血液細胞系に腫瘍が発生することが明らかとなった。また、CagA による発癌過程において CagA のチロシンリン酸化が重要な役割を果たすことが示され、CagA チロシンリン酸化の病態生理学的意義について新たな知見が得られた。

CagA は細菌由来癌タンパク質という新しいカテゴリに属する初めての癌タンパク質であること、また、CagA は、*cagA* 陽性 *H. pylori* が引き起こす胃発癌過程において重要な役割を果たすことを明らかにした。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 畠 山 昌 則  
副 査 教 授 矢 澤 道 生  
副 査 教 授 坂 口 和 靖  
副 査 教 授 高 岡 晃 教  
副 査 教 授 魚 崎 浩 平

学 位 論 文 題 名

## *Helicobacter pylori* *cagA* 遺伝子導入マウスを用いた 胃発癌機構の解析

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) はヒト胃粘膜に感染する Gram 陰性の螺旋状短桿菌であり、その持続感染は消化性潰瘍、萎縮性胃炎、胃癌ならびに胃 MALT リンパ腫の発症に深く関与することが知られている。*H. pylori* は *cagA* 遺伝子を保有する *cagA* 陽性株と保有しない *cagA* 陰性株に大別される。このうち、*cagA* 陽性株の感染はより悪性度の高い胃粘膜病変発症と強い相関を示すことから、*cagA* 遺伝子産物である CagA は *H. pylori* の重要な病原因子、特に胃癌発症を決定づける重要な細菌側因子の一つとして注目されてきた。

CagA は *cagA* 陽性 *H. pylori* が胃上皮細胞に接着した際、IV 型分泌機構と呼ばれる注射針状の分子集合体を介して宿主細胞内に直接注入された後、内在性 Src ファミリーチロシンキナーゼ (SFK) により分子内の EPIYA (Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala) モチーフ内のチロシン残基がリン酸化修飾を受ける。チロシンリン酸化された CagA は、細胞増殖や細胞運動を正に制御する癌タンパク質 SHP-2 と複合体を形成し、細胞内増殖シグナル伝達系に干渉することが明らかにされている。一方、最近の知見では、CagA がチロシンリン酸非依存的に PAR1b と複合体を形成し、そのキナーゼ活性を抑制することで細胞極性を崩壊することが明らかにされている。*cagA* 陽性 *H. pylori* は CagA 依存的な宿主細胞内情報伝達系の脱制御を介して、胃癌をはじめとする種々の胃粘膜病変を引き起こす可能性が示唆される。そこで申請者は、CagA を発現する *cagA* トランスジェニックマウスの作製に取り組み、これまで不明であった生体内における CagA の病原性、特に発癌への関与を検討した。本論文は、筆者が解明した *H. pylori* CagA による胃発癌機構に関して述べたものである。

第 1 章では、ヒト化 *cagA* (*cagA<sup>Hs</sup>*) 遺伝子を用いて *cagA<sup>Hs</sup>* トランスジェニックマウスを作製した。*cagA<sup>Hs</sup>* トランスジェニックマウスの胃上皮細胞は CagA 発現により増殖能が亢進し、その結果胃粘膜

が肥厚することを示した。また、胃粘膜肥厚を呈した *cagA<sup>Hs</sup>* トランスジェニックマウス胃上皮細胞内において SHP-2 の主要な下流シグナル伝達分子である Erk1/2 MAP キナーゼの活性化が認められることを示した。

第2章では *cagA<sup>Hs</sup>* トランスジェニックマウスの経時的観察を行い、48 週齢以降において消化管上皮に過形成性ポリープならびに腺癌が発症することを示した。加えて、*cagA<sup>Hs</sup>* トランスジェニックマウスは血液細胞系の分化・増殖機構に異常を呈し、骨髄性白血病、B 細胞リンパ腫および T 細胞リンパ腫を発症することを明らかにした。さらに、*cagA<sup>Hs</sup>* トランスジェニックマウス由来造血系細胞において Erk1/2 MAP キナーゼの活性化が認められることを明らかにし、CagA による血液細胞の悪性化においても SHP-2 の機能的脱制御が関与する可能性を示唆した。

第3章ではチロシンリン酸耐性型 *cagA<sup>Hs</sup>* トランスジェニックマウスを作製した。まず、チロシンリン酸化耐性型 *cagA<sup>Hs</sup>* トランスジェニックマウスは、胃上皮細胞の増殖亢進所見を示さないことを明らかにした。さらに、長期観察後においても消化管上皮ならびに血液細胞系に発癌は認められないことを示し、*cagA<sup>Hs</sup>* トランスジェニックマウスで認められた表現型は CagA のチロシンリン酸化に依存して発生していることを明らかにした。

以上、本研究により CagA は生体内において細胞増殖を促進することが明らかにされ、CagA が宿主細胞に示す生物学的機能について新たな知見が得られた。さらに、CagA 発現に依存してマウス消化管上皮ならびに血液細胞系に腫瘍が発生することが明らかとなった。また、CagA による発癌過程において CagA のチロシンリン酸化が重要な役割を果たすことが示され、CagA チロシンリン酸化の病態生理学的意義について新たな知見が得られた。

これを要するに、著者は、CagA が世界で初めての細菌由来癌タンパク質であることをマウス個体レベルで証明したものである。この成果は権威ある全米科学アカデミー紀要に発表され、*cagA* 陽性 *H. pylori* 感染により惹起される胃癌をはじめとする様々な胃粘膜病変発症機構の解明に貢献するところ大いなるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（理学）の学位を授与される資格あるものと認める。