

胃がんを引き起こすピロリ菌がんタンパク質の立体構造解明

—胃がんの新たな予防・治療法開発に期待—

1. 発表者：

畠山 昌則（東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 微生物学分野・教授）

千田 俊哉（産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研究センター・主任研究員）

2. 発表のポイント：

- ◆成 果：胃がんを引き起こすピロリ菌がんタンパク質 CagA の三次元分子構造を解明し、CagA の立体構造に基づく新たな発がん活性の制御機構を見いだした。
- ◆新規性：N字型の固いコアを有する CagA 体部に、固有の構造を持たない可動性の尾部がループ状に付着し発がん活性が増強する、という分子内スイッチ機構を発見した。
- ◆ 社会的意義／将来の展望：全世界部位別がん死亡の第2位を占める胃がんに対して、ピロリ菌 CagA の分子構造を標的とする革新的な治療法・予防法の開発が期待される。

3. 発表概要：

ピロリ菌（注1）が産生する CagA タンパク質は、ヒトの胃の細胞内に侵入した後、様々なヒトタンパク質と結合しそれらの機能を障害することで、胃がん発症を誘導することが示されています。しかしながら、CagA の分子構造に関する情報はこれまで全く得られておらず、CagA の発がん活性を担う三次元的な構造基盤は謎のままでした。

今回、東京大学大学院医学系研究科の畠山昌則教授、産業技術総合研究所の千田俊哉主任研究員らの研究グループは、X線結晶構造解析と核磁気共鳴（NMR）法（注6）を駆使して、ピロリ菌 CagA の立体構造の解明に成功しました。

彼らは、CagA が、既知のタンパク質と全く類似性を示さない N字型の固いコア構造をもつ「CagA 体部」と、決まった構造をもたず可動性に富む「CagA 尾部」から成っていることを発見し、さらに、CagA 尾部が CagA 体部に付着して投げ縄のようなループを構成する結果、発がん活性が増強するという分子内スイッチ機構の存在を初めて明らかにしました。

本成果は、細菌由来がんタンパク質の初の分子構造解明であり、ピロリ菌による胃発がん機構の理解を加速させるとともに、革新的な胃がんの分子標的治療・予防への道が拓かれることが期待されます。本研究は米国科学誌「Cell Host & Microbe 誌」7月19日号に掲載されました。

4. 発表内容：

①研究の背景

胃がんは全世界部位別がん死亡の世界第二位を占め、毎年約70万人がこの悪性腫瘍で命を落としていると累計されています。なかでも日本は胃がんの最多発国として知られ、毎年

5万人が胃がんで死亡する状況が続いています。近年の研究から、ピロリ菌の胃内持続感染が胃がんの発症に必須の役割を担うことが明らかになってきました。中でも、CagA と呼ばれるタンパク質を産生するピロリ菌の感染は胃がん発症に深く関わることから、胃がん発症におけるピロリ菌 CagA の役割に大きな注目が集められています。CagA は、約 1200 個のアミノ酸が連なって作り出される大きなタンパク質（分子量約 13 万）で、そのカルボキシ末端側領域には、EPIYA モチーフならびに CM モチーフと呼ばれる特徴的な繰り返し配列が存在しています（添付資料 1）。CagA はピロリ菌の体内で産生された後、菌が保有する IV 型分泌機構（注 2）と呼ばれるミクロの注射針を介して胃の細胞内に注入されます。胃細胞の細胞膜にはホスファチジルセリン（PS）（注 3）というリン脂質が存在しており、細胞内に侵入した CagA は PS と結合することで細胞膜の内面に付着します。細胞膜に付着した CagA は、CM モチーフを介して胃の上皮機能維持に必須の役割を担うセリン／スレオニンキナーゼ PAR1（注 4）と結合し、PAR1 の働きを抑制することで細胞が敷石状に並んで構築する胃粘膜の構造を破壊します（添付資料 2）。CagA はまた、EPIYA モチーフ中のチロシン残基がリン酸化修飾を受けることにより、ヒトがんタンパク質として知られるチロシンホスファターゼ SHP2（注 5）と結合する能力を獲得します。CagA との結合により SHP2 は異常に活性化され、細胞をがん化するための異常な分裂・増殖シグナルを生成します（添付資料 2）。このように、ピロリ菌 CagA は胃の細胞内に侵入した後、種々の宿主細胞側分子と相互作用し、それらの分子機能を障害することで胃の細胞をがん化させると考えられています。しかしながら、CagA が胃の細胞内で多種多様な分子と相互作用し発がん活性を発揮する分子構造基盤はこれまで全く不明でした。

②研究の内容

東京大学大学院医学系研究科微生物学分野・畠山昌則教授ならびに（独）産業技術総合研究所バイオメディシナル情報研究センター・千田俊哉主任研究員らの研究グループは、ピロリ菌 CagA が「がんタンパク質」として働くための分子構造基盤を明らかにするために、X線結晶構造解析法ならびに核磁気共鳴（NMR）法（注 6）を駆使して CagA の立体構造を明らかにしました。今回の研究成果で、EPIYA モチーフや CM もチーフを含む CagA 分子の後半部分（分子全体の 30%；以降、CagA 尾部とよびます）は、固有の高次構造を持たない「天然変性構造」であることがわかりました（添付資料 3）。天然変性構造は、様々な他のタンパク質に合わせて自己の形状を自在に変化させながら結合する構造として近年注目を浴びているタンパク質の形状で、特に高等真核生物がもつタンパク質で多く見つかっています。この天然変性構造を用いて、CagA は PAR1 や SHP2 その他多くの標的分子との相互作用を可能にしていることが判明しました。一方、CagA 分子の前半部分（分子全体の 70%；以降 CagA 体部と呼びます）は 3 つの構造ドメインから成り、既知のタンパク質構造とは類似性を見ない N 字型の固いコアを持つ新規の立体構造を有していました（添付資料 3）。また、CagA と

細胞膜リン脂質ホスファチジルセリン (PS) の結合には、CagA 分子の中央部に多数集中して存在する塩基性アミノ酸の「パッチ」が重要であることがわかりました。CagA の細胞膜への付着はこの塩基性パッチと酸性の PS との間で形成されるマジックテープ様の結合様式に依ると考えられました (添付資料 4)。同研究グループはさらに、可動性に富む CagA 尾部の一部が固い構造を持つ CagA 体部の表面に付着することで、投げ縄 (ラリアート) 状のループが作り出されることを見出しました (添付資料 5)。このループ形成の結果、CagA と標的分子間の複合体形成がさらに安定化し、より強いがん化シグナルが生成されることがわかりました (添付資料 5)。このことから、CagA の体部と尾部間の相互作用は発がん活性を増強させる分子内スイッチとして働くと結論づけられました。

③社会的意義

本研究は、ピロリ菌病原因子 CagA の三次元分子構造を世界に先駆けて解明したものであり、CagA が胃細胞内標的分子を脱制御し細胞秩序を攪乱する分子構造基盤ならびにその活性制御機構を明らかにしました。この成果は CagA による発がんメカニズムの理解を大きく前進させるものであり、胃がんの発症機構を大きく前進させるとともに、世界中で多くの命を奪う胃がん撲滅に向けた分子標的治療・予防法開発への道を拓くものとして期待されます。

5. 発表雑誌

雑誌名：「Cell Host & Microbe」(2012 年 7 月 18 日オンライン版)

論文タイトル：Tertiary Structure-Function Analysis Reveals the Pathogenic Signaling Potentiation Mechanism of *Helicobacter pylori* Oncogenic Effector CagA

著者：Takeru Hayashi, Miki Senda, Hiroko Morohashi, Hideaki Higashi, Masafumi Horio, Yui Kashiba, Lisa Nagase, Daisuke Sasaya, Tomohiro Shimizu, Nagarajan Venugopalan, Hiroyuki Kumeta, Nobuo N. Noda, Fuyuhiko Inagaki, Toshiya Senda, and Masanori Hatakeyama

DOI：10.1016/j.chom.2012.05.010

6. 問い合わせ先：東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 微生物学講座

畠山 昌則 (はたけやま まさのり) 教授

電話：03-5841-3632

FAX：03-5841-3406

E-mail：mhata@m.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説：

注 1. ピロリ菌 (ヘリコバクター・ピロリ)

ヒト胃内への慢性的な感染が認められる病原細菌として知られており、世界で約 30 億人に感染していると推定されています。ピロリ菌の慢性持続感染は萎縮性胃炎ならびに胃潰瘍など

の胃粘膜病変を引き起こします。中でも、*cagA* 遺伝子を保有する CagA 陽性ピロリ菌は CagA 陰性ピロリ菌と比較して、より激しい萎縮性胃炎ならびに消化性潰瘍を引き起こし、胃がん発症の危険率を有意に高めることが指摘されています。

注2. IV型分泌機構

ピロリ菌の菌体表面に存在するミクロの注射針様の形をした分泌装置です。ピロリ菌菌体内で産生された CagA タンパク質は、この IV 型分泌機構を通して菌からヒト胃上皮細胞に打ち込まれると考えられています。

注3. ホスファチジルセリン (PS)

細胞膜脂質二重層の主要な構成成分であるリン脂質の1つです。生理的条件下では細胞膜内面側に特異的に分布しています。ピロリ菌感染時には、ピロリ菌が直接接触した部分の細胞膜において PS が細胞膜外面に露出し、CagA の細胞内移行に関与することが示されています。

注4. セリン／スレオニンキナーゼ PAR1

タンパク質中のセリン残基またはスレオニン残基にリン酸基を付加するタンパク質リン酸化酵素の一つで、一層に整列する上皮細胞の秩序形成・維持に関与します。CagA と結合した PAR1 はそのキナーゼ活性が低下し、上皮細胞の秩序維持に支障をきたします。

注5. チロシンホスファターゼ SHP2

タンパク質中のリン酸化チロシン残基のリン酸基を取り除くチロシン脱リン酸化酵素の一つで、細胞の分裂・増殖を促すとともに細胞の運動能を増強します。遺伝子変異により異常に活性化した SHP2 は小児がん発症のリスクを高める先天性奇形症候群の原因となります。また、非遺伝性のがんにおいても SHP2 の異常活性化変異が多数見出されており、活性化した SHP2 は「がんタンパク質」としてはたらくことが明確になっています。SHP2 に CagA が結合することにより、このような活性化変異を持たない SHP2 も異常に活性化するため、異常な細胞増殖シグナルが生成されます。

注6. X線結晶構造解析と核磁気共鳴 (NMR) 法

タンパク質の立体構造解析で現在最もよく使われる方法です。X線結晶構造解析は、任意の分子を結晶化させ、結晶の X線回折パターンから原子の配列 (分子構造) を決定します。NMR は結晶化の必要がなく溶液中で測定できるため、結晶化しないタンパク質 (天然変性タンパク質など) の解析に対して有効です。

8. 添付資料:

下記の URL から添付資料 1 ～ 5 をダウンロード出来ます。

http://www.microbiol.m.u-tokyo.ac.jp/pr/tenpu_chm2012.pdf