

胃がん発症における発がん細菌と発がんウイルスの連携

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 微生物学講座 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆ピロリ菌タンパク質 CagA の発がん生物活性を抑制する酵素として SHP1 を同定した。
- ◆エプスタイン・バーウイルスを感染させた胃の細胞では DNA メチル化により SHP1 の発現が抑制され、ピロリ菌タンパク質 CagA の発がん活性が増強することを見出した。
- ◆約 10%の胃がん症例ではピロリ菌とエプスタイン・バーウイルスの共感染が知られており、発がん細菌と発がんウイルスが連携して胃がんの発症を進める機構を世界で初めて明らかにした。

3. 発表概要：

cagA 遺伝子を保有するヘリコバクター・ピロリ (*cagA* 陽性ピロリ菌、注1) の胃粘膜慢性感染は胃がん発症の最大のリスク因子となります。一方、約 10%の胃がん症例では、*cagA* 陽性ピロリ菌感染に加えて、エプスタイン・バーウイルス (以下 EB ウイルス、注2) が胃がん細胞に感染していることが知られています (図1)。しかしながら、ピロリ菌と EB ウイルスの共感染が胃がんの発症に及ぼす役割はこれまで全く研究されていませんでした。ピロリ菌 *cagA* 遺伝子から作り出される CagA タンパク質は胃上皮細胞に侵入後、チロシンリン酸化という修飾を受けることで発がん活性を発揮します (注3)。本研究では、ピロリ菌タンパク質 CagA を脱リン酸化する酵素 (ホスファターゼ) として SHP1 (タンパク質チロシンホスファターゼ) を同定しました。SHP1 によるチロシン脱リン酸化の結果、CagA タンパク質の発がん活性は中和されたことから、SHP1 は胃がんの発症を抑制する分子と考えられます。これに対し、EB ウイルスが感染した胃の細胞内では SHP1 の発現が抑制され (図2)、その結果、ピロリ菌 CagA タンパク質の発がん活性は、より増強することが明らかになりました (図3)。この成果は、細菌とウイルスが連携してヒトのがん発症を促す仕組みを世界で初めて明らかにしたものです。本研究は、東京大学大学院医学系研究科 畠山昌則教授、紙谷尚子講師、千葉大学大学院医学系研究科 金田篤志教授、東京大学大学院医学系研究科 深山正久教授、瀬戸泰之教授、の共同研究として行われ、英科学誌「Nature Microbiology (ネイチャー・マイクロバイオロジー)」オンライン版に掲載されます。

4. 発表内容：

【研究の背景】

胃がんは全世界部位別がん死亡の第二位を占める悪性腫瘍です。中でも、日本を含む東アジアは胃がんの最多発地域として知られ、日本では毎年約5万人が胃がんで命を落とす状況が続いています。日本人の胃がんはそのほぼ全てが *cagA* 陽性ピロリ菌の慢性感染を基盤に発症すると考えられています (図1)。また、約 10%の胃がん症例において、*cagA* 陽性ピロリ菌感染に加え、EB ウイルスががん細胞に感染していることが知られています (図1)。*cagA* 陽性ピロリ菌は胃の細胞表面に付着した後、菌が保有するミクロの注射針を用いてピロリ菌タンパク質 CagA を細胞内に直接注入します (注3)。胃の細胞内に侵入した CagA は Src ファ

ミリーキナーゼや Abl キナーゼによりチロシンリン酸化を受けた後、その異常活性化が細胞のがん化に深く関わるチロシン脱リン酸化酵素（ホスファターゼ） SHP2 と特異的に結合しその活性を脱制御することで、がん化につながる異常な細胞増殖シグナルの生成や細胞運動性の亢進を引き起こします（注3）。このチロシンリン酸化 CagA による SHP2 の脱制御は胃がんの発症に中心的な役割を担うと考えられています。ところで、SHP2 は脱リン酸化酵素（ホスファターゼ）であるにもかかわらず CagA を脱リン酸化する能力を持ちません。CagA を脱リン酸化するホスファターゼの同定は CagA の発がん活性抑制の観点からもきわめて重要な意義を持ちますが、哺乳動物細胞におけるその存在の有無を含めこれまで全く手掛かりが得られていませんでした。CagA が発がん標的とする SHP2 には SHP1 という兄弟分子（ホモログ）が存在します。SHP2 は体細胞に普遍的に発現するのに対し、SHP1 はこれまで主に血液系細胞に発現していると考えられてきました。しかしながら、最近の研究から、SHP1 は胃を含む消化管上皮にも発現していることが明らかになってきました。そこで、本研究では、ピロリ菌依存的な胃発がんにおける SHP1 の役割を明らかにすることを試みました。

【研究の内容】

胃の細胞内に侵入したピロリ菌タンパク質 CagA はチロシンリン酸化を受けることで SHP2 と結合する能力を獲得し、SHP2 を異常活性化して胃がんの発症を促します。SHP1 は哺乳動物細胞が保有する SHP2 の唯一の兄弟分子であり、本研究から、SHP1 もまた CagA と結合することが明らかになりました。しかしながら、CagA-SHP2 結合の場合とは異なり、CagA-SHP1 結合は CagA のチロシンリン酸化を必要としませんでした。さらに、SHP1 を高発現させた細胞では CagA のチロシンリン酸化レベルが低下する、という予想外の結果が得られました。この結果をもとに、本研究では SHP1 が CagA のチロシン脱リン酸化を担う酵素（ホスファターゼ）であることを見出すとともに、CagA-SHP1 複合体形成により SHP1 が活性化されることを明らかにしました。さらに、CagA と SHP1 を共発現させた細胞では、チロシンリン酸化依存的な CagA の発がん生物活性が抑制されることがわかりました。これらの事実から、胃上皮細胞内における SHP1 と SHP2 の相対的な発現レベルがピロリ菌 CagA の発がん活性を規定することが明らかとなりました。全胃がん症例の約 10%程度において、胃がん細胞特異的に EB ウイルスががん細胞に感染していることが報告されています（図1）。EB ウイルス陽性胃がんの特徴として、感染した胃上皮細胞のゲノム DNA に広範なメチル化（注4）が誘導されることが知られています。一般に DNA のメチル化は遺伝子の発現を抑制します。EB ウイルス陽性胃がんは通常同時に *cagA* 陽性ピロリ菌感染を伴うことから（図1）、CagA の発がん活性に関わる宿主細胞内分子に着目して EB ウイルス感染胃上皮細胞株におけるゲノムのメチル化解析を行いました。その結果、EB ウイルス感染により *SHP1* 遺伝子 (*PTPN6* 遺伝子とも呼ばれます) のプロモーター（注5）が高度にメチル化されることが明らかになりました。この高度な遺伝子メチル化の結果、*SHP1* mRNA ならびに SHP1 タンパク質の発現が低下しました（図2）。そこで、EB ウイルス非感染胃上皮細胞ならびに EB ウイルス感染胃上皮細胞に *cagA* 陽性ピロリ菌を共感染させたところ、EB ウイルス感染細胞においてピロリ菌タンパク質 CagA の生物活性が大きく増大することが判明しました。本研究成果の臨床的妥当性を検討するため、胃がん患者から摘出したがん組織の解析を行いました。その結果、EB ウイルス陽性胃がん組織では *SHP1* 遺伝子プロモーターのメチル化が誘導されていることに加え、SHP1 発現が低下していることが明らかになりました。以上のことから、EB ウイルスによる SHP1 の発現抑制を介したピロリ菌タンパク質 CagA の発がん活性増強が、EB ウイルス陽性胃がんの発症を促進する仕組みが明らかになりました（図3）。

【研究内容の新規性・重要性】

胃がんの約 10%は *cagA* 陽性ピロリ菌と EB ウイルスの共感染を背景に発症しますが、この二種類の異なる発がん微生物の共存が胃がん発症に及ぼす影響は不明でした。本研究では、ピロリ菌タンパク質 CagA のチロシン脱リン酸化を担う発がん抑制ホスファターゼとして SHP1 を新規に同定しました。さらに、EB ウイルスが SHP1 の後天的な発現抑制を介してピロリ菌タンパク質 CagA の発がん活性を増強することを見出し、ヒトのがん発症における発がん細菌と発がんウイルスの連携を世界で初めて明らかにしました (図 3)。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「Nature Microbiology」 (オンライン版)

論文タイトル：Host SHP1 phosphatase antagonizes *Helicobacter pylori* CagA and can be downregulated by EBV.

著者：Priya Saju, Naoko Murata-Kamiya, Takeru Hayashi, Yoshie Senda, Lisa Nagase, Saori Noda, Keisuke Matsusaka, Sayaka Funata, Akiko Kunita, Masayuki Urabe, Yasuyuki Seto, Masashi Fukayama, Atsushi Kaneda, and Masanori Hatakeyama
DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.26.

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

教授 畠山 昌則

電話：03-5841-3408 FAX：03-5841-3406

E-mail: mhata@m.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説：

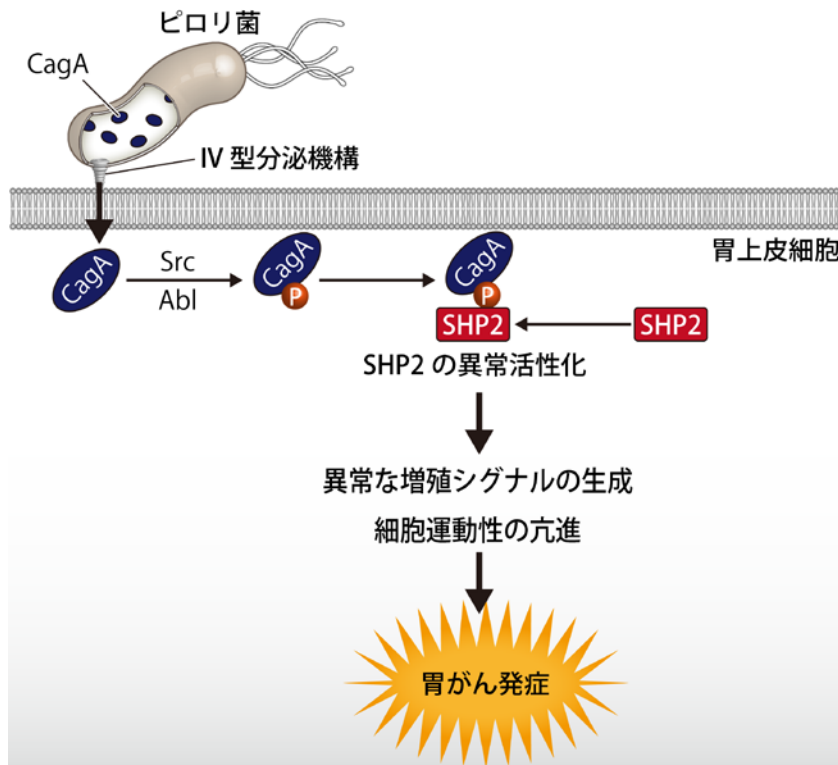
注 1. ヘリコバクター・ピロリ (ピロリ菌)

ヒトの胃粘膜に慢性感染する病原細菌であり、世界の総人口の約半数に感染していると推察されています。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。ピロリ菌は *cagA* 遺伝子を保有する菌株と保有しない菌株に分別されますが、日本で検出されるほぼ全てのピロリ菌は *cagA* 陽性株であることが報告されています。*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示されています。

注 2. エプスタイン・バールウイルス (Epstein-Barr/EB ウイルス)

B 細胞に感染するヘルペスウイルスであり、ほぼ 100%の健常成人において B 細胞に潜伏感染しています。EB ウイルスは B 細胞悪性腫瘍であるバーキットリンパ腫やホジキンリンパ腫の原因となることが知られており、また鼻咽頭がんの原因とも考えられています。上皮細胞への EB ウイルス感染機構の全容は未だ解明されていませんが、EB ウイルス感染 B 細胞と上皮細胞の直接的な接触が感染に重要な役割を担うと考えられています。胃がんの約 10%の症例において、がん細胞特異的に EB ウイルスが感染しています。

注3. CagA の胃上皮細胞内への侵入と細胞内シグナル攪乱



CagA タンパク質はピロリ菌の菌体内で産生されます。cagA 陽性ピロリ菌は胃の上皮細胞に付着した後、菌が保有するミクロの注射針 (IV型分泌機構) を用いて CagA タンパク質を胃上皮細胞内に直接注入します (上図を参照)。細胞内に侵入した CagA は Src ファミリーキナーゼや Abl キナーゼによりチロシンリン酸化を受けた後、チロシン脱リン酸化酵素 (ホスファターゼ) SHP2 と特異的に結合し SHP2 を異常活性化します。SHP2 は細胞増殖を促進する Ras-Erk 経路を増強する機能を持ち、Ras と同様のがんタンパク質であると認識されています。また、CagA との複合体形成により異常活性化された SHP2 は、接着班キナーゼ (focal adhesion kinase, FAK) を脱リン酸化することで不活性化し、細胞運動を脱制御します。先行研究から、CagA のチロシンリン酸化依存的な SHP2 脱制御が発がんにおいて重要な役割を担うことが明らかにされています。

注4. DNA のメチル化

ゲノム DNA の 5'-CG-3' (CpG と表記されることもあります) 配列の C (シトシン) にメチル基が付加される反応です。遺伝子プロモーターがメチル化されると遺伝子発現が抑制されます。

DNA メチル化は正常な胚発生に必須であることに加え、老化や疾患にともなう後天的な遺伝子発現の変化に関与しています。

注5. プロモーター

遺伝子上流に存在し、RNA ポリメラーゼにより RNA への転写が開始される DNA 上の領域を指します。転写因子および RNA ポリメラーゼがプロモーター内の DNA 配列に結合し、RNA が合成されます。

8. 添付資料：

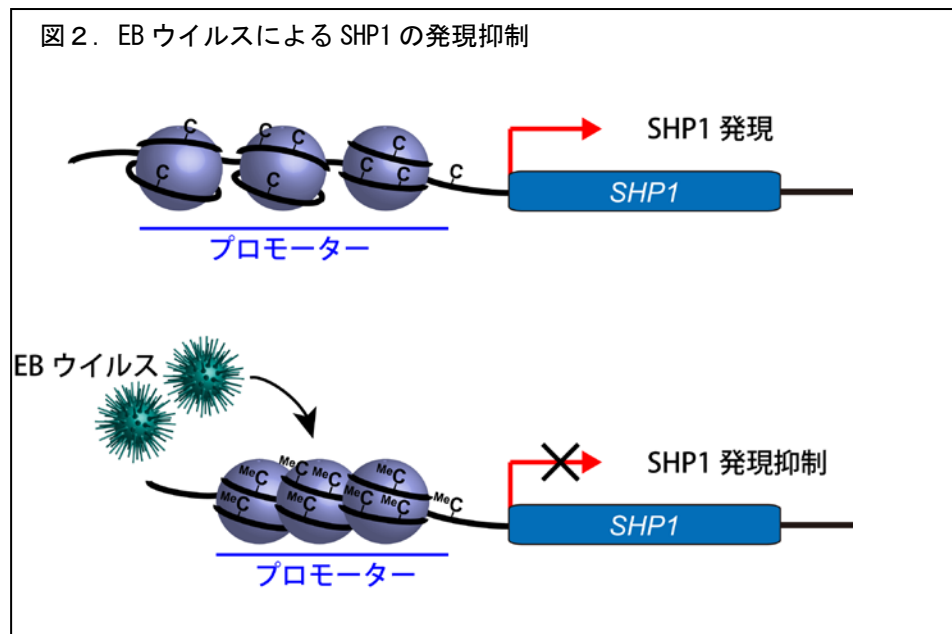
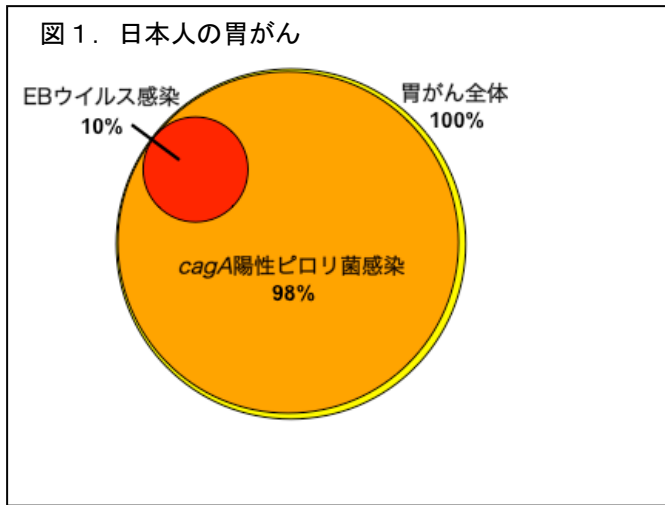


図3. 胃がん発症におけるピロリ菌とEBウイルスの連携

