

ピロリ菌は遺伝性乳癌・卵巣癌と共通の機序で胃癌を引き起こす ～細菌癌蛋白質 CagA による癌抑制分子 BRCA1 の不活化～

1. 発表者：

今井 智司（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 博士課程 4年）
大木 拓也（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 特任研究員）
紙谷 尚子（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 講師）
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）

2. 発表のポイント：

- ◆癌は複数の癌関連遺伝子変異が一つの細胞内に蓄積し発症します。胃の細胞内に注入されたピロリ菌 CagA（注1）が胃癌発症に繋がる遺伝子変異蓄積を誘発することを見出しました。
- ◆CagA は遺伝性乳癌・卵巣癌抑制遺伝子産物 BRCA1（注2）が担う遺伝子の変異防止という重要な働きを阻害し、胃癌を生み出す遺伝子変異蓄積を加速させることがわかりました。
- ◆本研究成果は、胃癌予防における早期ピロリ菌除菌の重要性を支持する一方、ピロリ菌除菌がもはや無効となる遺伝子変異獲得後の胃癌予防・治療法開発に貢献することが期待されます。

3. 発表概要：

ピロリ菌の胃への感染は胃癌発症の最大のリスク因子です。ピロリ菌から産出される CagA 蛋白質は胃上皮細胞に侵入後、胃上皮細胞内の蛋白質と結合することで癌化を促す細胞増殖などのシグナル伝達に異常をきたすことが知られていましたが、最終的に CagA 非依存的な胃癌細胞が生み出される機構は不明でした。

今回、東京大学大学院医学系研究科の畠山昌則教授、紙谷尚子講師らのグループは、同研究科石川俊平教授、牛久哲男教授らとの共同研究を通して、ピロリ菌 CagA がゲノム安定性を司る BRCA1 の機能を障害することで、胃上皮細胞の癌化に必要な遺伝子変異の蓄積を誘発することを明らかにしました。

BRCA1 を作り出す *BRCA1* 遺伝子はその不活化変異が遺伝性乳癌・卵巣癌を引き起こす癌抑制遺伝子であり、自らの *BRCA1* 遺伝子が不活化変異を有していることを知った米国の有名女優が予防的な両側乳房・両側卵巣切除手術を行ったことで世界的にも大きな話題となりました。本研究は、ピロリ菌感染胃癌と遺伝性乳癌・卵巣癌との間に共通する発癌機構の存在を示したもので、これらの癌に応用できる革新的な予防法・治療法の確立に繋がることを期待されます。

本研究成果は、国際雑誌「Cell Host & Microbe」電子版（米国東部標準時間 5 月 13 日付）に掲載されました。

4. 発表内容：

1) 研究の背景

胃癌は全部位別癌死亡の第 3 位を占め、全癌死亡の 10% を占めます。ヘリコバクター・ピロリ（ピロリ菌）CagA 蛋白質は細菌の注射針様装置により胃上皮細胞内に注入されます。ピロリ菌

が感染した細胞（宿主細胞）内に侵入した CagA は発癌性ホスファターゼ SHP2（注 3）と結合しその活性を脱制御する一方、極性制御キナーゼ PAR1b（注 4）とも結合しその活性を不活化します。CagA によるこれら宿主細胞内標的分子の機能攪乱が胃癌発症に重要な役割を果たすと考えられてきましたが、ひとたび生み出された胃癌細胞の癌形質維持に CagA はもはや不要であり、胃癌発症のプロセスにおいて CagA 依存的な癌前駆細胞が CagA 非依存性を獲得する機序が大きな謎として残されてきました。そうした中、ピロリ菌 CagA 自身が宿主細胞のゲノム不安定化（遺伝子変異の異常な蓄積）を誘導し、細胞癌化に関わる CagA の役割が複数の宿主遺伝子変異によって取って代わられる結果、CagA 非依存的な癌細胞が生み出されるという「ヒット&ラン」型発癌モデル（注 5）が提唱されました（Hatakeyama, M. Cell Host Microbe, 15, 306-316, 2014）。

2) 研究内容

この発癌モデルを検証するため、畠山教授らの研究グループは胃上皮細胞内に侵入したピロリ菌 CagA が宿主細胞ゲノムに傷害を与えるか否かを解析しました。その結果、CagA は PAR1b のキナーゼ（タンパク質リン酸化酵素）活性の不活化を介して宿主ゲノムに重篤な DNA 損傷である DNA 二本鎖切断（DSB）（注 6）を誘発することが明らかとなりました。DSB は核内の現象であるのに対し CagA-PAR1b 複合体は細胞膜近傍に形成されるため、DSB 制御に関わる分子群の中で細胞質と核の間をシャトル（行き来）する分子に着目して解析を進めた結果、CagA による PAR1b のキナーゼ抑制が BRCA1 の核内移行を著しく抑制することを見出しました。さらにその分子機序を検討したところ、BRCA1 の細胞質-核移行には BRCA1 の核移行シグナル（注 7）近傍に存在するセリン残基（Ser616）の PAR1b によるリン酸化が必須であることがわかりました。核内 BRCA1 の減少・枯渇は「DSB につながる複製フォーク（注 8）の不安定化」ならびに「相同組換え（注 9）依存性修復機能の欠損」で特徴づけられる異常な細胞状態（BRCAness）（注 10）を引き起こし、遺伝子変異蓄積の場となるゲノム不安定化が誘導されることが示されました。一般に DSB のような重篤なゲノム損傷が蓄積すると細胞死が引き起こされますが、CagA 発現細胞では細胞死は認められませんでした。この細胞死回避機構を追究したところ、CagA は PAR1b のキナーゼ活性阻害を介して BRCAness を誘導すると同時に Hippo シグナル（注 11）を活性化することで DSB 特異的な細胞死を阻止し、ゲノム変異が蓄積した細胞（癌前駆細胞）の生存を可能にしていることが明らかになりました。本研究の妥当性を臨床的に検証するため、手術材料から得られた胃粘膜組織における BRCA1 の発現・細胞内分布を解析したところ、*cagA* 陽性ピロリ菌が数多く存在する胃粘膜表面を構成する上皮細胞（表層粘液細胞）では核内 BRCA1 がほぼ消失しており、胃底腺（注 12）内部においても幹細胞ならびに増殖細胞が存在する狭部においてピロリ菌近傍に位置する上皮細胞で核内 BRCA1 の著しい減少と DSB の形成が認められました。

以上の結果から、CagA-PAR1b 相互作用が「BRCAness の誘導」と「ゲノム損傷細胞の死の回避」を同時に引き起こすことで CagA 非依存的な癌細胞の生成につながる異常な宿主細胞ゲノム変異の蓄積が生みだされることが明らかとなり、胃癌発症のプロセスが胃上皮細胞へのピロリ菌 CagA の「奇襲と逃亡」の繰り返しを介して進行するという「ヒット&ラン」型発癌モデル（注 5）の分子基盤が本研究で実証されました。本研究の概要図を図 1 に示します。

3) 社会的意義・今後の展望

本研究では、胃上皮細胞に侵入したピロリ菌 CagA が癌化につながる遺伝子変異を宿主細胞ゲノムに積極的に蓄積させるメカニズムを解明しました。本研究の成果は、胃癌が乳癌や卵巣癌と共通した発癌環境 (BRCAness) を経て発症することを意味しています (図 2)。胃癌が BRCAness および Hippo シグナルの活性化を介して発症するという事実は、現在 BRCAness を呈する癌に使用されている PARP 阻害剤 (注 13) ・DNA 複製阻害剤と Hippo シグナル不活化剤の併用が胃癌治療に応用できる可能性を示しています。さらに重要なことに、本研究は胃癌予防のための早期ピロリ菌除菌の重要性をより明確に示しており、この成果を基盤とした胃癌 (ならびに BRCA1 変異を基盤とする乳癌・卵巣癌・膵臓癌など他の癌) の革新的な予防法・早期治療法の確立につながることを期待されます。

5. 発表雑誌:

雑誌名: 「Cell Host & Microbe」(オンライン版: 5月13日付)

論文タイトル: *Helicobacter pylori* CagA Elicits BRCAness To Induce Genome Instability That May Underlie Bacterial Gastric Carcinogenesis

著者: Satoshi Imai, Takuya Ooki, Naoko Murata-Kamiya*, Daisuke Komura, Kamrunnesa Tahmina, Weida Wu, Atsushi Takahashi-Kanemitsu, Christopher Takaya Knight, Akiko Kunita, Nobumi Suzuki, Adriana A. Del Valle, Mayo Tsuboi, Masahiro Hata, Yoku Hayakawa, Naomi Ohnishi, Koji Ueda, Masashi Fukayama, Tetsuo Ushiku, Shumpei Ishikawa, and Masanori Hatakeyama*

DOI 番号: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.04.006>

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 微生物学分野

教授 畠山 昌則 (はたけやま まさのり)

TEL: 03-5841-3404 FAX: 03-5841-3406

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

7. 用語解説:

注 1. ピロリ菌 CagA

ヘリコバクター・ピロリ (ピロリ菌) はヒトの胃粘膜に慢性感染する病原細菌であり、世界人口の約半数に上る 30 億人に感染していると推定されています。ピロリ菌の感染は萎縮性胃炎ならびに胃潰瘍などの胃粘膜病変の原因であることが証明され、2005 年にはノーベル生理学・医学賞の受賞対象になりました。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大別されますが、*cagA* 陽性株は *cagA* 陰性株と比較して、はるかに激しい胃粘膜病変を引き起こし、胃癌発症に関与するのは専ら *cagA* 陽性株と考えられます。*cagA* 遺伝子産物である CagA 蛋白質はピロリ菌が保有するミクロの注射針 (IV 型分泌機構) を介して、菌が接触した胃上皮細胞内に直接注入されます。

注 2. BRCA1

BRCA1 は核内に存在するゲノム DNA に生じた損傷 (DNA 二本鎖切断) を修復するとともに DNA 複製フォークを保護する蛋白質であり、細胞ゲノム情報の安定性 (ゲノム安定性) を維持する重

要な役割を担っています。*BRCA1* 遺伝子は代表的な癌抑制遺伝子の一つであり、*BRCA1* 機能欠失型遺伝子変異は乳癌や卵巣癌の発症リスクを著しく高め、一部の前立腺癌や膵臓癌の発症にも関与することが知られています。*BRCA1* 遺伝子の不活化変異を生殖系細胞（精子や卵子）に有する遺伝性乳がん卵巣がん症候群（Hereditary Breast and/or Ovarian Cancer syndrome (HBOC)）の場合、女性では乳癌の生涯発症率は 70-80%、卵巣癌の生涯発症率は 40%程度と考えられています。男性の場合でも、*BRCA1* 変異を有する場合約 6%に乳がんが発症します。

なお、*BRCA1* は乳腺細胞や卵巣上皮細胞ばかりでなく胃上皮細胞を含む全ての細胞に発現し、それら細胞のゲノム DNA の保護に働いていますが、*BRCA1* の欠損/不活化がなぜ乳癌、卵巣癌といった限られた癌の発症リスクのみを著しく高めるのかは未だ不明です。

注 3. SHP2

PTPN11 遺伝子にコードされるチロシン脱リン酸化酵素（ホスファターゼ）です。ホスファターゼ活性亢進型 SHP2 変異体を発現する *PTPN11* 遺伝子の機能獲得型変異は、若年性骨髄単球性白血病に代表される小児がんの発症リスクの増進をともなう Noonan 症候群の過半数において同定されています。加えて、SHP2 はピロリ菌 CagA の標的分子としても知られ、CagA により異常に活性化された SHP2 は自身のホスファターゼ活性を介して細胞増殖を促進する Ras-ERK 経路を活性化します。

注 4. PAR1b

線虫で最初に同定された partitioning-defective 1 (PAR1) の相同分子種であり、蛋白質中のセリン残基ならびにスレオニン残基をリン酸化する酵素（キナーゼ）です。別名、microtubule affinity-regulating kinase 2 (MARK2) と呼ばれています。上皮細胞の頂底極性形成や、細胞内の物質輸送の道となる微小管を制御することが知られています。

注 5. 「ヒット&ラン」型発癌モデル

発癌における「ヒット&ラン」モデルは、1976 年に Skinner 博士によって提案されました。培養動物細胞に単純ヘルペスウイルス (HSV) の DNA を導入すると細胞癌化が誘導されましたが、癌化した細胞中には HSV の DNA 断片が存在しませんでした。他の腫瘍ウイルスであるアデノウイルスや SV40 ウイルスでは、癌化した細胞中にウイルス DNA が保持されています。そこで、Skinner 博士は、HSV による細胞癌化を「ヒット&ラン」モデルで説明しました。細菌感染発癌における「ヒット&ラン」メカニズムについては、2014 年に初めて、畠山昌則教授によって提唱されました。ピロリ菌感染を基盤とする胃癌発症において、CagA は細胞癌化に重要な役割を果たしますが、確立された胃癌組織には *cagA* 陽性ピロリ菌は存在しません。CagA は癌化に有利な遺伝子変異の獲得までは必要ですが、それ以降のプロセスは CagA に依存しないという考えに基づきます。

注 6. DNA 二本鎖切断 (DNA double-strand break : DSB)

細胞にとって最も重篤な DNA 損傷の一つです。DSB が誘発される原因として細胞内の酵素活性などの内的要因や電離放射線や抗癌剤などの薬物による外的要因があげられます。DSB が修復されず蓄積すると、遺伝子情報の消失や染色体転座、細胞死を招きます。DSB は主に非相同末端連結または相同組換えと呼ばれる修復経路によって修復されます。相同組換え修復は DNA の

塩基配列の変動を伴わない正確な修復機構であるため、相同組換え修復能の低下は、遺伝子情報の喪失に繋がり、発癌の危険性を高めます。

注 7. 核移行シグナル

細胞質と核の間をシャトルする分子は、核膜に存在する核膜孔複合体を通過します。核移行シグナルは蛋白質を核内に輸送させる目印となるアミノ酸配列であり、一般に塩基性アミノ酸のリシンやアルギニンが集まった領域を指します。蛋白質の核内輸送は核移行シグナルに運搬蛋白質のインポーチンと GTP 結合蛋白質である Ran が結合し、核膜孔複合体が認識して通過できるようになります。

注 8. 複製フォーク

DNA の複製は複製起点から両方向に二本鎖 DNA を開きながら進行します。複製の進行に伴い乖離した DNA と未乖離状態の二本鎖 DNA が接合した Y 字構造は複製フォークと呼ばれます。紫外線や化学物質などの外的要因または活性酵素などの内的要因により停止した複製フォークは核酸分解酵素ヌクレアーゼの標的となり、複製フォークの崩壊により DSB が形成されます。BRCA1 はこの停止した複製フォークをヌクレアーゼの攻撃から保護することによりゲノムの安定を保っています。

注 9. 相同組換え

相同組換えは DSB 修復機構の一つです。相同組換え依存的修復は DNA 複製によって生じた同じ配列をもつ DNA を鋳型として塩基配列の増減を伴わずに、正確に DSB を修復することができます。一方、相同組換え修復能が低下した細胞では、DSB を DNA の相同性は無関係に DSB 末端同士を直接連結する「非相同末端連結」または DSB 末端のわずかな相同性を利用して DSB を修復する「マイクロホモロジー媒介末端連結」により修復します。いずれの修復経路も塩基配列の増減を伴う可能性があるため、修復の正確性は高くなく、遺伝子変異に繋がる恐れがあります。

注 10. BRCAness

BRCA1 や BRCA2 (= BRCA) は複製時の DNA の保護および相同組換え修復において中心的な役割を担っています。そのため、BRCA の機能不全は DSB につながる複製フォークの不安定化ならびに相同組換え修復機能の欠損を引き起こします。この細胞状態を BRCAness と呼びます。

注 11. Hippo シグナル

進化的に保存された細胞シグナル伝達経路であり、細胞増殖や細胞死、臓器の発生や大きさの制御、さらに組織の再生など生体内の様々な調節に関わっています。Hippo シグナルの制御不全は癌発生の要因となるため、癌抑制性のシグナルと認知されています。

注 12. 胃底腺

胃における外分泌腺の一種です。胃底腺は胃酸を分泌する壁細胞、胃酸から粘膜を守る粘液を分泌する粘液細胞および胃酸と反応後に蛋白質分解酵素ペプシンに変化するペプシノーゲンを分泌する主細胞で構成されています。また、胃底腺は胃底部から胃体部にかけて分布しています。

注 13. PARP 阻害剤

PARP（ポリ ADP リボースポリメラーゼ）という DNA 修復などに関与する酵素の活性を阻害する薬剤です。PARP を阻害することで DNA 一本鎖切断の修復を妨げます。DNA の一本鎖切断は DNA 複製の過程で二本鎖切断に至ります。通常の細胞は相同組換え修復機構を利用して DNA 二本鎖切断を修復しますが、相同組換えができない癌細胞では、二本鎖切断を修復できず細胞死に至ります。PARP 阻害剤はこのような仕組みによって細胞死が誘導されることで抗腫瘍効果をあらわし、相同組換え機能の低下した乳癌や卵巣癌の化学療法として使用されています。

8. 添付資料：

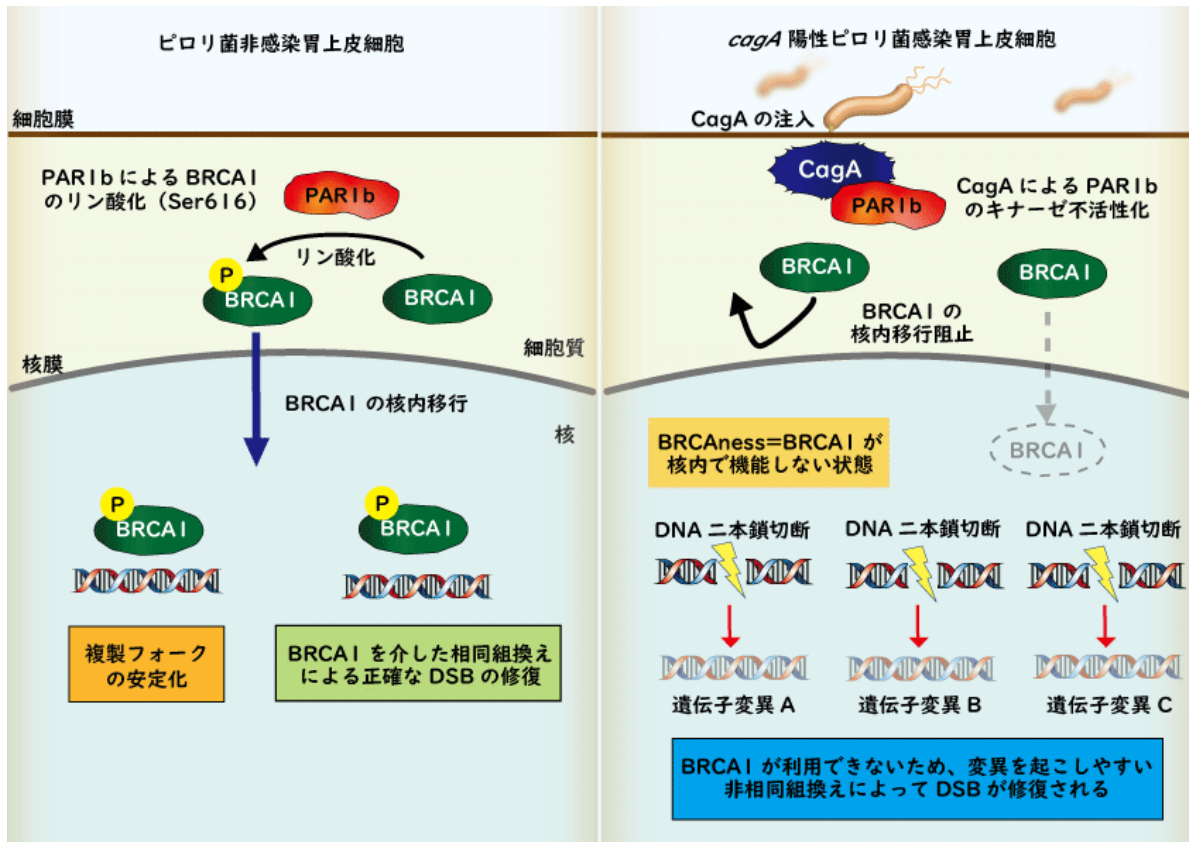


図1：ピロリ菌感染を受けていない胃上皮細胞では、細胞質キナーゼ PAR1b は遺伝性乳癌・卵巣癌抑制遺伝子産物 BRCA1 の 616 番目のセリン残基をリン酸化します。リン酸化された BRCA1 は細胞質から核に移行し、核内において DNA 複製フォークの保護、DNA 二本鎖切断の阻止、さらには相同組換えを用いた二本鎖切断 DNA の正確な修復を担います。結果、細胞内のゲノム遺伝子情報は正確に保持されることになります（図の左側の部分）。

ピロリ菌感染胃上皮細胞では、ピロリ菌から細胞内に注入された CagA 癌蛋白質が細胞膜直下で PAR1b と複合体を形成シることにより、PAR1b のリン酸化酵素活性（キナーゼ活性）を不活性化します。結果、細胞質内に存在する BRCA1 は PAR1b によりリン酸化されず、核内移行が抑制されます。核内 BRCA1 の量的減少・枯渇は、DNA 複製フォークの崩壊とそれに伴う DNA 二本鎖切断の誘導を引き起こします。核内 BRCA1 が枯渇した状況では、DNA 二本鎖切断は正確な修復である相同組換えではなく、変異を起こしやすい非相同組換えを介して修復される結果、様々な変異がゲノム内に蓄積します。これら変異の中に癌を促す遺伝子が含まれることにより、ピロリ菌 CagA に依存しない細胞自律的な癌形質を獲得した胃癌（前駆）細胞が生み出されます（図の右側の部分）。

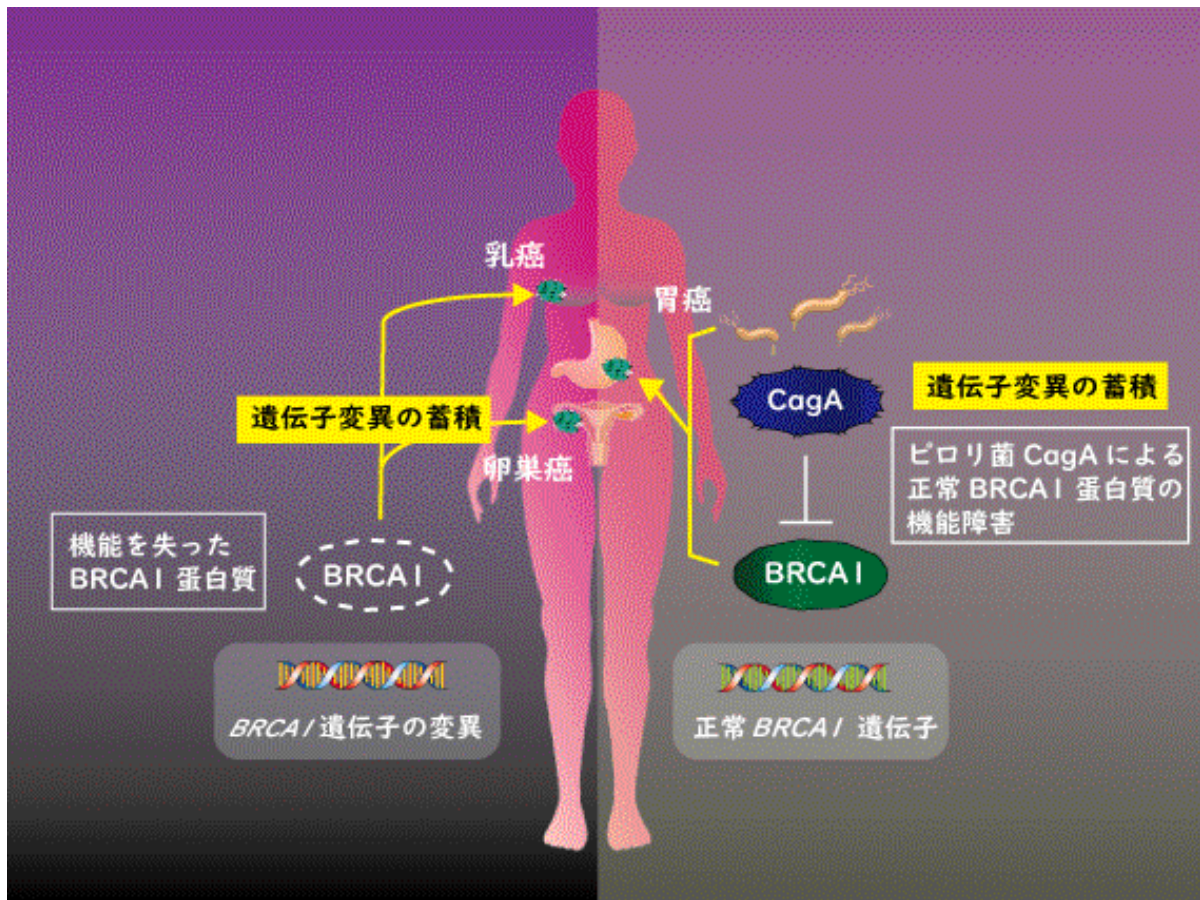


図 2：生殖系細胞（精子や卵子）において *BRCA1* 遺伝子が壊れている家系では、高率に乳癌や卵巣癌が発症します（左側）。一方、ピロリ菌が慢性感染した胃上皮細胞は正常の *BRCA1* 遺伝子を有するにもかかわらず、ピロリ菌から注入された CagA により正常な *BRCA1* 癌抑制遺伝子産物の機能が抑制され、ピロリ菌感染癌としての胃癌が誘導されます（右側）。