



H. pylori のcagA分子多型による胃癌リスク診断（助成研究報告）

田中，擴址
吉田，優
東，健

(Citation)

神戸大学医学部神緑会学術誌, 25:72-74

(Issue Date)

2009-08

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/81006737>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/81006737>



H.pylori の *cagA* 分子多型による胃癌リスク診断

神戸大学医学部医学医療国際交流センター・難治性疾患病態解析分野

田中 擴址 (平成13年卒), 吉田 優 (平成4年卒), 東 健 (京都府立医科大, 昭和56年卒)

1. 背景

Helicobacter pylori (*H.pylori*) 感染は, 慢性胃炎, 胃・十二指腸潰瘍, 胃癌, 胃 MALT リンパ腫などの多様な疾患を引き起こすことが知られている。*H.pylori* 感染の病態は, 宿主側免疫応答, 菌側病原因子, 環境因子の相互作用することにより多様性を有すると考えられている。WHO は *H.pylori* を 1 群の definite carcinogen に認定しているが, マウスへの感染実験が困難なことから, 感染における宿主免疫応答や発癌へいたるメカニズムの詳細に関しては不明なままである。

2. *H.pylori* 感染における CagA の作用

H.pylori の全ゲノムは1997年に解読されており, 167万塩基対, 1600個の遺伝子より構成されている。*H.pylori* ゲノム内には水平伝播によりゲノム内に持ち込まれたと考えられる外来性遺伝子群が存在している。これは病原性大腸菌など多くのグラム陰性菌に共通した現象であり, この外来性遺伝子群を有することにより病原性が獲得されることが分かっている。*H.pylori* においては, 代表的な病原因子 CagA がこの PAI 内に存在する遺伝子によりコードされることから, *cag* PAI と呼ばれる。*cag* PAI は約37Kbp の大きさで, 約30個の遺伝子が存在し, *H.pylori* の病原性と密接に関係することがさまざまな研究から明らかとなっている。

H.pylori は, 胃上皮細胞に接着すると 4 型分泌機構を発現し, その内腔を通して CagA という 120 ~ 145kDa の蛋白質を上皮細胞内へ直接注入し, さまざまな形で上皮細胞障害を引き起こす事が分かっている。注入された CagA は膜移行を介して, src family kinase によりチロシンリン酸化を受け, チロシンリン酸化依存的にチロシンホスファターゼである SHP-2 (Src homology phosphatase2) と結合する。SHP-2 は細胞分化や増殖, 運動制御において重要な役割を担うことが知られているが, CagA との結合によりチロ

シンホスファターゼ活性が著明に上昇する。SHP-2 は CagA により脱制御され, Ras 非依存的に Erk MAP キナーゼの持続的活性化を引き起こすことや, FAK (focal adhesion kinase) のキナーゼ活性を抑制することにより細胞接着斑を障害し, 細胞運動の亢進へ寄与することが報告されている。一方, CagA はリン酸化非依存的に上皮細胞間のタイトジャンクションの機能を障害することが分かっている (図1)。

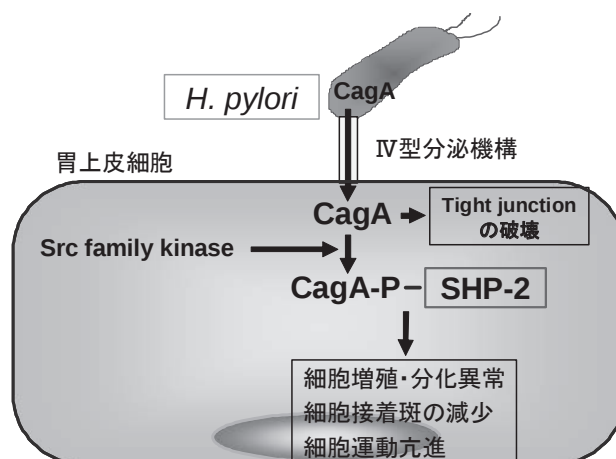


図1. *H.pylori* 感染における CagA リン酸化

我々がヒト胃粘膜生検組織を用いて検討したところ, *H.pylori* 陽性胃炎患者から得られた生検組織において CagA のチロシンリン酸化および CagA - SHP-2 の複合体形成を確認した。これは, 実際にヒト体内においても *H.pylori* 感染により CagA が胃粘膜内へ注入され, チロシンリン酸化を受け SHP-2 と結合し, 細胞内シグナル伝達系を攪乱していることを示すものである。

これらの *in vitro*, *in vivo* の結果から, CagA が胃粘膜上皮細胞障害を引き起こすことが強く示唆されるものの, 胃発癌との直接的な関連性については不明であったが, 最近, 北海道大学の畠山教授らが, CagA 過剰発現マウスの作成に成功している。12週令の時点で胃粘膜の過形成が認められ, 72週令まで観察すると, 胃に過形成性ポリープの形成が認められた。更に

は、胃癌、小腸癌の発生が少数ながらも認められた。チロシンリン酸化耐性 CagA 過剰発現マウスでは、これらの胃粘膜過形成や消化管癌の発生は認められておらず、CagA がチロシンリン酸化依存的に胃発癌を誘導することが強く示唆される結果であった。

3. CagA 分子多型

CagA には分子多型が存在する。CagA のチロシンリン酸化部位は、EPIYA モチーフ（グルタミン酸-プロリン-イソロイシン-チロシン-アラニン）というアミノ酸モチーフで特徴付けられる。EPIYA モチーフが CagA 分子の C 末端側に繰り返して存在しており、このモチーフ内のチロシン残基がリン酸化される。EPIYA サイトは、EPIYA 配列周辺のアミノ酸配列の違いにより、EPIYA-A, B, C, D サイトに分類される。その並び方は菌株間で異なり、我々は ABC タイプの CagA を欧米型、ABD タイプの CagA を東アジア型と呼んでいる。EPIYA-A サイト、B サイトのチロシン残基もリン酸化されるが、主たるリン酸化部位は EPIYA-C サイトもしくは EPIYA-D サイトであり、CagA の SHP-2 結合部位はチロシンリン酸化部位下流のアミノ酸配列 pY-A-T-I-D-F であることが分かっている（図2）。東アジア型の D 領域では SHP-2 結合アミノ酸配列が100%一致するのに対し、欧米型の C 領域では5番目のアミノ酸が異なっており、このわずかな相違により東アジア型 CagA は欧米型 CagA に比し、SHP-2 との結合が有意に強いことが示されている。これらの事から、東アジア型 CagA はより強い生物学的活性を有している事が考えられた。

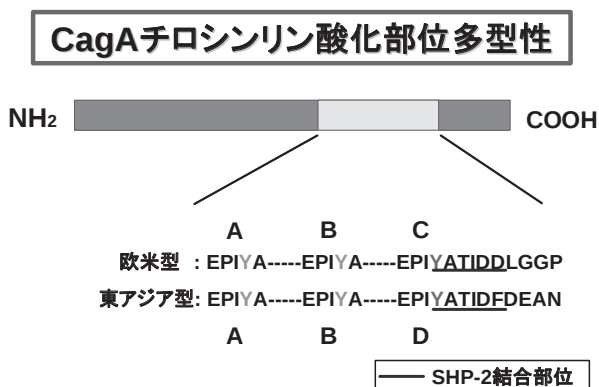


図2. CagA 分子多型

4. CagA 分子多型と胃発癌との関係

CagA 分子多型により生物学的活性の差が存在することは、*in vitro* の実験で明らかにされているが、その臨床的意義については十分に検討されていない。そ

こで我々は、胃癌死亡率の異なる日本の2県（福井県、沖縄県）における慢性胃炎および胃癌患者から単離された計131例の菌株につき CagA 分子多型と臨床像との相関を検討した。福井県では全ての株が東アジア型 CagA であったが、沖縄県では慢性胃炎においては東アジア型と欧米型が混在していたにも関わらず、胃癌株は92%が東アジア型 CagA という結果であった。福井県、沖縄県を合わせると全胃癌中、96.2%が東アジア型 CagA であるという結果であった（表1）。また、CagA 分子多型と胃炎の組織学的変化の相関を検討したところ、東アジア型 CagA 陽性 *H.pylori* 感染では胃粘膜炎症の程度及び萎縮が強いことが分かった。興味あることに、沖縄の胃癌株で欧米型 CagA を有する2株の EPIYA 繰り返し部位を検討したところ、1株は ABCC と C が2回、もう1株は ABCCC と C が3回繰り返された得意な欧米型株であった。欧米型 CagA でも SHP-2 結合部位が繰り返されると SHP-2 との結合が強くなり、東アジア型に近い働きをするものと考えられる。以上の結果から、CagA と SHP-2 との結合が胃粘膜萎縮および胃発癌の病態に強く関与することが示唆された。

表1. 福井、沖縄県における CagA 分子多型と臨床像との比較

	慢性胃炎			胃癌		
	陰性株	東アジア型	欧米型	陰性株	東アジア型	欧米型
福井	0	35	0	0	29	0
沖縄	6	28	8	0	23	2

5. Asian Paradox と CagA 分子多型

H.pylori 感染と胃癌との関連性には、asian paradox と呼ばれる矛盾点が存在する。東アジア諸国における *H.pylori* 感染率は高く、臨床分離株の大半は CagA 陽性株であるが、東アジア諸国における胃癌の年齢調整死亡率は著しく異なっている。この現象は菌側病原性因子のみならず、ヒト側の遺伝的素因や、生活環境などの環境因子の違いにより生じているものと推測されるが、我々は CagA 分子多型によりこのような相違が生じている可能性を考え、日本、中国、ベトナム、タイにおける慢性胃炎、胃癌患者からの単離された合計195菌株につき CagA 分子多型と臨床像との相関を検討した。福井、中国、ベトナムにおける単離株は全て東アジア型であったが、沖縄、タイでは東アジア型と欧米型が混在していた。沖縄の慢性胃炎株は、38例

表2. 慢性胃炎株の CagA 分子多型

地域	陰性株	東アジア型	欧米型	胃癌死亡率
日本				
福井	0	36	0	43.70
沖縄	6	26	6	18.20
中国	0	20	0	24.56
ベトナム	0	20	0	12.83
タイ	0	2	13	3.31
計	6 (4.7%)	104 (80.6%)	19 (14.7%)	

表3. 胃癌株の CagA 分子多型

地域	陰性株	東アジア型	欧米型	胃癌死亡率
日本				
福井	0	29	0	43.70
沖縄	0	11	0	18.20
中国	0	5	0	24.56
ベトナム	0	10	0	12.83
タイ	0	7	4	3.31
計	0 (0%)	62 (93.9%)	4 (6.1%)	

中26例が東アジア型，6例が欧米型であるのに対し，胃癌株は全て東アジア型であった。また，タイの慢性胃炎株は大半が欧米型であったが，胃癌株では東アジア型が11例中7例（63.6%）を占める結果であった（表2，表3）。以上の事から，東アジア型 CagA を有する *H.pylori* 感染は胃発癌の高危険度群であると事が考えられた。

文 献

- 1) Covacci A, Telford JL, Del Giudice G, et al. *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. *Science*. 1999 ; 284 : 1328.
- 2) Asahi M, Azuma T, Ito S, et al. *Helicobacter pylori* CagA protein can be tyrosine phosphorylated in gastric epithelial cells. *J Exp Med*. 2000 ; 191 : 593.
- 3) Higashi H, Tsutsumi R, Muto S, et al. SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. *Science*. 2002 ; 295 : 683.
- 4) Higashi H, Nakaya A, Tsutsumi R, et al. *Helicobacter pylori* CagA induces Ras-independent morphogenetic response through SHP-2 recruitment and activation. *J Biol Chem*. 2004 ; 279 : 17205.
- 5) Tsutsumi R, Takahashi A, Azuma T, et al. Focal adhesion kinase is a substrate and downstream effector of SHP-2 complexed with *Helicobacter pylori* CagA. *Mol Cell Biol*. 2006 ; 26 : 261-76.
- 6) Yamazaki S, Yamakawa Y, Ito Y, et al. The CagA protein of *Helicobacter pylori* is translocated into epithelial cells and binds to SHP-2 in human gastric mucosa. *J Infect Dis*. 2003 ; 187 : 334-7.
- 7) Ohnishi N, Yuasa H, Tanaka S, et al. Transgenic expression of *Helicobacter pylori* CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 ; 105 : 1003-8.
- 8) Higashi H, Tsutsumi R, Fujita A, et al. Biological activity of the *Helicobacter pylori* virulence factor CagA is determined by variation in the tyrosine phosphorylation sites. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 ; 99 : 14428-14433.
- 9) Azuma T, Yamazaki S, Yamakawa A, et al. Association between diversity in the Src homology 2 domain-containing tyrosine phosphatase binding site of *Helicobacter pylori* CagA protein and gastric atrophy and cancer. *J Infect Dis*. 2004 ; 189 : 820-827.
- 10) Fukase K, Kato M, Kikuchi S, et al. Effect of eradication of *Helicobacter pylori* on incidence of metachronous gastric carcinoma after endoscopic resection of early gastric cancer: an open-label, randomised controlled trial. *Lancet*. 2008 ; 372 : 392-7.