

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成31年度（2019年度）研究進捗評価用〕

平成28年度採択分
平成31年3月8日現在

ピロリ菌 CagA による「Hit-and-Run」発がん機構の解明とその制御

Mechanism and regulation of “Hit-and-Run” carcinogenesis
by *Helicobacter pylori* CagA

課題番号：16H06373

畠山 昌則 (HATAKEYAMA, MASANORI)

東京大学・大学院医学系研究科・教授



研究の概要（4行以内）

ピロリ菌感染による胃がんの発症プロセスを「ピロリ菌がんタンパク質 CagA が直接ドライブするステージ」とそれに引き続く「CagA 非依存的に進行するステージ」に分け、CagA 依存的な細胞がん化促進機構の本態ならびにがん前駆細胞が CagA 非依存性を獲得する分子機構解明を通して、胃がん発症を担う「Hit-and-Run」発がんの全容を明らかにする。

研究分野：総合生物・腫瘍学・腫瘍生物学

キーワード：発がん、ヘリコバクター・ピロリ菌、胃がん

1. 研究開始当初の背景

胃がんは全世界部位別がん死亡の第3位を占める。大多数の胃がんはヘリコバクター・ピロリ感染を基盤に発症する。胃がんの発症にはピロリ菌による胃上皮細胞内への CagA の持続的注入がきわめて重要な役割を担うが、ひとたび樹立された胃がんの維持にピロリ菌あるいは CagA はもはや不要となる。この事実から、胃がんは「Hit-and-Run」型の発がんプロセスを経て発症すると考えられ、その発がん機構解明は胃がんのみならず、明確なドライバー変異を持たないがんの理解と治療戦略開発に貢献することが期待される。

2. 研究の目的

本研究では、ピロリ菌による「Hit-and-Run」型胃発がん機構の理解に向け、胃上皮細胞内に侵入したピロリ菌がんタンパク質 CagA が標的とする細胞内シグナル伝達系の本態ならびにがん（前駆）細胞が CagA 非依存性を獲得する分子機構の解明を目的とする。

3. 研究の方法

1) 「CagA 依存的な細胞がん化促進機構」に関しては、これまで申請者が明らかにしてきた CagA が攪乱する細胞内シグナルの生化学的本態解明を一段と進める。特に、CagA の主要細胞内標的である発がん性ホスファターゼ SHP2 に焦点を当て、CagA が有する EPIYA チロシンリン酸化モチーフの構造多型と SHP2 結合能ならびに発がんリスクとの関係を定量化するとともに、SHP2 の脱リン酸化基質である Parafibromin の細胞内シグナル制御因子としての役割およびその異常と発がんとの関係を明らかにする。さらに、SHP2

とがん抑制性 Hippo シグナル経路間のクロストークに関する生化学的解析を通して、ピロリ菌 CagA と Hippo 経路の接点を探る。また、CagA のチロシンリン酸化阻止を胃がんの予防・治療戦略とすべく、CagA ホスファターゼの単離・同定を目指す。

2) 「発がん発症における CagA 依存性からの脱却」プロセスの解析に関しては、胃がんを高頻度に認められる遺伝子変異が CagA の発がん関連生物活性を機能的に代償できる可能性を探る。同時に、ROSA26 遺伝子座内に誘導発現型のピロリ菌 *cagA* 遺伝子発現ユニットをノックインすることで CagA 発現を個体内で随意に誘導できるトランスジェニックマウス作製を進める。樹立したマウスを用い、様々なタイミングで CagA 発現を誘導した後、胃粘膜病変部位から抽出したゲノムのエクソーム解析/ゲノムメチル化解析等を通して、がん（前駆）細胞の CagA 非依存性獲得に必要なゲノム変異・エピゲノム変化を同定する。

4. これまでの成果

1) CagA が脱制御する SHP2 の新規脱リン酸化基質として同定した Parafibromin が、Wnt シグナル, Hedgehog シグナル, Notch シグナルに代表される細胞内モルフォゲン・シグナルを集積・統合し、状況に最適化した転写に変換する Scaffold 分子として機能することを明らかにした。これらモルフォゲン・シグナルは細胞の増殖・分化調節を介して臓器・器官の形成・維持に関与しており、CagA による SHP2-arafibromin シグナル軸の脱制御は胃がんの発症母地形成に重要な役割を担うと考えられる。

2) Parafibromin が発がん性転写コアクティベーター YAP/TAZ とチロシンリン酸化依存的に複合体を形成し、その活性を制御することを見出した。CagA-SHP2 複合体形成による Parafibromin-YAP/TAZ 相互作用の攪乱もまた胃発がんに関わることが示唆された。

3) SHP2 とともに CagA の細胞標的となる PAR1b が、高分子ヒアルロン酸-CD44 相互作用により制御される Hippo シグナルの抑制キナーゼとして機能することを明らかにした。

4) ピロリ菌 CagA の発がん活性を阻害するホスファターゼとして単離した SHP1 が EB ウイルス (EBV) 感染により強いエピゲノムサイレンシングを受けることを見出し、EBV による SHP1 の発現抑制がピロリ菌 CagA の発がん活性を増強することを明らかにした。

5. 今後の計画

ピロリ菌感染による「Hit-and-Run」型の胃発がん進行の背景として、CagA が宿主ゲノム不安定を誘導する可能性を検証する。また、Parafibromin のチロシンリン酸化-脱リン酸化機構の破綻が消化管粘膜の増殖・分化に及ぼす影響を明らかにする。さらに、ピロリ菌 CagA が Wnt シグナルを攪乱する分子機構を解明する。一方、CagA を誘導発現するトランスジェニックマウスを用いて、CagA によるゲノム不安定性誘導と発がんにおける CagA 非依存性獲得の機構を合わせて解明する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

Ooki, T., Murata-Kamiya, N., Takahashi-Kanemitsu, A. and Hatakeyama, M. High-molecular-weight hyaluronan is a Hippo signal ligand that directs cell density-dependent growth inhibition via polarity-regulating kinase PAR1b. *Dev. Cell*, 4, 590-604 (2019)

Hashi, K., Imai, C., Yahara, K., Azuma, T., Hayashi, T., Miyabe-Nishiwaki, T., Tahmina, K., Sato, H., Matsuoka, M., Niimi, S., Munehiro Okamoto, M. and Hatakeyama, M. Evaluating the origin and virulence of a *Helicobacter pylori* cagA-positive strain isolated from a non-human primate. *Sci. Rep.*, 8, 15981 (2018)

Tang, C., Takahashi-Kanemitsu, A., Kikuchi, I., Ben, C. and Hatakeyama, M. Transcriptional co-activator functions of YAP and TAZ are inversely regulated by tyrosine phosphorylation status of Parafibromin. *iScience*, 1, 1-15 (2018)

Hatakeyama, M. Structure and function of *Helicobacter pylori* CagA, the first-identified bacterial protein involved in human cancer. *Proc. Jpn. Acad., Ser. B. Phys. Biol. Sci.*, 93, 196-219 (2017)

Hayashi, T., Senda, M., Suzuki, N., Nishikawa, H., Ben, C., Tang, C., Nagase, L., Inoue, K., Senda, T. and Hatakeyama, M. Differential mechanisms for SHP2 binding and activation are exploited by geographically distinct *Helicobacter pylori* CagA Oncoproteins. *Cell Rep.*, 20, 2876-2890 (2017)

Nishikawa, H. and Hatakeyama, M. Polymorphisms and structural disorder in determining pathobiological performance of the *Helicobacter pylori* CagA oncoprotein. *Toxins*, 9, 136 (2017)

Shiroki, T., Yokoyama, M., Tanuma, N., Maejima, R., Tamai, K., Yamaguchi, K., Oikawa, T., Noguchi, T.,

Miura, K., Fujiya, T., Shima, H., Sato, I., Kamiya, N., Hatakeyama, M., Iijima, K., Shimosegawa, T. and Satoh, K. The enhanced expression of PKM2 is involved in the gastric cancer development via regulating cancer specific metabolism. *Cancer Sci.*, 108, 931-940 (2017)

Hatakeyama, M. A sour relationship between Baba and Lewis b. *Cell Host Microbe*, 21, 318-320 (2017)

Roy, R.K., Hoppe, M.M., Sharma, N., Srivastava, S., Tan, K.T., Yang, H., Voon, D.C., Pang, B., The, M., Murata-Kamiya, N., Hatakeyama, M., Samanta, A., Chang, Y.T., Ito, Y., Ho, K.Y., Tan, P., Soong, R., Koeffler, P.H., Yeoh, K.G. and Jeyasekharan, A.D. CEACAM6 is upregulated by *Helicobacter pylori* CagA and is a biomarker for early gastric cancer. *Oncotarget*, 7, 55290-55301 (2016)

Nakano, M., Yahiro, K., Yamazaki, E., Kurazono, H., Akada, J.K., Yamaoka, Y., Niidome, T., Hatakeyama, M., Suzuki, H., Yamamoto, T. Moss, J. and Hirayama, T. *Helicobacter pylori* VacA, acting through receptor tyrosine phosphatase □□ is crucial for CagA phosphorylation in human duodenal carcinoma cell line AZ-521. *Dis. Model Mech.*, 9, 1473-1481 (2016)

Kikuchi, I., Takahashi-Kanemitsu, A., Sakiyama, N., Tang, C., Tang, P.J., Noda, S., Nakao, K., Kassai, H., Sato, T., Aiba, A. and Hatakeyama, M. Dephosphorylated parafibromin is a transcriptional coactivator of the Wnt/Hedgehog/Notch pathways. *Nat. Commun.*, 7, 12887 (2016)

Nishikawa, H., Hayashi, T., Arisaka, F., Senda, T. and Hatakeyama, M. Impact of structural polymorphism for the *Helicobacter pylori* CagA oncoprotein on binding to polarity-regulating kinase PAR1b. *Sci. Rep.*, 6, 30031 (2016)

Senda, Y., Murata-Kamiya, N. and Hatakeyama, M. Csk-mediated EPIYA phosphorylation of Pragmin creates a feed-forward Csk activation loop that promotes cell motility. *Cancer Sci.*, 107, 972-980 (2016)

Kameoka, S., Kameyama, T., Hayashi, T., Sato, S., Ohnishi, N., Hayashi, T., Murata-Kamiya, N., Higashi, H., Hatakeyama, M. and Takaoka, A. *Helicobacter pylori* induces IL-1β protein through the inflammasome activation in differentiated macrophagic cells. *Biomed. Res.*, 37, 21-27 (2016)

Senda, M., Hayashi, T., Hatakeyama, M., Takeuchi, K., Sasaki, A. and Senda, T. Improvement of *Helicobacter pylori* CagA crystals by the multi-step soaking method. *Cryst. Growth Des.*, 16, 1565-1571 (2016)

Lang, B.J., Gorrell, R.J., Tafreshi, M., Hatakeyama, M., Kwok, T. and Price, J.T. The *Helicobacter pylori* cytotoxin CagA is essential for suppressing host heat shock protein expression. *Cell Stress Chaperones*, 21, 523-533 (2016)

受賞歴: 野口英世記念医学賞 (2016 年)

7. ホームページ等

<http://www.microbiol.m.u-tokyo.ac.jp/>