

平成22年3月31日現在

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2007～2009

課題番号：19209014

研究課題名(和文)ヘリコバクター・ピロリの VacA 毒素の毒性発現と CagA の相互作用解析

研究課題名(英文) Toxicity of Helicobacter pylori VacA and its mutual effect with CagA

研究代表者

平山 壽哉 (HIRAYAMA TOSHIYA)

長崎大学・熱帯医学研究所・教授

研究者番号：50050696

研究成果の概要(和文)：1) VacAは 2) VacAによってp38 MAP kinase/転写因子ATF-2 経路が活性化され、誘導型シクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) の発現が亢進し、プロスタグランジンE2の産生が促された。3) VacAは、U937 細胞内のCa<sup>2+</sup>濃度を上昇させてp38 MAP kinase を活性化し、ATF-2, CREBおよびNF-κBを活性化してIL-8 の発現を誘導させた。4) 5) 細胞内へ移行したCagAはVacAの細胞内への取り込みを阻害し、細胞空胞化活性を低減させた。しかし、上記のp38 MAP kinase活性化には影響しなかった。

研究成果の概要(英文)：1) VacA may induce apoptosis by downregulation of anti-apoptotic Bcl-2 subfamily proteins via STAT3 inhibition. 2) VacA enhances PGE2 production by AZ-521 cells through induction of COX-2 expression via the p38 MAPK/ATF-2 cascade, leading to activation of the CRE site in the COX-2 promoter. 3) In promonocytic U937 cells, VacA directly increases IL-8 production by activation of the p38 MAPK via intracellular Ca<sup>2+</sup> release, leading to activation of the transcription factors, ATF-2, CREB, and NF-κB. 4) VacA stimulated protein kinase B (Akt) activity via activation of PI3K, resulting in increased phosphorylation of its substrate, GSK3, with subsequent release of β-catenin from a GSK3/β-catenin complex and its translocation to the nucleus, leading to activation of the cyclin D1 promoter. 5) Translocated CagA from *H. pylori* into gastric epithelial cells inhibit uptake and cytotoxicity of VacA via endocytosis inhibition in the cells. However, transfection of cagA gene did not affect the activation of p38 MAPK caused by VacA.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	18,600,000	5,580,000	24,180,000
2008年度	12,700,000	3,810,000	16,510,000
2009年度	7,100,000	2,130,000	9,230,000
年度			
年度			
総計	38,400,000	11,520,000	49,920,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・細菌学(含真菌学)

キーワード：(1) ヘリコバクター・ピロリ (2) VacA (3) 細菌毒素 (4) 毒性発現

## 1. 研究開始当初の背景

胃粘膜に特定の細菌は存在しないというこれまでの考えを覆して1983年に発見されたヘリコバクター・ピロリは、胃炎、消化性潰瘍、MALTリンパ腫、胃癌など各種消化器疾患の起病性が明らかされている新興感染症の一つである。1997年に本菌のゲノム解析が完了し、本菌がゲノムレベルできわめて多型性に富むことが明らかにされ、この差異が菌株間の病原性の差として反映される可能性が大きく、cagA遺伝子とvacA遺伝子を有する菌株は病原性が強いとされている。事実、4型分泌装置を介して直接宿主細胞に注入されるエフェクター分子CagAには幾つかの多型が存在し、東アジア型CagAは西洋型CagAに比べ胃発癌性が高いことが指摘されている。

一方、空胞化毒素 (vacuolating cytotoxin) と呼ばれるVacAは菌体外に分泌され、胃上皮細胞に空胞変性を引き起こし、死滅させる。この他にも本菌の病原性に関与する因子として細菌表層の付着因子や胃酸の中和に働くウレアーゼなどが挙げられるが、とくに生体に種々の症状を呈するために重要であるとされるVacAやCagAが担う感染における役割を究明し、毒素病態学的に理解することが本菌感染症の治療や予防に必須であると考えられる。

申請者はVacAが宿主に最初に結合して初期効果を及ぼす場である「毒素の受容体」に着目し、この受容体を精製して、構造を調べ、VacA受容体が受容体型チロシンフォスファターゼRPTP $\beta$ であることを示した。さらに、RPTP $\beta$  KOマウスにVacAを投与しても胃炎、潰瘍の病変が認められない。これらの結果は、VacAの結合により引き起こされる受容体型チロシンフォスファターゼの活性変化がチロシンリン酸化蛋白質などの急激な代謝異常をもたらすことを示唆している。興味深いことに胃組織にはVacAと結合するもう一つの受容体型チロシンフォスファターゼ、RPTP $\alpha$ が存在する。しかし、VacAのRPTP $\alpha$ への結合によって細胞に空胞形成するものの、胃粘膜障害を認めない。また、RPTP $\beta$ の細胞外領域にはRPTP $\beta$ の本来のリガンドであるプレイオトロフィンとの結合部位とは異なるVacAとの結合に重要な構造 (QTTQP) があり、この構造と類似した構造がRPTP $\alpha$ にも保存されている。さらにVacAに知られる二つの毒素型のVacA (m1とm2) はともにこれら二つのRPTPに結合する。

VacAの空胞形成や毒性発現の情報伝達には、細胞膜のラフトの機能が必須である。VacAの空胞形成に陰チャネル形成が重要であるという考えがあるが、一方において、GTP結合蛋白であるRac1や dynamin 2, syntaxin 7が関与する知見を得ているので、我々はVacAが宿主受容体へ結合した後、リピッドラフトへ集積し、細胞内への移行とそれに伴う細胞骨格や細胞内小胞輸送の異常が空胞形成を引

き起こしていると考えているが、本毒素の名称の基になった空胞形成作用が病態形成にどのように関わっているのかは不明である。事実、申請者らは世界に先立ちVacAが空胞形成作用とは無関係にミトコンドリア障害を引き起こし細胞死させることを報告した。そして、その機序として、最近、VacAがBax およびBakを活性化して細胞を死滅させることを示した。このようにVacAの空胞形成作用の解明だけでは、もはやVacAの多様な毒性を十分に説明することが出来ないのは明らかである。加えて、VacAがT細胞に直接作用し、転写因子NFATの核移行を阻害してIL-2の産生を抑制する報告がドイツのグループによってなされた。申請者らも、VacAが胃由来株化細胞AZ-521のp38/ATF-2経路を活性化して、COX-2など宿主の種々の蛋白の発現を攪乱していることを明らかにしている。さらに、並行して行っているNIHとの共同研究で、VacAの宿主内分布が胃組織にとどまらないことも分かってきた。

## 2. 研究の目的

本研究では、VacAの胃上皮細胞のみならず炎症細胞、肺上皮などの他の組織細胞に及ぼす作用を、p38 MAPキナーゼの活性化による転写因子や蛋白の発現に及ぼす影響を中心に究明する。具体的には、すでに明らかにしたVacAによるATF-2の活性化に加えて、最近の初期の実験で明らかになった「CREBの活性化」が影響する宿主側の蛋白の発現とその本来の機能に及ぼす効果を解析する。さらに、VacAがMc1-1など抗アポトーシス分子の転写・翻訳制御、翻訳後修飾を惹起する可能性を究明することは、VacAの細胞毒性解明に寄与するものである。またこうしたVacAの作用に及ぼすCagAの影響を、CagAを強制発現するなどして並行して調べ、VacAとCagAが示す宿主の炎症反応や細胞増殖、分化などに及ぼす影響を総合的に理解し、ヘリコバクターピロリの2つの主要な病原因子の病原性発現に関わる役割を明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) 抗アポトーシス分子である Bcl-2 ファミリータンパク質やその上流の STAT3 の発現変化と VacA 誘発アポトーシスについて：ヒト由来胃癌細胞株 AZ-521 に精製 VacA120nM を添加したものを検体とした。STAT3、抗アポトーシス Bcl-2 サブファミリータンパク質 (Mc1-1、Bcl-2、Bcl-XL) の発現変化は、Western blot、real time PCR にて確認した。アポトーシスは ELISA 法と DAPI 染色で定量した。空胞化阻害作用のある BafilomycinA1 による前処置を行った。また STAT3 の発現減少が p38MAPK や JNK に依存性かを確認するために、これらの阻害剤による前処置を行った。

(2) VacAによる p38 MAPKの活性化と PGE<sub>2</sub>

**産生促進:** ① VacAによるCOX-2 mRNAの発現誘導: ヒト胃由来株化細胞AZ-521に毒素を処理時間、あるいは、処理濃度を変えて作用させた後に全RNAを抽出した。そして、COX-1及びCOX-2 mRNAの量的変化をRT-PCR、またはreal-time PCRにて解析した。② VacAのCOX-2発現誘導に及ぼす各種阻害剤の影響: MAPKシグナル伝達系におけるp38MAPK阻害剤(SB203580)、Erk経路阻害剤(PD98059)および空胞形成阻害剤(Bafilomycin A1、NPPB、PI-PLC)で細胞を処理した後にVacAを作用させて、COX-2 mRNAの発現量をRT-PCR及びreal-time PCRにて解析した。③ ドミナントネガティブp38MAPK安定発現細胞株へのVacA作用解析: ドミナントネガティブp38MAPK発現プラスミドをAZ-521細胞に導入し、G418を用いてスクリーニングしてドミナントネガティブp38MAPK強発現細胞株を得た。そしてこの細胞にVacAを作用させてCOX-2発現に及ぼす影響をしらべた。④ ATF-2ノックダウン細胞を用いた解析: ATF-2特異的siRNAをAZ-521細胞にtransfectし、ウエスタンブロット法によりATF-2発現の抑制を確認した。その後、この細胞株を用いて、VacAを処理し、COX-2 mRNAの量的変化をreal-time PCRにて解析した。⑤ COX-2転写活性およびそのプロモーター領域の解析: COX-2 promoter遺伝子、または、その変異遺伝子を含むLuciferaseレポーター遺伝子を細胞に導入し、VacA処理後のLuciferase活性を測定した。⑥ VacAのPGE<sub>2</sub>産生に及ぼす影響: VacAを作用させた細胞の培養上清に遊離されるPGE<sub>2</sub>をEIA法により測定した。

**(3) VacAによるIL-8の産生誘導:** ① ヒト単球系U937細胞にVacAを処理時間、または、濃度を変えて作用させた後、培養上清に遊離されたIL-8をELISA法にて定量した。② シグナル伝達経路及び各種転写因子の解析については、VacA処理後、シグナル伝達に機能する蛋白の変化を、免疫染色法あるいは各種抗体を用いたWestern blot法で検出した。さらにシグナル伝達責任蛋白のsiRNAを用いた発現抑制の影響を解析した。また、③ 転写活性の解析は、IL-8 promoterまたはその一部に変異を含む遺伝子から成るLuciferase reporter遺伝子を細胞に導入し、毒素処理後のLuciferase活性を測定した。

**(4) VacAによるPI3K/Akt経路の活性化とその経路の下流にあるGSK3β/β-catenin複合体の形成に及ぼす影響およびVacA欠損株を用いた感染実験における影響:** ① VacAによるAktとGSK3βのリン酸化活性: ヒト胃上皮株化細胞AZ-521にVacAを作用させた後、AktとGSK3βのリン酸化特異的抗体を用いてWestern Blot法にて解析した。また

LY294002、MCD、PI-PLC、NPPB、Bafilomycin A1、さらにはPI3KsiRNAを用いて細胞を処理し、VacAによるAktのリン酸化活性に及ぼす影響を調べた。② GSK3β/β-catenin複合体に対するVacAの影響: 細胞にVacAを作用させ、免疫沈降法と共焦点顕微鏡により解析した。③ β-cateninの転写活性化能の解析: Luciferase reporter遺伝子の5'上流にβ-cateninと結合する領域を含むTOPtkLuciferase plasmid、またはその領域に変異を含むFOPTkLuciferase plasmidをAZ-521細胞に導入して解析した。また、Cyclin D1 promoter領域を持つluciferase plasmidを導入して解析した。④ Hp野生株およびVacA欠損株を用いた感染実験: 野生株およびVacA欠損株を感染(MOI=100)させ、Akt/GSK3bのリン酸化活性の亢進とGSK3β/β-catenin複合体形成の変化について解析した。

**(5) ピロリ菌と培養細胞の共培養条件下におけるCagAのVacA細胞障害およびVacA取り込みに及ぼす影響:** ピロリ菌CPY2052株のCagA遺伝子欠損(*cagAD*)株、VacA遺伝子欠損(*vacAD*)株、両遺伝子欠損(*cagAD vacAD*)株を作製し、AGS細胞との共培養を行った。共培養5時間後にゲンタマイシン添加培地にて殺菌し、17時間後にニュートラルレッド法により空胞化活性を測定した。各株VacAの分泌量および細胞内侵入量は、ウエスタン解析と免疫染色にて検出した。

#### 4. 研究成果

VacAによるアポトーシス誘発が確認できたが、同時にSTAT3とMcl-1、Bcl-2、Bcl-XLいずれの発現も、mRNAと蛋白レベルで低下した。各々のsiRNAを作製して細胞導入したところ、特にBcl-2及びBcl-XL siRNA投与時にapoptosisが著明に増加した。BafilomycinA1の前処理はアポトーシスやSTAT3とBcl-2サブファミリータンパク質の発現に影響することはなかった。p38MAPK阻害剤ではVacAによるSTAT3発現変化はなかったが、JNK阻害剤前投与により、VacAによるSTAT3発現減少が抑制されることが確認できた。従ってVacAによりSTAT3の発現がmRNA及び蛋白レベルで抑制され、その転写制御下流にある、抗アポトーシスBcl-2サブファミリータンパク質、特にBcl-2やBcl-XLが減少してアポトーシスが惹起される可能性が判明した。またVacAによるSTAT3発現減少は空胞化非依存的でJNK pathwayに依存している可能性が示唆された。これらのことから、STAT3発現の抑制を介した抗アポトーシス蛋白発現減弱が、VacA誘発アポトーシスの機序の1つとして考えられた。

一方、種々細胞を用いてVacAによるIL-8の

産生誘導を調べた結果、末梢血CD14<sup>+</sup>細胞のみならず、単球系株化細胞U937細胞を含む数種の細胞でVacAによるIL-8の産生誘導が著明に認められた。そこで、U937細胞を用いてVacAによるIL-8産生誘導機構を詳細に検討した。VacAは、MAPKの活性化を介してATF-2及びCREBを活性化し、これらの転写因子がIL-8 promoter領域のAP-1 siteへ結合するのを促した。また、VacAは、細胞内のCa<sup>2+</sup>濃度を上昇させてNF- $\kappa$ Bを活性化し、IL-8 promoter領域のNF- $\kappa$ B siteへの結合を促進させてIL-8の発現を誘導させた。この研究成果を(Journal of Immunology, 2008)に報告した。

VacAによって炎症反応に関わる誘導型シクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2)の発現がAZ-521細胞で亢進した。また、炎症性サイトカインであるIL-8について調べた結果、末梢血CD14<sup>+</sup>細胞のみならず、単球系U937細胞を含む数種の細胞でVacAによるIL-8の産生誘導を認めた。これらの現象はいずれもVacAによってp38 MAPK/ATF-2経路が活性化されたことに起因することが昨年度までに判明した。そこで、TSS4およびトランスフェクションによる細胞内へのCagAの導入が、VacAによるp38 MAPKおよびErkの活性化にどのように影響するかを調べたが、いずれもその影響は否定的であった。

次に、CagAの細胞内移行に伴い変化する転写活性化因子 $\beta$ -cateninについての報告が相次いでいる。 $\beta$ -cateninはカドヘリンと共に細胞接着因子として働く外に、細胞増殖に関わるタンパクの発現を誘導する発癌促進因子のひとつでもある。また $\beta$ -cateninは、Wnt経路およびPI3K/Akt経路の構成分子として、GSK3やAPCといった癌抑制因子と複合体を形成して細胞増殖などの調節に関わっている。そこで、VacAによるPI3K/Akt経路の活性化とその経路の下流にあるGSK3  $\beta$ / $\beta$ -catenin複合体の形成に及ぼす影響を調べるとともに、VacA欠損株を用いた感染実験においても同様な影響を解析した。その結果、VacAはPI3K/Aktを活性化し、 $\beta$ -cateninの転写活性を誘導することが明らかになった。かかる事実は、VacAが胃粘膜細胞の増殖にも関わっていることを示唆していた(J Biol Chem. 2009)。しかしこれらの現象は現在のところCagAとの関連が十分に究明できていない。一方、山口大学医学部プロテオーム蛋白機能制御学教室との共同研究において、菌体より胃上皮細胞に注入されるエフェクター蛋白であるCagAは酵母の生育阻害を引き起こすことを見出し、酵母遺伝子破壊株セットを用いてCagAの作用を抑制する遺伝子を探索した結果、CagAがエンドサイトーシス経路に関与する可能性が考えられた。酵母細胞内で発現させたCagAはエンドサイトーシスを阻害すること、さらには培養細

胞において発現させたCagAも、リピッドラフト依存性エンドサイトーシスを阻害し、宿主細胞へのVacAの取り込みを阻害していた。そこで、ピロリ菌と培養細胞の共培養条件下において、CagAがVacAによる細胞障害を低減しているかをCagAによるVacAの細胞内取り込み阻害機構に焦点を当てて解析した。

その結果、細胞空胞化活性はAGS細胞のみを1とすると、*cagAD vacAD*株および*vacAD*株で2倍、野生株で7倍、*cagAD*株は14倍であったことから、細胞内CagAはVacAによる細胞空胞化活性を有意に低減させていた。野生株と*cagAD*株のVacA分泌量はほぼ同程度であったが、細胞内に取り込まれたVacAの量は*cagAD*株のほうが野生株よりもより多かった。従って、ピロリ菌により細胞内に注入されたCagAは、菌自身が分泌するVacAが細胞内に取り込まれる量を制限し細胞障害性を低減することから、ピロリ菌の生育環境である胃上皮細胞を維持し持続感染に寄与していると考えられた(論文作成中)。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 13 件)

- ① Matsushima K, Isomoto H, Inoue N, Nakayama T, Hayashi T, Nakayama M, Nakao K, Hirayama T, Kohno S.: MicroRNA signatures in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa. Int J Cancer. 2010 in press. 査読あり
- ② Isomoto H, Moss J, Hirayama T.: Pleiotropic actions of *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin, VacA. (2010) Tohoku J Exp Med. 220:3-14. 査読あり
- ③ Takeshima E, Tomimori K, Takamatsu R, Ishikawa C, Kinjo F, Hirayama T, Fujita J, Mori N.: *Helicobacter pylori* VacA activates NF- $\kappa$ B in T cells via the classical but not alternative pathway. (2009) *Helicobacter*. 14:271-279. 査読あり
- ④ Takeshima E, Tomimori K, Teruya H, Ishikawa C, Senba M, D'Ambrosio D, Kinjo F, Mimuro H, Sasakawa C, Hirayama T, Fujita J, Mori N.: *Helicobacter pylori*-Induced Interleukin-12 p40 Expression. (2009) Infect. Immun. 77: 1337-1348. 査読あり

- ⑤ Nakayama M, Hisatsune J, Yamasaki E, Isomoto H, Kurazono H, Hatakeyama M, Azuma T, Yamaoka Y, Yahiro K, Moss J, Hirayama T: *Helicobacter pylori* VacA-induced inhibition of GSK3 through the PI3K/Akt signaling pathway. (2009) J Biol Chem. 284:1612-1619. 査読あり
- ⑥ Yoshida A, Isomoto H, Hisatsune J, Nakayama M, Nakashima Y, Matsushima K, Mizuta Y, Hayashi T, Yamaoka Y, Azuma T, Moss J, Hirayama T, Kohno S.: Enhanced expression of CCL20 in human *Helicobacter pylori*-associated gastritis. (2009) Clin Immunol. 130, 290-297. 査読あり
- ⑦ 山崎栄樹、磯本一、平山壽哉. ピロリ菌空胞化毒素の多機能性 -感染における役割-. 蛋白質核酸酵素 54: 607-613, (2009) 査読なし
- ⑧ Mashima H, Suzuki J, Hirayama T, Yoshikumi Y, Ohno H, Ohnishi H, Yasuda H, Fujita T, Omata M. Involvement of VAMP7 in human gastric epithelial cell vacuolation induced by *Helicobacter pylori*-produced VacA. (2008) Infect. Immun 76: 2296-2303. 査読あり
- ⑨ Hisatsune J, Nakayama M, Isomoto H, Kurazono H, Mukaida N, Mukhopadhyay AK, Azuma T, Yamaoka Y, Sap J, Yamasaki E, Yahiro K, Moss J, Hirayama T: Molecular characterization of *Helicobacter pylori* VacA-induction of IL-8 in U937 cells reveals a prominent role for p38MAP kinase in ATF-2, CREB and NF- $\kappa$ B activation. (2008) J. Immunol. 180: 5017-5027. 査読あり
- ⑩ 平山壽哉、久恒順三、中山真彰、山崎栄樹. *Helicobacter pylori* VacAに関する最近の研究動向とわれわれの取り組み. Helicobacter Research 12: 266-271. (2008) 査読なし
- ⑪ Hisatsune J, Yamasaki E, Nakayama M, Shirasaka D, Kurazono H, Katagata Y, Inoue H, Han J, Sap J, Yahiro K, Moss J, Hirayama T: *Helicobacter pylori* VacA enhances PGE2 production through induction of COX-2 expression via a p38 MAP kinase/ATF-2 cascade in AZ-521 cells. (2007) Infect. Immun. 75:4472-4481. 査読あり
- ⑫ 平山壽哉: 変貌する細菌感染症：*Helicobacter pylori* 感染症, 医学のあゆみ 223: 623-627, (2007) 査読なし
- ⑬ 平山壽哉: ヘリコバクター・ピロリの VacA 毒素受容体と毒性発現に関する研究、日本細菌学雑誌 62: 387-396. (2007) 査読なし
- [学会発表] (計 11 件)
- ① Toshiya Hirayama: Pleiotropic action of VacA toxin of *Helicobacter pylori*: VacA induces GSK3 inhibition through the PI3K/Akt signaling pathway. International Symposium on TGF- $\beta$  Signaling, Inflammation and Cancer Prevention. November 20, 2009, Incheon, Korea
- ② Toshiya Hirayama, Masaaki Nakayama, Hajime Isomoto, Masanori Hatakeyama, Takeshi Azuma, Yoshio Yamaoka, and Joel Moss: *Helicobacter pylori* VacA induces GSK3 inhibition through the PI3K/Akt signaling pathway. XXII International Workshop on Helicobacter and related bacteria in chronic digestive inflammation and gastric cancer, Sept. 17-19, 2009. Porto, Portugal
- ③ Toshiya Hirayama, Masaaki Nakayama, Hajime Isomoto, Shigeru Kohno, Eiki Yamasaki, Hisao Kurazono, and Joel Moss: *Helicobacter pylori* VacA-induced inhibition of GSK3 through the PI3K/Akt signaling pathway. 109th General Meeting of American Society for Microbiology. May 17-21, 2009. Philadelphia, USA
- ④ Junzo Hisatsune, Hajime Isomoto, Toshiya Hirayama: Molecular Characterization of *Helicobacter pylori* VacA Induction of IL-8 in U937 Cells Reveals a Prominent Role for p38 MAPK in ATF-2, CREB Protein, and NF- $\kappa$ B Activation. The 9th Korea-Japan International Symposium on Microbiology. Oct 16-17, 2008, Soul, Korea
- ⑤ Toshiya Hirayama, Junzo Hisatsune, Hisao Kurazono, Hajime Isomoto, and Joel Moss: *Helicobacter pylori* VacA increases IL-8 production by p38 MAPK activation via intracellular

Ca<sup>2+</sup>-release, leading to ATF-2, CREB and NF-κB activation. Aug 5-9, 2008. Istanbul, Turkey

- ⑥ Toshiya Hirayama, Junzo Hisatsune, Kayo Matsushima, Hajime Isomoto, Shigeru Kohno, Hisao Kurazono, and Joel Moss: *Helicobacter pylori* VacA-induced IL-8 production in U937 cells is mediated by an increase in intracellular Ca<sup>2+</sup>, followed by activation of ATF-2, CREB and NF-κB. 108th General Meeting of American Society for Microbiology June 1-5, 2008. Boston, USA
- ⑦ Junzou Hisatsune, Masaaki Nakayama, Hajime Isomoto, Joel Moss, and Toshiya Hirayama: *HELICOBACTER PYROLI* VACA ENHANCES PGE2 PRODUCTION THROUGH INDUCTION OF COX-2 EXPRESSION VIA p38 MAP KINASE/ATF-2 CASCADE IN AZ-521 CELLS. 7th China-Korea-Japan Joint Conference on Helicobacter Infection. Feb. 21-22, 2008, Kyoto, Japan
- ⑧ Hajime Isomoto: Pleiotropic action of *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin, VacA on esophageal cell types. The American Society for Cell Biology 48<sup>th</sup> Annual Meeting. December. 1-5, 2007. Washington DC, USA
- ⑨ Toshiya Hirayama: *Helicobacter pylori* VacA Enhances PGE2 Production Through Induction of COX-2 Expression via p38 MAP Kinase/ATF-2 Cascade in AZ-521 Cells. 42<sup>nd</sup> Annual Joint Meeting of Cholera and Other Bacterial Enteric Infections. December 5-7, 2007. Austin, USA
- ⑩ Toshiya Hirayama: *Helicobacter pylori* VacA induces COX-2 expression via p38 MAP Kinase/ATF-2 cascade. 14th International Workshop on Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms. September 2-5, 2007, Rotterdam, The Netherlands
- ⑪ Toshiya Hirayama : Vacuolating Cytotoxin of *Helicobacter pylori* Enhances PGE<sub>2</sub> Production Through Induction of COX-2 Expression via a p38 MAP Kinase/ATF-2 Cascade in AZ-521 Cells. 107th General Meeting of American Society for Microbiology. May 21-25, 2007, Toronto, Canada

平山壽哉、中山真彰、久恒順三：微生物資源  
国際戦略ガイドブック：生物資源としての細菌  
毒素. 233-239, 2009

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

平山 壽哉 (HIRAYAMA TOSHIYA)  
長崎大学・熱帯医学研究所・教授  
研究者番号：50050696

### (2) 研究分担者

磯本 一 (ISOMOTO HAJIME)  
長崎大学・病院・講師  
研究者番号：90322304