

審査の結果の要旨

氏名 鈴木 仁人

本研究では、ヘリコバクター・ピロリ（以下ピロリ菌）が分泌する病原因子 CagA の胃上皮細胞における新規標的因子の探索、および CagA とその標的因子の介する新たな細胞現象の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. GST プルダウンアッセイおよび免疫沈降法などによって、ピロリ菌の感染細胞内において CagA が Crk アダプター蛋白（Crk-II、Crk-I、および Crk-L）と結合することを同定した。この CagA と Crk の結合は CagA のチロシンリン酸化に依存しており、CagA のリン酸チロシンが Crk 蛋白の SH2 ドメインと結合することが示された。
2. Crk のドミナントネガティブ変異体の発現や RNA 干渉による内在性 Crk のノックダウンによって、ピロリ菌が感染した AGS 細胞で CagA 依存的に誘導されるセルスキャタリング（cell scattering）が顕著に阻害された。このことから CagA と Crk の結合が生物学的に機能的なものであり、Crk に仲介されるシグナル伝達が CagA の活性に重要な役割を担うことが示された。
3. ピロリ菌を感染させた極性上皮細胞のアドヘレンスジャンクション（AJ： adherens junction）を E-カドヘリン/ β -カテニンの免疫蛍光染色によって精査したところ、CagA の活性に依存して AJ が破壊されることを見出した。この現象は

CagA のリン酸化に依存しており、セルスキヤタリングと同様に、Crk のドミナントネガティブ変異体の発現や RNA 干渉による Crk のノックダウンによって阻害された。このことから CagA により胃上皮細胞に誘導される複数の形質発現には、Crk および Crk 下流の分子群の働きが重要であることが示された。

4. Crk 下流の GDP/GTP 結合因子 (C3G、SoS1、および Dock180) や小分子量 G 蛋白 (Rap1、H-Ras、および Rac1) のドミナントネガティブ変異体を用いた解析から、CagA の活性には C3G/Rap1/B-Raf 経路および SoS1/H-Ras/Raf1 経路の制御する MAPK (mitogen-activated protein kinase) カスケードや Dock180/Rac1/WAVE 経路の制御するアクチン骨格の再構築が重要であることが示された。

以上、本論文では CagA が Crk アダプター蛋白に結合すること、Crk/CagA 複合体に活性化されるシグナル経路がピロリ菌感染で誘導される胃上皮細胞間接着の脱制御、細胞増殖、および細胞骨格の再構築に中心的な役割を担っていることを明らかにした。上皮細胞の AJ は発癌シグナルの抑制因子として重要である。このことから CagA/Crk の作用による AJ の脱制御は、本菌感染に関連した胃発癌のリスク上昇に関わっていることが考えられる。本研究は、ピロリ菌感染を起因とする発癌メカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。