

胃がんを引き起こすピロリ菌由来の 発がんタンパク質

SATテクノロジー・ショーケース2014

■ はじめに

ピロリ菌 (*Helicobacter pylori*) が産生するCagAは、胃がんの発症に関連するタンパク質として注目されている。CagAはピロリ菌から胃上皮細胞内に打ち込まれた後に細胞内膜上に局在し、Src family kinaseによってリン酸化された後、PAR1bやSHP2などのヒト細胞内に存在するシグナル分子と複合体を形成する。そして、これらシグナル分子の活性を阻害したり亢進したりして異常な分裂・増殖シグナルを生じることで胃がんを誘発すると考えられている。CagAは約1200残基のアミノ酸からなるタンパク質であるが、N末端部分(分子全体の70%, CagA-N領域)は高次構造をとっているのに対し、C末端部分(分子全体の30%, CagA-C領域)は天然変性領域であることが示唆されている。また生化学的な解析から、シグナル攪乱や細胞の形態の変化を引き起こす活性は、CagA-NとCagA-Cの相互作用により増強されるらしいことも知られていた。我々は、「がんタンパク質」としてCagAが働くための分子機構を明らかにする第一歩としてCagAの立体構造決定を開始した。

■ 活動内容

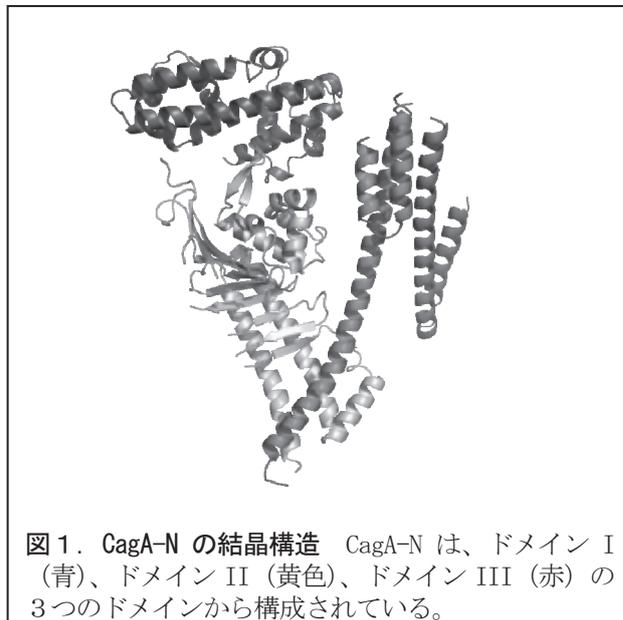
CagA-C は天然変性領域であるため、本研究ではCagA-N 領域の X 線結晶構造解析を行った。結晶構造解析の結果、CagA-N 領域は3つのドメイン(ドメイン I, II, III)から構成されており、N字型のコアを持つ新規の立体構造を持っていることがわかった(図1)。ドメイン II には、逆平行のβストランドからなるβシートが存在していた。表面アミノ酸の解析を行なったところ、多数の塩基性アミノ酸(LysとArg)からなる塩基性パッチ(Basic patch)がドメイン II に存在していた。生化学的な解析の結果、この塩基性パッチはフォスファチジルセリンと相互作用すること、更にはCagA を細胞内膜上に局在化させ、ターゲット分子と相互作用するための足場形成の役割を果たしていることが示された。また天然変性領域であると考えられてきた CagA-C は、その一部が構造領域であるCagA-Nのドメイン IIIの一部と相互作用をすることにより投げ縄状のループ構造を形成していることが明らかとなった。生化学的および生物学的な解析から、このループ構造の形成が細胞内シグナリング分子である Par1b や SHP2との複合体形成を促進し、CagA による細胞内シグナリングの攪乱を促進している事が強く示唆された。

現在は、細胞内でのシグナル攪乱の分子基盤を確立

するために、CagAとPar1b, SHP2との複合体の構造解析を推進している。

■ 関連情報等(特許関係、施設)

CagA の結晶構造解析に利用したのは、高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所・放射光科学研究施設の PF-AR NE3A である。本ビームラインは、アステラス製薬からの受託研究により建設されたビームラインで、高輝度の X 線を利用可能となっている。本研究では、質の悪い結晶の分解能改善に関する新規手法の開発も行った。CagA の結晶は、当初は 7.5Å 程度の分解能しか示さない結晶構造解析には不向きなものであったが、複数のクライオプロテクタントを段階的に用いる「multi-step soaking method」の手法を開発し、CagA 結晶の分解能を 3.1Å まで改善する事に成功した。CagA の結晶構造解析および生化学、生物学的な研究結果は、Cell Host Microbe 誌に発表されている (Hayashi *et al.* (2012) *Cell Host & Microbe*. 12, 20-33)。本研究は、東京大学大学院医学系研究科の畠山昌則教授との共同研究である。



代表発表者 千田 俊哉 (せんだ としや)
所属 高エネルギー加速器研究機構
物質構造科学研究所・放射光科学研究施設
構造生物学研究センター
問合せ先 〒305-0801 茨城県つくば市大穂 1-1
TEL : 029-879-6178 FAX : 029-879-6179
toshiya.senda@kek.jp

■キーワード: (1)ヘリコバクター・ピロリ
(2)胃がん
(3)X線結晶構造解析