

Blanquita Blanco De Guzman 論文内容の要旨

主 論 文

Cytotoxicity and recognition of receptor-like protein tyrosine phosphatases, RPTP α and RPTP β , by *Helicobacter pylori* m2VacA
(ヘリコバクター・ピロリ m2VacA の毒性と受容体型チロシンフォスファターゼ、RPTP α 及び RPTP β の認識)

Blanquita B. De Guzman, Junzo Hisatsune, Masaaki Nakayama, Kinnosuke Yahiro, Akihiro Wada, Eiki Yamasaki, Yoshito Nishi, Shiho Yamazaki, Takeshi Azuma, Yoshiyuki Ito, Masahiro Ohtani, Thea van der Wijk, Jeroen den Hertog, Joel Moss, and Toshiya Hirayama

Cellular Microbiology, 7:1285-1293, 2005

長崎大学大学院医学研究科新興感染症病態制御学系専攻
(指導教授：平山壽哉 教授)

[緒 言]

ヘリコバクター・ピロリは胃炎、消化性潰瘍、MALT リンパ腫などの消化器疾患の原因菌であり、胃癌発症にも関連することが示唆されている。本菌は種々の細胞に空胞を引き起こして死滅させる空胞化毒素 (VacA) を産生することが明らかにされている。申請者が所属した研究室の成果により、VacAの宿主受容体は、2種の受容体型チロシンフォスファターゼ (RPTP α , RPTP β) であり、ノックアウトマウスを用いた研究から、VacAはRPTP β を介して胃炎、胃潰瘍を発症させることを明らかにした。一方、他の研究グループによりVacAはその構造の違いから大きくm1VacAとm2VacAとに分類され、受容体認識が異なることが報告されている (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95, 10212-10217, 1998)。
)。そこで、本研究ではm1VacAとm2VacAの受容体が異なるものなのか、またその根拠となったm1VacAに感受性を示すHeLa細胞が何故m2VacAに感受性を示さないのかを追究した。

[対象と方法]

1) 用いた m1VacA と m2VacA の精製標品は VacA 抗体のイムノカラムあるいはハイドロキシアパタイト、Superose 6 HR カラムを用いた FPLC を行い ATC49503 株および OK210 からそれぞれ調製した。2) 毒素の空胞活性はニュートラルレッドの空胞への取り込み量を測定した。3) 毒素の細胞への結合および RPTP α 、RPTP β との結合活性は VacA 抗体を用いた FACSscan 解析および免疫沈降法にてそれぞれ評価した。4) RPTP α の糖鎖構造解析および糖修飾の違いは酵素分解および COS 細胞に発現させた RPTP α の分子量の比較など行なった。

[結 果]

1) m2VacA は m1VacA と同じように酸及びアルカリ処理することにより活性化し、AZ-521, G401 および RK13 細胞に著明に空胞を形成した。しかし、HeLa 細胞に対しては m1VacA と異なり、空胞形成はみられなかった。2) 著明に空胞形成が観察された AZ-521 細胞では過去に報告した m1VacA と同様に酸及びアルカリ処理により RPTP α 及び RPTP β との結合活性が亢進した。3) AZ-521 細胞以外の用いた細胞はすべて RPTP α のみを発現していたが、HeLa 細胞への m2VacA の結合は m1VacA と異なり著しく低下していた。4) HeL 細胞の RPTP α は他の細胞の RPTP α より低分子であったが、その 1 次構造は G401 細胞の RPTP α とは細胞外領域において 1 残基のアミノ酸を異にしていた。加えて、G401 細胞の RPTP α を N-glycosidase 処理すると HeL 細胞の RPTP α の分子サイズと極めて似ていたが、m2VacA への結合を示していた。

[考 察]

m2VacA は m1VacA と同じように酸及びアルカリ処理することにより空胞活性化が亢進することを明らかにした。この活性化は RPTP α あるいは RPTP β を介した標的細胞への結合が促された結果であった。しかし、m2VacA は HeL 細胞の RPTP α には結合しないことから、m1VacA と結合活性を異にしていたが、HeLa 細胞の RPTP α は他の m2VacA 感受性細胞の RPTP α とは糖鎖修飾に差異がみられることが考えられ、申請者の研究室の最近の知見 (Yahiro, K., et al.: Essential domain of receptor tyrosine phosphatase β , RPTP β , for interaction with *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin. (2004) J. Biol. Chem. 279: 51013) と合わせると N-および O-glycosylation の差異、特に結合に重要である O-glycosylation 修飾の違いに起因していることが示唆された。