

中山真彰 論文内容の要旨

主 論 文

Helicobacter pylori VacA Activates the p38/Activating Transcription
Factor 2-mediated Signal Pathway in AZ-521 Cells

(ヘリコバクター・ピロリ VacA はヒト胃癌由来株化細胞 AZ-521 細胞において
p38 MAP kinase/ATF-2 pathway を活性化する)

Masaaki Nakayama, Miyuki Kimura, Akihiro Wada, Kinnosuke Yahiro, Ken-ichi Ogushi,
Takuro Niidome, Akihiro Fujikawa, Daisuke Shirasaka, Nobuo Aoyama, Hisao
Kurazono, Masaharu Noda, Joel Moss, and Toshiya Hirayama

The Journal of Biological Chemistry, 279 (8):7024-7028, 2004

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻

(主任指導教授：平山壽哉 教授)

[緒 言]

ヘリコバクター・ピロリ (以下、*H. pylori*) 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。*H. pylori* は、種々の細胞に空胞を形成し、死滅させる空胞化毒素 (VacA) を産生する。これまでに、本菌の感染にともない、胃上皮組織では種々のサイトカインの過剰産生及び細胞死が報告されている。この炎症等の病態を引き起すメカニズムには p38 MAPK などが関連していることが示唆されているが、関連する病原因子については不明である。そこでヒト胃癌由来株化細胞 AZ-521 細胞を用いて、p38 MAPK に及ぼす VacA の影響を調べた。

[対象と方法]

1) p38 MAPK に及ぼす VacA の影響 : AZ-521 細胞を VacA 処理 (120 nM, 0~120 min) し、p38 MAPK および転写因子 ATF-2 のリン酸化を、p38 MAPK 及び ATF-2 特異的リン酸化抗体を用いたウェスタンブロット法により検出した。また、*in vitro* での p38 MAPK のリン酸化活性は ATF-2 を基質にして測定した。さらに、ATF-2 特異的リン酸化抗体を用いた免疫蛍光染色法により、細胞内の VacA による ATF-2 のリン酸化亢進を観

察した。 2) VacA の空胞化活性と p38 MAPK との関連：p38 リン酸化阻害剤 SB203580 を加えて、空胞化活性に及ぼす影響を調べた。空胞化活性は、ニュートラルレッドの空胞への取り込み量により評価した。 3) VacA によるミトコンドリアからの cytochrome *c* の遊離と p38 MAPK との関連:SB203580 を用いて、VacA による cytochrome *c* の遊離に及ぼす影響を、分画後 cytochrome *c* 抗体を用いたウェスタンブロット法により検出した。

[結 果]

1) AZ-521 細胞における VacA 処理により経時的かつ濃度依存的な p38 MAPK のリン酸化の活性亢進が認められた。この p38 MAPK のリン酸化活性の亢進に並行して、転写因子 ATF-2 のリン酸化が増化した。 2) 免疫蛍光染色法を用いて細胞内での VacA による ATF-2 の活性化を調べたところ、上記のウェスタンブロット法の結果と一致して、核内のリン酸化 ATF-2 の量が著しく増加していた。 3) 抗 VacA 抗体や SB203580 を加えることにより、VacA による p38 MAPK 及び ATF-2 のリン酸化が阻害された。しかし、VacA の AZ-521 細胞に対する空胞化活性及びミトコンドリアからの cytochrome *c* の遊離は、SB203580 によって阻害されなかった。

[考 察]

VacA は AZ-521 細胞において、主として p38 MAPK/ATF-2 のシグナル伝達経路を活性化することが判明した。しかし、p38 MAPK 阻害剤 SB203580 を用いた実験から、VacA による p38 MAPK の活性化は、細胞の空胞形成、及びミトコンドリアからの cytochrome *c* の遊離とは関連しない。この事実は、VacA による細胞空胞化形成、cytochrome *c* の遊離とは異なる毒性発現機序の存在を示している。VacA が宿主の転写因子の機能を変化させることから、VacA による p38 MAPK/ATF-2 シグナル伝達経路の活性化が、如何なる物質の発現に影響を及ぼすのかを調べるのが今後の重要な課題であり、VacA が p38 MAPK/ATF-2 シグナル伝達経路を活性化することは、VacA が COX-2 などの発現に影響する可能性が示唆される。