総説

ヘリコバクター・ピロリによる発癌機構

畠山昌則

Oncogenic mechanism of *Helicobacter pylori*

Masanori HATAKEYAMA, M.D., Ph.D.

Division of Molecular Oncology, Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University

(Received April 4, 2008)

summary

On a global scale, gastric carcinoma is the second leading cause of the cancer-related deaths. Recent studies have provided evidence that *cagA*-positive *Helicobacter pylori* plays a causal role for the development of gastric carcinoma. The *cagA*-encoded CagA protein is delivered into *H. pylori*-attached gastric epithelial cells via the bacterial type IV secretion system (TFSS). Delivered CagA undergoes tyrosine phosphorylation by Src family kinases at the conserved EPIYA motifs and then specifically binds and deregulates SHP-2 tyrosine phosphatase, a bona fide oncoprotein involved in human malignancies. As a result, CagA causes aberrant mitogenic signal as well as elevated cell motility in gastric epithelial cells. Also, CagA specifically interacts with and inhibits PAR1b/MARK2 polarity-regulating kinase to disrupt tight junctions and cause loss of epithelial apical-basolateral cell polarity. These CagA activities have been suspected to play an important role in gastric carcinogenesis. Indeed, recently generated *cagA*-transgenic mice expressing CagA systemically developed gastrointestinal carcinomas as well as hematopoietic malignancies such as myeloid leukemia and B-cell lymphoma. The observations collectively indicate that *H. pylori* CagA is the first identified bacterial oncoprotein involved in gastric carcinogenesis.

Key words—*Helicobacter pylori*; CagA; SHP-2; PAR1b; oncoprotein

抄録

胃癌は全世界人口における部位別癌死亡の第二位を占める。近年の研究から、*cagA* 遺伝子を保有するヘリコバクター・ピロリ（ピロリ菌）の持続感染が胃癌発症に決定的な役割を担うことが明らかになってきた。*cagA* 遺伝子産物である CagA タンパク質はピロリ菌が保有するミクロの注射針（IV 型分泌機構）を通して菌体内から胃上皮細胞内へと直接注入される。細胞内に侵入した CagA は SHP-2 癌タンパク質に代表される細胞内シグナル伝達分子と特異的に結合しそれらの機能を脱制御することにより、細胞増殖・細胞運動にかかわる多彩な細胞内シグナル伝達系を攪乱する。同時に、CagA は上皮細胞の極性制御を担う PAR1b/MARK2 キナーゼと結合し不活化する結果、消化管粘膜構築を崩壊させる。一連のこうした生物活性から、CagA は胃癌発症に深くかかわることが推察されてきた。ごく最近、ピロリ菌 CagA を全身性に発現するトランスジェニックマウスにおいて胃癌、小腸癌さらには骨髄性白血病、B 細胞リンパ腫が発症することが明らかとなり、CagA が生体内で直接の発癌活性を示す細菌由来の初の癌タンパク質（bacterial oncoprotein）であることが示された。

はじめに

胃癌は全世界における部位別癌死亡の第二位を占め、毎年約 50 万人が胃癌で命を落としていると推定されている。胃癌の大多数を占める腺癌は病理組織学的に分化型（腸型；intestinal type）と未分化型（びまん型；diffuse type）に大別される。未分化型胃癌の一部は家族性に発生し、その原因遺伝子

として *E-cadherin* が同定されている¹⁾。しかしながら、胃癌に共通する特徴的な遺伝子変異は知られておらず、胃癌発症の分子機構は未だに十分解明されていない。こうした中、最近の大規模疫学調査から、分化型、未分化型を問わず胃腺癌発症にヘリコバクター・ピロリ（ピロリ菌）の持続感染が重要な役割を担うことが明らかになってきた²⁾。加えて、ピロリ菌感染は B リンパ球を起源とする胃 MALT（mucosa-associated lymphoid tissue）リンパ腫発症にも深くかかわる³⁾。ピロリ菌は Marshall と War-

ren によりヒト胃粘膜から単離されたらせん状グラム陰性桿菌であり⁴⁾、全世界人口の約半数に感染していると考えられている。本稿では、ピロリ菌が保有する癌タンパク質 CagA の機能を通してその発癌メカニズムを考察したい。

I. ピロリ菌 CagA と *cag* pathogenicity island (*cag* PAI)

ピロリ菌は CagA (Cytotoxin-associated gene A antigen) タンパク質産生能の有無により二群に大別される。CagA をコードする *cagA* 遺伝子は、*cag* pathogenicity island (*cag* PAI) とよばれる約 40 キロベースのピロリ菌ゲノム内 DNA 領域に存在する(図 1)^{5,6)}。*cag* PAI は水平伝播によりピロリ菌ゲノム内に挿入された起源不明の外来 DNA 断片である。*cag* PAI 内には約 30 個の遺伝子が存在し、その多くは IV 型分泌機構と呼ばれるミクロの注射針様装置を構成する一連の蛋白群をコードする(図 2)。*cagA* 陽性ピロリ菌 (= *cag* PAI 陽性ピロリ菌) は *cagA* 陰性ピロリ菌感染に比べてはるかに激しい胃粘膜病変を惹起し、疫学的にも胃癌発症と強く相関する^{7,8)}。

II. ピロリ菌 CagA の胃上皮細胞内移行とチロシンリン酸化

胃に生息するピロリ菌の多くは胃粘液内に浮遊して存在するが、一部(10~20%程度)は胃上皮細胞表面に直接附着する。胃上皮細胞に接触したピロリ菌は *cag* PAI によりコードされる IV 型分泌機構を用いて、CagA を胃上皮細胞内へ直接注入する(図 2)⁹⁾。注入された CagA は細胞膜内面に移行するとともに Src ファミリーキナーゼによりチロシンリン酸化される^{10,11)}。

CagA タンパク質の C 末側領域内には Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala (EPIYA) モチーフと呼ばれる特徴的な配列が複数出現し、このモチーフ内のチロシン残基が Src キナーゼによりリン酸化される。各々の EPIYA モチーフの周辺を構成するアミノ酸配列をもとに、CagA の EPIYA 領域を構成する 4 つの異なる EPIYA 含有アミノ酸セグメント (EPIYA A~D セグメント) が同定される(図 3)¹²⁻¹⁴⁾。胃癌の比較的少ない欧米諸国で単離されるピロリ菌が保有する CagA (欧米型 CagA) の EPIYA 領域は、32 アミノ酸からなる EPIYA-A セグメント、40 アミノ酸からなる EPIYA-B セグメントならびに 34 アミノ酸からなる EPIYA-C セグメントから構成さ

図 1 ピロリ菌 *cag* PAI を構成する遺伝子群

ピロリ菌 26695 標準株が保有する *cag* PAI の構造を示す。*cag* PAI はピロリ菌ゲノム中の glutamate racemase 遺伝子内に挿入されている。矢印は遺伝子の転写方向を示す。

れる．EPIYA-C セグメントは単離される欧米型 CagA 分子種間においてその数が 1～3 個の間で変動する（多くの場合 1 個）．これは，EPIYA-C セグメントをコードする 102 ベースペアからなる *cagA* 遺伝子領域がゲノム DNA 複製時の相同組み換えにより容易に重複，欠失結果と考えられる．これに対し日本，韓国など高頻度に胃癌が発症する東アジア諸国で単離されるピロリ菌由来の CagA（東アジア型 CagA）が保有する EPIYA 領域は，EPIYA-A セグメント，EPIYA-B ならびに東アジア型 CagA 特異的な EPIYA-D セグメントから構成される．

III. CagA の細胞内標的としての SHP-2

Src によりチロシンリン酸化された CagA は N 末側に 2 つの SH2 ドメインを保有するチロシンホスファターゼ SHP-2 と特異的に結合する（図 4）^{10,12)}．SHP-2 との複合体形成にはチロシンリン酸化された CagA の EPIYA-C セグメント（欧米型 CagA の場合）ないし EPIYA-D セグメント（東アジア型 CagA の場合）が関与する．また SHP-2 が有する

2 つの SH2 ドメインのどちらか一方の機能を欠失させると CagA との結合活性は消失する．SHP-2 は単独で存在する場合，N 末側の SH2 ドメインがホスファターゼドメインと分子内相互作用するため，そのホスファターゼ活性は不活化された状態で維持される．この不活化型にある SHP-2 の SH2 ドメインにチロシンリン酸化タンパクが結合することにより，抑制性の分子内相互作用が解除されホスファターゼドメインが活性化される．事実，チロシンリン酸化 CagA との結合により，SHP-2 のチロシンホスファターゼ活性は著しく増強する．

胃上皮細胞に CagA を発現させると，著しい細胞質伸長で特徴づけられるユニークな細胞形態変化が誘導される．ハチドリのかちばしに似たこの形態変化はハミングバード（hummingbird）表現型と呼ばれる⁹⁾．CagA によるハミングバード表現型の誘導には CagA のチロシンリン酸化ならびにその後の SHP-2 活性化が重要な役割を担う．CagA により活性化された SHP-2 の基質分子として細胞接着斑キナーゼ FAK が同定されている¹⁵⁾．SHP2 は脱リン酸化を介して FAK のキナーゼ活性を抑制し，細

図 4 CagA による細胞内シグナル伝達の攪乱

胃上皮細胞に侵入後，Src によりチロシンリン酸化された CagA は癌タンパク質として知られる SHP-2 チロシンホスファターゼと特異的に結合し，そのホスファターゼ活性を異常に亢進する．CagA により異常活性化された SHP-2 は FAK を脱リン酸化することにより細胞運動性を亢進させるとともに，Erk MAP キナーゼの持続的活性化による異常な細胞増殖シグナルを生成する．

胞接着斑の生成を阻害することにより細胞-基質相互作用を低下させる。この CagA-SHP-2-FAK 経路活性化がハミングバード表現型の誘導ならびに細胞運動性亢進に重要な役割を担うと考えられている (図 4)。さらに、SHP-2 は Ras 依存的ならびに Ras 非依存的に Erk MAP キナーゼ活性を増強し細胞増殖を促す事が知られている。CagA を異所性発現する胃上皮細胞においても SHP-2 依存的な Erk MAP キナーゼの持続活性化 (sustained activation) が認められる¹⁶⁾。Erk の持続活性化は細胞周期の G1 期-S 期移行に必須であり、CagA は SHP-2 依存的に Erk を持続活性化し異常な細胞増殖シグナルを誘起することを示している (図 4)。

東アジア型 CagA は EPIYA-D セグメントを介して、また欧米型 CagA は EPIYA-C セグメントを介して SHP-2 と結合する。SHP-2 の SH2 ドメインと高親和性結合を示すリン酸化ペプチドのコンセンサス配列は pY-(V/T/A/I/S)-X-(L/I/V)-X-(F/W) (pY はリン酸化チロシン, X は任意のアミノ酸) で表される。EPIYA-C セグメントの pY+5 位はアスパラギン酸 (D) でありコンセンサス配列のフェニルアラニン (F) ないしトリプトファン (W) とは異なる。これに対し、EPIYA-D セグメントの pY+5 位はフェニルアラニンであり、コンセンサス配列と完全に一致する。事実、EPIYA-D セグメントを有する東アジア型 CagA は EPIYA-C セグメントを有する欧米型 CagA に比べてはるかに強く SHP-2 と結合し、より強いハミングバード表現型の誘導活性を発揮する^{12,14)}。この活性差は上述した両セグメント間の pY+5 位の一アミノ酸の違いに

起因する (図 5)。また、EPIYA-C セグメントの数が変動する欧米型 CagA では、EPIYA-C セグメントの数に比例して SHP-2 結合能ならびにハミングバード細胞誘導活性が増大する (図 6)。

SHP-2 は消化管上皮細胞を含む多くの体細胞に構成的に発現する。一般にホスファターゼはシグナル抑制分子として働くが、上述したごとく、SHP-2 は増殖因子受容体と Ras-MAP キナーゼ経路をつなぐ正のシグナル伝達分子として機能するとともに細胞の形態・運動能亢進にも深くかかわる¹⁷⁾。最近、低伸長・特徴的顔貌・先天性心疾患・精神発育遅滞で特徴づけられる Noonan 症候群において、SHP-2 をコードする *PTPN11* 遺伝子の生殖系細胞点突然変異が明らかにされた¹⁸⁾。一連の変異は機能獲得型 (gain-of-function mutation) 変異であり、変異 SHP-2 のホスファターゼ活性は増強している。Noonan 症候群患者では白血病や神経芽細胞腫といった悪性腫瘍が合併する。その後の研究から、散発性の小児骨髄単球系白血病 (juvenile myelomonocytic leukemia)、骨髄異型症候群、B 細胞急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病ならびに神経芽細胞腫において *PTPN11* の機能獲得型変異が見いだされた^{19,20)}。したがって SHP-2 は Ras と同様、その脱制御がヒト癌の発症に直接関与する癌タンパク質であり、CagA による SHP-2 の脱制御と細胞癌化との関連が強く示唆される。

IV. CagA による上皮粘膜構築の破壊機構

消化管粘膜を構成する上皮細胞は、タイトジャンクション (tight junction) と呼ばれる特異的なベル

図 5 SHP-2 結合親和性と東アジア型ならびに欧米型 CagA

欧米型 CagA の EPIYA-C セグメントアミノ酸と東アジア型 CagA の EPIYA-D セグメントアミノ酸。東アジア型 CagA はリン酸化チロシン (pY) から下流 5 番目のアミノ酸がフェニルアラニン (F) となっており、SHP-2 の高親和性ペプチドコンセンサス配列と一致するのに対し、欧米型 CagA の (pY+5) 位はアスパラギン酸 (D) でありコンセンサス配列と一致しない。

ト状の細胞間接着構造を介して隣接の細胞と緊密に繋がり合い、一層の敷石状構造を形成する。各々の上皮細胞の細胞膜面は、タイトジャンクションを境界に頂端側 (apical side) と基底側 (basal side) に分割される。頂端側は食物などが通過する管腔に向き、基底側は生体内部の血管や結合組織・筋肉に接することから、各細胞膜面の機能的役割は必然的に異なる。極性化 (polarization) と呼ばれる細胞膜各面の機能の非対称化はタイトジャンクションにより形成・維持される。極性化させた単層上皮細胞層に CagA タンパク質を発現させると、タイトジャンクションならびに頂端側-基底側極性が破壊され、CagA 陽性細胞は極性化細胞層から離脱する (図 6)²¹⁾。この活性は CagA のチロシンリン酸化には依存しない。整然と整列すべき粘膜上皮から細胞が脱落することにより粘膜構築は破壊される。粘膜破壊が局所的に集中すると広範な粘膜障害に進展する。したがって、CagA による細胞の極性破壊は胃炎・消化性潰瘍といった病態を引き起こす重要なメカニズムのひとつと考えられる。

一連の CagA 変異体発現実験から、タイトジャンクションの破壊には CagA のアミノ酸配列中 1009 残基～1086 残基が必要であることが明らかになった。LC/MS/MS 質量分析法を用いてこの CagA 領域に特異的に結合する細胞タンパクを検索した結果、PAR1b (partitioning-defective 1b)/MARK2 (microtubule affinity-regulating kinase 2) セリン/スレオニンキナーゼが同定された (図 7)²²⁾。CagA はチロシンリン酸化非依存的に PAR1b キナーゼドメイン内の 27 アミノ酸 (250-276) に結合する。PAR1b は上皮細胞の極性維持をつかさどる分子として知られている²³⁾。CagA との複合体形成の結果、PAR1b のキナーゼ活性は抑制され、タイトジャンクションならびに細胞極性の破壊が誘導される。

V. CagA-PAR1-SHP-2 複合体形成とその意義

PAR1 との結合には、CagA の EPIYA 領域内に存在する 16 個のアミノ酸からなる配列が使われる²²⁾。この配列は CagA が細胞内で多量体 (おそらく二量体) を形成するために必要な領域として既に同定されていた CM (CagA-multimerization) 配列と一致する²⁴⁾。CagA の多量体化 (二量体化) は CagA と SHP-2 の安定的な複合体形成ならびにそれに引き続く SHP-2 の活性化に重要な役割を担う。その後の研究から、PAR1b は細胞内で二量体

(ダイマー) として存在することが示され、2 分子の CagA が CM 配列を介して PAR1b ダイマーに結合する結果、CagA の二量体化が誘導されると考えられている²²⁾。PAR1b を介した CagA の二量体化は、その後のチロシンリン酸化依存的な CagA-SHP-2 複合体形成に重要な役割を担う (図 8)。さらに興味深い事に、CagA-SHP-2 複合体形成を介するハミングバード表現型の誘導には、CagA による PAR1b キナーゼの抑制が同時に必要であることも明らかとなった。従って、CagA-PAR1b 複合体は上皮細胞の極性破壊のみならず、その後の CagA-PAR1b-SHP-2 複合体形成によるチロシンリン酸化依存的な CagA 活性にも重要な役割を担うものと考えられる。

VI. 生体内における CagA の発癌活性

果たして CagA はそれ自身で細胞を癌化させる能力を保有する癌タンパク質なのか、それとも細胞癌化のプロセスを間接的に促進するだけの役割しか持たないのであろうか。これまでの研究からはこの問題に対する直接的な解答は得られていなかった。ピロリ菌はマウスでは基本的に持続感染が成立しない。一方、スナネズミを用いたピロリ菌感染実験では胃癌発症が報告されているが、その発症率は極めて低く十分な再現性が得られていない。

こうした問題点を克服するとともに *in vivo* における CagA の発癌活性を検証するため、CagA タンパク質を全身性に発現する *cagA* 遺伝子トランスジェニック (*cagA*-Tg) マウスが作製された²⁵⁾。得られた *cagA*-Tg では、生後 12 週までに約半数に上皮細胞の過増殖にともなう胃壁の肥厚が認められ、生後 72 週までに一部のマウスから胃癌、小腸癌が発症した。さらに、*cagA*-Tg マウスでは中等度の顆粒球増多症が認められ、一部のマウスでは生後 72 週までに骨髄性白血病ならびに B 細胞リンパ腫が発症した。この結果から、CagA はマウス生体において単独で癌を誘導できることが証明された。一方、チロシンリン酸化されない変異型 CagA を発現するトランスジェニックマウスでは腫瘍発生などの異常は認められず、細胞癌化にはチロシンリン酸化非依存的 CagA 活性に加え、チロシンリン酸化依存的活性が必要であることが示唆された。なお、*cagA*-Tg マウスに認められる血液系悪性腫瘍のレパートリーは、SHP-2 変異により引き起こされるヒト血液癌のレパートリーと一致する。この結果か

図6 CagAによる上皮細胞極性破壊

上皮細胞の頂端側-側基底側極性は、PAR1bとaPKC/PAR3/PAR6という2つのキナーゼ（複合体）の非対称性分布により形成・維持される（左図）。極性化された一層の上皮細胞層にCagAを発現させると、CagA発現細胞（緑）はタイトジャンクションを失い極性細胞層から離脱する（右図）。

図7 CagA-PAR1b相互作用

CagAは自らの二量体化に必要な16個のアミノ酸配列（CagA-multimerization sequence: CM配列）を介してPAR1bと結合する。一方、PAR1bはセリン・スレオニンキナーゼドメインのC末部位を構成する27個のアミノ酸配列を介してCagAと結合する。CagAとの複合体形成により、PAR1bのキナーゼ活性は抑制される。

図8 CagA-PAR1b-SHP-2漸次複合体形成モデル

細胞内に侵入したCagAはCM配列を介してPAR1bダイマーと結合することにより間接的に二量体化する。CagA-PAR1b複合体形成の結果PAR1bのキナーゼ活性は抑制され、タイトジャンクションならびに上皮細胞極性が破壊される。PAR1bにより二量体化されたCagAはSrcによるチロシンリン酸化を受け、SHP-2が保有する2つのSH2ドメインと安定的に結合する。CagAにより脱制御されたSHP-2は異常な増殖・運動シグナルを生成する。CagAを介したこれら一連の細胞内シグナル系の攪乱・破壊が発癌プロセスの進行に重要な役割を担うものと考えられる。

ら、ピロリ菌 CagA は哺乳動物細胞の癌化を誘導する細菌由来の初の癌タンパク質であることが個体レベルで明らかにされた。

おわりに

細胞癌化は複数個の癌遺伝子、癌抑制遺伝子の質的、量的発現異常を必要とする多段階のプロセスと考えられ、この過程遂行には通常数十年を要すると推察されている。ショウジョウバエの *lgl*, *dlg*, *scribble* などに代表される癌抑制遺伝子研究から、整然と極性化された上皮細胞では、隣接しあう細胞が互いに癌化につながる異常な細胞増殖を抑制するシステムが存在し、極性喪失が癌化シグナルに対する細胞の感受性を増大させることが推察されている²⁶⁾。よって、CagA-PAR1 相互作用の結果として正常な細胞間相互作用ならびに細胞極性を失った胃上皮細胞が、CagA-PAR1-SHP-2 複合体形成により脱制御された SHP-2 が生成する増殖・運動シグナルを受けて細胞癌化につながる異常な細胞回転を惹起するものと推察される。CagA 侵入にともなう胃上皮細胞機能の攪乱と破綻は胃粘膜傷害を引き起こすばかりでなく、胃の多段階発癌プロセス促進に重要な意義を担うことになろう。

我が国を含む東アジア諸国で胃癌が多発する原因のひとつとして、より生物活性の強い CagA を保有するピロリ菌の蔓延が示唆される。同様に、欧米諸国に蔓延するピロリ菌 CagA 分子間では EPIYA-C サイト数のより多いものほど生物活性が強く、重大な疾病により深く関わる可能性が示唆される。この可能性は、胃癌患者 6 名のうち 5 名が 2 個以上の EPIYA-C サイトを保有していた一方、非癌患者 18 名のうち 17 名は EPIYA-C サイトを 1 つしか持たなかった²⁷⁾、という最近の報告からも支持される。

細菌タンパクの宿主細胞内への移行という現象は、細菌感染症における細菌-宿主相互作用理解に新展開を与えるものである。ピロリ菌 CagA は細菌発癌 (bacterial carcinogenesis)、細菌性癌タンパク (bacterial oncoprotein) という癌研究の新たなパラダイムを生んだ。ピロリ菌による発癌機構の解明は、単に胃癌の理解に留まらず肝細胞癌、子宮頸癌、成人 T 細胞白血病といった慢性感染症を基盤とする癌、さらには胸膜中皮腫や肺癌など慢性・持続性炎症を原因とする癌の発症機構理解に役立つことが強く期待される。

文 献

- 1) Guilford P, Hopkins J, Harraway J, et al. : E-cadherin germline mutations in familial gastric cancer. *Nature* **392** : 402-405, 1998.
- 2) Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, et al. : *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med.* **345** : 784-789, 2001.
- 3) Du MQ, Isaccson PG. : Gastric MALT lymphoma : from aetiology to treatment. *Lancet Oncol.* **3** : 97-104 : 2002.
- 4) Marshall BJ, Warren JR : Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* **1** : 1311-1315, 1984.
- 5) Covacci A, Censini S, Bugnoli M, et al. : Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. *Proc Natl Acad Sci USA.* **90** : 5791-5795, 1993.
- 6) Censini S, Lange C, Xiang Z, et al. : *cag*, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci USA.* **93** : 14648-14653, 1996.
- 7) Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleanthous H, et al. : Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing *cagA* is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res.* **55** : 2111-2115, 1995.
- 8) Kuipers EJ, Perez-Perez GI, Meuwissen SG, et al. : *Helicobacter pylori* and atrophic gastritis : importance of the *cagA* status. *J Natl Cancer Inst.* **87** : 1777-1780, 1995.
- 9) Segal ED, Cha J, Lo J, et al. : Altered states : Involvement of phosphorylated CagA in the induction of host cellular growth changes by *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci USA.* **96** : 14559-14564, 1999.
- 10) Higashi H, Tsutsumi R, Muto S, et al. : SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. *Science* **295** : 683-686, 2002.
- 11) Stein M, Bagnoli F, Halenbeck R, et al. : c-Src/Lyn kinases activate *Helicobacter pylori* CagA through tyrosine phosphorylation of the EPIYA motifs. *Mol Microbiol.* **43** : 971-980, 2002.
- 12) Higashi H, Tsutsumi R, Fujita A, et al. : Biological activity of the *Helicobacter pylori* viru-

- lence factor CagA is determined by variation in the tyrosine phosphorylation sites. *Proc Natl Acad Sci USA*. **99** : 14428–14433, 2002.
- 13) Higashi H, Yokoyama K, Fujii Y, et al. : EPIYA motif is a membrane targeting signal of *Helicobacter pylori* virulence factor CagA in mammalian cells. *J Biol Chem*. **280** : 23130–23137, 2005.
 - 14) Naito M, Yamazaki T, Tsutsumi R, et al. : Influence of EPIYA-repeat polymorphism on the phosphorylation-dependent biological activity of *Helicobacter pylori* CagA. *Gastroenterology* **130** : 1181–1190, 2006.
 - 15) Tsutsumi R, Takahashi A, Azuma T, et al. : FAK is a substrate and downstream effector of SHP-2 complexed with *Helicobacter pylori* CagA. *Mol Cell Biol*. **26** : 261–276, 2006.
 - 16) Higashi H et al : *Helicobacter pylori* CagA provokes Ras-independent morphogenetic response through SHP-2 recruitment and activation. *J Biol Chem*. **279** : 17205–17216, 2004.
 - 17) Neel BG, Gu H, Pao L. : The ‘Shp’ing news : SH2 domain-containing tyrosine phosphatase in cell signaling. *Trends Biochem Sci*. **28** : 284–293, 2003.
 - 18) Tartaglia M, Mehler EL, Goldberg R, et al. : Mutations in *PTPN11*, encoding the protein tyrosine phosphatase SHP-2, cause Noonan syndrome. *Nat Genet*. **29** : 465–468, 2001.
 - 19) Tartaglia M, Niemeyer CM, Fragale A, et al. : Somatic mutations in *PTPN11* in juvenile myelomonocytic leukemia, myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Nat Genet*. **34** : 148–150, 2003.
 - 20) Bentiresh-Alj M, Paez JG, David FS, et al. : Activating mutations of the noonan syndrome-associated *SHP2/PTPN11* gene in human solid tumors and adult acute myelogenous leukemia. *Cancer Res*. **64** : 8816–8820, 2004.
 - 21) Amieva MR, Vogelmann R, Covacci A, et al. : Disruption of the epithelial apical-junctional complex by *Helicobacter pylori* CagA. *Science* **300** : 1430–1434, 2003.
 - 22) Saadat I, Higashi H, Obuse C, et al. : *Helicobacter pylori* CagA targets PAR1/MARK kinase to disrupt epithelial cell polarity. *Nature* **447** : 330–333, 2007.
 - 23) Suzuki A, Ohno S : The PAR-aPKC system : lessons in polarity. *J Cell Sci*. **119** : 979–987, 2006.
 - 24) Ren S, Higashi H, Lu H, et al. : Structural basis and functional consequence of *Helicobacter pylori* CagA multimerization in Cells. *J Biol Chem*. **281** : 32344–32352, 2006.
 - 25) Ohnishi N, Yuasa H, Tanaka S, et al. : Transgenic expression of *Helicobacter pylori* CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse. *Proc Natl Acad Sci USA*. **105** : 1003–1008, 2008.
 - 26) Bilder D : Epithelial polarity and proliferation control : links from the Drosophila neoplastic suppressors. *Genes Dev*. **18** : 1909–1925, 2004.
 - 27) Argent RH, Kidd M, Owen RJ, et al. : Determinants and consequences of different levels of CagA phosphorylation for clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* **127** : 669–672, 2004.