



幽门螺杆菌CagA蛋白及其致病机制的研究进展

万秀坤, 刘纯杰*

军事医学科学院生物工程研究所, 病原微生物与生物安全国家重点实验室, 北京 100071

摘要: 幽门螺杆菌感染是导致从胃炎到胃癌等一系列胃相关疾病的主要病因, 但具体的致病机制仍不是很清楚。细胞毒素相关蛋白A (cytotoxin-associated gene A, CagA)是幽门螺杆菌编码的一种重要毒力因子, 且作为细菌来源的唯一癌蛋白被大量研究。CagA蛋白是由幽门螺杆菌IV型分泌系统介导并注入宿主胃上皮细胞内, 一旦进入细胞, CagA能够与多个分子发生相互作用, 扰乱细胞正常的信号通路, 引起细胞病变和转化, 而动物实验也证明了CagA蛋白的致癌特点。本文重点对CagA蛋白的序列特征, 转位方式及致病机制等方面的最新进展进行了综述, 希望能进一步阐释CagA介导的幽门螺杆菌的致病机制, 为以后的研究提供一定的方向和指导。

关键词: 细胞毒素相关蛋白A, IV型分泌系统, 信号通路, 致病机制

胃癌是全球第五大常见癌症, 而且是死亡率位居第三的癌症^[1], 自从1984年Warren和Marshall从人胃黏膜中分离培养出幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)后, 经过30余年的研究表明, *H. pylori*感染为慢性活动性胃炎、消化性溃疡、胃粘膜相关淋巴组织淋巴瘤和胃癌的主要病因^[2-3]。1994年世界卫生组织正式将*H. pylori*列为第I类致癌因子, 是目前为止唯一被列为明确对人类致癌的原核生物, 已知*H. pylori*感染了全球约50%的人口。

*H. pylori*是1种呈螺旋或S形、微需氧的革兰氏阴性杆菌, 专一性定居于人胃黏膜层表面, 人

是其唯一宿主。*H. pylori*的临床分离株基因差异性较大, 表现明显的基因多样性, 其中, 细胞毒素相关蛋白A (cytotoxin-associated gene A, CagA)是*H. pylori*一个重要的毒力因子, 根据是否存在CagA蛋白, 可将*H. pylori*菌株分为I型菌株(CagA阳性)和II型菌株(CagA阴性), 已知I型菌株比II型菌株能引起更严重的胃粘膜损伤与炎症以及更高的患胃癌的概率^[4-5]。流行病学调查显示, CagA阳性菌株的分布具有明显的地域特征, 东亚国家如中国、日本和韩国人群*H. pylori*分离株90%以上含有CagA蛋白, 而西方国家如美国人群仅约有60%–70%的*H. pylori*编码CagA蛋白^[6],

基金项目: 重大新药创制国家科技重大专项(2012ZX09301003-001-005)

*通信作者。Tel: +86-10-66948834; Fax: +86-10-66948815; E-mail: liucj@nic.bmi.ac.cn

收稿日期: 2016-03-24; 修回日期: 2016-05-13; 网络出版日期: 2016-05-18

值得注意的是, 东方国家胃癌发病率明显高于西方国家。CagA蛋白是由*cag*致病岛(*cag* pathogenicity island, *cag* PAI)编码的IV型分泌系统(type 4 secretion system, T4SS)分泌并转入胃上皮细胞内^[7], 一旦进入胃上皮细胞, CagA可以与细胞内多种蛋白发生相互作用并扰乱细胞正常的信号转导通路, 使胃上皮细胞发生一系列功能紊乱, 导致细胞病变甚至转化。

1 CagA蛋白序列的基本特征

CagA蛋白是由*cag* PAI末端的*cagA*基因编码的, 分子量在120–135 kDa之间, CagA蛋白序列分为保守区和可变区, 其上游氨基端约800个氨基酸为保守区, 下游羧基端约300–400个氨基酸为可变区^[8]。CagA蛋白氨基端和羧基端序列特征和行使的功能并不相同。

1.1 CagA蛋白的羧基端序列

可变区由数个不等的重复序列组成, 其特征性的序列为重复且数目和种类不同的谷氨酸-脯氨酸-异亮氨酸-酪氨酸-丙氨酸(Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala, EPIYA)基序, 根据EPIYA基序间隔序列的不同, 可以将EPIYA基序分为4类, 即EPIYA-A、EPIYA-B、EPIYA-C和EPIYA-D^[9]。绝大多数CagA蛋白除包含EPIYA-A和EPIYA-B基序之外, 还包含数目不等的EPIYA-C或EPIYA-D基序, 而EPIYA-C和EPIYA-D成为CagA蛋白分型的基础, 其中EPIYA-C为西方株特征序列, 而EPIYA-D为东亚株特征序列。根据EPIYA基序种类和数目的不同, CagA蛋白可变区序列可以有17种类型, 西方株CagA可变区类型以EPIYA-A+EPIYA-B+EPIYA-C, 即ABC为主, 其次还有ABCC、ABCCC、ABBC等, 东亚株以ABD为主, 其次还有ABDD、ABBD、ABABD等^[10]。当CagA被注入细胞以后, 其EPIYA基序中酪氨酸位点会被Src激

酶和c-Abl激酶作用发生磷酸化, 磷酸化的CagA蛋白在引发细胞信号通路以及致细胞病变过程中起着非常重要的作用。

CagA蛋白羧基端序列还包含一个由16个氨基酸残基构成的保守性序列, 即CagA多聚化基序(CagA multimerization motif, CM motif)。CM基序可以与细胞内多种靶蛋白结合并发挥致病作用, 例如CM基序可以介导CagA蛋白的二聚体形成以及稳定其与酪氨酸磷酸化酶(tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 11, SHP-2)的结合^[11]。另外, CM基序还可以与丝氨酸/苏氨酸激酶(polarity regulatory kinase partitioning defective 1/microtubule affinity regulating kinase, PAR-1/MARK)结合并起到抑制激酶的活性^[12]。Nesic等对结合有CagA肽段的PAR1-MARK的晶体结构进行分析发现, CM基序直接与MARK的催化结构域结合, 作用位点是在CM基序最初的14个氨基酸^[13]。

1.2 CagA蛋白的氨基端序列

相对于羧基端的可变性, CagA蛋白的氨基端序列是相对保守的。Murata等发现CagA蛋白氨基端序列中含有一段保守的赖氨酸-X-精氨酸-X-精氨酸序列(Lys-X-Arg-X-Arg, K-X-R-X-R)可以特异结合细胞膜上的磷脂酰丝氨酸并引导CagA蛋白向宿主细胞的转位以及在极性细胞中的膜定位^[14]。另外, CagA氨基端最初的200个氨基酸也能介导CagA蛋白的膜定位^[15], 同时这段序列还能抑制由CagA羧基端引起的细胞反应, 例如它能增强细胞之间的粘附和连接, 减少细胞的散射和伸长以及降低T细胞因子/ β -连环蛋白(T cell factor/ β -catenin)引起的转录活性, 因此, 这段序列可以抑制CagA蛋白引起的致病或致癌功能, 对它的研究或可进一步揭示CagA蛋白的癌蛋白特性。Kaplan等通过对CagA蛋白氨基端序列(约880 aa)的晶体结

构进行分析, 发现其空间结构呈“月牙”形并分为4个结构域, 即D1, D2, D3, D4, 通过酵母双杂交和体内竞争结合实验, 发现在D2结构域的SLB亚结构域有一段序列(303–368)能够与宿主细胞膜 β 1整合素结合, 从而介导CagA蛋白的转位^[16]。

CagA蛋白氨基端序列不仅对CagA蛋白的转位非常重要, 而且其氨基端序列还能与细胞内的多种靶分子如p53凋亡激活蛋白, 抑癌基因RUNX3, 肿瘤坏死因子受体相关因子6等相互作用^[17–19], 分别引起抑制细胞凋亡, 促进抑癌蛋白降解以及诱导炎症反应等, 这说明CagA蛋白氨基端序列同样发挥着重要的作用。

2 CagA向胃上皮细胞的转位

T4SS分泌系统是*H. pylori* 约40 kb的*cag*致病岛编码的类似于菌毛结构的蛋白复合物, 介导CagA蛋白向宿主细胞的转位^[20]。T4SS分泌系统是一大类运载体蛋白, 存在于许多革兰氏阴性菌中, 根据运载物和受体的不同, 其功能也不同。*H. pylori* *cag*致病岛共编码32个基因, 在进化中可能是从一个未知的祖先水平转移至染色体谷氨酸消旋酶基因中, 编码的蛋白包含多个VirB, VirD及一些辅助性的因子。尽管大部分蛋白的功能仍不清楚, 但对其中一些蛋白的功能已有所认识, CagE是T4SS分泌系统的一种结构蛋白, 抑制它的活性可以阻止CagA蛋白的注入^[20]。CagF是一个伴侣蛋白, 紧密结合于CagA蛋白羧基端的分泌信号区域, 对于CagA的转位非常重要^[21]。CagL是一类特殊的粘附素附着于T4SS复合物的顶端, 通过它的精氨酸-甘氨酸-天门冬氨酸基序与宿主细胞膜整合素 α 5 β 1结合, 介导CagA的转位, 同时也能激活黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)和Src激酶, 起始胞内的信号转导^[22]。其它的蛋白如CagA、CagI、CagY等被证明也能够与 β 1整合素结合, 引起整合素异二聚体构象改变, 从而介导

CagA蛋白的转位^[23]。

至今仍不清楚T4SS分泌系统识别胃上皮细胞以及将CagA蛋白转入细胞的分子机制。除了上述通过T4SS分泌系统的多种组分与整合素结合介导的转位机制外, 还可能存在另外一种机制, 即CagA通过其氨基端的脂质结合基序K-X-R-X-R与细胞膜表面的磷脂酰丝氨酸结合, 然后通过内吞作用进入细胞^[14], 因为研究发现, 在CagA阳性的*H. pylori*感染胃上皮细胞时, 引起质膜的磷脂酰丝氨酸由内部向外表面迅速和短暂的外翻, 这可能与介导CagA蛋白的结合与内吞有关, 进一步研究表明, CagA蛋白借助于其带正电荷的K-X-R-X-R序列与带负电荷的之间形成离子键而紧密结合, 但是磷脂酰丝氨酸的外翻及介导CagA蛋白的内吞机制尚待深入研究。

3 CagA与宿主细胞蛋白相互作用的研究

进入宿主细胞的CagA蛋白主要以2种形式发挥作用, 即磷酸化依赖性的方式和磷酸化非依赖性的方式。

3.1 磷酸化的CagA蛋白与宿主细胞的相互作用

CagA蛋白发生磷酸化以及激活下游的信号通路是CagA蛋白发挥致病作用的主要方式, 而发生磷酸化的位点正是CagA蛋白EPIYA基序的酪氨酸残基。一旦CagA进入宿主细胞, 就会立刻被非受体酪氨酸激酶Src作用发生磷酸化(感染0–2 h), 感染2–4 h后, Src激酶可以被与之结合的磷酸化CagA蛋白反馈抑制而失活, 此时另一个非受体酪氨酸激酶Abl被激活, 继续磷酸化CagA^[24–25]。研究发现, Src和Abl对CagA蛋白磷酸化活性的控制不仅具有时间顺序性^[26], 而且EPIYA基序发生磷酸化的酪氨酸位点也具有时间顺序性, 即感染初期Src只磷酸化EPIYA-C或EPIYA-D的酪氨酸, 随

后Abl可以磷酸化其它位点(EPIYA-A/B/C/D)的酪氨酸,但是只能同时在1个或2个EPIYA基序上发生磷酸化,而不会同时在3个EPIYA基序上发生磷酸化,进一步研究表明,单独的EPIYA-C(或EPIYA-D)的磷酸化不足以引起细胞蜂鸟状形态的改变,至少需要2个EPIYA位点的磷酸化才能引起细胞形态的改变,而且EPIYA不同位点的磷酸化引起细胞形态改变的程度也不一样,这说明CagA的磷酸化在*H. pylori*感染过程中是受到严格控制的,并可以解释携带不同亚型CagA的*H. pylori*临床分离株致病性的差异^[27]。

磷酸化的CagA蛋白可与宿主胞内多种靶蛋白相互作用,其中最早发现的靶蛋白是SHP-2^[28]。磷酸化的CagA蛋白能够与SHP-2的SH2结构域结合而引起SHP-2的异常激活,激活的SHP-2能够使FAK和肌动蛋白结合蛋白发生去磷酸化,从而降低细胞的粘附,导致细胞伸长和迁移^[29],同时还能激活细胞外信号调节激酶/有丝分裂原激活蛋白激酶(extracellular signal regulated kinase/ mitogen-activated protein kinase, ERK/MAPK)活性,引起胃上皮细胞异常的增殖和移动^[30]。研究表明,CagA主要借助于EPIYA-C或EPIYA-D基序的酪氨酸磷酸化与SHP-2相互作用,其中东亚型CagA(EPIYA-D)与SHP-2的结合能力更强,能够产生更强烈的细胞形态改变^[31],另外,表达东亚型CagA的转基因小鼠发生肿瘤的数量要明显多于表达西方型CagA的小鼠^[32],同时,临床数据显示,感染携带东亚型CagA的*H. pylori*与严重胃萎缩和胃癌密切相关^[33],以上说明,东亚型CagA要比西方型CagA具有更强的致病性,由于东亚型CagA存在于东方国家中而西方型CagA主要存在于西方国家中,这或许可解释东方国家胃癌发病率明显高于西方国家的原因。而在西方国家中,感染含有多个重复EPIYA-C西方型CagA的*H. pylori*与患严重胃萎缩胃炎和胃癌密切相关^[34],细胞实验也证

明,含有多个EPIYA-C的西方型CagA拥有更强与SHP-2结合的能力,且比单个EPIYA-C的CagA能引发更强烈的细胞形态改变和白介素-8的分泌^[31,35],这说明多个重复EPIYA-C要比单个EPIYA-C具有更强的致病性。

磷酸化的CagA可以协同羧基末端Src激酶(C-terminal Src kinase, Csk)使Src激酶失活,Src激酶的失活会导致肌动蛋白结合蛋白-糖皮质激素(cortactin)、埃兹蛋白(ezrin)、黏着斑蛋白(vinculin)发生去磷酸化,从而导致细胞骨架重排和细胞伸长^[36-38]。另外,磷酸化的CagA蛋白可以与接头蛋白Crk II、Abl形成的复合物调节下游信号,其中Crk II是Abl作用的主要靶点,磷酸化的Crk II可能通过引起肌动蛋白-细胞骨架重排以及糖皮质激素的去磷酸化导致细胞形态发生改变,但还需要进一步的研究^[39]。国内研究人员陈帅印发现,磷酸化的CagA可以通过激活ERK/MAPK信号通路诱导 α -烯醇化酶的上调表达,而 α -烯醇化酶作为一种新的肿瘤相关蛋白参与肿瘤的无限增殖过程,这进一步证明磷酸化的CagA在*H. pylori*致胃癌机制中的重要作用^[40]。

除了以上作用的靶蛋白,与磷酸化CagA结合的胞内蛋白还有磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、生长因子受体结合蛋白2(growth factor receptor bound protein 2, Grb2)、肝细胞生长因子受体(hepatocyte growth factor receptor, c-Met)和紧密连接蛋白1(zonula occludens-1, ZO-1)等^[41-43],其中Grb2、c-Met和ZO-1也可以与非磷酸化的CagA蛋白相互作用。CagA与这些靶蛋白相互作用的结果是激活异常的信号通路,从而使细胞功能发生紊乱。

3.2 非磷酸化的CagA蛋白与宿主细胞的相互作用

CagA蛋白除了依赖于其羧基端EPIYA的磷酸化而发挥作用之外,还可以不依赖于磷酸化而与胞内多种蛋白发生作用引起致病性。CagA蛋白可

以通过CM基序与PAR1/MARK激酶结合并抑制激酶活性, 进而影响微管蛋白的磷酸化, 导致细胞紧密结合和极性的缺失^[12-13], 同时CagA蛋白与PAR1的结合也可以稳定CagA与SHP-2的作用以及激活NF- κ B的活性^[11,44]。CagA可以与ZO-1和连接黏附分子(junctional adhesion molecule, JAM)相互作用, 诱发紧密连接复合物发生移位, 从而破坏上皮细胞的紧密连接^[41]。另外, CagA蛋白还可以与跨膜连接蛋白(E-cadherin)相互作用从而破坏细胞的粘附连接^[45]。CagA蛋白引发这些作用的结果最终导致胃上皮组织的破坏, 从而增加细胞的迁移、增殖和转化的风险。

CagA蛋白能够通过激活多种转录因子而显著影响靶基因的表达。有报道表明, 非磷酸化的CagA蛋白可以与Grb2结合并激发Ras-ERK信号通路, 最终增强促炎症转录因子NF- κ B的活性, 导致促炎症因子的表达^[43]。我们之前的研究表明, CagA蛋白可以通过激活NF- κ B的活性而诱导肿瘤坏死因子受体相关因子1 (Tumor necrosis factor receptor associated factor 1, TRAF1)的表达上调, 而TRAF1在*H. pylori*感染的细胞中具有抗凋亡的作用^[46]。冯一民的研究表明, CagA蛋白能够显著上调细胞周期调控转录因子FoxM1 (Forkhead Box M1)的表达, 同时能够显著抑制靶向作用FoxM1的miR-370的表达, 从而促进了*H. pylori*感染的细胞增殖^[47]。另外, CagA蛋白与E-cadherin/ β -catenin复合物结合破坏上皮细胞粘附连接的同时, 也导致 β -catenin在胞质中的大量聚集和核内定位^[48], 进入核内的 β -catenin能够与淋巴细胞增强因子/T细胞因子结合形成异二聚体, 起始相关癌基因及有丝分裂原基因的转录, 例如*c-myc*, *cyclinD*, *cdx1*等。另有报道表明, 非磷酸化的CagA蛋白可以通过CM基序与激活的c-Met发生作用, 激活PI3K/Akt信号通路, 促进细胞迁移和运动, 同时能激活 β -catenin和NF- κ B信号通路, 最终

导致细胞增殖和炎症反应^[42,49]。

4 CagA蛋白体内致病机制的研究

体外细胞实验已经证明CagA蛋白可以与细胞内多种蛋白相互作用, 引起细胞病变和转化, 预示了CagA蛋白潜在的致癌特性, 但不能直观具体的揭示CagA蛋白在体内引发胃部相关疾病乃至胃癌的病理变化过程, 因此需要建立动物模型在体内研究CagA蛋白的致病过程。

4.1 CagA阳性*H. pylori*感染动物的致病作用研究

由于*H. pylori*是专一定殖于人胃中的一类病原菌, 所以对它的致病作用研究一直缺乏一个理想的动物模型。许多研究者采用小鼠感染*H. pylori*进行相关的研究, 且获得了能够长期感染小鼠胃的驯化株, 如悉尼株(Sydney strain, SS1)^[50], 但往往不会观察到胃癌的病理表型, 可能是由于*H. pylori*在小鼠胃中较低的定殖力和感染能力以及小鼠生命周期较短难以适应长期的观察。相比于小鼠模型, 蒙古沙土鼠是一个较为理想的模型, 多个研究表明蒙古沙土鼠感染*H. pylori*能够导致胃癌的发生。Honda等利用ATCC43504菌株感染蒙古沙土鼠, 在24周时, 在胃窦小弯处出现了多核白细胞和单核细胞向粘膜固有层的严重浸润, 并伴有上皮细胞增殖和炎性细胞浸润向周身延伸, 同时出现了萎缩性胃炎和局部的肠化生, 此后肠化生加重并伴有发育异常, 在72周时发现了40% (2/5)的蒙古沙土鼠患上胃癌^[51]。Watanabe等利用分离自胃溃疡患者的TN2GF4菌株感染蒙古沙土鼠, 在26周时出现慢性胃炎、溃疡和肠化生, 自胃窦延伸至基底区, 62周时, 有37% (10/27)的蒙古沙土鼠发生胃腺癌^[52]。Zheng等将蒙古沙土鼠分别口服*H. pylori*标准株HPATCC43504和临床分离株HP161, 从第8周时出现胃炎, 且随着时间的延长胃炎程度不断加重, 在第84周约82% (14/17)的蒙古沙土鼠出现了胃发育异常, 并且18% (3/17)的

蒙古沙土鼠出现了明显分化的胃腺癌^[53]。值得注意的是, 以上感染蒙古沙土鼠的*H. pylori*均是 I 型菌株, 即 CagA 阳性的菌株, 这也揭示了 CagA 在*H. pylori*致病以及致胃癌发生过程中发挥着重要的作用。

4.2 *cagA*转基因动物研究CagA的致病作用

为了排除*H. pylori*其它致病因子的影响, 单独研究CagA的癌蛋白特性和致病机制, 部分实验者构建了*cagA*转基因动物进行研究。Botham等构建了*cagA*转基因果蝇模型, 证实CagA能够发挥类似真核生物Gab (Grb2相关结合物)接头的功能, 在Gab缺失情况下, CagA的表达能够激活果蝇的SHP-2同源物CSW, 从而代偿果蝇复眼中感光细胞的形成^[54]。此后Wandler等利用*cagA*转基因果蝇模型发现CagA能够激活c-Jun氨基末端激酶(JNK)信号通路从而导致发育的翅膀器官芽(一种简单上皮组织)的凋亡, 而且, 利用果蝇肿瘤转移模型共表达癌基因*ras*时, CagA能够促进肿瘤生长和侵袭^[55]。Ohnishi等建立了*cagA*转基因的小鼠模型, CagA在胃部表达导致小鼠在12周龄时出现胃上皮细胞增生, 到72周时约12.8% (28/219)的小鼠发展成胃息肉和胃肠道腺癌, 另外, *cagA*的周身表达引起了白细胞增多并伴有白介素-3/粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子超敏反应, 72周时约7.3% (16/219)的小鼠发展成髓系白血病和B细胞淋巴瘤, 而对照组为CagA磷酸化缺陷型的*cagA*转基因小鼠没有出现类似的病理表型, 这是在哺乳动物体内(小鼠)第一个直接的证据证明CagA蛋白的致癌特性, 而进一步研究表明磷酸化的CagA异常激活SHP-2在致胃病乃至胃癌过程中发挥着重要的作用^[56]。另外Neal等还构建了*cagA*转基因的斑马鱼模型, CagA可以激活Wnt信号通路, 导致 β -catenin的异常激活, 长期表达野生型CagA的斑马鱼而不是CagA磷酸化缺陷型的斑马鱼在成年肠上皮中呈现显著地异常增生, 利用这个模型进一步

研究发现, CagA与丧失功能的p53协同作用能够引起肠小细胞癌和腺癌^[57]。以上的研究表明, CagA蛋白在体内能够通过激活SHP-2、Grb2、 β -catenin等信号通路而起到促进肿瘤发生或发展的作用, 进一步证实了CagA的癌蛋白特性。

5 展望

大量的研究揭示了CagA蛋白在*H. pylori*致病中的重要作用, 无论磷酸化还是非磷酸化的CagA都能与宿主胞内多种蛋白相互作用, 共同深刻影响细胞形态、细胞骨架、细胞连接、细胞增殖和凋亡, 促进上皮细胞的恶性转化。虽然对CagA蛋白的作用机制以及它的致癌特性有了一定的认识, 但是CagA在胃癌发生发展中的具体的作用机制仍不是很清楚。胃癌的发生是一个多因素、多步骤的过程, 相关的因素包括*H. pylori*的毒力、宿主遗传易感性和环境因素, 且伴随病理表型的不断变化, 包括浅表性胃炎、萎缩性胃炎、肠化生、发育不良和胃腺癌, 而CagA蛋白在各个病理过程中发挥的作用还不是很清楚。有报道称CagA与SHP-2形成的复合物主要存在于萎缩性胃粘膜中, 这个复合物可能在形成萎缩性胃炎以及由胃萎缩向肠化生转变的过程中起着重要的作用^[58]。因此在胃癌发生发展的各个时期研究CagA蛋白的作用可能更具理论和临床指导意义。

虽然CagA被认为是一种重要的毒力因子, 但我们不能忽视其它因子的作用, 有研究报道, 肽聚糖也可以通过T4SS进入宿主细胞激活Nod1-NF- κ B信号通路, 从而增强细胞的炎症反应^[59]。另外, *H. pylori*也可以通过一类未知因子而激活细胞内的衰变加速因子, 从而调节胃部炎症反应^[60]。因此, 在研究CagA蛋白的功能时既要独立的考虑它的致病作用, 又要综合考虑其它因子的因素, 例如空泡毒素、血型抗原结合粘附素和肽聚糖等^[61], 这样才能更加真实的反映CagA蛋白在*H. pylori*感染过程中发挥的作用。

参考文献

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2015, 65(2): 87–108.
- [2] Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*, 1984, 1(8390): 1311–1315.
- [3] Bessède E, Dubus P, Mégraud F, Varon C. *Helicobacter pylori* infection and stem cells at the origin of gastric cancer. *Oncogene*, 2015, 34(20): 2547–2555.
- [4] Parsonnet J, Friedman GD, Orentreich N, Vogelmann H. Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut*, 1997, 40(3): 297–301.
- [5] Hatakeyama M. *Helicobacter pylori* CagA and gastric cancer: a paradigm for hit-and-run carcinogenesis. *Cell Host & Microbe*, 2014, 15(3): 306–316.
- [6] Yamaoka Y. *Helicobacter pylori* typing as a tool for tracking human migration. *Clinical Microbiology and Infection*, 2009, 15(9): 829–834.
- [7] Fischer W. Assembly and molecular mode of action of the *Helicobacter pylori* Cag type IV secretion apparatus. *FEBS Journal*, 2011, 278(8): 1203–1212.
- [8] Tohidpour A. CagA-mediated pathogenesis of *Helicobacter pylori*. *Microbial Pathogenesis*, 2016, 93: 44–55.
- [9] Higashi H, Tsutsumi R, Fujita A, Yamazaki S, Asaka M, Azuma T, Hatakeyama M. Biological activity of the *Helicobacter pylori* virulence factor CagA is determined by variation in the tyrosine phosphorylation sites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(22): 14428–14433.
- [10] Higashi H, Yokoyama K, Fujii Y, Ren SM, Yuasa H, Saadat I, Murata-Kamiya N, Azuma T, Hatakeyama M. EPIYA motif is a membrane targeting signal of *Helicobacter pylori* virulence factor CagA in mammalian cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280(24): 23130–23137.
- [11] Ren SM, Higashi H, Lu HS, Azuma T, Hatakeyama M. Structural basis and functional consequence of *Helicobacter pylori* CagA multimerization in cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281(43): 32344–32352.
- [12] Saadat I, Higashi H, Obuse C, Umeda M, Murata-Kamiya N, Saito Y, Lu HS, Ohnishi N, Azuma T, Suzuki A, Ohno S, Hatakeyama M. *Helicobacter pylori* CagA targets PAR1/MARK kinase to disrupt epithelial cell polarity. *Nature*, 2007, 447(7142): 330–333.
- [13] Nešić D, Miller MC, Quinkert ZT, Stein M, Chait BT, Stebbins CE. *Helicobacter pylori* CagA inhibits PAR1-MARK family kinases by mimicking host substrates. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2010, 17(1): 130–132.
- [14] Murata-Kamiya N, Kikuchi K, Hayashi T, Higashi H, Hatakeyama M. *Helicobacter pylori* exploits host membrane phosphatidylserine for delivery, localization, and pathophysiological action of the CagA oncoprotein. *Cell Host & Microbe*, 2010, 7(5): 399–411.
- [15] Pelz C, Steininger S, Weiss C, Coscia F, Vogelmann R. A Novel inhibitory domain of *Helicobacter pylori* protein CagA reduces CagA effects on host cell biology. *The Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(11): 8999–9008.
- [16] Kaplan-Türkz B, Jiménez-Soto LF, Dian C, Ertl C, Remaut H, Louche A, Tosi T, Haas R, Terradot L. Structural insights into *Helicobacter pylori* oncoprotein CagA interaction with $\beta 1$ integrin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(36): 14640–14645.
- [17] Buti L, Spooner E, Van der Veen AG, Rappuoli R, Covacci A, Ploegh HL. *Helicobacter pylori* cytotoxin-associated gene A (CagA) subverts the apoptosis-stimulating protein of p53 (ASPP2) tumor suppressor pathway of the host. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(22): 9238–9243.
- [18] Tsang YH, Lamb A, Romero-Gallo J, Huang B, Ito K, Peek Jr RM, Ito Y. *Helicobacter pylori* CagA targets gastric tumor suppressor RUNX3 for proteasome-mediated degradation. *Oncogene*, 2010, 29(41): 5643–5650.
- [19] Lamb A, Yang XD, Li JD, Li JD, Higashi H, Hatakeyama M, Peek RM, Blanke SR, Chen LF. *Helicobacter pylori* CagA activates NF- κ B by targeting TAK1 for TRAF6-mediated Lys 63 ubiquitination. *EMBO Reports*, 2009, 10(11): 1242–1249.
- [20] Backert S, Tegtmeyer N, Fischer W. Composition, structure and function of the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island encoded type IV secretion system. *Future Microbiology*, 2015, 10(6): 955–965.
- [21] Bonsor DA, Weiss E, Iosub-Amir A, Reingewertz TH, Chen TW, Haas R, Friedler A, Fischer W, Sundberg EJ. Characterization of the translocation competent complex between the *Helicobacter pylori* oncogenic protein CagA and the accessory protein CagF. *The Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288(46): 32897–32909.
- [22] Kwok T, Zabler D, Urman S, Rohde M, Hartig R, Wessler S, Misselwitz R, Berger J, Sewald N, König W, Backert S. *Helicobacter* exploits integrin for type IV secretion and kinase activation. *Nature*, 2007, 449(7164): 862–866.

- [23] Jiménez-Soto LF, Kutter S, Sewald X, Ertl C, Weiss E, Kapp U, Rohde M, Pirch T, Jung K, Retta SF, Terradot L, Fischer W, Haas R. *Helicobacter pylori* type IV secretion apparatus exploits $\beta 1$ integrin in a novel RGD-independent manner. *PLoS Pathogens*, 2009, 5(12): e1000684.
- [24] Selbach M, Moese S, Hauck CR, Meyer TF, Backert S. Src is the kinase of the *Helicobacter pylori* CagA protein *in vitro* and *in vivo*. *The Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(9): 6775–6778.
- [25] Poppe M, Feller SM, Rmer G, Wessler S. Phosphorylation of *Helicobacter pylori* CagA by c-Abl leads to cell motility. *Oncogene*, 2007, 26(24): 3462–3472.
- [26] Tammer I, Brandt S, Hartig R, Knig W, Backert S. Activation of Abl by *Helicobacter pylori*: a novel kinase for CagA and crucial mediator of host cell scattering. *Gastroenterology*, 2007, 132(4): 1309–1319.
- [27] Mueller D, Tegtmeyer N, Brandt S, Yamaoka Y, Poire ED, Sgouras D, Wessler S, Torres J, Smolka A, Backert S. c-Src and c-Abl kinases control hierarchic phosphorylation and function of the CagA effector protein in Western and East Asian *Helicobacter pylori* strains. *Journal of Clinical Investigation*, 2012, 122(4): 1553–1566.
- [28] Higashi H, Tsutsumi R, Muto S, Sugiyama T, Azuma T, Asaka M, Hatakeyama M. SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. *Science*, 2002, 295(5555): 683–686.
- [29] Tsutsumi R, Takahashi A, Azuma T, Higashi H, Hatakeyama M. FAK is a substrate and downstream effector of SHP-2 complexed with *H. pylori* CagA. *Molecular and Cellular Biology*, 2005, 26(1): 261–276.
- [30] Higashi H, Nakaya A, Tsutsumi R, Yokoyama K, Fujii Y, Ishikawa S, Higuchi M, Takahashi A, Kurashima Y, Teishikata Y, Tanaka S, Azuma T, Hatakeyama M. *Helicobacter pylori* CagA induces Ras independent morphogenetic response through SHP-2 recruitment and activation. *The Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(17): 17205–17216.
- [31] Naito M, Yamazaki T, Tsutsumi R, Higashi H, Onoe K, Yamazaki S, Azuma T, Hatakeyama M. Influence of EPIYA-repeat polymorphism on the phosphorylation-dependent biological activity of *Helicobacter pylori* CagA. *Gastroenterology*, 2006, 130(4): 1181–1190.
- [32] Miura M, Ohnishi N, Tanaka S, Yanagiya K, Hatakeyama M. Differential oncogenic potential of geographically distinct *Helicobacter pylori* CagA isoforms in mice. *International Journal of Cancer*, 2009, 125(11): 2497–2504.
- [33] Satomi S, Yamakawa A, Matsunaga S, Masaki R, Inagaki T, Okuda T, Suto H, Ito Y, Yamazaki Y, Kuriyama M, Keida Y, Kutsumi H, Azuma T. Relationship between the diversity of the *cagA* gene of *Helicobacter pylori* and gastric cancer in Okinawa, Japan. *Journal of Gastroenterology*, 2006, 41(7): 668–673.
- [34] Ferreira RM, Machado JC, Leite M, Carneiro F, Figueiredo C. The number of *Helicobacter pylori* CagA EPIYA-C tyrosine phosphorylation motifs influences the pattern of gastritis and the development of gastric carcinoma. *Histopathology*, 2012, 60(6): 992–998.
- [35] Vaziri F, Peerayeh SN, Alebouyeh M, Maghsoudi N, Azimzadeh P, Siadat SD, Zali MR. Novel effects of *Helicobacter pylori* CagA on key genes of gastric cancer signal transduction: a comparative transfection study. *Pathogens and Disease*, 2015, 73(3): ftu021.
- [36] Selbach M, Moese S, Backert S, Jungblut PR, Meyer TF. The *Helicobacter pylori* CagA protein induces tyrosine dephosphorylation of ezrin. *Proteomics*, 2004, 4(10): 2961–2968.
- [37] Selbach M, Moese S, Hurwitz R, Hauck CR, Meyer TF, Backert S. The *Helicobacter pylori* CagA protein induces cortactin dephosphorylation and actin rearrangement by c-Src inactivation. *EMBO Journal*, 2003, 22(3): 515–528.
- [38] Moese S, Selbach M, Brinkmann V, Karlas A, Haimovich B, Backert S, Meyer TF. The *Helicobacter pylori* CagA protein disrupts matrix adhesion of gastric epithelial cells by dephosphorylation of vinculin. *Cellular Microbiology*, 2007, 9(5): 1148–1161.
- [39] Suzuki M, Mimuro H, Suzuki T, Park M, Yamamoto T, Sasakawa C. Interaction of CagA with Crk plays an important role in *Helicobacter pylori* induced loss of gastric epithelial cell adhesion. *Journal of Experimental Medicine*, 2005, 202(9): 1235–1247.
- [40] 陈帅印. 幽门螺杆菌CagA蛋白调控 α -烯醇酶表达的机制. 郑州大学博士学位论文, 2014.
- [41] Amieva MR, Vogelmann R, Covacci A, Tompkins LS, Nelson WJ, Falkow S. Disruption of the epithelial apical-junctional complex by *Helicobacter pylori* CagA. *Science*, 2003, 300(5624): 1430–1434.
- [42] Churin Y, Al-Ghoul L, Kepp O, Meyer TF, Birchmeier W, Naumann M. *Helicobacter pylori* CagA protein targets the c-Met receptor and enhances the motogenic response. *Journal of Cell Biology*, 2003, 161(2): 249–255.
- [43] Mimuro H, Suzuki T, Tanaka J, Asahi M, Haas R, Sasakawa C. Grb2 is a key mediator of *Helicobacter pylori* CagA protein activities. *Molecular Cell*, 2002, 10(4): 745–755.

- [44] Suzuki N, Murata-Kamiya N, Yanagiya K, Suda W, Hattori M, Kanda H, Bingo A, Fujii Y, Maeda S, Koike K, Hatakeyama M. Mutual reinforcement of inflammation and carcinogenesis by the *Helicobacter pylori* CagA oncoprotein. *Scientific Reports*, 2015, 5: 10024.
- [45] Murata-Kamiya N, Kurashima Y, Teishikata Y, Yamahashi Y, Saito Y, Higashi H, Aburatani H, Akiyama T, Peek Jr RM, Azuma T, Hatakeyama M. *Helicobacter pylori* CagA interacts with E-cadherin and deregulates the β -catenin signal that promotes intestinal trans-differentiation in gastric epithelial cells. *Oncogene*, 2007, 26(32): 4617–4626.
- [46] Wan XK, Yuan SL, Tao HX, Diao LP, Wang YC, Cao C, Liu CJ. The upregulation of TRAF1 induced by *Helicobacter pylori* plays an antiapoptotic effect on the infected cells. *Helicobacter*, 2016, doi: 10.1111/hel.12311.
- [47] 冯一民. (一) FoxM1在幽门螺杆菌相关胃癌中的作用及其机制; (二) miR-146a在吗啡诱导细胞凋亡中的作用及其机制. 山东大学博士学位论文, 2013.
- [48] Franco AT, Israel DA, Washington MK, Krishna U, Fox JG, Rogers AB, Neish AS, Collier-Hyams L, Perez-Perez GI, Hatakeyama M, Whitehead R, Gaus K, O'Brien DP, Romero-Gallo J, Peek Jr RM. Activation of β -catenin by carcinogenic *Helicobacter pylori*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(30): 10646–10651.
- [49] Suzuki M, Mimuro H, Kiga K, Fukumatsu M, Ishijima N, Morikawa H, Nagai S, Koyasu S, Gilman RH, Kersulyte D, Berg DE, Sasakawa C. *Helicobacter pylori* CagA phosphorylation-independent function in epithelial proliferation and inflammation. *Cell Host & Microbe*, 2009, 5(1): 23–34.
- [50] Lee A, O'Rourke J, De Ungria MC, Robertson B, Daskalopoulos G, Dixon MF. A standardized mouse model of *Helicobacter pylori* infection: introducing the Sydney Strain. *Gastroenterology*, 1997, 112(4): 1386–1397.
- [51] Honda S, Fujioka T, Tokieda M, Satoh R, Nishizono A, Nasu M. Development of *Helicobacter pylori*-induced gastric carcinoma in Mongolian gerbils. *Cancer Research*, 1998, 58(19): 4255–4259.
- [52] Watanabe T, Tada M, Nagai H, Saaaki S, Nakao M. *Helicobacter pylori* infection induces gastric cancer in Mongolian gerbils. *Gastroenterology*, 1998, 115(3): 642–648.
- [53] Zheng Q, Chen XY, Shi Y, Xiao SD. Development of gastric adenocarcinoma in Mongolian gerbils after long-term infection with *Helicobacter pylori*. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2004, 19(10): 1192–1198.
- [54] Botham CM, Wandler AM, Guillemin K. A transgenic drosophila model demonstrates that the *Helicobacter pylori* CagA protein functions as a eukaryotic Gab Adaptor. *PLoS Pathogens*, 2008, 4(5): e1000064.
- [55] Wandler AM, Guillemin K. Transgenic expression of the *Helicobacter pylori* virulence factor CagA promotes apoptosis or tumorigenesis through JNK activation in *Drosophila*. *PLoS Pathogens*, 2012, 8(10): e1002939.
- [56] Ohnishi N, Yuasa H, Tanaka S, Sawa H, Miura M, Matsui A, Higashi H, Musashi M, Iwabuchi K, Suzuki M, Yamada G, Azuma T, Hatakeyama M. Transgenic expression of *Helicobacter pylori* CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(3): 1003–1008.
- [57] Neal JT, Peterson TS, Kent ML, Guillemin K. *H. pylori* virulence factor CagA increases intestinal cell proliferation by Wnt pathway activation in a transgenic zebrafish model. *Disease Models & Mechanisms*, 2013, 6(3): 802–810.
- [58] Azuma T, Yamazaki S, Yamakawa A, Ohtani M, Muramatsu A, Suto H, Ito Y, Dojo M, Yamazaki Y, Kuriyama M, Keida Y, Higashi H, Hatakeyama M. Association between diversity in the Src homology 2 domain-containing tyrosine phosphatase binding site of *Helicobacter pylori* CagA protein and gastric atrophy and cancer. *Journal of Infectious Diseases*, 2004, 189(5): 820–827.
- [59] Viala J, Chaput C, Boneca IG, Cardona A, Girardin SE, Moran AP, Athman R, Mémet S, Huerre MR, Coyle AJ, DiStefano PS, Sansonetti PJ, Labigne A, Bertin J, Philpott DJ, Ferrero RL. Nod1 responds to peptidoglycan delivered by the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island. *Nature Immunology*, 2004, 5(11): 1166–1174.
- [60] O'Brien DP, Israel DA, Krishna U, Romero-Gallo J, Nedrud J, Medof ME, Lin F, Redline R, Lublin DM, Nowicki BJ, Franco AT, Ogden S, Williams AD, Polk DB, Peek Jr RM. The role of decay accelerating factor as a receptor for *Helicobacter pylori* and a mediator of gastric inflammation. *The Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281(19): 13317–13323.
- [61] Alzahrani S, Lina TT, Gonzalez J, Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE. Effect of *Helicobacter pylori* on gastric epithelial cells. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20(36): 12767–12780.

Advances in CagA protein and CagA-mediated pathogenesis of *Helicobacter pylori* - A review

Xiukun Wan, Chunjie Liu *

State Key Laboratory of Pathogens and Biosecurity, Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Science, Beijing 100071, China

Abstract: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) is a strong risk factor for gastric disease ranging from chronic gastritis to gastric cancer. But the mechanisms underlying the pathogenesis of *H. pylori* are still not completely understood. The cytotoxin-associated gene A (CagA) of *H. pylori*, an important virulence factor and the only bacterial oncoprotein, is extensively studied. CagA is delivered into gastric epithelial cells *via* type IV secretion of *H. pylori*. Upon delivery, CagA perturbs multiple host signaling pathways by interacting with the host signaling molecules, resulting in cytopathic effects and subsequent cell transformation. Some animal experiments also provide *in vivo* evidence for the oncogenic capacity of CagA. In this review, recent advances in the structural property, delivery manner and pathogenesis of CagA are summarized, which we hope could better explain the CagA-mediated pathogenesis of *Helicobacter pylori* and provide directions for the future approach.

Keywords: CagA, type IV secretion, signaling pathways, pathogenesis

(本文责编: 李磊)

Supported by the Grants from a Major Project in the Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China & Major New Drug Creation (2012ZX09301003-001-005)

*Corresponding author. Tel: +86-10-66948834; Fax: +86-10-64948815; E-mail: liucj@nic.bmi.ac.cn

Received: 24 March 2016; Revised: 13 May 2016; Published online: 18 May 2016