

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2022

課題番号：17K07327

研究課題名(和文) 非定型RabGAPによるクラスリン非依存性カーゴ蛋白質の細胞内膜輸送制御

研究課題名(英文) Regulation of intracellular membrane trafficking by atypical RabGAPs

研究代表者

船越 祐司 (Funakoshi, Yuji)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：30415286

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：細胞膜蛋白質の取り込みやその後の細胞内輸送は、低分子量G蛋白質Rabファミリーによって制御される。RabによるGTP加水分解(不活性化)を促進するRabGAPは、共通してTBCドメインを有するが、RabGAPにはTBCドメインを有しながらその活性に必須のアミノ酸を欠いたユニークなGAPが複数同定されている。本研究では、これら非定型的なRabGAPであるTRE17、TBC1D3、TBC1D24の解析を行った。その結果、TRE17によるがん細胞浸潤能亢進メカニズム、TBC1D3、TBC1D24によるクラスリン非依存性に取り込まれる細胞膜蛋白質のリサイクリング制御機構を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

エンドサイトーシスやその後の細胞内輸送は、受容体などの細胞膜蛋白質の膜上での局在や発現量を規定し、様々な細胞機能を制御する。本研究では、3つの非定型RabGAPが、Clathrin-independent endocytosis (CIE) によって取り込まれる膜蛋白質のリサイクリングを、それぞれ異なる機構で促進することを明らかにしており、未解明な部分の多いCIEカーゴ輸送の分子機構と、その輸送を介した生理機能の解明に大きく貢献するものである。また、これらRabGAPは、腫瘍や腫瘍性病変、がんの悪性化、脳神経系疾患などに深く関わっており、それらの病態解明、治療法開発に貢献できるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Endocytosis and following intracellular trafficking of the plasma membrane proteins are regulated by various Rab small GTPases. Rab proteins hydrolyze GTP by its intrinsic GTPase activities with the aid of RabGAPs, which have the conserved TBC domains. Interestingly, TBC domains of some RabGAPs lack the arginine/glutamine residues essential for their RabGAP activities. In this study, we investigated the roles of the atypical RabGAP members, TRE17, TBC1D3 and TBC1D24, and obtained the following results; first, TRE17 accelerates tumor cell invasion through the promotion of the recycling of CD147, which in turn induces matrix metalloproteinase production; second, TBC1D3 and TBC1D24 promote formation of tubular recycling endosomes, which are critical compartments for the recycling of membrane proteins that enter cells through clathrin-independent endocytosis (CIE). Our findings give insights into the mechanism of CIE cargo trafficking and pathogenesis of diseases related to these RabGAPs.

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：RabGAP クラスリン非依存性エンドサイトーシス TRE17/USP6 TBC1D3 TBC1D24 recycling

1. 研究開始当初の背景

受容体や細胞接着分子などの細胞膜蛋白質は、エンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれる。取り込まれた膜蛋白質は、細胞内の種々の輸送経路により、各小器官への輸送、リソソームによる分解、細胞膜へのリサイクリングといった運命をたどる。これにより、細胞膜上の受容体やトランスポーター、接着分子の量を調節している。さらに、遊走中の細胞、極性をもつ細胞などにおいて膜蛋白質の細胞膜上での局在変化にも関与する。従って、エンドサイトーシスとその後の細胞内輸送は、細胞膜上の膜蛋白質の量や組成、局在を調節することにより、シグナル調節、極性細胞の機能、細胞接着、遊走、シナプス可塑性など多様な機能を制御している。

膜蛋白質を取り込むエンドサイトーシスは、クラスリンコート蛋白質を介したクラスリン依存性エンドサイトーシス (Clathrin-mediated endocytosis: CME) と、コート蛋白質を必要としないクラスリン非依存性エンドサイトーシス (Clathrin-independent endocytosis: CIE) に大別される。CME は古くより研究が進められ、クラスリン被覆小胞形成のメカニズム、取り込まれた膜蛋白質 (以下、カーゴ蛋白質) の細胞内輸送機構など、詳細が明らかにされつつある。一方 CIE は、近年 CIE 特異的あるいは優先的に取り込まれるカーゴ蛋白質が多数同定されるなど、その重要性が指摘され注目を集めつつある (Maldonado-Baez et al., *Exp. Cell. Res.* 2013)。CIE カーゴ蛋白質は、取り込み過程のみならずその後の輸送経路、特にリサイクリングは CME カーゴ蛋白質とは異なる独自の経路を経ることが報告されている (Naslavsky et al., *Mol. Biol. Cell* 2004)。CIE によって取り込まれたカーゴ蛋白質は、初期エンドソームに取り込まれ、そこからリソソームへ運ばれ分解されるか、あるいは CIE カーゴに特徴的なチューブ様のリサイクリングエンドソームに輸送され膜へとリサイクリングされる (図 1)。しかしながら、このような輸送経路の制御メカニズムの多くは未解明のままである。

細胞内における蛋白質輸送は膜小胞によって行われ、これには低分子量 G 蛋白質 Rab ファミリーが重要な役割を担っている。哺乳動物では 60 以上の Rab が同定されており、様々な細胞内小器官・構造、細胞膜の間の輸送を特異的な Rab が制御している。CIE カーゴ蛋白質の輸送にも複数の Rab が関与しており (Weigert et al., *Mol. Biol. Cell* 2004) Rab ファミリーの制御機構の解明は CIE カーゴ蛋白質の輸送を理解する上で重要な研究課題である。

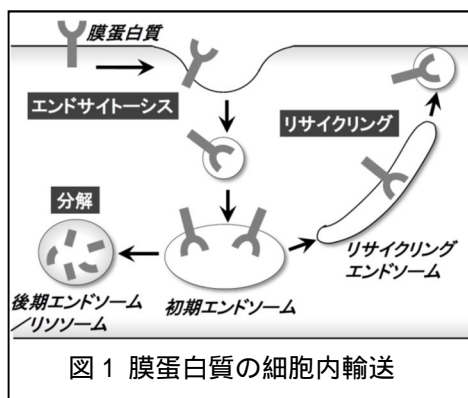


図 1 膜蛋白質の細胞内輸送

2. 研究の目的

Rab は、GDP を結合した不活性型と GTP を結合した活性型をサイクルする。GDP から GTP への変換 (活性化) は Guanine nucleotide exchange factor (GEF) によって、GTP から GDP への加水分解 (不活性化) は GTPase activating protein (GAP) によって促進される。正常な Rab の機能発現には、活性-不活性サイクルが必要であることから、Rab による細胞内輸送機構の解明には GEF や GAP の機能解析が重要となる。本研究では、RabGAP の中でも構造的にユニークな特徴をもつ非定型 RabGAP にフォーカスし、CIE カーゴ輸送における機能を解析することにより、CIE カーゴ輸送メカニズム、およびそれらに関わる生命現象を明らかにすることを目指す。

哺乳動物細胞では 40 以上の RabGAP が同定されており、それらは GAP 活性を担う共通の TBC ドメインを有している。それ故、TBC ドメインは RabGAP の機能に必須のドメインと考えられる。しかしながら、興味深いことに、TBC ドメインを有しながらその GAP 活性に必須のアミノ酸を欠いたユニークな RabGAP が複数存在する (Frasa et al., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 67, 2012)。これらは、通常とは異なる機構で Rab の活性を調節するか、あるいは活性調節とは異なる形で Rab と共に機能していると考えられているが、そのほとんどは機能が不明である。このような非定型的な RabGAP の中には、低分子量 G 蛋白質 Arf6 と相互作用するものがある。Arf6 は、CIE カーゴの細胞内への取りこみからリサイクリングに至る一連の過程において中心的な役割を果たしており、これらの RabGAP は CIE カーゴの輸送に関わるのが強く示唆される。本研究では、上記のような特徴を備える RabGAP である TRE17/USP6、TBC1D3、TBC1D24 について解析を行った。

3. 研究の方法

がん細胞の浸潤能評価

がん細胞の浸潤能は、蛍光標識したゼラチンの分解、およびトランスウェルアッセイにより評価した。蛍光標識したゼラチンをカバーガラスに塗布し、その上に HT1080 細胞を播種し、ゼラチンを分解した細胞数を測定した。トランスウェルアッセイでは、マトリゲルを重層したトランスウェルチャンバーを用いて、一定時間培養後に上部チャンバーから下部チャンバーに移動した細胞数を測定した。

細胞表面 CD147 の測定

細胞表面の CD147 は、細胞膜透過処理をせずに CD147 抗体を用いた免疫蛍光染色により測定した。あるいは、膜表面の CD147 をビオチンにて修飾し、アビジンによって pull-down することにより測定した。パルス標識による表面 CD147 の追跡実験では、氷上で細胞表面の CD147 を特異的抗体によりラベル後、未結合の抗体を除去し、37 °C で培養した。各時間における表面の CD147 を、蛍光ラベルした二次抗体にて、膜透過処理をせずに染色した。

CD147 の細胞内輸送解析

細胞内に取り込まれた CD147 の輸送を解析するために、CD147 抗体とともに細胞を 1 時間培養し、細胞を培地で洗浄後、塩化アンモニウム (リソソームの阻害のため) を添加した培地でさらに培養した。培養後、蛍光標識した二次抗体にて染色し、リソソームに蓄積した CD147 を評価した。

CD147 のユビキチン化解析

細胞に GFP-TRE17 と HA-Ubiquitin を共発現し、細胞抽出液に SDS 加えて煮沸した後、抗 CD147 抗体にて免疫沈降後、抗 HA 抗体を用いた Western blotting により CD147 のユビキチン化レベルを評価した。

MHCI、CD98 の細胞内輸送解析

CIE カーゴである MHCI、CD98 の取り込み後の輸送を解析するために、細胞を抗 CD147 抗体とともに 37 °C、30 分培養した後、酸洗浄により細胞表面上の抗体を除去した。その後、蛍光標識した二次抗体にて染色することにより、取り込まれた MHCI、CD98 を観察した。

その他、細胞生物学、生化学、分子生物学的な解析は、定法に従い実施した。

4. 研究成果

(1) TRE17 は、膜糖蛋白質 CD147 のリサイクリングを促進することにより、がん細胞の浸潤能を亢進する。

TRE17 は、N 末端側に上記の非定型的な RabGAP ドメイン (TBC ドメイン)、C 末端側に脱ユビキチン化ドメインを有する RabGAP である。先に研究代表者は、TRE17 が CIE カーゴ蛋白質を脱ユビキチン化することにより、リソソームへの移行を抑制し、細胞膜へのリサイクリングを促進すること、その結果、標的 CIE カーゴ蛋白質の細胞膜上での発現量を上昇させることを報告している (*Funakoshi et al., J. Cell Sci. 127, 2014*)。また、TRE17 は当初 Ewing 肉腫よりがん遺伝子として同定され、浸潤能の高い腫瘍性病変や、複数の癌、特に間葉系細胞由来の癌において高発現し、腫瘍増大、細胞浸潤を促進することが報告されている。しかしながら、TRE17 による CIE カーゴ蛋白質のリサイクリング制御とがん細胞の浸潤能との関連については不明である。本研究では、この点について解析を行った。

上記の知見より、TRE17 は特定の CIE カーゴのリサイクリングを制御することで、細胞の浸潤シグナルを活性化している可能性が考えられる。我々は、以下 ~ の知見から、このような標的カーゴの候補として CD147 に着目した。CD147 はイムノグロブリンスーパーファミリーに属する膜糖蛋白質であり、多くの癌細胞で高い発現がみられ、癌の悪性度とも相関が高い。TRE17 を過剰発現するがん細胞では、細胞の浸潤において細胞外基質を分解する Matrix metalloproteases (MMPs) の発現が上昇するが、CD147 も、細胞外からの刺激を受容し、MMPs の発現を誘導することにより腫瘍細胞の浸潤能を亢進する。CD147 はエンドサイトーシス後のリサイクリングの促進によって CD147 の細胞表面での発現レベルが上昇し、これによりがんの悪性化が促進する。CD147 は CIE により細胞内に取り込まれ、CIE カーゴの輸送に特徴的なチューブ様リサイクリングエンドソームを介して細胞表面へリサイクルされる。以上より、TRE17 が細胞内輸送制御を介して CD147 の細胞膜上での発現量を増加させ、腫瘍細胞の浸潤促進にはたらくという仮説を立て、検証を行った。

TRE17 は間葉系由来の腫瘍 (肉腫等) や腫瘍性病変で高発現することから、解析には、浸潤能の高いヒト線維肉腫由来 HT1080 細胞を用いた。ゼラチン分解アッセイ、浸潤アッセイにより、HT1080 細胞の浸潤能を評価したところ、TRE17 を過剰発現させた細胞では浸潤能が顕著に亢進していた。この作用は、TRE17 の脱ユビキチン化活性を欠損した変異体では認められなかった。一方で、CD147 の阻害剤 A-73 処理時には、TRE17 による浸潤能亢進は抑圧された。また、TRE17 ノックダウン細胞では細胞の浸潤が抑制され、AC-73 存在下では TRE17 ノックダウンによる浸潤能の抑制はみられなかった。これらの結果より、TRE17 は CD147 を介して HT1080 細胞の浸潤能を亢進すること、この作用は TRE17 の脱ユビキチン化活性に依存することが明らかとなった。

次に、CD147 の細胞膜上での発現に対する TRE17 の影響を検討した。その結果、TRE17 過剰発現細胞では細胞膜上 CD147 の発現量が上昇しており、これは TRE17 の脱ユビキチン化活性に依存していた。一方で、TRE17 をノックダウンした細胞では細胞膜上 CD147 量が減少しており、それに伴って MMPs の発現が低下していた。これらの結果から、TRE17 は CD147 のユビキチン修飾を調節することにより、CD147 の細胞膜上での発現量を調節していることが示唆された。そこで、CD147 のターンオーバーへの TRE17 の関与を検討した。HT1080 細胞をリソソームの阻害剤 (クロロキン、塩化アンモニウム NH₄Cl) で処理すると CD147 の発現量が顕著に増加する一方、プロテアソーム阻害剤 (MG132) 処理では発現量に有意な差はみられなかったことから、

HT1080細胞では、CD147のターンオーバーは主にリソソームで行われることが明らかとなった。このことから、CD147のリソソームへの輸送に対するTRE17の影響を検討した。その結果、TRE17を過剰発現した細胞では、細胞内に取り込まれたCD147のリソソームへの輸送が阻害されており、一方で、TRE17の脱ユビキチン化活性欠損変異体の過剰発現ではそのような阻害は観察されなかった。さらに、特異的抗体にてパルス標識したCD147の安定性を評価したところ、TRE17の過剰発現により、細胞表面上のCD147、および総CD147蛋白の安定性が上昇していた。

最後に、CD147のユビキチン化について解析したところ、TRE17を過剰発現した細胞ではCD147のユビキチン化が顕著に低下しており、一方で、脱ユビキチン化活性欠損変異体の過剰発現では影響はみられなかった。さらに、大腸菌にて発現・精製したTRE17を用いた*in vitro*での解析でも、TRE17によりCD147が脱ユビキチン化されており、TRE17はCD147を直接脱ユビキチン化することが明らかとなった。

上記、細胞の浸潤能、CD147のリソソームへの輸送、細胞膜上での発現、MMPsの発現に対するTRE17の影響は、高浸潤性の乳癌由来細胞株MDA-MB231でも同様の結果が得られており、TRE17を高発現するがんや腫瘍性病変に共通したメカニズムと推察される。

以上の結果より、TRE17の発現亢進により引き起こされる腫瘍性疾患の新たな病態モデルが提唱される(図2)。すなわち、TRE17はCD147を脱ユビキチン化することによりCD147のリソソームへの輸送を阻害し、リサイクリングを促進することにより細胞表面上のCD147の発現量を増加させ、その結果、CD147を介したシグナルが増強しMMPsの発現量が増加することにより、腫瘍細胞の浸潤能が亢進するというモデルである

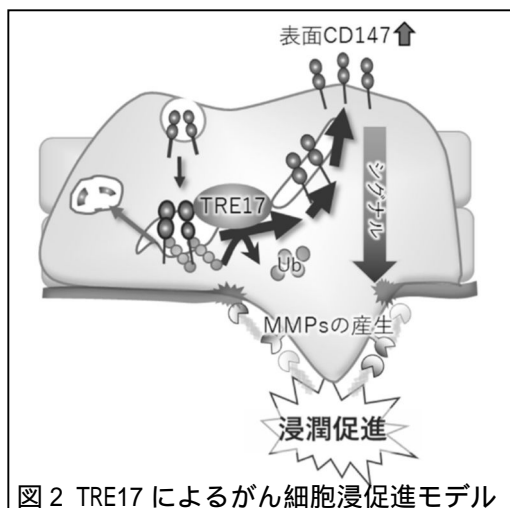


図2 TRE17によるがん細胞浸潤促進モデル

(2) TBC1D24は、チューブ用リサイクリングエンドソームの形成を制御することにより、CIEカーゴのリサイクリングを促進する

TBC1D24は、家族性小児ミオクロームスてんかんの原因遺伝子として同定された。TBC1D24は、一次構造上、非定型的なTBCドメインと、酸化ストレス耐性に関わるTLDcドメインを有する。近年、TBC1D24は、神経系の発達やシナプス膜小胞の取り込みと輸送に関与することが報告されている。また、Arf6と相互作用することにより、神経細胞の遊走や成熟を制御することがマウスをモデルとして報告されている。TBCドメイン(RabGAPドメイン)を有すること、細胞膜蛋白質の取り込みやリサイクリングにおいて中心的な役割を果たすArf6と相互作用することから、研究代表者は、細胞膜蛋白質の細胞内輸送におけるTBC1D24の機能解析を行った。

HeLa細胞にTBC1D24を発現させたところ、TBC1D24は、細胞膜と、CIEカーゴのリサイクリング経路に特徴的なチューブ用リサイクリングエンドソームに局在した。このチューブ用リサイクリングエンドソームはCIEカーゴの輸送に特異的で(CMEカーゴはこの経路は利用しない)、CIEカーゴのリサイクリングに重要なエンドソームであることから、CIEカーゴの代表であるMHCIとCD98の輸送について解析した。細胞内に取り込まれた後のMHCIとCD98を解析したところ、TBC1D24を過剰発現した細胞では、MHCIやCD98を含有するチューブ用リサイクリングエンドソームが顕著に増加していた。一方、TBC1D24をCRISPR-Cas9にてノックアウトした細胞では、チューブ用リサイクリングエンドソームは減少していた。TBC1D24欠損細胞では、MHCI、CD98の細胞内への取り込みは野生型細胞のそれとは変化がなく、チューブ用エンドソームの形成が抑制されていた。さらに、MHCI、CD98の細胞膜へのリサイクリングを解析したところ、TBC1D24欠損細胞では両者のリサイクリングが抑制されていた。一方、CMEカーゴであるトランスフェリンレセプターの取り込みや輸送には、TBC1D24の過剰発現、ノックアウトの影響は認められなかった。以上の結果より、TBC1D24はチューブ用リサイクリングエンドソームの形成を制御することにより、CIEカーゴのリサイクリングを促進することが明らかとなった。

TBC1D24によるチューブ用リサイクリングエンドソーム形成促進のメカニズムを解明するために、TBC1D24と相互作用することが知られているArf6との関連性について検討した。Arf6と結合できないTBC1D24を過剰発現させた際には、野生型と同様にチューブ用リサイクリングエンドソームが増加していた。また、Arf6をノックダウンした細胞においても、TBC1D24はチューブ用リサイクリングエンドソームを増加させたことから、TBC1D24はArf6以外のエフェクターを介してリサイクリングを制御することが示唆された。そこで、チューブ用リサイクリングエンドソームの形成とそれを介したCIEカーゴのリサイクリングを制御するRab22Aに着目し解析を行った。TBC1D24とRab22Aの相互作用を免疫沈降にて解析したところ、両者は結合することが明らかとなった。また、Rab22Aをノックダウンした細胞では、TBC1D24によるチューブ用リサイクリングエンドソームの増加は観察されず、一方で、TBC1D24欠損によるチューブ用リサイクリングエンドソームの減少は、Rab22Aの過剰発現により回復した。さらに、TBC1D24のノックアウト、およびRab22Aのノックダウンにより、細胞増殖が抑制されることも見出した。

以上の結果より、TBC1D24 は Rab22A を介して CIE カargo特異的なチューブ用リサイクリングエンドソームの形成を促進することにより、CIE カargoの膜へのリサイクリングを促進することが明らかとなった。この機能により、TBC1D24 は細胞膜蛋白質の細胞表面上の量的あるいは質的な調節を行い、細胞増殖を含む様々な細胞機能を制御していることが示唆される。

(3) TBC1D3 は Rab22A を活性化し、チューブ用リサイクリングエンドソームの形成を促進する

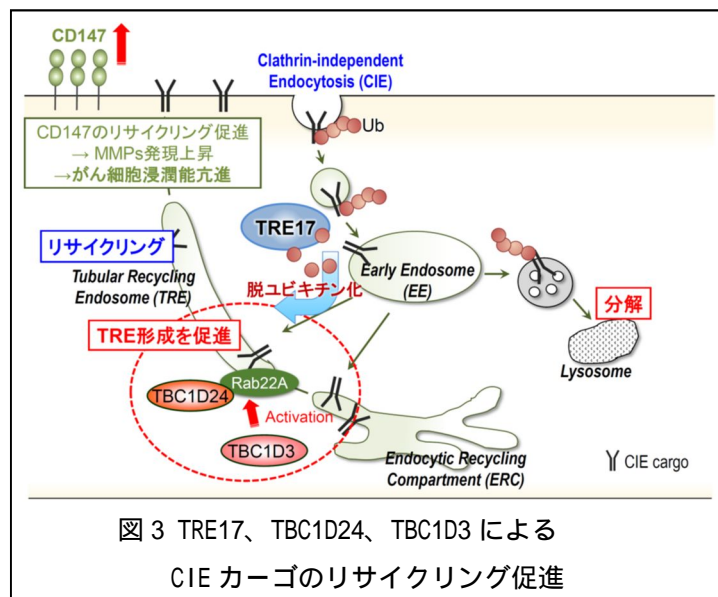
TBC1D3 は PRC17 (prostate cancer gene 17) と呼ばれ、原発性前立腺癌よりがん遺伝子として同定された。TBC1D3 も一次構造上、非定型的な TBC ドメインを有し、CIE カargo輸送のキ-ファクターである Arf6 と相互作用する。また、TBC1D3 は Arf6 のエフェクター分子である GGA3) と細胞膜において複合体を形成し、マクロピノサイトーシスにおいて重要な役割をすることが知られている。しかしながら、CIE 及び CIE カargoタンパク質の細胞内輸送における機能は不明である。

TBC1D3 は、HeLa 細胞に発現させると、細胞膜と CIE カargo輸送経路に特徴的なチューブ用リサイクリングエンドソームへの局在がみられた。また、TBC1D3 を過剰発現した細胞では、チューブ用リサイクリングエンドソームが著しく増加しており、この作用は Arf6 をノックダウンした細胞でも観察された。さらに、TBC1D3 は Rab22A と相互作用し、TBC1D3 によるチューブ用リサイクリングエンドソームの増加は、Rab22A のノックダウン、あるいは Rab22A の不活性型変異体の過剰発現により抑圧された。これらの結果から、TBC1D3 は、TBC1D24 と同様に Rab22A を介してチューブ用リサイクリングエンドソームの形成を制御することが示唆される。しかしながら、アイソトープ標識したリンを用いて細胞内 Rab22A の GDP-GTP 型の解析を行ったところ、TBC1D3 の過剰発現により、GTP 型 Rab22A の割合が増加する一方、TBC1D24 の過剰発現では、GDP 型-GTP 型の比に変化はみられなかった。

以上の結果より、TBC1D3 は Rab22A を活性化することによりチューブ用リサイクリングエンドソームの形成を促進する一方、TBC1D24 は Rab22A の活性調節とは異なる機構でチューブ用リサイクリングエンドソームの形成を促進することが示唆された。

以上のように、TRE17、TBC1D3、TBC1D24 は、CIE カargoのリサイクリングを、それぞれ異なる機構で促進することが明らかになった。(図3)。CIE による膜蛋白質の取り込みとその輸送は、膜上での局在や発現量を調節することにより、様々な生理機能を制御することが想定されている。しかしながら、CIE 研究の歴史は浅く、分子メカニズムや標的 CIE カargoを介した細胞機能制御については不明な点が多く残されている。本研究は、CIE カargoのリサイクリング制御機構の一端を明らかにするものであり、学術的な意義は高い。また、これら非定型 RabGAP は通常の RabGAP とは異なるメカニズムでエフェクターとなる Rab や Arf6 を制御していると考えられ、その解明により、新たな低分子量 G 蛋白質制御機構の概念を提唱できるものと期待される。

TRE17 は以前より様々ながんや腫瘍性病変との関連が報告されており、特に動脈瘤性骨嚢腫 (ABC) では 70%近く、結節性筋膜炎 (NF) では 90%以上の症例で染色体転座による TRE17 の高発現が報告されている。ABC や NF は良性的な腫瘍性病変ではあるが、周辺組織への浸潤能は高い。本研究では、TRE17 による腫瘍細胞浸潤能亢進メカニズムを明らかにしており、TRE17 を高発現する腫瘍性病変やがんの悪性化の病態解明・治療法開発に貢献できるものと期待される。TBC1D3 と TBC1D24 も、がんやてんかんなどの脳神経系疾患と深く関わっていることから、今後詳細を解析していくことにより、関連疾患の病態解明につながることを期待される。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Ogura Yukino, Ohbayashi Norihiko, Kanaho Yasunori, Kawaguchi Atsushi, Funakoshi Yuji	4. 巻 298
2. 論文標題 Ubiquitin-specific protease TRE17/USP6 promotes tumor cell invasion through the regulation of glycoprotein CD147 intracellular trafficking	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 102335 ~ 102335
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2022.102335	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Lee SangJoon, Ishitsuka Akari, Kuroki Takahiro, Lin Yu-Hsien, Shibuya Akira, Hongu Tsunaki, Funakoshi Yuji, Kanaho Yasunori, Nagata Kyosuke, Kawaguchi Atsushi	4. 巻 6
2. 論文標題 Arf6 exacerbates allergic asthma through cell-to-cell transmission of ASC inflammasomes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 e139190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.139190	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Gamara Jouda, Davis Lynn, Leong Andrew Z., Pag? Nathalie, Rollet-Labelle Emmanuelle, Zhao Chenqi, Hongu Tsunaki, Funakoshi Yuji, Kanaho Yasunori, Aoudji Fawzi, Pelletier Martin, Bourgoin Sylvain G.	4. 巻 172
2. 論文標題 Arf6 regulates energy metabolism in neutrophils	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Free Radical Biology and Medicine	6. 最初と最後の頁 550 ~ 561
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.freeradbiomed.2021.07.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nagumo Yoshiyuki, Kandori Shuya, Tanuma Kozaburo, Nitta Satoshi, Chihara Ichiro, Shiga Masanobu, Hoshi Akio, Negoro Hiromitsu, Kojima Takahiro, Mathis Bryan J., Funakoshi Yuji, Nishiyama Hiroyuki	4. 巻 511
2. 論文標題 PLD1 promotes tumor invasion by regulation of MMP-13 expression via NF- B signaling in bladder cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Letters	6. 最初と最後の頁 15 ~ 25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.canlet.2021.04.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kim Nguyen NT, Ohbayashi N, Kanaho Y, Funakoshi Y.	4. 巻 528
2. 論文標題 TBC1D24 regulates recycling of clathrin-independent cargo proteins mediated by tubular recycling endosomes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 220-226
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.05.007.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Gamara J, Davis L, Rollet-Labelle E, Hongu T, Funakoshi Y, Kanaho Y, Aoudjit F, Bourgoin SG.	4. 巻 2020:2713074
2. 論文標題 Assessment of Arf6 Deletion in PLB-985 Differentiated in Neutrophil-Like Cells and in Mouse Neutrophils: Impact on Adhesion and Migration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mediators Inflamm	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2020/2713074. eCollection 2020.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ngo Thai Bich V, Hongu T, Miura Y, Katagiri N, Ohbayashi N, Yamashita-Kanemaru Y, Shibuya A, Funakoshi Y, Kanaho Y.	4. 巻 8
2. 論文標題 Physiological function of phospholipase D2 in anti-tumor immunity: regulation of CD8+ T lymphocyte proliferation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-24512-x.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kandori S, Kojima T, Matsuoka T, Yoshino T, Sugiyama A, Nakamura E, Shimazui T, Funakoshi Y, Kanaho Y, Nishiyama H.	4. 巻 109
2. 論文標題 Phospholipase D2 promotes disease progression of renal cell carcinoma through the induction of angiogenin.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1865-1875
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13609	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Lin Yueh-Chien, Ohbayashi Norihiko, Hongu Tsunaki, Katagiri Naohiro, Funakoshi Yuji, Lee Hsinyu, Kanaho Yasunori	4. 巻 7
2. 論文標題 Arf6 in lymphatic endothelial cells regulates lymphangiogenesis by controlling directional cell migration	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11431
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-11240-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tsai Meng-Tsz, Katagiri Naohiro, Ohbayashi Norihiko, Iwasaki Kenichi, Ohkohchi Nobuhiro, Ding Shih-Torng, Kanaho Yasunori, Funakoshi Yuji	4. 巻 7
2. 論文標題 Regulation of HGF-induced hepatocyte proliferation by the small GTPase Arf6 through the PIP2-producing enzyme PIP5K1A	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9438
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-09633-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Miura Yuki, Ngo Thai Bich Van, Furuya Momoko, Hasegawa Hiroshi, Takahashi Satoru, Katagiri Naohiro, Hongu Tsunaki, Funakoshi Yuji, Ohbayashi Norihiko, Kanaho Yasunori	4. 巻 7
2. 論文標題 The small G protein Arf6 expressed in keratinocytes by HGF stimulation is a regulator for skin wound healing	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 46649
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep46649	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計19件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 小倉由希乃、大林典彦、金保安則、川口敦史、船越祐司
2. 発表標題 脱ユビキチン化酵素TRE17/USP6による膜タンパク質の輸送制御を介した腫瘍細胞の浸潤促進機構 脱ユビキチン化酵素 TRE17/USP6は、CD147の細胞内輸送制御を介してがん細胞浸潤能を亢進する
3. 学会等名 第45回分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 船越祐司、小倉由希乃、大林典彦、川口敦史、金保安則
2. 発表標題 脱ユビキチン化酵素 TRE17/USP6は、CD147の細胞内輸送制御を介してがん細胞浸潤能を亢進する
3. 学会等名 第19回生命科学研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yukino Ogura, Norihiko Ohbayashi, Yuji Funakoshi, Yasunori Kanaho
2. 発表標題 Ubiquitin-specific protease TRE17/USP6 promotes cancer cell invasion through the regulation of plasma membrane protein recycling.
3. 学会等名 第43回分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yukino Ogura, Norihiko Ohbayashi, Yuji Funakoshi, Yasunori Kanaho
2. 発表標題 Ubiquitin-specific protease TRE17/USP6 promotes cancer cell invasion through the regulation of plasma membrane protein recycling.
3. 学会等名 The 2020 NTU-KU-UT mini-symposium on Cancer Biology and Medicine
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 船越 祐司、山内 庸平、本宮 綱紀、山口 英樹、金保 安則
2. 発表標題 Arf6 GTPase 活性化因子 ARAP3 による浸潤仮足形成制御機構
3. 学会等名 第72回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小倉 由希乃、大林 典彦、川口 敦史、金保 安則、船越 祐司
2. 発表標題 脱ユビキチン化酵素 TRE17/USP6 は膜蛋白質の輸送を介して癌細胞浸潤能を亢進する
3. 学会等名 第72回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Thi Kim Nguyen Nguyen、大林 典彦、川口 敦史、金保 安則、船越 祐司
2. 発表標題 TBC1D24 はクラスリン非依存に取り込まれる膜タンパク質のリサイクリングを制御する
3. 学会等名 第72回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 船越祐司、小倉由希乃、大林典彦、金保安則
2. 発表標題 脱ユビキチン化酵素TRE17/USP6は、膜蛋白質の輸送を介して癌細胞浸潤能を亢進する
3. 学会等名 第18回生命科学研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yukino Ogura, Norihiko Ohbayashi, Yuji Funakoshi, Yasunori Kanaho
2. 発表標題 Ubiquitin-specific protease TRE17/USP6 promotes cancer cell invasion through the regulation of plasma membrane protein recycling
3. 学会等名 筑波会議2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nguyen Thi Kim Nguyen, Norihiko Ohbayashi, Yuji Funakoshi, Yasunori Kanaho
2. 発表標題 TBC1D24 regulates tubular recycling endosome formation through the small GTPase Rab22a
3. 学会等名 筑波会議2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yukino Ogura, Norihiko Ohbayashi, Yuji Funakoshi, Yasunori Kanaho
2. 発表標題 Ubiquitin-specific protease TRE17/USP6 promotes cancer cell invasion through the regulation of CD147 recycling
3. 学会等名 The International Graduate Symposium on Industrial Biotechnology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小倉由希乃、大林典彦、船越祐司、金保安則
2. 発表標題 脱ユビキチン化酵素TRE17/USP6は、膜蛋白質の輸送を介して癌細胞浸潤能を亢進する
3. 学会等名 第42回分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nguyen Thi Kim Nguyen, Norihiko Ohbayashi, Yasunori Kanaho, Yuji Funakoshi
2. 発表標題 TBC1D24 regulates recycling of plasma membrane proteins that enter cells by clathrin-independent endocytosis
3. 学会等名 第42回分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小倉 由希乃、船越 祐司、大林 典彦、金保 安則
2. 発表標題 脱ユビキチン化酵素TRE17と低分子量G蛋白質Arf6によるクラスリン非依存的カーゴ蛋白質の輸送制御
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nguyen Thi Kim Nguyen, Norihiko Ohbayashi, Yuji Funakoshi, Yasunori Kanaho
2. 発表標題 unction of TBC1D24 in clathrin-independent endocytic cargo trafficking
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yukino Ogura, Yuji Funakoshi, Norihiko Ohbayashi, Yasunori Kanaho
2. 発表標題 Regulation of clathrin-independent cargo trafficking by the ubiquitin-specific protease TRE17/USP6 and the small GTPase Arf6
3. 学会等名 Tsukuba Global Science Week 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuji Funakoshi, Meng-Tsz Tsai, Naohiro Katagiri, Norihiko Ohbayashi, Kenichi Iwasaki, Nobuhiro Ohkohchi, Shih-Torng Ding, and Yasunori Kanaho
2. 発表標題 Regulation of HGF-induced hepatocyte proliferation by the small GTPase Arf6 through the PIP2-producing enzyme PIP5K1A
3. 学会等名 The 16th Joint Mini-Symposium 2017 of National Taiwan University, Kyoto University and University of Tsukuba
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ngo Thai Bich Van, Tsunaki Hongu, Yuji Funakoshi and Yasunori Kanaho
2. 発表標題 Phospholipase D2 is a key molecule to suppress tumorigenesis through proliferation of CD8+ T lymphocytes
3. 学会等名 The 16th Joint Mini-Symposium 2017 of National Taiwan University, Kyoto University and University of Tsukuba
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nguyen Thi Kim Nguyen, Yuji Funakoshi, Yasunori Kanaho
2. 発表標題 Function of TBC1D24 in clathrin-independent endocytic cargo trafficking
3. 学会等名 The 16th Joint Mini-Symposium 2017 of National Taiwan University, Kyoto University and University of Tsukuba
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	ニュエン ティ キム ニュエン (Nguyen Thi Kim Nguyen)		
研究協力者	宮地 泰人 (Miyachi Taito)		
研究協力者	小倉 由希乃 (Ogura Yukino)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	金保 安則 (Kanaho Yasunori) (00214437)	筑波大学・医学医療系・教授 (12102)	
連携研究者	大林 典彦 (Ohbayashi Norihiko) (40421979)	医学医療系・医学医療系・准教授 (12102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関