

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 1 日現在

機関番号：35313

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2012

課題番号：21370055

研究課題名（和文） 真核細胞内の小胞外部におけるイオン環境制御の生理的役割とその分子の基盤

研究課題名（英文） pH regulation of organelles and its physiological role and molecular mechanism

研究代表者

金澤 浩（KANAZAWA HIROSHI）

中国学園大学・現代生活学部・教授

研究者番号：50116448

研究成果の概要（和文）：Na⁺/H⁺交換輸送体(NHE)は、ほぼすべての生物の細胞の形質膜や細胞内小胞膜に存在する。細胞質は pH7付近に保たれている。一方細胞内小胞の内部は酸性に保たれているが、その意味するところは不明である。細胞内小胞に存在する NHE はその遺伝子の異常で神経関連の家族性疾患発症が知られている。この研究では、この疾患の発症機構解明を目指し小胞型 NHE による小胞の pH 制御について分子レベルで明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Na⁺/H⁺ exchangers (NHE, Or Nha) are found in the plasma or endosome membranes for the most cells of living organisms. Cytoplasmic pH is maintained at 7 while intracellular endosome pH is set at weak acidic pH. NHEs are provided to regulate the cytoplasmic and endosome pH. However, their physiological function is still not clarified. In the present study, we focused on the physiological role of NHE localized at various endosomes and found a novel role in the intracellular protein trafficking.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2010年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
2011年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
年度			
年度			
総計	11,800,000	3,540,000	15,340,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学、機能生物学

キーワード：エンドサイトーシス，酵母のNHE，細胞内局所 pH制御，細胞内蛋白質局在化機構，細胞内pH調節Na⁺/H⁺交換輸送体，細胞内小胞型NHE，細胞内蛋白質の輸送

1. 研究開始当初の背景

真核生物細胞内のイオン環境とりわけ pH や Na⁺の濃度は一定に保たれている。こうした環境維持と制御により細胞増殖や分化などが制御されており、細胞質内イオン環境制御は生命にとり極めて重要な点である。さらに細胞質内には生体膜で囲まれた小胞が存

在し、その内部のイオン環境特に弱酸性 pH の維持が重要である。しかし、その生理的意義と調節の機構については、細胞質内に比べて不明な点を多く残している。これまで V 型 ATPase が H⁺を小胞内に輸送し酸性化することが確立している。申請者らは、V 型 ATPase の H⁺輸送路を形成する c サブユニット遺伝子

欠失マウスを作成し、受精後3-4日で受精卵は死滅することを見だし(BBA(1999)1413, 130), 小胞内の酸性pH維持が生理的に極めて重要であることを示すのに大きな貢献をした。一方、V-ATPaseの阻害剤によって小胞内pHは急速にアルカリ化し、蛋白質の分泌、小胞輸送、ホルモンのダウンレギュレーションなどに異常が起きる。また、ER、ゴルジ体、エンドソーム、リソソームの順にそれぞれの内部の酸性度は増加し、それぞれ固有な酸性pH値を維持している。これらのことから小胞内の固有なpH制御にV-ATPase以外にH⁺を漏洩させるシステムの存在が関わることが指摘され、その主要な部分をNa⁺/H⁺交換輸送体(NHE, NHAなどと呼称)が担っている可能性を申請者等は初めて示した(JBC(2005)280, 1561)。

しかしNHEによる小胞内pH制御の細胞機能と生理との関係や輸送の分子機構、制御については、ほとんど未解明であり、本申請研究に関連する分野は、世界的にも緒についたところである。一方本年になりNHE6がヒトの精神遅滞(Angelman症候群様症候)の原因遺伝子であること(Am. J. Hum. Gen(2008)82, 1003)が、明らかになった。さらに本年申請者等はNHE6が肝細胞の輸胆管形成に必要である証拠をオランダのグループとの共同で見いだした(論文投稿中)。これらの進展から、細胞レベルでのNHE群とくにNHE6の機能解明が世界的に強く求められる状況になっている。

申請者のこれまでの研究成果を踏まえた着想と問題提起: 申請者は、細胞内イオン制御について20年以上前から研究テーマとし、特に生体膜に存在するH⁺輸送性ポンプ(F-ATPase)(PNAS(1979)76, 1126, JBC(1997)272, 30047他)とNa⁺/H⁺交換輸送体(NHEまたはNhaと省略)の蛋白質構造に基づく作動機構と制御機構に注目してきた。この一連の研究では、当初細菌や酵母から哺乳類細胞の細胞質膜におけるNhaやNHEの作動機構、制御を中心に研究を進めた。細菌NhaAについては、原子構造レベルでイオン輸送路の詳細な解析を行い、成果があげた。酵母や哺乳類細胞NHEでは、相互作用因子の新規発見をおこなった。(JBC(2003)278, 21467, JBC(2004)279, 12438, JBC(2005)280, 41900, 他)。これらの成果は、2007年6月の生化学誌に特集を組み総説として発表した(生化学(2007)79, 569)。この一連の研究の途上、細胞内の小器官特に膜小胞にNa⁺/H⁺交換輸送体(NHE6-NHE9)が存在することを見出し(JBC(2005)280, 1561)、その機能や制御については、上記のようにほとんど解明がなされていないことに気がついた。また、酵母の細胞内小胞に存在するNhxと哺乳類細胞のNHE6は有意な1次構造の保存があるのに対して、細胞質膜型のNHEと細菌や酵母の形質膜型Nhaにはほとんど構造上の保存性がないことに気がついた。このことは、細胞内膜型NHEの細胞内での機能的な重要性を物語っている。

そこで本研究では、これまでのNa⁺/H⁺交換輸送体全般に亘る知識と経験を細胞内膜型の研究に集約させることとした。さらに、最近の申請者等の研究成果から、本研究の出発点となる新たな大きな発見があった。すなわち、細胞内初期エンド膜型NHE6は、その2割程度が形質膜に存在し細胞内膜との間を行き来すること、その制御にRACK1と呼ばれる蛋白質が関与することを見いだした(JBC(2008)283, 4417)。NHE6は、肝細胞において毛細胆管形成に貢献することを発見(投稿中)、他のグループにより精神遅滞のAngelman症候群様症候の原因遺伝子であることも分かった。さらに、別の内膜型のNHE8にも新規相互作用因子(NHERF)を見いだした(投稿中)。これらの結果から、細胞内膜型の細胞生理機能についての研究目標がこれまで以上に明確になりつつあり、研究分野として世界的な発展が今後期待される

2. 研究の目的

研究の背景に記載した研究代表者らの独自の成果を出発点に、本研究では、内膜型NHE6からNHE9の(1)生理的役割の解明、(2)制御の分子機構解明を達成目標とする。特にNHE6およびその酵母におけるオルソログであるNhxに力点を置いた。具体的課題を以下に列挙する(1)NHE6の遺伝子欠失細胞株や遺伝子発現抑制細胞を樹立し、NHE6分子の減少にともなう細胞生理、特にタンパク質の細胞内輸送に焦点をあてて、解析する。

(2)培養肝細胞を用いた毛細胆管形成における細胞内タンパク質や脂質の輸送とNHE6による小胞内制御の関係について解析する。(3)NHE6の神経系細胞における生理的役割を神経分化のモデル系である細胞を用いて解析する。(4)NHE6の酵母アイソフォーム(オルソログ)Nhxに注目し、液胞局在性のタンパク質分解酵素Cps1pの細胞内の輸送との関連を解析する。(5)NHEは分子内部のアミノ端側半分が疎水性の膜中構造、またカルボキシ端側半分は親水性で細胞質表面に存在する。この親水性部分はいずれのNHEにおいても輸送機構や細胞内局在化に関与するとの仮説のもの形質膜型NHE1に相互作用し機能発現に必至なCHP1を発見している。このCHP1の機能についてさらに詳細な分子機構をCHPノックアウト細胞を用いて解析する。(6)NHEファミリーのNa⁺/H⁺交換輸送の分子機構の基盤をピロリ菌のNha1について解析する。

3. 研究の方法

(1)NHE6, 遺伝子欠失細胞株をニワトリDT40細胞を用いて樹立する。また、HeLa細胞を用いてNHE6の発現抑制株ライン(ノックダウン細胞)を作成する。これらの細胞を用いて遺伝子発現量の低下にともなう環境変化に対する細胞の応答変化を、pH変化と細胞増殖変化、エンドサイトーシスなどの変化を指標に解析する。これと併せ、

細胞質と小胞内の pH 変化を pH 感受性の蛍光色素を用いて、細胞内での局所の値を測定する。

(2) 培養肝細胞 HepG2 を用いた毛細輸胆管形成における NHE6 の役割を、NHE6 のノックダウン細胞への機能欠損遺伝子の再導入と NHE6 の細胞内局在の実時間解析とを組み合わせて解析する。

(3) NHE6 の神経系細胞における役割を PC12 株や初代培養神経細胞を用い、細胞内局在解析と遺伝子ノックダウンとを組み合わせて解明する。

(4) NHE6 の酵母アイソフォーム Nhx1p に注目し、ほ乳類細胞のリソソームに相当する液胞に局在するタンパク質分解酵素 Cps1p をモデルにリボソームから液胞への輸送における Nhx1p の機能的役割を解析する。

(5) 本研究の前段階で、NHE1 の相互作用因子 CHP1 を発見している。CHP1 ノックアウト細胞をニワトリ DT40 細胞から作成し、CHP1 の欠損により NHE1 の細胞内局在にどのような影響が及ぼされるかを中心に解析する。また、NHE6 と NHE7 の異なる局在化に関わる分子内のドメインを NHE6 と NHE7 の部分キメラ体を作成し、細胞内局在における分子内ドメインの役割の解析をおこなう。

(6) Nha は NHE 同様に 2 量体を形成し機能を発現することを既に示している。大腸菌の Nha は結晶構造が解かれているが、2 量体ではない。この結晶構造を元に 2 量体形成に預かりそうな部分を探索し Cys 置換法で一アミノ酸残基を置換した Nha では 2 s-s 結合で 2 量体を形成する否かを指標に検討する。

4. 研究成果

(1) HeLa 細胞を用い NHE6 の発現を抑制した場合クラスリンの関与をうけてエンドサイトーシスを受ける鉄輸送体トランスフェリンの細胞内の取り込みは時間的に早い段階で抑制された。一方クラスリンの関与なく細胞内へ取り込まれるコレラ毒素では抑制はみられなかった。トランスフェリンのエンドサイトーシスでは、クラスリンの形質膜へのリクルートが低下した。NHE6 が形質膜近傍の pH 変化に影響を与えるか否か、NHE6 の過剰発現や発現抑制条件下で、pH 依存に蛍光強度が変化する GFP を用いて解析した。その結果、NHE6 は、形質膜近傍で、特にクラスリンの近傍の pH を制御することを見いだした。これらの結果を総合し、NHE6 は、クラスリンの形質膜への呼び込みを制御し、その結果トランスフェリンのエンドサイトーシスに関わるものと結論した。この結果はアメリカ生理学会誌 (Am. J. Phys. Cell. Phys.) に発表できた。なお当初計画した DT40 細胞における NHE6 遺伝子欠損細胞の樹立は行うことができ、この細胞では培養時酸性条件では、細胞の増殖速度が低下した。しかし、結果の再現性が低く引き続き解析を続けている。

(2) 肝細胞培養継代株 HepG2 では NHE6 の発現を抑制するとこの細胞に特有なアピカル

側での毛細輸胆管の形成が抑制されることを本研究の前段階で明らかにした。本研究でさらに、この機構を解析し次の結果を得た。アピカル形成には脂質と膜蛋白のアピカルへの輸送やリサイクルが、リサイクリングエンドソームを介しておこることが共同研究者のオランダの IJzendoorn 博士と Hoekstra 博士らによりあきらかになっていた。彼らとの共同研究により NHE6 の発現抑制では、脂質やタンパク質のアピカル膜への供給の低下と、一方でリサイクル速度の上昇がおこり、結果として毛細輸胆管量の低下になることが明らかになった。また、NHE6 は、リサイクリングエンドソームやアピカル膜近傍に多く存在し、それらの部位の pH 制御に関わることも明らかにした。これらの部位で NHE6 が分子レベルで直接相互作用する因子の存在を想定した実験を行ったが明らかな分子は特定できなかった。

(3) アメリカのグループにより本研究の前段階で、ヒトにおける NHE6 の遺伝子欠損が、神経遅滞症 (Angelman syndrome like syndrome) を引き起こすことが示された。本研究で、われわれは北海道大学医学部の高橋、斉藤らとの共同研究を行い日本人の一家系にも NHE6 の遺伝子欠損と神経遅滞の例を初めて発見した。この場合 441 番目のヌクレオチドの欠失が、フレームシフトを惹起し、結果として終止コドンの導入を招き完全長の NHE6 タンパク質が発現しないことを見いだした。この結果を受けて、NHE6 の神経系細胞における役割を神経分化モデル細胞である PC12 株を用いて解析した。すなわち、細胞内局在解析と遺伝子ノックダウンとを組み合わせて解析したところ、神経軸索突起の伸張は抑制された。突起の伸長には NGF (Nerve Growth Factor) が必要なため、NGF のシグナル伝達のどの段階で NHE6 が作用するのか明らかにすることを試みた。kinase カスケードの主要構成員である ERK のリン酸化を解析したところ、NHE6 発現抑制にともない NGF 存在化の ERK のリン酸化は有意に低下した。また、形質膜の NGF 受容体についても量の低下が観察された。今後、NHE6 による pH 制御とこれらの現象の相関を探ることが重要な研究の方向との結論を得た。

(4) NHE6 の生理的役割を解明するための示唆を得るため、酵母アイソフォーム Nhx に注目した。機能欠失変異からの戻り変異株を系統的に解析したところ、細胞内小胞の多重膜構造形成 (MVB) に影響し、この仕組みに pH 制御を通して関わることを明らかにした。多重膜構造形成は、液胞膜への細胞膜タンパク質の輸送や液胞膜局在性タンパク質の通過経路としてきわめて重要である。われわれは液胞膜へ局在するタンパク質分解酵素 Cps1p モデルとして解析した。Nhx 欠損では、Cps1p は液胞前膜 (クラス E 膜小胞) に蓄積した。この現象は、多重膜形成機構の初発因子である Vps2p 欠損細胞でも認められる。そこで、Nhx1 が多重膜形成

に関わるか否か試験管内で再現する系を確立した。この実験系により、Nhx1は多重膜形成に関わり、多重膜形成は、酸性側で効率が高い、pH依存性を示した。細胞内のpHを人為的に変化させるため、細胞にH⁺イオンファアを加えて調べたところVps27の小胞への結合は酸性条件で促進されること、また欠損細胞では、Vps27の小胞膜画分への回収がNHE減少することを見いだした。さらに、Vps27とpH感受性のGFP誘導体pHluorinを用いて小胞表面のpHを測定したところ、6.67を示し細胞質内の7.00と有意に差があり、酸性であった。これらを総合し、Nhx1pはエンドサイトーシス膜表面のpHを酸性に保つことで多重膜形成に必須なVps27の呼び込みを担うものと結論した。この結果は、きわめて重要かつ新規なものである。これまでNhxを含むNHEファミリーは小胞の内部pHの制御を通して、生理機能に関わると考えられてきたが、われわれの発見はこれとは異なるものであり、発想の転換を促すものである。またほ乳類NHEの機能解析にも重要な新たな視点を与えるものと確信している。さらに、膜表面のpHが生理学的プロセスに重要とする考えは、プロトンの拡散性を考えたときに、検討すべき新たな課題を提案することになる。この点でもこの成果は、重要である。

(5) 本研究の前段階で、NHE1の形質膜局在化に関わる分子CHP1を特定している。CHP1の遺伝子欠損DT40細胞を確立し、CHP1欠損によるNHE1の細胞内局在変化、またCHP1遺伝子の再導入による変化を系統的に解析した。その結果、CHP1なしではNHE1の9割近くは、小胞体の部分に局在した。のこりの1割程度は形質膜に移行した。この形質膜移行分も解析の結果、形質膜での滞留時間がCHP1存在時より短くCHP1の欠損が、NHE1の安定性にも寄与していることを突き止めた。この研究と併行して、NHE1分子内のCHP1結合部位近傍に相互作用する因子を酵母のtwo-hybrid法で探索したところ、nexin6を見いだした。NHE1の細胞内輸送においてNexin6が重要な働きをもつことが初めて明らかにされた。このような分子が、小胞膜型NHEにも存在する可能性が新たに生まれた。われわれは、NHE6とNHE7が細胞内の異なる部位に局在する機構を従来から研究し、成果を発表している。この局在化に必至なNHE6、NHE7の分子内一次構造に結合する因子の探索は、こうした観点から今後も重要と考えられ、形質膜型のNHE1の研究も本研究で重要な貢献をしたと考えている。

(6) Na⁺/H⁺交換輸送の分子内機構を小胞型NHEについても研究の展開が必要と考えているが、その前段階として細菌のNhaのイオン輸送機構を解析することが、一つの糸口になると考えて研究を一部行い、成果が得られた。すなわち、従来用いているピロリ菌のNhaは、2量体構造をとっていることを本研究の前段階で明らかにした。本研究では、2量体の接点が、膜ドメインの第

一ループ構造内にあることを明らかにした。Cys残基へのループ内残基の系統的置換の実験を行い、特定残基をCysに置換するとS-Sが2量体間で作られ、輸送機能が極度に低下することを見いだした。還元によりS-Sを解除すると、輸送機能は回復したことから2量体間のダイナミックな構造変化が、s-sで固定されることで逆に輸送機能が失われたと考察した。NHEやNhaのイオン輸送の分子内機構解明に大きな寄与をする発見であると考えている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計13件)

1. Mitsui, K., Koshimura, Y., Yoshikawa, Y., Matsushita, M., and Kanazawa, H. The endosomal Na⁺/H⁺ exchanger contributes to multivesicular body formation by regulating the recruitment of ESCRT-0 Vps27p to endosomal membrane *J. Biol. Chem.*, (2011) 286, 37625-37638.
2. Lou, X., Matsushita, M., Numaza, M., Taguchi, Mitsui, K., and Kanazawa, H. Na⁺/H⁺ exchanger isoform 6 (NHE6 / SLC9A6) is involved in clathrin-dependent endocytosis of transferrin *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, (2011) 301, C1431-1444.
3. Matthew J. Prior¹, Mark Larance¹, Robert T. Lawrence¹, Jamie Soull¹, Sean Humphrey¹, James Burchfield¹, Carol Kistler², Jonathon R. Davey¹, Penelope J. La-Borde¹, Michael Buckley³, Hiroshi Kanazawa⁴, Robert G. Parton⁴, Michael Guilhaus⁵ and David E. James¹ Quantitative proteomic analysis of the adipocyte plasma membrane *J. Proteome. Res.* (2011) 10, 4970-4982.
4. Yumi TAKAHASHI, Kana HOSOKI¹, Masafumi MATSUSHITA, Makoto FUNATSUKA, Kayoko SAITO, Hiroshi KANAZAWA, Yu-ichi GOTO Shinji SAITOH
A loss-of-function mutation in the SLC9A6 gene causes X-linked mental retardation resembling Angelman syndrome *American J. Med.Genetics* (2011) 156(7), 799-807..
5. Masafumi Matsushita, Hiroo Tanaka, Keiji Mitsui and Hiroshi Kanazawa Dual functional significance of Calcineurin homologous protein 1 (CHP1) binding to

- Na⁺/H⁺ exchanger isoform 1 (NHE1)
Am. J. Physiol. Cell Physiol. (2011);
301 C280-C288.
6. Bitel CL, Nathan R, Wong P, Kuppasani S, Matsushita M, Kanazawa H, Frederikse PH Evidence that 'Brain-Specific' Fox-1, Fox-2, and nPTB alternatively spliced isoforms are produced in the lens
Curr Eye Res (2011) Apr. 36(4): 321-327
 7. Ryuichi Ohgaki, Sven C.D. van Ijzendoorn, Masafumi Matsushita, Dick Hoekstra, and Hiroshi Kanazawa Organellar Na⁺/H⁺ exchangers: Novel players in organelle pH regulation and their emerging functions
Biochemistry (2011) 50, 443-450
 8. Keiji Mitsui, Masafumi Matsushita, and Hiroshi Kanazawa *Saccharomyces cerevisiae* glucose signaling regulator Mth1p regulates the organellar Na⁺/H⁺ exchanger Nhx1p
Biochemical J. (2010) 432, 343-352
 9. Naomi Fukura, Ryuichi Ohgaki, Masafumi Matsushita, Norihiro Nakamura, Keiji Mitsui, and Hiroshi Kanazawa Membrane proximal region in the C-terminal tail of NHE7 is required for its distribution in the trans-Golgi network, distinct from NHE6 localization at endosomes
J Membrane Biol. (2010) 234, 149-158
 10. Ryuichi Ohgaki, Masafumi Matsushita, Hiroshi Kanazawa, Satoshi Ogihara², Dick Hoekstra¹, and Sven C.D. van Ijzendoorn^{1*} The Na⁺/H⁺ exchanger NHE6 in the endosomal recycling system is involved in the development of apical bile canalicular surface domains in HepG2 cells
Mol. Biol. Cell. (2010) 21, 1293-1304
 11. Akira Karasawa, Keiji Mitsui, Masafumi Matsushita, and Hiroshi Kanazawa* Intermolecular cross-linking of monomers in *H. pylori* Na⁺/H⁺ antiporter NhaA at dimer interface inhibits antiporter activity
Biochemical. J. (2010) 426, 99-108
 12. Masafumi Matsushita, Ruri Yamamoto, Keiji Mitsui, and Hiroshi Kanazawa Altered motor activity of alternative splice variants of the mammalian kinesin-3 protein KIF1B
Traffic (2009) 10, 1647-1654
 13. Keiji Mitsui, Ken Hatakeyama, Masafumi Matsushita, and Hiroshi Kanazawa The *Saccharomyces Cerevisiae* Na⁺/H⁺ Antiporter Nha1p Associates with Lipid Rafts and Requires Sphingolipid for its Localization at the Plasma Membrane
J. Biochemistry (2009) 145, 709-720.
- [学会発表] (計 19 件)
1. Na⁺/H⁺交換輸送体 NHE6/SLC9A6 は鉄運搬体蛋白質トランスフェリンのエンドサイトーシスに関与する
松下昌史、婁欣瀚、沼座茉奈美、田口晃、三井慶治、金澤浩
2011年 第84回生化学会大会 2T10p-11 / 2P-0292
 2. 細胞膜型 Na⁺/H⁺交換輸送体 NHE1 の新規結合タンパク質 Sorting nexin 6 (SNX6) の同定と局在化における役割
梅本哲雄、松下昌史、三井慶治、金澤浩
第33回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2011年1月24日岡山
 3. 精製した酵母由来エンドソーム局在型 Na⁺/H⁺交換輸送体を用いた人工膜小胞におけるイオン輸送機能の再構成
三井慶治、小坂 宣仁、泉田 響、松下昌史、金澤浩
日本分子生物学会第34回年会 2011年12月13-16日
 4. エンドソーム局在性 Na⁺/H⁺ 交換輸送体は MVB 形成因子 ESCRT 因子のエンドソーム膜への結合を調節する
三井慶治、越村友理、吉川由利子、松下昌史、金澤浩
日本生化学会84回年会、2011年9月21-24日 京都国際会議場
 5. オルガネラに局在する Na⁺/H⁺交換輸送体による pH 調節と細胞内小胞輸送
金澤浩、三井慶治、松下昌史
日本生化学会84年會 9月21-24日 京都国際会議場
 6. Sorting nexin 6 (SNX6) は Na⁺/H⁺ 交換輸送体 1 (NHE1) の膜近傍領域に結合する
梅本哲雄、松下昌史、三井慶治、金澤浩
日本生化学会近畿支部会第58回例会 2011年5月
 7. The Na⁺/H⁺ exchanger isoform 6 (NHE6/SLC9A6) plays a role in the internalization of extracellular

- iron-carrier proteins via pH regulation
Masafumi Matsushita, Lou Xinhan, Manami Numaza, Keiji Mitsui, and Hiroshi Kanazawa
Symposium on Bioinspired materials and functionalities, Hampshire Hotel Plaza, Groningen, The Netherlands, 2011
8. 三井慶治, 越村友理, 吉川由利子, 松下昌史, 金澤浩『出芽酵母のエンドソーム局在型Na⁺/H⁺交換輸送体のmultivesicular body経路における役割』BMB2010 (2010. 12. 9) 神戸ポートアイランド
 9. 婁欣瀚, 沼座菜奈美, 田口晃, 松下昌史, 三井慶治, 金澤浩『小胞輸送におけるNa⁺/H⁺ exchanger (NHE6)の役割』BMB2010 (2010. 12. 9) 神戸ポートアイランド
 10. 沼座菜奈美, 婁欣瀚, 松下昌史, 山岸大祐, 佐野由枝, 三井慶治, 金澤浩『オルガネラ型Na⁺/H⁺交換輸送体アイソフォーム6(NHE6)のノックダウン/ノックアウトの細胞質pHに与える影響』BMB2010 (2010. 12. 9) 神戸ポートアイランド
 11. 松下昌史, 大垣隆一, Sven C. D. van IJzendoorn, Dick Hoekstra, 金澤浩『Na⁺/H⁺交換輸送蛋白質NHE6/SLC9A6によるエンドソームpH調節は肝細胞の極性形成維持において重要である』BMB2010 (2010. 12. 9) 神戸ポートアイランド
 12. 田口晃, 婁欣瀚, 松下昌史, 三井慶治, 金澤浩『Na⁺/H⁺交換輸送体NHE6の細胞内局在制御機構に関する研究』BMB2010 (2010. 12. 9) 神戸ポートアイランド
 13. 越村友理, 三井慶治, 松下昌史, 金澤浩 出芽酵母 Na⁺/H⁺交換輸送体 Nhx1p の細胞内タンパク質輸送における機能解析 第 82 回 日本生化学会大会 (2009 年 10 月 21 日~24 日, 神戸ポートアイランド)
 14. 三井慶治, 松下昌史, 金澤浩 出芽酵母 Na⁺/H⁺交換輸送体 Nhx1p は Mth1 との結合を介してイオン輸送活性を制御される 第 32 回 日本分子生物学会年会 (2009 年 12 月 9 日~12 日, パシフィコ横浜)
 15. 蘇木明日香, 三井慶治, 松下昌史, 金澤浩 出芽酵母 Tm9sf はキチン合成酵素 Chs3 の細胞内輸送制御に関与する 第 32 回 日本分子生物学会年会 (2009 年 12 月 9 日~12 日, パシフィコ横浜)
 16. Xinhan Lou, 松下昌史, 三井慶治, 金澤浩 小胞輸送における Na⁺/H⁺交換輸送体タンパク (NHE6)の機能 第 32 回 日本分子生物学会年会 (2009 年 12 月 9 日~12 日, パシフィコ横浜)
 17. 越村友理, 三井慶治, 松下昌史, 金澤

浩

- 出芽酵母 Na⁺/H⁺交換輸送体 Nhx1p の細胞内タンパク質輸送における機能解析 第 82 回 日本生化学会大会 (2009 年 10 月 21 日~24 日, 神戸ポートアイランド)
18. 三井慶治, 松下昌史, 金澤浩 出芽酵母 Na⁺/H⁺交換輸送体 Nhx1p は Mth1 との結合を介してイオン輸送活性を制御される 第 82 回 日本生化学会大会 (2009 年 10 月 21 日~24 日, 神戸ポートアイランド)
 19. 鈴木祥代, 松下昌史, 三井慶治, 金澤浩 Na⁺/H⁺交換輸送体 NHE6 のマウス組織での発現と上皮細胞における機能解析 第 82 回 日本生化学会大会 (2009 年 10 月 21 日~24 日, 神戸ポートアイランド)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金澤 浩 (KANAZAWA HIROSHI)

中国学園大学・現代生活学部・教授

研究者番号：50116448

(2) 研究分担者

三井慶治 (MITSUI KAIJI)

大阪大学・理学研究科・助教

研究者番号：60379279

永森収士 (NAGAMORI SYUSHI)

大阪大学・医学研究科・助教

研究者番号：90467572

大垣隆一 (OHGAKI RYUICHI)

大阪大学・医学研究科・助教

研究者番号：20467525

松下昌史 (MATSUSHITA MASAFUMI)

大阪大学・理学研究科・助教

研究者番号：50403100

(3) 連携研究者

Dick Hoekstra

Groningen University, Medical Center,

Professor