

氏名	小倉 由希乃		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 10353 号		
学位授与年月	令和 4 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	脱ユビキチン化酵素 TRE17/USP6 による CD147 の 輸送制御を介した腫瘍細胞の浸潤促進機構		
主査	筑波大学教授	博士（医学）	松坂 賢
副査	筑波大学教授	博士（医学）	松原 大祐
副査	筑波大学助教	博士（農学）	須田 恭之
副査	筑波大学助教	博士（生物工学）	村田 知弥

論文の内容の要旨

小倉由希乃氏の博士学位論文は、腫瘍細胞の浸潤における脱ユビキチン化酵素 TRE17 を介した輸送制御の機能を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

（目的）著者はまず、細胞表面上に発現する膜タンパク質を介したシグナル伝達の調整は細胞機能と生命活動において重要であること、この調節異常は腫瘍を含む様々な疾患に関わること、膜タンパク質の細胞表面上における発現量は細胞内への取込み（エンドサイトーシス）とその後の細胞内輸送経路により厳密に制御されることを述べている。

さらに著者は、脱ユビキチン化酵素 TRE17/USP6 がクラスリン非依存性エンドサイトーシス（clathrin-independent endocytosis: CIE）によって取り込まれる細胞膜タンパク質（CIE カargo）を脱ユビキチン化することにより、膜へのリサイクリングを促進すること、TRE17 は浸潤能の高い癌や腫瘍性病変に高発現することが先行研究で知られているものの、腫瘍細胞の浸潤における TRE17 の輸送制御の機能は未解明であることを述べている。

著者は、これらの背景に基づき、腫瘍細胞の浸潤における TRE17 を介した輸送制御の機能を明らかにすることを目的に研究を行っている。

（方法）著者は、TRE17 の高発現が多く報告されている間葉系腫瘍に由来し、高い浸潤能を有するヒト肉腫細胞株 HT-1080 細胞を実験に用いている。TRE17 が最近新たに報告された CIE カargo である CD147 をターゲットとして輸送を制御する可能性に着目し、TRE17 が細胞表面の CD147 発現レベルに与える影響を蛍光免疫染色とビオチンラベルによる生化学的手法により評価している。また、TRE17 が CD147 の細胞内輸送に与える影響を抗体取込みアッセイにより、輸送の変化が細胞表面 CD147 の安定性に影響するかをパルスチェイス解析により評価している。TRE17 による CD147 の脱ユビキチン化への影響は、抗 CD147 抗体による免疫沈降後の沈殿サンプルを用いて解析している。

（結果）著者はまず、HT-1080 細胞において、TRE17 は脱ユビキチン化活性依存的に腫瘍細胞の浸潤

を促進することを示している。

次に著者は、蛍光免疫染色により、TRE17 の過剰発現は細胞表面 CD147 のシグナルを増加させること、TRE17 のノックダウンは細胞表面 CD147 の発現を減少させ、これに伴い CD147 の下流のマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) 発現を減少させること、CD147 特異的阻害剤の処理により TRE17 による浸潤促進が減弱することを示している。以上の結果に基づき、TRE17 による細胞表面 CD147 の増加が MMP の産生を誘導することにより、腫瘍細胞の浸潤能を増強することを示している。

次に著者は、CD147 を特異的抗体でラベルして CD147 の細胞内輸送を追跡し、TRE17 の過剰発現により CD147 のリソソームへの輸送が抑制されること、これは TRE17 の脱ユビキチン活性に依存することを示している。

著者はさらに、パルスチェイス解析により TRE17 の過剰発現は細胞表面 CD147 の安定性を増加させること、TRE17 は CD147 のリサイクリングを促進することにより細胞表面における半減期を延長させることを示している。また、抗 CD147 抗体を用いた免疫沈降により単離した CD147 のユビキチン化レベルは TRE17 の過剰発現により減少することを確認している。

(考察) 著者は本研究において、TRE17 は腫瘍細胞において細胞表面 CD147 レベルを増加させることにより浸潤シグナルを増強し、MMP の産生を誘導すると考察している。その機序として、TRE17 による CD147 の脱ユビキチン化は CD147 のリソソームでの分解を抑制すると推察している。著者は本研究により、TRE17 はその脱ユビキチン活性を介してエンドソーム上における CIE カーゴの選別に関与することで、細胞表面上における CD147 の安定性を上昇させ、腫瘍の浸潤シグナルを増強するのではないかと考察している。

審査の結果の要旨

(批評) 本論文は、腫瘍細胞における TRE17 による輸送制御の新規標的分子として CIE カーゴである CD147 を同定し、TRE17 による CD147 の輸送制御を介した新たな腫瘍の悪性化メカニズムを示すものである。研究は論理的に構成され、注意深く進められている。本研究は、CD147 が関与する多くの腫瘍における新たな病態メカニズムの解明と新規治療法の開発に役立つ可能性を期待させる優れた内容である。

令和 3 年 12 月 22 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。