

# 論 文 概 要

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

指導教員：川口敦史

人間総合科学研究科 生命システム医学専攻  
教授

所 属：筑波大学大学院人間総合科学研究科  
生命システム医学専攻

氏 名：小倉由希乃

**目的：**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り、この調節異常は腫瘍を含む様々な疾患に関わる。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により厳密に制御されている。取り込まれた膜タンパク質はリソソームに運ばれ分解を受けるか、膜へトリサイクリングされて再利用される。これまでに著者の所属する研究室では、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、リサイクリングを促進することを明らかにした。TRE17 は Ewing 肉腫により同定された癌遺伝子であり、浸潤能の高い癌や腫瘍性病変に高発現することが報告されている。しかしながら、腫瘍細胞の浸潤における TRE17 の輸送制御の機能は不明であった。最近新たに報告された CIE カargo である CD147 は、細胞外マトリックスを分解する酵素であるマトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）の産生誘導を介して腫瘍の浸潤・転移の中心として働く膜タンパク質である。本研究では、TRE17 が CD147 をターゲットとして輸送を制御する可能性に着目し、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とした。

**対象と方法：**TRE17 の高発現は間葉系由来の腫瘍において多く報告されていることから、本研究では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 細胞を用いて、腫瘍細胞の浸潤における TRE17 の機能を解析した。TRE17 による輸送制御の標的となり、細胞の浸潤能亢進に寄与する CIE カargo を同定するにあたり、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た。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た。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た。

**結果：**HT-1080 細胞において、TRE17 は脱ユビキチン化（DUB）活性依存的に腫瘍細胞の浸潤を促進した。TRE17 による浸潤促進機構を解明するにあたり、TRE17 の標的となる因子として CD147 に着目した結果、蛍光免疫染色において TRE17 の過剰発現は細胞表面 CD147 のシグナルを増加させた。一方で、TRE17 のノックダウンはビオチンラベルにより検出された表面 CD147 の発現を減少させ、これに伴い CD147 の下流の MMP 発現を減少

させた。また、CD147 特異的阻害剤を用いた処理により、TRE17 による浸潤促進が減弱した。これらのことから、TRE17 による細胞表面 CD147 レベルの増加が浸潤シグナルを増強し、その結果 MMP の産生が誘導されるというモデルが考えられた。CD147 を特異的抗体でラベルし、CD147 の細胞内輸送を追跡した結果、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た。これは TRE17 の DUB 活性に依存していた。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が明らかとなったことから、TRE17 は CD147 のリサイクリングを促進する結果、細胞表面における半減期を延長させることが示唆された。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した。

**考察：**腫瘍細胞において、TRE17 は細胞表面 CD147 レベルを増加させ、浸潤シグナルを増強する結果、MMP の産生が誘導されるというメカニズムを示した。TRE17 の過剰発現では CD147 のユビキチンレベルが減少し、CD147 のリソソームへの輸送が抑制され、細胞表面における CD147 の発現が増したことから、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し、その結果細胞表面の CD147 レベルが増加することが示された。これらの結果より、TRE17 は DUB 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という TRE17 による腫瘍細胞の浸潤促進モデルが提唱される。

**結論：**本研究では、TRE17 を介した腫瘍細胞の浸潤において、TRE17 による輸送制御の標的となる CIE カーゴとして CD147 を同定した。これにより、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が明らかとなり、TRE17 による膜タンパク質の翻訳後修飾制御の重要性が示された。さらに、今回初めて CD147 を標的として輸送制御を担う脱ユビキチン化酵素を同定したことは、CD147 が関与する多くの腫瘍においても新たな病態メカニズムの解明に繋がる可能性が考えられる。このように本研究では、TRE17 による新たな腫瘍悪性化メカニズムを示したことに加え、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した。