

【要約】

MAGI-2 modulates actin cytoskeleton in podocytes through
 α -actinin-4 and synaptopodin interactions

(MAGI-2 のポドサイトにおける α -アクチニン-4 およびシナプトポジンを介した
細胞骨格制御機構の解明)

千葉大学大学院医学薬学府
先端医学薬学専攻
(主任：浅沼 克彦教授)
井田 茉莉子

腎糸球体足細胞（ポドサイト）は足突起の噛み合わせ構造を形成し、スリット膜と呼ばれるふるい構造を介して血液濾過における血清蛋白の最終濾過障壁として機能する。足突起の構造と機能の維持にはアクチン細胞骨格が重要であり、ポドサイト障害を契機として、アクチン骨格再構成が起きることによって、足突起消失と同時にスリット膜が崩壊し、尿中への蛋白漏出を来し、慢性腎臓病（CKD）の進行に寄与する。アクチン関連蛋白である synaptopodin と α -actinin-4 は足突起の構造を維持するためのアクチン線維束の形成に必須であり、アクチン細胞骨格の再構成においても重要であるが、その上流の制御因子の詳細は不明であった。我々はこれまで、細胞間接着部位における足場分子として知られる MAGI-2 (membrane-associated guanylate kinase with inverted domain structure-2) が、スリット膜の構造維持やポドサイトの生存に不可欠であることを報告してきた。一方、ポドサイトでの MAGI-2 のアクチン骨格制御における役割は不明であった。本研究では、MAGI-2 の生体内におけるアクチン骨格制御に果たす役割に注目し、その分子メカニズムについて synaptopodin、 α -actinin-4 との相互作用と機能の解析を行った。

まず、生体内の成熟ポドサイトにおける MAGI-2 の役割を調べるため、タモキシフェン誘導型ポドサイト特異的 MAGI-2 ノックアウト (MAGI-2 Ipd KO) マウスを作成し解析を行った。4週齢の MAGI-2 Ipd KO マウスにタモキシフェンを注射して4週間後、MAGI-2 の欠失は足突起の消失をきたし、タモキシフェンを注射して8週間後には蛋白尿をきたした。synaptopodin、 α -actinin-4 のポドサイトにおける局在は、細胞質から糸球体係蹄壁側へと変化した。Phalloidin 染色によって細胞骨格分子F-アクチンの分布を調べたところ、MAGI-2 Ipd KO マウスでは、F-アクチンは糸球体係蹄壁に沿ってより強く染色されており、アクチン骨格の局在変化が示唆された。さらに、電子顕微鏡により、野生型マウスでは足突起中心部に存在するアクチン線維束が、MAGI-2 Ipd KO マウスにおいては糸球体基底膜側へと局在変化し、足突起消失が観察された。

次に、MAGI-2 とこれらのアクチン関連蛋白の相互作用を解析するため、HEK293T細胞に MAGI-2 とアクチン関連蛋白を強制発現させ、共免疫沈降実験を行い、MAGI-2 の WWドメインおよび GuK ドメインが、それぞれ synaptopodin および α -actinin-4 と結合することを確認した。さらに、この3つの分子は同時に結合していることもわかった。COS7細胞に遺伝子導入を行い、それらの相互作用の機能を解析したところ、MAGI-2 が synaptopodin と α -actinin-4 によって形成されたアクチン線維束を細胞間接着部へと局在変化させることが観察された。同様の結果は、定常的に MAGI-2 を過剰発現させた培養ポドサイトでも確認され、MAGI-2 がアクチン骨格再構成とアクチン骨格の局在を制御することが明らかとなった。

以上より、ポドサイトは、アクチン細胞骨格を介して足突起の構造的安定性を維持し、糸球体濾過圧や機械的ストレスに対抗している。本研究では、MAGI-2 がアクチン関連蛋白である synaptopodin、 α -actinin-4 との複合体形成を介してポドサイトのアクチン骨格再構成を制御し、足突起の構造的および機能的維持に寄与することを初めて明らかにした。さらに、

MAGI-2 がスリット膜とアクチン細胞骨格を包括的に制御し、ポドサイトの完全性を維持する重要な調節因子であることも示した。近年、ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群の原因遺伝子として MAGI-2 の変異が同定され、MAGI-2 がヒト腎臓病においてもスリット膜の構造と機能の維持に重要であることが報告されている。これらの知見は、MAGI-2 を介したスリット膜とアクチン細胞骨格の制御が CKD の進行を遅延させる治療戦略となりうることを示唆し、今後、ポドサイトにおける MAGI-2 の機能と発現制御機構の詳細を解明することで、CKD 治療における新たな分子標的の創出に繋がることが期待される。