

博士論文要旨

腎臓における ERM タンパク質の生理的役割に関する研究

立命館大学大学院薬学研究科

薬学専攻博士課程

カワグチ コウトク

川口 高德

Ezrin、Radixin、Moesin からなる ERM タンパク質は、Actin 細胞骨格と膜タンパク質や足場タンパク質とを架橋する機能を有する細胞骨格関連タンパク質である。腎臓では、Ezrin は糸球体足細胞および近位尿細管のアピカル膜に、Moesin はヘンレの太い上行脚 (TAL)、近位尿細管のアピカル膜および内皮細胞に発現が見られる。本研究では、Ezrin、Moesin 各々の遺伝子改変マウス (Ezrin ノックダウン (*Vil2^{kd/kd}*) マウス、Moesin ノックアウト (*Msn^{-/-}*) マウス) を用いて、腎臓での ERM タンパク質、特に糸球体における Ezrin、および TAL における Moesin の生理機能の解析を行った。

糸球体において Ezrin は、主に足細胞に発現する。Ezrin は、足細胞において足突起やスリット膜の形成、ろ過障壁機能に重要な働きをもつ Podocalyxin と複合体を形成する。そこで、本研究では、*Vil2^{kd/kd}* マウスでの Podocalyxin の局在や足突起の形態変化、タンパク尿の解析を行った。しかし、*Vil2^{kd/kd}* マウスの糸球体では Podocalyxin の局在は障害されておらず、足突起の形態異常やタンパク尿も認められなかった。一方で、糸球体障害時には、足突起消失やアルブミン尿などの障害発現に抵抗性を示すことが明らかとなった。*Vil2^{kd/kd}* マウスでは、足突起の減少を引き起こす Rho GTPase である Rac1 活性の低下および RhoA 活性の上昇が引き起こされており、Ezrin のノックダウンが糸球体障害時の足細胞における形態およびタンパクろ過機能異常の軽減に関与することが明らかとなった。

TAL において Moesin は、アピカル膜に発現する Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ 共輸送体 2 (NKCC2) と複合体を形成し、NKCC2 の小胞輸送に関与することが報告されている。NKCC2 は糸球体ろ過された Na⁺, K⁺ および Cl⁻ を再吸収することで体液調節の主要な役割を担う。しかし、Moesin の尿細管での電解質再吸収における役割は報告されていない。そこで、本研究では、*Msn^{-/-}* マウスを用いて尿細管での電解質再吸収に関わるフェノタイプと NKCC2 のエンドサイトーシスへの影響を解析した。その結果、*Msn^{-/-}* マウスは高 Cl⁻ 血症や GFR の低下を呈するこ

とを見出した。また、*Msn*^{-/-}マウスでは、細胞膜上での NKCC2 の発現上昇が見られ、これに対応したフロセミド感受性の Cl^- 輸送活性の上昇が観察された。さらに、エンドサイトーシスに重要である脂質ラフトでの NKCC2 の発現レベルの低下と、エンドサイトーシスの抑制が見られた。

以上、本研究では腎臓における ERM タンパク質の生理的な役割について検討を行い、糸球体では Ezrin の発現抑制が糸球体障害時の足細胞足突起の減少およびタンパク質ろ過機能の破壊に保護的に働くことを、TAL では Moesin が体内の体液調節に重要な働きをもつ NKCC2 のエンドサイトーシスによるアピカル膜での発現調節に関わることを明らかにした。