OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Structural Basis for the Dimeric Activation Mechanism of Muscle-Specific Kinase
Author(s)	水谷, 文哉
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/105661
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　水谷　文哉　）	
論文題名	Structural Basis for the Dimeric Activation Mechanism of Muscle-Specific Kinase 筋特異的キナーゼの活性化に必要な二量体構造とその構造基盤の解明

論文内容の要旨

筋特異的受容体チロシンキナーゼ（MuSK）は、骨格筋に発現する一回膜貫通型のタンパク質である。MuSK は、筋細胞膜上でリガンドと相互作用することで2量体を形成し、活性化状態となる。活性化したMuSKは、アセチルコリン受容体(AChR)を神経筋接合部(NMJ)に集積させるシグナル伝達を誘導し、NMJの形成と維持を促進している。このことは正常な筋収縮を行うにあたって極めて重要であり、MuSK signalingの機能不全は NMJ における AChR 密度の低下を引き起こし、さまざまな筋疾患を引き起こす。したがって、MuSKの活性化機構の解明は、これらの筋疾患の病態の解明に繋がると共に、治療薬を設計する際の重要なヒントとなりうると期待される。しかしながら、活性型のMuSK二量体構造を含めて、 MuSKの活性化機構については現在も多くのことが明らかにされていない。

MuSKの活性化は、Agrinが生理的なアゴニストとして重要な役割を担っている。Agrinは運動神経の末端から分泌される蛋白質であり、これが筋細胞膜上に発現しているMuSKの活性化を誘導することにより、NMJ特異的なAChR clusteringの誘導を可能にしている。ただし、多くのRTKとは異なり、Agrinが直接MuSKと相互作用して活性化を促すのではなく、補助的なリガンドとしてLRP4が介在し、Agrin-LRP4-MuSK複合体(AML-complex)が形成されることことでMuSKの活性化は誘導される。この活性化メカニズムの複雑さが、活性化状態のMuSK二量体構造を解明するにあたっての障壁となっている。そこで本研究では、生理的リガンドであるAgrinによって活性化される際に必要なMuSK細胞外領域の最少単位の同定と、人工的なMuSK dimerizerによって活性化を誘導した場合に形成されるMuSK二量体の予想構造から、下流シグナルを誘導可能なMuSK二量体に要求される構造的な特徴を明らかにすることを目指した。

初めに、生理的なリガンドであるAgrinを用いて引き起こされるMuSK二量体構造の特徴を解明するため、既報の構造情報も活用しつつ、4つあるMuSKの細胞外domain (Ig1/Ig2/Ig3/Fz)の欠失変異体を用いて機能解析を行った。すると、Agrin依存的な活性化に必要なのは連続したIg1-Ig2 domainのみであった。さらに、Ig1とIg2 domainの間に可動性を導入した変異体の機能解析の結果から、この2つのdomainが一つのユニット機能することが、活性化において必須であることが示された。

次に、MuSKの活性化を誘導する人工的なMuSK dimerizerを創製し、形成されるMuSK 2量体構造について考察した。本研究に先立って、共同研究者らによってhuman MuSK に対する高親和性ペプチド（L1）が取得されており、MuSKとの結合様式についても当研究室にてX 線結晶構造解析により明らかにされていた。そこで本研究では、L1ペプチドをhuman IgG Fcに融合させた 2 種類の人工的なMuSK dimerizerを開発し、それぞれMuSKに対するアゴニスト活性を有するのか評価した。すると、2つのL1融合Fc (L1-Fc/Fc-L1)のうち、Fc-L1のみがMuSKに対する結合能を有することが判明した。この2種類のL1融合FcはMuSKに対する親和性は同程度であり、共に2分子のMuSKを架橋する能力も有することから、活性化能の有無は2分子のMuSKの引き寄せ方に起因すると考えられた。そこで、構造情報を用いてL1融合 Fcによって誘導される活性型MuSK 2量体構造のモデルを構築すると、活性化能を有するFc-L1のみが、AgrinによってMuSKが活性化する際と同様に、Ig1 domainが近接するような形で2分子のMuSKを引き寄せることが示唆された。

以上の結果から、MuSKが下流シグナルを誘導可能な二量体構造を形成するためには、単に二分子が近接するだけでなく、特定の配向で引き寄せられること、具体的にはIg1 domainが近接するような配向で2分子のMuSKが引き寄せられることが重要であることが強く示唆された。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名	（　水谷　文哉　）	
	（職）	氏　名
論文審査担当者	主 査　教授	高木　淳一
	副 査　教授	石谷　太
	副 査　准教授	有森　貴夫
	副 査　准教授	鈴木　団

論文審査の結果の要旨

本論文（Structural Basis of the Dimeric Activation Mechanism of Muscle-Specific Kinase）は、筋細胞膜に存在する受容体型チロシンキナーゼである筋特異的キナーゼ（Muscle-Specific Kinase, MuSK）が活性化する際の分子メカニズムに関して、細胞生化学および構造生物学的手法により解明しようとしたものである。MuSK の活性化は神経筋接合部位の成熟と維持に必須であることから、正常な筋組織の機能発現にはもちろん、様々な運動性疾患の病態に深く関わっている。MuSK は同じ筋細胞上に存在する LRP4 という補助受容体の協力のもとに運動神経細胞から分泌される Agrin のシグナルを受け、活性化されるが、MuSK 自体がどのようなメカニズムで活性化されるのか、その構造的側面はこれまで十分に解明されていなかった。

本論文では、まず MuSK の機能的分子解剖を行った。すなわちマウス筋芽細胞 C2C12 で MuSK をノックアウトし、そこに様々な MuSK 変異体を発現させて機能を調べることにより、複数のドメインからなる MuSK の細胞外領域のうちどのドメインが生理的シグナル伝達に必要十分なのかを明らかにした。次に、並行して行っていた研究で得られた MuSK 結合性ペプチド L1 を利用して、細胞上の MuSK を２分子架橋することができる人工蛋白質を作製し、そのひとつが MuSK の活性化剤（アゴニスト）として機能することを明らかにした。そして L1 と MuSK の複合体の立体構造を決定することで、どのような二量体構造を取ることが MuSK 活性化に必要なのかを解明し、MuSK 活性化の構造メカニズムに関して始めて原子分解能でのモデルを提唱するに至った。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。