

平成 21 年 6 月 5 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007 -2008

課題番号：19300142

研究課題名（和文） 神経筋シナプス形成の分子機構

研究課題名（英文） Molecular mechanisms of the neuromuscular synapse formation

研究代表者

氏名 樋口 理（Osamu Higuchi）

所属機関・所属部局名・職名 東京大学・医科学研究所・准教授

研究者番号 50361720

研究成果の概要： 神経筋シナプス形成に必須である Dok-7/MuSK シグナルの分子メカニズムの解明ため、Dok-7 および MuSK と相互作用する未知の分子群の同定を試みた結果、Dok-7 と MuSK に相互作用する分子として、それぞれ CrkII と Lrp4 を同定した。また、Dok-7 トランスジェニックマウスの解析および in vitro 実験系を利用して、不明であった Dok-7 による MuSK 活性化機構の一端を明らかにした。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	9,800,000	2,940,000	12,740,000
2008年度	5,200,000	1,560,000	6,760,000
年度			
年度			
年度			
総計	15,000,000	4,500,000	19,500,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学 / 神経・筋肉生理学

キーワード：受容体・細胞内シグナル伝達

1. 研究開始当初の背景

世界に先駆けて、我々は Dok-7 遺伝子が神経筋シナプスの形成に必須であることを発見した。また、Dok-7 遺伝子の異常が神経筋シナプスの形成不全が原因とみられる先天性筋無力症候群の発症に関連することも突止めた。しかしながら、神経筋シナプスの形成機構における Dok-7 の具体的な役割については不明であった。

2. 研究の目的

神経筋シナプスの形成機構において、その中

心的役割を担っている分子として、筋特異的受容体型チロシンキナーゼ（MuSK）が知られている。Dok-7 は MuSK のチロシンキナーゼを活性化させることが予想されていたが、その分子メカニズムは不明であった。そこで、本申請課題研究においては、Dok-7 や MuSK に相互作用する分子群を同定することで、Dok-7 を介した MuSK の活性化機構を解明することを目的とする。また、Dok-7 が神経筋シナプス形成に及ぼす影響を個体レベルで調べる。

3. 研究の方法

Dok-7 および MuSK と相互作用するタンパク質を探索・同定し、Dok-7 を介した MuSK 活性化における役割を培養細胞系や個体系を利用して詳細に調べる。

また、Dok-7 遺伝子を骨格筋組織において特異的に過剰発現させたトランスジェニックマウスを作出し、神経筋シナプスの形成に及ぼす影響を様々な角度から解析する。

4 . 研究成果

Dok-7 と相互作用する分子として、CrkII を同定した。CrkII はその分子内に SH2 と呼ばれる機能ドメインを有しているが、実際に CrkII はその SH2 ドメインを介して Dok-7 の C 末端領域と相互作用することが判明した。先天性筋無力症候群で認められる Dok-7 遺伝子変異の多くが、Dok-7 における CrkII 結合部位を欠損させることから、Dok-7 と CrkII 間の相互作用は重要であると考えられる。MuSK と相互作用する分子としては、低密度リポタンパク質受容体関連分子のファミリーに属する Lrp4 を同定した。この Lrp4 は神経筋シナプスの形成に必須であることが既に知られている。しかしながら、Lrp4 と MuSK が複合体を形成することの意義については不明である。今後、この複合体形成が MuSK 活性化において果たす役割を明らかにすることが課題である。

Dok-7 トランスジェニックマウスでは、神経筋シナプスの形成過多が観察されたが、野生型と比較しても見かけ上の運動機能に関する異常等は認めなかった。この結果は、骨格筋における Dok-7 遺伝子の発現上昇が神経筋シナプスの形成を増強することを示しており、神経筋シナプスの形成不全が原因となる筋無力症の新たな治療法にも将来的な応用が期待される。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 3 件)

1) Inoue A, Setoguchi K, Matsubara Y, Okada K, Sato N, Iwakura Y, Higuchi O, Yamanashi Y. Dok-7 activates the muscle receptor kinase MuSK and shapes synapse formation. *Sci. Signaling* 2009; 2: ra7.

2) Hamuro J, Higuchi O, Okada K, Ueno M, Spearman H, Iemura S, Natsume T, Beeson D,

Yamanashi Y. Mutations causing *DOK7* congenital myasthenia ablate functional elements in Dok-7. *J. Biol. Chem.* 2008; 283: 5518-24.

3) Yamanashi Y, Higuchi O, Beeson D. Dok-7/MuSK signaling pathway and congenital myasthenic syndromes. *Acta Myol.* 2008; 27: 25-9.

〔学会発表〕(計 2 件)

Dok-7/MuSK シグナルの役割とその作用機序: 井上 茜、瀬戸口喜代子、樋口 理、山梨裕司: 日本分子生物学会・日本生化学会合同年会 BMB2008(2008 年 12 月 / 神戸)

Dok-7 型先天性筋無力症における Dok-7 蛋白質の機能異常: 葉室浄香、樋口 理、岡田久未子、上野真紀子、David Beeson、山梨裕司: 日本分子生物学会・日本生化学会合同年会(2007 年 12 月 / 横浜)

〔図書〕(計 2 件)

受容体型キナーゼの細胞内からの活性化: 井上茜、瀬戸口喜代子、樋口 理、山梨裕司(2009) 実験医学・6月号 Vol. 27 No. 9

神経筋接合部の分子構築: 樋口 理、山梨裕司(2008) *Clinical Neuroscience* (中外医学社) 26 巻 9 号

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

6. 研究組織
(1) 研究代表者

樋口 理 (Osamu Higuchi)
東京大学・医科学研究所・准教授
50361720

(2) 研究分担者
なし

(3) 連携研究者
なし