

自然リンパ球の発生・分化における DOCK8 の役割とその制御機構の解明

福井宣規

九州大学生体防御医学研究所

【研究の背景】

DOCK ファミリーは、構造的に新しいグアニンヌクレオチド交換因子(GEF)であり、哺乳類では全部で 11 種類の分子が発現している。うち DOCK8 は、高 IgE 血症で特徴づけられるヒト複合型免疫不全症の責任分子であり (*N. Engl. J. Med.* 361:2046, 2009)、その機能やシグナル伝達機構は国際的にも大きな関心を集めている。私達はこれまでに、DOCK8 が Cdc42 特異的な GEF であり¹⁾、その欠損により、間質組織での樹状細胞の遊走が障害されることを実証した¹⁾。また最近では、DOCK8 ノックアウト(KO)マウスが重篤なアトピー様皮膚炎を自然発症することを見いだし、そのメカニズムの全貌を解明した²⁾。しかしながら、DOCK8 の生体機能には依然として不明な点が多い。

【目的】

ILC3 は、転写因子 ROR γ t を発現し、サイトカイン IL-22 を産生することで、腸管の恒常性維持に寄与する新しいリンパ球サブセットである。最近私達は、DOCK8 を欠損したマウスでは、腸管における ILC3 の発生・分化が障害され、IL-22 の產生が著減することを見出した。そこで、本研究では、DOCK8 が作用する責任細胞を特定すると共に、その細胞における DOCK8 の作用機序を解明することを目的とした。

【方法】

DOCK8 コンディショナル KO マウスを各種 Cre マウスと交配し、DOCK8 が機能する責任細胞を同定する。また、同定した責任細胞を対象に、網羅的遺伝子解析により、DOCK8 の有無で発現が異なる遺伝子を探索する。DOCK8 欠損で低下する遺伝子産物があれば、それを遺伝的あるいは物理的に補充することで、ILC3 の発生・分化における機能的意義を検証する。さらに、網羅的遺伝子解析により上ってきた遺伝子産物の、ILC3 の発生・分化における機能的意義を検証するために、その遺伝子改変マウスを作製あるいは入手し、その表現型を確認する。

【結果】

DOCK8 コンディショナル KO マウスを ROR γ t-Cre マウスと交配したところ、通常の DOCK8 KO マウスの腸管で認められたのと同様に ILC3 が著減し、IL-22 の产生低下の結果、腸管粘膜の糖鎖修飾(フコシル化)が障害された。一方、このような phenotype は、CD11c-Cre、CD4-Cre 等、他の Cre マウスとの交配では認められなかった。このことから、DOCK8 が ILC3 細胞内で作動し、その発生・分化を制御していることが明らかとなった。そこで、DOCK8 KO マウスおよびそのコントロールマウス(ヘテロマウス)の腸管より ILC3 を単離し、極めて少ない細胞数から実施できる新たな RNA-seq の手法を用いて、網羅的遺伝子解析を行った。現在、差が認められた遺伝子に関して、機能解析を進めている。

【考 察】

ILC3 は、腸管免疫に重要な役割を演じていることから、近年注目を集めている新しいリンパ球サブセットである。本研究では、DOCK8 が cell-intrinsic に作用し、ILC3 の発生・分化に重要な役割を演じることを明らかにした。現時点で、その作用機序の全貌解明には至っていないが、DOCK8 の欠損に伴い発現が変動する候補遺伝子が上がっており、その機能解析を進めることで、ILC3 の新しい制御メカニズムが解明できると期待される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

DOCK8 はヒト複合型免疫不全症の責任分子であり、その機能やシグナル伝達機構は国際的にも大きな関心を集めている。本研究の成果は、DOCK8 に関連した免疫不全症の病態の理解を深めるのはもちろん、腸管関連疾患の診断や治療に応用できる可能性もあり、臨床医学に大きく貢献できると期待される。

【参考・引用文献】

- 1) Harada Y, Tanaka Y, Terasawa M, Pieczyk M, Habiro K, Katakai T, Hanawa-Suetsugu K, Kukimoto-Niino M, Nishizaki T, Shirouzu M, Duan X, Urano T, Nishikimi A, Sanematsu F, Yokoyama S, Stein JV, Kinashi T, Fukui Y: DOCK8 is a Cdc42 activator critical for interstitial dendritic cell migration during immune responses. *Blood*.119: 4451-4461, 2012.
- 2) Yamamura K, Urano T, Shiraishi A, Tanaka Y, Ushijima M, Nakahara T, Watanabe M, Kido-Nakahara M, Tsuge I, Furue M, Fukui Y: The transcription factor EPAS1 links DOCK8 deficiency to atopic skin inflammation via IL-31 induction. *Nature Commun.* 8: 13946, 2017.