

## 92. 肥満細胞の脱顆粒に重要なシグナルネットワークの解明

福井 宣規

Key words : アレルギー, 脱顆粒, 微小管動態,  
DOCK5, GSK3 $\beta$

九州大学 生体防御医学研究所  
個体機能制御学部門 免疫遺伝学分野

### 緒言

気管支喘息や花粉症, アナフィラキシーショックは, IgE 抗体によって惹起される I 型アレルギー疾患であり, その発症には肥満細胞が重要な役割を演じている. 肥満細胞は IgE 受容体である Fc $\epsilon$ RI を発現しており, これが IgE 抗体および抗原により架橋されるとシグナルが伝達され, その結果分泌顆粒が移動し, 形質膜と融合することで, 最終的にケミカルメディエーターが放出される. これまでの研究から, Fc $\epsilon$ RI の下流で Fyn-Gab2-PI3K および Lyn-Syk-PLC $\gamma$  という 2 つのシグナル伝達系が独立して作動し, それぞれ分泌顆粒の移動や形質膜との融合を制御することが報告されているが, その下流のシグナルは依然として不明である. 特に, 分泌顆粒の移動には微小管のダイナミックな再構築を必要とするが, それを司るシグナル伝達機構は全くわかっていない.

Rho, Rac, Cdc42 といった低分子量 G タンパク質は細胞内分子スイッチとして機能し, 細胞骨格の再構築を介して様々な細胞高次機能を制御している. これらの分子はいずれも, グアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) と称される分子群によって, GDP を結合した不活性型から GTP を結合した活性型へ変換されることで, その機能を発現する. 従来 GEF は DH ドメインをコードする分子として特徴づけられてきたが, 近年このような構造を持たない, 新しいタイプの GEF として DOCK ファミリーと呼ばれる分子群が同定されるに至り, 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. 私達は最近, 肥満細胞において DOCK5 という Rac の活性化因子 (GEF) が発現していることを見だし, その機能解析を行った<sup>1)</sup>.

### 方法および結果

野生型のマウスを IgE 抗体で感作し, 抗原を投与すると, アナフィラキシーショックが惹起され, 直腸温の低下や血中ヒスタミン濃度の上昇が観察された (図 1A, B). しかしながら, DOCK5 ノックアウトマウスでは, 肥満細胞の分化や成熟は正常であるにも関わらず, アナフィラキシーショックに抵抗性を示し (図 1A), 血清中のヒスタミン値も上昇しなかった (図 1B). 同様の所見は皮膚アナフィラキシー反応を解析した際にも認められた (図 1C, D). 一方, 肥満細胞がないマウスに, DOCK5 を欠損した肥満細胞を移入しても, アナフィラキシーショックを誘導することはできなかった. このことから, DOCK5 は肥満細胞で機能し, アレルギー反応を制御していることが明らかとなった.

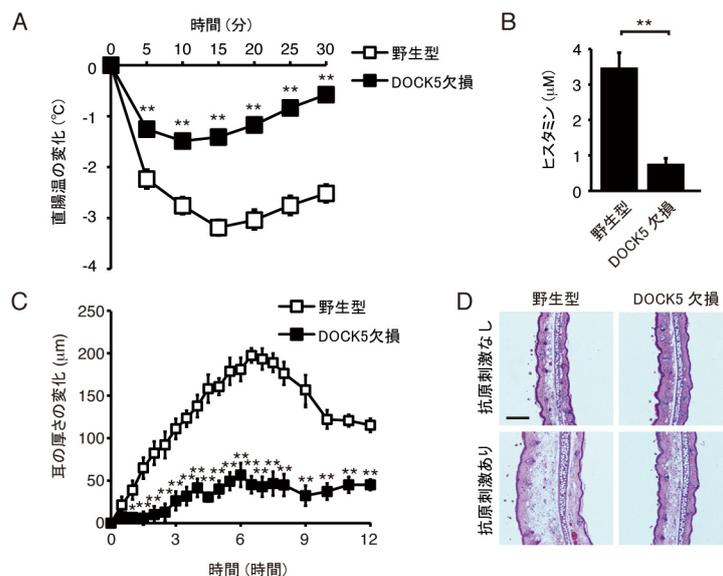


図1. DOCK5欠損マウスはアナフィラキシー反応に抵抗性を示す。

A) DOCK5欠損マウスでは、抗原プラスIgE抗体投与による直腸温の低下が軽度であり、アナフィラキシーショックに抵抗性を示す。 \*\* $P < 0.01$  (two-tailed Student's  $t$  test). B) DOCK5欠損マウスでは、抗原プラスIgE抗体投与による血中ヒスタミン値の上昇が認められない。 \*\* $P < 0.01$  (two-tailed Student's  $t$  test). C) マウス耳介への抗原塗布によるアレルギー反応でも、DOCK5欠損マウスは抵抗性を示す。 \*\* $P < 0.01$  (two-tailed Student's  $t$  test). D) アレルギー反応誘導後の耳介組織を示す。 Scale bar: 200  $\mu$  m.

DOCK5を欠損した肥満細胞では、Fc $\epsilon$ RI刺激に伴いFyn, Gab, PI3K, Lyn, Syk, PLC $\gamma$ といったシグナル分子は正常に活性化されるにも関わらず、脱顆粒反応が顕著に障害されていることを見いだした(図2A)。分泌顆粒の移動には、微小管が重要な役割を演じているが、DOCK5を欠損した肥満細胞では、微小管のネットワーク形成が顕著に障害されていた(図2B)。そこで、微小管の+端に会合することが知られているadenomatous polyposis coli (APC)のC端をGFPとの融合タンパク質として肥満細胞に発現させたところ、DOCK5の欠損により、その動きが顕著に低下していた(図2C)。以上より、DOCK5は微小管動態をコントロールすることで、脱顆粒反応を制御していることが明らかとなった。

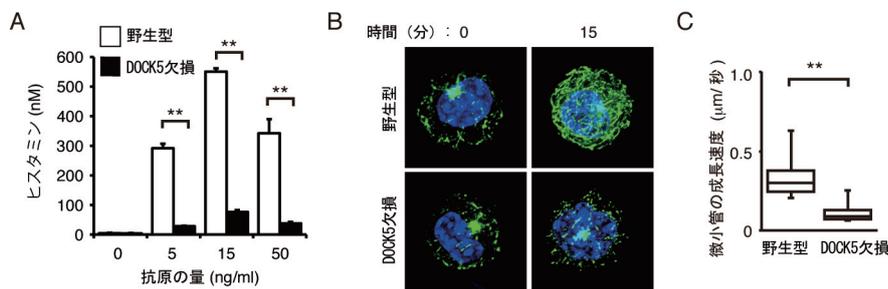


図2. DOCK5は微小管の動態をコントロールすることで脱顆粒反応を制御する。

A) DOCK5を欠損した肥満細胞では、抗原プラスIgE抗体刺激によるヒスタミンの放出が障害されている。 \*\* $P < 0.01$  (two-tailed Student's  $t$  test). B) DOCK5を欠損した肥満細胞では、抗原プラスIgE抗体刺激による微小管形成が障害されている。 チュブリンを緑、細胞核を青で染色してある。 C) GFP融合APCを肥満細胞に発現させ、抗原プラスIgE抗体刺激による微小管の伸長速度を比較した。 \*\* $P < 0.01$  (two-tailed Student's  $t$  test).

DOCK5 は Rac 特異的な GEF して機能することが知られている。しかしながら、DOCK5 を欠損した肥満細胞に Rac GEF 活性を欠く VA 変異体 (DHR-2 ドメイン内の 1559 位のバリンをアラニンに置換した変異体) を発現させても、野生型の DOCK5 を発現させた場合と同様に、脱顆粒反応は完全に回復した。このことから、DOCK5 は、肥満細胞において、Rac 活性化と無関係に脱顆粒反応を制御していることが示唆された。そこでその詳細なメカニズムを解析したところ、DOCK5 が Nck2 や Akt といった分子と会合することでシグナル伝達のハブとして機能し、微小管動態の制御に重要な GSK3 $\beta$  のリン酸化を制御することで、微小管の動きをコントロールしていることを突き止めた (図 3)。

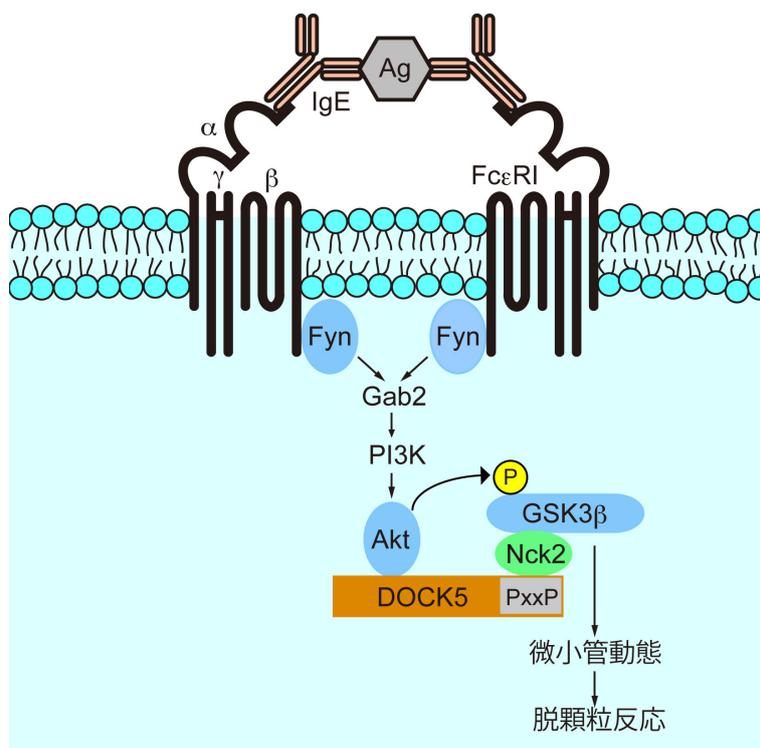


図 3. DOCK5 による脱顆粒反応制御の分子メカニズム。

肥満細胞の脱顆粒反応における DOCK5 の機能模式的に示す。肥満細胞の表面には IgE 抗体の受容体である Fc $\epsilon$ RI 受容体が発現しており、これが抗原と IgE 抗体により架橋されることで細胞内シグナル伝達が惹き起される。DOCK5 は、複数のシグナル伝達分子と会合し、微小管の動きをコントロールすることで、脱顆粒反応を制御している。

## 考 察

以上より、肥満細胞の脱顆粒反応に DOCK5 が重要な役割を演じていることを発見すると共に、その作用機序の全貌を解明した。現在アレルギー疾患の治療薬としてヒスタミンの働きを抑える薬剤が使われているが、その効果は限定的である。本研究より、DOCK5 を欠損した肥満細胞では、ヒスタミンといったアレルギー反応を引き起こす化学物質の放出そのものが障害されることが明らかとなった。このため、DOCK5 はアレルギー反応を根元から断つための新たな創薬標的になることが期待される。

## 共同研究者

本研究は、大学院生の小川嘉奈、准教授の田中芳彦 (現福岡歯科大学教授) を中心に、九州大学生体防御医学研究所免疫遺伝学分野で行われたものである。最後に、本研究にご支援賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝致します。

## 文 献

- 1) Ogawa, K., Tanaka, Y., Uruno, T., Duan, X., Harada, Y., Sanematsu, F., Yamamura, K., Terasawa, M., Nishikimi, A., Côté, J. F. & Fukui, Y. : DOCK5 functions as a key signaling adaptor that links Fc  $\epsilon$  RI signals to microtubule dynamics during mast cell degranulation. *J. Exp. Med.*, **211** : 1407-1419, 2014.