九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

The Rac activator DOCK2 regulates natural killer cell-mediated cytotoxicity in mice through the lytic synapse formation

坂井, 勇介

https://hdl.handle.net/2324/1441122

出版情報：九州大学, 2013, 博士（医学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）

KYUSHU UNIVERSITY

氏　　名：坂井　勇介

論文題名：The Rac activator DOCK2 regulates natural killer cell-mediated cytotoxicity in mice through the lytic synapse formation
（Rac 活性化因子 DOCK2 は lytic synapse の形成を介して
マウスナチュラルキラー細胞の細胞傷害活性を制御する）

区　　分：甲

論　文　内　容　の　要　旨

ナチュラルキラー（NK）細胞は、ウィルス感染細胞や腫瘍細胞に対して強い細胞傷害活性を示し、生体防御反応に非常に重要な細胞であるが、一方で骨髄移植における拒絶反応にも関与している。NK 細胞の表面には様々な種類の活性型受容体と抑制型受容体が存在する。NK 細胞の活性化は、それらの受容体が標的細胞に発現するリガンドを認識することで伝達する「活性型シグナル」と「抑制型シグナル」のバランスによって制御されている。活性型受容体のリガンドは、主に形質転換を起こした細胞で発現が上昇する分子で、抑制型受容体のリガンドは、主に自己の MHC クラス I 分子である。従って NK 細胞は癌細胞やウィルス感染細胞に対して特異的に活性化する。NK 細胞が活性化されると、細胞接触面で NK 受容体の集積やアクチン細胞骨格の再構築が起こり、それらから構成される、「免疫シナプス」という構造体が形成される。この免疫シナプスの形成が誘因となり、細胞溶解性因子を含んだ顆粒が細胞接触面へと移動し、最終的に標的細胞へと放出される。

NK 細胞の細胞傷害活性には、低分子量 GTPase の一つである Rac の活性化が関与しているとされている。Rac はアクチンの再構築をはじめ、様々な細胞機能を制御する因子であり、その活性は、GEF（グアニンヌクレオタイド交換因子）と呼ばれる分子群によって制御されている。現在まで、活性型 NK 受容体の下流で機能する Rac の GEF は Vav タンパクであると考えられている。その理由として、Vav 欠損 NK 細胞では細胞傷害活性が低下していること、従来より多くの細胞で Vav タンパクは Rac の GEF であることが知られていることが挙げられる。しかしながら、これまでのデータから、Vav が活性型 NK 受容体の下流で機能する Rac の GEF であるという直接的なエビデンスはない。一方、Vav は活性型 NK 受容体の下流でアダプター分子として機能しているという報告や、T リンパ球で、TCR を介した免疫シナプス形成過程における Vav の役割は GEF によるものではないという報告がある。従って、活性型 NK 受容体の下流で機能する Rac の GEF の詳細は未だ不明のままである。今回、私たちは新しいタイプの Rac GEF である DOCK2 が NK 細胞の細胞傷害活性に重要な役割を演じていることを発見した。

DOCK2 を欠損した NK 細胞は、標的細胞であるリンパ球系の腫瘍細胞株と正常に結合

するにも関わらず、検索したすべての活性型 NK 受容体(NKG2D, Ly49D, CD16, NKp46)を介した細胞傷害活性が顕著に低下していた。また、細胞傷害活性の他に、NK 細胞にはサイトカイン産生という主な機能がある。活性型受容体を介した IFNγの産生も、DOCK2 を欠損させた NK 細胞では低下していた。更に、MHC クラス I 欠損マウス由来の骨髄細胞をドナー細胞として用いた骨髄移植の実験系で、レシピエントを DOCK2 欠損マウスにした場合、拒絶反応を示さなかった。細胞傷害活性における DOCK2 の機能を明らかにするために、まず、共焦点顕微鏡を用いた実験を行った。DOCK2 欠損 NK 細胞では、標的細胞との接触面への活性型受容体の集積、アクチン細胞骨格の再構築が認められず、免疫シナプスの形成は障害されていた。また、pull down assay を行った結果、DOCK2 欠損 NK 細胞では、活性型受容体を介した Rac の活性化はほとんど確認できなかった。更に、DOCK2 の Rac 活性化領域に変異を施したコンストラクトを用いて、免疫シナプスの形成能を観察した結果、DOCK2 は Rac の活性化を介して免疫シナプスの形成を制御していることが明らかとなった。同様の結果は、DOCK2 の GEF 活性を特異的に阻害する阻害剤を使用した実験系でも確認された。以上の結果から、DOCK2 こそが活性型 NK 受容体の下流で機能する Rac の GEF であり、免疫シナプスの形成を介して、NK 細胞の細胞傷害活性を制御している重要な分子であることが明らかとなった。