刺激に応答して免疫細胞が動く仕組み

理研、九大 原子レベルで解明

自己免疫疾患対応の創薬期待

理化学研究所と九州大学はこのほど、免疫系細胞に特異的に発現し、免疫応答を制御する鍵となる「DOCK2（dedicator of cytokinesis2）タンパク質」と、その結合タンパク質である「ELMO1（engulfment and cell motility1）タンパク質」の複合体の立体構造を決定し、2つのタンパク質が結合することでそれぞれの機能を自己制御している状態から、互いの機能を発揮できる状態へと移行させていることを突き止めた。理研生命分子システム基盤研究領域の横山茂之領域長、白水美香特別研究員、免疫応答研究グループの錦見昭彦助教、神田大輔教授らの研究グループによる成果で、自己免疫疾患や移植片拒絶など難治性免疫疾患に対応した新しいアプローチによる治療薬や予防薬の開発につながるものと期待される。

免疫システムは、感染による病原体やガン細胞などから身を守るうえで必須の防御機構であるが、その一方で、このシステムが自らを攻撃してしまう自己免疫疾患や移植片拒絶は、免疫系細胞が標的臓器に浸潤し、活性化されることで引き起こされる病態である。

01年、福井教授らは、DOCK2が免疫系細胞に特異的に発現し、免疫応答を制御する鍵を握っているタンパク質であることを明らかにした。DOCK2は、Racタンパク質を活性化させ、アクチンの重合を誘導、免疫系細胞の運動や活性化を制御する。自己免疫疾患や移植片拒絶は、免疫系細胞が標的臓器に浸潤し、活性化されることで引き起こされる病態である。

そのため、DOCK2はこうした免疫難病をコントロールするための分子標的になる可能性がある。実際、05年の同教授らの研究では、DOCK2欠損マウスに心臓移植すると、免疫抑制剤を使わなくても心臓が長期にわたって働き続けることが示されている。

DOCK2は、DOCK1ファミリータンパク質に特有のDHR2ドメイン（DOCK homology region 2 domain）を持っており、このドメインは、Racタンパク質に結合しているGDP（グアノシン2リン酸）をGTP（グアノシン3リン酸）に変換することでRacを活性化する。この反応は免疫応答のシグナルを伝達するために必要不可欠であることがわかっている。DOCK2は、試験管内ではDHR2ドメインだけでRacを活性化させることが示されている。

DOCK2は、DOCK1が存在しないと機能が発揮できない。しかし、ELMO1がないと細胞の中でDOCK2がなぜ働くことができないのかは不明であった。こうしたことから、研究グループは今回、DOCK2とELMO1の複合体の構造解析に取り組んだ。

原子レベルの構造を詳細に調べる手法であるX線結晶構造解析では、極めて純度が高く、安定なタンパク質が大量に必要とされる。理研生命分子システム基盤研究領域は、大きなタンパク質であるDOCK2（1830個のアミノ酸から構成）とELMO1（同727個）が相互作用する領域を探索。そのため、独自に開発した無細胞タンパク質合成系を用いて迅速なスクリーニングを行い、DOCK2のN末端とELMO1のC末端とが結合することで安定な複合体を形成することを突き止めた。また、その領域を用いてX線結晶構造解析に適した試料を調製、結晶化し、放射光科学研究施設およびSPring-8でX線解析を行い、同複合体の立体構造を2・1Åの分解能で決定することに成功した。

ELMO1のC末端にはアミノ酸の1つであるプロリンが連なった領域（PxxP）が存在し、DOCK2のN末端にはプロリンと結合することができるSH3ドメインがあるため、これまでこの領域が2つのタンパク質を結合させると考えられていた。しかし、実際の構造はそのような単純なものではなく、ELMO1のC末端がDOCK2のSH3ドメインを取り囲むように結合していた。さらに、DOCK2とELMO1のαヘリックスどうしが結合し合い、計5本のαヘリックスから作られるヘリックスバンドルを形成、全体としてDOCK2とELMO1の複合体は強固な構造体となっていた。

構造情報に基づいてDOCK2の機能解析を行った結果、単体のDOCK2はプロリンが連なった領域が折りたたまれた形で機能を自己制御していることがわかった。単体のELMO1も同様に折りたたまれた形で存在していることが知られている。DOCK2とELMO1の複合体では、32番目のグリシンがELMO1と直接結合していたが、複合体ではこれらはヘリックスバンドルの中央に存在し、それぞれのアミノ酸がDOCK2と結合していることがわかった。つまり、DOCK2とELMO1が複合体を形成すると、それぞれの折りたたまれた形の形成を担っていた部位が複合体結合部位となり、折りたたみを解くことが判明したのである。

今回の成果で、DOCK2とELMO1は単体ではそれぞれ折りたたまれた状態で機能を制御しているが、複合体を形成することによって折りたたみ状態をほどいて互いの自己制御を解除し、DOCK2とELMO1複合体の細胞膜への移行を促進、さらにDOCK2のRac活性によりシグナルが伝達されて、免疫系細胞の遊走や活性化が起きるという一連の分子メカニズムが明らかとなった。