

# DOCK8的分子结构及生物学功能

黄景雄<sup>1</sup> 管晓燕<sup>1\*</sup> 于红松<sup>3</sup> 胡欢<sup>2</sup> 刘建国<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>遵义医科大学口腔医学院, 遵义 563099;

<sup>2</sup>贵州省高等学校口腔疾病研究特色重点实验室暨遵义市口腔疾病研究重点实验室, 遵义 563006;

<sup>3</sup>遵义医科大学基础医学院免疫学教研室, 遵义 563006)

**摘要** DOCK8(dedicator of cytokinesis 8)是一种非典型鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factors, GEF), 参与细胞内信号网络的调节和小分子G蛋白的激活。DOCK8在免疫应答的信号传导、肌动蛋白骨架的重建、免疫突触形成、免疫细胞的功能调节等方面有着重要的作用, 成为了科研人员探究的热点。现对DOCK8的分子结构和生物学特性研究进展进行综述, 进一步阐明DOCK8在免疫系统中的生物学功能以及相关疾病的发病机制。

**关键词** DOCK8; GEF; 结构特征; 生物学功能

## Molecular Structure and Biological Functions of DOCK8

HUANG Jingxiong<sup>1</sup>, GUAN Xiaoyan<sup>1\*</sup>, YU Hongsong<sup>3</sup>, HU Huan<sup>2</sup>, LIU Jianguo<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>School of Stomatology, Zunyi Medical University, Zunyi 563099, China;

<sup>2</sup>Key Laboratory of Oral Disease Research and Key Laboratory of Oral Disease Research, Guizhou University, Zunyi 563006, China;

<sup>3</sup>Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Zunyi Medical University, Zunyi 563006, China)

**Abstract** DOCK8 (dedicator of cytokinesis 8) is an atypical GEF (guanine nucleotide exchange factor) involved in the regulation of intracellular signaling networks and activation of small molecule G proteins. Due to the key role playing in the signal transduction of immune response, reconstruction of actin skeleton, formation of immune synapse, and regulation of immune cells, DOCK8 has become a research hotspot. The advance in the molecular structure and biological characteristics research of DOCK8 were reviewed in this paper, and the biological function of DOCK8 in immune system and pathogenesis of the disease were further clarified.

**Keywords** DOCK8; GEF; structural characteristic; biological function

DOCK8(dedicator of cytokinesis 8)是一种非典型鸟嘌呤核苷酸交换因子, 属于DOCK蛋白家族<sup>[1]</sup>, 在肌动蛋白细胞骨架重排和调节细胞功能中起重要作用。DOCK8既表达于各种非免疫组织如胎盘、肾、肺和胰腺, 又在免疫系统中高度表达, 尤其在造血组织中<sup>[2]</sup>。DOCK8通过参与免疫应答的信号传导, 在

免疫系统中发挥着重要的作用。DOCK8基因突变会导致常染色体隐性遗传的高IgE综合征, 被称为DOCK8免疫缺陷综合征(DOCK8 immunodeficiency syndrome, DIDS)。对DOCK8在免疫细胞迁移、突触形成以及信号转导过程中相关功能的了解, 将有助于阐释疾病的发病机制, 并为临床疾病的治疗提供

收稿日期: 2019-11-23 接受日期: 2020-02-10

国家自然科学基金(批准号: 81260164)、贵州省教育厅自然科学青年科技人才成长项目(批准号: 黔教合KY字(2017)200)和遵义医科大学2018年度学术新苗培养及创新探索专项(批准号: 黔科合平台人才(2017)5733-024)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 18089620011, E-mail: 1278279125@qq.com; Tel: 13087891001, E-mail: 13087891001@163.com

Received: November 23, 2019 Accepted: February 10, 2020

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81260164), Guizhou Provincial Education Department Natural Science Young Scientific Talents Growth Project (Grant No.Qian Jiao He KY Zi (2017) 200) and Zunyi Medical University's 2018 Subsidy Project for the Cultivation of New Seedlings and Innovation Exploration (Grant No.Qian Ke He Platform Talents (2017) 5733-024)

\*Corresponding authors. Tel: +86-18089620011, E-mail: 1278279125@qq.com; Tel: +86-13087891001, E-mail: 13087891001@163.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5230>

新的思路和方向。本文就DOCK8的分子结构及生物学功能作一综述。

## 1 DOCK8的分子结构

DOCK8基因定位于9号染色体短臂9p24.3, 全长约250 Kb(chr9:214 854-465 259), 由46-48个外显子组成, 其编码的蛋白质产物含2 099个氨基酸, 分子量约190 kDa。该基因编码的DOCK8蛋白是DOCK蛋白家族的成员, DOCK蛋白家族作为鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factor, GEF)来调控Rho家族GTP酶活性, 如细胞分裂周期蛋白42(cell division cycle 42, Cdc42)和Ras相关的C3肉毒素底物(ras-related C3 botulinum toxin substrate 1, Rac1)<sup>[3]</sup>。GTP酶是调控多种信号传导途径的分子开关, DOCK蛋白由此控制许多细胞反应过程, 包括细胞的迁移、黏附和生长。DOCK蛋白家族根据序列的同源性和底物特异性分为4个子家族: DOCK-A(DOCK1、2和3)、DOCK-B(DOCK4和5)、DOCK-C(DOCK6、7和8)和DOCK-D(DOCK9、10和11)<sup>[4]</sup>。

DOCK家族成员均具有2个相关的DOCK同源区结构域(DOCK homology region, DHR): DHR1和DHR2(图1)。DHR1结构域位于N末端, 是下游信号转导和生物学功能所必需的, 能与磷脂相互作用, 进而促进酶复合物在质膜中的定位<sup>[5]</sup>, DHR1结构域的中心内核采用类似于C2结构域折叠方式的反向平行β夹层结构<sup>[6]</sup>。DHR2结构域位于C末端, 含有GEF活性的实际催化位点, 由3个大小基本相等的叶片结构组成(叶片A、B、C)。Rho家族结合位点和催化中心完全由叶片B和C产生, 叶片A由α螺旋反向排列形成, 介导均二聚化, 并通过与叶片B的广泛接触稳定DHR2结构域<sup>[7]</sup>。GEF促进了与小GTP酶的GDP分离, 从而实现了GTP酶结合, 并允许小GTP酶与下游效应子相互作用。这种构象变化在被称为开关I和开关II的2个区域内发生。开关I位于α1和β2之间, 而开关II位于β3和α2之间。自2009年以来, 已经确定了DOCK1<sup>DHR2</sup>:Rac1<sup>[7]</sup>、DOCK8<sup>DHR2</sup>:Cdc42<sup>[8]</sup>和DOCK7<sup>DHR2</sup>:Cdc42<sup>[9]</sup>的晶体结构。分子动力学模拟研究显示, 在DOCK7 DHR-2结构域中, Cdc42和Rac1结合态之间通过叶片B旋转发生了封闭-开放的构象变化。最近研究发现, 叶片B作为一个传感器, 可以识别不同的开关I构象, 并解释DOCK7是如何识别Rac1和Cdc42的<sup>[9]</sup>。DHR2结构域将开关I区移离

核苷酸结合位点, 通常疏水性Val残基在GEF的柔性环中靠近Mg<sup>2+</sup>结合位点的插入, 并通过形成大多数其他GEF中未见的特异性相互作用来使其稳定<sup>[10]</sup>。除此之外, 以往的研究发现, 细菌表达的DOCK8 DHR-2结构域介导了Cdc42上的GTP负载, 但没有激活Rac, 表明DOCK8发挥了Cdc42特异的GEF的作用<sup>[11]</sup>。DHR1和DHR2这两个结构域的作用方向是否一致, 目前尚无文献报道。

DOCK8在免疫细胞的信号转导过程中发挥着重要的作用, 通过调控Rho GTP酶活性来驱动信号转导进而影响免疫细胞的诸多功能。此外, DOCK8作为免疫细胞信号途径适配子, 通过与髓样分化因子88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)相互作用进而调控TLR9(Toll-like receptor 9)信号通路中的免疫信号级联<sup>[12]</sup>。DOCK8作为免疫系统信号网络的分子支架, 可以通过信号网络调节肌动蛋白骨架重建, 也可以调节免疫突触的形成、树突状细胞的迁移以及不同免疫细胞的功能。

## 2 DOCK8的免疫学功能

### 2.1 DOCK8相关信号通路

2.1.1 Rho GTP酶信号通路 Rho族小GTP酶通过在GDP结合的非活性状态和GTP结合的活性状态之间循环而充当分子开关, 并通过与效应蛋白的相互作用来传递信号<sup>[13]</sup>。DOCK8作为鸟苷酸交换因子, 可以催化GDP的释放和GTP的结合, 活化Rho GTP酶。而WAS蛋白(Wiskott-Aldrich syndrome protein, WASp)作为Rho GTP酶信号通路下游的效应分子, 在细胞信号传导途径中起关键作用。WASp基因突变可引发WAS免疫缺陷综合征, 其临床表现包括易感性、感染、过敏、自身免疫和恶性肿瘤<sup>[14]</sup>。在Rho GTP酶信号通路中, DOCK8作为Rho GTP酶上游的调控因子, 通过与Cdc42特异性结合并激活Rho GTP酶信号通路(图1), Cdc42通过效应分子WASp作用于Arp2/3(actin related protein 2/3)复合体, 刺激肌动蛋白的聚合, 在肌动蛋白细胞骨架的调节中发挥重要的作用。造血细胞和免疫细胞的诸多功能都需要细胞骨架的重建, 比如细胞的迁移、吞噬以及免疫突触的形成<sup>[14]</sup>。无论是Rho GTP酶、WASp等效应分子或者DOCK8等信号调节分子, 任何一个成分的缺陷都可能会造成Rho GTP酶信号通路的调节异常, 甚至导致免疫缺陷。

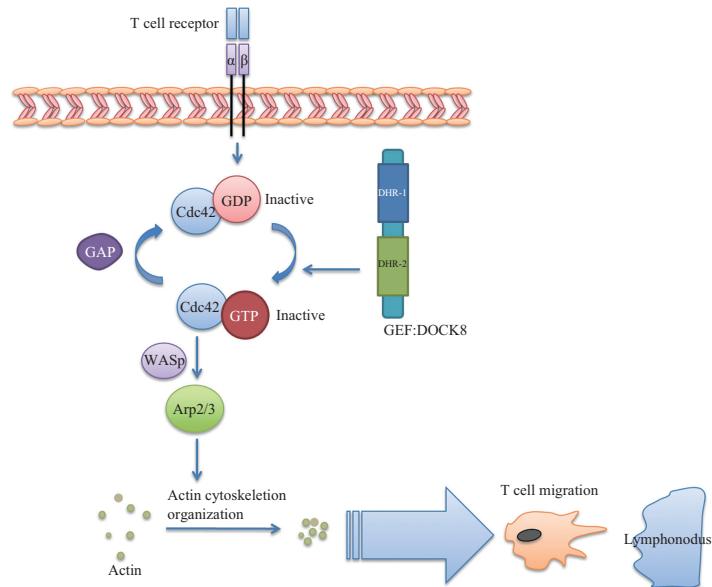


图1 DOCK8通过Rho信号通路调控肌动蛋白的聚集,引起T细胞向次级淋巴结迁移

Fig.1 DOCK8 regulates actin accumulation through the Rho signaling pathway, causing T cells to migrate to secondary lymph node

2.1.2 MyD88介导的信号通路 MyD88是TLR信号通路中的一个关键接头分子,在传递上游信息和疾病发展中具有重要的作用。不同的TLR对应着不同的接头蛋白分子以及信号传导机制,从而导致不同的生物学效应。TLR9作为TLR家族的成员之一,在病原体识别和先天免疫的激活中,通过MyD88介导免疫激活反应所必需的细胞因子的产生起作用<sup>[15]</sup>。JABARA等<sup>[12]</sup>发现,在DOCK8介导的TLR9-MyD88信号通路中,MyD88、DOCK8和Pyk2激酶组成复合物并导致Pyk2磷酸化DOCK8;DOCK8作为TLR9-MyD88信号通路中的适配子与Src激酶的Lyn结合并触发Src-Syk-STAT3信号级联反应,激活STAT3转录因子介导的B细胞的增殖和分化; CpG驱动的Pyk、Src、Syk、STAT3的磷酸化以及B细胞的增殖和分化都依赖TLR9和MyD88;该研究表明,TLR9-MyD88相互结合可导致B细胞的DOCK8依赖性激活。此外,DOCK8和STAT3相互作用,并以GEF活性无关的方式将外部信号传递Src-Syk-STAT3信号级联,从而更有针对性地引导STAT3激活<sup>[16]</sup>。进一步研究表明,DOCK8通过与STAT3组成型关联调节CD4<sup>+</sup>T细胞Th17的极化<sup>[17]</sup>。这些研究表明,DOCK8在不同细胞类型的免疫信号级联转导过程中发挥重要作用。

## 2.2 DOCK8与肌动蛋白细胞骨架重建

肌动蛋白细胞骨架重建在宿主防御和免疫调节中发挥作用,而DOCK8对于肌动蛋白细胞骨架重

建过程至关重要。研究发现,在T细胞受体驱动的肌动蛋白聚合中,WASp是肌动蛋白细胞骨架依赖性T细胞功能的关键调节因子<sup>[18]</sup>,可以通过WASp相互作用蛋白与DOCK8形成信号复合物。在T细胞受体刺激后,DOCK8激活Cdc42,Cdc42反过来激活其信号复合物中的WASp,活化的WASp导致下游的肌动蛋白聚合,介导T细胞的重要功能,促进了T细胞向次级淋巴器官的迁移(图1)<sup>[19]</sup>。进一步的研究表明,DOCK8还可以通过与LRAP35(leucine repeat adaptor protein 35)相互作用来调节巨噬细胞迁移,将Cdc42与肌动蛋白连接<sup>[20]</sup>。这种情况下,DOCK8可以激活Cdc42,也可以作为衔接分子通过DOCK8-Cdc42-PAK2将Cdc42与细胞骨架连接起来。以上研究结果提示,DOCK8是肌动蛋白聚集形成、机械转导、T细胞跨内皮迁移所必需的。

## 2.3 DOCK8与免疫突触形成

免疫突触是抗原呈递细胞或靶细胞与淋巴细胞之间形成的特殊结构。免疫突触的形成触发肌动蛋白聚合和细胞骨架的重排,促进了超分子活化簇(supramolecular activation cluster, SMAC)区域内信号分子的空间重组<sup>[21]</sup>。通过调节肌动蛋白细胞骨架,DOCK8促进黏附分子和细胞毒性颗粒在免疫突触中的积累,增强了BCR激活信号<sup>[22-23]</sup>。在BCR介导的信号级联中,DOCK8是B细胞免疫突触的关键介质。抗原识别后的B细胞受体信号触发了信号级联,淋巴细胞功能相关抗原-1(lymphocyte function

associated antigen-1, LFA-1)积聚在外周超分子激活簇(pSMAC),与细胞间黏附分子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)在抗原表达细胞表面结合,并促进B细胞的黏附和扩散<sup>[24]</sup>。DOCK8缺失的情况下,B细胞LFA-1极化受到损害导致突触形成受损,使B细胞生发中心难以维持并损害长效抗体的产生。由于整联蛋白连接可以作为促进增殖和抑制细胞凋亡的共刺激信号,DOCK8可能通过促进LFA-1极化来间接提供这种信号转导<sup>[25-26]</sup>。

DOCK8对于NK细胞免疫突触的正常功能至关重要,它可以通过控制整联素LFA-1极化,参与NK细胞和靶细胞接触形成的初始步骤<sup>[21]</sup>。DOCK8缺陷可能导致细胞毒性突触形成缺陷。HAM等<sup>[27]</sup>证明,DOCK8敲除或DOCK8缺陷的人类NK细胞由于整合LFA-1和纤维肌动蛋白向细胞毒性突触的极化受到损害,影响细胞毒性颗粒递送至靶细胞而导致细胞毒性活力降低。有趣的是,虽然DOCK8缺陷细胞不能在免疫突触处积累纤维肌动蛋白,但不影响细胞肌动蛋白的总体含量<sup>[28]</sup>,提示DOCK8缺陷患者NK细胞产生肌动蛋白的能力是完整的,但受体信号传导诱导肌动蛋白重组可能是有缺陷的,DOCK8缺陷导致NK细胞的免疫突触缺陷是由于无法通过靶向聚集肌动蛋白,而不是无法生成肌动蛋白。以上研究结果表明,DOCK8在调节不同细胞类型的突触形成中发挥着重要的作用。

## 2.4 DOCK8与树突状细胞的迁移

DOCK8对于树突状细胞在免疫应答的移动十分重要,DOCK8通过维持树突状细胞的形态使其在组织间隙中有效移动。DOCK8通常通过DOCK8-Cdc42-PAK途径调节细胞骨架蛋白,如F-肌动蛋白,以控制淋巴细胞的形态完整性,并在细胞运动期间在空间和时间上协调细胞骨架结构<sup>[29]</sup>。TIROSH等<sup>[30]</sup>的研究进一步表明,DOCK8调节淋巴细胞形状完整性的过程不仅需要Cdc42的激活,还需要PAK1/2(p21-activated kinase 1/2)的下游激活。有研究显示,在小鼠先天免疫中,树突细胞从皮肤向附近的淋巴结运输依赖DOCK8,若迁移中缺乏DOCK8,树突状细胞不能激活前缘膜上的Cdc42,可导致其阿米巴样极化改变和三维空间迁移能力严重受损<sup>[31]</sup>。在体内,异常的树突状细胞形态不仅减少了进入真皮的运输,而且还减少了对引流淋巴结的运输,损害了T细胞免疫应答。DOCK8缺陷的患者的外周血检测显示,浆细

胞样树突状细胞严重缺乏,导致相应的抗病毒IFN- $\alpha$ 水平较低<sup>[32-33]</sup>。分析来自DOCK8缺陷患者的皮肤样本的深度宏基因组测序数据表明,T细胞的过继转移导致皮肤中组织常驻记忆CD8<sup>+</sup>T细胞(tissue-resident memory CD8<sup>+</sup>T cell, T<sub>RM</sub>)的优先丢失,导致病毒滴度增加和临床疾病恶化<sup>[30]</sup>,这些都提示,DOCK8的缺失会加剧临床感染病毒的风险。

## 2.5 DOCK8与B细胞

DOCK8在TLR9驱动的B细胞信号传导中起到适配子的作用,促进B细胞的增殖和分化。研究发现,Cdc42在B细胞的发育、活化以及浆细胞的分化等方面发挥关键的调节作用,而DOCK8作为Cdc42的非特异性鸟苷酸交换因子,DOCK8的缺陷可能会损害B细胞的发育及功能。此外,DOCK8缺陷中的抗体水平复杂多样,临床上观察到DOCK8缺陷患者低IgM水平,而IgG和IgA水平通常是正常的或升高的<sup>[34]</sup>。IgE水平几乎总是升高,但也有报道DOCK8缺陷且IgE水平正常的病例<sup>[35]</sup>。DOCK8的缺陷会损害抗体以及记忆B细胞的产生进而导致血清学记忆受损,无法对疫苗抗原产生长效的特异性抗体反应<sup>[12]</sup>。JANSSEN等<sup>[36]</sup>研究发现,DOCK8缺陷患者自身反应性初始B细胞增加,中心B细胞耐受性保持完整但外周B细胞耐受性受损,并导致自身免疫性反应。同时,由于DOCK8缺陷会导致免疫突触的形成异常,不仅抑制记忆B细胞的形成,使得长效抗体的产生受损,还将损害突触协调细胞信号传导相关事件,导致体液免疫反应的异常。

## 2.6 DOCK8与T细胞

DOCK8对T细胞的正常发育也很重要。DOCK8缺陷小鼠表现出T淋巴细胞减少症并且在CD4<sup>+</sup>T细胞迁移过程存在缺陷<sup>[37]</sup>,体外研究表明,DOCK8缺陷的记忆CD4<sup>+</sup>T细胞优先向Th2细胞效应表型极化,而非向Th17细胞因子极化。这被认为与有利于Th2分化的TCR信号减弱<sup>[17]</sup>以及与Th17细胞分化的关键转录因子STAT3的活化和核易位受损有关<sup>[16]</sup>。产生IL-4和IL-5的Th2细胞相对增加,伴随着Th1和Th17细胞的减少,引起的DIDS中的严重过敏性疾病。这些研究结果可以解释一些临床表现与DOCK8缺陷患者的免疫缺陷有关。受损的淋巴细胞耐受性导致DOCK8缺陷出现免疫失调。受影响的患者具有定性和定量的调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)缺陷,表现出调节性T细胞频率降低和抑制活性受损<sup>[36]</sup>。

DOCK8通过调节IL-2信号来影响Treg的细胞功能<sup>[38]</sup>。Treg功能障碍本身可能导致进一步的Th2细胞增殖失调,并使患者易患自身免疫性疾病。

DOCK8突变小鼠表现出T细胞淋巴细胞减少症,由于细胞过度死亡而导致T细胞更新增加<sup>[37]</sup>。尽管这些小鼠的CD8<sup>+</sup> T细胞对抗原产生正常的初级反应,但记忆T细胞的持久性低于正常水平<sup>[21,37]</sup>。突变小鼠和人体相关实验的研究发现,DOCK8对CD8<sup>+</sup> T细胞的存活和功能非常重要,特别是对记忆性CD8<sup>+</sup> T细胞的产生<sup>[23]</sup>。这些研究表明,DOCK8在细胞免疫中发挥重要作用以确保长期记忆细胞产生,而低水平记忆T细胞与DIDS患者易发生反复感染密切相关。

### 3 DOCK8与DIDS

#### 3.1 DIDS的致病机制

DOCK8基因突变导致的DIDS是一种罕见的常染色体隐性遗传性原发性免疫缺陷,其临床特征包括复发性感染、过敏性疾病、湿疹和食物过敏、自身免疫和病毒驱动的癌症等<sup>[34-35,39]</sup>。DOCK8的缺陷导致了临床所见的复杂疾病表型,以往关于DIDS的研究发现,患者的T细胞和NK细胞减少,尤其是记忆CD8<sup>+</sup> T细胞减少,并且产生抗病毒细胞因子IFN- $\gamma$ 和TNF- $\alpha$ 的T细胞减少均与临床的病毒易感性相关;而Th17细胞减少与临床的真菌易感性相关, Th2细胞反应与严重的特应性皮炎以及反复的肺部感染相关<sup>[29]</sup>。在DOCK8缺陷型小鼠中, NKT细胞对原型糖脂抗原 $\alpha$ -半乳糖神经酰胺的增殖反应降低, IFN- $\gamma$ 和TNF- $\alpha$ 的产生减少,这可能导致病毒易感性和癌症倾向增加<sup>[40]</sup>。体外研究发现, DOCK8调节人类先天性淋巴样细胞3(innate lymphoid cells 3, ILC3)的扩增、存活,以及更广泛的ILC细胞因子信号传导和增殖。DOCK8缺陷会导致外周血ILC3丢失。ILC3缺乏可能导致DOCK8缺陷患者容易感染<sup>[41]</sup>。在DOCK8缺陷的患者中,由于反复感染引起的反复抗原刺激造成的免疫激活,可能在微生物CpG介导的TLR9活性缺乏的情况下驱动IgE产生,这可以解释临床上高IgE的表现<sup>[42]</sup>。Treg缺陷可能导致患者自身反应性初始B细胞增加,外周B细胞耐受性受损,并导致某些人自身免疫风险增加<sup>[43]</sup>。转录因子FOXP3(forkhead box protein 3)基因突变导致的Treg缺陷引发原发性免疫失调,典型的是免疫失调、多内分泌疾病、肠病、X

连锁(immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked, IPEX), DIDS可表现为严重的免疫失调,其特征与IPEX和其他IPEX样疾病重叠<sup>[44]</sup>。此外,最新的研究发现, septin 7与DOCK8在自身免疫性疾病中的相互作用。在自身免疫性葡萄膜炎中, DOCK8的表达水平下降以及由DOCK8驱动的信号通路异常都会促进自身反应性炎症过程<sup>[45]</sup>。所有这些发现表明, DOCK8在免疫系统中的重要作用。另一方面, DOCK8突变与自闭症、智力低下和神经母细胞瘤有关<sup>[46]</sup>,表明DOCK8也可能与神经系统疾病有关。最近NAMEKATA等<sup>[11]</sup>研究首次证明, DOCK8在中枢神经系统的小胶质细胞中表达且在神经炎症中调节小胶质细胞的活性。临床上, DOCK8缺陷综合征的发病机制研究揭示了免疫系统受到损害的多种方式,为探索DOCK8的分子作用机制和临床治疗提供了新的思路 and 方向。

#### 3.2 DIDS的诊断

DIDS是一种进行性联合免疫缺陷,可与其他联合免疫缺陷或高免疫球蛋白血症综合征区别开来,其特征是对皮肤病毒感染和相关皮肤癌的高度易感性以及严重的食物过敏<sup>[15]</sup>。根据临床特征、免疫学实验室检查结果和确切的遗传学分析,可诊断出DIDS。有反复感染、恶性肿瘤或自身免疫史的特应性疾病的临床发现应引起对DIDS的关注<sup>[34]</sup>。实验室评估的支持性结果包括, CD4淋巴细胞减少和血清IgE水平升高。除极少数情况外,大多数DOCK8突变都会导致DOCK8蛋白表达的丧失。这提高了使用流式细胞术在疑似患者中快速筛查DIDS的能力<sup>[47]</sup>。进一步的免疫学评估可以通过流式细胞术检测DOCK8表达缺陷,并支持B细胞CD27、Th17细胞和STAT3磷酸化缺陷来确定诊断<sup>[48]</sup>。此外,在DIDS中发现了细胞因子CXCL10、CSF3、CCL22、CX-3CL1和TNF- $\alpha$ 的表达的显著性差异,这可能导致感染和癌症的易感性增加。CXCL10和TNF- $\alpha$ 是区分DIDS和特应性皮炎患者的重要生物标志物,而EGF是诊断特应性皮炎患者的生物标志物。“CXCL10、TNF- $\alpha$ 、EGF”典型的生物标志物标记形成一个独特的评分系统,可在早期有效诊断和区分DIDS与特应性皮炎<sup>[49]</sup>。对淋巴细胞在胶原蛋白基质迁移的伸长率的评估支持了DIDS的诊断,表明了功能测试对于DIDS明确的诊断至关重要<sup>[50]</sup>。NAMEKATA等<sup>[11]</sup>报道了关于DOCK8基因中的5个外显子出现了大

量纯合缺失但DOCK8并没有完全失去表达的特殊案例,强调了遗传咨询和遗传诊断的重要性。另外,DOCK8致病性遗传变异可能是HIES、高IgE-高嗜酸性粒细胞增多症的根本原因<sup>[51]</sup>。

### 3.3 DIDS的治疗

DIDS临床特征通常会随着时间恶化,从而导致终末器官损害。例如,反复发作的肺炎经常导致支气管扩张、慢性HPV感染可能导致鳞状细胞癌、EBV控制不佳可能导致淋巴瘤、慢性隐孢子虫感染可能导致胆汁性硬化和肝硬化<sup>[15]</sup>,这都将增加疾病的治疗难度以及手术风险。DIDS的治疗包括使用免疫球蛋白替代品、抗生素、抗病毒、抗真菌等辅助治疗手段以及造血干细胞移植(hematopoietic stem cell transplant, HSCT)<sup>[48]</sup>。HSCT是目前唯一能够治愈DIDS的手段。在HSCT治疗后,DIDS患者的感染率和病情严重性大大降低。HSCT在很大程度上改善了DIDS患者体内多种免疫细胞的功能和水平,包括CD4<sup>+</sup> T细胞频率增加,CD4<sup>+</sup> T细胞正常分化。Th1和Th17细胞因子的增加将有助于有效控制DIDS患者的细菌、病毒和真菌感染。此外,DOCK8缺失的CD8<sup>+</sup> T细胞可恢复分化并产生细胞因子和溶细胞介质,这将减少HSCT后的病毒感染。研究发现,HSCT可以改善大多数由DOCK8缺失引起的淋巴细胞的生成和分化缺陷,但某些改善可能与时间有关<sup>[52]</sup>。

## 4 结语和展望

综上所述,DOCK8充当Cdc42的特异性GEF,在免疫系统的信号传导及细胞功能调节中发挥重要作用,其生物学功能包括肌动蛋白细胞骨架重建、黏附分子积累和免疫突触形成、细胞极化和三维空间迁移能力调节以及T细胞和B细胞的信号传导调节等。DOCK8在不同的信号通路中,参与信号传导的任何分子缺陷都可能影响细胞骨架重建从而造成免疫缺陷。鉴定除WASp以外的其他中间效应物,有助于从分子层面上阐明DOCK8调节并控制免疫细胞细胞形态和功能的信号通路。而且,DOCK8在其他免疫细胞亚群的信号传导以及DOCK8如何驱动最佳信号传导进而影响免疫应答等方面,还有待进一步的研究。未来对于DOCK8的深入研究将有助于我们更好地理解小鼠和人类中DOCK8的作用,以及DOCK8与其他DOCK蛋白在免疫应答和疾病中的作用的具体差异。DOCK8在免疫系统中的生物学

功能的进一步阐明,将有助于解释疾病的发病机制,并为临床治疗提供更多思路和方法。

### 参考文献 (References)

- [1] CÔTÉ J F, VUORI K. Identification of an evolutionarily conserved superfamily of DOCK180-related proteins with guanine nucleotide exchange activity [J]. *J Cell Sci*, 2002, 115(24): 4901-13.
- [2] SU H C. Dedicator of cytokinesis 8 (DOCK8) deficiency [J]. *Curr Opin in Allergy Clin Immunol*, 2010, 10(6): 515-20.
- [3] GADEA G, BLANGY A. Dock-family exchange factors in cell migration and disease [J]. *Eur J Cell Biol*, 2014, 93(10/11/12): 466-77.
- [4] NISHIKIMI A, KUKIMOTO-NIINO M, YOKOYAMA S, et al. Immune regulatory functions of DOCK family proteins in health and disease [J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319(15): 2343-9.
- [5] YANG J, ZHANG Z, ROE S M, et al. Activation of Rho GTPases by DOCK exchange factors is mediated by a nucleotide sensor [J]. *Science*, 2009, 325(5946): 1398-402.
- [6] PREMKUMAR L, BOBKOV A A, PATEL M, et al. Structural basis of membrane targeting by the Dock180 family of Rho family guanine exchange factors (Rho-GEFs) [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(17): 13211-22.
- [7] KULKARNI K, YANG J, ZHANG Z, et al. Multiple factors confer specific Cdc42 and Rac protein activation by dedicator of cytokinesis (DOCK) nucleotide exchange factors [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(28): 25341-51.
- [8] HARADA Y, TANAKA Y, TERASAWA M, et al. DOCK8 is a Cdc42 activator critical for interstitial dendritic cell migration during immune responses [J]. *Blood*, 2012, 119(19): 4451-61.
- [9] KUKIMOTO-NIINO M, TSUDA K, IHARA K, et al. Structural basis for the dual substrate specificity of DOCK7 guanine nucleotide exchange factor [J]. *Structure*, 2019, 27(5): 741-8.
- [10] TOMA-FUKAI S, SHIMIZU T. Structural insights into the regulation mechanism of small GTPases by GEFs [J]. *Molecules*, 2019, 24(18): 3308.
- [11] NAMEKATA K, GUO X, KIMURA A, et al. DOCK8 is expressed in microglia, and it regulates microglial activity during neurodegeneration in murine disease models [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(36): 13421-33.
- [12] JABARA H H, MCDONALD D R, JANSSEN E, et al. DOCK8 functions as an adaptor that links TLR-MyD88 signaling to B cell activation [J]. *Nat Immunol*, 2012, 13(6): 612-20.
- [13] KUNIMURA K, URUNO T, FUKUI Y. DOCK-family proteins: key players in immune surveillance mechanisms [J]. *Int Immunol*, 2020, 32(1): 5-15.
- [14] THRASHER A J, BURNS S O. WASP: a key immunological multitasker [J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(3): 182-92.
- [15] SU H C, JING H, ANGELUS P, et al. Insights into immunity from clinical and basic science studies of DOCK8 immunodeficiency syndrome [J]. *Immunol Rev*, 2019, 287(1): 9-19.
- [16] KELES S, CHARBONNIER L M, KABALEESWARAN V, et al. Dedicator of cytokinesis 8 regulates signal transducer and activator of transcription 3 activation and promotes TH17 cell differentiation [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2016, 138(5): 1384-94.
- [17] TANGYE S G, PILLAY B, RANDALL K L, et al. Dedicator of cytokinesis 8-deficient CD4<sup>+</sup> T cells are biased to a TH2 effector

- fate at the expense of TH1 and TH17 cells [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017, 139(3): 933-49.
- [18] BLUNDELL M P, WORTH A, BOUMA G, et al. The Wiskott-Aldrich syndrome: the actin cytoskeleton and immune cell function [J]. *Dis Markers*, 2010, 29(3/4): 157-75.
- [19] JANSSEN E, TOHME M, HEDAYAT M, et al. A DOCK8-WIP-WASp complex links T cell receptors to the actin cytoskeleton [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(10): 3837-51.
- [20] SHIRAIISHI A, URUNO T, SANEMATSU F, et al. DOCK8 regulates macrophage migration through Cdc42 activation and LRAP35a interaction [J]. *J Biol Chem*, 2016, 292(6): 2191-202.
- [21] DUSTIN M L. The immunological synapse [J]. *Cancer Immunol Res*, 2014, 2(11): 1023-33.
- [22] SUN X, WANG J, QIN T, et al. DOCK8 regulates BCR signaling and activation of memory B cells via WASP and CD19 [J]. *Blood Adv*, 2018, 2(4): 401-13.
- [23] RANDALL K L, CHAN S S, MA C S, et al. DOCK8 deficiency impairs CD8 T cell survival and function in humans and mice [J]. *J Exp Med*, 2011, 208(11): 2305-20.
- [24] YUSEFF M I, PIEROBON P, REVERSAT A, et al. How B cells capture, process and present antigens: a crucial role for cell polarity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(7): 475-86.
- [25] ZHANG Y, WANG H. Integrin signalling and function in immune cells [J]. *Immunology*, 2012, 135(4): 268-75.
- [26] ZHANG Q, DOVE C G, HOR J L, et al. DOCK8 regulates lymphocyte shape integrity for skin antiviral immunity [J]. *J Exp Med*, 2011, 211(13): 2549-66.
- [27] HAM H, GUERRIER S, KIM J, et al. Dedicator of cytokinesis 8 interacts with talin and Wiskott-Aldrich syndrome protein to regulate NK cell cytotoxicity [J]. *J Immunol*, 2013, 190(7): 3661-9.
- [28] MIZESKO M C, BANERJEE P P, MONACO-SHAWVER L, et al. Defective actin accumulation impairs human natural killer cell function in DOCK8 deficiency [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2013, 131(3): 840-8.
- [29] ZHANG Q, JING H, SU H C. Recent advances in DOCK8 immunodeficiency syndrome [J]. *J Clin Immunol*, 2016, 36(5): 441-9.
- [30] TIROSH O, CONLAN S, DEMING C, et al. Expanded skin virome in DOCK8-deficient patients [J]. *Nat Med*, 2018, 24(12): 1815-21.
- [31] KRISHNASWAMY J K, SINGH A, GOWTHAMAN U, et al. Coincidental loss of DOCK8 function in NLRP10-deficient and C3H/HeJ mice results in defective dendritic cell migration [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(10): 3056-61.
- [32] AL-ZAHRANI D, RADDADI A, MASSAAD M, et al. Successful interferon-alpha 2b therapy for unremitting warts in a patient with DOCK8 deficiency [J]. *Clin Immunol*, 2014, 153(1): 104-8.
- [33] KELES S, JABARA H H, REISLI I, et al. Plasmacytoid dendritic cell depletion in DOCK8 deficiency: rescue of severe herpetic infections with IFN- $\alpha$  2b therapy [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 133(6): 1753-5.
- [34] AYDIN S E, KILIC S S, AYTEKIN C, et al. DOCK8 deficiency: clinical and immunological phenotype and treatment options - a review of 136 patients [J]. *J Clin Immunol*, 2015, 35(2): 189-98.
- [35] ENGELHARDT K R, GERTZ M E, KELES S, et al. The extended clinical phenotype of 64 patients with dedicator of cytokinesis 8 deficiency [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 136(2): 402-12.
- [36] JANSSEN E, MORBACH H, ULLAS S, et al. Dedicator of cytokinesis 8-deficient patients have a breakdown in peripheral B-cell tolerance and defective regulatory T cells [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 134(6): 1365-74.
- [37] LAMBE T, CRAWFORD G, JOHNSON A L, et al. DOCK8 is essential for T-cell survival and the maintenance of CD8<sup>+</sup> T-cell memory [J]. *Eur J Immunol*, 2011, 41(12): 3423-35.
- [38] SINGH A K, EKEN A, HAGIN D, et al. DOCK8 regulates fitness and function of regulatory T cells through modulation of IL-2 signaling [J]. *JCI Insight*, 2017, 2(19): e94275.
- [39] KELES S, CHATILA T. Combined immunodeficiency due to DOCK8 deficiency: a tribute to Prof. Isil Berat Barlan, M.D [J]. *Turkish J Immunol*, 2015, 3(2): 76-83.
- [40] CRAWFORD G, ENDERS A, GILEADI U, et al. DOCK8 is critical for the survival and function of NKT cells [J]. *Blood*, 2013, 122(12): 2052-61.
- [41] EKEN A, CANSEVER M, OKUS F Z, et al. ILC3 deficiency and generalized ILC abnormalities in DOCK8-deficient patients [J]. *Allergy*, 2019, doi: 10.1111/all.14081.
- [42] MASSAAD M J, CANGEMI B, AL-HERZ W, et al. DOCK8 and STAT3 dependent inhibition of IgE isotype switching by TLR9 ligation in human B cells [J]. *Clin Immunol*, 2017, 183: 263-5.
- [43] JANSSEN E, KUMARI S, TOHME M, et al. DOCK8 enforces immunological tolerance by promoting IL-2 signaling and immune synapse formation in Tregs [J]. *JCI Insight*, 2017, 2(19): e94298.
- [44] ALROQI F J, CHARBONNIER L M, KELES S, et al. DOCK8 deficiency presenting as an IPEX-Like disorder [J]. *J Clin Immunol*, 2017, 37(8): 811-9.
- [45] SCHAUER M, KLEINWORT K, DEGROOTE R L, et al. Interaction of septin 7 and DOCK8 in equine lymphocytes reveals novel insights into signaling pathways associated with autoimmunity [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 12332.
- [46] SCHRAMM A, KÖSTER J, ASSENOV Y, et al. Mutational dynamics between primary and relapse neuroblastomas [J]. *Nat Genet*, 2015, 47(8): 872-7.
- [47] PAI S Y, BOER H, MASSAAD M J, et al. Flow cytometry diagnosis of dedicator of cytokinesis 8 (DOCK8) deficiency [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 134(1): 221-3.
- [48] MESHAAL S S, ELHAWARY R E, ELDASH A, et al. Diagnosis of DOCK8 deficiency using flow cytometry biomarkers: an Egyptian center experience [J]. *Clin Immunol*, 2018, 195: 36-44.
- [49] JACOB M, KHALAF D, ALHISSI S, et al. Quantitative profiling of cytokines and chemokines in DOCK8-deficient and atopic dermatitis patients [J]. *Allergy*, 2019, 74(2): 370-9.
- [50] BUCHBINDER D, KIROV I, DANIELSON J, et al. Compound heterozygous DOCK8 mutations in a patient with B lymphoblastic leukemia and EBV-associated diffuse large B cell lymphoma [J]. *J Clin Immunol*, 2019, 39(21): 592-5.
- [51] ARYAN Z, NABAVI M, SHABANI M, et al. Hypomorphic DOCK8 deletion causes hypereosinophilic syndrome [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2020, 67(2): e28084.
- [52] PILLAY B A, AVERY D T, SMART J M, et al. Hematopoietic stem cell transplant effectively rescues lymphocyte differentiation and function in DOCK8-deficient patients [J]. *JCI Insight*, 2019, doi: 10.1172/jci.insight.127527.