

I サイトカインの種類

1. インターロイキン
4) IL-4*

久保 允人**

Key Words: IL-4, T cell helper, Th2

はじめに

IL-4は1982年にHowardとPaulによってB細胞の増殖因子として発見されたことから, B細胞増殖因子-1(B cell growth factor-1; BCGF-1)と呼ばれていた¹⁾. ほぼ同時期にVitettaらはIgG1を誘導する因子としてB cell differentiation factor γ (BCDF γ)を同定した²⁾. その後これらは同一の分子であることが明らかにされ, BSF-1という名称に統一された. 1986年にはこの分子をコードする遺伝子がクローニングされ³⁾⁻⁵⁾, 以後B細胞以外にもさまざまな細胞に対して, 生物活性があることが明らかになり, インターロイキン4(IL-4)として認識されるようになった.

IL-4の構造と産生細胞

IL-4はマウスの場合N末端側に20個のシグナルペプチドを含む140個のアミノ酸から構成される分子量20kDaの可溶性糖蛋白質で, N型糖鎖結合部位を有する. ヒトIL-4は153個のアミノ酸から構成され, 2か所にN型糖鎖結合部位を有する⁶⁾. 構造的にはI型サイトカインに属し, 立体構造は図1に示すように4つのヘリックスとそれをつなぐループからできている⁷⁾ (Available from: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

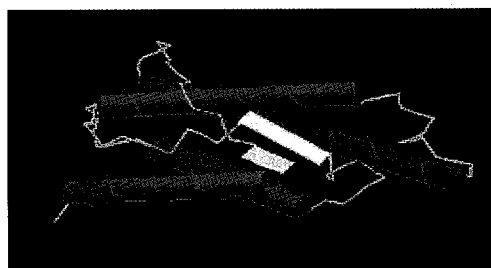


図1 IL-4の立体構造

Structure/mmdb/mmdbsrv.cgi?uid=57232).

IL-4を産生する細胞には, ヘルパーT細胞の中でもとくにタイプ2のサブセットの細胞(Th2細胞)やリンパ濾胞型ヘルパーT細胞(T_H細胞)が知られ, メモリー型T細胞, NKT細胞も産生する. また, 一部のCD8T細胞, $\gamma\delta$ T細胞からも少量ではあるが産生されることが知られている. このサイトカインはT細胞以外からも産生され, 肥満細胞, 好塩基球, 好酸球なども産生源となる. IL-4が働く細胞としては, まず代表的なものはB細胞があげられる. IL-4はB細胞のIgG1とIgEの産生を制御する. 一方, T細胞に対しては増殖因子として働くと同時にTh2細胞の分化過程および増殖に働くとともに, 他のヘルパーT細胞に対しては抑制的に働くことが知られる. IL-4はマクロファージ, 樹状細胞(DC)にも働きかけることも知られている. また, IL-4のレセプターは神経芽細胞, ケラチノサイト, 幹細胞, スト

* IL-4.

** Masato KUBO, Ph.D.: 東京理科大学生命科学研究分子病態学部門[〒278-0022 野田市山崎2669]; Division of Molecular Pathology, Research Institute for Biological Sciences, Tokyo University of Science, Noda 278-0022, JAPAN

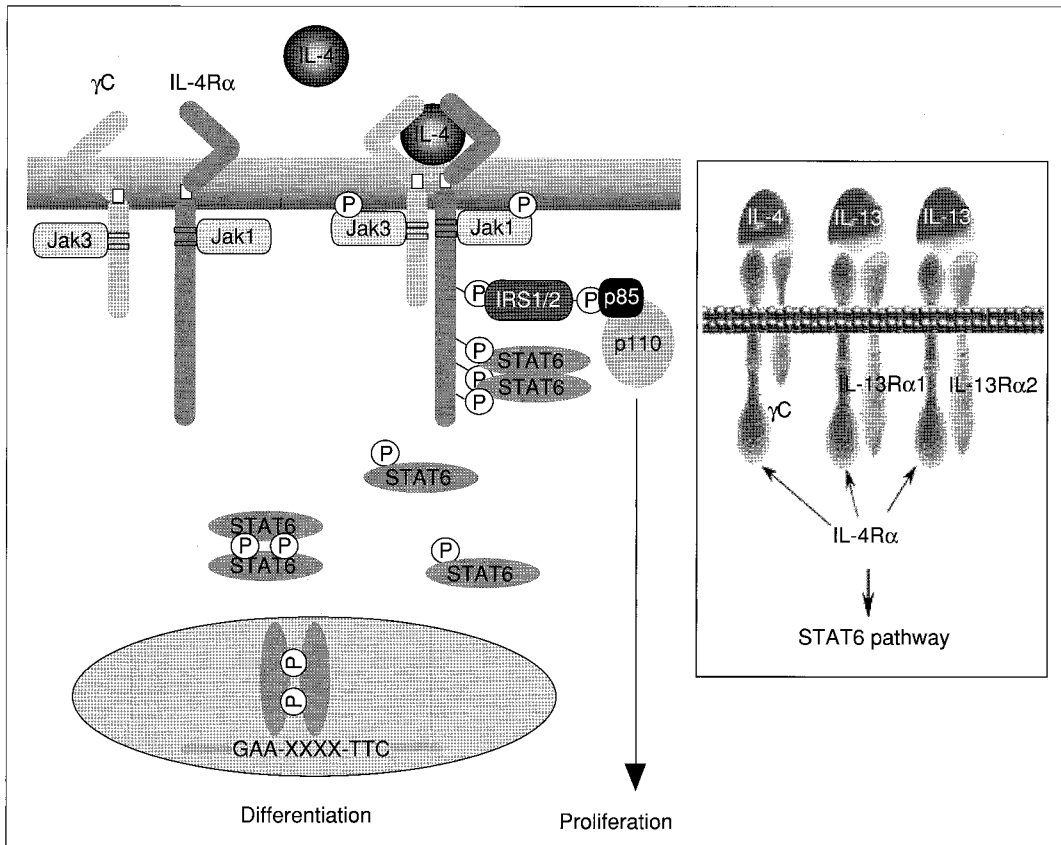


図2 IL-4受容体を介するJak-STATシグナル伝達系とIL-13受容体との関係
 γC: γ鎖, IL-4Rα: α鎖

ローマ細胞など造血系以外の細胞にも発現しており、IL-4は多彩な生理活性を持つと考えられる。

レセプターとシグナル伝達

IL-4レセプターはIL-2ファミリーに属するI型レセプターに属し、リガンドであるIL-4に対して高親和性を持つα鎖とIL-2ファミリーに共通のレセプターであるγ鎖の2つから構成されている。IL-4レセプターはI型サイトカイン受容体の特徴である細胞外のN末端に4つのシステイン残基が一定の間隔で存在する共通のユニットを持ち、細胞外領域のC末端側にはTrp-Ser-X-Trp-Serからなる共通のユニット(WSボックス)を保存する⁸⁾⁹⁾。α鎖とγ鎖の細胞質内領域にはチロシンキナーゼJanus kinase(Jak)が会合するBox1と呼ばれる領域が存在し、α鎖とγ鎖にはそれぞれJak1とJak3が結合している。γ鎖はIL-2ファ

ミリーに共通のレセプターで、IL-2, IL-4以外にIL-7, IL-9, IL-15, IL-21に対するレセプターでも使われる構成分子である。そのため、γ鎖の機能はリンパ系の発生過程において重要な役割を持つことから、この遺伝子に異常を持つヒトは、重篤な免疫不全症を起こすこととなる。γ鎖遺伝子はX染色体に位置することから、X染色体連鎖性重症免疫不全症(XSCID)の原因遺伝子であることが証明されている¹⁰⁾¹¹⁾。

Jak1とJak3の下流にはsignal transduction for activated T cell(STAT)と呼ばれる転写因子が存在しており、IL-4はSTAT6を活性化する(図2)。STAT6は120kDaからなる分子で、分子内にSH2, SH3様ドメインとロイシンジッパー、ヘリックス・ループ・ヘリックス構造を持つ。刺激が存在しない状況では、STAT6分子は細胞質内に存在するが、IL-4シグナルが導入されるとIL-4レセ

プター α 鎖の細胞質内領域に位置するチロシン残基がリン酸化され、STAT6はその分子中央に存在するSH2領域を使って α 鎖のリン酸化したチロシンに結合し、自身のチロシン残基をリン酸化することになる¹²⁾¹³⁾。リン酸化したSTAT6は細胞質へと遊離し、リン酸化したチロシンとSH2領域を使ってホモ 2量体を形成する。2量体となったSTAT6は、核へと移行し、転写因子として機能する(図2)。STAT6分子のSH2, SH3様ドメインの上流にはDNAと結合する領域が存在しており、この領域は4個のナンセンス塩基を挟んだGAA-XXXX-TTCからなる配列を認識してDNAに結合することができ、最終的に目的遺伝子の転写を調節することになる(図2)。また、 α 鎖はIL-13レセプターにおいても使われており、そのためIL-4とIL-13はSTAT6を介するシグナルを共有している¹²⁾。

IL-4遺伝子

IL-4をコードする遺伝子は、ヒトでは第5番染色体、マウスでは第11番染色体にコードされており、その領域にはIL-4と同様Th2細胞から産生されるサイトカインIL-5やIL-13などが集まっていることから、Th2サイトカインクラスター領域と考えられている³⁾⁴⁾⁶⁾。これら領域にはT細胞の分化に伴って転写を制御する領域が存在しており、DNA分解酵素DNase Iに対する感受性を示す高感受性領域(HS領域)として解析される。これら調節領域はほ乳類間で高い相同性が保たれており、conserved noncoding sequence(CNS)ともよばれている¹⁴⁾¹⁵⁾。Th2細胞の分化を決定する転写因子GATA-3などは、ゲノム上に点在するこれら調節領域に結合することにより、その分化過程を制御している¹⁶⁾。

機能

1. B細胞に対する働き

IL-4のB細胞に対する最も特徴的な機能はクラススイッチの制御である。IL-4は静止期B細胞に作用して細胞周期をG1期に移行させる機能を持ち、細胞表面型IgMからさらに刺激が入るとB細胞はG2/S期にまで細胞周期を進行させる¹⁾。このことから、IL-4はB細胞に対して

増殖因子として働くことがわかる。また、このときのB細胞はIgM産生細胞からIgG1, IgE産生細胞にスイッチする²⁾¹⁷⁾。静止期B細胞がIgG1やIgEを産生するためには、CD40からのシグナルも必要となる。そのため、B細胞がIgG1やIgEを産生するためには、CD40-CD40LによるT細胞とB細胞の間での会合が必要となる。IL-4によってリン酸化され、核へと移行したSTAT6は、IgE遺伝子座のエンハンサー領域に存在する特異的配列に結合し、転写を誘導する。転写産物はRNA/DNA産物を作ることにより、IgE遺伝子座のスイッチ領域でR-loopを形成する。CD40からのシグナルは、この環状DNAをloop-outすることで、成熟型の転写産物を作っていくための絶対必要条件となる¹⁸⁾。また、IL-4は静止期B細胞に作用して、MHCクラスII抗原、IL-4レセプター、CD40そして低親和性IgEレセプターとして知られるCD23の細胞表面における発現を増強する働きを持つ¹⁹⁾²⁰⁾。

そのため、IL-4欠損マウスではB細胞におけるIgG1, IgEの産生が抑制され、とくにIgEのクラススイッチはまったく起こらない。このことから、IgEの産生にはIL-4が絶対条件となる²¹⁾。また、IL-4とIL-21の両方を欠損するマウスでは、IgMだけが存在し、他のクラスが認められないことから、抗体のクラススイッチはこの2つのサイトカインの組み合わせで制御されると考えられる。

2. IL-4によるTh2分化制御

T細胞がIL-4を産生できるメカニズムが最も明らかにされているのがTh2細胞である。Th2はナイーブT細胞から分化する必要がある。Th2への分化過程においては、T細胞抗原レセプター(TCR)を介した抗原刺激による下流シグナルと、IL-4—STAT6を介したサイトカインシグナル経路の両者が活性化され、転写因子GATA-3が誘導される²²⁾。この転写因子の存在はTh2の分化過程で絶対的条件となることから、分化決定のマスターレギュレーターと考えられている²³⁾。誘導されたGATA-3は、IL-4遺伝子座に結合してそのクロマチン構造を変化させることにより、Th2分化を制御するとともに、T細胞におけるIL-4産生を制御する^{24)~26)}。

GATA-3は2つのzinc fingerドメインとDNA結合ドメインからなる分子で、その発現はTh2細胞に限局されIL-4—STAT6とNFκB経路の活性化によって制御される。NFκBはp55とp65の2量体からなる転写因子で、T細胞におけるNFκBの活性化は、TCRの下流でCARMA1のBcl10との会合で誘導されるシグナルと補助シグナル分子CD28からのPI-3キナーゼの活性化で制御されている。そのため、NFκBを欠損するマウスでは、GATA-3が発現せずTh2分化が起こらない²⁷⁾。GATA-3遺伝子座には近位と遠位の2つのプロモーターが存在しており、IL-4シグナルで活性化されるSTAT6は近位プロモーターである。

3. IL-4によるその他のヘルパーT細胞の制御

IL-4はTh2分化を促進的に制御するが、一方で他のT細胞サブセットに対しては抑制的に働く。われわれの生体内には免疫反応を抑制的に制御する制御性T細胞(regulatory T cell ; Treg)が存在し、これら細胞によって中枢性免疫寛容ではカバーしきれない自己抗原に対する反応が抑制される。Tregには胸腺で分化する細胞とTGFβによって能動的制御を受ける誘導タイプのinduced Treg (iTreg)がある。IL-4はiTregに対して強い抑制活性を持ち、その効果はin vitro, in vivoいずれにおいても認められる²⁸⁾。

ヘルパーT細胞にはIL-2, IFN-γ, TNF-αを産生するサブセットTh1の存在も知られている。Th1はIL-12によって分化が制御されるヘルパーT細胞である。そのほかに、新たなヘルパーT細胞のサブセットとして、IL-17を主に産生するTh17の存在が報告されている。Th17は腸内細菌に対する防御反応、真菌に対する感染防御など生体防御反応にかかわる一方で、自己免疫性反応においても中心的な役割を持つことが明らかにされてきており、その分化はTGFβとIL-6によって制御されている²⁹⁾³⁰⁾。また、最近では二次リンパ組織であるリンパ節に存在するT細胞は濾胞型ヘルパーT細胞(T_{FH}細胞)と呼ばれ、B細胞を抗体産生ができるプラズマ細胞へと変化させるTh1, Th2, Th17とは異なる働きを持つサブセットとして着目されているが、IL-4は、これらヘルパーT細胞に対しても抑制的機能を持つことが知られている。Th1分化に対しては、抗原提示をする

DCに働くことにより、DCからのIL-12産生を抑制することによりTh1分化を抑制する。Th1細胞でもIL-4レセプターを発現しているが、Th1はIL-4に反応しないことから、Th1で発現するIL-4レセプターは機能していないことが知られる。一方、IL-4はTh17の分化も強く抑制することが知られており、in vitroで効率よくTh17を分化誘導するためには、IL-4の活性を中和しなければならない³¹⁾。

臨床的意義

免疫反応のバランスがTh2反応の方へ傾向することで起こる疾患として最もよく知られているのが、免疫グロブリンIgEを介して起こるアレルギー性疾患である。IL-4はIgEの産生を制御することから、IL-4の主な臨床的意義はIgE産生にあるといえる。IgEによって起こるI型アレルギー疾患には花粉症、喘息やアトピー性皮膚炎などがある。正常人においてIgEは、血清中に検出感度以下の濃度でしか存在しないが、アレルギー患者の血清中にはアレルゲン特異的IgEが高頻度で存在する。IL-4は、B細胞に働き免疫グロブリン遺伝子のクラススイッチをひき起こし、B細胞からのIgE産生を制御することは前述の通りである。産生されたIgEは肥満細胞上に存在するレセプターに会合し、このIgEにアレルゲンが結合して肥満細胞を活性化すると脱顆粒が起こり、炎症を誘導するヒスタミン、ロイコトリエン、血小板凝固因子(PAF)などの化学物質が放出され、炎症反応につながる。また、IL-5によって増殖・分化が制御されている好酸球は、喘息やアトピー性皮膚炎の炎症部位に浸潤し、液性因子を放出することにより炎症反応をひき起こす。感染性微生物によってひき起こされる喘息様気管支炎にRSウイルスに対する反応がある。この場合不活化ウイルスワクチンによってTh2細胞が誘導され、Th2細胞が産生するTh2サイトカインは気道上皮や気道平滑筋に作用し、気道炎症、気道過敏性の亢進、粘液過分泌などを誘発する。一方、原虫・真菌・寄生虫・マイコプラズマ・肺炎球菌・大腸菌など主に細胞外で増殖する微生物に対する感染防御には、B細胞より産生される抗体に依存する免疫反応が関与している。そのため、B細胞の増

殖や免疫グロブリンのクラススイッチに働くIL-4がこの反応の中心となる。また、細菌より産生される毒素やウイルスより放出されるウイルス粒子に対する免疫反応にも抗体が関与することから、これもIL-4によって制御されている。

文 献

- 1) Howard M, Nakanishi K, Paul WE. B cell growth and differentiation factors. *Immunol Rev* 1984 ; 78 : 185.
- 2) Isakson PC, Pure E, Vitetta ES, et al. T cell derived B cell differentiation factor (s). Effect on the isotype switch of murine B cells. *J Exp Med* 1982 ; 155 : 734.
- 3) Noma Y, Sideras P, Naito T, et al. Cloning of cDNA encoding the murine IgG1 induction factor by a novel strategy using SP6 promoter. *Nature* 1986 ; 319 : 640.
- 4) Lee F, Yokota T, Otsuka T, et al. Isolation and characterization of a mouse interleukin cDNA clone that expresses B-cell stimulatory factor 1 activities and T-cell- and mast-cell-stimulating activities. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986 ; 83 : 2061.
- 5) Honjo T, Yaoita Y, Kinashi T, et al. Structure and function of interleukins 4 and 5. *Acta Paediatr Jpn* 1987 ; 29 : 546.
- 6) Yokota T, Otsuka T, Mosmann T, et al. Isolation and characterization of a human interleukin cDNA clone, homologous to mouse B-cell stimulatory factor 1, that expresses B-cell- and T-cell-stimulating activities. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986 ; 83 : 5894.
- 7) Powers R, Garrett DS, March CJ, et al. Three-dimensional solution structure of human interleukin-4 by multidimensional heteronuclear magnetic resonance spectroscopy. *Science* 1992 ; 256 : 1673.
- 8) Harada N, Castle BE, Gorman DM, et al. Expression cloning of a cDNA encoding the murine interleukin 4 receptor based on ligand binding. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990 ; 87 : 857.
- 9) Idzerda RL, March CJ, Mosley B, et al. Human interleukin 4 receptor confers biological responsiveness and defines a novel receptor superfamily. *J Exp Med* 1990 ; 171 : 861.
- 10) Sugamura K, Asao H, Kondo M, et al. The interleukin-2 receptor gamma chain : its role in the multiple cytokine receptor complexes and T cell development in XSCID. *Annu Rev Immunol* 1996 ; 14 : 179.
- 11) Nogchi M, Yi H, Rosenblatt HM, et al. Interleukin-2 receptor gamma chain mutation results in X-linked severe combined immunodeficiency in humans. *Cell* 1993 ; 73 : 147.
- 12) Jiang H, Harris MB, Rothman P. IL-4/IL-13 signaling beyond JAK/STAT. *J Allergy Clin Immunol* 2000 ; 105 : 1063.
- 13) Nelms K, Keegan AD, Zamorano J, et al. The IL-4 receptor : signaling mechanisms and biologic functions. *Annu Rev Immunol* 1999 ; 17 : 701.
- 14) Loots R, Locksley RM, Blankespoor CM, et al. Identification of coordinate regulator of interleukins 4, 13, and 5 by cross-species sequence comparisons. *Science* 2000 ; 288 : 136.
- 15) Agarwal S, Rao A. Modulation of chromatin structure regulates cytokine gene expression during T cell differentiation. *Immunity* 1998 ; 9 : 765.
- 16) Willson CB, Rowell E, Sekimata M. Epigenetic control of T helper cell differentiation. *Nat Rev Immunol* 2009 ; 9 : 91.
- 17) Finkelman FD, Katona IM, Urban JF Jr, et al. Suppression of in vivo polyclonal IgE responses by monoclonal antibody to the lymphokine B-cell stimulatory factor 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986 ; 83 : 9675.
- 18) Jabara HH, Fu SM, Geha RS, et al. CD40 and IgE : synergism between anti-CD40 monoclonal antibodies and interleukin 4 in the induction of IgE synthesis by highly purified human B cells. *J Exp Med* 1990 ; 172 : 1861.
- 19) Noelle R, Krammer PH, Ohara J, et al. Increased expression of Ia antigens on resting B cells : an additional role for B-cell growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1984 ; 81 : 6149.
- 20) Oliver K, Noelle RJ, Uhr JW, et al. B-cell growth factor (B-cell growth factor I or B-cell-stimulating factor, provisional 1) is a differentiation factor for resting B cells and may not induce cell growth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985 ; 82 : 2465.

- 21) Kühn R, Rajewsky K, Müller W. Generation and analysis of interleukin-4 deficient mice. *Science* 1991 ; 254 : 707.
- 22) Das J, Chen CH, Yang L, et al. A critical role for NF-kappa B in GATA3 expression and TH2 differentiation in allergic airway inflammation. *Nat Immunol* 2001 ; 2 : 45.
- 23) Zheng W, Flavell RA. The transcription factor GATA-3 is necessary and sufficient for Th2 cytokine gene expression in CD4 T cells. *Cell* 1997 ; 89 : 587.
- 24) Kurata H, Lee HJ, O'Garra A, et al. Ectopic expression of activated Stat6 induces the expression of Th2-specific cytokines and transcription factors in developing Th1 cells. *Immunity* 1999 ; 11 : 677.
- 25) Ouyang W, Lohning M, Gao Z, et al. Stat6-independent GATA-3 autoactivation directs IL-4-independent Th2 development and commitment. *Immunity* 2000 ; 12 : 27.
- 26) Lee HJ, Takemoto N, Kurata H, et al. GATA-3 induces T helper cell type 2(Th2) cytokine expression and chromatin remodeling in committed Th1 cells. *J Exp Med* 2000 ; 192 : 105.
- 27) Das J, Chen CH, Yang L, et al. Critical role for NF-kappa B in GATA3 expression and TH2 differentiation in allergic airway inflammation. *Nat Immunol* 2001 ; 1 : 45.
- 28) Pace L, Pioli C, Doria G. IL-4 modulation of CD4⁺ CD25⁺ T regulatory cell-mediated suppression. *J Immunol* 2005 ; 174 : 7645.
- 29) Bettelli E, Korn T, Kuchroo VK. Th17 : the third member of the effector T cell trilogy. *Curr Opin Immunol* 2007 ; 19 : 652.
- 30) Diveu C, McGeachy MJ, Cua DJ. Cytokines that regulate autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2008 ; 6 : 663.
- 31) Chapoval S, Dasgupta P, Dorsey NJ, et al. Regulation of the T helper cell type 2(Th2)/T regulatory cell(Treg) balance by IL-4 and STAT6. *J Leukoc Biol* 2010 ; 87 : 1011.

* * *