

熊本大学学術リポジトリ

Kumamoto University Repository System

| | |
|------------|---|
| Title | IgEクラススイッチのコントロールメカニズム |
| Author(s) | 田邊, 香野; 乾, 誠治 |
| Citation | 熊本大学医学部保健学科紀要, 13: 1-11 |
| Issue date | 2017-03-31 |
| Type | Departmental Bulletin Paper |
| URL | http://hdl.handle.net/2298/36406 |
| Right | |

総説

IgE クラススイッチのコントロールメカニズム

田邊香野*、乾誠治**

Control mechanism of IgE class switch recombination

Kano Tanabe*, Seiji Inui**

Key words: IgE, class switch recombination, IL-4/IL-13, AID, NF- κ B

受付日 2016 年 11 月 7 日 採択日 2016 年 12 月 5 日

*熊本保健科学大学保健科学部医学検査学科 **熊本大学大学院生命科学研究部生体情報解析学

投稿責任者：乾誠治 inui@kumamoto-u.ac.jp

I. はじめに

IgE は B 細胞が産生する抗体の一種で、アレルギーの発症や寄生虫の排除に深くかかわる糖タンパクである¹⁾。私たちの身体は抗原が侵入してくるとその種類に応じた適切な免疫系が活性化し、身体から抗原を排除しようと作用する。そのなかでも B 細胞は抗原特異的な抗体を産生することにより液性免疫の中心を担っている。B 細胞は初め IgM 型の抗体を膜表面に発現し、B 細胞受容体 (BCR) として特異的抗原を認識するために用いている²⁾。その後、特異的抗原により活性化された B 細胞は産生する抗体のクラスを変化させることにより抗原特異性はそのままに抗体の有するエフェクター機能を変化させる。この反応をクラススイッチ (CSR) という。クラススイッチは DNA を組換えて再編成してしまう不可逆的反應で、クラススイッチの完了した B 細胞が再び IgM を産生することはない^{3),4)}。このクラススイッチにはサイトカインと T 細胞が細胞表面に発現する CD40 リガンドの刺激が必須となる。これらのうち、サイトカインがクラススイッチの方向性を握るカギとなる。クラススイッチは IgM から IgG, IgA, IgE のいずれかのクラスへと行われるが本稿では IgE へのクラススイッチ制御を中心に概説する。

IgE 分子は 1966 年に石坂らにより報告されてから 2016 年で発見 50 年となる。IgE は血中濃度が低く、含有率は 0.002%程度と他のクラスの抗体と比較して特に低濃度に保たれている⁵⁾。そのため他のクラスの抗体よりも同定は困難を極めた。

現在、先進国では IgE は寄生虫排除としての働きではなく I 型アレルギーの発症に寄与していることで注目を集めている。わが国でもアレルギー疾患は増加の一途にあり、2011 年に報告されたリウマチ・アレルギー対策委員会報告書では国民の 2 人に 1 人は何らかのアレルギー疾患に罹患していると報告されている。

アレルギーは一度免疫した動物を同様の抗原に再度暴露させると免疫系が過剰な反応を示し、ショック状態を起こすアナフィラキシー反応から発見された反応である⁶⁾。本来免疫とは一度暴露した抗原に対しては、二度目以降の暴露に対して速やかに抗原を排除するようなシステムとして見つかり、『疫を免れる』ということから免疫と呼ばれるようになった。

一方、アレルギーはギリシャ語の *Allos* (奇妙な、他の) と *ergon* (反応、働き) を組み合わせた言葉として生まれた。このようなアレルギー反応を誘導する抗原をアレルゲンと呼ぶ。しかしなぜ B 細胞は通常免疫寛容が誘導されるような分子を異物と認識し、

IgGではなくIgEを産生するようにクラススイッチが誘導されるのかは未だ明らかとなっていない。しかしIgEクラススイッチが生じ、IgEをB細胞が産生するまでのシグナル伝達はこれまでに様々な報告がある。本稿ではIgEへのクラススイッチの制御をシグナル伝達を中心に論じる。

II. IgEクラススイッチの誘導シグナルにはIL-4/IL-13が重要である

抗体の構造はY字型をしており、Y字型の上部にあたる先端には抗原結合部位が2か所存在する⁷⁾。この部位は多様性に富み、抗原抗体反応の特異性に寄与している。一方、根本にあたる部位は定常部と呼ばれ抗体の機能を付与するのに重要である。なぜなら多くの細胞は抗体の定常部を識別する特異的な受容体を発現することで抗体を区別し、異なる反応を示すからである。抗体の定常部はクラススイッチを起こす前は μ 鎖と δ 鎖により構成され、IgMとIgDとして存在する。ヒトではサブクラスも含めゲノムDNAの δ より下流に存在する $\gamma 3$, $\gamma 1$, $\alpha 1$, $\gamma 2$, $\gamma 4$, ϵ , $\alpha 2$ を利用して抗体分子IgG3, IgG1, IgA1, IgG2, IgG4, IgE, IgA2のいずれかにクラススイッチされる可能性を有している^{3), 4), 7)}。(図1)

これまでの報告から、IgEクラススイッチにはCD40リガンド(CD40L; CD154)の刺激と共にIL-4またはIL-13による刺激が重要であることが明らかとされている⁸⁾。B細胞表面に発現しているCD40を介した刺激はすべてのクラススイッチ反応に必須である。このことはCD40をKOしたマウスではすべてのクラススイッチが喪失することから知られており、ヒトではCD40シグナルの異常は高IgM血症を発症することが報告されている^{9), 10)}。一方、どのクラスに再編成されるかを決定する刺激としてサイトカインが重要である。例えばIgGではIFN γ が、IgAではIL-5やTGF β が、IgEへのクラススイッチではIL-4またはIL-13が誘導することが知られている³⁾。

IL-4とIL-13はいずれも5q31染色体上に存在し、構造や機能もよく似ている。両遺伝子の間はわずか12kbしか離れておらず、遺伝子重複により出現したサイトカインであると考えられる¹¹⁾。

IL-4はIgEへのクラススイッチ誘導を始め、B細胞でのCD23(低親和性Fc ϵ レセプター)の発現やT細胞のTh2細胞分化を促進する。IL-13はIL-4同様にIgEへのクラススイッチを誘導するとともに、これまで喘息との関連が報告されている^{12), 13)}。

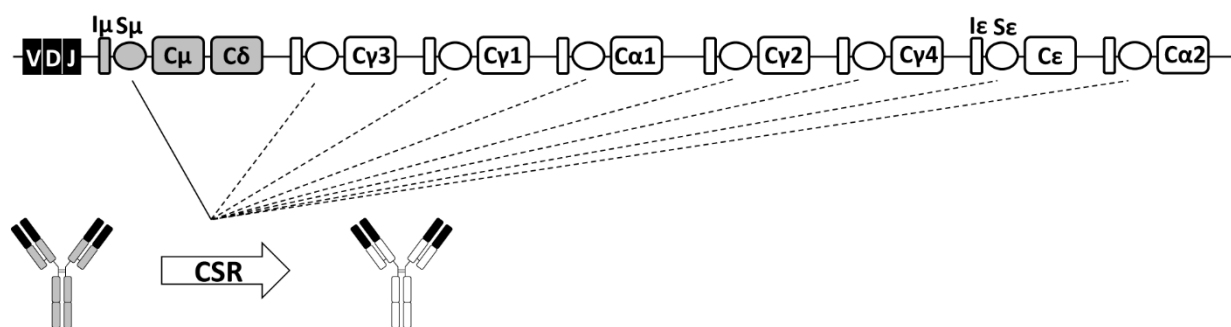


図1 CH領域とクラススイッチ：定常部をコードするC領域はVDJの下流から順にC μ からC $\alpha 2$ と並んでいる。クラススイッチが生じる前はVDJに続きC μ が翻訳された場合はIgMを、C δ が翻訳された場合はIgDを産生する。クラススイッチ後はVDJ下流直下に位置するC領域が変化するが図ではC ϵ がVDJに近接するため産生される抗体はIgEとなる。

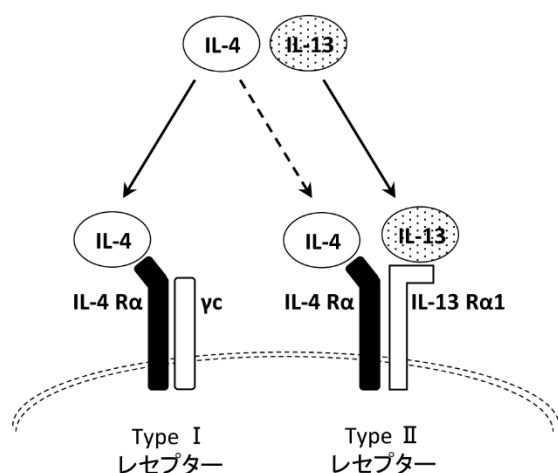


図2 IL-4/IL-13 レセプター : IL-4 と IL-13 のレセプターは Type I と Type II が存在する。両レセプターはともに共通して IL-4R α 鎖を有するため IL-4 は両レセプターに結合できるが IL-13 は Type II レセプターとのみ結合する。

抗原無感作の動物に IL-13 を投与するだけで気道過敏症などの喘息様症状を示すことが報告されており、その他、喘息モデルマウスでは IL-4 を阻害するよりも IL-13 を阻害したほうがより喘息の改善が認められたという報告がある。これらのレセプターは Type I と Type II レセプターが存在する^{8), 13), 14)}。(図 2) 共通の IL-4R α 鎖を有し、Type I レセプターでは共通 γ 鎖 (common cytokine receptor γ chain : γ c) と、Type II レセプターは IL-13R α 1 とで構成されている。これらのレセプターの活性化はともに転写因子 STAT6 の活性化を誘導するが活性化までの細胞内シグナル伝達や各レセプターの発現分布などに違いがある。

まず IL-4 は Type I および Type II レセプターに結合することが可能だが、IL-13 は Type II レセプターにしか結合することが出来ない。この Type I レセプターは B 細胞や T 細胞、単球を始めとする血球系細胞を中心に発現している。一方、Type II レセプターは気道上皮細胞や気管支平滑筋細胞など非血球系細胞を中心に発現し、活性化した B 細胞にもその

発現を認める。このように Type II レセプターは T 細胞には発現していないことから Th2 細胞への分化誘導には IL-13 は関与せず、IL-4 が中心的に作用していると考えられている。

T 細胞は分化により異なる機能を獲得するがその中でも司令塔の役割が強いヘルパー T 細胞 (Th 細胞) は産生するサイトカインの種類により Th1 細胞と Th2 細胞などに分けられる¹⁵⁾。ナイーブヘルパー T 細胞 (Th0 細胞) は TCR を介して抗原特異的に活性化すると周囲の様々なサイトカインにより分化の方向性が決定する。Th1 細胞と Th2 細胞が産生するそれぞれのサイトカインは Th0 細胞を自身と同じ種類の Th 細胞に分化するように促し、一方で他方の分化を抑制している。すなわち Th1 細胞産生サイトカイン (IFN γ など) は Th0 細胞の Th2 細胞への分化を抑制し、Th2 細胞産生サイトカイン (IL-4 など) は Th1 細胞への分化を抑制している。このように Th 細胞はそのときに必要な Th 細胞の数を増やすべく、お互いに調節しあっている¹⁶⁾ (Th1-Th2 パラダイム)。

IgE クラススイッチを促進する IL-4 や IL-13 は Th2 細胞が産生している。一方、IL-21 や IFN $\cdot\gamma$ など IgE クラススイッチを抑制するサイトカインは Th1 細胞が産生している。これらの産生サイトカインは Th0 細胞の分化にも影響を与えるため、IgE クラススイッチは T 細胞の分化バランスによる制御を受けているといえる。

III. IgE クラススイッチには ϵ GLT 合成と AID 活性が必須である

クラススイッチを起こす H 鎖は 14 番染色体長腕上に存在し、可変領域をコードする VDJ の下流に定常部をコードする領域 (C H) として配列が続く⁴⁾。

タンパクをコードする各 Constant (C) 領域の上流には I 領域と Switch (S) 領域が存在する。これらはクラススイッチに重要な役割を担い、C δ を除く

すべての C 領域の近接した上流には特異的な I 領域と S 領域が存在する⁴⁾。

一般的にはクラススイッチは I 領域に転写因子が結合し、 S_{μ} と目的のクラス上流にある S 領域に相補的な一本鎖 RNA : Germline transcript (GLT) が合成されることから始まる。2 種類の GLT に挟まれた DNA 配列は切り取られ、染色体内除去を受ける。切り取られた S 領域は環状を形成し除かれ、残った配列同士がハイブリットを形成することで再びつなぎ戻され、クラススイッチが完了する。目的の C 領域はクラススイッチ後、VDJ 近傍の下流に位置するようになり、その後産生される抗体は IgM ではなく特異的 GLT が合成された下流のクラスの抗体を産生するようになる。(図 3)

IgE クラススイッチにおける ϵ GLT 合成から染色体内除去を概説する。

GLT は翻訳されることのない一本鎖 RNA であり、強力に S 領域に結合する。IgE クラススイッチではまず CD40L と IL-4 による共刺激が B 細胞に伝わると S_{ϵ} に相補的な ϵ GLT が合成される。 ϵ GLT は 2 本鎖 DNA の S 領域で部分的に DNA-RNA ハイブ

リットを形成する。DNA-RNA ハイブリットを形成しない鎖の DNA は部分的に一本鎖 DNA (ssDNA) となる^{3), 17)} (R-ループ)。この R-ループは G リッチな特徴的配列であることが分かっている。

次に一本鎖 DNA となった配列に activation-induced cytidine deaminase (AID) が作用する¹⁸⁾。AID は CD40 刺激により誘導され、一本鎖 DNA の C を U に置換する。つまり DNA であるにもかかわらず、U を有した配列となる。AID は一本鎖 DNA にのみ作用し二本鎖 DNA には作用しないことが知られている。この AID を欠損させるとすべてのクラススイッチが損なわれることから AID はクラススイッチ全般において必須の分子であることが分かる。

AID により C を U に置換された配列は塩基除去型の修復酵素である uracil-N-glycosylase (UNG) より認識され、U が除かれる。これは一本鎖または二本鎖 DNA に含まれる U 残基を特異的に認識し、デオキシリボースとの間にある N-グルコシド結合を加水分解することにより起きる反応であり、RNA の有する U が損なわれることはない。

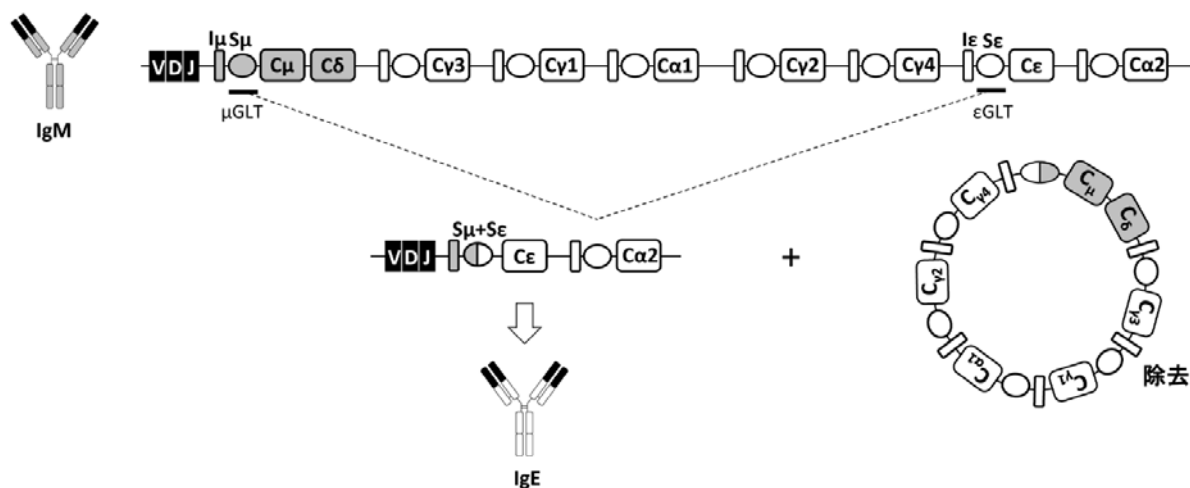


図 3 クラススイッチに伴う遺伝子配列の除去 : 2 か所の S 領域に合成された相補的な GLT に挟まれた領域は環状を形成して除去される。残った配列は再結合することでクラススイッチが完了する。IgE クラススイッチの場合 μ GLT と ϵ GLT が合成される。

UNGによりUが除かれるとapurinic / apyrimidinic endonuclease 1 (APE1)によりUがあった場所にニックが入る。詳細なメカニズムはまだ不明であるがDNA-RNAハイブリットを形成しているDNAのCもUに置換される。その後、同様にUが除かれた後のDNA配列にニックが入る。このニックが、R-ループに形成された複数のニックと近接した位置に形成されると二重鎖切断 (DSB) が生じる。この反応は S_{μ} と S_{ϵ} で起こり、その間に挟まれた領域は環状DNAとしてループアウトする³⁾。その後、 S_{μ} と S_{ϵ} の切断面同士が非相同末端結合 (non-homologous end-joining pathway : NHEJ) などにより再結合することでVDJ近傍の下流に C_{ϵ} が接近することになる。NHEJは二本鎖DNA末端同士を直接つなぐことのできるDNA修復メカニズムの一つであり、クラススイッチ以外にもDNA損傷の際の修復にも働く。まずKu70/80ヘテロダイマーが切断末端に結合する。そこにDNA-PKcsがリクルートされるとAretemisヌクレアーゼと複合体を形成する。その後、XRCC4やCernunnos-XLF, DNA ligase IVなどが働き、DNA末端同士を接合させる。このメカニズムには不明な点も残されており、完全に解明されているわけではない。しかし、Ku80を欠損させるとCSRが損なわれることが報告されている^{19), 20)}。

IgEクラススイッチはIgMから直接IgEにクラススイッチする場合とIgGを経由して、最終的にIgEにクラススイッチが完了する場合がある²¹⁾。直接スイッチした場合、S領域は S_{μ} と S_{ϵ} のハイブリットとなっているが、IgGを経由した場合は S_{μ} , S_{γ} , S_{ϵ} のハイブリットとなる。これらの違いは近年少しずつ解明され始めており、現在はIgEへ至る経緯により高親和性特異的IgEと低親和性特異的IgEに分けられるという考えが広がりつつある。IgMから一度IgGへのクラススイッチを経てからIgEクラススイッチが完了 (IgM → IgG → IgE)

すると高親和性特異的IgEを産生すると考えられている。これは一度IgGへクラススイッチした際に抗原認識部位の点突然変異と親和性成熟が完了しているためと考えられる²²⁾。

IV. 転写因子によりIgEクラススイッチは制御される

S領域の上流にはIエクソンとプロモーターを含む領域がある。それぞれ δ を除き特異的な I_{μ} , I_{γ} , I_{α} , I_{ϵ} があり、 I_{μ} のプロモーターは恒常的に活性化されている。一方で I_{γ} , I_{α} , I_{ϵ} プロモーターはクラススイッチの際に刺激を受けてから活性化する。

I_{ϵ} には様々な転写因子結合領域が存在する。STAT6, NF- κ B, PU.1, Pax5, E2A, NFIL3, AP-1などが挙げられる^{6), 23)}がヒトおよびマウスに共通に有し、よく研究されている転写因子はSTAT6とNF- κ Bである。

STAT6はIL-4刺激により活性化されたJAKがSTAT6をリン酸化することで活性化される⁸⁾。活性化されたSTAT6は2量体を形成し、 I_{ϵ} プロモーター領域に結合する。このとき同様にSTAT6結合部位近傍にあるNF- κ B結合部位にNF- κ Bが結合することにより相乗的に作用する。STAT6はIgEクラススイッチの責任転写因子でSTAT6をKOするとIgEクラススイッチは完全に阻害される²⁴⁾。

NF- κ Bではp50欠損マウスでのIgEクラススイッチの低下や $I_{\kappa B\alpha}$ の欠損によるクラススイッチの亢進などによりその関与が報告されている^{25), 26)}。

I_{ϵ} プロモーターに結合したSTAT6とNF- κ Bは I_{ϵ} - S_{ϵ} - C_{ϵ} に相補的な一本鎖RNAの転写を誘導する。(図4) この転写産物は I_{ϵ} にストップコドンを持つため翻訳されることはなく、 S_{ϵ} 部分がスプライシングにより切り取られる。この切り取られたssRNA S_{ϵ} がDNAの S_{ϵ} 領域に結合することで相

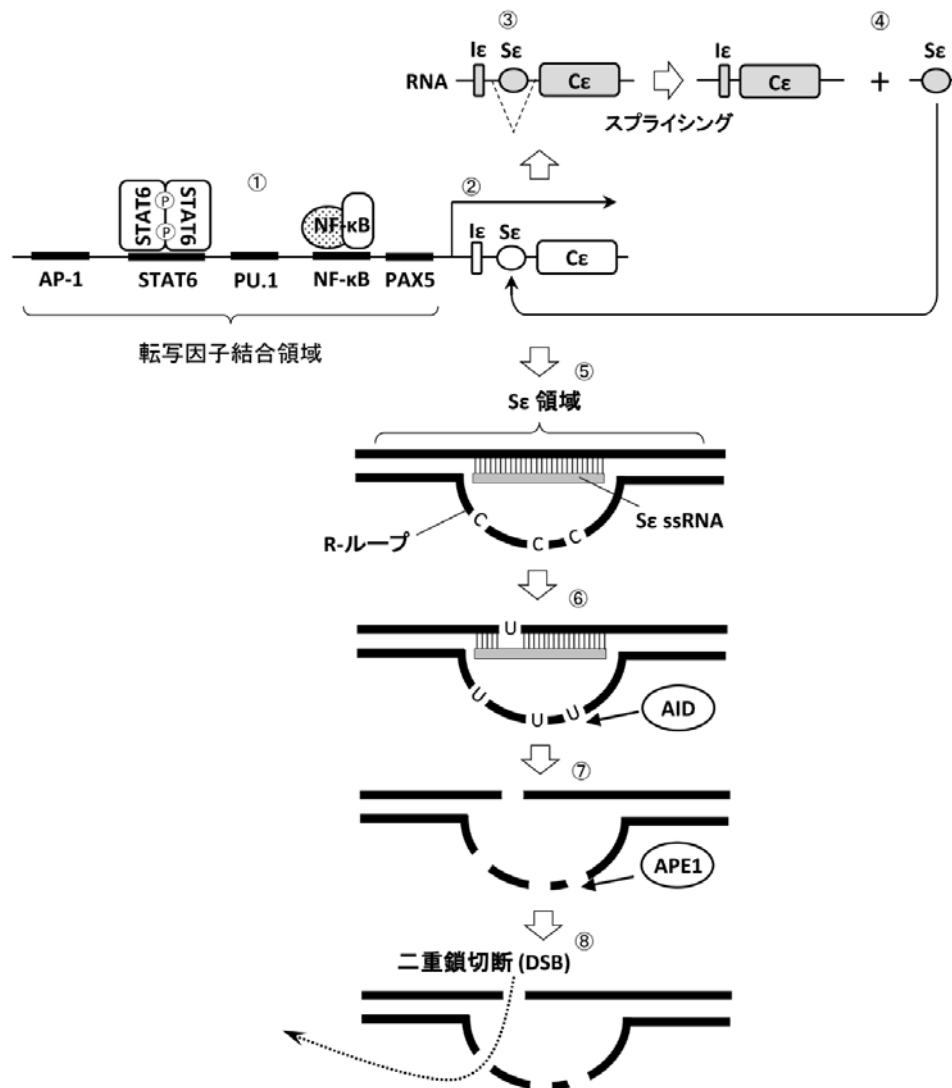


図4 転写因子とクラススイッチ：①転写因子が結合する ②・③転写が開始されIε-Sε-Cεに相補的なssRNAが合成される ④スプライシングによりssRNASεが生じ、Sε領域に結合する ⑤Sε領域にR-ループが形成される ⑥AIDによりCがUへ置換される ⑦APE1によりssDNAのUが除かれる ⑧両DNA鎖にニックが生じ、近接したニック同士でDSBが生じる。

補鎖ではない DNA 配列は R-ループとして一本鎖 DNA が形成される。その後、R-ループは AID などがカスケード的に作用し、クラススイッチが完了する。

すなわち IgE クラススイッチの阻害には Iε のプロモーター活性抑制が重要となってくる。これまでに述べた IFN-γ や IL-21 などによる抑制もこの活性化阻害に関与する⁸⁾。

IFN-γ による IgE クラススイッチ阻害は Th2 細胞分化抑制による IL-4 および IL-13 産生の抑制から直接的な Iε プロモーターの阻害など重要な働きをしている。また IL-21 は Th2 細胞分化には影響しないが IFN-γ 同様に直接 Iε プロモーターを阻害すると考えられている。その他、IgE クラススイッチを阻害し制御している分子として CD45 や CTLA4 などがある。CD45 は IL-4 レセプター下流にある

JAK1 や JAK3 を阻害することにより STAT6 の活性を抑制する。さらに IL-4 由来の AID 産生の抑制にも関与すると言われている。CTLA4 は STAT6 や NF- κ B の活性化を抑制することで IgE クラススイッチを負に制御している。その他、核内で作用する転写因子として B-cell lymphoma 6 (Bcl6) がある。これは IL-4 刺激により誘導された STAT6 が結合する I ϵ プロモーター領域と競合することにより阻害するため、Bcl6 を欠損させたマウスでは IgE クラススイッチが亢進する。

AID 遺伝子のプロモーター領域には NF- κ B や STAT6、Pax5 などの結合部位が存在する⁴⁾。

V. クラススイッチと NF- κ B 別経路

NF- κ B は B 細胞で働く転写因子の一つであり、

AID 誘導などを始め、クラススイッチでも重要であることが報告されている。NF- κ B は NF- κ B1 (p105/p50), NF- κ B2 (p100/p52), RelA (p65), RelB, c-Rel により構成されており、細胞種や刺激により活性化経路や転写因子として機能する分子の組み合わせが異なる^{27), 28)}。NF- κ B 活性化経路には古典的経路と別経路が存在するが、両経路ともリン酸化やユビキチン化、特定の分子の分解などをうけカスケード的に活性化する。両経路の活性化シグナルや最終的に転写因子として核へと移行する分子の組み合わせ、その活性化過程などには以下のような違いが認められる。(図 5)

古典的経路は多くの細胞で様々な刺激により活性化されることが知られているが代表的な刺激として TNF や IL-1 が挙げられる。古典的経路では最終的に転写因子として主に p50/RelA が核へと移行する。

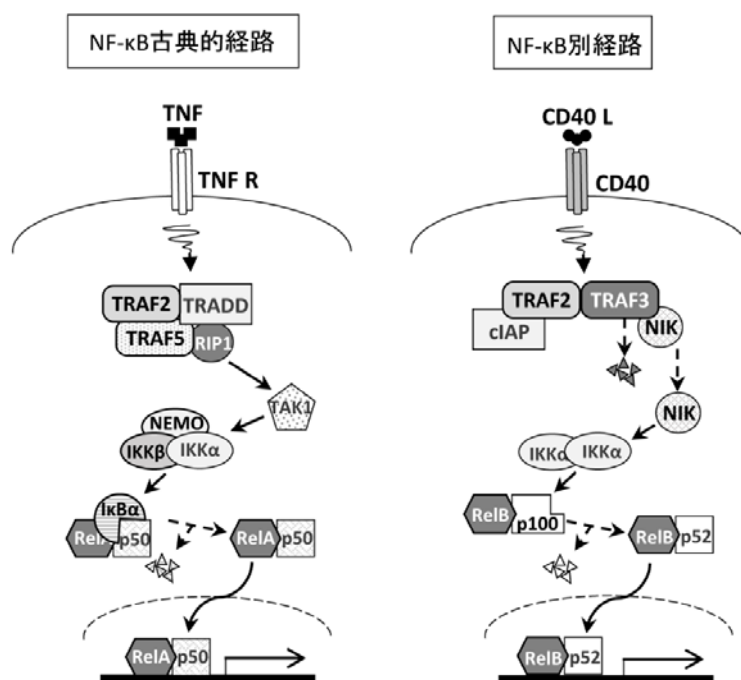


図 5 NF- κ B 活性化経路 : NF- κ B は NF- κ B1 (p105/p50), NF- κ B2 (p100/p52), RelA (p65), RelB, c-Rel により構成される転写因子でその活性化経路には古典的経路と別経路が存在する。前者は TNF などにより活性化し、後者は CD40L などにより活性化される。古典的経路では主に p50/RelA が別経路では p52/RelB が核へと移行し転写因子として機能する。

この分子は未刺激の状態では $I\kappa B\alpha$ が結合することで、核移行を抑制している。刺激が伝わると $IKK\alpha$, $IKK\beta$, NEMO の複合体が活性化し、 $I\kappa B\alpha$ をリン酸化する。するとそれを目印とし、 $I\kappa B\alpha$ が K48 ユビキチン化されてプロテアソーム系により分解される。その結果、遊離した p50/RelA が核へ移行し標的分子の転写を誘導する。このように古典的経路は細胞質に存在する活性化型の分子に抑制性の分子が結合することにより核移行を阻害している。新たなタンパク合成などが不要であり、活性化までの時間が比較的早い反応系である。

一方、別経路はおもに CD40 や BAFF など TNF レセプタースーパーファミリーにより活性化されることが知られている。これまでにリンパ組織の発生や B 細胞成熟などにおいて重要な働きをしていることが明らかとなっているが古典的経路と比較し、不明な点が未だ多く残されており研究報告も少ない。別経路は最終的な転写因子として p52/RelB が核移行する。p52 とは p100 が部分分解を受けてから生じる分子で、未刺激の状態では p100/RelB の状態で細胞質に存在している。すなわち不活性型の状態で存在している。刺激を受けると受容体に TRAF2, TRAF3, NIK, cIAP がリクルートされる。これらの分子は未刺激では NIK を低濃度に維持するため、TRAF3 が NIK と結合し、E3 ユビキチンリガーゼである cIAP により K48 ユビキチン化させることで分解が促進されている^{27), 29)}。刺激後は TRAF2 が cIAP を K63 ユビキチン化することで標的を TRAF3 へと変更させる。これにより cIAP が TRAF3 を K48 ユビキチン化することで TRAF3 は分解され、NIK が遊離する。NIK は遊離と新たな生合成により蓄積が起きると活性化し、下流の $IKK\alpha$ をリン酸化することで活性化する。活性化した $IKK\alpha$ は p100 をリン酸化することで p100 は K48 ユビキチン化を受け、部分分解により p52 となる。これにより活性化状態となった p52/RelB は核へと移行し、転写因子として機能することになる。このように別経路は TRAF3

の分解や NIK の蓄積、p100 の部分分解などを必要とするため比較的ゆっくりと活性化される経路である。別経路の活性化には TRAF3 の分解が重要で、TRAF3 の過剰発現は別経路活性化を抑制することが報告されている³⁰⁾。また NIK の過剰発現は活性化の亢進を示すことも認められている³¹⁾。

これまでにクラススイッチではおもに古典的経路の関与が報告されてきた。一方、別経路の活性を示唆する報告も認められてはいたが決定的な報告はなかった³²⁾。ところが 2012 年に Jin らが IgA クラススイッチを別経路が負に制御しているという直接的関与を示す証拠を報告した³³⁾。Jin らは TBK1 という IFN 産生に重要なキナーゼをノックアウトしたマウスを作製し、その機能を調べた。TBK1 ノックアウトは全身では致死性であるため、B 細胞特異的 TBK1 ノックアウトマウスを作製し、機能解析を行った。このマウスを様々な抗原で刺激し、クラススイッチへの影響を調べると IgM および IgG 産生には影響が認められなかったが IgA の抗体産生が低下していることが明らかとなった。さらに B 細胞特異的 TBK1 ノックアウトマウスでは CD40 や BAFF 刺激による $NF-\kappa B$ 別経路の活性化が亢進していた。これは TBK1 が別経路の活性化に重要な NIK のセリン 862 番目をリン酸化することで分解を促進し、別経路を抑制していることを明らかにした。つまり IgA クラススイッチにおいて $NF-\kappa B$ 別経路による制御が必須であることが示された。

我々はこれまでに IgE クラススイッチに $NF-\kappa B$ 別経路が関与しているのではないかと考え、いくつかの知見を得てきた。

これは筆者の一人が同定したシグナル伝達分子 $\alpha 4$ の機能解析を行った際に得た、興味深い結果から知見を得ている^{34), 35)}。 $\alpha 4$ は BCR と複合体を形成する $Ig\alpha$ に結合する分子として同定された。 $\alpha 4$ の機能を解析するために $\alpha 4$ ノックアウトマウス (KO マウス) を作製すると胎生致死であることが分かった。そこで B 細胞特異的 $\alpha 4$ KO マウスを作

製することでB細胞における機能解析を実現させた。B細胞特異的 $\alpha 4$ KOマウスを解析すると確かにBCRシグナル伝達が障害されていた。また興味深いことにBCRシグナルのみならず、IgGすべてのサブクラスの抗体価が低下しており、IgEクラススイッチに重要なIL-4やCD40刺激に対する反応性も低下していることが明らかとなった。このことからIgEクラススイッチにも $\alpha 4$ が関与しているのではないかと考えた。 $\alpha 4$ はこれまでの研究よりキナーゼやホスファターゼとの関連が指摘されており、リン酸化が活性化に重要となるNF- κ B活性化経路との関連性を推測した。B細胞特異的 $\alpha 4$ ノックアウトマウスでIgGの抗体価が低下していたにも関わらず詳細なメカニズムの解析は行われていない。 $\alpha 4$ はBCR下流の分子として同定されたが全身ノックアウトでは胎生致死であることからその機能は未知数であり、BCR刺激自身もこれまでにCSR誘導にも関与しているのか、ただB細胞の活性化のみに関与しているのかはよくわかっていない³⁶⁾。

そこでIgEクラススイッチではNF- κ B別経路と関連があるのではないかと着想し筆者たちは解析を行っている。解析のために我々はマウスB細胞株M12にTet-Offシステムを用いてTRAF3を薬剤依存的に過剰発現させるシステムを構築した(M12-TRAF3細胞株)³⁷⁾。TRAF3はNF- κ B別経路の抑制分子であるため、このシステムによりM12におけるNF- κ B別経路の活性化抑制を容易にし、解析に用いた。Tet-Offシステムはドキシサイクリン存在下では目的タンパクの発現を抑制するがドキシサイクリンを除去することにより速やかに目的タンパクを発現させることが出来る可逆的なシステムである。

この細胞株を用いて解析を行った結果、我々はNF- κ B別経路がIgEクラススイッチを正に制御しているのではないかという知見を得ている(投稿中)。これはIgAクラススイッチをNF- κ B別経路が負に制御するという報告と矛盾しない。なぜならIgAクラススイッチを誘導する刺激はIgEクラスス

スイッチを抑制するといういくつかの報告があるためである⁴⁾。

VI. おわりに

現在、アレルギー疾患の治療は抗原の排除や抗炎症薬などの対症療法が主であり、根治療法の実現は未だ難しいのが現状である。個々の疾患で起きている炎症のメカニズムは次々と明らかになっていく一方で、IgE産生メカニズムなどの基礎研究の進捗は緩やかである。これはアレルギー疾患が遺伝的背景のみならず環境要因や個人差など複数の要因が関与するため、単純な遺伝子ノックアウト解析や過剰発現だけでは説明できない点が理由として挙げられる。

今後は将来的にアレルギー疾患の予防や根治を目指していくにあたり、これまでの各疾患へ注意を向けた研究のみならずアレルギー全般に共通する基礎研究に立ち返った新たな展開が望まれる。

参考文献

- 1) Maverakis, E., et al: Glycans in the immune system and the altered glycan theory of autoimmunity: a critical review. *Journal of Autoimmunity*. 57: 1-13, 2015.
- 2) Treanor, B.: B-cell receptor: from resting state to activate. *Immunology*. 136: 21-27, 2012.
- 3) Chaudhuri, J., et al: Class-switch recombination: interplay of transcription, DNA deamination and DNA repair. *Nature Reviews Immunology*. 4: 541-552, 2004.
- 4) Xu, Z. Immunoglobulin class-switch DNA recombination: induction, targeting and beyond. *Nature Reviews Immunology*. 12: 512-531, 2012.
- 5) Pate, M. B., et al: Regulation and dysregulation of immunoglobulin E: a molecular and clinical perspective. *Clinical and Molecular Allergy*. 8: 3, 2010.
- 6) Oettgen, H. C.: Fifty years later: Emerging functions of IgE antibodies in host defense, immune regulation, and allergic diseases. *Journal of Allergy Clinical Immunology*. 137: 1631-1645, 2016.

- 7) Schroeder, H. W., et al: Structure and function of immunoglobulins. *Journal of Allergy Clinical Immunology*. 125: S41-52, 2010.
- 8) Geha, R. S., et al: The regulation of immunoglobulin E Class-switch recombination. *Nature Reviews Immunology*. 3: 721-732, 2003.
- 9) Kawabe, T., et al: The Immune Responses in CD40-deficient mice: impaired immunoglobulin class switching and germinal center formation. *Immunity*. 1: 167-178, 1994.
- 10) Jain, A., et al: Partial immune reconstitution of X-linked hyper IgM syndrome with recombinant CD40 ligand. *Blood*. 118: 3811-3817, 2011.
- 11) Smirnov, D. V., et al: Tandem arrangement of human genes for interleukin-4 and interleukin-13: resemblance in their organization. *Gene*. 155: 277-281, 1995.
- 12) Ingram, J. L., et al: IL-13 in asthma and allergic disease: asthma phenotypes and targeted therapies. *Journal of Allergy Clinical Immunology*. 130: 829-842, 2012.
- 13) Mueller, T. D., et al: Structure, binding, and antagonists in the IL-4/IL-13 receptor system. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. 1592:237-250, 2002.
- 14) Hershey, G. K.: IL-13 receptors and signaling pathways: An evolving web. *Journal of Allergy Clinical Immunology*. 111: 677-690, 2003.
- 15) Romagnani, S.: T-cell subsets (Th1 versus Th2). *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 85: 9-18, 2000.
- 16) Maggi, E.: The TH1/TH2 paradigm in allergy. *Immunotechnology*. 3:233-244, 1998.
- 17) Santos-Pereira, J. M., et al: R loops: new modulators of genome dynamics and function. *Nature Review Genetics*. 16: 583-597, 2015.
- 18) Stavnezer, J., et al: Mechanism and Regulation of Class Switch Recombination. *Annual Review Immunology*. 26: 261-292, 2008.
- 19) Casellas, R., et al: Ku80 is required for immunoglobulin isotype switching. *The EMBO Journal*. 17: 2404-2411, 1998.
- 20) Manis, J. P., et al: Ku70 is required for late B cell development and immunoglobulin heavy chain class switching. *Journal of experimental Medicine*. 187: 2081-2089, 1998.
- 21) Yoshida, K., et al: Immunoglobulin switch circular DNA in the mouse infected with *Nippostrongylus brasiliensis*: Evidence for successive class switching from mu to epsilon via gamma 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 87: 7829-7833, 1990.
- 22) Xiong, H., et al: Sequential class switching is required for the generation of high affinity IgE antibodies. *Journal of experimental Medicine*. 209: 353-364, 2012.
- 23) Gould, H. J., et al: IgE in allergy and asthma today. *Nature Reviews Immunology*. 8: 205-217, 2008.
- 24) Goenka, S., et al: Transcriptional regulation by STAT6. *Immunologic Research*. 50: 87-96, 2011.
- 25) Snapper, C. M., et al: B Cells from p50/NF- κ B knockout mice have selective defects in proliferation, differentiation, germ-line C_H transcription, and Ig class switching. *Journal of Immunology*. 156: 183-191, 1996.
- 26) Chen, C. L., et al: RAG2^{-/-}, I κ B α ^{-/-} chimeras display a psoriasisiform skin disease. *Journal of Investigative Dermatology*. 115: 1124-1133, 2000.
- 27) Hayden, M. S., et al: NF- κ B, the first quarter-century: remarkable progress and outstanding questions. *GENES & DEVELOPMENT*. 26: 203-234, 2012.
- 28) Kaileh, M., et al: NF- κ B function in B lymphocytes. *Immunological reviews*. 246: 254-271, 2012.
- 29) Sun, S. C.: Non-canonical NF- κ B signaling pathway. *Cell Research*. 21: 71-85, 2011.
- 30) Hauer, J., et al: TRAF3 serves as an inhibitor of TRAF2/5-mediated activation of the noncanonical NF- κ B pathway by TRAF-binding TNFRs. *Proceedings of National Academy of Sciences*. 102: 2874-2879, 2005.
- 31) Xiao, G., et al: NF- κ B-inducing kinase regulates the processing of NF- κ B2 p100. *Molecular Cell*. 7: 401-409, 2001.
- 32) Tucker, E., et al: A novel mutation in the Nfkb2 gene

- generates an NF- κ B “super repressor”. *Journal of Immunology*. 179: 7514-7522, 2007.
- 33) Jin, J., et al: The kinase TBK1 controls IgA class switching by negatively regulating noncanonical NF- κ B signaling. *Nature of Immunology* 13: 1101-1109, 2012.
- 34) Inui, S., et al: Molecular cloning of a cDNA clone encoding a phosphoprotein component related to the Ig receptor-mediated signal transduction. *Journal of Immunology*. 154: 2714-2723, 1995.
- 35) Inui, S., et al: BCR signal through alpha4 is involved in S6 kinase activation and required for B cell maturation including isotype switching and V region somatic hypermutation. *International Immunology*. 14: 177-187, 2002.
- 36) Stavnezer, J., et al: IgH chain class switch recombination: mechanism and regulation. *The Journal of Immunology*. 193: 5370-5378, 2014.
- 37) 田邊 香野 et al: M12-Tet-Off pTRE2pur FLAG mTRAF3 細胞株の樹立. 熊本大学医学部保健学科 紀要. 第9号: 27-38, 2013.