

〔綜 説〕

IgE 産生の分子機構

国立病院機構相模原病院臨床研究センター

柳原行義

Key words : affinity maturation — class switch recombination — IgE synthesis

はじめに

IgE 抗体はアレルギー疾患の発症や病態形成に重要な役割を果たしており、このことはヒト型化抗 IgE 中和抗体を用いた臨床有効性からも明らかである¹⁾²⁾。抗体分子の抗原特異性、親和性成熟、アイソタイプ特異性は B 細胞分化の過程で獲得される。この過程には免疫グロブリン遺伝子の再構成による多様なレパートリー形成やクラススイッチ組換えが関与している。また、クラススイッチ組換えの誘導には、特定のサイトカインと TNF スーパーファミリー分子によるスイッチマシナリーの活性化が必要である。本稿では、B 細胞の分化と機能発現を踏まえて、IgE 産生の分子

機構について解説する。

B 細胞の分化と機能発現

B 前駆細胞は骨髄の多能性造血幹細胞に由来する。また、分化の初期段階で構成的に発現される recombination-activating gene (RAG)-1 と RAG-2 の産物は、B 細胞受容体 (BCR) として機能する免疫グロブリン重鎖と軽鎖の可変部遺伝子の再構成、すなわち V(D)J 組換えを誘導する。その結果、多様なレパートリーが形成されると共に、抗原特異性が獲得される。V(D)J 組換えを終了した段階で表面に IgM が発現され、さらに IgD を共発現した成熟 B 細胞に分化し、リンパ節や粘膜関連リンパ組織などへ移行する。

成熟 B 細胞が BCR を介して抗原を認識すると、最終的には抗体を産生する形質細胞に分化する。この最終分化の過程において可変部遺伝子の点突然変異による体細胞変異、重鎖定常部遺伝子の再構成によるクラススイッチ組換え、アポトーシスの阻止、細胞増殖によるクローンの拡大などが誘導される。このうち、体細胞変異は抗体の親和性成熟の獲得に、クラススイッチ組換えは IgM から IgG, IgA, IgE への変換を介して抗体のアイソタイプ特異性の獲得に関与している。体細胞変異とクラススイッチ組換えは全く異なった反応であるが、いずれの反応にも成熟 B 細胞に刺激発現される activation-induced cytidine deaminase (AID) が重要な働きをしている³⁾⁴⁾。実際、AID の N 末端部分が体細胞変異、C 末端部分がクラススイッチ組換えに関与している。一方、成熟 B 細胞は RAG-1 と RAG-2 の発現を停止しているが、クラススイッチ組換えを誘導するような刺激によって RAG 産物が再発現されることもある⁵⁾。再発現された RAG 産物は二次的な V(D)J 組換えを誘導し、さらに高親和性の BCR に改変されるので、RAG 産物による BCR 改変は AID による体細胞変異とは異なった様式で抗体の親和性成熟に寄与している。また、親和性成熟を獲得した抗体遺伝子

MOLECULAR MECHANISMS OF IgE SYNTHESIS

Yukiyoshi Yanagihara

Clinical Research Center, National Hospital Organization
Sagamihara Hospital

Abbreviations : **AID** activation-induced cytidine deaminase ; **APRIL** a proliferation-inducing ligand ; **BAFF** B cell activating factor belonging to the TNF family ; **BAFF-R** BAFF receptor ; **BCMA** B cell maturation antigen ; **BCR** B cell receptor ; **BlyS** B lymphocyte stimulator ; **C4BP** C4b-binding protein ; **CD40L** CD40 ligand ; **DNA-PK** DNA-dependent protein kinase ; **Id2** inhibitor of differentiation 2 ; **IKK** inhibitor- κ B kinase ; **IRS** insulin receptor substrate ; **JNK** c-Jun N-terminal kinase ; **MAPK** mitogen-activated protein kinase ; **NEMO** nuclear factor- κ B essential modulator ; **PI3K** phosphatidylinositol 3-kinase ; **PKC** protein kinase C ; **PLC** phospholipase C ; **RAG** recombination-activating gene ; **Shc** Src homologous and collagen ; **TACI** transmembrane activator and calcium modulator cyclophilin ligand interactor ; **TD** T cell-dependent ; **TI** T cell-independent ; **TRAF** tumor necrosis factor receptor-associated factor

柳原行義 : 国立病院機構相模原病院臨床研究センター
〒228-8522 相模原市桜台 18-1

E-mail : y-yanagihara@sagamihara-hosp. gr. jp

にクラススイッチ組換えが誘導され、高親和性の抗体が産生される。

IgE 産生の免疫応答

T 細胞依存性 (TD) 抗原を認識した B 細胞が Th2 細胞とコグネイト相互作用すると、IL-4/IL-13 と CD40 リガンド (CD40L, CD154) に依存して AID 発現、IgE クラススイッチ、IgE 産生が誘導される。TD 抗原に対する抗体のクラススイッチ組換えには CD40L による CD40 の活性化が必要である。実際、CD40L や CD40 の遺伝子に変異が生じると、高 IgM 症候群になる⁶⁾⁷⁾。CD40 には単球や肝細胞が産生する C4b-binding protein (C4BP) も結合するが、C4BP は IL-4/IL-13 と協同して多クローン性の IgE 産生を誘導する⁸⁾。

一方、T 細胞非依存性 (TI) 抗原を認識した B 細胞が特定の条件下で樹状細胞と接触すると、IL-4/IL-13 存在下では AID 発現、IgE クラススイッチ、IgE 産生が誘導される⁹⁾。TI 抗原に対する抗体のクラススイッチ組換えの誘導には、樹状細胞に a proliferation-inducing ligand (APRIL, CD256) や B lymphocyte stimulator (BLyS, CD257) が発現される必要がある。この発現には病原体関連分子感知受容体の Toll 様受容体ファミリー分子の活性化による IFN- α や IFN- γ のオートクリン産生が関与している。APRIL と BLyS は、CD40L と同様、TNF スーパーファミリーのメンバーである。APRIL は細胞内でフリンプロテアーゼによるプロセッシングを受けて可溶化される。BLyS は B cell activating factor belonging to the TNF family (BAFF) とよばれ、その細胞外部分はフリンプロテアーゼにより切断されて可溶化される。APRIL 受容体としては transmembrane activator and calcium modulator cyclophilin ligand interactor (TACI, CD267) と B cell maturation antigen (BCMA, CD269)、BLyS 受容体としては TACI と BCMA に加えて、BAFF receptor (BAFF-R, CD268) が同定されている¹⁰⁾¹¹⁾。いずれの受容体も、CD40 と同様、B 細胞に発現されている。また、B 細胞を IL-4、BLyS、抗 IgM 抗体の共存下で培養すると、IgE 産生が誘導される。したがって、IL-4/IL-13 を過剰産生しているアレルギー患者が病原微生物に感染した場合には、樹状細胞由来の APRIL/BLyS が TI 抗原を認識した B 細胞に IgE 産生を誘導する可能性が示唆される。

一方、IgE 抗体の親和性成熟には AID による体細胞

変異のみならず、RAG 産物による BCR 改変も関与している。AID 発現は CD40L や APRIL/BLyS の存在下においては IL-4 と IL-13 のいずれの刺激によっても誘導されるが、RAG 産物の発現は IL-4 刺激に特異的である¹²⁾¹³⁾。軽鎖可変部遺伝子の組換え認識配列は、重鎖のそれとは異なり、成熟 B 細胞に分化しても一部保存されているので⁵⁾、刺激発現された RAG 産物は軽鎖可変部遺伝子に新たな再構成を誘導し、その結果高親和性の BCR に改変される。このことは、例えば κ^+ 細胞における λ 鎖の発現を指標にして確認することができる。実際、IL-4 存在下で IgE クラススイッチと RAG 産物を誘導するような刺激を受けた κ^+ 細胞には λ 鎖を発現している IgE⁺ 細胞が検出される。したがって、IL-4 誘導性の IgE 抗体の抗原親和性は IL-13 誘導性のそれよりも高い可能性が示唆される (図 1)。

IgE クラススイッチのメカニズム

重鎖定常部遺伝子は可変部遺伝子の下流に C μ -C δ -C γ 3-C γ 1-C α 1-C γ 2-C γ 4-C ϵ -C α 2 の順に配列されている。C δ 以外の定常部遺伝子上流にはスイッチ領域があり、例えば C μ の上流には S μ 、C ϵ の上流には S ϵ が存在する。また、スイッチ領域の上流には I エクソンとそのプロモーターを含む領域が存在する。I μ プロモーターは恒常的に活性化されているのに対し、I γ 、I α 、I ϵ プロモーターは特定のサイトカインの刺激によって活性化される。I ϵ プロモーターの活性化には IL-4/IL-13 シグナルが必要であり、さらに CD40L/C4BP や APRIL/BLyS シグナルとの協調作用により S μ -S ϵ 組換えが誘導される (図 2)。

1. IL-4/IL-13 シグナル

IL-4 シグナルは IL-4 受容体 α 鎖 (IL-4R α) と IL-2R γ (γ c) や IL-13R α 1 とのヘテロダイマー、IL-13 シグナルは IL-13R α 1 と IL-4R α とのヘテロダイマーを介して伝達される。これらの受容体サブユニットには JAK ファミリー分子が結合しており、IL-4/IL-13 刺激によって、まず IL-4R α がチロシンリン酸化され、次いで STAT6 のチロシンリン酸化、ホモダイマー形成、核内移行に続いて I ϵ プロモーターが活性化される。

I ϵ プロモーターには STAT6 のみならず、E2A、C/EBP、PU.1、NF- κ B、Pax5 などに対する結合配列も存在する。これらの転写因子のうち、PU.1 は IL-4R α に会合するアダプター分子を介して活性化される¹⁴⁾。IL-4R α にはインスリン受容体と相同性を示す insulin/

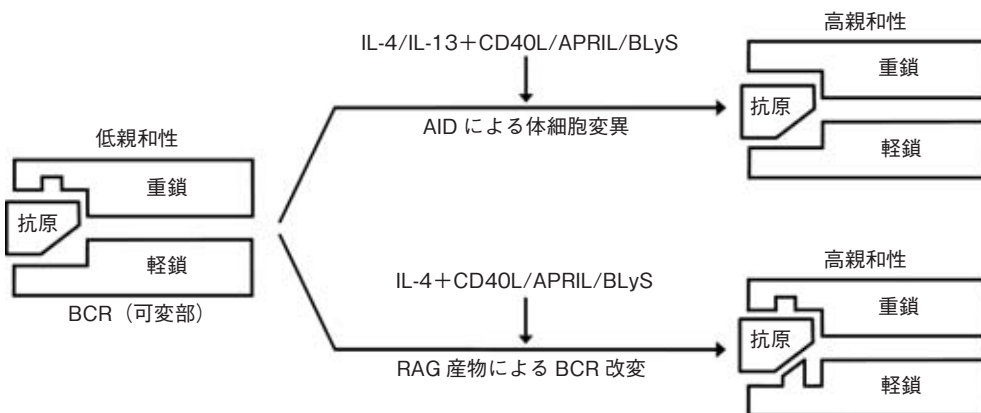
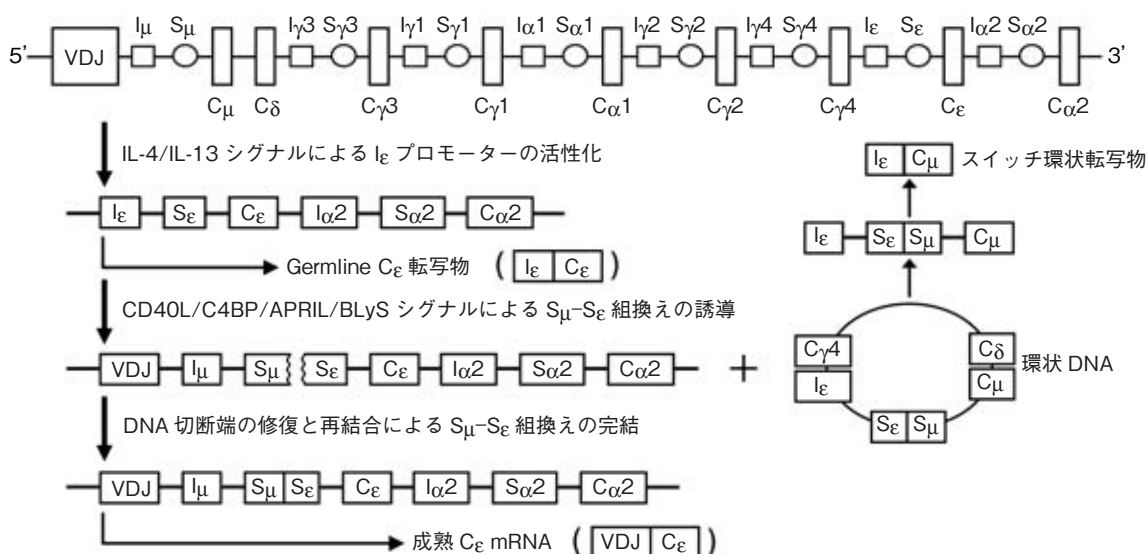


図1. IgE 抗体の親和性成熟に対する IL-4 と IL-13 の作用.

図2. 重鎖定常部遺伝子の配列と S_{μ} - S_{ϵ} 組換えの誘導機序.

IL-4 receptor とよばれる領域が存在する. この領域の Asn-Pro-X-Tyr モチーフには phosphotyrosine binding ドメインをもつ insulin receptor substrate (IRS) や Src homologous and collagen (Shc) などのアダプター分子が会合する. さらに, IRS の Tyr-X-X-Met モチーフには PI3K が会合するし, また Shc の CH ドメインには PLC γ 1 が会合するので, PI3K や PLC γ 1 の脂質産物に依存して PKC アイソザイムが活性化される. IL-4/IL-13 刺激によっては細胞内 Ca^{2+} 濃度は上昇しないので, Ca^{2+} 非依存性の PKC δ と PKC ζ の活性化を介して核内に発現されている PU.1 がトレオニンリン

酸化される. その結果, PU.1 は STAT6 と協調して I ϵ プロモーターを効率よく活性化する. 最終的には, I ϵ , S ϵ , C ϵ をコードしている DNA が RNA に転写されると共に, S ϵ がスプライシングされて I ϵ と C ϵ が連結した germline C ϵ 転写物が発現される. また, スプライシングされた S ϵ RNA は S ϵ DNA と安定なハイブリッドを形成するので¹⁵⁾, このハイブリッド中の RNA がリボヌクレアーゼで切断されることによってスイッチ組換え酵素の標的となる S ϵ DNA 高次構造が形成される.

一方, I ϵ プロモーターの活性化は IFN- γ , IL-21,

TGF- β , CpG DNA などによって負の制御を受ける^{16)–20)}。例えば, TGF- β は塩基性ヘリックスループヘリックス型の転写因子に結合する inhibitor of differentiation 2 (Id2) の発現を誘導する。このような転写因子には I ϵ プロモーターに結合する E2A や Pax5 などが知られているので, Id2 は E2A と Pax5 の機能を阻害することにより I ϵ 転写を抑制する。

2. CD40L/C4BP と APRIL/BLyS シグナル

CD40L/C4BP 共通シグナルは CD40, APRIL/BLyS 共通シグナルは TACI/BCMA, BLyS 特異的シグナルは BAFF-R を介して伝達される。CD40 には TRAF 2, 3, 5, 6, TACI には TRAF2, 5, 6, BCMA には TRAF1, 2, 3, 5, 6, BAFF-R には TRAF3 が会合している¹⁰⁾²¹⁾²²⁾。これらの TRAF 分子の下流には MAPK カスケードを介して活性化される NF- κ B, Elk-1, c-Jun などが位置している。このうち, NF- κ B の活性化には IKK $\alpha\beta\gamma$ -NF- κ B1 経路や IKK $\alpha\alpha$ -NF- κ B2 経路が関与している。IKK α と IKK β は IKK 複合体の触媒サブユニットであるが, IKK γ はその制御サブユニットであるので, NF- κ B essential modulator (NEMO) ともよばれている。また, NF- κ B は STAT6 と協調して I ϵ プロモーターの活性化を増強する。さらに, AID 遺伝子のプロモーターにも STAT6, NF- κ B, Pax5 などに対する結合配列が存在するので²³⁾²⁴⁾、これらの転写因子を介して AID の発現が誘導される。AID の下流にはスイッチ組換え酵素が位置していると考えられているので、体細胞変異や BCR 改変によって親和性成熟を獲得した抗体遺伝子に S μ -S ϵ 組換えが誘導される。この組換えに伴って, S μ と S ϵ の間に存在する遺伝子群は環状 DNA として染色体上からループアウトされる。また、環状 DNA 中の I ϵ /S ϵ /S μ /C μ 領域が RNA に転写されると, S ϵ /S μ がスプライシングされて I ϵ と C μ が連結したスイッチ環状転写物が発現される²⁵⁾。このような環状転写物の発現は p38 阻害剤や JNK 阻害剤によって抑制される²⁶⁾²⁷⁾。また, AID や IKK γ /NEMO の遺伝子変異は高 IgM 症候群の原因になる^{28)–30)}。

一方、クラススイッチ組換えに際して切断された DNA の修復や再結合の過程には Ku70/80, DNA-PK, DNA ligase IV などが関与している。このうち, DNA 切断端に結合する Ku70/80 は DNA-PK を活性化することによって修復過程に作用する。Ku70/80 は無刺激の状態では細胞質に局在し、また CD40 には

その膜近位部位に会合している³¹⁾。そして, IgE クラススイッチを誘導するような IL-4 と抗 CD40 抗体の刺激によって Ku70/80 は CD40 から解離して核内に移行し, DNA-PK を活性化する。同様の結果は IL-4 と BLyS の刺激によっても得られるので¹³⁾、APRIL/BLyS 受容体にも Ku70/80 は会合していると推察される。最近, TACI と BAFF-R の活性化がクラススイッチ組換えに関与していることが示されている³²⁾。IgE クラススイッチの誘導刺激による Ku70/80 の核内移行と DNA-PK の活性化は, S μ /S ϵ 切断端の修復に関与する。さらに, 修復された S μ と S ϵ は DNA ligase IV によって再結合し, IgE クラススイッチが完結する。最終的には, RNA 転写とスプライシングにより成熟 C ϵ mRNA が発現され, IgE の重鎖に翻訳される。

おわりに

以上、アレルギー疾患の原因抗体である IgE の親和性成熟とアイソタイプ特異性の獲得機序を中心に解説した。抗原特異的な IgE 産生の誘導には BCR 架橋に加えて, IL-4/IL-13 シグナルと CD40L/APRIL/BLyS シグナルとの協調作用による IgE クラススイッチマシナリーの活性化が必要である。このマシナリーは断片的には解明されているが、スイッチ組換え酵素の実体を含めて全容はまだ不明であるので、今後の進展を期待したい。

文 献

- 1) Busse W, Corren J, Lanier BQ, McAlary M, Fowler-Taylor A, Cioppa GD, et al. Omalizumab, anti-IgE recombinant humanized monoclonal antibody, for the treatment of severe allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 184–90.
- 2) Plewako H, Arvidsson M, Petruson K, Oancea I, Holmberg K, Adelroth E, et al. The effect of omalizumab on nasal allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 68–71.
- 3) Honjo T, Kinoshita K, Muramatsu M. Molecular mechanisms of class switch recombination: linkage with somatic hypermutation. *Annu Rev Immunol* 2002; 20: 165–96.
- 4) Shinkura R, Ito S, Begum NA, Nagaoka H, Muramatsu M, Kinoshita K, et al. Separate domains of AID are required for somatic hypermutation and class-switch recombination. *Nat Immunol* 2004; 5: 707–12.

- 5) Kelsoe G. V. (D) J hypermutation and receptor revision : coloring outside the line. *Curr Opin Immunol* 1999 ; 11 : 70-5.
- 6) Allen RC, Armitage RJ, Conley ME, Rosenblatt H, Jenkins NA, Copeland NG, et al. CD40 ligand gene defects responsible for X-linked hyper-IgM syndrome. *Science* 1993 ; 259 : 990-3.
- 7) Ferrari S, Giliani S, Insalaco A, Al-Ghonaïum A, Soresina AR, Loubser M, et al. Mutations of CD40 gene cause an autosomal recessive form of immunodeficiency with hyper IgM. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 12614-9.
- 8) Brodeur SR, Angelini F, Bacharier LB, Blom AM, Mizoguchi E, Fujiwara H, et al. C4b-binding protein (C4BP) activates B cells through the CD40 receptor. *Immunity* 2003 ; 18 : 837-48.
- 9) Litinskiy MB, Nardelli B, Hilbert DM, He B, Schaffer A, Casali P, et al. DCs induce CD40-independent immunoglobulin class switching through BLyS and APRIL. *Nat Immunol* 2002 ; 3 : 822-9.
- 10) Marsters SA, Yan M, Pitti RM, Haas PE, Dixit VM, Ashkenazi A. Interaction of the TNF homologues BLyS and APRIL with the TNF receptor homologues BCMA and TACI. *Curr Biol* 2000 ; 10 : 785-8.
- 11) Thompson JS, Bixler SA, Qian F, Vora K, Scott ML, Cachero TG, et al. BAFF-R, a newly identified TNF receptor that specifically interacts with BAFF. *Science* 2001 ; 293 : 2108-11.
- 12) Kajiwar K, Shinazawa M, Morishima H, Yanagihara Y. Differential effect of IL-4 and IL-13 on the expression of recombination-activating genes in mature B cells from human peripheral blood. *Cell Immunol* 2004 ; 227 : 121-8.
- 13) Yanagihara Y. Regulatory mechanisms of IgE synthesis by human B cells. *Clin Exp Allergy Rev.* 2006 ; In press.
- 14) Ikizawa K, Kajiwar K, Izuhara K, Yanagihara Y. PKC δ and ζ mediate IL-4/IL-13-induced germline ϵ transcription in human B cells : A putative regulation via PU.1 phosphorylation. *Biochem Biophys Res Commun* 2001 ; 288 : 34-41.
- 15) Tracy RB, Hsieh CL, Lieber MR. Stable RNA/DNA hybrids in the mammalian genome : Inducible intermediates in immunoglobulin class switch recombination. *Science* 2000 ; 288 : 1058-61.
- 16) Yasukawa H, Sasaki A, Yoshimura A. Negative regulation of cytokine signaling pathways. *Annu Rev Immunol* 2000 ; 18 : 143-64.
- 17) Suto A, Nakajima H, Hirose K, Suzuki K, Kagami S, Seto Y, et al. Interleukin 21 prevents antigen-induced IgE production by inhibiting germ line C ϵ transcription of IL-4-stimulated B cells. *Blood* 2002 ; 100 : 4565-73.
- 18) Sugai M, Gonda H, Kusunoki T, Katakai T, Yokota Y, Shimizu A. Essential role of Id2 in negative regulation of IgE class switching. *Nat Immunol* 2003 ; 4 : 25-30.
- 19) Liu N, Ohnishi N, Ni L, Akira B, Bacon KB. CpG directly induces T-bet expression and inhibits IgG1 and IgE switching in B cells. *Nat Immunol* 2003 ; 4 : 687-93.
- 20) Kusunoki T, Sugai M, Gonda H, Nambu Y, Nagata-Nakajima N, Katakai T, et al. CpG inhibits IgE class switch recombination through suppression of NF-kappa B activity, but not through Id2 or Bcl6. *Biochem Biophys Res Commun* 2005 ; 328 : 499-506.
- 21) Kayagaki N, Yan M, Seshasayee D, Wang H, Lee W, French DM, et al. BAFF/BLyS receptor 3 binds the B cell survival factor BAFF ligand through a discrete surface loop and promotes processing of NF- κ B2. *Immunity* 2002 ; 17 : 515-24.
- 22) Mackay F, Schneider P, Rennert P, Browning J. BAFF and APRIL : a tutorial on B cell survival. *Annu Rev Immunol* 2003 ; 21 : 231-64.
- 23) Chaudhuri J, Tian M, Khuong C, Chua K, Pinaud E, Alt FW. Transcription-targeted DNA deamination by the AID antibody diversification enzyme. *Nature* 2003 ; 422 : 726-30.
- 24) Gonda H, Sugai M, Nambu Y, Katakai T, Agata Y, Mori KJ, et al. The balance between Pax5 and Id2 activities is the key to AID gene expression. *J Exp Med* 2003 ; 198 : 1427-37.
- 25) Kinoshita K, Harigai M, Fagarasan S, Muramatsu M, Honjo T. A hallmark of active class switch recombination : transcripts directed by I promoters on looped-out circular DNAs. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 12620-623.
- 26) Geha RS, Jabara HH, Brodeur SR. The regulation of immunoglobulin E class-switch recombination. *Nat Rev Immunol* 2003 ; 3 : 721-32.
- 27) Yamada T, Zhang K, Yamada A, Zhu D, Saxon A. B lymphocyte stimulator activates p38 mitogen-activated protein kinase in human Ig class switch recombination. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005 ; 32 : 388-94.
- 28) Revy P, Muto T, Levy Y, Geissmann F, Plebani A, Sanal O, et al. Activation-induced cytidine deaminase (AID) deficiency causes the autosomal re-

- cessive form of the hyper-IgM syndrome (HIGM 2). *Cell* 2000 ; 102 : 565–75.
- 29) Jain A, Ma CA, Liu S, Brown M, Cohen J, Strober W. Specific missense mutations in NEMO result in hyper-IgM syndrome with hypohydrotic ectodermal dysplasia. *Nat Immunol* 2001 ; 2 : 223–8.
- 30) Kasahara Y, Kaneko H, Fukao T, Terada T, Asano T, Kasahara K, et al. Hyper-IgM syndrome with putative dominant negative mutation in activation-induced cytidine deaminase. *J Allergy Clin Immunol* 2003 ; 112 : 755–60.
- 31) Morio T, Hanissian SH, Bacharier LB, Teraoka H, Nonoyama S, Seki M, et al. Ku in the cytoplasm associates with CD 40 in human B cells and translocates into the nucleus following incubation with IL-4 and anti-CD40 mAb. *Immunity* 1999 ; 11 : 339–48.
- 32) Castigli E, Wilson SA, Scott S, Degeoglu F, Xu S, Lam KP, et al. TACI and BAFF-R mediate isotype switching in B cells. *J Exp Med* 2005 ; 201 : 35–9.
-