Interleukin 3, IL-3

東 田 修 二*

I. 発見の経緯

Interleukin-3 (IL-3) は, 1981 年, 米国国立癌研究所において Ihle らが, T 細胞の初期分化に関わる液性因子として発見した¹⁾. 20α -hydroxysteroid dehydrogenase (20α -SDH) とは, T 細胞の成熟過程で発現する酵素であるが, 彼らは, ConA や PHA で刺激されたマウス脾細胞の培養上清中に, 20α -SDH をかくヌードマウス脾臓 T 細胞に作用して 20α -SDH の発現を誘導する因子が含まれていることを見出した. 彼らは, これが前駆 T 細胞に作用して, その分化を誘導する因子と考え, IL-3 と命名した. その後, この蛋白が精製され, cDNA がクローニングされると, 他の研究者によって命名され報告された肥満細胞増殖因子, ヒスタミン産生細胞刺激因子, マルチコロニー刺激因子 (multi-CSF) などと同一の分子であることがわかった. すなわち, IL-3 は, T 細胞だけに対する刺激因子ではなく, あらゆる系統の造血系細胞に作用するサイトカインである.

II. 分子構造

ヒト IL-3 は, 133 個のアミノ酸からなる分子量 28 kDa の糖蛋白質である²⁾. 2 個の糖鎖結合可能なアミノ酸残基と, 一つのジスルフィド結合を形成する二つのシステイン残基を有している. 他のサイトカインとのアミノ酸のホモロジーはないが, 交差する長いループをもつ四つの α ヘリックスからなる立体構造は, IL-2, IL-4, GM-CSF などと類似している (Fig. 1). マウス IL-3 は 140 個のアミノ酸からなるが, ヒトとマウス間のアミノ酸配列の相同性はわずか 29% しかない^{3,4)}.

Fig. 1 IL-3 の立体構造 (左) と IL-3 受容体 (右). (文献 10 より引用)

III. 遺伝子

ヒトおよびマウスの IL-3 遺伝子は, それぞれ第 5 染色体長腕 (5q23-31), 第 11 染色体に存在する⁵⁾. いずれも, 約 3 kb の長さで, 5 個のエクソンと 4 個のイントロンからなり, 約 0.9 kb の mRNA に転写される (Fig. 2). ヒトでは, 第 5 染色体長腕に造血に関連する因子の遺伝子が集中しており, IL-3 遺伝子から 9 kb 以内には, GM-CSF 遺伝子が存在し, この他にこの近くには, IRF-1, IL-4, IL-5, PDGF 受容体, M-CSF 受容体, IL-9 などの遺伝子が存在している. こうした近縁の遺伝子の集簇は, これらの遺伝子が共通の遺伝子から重複して進化したものと考えられている. IL-3 遺伝子は, 感染症などで, 生体が緊急に多くの血液細胞を必要とするときに, 抗原刺激をうけて活性化した T 細胞で発現される. 恒常的な発現は認められない. なお, *in vitro* では, マウス骨髄単球性白血病細胞株 WEHI-3 が恒常的に IL-3 を産生しており, その培養上清は IL-3 に関する実験に多用されている.

* 東京医科歯科大学臨床検査医学講座

Shuji Tohda: Department of Laboratory Medicine, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan.

Key words: Interleukin 3, Pluripotent stem cell, Hematopoietic factor, Inductive hematopoiesis

原稿受取日: 1997 年 2 月 14 日

Fig. 2 IL-3 遺伝子の構造。

IV. 生理的機能

1) IL-3 の生物活性

IL-3 は造血に関するあらゆる系統の細胞に対して作用を有する (Fig. 3)。IL-3 は骨髄の多能性造血幹細胞や造血前駆細胞に働き、好中球、好酸球、好塩基球、肥満細胞、単球/マクロファージ、巨核球、赤芽球といった各系統の血液細胞への分化、増殖を刺激する⁹⁾。また、IL-3 が作用することによりアポトーシスが抑制され、細胞の生存を維持する働きもある。IL-3 は各系統の血液細胞への最終的な分化段階まで誘導しうが、単独ではその効果は弱く、各系統の血液細胞の産生には、各系統に特異的に働く造血因子が共同して作用する必要がある。たとえば、好中球産生には G-CSF が、好酸球産生には IL-5 が必要である。なお、IL-3 は赤血球への最終分化は誘導できないが、エリスロポエチンに反応する赤芽球の段階まで分化増殖を誘導しう。リンパ球系に対する作用に関してはいろいろな報告がなされている。多能性幹細胞から pro-B 細胞、pro-T 細胞までの分

化段階では IL-3 は作用する⁹⁾が、それ以降の分化段階の B 細胞、T 細胞には作用しないとするものが多い。正常細胞ではないが、われわれは、B 細胞性の患者白血病細胞で、IL-3 に反応して増殖する症例を見出し、IL-3 依存性に増殖する細胞株を樹立した⁹⁾。

このように、IL-3 は、造血系に多彩な作用をもっているが、定常状態における構成的造血にはあまり関与しておらず、感染症などにおける誘導的造血のみに関与していると考えられている。その根拠として、定常状態では IL-3 遺伝子は発現していないこと、構成的造血にもっとも重要な造血支持細胞である骨髄ストローマ細胞からは IL-3 は産生されていないことがあげられる。また、IL-3 遺伝子を人為的に破壊した IL-3 ノックアウトマウスでも、造血機能は正常であったとされている⁹⁾。この説明として、サイトカインには、機能重複性という性質があり、IL-3 の持つ種々の作用のうち、それぞれ一部の作用をもつ他のサイトカインが共同することにより、IL-3 の欠失を補っている可能性が考えられる。

こうした IL-3 の生物活性に関する知見の多くは、骨髄細胞を IL-3 を添加した半固形培地内で培養し、形成されてくるコロニーを観察することにより得られてきた。コロニー形成能を指標とすると、IL-3 は 5-10 ng/ml の濃度で最大刺激効果をもたらす。

2) IL-3 受容体 (IL-3R)

IL-3R, GM-CSFR, IL-5R は α , β の二つのサブユニットから構成されている (Fig. 1)。 α -サブユニットは、各サイトカインに対して特異的であり、各サイトカインに低親和性に結合する。 β -サブユニットはこれら三つに共通であり、 βc (beta common) と呼ばれる。 βc は単独ではリガンドと結合しないが、 α -サブユニットとヘテロダイマーを形成す

Fig. 3 血球分化と造血因子。

ると、高親和性の受容体となる。 βc の細胞内領域は、これらのサイトカインのシグナル伝達に必須の部分であるが、これ自体にはキナーゼ領域は有していない。なお、マウスでは、 βc の他に、IL-3に特異的な β -サブユニットが存在するため、2種類の受容体が形成されることになる¹⁰⁾。

3) IL-3シグナル伝達

IL-3がその受容体に結合すると、すみやかに種々の細胞内蛋白が連鎖的にリン酸化を受け、情報を核内に伝える¹⁰⁾。この蛋白リン酸化の経路として、JAK-STAT系とRas-MAPK系が重要である (Fig. 4)。IL-3Rの β -サブユニットにはJAK2が結合しており、IL-3が受容体に結合すると、JAK2が活性化され、JAK2自身とIL-3Rのチロシンリン酸化をおこす。さらに、JAK2は近傍にきたSTAT5にチロシンリン酸化をおこし、リン酸化されたSTAT5はダイマーを形成して核に移行し、転写因子として働く¹¹⁾。一方、IL-3が受容体に結合すると、アダプター分子Grb2を介してRasが活性化され、続いてRaf、MAPKKが活性化され、最後にMAPキナーゼが活性化される。活性化したMAPキナーゼは核へ移行し、種々の転写因子を制御することにより、細胞増殖などに作用する。なお、この分野は現在、研究の進展が著しく、近い将来上記の内容も変わってくると思われる。

V. 測定法の原理と正常値

IL-3の測定には、ELISA法が用いられている。測定原理は、抗IL-3単クローン抗体を固相化したウェルに、血清や細胞培養上清などの検体を入れ、検体中のIL-3を抗体で捕獲する。さらに、酵素標識した抗IL-3単クローン抗体を反応させて、IL-3を抗体によるサンドイッチ状態にする。洗浄後、基質液を加え発色させて、吸光度を測定する。濃度既知の標準液の吸光度から検量線を作成し、これにあてはめて検体の濃度を求める。測定キットが数社から販売され

ている。検出感度は、12.5 pg/ml程度である。前述のように、IL-3は定常状態では産生されていないので、血清中の正常値は、検出感度以下であるといえる。

VI. 病理的ないし臨床的意義

現在のところ、IL-3の産生過剰や産生低下に起因する疾患は知られていない。一部の骨髓異形成症候群 (MDS) や急性骨髄性白血病の細胞には、第5染色体長腕の部分欠失が認められることがある。前述のように、この領域にはIL-3など造血に関与する因子の遺伝子が集中していることから、これらの遺伝子の欠失とMDSや白血病の発症との関連が検討されてきた⁹⁾。最近、第5染色体長腕の部分欠失を示す多数の検体の遺伝子レベルでの検討により、これらの検体に共通して欠失している遺伝子はIRF-1遺伝子であることがわかり、MDSや白血病の発症に重要なのは、IRF-1遺伝子の欠失であると考えられている¹²⁾。

IL-3はあらゆる造血系細胞に働く造血因子として、その臨床応用が期待されている¹³⁾。わが国でも、1992年に、悪性腫瘍患者への抗癌剤投与後に生じる骨髓抑制の回復促進、および再生不良性貧血や骨髓異形成症候群患者の血球増加を目的としたIL-3投与の臨床試験が開始された。その効果として、白血球数増加や血小板数増加を認める症例がある。副作用として、発熱、関節痛、頭痛や、好酸球や好塩基球増加によると考えられるアレルギー様の症状がみられている。なお、IL-3は造血前駆細胞に作用するのと同様に、それらが腫瘍化したものである白血病細胞に対しても作用し、その増殖を刺激する¹⁴⁾可能性もあるため、白血病患者に投与するさいは、注意が必要である。

なお、IL-3と動脈硬化との関連に関しては、検索した限りでは報告はない。

文 献

- 1) Ihle JN, Pepersack L, and Rebar L: Regulation of T cell differentiation: in vitro induction of 20 alpha-hydroxysteroid dehydrogenase in splenic lymphocytes from athymic mice by a unique lymphokine. *J Immunol*, 126: 2184-2189, 1981
- 2) Yang YC, Ciarletta AB, Temple PA, Chung MP, Witek-Giannotti JS, Leary AC, Kriz R, Donahue RE, and Wong GG: Human IL-3 (Multi-CSF): Identification by expression cloning of a novel hematopoietic growth factor related to murine IL-3. *Cell*, 47: 3-10, 1986
- 3) Fung MC, Hapel AJ, Ymer S, Cohen DR, Johnson RM, Campbell HD, and Young IG: Molecular cloning of cDNA for murine interleukin-3. *Nature*, 307: 233-237, 1984
- 4) Yokota T, Lee F, Rennick D, Hall C, Arai N, Mosmann T, Nabel G, Cantor H, and Arai K: Isolation and

Fig. 4 IL-3のシグナル伝達.

- characterization of a mouse cDNA clone that expresses mast-cell growth-factor activity in monkey cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 81 : 1070-1074, 1984
- 5) Le Beau MM, Epstein ND, O'Brien SJ, Nienhuis AW, Yang YC, Clark SC, Rowley JD : The interleukin 3 gene is located on human chromosome 5 and is deleted in myeloid leukemias with a deletion of 5q. *Proc Natl Acad Sci USA*, 84 : 5913-5917, 1987
 - 6) Suda T, Suda J, Ogawa M, and Ihle JN : Permissive role of interleukin 3 in proliferation and differentiation of multipotential hemopoietic progenitors in culture. *J Cell Physiol*, 124 : 182-190, 1985
 - 7) Sideras P and Placios R : Bone marrow pro-T and pro-B lymphocyte clones express functional receptors for interleukin 3 (IL 3) and IL 4/BSF-1 and nonfunctional receptors for IL 2. *Eur J Immunol*, 17 : 217-221, 1987
 - 8) Tohda S, Nara N, Murohashi I, and Aoki N : Establishment of an interleukin-3-dependent leukemic cell line from a patient with chronic lymphocytic leukemia in the acute phase. *Blood*, 78 : 1789-1794, 1991
 - 9) Nishinakamura R, Miyajima A, Mee PJ, Tybulewicz VLJ, and Murray R : Hematopoiesis in mice lacking the entire granulocyte-macrophage colony-stimulating factor/interleukin-3/interleukin-5 function. *Blood*, 88 : 2458-2464, 1996
 - 10) Miyajima A, Mui AL, Ogorochi T, and Sakamaki K : Receptors for granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, interleukin-3, interleukin-5. *Blood*, 82 : 1960-1974, 1993
 - 11) Mui AL, Wakao H, O'Farrell AM, Harada N, and Miyajima A : Interleukin-3, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and interleukin-5 transduce signals through two STAT5 homologs. *EMBO J*, 14 : 1166-1175, 1995
 - 12) Willman CL, Sever CE, Pallavicini MG, Harada H, Tanaka N, Slovak ML, Yamamoto H, Harada K, Meeker TC, and List AF : Deletion of IRF-1, mapping to chromosome 5q 31.1, in human leukemia and preleukemic myelodysplasia. *Science*, 259 : 968-971, 1993
 - 13) Haffman R : Interleukin-3 : a potentially useful agent for treating chemotherapy-related thrombocytopenia. *J Clin Oncol*, 11 : 2057-2060, 1993
 - 14) Budel LM, Touw IP, Delwel R, Clark SC, and Lowenberg B : Interleukin-3 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptors on human acute myelocytic leukemia cells and relationship to the proliferative response. *Blood*, 74 : 565-571, 1989