

「生命活動のプログラム」
平成7年度採択研究代表者

新井 賢一

(東京大学医科学研究所 所長・教授)

「細胞増殖における染色体複製の型の多様性と 複製装置の活性化の分子機構」

1. 研究実施の概要

研究の狙い

細胞複製機構の解明は、細胞増殖制御の分子機構を理解するために必須であるだけでなく、個体の発生、分化、恒常性の維持など基本的な生命現象の理解、さらには癌など、細胞増殖異常によって引き起こされる数々の疾患の分子基盤を理解するためにも重要である。本研究では細胞増殖における複製活性化機構を解明することを目的として、大腸菌、酵母、動物細胞を材料として研究をすすめてきた。とくに、増殖因子による複製誘導の細胞内シグナル伝達機構、複製起点での複製装置の活性化の分子機構、また環境変化、特にDNA損傷因子などによる複製の一時的停止により誘導される新規な複製様式の解析、種々の細胞型における複製や転写の様式の多様性についての分子基盤について明かにすることを目標にしている。

これまでの研究の概要

サイトカインによりその増殖分化が制御される血液、免疫細胞をモデル系として用いて増殖因子による複製誘導の分子機構を解析してきた。また、複製起点の活性化機構を解明するために複製装置の活性化因子を同定し解析した。またDNA損傷による組み換え依存性の複製機構を解析した。さらに、細胞型、あるいは組織によって変化する複製、転写の様式についてその分子基盤について免疫担当T細胞をモデル系として解析した

成果

これまでにサイトカイン受容体の変異体の解析から、サイトカインに応答して複製を開始するために必要な受容体の領域を決定し、そこに会合するチロシンキナーゼJAK2の重要性を示した。さらに、サイトカインに応答して複製誘導に関与する新規細胞内シグナル伝達分子を同定し、解析している。また、動物細胞の新規のリン酸化酵素(Cdc7類似キナーゼ)を同定しこれが、複製起点で複製装置の活性化を触媒する重要な制御因子であることを示した。また、DNA損傷や複製停

止によって誘導される組み換え依存性の複製機構について解析した。さらに、2種類のT細胞(Th1とTh2)における転写と複製活性化の制御機構を解析し、Th2特異的に発現されるサイトカイン遺伝子領域に細胞型特異的な染色体構造が存在することを示した。

今後の見通し

単離されたシグナル伝達分子を用いてサイトカイン受容体の複製誘導のより詳細な分子機構を解析をすすめるとともに、Cdc7キナーゼによる複製装置活性化に至る分子機構の全貌を明かにすることを旨とする。また、DNA損傷により誘導される組み換え依存性複製の機構と生理的意義について真核細胞において検討する。細胞種特異的な染色体構造の変化と、転写と複製の活性化の機能的連関について明かにする。これらの努力により複製装置活性化の一般的な分子機構とともに、環境変化に伴う複製様式の変化、さらに細胞種特異的な複製と転写を可能にする分子基盤が明かになることが期待される。本研究の応用的側面として、同定されたシグナル伝達分子の改変による幹細胞の増殖と分化の人為的操作法の開発、DNA複製に特異的に関与するCdc7類似キナーゼを標的とした、阻害分子の探索とその抗癌剤としての応用を目指している。また、Th1-Th2細胞群のバランスの異常はアレルギーや自己免疫疾患などを起こすことが知られており、ナイーブT細胞からTh1-Th2細胞への分化のしくみの解明はこれらの疾患の発症機序の解明、さらには治療法の開発につながることを期待される。

2. 研究実施内容

サイトカイン受容体による染色体複製誘導のシグナル伝達機構の解析(図1)

平成10年度までにサイトカイン受容体の一種であるGM-CSF受容体の種々の変異体を作成し、血液、線維芽細胞などに再構成し、その生物活性、シグナル伝達について検討を加えた。その結果、細胞増殖、抗アポトーシスなどのすべての活性にJAK2が必須であることがあきらかになった。さらにPI3-K、Shc、SHP-2、MAPK cascadeなど種々の細胞内シグナル伝達分子・経路の活性化を検討するとこれらのすべての活性化にJAK2が必要であった。GM-CSF受容体鎖細胞内に存在する8個のチロシン残基は種々のシグナル伝達分子の活性化に必須あるいは重複した機能を果たしているが、増殖すなわち複製促進には必須ではないことを明らかにした。さらに、細胞の生存にはMEK1を介する経路、あるいはチロシンキナーゼ阻害剤であるゲニスタインに感受性の経路のいずれかがあれば十分であることなどを示した。さらに、増殖に重要であるGM-CSF受容体膜貫通領域直下部分(box1/box2)に会合する分子あるいは特定の領域によって発現が誘導される遺伝子を複数単離し、その発現パターンなどについて解析を加えた。box1/box2に会合することで単離されたMAD2はG2/M期の細胞周期の進行に重要であることが知られている分子で現在ど

のようにGM-CSFがこの分子の制御を介して細胞周期に関与しているのか検討を加えている。さらにGyrase、Estrogen receptorなどを用いてJAK2、STATなどの分子との融合たんぱく質を作成すると二量体化を誘導することにより、活性化が起こり種々の細胞応答を引き起こすことが明らかになった。人為的二量体化システムはいくつか報告されているが我々はDNAgyraseBのシステムに加え、我々が独自に開発したhGM-CSF受容体鎖細胞外領域と膜貫通領域を利用した系を用いた。DNAgyraseJAK2はSTAT5の強い活性化を起すが細胞の生存、増殖などは維持することができない一方、鎖JAK2はMAPK、STAT5ともに活性化が起こらないのに対し、c-mycの活性化、細胞の生存のみならず増殖も起こることが明らかになった。このことはJAK2を活性化する際の細胞での局在が異なることによってフェノタイプがことなることを示唆している。従って、JAK2の基質であるシグナル伝達分子の細胞内の局在がことなっていることが予測された。今後この系を用いて細胞増殖に必要なシグナル伝達経路が明らかになることが期待される。この手法を応用して平成11年度は二量体化システムを用いてライブラリーを作成して機能的な遺伝子クローニングを試みた。すなわちDNAgyrase、鎖、Estrogen reseptorにそれぞれ融合たんぱく質としてcDNAライブラリーを作製し、BA/F3細胞あるいはマウス骨髄細胞にライブラリーを導入し、細胞増殖、生存、E2F遺伝子活性化、抗アポトーシス、コロニーアッセイなどを指標として遺伝子の単離を試みた。現在複数のクローンが単離され解析を進めている。このうちの一つはヒストンアセチル化酵素(HAT1)のマウスホモログであることが明らかになった。この遺伝子はマウスBA/F細胞にガンマ線照射したときにアポトーシスを起さない株より単離されてきた。HAT1はヒストンH3, H4のアセチル化を行うことがイーストでは示唆されている。ヒストンH3, H4ともに細胞の生存能に関与することも示唆されており、この酵素のサイトカインシグナルにおける役割について検討を行う。平成10年度までにGM-CSF、G-CSF受容体のトランスジェニックマウスを作成し血液学的解析を進めてきた。その結果にもとずき平成11年度はhGM-CSF受容体変異体Fall (B6, C3Hマウス) ・ 、キメラ受容体(C3Hマウス)およびトランスジェニックマウスを作成した。後者は細胞外部部分が ・ で、高親和性にhGM-CSFに結合するが細胞内部分は の二量体で鎖の細胞内部分を持たない。このトランスジェニックマウスが野生型のGM-CSF受容体を発現させたマウスと同様の表現型を示したことからin vivoにおいても鎖の細胞内部分は不要であることが明らかになった。

複製装置を活性化するCdc7類似キナーゼ複合体の解析とDNA損傷により誘導される組み換え依存性のDNA複製機構(図2、3)

われわれは数年前から真核細胞の染色体複製制御機構の一般像を明かにするために、出芽酵母において複製開始に必須であることが明らかになっていたCdc7-Dbf4キ

ナーゼ複合体に類似した制御因子が、より高等な真核生物においても存在するかどうかを検討してきた。平成10年度までに、触媒サブユニットであるCdc7類似遺伝子をヒトを含む各種真核生物から単離し、その機能解析を行い、さらに分裂酵母とヒトのCdc7ホモログ（触媒サブユニット；それぞれHsk1およびhuCdc7）の活性制御サブユニット（それぞれHim1およびASK）を単離したその機能解析をおこなってきた。平成11年度は、これら単離されたCdc7類似キナーゼ複合体による染色体複製制御の分子機構を明かにし、さらに高等生物の増殖分化を制御するシグナル伝達ネットワークにおける位置づけを解明することを試みた。また、停止した複製フォークを認識すると考えられるPriAタンパク質の機能ドメインの解析および真核細胞ホモログの探索を行った。（図3）

1) マウス胚性幹細胞を用いてCdc7遺伝子の誘導的破壊株を作製した。その解析から動物細胞のCdc7はES細胞の増殖特にDNA複製に必須であることを証明した。

一方、同じ遺伝子背景でCdc7遺伝子条件破壊マウスを作製したところ、発生、増殖阻害を示した。条件破壊株は相補遺伝子としてマウスCdc7のcDNAのひとつを使用している。マウスCdc7には数種類のalternative spliced formが存在することを見い出しており、この結果は、組織、細胞あるいは発生過程においてCdc7の果たす機能は同一でない可能性を示唆する。ES細胞でCdc7の遺伝子破壊を誘導するとp53タンパク質量が増加しそれに伴って細胞死が進行する。細胞は主にS期で増殖を停止をしており、複製フォークの停止がシグナルとなってp53の誘導が引き起こされている可能性がある。

2) 活性制御タンパク質の構造と機能の研究から、Cdc7活性制御サブユニットに保存された3つの保存ドメイン（Dbf4-motif-N、Dbf4-motif-M、Dbf4-motif-C）のうち、Dbf4-motif-MとDbf4-motif-Cを含む領域のみで、体細胞増殖およびキナーゼ活性化に充分であること、さらに、Dbf4-motif-MとDbf4-motif-Cはそれぞれ触媒サブユニットに単独で結合できることが明かとなった。一方、Dbf4-motif-Nはその欠損は触媒サブユニットへの結合能およびキナーゼ活性化能には影響を与えないが、複製フォーク停止に対するチェックポイント反応や回復反応に損傷が観察された。Dbf4-motif-Nは複製複合体との相互作用を行っているものと推測しその相互作用分子を探索している。

3) Cdc7キナーゼの重要な標的はMCMタンパク質複合体である。なかでも遺伝学的結果からMCM2のリン酸化が生理的に重要であることが示唆されている。MCM2-4-6-7複合体を精製し、in vitroで精製したhuCdc7-ASK複合体でリン酸化反応を行うと、MCM2および4、6がリン酸化される。MCM2上のセリン、スレオニンをアラニンに置換した変異MCM2を含む複合体のなかでzinc-finger motif近傍及び、C端近傍にリン酸化の程度が減少する変異を同定した。相当する部位に変

異を導入するとin vivoでの機能を失うものがあることから、これらのセリンスレオニン残基が機能的に重要であることが示唆された。細胞内においてもCdc7によるMCM2のリン酸化が観察され、リン酸化されたMCM2タンパク質はクロマチンから遊離しやすくなる。リン酸化の低下する変異MCM2を含む複合体のひとつはサブユニット構造が変化しており、リン酸化によるMCM複合体の再構築の可能性が示唆された。

- 4) 大腸菌で観察される、組み換え依存性のDNA複製はヘリカーゼドメインとZnフィンガーモチーフを有するPriAタンパク質に依存する。平成11年度には、PriAタンパク質はin vitroでD-loop及びR-loop構造に、N端に存在するユニークなモチーフを介して結合することを明らかにした。また、分裂酵母の抽出液を分画し、D-loopに特異的に結合するタンパク質を含む画分を同定した。現在さらにこのタンパク質の精製をすすめている。

細胞種特異的な複製と転写の機構：染色体構造変化の誘導機構（図4）

胸腺で成熟したナイーブCD4T細胞は、抗原により活性化しエフェクター T細胞となり、様々なサイトカインの産生を通して免疫系を制御する。エフェクター T細胞は、産生されるサイトカインの種類によりTh1とTh2のふたつのTヘルパーサブセットに分類される。Th1は、ガンマインターフェロンやリンフォトキシンを産生し、マクロファージの活性化などを誘導することにより、細胞内に存在する病原体の排除に必須である。しかし自己免疫疾患などにみられる、炎症による組織傷害をひきおこす原因でもある。Th2は、IL-4、IL-5、IL-13などのサイトカインを産生することにより、蠕虫などの細胞外に存在する病原体の排除を促進するが、その異常がアトピー性疾患の主因であると考えられている。増大したエフェクター T細胞の多くは、活性化によるアポトーシスの誘導により死滅するが、一部分は、休止期にはいりメモリー T細胞として、Th1またはTh2の分化形質を維持しながら生存しつづけ、再び抗原により活性化されるのを待つ。Tヘルパーサブセットへの分化にはT細胞受容体を介する抗原刺激が必要であるが、他の様々な刺激がTh1とTh2のどちらの方向に分化するかに影響する。その中でも、サイトカインシグナルが非常に重要である。マクロファージなどが主に産生するIL-12は、Th1を誘導する。一方Th2細胞はIL-4によって誘導される。IL-4はナイーブT細胞自身もある程度産生するが、他の細胞種も産生するものがある。IL-12とIL-4のシグナル伝達分子として、それぞれSTAT4およびSTAT6が特異的に必要であることが遺伝子欠損マウスなどの解析から明らかになっている。Th2特異的なIL-4、IL-13、IL-5遺伝子は、ヒトでは第5染色体、マウスでは第11染色体上でクラスターをなして存在する。IL-4とIL-13の遺伝子は13kbしか隔たっていない。IL-13とIL-5遺伝子の間には、約120kbのDNA組み換えと修復に重要なRAD50遺伝子が存在する。

平成10年度までに、我々はTh2細胞特異的に誘導されるDNaseI hypersensitive site (HS)をIL-4からIL-13遺伝子にかけて遺伝子間領域も含めて多数見いだした。これらのHSは、休止期にありサイトカインを発現していないTh2細胞の染色体でも検出されることから、Th2細胞特異的な染色体構造を反映すると考えられる。STAT6にエストロゲンレセプター遺伝子を融合させる(STAT6ER)と、Estrogen Receptorに結合し、ダイマー形成を誘導するタモキシフェンにより人為的にSTAT6の活性化を誘導できる。平成11年度は、このSTAT6ERをナイーブT細胞に導入することにより、STAT6単独の活性化で、Th2細胞特異的なHSをすべて誘導できることを示した。Th2特異的に発現している転写因子としてGATA3とc-Mafが知られているが、STAT6単独の活性化により両者が誘導されることから、STAT6はGATA3とc-Mafの上流にあることが示唆される。さらにGATA3をナイーブT細胞に導入し強発現すると、Th1を誘導する条件においても、Th2特異的HSが誘導され、GATA3がTh2特異的な染色体構造の改変の主要な分子であることが明らかとなった。Th2特異的HSが見いだされるIL-4/IL-13遺伝子間領域の部分は、ヒトとマウスの間だけでなく、他の哺乳類においてもよく保存されている。最近トランスジェニックマウスを用いた解析から、この領域がIL-4、IL-13そしてIL-5のTh2特異的な発現に必須であり、locus control regionとして機能することが報告された。興味深い点は、この領域にGATA3やSTAT6の結合配列が存在せず、EMSAを用いた解析によってもGATA3やSTAT6の結合が検出されなかった。我々はこの領域に、Th2細胞特異的なDNA結合活性が存在することを見いだしており、現在その同定を進めている。平成12年度は、GATA3とこの未知なDNA結合蛋白質がどのように結び付くのかを明らかにすることにより、GATA3がどのような分子機構により染色体構造を改変するのかが解明したいと考えている。また、マウスIL-4/IL-13領域に存在する染色体複製起点をcompetitive PCR法により同定するために、multi-competitorを作製し、予備実験を終了した。平成12年度にはこの染色体領域の複製起点をTh2細胞において同定し、さらにTh1細胞、あるいは非免疫細胞などと比較し、遺伝子発現活性化、クロマチン構造と起点活性化の相関関係について明らかにする予定である。

3. 主な研究成果の発表(論文発表)

- Liu, J., Masuda E.S., Tsuruta L., Arai, N. and Arai, K. (1999) Two Independent Calcineurin-Binding Regions in the N-Terminal Domain of Murine NF-ATx1 Recruit Calcineurin to Murine NFAT-x1. *J. Immunol.* 162: 4755-4761
- Arai, K. and Arai, N. (1999) A Japanese Perspective on Postdocs. *Science* 285, 1487
- Miyazono Y, Kamogawa Y, Ryo K, Furukawa T, Mitsuhashi M, Yamauchi K, Kameoka T and Hayashi N. (1999) Effect of B7.1-transfected human colon cancer cells on the

induction of autologous tumour-specific cytotoxic T cells. *J Gastroenterol Hepatol.*, 997-1003.

Nakaseko, C., Miyatake, S., Iida, T., Hara, S., Abe, R., Ohno, H., Saito, Y. and Saito, T. (1999) Cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA-4) engagement delivers an inhibitory signal through the membrane-proximal region in the absence of the tyrosine motif in the cytoplasmic tail. *J Exp. Med.* 190, 765-774

Mukasa, R., Homma, T., Ohtsuki, T., Hosono, O., Souta, A., Kitamura, T., Fukuda, M., Watanabe, S. and Morimoto, C., (1999) Core 2-containing O-glycans on CD43 are preferentially expressed in the memory subset of human CD4 T cells. *Int. Immunol.* 11, 259-268

Liu, C.-B., Itoh, T., Arai, K. and Watanabe, S. (1999) Constitutive activation of JAK2 confers mIL-3-independent survival and proliferation of BA/F3 cells. *J. Biol. Chem.* 274, 6342-6349

Itoh, T., Liu, R., Arai, K. and Watanabe, S. (1999) Differential influence of tyrosine residues of the common receptor β subunit on multiple signals induced by human GM-CSF. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 103, 462-470

Yang, C.-F., Tsuji, K., Oda, A., Ebihara, Y., Xu, M.-J., Kaneko, A., Hanada, S., Mitsui, T., Kikuchi, A., Manabe, A., Watanabe, S., Ikeda, Y. and Nakahata, T. (1999) Differential effects of human granulocyte colony-stimulating factor (hG-CSF) and thrombopoietin on megakaryopoiesis and platelet function in hG-CSF receptor-transgenic mice. *Blood*, 94, 950-958

Liu, R., Itoh, T., Arai, K. and Watanabe, S. (1999) JAK2 mediates anti-apoptotic activity of GM-CSF through multiple signaling pathways with different sensitivities to kinase inhibitors. *Mol. Biol. Chem.* 10, 3959-3970

Harada, Y., Miyatake, S., Arai, K. and Watanabe, S., (1999) Cyclic AMP inhibits the activity of c-Jun N-terminal kinase 2 (JNK2) but not JNK1 and ERK2, in human helper T lymphocytes. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 266, 129-134

Masai, H. Bacterial replication fork: synthesis of lagging strand, *Encyclopedia of Life Sciences* (Macmillan Reference Limited), in press Masai, H., Sato, N., Takeda, T. and Arai, K. (1999) Cdc7/Dbf4-related kinase complex as a molecular switch for initiation of DNA replication *Frontiers in Bioscience* , 4, 834-840

Takeda, T., Ogino, K., Matsui, E., Cho, M.-K., Kumagai, H., Miyake, T., Arai, K., Masai, H. (1999) "A Fission yeast gene, *him1+/dfp1+*, encoding a regulatory subunit for Hsk1 kinase, plays essential roles in S phase initiation as well as in S phase checkpoint control and recovery from DNA damages." *Mol. Cell. Biol.* 19, 5535-5547

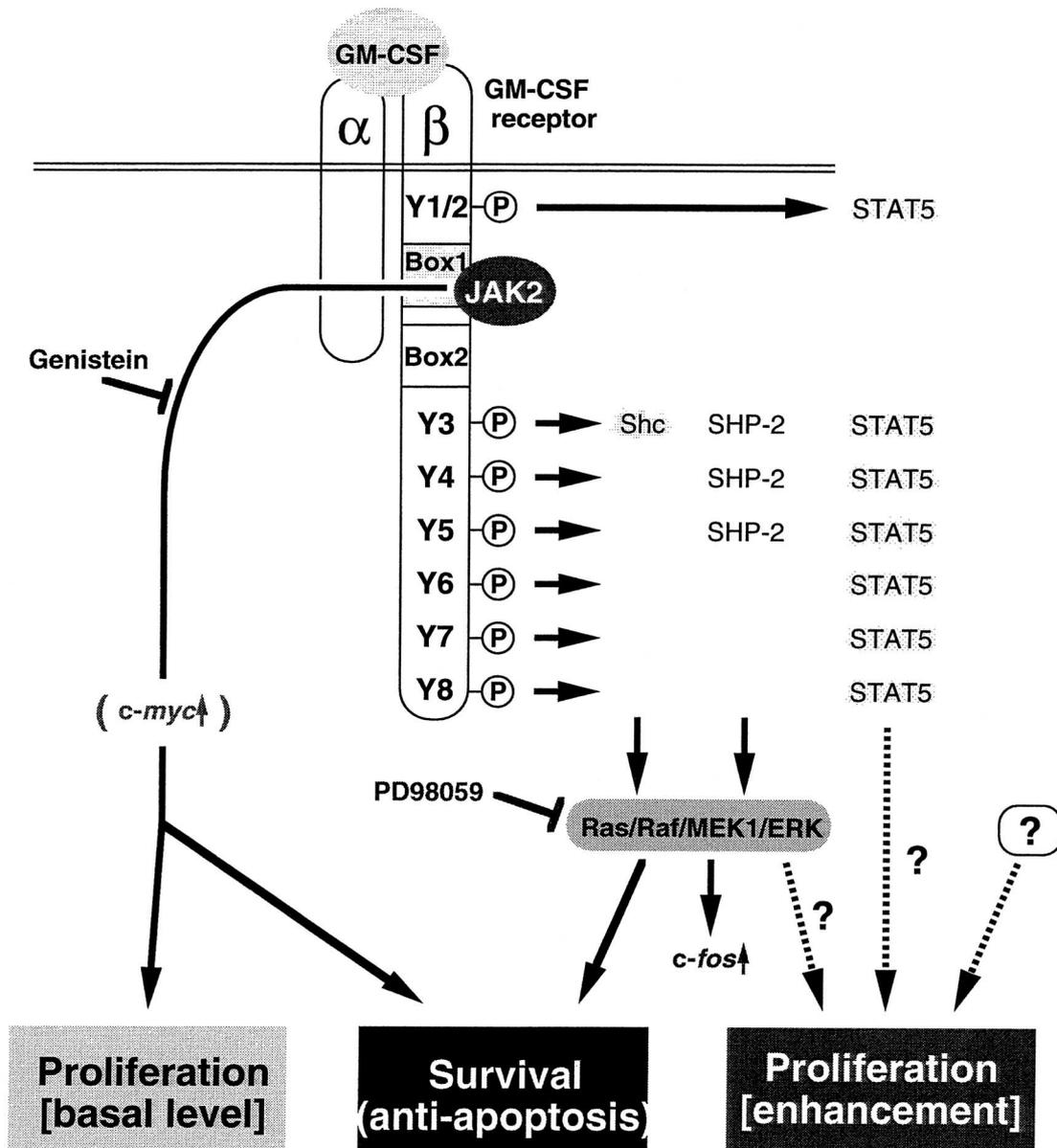
- Masai, H., Deneke, J., Furui, F., Tanaka, T., and Arai, K. (1999) "Escherichia coli and Bacillus subtilis PriA proteins essential for recombination-dependent DNA replication: involvement of ATPase/ helicase activity of PriA protein for inducible stable DNA replication." *Biochimie* 81, 847-857
- Kumagai, H., Sato, N., Yamada, M., Mahony, D., Seghezzi, W., Lees, E., Arai, K., Masai, H. (1999) "A novel growth- and cell cycle-regulated protein, ASK, activates human Cdc7-related kinase and is essential for G1/S transition in mammalian cells." *Mol. Cell. Biol.* 19, 5083-5095
- Johnstone, L., Masai, H. and Sugino, A. (1999) "First the Cdk's, now the Ddk's" *Trends in Cell Biology* 9, 249-252.
- Johnstone, L., Masai, H. and Sugino, A. (1999) "A Cdc7-Dbf4 kinase activity is conserved from yeast to human" *Progress in Cell Cycle Research* Vol.4,
- 渡辺すみ子 サイトカインレセプターとそのシグナル伝達、77 - 92、IgE-FcεRI- マスト細胞軸とサイトカイン、医科学出版社、1999
- 宮武昌一郎 CTLA-4 (CD152) の機能発現にかかわる細胞内分子群 *Annual Review 免疫*2000、矢田純一、奥村康、佐藤昇志 編 中外医学社 235-242
- 宮武昌一郎、正井久雄 感染症の免疫；免疫の強敵・エイズウイルス *臨床看護* 25:1137-1144, 1999
- 宮武昌一郎、正井久雄 臓器移植；自己と非自己の認識を超えて *臨床看護* 25:1285-1290, 1999
- 宮武昌一郎、正井久雄 自己免疫疾患と癌の免疫療法 *臨床看護* 25:1431-1438,1999
- 宮武昌一郎、正井久雄 アレルギー；過敏になった現代人 *臨床看護* 25:1725-1731, 1999
- 天崎吉晴、鴨川由美子、"生体防御とサイトカイン"別冊；医学のあゆみ、生体応答学の新展開、135-140, 1999
- 正井久雄、新井賢一 遺伝子の複製 岩波講座、現代医学の基礎 「分子、細胞の生物学I - 遺伝子とタンパク質」 岩波書店 35-52、1999
- 佐藤憲子、正井久雄 huCdc7-ASKキナーゼ複合体 *BioScience用語ライブラリー「細胞周期」* 羊土社、144-145、1999
- 竹田忠行、正井久雄 S期開始制御因子 *BioScience用語ライブラリー「細胞周期」* 羊土社、24-25、1999
- 正井久雄、内山雅司、Jung Min Kim、竹田忠行、佐藤憲子、新井賢一 染色体複製の開始を制御する因子 *実験医学増刊号「細胞周期研究のフロンティア」* 羊土社、127-136、2000

新井賢一 「日本の生命科学の研究システムの課題」日本免疫学会会報 The Japanese Society for Immunology Newsletter、Vol.72～5、1999

新井賢一、伊東広 「今年度の日本学士院賞 上代淑人博士の業績」現代化学 39～40、1333

新井賢一 「生命科学の成果を先端医療に結実させるトランスレーショナルリサーチの場の構築を」 バイオサイエンスとインダストリー Vol.57、7～8、1999

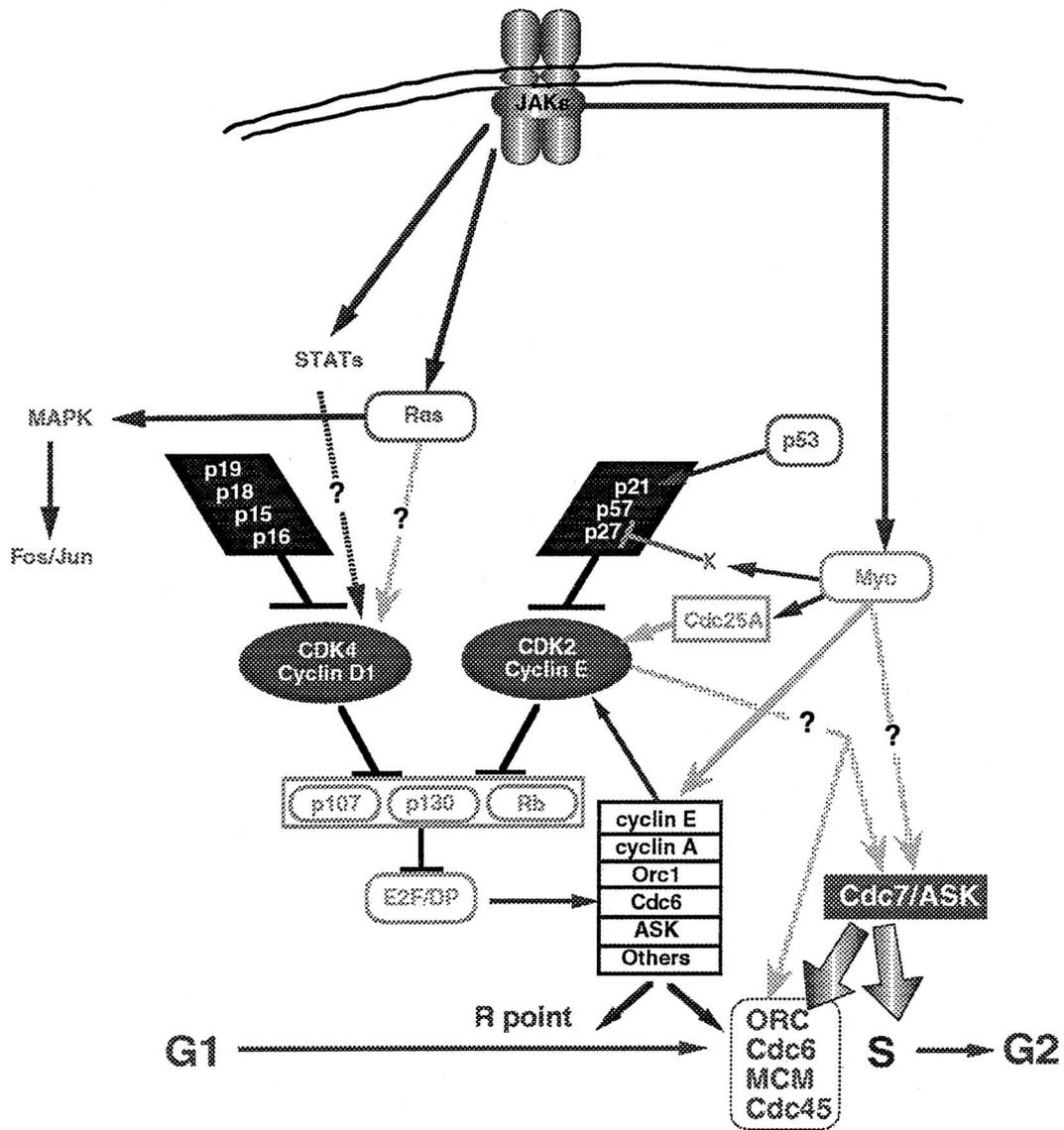
GM-CSF受容体シグナル伝達機構のモデル図



GM-CSFレセプターβ鎖細胞内のBox1モチーフには、チロシンキナーゼJAK2が会合している。GM-CSF刺激によりJAK2が活性化されると、β鎖のチロシン（Y）残基のリン酸化（Ⓟ）が誘導され、それらのリン酸化部位を介してShc、SHP-2、STAT5などのシグナル伝達分子が活性化される（図の右半分）。一方、JAK2の下流には、β鎖のチロシンリン酸化を介さない経路も存在し、c-mycの転写活性化等に関与している（図の左半分）。GM-CSFによる細胞死の抑制には、Genistein感受性でβ鎖チロシン残基非依存性の経路と、MEK1阻害剤PD98059に感受性でβ鎖チロシン残基依存性の経路の、少なくとも2つのシグナルが関与している。

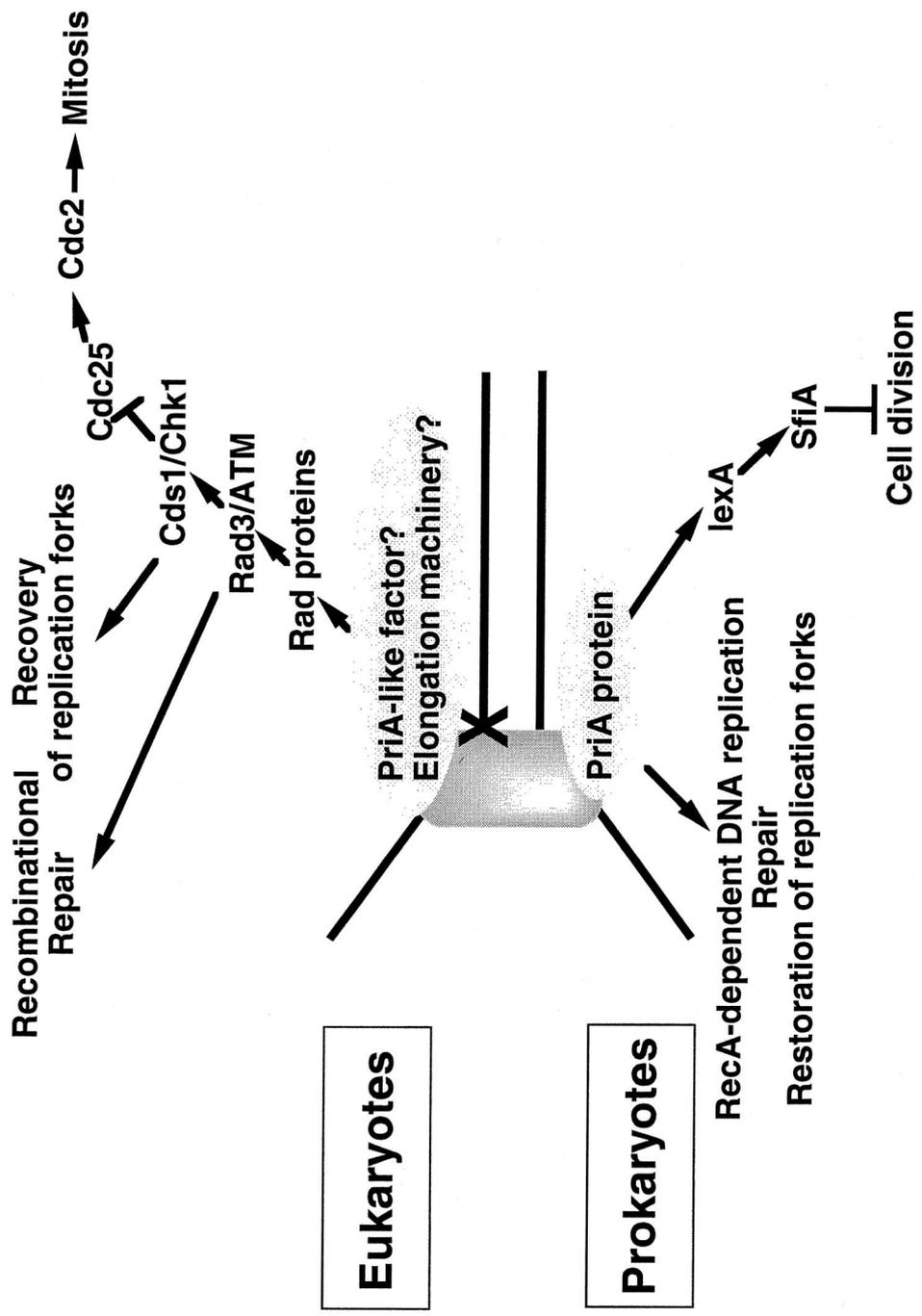
図 1

サイトカイン受容体から染色体複製開始にいたるシグナル伝達経路とCdc7キナーゼの活性化



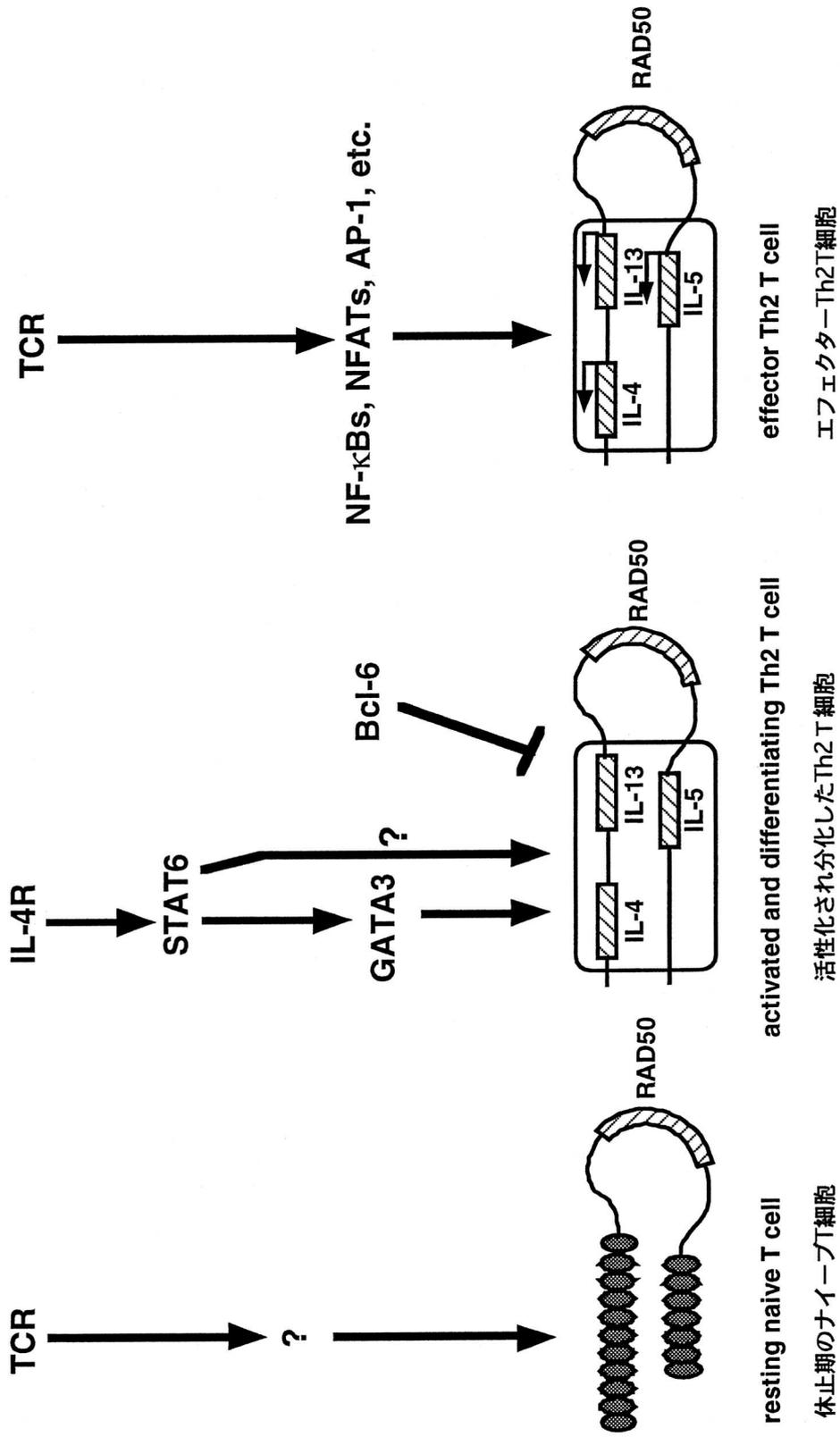
矢印は活性化あるいは発現の誘導を示す。点線はまだ厳密に証明されていない経路を示す。JAKは受容体の膜近傍領域に結合するチロシンキナーゼである。

図 2



原核細胞と真核細胞の複製フォーク停止に対する応答の比較
PriAタンパク質は、停止した複製フォークを認識し、組み換え依存性のDNA複製、修復、そして複製フォークの再構築を触媒する。真核細胞においても機能的に類似した因子が存在すると想定される。停止した複製フォークは同時に子エックポイントシグナルを誘導し、細胞周期進行を一時的に停止する。

図 3



ナイーブT細胞が抗原刺激により活性化され、さらにIL-4の刺激により、IL-4/IL-13/IL-5遺伝子クラスター領域の染色体構造が改変される。染色体構造改変のためのIL-4受容体シグナルは、STAT6によるGATA3の誘導によると考えられる。Th2細胞特異的な染色体構造において、Th2特異的サイトカインであるIL-4/IL-13/IL-5の各遺伝子が、T細胞受容体からの刺激により、NFATやAP-1などの転写因子群により誘導される。