胸腺内の正の選択に必須な新規分子Gasp（Themis）の発見

＊国立国際医療研究センター 研究所
パトリック・マイケル，鈴木春巳

はじめに

T細胞は胸腺において正の選択および負の選択を経て，成熟T細胞（ヘルパーあるいはキラーT細胞）へと分化する．胸腺内におけるT細胞分化のステップは非常に複雑であるが，長年にわたる精力的なT細胞研究者の努力により，正および負の選択に必要な分子群，CD4／CD8系列運命決定の分子機構について飛躍的に理解が進んでいる[1]．しかしながら，胸腺内分化における最大の謎，すなわち，同じTCRからのアフィニティーの強弱の違うシグナルが，どのようにして正と負の選択という正反対の結末へと細胞運命を振り分けるのか，という根源的な疑問に対する答えはいまだに得られていない．今回，我々はこの長年来の謎を解くカギとなりうる大変興味深い新規分子Gasp（Themis）を発見したので紹介したい．

1．Gasp（Themis）発見の経緯

我々は，T細胞分化の分子メカニズムを解明する目的で，胸腺に特異的に発現する新規遺伝子の同定，機能解析というプロジェクトを展開してきた．数年前にESTデータベース（NCBIのUnigene）から，胸腺に多く発現し，かつ他の組織には発現せず，パラログが存在せずにオーソログが種間でよく保存されている，という未知遺伝子を独自のアルゴリズムを用いて5個ピックアップし，「胸腺特異的遺伝子」としてこれらの遺伝子の解析を進めている[2]．Gaspはこの胸腺特異的遺伝子のうちの1つである（図1）．この遺伝子は，当初はE430004N-04Rikと命名されており，核移行シグナル（NLS）とプロリンリッチ領域以外には，既知のドメイン構造やホモロジーを持たず，その機能を推測することは困難であった．そこで，我々はT細胞分化に何らかの異常が出ることを期待して，この遺伝子のノックアウトマウスを作製した．詳細は後述するが，幸運なことにこのマウスにおいては正の選択が非常に強く阻害され，この遺伝子がT細胞分化に重要な働きをしていることが明らかとなった．

我々はこの結果をまとめて2009年9月に論文として報告したが[3]，驚くべきことに，全く同時期にGascoigneら[4]，Loveら[5]，Schwartzら[6]（2009年8月），Kawamotoら[7]（2009年9月）もこの遺伝子に関する論文を発表し，5つの独立した研究室から同時にこの遺伝子についての最初の報告が提出されるという混沌とした事態となった．それぞれのグループは全く異なるアプローチ，すなわち，多能性前駆細胞とDNとの間のサブトラクション[5]，DPとDNとの間のサブトラクション[4]，ENU誘導変異マウスの解析[6, 7]から，それぞれこの遺伝子にたどり着いていた．かくして，この大型ルーキー遺伝子は，世に出た早々から，近年稀なる激しい競争の舞台へと踊り出ることになった．ちなみに，この遺伝子の名称であるが，我々は独自にGaspと命名したが，3つのグループが論文発表時に共同で提唱したThemis[8]という名称が現在では優勢となっている．読者の皆様に混乱を与えるのは甚だ心苦しいが，我々のささやかな抵抗として，この稿では敢えてGaspという名称を使用することをお許し願いたい．

2．Gasp変異マウスの表現型

Gaspノックアウトマウスはメンデル型遺伝の様式で産まれ，正常に発育し，自己免疫疾患等の兆候も示さない．胸腺のサイズ（総細胞数）は野生型と大差ないが，図2Aに示すようにCD4-シングルポジティブ（SP）細胞とCD8-SPが劇的に減少していた．ヘテロ変異マウスがその中間の表現型を示したことから，量的効果があるものと考えられる．各種のT細胞受容体（TCR）トランスジェニック（Tg）マウスと交配した結果，クラスI，クラスII拘束性のいずれのTCRの正の選択も強く阻

＊〒162-8655　東京都新宿区戸山1-21-1
E-mail　hsuzuki@ri.ncgm.go.jp

害されていることがわかった．ところが興味深いことに，オスHY-TgマウスおよびBALB/c背景における内在性スーパー抗原の実験系においては，負の選択は全く阻害されていないか，阻害されていたとしてもごく軽微なものであった（図2B）．さらに，末梢では，恒常性維持増殖によって月齢に伴い成熟T細胞数が増加し，サイトカイン産生，キラー活性などの機能も全く阻害されていなかった．したがって，これまでの様々なシグナル伝達因子のノックアウトマウスの表現型とは異なり，正の選択だけが特異的に阻害され，その他のTCR依存性に引き起こされるイベントには全く影響がないことが示された．これらの結果より，GaspはTCRシグナル伝達全般に関与するような因子ではなく，正の選択のプロセスにのみ必要とされる分子であると考えられた．

3．Gaspの機能

では，Gaspは正の選択において，いったい何をしているのだろうか？ Schwartzらは，Gasp分子中にホモロジーの非常に低いドメイン構造を見出し，CABITドメインと呼ぶことを提唱しているが（図1）[6]，いずれにせよこのドメインを持つ分子群の機能は全くわかっていない．我々は免疫沈降実験からGaspが

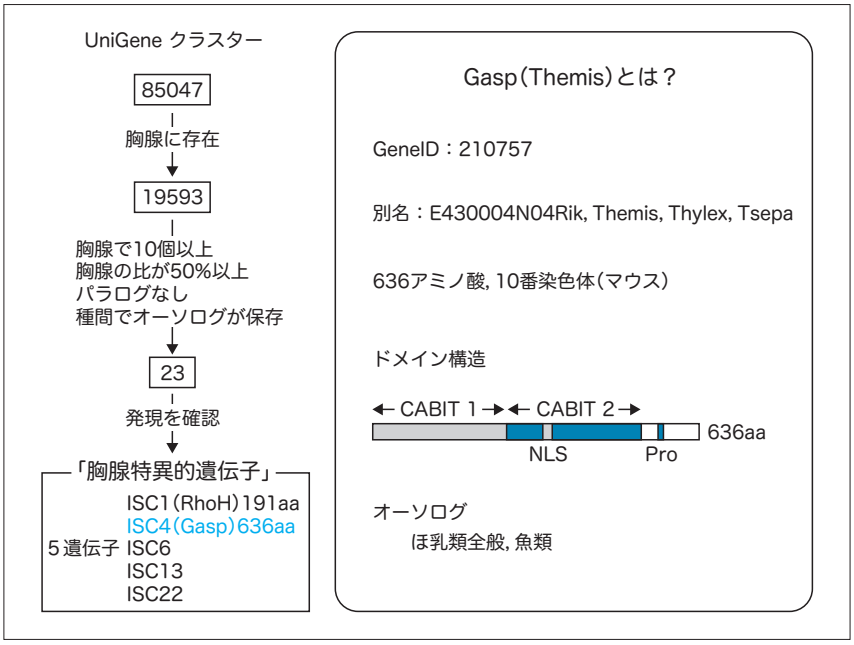

図1　胸腺特異的遺伝子とGasp
胸腺特異的遺伝子の選別アルゴリズムを左図に示した．

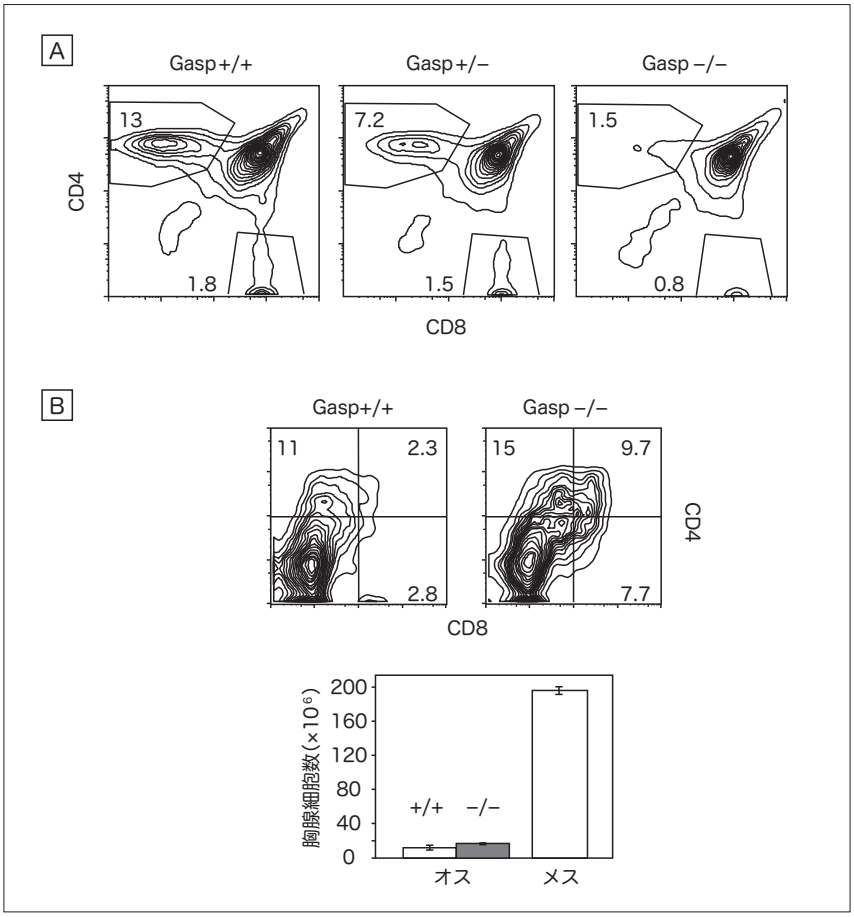

図2　Gaspノックアウトマウスの表現型
Ⓐ Gaspノックアウトマウスにおいては正の選択が強く阻害される．（胸腺のCD4/CD8プロファイル）．Ⓑ 負の選択は抑制されない．（オスHYトランスジェニックマウスの胸腺細胞数およびCD4/CD8プロファイル）．

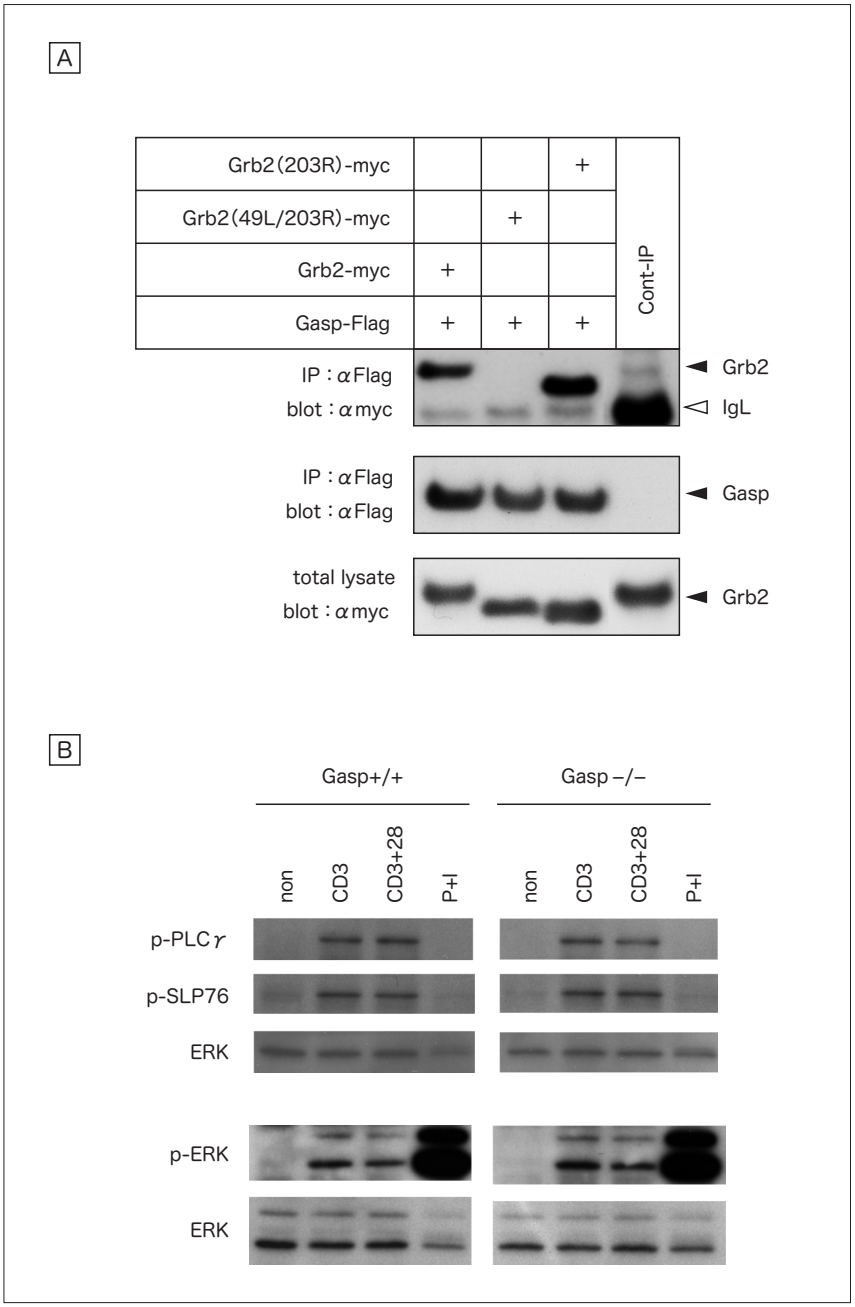

図3　Gasp分子の機能解析
Ⓐ GaspとGrb2は，Grb2のN末側SH3ドメインを介して結合する．Ⓑ 抗TCR抗体刺激によるPLCγ，SLP76，ERKの活性化はGasp欠損DP細胞でも変わらない．

Grb2に構成的に結合することを見出した(図3A)[3]．他のグループも同様にGrb2との結合を報告しており[5, 6]，Itk，PLCγとの結合を報告しているグループもある[4]．これらの結合相手を考えると，GaspがTCR依存性のシグナル伝達に何らかの形で関わっていることが予想された．そこで，ノックアウトマウスのDP細胞に抗TCR抗体を用いて刺激を入れ，細胞内シグナル伝達を詳細に解析したが，野生型との差はみられなかった(図3B)．細胞死はノックアウトで若干上昇していたが，著明なものではなかった．ただし，シグナル伝達解析および細胞死の結果については，グループによって多少，見解や解釈の相違があり，現時点では断定的なことはまだ何も言えない状態である．真の機能の解明に迫るには，より生理的な正の選択を誘導する刺激を入れた際のシグナル伝達を解析してゆく必要があろう．

おわりに

今回，我々を含む5つのグループから，正の選択に深く関わる重要な遺伝子が新たに1つ見つかった．このGasp(Themis)はこれまでに知られている分子とは異なり，正の選択にのみ選択的に必須な，極めてユニークな分子のようである．わずか2万2千余の全ゲノム遺伝子のなかに，いまだにこのような重要な未知遺伝子が潜んでいたことは驚きであり，この機能不明の新分子の作用機序を明らかにすることにより，正の選択の分子メカニズムの解明，さらには正と負の選択の相違の解明が飛躍的に加速することが期待される．

参　考　文　献

1）Starr TK,Jameson SC, Hogquist KA, Positive and negative selection of T cells. Annu Rev Immunol 2003 ; 21 : 139–76.

2）Oda H, Fujimoto M, Patrick MS, *et al.* RhoH plays critical roles in Fc epsilon RI-dependent signal transduction in mast cells. J Immunol 2009 ; 182 : 957-62.

3）Patrick MS, Oda H, Hayakawa K, *et al.* Gasp, a Grb2-associating protein, is critical for positive selection of thymocytes. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 ; 106 : 16345-50.

4）Fu G, Vallée S, Rybakin V, *et al.* Themis controls thymocyte selection through regulation of T cell antigen receptor-mediated signaling. Nat Immunol 2009 ; 10 : 848-56.

5）Lesourne R, Uehara S, Lee J, *et al.* Themis, a T cell-specific protein important for late thymocyte development. Nat Immunol 2009 ; 10 : 840-7.

6）Johnson AL, Aravind L, Shulzhenko N,*et al.* Themis is a member of a new metazoan gene family and is required for the completion of thymocyte positive selection. Nat Immunol 2009 ; 10 : 831-9.

7）Kakugawa K, Yasuda T, Miura I,*et al.* A novel gene essential for the development of single positive thymocytes. Mol Cell Biol 2009 ; 29 : 5128-35.

8）Allen PM. Themis imposes new law and order on positive selection. Nat Immunol 2009 ; 10 : 805-6.