

β カテニンの胸腺細胞分化への役割と Bcl11b によるその修飾

森 田 慎 一

新潟大学医歯学総合研究科
消化器内科学分野・肝臓病学分野
(指導：青柳 豊教授)

Bcl11b Modulates β -catenin Expression and its effect on Mouse Thymocyte Differentiation

Shinichi MORITA

Division of Gastroenterology and Hepatology,
Niigata University Graduate School of Medicine and Dental Sciences
(Director: Prof. Yutaka AOYAGI)

要 旨

胸腺細胞の分化・成熟に β カテニンおよび Bcl11b は重要な働きをする。 β カテニンは Wnt シグナル系の下流に位置し、刺激後に核内に移行し、Tcf/Lef のコアクチベーターとして、様々な標的遺伝子の発現調節を行う。一方、Bcl11b は zinc finger ドメインをもつ転写因子であり、ハプロ不全な癌抑制遺伝子である。両者とも胸腺 T 細胞の分化に影響するが、その関連性は明らかでない。そこで、APC^{min/+} マウス、Bcl11b^{KO/+} マウス、Bcl11b^{S826G} 変異マウスを用い、細胞分化の進行度と各々の分化段階にある胸腺細胞内の β カテニン発現量を測定した。APC^{min/+} マウスで β カテニンの上昇が観察され、これは生理的な発現調節に従うものであった。また、胸腺細胞の分化、成熟を促進させることが分かった。一方、Bcl11b 発現の低下しているマウスでも β カテニンの上昇が確認されたが、APC^{min/+} マウスとでは β カテニンの発現レベルが細胞種で異なることが分かった。すなわち、生理的な発現とは異なる特異な発現誘導を示した。そこで、両者の影響を同時に受ける Bcl11b^{KO/+}; APC^{min/+} マウスを作製し検討した結果、 β カテニンの発現上昇はみられたが、APC^{min/+} マウスでみられた分化の促進は観察されなかった。これらの結果は、Bcl11b が β カテニン遺伝子を含む遺伝子発現に影響すること、その総合的な発現結果が胸腺細胞分化に影響すること、を示唆する。

キーワード：Bcl11b 転写因子、 β カテニン、APC^{min/+} マウス、T 細胞分化、胸腺

緒 言

胸腺細胞は胸腺内のストローマ細胞と相互作用

し、いくつかの分化段階を経て成熟する¹⁾。3つの細胞表面マーカー CD4、CD8、TCR β を用いて各分化段階にある細胞を分類すると、CD4、CD8

Reprint requests to: Shinichi MORITA
Division of Gastroenterology and Hepatology
Niigata University Graduate School of Medical
and Dental Sciences
1-757 Asahimachi-dori Chuo-ku,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通 1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器内科学分
野・肝臓病学分野 森田 慎一

を発現しない CD4⁻/CD8⁻ double-negative (DN) 細胞がもっとも未分化な細胞であり、この DN 細胞はさらに細胞表面マーカー CD44 と CD25 の発現の有無によって 4 タイプ (DN1 から DN4) に分類される。DN3 (CD44⁻/CD25⁺) 細胞で TCR β 鎖遺伝子の再構成が起これ、TCR β タンパク質は発現され、preTCR レセプターが形成される。次に、CD8 の発現量が上昇し、CD4⁻/CD8⁺/TCR β ^{low} の細胞、すなわち immature CD8 single-positive (ISP) 細胞が形成される。続いて、CD4 の発現量が上昇し、CD4⁺/CD8⁺/TCR β ^{low} の DP 細胞が出現する。この時期に TCR α 鎖の再構成が起これ、細胞表面に完全な $\alpha\beta$ TCR 鎖が構築される。この TCR β ^{high} DP 細胞は、 $\alpha\beta$ TCR 鎖と MHC ペプチドの複合体の影響により、TCR β ^{high} CD4⁺ もしくは TCR β ^{high} CD8⁺ の single positive 胸腺細胞 (SP 細胞) へと成熟する。この過程でいわゆる「正の選択」と「負の選択」が行われる。

これらの分化過程の進行には、Notch シグナルなどの多くのシグナル伝達系が働くが、その一つに Wnt- β カテニンシグナル伝達経路がある²⁾⁻⁵⁾。Wnt リガンドがそのレセプターに結合することによって、 β カテニン/Tcf-Lef シグナルが活性化される。Wnt リガンドがレセプターに結合していないときには、細胞質内でアキシン、APC、GSK3 β 、CKI の複合体が形成される。 β カテニンはこの複合体によって分解されるため、Tcf/Lef は遺伝子プロモーターに結合できない。Wnt リガンドが結合すると、複合体が解体し、分解されなくなった β カテニンが核内に移行し、Tcf/Lef 経路のコアクチベーターとして働き、様々な標的遺伝子を転写する (c-myc, cyclin D など)。APC 遺伝子に min 変異をもつ APC^{min/+} マウスはヒト大腸がんのモデルマウスとして有名であり、野生型アレルが消失することによって Wnt- β カテニンシグナルが亢進し、発がんに至ると考えられている⁶⁾。

β カテニンは DN3 細胞で強く発現し、次の DN4 細胞では発現が減少し、DP 細胞ではほとんど検出されない。しかし、TCR β ^{high} SP 細胞では

再び発現する。Lck-Cre リコンビナーゼを用い、DN3 期で β カテニン発現を減少させたコンディショナルマウスの解析では、DN 期から DP 期への胸腺細胞の分化進行が阻害される⁷⁾。Tcf 欠損マウスでは、DN 期で細胞数が減少し DP 期への進行がブロックされる⁸⁾。これらの結果から、 β カテニン/Tcf-Lef 経路は DP 細胞への分化に必須であり、また DP から SP への成熟にも影響することがわかっている。一方、上記のコンディショナルマウスの系を用い β カテニンの過剰発現を誘導すると、その発現段階で胸腺細胞は分化を停止することが報告されている⁹⁾⁻¹²⁾。しかし、中等度の β カテニン発現を誘導するトランスジェニックマウスでは、分化停止ではなく、分化の進行を促すという報告がある¹³⁾⁻¹⁷⁾。従って、分化には発現量も重要な因子であることが示唆される。

Bcl11b は zinc finger ドメインをもつ転写因子であり、ハプロ不全な癌抑制遺伝子である¹⁸⁾。Bcl11b 欠損 (Bcl11b^{KO/KO}) マウスは DP 細胞を形成せず、DN から ISP 細胞の段階で分化を停止することから、Bcl11b は $\alpha\beta$ T 細胞の分化に重要な役割を果たすことがわかっている¹⁹⁾²⁰⁾。一方、コンディショナル KO マウスを使用し、CD4 プロモーター依存性 Cre リコンビナーゼを用い、DP 細胞で Bcl11b を欠損させると、 $\alpha\beta$ TCR シグナルは伝達されず、SP 細胞への分化は阻害される²¹⁾。Bcl11b^{KO/+} マウスの胸腺細胞では、わずかであるが β カテニン発現の上昇がみられる²²⁾。分化の停止時期や発現などで Bcl11b 欠損と β カテニン発現の異常に関連性が観察されるが、両者の関係は明らかではない。

そこで、我々は APC^{min/+} マウスを用い、 β カテニン発現と DN から DP への分化、DP から SP への成熟、への影響について検討を行った。また、Bcl11b^{KO/+} マウスおよび Bcl11b^{KO/+} APC^{min/+} マウスを用い、Bcl11b の遺伝子量変化が与える β カテニンの発現および上記の分化・成熟への影響について検討した。その結果、APC^{min/+} マウスでは β カテニン発現が上昇し、胸腺細胞の分化が促進されていること、Bcl11b^{KO/+} マウスでも β カテニンの増加は認めるが、胸腺細胞の分化はむしろ抑

制されていることがわかった。これらの結果から、Bcl11b の β カテニン発現に与える影響は、APC と異なる機構であると推測される。

実験材料と方法

マウス

今回使用した Bcl11b ノックアウトマウスは、われわれが以前報告した通りである¹⁹⁾。Bcl11b^{KO/S826G} 変異マウスは理化学研究所の ENU 突然変異マウス計画による作製体である（理研・権藤博士との共同研究により作製された²³⁾）。すなわち、C57BL/6 雌マウスに N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) を投与し、その F1 マウスのライブラリーを作製した。これらの精子 DNA の配列を検索することによって、Bcl11b 遺伝子の変異を抽出し、シーケンス法によってその変異を確認した。Bcl11b^{KO/S826G} マウスは、826 番目のアミノ酸が S から G に置換されており、他遺伝子の背景は C57BL/6 を維持している。Bcl11b^{KO/S826G} マウスは Bcl11b^{KO/+} マウスと Bcl11b^{+/S826G} マウスを交配して得た。APC^{min/+} マウスは、Apc 遺伝子の 850 番目のコドンが切断型変異を来しており、他遺伝背景は C57BL/6 である。

本研究で使用したマウスは、新潟大学内の SPF 下の飼育施設で飼育している。実験は全て大学の倫理委員会に基づく動物実験方法を遵守している。

フローサイトメトリー

1-2 × 10⁶ のマウス胸腺細胞を 2% FCS, 0.2% NaN₃ を加えたリン酸緩衝液内で 4°C で 20 分間抗体と反応させた。用いたモノクローナル抗体は、抗 CD4-PerCP-Cy5.5 もしくは抗 CD4-APC, 抗 CD8-PE, 抗 TCR β -FITC, 抗 β カテニン-FITC (eBioscience 社) を用いた。非特異的抗原抗体反応を防ぐために、一次抗体反応前に抗 CD16/32 抗体を染色前に添加した。染色した細胞は FACScan (Becton-Dickinson 社) を用いて FACS 分析を行い、データの解析は F^{low}-Jo Software (Tree-Star 社) を用いた。死細胞や壊

死組織片は解析時に、forward scatter (FSC), side scatter (SSC) を用いて除外した。

結 果

APC^{min/+} マウスでの β カテニン上昇と胸腺細胞の分化促進

APC^{min/+} マウスの胸腺細胞で発現している β カテニン量を、抗 β カテニン抗体を用いフローサイトメトリー法で測定した。同時に、抗 CD4, 抗 CD8 抗体で染色した。図 1A 左図は野生型マウスの CD4, CD8 の発現量、中図は β カテニン抗体を加えたときと加えないときの胸腺細胞全体での染色細胞を示す。抗体を用いたとき明らかに測定値が上昇しているため、検出の妥当性が確認された。右図は DN, DP, CD4SP 細胞での発現量を示している。 β カテニンは DN 細胞で高い発現を示し、DP で低く、CD4SP 細胞では中程度の発現を示し、これは以前の報告と一致し²⁴⁾、測定法の妥当性を示す。図 1B は APC^{min/+} マウスと野生型マウスの DN, DP, CD4SP 細胞での β カテニンの発現量の違いを示す。APC^{min/+} マウスでは、いずれの分画でも野生型に比し高い発現を認めた。図 2A と 2B は全体の結果をまとめている。レーン 1 に野生型の発現量を、レーン 2 に APC^{min/+} マウスの発現量を表す。

β カテニンの胸腺分化に対する影響は複雑であり、過剰な上昇は胸腺分化の停止を、中程度の上昇は分化の亢進をもたらす。中程度上昇をもたらすトランスジェニックマウス (CAT-Tg マウス) は DN3 段階での分化の促進、DN4 での停止、さらに「正の選択」の分化過程が促進される、という報告がある¹³⁾¹⁶⁾。APC^{min/+} マウスでの分化影響を測るために、DN から DP への分化指標として、ISP 細胞の%を用いた。すなわち、CD4-/CD8+ 分画に含まれる細胞 (図 3A 右下分画) をさらに TCR β 発現量で分け、発現の低い TCR β ^{low} 細胞を特定した (図 3B)。また、「正の選択」以降の過程を、TCR β の発現上昇 (%) および成熟 CD4SP 細胞の%上昇、の 2 過程に分け検討した。前者は TCR β ^{high}/total thymocytes % で表し

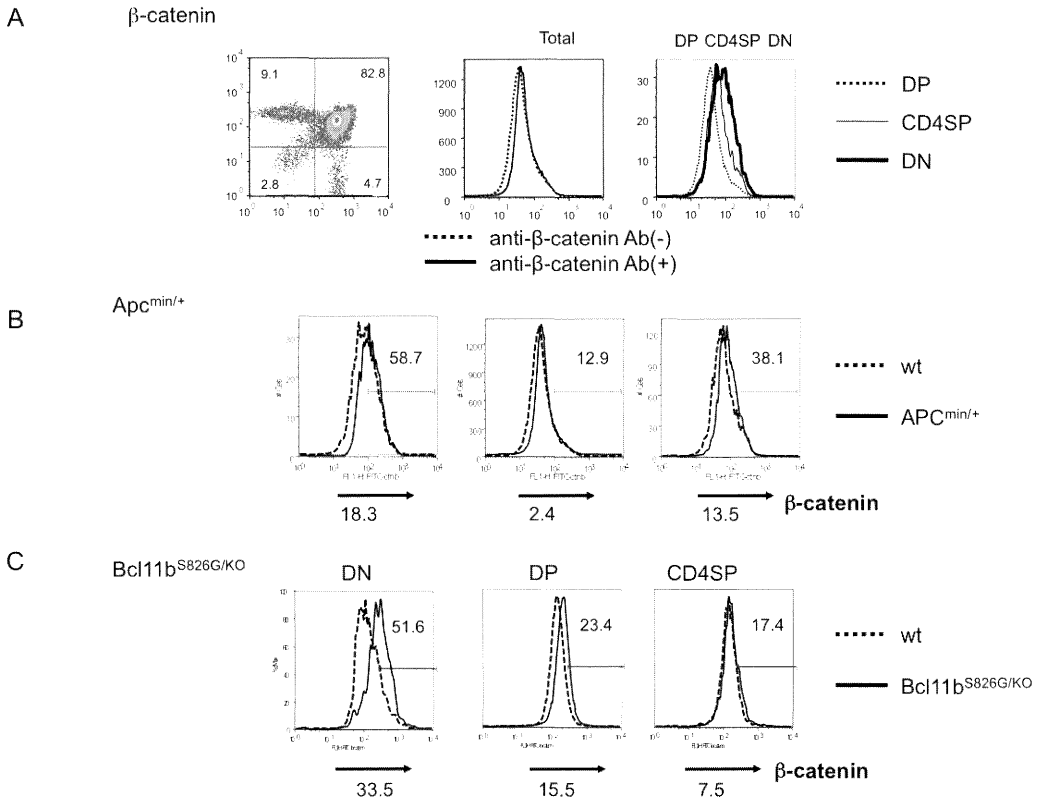


図1 β カテニンの発現量

(A) 左図は野生型マウスの CD4, CD8 の発現量, 中図は β カテニン抗体を加えたときと加えないときの胸腺細胞全体での染色細胞を示す. 右図は DN, DP, CD4SP 細胞での β カテニンの発現量を示している.

(B, C) $APC^{min/+}$ マウス (B), $Bcl11b^{KO/S826G}$ 変異マウス (C) と野生型マウスの DN, DP, CD4SP 細胞での β カテニンの発現量の違いを示す.

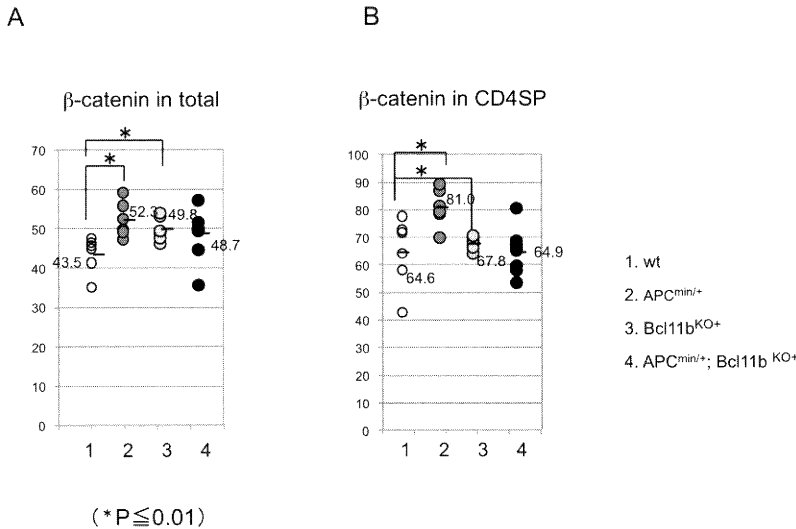
(図 3C), 後者の指標を CD4SP/DP % で表した (図 3A 左上分画).

図 4A のレーン 2 (レーン 1 は野生型を示す) はその総合結果を示す. ISP 細胞数の % はほとんど変わらなかった. 図 4B のレーン 2 は TCR β^{high} 細胞の % の結果を表す. 野生型に比べ 1.9 % 増加していた. 図 4C のレーン 2 は CD4/DP の % を表す. 野生型に比べ 0.9 % 増加していた. これらの結果は, 「正の選択」とその後の胸腺細胞の成熟ではどちらも $APC^{min/+}$ マウスの胸腺細胞で

は亢進することを示している. これは $APC^{min/+}$ マウス胸腺細胞での β カテニンの上昇によると考えられる.

Bcl11b の β カテニン発現への影響

$Bcl11b^{KO/+}$ マウスの胸腺細胞では β カテニンの発現上昇が観察されることをすでに我々は報告しているが, その上昇は少ない²²⁾. そこで, $Bcl11b^{KO/S826G}$ 変異マウスを用い, $Bcl11b$ 機能低下と β カテニン発現上昇との関連性を検討した.



	wt	APC ^{min/+}	Bcl11b ^{KO/+}	Bcl11b ^{KO/+} APC ^{min/+}
N	6	6	7	8

図2 各表現型毎のβカテニン発現量

- (A) 全胸腺細胞中のβカテニンを発現する細胞の割合および平均値を示す。
- (B) CD4SP細胞中のβカテニンを発現する細胞の割合および平均値を示す。

Bcl11b^{+/S826G} 変異マウスはENU投与マウス群から Bcl11b 遺伝子に変異をもつマウスを選び出したものである。選ばれた変異マウスは Bcl11b のアミノ酸位置 826 のセリン (S) がグアニン (G) に置換した遺伝子をもつマウスである。

図 1C は Bcl11b^{KO/S826G} 変異マウスと野生型マウスのβカテニンの発現量の違いを示す。Bcl11b^{KO/S826G} 変異マウスではβカテニンの上昇が明らかに認められ、Bcl11b 発現の低下とβカテニンの発現上昇との関連を確認できた。ところが、Bcl11b^{KO/S826G} 変異マウスと APC^{min/+} マウスとでは、分化段階で発現レベルが異なることが分かった。APC^{min/+} マウスでは、DN で高く、DP で低下し、再び SP で上昇する。これは生理的な発現調節に従っている。一方 Bcl11b^{KO/S826G} 変異のマウスでは、DN で高く、DP でやや低下し、SP でさらに低下する。これは単純に生理的な発現調節に従って、Bcl11b 低下がβカテニンの上昇をもたら

すわけではなく、他の影響も加味されていることを示唆する。Bcl11b と APC による抑制は、前者は転写レベルでの制御であり、後者はタンパク質分解のレベルの制御と異なる機構であり、βカテニン発現上昇のパターンの差はその違いを反映すると考えられる。

Bcl11b^{KO/+} マウスにみられるβカテニン上昇と胸腺細胞分化

図 3 は Bcl11b^{KO/+} マウス胸腺細胞の分化パターンを含む。図 4A, 4B, 4C のレーン 3 はそれぞれ、DN から DP への分化指標として ISP 細胞の%、TCR β の発現上昇の%、および成熟 CD4SP 細胞の%の結果をまとめたものを表している。ISP 細胞数の%は、野生型に比べ約 2 倍上昇していた。一方、TCR β^{high} の%は 2.8% 低下し、CD4SP/DP の%も 1.8% 低下していた。これは DN から DP への分化過程、DP から SP への分

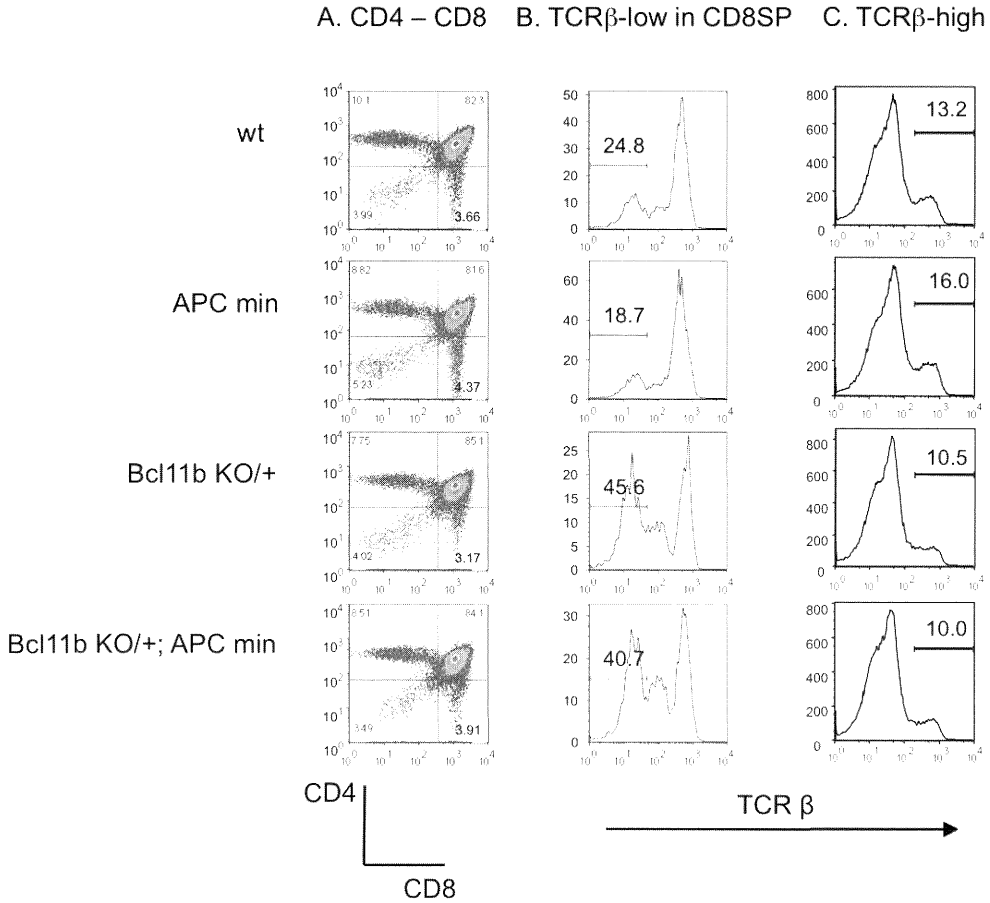


図 3 各表現型毎の分化パターンの比較

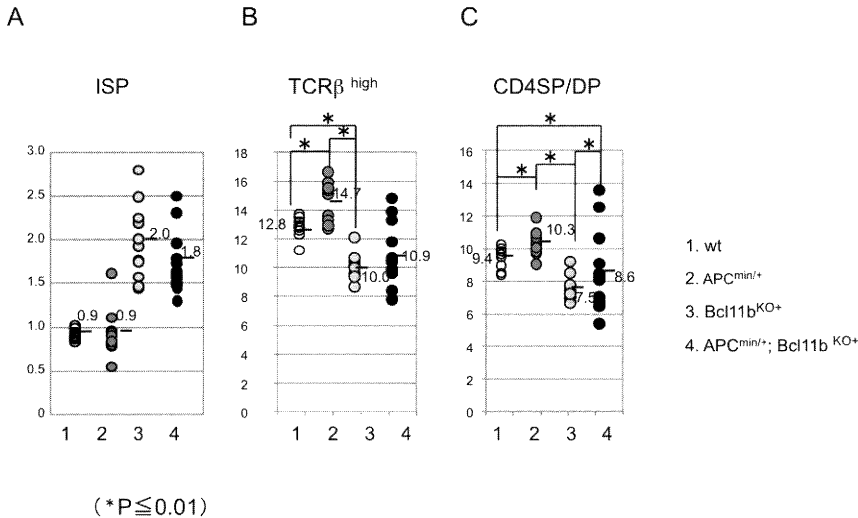
各種表現型の胸腺細胞における CD4, CD8, TCR β の発現をフローサイトメトリーにて検討した。

- (A) 縦軸を CD4 の発現量, 横軸を CD8 の発現量とし, 胸腺細胞全体での染色細胞を示す。
- (B) CD4⁻/CD8⁺ 分画に含まれる細胞における TCR β の発現量。縦軸に細胞数, 横軸に TCR β の発現量を示す。低発現量の分画が ISP 細胞である。
- (C) 全胸腺細胞における TCR β の発現量。縦軸に細胞数, 横軸に TCR β の発現量を示す。

化過程, どちらの過程も障害されていることを示している。Bcl11b^{KO/+} マウス胸腺細胞では β カテニン上昇が観察されたが, これらはこの発現上昇から期待される結果とは逆の表現型を示している。

Bcl11b 発現の β カテニン作用にあたる影響

Bcl11b の発現量低下と β カテニンの発現および作用との関連性について, 両者の影響を同時に受けるマウス (Bcl11b^{KO/+}; APC^{min/+} マウス) を作製し, 検討した。このマウスは Bcl11b^{KO/+} マウスと APC^{min/+} 遺伝子型が導入されたマウスを交



	wt	APC ^{min/+}	Bcl11b ^{KO/+}	Bcl11b ^{KO/+} APC ^{min/+}
N	10	10	11	12

図4 各表現型毎の分化パターンの比較の結果

- (A) 全胸腺細胞中の ISP 細胞の割合とその平均値を示す。
- (B) 全胸腺細胞中の TCR β を高発現する細胞の割合とその平均値を示す。
- (C) DP 細胞と CD4SP 細胞の比, およびその平均値を示す。

配することによって得た。βカテニンの発現は野生型と比べ上昇していたが、Bcl11b^{KO/+} マウスと比較し大きな変化はない一方、APC^{min/+} マウスと比較しむしろ低下していた (図 2, レーン 4)。次に、胸腺細胞分化の進行を検討した。分化パターンは図 3 に、そのまとめは図 4 に表した。ISP 細胞の細胞数%は上昇し、APC^{min/+} 遺伝子型が導入されても、DN から DP への分化障害は改善されなかった。TCR β^{high}/total thymocytes の%は、APC^{min/+} 遺伝子型の導入により若干の回復はみられるが、その程度は大きくない。CD4SP/DP の%も同様に改善の程度は少なかった。これは、Bcl11b^{KO/+} 遺伝子型の影響が強く、APC^{min/+} 遺伝子型の作用は強く影響していないことを示す。このことは、Bcl11b の機能低下により APC^{min/+} 作用が減弱したと考えられる。

考 察

胸腺細胞は胸腺内のストローマ細胞と相互作用し、互いにシグナルの伝達を行う。これには TCR シグナル、Notch シグナルなどの多くの因子が関与するが、Wnt/βカテニンシグナルも含まれる²⁾³⁾⁵⁾。この伝達される細胞内シグナルは、異なる分化段階にある細胞で異なり、このシグナルの変化に従い、βカテニン発現は変動する。具体的には、野生型マウスでは DN3 でβカテニンが上昇し、DN4 段階に進行すると低下する。DN4 でβカテニン低下の起こらないトランスジェニックマウス (CAT-Tg) では、DN4 段階で分化が停止する¹⁵⁾¹⁶⁾。この上昇と低下は DP に移行するのに必要である。DP 細胞ではほとんど発現は見られないが、SP 細胞では再び発現が観察される。この発現変動が細胞分化をコントロールする重要な要因の一つであると考えられている¹³⁾¹⁴⁾¹⁷⁾。本論文では、

これらの既知所見に以下の新知見を加えた。

APC^{min/+} マウスは生理的な発現制御を受ける条件下で、 β カテニンの発現上昇を示すことがわかった。これは上記の CAT-Tg マウスとは異なり、 β カテニンの生理機能を知る上で重要な要件である。APC^{min/+} マウスの胸腺細胞では DN や ISP 細胞での分化障害はみられず、DP 細胞から SP 細胞への分化の亢進が観察された。これらの結果は β カテニンの分化促進作用を示す。このことを生理的条件を反映した系で示せたことに意義がある。

Bcl11b の発現低下は β カテニンの発現上昇をもたらすが、生理的な発現制御に従い修飾するものではなかった。すなわち、DN、DP、SP 段階という分化の進行に伴い発現が低下するという特異な結果をもたらすことがわかった。この Bcl11b 発現低下による β カテニン発現修飾の機構は明らかでない。 β カテニンの発現調節は主に分解レベルで制御されているが、その調節はそれぞれの分化段階の細胞内シグナル環境により β カテニン発現が影響される。その例として、preTCR シグナル、 $\alpha\beta$ TCR シグナルの影響が挙げられる。DN3 で分化停止した胸腺細胞 (RAG1-KO マウス) を anti-CD3 抗体で preTCR レセプターを刺激すると、 β カテニン発現が上昇し、平行して DN3 からの分化が進行することが報告されている¹⁵⁾。このシグナル伝達過程を詳細に解析し、preTCR から Erk のリン酸化、このリン酸化により β カテニン発現が上昇するという経路を示している¹⁶⁾²⁵⁾。また、DP 細胞や Jurkat 細胞に抗 CD3 と抗 CD28 抗体で $\alpha\beta$ TCR レセプターを刺激すると、 β カテニタンパク質の上昇 (安定化、分解の抑制) がみられることが報告されている¹⁷⁾。このシグナル伝達も同様に、 $\alpha\beta$ TCR signaling から Erk を経て β カテニンが活性化される、という経路が示されている。従って、Bcl11b^{KO/+} マウス胸腺細胞でみられた β カテニンの発現上昇は、これらの細胞内シグナル環境により影響されている、と考えられる。

Bcl11b 欠失が与える細胞内シグナル環境への影響の例として、preTCR や $\alpha\beta$ TCR レセプター

を介したものがある。どちらのシグナルも阻害されることがわかっている¹⁹⁾⁻²¹⁾。これらの影響は、上記のように β カテニン発現を低下させるはずである。しかし、実際は少なくとも DN 細胞で明らかに上昇していた。従って β カテニン発現への影響は、これらのシグナル系以外の遺伝子発現の変化、もしくは Bcl11b が直接 β カテニン遺伝子発現に作用し、その機能低下が遺伝子発現を上昇させている可能性がある。それぞれの分化細胞での β カテニン発現レベルは細胞内シグナル環境の総合結果により決定される、と考えられる。

Bcl11b^{KO/+}; APC^{min/+} マウスの解析では、 β カテニンの発現上昇が観察されたが、APC^{min/+} マウスよりその発現は低下していた。また、DN から DP への分化、SP への分化の進行は促進されなかった。これは、Bcl11b^{KO/+} 遺伝子型の影響が、APC^{min/+} が与える影響より強い可能性、または Bcl11b^{KO/+} 遺伝子型が APC^{min/+} の影響を負に調節する可能性が示唆される。上記のように Bcl11b の欠失は preTCR シグナル、 $\alpha\beta$ TCR シグナルのどちらも阻害するので、これらの TCR シグナルの低下が、APC^{min/+} が与える胸腺細胞分化への影響に作用している可能性がある。

結 語

APC^{min/+} マウス、Bcl11b^{KO/+} および Bcl11b^{+/-S826G} 変異マウスを用い、 β カテニン発現量とその胸腺細胞分化に及ぼす影響について検討を行った。APC^{min/+} 遺伝子型は β カテニン発現を上昇させ、胸腺細胞分化の「正の選択」を促進させることがわかった。一方、Bcl11b の機能低下も β カテニン上昇を含め様々な遺伝子発現を修飾し、その総合作用として、 β カテニンのもつ胸腺細胞分化影響を減弱させることがわかった。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導賜りました木南凌教授、青柳豊教授 (分子細胞医学専攻遺伝子制御講座) に感謝いたします。

文 献

- 1) Fisher A and Malissen B: Natural and engineered disorders of lymphocyte development. *Science* 280: 237 - 243, 1998.
- 2) Staal FJ and Clevers H: Wnt signaling in the thymus. *Curr Opin Immunol* 15: 204 - 208, 2003.
- 3) EA R and JA B: Notch signaling in lymphocyte development and function. *Curr Opin Immunol* 16: 360 - 366, 2004.
- 4) Staal FJ and Sen JM: The canonical Wnt signaling pathway plays an important role in lymphopoiesis and hematopoiesis. *Eur J Immunol* 38: 1788 - 1794, 2008.
- 5) Yu Q, Sharma A and Sen JM: TCF1 and beta-catenin regulate T cell development and function. *Immunol Res* 47: 45 - 55, 2010.
- 6) Moser A, Pitot H and Dove W: A dominant mutation that predisposes to multiple intestinal neoplasia in the mouse. *Science* 247: 322 - 324, 1990.
- 7) Xu Y, Banerjee D, Huelsken J, Birchmeier W and Sen J: Deletion of beta-catenin impairs T cell development. *Nat Immunol* 2003: 1177 - 1182, 2003.
- 8) Okamura R, Sigvardsson M, Galceran J, Verbeek S, Clevers H and Grosschedl R: Redundant regulation of T cell differentiation and TCRalpha gene expression by the transcription factors LEF1 and TCF-1. *Immunity* 8: 11 - 20, 1998.
- 9) Gounari F, Aifantis I, Khazaie K, Hoeflinger S, Harada N, Taketo MM and von Boehmer H: Somatic activation of beta-catenin bypasses pre-TCR signaling and TCR selection in thymocyte development. *Nat Immunol* 2: 863 - 869, 2001.
- 10) Ioannidis V, Beermann F, Clevers H and Held W: The beta-catenin TCF-1 pathway ensures CD4 (+) CD8 (+) thymocyte survival. *Nat Immunol* 2: 691 - 697, 2001.
- 11) Gounari F, Chang R, Cowan J, Guo Z, Dose M, Gounaris E and Khazale K: Loss of adenomatous polyposis coli gene function disrupts thymic development. *Nat Immunol* 6: 800 - 809, 2005.
- 12) Guo Z, Dose M, Kovalovsky D, Chang R, O'Neil J, Look AT, von Boehmer H, Khazale K and Gounari F: Beta-catenin stabilization stalls the transition from double-positive to single-positive stage and predisposes thymocytes to malignant transformation. *Blood* 109: 5463 - 5472, 2007.
- 13) Yu Q and Sen JM: Beta-catenin regulates positive selection of thymocytes but not lineage commitment. *J Immunol* 178: 5028 - 5034, 2007.
- 14) Yu Q, Xu M and Sen JM: Beta-catenin expression enhances IL-7 receptor signaling in thymocytes during positive selection. *J Immunol* 179: 126 - 131, 2007.
- 15) Xu M, Sharma A, Hossain MZ, Wiest DL and Sen JM: Sustained expression of pre-TCR induced beta-catenin in post-beta-selection thymocytes blocks T cell development. *J Immunol* 182: 759 - 765, 2009.
- 16) Xu M, Sharma A, Wiest DL and Sen JM: Pre-TCR-induced beta-catenin facilitates traversal through beta-selection. *J Immunol* 182: 751 - 758, 2009.
- 17) Kovalovsky D, Yu Y, Dose M, Emmanouilidou A, Konstantinou T, Germar K, Aghajani K, Guo Z, Mandal M and Gounari F: Beta-catenin/Tcf determines the outcome of thymic selection in response to alphabetaTCR signaling. *J Immunol* 183: 3873 - 3884, 2009.
- 18) Kamimura K, Ohi H, Kubota T, Okazuka K, Yoshikai Y, Wakabayashi Y, Aoyagi Y, Mishima Y and Kominami R: Haploinsufficiency of Bcl11b for suppression of lymphomagenesis and thymocyte development. *Biochem Biophys Res Commun* 355: 538 - 542, 2007.
- 19) Wakabayashi Y, Watanabe H, Inoue J, Takeda N, Sakata J, Mishima Y, Hitomi J, Yamamoto T, Niwa O, Aizawa S and Kominami R: Bcl11b is required for differentiation and survival of alpha-beta T lymphocytes. *Nat Immunol* 4: 533 - 539, 2003.
- 20) Inoue J, Kanefuji T, Okazuka K, Watanabe H, Mishima Y and Kominami R: Expression of TCR alpha beta partly rescues developmental arrest and apoptosis of alpha beta T cells in Bcl11b^{-/-} mice. *J Immunol* 176: 5871 - 5879, 2006.

- 21) Albu DI, Feng D, Bhattacharya D, Jenkins NA, Copeland NG, Liu P and Avram D: BCL11b is required for positive selection and survival of double - positive thymocytes. *J Exp Med* 204: 3003 - 3015, 2007.
- 22) Go R, Hirose S, Morita S, Yamamoto T, Katsuragi Y, Mishima Y and Kominami R: Bcl11b heterozygosity promotes clonal expansion and differentiation arrest of thymocytes in gamma - irradiated mice. *Cancer Sci* 101: 1347 - 3453, 2010.
- 23) Erickson RP, McQueen CA, Chau B, Gokhale V, Uchiyama M, Toyoda A, Ejima F, Maho N, Sakaki Y and Gondo Y: An N - ethyl - N - nitrosourea - induced mutation in N - acetyltransferase 1 in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 370: 285 - 288, 2008.
- 24) Weerkamp F, Baert MR, Naber BA, Koster EE, de Haas EF, Atkuri KR, van ongen JJ, Herzenberg LA and Staal FJ: Wnt signaling in the thymus is regulated by differential expression of intracellular signaling molecules. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 3322 - 3326, 2006.
- 25) Fisher AM, Katayama CD, Pages G, Pouyssegur J and Hedrick SM: The role of erk1 and erk2 in multiple stages of T cell development. *Immunity* 23: 431 - 443, 2005.

(平成22年12月16日受付)
