

総 説

T 細胞分化における非定型 G タンパク質 RhoH の機能

鈴木春巳, 小田浩代

The atypical small GTPase RhoH : a novel role in T cell development

Harumi SUZUKI and Hiroyo ODA

Department of Pathology, Research Institute, International Medical Center of Japan

(Received January 11, 2008)

summary

Small GTPases (G-proteins) play important roles in various signal transduction pathways by working as molecular switches. Among them, some of these GTPases don't have functional features of typical GTPases, therefore they are called "atypical GTPases". Recently, these less known atypical Rho GTPases have received increased attention. This review will focus on the novel aspects of biological function of atypical Rho GTPases, especially a newly found function of RhoH on signal transduction in T cell development.

Key words—RhoH; GTPase; T cell; development; signal transduction

抄 録

低分子 G タンパク質は細胞の増殖, アクチン再構成, 膜輸送をはじめとする様々なシグナル伝達に広く関与している分子群であり, GTP 型と GDP 型とに相互変換することで分子スイッチとして働いている. ところが, 150 種もある低分子 G タンパク質の中には, この大原則に従わない「非定型 G タンパク質」も多数存在する. 近年これらの分子の機能が明らかになるにつれ, 次第に注目を集めるようになってきた. Rac1 の選択的スプライシング産物である Rac1b 分子は非定型 G タンパク質であり, 大腸がんや乳がん細胞において過剰発現していることから腫瘍化との関連が指摘されている. この稿では, 造血系細胞に特異的に発現する非定型 Rho ファミリー G タンパク質, RhoH に着目し, T 細胞の分化, シグナル伝達における RhoH の新しい機能について, 最近の我々のデータも含めて解説したい.

I. はじめに

G タンパク質はレセプターとして働くヘテロ 3 量体型と, モノマーで働く低分子 G タンパク質に 2 分される. 低分子 G タンパク (Ras スーパーファミリー) には 150 個程度の遺伝子が存在し, 機能や相同性から 6 つのファミリー (Ras, Rho, Rab, Ran, Arf, Miro) に分類されている¹⁾. そのうち, Rho ファミリーには 20 個の遺伝子が分類されており, Rho, Rac, cdc42 に代表されるようにアクチンフィラメントの再構成に関与している分子が多い. 20 個のメンバーを持つ Rho ファミリーはさらに 8 つのサブファミリーに細分されている (図 1).

Rho ファミリーの中で, Rho, Rac, Cdc42 および RhoD/F サブファミリーに属する分子は, 「古典的

な」低分子 G タンパク質であり, 他の多くの G タンパク質と同様の制御を受ける. すなわち, 上流因子であるグアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) によって GDP 型から GTP 型へと変換して活性型となる. G タンパク質は GTP アーゼ活性を持っており, GTP の末端のリン酸基を加水分解して GDP とリン酸に分解する. したがって, G タンパク質は GEF の作用により一時的に GTP 型になっても, 自分自身の GTP アーゼ活性により自然に GDP 型へと戻る. 一般的に低分子 G タンパク質自身の持つ GTP アーゼ活性は活性が低いが, GTP アーゼ活性化タンパク質 (GAP) と結合することにより酵素活性が亢進し, 不活性型へ戻りやすくなる. さらに複雑なことに, もう一つの調節タンパク質, グアニンヌクレオチド解離阻害タンパク (GDI) も存在する. Rho ファミリー G タンパクは通常 C 末に CaaX モチーフを持ち, このシステイン部分に

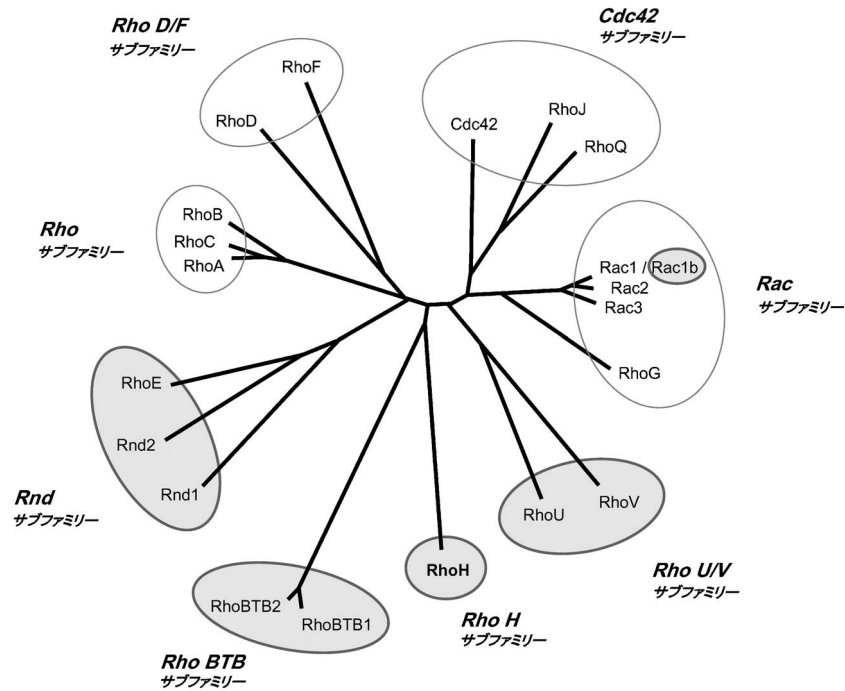


図1 Rhoファミリー低分子Gタンパク質の分類

Rhoファミリーに属する20個の低分子Gタンパク質は、系統樹からさらに8つのサブグループに細分類される。色が着いているグループ（および分子）は非定型Gタンパク質に分類される。Rac1bは古典的Gタンパク質であるRacサブファミリーに属するRac1遺伝子の選択的スプライシング産物であるが、その機能は非定型Gタンパク質であると考えられる。

プレニル基（殆どの場合ゲラニルゲラニル基であるが、ファルネシル基の場合もある）が結合することにより細胞膜に局在する。GDIは、GDP型のGタンパク質と安定に結合し、C末のゲラニルゲラニル基をカバーすることにより細胞膜への移行を阻止し、細胞質中に留まらせる働きを持つ。このように、典型的な低分子Gタンパク質は、GEF、GAPによる複雑な活性調節およびGDIによる細胞内局在の制御を受けながら、活性型（GTP型）と不活性型（GDP型）との間を素早く転換することができる「分子スイッチ」として機能しているのである。

II. 非定型Gタンパク質とは

それでは、本編の主題である非定型（atypical）Gタンパク質とはどのようなものであろうか。Rhoファミリーにおいては、Rnd, RhoU/V, RhoH, RhoBTBの4つのサブファミリーに属する分子が非定型Gタンパク質に分類される（図1参照）。Racサブファミリーに属するRac1遺伝子は典型的Gタンパク質であるが、その選択的スプライシング産物であるRac1b分子は非定型Gタンパク質に分類されている^{2,3}。

非定型Gタンパク質の最大の特徴は、GTP型/GDP型の相互変換を行うことができないことであ

る。RhoH, Rnd, RhoBTB各サブファミリーの分子は、GTPアーゼ活性の発現に必要な残基に変異があるためGTPアーゼ活性を持たない。したがって、これらの分子は常にGTP型となり、GDP型に戻ることはない。RhoU/Vサブファミリーに関してはGTPアーゼ活性部位に変異は存在しないが、GEFによるGTP交換を極めて受けやすい構造を取っているため、実質的には恒常的にGTP型になっている^{4,5}。いずれにせよ、これらの非定型RhoファミリーGタンパクに共通していることは、恒常的にGTP結合型（活性型）になっており、GDP型と相互変換しない、すなわちスイッチとして働くことができないことである。

従って、典型的なGタンパクとは異なり、その機能は発現調節、リン酸化などの翻訳後修飾、および細胞内局在の変化によって制御されており、通常のGEF、GAP、GDI等による制御は受けない。実際、これらの非定型RhoファミリーGタンパク質は、細胞種や分化段階によってその発現が細かく調節されていることが知られている。

III. 非定型RhoファミリーGタンパク質

RndサブファミリーにはRnd1/Rho6, Rnd2/Rho7, Rnd3/RhoE/Rho8の3つの分子が属する。

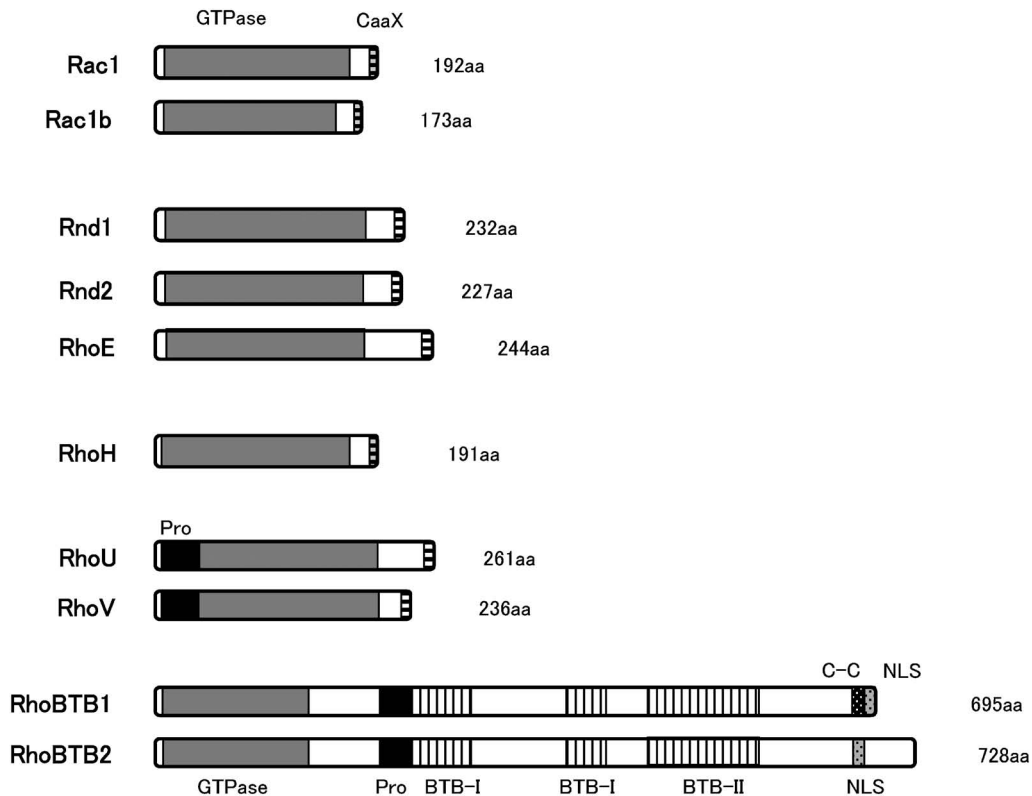


図2 非定型 Rho ファミリー G タンパク質の構造

非定型 Rho ファミリー G タンパク質のドメイン構造を一覧にしてある。Rac1 は古典的 G タンパク質であり、比較のために示してある。グレー部分は GTP アーゼドメインであるが、RhoU, RhoV 以外は変異、欠失により GTP アーゼ活性は実際に示さない。CaaX=Cys-aliphatic-aliphatic-何でも。Pro=プロリンリッチ領域。BTB ドメイン=Broad Complex, Tramtrack and Bric-a-brac ドメイン、別名 POZ ドメインとも呼ばれる。C-C=coiled coil。NLS=Nuclear localization signal。

これらの分子は主に脳に発現し、アクチン繊維（ストレスファイバー）の生成や接着を抑制することにより神経細胞の軸索ガイダンスに重要であると考えられている。Rnd1 および Rnd3 は p190RhoGAP と結合して RhoA の活性を抑制する。すなわち、Rnd サブファミリーは RhoA のアンタゴニストとして作用し、RhoA によるアクチン再構成を阻害することがその主な機能であると考えられている⁶⁾。RhoU/V サブファミリーには RhoU/Wrch1, RhoV/Chp が含まれる。どちらも細胞膜近傍に局在し、RhoU もアクチンストレス繊維の再構成を阻害する事が報告されている。また、Grb2, Nck, PLC γ などのシグナル伝達関連分子とも結合することが示され、アクチン再構成以外の作用点も示唆されている。

RhoBTB サブファミリーは他の Rho ファミリー G タンパク質とは構造が大きく異なり、2 つの BTB ドメインを持つ大きな分子である（図 2）。RhoBTB2 遺伝子は乳がん細胞で高率に（3.5%）変異および欠失が起こっていることが報告され、がん抑制遺伝子として働いていることが示唆されてい

る⁷⁾。最近、RhoBTB が Cul3, Roc1 と結合することがわかり、RhoBTB-Cul3-Rac1 複合体が E3 ユビキチンリガーゼとして機能することが報告された。基質についてはまだ不明であるが、G タンパク質がユビキチンリガーゼとして機能するという発見は驚きであった。実際、乳がん細胞で見つかった変異の中には Cul3 との結合を失う変異もあり、RhoBTB のがん抑制遺伝子としての機能は、そのユビキチンリガーゼ活性に依存している可能性もある。

IV. 非定型 Rho ファミリー G タンパク質 RhoH

RhoH は RhoH サブファミリーに属する唯一の分子であり、系統樹的にも他のサブファミリーとは独立している（図 1）。RhoH/TTF/ARHH は悪性 B リンパ腫（diffuse large B cell lymphoma）において Bcl6 遺伝子の転座先の融合遺伝子として 1995 年に初めて単離された⁸⁾。その後、悪性リンパ腫中において、RhoH 遺伝子の非翻訳領域における体細胞突然変異の頻度が非常に高いことなどが報告され^{9~11)}、当初はがん化との関連が考えられていた。

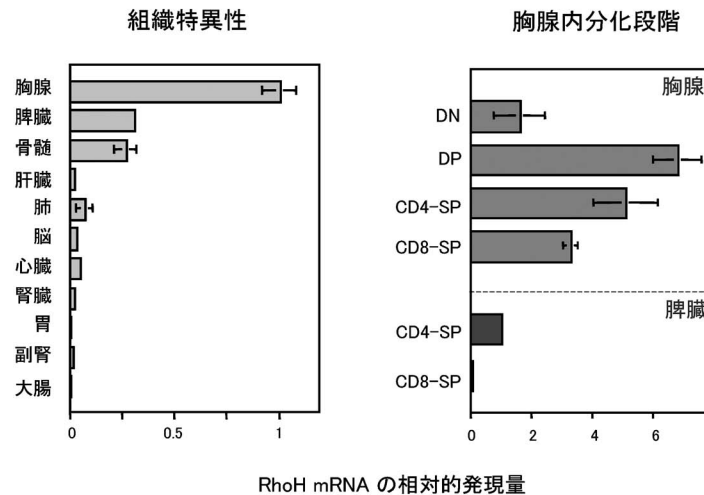


図3 RhoH 遺伝子の発現パターン

RhoH は造血系の細胞，リンパ系の組織に特異的に発現している．臓器としては，胸腺での発現が最も高い．胸腺細胞のなかでも，未熟 CD4CD8 ダブルポジティブ細胞段階で最も強く発現している．

前述したように，RhoH は GTP アーゼ活性を持たず，恒常的に GTP 型を取る非定型 G タンパク質である¹²⁾．RhoH は造血系の細胞に特異的に発現しており，皮膚の一部の細胞を除き，非造血系の細胞における発現は今のところ確認されていない^{8,13,14)}．一次，二次リンパ組織（骨髄，胸腺，脾臓）およびリンパ系細胞，骨髄系細胞共に広く発現しているが，胸腺における発現が最も高い（図3）．

RhoH の機能については，古典的な Rho ファミリー G タンパク質のアンタゴニストとして働き，これらの活性を阻害するというのが現在までの一般的な見解であった．このモデルは以下に挙げる報告によって支持されている．① RhoH cDNA を繊維芽細胞に過剰発現させると，恒常活性型 Rac1, RhoA および Cdc42 の遺伝子導入によって引き起こされる NF- κ B の DNA 結合活性，および p38MAPK の活性化が阻害された¹²⁾．②骨髄の造血系前駆細胞において，siRNA を用いて RhoH をノックダウンすると前駆細胞の増殖，生存が増強した．さらに，レトロウイルスにより RhoH を前駆細胞に過剰発現させると Rac1 の活性化が抑制された¹⁴⁾．実際，非定型 Rho ファミリー G タンパク質は古典的 G タンパクの機能を抑制するものが多く¹⁾，RhoH が Rac1 の機能を抑制するというモデルは受け入れられやすい．

Rnd サブファミリーが RhoA の活性を抑制するメカニズムは，GAP を RhoA の近傍へとリクルートすることによる¹⁵⁾．しかしながら，RhoH が GAP と結合するという知見は今のところない．最

近，Gu らは RhoH が Rac1 分子の膜への移行を阻止することを報告しており¹⁶⁾，GAP のリクルートとは別の何らかの機構によって古典的 Rho ファミリー G タンパク質の膜移行を阻止しているのかもしれない．

一方，JurkatT 細胞株において接着分子 LFA-1 の活性が増強している変異株からその責任遺伝子として RhoH 遺伝子が単離され，RhoH が T 細胞において LFA-1 の活性化を恒常的に抑制するという機能を持つことが報告された¹⁷⁾．T 細胞受容体 (TCR) からの刺激による LFA-1 の活性化 (inside-out シグナル) には Rac が重要な働きをしていることが知られているが，RhoH による LFA-1 活性の抑制は TCR 依存的ではなく構成的なものであり，Rac1 活性の抑制に依存しているかどうかは不明である．

V. RhoH ノックアウトマウス

我々は，胸腺に特異的に発現する遺伝子を探している過程で，他のグループとは独立に RhoH 遺伝子をクローニングした．この遺伝子の組織別の発現を RT-PCR で確認したところ，胸腺における発現が極めて高く，胸腺内のサブポピュレーションを比較すると，CD4CD8 ダブルポジティブ (DP) 細胞において最も発現が高く，成熟した CD4 シングルポジティブ (SP)，CD8-SP に分化するとその発現が低下することがわかった（図3）．胸腺内でのレパトア選択が行われるステージである DP 段階で高い発現を示す遺伝子はレパトア選択に重要な働き

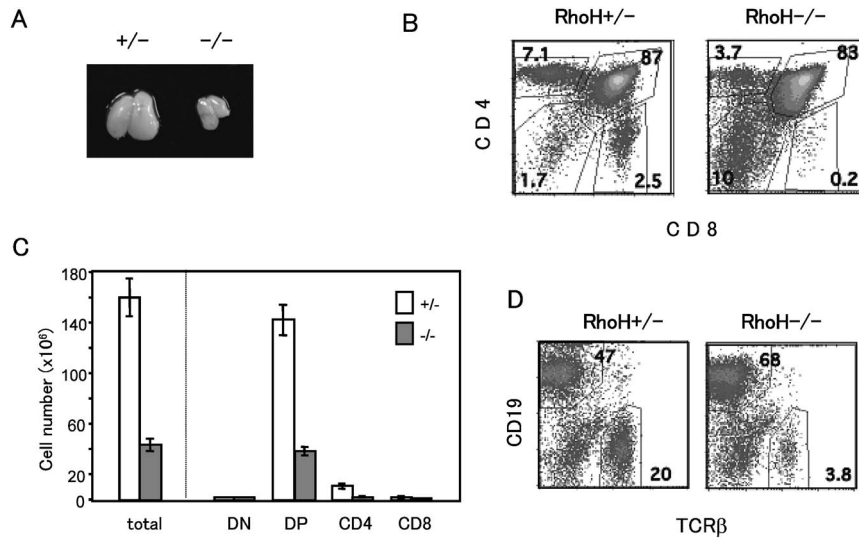


図4 RhoH ノックアウトマウスにおける T 細胞の分化

A. 胸腺の外観 ノックアウトマウスの胸腺は小さい. B. 胸腺の CD4 および CD8 フローサイトメトリー解析. DN の割合が相対的に高く, CD4-SP, CD8-SP の割合も激しく減少している. C. 胸腺内におけるそれぞれの分化段階の細胞数. 胸腺細胞の総数は 1/3~1/5 程度に減少し, 特に DP 段階以降で細胞数が極端に少なくなっている. D. 脾臓のフローサイトメトリー解析 T 細胞 (TCR β 陽性細胞) の割合が激減し, そのぶん B 細胞 (B220 陽性細胞) の割合が増加している.

をしていると予想し, この遺伝子の T 細胞における機能解析を開始した. T 細胞分化における RhoH の機能を検討する目的で, RhoH のトランスジェニックマウスおよびノックアウトマウスを作製した. CD2 プロモーター制御によって T 細胞特異的に RhoH を過剰発現させたトランスジェニックマウスでは主だった表現型は見つかっていないが, ノックアウトマウスは意外な表現型を示した. RhoH が Rac の活性を阻害しているのであれば, RhoH をノックアウトすると Rac が恒常活性化するので T 細胞の異常活性化などが起こることを予想していたが, ノックアウトマウスの胸腺は対照に比べて小さく, T 細胞分化は著しく阻害されていた (図 4). 胸腺細胞の総数は 1/3 から 1/5 程度にまで減少し, DP 細胞の減少が著しかったことから, DN から DP へと分化するキーステップである β 選択が抑制されていることが示唆された. さらに, DN 中のサブポピュレーション解析を行った結果, DN3 から DN4 への移行がノックアウトマウスで抑えられており, この結果も β 選択が阻害されていることを支持している. また, DP と CD4-SP の比, および DP と CD8-SP の比が対照に比べて著しく小さくなっていることを考えると, DP から SP への分化, すなわち正の選択も強く抑えられていることは明らかである. 実際, 末梢の二次リンパ器官である脾臓やリンパ節において, 成熟 CD4-SPT 細胞および CD8-SPT 細胞数が激減していた (図 4). また,

OT-I, OT-II TCR トランスジェニックと交配してモノクローナルな TCR の分化を検討した結果, CD4, CD8 いずれのリニエージにおいても正の選択が抑制されていた. RhoH が Rac の活性を抑制するというこれまでのモデルから考えると, 全く逆の表現型であり, RhoH に未知の機能があることは明白であると思われた.

VI. TCR シグナル伝達における RhoH の機能

時を同じくして, 我々以外の 2 つのグループから RhoH ノックアウトマウスの表現型が報告された^{18,19}. 我々の知見と同様, β 選択および正の選択が強く抑制されること, B 細胞など T 細胞以外の免疫担当細胞の分化は変わらないことを示している. RhoH ノックアウト T 細胞では TCR 刺激による Ca²⁺ の流入, LAT のリン酸化が強く抑えられており, TCR 下流のシグナル伝達が阻害されていた.

さらにこの論文で, Gu らは RhoH が ZAP-70 と結合するという意外な事実を明らかにした¹⁸. RhoH と結合するタンパク質はこれまでに RhoGDI²⁰, Pak5²¹ が報告されていたが, TCR シグナル伝達に極めて重要なキナーゼである ZAP-70 と結合することは大きな驚きであった. さらに, 彼らは RhoH が TCR 刺激によってリン酸化されること, リン酸化された RhoH は ZAP-70 とより強く結合することを見いだした. RhoH 分子中には ITAM 配列 (YxxL(I)x6-8YxxL(I)) に似た配置の

MLSSIKCVLVGDSAVGKTSLLVRFTSETFPEAYKPTVYENTGVDVFMDDGIQISLGLWDTAGNDAFRSIRPLS
 YQQADVLMCYSVANHNSFLNLKNKWISEIRSNLPCTPVLVVAQTQDQREVGPFRASCINAIEGKRLAQDV
 RAKGYLECSALSNRGVQVFECAVRTAVNQARRRRRRLFSINECKIF*

⁷³YQQADVLMC⁸³YSVA

ITAM: YxxL(I) x₆₋₈ YxxL(I)

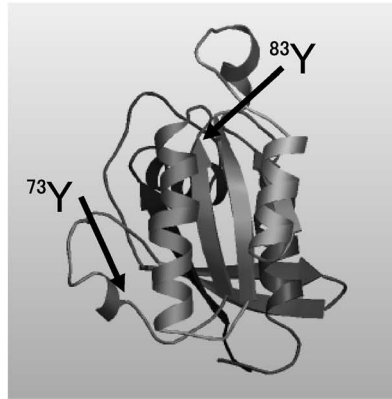


図5 RhoH分子内のITAM様モチーフ

RhoH分子の一次アミノ酸全配列を示す。下段に、3番目のチロシン(Y)から85番目のアラニンまでを抽出してある。ITAMはY(チロシン), xxと2つ続いた後(xはどんなアミノ酸でも良い), ロイシン(L)かイソロイシン(I)のいずれかが入り, その後6~8個のxの後, Yxx(LかI)という配列が続く。RhoHの73-85番までの配列はITAMのL(I)の部分(A(アラニン))になっているが, その他はITAMの基準を満たしており, Guらはこれを「ITAM様モチーフ」と命名している。

2つのチロシン残基Y(73)xxAxxxxxxY(83)xxAが存在し(図5), この73Y, 83Yの2つのチロシン残基を置換してリン酸化を受けなくした変異RhoH分子ではZAP-70との結合が損なわれることを示した¹⁸⁾。

非定型Gタンパク質が「ITAM様」のチロシン配列を持ち, そのITAMのリン酸化によってZAP-70と結合するというモデルは斬新で非常に魅力的である。ただ, RhoHの予想される立体構造から考えると, 73Yおよび83Yは分子内に隠れており外側からリン酸化を受けるとは考えにくい(図5)。また, リン酸化されていないRhoHでも弱くZAP-70に結合すること, Y73/Y83変異RhoHでも生物学的機能(T細胞の分化)がかなりの程度回復していること, などを考えると, ZAP-70とRhoHの結合における「ITAM様」モチーフのリン酸化の重要性については多少の疑問が残る。

いずれにせよ, T細胞分化におけるRhoHノックアウトマウスの表現型はZAP-70の機能不全から予想される表現型と合致する部分がかかなり多く, Racのアンタゴニストとしての機能よりはZAP-70のアダプターとしての機能のほうが生物学的には重要であるように思われる。すなわち, RhoHはGタンパク質としてシグナル伝達のスイッチとして機能しているのではなく, ZAP-70キナーゼを膜近傍へと留めておくアダプターとして働いているものと

考えられる(図6)。

Guらは, RhoHがZAP-70と構成的に結合すること, RhoHがリン酸化を受けるとその結合がより強固になること, 抗原提示細胞によるT細胞の刺激の際に, TCRとRhoHが免疫シナプス中心(c-SMAC)部位に共存することなどから, 膜に局在するタンパク質であるRhoHが, 細胞質中に存在するZAP-70分子を効率良く膜近傍へとリクルートすることがRhoHの主要な機能であると結論づけている¹⁸⁾。実際, 彼女らの報告によれば, RhoH欠損T細胞においてTCR刺激によるZAP-70のリン酸化(キナーゼ活性と相関しているY319のリン酸化)が抑えられており, RhoHがTCR刺激によるZAP-70の活性化に必要であることを示している。いっぽう, Dornらの報告によれば, TCR刺激によるLATのリン酸化は阻害されているが, ZAP-70のリン酸化(Y319)は減少しておらず, Guらの結果とは一致していない¹⁹⁾。彼らはRhoHがZAP-70の活性化に必要なのではなく, 活性化したZAP-70を基質であるLATに効率良く渡すのに重要であると結論付けている。すなわち, RhoHがZAP-70の活性化に重要であるのか, あるいは活性化したZAP-70を基質へとリクルートするのに重要であるのか, についてはいまだ一致した見解は得られていない(図6)。

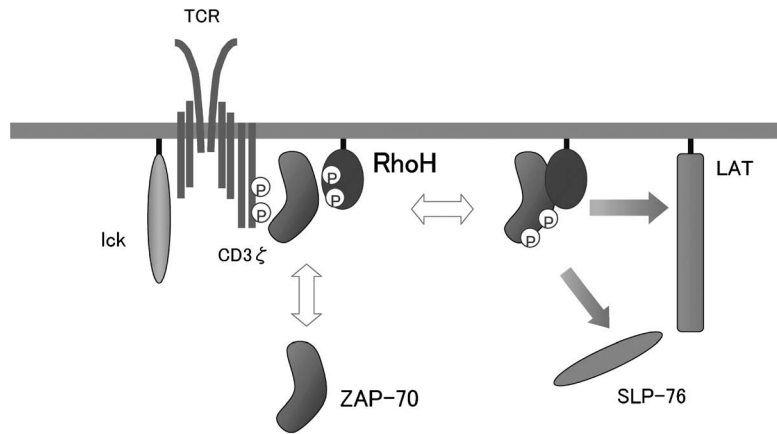


図6 RhoHのTCR依存性シグナル伝達における機能

RhoHは細胞膜上に局在していると考えられる。ZAP-70は細胞質中に存在する。TCRがクロスリンクされるとlckによってCD3 ζ 鎖（ホモダイマー）にあるITAM配列のチロシンがリン酸化され、ZAP-70のSH2部分がリン酸化されたITAMに結合する。RhoHはZAP-70と結合することにより、ZAP-70を膜近傍へと濃縮し、 ζ 鎖との会合を促進させる。あるいは、 ζ 鎖と会合してlckによってリン酸化され、活性化したZAP-70と結合して基質であるLATとの会合を促進させる、というモデルが考えられている。

VII. RhoHの多面的な機能

ノックアウトマウスの表現型解析により、RhoHが古典的RhoファミリーGタンパク質のアンタゴニストとしてシグナルを負に制御するというこれまでのモデルとは正反対の、RhoHがアダプターとしてシグナルを正に制御するという新しい機能が見つかり、RhoH研究も新たな展開を見せている。

ところで、RhoHがRacのアンタゴニストとして働くという以前の報告は支持されていないのであろうか？T細胞の分化にRacは必須である。我々はドミナントネガティブ変異Rac1が正の選択を阻害することを報告しており²²⁾、またRac1/Rac2のダブルノックアウトマウスでは胸腺におけるT細胞分化が完全に阻害されることがわかっている（Dr. D. Williams 私信）。RhoHをノックアウトすればRacの活性化が亢進することになり、胸腺の細胞数が増加したり、T細胞分化が増強してもよいはずである。実際、Dornらの報告では、RhoHノックアウトT細胞において、無刺激状態でのRac1の活性化が対照に比べ明らかに上昇している¹⁹⁾。ただ、成熟T細胞の活性化（増殖、IL-2産生）はRac分子を活性化しただけでは起こらないので、RhoH欠損T細胞において、たとえRac1が恒常的に活性化していても、TCRシグナルの最上流に位置するZAP-70の活性化が阻害されればT細胞の完全な活性化は起こらないものと推測できる。

ところが、胸腺内の β 選択に関してはRacの活性化、あるいはRasの活性化だけでバイパス出来

ることが報告されている²³⁾。DN3段階で分化が停止するRAGノックアウトマウスに恒常活性型のRac変異分子を過剰発現したトランスジェニックマウスでは、不完全ではあるがDPが誘導されるという結果である。 β 選択の少なくとも一部はプレTCRからの刺激なしにRacの恒常活性化だけで達成できるということである。したがって、ZAP-70の活性化が阻害されていても β 選択は起こるはずであり、RhoHノックアウトマウスの β 選択の減少は説明できない。

さらに、ZAP-70ノックアウトマウスでは正の選択は完全に阻害されているが、 β 選択は全く阻害されず、DPの数は正常である²⁴⁾。すなわち、RhoHノックアウトマウスにおける β 選択の抑制はZAP-70の活性化阻害だけでは全く説明出来ない。ZAP-70と同じファミリーに属するSykとZAP-70を同時にノックアウトしたマウスでは β 選択が完全に阻害されるので²⁵⁾、 β 選択においてはZAP-70とSykはお互いに相補的に機能していると考えられている。RhoHがZAP-70だけでなくSykのアダプターとしても機能しているかと仮定すれば、 β 選択における抑制はうまく説明することができる。

いっぽう、LFA-1の活性化についてはノックアウトマウスのT細胞を用いてICAM-1との接着アッセイを行った結果、LFA-1の恒常活性化は見られなかった¹⁹⁾。したがって、RhoHがT細胞株においてLFA-1の恒常的な活性化を阻止する機能を持つというCherryらの報告¹⁷⁾はプライマリーのT細胞では再現されていない。

VIII. RhoH と自己免疫疾患

坂口らは慢性関節炎を発症する自然突然変異マウス (SKG マウス) を分離し, その責任遺伝子が ZAP-70 の点突然変異であることを示した²⁶⁾. この SKG 変異は ZAP-70 の活性化が不十分になる変異であり, TCR シグナル伝達が減弱することが示されている. 負の選択によって除かれるはずの自己反応性 T 細胞クローンがシグナルの減弱によって生き残り, 自己免疫疾患を発症するものと解釈されている. SKG マウスの表現型は, RhoH ノックアウトマウスと似ている部分が多い (図 7). 我々の RhoH ノックアウトマウスも BALB/c 背景にすれば, 自己免疫性の慢性関節炎を発症する可能性もあり, 慢性関節リウマチの新たな病態モデルマウスとなるかもしれない.

IX. おわりに

RhoH は Rho ファミリーに属する非定型の低分子 G タンパク質であるが, T 細胞のシグナル伝達において ZAP-70 のアダプター分子として機能していることが明らかとなった. 同時に, Rac のアンタゴニストとしても機能している可能性もある. また, RhoH が Syk と結合する可能性は高い. Syk は B 細胞, マスト細胞, NK 細胞, マクロファージなど様々な免疫担当細胞において ITAM 依存性のシグナル伝達に広く関与しており, RhoH が T 細

胞以外にも様々な免疫応答に関与している可能性も考えられる.

以上のように, 構造や相同性から Rho ファミリーに分類されている G タンパク質の中には, 通常の G タンパク質としては働かずに, これまでには予想されなかったような多種多様な機能を持っている非定型 G タンパク分子が多数存在する. これら非定型 G タンパクの解析が進むにつれ, 今後も予想外の新たな機能が次々に明らかにされてゆくことが期待される.

謝 辞: 本稿で紹介した研究内容は山口大学医学部白井睦訓教授, 京都大学医学部坂口志文教授との共同研究によるものであり, また研究の遂行にあたり国立国際医療センター笹月健彦総長, 湯尾明研究部長のご協力を賜りました. ここに深謝いたします.

文 献

- 1) Aspenstrom, P., A. Ruusala, and D. Pacholsky. : Taking Rho GTPases to the next level: The cellular functions of atypical Rho GTPases. *Experimental cell research* **313**: 3673-3679, 2007.
- 2) Jordan, P., R. Brazao, M. G. Boavida, C. Gespach, and E. Chastre. : Cloning of a novel human Rac1b splice variant with increased expression in colorectal tumors. *Oncogene* **18**: 6835-6839, 1999.
- 3) Schnelzer, A., D. Prechtel, U. Knaus, K. Dehne, M. Gerhard, H. Graeff, N. Harbeck, M. Schmitt, and E. Lengyel. : Rac1 in human breast cancer: overexpression, mutation analysis, and characterization of a new isoform, Rac1b. *Oncogene* **19**: 3013-3020, 2000.
- 4) Saras, J., P. Wollberg, and P. Aspenstrom. : Wrch1 is a GTPase-deficient Cdc42-like protein with unusual binding characteristics and cellular effects. *Experimental cell research* **299**: 356-369, 2004.
- 5) Shutes, A., A. C. Berzat, A. D. Cox, and C. J. Der. : Atypical mechanism of regulation of the Wrch-1 Rho family small GTPase. *Curr Biol* **14**: 2052-2056, 2004.
- 6) Chardin, P. : Function and regulation of Rnd proteins. *Nature reviews* **7**: 54-62, 2006.
- 7) Hamaguchi, M., J. L. Meth, C. von Klitzing, W. Wei, D. Esposito, L. Rodgers, T. Walsh, P. Welsh, M. C. King, and M. H. Wigler. :

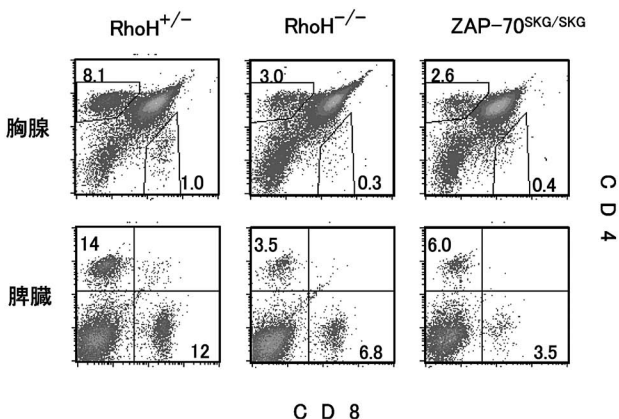


図 7 RhoH ノックアウトマウスと SKG 変異マウスの比較通常のマウス (RhoH^{+/-}), RhoH ノックアウトマウス (RhoH^{-/-}) および SKG マウス (ZAP-70^{SKG/SKG}) の胸腺 (上段) および脾臓 (下段) のフローサイトメトリー解析を示す. 胸腺において, RhoH ノックアウトマウスも SKG マウスもどちらも正の選択が阻害され, CD4-SP および CD8-SP の割合が減少している. 脾臓においても同様に成熟 T 細胞の割合の減少が見られる.

- DBC2, a candidate for a tumor suppressor gene involved in breast cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99** : 13647–13652, 2002.
- 8) Dallery, E., S. Galiegue-Zouitina, M. Collynd'Hooghe, S. Quief, C. Denis, M.P. Hildebrand, D. Lantoine, C. Deweindt, H. Tilly, C. Bastard, and et al. : TTF, a gene encoding a novel small G protein, fuses to the lymphoma-associated LAZ3 gene by t(3 ; 4) chromosomal translocation. *Oncogene* **10** : 2171–2178, 1995.
- 9) Preudhomme, C., C. Roumier, M. P. Hildebrand, E. Dallery-Prudhomme, D. Lantoine, J. L. Lai, A. Daudignon, C. Adenis, F. Bauters, P. Fenaux, J. P. Kerckaert, and S. Galiegue-Zouitina. : Nonrandom 4p13 rearrangements of the RhoH/TTF gene, encoding a GTP-binding protein, in non-Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma. *Oncogene* **19** : 2023–2032, 2000.
- 10) Pasqualucci, L., P. Neumeister, T. Goossens, G. Nanjangud, R. S. Chaganti, R. Kuppers, and R. Dalla-Favera. : Hypermutation of multiple proto-oncogenes in B-cell diffuse large-cell lymphomas. *Nature* **412** : 341–346, 2001.
- 11) Gaidano, G., L. Pasqualucci, D. Capello, E. Berra, C. Deambrogi, D. Rossi, L. Maria Larocca, A. Gloghini, A. Carbone, and R. Dalla-Favera. : Aberrant somatic hypermutation in multiple subtypes of AIDS-associated non-Hodgkin lymphoma. *Blood* **102** : 1833–1841, 2003.
- 12) Li, X., X. Bu, B. Lu, H. Avraham, R. A. Flavell, and B. Lim. : The hematopoiesis-specific GTP-binding protein RhoH is GTPase deficient and modulates activities of other Rho GTPases by an inhibitory function. *Mol Cell Biol* **22** : 1158–1171, 2002.
- 13) Boureux, A., E. Vignal, S. Faure, and P. Fort. : Evolution of the Rho family of ras-like GTPases in eukaryotes. *Mol Biol Evol* **24** : 203–216, 2007.
- 14) Gu, Y., A. C. Jasti, M. Jansen, and J. E. Siefring. : RhoH, a hematopoietic-specific Rho GTPase, regulates proliferation, survival, migration, and engraftment of hematopoietic progenitor cells. *Blood* **105** : 1467–1475, 2005.
- 15) Wennerberg, K., M. A. Forget, S. M. Ellnerbroek, W. T. Arthur, K. Burrige, J. Settleman, C. J. Der, and S. H. Hansen. : Rnd proteins function as RhoA antagonists by activating p190 RhoGAP. *Curr Biol* **13** : 1106–1115, 2003.
- 16) Chae, H. D., K. E. Lee, D. A. Williams, and Y. Gu. : Cross-talk between RhoH and Rac1 in regulation of actin cytoskeleton and chemotaxis of hematopoietic progenitor cells. *Blood* 2007 Dec 18 [Epub ahead of print].
- 17) Cherry, L.K., X. Li, P. Schwab, B. Lim, and L.B. Klickstein. : RhoH is required to maintain the integrin LFA-1 in a nonadhesive state on lymphocytes. *Nature immunology* **5** : 961–967, 2004.
- 18) Gu, Y., H. D. Chae, J. E. Siefring, A. C. Jasti, D.A. Hildeman, and D.A. Williams. : RhoH GTPase recruits and activates Zap70 required for T cell receptor signaling and thymocyte development. *Nature immunology* **7** : 1182–1190, 2006.
- 19) Dorn, T., U. Kuhn, G. Bungartz, S. Stiller, M. Bauer, J. Ellwart, T. Peters, K. Scharffetter-Kochanek, M. Semmrich, M. Laschinger, B. Holzmann, W. E. Klinkert, P. T. Straten, T. Kollgaard, M. Sixt, and C. Brakebusch. : RhoH is important for positive thymocyte selection and T-cell receptor signaling. *Blood* **109** : 2346–2355, 2007.
- 20) Faure, J., and M. C. Dagher. : Interactions between Rho GTPases and Rho GDP dissociation inhibitor (Rho-GDI). *Biochimie* **83** : 409–414, 2001.
- 21) Wu, X., and J. A. Frost. : Multiple Rho proteins regulate the subcellular targeting of PAK5. *Biochem Biophys Res Commun* **351** : 328–335, 2006.
- 22) Oda, H., H. Suzuki, K. Sakai, S. Kitahara, M. S. Patrick, Y. Azuma, K. Sugi, T. Kitamura, J. Kaye, and M. Shirai. : Rac1-mediated Bcl-2 induction is critical in antigen-induced CD4 single-positive differentiation of a CD4+CD8+ immature thymocyte line. *Journal of leukocyte biology* **81** : 500–508, 2007.
- 23) Gomez, M., V. Tybulewicz, and D.A. Cantrell. : Control of pre-T cell proliferation and differentiation by the GTPase Rac-I. *Nature immunology* **1** : 348–352, 2000.
- 24) Negishi, I., N. Motoyama, K. Nakayama, S. Senju, S. Hatakeyama, Q. Zhang, A.C. Chan, and D.Y. Loh. : Essential role for ZAP-70 in both positive and negative selection of thymocytes. *Nature* **376** : 435–438, 1995.
- 25) Cheng, A. M., I. Negishi, S. J. Anderson, A.C.

Chan, J. Bolen, D. Y. Loh, and T. Pawson. : The Syk and ZAP-70 SH2-containing tyrosine kinases are implicated in pre-T cell receptor signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **94** : 9797-9801, 1997.

26) Sakaguchi, N., T. Takahashi, H. Hata, T.

Nomura, T. Tagami, S. Yamazaki, T. Sakihama, T. Matsutani, I. Negishi, S. Nakatsuru, and S. Sakaguchi. : Altered thymic T-cell selection due to a mutation of the ZAP-70 gene causes autoimmune arthritis in mice. *Nature* **426** : 454-460, 2003.