

胸腺微小環境におけるTリンパ球の分化と選択

高浜洋介

徳島大学疾患ゲノム研究センター

要約

Tリンパ球の分化と選択は、自己に寛容で非自己に応答しうる獲得免疫システムの形成に不可欠である。Tリンパ球の分化と選択を担う胸腺微小環境は主に皮質と髄質から構成され、それぞれ皮質上皮細胞と髄質上皮細胞が各微小環境の構造と機能を特徴づけている。このうち皮質上皮細胞は、固有のプロテアソーム構成鎖 $\beta 5t$ の発現を介した正の選択などにより、非自己への応答性を有するTリンパ球を産生する。一方、髄質上皮細胞は核内因子 Aire の発現を介した負の選択などにより、Tリンパ球の自己寛容性を確立する。すなわち、胸腺上皮細胞亜集団は固有の分子機能を備えることで獲得免疫システムの形成を担う。それゆえ、免疫システムの解明には、Tリンパ球など血液系細胞を対象とする従来の免疫学研究に加えて、胸腺微小環境をはじめとする「免疫の場」に視点を移した新たな研究の枠組みが必要である。

1. はじめに

免疫応答の司令塔として自己と非自己の識別を担うTリンパ球は、造血幹細胞に由来する血液系細胞であり、胸腺にて分化する。胸腺内へと移入したTリンパ球前駆細胞は、ひとつひとつ異なる抗原認識特異性を有する抗原受容体を発現するTリンパ球へと分化する。産生されたTリンパ球はまず、胸腺内に提示される自己抗原分子群への反応親和性によって細胞生死と分化系譜の選択をうけ、自己成分に寛容で非自己分子に応答しうる抗原認識特異性レパトア（レパートリー）を確立する。胸腺でTリンパ球がどのように分化しどのように選択されるかについては、これまで主にTリンパ球を中心に解明が進められてきた。一方、Tリンパ球の分化を誘導しレパトアを選択する胸腺の器官機能を担う分子群については、皮質と髄質を主とする胸腺微小環境を構築する細胞の性状解析を含め、最近ようやく解析が始まったところである。得られつつある知見によると、皮質と髄質を構築する胸腺上皮細胞にはそれぞれユニークな自己抗原提示機構が含有され、それらはTリンパ球のレパトア形成に不可欠であることがわかってきた。ここでは、近年解析が進みつつある胸腺微小環境の分子理解、とりわけ胸腺上皮細胞の分子機能に視点を定め、Tリンパ球の分化と選択の分子機構について解説する。

2. 免疫システム形成における胸腺の役割

獲得免疫システムの形成に胸腺が必須の役割を果たすことは、50年前の1961年に初めて報告された(1-3)。実際、Tリンパ球（T細胞）は、胸腺に由来する（Thymus-derived）リンパ球との意味で命名されている。それまで胸腺は、鳥類での卵殻形成に関わる器官ではないかとか、何らかのホルモンを産生する分泌組織ではないかなどと推察されつつ、胸腺とは痕跡器官であり胸腺内の小リンパ球は何の役にも立たないといった理解が幅をきかせていた(4)。加えて、成人の重症筋無力症患者で、胸腺摘出がしばしば治療効果をもたらすことは当時から知られており(5)、胸腺とは、疾患時に有害になる器官ではあっても、健康な人体の形成と機能には不要な器官であるとの考えが主流であった。

しかし、1961年、ほぼ同時に3つのグループによって、誕生直後に胸腺を摘出された動物（ウサギ・マウス・ラット）では、成獣に成長した後の様々な獲得免疫応答と生体防御が著しく低下することが報告された(1-3)。成獣での胸腺摘出によっては免疫応答の低下がみられないことから、胸腺は新生仔期の発達過程でおこる免疫システムの形成に重大な役割を果たすと考えられた。その後1971年、胸腺の形成を先天的に欠損するヌードマウスでは著明な免疫

応答低下がみられることが報告され(6,7)、胎仔期または新生仔期の免疫システム形成に胸腺が不可欠の器官であることが確信されるようになった。さらに、転写因子 Tbx1 の欠損など 2 番染色体の異常によって胸腺の先天的形成不全を呈する完全 DiGeorge 症候群の患者や、ヌードマウスの変異責任遺伝子である転写因子 Foxn1 の欠損によって胸腺を先天的に欠損する患者において、著しい T リンパ球の減少と免疫不全がみられることから、獲得免疫システム形成に胸腺が必須であることはヒトでも確認された(8,9)。

胸腺は、軟骨魚類を含むすべての脊椎動物に存在し、脊椎動物の免疫システム形成に不可欠である。ヤツメウナギやヌタウナギといった円口類およびそれらより下等とされる動物には胸腺はみられず、それゆえ T リンパ球は生成されない(10)。T リンパ球を含む獲得免疫システムを必要とする脊椎動物とは異なり、無脊椎動物では自然免疫システムが生体防御の主体といわれている。

3. 胸腺微小環境を構成する胸腺上皮細胞

胸腺は、副甲状腺とともに、第三咽頭嚢に由来する器官であり、内胚葉性の咽頭嚢上皮細胞と神経冠由来の間葉系細胞の連携によって原基が形成される(11)。原基形成の後、造血幹細胞由来の T リンパ球前駆細胞が移入し、胸腺内の微小環境にて分化誘導され選択される。

胸腺の実質は主に、被膜に近く小リンパ球が高密度に存在する皮質 (cortex) と、器官中央部に位置し皮質に比較してリンパ球密度の低い髄質 (medulla) という異なる二つの微小環境によって構成される。皮質と髄質はそれぞれ皮質上皮細胞 (cortical thymic epithelial cell, cTEC) と髄質上皮細胞 (medullary thymic epithelial cell, mTEC) が各微小環境の構造と機能特徴づける。

cTEC と mTEC は、いずれも咽頭嚢内胚葉上皮由来の胸腺上皮共通前駆細胞から分化する(12)。胸腺上皮共通前駆細胞から cTEC と mTEC への分化には Foxn1 が必要であるが、2 系列への分岐機構は知られていない。共通前駆細胞から cTEC と mTEC への分化は胎生期ばかりでなく生後にも観察されており、継続的な胸腺上皮細胞分化は器官維持に寄与すると考えられている(13)。

cTEC と mTEC は、細胞内のケラチン分子種の発現プロファイルなどで識別されるが、今世紀になって、細胞表面分子を含む様々なマーカー分子が同定され、単一細胞レベルで分取することができるようになってきた。具体的には、コラゲナーゼやトリプシンなどで胸腺を処理して懸濁させた細胞 (ほとんどが分化途上の T リンパ球系列の血液系細胞で胸腺上皮細胞など微小環境を構築する細胞は 0.01~0.1%オーダーまたはそれ未満と稀少である) を種々のモノクローナル抗体で多重染色し、セルソーターなどを用いて稀少な胸腺上皮細胞を同定・精製することができる。この目的でしばしば用いられるマーカー分子には、血液系細胞に発現され胸腺上皮細胞に発現されない CD45、胸腺の非血液系細胞のうち胸腺上皮細胞に発現されるクラス 2 MHC や EpCAM、cTEC に発現され mTEC に発現されない Ly51 や CD205、mTEC に発現され cTEC に発現されない UEA1 や CD80 などがある。例えば、cTEC と mTEC の同定と精製には、それぞれ CD45⁺EpCAM⁺Ly51⁺UEA1⁻と CD45⁻EpCAM⁺Ly51⁻UEA1⁺といった 4 色蛍光染色が用いられる。これらの分子マーカーを用いることによって cTEC と mTEC を高純度で精製し、各細胞集団の遺伝子やタンパク質の発現を直接解析することが可能になっている(14, 15)。

4. 胸腺微小環境への T リンパ球前駆細胞の移入

胎生期の肝臓や生後の骨髄などの一次造血器官で産生され血流に放出された T リンパ球前駆細胞は、胸腺へと移入することで T リンパ球への分化をはじめ (図 1 ①)。T リンパ球前駆細胞の胸腺への移入には、接着因子と遊走因子の関与が知られている。

器官内に血管が形成される前の胎生期の胸腺への移入には、T リンパ球前駆細胞に発現されるケモカイン受容体 CCR7, CCR9, CXCR4 が協調的に関与する(16, 17)。CCR9 と CXCR4 のリガンド CCL25 と CXCL12 は胸腺原基上皮細胞に発現される一方、CCR7 のリガンド CCL21 は胸腺原基に近接した副甲状腺原基上皮細胞に発現される。T リンパ球前駆細胞の胎生期胸腺への移入には CCL21 を産生する副甲状腺原基が関与する(17)。

一方、生後の胸腺では器官内に血管が形成されており、T リンパ球前駆細胞は血流から血管内皮への接着を経て移入する。この接着には、T リンパ球前駆細胞に発現される PSGL1 と胸腺

血管内皮細胞に発現される P-selectin との結合が関与する(18)。また、生後の胸腺への移入にもケモカイン受容体の CCR7 と CCR9 が関与する(19,20)。

5. 胸腺皮質における T リンパ球の生成

生後胸腺内の血管は皮質髄質境界領域や髄質に豊富であるため、生後の胸腺に移入したばかりの T リンパ球前駆細胞は器官の深部に多い。T リンパ球前駆細胞は胸腺微小環境から供給される IL-7 と Delta-like 4 (DL4) に応答して増殖するとともに T リンパ球系列への分化を開始する(21, 22)。IL7 と DL4 は皮質上皮細胞に高発現され、T リンパ球系列への初期分化を開始した細胞は皮質に多く見られる(23,24) (図 1 ②)。

T リンパ球への分化において決定的なイベントは、抗原認識を担う抗原受容体 (T cell antigen receptor, TCR) の発現である。IL7 と DL4 による分化誘導シグナルを受けた T リンパ球前駆細胞内では TCR β 遺伝子座の VDJ 領域の不可逆的ゲノム構造変化 (酵素反応による遺伝子再構成) が起こる。片側アレルの遺伝子再構成にて VDJ のコドンフレームが適合し TCR β 鎖全長が翻訳される細胞では、TCR β 鎖が pT α 鎖と会合したプレ TCR 複合体が膜表面に発現される。プレ TCR 複合体はリガンド非依存性に細胞質にシグナルを伝達し、もう片方の TCR β V(D)J 領域の遺伝子再構成を停止させることで一つの T リンパ球に発現される TCR β 鎖を一種類に限定させる(25)。プレ TCR シグナルはまた、さらなる T リンパ球分化を促し、CD4 と CD8 の発現および TCR α 遺伝子座 VJ 領域の遺伝子再構成を誘導する。VJ 再構成の結果コドンフレーム適合 TCR α 鎖の発現に成功した細胞は TCR $\alpha\beta$ 複合体すなわち抗原受容体を発現するようになる。このようにして、一つ一つの細胞で異なる抗原認識特異性を有し、集団全体として多様な特異性を有する CD4⁺CD8⁺TCR $\alpha\beta$ ⁺ 新生 T リンパ球が胸腺皮質にて産生される。

6. 胸腺皮質における新生 T リンパ球の選択

TCR の抗原認識特異性は、前項で述べたとおり、核内ゲノム構造の不可逆的変更によって決定される。この V(D)J 遺伝子再構成が作動するからこそ、T リンパ球は集団として抗原認識の多様性を獲得する。一方で、新生された CD4⁺CD8⁺TCR $\alpha\beta$ ⁺ T リンパ球に発現される TCR の認識特異性は、膜表面で認識する抗原リガンドと何の関わりもなく核内で生成されるため、新生 CD4⁺CD8⁺TCR $\alpha\beta$ ⁺ T リンパ球の TCR 初期レパトアは、生体の自己分子群に強い反応性を示す細胞や、生体にとって無用な認識特異性を示す細胞を含む。すなわち、V(D)J 遺伝子再構成による抗原認識の多様性を確保するため、自己に対して有害または無用な細胞を排除しなければならないという点に、胸腺における T リンパ球選択の必然性がある (図 1 ③)。

胸腺皮質で新生された CD4⁺CD8⁺TCR $\alpha\beta$ ⁺ T リンパ球は、まず cTEC に発現されるペプチド MHC 複合体 (peptide major histocompatibility complex; pMHC) と TCR との相互作用によって選択される(26, 27)。このとき、pMHC と TCR との親和性によって T リンパ球の生死が規定され、低親和性の相互作用があるときのみ細胞の生存とさらなる分化が誘導される(28)。このプロセスを正の選択 (positive selection) という。正常マウス個体では、低親和性の相互作用によって正の選択が誘導される細胞は新生 CD4⁺CD8⁺TCR $\alpha\beta$ ⁺ 細胞の 1~5% といわれる。一方、相互作用がない (親和性が低すぎる) ときや高親和性の相互作用があるときは、細胞生存が保証されず新生 T リンパ球は胸腺皮質にて排除される。自己 pMHC に対して低親和性を示す T リンパ球のみが正の選択を誘導されることによって、自己に有害性を示さず非自己に応答しうる T リンパ球が選抜される。

cTEC に提示され正の選択を誘導する pMHC のペプチドは cTEC に固有であり、その他の体細胞に提示される pMHC のペプチドとは異なる。cTEC には、cTEC に特異的に発現される構成鎖 $\beta 5t$ (Psmbl1) を含むプロテアソーム「胸腺プロテアソーム(thymoproteasome)」が発現され、そのため、cTEC に固有のクラス 1 MHC 会合ペプチドが産生される。cTEC 特異的な $\beta 5t$ 依存性の細胞質内ペプチド産生は、アロ抗原やウイルス抗原への応答能を備え正常な数を有する CD8 T リンパ球のレパトア確立に必要である(29-31)。また、cTEC にはリソソームプロテアーゼのうち cathepsin L や thymus-specific serine protease (Tssp, Prss16) が高発現され、他の体細胞とは異なったクラス 2 MHC 会合ペプチドが提示されることで CD4 T リンパ球の正の選択を誘導する(32-35)。

すなわち、cTECには固有のタンパク質分解機構が内在し、cTEC固有の自己抗原ペプチド産生提示機構は非自己分子群への応答性を有し生体を防御するTリンパ球の産生に必要である。

7. 正の選択による髄質への移入と髄質の形成

胸腺皮質での新生Tリンパ球におけるTCRシグナルは、新生Tリンパ球の細胞生死と分化能を決定するばかりでなく、ケモカイン受容体CCR7の発現を誘導する。胸腺内でのCCR7リガンド(CCL21とCCL19)は主にmTECに発現されるため、正の選択によって細胞生存を保證されたTリンパ球は、mTECに誘引されて髄質へと移動する(36-38) (図1④)。

新生Tリンパ球におけるTCRシグナルはまた、RANKLをはじめとするTNFスーパーファミリーサイトカインの産生を促す。RANKLの受容体であるRANKはmTECに高発現され、RANKL刺激はmTECの増殖を促進するため、皮質での正の選択は髄質の形成に大きく寄与する(15)。皮質の新生Tリンパ球はTCRシグナルを受けてCD40Lやlymphotoxinをも産生し、これらの受容体CD40やLTβRを介してmTECの更なる増殖と髄質形成を制御する(39-42)。このように、皮質における正の選択は、髄質へのTリンパ球の移動に加えて、髄質の形成を促進する。

8. 髄質上皮細胞と樹状細胞による自己寛容の確立

皮質で正の選択を受けたTリンパ球は髄質へと移動し、髄質に局在するmTECや樹状細胞と出会う。mTECはゲノムにコードされたすべての遺伝子を低いレベルで発現する特殊な遺伝子発現様式を示す(43)。無差別遺伝子発現(promiscuous gene expression)とよばれるこの性質は、胸腺外の各臓器に特異的に発現される自己抗原を含めて自己生体に発現される分子群を髄質微小環境内に発現させる。正の選択を受けたばかりでいまだ幼若なTリンパ球は、髄質上皮細胞に提示される身体中の自己分子群に出会い、自己に反応する有害なTリンパ球は髄質にて「負の選択(negative selection)」とよばれる排除を受ける。無差別遺伝子発現を含むmTECの機能的成熟にはmTECの亜集団に発現されるAire(autoimmune regulator)と呼ばれる核内因子が重要である。Aire依存性のmTEC成熟と無差別遺伝子発現はTリンパ球の自己寛容確立に必須であり、Aireや成熟mTECの欠損は自己免疫疾患の発症につながる(44)。 (図1⑤)

髄質には、mTECとともに樹状細胞(dendritic cell, DC)が集積している。髄質でのDCの局在には、mTECの産生するケモカインXCL1によるXCR1(XCL1受容体)陽性DCの誘引が関与する。mTECによるXCL1産生とDCの髄質局在もまたAire依存性である(45)。髄質ではmTECとDCが協調して、負の選択と制御性T細胞(regulatory T cell, Treg cell)の産生による自己寛容確立を担う(46, 47) (図1⑥)。制御性T細胞の生成をもたらすTCRシグナルと負の選択をもたらすTCRシグナルの差違は未解明である。

9. 胸腺微小環境からの成熟Tリンパ球の移出

髄質に移住したTリンパ球は髄質で約4日滞在する(48)。この間に髄質にて提示された自己分子群への反応性から負の選択を生き抜いたTリンパ球は、転写因子KLF2の発現により、スフィンゴシン1リン酸受容体S1P1の発現を含む成熟Tリンパ球へと分化する(49)。スフィンゴシン1リン酸は、胸腺実質をはじめ器官内の濃度に比べて血流中に豊富に存在するため、S1P1を発現する成熟Tリンパ球は、スフィンゴシン1リン酸に誘引されて血流中に移出される(50) (図1⑦)。

10. 結論と展望

このようにして胸腺で生成され、皮質と髄質での選択を順に経ることで、自己への寛容と非自己への反応性を備えたTリンパ球のみが胸腺から循環へと放出される。Tリンパ球の分化誘導には、分化途上のTリンパ球系列細胞の生存と分化を支持する分子群が必要であり、胸腺微小環境はそれらを提供する場である。また胸腺微小環境を構成する細胞は、ケモカインなどの誘引因子や接着因子を産生することによって、分化途上のTリンパ球を適切に異なる微小環境へと局在させる(51)。更にTリンパ球の選択には、皮質上皮細胞に固有のタンパク質分解と、髄質上皮細胞に固有の無差別遺伝子発現を介して、皮質と髄質にそれぞれ特殊な自己ペプチドが

提示される必要がある(52, 53)。

獲得免疫システムの司令塔であるTリンパ球の形成を担う胸腺の微小環境を構成する皮質上皮細胞と髄質上皮細胞は、血液系細胞ではない上皮細胞の亜集団である。しかし、これらの上皮細胞には、獲得免疫システムにとって不可欠で固有の分子機構が含有されていることがわかってきた。これまでの免疫学はTリンパ球をはじめ血液系細胞を中心に研究が進められてきたが、胸腺微小環境とそれを構築する胸腺上皮細胞に視点を移した研究を進めていくこともまた、獲得免疫システムの解明には必須であると考えられる。「免疫の場」に視点を移した新たな研究の枠組みを構築していくことによって、従来の血液系細胞の解析から明らかにされることのなかった免疫システムの飛躍的な理解進展が期待される。

謝辞

本稿は、主として科学研究費補助金、なかでも免疫系特定領域研究と基盤研究の支援によって過去10年あまり行ってきた研究の成果に基づく執筆である。この間ともに研究を進めてきた諸氏、とりわけ高田健介、大東いずみ、笠井道之、坂田三恵、黒部裕嗣、新田剛、上野智雄、岩波礼将、劉村蘭、斉藤ふみ、富田修平、赤松謙子、菅原剛彦をはじめとする職員各位と学生諸君を含む、現在と過去の研究室メンバー、Georg Holländer、Richard Boyd、Graham Anderson、Nancy Manley、Martin Lipp、田中啓二、村田茂穂、清木誠、林良夫をはじめとする共同研究者各位に感謝する。また、長年にわたって研究室運営を支援いただいている久保美香氏に深謝する。

引用文献

1. Archer, O. & Pierce, J. (1961) *Fed Proc.* 20, 26
2. Miller, J. (1961) *Lancet* 2, 748-749
3. Arnason, B., Jankovic, B., Waksman, B. (1962) *Nature* 194, 99-100
4. Madawar, P. (1963) *Ciba Foundation Study Group* 16, 70
5. Keynes, G. (1949) *Br Med J* 2, 611-616
6. Pantelouris, E. (1971) *Immunology* 20, 247-252
7. Wortis, H., Nehlsen, S., Owen, J. (1971) *J Exp Med* 134, 681-692
8. Markert, M., Hummell, D., Rosenblatt, H., Schiff, S., Harville, T., Williams, L., Schiff, R., Buckley, R. (1998) *J Pediatr* 132, 15-21
9. Amorosi, S., D'Armiento, M., Calcagno, G., Russo, I., Adriani, M., Christiano, A., Weiner, L., Brissette, J., Pignata, C. (2008) *Clin Genet* 73, 380-384
10. Boehm T. (2011) *Nat Rev Immunol* 11, 307-317
11. Manley, N. & Blackburn, C. (2003) *Curr Opin Immunol* 15, 225-232
12. Rossi, S., Jenkinson, W., Anderson, G., Jenkinson, E. (2006) *Nature* 441, 988-991
13. Bleul, C., Corbeaux, T., Reuter, A., Fisch, P., Mönting, J., Boehm, T. (2006) *Nature* 441, 992-996
14. Gray, D., Seach, N., Ueno, T., Milton, M., Liston, A., Lew, A., Goodnow, C., Boyd, R. (2006) *Blood* 108, 3777-3785
15. Hikosaka, Y., Nitta, T., Ohigashi, I., Yano, K., Ishimaru, N., Hayashi, Y., Matsumoto, M., Matsuo, K., Penninger, J., Takayanagi, H., Yokota, Y., Yamada, H., Yoshikai, Y., Inoue, J., Akiyama, T., Takahama, Y. (2008) *Immunity* 29, 438-450
16. Calderon, L. & Boehm, T. (2011) *Proc Natl Acad Sci USA* 108, 7517-7522
17. Liu, C., Saito, F., Liu, Z., Lei, Y., Uehara, S., Love, P., Lipp, M., Kondo, S., Manley, N., Takahama, Y. (2006) *Blood* 108:2531-2539
18. Rossi, F., Corbel, S., Merzaban, J., Carlow, D., Gossens, K., Duenas, J., So, L., Yi, L., Ziltener, H. (2005) *Nat Immunol* 6, 626-634
19. Zlotoff, D., Sambandam, A., Logan, T., Bell, J., Schwarz, B., Bhandoola, A. (2010) *Blood* 115, 1897-1905
20. Krueger, A., Willenzon, S., Lyszkiewicz, M., Kremmer, E., Förster, R. (2010) *Blood* 115, 1906-1912
21. Peschon, J., Morrissey, P., Grabstein, K., Ramsdell, F., Maraskovsky, E., Gliniak, B., Park, L., Ziegler, S., Williams, D., Ware, C., Meyer, J., Davison, B. (1994) *J Exp Med* 180, 1955-1960
22. Hozumi, K., Mailhos, C., Negishi, N., Hirano, K., Yahata, T., Ando, K., Zuklys, S., Holländer, G., Shima, D., Habu, S. (2008) *J Exp Med* 205, 2507-2513
23. Alves, N., Huntington, N., Mention, J., Richard-Le Goff, O., Di Santo, J. (2010) *J Immunol* 184,

5949-5953

24. Koch, U., Fiorini, E., Benedito, R., Besseyrias, V., Schuster-Gossler, K., Pierres, M., Manley, N., Duarte, A., Macdonald, H., Radtke, F. (2008) *J Exp Med* 205, 2515-2523
25. Yamasaki, S., Ishikawa, E., Sakuma, M., Ogata, K., Sakata-Sogawa, K., Hiroshima, M., Wiest, D., Tokunaga, M., Saito, T. (2006) *Nat Immunol* 7, 67-75
26. Starr, T., Jameson, S., Hogquist, K. (2003) *Annu Rev Immunol* 21, 139-176
27. Laufer, T., DeKoning, J., Markowitz, J., Lo, D., Glimcher, L. (1996) *Nature* 383, 81-85
28. Naeher, D., Daniels, M., Hausmann, B., Guillaume, P., Luescher, I., Palmer, E. (2007) *J Exp Med* 204, 2553-2559
29. Murata, S., Sasaki, K., Kishimoto, T., Niwa, S., Hayashi, H., Takahama, Y., Tanaka, K. (2007) *Science* 316, 1349-1353
30. Nitta, T., Murata, S., Sasaki, K., Fujii, H., Ripen, A., Ishimaru, N., Koyasu, S., Tanaka, K., Takahama, Y. (2010) *Immunity* 32, 29-40
31. Ripen, A., Nitta, T., Murata, S., Tanaka, K., Takahama, Y. (2011) *Eur J Immunol* 41, 1278-1287
32. Nakagawa, T., Roth, W., Wong, P., Nelson, A., Farr, A., Deussing, J., Villadangos, J., Ploegh, H., Peters, C., Rudensky, A. (1998) *Science* 280, 450-453
33. Honey, K., Nakagawa, T., Peters, C., Rudensky, A. (2002) *J Exp Med* 195, 1349-1358
34. Gommeaux, J., Grégoire, C., Nguessan, P., Richelme, M., Malissen, M., Guerder, S., Malissen, B., Carrier, A. (2009) *Eur J Immunol* 39, 956-964
35. Viret, C., Lamare, C., Guiraud, M., Fazilleau, N., Bour, A., Malissen, B., Carrier, A., Guerder, S. (2011) *J Exp Med* 208, 3-11
36. Ueno, T., Saito, F., Gray, D., Kuse, S., Hieshima, K., Nakano, H., Kakiuchi, T., Lipp, M., Boyd, R., Takahama, Y. (2004) *J Exp Med* 200, 493-505
37. Kurobe, H., Liu, C., Ueno, T., Saito, F., Ohigashi, I., Seach, N., Arakaki, R., Hayashi, Y., Kitagawa, T., Lipp, M., Boyd, R., Takahama, Y. (2006) *Immunity* 24, 165-177
38. Nitta, T., Nitta, S., Lei, Y., Lipp, M., Takahama, Y. (2009) *Proc Natl Acad Sci USA* 106, 17129-17133
39. Akiyama, T., Shimo, Y., Yanai, H., Qin, J., Ohshima, D., Maruyama, Y., Asaumi, Y., Kitazawa, J., Takayanagi, H., Penninger, J., Matsumoto, M., Nitta, T., Takahama, Y., Inoue, J. (2008) *Immunity* 29, 423-437
40. Irla, M., Hugues, S., Gill, J., Nitta, T., Hikosaka, Y., Williams, I., Hubert, F., Scott, H., Takahama, Y., Holländer, G., Reith, W. (2008) *Immunity* 29, 451-463
41. Boehm, T., Scheu, S., Pfeffer, K., Bleul, C. (2003) *J Exp Med* 198, 757-769
42. White, A., Nakamura, K., Jenkinson, W., Saini, M., Sinclair, C., Seddon, B., Narendran, P., Pfeffer, K., Nitta, T., Takahama, Y., Caamano, J., Lane, P., Jenkinson, E., Anderson, G. (2010) *J Immunol* 185, 4769-4776
43. Derbinski, J., Schulte, A., Kyewski, B., Klein, L. (2001) *Nat Immunol* 2, 1032-1039
44. Mathis, D. & Benoist, C. (2009) *Annu Rev Immunol* 27, 287-312
45. Lei, Y., Ripen, A., Ishimaru, N., Ohigashi, I., Nagasawa, T., Jeker, L., Bösl, M., Holländer, G., Hayashi, Y., De Waal Malefyt, R., Nitta, T., Takahama, Y. (2011) *J Exp Med* 208, 383-394
46. Hubert, F., Kinkel, S., Davey, G., Phipson, B., Mueller, S., Liston, A., Proietto, A., Cannon, P., Forehan, S., Smyth, G., Wu, L., Goodnow, C., Carbone, F., Scott, H., Heath, W. (2011) *Blood* 118, 2462-2472
47. Klein, L. & Jovanovic, K. (2011) *Semin Immunol* 23, 401-409
48. McCaughtry, T., Wilken, M., Hogquist, K. (2007) *J Exp Med* 204, 2513-2520
49. Carlson, C., Endrizzi, B., Wu, J., Ding, X., Weinreich, M., Walsh, E., Wani, M., Lingrel, J., Hogquist, K., Jameson, S. (2006) *Nature* 442, 299-302
50. Matloubian, M., Lo, C., Cinamon, G., Lesneski, M., Xu, Y., Brinkmann, V., Allende, M., Proia, R., Cyster, J. (2004) *Nature* 427, 355-360
51. Takahama, Y. (2006) *Nat Rev Immunol* 6, 127-135
52. Takahama, Y., Nitta, T., Mat Ripen, A., Nitta, S., Murata, S., Tanaka, K. (2010) *Semin Immunol* 22, 287-293
53. Anderson, G. & Takahama, Y. (2012) *Trends Immunol* in press

