

文章编号: 1004-0374(2010)09-0846-05

II类反式激活因子与免疫调节

杨志强, 周光炎*

(上海交通大学医学院免疫学研究所, 上海 200025)

摘要: II类反式激活因子(class II trans-activator, CIITA)为非DNA结合蛋白,在MHC II类基因的转录激活过程中以协同激活分子的形式发挥主导开关的作用。CIITA还可以调节其他与抗原递呈相关的基因,如H-2M基因、Ia相关恒定链(Ii chain)基因等。结构上,CIITA分子又是NOD样受体(NOD-like receptor, NLR)家族成员之一,其功能与固有免疫密切相关。除此之外,CIITA在T细胞分化、FasL介导的细胞死亡、胶原的合成等方面也发挥着重要的调节作用。

关键词: CIITA; MHC II; 固有免疫; T细胞分化

中图分类号: R392.12 **文献标识码:** A

Class II transactivator in immune regulation

YANG Zhi-qiang, ZHOU Guang-yan*

(Shanghai Institute of Immunology, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China)

Abstract: CIITA, MHC class II transactivator, plays a crucial role in epigenetic regulating the expression of MHC II gene as a co-activator. Except for MHC II, other genes coding for, for example, H-2M molecule and Ia-associated invariant chain (Ii chain) in antigen presenting, are also regulated by CIITA. According to its primary structure, CIITA is characterized within the members of NOD-like receptor (NLR) family, which are closely involved in innate immunity. Furthermore, CIITA is active in regulation of T subset differentiation, FasL-mediated cell death and collagen synthesis.

Key words: CIITA; MHC II; innate immunity; T subset differentiation

CIITA 为非 DNA 结合蛋白,是 MHC II 类基因转录激活的主要调控分子,无论在 MHC II 类基因的组成表达还是 IFN- γ 诱导表达中,都起着关键的调控作用。CIITA 还可以调节其他与抗原递呈相关的基因,如 H-2M 基因、Ia 相关恒定链基因等^[1,2]。结构上,CIITA 分子又是 NOD 样受体(NOD-like receptor, NLR)家族成员之一,其功能与固有免疫密切相关^[3]。除此之外,CIITA 在 T 细胞分化、FasL 介导的细胞死亡、胶原的合成等方面也发挥着重要的调节作用。CIITA 还是表观遗传学的活跃分子,除了其本身具有组蛋白乙酰转移酶(HAT)的活性以外,还可以招募其他具有 HAT 的协同激活因子,如 PCAF 和 CBP/p300,其免疫调节作用多涉及表观遗传学机制。本文就 CIITA 的免疫调节作用及机制,作简要综述。

1 CIITA 分子的结构、分布

CIITA 分子有四种不同亚型,各由基因座位前不同的启动子单元启动,分别命名为 I 型、II 型、III 型和 IV 型 CIITA。小鼠中 II 型缺失,只有 I、III、IV 三种亚型。I 型和 III 型 CIITA 分别组成性表达于 DC 和 B 细胞中;IV 型 CIITA 则表达于可被 IFN- γ 诱导的细胞中;II 型 CIITA 分子在人体少量表达,其组织特异性目前仍不清楚^[4-6]。

所有 CIITA 亚型均包含四个功能结构域,从 N 端到 C 端依次为:酸性氨基酸结构域、脯氨酸/丝

收稿日期: 2010-03-03; 修回日期: 2010-04-26

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(30530690)

*通讯作者: E-mail: my@shsmu.edu.cn; Tel: 021-63846590-776207

氨酸/苏氨酸结构域(PST 结构域)、GTP 结合结构域及富含亮氨酸的重复结构域(LRR 结构域)^[7]。四个结构域各有特定的功能,而且均为参与MHC II 转录的必需结构^[8,9]。

另外,CIITA 与NOD1 和NOD2 在结构上有极高的同源性,属于NLR 家族中的一员^[10]。NLR 家族蛋白结构保守,其家族专一性结构域、命名规则,及其与CIITA 的关系将在后面介绍。

2 CIITA 对固有免疫的调节

MHC II 类分子是表达于专职APC (树突状细胞、巨噬细胞、B 细胞、胸腺上皮细胞) 表面的异二聚体糖蛋白,对CD4⁺T 细胞的发育和实施免疫应答起重要作用^[11,12]。无论在MHC II 类基因的组成性表达还是诱导性表达中,CIITA 均起着关键的调节作用^[13-15]。CIITA 缺陷小鼠的专职APC 表面不表达MHC II 类分子,导致外周淋巴组织几乎缺乏成熟的CD4⁺T 细胞,发生严重的免疫缺陷。CIITA^{-/-} 小鼠的表型与人类一种严重联合免疫缺陷疾病——裸淋巴细胞综合征(BLS) 相似,此种疾病被证实是由CIITA 异常突变引起^[16]。

MHC II 类基因的启动子区由一系列顺式作用元件组成,包括W/S、X1、X2 和Y 盒等,即S-X-Y 区^[17]。S-X-Y 区的序列和空间结构是高度保守的,它对于组成性和细胞因子诱导MHC II 基因的表达是必需的,与S-X-Y 区结合的转录因子是RFX (包括RFX-ANK、RFX-5、RFX-AP) 和NF-Y (包括NF-YA、NF-YB、NY-YC 三聚体转录核因子) 等^[9]。虽然上述的转录因子是普遍存在和不可或缺的,它们却不能单独诱导MHC II 类基因有效地转录。事实上,这些转录因子相互形成了一个称为MHC 增强体的结构,这是MHC II 表达所必需的^[15]。MHC 增强体结构为CIITA 的招募提供了合适的作用面,作为一种非DNA 结合蛋白的CIITA 分子C 端和中部能够与该增强体结合,然后通过CIITA 分子的N 端,再结合TAF₁₁₃₂ 等多种辅助激活蛋白和ATP 依赖性染色质重塑因子BRG-1,并招募其他具有HAT 活性的协同激活因子如PCAF 和CBP/p300,最终经由转录复合体启动II 类基因的转录^[8,18]。可见,CIITA 在MHC 转录的表观遗传学调控中起主要作用。

3 CIITA 对固有免疫的调节

固有免疫是宿主抵抗病原微生物侵害的第一道

防线。不同于适应性免疫应答,固有免疫应答的多样性主要由体内大量参与固有免疫基因及其剪切体决定,其中不需要基因重排,因而能够快速应答病原微生物的入侵。被固有免疫识别的分子称为病原相关分子模式(PAMP) 和损伤相关分子模式(DAMP)^[19],相应的免疫受体称为模式识别受体(PRR)^[20]。PRR 种类很多,其主要分为三个相互作用的受体家族: Toll 样受体(TLR) 家族、RIG-I 样受体(RLR) 家族和上面提到的NOD 样受体(NLR) 家族。TLR 是一类含有LRR 结构域,位于胞膜或内质网膜上的受体,主要识别胞外和胞内的PAMP; 含有LRR 和NBD 结构域的胞内受体NLR,主要识别胞内的PAMP 和DAMP^[21,22]; RLR 则主要识别进入胞内的病毒成份^[23]。

NLR 家族结构保守,由三类功能不同的结构域组成。C 末端是LRR 结构域,主要与识别配体有关; 分子中段为NACHT 结构域,NACHT 即NAIP (神经元凋亡蛋白)、CIITA、HET-E 和TP1 的缩写。N 端为效应结构域,相较于前两种结构域,效应结构域最为多变,主要由CARD、PYD 或BIR 等结构域构成,功能上负责向下传递信号^[10,21,22]。

CIITA 作为NLR 家族的成员,各亚型均具有C 端LRR、中段的NACHT 及N 端的AD 结构域。较为特殊的是,表达于DC 中的I 型CIITA 在AD 结构域的N 端多表达一个CARD 结构域^[24]。CARD 结构域是胱天蛋白酶(caspase) 招募结构域,其招募活性依赖于形成CARD-CARD 同型二聚体,后者能够与同样具有CARD 结构域的下流蛋白结合,实施信号转导^[21,22]。

NOD1 和NOD2 是与CIITA 结构高度同源的NLR 家族成员,且其N 端的效应结构域也是CARD。其中,NOD1 有一个CARD 结构域,NOD2 有两个CARD 结构域。NOD1 和NOD2 可识别肽聚糖的降解产物,肽聚糖是由肽桥连接的N-乙酰葡萄糖胺(GlcNac) 和N-乙酰胞壁酸(MurNac) 的交替多聚物,是G⁺ 菌细胞壁的主要成分,而G⁻ 细菌细胞壁含一层较薄的肽聚糖。NOD1 主要识别肽聚糖降解产物中的二氨基庚二酸(meso-DAP),而NOD2 主要识别肽聚糖降解产物中的胞壁酰二肽(MDP)。在无配体结合的情况下,NOD1、NOD2 的LRR 与NACHT 结合,保持分子处于折叠的非活化状态。当NOD1 和NOD2 通过LRR 和配体结合后可以打开折叠,CARD 即可与下游分子Rip2 的CARD 发生同型二聚

化,促使Rip2活化。Rip2含丝氨酸-苏氨酸激酶,可活化NF- κ B和MAPK途径,从而诱导促炎细胞因子基因的转录^[21, 22, 25]。

CIITA与NOD1和NOD2结构同源,是否CIITA也有活化NF- κ B途径的功能呢? Nickerson等^[24]用体外实验证明, I型CIITA的CARD结构域并不能通过CARD-CARD结合作用启动NF- κ B途径的激活,其主要功能在于增强MHC II类分子的转录。由于CIITA和NOD1结构域构成的保守性和序列的同源性, Nickerson等^[24]推测可能此两者起源于同一个祖先蛋白,在进化过程中功能发生了演变: NOD1演变成固有免疫中病原的感应器;而CIITA则演变成MHC II的调控分子,触发T细胞特异性,隶属于适应免疫范畴。

然而,最近Prod'homme等^[26]阐述了不同的观点,认为CIITA也可以调节固有免疫应答。CIITA^{-/-}小鼠单核细胞在TLR-2和TLR-4配体的刺激下,IL-12和TNF分泌会比野生对照组小鼠显著增加。另外,以NOD2配体MDP刺激CIITA^{-/-}小鼠,会增加小鼠促炎症细胞因子的分泌。而且,在DSS诱导的克罗恩肠炎模型中,CIITA^{-/-}小鼠虽然分泌的炎症因子增多,但是对于此病的易感性明显降低,而CD11c-CIITA/CIITA^{-/-}小鼠(即限制性表达于DC细胞的小鼠)会恢复对克罗恩肠炎的易感性。可见,CIITA对固有免疫应答确实有一定的调节作用。

另外,有报道称CIITA可以抑制病毒的复制。Tat是HIV病毒的转录激活因子,可以正反馈的方式促进HIV病毒的复制^[27]。Accolla等^[28]证实CIITA可通过阻断Tat的功能抑制HIV的复制。HTLV是嗜人T细胞白血病病毒,对人的T、B细胞易感;Tax是HTLV病毒的转录激活因子,可通过结合HTLV的启动子和增强子强有力地启动HTLV的复制^[29]。CIITA可以强烈地抑制Tax介导的HTLV2的复制,而且病毒复制的抑制主要由CIITA分子靠近N端的321个氨基酸来实现^[30]。虽然CIITA抑制病毒复制的具体机制仍不清楚,但这些研究为CIITA参与固有免疫提供了有价值的证据。

4 CIITA对Th分化的调节

Th1协助型T细胞亚群表达转录因子T-bet,分泌IFN- γ ,参与细胞免疫,抵抗胞内微生物感染。Th2细胞表达转录因子GATA-3,分泌IL-4、IL-5和IL-13,参与体液免疫,抵抗胞外寄生虫感染^[31]。

多数文献支持,CIITA可下调IL-4的产生,抑制Th2的分化。Gourley等^[32]首先发现,CIITA^{-/-}CD4 T细胞在IL-12存在的情况下激活,不但产生INF- γ ,而且产生IL-4。IL-4基因启动子受多个蛋白(CIITA、NF-AT、CBP/p300)调节,尤其NF-AT和CBP/p300相互结合可以增强IL-4启动子的活性。Sisk等^[33]的体外研究发现,CIITA可以和NF-AT竞争结合CBP/p300,这个竞争作用明显抑制了IL-4启动子的转录激活。我们实验组从表观遗传学角度证明,体外转染的CIITA可以抑制人IL-4基因的转录激活,其作用是通过使IL-4启动子去乙酰化而阻止转录因子与IL-4启动子结合^[34]。

目前有一些学者持不同意见,认为CIITA可调控T细胞向Th2分化。Kim等^[35]发现在恶唑酮诱导的结肠炎中(Th2主导的疾病),CIITA转基因小鼠发病更为严重,而且其肠系膜淋巴结来源的CD4⁺T细胞可检测到更高水平的IL-4分泌。之后,Patel等^[36]也在CIITA转基因小鼠中发现,其CD4⁺T细胞中可表达Th2细胞因子。

CIITA在调节T细胞分化的研究中得出的不同结论,充分体现了CIITA调节细胞因子过程的复杂性,原因可能与不同研究者所用实验系统的差异有关,也可能在某种程度上反映了T细胞发展和分化的直接和间接的机制。

5 CIITA对其他分子的调节

胶原对于机体稳态的维持起关键作用,机体内胶原表达过高会引起多种疾病^[12]。CIITA可负向调节胶原的生成,尤其在IFN- γ 诱导胶原表达的过程中发挥显著抑制效应。机制研究表明,CIITA的PST结构域可被CK1和GSK3依次磷酸化,磷酸化后的CIITA可招募共抑制分子HDAC2和Sin3B,此复合物与胶原转录启动子区转录因子结合,从而抑制胶原的转录^[37]。

Fas-FasL对维持机体细胞增殖和死亡的平衡起关键作用,也是AICD重要的调节因素。FasL不表达于静息的T细胞,在T细胞激活后,FasL被诱导性表达,而NFAT是FasL基因转录的必要转录因子。CIITA可与NFAT竞争结合而导致FasL的转录受抑制^[38]。

除了调节胶原和FasL基因外,CIITA还可以调节IL-10、plexin-A1等多种分子的表达^[39, 40],足见CIITA在机体免疫调节过程中具有复杂性和多效性。

6 总结及展望

CIITA 作为 MHC II 类基因的主控分子一直受到研究者的广泛关注。很快就认识到 CIITA 并不是 MHC II 基因的转录因子, 而是非 DNA 结合蛋白, 即与 MHC II 转录因子结合, 其调节机制与表观遗传学密切相关^[1,9]。随着对 CIITA 的认识深入, 发现 CIITA 并不局限于抗原提呈分子的调控, 而是涉及很多免疫相关分子的调节, 既有固有免疫分子, 也有适应性免疫相关分子。既然 CIITA 可以调节多种免疫分子, 在机体的稳态环境中 CIITA 本身也必然受到多种分子的精密调节(限于篇幅, CIITA 的上游分子的调节作用, 本文并未涉及)。机体对 CIITA 的稳态调节、各种受调基因及调节始动基因之间的相互关系逐步成为 CIITA 相关研究新的热点。另外, CIITA 调节具有多靶点、多效性, 调节过程涉及多分子参与, 调节机制多样, 在不同的实验体系中得出的结论仍有差异, 因而实验系统的标准化对于深入研究 CIITA 显得十分必要。

[参 考 文 献]

- [1] Chang CH, Gourley TS, Sisk TJ. Function and regulation of class II transactivator in the immune system. *Immunol Res*, 2002, 25(2): 131-42
- [2] Li W, Sofi MH, Yeh N, et al. Thymic selection pathway regulates the effector function of CD4 T cells. *J Exp Med*, 2007, 204(9): 2145-57
- [3] Kanneganti TD, Lamkanfi M, Nunez G. Intracellular NOD-like receptors in host defense and disease. *Immunity*, 2007, 27(4): 549-59
- [4] Muhlethaler-Mottet A, Otten LA, Steimle V, et al. Expression of MHC class II molecules in different cellular and functional compartments is controlled by differential usage of multiple promoters of the transactivator CIITA. *EMBO J*, 1997, 16(10): 2851-60
- [5] van der Stoep N, Quinten E, van den Elsen PJ. Transcriptional regulation of the MHC class II trans-activator (CIITA) promoter III: identification of a novel regulatory region in the 5'-untranslated region and an important role for cAMP-responsive element binding protein 1 and activating transcription factor-1 in CIITA-promoter III transcriptional activation in B lymphocytes. *J Immunol*, 2002, 169(9): 5061-71
- [6] Masternak K, Reith W. Promoter-specific functions of CIITA and the MHC class II enhanceosome in transcriptional activation. *EMBO J*, 2002, 21(6): 1379-88
- [7] Linhoff MW, Harton JA, Cressman DE, et al. Two distinct domains within CIITA mediate self-association: involvement of the GTP-binding and leucine-rich repeat domains. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(9): 3001-11
- [8] Boss JM, Jensen PE. Transcriptional regulation of the MHC class II antigen presentation pathway. *Curr Opin Immunol*, 2003, 15(1): 105-11
- [9] Wright KL, Ting JP. Epigenetic regulation of MHC-II and CIITA genes. *Trends Immunol*, 2006, 27(9): 405-12
- [10] Inohara N, Nunez G. NODs: intracellular proteins involved in inflammation and apoptosis. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3(5): 371-82
- [11] van den Elsen PJ, Holling TM, Kuipers HF, et al. Transcriptional regulation of antigen presentation. *Curr Opin Immunol*, 2004, 16(1): 67-75
- [12] Kong X, Fang M, Li P, et al. HDAC2 deacetylates class II transactivator and suppresses its activity in macrophages and smooth muscle cells. *J Mol Cell Cardiol*, 2009, 46(3): 292-9
- [13] LeibundGut-Landmann S, Waldburger JM, Krawczyk M, et al. Specificity and expression of CIITA, the master regulator of MHC class II genes. *Eur J Immunol*, 2004, 34(6): 1513-25
- [14] Zika E, Fauquier L, Vandell L, et al. Interplay among coactivator-associated arginine methyltransferase 1, CBP, and CIITA in IFN- γ -inducible MHC-II gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(45): 16321-6
- [15] Zika E, Ting JP. Epigenetic control of MHC-II: interplay between CIITA and histone-modifying enzymes. *Curr Opin Immunol*, 2005, 17(1): 58-64
- [16] Reith W, Mach B. The bare lymphocyte syndrome and the regulation of MHC expression. *Annu Rev Immunol*, 2001, 19: 331-73
- [17] Garvie CW, Boss JM. Assembly of the RFX complex on the MHCII promoter: role of RFXAP and RFXB in relieving autoinhibition of RFX5. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1779(12): 797-804
- [18] Masternak K, Peyraud N, Krawczyk M, et al. Chromatin remodeling and extragenic transcription at the MHC class II locus control region. *Nat Immunol*, 2003, 4(2): 132-7
- [19] Srikrishna G, Freeze HH. Endogenous damage-associated molecular pattern molecules at the crossroads of inflammation and cancer. *Neoplasia*, 2009, 11(7): 615-28
- [20] Creagh EM, O'Neill LA. TLRs, NLRs and RLRs: a trinity of pathogen sensors that co-operate in innate immunity. *Trends Immunol*, 2006, 27(8): 352-7
- [21] Wilmanski JM, Petnicki-Ocwieja T, Kobayashi KS. NLR proteins: integral members of innate immunity and mediators of inflammatory diseases. *J Leukoc Biol*, 2008, 83(1): 13-30
- [22] Le Bourhis L, Benko S, Girardin SE. Nod1 and Nod2 in innate immunity and human inflammatory disorders. *Biochem Soc Trans*, 2007, 35(Pt 6): 1479-84
- [23] Kawai T, Akira S. Toll-like receptor and RIG-I-like receptor signaling. *Ann NY Acad Sci*, 2008, 1143: 1-20
- [24] Nickerson K, Sisk TJ, Inohara N, et al. Dendritic cell-specific MHC class II transactivator contains a caspase recruitment domain that confers potent transactivation activity. *J Biol Chem*, 2001, 276(22): 19089-93
- [25] Inohara N, Koseki T, Lin J, et al. An induced proximity model for NF- κ B activation in the Nod1/RICK and RIP signaling pathways. *J Biol Chem*, 2000, 275(36): 27823-31

- [26] Prod'homme T, Oshima S, Nelson P, et al. The MHC class II transactivator (CIITA) participates in regulation of innate immune responses. *Clin Immunol*, 2009, 131, Supplement 1: S13
- [27] Li L, Wang X, Yin J, et al. Tat transduction peptide displayed on the nucleocapsid improved the baculovirus transduction of mammalian cells. *Chn J Biotechnol*, 2009, 25(10): 1558-63
- [28] Accolla RS, Mazza S, De Lerma Barbaro A, et al. The HLA class II transcriptional activator blocks the function of HIV-1 Tat and inhibits viral replication. *Eur J Immunol*, 2002, 32(10): 2783-91
- [29] Easley R, Carpio L, Guendel I, et al. HTLV-1 transcription and chromatin remodeling complexes. *J Virol*, 2010, 84(9): 4755-68
- [30] Casoli C, De Lerma Barbaro A, Pilotti E, et al. The MHC class II transcriptional activator (CIITA) inhibits HTLV-2 viral replication by blocking the function of the viral transactivator Tax-2. *Blood*, 2004, 103(3): 995-1001
- [31] Cousins DJ, Lee TH, Staynov DZ. Cytokine coexpression during human Th1/Th2 cell differentiation: direct evidence for coordinated expression of Th2 cytokines. *J Immunol*, 2002, 169(5): 2498-506
- [32] Gourley T, Roys S, Lukacs NW, et al. A novel role for the major histocompatibility complex class II transactivator CIITA in the repression of IL-4 production. *Immunity*, 1999, 10(3): 377-86
- [33] Sisk TJ, Gourley T, Roys S, et al. MHC class II transactivator inhibits IL-4 gene transcription by competing with NF-AT to bind the coactivator CREB binding protein (CBP)/p300. *J Immunol*, 2000, 165(5): 2511-7
- [34] Zhou X, Jiang Y, Lu L, et al. MHC class II transactivator represses human IL-4 gene transcription by interruption of promoter binding with CBP/p300, STAT6 and NFAT1 via histone hypoacetylation. *Immunology*, 2007, 122(4): 476-85
- [35] Kim TW, Park HJ, Choi EY, et al. Overexpression of CIITA in T cells aggravates Th2-mediated colitis in mice. *J Korean Med Sci*, 2006, 21(5): 877-82
- [36] Patel DR, Li W, Park JS, et al. Constitutive expression of CIITA directs CD4 T cells to produce Th2 cytokines in the thymus. *Cell Immunol*, 2005, 233(1): 30-40
- [37] Xu Y, Harton JA, Smith BD. CIITA mediates interferon- γ repression of collagen transcription through phosphorylation-dependent interactions with co-repressor molecules. *J Biol Chem*, 2008, 283(3): 1243-56
- [38] Gourley TS, Chang CH. Cutting edge: the class II transactivator prevents activation-induced cell death by inhibiting Fas ligand gene expression. *J Immunol*, 2001, 166(5): 2917-21
- [39] Yee CS, Yao Y, Xu Q, et al. Enhanced production of IL-10 by dendritic cells deficient in CIITA. *J Immunol*, 2005, 174(3): 1222-9
- [40] Wong AW, Brickey WJ, Taxman DJ, et al. CIITA-regulated plexin-A1 affects T-cell-dendritic cell interactions. *Nat Immunol*, 2003, 4(9): 891-8