

DOI: 10.13376/j.cbls/2021001

文章编号: 1004-0374(2021)01-0001-06

· 评述与综述 ·

# Aire及其在胸腺上皮细胞发育和免疫耐受中的作用

杨书平, 郭利, 翟会艳, 柴玉荣\*

(郑州大学基础医学院组织学与胚胎学系, 郑州 450001)

**摘要:** 胸腺是支持T细胞发育和选择的主要淋巴器官, 胸腺上皮细胞(TECs)为T细胞的发育和成熟提供必要的微环境。自身免疫调节蛋白(Aire)在TECs发育过程中发挥着至关重要的作用, 通过诱导胸腺髓质内数百种组织特异性抗原的表达来协调胸腺细胞的阴性选择。现主要综述Aire的结构和功能及其表达调节, 以及近年来发现的Aire在胸腺上皮细胞发育和免疫耐受中的作用。

**关键词:** 胸腺; 胸腺上皮细胞; Aire; 自身免疫性疾病

**中图分类号:** Q939.91; R593 **文献标志码:** A

## Aire and its role in the development of thymic epithelial cells and immune tolerance

YANG Shu-Ping, GUO Li, ZHAI Hui-Yan, CHAI Yu-Rong\*

(Department of Histology and Embryology, School of Basic Medical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** Thymus is the main lymphoid organ which supports T cell development and selection. Thymic epithelial cells (TECs) provide necessary microenvironment for the development and maturation of T cells. Aire plays an important role in the development of TECs. It coordinates the negative selection of thymocytes by inducing the expression of hundreds of tissue-specific antigens in thymic medulla. This paper reviews the structure, function and regulation of Aire, and its role in the development of thymic epithelial cells and immune tolerance.

**Key words:** thymus; thymic epithelial cells; Aire; autoimmune diseases

胸腺作为主要的淋巴器官, 是T细胞发育成熟的场所。胸腺基质细胞主要包括胸腺上皮细胞(thymus epithelial cells, TECs)、树突状细胞(dendritic cells, DCs)、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、成纤维细胞等, 这些细胞共同构成了一个三维网络, 支持T细胞的分化、选择和成熟。TECs是胸腺环境中塑造T细胞发育的关键部分。根据TECs在胸腺中的位置, TECs可分为两大亚类: 皮质上皮细胞(cortical thymic epithelial cells, cTECs)和髓质上皮细胞(medullary thymic epithelial cells, mTECs), 分别位于皮质和髓质, 它们在功能上也是不同的。T细胞发育的早期阶段, 包括阳性选择, 发生在皮质; 而中枢耐受的形成, 包括阴性选择和幼稚Tregs细胞分化成熟, 则发生在髓质。胸腺细胞通过与TECs相互作用, 在胸腺皮质和髓质迁移过程中发

育成熟。TECs的发育和分化需要多种水平的信号, 包括细胞内信号网络和细胞间的相互作用。自身免疫调节因子(autoimmune regulator, Aire)是mTECs的功能标志之一, Aire基因功能失活会导致多器官自身免疫的发生。本文主要综述了近年来发现的Aire在胸腺上皮细胞发育中的作用及其表达调控的研究进展。

### 1 Aire的结构与突变

Aire蛋白由545个氨基酸组成<sup>[1]</sup>。从N末端开始, Aire由一个可能介导DNA结合的半胱氨酸天冬

收稿日期: 2020-06-11; 修回日期: 2020-07-18

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目(21A310022)

\*通信作者: E-mail: yrchai@zzu.edu.cn

氨酸蛋白酶募集结构域(caspase recruitment domain, CARD)、一个核定位序列(nuclear localization sequences, NLS)、一个SAND结构域、两个植物同源结构域(plant homeodomain, PHD)锌指、一个脯氨酸富集区(proline-rich region, PRR)以及分布在这些结构域之间的四个LxxLL基序(L代表亮氨酸)组成<sup>[2]</sup>(图1)。CARD区域参与了Aire同源多聚化的过程,并将其锚定于染色质中<sup>[2-3]</sup>; NLS是介导其从细胞质迁移到细胞核的核定位信号<sup>[2]</sup>; SAND结构域没有明显的DNA结合基序,但它可能参与了蛋白质与转录抑制复合物的相互作用<sup>[4]</sup>; PHD1与核小体和组蛋白H3结合,区分甲基化和非甲基化的组蛋白; PHD2与基因的转录激活有关; PRR和LxxLL基序能够促进基因的转录<sup>[2]</sup>。

Aire的突变与多种自身免疫疾病相关,例如,Aire的突变会导致自身免疫性多腺体综合征1型(autoimmune polyglandular syndrome 1, APS1)的发展,这是人类一种罕见而复杂的自身免疫性疾病<sup>[5]</sup>,目前尚无有效的治疗方法。虽然APS1是一种单基因疾病,但其在临床上有很大的变异性,在一些人群中没有发现显著的基因型-表型相关性<sup>[6]</sup>。另外,唐氏综合征(Down's syndrome, DS)是研究Aire在自身免疫疾病发病机制中作用的一个理想模型。DS患者在所有的细胞中都存在3条21号染色体,而Aire基因也位于21号染色体上,因此这种特殊的染色体紊乱可能会影响Aire的功能。研究表明,虽然DS患者携带三个拷贝的胸腺Aire基因,但他们的胸腺Aire基因表达都显著降低<sup>[7]</sup>。另外,Aire的突变也会导致类风湿性关节炎(rheumatic arthritis, RA)、系统性硬化症(systemic sclerosis, SSC)和系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)等自身免疫疾病的发生<sup>[8-10]</sup>。

Aire的每个功能结构域对人胸腺上皮细胞中胰岛素基因可变数目串联重复序列(insulin variable number of tandem repeats, INS-VNTR)的激活至关重

要。Sparks等<sup>[11]</sup>构建了Aire的12个错义或无义突变结构以及2个嵌合Aire结构,用生物素化的INS-I类VNTR探针进行荧光素酶报告实验(luciferase assay)和下拉实验(pull-down assay),检测野生型、突变体和嵌合Aire在INS-VNTR启动子上的反式激活和结合活性。除突变体P252L外,Aire各结构域的突变都显著降低了Aire在INS-VNTR启动子上的反式激活活性。其中,LxxLL-3基序是DNA与INS-VNTR结合所必需的,而完整的PHD1、PHD2、LxxLL-3和LxxLL-4基序在转录激活中发挥重要作用,任何结构域的突变都会导致Aire转录激活活性降低。该研究还发现,Aire突变可通过INS-VNTR特异性影响人胸腺上皮细胞胰岛素基因表达。

## 2 Aire的表达调控

研究表明,Aire的表达是mTECs分化过程中的一种固有特性,可能发生在特定的阶段或细胞状态<sup>[12]</sup>。Aire的表达受表观遗传因素,如甲基化,或其他分子机制的调控,如RANKL-RANK介导的信号转导,以及CD40L-CD40或白三烯 $\beta$ 介导的对核因子 $\kappa$ B(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)途径的诱导<sup>[13-14]</sup>。赖氨酸羟化酶Jmjd6(Jumonji domain-containing 6)也是具有调控组蛋白去甲基化作用的重要去甲基化酶。Yanagihara等<sup>[15]</sup>首次建立了组织特异性的Jmjd6条件性基因敲除小鼠,发现Jmjd6缺失导致Aire内含子2保留,即内含子2不能有效地剪接,从而导致Aire蛋白表达下降,并在小鼠体内自发形成多器官自身免疫<sup>[16]</sup>。因此,中枢耐受诱导需要Jmjd6对Aire蛋白表达的严格调控。蛋白质去乙酰化酶Sirt1(Sirtuin-1)是哺乳动物的一种依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)的脱乙酰化酶,调控包括新陈代谢、发育、生育和老化在内的各种生理过程。Chuprin等<sup>[17]</sup>首先发现在成熟的Aire<sup>+</sup>mTECs中有大量的Sirt1表达,并且证明Sirt1的种系失活和Sirt1的TECs特异性失活都显著损害Aire依赖的基因表达和Aire依

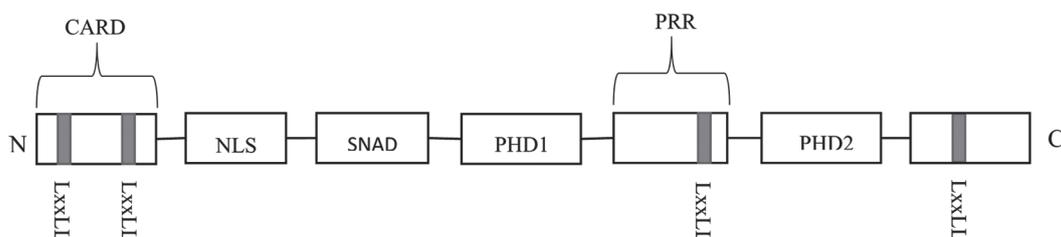


图1 人Aire的蛋白结构

赖性自我耐受的诱导。此外, 他们的研究表明, Sirt1的去乙酰化能力是Aire驱动的mTECs基因表达所必需的, Sirt1还可以靶向Aire途径中的其他核蛋白, 从而增强其对异位基因表达(promiscuous gene expression, PGE)的影响。

此外, NF- $\kappa$ B通过含有NF- $\kappa$ B结合位点的Aire基因上游保守的非编码序列(conserved noncoding sequences, CNSs)诱导Aire在mTECs和外周淋巴器官中的表达<sup>[18]</sup>; Herzig等<sup>[19]</sup>通过将表达Aire的细胞(mTECs和胸腺B细胞)的基因表达谱与各种互补的Aire启动子驱动的报告分析(reporter assay)相结合, 根据功能和生化分析鉴定了几个转录因子, 包括IRF4、IRF8、Tbx21和Tcf7, 发现它们是高效表达Aire所必需的; 研究还发现, 在mTECs中, Aire基因中外显子2和近端启动子的特异性去甲基化、CCCTC结合因子(CCCTC-binding factor, CTCF)的清除以及上述几个转录因子的协同作用共同促进了Aire在mTECs中的特异性表达。为了寻找更多的Aire相互作用蛋白, Shao等<sup>[20]</sup>对标记了Aire表位的Aire蛋白进行了蛋白质组学研究, 发现了一种负责Aire泛素化的E3连接酶——F-box蛋白3 (F-box protein 3, FBXO3)。Aire在68位苏氨酸(Thr-68)和156位丝氨酸(Ser-156)这两个特定残基上被磷酸化之后与FBXO3结合, 所形成的复合物能招募更多的转录延伸因子(例如positive transcription elongation factor b, P-TEFb)。这种翻译后修饰促进了Aire和P-TEFb之间的相互作用, 并增强了它们对组织特异性抗原(tissue-specific antigens, TSAs)基因的转录激活。因此, FBXO3作为E3连接酶, 与磷酸化的Thr-68和Ser156残基相互作用, 促进了Aire的泛素化, 导致其快速降解。另外, 雌激素会诱导Aire基因的表现遗传学修饰, 导致其表达水平降低, 从而潜在地增加女性患自身免疫疾病的易感性<sup>[21]</sup>。

### 3 Aire的功能

#### 3.1 Aire与TECs的发育

Aire在mTECs阴性选择中起着关键的转录调节作用。在mTECs中, Aire能诱导TSAs的PGE表达, 然后提呈给成熟的T细胞。识别这些高亲和力TSAs的自身反应性T细胞通过其凋亡或调节性T细胞(regulatory cells, Tregs)的产生进行阴性选择, 以防止自身免疫<sup>[22]</sup>。研究表明, Aire通过诱导趋化因子信号调节cTECs基因转录, 同时减缓cTECs的新陈代谢和分化<sup>[23]</sup>。

胸腺细胞和胸腺上皮细胞之间的相互作用是T细胞发育和选择所必需的。Pezzi等<sup>[24]</sup>用小鼠Aire<sup>+</sup>mTECs细胞系作为体外复制mTECs-胸腺细胞黏附的模型系统, 通过转录组分析表明, Aire敲除(Aire<sup>-/-</sup>)可导致800多个基因表达下调, 其中包括细胞外基质成分Lama1, CAM家族黏附分子Vcam1和Icam4, 以及编码外周组织抗原的基因; 而与Aire<sup>-/-</sup>mTECs共培养的胸腺细胞与这些细胞的黏附能力显著降低, 首次直接证明了Aire在调控mTECs-胸腺细胞黏附方面也起重要作用。Aire调控的mTECs可表达细胞-细胞相互作用相关分子和一些重要的黏附分子, Aire的减少不仅会导致外周组织抗原(peripheral tissue antigens, PTAs)减少, 而且还导致mTECs对胸腺细胞的黏附能力降低, 这是触发阴性选择和诱导免疫耐受的关键过程。Speck-Hernandez等<sup>[25]</sup>也发现, Aire功能的丧失降低了TECs黏附胸腺细胞的能力, 体外mTECs-胸腺细胞黏附能引起mTECs的转录组发生改变, 这表明胸腺细胞的相互作用和Aire都影响mTECs细胞的转录组图谱。

在胸腺水平上, 对自身抗原的耐受诱导受Aire的调控。Aire蛋白位于细胞核内<sup>[26]</sup>, 表现出斑点定位模式, 以“随机”和“有序”的方式调节mTECs中TSAs的表达<sup>[27]</sup>。然而Aire并不直接启动TSAs基因转录, 它通过释放“陷入停顿”的RNA聚合酶来延长RNA转录本以及通过靶TSAs的剪接来促进TSAs的表达<sup>[28]</sup>。Aire还通过调控一些microRNAs的表达从而调节胸腺的成熟和结构, microRNAs在调节mTECs的PGE中起重要作用<sup>[29]</sup>。此外, Aire通过利用不同的转录调控方式在表达Aire的细胞中调控一组不同的组织限制性抗原(tissue-restricted antigens, TRAs)表达。由于Aire不仅在单细胞水平而且在整体水平上对mTECs的转录本有深远的影响, 因此推测Aire (Aire<sup>+</sup>mTECs)可能调控胸腺微环境的细胞组成。Morimoto等<sup>[30]</sup>通过在Aire缺陷的小鼠胸腺中鉴定了一个Ly-6家族蛋白表达缺失的新的mTECs亚群, 从而证实了这一点。重聚胸腺器官培养实验表明, Aire<sup>+</sup>mTECs和Ly-6C/Ly-6G<sup>+</sup>mTECs代表两个不同的亚群, Aire<sup>+</sup>mTECs能够调控Ly-6C/Ly-6G<sup>+</sup>mTECs亚群的产生。Ly-6C/Ly-6G<sup>+</sup>mTECs的缺乏使Aire缺陷的mTECs在整体水平上表现出广泛的TRAs表达减少, 并且Aire不能以细胞固有方式诱导mTECs以Aire依赖的方式表达Ly-6C/Ly-6G分子, 因此, Aire不仅在细胞内调控TRAs的转录表达, 而且以细胞外的方式先调控mTECs的整体组成, 进而

调控mTECs的转录组。因为Ly-6C/Ly-6G<sup>+</sup>mTECs具有作为胸腺抗原提呈细胞(antigen-presenting cell, APC)的重要特征,并且Aire缺陷胸腺中不存在这些细胞,识别促进这一亚群产生的因素可能有助于开发一种新的方法来治疗组织特异性自身免疫疾病。

### 3.2 Aire与免疫耐受

免疫耐受基于一系列复杂的机制,最终允许消除外来抗原,避免对宿主组织造成损害<sup>[31]</sup>。免疫耐受分为中枢耐受和外周耐受,中枢耐受发生在初级淋巴器官,即胸腺(T细胞)和骨髓(B细胞)的淋巴细胞发育过程中。胸腺髓质上皮细胞通过转录因子的表达在这一过程中起着至关重要的作用。一些数据表明,Aire通过调控Tregs细胞的发育,胸腺细胞和树突状细胞在髓质内迁移所必需的趋化因子的表达,以及树突状细胞与TRAs的交叉提呈,从而支持免疫耐受<sup>[32]</sup>。

但是,关于Aire在耐受中的作用,研究人员提出了一个新的假说:Aire可以通过确保自身反应性T细胞分化为Tregs细胞谱系来增强免疫耐受性,然而这一过程的失调会导致Tregs细胞偏向的克隆型转变为致病性的常规T细胞<sup>[33]</sup>。Aire还可以调节染色质状态,招募正性转录延伸因子b (P-TEFb)、异质性核糖核蛋白L (heterogeneous ribonucleo protein L, HNRNPL)和RNA聚合酶II (RNA polymerase II, RNA Pol II)来释放聚合酶<sup>[34]</sup>。

此外,Aire调控的mTECs可表达细胞-细胞相互作用相关分子和一些重要的黏附分子,Aire的减少不仅会导致PTAs减少,而且还会导致mTECs对胸腺细胞的黏附能力降低<sup>[24]</sup>。这些发现具有重要意义,因为mTECs-胸腺细胞黏附是自身反应性胸腺细胞阴性选择和诱导免疫耐受的关键过程。事实上,免疫耐受性的崩溃可能会导致免疫系统功能紊乱,并且是自身免疫疾病发展的原因,这些疾病会导致严重的,甚至是致命的后果。因此,更好地了解与耐受相关的免疫学机制是理解和治疗自身免疫疾病的主要挑战。

越来越多的证据表明,mTECs中TRAs的PGE是诱导耐受所必需的<sup>[35]</sup>。转录调控因子Aire选择性地表达在mTECs中,在促进TRAs的PGE表达中起着关键作用<sup>[36]</sup>。Aire最初被认为是调节TRAs表达的唯一转录因子,后来在mTECs中发现了另外一个参与中枢耐受形成的关键转录因子Fez家族锌指蛋白2 (Fez family zinc finger 2, Fezf2)。Fezf2选择性地表达于mTECs,调节大量TRAs表达,抑制自身免疫反

应的发生。Takaba等<sup>[37]</sup>研究发现,mTECs中缺失Fezf2基因的小鼠表现出严重的自身免疫症状,包括产生自身抗体和针对周围器官的炎细胞浸润。Fezf2和Aire这两个转录调控因子具有共同的特征,如共表达和调节TRAs表达的能力,二者相互协作,以确保机体的免疫耐受。mTECs中Aire和Fezf2依赖的TRAs表达对中枢耐受都至关重要,二者的表达变化都会导致自我耐受和自身免疫的丧失。

### 3.3 Aire与肿瘤免疫

除了在预防自身免疫方面的作用外,Aire在肿瘤免疫方面的重要性也日益被重视。由于胸腺中表达的几种Aire调控的自身抗原也在肿瘤细胞中表达,因此Aire诱导的抗原特异性耐受也能对抗肿瘤反应产生负面影响。研究表明,Aire可以抑制ICOSL和IL-6的表达,从而抑制Tfh细胞的分化<sup>[38]</sup>,而Tfh细胞的异常与自身免疫疾病的发展和肿瘤发生密切相关。此外,一些研究表明,肿瘤发生过程中的免疫监视可能依赖于Aire,其在肿瘤免疫中的作用被认为是它抑制自身免疫活动的延伸。一些癌症相关TSAs的表达是Aire依赖性的,而且研究发现Aire基因敲除小鼠能够产生强大的体液和细胞抗黑色素瘤反应<sup>[23]</sup>。例如,Aire上调mTECs中酪氨酸酶相关蛋白1 (tyrosinase related protein 1, TRP1)的表达,从而上调小鼠体内TRP1特异性T细胞的阴性选择。在Aire缺乏的情况下,发挥阴性选择的TRP1特异性T细胞数量会减少,然而针对这些黑色素瘤抗原的T细胞免疫反应却增强;此外,Aire缺乏的小鼠黑色素瘤生长减慢,存活率提高<sup>[14]</sup>。除了黑色素瘤,其他类型的癌症也可能同样受到Aire的影响。例如,在致癌物诱发和移植性肉瘤小鼠模型中,mTECs的负向调节降低了胸腺Tregs细胞的数量和肿瘤的发展速度<sup>[39]</sup>。Malchow等<sup>[40]</sup>发现,Tregs细胞在肿瘤局部富集,阻碍机体正常的抗肿瘤免疫反应。因此,调节mTECs中Aire的表达可能是增强肿瘤获得性免疫应答的一个有效的途径。

Aire作为一种转录调节因子,通过诱导多种组织特异性抗原的胸腺异位基因表达,从而促进免疫中枢耐受。胸腺中枢耐受的建立是防止自身免疫性疾病发展以及某些肿瘤发生的关键过程。据报道,胸腺中的细胞组分可以作为调节免疫耐受的靶点,例如,通过在mTECs中促进RANK-RANKL信号通路可以增强Aire的表达,促进自身反应性T细胞的凋亡和增强Tregs的阳性选择<sup>[18]</sup>。因此,深入理解Aire在免疫耐受中的作用为未来治疗自身免疫疾病

和肿瘤提供了新的可能靶点。

#### 4 结语与展望

老年免疫系统的一个重要特点是免疫衰老, 即随着年龄的增长, 免疫系统变得越来越弱, 这就增加了老年人感染的风险, 而免疫衰老和胸腺密切相关。Aire是mTECs的功能标志之一, 调控其分化和外周组织抗原的表达、mTECs与胸腺细胞的黏附以及microRNAs的表达等。在过去的十年中, 对Aire的功能和表达调控分子机制的研究为深入理解胸腺上皮细胞发育和免疫耐受开辟了新的视角, 这为制定现今老龄化世界中免疫衰老相关健康问题的医学干预策略提供了帮助, 并且将为自身免疫疾病及某些肿瘤的诊断和治疗提供可能性。

#### [参 考 文 献]

- [1] Bruserud Ø, Oftedal BE, Wolff AB, et al. AIRE-mutations and autoimmune disease. *Curr Opin Immunol*, 2016, 43: 8-15
- [2] Perniola R, Musco G. The biophysical and biochemical properties of the autoimmune regulator (AIRE) protein. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842: 326-37
- [3] Maslovskaja J, Saare M, Liiv I, et al. Extended HSR/CARD domain mediates AIRE binding to DNA. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 468: 913-20
- [4] Waterfield M, Khan IS, Cortez JT, et al. The transcriptional regulator Aire coopts the repressive ATF7ip-MBD1 complex for the induction of immunotolerance. *Nat Immunol*, 2014, 15: 258-65
- [5] Passos GA, Speck-Hernandez CA, Assis AF, et al. Update on Aire and thymic negative selection. *Immunology*, 2018, 153: 10-20
- [6] Pawelec G. Age and immunity: what is “immunosenescence”? *Exp Gerontol*, 2018, 105: 4-9
- [7] Gimenez-Barcons M, Casteras A, Armengol Mdel P, et al. Autoimmune predisposition in Down syndrome may result from a partial central tolerance failure due to insufficient intrathymic expression of *AIRE* and peripheral antigens. *J Immunol*, 2014, 193: 3872-9
- [8] Garcia-Lozano JR, Torres-Agrela B, Montes-Cano MA, et al. Association of the AIRE gene with susceptibility to rheumatoid arthritis in a European population: a case control study. *Arthritis Res Ther*, 2013, 15: R11
- [9] Takahashi T, Asano Y, Sugawara K, et al. Epithelial Fli1 deficiency drives systemic autoimmunity and fibrosis: possible roles in scleroderma. *J Exp Med*, 2017, 214: 1129-51
- [10] Montufar-Robles I, Robles-Garnica JC, Cadena-Sandoval D, et al. The AIRE Ser196Ser synonymous variant is a risk factor for systemic lupus erythematosus. *Cell Immunol*, 2019, 346: 103986
- [11] Sparks AE, Chen C, Breslin MB, et al. Functional domains of autoimmune regulator (AIRE) modulate INS-VNTR transcription in human thymic epithelial cells. *J Biol Chem*, 2016, 291: 11313-22
- [12] Kawano H, Nishijima H, Morimoto J, et al. Aire expression is inherent to most medullary thymic epithelial cells during their differentiation program. *J Immunol*, 2015, 195: 5149-58
- [13] Akiyama N, Takizawa N, Miyauchi M, et al. Identification of embryonic precursor cells that differentiate into thymic epithelial cells expressing autoimmune regulator. *J Exp Med*, 2016, 213: 1441-5
- [14] Bichele R, Kisand K, Peterson P, et al. TNF superfamily members play distinct roles in shaping the thymic stromal microenvironment. *Mol Immunol*, 2016, 72: 92-102
- [15] Yanagihara T, Tomino T, Uruno T, et al. Thymic epithelial cell-specific deletion of *Jmjd6* reduces Aire protein expression and exacerbates disease development in a mouse model of autoimmune diabetes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 489: 8-13
- [16] Yanagihara T, Sanematsu F, Sato T, et al. Intronic regulation of Aire expression by *Jmjd6* for self-tolerance induction in the thymus. *Nat Commun*, 2015, 6: 8820
- [17] Chuprin A, Avin A, Goldfarb Y, et al. The deacetylase Sirt1 is an essential regulator of Aire-mediated induction of central immunological tolerance. *Nat Immunol*, 2015, 16: 737-45
- [18] De Martino L, Capalbo D, Improda N, et al. Novel findings into AIRE genetics and functioning: clinical implications. *Front Pediatr*, 2016, 4: 86
- [19] Herzig Y, Nevo S, Bornstein C, et al. Transcriptional programs that control expression of the autoimmune regulator gene *Aire*. *Nat Immunol*, 2017, 18: 161-72
- [20] Shao W, Zumer K, Fujinaga K, et al. FBXO3 protein promotes ubiquitylation and transcriptional activity of AIRE (autoimmune regulator). *J Biol Chem*, 2016, 291: 17953-63
- [21] Dragin N, Bismuth J, Cizeron-Clairac G, et al. Estrogen-mediated downregulation of AIRE influences sexual dimorphism in autoimmune diseases. *J Clin Invest*, 2016, 126: 1525-37
- [22] Yang S, Fujikado N, Kolodin D, et al. Regulatory T cells generated early in life play a distinct role in maintaining self-tolerance. *Science*, 2015, 348: 589-94
- [23] Perniola R. Twenty years of AIRE. *Front Immunol*, 2018, 9: 98
- [24] Pezzi N, Assis AF, Cotrim-Sousa LC, et al. Aire knockdown in medullary thymic epithelial cells affects Aire protein, deregulates cell adhesion genes and decreases thymocyte interaction. *Mol Immunol*, 2016, 77: 157-73
- [25] Speck-Hernandez CA, Assis AF, Felicio RF, et al. Aire disruption influences the medullary thymic epithelial cell transcriptome and interaction with thymocytes. *Front Immunol*, 2018, 9: 964
- [26] Abramson J, Husebye ES. Autoimmune regulator and self-tolerance-molecular and clinical aspects. *Immunol Rev*, 2016, 271: 127-40
- [27] Meredith M, Zemmour D, Mathis D, et al. Aire controls

- gene expression in the thymic epithelium with ordered stochasticity. *Nat Immunol*, 2015, 16: 942-9
- [28] Anderson MS, Su MA. AIRE expands: new roles in immune tolerance and beyond. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16: 247-58
- [29] Macedo C, Oliveira EH, Almeida RS, et al. Aire-dependent peripheral tissue antigen mRNAs in mTEC cells feature networking refractoriness to microRNA interaction. *Immunobiology*, 2015, 220: 93-102
- [30] Morimoto J, Nishikawa Y, Kakimoto T, et al. Aire controls in trans the production of medullary thymic epithelial cells expressing Ly-6C/Ly-6G. *J Immunol*, 2018, 201: 3244-57
- [31] Wu YX, Jin SH, Cui J. Autophagy and immune tolerance. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1206: 635-65
- [32] Lopes N, Ferrier P, Irla M. Induction of central tolerance by the factor Aire: molecular and epigenetic regulation. *Med Sci (Paris)*, 2015, 31: 742-7
- [33] Malchow S, Leventhal DS, Lee V, et al. Aire enforces immune tolerance by directing autoreactive T cells into the regulatory T cell lineage. *Immunity*, 2016, 44: 1102-13
- [34] Koh AS, Miller EL, Buenrostro JD, et al. Rapid chromatin repression by Aire provides precise control of immune tolerance. *Nat Immunol*, 2018, 19: 162-72
- [35] Berrih-Aknin S, Panse RL, Dragin N. AIRE: a missing link to explain female susceptibility to autoimmune diseases. *Ann NY Acad Sci*, 2018, 1412: 21-32
- [36] Klein L. Aire gets company for immune tolerance. *Cell*, 2015, 163: 794-5
- [37] Takaba H, Morishita Y, Tomofuji Y, et al. Fezf2 orchestrates a thymic program of self-antigen expression for immune tolerance. *Cell*, 2015, 163: 975-87
- [38] Huo F, Shi X, Zou X, et al. Aire deficient dendritic cells promote the T follicular helper cells differentiation. *Immunobiology*, 2019, 224: 539-50
- [39] Conteduca G, Indiveri F, Filaci G, et al. Beyond APECED: an update on the role of the autoimmune regulator gene (AIRE) in physiology and disease. *Autoimmun Rev*, 2018, 17: 325-30
- [40] Malchow S, Leventhal DS, Nishi S, et al. Aire-dependent thymic development of tumor-associated regulatory T cells. *Science*, 2013, 339: 1219-24