

干扰素诱导蛋白 p204 调节心肌分化的机制 及应用前景

宋方 吴强*

(贵州省心血管病研究所, 贵州省人民医院心内科, 贵阳 550002)

摘要 干扰素诱导蛋白 p200 家族蛋白包括 6 种鼠类及 4 种人类家族成员, 具有共同的特征结构, 广泛参与调节细胞增殖和分化、衰老和凋亡, 在自身免疫反应、抗病毒及抗癌等领域发挥着重要的作用。内源性的 p200 家族蛋白鼠 p204 在心肌及骨骼肌表达最高, 提示其在肌分化中起着重要作用。本文联系 p204 的分子结构及调节细胞生长与分化的功能, 阐述 p204 促骨骼肌成肌细胞及胚胎癌细胞分化的机制, 及对心肌损伤后心肌再生的应用前景。

关键词 干扰素; p200; p204; 心肌分化; 干细胞

1 干扰素诱导蛋白 p200 家族及其成员鼠 p204 概述

1.1 p200 家族的构成、结构及功能

干扰素(interferons, IFNs)是一组具有抗病毒、抗增殖、影响细胞生长和分化、调节免疫反应等众多生物学功能的活性蛋白, 通过与细胞膜受体结合后触发 JAK/STAT 信号转导通路, 在干扰素调节因子的协同作用下, 通过与特定基因的 IFN 应答元件或 IFN 调节因子应答元件反应, 诱导表达一系列被称为干扰素诱导蛋白的蛋白, 从而发挥其众多生物学效应^[1]。

p204 属于干扰素诱导蛋白 200 家族(the interferon-inducible protein 200 family, p200)^[2-6]成员。p200 蛋白由一系列位于人/鼠 1 号染色体末端 q21-q23 位置的含有部分相似重复序列的毗邻基因簇编码^[2,3,7,8], 目前已克隆和鉴定了包括 6 种鼠类家族蛋白^[7], 即 p202a/b、p203a/b^[9]、p204、p205(又称 D3 或 Mndal^[10])、p206^[11]、p210(又称 Aim2)^[5,12], 及 4 种人类家族成员^[3,8], 即 IFI16a/b/c、MND A、AIM2、IFIX(IFIX α 1/2、 β 1/2 和 γ 1/2)^[13]。随着研究进一步深入展开, p200 家族不断有新的成员及新亚型加入^[3]。

p200 家族蛋白有着共同的特征结构^[3]。除了 p202a 和 p202b, 所有家族蛋白在氨基端都有一个大约含 88 个氨基酸的 DAPIN 结构域(domain in apoptosis and interferon response)^[2]和一个高度保守的核定位序列(nuclear localization sequences, NLS)及核输出序列(nuclear export sequences, NES)^[14]。DAPIN 结构域(通过其 IFN 应答元件)介导 IFN 应答及与凋亡(如 NF- κ B)和炎性信号通路蛋白(如 ASC/Caspase-1)

之间的结合。NLS 及 NES 介导 p200 家族蛋白的核定位及转位至细胞质^[14]。除了 IFIX γ 和待鉴定的 p208, 所有 p200 蛋白在羧基端均含有一个或两个重复的部分保守的 200 个氨基酸序列构成的结构域(200 amino acids domain, 200X)^[3], 根据其部分氨基酸序列的不同分为 200A、B 或 C 三型。200A 和 200B 已证实和生长抑制功能相关^[3,15]。

p200 家族成员通过与目标蛋白(如转录因子 pRb 和 p53 等、信号蛋白、癌蛋白和分化抑制因子等)的结合, 广泛参与调节细胞增殖和分化、衰老和凋亡, 在自身免疫反应、抗病毒及抗癌等领域发挥着重要的作用^[2-6]。

1.2 p204 概述

编码 p204 蛋白的基因 *Ifi204* 由耶鲁大学的 Lengyel 教授首先发现并克隆, 其 mRNA 约为 2.3~2.4 Kb, p204 蛋白有 640 个氨基酸残基, 表观分子量为 72 kDa^[2,4,16]。p204 氨基端起始部含一个由 88 个氨基酸残基构成的 DAPIN 结构域, 介导 IFN 应答及与凋亡和炎性信号通路蛋白之间的结合。NLS 和 NES 之间含有一个由 8 个重复的 TSTAQAR 序列构成的特异性七聚物所形成的 α -螺旋结构^[8]。在其羧基端含有两个相连的 200X, 即 200A 和 200B, 二者序列相似度为 34%。同所有的 p200 家族蛋白一样, p204 的 200X 结构域中都含有一个 MF/LHATVAT 序列, 其

收稿日期: 2010-07-05 接受日期: 2010-10-08

贵州省优秀科技教育人才省长专项资金(No. 黔省合字[2009]30 号)资助项目

* 通讯作者。Tel/Fax: 0851-5937194, E-mail: waqqaa@yahoo.com.cn

200A 包含两个 Rb 蛋白结合模序, 200B 仅含一个 LxCxE 序列^[4]。p204 蛋白的构成及功能结构域见图 1。

p204 蛋白在小鼠多种器官组织中都有表达, 如成年鼠的心肌、骨骼肌、肾、骨、骨髓、胸腺、淋巴结、脾、单核/巨噬细胞^[17,21], 新生鼠的成骨细胞及胚胎成骨细胞^[18,21]及肥大的软骨细胞^[19], 其中表达最高的为心肌、骨骼肌^[21], 提示其对二者有着重要作用。p204 蛋白能被 IFN- α , β , γ 等诱导表达^[14,16], 但在不同品系的小鼠中, IFNs 对 p204 的诱导效率也不尽相同^[4,16]。在成年野生型 C129 鼠及 IFN- α , β , γ 受体敲除的突变型 C129 鼠的脾、胸腺、心脏、骨骼肌及肺组织, p204 及 p202 的表达水平没有差异, 表明 p204 及 p202 的表达不受内源性 IFNs 的影响^[20]。通过免疫荧光染色及免疫印迹发现 p204 可位于核仁、核质, 也可出现于细胞质、细胞膜^[16]。p204 在不同细胞的不同发育阶段表达位置是不同的^[21-24], 如在 AKR-2B 细胞(一种克隆的小鼠胚胎细胞系)其主要定位于核仁; 而在 IFNs 诱导的 C2C12 成肌细胞分

化成熟为肌管过程中, p204 磷酸化并从细胞核大量转位至细胞质^[21]。

2 p204 调节细胞生长与分化

为了研究 p204 的生物学功能, 研究者们采取了许多方法: 如检测 p204 在亚细胞结构的定位及组织分布^[16,21,25]; 研究其在细胞分化过程中表达的变化^[21,25]; 对 p204 结合蛋白的相互作用研究^[26]。

p204 通过多种机制发挥其抗增殖能力: p204 过表达具有抑制细胞生长的功能, 可以延缓细胞 G₀/G₁ 期进入 S 期^[27], 这种抑制细胞生长的作用至少部分是通过介导 rRNA 的转录抑制来实现的^[26]; 另一方面, p204 的 200X 结构域含有 LxCxE 模序, 通过其与 pRb 蛋白的结合, 从而抑制细胞增殖^[15]; p204 还通过其 200X 的 MF/LHATVAT 模序介导和 53BP1 的结合从而激活 p53 来抑制肿瘤细胞增殖^[27]; 此外, p204 还通过抑制细胞周期 G₂/M 转换发挥其抗增殖功效^[28]。

Ras 肿瘤信号蛋白(如 H-Ras 及 K-Ras)能诱导高水平的 p204 表达并使后者大量转位到细胞质与 Ras 信号蛋白结合后促进 Ras 信号通路磷酸化, 并进一步激活其下游靶目标(如 MEK、Akt 及 p38MAPK)从而抑制肿瘤增殖^[22]。因此, p204 可作为 Ras 活性的一种负反馈抑制剂, 起着抗肿瘤的作用。

p204 的表达参与多种干/祖细胞的分化, 包括骨骼肌肌管^[21,25], 心肌细胞^[23,24], 成骨细胞^[18,29,30], 软骨细胞^[19]及巨噬细胞^[17,31]的分化诱导。一系列的研究^[18,23,25,29]表明 p204 通过与分化抑制因子(inhibitors of differentiation, Ids)结合, 并携带 Ids 通过其 NES 信号依赖性的方式由核转位到胞质, 从而使 Ids 与那些被 Ids 结合并抑制的转录因子分离(如肌分化特异性转录因子 MyoD、心肌分化转录因子 Gata4 和 Nkx2.5、成骨细胞特异性转录因子 Cbfa1), 加速 Ids 泛素化, 从而促进细胞分化成熟(图 2)。

3 p204 促成肌细胞及心肌细胞分化的机制

心肌梗死等造成大量心肌细胞坏死、凋亡, 并被无收缩功能的瘢痕组织代替, 结果导致心力衰竭。出生后的成熟心肌细胞本身并没有增殖能力, 细胞移植为心肌坏死区的细胞重建及衰竭心脏的功能恢复提供了一种新的方法, 骨骼肌成肌细胞、骨髓来源的造血干细胞、间充质干细胞、固有的心脏干细胞^[32]及多向分化潜能的人胚胎干细胞是目前用于心肌再生的主要移植细胞^[33,34]。一系列的研究发现 p204 参

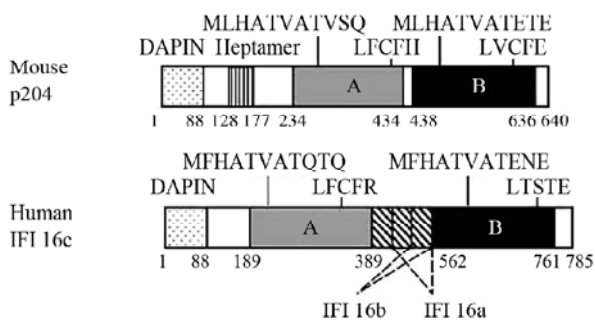


图 1 鼠 p204 及人 IFI16 蛋白结构示意图(部分修改自 Ludlow 等^[31])

虚线框代表 DAPIN 结构域, 两种实线框分别代表 200 A 或 200 B。竖直线条表示富含 S/T 氨基酸残基的特异性七聚物。IFI16 的三个亚型 IFI16a/b/c 分别包含 1~3 个斜线框代表的氨基酸区域。200A 或 200B 结构域中均存在非常保守的 MF/LHATVAT 及 LxCxE 模序。图下角的数字分别表示蛋白结构中起/止氨基酸残基的位置。p204 及 IFI16 均分别含有一个 DAPIN 及一对 200X 结构域。

Fig. 1 The proteins structure diagram of mouse p204 and human IFI 16(partly modified from Ludlow, etc^[31])

The domain structures of Dotted box denote DAPIN domains, and the different 200X domains are shown by solid shaded boxes A and B, respectively. Vertical striped bars indicate S/T-rich seven amino-acid repeat motifs, which named Heptamer. Diagonal striped boxes in IFI 16 indicate sites where alternative splicing leads to formation of different isoforms, named IFI 16a, b and c, respectively. The conserved MF/LHATVAT and LxCxE motifs within 200X domains are also shown. Numbers located below each diagram represent amino-acid positions. Both of protein p204 and IFI 16 contain a DAPIN domain and a pair of 200X domains.

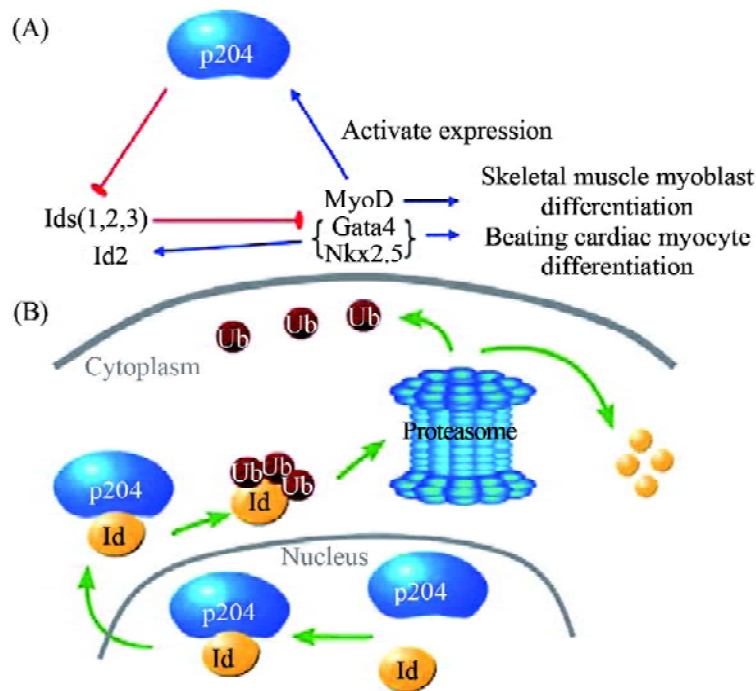


图2 p204抑制Ids促进骨骼肌成肌细胞及心肌细胞分化的机制

A: 肌分化过程中 p204/Ids/MyoD 或 p204/Ids/Gata4/Nkx2.5 调控环路。在骨骼肌成肌细胞分化过程中, Ids 抑制 MyoD 及 myogenin (成肌素)活性, 而后二者能促进 *Irfi204* 基因转录活性, p204 通过拮抗 Ids 抑制 MyoD 活性的方式与 MyoD 相互活化; 在分化为工作心肌细胞过程中 p204 与 Gata4、Nkx2.5 相互活化的机制与 p204 在成肌细胞分化中作用方式相同, 但有趣的是 Gata4 和 Nkx2.5 反过来协同激活 Id2 的表达^[39,41]; B: p204 抑制 Ids 作用的分子机制。p204 在细胞核内与 Ids 结合, 然后携带 Ids 转位到细胞质, 加速 Ids 泛素化, 结果胞质中的 Ids 被蛋白酶体降解。

Fig. 2 The mechanisms of p204 overcome the inhibition of differentiation of skeletal muscle myoblasts, cardiac myocytes by Id proteins

A: regulatory circuit of p204/Ids/MyoD or p204/Ids/Gata4/Nkx2.5 involved in muscle differentiation. In skeletal muscle myoblast differentiation, Id proteins bind and inhibit the activities of MyoD and myogenin, they also inhibit the activities of MyoD and myogenin indirectly by binding to the E12 and E47 proteins with which MyoD or myogenin form heterodimers. Myogenin can substitute for MyoD in transactivating *Irfi204* gene. The regulatory circuit involved in myoblast differentiation functions as a positive feedback loop. In the regulatory circuit involved in cardiac myocytes differentiation there also exists a positive feedback loop between p204 and Nkx2.5 or Gata4. Moreover, recent findings reveal that Nkx2.5 and Gata4^[41], and also Nkx2.5 and Tbx5^[39] can also promote Id2 expression, suggesting the existence of a negative feedback loop between them; B: the process of p204 overcomes the inhibitions of the differentiation of myoblasts, myocytes, and osteoblasts by Id proteins. p204 binds to Id proteins in the nucleus and the resulting complex is translocated to the cytoplasm. In the cytoplasm, p204 promotes the ubiquitination of the Id proteins. The ubiquitinated Id proteins are degraded by proteasomes. Ub, ubiquitin.

与了促骨骼肌成肌细胞分化成熟为肌管^[21,25]及胚胎癌干细胞(embryonal carcinoma stem cells)分化为功能心肌细胞^[23,24]的过程, 并对其分化发挥了不可或缺的作用。

3.1 促 C2C12 骨骼肌成肌细胞分化成熟为肌管

移植到心肌梗死区的骨骼肌成肌细胞能在病变区存活并形成新的肌管, 并能分化为表达多种心肌细胞特异性蛋白及担负心脏工作的慢收缩细胞^[34,35]。骨骼肌成肌细胞具有取材方便, 易于体外培养, 肿瘤发生率极低, 耐缺血及自体骨骼肌成肌细胞移植不存在免疫排斥等优点, 是最早应用于心肌修复的移植细胞^[34]。

Liu 等^[21]研究提示 p204 在肌分化中起重要作用。p204 蛋白在 C2C12 骨骼肌成肌细胞(skeletal muscle myoblasts, 又称骨骼肌祖细胞)分化成熟为肌管的过程中大量表达并磷酸化后转位至细胞质, MyoD、肌细胞生成素及(或)E12/E47 通过转录结合到 *Irfi204* 基因的几个 E box 序列促进了 p204 蛋白的转录表达。p204 促进肌分化的作用至少是部分通过拮抗 Ids 抑制 MyoD、肌细胞生成素及 E12/E47 的转录活性而实现^[25]。这和 p204 的 200B 结构域与 Ids 的 HLH(helix-loop-helix)结构域的结合有关, 因为 HLH 结构域也是 Ids 和 MyoD 及其它肌原性 HLH 蛋白的结合位点^[36]。

3.2 调节 P19 胚胎癌干细胞分化为工作心肌细胞

分离自小鼠胚胎源性畸胎瘤的 P19 胚胎癌细胞是最早发现的能分化为心脏细胞(包括心肌细胞、平滑肌细胞、内皮细胞等)、神经及骨骼肌细胞的多能干细胞之一^[37],能被诱导分化为三个胚层所有类型的细胞。尽管有着正常核形态的胚胎干细胞也能高效的分化为心脏细胞^[33],但 P19 细胞的培养维持及其诱导分化条件更简便可控,因此更适合各种细胞生物学研究。

p204 在小鼠心脏表达水平最高:从 10.5 天的小鼠胚胎发现有微弱的表达起,在胚胎发育的 16.5 天达到高峰,并在此后的发育及成年鼠持续高表达^[21],提示其对心脏发育有着潜在作用。在 DMSO 诱导的 P19 细胞分化为工作心肌细胞过程中, p204 大量表达,且外源性的 p204 亦能替代 DMSO 诱导 Gata4 及 Nkx2.5 的表达及 P19 细胞分化,同时 p204 反义 RNA 可抑制 DMSO 诱导的 P19 细胞分化,表明 p204 的表达为 P19 细胞分化为心肌细胞所必需^[24]。Ifi204 基因 5' 端含有几个 Gata4 及 Nkx2.5、Tbx5 心肌转录因子的识别序列, Ding 等^[24]通过一系列的实验发现,在 10T1/2 鼠胚胎成纤维细胞、培养的新生大鼠心肌细胞及 P19 细胞分化为心肌细胞过程中,内源性 p204 的表达至少部分是由 Gata4 及 Nkx2.5、Tbx5 协同转录激活的。如同在骨骼肌分化过程中 p204、Ids 及 MyoD 的作用环一样,在心肌分化过程中 p204、Ids、Gata4 和 Nkx2.5 的相互作用也使 p204 拮抗了 Ids 抑制分化的作用从而促进心肌细胞分化成熟^[23](图 2)。

Id2 在小鼠心室传导系统表达, Id2 缺失小鼠出现了传导系统结构和功能的异常(如左束支传导阻滞)^[38]。研究显示 Id2 对小鼠胚胎心室肌细胞转化为心脏传导系统细胞是必需的,且 Nkx2.5 及 Tbx5 一起反过来激活 Id2 的表达^[38]。P19 细胞亚克隆 P19CL6 细胞分化为心肌细胞的效率及稳定性更高^[39],在 P19CL6 细胞分化为心肌细胞的过程中 Id2 的表达也能被 Gata4 和 Nkx2.5 反过来协同激活^[40]。促进 Id2 表达可能促使心肌细胞分化从工作心肌细胞朝向传导系统细胞转化^[38],但 p204 是否参与传导系统分化仍有待证明。

Id2 可抑制 Gata4、Nkx2.5 及 Tbx5 活化^[24],然而 Nkx2.5 和 Tbx5^[38]、Gata4 和 Nkx2.5^[40]又能协同促进 Id2 的表达,表明它们在心肌分化过程中可能存在一种负反馈机制(图 2)。p204 通过拮抗 Ids 并直接与 Gata4、Nkx2.5 之间相互激活形成正反馈通路^[4]。

两种相反的反馈通路之间的协调机制及意义还有待进一步研究。

4 应用前景及待解决的问题

没有再生能力的心肌细胞表达高水平的 p204,同时 Ids 水平很低, Ids 有着促增殖及抑分化的作用,而 p204 能对抗 Ids 的上述功能^[23],这意味着在终末分化的心肌细胞通过降低 p204 同时提高 Ids 的表达,有可能诱导心肌细胞去分化并展现出一定的增殖能力^[41]。这对心肌细胞损伤修复及心功能的恢复将具有重要意义。

鼠 p204 被当作“人的 IFI16”,因为它们都含有 DAPIN 结构域(氨基酸序列相似度为 51%)和一对 200 X 序列(相似度为 51.3%)(图 1)。IFI16 具有抑制人脐静脉内皮细胞增殖、迁移及新生血管形成的作用^[42],参与对血管内皮炎性因子的诱导^[43],提示抑制与之同源的 p204 的表达可能促进血管内皮细胞的生长、迁移及新生血管的形成并抑制炎症反应。Id1 及 Id3 也有着促神经及血管再生的作用^[44]。这对创造有利于移植的心肌干细胞存活的内环境发挥了积极的作用。

因为 p200 家族基因定位节段的邻近并部分重叠,相互间高度同源,所以其基因敲除模型很难有效地构建,这给研究增加了难度。如特异性突变 p202a 基因的小鼠就没有显示任何的表型变化,因为其亚型 p202b 基因发生了“等量”的上调可能“补偿”了 p202a 缺失后的功能空白^[45]。p204 对多能胚胎干细胞及成肌细胞分化为心肌细胞的直接证据还未出现, p200 家族其它成员是否参与了心肌类细胞分化也有待更多研究证实,其结果将决定基因治疗的策略及应用前景。

参考文献(References)

- 1 Wessely R. Interference by interferons: Janus faces in vascular proliferative diseases. *Cardiovasc Res* 2005; 66(3): 433-43.
- 2 Asefa B, Klarmann KD, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins NA, Keller JR. The interferon-inducible p200 family of proteins: a perspective on their roles in cell cycle regulation and differentiation. *Blood Cells Mol Dis* 2004; 32(1): 155-67.
- 3 Ludlow LE, Johnstone RW, Clarke CJ. The HIN-200 family: more than interferon-inducible genes? *Exp Cell Res* 2005; 308(1): 1-17.
- 4 Luan Y, Lengyel P, Liu CJ. p204, a p200 family protein, as a multifunctional regulator of cell proliferation and differentiation. *Cytokine Growth Factor Rev* 2008; 19(5-6): 357-69.
- 5 Lengyel P. From RNase L to the multitasking p200 family proteins: an exploration of the modes of interferon action. *J Interferon Cytokine Res* 2008; 28(5): 273-81.
- 6 Choubey D, Duan X, Dickerson E, Ponomareva L, Panchana-

- than R, Shen H, *et al.* Interferon-inducible p200-family proteins as novel sensors of cytoplasmic DNA: role in inflammation and autoimmunity. *J Interferon Cytokine Res* 2010; 30(6): 371-80.
- 7 Opdenakker G, Snoddy J, Choubey D, Toniato E, Pravtcheva DD, Seldin MF, *et al.* Interferons as gene activators: a cluster of six interferon-activatable genes is linked to the erythroid alpha-spectrin locus on murine chromosome 1. *Virology* 1989; 171(2): 568-78.
- 8 Deschamps S, Meyer J, Chatterjee G, Wang H, Lengyel P, Roe BA. The mouse *Ifi200* gene cluster: genomic sequence, analysis, and comparison with the human HIN-200 gene cluster. *Genomics* 2003; 82(1): 34-46.
- 9 Zhang Y, Tian Q, Du Y, Cao H, Lengyel P, Kong W. Multiple splicing results in at least two p203 proteins that are expressed in the liver and down-regulated during liver regeneration. *Front Biosci* 2008; 13: 2444-51.
- 10 Zhang K, Kagan D, DuBois W, Robinson R, Bliskovsky V, Vass WC, *et al.* Mndal, a new interferon-inducible family member, is highly polymorphic, suppresses cell growth, and may modify plasmacytoma susceptibility. *Blood* 2009; 114(14): 2952-60.
- 11 Ludlow LE, Hii LL, Thorpe J, Newbold A, Tainton KM, Trapani JA, *et al.* Cloning and characterisation of Ifi206: a new murine HIN-200 family member. *J Cell Biochem* 2008; 103(4): 1270-82.
- 12 Roberts TL, Idris A, Dunn JA, Kelly GM, Burnton CM, Hodgson S, *et al.* HIN-200 proteins regulate caspase activation in response to foreign cytoplasmic DNA. *Science* 2009; 323(5917): 1057-60.
- 13 Ding Y, Wang L, Su LK, Frey JA, Shao R, Hunt KK, *et al.* Antitumor activity of IFIX, a novel interferon-inducible HIN-200 gene, in breast cancer. *Oncogene* 2004; 23(26): 4556-66.
- 14 Johnstone RW, Trapani JA. Transcription and growth regulatory functions of the HIN-200 family of proteins. *Mol Cell Biol* 1999; 19(9): 5833-8.
- 15 Gribaudo G, Riera L, De Andrea M, Landolfo S. The antiproliferative activity of the murine interferon-inducible Ifi 200 proteins depends on the presence of two 200 amino acid domains. *FEBS Lett* 1999; 456(1): 31-6.
- 16 Choubey D, Lengyel P. Interferon action: nucleolar and nucleoplasmic localization of the interferon-inducible 72-kD protein that is encoded by the *Ifi204* gene from the gene 200 cluster. *J Cell Biol* 1992; 116(6): 1333-41.
- 17 Gariglio M, De Andrea M, Lembo M, Ravotto M, Zappador C, Valente G, *et al.* The murine homolog of the HIN 200 family, Ifi 204, is constitutively expressed in myeloid cells and selectively induced in the monocyte/macrophage lineage. *J Leukoc Biol* 1998; 64(5): 608-14.
- 18 Liu CJ, Chang E, Yu J, Carlson CS, Prazak L, Yu XP, *et al.* The interferon-inducible p204 protein acts as a transcriptional coactivator of Cbfa1 and enhances osteoblast differentiation. *J Biol Chem* 2005; 280(4): 2788-96.
- 19 Zhang Y, Kong L, Carlson CS, Liu CJ. Cbfa1-dependent expression of an interferon-inducible p204 protein is required for chondrocyte differentiation. *Cell Death Differ* 2008; 15(11): 1760-71.
- 20 Wang H, Ding B, Liu CJ, Ma, XY, Deschamps S, Roe BA, *et al.* The increase in levels of interferon-inducible proteins p202a and p202b and RNA-dependent protein kinase (PKR) during myoblast differentiation is due to transactivation by MyoD: their tissue distribution in uninfected mice does not depend on interferons. *J Interferon Cytokine Res* 2002; 22(6): 729-37.
- 21 Liu CJ, Wang H, Zhao Z, Yu S, Lu YB, Meyer J, *et al.* MyoD-dependent induction during myoblast differentiation of p204, a protein also inducible by interferon. *Mol Cell Biol* 2000; 20(18): 7024-36.
- 22 Ding B, Lengyel P. p204 protein is a novel modulator of Ras activity. *J Biol Chem* 2008; 283(9): 5831-48.
- 23 Ding B, Liu CJ, Huang Y, Yu J, Kong W, Lengyel P. p204 protein overcomes the inhibition of the differentiation of P19 murine embryonal carcinoma cells to beating cardiac myocytes by Id proteins. *J Biol Chem* 2006; 281(21): 14893-906.
- 24 Ding B, Liu CJ, Huang Y, Hickey RP, Yu J, Kong W, *et al.* p204 is required for the differentiation of P19 murine embryonal carcinoma cells to beating cardiac myocytes: its expression is activated by the cardiac Gata4, Nkx2.5, and Tbx5 proteins. *J Biol Chem* 2006; 281(21): 14882-92.
- 25 Liu CJ, Ding B, Wang H, Lengyel P. The MyoD-inducible p204 protein overcomes the inhibition of myoblast differentiation by Id proteins. *Mol Cell Biol* 2002; 22(9): 2893-905.
- 26 Liu CJ, Wang H, Lengyel P. The interferon-inducible nucleolar p204 protein binds the ribosomal RNA-specific UBF1 transcription factor and inhibits ribosomal RNA transcription. *EMBO J* 1999; 18(10): 2845-54.
- 27 Hertel L, Rolle S, De Andrea M, Azzimonti B, Osello R, Gribaudo G, *et al.* The retinoblastoma protein is an essential mediator that links the interferon-inducible 204 gene to cell-cycle regulation. *Oncogene* 2000; 19(32): 3598-608.
- 28 Asefa B, Dermott JM, Kaldis P, Stefanisko K, Garfinkel DJ, Keller JR. p205, a potential tumor suppressor, inhibits cell proliferation via multiple pathways of cell cycle regulation. *FEBS Lett* 2006; 580(5): 1205-14.
- 29 Luan Y, Yu XP, Yang N, Frenkel S, Chen L, Liu CJ. p204 protein overcomes the inhibition of core binding factor alpha-1-mediated osteogenic differentiation by Id helix-loop-helix proteins. *Mol Biol Cell* 2008; 19(5): 2113-26.
- 30 Luan Y, Yu XP, Xu K, Ding B, Yu J, Huang Y, *et al.* The retinoblastoma protein is an essential mediator of osteogenesis that links the p204 protein to the Cbfa1 transcription factor thereby increasing its activity. *J Biol Chem* 2007; 282(23): 16860-70.
- 31 Dauffy J, Mouchiroud G, Bourette RP. The interferon-inducible gene, Ifi204, is transcriptionally activated in response to M-CSF, and its expression favors macrophage differentiation in myeloid progenitor cells. *J Leukoc Biol* 2006; 79(1): 173-83.
- 32 韩清见, 张耀洲. 心脏干 / 祖细胞研究进展. *细胞生物学杂志* 2008; 30(3): 317-22.
- 33 Zhu WZ, Hauch KD, Xu C, Laflamme MA. Human embryonic stem cells and cardiac repair. *Transplant Rev (Orlando)* 2009; 23(1):53-68.
- 34 van den Bos EJ, van der Giessen WJ, Duncker DJ. Cell transplantation for cardiac regeneration: where do we stand? *Neth Heart J* 2008; 16(3): 88-95.

- 35 Ghostine S, Carrion C, Souza LC, Richard P, Bruneval P, Vilquin JT, *et al.* Long-term efficacy of myoblast transplantation on regional structure and function after myocardial infarction. *Circulation* 2002; 106(12 Suppl 1): I131-6.
- 36 Norton JD, Deed RW, Craggs G, Sablitzky F. Id helix-loop-helix proteins in cell growth and differentiation. *Trends Cell Biol* 1998; 8(2): 58-65.
- 37 van der Heyden MA, Defize LH. Twenty one years of P19 cells: what an embryonal carcinoma cell line taught us about cardiomyocyte differentiation. *Cardiovasc Res* 2003; 58(2): 292-302.
- 38 Moskowitz IP, Kim JB, Moore ML, Wolf CM, Peterson MA, Shendure J, *et al.* A molecular pathway including Id2, Tbx5, and Nkx2-5 required for cardiac conduction system development. *Cell* 2007; 129(7): 1365-76.
- 39 Mueller I, Kobayashi R, Nakajima T, Ishii M, Ogawa K. Effective and steady differentiation of a clonal derivative of P19CL6 embryonal carcinoma cell line into beating cardiomyocytes. *J Biomed Biotechnol* 2010; 2010: 380561.
- 40 Lim JY, Kim WH, Kim J, Park SI. Induction of Id2 expression by cardiac transcription factors GATA4 and Nkx2.5. *J Cell Biochem* 2008; 103(1): 182-94.
- 41 Lengyel P, Liu CJ. The p200 family protein p204 as a modulator of cell proliferation and differentiation: a brief survey. *Cell Mol Life Sci* 2009; 67: 335-40.
- 42 Raffaella R, Gioia D, De Andrea M, Cappello P, Giovarelli M, Marconi P, *et al.* The interferon-inducible IFI16 gene inhibits tube morphogenesis and proliferation of primary, but not HPV16 E6/E7-immortalized human endothelial cells. *Exp Cell Res* 2004; 293(2): 331-45.
- 43 Caposio P, Gugliesi F, Zannetti C, Sponza S, Mondini M, Medico E, *et al.* A role of the interferon-inducible protein IFI16 as inducer of proinflammatory molecules in endothelial cells. *J Biol Chem* 2007; 282(46): 33515-29.
- 44 Lyden D, Young AZ, Zagzag D, Yan W, Gerald W, O'Reilly R, *et al.* Id1 and Id3 are required for neurogenesis, angiogenesis and vascularization of tumour xenografts. *Nature* 1999; 401(6754): 670-7.
- 45 Wang H, Chatterjee G, Meyer JJ, Liu CJ, Manjunath NA, Brayward P, *et al.* Characteristics of three homologous 202 genes (Ifi202a, Ifi202b, and Ifi202c) from the murine interferon-activatable gene 200 cluster. *Genomics* 1999; 60(3): 281-94.

The Interferon-inducible p204 Protein Regulate Cardiac Differentiation: Mechanisms and Application Prospect

Fang Song, Qiang Wu*

(Cardiovascular Institute of Guizhou, Department of Cardiology, Guizhou Province People's Hospital, Guiyang 550002, China)

Abstract The interferon-inducible protein 200 family (p200) proteins, which have several common characteristic structures and are highly homologous to one another, include 6 kinds of murine and 4 kinds of human family members, are widely involved in regulating cell proliferation and differentiation, senescence and apoptosis, playing important roles in the autoimmune response, anti-virus, anti-cancer and other fields. The endogenous murine p204 of p200 family proteins has the highest expression in heart and skeletal muscle, suggesting that it plays an important role in muscle differentiation. This article links the molecular structure of p204 and its functions of regulation of cell growth and differentiation, describes the mechanisms of p204 to promote skeletal myoblast, embryonal carcinoma cell differentiation and its application prospect for myocardial regeneration after cardiac injury.

Key words interferon; p200; p204; cardiac differentiation; stem cell

Received: July 5, 2010 Accepted: October 8, 2010

This work was supported by Governor Special Fund of Excellent Technology and Education Talent of Guizhou Province of China(No. 2009-30)

*Corresponding author. Tel/Fax: 86-851-5937194, E-mail: waqqa@yahoo.com.cn