

CIITA 对 MHC-II 基因的表达调控及其应用

魏玉英 杨 琨*

(第四军医大学免疫学教研室, 西安 710032)

摘要 MHC-II 在适应性免疫应答及 T 细胞的选择活化过程中具有重要作用。MHC-II 反式激活蛋白(CIITA)是调控其表达的关键分子。CIITA 可协调多种转录因子与 MHC-II 基因启动子作用, 调控过程中还涉及到表观遗传学修饰及染色质重组, 这些研究在基因疫苗设计、肿瘤治疗等方面都有着积极的意义。

关键词 CIITA; MHC-II; 表达调控; 表观遗传学; 疫苗

MHC-II 不仅在抗原提呈细胞将外源性抗原肽递呈给 CD4⁺ T 淋巴细胞、从而启动适应性免疫应答过程中发挥重要作用, 而且, MHC-II 介导的抗原提呈对于 CD4⁺ T 细胞在胸腺中的阳性、阴性选择及成熟 CD4⁺ T 细胞在外周的自身稳定至关重要。因此, 如何精确调控 MHC-II 的表达, 使得机体在有效抵御外来抗原的同时避免自身受到免疫损伤就显得尤为重要。该过程主要由 MHC-II 的反式激活蛋白(class II transactivator, CIITA)在转录水平进行调控, 但其中涉及的表观遗传学修饰及染色质重组等机制也日益受到关注^[1,2]。

组成性表达的 MHC-II 具有组织特异性, 只在抗原递呈细胞如巨噬细胞、树突状细胞及 B 细胞表面表达, 但细胞因子如 IFN- γ 可诱导 MHC-II 在其他细胞表面表达。其他的微生物来源成分, 如 CpG-DNA 及脂多糖(LPS), 可通过 Toll 样受(TLR)/IL-1R 增加 MHC-II 在细胞表面的表达。这一过程涉及到核转录因子 NF- κ B 与其启动子的相互作用^[3]。最早在 RJ 2.2.5 B 淋巴瘤细胞系中发现 MHC-II 的组成性及诱导性表达都由 CIITA 调控。然而, CIITA 不能直接与 DNA 结合, 它必须通过与特异的转录因子、辅助因子, 尤其是染色质修饰酶结合才能精细地调控 MHC-II 基因转录。一些 MHC-II 基因调控体系的特别之处可能与 CIITA 起源于与炎症和初始免疫相关的古老的胞浆蛋白家族 CATERPILLER 家族[CARD, transcription enhancer, R (purine)-binding, pyrin, lots of leucine repeats] (又称 NOD-LRR 蛋白)有关。该家族成员在调控哺乳类动物和植物细胞凋亡、抵抗病原体及参与炎症反应等方面都起着关键的作用^[4]。本文将重点讨论 CIITA 在调控 MHC-II 基因表达中的作用。

1 MHC-II 基因的启动子及其作用因子

MHC-II 基因的启动子区包括 W/S 盒、X1 盒、X2 盒和 Y 盒等顺式作用元件, 称为 S-X-Y 组件。S-X-Y 组件的序列及空间特殊的线性排列方式高度保守, 对于 MHC-II 的组成性及诱导性表达都是必需的。目前与之结合的反式作用蛋白都已研究得非常清楚。上游的 W/S 盒与 X 盒结合相同蛋白并且在募集 CIITA 上起重要的作用^[5]。X1 区由包括 RFX5、RFXANK (RFX-B) 和 RFXAP 在内的调控因子 X (regulatory factor X, RFX) 复合物所识别^[6]。对于 RFX 的认识来源于对裸淋巴细胞综合征(bare lymphocyte syndrome, BLS)的研究。BLS 是由于 MHC-II 基因的转录因子基因变异, 导致其编码的转录因子不能与 MHC-II 基因的调控元件正常结合, 因此, BLS 患者的细胞表面 MHC-II 表达缺陷。依据变异成分不同, BLS 分为 A、B、C、D 四型。其中 B、C、D 型缺失的分别为 RFXANK (即 RFX-B)、RFX5 和 RFXAP^[7]。RFX 缺陷 BLS 患者的一个重要特点是细胞中 MHC-II 基因启动子的相应位点一直都未被占据, 这说明 RFX 与 S-X-Y 组件结合的重要性。BLS A 型患者缺失的是 CIITA, 有关 CIITA 的作用将在下文中详述。Nekrep 等^[8]研究发现, RFX5 中 149 位精氨酸突变为谷氨酰胺后, 其翼状螺旋 DNA 结合模体(winged-helix motif) 将失去结合 DNA 的功能, 引起典型的裸淋巴细胞综合征表现。下游的 X2 盒则由 cAMP 应答元件结合蛋白(cyclic AMP response element binding protein, CREB)结合^[9]。CREB 与很多神

收稿日期: 2007-09-14 接受日期: 2007-11-12

国家高技术研究发展计划(863 计划)资助项目(No.2006AA02A237)

* 通讯作者。Tel: 029-84774532, E-mail: yangkunkun_2006@yahoo.com.cn

经及免疫系统的发育、调节通路都有关。对多个 CREB 突变体进行免疫共沉淀及报告分析(co-immunoprecipitations and reporter assays)证实: CREB 通过 C 末端部分与 RFX5 及 CIITA 相互作用, 并且认为这一 C 末端区域都是功能性的。免疫共沉淀发现 HLA-DRA 中有磷酸化的 CREB 为其功能提供了证据。虽然 CERB 的磷酸化可以使 MHCII 基因转录增强, 但并不是转录所必需^[10]。此外, CERB 对于 RFX 的稳定性及其与 S 朮套组件的结合也有重要的作用。与 Y 盒结合的是由 A、B、C 亚单位组成的异源三聚体核因子 Y(nuclear factor-Y, NF-Y)^[11]。NF-YB 和 NF-YC 包含一组蛋白折叠区, 该区可弯曲启动子中的 DNA, 从而便于多聚转录因子的组装和 DNA 聚合酶的结合^[12]。尽管这些转录因子普遍存在而且组成性表达, 但它们不能独自诱导 MHC-II 基因的表达。事实上, 这些转录因子组成一个称为 MHC-II 增强体的多蛋白复合物, 该复合物为募集转录决定性分子 CIITA 提供合适的支持面(landing pad) (图 1^[13])。增强体的组装及 CIITA 的募集对于 MHC-II 基因转录缺一不可。另有报道称, RFX 除了提供 CIITA 作用的支持面外, 还拥有不依赖于 CIITA 的乙酰化组蛋白、募集基本转录因子的能力^[14]。

基因组研究发现, 除了启动子 200 bp 的核心序列之外, 还存在着类似反式的 S-X-Y 元件的远端调控模体在细胞内对于 MHC-II 基因的活化也非常重要。这一基因座控制区域位于小鼠 H2-Ea 启动子上游 1.3 kb 或人 HLA-DRA 启动子上游 2.3 kb 处。染色质免疫沉淀技术证实 CIITA 及 RFX 可与之结合使组蛋白 H3 和 H4 乙酰化, 形成一包括整个 HLA-DRA 基因座的乙酰化染色质结构域, 该结构域将 RNA 聚合酶 II

募集至远端 X-Y 元件, 形成双向的附加转录起始子^[15]。至于远端调控模体的作用机制, 推测可能的方式有“成环模型”及“跟随模型”。CIITA 可自身相互结合形成二聚体。实验证明细胞内 CIITA 二聚体可同时结合远端的 Y-S' 模体及启动子近端的 S-Y 区域, 如同桥一样将远端和近端的调控序列联系在一起, 使得中间的间隔 DNA 环出。而在“跟随模型”中, 远端的 Y-S' 模体为 RNA 聚合酶 II 的进入位点, 聚合酶至此向下游的启动子移动。与之结合的组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferases, HATs)同样沿 DNA 移动, 介导染色质重组。

2 CIITA 的结构与功能

CIITA 在结构上可分为 4 个部分。N 端作为 CIITA 基因转录的活化区域, 该区域可与 TATA 结合蛋白(TATA-binding protein, TBP)、TBP 相关因子 II32 (TBP-associated factor, TAFII32)及 CREB 结合蛋白/p300 (CREB-binding protein, CBP/p300) 等多种蛋白质结合并且有乙酰化组蛋白的能力^[16]。CBP 与 CIITA 的相互作用对于 MHC-II 启动子的表达程度至关重要。在 IFN- γ 诱导的 MHC-II 基因表达中, 该区域同样是必需的。其下游的脯氨酸-丝氨酸-苏氨酸富含区同样具有调控功能。与之相邻的是结合 GTP 结构域(GTP-binding domain, GBD), 体外试验中该区域能结合 GTP 但不能使之水解, 提示 GTP 可能与调节 CIITA 的构象有关。实验还证实该区域的突变可干扰 CIITA 的活性, 使得 CIITA 聚集在胞浆中。在其 C 末端, CIITA 至少含有 4 个富含亮氨酸的重复序列(LRR)^[17]。该 LRR 区最早是作为一个 RNA 酶抑制剂, 现知道它可形成马蹄形结构并以蛋白质-蛋白

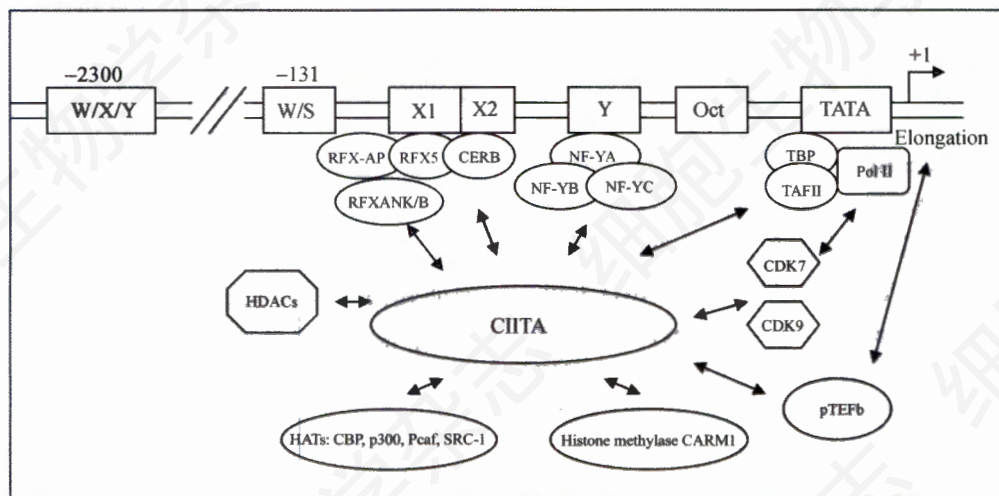


图 1 MHC-II 启动子及其相关蛋白质(引自文献 13, 略加修改)

质的方式发挥作用。该序列的突变同样能干扰 CIITA 的活性并导致它在胞浆的聚集。在其他许多蛋白质如核苷酸结合寡聚域1 (nucleotide-binding and oligomerization domain, NOD1)中都发现了 LRRs 和 GBD 的共同存在,但二者共同出现的意义尚不清楚^[18]。

CIITA不是与MHC-II基因的启动子直接结合而发挥作用。经证实 CIITA 通过与必需转录因子 RFX5、RFXANK、NF-YB、NF-YC 及 CREB 的高效、协同作用来控制 MHC-II 基因转录。除了上述因子, CIITA 还可与染色质重组酶及基本转录组件成分结合,如 HATs、CBP/p300、p300/CBP 相关因子 (p300/CBP-associated factor, pCAF)、激素受体辅助活化因子 1 (steroid receptor co-activator, SRC-1)、TBP、TATA 相关因子 (TATA-associated factor, TAFs) 及转录延长因子 (transcription elongation factor, TEF) 等。特别的是, CIITA 也可与 ATP 依赖的重组因子 Brahma- 相关基因 1 (brahma-related gene, BRG-1) 结合,而 BRG-1 对染色质结构起重要的修饰作用^[19]。这些因子间的相互作用对于在 S-X-Y 序列上形成转录增强体起至关重要的作用。

除了前文所涉及的对增强体复合物组装的调控外, CIITA 还通过与 TBP 及 TFIID 复合物成分如 TAFII32、TAFII70 和 TFIIB 相互作用起始转录。此外, CIITA 可以取代共活化分子 TAFII250 功能的实验也证实了 CIITA 在转录起始阶段的作用^[20]。同样有报道称 CIITA 可以清除启动子,促进转录延长。实验显示 CIITA 可与阳性转录延长因子 (positive transcription elongation factor b, p-TEFb) 的细胞周期蛋白 T1 (CycT1) 及周期蛋白依赖激酶 7 (cyclin-dependent kinase 7, CDK7) 和 CDK9 结合^[21],通过 CDK7 和 CDK9 磷酸化 RNA 聚合酶 II (Pol II) 的 C 末端区域使转录从起始阶段转入延长阶段 (图 1)^[22]。CIITA 可增强 CDK7 磷酸化 RNA Pol II 第 5 位丝氨酸的活性,从而清除启动子、促使 mRNA 合成的起始。这些试验证实了原来提出的关于 CIITA 在 MHC-II 基因转录的起始及延长阶段发挥作用的假想。

3 CIITA 基因的表达调控

人类的 CIITA 基因有 3 个独立的启动子单元 (PI, PIII 和 PIV), 不同的启动子决定其组织、细胞分布的特异性。每个启动子控制转录的第一外显子都不同,使得 CIITA 有不同的 N 端。IFN- γ 刺激后的非髓系来源细胞可诱导 CIITA PIV 启动子的表达。

PIV 控制转录的第一外显子并不编码起始密码子,因此 CIITA 由第二外显子的甲硫氨酸开始翻译。主要在 B 淋巴细胞内表达的 CIITA PIII 启动子所控制转录的第一外显子则编码 CIITA N 端一段长 17 氨基酸的酸性区域。CIITA PI 启动子主要在巨噬细胞及树突细胞内表达,控制转录的第一外显子编码的 90 个氨基酸序列与参与凋亡信号级联反应蛋白中的半胱天冬酶募集域 (caspase recruitment domain, CARD) 有同源性^[23]。CARD 经常涉及蛋白质与蛋白质之间的相互作用,但该区域在 CIITA 中的作用还未知。由于不同启动子所产生的转录本其 5' 端各不相同,因此相应 mRNA 的稳定性和翻译效率也不一样,还可进行不同的转录后修饰,从而可对不同条件下、不同组织和细胞中 CIITA 及其下游 MHC-II 基因的表达进行更精细的调节。

在 CIITA 的 PIV 启动子上游有多个保守序列调控其表达活性,包括: IFN- γ 活化因子 DNA 结合序列 (GAS), E 盒及干扰素调节因子元件 (IRF-E)。PIV 特异的 CIITA 表达则需要两个 IFN- γ 诱导因子: 信号转导及转录活化因子 1 (signal transducer and activator of transcription, STAT1) 及干扰素调控因子 1 (interferon regulatory factor, IRF-1)。组成性表达的 STAT1 可由 IFN- γ 诱导的磷酸化直接活化, IRF-1 的表达则需要 STAT1 的参与。PIV 启动子的活化分为两个独立的阶段^[24]: IFN- γ 刺激 30 min 以内, STAT1 结合到 GAS 位点,染色质组蛋白乙酰化。但是,直到合成了足够的 IRF-1 且与 PIV 上游的 IRF-E 结合后, CIITA 才开始转录。这一过程需要 90~240 min。研究发现, HATs p300 和 CBP 的募集,组蛋白的乙酰化都发生在 IRF-1 与 IRF-E 结合之前,这表明虽然组蛋白乙酰化在转录活化过程中是必要的,但是并不充分。

多数有核细胞在 IFN- γ 的刺激下可上调 CIITA PIV 启动子的活性。而滋养层细胞可抑制 CIITA 的活化,使得胎儿免遭母体的排斥反应。通过对滋养层来源的 2 株细胞系 (JAR 和 JEG-1) 研究显示, CIITA PIV 启动子的胞嘧啶发生了高度甲基化^[25], 这是由启动子的一个 DNA 结合转录因子缺失造成的。胞嘧啶的甲基化使得局部的组蛋白去乙酰化,从而关闭了染色质的开放构象,使转录因子无法结合到启动子上。用甲基化抑制剂 5-氮杂胞苷促使整体 DNA 去甲基化将会部分恢复 IFN- γ 的诱导活性表明,高度甲基化对启动子的活性具有抑制作用。同样的,在多种肿瘤细胞都发现了 CIITA PIV 启动子的 DNA 高度甲基化,

这使得肿瘤细胞表面 MHC-II 表达缺失,从而逃避免疫监视^[26]。运用蛋白质/DNA 结合技术,功能性启动子分析技术显示,B 淋巴细胞诱导成熟蛋白 1 (BLIMP-1)可以结合 CIITA PIV 启动子上游的 IRF-E,其异位表达可以抑制 B 细胞中 PIV 启动子的作用^[27]。

B 细胞内 PIII 介导的 CIITA 表达是组成性的,并且当 B 细胞最终分化成熟为浆细胞时,其表面的 MHC-II 也将消失,该过程与 PIII 介导的 CIITA 表达缺失直接相关。已经证实 BLIMP-1 可直接募集组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDAC)1 和 2 以及组蛋白第 9 位赖氨酸(H3-Lys9)甲基转移酶(G9a),从而抑制 CIITA PIII 启动子的活化^[28]。运用染色质免疫沉淀分析法测定 B 细胞与浆细胞 pIII 启动子中的组蛋白,结果在 B 细胞的 PIII 中发现了特殊的组蛋白修饰及转录活化因子,而浆细胞中未发现类似的现象。在 B 细胞及浆细胞中 H3-Lys9 发生了甲基化与乙酰化互换的现象。未乙酰化的组蛋白导致转录因子如 Sp1、PU.1、CREB 和 E47 等不能与 PIII 启动子结合。在体外,当初始 B 细胞分化时,与 PIII 活化及表达有关的组蛋白标记将在 24 h 内消失。所以 CIITA 基因沉默是由组蛋白去乙酰化、转录因子不能结合 PIII、抑制性的组蛋白甲基化等多种机制所控制^[29]。CIITA 在 B 细胞中的表达需要依赖蛋白激酶 C δ (PKC δ)。PKC δ 在不影响 CIITA mRNA 稳定性的情况下将 CREB 募集到 CIITA 的启动子,从而控制 CIITA 基因的转录。药物抑制或用小干扰 RNA 剔除内源性 PKC δ 的表达将使 CREB 结合到 CIITA 启动子上减少。异位表达 CREB 的活化形式将阻止 PKC δ 抑制剂对 CIITA 基因表达的抑制作用。此外,由于 PKC δ 抑制剂或 PKC δ 小干扰 RNA 会引起组蛋白乙酰化的减少,PKC δ 也调控着 CIITA 启动子的组蛋白乙酰化过程^[30]。

树突状细胞表面高表达 MHC-II,但对于 CIITA 的调控还知之甚少。在包括 LPS、TNF α 等炎症信号刺激下,CIITA mRNA 的合成及蛋白质表达迅速下调,尽管细胞表面 MHC-II 表达增加,其 mRNA 合成实则是减少的,树突状细胞(DC)逐渐发育成熟。而 PI 启动子与反式作用蛋白结合的情况并未改变,并且去乙酰化抑制剂曲古抑菌素 A(trichostatin-A, TSA)可以减弱 LPS 对 CIITA 及 MHC-II 表达的下调,这说明 DC 成熟过程中 CIITA 及 MHC-II 表达下调可能也涉及到整个调控区的组蛋白去乙酰化的机制^[31]。CIITA PI 启动子中有活性的模体已经得到了证实,但

与之结合的转录因子尚不确定。有趣的是,将 CIITA 的 PIV 启动子基因剔除可阻遏 IFN- γ 对非髓系起源细胞的诱导作用,即引起 MHC-II 表达缺失,但对经 IFN- γ 刺激的巨噬细胞却毫无影响,MHC-II 表达正常^[32],这表明,巨噬细胞经 IFN- γ 刺激后通过 PI 启动子调节 CIITA 的转录,从而使 MHC-II 表达。研究发现小鼠中骨髓源性的 DC 及巨噬细胞的 CIITA 的组成性及 IFN- γ 诱导性表达是由 MAPK 信号调节的^[33]。

有证据表明通过非依赖降解途径的泛素化^[34]及磷酸化^[35]可调控 CIITA 的功能,而 CIITA 又通过非依赖蛋白降解途径的泛素化来诱导 MHC-II 基因启动子的活化。泛素化增强了 CIITA 与 MHC-II 的转录因子和 MHC-II 基因启动子的结合,这一过程仍然是由 HATs 和 HDACs 之间的平衡进行调控的。迄今为止,发现 CIITA 的磷酸化主要是调控 CIITA 的自身结合、蛋白质的稳定性及核转位,还未发现其在调控转录活性方面的作用。然而,是否泛素化及磷酸化是 HATs、组蛋白甲基转移酶(histone methyltransferases, HMTs)、HDACs 甚至组蛋白去甲基化酶与 CIITA 结合的关键将成为今后研究 CIITA 转录调控的重要方向。

4 MHC-II 基因的表现遗传学调控

4.1 MHC-II 基因启动子的阳性表现遗传学调控

MHC-II 基因启动子与 DNA 结合蛋白相结合。这些启动子元件包绕在由组蛋白八聚体组成的核小体周围,形成更为有序、致密的染色质。DNA 的折叠由修饰组蛋白末端的多蛋白复合物进行调控,其程度极大地影响着转录水平。近十年来,随着组蛋白修饰酶的大量克隆及确认,人们对于 MHC-II 基因的调控机制有了更深层的认识。组蛋白乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化等共价修饰调节着染色质的可接近性及 DNA 的转录活性等^[36]。

早期的基因组印迹技术证实,CIITA 可将沉默的 MHC-II 基因的封闭染色质及其启动子修饰为一个开放的构象,从而便于反式作用蛋白与启动子的结合。现已明确 CIITA 调控 MHC-II 基因转录的分子机制之一一是募集 HATs。外源性或细菌重组 CIITA 不仅可与多种 HATs 结合,还可结合包括 CREB、pCAF 以及 SRC-1 等。染色质免疫沉淀(CHIP)分析技术证实,CIITA 与 HATs 结合后可使 B 细胞及 IFN- γ 刺激的细胞系中 MHC-II 基因启动子的组蛋白 H3 和 H4 乙酰化,促进 MHC-II 基因启动子的活化^[37]。另有报道称,

CIITA 的转录活性区本身含有内在的 HATs 活性, 在活化 MHC-II 基因中可以替代 TAFII250 的功能^[6]。有趣的是, 没有 HATs 活性的 CBP 也可以很好地与 CIITA 作用^[38], 说明 CBP 的 HATs 活性在 MHC-II 的表达中并不是必需的, 这也进一步证实了包括 CIITA 在内的其他蛋白作为 HATs 活性来源的可能性。由于 SRC-1 通常是与激素相关核受体(hormone-bound nuclear receptor)结合发挥作用, 因此, SRC-1 与 CIITA 的结合就显得尤为特别。在 MHC-II 基因的转录过程中, SRC-1 可增强 IFN- γ 对转录的诱导作用并阻止激素对 MHC-II 基因的抑制。有趣的是, 激素相关核受体也可以与 HMTs 结合, 这提示存在着交叉通路的可能性, 即雌激素、糖皮质激素等激素通过调控 MHC-II 的表达, 进而调控整个免疫系统。这个问题也是今后值得进一步探究的内容。

此外, HMTs 介导的甲基化也是 MHC-II 基因启动子的一个重要的表观遗传学修饰, 同样需要 CIITA 参与^[39]。在与 HMTs 作用过程中, CIITA 并不募集精氨酸甲基转移酶1(arginine methyltransferase, PRMT-1), 而是特异性的将共活化相关精氨酸甲基转移酶 1 (coactivator-associated arginine methyltransferase 1, CARM1, 也称为 PRMT-4) 募集到 MHC-II 基因启动子上, 使组蛋白 H3 的 17 位精氨酸甲基化^[40]。对内源性 MHC-II 基因启动子进行染色质变化实时分析发现, CARM1 的募集诱导了一系列级联反应的发生, 包括已知的组蛋白甲基化、CBP 甲基化, 而 CBP 的甲基化稳定了 CBP 与内源性启动子的结合^[41], 最后, 组蛋白发生乙酰化, 使 MHC-II 基因开始转录。这些研究显示了在 MHC-II 基因活化过程中染色质的动态变化。

4.2 使 MHC-II 基因表达沉默的表观遗传学调控

越来越多的试验证据证实, 转录活化子如 CIITA 及 DNA 结合蛋白如 RFX 同样是募集使 MHC-II 基因表达沉默的 HDACs、去甲基化酶的关键。HDACs 的募集有赖于 YY1(为一序列特异的 DNA 结合蛋白, 对于转录既有激活, 又有抑制作用) 与位于 HLA-DRA 转录起始位点下游 62 bp 的同源结合位点的结合^[42]。HDACs 的募集使得 CIITA、核因子 NF- κ B、RFX 从 MHC-II 基因启动子上解离下来。而 HDACs 抑制剂如 TSA 可增强 MHC-II 基因的转录及组蛋白乙酰化, 这为 HDACs 抑制剂促进机体产生抗肿瘤免疫提供了理论依据^[43]。外源性的 HDAC1 和 HDAC2 可以抑制 IFN- γ 对 MHC-II 基因的活化及 CIITA 的功能, 该抑

制作用有赖于 HDAC1 和 HDAC2 的辅助抑制分子 mSin3A 的参与, 而 HDAC3 的辅助抑制分子 NcoR 则不具备该功能。研究表明, HDAC4 可直接与 RFX-ANK 作用, 这一结合导致 MHC-II 基因表达沉默^[44]。HDAC4 可直接或间接地与 CIITA 结合来增加 MHC-II 基因沉默的程度。基因活化分子后来却成为染色质失活的作用底物的现象看起来似乎很矛盾, 然而在越来越多的试验中却得到了证实。

5 应用

CIITA 基因启动子的不恰当地活化或抑制都可影响 MHC-II 的表达, 从而引起各种疾病, 包括感染各种病原体、自身免疫性疾病、炎症性疾病以及肿瘤的发生。通过调控 CIITA 的表达来调控 MHC-II 介导的抗原递呈过程在今后的临床治疗中有重要的意义。

大多数 DNA 疫苗需依赖一个功能强大的病毒启动子来增加目的基因的表达水平。但由于机体所产生的 IFN- γ 对病毒启动子的下调作用, 使很多基因疫苗在人体内不能很好地发挥作用。有试验设计了使用 MHC-II 基因启动子的 DNA 疫苗。MHC-II 基因启动子需与 CIITA 结合才能发挥作用, 而 IFN- γ 正好能上调 CIITA 的表达。基于这一原理, 将 MHC-II 基因启动子诱导表达狂犬病毒糖蛋白或 HIV-1 gag 蛋白的 DNA 疫苗与表达 CIITA 分子的质粒共同接种在小鼠体内将会引起有效的针对目的基因产物特异性免疫应答, 而且在 IFN- γ 的刺激下应答更为强烈。所以, 可以预测, 类似于 MHC-II 基因启动子的非病毒启动子在 DNA 疫苗载体设计中具有潜在的应用价值^[45]。

在肿瘤治疗方面, 应用表达 CIITA 或共刺激分子 CD80 的肿瘤细胞作为肿瘤疫苗, 在体外试验中可激活肿瘤特异性 CD4⁺ T 细胞, 从而抑制肿瘤细胞的生长^[46]。通过转染 CIITA 使 MHC-II 表达阴性的 TS/A 小鼠的乳腺癌细胞表达 MHC-II, 也会抑制肿瘤细胞的生长。实验发现, 与注射 TS/A 亲代细胞的小鼠相比, 注射 TS/A-CIITA 细胞小鼠的肿瘤微环境发生了巨大的变化: 肿瘤细胞附近迅速浸润 CD4⁺ T 细胞, 紧接着是 DC, CD8⁺ T 细胞及粒细胞。重要的是, TS/A-CIITA 细胞能够作为抗原提呈细胞向 CD4⁺ T 细胞处理、递呈抗原。TS/A-CIITA 注射小鼠体内的肿瘤特异性 CD4⁺ T 细胞具有 Th1 细胞的特性: 分泌 IFN- γ , 而实验证实 IFN- γ 基因剔除小鼠不能排斥 TS/A-CIITA 肿瘤细胞, 因此, 这与保护性抗癌免疫的

产生与维持有一定关系。所以,该肿瘤疫苗的保护性作用是通过激活肿瘤抗原向辅助性 T 细胞的提呈,肿瘤微环境向 CD4⁺T 细胞的极化以及建立抗肿瘤的免疫记忆来完成的^[47]。这为增强肿瘤疫苗的抗瘤免疫应答提供了新的途径。

有文献报道了通过非编码 RNA 来调控细胞基因沉默的全新机制,这有其重要的临床治疗意义。当从滋养层细胞 cDNA 文库中分离的一段长 481 个核苷酸的 RNA[滋养层细胞非编码 RNA (trophoblast non-coding, TncRNA)]被转染入细胞后,可以发现 CIITA 的转录受到明显抑制^[48]。而且, TncRNA 不仅对内源性 CIITA 的启动子有效,对于瞬时转染的 CIITA PIII、PIV 启动子同样有效。这说明它的靶点为这些基因的近侧启动子区域。由于非编码 RNA 在细胞中的大量表达及它们的强大调控功能,除滋养层细胞之外, TncRNA 将会是其他细胞抑制性调控的研究热点之一。尽管机制仍不清楚,但 TncRNA 可显著下调 MHC-II 在 B 细胞表面的表达、降低同种异体抗原对机体的刺激作用,将使它在移植领域具有更大的潜在应用价值^[49]。

参考文献 (References)

- [1] Boss JM *et al. Curr Opin Immunol*, 2003, **15**: 105
- [2] Ting JP *et al. Cell*, 2002, **109**: S21
- [3] Lee KW *et al. Eur J Immunol*, 2006, **36**: 1254
- [4] Krawczyk M *et al. Tissue Antigens*, 2006, **67**: 183
- [5] Muhlethaler-Mottet A *et al. J Biol Chem*, 2004, **279**: 40529
- [6] Nagarajan UM *et al. Immunity*, 1999, **10**: 153
- [7] Masternak K *et al. Nat Genet*, 1998, **20**: 273
- [8] Nekrep N *et al. Nat Immunol*, 2002, **3**: 1075
- [9] Villard J *et al. N Engl J Med*, 1997, **337**: 748
- [10] Lochamy J *et al. Mol Immunol*, 2007, **44**: 837
- [11] Maity SN *et al. Trends Biochem Sci*, 1998, **23**: 174
- [12] Moreno CS *et al. Immunity*, 1999, **10**: 143
- [13] Wright KL *et al. Trends Immunol*, 2006, **27**: 405
- [14] Masternak K *et al. EMBO J*, 2002, **21**: 1379
- [15] Masternak K *et al. Nat Immunol*, 2003, **4**: 132
- [16] Raval A *et al. Mol Cell*, 2001, **7**: 105
- [17] Harton JA *et al. Hum Immunol*, 2002, **63**: 588
- [18] Linhoff MW *et al. Mol Cell Biol*, 2001, **21**: 3001
- [19] Mudhasani R *et al. Mol Cell Biol*, 2002, **22**: 5019
- [20] Weissman JD *et al. J Biol Chem*, 2000, **275**: 10160
- [21] Kanazawa S *et al. Immunity*, 2000, **12**: 61
- [22] Spilianakis C *et al. EMBO J*, 2003, **22**: 5125
- [23] Nickerson K *et al. J Biol Chem*, 2001, **276**: 19089
- [24] Morris AC *et al. Mol Cell Biol*, 2002, **22**: 4781
- [25] van den Elsen PJ *et al. Hum Immunol*, 2000, **61**: 850
- [26] Blanck G *et al. Arch Immunol Ther Exp*, 2002, **50**: 151
- [27] Tooze RM *et al. J Immunol*, 2006, **177**: 4584
- [28] Piskurich JF *et al. Nat Immunol*, 2000, **1**: 526
- [29] Green MR *et al. J Immunol*, 2006, **177**: 3865
- [30] Kwon MJ *et al. J Immunol*, 2006, **177**: 950
- [31] Landmann S *et al. J Exp Med*, 2001, **194**: 379
- [32] Wadburger JM *et al. J Exp Med*, 2001, **194**: 393
- [33] Yao Y *et al. J Immunol*, 2006, **177**: 70
- [34] Greer SF *et al. Nat Immunol*, 2003, **4**: 1074
- [35] Greer SF *et al. J Immunol*, 2004, **173**: 376
- [36] Zika E *et al. Curr Opin Immunol*, 2005, **17**: 58
- [37] Tzortzakaki E *et al. Mol Endocrinol*, 2003, **17**: 2509
- [38] Harton JA *et al. J Biol Chem*, 2001, **276**: 38715
- [39] Wang H *et al. Science*, 2001, **293**: 853
- [40] Zika E *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**: 16321
- [41] Xu W *et al. Science*, 2001, **294**: 2507
- [42] Osborne A *et al. Mol Cell Biol*, 2001, **21**: 6495
- [43] Khan AN *et al. Cancer Immunol Immunother*, 2004, **53**: 748
- [44] Wang Y *et al. J Immunol*, 2005, **174**: 5687
- [45] Vanniasinkam T *et al. Virology*, 2006, **344**: 412
- [46] Jabrane-Ferrat N *et al. Cancer Gene Ther*, 2006, **13**: 1002
- [47] Mortara L *et al. Clin Cancer Res*, 2006, **12**: 3435
- [48] Geirsson A *et al. Biochem Biophys Res Commun*, 2003, **301**: 718
- [49] Geirsson A *et al. J Heart Lung Transplant*, 2004, **23**: 1077

Regulation of MHC-II Gene Expression by the Class II Transactivator and Its Applications

Yu-Ying Wei, Kun Yang*

(Department of Immunology, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract MHC-II is of central importance to the adaptive immune response and T-cell selection and activation. Its gene-expression is controlled by the master regulatory factor-class II transactivator (CIITA). CIITA coordinates the interaction of multiple transcription factors and MHC-II promoters, and the mechanism also involves the epigenetic modification and remodeling of chromatin. The study on the regulation of MHC-II by CIITA has positive meanings on vaccine designation and tumor therapy.

Key words CIITA; MHC-II; epigenetic regulation; vaccine

Received: September 14, 2007 Accepted: November 12, 2007

This work was supported by the National High-Tech Research and Development Program of China (863 Program) (No.2006AA02A237)

*Corresponding author. Tel: 86-29-84774532, E-mail: yangkunkun_2006@yahoo.com.cn