

文章编号: 1000-1336(2009)05-0683-04

AIM2: 一种先天免疫系统中的细胞质双链DNA感应蛋白

郭晓强^{1,2} 李文婕² 辛启亮²¹解放军白求恩医学院生化教研室, 石家庄 050081; ²河北师范大学生命科学院, 石家庄 050016)

摘要: 黑素瘤缺乏因子2(absent in melanoma 2, AIM2)是一种主要定位于细胞质的蛋白质,其N端含有热蛋白(pyrin)结构域(PYD),而在C端为寡核苷酸/寡糖结合结构域。当AIM2与细胞质双链DNA结合后,它通过PYD相互作用而招募另一个细胞质蛋白质ASC,并诱导了炎性体的组装,从而引起随后胱天蛋白酶1(caspase-1)的激活和IL-1 β 的产生,诱导先天免疫反应甚至导致pyroptosis样细胞死亡。AIM2作为细胞质双链DNA感应蛋白的研究对先天免疫系统的理解和自身免疫性疾病(如系统性红斑狼疮等)的新治疗药物的设计具有重要意义。

关键词: AIM2; 细胞质双链DNA; 先天免疫系统; 炎性体

中图分类号: Q25

病原体进入生物体后,可被先天免疫系统非特异性识别并迅速激发一系列信号反应以抵御外来感染。先天免疫系统识别的物质被称为病原相关的分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP),包括细菌和真菌细胞壁成分、病毒RNA和DNA及脂多糖等。相应地,识别PAMP的分子被称做模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)。目前已发现两类PRR,一类位于细胞膜,如Toll样受体(Toll-like receptor, TLR),另一类位于细胞质,主要识别病毒或细菌的核酸。研究表明,当双链DNA(无论来源于体外还是宿主自身)进入细胞质后,都可激发先天免疫反应^[1],这是因为哺乳动物细胞质中双链DNA的出现意味着病原感染或组织DNA损伤(未被降解DNA进入细胞质)的发生。研究人员已从细胞质鉴定出DNA依赖的IFN调节因子激活因子(DNA-dependent activator of IFN-regulatory factor, DAI)作为双链DNA受体^[2],而最新一系列研究发现,一种新的分子——黑素瘤缺乏因子2(absent in melanoma 2, AIM2)也可识别细胞质双链DNA^[3]。

1. AIM2的结构与肿瘤抑制功能

AIM2最早于1997年使用消减cDNA筛选法从黑色素瘤细胞株中鉴定成功,由于它在黑色素瘤中缺失,故得名^[4]。Northern分析表明,AIM2主要在脾脏、小肠、外周血液白细胞及睾丸中表达。而细胞组分的分级分离实验显示,AIM2主要定位于转染小鼠细胞株的细胞质中^[5]。AIM2最早被认为是一种肿瘤抑制因子,因为它的过表达可逆转黑素瘤的肿瘤表型和延迟小鼠纤维原细胞的增殖^[4,5],在结肠癌、胃癌、子宫内膜癌和乳腺癌等多种肿瘤中都存在AIM2的突变或失活。体外实验表明,AIM2活性增加可抑制肿瘤细胞的生长^[6]。

早期研究还发现,AIM2表达受到干扰素的诱导,可能与机体免疫反应相关^[4],而结构分析表明AIM2属于与免疫反应相关的HIN-200(hematopoietic IFN-inducible nuclear protein containing a 200-amino-acid repeat)家族。目前已鉴定出人的4种HIN-120成员,分别为IFI16、MND A、AIM2和IFIX;小鼠中发现5种,它们是p202、p203、p204、p205和p210^[7]。人AIM2与小鼠p210相对应,人AIM2编码337个氨基酸,其中aa 138~337(含200个氨基酸)为HIN-200结构域;小鼠p210编码354个氨基酸,aa 144~341(含198个氨基酸)为HIN-200结构域。无论人还是小鼠HIN-200家族成员作为基因簇均定位于1q21~23,而人的AIM2定

收稿日期: 2009-04-27

作者简介: 郭晓强(1977-),男,硕士,讲师,联系作者, E-mail: xiaoqiangguo123@163.com; 李文婕(1987-),女,本科生, E-mail: liwenjieloveanita@163.com; 辛启亮(1987-),男,本科生, E-mail: xinqiliang1987@126.com

位于1q22。

AIM2拥有HIN-200蛋白家族的两个典型结构域(图1)。AIM2的N端为高度螺旋的热蛋白结构域(pyrin domain, PYD)。PYD属于进化上高度保守的死亡结构域蛋白超家族四个亚家族之一,其他三个为死亡结构域、死亡效应结构域和胱天蛋白酶招募结构域(caspase recruitment domain, CARD)。这些结构域之间可相互作用,从而激活多种效应蛋白,如胱天蛋白酶和转录因子等,在先天免疫、炎症、分化、凋亡和癌症等过程中均发挥重要作用^[8]。AIM2的C端含有两个相邻的寡核苷酸/寡糖结合结构域(oligonucleotide/oligosaccharide-binding domain, OB),该结构域与核酸识别相关,具有这种结构特征的蛋白涉及到DNA复制、重组、修复及端粒保持等过程^[9]。一系列研究表明,HIN-200家族成员的作用即调节细胞凋亡,与人类癌症相关,又通过影响免疫系统而参与自身免疫系统疾病^[10],最近的一系列研究就阐明了AIM2的这种作用^[3]。

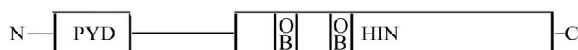


图1 AIM2结构模式图

2. AIM2是细胞质双链DNA的感应蛋白

2.1 细胞质双链DNA诱导的先天免疫反应

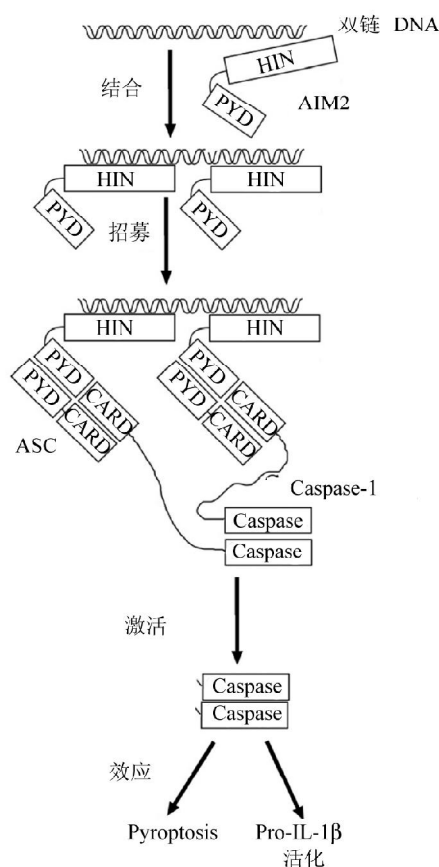
前期研究已使人们对双链DNA在先天免疫中的作用有了一定的了解,该过程需要首先激活巨嗜细胞或单核细胞内的一种多蛋白复合物——炎性体(inflammasome)才可完成^[3]。炎性体可被多种物质如细菌细胞壁降解产物、ATP以及细胞质双链DNA等激活而组装成大的复合物,从而启动下游抗病原感染的信号级联反应^[11]。炎性体由多种元件构成,其中有两种分子最为重要,分别为NALP3(NATCHT-, leucine-rich-repeat-and pyrin-domain-containing protein 3)和ASC(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD),这两种蛋白质都包含PYD。NALP3是一种感知多种病原相关和宿主来源物质的受体^[3],然而研究却表明细胞质双链DNA激活的炎性体并不依赖于NALP3,而是由ASC介导完成^[12]。ASC在C端含有一个CARD,而在N端为PYD,这说明它可与

含有PYD或CARD的凋亡(apoptosis)相关蛋白质发生相互作用而介导细胞死亡过程。已有研究表明,ASC具有前凋亡活性,可形成同源二聚体,ASC二聚体及相关元件构成pyroptosome并快速激活胱天蛋白酶-1(caspase-1),从而造成一种不同于细胞凋亡的新的细胞死亡形式——Pyroptosis的出现^[13]。Pyroptosis是一种依赖caspase-1的细胞死亡,可被不同病理刺激如中风、心脏病和癌症等所启动,在控制微生物感染方面发挥着重要作用^[14]。这些研究对双链DNA诱导的先天免疫反应下游信号过程有了较深入的了解,然而对双链DNA的识别机制却知之甚少^[3]。

2.2 AIM2对细胞质双链DNA的识别

为了寻找识别细胞质双链DNA的蛋白质,研究人员采用了不同的研究策略。两个研究小组使用数据库筛选的方法寻找既含有PYD(可与炎性体中相关蛋白质相互作用)又含有OB(结合核酸)的蛋白质,结果发现四种HIN-200家族成员均符合要求,但只有其中的AIM2定位于细胞质(其他均定位于细胞核)^[15,16]。第三个研究小组则使用另一个搜索策略,他们一方面筛选蛋白质组中具有核酸结合能力的蛋白质,另一方面筛选基因组中受干扰素转录调节的基因(与免疫反应相关),结果有7种基因及其表达产物符合以上两方面条件,其中也包括AIM2,且AIM2也是唯一定位于细胞质的蛋白质^[17]。这些搜索将AIM2初步锁定为细胞质双链DNA的感应蛋白,随后的研究也证实了这个结果。

用双链DNA处理巨噬细胞诱导炎症反应可使细胞内AIM2含量急剧增加,当使用短干扰RNA将AIM2沉默后炎症因子白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)分泌显著减少^[17]。应用活细胞成像技术观察到带标记的细胞质双链DNA可诱导带特定标签的AIM2寡聚化,这进一步说明二者密切相关。体外实验还显示,AIM2可通过OB结构域与DNA直接结合:这种结合与DNA存在状态有关,它只结合双链DNA,但不结合单链DNA;与DNA长度呈正相关,双链DNA越长,对AIM2激活效应越明显,诱发的免疫反应也越强烈;与DNA来源和序列无关,无论病毒、细菌双链DNA,还是哺乳动物双链DNA,甚至人工合成双链DNA都可通过AIM2诱导先天免疫反应。另一项研究也证明,AIM2是细胞质双链DNA激活caspase-1所必需,并且还发现小鼠HIN-200家族的

图2 AIM2作用模式图^[3]

另一个成员 p202 可抑制 p210 的诱导效应^[18]。

2.3 细胞质双链 DNA 与 AIM2 的结合激活了炎性体下游反应 在原本对双链 DNA 没有反应的人胚胎肾细胞株 293T 内稳定表达 AIM2、ASC、caspase-1 和 IL-1 β 后, 可使该细胞拥有双链 DNA 诱导的炎性体形成^[15]。免疫共沉淀和 pull-down 实验显示 AIM2 可与 ASC 相互作用而发挥激活效应, 其中 AIM2 的 PYD 在此过程中发挥了关键性的作用, 它的删除可破坏双链 DNA 对 caspase-1 的激活, 使用 AIM2 PYD 的荧光标签融合蛋白证明其可以与 ASC 的 PYD 直接相互作用^[16]。AIM2 与 ASC 相互作用可形成 pyroptosome, 从而使 NF- κ B 和 caspase-1 激活, 活化的 caspase-1 可在细胞质内将前 IL-1 β 因子活化并促使其分泌^[19], 如果该刺激信号延长可启动 pyroptosis, 导致细胞的死亡^[15]。

3. 展望

一系列研究初步阐明了 AIM2 在细胞质双链

DNA 诱导的先天免疫反应中的作用: 双链 DNA 释放入细胞质后, 首先与 AIM2 的 OB 结构域结合, 从而诱导了 AIM2 的寡聚化, 随后 AIM2 的 PYD 与 ASC 的 PYD 结合, 诱导后者的二聚体化及炎性体的形成, ASC 通过自身 CARD 与 caspase-1 的 CARD 作用而使后者激活, 从而激发先天免疫反应(图 2)^[3], 这使人们对先天免疫反应机制有了更为全面的理解。AIM2 在细胞质双链 DNA 诱导的先天免疫反应中作用的阐明还具有重要的临床价值。已发现 HIN-200 家族成员和双链 DNA 与多种自身免疫性疾病, 如关节炎、系统性红斑狼疮等密切相关^[20], 因此 AIM2 在这些疾病中的作用研究将为新药设计提供重要帮助。

在对 AIM2 生理功能有了更深入理解的同时, 仍有许多问题待深入研究。细胞质双链 DNA 除可激活 caspase-1 外, 还可激活细胞凋亡执行酶——caspase-3, 因此是否也导致细胞凋亡需进一步研究^[3]。AIM2 在参与介导双链 DNA 过程中, 除与 ASC 相互作用外是否还存在其他蛋白质的参与? 小鼠的 p202 与 p210 在激活 caspase-1 时具有拮抗作用, 然而人类中尚未发现 p202 的同源蛋白, 因此保持与 AIM2 作用的平衡机制也是需要解决的问题之一。AIM2 在系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病发生过程中功能是否异常? 这对真正临床应用具有十分重要的意义。

总之, AIM2 作为细胞质双链 DNA 感应蛋白的功能及初步作用分子机制的阐明对理解先天免疫系统的作用机理和相关疾病的治疗具有十分重要的意义, 深入研究将可能发现更多的细节, 并将在临床应用方面具有巨大潜力。

参考文献

- [1] Takaoka A et al. Cytosolic DNA recognition for triggering innate immune responses. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(7): 847-857
- [2] Takaoka A et al. DAI (DLM-1/ZBP1) is a cytosolic DNA sensor and an activator of innate immune response. *Nature*, 2007, 448(7152): 501-505
- [3] Schroder K et al. Innate immunity: cytoplasmic DNA sensing by the AIM2 inflammasome. *Curr Biol*, 2009, 19(6): R262-R265
- [4] DeYoung KL et al. Cloning a novel member of the human interferon-inducible gene family associated with control of tumorigenicity in a model of human melanoma. *Oncogene*, 1997, 15(4): 453-457
- [5] Choubey D et al. Cytoplasmic localization of the interferon-

- inducible protein that is encoded by the AIM2 (absent in melanoma) gene from the 200-gene family. *FEBS Lett*, 2000, 474(1): 38-42
- [6] Chen IF et al. AIM2 suppresses human breast cancer cell proliferation in vitro and mammary tumor growth in a mouse model. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5(1): 1-7
- [7] Ding Y et al. Interferon-inducible protein IFI α 1 functions as a negative regulator of HDM2. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(5): 1979-1996
- [8] Cresswell KS et al. Biochemical and growth regulatory activities of the HIN-200 family member and putative tumor suppressor protein, AIM2. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 326(2): 417-424
- [9] Stehlik C. The PYRIN domain in signal transduction. *Curr Protein Pept Sci*, 2007, 8(3): 293-310
- [10] Choubey D et al. Interferon-inducible IFI16 protein in human cancers and autoimmune diseases. *Front Biosci*, 2008, 13: 598-608
- [11] Martinon F et al. The inflammasomes: guardians of the body. *Annu Rev Immunol*, 2009, 27: 229-265
- [12] Muruve DA et al. The inflammasome recognizes cytosolic microbial and host DNA and triggers an innate immune response. *Nature*, 2008, 452(7183): 103-107
- [13] Fernandes-Alnemri T et al. The pyroptosome: a supramolecular assembly of ASC dimers mediating inflammatory cell death via caspase-1 activation. *Cell Death Differ*, 2007, 14(9): 1590-1604
- [14] Bergsbaken T et al. Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nat Rev Microbiol*, 2009, 7(2): 99-109
- [15] Fernandes-Alnemri T et al. AIM2 activates the inflammasome and cell death in response to cytoplasmic DNA. *Nature*, 2009, 458(7237): 509-513
- [16] Hornung V et al. AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC. *Nature*, 2009, 458(7237): 514-518
- [17] Bürckstümmer T et al. An orthogonal proteomic-genomic screen identifies AIM2 as a cytoplasmic DNA sensor for the inflammasome. *Nat Immunol*, 2009, 10(3): 266-272
- [18] Roberts TL et al. HIN-200 proteins regulate caspase activation in response to foreign cytoplasmic DNA. *Science*, 2009, 323(5917): 1057-1060
- [19] Brough D et al. Caspase-1-dependent processing of pro-interleukin-1 β is cytosolic and precedes cell death. *J Cell Sci*, 2007, 120(Pt 5): 772-781
- [20] Choubey D et al. Interferon-inducible Ifi200-family genes in systemic lupus erythematosus. *Immunol Lett*, 2008, 119(1-2): 32-41

AIM2: a cytoplasmic double-stranded DNA sensor of innate immune system

Xiao-Qiang GUO^{1,2} Wen-Jie LI¹ Qi-Liang XIN¹

¹Department of Biochemistry, Bethune Military Medical College, Shijiazhuang 050081, China;

²College of Life, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016, China)

Abstract AIM2 (absent in melanoma 2), a kind of protein localized primarily in the cytoplasm, contains an N-terminal pyrin domain (PYD) and a C-terminal oligonucleotide/oligosaccharide-binding domain. When AIM2 binds the cytoplasmic double-stranded DNA (dsDNA), it can recruit another cytoplasmic protein ASC through PYD interactions and induce assembly of the inflammasome. Then caspase 1 is activated and IL-1 β generates, which induces innate immune responses and even leads to pyroptosis. These researches which identify AIM2 as a cytoplasmic dsDNA sensor are useful for understanding of innate immune system and designing novel therapeutics for treatment of autoimmune diseases, such as systemic lupus erythematosus.

Key words AIM2 (absent in melanoma 2); cytoplasmic double-stranded DNA; innate immune system; inflammasome