



**TURUN  
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen  
tiedekunta

# **AIREn toimintamekanismi ja merkitys kudostoleranssille**

Helka Vento

Biologia

LuK-tutkielma

Laajuus: 6 op

17.6.2024

Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.  
LuK-tutkielma

Biologian laitos

Helka Vento: AIREn toimintamekanismi ja merkitys kudostoleranssille

Kesäkuu 2024

---

AIRE on keskeinen tekijä immunologisen kudostoleranssin muodostumisessa. Se säätelee merkittävää osaa kateenkorvan tuottamasta kudosspesifisten antigeenien repertuaarista, jota hyödynnetään T-solukannan tolerogenisoimiseen omia kudoksia kohtaan. Ilman AIREa sekä auto-reaktiivisten T-solujen negatiivinen että Treg-solujen antagonistinen selektio häiriintyvät. *AIRE*En mutaatiot aiheuttavat monielimellisen autoimmuunisairauden, APECEDin, jossa potilaalle kehittyy iän myötä lisääntyviä autoimmuuniendokrinopatioita.

AIRE säätelee kateenkorvan epiteelisoluissa suoraan tuhansien geenien ekspressiota epätyypillisellä mekanismilla toimimalla osana kompleksia, joka edistää transkription elongaatiovaihetta. Näihin geeneihin lukeutuu kudosspesifisiä antigeeneja, mutta myös muihin toimintoihin, kuten soluadheesioon ja kemokiinisignaalointiin osallistuvia geenejä. AIREn suoraan säätelemät geenit ilmentyvät yksittäisen solun tasolla biologisesti epämääräisissä yhteisexpressioklustereissa, jotka eivät ole riippuvaisia kudokselle ominaisista transkriptiofaktoreista. AIRE-säätelyyn reagoivien geenien valikoituminen vaihtelee solukonteksteittäin ja ymmärrys sitä ohjauvista tekijöistä on edelleen puutteellinen. AIRE ei sido DNA:ta sekvenssispesifisesti vaan on riippuvainen valmiustilaisista promoottoreista, joiden syntyyn katkosalttiit Z-DNA-motiivit osallistuvat. AIRE sitoutuu myös inaktiiviselle kromatiinille ominaiseen H3K4me0-histoni-markkeriin.

AIRE ei säätele suoraan kaikkia kateenkorvan tuottamia kudosan-geeneja, vaan niitä tuotetaan myös AIRE-riippumattomasti. Ainakin *Fezf2*:n tiedetään säätelevän kudosan-geeniekspressiota AIREn rinnalla. Kateenkorvan kudosan-geenituotantoon osallistuvat myös *AIRE*a aikaisemmassa kehitysvaiheessa ilmentäneet mimeettiset solut, jotka käyttävät hyväkseen kudokselle ominaisia transkriptio-ohjelmia. AIRE vaikuttaa epäsuorasti myös tähän osaan kudosan-geenien tuotannosta vaikuttamalla mimeettisten solujen kehitykseen.

AIREn tolerogeeninen vaikutus ulottuu myös kateenkorvan ulkopuolelle. Se ilmentyy myeloidista alkuperää olevissa, sekundäärisissä lymfoidisissa elimissä sijaitsevilla soluilla, jotka kykenevät deletoimaan periferiaan karanteita autoreaktiivisia soluja AIRE-riippuvaisesti tuotettujen kudosan-geenien avulla. AIREn puuttuminen johtaa myös autoreaktiivisten B-solujen aktivoitumiseen ja elinspesifisten vasta-aineiden tuotantoon, koska B-solujen perifeerinen toleranssi nojaa toimivaan T-solutoleranssiin.

---

**Avainsanat:** Autoimmune Regulator, AIRE, APECED

# SISÄLLYS

1	Johdanto .....	1
2	AIRE-geeni ja -proteiini .....	3
2.1	AIRE-geeni ja sen mutaatiot .....	3
2.2	AIREn säätelemä geeniekspressio .....	3
2.3	AIRE-indusoidun geeniekspression mekanismi.....	5
2.3.1	AIREn domeenirakenne .....	5
2.3.2	AIREn lokalisaatio ja proteiini-proteiini-vuorovaikutukset.....	6
2.3.3	AIREn kohdegeenien valikoituminen .....	7
3	AIREn merkitys kateenkorvan toiminnalle.....	8
3.1	AIREn säätelemän selektion kohdesolut.....	8
3.2	AIREn vaikutus kateenkorvan epiteelin kehitykseen.....	9
3.3	Kateenkorvan mikroympäristö .....	11
4	AIRE ja perifeerinen toleranssi .....	12
4.1	AIRE-ekspressio kateenkorvan ulkopuolella.....	12
4.2	Välillinen vaikutus B-solujen perifeeriseen toleranssiin.....	13
5	Yhteenveto .....	14
	Lähdeluettelo .....	15

# 1 JOHDANTO

Immunologisella toleranssilla tarkoitetaan adaptiivisen immuunijärjestelmän kykyä olla reagoimatta vaarattomiin antigeeneihin. Näihin lukeutuvat harmittomien ulkopuolisten antigeenien, kuten allergeenien ja normaaliflooran lisäksi isännän omat rakenteet. Koska T- ja B-solujen reseptorien monimuotoisuus perustuu antigeenin tunnistavien geenien satunnaiseen rekombinaatioon, syntyy prosessissa vääjäämättä myös isännän omia kudoksia tunnistavia reseptoreita. Siksi oman erottaminen vieraasta on adaptiivisen immuunijärjestelmän peruspilari, ja sen pettäminen johtaa haitallisiin autoimmuunireaktioihin.

Immunologinen toleranssi jaetaan sentraaliseen ja perifeeriseen toleranssiin. Sentraalinen toleranssi tarkoittaa primäärisissä lymfoidisissa elimissä eli kateenkorvassa ja luuytimessä tapahtuvia selektioita, joissa kehittyvät autoreaktiiviset lymfosyytit tunnistetaan ja eliminoidaan ennen niiden pääsyä verenkierron mukana elimistöön. Perifeerinen toleranssi puolestaan tarkoittaa kaikkia primääristen lymfoidisten elinten ulkopuolisia mekanismeja, jotka tukevat kudostoleranssia ja estävät adaptiivista immuunijärjestelmää ylireagoimasta vaarattomiin antigeeneihin. B-solut kypsyvät luuytimessä, jossa myös niiden keskeisen toleranssin mekanismit sijaitsevat. T-solujen esiasteet, tymosyytit, siirtyvät puolestaan luuytimestä T-solujen kehitykseen ja tolerogenisointiin erikoistuneeseen kateenkorvaan. Kateenkorvan kuorikerroksessa tapahtuvassa positiivisessa selektiossa varmistetaan T-solujen riittävä affiniteetti MHC I tai II -kompleksiin (engl. major histocompatibility complex, MHC), minkä jälkeen T-solut etenevät kateenkorvan ytimeen eli medullaan. Medullassa T-solureseptorien autoreaktiivisuutta testataan esittelemällä niille elimistön omia rakenteita edustavia autoantigeneja MHC-komplekseihin kiinnitettyinä. Nämä antigeenit tuotetaan endogeenisesti pääasiassa kateenkorvan medullan epiteelisoluissa (engl. medullary thymic epithelial cells, mTEC), ja tämä omaperäinen solupopulaatio pystyykin ilmentämään valtaosaa proteiinia koodaavasta genomista (Sansom ym., 2014). Osa MHC-autoantigeenikompleksin tunnistavista tymosyyteistä ohjautuu ohjelmoituun solukuolemaan eli apoptoosiin ja osasta kehittyy säätelijä-T-soluja (engl. regulatory T cells, Treg), jotka osallistuvat kudostoleranssin ylläpitoon periferiassa. T-soluselektion merkitys kudostoleranssissa on suuri, koska myös yleisin B-solujen alatyyppeistä, B-2 B-solut, tarvitsee aktivaatioonsa aktivoituneen auttaja-T-solun apua.

Kudostoleranssin osittaisesta murtumisesta johtuva, suomalaiseseen tautiperintöön kuuluva autoimmuunisairaus APECED (engl. autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy) havainnollistaa kattavan autoimmunisaation merkitystä kudostolerantin lymfosyyttikannan tuottamiseksi. APECED on monogeenisesti periytyvä, monielimellinen autoimmuunisairaus, joka aiheuttaa muun muassa iän myötä lisääntyviä autoimmuuniendokrinopatioita, ektodermidystrofiaa ja kroonisia *Candida albicans* -hiivatulehduksia limakalvoilla (Norio, 2014; Perheentupa, 2006). Sairauden aiheuttava geeni kartoitettiin vuonna 1997 ihmisen kromosomiin 21 ja nimettiin AIREksi (engl. *Autoimmune regulator*, *AIRE*) (Aaltonen ym., 1997; Nagamine ym., 1997). APECED-potilaiden autoimmunitietin kohdekudoksissa havaitaan kudostuhoa aiheuttavia efektori-T-soluja, potilaiden Treg-solukanta on vaillinainen ja seerumissa esiintyy monia elinspesifisiä vasta-aineita (Anderson ym., 2002; Kekäläinen ym., 2007; Sng ym., 2019). Vaikka autoimmunitietin kohde-elimä on lukuisia ja ne lisääntyvät iän myötä, on autoimmunitietti silti spesifinen ja kohdistuu kudoksissakin vain tiettyihin solutyyppeihin (Anderson ym., 2002).

*AIRE* ilmentyy pääasiassa kateenkorvan medullassa. Proteiinia koodaavan geenin ollessa virheellinen kateenkorvan solut tuottavat vähemmän kudosspesifisiä antigeeneja T-soluselektioon (Anderson ym., 2002). *AIRE* säätelee epätavallisella mekanismilla tuhansien geenien ekspresiota kateenkorvassa ja mahdollistaa sellaisten proteiinien tuottamisen, jotka esiintyvät vain tietyissä elimistön osissa, kuten hermostossa tai umpirauhasissa ja jotka soveltuvat T-solureseptorien autoreaktiivisuuden testaamiseen (Sansom ym., 2014). Tämän lisäksi *AIRE* ilmentyy myös kateenkorvan ulkopuolisissa soluissa, jotka osallistuvat periferiassa kudostoleranssin ylläpitoon (Gardner ym., 2013; Wang ym., 2021). *AIRE*En perinteisestä linjaspesifisestä transkription säätelystä poikkeava vaikutus kateenkorvan epiteelisolujen geeniekspressioon on kiinnostanut tutkijoita pitkään, mutta mekanismeja sen taustalla ei tunneta vielä kokonaisuudessaan. Tämä tutkielma on katsaus nykykäsitukseen *AIRE*En toimintamekanismista kudosanogeneeksin säätelijänä sekä sen eheän kudostoleranssin varmistavista vaikutusreiteistä. Toisessa luvussa keskityn *AIRE*-geenin ja sen koodaaman proteiinin rakenteeseen ja toimintaan sekä sen kateenkorvan epiteelisoluissa suoraan säätelemän geeniekspression mekanismiin. Kolmannessa luvussa tarkastelen *AIRE*En kateenkorvan kehityksen ja toiminnan näkökulmasta ja neljännessä luvussa sen osallisuutta perifeeriseen toleranssiin.

## 2 AIRE-GEENI JA -PROTEIINI

### 2.1 *AIRE*-geeni ja sen mutaatiot

14:sta eksonista koostuva *AIRE* sijaitsee ihmisen kromosomissa 21q22.3 ja se koodaa 58 kDa *AIRE*-proteiinia (Aaltonen ym., 1997; Björnses ym., 1999; Nagamine ym., 1997). Vastaava geeni on kaikilla T-solullisilla eläinryhmillä, mikä kertoo sen tärkeydestä T-solureseptorin autoreaktiivisuuden testaamisessa ja toimivan T-solupopulaation tuottamisessa (Saltis ym., 2008). Hiiren *Aire* ortologi, joka on hyvin konservoitunut ihmisen vastaavaan geeniin nähden, sijaitsee kromosomissa 10 ja sen suhteen poistogeenisille hiirille kehittyy APECEDia vastaava autoimmuunifenyotyyppi (Anderson ym., 2002). Tässä tutkielmassa käytän selkeyden vuoksi ihmisgeenin kirjoitusasua, mutta on huomion arvoista, että merkittävä osa tutkimuksesta on toteutettu hiirimalleilla.

APECED periytyy peittyvästi ja esiintyy suuremmalla frekvenssillä tietyissä geneettisesti eristyneissä populaatioissa, joihin myös suomalaiset kuuluvat (Björnses ym., 2000). Myös dominantisti periytyviä *AIRE*-mutaatioita tunnetaan, mutta niistä aiheutuvan autoimmuunisairauden penetranssi on alhaisempi ja oireenkuva lievempi kuin resessiivisillä mutaatioilla (Cetani ym., 2001; Oftedal ym., 2015). Dominantit mutaatiot ovat kuitenkin resessiivisiin APECED-mutaatioihin verrattuna suhteellisen yleisiä väestössä, ja voivat indikoida alttiudesta sairastua perinnölliseen autoimmuunisairauteen (Oftedal ym., 2015). Nykyään *AIRE*n sairautta aiheuttavia mutaatioita tunnetaan jo yli 100. Mutaatioihin kuuluu geenin useilla eri alueilla sijaitsevia pistemutaatioita, insertioita ja deleetioita, joista monet tuottavat typistyneen proteiinin (Björnses ym., 2000). Suomalaisessa populaatiossa yleisin mutaatio on R257X, joka aiheuttaa ennenaikaisen lopetuskodonin ja tuottaa lyhyen, toimimattoman proteiinin (Björnses ym., 2000).

### 2.2 *AIRE*n säätelemä geeniekspressio

*AIRE*n parhaiten tunnettu toiminto on kudosspesifisten antigeenien tuotannon säätely kateenkorvan medullassa. *AIRE* ilmentyy RANK-signaloinnista riippuvaisesti tietyssä mTECien alapopulaatiossa, mTEChi-soluissa, jotka samanaikaisesti ilmentävät myös antigeenin esittelyyn tarvittavia MHC II:ta ja CD80-kostimulatorista ligandia (Gray ym., 2007; Haljasorg ym., 2015). Sansom ym. (2014) mukaan mTEChi-solupopulaation geeniekspressio on mittava, sillä solut ilmentävät 87 % hiiren proteiinia koodaavista geneistä. Näistä geneistä 5 970 voidaan

luokitella kudosspesifisiksi antigeeneiksi (engl. tissue restricted antigen, TRA) eli ne ilmentyvät muualla elimistössä vain rajallisessa määrässä kudoksia. Yhdessä tämä kudosspesifisten antigeenien repertuaari edustaa valtaosaa elimistä. Tätä mTEChi-soluissa havaittavaa, solulinjojen rajat ylittävää geeniekspressiota nimitetään PGE:ksi (engl. promiscuous gene expression), ja sillä on monia perinteisestä, biologisesti järjestelmällisestä geeniekspressiosta poikkeavia piirteitä.

mTEChi-soluista noin 70 % ilmentää samanaikaisesti *AIRE*a (Derbinski ym., 2008). Sansom ym. (2014) mukaan *AIRE* säätelee niissä positiivisesti 3 980 proteiinia koodaavaa geeniä. Näistä 15 % on niin sanottuja *AIRE*-riippuvaisia geenejä, joita ei havaita lainkaan *AIRE*-poistogeenisten hiirten vastaavissa soluissa, ja loput 85 % *AIRE*n indusoimia geenejä, joiden ekspressio ei ole täysin riippuvainen *AIRE*n läsnäolosta, mutta joiden ekspressiota se nostaa. *AIRE*n positiivisesti säätelemiin geeneihin kuuluu myös *APECED*ille ominaisen autoimmunitietin kohde-elimissä ilmennettäviä geenejä (Sansom ym., 2014). Erityisesti *AIRE*n säätelemien kudosspesifisten antigeenien ekspressio jää positiivisesti säädeltynäkin matalaksi verrattuna muihin geeneihin, ja *AIRE*n vaikutuksen on kuvailtu olevan lähinnä harvinaista transkriptiota voimistava (Brennecke ym., 2015; Meredith ym., 2015).

Vaikka *AIRE*n puuttuminen laskee kateenkorvan kudosanogeneenituotantoa, ei se hiljennä sitä täysin, sillä mTEC:t ilmentävät joitakin kudosanogeneeneja myös *AIRE*sta riippumatta (Anderson ym., 2002; St-Pierre ym., 2015). mTEChi-solujen kudosanogeneeniekspression rinnakkais-säätelijänä toimii ainakin *Fezf2* (engl. forebrain embryonic zinc-finger-like protein 2), joka säätelee erillistä kudosspesifisten antigeenien ryhmää (Takaba ym., 2015). *Fezf2*:n toiminnan estäminen hiirten mTEC:issä johtaakin kohdekudoksiltaan *AIRE*-autoimmunitietista poikkeavaan autoimmuunisairauteen (Takaba ym., 2015). Sen lisäksi vasta äskettäin löydetty, mTEC:iin kuuluvat mimeettiset solut tuottavat kudosspesifisiä antigeeneja vaihtoehtoista reittiä ilman *AIRE*n samanaikaista ekspressiota (Michelson, Hase, ym., 2022).

Vaikka populaationa mTEChi-solut ilmentävät valtaosaa koodaavasta genomista, ovat solut yksittäin tarkasteltuna huomattavan heterogeenisiä. Yksittäinen mTEChi-solu ilmentää kerrallaan vain 1–3 % kaikista kudosspesifisistä antigeeneista (Derbinski ym., 2008). Nämä yhteisekspressioklusterit sisältävät sekä *AIRE*-säädelyjä että *AIRE*-neutraaleja geenejä, jotka eivät liity toisiinsa biologisesti vaan ovat solulinjarajat ylittävä otos kaikista kudosspesifisistä geeneistä (Brennecke ym., 2015; Derbinski ym., 2008; Dhalla ym., 2020; Meredith ym., 2015; Pinto ym.,

2013). Esimerkiksi AIREn kateenkorvassa säätelemät kaseiinigeenit ilmentyvät kudoksessa säännönmukaisesti yhdessä, mutta mTEChi-solussa niiden samanaikainen ekspressio on epätodennäköistä (Derbinski et al., 2008). Lisäksi kudosspesifiset geenit ilmentyvät mTEChi-soluissa riippumatta niistä kudoksissa säätelevistä transkriptiofaktoreista (Danso-Abeam ym., 2013). Yhteisekspressioklusterit eivät kuitenkaan ole täysin satunnaisia, vaan tietyt geenit ilmentyvät suuremmalla todennäköisyydellä samanaikaisesti samassa solussa (Brennecke ym., 2015; Dhalla ym., 2020; Meredith ym., 2015; Pinto ym., 2013). Dhalla ym. (2020) mukaan mTEC- ja mTEChi-solujen heterogeenisyyttä selittää parhaiten niiden kehityksellisesti monitasoinen populaatorakenne, ja vaikka yhteisekspressioklusterit eivät liity toisiinsa biologisesti, osoittavat ne silti johdonmukaisuutta, jota aikaisemmissa tutkimuksissa ei pienemmällä solumäärillä kyetty havaitsemaan. Pinto ym. (2013) esittivätkin, että mTEChi-solut siirtyvät yhteisekspressioklusterista toiseen kehitysasteensa mukaisesti, mikä sallisi eri geeniryhmien ilmentämisen eri ajankohtina ja takaisi sekä esiteltävien antigeenien monipuolisuuden että riittävän liganditiheyden yksittäisen solun pinnalla.

### 2.3 *AIRE-indusoidun geeniekspression mekanismi*

*AIRE* on niin sanottu pleiotrooppinen geeni, koska se vaikuttaa suureen määrään alavirran geenejä. AIREn vaikutus mTEC:ien geeniekspressioon on laaja, mutta silti spesifinen, ja se säätelee epätyypillistä, linjarajat ylittävää geeniekspressiota kateenkorvassa. Sen vaikutus solun transkriptomiin on kuitenkin sidonnainen solukontekstiin, eikä *AIRE*n ekspressio saa muissa solutyypeissä aikaan samojen geenien ekspressiota (Guerau-de-Arellano ym., 2008). Molekulaarinen toimintamekanismi näiden piirteiden taustalla on ollut pitkään tutkimuksen kohteena, mutta ymmärrys siitä on edelleen osin puutteellinen.

#### 2.3.1 AIREn domeenirakenne

AIREn domeenirakenne on transkription säätelijälle ominainen. Sen N-terminaalisessa päässä sijaitsee CARD-domeeni (engl. caspase recruitment domain), jota tarvitaan proteiinin homomerisaatiossa sekä lokalisaatiossa tumakappaleisiin (engl. nuclear bodies), ja jonka välityksellä *AIRE* vuorovaikuttaa yleisen koaktivaattorin, CBP:n (engl. CREB binding protein) kanssa (Ferguson ym., 2008; Pitkänen ym., 2000, 2001). SAND-domeeni (Sp100, Aire-1, NucP41/75, and DEAF-1) on DNA:ta spesifisesti sitova domeeni, mutta AIREn tapauksessa domeenista



puuttuu spesifisyyden kannalta olennainen KDWK-motiivi (Bottomley ym., 2001). SAND-domeenin DNA:ta sitovien aminohappojen muuttaminen ei myöskään vaikuta AIRE:n kykyyn sitoutua transkription aloituspaikoille (Žumer ym., 2012). AIRE:n ensimmäinen sinkkisormidomeeni, PHD1 (engl. plant homeodomain 1) on proteiinin konservoituneimpia alueita (Saltis ym., 2008). Se sitoo histoni H3:n modifikaatiota, metyloimatonta histoni H3:n hännän lysiini 4:ää (H3K4me0), joka on ominainen transkriptioltaan inaktiiviselle kromatiinille (Koh ym., 2008). Toinen sinkkisormidomeeni PHD2 (engl. plant homeodomain 2) muistuttaa Saltis ym. (2008) mukaan rakenteeltaan enemmän RING-finger-domeenia, eikä sido histonimodifikaatiota PHD1:n tavoin. PHD2 ja sitä edeltävä, runsaasti proliinia sisältävä alue ovat heikosti konservoituneita selkärankaisilla ja jopa puuttuvat osalta eläinryhmistä kokonaan (Saltis ym., 2008). Lisäksi AIRElla on toiminnallinen tumalokalisatiosignaali (Pitkänen ym., 2001) ja neljä LXXLL-motiivia, jotka osallistuvat multimerisaatioon vuorovaikuttamalla toisten LXXLL-motiivien kanssa (Plevin ym., 2005). Erityisesti AIRE:n viimeinen, C-terminuksen LXXLL-motiivi on transkription säätelyn kannalta olennainen (Meloni ym., 2008).

### 2.3.2 AIRE:n lokalisaatio ja proteiini-proteiini-vuorovaikutukset

AIRE sijaitsee pääasiassa pistemäisesti tumaan levittäytyvissä kappaleissa (engl. nuclear bodies) (Björnses ym., 1999). Monet sairautta aiheuttavat mutaatiot aiheuttavat poikkeavuuksia AIRE:n tumalokalisatiossa ja assosiaatiossa näihin kappaleisiin (Ferguson ym., 2008; Halonen ym., 2004; Pitkänen ym., 2001). Lisäksi homomerisaatio on AIRE:n toiminnan kannalta olennaista ja aktiivinen proteiini esiintyykin solussa homodimeereinä ja -tetrameereinä, ja sen homomerisaation estävät mutaatiot johtavat niin ikään toiminnan menetykseen (Kumar ym., 2001; Pitkänen ym., 2000)

Homomerisaation ohella AIRElla on runsaasti heterotyyppisiä vuorovaikutuksia muiden proteiinien kanssa ja se esiintyy suurissa, yli 670 kDa:n proteiinikeskittymissä (Abramson ym., 2010; Halonen ym., 2004). Abramson ym. (2010) mukaan AIRE:n kanssa assosioituvat proteiinit jakautuvat neljään toiminnalliseen ryhmään, jotka ovat tumakuljetus, kromatiinivuorovaikutus, transkriptio ja esi-lähetä-RNA:n käsittely. AIRE toimiikin todennäköisesti useammassa kuin yhdessä erillisessä multiproteiinikompleksissa, jotka voivat osallistua transkription säätelyn ohella muihin toimintoihin, kuten esi-lähetä-RNA:n muokkaamiseen (Bansal ym., 2017). Monet AIRE:n kumppaniproteiineista ovat tärkeitä sen transkriptiota säätelevän toiminnan kannalta

ja niiden puuttuminen rajoittaa AIREn kykyä aktivoida kohdegeenejään. Tällainen on esimerkiksi DNA-PK (engl. DNA-dependent protein kinase), joka fosforyloi AIREn ja esiintyy kompleksissa sen ja muiden transkription säätelyyn osallistuvien proteiinien kanssa (Bansal ym., 2017; Liiv ym., 2008). AIREn toimintaa säädellään myös asetylaatiolla ja deasetylaatiolla CBP:n (engl. CREB binding protein) ja SIRT1:n toimesta (Chuprin ym., 2015; Saare ym., 2012).

AIRE ei aiheuta kohdegeeneissään transkription initiaatiota, vaan sen geeniekspressiota voimistava vaikutus perustuu transkription elongaatiovaiheen edistämiseen (Giraud ym., 2012; Oven ym., 2007). AIRE-välitteisen aktivaation edellytyksenä on, että transkription aloituspaikalla on runsaasti RNA polymeraasi II:ta (Pol II), joka on aloittanut transkription, mutta pysähtynyt kesken elongaation (Giraud ym., 2012). AIRE kumppaniproteiineineen vapauttaa valmiustilassa olevan Pol II:n jatkamaan elongaatiota (Giraud et al., 2014; Oven et al., 2007) vuorovaikuttamalla BRD4:n (engl. bromodomain-containing protein 4) ja positiivisen elongaatiotekijäkompleksin p-TEFb:n kanssa, mistä seuraa lopulta Pol II vapautuminen (Yoshida ym., 2015). Lisäksi AIREn kanssa vuorovaikuttavat topoisomeraasit, jotka osallistuvat elongaation edistämiseen indusoimalla DNA:n superkierteisyyttä vähentäviä juostekatkoksia (Bansal ym., 2017).

### 2.3.3 AIREn kohdegeenien valikoituminen

Se, mitkä tekijät määrittävät AIREn aktivoimat geenit kussakin solukontekstissa, on eräs aihepiiriä pitkään hallinneista kysymyksistä eikä mekanismeista sen taustalla tunneta kokonaisuudessaan. Perinteisistä transkriptiofaktoreista poiketen AIRE ei sitoudu spesifisesti DNA:han konsensussekvenssillä, koska sen SAND-domeenista puuttuu spesifisyyteen vaadittava KDWK-motiivi (Bottomley ym., 2001; Žumer ym., 2012). Koska AIRE osallistuu elimistössä suppeasti ilmennettävien, linjaspesifisten geenien ekspressioon ja koska sen vaikutus transkriptomiin on solutyypisidonnainen (Guerau-de-Arellano ym., 2008), on AIREn spesifisyys pyritty selittämään epigeneettisillä tekijöillä. AIREn PHD1-domeeni sitookin repressiivisenä histonimarkkerina tunnettua H3K4me0:aa, minkä ajateltiin olevan AIREn tapa tunnistaa ja sitoa transkriptiotaan inaktiivisia, linjaspesifisiä geenejä, joiden ekspressioon kateenkorvan selektio perustuu (Koh ym., 2008). PHD1:n ja H3K4me0:n vuorovaikutuksen estäminen laskee kuitenkin AIREn aktivaatiokapasiteettia yleisesti vaikuttamatta juurikaan valikoituvien geenien kirjoon, joten

vuorovaikutuksen on sittemmin arvioitu olevan sitoutumista stabiloiva (Koh ym., 2010). Oikeastaan AIREn sitoutumispaikat selittävät sängen huonosti sen vaikutuksesta aktivoituvia geenejä: AIRE sitoutuu mTECeissä myös sellaisten geenien transkription aloituspaikoille, joiden transkriptioon sillä ei ole vaikutusta (Bansal ym., 2017; Giraud ym., 2012). Vaikuttaakin siltä, että vaikka AIREn vuorovaikutukset inaktiivisen kromatiinin kanssa osallistuvatkin aktivaation tehokkuuteen, varsinaista spesifisyyttä määrittävät AIRE-riippumattomat ylävirran tekijät, kuten valmiustilaisen Pol II:en saatavuus (Giraud ym., 2012).

Äskettäin Fang ym. (2024) raportoivat aikaisemmin tuntemattoman AIREn indusoimia geenejä yhdistävän tekijän: geenien promoottorialueiden yhteydessä on pitkiä Z-DNA:ta muodostavia motiiveja. Z-DNA on DNA:n vasenkätinen, epästabili muoto, jota esiintyy aktiivisen transkription yhteydessä promoottorialueiden lähetyvillä (Shin ym., 2016). Fang ym. (2024) mallin mukaan Z-DNA osallistuu kohdegeenien promoottorialueella AIRE-välitteiselle aktivaatiolle otollisten olosuhteiden luomiseen ennen AIREn sitoutumista. Z-DNA edistää DNA-juosteen kaksoiskatkosten syntymistä, mistä seuraa kromatiinin rakenteen paikallinen avautuminen. Tämä edistää transkription initiaatiota ja Pol II:n siirtymistä AIREn vaatimaan valmiustilaan. Lisäksi AIREn keskeinen kumppaniproteiini DNA-PK kykenee tunnistamaan DNA:n kaksoiskatkoksia, ja katkoksille alttiit Z-DNA-motiivit voivat toimia DNA-PK:n rekrytoimisessa paikalle. DNA-PK:n onkin jo aikaisemmin esitetty osallistuvan AIRE-välitteisen aktivaation ohjaamiseen (Žumer ym., 2012).

### 3 AIREN MERKITYS KATEENKORVAN TOIMINNALLE

#### 3.1 AIREn säätelemän selektion kohdesolut

Kateenkorvan sentraalisella toleranssilla on kaksi tehtävää: autoreaktiivisten tymosyyttien negatiivinen selektio ja Treg-solujen positiivinen selektio. APECEDin kohde-elimissä kudostuhoa aiheuttavat autoreaktiiviset efektori-T-solut, mutta potilailla havaitaan myös poikkeavuuksia kateenkorvassa kypsyneissä Treg-soluissa (Kekäläinen ym., 2007; Laakso ym., 2010). Treg-solut inhiboivat spesifisesti kudoksiin kohdistuvia autoimmunireaktioita ja näiden solujen merkitys kudostoleranssille on huomattava. Transkriptiofaktori FOXP3:n mutaatiot, jotka estävät Treg-solujen kehittymisen, aiheuttavat vaikean autoimmuunisairauden, IPEX-oireyhtymän

(Bennett ym., 2001). Se, painottuuko AIRE-riippuvainen osa kateenkorvan selektiosta autoreaktiivisten tymosyyttien deleetioon vai niiden ohjaamiseen Treg-soluiksi, on jakanut mielipiteitä, ja kummastakin on kertynyt vuosien saatossa näyttöä.

Varhaisemmissa tutkimuksissa AIREn puuttumisen raportoitiin johtavan nimenomaan negatiivisen selektion häiriintymiseen ja naiivien, autoreaktiivisten T-solujen pakoon kateenkorvasta (Liston ym., 2003). Kateenkorvan negatiivinen selektio ei tosin terveillä yksilöillä ole täydellinen, vaan periferiassa on tavallisestikin joukko naiiveja, autoreaktiivisia T-soluja (Danke ym., 2004). Treg-solujen ja muiden perifeerisen toleranssin mekanismien ansiosta nämä solut eivät kuitenkaan normaalitilanteessa pääse aktivoitumaan. Yang ym. (2015) osoittivat ehdollisesti poistogeenisillä hiirillä, että perinataalikaikana muodostuu AIRE-riippuvaisesti pitkäikäinen, uniikki Treg-populaatio, joka estää AIRE-poistogeenisille yksilöille tyypillisen autoimmunifenytyypin kehittymisen, vaikka AIREa ei myöhemmin enää ilmennettäisikään. Nämä uniikit Treg-solut ehkäisevät autoimmunitteettia tehokkaasti myös silloin, kun niitä siirretään viilityypin hiiriltä AIRE-poistogeenisille hiirille. Malchow ym. (2016) mukaan AIRE-poistogeenisten hiirten autoimmunitteetin kohde-eliimiin tunkeutuneet autoreaktiiviset T-solut ovat reseptorispesifisyydeltään sellaisia, joita vastaavat solut on ohjattu viilityypin hiirillä Treg-soluiksi. AIREn puuttuessa autoreaktiivisten tymosyyttien ohjaaminen Treg-soluiksi on siis häiriintynyt, minkä lisäksi ne läpäisevät myös negatiivisen selektion ja aiheuttavat AIRE-autoimmunitteetille ominaista, elinspesifistä kudostuhoa. Nykyinen käsitys onkin, että AIRE vaikuttaa sekä T-solujen negatiiviseen että Treg-solujen positiiviseen selektioon, ja että kudostuhoa aiheuttavien autoreaktiivisten T-solujen aktivaatiota tukee puutteellinen Treg-populaatio.

### *3.2 AIREn vaikutus kateenkorvan epiteelin kehitykseen*

mTEC:t jaettiin varhaisemmissa tutkimuksissa niiden ilmentämien MHC II ja CD80-pinta-merkkin perusteella mTEChi- ja mTEClo-alampopulaatioihin (Gray ym., 2007; Heino ym., 1999). Luvussa 2 kuvattuja AIRE+ MHC II+ CD80+ mTEChi-soluja on tutkittu eniten kudostigeenituotannon yhteydessä, ja niiden ajateltiin olevan pisimmälle erilaistunut ja selektion kannalta toiminnallinen mTEC-alaryhmä. Määrällisesti runsaamman mTEClo-ryhmän arveltiin koostuvan lähinnä mitoottisista prekursorisoluista, jotka täydentävät lyhytikäistä mTEChi-populaatiota, joissa AIREn arveltiin niiden elinkaaren lopussa indusoivan apoptoosin

(Gray ym., 2007). Menetelmien kehityksen myötä kateenkorvan epiteelin sisäinen monimuotoisuus on kuitenkin alkanut avautua, ja mTEC:t ovat osoittautuneet kehityksellisesti ja toiminnallisesti luultua monimuotoisemmaksi soluryhmäksi.

Nykyään tiedetään, että mTEC-lo-populaatio sisältää niin sanottuja post-AIRE-soluja, jotka ovat aikaisemmassa kehitysvaiheessaan ilmentäneet *AIRE*a (Metzger ym., 2013). Tämä post-AIRE-populaatio on osoittautunut erityisen mielenkiintoiseksi T-soluselektion kannalta, sillä siihen kuuluu monimuotoinen ryhmä mimeettisiksi soluiksi (engl. mimetic cells) kutsuttuja soluja (Michelson, Hase, ym., 2022). Kukin mimeettisten solujen alatyyppejä muistuttaa kromatiinin tilaltaan ja geeniekspressioltaan jotakin perifeeristä solutyyppejä ja tuottaa matkimalleen solutyypille ominaisia antigeeneja (Michelson, Hase, ym., 2022). *AIRE*+ mTEC*hi*-soluista poiketen ne käyttävät biologisesti säännönmukaisia, kudoksille ominaisia transkriptiofaktoreita kudossantigeenituotantoon (Bornstein ym., 2018; Michelson, Hase, ym., 2022; Miller ym., 2018). Tällaisia mimeettisiä soluja ovat esimerkiksi keratinosyyttejä muistuttavat solut, joista Hassallin kappaleiksi kutsutut kateenkorvan medullan alarakenteet koostuvat. Mimeettisten solujen antigeenituotanto soveltuu selektion tarpeisiin, ja ne pystyvät tolerogenisoimaan T-soluja matkimalleen solutyypille spesifisille antigeeneille (Michelson, Hase, ym., 2022; Miller ym., 2018). Tämä rinnakkainen kudossantigeenituotantoreitti poikkeaa huomattavasti mTEC*hi*-solujen biologisesti epämääräisestä kudossantigeeniekspressiosta, ja avaa kokonaan uuden näkökulman kateenkorvassa tapahtuvaan selektioon.

Koska merkittävä osa mimeettisistä soluista on aikaisemmin ilmentänyt *AIRE*a, on mahdollista, että *AIRE* on osallistunut tämän monimuotoisen soluryhmän erilaistumiseen. Jo ennen mimeettisten solujen karakterisointia, oli *AIRE*-poistogeenisillä hiirillä havaittu muutoksia kateenkorvan medullan epiteelin soluallokaatioissa ja poikkeavuuksia Hassallin kappaleiden muodostumisessa (Yano ym., 2008). Michelson, Hase, ym. (2022) mukaan *AIRE*en vaikutus mimeettisten solujen eri alatyyppeiden akkumuloitumiseen on vaihteleva, ja niiden kehitys ei monessa tapauksessa ole täysin *AIRE*-riippuvaista, joskin *AIRE*en puuttuessa mimeettisten solujen kokonaisuusmäärä on alhaisempi. *AIRE*en on havaittu säätelevän positiivisesti mimeettisiä soluja määrittäviä kudosspesifisiä transkriptiofaktoreita ja tehostavan näiden sitoutumista säätelyalueille (Fang ym., 2024; Michelson, Hase, ym., 2022). *AIRE* voi siis vaikuttaa kateenkorvan kudosspesifiseen antigeenirepertuaariin myös epäsuorasti osallistumalla kateenkorvan epiteelisolujen erilaistumisprosessiin.

### 3.3 Kateenkorvan mikroympäristö

mTECien lisäksi kateenkorvan medullan mikroympäristössä tymosyyttien selektioon osallistuvat muut antigeenia esittelevät solut (engl. antigen presenting cell, APC). Tällaisia ovat esimerkiksi hematopoieettista alkuperää olevat dendriittisolut ja kateenkorvan B-solut, joiden yhteistoimintaa mTECien kanssa tarvitaan eheän kudostoleranssin tuottamiseen (Perry ym., 2014; Yamano ym., 2015). Kateenkorvan dendriittisolut, jotka ovat ammattimaisia antigeenia esitteleviä soluja, eivät ilmennä *AIRE*a tai tuota itsenäisesti kudosspesifisiä antigeeneja, mutta kykenevät hankkimaan niitä mTECeiltä (Gallegos & Bevan, 2004; Perry ym., 2014; Taniguchi ym., 2012). Perry ym. (2014) mukaan kateenkorvan luuydinperäiset APC:t osallistuvat sekä negatiiviseen selektioon että Treg-selektioon ja jakautuvat alatyyppeihin, jotka painottavat eri toimintoja. Eräs dendriittisolujen alapopulaatio on esimerkiksi erikoistunut käyttämään *AIRE*-riippuvaisia antigeeneja Treg-selektiossa. Jopa puolet mTECeissä tuotetuista, *AIRE*-riippuvaisista antigeeneistä päätyy esiteltäviksi luuydinperäisiin APC:ihin.

Dendriittisoluihin siirrettävien antigeenien lisäksi mTECeissä tuotetaan *AIRE*-riippuvaisesti *XCL1*:tä, joka on dendriittisolujen kateenkorvaan akkumuloitumiseen tarvittava kemokiinireseptorin ligandi (Lei ym., 2011). Lisäksi *AIRE*n puuttuessa kateenkorvan epiteelisolut ilmentävät pinnallaan ylimäärin koinhibitorista ligandia, *CTLA-4*:sta, joka kaappaa dendriittisolujen kostimulatorisia *CD-80/86* ligandeja, jolloin niitä on vähemmän tarjolla immuunisynapseihin autoreaktiivisten tymosyyttien kanssa (Michelson, Benoist, ym., 2022). *CTLA-4*:n ja *XCL1*:n saatavuus vaikuttaakin kateenkorvasta poistuvan T-solupopulaation rakenteeseen ja tuotettavien Treg-solujen määrään (Lei ym., 2011; Verhagen ym., 2013). Myös kateenkorvan epiteelin kehityksellinen eheys vaikuttaa dendriittisolujen kykyyn osallistua selektioon. Mimeettisistä soluista koostuvien Hassallin kappaleiden oikeanlainen kehittyminen on pitkälti riippuvaista *AIRE*sta (Yano ym., 2008) ja eräs Hassallin kappaleiden toiminnoista on dendriittisolujen lisensoiminen Treg-selektioon (Watanabe ym., 2005).

Kateenkorvassa antigeenia esittelevinä soluina toimivat myös B-solut, jotka dendriittisoluista poiketen ilmentävät *AIRE*a ja tuottavat antigeeninsa endogeenisesti (Yamano ym., 2015). Yamano ym. (2015) havaitsivat naiivien, kateenkorvaan kulkeutuneiden B-solujen saavan autoreaktiivisilta *CD4+* tymosyyteiltä signaalin, joka lisensoi ne ilmentämään *AIRE*a sekä *MHC II*:ta ja kostimulatorisia ligandeja. Tämän ansiosta B-solut tuottavat ja esittelevät mTEChi-solujen

tavoin antigeeneja ja osallistuvat T-solukannan tolerogenisoimiseen, joskin niiden tuottama antigeenirepertuaari poikkeaa mTEChi-solujen tuottamista antigeeneista. Näiden *AIRE*a ilmentävien B-solujen osuus toleranssissa on muista antigeenia esittelevistä soluista erillinen ja välttämätön toimivassa T-solutoleranssissa.

Kemokiinisignalointi ohjaa tymosyyttien siirtymistä kateenkorvan kuorikerroksesta medullaan ja edelleen verenkiertoon. Laan ym. (2009) havaitsivat, että *AIRE*-poistogeenisten hiirten kateenkorvassa ilmennetään vähemmän tymosyyttejä medullaan ohjaavia CCR7- ja CCR4-kemokiinireseptorien ligandeja. CCR4:n ligandien ekspressiota *AIRE* säätelee mTEChi-soluissa suoraan. Vaikutus CCR7:n ligandien ekspressioon on kuitenkin epäsuora, koska niitä ilmennetään tavallisesti mTEClo-populaation soluissa, jotka eivät ilmennä samanaikaisesti *AIRE*a. Laan kollegoineen raportoivat erityisesti CD4+-tymosyyttien migraation olevan *AIRE*n puutteessa häiriintynyt. Kemokiinisignaloinnin lisäksi *AIRE* säätelee mTECeissä positiivisesti lukuisia soludheesiogeneja, jotka edesauttavat tymosyytin ja antigeenia esittelevän solun välistä adheesiota *in vitro* (Pezzi ym., 2016; St-Pierre ym., 2015).

## 4 AIRE JA PERIFEERINEN TOLERANSSI

### 4.1 *AIRE*-ekspressio kateenkorvan ulkopuolella

Tiedetään, että *AIRE*a ilmennetään pienemmissä määrin myös kateenkorvan ulkopuolella, mutta näiden solujen osallisuus perifeeriseen toleranssiin on ollut pitkään epäselvä. Näitä soluja nimitetään kollektiivisesti eTACEiksi (engl. extrathymic *AIRE*-expressing cell). Ne ovat hematopoieettista alkuperää ja sijaitsevat sekundäärisissä lymfoidisissa elimissä, kuten imusolmukkeissa ja pernassa (Gardner ym., 2008, 2013) Antigeenin tunnistaneet naiivit T-solut tarvitsevat aktivoituaakseen kostimulatorisen signaalin, joka on eräs perifeeristä toleranssia tukeva varmistuskeino, jolla ehkäistään haitallista autoreaktiivisuutta. Pelkkä antigeenin tunnistaminen ilman kostimulaatiota muuttaa kyseisen T-solun anergiseksi. eTACit ilmentävät MHC II:ta ja kudasantigeeneja, mutta eivät kostimulatorisia CD80/86-ligandeja, mikä luo tarvittavat olosuhteet autoreaktiivisten T-solujen anergialle (Gardner ym., 2013)

Wang ym. (2021) kuvasivat hiirimalleilla tarkemmin kaksi eTACien alatyyppeä: migratoristen dendriittisolujen kaltaiset AmDC:t (engl. *Aire*-expressing migratory dendritic cells) ja Janus-

solut (engl. Janus cells, JC). Ne muistuttavat kromatiinin tilaltaan ja monipuoliselta transkriptomiltaan mTECejä ja alkavat niiden tavoin ilmentää *AIRE*a RANK-signaloinnin välityksellä. *AIRE*-ekspression myötä nämä solut ilmentävät myös kudosspesifisiä antigeeneja ja pystyvät osallistumaan perifeerisen kudostoleranssin ylläpitoon deletoimalla autoreaktiivisia CD8+ syntotoksisia T-soluja.

eTACien suhteellinen osuus kudostoleranssissa sekä niiden muut tehtävät immuunijärjestelmän toiminnassa ovat tällä hetkellä aktiivisen tutkimuksen kohteena. Hiirillä eTACien on osoitettu osallistuvan esimerkiksi emän ja sikiön välisen toleranssin ylläpitoon. Gillis-Buck ym. (2021) havaitsivat hiirillä kudoksiin kohdistuvasta autoimmunitetista johtuvaa sikiön hidaskasvuisuutta (engl. intrauterine growth restriction, IUGR), kun *AIRE*En toiminta imusolmukkeiden eTACeissa oli estetty.

#### *4.2 Välillinen vaikutus B-solujen perifeeriseen toleranssiin*

B-solut kehittyvät T-soluista poiketen luuytimessä, jossa autoreaktiivisuutta testataan T-solujen sentraaliseen toleranssiin verrattuna suppeammalla antigeenirepertuaarilla, eikä luuytimessä tuoteta endogeenisesti perifeerisiä kudoksia edustavia antigeeneja. *AIRE*lla ei ole vaikutusta luuytimeistä poistuvan, naiivin B-solupopulaation autoreaktiivisuuteen, mutta *APECED*-potilailla on silti korkean affiniteetin vasta-aineita omia kudoksia kohtaan (Sng ym., 2019). Tämä johtuu siitä, että vaikka terveilläkin yksilöillä on luuytimen selektion läpäisseitä, autoreaktiivisia B-soluja, valtaosa niistä tarvitsee aktivoituakseen signaalin aktivoituneelta auttaja-T-solulta. T-soluja tarvitaan myös korkean affiniteetin vasta-aineiden tuotantoon erikoistuneiden itukeskusten (engl. germinal center) muodostumisessa. Itukeskuksissa aktivoituneen B-solun kloonien reseptorit käyvät läpi sarjan somaattisia hypermutaatiota, jolloin reseptorin affiniteetti antigeenille kasvaa entisestään. Naiivien autoreaktiivisten B-solujen läsnäolo periferiassa on siis normaalitilanteessa pitkälti harmitonta, mutta T-solutoleranssin pettäessä periferiaan karanneet, autoreaktiiviset auttaja-T-solut mahdollistavat myös vastaavien B-solujen aktivaation. B-solujen perifeerinen toleranssi nojaa siis voimakkaasti T-solujen sentraalisen toleranssin normaaliin toimintaan. *AIRE*lla on näin ollen laaja systeeminen merkitys immuunihomeostasiassa, ja sen säätelemän T-solutoleranssin häiriöiden seuraukset ulottuvat myös humoraalisen immuunivasteen puolelle.



APECED-potilaiden seerumissa on elinspesifisten vasta-aineiden lisäksi korkean affiniteetin vasta-aineita lukuisille sytokiineille, kuten tyypin I interferoneille (IFN) ja interleukiini-22:lle (IL-22) (Meyer ym., 2016; Sng ym., 2019). Sytokiinitasapainon horjuminen voi vaikuttaa immuunijärjestelmän toimintaan monin tavoin. AIREn puuttumisella voi sitä kautta olla tietyissä tapauksissa jopa autoimmuunireaktioita lieventävä vaikutus. Tyypin 1 diabetes on yksi APECEDin mahdollisista liittännäissairauksista (Pitkänen ym., 2001), mutta Meyer ym. (2016) havaitsivat, että APECED-potilaat, joilla on vasta-aineita useille IFN-alityypeille, sairastuvat tyypin 1 diabetekseen harvemmin kuin sellaiset, joilta nämä vasta-aineet puuttuvat. Toisaalta IL-22-vasta-aineet häiritsevät limakalvojen immuunipuolustusta, mikä selittää osaltaan APECEDin kardinaalioireisiin kuuluvia kroonisia *Candida albicans* -infektioita (Kisand ym., 2010).

## 5 YHTEENVETO

AIREn kompleksisten proteiini-proteiini-vuorovaikutusten sekä sen säätelemien geenien suuren määrän vuoksi AIRE on keskeinen osa monimutkaista vuorovaikutusverkostoa. AIREn vaikutukset ulottuvat yhden solun geeniekspression säätelystä aina systeemiseen immuunihomöostasiaan asti. AIREa ilmentävät kateenkorvassa mTEChi-solut sekä siihen lisenoidut B-solut, joissa AIRE lisää suoraan kudasantigeenien ekspressiota kudostyyppillisistä transkriptiofaktoreista riippumattomalla mekanismilla. AIRE on osa epätyypillistä transkription säätelijäkompleksia, joka vapauttaa pysähtyneen RNA polymeraasi II:n ja edistää jo aloitetun transkription elongaatiovaihetta (Giraud ym., 2012; Oven ym., 2007; Yoshida ym., 2015). Ylävirran valmiustilaisten promoottorien saatavuus, joka määräytyy todennäköisesti AIREsta riippumatta, sanelee kussakin solukontekstissa AIREn indusoimien geenien kirjon (Fang ym., 2024; Giraud ym., 2012). Tämä selittää AIREn hyvinkin vaihtelevaa vaikutusta eri solutyypin geeniekspressioon.

AIRE säätelee kateenkorvan kokonaisantigeenituotantoa myös epäsuorasti vaikuttamalla kateenkorvan epiteelin erilaistumiseen ja kudasantigeeneja vaihtoehtoista reittiä tuottavien miimeettisten solujen akkumuloitumiseen (Michelson, Hase, ym., 2022; Yano ym., 2008) Kaikki AIREn säätelemät geenit eivät ole ektooppisesti esiteltäviä kudasantigeeneja, vaan niihin kuuluu myös kateenkorvan dendriittisolujen ja tymosyyttien liikettä ohjaavia kemokiinireseptorien

ligandeja sekä soluadheesiogenejä, jotka ovat tärkeitä kateenkorvan toiminnalle kokonaisuutena (Laan ym., 2009; Lei ym., 2011; Pezzi ym., 2016; St-Pierre ym., 2015). Systemisesti AIREsta riippuvaisen sentraalisen toleranssin osan murtuminen johtaa myös B-solujen perifeerisen toleranssin pettämiseen ja omille kudoksille spesifisten vasta-aineiden tuotantoon (Sng ym., 2019). Tämän lisäksi AIRE ilmentyy myös kateenkorvan ulkopuolisissa soluissa, jotka osallistuvat perifeeriseen toleranssiin inhiboimalla autoreaktiivisia T-soluja (Gardner ym., 2013; Wang ym., 2021).

AIREn vaikutus kudostoleranssiin on siis hyvin monitasoinen. Aihealueen tutkimus on lisännyt ymmärrystä kateenkorvan medullan kehityksellisesti kerrostuneesta solupopulaatiosta, epätyypillisistä säätelymekanismeista biologisesti epämääräisen kudostigeenituotannon taustalla sekä adaptiivisen immuunijärjestelmän toiminnasta kokonaisuutena. On kuitenkin paljon, mitä AIREsta ei vielä tiedetä ja ajankohtaisiin tutkimusaiheisiin kuuluvat esimerkiksi eTACien, mTEChi-solujen ja mimeettisten solujen suhteelliset osuudet toleranssissa sekä kattava malli AIREn molekulaarisesta toimintamekanismista ja mahdollisista rinnakkaistoiminnoista.

## LÄHDELUETTELO

- Aaltonen, J., Björnses, P., Perheentupa, J., Horelli-Kuitunen, N., Palotie, A., Peltonen, L., Lee, Y. S., Francis, F., Henning, S., Thiel, C., Leharach, H., & Yaspo, M. L. (1997). An autoimmune disease, APECED, caused by mutations in a novel gene featuring two PHD-type zinc-finger domains. *Nature Genetics* 1997 17:4, 17(4), 399–403. <https://doi.org/10.1038/ng1297-399>
- Abramson, J., Giraud, M., Benoist, C., & Mathis, D. (2010). Aire's partners in the molecular control of immunological tolerance. *Cell*, 140(1), 123–135. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.12.030>
- Anderson, M. S., Venanzi, E. S., Klein, L., Chen, Z., Berzins, S. P., Turley, S. J., Von Boehmer, H., Bronson, R., Dierich, A., Benoist, C., & Mathis, D. (2002). Projection of an immunological self shadow within the thymus by the aire protein. *Science*, 298(5597), 1395–1401. [https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1075958/SUPPL\\_FILE/SOM.ANDERSON.PDF](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1075958/SUPPL_FILE/SOM.ANDERSON.PDF)

- Bansal, K., Yoshida, H., Benoist, C., & Mathis, D. (2017). The transcriptional regulator Aire binds to and activates super-enhancers. *Nature immunology*, *18*(3), 263–273. <https://doi.org/10.1038/NI.3675>
- Bennett, C. L., Christie, J., Ramsdell, F., Brunkow, M. E., Ferguson, P. J., Whitesell, L., Kelly, T. E., Saulsbury, F. T., Chance, P. F., & Ochs, H. D. (2001). The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nature genetics*, *27*(1), 20–21. <https://doi.org/10.1038/83713>
- Björnses, P., Halonen, M., Palvimo, J. J., Kolmer, M., Aaltonen, J., Ellonen, P., Perheentupa, J., Ulmanen, I., & Peltonen, L. (2000). Mutations in the AIRE gene: effects on subcellular location and transactivation function of the autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis–ectodermal dystrophy protein. *American Journal of Human Genetics*, *66*(2), 378–392. <https://doi.org/10.1086/302765>
- Björnses, P., Peltö-Huikko, M., Kaukonen, J., Aaltonen, J., Peltonen, L., & Ulmanen, I. (1999). Localization of the APECED protein in distinct nuclear structures. *Human molecular genetics*, *8*(2), 259–266. <https://doi.org/10.1093/HMG/8.2.259>
- Bornstein, C., Nevo, S., Giladi, A., Kadouri, N., Pouzolles, M., Gerbe, F., David, E., Machado, A., Chuprin, A., Tóth, B., Goldberg, O., Itzkovitz, S., Taylor, N., Jay, P., Zimmermann, V. S., Abramson, J., & Amit, I. (2018). Single-cell mapping of the thymic stroma identifies IL-25-producing tuft epithelial cells. *Nature*, *559*(7715), 622–626. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0346-1>
- Bottomley, M. J., Collard, M. W., Huggenvik, J. I., Liu, Z., Gibson, T. J., & Sattler, M. (2001). The SAND domain structure defines a novel DNA-binding fold in transcriptional regulation. *Nature structural biology*, *8*(7), 626–633. <http://structbio.nature.com>
- Brennecke, P., Reyes, A., Pinto, S., Rattay, K., Nguyen, M., Küchler, R., Huber, W., Kyewski, B., & Steinmetz, L. M. (2015). Single-cell transcriptome analysis reveals coordinated ectopic gene-expression patterns in medullary thymic epithelial cells. *Nature immunology*, *16*(9), 933–941. <https://doi.org/10.1038/ni.3246>

- Cetani, F., Barbesino, G., Borsari, S., Pardi, E., Cianferotti, L., Pinchera, A., & Marcocci, C. (2001). A novel mutation of the autoimmune regulator gene in an Italian kindred with autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy, acting in a dominant fashion and strongly cosegregating with hypothyroid autoimmune thyroiditis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(10), 4747–4752. <https://doi.org/10.1210/JCEM.86.10.7884>
- Chuprin, A., Avin, A., Goldfarb, Y., Herzig, Y., Levi, B., Jacob, A., Sela, A., Katz, S., Grossman, M., Guyon, C., Rathaus, M., Cohen, H. Y., Sagi, I., Giraud, M., McBurney, M. W., Husebye, E. S., & Abramson, J. (2015). The deacetylase Sirt1 is an essential regulator of Aire-mediated induction of central immunological tolerance. *Nature immunology*, 16(7), 737–745. <https://doi.org/10.1038/NI.3194>
- Danke, N. A., Koelle, D. M., Yee, C., Beheray, S., & Kwok, W. W. (2004). Autoreactive T cells in healthy individuals. *The Journal of Immunology*, 172(10), 5967–5972. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.172.10.5967>
- Danso-Abeam, D., Staats, K. A., Franckaert, D., Van Den Bosch, L., Liston, A., Gray, D. H. D., & Dooley, J. (2013). Aire mediates thymic expression and tolerance of pancreatic antigens via an unconventional transcriptional mechanism. *European journal of immunology*, 43(1), 75–84. <https://doi.org/10.1002/EJI.201242761>
- Derbinski, J., Pinto, S., Rösch, S., Hexel, K., & Kyewski, B. (2008). Promiscuous gene expression patterns in single medullary thymic epithelial cells argue for a stochastic mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(2), 657–657. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0707486105>
- Dhalla, F., Baran-Gale, J., Maio, S., Chappell, L., Holländer, G. A., & Ponting, C. P. (2020). Biologically indeterminate yet ordered promiscuous gene expression in single medullary thymic epithelial cells. *The EMBO journal*, 39(1), e101828. <https://doi.org/10.15252/EMBJ.2019101828>
- Fang, Y., Bansal, K., Mostafavi, S., Benoist, C., & Mathis, D. (2024). AIRE relies on Z-DNA to flag gene targets for thymic T cell tolerization. *Nature* 2024, 628(8007), 400–407. <https://doi.org/10.1038/S41586-024-07169-7>

- Ferguson, B. J., Alexander, C., Rossi, S. W., Liiv, I., Rebane, A., Worth, C. L., Wong, J., Laan, M., Peterson, P., Jenkinson, E. J., Anderson, G., Scott, H. S., Cooke, A., & Rich, T. (2008). AIRE's CARD revealed, a new structure for central tolerance provokes transcriptional plasticity. *The Journal of biological chemistry*, 283(3), 1723–1731. <https://doi.org/10.1074/JBC.M707211200>
- Gallegos, A. M., & Bevan, M. J. (2004). Central tolerance to tissue-specific antigens mediated by direct and indirect antigen presentation. *The Journal of experimental medicine*, 200(8), 1039–1049. <https://doi.org/10.1084/JEM.20041457>
- Gardner, J. M., DeVoss, J. J., Friedman, R. S., Wong, D. J., Tan, Y. X., Zhou, X., Johannes, K. P., Su, M. A., Chang, H. Y., Krummel, M. F., & Anderson, M. S. (2008). Deletional Tolerance Mediated by Extrathymic Aire-Expressing Cells. *Science*, 321(5890), 843–847. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1159407>
- Gardner, J. M., Metzger, T. C., McMahon, E. J., Au-Yeung, B. B., Krawisz, A. K., Lu, W., Price, J. D., Johannes, K. P., Satpathy, A. T., Murphy, K. M., Tarbell, K. V., Weiss, A., & Anderson, M. S. (2013). Extrathymic Aire-expressing cells are a distinct bone marrow-derived population that induce functional inactivation of CD4<sup>+</sup> T cells. *Immunity*, 39(3), 560–572. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2013.08.005>
- Gillis-Buck, E., Miller, H., Sirota, M., Sanders, S. J., Ntranos, V., Anderson, M. S., Gardner, J. M., & MacKenzie, T. C. (2021). Extrathymic Aire-expressing cells support maternal-fetal tolerance. *Science immunology*, 6(61), eabf1968. [https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.ABF1968/SUPPL\\_FILE/SCIIMMUNOL.ABF1968\\_SM.PDF](https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.ABF1968/SUPPL_FILE/SCIIMMUNOL.ABF1968_SM.PDF)
- Giraud, M., Yoshida, H., Abramson, J., Rahl, P. B., Young, R. A., Mathis, D., & Benoist, C. (2012). Aire unleashes stalled RNA polymerase to induce ectopic gene expression in thymic epithelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(2), 535–540. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1119351109/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Gray, D., Abramson, J., Benoist, C., & Mathis, D. (2007). Proliferative arrest and rapid turnover of thymic epithelial cells expressing Aire. *The Journal of Experimental Medicine*, 204(11), 2521–2528. <https://doi.org/10.1084/JEM.20070795>

- Guerau-de-Arellano, M., Mathis, D., & Benoist, C. (2008). Transcriptional impact of Aire varies with cell type. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(37), 14011–14016. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0806616105>
- Haljasorg, U., Bichele, R., Saare, M., Guha, M., Maslovskaja, J., Kõnd, K., Remm, A., Pihlap, M., Tomson, L., Kisand, K., Laan, M., & Peterson, P. (2015). A highly conserved NF- $\kappa$ B-responsive enhancer is critical for thymic expression of Aire in mice. *European journal of immunology*, *45*(12), 3246–3256. <https://doi.org/10.1002/EJI.201545928>
- Halonen, M., Kangas, H., Ruppell, T., Ilmarinen, T., Ollila, J., Kolmer, M., Vihinen, M., Palvimo, J., Saarela, J., Ulmanen, I., & Eskelin, P. (2004). APECED-causing mutations in AIRE reveal the functional domains of the protein. *Human mutation*, *23*(3), 245–257. <https://doi.org/10.1002/HUMU.20003>
- Heino, M., Peterson, P., Kudoh, J., Nagamine, K., Lagerstedt, A., Ovod, V., Ranki, A., Rantala, I., Nieminen, M., Tuukkanen, J., Scott, H. S., Antonarakis, S. E., Shimizu, N., & Krohn, K. (1999). Autoimmune regulator is expressed in the cells regulating immune tolerance in thymus medulla. *Biochemical and biophysical research communications*, *257*(3), 821–825. <https://doi.org/10.1006/BBRC.1999.0308>
- Kekäläinen, E., Tuovinen, H., Joensuu, J., Gylling, M., Franssila, R., Pöntynen, N., Talvensaari, K., Perheentupa, J., Miettinen, A., & Arstila, T. P. (2007). A defect of regulatory T cells in patients with autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy. *Journal of Immunology*, *178*(2), 1208–1215. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.178.2.1208>
- Kisand, K., Bøe Wolff, A. S., Podkrajšek, K. T., Tserel, L., Link, M., Kisand, K. V., Ersvaer, E., Perheentupa, J., Erichsen, M. M., Bratanic, N., Meloni, A., Cetani, F., Perniola, R., Ergun-Longmire, B., Maclaren, N., Krohn, K. J. E., Pura, M., Schalke, B., Ströbel, P., ... Meager, A. (2010). Chronic mucocutaneous candidiasis in APECED or thymoma patients correlates with autoimmunity to Th17-associated cytokines. *The Journal of experimental medicine*, *207*(2), 299–308. <https://doi.org/10.1084/JEM.20091669>
- Koh, A. S., Kingston, R. E., Benoist, C., & Mathis, D. (2010). Global relevance of Aire binding to hypomethylated lysine-4 of histone-3. *Proceedings of the National Academy of Sciences*

*of the United States of America*, 107(29), 13016–13021.  
<https://doi.org/10.1073/PNAS.1004436107>

- Koh, A. S., Kuo, A. J., Park, S. Y., Cheung, P., Abramson, J., Bua, D., Carney, D., Shoelson, S. E., Gozani, O., Kingston, R. E., Benoist, C., & Mathis, D. (2008). Aire employs a histone-binding module to mediate immunological tolerance, linking chromatin regulation with organ-specific autoimmunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(41), 15873–15883. [www.pnas.org/cgi/content/full/105\(41\),15873-15883](http://www.pnas.org/cgi/content/full/105(41),15873-15883)
- Kumar, P. G., Laloraya, M., Wang, C. Y., Ruan, Q. G., Davoodi-Semiromi, A., Kao, K. J., & She, J. X. (2001). The Autoimmune Regulator (AIRE) Is a DNA-binding Protein. *Journal of Biological Chemistry*, 276(44), 41357–41364. <https://doi.org/10.1074/JBC.M104898200>
- Laakso, S. M., Laurinolli, T. T., Rossi, L. H., Lehtoviita, A., Sairanen, H., Perheentupa, J., Kekäläinen, E., & Arstila, T. P. (2010). Regulatory T cell defect in APECED patients is associated with loss of naive FOXP3+ precursors and impaired activated population. *Journal of autoimmunity*, 35(4), 351–357. <https://doi.org/10.1016/J.JAUT.2010.07.008>
- Laan, M., Kisand, K., Kont, V., Möll, K., Tserel, L., Scott, H. S., & Peterson, P. (2009). Autoimmune regulator deficiency results in decreased expression of CCR4 and CCR7 ligands and in delayed migration of CD4+ thymocytes. *The Journal of Immunology*, 183(12), 7682–7691. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.0804133>
- Lei, Y., Ripen, A. M., Ishimaru, N., Ohigashi, I., Nagasawa, T., Jeker, L. T., Bösl, M. R., Holländer, G. A., Hayashi, Y., de Waal Malefyt, R., Nitta, T., & Takahama, Y. (2011). Aire-dependent production of XCL1 mediates medullary accumulation of thymic dendritic cells and contributes to regulatory T cell development. *Journal of Experimental Medicine*, 208(2), 383–394. <https://doi.org/10.1084/JEM.20102327>
- Liiv, I., Rebane, A., Org, T., Saare, M., Maslovskaja, J., Kisand, K., Juronen, E., Valmu, L., Bottomley, M. J., Kalkkinen, N., & Peterson, P. (2008). DNA-PK contributes to the phosphorylation of AIRE: importance in transcriptional activity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1783(1), 74–83. <https://doi.org/10.1016/J.BBAMCR.2007.09.003>

- Liston, A., Lesage, S., Wilson, J., Peltonen, L., & Goodnow, C. C. (2003). Aire regulates negative selection of organ-specific T cells. *Nature immunology*, *4*(4), 350–354. <https://doi.org/10.1038/ni906>
- Malchow, S., Leventhal, D. S., Lee, V., Nishi, S., Socci, N. D., & Savage, P. A. (2016). Aire enforces immune tolerance by directing autoreactive T cells into the regulatory T cell lineage. *Immunity*, *44*(5), 1102–1113. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2016.02.009>
- Meloni, A., Incani, F., Corda, D., Cao, A., & Rosatelli, M. C. (2008). Role of PHD fingers and COOH-terminal 30 amino acids in AIRE transactivation activity. *Molecular immunology*, *45*(3), 805–809. <https://doi.org/10.1016/J.MOLIMM.2007.06.156>
- Meredith, M., Zemmour, D., Mathis, D., & Benoist, C. (2015). Aire controls gene expression in the thymic epithelium with ordered stochasticity. *Nature immunology*, *16*(9), 942–949. <https://doi.org/10.1038/NI.3247>
- Metzger, T. C., Khan, I. S., Gardner, J. M., Mouchess, M. L., Johannes, K. P., Krawisz, A. K., Skrzypczynska, K. M., & Anderson, M. S. (2013). Lineage tracing and cell ablation identifies a post-Aire expressing thymic epithelial cell population. *Cell reports*, *5*(1), 166–179. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2013.08.038>
- Meyer, S., Woodward, M., Hertel, C., Vlaicu, P., Haque, Y., Kärner, J., Macagno, A., Onuoha, S. C., Fishman, D., Peterson, H., & Metsküla, K. (2016). AIRE-deficient patients harbor unique high-affinity disease-ameliorating autoantibodies. *Cell*, *166*(3), 582–595. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.06.024>
- Michelson, D. A., Benoist, C., & Mathis, D. (2022). CTLA-4 on thymic epithelial cells complements Aire for T cell central tolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *119*(48), e2215474119. <https://doi.org/10.1073/PNAS.2215474119>
- Michelson, D. A., Hase, K., Kaisho, T., Benoist, C., & Mathis, D. (2022). Thymic epithelial cells co-opt lineage-defining transcription factors to eliminate autoreactive T cells. *Cell*, *185*(14), 2542–2558. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.05.018>



- Miller, C. N., Proekt, I., von Moltke, J., Wells, K. L., Rajpurkar, A. R., Wang, H., Rattay, K., Khan, I. S., Metzger, T. C., Pollack, J. L., Fries, A. C., Lwin, W. W., Wigton, E. J., Parent, A. V., Kyewski, B., Erle, D. J., Hogquist, K. A., Steinmetz, L. M., Locksley, R. M., & Anderson, M. S. (2018). Thymic tuft cells promote an IL-4-enriched medulla and shape thymocyte development. *Nature*, *559*(7715), 627–631. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0345-2>
- Nagamine, K., Peterson, P., Scott, H. S., Kudoh, J., Minoshima, S., Heino, M., Krohn, K. J. E., Lalioti, M. D., Mullis, P. E., Antonarakis, S. E., Kawasaki, K., Asakawa, S., Ito, F., & Shimizu, N. (1997). Positional cloning of the APECED gene. *Nature genetics*, *17*(4), 393–398. <http://www.nature.com/naturegenetics>
- Norio, R. (2014, toukokuuta 12). *Suomalainen tautiperintö: APECED*. Duodecim, Käypä hoito. <https://www.kaypahoito.fi/nix02093>
- Oftedal, B. E., Hellesen, A., Erichsen, M. M., Bratland, E., Vardi, A., Perheentupa, J., Kemp, E. H., Fiskerstrand, T., Viken, M. K., Weetman, A. P., Fleishman, S. J., Banka, S., Newman, W. G., Sewell, W. A. C., Sozaeva, L. S., Zayats, T., Haugarvoll, K., Orlova, E. M., Haavik, J., ... Husebye, E. S. (2015). Dominant mutations in the autoimmune regulator AIRE are associated with common organ-specific autoimmune diseases. *Immunity*, *42*(6), 1185–1196. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2015.04.021>
- Oven, I., Brdičková, N., Kohoutek, J., Vaupotič, T., Narat, M., & Peterlin, B. M. (2007). AIRE recruits P-TEFb for transcriptional elongation of target genes in medullary thymic epithelial cells. *Molecular and cellular biology*, *27*(24), 8815–8823. <https://doi.org/10.1128/MCB.01085-07>
- Perheentupa, J. (2006). Autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *91*(8), 2843–2850. <https://doi.org/10.1210/JC.2005-2611>
- Perry, J. S. A., Lio, C. W. J., Kau, A. L., Nutsch, K., Yang, Z., Gordon, J. I., Murphy, K. M., & Hsieh, C. S. (2014). Distinct contributions of Aire and antigen presenting cell subsets to the generation of self-tolerance in the thymus. *Immunity*, *41*(3), 414–426. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2014.08.007>

- Pezzi, N., Assis, A. F., Cotrim-Sousa, L. C., Lopes, G. S., Mosella, M. S., Lima, D. S., Bombonato-Prado, K. F., & Passos, G. A. (2016). Aire knockdown in medullary thymic epithelial cells affects Aire protein, deregulates cell adhesion genes and decreases thymocyte interaction. *Molecular Immunology*, *77*, 157–173. <https://doi.org/10.1016/J.MO-LIMM.2016.08.003>
- Pinto, S., Michel, C., Schmidt-Glenewinkel, H., Harder, N., Rohr, K., Wild, S., Brors, B., & Kyewski, B. (2013). Overlapping gene coexpression patterns in human medullary thymic epithelial cells generate self-antigen diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(37), E3497–E3505. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1308311110/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Pitkänen, J., Doucas, V., Sternsdorf, T., Nakajima, T., Aratani, S., Jensen, K., Will, H., Vähämurto, P., Ollila, J., Vihinen, M., Scott, H. S., Antonarakis, S. E., Kudoh, J., Shimizu, N., Krohn, K., & Peterson, P. (2000). The autoimmune regulator protein has transcriptional transactivating properties and interacts with the common coactivator CREB-binding protein. *Journal of Biological Chemistry*, *275*(22), 16802–16809. <https://doi.org/10.1074/JBC.M908944199>
- Pitkänen, J., Vähämurto, P., Krohn, K., & Peterson, P. (2001). Subcellular localization of the autoimmune regulator protein. characterization of nuclear targeting and transcriptional activation domain. *The Journal of biological chemistry*, *276*(22), 19597–19602. <https://doi.org/10.1074/JBC.M008322200>
- Plevin, M. J., Mills, M. M., & Ikura, M. (2005). The LxxLL motif: a multifunctional binding sequence in transcriptional regulation. *Trends in biochemical sciences*, *30*(2), 66–69. <https://doi.org/10.1016/J.TIBS.2004.12.001>
- Saare, M., Rebane, A., Rajashekar, B., Vilo, J., & Peterson, P. (2012). Autoimmune regulator is acetylated by transcription coactivator CBP/p300. *Experimental cell research*, *318*(14), 1767–1778. <https://doi.org/10.1016/J.YEXCR.2012.04.013>
- Saltis, M., Criscitiello, M. F., Ohta, Y., Keefe, M., Trede, N. S., Goitsuka, R., & Flajnik, M. F. (2008). Evolutionarily conserved and divergent regions of the Autoimmune Regulator

- (Aire) gene: a comparative analysis. *Immunogenetics*, 60, 105–114. <https://doi.org/10.1007/S00251-007-0268-9>
- Sansom, S. N., Shikama-Dorn, N., Zhanybekova, S., Nusspaumer, G., Macaulay, I. C., Deadman, M. E., Heger, A., Ponting, C. P., & Holländer, G. A. (2014). Population and single-cell genomics reveal the Aire dependency, relief from Polycomb silencing, and distribution of self-antigen expression in thymic epithelia. *Genome research*, 24(12), 1918–1931. <https://doi.org/10.1101/GR.171645.113>
- Shin, S. I., Ham, S., Park, J., Seo, S. H., Lim, C. H., Jeon, H., Huh, J., & Roh, T. Y. (2016). Z-DNA-forming sites identified by ChIP-Seq are associated with actively transcribed regions in the human genome. *DNA Research*, 23(5), 477–486. <https://doi.org/10.1093/DNARES/DSW031>
- Sng, J., Ayoglu, B., Chen, J. W., Schickel, J. N., Ferre, E. M. N., Glauzy, S., Romberg, N., Hoenig, M., Cunningham-Rundles, C., Utz, P. J., Lionakis, M. S., & Meffre, E. (2019). AIRE expression controls the peripheral selection of autoreactive B cells. *Science immunology*, 4(34), eaav6778. [https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.AAV6778/SUPPL\\_FILE/AAV6778\\_TABLE\\_S2.XLSX](https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.AAV6778/SUPPL_FILE/AAV6778_TABLE_S2.XLSX)
- St-Pierre, C., Trofimov, A., Brochu, S., Lemieux, S., & Perreault, C. (2015). Differential features of AIRE-induced and AIRE-independent promiscuous gene expression in thymic epithelial cells. *The Journal of Immunology*, 195(2), 498–506. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1500558>
- Takaba, H., Morishita, Y., Tomofuji, Y., Danks, L., Nitta, T., Komatsu, N., Kodama, T., & Takayanagi, H. (2015). Fezf2 orchestrates a thymic program of self-antigen expression for immune tolerance. *Cell*, 163(4), 975–987. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2015.10.013>
- Taniguchi, R. T., DeVoss, J. J., Moon, J. J., Sidney, J., Sette, A., Jenkins, M. K., & Anderson, M. S. (2012). Detection of an autoreactive T-cell population within the polyclonal repertoire that undergoes distinct autoimmune regulator (Aire)-mediated selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(20), 7847–7852. [https://doi.org/10.1073/PNAS.1120607109/SUPPL\\_FILE/PNAS.201120607SI.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.1120607109/SUPPL_FILE/PNAS.201120607SI.PDF)

- Verhagen, J., Genolet, R., Britton, G. J., Stevenson, B. J., Sabatos-Peyton, C. A., Dyson, J., Luescher, I. F., & Wraith, D. C. (2013). CTLA-4 controls the thymic development of both conventional and regulatory T cells through modulation of the TCR repertoire. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(3), E221–E230.  
[https://doi.org/10.1073/PNAS.1208573110/SUPPL\\_FILE/PNAS.201208573SI.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.1208573110/SUPPL_FILE/PNAS.201208573SI.PDF)
- Wang, J., Lareau, C. A., Bautista, J. L., Gupta, A. R., Sandor, K., Germino, J., Yin, Y., Arvedson, M. P., Reeder, G. C., Cramer, N. T., Xie, F., Ntranos, V., Satpathy, A. T., Anderson, M. S., & Gardner, J. M. (2021). Single-cell multiomics defines tolerogenic extrathymic Aire-expressing populations with unique homology to thymic epithelium. *Science immunology*, *6*(65), eabl5053. [https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.ABL5053/SUPPL\\_FILE/SCIIMMUNOL.ABL5053\\_REPRODUCIBILITY\\_CHECKLIST.ZIP](https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.ABL5053/SUPPL_FILE/SCIIMMUNOL.ABL5053_REPRODUCIBILITY_CHECKLIST.ZIP)
- Watanabe, N., Wang, Y. H., Lee, H. K., Ito, T., Wang, Y. H., Cao, W., & Liu, Y. J. (2005). Hassall's corpuscles instruct dendritic cells to induce CD4+CD25+ regulatory T cells in human thymus. *Nature*, *436*(7054), 1181–1185. <https://doi.org/10.1038/NATURE03886>
- Yamano, T., Nedjic, J., Hinterberger, M., Steinert, M., Koser, S., Pinto, S., Gerdes, N., Lutgens, E., Ishimaru, N., Busslinger, M., Brors, B., Kyewski, B., & Klein, L. (2015). Thymic B cells are licensed to present self antigens for central T cell tolerance induction. *Immunity*, *42*(6), 1048–1061. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2015.05.013>
- Yang, S., Fujikado, N., Kolodin, D., Benoist, C., & Mathis, D. (2015). Immune tolerance. Regulatory T cells generated early in life play a distinct role in maintaining self-tolerance. *Science*, *348*(6234), 589–594. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAA7017>
- Yano, M., Kuroda, N., Han, H., Meguro-Horike, M., Nishikawa, Y., Kiyonari, H., Maemura, K., Yanagawa, Y., Obata, K., Takahashi, S., Ikawa, T., Satoh, R., Kawamoto, H., Mouri, Y., & Matsumoto, M. (2008). Aire controls the differentiation program of thymic epithelial cells in the medulla for the establishment of self-tolerance. *The Journal of experimental medicine*, *205*(12), 2827–2838. <https://doi.org/10.1084/JEM.20080046>

Yoshida, H., Bansal, K., Schaefer, U., Chapman, T., Rioja, I., Proekt, I., Anderson, M. S., Prinjha, R. K., Tarakhovsky, A., Benoist, C., & Mathis, D. (2015). Brd4 bridges the transcriptional regulators, Aire and P-TEFb, to promote elongation of peripheral-tissue antigen transcripts in thymic stromal cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(32), E4448–E4457. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1512081112>

Žumer, K., Low, A. K., Jiang, H., Saksela, K., & Peterlin, B. M. (2012). Unmodified histone H3K4 and DNA-dependent protein kinase recruit autoimmune regulator to target genes. *Molecular and Cellular Biology*, *32*(8), 1354–1362. <https://doi.org/10.1128/MCB.06359-11>