

DNA 甲基化在常见自身免疫性疾病中的作用

李 夏 张 程

摘 要 自身免疫性疾病是指在某些因素刺激下,机体的免疫系统针对自身抗原发生免疫应答,形成自身抗体而导致机体受损所引起的疾病,如 1 型糖尿病、系统性红斑狼疮、系统性硬皮病等。目前表观遗传学为当今医学研究一大热点,其中 DNA 甲基化作为重要组成部分,在自身免疫性疾病的发生中起到重要作用。本文以常见自身免疫性疾病为例,重点阐述 DNA 甲基化在自身免疫性疾病中的作用,从而加强对该类疾病的认识,为临床治疗提供新线索。

关键词 自身免疫性疾病 DNA 甲基化 发病机制

中图分类号 R5 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.06.042

DNA 甲基化是由 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)提供甲基、DNA 甲基化转移酶催化完成的化学修饰,即在胞嘧啶的第 5 位碳原子上加上甲基基团,使之变成 5-甲基胞嘧啶的过程;在不转变 DNA 序列前提下,使遗传表现发生变化。DNA 甲基化的改变可以使某些与黏附因子及细胞因子相关的基因异常表达,使 T 细胞的自身反应性发生改变,从而与自身免疫性疾病发病密切相关^[1]。

一、DNA 甲基化与 1 型糖尿病

糖尿病是由于胰岛素分泌和(或)作用缺陷所引起的以慢性高血糖为特点的代谢性疾病。其中 1 型糖尿病(T1DM)约占 10%,常见于儿童和青少年^[2]。T1DM 又称胰岛素依赖型糖尿病,是有遗传因素的机体在某些外界因素刺激下,激活 T 淋巴细胞介导的自身免疫反应,破坏胰岛 β 细胞,使之不能正常分泌胰岛素,导致胰岛素绝对缺乏。胰岛素样生长因子结合蛋白 1 (insulin-like growth factor binding protein 1, IGFBP-1)是一种由肝脏合成可以调节胰岛素活性的内分泌激素,相关研究表明,当 IGFBP-1 基因处于低甲基化状态时,胰岛素分泌就会减少,从而导致 1 型糖尿病的发生^[3]。Husseiny 等^[4]研究发现,胰岛素基因(insulin-2 gene, Ins-2)可以促进胰岛 β 细胞产生,当 Ins-2 发生高甲基化时,会导致胰岛素细胞生成减少,发生胰岛素抵抗,导致 T1DM 的发病。可见,DNA 甲基化与 1 型糖尿病的

发病密切相关。

二、DNA 甲基化与系统性红斑狼疮

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是由遗传、环境及激素水平等多种因素引起的,血清中含有多种自身抗体攻击身体各个系统,从而导致自身多系统受损的慢性自身免疫性疾病。近年来系统性红斑狼疮表观遗传学的研究已成为热门,大量研究表明,DNA 甲基化状态的改变可导致系统性红斑狼疮的发生,如 DNA 低甲基化可导致某些基因异常表达,迄今为止已发现如 CD70、CD6、CD11a、IL-4、IL-6、IL-10 等多种对甲基化敏感的基因,这些基因在 SLE CD4⁺T 淋巴细胞中均表现为低甲基化状态,导致免疫紊乱,参与 SLE 发病。此外,相关研究也表明 DNA 低甲基化可引起 SLE 患者 CD4⁺T 细胞异常活化,导致 B 细胞分泌大量免疫球蛋白,引起自身免疫紊乱^[5-7]。近年来有研究发现,药物、紫外暴露等环境因素也可通过改变 DNA 甲基化状态诱导 SLE 发病。例如相关文献表明胍苯哒嗪通过抑制胞外信号调节激酶通路(extracellular signal-regulated kinase, ERK),降低 DNA 甲基转移酶 1(DNA methyltransferase 1, DNMT-1)表达,引起 DNA 发生低甲基化从而导致某些患者出现类似系统性红斑狼疮的症状^[8]。众所周知,SLE 患者对紫外线比较敏感,李亚萍等^[9]研究发现,用两种不同强度的紫外线照射 Jurkat 细胞(克隆 E6-1 人 T 淋巴细胞白血病细胞),时间越长,DNA 损伤越严重,而 DNA 总体甲基化水平反而越低,且紫外线强度越强表现越明显。可见,紫外线照射可使 DNA 发生低甲基化导致 SLE 患者发病。以上均证明 DNA 甲基化状态在 SLE 发病机制中有重要作用。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81560012)

作者单位:563003 遵义医学院(李夏);550002 贵州省人民医院呼吸与危重症医学科(张程)

通讯作者:张程,电子信箱:315861985@qq.com

三、DNA 甲基化与系统性硬皮病

系统性硬皮病 (SSc) 是以皮肤及结缔组织硬化为临床表现,可累及皮肤、滑膜及内脏的全身自身免疫性疾病,女性多见。SSc 发病机制十分复杂,近年来相关研究发现 DNA 甲基化与 SSc 自身抗体的形成和胶原异常合成有关。CD70 和 CD27 为协同刺激因子,均属于肿瘤坏死因子,CD70 与 CD27 的相互作用可促进机体产生免疫球蛋白,增加自然杀伤细胞的细胞毒性作用。相关研究发现,在 SSc 患者的 CD4⁺T 淋巴细胞中,CD70 发生低甲基化可导致 CD70 的过度表达,刺激免疫球蛋白的产生,导致 SSc 发生。由此可见,DNA 低甲基化在系统性硬皮病中发挥重要作用^[10]。众所周知,女性的两条 X 染色体中有一条处于失活状态,相关文献表明,DNA 甲基化参与了女性 X 染色体的失活,并使其维持静默状态。CD40L 为 X 染色体编码基因,Lian 等^[11]研究发现,当女性 SSc 患者 CD40L 基因调控序列处于低甲基化状态时,已失活的 X 染色体会发生活化,从而导致 CD40L 过度表达,这可能就是 SSc 常见于女性的原因。Tet1 蛋白是一种能够去除甲基化标记的 DNA 去甲基化酶,具有去甲基化作用。王遥瑶^[12]研究表明,SSc 患者 CD4⁺T 细胞中 Tet1 蛋白明显升高,而整体基因组 DNA 甲基化水平明显降低,进一步说明 DNA 甲基化水平改变与系统性硬皮病的发病密切相关。

四、DNA 甲基化与特发性血小板减少性紫癜

特发性血小板减少性紫癜 (idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP) 是以血小板减少伴或不伴有皮肤黏膜出血为特点的,由多种因素引起的自身免疫性疾病。有研究表明,DNA 甲基化参与了 ITP 的发病^[13]。MBD2、MBD4 为甲基 CpG 结合域蛋白 (MBD),可通过去甲基化转移酶移除基因的甲基团,使该区域染色质结构改变,抑制该区域的基因转录,发挥去甲基化的作用。Chen 等^[14]研究发现,ITP 中 MBD2 和 MBD4 均降低,而 DNA 甲基化水平升高,进一步表明 DNA 甲基化与 ITP 的发病相关。CD70 是一种肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF),CD70 过度表达可引起 T 细胞反应迟钝,导致自身免疫耐受机制产生。Ma 等^[15]研究发现,ITP 患者的 CD70 启动子均处于低甲基化状态,而 CD4⁺T 细胞中 CD70 的表达显著上升,故 DNA 低甲基化可导致 CD70 过度表达。肖爱菊等^[16]研究发现,与正常对照组相比,ITP 患儿外周血淋巴细胞中的 DNA 甲基转移酶 1 (Dnmt1) mRNA 明显降低,因已有相关文献表明 SLE

患者中 Dnmt1 的 mRNA 表达越低,整体基因组 DNA 甲基化水平也越低,故推断 DNA 低甲基化状态与儿童等 ITP 发病密切相关。TRAIL (tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand) 是肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体,主要作用是细胞凋亡、抗肿瘤等。侯明等研究表明,ITP 患者巨核细胞膜、血浆中的 TRAIL 明显减少,巨核细胞凋亡和血小板释放也明显减少,故推测 TRAIL 减少可能抑制巨核细胞凋亡,减少血小板释放,导致 ITP 的发生^[17]。进一步研究表明,当 TRAIL 基因启动子高甲基化时,可抑制基因的表达,使 TRAIL 生成减少。地西他滨是一种 DNA 甲基转移酶抑制剂,低剂量的地西他滨具有去甲基化作用,适量的地西他滨可降低 TRAIL 基因启动子甲基化,增加 TRAIL 基因表达,从而使巨核细胞凋亡及血小板释放增多^[18]。由此进一步说明 TRAIL 基因启动子呈高甲基化状态参与 ITP 的发病。这些都为 ITP 的临床诊断和诊治提供了新的思路。

五、DNA 甲基化与慢性阻塞性肺疾病

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是以持续气流受限为特点的慢性疾病。其病理类型包括慢性支气管炎和肺气肿,该病的患病人数多,致死率高,严重影响患者的劳动力及生存质量。相关文献表明,肺气肿患者的肺实质中有大量的 T 淋巴细胞浸润,血清中存在抗血管内皮细胞抗体,而且 COPD 患者体内也存在多种特异性抗体。由此可见,自身免疫反应与 COPD 密切相关。目前已证实,CD4⁺T 淋巴细胞介导的自身免疫反应参与了 COPD 的发病。人们早已发现 DNA 甲基化状态与 T 淋巴细胞自身活性的调控有关,而相关资料显示,穿孔素基因启动子区域可发生 DNA 甲基化状态改变,如 SLE 患者的 CD4⁺T 淋巴细胞穿孔素启动子区域低甲基化可导致穿孔素过度表达,参与 SLE 发病^[19]。Zhang 等^[20]研究发现,与正常对照组比较,自身免疫性肺气肿大鼠 CD4⁺T 淋巴细胞穿孔素基因启动子甲基化水平明显降低,而穿孔素基因表达水平及肺泡隔细胞凋亡指数则明显升高。廖强等^[21]进一步研究发现,CD4⁺T 淋巴细胞穿孔素基因启动子区低甲基化可诱导穿孔素基因的表达增加,从而参与 COPD 的发生。此外,相关研究表明,COPD 发病中凋亡受到线粒体转录因子 A (mitochondrial transcription factor A, mtTFA) 基因控制,当 mtTFA 基因 DNA 启动子区域处于高甲基化状态时,会抑制 mtTFA 基因表达,AI (凋亡指数) 就会升高,而 FEV1/Pre (FEV1 占预计值

百分比)会降低。由此可见,DNA 甲基化与自身免疫肺气肿形成密切相关,在慢阻肺的发病中也起着至关重要的作用。S - 腺苷甲硫氨酸(S - adenosylmethionine, Adomet, SAM)是一种能改善细胞代谢的生物活性物质,可为许多甲基化反应提供甲基,发挥促甲基化作用。目前 SAM 已用于自身免疫性肺气肿大鼠模型的干预,同时作为一种促甲基化药物在临床上用于治疗肝病、肿瘤等疾病,此为慢阻肺的临床治疗提供新的思路。

值得注意的是,目前对自身免疫性疾病的发病机制仍知之甚少,临床上均采用相同的免疫抑制剂治疗不同的自身免疫疾病,这是治疗方法缺乏特异性。越来越多的证据表明,表观遗传学变化可导致自身免疫反应。DNA 甲基化作为一种重要的基因表达调控机制,在 1 型糖尿病、系统性红斑狼疮、系统性硬皮病、特发性血小板减少性紫癜、慢阻肺等疾病的发生、发展过程中发挥着重要作用。深入研究 DNA 甲基化在自身免疫疾病中的作用,可能会带来更有效、更有针对性的治疗策略。然而,DNA 甲基化的状态在不同的组织和细胞类型中是不同的。相关研究发现 DNA 甲基化在 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞中差异有统计学意义。Maltby 等^[22]在研究多种疾病的表观遗传学变化时发现,CD8⁺T 淋巴细胞和 CD4⁺T 淋巴细胞具有各自的 DNA 甲基化特点。因此,选择适当的细胞或组织类型分析 DNA 甲基化尤为重要。

参考文献

- 1 石文丹,许昱. DNA 甲基化与常见免疫性疾病[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2012, 6(2):136-141
- 2 Parish CR, Freeman C, Ziolkowski AF, *et al.* Unexpected new roles for heparanase in type 1 diabetes and immune gene regulation[J]. Matrix Biol, 2013, 32(5): 228-233
- 3 Gu T, Falhammar H, Gu HF, *et al.* Epigenetic analyses of the insulin-like growth factor binding protein 1 gene in type 1 diabetes and diabetic nephropathy[J]. Clin Epigenet, 2014, 6(1):1-6
- 4 Hussein MI, Kuroda A, Kaye AN, *et al.* Development of a quantitative methylation-specific polymerase chain reaction method for monitoring beta cell death in type 1 diabetes[J]. PLoS One, 2012, 7(10):e47942
- 5 Zhao M, Sun Y, Gao F, *et al.* Epigenetics and SLE: RFX1 downregulation causes CD11a and CD70 overexpression by altering epigenetic modifications in lupus CD4⁺, T cells[J]. J Autoimmun, 2010, 35(1):58-69
- 6 Li Y, Zhao M, Yin H, *et al.* Overexpression of the growth arrest and DNA damage-induced 45α gene contributes to autoimmunity by promoting DNA demethylation in lupus T cells[J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(5):1438-1447
- 7 Zhao S, Wang Y, Liang Y, *et al.* MicroRNA-126 regulates DNA methylation in CD4⁺ T cells and contributes to systemic lupus erythematosus by targeting DNA methyltransferase 1. [J]. Arthritis Rheumatism, 2011, 63(5):1376-1386
- 8 张昱,李晓岚. DNA 甲基化与系统性红斑狼疮的相关性[J]. 皮肤病与性病, 2012, 34(4):211-213
- 9 李亚萍,赵明,陆前进. UVB 对 Jurkat 细胞 Gadd45a 表达和 DNA 甲基化水平的影响[J]. 中华皮肤科杂志, 2010, 43(9):629-632
- 10 Jiang H, Xiao R, Lian X, *et al.* Demethylation of TNFSF7 contributes to CD70 overexpression in CD4⁺ T cells from patients with systemic sclerosis. [J]. Clin Immunol, 2012, 143(1):39-44
- 11 Lian X, Xiao R, Hu X, *et al.* DNA demethylation of CD401 in CD4⁺ T cells from women with systemic sclerosis: a possible explanation for female susceptibility. [J]. Arthritis Rheumatism, 2012, 64(7):2338-2345
- 12 王遥瑶. 系统性硬皮病 CD4⁺T 细胞表观遗传学修饰异常的研究[D]. 长沙:中南大学, 2014
- 13 Li H, Min X, Yang R. DNA methylation and primary immune thrombocytopenia[J]. Semin Hematol, 2013, 50(Suppl 1):S116-126
- 14 Chen ZP, Gu DS, Zhou ZP, *et al.* Decreased expression of MBD2 and MBD4 gene and genomic-wide hypomethylation in patients with primary immune thrombocytopenia[J]. Human Immunol, 2011, 72(6):486-491
- 15 Ma L, Zhou Z, Wang H, *et al.* Increased expressions of DNA methyltransferases contribute to CD70 promoter hypomethylation and overexpression of CD70 in ITP[J]. Mol Immunol, 2011, 48(12-13):1525-1531
- 16 肖爱菊,王团结,曹利佳,等. 儿童免疫性血小板减少症 DNA 甲基转移酶 mRNA 的表达[J]. 临床儿科杂志, 2015, 33(2):147-150
- 17 Yang L, Wang L, Zhao CH, *et al.* Contributions of TRAIL-mediated megakaryocyte apoptosis to impaired megakaryocyte and platelet production in immune thrombocytopenia [J]. Blood, 2010, 116(20):4307-4316
- 18 Zhou H, Hou Y, Liu X, *et al.* Low-dose decitabine promotes megakaryocyte maturation and platelet production in healthy controls and immune thrombocytopenia. [J]. Thromb Haemostasis, 2015, 113(5):1021-1034
- 19 Kaplan MJ, Lu Q, Wu A, *et al.* Demethylation of promoter regulatory elements contributes to perforin overexpression in CD4⁺ lupus T cells [J]. J Immunology, 2004, 172(6):3652-3661
- 20 Zhang C, Yan MY, Lu P, *et al.* Hypomethylation of perforin regulatory elements in CD4⁺ T cells from rat spleens contributes to the development of autoimmune emphysema[J]. Respiratory, 2014, 19(3):376-381
- 21 廖强,张湘燕,李世川,等. CD4⁺T 淋巴细胞穿孔素基因启动子区低甲基化状态在 COPD 中的作用[J]. 医学信息, 2016, 29(14):144-145
- 22 Maltby VE, Graves MC, Lea RA, *et al.* Genome-wide DNA methylation profiling of CD8⁺ T cells shows a distinct epigenetic signature to CD4⁺ T cells in multiple sclerosis patients [J]. Clin Epigenet, 2015, 7(1):1-6

(收稿日期:2017-08-20)

(修回日期:2017-09-24)