

· 综述 ·

表观遗传修饰在自身免疫性甲状腺疾病发病中的作用

杨小颖 唐露霖 尚文斌

南京中医药大学第一临床医学院代谢病中医研究重点实验室 210023

通信作者:尚文斌, Email:wbshang@njucm.edu.cn

【摘要】 表观遗传修饰主要包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰(乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化等)以及非编码 RNAs 作用等,它可以在不改变 DNA 序列的情况下影响基因转录活性。这些修饰对染色体结构的稳定性及基因的表达可能会有一定的影响。近年来越来越多的研究表明,表观遗传修饰在自身免疫性甲状腺疾病(Graves 病和桥本甲状腺炎)的发病机制中发挥重要作用,这为自身免疫性甲状腺疾病的发病机制打开一个新的视角。进一步深入探索表观遗传修饰在自身免疫性甲状腺疾病发病中的作用,可以为该疾病的诊疗提供新的研究策略和思路。

【关键词】 表观遗传修饰;自身免疫性甲状腺疾病;发病机制

基金项目:国家自然科学基金(81873060)

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20191029-10069

The role of epigenetic modification in the pathogenesis of autoimmune thyroid disease Yang Xiaoying, Tang Lulin, Shang Wenbin. Key Laboratory for Metabolic Diseases in Chinese Medicine, First College of Clinical Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Corresponding author: Shang Wenbin, Email:wbshang@njucm.edu.cn

【Abstract】 Epigenetic modifications regulates gene expression without changing DNA sequences in some different ways, which include DNA methylation, histone modifications involving methylation, acetylation, phosphorylation, ubiquitylation, and non-coding RNAs. Each modification may influence the structure of chromatin and gene expression. In recent years, more and more researches show that epigenetic modifications play important roles in the pathogenesis of autoimmune thyroid diseases(Graves' disease, Hashimoto's thyroiditis), which opens a new perspective for the pathogenesis of autoimmune thyroid diseases. Further studies are needed to explore the action of epigenetic modifications on the onset of autoimmune thyroid disease which will provide new research strategies for the diagnosis and treatment of autoimmune thyroid disease.

【Key words】 Epigenetic modifications; Autoimmune thyroid diseases; Pathogenesis

Fund program: National Natural Science Foundation of China(81873060)

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20191029-10069

自身免疫性甲状腺疾病(AITD)是临床常见的自身免疫性内分泌疾病,主要包括Graves病与桥本甲状腺炎(HT)。二者均以甲状腺组织被淋巴细胞浸润(主要涉及T细胞和B细胞),并且存在自身抗体为特点。其发病机制多为遗传和环境等因素相互作用,但这些因素尚未得到充分认识^[1-2]。

表观遗传学作为桥梁,用于研究遗传与环境对疾病发生、发展的影响,在很多疾病的发病机制中发挥重要作用^[3]。表观遗传修饰是指在多种环境因素的作用下,通过DNA甲基化、组蛋白修饰(甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化等)以及非编码RNAs等

多种修饰,调节相关基因的表达,产生可遗传的性状^[4]。近年来研究表明,表观遗传修饰对AITD的发病起关键作用,对此开展深入研究,对明确AITD的发病机制和探索其临床诊治的新策略非常必要。

1 DNA甲基化与AITD

DNA甲基化作为表观遗传修饰的重要组成部分,包括两大类,第一类是指在DNA甲基转移酶(DNMT)的作用下,将甲基加入到CpG二核苷酸的胞嘧啶5碳位,进而形成5-甲基胞嘧啶^[5]。DNA甲基转移酶包括DNMT1、DNMT3A和DNMT3B^[5]。DNA甲基化参与调控基因的表达有多种机制,如

DNA 甲基化可以通过阻止 DNA 结合蛋白在其基因结合靶点的募集而直接抑制转录^[6]。第二类是甲基 CPG 结合蛋白(MBD)。MBD 家族主要由 5 种蛋白组成,分别为 MBD1、MBD2、MBD3、MBD4 和 MECP2。MBD 被募集到启动子区域的甲基胞嘧啶上,通过沉默复合物和组蛋白去乙酰化酶(HDAC)的作用,抑制基因与转录因子的结合,进而调控基因表达^[7-8]。异常的 DNA 甲基化模式或异常的 DNMT 表达与多种自身免疫性疾病的发病有关^[9-11]。

在 AITD 患者的外周血细胞、淋巴细胞和甲状腺细胞中,细胞间黏附分子 1(ICAM1)作为一种细胞表面的糖蛋白,在细胞因子作用下,会在内皮细胞和免疫细胞,如血管内皮细胞、淋巴细胞、巨噬细胞中表达,而血管内皮损伤在白细胞浸润甲状腺组织中发挥重要作用^[12]。最近的一项研究通过分析 Graves 病患者和正常对照组的外周血样本,发现 ICAM1 基因的甲基化水平明显低于正常组,并观察到 82 个高甲基化基因和 103 个低甲基化基因^[12]。该研究提出 ICAM1 基因的低甲基化状态,能诱导并增加 ICAM1 的表达,进而参与甲状腺的炎性反应^[12]。另一项研究自身免疫性甲状腺炎患者甲状腺细胞中 ICAM1 基因启动子区域异常甲基化的实验表明,ICAM1 基因转录起始位点上游的 -708 bp、-692 bp 处于低甲基化状态, -226 bp 区域的 DNA 甲基化水平下降,而这些区域的 DNA 甲基化水平与 ICAM1 mRNA 的表达呈负相关^[13]。上述研究表明, DNA 甲基化可能在调控 Graves 病患者 ICAM1 基因的表达中发挥作用。在新诊断 Graves 病患者的 T 细胞和 B 细胞中均出现低甲基化状态及 DNMT1 表达的下调,同时抗甲状腺药物或放射性碘治疗可恢复这些细胞中 DNA 甲基化水平及增加 DNMT1 的表达^[14]。对 Graves 病患者外周血中纯化 T 细胞全基因组甲基化分析显示,在 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞的全基因组中有 365 个和 3 322 个不同程度的 DNA 甲基化 CPG 位点,其中涉及 T 细胞受体信号通路的基因呈现高甲基化状态,这些基因包括 CD247、LCK、ZAP70、CD3D、CD3E、CD3G、CTLA4 和 CD8A^[15]。并且,该研究首次发现促甲状腺激素受体(TSHR)基因的第二个内含子区域出现高甲基化状态,该内含子区域与 Graves 病的基因多态性相关^[15]。

基因多态性与 DNA 甲基化相关,并对 AITD 产生一定的影响。研究发现, DNMT1 + 32204GG 基因型与较低水平的 DNA 甲基化相关^[16]。白细胞介素

(IL)-1 β 和转化生长因子(TGF)- β 水平与 Graves 病的难治性有关^[17-18]。可能是因为在 DNMT1 + 32204GG 基因型个体中, IL-1 β 和 TGF- β 基因启动子区域的甲基化水平降低,进而增强了 IL-1 β 和 TGF- β 的表达,这可能也是 DNMT1 + 32204GG 基因型 Graves 病患者甲状腺功能难以恢复正常的潜在机制^[16]。5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)作为叶酸代谢的关键酶,在调节甲基化循环的平衡中起重要作用^[19]。在目前已知的 3 种基因型中, MTHFR 677T + CT 基因型可能通过基因组 DNA 低甲基化来影响 Graves 病的发病,对降低女性患者 Graves 病的发病率有一定积极作用^[19]。研究表明,基因型为 MTHFR677T 的健康人群中基因组 DNA 呈低甲基化状态^[20]。在一项探讨大样本 AITD 患者 DNMT 基因多态性的研究中,基因型为 DNMT3B + rs2424913、DNMT1 + rs2228611 者与 AITD 易感性相关^[21]。

2 组蛋白修饰与 AITD

组蛋白修饰通过在组蛋白的尾部加上乙酰基、甲基、磷酸基、泛素基或者其他基团,参与基因表达的调控、DNA 的修复、复制和重组,影响染色体的结构或调节效应分子的结合^[22-23]。以赖氨酸甲基化修饰为例,包括单甲基化、二甲基化和三甲基化^[23]。组蛋白尾部残基上的乙酰化和甲基化修饰是最具有代表性的两个表观遗传修饰,其中组蛋白乙酰化是在组蛋白乙酰基转移酶的作用下发生,并导致染色质结构处于易转录状态^[24-25]。组蛋白甲基化主要发生在具有甲基化位点的核心组蛋白 H3 和 H4 上,可能导致染色体结构更凝固或者松散^[24-25]。

2.1 组蛋白乙酰化与 AITD 组蛋白乙酰化是一种重要的调控基因表达的表观遗传修饰,通常发生在组蛋白的尾部,受组蛋白乙酰转移酶(HAT)和 HDAC 的严格控制^[5, 26]。

研究发现,在 Graves 病患者的外周血单核细胞中,组蛋白 H4 呈低乙酰化状态,同时伴随着 HDAC1 mRNA 和 HDAC2 mRNA 表达上调^[25]。在另一项研究中, Graves 病患者的 T 细胞信号基因启动子组蛋白 3 赖氨酸 27 乙酰化(H3K27ac)水平降低^[15]。上述结果提示,组蛋白乙酰化水平的改变在 Graves 病发病中发挥作用。

2.2 组蛋白甲基化与 AITD 组蛋白甲基化是组蛋白的共价修饰之一,主要发生在赖氨酸和精氨酸残基的侧链上^[23]。赖氨酸残基可以是单甲基化、二甲

基化或三甲基化(me1、me2 或 me3),而精氨酸残基可以是单甲基化、二甲基化(me1、me2s 或 me2as)^[23]。每个侧链上的甲基化由甲基转移酶催化^[27]。甲基化后的组蛋白可以使染色体的结构发生改变,进而调控基因的表达^[24-25]。

在 Graves 病患者的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞中,参与 T 细胞信号激活的基因,包括 CD247、CD3E、CD3G、LCK、ZAP70 和 CTLA4 等都出现了不同程度的 H3 组蛋白 4 赖氨酸的三甲基化(H3K4me3)水平的降低^[15]。而另一项研究却表明,甲状腺球蛋白(Tg)近端启动子和 rs180195 基因位点有组蛋白 H3 单甲基化的富集^[28]。这些研究表明,在 AITD 患者中存在异常的组蛋白甲基化,但其具体机制及二者之间的因果关系有待进一步探索。

3 非编码蛋白 RNAs(ncRNAs)与 AITD

在哺乳动物中,只有 2% 左右的转录本可以翻译成具有功能的蛋白,剩余的转录本即 ncRNAs,在基因调控中发挥重要作用^[29]。ncRNAs 可进一步分为 tRNAs、rRNAs、剪接体 RNAs、核仁小分子 RNAs(snoRNAs)、微小 RNAs(miRNAs)、短链干扰 RNAs、双链小 RNAs、长链非编码蛋白 RNAs(lncRNAs)和其他 RNAs^[23]。

3.1 miRNAs miRNAs 的长度约为 22 个核苷酸^[30]。通过与目标 mRNAs 序列互补结合,以及翻译抑制或降解目标 mRNA 来实现转录后水平的负调控^[31]。同时也是 T 细胞活化、增殖和细胞因子产生的重要调控因子,具有调节基因表达的功能^[32]。

在 AITD 患者的外周血、甲状腺组织中存在多种 miRNAs,并且其表达水平在不同的 AITD 中具有差异性。miRNA-154、miRNA-376b 和 miRNA-431 的表达在新诊断 Graves 病患者的外周血单核细胞中被抑制,在病情缓解后,这 3 种 miRNAs 的表达则恢复正常^[33]。与对照组相比,HT 患者血清 miRNA-22、miRNA-375 和 miRNA-451 表达水平升高,而在 Graves 病患者的血清中,miRNA-16、miRNA-22、miRNA-375 和 miRNA-451 表达水平升高^[34]。miRNA-200a 和 miRNA-155 在 Graves 病和 HT 患者中有明显差异^[35]。临床研究表明,在 Graves 病患者的甲状腺组织中有 23 个 miRNAs 表达出现差异,导致 1 271 个 mRNAs 转录上调,777 个 mRNAs 转录下调。对差异表达的 miRNAs 及其目标 mRNAs 的综合分析显示,在 Graves 病患者的甲状腺组织中,miRNA-22 和 miRNA-183 表达增加,而其潜在目标 mRNAs 的表达

就会减少。相反,miRNA-101、miRNA-197 和 miRNA-6 的表达减少,其潜在目标 mRNAs 的表达则会增加^[31]。因此有研究者提出,可将表达异常的 miRNAs 作为 AITD 的新型生物学标志物或者治疗的生物学靶点^[33, 36]。

有研究尝试阐述 miRNAs 在 AITD 发病中可能的生物学调控作用或者临床意义。在 Graves 眼病中,miRNA-155 增加和 miRNA-146a 减少可能促进眼部炎症反应和眼部纤维组织增殖^[37]。血清 miRNA-146a 和 IL-17 水平与 Graves 眼病的活动度显著相关^[38]。在 HT 患者中,miRNA-125a-3p 表达降低可上调 IL-23 受体水平^[39]。miRNA-346 通过与滤泡辅助 T 细胞 Bcl-6 靶向结合,进而调控 CD4(+) CXCR5(+) T 细胞,这一生物学效应可能在 Graves 病的发病中发挥重要作用^[40]。与 Graves 病患者和健康对照组相比,HT 患者外周血中 miRNAlet-7e 的表达水平升高,表明 miRNAlet-7e 可能通过调节细胞内 IL-10 的表达而参与 HT 的发病^[41]。HT 患者甲状腺细胞中 miRNA141 的表达下调,推测其与 TGF- β 通路中的 TGF β 受体 1(TGF β R1)结合,产生负反馈调节作用,导致 IL-2 表达增加,进而导致 HT 的发生^[30]。Graves 病患者外周血单核细胞中 miRNA-125a 表达下调,推测其通过 IL-6、TGF- β 间接促进辅助性 T 细胞(Th)17 细胞的分化,进而导致 Graves 病的发生^[42]。

在未治疗 Graves 病患者的外周血单核细胞 CD4⁺ T 细胞中,miRNA-4443 表达水平显著升高,其变化影响了核因子- κ B 通路的活性^[32]。在 Graves 病患者的外周血中,当参与核因子- κ B 通路的肿瘤坏死因子受体相关因子-4(TRAF-4)不再表达时,细胞因子的产生和 CD4⁺ T 细胞的增殖明显增多,表明 miRNA-4443 作为 Graves 病的一个潜在诱发因素,是通过增加细胞因子的分泌和促进 CD4⁺ T 细胞的增殖参与 Graves 病的发病^[32]。另一项研究表明,miRNA-142-5p、miRNA-142-3p、miRNA-146a 在 HT 患者的甲状腺细胞中均有较高的表达水平,而且在 HT 患者的血清中,也能检测到 miRNA-142-5p,并且其水平与 Tg 抗体水平呈正相关^[43]。此外,在 HT 患者的甲状腺细胞中,miRNA-142-5p 的过度表达导致 Claudin-1 mRNA 及 Claudin 蛋白表达减少,进而导致甲状腺细胞膜通透性增加^[43]。

3.2 lncRNAs lncRNAs 是指长度超过 200 个核苷酸的非编码蛋白的碱基序列^[44]。目前尚未发现

lncRNAs具有编码蛋白质的能力,但其可以通过募集组蛋白甲基转移酶使目标基因的组蛋白甲基化,进而抑制基因表达^[45],或者募集含有甲基酶的沉默复合物或者通过组蛋白的泛素化来调控基因表达^[29, 46]。随着对lncRNAs的深入研究,其有望成为药物研发的新方向^[47]。

有研究者提出,lncRNAs作为一种新的调控单核苷酸多态性(SNPs)的靶点,对Graves病的发展及

预后可能有一定的影响^[48-49]。研究显示,Graves病患者SNP1456988周围有两种非编码RNA,分别是C14orf64和CG14q32.2,而C14orf64在CD4⁺T细胞的表达与SNP1456988基因有关^[49]。8号染色体上存在一个与AITD易感性相关的基因,即SAS-ZFAT,其只在除胎盘以外的外周血中表达,尚未发现其具有编码蛋白的功能。因此,它将作为一个ncRNA,参与AITD的调控^[48]。

表1 AITD中的表观遗传修饰

表观遗传修饰	样本来源	疾病	病理改变	参考文献
DNA 甲基化	外周血	GD	82 个高甲基化基因和 103 个低甲基化基因,其中 ICAM1 基因甲基化水平明显降低。	12
DNA 甲基化	甲状腺细胞	HT	ICAM1 基因启动子区出现低甲基化。	13
DNA 甲基化	T 和 B 淋巴细胞	GD	全基因组出现低甲基化状态。	14
DNA 甲基化	CD4 ⁺ 和 CD8 ⁺ T 细胞	GD	全基因组中有 365 个和 3 322 个不同程度的 DNA 甲基化 CPG 位点,其中 CD247、LCK、ZAP70、CD3D、CD3E、CD3G、CTLA4 和 CD8A 基因呈现高甲基化状态;TSHR 基因的第二个内含子区呈高甲基化状态。	15
组蛋白尾部乙酰化	外周血单核细胞	GD	组蛋白 H4 呈低乙酰化状态。	25
组蛋白尾部乙酰化	CD4 ⁺ 和 CD8 ⁺ T 细胞	GD	CD247、CD3E、CD3G、LCK、ZAP70 和 CTLA4 等基因的启动子区组蛋白 H3 赖氨酸 27 乙酰化水平偏低。	15
组蛋白尾部甲基化	CD4 ⁺ 和 CD8 ⁺ T 细胞	GD	CD247、CD3E、CD3G、LCK、ZAP70 和 CTLA4 等基因的启动子区 H3 组蛋白 4 赖氨酸三甲基化水平出现不同程度的降低。	15
组蛋白尾部甲基化	甲状腺细胞	AITD	Tg 近端启动子和 rs180195 基因位点有组蛋白 H3 单甲基化的富集。	28
miRNA 表达	外周血单核细胞	GD	miRNA-154、miRNA-376b 和 miRNA-431 的表达在新诊断为 GD 患者的外周血单核细胞中被抑制。	33
miRNA 表达	血清	GD	miRNA-16、miRNA-22、miRNA-375 和 miRNA-451 表达水平升高。	34
miRNA 表达	血清	HT	miRNA-22、miRNA-375 和 miRNA-451 表达水平升高。	34
miRNA 表达	CD4 ⁺ 和 CD8 ⁺ T 细胞	GD 和 HT	miRNA-200a 和 miRNA-155 在 GD 和 HT 患者中有明显的差异。	35
miRNA 表达	甲状腺细胞	GD	23 个 miRNAs 表达出现差异,导致 1 271 个 mRNAs 转录上调,777 个 mRNAs 转录下调。	31
miRNA 表达	CD4 ⁺ T 细胞和眼窝成纤维细胞	GD 眼病	miRNA-155 表达增加,miRNA-146a 表达减少。	37
miRNA 表达	血清	GD 眼病	血清中 miRNA-146a 和白细胞介素 17 的水平与 Graves 眼病的活动度有显著相关性。	38
miRNA 表达	外周血单核细胞和甲状腺细胞	HT	miRNA-125a-3p 表达降低可上调白细胞介素 23 受体水平。	39
miRNA 表达	血浆和 CD4 ⁺ T 细胞	GD	miRNA-346 通过和滤泡辅助 T 细胞Bcl-6靶向结合,进而调控 CD4(+)CXCR5(+) T 细胞。	40
miRNA 表达	外周血	HT	miRNA let-7e 的表达水平升高	41
miRNA 表达	甲状腺细胞	HT	miRNA141 表达下调。	30
miRNA 表达	外周血单核细胞	GD	miRNA-125a 表达下调。	42
miRNA 表达	CD4 ⁺ T 细胞	GD	miRNA-4443 表达水平显著升高。	32
miRNA 表达	甲状腺细胞	HT	miRNA-142-5p、miRNA-142-3p、miRNA-146a 高表达。	43
lncRNAs	外周血单核细胞	GD	lncRNAC14orf64 和 GDCG14q32.2 在 CD4 ⁺ 和 CD8 ⁺ T 细胞中高表达。	49
lncRNAs	外周血	AITD	非编码基因 SAS-ZFAT8 的表达与 AITD 易感性有关。	48
lncRNAs	外周血,甲状腺组织	HT	γ 干扰素基因反义 RNA1 (lncRNA IFNG-AS1) 调节 T 淋巴细胞中干扰素的表达。	50

注:AITD:自身免疫性甲状腺疾病;GD:Graves病;HT:桥本甲状腺炎;TSHR:促甲状腺激素受体;Tg:甲状腺球蛋白;CTLA4:细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4;miRNA:微小RNA;lncRNAs:长链非编码RNAs

HT 患者外周血辅助性 T 细胞 1 型的比例及 γ 干扰素 mRNA 的表达均增加,而 γ 干扰素基因反义 RNA1 (lncRNA IFNG-AS1) 表达上调与外周血中辅助性 T 细胞 1 型的比例、干扰素 mRNA 的表达、Tg 抗体水平、甲状腺过氧化物酶抗体水平呈正相关。IFNG-AS1 表达与 IFNG 的转录水平成正比。lncRNA IFNG-AS1 通过作用于辅助性 T 细胞 1 型,进而对 HT 的发病产生一定的影响,但其具体作用机制尚不明确^[50]。

4 问题与展望

表观遗传学作为生物学一个新兴的领域,将环境因素与基因作用联系在一起,而表观遗传修饰作为表观遗传学的重要组成部分,为探究疾病的发病机制提供了新视角。目前研究证明,表观遗传修饰与 AITD 存在复杂的关系,并且在 AITD 中发挥重要作用(表 1),使发现新型生物学标志物检测 AITD 成为可能,也为发现药物治疗靶点及新药物的研发提供新思路。

但相关研究仍有许多不足:(1)研究类型单一、深度与广度不够:大部分临床研究是横断面研究或者初步试验,对表观遗传修饰的认识更多停留于理论水平,结合试验结果提出一定的猜想,不能提供二者因果关系的强有力证据,未能探讨出更深层面的机制。而纵向研究对疾病随时间进展有何改变及疾病的预后是非常必要的。大部分的临床研究主要探讨 DNA 甲基化与 AITD 的关系,研究方向较为单一。在 ncRNAs 方面,大多停留于相关性研究,其与 AITD 的关系仍需要大量的分子及临床研究来验证。环境因素如何通过表观遗传修饰影响 AITD 的研究较少,并且表观遗传修饰通常是相互作用,而当前试验多局限于研究某一种表观遗传修饰对 AITD 的作用,无法进一步精确阐明表观遗传修饰如何作用于 AITD。(2)分类不够清晰:AITD 主要包括 Graves 病和 HT,大多数临床及分子研究集中于 Graves 病,对 HT 和 Graves 病在表观遗传修饰中差异性的研究较少,如组蛋白修饰主要在 Graves 病患者中开展,而 HT 患者组蛋白修饰的相关研究不常见,这样无法精确地从表观遗传修饰方面区别 Graves 病和 HT。(3)试验样本的多样选择导致试验结果的差异,以血清为样本得到的结果和以甲状腺细胞为样本得出的结果可能会不同。

总之,仍需更多的研究来明确已知的表观遗传修饰,并将这些修饰与某种疾病或某种环境暴露所特有的改变途径相联系,同时探索自身免疫性疾病共同的发病机制。另外,增加样本量、明确样本差异

对结果的影响、利用各种试验工具及技术,如生物信息学和高通量测序,加强相关基础及临床研究等有助于明确表观遗传修饰在 AITD 发病中的作用,为疾病的预防、诊断、治疗以及新型药物的开发开辟道路。

参 考 文 献

- [1] Antonelli A, Ferrari SM, Corrado A, et al. Autoimmune thyroid disorders[J]. *Autoimmun Rev*, 2015, 14(2): 174-180. DOI: 10.1016/j.autrev.2014.10.016.
- [2] Morshed SA, Latif R, Davies TF. Delineating the autoimmune mechanisms in Graves' disease[J]. *Immunol Res*, 2012, 54(1-3): 191-203. DOI: 10.1007/s12026-012-8312-8.
- [3] Feinberg AP. The key role of epigenetics in human disease prevention and mitigation[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(14): 1323-1334. DOI: 10.1056/NEJMr1402513.
- [4] Hirst M, Marra MA. Epigenetics and human disease[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2009, 41(1): 136-146. DOI: 10.1016/j.biocel.2008.09.011.
- [5] Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease[J]. *Nat Biotechnol*, 2010, 28(10): 1057-1068. DOI: 10.1038/nbt.1685.
- [6] Kuroda A, Rauch TA, Todorov I, et al. Insulin gene expression is regulated by DNA methylation[J]. *PLoS One*, 2009, 4(9): e6953. DOI: 10.1371/journal.pone.0006953.
- [7] Esteller M. Epigenetic gene silencing in cancer: the DNA hypermethylome[J]. *Hum Mol Genet*, 2007, 16(1): R50-R59. DOI: 10.1093/hmg/ddm018.
- [8] Lopez-Serra L, Esteller M. Proteins that bind methylated DNA and human cancer: reading the wrong words[J]. *Br J Cancer*, 2008, 98(12): 1881-1885. DOI: 10.1038/sj.bjc.6604374.
- [9] Richardson B. DNA methylation and autoimmune disease[J]. *Clin Immunol*, 2003, 109(1): 72-79. DOI: 10.1016/s1521-6616(03)00206-7.
- [10] Ballestar E. Epigenetic alterations in autoimmune rheumatic diseases[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2011, 7(5): 263-271. DOI: 10.1038/nrrheum.2011.16.
- [11] Sun B, Hu L, Luo ZY, et al. DNA methylation perspectives in the pathogenesis of autoimmune diseases[J]. *Clin Immunol*, 2016, 164: 21-27. DOI: 10.1016/j.clim.2016.01.011.
- [12] Cai TT, Muhali FS, Song RH, et al. Genome-wide DNA methylation analysis in Graves' disease[J]. *Genomics*, 2015, 105(4): 204-210. DOI: 10.1016/j.ygeno.2015.01.001.
- [13] Liu T, Sun J, Wang Z, et al. Changes in the DNA methylation and hydroxymethylation status of the intercellular adhesion molecule 1 gene promoter in thyrocytes from autoimmune thyroiditis patients[J]. *Thyroid*, 2017, 27(6): 838-845. DOI: 10.1089/thy.2016.0576.
- [14] Guo Q, Wu D, Yu H, et al. Alterations of global DNA methylation and DNA methyltransferase expression in T and B lymphocytes from patients with newly diagnosed autoimmune thyroid diseases after treatment: a follow-up study[J]. *Thyroid*, 2018, 28(3): 377-385. DOI: 10.1089/thy.2017.0301.
- [15] Limbach M, Saare M, Tserel L, et al. Epigenetic profiling in CD4⁺ and CD8⁺ T cells from Graves' disease patients reveals changes in genes associated with T cell receptor signaling[J]. *J Autoimmun*, 2016, 67: 46-56. DOI: 10.1016/j.jaut.2015.09.006.
- [16] Arakawa Y, Watanabe M, Inoue N, et al. Association of polymorphisms in DNMT1, DNMT3A, DNMT3B, MTHFR and MTRR genes with global DNA methylation levels and prognosis of autoimmune thyroid disease[J]. *Clin Exp Immunol*, 2012, 170(2): 194-201. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2012.04646.x.
- [17] Yamada H, Watanabe M, Nanba T, et al. The +869T/C polymor-

- phism in the transforming growth factor-beta1 gene is associated with the severity and intractability of autoimmune thyroid disease [J]. *Clin Exp Immunol*, 2008, 151 (3) : 379-382. DOI: 10. 1111/j. 1365-2249. 2007. 03575. x.
- [18] Hayashi F, Watanabe M, Nanba T, et al. Association of the -31C/T functional polymorphism in the interleukin-1beta gene with the intractability of Graves' disease and the proportion of T helper type 17 cells [J]. *Clin Exp Immunol*, 2009, 158 (3) : 281-286. DOI: 10. 1111/j. 1365-2249. 2009. 04034. x.
- [19] Mao R, Fan Y, Zuo L, et al. Association study between methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and Graves' disease [J]. *Cell Biochem Funct*, 2010, 28 (7) : 585-590. DOI: 10. 1002/cbf. 1694.
- [20] Stern LL, Mason JB, Selhub J, et al. Genomic DNA hypomethylation, a characteristic of most cancers, is present in peripheral leukocytes of individuals who are homozygous for the C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2000, 9 (8) : 849-853.
- [21] Cai TT, Zhang J, Wang X, et al. Gene-gene and gene-sex epistatic interactions of DNMT1, DNMT3A and DNMT3B in autoimmune-thyroid disease [J]. *Endocr J*, 2016, 63 (7) : 643-653. DOI: 10. 1507/endocrj. EJ15-0596.
- [22] Zhao Y, Garcia BA. Comprehensive catalog of currently documented histone modifications [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2015, 7 (9) : a025064. DOI: 10. 1101/cshperspect. a025064.
- [23] Zoghbi HY, Beaudet AL. Epigenetics and human disease [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2016, 8 (2) : a019497. DOI: 10. 1101/cshperspect. a019497.
- [24] Berger SL. The complex language of chromatin regulation during transcription [J]. *Nature*, 2007, 447 (7143) : 407-412. DOI: 10. 1038/nature05915.
- [25] Yan N, Zhou JZ, Zhang JA, et al. Histone hypoacetylation and increased histone deacetylases in peripheral blood mononuclear cells from patients with Graves' disease [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 414 : 143-147. DOI: 10. 1016/j. mce. 2015. 05. 037.
- [26] Wang Z, Zang C, Cui K, et al. Genome-wide mapping of HATs and HDACs reveals distinct functions in active and inactive genes [J]. *Cell*, 2009, 138 (5) : 1019-1031. DOI: 10. 1016/j. cell. 2009. 06. 049.
- [27] Cao H, Li L, Yang D, et al. Recent progress in histone methyltransferase (G9a) inhibitors as anticancer agents [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 179 : 537-546. DOI: 10. 1016/j. ejmech. 2019. 06. 072.
- [28] Stefan M, Jacobson EM, Huber AK, et al. Novel variant of thyroglobulin promoter triggers thyroid autoimmunity through an epigenetic interferon alpha-modulated mechanism [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286 (36) : 31168-31179. DOI: 10. 1074/jbc. M111. 247510.
- [29] Mattick JS. Non-coding RNAs: the architects of eukaryotic complexity [J]. *EMBO Rep*, 2001, 2 (11) : 986-991. DOI: 10. 1093/embo-reports/kve230.
- [30] Dorris ER, Smyth P, O'Leary JJ, et al. MIR141 expression differentiates Hashimoto thyroiditis from PTC and benign thyrocytes in Irish archival thyroid tissues [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2012, 3 : 102. DOI: 10. 3389/fendo. 2012. 00102.
- [31] Qin Q, Wang X, Yan N, et al. Aberrant expression of miRNA and mRNAs in lesioned tissues of Graves' disease [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35 (5) : 1934-1942. DOI: 10. 1159/000374002.
- [32] Qi Y, Zhou Y, Chen X, et al. MicroRNA-4443 causes CD4⁺ T cells dysfunction by targeting TNFR-associated factor 4 in Graves' disease [J]. *Front Immunol*, 2017, 8 : 1440. DOI: 10. 3389/fimmu. 2017. 01440.
- [33] Liu R, Ma X, Xu L, et al. Differential microRNA expression in peripheral blood mononuclear cells from Graves' disease patients [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97 (6) : E968-E972. DOI: 10. 1210/jc. 2011-2982.
- [34] Yamada H, Itoh M, Hiratsuka I, et al. Circulating microRNAs in autoimmune thyroid diseases [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2014, 81 (2) : 276-281. DOI: 10. 1111/cen. 12432.
- [35] Bernecker C, Halim F, Lenz L, et al. microRNA expressions in CD4⁺ and CD8⁺ T-cell subsets in autoimmune thyroid diseases [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2014, 122 (2) : 107-112. DOI: 10. 1055/s-0033-1361088.
- [36] Martínez-Hernández R, Sampedro-Núñez M, Serrano-Somavilla A, et al. A microRNA signature for evaluation of risk and severity of autoimmune thyroid diseases [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2018, 103 (3) : 1139-1150. DOI: 10. 1210/je. 2017-02318.
- [37] Li K, Du Y, Jiang BL, et al. Increased microRNA-155 and decreased microRNA-146a may promote ocular inflammation and proliferation in Graves' ophthalmopathy [J]. *Med Sci Monit*, 2014, 20 : 639-643. DOI: 10. 12659/MSM. 890686.
- [38] Wei H, Guan M, Qin Y, et al. Circulating levels of miR-146a and IL-17 are significantly correlated with the clinical activity of Graves' ophthalmopathy [J]. *Endocr J*, 2014, 61 (11) : 1087-1092. DOI: 10. 1507/endocrj. ej14-0246.
- [39] Peng H, Liu Y, Tian J, et al. Decreased expression of microRNA-125a-3p upregulates interleukin-23 receptor in patients with Hashimoto's thyroiditis [J]. *Immunol Res*, 2015, 62 (2) : 129-136. DOI: 10. 1007/s12026-015-8643-3.
- [40] Chen J, Tian J, Tang X, et al. MiR-346 regulates CD4⁺ CXCR5⁺ T cells in the pathogenesis of Graves' disease [J]. *Endocrine*, 2015, 49 (3) : 752-760. DOI: 10. 1007/s12020-015-0546-5.
- [41] Kagawa T, Watanabe M, Inoue N, et al. Increases of microRNA let-7e in peripheral blood mononuclear cells in Hashimoto's disease [J]. *Endocr J*, 2016, 63 (4) : 375-380. DOI: 10. 1507/endocrj. EJ15-0577.
- [42] Inoue Y, Watanabe M, Inoue N, et al. Associations of single nucleotide polymorphisms in precursor-microRNA (miR)-125a and the expression of mature miR-125a with the development and prognosis of autoimmune thyroid diseases [J]. *Clin Exp Immunol*, 2014, 178 (2) : 229-235. DOI: 10. 1111/cei. 12410.
- [43] Zhu J, Zhang Y, Zhang W, et al. MicroRNA-142-5p contributes to Hashimoto's thyroiditis by targeting CLDN1 [J]. *J Transl Med*, 2016, 14 (1) : 166. DOI: 10. 1186/s12967-016-0917-6.
- [44] Perkel JM. Visiting "noncodarnia" [J]. *Biotechniques*, 2013, 54 (6) : 301, 303-304. DOI: 10. 2144/000114037.
- [45] Rinn JL, Kertesz M, Wang JK, et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs [J]. *Cell*, 2007, 129 (7) : 1311-1323. DOI: 10. 1016/j. cell. 2007. 05. 022.
- [46] Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls [J]. *Nature*, 2007, 447 (7145) : 661-678. DOI: 10. 1038/nature05911.
- [47] Matsui M, Corey DR. Non-coding RNAs as drug targets [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16 (3) : 167-179. DOI: 10. 1038/nrd. 2016. 117.
- [48] Shirasawa S, Harada H, Furugaki K, et al. SNPs in the promoter of a B cell-specific antisense transcript, SAS-ZFAT, determine susceptibility to autoimmune thyroid disease [J]. *Hum Mol Genet*, 2004, 13 (19) : 2221-2231. DOI: 10. 1093/hmg/ddh245.
- [49] Zhao SX, Xue LQ, Liu W, et al. Robust evidence for five new Graves' disease risk loci from a staged genome-wide association-analysis [J]. *Hum Mol Genet*, 2013, 22 (16) : 3347-3362. DOI: 10. 1093/hmg/ddt183.
- [50] Peng H, Liu Y, Tian J, et al. The long noncoding RNA IFNG-AS1 promotes T helper type 1 cells response in patients with Hashimoto's thyroiditis [J]. *Sci Rep*, 2015, 5 : 17702. DOI: 10. 1038/srep17702.

(收稿日期: 2019-10-29)

(本文编辑: 刘欣)