

表观遗传学与 Graves 病发病机制相关性的最新研究进展

程洁, 徐瑾^(通信作者*), 向维

(三峡大学医学院三峡大学第二人民医院内分泌科, 湖北 宜昌 443000)

摘要: 表观遗传学一直是众多学者研究的热点之一, 指无需改变 DNA 序列即可发生的基因表达的可遗传变化, 包括DNA甲基化、组蛋白修饰和非编码RNA (miRNA、lncRNA) 的表达。甲状腺功能亢进症是临床上一种常见的内分泌系统疾病, 其中80%是由Graves病 (GD) 引起的。表观遗传学是环境与遗传之间的桥梁。迄今为止, 大量研究表明了遗传、环境和表观遗传因素在GD发病机制中的潜在贡献, 但这些因素仍未清楚阐明, 本文就表观遗传学修饰与GD最新的相关性研究进展做一综述。

关键词: DNA甲基化; 组蛋白修饰; lncRNA; miRNA; Graves病

中图分类号: R3

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1671-3141.2023.24.009

本文引用格式: 程洁, 徐瑾, 向维. 表观遗传学与Graves病发病机制相关性的最新研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2023, 23(24): 55-60.

Recent Advances in the Relationship between Epigenetics and the Pathogenesis of Graves' Disease

CHENG Jie, XU Jin*, XIANG Wei

(Department of Endocrinology, the Second People's Hospital of China Three Gorges University, Medical College of China Three Gorges University, Yichang Hubei 443000)

ABSTRACT: Epigenetics has been one of the research hotspots of many scholars, which refers to the heritable changes in gene expression without changing DNA sequence, including DNA methylation, histone modification and the expression of non-coding RNA (miRNA, lncRNA). Hyperthyroidism is a common endocrine disease, 80% of which is caused by Graves' disease (GD). Epigenetics is the bridge between environment and heredity. So far, a large number of studies have shown the potential contribution of genetic, environmental and epigenetic factors in the pathogenesis of GD, but these factors have not been clearly elucidated. This article reviews the latest research progress on the correlation between epigenetic modifications and GD.

KEY WORDS: DNA methylation; histone modification; lncRNA; miRNA; Graves' disease

0 引言

Graves病 (GD) 是临床上甲状腺功能亢进症最常见的病因 (80%), 属于自身免疫性甲状腺病 (AITD) 发病原因之一, 是由于循环IgG 抗体激活促甲状腺激素受体(TSHR)而导致甲状腺功能亢进^[1]。越来越多的研究表明遗传、表观遗传及环境因素之间的相互作用在GD的发病机制中起了重要作用, 但这些因素仍未具体阐明。

表观遗传学作为环境与遗传之间的桥梁, 已被证实在众多疾病包括自身免疫性疾病的发病机制中发挥重要作用。表观遗传学修饰指无需改变 DNA 序列即可发生的基因表达的可遗传变化, 包括DNA 甲基化、组蛋白修饰和非编码RNA (miRNA、lncRNA) 的表达^[2]。已有研究发现^[3]表观遗传学修饰可影响自身免疫性甲状腺病 (AITD) 的易感性, 环境因素如压力、碘饮食、感染和吸烟与GD的发病有关, 且被证实可调节和改变DNA甲基化和组蛋白修

基金项目: 湖北陈孝平科技发展基金 (项目编号: 2020004)。

饰。对表观遗传学与GD的深入研究，与可为临床诊治提供新思路及新靶点。

1 DNA甲基化与GD

DNA 甲基化是被研究的最多的表观遗传修饰类型，主要通过胞嘧啶和鸟嘌呤丰富的位点（CpG岛）的胞嘧啶残基的第五个碳原子上添加甲基从而调节基因表达^[4]。DNA甲基化是多种细胞过程所需的生理机制，包括基因组印记、细胞分化、胚胎发育、X染色体失活和细胞特性的维持等，也是调节免疫系统的重要机制之一^[4-5]。

在GD中，遗传、表观遗传和环境因素的共同作用导致甲状腺的自身免疫反应，其特征是淋巴细胞浸润（T细胞及B细胞）及存在针对促甲状腺激素受体（TSHR）和其他甲状腺抗原的自身抗体。有研究^[6]通过对GD患者CD4⁺和CD8⁺T细胞中的DNA甲基化进行了全基因组分析，发现了365和3322个差异甲基化CpG位点，且在高甲基化的CpG位点中，特别发现了与T细胞信号传导有关的基因，包括CD247、ZAP70、LCK、CD3E、CD3D、CD3G、CD8A和CTLA4的表达降低，并首次发现了TSHR基因第一个内含子的高甲基化状态，其中有几个位点（如rs179247、rs12101255）已被证实与GD的基因多态性有关。Cai^[7]等人通过分析GD患者外周血样本发现，SERPINA1（94856657）、IRS4（107979477）、B3GNT2（62422532和62422689）和CDKN2C（51436061）的五个CpG位点在GD患者和对照之间具有显著不同的甲基化水平，B3GNT2的62422532甲基化水平与血清TGAb和TRAb水平显著相关，且发现不同位点的甲基化水平与性别、年龄显著相关。细胞间粘附分子1^[8]（ICAM-1）是一种糖蛋白，由ICAM-1基因编码，可在内皮细胞和免疫系统细胞上表达。在某些情况下ICAM-1由细胞因子刺激后，可在巨噬

细胞、淋巴细胞、实质细胞甚至血管内皮表达。早期有研究报道^[9]，GD患者的血液或组织样本中ICAM-1的表达增加。最近有学者^[10]通过对GD患者血液样本中提取DNA以分析ICAM-1甲基化状态，发现在GD中ICAM-1甲基化频率为10%，较对照组（30%）显著降低，且GD患者ICAM-1甲基化降低和眼球突出与高TSH水平之间存在相关性，证实DNA 甲基化可能在GD患者的ICAM-1表达调控中起关键作用。以上研究均可表明，DNA甲基化在调控GD的发病机制中发挥了重要作用，并可为GD中DNA甲基化提供了新的靶点及信息。

Graves 眼眶病（GO）是GD最常见的甲状腺外并发症，临床上以GO为首发症状来就诊的患者不在少数。有研究^[11]通过对GO患者外周血进行了DNA 甲基化的基因组规模筛选，发现了GO的发生与BOLL低甲基化、MBP和CDK5的高甲基化有关，首次确定并验证了BOLL、CDK5和MBP是与GO相关的潜在基因。Virakul S等^[12]对GO患者的眼眶成纤维细胞的研究，显示眼眶成纤维细胞与炎症相关的基因的高甲基化和与脂肪生成及自身免疫相关的低甲基化基因，进一步的分析揭示了包含与高甲基化和低甲基化基因相关的分子的网络，包括NF- κ B、RNA聚合酶II、ERK1/2、Akt、Alp和IFN α 。由此可见，DNA甲基化可能参与了GO的发病机制。

2 组蛋白修饰与GD

组蛋白是存在于真核生物中的蛋白质，包括H1、H2A、H2B、H3和H4^[13]。组蛋白修饰类型包括组蛋白N端尾部的甲基化、磷酸化、乙酰化、去乙酰化、泛素化和苏木酰化等，通过这些修饰可能激活或抑制基因的表达，从而在许多人类疾病的发生发展中发挥重要作用^[14-15]。目前关于GD中组蛋白修饰的研究较少，因此组蛋白修饰是否在GD的发病机制中起作用尚不明确。

2.1 组蛋白甲基化与GD

组蛋白甲基化主要发生在精氨酸、赖氨酸残基的侧链上,组蛋白 H3 中的赖氨酸残基可以是单甲基化、二甲基化或三甲基化的。既往研究表明^[16],组蛋白 H3 在赖氨酸 9 (H3K9) 和 H3K27 的甲基化与转录抑制有关,而 H3K4、H3K36 和 H3K79 的甲基化与转录激活有关。最近研究发现^[17],通过分析GD 患者外周血单个核细胞 (PBMC) 中的组蛋白修饰模式,发现 PBMC 中的全局组蛋白 H3K9 甲基化显著降低,表明组蛋白甲基化修饰异常可能参与GD 的发病机制。

2.2 组蛋白乙酰化/去乙酰化与GD

组蛋白乙酰化是一种重要的调节基因表达和功能的表观遗传机制,组蛋白乙酰转移酶 (HAT) 将乙酰基引入从核小体复合物突出的组蛋白 N 末端尾部的赖氨酸残基,从而解开染色质组成获得 DNA 结合因子并激活转录。组蛋白去乙酰化由 DNA 甲基化通过阻遏蛋白与 DNA 中的甲基化 CpG 结合来调节^[18]。因此,组蛋白通过乙酰化和去乙酰化的翻译后修饰是转录调控的主要决定因素,影响基因表达。Yan N 等^[19]通过研究GD 患者外周血单个核细胞 (PBMC) 检测 PBMCs 的整体组蛋白 H3/H4 乙酰化水平,发现GD 患者 PBMC 中组蛋白去乙酰化酶 HDAC1 和 HDAC2 的 mRNA 表达显著增加,首次表明了组蛋白乙酰化修饰在GD 患者的 PBMC 中异常。血小板衍生生长因子-BB (PDGF-BB) 刺激诱导的眼眶成纤维细胞活化在GO 发病机制中发挥关键作用,最新有研究^[20]通过对 Graves 眼病患者眼眶成纤维细胞检测,发现 PDGF-BB 刺激后组蛋白 H3 赖氨酸 9 乙酰化 (H3K9ac) 显著降低。以上研究均可表明组蛋白乙酰化/去乙酰化可能参与了GD 及GO 的发病机制。

其他关于组蛋白修饰,如磷酸化、泛素化和苏木酰化与的研究GD 少之甚少,有待各研究者进一步发掘。

3 非编码RNA (ncRNA) 与GD

非编码RNA (ncRNA) 是一种不具有编码蛋白质功能的RNA 转录物,占整个人类基因组编码基因不到2%,包括长链非编码RNA (lncRNA)、环状RNA (circRNA) 和 microRNA (miRNA),已成为影响正常生理和癌症等主要慢性疾病的基因转录和蛋白质翻译的重要调节因子^[21]。越来越多的研究表明,包括 microRNA (miRNA) 和长链非编码RNA (lncRNA) 在GD 中的表达受损。

3.1 miRNA 与GD

miRNA 是微小 (18~25nt)、单链和高度保守的分子,主要通过靶向 mRNA 影响基因表达水平从而影响细胞稳态,因此,miRNA 的相对水平以及靶向的 mRNA 在癌症和其他疾病中的起病过程中具有重要作用^[22]。有研究发现包括自身免疫性疾病在内的许多疾病中都发现了 miRNA 的异常表达。

曾有研究^[23]对GD 患者甲状腺组织进行检测,结果显示GD 患者甲状腺组织中5个特异性 miRNA 表达显著升高,而其他18个 miRNA 表达降低,同时对差异表达的 miRNA 及其靶 mRNA 的综合分析表明,结果强调 miRNA 靶基因网络可能参与GD 发病机制。近些年来关于 miRNA 与GD 之间的研究越来越多。Martínez-Hernández^[24]等通过比较GD 患者和对照组甲状腺组织中 miRNAs 的表达谱,确认了8种差异表达的 miRNA (miR-142-3p、miR-21-5p、miR-146a-5p、miR-155-5p、miR-146b-5p、miR-342-5p、miR-338-5p 和 miR-766-3p)。早先已有学者^[25-28]在外周血中鉴定出5个 miRNA (miR-142-5p、miR-Let7d-5p、miR-126-3p、miR-301a-3p 和 miR-223-3p) 与GD 相关,当8种差异表达的 miRNA 与这5个 miRNA 一起评估时,结果表明有5个 miRNA (miR-21-5p、miR-Let7d-5p、miR-242-3p、miR-96-5p、和 miR-301a-3p) 在GD 中显著

表达,并且首次发现在Graves病患者中,这些显著表达的miRNA与疾病严重程度相关,包括活动性眼病、甲状腺肿、复发率及抗体滴度的水平。在以上基础上研究者们^[29]通过进一步对GD患者和对照组的甲状腺组织 miRNA和mRNA表达谱的综合分析,发现 miR-21-5p、miR-146b-3p、miR-5571-3p和miR-6503-3p的表达与烯醇化酶4(ENO4)、反转平面细胞极性蛋白(INTU)、驱动蛋白家族成员27(KIF27)、parkin共调控(PACRG)和丝氨酸/苏氨酸激酶36(STK36)基因呈负相关,而这些 miRNA/mRNA的功能分类表明它们的差异表达与纤毛组织有关,从而发现异常纤毛形成是一种新的易感途径,参与了GD的发病机制。这些结果均为临床GD的诊断、治疗靶点及预后提供了新的研究途径,并为以后对于研究miRNA参与GD发病机制的具体途径提供了新的思路。

3.2 lncRNA与GD

lncRNA是指在非编码RNA中长度超过200个核苷酸单位一种功能性RNA分子,其结构与mRNA相似,但不编码蛋白质。研究表明^[30],lncRNA可以在转录、转录后和表观遗传水平等多个水平调节基因表达,并参与许多重要的调节过程,如染色质修饰、转录激活、转录干扰和核内转运。多项研究表明lncRNA的异常表达或功能与人类疾病的发生密切相关。

GD是一种常见的自身免疫性疾病,CD4⁺T细胞亚群作为人类免疫系统中一种重要的免疫细胞,其分化产生的Th1/Th2与GD的免疫紊乱密切相关。研究发现^[30],对复发性GD患者和对照组的CD4⁺T细胞进行高通量测序,发现复发性GD患者CD4⁺T细胞中有602个上调lncRNA和734个下调lncRNA,表明lncRNAs可能与复发性GD的发生有关,但并未对其分子机制进行进一步探索。另有研究评估了^[31]GD患者和健康对照组中lncRNA和mRNA的表达谱,发现了1615个lncRNA和1913个

mRNA的失调。值得强调的是,这些差异表达基因与调节抗原呈递、免疫细胞(Th1、Th2和Th17)分化以及体液和细胞免疫反应的途径相关。lncRNA RUNX1-IT1^[32]是RUNX1的内含子转录本1,也称为21号染色体开放阅读框,尽管RUNX1在不同疾病中(包括造血及在多种癌症中作为肿瘤抑制因子)的作用已被确定,但其在GD发病机制中的功能和潜在机制仍处于探索中。有学者^[33]通过检测GD患者外周血中lncRNA RUNX1-IT1和神经细胞粘附分子(NrCAM)的表达,发现RUNX1-IT1通过调节NrCAM转录来调节重要的Th1因子T-bet、CXCL10和干扰素 γ (IFN- γ)的表达,从而参与GD的发生和发展。最新的一项研究发现^[34]lncRNA ENST00000604491的表达与对照组相比在GD患者的外周血单个核细胞(PBMC)显著下调,并且与GD患者血清促甲状腺激素受体抗体(TRAAb)水平呈负相关。进一步的研究证实,降低的FOXP1表达与GD患者的血清TRAAb水平呈负相关。并且,GD中ENST00000604491表达与FOXP1转录水平之间存在显著正相关。表明该lncRNA可能通过调节FOXP1参与了GD的发病机制,这可能是GD发病机制中的一个潜在生物标志物。越来越多的研究证实了lncRNA参与GD发病机制,但其具体通路仍待深入探索。

4 总结与展望

近些年来,表观遗传学与GD一直是研究者们研究的热门之一,本篇综述从表观遗传学的角度阐述了与GD发展或易感性相关的各种可能的基因表达。这些研究均证实了基因、编码的蛋白质或RNA在GD起始或发展的信号通路中发挥了作用,但大多数关于GD的研究运用的样本量均不大,是此类研究的缺点之一;此外,也让我们意识到关于GD病因的某些方面仍有待探索,例如:表观遗传修饰、遗传和

环境干预相结合如何在GD中发挥作用、为什么不同人群中易感基因之间存在巨大差异、是否有环境因素（如工作环境、饮食习惯）影响对GD的易感性？然而，我们相信未来会有更多的研究将从表观遗传学方面将GD发病机制阐述的更加清晰，从而提供有关GD不同生物学方面的信息，为将它们更好的用于临床治疗奠定基础。

参考文献

- [1] Razmara E, Salehi M, Aslani S, et al. Graves' disease: introducing new genetic and epigenetic contributors[J]. *J Mol Endocrinol*,2021,66(2):R33–R55.
- [2] Zhang L, Lu Q, Chang C. Epigenetics in Health and Disease[J]. *Adv Exp Med Biol*,2020,1253:3–55.
- [3] Antonelli A, Ferrari SM, Ragusa F, et al. Graves' disease: Epidemiology, genetic and environmental risk factors and viruses [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*,2020,34(1):101387.
- [4] Mittelstaedt NN, Becker AL, de Freitas DN, et al. DNA Methylation and Immune Memory Response [J]. *Cells*,2021,10(11):2943.
- [5] Nishiyama A, Nakanishi M. Navigating the DNA methylation landscape of cancer [J]. *Trends Genet*,2021,37(11):1012–1027.
- [6] 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.
- [7] Cai T, Qin Q, Song R, et al. Identifying and Validating Differentially Methylated Regions in Newly Diagnosed Patients with Graves' Disease [J]. *DNA Cell Biol*,2021,40(3):482–490.
- [8] Ramos TN, Bullard DC, Barnum SR. ICAM-1: isoforms and phenotypes [J]. *J Immunol*,2014,192(10):4469–4474.
- [9] Pawlowski P, Mysliwiec J, Stasiak-Barmuta A, et al. Increased percentage of L-selectin+ and ICAM-1+ peripheral blood CD4+/CD8+ T cells in active Graves' ophthalmopathy [J]. *Folia Histochem Cytobiol*,2009,47:29–33.
- [10] Shalaby SM, Mackawy AMH, Atef DM, et al. Promoter methylation and expression of intercellular adhesion molecule 1 gene in blood of autoimmune thyroiditis patients [J]. *Mol Biol Rep*,2019,46(5):5345–5353.
- [11] Shi TT, Hua L, Xin Z, et al. Identifying and Validating Genes with DNA Methylation Data in the Context of Biological Network for Chinese Patients with Graves' Orbitopathy [J]. *Int J Endocrinol*,2019,14:6212681.
- [12] Virakul S, Somparn P, Pisitkun T, et al. Integrative Analysis of Proteomics and DNA Methylation in Orbital Fibroblasts From Graves' Ophthalmopathy [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*,2021,11:619989.
- [13] V Subramaniam A, Yehya AHS, Cheng WK, et al. Epigenetics: The master control of endothelial cell fate in cancer [J]. *Life Sci*,2019,232(Sep 1):116652.
- [14] Kamrani A, Alipourfard I, Ahmadi-Khiavi H, et al. The role of epigenetic changes in preeclampsia [J]. *Biofactors*,2019,45(5):712–724.
- [15] Yoshihara T, Machida S, Tsuzuki T, et al. Age-related changes in histone modification in rat gastrocnemius muscle [J]. *Exp Gerontol*,2019,125:110658.
- [16] Peterson CL, Laniel M. Histones and histone modifications [J]. *Current Biology*, 2004,14(14):R546–R551.
- [17] Yan N, Mu K, An XF, et al. Aberrant Histone Methylation in Patients with Graves' Disease [J]. *Int J Endocrinol*,2019:1454617.
- [18] Bajbouj K, Al-Ali A, Ramakrishnan RK, et al. Histone Modification in NSCLC: Molecular Mechanisms and Therapeutic Targets [J]. *Int J Mol Sci*,2021,22(21):11701.
- [19] 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.
- [20] Ekronarongchai S, Palaga T, Saonanon P, et al. Histone Deacetylase 4 Controls Extracellular



- Matrix Production in Orbital Fibroblasts from Graves' Ophthalmopathy Patients [J]. *Thyroid*,2021,31(10):1566–1576.
- [21] Yin L, Zeng C, Yao J, et al. Emerging Roles for Noncoding RNAs in Autoimmune Thyroid Disease [published correction appears in *Endocrinology* [J]. 2020 Aug 1;161(8)]. *Endocrinology*,2020,161(8):bqaa053.
- [22] Hill M, Tran N. miRNA interplay: mechanisms and consequences in cancer [J]. *Dis Model Mech*,2021,14(4):dmm047662.
- [23] Qin Q, Wang X, Yan N, et al. Aberrant expression of miRNA and mRNAs in lesioned tissues of Graves' disease [J]. *Cell PhysiolBiochem*, 2015,35(5):1934–1942.
- [24] Mart í nez–Hern ández R, Sampedro–N ú ñez M, Serrano–Somavilla A, et al. A MicroRNA Signature for Evaluation of Risk and Severity of Autoimmune Thyroid Diseases [J]. *J ClinEndocrinolMetab*,2018,103(3):1139–1150.
- [25] 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.
- [26] Okoye IS, Coomes SM, Pelly VS, et al. MicroRNA–containing T–regulatory–cell–derived exosomes suppress pathogenic T helper 1 cells [J]. *Immunity*,2014,41(1):89–103.
- [27] O' Connell RM, Rao DS, Baltimore D. MicroRNA regulation of inflammatory responses [J]. *Annu Rev Immunol*,2012,30(1):295–312.
- [28] Mycko MP, Cichalewska M, Machlanska A, et al. MicroRNA–301a regulation of a T–helper 17 immune response controls autoimmune demyelination [J]. *Proc Natl AcadSci USA*,2012,109(20):E1248–E1257.
- [29] Mart í nez–Hern ández R, Serrano–Somavilla A, Ramos–Lev í A, et al. Integrated miRNA and mRNA expression profiling identifies novel targets and pathological mechanisms in autoimmune thyroid diseases [J]. *EBioMedicine*,2019,50:329–342.
- [30] Yao Q, Song Z, Wang B, et al. Identification of lncRNA and mRNA Expression Profile in Relapsed Graves' Disease [J]. *Front Cell Dev Biol*,2021,9:756560.
- [31] Yi R, Yang L, Zeng S, et al. Different expression profile of mRNA and long noncoding RNA in autoimmune thyroid diseases patients [J]. *Cell. Biochem.*, 2019,120 :19442–19456.
- [32] Sun L, Wang L, Chen T, et al.lncRNA RUNX1–IT1 which is downregulated by hypoxia–driven histone deacetylase 3 represses proliferation and cancer stem–like properties in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Cell Death Dis*,2020,11(2):95.
- [33] Liu Y, Zou J, Xu J, et al. Comprehensive Analysis of lncRNA Expression Profile and the Potential Role of ENST00000604491 in Graves' Disease [J]. *J Immunol Res*,2022:8067464.
- [34] Huang FJ, Liu YL, Wang J, et al.lncRNA RUNX1–IT1 affects the differentiation of Th1 cells by regulating NrCAM transcription in Graves' disease [J]. *Cell Cycle*,2022,21(9):921–933.