

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.00774

表观遗传学修饰在多发性硬化症中作用的研究进展

赵 明, 曹 莉*

第二军医大学基础部神经生物学教研室, 上海 200433

[摘要] 多发性硬化症既是经典的神经免疫性疾病, 又是神经退行性疾病。越来越多的证据表明, 表观遗传学改变与多发性硬化症的发病相关。表观遗传学修饰可以影响基因的表达, 但不会改变 DNA 的序列。DNA 甲基化、组蛋白修饰和微小 RNA 相关基因转录和翻译的调控是表观遗传的 3 种重要机制。表观遗传学可能通过调节多发性硬化症的病因(包括遗传易感性和环境危险因素)和发病机制(包括炎症脱髓鞘和神经退行性变化的机制)的多个环节影响多发性硬化症的发病。本文综述了表观遗传学修饰在多发性硬化症发生中的作用, 并为从表观遗传学角度治疗多发性硬化症提出建议。

[关键词] 表观遗传学; 多发性硬化; DNA 甲基化; 组蛋白类; 微 RNAs

[中图分类号] R 744.51 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2014)07-0774-06

Role of epigenetic modification in multiple sclerosis: an advance

ZHAO Ming, CAO Li*

Department of Neurobiology, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] Multiple sclerosis (MS) is a classic neuroimmunologic and neurodegenerative disease. A growing body of evidence suggests that epigenetic changes are associated with the development of MS. Epigenetic modifications can influence the expression of genes, but will not change the sequence of DNA. DNA methylation, histone modification and microRNA-associated post-transcriptional gene silencing are three key epigenetic mechanisms that influence gene expression. Epigenetic mechanisms may regulate MS onset by affecting the genetic susceptibility and environmental risk factors, and by influencing the inflammatory demyelination and neurodegeneration involved in MS pathology. In this review we summarized recent studies on the role of epigenetic changes in the pathophysiology and treatment of MS.

[Key words] epigenetic; multiple sclerosis; DNA methylation; histones; microRNAs

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(7): 774-779]

多发性硬化症(multiple sclerosis, MS)是经典的中枢神经系统自身免疫性脱髓鞘疾病, 目前病因未知。大部分患者在发病初期呈现复发-缓解的症状, 称为复发缓解型 MS(relapsing-remitting MS, RRMS)。RRMS 以中枢神经系统脱髓鞘损伤并出现症状作为起病特征, 病程高度可变, 在起病早期其复发频率和致残比例都与一些危险因素相关, 如性别和年龄。RRMS 的病程晚期, 大部分患者将转变为继发进展型 MS (secondary progressive MS, SPMS), 病情将逐渐加重不能完全缓解, 导致永久性致残。少部分 MS 患者(<10%)从发病起病情就缓慢加重, 并且症状不会缓解, 称为原发进展型 MS (primary progressive MS, PPMS)^[1]。由于 SPMS

和 PPMS 患者神经功能的丢失都呈现缓慢进行性加重, 病理切片也发现病灶处不仅有脱髓鞘损伤, 还有神经元轴突的退行性改变, 因此 MS 也具有神经退行性疾病的特点。

尽管目前还没有直接证据证明 MS 是遗传病, 但遗传因素与其易感性有极大关系。MS 患者亲属是 MS 发病的高危人群, 危险系数随着与患者关系密切程度而增加^[2]。MS 遗传学研究发现并鉴定了一些 MS 的易感基因, 如人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) 基因等^[3]。最新的研究表明, MS 的发生可能受表观遗传调节机制的调控。这些表观遗传学机制包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰和微小 RNA (microRNA, miRNA) 介导的转录后基因

[收稿日期] 2013-10-28 **[接受日期]** 2014-01-16

[作者简介] 赵 明, 硕士生。E-mail: zhaoming.smmu@gmail.com

* 通信作者 (Corresponding author)。Tel: 021-81871042-516, E-mail: caoli.smmu@gmail.com

沉默。本文综述了目前对表观遗传学的理解,包括表观遗传学概述、表观遗传学修饰在 MS 病因学和发病机制中的作用,解释表观遗传学调控如何特异性地影响 MS 的病理生理,最后提出新的治疗措施,即通过调控患者表观遗传信息进而改善患者的病情和预后。

1 表观遗传学概述

表观遗传学是研究基因核苷酸序列不发生改变情况下,基因表达可遗传变化的一门学科。DNA 甲基化、组蛋白修饰和 miRNA 转录后基因沉默是表观遗传机制中研究最多的 3 个领域。表观遗传学改变是可遗传的,可以通过有丝分裂或减数分裂,从亲代传给子代。但这种改变是可逆的,非常容易受到环境的影响^[4]。

DNA 甲基化是在甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)的催化下,将 DNA 上的胞嘧啶第 5 位碳原子上选择性地添加甲基,形成 5-甲基胞嘧啶的过程。DNMT1 是持续性甲基转移酶,负责 DNA 复制过程中保持 DNA 甲基化作用。DNMT1 主要位于 DNA 的复制叉,可参与 DNA 复制双链中新合成链的甲基化。DNMT3a 和 DNMT3b 则分别与核和线粒体 DNA 的未甲基化和半甲基化位点的从头甲基化有关^[5]。在哺乳动物中,CpG 二核苷酸(CpG dinucleotide)是 DNA 甲基化发生的主要位点,富含 CpG 二核苷酸的区域称为 CpG 岛。CpG 岛通常位于基因启动子区或是第一个外显子区,CpG 岛内胞嘧啶的甲基化可以阻止相关基因表达^[6]。DNA 甲基化是研究得最清楚、也是最重要的基因表观修饰方式,在细胞增殖和基因组稳定中发挥关键作用^[7]。

在哺乳动物细胞中,组蛋白与 DNA 结合形成 DNA-组蛋白复合物。4 种组蛋白(H1、H2A、H2B、H3 和 H4),各 2 个分子构成组蛋白八聚体,每个组蛋白八聚体表面由 146 bp 的 DNA 链缠绕形成一个核小体,核小体是染色质的基本单位。组蛋白的共价修饰(包括乙酰化、甲基化、磷酸化、遍在蛋白化和瓜氨酸化)可通过影响组蛋白与 DNA 双链的亲合性,从而改变染色质的松散或凝集状态,调节 DNA 转录因子的结合能力,并进一步调控基因的转录。组蛋白共价修饰研究较为明确的是乙酰化,由组蛋白乙酰基转移酶和去乙酰化酶介导。组蛋白的乙酰

化作用通常伴随相关基因转录的上调,而组蛋白的去乙酰化作用有助于转录沉默^[8]。

miRNA 是一类小分子、单链、非编码的 RNA,在动植物中广泛存在,通过与 mRNA 中特定互补位点结合来调节蛋白编码基因的表达。在细胞质中,成熟的 miRNA 首先与蛋白质结合形成 RNA 介导的沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC),然后通过同源 mRNA 分子的不完全配对结合,使 mRNA 被 RISC 降解,无法翻译为蛋白质。因此,miRNA 在许多重要的细胞过程(如分化、增殖和凋亡)中起阻止蛋白质翻译的作用^[9]。

上述 3 种表观遗传修饰过程都不是单独起作用的。越来越多的证据表明,这些进程通过相互作用,实现复杂的基因转录和翻译的调控。例如,DNA 甲基化和组蛋白修饰可以共同调节 miRNA 的表达,并各自被 miRNA 所调节^[10]。DNA 甲基化与组蛋白去乙酰化之间,可以通过复杂的相互作用机制,协同抑制基因转录,进行生长、代谢、分化和癌变的调控。表观遗传调控过程一旦出错则会引发多种疾病,包括多种自身免疫性疾病、内分泌疾病和肿瘤等。MS 是一种病因不明的自身免疫性疾病,越来越多的证据表明表观遗传学可能通过 DNA 甲基化等机制来诱发 MS。

2 MS 患者血液和中枢神经系统的表观遗传学改变

2.1 MS 患者血液的基因甲基化改变 研究发现,DNA 甲基化可能作为 MS 疾病活性标记物。对已知癌症患者发生甲基化改变的 56 个基因进行研究,发现其中 15 个基因在 MS 患者和健康对照者的无细胞血浆 DNA 中出现甲基化改变,而且,这 15 个基因中的 5 个基因的启动子甲基化程度还可以区分病情缓解和加重的患者^[11]。但是,因为不能确定这些无细胞血浆中 DNA 甲基化的来源,所以这个结果还有待进一步深入研究。

2.2 MS 患者血和脑中 miRNA 表达变化 研究 miRNA 表达谱可以帮助我们寻找 MS 的诊断和预后的标记物,并进一步了解 miRNA 在 MS 发病和进展中的作用。例如,一项研究显示,RRMS 患者全血中有 165 种 miRNA 异常表达^[12-13]。统计学分析表明,其中 miRNA-145 是诊断 MS 的最佳标记物,具有高度的特异性、敏感性和精确性^[13]。另一项研究则发现,有 49 种 miRNA 在 RRMS 患者的 B 细胞中

表达下调;此外,与未治疗的 RRMS 患者相比,那他珠单抗治疗患者的 B 细胞中有 10 种 miRNA 表达上调^[14]。尽管 miRNA 表达谱可以用于判断 MS 的诊断和预后,但是,目前关于 MS 患者血液细胞 miRNA 表达谱研究非常多,综合对比可以发现,这些研究的重复性较差,有时在不同研究中,MS 患者血中某些 miRNA 表达水平的调节方向甚至是相反的。导致这些结果差异较大的原因可能包括使用的研究平台不同、发病时间窗不同或人类组织个体差异性等因素。

Junker 等^[15]还研究了 MS 患者脑局部病灶中的 miRNA 表达谱,发现激活病灶中的 28 种 miRNA 和未激活病灶中的 35 种 miRNA,与病灶周围的白质对照区相比有明显的异常调节。

3 表观遗传学改变对 MS 发病的影响

3.1 表观遗传学改变对 MS 遗传易感性的影响 易感性是由遗传基础所决定的、相同环境下不同个体患病的风险。同卵双胞胎 MS 的共同罹患率仅有 6%~30%^[16],说明 MS 的易感性并不完全由基因型决定,表观遗传学修饰可能在其中发挥作用。Baranzini 等^[17]采用简化亚硫酸盐甲基化测序方法,对 3 对同卵双胞胎 CD4⁺T 细胞的基因组进行甲基化检测,发现在 200 万个 CpG 检测位点中,仅有 2 个基因(*TMEM1* 和 *PEX14*)在 MS 患者与其未患病同卵双胞胎之间表现出完全不同的甲基化程度改变。因此,与年龄^[18]和癌症^[19]所诱导的甲基化改变相比,MS 患者与其未患病同卵双胞胎 CD4⁺T 细胞之间的甲基化区别非常小。但是,这项关于同卵双胞胎 MS 患病率不一致的表观遗传学机制研究,由于样本量太小,且 3 对双胞胎的年龄和 MS 患病亚型等条件均不相同,结果可能失于片面,需进一步深入研究。此外,MS 患者女性多见(妇女患病率约为男性的 2 倍);MS 风险等位基因 *HLADRB1*15* 的女性携带者多于男性;该等位基因母女遗传的概率大于父子或父女遗传,这些基因组印迹和传递不平衡的现象也可能是由表观遗传机制介导的。

3.2 环境因素与表观遗传学和 MS 发病的关系 环境因素包括吸烟、维生素 D 缺乏、微生物感染以及性激素等,可能通过表观遗传学机制改变基因表达水平和细胞表型,影响 MS 的发病;同时,表观遗传学也可以通过调节环境致病因子影响 MS 的发病。

3.2.1 维生素 D 缺乏 研究发现,体内维生素 D₃ 水平与 MS 患病和复发的几率负相关^[20];给予 1,25-羟基维生素 D₃ 可以减少小鼠自身免疫性疾病模型的严重程度^[21]。流行病学调查表明高纬度国家 MS 的发病率较高,可能是因为高纬度国家紫外线照射时间短,机体产生维生素 D 相对不足所致^[21]。

缺乏维生素 D 导致 MS 发病率增加的机制目前尚不完全清楚,但有证据表明,维生素 D 可以影响组蛋白的修饰。人类癌细胞克隆研究表明,维生素 D 可以诱导 JMJD3 的表达, JMJD3 编码赖氨酸特异性去甲基化酶 6B,可以使组蛋白 H3 的第 27 位赖氨酸特异性地去甲基化^[22]。研究还发现,1,25-羟基维生素 D₃ 与维生素 D 受体结合后,能够招募组蛋白去乙酰化酶 2 到 *IL17A* 的启动子区域,从而抑制与 MS 发病密切相关的细胞因子——IL-17 的转录,这项研究表明维生素 D₃ 诱导的组蛋白修饰与 MS 发病具有潜在相关性^[21]。

3.2.2 性激素 MS 常见于青壮年,女性高发,而且 MS 患病女性在第二和第三孕期复发率明显减少,说明性激素水平可能与 MS 发病有关^[23]。研究发现,孕酮可以促进 Th1 向 Th2 型免疫反应转变,而睾丸激素在小鼠自身免疫性疾病模型中发挥抗炎和免疫抑制效应^[23-24]。有文献报道,雌激素可以通过促进少突胶质前体细胞(oligodendrocyte progenitor cells, OPCs)向少突胶质细胞分化,从而促进脱髓鞘的神经再髓鞘化^[23]。此外,常见于非怀孕妇女的雌激素——雌二醇,可以加重 MS 病情,但怀孕女性主要的雌激素——雌三醇,却可以减少 MS 的发生和复发^[24]。

通过对 MS 患者脑片的 miRNA 谱研究,发现与对照组相比,miR-155、miR-338 和 miR-491 在 MS 患者脑中上调^[20]。进一步研究显示这些 miRNA 可以影响抑制醛酮还原酶家族 1 中 C1 和 C2 的翻译,而这两个酶参与脑部神经甾体(如四氢孕酮)的生成^[25]。小鼠中 miR-155 和 miR-338 的过表达可以下调神经甾体合成酶和四氢孕酮的表达^[24-25]。在小鼠 EAE 模型中,给予四氢孕酮可以明显缓解临床症状,并减少髓鞘和轴突的损伤。这些发现提示,内源性神经甾体的合成受到 miRNA 相关转录后基因沉默的调节,并且这种神经甾体合成的异常调节也是进展型 MS 的重要病理机制。

3.2.3 其他因素 吸烟是诱发 MS 的危险因素,当

前吸烟者与从未吸烟者相比,MS的患病率高1.6倍^[26]。吸烟可以影响多种基因的甲基化,例如在肺癌患者中,吸烟与肿瘤抑制基因 *CDKN2A*、*DAPK* 和 *MGMT* 的高度甲基化相关^[27]。MS患者血液和脑脊液中还发现多种病毒的抗体滴度增高,其中曾感染EB病毒人群的MS发生率较未感染者高8倍^[28]。EB病毒感染可以影响受感染细胞的表观遗传谱,许多类型的肿瘤与EB病毒感染有关。例如,EB病毒诱导的霍奇金淋巴瘤和鼻咽癌,病毒核心蛋白 LMP1 可以通过上调 DNMT1、DNMT3a 和 DNMT3b 等甲基化催化酶导致启动子的高度甲基化^[27-28]。但是,目前还没有直接的证据表明吸烟或者EB病毒感染可以通过调节基因甲基化等表观遗传学机制直接影响MS的发病。

4 表观遗传学改变在MS病理机制中的作用

4.1 表观遗传学与小胶质细胞/巨噬细胞吞噬能力和极化状态 一项对20例MS患者脑部活检研究表明,激活和非激活的MS病灶具有不同miRNA表达谱^[15]。在激活的MS病灶中,miR-155、miR-34a 和 miR-326 表达水平高于未激活病灶和健康对照^[15]。这3种miRNA都可以抑制CD47的翻译,CD47广泛表达于细胞表面,具有抑制巨噬细胞吞噬和激活的功能。因此,这些miRNA可能通过下调MS病灶中CD47的表达,导致巨噬细胞过度激活和髓鞘的过度吞噬,使病灶的活动性增强。

小胶质细胞/巨噬细胞在MS的病理发生中起重要作用,小胶质细胞/巨噬细胞有经典激活(M1型)和替代激活(M2型)两种极化方式。研究表明,M1和M2细胞比例失衡可能是造成慢性MS病灶中再髓鞘化障碍的重要原因^[29]。中枢给予M2型小胶质细胞可以明显促进体内再髓鞘化,并促进小鼠EAE模型神经功能修复^[30]。在静息的小胶质细胞/巨噬细胞中加入细胞因子如 γ 干扰素(interferon- γ 、IFN- γ)、粒细胞集落刺激因子(granulocyte macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激,可出现M1型极化,同时炎症因子分泌增加,并伴有miR-124的下调和miR-155的上调。研究证实,通过miR-155的上调可以抑制抗炎因子细胞因子信号抑制因子(suppressor of cytokine signaling-1, SOCS-1)的表达,进而促进小胶质细胞/巨噬细胞的M1型极化^[30-31]。此外,miR-125b

和miR-101也可以促进小胶质细胞/巨噬细胞的M1型极化。MiR-124的过表达则会降低M1型小胶质细胞/巨噬细胞的极化标记物,使细胞向M2型极化并表达其标志分子转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、精氨酸酶(arginase-1)和FIZZ1(found in inflammatory zone-1)^[31]。

4.2 表观遗传学与Th17细胞分化 Th17细胞以产生细胞因子IL-17为特征,而IL-17与多发硬化症、哮喘、类风湿性关节炎等自身免疫性疾病的发生和发展密切相关。研究表明,miR-155和mir-326与Th17细胞的分化有关。其中一项涵盖了43例RRMS患者、11例视神经脊髓炎患者和42名健康者的对照研究发现,RRMS患者外周血CD4⁺T细胞中miR-326表达水平上调^[32],并且在病情复发时明显高于缓解患者和健康对照。miR-326的靶点是转录因子C-ets-1(也称作p54),能够抑制幼稚T细胞向Th17表型分化。研究人员同时发现,RRMS患者与健康对照相比,C-ets-1在CD4⁺T细胞中降低;体内沉默miR-326,小鼠CD4⁺T细胞中C-ets-1表达上调,外周血Th17细胞比例减少,EAE症状明显减轻^[32]。另一项研究发现,当炎症细胞因子与Toll样受体结合后,miR-155在巨噬细胞、T细胞和B细胞中表达上调,提示其可能参与了炎症过程。进一步研究表明,miR-155基因敲除小鼠EAE不发病,外周血Th17细胞的比例降低^[33],说明miR-155通过促进Th17分化影响炎症进程。

4.3 表观遗传学与神经元退行性改变 有研究表明DNA甲基化参与了运动神经元凋亡。喜树碱可以诱导DNA甲基化转移酶DNMT1和DNMT3a的表达;过表达DNMT3a可以促进DNA甲基化,并诱导神经元凋亡;干扰细胞内DNMT3a表达可以抑制神经元凋亡^[34]。然而,目前还没有直接证据证实DNMT与MS患者神经元和轴突退化有关。

4.4 表观遗传学与脱髓鞘 髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)的瓜氨酸化在MS的病理学方面有重要作用^[35]。MBP是中枢神经系统髓鞘的主要组成部分,在翻译后经过多次修饰。肽基精氨酸脱亚胺酶2型(peptidylarginine deiminase 2, PAD2)可以使MBP瓜氨酸化,瓜氨酸化的MBP不如未修饰的MBP稳定,可能导致髓鞘降解,并诱导MBP的自身免疫反应。此外,瓜氨酸化本身也可以诱导机体产生瓜氨酸抗体,从而导致免疫损伤。一项研究

比较了15例MS患者(其中13例有进展型疾病)活检的外观正常白质样本与健康对照的瓜氨酸化水平,发现患者MBP的瓜氨酸化水平和PAD2表达都出现了增加。这项研究还发现,编码PAD2基因的启动子区域出现了去甲基化^[36]。这些发现表明DNA甲基化调节参与了MS的脱髓鞘进程。

5 展 望

表观遗传学修饰与MS发生与发展之间相关性的研究还处于起步阶段,目前研究主要集中于鉴别MS患者和健康对照之间表观遗传谱的差异。今后的实验设计应该更注重表观遗传学机制和MS临床表现或神经影像结果之间的相关性。

表观遗传学谱与MS炎症激活之间的相关性研究表明,与MS病理发生密切相关的巨噬细胞激活和Th17细胞分化过程均受表观遗传学调节;此外,与进展型MS病理发生有关的MBP瓜氨酸化和中枢神经髓体合成过程也受到表观遗传学机制的调节。因此,对表观遗传学调节机制进行深入研究将不仅为MS的发生和发展提供新的理论基础,而且为MS的治疗提供新的靶点。

6 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Koch M, Kingwell E, Rieckmann P, Tremlett H. The natural history of primary progressive multiple sclerosis [J]. *Neurology*, 2009, 73:1996-2002.
- [2] Carton H, Vlietinck R, Debruyne J, De Keyser J, D'Hooghe M B, Loos R, et al. Risks of multiple sclerosis in relatives of patients in Flanders, Belgium [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1997, 62:329-333.
- [3] International Multiple Sclerosis Genetics Consortium; Wellcome Trust Case Control Consortium 2; Sawcer S, Hellenthal G, Pirinen M, Spencer C C, Patsopoulos N A, Moutsianas L, et al. Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis [J]. *Nature*, 2011, 476:214-219.
- [4] Skinner M K, Manikkam M, Guerrero-Bosagna C. Epigenetic transgenerational actions of environmental factors in disease etiology [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2010, 21:214-222.
- [5] Goll M G, Bestor T H. Eukaryotic cytosine methyltransferases [J]. *Annu Rev Biochem*, 2005, 74:481-514.
- [6] Klose R J, Bird A P. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators [J]. *Trends Biochem Sci*, 2006, 31:89-97.
- [7] Weber M, Schübeler D. Genomic patterns of DNA methylation: targets and function of an epigenetic mark [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2007, 19:273-280.
- [8] Brooks W H, Le Dantec C, Pers J O, Youinou P, Renaudineau Y. Epigenetics and autoimmunity [J]. *J Autoimmun*, 2010, 34:J207-J219.
- [9] Hwang H W, Mendell J T. MicroRNAs in cell proliferation, cell death, and tumorigenesis [J]. *Br J Cancer*, 2006, 94:776-780.
- [10] Zhao S, Wang Y, Liang Y, Zhao M, Long H, Ding S, et al. MicroRNA-126 regulates DNA methylation in CD4⁺ T cells and contributes to systemic lupus erythematosus by targeting DNA methyltransferase 1 [J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63:1376-1386.
- [11] Liggett T, Melnikov A, Tilwalli S, Yi Q, Chen H, Rempel C, et al. Methylation patterns of cell-free plasma DNA in relapsing-remitting multiple sclerosis [J]. *J Neurol Sci*, 2010, 290:16-21.
- [12] Pauley K M, Cha S, Chan E K. MicroRNA in autoimmunity and autoimmune diseases [J]. *J Autoimmun*, 2009, 32:189-194.
- [13] Keller A, Leidinger P, Lange J, Borries A, Schroers H, Scheffler M, et al. Multiple sclerosis: microRNA expression profiles accurately differentiate patients with relapsing-remitting disease from healthy controls [J]. *PLoS One*, 2009, 4:e7440.
- [14] Sievers C, Meira M, Hoffmann F, Fontoura P, Kappos L, Lindberg R L. Altered microRNA expression in B lymphocytes in multiple sclerosis: towards a better understanding of treatment effects [J]. *Clin Immunol*, 2012, 144:70-79.
- [15] Junker A, Krumbholz M, Eisele S, Mohan H, Augstein F, Bittner R, et al. MicroRNA profiling of multiple sclerosis lesions identifies modulators of the regulatory protein CD47 [J]. *Brain*, 2009, 132(Pt 12):3342-3352.
- [16] Kuusisto H, Kaprio J, Kinnunen E, Luukkaala T, Koskenvuo M, Elovaara I. Concordance and heritability of multiple sclerosis in Finland: study on a nationwide series of twins [J]. *Eur J Neurol*, 2008, 15:1106-1110.
- [17] Baranzini S E, Mudge J, van Velkinburgh J C, Khankha-

- nian P, Khrebtkova I, Miller N A, et al. Genome, epigenome and RNA sequences of monozygotic twins discordant for multiple sclerosis[J]. *Nature*, 2010, 464: 1351-1356.
- [18] Fraga M F, Ballestar E, Paz M F, Ropero S, Setien F, Ballestar M L, et al. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 10604-10609.
- [19] Feinberg A P, Tycko B. The history of cancer epigenetics[J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4: 143-153.
- [20] Simpson S Jr, Taylor B, Blizzard L, Ponsonby A L, Pittas F, Tremlett H, et al. Higher 25-hydroxyvitamin D is associated with lower relapse risk in multiple sclerosis[J]. *Ann Neurol*, 2010, 68: 193-203.
- [21] Joshi S, Pantalena L C, Liu X K, Gaffen S L, Liu H, Rohowsky-Kochan C, et al. 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ ameliorates Th17 autoimmunity via transcriptional modulation of interleukin-17A[J]. *Mol Cell Biol*, 2011, 31: 3653-3669.
- [22] Pereira F, Barbácho A, Singh P K, Campbell M J, Muoz A, Larriba M J. Vitamin D has wide regulatory effects on histone demethylase genes[J]. *Cell Cycle*, 2012, 11: 1081-1089.
- [23] Xiao L, Guo D, Hu C, Shen W, Shan L, Li C, et al. Diosgenin promotes oligodendrocyte progenitor cell differentiation through estrogen receptor-mediated ERK1/2 activation to accelerate remyelination[J]. *Glia*, 2012, 60: 1037-1052.
- [24] Kipp M, Amor S, Krauth R, Beyer C. Multiple sclerosis: neuroprotective alliance of estrogen-progesterone and gender[J]. *Front Neuroendocrinol*, 2012, 33: 1-16.
- [25] Noorbakhsh F, Ellestad K K, Maingat F, Warren K G, Han M H, Steinman L, et al. Impaired neurosteroid synthesis in multiple sclerosis[J]. *Brain*, 2011, 134(Pt 9): 2703-2721.
- [26] Hernán M A, Olek M J, Ascherio A. Cigarette smoking and incidence of multiple sclerosis[J]. *Am J Epidemiol*, 2001, 154: 69-74.
- [27] Koturbash I, Beland F A, Pogribny I P. Role of epigenetic events in chemical carcinogenesis—a justification for incorporating epigenetic evaluations in cancer risk assessment[J]. *Toxicol Mech Methods*, 2011, 21: 289-297.
- [28] Handel A E, Williamson A J, Disanto G, Handunnetthi L, Giovannoni G, Ramagopalan S V. An updated meta-analysis of risk of multiple sclerosis following infectious mononucleosis[J]. *PLoS One*, 2010, 5: e12496.
- [29] Cao L, He C. Polarization of macrophages and microglia in inflammatory demyelination[J]. *Neurosci Bull*, 2013, 29: 189-198.
- [30] Butovsky O, Landa G, Kunis G, Ziv Y, Avidan H, Greenberg N, et al. Induction and blockage of oligodendrogenesis by differently activated microglia in an animal model of multiple sclerosis[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116: 905-915.
- [31] Guedes J, Cardoso A L, Pedroso de Lima M C. Involvement of microRNA in microglia-mediated immune response[J]. *Clin Dev Immunol*, 2013, 2013: 186872.
- [32] Du C, Liu C, Kang J, Zhao G, Ye Z, Huang S, et al. MicroRNA miR-326 regulates TH-17 differentiation and is associated with the pathogenesis of multiple sclerosis[J]. *Nat Immunol*, 2009, 10: 1252-1259.
- [33] O'Connell R M, Kahn D, Gibson W S, Round J L, Scholz R L, Chaudhuri A A, et al. MicroRNA-155 promotes autoimmune inflammation by enhancing inflammatory T cell development[J]. *Immunity*, 2010, 33: 607-619.
- [34] Chestnut B A, Chang Q, Price A, Lesuisse C, Wong M, Martin L J. Epigenetic regulation of motor neuron cell death through DNA methylation[J]. *J Neurosci*, 2011, 31: 16619-16636.
- [35] Moscarello M A, Mastronardi F G, Wood D D. The role of citrullinated proteins suggests a novel mechanism in the pathogenesis of multiple sclerosis[J]. *Neurochem Res*, 2007, 32: 251-256.
- [36] Mastronardi F G, Noor A, Wood D D, Paton T, Moscarello M A. Peptidylargininedeiminase 2 CpG island in multiple sclerosis white matter is hypomethylated[J]. *J Neurosci Res*, 2007, 85: 2006-2016.