

DOI:10.16781/j.0258-879x.2017.02.0220

• 综述 •

## DNA 甲基化与哮喘研究进展

万李萍, 李莎, 商艳\*, 白冲

第二军医大学长海医院呼吸及危重症医学科, 上海 200433

**[摘要]** DNA 甲基化作为表观遗传最常见的修饰形式之一, 与哮喘的发生密切相关, 虽然其本身不改变基因的序列, 但可以在 DNA 甲基转移酶的作用下使 CpG 二核苷酸 5' 端的胞嘧啶转变为甲基胞嘧啶, 参与基因表达的调控, 进而导致疾病的发生、发展。本文将综述近年相关文献, 从诱发因素和作用机制等方面归纳和探讨 DNA 甲基化与哮喘的研究进展。

**[关键词]** 哮喘; 表观遗传学; DNA 甲基化; 屋尘螨

**[中图分类号]** R 562.25 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2017)02-0220-06

### DNA methylation and asthma: recent progress

WAN Li-ping, LI Sha, SHANG Yan\*, BAI Chong

Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** DNA methylation is one of the most common forms of epigenetic modification, and it is closely related to the development of bronchial asthma, but its mechanism is unclear. Without altering the sequences of genes, DNA methylation can transfer the cytosine on the 5' end of CpG dinucleotide into methyl cytosine by DNA methyltransferase. Hence, DNA methylation can regulate gene expression, leading to the development and progression of diseases. In this review, we summarized the roles of DNA methylation in bronchial asthma, including related predisposing factors and mechanisms of action.

**[Key words]** asthma; epigenetics; DNA methylation; house dust mite

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2017, 38(2): 220-225]

支气管哮喘(哮喘)是呼吸系统的常见疾病, 近年来其发病率和患病率呈逐年上升趋势, 已经成为全球关注的公众健康问题<sup>[1-2]</sup>。目前研究认为哮喘为多基因遗传与环境因素相互作用导致的复杂疾病, 表观遗传学是联系环境因素与遗传易感因素之间的纽带, 通过影响基因修饰和调节遗传基因的功能与特性, 使机体免疫系统的发育及功能紊乱<sup>[3]</sup>。DNA 甲基化是表观遗传调控中研究得最早, 也是最重要的一种修饰方式, 其参与了基因-环境间复杂的相互作用, 从而导致哮喘的发生<sup>[4]</sup>。本文综述了近

年相关文献, 从诱发因素和作用机制等方面归纳和探讨 DNA 甲基化与哮喘的研究进展。

### 1 DNA 甲基化

DNA 甲基化是指 DNA 序列中的腺嘌呤(A)或胞嘧啶(C)碱基在 DNA 甲基化转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)的催化下与甲基发生共价结合, 在细胞分裂过程中传递给子细胞的表观遗传现象。DNA 的甲基化主要发生于 CpG 岛, 人类基因组中 CpG 岛大小为 100~1 000 bp, 富含 CpG

**[收稿日期]** 2016-09-27 **[接受日期]** 2016-12-15

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81570020), 教育部留学回国人员科研启动基金, 浙江省公益技术应用研究计划项目(2016C33216), 湖南省教育厅重点科研项目(16A152), 浦东新区科技发展基金(PKJ2016-Y49)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81570020), Scientific Research Foundation of Ministry of Education for the Returned Overseas Chinese Scholars, Public Welfare Technology Application Research Project of Zhejiang Province (2016C33216), Key Program of Science Research of Education Department of Hunan (16A152) and Science and Technology Development Fund of Pudong New District (PKJ2016-Y49).

**[作者简介]** 万李萍, 硕士生, 主治医师。E-mail: fdfp86@126.com

\* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-31161319, E-mail: shangyan751200@163.com

二核苷酸,常位于转录调控区附近,与56%的人类基因组编码基因相关,且处于未甲基化状态<sup>[5]</sup>。目前DNMT主要包括DNMT1、DNMT3a和DNMT3b, DNMT1负责完成复制后新合成链的甲基化以维持DNA的甲基化水平,在胚胎和成体中均有表达,但不能起始甲基化; DNMT3a和DNMT3b主要在胚胎和胚胎干细胞(embryonic stem cell)中有较高的活性,可以起始甲基化<sup>[6]</sup>。DNA的甲基化改变包括高甲基化(hypermethylation)和低甲基化(hypomethylation)两种状态。基因启动子区DNA高甲基化意味着基因的沉默,而低甲基化意味着基因激活。DNA高甲基化引起的基因表达抑制是通过含有甲基化CpG结合域(methyl-CpG-binding domain, MBD)的蛋白来实现的,此外还可以招募其他组蛋白修饰或重塑因子,引起组蛋白的去乙酰化和染色质凝集,进而抑制基因转录<sup>[7-8]</sup>。DNA的低甲基化主要是在去甲基化酶的作用下利用核苷酸切除和连接步骤而进行的核酸替代过程,这一阶段去甲基化酶活性的激活受锚定在CpG岛特异位点的蛋白的影响<sup>[9-10]</sup>。在DNA甲基化阻遏基因表达过程中,甲基化CpG结合蛋白起着重要作用。它们是一组序列特异性的DNA结合蛋白,通过与甲基化的二核苷酸CpG结合,改变染色质结构,抑制基因转录。

DNA甲基化是表观遗传调控中首先被确认,并被研究得最广泛的机制之一<sup>[11]</sup>。DNA甲基化导致基因沉默,进而下调基因的表达。主要通过下列途径:(1)5-甲基胞嘧啶伸入到DNA双螺旋主沟,从而干扰转录子与启动子的结合;(2)甲基-CpG集合区蛋白与甲基化的启动子选择性地结合成复合物,竞争性夺取转录因子的结合部位;(3)启动子区甲基化CpG与甲基-CpG集合区蛋白特异性结合,后者再与组蛋白去乙酰基转移酶结合形成复合物,促使核心组蛋白尾部去乙酰化,减少转录因子暴露其相应顺式元件结合部位<sup>[12-14]</sup>。真核生物的甲基化是CpG二核苷酸的胞嘧啶的第5个碳原子,以S-腺苷甲硫氨酸作为供体,在DNMT的作用下,添加上1个甲基基团而变为5-甲基胞嘧啶,从而引起基因组中相应区域染色质结构变化,使DNA失去限制性内切酶的切割位点以及DNA酶的敏感位点,染色质高度螺旋化、凝缩成团,最终失去转录活性<sup>[15]</sup>。DNA甲基化在Th2细胞因子的表

达和Th细胞的发育过程中起着重要的调控作用, *IL-4*基因启动子发生去甲基化时,原始T细胞会向Th2细胞方向分化<sup>[3,16]</sup>。将DNMT抑制剂5-氮杂胞嘧啶核苷(5-azacytidine, 5-Aza)应用于卵清蛋白(ovalbumin, OVA)致敏小鼠模型,能够增加调节性T细胞的数量,提示5-Aza具有治疗哮喘的潜在优势,证实DNA甲基化在哮喘发生过程中发挥了重要作用<sup>[17]</sup>。

## 2 哮喘中DNA甲基化改变的诱因

DNA甲基化是一个多因素参与从而导致相关基因发生甲基化改变的过程,在哮喘的发生过程中,关键基因的甲基化特征性改变可能与某些危险因素的暴露有关。

2.1 环境因素影响 环境因素可以加重过敏性气道疾病的遗传风险,生命早期环境暴露可诱导DNA甲基化水平发生改变,从而对机体的免疫调节产生影响,导致哮喘等过敏性疾病发生<sup>[18]</sup>。环境中某些危险因素暴露诱发关键基因发生甲基化改变是哮喘发生的原因之一,如空气污染物、生物污染物等。

空气污染物可以导致DNA的损害和甲基化状态改变,加重氧化应激,因此被认为是引发哮喘的重要因素。一项前瞻性出生队列研究发现,如果在出生1年内受到空气污染影响,那么4周岁内儿童对花粉的致敏性明显增强<sup>[19]</sup>。也有研究提示暴露于污染空气中的颗粒物(如PM<sub>2.5</sub>)会导致诱导型一氧化氮合酶启动子区甲基化水平下调,从而使呼出气一氧化氮(fractional exhaled nitric oxide, FeNO)生成增加,导致气道炎症的发生<sup>[20]</sup>。暴露于污染空气中的硫酸盐与黑炭可以引起某些哮喘发生相关基因位点的DNA甲基化水平改变,如*HLA-DPA1*、*fcer1g*、*IL-10*和*CCL11*等基因,提示空气污染可导致某些特定基因的甲基化水平改变而诱发哮喘及其他呼吸道问题<sup>[21]</sup>。对比居住在不同污染程度地区的哮喘儿童后发现,空气污染严重地区的哮喘儿童体内叉头框蛋白P3(forkhead box protein P3, FOXP3)DNA甲基化水平升高,患儿调节T细胞功能异常,从而导致哮喘的发生<sup>[22-23]</sup>。

此外,烟雾暴露被认为与表观遗传学的改变相关。有研究显示,母亲在孕期吸烟可能会导致子女基因组全甲基化和与癌症或发育相关基因的启动子

区域的甲基化,从而导致包括儿童期哮喘以及成年后的心血管疾病、肺功能低下等一系列的健康问题<sup>[24]</sup>。多环芳香烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是一种矿物燃料燃烧的产物,在交通发达地区浓度较高,具有基因毒性和致癌作用,Perera 等<sup>[25]</sup>研究发现母亲在怀孕期间接触环境污染物可使其子女易患哮喘,主要原因是胎儿经胎盘暴露于 PAHs。研究者运用甲基化敏感性限制性指纹法检测妇女分娩后收集的脐血白细胞基因组 DNA,识别出基因序列,这些基因序列在母体接触 PAHs 高水平组和低水平组间的甲基化状态不同,其中酰基辅酶 A 合成长链家庭成员 3 (acyl-CoA synthetase long-chain family member 3, ACSL3) 的甲基化状态可作为一种将出生前 PAHs 接触与儿童哮喘相关联的生物标记物。在高水平 PAHs 接触母体的儿童中,81% 具有 ACSL3 基因启动子甲基化,而在低水平 PAHs 接触母体的儿童中,只有 23% 的 ACSL3 基因启动子甲基化 (OR = 13.8;  $P < 0.001$ , 敏感性 75%, 特异性 82%)。在胎儿 ACSL3 甲基化和出生后 5 岁前哮喘患病率也存在关联性,73% 的哮喘儿童显示存在 ACSL3 甲基化,而只有 41% 无哮喘的儿童显示有 ACSL3 甲基化 (OR = 3.9,  $P < 0.05$ )。这一研究结果表明,外界环境污染物可以影响机体 DNA 甲基化状态的改变,通过对胎儿脐带血白细胞基因组 DNA 甲基化状态的检测能够预测哮喘患病的风险性。

生物污染物暴露也可以导致 DNA 甲基化改变,从而引起哮喘等过敏性疾病。研究认为,抗生素的使用及宠物和(或)农场环境暴露导致的生命早期肠道微生物定植模式改变可能是过敏性疾病迅速上升的重要原因<sup>[26]</sup>。早期微生物暴露水平过低可能通过干扰素  $\gamma$  (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 基因甲基化水平增高从而导致过敏性疾病的危险性增加<sup>[27]</sup>。而孕期妇女农场微生物环境暴露则可以增加后代 FOXP3 基因去甲基化水平,促使脐血调节 T 细胞计数增加且 FOXP3 高表达,从而降低过敏性疾病的发生概率<sup>[28]</sup>。哮喘相关基因 ORMDL1、STAT 低甲基化及 RAD50、IL-13 高甲基化与孕妇农场微生物环境暴露显著相关,与对照组相比,生活在农场里的孕妇胎盘食物过敏候选基因之一 CD14 启动子区的 DNA 甲基化水平明显降低,过敏的风险从而降低<sup>[29-30]</sup>。

2.2 饮食因素影响 与空气、微生物环境相同,饮食中参与机体一碳代谢的一些营养物质也会促使一些基因的 DNA 发生甲基化改变。例如作为甲基供体的叶酸大量存在于日常饮食中,且有孕妇将其作为孕期的常规补充。研究发现,叶酸浓度水平的变化与基因 DNA 甲基化状态和过敏反应程度存在一定关联<sup>[31-32]</sup>,但其关联的强度目前存在争议。有研究显示孕鼠服用叶酸后会影响 DNA 甲基化水平,增加其后代患呼吸道疾病的风险<sup>[33]</sup>。也有研究表明,高血清叶酸水平是过敏性疾病发生的保护因素<sup>[34]</sup>。因此,尚需大样本数据进行验证。另外,除叶酸外,饮食中的某些营养物质(如维生素 B<sub>12</sub>、B<sub>6</sub>、B<sub>2</sub>、锌)也可为甲基化提供甲基<sup>[8]</sup>。孕鼠摄取富含甲基供体的饮食后,其 82 个相关基因位点 DNA 发生甲基化改变从而导致相关基因转录水平降低,过敏性气道疾病的严重程度增强,且可遗传至后代<sup>[35]</sup>。除富含甲基供体饮食外,摄入多不饱和脂肪酸的量也与过敏性疾病相关基因肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 基因启动子区 DNA 甲基化水平的改变有关<sup>[36]</sup>。一项研究发现,孕妇从孕中期到分娩饮食每天补充二十二碳六烯酸(DHA) 400 mg 可显著影响与脐血单核细胞免疫功能相关基因,如 IFN- $\gamma$  和 IL-13 的启动子区域的甲基化水平,提示相关营养素在孕期即可诱导胎儿产生表观遗传学改变<sup>[37]</sup>。然而,目前孕期营养与表观遗传学的相关性研究尚不深入,多集中于某些热点基因,若采用全基因组的方法则有可能寻找到特定营养素作用的新靶点。此外,对于特定营养素启动表观遗传机制的敏感期、营养素如何通过表观遗传机制影响免疫和代谢基因尚需更多深入的研究,其结果将为临床采用营养干预、减少过敏性疾病的危险性提供依据<sup>[38-39]</sup>。

### 3 DNA 甲基化在哮喘发病中作用

哮喘是一种由多种细胞及细胞成分共同参与而形成的气道慢性炎症性疾病,与 Th1/Th2 细胞失衡、Th2/Treg 细胞失衡等密切相关。DNA 异常甲基化对免疫细胞及细胞因子的转录及功能都会产生影响。目前研究发现 FOXP3 基因高甲基化导致 Treg 细胞的分化和功能受损,从而增加哮喘的发病率及病情的严重程度<sup>[40]</sup>。哮喘患者的 STAT6 基因转录及表达受其 DNA 甲基化水平调控,从而影响

原始 T 细胞向 Th2 细胞分化,并促进 Th2 相关细胞因子的产生<sup>[41]</sup>。此外,哮喘患者 T 细胞中 *IL-4* 基因的启动子区域 CpG 岛甲基化水平升高,当过敏原刺激后,*IL-4* 基因启动子区去甲基化,从而导致原始 T 淋巴细胞向 Th2 细胞方向分化<sup>[14,23]</sup>。

Shang 等<sup>[42]</sup>使用屋尘螨致敏和激发 C57BL/6 小鼠的方法建立小鼠哮喘模型,应用 MethylFlash 荧光试剂盒进行小鼠肺组织基因组整体水平甲基化状态的检测,并应用 RT-PCR 及重亚硫酸盐基因组测序的方法检测基因表达与启动子区甲基化之间的关系。结果发现哮喘小鼠肺组织 5-甲基胞嘧啶和 5-羟甲基胞嘧啶均较对照组明显增加,随后通过甲基化敏感性限制性指纹图谱技术识别了一组与屋尘螨致敏有关的异常甲基化状态的基因,包括与平滑肌收缩有关的 *PDE4D*, 涉及染色质重塑的 *NSBP1*, *PI3K* 通路的 *AKT1S1*, 涉及离子转运的 *TM6SF1*, *POM12I2* 和 *NCX3*, 与哮喘易感性有关的 *ACSL3* 和 *IL-4RA* 等。屋尘螨致敏小鼠中 *PDE4D*, *IL-4RA*, *TM6SF1*, *POM12I2*, *AKT1S1* 基因表达上调, *NSBP1*, *NCX3* 和 *ACSL3* 基因表达下调。其中 *PDE4D*, *POM12I2*, *NCX3* 基因表达情况和特异性位点的甲基化状态密切相关,提示屋尘螨致敏通过 DNA 甲基化导致上述基因的遗传修饰。

随后,该研究小组使用甲基化 DNA 免疫共沉淀测序技术及生物学信息分析,进一步研究了特异性基因 DNA 甲基化在慢性屋尘螨哮喘小鼠发病中的作用,识别了一组与慢性屋尘螨哮喘有关的异常甲基化状态的基因,共 213 个候选基因,有 83 个基因功能明确,涉及 27 个信号通路。其中转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 信号转导通路与 DNA 甲基化调控关系密切,在通路相关的 19 个基因中有 10 个基因 DNA 甲基化状态与表达相关, *Tgfb2*, *Smad2*, *Smad3*, *Il6r*, *Trpm2*, *Slc22a15*, *Cartpt* 和 *Bmp3* 甲基化水平降低、基因表达升高差异有统计学意义; *Ski* 和 *Gal3st1* 甲基化水平增加,基因表达下降; *Crebzf*, *Fam198b*, *Il36b*, *Msr1*, *Pde10a*, *Plcl2*, *Prkg2*, *P4ha2* 和 *Unc93b1* 甲基化与基因表达差异无统计学意义<sup>[43]</sup>。提示屋尘螨致敏导致的肺或气道的改变可能至少部分通过表观遗传机制介导,基因特异性甲基化可以作为环境因素暴露和哮喘易感性的生物学标记物。

该课题组还发现 *PDE4D* 甲基化在哮喘气道高反应性中发挥重要作用。哮喘患者气道平滑肌细胞 *PDE4D* 启动子区 CpG 岛甲基化水平降低, mRNA 水平升高。使用特异性甲基化寡核苷酸提高 *PDE4D* 甲基化水平,能够抑制平滑肌细胞的增殖和迁移能力,在该过程中 *PDE4D* 启动子区甲基化降低了平滑肌中 *PDE4D* 的表达水平,促使 cAMP 升高,抑制  $Ca^{2+}$  水平异常升高,并降低  $Ca^{2+}$  信号转导下游通路的效应分子如肌球蛋白轻链激酶和 P38 的磷酸化水平<sup>[44]</sup>。因此, *PDE4D* 高甲基化可促使功能异常的哮喘患者气道平滑肌细胞恢复正常,为哮喘的治疗提供新的靶点。

#### 4 小结

综上所述, DNA 甲基化调控基因的表达是一个多因素参与的多阶段过程,这些影响因素、调节方式相互影响、相互作用,形成了复杂的表观遗传调控网络,参与了哮喘的发病过程。但对于 DNA 甲基化调控、修饰的关键作用靶点及具体机制目前知之尚少,有待进一步深入研究,为明确哮喘的发病机制及未来治疗提供新的研究方向。

#### [参考文献]

- [1] GARIN N, KOYANAGI A, CHATTERJI S, TYROVOLAS S, OLAYA B, LEONARDI M, et al. Global multimorbidity patterns: a cross-sectional, population-based, multi-country study[J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2016, 71: 205-214.
- [2] WU M K, WANG H Y, CHEN Y W, LIN P Y, WU C K, TSENG P T. Significantly higher prevalence rate of asthma and bipolar disorder co-morbidity: a meta-analysis and review under PRISMA guidelines[J/OL]. Medicine (Baltimore), 2016, 95: e3217. doi: 10.1097/MD.0000000000003217.
- [3] SALAM M T. Asthma epigenetics[J]. Adv Exp Med Biol, 2014, 795: 183-199.
- [4] KARMAUS W, ZIYAB A H, EVERSON T, HOLLOWAY J W. Epigenetic mechanisms and models in the origins of asthma[J]. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2013, 13: 63-69.
- [5] GUNAWARDHANA L P, GIBSON P G, SIMPSON J L, BENTON M C, LEA R A, BAINES K J. Characteristic DNA methylation profiles in peripheral

- blood monocytes are associated with inflammatory phenotypes of asthma[J]. *Epigenetics*, 2014, 9: 1302-1316.
- [6] MORALES E, BUSTAMANTE M, VILAHUR N, ESCARAMIS G, MONTFORT M, DE CID R, et al. DNA hypomethylation at *ALOX12* is associated with persistent wheezing in childhood[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 185: 937-943.
- [7] KIM Y J, PARK S W, KIM T H, PARK J S, CHEONG H S, SHIN H D, et al. Genome-wide methylation profiling of the bronchial mucosa of asthmatics: relationship to atopy [J]. *BMC Med Genet*, 2013, 14: 39.
- [8] JIA M, GAO X, ZHANG Y, HOFFMEISTER M, BRENNER H. Different definitions of CpG island methylator phenotype and outcomes of colorectal cancer: a systematic review[J]. *Clin Epigenet*, 2016, 8: 25.
- [9] WYSOCKI K, CONLEY Y, WENZEL S. Epigenome variation in severe asthma[J]. *Biol Res Nurs*, 2015, 17: 263-269.
- [10] TANDAY S. Epigenetic study identifies genes linked to asthma and allergy[J]. *Lancet Respir Med*, 2015, 3: 274.
- [11] LEE S T, WIEMELS J L. Genome-wide CpG island methylation and intergenic demethylation propensities vary among different tumor sites[J]. *Nucl Acid Res*, 2016, 44: 1105-1117.
- [12] RICO-ROSILLO G, VEGA-ROBLEDO G B, SILVA-GARCÍA R, OLIVA-RICO D. Epigenetics, environment and asthma[J]. *Rev Alerg Mex*, 2014, 61: 99-109.
- [13] SEUMOIS G, CHAVEZ L, GERASIMOVA A, LIENHARD M, OMRAN N, KALINKE L, et al. Epigenomic analysis of primary human T cells reveals enhancers associated with  $T_H2$  memory cell differentiation and asthma susceptibility [J]. *Nat Immunol*, 2014, 15: 777-788.
- [14] SCHIECK M, SHARMA V, MICHEL S, TONCHEVA A A, WORTH L, POTACZEK D P, et al. A polymorphism in the  $T_H2$  locus control region is associated with changes in DNA methylation and gene expression[J]. *Allergy*, 2014, 69: 1171-1180.
- [15] WU C J, YANG C Y, CHEN Y H, CHEN C M, CHEN L C, KUO M L. The DNA methylation inhibitor 5-azacytidine increases regulatory T cells and alleviates airway inflammation in ovalbumin-sensitized mice[J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2013, 160: 356-364.
- [16] VERMA M, CHATTOPADHYAY B D, PAUL B N. Epigenetic regulation of *DNMT1* gene in mouse model of asthma disease[J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40: 2357-2368.
- [17] WYSOCKI K, CONLEY Y, WENZEL S. Epigenome variation in severe asthma[J]. *Biol Res Nurs*, 2015, 17: 263-269.
- [18] TANDAY S. Epigenetic study identifies genes linked to asthma and allergy[J]. *Lancet Respir Med*, 2015, 3: 274.
- [19] JIANG R, JONES M J, SAVA F, KOBOR M S, CARLSTEN C. Short-term diesel exhaust inhalation in a controlled human crossover study is associated with changes in DNA methylation of circulating mononuclear cells in asthmatics[J]. *Part Fibre Toxicol*, 2014, 11: 71.
- [20] YANG I V, PEDERSEN B S, LIU A, O'CONNOR G T, TEACH S J, KATTAN M, et al. DNA methylation and childhood asthma in the inner city[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 136: 69-80.
- [21] EYRING K R, PEDERSEN B S, YANG I V, SCHWARTZ D A. In utero cigarette smoke affects allergic airway disease but does not alter the lung methylome[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10: e0144087. doi: 10.1371/journal.pone.0144087.
- [22] BRETON C V, SIEGMUND K D, JOUBERT B R, WANG X, QUI W, CAREY V, et al. Prenatal tobacco smoke exposure is associated with childhood DNA CpG methylation[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9: e99716. doi: 10.1371/journal.pone.0099716.
- [23] THOMPSON L J, LAI J F, VALLADAO A C, THELEN T D, URRY Z L, ZIEGLER S F. Conditioning of naive  $CD4^+$  T cells for enhanced peripheral Foxp3 induction by nonspecific bystander inflammation[J]. *Nat Immunol*, 2016, 17: 297-303.
- [24] SHANG Y, DAS S, RABOLD R, SHAM J S, MITZNER W, TANG W Y. Epigenetic alterations by DNA methylation in house dust mite-induced airway hyperresponsiveness[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 49: 279-287.
- [25] PERERA F, TANG W Y, HERBSTMAN J, TANG

- D, LEVIN L, MILLER R, et al. Relation of DNA methylation of 5'-CpG island of ACSL3 to transplacental exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and childhood asthma [J/OL]. *PLoS One*, 2009, 4: e4488. doi: 10.1371/journal.pone.0004488.
- [26] TAUBE C, HIEMSTRA P S. IL-13 and the airway epithelium. It is all in the genes[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 193: 347-348.
- [27] LLUIS A, DEPNER M, GAUGLER B, SAAS P, CASACA V I, RAEDLER D, et al. Increased regulatory T-cell numbers are associated with farm milk exposure and lower atopic sensitization and asthma in childhood [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 133: 551-559.
- [28] SHARMA S, LITONJUA A. Asthma, allergy, and responses to methyl donor supplements and nutrients [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 133: 1246-1254.
- [29] ROSSNEROVA A, TULUPOVA E, TABASHIDZE N, SCHMUCZEROVA J, DOSTAL M, ROSSNER P Jr, et al. Factors affecting the 27K DNA methylation pattern in asthmatic and healthy children from locations with various environments [J]. *Mutat Res*, 2013, 741-742: 18-26.
- [30] REINIUS L E, GREFO A, SÄÄF A, ACEVEDO N, JOERINK M, KUPCZYK M, et al. DNA methylation in the neuropeptide S receptor 1 (NPSR1) promoter in relation to asthma and environmental factors [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8: e53877. doi:10.1371/journal.pone.0053877.
- [31] 邢梦娟,胡燕.表观遗传学在过敏性疾病发生中作用的研究进展[J].*中国实用儿科杂志*,2015,30:944-947.
- [32] GAFFIN J M, RABY B A, PETTY C R, HOFFMAN E B, BACCARELLI A A, GOLD D R, et al.  $\beta$ -2 adrenergic receptor gene methylation is associated with decreased asthma severity in inner-city schoolchildren: asthma and rhinitis [J]. *Clin Exp Allergy*, 2014, 44: 681-689.
- [33] COLLISON A, SIEGLE J S, HANSBRO N G, KWOK C T, HERBERT C, MATTES J, et al. Epigenetic changes associated with disease progression in a mouse model of childhood allergic asthma [J]. *Dis Mod Mech*, 2013, 6: 993-1000.
- [34] RASTOGI D, SUZUKI M, GREALLY J M. Differential epigenome-wide DNA methylation patterns in childhood obesity-associated asthma [J]. *Sci Rep* 2013, 3: 2164.
- [35] DEVRIES A, VERCELLI D. Epigenetics of human asthma and allergy: promises to keep [J]. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 2013, 31: 183-189.
- [36] SABOUNCHI S, BOLLYKY J, NADEAU K. Review of environmental impact on the epigenetic regulation of atopic diseases [J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2015, 15: 33.
- [37] KABESCH M. Epigenetics in asthma and allergy [J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2014, 14: 62-68.
- [38] DEVRIES A, VERCELLI D. Early predictors of asthma and allergy in children: the role of epigenetics [J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2015, 15: 435-439.
- [39] ACEVEDO N, REINIUS L E, GREFO D, GREFO A, ORSMARK-PIETRAS C, PERSSON H, et al. Risk of childhood asthma is associated with CpG-site polymorphisms, regional DNA methylation and mRNA levels at the *GSDMB/ORMDL3* locus [J]. *Hum Mol Genet*, 2015, 24: 875-890.
- [40] NEDEAU K, MCDONALD-HYMAN C, NOTH E M, PRATT B, HAMMOND S K, BALMES J, et al. Ambient air pollution impairs regulatory T-cell function in asthma [J/OL]. *J Allergy Clin Immunol*, 2010, 126: 845-852. e10. doi: 10.1016/j.jaci.2010.08.008.
- [41] ZHU J, YAMANE H, Paul W E. Differentiation of effector CD4 T cell populations\* [J]. *Annu Rev Immunol*, 2010, 28: 445-489.
- [42] SHANG Y, DAS S, RABOLD R, SHAM J S, MITZNER W, TANG W Y. Epigenetic alterations by DNA methylation in house dust mite-induced airway hyperresponsiveness [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 49: 279-287.
- [43] CHENG R Y, SHANG Y, LIMJUNYAWONG N, DAO T, DAS S, RABOLD R, et al. Alterations of the lung methylome in allergic airway hyper-responsiveness [J]. *Environ Mol Mutagen*, 2014, 55: 244-255.
- [44] LIN A H, SHANG Y, MITZNER W, SHAM J S, TANG W Y. Aberrant DNA methylation of phosphodiesterase 4D alters airway smooth muscle cell phenotypes [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2016, 54: 241-249.