

# 变应性鼻炎甲基化基因筛选及甲基化谱的建立\*

周穗子<sup>1</sup> 彭杨<sup>2</sup> 詹建东<sup>2</sup> 邱前辉<sup>1,2</sup>

**[摘要]** 目的:通过甲基化芯片筛选出变应性鼻炎(AR)相关基因异常甲基化位点,探究DNA甲基化与AR的关系。**方法:**提取19例AR患者和11例正常下鼻甲黏膜组织DNA制成illumina甲基化芯片,通过筛选差异性甲基化位点、Gene Ontology功能富集、KEGG通路富集和文献检索对所筛选的基因进行综合分析。**结果:**AR患者中出现的异常甲基化位点总共为94个,其中包括高甲基化位点51个(如ST7、LCE2D、ATRIP基因),低甲基化位点43个(如PIK3CG、TLR6、IL-4基因)。通过Gene Ontology功能富集、KEGG通路富集分析提示DNA甲基化与AR有相关趋势,ST7、LCE2D、PIK3CG基因DNA甲基化可能与AR相关,GO分析与KEGG分析差异无统计学意义。另外结合文献,TLR6基因和IL-4基因DNA甲基化可能与AR发病相关。**结论:**通过高通量甲基化芯片,在AR下鼻甲组织标本中筛选出不同程度的甲基化基因,提示基因甲基化是AR发病的重要原因,其之间的关联情况仍需进一步研究。

**[关键词]** 鼻炎,变应性;甲基化芯片;基因;DNA甲基化

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2019.01.006

**[中图分类号]** R765.21 **[文献标志码]** A

## Detection of methylated genes related to allergic rhinitis and establishment of methylation profile

ZHOU Suizi<sup>1</sup> PENG Yang<sup>2</sup> ZHAN Jiandong<sup>2</sup> QIU Qianhui<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>The Second School of Clinical Medicine, Southern Medical University, Guangzhou, 510515, China; <sup>2</sup>Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Guangdong People's Hospital)

Corresponding author: QIU Qianhui, E-mail: qiuqianhui@hotmail.com

**Abstract Objective:** The aim of this study is to detect differentially methylated genes to allergic rhinitis (AR) based on methylation chip, and to analyze the relationship between DNA methylation and AR. **Method:** Illumina methylation chip were made by normal inferior turbinate mucous tissue obtained from patients ( $n=19$ ) and healthy individuals ( $n=11$ ). Detection of differential the sites of methylated genes, Gene Ontology enrichment, KEGG pathway enrichment database and literature search were used to analysis. **Result:** There were 94 aberrant methylation sites in patients with AR, including 51 hypermethylation sites (e.g. ST7, LCE2D, ATRIP genes) and 43 hypomethylation sites (e.g. PIK3CG, TLR6, IL-4 genes). The results of Gene Ontology enrichment and KEGG pathway enrichment indicates the DNA methylation has relative trend with AR, and DNA methylation of ST7, LCE2D, PIK3CG genes may be associated with AR, but the results of GO analysis and KEGG analysis were statistically significant. Moreover, literature search prompts that DNA methylation of TLR6 gene and IL-4 gene may be associated with AR. **Conclusion:** Varying degrees of methylated genes from inferior turbinate mucous tissue based on high-flux methylation chip hint gene methylation is an important cause of AR. The relationship between them needs further verification.

**Key words** rhinitis, allergic; methylation chip; gene; DNA methylation

变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR)是一种常见的呼吸道疾病,以IgE介导为主的鼻黏膜非感染性慢性炎性疾病<sup>[1]</sup>。世界过敏组织(WAO)研究表明,目前环境的总体变化使全球AR等呼吸道疾病的发病率甚至死亡率都逐年上升<sup>[2]</sup>。2014年AR的流行病学报道指出,我国大陆地区AR患病率为4%~38%,且呈明显上升态势<sup>[3]</sup>。因此,AR已愈

发地威胁人类的健康及影响其生活质量。DNA甲基化作为最常见的表观遗传修饰形式,近年来成为了AR领域研究的重要热点之一<sup>[4]</sup>。DNA甲基化是指在甲基化酶的催化作用下,以S-腺苷甲硫氨酸为甲基(-CH<sub>3</sub>)的供体,DNA分子的CG 2个核苷酸的胞嘧啶被选择性地添加甲基,形成5-甲基胞嘧啶(5mC)的过程。随着二代测序技术的完善及第三代纳米孔、单分子实时测序(single-molecule real-time, SMRT)等技术的快速发展,已经为DNA甲基化的研究提供了极大的便利,利用甲基化芯片技术探究AR的病因机制,在预防和控制其发生、发

\* 基金项目:广州市科技计划项目(No:201604020187)

<sup>1</sup>南方医科大学第二临床医学院(广州,510515)

<sup>2</sup>广东省人民医院耳鼻咽喉头颈外科

通信作者:邱前辉, E-mail: qiuqianhui@hotmail.com

展具有重要的价值<sup>[5-6]</sup>。下鼻甲黏膜是呼吸道的第一道防线,一旦下鼻甲黏膜功能异常,将减弱过敏原的清除作用。AR 患者下鼻甲黏膜组织是否出现 DNA 甲基化异常改变尚不明确。本研究应用 illumina 高通量甲基化芯片技术研究 AR 相关基因 DNA 甲基化情况,现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

**正常对照组:**11 例下鼻甲黏膜组织均来自住院手术患者,男 7 例,女 4 例。下鼻甲样本的采集在获得医院伦理委员会讨论及患者知情同意后执行。所有患者 AR 的排除参照国际 ARIA 指南的诊断标准<sup>[7]</sup>,并且皮肤点刺试验(Allergopharma, Reinbek, Germany)或血清敏筛过敏原检测系统(Mediwiss Analytic GmbH, Moers, Germany)的结果显示为阴性。所有患者均排除哮喘病史,不伴有急慢性鼻-鼻窦炎症状。

**AR 组:**19 例下鼻甲黏膜组织来自住院手术患者,男 13 例,女 6 例。按照 ARIA 指南的诊断标准<sup>[7]</sup>纳入,根据血清敏筛过敏原检测系统(Mediwiss Analytic GmbH, Moers, Germany),19 例患者过敏原检测均为阳性,血清 sIgE 含量均 > 0.35 U/ml。所有患者均排除哮喘病史,不伴有急慢性鼻-鼻窦炎症状。

### 1.2 组织样本 DNA 的抽提

取正常对照组及 AR 组下鼻甲黏膜,用 DNeasy Blood & Tissue Kit 试剂盒(Qiagen)进行 DNA 的抽提,采用紫外线分光光度计测定其浓度及总量,提取的 DNA 浓度在 100~300 ng/ $\mu$ l,总量在 5~15  $\mu$ g。

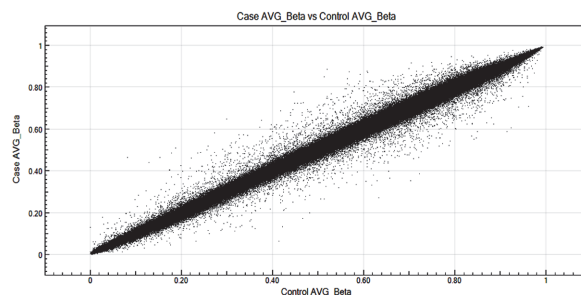
### 1.3 重亚硫酸盐转化 DNA

将提取的 DNA 与 EpiTect Bisulfite Kit 试剂盒(Qiagen)的转化体系混匀,在循环加热器上经过变性、孵育、保持等步骤进行重亚硫酸盐转化反应。

### 1.4 应用 illumina Human Methylation 850K 芯片检测

本次实验采用 illumina Human Methylation 850K 芯片,上海欧易生物有限公司完成。该芯片是 4X180K 的人种属高通量甲基化基因芯片,其覆盖了 23 148 RefSeq Promoters(-1 300 bp~+500 bp of TSS),其间隔窄,覆盖密度高,达到全基因覆盖。通过此基因芯片对 AR 和正常人组织标本扫描,比较 AR 与正常人鼻腔组织全基因组基因甲基化状态,通过电脑软件差异化分析 2 组标本中基因甲基化的差异性,确定 AR 特有的甲基化基因,进而建立 AR 基因异常甲基化谱,为后期研究

提供基础。该芯片经过超声打断经基因组、甲基化 DNA 免疫共沉淀、MeDIP 与 Input DNA 片段线性扩增、荧光标记、芯片杂交、图像采集等方法制作而成。2 组数据 Beta 值的平均值散点图见图 1,反映 2 组数据总体分布比较集中。



Control AVG\_Beta: 对照组数据/实验组数据; Case AVG\_Beta: 实验组数据/对照组数据。

图 1 2 组数据 Beta 值的平均值散点图

### 1.5 数据分析

利用 genomestudio (genomestudio software 2011.1, illumina),从原始数据中提取得到信号值,并且应用归一化将数据进行标准化。实验组样本 Diffscore 值 < -13 或 > 13;且 Delta\_Beta > 0.17 或 < -0.17,即为差异甲基化位点(注意:Delta\_Beta 值的计算,即为正常对照组与 AR 组 Avg\_Beta 相差的结果,即实验组与正常对照组在每个位点的甲基化的差异程度);值为负值,表示与正常对照组相比为低甲基化位点,正值为高甲基化位点。Gene Ontology(GO)功能富集分析和 KEGG 通路富集均用统计检验的方法计算 P 值,并采用 Benjamini-Hochberg 方法校正后得到错误发现率值(false discovery rate, FDR)。

## 2 结果

### 2.1 差异性甲基化位点

根据我们差异性甲基化位点的筛选方法发现,与正常对照组相比,伴 AR 患者的下鼻甲黏膜出现异常甲基化的位点总共为 94 个,其中包括高甲基化位点 51 个,低甲基化位点 43 个(表 1、2)。

### 2.2 GO 功能富集分析

GO 分析尽管 P 值 < 0.05 具有重要的参考价值,然而经 Benjamini-Hochberg 校正后得到 FDR 值被认为是更加可靠的方法。由于本实验所筛选出的差异性甲基化位点(n=94)较少,GO 分析方法发现所有功能聚类中 FDR 值均 > 0.05,差异无统计学意义。因此我们仅列出生物学过程、细胞组分和分子功能这 3 大板块前 5 位的功能聚类供参考。见表 3~5。

表 1 AR 患者下鼻甲黏膜中高甲基化的位点

基因名称	基因分类	差异值	$\Delta\beta$	基因名称	基因分类	差异值	$\Delta\beta$
1 ST7	Body	43.48099	0.3369947	27 TIAM2	5'UTR	16.70105	0.1801841
2 LCE2D	TSS1500	31.42511	0.2368184	28 CSNK2B	Body	16.38524	0.1766169
3 ATRIP	Body	31.18509	0.2313059	29 HLA-DPB1	Body	16.20022	0.2472233
4 CR1L	Body	28.93175	0.3087191	30 PEX14	Body	16.09205	0.2280588
5 LOC285830	Body	26.93484	0.1843218	31 TOX4	Body	15.70873	0.2589107
6 EXT1	Body	26.59523	0.2674837	32 MSC-AS1	Body	15.69283	0.2672771
7 LCE3A	TSS1500	25.83457	0.176443	33 DCC	TSS1500	15.22113	0.1967949
8 PHACTR1	Body	25.38825	0.3111719	34 STK19	Body	15.17461	0.1895766
9 SPIRE2	Body	24.49736	0.2766789	35 KLHL24	Body	15.14938	0.2054239
10 SLC12A8	Body	24.07487	0.1975634	36 NPSR1	Body	15.0539	0.2153683
11 SPIRE2	Body	23.7224	0.1710218	37 ESRRB	5'UTR	15.01002	0.208734
12 SEC1;NTN5	Body;Body	23.69042	0.2619288	38 LOC101928708	Body	14.93509	0.2048702
13 NCF4	Body	23.61022	0.1801508	39 MAD1L1	Body	14.87282	0.2316265
14 GSDMD	TSS1500	20.85336	0.174526	40 LHPP	Body	14.49744	0.1954001
15 LOC285830	Body	20.84213	0.1864189	41 LOC102467213	Body	14.49375	0.1711714
16 GSDMD	TSS1500	20.72037	0.210644	42 KIF26A	Body	14.48992	0.1890314
17 CTSH	Body	19.50735	0.2380714	43 ADAMTS9-AS1; ADAMTS9	Body;Body	14.48227	0.1969744
18 ZFAT;ZFATAS	Body;TSS1500	19.46478	0.2407396	44 Clorf93	Body	14.30695	0.1986047
19 CYP2U1	Body	19.03583	0.231285	45 JARID2;JARID2	Body;5'UTR	13.89967	0.2027921
20 GNG7	5'UTR	18.56318	0.2115389	46 RIN3	Body	13.63561	0.2130649
21 WSCD2	5'UTR	18.55212	0.1908653	47 GNG7	5'UTR	13.55392	0.2375043
22 PLCXD2	Body	18.40905	0.238618	48 LOC101929710	Body	13.43085	0.1960431
23 CTDP1	Body	18.14162	0.1883892	49 LRRC20	5'UTR	13.42193	0.2267337
24 USHC	Body	17.81449	0.2131001	50 SLFN13	5'UTR	13.41335	0.1704554
25 B3GNT7	Body	17.37276	0.2087987	51 TOP3A	Body	13.32438	0.1711984
26 GVIN1	TSS1500	17.22862	0.2685899				

表 2 AR 患者下鼻甲黏膜中低甲基化的位点

基因名称	基因分类	差异值	$\Delta\beta$	基因名称	基因分类	差异值	$\Delta\beta$
1 PIK3CG	Body	-39.79512	-0.2670974	23 GEMIN4	Body	-16.90561	-0.2548795
2 TRAK1	Body	-32.20806	-0.2211993	24 WDR90	Body	-16.83962	-0.2930825
3 DISC1;TSNAX -DISC1	Body;Body	-27.91419	-0.3614647	25 UNC93A	Body	-16.00313	-0.1998044
4 WDR24	Body	-26.55574	-0.3509406	26 LCLAT1	TSS1500	-15.85547	-0.2173326
5 MYOM2	Body	-24.44561	-0.1726285	27 MAN2A1	Body	-15.62941	-0.1888915
6 DLGAP2	3'UTR	-23.81304	-0.2862761	28 WDR41	Body	-15.52844	-0.1762908
7 MORF4	TSS1500	-23.08679	-0.2626723	29 CPA6;CPA6	Body;5'UTR	-15.46813	-0.1982394
8 PVT1	Body	-23.05187	-0.1897614	30 PTPRN2	Body	-15.34761	-0.2109822
9 LOC285830	Body	-22.14708	-0.204754	31 FAT1	Body	-15.23506	-0.1891369
10 MYOM2	Body	-20.53976	-0.2067078	32 SLC22A23	Body	-14.87966	-0.2373685
11 MYOM2	Body	-20.1495	-0.1993266	33 FLJ37201	Body	-14.87384	-0.2489356
12 TP53INP2	TSS200	-19.56847	-0.2936738	34 LCLAT1	TSS1500	-14.62463	-0.2098083
13 TPO	Body	-19.44155	-0.2418745	35 AK3;AK3;AK3	TSS1500; 5'UTR;Body	-14.4622	-0.2145848
14 DENND5B	Body	-18.45697	-0.2461565	36 OR2AG1	TSS1500	-14.42202	-0.1722815
15 TLR6	3'UTR	-18.12908	-0.2892304	37 PIAS4	Body	-14.01722	-0.2134027
16 VWA8	Body	-17.66542	-0.1768101	38 TPO	Body	-13.86019	-0.2029162
17 ACAP3	Body	-17.45259	-0.2041395	39 MICAL3	5'UTR	-13.80325	-0.1983248
18 TRAPPC9	Body	-17.34445	-0.1719697	40 HHLA2	TSS200	-13.71806	-0.1966352
19 LCLAT1	TSS1500	-17.29603	-0.2186284	41 UNC84A	Body	-13.3245	-0.1933905
20 LINC01117	Body	-17.29048	-0.1924278	42 ABLIM3	TSS1500	-13.16574	-0.2092376
21 BLOC1S5- TXNDC5	Body	-17.01395	-0.2476276	43 PLAGL1;HYMAI; PLAGL1	TSS200;Body; 5'UTR	-13.08348	-0.2099947
22 IL4R	Body	-17.01328	-0.2619492				

表 3 根据生物学过程比较 AR 中差异性甲基化位点的功能聚类

功能描述	位点数	P	FDR
胸腺发育	43	0.012729	0.217573
角质化	48	0.01556	0.217573
ADP 生物合成	5	0.022646	0.217573
内皮管形态发育	5	0.022646	0.217573
正向调节 DNA 损伤的固有凋亡通路	5	0.022646	0.217573

表 4 根据细胞组分比较 AR 中差异性甲基化位点的功能聚类

功能描述	位点数	P	FDR
PML 小体	93	0.005035	0.302976
运输囊泡膜	36	0.008279	0.302976
受体复合物	125	0.011090	0.302976
驱动蛋白复合物	50	0.015120	0.302976
板状伪足	151	0.018154	0.302976

表 5 根据分子功能比较 AR 中差异性甲基化位点的功能聚类

功能描述	位点数	P	FDR
鸟苷酸交换因子活性	30	0.006517	0.209253
受体信号蛋白活性	38	0.010051	0.209253
磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶活性	5	0.022529	0.209253
磷脂酰肌醇 3-激酶活性	5	0.022529	0.209253
超氧化物生成 NADPH 氧化酶激活剂活性	5	0.022529	0.209253

### 2.3 KEGG 通路富集分析

在 KEGG 通路富集分析与 GO 分析类似,尽管  $P < 0.05$  具有重要的参考价值,然而经 Benjamini-Hochberg 校正后得到 FDR 值被认为是更加可靠的方法。我们的 KEGG 分析方法发现所有通路聚类中 FDR 值均  $> 0.05$ , 差异无统计学意义。因此我们仅列出前 5 位的通路聚类供参考(表 6)。

表 6 根据 KEGG 分析比较 AR 中差异性甲基化位点的通路聚类

通路描述	位点数	P	FDR
I 型糖尿病	43	0.015775	0.523504
自身免疫性甲状腺疾病	52	0.022264	0.523504
范可尼贫血通路	53	0.023043	0.523504
调节干细胞多能性的信号通路	142	0.023682	0.523504
吞噬小体	153	0.028618	0.523504

### 3 讨论

AR 被认为是多基因调控的疾病,基因与基因,

基因与环境共同决定疾病的发生、发展<sup>[8]</sup>。DNA 甲基化是一种重要的遗传外修饰,可以较好解释 AR 遗传和环境的相互作用<sup>[9]</sup>。Swamy 等<sup>[10]</sup>采用舌下免疫疗法治疗 AR,结果显示舌下免疫疗法诱导长期耐受可能与降低 FOXP3 基因甲基化水平有关。North 等<sup>[11]</sup>用外周血单个核细胞研究发现 SLFN12 位点的异常甲基化与 AR 的症状显著相关,而 MUC4 位点的异常甲基化与鼻吸气峰流量的降低相关。此外,Li 等<sup>[12]</sup>也曾报道外周血白细胞低甲基化位点(IL-13 分子的 CpG38)与对屋尘螨过敏的 AR 的发生、发展相关。然而,目前大多数相关研究主要围绕外周血样本,而本研究通过下鼻甲黏膜组织制成 illumina 甲基化芯片筛选出了 AR 的差异性甲基化位点,使我们更有理由相信 AR 相关基因的 DNA 甲基化可能是参与 AR 发生、发展的一个重要机制;同时,下鼻甲黏膜组织的 DNA 甲基化异常可能是导致其黏膜屏障功能下降的重要原因,从而减弱了对过敏原防御及抵抗,导致 AR 的加重。

根据我们的结果发现,GO 分析和 KEGG 分析中的富集中 FDR 值均  $> 0.05$ , 提示富集差异无统计学意义。我们认为有几种原因可能是造成这种现象的原因:①DNA 甲基化异常位点在伴有 AR 的下鼻甲黏膜中的发生具有较高的随机性,并不是由 1 个或多个特定的功能或通路调控;②我们设置的 DiffScore / Delta Beta 截点较为严格,只筛选出了 94 条显著性差异的甲基化位点;③GO 分析和 KEGG 分析中采用了 Benjamini-Hochberg 校正,虽然多重假设检验(FDR 值)控制了错误率的发生,然而无法避免会遗漏一些重要的信息,因此我们也将 P 值最显著的 5 条功能或通路聚类列出,以供参考;④生物信息学方法的应用不完全合理,应结合更多的分析手段。尽管如此,我们还是先采用预先设置的统计学方法,并且拟结合文献报道的情况,总结甲基化芯片给我们研究 AR 发生、发展的机制提供启示。

通过文献回顾并结合我们的甲基化芯片结果,我们猜测至少 Toll 样受体 6 (toll like receptor 6, TLR6)和 IL-4R 基因的异常甲基化位点改变可能在 AR 的发病过程中具有重要的意义。Toll 样受体(toll like receptor, TLR)是参与天然免疫的一类重要蛋白质分子,也是连接天然免疫和获得免疫的桥梁。当微生物突破机体第一道防线时,如皮肤、黏膜等,TLR 可以识别它们并激活机体产生免疫细胞应答<sup>[13]</sup>。全基因组关联研究发现包括 TLR6 在内的 10 个基因单核苷酸多态性风险变异至少与 25% 的变应性疾病或 AR 相关<sup>[14]</sup>。Ramasamy 等<sup>[15]</sup>曾利用 GWAS 数据分析 AR 和相关基因变异的联系,提示 TLR6 单核苷酸多态性改变与 AR 的

发病密切相关。而 Nilsson 等<sup>[16]</sup> 也发现 TLR6-TLR1 也可能在过敏性疾病的发病机制中起核心作用。与此同时,IL-4R 基因位点的异常甲基化也可能与 AR 的发生密切相关。在人类 IL-4 主要由活化 T 细胞产生,可维持 TH2 的增殖,IL-4R 作为 IL-4 的受体,也被多篇文献报道与过敏性疾病有关。Overton 等<sup>[17]</sup> 也通过回顾文献并分析基因多态性,发现过敏性支气管肺曲霉菌病患者中 IL-4R rs3024656 位点的单核苷酸多态性改变是重要的特征。Pascual 等<sup>[18]</sup> 通过对过敏性哮喘患者及对照组的 IL4/IL4R 信号通路分析发现 IL-4R 基因的单核苷酸多态性在过敏性疾病中发挥重要作用,IL-4R 可能作为屋尘螨过敏性哮喘患者的生物标志物和治疗靶标。

因此,我们甲基化芯片筛选出 TLR6 基因的 3'UTR 区域和 IL4R 基因的 Body 区域具有异常甲基化位点,其机制与 AR 发病机制之间的关系仍需要进一步深入探讨。本研究通过 DNA 甲基化芯片的检测,为研究 AR 发病机制提供了分子生物学的线索和方法,同时为进一步探寻 AR 的发病机制和寻找更有效的治疗手段提供了基础。当然,要阐明表观遗传学和 AR 发病机制的关系尚需进行一系列的深入研究。

#### 参考文献

- [1] WHEATLEY L M, TOGIAS A. Clinical practice. Allergic rhinitis[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372: 456–463.
- [2] D'AMATO G, HOLGATE S T, PAWANKAR R, et al. Meteorological conditions, climate change, new emerging factors, and asthma and related allergic disorders. A statement of the World Allergy Organization [J]. *World Allergy Organ J*, 2015, 8: 25–27.
- [3] VARSHNEY J, VARSHNEY H. Allergic rhinitis: an overview[J]. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*, 2015, 67: 143–149.
- [4] 白伟良, 谭海燕, 周倩, 等. 鼻息肉基因启动子甲基化谱的研究[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2018, 32(8): 599–602.
- [5] YANG Y, SCOTT S A. DNA Methylation Profiling Using Long-Read Single Molecule Real-Time Bisulfite Sequencing (SMRT-BS) [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1654: 125–134.
- [6] CLARK S J, ARGELAGUET R, KAPOURANI C A, et al. scNMT-seq enables joint profiling of chromatin accessibility DNA methylation and transcription in single cells[J]. *Nat Commun*, 2018, 9: 781–784.
- [7] BROZEK J L, BOUSQUET J, AGACHE I, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines-2016 revision [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017, 140: 950–958.
- [8] ADJERS K, LUUKKAINEN A, PEKKANEN J, et al. Self-reported allergic rhinitis and/or allergic conjunctivitis associate with IL13 rs20541 polymorphism in finnish adult asthma patients [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2017, 172: 123–128.
- [9] 彭杨, 李献清, 邱前辉. 应用功能分类基因芯片检测变应性鼻炎差异性表达基因 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2017, 31(11): 869–872.
- [10] SWAMY R S, RESHAMWALA N, HUNTER T, et al. Epigenetic modifications and improved regulatory T-cell function in subjects undergoing dual sublingual immunotherapy [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2012, 130: 215–224.
- [11] NORTH M L, JONES M J, MACISAAC J L, et al. Blood and nasal epigenetics correlate with allergic rhinitis symptom development in the environmental exposure unit [J]. *Allergy*, 2018, 73: 196–205.
- [12] LI J Y, ZHANG Y, LIN X P, et al. Association between DNA hypomethylation at IL13 gene and allergic rhinitis in house dust mite-sensitized subjects [J]. *Clin Exp Allergy*, 2016, 46: 298–307.
- [13] LACHMANDAS E, BEIGIER-BOMPADRE M, CHENG S C, et al. Rewiring cellular metabolism via the AKT/mTOR pathway contributes to host defence against *Mycobacterium tuberculosis* in human and murine cells [J]. *Eur J Immunol*, 2016, 46: 2574–2586.
- [14] BONNELYKKE K, MATHESON M C, PERS T H, et al. Meta-analysis of genome-wide association studies identifies ten loci influencing allergic sensitization [J]. *Nat Genet*, 2013, 45: 902–906.
- [15] RAMASAMY A, CURJURIC I, COIN L J, et al. A genome-wide meta-analysis of genetic variants associated with allergic rhinitis and grass sensitization and their interaction with birth order [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 128: 996–1005.
- [16] NILSSON D, HENMYR V, HALLDEN C, et al. Replication of genomewide associations with allergic sensitization and allergic rhinitis [J]. *Allergy*, 2014, 69: 1506–1514.
- [17] OVERTON N L, DENNING D W, BOWYER P, et al. Genetic susceptibility to allergic bronchopulmonary aspergillosis in asthma: a genetic association study [J]. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 2016, 12: 47–51.
- [18] PASCUAL M, ROA S, GARCIA-SANCHEZ A, et al. Genome-wide expression profiling of B lymphocytes reveals IL4R increase in allergic asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 134: 972–975.

(收稿日期: 2018-09-24)