

泛发性脓疱型银屑病患者外周血单个核细胞甲基化酶及甲基化 CpG 结合蛋白 mRNA 的表达水平

朱 腾, 晋红中

中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院皮肤科, 北京 100730

通信作者: 晋红中 电话: 010-69151542, E-mail: jinhongzhong@263.net

【摘要】目的 观察泛发性脓疱型银屑病 (generalized pustular psoriasis, GPP) 患者外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) 中 DNA 甲基转移酶及甲基化 CpG 结合蛋白 (methyl-CpG binding protein, MeCP) mRNA 的表达情况, 初步探讨 DNA 甲基化在 GPP 中可能的作用机制。**方法** 回顾性收集 2015 年 12 月至 2016 年 12 月在北京协和医院皮肤科门诊或住院治疗的 9 例 GPP 患者临床资料; 随机选取 10 例同期在医院接受健康体检的健康人做为对照, 年龄和性别与 GPP 患者相匹配。分别留取 10 ml 肘正中静脉血, 采用密度梯度离心法分离 PBMC, 应用 Trizol 法提取 PBMC 总 RNA, 采用实时 PCR 法检测 DNMT1、DNMT3a、DNMT3b、MBD1、MBD2、MBD3、MBD4 及 MeCP2 的 mRNA 表达水平, 并分析年龄及病情严重程度与 mRNA 表达水平的相关性。**结果** GPP 患者 PBMC 中 DNMT3a、DNMT3b、MBD1、MBD2、MBD4 的 mRNA 表达水平较健康对照组升高 [DNMT3a: 0.000 17 (0.000 06, 0.001 15) 比 0.000 03 (0.000 02, 0.000 04); DNMT3b: 0.000 04±0.000 02 比 0.000 02±0.000 01; MBD1: 为 0.001 01±0.000 45 比 0.000 46±0.000 15; MBD2: 0.002 61±0.000 39 比 0.001 85±0.000 52; MBD4: 0.004 29±0.001 60 比 0.001 57±0.000 55, P 均 < 0.05], 年龄及疾病严重程度与上述因子 mRNA 的相对表达水平无相关性 (P 均 > 0.05)。**结论** GPP 患者体内甲基化相关调控基因表达异常, 但与年龄和疾病严重程度不相关。

【关键词】 DNA 甲基转移酶; 甲基化 CpG 结合蛋白; 泛发性脓疱型银屑病

【中图分类号】 R758.63

【文献标志码】 A

【文章编号】 1674-9081(2019)04-0358-06



DOI: 10.3969/j.issn.1674-9081.2019.04.009

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):

mRNA Expression of Methylase and Methyl-CpG Binding Protein in Peripheral Blood Mononuclear Cells from Patients with Generalized Pustular Psoriasis

ZHU Teng, JIN Hong-zhong

Department of Dermatology, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

Corresponding author: JIN Hong-zhong Tel: 86-10-69151542, E-mail: jinhongzhong@263.net

【Abstract】 Objective The aim of this study was to observe the mRNA expression of DNA methyl-transferase (DNMT) and methyl-CpG binding protein (MeCP) in the peripheral blood mononuclear cells from GPP patients, and to explore the potential role of DNA methylation in the pathogenesis of GPP. **Methods** Clinical data of 9 GPP patients admitted or hospitalized at the Department of Dermatology of Peking Union Medical College Hospital from December 2015 to December 2016 were retrospectively collected. Ten healthy people who un-

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81773331); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2017-I2M-B&R-01); 中央保健科研课题 (W2017BJ21)

利益冲突: 无

derwent a physical examination in the same hospital during the same period were randomly selected as the control group; their age and gender were matched with those of GPP patients. Peripheral blood mononuclear cells were isolated from 10 ml blood of the elbow median vein using density gradient centrifugation. Total RNA was extracted from peripheral blood mononuclear cells by Trizol method; mRNA expression levels of DNMT1, DNMT3a, DNMT3b, MBD1, MBD2, MBD3, MBD4, and MeCP2 were detected by real-time PCR. The correlation of age and GPP severity with the expression level of these mRNAs was observed and analyzed.

Results Compared with the healthy subjects, the relative expressions of DNMT3a, DNMT3b, MBD1, MBD2, and MBD4 mRNA in peripheral blood mononuclear cells from GPP patients were higher than those from the healthy controls [DNMT3a: 0.000 17 (0.000 06, 0.001 15) vs. 0.000 03 (0.000 02, 0.000 04), DNMT3b 0.000 04±0.000 02 vs. 0.000 02±0.000 01, MBD1 0.001 01±0.000 45 vs. 0.000 46±0.000 15, MBD2 0.002 61±0.000 39 vs. 0.001 85±0.000 52; and MBD4 0.004 29±0.001 60 vs. 0.001 57±0.000 55, all $P<0.05$]. There was no correlation between age and GPP severity with the mRNA expression of the above factors (all $P>0.05$). **Conclusions** Methylation related regulatory genes are abnormally expressed in GPP patients, and do not correlate with age or the disease severity.

【Key words】 DNA methyl-transferase; methyl-CpG binding protein; generalized pustular psoriasis

Med J PUMCH, 2019, 10(4): 358-363

泛发性脓疱型银屑病 (generalized pustular psoriasis, GPP) 是一种系统性炎症性皮肤病, 以突然出现的红斑以及红斑基础上粟粒大小无菌性脓疱为主要特点, 严重时可危及生命^[1]。随着 GPP 遗传研究的不断深入, IL36RN^[2] 和 CARD14^[3] 被认为是 GPP 的致病易感基因, 但同时也存在一些无法解释的临床现象, 如部分携带 IL36RN 突变基因的个体表现正常^[4], IL36RA 缺陷病 (deficiency of IL36 receptor antagonist, DITRA) 患者的发病年龄存在较大差异^[5], 感染、妊娠、特殊药物应用等因素均能诱发 GPP 发作^[6]。这些临床现象用致病易感基因无法完全解释, 而甲基化调控机制易受环境等因素的影响, 在系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病中发挥重要作用^[7], 但有关 GPP 的甲基化研究较少。

DNA 甲基化是重要的表观遗传调控机制之一, 在众多生物学过程中发挥关键作用^[8]。DNA 甲基转移酶 (DNA methyl-transferase, DNMT) 在调节基因甲基化过程中起重要作用^[9], 可分为维持型甲基转移酶及新生型甲基转移酶两类^[10]。DNMT 表达的改变可导致甲基化状态异常化。一类含有相同甲基化 CpG 结合域 (methyl-CpG binding domain, MBD) 并能与甲基化修饰后的 DNA 特异性结合的蛋白被称为甲基化 CpG 结合蛋白 (methyl-CpG binding protein, MeCP), 又名 MBD 蛋白家族, 包括 MBD1、MBD2、MBD3、MBD4 和 MeCP2^[11]。MBD 蛋白可选择性地结合存在甲基化修饰的序列, 使得某些转录因子无法靠近, 导致基因表达沉默。

本研究主要观察 GPP 患者外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) 中 DNMT 及 MeCP mRNA 的表达, 探讨 DNA 甲基化在 GPP 发病中的作用和机制, 为 GPP 治疗提供新的线索。

1 资料与方法

1.1 研究对象

回顾性选取 2015 年 12 月至 2016 年 12 月在北京协和医院皮肤科门诊或住院治疗的 9 例 GPP 患者作为研究对象, 同期在北京协和医院体检中心接受体检的 10 例健康人做为对照。GPP 病情严重程度按 Umezawa 评估标准进行评分, 分为轻度 (0~2 分)、中度 (3~6 分) 和重度 (7~10 分)^[12]。

1.2 入选和排除标准

GPP 患者: (1) 具有典型皮损并经病理确认, 符合 Umezawa 诊断标准^[12]; (2) 就诊时处于脓疱发作期; (3) 抽血前 2 个月内未使用糖皮质激素、维甲酸类、生物制剂及免疫抑制剂等药物; (4) 排除红斑型、关节型及寻常型银屑病患者; (5) 无其他类型皮肤病、肿瘤、其他自身免疫病或严重疾患。

健康对照: (1) 无 GPP 病史及银屑病家族史; (2) 不伴肿瘤、其他免疫相关性皮肤病或其他严重疾病; (3) 2 个月内未接受其他系统性药物治疗。

本研究通过中国医学科学院北京协和医院伦理审查委员会审核批准, 患者入组前均签署知情同意书。

1.2 荧光定量 PCR

1.2.1 提取外周血单个核细胞

取患者和健康人肘正中静脉血 10 ml, 使用密度梯度离心法 (3000 r/min, 20 min) 提取 PBMC, 加入 1.5 ml Trizol 溶液后冻存于 -20 °C 冰箱。

1.2.2 引物设计

采用 Roche LCPDS2 软件设计基因 DNMT1、DNMT3a、DNMT3b、MBD1、MBD2、MBD3、MBD4 和 MeCP2 的引物 (表 1), 由上海捷瑞生物工程有限公司合成。

1.2.3 外周血单个核细胞总 RNA 提取

将上述冻存的 PBMC Trizol 溶液取出解冻。每 1 ml 冻存液中加入 200 μl 氯仿, 剧烈震荡 15 s 后冰孵 15 s。在 4 °C 条件下以 13 000 r/min 离心 15 min。离心后样品分 3 层, RNA 主要在水相中。小心将 RNA 水相转移至新的微量离心管中, 并吸取 400 μl 备用。

加入等体积异丙醇沉淀水相中的 RNA, 颠倒混匀, -80 °C 过夜。次日在 4 °C 条件下以 13 000 r/min 离心 30 min, 白色沉淀即为 RNA。吸取上清液, 剩余 RNA 沉淀用预冷的 75% 乙醇洗涤, 使 RNA 沉淀悬浮。依旧在 4 °C 条件下以 1000 r/min 离心 10 min, 弃上清。室温干燥 10~15 min, 加入 30 ml 无 RNA 酶水溶解沉淀, 并于冰上放置 1 h 后放入 -80 °C 冰柜冻存。

1.2.4 荧光定量 PCR 检测

利用 LightCycler 480 SYBR Green I Master 试剂盒 (罗氏, 瑞士) 在 LightCycler 480 II 型荧光定量 PCR 仪 (罗氏, 瑞士) 上进行反应。反应体系: 2×LightCycler 480 SYBR Green I Master, 5 μl; 10 μmol/L 正向引物, 0.2 μl; 10 μmol/L 反向引物, 0.2 μl; cDNA 1 μl; 无核酸酶纯水 3.6 μl。PCR 反应程序: 95 °C 10 min; 95 °C 10 s, 60 °C 30 s, 40 个循环 (图 1)。循环结束后利用熔解曲线检测产物特异

表 1 GPP 患者甲基化相关调控基因引物序列

基因名称	上游引物 (5'→3')	下游引物 (5'→3')
DNMT1	5'-GAGCTACCACGCAGACATCA-3'	CGAGGAAGTAGAAGCGGTTG
DNMT3a	5'-CCGGAACATTGAGGACATCT-3'	CAGCAGATGGTGCAGTAGGA
DNMT3b	5'-CCCATTGAGTCTCTGCATT-3'	GTTCCAACAGCAATGGACT
MBD1	5'-CACCTCTTCGACTTCAAACAAG-3'	CAACCTGACGTTTCCGAGTCTT
MBD2	5'-AACCTGCTGTTTGGCTTAAC-3'	CGTACTTGCTGTAAGTCTCTTC
MBD3	5'-CCGCTCTCCTTCACTAAATGTAAC-3'	GGCTGGAGTTTGGTTTTTCAGAA
MBD4	5'-TGGTGGTGCATGCCGTGTAAT-3'	TGAGACAGGCTCTCTCTCTGCAT
MeCP2	5'-CCCCACCCTGCCTGAA-3'	GATGTGTCGCTACCTTTTTCG

GPP: 泛发性脓疱型银屑病; DNMT: DNA 甲基转移酶; MBD: 甲基化 CpG 结合域; MeCP: 甲基化 CpG 结合蛋白

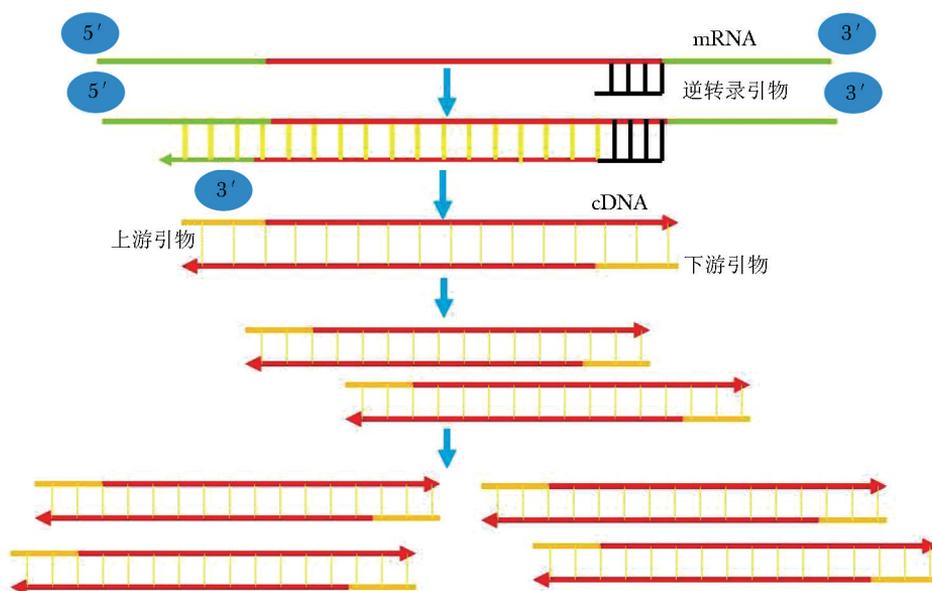


图 1 泛发性脓疱型银屑病患者外周血单个核细胞荧光定量 PCR 流程图

性：从 60 ℃ 缓慢升温至 97 ℃，每 1 ℃ 采集 5 次荧光信号。将 β -actin 作为内参基因，使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算 DNMT 及 MeCP 的 mRNA 相对表达量。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 16.0 统计软件，符合正态分布的 mRNA 相对表达量用均数 \pm 标准差表示，组间比较采用 *t* 检验；不符合正态分布的 mRNA 相对表达量用中位数（四分位间距）表示，两组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。采用 Spearman 秩相关分析年龄、疾病严重度与 DNMT 及 MeCP mRNA 表达水平的相关性。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般临床资料

9 例 GPP 患者中女性 4 例，男性 5 例，平均年龄 (33.7 \pm 1.7) 岁，其中病情轻度者 2 例，中度 3 例，重度 4 例。10 例健康对照者中女性 5 例，男性 5 例，平均年龄 (31.3 \pm 1.5) 岁。GPP 组和健康对照组间的性别和年龄无统计学差异 (*P* > 0.05)。

2.2 RNA 质量鉴定

根据紫外分光光度仪检测结果，总 RNA 的 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值均在 1.8~2.0 之间，表明 RNA 纯度较高。用琼脂糖凝胶对 RNA 进行电泳，检测结果显示 3 条较清晰的条带，RNA 纯度及完整性可满足实时 PCR 要求 (图 2)。

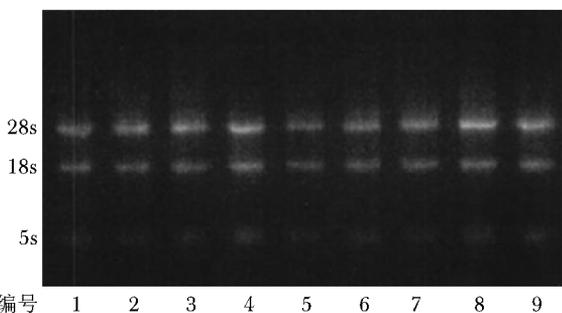


图 2 泛发性脓疱型银屑病外周血单个核细胞中 RNA 琼脂糖凝胶电泳图

2.3 荧光 PCR 定量结果

采用实时 PCR 荧光定量法检测 9 例 GPP 患者和 10 例健康对照者 PBMC 中 DNMT 及 MeCP mRNA 的表达情况 (表 2)。与健康对照组相比，GPP 患者 PBMC 中的 DNMT3a、DNMT3b、MBD1、MBD2、MBD4 相对表达水平显著升高 (*P* 均 < 0.05)。

2.4 GPP 患者临床表型与 DNMT 及 MeCP mRNA 表达水平的相关性分析

DNMT1、DNMT3a、DNMT3b、MBD1、MBD2、MBD3、MBD4 及 MeCP2 的 mRNA 表达水平与患者年龄和疾病严重程度均无相关性 (*P* 均 > 0.05，表 3)。

表 2 GPP 患者及健康人外周血单个核细胞中 DNMT 和 MeCP mRNA 相对表达量的比较

基因	GPP 组 (n=9)	健康对照组 (n=10)	t/Z 值	P 值
DNMT1	0.001 77 \pm 0.000 76	0.001 83 \pm 0.002 00	-0.097	0.924
DNMT3a	0.000 17 (0.000 06, 0.001 15)	0.000 03 (0.000 02, 0.000 04)	-2.598	0.009
DNMT3b	0.000 04 \pm 0.000 02	0.000 02 \pm 0.000 01	2.326	0.021
MeCP2	0.002 08 \pm 0.000 84	0.001 79 \pm 0.000 83	0.716	0.487
MBD1	0.001 01 \pm 0.000 45	0.000 46 \pm 0.000 15	3.060	0.000
MBD2	0.002 61 \pm 0.000 39	0.001 85 \pm 0.000 52	3.284	0.005
MBD3	0.000 02 \pm 0.000 01	0.000 03 \pm 0.000 01	-1.828	0.088
MBD4	0.004 29 \pm 0.001 60	0.001 57 \pm 0.000 55	4.447	0.003

GPP、DNMT、MBD、MeCP；同表 1

表 3 GPP 患者年龄和疾病严重程度与 DNMT 及 MeCP mRNA 表达水平的相关分析

风险因素	基因	r 值	P 值
年龄	DNMT1	-0.319	0.402
	DNMT3a	-0.067	0.864
	DNMT3b	-0.487	0.183
	MBD1	-0.235	0.542
	MBD2	-0.252	0.513
	MBD3	-0.328	0.389
	MBD4	-0.202	0.603
	MeCP2	0.050	0.897
	病情严重程度	DNMT1	-0.134
DNMT3a		0.098	0.802
DNMT3b		-0.241	0.533
MBD1		-0.241	0.533
MBD2		-0.009	0.982
MBD3		-0.178	0.646
MBD4		-0.134	0.732
MeCP2		-0.285	0.457

GPP、DNMT、MBD、MeCP；同表 1

3 讨论

本研究发现 GPP 患者的 PBMC 中，DNA 甲基化相关因子的 mRNA 表达量发生显著变化，其中 DNMT3a、DNMT3b、MBD1、MBD2 和 MBD4 的表达显著上调，提示 DNA 甲基化可能在 GPP 中起重要作用。

用,患者年龄及病情严重程度与上述甲基化相关基因的表达不相关。

GPP 发病机制复杂,致病原因尚不完全清楚,基因 IL-36RN 及 CARD14 在 GPP 的发病机制中扮演重要角色。2011 年, Marrakchi 团队^[2]首次在突尼斯家族性 GPP 患者中发现了位于 IL36RN 基因的纯合子突变 IL36RN c. 80C>T (p. Leu27Pro), 并将由 IL36RN 基因突变产生异常 IL36Ra 而引起的家族性 GPP 命名为 DITRA^[2]。同年, Onoufriadis 等^[13]对 5 例无血缘关系的欧洲 GPP 患者进行外显子测序,发现其中 3 例发生 IL36RN 基因低频突变, 2 例出现 c. 338C>T (p. Ser113Leu) 错义替代, 而另 1 例出现 c. 338C > T (p. Ser113Leu) 及 c. 142C > T (p. Arg48Trp) 错义替代的复合突变, 首次将 DITRA 概念从家族性 GPP 扩展至散发性 GPP。2012 年, Jordan 等^[3]首次发现 CARD14 基因与 GPP 发病相关, 并报告了 1 例海地 GPP 患儿携带新生胚系杂合突变 c. 413A > C (p. Glu138Ala)。继而 Korber 等^[5]在欧洲 GPP 患者中发现了源自 CARD14 的 p. Arg69Gln、p. Gly117Ser、p. Ser200Asn 和 p. Arg826Trp 突变, 并证实这些突变导致的 CARD14 功能缺陷可能是 GPP 发病的重要遗传因素。2014 年在 19 例与寻常型银屑病相关的 GPP 中发现 2 例 (21.1%) 患者携带 CARD14 基因 p. Asp176His 突变, 携带率较对照组 (3%) 升高^[14]。易感基因遗传方式虽然可以解释部分 GPP 的发病, 但无法全面揭示性别、年龄及诱因对疾病发生发展的影响, 无法回答感染、妊娠和特殊药物应用等状态诱发 GPP 发生的机制。

DNA 甲基化是正常胚胎发育的重要过程, 具有多种功能, 参与基因表达调控、染色质修饰、细胞分化和发展以及 X 染色体失活等过程^[9]。DNA 甲基化主要发生在 CpG 5-胞嘧啶上, 启动子区 CpG 岛通常处于非甲基化状态, 基因正常表达。当 CpG 岛的甲基化状态发生异常改变后, 影响基因的转录调控, 使得基因处于沉默或过度表达状态^[9]。DNA 甲基化的过程主要受 DNMT 催化完成甲基化过程^[9]。DNA 甲基化的修饰状态受一定条件影响, 且随年龄变化发生改变。目前认为 DNMT 包括 DNMT1、DNMT3a、DNMT3b。DNMT1 可能与酶的活性、DNA 结合调节有关, 作用在于维持 DNA 的甲基化并将这种甲基化稳定传递给子代。DNMT3a 和 DNMT3b 是人体主要的甲基化转移酶^[15]。本研究显示 DNMT1 在 GPP 患者中的表达较健康组略微下调, 而 DNMT3a、DNMT3b 显著上调, 提示 GPP 患者体内存在 DNMT 状态异常导

致的 DNA 基因组异常甲基化模式, DNMT1 水平下调可能诱导炎症免疫相关基因甲基化水平下调, 使得部分炎症免疫通路过度激活, 诱发疾病, 而 DNMT3a 及 DNMT3b 上调则可能使 GPP 患者某些炎症抑制基因如 PDCD1 沉默, 使得其抑制炎症能力降低, 从而诱发 GPP 发生。

具有相同 MBD 的 5 种蛋白 (MBD1、MBD2、MBD3、MBD4、MeCP2) 通过识别甲基化 DNA 参与转录抑制, 被称为 MBD 家族^[16]。MBD 的存在方式为单体, 与其他蛋白质或复合物结合的方式可能并不稳定。MeCP2 在体内外均可以抑制启动子区域的甲基化基因转录, 但对非甲基化启动子并无作用, 可以通过转录抑制区域和关键转录因子的相互作用抑制转录过程^[17]。MBD1 的相对分子质量在家族中最大, 可以与染色质相关因子形成复合物, 结合在启动子区 SP1 位点抑制转录。MBD2 蛋白参与启动子区高甲基化的基因沉默, 当高甲基化的启动子未与 MBD2 结合后, 基因表达增加。MBD2 可能具有去甲基化酶的作用, 通过与组蛋白乙酰基转移酶及 TACC3 蛋白形成复合物, 使得启动子区域的甲基化沉默基因恢复活性。由此可知, MBD2 的功能不仅可以介导转录沉默, 还可以在甲基化启动子区域通过与其他蛋白质互作, 在不改变甲基化状态的情况下, 通过改变染色质的构象激活基因。MBD3 与 MBD2 高度相似, MBD2 可以与 MBD3 结合成异二聚体, 进一步强化染色质的抑制状态。此外 MBD3 蛋白的 MBD 可与 DNMT3a 的 N 末端相互作用。MBD4 是唯一具有其他功能的 MBD 蛋白, 其 C 末端具有 DNA 修复酶活性, 因此也属于 DNA 修复系统, 可以识别 CpG 位点错配的 T 或 U 并给予修正。MBD4 是参与启动子区域高甲基化状态的重要因子, 同时其修复活性对于维持启动子区域高甲基化状态也是必需的^[18]。

DNA 甲基化的过程十分复杂, 多种相关蛋白因子相互作用。本研究提示 GPP 患者可能在不同甲基化催化因子的作用下发生不同基因的高甲基化及低甲基化状态, 从而导致基因的低表达及过表达, 激活相关炎症通路, 同时也说明 GPP DNA 甲基化水平的变化过程十分复杂, 甲基化的诱发、催化、维持乃至去甲基化过程由一系列的蛋白家族及调节因子相互作用而成, 而 DNA 甲基化的差异过程又同 GPP 的发生紧密联系。本研究同时发现, 患者的发病年龄及病情严重程度与甲基化相关基因的表达无明显相关, 提示甲基化虽然可能导致 GPP 的发生, 但可能与其临床表

现并无联系。

本研究为回顾性, 标本量较少, 临床资料 (如病情严重程度等) 的收集可能存在一定偏倚, 未来需大样本试验进一步验证。

随着研究的深入, DNA 甲基化调控的复杂机制终将逐渐清晰, 针对甲基化过程中不同因子表达水平的检测及相应生物制剂的研究或许可为 GPP 的诊断和治疗提供新的思路。

志谢: 衷心感谢参与本项研究的 GPP 患者及全体工作人员。

参 考 文 献

- [1] Reich A. Interleukin- 17 blockade in generalized pustular psoriasis-new hope for severely ill patients [J]. *Br J Dermatol*, 2017, 176: 572-573.
- [2] Marrakchi S, Guigue P, Renshaw BR, et al. Interleukin-36-receptor antagonist deficiency and generalized pustular psoriasis [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365: 620-628.
- [3] Jordan CT, Cao L, Roberson ED, et al. PSORS2 is due to mutations in CARD14 [J]. *Am J Hum Genet*, 2012, 90: 784-795.
- [4] Sugiura K, Takemoto A, Yamaguchi M, et al. The majority of generalized pustular psoriasis without psoriasis vulgaris is caused by deficiency of interleukin- 36 receptor antagonist [J]. *J Invest Dermatol*, 2013, 133: 2514-2521.
- [5] Korber A, Mössner R, Renner R, et al. Mutations in IL36RN in patients with generalized pustular psoriasis [J]. *J Invest Dermatol*, 2013, 133: 2634-2637.
- [6] Sharma U, Rando OJ. Metabolic inputs into the epigenome [J]. *Cell Metab*, 2017, 25: 544-558.
- [7] Chen SH, Lv QL, Hu L. DNA methylation alterations in the pathogenesis of lupus [J]. *Clin Exp Immunol*, 2017, 187: 185-192.
- [8] 桂欣钰, 晋红中. 异常 DNA 甲基化与免疫性皮肤病 [J]. *协和医学杂志*, 2017, 8: 46-49.
- [9] Elhamamsy AR. Role of DNA methylation in imprinting disorders; an updated review [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2017, 34: 549-562.
- [10] Gowher H, Liebert K, Hermann A, et al. Mechanism of stimulation of catalytic activity of Dnmt3A and Dnmt3B DNA-(cytosine-C5)-methyltransferases by DNMT3L [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280: 13341-13348.
- [11] Lopez-Serra L, Esteller M. Proteins that bind methylated DNA and human cancer; reading the wrong words [J]. *Br J Cancer*, 2008, 98: 1881-1885.
- [12] Umezawa Y, Ozawa A, Kawasima T, et al. Therapeutic guidelines for the treatment of generalized pustular psoriasis (GPP) based on a proposed classification of disease severity [J]. *Arch Dermatol Res*, 2003, 295 Suppl 1: S43-S54.
- [13] Onoufriadi A, Simpson MA, Pink AE, et al. Mutations in IL36RN/IL1F5 are associated with the severe episodic inflammatory skin disease known as generalized pustular psoriasis [J]. *Am J Hum Genet*, 2011, 89: 432-437.
- [14] Sugiura K, Muto M, Akiyama M. CARD14c.526G4C (p. Asp176His) is a significant risk factor for generalized pustular psoriasis with psoriasis vulgaris in the Japanese cohort [J]. *J Invest Dermatol*, 2014, 134: 1755-1757.
- [15] Bestor TH. The DNA methyltransferases of mammals [J]. *Hum Mol Genet*, 2000, 9: 2395-2402.
- [16] Tajima S, Suetake I, Takeshita K, et al. Domain structure of the DNMT1, DNMT3a, and DNMT3b DNA methyltransferases [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 945: 63-86.
- [17] Wood KH, Johnson BS, Welsh SA, et al. Tagging methyl-CpG-binding domain proteins reveals different spatiotemporal expression and supports distinct functions [J]. *Epigenomics*, 2016, 8: 455-473.
- [18] Pandey S, Pruitt K. Functional assessment of MeCP2 in Rett syndrome and cancers of breast, colon and prostate [J]. *Biochem Cell Biol*, 2017, 95: 368-378.

(收稿日期: 2017-04-19)