

# Study of the Relationship between the Specific Endowment Constitution in Inner Mongolia and Allergic Diseases Based on Genome-Wide DNA Methylation Technology

Chen Li\*, Yajun Zhang#, Shuli Guo#, Dan Shi, Lujiao Kang, Ruigang Cao, Ziping Xue, Yuan Wang, Baojun Li

Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia  
Email: \*z.yjnm@gmail.com, #guoshuli@bit.edu.cn, 1184905235@qq.com

Received: Apr. 8<sup>th</sup>, 2019; accepted: Apr. 23<sup>rd</sup>, 2019; published: Apr. 30<sup>th</sup>, 2019

---

## Abstract

**Objective:** To provide a research basis for the study of the relationship between the specific endowment constitution and allergic diseases. This study used genome-wide DNA methylation technology to study differential methylation genes in the peace and special physique population of special traits in Inner Mongolia. **Methods:** Based on the pre-epidemic investigation and the screening of TCM physique identification scale, 2 subjects of special physique and physique were selected for whole-genome DNA methylation sequencing, and differential genes were selected for qPCR verification. **Results:** A total of 47,150 differential methylation readings were obtained in the experiment. qPCR results showed that the expression levels of XKR6 and PLCL1 in leukocytes were decreased in peace physique compared with the special physique ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** 1) This experiment used the genome-wide DNA methylation method to study the special physique and the peace physique. A total of 47,150 genes were identified. Among the various methylation types, the methylation regions were mainly located in introns. The area has a higher ratio. 2) The results of qPCR verification are consistent with the results of high methylation of genes, indicating that the differential methylation of genes in the scorpion population may be one of the causes of abnormal expression of related genes, and it is the key to susceptible allergic diseases. 3) The study of differential methylation genes in the special physique population in Inner Mongolia provides a theoretical basis for the prevention and treatment of patients with regional allergic diseases, and provides a research basis for the relationship between special physique and allergic diseases.

## Keywords

The Specific Endowment Constitution, DNA Methylation, Allergic Diseases

---

\*第一作者。

#通讯作者。

# 运用全基因组DNA甲基化技术对内蒙古地区特禀体质人群与过敏性疾病的关系进行研究

李琛<sup>\*</sup>, 张亚军<sup>#</sup>, 郭树理<sup>#</sup>, 石丹, 康陆俊, 曹瑞岗, 薛滋平, 王园, 李保君

内蒙古医科大学, 内蒙古 呼和浩特

Email: <sup>\*</sup>z.yjnm@gmail.com, <sup>#</sup>guoshuli@bit.edu.cn, 1184905235@qq.com

收稿日期: 2019年4月8日; 录用日期: 2019年4月23日; 发布日期: 2019年4月30日

## 摘要

目的: 为研究特禀体质与过敏性疾病之间的联系提供研究基础, 本研究运用全基因组DNA甲基化技术研究了内蒙古地区特禀体质和平和体质人群的差异甲基化基因。方法: 在前期流行病学调查及中医体质辨识量表筛选的基础之上, 选取了特禀体质及平和体质各2例受试者进行全基因组DNA甲基化测序, 并选取差异基因进行qPCR验证。结果: 实验共获得47150个差异甲基化读数, qPCR验证结果显示, 与平和体质比较特禀体质XKR6、PLCL1在白细胞中的表达量均降低( $P < 0.05$ )。结论: 1) 本实验通过运用全基因组DNA甲基化方法对特禀体质及平和体质进行研究, 共确定了47,150个基因, 各种甲基化类型中, 甲基化区域均主要位于内含子区且比值较高。2) qPCR验证结果与基因高度甲基化结果一致, 表明特禀体质人群基因差异甲基化, 可能是导致相关基因表达异常的原因之一, 是易罹患过敏性疾病的关键。3) 本实验对内蒙古地区特禀体质人群差异甲基化基因的研究, 为地区过敏性疾病患者的预防及治疗提供了理论依据, 同时为特禀体质与过敏性疾病之间的关系提供研究基础。

## 关键词

特禀体质, DNA甲基化, 过敏性疾病

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

表观遗传是指不改变基因型而改变表型的基因表达改变的现象或机制。目前表观遗传学在基因调控对疾病影响方面提出了很多思路, 并且肯定了一些疾病的发生受表观遗传学的影响, 如过敏性鼻炎、过敏性哮喘等疾病的发生与表观遗传学存在着密切的联系[1]。DNA甲基化是一种被广泛研究的表观遗传修饰方式, 与组蛋白修饰等方式一起, 在调控基因表达和染色质构象等方面发挥了重要的作用。DNA甲基化功能是最早发现到的基因表观修饰方式之一, 即在DNA甲基化转移酶(DNMTs)的作用下使CpG二核苷酸5'-端的胞嘧啶转变为5'-甲基胞嘧啶, 这一过程主要发生在CpG的胞嘧啶上[2]。DNA甲基化既可以调控转录水平, 又可以在染色体结构稳定性、基因印记、X染色体失活等方面发挥作用[3]。因此DNA甲基化作为表观遗传学中实验研究较多、技术相对完善的一种方法具有很好的应用价值, 同时也对深入

理解基因表达、个体发育以及疾病的发生、发展机制都具有重要意义。

特禀体质是中医体质类型中的一种，它是由于先天禀赋不足和禀赋遗传等因素造成的一种特殊体质类型，其成因与先天禀赋不足、遗传因素、环境因素、药物因素等密切相关[4]。最近的研究已经发现特禀体质人群与过敏性疾病发生发展的关联性很高[5] [6] [7]，而由于地理环境、生活习惯和气候的独特性，内蒙古地区已成为特禀体质人群的集中区域，进而成为过敏性疾病的高发病地区[8] [9]。然而，对其在遗传水平表现的调节机制上，如通过其 DNA 甲基化的作用，我们知之甚少。在这项研究中，我们的目的是比较特禀体质(过敏组)和平和体质(正常组)的 DNA 甲基化图谱，以确定差异表达的基因，并进行了 DNA 甲基化水平和差异表达的基因之间的关联分析。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 研究对象

本课题的研究对象均来源于 2016~2017 年内蒙古医科大学第一附属医院体检中心，通过前期进行的临床流行病学调查，共收集到 2000 余份体质量表，并以此为基础按照中医体质辨识结果及纳入、排除标准进行筛选，由经过培训的具有中医知识的研究生进行横断面现场调查，当场收回并确认资料合格。最终得到特禀体质 154 例及平和体质 170 例作为实验样本选择的范围人群。从范围人群中随机选择了 4 例研究对象进行全基因组 DNA 甲基化实验，其中特禀体质 2 例，平和体质 2 例。并从剩余范围人群中随机选择 10 例研究对象进行后续 qPCR 实验验证，其中特禀体质与平和体质人数各 5 例。两组受试对象性别均衡，年龄在 20~60 岁之间，无统计学差异。

#### 2.1.1. 纳入标准及排除标准

纳入标准：

- 1) 符合特禀体质、平和体质判定标准者；
- 2) 祖辈三代均生活在内蒙古自治区境内；
- 3) 年龄满 15 周岁以上，80 周岁以下；
- 4) 不患有传染性、精神类等影响试验的疾病；
- 5) 受试者及其一级亲属均愿意接受临床试验者；
- 6) 签署知情同意书者；

排除标准：

- 1) 有传染性疾病、先天缺陷或精神异常不能自主思考者；
- 2) 问卷填写不完整或因故未能完成问卷者；
- 3) 未签署知情同意书者。

#### 2.1.2. 样本采集

采血前告知受试者实验目的、意义及相关注意事项，然后签署知情同意书。嘱受试者采血前一天禁酒和劳累，女性避开月经期，在空腹 12 小时后于清晨使用 EDTA 抗凝管采集肘静脉血 8 ml，并充分颠倒使 EDTA 和血液混合，以防出现局部凝血的问题，保证在 8 小时内成功分离单个核细胞。

## 2.2. 实验材料

### 2.2.1. 实验试剂

主要试剂：生产厂家

红细胞裂解液：北京天根生化科技有限公司

TRIzol® Reagent: 美国 Invitrogen 公司  
氯仿: 中国医药集团上海化学试剂公司  
异丙醇: 国药集团化学试剂有限公司  
无水乙醇: 国药集团化学试剂有限公司  
RNase-free 水: Qiagen (中国)生物技术公司  
DEPC: 美国 Sigma 公司  
EB: 上海博光生物科技有限公司  
Certified Low-Range Ultra Agarose: 美国 Bio-Rad 公司  
TruSeq™ RNA Sample Prep Kit: 美国 Illumina 公司  
TruSeq PE Cluster Kit v3-cBot-HS: 美国 Illumina 公司  
TruSeq SBS Kit (300cycles): 美国 Illumina 公司  
Picogreen: 美国 Illumina 公司  
UltraPure Agarose: 美国 ABI-Invitrogen 公司  
SuperScript III RT 反转录 Kit: 美国 ABI-Invitrogen 公司  
Sybr qpcr mix: 美国 ABI-Invitrogen 公司

### 2.2.2. 实验仪器

主要仪器: 生产厂家  
微量移液器: 德国 Eppendorf  
台式低速离心机 himac CT6E: 厦门名大科技有限公司  
无菌超净工作台 SW-CJ-2D: 苏州净化设备有限公司  
Bio-Gen PRO200 精密匀浆器: 相马科学仪器(北京)有限公司  
NanoDrop2000c 微量紫外可见分光光度计: 美国 THERMO 公司  
小型水平电泳槽 Mini-Sub Cell Gt Cell: 美国 Bio-Rad 公司  
磁力架: 美国 Invitrogen 公司  
TBS380: 美国 Invitrogen 公司  
台式高速冷冻离心机: 美国 THERMO 公司  
核酸浓度测定仪: 美国 THERMO 公司  
qPCR 仪: 美国 Applied biosystems 公司  
电泳仪: 美国 Bio-Rad 公司  
凝胶成像仪: 美国 Bio-Rad 公司

## 2.3. 方法

### 2.3.1. DNA 甲基化实验方法

登记各样本编号, 白细胞分离, 提取 DNA, 并进行质检。在通过测试后的样本中加入一定比例的阴性对照( $\lambda$  DNA), 并使用 Covaris S220 将基因组 DNA 随机打断至 200~300 bp。对碎片化的 DNA 片段进行末端修复, 添加 A 尾, 并附加具有全部甲基化胞嘧啶修饰的测试接头。随后进行 Bisulfite 处理(采用 EZ DNA Methylation Gold Kit, Zymo Research), 经过处理, 未发生甲基化的 C 变成 U, 而甲基化的 C 保持不变。进行 PCR 扩增, 得到最终的 DNA 文库。构建文库后, 首先使用 Qubit2.0 进行初步定量, 将文库稀释至 1 ng/ $\mu$ l, 然后使用 Agilent2100 检测文库的插入长度。在达到预期的结果后, 使用 Q-PCR 来准确量化文库的有效浓度(有效文库浓度 > 2 nM), 以保证文库质量。文库检测合格之后, 根据有效浓度

和目标数据量的要求合并不同的文库,进行 Illumina HiSeq/MiSeq 测序。测序的基本原理是边合成边测序 (Sequencing by Synthesis)。将四种荧光标记的 dNTP、DNA 聚合酶和接头引物加入重新测序的流式细胞中进行扩增,当每个测序簇延伸互补链时,每个被荧光标记的 dNTP 就能释放出相对应的荧光,序列发生器捕获荧光信号,并使用计算机软件将光信号转换为测序峰,从而获得待测片段的序列信息[10]。

### 2.3.2. qPCR 实验方法

登记各样本编号,白细胞分离,提取 RNA,并进行质检。按照以下步骤建立反转录反应体系(RNA 均取 200 ng,补水到 10  $\mu$ l): RNA 10  $\mu$ l、Oligo-dT 1  $\mu$ l、Random 1  $\mu$ l 混匀后离心,65 $^{\circ}$ C,五分钟,结束后置于冰上。在上述反应体系中加入下列反应液: dNTP (10  $\mu$ M) 1  $\mu$ l、0.1 M DTT 2  $\mu$ l、5  $\times$  Buffer 4  $\mu$ l、RT 酶 1  $\mu$ l 混匀后离心。置于 42 $^{\circ}$ C,水浴一小时。取出后置于 85 $^{\circ}$ C,灭活逆转录酶反应 10 分钟。反应结束后置于-20 $^{\circ}$ C 待用。每个样本分别用待检测基因和内参基因引物扩增,每个反应做 3 个重复,按照以下体系建立扩增体系(20  $\mu$ l): cDNA 2  $\mu$ l、qPCR mix 10  $\mu$ l、primer F 1  $\mu$ l、primer R 1  $\mu$ l、ddH<sub>2</sub>O 6  $\mu$ l 于 ABI 7900qPCR 仪上,按照以下条件反应: 95 $^{\circ}$ C 2 分钟、94 $^{\circ}$ C 20 s、60 $^{\circ}$ C 20 s、72 $^{\circ}$ C 30 s 共进行 40 个循环 [11]。

### 2.3.3. 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件分析。计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,对符合正态性检验和方差齐性检验采用单因素方差分析(One-way ANOVA),不符合采用非参数检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3. 结果

### 3.1. DNA 甲基化测序结果

在本研究中,设置 2 例平和组和特禀组 2 人进行原始数据的分析,4 个样本分别产生了 361、505、363、366、854、706、321、750、877、334、567、882 个纯读数,且其定位读数分别占相应读数的 84.6%、83.92%、81.90%、82.02% (表 1)。

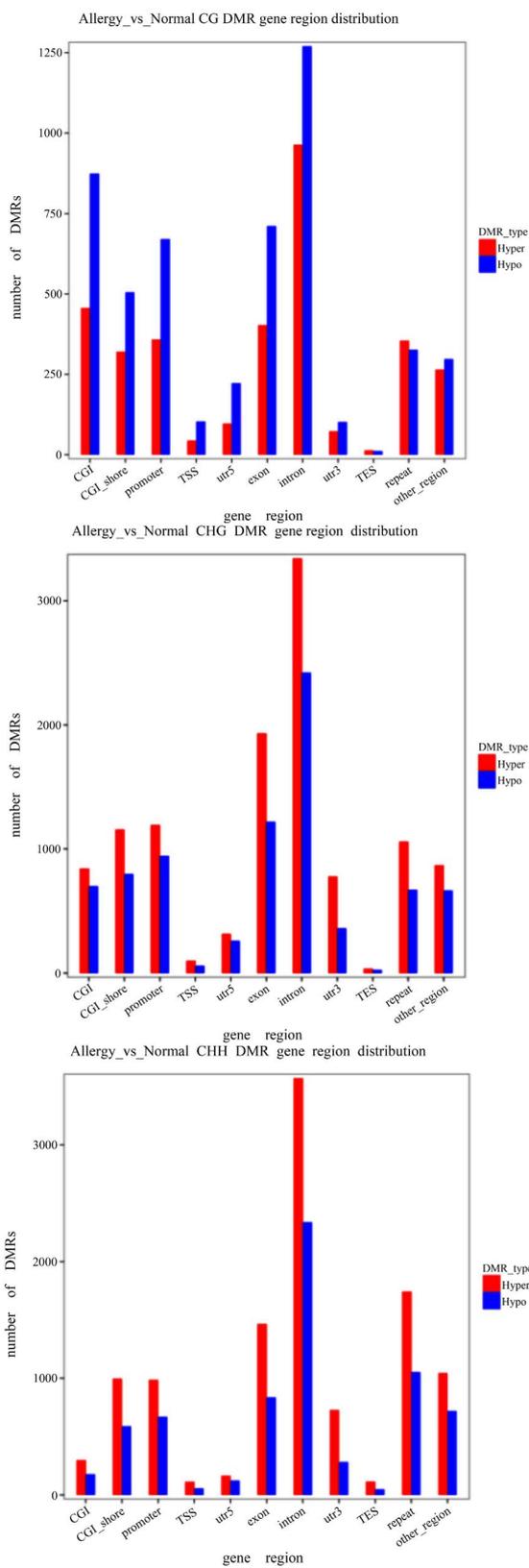
**Table 1.** Data from genome-wide bisulfite sequencing: 1 and 2 normal T1 and T2 allergic groups

**表 1.** 全基因组重亚硫酸盐测序产生的数据: 1、2 正常组 T1、T2 过敏组

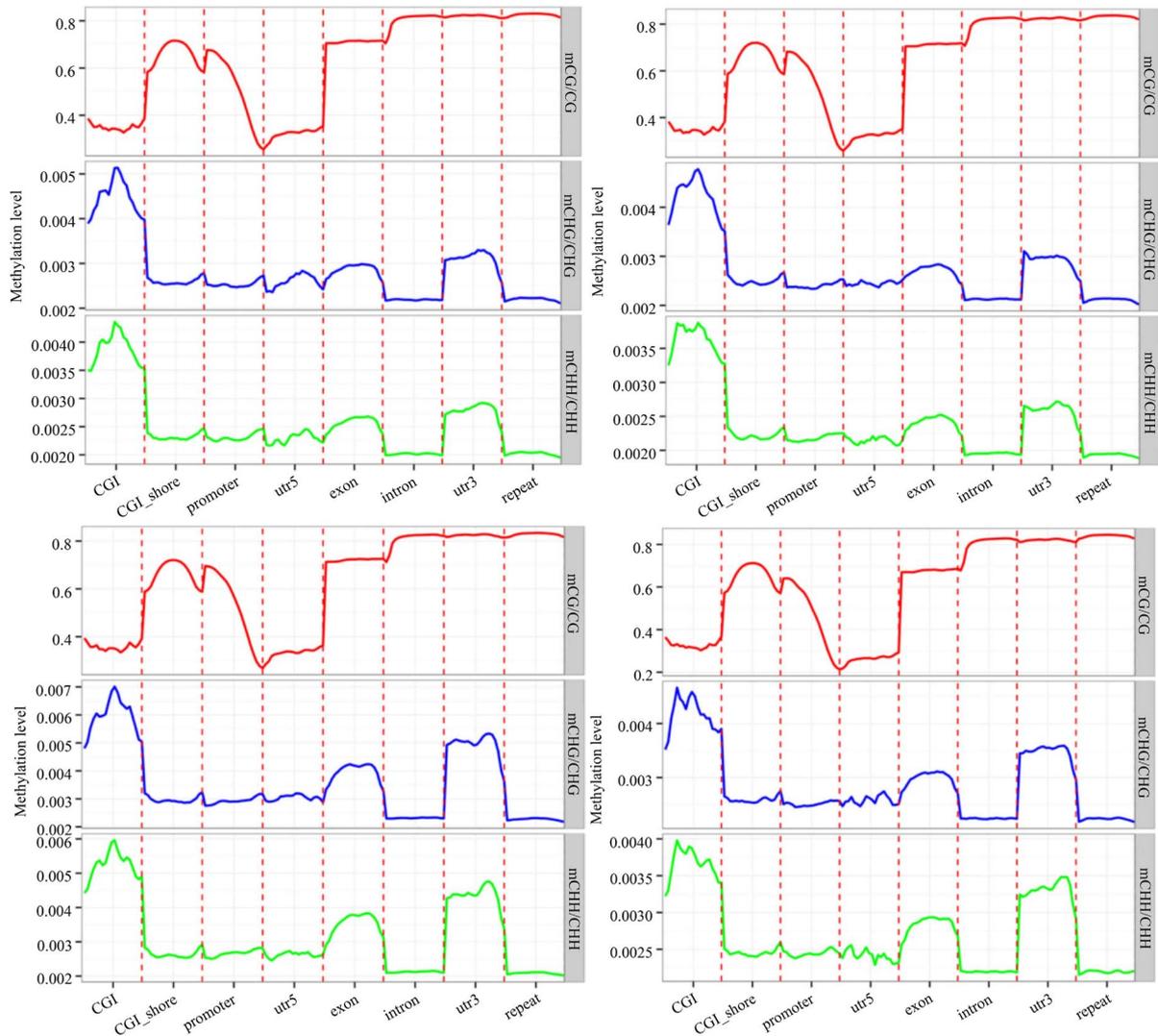
Sample name	Raw reads	Raw bases (G)	Clean reads	Clean bases (G)	Mapped reads	Mapping rate (%)	Duplication rate (%)
1	367,821,691	110.35	361,505,363	104.36	305,833,537	84.60	18.63
2	373,441,482	112.03	366,854,706	105.70	307,864,469	83.92	17.66
T1	327,710,705	98.31	321,750,877	92.76	263,513,968	81.90	16.39
T2	339,144,238	101.74	334,567,882	96.59	274,412,576	82.02	19.78

为了表征不同环境条件下样本间基因组甲基化水平的差异,我们进行了差异甲基化分析,两组共确定了 47,150 个 DMR,在 CG 型甲基化中,低甲基化相较于高甲基化为高。而在 CHG 型和 CHH 型甲基化中结果则恰恰相反,高甲基化较低甲基化为高。但无论发生哪种甲基化类型,其甲基化区域均主要位于内含子区且比值很高(图 1)。

我们将基因分为特定的基因特征:启动子,外显子,内含子,5'UTR 和 3'UTR 等。并且在这些功能区域进行 MLs 评估。正常组与过敏组 CG 型甲基化比较结果显示,5'UTR 区域检测到最低的 MLs,但在内含子和 3'UTR 区域内增加,而且 3'UTR 的 ML 较内含子高。正常组与过敏组 CHG 型和 CHH 型甲基化比较结果显示,两者之间具有相似的发展模式,在内含子区域检测到最低的 MLs,而在外显子及 3'UTR 区域反而增加,以 3'UTR 的 ML 增加更为显著(图 2)。



**Figure 1.** Display of DMR anchoring areas in three sequence environments (CG, CHG, CHH)  
**图 1. 3 种序列环境(CG, CHG, CHH) DMR 锚定区域展示**



**Figure 2.** Distribution of methylation levels on different genomic elements in samples from left one and two normal groups and right one and two allergic groups

**图 2.** 样本甲基化水平在不同基因组元件上的分布左一和二为正常组，右一和二为过敏组

### 3.2. qPCR 结果

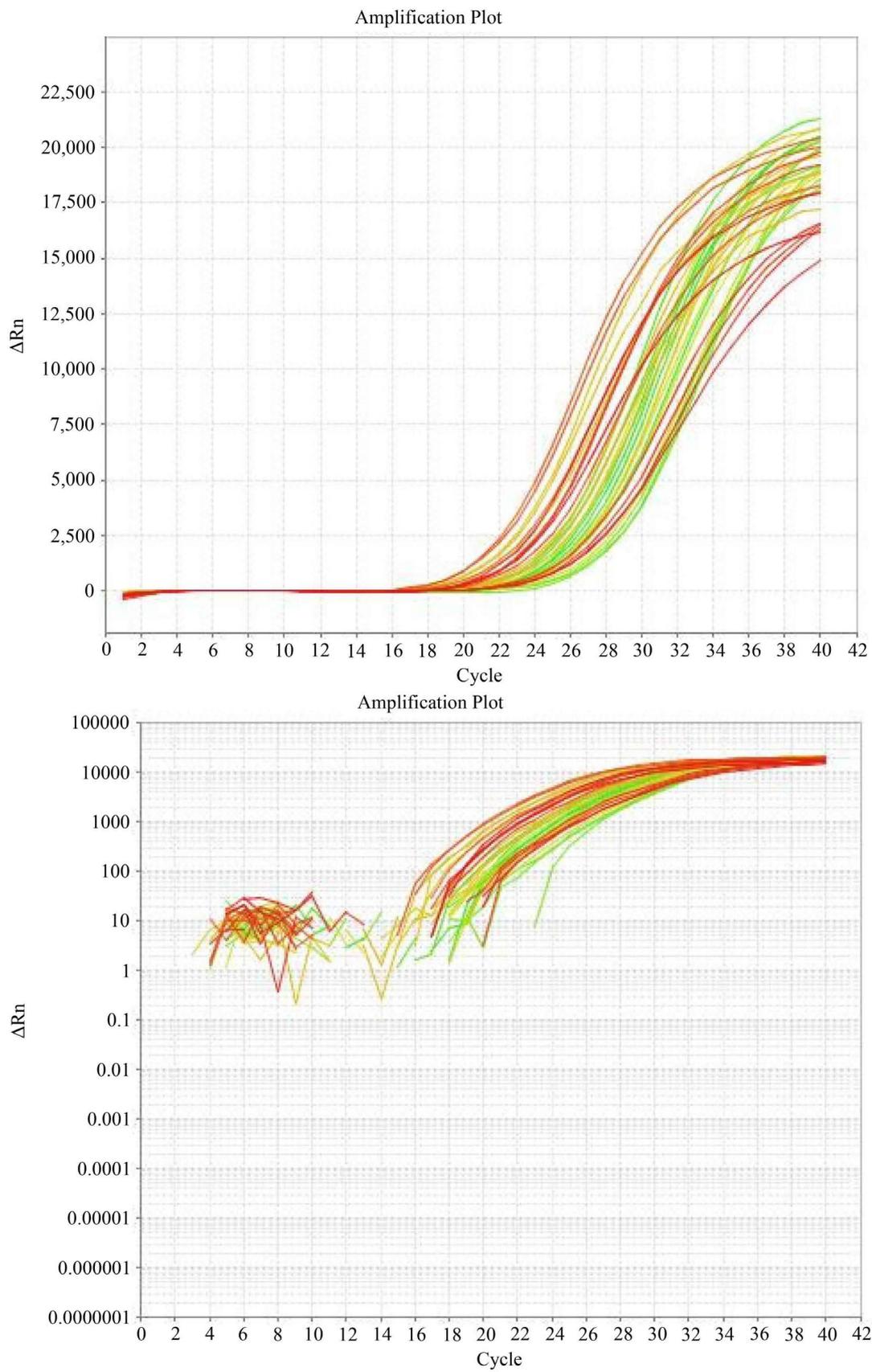
通过对 XKR6、PLCL1 这两个甲基化位于内含子区的基因进行了 qPCR 实验验证，溶解曲线为单峰，引物特异性高，可以进行下一步定量实验验证(图 3~5)。qPCR 结果 ct 值用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  检验，平和体质组表达为 1.00，特禀体质组中 XKR6 基因结果为 0.20，PLCL1 基因结果为 0.22，两个基因的表达均表现为下降 ( $P < 0.05$ )，( $P < 0.01$ )，差异有统计学意义(表 2、图 6)。

**Table 2.** Gene expression levels of endogenous constitution, and peace constitution ( $X \pm sem$ )

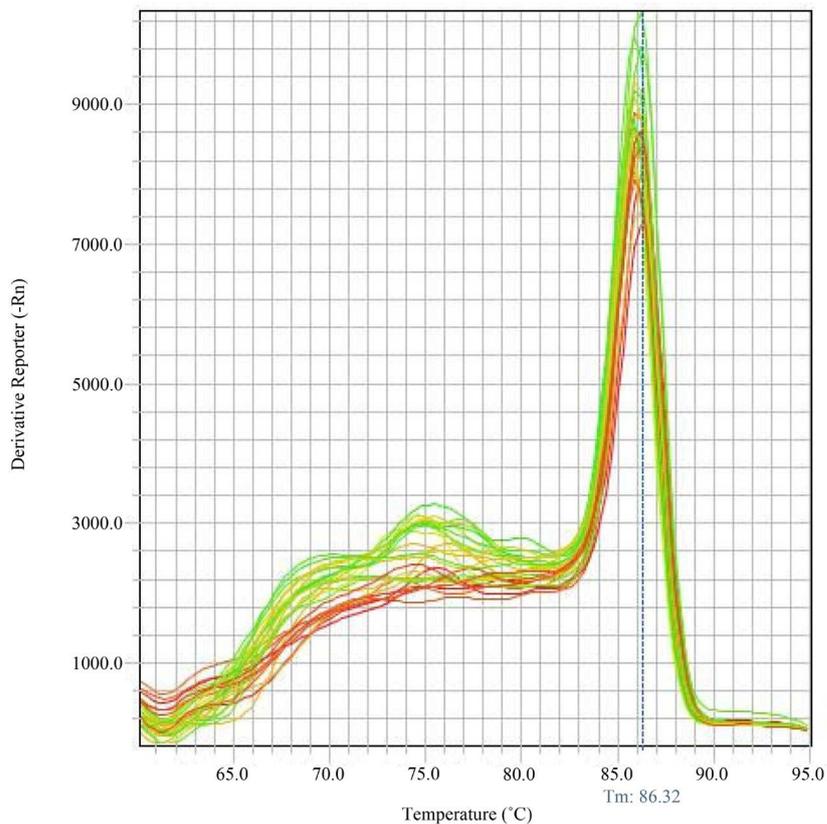
**表 2.** 特禀体质和平和体质两个基因 mRNA 表达量( $X \pm sem$ )

组别	n	XKR6	PLCL1
平和体质	5	1.13 ± 0.86	2.33 ± 2.25
特禀体质	5	0.20 ± 0.23*	0.06 ± 0.06**

与平和体质组比较，\* $P < 0.05$ ，\*\* $P < 0.01$ 。

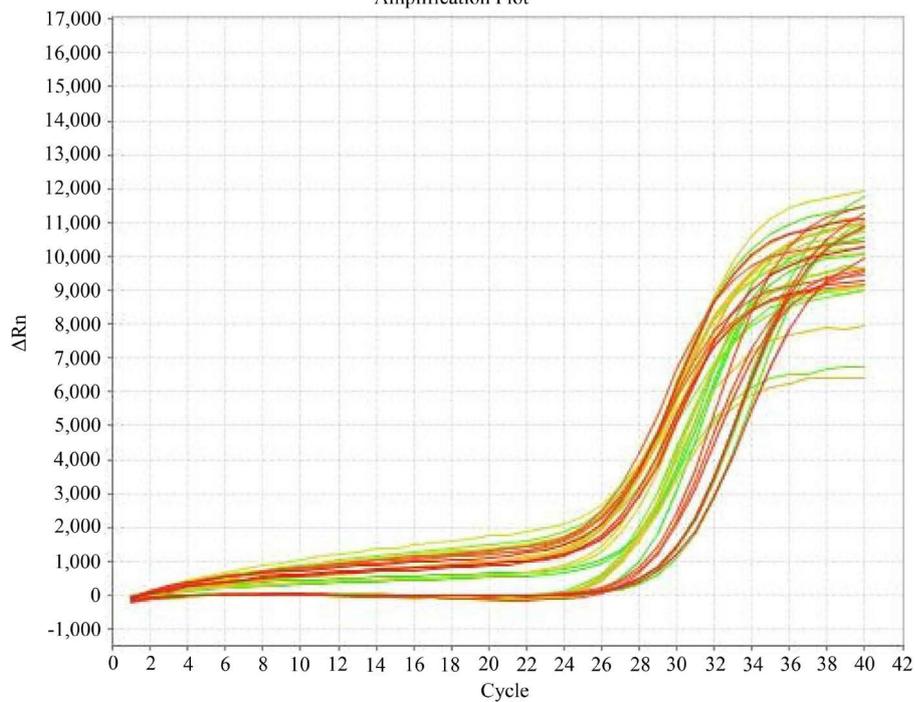


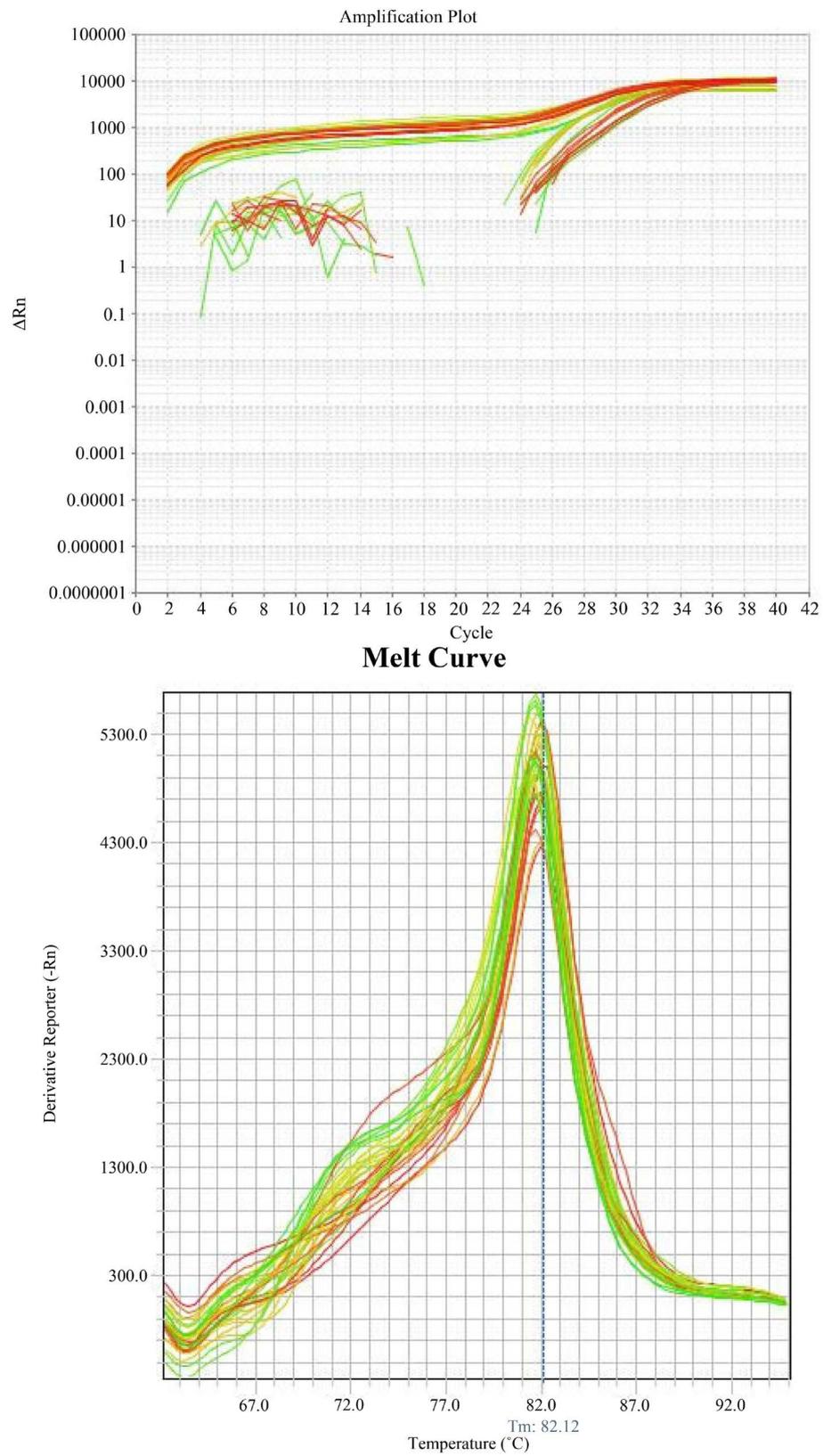
### Melt Curve



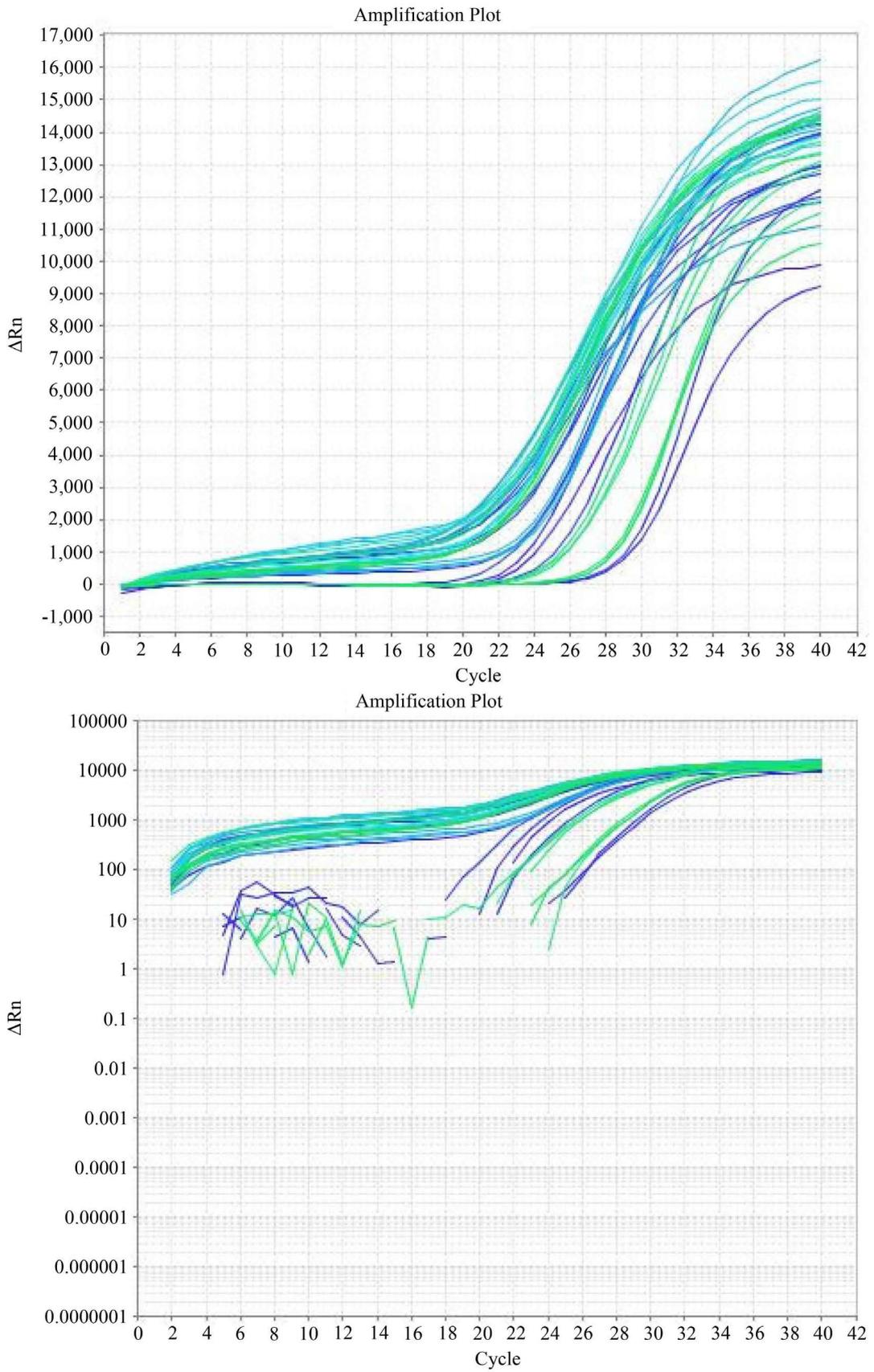
**Figure 3.** Gene actin amplification curve (left, middle) and dissolution curve (right)  
**图 3.** 基因 actin 扩增曲线(左、中)和溶解曲线(右)

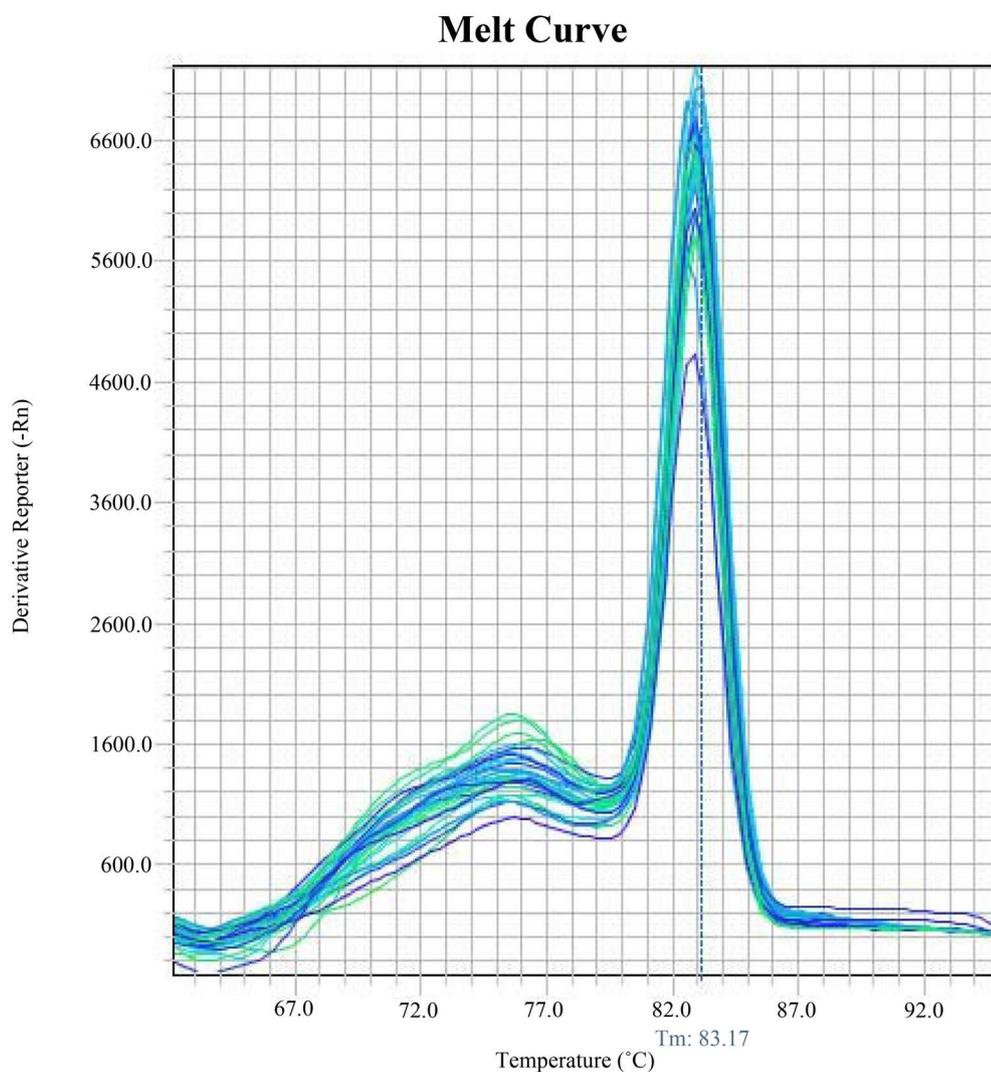
### Amplification Plot



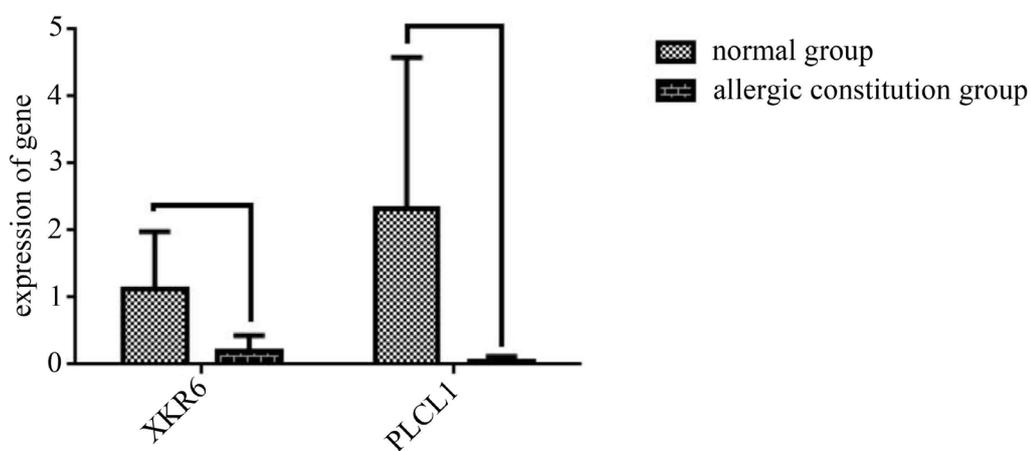


**Figure 4.** Amplification curve (left, middle) and dissolution curve (right) of gene XKR6  
**图 4.** 基因 XKR6 扩增曲线(左、中)和溶解曲线(右)





**Figure 5.** Gene PLCL1 amplification curve (left, middle) and dissolution curve (right)  
**图 5.** 基因 PLCL1 扩增曲线(左、中)和溶解曲线(右)



**Figure 6.** Two mRNA gene expression levels of constitution and peace and constitution  
**图 6.** 特禀体质和平和体质两个基因 mRNA 表达量

## 4. 讨论

DNA 甲基化是表观遗传学研究的主要内容之一,近年来被发现与过敏性疾病发生密切相关。随着过敏性疾病的发病率日趋上升,全球约有 30%~40% 的人群受到该疾病不同程度的影响[12],以哮喘为例,它与人类的基因及所暴露的环境有着非正常的交互关系,如肥胖、压力、暴露于空气污染、烟草污染环境等因素均会增加遗传易感性人群哮喘病的获得风险[13],此外其引起的复发性呼吸困难导致全球每年约 25 万人的死亡[14]。基于表观遗传学机制将基因调控与环境线索及发展轨迹联系起来, Avery DeVries [15]等发现了哮喘早期表观预测因子的特征,并且指出了表观遗传学机制在调节本病的发生和易感性方面具有一定的潜在作用。有资料明确显示[16] [17]过敏性疾病的过敏体质有明显的遗传倾向性,且过敏性疾病是由于非基因序列改变所致的基因表达水平变化[18]。而表观遗传学可以较好的用来解释遗传与环境之间的关系,链接基因调控的环境线索和发展轨迹,并且在基因调控疾病影响方面提出了许多新思路,肯定了一些疾病的发生受表观遗传学的影响[19]。本次实验设置特禀质及平和质进行全基因组 DNA 甲基化测序,实验共获得 47,150 个差异甲基化读数,各种甲基化类型中,甲基化区域均主要位于内含子区且比值较高。表明在特禀质与平和质间基因甲基化存在明显差异,且研究前景广阔,运用 DNA 甲基化技术研究中医特禀体质,不仅填补了特禀体质相关研究的空白,丰富了其微观领域研究形式,还对其易感疾病的原因进行了探究,这为日后更好地改善体质,控制疾病发挥了重要的作用。

为了进一步验证特禀质组全基因组 DNA 甲基化测序结果与过敏性疾病发生关系,我们选取文献报道与过敏性疾病发病相关且在内含子区发生高倍甲基化的基因进行 qPCR 验证。与平和体质组比较,特禀体质组中 XKR6, PLCL1 相对表达均为下降( $P < 0.05$ ), ( $P < 0.01$ ), 差异有统计学意义。XKR6 基因为 Kell 血型复合体系基相关家族的成员 6, 位于染色体 8p23 位置上。目前国内学者对该基因的相关研究文献较少。国外学者在对嗜酸性粒细胞性食管炎(EoE)的研究中发现, EoE 与过敏性病因学一致,常常与过敏性疾病共同发生,包括哮喘、湿疹以及食物过敏等[20] [21]。通过进一步研究还发现了另外两个新的基因组变异位点位于 XKR6 基因上,并且这几个全基因组易感性位点与 EoE 关系密切,在校正其特异性后效应大小没有显著影响[22]。在对自身免疫性疾病系统性红白狼疮(SLE)的研究中, ML Budarf [23]等学者研究先前报道为 SLE 风险基因座的 SNPs 并观察了 SLE12 个不同位点上 23 个 SNP 与该病易感的相关性,结果显示包括 XKR6、TNFSF4、IRF5 在内的八个基因座位点的比值比高,同时研究人员还发现 BLK 和 XKR6 之间基因显著相关,虽然两个 SNPs 之间相距 620 kb,但它们之间却存在较强的相关性。David [24]等对 53,862 人进行了一项全基因组关联分析,包括自我报告的猫、尘螨、花粉等过敏。其使用广义估计方程来模拟过敏特异性遗传效应,鉴定了包括 PLCL1 中 2q33.1 在内的八个与哮喘有关的位点。结果表明,自我报告的过敏可以用来识别疾病易感性位点,并与过敏性致敏的研究一致,且发现了 PLCL1 等位点附近与自身免疫性疾病相关的新易感性位点,这一研究结果巩固并延伸了过敏性和自身免疫性疾病共有遗传病因学的证据。在一项包含美国、英国、欧洲等多地特应性皮炎(DM)患者的研究中,学者发现 PLCL1 不仅涉及以肌醇磷脂为基础的细胞内信号级联,还涉及受体的转换,因此它有助于维持肌肉紧张和  $\gamma$ -氨基丁酸介导的突触抑制。PLCL1 可能与 DM 发病机制有密切关系,需要进一步研究[25]。qPCR 验证结果显示出 2 个高甲基化的基因表达降低,这与高度 DNA 甲基化会抑制基因表达的论述相符,同时符合现阶段文献报道两个基因在过敏性疾病发生中的异常表达趋势。因此,在特禀体质和平和体质中内含子区域差异表达的基因可能是其易罹患过敏性疾病的关键,改变其基因的高甲基化状态可能为预防过敏性疾病提供了新的思路及方法。

过敏性疾病的发生因受基因及环境因素的共同影响,而表观遗传学研究为探讨过敏性疾病发生机制提供了新的思路,通过阐述表观遗传学改变与过敏性疾病发生之间的潜在关系将为疾病的诊断和治疗提

供新的可能, 并且突破了中医传统学术思想的束缚、拓宽了探索疾病发病机制及治疗手段的道路。与更具挑战性地组蛋白修饰分析不同, DNA 甲基化作为一种蓬勃发展的技术更能代表表观遗传学在过敏性疾病研究中的总体。因此, 本实验选用 DNA 甲基化技术研究中医特禀体质, 不仅填补了特禀体质相关研究的空白, 丰富了其微观领域研究形式, 还对其易感疾病的原因进行了探究, 这为日后更好地改善体质, 控制疾病发挥了重要的作用。

## 基金项目

国家自然科学基金(No. 81460688)。

## 参考文献

- [1] 李晓丽. 肿瘤表观遗传学研究热点的聚类分析[J]. 中国肿瘤, 2013, 22(4): 284-287.
- [2] Geiman, T.M. and Muegge, K. (2010) DNA Methylation in Early Development. *Molecular Reproduction and Development*, **77**, 105-113. <https://doi.org/10.1002/mrd.21118>
- [3] Chen, Z.X. and Riggs, A.D. (2011) DNA Methylation and Demethylation in Mammals. *The Journal of Biological Chemistry*, **286**, 18347-18353. <https://doi.org/10.1074/jbc.R110.205286>
- [4] 林霞, 张庆祥, 孟庆岩. 过敏性肺病与特禀体质相关性调查分析[J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(1): 77-79.
- [5] 王丽新, 马卉, 李凌, 等. 260 例慢性荨麻疹患者体质分布特点及变化倾向[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(9): 4235-4238.
- [6] 林霞, 张庆祥, 孟庆岩. 变应性鼻炎发病规律与辨证分型研究[J]. 河南中医, 2014, 34(4): 682-684.
- [7] 江莉君. 感染后咳嗽患者中医体质类型的分析[J]. 中国当代医药, 2015, 22(12): 121-123.
- [8] 杨敬平, 徐喜媛, 孙德俊, 等. 包头地区花粉症的病因研究[J]. 中华哮喘杂志, 2011, 5(5): 325-330.
- [9] 田惠, 宋岚. 呼和浩特市夏秋季过敏性鼻炎和合并哮喘患者的变应原分析[J]. 职业与健康, 2011, 27(5): 584-585.
- [10] 孙永健, 陈小强, 孙宁, 等. 表观遗传学的分子机制及其研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(33): 14450-14452+14510.
- [11] 杨显英, 熊显荣, 韩杰, 黄向月, 王艳, 阿果约达, 李键. 小鼠卵巢组织定量 PCR 分析中内参基因的筛选[J]. 畜牧兽医学报, 2019, 50(2): 446-453.
- [12] Chang, H.J. and Liang, M.H. (2011) A Piece of My Mind. The Quiet Epidemic. *JAMA*, **306**, 1843-1844. <https://doi.org/10.1001/jama.2011.1587>
- [13] 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(12): 944-947.
- [14] Brook, P.O., Perry, M.M., Adcock, I.M. and Durham, A.L. (2015) Epigenome-Modifying Tools in Asthma. *Epigenomics*, **7**, 1017-1032. <https://doi.org/10.2217/epi.15.53>
- [15] Devries, A. and Vercelli, D. (2016) Epigenetic Mechanisms in Asthma. *Annals of the American Thoracic Society*, **13**, S48-S50.
- [16] 宁立华, 张亚京, 王鑫. 2010 年包头市城区儿童哮喘流行病学调查研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2014, 16(2): 165-169.
- [17] 赵卓慧, 张昕, 刘冉冉. 太原市学龄前儿童哮喘、过敏性鼻炎及湿疹与出生前及早期家居环境的相关性[J]. 2013, 58(25): 2570-2576.
- [18] 周娟, 王海诚, 王娟, 等. FCER1A 启动子区基因多态性与儿童哮喘[J]. 中华临床医师杂志, 2011, 5(6): 1566-1569.
- [19] 李晓丽. 肿瘤表观遗传学研究热点的聚类分析[J]. 中国肿瘤, 2013, 22(4): 284-287.
- [20] Rothenberg, M.E. (2009) Biology and Treatment of Eosinophilic Esophagitis. *Gastroenterology*, **137**, 1238-1249. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.07.007>
- [21] Putnam, P.E. and Rothenberg, M.E. (2009) Eosinophilic Esophagitis: Concepts, Controversies, and Evidence. *Current Gastroenterology Reports*, **11**, 220-225. <https://doi.org/10.1007/s11894-009-0034-2>
- [22] Kottyan, L.C., Davis, B.P., Sherrill, J.D., et al. (2014) Genome-Wide Association Analysis of Eosinophilic Esophagitis

Provides Insight into the Tissue Specificity of This Allergic Disease. *Nature Genetics*, **46**, 895-900.  
<https://doi.org/10.1038/ng.3033>

- [23] Budarf, M.L., Goyette, P., Boucher, G., *et al.* (2011) A Targeted Association Study in Systemic Lupus Erythematosus Identifies Multiple Susceptibility Alleles. *Genes & Immunity*, **12**, 51-58. <https://doi.org/10.1038/gene.2010.47>
- [24] Hinds, D.A., McMahon, G., Kiefer, A.K., *et al.* (2013) A Genome-Wide Association Meta-Analysis of Self-Reported Allergy Identifies Shared and Allergy-Specific Susceptibility Loci. *Nature Genetics*, **45**, 907-911.  
<https://doi.org/10.1038/ng.2686>
- [25] Miller, F.W., Cooper, R.G., Rider, L.G., *et al.* (2013) Genome-Wide Association Study of Dermatomyositis Reveals Genetic Overlap with Other Autoimmune Disorders. *Arthritis & Rheumatism*, **65**, 3239-3247.  
<https://doi.org/10.1002/art.38137>

## 附 录

### 附录 1: 知情同意书

#### 知 情 同 意 书

尊敬的受试者:

您好! 您将作为“基于表观遗传学对内蒙古特禀体质家族人群的基础性研究”课题的一名受试者, 为了确保本次试验顺利进行并充分保障您的权益, 在您同意参加之前, 您需要清楚知道以下相关信息:

#### 研究简介

我们正在进行一项临床调查工作, 通过对具有家族遗传特点的特禀体质人群的免疫细胞即: CD4+Th2 细胞的表观遗传改变进行研究来完善特禀体质的发病机理, 探索一种新的思路和方法为临床防治特禀体质人群发生过敏性疾病提供理论依据和指导。

#### 研究目的

研究具有家族遗传的特禀体质人群与平和体质人群 Th2 细胞在表观遗传学方面存在的差异, 揭示家族遗传的特禀体质人群的表观遗传机理。将表观遗传学对特禀体质的影响理论应用到防治过敏性疾病方面。

#### 调查过程概述

应用 2009 年版《中医体质分类与判定》标准筛选祖辈三代均生活在内蒙古地区的特禀体质(包含其一级亲属)和平和体质人群为研究对象, 采集外周血进行 DNA 甲基化的实验研究。

#### 获益与风险

通过本次调查能够较为客观地对您目前体质状况进行评价, 并给出相应健康指导, 有利于保持您的健康状态, 同时有利于节省医疗成本及资源。您的参加将对中医体质理论的发展提供可贵的支持, 期间可能会耽误您的宝贵时间, 希望您能够支持我们的工作。

#### 自愿参加原则

试验前请您对本次临床试验做详细的了解, 我们会耐心解释您所关心的问题, 然后由您自愿决定是否参与本次调查, 参与与否都不会影响您和医生的关系及诊治。

#### 资料保密

您的合法权益不会因为本项研究而受到侵犯, 所有调查记录均属保密, 姓名及相关信息不会出现在任何研究报告和公开出版物中。

#### 受试者同意

调查人员已经把整个调查过程及潜在的风险与获益等内容完全向我解释清楚, 我已提出自己的问题并得到了满意解答。

我作为受试者在此签名, 表明我已清楚上述说明并同意参加该项调查。

受试者签名(正楷):

联系电话:

受试者家属签名(正楷):

调查医师签名(正楷):

日期: 年 月 日

日期: 年 月 日

附录 2: 伦理审批件

内蒙古医科大学  
内蒙古医科大学科学技术处文件

内蒙古医科大学生物医学科研伦理审批件

编号(N<sub>0</sub>): YKD2014007

我校 张亚军 申请的国家自然科学基金项目  
《基于表观遗传学对内蒙古地区特禀体质家族人群  
的基础性研究》经过医学伦理委员会的审核, 符合伦  
理原则, 同意申报国家自然科学基金项目。

内蒙古医科大学医学伦理委员会

伦理委员会主任委员签章

印广

2014 年 3 月 6 日

**Hans** 汉斯

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2161-8712, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [acm@hanspub.org](mailto:acm@hanspub.org)