· 综述 ·

DNA 甲基化与脓毒症关系研究进展

刘恺闻　黄立锋　李文雄

首都医科大学附属北京朝阳医院 SICU，北京 100020

通信作者：黄立锋，Email：burnshlf@sina.com

【摘要】 表观遗传修饰包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰、非编码 RNA 等，是决定基因表达的重要因素。越来越多的研究表明，表观遗传调控可能在脓毒症的发生发展过程中占有重要地位。由于 DNA 甲基化的机制明确，研究手段也相对成熟，因此其在脓毒症相关研究中受到了广泛关注。现通过回顾近年来对于脓毒症中 DNA 甲基化机制的研究，从病原学和免疫学等方面阐明 DNA 甲基化修饰在脓毒症病理生理进程中所起到的关键作用，同时对 DNA 甲基化在脓毒症诊断、预后和治疗中的应用潜力进行总结，为进一步研究指明方向。

【关键词】 表观遗传学；　甲基化；　脓毒症

基金项目：国家自然科学基金（81372042）；北京市属医院科研培育计划（PX2019010）

DOI：10.3760/cma.j.cn121430-20200821-00588

Advancement in the relationship between DNA methylation and sepsis

Liu Kaiwen, Huang Lifeng, Li Wenxiong

Department of Surgical Intensive Care Unit, Beijing Chaoyang Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100020, China

Corresponding author: Huang Lifeng, Email: burnshlf@sina.com

【**Abstract**】 Epigenetic modification includes DNA methylation, histone modification, non-coding RNA, etc., and is crucial in determining gene expression. A growing number of recent studies have shown that epigenetic regulation may play a central role in the pathogenesis of sepsis. Due to its explicit mechanism and relatively mature technic, DNA methylation has received extensive attention in sepsis-related researches. By examining recent studies on septic DNA methylation mechanism, this review elucidates the key role in sepsis occurrence and progression that DNA methylation plays from etiology, immunology and other aspects, as well as its application potential in the diagnosis, prognosis and treatment of sepsis before pointing out the direction for further research.

【**Key words**】 Epigenetics;　Methylation;　Sepsis

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81372042); Scientific and Breeding Program of Beijing Municipal Hospitals of China (PX2019010)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200821-00588

脓毒症（sepsis）具有发病率高、致死率高的特点，目前仍是全球临床患者主要死亡原因之一。越来越多的研究证据表明，脓毒症的病理生理机制主要涉及免疫细胞凋亡、自噬、细胞代谢重编程、内毒素耐受、中枢神经系统调控以及表观遗传学调控等，其中免疫抑制是一个重要环节。现代医学认为，表观遗传学可以在脓毒症患者基因表达过程中保留对机体不利的改变，并且在急性感染后仍保留这些变化，这些“记忆”程序促使液体复苏治疗后脓毒症患者仍存留免疫抑制状态，并使其表观遗传标记被编码入正常分化细胞，这将对机体免疫应答的妥协产生更为长远的危害。目前，国内对此内容报道甚少，但国外已有较多研究者发现表观遗传学因素，特别是 DNA 甲基化与脓毒症发病过程密切相关。基于以上原因，现拟重点就 DNA 甲基化与脓毒症关系的研究进展进行综述。

1　脓毒症

脓毒症又称脓毒综合征，是一种具有较高致死率的常见疾病。流行病学调查结果显示，目前脓毒症的病死率已经超过心肌梗死，成为重症监护病房（intensive care unit，ICU）非心脏病患者死亡的主要原因。因此，脓毒症也被视为一个重要的公共卫生问题，世界卫生组织与世界卫生大会于 2017 年将脓毒症列为全球卫生工作重点，并通过了相关决议，以改进脓毒症的预防、诊断和管理[1]。

1.1　脓毒症定义和诊断标准：2016 年，第 3 次国际共识会议对脓毒症和脓毒性休克的定义有所修改，将脓毒症定义为：由感染引起的宿主反应失调导致的危及生命的器官功能障碍；同时将脓毒性休克定义为脓毒症的一个亚型，即脓毒症与机体循环障碍以及细胞代谢紊乱共存的状态。与单纯的脓毒症相比，脓毒性休克的病死率更高[2]。

脓毒症及脓毒性休克的诊断，关键在于对器官功能障碍的识别，最新的国际共识提出以下诊断标准：① 对于器官功能障碍，可通过脓毒症相关的序贯器官衰竭评分（sequential organ failure assessment，SOFA）对患者进行评估，以短期内 SOFA 评分较基线值上升 2 分作为诊断标准。② 对于急危重症疑似感染患者，可以在床旁利用快速序贯器官衰竭评分（quick sequential organ failure assessment，qSOFA）诊断，即满足以下 3 项中的 2 项：精神状态改变、收缩压（systolic blood pressure，SBP）＜100 mmHg（1 mmHg＝0.133 kPa）、呼吸频率（respiratory rate，RR）＞22 次 /min。③ 对于脓毒性休克患者，

除满足脓毒症诊断标准外，还应满足以下 2 项：持续性低血压需血管升压药维持平均动脉压（mean arterial pressure，MAP）≥65 mmHg、充分扩容后血乳酸（lactic acid，Lac）水平仍>2 mmol/L。研究表明，满足以上标准的脓毒性休克患者的病死率超过 40%[3]。

除共识提供的诊断标准以外，还有其他方法能够用来诊断脓毒症与脓毒性休克，如利用脓毒性休克患者基因甲基化谱的特征性改变来进行诊断，这种方法可以获得更高的诊断特异性[3-4]。

1.2 脓毒症免疫学机制：当微生物表面的病原相关分子模式（pathogen-associated molecular pattern，PAMP）被固有免疫细胞表面的模式识别受体（如 Toll 样受体）识别后，机体就会产生免疫反应。传统观点认为，脓毒症的发生可以分为两个阶段，即早期抗炎系统广泛激活产生的全身炎症反应综合征（systemic inflammatory response syndrome，SIRS），以及继而出现的以免疫抑制、淋巴细胞减少、继发感染为特征的代偿性抗炎反应综合征（compensatory anti-inflammatory response syndrome，CARS）。研究显示，抗炎系统的广泛激活与机体免疫抑制可能是同时出现的，而二者的反应强度取决于遗传因素和感染病原体的种类、数量、毒性等[5]。

1.3 脓毒症宿主反应与基因调控：虽然感染因素是脓毒症的触发事件，但最终导致患者死亡的却是多器官功能衰竭（multiple organ failure，MOF）。前期一项研究证实，若双亲早年死于感染，其后代罹患感染并发生脓毒症后，病死率远高于同代其他亲人[6]。其他研究也证实，患者的感染风险似乎与遗传决定的易感性和家庭环境关系不大，而感染造成致命后果的风险很可能与一种非加性遗传效应相关，这说明遗传因素在脓毒症宿主反应而非易感性中占据了重要地位[7-8]。然而，一项关于脓毒症幸存者与死亡者的全基因组关联研究（Genome Wide Association Study，GWAS）表明，只有一种基因变异与患者不良结局相关[9]。在其他与脓毒症相关的遗传研究中也发现，脓毒症幸存者与死亡者间只有很少的遗传学差异[10-12]。这种脓毒症宿主反应同遗传高度关联的特性，与具有不同反应的宿主间微小的遗传学差异存在的矛盾，指向了一种观点，即脓毒症宿主反应不同很可能是通过表观遗传的方式来体现的。尽管表观遗传调控可能在脓毒症宿主反应中占据中心地位，但对于脓毒症表观遗传学的研究仍处于起步阶段[13]。

2 表观遗传学

表观遗传是一种不涉及 DNA 序列改变的，可通过有丝分裂和减数分裂进行遗传的基因表达调控密码。表观遗传学的分子机制主要涉及以下三大类，即 DNA 甲基化、组蛋白修饰、非编码 RNA（non-coding RNA，ncRNA），这些结构又被称为表观遗传标记。表观遗传信息对于基因调控至关重要，它能够通过调节基因的表达时间、表达位置、表达方式来调控机体的生长发育以及对疾病的反应。

与以 DNA 密码为载体的遗传不同，表观遗传标记能够受到包括疾病在内的环境因素的影响，从而不断地被修改，同时这种改变也具有一定的稳定性，是产生先天性免疫记忆的基础。

2.1 DNA 甲基化：针对 DNA 甲基化研究最为广泛的是表观遗传修饰，可能是由于它最容易通过定量基因组学的方式来进行检测[1]。DNA 甲基化发生在胞嘧啶鸟嘌呤二核苷酸处，它主要通过 DNA 甲基转移酶（DNA methyltransferase，DNMT）的介导，将 S-腺苷甲硫氨酸（S-adenosyl-methionine，SAM）的一个甲基基团连接到胞嘧啶上，从而形成了 5-甲基胞嘧啶（5-methylcytosine，5mC）。

迄今，在哺乳动物中发现了 5 个 DNMT 家族成员，其中仅 DNMT1、DNMT3a、DNMT3b 具有甲基化活性[14]。DNMT1 可介导维持甲基化，即以 DNA 复制中的模板链甲基化状态为模板，为合成链催化形成与模板相同的甲基化标志，与 DNA 甲基化的传递相关。DNMT3a 和 DNMT3b 介导从头甲基化，即修饰原本不存在甲基化的 DNA 双链，形成新的甲基化，与 DNA 甲基化的改变相关。DNA 的去甲基化也有两种形式：一是通过干扰维持甲基化过程，经过复制过程，使子代 DNA 失去甲基化标志；二是在特定的条件下〔如 10，11-转位酶（ten, eleven-translocation，TET）蛋白家族催化〕，甲基直接从 DNA 上被移除。

甲基化的 DNA 能够在局部募集甲基化 CpG 结合蛋白（methyl-CpG binding protein，MeCP），包括甲基化 CpG 结合域（methyl-CpG-binding domain，MBD）和 kaiso 等，改变局部染色质结构，导致转录因子结合发生变化，从而改变基因表达。基因启动子和增强子的甲基化增加通常与基因抑制有关，而甲基化降低则与基因的激活有关。然而事实并不总是如此，DNA 甲基化改变导致的基因激活或基因抑制，取决于它们相对于基因和调控元件的位置[3]，这也使得人们难以单纯通过某个位点的甲基化水平推测其功能状态。

2.2 组蛋白修饰：核小体是染色质的基本结构单位，由组蛋白 H2A、H2B、H3、H4 的各两个分子构成八聚体核心，DNA 双螺旋缠绕在核心周围形成。组蛋白能够受到多种类型的共价修饰，包括甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化、类泛素化（sumoylation，SUMO）等。这些修饰能够改变组蛋白与组蛋白间、组蛋白与 DNA 间的关系，并能够通过改变局部染色质结构或调节转录因子结合来调整基因的表达。如 H3K4 甲基化通常与转录激活相关，而 H3K9 甲基化则通常与转录抑制相关[14]。

组蛋白修饰与 DNA 甲基化相互作用，共同参与基因表达的调控。例如：组蛋白 H3 的 N 末端去甲基化状态能够募集 DNMT3a，进而介导 DNA 从头甲基化，共同导致局部基因表达的抑制。同样，DNA 甲基化可通过 MeCP2 募集组蛋白去乙酰化酶（histone deacetylase，HDAC），介导组蛋白去乙酰化，共同造成染色质结构紧密与局部基因表达的抑制。

2.3 ncRNA：细胞内 RNA 根据能否翻译为蛋白质，可分为 mRNA 和 ncRNA，其中 ncRNA 占转录后总 RNA 的 98%，在细胞中发挥着重要的生理作用。在所有 ncRNA 中，目前研究最多的是微小 RNA（microRNA，miRNA），它是一种长度在

20～24 nt 的短链 RNA，能够通过与目标 mRNA 互补配对，阻断 mRNA 剪切和翻译过程，抑制目标蛋白合成，从而参与对生命活动的调节。有动物研究表明，人为提高脓毒症小鼠体内 miR-214 水平，有助于保护心肌，从而防止脓毒性心肌损伤[15]。犀角地黄汤作为脓毒症中医版指南的推荐用药，其从基因层面对脓毒性肝损伤的保护作用可能与 mRNA 表达有关[16]。长链非编码 RNA（long non-coding RNA，lncRNA）是一类长度大于 200 nt 的 ncRNA，其能够通过与 RNA 结合蛋白（RNA binding protein，RBP）的相互作用，在转录沉默、转录激活、染色体修饰和核内运输等过程中发挥重要的功能。有研究结果表明，敲降 lncRNA-肺腺癌转移相关转录因子 1（metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1，MALAT1）能上调 miR-194-5p 表达，抑制叉头框转录因子 A1（forkhead box transcription factor A1，FoxA1）表达，从而抑制脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）刺激诱导的人肺泡上皮细胞（human pulmonary alveolar epithelial cell，HPAEpiC）凋亡，减轻脓毒症相关性肺损伤[17]。

3　DNA 甲基化与脓毒症

表观遗传学因素，特别是 DNA 甲基化在脓毒症的发生发展演变过程中可能起到至关重要的作用。

3.1　DNA 甲基化与宿主-病原相互作用：感染是脓毒症的触发事件，因此了解宿主-病原相互作用是认识脓毒症的第一步。许多病原体，包括细菌、病毒、真菌和寄生虫，通过表达特定的蛋白质作用于宿主，改变局部环境，从而利于自身的生存，其中就包括表观遗传机制。常见机制包括产生针对宿主的表观遗传修饰酶、调控或干扰宿主自身的表观遗传修饰酶、直接合成能够阻断蛋白质翻译的 miRNA[18]。这些宿主-病原的相互作用干扰了正常的宿主免疫过程，是产生病原体多重耐药性（multidrug resistance，MDR）的重要途径之一[19-20]。

很多细菌和病毒都能够诱导宿主细胞发生表观遗传变化，但对于脓毒症相关病毒的证据却十分有限。甲型流感病毒（influenza A virus，IAV）是一种能够引起呼吸道疾病的病毒，也是引起脓毒症的病原之一，每年都会在全球范围内引起呼吸道疾病的流行。在所有 IAV 编码的蛋白中，由基因组第 8 段 RNA 编码的非结构蛋白 1（non-structural protein 1，NS1）是其致病所必需的主要毒性因子，NS1 的主要功能是拮抗干扰素（interferon，IFN）[21]。IFN 是人体抗病毒免疫中重要的组成部分，它能够干扰病毒的复制过程，拮抗 IFN 即可抑制其抗病毒反应。NS1 主要是通过介导 Janus 激酶 / 信号转导与转录激活因子（Janus kinase/signal transducers and activators of transcription，JAK/STAT）途径相关基因启动子区域的 DNA 甲基化及其特异性抑制因子基因启动子区域 DNA 去甲基化，抑制 JAK/STAT 通路激活，从而达到抑制宿主抗病毒免疫的作用[21]。IAV 和中东呼吸综合征冠状病毒（middle east respiratory syndrome coronavirus，MERS-CoV）也能够通过增加基因启动子的 DNA 甲基化，下调宿主抗原呈递相关基因的表达。

病原体能够通过甲基化的方式来调整宿主的免疫应答，说明表观遗传学在宿主应对感染及脓毒症中占据重要地位，也为基于甲基化过程的早期脓毒症治疗提供了依据。

3.2　DNA 甲基化与炎症反应：脓毒症早期炎症反应的特征是广泛的基因重编程，而重编程的过程往往是通过甲基化的方式实现的[22]。

在炎症发生的早期，体内数千个基因的表达就已经发生了改变，同时伴随着基因在表观遗传学水平上的变化。其中，涉及数百个基因的 DNA 甲基化水平发生改变[23-24]，组蛋白修饰中 H3K27 乙酰化和 H3K4 甲基化也广泛存在，它们影响的基因大多与细胞因子反应和 IFN 信号转导有关，同时还能够决定 T 细胞的分化方向[25]。

动物研究表明，DNA 甲基化与炎症反应密切相关。通过给急性肺损伤（acute lung injury，ALI）脓毒症模型大鼠雾化吸入灭活草分枝杆菌，能够抑制共激活因子相关精氨酸甲基转移酶-1（coactivator-associated arginine methyltransferase-1，CARM-1）的表达，同时缓解其临床症状[26]。吸入氢气可有效缓解脓毒症小鼠海马组织中 DNA 甲基化紊乱状态，从而缓解中枢神经系统症状[27]。虽然这些实验都只是间接的证据，但仍能反映 DNA 甲基化与炎症反应的相关性。

体外研究表明，DNA 甲基化的改变在早期炎症反应中起关键作用。一项关于人单核细胞株的研究表明，LPS 刺激可导致肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）启动子的低甲基化，同时导致核小体离开 TNF 启动子区域的核转录因子-κB（nuclear factor-κB，NF-κB）结合位点，这种表观遗传修饰结果促使 NF-κB 与 TNF 启动子结合，并导致 TNF 转录的上调[28]。

一些体内实验证实了表观遗传学在脓毒症急性炎症中所起的作用。Hopp 等[29]在对社区获得性肺炎患者全血样本进行分析时就曾经发现，患者 DNA 甲基化和组蛋白修饰相关的蛋白表达与健康者存在差异。该研究者认为，相关修饰酶基因的下调可能导致染色质重组，从而引起广泛的基因重编程。Lorente-Sorolla 等[30]在另一项研究中发现，与健康对照组相比，脓毒症患者单核细胞中 DNA 甲基化谱与体内白细胞介素（interleukins，IL-6、IL-10）水平密切相关，而且这种关联是通过 Toll 样受体和炎性细胞因子下游通路介导的，这也能够印证 DNA 甲基化与炎症反应之间的密切关系。Rump 等[31]在水通道蛋白 5（aquaporin 5，AQP5）基因中发现了一个胞嘧啶位点，即 nt-937，它与 NF-κB 的结合有关；在因脓毒症死亡患者中发现，该位点上的甲基化水平明显高于脓毒症幸存者，因此推断 AQP5 nt-937 位点上的甲基化与脓毒症患者预后密切相关。由于甲基化在炎症反应早期广泛存在，因此利用 DNMT 抑制剂作为早期抗脓毒症的手段也是目前研究热点之一。

3.3　DNA 甲基化与脓毒症相关免疫抑制：新的理论认为，在脓毒症发展过程中，SIRS 与 CARS 是同时出现的，早期以广泛的炎症反应为主，晚期则以全身抗炎反应综合征和免疫抑制为主。脓毒症的免疫抑制主要有以下特征：以单核细胞

为代表的免疫细胞数量减少,促炎因子分泌减少而抗炎因子持续分泌,主要组织相容性复合物Ⅱ(major histocompatibility complex Ⅱ, MHC Ⅱ)相关基因表达下调,中性粒细胞数量增加,但与其功能不匹配,综合表现为院内感染的风险加大。脓毒症相关免疫抑制的标志之一是内毒素耐受,即固有免疫系统对细菌内毒素的反应能力降低,甚至失去反应能力[32]。

体外研究表明,表观遗传修饰是机体建立内毒素耐受性的关键[28]。在健康者单核细胞中, TNF 启动子区域处于甲基化状态,转录活性较低。初次接触内毒素后, TNF 启动子迅速发生去甲基化,导致核小体的重新定位以及 NF-κB 结合位点暴露, TNF 转录活性明显升高[28]。长时间内毒素刺激可引起 TNF-α 持续增加,导致转录因子 MKL1 的耗竭,而 MKL1 是 LPS 诱导的促炎性细胞因子 NF-κB 启动子区域的 H3K4 二甲基化和三甲基化所必需的, MKL1 耗竭直接导致 NF-κB 表达水平降低,产生内毒素耐受[33]。持续内毒素刺激还会引起 TNF 启动子区域募集组蛋白甲基转移酶 G9a,导致组蛋白 H3K9 二甲基化并募集 DNMT,进而导致 TNF 启动子的再次甲基化。TNF 启动子再次甲基化后,对内毒素的刺激便不再敏感,即使接触内毒素也不能发生去甲基化激活,从而使机体产生内毒素耐受[34]。

脓毒症相关免疫抑制是导致脓毒症患者死亡的重要原因之一,但有研究表明,这种表观遗传水平变化导致的免疫抑制能够被部分逆转[35]。对实验性内毒素血症志愿者的单核细胞进行体外 β-葡聚糖刺激,可部分恢复其产生细胞因子的能力[36]。

3.4 DNA 甲基化与脓毒症的易感性和预后——以新型冠状病毒(2019 novel coronavirus, 2019-nCoV)为例:新型冠状病毒肺炎(新冠肺炎)在全球范围暴发,已成为当前世界最紧急的公共卫生事件之一。尽管大多数感染 2019-nCoV 的患者症状轻微,但仍有约 5% 的患者表现为重型或危重型,出现严重肺损伤以及多器官功能衰竭等脓毒性休克的表现。研究表明, 2019-nCoV 所引起的病毒性脓毒症过程可能是新冠肺炎发病的关键机制[37]。

血管紧张素转换酶 2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)原本是肾素-血管紧张素-醛固酮系统的关键酶。现已证明 ACE2 是肺上皮中最重要的 2019-nCoV 受体[38-39],其表达受到 ACE2 基因启动子区域 CpG 岛甲基化修饰的调控。年龄和性别与 ACE2 基因启动子 DNA 甲基化水平相关,在老年人和男性人群中,甲基化水平相对较低,这导致了 ACE2 在这些人群中的高表达,也在一定程度上解释了为什么老年人和男性人群更容易感染 2019-nCoV,且感染后的症状更加严重[40]。

同时值得注意的是,在系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)患者中, ACE2 基因启动子区域低甲基化以及 IFN 基因显著去甲基化,ACE2 蛋白和 IFN 均高表达,这些特征都是重症新冠肺炎的分子学特点,因而可以预见,在 SLE 患者中 2019-nCoV 的感染率可能更高,而且预后相对更差[41]。

从 2019-nCoV 相关研究来看,表观遗传学因素在一定程度上能够影响脓毒症患者的易感性和预后,疾病间所具有的共患倾向,也可能是通过某个疾病特异的甲基化特征来影响另一疾病人群的易感性和预后所致[42]。

3.5 DNA 甲基化可作为脓毒症生物标志物:生物标志物是一种能够客观评价患者相关情况的指标,在明确诊断、评价预后以及治疗监测方面具有重要价值[43]。由于 DNA 分离相对容易,且 DNA 甲基化标记的稳定性良好, DNA 甲基化模式已被证明能够用于多种疾病的诊断,是一种非常有潜力的生物学标志物。与传统血清学指标相比,基于 DNA 甲基化的脓毒症生物标志物可能具有更高的特异性[4]。

一项关于新生儿脓毒症患者的试验针对全血样本全表观基因组范围 DNA 甲基化分析进行了开创性研究,初步确定了 64 个基因中的 81 个脓毒症相关 DNA 甲基化标志物,这些基因与原钙黏蛋白的表达相关,高度的甲基化导致钙黏蛋白合成障碍以及白细胞迁移和游走功能缺陷,加重了脓毒症和机体多器官功能衰竭[44]。另一项研究对新生儿脓毒症患者降钙素相关多肽 α(calcitonin-related polypeptide alpha, CALCA)基因启动子区域的 DNA 甲基化模式进行筛查,发现了 4 个高度特异的脓毒症甲基化位点[45]。尽管这些研究的规模相对较小,但确实为脓毒症的表观遗传学分析提供了新的思路。

最近, Binnie 等[3]完成了对成人脓毒症患者 DNA 甲基化谱的全表观基因组分析。这项研究共纳入了 134 例 ICU 成人患者,其中包括 66 例脓毒症患者和 68 例严重非感染性疾病患者。该研究者利用患者全血样本,对 443 个基因中的 668 个脓毒症相关的 DNA 甲基化区域进行了定位。这些基因编码的成分主要包括补体 3(complement 3, C3)、血管生成素 2(angiopoietin-2, Ang-2)、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)、乳过氧化物酶(lactoperoxidase, LPO)及人白细胞抗原(human leukocyte antigens, HLA-A、HLA-DRB1、HLA-C 和 HLA-DQB1)等。通过功能富集分析发现,这 443 个基因与抗原处理和呈递、甲基转移酶活性、细胞黏附和细胞连接等功能相关。同时,通过共表达网络分析确定了与患者重要临床特征(疾病的严重程度、对血管加压素的需求和住院时间等)相关的共甲基化模块。这项研究证明,在人类感染性炎症与非感染性炎症间存在可量化的表观遗传甲基化差异,结合快速的 DNA 甲基化水平检测,能够用于脓毒症发生及相关器官功能衰竭的诊断和预后分析。

3.6 表观遗传修饰剂与脓毒症治疗:动物研究表明,表观遗传学修饰物可能具有治疗脓毒症的潜力。ALI 是脓毒症的常见并发症,在 LPS 诱导的 ALI 大鼠模型中,DNMT1 水平在肺部明显升高,同时伴有 5mC 水平增加,证实了脓毒症并发 ALI 时存在 DNA 甲基化的作用[46]。Shih 等[46]利用 DNMT1 抑制剂普鲁卡因酰胺治疗脓毒症大鼠,能够逆转包括 ALI 在内的许多脓毒症临床症状;同时,与无 DNMT1 抑制剂预处理的大鼠相比,治疗组大鼠有 141 个受 LPS 下调的基因表达水平有所升高。

Huang 等[47]在 LPS 诱导的 ALI 小鼠模型中应用 DNMT 抑制剂地西他滨(decitabine)或氮杂胞苷(azacitidine)进行预处理。结果显示,未经预处理的小鼠出现典型的 ALI 组织学改变,包括肺水肿、肺泡出血和中性粒细胞浸润;相比之下,接受预处理的小鼠则表现为肺结构较完整、肺湿 / 干重比值较低,且血清 TNF、IL-1β 及组织氧化应激标志物 MPO 和丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平均降低,证实了 DNMT 抑制剂对于脓毒症 ALI 确有疗效。

Singer 等[48]在经气管内给予 LPS 诱导的小鼠肺损伤模型中发现,经 DNMT 抑制剂氮杂胞苷干预治疗后,小鼠肺组织内调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)的数量增加,其表面标志物叉头 / 翼状螺旋转录因子 P3(forkhead/winged helix transcription factor P3, FoxP3)的表达水平增加,同时病情恢复时间也明显优于未经治疗的小鼠,因此有理由推断 DNMT 抑制剂可以通过抑制 DNA 甲基化上调 FoxP3 表达,从而达到治疗的目的。

除单独应用 DNMT 抑制剂外,联合应用 DNMT 抑制剂氮杂胞苷和 HDAC 抑制剂曲古抑菌素 A(trichostatin A, TSA),亦可能是一种治疗脓毒症的有效方法。已有实验证明,氮杂胞苷与 TSA 联合应用能够明显抑制 LPS 诱导的小鼠巨噬细胞向 M1 型方向(促炎)的分化,同时增加向 M2 型方向(抑炎)的分化[49]。

近年 Cross 等[50]也针对组蛋白乙酰化酶抑制剂(histone acetyltransferase inhibitor, HATi)及组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitor, HDACi)相关的脓毒症治疗方法提供了相应方案。利用表观遗传学修饰剂治疗脓毒症需要注意以下两点:首先,几乎现有的所有治疗方案均是在提早干预的前提下进行的,即在 LPS 刺激小鼠发生脓毒症的同时即给予 DNMT 抑制剂或 HDACi,这表明表观遗传调节剂需要在炎症反应初始给予才能取得较好的效果。其次,脓毒症的表观遗传修饰具有双向性。虽然大部分基因对于 LPS 刺激均表现为 DNA 甲基化水平增高,但 TNF 的启动子区域却表现为低甲基化,这使得单纯应用某一种表观遗传学修饰剂治疗脓毒症的效果受到限制。

4 结　语

总体而言,脓毒症与表观遗传学相关研究大多为动物实验或体外研究,与体内实验相关的研究数据有限。脓毒症患者的全表观基因组研究已经起步,但其研究深度有待提高。表观遗传学与癌症相关联的研究起步更早,在癌症诊断、基因标记和治疗等各个方面也更加成熟,应用与之相类似的方法、技术和研究思路,能够扩展对脓毒症与表观遗传学间复杂关系的认知。

利益冲突　所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Cecconi M, Evans L, Levy M, et al. Sepsis and septic shock [J]. Lancet, 2018, 392 (10141): 75–87. DOI: 10.1016/S0140–6736(18)30696–2.

[2] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis–3) [J]. JAMA, 2016, 315 (8): 801–810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.

[3] Binnie A, Walsh CJ, Hu P, et al. Epigenetic profiling in severe sepsis: a pilot study of DNA methylation profiles in critical illness [J]. Crit Care Med, 2020, 48 (2): 142–150. DOI: 10.1097/CCM.0000000000004097.

[4] Dakhlallah DA, Wisler J, Gencheva M, et al. Circulating extracellular vesicle content reveals de novo DNA methyltransferase expression as a molecular method to predict septic shock [J]. J Extracell Vesicles, 2019, 8 (1): 1669881. DOI: 10.1080/20013078.2019.1669881.

[5] Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis–induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy [J]. Nat Rev Immunol, 2013, 13 (12): 862–874. DOI: 10.1038/nri3552.

[6] Sørensen TI, Nielsen GG, Andersen PK, et al. Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees [J]. N Engl J Med, 1988, 318 (12): 727–732. DOI: 10.1056/NEJM198803243181202.

[7] Petersen L, Andersen PK, Sørensen TI. Genetic influences on incidence and case–fatality of infectious disease [J]. PLoS One, 2010, 5 (5): e10603. DOI: 10.1371/journal.pone.0010603.

[8] Wunderink RG, Waterer GW. Genetics of sepsis and pneumonia [J]. Curr Opin Crit Care, 2003, 9 (5): 384–389. DOI: 10.1097/00075198–200310000–00008.

[9] Rautanen A, Mills TC, Gordon AC, et al. Genome–wide association study of survival from sepsis due to pneumonia: an observational cohort study [J]. Lancet Respir Med, 2015, 3 (1): 53–60. DOI: 10.1016/S2213–2600(14)70290–5.

[10] Feng Q, Wei WQ, Chaugai S, et al. A genetic approach to the association between PCSK9 and sepsis [J]. JAMA Netw Open, 2019, 2 (9): e1911130. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2019.11130.

[11] Srinivasan L, Swarr DT, Sharma M, et al. Systematic review and Meta–analysis: gene association studies in neonatal sepsis [J]. Am J Perinatol, 2017, 34 (7): 684–692. DOI: 10.1055/s–0036–1597132.

[12] Clark MF, Baudouin SV. A systematic review of the quality of genetic association studies in human sepsis [J]. Intensive Care Med, 2006, 32 (11): 1706–1712. DOI: 10.1007/s00134–006–0327–y.

[13] Binnie A, Tsang J, Hu P, et al. Epigenetics of sepsis [J]. Crit Care Med, 2020, 48 (5): 745–756. DOI: 10.1097/CCM.0000000000004247.

[14] Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease [J]. Nat Biotechnol, 2010, 28 (10): 1057–1068. DOI: 10.1038/nbt.1685.

[15] Ge C, Liu J, Dong S. miRNA–214 protects sepsis–induced myocardial injury [J]. Shock, 2018, 50 (1): 112–118. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000978.

[16] 林名瑞, 文丹, 陈怀宇, 等. 犀角地黄汤对脓毒症大鼠肝组织 mRNA 表达的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2020, 27 (6): 749–756. DOI: 10.3969/j.issn.1008–9691.2020.06.028.
Lin MR, Wen D, Chen HY, et al. Effect of Xijiao Dihuang decoction on mRNA expression in liver tissue of sepsis rats [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2020, 27 (6): 749–756. DOI: 10.3969/j.issn.1008–9691.2020.06.028.

[17] 南川川, 李楠, 李威, 等. 敲降长链非编码 RNA– 肺腺癌转移相关转录因子 1 调控微小 RNA–194–5p/ 叉头框蛋白 A1 通路对脂多糖诱导的人肺泡上皮细胞凋亡的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2020, 27 (6): 738–743. DOI: 10.3969/j.issn.1008–9691.2020.06.026.
Nan CC, Li N, Li W, et al. Effect of knockdown of long noncoding RNA–metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1 on lipopolysaccharide–induced human pulmonary alveolar epithelial cells apoptosis via microRNA–194–5p/forkheat box protein A1 axis [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2020, 27 (6): 738–743. DOI: 10.3969/j.issn.1008–9691.2020.06.026.

[18] Asaad M, Abo–Kadoum MA, Nzungize L, et al. Methylation in *Mycobacterium*–host interaction and implications for novel control measures [J]. Infect Genet Evol, 2020, 83: 104350. DOI: 10.1016/j.meegid.2020.104350.

[19] Crimi E, Benincasa G, Cirri S, et al. Clinical epigenetics and multidrug–resistant bacterial infections: host remodelling in critical illness [J]. Epigenetics, 2020, 15 (10): 1021–1034. DOI: 10.1080/15592294.2020.1748918.

[20] Bierne H, Hamon M. Targeting host epigenetic machinery: the Listeria paradigm [J]. Cell Microbiol, 2020, 22 (4): e13169. DOI: 10.1111/cmi.13169.

[21] Liu S, Liu L, Xu G, et al. Epigenetic modification is regulated by the interaction of influenza A virus nonstructural protein 1 with the de

novo DNA methyltransferase DNMT3B and subsequent transport to the cytoplasm for K48-linked polyubiquitination [J]. J Virol, 2019, 93 (7): e01587-18. DOI: 10.1128/JVI.01587-18.
[22] Gupta SS, Wang J, Chen M. Metabolic reprogramming in CD8+ T cells during acute viral infections [J]. Front Immunol, 2020, 11: 1013. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01013.
[23] Zhu Z, Li Y, Zhou J, et al. Acute enterovirus infections significantly alter host cellular DNA methylation status [J]. Infect Genet Evol, 2020, 80: 104190. DOI: 10.1016/j.meegid.2020.104190.
[24] Sagonas K, Meyer BS, Kaufmann J, et al. Experimental parasite infection causes genome-wide changes in DNA methylation [J]. Mol Biol Evol, 2020, 37 (8): 2287-2299. DOI: 10.1093/molbev/msaa084.
[25] Pace L, Amigorena S. Epigenetics of T cell fate decision [J]. Curr Opin Immunol, 2020, 63: 43-50. DOI: 10.1016/j.coi.2020.01.002.
[26] 齐心欣, 顾忠民, 陈超. 雾化吸入灭活草分枝杆菌对脓毒症急性肺损伤大鼠精氨酸甲基转移酶 -1 表达的影响 [J]. 中外医学研究, 2018, 16 (16): 167-169. DOI: 10.14033/j.cnki.cfmr.2018.16.080.
Qi XX, Gu ZM, Chen C. Effect of aerosol inhalation of inactivated *Mycobacterium Phlei* on the expression of arginine methyltransferase-1 in rats with sepsis induced acute lung injury [J]. Chin Foreign Med Res, 2018, 16 (16): 167-169. DOI: 10.14033/j.cnki.cfmr.2018.16.080.
[27] 于明懂, 李佩, 于泳浩, 等. 吸入氢气对脓毒症小鼠海马组织 DNA 甲基化的影响 [J]. 天津医药, 2020, 48 (3): 177-181. DOI: 10.11958/20192608.
Yu MD, Li P, Yu YH, et al. Effects of inhaled hydrogen gas on the DNA methylation in hippocampus of septic mice [J]. Tianjin Med J, 2020, 48 (3): 177-181. DOI: 10.11958/20192608.
[28] El Gazzar M, Liu T, Yoza BK, et al. Dynamic and selective nucleosome repositioning during endotoxin tolerance [J]. J Biol Chem, 2010, 285 (2): 1259-1271. DOI: 10.1074/jbc.M109.067330.
[29] Hopp L, Loeffler-Wirth H, Nersisyan L, et al. Footprints of sepsis framed within community acquired pneumonia in the blood transcriptome [J]. Front Immunol, 2018, 9: 1620. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01620.
[30] Lorente-Sorolla C, Garcia-Gomez A, Català-Moll F, et al. Inflammatory cytokines and organ dysfunction associate with the aberrant DNA methylome of monocytes in sepsis [J]. Genome Med, 2019, 11 (1): 66. DOI: 10.1186/s13073-019-0674-2.
[31] Rump K, Unterberg M, Dahlke A, et al. DNA methylation of a NF-κB binding site in the aquaporin 5 promoter impacts on mortality in sepsis [J]. Sci Rep, 2019, 9 (1): 18511. DOI: 10.1038/s41598-019-55051-8.
[32] 何雪梅, 薄禄龙, 姜春玲. 脓毒症免疫抑制与免疫刺激治疗的研究进展 [J]. 中华危重病急救医学, 2018, 30 (12): 1202-1205. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.12.020.
He XM, Bo LL, Jiang CL. Advances in sepsis induced immunosuppression and immunomodulation therapy [J]. Chin Crit Care Med, 2018, 30 (12): 1202-1205. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2018.12.020.
[33] Yu L, Fang F, Dai X, et al. MKL1 defines the H3K4Me3 landscape for NF-κB dependent inflammatory response [J]. Sci Rep, 2017, 7 (1): 191. DOI: 10.1038/s41598-017-00301-w.
[34] El Gazzar M, Yoza BK, Chen X, et al. G9a and HP1 couple histone and DNA methylation to TNFalpha transcription silencing during endotoxin tolerance [J]. J Biol Chem, 2008, 283 (47): 32198-32208. DOI: 10.1074/jbc.M803446200.
[35] Roquilly A, Jacqueline C, Davieau M, et al. Alveolar macrophages are epigenetically altered after inflammation, leading to long-term lung immunoparalysis [J]. Nat Immunol, 2020, 21 (6): 636-648. DOI: 10.1038/s41590-020-0673-x.
[36] Novakovic B, Habibi E, Wang SY, et al. β-Glucan reverses the epigenetic state of LPS-induced immunological tolerance [J]. Cell, 2016, 167 (5): 1354-1368. e14. DOI: 10.1016/j.cell.2016.09.034.
[37] Li H, Liu L, Zhang D, et al. SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses [J]. Lancet, 2020, 395 (10235): 1517-1520. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30920-X.
[38] Tan HW, Xu YM, Lau A. Angiotensin-converting enzyme 2: the old door for new severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection [J]. Rev Med Virol, 2020, 30 (5): e2122. DOI: 10.1002/rmv.2122.
[39] Pinto B, Oliveira A, Singh Y, et al. ACE2 expression is increased in the lungs of patients with comorbidities associated with severe COVID-19 [J]. J Infect Dis, 2020, 222 (4): 556-563. DOI: 10.1093/infdis/jiaa332.
[40] La Vignera S, Cannarella R, Condorelli RA, et al. Sex-specific SARS-CoV-2 mortality: among hormone-modulated ACE2 expression, risk of venous thromboembolism and hypovitaminosis D [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21 (8): 2948. DOI: 10.3390/ijms21082948.
[41] Sawalha AH, Zhao M, Coit P, et al. Epigenetic dysregulation of ACE2 and interferon-regulated genes might suggest increased COVID-19 susceptibility and severity in lupus patients [J]. Clin Immunol, 2020, 215: 108410. DOI: 10.1016/j.clim.2020.108410.
[42] Pruimboom L. Methylation pathways and SARS-CoV-2 lung infiltration and cell membrane-virus fusion are both subject to epigenetics [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10: 290. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00290.
[43] 袁周, 郑瑞强, 陈齐红, 等. 早期诊断脓毒症的生物标志物 [J]. 中华危重病急救医学, 2019, 31 (3): 381-384. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.03.026.
Yuan Z, Zheng RQ, Chen QH, et al. Biomarkers for the early diagnosis of sepsis [J]. Chin Crit Care Med, 2019, 31 (3): 381-384. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.03.026.
[44] Dhas DB, Ashmi AH, Bhat BV, et al. Comparison of genomic DNA methylation pattern among septic and non-septic newborns: an epigenome wide association study [J]. Genom Data, 2014, 3: 36-40. DOI: 10.1016/j.gdata.2014.11.004.
[45] Tendl KA, Schulz SM, Mechtler TP, et al. DNA methylation pattern of CALCA in preterm neonates with bacterial sepsis as a putative epigenetic biomarker [J]. Epigenetics, 2013, 8 (12): 1261-1267. DOI: 10.4161/epi.26645.
[46] Shih CC, Liao MH, Hsiao TS, et al. Procainamide inhibits DNA methylation and alleviates multiple organ dysfunction in rats with endotoxic shock [J]. PLoS One, 2016, 11 (9): e0163690. DOI: 10.1371/journal.pone.0163690.
[47] Huang X, Kong G, Li Y, et al. Decitabine and 5-azacitidine both alleviate LPS induced ARDS through anti-inflammatory/antioxidant activity and protection of glycocalyx and inhibition of MAPK pathways in mice [J]. Biomed Pharmacother, 2016, 84: 447-453. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.09.072.
[48] Singer BD, Mock JR, Aggarwal NR, et al. Regulatory T cell DNA methyltransferase inhibition accelerates resolution of lung inflammation [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2015, 52 (5): 641-652. DOI: 10.1165/rcmb.2014-0327OC.
[49] Samanta S, Zhou Z, Rajasingh S, et al. DNMT and HDAC inhibitors together abrogate endotoxemia mediated macrophage death by STAT3-JMJD3 signaling [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2018, 102: 117-127. DOI: 10.1016/j.biocel.2018.07.002.
[50] Cross D, Drury R, Hill J, et al. Epigenetics in sepsis: understanding its role in endothelial dysfunction, immunosuppression, and potential therapeutics [J]. Front Immunol, 2019, 10: 1363. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01363.

（收稿日期：2020-08-21）

关于经过广告审批后的广告中存在不规范医学名词术语未予更改的声明

依照广告审批的相关规定，按照广告厂家的要求，本刊刊登的新活素、血必净及佳维体广告图片和内容均按照广告审查批准文件的原件刊出，故广告内容中“适应症”“禁忌症”未按标准医学名词术语修改为“适应证”“禁忌证”，“其它”未修改为“其他”，“成份”未修改为“成分”，时间单位仍用汉字表示，剂量单位“ml”未修改为“mL”，标示数值范围的标点符号“-”未修改为“~”。特此声明！