



冠心病的遗传机制

吴安东, 刘建坤, 赵雅, KHAN Abdul Haseeb, 廖立勇, 田小利*

南昌大学生命科学学院及人类衰老研究所, 江西省人类衰老重点实验室, 衰老与血管病研究室, 南昌 330031

* 联系人, E-mail: tianxiaoli@ncu.edu.cn

收稿日期: 2020-12-13; 接受日期: 2021-03-18; 网络版发表日期: 2021-08-10

国家重点研发计划(批准号: 2020YFC2002900)、国家重点基础研究发展计划(批准号: 2013CB530700)、国家自然科学基金(批准号: 81630034)、江西省基础研究计划(批准号: 20192ACB70002)、江西省重点研发计划(批准号: 20181ACB20017)和江西省基地与人才计划(批准号: 20181BCD40001)资助

摘要 冠心病是一种常见的受遗传背景、生活习惯及环境等因素共同作用而导致的复杂疾病, 其中遗传是重要的危险因素之一。目前通过全基因组扫描(连锁分析和关联分析)等技术已筛选到160余个冠心病易感位点和多个致病基因。本文主要介绍冠心病遗传机制的研究现状, 致病基因所参与的生物学过程和信号通路, 以及遗传与环境因素相互作用对冠心病发生和发展的影响; 探讨通过冠心病遗传研究发现新的药物靶点的可能性; 最后展望多因素综合作用研究, 针对不同遗传背景对冠心病进行风险分级及精准医疗的问题和前景。

关键词 冠心病, 危险因素, 遗传, 易感基因, 基因-环境因素相互作用

心脏冠状动脉疾病(coronary artery disease, CAD)简称冠心病, 指冠状动脉粥样硬化使血管腔狭窄或阻塞和(或)因冠状动脉功能性改变(痉挛)导致下游心肌缺血缺氧或坏死而引起的心脏病, 亦称冠状动脉性心脏病(coronary heart disease, CHD)或缺血性心脏病(ischemic heart disease, IHD)。冠心病常见症状为心绞痛或胸闷胸痛, 其他症状包括心律失常、恶心呕吐、气促、出汗、虚弱等, 由斑块脱落引起的急性冠状动脉综合征是心源性猝死的主要原因^[1]。冠心病是一种常见病, 受遗传背景、生活习惯和环境等多方面因素影响, 是危害人类健康和生命的主要杀手, 全球范围内因冠心病死亡的人数从2005年到2015年增加了16.6%, 达890万人。我国冠心病患者1100万, 发病人数逐年增加且仍处于持续上升阶段, 给家庭和社会带来沉重负

担, 已成为重大的公共卫生问题^[2]。

目前, 针对冠心病的遗传包括表观遗传已开展大量研究, 发现数百个冠心病易感基因以及microRNA, 长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)和DNA甲基化等表观遗传标志物。冠心病的易感基因大多与脂质代谢和运输以及细胞通讯和信号传导相关, 表明这两方面在冠心病发生发展中发挥重要作用。针对PCSK9等血脂调控基因和参与冠心病发生的MPO等关键酶的药物研发也取得了一些进展。冠心病的遗传研究为冠心病的预测和个体化治疗提供了重要参考价值。本文主要阐述冠心病遗传机制的研究现状及遗传与其他因素对冠心病的综合作用, 讨论并展望基于遗传的冠心病药物研发以及基于遗传背景对冠心病进行风险分级及精准医疗。

引用格式: 吴安东, 刘建坤, 赵雅, 等. 冠心病的遗传机制. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 123–137

Wu A D, Liu J K, Zhao Y, et al. Genetics of coronary artery disease (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 123–137, doi: [10.1360/SSV-2020-0347](https://doi.org/10.1360/SSV-2020-0347)

1 冠心病的病理基础

冠心病的发生起始于血流及血液中的有害物质造成冠状动脉内皮组织的损伤包括衰老等。目前普遍认为这些危险因素损伤血管内皮并引发炎症反应和自由基的产生, 导致血液中单核细胞黏附在受损区域、迁移到内膜下, 并在巨噬细胞集落刺激因子(macrophage-colony stimulating factor, M-CSF)及粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte M-CSF, GM-CSF)等细胞因子的作用下转化为巨噬细胞。巨噬细胞不断吞噬含氧化型低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL), 被自由基氧化成为OX-LDL颗粒, 导致细胞内胆固醇积累并转化为泡沫细胞, 形成动脉粥样硬化斑块脂质核心^[3]。动脉壁中膜的平滑肌细胞增殖并迁移到斑块外层, 与大量细胞外基质(包括胶原、弹性纤维、蛋白聚糖及细胞外脂质等)形成动脉粥样硬化斑块的纤维帽。动脉粥样硬化斑块的聚积使血管僵硬和狭窄, 使心脏暂时或长期处于缺血缺氧的状态^[4]。不稳定斑块的纤维帽破裂导致脂质核心的暴露和脱落, 并继发冠脉血栓的形成, 造成急性冠脉综合征及其他严重心血管临床事件^[5]。

2 冠心病的危险因素

冠心病的危险因素总体分为两类: 第一类为不可控因素, 如遗传背景、性别、年龄、种族、家族病史以及血液动力学因素等; 第二类为可控因素, 如不健康饮食、缺乏运动、吸烟、饮酒等不良生活习惯, 以及高血压、肥胖、糖尿病、高脂血症、高尿酸血症、高同型半胱氨酸血症等疾病。

2.1 不可控因素

患冠心病的风险随年龄的增加而增加^[6], 男性性别也是冠心病危险因素之一。女性55岁后冠心病发病概率上升, 而男性在45岁后患病风险即出现显著上升, 且同年龄段男性冠心病死亡率为女性的数倍^[7]。不同种族人群患冠心病的风险也不相同, 如黑色人种的冠心病死亡率比白色人种高30%以上^[8]。冠心病具有家族聚集性, 冠心病先证者的一级亲属冠心病患病风险急剧上升。因此, 家族史和遗传为冠心病的重要危险因素。研究发现, 遗传对冠心病的贡献度可达40%

~60%^[9-12]。早在20世纪50年代, 研究者在出生3~4个月的婴儿冠状动脉中发现脂质斑块以及动脉粥样硬化的早期表现, 包括内弹性膜的破裂、退化和再生, 黏多糖的沉积, 内皮细胞和成纤维细胞的增殖等^[13]。在如此短的时间内出现冠心病的早期表现说明遗传是参与冠心病发生的重要因素。但值得注意的是, 遗传因素在不同人群中对冠心病的贡献度不同。一项针对双胞胎的研究发现, 不可控的遗传因素对冠心病相关的死亡贡献度为21.6%, 而78.4%的冠心病相关死亡归因于环境和个人生活习惯^[14]。

2.2 可控因素

许多冠心病的危险因素是可控的。美国心脏协会(American Heart Association, AHA)列出六大主要冠心病可控危险因素: 吸烟、胆固醇水平异常、高血压、超重或肥胖、糖尿病和缺乏运动。吸烟摄入的有害物质、高血压引起的血管切应力、氧化修饰的脂蛋白等危险因素均可造成内皮组织的损伤或炎症, 启动动脉粥样硬化斑块的形成^[15-17]。脂肪的堆积、异常的胆固醇水平和脂肪的积累通过增加细胞内脂质的堆积形成泡沫细胞从而促进动脉粥样硬化斑块脂质核心的生成^[18]。高血压会导致血管和心肌扩张, 影响心肌的正常运动和血管功能, 增加冠心病风险^[19]。高血糖增加血红蛋白糖基化, 其在心肌组织中的沉积导致纤维化降低心肌收缩力和顺应性, 促进冠心病的发生^[20]。此外, 不吃早餐^[21]、饮酒^[22]、高尿酸^[23]、高同型半胱氨酸^[24]等多个因素也显著增加冠心病风险。有规律的、中等至剧烈的体育运动有助于控制血液胆固醇水平、高血压、糖尿病和肥胖等多个冠心病危险因素, 降低冠心病及其他心血管疾病风险^[25,26]。健康饮食及药物干预控制血压和胆固醇水平可显著降低冠心病风险^[27,28]。

3 冠心病遗传研究方法

在寻找冠心病相关基因时, 经常使用的遗传标志物(genetic marker)主要有最近常用的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)和之前使用的微卫星序列(micro-satellite)。SNP是由单个核苷酸变异所造成的DNA序列多态性, 在冠心病相关基因的研究中主要应用于关联分析, 即易感基因的筛选。微卫星又被

称作短串连重复(short tandem repeats, STRs)或简单重复序列(simple sequence repeat, SSRs), 指2~6个碱基串连重复而形成的DNA序列。微卫星的多态性为不同个体间重复数的差异。微卫星在冠心病的遗传研究早期主要用于连锁分析。

3.1 连锁分析

冠心病的发病表现出家族性和散发性共存, 其相关基因包括致病基因(家族性)和易感基因(散发人群)。致病基因是基因突变后可引起疾病的基因, 致病基因与疾病表型的遗传符合孟德尔遗传分离定律。致病基因在家族内垂直传递而引起疾病, 因此其导致的疾病具有家族性。在寻找冠心病致病基因时, 常采用基于家系的连锁分析。以疾病是否存在作为致病位点存在的证据, 若其他(候选)位点或基因和致病位点(疾病)发生重组, 则候选位点距离致病位点较远, 它们之间不存在连锁; 反之, 则说明它们距离较近, 存在连锁。在实际操作中, 两位点(遗传标志位点与致病突变位点)是否连锁, 则由优势对数评分(log odds score, LOD)判断: 在常染色体遗传模式下, LOD值不低于3; 在性染色体遗传模式下, LOD值不低于2, 则表明两个位点之间存在连锁关系。确定与疾病连锁的位点后, 在该位点周围寻找和确定含有致病的突变基因。尽管通过进化保守分析、多受累家系验证和非受累病人排除可以初步确定致病基因, 但最终证实致病基因需要功能和模式生物模拟疾病的证据。

3.2 关联分析

在研究散发性冠心病时, 寻找的冠心病相关基因易为易感基因, 采用的方法为基于人群的关联分析。关联分析方法实际上是病例-对照研究, 通过比较大量遗传上不相关的疾病患者和非患病人群某个位点的等位基因出现的频率, 寻找与疾病相关的等位基因。关联分析按是否基于假设, 分为候选基因关联分析和全基因组关联分析。

(1) 候选基因关联分析。候选基因关联分析基于“某些基因与染色体位点可能与冠心病相关”的假设进行研究。通常依据一些线索包括已有的生理生化知识、以往的遗传分析或发病机制预先指定一个或一组候选基因, 聚焦于候选基因的遗传变异, 通过遗传分型比较候选基因在患者和对照人群中的序列差别, 寻找

与疾病相关的位点并确定候选基因是否与冠心病相关。

因候选基因数量较少, 应用于此的基因分型技术一般为中低通量的分型技术。低通量和中通量基因分型技术有一代测序、限制性片段长度多态性、单链构象多态性分析、等位基因特异性聚合酶链式反应、TaqMan、连接酶检测反应等。虽然这些方法精确度高, 但检测较多SNP位点时, 速度慢、成本高。本团队^[29]改进基于脱氧核糖核酸连接酶的中低通量基因分型方法: 在探针上加入人工特异片段控制产物长度和扩增的特异性, 实现多个位点的分型在同一个反应中进行; 掺入荧光引物, 借助高分辨率毛细管凝胶电泳, 实现多个位点一次性检测, 增加通量; 与多重PCR结合, 降低模板DNA用量。最终建立了一种高准确性、低成本、满足基于中低通量位点分型的临床分子诊断和科研需求的基因分型新方法。

(2) 全基因组关联分析。全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)不基于假设, 没有指定候选基因, 使用多中心大人群样本, 在全基因组层面进行大规模遗传标记检测和分型, 通过将基因型与疾病在群体层面进行统计分析, 根据显著性筛选与复杂疾病相关的基因。与连锁分析相比, GWAS的优势在于: (i) 因为遗传标志的密度高, 所以分辨率高; (ii) 筛选到的与冠心病相关的遗传变异更全面。GWAS在基因组范围内寻找与疾病相关的遗传变异, 能获得更全面的遗传变异。GWAS荟萃分析策略在定位复杂疾病的小效应易感性位点方面更适用^[30]。

由于GWAS采用的是基于SNP的群体遗传统计学, 分层因素(stratification), 如遗传背景、性别、生活习惯、居住地、民族等对冠心病的群体遗传学研究影响极大, 是目前产生假阳性结果的重要原因。因此, GWAS需要多中心人群进行验证才能筛选到具有普遍性和可靠性的易感基因。通过更好的病例-对照匹配、多组学整合研究、多重检验校正等措施能提高遗传分析的可靠性。当然更重要的是, 通过在细胞层面的功能扫描以及动物层面的功能研究所得的易感基因参与冠心病发生发展的机制, 确定筛选出易感基因与冠心病的因果关系。

GWAS在全基因组进行基因分型, 因而使用高通量基因分型方法。前期, 高通量基因分型方法多为基于杂交技术的Affymetrix和Illumina芯片等。近年来出

现的二代测序等高通量测序技术可用于连锁分析和关联分析, 高通量测序的出现和发展为冠心病相关基因的筛选提供了更有力的工具。测序技术的进步使测序通量不断增加并且成本不断下降, 大数据分析逐渐成为研究常态。在这种新形势下, 冠心病遗传学研究可从以下三方面改进。(i) 测序成本的下降使更大规模人群相关基因的筛选变得更加可行, 更大范围地采集多中心人群样本互相验证可更好地发现可靠的冠心病易感基因。(ii) 与表达谱、蛋白质组等其他组学进行多组学整合研究相互印证, 发现与冠心病联系更为紧密, 参与冠心病发生发展过程的关键基因。(iii) 利用大数据分析手段, 评估易感基因与冠心病的相关性及其预测作用, 筛选出具有预测作用的冠心病位点并结合其他危险因素建立冠心病的预测体系。同时, 将大数据分析手段应用于研究和优化冠心病易感位点对冠心病手术及药物治疗的疗效; 将大数据背景下的冠心病易感基因研究应用于冠心病的预测和疗效评估, 致力于冠心病的防治。

4 冠心病的遗传研究

4.1 冠心病致病基因

通过家族性冠心病的遗传研究可以寻找和确定冠心病致病基因^[31]。基于家系的连锁分析需要大量较纯的家系样本, 因此在冠心病中寻找到的致病基因很少, 目前通过此方法鉴定出的冠心病致病基因仅有2个。最早发现的冠心病致病基因为染色体15q26中的*MEF2A*。*MEF2A*在发育早期开始表达, 可能在血管的发生中发挥重要作用。*MEF2A*中440~446七个氨基酸缺失突变为一种显性负效应突变体, 破坏*MEF2A*的核定位, 抑制*MEF2A*介导的转录激活, 并破坏*MEF2A*与GATA-1在转录激活中的协同作用参与冠心病的发生^[32]。*LRP6*为第二个通过连锁分析鉴定出的冠心病致病基因, 且被不同实验室验证。2007年的一项研究在一个家族性高脂血症家系中发现, *LRP6*的R611C突变与高LDL水平高度连锁, 与家族性高脂血症相关^[33]。本团队^[34]在汉族的一个正常血脂性冠心病家系中发现*LRP6*的另一个突变Y418H, 该突变不影响细胞对脂肪的吸收, 而是促进内皮细胞凋亡, 损害内皮细胞功能, 从而与家族性正常血脂性冠心病相关。由此可见, 即使同一个基因, 也可能通过不同的机制与不同类型的冠心病相关。

其他连锁分析研究则发现2q33.3, 3q29, 5q13.2, 7p22.2, 9q22.33, 9p24.2, 9q34.2, 12q13.13, 15q26.1, 17q21.2, 17q22, 20p12.3和22q12.1中多个与冠心病显著相关的位点^[35]。

4.2 冠心病易感基因

易感基因或位点导致患病风险增加。在复杂疾病中, 多个易感基因与环境等其他因素互相作用, 共同导致疾病的发生。目前已鉴定出大量冠心病易感基因, 表明易感基因对冠心病遗传的影响为许多小效应风险等位基因的累积效应。易感基因的筛选通常使用基于人群的关联分析方法。

现有关于遗传变异影响冠心病风险的知识很大程度上基于对常见SNP的GWAS。通过GWAS已经发现了许多复杂疾病的未知功能的疾病易感性位点^[36]。2007年, 研究人员发表了第一批关于冠心病相关位点或基因的GWAS研究, 发现位于染色体9p21区域中约5.8万碱基的区段与冠心病相关, 其中最显著的SNP位点为rs1333049^[37]。风险等位基因纯合子使冠心病的风险增加30%~40%^[38], 且患心肌梗死的风险为非携带者的1.64倍^[39]。国际上开展了多个冠心病大规模人群GWAS项目, 如CARDIoGRAM^[40], C4D^[41]以及基于这两者和千人基因组计划(1000 Genome Project)整合的荟萃分析研究^[30]。在国内, 针对汉族人群开展了三个大规模GWAS。早期的汉族人群冠心病GWAS鉴定出位于*C6orf105*的rs6903956^[42], 以及位于*TTC32-WDR35*, *GUCY1A3*, *C6orf10-BTNL2*和*ATP2B1*等基因中或附近的四个位点^[43]与冠心病相关。本团队^[44]通过GWAS鉴定出三个新位点与冠心病相关, 分别是位于*SCML4*的rs9486729, *THSD7A*的rs17165136和*DAB1*的rs852787。并且通过功能实验发现, *THSD7A*和*SCML4*对冠心病的发生具有功能贡献。下调*SCML4*可通过增加*IL-6*, *E-selectin*和*ICAM*的表达激活内皮细胞并降低其抗凋亡能力, 抑制*SCML4*的表达可加重内皮功能障碍和血管重构; 下调*THSD7A*对内皮细胞功能影响不大, 但通过降低*ICAM*, *L-selectin*和*ITGB2*的表达而减弱单核细胞黏附, 从而抑制粥样硬化斑块的形成。截至目前, GWAS已鉴定出超过160个位点与冠心病相关^[45,46]。

值得注意的是, 不同人群遗传背景不同, 冠心病的遗传机制亦有所差异。许多已鉴定的位点具有种群依

赖性^[47,48]. 到目前为止, 在白色人种的研究中发现的遗传位点数量最多, 而在中国汉族人群中只有8个位点被独立报道^[42-44]. 实际上, 汉族人的平均遗传差异比欧洲血统的人低^[49], 表明汉族人的遗传研究在发现易感基因方面可能具有更高的敏感性. 本团队^[47]将已经报道的白色人种易感位点在汉族人群中进行验证, 并将发现的易感位点在白色人种中予以验证, 发现*ESYT3*, *RGS5*, *SCML4*, *THSD7A*, *NEXN*, *NAA25*等基因的多态性对冠心病的易感性主要出现在汉族冠心病患者中. 而在美国人群中与冠心病显著相关的TSP-4 A387P位点不与中国汉族人群冠心病相关^[50], 在爱尔兰、韩国和中国台湾人群中与冠心病相关的thrombomodulin-33G>A位点也不与汉族人群冠心病相关^[51]. 本团队以及其他研究组^[44,52]均发现, 即使同为汉族人群, 我国南北地域分布造成的冠心病遗传差异也非常大. 此外, 冠心病在不同性别中也表现出不同的特征^[53], 表明不同性别中冠心病的遗传机制也不尽相同. 目前研究已发现多个位点与特定性别的冠心病相关^[54], 甚至仅与某个特定人群中特定性别的冠心病相关^[47,55-58].

4.3 百岁老人遗传研究对冠心病研究的启示

尽管年龄是冠心病的独立风险因素^[59], 但百岁老人是一个健康长寿的群体, 其冠心病尤其是急性心梗比例非常低, 是研究血管保护遗传机制的理想人群. 探索百岁老人逸脱冠心病的遗传机制, 有助于实现老年健康的目标.

筛选百岁老人和冠心病患者中出现频率相反的SNP位点. 长寿性状与疾病性状具有反方向联系的遗传位点极有可能为参与冠心病发生的关键位点. 比如一项基于长寿人群为期17年的研究发现, 与长寿相关的*FOXO3*基因SNP位点rs2802292的G等位基因具有延长寿命及降低冠心病死亡率的效果^[60]. rs8105767等7个位点与端粒缩短有关, 并增加了患冠状动脉疾病的风险^[61]. 另外, 针对长寿和冠心病的预防, 同样的干预措施可互相借鉴从而达到更好的干预效果.

5 冠心病危险因素의 相互作用

虽然目前已发现许多冠心病相关位点或基因, 但是所有位点综合起来仅能解释冠心病30%~40%的遗传力^[62]. 被识别的位点只占冠心病遗传易感性的一部

分, 存在相当大的“遗传缺失”^[63,64]. 遗传因素之间的相互作用及基因-环境因素相互作用有助于增加对冠心病遗传决定性的理解, 并解释部分“遗传缺失”. 基因或环境因素对冠心病的影响较为复杂, 而多因素之间的相互作用加重了冠心病致病机制的复杂性. 基因和环境的综合效应多用加性或乘性效应来评价^[65].

5.1 基因组相互作用研究

基因组相互作用研究(genome-wide interaction study, GWIS)与GWAS的区别在于其扫描整个基因组的SNP并将之与其他危险因素结合起来研究基因-环境因素的相互作用. 心脏与衰老基因组流行病学研究队列(cohorts for heart and aging research in genomic epidemiology, CHARGE)报道了各种关于调控血脂水平的基因与体育运动、吸烟和酒精摄入量的相互作用^[66-69]. 基因和体育运动之间的相互作用研究发现了4个与血脂水平相关的新位点^[67], 基因与吸烟的相互作用研究报道了13个新位点与脂质水平相关^[68], 基因与酒精摄入的相互作用研究则鉴定了18个新位点与脂质水平显著相关^[69]. 综合50个与冠心病相关的SNP位点与吸烟相互作用的研究发现, 遗传背景增加了吸烟造成的冠心病风险^[70]. 最近一项规模最大的队列研究也表明, 坚持健康的生活方式可显著降低心血管疾病发生的风险^[71]. 尤其在具有冠心病高遗传风险的个体中, 良好的生活方式与不良的生活方式相比, 冠心病风险可下降近半^[72].

5.2 多基因风险评分

多基因风险评分(polygenic risk score, PRS), 也称为遗传风险评分或多基因评分, 是针对个体发生某一性状或疾病的遗传倾向的评估, 是对GWAS数据鉴定出的一组风险相关的遗传变异的综合衡量. GWAS可鉴定出大量复杂疾病的易感位点, 但这些位点都属于微效位点, 即单个位点对疾病发生的影响较弱. 需要综合多个位点的效应才能准确判断疾病风险. 近期研究发现, 采用多基因风险评分可显著提高对冠心病时间预测的准确性, 并可改善个体的风险分层效果^[73]. 低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)和甘油三酯的遗传风险对缺血性心脏病风险均有加成, 且LDL-C水平与冠心病遗传风险之间的作用具有乘性效应^[74]. 一项研究将导致家族性高胆固醇

血症这种单基因疾病的遗传变异和192个冠心病相关SNP位点综合起来进行冠心病风险预测,成功地对家族性高胆固醇血症患者的冠心病风险进行了更精细的风险分层^[75]。在冠心病的治疗中,多基因风险评分可确定从他汀类药物获得更多益处的高危病人,并且根据PRS对病人分组后,高PRS组病人使用Alirocumab (PCSK9抑制剂)的获益更大且风险更低,使用PRS进行冠心病风险分层有助于冠心病患者的精准治疗^[76]。

5.3 候选基因与其他因素相互作用

与GWIS相比,基于候选基因的相互作用研究聚焦于感兴趣的目标基因的遗传变异与其他因素的相互作用。在确定发生疾病的概率方面,遗传和环境危险因素之间的相互作用有时比单个因素的价值更重要^[77]。基因-环境的相互作用采用的方法有:(i)列联表分析,判断关注的各因素之间有无关联,即是否独立。此方法同时考虑一个或两个环境因素或基因单独或成对的组合,从而忽略了其他因素或更复杂相互作用的潜在效应^[78]。(ii)多元回归分析(单变量方法),将所有变量纳入同一模型,但该方法忽略了其他中间因素的间接影响和多效应影响,比如有研究应用该方法发现一氧化氮生物合成途径基因的SNP-SNP相互作用导致了冠心病风险上升^[79]。一项研究对研究方法进行优化,采用结构方程模型评估冠心病多因素间的关系,研究一个变量对另一个变量的直接、间接和总体影响^[80]。荟萃研究发现,rs7178051引起*ADAMTS7*表达量下降,可对不吸烟人群提供更强的保护作用^[81]。*APOE*与吸烟的交互作用研究则发现,*APOE*基因的遗传变异增加了男性和携带E4等位基因的吸烟人群的冠心病风险,并增加了冠心病死亡率和全因死亡率^[82-84]。其他研究发现,包括*TXNIP*, *EBF1*, *IL6*, *FADS1*和*ALDH2*在内的多个冠心病相关基因与吸烟、饮酒、饮食和体育活动等生活方式因素存在相互作用^[85-90]。

6 冠心病易感基因的功能研究及参与的生物学过程与信号通路

目前鉴定的冠心病易感基因大多仅揭示基因或位点与冠心病的相关性,并且相当多的相关位点定位于基因间区域,人们对这些区域的了解还比较粗浅。尽管提出了几种假设,但尚不清楚究竟是哪些功能基因

调控了它们与冠心病之间的联系^[42,43,91,92]。由于缺乏功能及机制研究,很难将生物学的见解转化为临床效益。虽然在高通量测序的帮助下冠心病易感基因的大范围筛选更为高效,但功能实验的验证才能确定鉴定的冠心病相关基因对冠心病发生发展的贡献。功能实验一般从两方面入手:(i)细胞层面的功能验证。细胞学功能实验着眼于冠心病的病理基础,即动脉粥样硬化斑块发生过程中的关键环节(内皮细胞活化、单核细胞黏附、脂肪代谢等),确定目标基因参与动脉粥样硬化斑块形成的阶段和贡献。例如,通过内皮细胞衰老、炎症、增殖、凋亡等相关实验评价目标基因对内皮损伤修复的影响;通过细胞黏附、黏附分子检测等实验评价单核细胞与内皮细胞的黏附;通过划痕、transwell等实验评价内皮或平滑肌细胞迁移;通过荧光标记检测细胞对脂质的吸收等。(ii)动物水平的功能验证。通过建立转基因或敲低/除动物模型,直接从血管的形态和功能角度评价目标基因对动脉粥样硬化斑块形成和发展的贡献,比如通过油红O染色检测动脉粥样硬化斑块发生面积和管腔狭窄程度。这些基于动脉粥样硬化发生的关键环节的实验设计,可以帮助人们快速了解易感或候选基因对动脉粥样硬化的直接贡献。

本团队^[93]发现,*RGS5*在氧化型低密度脂蛋白、同型半胱氨酸、葡萄糖等冠心病危险因素作用下及动脉粥样硬化斑块中的表达量均下降,且*RGS5*表达量的下调通过NF- κ B信号通路促进炎症、增加斑块严重程度;而上调*RGS5*可下调*CXCL12*并减少斑块的形成。功能研究发现,染色体1p13上的rs12740374调控*SORT1*表达,并改变血浆LDL-C水平,在冠心病发生中发挥重要作用^[94]。rs9349379调控内皮素1(endothelin 1, *EDN1*)的表达,该基因可能是与冠心病病理变化具有因果关系的基因^[95]。此外,其他研究报道了大量冠心病易感基因,如*FND3B*, *CCM2*, *TRIM5*等^[46],但这些基因与冠心病发生的关系还需要更多的功能验证。最近的研究通过已发表证据和SMR/HEIDI方法对已发表的冠心病相关基因进行排序,在36个位点中筛选出37个可能导致冠心病的候选基因,其中10个基因有功能验证证实,包含本团队进行功能验证的6个基因^[96]。

本团队对GWAS Catalog数据库(<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>)^[97]中目前已发现的冠心病易感基因进行gene ontology(GO)注释及富集分析,发现与冠心病密

切相关的生物学进程包括血浆脂蛋白颗粒水平调节、胆固醇稳态、甾醇稳态、脂肪酶活性调节、血浆脂蛋白颗粒组装、蛋白-脂质复合物组装等生物学进程(图1A), 这些生物学进程主要与脂质代谢和运输相关. 分子功能分析表明, 甾醇、胆固醇等脂类的运输与转运活性、脂蛋白结合等生物学功能基因的富集程度最高(图1B). 以上结果充分说明体内脂质代谢的平衡以及血脂水平在冠心病发生中的重要地位.

在信号通路富集分析中发现, 冠心病风险基因主要集中于胆固醇代谢、脂肪消化与吸收、醛固酮合成与分泌和AGE-RAGE等信号通路(图2). AGE-RAGE (advanced glycation end product-receptor for advanced glycation end products, 晚期糖基化终产物-晚期糖基化终产物受体)与多种配体结合后影响细胞内信号转导, 刺激细胞因子释放, 在炎症与冠心病的发生中发挥功能. 另外, 基因相互作用网络分析发现多个SMAD家族基因为节点基因(结果未展示), SMAD家族主要在TGF- β 信号由细胞膜受体传入细胞核的过程中发挥功能. AGE-RAGE通过Ang II及其受体激活TGF- β -SMAD信号^[98]. 这表明细胞通讯和信号传导也在冠心病的发生中具有重要作用. 醛固酮参与心脏重塑过程, 如心肌纤维化、左心室肥厚和收缩功能障碍等, 这些改变可能与冠心病后期心脏缺血后的表现相关. 冠心病易感基因富集的信号通路涵盖了冠心病发生发展过程中动脉粥样硬化斑块形成、心脏缺血后的代偿以及最后失代偿整个过程, 但这些基因哪些与冠心病的发生具有因果关系而哪些仅与冠心病的表型相关通过关联分析无法判断, 需要更深入的功能研究.

7 冠心病的表观遗传研究

表观遗传指不由DNA序列改变引起的基因功能的可遗传变化. 表观遗传有非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)、DNA修饰、组蛋白修饰、染色质重塑、核小体定位等多种调控方式. 表观遗传调控的一个重要特点是可逆的, 通过改变基因和环境之间的相互作用而导致冠心病这种复杂多因素疾病的发生^[99,100].

冠心病相关的ncRNA研究主要包括microRNA和lncRNA. 参与microRNA成熟的关键酶Dicer在内皮细胞功能中发挥了重要作用, Dicer的沉默下调内皮细胞

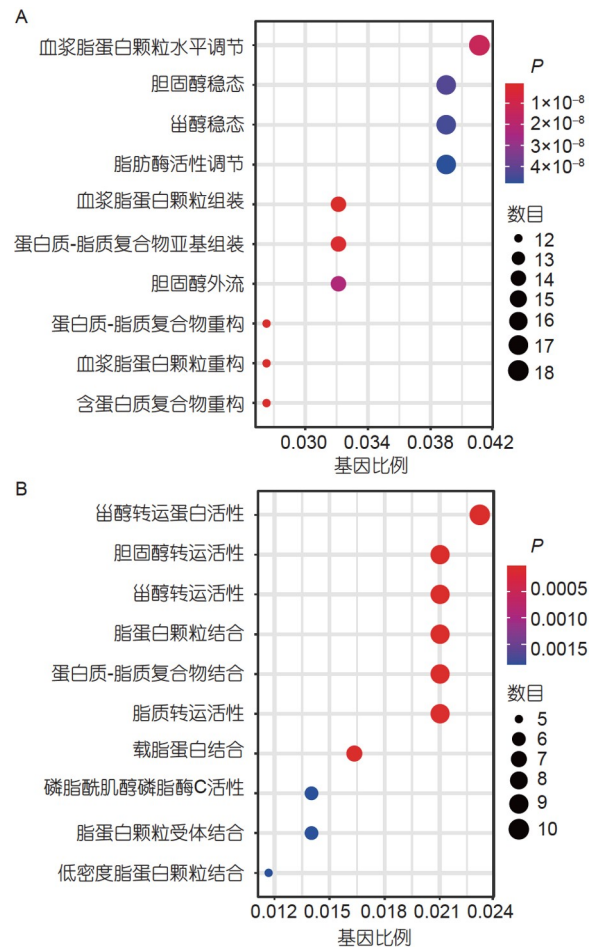


图 1 冠心病易感基因的GO注释分析. A: 生物学进程分析; B: 分子功能分析. P: BH方法校正后的P值. 数目: 表示富集的基因数目, 以黑色圆圈大小显示. 基因比例: 富集到的基因占总输入基因的比值

Figure 1 GO analysis of coronary heart disease susceptibility gene. A: Biological processes; B: molecular functions. P: Corrected P value by BH (Benjamini and Hochberg) method. Count: the number of genes enriched, shown by the size of black dot. Gene Ratio: the ratio of enriched genes to all of the input genes

microRNA水平^[101], 下调lef-7f和miR-27b等内皮细胞中高表达的microRNA, 抑制内皮细胞的增殖^[102], 说明microRNA参与动脉粥样硬化和冠心病的发生^[103]. microRNA在斑块形成、失稳到破裂的整个过程中均发挥重要作用^[104]. Jovanović等人^[105]通过预测筛选到13个microRNA在斑块形成早期起作用 and 4个microRNA在斑块形成晚期起作用. miR-143和miR-145通过调节平滑肌细胞的稳态, 可能在斑块的稳定中起关键作用^[106]. 此外, 研究还发现冠心病患者miR-146a中的rs2910164和miR-499中的rs3746444多态性与冠心病

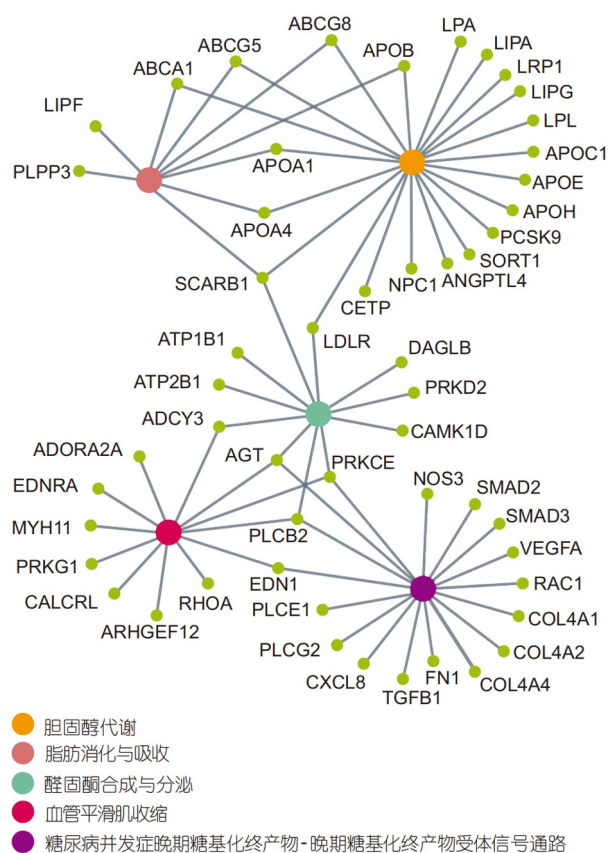


图 2 冠心病易感基因的信号通路富集分析, 显示富集程度排名前五的通路

Figure 2 KEGG pathway enrichment analysis of coronary heart disease susceptibility gene. The top five enriched pathways were shown

相关^[107]。lncRNA ANRIL通过调节平滑肌细胞的增殖参与动脉粥样硬化斑块的形成^[108]。uc010yfd.1, ENST00000444488.1, ASO3973, ENST00000602558.1等多个lncRNA调节多个炎症因子的表达,通过调控炎症从而参与冠心病的发生^[109]。H19中的4个SNP位点的多态性与中国人群冠心病的风险及严重程度相关^[110]。此外, OTTHUMT00000387022, AC100865.1, BANCR等多个lncRNA也被发现与冠心病相关^[111~113]。

基因组DNA甲基化水平与冠心病的关系尚不明确, 多个研究组的结果并不吻合。一些研究者发现动脉粥样硬化组织的DNA甲基化水平降低^[114,115], 但也有其他研究组发现, 主动脉粥样硬化区域组织和冠心病患者外周血淋巴细胞的基因组DNA甲基化水平显著升高^[116,117], 并且在高同型半胱氨酸条件下, 这种甲基化水平的升高被进一步加强^[118]。冠心病患

者外周血单核细胞中*STAT1*, *IL12b*, *MHC2*, *iNOS*, *JAK1*和*JAK2*等基因的启动子甲基化状态与对照组相比也有显著差异^[119]. *PLA2G7*基因编码与冠心病相关的分泌酶, *PLA2G7*启动子DNA甲基化在女性人群中与冠心病显著相关^[120]. 组蛋白的甲基化和乙酰化修饰参与动脉粥样硬化的发生^[121]. 敲低去乙酰化酶HDAC3促进动脉粥样硬化^[122], 组蛋白去乙酰化酶抑制剂曲古抑菌素(trichostatin A, TSA)可在不改变血脂的情况下加重动脉粥样硬化^[123]. 组蛋白H3K4甲基化与动脉粥样硬化的发生相关^[124], 而在动脉粥样硬化的晚期可检测到H3K27的三甲基化整体水平的提高^[125].

一方面,表观遗传标志物多来源于外周血的血浆或单核细胞,易于获取;另一方面,microRNA,lncRNA和DNA甲基化等表观遗传标志物的变化是可逆的且其变化往往先于疾病的发生.表观遗传可作为生物标志物在冠心病的预测、预防、诊断、治疗及疗效评估等多个方面发挥作用.现已有许多表观遗传标志物被报道可用于冠心病的预测,但预测准确度差异较大,需要对标志物进行筛选和整合以期获得更佳的预测效果.西方饮食诱导骨髓细胞发生甲基化改变,增加动脉粥样硬化的易感性^[126].miR-208b和miR-499与冠心病严重程度相关,可用于冠心病的诊断及疗效评估^[127].L5是人LDL负电荷最多的亚组分,L5通过*FGF2*启动子的CpG甲基化损害冠状动脉内皮细胞功能,而低浓度的阿司匹林可减轻*FGF2*启动子甲基化的升高,保护冠状动脉内皮细胞^[128].DNA甲基转移酶抑制剂5-氮杂-2'-脱氧胞苷(5-Aza-2'-deoxycytidine)可显著降低动脉粥样硬化病变程度,对冠心病的发生起保护作用^[129].目前针对表观遗传的药物研发多集中于肿瘤领域,冠心病的表观遗传药物研发进展不多,仅Apabetalone等极为有限的化学药物处于临床研究阶段.希望将来发现更多对冠心病发生具有重要贡献的表观遗传学靶点并进行相关药物的研发.

8 基于遗传的冠心病药物研发

目前,已有一些药物针对冠心病的治疗和干预,但心血管风险仍未得到有效控制。冠心病的成药主要针对G蛋白偶联受体和酶。这两者是较好的药物靶点,可

将已发现的冠心病相关基因联系到其上游受体或下游的酶上进行药物设计, 或者在充分的作用机制的基础上针对其与上下游的关键作用位点开发药物. 另外, 还可针对这些基因的表达在其调控区域上设计药物.

研究者从不同角度出發, 探索冠心病治疗的潜在靶点和可能药物. 一方面, 基于GWAS发现的冠心病相关位点进行生物信息学分析, 预测具有给药价值的潜在靶点及候选药物. 通过整合49个冠心病全基因组相关位点, 以及药物-基因相互作用、药物副作用、与化合物相互作用等多个公共数据, 对已有药物在冠心病治疗中的“老药新用”可能性进行评估^[130]. 最终提出了3个药物在冠心病中具有潜在新用价值——酒石酸戊双吡铵、三磷酸腺苷和利奥西呱(分别靶向*CHRNA4*, *ACSS2*和*GUCY1A3*), 并提出三个蛋白可用于药物开发——Leiomodin 1, HIP1和PPP2R3A. 另一项研究通过将GWAS发现的冠心病相关位点进行排序, 检测它们在代谢及血管组织基因-蛋白互作网络中的相互作用并进行冠心病给药潜力评分, 鉴定了一系列新的潜在给药靶点^[131].

另一方面, 通过功能研究确定候选基因参与冠心病的机制, 并针对靶点筛选具有调控作用的分子. *PCSK9*是较早发现的调控血脂尤其是LDL-C水平的基因^[132], 而降低LDL-C水平可作为冠心病的一级和二级预防措施, 因此*PCSK9*是冠心病药物研发的良好靶点, 抑制*PCSK9*可通过降低LDL-C而安全有效地预防心血管事件^[133]. 但*PCSK9*抑制剂的临床试验表现出不良的循环系统影响, 表明*PCSK9*可能还具有脂代谢调控外的其他功能^[134]. *CXCL5*可抑制泡沫细胞的形成, 在动脉粥样硬化发生过程中起保护作用^[135], 并且循环*CXCL5*水平与冠心病负相关, 可作为新的冠心病治疗靶点^[136]. 髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)在动脉粥样硬化斑块的形成和纤维帽的不稳定中起重要作用, 两者都会增加动脉粥样硬化性心血管疾病(尤其是冠心病)的风险. 基于此, 近期的一项研究鉴定了多个分子直接或间接地降低MPO的酶活性, 可作为潜在药物, 包括苯甲酸酰胺、阿铁酸衍生物(INV-315)、硫脲嘧啶衍生物(PF-1355和PF-06282999)、2-噻唑烷衍生物(AZM198)、三唑嘧啶、对乙酰氨基酚、*n*-乙酰基二甲氧基半胱氨酸(KYC)、类黄酮以及硫氰酸盐等^[137].

值得注意的是, 在冠心病的治疗中, 相同的治疗措施对不同遗传背景的患者会产生不同的效果. 例如, 经皮冠脉介入后, 使用阿司匹林和氯吡格雷双重抗血小板治疗的汉族人群患者中, rs4244285等位基因A增加了冠心病的不良心脏事件风险^[138], 并在治疗中降低氯吡格雷的抗血小板效应, 增加了高血小板反应性(high on-treatment platelet reactivity, HTPR)的风险. 此外, *CRISPLD1* rs12115090 A>C多态性增加了氯吡格雷的抗血小板效应^[139]. 这些都说明在制定治疗方案前有必要对冠心病患者进行基因检测, 采用针对性治疗措施使冠心病患者获益.

9 总结与展望

冠心病的遗传研究已发现多个冠心病易感基因, 主要富集在胆固醇代谢、脂肪消化与吸收和AGE-RAGE等信号通路, 并且基于冠心病的遗传研究研发出*PCSK9*抑制剂等治疗冠心病的药物, 这对理解冠心病的遗传机制和个体化治疗至关重要. 但冠心病的遗传研究还存在一些问题: (i) 因为用于群体遗传学的人群的分层因素难以控制, 很多微效乃至中效位点的发现比较困难. 选择孤立或隔离人群、扩大样本量和扩大中心数量, 可能降低分层因素的影响. (ii) 功能研究不足, 仅小部分易感基因通过功能实验证实其是否对冠心病或动脉粥样硬化具有直接贡献. 虽然高通量测序技术的普及大大提高了易感基因筛选的效率, 但是无法高效地对易感基因进行功能验证(目前发现的与易感位点相关的基因已有500余个). 建立针对动脉粥样硬化发生过程关键环节等设计高通量功能筛查技术是下一步有待解决的问题. (iii) 冠心病的发生受遗传和环境等多方面因素影响, 但目前基因-基因和基因-环境等多因素相互作用对冠心病发生发展贡献的研究仍不够深入. (iv) 基于遗传和环境多因素的影响对冠心病进行预测, 对冠心病患者进行精准分层, 可为冠心病的预防提供帮助. (v) 基于目前冠心病遗传研究的个体化治疗转化应用较少. 不同遗传背景人群发生冠心病的遗传机制有所差异且对相同治疗措施的反应不同, 基于患者的遗传背景进行个体化治疗是未来冠心病研究的重要发展方向.

参考文献

- 1 Boudoulas K D, Triposciadis F, Geleris P, et al. Coronary atherosclerosis: pathophysiologic basis for diagnosis and management. *Prog Cardiovasc Dis*, 2016, 58: 676–692
- 2 The Writing Committee of the Report on Cardiovascular Health and Diseases in China. Report on cardiovascular health and diseases in China 2019: an updated summary (in Chinese). *China Circ J*, 2020, 35: 833–854 [中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告 2019概要. 中国循环杂志, 2020, 35: 833–854]
- 3 Weber C, Noels H. Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. *Nat Med*, 2011, 17: 1410–1422
- 4 Sun Z, Khan A H, Tian X L. Atherosclerosis. In: Gu D, Dupre M E, eds. *Encyclopedia of Gerontology and Population Aging*. Cham: Springer International Publishing, 2019. 1–10
- 5 Falk E. Pathogenesis of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 47: C7–C12
- 6 Wong Y K, Cheung C Y Y, Tang C S, et al. Age-biomarkers-clinical risk factors for prediction of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38: 2519–2527
- 7 Yahagi K, Davis H R, Arbustini E, et al. Sex differences in coronary artery disease: pathological observations. *Atherosclerosis*, 2015, 239: 260–267
- 8 Heron M. Deaths: Leading causes for 2017. *Natl Vital Stat Rep*, 2019, 68: 1–77
- 9 Vinkhuyzen A A E, Wray N R, Yang J, et al. Estimation and partition of heritability in human populations using whole-genome analysis methods. *Annu Rev Genet*, 2013, 47: 75–95
- 10 Vaidya D, Yanek L R, Moy T F, et al. Incidence of coronary artery disease in siblings of patients with premature coronary artery disease: 10 years of follow-up. *Am J Cardiol*, 2007, 100: 1410–1415
- 11 Zdravkovic S, Wienke A, Pedersen N L, et al. Heritability of death from coronary heart disease: a 36-year follow-up of 20 966 Swedish twins. *J Intern Med*, 2002, 252: 247–254
- 12 Fischer M, Broeckel U, Holmer S, et al. Distinct heritable patterns of angiographic coronary artery disease in families with myocardial infarction. *Circulation*, 2005, 111: 855–862
- 13 Moon H D. Coronary arteries in fetuses, infants, and juveniles. *Circulation*, 1957, 16: 263–267
- 14 Ritchie M D, Davis J R, Aschard H, et al. Incorporation of biological knowledge into the study of gene-environment interactions. *Am J Epidemiol*, 2017, 186: 771–777
- 15 Rhoads J P, Major A S. How oxidized low-density lipoprotein activates inflammatory responses. *Crit Rev Immunol*, 2018, 38: 333–342
- 16 Sansone R, Baaken M, Horn P, et al. Release of endothelial microparticles in patients with arterial hypertension, hypertensive emergencies and catheter-related injury. *Atherosclerosis*, 2018, 273: 67–74
- 17 Schweitzer K S, Chen S X, Law S, et al. Endothelial disruptive proinflammatory effects of nicotine and e-cigarette vapor exposures. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 309: L175–L187
- 18 Wang Z, Wang D, Wang Y. Cigarette smoking and adipose tissue: the emerging role in progression of atherosclerosis. *Mediators Inflamm*, 2017, 2017: 3102737
- 19 Kannel W B. Influence of multiple risk factors on the hazard of hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1990, 16 Suppl 5: S53–S57
- 20 Ying C, Liu T, Ling H, et al. Glucose variability aggravates cardiac fibrosis by altering AKT signalling path. *Diab Vasc Dis Res*, 2017, 14: 327–335
- 21 Sharma K, Shah K, Brahmabhatt P, et al. Skipping breakfast and the risk of coronary artery disease. *QJM*, 2018, 111: 715–719
- 22 Klatsky A L. Alcohol and cardiovascular diseases: where do we stand today? *J Intern Med*, 2015, 278: 238–250
- 23 Lv S, Liu W, Zhou Y, et al. Hyperuricemia and smoking in young adults suspected of coronary artery disease≤35 years of age: a hospital-based observational study. *BMC Cardiovasc Disord*, 2018, 18: 178
- 24 Pizzolo F, Friso S, Olivieri O, et al. Homocysteine, traditional risk factors and impaired renal function in coronary artery disease. *Eur J Clin Invest*, 2006, 36: 698–704
- 25 Guiraud T, Nigam A, Gremeaux V, et al. High-intensity interval training in cardiac rehabilitation. *Sports Med*, 2012, 42: 587–605
- 26 Gordon B, Chen S, Durstine J L. The effects of exercise training on the traditional lipid profile and beyond. *Curr Sports Med Rep*, 2014, 13: 253–259

- 27 Yang Z Q, Yang Z, Duan M L. Dietary approach to stop hypertension diet and risk of coronary artery disease: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Int J Food Sci Nutr*, 2019, 70: 668–674
- 28 Mooradian A D. Evidence-based cardiovascular risk management in diabetes. *Am J Cardiovasc Drugs*, 2019, 19: 439–448
- 29 Li Y, Yang X, Tian X L. Association study of *NOD2* gene and coronary artery disease based on optimized DNA ligase chain reaction (in Chinese). *China Circ J*. 2017, 32: 569–574 [李扬, 杨熹, 田小利. 基于改进的DNA连接酶链式反应发现*NOD2*基因多态性与冠心病的相关性. 中国循环杂志, 2017, 32: 569–574]
- 30 Nikpay M, Goel A, Won H H, et al. A comprehensive 1,000 genomes-based genome-wide association meta-analysis of coronary artery disease. *Nat Genet*, 2015, 47: 1121–1130
- 31 Watkins H, Farrall M. Genetic susceptibility to coronary artery disease: from promise to progress. *Nat Rev Genet*, 2006, 7: 163–173
- 32 Wang L, Fan C, Topol S E, et al. Mutation of *MEF2A* in an inherited disorder with features of coronary artery disease. *Science*, 2003, 302: 1578–1581
- 33 Mani A, Radhakrishnan J, Wang H, et al. *LRP6* mutation in a family with early coronary disease and metabolic risk factors. *Science*, 2007, 315: 1278–1282
- 34 Guo J, Li Y, Ren Y H, et al. Mutant *LRP6* impairs endothelial cell functions associated with familial normolipidemic coronary artery disease. *Int J Mol Sci*, 2016, 17: 1173
- 35 Guo Y, Wang F, Li L, et al. Genome-wide linkage analysis of large multiple multigenerational families identifies novel genetic loci for coronary artery disease. *Sci Rep*, 2017, 7: 5472
- 36 Hemminki K, Försti A, Houlston R, et al. Searching for the missing heritability of complex diseases. *Hum Mutat*, 2011, 32: 259–262
- 37 Wellcome Trust Case Control C. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*, 2007, 447: 661–678
- 38 McPherson R, Pertsemlidis A, Kavaslar N, et al. A common allele on chromosome 9 associated with coronary heart disease. *Science*, 2007, 316: 1488–1491
- 39 Helgadottir A, Thorleifsson G, Manolescu A, et al. A common variant on chromosome 9p21 affects the risk of myocardial infarction. *Science*, 2007, 316: 1491–1493
- 40 Schunkert H, König I R, Kathiresan S, et al. Large-scale association analysis identifies 13 new susceptibility loci for coronary artery disease. *Nat Genet*, 2011, 43: 333–338
- 41 Coronary Artery Disease (C4D) Genetics Consortium. A genome-wide association study in Europeans and South Asians identifies five new loci for coronary artery disease. *Nat Genet*, 2011, 43: 339–344
- 42 Wang F, Xu C Q, He Q, et al. Genome-wide association identifies a susceptibility locus for coronary artery disease in the Chinese Han population. *Nat Genet*, 2011, 43: 345–349
- 43 Lu X, Wang L, Chen S, et al. Genome-wide association study in Han Chinese identifies four new susceptibility loci for coronary artery disease. *Nat Genet*, 2012, 44: 890–894
- 44 Li Y, Wang D W, Chen Y, et al. Genome-wide association and functional studies identify *SCML4* and *THSD7A* as novel susceptibility genes for coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38: 964–975
- 45 Deloukas P, Kanoni S, Willenborg C, et al. Large-scale association analysis identifies new risk loci for coronary artery disease. *Nat Genet*, 2013, 45: 25–33
- 46 van der Harst P, Verweij N. Identification of 64 novel genetic loci provides an expanded view on the genetic architecture of coronary artery disease. *Circ Res*, 2018, 122: 433–443
- 47 Jiang F, Dong Y, Wu C, et al. Fine mapping of chromosome 3q22.3 identifies two haplotype blocks in *ESYT3* associated with coronary artery disease in female Han Chinese. *Atherosclerosis*, 2011, 218: 397–403
- 48 Xie F, Chu X, Wu H, et al. Replication of putative susceptibility loci from genome-wide association studies associated with coronary atherosclerosis in Chinese Han population. *PLoS ONE*, 2011, 6: e20833
- 49 Weir B S, Hill W G. Estimating F-statistics. *Annu Rev Genet*, 2002, 36: 721–750
- 50 Zhou X, Huang J, Chen J, et al. Thrombospondin-4 A387P polymorphism is not associated with coronary artery disease and myocardial infarction in the Chinese Han population. *Clin Sci*, 2004, 106: 495–500
- 51 Zhao J, Zhou X, Huang J, et al. Association study of the thrombomodulin –33G>A polymorphism with coronary artery disease and myocardial

- infarction in Chinese Han population. *Int J Cardiol*, 2005, 100: 383–388
- 52 Xu S, Yin X, Li S, et al. Genomic dissection of population substructure of Han Chinese and its implication in association studies. *Am J Hum Genet*, 2009, 85: 762–774
- 53 Bairey Merz C N, Pepine C J, Walsh M N, et al. Ischemia and no obstructive coronary artery disease (INOCA): developing evidence-based therapies and research agenda for the next decade. *Circulation*, 2017, 135: 1075–1092
- 54 Eales J M, Maan A A, Xu X, et al. Human Y chromosome exerts pleiotropic effects on susceptibility to atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39: 2386–2401
- 55 Rios D L S, D'Onofrio L O, Cerqueira C C S, et al. Paraoxonase 1 gene polymorphisms in angiographically assessed coronary artery disease: evidence for gender interaction among Brazilians. *Clin Chem Lab Med*, 2007, 45: 874–878
- 56 Dzimiri N, Basco C, Moorji A, et al. Angiotensin-converting enzyme polymorphism and the risk of coronary heart disease in the Saudi male population. *Arch Pathol Lab Med*, 2000, 124: 531–534
- 57 Benes P, Muzik J, Benedik J, et al. Single effects of apolipoprotein B, (a), and E polymorphisms and interaction between plasminogen activator inhibitor-1 and apolipoprotein(a) genotypes and the risk of coronary artery disease in Czech male caucasians. *Mol Genet Metab*, 2000, 69: 137–143
- 58 Su S Y, Chen J H, Huang J F, et al. Paraoxonase gene cluster variations associated with coronary heart disease in Chinese Han women. *Chin Med J*, 2005, 118: 1167–1174
- 59 Madhavan M V, Gersh B J, Alexander K P, et al. Coronary artery disease in patients ≥ 80 years of age. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 71: 2015–2040
- 60 Willcox B J, Tranah G J, Chen R, et al. The *FoxO3* gene and cause-specific mortality. *Aging Cell*, 2016, 15: 617–624
- 61 Codd V, Nelson C P, Albrecht E, et al. Identification of seven loci affecting mean telomere length and their association with disease. *Nat Genet*, 2013, 45: 422–427
- 62 Nelson C P, Goel A, Butterworth A S, et al. Association analyses based on false discovery rate implicate new loci for coronary artery disease. *Nat Genet*, 2017, 49: 1385–1391
- 63 Eichler E E, Flint J, Gibson G, et al. Missing heritability and strategies for finding the underlying causes of complex disease. *Nat Rev Genet*, 2010, 11: 446–450
- 64 Manolio T A, Collins F S, Cox N J, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*, 2009, 461: 747–753
- 65 VanderWeele T J, Knol M J. A tutorial on interaction. *Epidemiol Methods*, 2014, 3: 33–72
- 66 Rao D C, Sung Y J, Winkler T W, et al. Multiancestry study of gene-lifestyle interactions for cardiovascular traits in 610 475 individuals from 124 cohorts: design and rationale. *Circ Cardiovasc Genet*, 2017, 10: e001649
- 67 Kilpeläinen T O, Bentley A R, Noordam R, et al. Multi-ancestry study of blood lipid levels identifies four loci interacting with physical activity. *Nat Commun*, 2019, 10: 376
- 68 Bentley A R, Sung Y J, Brown M R, et al. Multi-ancestry genome-wide gene-smoking interaction study of 387,272 individuals identifies new loci associated with serum lipids. *Nat Genet*, 2019, 51: 636–648
- 69 de Vries P S, Brown M R, Bentley A R, et al. Multiancestry genome-wide association study of lipid levels incorporating gene-alcohol interactions. *Am J Epidemiol*, 2019, 188: 1033–1054
- 70 Hindy G, Wiberg F, Almgren P, et al. Polygenic risk score for coronary heart disease modifies the elevated risk by cigarette smoking for disease incidence. *Circ Genom Precis Med*, 2018, 11: e001856
- 71 Said M A, Verweij N, van der Harst P. Associations of combined genetic and lifestyle risks with incident cardiovascular disease and diabetes in the UK biobank study. *JAMA Cardiol*, 2018, 3: 693–702
- 72 Khera A V, Emdin C A, Drake I, et al. Genetic risk, adherence to a healthy lifestyle, and coronary disease. *N Engl J Med*, 2016, 375: 2349–2358
- 73 Elliott J, Bodinier B, Bond T A, et al. Predictive accuracy of a polygenic risk score-enhanced prediction model vs a clinical risk score for coronary artery disease. *JAMA*, 2020, 323: 636–645
- 74 Elosua R, Lluís-Ganella C, Subirana I, et al. Cardiovascular risk factors and ischemic heart disease. *Circ Cardiovasc Genet*, 2016, 9: 279–286
- 75 Paquette M, Chong M, Thériault S, et al. Polygenic risk score predicts prevalence of cardiovascular disease in patients with familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*, 2017, 11: 725–732.e5
- 76 Damask A, Steg P G, Schwartz G G, et al. Patients with high genome-wide polygenic risk scores for coronary artery disease may receive greater clinical benefit from alirocumab treatment in the ODYSSEY OUTCOMES trial. *Circulation*, 2020, 141: 624–636

- 77 Yang Q, Khoury M J. Evolving methods in genetic epidemiology. III. Gene-environment interaction in epidemiologic research. *Epidemiol Rev*, 1997, 19: 33–43
- 78 Botto L D, Khoury M J. Commentary: facing the challenge of gene-environment interaction: the two-by-four table and beyond. *Am J Epidemiol*, 2001, 153: 1016–1020
- 79 Tu Y, Ding H, Wang X, et al. Exploring epistatic relationships of NO biosynthesis pathway genes in susceptibility to CHD. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, 31: 874–880
- 80 Mi X, Eskridge K M, George V, et al. Structural equation modeling of gene-environment interactions in coronary heart disease. *Ann Hum Genet*, 2011, 75: 255–265
- 81 Saleheen D, Zhao W, Young R, et al. Loss of Cardioprotective Effects at the *ADAMTS7* Locus as a Result of Gene-Smoking Interactions. *Circulation*, 2017, 135: 2336–2353
- 82 Humphries S E, Talmud P J, Hawe E, et al. Apolipoprotein E4 and coronary heart disease in middle-aged men who smoke: a prospective study. *Lancet*, 2001, 358: 115–119
- 83 Grammer T B, Hoffmann M M, Scharnagl H, et al. Smoking, apolipoprotein E genotypes, and mortality (the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study). *Eur Heart J*, 2013, 34: 1298–1305
- 84 Gustavsson J, Mehlig K, Leander K, et al. Interaction of apolipoprotein E genotype with smoking and physical inactivity on coronary heart disease risk in men and women. *Atherosclerosis*, 2012, 220: 486–492
- 85 Wang X B, Han Y D, Zhang S, et al. Associations of polymorphisms in *TXNIP* and gene-environment interactions with the risk of coronary artery disease in a Chinese Han population. *J Cell Mol Med*, 2016, 20: 2362–2373
- 86 Ying Y, Luo Y, Peng H. *EBF1* gene polymorphism and its interaction with smoking and drinking on the risk of coronary artery disease for Chinese patients. *Biosci Rep*, 2018, 38: BSR20180324
- 87 Chen H, Ding S, Liu X, et al. Association of interleukin-6 genetic polymorphisms and environment factors interactions with coronary artery disease in a Chinese Han population. *Clin Exp Hypertens*, 2018, 40: 514–517
- 88 Liu F, Li Z, Lv X, et al. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acid intakes modify the effect of genetic variation in fatty acid desaturase 1 on coronary artery disease. *PLoS ONE*, 2015, 10: e0121255
- 89 Zheng Y, Li Y, Huang T, et al. Sugar-sweetened beverage intake, chromosome 9p21 variants, and risk of myocardial infarction in Hispanics. *Am J Clin Nutr*, 2016, 103: 1179–1184
- 90 Huang L, Cai X, Lian F, et al. Interactions between *ALDH2* rs671 polymorphism and lifestyle behaviors on coronary artery disease risk in a Chinese Han population with dyslipidemia: a guide to targeted heart health management. *Environ Health Prev Med*, 2018, 23: 29
- 91 Marian A J. The enigma of genetics etiology of atherosclerosis in the post-GWAS era. *Curr Atheroscler Rep*, 2012, 14: 295–299
- 92 Erdmann J, Grosshennig A, Braund P S, et al. New susceptibility locus for coronary artery disease on chromosome 3q22.3. *Nat Genet*, 2009, 41: 280–282
- 93 Li Y, Yan H, Guo J, et al. Down-regulated *RGS5* by genetic variants impairs endothelial cell function and contributes to coronary artery disease. *Cardiovasc Res*, 2021, 117: 240–255
- 94 Musunuru K, Strong A, Frank-Kamenetsky M, et al. From noncoding variant to phenotype via *SORT1* at the 1p13 cholesterol locus. *Nature*, 2010, 466: 714–719
- 95 Gupta R M, Hadaya J, Trehan A, et al. A genetic variant associated with five vascular diseases is a distal regulator of endothelin-1 gene expression. *Cell*, 2017, 170: 522–533.e15
- 96 Shadrina A S, Shashkova T I, Torgasheva A A, et al. Prioritization of causal genes for coronary artery disease based on cumulative evidence from experimental and in silico studies. *Sci Rep*, 2020, 10: 10486
- 97 Buniello A, MacArthur J A L, Cerezo M, et al. The NHGRI-EBI GWAS Catalog of published genome-wide association studies, targeted arrays and summary statistics 2019. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: D1005–D1012
- 98 Fukami K E I, Ueda S, Yamagishi S I, et al. AGEs activate mesangial TGF- β -Smad signaling via an angiotensin II type I receptor interaction. *Kidney Int*, 2004, 66: 2137–2147
- 99 Udali S, Guarini P, Moruzzi S, et al. Cardiovascular epigenetics: from DNA methylation to microRNAs. *Mol Aspects Med*, 2013, 34: 883–901
- 100 Duan L, Hu J, Xiong X, et al. The role of DNA methylation in coronary artery disease. *Gene*, 2018, 646: 91–97
- 101 Suarez Y, Fernandez-Hernando C, Pober J S, et al. Dicer dependent microRNAs regulate gene expression and functions in human endothelial

- cells. *Circ Res*, 2007, 100: 1164–1173
- 102 Kuehnbacher A, Urbich C, Zeiher A M, et al. Role of Dicer and Drosha for endothelial microRNA expression and angiogenesis. *Circ Res*, 2007, 101: 59–68
- 103 Schulte C, Zeller T. MicroRNA-based diagnostics and therapy in cardiovascular disease-Summing up the facts. *Cardiovasc Diagn Ther*, 2015, 5: 17–36
- 104 Menghini R, Stöhr R, Federici M. MicroRNAs in vascular aging and atherosclerosis. *Ageing Res Rev*, 2014, 17: 68–78
- 105 Jovanović I, Zivković M, Jovanović J, et al. The co-inertia approach in identification of specific microRNA in early and advanced atherosclerosis plaque. *Med Hypotheses*, 2014, 83: 11–15
- 106 O’Sullivan J F, Martin K, Caplice N M. Microribonucleic acids for prevention of plaque rupture and in-stent restenosis. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 57: 383–389
- 107 Bastami M, Choupani J, Saadatian Z, et al. miRNA polymorphisms and risk of cardio-cerebrovascular diseases: a systematic review and meta-analysis. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 293
- 108 Congrains A, Kamide K, Ohishi M, et al. ANRIL: molecular mechanisms and implications in human health. *Int J Mol Sci*, 2013, 14: 1278–1292
- 109 Li L, Wang L, Li H, et al. Characterization of LncRNA expression profile and identification of novel LncRNA biomarkers to diagnose coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 2018, 275: 359–367
- 110 Gao W, Zhu M, Wang H, et al. Association of polymorphisms in long non-coding RNA H19 with coronary artery disease risk in a Chinese population. *Mutat Res*, 2015, 772: 15–22
- 111 Cai Y, Yang Y, Chen X, et al. Circulating ‘lncRNA OTTHUMT00000387022’ from monocytes as a novel biomarker for coronary artery disease. *Cardiovasc Res*, 2016, 112: 714–724
- 112 Yang Y, Cai Y, Wu G, et al. Plasma long non-coding RNA, CoroMarker, a novel biomarker for diagnosis of coronary artery disease. *Clin Sci*, 2015, 129: 675–685
- 113 Wang H, Zhang N, Li G, et al. Proinflammatory cytokine IFN- γ , lncRNA BANCER and the occurrence of coronary artery disease. *Life Sci*, 2019, 231: 116510
- 114 Hiltunen M O, Turunen M P, Häkkinen T P, et al. DNA hypomethylation and methyltransferase expression in atherosclerotic lesions. *Vasc Med*, 2002, 7: 5–11
- 115 Aavik E, Lumivuori H, Leppänen O, et al. Global DNA methylation analysis of human atherosclerotic plaques reveals extensive genomic hypomethylation and reactivation at imprinted locus 14q32 involving induction of a miRNA cluster. *Eur Heart J*, 2015, 36: 993–1000
- 116 Sharma P, Kumar J, Garg G, et al. Detection of altered global DNA methylation in coronary artery disease patients. *DNA Cell Biol*, 2008, 27: 357–365
- 117 Zaina S, Heyn H, Carmona F J, et al. DNA methylation map of human atherosclerosis. *Circ Cardiovasc Genet*, 2014, 7: 692–700
- 118 Sharma P, Garg G, Kumar A, et al. Genome wide DNA methylation profiling for epigenetic alteration in coronary artery disease patients. *Gene*, 2014, 541: 31–40
- 119 Bakshi C, Vijayvergiya R, Dhawan V. Aberrant DNA methylation of M1-macrophage genes in coronary artery disease. *Sci Rep*, 2019, 9: 1429
- 120 Jiang D, Zheng D, Wang L, et al. Elevated *PLA2G7* gene promoter methylation as a gender-specific marker of aging increases the risk of coronary heart disease in females. *PLoS ONE*, 2013, 8: e59752
- 121 Strahl B D, Allis C D. The language of covalent histone modifications. *Nature*, 2000, 403: 41–45
- 122 Zampetaki A, Zeng L, Margariti A, et al. Histone deacetylase 3 is critical in endothelial survival and atherosclerosis development in response to disturbed flow. *Circulation*, 2010, 121: 132–142
- 123 Choi J H, Nam K H, Kim J, et al. Trichostatin A exacerbates atherosclerosis in low density lipoprotein receptor-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25: 2404–2409
- 124 Dong X, Weng Z. The correlation between histone modifications and gene expression. *Epigenomics*, 2013, 5: 113–116
- 125 Wierda R J, Rietveld I M, van Eggermond M C J A, et al. Global histone H3 lysine 27 triple methylation levels are reduced in vessels with advanced atherosclerotic plaques. *Life Sci*, 2015, 129: 3–9
- 126 van Kampen E, Jaminon A, van Berkel T J C, et al. Diet-induced (epigenetic) changes in bone marrow augment atherosclerosis. *J Leukoc Biol*, 2014, 96: 833–841
- 127 Wang W, Li T, Gao L, et al. Plasma miR-208b and miR-499: potential biomarkers for severity of coronary artery disease. *Dis Markers*, 2019,

2019: 9842427

- 128 Chang P Y, Chen Y J, Chang F H, et al. Aspirin protects human coronary artery endothelial cells against atherogenic electronegative LDL via an epigenetic mechanism: a novel cytoprotective role of aspirin in acute myocardial infarction. *Cardiovasc Res*, 2013, 99: 137–145
- 129 Zhuang J, Luan P, Li H, et al. The Yin-Yang dynamics of DNA methylation is the key regulator for smooth muscle cell phenotype switch and vascular remodeling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37: 84–97
- 130 Tragante V, Hemerich D, Alshabeeb M, et al. Druggability of coronary artery disease risk loci. *Circ Genom Precis Med*, 2018, 11: e001977
- 131 Lempiäinen H, Brønne I, Michael T, et al. Network analysis of coronary artery disease risk genes elucidates disease mechanisms and druggable targets. *Sci Rep*, 2018, 8: 3434
- 132 Abifadel M, Varret M, Rabès J P, et al. Mutations in *PCSK9* cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet*, 2003, 34: 154–156
- 133 Rosenson R S, Hegele R A, Fazio S, et al. The evolving future of PCSK9 inhibitors. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 72: 314–329
- 134 Stoeckenbroek R M, Lambert G, Cariou B, et al. Inhibiting PCSK9—biology beyond LDL control. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 15: 52–62
- 135 Rousselle A, Qadri F, Leukel L, et al. CXCL5 limits macrophage foam cell formation in atherosclerosis. *J Clin Invest*, 2013, 123: 1343–1347
- 136 Ravi S, Schuck R N, Hilliard E, et al. Clinical evidence supports a protective role for CXCL5 in coronary artery disease. *Am J Pathol*, 2017, 187: 2895–2911
- 137 Chaikijurajai T, Tang W H W. Myeloperoxidase: a potential therapeutic target for coronary artery disease. *Expert Opin Ther Targets*, 2020, 24: 695–705
- 138 Kang Y H, Lao H Y, Wu H, et al. Association of *PON1* genotype and haplotype with susceptibility to coronary artery disease and clinical outcomes in dual antiplatelet-treated Han Chinese patients. *Eur J Clin Pharmacol*, 2013, 69: 1511–1519
- 139 Wang J Y, Zhang Y J, Li H, et al. CRISPLD1 rs12115090 polymorphisms alters antiplatelet potency of clopidogrel in coronary artery disease patients in Chinese Han. *Gene*, 2018, 678: 226–232

Genetics of coronary artery disease

WU AnDong, LIU JianKun, ZHAO Ya, KHAN Abdul Haseeb, LIAO LiYong & TIAN XiaoLi

Aging and Vascular Diseases, Human Aging Research Institute and School of Life Science, Jiangxi Key Laboratory of Human Aging, Nanchang University, Nanchang 330031, China

Coronary artery disease (CAD) is a common disease caused by the interactions between genetic background and environments. Genetic determinant is one of the most important risk factors. By far, more than 160 susceptibility loci and several disease-causing genes have been identified through genome-wide scanning (linkage analysis and association analysis) and other techniques. Here, we summarize the CAD-associated loci, their biological processes and signaling pathways. The genome-wide gene-gene interactions as well as gene-environment interactions in the development of coronary artery disease and drug development are also discussed. Finally, we discuss the risk stratification of coronary artery disease and precision medical treatment based on different genetic backgrounds.

coronary artery disease, risk factor, genetics, susceptibility gene, gene-environment interaction

doi: 10.1360/SSV-2020-0347