

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.26.046

原发性高血压相关基因 DNA 甲基化的研究进展*

李莉^{1,2} 杨昭庆^{2Δ}

(1 昆明医科大学 云南 昆明 650500; 2 中国医学科学院北京协和医学院医学生物学研究所遗传室 云南 昆明 650118)

摘要: 高血压是常见的慢性疾病,也是心脑血管病最主要的风险因素。原发性高血压是由多基因和环境因素共同作用引起的复杂疾病,但具体的发病机制仍不清楚。随着研究的深入,DNA 甲基化等表观遗传学因素在原发性高血压病理过程中起到的作用逐渐受到重视。本文总结了部分原发性高血压关联基因中 DNA 甲基化在其患病中的研究进展,阐述可受环境因素影响的 DNA 甲基标记与原发性高血压的关系,进一步了解高血压的发病机制。

关键词: 高血压;候选基因;DNA 甲基化

中图分类号:R544.1 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2017)26-5197-04

The Research Progress of Essential Hypertension Related Gene DNA Methylation*

LI Li^{1,2}, YANG Zhao-qing^{2Δ}

(1 Kunming Medical University, Kunming, Yunnan, 650500, China;

2 Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College,

Kunming, Yunnan, 650118, China)

ABSTRACT: Hypertension is a common and chronic disease, and is also the mainly risk factor of cardio-cerebrovascular disease. Essential hypertension is a complex disease caused by the common function of multiple genes and environmental factors, but the exact pathogenesis is still unclear. With the study continues, the role of DNA methylation and other epigenetic factors in pathological process with essential hypertension (EH) gradually be taken seriously. This review summarizes the research progress of some essential hypertension related methylation genes' function in the course of hypertension, to explain the relationship between DNA methylation markers which can be influenced by environment factor and essential hypertension and help us have a further understanding about the hypertension pathogenesis.

Key word: Hypertension; Candidate gene; DNA methylation

Chinese Library Classification(CLC): R544.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)26-5197-04

前言

近年来,高血压患病率在逐年的增高。并且高血压患病后会造成患病机体心、脑、肾等多个器官的损坏和衰竭,严重时可引起脑卒中、心肌梗死、心力衰竭及慢性肾病等致残致死情况^[1],对患病者的健康和生活造成严重的影响。原发性高血压(Essential Hypertension, EH)是尚未确定病因的血压升高疾病,由遗传和环境因素共同作用形成。有研究表明大约 30%~50% 的血压由遗传因素决定^[2],但环境因素在血压调节方面也起到了重要的作用。近年来通过单核苷酸多态性、全基因连锁分析、全基因关联性分析等基于 DNA 序列的研究,获得了许多与高血压相关的候选基因^[3],但这些研究仅部分解释了基因组在原发性高血压病理进程中的作用。越来越多的研究表明,介导环境因素与基因表达之间的表观遗传因素在高血压病理过程中也起到重要作用。环境因素通过 DNA 甲基化、组蛋白修饰、非

编码 RNA 等对基因的表达起到调控作用,从而影响疾病的发生^[4]。其中 DNA 甲基化是最重要的表观遗传学因子,近年来在 EH 的研究中取得了显著的进展。文章介绍相关基因的 DNA 甲基化在原发性高血压发病中的作用。

哺乳动物基因 DNA 甲基化主要发生在 DNA 序列的胞嘧啶上,由 DNA 甲基化转移酶(DNMT)催化,是以 S-腺苷甲硫氨酸为甲基供体的一系列 DNA 序列修饰反应。最常见的甲基化形式是把甲基基团加到胞嘧啶环的 5' 位置上,形成 5'-甲基胞嘧啶(5mC)^[5]。DNA 甲基化多发生在基因的启动子区域,尤其是 CpG 岛上,通过直接阻碍转录因子与甲基化的 CpG 岛结合,或是在甲基化位点结合一定的蛋白或阻遏物,起到抑制目的基因表达的作用^[6]。对全基因组 DNA 甲基化的研究有助于对高血压发病机制的研究。有研究表明外周血细胞 DNA 甲基化的升高与心血管疾病的发生存在一定的联系,且存在性别差异,主要影响男性样本^[7],表明了外周血细胞的 DNA 甲基化水

* 基金项目:国家高技术研究发展计划(863 项目)(2012AA021802)

作者简介:李莉(1991-),硕士研究生,研究方向:生物化学与分子生物学,电话:15198771571, E-mail: 15198771571@163.com

Δ 通讯作者:杨昭庆, E-mail: zyang@imbcams.com.cn

(收稿日期:2015-11-23 接受日期:2015-12-16)

平可能用以作为心血管疾病的生物标记。在高血压患者的外周血 DNA 中 5mC 低于正常人群, 血压越高, 5 mC 的水平则降低^[8]。表明全基因组 DNA 甲基化水平与高血压发病存在关联性。

1 相关基因 DNA 甲基化在原发性高血压中的作用

1.1 肾素血管紧张素系统

肾素血管紧张素系统 (renin angiotensin system, RAS) 是包含多个肽、酶和受体参与血压和水电解质调节的复杂系统。由肝脏分泌的血管紧张素原 (angiotensinogen, AGT) 进入血液循环, 在肾近球细胞产生的肾素作用下转化为血管紧张素 I (angiotensin I, *Ang-I*), 在经肺循环中的血管紧张素转化酶 (angiotensin converting enzyme, ACE) 的作用转化为血管紧张素 II (angiotensin II, *Ang-II*)。肾素血管紧张素的作用主要是通过 *Ang-I* 与其细胞受体 AT1R 结合共同完成^[9]。

1.1.1 血管紧张素原 血管紧张素原 (angiotensinogen, AGT) 基因位于染色体 1q42-43 上, 由 13 个 Kb 组成, 包括 5 个外显子, 在肝脏、心、脑中高表达, 但是在肾上腺中低表达。AGT 是控制血管紧张素生成的限速步骤, 其高表达同时增加 *Ang-II* 的高表达, 并可能最终导致多种疾病, 如高血压, 心血管疾病, 和肾损伤^[10]。AGT 基因的甲基化对 AGT 基因的表达存在一定的调节作用。对人和老鼠细胞的 AGT 基因启动子甲基化进行研究, 发现 CCAAT/ 增强子结合蛋白 (CCAAT/enhancer binding protein, CEBP) 结合在 AGT 启动子上是去甲基化过程的开始, 而 DNA 去甲基化使得 AGT 基因从非活性状态转化到活性表达^[11]。基因 DNA 的甲基化差异表达对心血管疾病的发展也存在着影响。对新生小鼠进行间歇性缺氧处理, 发现进行处理的小鼠 AGT 基因甲基化水平低于正常的小鼠且在其成年后更容易发展成为心血管疾病^[12]。

1.1.2 血管紧张素转换酶 血管紧张素转换酶 (angiotensin converting enzyme, ACE) 基因位于染色体 17q23.3 上, 约 21kb, 含 26 个外显子, 其编码产生的酶主要生理功能是把 10 肽的血管紧张素 I 转换为 8 肽血管紧张素 II, 而后者具有生物活性, 是血压调节中的重要步骤^[13,14]。ACE 基因启动子的甲基化水平对其表达起到了调节的作用, 通过细胞培养和动物模型发现 sACE 基因启动子 CpG 岛中存在甲基化的修饰, 基因的甲基化水平与 ACE 基因的表达呈反比关系, 高水平的甲基化抑制 ACE 表达, 低水平甲基化提高 ACE 的表达^[15]。而 ACE 基因启动子甲基化水平密切关系到血压水平的变化。对出生低体重的婴儿外周血 DNA 中 ACE 启动子研究表明其甲基化水平低于正常出生体重的婴儿, 但血压水平则高于正常出生体重的儿童^[16]。由环境因素引起的变化例如饮食和情绪等也会造成 ACE 基因甲基化水平的变化, 从而影响 ACE 的表达。对孕期的老鼠以低蛋白的饮食喂养, 在其后代脑组织中发现 ACE 基因启动子的 CpG 岛出现了明显的低甲基化, 其后低甲基化增加了其后代成年患高血压的风险^[17]。在重度抑郁症患者外周血 DNA 中发现 ACE 的甲基化水平低于正常人群, 且其 ACE 的浓度与心血管疾病的炎症标记明显的相关, CpG 岛甲基化的病人比较未甲基化的病人炎症标记有下降的趋势, 但没有统计学的意义^[18]。ACE 基因启动子的甲基化水平与高血压存在密切的

联系, 但其调节的机制还需进一步的研究。

1.1.3 血管紧张素 II 受体 血管紧张素 II 受体 (angiotensin II receptor) 位于染色体 3q24 上, 含 5 个外显子, 主要分布于人体的肾脏、心脏、血管平滑肌细胞、肾上腺皮质、脑、血小板及胎盘器官和组织中。AT1 受体与 *Ang-II* 结合介导的生理功能主要包括促进血管平滑肌收缩, 血管平滑肌细胞的增殖, 醛固酮的释放, 电解质的平衡等^[19,20]。AT1 启动子甲基化的水平起到调节 AT1 表达的作用。发现相较于血压正常的小鼠, 原发性高血压小鼠随着生长周期的增加其血管组织中 AT1a 启动子甲基化水平有明显的降低, 且在发展成为高血压后其基因表达水平与正常小鼠相比有明显的增高^[21]。

1.2 水盐代谢相关基因

水盐代谢包括水代谢和无机盐代谢, 对维持机体的正常生理功能起到重要的作用。水盐代谢失衡及细胞膜的离子转运异常在原发性高血压的发病中也起到十分重要的作用。水盐代谢中的基因例如 NKCC1, ADD1 等在其基因 DNA 甲基化的修饰作用下对基因表达调控产生影响, 从而对机体的血压起到调节。

1.2.1 Na⁺-K⁺-2Cl⁻ 协同转运蛋白 1 (NKCC1) 人类钠钾氯协同转运蛋白 (The Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter 1, NKCC1) 由位于染色体 5q23.3 上的 SLC12A2 基因编码, 是一种钠、钾、氯离子的协同转运蛋白, 蛋白的主要功能是把 Na⁺, K⁺, Cl⁻ 转运出细胞, 同时把水分带入细胞内^[22]。NKCC1 基因启动子的 DNA 甲基化对其表达具有调节的作用。研究发现在小鼠的心脏和血管组织中, 原发性高血压小鼠 NKCC1 基因的甲基化低于血压正常的小鼠, 且 NKCC1 基因启动子的甲基化直接下调 NKCC1 的表达量^[23]。年龄在 NKCC1 基因的调节中也起到关键的作用, 血压正常小鼠随着年龄的增长, 在心、肾脏和主动脉中甲基化转移酶 DNMT3b 和甲基化结合蛋白 MeCP2 活性逐渐增大, 使正常小鼠 NKCC1 启动子甲基化基因失活, 但高血压小鼠的甲基化转移酶的活性则较正常的小鼠低^[24]。

1.2.2 ADD1 基因 α 内收蛋白 (α -adducin, ADD1) 基因编码产生 α - 内收蛋白, 该蛋白是细胞膜骨架的组成部分, 可与离子交换相关的蛋白相互作用, 尤其与多种细胞膜 Na⁺ 转运、Na⁺-H⁺ 交换、Na⁺-K⁺-Cl⁻ 协同转运系统、Na⁺-Li⁺ 反转运及钠泵活性密切相关^[25]。ADD1 基因启动子区域的甲基化对血压调节也起到了一定的作用, 在人体外周血单核细胞中发现低水平的 ADD1 启动子甲基化会增加患高血压的风险, 在实验所选取的五个 CpG 岛位点中, 男性群体中 CpG 岛 2-5 的甲基化程度与高血压显著相关, 女性群体中 CpG 岛 1 的甲基化程度与高血压显著相关^[26]。ADD1 启动子区甲基化在预测 EH 发病风险的能力上有明显的性别差异, 这可能与女性的雌激素受体 (ESR1) 甲基化有关。

1.2.3 11- β 羟基类固醇脱氢酶 2 11- β 羟基类固醇脱氢酶 2 (11 β -HSD2) 位于染色体 16q22 上, 包含 5 个外显子, 在 NADPH 的协同下把皮质醇 (F) 转化为皮质酮 (E)。其缺乏活性时, 导致盐皮质激素激活造成细胞的高钠, 低钾, 从而使血压升高。11 β HSD2 共有四个 CpG 岛, 分别位于基因的启动子区, 第一外显子区, 第五外显子区及其下游。DNA 甲基化调节

11 β -HSD2 基因的表达在动物模型和人类细胞中已经得到证实。HSD11B2 启动子和第一外显子区的 CpG 岛发生甲基化会导致 11 β HSD2 的表达下降,使血压升高,但用 DNA 甲基化酶抑制剂作用机体后,其转录的水平提高^[27]。在高血压患病者外周血单核细胞 DNA 中发现 11 β -HSD2 启动子区甲基化水平及其表达成反比,甲基化水平越高,其表达越低,血压随之升高^[28]。此外,基因启动子区的 DNA 甲基化可以与基因突变起到协同作用从而对血压起到调节。在表观盐皮质激素过多综合征的家系研究中发现,在外显子 3C662G 位点的杂合子中,高血压患者的甲基化水平高于血压正常人群,表明 HSD11B2 甲基化在杂合子中有调节基因表达的作用^[29]。

2 高血压关联性疾病的候选基因甲基化

2.1 ABCG1 和 ABCG4 基因

ABCG1 和 ABCG4 同属膜转运蛋白 ATP- 结合盒家族。人类 ATP 结合盒转运体 G1(ATP-binding cassette transporter G1, ABCG1)基因位于染色体 21q22.3 上,编码的蛋白在肺,胸腺、肾上腺、脑、脾和巨噬细胞中高表达,在维持细胞内胆固醇和脂质平衡中起着重要的作用^[30]。在中国汉族中发现患有冠心病的人群中其 ABCG1 基因启动子的甲基化率高于正常的人群,认为 ABCG1 基因的高甲基化增加冠心病的风险^[31]。人类 ABCG4 基因位于染色体 11q23.3 上,其功能可能被肝 X 受体和维甲酸 X 受体调节升高,也与调节胆固醇外排并与转运到高密度脂蛋白中有关^[32]。通过外周血基因芯片和相关基因启动子的甲基化分析发现原发性高血压患者外周血中 ABCG4 基因甲基化水平明显低于正常组,认为 ABCG4 基因的低甲基化可能在原发性高血压的发病过程中起到了一定作用^[33]。

2.2 PLA2G7 基因

PLA2G7 基因位于染色体 6p21.2-p12 上,基因编码产生脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA₂),是一种心血管疾病中的新标记物,其在血液中与低密度脂蛋白结合,并可水解低密度脂蛋白氧化修饰产生的氧化磷脂酰胆碱生成具有促炎作用的物质^[34]。在人体外周血单核细胞 DNA 中研究发现 PLA2G7 基因甲基化与冠心病密切相关,存在性别差异,在女性群体中 PLA2G7 的甲基化可能影响其总胆固醇,甘油三酯和载脂蛋白 B 的量,在心血管疾病中起到重要的作用^[35]。

2.3 ADRB3 基因

β 3 肾上腺素能受体基因(β 3-Adrenergic receptor, ADRB3)位于染色体 8p11.23 上,基因主要编码产生 ADRB3 蛋白,该蛋白存在于脂肪细胞中,该基因的变异与脂质的代谢相关,从而间接影响血压。在肥胖人群外周血和内脏脂肪组织中发现,血液和内脏脂肪 ADRB3 启动子区高水平的甲基化可以降低低密度脂蛋白和高血压^[36]。

高血压是复杂的多因素引起的疾病,尤其与环境作用因素密切相关。对 DNA 甲基化研究有助于进一步的了解高血压的发病机制以及环境与基因的相互作用。目前,原发性高血压 DNA 甲基化研究总体还较少,主要的难点是高血压的调节是由血管内皮,肾脏,脂肪等组织和器官联合作用完成的复杂过程,甲基化存在组织及细胞的特异性,很多结果来自细胞培养

或动物实验,因此在未来的研究中,还需进行更多的人群研究,鉴定 EH- 关联基因的表现遗传学标记,并阐明其在 EH 发生和发展中的作用机制,筛选血液等组织和细胞特异性的甲基化标记。结合甲基化标记能被环境因素如饮食、锻炼、药物等调节的特性,探索新的预防和治疗策略。

参考文献(References)

- [1] 刘力生. 中国高血压防治指南 2010 [J]. 中华高血压杂志, 2011, (8): 701-743
Liu li-sheng. 2010 Chinese guidelines for the management of hypertension[J]. Chinese journal of hypertension, 2011, (8): 701-743
- [2] WE Miall, PD Oldham. The hereditary factor in arterial blood-pressure [J]. Br Med, 1963, 1(5323): 75-80
- [3] 罗浩军, 廖晓岗, 唐吟宇. 中国汉族原发性高血压候选基因研究进展 [J]. 医学综述, 2008, 14(8): 1158-1161
Luo Hao-jun, Liao Xiao-gang, Tang Yin-yu. Candidate Genes of Essential Hypertension in Chinese Han Population [J]. Medical Recapitulate, 2008, 14(8): 1158-1161
- [4] J P Hamilton. Epigenetics: principles and practice [J]. Dig Dis, 2011, 29(2): 130-135
- [5] T H. Bestor. The DNA methyltransferases of mammals [J]. Hum Mol Genet, 2000, 9(16): 2395-2402
- [6] 苏玉, 王溪, 朱卫国. DNA 甲基转移酶的表达调控及主要生物学功能[J]. 遗传, 2009, 31(11): 1087-1093
Su Yu, Wang Xi, Zhu Wei-guo. DNA methyltransferases: the role in regulation of gene expression and biological processes [J]. Hereditas (Beijing), 2009, 31(11): 1087-1093
- [7] M Kim, T I Long, K Arakawa, et al. DNA methylation as a biomarker for cardiovascular disease risk[J]. PLoS One, 2010, 5(3): e9692
- [8] Z Maghbooli, A Hossein-Nezhad, B. Larijani, et al. Global DNA methylation as a possible biomarker for diabetic retinopathy [J]. Diabetes Metab Res Rev, 2015, 31(2): 183-189
- [9] A Mendoza, E Lazartigues. The compensatory renin-angiotensin system in the central regulation of arterial pressure: new avenues and new challenges[J]. Ther Adv Cardiovasc Dis, 2015, 9(4): 201-208
- [10] M Demura, Y Demura, Y Takeda, et al. Dynamic regulation of the angiotensinogen gene by DNA methylation, which is influenced by various stimuli experienced in daily life [J]. Hypertens Res, 2015, 38(8): 519-527
- [11] F Wang, M Demura, Y Cheng, et al. Dynamic CCAAT/enhancer binding protein-associated changes of DNA methylation in the angiotensinogen gene[J]. Hypertension, 2014, 63(2): 281-288
- [12] A Chu, D Gozal, R Cortese, et al. Cardiovascular dysfunction in adult mice following postnatal intermittent hypoxia [J]. Pediatr Res, 2015, 77(3): 425-433
- [13] M Contini, E Compagnino, G Cattadori, et al. ACE-Inhibition Benefit on Lung Function in Heart Failure is Modulated by ACE Insertion/Deletion Polymorphism [J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2016 [Epub ahead of print]
- [14] S Kumar, N Dietrich, K Kornfeld. Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Inhibitor Extends Caenorhabditis elegans Life Span [J]. PLoS Genet, 2016, 12(2): e1005866
- [15] G Riviere, D Lienhard, T Andrieu, et al. Epigenetic regulation of somatic angiotensin-converting enzyme by DNA methylation and

- histone acetylation[J]. *Epigenetics*, 2011, 6(4): 478-489
- [16] M Rangel, J C dos Santos, P H Ortiz, et al. Modification of epigenetic patterns in low birth weight children: importance of hypomethylation of the ACE gene promoter[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e106138
- [17] R Goyal, D Goyal, A Leitzke, et al. Brain renin-angiotensin system: fetal epigenetic programming by maternal protein restriction during pregnancy[J]. *Reprod Sci*, 2010, 17(3): 227-238
- [18] P Zill, TC Baghai, C Schule, et al. DNA methylation analysis of the angiotensin converting enzyme (ACE) gene in major depression[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40479
- [19] C P Carneiro de Morais, J Z Polidoro, D L Ralph, et al. Proximal tubule NHE3 activity is inhibited by beta-arrestin-biased angiotensin II type 1 receptor signaling [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2015, 309(8): C541-550
- [20] A Poduri, D L Rateri, D A Howatt, et al. Fibroblast Angiotensin II Type 1a Receptors Contribute to Angiotensin II-Induced Medial Hyperplasia in the Ascending Aorta [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(9): 1995-2002
- [21] F Pei, X Wang, R Yue, et al. Differential expression and DNA methylation of angiotensin type 1A receptors in vascular tissues during genetic hypertension development [J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, 402(1-2): 1-8
- [22] S Alshahrani, MM Almutairi, S Kursan, et al. Increased Slc12a1 expression in beta-cells and improved glucose disposal in Slc12a2 heterozygous mice[J]. *J Endocrinol*, 2015, 227(3): 153-165
- [23] H A Lee, I Baek, Y M Seok, et al. Promoter hypomethylation upregulates Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter 1 in spontaneously hypertensive rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 396(2): 252-257
- [24] H M Cho, H A Lee, H Y Kim, et al. Expression of Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter 1 is epigenetically regulated during postnatal development of hypertension[J]. *Am J Hypertens*, 2011, 24(12): 1286-1293
- [25] A Kundu, A Anand. Computational study of ADD1 gene polymorphism associated with hypertension [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2013, 65(1): 13-19
- [26] L N Zhang, PP Liu, L Wang, et al. Lower ADD1 gene promoter DNA methylation increases the risk of essential hypertension[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63455
- [27] R Alikhani-Koopaei, F Fouladkou, F J Frey, et al. Epigenetic regulation of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression[J]. *J Clin Invest*, 2004, 114(8): 1146-1157
- [28] S Friso, F Pizzolo, S W Choi, et al. Epigenetic control of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2 gene promoter is related to human hypertension[J]. *Atherosclerosis*, 2008, 199(2): 323-327
- [29] F Pizzolo, S Friso, F Morandini, et al. Apparent Mineralocorticoid Excess by a novel mutation and epigenetic modulation by HSD11B2 promoter methylation [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100(9): E1234-1241
- [30] D Z Scherrer, V H Zago, E S Parra, et al. Asymptomatic individuals with high HDL-C levels overexpress ABCA1 and ABCG1 and present miR-33a dysregulation in peripheral blood mononuclear cells [J]. *Gene*, 2015, 570(1): 50-56
- [31] P Peng, L Wang, X Yang, et al. A preliminary study of the relationship between promoter methylation of the ABCG1, GALNT2 and HMGCR genes and coronary heart disease[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e102265
- [32] O Sano, S Ito, R Kato, et al. ABCA1, ABCG1, and ABCG4 are distributed to distinct membrane meso-domains and disturb detergent-resistant domains on the plasma membrane [J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e109886
- [33] 郭军, 蔡军, 李自成. 原发性高血压患者 ABCG4 基因启动子的甲基化差异分析[J]. *中国病理生理杂志*, 2011, 27(11): 2067-2071
Guo Jun, Cai Jun, Li Zi-cheng. Analysis of abnormal methylation in ABCG4 gene promoter in primary hypertension [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2011, 27(11): 2067-2071
- [34] G L Crawford, J Boldison, D A Copland, et al. The role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in a murine model of experimental autoimmune uveoretinitis [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0122093
- [35] D Jiang, D Zheng, L Wang, et al. Elevated PLA2G7 gene promoter methylation as a gender-specific marker of aging increases the risk of coronary heart disease in females[J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e59752
- [36] S P Guay, D Brisson, B Lamarche, et al. ADRB3 gene promoter DNA methylation in blood and visceral adipose tissue is associated with metabolic disturbances in men[J]. *Epigenomics*, 2014, 6(1): 33-43