DOI:10.16016/j.1000-5404.201509121

重庆地区汉族人群 FGF23 基因多态性与冠心病的相关性分析

蔡 鹏[1],仲伟天[1],彭 岩[1],贾 敏[1],王 燕[2],白 云[2],王旭开[1] (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所心血管内科[1];400038 重庆,第三军医大学基础医学部分子遗传学教研室[2])

[摘要] **目的** 探索重庆地区汉族人群中成纤维细胞生长因子 23(FGF23)基因多态性同冠心病发病的相关性。**方法** 筛选 2014 年 5 月至 2015 年 3 月在我科接受冠脉造影检查的重庆汉族人群 431 例,其中冠心病(CHD)组 231 例与对照组 200 例。提取血液 DNA 样本后采用 Sequenom Massarray 系统对于 rs7955866、rs13312756、rs3812822 这 3 个 FGF23 基因 TagSNP 位点进行基因分型,对其等位基因、基因型及单体型的组间分布进行统计学分析。**结果** CHD 组 rs7955866 A 等位基因和 rs3812822 C 等位基因频率明显高于对照组($P<0.001$),两位点组间基因型分布也存在明显差异($P<0.01$)。单因素 Logistic 回归分析示 rs7955866 GA 基因型携带者患病风险为 GG 基因型的 2.146 倍,具有统计学意义($P=0.01$,$OR=2.146$,95% CI[1.393 ~ 3.306]),rs3812822 CT 基因型与 TT 基因型携带者患病风险亦具有统计学差异($P=0.01$,$OR=2.010$,95% CI[1.327 ~ 3.046])。多因素非条件 Logistic 回归分析调整性别、年龄、BMI、吸烟饮酒史、高血压病史、高胆固醇血症等混杂因素后,结果显示 rs7955866 及 rs3812822 位点均与 CHD 发病独立相关($P<0.001$,$OR=2.478$,95% CI[1.613 ~ 3.806];$P<0.001$,$OR=2.123$,95% CI[1.439 ~ 3.132])。单体型 rs7955866-rs13312756-rs3812822 统计学分析结果显示,单体型 ACC 具有增加冠心病患病风险的作用($P<0.001$;$OR=2.074$,95% CI[1.391 ~ 3.091])。**结论** 重庆汉族人群 FGF23 基因多态性及与冠心病患病风险相关。

[关键词] 成纤维细胞生长因子 23;单核苷酸多态性;冠心病;动脉粥样硬化
[中图法分类号] R195.4;R394.5;R541.4 [文献标志码] A

Correlation of FGF23 genetic polymorphism and coronary heart disease in Chongqing Han population

Cai Peng[1], Zhong Weitian[1], Peng Yan[1], Jia Min[1], Wang Yan[2], Bai Yun[2], Wang Xukai[1] ([1]Department of Cardiology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042; [2]Department of Medical Genetics, College of Basic Medical Sciences, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To explore the correlation of fibroblast growth factor 23 (FGF23) genetic polymorphism and coronary heart disease (CHD) in Chongqing Han population. **Methods** A total of 431 subjects were selected from the Department of Cardiology, from May 2014 to March 2015, and were divided into CHD group ($n=231$) and control group ($n=200$). All the subjects were unrelated Han populations, and were examined by coronary angiography. Sequenom Massarray system was used for genotyping 3 Tag single-nucleotide polymorphisms (TagSNPs) of FGF23 gene, namely, rs7955866, rs13312756, and rs3812822. The frequencies of alleles, genotypes, and haplotypes of the TagSNPs were compared between the CHD group and the control group. **Results** The frequencies of rs7955866 A allele and rs3812822 C allele in the CHD group were significantly higher than those in the control group ($P<0.001$), and the genotype distribution of the 2 loci was significantly different between the 2 groups ($P<0.01$). Univariate logistic regression analysis showed that the risk of CHD in the subjects carrying rs7955866 GA

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81170281)
[通信作者] 王旭开,E-mail: wangxuk@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20151229.1537.011.html(2015-12-29)

genotype was 2.146 folds that of the ones carrying GG genotype ($P=0.01$, $OR=2.146$, 95% CI: 1.393 ~ 3.306), and the subjects with rs3812822 CT genotype had higher CHD risk than the ones with TT genotype ($P=0.01$, $OR=2.010$, 95% CI: 1.327 ~ 3.046). After adjusting the confounding factors like gender, age, BMI, smoking history, drinking history, history of hypertension and hypercholesterolemia, the results showed that SNPs at rs7955866 ($P<0.001$, $OR=2.478$, 95% CI: 1.613 ~ 3.806) and rs3812822 ($P<0.001$, $OR=2.123$, 95% CI: 1.439 ~ 3.132) were independently associated with CHD incidence. The ACC haplotype of rs7955866-rs13312756-rs3812822 had an effect of increasing CHD risk ($P<0.001$; $OR=2.074$, 95% CI: 1.391 ~ 3.091). **Conclusion** FGF23 genetic polymorphism is related to the risk of CHD in Chongqing Han population.

[**Key words**] fibroblast growth factor 23; single nucleotide polymorphism; coronary heart disease; atherosclerosis

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81170281). Corresponding author: Wang Xukai, E-mail: wangxuk@163.com

成纤维细胞生长因子23(FGF23)是一种在磷酸盐和维生素D代谢中扮演重要角色的骨源性激素样物质。近年研究报道显示血清FGF23浓度升高可增加冠心病(CHD)患病风险,其相关作用机制与FGF23能在血管内皮细胞和平滑肌细胞中促进活性氧簇(ROS)产生引起炎性反应,并诱导血管平滑肌细胞收缩迁移有关[1-2]。目前发现FGF23基因rs7955866(p.T239M)等部分位点与血清FGF23浓度及生理活性改变相关[3],并因此促进佝偻病、前列腺癌及卵巢癌等临床疾病的发生和发展[4-5]。而FGF23基因是否亦存在与冠心病发病的相关性,目前尚未见文献报道。冠心病是一种与遗传因素密切相关的多因素疾病,其易感基因的研究发现对于解析CHD发病的分子遗传学机制以及高危人群的筛查和预测、临床早期诊疗等具有重要的科学价值[6]。因此本课题组针对FGF23基因与冠心病的相关性,依托重庆地区汉族人群开展了本次病例对照研究。

1 对象与方法

1.1 伦理声明

该项研究符合赫尔辛基宣言并经第三军医大学大坪医院野战外科研究所伦理委员会审核批准,所有参与该试验的人群均知情同意。

1.2 试验对象

该试验研究人员筛选2014年5月至2015年3月在我科住院首次接受冠脉造影检查的重庆汉族人群431例,划分为CHD组与对照组进行病例对照研究。CHD组诊断依据采纳1979年WHO颁布的缺血性心脏病诊断标准,并经冠脉造影检查明确诊断(以左主干、左前降支、回旋支及右冠状动脉4支血管中至少1支血管病变狭窄程度≥50%且排除冠脉痉挛、肌桥、创伤、先天畸形为诊断依据),而冠脉造影无异常的非CHD人群划分为对照组[7]。本研究共纳入CHD组231例样本,其中男性140例,女性91例,年龄(63.9±9.6)岁,对照组纳入200例样本,其中男性97例,女性103例,年龄(62.2±10.7)岁。本次入选样本均为相互无血缘关系的重庆地区汉族人群,排除罹患肿瘤、血液病、甲状腺及甲状旁腺疾病、肝炎、肝功能不全(ALT>2 ULN;1ULN=40 U/L)、肾功能不全(Cr≥133 μmol/L)及自身免疫病者。

1.3 试验方法

1.3.1 临床资料采集 使用调查问卷的形式采集受试者性别、年龄、吸烟史、饮酒史、用药史、既往史及家族史信息,其中每年吸烟≥100支定义为吸烟者[8],每年饮酒≥12次定义为饮酒者[9]。实地测量受试者身高、体重并计算体重指数(BMI),采用已校准的水银柱血压计测量受试者坐位上臂血压,以柯氏音第1音及消失音(第5音)确定收缩压和舒张压水平。受试者空腹12 h后采集肘前静脉血,使用BECKMAN DXC800全自动生化分析仪检测甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、糖化血红蛋白(HbA1c)、空腹血糖(FPG)、血肌酐(Scr)、尿酸(UA),罗氏cobas e601电化学发光法检测受试者血清C肽(CP)、胰岛素浓度(INS),并同法检测受试者餐后2 h血糖浓度(2hPBG)。

1.3.2 DNA提取 清晨由肘前静脉采集2 mL的空腹静脉血放置于EDTA抗凝管,-20 ℃冷冻保存。采用天根血液基因组提取试剂盒DP332(北京,中国)对血液样本进行DNA提取,所得DNA样本于-70 ℃条件下保存待用。

1.3.3 基因位点筛选 首先从国际人类基因组单体型图计划网站上检索并下载中国汉族人群FGF23基因SNP基因型资料(http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/),并在国家生物技术信息中心SNP数据库及英

国 Sanger 研究所生物信息库中核对其资料信息(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp, http://www.ensembl.org/index.html)。然后采用 Haploview 4.2 软件进行标签 SNP(TagSNP)的选取,采取的标准为 $r^2 \geq 0.8$ 和中国汉族人群最小基因频率 MAF(CHB)及全球最小基因频率 MAF(GLO)均 >0.1。按照上述方法共选取 FGF23 基因的 3 个标签 TagSNP 位点,其位点信息见表 1。

表 1 FGF23 基因标签 SNP 位点信息

SNPs	MAF (CHB)	MAF (GLO)	位置	功能区
rs7955866	0.19	0.1474	Chr12:4349810	missense
rs13312756	0.387	0.244	Chr12:4357858	intron variant
rs3812822	0.201	0.1597	Chr12:4359496	upstream variant -487A>G

1.3.4 基因分型 本次试验采用 Sequenom 公司出品的 Massarray 系统进行基因分型,该系统具有灵敏度高(准确度 > 99.7%)、误差小、可同时多位点多样本检测的特点[10],技术服务由北京六合华大基因科技有限公司提供(深圳,中国)。首先采用 AssayDesigner3.1 软件进行引物设计,再通过使用 384 孔板点样完成 PCR 扩增反应、SAP 反应、延伸反应后去盐,上述反应引物序列见表 2。使用 Typer4.0 软件输入样本信息及建板,再次点样运行 Mass ARRAY 系统,完成最后一步 CHIP 扫描后使用 Typer4.0 软件进行基因型分析。

1.4 统计学分析

首先采用标准 χ^2 检验或者 Fisher 精确检验的方法对每个 SNP 位点分型结果进行 CHD 组及对照组 Hardy-Weinberg 平衡检验。使用 SPSS18.0 软件进行独立样本 t 检验、χ^2 检验或非参数检验来确定年龄、血压、血脂、血糖及胰岛素等临床信息是否具有组间统计学差异。在线使用 SHEsis 软件进行基因型、等位基因、单体型的病例对照分析及连锁不平衡(LD)分析(http://analysis.bio-x.cn/myAnalysis.php),采用非条件 Logistic 回归方法对阳性位点进行单因素及多因素回归分析。上述分析结果具有统计学差异的界点均定义为 $P<0.05$,SPSS 18.0 软件及 SHEsis 软件分析中均定义 95% 的可信区间(95% *CI*),且频率 <0.03 的单体型会在 SHEsis 软件单体型分析中舍去。

2 结果

2.1 临床基本资料组间分析

统计分析结果显示,该病例对照试验中年龄、BMI、饮酒史、收缩压、舒张压及空腹 C 肽浓度不存在 CHD 与对照组的组间统计学差异($P>0.05$),而性别、高血压病史、吸烟史、心血管病家族史、TC、TG、HDL-C、LDL-C、ApoA1、ApoB、HbA1c、FPG、2 hPBG、INS 在 CHD 组及对照组间存在统计学差异($P<0.05$),具体结果见表 3。

表 2 基因分型引物图

SNPs	PCR 引物	Tm (℃)	延伸引物	方向
rs7955866	正向引物:5′- ACGTTGGATGAGCGACCCTAGATGAACTTG-3′	55.6	5′- TGCGCAGGGCCGGCT-3′	反向延伸
	反向引物:5′- ACGTTGGATGTCGAGTGAACACGCACGCTG-3′			
rs13312756	正向引物:5′- ACGTTGGATGCTTTGAGGTGTTTTCTCACG-3′	45	5′-TAGATATTGAAAAAGACTGGAT-3′	正向延伸
	反向引物:5′- ACGTTGGATGGTAATGTGGTGAAAGCAGGG-3′			
rs3812822	正向引物:5′- ACGTTGGATGGCTCACAGATTAAGCACTGG-3′	46.3	5′- TCCTGTCGAGTTTACTTATT-3′	正向延伸
	反向引物:5′- ACGTTGGATGAGGCAATTAATCTCCTGTCG-3′			

表 3 重庆汉族人群 CHD 组与对照组基本资料的比较

组别	*n*	男/女 (例)	年龄 (岁,$\bar{x}\pm s$)	BMI (kg/m^2,$\bar{x}\pm s$)	高血压病史 [例(%)]	吸烟史 [例(%)]	饮酒史 [例(%)]
CHD 组	231	140/91[a]	63.9±9.6	24.4±3.3	150(54.9%)[a]	81(35.1%)[a]	54(23.4%)
对照组	200	97/103	62.2±10.7	24.1±3.2	108(54%)	50(25%)	32(16%)

组别	心血管病家族史[例(%)]	SBP (mmHg,$\bar{x}\pm s$)	DBP (mmHg,$\bar{x}\pm s$)	TC (mmol/L,$\bar{x}\pm s$)	TG (mmol/L,$\bar{x}\pm s$)	HDL-C (mmol/L,$\bar{x}\pm s$)	LDL-C (mmol/L,$\bar{x}\pm s$)
CHD 组	57(24.7%)[a]	128.8±18.4	75.6±10.7	4.5±1.1[a]	1.8±1.2[a]	1.1±0.3[a]	2.9±0.9[a]
对照组	31(15.5%)	126.2±16.8	74.7±10.1	4.2±1.0	1.5±0.9	1.2±0.3	2.7±0.8

组别	ApoA1 (g/L,$\bar{x}\pm s$)	ApoB (g/L,$\bar{x}\pm s$)	HbA1c (%,$\bar{x}\pm s$)	FPG (mmol/L,$\bar{x}\pm s$)	2 h PBG (mmol/L,$\bar{x}\pm s$)	CP (ng/mol,$\bar{x}\pm s$)	INS (pmol/L,$\bar{x}\pm s$)
CHD 组	1.2±0.2[a]	0.9±0.3[a]	5.9±0.6[a]	5.5±1.1[a]	9.7±2.9[a]	2.8±1.8	76.0±72.9[a]
对照组	1.3±0.2	0.8±0.3	5.8±0.9	5.3±1.3	8.4±2.8	2.4±0.7	54.7±28.7

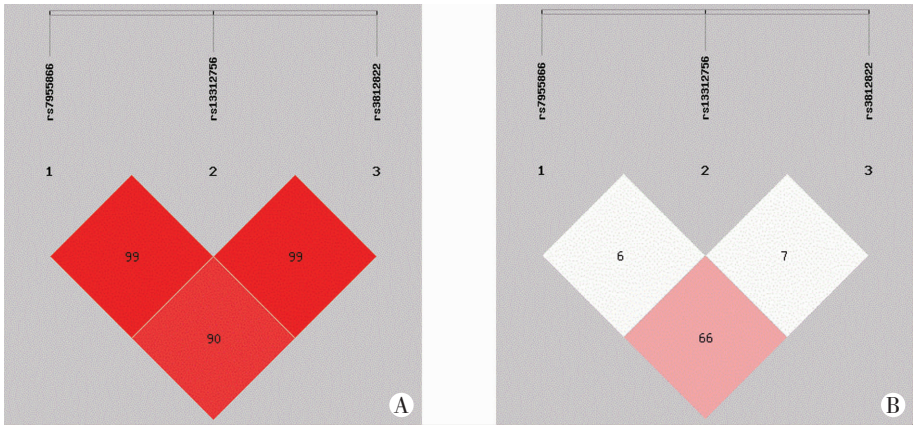
a:$P<0.05$,与对照组比较

表 4 FGF23 基因型和等位基因在 CHD 组及对照组的组间分布比较(n =431)

SNPs	等位基因(1/2)	组别	基因型[例(%)]			P	等位基因[例(%)]		OR(95% CI)	P
			1/1	1/2	2/2		1	2		
rs7955866	A/G	CHD 组	5(0.022)	84(0.364)	142(0.615)	<0.001*	94(0.203)	368(0.797)	2.015(1.372~2.959)	<0.001*
		对照组	1(0.005)	43(0.215)	156(0.780)		45(0.113)	355(0.887)		
rs13312756	C/G	CHD 组	140(0.606)	82(0.355)	9(0.039)	0.229	362(0.784)	100(0.216)	1.305(0.954~1.786)	0.096
		对照组	107(0.535)	80(0.400)	13(0.065)		294(0.735)	106(0.265)		
rs3812822	C/T	CHD 组	8(0.035)	92(0.398)	131(0.567)	0.002	108(0.234)	354(0.766)	1.836(1.289~2.615)	<0.001*
		对照组	3(0.015)	51(0.255)	146(0.730)		57(0.142)	343(0.858)		

表 5 FGF23 基因多态性导致 CHD 患病风险的 Logistic 回归分析

SNPs	单因素非条件 Logistic 回归分析				多因素非条件 Logistic 回归分析		
	组别	P	OR	95% CI	P	OR	95% CI
rs7955866	AG:GG	0.01	2.146	1.393~3.306	<0.001	2.478	1.613~3.806
rs3812822	CT:TT	0.01	2.010	1.327~3.046	<0.001	2.123	1.439~3.132



A:LD 分析:|D′|×100(图示数值);B:LD 分析:R^2×100(图示数值)

图 1 FGF23 基因分型结果连锁不平衡(LD)分析 [配色方案:|D′|(R^2)<0.5:白色,0.5<|D′|(R^2)≤0.7:粉色,0.7<|D′|(R^2)≤0.9:浅红,|D′|(R^2)>0.9:深红]

2.2 哈温平衡检验

本实验 3 个 SNP 位点在对照组的基因频率分布经标准 χ^2 检验或 Fisher 精确检验后均符合哈温平衡(P>0.05),具有群体代表性。

2.3 等位基因及基因型组间频率分布

使用 SHEsis 在线分析发现 CHD 组 rs7955866 A 等位基因和 rs3812822 C 等位基因频率明显高于对照组(P<0.001,表 4),两位点组间基因型分布也存在明显差异(P<0.01,表 4),然而 rs13312756 位点等位基因及基因型分布未发现统计学差异(P>0.05)。单因素 Logistic 回归分析示 rs7955866 GA 基因型携带者患病风险为 GG 基因型的 2.146 倍,具有统计学意义(P<0.05),rs3812822 CT 基因型与 TT 基因型携带者患病风险亦具有统计学差异(P<0.05)。多因素非条件 Logistic 回归分析调整性别、年龄、BMI、吸烟饮酒史、高血压病史、高胆固醇血症等混杂因素后,结果显示 rs7955866 及 rs3812822 位点均与 CHD 发病独立相关(P<0.001),见表 5。

2.4 单体型分析

使用 SHEsis 在线分析软件首先进行连锁不平衡(LD)分析,参照图 1 中分析结果,上述 3 位点间|D′|均≥0.9,可选择 rs7955866-rs13312756-rs3812822 组成 FGF23 基因单体型。进一步单体型分析结果显示携带 ACC 单体型的人群 CHD 发病风险上升到 2.074 倍,该单体型在 CHD 组分布频率明显高于对照组(P<0.001),见表 6。

表 6 CHD 组与对照组组间 FGF23 单体型分布比较

单体型	单体型分布频率		*P*	*OR*	95% *CI*
	CHD 组	对照组			
A C C	0.190	0.102	<0.001	2.074	1.391 ~ 3.091
G C C	0.044	0.040	0.796	1.092	0.560 ~ 2.129
G C T	0.536	0.582	0.191	0.834	0.635 ~ 1.095
G G T	0.216	0.265	0.100	0.768	0.561 ~ 1.052

3 讨论

FGF23 作为成纤维细胞生长因子家族的最新成员,是一种来源于骨细胞和成骨细胞的激素样物质,其经典作用为调节机体磷酸盐和 1α,25 一羟基维生素 D[1,25(OH)D]平衡,而目前研究发现其同时与诱导炎性反应,引起细胞增殖迁移有重要联系[11]。目前多项基础及临床研究表明 FGF23 浓度及活性的改变与冠心病、颈动脉斑块、缺血性脑卒中等动脉粥样硬化性疾病的发病风险有关,而机体 FGF23 基因多态性的差别能引起 FGF23 浓度及功能的改变,Takeo 等[6]研究发现 rs7955866 位点等位基因差异可导致血清 FGF23 浓度改变进而与肺气肿发病相关,此外,Minna Pekkinen 等[12]尽管在其试验中未发现该基因差异可引起 FGF23 浓度改变,但其与血清甲状旁腺素(P-PTH)及尿磷/尿肌酐(U-Pi/U-Crea)相关,也证明了 rs7955866 是一个具有病理生理功能的位点。而上述研究均提示 FGF23 基因多态性与冠心病相关的可能性。

本次临床试验中 rs7955866、rs13312756、rs3812822 最小基因频率分别为 0.161、0.239 及 0.191,该实验结果与人类基因组单体型图计划网站上公布的中国汉族人群 SNP 最小基因频率结果接近,且本实验对照组基因频率分布符合哈温平衡,具有重庆地区汉族人群群体代表性。通过本次病例对照研究发现 rs7955866、rs3812822 基因型及等位基因差异与冠心病发病独立相关, rs7955866-rs13312756-rs3812822 单体型 ACC 可增加中国汉族人群冠心病患病风险。rs7955866 和 rs3812822 位点分别位于 FGF23 基因的外显子和启动子区域,其中 rs7955866(p.T239M)尚是该基因片段中的错义位点,其等位基因的改变引起翻译过程中苏氨酸(Thr)与蛋氨酸(Met)的转变[13],Minna Pekkinen 等[12]的临床研究均证实此种错义改变可影响血清 FGF23 的表达程度及生物活性,rs7955866 单核苷酸多态性可能亦因此与冠心病相关。启动子区 rs3812822 位点目前未见文献报道,其致病机制尚不清楚,Hoogendoorn 等[14]调查研究显示启动子区域大约 1/3 的 SNP 位点可显著影响基因编码产物水平,这与启动子区域控制基因转录的起始时间和表达程度相关,rs3812822 C 等位基因可能亦因此导致外周血 FGF23 水平升高而进一步促进动脉粥样硬化性疾病的发生与发展。人类基因组单体型相对于单个等位基因往往具有更好地个体代表性,能更显著地反应该基因多态性的致病风险[15-16]。本次试验中,单体型分析结果显示 rs7955866-rs13312756-rs3812822 单体型 ACC 的致病风险(*OR* = 2.074)高于 rs7955866 A 或 rs3812822 C 单个等位基因导致冠心病的发病风险(*OR* = 2.015,*OR* = 1.836),能更准确的预测冠心病的高危人群。

2015 年大样本综合 GWAS meta 分析(n = 185 000)结果显示,目前已鉴定出 50 多个与 CHD 关联的基因和位点,而上述基因位点多与血脂浓度、脂蛋白代谢、高血压等 CHD 传统危险因素相关,FGF23 等 CHD 非传统危险因素的研究仍需在冠心病分子遗传学研究领域进一步补充[17]。此外该次研究中大多数为欧裔人群,东亚人群只占 6%,而样本种族来源可以严重影响研究结果。例如 PHACTR1 rs12526463 位点尽管在欧洲临床研究中证明是 CHD 易感基因,然而由于其最小基因频率(MAF)过低,在中国汉族人群中无法得到相应结论,再如中国汉族人群 CHD 易感基因位点 rs6903956 因其在欧裔人群中 MAF 明显升高一直无法得到欧裔人群的阳性结果,足见易感基因分析的种族特异性[18]。本次病例对照研究具有明显的种族性和地域性,可真实有效地反应重庆地区汉族人群的基因分布特点且消除他区域他种族的混杂影响。

综上所述,此次临床研究发现 FGF23 基因多态性与重庆地区汉族人群冠心病发病存在相关性,在遗传流行病学角度可以将 FGF23 基因作为冠心病发病的易感基因。据笔者所知,目前国内外尚未见 FGF23 基因与冠心病等动脉粥样硬化性疾病发病相关的报道,此次研究发现为冠心病等动脉粥样硬化性疾病的基因诊断及个体化治疗提供了更宝贵的分子遗传学依据。然而本次病例对照试验仅为证实 FGF23 基因多态性与冠心病相关性的研究,在后续的研究方案中,本课题组将拓展临床试验规模,在重庆汉族人群中进一步探讨 FGF23 基因多态性与血清 FGF23 浓度的相关性,并借助细胞及动物模型深入探讨 FGF23 基因多态性致病的相关作用机制,更全面深入的了解 FGF23 基因多态性致病机理。

参考文献:

[1] Six I, Okazaki H, Gross P, *et al*. Direct, acute effects of Klotho and FGF23 on vascular smooth muscle and endothelium[J]. PLoS One, 2014, 9(4): e93423. DOI:10.1371/journal.pone.0093423

[2] di-Giuseppe R, Kuhn T, Hirche F, *et al*. Plasma fibroblast growth factor 23 and risk of cardiovascular disease: results from the EPIC-Germany case-cohort study[J]. Eur J Epidemiol, 2015, 30(2): 131-141. DOI:10.1007/s10654-014-9982-4

[3] Ishii T, Gemma A, Kida K. Senescence is involved in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease through effects on telomeres and the anti-aging molecule fibroblast growth factor 23[J]. Geriatr Gerontol Int, 2015, 15(7): 827-833. DOI:10.1111/ggi.12354

[4] Kim H J, Kim K H, Lee J, *et al*. Single nucleotide polymorphisms in fibroblast growth factor 23 gene, FGF23, are associated with prostate cancer risk[J]. BJU Int, 2014, 114(2): 303-310. DOI:10.1111/bju.12396

[5] Meng Q H, Xu E, Hildebrandt M A, *et al*. Genetic variants in the fibroblast growth factor pathway as potential markers of ovarian cancer risk, therapeutic response, and clinical outcome[J]. Clin Chem, 2014, 60(1): 222-232.

[6] Miller C L, Assimes T L, Montgomery S B, *et al*. Dissecting the causal genetic mechanisms of coronary heart disease[J]. Curr Atheroscler Rep, 2014, 16(5): 406. DOI:10.1007/s11883-014-0406-4

[7] Yu C, Yan Q, Fu C, *et al*. CYP4F2 genetic polymorphisms are associated with coronary heart disease in a Chinese population[J]. Lipids Health Dis, 2014, 13: 83.

[8] Fang H, Luo X, Wang Y, *et al*. Correlation between single nucleotide polymorphisms of the ACTA2 gene and coronary artery stenosis in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Exp Ther Med, 2014, 7(4): 970-976. DOI:10.3892/etm.2014.1510

[9] Galan I, Valencia-Martin J L, Guallar-Castillon P, *et al*. Alcohol drinking patterns and biomarkers of coronary risk in the Spanish population[J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2014, 24(2): 189-197.

[10] Yin L, Cai W J, Liu C X, *et al*. Analysis of PTEN methylation patterns in soft tissue sarcomas by MassARRAY spectrometry[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e62971.

[11] Ky B, Shults J, Keane M G, *et al*. FGF23 modifies the relationship between vitamin D and cardiac remodeling[J]. Circ Heart Fail, 2013, 6(4): 817-824. DOI:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.112.000105

[12] Pekkinen M, Laine C M, Makitie R, *et al*. FGF23 gene variation and its association with phosphate homeostasis and bone mineral density in Finnish children and adolescents[J]. Bone, 2015, 71: 124-130. DOI:10.1016/j.bone.2014.10.013

[13] Tangri N, Alam A, Wooten E C, *et al*. Lack of association of Klotho gene variants with valvular and vascular calcification in Caucasians: a candidate gene study of the Framingham Offspring Cohort[J]. Nephrol Dial Transplant, 2011, 26(12): 3998-4002.

[14] Hoogendoorn B, Coleman S L, Guy C A, *et al*. Functional analysis of human promoter polymorphisms[J]. Hum Mol Genet, 2003, 12(18): 2249-2254.

[15] Xu H, Guan Y. Detecting local haplotype sharing and haplotype association[J]. Genetics, 2014, 197(3): 823-838. DOI:10.1534/genetics.114.164814

[16] Alavi-Naini R, Salimi S, Sharifi-Mood B, *et al*. Association between the CD14 gene C-159T polymorphism and serum soluble CD14 with pulmonary tuberculosis[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2012, 16(10): 1383-1387. DOI:10.5588/ijtld.11.0827

[17] CARDIoGRAMplusC4D Consortium. A comprehensive 1000 Genomes-based genome-wide association meta-analysis of coronary artery disease[J]. Nat Genet, 2015, 47(10): 1121-1130. DOI:10.1038/ng.3396

[18] Wang F, Xu CQ, He Q, *et al*. Genome-wide association identifies a susceptibility locus for coronary artery disease in the Chinese Han population[J]. Nat Genet, 2011, 43(4): 345-349. DOI:10.1038/ng.783

(收稿:2015-10-02;修回:2015-12-02)

(编辑 栾 嘉)