

先天性心脏病基础研究进展

艾珊珊¹, 何爱彬²

¹ 南方医科大学基础医学院生理教研室, 广州 510515

² 北京大学分子医学研究所, 北京 100871

通信作者: 艾珊珊 电话: 020-61648603, E-mail: aishanshan233@smu.edu.cn

【摘要】先天性心脏病 (congenital heart disease, CHD) 是最常见的先天性缺陷类型, 其病因错综复杂, 包括遗传因素、非遗传因素及环境因素。参与心脏早期形态发生的转录因子、特异基因和信号通路分子的表达失调均可导致 CHD。深入了解 CHD 的发病机制有助于采取更有效的干预策略和治疗手段, 但由于 CHD 致病机制复杂, 目前对其认识仍十分有限。因此, 本文将探讨现阶段与 CHD 发生发展相关的遗传因素、表观遗传因素及母体营养素与代谢产物, 并概述目前常用的探究 CHD 致病机制的研究模型, 以期为临床诊疗提供理论依据。

【关键词】先天性心脏病; 病因; 遗传学; 表观遗传学

【中图分类号】 R541.1; R394 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-9081(2021)03-0291-07

DOI: 10.12290/xhyxzz.2021-0055

Advances in Basic Research of Congenital Heart Disease

AI Shanshan¹, HE Aibin²

¹ Department of Physiology, School of Basic Medical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

² Institute of Molecular Medicine, Peking University, Beijing 100871, China

Corresponding author: AI Shanshan Tel: 86-20-61648603, E-mail: aishanshan233@smu.edu.cn

【Abstract】 Congenital heart diseases (CHD) are the most common birth defects worldwide. The etiology of CHD is multifactorial and intricate. Cardiac transcription factors, developmental genes and key molecules of signaling pathways required for early cardiac morphogenesis have been extensively studied in human CHD. Due to the complex etiology, the causes for most of the CHD cases are far from known. A better knowledge of the molecular mechanisms of CHD would enable us to improve intervening strategies and treatment. This review discusses the current progress in the study of the genetics, epigenetic mechanisms, and maternal nutrition underlying CHD, as well as their potential interactions. Besides, we also review the current in vivo/vitro genetic CHD models that can be used for better understanding of the molecular basis underlying CHD, hoping to provide novel therapeutic strategies for clinic treatment.

【Key words】 congenital heart disease; etiology; genetics; epigenetics

Med J PUMCH, 2021, 12(3):291-297

先天性心脏病 (congenital heart disease, CHD) 是指胚胎期心脏和大血管发育异常所致的畸形, 包括心脏壁、瓣膜及血管畸形。CHD 作为最常见的先天性出生畸形, 其患病率约为 0.8%~1.2%^[1]。2019 年,

一项系统综述分析了全球 1970—2017 年新生儿 CHD 的患病情况，其中以室间隔缺损（ventricular septal defect, VSD）和房间隔缺损（atrial septal defect, ASD）比率最高（图 1）。由于成年哺乳动物的心脏缺乏再生能力，其受损后无法恢复正常，因此 CHD 具有极高的发病率和致死率^[2]。近年来，虽然科学家对 CHD 的发病机制进行了深入研究和探讨，但由于其致病机制复杂，仅 20% 的 CHD 致病基因得以鉴定，大部分 CHD 的发病原因仍无从解释，这极大限制了 CHD 临床治疗的开展^[3]。因此，加快 CHD 的基础研究迫在眉睫。

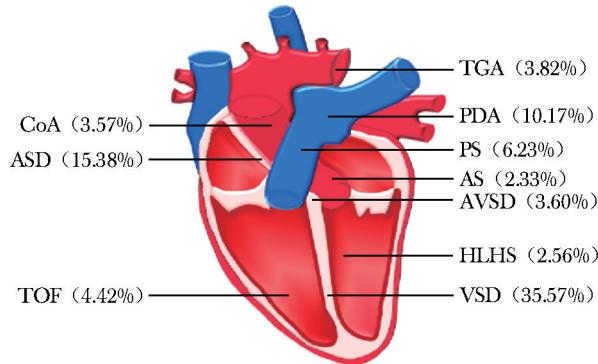


图 1 不同类型心脏畸形占先天性心脏病的比率^[4]

CoA：主动脉缩窄；ASD：房间隔缺损；TOF：法洛四联症；TGA：大动脉移位；PDA：动脉导管未闭；PS：肺动脉狭窄；AS：主动脉狭窄；AVSD：房间隔缺损；HLHS：左心发育不全综合征；VSD：室间隔缺损

研究表明，导致 CHD 的突变基因多在心脏早期发育过程中发挥重要调控作用，包括心脏转录因子、心脏特异基因或某些信号通路分子^[2]。然而，由于 CHD 的致病因素复杂，大部分 CHD 的病因无法仅通过遗传因素进行解释，如相同的 CHD 突变基因在不同患者的心肌组织中可引起不同类型的基因表达异常，相同的 CHD 致病突变可导致不同类型的心脏畸形。因此，对于 CHD 致病机制的深入了解，有助于寻找新的预防和治疗手段。本文将对 CHD 的致病因素及探究 CHD 致病机制的常用研究模型进行阐述，以期为临床诊疗提供理论依据。

1 遗传因素

自 1949 年 Campbell 首次报道 CHD 遗传因素以来^[5]，寻找 CHD 的遗传致病基因成为该领域的研究热点。根据基因突变类型，CHD 的遗传致病因素可分为：点突变、染色体非整倍性、染色体拷贝数变异

（copy number variation, CNV）和单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphism, SNP）等^[6]。

点突变通过改变靶基因的转录活性或改变蛋白质的功能而导致 CHD，如 Alagille 综合征是由 JAG1 基因显性突变引起^[7]。心脏的重要转录因子（如 NKX2-5、NKX2-6、GATA4、GATA5、GATA6、IRX4、TBX20 和 ZIC3 等）突变均可导致 CHD^[8]。关于 CHD 点突变的鉴定，最初主要通过家族性病例进行经典连锁分析，随着二代测序技术的快速发展，可直接通过高通量测序（包括外显子测序和全基因组测序）完成 CHD 点突变的检测。

除点突变外，CHD 的发生常与某些形式染色体的异常相关，包括染色体结构和数目的异常。唐氏综合征（又称“21-三体综合征”）是一种最常见的染色体非整倍体形式，通常与 ASD 相关。染色体数目异常（非整倍性）同样可增加 CHD 的发病率。研究表明，约 50% 的唐氏综合征和特纳综合征患者可发展为 CHD^[9]。对于其他三体性疾病，如 18-三体综合征和 13-三体综合征，CHD 的患病率高于 50%^[10]。此外，在法洛四联症、ASD、VSD、主动脉瓣狭窄和心室管腔狭窄的患者中均检测到大量结构异常的染色体^[11]。队列研究表明，心脏特异基因在重复 200 kb 或缺失 100 kb 的情况下均可导致 CHD，目前主要通过核型分析诊断染色体数目^[11]。

一般而言，CHD 患儿的 CNV 发生率较高。据报道，在某些法洛四联症^[12]、左心室病变^[13]及其他一些散发性 CHD 新生儿^[14]中均存在 CNV。因此，鉴定 CHD 的 CNV 有助于更好地认识其致病机理。Goldmuntz 等^[15]利用染色体微阵列（chromosomal micro-array analysis, CMA）技术鉴定了 240 种不同的 CNV，这些基因在心脏发育过程中发挥重要调控作用，包括 NRP1、NTRK3、MESP1、ADAM19 和 HAND1 等。随着测序技术的迅猛发展，高通量二代测序技术正逐渐取代 CMA 用以鉴定染色体拷贝数的变化。

2 表观遗传因素

约 20% 的 CHD 由遗传因素导致，但多数情况下 CHD 的致病原因无法解释。越来越多的基础及临床研究表明 CHD 常伴随表观遗传图谱的改变。因此，深入了解 CHD 的表观遗传致病因素迫在眉睫。

表观遗传调控是指在不改变基因组序列的前提下，对基因表达进行调控的一种方式。除某些细胞

(如配子细胞和免疫细胞) 外, 人体细胞都具有相同的基因型, 表观遗传因素决定这些基因型相同的细胞表现不同的状态, 发挥不同的功能。表观遗传调控包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑因子、长链非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA)、微小 RNA (microRNA, miRNA) 等。

2.1 DNA 甲基化

DNA 甲基化是一种重要的表观遗传调控方式, 研究表明 CHD 患者具有特异的 DNA 甲基化图谱^[16], DNA 甲基化状态的改变与 CHD 的发生存在一定相关性。在 DNA 中, 从 5'→3' 方向上连续的胞嘧啶-鸟嘌呤核苷酸称为 CpG 位点, 在整个基因组中, CpG 含量高的区域称为“CpG 岛”。“CpG 岛”是一段长约 300~3000 bp, 且不易被甲基化的区域。大约 70% 的基因启动子分布在“CpG 岛”中, 因此这些区域的甲基化常与基因表达“沉默”相关。除这种经典的调控方式外, “CpG 岛”还可位于启动子之外, 其甲基化在某些情况下可促进基因的表达^[17]。

在心脏发育过程中, DNA 甲基化控制基因的时空特异性表达。某些法洛四联症患儿心肌中 NKX2.5 和 HAND2 启动子区域甲基化水平升高, 导致 NKX2.5 和 HAND2 表达下调^[18]。比较 CHD 患儿(包括主动脉瓣狭窄、法洛四联症和 VSD) 与健康新生儿心肌的 DNA 甲基化图谱可发现, ASD/VSD 新生儿心肌中存在 52 个基因的 DNA 甲基化异常, 其中 2 个与冠状动脉疾病相关的基因 APOA5 和 PCSK9 出现高度甲基化^[19]。

2.2 组蛋白修饰

染色体的基本结构单元为核小体, 核小体由组蛋白八聚体组成。组蛋白可通过不同类型的共价修饰以改变染色体结构, 影响蛋白质与 DNA 的结合, 从而调控基因表达。组蛋白的共价修饰主要包括甲基化、乙酰化、泛素化、磷酸化和磺酰化等。组蛋白修饰可在不改变基因序列的情况下调控心脏转录因子的表达量及活性^[20], 因此组蛋白修饰紊乱是 CHD 的重要致病因素。组蛋白修饰的可逆性, 使其成为治疗 CHD 的潜在靶点。

2.2.1 组蛋白去乙酰化酶

组蛋白乙酰化修饰通过减弱 DNA 与组蛋白的相互作用而促进基因表达, 与之相反, 组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 通过移除组蛋白乙酰化修饰而与基因表达“沉默”相关。研究发现, HDAC5 和 HDAC9 双敲除的小鼠心肌细胞增殖与成熟受阻, 可出现心室壁变薄及致死性 VSD 表型^[21]。最

新研究发现, 单心室 CHD 患者的心肌 HDAC 活性异常增强, 证实 HDAC 表达异常会导致 CHD^[22]。因此, HDAC 抑制剂被用于治疗 CHD。

2.2.2 多梳蛋白家族

组蛋白 H3 第 27 位赖氨酸的三甲基化修饰 (H3K27me3) 是一种广泛分布的抑制性组蛋白修饰, 其主要催化蛋白为多梳蛋白家族的多梳抑制复合物 2 (polycomb repressive complex 2, PRC2)。PRC2 蛋白的异常表达和 H3K27me3 修饰水平的紊乱均可导致 CHD。心肌特异性 EZH2 (EZH2 是 PRC2 的主要甲基转移酶) 缺失的小鼠可出现 VSD、ASD、心内膜垫增厚、上皮-间质转化受损及心肌细胞凋亡增加等表型^[23]。研究发现, 左心发育不良综合征患者的诱导性多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs) 分化的心肌细胞中 EZH2 表达量下降, 且一些重要的心脏发育基因 TBX2、HEY2、NOTCH1、NKX2.5 和 HAND1 的表达亦降低^[24]。与 PRC2 作用相反, UTX 和 JMJD3 是 2 个重要的 H3K27me3 去甲基化转移酶, 与基因表达激活相关。UTX 和 JMJD3 可上调 GATA4 的表达, 同时 UTX 可在整个心脏发育过程中维持 NKX2.5 和 TBX5 的表达。UTX 和 JMJD3 表达紊乱直接影响 GATA4、NKX2.5 和 TBX5 的表达^[24-25], 因此 UTX 和 JMJD3 表达失调亦可导致 CHD。

2.3 染色质重塑因子

染色质重塑复合物通过调控 DNA 结合蛋白的活性进而调节心脏的基因表达。BAF (BRG/BRM-associated factor) 是一类重要的染色质重塑复合物。研究表明, BAF 剂量的微小改变即可导致 CHD, 如 BAF60c 表达下调可严重影响心脏流出道的发育^[26], BRG1 表达紊乱可导致小鼠左心室发育严重缺陷^[27]。另有研究发现, BAF 可与心脏转录因子 TBX1 相互作用, 调控右心室发育相关基因 Wnt5a 表达, TBX1 和 Wnt5a 的表达下调均可导致右心室发育不良^[28]。此外, BAF 可与某些组织特异性蛋白相互作用, 改变特定区域的组蛋白修饰状态, 从而扰乱心肌细胞的基因表达^[29]。

2.4 长链非编码 RNA

lncRNA 是由 200 多个核苷酸组成的无编码功能 RNA。lncRNA 通过参与组蛋白修饰等表观遗传调控过程调节基因表达, 发挥其生物学作用。研究发现, 某些 VSD 患者的心肌细胞可出现 lncRNA 表达失调, lncRNA 与 CHD 的发生存在一定的相关性。据报道, 孕有 CHD 胎儿的母体存在 lncRNA 表达异常, 进一步

证明了 lncRNA 参与 CHD 的发生^[30]。

lncRNA uc. 4 过表达可抑制转化生长因子-β (transforming growth factor-β, TGF-β) 信号通路, 导致 CHD 的发生^[31]。Anderson 等^[32]研究指出, 抑制 lncRNA Uph 的表达可下调心脏特异性转录因子 HAND2 的表达, 导致致死性右心室发育不全^[32]。根据 lncRNA 与 CHD 的发生关系, lncRNA 亦可作为潜在的生物标志物, 用于 CHD 的产前检测。

2.5 微小 RNA

miRNA 是一类由内源基因编码的长度约 22 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子, 参与转录后基因表达调控。miRNA 可与 mRNA 的 3'UTR 结合抑制 RNA 翻译或导致 RNA 降解, 从而抑制基因表达。一种 miRNA 可与多种不同靶基因相互作用从而影响整个基因表达调控网络^[33]。

miRNA 在心脏发育过程中发挥重要的调控作用, 参与调控心肌形态的发生、心肌细胞增殖和分化。因此, miRNA 被视为 CHD 的重要治疗靶点, 如 miRNA-499 被证实可作为检测 CHD 的生物标志物^[34]。研究表明, miRNA 表达失调可导致右心室发育过程中重要转录因子 TBX5、NOTCH1、HAND1 和 GATA3 表达下降^[35]。此外, Sucharov 等^[36]的研究也证明 miRNA 表达失调可导致严重的先天性心脏发育异常 (如左心室发育不良)^[36]。抑制 miRNA-184 的表达可抑制心肌细胞增殖, 并促使其凋亡, 从而导致紫绀型 CHD^[37]。miRNA-1 通过促进 HAND2 (HAND2 是心脏发育过程中的重要转录因子) 的表达而促进心肌细胞增殖, 并抑制 caspase3 剪切而降低心肌细胞的凋亡^[38]。多项研究发现, 法洛四联症患者的心肌组织中 miRNA 表达异常^[39]。虽然 miRNA 与 CHD 的发生密切相关, 但对于不同类型的 CHD, 特定的 miRNA 表达上调或下调及 miRNA 如何导致 CHD 的机制尚不清楚。

3 信号通路

心脏的发育和形成过程复杂, 涉及心脏祖细胞的时空特异性谱系分化, 以及心脏不同类型细胞的增殖、迁移和定位。因此, 心脏的发育过程需协调不同信号通路以确保这些过程有条不紊进行。研究表明, 在心脏的发育过程中, NOTCH、BMP 和 TGF-β 等关键信号通路相互作用, 共同促进心脏形态的建立^[40]。

NOTCH 信号通路在早期心脏发育过程中高度保

守, 参与细胞的发育、分化、增殖、凋亡、粘附和上皮-间质转化过程。NOTCH 受体可与心内膜细胞相互作用而调控心脏的形态, 包括心脏腔室和瓣膜形成^[41]。NOTCH 信号通路参与调控上皮-间质转化过程, 调节心内膜-心肌相互作用, 刺激肌小梁心肌细胞的产生。此外, NOTCH 信号通路也参与调控心脏流出道的形成及肌小梁的致密化过程。因此, 任何影响 NOTCH 信号通路的遗传或非遗传因素均可导致 CHD 的发生。动物实验证明, 小鼠 NOTCH 受体和配体的突变可导致包括先天性心脏缺陷在内的多种先天性畸形^[42]。研究证实, 左心发育不良综合征患者亦存在 NOTCH1 突变^[43]。

TGF-β 信号通路在心脏发育过程中同样发挥必不可少的调控作用, β2-spectrin 为蛋白 Smads 的配体, 其在 TGF-β 信号通路中发挥重要作用。动物实验发现, 小鼠 β2-spectrin 缺失可导致 TGF-β 信号通路失活, 出现以左心室壁发育异常为主的心脏发育缺陷^[44]。

4 营养素和代谢产物

近年来, 关于母体孕前及孕早期营养素及代谢产物与 CHD 发生关系的研究成为热点。胚胎期, 母体代谢产物对胎儿的生长具有直接而重要的影响。孕期营养不良、吸烟、紫外线辐射等外部环境因素均可导致表观遗传学的改变, 引起基因表达紊乱, 增加 CHD 的发病率。

DNA 甲基化很大程度上取决于从食物中获取的甲基供体和辅因子的充足性, 其是叶酸和蛋氨酸代谢的重要组成部分, 因此孕期饮食可整体或在特定位点改变 DNA 的甲基化状态, 从而改变表观遗传调控图谱。如母体长期营养不良, 可能导致胎儿的印记基因胰岛素样生长因子 2 (insulin-like growth factor 2, IGF2) 出现低甲基化, 增加 CHD 患病风险。心脏发育过程中, 叶酸及其衍生的同型半胱氨酸在心脏神经脊细胞迁移过程中发挥重要调控作用, 围孕期母体叶酸缺乏可能导致 CHD 的发生。动物实验证实, 围孕期缺乏维生素 A 的胚胎大鼠心肌中 GATA4 出现异常甲基化, 导致胚胎出现 CHD 表型^[45]。研究表明, 孕期母体重度肥胖可增加主动脉分支缺损、大动脉移位、ASD 和动脉导管未闭等 CHD 的患病率^[46]。因此, 孕期摄入健康、均衡的生物活性成分, 有助于建立正确的表观遗传调控图谱, 降低或预防 CHD 的发生。

5 研究模型

随着 CHD 基础研究的进步, 成年 CHD 患者的存活率不断提高。然而, 这些现状背后也引发了一些新的思考, 如成年 CHD 幸存者的疾病复发风险是多少? 是否存在预防 CHD 复发的相应措施? 为研究这些问题, 科学家们试图构建动物模型以重现特定的 CHD 表型, 采用具有特定遗传学背景的动物或细胞模型开展 CHD 的致病机制研究, 同时利用这些动物模型检测新的治疗策略。

在心脏发育和 CHD 研究领域, 常用的动物模型包括果蝇、斑马鱼、青蛙、鸡、小型哺乳动物 (小鼠)、大型哺乳动物 (绵羊、狗和猪) 以及体外干细胞分化系统^[47]。不同的研究模型有其自身的优势和独特性。小鼠模型易于反向遗传操作, 具有高度的序列保守性, 具有与人类相同的心脏结构和心脏发育过程; 其局限性在于制造转基因小鼠需花费较长时间和较昂贵的成本, 且 CHD 小鼠通常在围产期死亡, 从而限制了科学家对 CHD 小鼠的长期追踪研究。斑马鱼模型虽然易于进行基因操作, 生产周期较短, 但其心脏结构 (仅有 2 个腔室) 与人类不同^[48]。

近年来, 科学家们利用 CHD 患者的 iPSCs 作为体外模型研究 CHD 的致病机制^[49]。虽然体外 iPSCs 系统无法重现 CHD 患者的心脏形态结构, 但其具有与患者自身最一致的遗传学背景, 可用来鉴定最相关的致病性分子调控机制。

6 小结

CHD 的致病机制错综复杂, 其发生是不同调控因素相互作用的结果, 遗传因素的改变可直接或间接通过表观调控图谱改变基因表达; 同时, 表观遗传调控的紊乱亦可改变基因表达, 反向调控染色质的状态, 更深层次地影响基因表达。除遗传和表观遗传致病因素外, 围孕期母体的营养素与代谢产物等环境因素也可改变表观遗传的调控状态, 进而改变基因表达模式, 导致心脏发育异常。正常生理状态下, 遗传与非遗传因素相互影响、共同作用导致 CHD 的发生^[50-51] (图 2)。

目前 CHD 领域尚存在诸多待解决的问题, 为进一步了解 CHD 的分子发生机制, 需对其致病机制进行综合分析。随着高通量测序技术的广泛应用, 相信未来多学科交叉融合必将为人类揭示更精确、更丰富

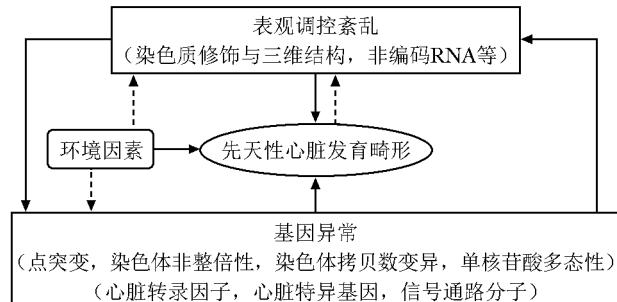


图 2 遗传因素、表观遗传因素、环境因素相互作用及与先天性心脏病的关系^[50-51]

的 CHD 分子调控网络, 为 CHD 患者带来新的曙光。

作者贡献: 艾珊珊负责构思并撰写论文; 何爱彬负责修订及审校论文。

利益冲突: 无

参 考 文 献

- [1] Wu WL, He JX, Shao XB. Incidence and mortality trend of congenital heart disease at the global, regional, and national level, 1990 – 2017 [J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99: e20593.
- [2] Warrington NM, Beaumont RN, Horikoshi M, et al. Maternal and fetal genetic effects on birth weight and their relevance to cardio-metabolic risk factors [J]. Nat Genet, 2019, 51: 804-814.
- [3] Joshi RO, Chellappan S, Kukshal P. Exploring the Role of Maternal Nutritional Epigenetics in Congenital Heart Disease [J]. Curr Dev Nutr, 2020, 4: nzaa166.
- [4] Liu YJ, Chen S, Zühlke L, et al. Global birth prevalence of congenital heart defects 1970–2017: updated systematic review and meta-analysis of 260 studies [J]. Int J Epidemiol, 2019, 48: 455-463.
- [5] Campbell M. Genetic and environmental factors in congenital heart disease [J]. Q J Med, 1949, 18: 379-391.
- [6] Zaidi S, Brueckner M. Genetics and Genomics of Congenital Heart Disease [J]. Circ Res, 2017, 120: 923-940.
- [7] McDaniell R, Warthen DM, Sanchez-Lara PA, et al. NOTCH2 mutations cause Alagille syndrome, a heterogeneous disorder of the notch signaling pathway [J]. Am J Hum Genet, 2006, 79: 169-173.
- [8] Vecoli C, Pulignani S, Foffa I, et al. Congenital heart disease: the crossroads of genetics, epigenetics and environment [J]. Curr Genomics, 2014, 15: 390-399.

- [9] Bondy CA. Turner syndrome 2008 [J]. *Horm Res*, 2009, 71 Suppl 1: 52-56.
- [10] Meyer RE, Liu G, Gilboa SM, et al. Survival of children with trisomy 13 and trisomy 18: A multi-state population-based study [J]. *Am J Med Genet A*, 2016, 170A: 825-837.
- [11] Tomita-Mitchell A, Mahnke DK, Struble CA, et al. Human gene copy number spectra analysis in congenital heart malformations [J]. *Physiol Genomics*, 2012, 44: 518-541.
- [12] Silversides CK, Lionel AC, Costain G, et al. Rare copy number variations in adults with tetralogy of Fallot implicate novel risk gene pathways [J]. *PLoS Genet*, 2012, 8: e1002843.
- [13] Hitz MP, Lemieux-Perreault LP, Marshall C, et al. Rare copy number variants contribute to congenital left-sided heart disease [J]. *PLoS Genet*, 2012, 8: e1002903.
- [14] Payne AR, Chang SW, Koenig SN, et al. Submicroscopic chromosomal copy number variations identified in children with hypoplastic left heart syndrome [J]. *Pediatr Cardiol*, 2012, 33: 757-763.
- [15] Goldmuntz E, Paluru P, Glessner J, et al. Microdeletions and microduplications in patients with congenital heart disease and multiple congenital anomalies [J]. *Congenit Heart Dis*, 2011, 6: 592-602.
- [16] Jarrell DK, Lennon ML, Jacot JG. Epigenetics and Mechanobiology in Heart Development and Congenital Heart Disease [J]. *Diseases*, 2019, 7: 52.
- [17] Feng LF, Lou JL. DNA Methylation Analysis [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1894: 181-227.
- [18] Sheng W, Qian YY, Wang HJ, et al. DNA methylation status of NKX2-5, GATA4 and HAND1 in patients with tetralogy of fallot [J]. *BMC Med Genomics*, 2013, 6: 46.
- [19] Radhakrishna U, Albayrak S, Alpay-Savasan Z, et al. Genome-Wide DNA Methylation Analysis and Epigenetic Variations Associated with Congenital Aortic Valve Stenosis (AVS) [J]. *PLoS One*, 2016, 11: e0154010.
- [20] Zhang YJ, Sun ZX, Jia JQ, et al. Overview of Histone Modification [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1283: 1-16.
- [21] Moore-Morris T, van Vliet PP, Andelfinger G, et al. Role of Epigenetics in Cardiac Development and Congenital Diseases [J]. *Physiol Rev*, 2018, 98: 2453-2475.
- [22] Blakeslee WW, Demos-Davies KM, Lemon DD, et al. Histone deacetylase adaptation in single ventricle heart disease and a young animal model of right ventricular hypertrophy [J]. *Pediatr Res*, 2017, 82: 642-649.
- [23] Chen L, Ma YL, Kim EY, et al. Conditional ablation of Ezh2 in murine hearts reveals its essential roles in endocardial cushion formation, cardiomyocyte proliferation and survival [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e31005.
- [24] Kobayashi J, Yoshida M, Tarui S, et al. Directed differentiation of patient-specific induced pluripotent stem cells identifies the transcriptional repression and epigenetic modification of NKX2-5, HAND1, and NOTCH1 in hypoplastic left heart syndrome [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e102796.
- [25] Lee S, Lee JW, Lee SK. UTX, a histone H3-lysine 27 demethylase, acts as a critical switch to activate the cardiac developmental program [J]. *Dev Cell*, 2012, 22: 25-37.
- [26] Lickert H, Takeuchi JK, Von Both I, et al. Baf60c is essential for function of BAF chromatin remodelling complexes in heart development [J]. *Nature*, 2004, 432: 107-112.
- [27] Takeuchi JK, Lou X, Alexander JM, et al. Chromatin remodelling complex dosage modulates transcription factor function in heart development [J]. *Nat Commun*, 2011, 2: 187.
- [28] Chen L, Fulcoli FG, Ferrentino R, et al. Transcriptional control in cardiac progenitors: Tbx1 interacts with the BAF chromatin remodeling complex and regulates Wnt5a [J]. *PLoS Genet*, 2012, 8: e1002571.
- [29] Lange M, Kaynak B, Forster UB, et al. Regulation of muscle development by DPF3, a novel histone acetylation and methylation reader of the BAF chromatin remodeling complex [J]. *Genes Dev*, 2008, 22: 2370-2384.
- [30] Gu M, Zheng AB, Tu WJ, et al. Circulating LncRNAs as Novel, Non-Invasive Biomarkers for Prenatal Detection of Fetal Congenital Heart Defects [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 38: 1459-1471.
- [31] Cheng ZJ, Zhang QJ, Yin AW, et al. The long non-coding RNA uc. 4 influences cell differentiation through the TGF-beta signaling pathway [J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50: e447.
- [32] Anderson KM, Anderson DM, McAnally JR, et al. Transcription of the non-coding RNA upperhand controls Hand2 expression and heart development [J]. *Nature*, 2016, 539: 433-436.
- [33] O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, et al. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018, 9: 402.
- [34] Tian J, An XJ, Niu L. Role of microRNAs in cardiac development and disease [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13: 3-8.
- [35] Li D, Ji L, Liu LB, et al. Characterization of circulating microRNA expression in patients with a ventricular septal defect [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e106318.

- [36] Sucharov CC, Sucharov J, Karimpour-Fard A, et al. MicroRNA expression in hypoplastic left heart syndrome [J]. *J Card Fail*, 2015, 21: 83-88.
- [37] Huang JC, Li XB, Li HY, et al. Down-regulation of microRNA-184 contributes to the development of cyanotic congenital heart diseases [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8: 14221-14227.
- [38] Liu LP, Yuan YH, He XH, et al. MicroRNA-1 upregulation promotes mycardiocyte proliferation and suppresses apoptosis during heart development [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15: 2837-2842.
- [39] Liang DD, Xu XR, Deng FF, et al. miRNA-940 reduction contributes to human Tetralogy of Fallot development [J]. *J Cell Mol Med*, 2014, 18: 1830-1839.
- [40] Garside VC, Chang AC, Karsan A, et al. Co-ordinating Notch, BMP, and TGF-beta signaling during heart valve development [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70: 2899-2917.
- [41] MacGrogan D, Münch J, de la Pompa JL. Notch and interacting signalling pathways in cardiac development, disease, and regeneration [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2018, 15: 685-704.
- [42] Penton AL, Leonard LD, Spinner NB. Notch signaling in human development and disease [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2012, 23: 450-457.
- [43] Iascone M, Ciccone R, Galletti L, et al. Identification of de novo mutations and rare variants in hypoplastic left heart syndrome [J]. *Clin Genet*, 2012, 81: 542-554.
- [44] Lim JA, Baek HJ, Jang MS, et al. Loss of beta2-spectrin prevents cardiomyocyte differentiation and heart development [J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 101: 39-47.
- [45] Feng Y, Zhao LZ, Hong L, et al. Alteration in methylation pattern of GATA-4 promoter region in vitamin A-deficient offspring's heart [J]. *J Nutr Biochem*, 2013, 24: 1373-1380.
- [46] Persson M, Razaz N, Edstedt Bonamy AK, et al. Maternal Overweight and Obesity and Risk of Congenital Heart Defects [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73: 44-53.
- [47] Pezhouman A, Engel JL, Nguyen NB, et al. Isolation and characterization of hESC-derived heart field-specific cardiomyocytes unravels new insights into their transcriptional and electrophysiological profiles [J]. *Cardiovasc Res*, 2021; evab102. doi: 10.1093/cvr/evab102. Epub ahead of print.
- [48] Bakkers J. Zebrafish as a model to study cardiac development and human cardiac disease [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 91: 279-288.
- [49] Nakanishi T, Markwald RR, Baldwin HS, et al. Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease: From Gene Function and Cellular Interaction to Morphology [M]. Tokyo: Springer, 2016: 321-327.
- [50] Jenkins KJ, Correa A, Feinstein JA, et al. Noninherited risk factors and congenital cardiovascular defects: current knowledge: a scientific statement from the American Heart Association Council on Cardiovascular Disease in the Young: endorsed by the American Academy of Pediatrics [J]. *Circulation*, 2007, 115: 2995-3014.
- [51] Botto LD, Mulinare J, Erickson JD. Occurrence of congenital heart defects in relation to maternal multivitamin use [J]. *Am J Epidemiol*, 2000, 151: 878-884.

(收稿: 2021-01-17 录用: 2021-03-23)

(本文编辑: 李玉乐)