

## 肺动脉高压相关生物标志物的研究新进展

陈秋宏<sup>1</sup> 王春彬<sup>2</sup> 吴奇<sup>1,3</sup>

(1. 成都医学院第一附属医院心血管内科, 四川 成都 610500; 2. 西南交通大学附属医院 成都市第三人民医院心血管内科, 四川 成都 610031; 3. 成都医学院第二附属医院·核工业四一六医院, 四川 成都 610057)

**【摘要】** 肺动脉高压(PH)目前是一种发病机制尚未完全阐明的致死性肺血管疾病,其起病隐匿,病因复杂,且发病率、致残率和致死率均较高。多数患者发现时已出现右心功能不全甚至猝死,故早诊断、早干预和预后评估分层对提高 PH 患者的生存率、预后以及精准治疗具有重要的临床意义。生物标志物是 PH 诊断、评估预后和治疗反应的非侵入性客观指标,为 PH 领域的诊断及治疗提供了新的策略,现对近年的 PH 相关生物标志物研究进展做一综述。

**【关键词】** 肺动脉高压;生物标志物;MicroRNA

**【DOI】**10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2021.11.007

## Pulmonary Hypertension-Related Biomarkers

CHEN Qiuhong<sup>1</sup>, WANG Chunbin<sup>2</sup>, WU Qi<sup>1,3</sup>

(1. Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Chengdu 610500, Sichuan, China; 2. Department of Cardiology, The Third People's Hospital of Chengdu, The Affiliated Hospital of Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, Sichuan, China; 3. The Second Affiliated Hospital of Chengdu Medical College·Nuclear Industry 416 Hospital, Chengdu 610057, Sichuan, China)

**【Abstract】** Pulmonary hypertension(PH) is a fatal pulmonary vascular disease which pathogenesis has not been fully elucidated. The onset of the disease is hidden, the cause is complex, and the incidence rate, disability rate and mortality rate are all higher. Most patients have appeared right ventricular dysfunction or even sudden death when PH was found. Therefore, early diagnosis, early intervention and prognosis evaluation are of great clinical significance to improve the survival rate, prognosis and precise treatment of PH patients. Biomarkers are non-invasive objective indicators of PH diagnosis, prognosis assessment and treatment response. This paper reviews the recent research progress of PH-related biomarkers.

**【Key words】** Pulmonary hypertension; Biomarkers; MicroRNA

肺动脉高压(pulmonary hypertension, PH)是指由多种异源性疾病(病因)和不同的发病机制所致肺动脉血管结构或功能改变,引起肺血管阻力和肺动脉压力升高的临床和病理生理综合征,继而发展成右心衰竭甚至死亡<sup>[1]</sup>,其患病率约占全球人口总数的 1%,65 岁以上患者的比例为 10%<sup>[2]</sup>。

PH 的病理生理机制较复杂,受遗传易感性、缺氧、炎症、DNA 损伤、病毒感染和剪切力等多种致病性事件的影响<sup>[3]</sup>,且发病率、致残率和致死率均较高。多数患者发现时已出现右心功能不全甚至猝死,故早诊断、早干预和预后评估分层对提高 PH 患者的生存率、预后以及精准治疗具有重要的临床意义。右心导

管检查是 PH 诊断的金标准,但其作为一种侵入性操作并不适用于筛查,目前用于 PH 筛查的非侵入性检查多为超声心动图,但其受设备及操作者的主观影响较大,存在高估或低估患者肺动脉压力和心输出量的可能,结果欠准确,因此,急需寻找既能进行 PH 筛查,同时又具有较高准确度的检测手段。生物标志物可从血液、尿液、粪便或呼出气体冷凝物等体液中检测,简单方便,成本低,而且与疾病的严重程度、临床进展和治疗疗效明确相关,为 PH 领域的诊断及治疗提供了新的策略,现对 PH 相关生物标志物的研究进展做一综述。

**基金项目:** 国家临床重点专科建设培育科室专项基金(CYFY2017GLPXN04, CYFY2019GLPXN05); 四川省教育厅基金重点项目(18ZA0150); 四川省教育厅基金一般项目(18ZB0177)

**通信作者:** 吴奇, E-mail: wuqi837157@163.com

## 1 多肽/蛋白类生物标志物

### 1.1 脑钠肽和 N 末端脑钠肽前体

利尿钠肽是一系列具有类似分子结构并参与容量和血压调节的激素。脑钠肽(BNP)和 N 末端脑钠肽前体(NT-proBNP)水平的升高与右心压力负荷增加和心肌损伤有关,故可作为反映右心功能、PH 预后评估和特异性治疗反应的标志物。BNP 和 NT-proBNP 是迄今唯一在 PH 指南中作为风险分层和预后评估指标的血清学标志物,但其对预后分层的敏感度不高,特别是当其合并左心功能不全或肾功能不全时,存在一定的局限性。

### 1.2 生长刺激表达基因 2 蛋白

生长刺激表达基因 2 蛋白(ST2)是白介素-1 受体家族的成员,具有两种主要亚型:跨膜型 ST2 和可溶性 ST2(sST2),其中 sST2 可充当诱饵受体,阻断白介素-33/ST2 配体相互作用。sST2 水平可反映右侧心脏的增大和功能障碍情况,sST2 水平高的患者死亡和肺移植风险增加( $HR = 2.5, P = 0.02$ )<sup>[4]</sup>。一项包含 2 017 例动脉型肺动脉高压患者的队列研究表明 ST2 与肺动脉压力和血管阻力成正相关,与 6 分钟步行试验距离呈负相关。ST2 增高预示死亡风险增加( $HR = 2.79, 95\% CI 2.21 \sim 3.53, P < 0.001$ )<sup>[5]</sup>。更有趣的是,sST2 还有望鉴别不同类型的 PH,Geenen 等<sup>[6]</sup>的研究则表明,sST2 水平在不同病因引起的 PH 之间存在差异,特发性肺动脉高压(IPAH)、结缔组织病相关肺动脉高压和先天性心脏病相关肺动脉高压的 sST2 水平均较健康人群不同程度地增高,其中以 IPAH 最为显著,而慢性血栓栓塞性肺动脉高压与健康人群相似。综上,sST2 水平对 PH 的诊断、鉴别、危险分层及预后都有良好的指导意义。

### 1.3 低密度脂蛋白受体 11

低密度脂蛋白受体 11(LR11)是一种在内膜平滑肌细胞(SMC)中表达的低密度脂蛋白受体。可溶形式的 LR11(sLR11)在 SMC 快速增殖阶段可通过蛋白水解从 SMC 内膜释放并诱导 SMC 迁移,故血清 sLR11 可作为内膜 SMC 的循环标记,反映血管内侧 SMC 增殖和迁移的功能<sup>[7]</sup>。Jiang 等<sup>[8]</sup>通过动物实验已证实 LR11<sup>-/-</sup>小鼠对慢性低氧诱导的 PH 可产生高度抗性,LR11 可调节 SMC 增殖,延缓内膜增厚,进而控制 PH 的发生和发展,并通过 20 例前瞻性研究进一步验证,PH 患者的 sLR11 水平与肺动脉平均压( $r = 0.633, P = 0.003$ )和肺血管阻力( $r = 0.580, P = 0.007$ )呈正相关,sLR11 水平可反映 PH 患者的 SMC 增殖情况,可用于预测疾病的进展。综上所述,sLR11 可反映 PH 中 SMC 的病理状态,有望成为肺动脉重塑的生物标志物。

### 1.4 硒蛋白 P

硒蛋白 P(SeP)由 SELENOP 编码,是一种主要由肝细胞产生的分泌蛋白。SeP 可调节肺动脉平滑肌细胞(PASMC)增殖,促进血管疾病的发展。过量的 SeP 会破坏细胞内缺氧诱导因子-1 $\alpha$  和 FOXO3a 稳态,诱导 PH-PASMCs 中缺氧诱导因子-1 $\alpha$  的组成性激活和线粒体功能障碍,予以 SeP 抑制剂治疗可降低 SeP 的蛋白质水平并改善 PH 症状<sup>[9]</sup>。PH 患者的循环血清 SeP 水平较非 PH 对照组明显升高,且血清 SeP 水平较高的 PH 患者的全因死亡和肺移植的发生率明显高于血清 SeP 水平较低的患者,随访期间血清 SeP 水平的绝对变化与几个血流动力学参数的变化密切相关,PH 特异性治疗开始后血清 SeP 水平升高预示不良预后<sup>[10]</sup>。基于上述证据,SeP 的血清水平可用作 PH 的新型生物标志物,但值得注意的是,这与补充硒可预防 PH 疾病发生和减轻 PH 症状<sup>[11]</sup>的观点相矛盾,可能由于 SeP 具有多种不同分子量的变体,加之既往的研究未采用新型的均相溶胶颗粒免疫测定方法,需扩大样本量进一步研究。

### 1.5 小窝蛋白 1

小窝蛋白 1(Cav1)是小窝的结构蛋白,在脂肪细胞、内皮细胞和 I 型肺泡上皮细胞中高度表达。Cav1 以外分泌的途径分泌入血,可在血清中被稳定检测出。研究表明,Cav1 与 PH 存在一定的相关性。Cav1<sup>-/-</sup>小鼠可表现出 PH 和右心室肥大<sup>[12]</sup>,同时,在野百合碱诱导的 PH 大鼠模型中发现,其肺组织缺乏 Cav1 表达<sup>[13]</sup>,且在 IPAH 患者的肺血管内皮细胞及总肺溶解物中 Cav1 的表达也降低<sup>[14]</sup>。Cav1 在慢性阻塞性肺疾病相关肺动脉高压(COPD-PH)患者和 IPAH 患者均表达下降,但 IPAH 较 COPD-PH 明显降低[(76.45  $\pm$  32.41) pg/mL vs (163.04  $\pm$  146.59) pg/mL,  $P = 0.047$ ],故 Cav1 可用于在 COPD-PH 患者和 IPAH 患者之间进行鉴别诊断<sup>[15]</sup>。若以血清 Cav1 17.17 pg/mL 作为诊断 IPAH 截断值时,灵敏性为 0.59,特异性为 1.00,血清 Cav1 对 IPAH 具有良好的特异性<sup>[15]</sup>。诊断 IPAH 时骨形成蛋白 II 型受体基因(BMP2)的敏感性极高,若将二者组合,有望提高 IPAH 的诊断准确度。

## 2 microRNA 类标志物

目前的 PH 及 PH 模型研究表明 miR-29、miR-124、miR-140、miR-204、miR-210、miR-1、miR-130/301、miR-138、miR-17-92、miR-21、miR-214、miR-223、miR-424、miR-23a、miR-130、miR-191、miR-19a、miR-145、miR-27a、miR-328、miR-1-2、miR-199、miR-744、miR-4632 和 miR-208 等众多 microRNA 与 PH 密切相

关<sup>[16-17]</sup>。其中 miR-29、miR-124、miR-140 和 miR-204 在不同模型之间具有相似表达模式,最有望成为 PH 诊断和治疗及疾病严重程度和预后评估的分层标志物,现重点阐述此四种 microRNA 的研究进展。

miR-29 在低氧诱导的 PH 模型中,肺动脉外膜成纤维细胞与野百合碱诱导的 PH 模型的 PSMC 均表达下调,参与肺动脉的纤维化<sup>[18-19]</sup>。遗传性肺动脉高压(HPAH)患者的肺组织中 miR-29 升高,使过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  和 CD36 显著降低,加剧 BMPR2 相关的 PH 的临床症状<sup>[20]</sup>。且患有中至重度 PH 的患者血浆中循环 miR-29 的水平明显下调<sup>[21]</sup>,miR-29 可用于反映肺血管重塑和进行预后评估。

miR-124 在 PH 患者和 PH 模型中的 PSMC、肺动脉外膜成纤维细胞和肺动脉内皮祖细胞中均有明显下调的趋势,调控细胞的增殖和迁移<sup>[17,21-24]</sup>。miR-124 参与肺动脉各细胞类型的分化及表型维持,是 PH 潜在的治疗靶点。

miR-140 和 miR-204 在 PH 患者的肺组织和肺动脉内皮祖细胞及低氧诱导的 PSMC 中表达下调<sup>[17,25-28]</sup>,且研究表明予以 miR-140-5p 模拟物补充可阻止 PH 的发生和发展<sup>[27]</sup>。恢复 miR-204 表达可显著降低疾病严重程度<sup>[29-31]</sup>。故 miR-140 和 miR-204 有望作为治疗靶点和疗效评价指标。

### 3 DNA 类相关标志物

基因突变与部分 PH 患者发病相关,HPAH 均为单基因常染色体显性遗传。目前已知的 9 个致病基因: BMPR2、BMP9、ALK1、Endoglin、SMAD9、BMPR1B、TBX4、CAV1 和 KCNK3,可解释 50%~80% 的 HPAH 和 20%~50% 的散发型 IPAH 患者的病因<sup>[32-34]</sup>。

此外目前研究表明基因 SOX17、HLADPA1/DPB1、ATP13A3、AQP1、KLK1、GDF2、GNG2、COL18A1、CYP1B1、CBLN2、SMAD4、SMAD1、KLF2、BMPR1B、KCNA5、CYP1B1、GGCX 和 EIF2AK4 的多态性也与 PH 密切相关<sup>[33,35-40]</sup>。

BMPR2 是 PH 最常见的致病基因,可解释 75% 的家族 HPAH 及 25% 的 IPAH 散发病例。中国人群中 BMPR2 突变比例在 HPAH 和 IPAH 分别为 53% 和 15%<sup>[41]</sup>。BMPR2 编码骨形成蛋白 2 型受体,在调控血管增殖中起重要作用。与不携带突变的患者相比,携带 BMPR2 突变的 IPAH/HPAH 患者发病更早,临床表型更严重,预后更差<sup>[42]</sup>。TBX4 突变是患儿发生 PH 的第二大最常见的突变<sup>[43]</sup>。ALK1 和 Endoglin 是遗传性出血性毛细血管扩张症相关 PH 最主要的致病基因<sup>[32]</sup>。在肺静脉闭塞症(pulmonary veno-occlusive disease,PVOD)/肺毛细血管瘤病(pulmonary capillary

haemangiomatosis,PCH)家族中,发现常染色体隐性遗传基因突变,全基因组测序显示,在所有家族性 PVOD/PCH,以及 25% 组织学确诊的散发 PVOD/PCH 病例中存在 EIF2AK4 突变<sup>[40]</sup>。对于临床疑似 PVOD/PCH 患者,如检出 EIF2AK4 双等位基因突变,有助于确诊 PVOD/PCH<sup>[34]</sup>。SOX17 增强子区域的遗传变异与 PH 的发生显著相关<sup>[35]</sup>。

此外一项包含白种人、黄种人和黑种人三种血统的多民族队列研究表明,CYP1B1 基因与右心室功能相关<sup>[38]</sup>;Damico 等<sup>[39]</sup>研究也表明 COL18A1 基因可预测 PH 和 IPAH 的严重程度及死亡率( $n = 100, P = 0.04$ );一项 625 例 PH 全基因组易感位点研究发现 CBLN2 突变显著增加 PH 的发生风险( $OR = 1.973, P = 7.47 \times 10^{-10}$ )<sup>[44]</sup>。故基因检测可用于 HPAH、低氧所致的 PH 和 IPAH 及儿童中 IPAH 和先天性心脏病相关肺动脉高压的诊断和鉴别,解释疾病的发生和发展,指导疾病的治疗并评估预后,对患者家庭成员进行风险分层,以及指导产前诊断、结婚、妊娠、生产和婴儿保健等多个方面,前景广阔。虽目前伴随一些遗传歧视等伦理问题,但相信随着科技的进步和经济水平的提升将逐一解决。

### 4 讨论

尽管发现多种生物标志物与 PH 预后相关,但仍无反映 PH 或右心衰竭的特异性标志物。众多标志物中目前 BNP 和 NT-proBNP 最为常用,二者广泛应用于评价右心功能、PH 危险分层和预测预后,但受年龄和肾功能等因素影响。

PH 的症状隐袭,缺乏特异性,病因涉及多学科以及 PH 中心建立不足的因素,PH 的诊断和治疗现状仍不容乐观。发现一个理想的生物标志物对 PH 患者及早识别和分层尤为重要。目前有关 PH 生物标志物的大多数研究为回顾性研究,存在患者和对照组人数少,患者群体异质性和选择偏倚等缺陷,仍需进行前瞻性研究验证。此外,生物标志物联合使用可能比单一标志物对 PH 有更好的诊断和预后价值。

### 参考文献

- [1] 中华医学会呼吸病学分会肺栓塞与肺血管病学组,中国医师协会呼吸医师分会肺栓塞与肺血管病工作委员会,全国肺栓塞与肺血管病防治协作组,等.中国肺动脉高压诊断与治疗指南(2021 版)[J].中华医学杂志,2021,101(1):11-51.
- [2] Hoepfer MM, Humbert M, Souza R, et al. A global view of pulmonary hypertension[J]. Lancet Respir Med, 2016, 4(4): 306-322.
- [3] Chun HJ, Bonnet S, Chan SY. Translational advances in the field of pulmonary hypertension. Translating microRNA biology in pulmonary hypertension. It will take more than "miR" words[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2017, 195(2): 167-178.
- [4] Daniels LB, Clopton P, Iqbal N, et al. Association of ST2 levels with cardiac

- structure and function and mortality in outpatients[J]. *Am Heart J*, 2010, 160(4):721-728.
- [5] Simpson CE, Damico RL, Hassoun PM, et al. Noninvasive prognostic biomarkers for left-sided heart failure as predictors of survival in pulmonary arterial hypertension[J]. *Chest*, 2020, 157(6):1606-1616.
- [6] Geenen LW, Baggen VJM, Kauling RM, et al. The prognostic value of soluble ST2 in adults with pulmonary hypertension[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(10):1517.
- [7] Ogita M, Miyauchi K, Jiang M, et al. Circulating soluble LR11, a novel marker of smooth muscle cell proliferation, is enhanced after coronary stenting in response to vascular injury[J]. *Atherosclerosis*, 2014, 237(1):374-378.
- [8] Jiang L, Konishi H, Nurwida F, et al. Deletion of LR11 attenuates hypoxia-induced pulmonary arterial smooth muscle cell proliferation with medial thickening in mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36(9):1972-1979.
- [9] Kikuchi N, Satoh K, Kurosawa R, et al. Selenoprotein P promotes the development of pulmonary arterial hypertension: possible novel therapeutic target[J]. *Circulation*, 2018, 138(6):600-623.
- [10] Kikuchi N, Satoh K, Satoh T, et al. Diagnostic and prognostic significance of serum levels of SeP (selenoprotein P) in patients with pulmonary hypertension[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(12):2553-2562.
- [11] Sun Q, Hackler J, Hilger J, et al. Selenium and copper as biomarkers for pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis[J]. *Nutrients*, 2020, 12(6):1894.
- [12] Drab M, Verkade P, Elger M, et al. Loss of caveolae, vascular dysfunction, and pulmonary defects in caveolin-1 gene-disrupted mice[J]. *Science*, 2001, 293(5539):2449-2452.
- [13] Jasmin JF, Mercier I, Dupuis J, et al. Short-term administration of a cell-permeable caveolin-1 peptide prevents the development of monocrotaline-induced pulmonary hypertension and right ventricular hypertrophy[J]. *Circulation*, 2006, 114(9):912-920.
- [14] Zhao YY, Zhao YD, Mirza MK, et al. Persistent eNOS activation secondary to caveolin-1 deficiency induces pulmonary hypertension in mice and humans through PKG nitration[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(7):2009-2018.
- [15] Wang KY, Lee MF, Ho HC, et al. Serum caveolin-1 as a novel biomarker in idiopathic pulmonary artery hypertension[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015:173970.
- [16] Sarrion I, Milian L, Juan G, et al. Role of circulating miRNAs as biomarkers in idiopathic pulmonary arterial hypertension: possible relevance of miR-23a[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, 2015:792846.
- [17] Santos-Ferreira CA, Abreu MT, Marques CI, et al. Micro-RNA analysis in pulmonary arterial hypertension: current knowledge and challenges[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2020, 5(11):1149-1162.
- [18] Luo Y, Dong HY, Zhang B, et al. miR-29a-3p attenuates hypoxic pulmonary hypertension by inhibiting pulmonary adventitial fibroblast activation[J]. *Hypertension*, 2015, 65(2):414-420.
- [19] Wang T, Li Y, Chen J, et al. TGF- $\beta$ 1/Smad3 signaling promotes collagen synthesis in pulmonary artery smooth muscle by down-regulating miR-29b[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2018, 11(12):5592-5601.
- [20] Chen X, Talati M, Fessel JP, et al. Estrogen metabolite 16 $\alpha$ -hydroxyestrone exacerbates bone morphogenetic protein receptor type II-associated pulmonary arterial hypertension through microRNA-29-mediated modulation of cellular metabolism[J]. *Circulation*, 2016, 133(1):82-97.
- [21] Wang D, Zhang H, Li M, et al. MicroRNA-124 controls the proliferative, migratory, and inflammatory phenotype of pulmonary vascular fibroblasts[J]. *Circ Res*, 2014, 114(1):67-78.
- [22] Zhang H, Wang D, Li M, et al. Metabolic and proliferative state of vascular adventitial fibroblasts in pulmonary hypertension is regulated through a microRNA-124/PTBP1 (polypyrimidine tract binding protein 1)/pyruvate kinase muscle axis[J]. *Circulation*, 2017, 136(25):2468-2485.
- [23] Caruso P, Dunmore BJ, Schlosser K, et al. Identification of microRNA-124 as a major regulator of enhanced endothelial cell glycolysis in pulmonary arterial hypertension via PTBP1 (polypyrimidine tract binding protein) and pyruvate kinase M2[J]. *Circulation*, 2017, 136(25):2451-2467.
- [24] Kang K, Peng X, Zhang X, et al. MicroRNA-124 suppresses the transactivation of nuclear factor of activated T cells by targeting multiple genes and inhibits the proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(35):25414-25427.
- [25] Zhu TT, Zhang WF, Yin YL, et al. MicroRNA-140-5p targeting tumor necrosis factor- $\alpha$  prevents pulmonary arterial hypertension[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6):9535-9550.
- [26] Zhang Y, Xu J. miR-140-5p regulates hypoxia-mediated human pulmonary artery smooth muscle cell proliferation, apoptosis and differentiation by targeting Dnmt1 and promoting SOD2 expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 473(1):342-348.
- [27] Rothman AM, Arnold ND, Pickworth JA, et al. MicroRNA-140-5p and SMURF1 regulate pulmonary arterial hypertension[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(7):2495-2508.
- [28] Zhou G, Chen T, Raj JU. MicroRNAs in pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2015, 52(2):139-151.
- [29] Courboulin A, Paulin R, Giguère NJ, et al. Role for miR-204 in human pulmonary arterial hypertension[J]. *J Exp Med*, 2011, 208(3):535-548.
- [30] Meloche J, Pflieger A, Vaillancourt M, et al. Role for DNA damage signaling in pulmonary arterial hypertension[J]. *Circulation*, 2014, 129(7):786-797.
- [31] Ruffenach G, Chabot S, Tanguay VF, et al. Role for Runt-related transcription factor 2 in proliferative and calcified vascular lesions in pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 194(10):1273-1285.
- [32] Soubrier F, Chung WK, Machado R, et al. Genetics and genomics of pulmonary arterial hypertension[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62(25 suppl):D13-D21.
- [33] Morrell NW, Aldred MA, Chung WK, et al. Genetics and genomics of pulmonary arterial hypertension[J]. *Eur Respir J*, 2019, 53(1):1801899.
- [34] Southgate L, Machado RD, Gräf S, et al. Molecular genetic framework underlying pulmonary arterial hypertension[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17(2):85-95.
- [35] Rhodes CJ, Batai K, Bleda M, et al. Genetic determinants of risk in pulmonary arterial hypertension: international genome-wide association studies and meta-analysis[J]. *Lancet Respir Med*, 2019, 7(3):227-238.
- [36] Gräf S, Haimel M, Bleda M, et al. Identification of rare sequence variation underlying heritable pulmonary arterial hypertension[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):1416.
- [37] Zhu N, Pauculo MW, Welch CL, et al. Novel risk genes and mechanisms implicated by exome sequencing of 2572 individuals with pulmonary arterial hypertension[J]. *Genome Med*, 2019, 11(1):69.
- [38] Ventetuolo CE, Mitra N, Wan F, et al. Oestradiol metabolism and androgen receptor genotypes are associated with right ventricular function[J]. *Eur Respir J*, 2016, 47(2):553-563.
- [39] Damico R, Kolb TM, Valera L, et al. Serum endostatin is a genetically determined predictor of survival in pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2015, 191(2):208-218.
- [40] Eyries M, Montani D, Girerd B, et al. EIF2AK4 mutations cause pulmonary veno-occlusive disease, a recessive form of pulmonary hypertension[J]. *Nat Genet*, 2014, 46(1):65-69.
- [41] Liu D, Liu QQ, Eyries M, et al. Molecular genetics and clinical features of Chinese idiopathic and heritable pulmonary arterial hypertension patients[J]. *Eur Respir J*, 2012, 39(3):597-603.
- [42] Evans JD, Girerd B, Montani D, et al. BMPR2 mutations and survival in pulmonary arterial hypertension: an individual participant data meta-analysis[J]. *Lancet Respir Med*, 2016, 4(2):129-137.
- [43] Zhu N, Gonzaga-Jauregui C, Welch CL, et al. Exome sequencing in children with pulmonary arterial hypertension demonstrates differences compared with adults[J]. *Circ Genom Precis Med*, 2018, 11(4):e001887.
- [44] Germain M, Eyries M, Montani D, et al. Genome-wide association analysis identifies a susceptibility locus for pulmonary arterial hypertension[J]. *Nat Genet*, 2013, 45(5):518-521.