

2025 年度陕西省科学技术奖提名公示材料

一、项目名称

Foxp3 基因甲基化修饰促进动脉粥样硬化的机制研究

二、提名者及提名意见

提名单位：陕西省卫生健康委员会

提名意见：冠状动脉粥样硬化性心脏病已经成为威胁人类,尤其是发展中国家人群健康的首要原因。项目将动脉粥样硬化表观遗传机制作为研究对象,探讨了 Foxp3 基因甲基化修饰促进动脉粥样硬化的机制。在该项目的实施过程中,受到了国家自然科学基金的支持,团队深入研究了 Foxp3 基因甲基化修饰促进动脉粥样硬化的分子机制,发表多篇高质量学术论文,研究成果被顶级医学期刊多次引用,在 ACC 等顶级心血管国际会议上进行交流,在学术圈内产生了较高的影响。该项目的研究内容真实可靠,研究成果创新性强,在动脉粥样硬化的治疗中具有巨大潜力。同意推荐陕西省自然科学二等奖。

三、项目简介

(一) 研究内容

冠状动脉粥样硬化性心脏病(Coronary Artery Disease),已经成为威胁人类,尤其是发展中国家人群健康的首要原因。冠心病的病理基础为动脉粥样硬化(Atherosclerosis),引起动脉粥样硬化的原因很复杂,免疫炎症反应是重要因素。动脉粥样硬化斑块的形成和发展是由于致病的促炎细胞与抗炎细胞失衡造成的。调节性 T 细胞(Tregs)是一类 T 细胞特殊亚型,能够抑制多种炎性细胞,能够控制对自身或非己抗原的免疫耐受,调节 T 细胞内环境稳定,抑制多种免疫炎症疾病的发展。已有大量研究证明调节性 T 细胞有抑制动脉粥样硬化的作用,在动脉粥样硬化的发生发展中起重要作用。FOXP3 是转录因子 forkhead/winged-helix 家族的成员,主要表达于 CD4+CD25+调节性 T 细胞,是关系调节性 T 细胞发育和功能的关键因子。FOXP3 的稳定表达是 Treg 细胞维持表型和发挥功能所必须。

FOXP3 基因的第一内含子区,位于启动子下游约 4000 bp 处,是一个富含 CpG 结构的区域,又称 TSDR (Treg-cell specific demethylated region),为转录因子结合区域。在 Treg 细胞中,TSDR 的 DNA 去甲基化决定着 FOXP3 的稳定表达。只有 FOXP3-TSDR 去甲基化,才能够使 FOXP3 基因稳定表达,Treg 细胞发挥抑制功能。FOXP3-TSDR 去甲基化是 Treg 细胞的特征性标志。DNA 甲基化修饰是一种从遗传中获得的,使 DNA 发生甲基化修饰的表遗传调控过程。基因组 DNA 甲基化模式改变会直接或间接抑制基因转录,影响基因表达。DNA

甲基化能关闭某些基因的活性，去甲基化则诱导了基因的重新活化和表达。这一病理生理过程虽然已经发现有数十年，但是没有引起心血管病研究者的关注。近年来一些学者发现，环境、饮食、衰老、代谢情况、以及生活习惯等后天因素，均可改变基因的甲基化状态，进而影响基因的表达和功能。由于 DNA 甲基化异常的致病过程是可以被逆转的，这可能是未来治疗的靶点。

动脉粥样硬化的发病机制极为复杂，至目前为止尚未完全研究清楚。结合课题组前期研究与既往文献回顾，我们认为，动脉粥样硬化的发生可能是由于某些危险因素诱发 FOXP3 基因异常甲基化，造成调节性 T 细胞数量及功能下降，导致免疫失衡而引起，而外源性补充去甲基化处理的 CD4+T 细胞可阻止甚至逆转动脉粥样硬化进程。主要机制概括如下：

1) 动脉粥样硬化的发生与调节性 T 细胞中 FOXP3-CNS2 区的 DNA 高甲基化相关，

FOXP3 高甲基化是急性冠脉综合征患者不良心血管事件的独立危险因素。

本课题组的前期研究发现，冠心病患者的去甲基化 FOXP3 所代表的调节性 T 细胞水平显著降低，FOXP3 基因去甲基化水平和动脉粥样硬化的严重程度呈负相关关系。冠心病的危险因素之一，氧化低密度脂蛋白能够增加 FOXP3 基因的甲基化程度，减少 FOXP3 基因表达。提示 FOXP3 基因甲基化修饰在冠心病的发病中起重要作用，表观遗传学改变调控动脉粥样硬化进程。我们进一步队列研究发现，FOXP3-TSDR 甲基化水平升高与 ACS 患者不良结局的风险增加有关。同时，我们在动物实验中验证了临床的发现，随着 ApoE^{-/-}小鼠外周血 FOXP3-TSDR 甲基化水平的升高，ApoE^{-/-}小鼠外周血中 Tregs 的水平降低，动脉粥样硬化加重。

2) FOXP3 基因甲基化修饰促进动脉粥样硬化主要受 DNA 甲基转移酶 3b (DNMT3b) 调控。

与冠脉正常受试者相比，冠心病患者外周血 Treg 细胞中 DNMT3b 表达明显增高 (DNMT1 和 DNMT3a 无明显变化)，FOXP3 去甲基化水平降低 (即甲基化水平升高)。体外 Ox-LDL 干预下，CD4+CD25+调节性 T 细胞中 DNMT3b 增加约 22 倍 (DNMT1 与 DNMT3a 无明显变化)，同时 FOXP3 去甲基化水平降低 (即甲基化水平升高)。FOXP3 的表达下调。我们进一步抑制 DNMT3b 的表达后，可明显降低 FOXP3 甲基化水平降低，FOXP3 的表达水平升高，降低炎症因子水平。DNMT3b 病毒转染 APOE^{-/-}小鼠，小鼠 Treg 细胞的 FOXP3 甲基化水平明显减低。FOXP3 的表达水平明显升高。外周血 Treg 水平升高，小鼠血浆中抑炎因子水平明显升高，动脉粥样硬化明显减轻。

3) 通过 DNA 甲基转移酶抑制剂 (Aza) 外源性补充去甲基化处理的 CD4+T 细胞 (分化为功能性 Tregs) 可阻止甚至逆转动脉粥样硬化进程。

5-氮杂胞苷 (Aza) 能够在体外有效诱导初始 CD4+ T 细胞分化为功能性 Tregs。同时, Aza 诱导的 Tregs 转移至小鼠后, 可以显著抑制动脉粥样硬化的各个阶段。在 Aza-iTreg 转移后, APOE^{-/-}小鼠脾脏中的 CD4+ T 细胞出现了 Foxp3 调节性 T 细胞特异性去甲基化区域 (TSDR) 的显著去甲基化以及 Foxp3 表达的上调。而这一过程, 是 Aza 通过抑制 DNA 甲基转移酶 1 (Dnmt1) 介导的 Foxp3-TSDR 去甲基化和 Foxp3 表达的上调实现的。

在本课题组的系列研究中, 我们聚焦于 FOXP3 基因甲基化修饰促进动脉粥样硬化的机制, 进行了深入研究, 以及探索通过表观遗传修饰转化 FOXP3 基因甲基化状态来逆转动脉粥样硬化的可能。课题组的发现揭示了利用大量 Aza 将 CD4+T 细胞诱导的 iTregs 进行细胞治疗在动脉粥样硬化的治疗中具有巨大潜力。

(二) 科学发现点

通过大量的研究, 课题组发现并提出: 1) FOXP3 高甲基化是急性冠脉综合征患者不良心血管事件的独立危险因素。2) DNMT3b 调控 Treg 细胞 FOXP3 基因甲基化促进动脉粥样硬化。3) Aza 能够在体外有效诱导初始 CD4+ T 细胞分化为功能性 Tregs。同时, Aza 诱导的 Tregs 转移至小鼠后, 可以显著抑制动脉粥样硬化的各个阶段。

(三) 科学价值

我们的研究成果证实了 FOXP3 基因高甲基化促进动脉粥样硬化, 并探索通过表观遗传修饰转化 FOXP3 基因甲基化状态来逆转动脉粥样硬化的可能。

(四) 同行引用及评价

主要研究成果已累计发表英文学术论文 5 篇(均被 SCI 期刊杂志收录), 通过检索 SCI 数据库, 累计被引用 134 次; 发表中文学术论文 4 篇, 通过检索 CCD 数据库, 累计被引用 10 次。多次在包括长城心脏病大会(GW-ICC)及美国心脏病学会年会(ACC)等重大国内外学术会议上交流, 获得良好评价。

四、客观评价

本项目研究成果引起了学术界的极大兴趣, 受到同行专家的积极评价及关注。与本项目相关的论文共发表论文 10 篇, 其中 SCI 论文 6 篇, 中文论文 4 篇。SCI 论文被累计他引 134 次, 被国际顶级医学期刊 Signal Transduction and Targeted Therapy (IF=52.7,JCR1 区), Nature Reviews Cardiology(IF=44.2,JCR1 区) Circulation Research(IF=16.2,JCR1 区), Journal of the American College of Cardiology(IF=22.3,JCR1 区), Cardiovascular

Research(IF=13.3,JCR1 区) Atherosclerosis Thrombosis and Vascular Biology(IF=7.4,JCR1 区) 等顶级医学杂志引用。

Xiaoyan Wang 等学者引用本项目成果引文句子“Additionally, DNMT inhibitors and other epigenetic therapies might help modulate macrophage functions to prevent or treat CVDs. Indeed, inhibition of DNMT3b has been found to increase the expression of Tregs while decreasing the levels of pro-inflammatory cytokines such as IL-1 β and IFN- γ ,thereby regulating the inflammatory response and the development of atherosclerosis”(IF=52.7); Ryosuke Saigusa 等学者引用本项目成果引文句子“The instability of FOXP3 expression might be caused by increased methylation of the FOXP3 locus, which is observed in patients with severe coronary artery disease”(IF=44.2); Monika Sharma 等学者引用本项目成果引文句子“Several factors are thought to contribute to the decline in Tregs during atherosclerosis, including epigenetic regulation of the FoxP3 locus”(IF=16.2); Barbara Rizzacasa 等学者引用本项目成果引文句子“The expression of proinflammatory genes, such as interferon gamma (INF-g), interleukin 6 (IL-6), forkhead box P3 (FOXP3), platelet-derived growth factor (PDGF), and intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), appears to be regulated through DNA methylation”(IF=22.3).....

代表性论文 2 曾于 2022 年获得“陕西省第十五届自然科学优秀学术论文奖”三等奖。

项目成果多次在包括长城心脏病大会(GW-ICC)及美国心脏病学会年会(ACC)等重大国内外学术会议上交流，获得良好评价。

本项目受到 1 项国家自然科学基金的资助，项目完成合同要求，经费使用合理，按时顺利结题。

五、代表性论文专著目录

1) 代表性论文(不超过 5 篇)

序号	论文名称	刊物名称、期卷及页码	作者
1	Methylation of FOXP3 in regulatory T cells is related to the severity of coronary artery disease.	Atherosclerosis 2013, 228,346-352	Jia Lei, Zhu Ling, Wang Ji Zheng, Wang Xiao Jian, Chen Jing Zhou, Song Lei, Wu Yong Jian, Sun Kai, Yuan Zu Yi, Hui Rutai.
2	Elevated Methylation Levels of FOXP3-TSDR is Associated with Increased	Hypertension 2019; 74:581-589	Zhu Ling , Jia Lei, Liu Zhongwei, Zhang Yong, Wang Junkui,

	Risk for Adverse Outcomes in the Patients with Acute Coronary Syndrome.		Yuan Zuyi, Hui Rutai.
3	DNA Methyltransferase 3b Accelerates the Process of Atherosclerosis.	Oxidative Medicine and Cellular Longevity.2022 Apr 5;2022:5249367	Zhu Ling, Jia Lei, Liu Na, Wu Runmiao, Guan Gongchang, Hui Rutai, Xing Yujie, Zhang Yong, Wang Junkui.
4	Diabetes mellitus exacerbates post-myocardial infarction heart failure by reducing sarcolipin promoter methylation	ESC Heart Failure. 2020 Aug;7(4):1935-1948.	Liu Zhongwei, Zhang Yong, Qiu Chuan, Zhu Haitao, Pan Shuo, Jia Hao, Kang Hongyan, Guan Gongchang, Hui Rutai, Zhu Ling , Wang Junkui.
5	Matrine inhibits advanced glycation end products-induced macrophage M1 polarization by reducing DNMT3a/b-mediated DNA methylation of GPX1 promoter	European Journal of Pharmacology. 2022 Jul 5;926:175039	Cui Qianwei , Du Haixia, Ma, YanpengWang Ting, Zhu Haitao, Zhu Ling, Pan Shuo, Min Ningbin, Wang, Xiqiang, Liu, Zhongwei

六、主要完成人情况

序号	姓名	技术职称	行政职务	工作单位	完成单位	对本项目贡献
1	祝领	副主任医师	无	陕西省人民医院	陕西省人民医院	项目主持、设计、实施、总结
2	张勇	主任医师	科室副主任	陕西省人民医院	陕西省人民医院	项目指导、总结
3	王西强	主治医师	无	陕西省人民医院	陕西省人民医院	项目实施、数据分析
4	崔倩卫	副主任医师	无	陕西省人民医院	陕西省人民医院	项目实施、图像处理
5	武润苗	主治医师	无	陕西省人民医院	陕西省人民医院	项目实施、数据采集
6	官功昌	主任医师	科室副主	陕西省人	陕西省人	项目实施、数据分

			任	民医院	民医院	析
--	--	--	---	-----	-----	---

七、主要完成单位情况

主要完成单位：陕西省人民医院

对本项目主要学术贡献：

主要完成单位对本项目完成起到了组织、管理及协调作用，并提供了本项目的全部研究环境，使顺利完成研究得到有力保障。

1) 研究环境的支持和保障

陕西省人民医院是陕西省卫生健康委员会直属的大型综合三级甲等医院，医疗设施完善，设备先进，医疗技术和服务水平在西北地区居领先地位。心血管内科是陕西省医学重点专科。课题组依托的陕西省感染与免疫重点实验室是省级重点实验室，实验室具备从事分子生物学及其它基础实验研究的技术条件和经验，良好的硬件条件为本课题的完成提供了保证。

2) 研究人员方面的支持和保障

第一完成人的研究方向为动脉粥样硬化与表观遗传学的分子机制研究。近十年来第一完成人一直从事相关方向的临床科研工作，积累了大量的科研经验，获得多项国家级及省部级基金支持，是该课题得以进行的可靠保证；课题组主要完成人学历较高，具有较强的科研能力，对研究方法熟练掌握，团队协作高效，为项目的顺利进行提供了保证。

3) 学术环境的支持与保障

陕西省人民医院对科研工作高度重视，学术氛围浓厚，大力开展国内外的学术交流，促进了本项目的顺利完成。

六、完成人合作关系说明

祝领：项目负责人，近十年来一直致力于动脉粥样硬化与表观遗传学的分子机制研究，主持完成国家自然科学基金项目及多项省部级基金。负责本项目的设计、实施与总结。

张勇：项目参与人，参与项目的设计，主要负责项目实施过程的指导与质量控制，参与论文的撰写与修改。

王西强：项目参与人，主要负责项目实施，参与动物及分子生物学实验，分析收集的数据并撰写报告，参与论文的撰写与修改。

崔倩卫：项目参与人，主要负责项目实施，参与动物及分子生物学实验，对获得的实验结

果图片进行分析处理并收集数据，参与论文的撰写与修改。

武润苗：项目参与人，主要负责项目实施，参与动物及分子生物学实验，采集各类实验数据并建立数据库进行分类。

官功昌：项目参与人，主要负责项目实施，参与动物及分子生物学实验，分析所收集的数据，参与论文的撰写与修改。