

• 论 著 •

亚甲基四氢叶酸还原酶基因 C677T 多态性与高血压患者动脉粥样斑块形成的相关性

朱 武¹, 张 坤²

(陕西省安康市中医医院:1. 检验科;2. 超声科 725000)

摘 要:目的 探讨亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因 C677T 的多态性以及高血压患者动脉粥样斑块形成的相关性。方法 应用 PCR-金磁微粒层析法检测 246 例高血压患者 C677T 基因的多态性,循环酶法检测高血压患者血清同型半胱氨酸水平,采用彩色超声仪进行颈动脉以及冠状动脉粥样斑块的检测。结果 246 例高血压患者中有斑块 178 例,无斑块 68 例。有斑块组 TT 基因型频率和 T 等位基因频率显著高于无斑块组(47.3% vs. 15.9%, $P < 0.01$; 43.5% vs. 30.1%, $P < 0.01$),有斑块组血浆中 Hcy 水平[(21.13±8.22)μmol/L]高于无斑块[(12.58±7.21)μmol/L],差异有统计学意义($P < 0.05$)。TT 纯合子患者的颈动脉内膜及冠状动脉厚度高于 CT 型和 CC 型者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。高 Hcy 血症($OR = 2.48, 95\% CI: 1.42 \sim 3.71, P = 0.03$)为动脉粥样硬化斑块形成的独立危险因素中。结论 亚甲基四氢叶酸还原酶基因 C677 基因中位点 C 突变为 T 明显增加了高血压患者动脉粥样斑块形成的风险。

关键词:亚甲基四氢叶酸还原酶; 高血压; 动脉粥样硬化

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.13.015 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2016)13-1783-03

Correlation between methylene tetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism and formation of atherosclerotic plaque: a study in patients with hypertension

ZHU Wu¹, ZHANG Kun²

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Ultrasonography, Traditional Chinese Medicine Hospital of Ankang, Ankang, Shanxi 725000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the correlation between the polymorphism of methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene C677T polymorphism and the formation of atherosclerotic plaque in patients with hypertension. **Methods** The C677T polymorphism was detected by PCR-gold magnetic particle-based chromatography in 246 patients with hypertension gene, serum homocysteine (Hcy) levels were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. In addition, atherosclerotic plaque were tested in carotid artery and coronary artery by color ultrasonography. **Results** In 246 patients with hypertension, 178 cases had found atherosclerotic plaque (plaque group) and 68 cases didn't find atherosclerotic plaque (no plaque group). TT genotype and T allele frequency in plaque group were significantly higher than no plaque group (47.3% vs. 15.9%, $P < 0.01$; 43.5% vs. 30.1%, $P < 0.01$). The level of Hcy of plaque group [(21.13±8.22)μmol/L] was significantly higher than that of no plaque group ($P < 0.05$). The intima-media thickness (IMT) in patients with TT homozygous of carotid artery and coronary artery were significantly higher than that of CT type and CC type ($P < 0.05$). High homocysteine levels in serum was the independent risk factors for the formation of atherosclerotic plaque ($OR = 2.48, 95\% CI: 1.42 \sim 3.71, P = 0.03$). **Conclusion** The site of C gene in methylene tetrahydrofolate reductase gene C677 polymorphism mutated to T increases the risk of formation of atherosclerotic plaque in patients with hypertension.

Key words: methylene tetrahydrofolate reductase; hypertension; atherosclerosis

高血压是一种全身性疾病,因为高血压的发生伴随着心、脑、肾和视网膜等器官功能性或器质性改变,而动脉粥样硬化的发生是高血压损害靶器官的途径之一。长期血压升高的患者动脉会发生一系列病理改变,血压升高后动脉易产生粥样硬化甚至斑块,从而影响其生理功能^[1]。有研究明确表明动脉粥样硬化及血管并发症的独立危险因素中包括高同型半胱氨酸(Hcy)血症^[2]。而 Hcy 代谢的关键酶是亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR),MTHFR 中 C677 基因位点 C 的突变会导致 MTHFR 的活性明显降低,从而使得 Hcy 在血清中的含量明显升高。本研究旨在研究 MTHFR 基因 C677 的突变与高血压患者动脉粥样斑块形成的相关性,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 3 月至 2015 年 12 月在本院住

院的 246 例原发性高血压患者,其中男 140 例,女 106 例,年龄 47~73 岁,平均(57.3±11.8)岁,所有患者经治疗后血压均控制在 140/90 mm Hg 以下。《1999WHO/ISH 高血压处理指南》作为研究中 246 例原发性高血压患者的诊断标准。排除标准:合并糖尿病;合并脑梗死;合并慢性肾功能不全或者肾脏移植手术;心电图检测 T3、T4 异常;肝功能检查转氨酶升高并且高于正常人 2 倍;合并恶性贫血、白血病、肿瘤。所选高血压患者在近 3 个月内未使用降脂药物、茶碱等。采集 246 例患者的既往史以及生活习惯,包括吸烟、酗酒、冠心病家族史等。吸烟定义为每天吸烟 5 支以上并大于 1 年。

1.2 动脉粥样斑块检测 颈动脉以及冠状动脉粥样斑块检测主要采用彩色多普勒超声显像仪。在动脉窦下 1 cm 处(无斑块部位)测量内膜中膜厚度(IMT),显像仪探头中心频率为

10.0 MHz, 动脉粥样硬化斑块组(斑块组)为 IMT 大于 1.3 mm, 非斑块组为 IMT 小于 1.3 mm。

1.3 实验室指标检测

1.3.1 标本采集 所有患者均需采集静脉抗凝血和非抗凝血各 4 mL, 采集前需要禁食 12 h 以上, 通过静止后离心将血清分离, 检测血清中 Hcy、三酰甘油(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)、载脂蛋白 A1(ApoA1)、载脂蛋白 B(ApoB)。另外抽取抗凝血分离血浆采用酚-氯仿方法提取 DNA, 用于检测 MTHFR C677T 基因。

1.3.2 血浆 Hcy 检测 采用循环酶法检测血浆中 Hcy 的水平, 贝克曼 AU5800 全自动分析仪, 采用速率法检测。

1.3.3 MTHFR C677T 基因检测 MTHFR C677T 基因的检测采用 PCR-金磁微粒层析法, 检测过程严格按照金磁 MTHFR C677T 基因检测试剂盒说明书。MTHFR C677T 基因检测使用的仪器为美国 ABI7500 核酸扩增仪, 核酸提取仪为 Smart32 型。

1.4 统计学处理 本研究的数据采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析, 计数资料组间比较采用 χ^2 检验, 采用 t 检验进行计量资料组间的比较, 采用 Logistic 回归分析动脉粥样硬化斑块形成的影响因素。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 有斑块与无斑块组患者特征比较 有斑块组共 178 例, 其中男 102 例, 女 76 例; 无斑块组 68 例, 其中男 38 例, 女 30 例。有斑块与无斑块组患者在血清尿酸(UA)、TC、LDL-C、HDL-C、TG 水平以及性别、年龄、吸烟史、体质指数、血压、饮酒史等方面差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

2.2 血浆 Hcy 水平比较 有斑块组血浆中 Hcy 水平 $[(21.13\pm 8.22)\mu\text{mol/L}]$ 高于无斑块 $[(12.58\pm 7.21)\mu\text{mol/L}]$, 差异有统计学意义($P<0.05$)。CT 基因型患者和 CC 基因型患者血浆 Hcy 水平均低于 TT 纯合子患者, 差异有统计学意义($P<0.05$); CC 基因型患者血浆 Hcy 水平与 CT 基因

型患者的血浆 Hcy 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 1 有斑块组与无斑块组患者一般情况

项目	有斑块组($n=178$)	无斑块组($n=68$)
UA($\mu\text{mol/L}$, $\bar{x}\pm s$)	392.7 $\pm$ 45.5	381.2 $\pm$ 41.8
TC(mmol/L , $\bar{x}\pm s$)	4.0 $\pm$ 1.4	3.9 $\pm$ 1.6
LDL-C(mmol/L , $\bar{x}\pm s$)	2.26 $\pm$ 1.4	2.20 $\pm$ 1.1
HDL-C(mmol/L , $\bar{x}\pm s$)	1.2 $\pm$ 0.6	1.3 $\pm$ 0.8
TG(mmol/L , $\bar{x}\pm s$)	2.1 $\pm$ 0.9	2.2 $\pm$ 0.8
年龄(岁, $\bar{x}\pm s$)	66.21 $\pm$ 7.58	63.89 $\pm$ 7.32
男性[$n(\%)$]	91(51.1)	38(55.9)
体质指数(kg/m^2 , $\bar{x}\pm s$)	27.7 $\pm$ 5.7	26.9 $\pm$ 4.8
吸烟史[$n(\%)$]	20(25.6)	10(23.8)
酗酒史[$n(\%)$]	10(5.6)	3(4.4)
收缩压(mm Hg , $\bar{x}\pm s$)	133.6 $\pm$ 22.5	132.8 $\pm$ 25.6
舒张压(mm Hg , $\bar{x}\pm s$)	67.7 $\pm$ 12.8	65.8 $\pm$ 14.2

2.3 有斑块组与无斑块组患者 MTHFR 基因型和等位基因频率的分布情况 无斑块组 TT 基因型及 T 等位基因频率低于有斑块组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 2 有斑块组与无斑块组不同基因型患者血浆 Hcy 水平比较($\mu\text{mol/L}$, $\bar{x}\pm s$)

基因型	有斑块组($n=178$)	无斑块组($n=68$)
TT	35.33 $\pm$ 10.75*	28.15 $\pm$ 8.96
CT	18.20 $\pm$ 7.13	16.72 $\pm$ 7.88
CC	16.02 $\pm$ 7.31	15.98 $\pm$ 7.34

注: 与无斑块组比较, * $P<0.05$ 。

表 3 有斑块组与无斑块组患者 MTHFR 基因型和等位基因频率的分布情况[$n(\%)$]

组别	n	基因型			等位基因	
		CC	CT	TT	C	T
有斑块组	178	18(10.1)	107(60.1)	53(29.8)*	150(42.1)	206(57.9)*
无斑块组	68	20(29.4)	39(57.4)	9(13.2)	79(58.1)	57(41.9)

注: 与无斑块组比较, * $P<0.05$ 。

2.4 有斑块组与无斑块组患者不同基因型 IMT 比较 采用方差分析比较不同基因型的 IMT。结果显示, TT 基因型的 IMT 值为 $(1.50\pm 0.37)\text{mm}$, CT 基因型的 IMT 值为 $(1.29\pm 0.45)\text{mm}$, CC 基因型的 IMT 值为 $(0.81\pm 0.19)\text{mm}$ 。TT 基因型与 CT 基因型的 IMT 值高于与 CC 基因型, 差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.5 Logistic 回归分析动脉粥样硬化斑块形成的影响因素 单因素回归分析结果显示, 动脉粥样硬化斑块形成相关因素有血浆 Hcy、年龄等, 而多因素 Logistic 回归显示, 动脉粥样硬化斑块形成的独立危险因素中为高 Hcy 血症($OR=2.48, 95\%CI: 1.42\sim 3.71, P=0.03$)。

3 讨 论

MTHFR C677T 基因突变最常见的不耐热错义突变, 第

677 位碱基是 MTHFR 基因突变的主要位点, 胸腺嘧啶(T)置换了其中的胞嘧啶(C), 从而使编码的氨基酸变成了缬氨酸(Val), 而不是原来的丙氨酸(Ala), 突变的同时产生了两个酶切位点, 分别是 Hinf I 和 Taq I。MTHFR 基因 C677T 位点可突变为 3 中类型: 野生型突变、杂合型突变和纯合型突变。很多研究结果显示 MTHFR C677T 基因在人群中呈 CC、CT、TT 多态性分布, 这种多态性和突变频率在不同地区的分布明显不同, 这种不同造成了人类对不同疾病有着不同的易感程度^[3]。已有研究证实, MTHFR C677T 突变会导致冠状动脉病变及颈动脉粥样斑块形成的发生率明显升高, 突变为 TT 纯合子的患者颈动脉 IMT 厚度增加^[4-5]。还有研究发现个人的生活习惯如吸烟、饮酒及遗传性疾病如糖代谢紊乱等都会导致 MTHFR 基因突变。

在很多因素共同作用的情况下就很容易产生动脉粥样硬化,本研究证实高 Hcy 血症是动脉粥样硬化发生的独立危险因素,与之前的研究报道一致^[1]。Hcy 水平升高患者一般会患有高血压,这样的患者动脉更容易导致动脉粥样斑块的形成^[6-7]。有研究发现血浆中 Hcy 水平与血压以及脑梗死的发生密切相关^[8-9]。本研究发现,动脉中有斑块组的患者血浆 Hcy 水平显著高于无斑块组患者,对各种因素进行校正之后,血浆中 Hcy 水平仍然是动脉粥样斑块形成的独立危险因素。Hcy 代谢的关键酶是 MTHFR,研究发现该酶的基因突变,尤其是 C677 位点突变为 T 之后,可使酶的活性下降 70% 左右,进而使得血浆中 Hcy 水平发生显著变化^[10]。本研究结果发现,血浆 Hcy 水平升高最明显的是 C677 突变的纯合子 TT 患者,而且患者 T 位点发生突变后血浆 Hcy 明显升高。这表明血浆 Hcy 水平的高低与 T 位点突变相关。这些结果提示 Hcy 对血管损害的程度与 MTHFR C677 位点 C 向 T 的突变的程度相关。携带 MTHFR C677TT 基因型的人群发生动脉粥样硬化的风险高于 CT 杂合型及 CC 野生型人群,这将会成为动脉粥样硬化初级预防以及早期治疗的新思路^[11-12]。

本研究表明,MTHFR C677 位点 C 向 T 突变可能是动脉粥样硬化形成的遗传性易感因子,该突变通过影响血浆中 Hcy 水平使得高血压患者动脉粥样斑块形成的风险明显增加。

参考文献

[1] 林小慧,陈梅玲,李清华,等. 脑梗死患者颈动脉斑块与血浆同型半胱氨酸水平及亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性的关系[J]. 中国动脉硬化杂志,2011,19(9):761-764.

[2] 张俊,郭富强. 高同型半胱氨酸血症与缺血性脑卒中的研究进展[J]. 实用医院临床杂志,2013,10(2):151-154.

[3] Yang B, Liu Y, Li Y, et al. Geographical distribution of MTHFR C677T, A1298C and MTRR A66G gene polymorphisms in China: findings from 15357 adults of Han nationality[J]. PLoS One, 2013, 8(3): e57917.

(上接第 1782 页)

参考文献

[1] 刘正会,李丽. 炎症因子的变化在慢性阻塞性肺疾病病程发展中的应用探讨[J]. 临床肺科杂志,2013,18(9):1565-1567.

[2] Ali H, Hussein S. Serum magnesium and not vitamin D is associated with better QoL in COPD: A cross-sectional study[J]. Respir Med, 2015, 109(6): 727-733.

[3] 邱川,李明才,武燕,等. 慢性阻塞性肺疾病气道炎症的研究进展[J]. 中国呼吸与危重监护杂志,2011,10(2):196-199.

[4] 袁义,杨刚. 慢性阻塞性肺疾病评估测试在急性加重期的研究[J]. 临床肺科杂志,2014,19(5):807-809.

[5] Jung JY, SK Young, KK Se, et al. Relationship of vitamin D status with lung function and exercise capacity in COPD[J]. Respirology, 2015, 20(5): 782-789.

[6] Zendedel A, Gholami M, Anbari K, et al. Effects of vitamin D intake on FEV1 and COPD exacerbation: A randomized clinical trial study[J]. Glob J Health Sci, 2015, 7(4): 243-248.

[4] 尹春琳,徐东,魏嘉平,等. 急性冠状动脉综合征患者同型半胱氨酸与亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性及其与冠心病其他危险因素的相关分析[J]. 中国循环杂志,2013, 28(4): 254-257.

[5] 潘琦,郭立新,初明峰,等. 糖尿病患者同型半胱氨酸及其代谢相关酶基因多态性与颈动脉内膜——中膜厚度的关系[J]. 中国动脉硬化杂志,2005,13(2):195-198.

[6] 张树琛,鲁炳怀,朱凤霞. 原发性高血压患者血浆同型半胱氨酸水平的研究[J]. 实用医技杂志,2008,15(25): 3353-3354.

[7] 方理刚,朱文玲,朱广瑾,等. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性、同型半胱氨酸和叶酸与冠脉病变支数的关系[J]. 中国医学科学院学报,2003,25(2):128.

[8] Linnebank M, Moskau S, Semmler A, et al. A possible genetic link between MTHFR genotype and smoking behavior[J]. PLoS One, 2012, 7(12): e53322.

[9] Hotoleanu C, Chouky E. Hyperhomocysteinemia and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism in a patient with coronary artery disease and repetitive miscarriages[J]. Rom J Intern Med, 2012, 50(4): 313-316.

[10] 王克义,李保华,冷建杭,等. 血浆同型半胱氨酸水平与脑梗死的相关性研究[J]. 中国临床神经科学,2013,14(2): 95-96.

[11] 程红兵,陈云霞,武延隼,等. 老年人群血浆 HCY 水平与 MTHFR C677T 基因多态性[J]. 长治医学院学报,2012, 26(6): 401-403.

[12] 陈路明,王若丹,帅杰. 血中同型半胱氨酸和亚甲基四氢叶酸还原酶 C677T 基因多态性与脑血管狭窄的关系[J]. 中国脑血管病杂志,2013,10(3):119-124.

(收稿日期:2016-02-12 修回日期:2016-04-16)

[7] Pollard SL, Lima JJ, Checkley W. Vitamin D and COPD: who benefits from supplementation [J]. Lancet Respir Med, 2015, 3(2): 89-91.

[8] 陆晶晶,郑永华,尹琦,等. 白介素 6、白介素 17 与慢性阻塞性肺疾病相关性研究[J]. 临床肺科杂志,2010,15(7): 940-941.

[9] 张永,程德云,王慧,等. 慢性阻塞性肺疾病大鼠肺内白细胞介素-8 和肿瘤坏死因子- α 与气道炎症的关系研究[J]. 中国呼吸与危重监护杂志,2003,2(6):335-339.

[10] Persson LJ, Aanerud M, Hiemstra PS, et al. Vitamin D, vitamin D binding protein, and longitudinal outcomes in COPD[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0121622.

[11] Malinovschi A, Masoero M, Bellocchia M, et al. Severe vitamin D deficiency is associated with frequent exacerbations and hospitalization in COPD patients [J]. Respir Res, 2014, 15(1): 131.

[12] Mekov E, Slavova Y, Tsakova A, et al. Vitamin D deficiency and insufficiency in hospitalized COPD patients [J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0129080.

(收稿日期:2016-01-28 修回日期:2016-04-03)