

DOI:10.16781/j.0258-879x.2016.08.0936

上海市 438 例体检者同型半胱氨酸水平与代谢关键酶基因多态性的关联分析

吴颖臻¹, 卢大儒^{1*}, 程细祥², 蒋跃明¹

1. 复旦大学生命科学学院现代人类学教育部重点实验室, 上海 200438

2. 上海市仁爱医院检验科, 上海 200235

[摘要] **目的** 研究上海市 438 例体检者的同型半胱氨酸(Hcy)水平与代谢相关酶基因多态性的关联。**方法** 酶循环法检测上海市仁爱医院 438 例健康体检者的血浆总 Hcy(tHcy)、电化学发光法检测叶酸,连接酶检测反应(LDR)进行基因分型。比较不同基因型的 Hcy 水平,并分析代谢相关酶的基因多态性与 tHcy 水平的关联。**结果** 高同型半胱氨酸血症(HHcy)检出率为 28.54%(125/438)。MTHFR C677T 不同基因型的 tHcy 水平间差异有统计学意义($P<0.001$)。MTHFR A1298C 杂合型 CA 降低 HHcy 的患病风险[OR=0.49, 95% CI: (0.26, 0.92), $P=0.027$]。MTHFR C677T 杂合型 CT 和突变纯合型 TT 均增加 HHcy 的患病风险[OR=2.15, 95% CI: (1.06, 4.36), $P=0.035$; OR=7.58, 95% CI: (3.15, 18.22), $P<0.001$]。MTR G905A、MTRR A66G、MTRR Ac.56+781C、MTR A2756G、CBS C551G 并未发现与 HHcy 的患病风险有关联。**结论** MTHFR C677T 杂合型 CT 和突变纯合型 TT 是 HHcy 患病的风险基因型;MTHFR A1298C 杂合型 CA 可能有助于降低 HHcy 风险。

[关键词] 同型半胱氨酸;高同型半胱氨酸血症;基因多态性;代谢

[中图分类号] R 589.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2016)08-0936-07

Correlation of homocysteine levels with gene polymorphisms of metabolic enzyme in 438 adults taking physical examination in Shanghai, China

WU Ying-zhen¹, LU Da-ru^{1*}, CHENG Xi-xiang², JIANG Yue-ming¹

1. MOE Key Laboratory of Contemporary Anthropology, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200438, China

2. Clinical Laboratory, Shanghai Ren-ai Hospital, Shanghai 200235, China

[Abstract] **Objective** To investigate the correlation of homocysteine (Hcy) level with gene polymorphism of Hcy-metabolizing enzymes in healthy adults receiving physical examination in Shanghai, China. **Methods** Totally 438 participants who were receiving physical examination in Shanghai Ren-ai Hospital were included in this study. The plasma total Hcy (tHcy) levels and serum folate levels were measured by enzymatic cycling methods and electrochemiluminescence, respectively. Genetic typing was determined by ligase detection reaction(LDR). The plasma tHcy levels were compared between different genotypes, and the association of plasma tHcy levels with genetic polymorphisms was analyzed. **Results** The incidence of hyperhomocysteinemia (HHcy) was 28.54% (125/438) in the present study. There was significant difference in the levels of plasma tHcy among the three genotypes of MTHFR C677T ($P<0.001$). Heterozygous genotype CA of MTHFR A1298C was associated with a significantly reduced risk of HHcy (OR=0.49, 95% CI: 0.26-0.92, $P=0.027$); heterozygous genotype CT of MTHFR C677T was associated with a significantly increased risk of HHcy (OR=2.15, 95% CI: 1.06-4.36, $P=0.035$), and homozygous genotype TT was also associated with a significantly increased risk of HHcy (OR=7.58, 95% CI: 3.15-18.22, $P<0.001$). No correlation was found for HHcy risk with MTR G905A, MTRR A66G, MTRR Ac.56+781C, MTR A2756G, or CBS C551G. **Conclusion** TT and CT genotype of MTHFR C677T have been found to be the risks for HHcy; CA genotype of MTHFR A1298C may help to decrease the risk to HHcy.

[Key words] homocysteine; hyperhomocysteinemia; gene polymorphism; metabolism

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2016, 37(8): 936-942]

[收稿日期] 2015-09-22 **[接受日期]** 2016-04-21

[作者简介] 吴颖臻, 硕士生. E-mail: wy_zhen@126.com

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-51630619, E-mail: drlu@fudan.edu.cn

同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)已被证实与心脑血管疾病^[1-2]、出生缺陷及癌症^[3]等密切相关。当人体血浆 Hcy 浓度升高到一定水平就会出现高同型半胱氨酸血症(hyperhomocysteinemia, HHcy),这是一种备受关注的多基因多因素疾病。除叶酸、维生素 B₆ 和 B₁₂外^[4],影响 Hcy 在人体血浆浓度的重要因素还包括代谢相关酶的基因多态性^[5]。然而,关于代谢相关酶的基因多态性对 Hcy 水平和 HHcy 患病风险的影响,各地报道的结论不一^[6-7],且不尽全面,因而一直存在争议。本研究检测上海市仁爱医院体检者的 Hcy 代谢相关酶的基因多态性,并分析不同基因型与 Hcy 水平的关联,为健康人群早期有效预防 HHcy 提供科学依据。

1 资料和方法

1.1 研究对象 采用横断面研究,收集 2014 年 10 月 27 日至 31 日上海市仁爱医院健康体检门诊全部体检者资料,排除孕妇、哺乳期妇女和严重慢性疾病、肝肾功能不全者。所有研究对象均为无血缘关系的成年人(年龄 ≥ 18 周岁),平均年龄为(38.0 \pm 8.6)岁。本研究通过仁爱医院医学伦理委员会讨论审核,符合患者知情同意的相关规定。根据美国心脏协会标准,将健康体检者血浆 Hcy 水平 $\geq 15 \mu\text{mol/L}$ 定义为 HHcy^[8],设为病例组;将来自同一体检人群,血浆 Hcy 水平 $< 15 \mu\text{mol/L}$ 者设为对

照组。两组研究对象均无其他器官恶性肿瘤史。

1.2 样本采集和检测 采集晨起空腹外周静脉血置于乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)-K₂ 抗凝管(2 mL)和无添加剂管(5 mL)。无添加剂管血样标本离心 10 min (1 500 $\times g$),分离血清后,于 30 min 内按统一的实验室标准操作规程(standard operating procedures, SOP)要求使用全自动生化分析仪(HiTaChi 7600)进行循环酶法测定血浆总 Hcy(tHcy)水平,电化学发光仪(Siemens ADVIA Centaur XP)检测叶酸水平。EDTA-K₂ 抗凝管标本送至复旦大学生命科学院实验室作 DNA 抽提。

1.3 基因提取和检测 引物设计软件为 Assay Design 3.1,采用饱和氯化钠法提取 DNA,由上海翼和应用生物技术有限公司采用连接酶检测反应(ligase detection reaction, LDR)方法进行基因分型。聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增所用仪器为 GeneAmp PCR System 9700;PCR 扩增引物序列见表 1;PCR 反应总体积 25 μL :基因组 DNA 溶液 2 μL ,含引物(20 pmol/ μL)各 0.5 μL ,2.5 mmol/L 的 4 \times dNTP 0.5 μL ,5 U/ μL Taq 酶 0.1 μL ,MgCl₂ 2.0 mmol/L,10 \times PCR Buffer 2.5 μL ;PCR 扩增条件为:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,60.5 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,共 35 个循环,最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min。

表 1 PCR 扩增引物序列

Tab 1 PCR of all used primer pairs

SNPs of genes	Upstream primer	Downstream primer
MTHFR A1298C	5'-AAGAACGAAGACTTCAAA-3'	5'-TGGGGGGAGGAGCTGAC-3'
MTR G905A	5'-CATGCCATTCTCTGCCTCA-3'	5'-TGCCCACTGTCCAACCTCC-3'
MTHFR C677T	5'-GAAAAGCTGCGTGATGATG-3'	5'-TTGAAGGAGAAGGTGTC-3'
MTRR A66G	5'-AGGCAAAGGCCATCGCA-3'	5'-ATCCATGTACCACAGCTT-3'
MTRR Ac. 56+781C	5'-CAGGCAAAGGCCATCGCAGAAGACAT-3'	5'-CACTTCCCAACAAAATTCTTCAAAG-3'
MTR A2756G	5'-CATGGAAGAATATGAAGATATTAGAC-3'	5'-GAACTAGAAGACAGAAATTCTCTA-3'
CBS C551G	5'-GTTGTTAACGGCGGTATTGG-3'	5'-GATGAAGTCGTAGCCGATCC-3'

1.4 统计学处理 数据采用 Excel 2010 软件进行双人核对录入,SPSS 17.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的连续性变量用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用成组 t 检验或方差分析;非正态分布的连续性

变量的数据特征表示为中位数(最小值~最大值),组间比较采用非参数 Kruskal-Wallis 检验。率的比较采用 χ^2 检验。单因素 logistic 回归分析等位基因多态性对 HHcy 患病风险的影响及不同基因型的

HHcy 患病风险。应用 Hardy-Weinberg 平衡分析软件检验基因型分布是否符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 研究对象的 Hcy 水平 本研究共收集 452 份体检资料,剔除资料不完整者和严重肝肾功能不全者共 14 例,最终获得研究资料 438 份,其中男性 181 例(41.32%),女性 257 例(58.68%);HHcy 患者 125 例(28.54%)。研究对象 tHcy 总体上呈偏态分布,tHcy 中位数为 12.9(3.3~60.6) $\mu\text{mol/L}$;男性为 15.1(8.0~60.6) $\mu\text{mol/L}$,女性为 11.9(3.3~32.5) $\mu\text{mol/L}$,男性的 tHcy 平均水平高于女性($P<0.001$)。

2.2 等位基因频率及对 HHcy 的患病风险分析 对照组 *MTR* G905A、*MTHFR* A1298C、*MTHFR* C677T、*MTRR* A66G、*MTRR* Ac. 56+781C、*MTR* A2756G 和 *CBS* C551G 的突变等位基因频率依次为 0.203、0.198、0.361、0.275、0.379、0.085 和 0.313。Hardy-Weinberg 遗传平衡吻合度检验结果显示,对照组的等位基因频率分布均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律(均 $P>0.05$),说明本研究纳入的体检者各单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点基因频率分布处于平衡状态,具有群体代表性且不存在分型错误。7 个 SNP 位点基本信息见表 2。

表 2 各位点的基本信息

Tab 2 Information of SNPs of genes

SNP ID	Gene	Chromosome ^a	Chromosome position ^a	SNP location ^a	Base change	Minor allele frequency			P value for HWE ^c
						Database ^b	Control	Case	
rs1131450	<i>MTR</i> G905A	1	236898549	3'-UTR	G/A	0.274	0.203	0.184	0.696
rs1801131	<i>MTHFR</i> A1298C	1	11794419	Missense	A/C	0.156	0.198	0.156	0.648
rs1801133	<i>MTHFR</i> C677T	1	11796321	Missense	C/T	0.325	0.361	0.420	0.095 9
rs1801394	<i>MTRR</i> A66G	5	7870860	5'-Near gene	A/G	0.376	0.275	0.280	0.456
rs326119	<i>MTRR</i> Ac. 56+781C	5	7869970	5'-Near gene	A/C	0.399	0.379	0.408	0.491
rs1805087	<i>MTR</i> A2756G	1	236885200	Missense	A/G	0.193	0.085	0.048	0.581
rs2850144	<i>CBS</i> C551G	21	43076866	5'-Near gene	C/G	0.347	0.313	0.328	0.658

SNP: Single nucleotide polymorphism; HWE: Hardy-Weinberg equilibrium. ^a: SNP location in National Center for Biotechnology Information Genome build 37.3 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi); ^b: From dbSNP databases; ^c: HWE P in control group of homocysteine

Logistic 回归分析发现,*MTHFR* C677T 的等位基因 T 可增加 HHcy 患病风险,T 等位基因人群患 HHcy 的风险是 C 等位基因的 2.44 倍[OR = 2.44(1.81, 3.30), $P<0.001$]。具体结果见表 3。

2.3 不同基因型的 tHcy 平均水平比较 进一步用独立样本的非参数检验比较 *MTHFR* C677T 不同基因型的 tHcy 水平,结果显示 *MTHFR* C677T 不同基因型的 tHcy 水平间差异有统计学意义($P<0.001$),突变纯合型 TT 携带者 tHcy 平均水平最高,可达 16.0 (8.8~60.6) $\mu\text{mol/L}$,突变杂合型 CT 携带者的 tHcy 平均水平[13.0 (3.3~57.8) $\mu\text{mol/L}$]较低,而野生型 CC 携带者的 tHcy 水平[12.2 (7.3~24.6) $\mu\text{mol/L}$]最低。此外,若校正性别、年龄、叶酸、尿酸和肌酐这些因素后,则发现 *MTR* G905A 不同基因型的 tHcy 之间也有统计学差异($P=0.042$),但其他位点

并未发现不同基因型上存在 tHcy 水平的差异。具体结果见表 4。

2.4 多态性基因对 HHcy 的患病风险分析 应用 logistic 回归模型分析不同的遗传模式和基因型与 HHcy 患病风险的相关性。在共显性遗传模型、显性遗传模型、隐性遗传模型和加性遗传模型中,基因型 *MTHFR* A1298C 和 *MTHFR* C677T 与 HHcy 的患病风险相关。*MTHFR* A1298C 突变 CA 基因型能降低 HHcy 的患病风险[OR = 0.49, 95% CI: (0.26, 0.92), $P=0.027$];*MTHFR* C677T 的突变 CT 和 TT 基因型均增加 HHcy 的患病风险[分别是 OR = 2.15, 95% CI: (1.06, 4.36), $P=0.035$ 和 OR = 7.58, 95% CI: (3.15, 18.22), $P<0.001$]。其余位点均未能发现与 HHcy 患病风险相关的基因型。具体结果见表 5。

表 3 等位基因在病例组和对照组的频率及与 HHcy 患病风险的关联

Tab 3 Allele frequencies of 7 SNPs between cases and controls and their association with hyperhomocysteinemia (HHcy) risk

SNP ID	Gene	Allele	Case		Control		P for χ^2 test	Logistic regression	
			N=125	n(%)	N=313	n(%)		OR(95%CI)	P
rs1131450	<i>MTR</i> G905A	G	204	(81.6)	499	(79.7)	0.526	1.00(reference)	
		A	46	(18.4)	127	(20.3)		0.89(0.61,1.29)	0.526
rs1801131	<i>MTHFR</i> A1298C	A	211	(84.4)	502	(80.2)	0.149	1.00(reference)	
		C	39	(15.6)	124	(19.8)		0.75(0.51,1.11)	0.149
rs1801133	<i>MTHFR</i> C677T	C	105	(42.0)	400	(63.9)	<0.001	1.00(reference)	
		T	145	(58.0)	226	(36.1)		2.44(1.81,3.30)	<0.001
rs1801394	<i>MTRR</i> A66G	A	180	(72.0)	454	(72.5)	0.876	1.00(reference)	
		G	70	(28.0)	172	(27.5)		1.03(0.74,1.42)	0.876
rs326119	<i>MTRR</i> Ac. 56+781C	A	148	(59.2)	389	(62.1)	0.420	1.00(reference)	
		C	102	(40.8)	237	(37.9)		1.13(0.84,1.53)	0.420
rs1805087	<i>MTR</i> A2756G	A	238	(95.2)	573	(91.5)	0.062	1.00(reference)	
		G	12	(4.8)	53	(8.5)		0.55(0.29,1.04)	0.065
rs2850144	<i>CBS</i> C551G	C	82	(32.8)	196	(31.3)	0.669	1.00(reference)	
		G	168	(67.2)	430	(68.7)		0.93(0.68,1.28)	0.669

SNP: Single nucleotide polymorphism

表 4 各位点的基因型上 Hcy 平均水平比较

Tab 4 Comparison of Hcy levels between different genotypes

SNP ID	Gene	Genotype	Levels of Hcy ^a c _B /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	P		
				Model 1	Model 2 ^b	Model 3 ^c
rs1131450	<i>MTR</i> G905A	GG	13.3(7.1-60.6)	0.057	0.089	0.042
		GA	12.6(3.3-50.8)			
		AA	12.3(9.3-21.1)			
rs1801131	<i>MTHFR</i> A1298C	AA	13.1(3.3-60.6)	0.250	0.189	0.171
		CA	12.9(7.4-35.9)			
		CC	12.6(9.4-24.6)			
rs1801133	<i>MTHFR</i> C677T	CC	12.2(7.3-24.6)	<0.001	<0.001	<0.001
		CT	13.0(3.3-57.8)			
		TT	16.0(8.8-60.6)			
rs1801394	<i>MTRR</i> A66G	AA	12.8(8.3-56.7)	0.263	0.393	0.252
		GA	13.5(3.3-60.6)			
		GG	12.3(7.1-24.6)			
rs326119	<i>MTRR</i> Ac. 56+781C	AA	13.0(3.3-60.6)	0.233	0.509	0.820
		CA	12.8(7.1-57.8)			
		CC	13.9(8.7-50.0)			
rs1805087	<i>MTR</i> A2756G	AA	13.1(3.3-60.6)	0.321	0.378	0.266
		GA	12.6(7.1-51.1)			
		GG	13.7(12.4-14.6)			
rs2850144	<i>CBS</i> C551G	CC	13.5(8.3-51.1)	0.451	0.922	0.836
		CG	13.4(7.1-60.6)			
		GG	12.8(3.3-50.8)			

SNP: Single nucleotide polymorphism; Hcy: Homocysteine. ^a: Median (minimum-maximum); ^b: Adjust for age, gender, and folic acid; ^c: Adjust for age, gender, folic acid and creatinine

表5 不同遗传模式及基因型在病例组和对照组的频率及与HHcy患病风险的关联

Tab 5 Genotype frequencies and genetic models of SNPs between cases and controls and their associations with hyperhomocysteinemia (HHcy) risk

Gene	Genetic model	Genotype	Case	Control	<i>P</i> for χ^2 test ^a	Logistic regression ^a		
			<i>N</i> =125 <i>n</i> (%)	<i>N</i> =313 <i>n</i> (%)		OR(95%CI)	<i>P</i>	
<i>MTR</i> G905A	Additive	GG	82(65.6)	200(63.9)	0.597	1.00(reference)		
		GA	40(32.0)	99(31.6)		1.07(0.59,1.94)	0.817	
		AA	3(2.4)	14(4.5)		0.40(0.82,1.95)	0.256	
	Dominant	GA+AA	43(34.4)	113(36.1)	0.825	0.93(0.60,1.43)		0.737
		Recessive	GG+GA	122(97.6)		299(95.5)	1.00(reference)	
			AA	3(2.4)		14(4.5)	0.53(0.15,1.86)	0.417
	Codominant	GG	82(65.6)	200(63.9)	0.776	0.67(0.72,1.26)		0.626
		GA	40(32.0)	99(31.6)				
		AA	3(2.4)	14(4.5)				
<i>MTHFR</i> A1298C	Additive	AA	91(72.8)	200(63.9)	0.153	1.00(reference)		
		CA	29(23.2)	102(32.6)		0.49(0.26,0.92)	0.027	
		CC	5(0.4)	11(3.5)		1.10(0.25,4.82)	0.897	
	Dominant	CA+CC	34(23.6)	113(36.1)	0.093	0.661(0.42,1.04)		0.076
		Recessive	AA+CA	120(96.0)		302(96.5)	1.00(reference)	
			CC	5(0.4)		11(3.5)	1.14(0.39,3.36)	0.999
	Codominant	AA	91(72.8)	200(63.9)	0.103	1.02(0.39,3.36)		0.176
		CA	29(23.2)	102(32.6)				
		CC	5(0.4)	11(3.5)				
<i>MTHFR</i> C677T	Additive	CC	22(17.6)	121(38.7)	<0.001	1.00(reference)		
		CT	61(48.8)	158(50.5)		2.15(1.06,4.36)	0.035	
		TT	42(33.6)	34(10.9)		7.58(3.15,18.22)	<0.001	
	Dominant	CT+TT	103(82.4)	192(61.4)	<0.001	2.95(1.77,4.93)		<0.001
		Recessive	CC+CT	83(66.4)		279(89.2)	1.00(reference)	
			TT	42(33.6)		34(10.9)	4.15(2.48,6.94)	<0.001
	Codominant	CC	22(17.6)	121(38.7)	<0.001	2.17(1.59,5.03)		<0.001
		CT	61(48.8)	158(50.5)				
		TT	42(33.6)	34(10.9)				
<i>MTRR</i> A66G	Additive	AA	62(49.6)	162(51.8)	0.788	1.00(reference)		
		GA	56(44.8)	130(41.5)		1.10(0.63,1.92)	0.736	
		GG	7(5.6)	21(6.7)		0.94(0.26,3.40)	0.930	
	Dominant	GA+GG	63(50.4)	151(48.2)	0.751	1.09(0.72,1.65)		0.683
		Recessive	AA+GA	118(94.4)		292(93.3)	1.00(reference)	
			GG	7(5.6)		21(6.7)	0.82(0.35,1.99)	0.830
	Codominant	AA	62(49.6)	162(51.8)	0.723	1.02(0.81,1.55)		0.592
		GA	56(44.8)	130(41.5)				
		GG	7(5.6)	21(6.7)				
<i>MTRR</i> Ac.56+781C	Additive	AA	46(36.8)	118(37.7)	0.402	1.00(reference)		
		CA	56(44.8)	153(48.9)		0.90(0.49,1.64)	0.730	
		CC	23(18.4)	42(13.4)		1.02(0.45,2.34)	0.956	
	Dominant	CA+CC	79(63.2)	195(62.3)	0.913	1.04(0.68,1.60)		0.861
		Recessive	AA+CA	102(81.6)		271(86.6)	1.00(reference)	
			CC	23(18.4)		42(13.4)	1.45(0.83,2.54)	0.233
	Codominant	AA	46(36.8)	118(37.7)	0.814	1.07(0.53,1.73)		0.827
		CA	56(44.8)	153(48.9)				
		CC	23(18.4)	42(13.4)				
<i>MTR</i> A2756G	Additive	AA	113(90.4)	263(84.0)	0.168	1.00(reference)		
		GA	12(9.6)	47(15.0)		0.43(0.18,1.05)	0.063	
		GG	0(0)	3(0.1)				
	Dominant	GA+GG	12(9.6)	50(15.1)	0.09	0.56(0.29,1.09)		0.087
		Recessive	AA+GA	125(100)		310(99.0)	1.00(reference)	
			GG	0(0)		3(0.1)	0.561	0.561
	Codominant	AA	113(90.4)	263(84.0)	0.07	0.52(0.32,1.09)		0.087
		GA	12(9.6)	47(15.0)				
		GG	0(0)	3(0.1)				
<i>CBS</i> C551G	Additive	CC	14(11.2)	29(9.3)	0.828	1.00(reference)		
		CG	54(43.2)	138(44.1)		0.96(0.38,2.45)	0.932	
		GG	57(45.6)	146(46.6)		1.18(0.47,2.99)	0.727	
	Dominant	CG+GG	111(88.8)	284(90.7)	0.594	0.81(0.41,1.59)		0.539
		Recessive	CC+CG	68(54.4)		167(53.4)	1.00(reference)	
			GG	57(45.6)		146(46.6)	0.96(0.63,1.25)	0.916
	Codominant	CC	14(11.2)	29(9.3)	0.591	0.51(0.51,1.52)		0.419
		CG	54(43.2)	138(44.1)				
		GG	57(45.6)	146(46.6)				

SNP: Single nucleotide polymorphism, ^a: Adjust for age, gender, uric acid and folic acid

3 讨论

本研究中 HHcy 患病率为 28.54%, 与早期国内报道的社区人群 HHcy 患病率(23.94%)^[9]接近, 但低于对赣州、昆明等地区的报道^[10-11]。至今尚未明确造成血浆 tHcy 在不同国家和地区间存在差异的原因, 推测可能与遗传异质性和不同地区的饮食结构情况有关。

C677T 和 A1298C 是已确定的 2 个 *MTHFR* 基因多态性。*MTHFR* C677T 的错义突变是导致酶活性降低和(或)热稳定性改变的主要机制^[12]。*MTHFR* C677T 突变, 会导致一个高度保守的丙氨酸(A)被缬氨酸(T)替换, 致使 *MTHFR* 的热敏感性降低, 进而产生 AA(野生型)、AT(杂合型)和 TT(纯合型)3 种基因型, 并可导致体内 Hcy 水平升高^[13], 本研究结果与此理论相符。*MTHFR* A1298C 是 1998 年新确认的对 *MTHFR* 酶活性有影响意义的另一常见突变位点, 该位点核苷酸纯合突变可导致 *MTHFR* 酶的活性降低。本研究中 *MTHFR* A1298C 位点的 C 等位基因频率在对照组中为 19.8%, 远低于 2000 年美国学者研究报道的 40.1%^[14], 提示该位点突变可能存在种族和群体的差异。此外, 本研究结果表明 *MTHFR* A1298C 杂合型 CA 的 HHcy 患病率是野生型 AA 的 0.49 倍 ($P=0.027$), 这与韩越等^[15]研究认为“*MTHFR* A1298C 有可能是非综合征型唇腭裂(NSCL/P)发生的保护因素”的结论相近。

MTRR 基因定位于 5p15.2~15.3, 是蛋氨酸合成酶的辅助因子, 催化甲基钴胺再生。国内外有研究认为 *MTRR* 多态性与血浆半胱氨酸水平相关, G 等位基因可能是 HHcy 的遗传易感标志^[16-17]。但本研究尚未发现 *MTRR* A66G 基因位点对 HHcy 的患病风险有影响。而以往关于 *MTRR* Ac. 56+781C 的研究多集中在先天性心脏病及神经管缺陷方面, 本研究率先在普通体检人群中进行该位点的研究, 但未发现 *MTRR* Ac. 56+781C 基因位点对 HHcy 的患病风险有影响。

MTR 基因定位于 1p43 的 *Ms* 基因的 A2756G 突变最为常见, 这种突变使第 919 位天冬氨酸转变为甘氨酸, 然而大部分研究者认为这种突变不能提高血浆 Hcy 水平^[18], 本研究结论与上述观点一致,

即 *MTR* A2756G 突变对 HHcy 的患病风险无统计学意义。曾有研究报道位于 3'-UTR 的 *MTR* G905A 多态的 A 等位基因为先天性心脏病的风险因子^[19], 但在本研究中, 未发现 *MTR* G905A 基因位点对 HHcy 的患病风险有影响。

胱硫醚- β 合成酶(*CBS*)基因位于 21 号染色体(21q22.3)。*CBS* C551G 和 G919A 是 *CBS* 最常见的基因突变, 均可引起 *CBS* 酶活性的部分丧失, 使 Hcy 和丝氨酸的缩合反应被影响, 导致体内 Hcy 水平升高。但有研究表明 *CBS* C551G 位点突变等位基因 A 对血清 tHcy 水平无明显影响^[20]。本研究结果表明, *CBS* C551G 位点的突变对 HHcy 的患病风险无影响, 有别于其他研究发现 *CBS* C551G 是先天性心脏病患病的保护型位点^[21]。

本研究之所以出现不同于国内外相关研究的结论, 可能与研究对象选择标准、群体遗传结构、群体疾病易感性、相关疾病诊断标准、研究方法和样本量大小等有关。因此, 有必要进行多项大样本、多中心合作的研究来探索代谢相关酶的基因多态性与血浆 tHcy 水平的关联。HHcy 是多因素多基因的疾病, 是遗传、环境、营养因素共同作用和交互影响的结果, 候选基因可能通过与环境之间的交互作用而影响疾病的发生风险和病情程度, 因此不能用一种单一原因解释该疾病的发生。有研究表明, Hcy 水平升高 35% 是由低叶酸、低维生素 B₁₂ 引起, 而 9% 由基因突变引起^[22]。考虑基因-环境的交互作用, 对于准确评估基因与疾病之间的关联非常重要。研究需要进一步纳入更多的影响因素, 深入研究基因多态性的影响意义, 并综合分析各影响因素的交互作用。

[参考文献]

- [1] NAESS H, NYLAND H, IDICULA T, WAJE-ANDREASSEN U. C-reactive protein and homocysteine predict long-term mortality in young ischemic stroke patients[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2013, 22: 435-440.
- [2] ALSULAIMANI S, GARDENER H, ELKIND M S, CHEUNG K, SACCO R L, RUNDEK T. Elevated homocysteine and carotid plaque area and densitometry in the Northern Manhattan Study[J]. *Stroke*, 2013, 44: 457-461.
- [3] FRICK B, SCHROCKSNADDEL K, FUCHS D. Serum

- folate and homocysteine levels in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Cancer*, 2002, 94: 1006-1011.
- [4] 汤群, 陆国平, 吴春芳, 王毓明, 黄霞, 龚兰生. 同型半胱氨酸与叶酸、维生素 B₁₂ 及维生素 B₆ 的关系[J]. *中华心血管病杂志*, 2004, 9: 812-815.
- [5] 顾园园, 沈晓丽. 同型半胱氨酸的代谢及相关酶基因多态性[J]. *国际老年医学杂志*, 2004, 25: 55-59.
- [6] 王伟华, 王凤菊, 刘伟. *MTRR* 基因 A66G 多态性与高同型半胱氨酸血症的相关性研究[J]. *山东医药*, 2007, 47: 54-55.
- [7] 林小慧, 刘开祥, 曾爱源, 陈梅玲, 蒋静子. 高血压患者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研究[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2012, 20: 777-779.
- [8] MALINOW M R, BOSTOM A G, KRAUSS R M. Homocysteine diet and cardiovascular disease; a statement for healthcare professionals from the nutrition committee. American Heart Association. AHA Science Advisory [J]. *Circulation*, 1999, 99: 178-182.
- [9] 胡春平, 邵姣梅, 严江涛, 范巧, 刘珍君, 田橙, 等. 武汉市社区人群血浆同型半胱氨酸分布特征及影响因素的多元逐步回归分析[J]. *中华流行病学杂志*, 2004, 25: 945-948.
- [10] 江丽霞, 施少华, 钟星明, 阳贻红, 胡蓉, 席徐翔. 赣州市人群血清同型半胱氨酸的水平和分布分析[J]. *重庆医学*, 2014, 43: 4197-4120.
- [11] 钱净, 施茜, 杨发涵. 昆明地区人群血清同型半胱氨酸水平的调查分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2013, 34: 820-821.
- [12] RADY P L, SZUCS S, GRADY J, HUDNALL S D, KELLNER L H, NITOWSKY H, et al. Genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) and methioninesynthase (*MTRR*) in ethnic populations in Texas; a report of a novel *MTHFR* polymorphic site, G1793[J]. *Am J Med Genet*, 2002, 107: 162-168.
- [13] VAYA A, PLUME G, BONET E, CARRASO P, MORALES-SUAREZ-VARELA M M. Hyperhomocysteinemia and the methylene tetrahydrofolate reductase C677T mutation in splanchnic vein thrombosis [J]. *Eur J Haematol*, 2010, 86: 167-172.
- [14] ISOTALO P A, WELLS G A, DONNELLY J G. Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms: an examination of C677T and A1298C mutation [J]. *Am J Hum Genet*, 2000, 67: 986-990.
- [15] 韩越, 潘永初, 杜一飞, 万林忠, 王林. 非综合征型唇腭裂与 *MTHFR* 基因多态性的相关性研究[J]. *口腔生物医学*, 2011, 2: 8-12.
- [16] GAUGHAN D J, KLUIJTMANS L A, BARBAUX S, MCMMASTER D, YOUNG I S, YARNELL J W, et al. The methionine synthase reductase (*MTRR*) A66G polymorphism is a novel genetic determinant of plasma homocysteine concentrations [J]. *Atherosclerosis*, 2001, 157: 451-456.
- [17] 王伟华, 王凤菊, 刘伟. *MTRR* 基因 A66G 多态性与高同型半胱氨酸血症的相关性研究[J]. *山东医药*, 2007, 47: 54-55.
- [18] GOS M, SLIWERSKA E, SZPECHT-POTOCKA A. Mutation incidence in folate metabolism genes and regulatory gene in Polish families with neural tube defects [J]. *J Appl Genet*, 2004, 45: 363-368.
- [19] ZHAO J Y, QIAO B, DUAN W Y, GONG X H, PENG Q Q, JIANG S S, et al. Genetic variants reducing *MTR* gene expression increase the risk of congenital heart disease in Han Chinese populations [J]. *Eur Heart J*, 2014, 35: 733-742.
- [20] 朱文丽, 宋晓明, 李孟忆, 刀京晶, 李书琴, 李勇. *CBS* 基因变异与血清同型半胱氨酸水平及先天性心脏病的关系研究[J]. *卫生研究*, 2008, 37: 463-467.
- [21] VASAN R S, BEISER A, DAGOSTINO R B, LEVY D, SELHUB J, JACQUES P F, et al. Plasma homocysteine and risk for congestive heart failure in adults without prior myocardial infarction [J]. *JAMA*, 2003, 289: 1251-1257.
- [22] KLUIJTMANS L A, YOUNG I S, BOREHAM C A, MURRAY L, MCMMASTER D, MCNULTY H, et al. Genetic and nutritional factors contributing to hyperhomocysteinemia in young adults [J]. *Blood*, 2003, 101: 2483-2488.