

• 论 著 •

# 华南地区汉族人群亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性分析

吴自强<sup>1</sup>, 徐楹健<sup>2△</sup>

(1. 广东省广州市荔湾区第三人民医院检验科 510380; 2. 广州医科大学附属第一医院检验科, 广州 510120)

**摘要:**目的 了解亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)C677T 基因多态性在华南地区汉族健康人群、原发性高血压患者和高血压合并冠心病患者中的分布情况。方法 采用芯片技术对 359 例人群的 MTHFR C677T 基因多态性进行检测,并统计男女性别基因型频率的差异。结果 野生型 CC 最多见占 54.9%,突变型 CT 占 33.1%和 TT 占 12.0%,野生型与突变型在男女性别间的分布差异有统计学意义( $P < 0.05$ );TT 的频率在高血压合并冠心病患者与健康人群和原发性高血压患者中分布差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 MTHFR C677T 的多态性分布在男女性别间有差异,也与原发性高血压患者冠心病的发生相关。

**关键词:**亚甲基四氢叶酸还原酶; 原发性高血压; 冠心病; 基因多态性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.13.017

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)13-1791-03

## Analysis on gene polymorphism of MTHFR C677T in Han population of south China area

WU Ziqiang<sup>1</sup>, XU Yunjian<sup>2</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Liwan District Third People's Hospital, Guangzhou, Guangdong 510380, China;

2. Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University,

Guangzhou, Guangdong 510120, China)

**Abstract: Objective** To investigate the distribution situation of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T gene polymorphism among healthy Han population, patients with primary hypertension and patients with hypertension complicating coronary heart disease(CHD) in south China area. **Methods** MTHFR C677T gene polymorphism in 359 cases was detected by adopting the microarray method. The differences of genotypes frequencies were statistically compared between males and females. **Results** The wild type CC genotypes were common, accounting for 54.9%, the mutation type CT accounted for 33.1% and TT for 12.0%. The distribution difference of wild type and mutation type had statistical difference between the male and female populations( $P < 0.05$ ); the TT frequency distribution had statistical difference among the patients with hypertension complicating CHD, healthy population and patients with primary hypertension( $P < 0.05$ ). **Conclusion** MTHFR C677T gene polymorphism distribution has difference between male and female populations, and is related to the CHD occurrence in the patients with primary hypertension.

**Key words:** MTHFR; primary hypertension; coronary heart disease; gene polymorphism

亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)是同型半胱氨酸(HCY)和叶酸代谢过程中的关键酶。MTHFR 主要是催化 5, 10-亚甲基四氢叶酸反应并提供甲基给 HCY 进行转甲基代谢。若 MTHFR 的催化能力下降, HCY 转变为甲硫氨酸的过程出现障碍,会造成高 HCY 血症。MTHFR 基因的 C677T 位碱基突变最为常见,分为 CC、CT 和 TT 3 种基因型,其中 TT 酶活性最低,TT 型人群更易患高 HCY 血症<sup>[1]</sup>。HCY 水平升高和原发性高血压两者在导致心血管事件上具有协同作用, HCY 升高合并高血压的心血管风险升高 10 倍,但关于 MTHFR 基因 C677T 多态型与高血压合并冠心病关系的研究说法不一<sup>[2-5]</sup>。本文采用基因芯片检测技术对华南地区人群,包括健康人群、原发性高血压患者和高血压合并冠心病患者同时进行 MTHFR C677T 基因多态性分析,为本地区冠心病早期诊断及危险人群早期预防提供新思路,现将结果报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取广州市荔湾区第三人民医院和广州医科大学第一附属医院住院和门诊原发性高血压患者共 239 例,其中合并冠心病者 116 例,年龄 47~91 岁;健康体检人群组 120 例,血压均在正常范围,年龄 17~41 岁。所有入选检测者籍贯

均是华南地区的汉族人,均无血缘关系和异族通婚史。

**1.2 仪器与试剂** MTHFR 基因多态性检测试剂盒,血液基因组 DNA 提取试剂盒, R-526-24 全自动杂交仪, BE-2.0 生物芯片识读仪均购自上海百傲科技股份有限公司; ABI7900 PCR 仪购自美国 life 公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 基因组 DNA 的提取** 采集临床患者 2 mL 乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K<sub>2</sub>)抗凝静脉血,使用血液基因组 DNA 提取试剂盒提取基因组 DNA,按百傲试剂盒说明书方法进行操作。基因组 DNA 置 -20 °C 保存。

**1.3.2 PCR 反应体系和条件** 采用不对称 PCR 进行扩增,反应体系为基因组 DNA 2 μL, 扩增液(含引物)22 μL, 反应液 A 1 μL, 总体积 25 μL; 扩增条件为 50 °C 5 min; 94 °C 5 min; 94 °C 25 s, 60 °C 25 s, 72 °C 25 s, 35 个循环; 72 °C 5 min。设置阳性对照和阴性对照,与标本一起扩增。

**1.3.3 芯片杂交、扫描判断基因型** 依据百傲试剂盒说明书方法进行 PCR 产物的基因芯片杂交,杂交反应均在全自动杂交仪上完成,杂交结束后采用生物芯片识读仪进行扫描识读,根据软件判断其基因型。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行统计学处理。计数资料以率表示,比较采用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 MTHFR C677T 基因多态性的性别分布结果 野生型 CC 最多见,占 54.9%。突变型包括 CT (33.1%) 和 TT (12.0%),共占 45.2%。野生型与突变型在男女人群间的分布差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 MTHFR C677T 基因多态性的性别分布结果[n(%)]

性别	n	CC	CT	TT
男	235	141(60.0)	71(30.2)	23(9.8)
女	124	56(45.2)	48(38.7)	20(16.1)
合计	359	197(54.9)	119(33.1)	43(12.0)

2.2 MTHFR C677T 基因多态性在不同人群分布结果 CC 和 CT 频率在健康人群、原发性高血压患者和高血压合并冠心病患者间的分布差异无统计学意义( $P > 0.05$ );TT 在高血压合并冠心病组中检出率高达 19.0%,健康人群和原发性高血压患者间的分布差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),但高血压合并冠心病患者与健康人群和原发性高血压患者分布差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 MTHFR C677T 基因多态性在不同人群分布结果[n(%)]

不同人群	n	CC	CT	TT
健康人群	120	70(58.3)	40(33.3)	10(8.3)
原发性高血压者	123	73(60.2)	39(31.7)	11(8.9)
高血压合并冠心病者	116	54(46.6)	40(34.5)	22(19.0)

3 讨 论

MTHFR 是一种重要的叶酸代谢酶,它在体内催化 5,10-甲基四氢叶酸还原为体内最主要的甲基供体-5'甲基四氢叶酸,具有重要的生理功能。MTHFR C677T 点突变为常见的错义突变,发生突变的基因为第 677 位上的胞嘧啶被胸腺嘧啶所取代,造成了缬氨酸取代丙氨酸,影响与黄素腺嘌呤二核苷酸的结合,从而改变 MTHFR 的氨基酸结构,使 MTHFR 酶活性下降,使 HCY 无法正常完成向蛋氨酸的转化,HCY 水平明显升高,引起高 HCY<sup>[6-7]</sup>。高血压和血浆 HCY 水平升高在导致心脑血管疾病上具有协同作用,MTHFR C677T 基因多态性的研究对于监控 HCY 水平和对心血管疾病进行提前预防具有十分积极的作用。

本研究对 359 例华南地区人群进行 MTHFR C677T 基因多态性分析,发现野生型 CC 最多见(54.9%),突变型包括 CT 和 TT,共占 45.2%;CC 型的频率男性(60.0%)高于女性(45.2%),野生型与突变型在男女人群间的分布差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。新疆<sup>[8]</sup>、北京<sup>[9]</sup>等地区报道都各不相同,包括各基因型频率分布与男女差异,检测方法有使用荧光定量 PCR 法,限制性片段长度多态性扩增技术,本文采用基因芯片技术。分析其原因可能与所用检测方法、所选检测人群、地域种族等因素有关,应该加大样本量用多种方法进行检测,从而发现不一致的原因。

本研究通过对健康人群、原发性高血压患者和高血压合并冠心病患者同时进行 MTHFR C677T 基因多态性分析,发现 TT 的频率高血压合并冠心病患者与健康人群和原发性高血压患者分布差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明 MTHFR C677T 多态性可能是华南地区冠心病发生的危险因素,但与原发性高血压的关系未明。目前,MTHFR C677T 基因多态性与高血压的关系在国内外报道结果不尽一致,河南豫北地区研究显示高血压组与对照组 MTHFR C677T 等位基因频率和 3 种基因型频率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )<sup>[10]</sup>;傣族地区研究认为 C677T 突变与 MTHFR 的功能无关,傣族人群可能存在不同于汉族人群的特殊的高血压易患位点<sup>[11]</sup>;国外对澳大利亚白人进行研究,发现高血压与 MTHFR C677T 基因多态性无关<sup>[12]</sup>;沙特阿拉伯地区研究发现高血压伴有肥胖组和高血压伴糖尿病组的 MTHFR C677T 突变基因频率均明显高于健康组,提示 T 等位基因可能为高血压的风险因子。

综上所述,本研究发现 MTHFR 基因 C677T 多态性与华南地区汉族人群的冠心病发生密切相关,T 等位基因可能是华南地区人群的遗传易感基因。国内外研究结果的不一,可能受多方面因素的共同影响。为进一步了解 MTHFR C677T 多态性与高血压、冠心病的关系,还需进行多样本、多地域、多民族的广泛研究。

参考文献

[1] Houcher B, Houcher Z, Touabti A, et al. Nutritional factors, homocysteine and C677T polymorphism of the methylene tetrahydrofolate reductase gene in algerian subjects with cardiovascular disease[J]. Pteridines, 2012, 23(1): 14-21.

[2] Houcher B, Houcher Z, Touabti A, et al. Nutritional factors, homocysteine and C677T polymorphism of the methylene tetrahydrofolate reductase gene in algerian subjects with cardiovascular disease[J]. Pteridines, 2012, 23(1): 14-21.

[3] 胡小平,刘春莲,武玲,等. MTHFR 基因 C677T 多态性与冠心病患者血浆同型半胱氨酸和叶酸水平相关[J]. 基础医学与临床,2011,31(7):773-776.

[4] 陈云霞,程红兵,武延隼,等. 长治人群 MTHFR C677T 基因多态性分布与血浆 Hcy 水平[J]. 山西医科大学学报,2013,44(2):130-133.

[5] 梁长流,蒋善群,彭少杰,等. MTHFR C677T 基因多态性与高同型半胱氨酸型高血压关联性研究[J]. 中华疾病控制杂志,2011,15(6):480-484.

[6] 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它危险因素的相关分析[J]. 中国循环杂志,2013, 28(4):254-257.

[7] Fowdar JY, Lason MV, Szvetko AL, et al. Investigation of homocysteine-pathway-related variants in essential hypertension[J]. Int J Hypertens, 2012, 21(10):190923.

[8] 丁一妹,王玉,李小鹰. 外周动脉疾病与同型半胱氨酸和亚甲基四氢叶酸还原酶基因 C677T 突变[J]. 中华老年心脑血管病杂志,2011,13(3):278-280. (下转第 1795 页)