

# 锁定钢板与髓内钉治疗肱骨近端 Neer III、IV 部分骨折的临床对比研究

程刚 陶占怀 张博 焦耿君

**摘要** 目的 对比锁定钢板与髓内钉治疗复杂肱骨近端骨折的效果。方法 回顾分析 2008 年 3 月~2014 年 3 月采用锁定钢板或髓内钉治疗，并获得半年以上回访的 Neer 分型 3 部分和 4 部分肱骨近端骨折患者，对比两组患者的手术用时、切口长度、颈干角、疼痛评分、Constant 功能评分、上臂前举角度、并发症等指标。结果 无论 Neer 分型 3 部分或 4 部分骨折，髓内钉组在手术用时、术中出血量、切口长度上，均明显优于锁定钢板组 ( $P < 0.01$ )，两组患者在术后疼痛评分、颈干角、骨折愈合时间方面差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )；Neer 分型 3 部分骨折患者，锁定钢板组与髓内钉组 Constant 评分 ( $87.4 \pm 10.4$ ,  $85.2 \pm 13.5$ ) 及前举角度 ( $152.7^\circ \pm 25.3^\circ$ ,  $148.9^\circ \pm 21.70^\circ$ ) 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )；而对于 4 部分骨折患者，髓内钉组的 Constant 评分 ( $74.6 \pm 11.4$ ) 及前举角度 ( $127.0^\circ \pm 22.4^\circ$ )，显著低于锁定钢板组 ( $82.1 \pm 7.5$ ,  $141.7^\circ \pm 12.7^\circ$ )。结论 两种方法治疗复杂肱骨近端骨折均可获得较好效果，髓内钉创伤小，手术时间短，锁定钢板术后肩关节功能恢复较好。

**关键词** 肱骨近端骨折 锁定钢板 髓内钉

中图分类号 R683.41

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.07.029

**Comparative Study of Locking Plate and Intramedullary Nail in Treatment of Neer III, IV Proximal Humerus Fractures** Cheng Gang, Tao Zhanhuai, Zhang Bo, et al. Microsurgery Department of Anning Branch Hospital, Lanzhou General Hospital of Lanzhou Military Region, Gansu 730050, China

**Abstract Objective** To compare the effects of the locking plate and intramedullary nail for the treatment of complex humerus complicated fractures. **Methods** The patients whose three or four parts fractures treated by the locking plate or intramedullary nail and followed up for more than half a year from March 2008 to March 2014 were analyzed retrospectively. The surgical duration, intraoperative blood loss, length of cut, collodiaphysial angle, visual analogue score, Constant – Murley score, forward angle of forearms and complications were compared between the two groups. **Results** Both the three and four parts patients, the surgical duration and length of cut were shorter ( $P < 0.01$ ). While the VAS, collodiaphysial angle and fracture healing time were similar between two groups ( $P > 0.05$ ). For the patients with three parts fractures, there was no significant difference in the Constant score ( $87.4 \pm 10.4$ ,  $85.2 \pm 13.5$ ) and forward angle ( $152.7^\circ \pm 25.3^\circ$ ,  $148.9^\circ \pm 21.70^\circ$ ) between the two groups, but for the patients with four parts fractures, the Constant score ( $74.6 \pm 11.4$ ) and forward angle ( $127.0^\circ \pm 22.4^\circ$ ) was worse in the intramedullary nail group compared to the plate group ( $82.1 \pm 7.5$ ,  $141.7^\circ \pm 12.7^\circ$ ). **Conclusion** Two kinds of methods for treatment of complex fractures of the proximal humerus can obtain better effect. Intramedullary nail had aspects of less trauma, short operation time, while locking plate had better shoulder joint function recovery.

**Key words** Proximal humerus fractures; Locking plate; Intramedullary nail

肱骨近端骨折是常见的上肢损伤，常发生于骨质疏松的老年人，发生率约占全身骨折的 4%~5%。对于无明显移位的简单骨折，可采取保守治疗，而对于骨折移位明显的多部分骨折，保守治疗难以取得满意的效果，远期可造成患者肩关节活动明显受限，影响生活质量。对于复杂肱骨近端骨折的治疗，手术方式可采取钢板内固定、克氏针张力带固定、髓内钉固定、人工

肱骨头置换等<sup>[1]</sup>。现对行锁定钢板或髓内钉内固定治疗的 Neer 分型 3,4 部分骨折病例进行回顾分析。

## 资料与方法

1. 一般资料：选取 2008 年 3 月~2014 年 3 月笔者科室采用手术治疗的 Neer III、IV 型肱骨近端骨折患者，并获得 1 年以上随访患者共计 108 例。其中 54 例采用解剖锁定钢板治疗，另 54 例采用髓内钉治疗。108 例患者均为闭合性骨折，男性 50 例，女性 58 例，患者平均年龄  $54.7 \pm 12.7$  岁，左侧 47 例，右侧 61 例，伴肩关节脱位 8 例。根据 Neer 分型，3 部分骨折 68 例，4 部分骨折 40 例。损伤原因包括摔伤 61 例，

作者单位：730050 中国人民解放军兰州军区兰州总医院安宁分院显微外科

通讯作者：程刚，电子信箱：chengganggs@126.com

高处坠落伤 8 例,交通事故伤 39 例。

2. 手术方法:患者均行全麻或高位臂丛神经阻滞麻醉,沙滩椅位或平卧位患肩垫高。(1) 锁定钢板组:采用胸大肌三角肌间隙入路,将头静脉保护好后连同胸大肌向内牵拉,将三角肌向外牵拉,暴露肱骨近端并检查肩袖是否破裂。必要时沿锁骨下缘切断部分三角肌,并向下翻转,充分显露肱骨头。找到大小结节及肱二头肌长头腱,去除骨折周围血肿及坏死软组织,尽量保留局部碎骨块,骨质缺损明显者,取自体髂骨植骨。复位各骨折块后,以克氏针临时固定。C 型臂术中透视骨折端复位良好后,放置解剖型锁定钢板于大结节顶点下 0.5cm,结节间沟后 1cm 处,顺导向装置钻孔后,拧入近端锁定螺钉 3~5 枚,骨折远端也可行锁定螺钉固定。如伴随肩袖或关节囊损伤,以不可吸收线牢固缝合。冲洗后留置负压吸引,逐层关闭切口。(2) 髓内钉组:行肩峰前外侧切口,纵行劈开肩袖,保护肩袖后显露肱骨头在透视引导下行手法及克氏针撬拨复位,确实复位困难者,可行有限切开辅助复位。选择结节间沟后方肱骨头和大结节交界处为进针点,置入合适髓内钉并尽量使尾端没入骨质内,透视确认位置无误后,远端锁定,近端根据骨折端有无缩短或分离移位调整髓内钉位置满意后,拧入近端锁钉,最后安装尾帽使其没入肱骨软骨下约 3mm,仔细缝合肩袖,缝合包扎伤口。

3. 术后处理:两组患者术后均以前臂吊带保护患肢。术后 48h 拔除引流后鼓励患者行被动锻炼,包括钟摆、前屈、外旋运动。术后每 2 个月行 X 线检查,根据复查情况,鼓励患者行非负重多方向、维度的主动运动。

4. 评估指标:记录所有患者的手术时间,手术切口长度,术后 12 个月 X 线片的颈干角度数,患肩前屈上举角度。并于术后 12 个月,行肩关节视觉模拟疼痛评分 (visual analogue scale, VAS) 及 Constant-Murley 肩关节功能评分。所有患者术后随访时间为 14~70 个月,平均随访时间 14.3 个月。

5. 统计学方法:数据采用 SPSS 17.0 软件进行分析,计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,根据损伤分型差异分为 Neer 3 部分骨折组和 Neer 4 部分骨折组。两组比较采用  $t$  检验,率的比较采用  $\chi^2$  检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1. 患者一般资料:两组患者在性别、年龄、骨折分型方面差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。资料具有可比性,详见表 1。

表 1 患者一般资料统计

项目	锁定钢板组 ( $n = 54$ )	髓内钉组 ( $n = 54$ )
男性/女性	24/30	26/28
平均年龄(岁)	$55.8 \pm 13.3$	$54.0 \pm 12.5$
3 部分骨折/4 部分骨折	32/22	36/18

2. Neer 分型 3 部分骨折比较:对于 Neer 分型 3 部分骨折的患者,锁定钢板组 ( $91.2 \pm 9.6$  min) 的手术耗时明显比髓内钉固定组 ( $69.7 \pm 12.0$  min) 长,差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ),且髓内钉组切口长度较钢板组短 ( $P < 0.01$ )。采用锁定钢板治疗的患者术后颈干角  $130.1^\circ \pm 7.4^\circ$ ,与髓内钉组 ( $132.8^\circ \pm 8.8^\circ$ ) 差异无统计学意义,术后 12 个月 VAS 评分,Constant 评分及前举角度两组间差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ , 表 2)。

表 2 Neer 分型 3 部分骨折锁定钢板与髓内钉固定治疗对比

项目	锁定钢板固定 ( $n = 32$ )	髓内钉固定 ( $n = 36$ )	P
手术耗时 (min)	$91.2 \pm 9.6$	$69.7 \pm 12.0$	<0.01
切口长度 (cm)	$12.5 \pm 2.3$	$3.1 \pm 1.0$	<0.01
术中出血量 (ml)	$317.3 \pm 65.3$	$232.5 \pm 72.4$	<0.05
骨折愈合时间 (周)	$13.1 \pm 2.8$	$12.5 \pm 3.2$	>0.05
颈干角 (°)	$130.1 \pm 7.4$	$132.8 \pm 8.8$	>0.05
VAS 评分	$2.8 \pm 0.7$	$2.6 \pm 0.9$	>0.05
Constant 评分	$87.4 \pm 10.4$	$85.2 \pm 13.5$	>0.05
前举角度 (°)	$152.7 \pm 25.3$	$148.9 \pm 21.7$	>0.05
主动体侧外旋	$38.7 \pm 14.8$	$43.1 \pm 15.3$	<0.05
主动内旋 (脊柱节段)	$T_8$ 水平 ( $T_4 \sim L_2$ )	$T_{10}$ 水平 ( $T_2 \sim$ 臀部)	>0.05
患侧冈上肌肌力/健侧	$0.78 \pm 0.15$	$0.66 \pm 0.12$	<0.05
患侧小圆肌肌力/健侧	$0.88 \pm 0.11$	$0.84 \pm 0.12$	>0.05

3. Neer 分型 4 部分骨折比较:对于 Neer 分型 4 部分骨折患者,髓内钉组手术耗时短,切口长度短,与锁定钢板组比较差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。两组间颈干角、VAS 疼痛评分无明显差异;但钢板组 Constant 评分 ( $82.1 \pm 7.5$ ) 及前举角度 ( $141.7^\circ \pm 12.7^\circ$ ) 均明显优于髓内钉组 ( $74.6 \pm 11.4$ ,  $127.0^\circ \pm 22.4^\circ$ ), 详见表 3。

4. 并发症比较:锁定钢板组发生的并发症包括:螺钉切出 3 例,肩峰下撞击综合征 2 例,内翻畸形愈合 2 例,肱骨头坏死 2 例,总体并发症发生率 16.7% (9/54);锁定钢板组的并发症包括内翻畸形愈合 1 例,骨折延迟愈合 2 例,并发症发生率 11.1% (6/54), 详见表 4。

表 3 Neer 分型 4 部分骨折锁定钢板与髓内钉固定治疗对比

项目	锁定钢板固定 (n = 22)	髓内钉固定 (n = 18)	P
手术耗时(min)	108.7 ± 14.4	77.6 ± 13.9	< 0.01
切口长度(mm)	14.0 ± 3.3	4.5 ± 1.3	< 0.01
术中出血量(ml)	357.1 ± 68.1	263.8 ± 71.8	< 0.05
骨折愈合时间(周)	14.9 ± 3.4	14.3 ± 3.5	> 0.05
颈干角(°)	134.5 ± 8.9	137.2 ± 10.3	> 0.05
VAS 评分	3.3 ± 0.9	3.6 ± 1.0	> 0.05
Constant 评分	82.1 ± 7.5	74.6 ± 11.4	< 0.05
前举角度(°)	141.7 ± 12.7	127.0 ± 22.4	< 0.05
主动体侧外旋	35.1 ± 12.5	40.3 ± 13.2	< 0.05
主动内旋(脊柱节段)	T <sub>8</sub> 水平 (T <sub>4</sub> ~ L <sub>2</sub> )	T <sub>9</sub> 水平 (T <sub>2</sub> ~ 脊部)	> 0.05
患侧冈上肌肌力/健侧	0.74 ± 0.11	0.63 ± 0.10	> 0.05
患侧小圆肌肌力/健侧	0.85 ± 0.11	0.82 ± 0.11	> 0.05

5. 典型病例: 图 1A 显示了 1S 位男性患者, 61 岁, 术前肱骨近端骨折, Neer 3 部分骨折, 患者致伤



图 1 肱骨近端骨折锁定钢板及髓内钉固定

A. 肱骨近端 Neer III 部分骨折术前 X 线 B. 肱骨近端 Neer III 部分骨折锁定钢板固定术后 3 个月 X 线;  
C. 肱骨近端 Neer III 部分骨折术前 X 线; D. 肱骨近端 Neer III 部分骨折髓内钉固定术后 3 个月 X 线

## 讨 论

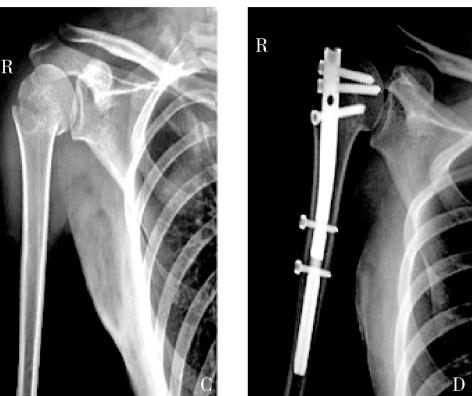
肩关节是全身活动度最大的关节, 其活动范围的大小直接影响着患者上肢功能的好坏。而肱骨近端解剖结构较复杂, 有解剖颈、外科颈、大小结节和结节间沟等, 是众多肩关节韧带的附着点, 复杂的多部分骨折发生后易导致骨折移位, 影响关节功能的恢复<sup>[2]</sup>。对于复杂的肱骨近端多部分骨折的治疗, 在内固定技术发展成熟之前, 因克氏针张力带技术的局限性, 一直倾向于保守治疗。而随着内固定材料的不断进步, 出现了肱骨近端 T 型钢板、解剖型锁定钢板、肱骨髓内钉、人工肱骨头置换等治疗方法, 使肱骨近端骨折的治疗有了更多的选择, 预后也逐步得到改善<sup>[3~5]</sup>。

解剖型锁定钢板是治疗肱骨近端骨折最常用的方法, 解剖型钢板无需预弯, 贴合骨面固定, 最大

表 4 两种治疗方式并发症对比

组别	n	螺钉 切出	肩峰 下撞击	内翻 畸形	肱骨头 坏死	延迟 愈合
锁定钢板组	54	3	2	2	2	0
髓内钉组	54	0	0	2	0	4

原因为摔伤。给予锁定钢板固定后, 术后 3 个月随访时拍摄 X 线片如图 1B 所示, 显示骨折已愈合。术后 12 个月肩关节功能评分为 88.3 分, 主动前举角度为 148°, 外旋 45°, 内旋 T<sub>8</sub> 水平。图 1C 显示了 1 位女性患者, 58 岁, 术前肱骨近端骨折, Neer 3 部分骨折, 患者致伤原因为交通事故。给予髓内钉固定后, 术后 3 个月随访时拍摄 X 线片如图 1D 所示, 显示骨折已愈合。术后 12 个月肩关节功能评分为 84.2 分, 主动前举角度为 143°, 外旋 43°, 内旋 T<sub>10</sub> 水平。



程度保护了局部骨膜组织的血供, 有利于骨折愈合, 同时减少了对周围软组织得到刺激。在术中, 对于部分严重骨质疏松的患者, 复位铅的力量可能增加粉碎程度, 这时应使用缝线来辅助复位, 肌腱的强度甚至比骨质本身更好, 因此穿过肌纤维的缝线可比螺钉或穿过骨质的缝线把持力更强。复位的关键首先是恢复肱骨头骨折块的解剖, 使关节面平整无台阶, 其次是恢复大结节等肌腱附着点的位置, 利于术后关节功能的恢复, 对于肱骨距部位不比强求解剖复位, 内侧轻微的嵌插甚至可增加复位的稳定性。

钢板放置的位置是取得良好术后效果的重要因素, 钢板应沿肱骨干轴线, 放置在大结节顶端下方 5~8mm, 结节间沟后方 2~4mm 处, 钢板固定后应自由活动肩部, 多方位透视确认钢板及螺钉位置。钢板位置

过高,不但容易发生肩峰撞击,而且可能导致近端螺钉穿透肱骨头,损伤关节盂;大结节前侧骨量较低,钢板位置过于靠近结节间沟可能造成螺钉拉力下降,且干扰肱二头肌腱活动,影响旋肱前动脉升支从而增大肱骨头坏死概率。锁定钢板钉孔的设计,可拧入锁定螺钉起到内固定支架的作用,一般肱骨头拧入 5 枚交错排列的螺钉,可达到满意的成角稳定目的,减小了螺钉松动的可能性,同时增强抗拔出阻力;拧入普通标准螺钉可完成对骨折块的动力加压,对于内翻移位的骨折,尤其是内侧粉碎性骨折,建议置入一枚距螺钉,增加肱骨头内下方稳定性<sup>[6,7]</sup>。此外,解剖型钢板的边缘还设计了缝合孔,术中可作为克氏针的临时固定孔,更可以用于软组织缝合以修复和维持肌腱的附着,这也是钢板固定组患者术后关节活动范围恢复好,功能优良的重要原因。但钢板固定也存在着所有偏心固定的缺点,如力臂大、对于内侧皮质支撑不够,复位不良的患者,易出现内翻畸形愈合甚至螺钉的切出<sup>[7,8]</sup>。本研究中发生了 1 例畸形愈合和 2 例螺钉切出,与此有关。

髓内钉为中心固定,力臂较小,符合生物力学特点。本组中髓内钉治疗组手术用时及切口长度均明显小于钢板固定组,也显示了髓内钉的治疗优势。新型设计的交锁髓内钉,不但保留了髓内钉闭合复位,软组织剥离少,断端血运破坏小,骨折愈合概率高的优点,同时其近端可平行或垂直多向锁定,增强了主钉抗旋转的力量。但相对于锁定钢板,其闭合复位对骨折块的复位相对较差,单位体积的螺钉少,把持力不足,骨折块间的稳定性不够,这可能也是本组中髓内钉出现 2 例骨折延迟愈合的重要原因。同时,传统髓内钉的近端与主钉之间存在夹角,使进钉的位置不可避免的穿过冈上肌肌腱部,有可能造成医源性肩袖损伤,影响术后肩关节功能。对于 Neer 分型Ⅳ型的骨折,髓内钉组在前举角度和 Constant 评分上均不及钢板组,笔者认为与髓内钉对于骨折固定的牢固程度和肌腱的干扰有关。

在其他比较锁定钢板与髓内钉治疗肱骨近端骨折的研究中,Konrad 等<sup>[9]</sup>对比锁定钢板与髓内钉治疗 Neer Ⅲ 型肱骨近端骨折,发现两种方法术后 1 年随访结果类似,熟练的手术技巧和丰富的经验是取得良好效果的关键。Von Ruden 等<sup>[10]</sup>研究发现,对于 Neer 分型的 3、4 部分骨折,在术前准备充分和手术熟练的前提下,交锁髓内钉和锁定钢板都是较好的肱骨近端骨折治疗方法,患者的年龄、骨折的类型和内固定物的选择不影响远期临床效果。不管采取何种治疗方法,近期提出的箱型理论(box theory)认为,治疗成功的关

键取决于大小结节骨折块的复位和固定,大小结节骨折块获得满意的解剖复位和固定后,肱骨头前方有肩胛下肌,后方有冈下肌和小圆肌包围,上方有冈上肌,肱骨头骨折块也会得到间接复位和固定<sup>[11]</sup>。笔者十分赞同此观点,术中正确的处理大小结节,是治疗成功的关键。而对于伴有严重骨质疏松的多部分骨折,如果预计内固定很难提供足够的把持力,有效固定大小结节等骨折块,可考虑行人工肱骨头置换术<sup>[12,13]</sup>。

总之,考虑患者的年龄、骨折类型、骨密度、软组织条件、术后功能要求等因素,并全面了解不同内固定方式的优缺点,熟练的术中操作及有效的术后康复锻炼,解剖型锁定钢板和髓内钉治疗肱骨近端骨折都能取得较满意的疗效,但对于 Neer 分型Ⅳ型骨折的患者,髓内固定需更多考虑交锁钉对近端骨折块的把持效果。

#### 参考文献

- Clement ND, Duckworth AD, McQueen MM, et al. The outcome of proximal humeral fractures in the elderly: predictors of mortality and function [J]. Bone Joint J, 2014, 96-B(7): 970–977
- 黄强,王满宜,荣国威.复杂肱骨近端骨折的手术治疗[J].中华骨科杂志,2005,25(3):159–164
- 陈亮清,白龙,于志勇,等.交锁髓内钉治疗肱骨近端骨折[J].临床骨科杂志,2014,17(6):712–714
- 姜保国,傅中国,张殿英,等.肱骨近端骨折的外科治疗及术后康复[J].中华创伤杂志,2002,18(3):133–135
- Reineck JR, Krishnan SG, Burkhead WZ. Four-part proximal humerus fractures: evaluation and treatment [J]. Hand Clin, 2007, 23(4): 415–424
- Chen H, Ji X, Zhang Q, et al. Clinical outcomes of allograft with locking compression plates for elderly four-part proximal humerus fractures [J]. J Orthop Surg Res, 2015, 10(1): 114
- Schliemann B, Wähnert D, Theisen C, et al. How to enhance the stability of locking plate fixation of proximal humerus fractures? An overview of current biomechanical and clinical data [J]. Injury, 2015, 46(7): 1207–1214
- Bockmann B, Buecking B, Franz D, et al. Mid-term results of a less-invasive locking plate fixation method for proximal humeral fractures: a prospective observational study [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2015, 16(4): 160
- Konrad G, Audigé L, Lambert S, et al. Similar outcomes for nail versus plate fixation of three-part proximal humeral fractures [J]. Clin Orthop Relat Res, 2012, 470(2): 602–609
- von Rüden C, Trapp O, Hierholzer C, et al. Intramedullary nailing vs. locking plate osteosynthesis in proximal humeral fractures: long-term outcome [J]. Unfallchirurg, 2015, 118(8): 686–692
- 吴晓明,高伟,王秋根.肱骨近端骨折外科治疗趋势[J].国际骨科学杂志,2010,31(6):326–327
- Kralinger F, Blauth M, Goldhahn J, et al. The influence of local bone density on the outcome of one hundred and fifty proximal humeral fractures treated with a locking plate [J]. J Bone Joint Surg Am, 2014, 96(18): 1026–1032
- 姜春岩,王满宜,荣国威.人工肱骨头置换治疗复杂肱骨近端骨折[J].中华外科杂志,2003,41(9):649–653

(收稿日期:2015-08-29)

(修回日期:2015-09-29)

# 华北地区 CYP1A2 基因常见 SNP 位点的分布

辛 勤 梁国威 邵冬华

**摘要 目的** 建立 CYP1A2 基因  $-3860G > A$ 、 $-3113G > A$ 、 $-2467\text{delT}$ 、 $-739T > G$ 、 $-163C > A$ 、 $2321G > C$ 、 $5347C > T$  等 7 个 SNP 位点的检测方法, 探讨 7 个 SNP 位点在华北地区人群中的分布。**方法** 选取健康受试者, 提取全血样本 DNA, 以 Primer Premier 5 软件自设计引物及探针, 采用扩增阻滞突变系统(ARMS)结合 TaqMan 探针技术(ARMS-TaqMan 法)建立 CYP1A2 基因 7 个 SNP 位点基因分型方法。**结果**  $-3860G > A$ 、 $-3113G > A$ 、 $-2467\text{delT}$ 、 $-739T > G$ 、 $-163C > A$ 、 $2321G > C$ 、 $5347C > T$  7 个 SNP 位点的突变等位基因频率分别为 0.292、0.078、0.524、0.078、0.657、0.148、0.127。**结论** 成功建立 7 个 SNP 位点的 ARMS-TaqMan 基因分型方法, 该方法具有准确、操作简单、高通量等优势。

**关键词** CYP1A2 基因多态性 扩增阻滞突变系统 TaqMan 探针

中图分类号 R33

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.07.030

**Distribution of SNP Sites of CYP1A2 Gene in North China.** Xin Qin, Liang Guowei, Shao Donghua. Department of Clinical Laboratory, Hospital of Aerospace Center, Beijing 100049, China

**Abstract Objective** To establish methods to analyze the 7 single nucleotide polymorphism (SNP) sites of CYP1A2 gene, including  $-3860G > A$ ,  $-3113G > A$ ,  $-2467\text{delT}$ ,  $-739T > G$ ,  $-163C > A$ ,  $2321G > C$ ,  $5347C > T$ . To explore the distribution of seven SNP sites in North China. **Methods** The DNA was extracted from the blood samples of healthy subjects. We designed the primers and probes by Primer Premier 5 software, and established the methods to detect the 7 SNP sites of CYP1A2 gene using amplification refractory mutation system (ARMS) combined with TaqMan probe technique (ARMS-TaqMan method). **Results** The mutant allele frequencies of the 7 SNP sites including  $-3860G > A$ ,  $-3113G > A$ ,  $-2467\text{delT}$ ,  $-739T > G$ ,  $-163C > A$ ,  $2321G > C$ ,  $5347C > T$  were 0.292, 0.078, 0.524, 0.078, 0.657, 0.148, 0.127, respectively. **Conclusion** We successfully established the ARMS-TaqMan methods to detect the 7 SNP sites of CYP1A2 gene. The method was accurate, simple and high throughput.

**Key words** CYP1A2; Polymorphism; Amplification refractory mutation system; TaqMan probe

CYP1A2 基因位于 15 号染色体上, 全长 7.8kb, 包括 7 个外显子和 6 个内含子。CYP1A2 主要存在于肝脏中, 约占肝脏中总 CYP 酶的 13%~15%<sup>[1]</sup>。仅次于 CYP3A 和 CYP2C 家族居肝脏各 CYP 含量第 3 位<sup>[2]</sup>。CYP1A2 是一种具有基因多态性的酶, 其等位基因的突变在人群中呈不连续多峰分布。本研究选取 CYP1A2 基因中比较常见的 7 个 SNP 位点, 建立其基因分型检测方法, 并探讨 7 个 SNP 位点在华北地区人群中的分布。

## 材料与方法

1. 试剂与仪器: DNA 提取试剂: 血液基因组 DNA 提取试剂盒(批号:L0723); 普通 PCR 试剂: Taq PCR MasterMix(批号:K9126); 荧光定量 PCR 试剂: 2.5 × RealMasterMix、20 × Probe Enhancer Solution(批号: L0821), 均购自北京天根生化科技有限公司。引物及探针由北京赛百盛基因技术有限公司合成。ABI

-9700 普通 PCR 仪购自美国 ABI 公司; ABI - 7500 RT 型荧光定量 PCR 仪购自美国 ABI 公司; Alpha Innotech Alphamager EC 凝胶成像系统购自美国 Alpha Innotech 公司; BIO-RAD Power Pac Basic 电泳仪购自美国 BIO-RAD 公司; UNIC-UV-2000 紫外分光度计购自尤尼柯公司。

2. CYP1A2 基因分型方法的建立及验证: 本研究采用 ARMS-TaqMan 法对 CYP1A2 基因的 7 个位点进行分型, 为验证该方法的准确性, 需要对该方法分型后的 DNA 样本进行抽样测序, 具体操作按照以下步骤:(1)DNA 提取: 收集 166 例健康受试者(其中男性 106 例, 女性 60 例, 平均年龄为  $25.2 \pm 4.3$  岁)外周血样品, 按照 DNA 提取试剂盒操作, 提取全血标本 DNA。提取的基因组 DNA  $-80^{\circ}\text{C}$  保存备用。(2)ARMS-TaqMan 法的建立: ARMS-TaqMan 法是在 ARMS 法的基础上, 以 TaqMan 探针取代琼脂糖凝胶电泳, 在荧光定量 PCR 仪上, 通过检测 TaqMan 探针的荧光信号, 读取野生和突变反应体系的 Ct 值, 通过