亚甲基四氢叶酸还原酶 C677T 基因多态性与 2 型糖尿病关系的病例对照研究

商广芸　王宏宇　刘金波　袁　平　周迎燕　李丽红

摘　要　目的　探讨亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因 C677T 多态性与 2 型糖尿病(T2DM)的关系。**方法**　选取 226 例 T2DM 患者(病例组)和 194 例健康对照个体(对照组),检测两组同型半胱氨酸水平,采用 PCR－芯片杂交技术检测亚甲基四氢叶酸还原酶 C677T 多态位点基因型,计算等位基因频率并统计分析。**结果**　2 组 MTHFR 基因 C677T 位点基因型和等位基因频率比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),MTHFR 基因 TT 型同型半胱氨酸水平显著高于 CC 型及 CT 型。**结论**　MTHFR 基因 C677T 多态性影响同型半胱氨酸水平,但与 T2DM 的发病无明显的相关性。

关键词　2 型糖尿病　亚甲基四氢叶酸还原酶　基因多态性

中图分类号　R446.1　　**文献标识码**　A　　**DOI**　10.11969/j.issn.1673-548X.2017.09.020

Relationship between Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphism and Type 2 Diabetes Mellitus.　*Shang Guangyun, Wang Hongyu, Liu Jinbo, et al. Department of Vascular Medicine, Peking University Shougang Hospital, Beijing 100144, China*

Abstract　Objective　To examine the relationship between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene C677T polymorphism and type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods**　MTHFR gene C677T polymorphic sites were assayed in 226 T2DM and 194 healthy subjects by PCR－DNA microarray. Homosysteine levels were measured. And their genotype and allele frequency were statistically analyzed. **Results**　There was no statistical significance in allele frequency and genotype of MTHFR gene C677T between the patients and healthy subjects ($P>0.05$). The homosysteine levels were obviously higher in TT genotype. **Conclusion**　MTHFR gene C677T polymorphism is not a risk factor for patients with type 2 diabetes, but can effect homosysteine levels.

Key words　Type 2 diabetes mellitus; Methylenetetrahydrofolate reductase; Gene polymorphism

糖尿病是一种最常见的内分泌代谢疾病,其病因及发病机制十分复杂,涉及遗传、代谢、生活习惯、环境等多种因素。目前,2 型糖尿病的病因尚未完全阐明。近年的研究结果显示,亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性可导致亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)活性的改变,MTHFR 是叶酸代谢途径的关键酶,催化 5,10－亚甲基四氢叶酸转化为 5－甲基四氢叶酸,同时为同型半胱氨酸(HCY)甲基化转化为甲硫氨酸提供甲基,编码该酶基因的多态性即亚甲基四氢叶酸还原酶的基因多态性会导致酶活性的降低,在 MTHFR 基因突变中,C677T 是一种常见的错义突变,即 MTHFR 基因的 677 位碱基点突变,碱基 C 突变为碱基 T,这会导致第 222 位的氨基酸缬氨酸被丙氨酸所取代,这种氨基酸的变化会导致酶的活性降低 50%,从而导致血浆同型半胱氨酸水平的升高和叶酸浓度的降低。既往有研究表明高 HCY 血症会增加主动脉硬化和胰岛素抵抗,而胰岛素抵抗是 2 型糖尿病的发病机制之一[1]。笔者因此推断 MTHFR 基因突变是否可能是 2 型糖尿病发病的一个危险因素呢？为了验证笔者的假设,本研究运用 PCR－芯片杂交技术检测 2 型糖尿病患者 MTHFR 基因 C677T 的多态性,并以非糖尿病人群作为对照,旨在探讨北京地区人群 MTHFRC677T 基因多态性与 2 型糖尿病发病的关系。

对象与方法

1. 研究对象:选择 2014 年 11 月～2016 年 5 月在北京大学首钢医院血管医学科就诊的可以收集到合格足量血液标本的 2 型糖尿病患者 226 例作为病例组,选择同时期于该医院血管医学科就诊的 194 例非糖尿病人群为对照组,均为北京地区汉族人。

基金项目:北京市卫生局首都卫生发展科研专项基金资助项目(首发 2011－4026－02);北京大学首钢医院院内基金资助项目(SGYY201406);2015 年北京市石景山区科技计划项目;首钢总公司科研项目(2013 科管 20－1);北京大学首钢医院院内 2014 年度医院临床重点项目建设课题(2014－院－临床－02)

作者单位:100144　北京大学首钢医院血管医学科

通讯作者:王宏宇,电子信箱:hongyuwang@188.com

2. 方法：采用统一的试剂检测调查对象的血浆 FBG、TG、HDL－C、总胆固醇（TC）和低密度脂蛋白。（LDL－C）等指标，各项指标统一在检验科采用自动生化分析仪检测。采用上海百傲科技有限公司提供的 MTHFR（C677T）基因检测试剂盒（PCR－芯片杂交法］检测基因型。

3. 统计学方法：数据采用 SPSS 19.0 统计学软件进行统计分析处理，计量资料为正态分布的以均数±标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，非正态计量资料以中位数或几何均数表示。数据呈正态分布、方差齐者组间差异用 t 检验或单因素方差分析；不符合者若能转化为方差齐者采用参数检验，否则用 *Kruskal－Wallis H* 检验；计数资料采用 χ^2 检验分析；基因型的分布是否符合 *Hardy－Weinberg* 平衡用 χ^2 检验分析。用 *Logistic* 回归来评估各基因型与糖尿病的相关性，结果用 OR（95% CI）表示，以 $P<0.01$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 一般情况：DM 组与正常对照组研究对象的年龄差异无统计学意义（$P>0.05$），糖尿病组腰臀比、BMI、血压、血糖、TG、TC、胰岛素、HOMA－IR 均显著性高于正常对照组，糖尿病组 HDL－C 显著低于正常对照组，两组间 LDL－C 的浓度比较，差异无统计学意义（$P>0.05$，表 1）。

表 1 两组研究对象的一般情况比较

指标	糖尿病组（$n=226$）	对照组（$n=194$）	统计值	P
年龄（岁）	64.25±5.81	64.04±5.22	0.39	0.699
性别（男性/女性）	129/97	103/91	0.67	0.413
BMI（kg/m^2）	25.28±2.18	22.03±2.32	14.79	<0.01
FBG（mmol/L）	6.67±2.71	4.87±0.65	9.03	<0.01
SBP（mmHg）	128.8±12.7	126.6±9.5	1.98	0.048
DBP（mmHg）	80.2±10.4	78.5±6.68	2.02	0.044
TG（mmol/L）	1.86±1.00	1.02±0.28	12.09	<0.01
TC（mmol/L）	4.64±1.05	4.06±0.68	−26.66	<0.01
HDL－C（mmol/L）	1.28±0.23	1.32±0.30	−1.51	0.131
LDL－C（mmol/L）	3.48±0.38	2.49±0.74	16.82	<0.01
空腹 C 肽（ng/ml）	1.04±0.28	2.08±0.64	−20.09	<0.01
HCY（μmol/L）	12.1±1.78	11.9±1.90	1.11	0.266

2. MTHFR 多态性位点基因型和等位基因频率分布：经 *Hardy－Weinberg* 遗传平衡定律检验，MTHFR 基因型分布在两组人群中均符合遗传平衡，具有群体代表性。MTHFR 基因型分布在 DM 组和正常对照组间比较，差异无统计学意义（$P>0.05$），T 等位基因频率在两组间比较，差异无统计学意义（$P>0.05$），详见表 2。

表 2 糖尿病组和对照组 MTHFR 基因型和等位基因频率分布

基因型	糖尿病组［n（%）］	对照组［n（%）］	P	*Hardy－Weinberg* 平衡检测[e]
CC	84（37.2）	66（34.0）	0.684[a]	0.79/0.57
CT	106（46.9）	91（46.9）	0.511[b]	
TT	36（15.9）	37（35.1）	0.347[c]	
C 等位基因	274（60.6）	223（57.5）	0.355[d]	
T 等位基因	178（39.4）	165（47.5）		

[a]CC 和 CT 比较；[b]CT 和 TT 比较；[c]CC 和 TT 比较；[d]C 等位基因和 T 等位基因比较；[e]*Hardy－Weinberg* 平衡检测，显示的分别为糖尿病组和对照组基因型检测的 P 值

3. MTHFR 各基因型间相关指标的比较：由表 3 可见，在 MTHFR 位点上，与 CC、CT 基因型相比，TT 基因型研究对象的 HCY 较高。其余指标在 3 组间的差异无统计学意义（$P>0.05$）。将 CC 与 CT 组合并后，CC＋CT 组 HCY 低于 TT 组，其余指标的差异无统计学意义（$P>0.05$，表 3）。

4. MTHFR 基因多态性与 DM 的相关性分析：与 CC 型研究对象相比，CT 型、TT 型研究对象发生 DM 的风险分别为 1.12 和 1.87，但差异无统计学意义（$P>0.05$），即 3 种基因型发生 DM 的风险性相似。在校正性别和年龄、SBP、DBP 以后，3 种基因型之间比较，差异无统计学意义（$P>0.05$，表 4）。

表 3　MTHFR 不同基因型相关指标比较

指标	CC(n=150)	CT(n=197)	TT(n=73)	P	CC+CT(n=347)	P
BMI(kg/m^2)	23.67±3.17	23.10±3.80	24.07±2.94	0.084	23.61±3.68	0.249
FBG(mmol/L)	5.82±2.81	5.63±2.57	5.93±2.67	0.661	5.77±2.73	0.644
SBP(mmHg$^\Delta$)	117.2±23.1	125.4±20.9	136.7±21.7	<0.01	123.3±21.1	<0.01
DBP(mmHg)	76.4±11.6	78.8±9.9	83.9±11.4	<0.01	78.7±11.7	<0.01
TG(mmol/L)	1.49±0.98	1.46±1.05	1.48±0.87	0.961	1.47±1.01	0.931
TC(mmol/L)	4.30±1.01	4.40±1.02	4.37±1.03	0.075	4.35±1.06	0.881
HDL-C(mmol/L)	1.28±0.38	1.32±0.39	1.31±0.36	0.620	1.30±0.26	0.822
LDL-C(mmol/L)	3.01±0.77	3.03±0.71	3.04±0.84	0.953	3.02±0.84	0.854
空腹 C 肽(ng/ml)	1.51±0.29	1.53±0.38	1.54±0.42	0.807	1.52±0.39	0.709
HCY(μmol/L)	10.50±1.05	11.50±1.35	13.90±1.42	<0.01	11.00±1.45	<0.01

$^\Delta$1mmHg=0.133kPa

表 4　MTHFR 基因型与糖尿病的相关性

MTHFR 基因型	未调整		校正后(f)	
	OR	95% CI	OR	95% CI
CC	1.00		1.00	
CT	1.12	0.65~1.89	1.23	0.72~1.98
TT	1.87	0.89~2.34	1.97	0.94~2.56
CC+CT	1.00			
TT	1.65	0.54~2.56	1.87	0.65~2.76

f. 校正年龄、性别、SBP、DBP 后

讨　论

MTHFR 基因位于 1 号染色体(1p36.3),C677T 是 MTHFR 基因常见的多态性位点,与遗传背景密切相关,存在一定的地域和民族差异。罗世强[2]在研究中指出 MTHFR 在广西壮族自治区苗族中 T 等位基因频率为 14.79%,海南省黎族为 14.50%,海南省汉族为 20.90%,郑州市汉族为 58.30%。本次研究中,北京地区汉族人群的 T 等位基因频率为 47.50%,与郑州市汉族人群的分布特征相似。目前有研究认为 MTHFR 基因突变可促进糖尿病微血管及大血管病变的发生和发展。孙家忠等通过对 206 例 2 型糖尿病患者及 57 例正常对照组 MTHFR 基因 C677T 多态性的分析,观察到 TT 基因型频率及 T 等位基频率在 2 型糖尿病视网膜病、2 型糖尿病肾病及 2 型糖尿病同时合并视网膜病与肾病的患者中均明显升高,显示了 MTHFR 基因 C677T 多态性在 2 型糖尿病微血管并发症中的地位及作用。国外研究也曾报道 MTHFR 基因 C677T 多态性与糖尿病肾病及糖尿病视网膜病变的相关性。在对糖尿病大血管病变方面,张国栋等的研究表明 MTHFR,基因参与中国人大血管病变的致病过程,其 T 等位基因与大血管病变关系密切。郭立新等的研究推测 MTHFR 基因 C677T 点突变可能是糖尿病合并大血管病变发病的重要遗传因素。本研究结果显示 MTHFR 基因 C677T 突变组血浆 Hcy 水平升高,与既往研究结果一致,提示 Hcy 可能是连接基因突变这个遗传因素与糖尿病血管病变的纽带。

基于 MTHFR 基因多态性对 2 型糖尿病大血管及微血管病变均有促进其发生、发展的作用,且可以引起同型半胱氨酸水平的升高,那么其是不是 2 型糖尿病的发病原因呢?众所周知,2 型糖尿病具有明显的遗传倾向,是一种复杂的多基因遗传病,该病多在 35~40 岁之后发病,占糖尿病患者 90% 以上。一般认为,2 型糖尿病是环境因素和遗传因素共同作用的结果,早期以胰岛素抵抗为主,后期以胰岛素分泌不足为主。国外学者曾有报道 MTHFR 基因 C677T 基因多态性与 2 型糖尿病的发病有关[3]。但陈萍等[4]研究了 MTHFR 基因 C677T 多态位点与 2 型糖尿病的相关性后,发现 MTHFR 基因 C677T 多态位点与 2 型糖尿病的发病无相关性,至少不是主要致病因素。赵保明等[5]的研究亦表明 MTHFR 基因 C677T 多态位点与中国皖北地区 2 型糖尿病的易感性无明显的相关性。

本研究对北京地区 MTHFR 基因 C677T 遗传多态性与 2 型糖尿病患病的相关性作了初步探讨。采用病例-对照研究的方法,MTHFR 基因 C677T 位点 T 等位基因突变频率病例组为 39.4%,与对照组(47.5%)比较,差异无统计学意义(P>0.05);两组之间的各基因型频率比较,差异均无统计学意义(P>0.05),表明 MTHFR 基因 C677T 多态位点与北京地区 T2DM 的发病无相关性。本结果与国内研究结果一致[6]。一方面说明 MTHFR 基因 C677T 突变可能存在明显的种族和地域性差异,另一方面,说明基因突变对疾病的影响可能是错综复杂的,不

同的个体其基因组图千差万别,单个基因的突变对疾病的影响可能是微不足道的。不同研究结论的差异可能与不同种族人群的遗传背景、疾病的诊断标准以及研究方法、样本量等有关。

王宏宇等[7]的研究结果显示 Hcy 水平与心踝血管指数呈正相关,HHcy 患者心踝血管指数水平显著升高,提示 Hcy 参与了动脉僵硬度的发生进展过程。MTHFR 基因多态性对 2 型糖尿病的血管病变的影响有待于进一步研究。

参考文献

1 Patterson S, Flatt PR, Brennan L, *et al*. Detrimental actions of metabolic syndrome risk factor, homocysteine, on pancreatic beta - cell glucose metabolism and insulin secretion[J]. J Endocrinol, 2006, 189(2):301 - 310

2 罗世强,邱萍,严提珍,等. 广西柳州地区苗族女性 MTRR 和 MTHFR 基因多态性分布研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2015,23(9):20 - 23

3 Benrahma H, Abidi O, Melouk L, *et al*. Association of the C677T polymorphism in the human methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR) gene with the genetic predisposition for type 2 diabetes mellitus in a Moroccan population[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2012, 16(5):383 - 387

4 陈萍,潘艳慧,孙冬琳,等. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因 C677T 多态性与 2 型糖尿病的关系[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2008,29(6):672 - 673

5 赵保明,赵莉,贺文欣,等. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与 2 型糖尿病的相关性[J]. 蚌埠医学院学报,2014,39(2):155 - 157

6 孙家忠,徐焱成,朱宜莲,等. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与糖尿病合并冠心病的相关性[J]. 武汉大学学报,2010,31(2):174 - 177

7 王宏宇,刘金波,马云改,等. 心踝血管指数与高同型半胱氨酸血症的相关性研究[J]. 北京医学,2014,36(1):15 - 18

(收稿日期:2016 - 12 - 28)
(修回日期:2016 - 12 - 29)

心肌桥对桥前段冠状动脉粥样硬化的影响

李玉明　陈伟彬　王星稳　李　盖　周　伟　张惠英

摘　要　目的　探讨心肌桥对桥前段冠状动脉粥样硬化发生率及性质的影响。**方法**　回顾性分析 465 例经冠状动脉造影检查,图像质量符合诊断需要求并诊断为心肌桥 - 壁冠状动脉患者影像资料,另随机选取 1806 例同时期经冠状动脉造影检查未检出心肌桥 - 壁冠状动脉患者的影像资料作为对照组,比较两组患者桥前段粥样硬化发生率差异。两组患者临床资料(年龄、性别、高血压、高脂血、糖尿病及吸烟情况)比较差异无统计学意义。根据斑块测得的 CT 值(HU)分类斑块性质为钙化斑块(CT 值约 196 ~ 817HU)、非钙化斑块 (CT 值约 - 12 ~ 47HU)及混合斑块(两种成分均有)组,比较心肌桥对桥前段冠状动脉粥样硬化斑块性质的影响。**结果**　465 例心肌桥患者中,发现粥样硬化 299 例(64.30%,299/465),而对照组中发现粥样硬化 569 例(31.51%,569/1806),桥前段动脉粥样硬化发生率远高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。发现心肌桥并患有粥样硬化的患者中,钙化斑块 93 例(31.10%,93/299),非钙化斑块 95 例(31.77%,95/299),混合斑块 111 例(37.12%,111/299);对照组中,钙化斑块 235 例(41.30%,235/569),非钙化斑块 92 例(16.17%,92/569),混合斑块 242 例(42.53%,242/569),两组比较显示载心肌桥 (myocardial bridge,MB)患者的非钙化斑块的发生率明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论**　心肌桥 - 壁冠状动脉(MB - MCA)会增加桥前段冠状动脉粥样硬化发生的概率,且 3 种斑块比较,明显增加了非钙化斑块的发生率。

关键词　多层螺旋 CT　心肌桥 - 壁冠状动脉　粥样硬化　斑块性质

中图分类号　R814.43　　**文献标识码**　A　　**DOI**　10.11969/j.issn.1673-548X.2017.09.021

Investigate the Effect of Myocardial Bridge on Coronary Artery Atherosclerosis in the Anterior Segment of the Bridge. *Li Yuming, Chen Weibin, Wang Xingwen, et al. North China University of Science and Technology Affiliated Hospital, Hebei 063000, China*

Abstract　Objective　To investigate the effect of myocardial bridge on the incidence and characteristics of coronary atherosclerosis in the anterior segment of the bridge. **Methods**　A total of 465 cases of coronary angiography, image quality and diagnosis requires the diagnosis of myocardial bridge mural coronary artery imaging data were retrospectivedly analysed. And another randomly selected 1806 cases of the same period were not detected by coronary angiography imaging data of mural coronary artery in patients with myocardial bridge as

基金项目:河北省医学科学研究重点计划项目(20170927);河北省唐山市科学技术研究与发展计划项目(14130270B)
作者单位:063000　唐山,华北理工大学附属医院 CT 室