

# MTHFR 基因单核苷酸多态性与下肢动脉粥样硬化的关联研究

林小凤 李红娜 石鹤坤 林雪玉 陈锦珊 费燕 (解放军第 175 医院药学科/厦门大学附属东南医院 福建漳州 363000)

**摘要** 目的: 研究汉族人群中亚甲基四氢叶酸还原酶 (methylene tetrahydrofolate reductase, MTHFR) 基因多态性与下肢动脉粥样硬化 (lower extremity atherosclerotic disease, LEAD) 的相关性。方法: 收集福建省闽南地区 384 例 (LEAD 者 224 例, 健康者 160 例) 的临床资料及外周血; LEAD 检查采用踝肱指数 (ABI)、趾肱指数 (TBI)、多普勒彩超和其他影像学检查等手段; 选取 MTHFR 基因 rs1801133、rs1801131、rs2274976、rs4846048、rs3737966、rs1537515、rs4846049、rs3834044、rs13306561 和 rs3737964 等 10 个单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 位点进行基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱分析技术 (matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight, MALDI-TOF) 的基因分型。结果: 10 个 SNP 位点均符合 Hardy-Weinberg 平衡; rs4846048 与 rs3737966 等 37 个位点之间存在明显连锁不平衡现象 ( $D'$  均大于 0.9); MTHFR 基因 GCCTCG-GAAT 单倍型在 LEAD 和正常组的分布差异有统计学意义 ( $P=0.02$ ); 等位基因频率的  $\chi^2$  检验显示 rs1801131 ( $OR=1.287$ ); rs4846048 ( $OR=1.844$ ,  $P=0.02$ ); rs3737966 ( $OR=1.339$ ); rs4846049 ( $OR=1.314$ ) 和 rs3737964 ( $OR=1.522$ ); 且 rs4846048 位点的趋势  $\chi^2$  检验 (Cochran-Armitage trend test, TREND)、显性基因检验 (Dominant gene action test, DOM) 均显示 LEAD 与正常组之间分布频率的差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论: MTHFR 基因 rs1801131、rs4846048、rs3737966、rs4846049 和 rs3737964 等 5 个位点可能与 LEAD 的易感性相关, 其中 rs4846048 基因突变可能是 LEAD 致病性的危险因素之一。

**关键词** 下肢动脉粥样硬化; 亚甲基四氢叶酸还原酶基因; 病例对照研究; 多态性; 关联分析

中图分类号: R968 文献标识码: A 文章编号: 1008-049X(2016)10-1821-05

## Association between Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Single Nucleotide Polymorphisms and Lower Extremity Atherosclerotic Disease

Lin Xiaofeng, Li Hongna, Shi Hekun, Lin Xueyu, Chen Jinshan, Fei Yan (Department of Pharmacy, the 175th Hospital of PLA; Affiliated Southeast Hospital of Xiamen University, Fujian Zhangzhou 363000, China)

**ABSTRACT Objective:** To analyze the association between gene single nucleotide polymorphisms (SNP) of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and lower extremity atherosclerotic disease (LEAD). **Methods:** The clinical data and peripheral blood were collected from 384 participants (224 LEAD cases and 160 normal controls) from Han population of Minnan Fujian. LEAD was detected with ankle brachial index (ABI), toe brachial index (TBI), color Doppler ultrasonic examination and the other imaging studies. The SNP genotypes including rs1801133, rs1801131, rs2274976, rs4846048, rs3737966, rs1537515, rs4846049, rs3834044, rs13306561 and rs3737964 in the MTHFR gene were detected by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF). **Results:** The genotype distributions of the ten loci were in accordance with Hardy-Weinberg equilibrium. There were 37 obvious linkage disequilibrium, including the association between rs4846048 and rs3737966 ( $D' > 0.9$ ) and so on. There were significant differences ( $P=0.02$ ) in GCCTCGGAAT haplotypes of MTHFR gene groups between LEAD cases and the normal groups. The results from chi-square test of allele frequencies suggested rs1801131 ( $OR=1.287$ ), rs4846048 ( $OR=1.844$ ,  $P=0.02$ ), rs3737966 ( $OR=1.339$ ), rs4846049 ( $OR=1.314$ ) and rs3737964 ( $OR=1.522$ ). Significant differences ( $P < 0.05$ ) were observed between LEAD and the normal groups in Cochran-Armitage trend test and Dominant gene action test of rs4846048. **Conclusion:** The SNP of rs1801131, rs4846048, rs3737966, rs4846049 and rs3737964 might be associated with the susceptibility of LEAD and rs4846048 gene mutation might serve as a risk factor for LEAD in the community-based population.

**KEY WORDS** Lower extremity atherosclerotic disease; Methylenetetrahydrofolate reductase gene; Case-control study; Polymorphisms; Association study

下肢动脉粥样硬化 (lower extremity atherosclerotic disease, LEAD) 是动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 中中老年人常见的临床综合征。但由于对

LEAD 的认识相对匮乏, 70% ~ 80% 的患者临床症状不明显, 且早期临床表现 (行走速度减慢、行走距离缩短和活动后乏力), 常被误认为劳累或老年蜕

基金项目: 2013 年度南京军区医学科技创新课题 (编号: MS098); 解放军第 175 医院青年苗圃基金项目 (编号: 13Y015)

通讯作者: 陈锦珊 Tel: (0596) 2975804 E-mail: pharzz@sina.com

费燕 Tel: (0596) 2975795 E-mail: feiyanfy@126.com

化,导致诊疗延误,严重影响中老年人的生活质量<sup>[1]</sup>。

据报道,MTHFR基因多态性改变表型从而影响LEAD的发生和发展,但研究对象集中在颈动脉粥样硬化和冠心病等临床症状明显的As,研究人群、样本量和方法等差异导致国内外的报道不吻合,且研究主要集中在rs1801133(C677T)和rs1801131(A1298G)两个位点,其他位点鲜见报道<sup>[2-4]</sup>。因此,除上述2个位点,本研究拟采用病例对照研究,进一步验证MTHFR基因rs2274976、rs4846048、rs3737966、rs1537515、rs4846049、rs3834044、rs13306561和rs3737964等位点在中国LEAD人群中的遗传相关性,探讨闽南汉族人MTHFR基因10个位点多态性与LEAD的相关性。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取2015年3月~2016年1月在我院就诊的384例患者或体检者,男性242例,女性142例,年龄41~79(51.22±4.18)岁,LEAD符合2012年美国临床内分泌协会(AACE)和《老年人四肢动脉粥样硬化性疾病诊治中国专家建议2012》诊断标准(Fontaine法I~IIb):①下肢缺血症状或体征、股动脉闻及杂音、胫后动脉或足背动脉搏动减弱或消失;②静息时踝肱指数(ABI)≤0.90,趾肱指数(TBI)<0.60,或运动后ABI下降20%;③超声多普勒彩超和其他影像学检查呈现下肢动脉硬化狭窄或闭塞性病变。排除标准:①既往史明确为冠心病、症状性脑卒中;②近6个月内有外科手术或创伤;③有慢性炎症和恶性肿瘤史;④肥胖、糖尿病;⑤有常规服用某些药物(包括中药药膳),及近一个月内有短期用药。正常组排除标准同健康受试者。本实验经厦门大学附属东南医院伦理委员会批准,所有试验均符合伦理准则,相关志愿者均签署知情同意书。

### 1.2 DNA提取

EDTA抗凝管收集静脉血2ml,2日内采用美国Omega基因组DNA纯化试剂盒提取白细胞基因组DNA,-80℃保存备用。

### 1.3 位点选择和引物的合成

NCBI中找到候选基因,打开SNP中Geneview链接,选择该基因EXON、5UTR、Promoter、3UTR区的可能对蛋白质水平产生影响的所有SNP位点,依据hapmap数据库或者1000 Genomes,选取该位点在中国汉族人群中最小等位基因频率(Minor Allele Frequency,MAF)>0.05,并优先选择等位基因对等分布的SNP位点,综合文献检索,信息核实后筛选

出10个位点。

结合文献引物设计采用AssayDesign 3.1软件,正向引物、反向引物和延伸引物序列见表1。

表1 SNP位点引物序列

位点	引物	引物序列(5'-3')
rs1801133	F	ACGTTGGATGCTTGAAGGAGAAGGTGTCTG
	R	ACGTTGGATGCTTCACAAAGCGGAAGAATG
	U	TGCGTGATGATGAAATCG
rs1801131	F	ACGTTGGATGCCGAGAGGTAAGAACAACGAAG
	R	ACGTTGGATGTGAAGAGCAAGTCCCCCAAG
	U	GAGGAGCTGACCAGTGAAG
rs2274976	F	ACGTTGGATGATGTAAGGATGATGGTGCCG
	R	ACGTTGGATGTATGTGTGTAGGACGAGG
	U	gggggTTGCCCTGTGGATTGAGC
rs4846048	F	ACGTTGGATGTCCAGACCAGAAGCAGTTAG
	R	ACGTTGGATGTTTGGTTTGGTGGTGGCTTC
	U	ATCAACCTCTTATACCA
rs3737966	F	ACGTTGGATGTGCTGAGCTTAGCCTTGTGC
	R	ACGTTGGATGCCCGCCCTGTGATTTCTC
	U	ctcaCCTGTGATTCTCTTTGGG
rs1537515	F	ACGTTGGATGAGAGGGAATGTTCCCTGCAC
	R	ACGTTGGATGACTAAGAGCAGCTGCCTTCC
	U	ctgaCTTCTGGACCCACCTTAA
rs4846049	F	ACGTTGGATGAACTAAGCCCTCGAACCAAG
	R	ACGTTGGATGTGTTTGGCTGTACTGCACG
	U	cCTGCACGGGCTCCAAG
rs3834044	F	ACGTTGGATGTATCACCCTGTGCCAAACTC
	R	ACGTTGGATGCCTTTCTCTTTCCCAAGTTC
	U	gTCCCAGTTCCTGAGAC
rs13306561	F	ACGTTGGATGTGGTAGCCATTGGGAGTTAC
	R	ACGTTGGATGGCTGCCTCTCTTCTTGGG
	U	GGGTGCCGCTCCC
rs3737964	F	ACGTTGGATGTCAAATAGGAACCAGCCCTC
	R	ACGTTGGATGTGATGGCTGTAGATCCTCAC
	U	aaATGGTCCCTCACCCC

注:F为正向引物;R为反向引物;U为延伸引物

### 1.4 Sequenom MassArray系统基因分型

PCR扩增反应:扩增待检测SNP位点的目的片段;SAP反应:去除PCR体系中多余的脱氧核糖核苷三磷酸和引物;延伸反应:加入与目的片段上碱基完全互补的单碱基延伸引物,与PCR产物进行单碱基延伸反应;完成去盐,导入Assay中,样本表格输入、建板、点样、Mass ARRAY分析,质量控制及输出报告等。MALDKTOF可分辨未延伸产物与延伸引物间的相对分子质量差异,而进行SNP分型检测。各位点的检出率均在99.7%以上。

### 1.5 统计学方法

统计学数据分析采用SPSS 17.0和plink 1.07统计软件,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。连锁不平衡分析采用Haploview 4.2软件, $D' > 0.9$ 时,判断为SNP两位点之间的连锁不平衡(linkage disequilibrium,LD)。Hardy-Weinberg平衡分析、两组间基因型和等位基

因频率的比较采用拟合  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。为控制错误率在较低水平, 进行多位点 Adjust (数据分析校正) 多重检验。

## 2 结果

### 2.1 各组标本基本临床特征

比较正常组和 LEAD 组在年龄、性别、体质指数 (BMI)、高血压、空腹血糖、吸烟、饮酒、总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、高密度脂蛋白 (HDL)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL)、载脂蛋白 (apoA1)、载脂蛋白 (apoB) 等基线数据发现, LEAD 组高血压比例明显高于正常组 ( $P = 0.01$ ), HDL 水平差异也有统计学意义 ( $P = 0.03$ )。见表 2。

### 2.2 各 SNP 位点 Hardy-Weinberg 平衡检验

采用 plink 软件, 拟和优度卡方检验, 分析两组中的 SNP 基因型是否符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律。若不符合, 该位点将被剔除不做进一步分析。本次入选的 10 个 SNP 位点在 LEAD 组和正常组基因型观测值 [observed heterozygote frequency,  $O(HET)$ ] 与预期值 [expected heterozygote frequency,  $E(HET)$ ] 间差异均不存在显著的统计学意义 ( $P > 0.01$ ), 提示此 10 个 SNP 位点均符合该平衡, 该研究具有群体代表性, 见表 3。

表 2 各组标本基本临床特征 [ $\bar{x} \pm s, \%$ ]

项目	正常组 ( $n = 160$ )	LEAD 组 ( $n = 224$ )	$P$
年龄 (岁)	51.22 ± 5.18	52.35 ± 4.61	0.34
女性比例 (%)	36.87	35.52	0.26
BMI ( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$ )	22.29 ± 1.57	22.90 ± 1.71	0.72
高血压比例 (%)	8.13	31.69	0.01
空腹血糖 ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	5.43 ± 1.50	5.69 ± 1.30	0.75
吸烟比例 (%)	21.87	22.32	0.78
饮酒比例 (%)	25.62	24.55	0.42
TC ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	5.58 ± 0.64	5.82 ± 0.70	0.09
TG ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	1.26 ± 0.75	1.77 ± 0.64	0.05
HDL ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	1.23 ± 0.14	0.98 ± 0.30	0.03
LDL ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	3.24 ± 0.54	3.44 ± 0.68	0.08
apoA1 ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	1.42 ± 0.23	1.44 ± 0.19	0.40
apoB ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	1.27 ± 0.31	1.28 ± 0.20	0.52

表 3 各 SNP 位点的 Hardy-Weinberg 平衡情况

SNP 位点	LEAD 组			正常组		
	$O(HET)$	$E(HET)$	$P$	$O(HET)$	$E(HET)$	$P$
rs4846048	0.196	0.212	0.33	0.113	0.129	0.16
rs3737966	0.372	0.340	0.24	0.269	0.285	0.42
rs1537515	0.170	0.177	0.45	0.187	0.180	1.00
rs4846049	0.375	0.337	0.11	0.268	0.285	0.42
rs2274976	0.183	0.174	0.70	0.182	0.176	1.00
rs1801131	0.370	0.334	0.16	0.270	0.286	0.58
rs1801133	0.377	0.408	0.25	0.397	0.410	0.70
rs3834044	0.174	0.173	1.00	0.194	0.185	1.00
rs1330656	0.174	0.174	1.00	0.194	0.185	1.00
rs3737964	0.219	0.229	0.55	0.156	0.165	0.62

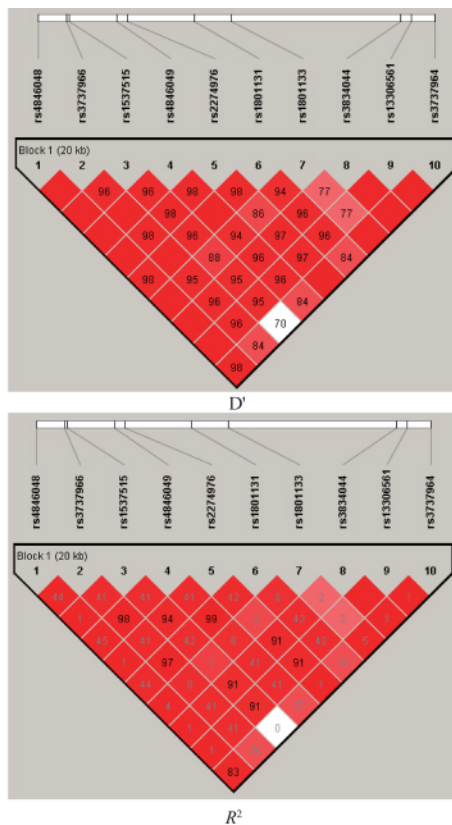
注:  $O(HET)$ : 观测值;  $E(HET)$ : 预期值。

### 2.3 连锁不平衡和单倍体型

连锁不平衡 (linkage disequilibrium, LD) 又称等位基因关联, 指在某一群体中不同座位某两个等位基因 (A, B) 同时出现在一条染色体上的频率大于预期的随机频率的现象。以年龄和性别为调整因素, 评估单倍型分布在 LEAD 和正常组的差异与 LEAD 易感性之间的关联。通过 LD、 $R^2$  检验, 表 4 和图 1 所示,  $r_{rs4846048}$  与  $r_{rs3737966}$  等 37 个位点之间  $D'$  均大于 0.9, 表明各位点之间存在明显连锁不平衡现象。对其行单倍型构建出 5 种单倍型。MTHFR 基因 GCCTCGGAAT 单倍型中, LEAD 组中出现频率为 0.118, 对照组中出现频率为 0.069, 两组的分布差异有统计学意义 ( $P = 0.02$ )。

表 4 基因位点单倍体型与 LEAD 关联分析

单倍体型	LEAD 组频率	正常组频率	$P$
ATCGCTGAAC	0.488	0.521	0.36
ATCGCTAAAC	0.273	0.285	0.72
GCCTCGGAAT	0.118	0.069	0.02
ACATTGGCGC	0.088	0.095	0.74
ATCGCTGAAT	0.009	0.022	0.14



注: 方格中数值为左右 2 个 SNP 位点的  $D'$  值或者  $R^2$  值百分比

图 1 MTHFR 基因位点连锁不平衡分析结果

### 2.4 SNP 位点等位基因频率的 $\chi^2$ 检验

比较 LEAD 组与正常组之间各 SNP 位点等位基因频率,  $P < 0.05$  代表 A1 在两组间存在显著差

异。而  $OR < 1$  表示 A1 具有保护作用,即 A1 越高患病风险越低;  $OR = 1$  则表示该位点与疾病无任何关系;  $OR > 1$  则表示 A1 有致病作用。表 5 可见,该卡方检验中 rs1801131 ( $OR = 1.287$ )、rs3737966 ( $OR = 1.339$ )、rs4846049 ( $OR = 1.314$ )、rs3737964 ( $OR = 1.522$ ) 和 rs4846048 ( $OR = 1.844$ ),且 rs4846048 在 LEAD 和正常组间差异有统计学意义 ( $P = 0.02$ )。

表 5 MTHFR 基因型与 LEAD 风险之间的关联分析

SNP	A1	A2	$\chi^2$	P	OR
rs4846048	G	A	5.488	0.02	1.844
rs3737966	C	T	2.437	0.12	1.339
rs1537515	A	C	0.007	0.93	0.980
rs4846049	T	G	2.126	0.14	1.314
rs2274976	T	C	0.005	0.94	0.983
rs1801131	G	T	1.805	0.18	1.287
rs1801133	A	G	0.005	0.94	0.988
rs3834044	C	A	0.107	0.74	0.923
rs13306561	G	A	0.107	0.74	0.923
rs3737964	T	C	3.104	0.08	1.522

### 2.5 基因型统计

通过基因型 (genotypic test, GENO) 检验、趋势卡方检验 (cochran-armitage trend test, TREND)、显性基因检验 (dominant gene action test, DOM) 和隐性基因检验 (recessive gene action test, REC) 等 4 种检验统计 LEAD 与正常组人群中 MTHFR 基因 10 个位点的基因型分布情况,结果见表 6。rs4846048 位点的 TREND 检验和 DOM 检验中均显示 LEAD 与正常组之间的分布频率差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

人类 MTHFR 基因位于染色体 1p36.3,全长 198 bp,包括 11 个外显子和 10 个内含子,cDNA 长 2.2 kb,且具有高度多态性,现已报道 26 种突变类型。该基因部分多态位点的错义突变易导致 MTHFR 活性下降。该基因第 4 外显子的 C677T (A1a-Va1) 碱基突变 (rs1801133) 最为常见,也是目前该基因中唯一与 LEAD 易感性有报道的位点。C677T 突变后可产生 Hinf I 限制内切酶识别序列性,编码第 223 位的缬氨酸替代丙氨酸后,亚甲基四氢叶酸还原酶发生不耐热性变化即酶活性降低,发生蛋氨酸循环障碍,导致血浆的 Hcy,而 Hcy 血症被认为是 As 在内的心脑血管疾病的独立危险因素<sup>[5-6]</sup>。Katzwal 和 Pollex 等认为 MTHFR C667T 位点多态性与外周动脉疾病具有密切关系,在加拿大土著人群的糖尿病患者中 C667T 突变者很可能外周血管疾病

的风险明显增加 ( $OR = 3.54$  95%  $CI: 1.01, 12.4$ ;

表 6 各 SNP 位点的基因型统计

SNP	TEST	As 组	正常者	$\chi^2$ 值	P
rs4846048	GENO	5/44/175	2/18/139	5.442	0.07
	TREND	54/394	22/296	5.015	0.02
	DOM	49/175	20/139	5.441	0.02
	REC	5/219	2/157	0.492	0.48
rs3737966	GENO	7/83/133	6/43/111	4.518	0.10
	TREND	97/349	55/265	2.523	0.11
	DOM	90/133	49/111	3.817	0.05
	REC	7/216	6/154	0.106	0.74
rs1537515	GENO	3/38/183	1/30/129	0.638	0.73
	TREND	44/404	32/288	0.007	0.94
	DOM	41/183	31/129	0.070	0.79
	REC	3/221	1/159	0.462	0.50
rs4846049	GENO	6/84/134	6/43/111	4.864	0.09
	TREND	96/352	55/265	2.230	0.14
	DOM	90/134	49/111	3.689	0.05
	REC	6/218	6/154.354	0.55	
rs2274976	GENO	1/41/182	1/29/129	0.059	0.97
	TREND	43/405	31/287	0.005	0.94
	DOM	42/182	30/129	0.001	0.98
	REC	1/223	1/158	0.060	0.81
rs1801131	GENO	6/83/135	6/43/110	4.343	0.11
	TREND	95/353	55/263	1.890	0.17
	DOM	89/135	49/110	3.206	0.07
	REC	6/218	6/153	0.367	0.54
rs1801133	GENO	21/81/113	14/62/80	0.189	0.91
	TREND	123/307	90/222	0.005	0.94
	DOM	102/113	76/80	0.059	0.81
	REC	21/194	14/142	0.067	0.80
rs3834044	GENO	2/39/183	1/31/128	0.316	0.85
	TREND	43/405	33/287	0.109	0.74
	DOM	41/183	32/128	0.174	0.68
	REC	2/222	1/159	0.086	0.77
rs13306561	GENO	2/39/183	1/31/128	0.316	0.85
	TREND	43/405	33/287	0.109	0.74
	DOM	41/183	32/128	0.174	0.68
	REC	2/222	1/159	0.086	0.77
rs3737964	GENO	5/49/170	2/25/133	3.004	0.22
	TREND	59/389	29/291	2.955	0.09
	DOM	54/170	27/133	2.933	0.09
	REC	5/219	2/158	0.503	0.48

注: GENO: 基因型检验 (AA/Aa/aa); TREND: 趋势卡方检验 (2AA + Aa/2aa + Aa); DOM: 显性基因检验 (AA + Aa/aa); REC: 隐性基因检验 (AA/Aa + aa)。

$P = 0.049$ )<sup>[7]</sup>。然而,本研究显示 MTHFR C667T 位点等位基因频率的卡方检验未见 LEAD 致病性 ( $OR = 0.988$   $P = 0.94$ ),与国内外报道的结论不完全吻合。其差异一方面可能与研究人群的地区及种族差

异有关,另一方面本研究对象为纯粹的 LEAD 者,而已报道的多为冠心病病等其他复杂的心脑血管病理<sup>[8]</sup>。

rs1801131 (A1298C)也是 MTHFR 基因比较常见的位点。我国吉林地区汉族人群的研究显示该位点突变并不是脑血管疾病潜在的遗传候选因素,但测得 AA、AC、CC 基因型之间的 Hcy 浓度有统计学意义<sup>[9]</sup>。恰相反,欧洲马其顿人群的结果却表示该位点多态性与其的血浆同型半胱氨酸并无相关性<sup>[10]</sup>。本实验结果显示,虽然在病例对照组中差异未见统计学意义,但 rs1801131 等位基因频率的卡方检验提示该位点可能与 LEAD 致病性相关 ( $OR = 1.287, P = 0.18$ )。可见,只有基因突变产生的微小表型效应累积到一定程度,加上其他多因素的共同作用才可能触发相关疾病的发生。

本文结果还表明,rs4846048 位点可能是该地区汉族人 LEAD 的易感性位点 ( $OR = 1.844$ ),且基因型的趋势卡方检验和显性基因检验均显示 LEAD 与正常组之间的分布频率差异存在统计学意义 ( $P < 0.05$ )。这种关联性目前尚未见国内外报道。前人对 rs4846048 位点的研究主要集中在体质量、更年期自然绝经白人女性、中国汉族女性乳腺癌和食管鳞状细胞癌易感性等方面<sup>[11-13]</sup>。因此,下一步如能进行扩大样本、进行多中心联合,排除其它混杂干扰因素,控制偏倚,很可能获取更确凿的论证,甚至在 LEAD 的候选基因多态性研究中有新的发现。

LEAD 是血管老化的必然性改变,目前临床上主要的检测指标为 baPWV 及 ABI,但当 baPWV 及 ABI 结果异常时,血管结构往往已经发生了明显的动脉粥样硬化,而动脉弹性的改变其实早于结构的改变<sup>[14,15]</sup>。因此,如能有意识进行 MTHFR 基因 rs1801131、rs3737966、rs4846049 和 rs3737964,尤其是 rs4846048 等相关风险基因位点的检测,并早期干预,很可能有帮助临床尽早发现动脉血管病变,降低进一步心脑血管事件的发生。但是目前研究的基因多态性位点一般为编码基因的内含子区或非编码区,这阻碍进一步开展其功能学的研究。况且本研究是小样本、单中心的探索性研究,难以完全排除其他复杂因素的干扰作用,仍需下一步进行大样本、多中心及前瞻性研究。尽管如此,LEAD 是一种复杂的系统性疾病,除遗传还有环境和生活习惯等多种因素共同作用,本研究将对其开展综合性、系统性的

研究提供一定的启发。

## 参 考 文 献

- Lloyd-Jones DM, Evans JC, Levy D. Hypertension in adults across the age spectrum: current outcomes and control in the community [J]. *JAMA*, 2005, 294: 466-472
- 张建陶,郝斌,杨涛,等. 甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与下肢动脉粥样硬化闭塞症[J]. *中国药物与临床*, 2008, 8(1): 36-38
- Wu YL, Hu CY, Lu SS, et al. Association between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T/A1298C polymorphisms and essential hypertension: a systematic review and meta-analysis [J]. *Metabolism* 2014 63(12): 1503-11
- Somarajan BI, Kalita J, Mittal B, et al. Evaluation of MTHFR C677T polymorphism in ischemic and hemorrhagic stroke patients. A case-control study in a Northern Indian population [J]. *J Neurol Sci*, 2011, 304(1-2): 67-70
- 中国高血压防治指南修订委员会. 2010 中国高血压防治指南 [J]. *中华高血压杂志* 2011, 19: 701-742
- Lin X, Zhang W, Lu Q, et al. Effect of MTHFR Gene polymorphism impact on atherosclerosis via genome-wide methylation [J]. *Med Sci Monit*, 2016, 22: 341-5
- Katwal AB, Dokun AO. Peripheral arterial disease in diabetes: is there a role for genetics? [J]. *Curr Diab Rep*, 2011, 11(3): 218-225
- Cui T. MTHFR C677T mutation increased the risk of Ischemic Stroke especially in large-artery atherosclerosis in adults: an updated meta-analysis from 38 researches and the severity of coronary atherosclerosis in a Chinese Han Population [J]. *Int J Neurosci*, 2016, 126(1): 10-19
- 董长颖,王铁兵,徐蕾. 吉林地区汉族人群 MTHFR 基因 A1298C 多态性及与脑血管病的相关性 [J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33(24): 6097-6098
- Spiroski I, Kedev S, Antov S, et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR-677 and MTHFR-1298) genetic polymorphisms with occlusive artery disease and deep venous thrombosis in Macedonians [J]. *Croat Med J* 2008 49(1): 39-49
- Liu X, Zhao LJ, Liu YJ, et al. The MTHFR gene polymorphism is associated with lean body mass but not fat body mass [J]. *Hum Genet*, 2008, 123(2): 189-196
- Liu P, Lu Y, Recker RR, et al. Association analyses suggest multiple interaction effects of the methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms on timing of menarche and natural menopause in white women [J]. *Menopause*, 2010, 17(1): 185-190
- Tang W, Zhang S, Qiu H, et al. Genetic variations in MTHFR and esophageal squamous cell carcinoma susceptibility in Chinese Han population [J]. *Med Oncol*, 2014, 31(5): 915-920
- Lu Q, Jiang K, Li Q, et al. Polymorphisms in the MTHFR gene are associated with breast cancer risk and prognosis in a Chinese population [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(5): 3757-3762
- 王春,杨海燕,尹震宇,等. 老年 2 型糖尿病患者过氧化物酶体增殖物活化受体  $\gamma$  与动脉粥样硬化程度的相关分析 [J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2015, 17(9): 945-948

(2016-04-11 收稿 2016-06-14 修回)