

【临床研究】

通信作者:马五林(1967-),男,河南原阳人,学士,主任医师,研究方向:呼吸系统疾病;E-mail:yangfang63124@126.com.

examination. The levels of plasma homocysteine (Hcy), fasting blood glucose (FBG), triacylglycerol (TG), total cholesterol (TC) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were detected. The DNA was extracted from the whole blood cells. The CBS 844ins68 polymorphism was detected by polymerase chain reaction genotyping. The MTHFR C677T polymorphism was detected by restriction fragment length polymorphism polymerase chain reaction. **Results** There was no significant difference in the FBG level between the two groups ($P > 0.05$). The levels of Hcy, TG, TC and LDL-C in the observation group were significantly higher than those in the healthy control group ($P < 0.05$), and the FEV1 and FEV1% pred were significantly lower than those in the healthy control group ($P < 0.05$). There were two genotypes of CBS 844ins68 in the two groups. The genotype frequency of DD and DI in the observation group was 91.74% and 8.26%, and the allele frequency of D and I was 95.87% and 4.13% respectively. The genotype frequency of DD and DI in the healthy control group was 94.04% and 5.96%, and the allele frequency of D and I was 97.02% and 2.98% respectively. There was no significant difference in genotype and allele frequency distribution between the two groups ($\chi^2 = 0.935, 0.901; P > 0.05$). Three genotypes of MTHFR C677T were detected after enzyme digestion in the two groups. The genotype frequency of CC, CT and TT in the healthy control group was 27.66%, 48.94% and 23.40%; and the allele frequency of C and T was 52.13% and 47.87% respectively. The frequency of TT genotype and T allele in the observation group was significantly higher than that in the healthy control group ($\chi^2 = 7.730, 7.326; P < 0.05$). **Conclusions** Hcy level increasing may be a risk factor for CPHD. The polymorphisms of CBS 844ins68 gene may be unrelated to the occurrence of CPHD. The polymorphism of the MTHFR C677T gene may contribute to CPHD by affecting Hcy level. The T allele of MTHFR C677T may be a risk factor for CPHD, and the MTHFR C677T gene may be a genetic predisposition to CPHD.

Key words: homocysteine; cystathionine β -synthase; N5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase; genetic polymorphism; chronic pulmonary heart disease

同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是甲硫氨酸脱甲基后的一种代谢产物,是人体非必需的含硫氨基酸,不参与蛋白质的合成。Hcy在人体内代谢有2个关键途径:转硫途径和再甲基化,其过程涉及2个主要的酶,即胱硫醚 β -合成酶(cystathionine β -synthase, CBS)和N5, 10-亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)^[1-2]。慢性肺源性心脏病(chronic pulmonary heart disease, CPHD)是一种常见内科疾病,由肺组织结构及功能受损导致肺动脉高压、右心室肥厚扩大,并有可能出现右心功能衰竭^[3],其病因比较复杂。李惠等^[4]研究显示,高Hcy是CPHD的易感因素之一。Hcy代谢酶CBS和MTHFR存在基因多态性,其中CBS基因第8号外显子的一个68 bp的插入突变(CBS 844ins68)、MTHFR基因第677位点C \rightarrow T突变(MTHFR C677T)可使相应的酶活性下降,并可导致Hcy水平发生改变,与心脑血管疾病的发生有一定相关性^[5]。目前,CBS 844ins68、MTHFR C677T基因多态性与CPHD关系的研究报道较少,本研究旨在了解血浆Hcy水平及其代谢酶CBS 844ins68、MTHFR C677T基因多态性与CPHD的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2014年1月至2016年11月在新乡市第二人民医院呼吸内科住院治疗的CPHD

患者230例为观察组,其中男111例,女119例,年龄45~81岁,平均 (62.98 ± 8.27) 岁。所有患者均符合CPHD诊断标准^[6]。排除标准:(1)胸廓畸形和其他心血管疾病导致的肺心病;(2)伴有严重肝肾功能损害疾病者;(3)伴有严重血液系统疾病者;(4)伴有恶性肿瘤者。另选取同期门诊体检健康者235例为健康对照组,其中男109例,女126例,年龄39~75岁,平均 (60.15 ± 8.86) 岁。2组受试者的性别、年龄比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。入选对象均签署知情同意书,且本研究经新乡市第二人民医院伦理委员会批准。

1.2 主要试剂和仪器 Hcy水平检测试剂盒购自北京九强生物股份有限公司,空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、三酰甘油(triglycerides, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)检测试剂盒购自罗氏诊断产品上海有限公司,血液提取基因组DNA非离心柱试剂盒购自北京天根生化科技有限公司,聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)试剂盒购自上海生物技术有限公司,限制性内切酶Hinf I酶购自立陶宛Fermentas公司;AU-2700全自动生物化学分析仪购自日本奥林帕斯公司,罗氏P-800全自动生物化学分析仪购自德国罗氏公司, -80℃超低温冰箱购自日本SANYO公司, Bio-

RAD 凝胶成像系统购自美国伯乐公司, MyCycler TM PCR 仪购自美国 Bio-metra 生物科技公司, USB 型肺功能仪器购自美国 Carefusion 公司。

1.3 肺功能检测 观察组患者于入院当天、健康对照组于体检日应用肺功能仪进行肺功能检查, 记录患者的 1 秒用力呼气量占预计值百分比(the percentage of forced expiratory volume in one second to predicted value, FEV1% pred)、1 秒用力呼气量占用力肺活量百分比(the percentage of forced expiratory volume in one second to forced vital capacity, FEV1%) 及 FEV1/FVC。

1.4 血液标本收集 观察组患者于入院次日、健康对照组受试者于体检日清晨抽取肘静脉血 8 mL, 其中 4 mL 于乙二胺四乙酸-K2 抗凝管混匀后分装于 eppendorf(EP)管, -80 ℃ 冰箱贮存, 以备血液 DNA 提取;4 mL 装于肝素抗凝管, 3 000 r · min⁻¹ 离心 10 min, 分离血浆, -20 ℃ 贮存, 以备生物化学指标检测。

1.5 Hcy 及相关生物化学指标检测 采用日本奥林帕斯 AU-2700 全自动生物化学分析仪循环酶法检测血浆 Hcy 水平, 运用罗氏 P-800 全自动生物化学分析仪酶法检测血浆 GLU、TG、TC 和 LDL-C, 严格按试剂盒说明书进行操作。

1.6 CBS 844ins68、MTHFR C677T 基因分型

1.6.1 外周血 DNA 提取 取乙二胺四乙酸抗凝血 300 μL, 使用北京天根生化科技有限公司提供的全血基因组 DNA 提取试剂盒(非离心柱型), 严格按照产品附带的说明书指导提取全血细胞中的 DNA, 提取后的 DNA -80 ℃ 超低温冰箱保存。

1.6.2 引物设计与合成 引物序列设计与合成由上海生物技术有限公司完成。CBS 844ins68 引物序列上游: 5'-CTGGCCTTGAGCCCTGAA-3', 下游: 5'-GGCCGGGCTCTGGACTC-3', 扩增片段为 184 bp; MTHFR C677T 引物序列上游: 5'-TGAAGGAGAAG-GTGTCTGCGGA-3', 下游: 5'-AGGACGGTGCGGT-GAGAGTG-3', 扩增片段为 198 bp。

表 1 2 组受试者血液生物化学指标及肺功能比较

Tab.1 Comparison of blood biochemical indexes and lung function between the two groups									($\bar{x} \pm s$)
组别	n	Hcy/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	FBG/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	TG/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	TC/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	LDL-C/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	FEV1%/%	FEV1% pred/%	
健康对照组	235	11.16 ± 2.65	5.27 ± 0.63	1.13 ± 0.45	4.36 ± 0.64	2.56 ± 0.48	86.26 ± 7.36	81.16 ± 8.33	
观察组	230	17.52 ± 6.71 ^a	5.27 ± 0.63	1.45 ± 0.72 ^a	5.35 ± 1.08 ^a	3.10 ± 0.94 ^a	59.57 ± 7.10 ^a	55.69 ± 6.10 ^a	

注:与健康对照组比较^a $P < 0.05$ 。

1.6.3 PCR 扩增 总反应体系为 25 μL, 内含模板 DNA 3.0 μL, 上、下游引物各 0.5 μL, PCR master mix 12.5 μL 和 ddH₂O 8.5 μL。用 Biometra PCR 基因扩增仪进行扩增。CBS 844ins68: 95 ℃ 预变性 3 min, 95 ℃ 变性 30 s, 57 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 60 s; 35 个循环, 最后 1 个循环后, 72 ℃ 再延伸 5 min。MTHFR C677T: 95 ℃ 预变性 5 min, 95 ℃ 变性 60 s, 59 ℃ 退火 60 s, 72 ℃ 延伸 60 s; 36 个循环, 最后 1 个循环后, 72 ℃ 再延伸 5 min。

1.6.4 CBS 844ins68 基因多态性检测 运用限制性片段长度多态性聚合酶链反应(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP) 技术进行基因分型。PCR 产物 10 μL 在质量分数 2% 琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙啶染色, 凝胶成像系统分析结果并拍照。

1.6.5 MTHFR C677T 基因多态性检测 取 PCR 产物 10 μL, 用限制性内切酶 *Hinf* I 酶 2 μL 于 37 ℃ 水浴酶切 12 h, 酶切终止后产物用质量分数 9% 非变性聚丙烯酰胺凝胶连续缓冲系统垂直电泳进行检测, 电泳时加入 Marker I 作为 DNA 标准物, 同时加入 PCR 扩增产物作为内部参照。电泳后使用银染法进行显色, 并用凝胶成像仪拍照保存结果。

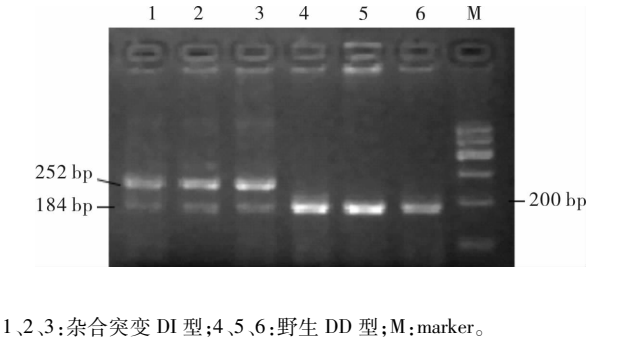
1.7 统计学处理 应用 SPSS 17.0 软件进行统计分析, 计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间均数的比较采用方差分析; 遗传平衡、各基因组及等位基因频率组间的比较采用 χ^2 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组受试者血液生物化学指标及肺功能比较 结果见表 1。观察组患者的 FBG 与健康对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。观察组患者的 Hcy、TG、TC 和 LDL-C 均显著高于健康对照组, FEV1% 和 FEV1% pred 均显著低于健康对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 CBS 844ins68 PCR 检测及基因型鉴定结果

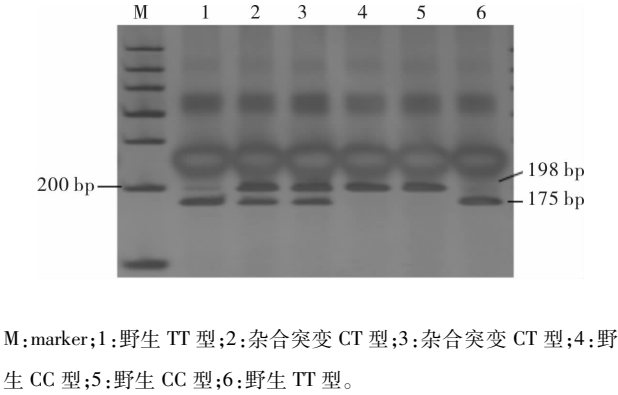
结果见图 1。CBS 844ins68 经 PCR 产物直接检测得到 2 种基因型,其中野生 DD 型凝胶成像仪下可见 184 bp 1 个条带,杂合突变 DI 型可见 184 bp 和 252 bp 2 个条带。



1、2、3:杂合突变 DI 型;4、5、6:野生 DD 型;M:marker。
图 1 CBS 844ins68 基因多态性的 PCR 扩增电泳图
Fig.1 Electrophoresis results of PCR amplification products of CBS 844ins68 gene polymorphism

2.3 MTHFR C677T PCR 检测及基因型鉴定结果

结果见图 2。MTHFR C677T 经酶切后得到 3 种基因型,即野生 CC 型、杂合突变 CT 型和纯合突变 TT 型,其中 CC 型在成像仪下可见 198 bp 1 个条带,CT 型在成像仪下可见 198 bp 和 175 bp 2 个条带,TT 型在成像仪下仅见 175 bp 1 个条带。



M:marker;1:野生 TT 型;2:杂合突变 CT 型;3:杂合突变 CT 型;4:野生 CC 型;5:野生 CC 型;6:野生 TT 型。
图 2 MTHFR C677T 基因多态性的 PCR-RFLP 电泳图
Fig.2 Electrophoresis results of PCR-RFLP of MTHFR C677T gene polymorphism

2.4 2 组受试者 CBS 844ins684 基因型和等位基因的频率分布

结果见表 2。观察组患者与健康对照组受试者的 CBS 844ins68 直接分型均可见 2 种基因型,其中观察组患者 DD 和 DI 基因型频率分别为 91.74% 和 8.26%,D 和 I 的等位基因频率分别为 95.87% 和 4.13%;健康对照组受试者 DD 和 DI 基因型频率分别为 94.04% 和 5.96%,D 和 I 的等位基因频率分别为 97.02% 和 2.98%,2 组间基因型

与等位基因频率分布比较差异均无统计学意义($\chi^2 = 0.935、0.901, P > 0.05$)。

表 2 2 组受试者 CBS844ins68 基因型和等位基因频率分布比较

Tab.2 Comparison of the distribution of CBS 844ins68 genotype and allele frequency between the two groups

组别	n	基因型		等位基因	
		DD/例(%)	DI/例(%)	D/例(%)	I/例(%)
观察组	230	211(91.74)	19(8.26)	441(95.87)	19(4.13)
健康对照组	235	221(94.04)	14(5.96)	456(97.02)	14(2.98)
χ^2		0.935		0.901	
P		0.333		0.343	

注:DI 基因 OR = 1.421(95% CI 为 0.695 ~ 2.908),I 等位基因 OR = 1.403(95% CI 为 0.695 ~ 2.833)。

2.5 2 组受试者 MTHFR C677T 基因型和等位基因的频率分布

结果见表 3。观察组患者与健康对照组受试者的 MTHFR C677T 基因酶切后均可见 3 种基因型,观察组患者的 CC、CT 和 TT 基因型频率分别为 21.31%、43.91% 和 34.78%,C 和 T 的等位基因频率分别为 43.26% 和 56.74%;健康对照组受试者的 CC、CT 和 TT 基因型频率分别为 27.66%、48.94% 和 23.40%,C 和 T 的等位基因频率分别为 52.13% 和 47.87%,观察组患者 TT 基因型与 T 等位基因频率分布显著高于健康对照组,2 组间比较差异均有统计学意义($\chi^2 = 7.730、7.326, P < 0.05$)。

表 3 2 组受试者 MTHFR C677T 基因型和等位基因频率分布比较

Tab.3 Comparison of the distribution of MTHFR C677T genotype and allele frequency between the two groups

组别	n	基因型			等位基因	
		CC/例(%)	CT/例(%)	TT/例(%)	C/例(%)	T/例(%)
观察组	230	49(21.31)	101(43.91)	80(34.78)	199(43.26)	261(56.74)
健康对照组	235	65(27.66)	115(48.94)	50(23.40)	245(52.13)	225(47.87)
χ^2		7.730			7.326	
P		0.002			0.007	

注:CT + TT 基因 OR = 1.412(95% CI 为 0.923 ~ 2.162);T 等位基因 OR = 1.428(95% CI 为 1.103 ~ 1.849)。

3 讨论

CPHD 在我国属常见病、多发病,其发病率随着年龄的增长而增高,患者在冬春季节长期反复呼吸道感染,加重肺动脉压升高及心脏功能改变,预后差,病死率高^[7]。CPHD 的病因及发病机制较为复

杂,目前认为致使肺动脉高压的主要原因有肺血管器质性改变、肺血管功能性改变、肺血管的重构、血容量增多和血液黏稠度增加。Hcy 是一种含硫基的非必需氨基酸,是蛋氨酸代谢循环的中间产物,参与体内的能量代谢和多种甲基化反应^[8-11];其通过诱导过氧化氢产生,使具有细胞毒作用的自由基活性增加,对血管内皮功能造成直接损伤。高 Hcy 是动脉粥样硬化发生、发展的重要危险因素。近年来,血浆 Hcy 与肺部血管疾病的关系成为研究的热点。高水平的血浆 Hcy 可损伤血管内皮细胞,增加血小板聚集,促进血管平滑肌细胞增殖及血栓形成,增加动脉硬化及血脂代谢紊乱等^[12]。已有研究证实,高 Hcy 血症是动脉粥样硬化的独立危险因子^[13-15]。SUN 等^[16]研究显示,在肺动脉高压组中,先天性心脏病患儿的 Hcy 水平比无肺动脉高压组高,提示先天性心脏病患者的 Hcy 水平与肺动脉高压有相关性。在 CPHD 患者中,有 10% 的患者发病与高 Hcy 血症有关,降低 Hcy 水平可预防并减少疾病的发展^[17-18]。本研究结果显示,观察组患者的血浆 Hcy 水平显著高于健康对照组,提示高浓度的血浆 Hcy 与 CPHD 有一定关系。

CBS 代谢酶是 Hcy 转硫途径中的一个关键酶。CBS 是一种吡哆醛磷酸依赖性酶,以相对分子质量 63 000 的同源四聚体形式存在,它催化同型半胱氨酸与丝氨酸缩合成胱硫醚。利用 PCR-RFLP 等技术研究发现,CBS 基因中的突变位点至少有 80 个,它们多数分布在第 3 和第 8 外显子中,不同部位的突变对 CBS 活性的影响不尽相同,较常见的为 T833C 和 CBS 844ins68 突变。CBS 844ins68 突变国内报道不多,其为第 8 号外显子 844 和 845 位插入 1 个 68 bp 的碱基片段,该突变可导致代谢酶的活性降低,血浆 Hcy 水平升高。研究发现,在不同人群中该位点多态性分布频率有明显的差异。I 等位基因频率分布在巴西人群中占 4.5%^[19]、英国人群中占 10%^[20],在中国河南省汉族人群中占 1.4%^[21]。本研究结果显示,健康人群 CBS 基因 844ins68 I 等位基因频率为 2.98%。CBS 844ins68 基因多态性与原发性高血压、缺血性脑血管疾病、2 型糖尿病等疾病的相关性研究较多,且研究结果多提示无相关性^[20-22];本研究结果显示,I 等位基因频率在观察组

和健康对照组受试者分别为 4.13% 和 2.97%,差异无统计学意义,与前者的研究结果相一致,进而提示 CBS 844ins68 基因多态性可能与 CPHD 的发生、发展没有关系。

MTHFR 代谢酶是 Hcy 再甲基化途径中的 1 个关键酶,以第 677 位点碱基突变最为常见,胞嘧啶(C)被胸腺嘧啶(T)替换,该基因编码的蛋白质变为缬氨酸,致酶活性降低甚至消失^[23]。MTHFR C677T 可突变为 3 种基因,有野生型、杂合型和纯合型,研究发现,MTHFR C677T 基因具有多态性分布的特征,基因多态性及等位基因频率分布在不同地区、不同民族有一定差异性,进而导致不同疾病有着不同的易感程度^[24]。MTHFR C677T 基因多态性与缺血性脑卒中、2 型糖尿病、高血压等疾病的相关性研究较多^[25-27]。本研究旨在探讨 MTHFR C677T 基因多态性与 CPHD 的关系,研究结果显示,观察组患者 TT 基因型与 T 等位基因频率分布显著高于健康对照组,2 组比较差异有统计学意义,提示携带 TT 基因型的人群发生 CPHD 的风险较未携带 TT 基因型的人群高,T 等位基因可能是 CPHD 发生的易感因子。

综上所述,Hcy 水平升高可能是 CPHD 发病的危险因素之一;CBS 844ins68 基因多态性可能与 CPHD 的发生无关;MTHFR C677T 基因多态性可能通过影响 Hcy 代谢水平导致 CPHD 的发生,其 T 等位基因可能是 CPHD 的风险因子,MTHFR C677T 基因可能是 CPHD 的遗传易感基因。由于受基因变异和环境等多重因素的影响,目前各研究还未能对此达成一致结论,为了明确这 2 个基因与 CPHD 的关系,仍需在在地域、民族和较大样本中进行更加深入的研究。

参考文献:

[1]

CHEN H,YANG X,LU M. Methylene-tetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss in China:a systematic review and meta-analysis[J]. *Arch Gynecol Obstet*,2016,293(2): 283-290.

[2]

WANG X,FU J,LI Q,et al. Geographical and ethnic distributions of the MTHFR C677T, A1298C and MTRR A66G gene polymorphisms in Chinese populations: a meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2016,11(4):e0152414.

- [3] EHTESHAMI-AFSHAR S, FITZGERALD J M, DOYLE-WATERS M M, *et al.* The global economic burden of asthma and chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2016, 20 (1): 11-23.
- [4] 李惠, 邹立华, 陈小丹, 等. 慢性肺心病患者同型半胱氨酸与内皮素、前列环素的关系 [J]. 临床肺科杂志, 2012, 17 (6): 1043-1044.
- [5] TSAI M Y, BIGNELL M, YANG F, *et al.* Polygenic influence on plasma homocysteine; association of two prevalent mutations, the 844ins68 of cystathionine beta-synthase and A(2756)G of methionine synthase, with lowered plasma homocysteine levels [J]. *Atherosclerosis*, 2000, 149 (1): 131-137.
- [6] 葛均波, 徐永健, 梅长林, 等. 内科学 [M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 110-115.
- [7] LIU Y, HUANG Y, ZHAO C, *et al.* Salvia miltiorrhiza injection on pulmonary heart disease: a systematic review and meta-analysis [J]. *Am J Chin Med*, 2014, 42 (6): 1315-1331.
- [8] 李乐, 黄志勇, 贺文麟. 血浆同型半胱氨酸、催乳素水平与帕金森病及帕金森病痴呆相关性分析 [J]. 新乡医学院学报, 2015, 32 (5): 438-440.
- [9] 董宁, 汤欣, 肖林, 等. 视网膜分支静脉阻塞患者急性期和恢复期血浆同型半胱氨酸水平的变化 [J]. 眼科新进展, 2015, 35 (4): 368-370, 373.
- [10] 张亚京, 王鑫, 陈华, 等. 母血与脐血中同型半胱氨酸、胎盘生长因子、叶酸及 Vit B12 与胎儿生长受限的关系 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2013, 28 (14): 1086-1089.
- [11] 董彦博, 李红英, 李军朋, 等. 高同型半胱氨酸血症与先天性心脏病并肺动脉高压的关系 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2015, 30 (10): 784-785.
- [12] 马宇, 刘意, 郭娟, 等. 金纳多联合血栓通对视网膜静脉阻塞患者同型半胱氨酸水平的影响 [J]. 眼科新进展, 2013, 33 (9): 858-860.
- [13] KIM J M, PARK K Y, SHIN D W, *et al.* Relation of serum homocysteine levels to cerebral artery calcification and atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis*, 2016, 254: 200-204.
- [14] 孙佳鹏, 肖慧捷, 丁洁. 同型半胱氨酸: 心肾损伤的共同标志之一 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2015, 30 (17): 1355-1357.
- [15] 黄漓莉, 于健, 周素娴, 等. 同型半胱氨酸和视黄醇结合蛋白 4 与糖尿病视网膜病变的相关性研究 [J]. 眼科新进展, 2016, 36 (3): 244-246.
- [16] SUN L, SUN S, LI Y, *et al.* Potential biomarkers predicting risk of pulmonary hypertension in congenital heart disease: the role of homocysteine and hydrogen sulfide [J]. *Chin Med*, 2014, 127 (5): 893-899.
- [17] MCCULLY K S. Homocysteine and the pathogenesis of atherosclerosis [J]. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2015, 8 (2): 211-219.
- [18] MCCULLY K S. Homocysteine metabolism, atherosclerosis, and diseases of aging [J]. *Compr Physiol*, 2015, 6 (1): 471-505.
- [19] PORTO M P, GALDIERI L, PEREIRA V G, *et al.* Molecular analysis of homocystinuria in Brazilian patients [J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 24 (1): 48-56.
- [20] LUCOCK M, YATES Z, MARTIN C, *et al.* Hydrogen sulphide-related thiol metabolism and nutrigenetics in relation to hypertension in an elderly population [J]. *Genes Nutr*, 2013, 8 (2): 221-229.
- [21] LI A F, ZHENG H, XU Y M, *et al.* The association between gene polymorphisms of homocysteine metabolism-related enzymes and ischemic cerebrovascular diseases in Chinese Henan Han population [J]. *Life Sci J*, 2012, 9 (3): 403-408.
- [22] 罗丹, 鄂盛恺, 马红雨, 等. 2 型糖尿病的同型半胱氨酸及胱硫醚 B 合成酶 CBS844ins68 基因多态性特点 [J]. 医学研究杂志, 2012, 41 (2): 115-118.
- [23] LIEW S C, GUPTA E D. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases [J]. *Eur J Med Genet*, 2015, 58 (1): 1-10.
- [24] YANG B, LIU Y, LI Y, *et al.* Geographical distribution of MTHFR C677T, A1298C and MTRR A66G genes polymorphisms in China: findings from 15357 adults of Han nationality [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (3): e57917.
- [25] FANG X, WANG R, MA J, *et al.* Ameliorated ConA-induced hepatitis in the absence of PKC-theta [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (2): e31174.
- [26] WU Y L, HU C Y, LU S S, *et al.* Association between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T/ A1298C polymorphisms and essential hypertension: a systematic review and meta-analysis [J]. *Metabolism*, 2014, 63 (12): 1503-1511.
- [27] ZHOU T B, DRUMMEN G P, JIANG Z P, *et al.* Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T gene polymorphism and diabetic nephropathy susceptibility in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Ren Fail*, 2015, 37 (8): 1247-1259.

(本文编辑:李胜利 英文编辑:徐自超)