

# 男性高尿酸血症与亚甲基四氢叶酸还原酶 C677T 多态性的关系

# Polymorphisms of Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T and Hyperuricemia in Males

YAO Hua<sup>1</sup>, DING Li-li<sup>2</sup>, WANG Xian-min<sup>1</sup>, XU Fei-li<sup>2</sup>

(1. Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang, China; 2. First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang, China)

姚 华<sup>1</sup>/丁丽丽<sup>2</sup>/王先敏<sup>1</sup>/徐菲丽<sup>1</sup>

(1. 新疆自治区中医医院 新疆 乌鲁木齐 830000; 2. 新疆医科大学第一附属医院 新疆 乌鲁木齐 830054)

**【摘要】**背景与目的：探索亚甲基四氢叶酸还原酶基因 (*MTHFR*) C677T 多态性与男性高尿酸血症是否具有关联。材料与方法：对 91 例男性高尿酸血症患者和正常男性对照 81 人，分别进行肾功能、血脂、血糖检测和测量血压、一般身体指标，用基因芯片法检测研究对象的 *MTHFR* 的基因型。结果：高尿酸血症组 *MTHFR* 的 T 等位基因的分布频率明显高于对照组 ( $\chi^2 > 3.84, P < 0.05$ )，T/T 组较 C/C 组 BMI、尿酸和甘油三酯水平明显升高，差异具有统计学意义 ( $t < 1.96, P < 0.05$ )。结论：*MTHFR* 基因 C677T 突变可能与男性高尿酸血症有关。

**【关键词】**高尿酸血症；*MTHFR*；多态性

中图分类号：Q754

文献标识码：A

文章编号：1004-616X(2007)01-0050-03

**【ABSTRACT】** BACKGROUND & AIM: To study the relationship between polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase C677T and hyperuricemia in males. MATERIALS AND METHODS: A case-control study was conducted with 91 males with hyperuricemia and 81 males as control. Anthropometric, blood pressure and biochemical variables, including serum lipids, glucose, serum uric acid, creatinine and urea nitrogen were measured. *MTHFR* genotypes were detected by DNA microarray technology. RESULTS: The frequency of *MTHFR* T allele among the cases (50.5%) was significantly higher than the controls (38.8%) ( $P = 0.028$ ), the odds ratios for hyperuricemia was 1.615. Uric acid, triglyceride concentrations and body mass index were markedly higher in subjects with *TT* genotype than in subjects with *CC* genotype ( $P < 0.05$ ), homozygotes for the *MTHFR* mutation had a significantly higher mean uric acid level ( $458.69 \pm 128.51 \mu\text{mol/L}$ ) than those without mutation ( $392.77 \pm 118.90 \mu\text{mol/L}, P < 0.05$ ), whereas heterozygotes had an intermediate value ( $411.28 \pm 118.34 \mu\text{mol/L}$ ). CONCLUSION: *MTHFR* C677T mutation may be considered a risk factor for hyperuricemia in Chinese males.

**【KEY WORDS】** hyperuricemia; *MTHFR*; polymorphisms

亚甲基四氢叶酸还原酶 (methylenetetrahydrofolate reductase, *MTHFR*) 是人体内同型半胱氨酸复甲基化的关键酶，以往人们多关注 *MTHFR* 基因的 C677T 突变对个体的癌症易感性、心脑血管疾病发病的影响，最近国外相继提出 *MTHFR* 基因的 C677T 突变与高尿酸血症相

关<sup>[1-2]</sup>，类似报道在国内尚未见报道。高尿酸血症在我国发病率日渐增高，在男性中尤为高发（男：女约为 10：1），并常和多种心脑血管疾病高度聚集<sup>[3]</sup>。我们应用基因芯片技术检测 *MTHFR* 的基因型，了解 *MTHFR* 基因 C677T 突变与男性血尿酸水平是否相关。

收稿日期：2005-11-21；修订日期：2006-07-13

作者简介：姚 华 (1959-) 男，汉，山东省菏泽人，博士，教授，博士生导师，研究方向 环境与疾病。E-mail yaohua01@sina.com

## 1 材料与方法

**1.1 研究对象** 随机选择 2004 年 01~06 月间来我院体检被确诊为高尿酸血症男性患者 91 人, 诊断标准:  $C_{\text{尿酸}} > 420 \mu\text{mol/L}$  ( $\rho_{\text{尿酸}} > 7.0 \text{ mg/ml}$ ), 同时排除肾脏疾病、可导致核酸代谢亢进的血液疾病、癌肿放疗或化疗后以及药物所致尿酸升高者。对照组选择同期来我院体检的血尿酸水平正常者 ( $C_{\text{尿酸}} < 420 \mu\text{mol/L}$ ) 81 人作为对照, 进行非配对病例对照研究。

### 1.2 研究方法

**1.2.1 基因型分析** 用基因芯片法检测研究对象的 *MTHFR* 基因 C677T 多态性的基因型。空腹采集静脉血 2 ml, EDTA 抗凝, 血样抽提 DNA 后进行如下步骤: ① PCR 扩增, 所用引物为 5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGC GGGA-3' 和 5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3', 反映总体积 25  $\mu\text{l}$ ; ② 杂交: 取基因芯片, 预杂交后, 加入杂交缓冲液 200  $\mu\text{l}$  和已变性的 PCR 扩增混合物, 混匀后加入杂交舱中, 再将基因芯片迅速放进 41  $^{\circ}\text{C}$  恒温箱中, 保温 30 min, 吸取杂交舱中的溶液, 在杂交舱中加入 200  $\mu\text{l}$  已预热的洗液, 41  $^{\circ}\text{C}$  保温 5 min, 然后洗除, 再重复此步骤两次; ③ 显色: 在杂交舱中依次加入洗液 1、抗体液、洗液 2 各 200  $\mu\text{l}$ , 室温静置 5 min, 吸除该溶液, 再重复此步骤一次; 向杂交舱中加入洗液 3 溶液 200  $\mu\text{l}$ , 室温静置 2 min 后吸除该溶液, 加入显色液 200  $\mu\text{l}$ , 41  $^{\circ}\text{C}$  放置 40 min; ④ 检测: 揭除杂交舱, 用蒸馏水冲洗载玻片显色区, 置 41  $^{\circ}\text{C}$  烘干, 将载玻片放入基因芯片识读仪上进行识读, 检测图像经 Array Doctor 软件分析可自动输出结果。以上检测所用仪器及试剂均由上海百傲科技有限公司提供。

**1.2.2 生化指标的测定** 受试者禁食 12 h 后采集静脉血 2 ml, 分离血清, 用尿酸酶法测定尿酸浓度, 血脂及肾功能各项的测定均在全自动生化仪上进行。试剂由上海科华-东菱诊断用品有限公司提供, 采用日立 7060 全自动生化分析仪, 质检合格。

**1.2.3 一般身体指标测量** 常规测量身高、体

重、腰围、臀围, 并计算体重指数 (BMI)、腰臀比; 血压检测使用台式血压计, 高血压诊断标准依据 WHO/ISH (即收缩压  $> 140 \text{ mmHg}$  和/或舒张压  $> 90 \text{ mmHg}$ )。

**1.2.4 统计学方法** 采用软件 SPSS 10.0 进行统计分析, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组均数比较采用  $q$  检验; 计数资料以百分数表示, 用行  $\times$  列表的  $\chi^2$  检验,  $\alpha = 0.05$  为检验水准。

## 2 结果

**2.1 *MTHFR* 基因 C677T 多态性分布频率** 经  $\chi^2$  检验, 两组 *MTHFR* 各基因型的分布频率符合 Hard-Weinberg 定律 ( $\chi^2 < 3.84, P > 0.05$ )。结果表明, *MTHFR* 各基因型在两组的频率分布无差异, 但 T 等位基因在高尿酸血症患者中的分布频率明显高于对照组 ( $\chi^2 > 3.84, P < 0.05, \text{OR} = 1.619$ )。见表 1。

**2.2 *MTHFR* 基因 C677T 不同基因型各生化指标的比较**  $q$  检验结果显示, *MTHFR* 基因的 C/C、C/T、T/T 各基因型的 UA、BMI、TG 水平依次上升, 其中 T/T 组与 C/C 组的差异有统计学意义 ( $t > 1.96, P < 0.05$ ), 其余各变量间差异无统计学意义。结果见表 2。

表 2 不同临床指标在不同 *MTHFR* 基因型中的比较

Table 2 Distribution of clinical variable in *MTHFR* genotypes

| Clinical variable          | <i>MTHFR</i> genotypes |                     |                      |
|----------------------------|------------------------|---------------------|----------------------|
|                            | C/C                    | C/T                 | T/T                  |
| age (year)                 | 39.18 $\pm$ 8.45       | 39.13 $\pm$ 9.91    | 39.72 $\pm$ 8.84     |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )   | 24.72 $\pm$ 3.15       | 25.53 $\pm$ 2.87    | 26.29 $\pm$ 2.79*    |
| WHR (cm/cm)                | 0.89 $\pm$ 0.15        | 0.90 $\pm$ 0.07     | 0.91 $\pm$ 0.06      |
| SBP (mmHg)                 | 79.42 $\pm$ 9.47       | 78.63 $\pm$ 11.12   | 83.54 $\pm$ 12.26    |
| DBP (mmHg)                 | 119.19 $\pm$ 14.47     | 120.98 $\pm$ 17.57  | 122.61 $\pm$ 13.00   |
| BUN (mmol/L)               | 6.07 $\pm$ 1.69        | 5.92 $\pm$ 1.49     | 5.85 $\pm$ 1.21      |
| CREA ( $\mu\text{mol/L}$ ) | 106.09 $\pm$ 18.67     | 102.50 $\pm$ 19.36  | 98.77 $\pm$ 19.66    |
| UA ( $\mu\text{mol/L}$ )   | 392.77 $\pm$ 118.90    | 411.28 $\pm$ 118.34 | 458.69 $\pm$ 128.51* |
| GLU (mmol/L)               | 5.85 $\pm$ 1.94        | 5.47 $\pm$ 0.65     | 5.84 $\pm$ 1.31      |
| TG (mmol/L)                | 2.13 $\pm$ 1.39        | 2.27 $\pm$ 1.64     | 2.91 $\pm$ 2.07*     |
| CHOL (mmol/L)              | 5.27 $\pm$ 1.00        | 5.26 $\pm$ 0.87     | 5.62 $\pm$ 1.01      |
| HDL (mmol/L)               | 1.70 $\pm$ 0.28        | 1.68 $\pm$ 0.27     | 1.65 $\pm$ 0.30      |
| LDL (mmol/L)               | 2.89 $\pm$ 0.74        | 2.79 $\pm$ 0.71     | 3.00 $\pm$ 0.81      |
| VLDL (mmol/L)              | 0.68 $\pm$ 0.54        | 0.77 $\pm$ 0.55     | 0.96 $\pm$ 0.56      |

C compared with C/C, \*  $P < 0.05$ .

表 1 *MTHFR* 基因 C677T 多态性的分布情况比较

Table 1 Distribution Polymorphisms of *MTHFR* gene

| Groups               | <i>MTHFR</i> genotype |            |            | <i>P</i> | <i>MTHFR</i> allele |            | <i>P</i> |
|----------------------|-----------------------|------------|------------|----------|---------------------|------------|----------|
|                      | C/C                   | C/T        | T/T        |          | C                   | T          |          |
| Control ( $n = 81$ ) | 28 (35.0%)            | 43 (53.1%) | 10 (12.5%) |          | 98 (61.3%)          | 62 (38.8%) |          |
| Case ( $n = 91$ )    | 19 (20.7%)            | 53 (57.6%) | 20 (21.7%) | 0.063    | 91 (49.5%)          | 93 (50.5%) | 0.028    |
| OR                   | 1.000                 | 1.816      | 2.947      |          | 0.619               | 1.615      |          |

## 3 讨论

亚甲基四氢叶酸还原酶 (*MTHFR*) 可催化 5, 10-亚甲基四氢叶酸转化为 5-甲基四氢叶酸, 后者为甲基供

体, 使同型半胱氨酸转化为甲硫氨酸, 甲硫氨酸进一步转化为 S-腺苷甲硫氨酸参与甲基化的反应。*MTHFR* 基因定位于染色体 1q 36.3, 现已发现人类 *MTHFR* 有 15 种点突变类型, 其中最常见最重要的是第 C677T 突变,



此位点突变可影响酶的热敏感性,还可引起酶活性的下降,据报道,该位点发生纯合突变时,血清 *MTHFR* 的活性是正常的 30%,而杂合型突变是正常活性的 65%<sup>[4]</sup>,因此,C677T 的突变导致了血浆中同型半胱氨酸和亚甲基四氢叶酸浓度上升、DNA 甲基化水平降低和嘌呤嘧啶核苷酸库的不平衡。

本研究通过比较高尿酸血症患者和对照组中 *MTHFR* 基因 C677T 的不同基因型的分布频率,对比不同基因型间尿酸等生化指标的差异,结果显示高尿酸血症患者 T 等位基因的分布频率明显高于对照组 ( $P = 0.028$ ),并使患高尿酸血症的危险性增加 1.615 倍,C/C、C/T、T/T 各基因型的 UA、BMI、TG 水平依次上升,其中 T/T 组与 C/C 组的差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),提示 *MTHFR* 基因 C677T 突变程度与男性尿酸水平间存在正相关,突变基因型增加了男性高尿酸血症发病的危险。迄今为止,对高尿酸血症与 *MTHFR* 基因 C677T 多态性的关联以及机制报道不多。Zuo 等对 271 例日本老年男性 *MTHFR* 基因型与生化指标相关性研究表明,血清尿酸水平升高者 T/T 基因型检出率显著升高 ( $P = 0.038$ ),C/C、C/T、T/T 基因型组血清尿酸水平分别为 337、365 和 380  $\mu\text{mol/L}$ ,其差异有统计学意义 ( $P = 0.012$ )<sup>[1]</sup>。韩国也进行了类似的研究,结果与 Zuo 等<sup>[2]</sup>的研究一致,上述研究均认为,*MTHFR* 基因 C677T 的突变可能是老年男性的高尿酸血症的一个危险因素。Motti 等<sup>[5]</sup>也发现 *MTHFR* 基因 C677T 的突变间有关联,而且突变个体血清 Hcy 水平与血清尿酸水平平行。

然而,*MTHFR* 突变和尿酸代谢之间的关系至今未明了。有研究发现,动脉硬化患者和对照组 *MTHFR* 基因 C677T 的变异纯合型的个体,其血清半胱氨酸的水平升高和血清尿酸密切相关<sup>[6]</sup>,这就说明在突变情况下,很可能 *MTHFR* 的作用底物 5-10-甲烯四氢叶酸参与了其他的代谢,比如通过 10-甲酰四氢叶酸合成了嘌呤,最终使尿酸升高<sup>[2]</sup>。其次,*MTHFR* 基因 C677T 的突变使血清同型半胱氨酸 (Homocysteine, Hcy) 升高,可造成内皮损伤和功能异常,刺激血管平滑肌细胞增生,破坏机体凝血和纤溶系统,影响脂质代谢等,从而导致肾血管动脉硬化或合并全身性血管疾病,减少尿酸的清除率<sup>[7]</sup>。另外,本研究结果显示 *MTHFR* 基因 C677T 的野生

纯合型、杂合型、突变纯合型的 BMI 和甘油三酯水平依次上升,提示 *MTHFR* 基因 C677T 可能通过多种代谢途径影响尿酸的水平。有研究表明,使用叶酸及维生素 12、维生素 6,可以降低几乎所有原因引起的高 Hcy 水平,减少患动脉粥样硬化的危险性<sup>[8]</sup>。因此,推荐 *MTHFR* 突变人群进行早期的维生素 12、叶酸等干预以降低血清 Hcy 水平,预防相关疾病的发生。

本研究提示,男性高尿酸血症和 *MTHFR* 基因 C677T 突变可能具有某种程度的关联,*MTHFR* 基因 C677T 突变的基因型通过多种途径增加男性高尿酸血症发病的危险。今后还须扩大样本量进行队列研究和动物试验,以进一步确定尿酸升高与 *MTHFR* 基因 C677T 多态性之间的关联,揭示 *MTHFR* 基因 C677T 多态性是否为高尿酸血症和心血管疾病高度聚集的分子遗传学桥梁。

### 参考文献:

- [1] Zuo M, Nishio H, Lee MJ, et al. The C677T mutation in the methylene tetrahydrofolate reductase gene increases serum uric acid in elderly men [J]. *Hum Genet*. 2000;45(4):257-62.
- [2] Hong YS, Lee MJ, Kim KH, et al. The C677 mutation in methylene tetrahydrofolate reductase gene: correlation with uric acid and cardiovascular risk factors in elderly Korean men [J]. *J Korean Med Sci*. 2004,19(2):209-13.
- [3] Khosla UM, Zharikov S, Finch JL, et al. Hyperuricemia induces endothelial dysfunction [J]. *Kidney Int*, 2005,67(5):1739-174.
- [4] Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis [J]. *N Eng J Med*, 1998,338(15):1042-1050.
- [5] Motti C, Gnasso A, Bernardini S, et al. Common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Correlation with homocysteine and other risk factors for vascular disease [J]. *Atherosclerosis*, 1998,139(2):377-383.
- [6] Evers S, Koch HG, Grottemeyer KH, et al. Features, symptoms, and neurophysiological findings in stroke associated with hyperhomocysteinemia [J]. *Arch Neurol*, 1997;54:1276-1282.
- [7] Zhou W, Chai H, Lin PH, et al. Features, symptoms, and neurophysiological findings in stroke associated with hyperhomocysteinemia [J]. *Vasc Surg*, 2005,41(5):861-868.
- [8] 杜萱,吴畅. 同型(半)胱氨酸与动脉粥样硬化 [J]. 中华心血管杂志, 2000,28(3):239-240.