

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202120142

· 论著 ·

# 亚甲基四氢叶酸还原酶 *C677T* 基因多态性及 相关代谢物与内耳疾病的关系

宋颖慧<sup>1</sup>, 索利敏<sup>2</sup>, 董美<sup>1</sup>, 范林静<sup>1</sup>, 白瑞<sup>3</sup>, 李赞<sup>2</sup>, 李强<sup>2</sup>, 赵长青<sup>2</sup>

(1. 山西医科大学, 山西 太原 030001; 2. 山西医科大学第二医院耳鼻咽喉头颈外科, 山西 太原 030001; 3. 山西医科大学第二医院中心实验室, 山西 太原 030001)

**摘要:** **目的** 研究亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR) *C677T* 基因多态性及相关代谢物与内耳疾病的关系。**方法** 选取2019年4月—2019年11月山西医科大学第二医院进行内科治疗的内耳疾病患者和同期的健康体检者各175例作为疾病组和对照组, 对比两组患者的MTHFR *C677T* 基因多态性、血清同型半胱氨酸(Hcy)及血清叶酸结果, 分析内耳疾病发病风险; 同时根据病因及临床诊断将疾病组分为突发性聋(SSHL)组、梅尼埃病(MD)组、感音神经性聋(SHL)组和前庭功能障碍(VD)组, 对其MTHFR *C677T* 基因多态性结果进行分析。**结果** MTHFR *C677T* 基因检测产生3种基因型, 分别为CC、CT和TT。疾病组MTHFR *C677T* 基因型CC频率低于对照组, CT+TT高于对照组, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ), CT、TT频率均略高于对照组( $P > 0.05$ )。CT+TT发生内耳疾病的风险是CC的1.397倍( $P < 0.05$ ), 其中CT、TT分别是1.408倍( $P < 0.05$ )、1.375倍( $P > 0.05$ )。等位基因C、T频率差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ), T发生内耳疾病风险是C的1.264倍( $P < 0.05$ )。疾病组血清Hcy异常率高于对照组, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ), 各基因型中血清Hcy平均浓度均高于对照组, 仅在TT型中差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。疾病组各基因型间血清Hcy平均浓度和异常率差异均有统计学意义( $P$ 均=0.000), CC型发生Hcy异常的风险分别是CT、TT型的0.762倍( $P > 0.05$ )、0.207倍( $P < 0.05$ ), CT型是TT型的0.272倍( $P = 0.000$ )。各基因型间血清叶酸水平和异常率差异无统计学意义( $P$ 均 $> 0.05$ )。内耳病分类分析中, MD组CC频率低于对照组, CT+TT频率高于对照组, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ), CT+TT发生MD的风险是CC的3.615倍( $P < 0.05$ ), 其中TT、CT分别是CC的4.476倍( $P < 0.05$ )、3.138倍( $P > 0.05$ )。除SHL组, 其余各组等位基因C、T分布与对照组相比差异具有统计学意义( $P$ 均 $< 0.05$ )。**结论** MTHFR *C677T* 基因多态性与内耳疾病具有一定相关性, 可增加内耳疾病发生风险, 尤以CT型明显, T等位基因可成为内耳疾病发病的危险因素。血清Hcy与内耳疾病相关, MTHFR基因多态性可增加血清Hcy升高风险, 进而影响内耳, 尤以TT型明显。在内耳疾病中, MTHFR *C677T* 基因多态性与MD相关, 可明显增加MD发生风险, 尤以TT型突出。

**关键词:** 内耳疾病; 亚甲基四氢叶酸还原酶; 基因多态性; 血清同型半胱氨酸; 血清叶酸  
中图分类号: R764.3

## Association of methylenetetrahydrofolate reductase *C677T* gene polymorphism and related metabolites with inner ear disease

SONG Yinghui<sup>1</sup>, SUO Limin<sup>2</sup>, DONG Mei<sup>1</sup>, FAN Linjing<sup>1</sup>, BAI Rui<sup>3</sup>, LI Yun<sup>2</sup>, LI Qiang<sup>2</sup>, ZHAO Changqing<sup>2</sup>

(1. Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 2. Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, the Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 3. The Central Lab, the Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

**Abstract: Objective** To investigate the association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) *C677T* gene polymorphism and related metabolites with inner ear disease. **Methods** A total of 175 patients with inner ear diseases hospitalized in our department from April to Nov 2019 and 175 healthy subjects in the same period were selected as the

基金项目: 山西省回国留学人员科研资助项目(2017-118); 山西省重点研发计划项目(201803D31122)。

第一作者简介: 宋颖慧, 女, 在读硕士研究生。

通信作者: 索利敏, Email: 13753134862@163.com

disease group and the control group respectively. The results of MTHFR C677T gene polymorphism, serum homocysteine (Hcy), and folic acid from the two groups were collected for comparative analysis and risk analysis of inner ear diseases. Meanwhile, according to the etiology and clinical diagnosis of the inner ear diseases, the disease group was subdivided into sudden sensorineural hearing loss (SSHL) group, Ménière's disease (MD) group, sensorineural hearing loss (SHL) group and vestibular dysfunction (VD) group, and their results of MTHFR C677T gene polymorphism were analyzed. **Results** Genetic testing of MTHFR C677T revealed three genotypes including CC, CT and TT. The frequency of MTHFR C677T genotype CC was lower and the frequency of CT + TT higher in the disease group than in the control group, and the differences were both statistically significant (both  $P < 0.05$ ). The frequencies of CT type and TT type in the disease group were slightly higher than in the control group, but the differences were both statistically insignificant (both  $P > 0.05$ ). The risk of inner ear disease of CT + TT type was 1.397 times higher than that of CC type ( $P < 0.05$ ), while CT or TT were 1.408 times ( $P < 0.05$ ) or 1.375 times higher than CC type respectively ( $P > 0.05$ ). The frequency difference between alleles C and T was statistically significant ( $P < 0.05$ ), and the risk of inner ear disease in T was 1.264 times higher than in C ( $P < 0.05$ ). The abnormal rate of serum Hcy was higher in the disease group than in the control group, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The mean serum Hcy concentration of each genotype was higher in the disease group than in the control group, but with only statistically significant difference in TT type ( $P < 0.05$ ). There were statistically significant differences in the mean serum Hcy concentration and abnormal rate among genotypes in the disease group (all  $P = 0.000$ ). The risk of Hcy abnormality in CC type was 0.762 times higher than in CT type ( $P > 0.05$ ) and 0.207 times in TT type ( $P < 0.05$ ). The risk of Hcy abnormality in CT type was 0.272 times higher than in TT type ( $P = 0.000$ ). The differences in serum folic acid level and abnormal rate among genotypes were all statistically insignificant (all  $P > 0.05$ ). In the analysis of the classification of inner ear diseases, CC frequency was lower and CT + TT frequency higher in the MD group than in the control group, and the differences were both statistically significant (both  $P < 0.05$ ). The risk of MD in CT + TT was 3.615 times higher than in CC ( $P < 0.05$ ), in which TT was 4.476 times ( $P < 0.05$ ) and CT 3.138 times ( $P > 0.05$ ) higher than CC. Except for SHL group, there were statistically significant differences in the distribution of allele C or T among the other groups (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** MTHFR C677T gene polymorphism is associated with inner ear disease, and T allele can be a risk factor for inner ear disease. MTHFR C677T mutation, especially the heterozygous mutation CT type, can increase the risk of inner ear disease. Serum Hcy level is associated with inner ear disease. MTHFR gene polymorphism, especially homozygous mutation TT type, can increase the risk of elevated serum Hcy level, thus affect the inner ear. In inner ear diseases, MTHFR C677T gene polymorphism especially TT type is associated with MD and can significantly increase the risk of MD.

**Keywords:** Inner ear disease; Methylenetetrahydrofolate reductase; Gene polymorphism; Serum homocysteine; Serum folate

内耳疾病指各种致病因素引起耳蜗前庭功能受损,临床表现为听力下降、眩晕、耳鸣等,常见有突发性聋、感音神经性聋、梅尼埃病、前庭功能障碍、耳鸣等,大多数病因及发病机制不清,内耳微循环损伤被认为是其重要病理生理机制。大量研究发现亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)基因多态性是血管及细胞功能损伤的遗传危险因素。MTHFR催化5,10-亚甲基四氢叶酸还原成5-亚甲基四氢叶酸,基因多态性会使此关键酶活性下降,导致叶酸缺乏、高同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)血症等,进一步损伤血管细胞功能。本研究分析内耳疾病患者与健康体检者MTHFR基因多态性、血清Hcy及血清叶酸结果,探讨相互关系,为内耳疾病机制研究、预防及临床诊治提供指导依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取2019年4月—2019年11月山西医科大学第二医院住院进行内科治疗的内耳疾病患者175例作为疾病组,其中男84例,女91例;年龄38~65岁,平均年龄( $51.35 \pm 14.22$ )岁。主要症状以听力下降和眩晕、头晕、耳鸣为主,统计疾病组患者的一般资料、MTHFR C677T基因多态性检测结果、血清Hcy及血清叶酸水平结果,并将根据病因及临床诊断分为突发性聋(sudden sensorineural hearing loss, SSHL)组80例、梅尼埃病(Meniere's disease, MD)组36例、感音神经性聋(sensorineural hearing loss, SHL)组18例和前庭功能障碍(vestibular dysfunction, VD)组41例。选取同期的健康体检者

175 例作为对照组,其中男 92 例,女 83 例;年龄 38 ~ 64 岁,平均年龄(52.64 ± 11.40)岁。两组均排除严重心血管疾病、妊娠期妇女、中枢神经系统疾病、中耳疾病、耳解剖结构异常、耳良恶性肿瘤、头部耳部外伤史、中耳内耳手术史等。两组的年龄、性别分布差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

## 1.2 实验方法

MTHFR 基因检测方法为抽取抗凝外周血,进行 DNA 提取,聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增后,采用焦磷酸/毛细管电泳测序平台对 MTHFR 基因常见突变位点(rs1801133)进行基因测序。采用双试剂循环酶法检测血清 Hcy 水平,血清 Hcy 浓度升高  $> 15 \mu\text{mol/L}$  为异常;血清叶酸浓度  $< 10 \text{nmol/L}$  为异常。

## 1.3 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据处理。计数资料用率[ $n(\%)$ ]表示,组间对比采用  $\chi^2$  检验及 Fisher 精确检验,与疾病发生的关联程度用优势比(OR)及 95% 可信区间(CI)表示,评估相对危险度;计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间对比采用非参数检验、方差分析及  $t$  检验。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 基因型及等位基因分布频率比较

MTHFR C677T 基因检测产生 3 种基因型,分别为 CC、CT 和 TT,其中 CT、TT 均属于突变型。疾病组基因型结果为 CC 21 例(12.0%)、CT 104 例(59.4%)、TT 50 例(28.6%),对照组为 CC 35 例(20.0%)、CT 93 例(53.1%)、TT 47 例(26.9%),两组均进行 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验,符合遗传平衡( $P > 0.05$ ),均具有群体代表性。两组基因型总体分布差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。各基因型频率比较,疾病组 CC 型频率低于对照组,突变型频率(CT + TT)高于对照组,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );CT 型、TT 型频率均略高于对照组

( $P > 0.05$ )。疾病组等位基因频率为 C(41.7%)和 T(58.3%),对照组为 C(53.4%)和 T(46.6%),两组等位基因分布差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),疾病组 C 频率低于对照组,T 频率明显高于对照组( $P < 0.05$ )。见表 1。

### 2.2 MTHFR 基因多态性与内耳疾病发生风险

突变型(CT + TT)发生内耳疾病的风险是 CC 的 1.397 倍( $OR = 1.397, P < 0.05$ ),风险增加 39.7%。其中 CT 是 CC 的 1.408 倍( $OR = 1.408, P < 0.05$ ),风险增加 40.8%,TT 是 CC 的 1.375 倍( $OR = 1.375, P > 0.05$ ),TT 是 CT 的 0.976 倍( $OR = 0.976, P > 0.05$ )。等位基因 T 发生内耳疾病风险是 C 的 1.264 倍,增加 26.4%( $OR = 1.264, P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.3 各组内耳疾病 MTHFR C677T 基因型及等位基因分布

将疾病组分为 SSHL 组 80 例、MD 组 36 例、SHL 组 18 例和 VD 组 41 例。各组与对照组相比,基因型总体分布差异均无统计学意义( $P$  均  $> 0.05$ );除 SHL 以外,其余各组等位基因 C、T 分布差异具有统计学意义,T 频率高于对照组,C 频率低于对照组( $P$  均  $< 0.05$ )。各基因型频率比较,MD 组 CC 频率低于对照组,突变型(CT + TT)频率高于对照组,差异具有统计学意义( $P$  均  $< 0.05$ );SHL 组 TT 频率低于对照组( $P < 0.05$ )。其余两组各基因型频率与对照组相比差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 3、4。

### 2.4 各组内耳疾病的发病风险估计

突变型(CT + TT)发生 MD 的风险是 CC 的 3.615 倍( $OR = 3.615, P < 0.05$ ),风险增加 2.615 倍,其中 TT 是 CC 的 4.476 倍( $OR = 4.476, P < 0.05$ ),CT 是 CC 的 3.138 倍( $OR = 3.138, P > 0.05$ ),TT 是 CT 的 1.426 倍( $OR = 1.426, P > 0.05$ )。见表 5。等位基因 T 突变发生 SSHL、MD、VD 的风险分别是 C 的 1.329 倍( $OR = 1.329, P < 0.05$ )、2.11 倍( $OR = 1.329, P < 0.05$ )、1.676 倍( $OR = 1.676, P < 0.05$ )。见表 6。

表 1 MTHFR 基因 C677T 位点的基因型分布频率及等位基因分布频率 [例(%)]

组别	例数	基因型分布频率			等位基因频率					
		CC	CT	TT	$\chi^2$	$P^1$	C	T	$\chi^2$	$P^1$
疾病组	175	21(12.0)	104(59.4)	50(28.6)	4.207	0.122	146(41.7)	204(58.3)	9.628	0.002
对照组	175	35(20.0)	93(53.1)	47(26.9)			187(53.4)	163(46.6)		
$\chi^2$		4.167	1.405	0.128			9.628	9.628		
$P^2$		0.041	0.236	0.720			0.002	0.002		

注: $P^1$  疾病组与对照组基因型或等位基因总体分布比较; $P^2$  疾病组与对照组各基因型或各等位基因频率比较。

表 2 MTHFR 基因 C677T 基因多态性与内耳疾病发生风险关系 (例)

基因型	疾病组	对照组	$\chi^2$	<i>P</i>	OR(95% CI)
CC	21	35	-	-	1.000
CT	104	93	4.079	0.043	1.408(0.979~2.024)
TT	50	47	2.816	0.093	1.375(0.931~2.029)
CT+TT	154	140	4.167	0.041	1.397(0.979~1.993)
CT	104	93	-	-	1.000
TT	50	47	0.040	0.841	0.976(0.773~1.234)
C	146	187	-	-	1.000
T	204	163	9.628	0.002	1.264(1.086~1.472)

表 3 各分类疾病 MTHFR 基因 C677T 位点的基因型分布 [例(%)]

组别	例数	基因型分布			$\chi^2$	<i>P</i>
		CC	CT	TT		
SSHL 组	80	10(12.50)	49(61.25)	21(26.25)	2.406	0.300
MD 组	36	2(5.55)*	19(52.78)	15(41.67)	5.782	0.056
SHL 组	18	5(27.78)	12(66.67)	1(5.55)*	4.392	0.100
VD 组	41	4(9.80)	23(56.10)	14(34.10)	2.610	0.271
对照组	175	35(20.00)	93(53.10)	47(26.90)		

注: \*  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

表 4 各分类疾病 MTHFR 基因 C677T 位点的等位基因分布 [例(%)]

组别	例数	等位基因分布		$\chi^2$	<i>P</i>
		C	T		
SSHL 组	80	69(43.1)*	91(56.9)*	4.663	0.031
MD 组	36	23(31.9)*	49(68.1)*	11.025	0.001
SHL 组	18	22(61.1)	14(38.9)	0.776	0.378
VD 组	41	31(37.8)*	51(62.2)*	6.487	0.011
对照组	175	187(53.4)	163(46.6)		

注: \*  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

表 5 MTHFR C677T 基因型与 MD 发生风险关系 (例)

基因型	MD 组	对照组	$\chi^2$	<i>P</i>	OR(95% CI)
CC	2	35	-	-	1.000
CT	19	93	3.069	0.080	3.138(0.767~12.84)
TT	15	47	5.751	0.016	4.476(1.084~18.482)
CT+TT	34	140	4.308	0.038	3.615(0.908~14.387)
CT	19	93	-	-	1.000
TT	15	47	1.327	0.249	1.426(0.781~2.603)

表 6 MTHFR C677T 等位基因与各组内耳疾病发生风险关系 [例(%)]

组别	等位基因	疾病组	对照组	$\chi^2$	<i>P</i>	OR(95% CI)
SSHL 组	C	69(43.1)	187(53.4)	-	-	1.000
	T	91(56.9)	163(46.6)	4.663	0.031	1.329(1.025~1.724)
MD 组	C	23(31.9)	187(53.4)	-	-	1.000
	T	49(68.1)	163(46.6)	11.025	0.001	2.110(1.336~3.333)
VD 组	C	31(37.8)	187(53.4)	-	-	1.000
	T	51(62.2)	163(46.6)	6.487	0.011	1.676(1.118~2.512)

## 2.5 血清 Hcy 与内耳疾病、MTHFR 基因多态性的关系

疾病组血清 Hcy 平均浓度( $12.78 \pm 9.44$ )  $\mu\text{mol/L}$

高于对照组的( $11.18 \pm 4.64$ )  $\mu\text{mol/L}$ , 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 但疾病组血清 Hcy 异常 38 例(21.7%) 高于对照组 23 例(13.1%), 差异具有统计学意义( $P <$

0.05)。疾病组各基因型中血清 Hcy 平均浓度均高于对照组,并在 TT 型中差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 7。

## 2.6 内耳疾病中血清 Hcy、叶酸情况

疾病组中不同基因型间血清 Hcy 浓度及异常率存在差异( $P$  均 = 0.000);其中 TT 型血清 Hcy 浓度( $17.62 \pm 13.22$ )  $\mu\text{mol/L}$  高于 CT 型( $10.93 \pm 6.60$ )  $\mu\text{mol/L}$ 、CC 型( $10.43 \pm 6.35$ )  $\mu\text{mol/L}$ ,CT 型高于 CC 型,差异均有统计学意义( $P$  均  $< 0.05$ );TT 型 Hcy 异常 23 例(46%) 高于 CT 型 13 例(9.29%)、CC 型 2 例(9.52%) ( $P$  均  $< 0.05$ ),CT 型 Hcy 异常 13 例(9.29%) 低于 CC 型 2 例(9.52%) ( $P > 0.05$ );CC 型发生 Hcy 异常的风险分别是 CT、TT 型的 0.762 倍( $OR = 0.762, P > 0.05$ )、0.207 倍( $OR = 0.207, P < 0.05$ ),CT 型是 TT 型的 0.272 倍( $OR = 0.272, P = 0.000$ )。叶酸平均浓度( $16.67 \pm 10.17$ )  $\text{nmol/L}$ ,异常率 26.9%,各基因型间均差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 8、9。

## 3 讨论

目前内耳疾病发生机制尚不明确,但其微循环损伤仍是重要的病理生理基础。内耳具有独特的循环特点,血供主要来自迷路动脉,到达内耳分为

3 支,分别供给前庭、半规管及耳蜗。这些动脉沿途分出众多辐射状小动脉,形成复杂的终末血管网,走行极度扭曲,无侧枝循环,直径小且血流速度缓慢,甚至仅允许单个红细胞通过,极易导致循环损伤。当各种致病因素损伤内耳微循环时,可以影响内耳功能细胞代谢及内淋巴稳态,导致内耳听觉平衡功能受损,内耳疾病发生。

MTHFR 基因多态性是近年来发现的常见遗传性血管危险因素,与 H 型高血压、脑梗死、冠心病、深静脉血栓等血管性疾病密切相关。MTHFR 基因位于 1p36.3 号染色体上,有 11 个外显子,研究最多的多态性位点是第 4 号外显子 677 位(C677T, rs1801133),该位点的碱基胞嘧啶(C)被胸腺嘧啶(T)置换,从而使编码的丙氨酸被缬氨酸替代,直接影响 MTHFR 酶功能,表现为不同程度的酶活性和耐热性降低。MTHFR 是叶酸和 Hcy 代谢的关键酶,其催化 5,10-亚甲基四氢叶酸还原成 5-亚甲基四氢叶酸。后者参与血中 Hcy 甲基化生成甲硫氨酸,以维持血 Hcy 水平,为核酸、蛋白质合成和甲基化提供甲基供体。酶活性降低可能引起低叶酸、高 Hcy 血症、核酸合成和甲基化的异常,进一步损伤血管与功能细胞。C 突变 T 后产生 3 种基因型,分别为 CC 型(野生型)、CT 型(杂合突变型)、TT 型(纯合突变型),其中 CT 型酶活性降低 65%,TT 型降低 30%<sup>[1]</sup>。

表 7 两组血同型半胱氨酸水平及异常情况比较 [例(%)]

组别	例数	Hcy 水平( $\mu\text{mol/L}, \bar{x} \pm s$ )				Hcy 异常情况
		总体	CC	CT	TT	
疾病组	175	12.78 $\pm$ 9.44	10.43 $\pm$ 6.35	10.93 $\pm$ 6.60	17.62 $\pm$ 13.22	38(21.7)
对照组	175	11.18 $\pm$ 4.64	9.97 $\pm$ 2.42	10.92 $\pm$ 4.86	12.58 $\pm$ 5.15	23(13.1)
$\chi^2$						4.467
$P$		0.845	0.134	0.528	0.049	0.035

表 8 内耳疾病患者 MTHFR C677T 位点各基因型血清同型半胱氨酸、血清叶酸情况

基因型	例数	Hcy 水平( $\mu\text{mol/L}, \bar{x} \pm s$ )	Hcy 异常情况[例(%)]	叶酸水平( $\text{nmol/L}, \bar{x} \pm s$ )	叶酸异常情况[例(%)]
CC	21	10.43 $\pm$ 6.35	2(9.52)	17.81 $\pm$ 10.96	5(23.81)
CT	104	10.93 $\pm$ 6.60	13(9.29)	16.54 $\pm$ 8.97	27(25.96)
TT	50	17.62 $\pm$ 13.22	23(46.00)	16.45 $\pm$ 12.19	15(30.00)
$\chi^2$			24.378		0.393
$P$		0.000	0.000	0.497	0.822

表 9 各基因型间血清同型半胱氨酸两两比较

基因型	Hcy 水平		Hcy 异常情况	
	$P$	$\chi^2$	$P$	$OR(95\% CI)$
CC 与 CT 相比	0.400		1.000	0.762(0.185 ~ 3.130)
CC 与 TT 相比	0.000	8.625	0.003	0.207(0.054 ~ 0.800)
CT 与 TT 相比	0.000	21.156	0.000	0.272(0.151 ~ 0.490)

目前对 MTHFR C677T 多态性与内耳疾病的关系研究存在较大争议。Capaccio 等认为 MTHFR 基因多态性与 SHL<sup>[2]</sup>、SSHL<sup>[3-4]</sup> 存在相关性,可成为发病的危险因素,并参与相关的血管损伤。Uchida<sup>[5]</sup>、Gross<sup>[6]</sup>、Hamidi<sup>[7]</sup> 等支持上述观点,并认为此基因突变与其他遗传性因素(MTHFR A1298C、ApoE 等)共同作用于内耳,或是一个独立于血叶酸和 Hcy 的危险因素<sup>[5]</sup>。也有学者持否定观点,认为 MTHFR 基因多态性与 SSHL 之间无关联<sup>[6-11]</sup>。在其他内耳疾病上,Uchida<sup>[12]</sup>、Manche<sup>[13]</sup> 等发现 MTHFR C677T 纯合 TT 型与老年性听力损伤显著相关,增加了老年聋的风险。Yang 等<sup>[14]</sup> 发现 MTHFR C677T 和 A1298C 多态性与 MD 风险相关,并认为 C677T 多态性是 MD 的保护因素,这可能与多态性导致的细胞内高水平 5,10-亚甲基四氢叶酸盐有关,可防止 DNA 合成过程中核苷酸的不平衡,确保 DNA 复制的高保真度。但只在叶酸含量较高时保护作用明显<sup>[15]</sup>。

本研究中疾病组 CC 型频率低于对照组,CT + CT 型频率高于对照组( $P < 0.05$ ),具有统计学意义,CT 型、TT 型均略高于对照组,表明 MTHFR C677T 基因多态性与内耳疾病具有一定相关性。发病风险估计显示 MTHFR C677T 基因突变可增加内耳疾病发生风险,其中 CT 型、TT 型分别是 CC 型的 1.408 倍( $P < 0.05$ )、1.375 倍( $P > 0.05$ ),而 TT 型是 CT 型的 0.976 倍( $P > 0.05$ ),相比较而言,CT 型更易患内耳疾病。在等位基因层面,T 等位基因在不同人群中差异很大,在地中海或亚洲的许多民族中超过 30%<sup>[16]</sup>。在中国汉族人群中,则呈由南向北逐步升高的趋势,在海南最低(24%),其次是湖北(40.3%)和江苏(43.5%),在山东观察到最高频率(63.1%)<sup>[17]</sup>。本研究中疾病组 T 基因频率为 58.3%,与我国其他地区相比,突变率处于高值,且明显高于对照组(46.6%),使内耳疾病发生风险增加 0.264 倍( $P$  均  $< 0.05$ ),进一步证明 MTHFR C677T 多态性与内耳疾病密切相关,T 等位基因可成为内耳疾病的危险因素。而一项 Meta 分析发现在欧洲人群中 MTHFR C677T 多态性与 SSHL 显著相关,而亚洲人群中无相关性<sup>[18]</sup>。张乐<sup>[11]</sup> 也发现山东汉族人 SSHL 组与对照组在 MTHFR 基因型与等位基因分布无显著差异,这可能与地域、种族差异等有关。MTHFR 基因多态性也存在性别、年龄等差异,Pollak 等<sup>[19]</sup> 发现在男性患者中,MTHFR C677T 与听力损失程度呈剂量依赖性相关,且在对 Hcy 的

影响中,男性比女性更明显。而在本研究中尚未进行性别、年龄分组研究,有待于进一步深入。

MTHFR 基因多态性可独立或协同低叶酸、高 Hcy 等血管危险因素作用于内耳。Capaccio 等<sup>[4]</sup> 证明了 MTHFR 突变与 SHL 之间显著相关,并发现两组的 Hcy、叶酸水平有显著统计学差异,进一步支持 MTHFR 突变与 SHL 微血管损伤的关系。Fusconi 等<sup>[20-21]</sup> 发现 SSHL 高 Hcy 血症与 MTHFR C677T 纯合突变有关,认为 SSHL 是由这两个变量共同作用的结果。在本研究中,两组血清 Hcy 异常率存在显著差异( $P < 0.05$ ),各基因型间血清 Hcy 浓度均高于对照组,并在 TT 型中具有统计学意义( $P < 0.05$ ),表明血清 Hcy 与内耳疾病、MTHFR 多态性相关。疾病组中各基因型间血清 Hcy 水平和异常率均具有显著差异,且 CC 型发生 Hcy 异常风险分别是 CT、TT 型的 0.762 倍( $P > 0.05$ )、0.207 倍( $P < 0.05$ ),CT 型是 TT 型的 0.272 倍( $P = 0.000$ ),表明 MTHFR 基因多态性与血清 Hcy 关系密切,可增加血清 Hcy 升高风险,尤其基因型为 TT 型时,共同参与内耳疾病的发病机制,这与 Fusconi 研究结果相似。未能发现 MTHFR 基因多态性与血清叶酸间的相关性( $P > 0.05$ ),可能与生活环境、饮食等因素有关。

一种内耳疾病中可能涉及多种病因及发病机制,本研究中根据病因及临床诊断将内耳疾病分类进一步研究,发现 MD 组中基因型 CC 频率低于对照组,突变型(CT + TT)频率高于对照组( $P < 0.05$ ),CT + TT 型发生 MD 的风险是 CC 型的 3.615 倍( $P < 0.05$ ),其中 TT、CT 分别是 CC 型的 4.476 倍( $P < 0.05$ ),3.138 倍( $P > 0.05$ ),同时等位基因 C、T 分布存在差异( $P < 0.05$ ),T 突变使发生 MD 的风险增加 1.11 倍( $P < 0.05$ ),这些表明 MTHFR C677T 基因突变与 MD 关系密切,可明显增加 MD 发生风险,T 基因可成为发病的危险因素,且 TT 型更易患梅尼埃病。这与 Yang 等<sup>[14]</sup> 研究结果相反。SSHL 组和 VD 组各基因型频率与对照组比较无明显差异( $P > 0.05$ ),但等位基因 T 频率明显高于对照组,C 频率低于对照组( $P$  均  $< 0.05$ ),T 突变增加了两者的发生风险,说明 MTHFR 基因多态性与两者可能存在相关性,需进一步研究证明,临床上应予以关注。SHL 组与对照组比较,等位基因分布无差别( $P > 0.05$ ),而基因型比较,TT 型频率低于对照组( $P < 0.05$ ),可能是样本不足导致,此组中样本量小,TT 型仅有 1 例。

MTHFR C677T 基因多态性与内耳疾病相关,可作为危险因素或协同 Hcy 参与内耳病机制,对单一内耳疾病而言,MTHFR 基因突变与 MD 关系密切,T 基因突变也可能增加 SSSL、VD 的发生风险,故临床上应对此类人群予以关注,加强预防。但本研究存在一定的局限,有待于深入症状、年龄、性别等分类研究,对 MTHFR 基因多态性与其他获得性或遗传性血管因素,如 MTRR A66G、凝血酶原 G20210A、各项凝血指标等关系进行研究,进一步探讨内耳疾病的发病机制。

#### 参考文献:

- [1] Goyette P, Sumner JS, Milos R, et al. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA mapping and mutation identification[J]. Nat Genet,1994,7(2):195-200.
- [2] Capaccio P, Ottaviani F, Cuccarini V, et al. Sudden hearing loss and MTHFR 677C/T/1298A/C gene polymorphisms[J]. Genet Med,2005,7(3):206-208.
- [3] Capaccio P, Ottaviani F, Cuccarini V, et al. Genetic and acquired prothrombotic risk factors and sudden hearing loss[J]. Laryngoscope,2007,117(3):547-551.
- [4] Capaccio P, Ottaviani F, Cuccarini V, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene mutations as risk factors for sudden hearing loss[J]. Am J Otolaryngol,2005,26(6):383-387.
- [5] Uchida Y, Sugiura S, Ando F, et al. Association of the C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene with sudden sensorineural hearing loss[J]. Laryngoscope,2010,120(4):791-795.
- [6] Gross M, Friedman G, Eliashar R, et al. Impact of methionine synthase gene and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms on the risk of sudden sensorineural hearing loss[J]. Audiol Neurootol,2006,11(5):287-293.
- [7] Hamidi AK, Yazdani N, Seyedjavadi KH, et al. MTHFR AND ApoE genetic variants Association with sudden sensorineural hearing loss[J]. Am J Otolaryngol,2019,40(2):260-264.
- [8] Cadoni G, Scipione S, Rocca B, et al. Lack of association between inherited thrombophilic risk factors and idiopathic sudden sensorineural hearing loss in Italian patients[J]. Ann Otol Rhinol Laryngol,2006,115(3):195-200.
- [9] Lee EJ, Cho YJ, Yoon YJ, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T gene mutation as risk factor for sudden sensorineural hearing loss: association with plasma homocysteine, folate and cholesterol concentrations[J]. J Laryngol Otol,2010,124(12):1268-1273.
- [10] Rudack C, Langer C, Junker R. Platelet GPIIb/IIIa polymorphism is associated with negative outcome of sudden hearing loss[J]. Hear Res,2004,191(1-2):41-48.
- [11] 张乐. 山东汉族人群亚甲基四氢叶酸还原酶基因(MTHFR) C677T 基因多态性与突发性耳聋的关系[D]. 青岛:青岛大学,2012.
- [12] Uchida Y, Sugiura S, Ando F, et al. Hearing impairment risk and interaction of folate metabolism related gene polymorphisms in an aging study[J]. BMC Med Gen,2011,12:35.
- [13] Manche SK, Jangala M, Dudekula D, et al. Polymorphisms in folate metabolism genes are associated with susceptibility to presbycusis[J]. Life Sci,2018,196:77-83.
- [14] Yang H, Teranishi M, Uchida Y, et al. Association between polymorphisms in genes encoding methylenetetrahydrofolate reductase and the risk of Ménière's disease[J]. J Neurogenet,2013,27(1-2):5-10.
- [15] Chen J, Ma J, Stampfer MJ, et al. Linkage disequilibrium between the 677CT and 1298AC polymorphisms in human methylenetetrahydrofolate reductase gene and their contributions to risk of colorectal cancer[J]. Pharmacogenetics,2002,12(4):339-342.
- [16] Antoniadis C, Shirodaria C, Leeson P, et al. MTHFR 677 C > T polymorphism reveals functional importance for 5-methyltetrahydrofolate, not homocysteine, in regulation of vascular redox state and endothelial function in human atherosclerosis[J]. Circulation,2009,119(18):2507-2515.
- [17] Yang B, Liu Y, Li Y, et al. Geographical distribution of MTHFR C677T, A1298C and MTRR A66G gene polymorphisms in China: findings from 15357 adults of Han nationality[J]. Plos One, 2013,8(3):e57917.
- [18] Shu JC, Yin SH, Tan AZ, et al. Association between the methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism and sudden sensorineural hearing loss: a meta-analysis[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol,2015,272(9):2267-2274.
- [19] Pollak A, Mueller-Malesinska M, Lechowicz U, et al. MTHFR 677T is a strong determinant of the degree of hearing loss among polish males with postlingual sensorineural hearing impairment[J]. DNA Cell Biol,2012,31(7):1267-1273.
- [20] Fusconi M, Chistolini A, Virgilio A, et al. Sudden sensorineural hearing loss: A vascular cause? Analysis of prothrombotic risk factors in head and neck[J]. Int J Audiol,2012,51(11):800-805.
- [21] Fusconi M, Chistolini A, Angelosanto N, et al. Role of genetic and acquired prothrombotic risk factors in genesis of sudden sensorineural hearing loss[J]. Audiol Neurootol,2010,16(3):185-190.

(收稿日期:2020-01-23)

**本文引用格式:**宋颖慧,索利敏,董美,等. 亚甲基四氢叶酸还原酶 C677T 基因多态性及相关代谢物与内耳疾病的关系[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2021,27(1):45-51. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202120142

**Cite this article as:**SONG Yinghui,SUO Limin,DONG Mei,et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T gene polymorphism and related metabolites with inner ear disease[J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2021,27(1):45-51. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202120142