

亚甲基四氢叶酸还原酶C677T基因位点多态性与股骨头坏死关系的Meta分析

范思奇¹, 曾平², 赖崇荣¹, 刘雄¹ (¹广西中医药大学研究生学院, 广西壮族自治区南宁市 530299; ²广西中医药大学第一附属医院, 广西壮族自治区南宁市 530023)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0580

ORCID: 0000-0003-0229-6055(范思奇)

文章快速阅读:

亚甲基四氢叶酸还原酶 C677T 基因位点多态性与股骨头坏死关系的循证医学评价	
<p>(1)检索数据库: PubMed、Embase、the Cochrane Library、Web of Science、中国生物医学文献数据库(CBM)、CNKI、维普和万方数据库等。</p> <p>(2)检索时间范围: 建库至 2018 年 1 月相关文章。</p>	<p>文献获取及分析: (1)通过数据库检索并根据文献初步筛选获得文献 16 篇, EndNote 软件去重后获得 12 篇; (2)阅读摘要排除综述 2 篇, 获得 10 篇; (3)阅读全文后剔除 4 篇, 最终纳入 6 篇文献; (4)对各文献中 CT + TT 与 CC、等位基因 T 与 C 之间、TT 与 CT 以及 CC +CT 与 TT 的 OR 值进行统计合并, 对纳入文献进行发表偏倚的检测及敏感性分析。</p>
<p>结论: Meta 分析显示, 亚甲基四氢叶酸还原酶基因 C677T 位点的多态性与股骨头坏死的发生相关。</p>	

范思奇, 男, 1993 年生, 江西省丰城市人, 汉族, 广西中医药大学在读硕士, 医师, 主要从事中药防治股骨头坏死的研究。

通讯作者: 曾平, 教授, 主任医师, 广西中医药大学第一附属医院, 广西壮族自治区南宁市 530023

中图分类号:R446

文献标识码:A

稿件接受: 2018-08-06



文题释义:

亚甲基四氢叶酸还原酶: 亚甲基四氢叶酸还原酶催化 5, 10-亚甲基四氢叶酸转换成 5-甲基四氢叶酸盐, 使之能为同型半胱氨酸提供甲基形成甲硫氨酸。该酶是人体叶酸代谢中的一个重要的酶。

C677T 基因位点多态性: 目前亚甲基四氢叶酸还原酶基因 C677T 位点多态性已被证实与多种缺血性疾病具有相关性。近年来, 陆续有国内外研究探讨了亚甲基四氢叶酸还原酶基因 C677T 位点的多态性与股骨头坏死发生的关系, 但各研究结果存在着差异。

摘要

背景: 关于亚甲基四氢叶酸还原酶基因 C677T 位点是否为股骨头坏死易感基因存在争议。

目的: 系统评价亚甲基四氢叶酸还原酶基因 C677T 位点多态性与股骨头坏死发生的相关性。

方法: 计算机检索 PubMed、Embase、the Cochrane Library、Web of Science、中国生物医学文献数据库(CBM)、中国学术期刊全文数据库(CNKI)、维普和万方数据库中关于亚甲基四氢叶酸还原酶基因 C677T 位点的多态性与股骨头坏死发生关系的病例对照研究, 检索时限均为建库截至 2018 年 1 月。按拟定的纳入标准和排除标准对原始文献进行筛选, 对纳入研究进行文献质量评价和 Meta 分析。采用 Stata 12.0 软件进行异质性检验并计算各指标的 OR 值和 95%CI, 通过漏斗图、Egger 回归试验评价发表偏倚。

结果与结论: ①6 篇文献纳入研究, 共 1 174 例患者, 其中病例组包括 395 例股骨头坏死患者, 对照组包括 779 位健康者; ②Meta 分析结果显示, 亚甲基四氢叶酸还原酶 C677T 携带者(CC 或 CT 型)与野生型患者(CC 型)股骨头坏死发生率的关系: CT+TT vs.CC 基因型[OR=1.43, 95%CI (1.09-1.89), P=0.011]; 等位基因 T vs.C [OR=1.46, 95%CI (1.19-1.78), P=0.000]; TT vs.CT 基因型[OR=1.91, 95%CI(1.28-2.86), P=0.002]; TT vs.CC+CT 基因型[OR=1.79, 95%CI(1.29-2.50), P=0.001]; ③Egger 回归结果未发现发表偏倚; ④Meta 分析显示, 亚甲基四氢叶酸还原酶基因 C677T 位点多态性与股骨头坏死的发生相关。

关键词:

股骨头坏死; 亚甲基四氢叶酸还原酶; 基因多态性; Meta 分析; 骨科植入物; 国家自然科学基金

主题词:

股骨头坏死; 亚甲基四氢叶酸还原酶; 基因; 循证医学; 组织工程

基金资助:

国家自然科学基金项目(81360551); 国家中医药管理局项目(JDZX2015272)

Association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism with femoral head necrosis: a meta-analysis

Fan Siqi¹, Zeng Ping², Lai Chongrong¹, Liu Xiong¹ (¹the Graduate College of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530299, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China; ²the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China)

Fan Siqi, Master candidate, Physician, the Graduate College of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530299, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Corresponding author: Zeng Ping, Professor, Chief physician, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Abstract

BACKGROUND: Whether methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene C677T is the susceptible gene of femoral head necrosis diseases remains controversial.

OBJECTIVE: To evaluate the association of C677T polymorphism of MTHFR gene with the occurrence of femoral head necrosis.

METHODS: A computer-based retrieval of PubMed, Embase, the Cochrane Library, Web of Science, CBM, CNKI, VIP and WanFang databases was conducted for the case-control trials concerning MTHFR gene C677T polymorphism and femoral head necrosis published before January 2018. According to the inclusion and exclusion criteria, the literature was screened, the quality of the included literature was assessed and meta-analysis was performed. Heterogeneity test was conducted on Stata 12.0 software, and the index values of each odd ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) were calculated. The publication bias was evaluated by funnel plot and Egger regression test.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Six articles involving 1 174 patients were enrolled, including 395 patients with femoral head necrosis and 779 healthy controls. (2) Meta-analysis results showed that the incidence of femoral head necrosis in MTHFR C677T carriers (CC or CT type) and wild-type patients (CC type) was related to the incidence of femoral head necrosis: CT+TT vs. CC genotype ($OR=1.43$, 95%CI (1.09–1.89), $P=0.011$); T vs. C ($OR=1.46$, 95%CI (1.19–1.78), $P=0.000$); TT vs. CT genotype ($OR=1.91$, 95%CI (1.28–2.86), $P=0.002$); TT vs. CC+CT genotype ($OR=1.79$, 95%CI (1.29–2.50), $P=0.001$). (3) Egger regression results showed no publication bias. (4) Meta-analysis results imply that the polymorphism of C677T in MTHFR gene was associated with the occurrence of femoral head necrosis.

Subject headings: Femur Head Necrosis; Methylenetetrahydrofolate Reductase; Genes; Evidence-Based Medicine; Tissue Engineering

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81360551; the Project of State Administration of Traditional Chinese Medicine of China, No. JDZX2015272

0 引言 Introduction

股骨头坏死是一种缺血性损伤,并具有股骨软骨下骨坏死的特征,往往会演变成软骨下骨折,股骨头塌陷和随后的髋关节退变,最终导致功能丧失^[1]。股骨头坏死可由创伤、酒精中毒、糖皮质激素治疗等多种因素引起,但其具体的发病机制尚未完全清楚^[2]。已有证据表明,血管内凝血与遗传因素是股骨头坏死的发病机制之一^[3]。亚甲基四氢叶酸还原酶基因的编码产物同型半胱氨酸可通过损伤血管内皮细胞和增强血管壁凝血活性来促进血栓栓塞性病变的形成^[4-5],其引起的高同型半胱氨酸血症被认为是血栓形成的独立危险因素。目前亚甲基四氢叶酸还原酶基因 C677T位点多态性已被证实与多种缺血性疾病具有相关性^[6-7]。近年来,陆续有国内外研究探讨了亚甲基四氢叶酸还原酶基因C677T位点的多态性与股骨头坏死发生的关系,但各研究结果存在着差异^[8-13]。因此,有必要采用系统的荟萃分析来评价亚甲基四氢叶酸还原酶基因C677T位点的多态性与股骨头坏死发生的相关性,以期能为股骨头坏死的防治提供临床循证依据。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 一般资料 资料来源于自建库至2018年1月,对国内外公开发表的关于亚甲基四氢叶酸还原酶基因C677T位点的多态性与股骨头坏死发生关系的病例对照研究。

1.2 检索方法

1.2.1 文献检索 检索数据库PubMed、Embase、the Cochrane Library、Web of Science、中国生物医学文献数据库(CBM)、中国学术期刊全文数据库(CNKI)、维普和万方数据库等。采取主题词检索,中文数据库检索式为“股骨头坏死”、“股骨头缺血性坏死”、“亚甲基四氢叶酸还原酶”、“亚甲基四氢叶酸还原酶”、“基因多态性”;英文检索词为“MTHFR”、“osteonecrosis of the femoral head”、“Methylene tetrahydrofolate reductase”、“polymorphism”。

1.2.2 文献纳入标准 ①研究对象确诊为“股骨头坏死”

的患者,有明确的诊断标准;②文献研究是关于亚甲基四氢叶酸还原酶基因C677T多态性与股骨头坏死易感性关联的病例对照研究;③病例组和对照组需要列出各基因型(即CC, CT, TT)的基因频率,且研究人群中亚甲基四氢叶酸还原酶基因(C677T)基因型分布均符合Hardy-Weinberg平衡定律;④文献提供的数据能计算比值比(odd ratio, OR)值及相应95%可信区间(95%CI)。

1.2.3 文献排除标准 ①重复发表的文献;②综述文献、个案报道、会议摘要;③不能提供病例及对照来源;④文献中未列出各基因型频数或频率者;⑤纽卡斯尔-渥太华量表评分 < 6分。

1.3 文献筛选 由2位研究者按文献的纳入和排除标准对文献资料进行提取,交叉核对如意见不统一则相互讨论或由第3研究者协助。资料提取信息包括:一般资料、研究所在地区、基础疾病、基因分型方法、病例组和对照组的病例数及各基因型的分布频数。

1.4 质量评价 采用纽卡斯尔-渥太华量表评价纳入研究的质量^[14],纽卡斯尔-渥太华量表满分是9分,评分 ≥ 7 分则认为高质量研究。

1.5 统计学分析 采用Stata 12.0软件进行数据处理,以OR值及其95%CI作为结局分析统计量。采用 χ^2 检验判断各研究间是否存在统计学异质性,当 $P < 0.05$, $I^2 > 50\%$ 时为有统计学异质性,采用随机效应模型(REM)计算进行Meta分析;当 $P \geq 0.05$, $I^2 \leq 50\%$ 表明纳入研究同质性良好,此时使用固定效应模型进行Meta分析;采用Begg漏斗图及Egger线性回归法对纳入文献的发表偏倚进行评估。Egger法检验结果中,检验指标 $P > |t| > 0.05$ 时,则认为无明显发表偏倚,反之则存在偏倚。

2 结果 Results

2.1 文献检索结果 按“1.2.1”项检索策略,PubMed数据库检索到10篇,Embase检索到2篇、Cochrane检索到1篇、CBM检索到2篇、CNKI检索到1篇,万方数据库及维

普数据库纳入共0篇相关文献, 共获得关于亚甲基四氢叶酸还原酶基因C677T位点的多态性与股骨头坏死发生关系的病例对照研究相关文献16篇。剔除重复文献2篇、与根据纳入和排除标准排除不符合文献2篇, 阅读摘要及全文后排除6篇, 最终纳入6篇定量合成文献^[8-13], 详见图1。共1 174例患者, 其中病例组395例股骨头坏死患者, 对照组779例健康者。各纳入研究的基本资料见表1。

2.2 Meta分析结果 在对各文献中CT+TT与CC、等位基因T与C之间、TT与CT以及CC+CT与TT的OR值进行统计合并, 经过异质性检验发现上述4组数据中各独立研究之间均为同质性($P \geq 0.05$, $I^2 \leq 50\%$), 因此采用固定效应模

型进行合并分析。分析结果显示, T基因携带者(CT或TT型)发病风险较野生型(CC)高43%, 即 $[OR=1.43, 95\%CI(1.09-1.89), P=0.011]$, 说明CC基因型是保护因素, 具有CC基因型的患者发生股骨头坏死的危险性低于非CC基因型者, 见图2; T等位基因携带者发生股骨头坏死的风险较C等位基因携带者高46%, 即 $[OR=1.46, 95\%CI(1.19-1.78), P=0.000]$, 见图2。TT基因型的发病风险较CC基因型高91%, 即 $[OR=1.91, 95\%CI(1.28-2.86), P=0.002]$, 见图3; 基因型为TT其发生股骨头坏死的风险较基因型为CC或CT者高79%, 即 $[OR=1.79, 95\%CI(1.29-2.50), P=0.001]$, 见图3。

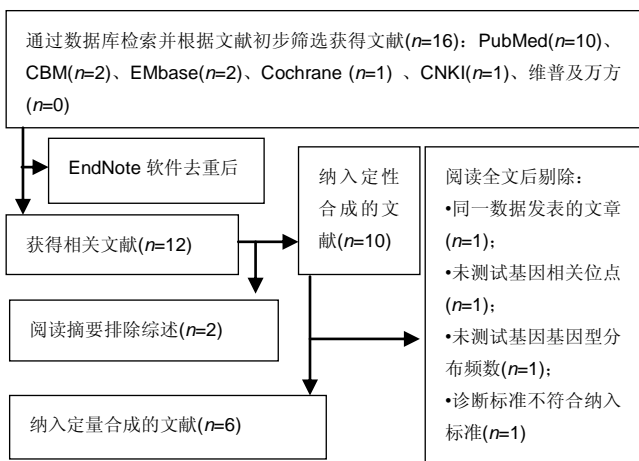


图1 文献检索流程图

Figure 1 Flow chart of literature screening

表1 所有入选文献相关信息

Table 1 Basic information of included studies

年份	文献	地区	基因分型法	亚甲基四氢叶酸还原酶 C677T						NOS评分
				病例组			对照组			
				CC	CT	TT	CC	CT	TT	
2008	Chang 等 ^[8]	韩国	PCR	18	36	17	80	80	40	8
2013	Gagala 等 ^[9]	波兰	PCR	29	35	4	51	42	7	7
2015	李盛华等 ^[10]	中国	PCR	20	34	39	24	39	20	7
2009	Liu 等 ^[11]	中国	PCR	13	32	44	18	38	21	8
2004	Asano 等 ^[12]	日本	PCR	14	10	7	39	50	17	8
2008	French 等 ^[13]	美国	PCR	21	-	-	118	-	-	7

备注: French 等^[13]研究中 CT+TT 基因型病例组共 22 例, 对照组 95 例。

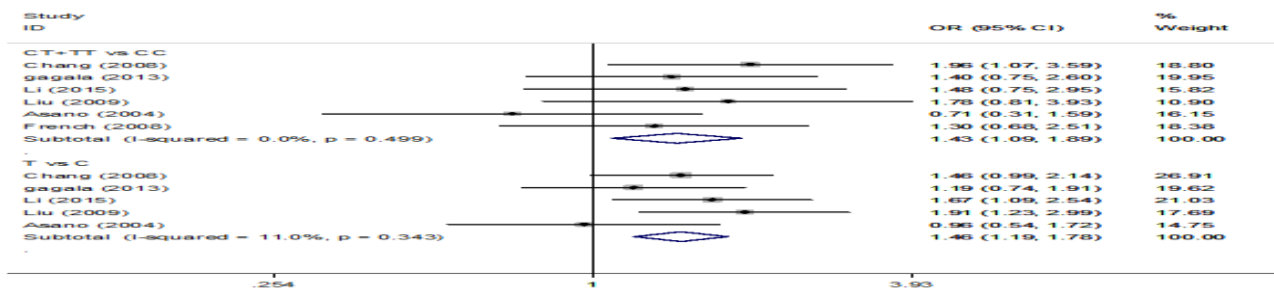


图2 亚甲基四氢叶酸还原酶 C677T 基因 CT+TT vs. CC 基因型与 T vs. C 等位基因的 Meta 分析结果

Figure 2 Meta-analysis results of CT+TT vs. CC genotype and T vs. C allele

图注: CT+TT 与 CC 基因型相比, 共 6 篇文献被纳入研究, 累计病例组 339 例, 对照组 779 例, 结果显示 CT+TT 基因型发生股骨头坏死风险率较 CC 基因型高($P=0.011$); 等位基因 T 与 C 相比, 共 5 篇文献被纳入研究, 累计病例组 296 例, 对照组 566 例, 结果显示 T 等位基因携带者发生股骨头坏死风险率较 C 等位基因携带者高($P=0.000$)。

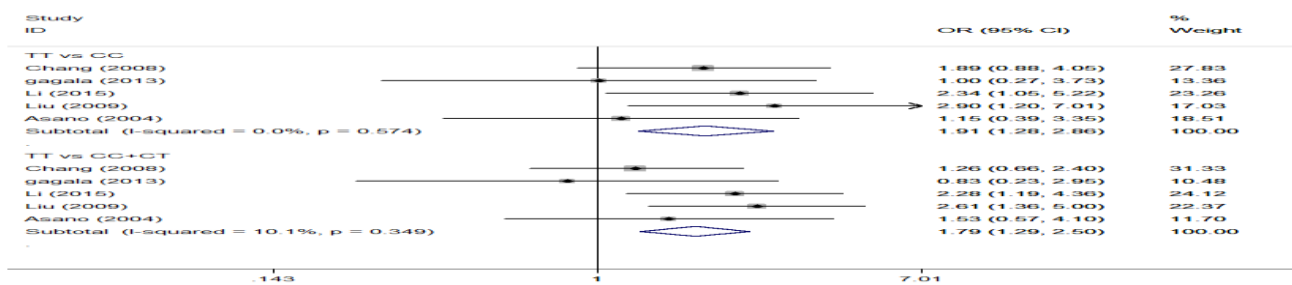


图3 亚甲基四氢叶酸还原酶 C677T 基因 TT vs. CC 基因型与 TT vs. CC+CT 基因型的 Meta 分析结果

Figure 3 Meta-analysis results of TT vs. CC genotype and TT vs. CC+CT genotype

图注: 共 5 篇文献被纳入研究, 累计病例组 296 例, 对照组 566 例, 结果显示 TT 基因型发生股骨头坏死风险率较 CC 基因型高($P=0.002$); 基因型 TT 其发生股骨头坏死风险率较基因型为 CC+CT 者高($P=0.001$)。

2.3 发表偏倚的检验 关于亚甲基四氢叶酸还原酶C677T基因多态性与股骨头坏死相关性的研究中,漏斗图对称性好,无研究超出95%CI,说明上述结论稳定性较高,同时采用Egger线性回归法判断偏倚($t=-1.14, P>|t|=0.391 > 0.05$)。根据结果可判断纳入文献不存在明显的偏倚,见图4。

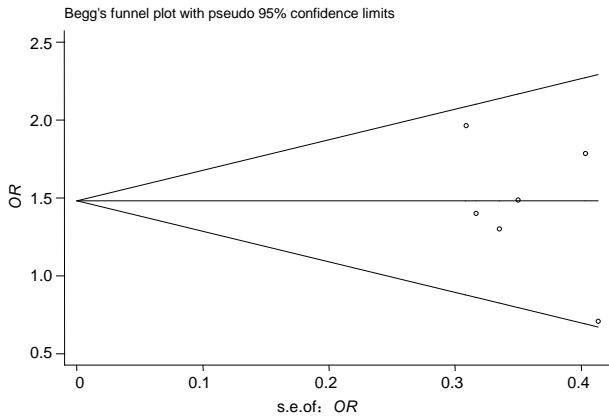


图4 亚甲基四氢叶酸还原酶C677T基因多态性与股骨头坏死发生相关性的漏斗图

Figure 4 Funnel plot of association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism with femoral head necrosis
图注: Begg's 漏斗图与 Egger 线性回归检测发表偏倚, 每个点代表对指定关联的单独研究(Egger 回归试验: $t=-1.14, P>|t|=0.391 > 0.05$)。

2.4 敏感性分析 为验证结果的稳定性,此次试验将纳入的研究逐一剔除后合并分析。研究Chang等^[8](2008)和Asano等^[12](2004)对合并效应量有一定影响,剔除2篇文献进行Meta分析,结果[OR=1.46, 95%CI (1.04-2.26), $P=0.03$]与剔除前[OR=1.43, 95%CI (1.09-1.89), $P=0.011$]差异无显著性意义。结果较为接近,证明其敏感性低,说明此次研究结果基本可靠,见图5。

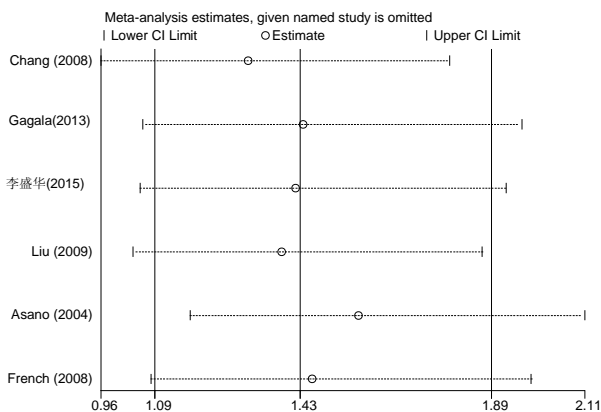


图5 亚甲基四氢叶酸还原酶C677T基因多态性与股骨头坏死发生相关性的敏感性分析

Figure 5 Sensitivity analysis of association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism with femoral head necrosis
图注: 用随机效应模型进行敏感度分析,结果显示在剔除个研究后总的OR值变化不大。

3 讨论 Discussion

股骨头坏死是常见的骨科疾病,由多种原因导致股骨头血液供血破坏,造成股骨头软骨下骨质变性或坏死,继而股骨头结构改变、甚至塌陷的一种病变^[15]。其常导致患者髋关节疼痛、关节炎、功能障碍、甚至丧失,给患者的生活带来了严重负担。此外,它还给患者带来的巨大的经济压力。因此,在过去的几十年里,见证了股骨头坏死基因学研究的巨大进步。在这些基因中,亚甲基四氢叶酸还原酶基因是导致股骨头坏死重要的易感基因,并且其在多种疾病中都在发挥着作用^[16-17]。

亚甲基四氢叶酸还原酶基因在核苷酸677处的C至T转变可导致缬氨酸取代成熟蛋白中高度保守的丙氨酸,降低酶活动并引起高同型半胱氨酸血症^[18]。同型半胱氨酸通过损伤血管内皮细胞,增殖血管平滑肌细胞,增强血管壁凝血活性而引起血栓栓塞性病变^[19-20]。有文献报道,亚甲基四氢叶酸还原酶C677T基因型引起的血管病变及血液高凝状态有可能导致了股骨头坏死的发生^[21-22]。大量研究已证明,亚甲基四氢叶酸还原酶C677TT基因型动脉粥样硬化患者的一氧化氮含量水平显著降低,而高浓度的同型半胱氨酸可使一氧化氮失活,造成血管内皮舒张功能减退,导致血管功能障碍^[23-25]。Chang等^[8]报道,71例股骨头坏死与亚甲基四氢叶酸还原酶C677T多态性有关,其中有51例(71.8%)为酒精性股骨头坏死患者;Liu等^[11]报道,89例酒精性股骨头坏死与亚甲基四氢叶酸还原酶C677T多态性有关。但Asano等^[12]报道,31例日本肾移植术后继发性股骨头坏死患者与亚甲基四氢叶酸还原酶C677T多态性不相关。French等^[13]报道,测出亚甲基四氢叶酸还原酶C677T基因型的43例激素性股骨头坏死患者与亚甲基四氢叶酸还原酶C677T多态性不相关。至今为止,亚甲基四氢叶酸还原酶C677T多态性对于股骨头坏死的发生仍然是有争议的。因此,作者做了一个系统的荟萃分析来做一个更精确的评估。

此次研究纳入评价的6篇文献均是严格按照文献检索和纳入排除标准筛选出来的,均为病例对照研究,病例组中患者均在症状体征及影像学诊断明确,对照评价指标为OR值和95%CI。作者利用Meta分析法对入选的6篇文献进行了综合定量评价,其结果显示亚甲基四氢叶酸还原酶C677T突变基因型(CT+TT)基因型与股骨头坏死的发生有关,其合并的效应量OR=1.43, 95%CI为(1.09-1.89), $P=0.011 < 0.05$,具有统计学意义,提示该基因携带者的并发股骨头坏死的风险较大。携带CC基因位点的人群可能对股骨头坏死具有较低的易感性。

发表偏倚因素的存在往往会影响Meta分析结果的真实性,因此作者采用Begg's漏斗图与Egger线性回归对发表偏倚进行定性和定量的评价,其中Egger回归试验结果为: $t=-1.14, P>|t|=0.391 > 0.05$,无统计学意义,提示所检索文献不存在明显发表性偏倚,可以纳入分析。敏感性分析也显示总合并OR值与剔除前基本一致,说明合并

结果稳定性好, 基本可靠。

综上所述, 此次荟萃分析表明亚甲基四氢叶酸还原酶基因C677T位点的多态性与股骨头坏死的发生相关。尽管此次研究纳入研究的同质性较好, 敏感性较低, Begg's秩相关检验及Egger线性回归法的检验结果均显示不存在明显的偏倚, 但尚有一些局限性: 首先, 在研究中股骨头坏死患者是由不同的病因造成的(无特殊病史、糖皮质激素摄入及酒精中毒等), 此次纳入的研究中以酒精性股骨头坏死的患者居多, 使用糖皮质激素导致股骨头坏死的患者较少, 其是否与股骨头坏死发生的病因有关, 而纳入的研究中基本无单一股骨头坏死病种, 所以这都可能会影响最终结果; 第二, 饮食结构的差异, 因为叶酸和维生素B₁₂共同参同型半胱氨酸的代谢^[26], 所以叶酸和维生素B₁₂浓度对同型半胱氨酸水平的影响较为突出, 饮食中叶酸和维生素B₁₂的减少可能引起高同型半胱氨酸血症, 受试者存在地区的差异, 其饮食结构不同, 这也导致不同的叶酸值, 可能对得出的结果造成一定影响; 第三, 临床异质性存在差异, 所有受试者的年龄或疾病严重程度不同也可能导致不同的结果, 然而在文章中是无法得到这些信息的。目前研究股骨头坏死相关基因的文献较少, 仍需要更规范的设计和大规模的研究, 筛出可靠的基因位点, 还可应进一步探讨基因与环境因素之间的交互作用, 为股骨头坏死疾病的研究及防治提供更全面、可靠的依据, 以减轻患者发生股骨头坏死的风险。

致谢: 感谢曾平导师的指导和意见。

作者贡献: 文章设计曾平、范思奇, 资料收集实施为范思奇、赖崇荣, 文献质量控制刘雄, 范思奇成文并对文章负责。

经费支持: 该文章接受了“国家自然科学基金项目(81360551)、国家中医药管理局项目(JDZX2015272)”的资助。所有作者声明, 经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章及内容不涉及相关利益冲突。

机构伦理问题: 文章无涉及伦理冲突的内容。

写作指南: 该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审, 同行评议认为文章符合本刊发稿宗旨。

生物统计学声明: 文章统计学方法已经广西中医药大学生物统计学专家审核。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

[1] 中华医学会骨科分会显微修复学组. 成人股骨头坏死诊疗标准专家共识(2012年版)[J]. 中华骨科杂志, 2012, 32(6):51-56.

[2] 赵海燕, 夏亚一, 康鹏德. 股骨头坏死病因与发病机制研究进展[J]. 中国矫形外科杂志, 2009, 17(8):604-607.

[3] Zalavras CG, Vartholomatos G, Dokou E, et al. Genetic background of osteonecrosis: associated with thrombophilic mutations? Clin Orthop Relat Res. 2004;422(422):251.

[4] Giusti B, Porciani MC, Brunelli T, et al. Phenotypic variability of cardiovascular manifestations in Marfan Syndrome Possible role of hyperhomocysteinemia and C677T MTHFR gene polymorphism. Eur Heart J. 2003;24(22):2038.

[5] 方理刚, 朱文玲, 朱广瑾, 等. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性及血中同型半胱氨酸和叶酸水平与冠心病的关系[J]. 中华心血管病杂志, 2002, 30(9):515-519.

[6] 黄一宁, 赵宇岚, 李舜伟. 同型半胱氨酸和MTHFR基因多态性与缺血性脑血管病的关系[J]. 中华医学杂志, 2002, 82(2):119-122.

[7] 张颖冬, 朱志刚, 刘阳. 血浆Hcy水平及MTHFR基因多态性与脑梗死的关系[J]. 中风与神经疾病, 2001, 18(4):198-200.

[8] Chang JD, Hur M, Lee SS, et al. Genetic background of nontraumatic osteonecrosis of the femoral head in the Korean population. Clin Orthop Relat Res. 2008;466(5):1041-1046.

[9] Gagala J, Butraczynska M, Mazurkiewicz T, et al. Prevalence of genetic risk factors related with thrombophilia and hypofibrinolysis in patients with osteonecrosis of the femoral head in Poland. BMC Musculoskeletal Disorders. 2013;14(1):1-7.

[10] 李盛华, 周明旺, 郭铁峰, 等. 非创伤性股骨头坏死中医体质类型与亚甲基四氢叶酸还原酶C677T位点多态性的相关性研究[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(6):2194-2198.

[11] Liu B, Li Z, Sun W, et al. Relationship between alcohol induced osteonecrosis of femoral head and single nucleotide polymorphisms of methylene tetrahydrofolate reductase 677 C/T. Zhongguo Xue Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi. 2009;23(9):1079.

[12] Asano T, Takahashi KA, Fujioka M, et al. Relationship between postrenal transplant osteonecrosis of the femoral head and gene polymorphisms related to the coagulation and fibrinolytic systems in Japanese subjects. Transplantation. 2004;77(2):220.

[13] French D, Hamilton LH, Mattano LA Jr, et al. A PAI-1 (SERPINE1) polymorphism predicts osteonecrosis in children with acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group. Blood. 2008;111(9):4496-4499.

[14] Stang A. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. Eur J Epidemiol. 2010;25(9):603-605.

[15] Garcia FL, Júnior EL, Picado CH. Coagulation disorders in patients with femoral head osteonecrosis. Acta Ortopedica Brasileira. 2013; 21(1):43-45.

[16] 梁长流, 蒋善群, 彭少杰, 等. MTHFR C677T基因多态性与高同型半胱氨酸型高血压关联性研究[J]. 中华疾病控制杂志, 2011, 15(6):480-484.

[17] 付龙, 孙溢晗, 张月兰. MTHFR基因C677T多态性与H型高血压合并冠心病患者HCY、冠状动脉病变的关系[J]. 中国医科大学学报, 2015, 44(4): 351-356.

[18] Weisberg I, Tran P, Christensen B, et al. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. Mol Genet Metab. 1998;64(3):169-172.

[19] Lentz SR, Piegors DJ, Fernández JA, et al. Effect of hyperhomocysteinemia on protein C activation and activity. Blood. 2002;100(6):2108-2112.

[20] Au-Yeung KK, Woo CW, Sung FL, et al. Hyperhomocysteinemia activates nuclear factor-kappaB in endothelial cells via oxidative stress. Circ Res. 2004;94(1):28-36.

[21] Bernbeck B, Mauz-Körholz C, Zotz RB, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and glucocorticoid intake in children with ALL and aseptic osteonecrosis. Klinische Pädiatrie. 2003;215(6):327.

[22] Glueck CJ, Freiberg RA, Fontaine RN, et al. Hypofibrinolysis, thrombophilia, osteonecrosis. Clin Orthop Relat Res. 2001;386(386): 19-33.

[23] Zulli A, Buxton BF, Black MJ, et al. The immunoquantification of caveolin-1 and enos in human and rabbit diseased blood vessels. J Histochem Cytochem. 2006;4(2):151-159.

[24] Lentz SR. Mechanisms of homocysteine-induced atherothrombosis. J Thromb Haemostasis, 2005;3(8):1646-1654.

[25] Juo SH, Liao YC, Kuo CL, et al. The MTHFR 677 C/T polymorphism influences plasma levels of adhesion molecules and nitric oxide. Thromb Res. 2008;121(4):549-554.

[26] Ueland PM, Hustad S, Schneede J, et al. Biological and clinical implications of the MTHFR C677T polymorphism. Trends Pharmacol Sci. 2001;22(4):195-201.