

亚甲基四氢叶酸还原酶基因C677T多态与结直肠癌遗传易感性的相关性

金夏祥, 朱忠政, 王爱忠, 贾杭若

背景资料
有关MTHFR基因与恶性肿瘤关系的研究广泛, 但目前对该基因多态性研究仍处于初步阶段, MTHFR基因C677T多态性与包括结直肠癌在内的肿瘤相关性的报道缺乏一致性, 明确二者的相关性, 有助于揭示人类罹患结直肠癌的遗传学基础。

金夏祥, 朱忠政, 王爱忠, 贾杭若, 中国人民解放军第一一三医院病理科 浙江省宁波市 315040
国家自然科学基金资助项目, No. 30470791
南京军区医学科学技术研究“十一五”计划资助项目, No. 06MA27
通讯作者: 朱忠政, 315040, 浙江省宁波市中山东路377号, 中国人民解放军第一一三医院病理科. zzzhu1170@yahoo.com
电话: 0574-27754043
收稿日期: 2007-07-10 修回日期: 2007-08-24

Association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism with genetic susceptibility to colorectal cancer

Xia-Xiang Jin, Zhong-Zheng Zhu, Ai-Zhong Wang, Hang-Ruo Jia

Xia-Xiang Jin, Zhong-Zheng Zhu, Ai-Zhong Wang, Hang-Ruo Jia, Department of Pathology, 113 Hospital of Chinese PLA, Ningbo 315040, Zhejiang Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30470791; Medical Science and Technology Research Foundation for the 11th 5-Year Program of the Nanjing Military Area of Chinese PLA, No. 06MA27
Correspondence to: Dr. Zhong-Zheng Zhu, Department of Pathology, 113 Hospital of Chinese PLA, 377 Zhongshan East Road, Ningbo 315040, Zhejiang Province, China. zzzhu1170@yahoo.com
Received: 2007-07-10 Revised: 2007-08-24

Abstract

AIM: To investigate the possible association between the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism and genetic susceptibility to colorectal cancer (CRC).

METHODS: The MTHFR C677T genotypes were determined by TaqMan assays in 449 cases of CRC and 672 controls. Odds ratios (ORs) for CRC and 95% confidence intervals (CIs) from unconditional logistic regression models were used to evaluate relative risks. Potential CRC risk factors, including sex, age, cigarette smoking, alcohol drinking, body mass index and first-degree family history of CRC, were included in the logistic regression models as covariates in the multivariate analyses of genotype and CRC risk.

RESULTS: The frequency of the T allele in the MTHFR C677T polymorphism was 0.360 in CRC and 0.444 in the controls. The T allele showed a significantly decreased risk for CRC (OR = 0.70, 95% CI = 0.58-0.83, $P < 0.01$) when compared to the C allele. Compared to CC homozygotes, CT heterozygotes had a 0.73-fold decreased risk (95% CI = 0.56-0.95, $P < 0.05$), whereas TT homozygotes had a 0.47-fold decreased risk (95% CI = 0.33-0.68, $P < 0.01$) of CRC. The inverse association of the C677T polymorphism with CRC risk was slightly stronger among non-drinkers (CT, OR = 0.72, 95% CI = 0.53-0.98; TT, OR = 0.40, 95% CI = 0.26-0.62). Among drinkers, however, no significant association of the MTHFR genotypes with CRC risk was observed, with an OR of 0.83 (95% CI = 0.47-1.44) for heterozygotes and 0.75 (95% CI = 0.37-1.55) for TT homozygotes when compared with CC homozygotes. No correlation was found between MTHFR C677T genotypes and tumor number, location, morphological patterns, histologic grade, presence of lymph node metastases, Dukes stage, or age at diagnosis. The TT genotype was more frequently found in patients with a larger size tumor (> 4 cm) than with a smaller size tumor (16.3% vs 8.3%, $P < 0.05$), and was more frequently found in patients with mucinous adenocarcinoma than with tubular adenocarcinoma (22.2% vs 17.1%, 10.3%, $P = 0.084$).

CONCLUSION: The MTHFR C677T polymorphism is associated with a decreased risk of CRC, and alcohol consumption may negate some of the protective effect. The TT genotype may influence CRC progression.

Key Words: Colorectal cancer; Methylenetetrahydrofolate reductase; Genetic polymorphism; Genetic susceptibility

Jin XX, Zhu ZZ, Wang AZ, Jia HR. Association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism with genetic susceptibility to colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2754-2757

摘要

目的: 探讨亚甲基四氢叶酸还原酶基因

(MTHFR)C677T多态与结直肠癌(CRC)遗传易感性的关系.

方法: 采用TaqMan方法检测CRC 449例与对照672例的MTHFR C677T的基因型分布及差异. 以非条件Logistic回归法计算表示相对危险度的比值比(*OR*)及其95%可信区间(*CI*). *OR*值均经性别、年龄、吸烟、饮酒、体质指数和一级亲属CRC家族史等因素校正.

结果: CRC组677T等位基因频率显著低于对照组, 其为CRC发生的保护因素(*OR*: 0.70, 95% *CI*: 0.58-0.83, $P<0.01$). 与CC纯合子相比, CT杂合子的CRC风险显著降低至0.73倍(95% *CI*: 0.56-0.95, $P<0.05$), 而TT纯合子的CRC风险进一步降至0.47倍(95% *CI*: 0.33-0.68, $P<0.01$). 在非饮酒人群中, C677T的CRC风险保护效应略有增强; 而在饮酒人群中, CT和TT基因型携带者的CRC发病风险虽仍低于CC基因型携带者, 但差异无统计学意义. 在CRC人群中, 荷大肿瘤(最大直径>4 cm)者携带TT基因型的比例高于荷小肿瘤者(16.3% vs 8.3%, $P<0.05$); 荷黏液腺癌者携带TT基因型的比例高于荷乳头状腺癌及管状腺癌者(22.2% vs 17.1%, 10.3%, $P=0.084$).

结论: MTHFR C677T降低CRC发病风险, 饮酒可能削弱该多态的CRC风险保护效应. TT基因型可能与CRC肿瘤进展有关.

关键词: 结直肠肿瘤; 亚甲基四氢叶酸还原酶; 基因多态; 遗传易感性

金夏祥, 朱忠政, 王爱忠, 贾杭若. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因C677T多态与结直肠癌遗传易感性的相关性. 世界华人消化杂志 2007;15(25):2754-2757
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2754.asp>

0 引言

亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)是叶酸代谢的限速酶, 介导5, 10-亚甲基四氢叶酸转变成5-甲基四氢叶酸, 后者为细胞内的DNA甲基化反应提供原料, 而前者与DNA合成及修复过程密切相关^[1]. MTHFR基因在人群中具有多态性, 其中以位于催化区的C677T(dbSNP: rs1801133)最为常见, 导致酶活性和热稳定性下降. 国外以不同人群为对象的多项研究提示, 该多态对结直肠癌(CRC), 特别是高叶酸摄入人群的CRC发生有保护作用^[2], 然而以我国人群为对象的各项研究结果不一致^[3-7]. 本研究在大样本基础上进一步探讨了

MTHFR C677T与CRC发病风险的关系, 并且初步探讨了该多态与CRC肿瘤特征的相关性.

1 材料和方法

1.1 材料 449例CRC为宁波市解放军第一一三医院和李惠利医院2002-2005年住院病例, 诊断均经组织病理学证实. 对照组为同一地区健康无血缘关系的个体, 共672例. 以问卷调查和病历记录方法取得所有研究对象的有关资料. 饮酒情况以调查对象每周饮酒1次或1次以上、持续半年以上定义为饮酒. 对照组与病例组在性别、年龄、吸烟和饮酒方面保持均衡可比.

1.2 方法 按常规蛋白酶K、酚氯仿法提取外周血白细胞或癌旁正常结肠组织基因组DNA. MTHFR基因C677T多态基因型分析采用TaqMan方法. 引物和探针的设计用Primer Express软件(Applied Biosystems, Foster City, CA)完成. 引物和探针的序列如下: 上游引物: 5'-AGG CTG ACC TGA AGC ACT TGA A-3'; 下游引物: 5'-CTC AAA GAA AGC TGC GTG ATG A-3'; 等位基因C特异性TaqMan探针, 5'-FAM-TGT CTG CGG GAG CCG ATT TCA-MGB-3'; 等位基因T特异性TaqMan探针, 5'-TET-AGG TGT CTG CGG GAG TCG ATT TCA-MGB-3'; 扩增片段长度74 bp. PCR扩增体系(25 μ L)中含: 1 \times TaqMan PCR master mix (Applied Biosystems, Foster City, CA), 1 μ L(50 mg/L)基因组DNA, 1 μ mol/L上游引物, 1 μ mol/L下游引物, 0.2 μ mol/L FAM-标记探针, 0.2 μ mol/L TET-标记探针. 扩增参数: 50 $^{\circ}$ C预热2 min, 95 $^{\circ}$ C预变性10 min, 然后95 $^{\circ}$ C变性15 s, 62 $^{\circ}$ C复性1 min, 共40个循环. 最后在ABI 7700上检测荧光信号. 基因型分析用Sequence Detector System 2.0软件(Applied Biosystems, Foster City, CA).

统计学处理 以非条件Logistic回归法计算表示相对危险度的比值比(*OR*)及其95%可信区间(*CI*). *OR*值均经性别、年龄、吸烟、饮酒、体质指数和一级亲属CRC家族史等因素校正. 数据统计用统计分析系统进行(Stata, 9.0版).

2 结果

2.1 两组人群CRC混淆因素比较 两组人群的性别、年龄、吸烟、饮酒和体质指数构成差异无显著意义($P>0.05$). CRC组和对照组的一级亲属CRC家族史阳性者分别占10.0%和4.9%, 两者比较有显著意义($P<0.001$).

2.2 MTHFR C677T与CRC风险 对照组和CRC组

相关报道
国外以不同人群为对象的多项研究提示, MTHFR C677T对高叶酸摄入人群的CRC发生有保护作用, 但国内各项研究结果不一致.

创新盘点
本研究在大样本基础上探讨了MTHFR C677T与结直肠癌发病风险的关系,并且初步探讨了该多态与结直肠癌肿瘤特征的相关性。

表 1 MTHFR C677T基因型频率、等位基因频率及其与CRC风险

MTHFR C677T	不饮酒				饮酒				合计(不饮酒+饮酒)			
	对照组 <i>n</i> (%)	CRC组 <i>n</i> (%)	<i>OR</i> (95%CI) ¹	<i>P</i> 值 ¹	对照组 <i>n</i> (%)	CRC组 <i>n</i> (%)	<i>OR</i> (95%CI) ¹	<i>P</i> 值 ¹	对照组 <i>n</i> (%)	CRC组 <i>n</i> (%)	<i>OR</i> (95%CI) ¹	<i>P</i> 值 ¹
基因型												
CC	162 (32.4)	143 (42.8)	1.00		49 (28.5)	39 (33.9)	1.00		211 (31.4)	182 (40.5)	1.00	
CT	236 (47.2)	154 (46.1)	0.72 (0.5 - 0.98)	0.037	89 (51.7)	57 (49.6)	0.83 (0.47 - 1.44)	0.498	325 (48.4)	211 (47.0)	0.73 (0.56 - 0.95)	0.019
TT	102 (20.4)	37 (11.1)	0.40 (0.2 - 0.62)	<0.001	34 (19.8)	19 (16.5)	0.75 (0.37 - 1.55)	0.443	136 (20.2)	56 (12.5)	0.47 (0.33 - 0.68)	<0.001
等位基因												
C	560 (56.0)	440 (65.9)	1.00		187 (54.4)	135 (58.7)	1.00		747 (55.6)	575 (64.0)	1.00	
T	440 (44.0)	228 (34.1)	0.65 (0.5 - 0.79)	<0.001	157 (45.6)	95 (41.3)	0.87 (0.6 - 1.23)	0.423	597 (44.4)	323 (36.0)	0.70 (0.58 - 0.83)	<0.001

¹经性别、年龄、吸烟、饮酒、体质指数和一级亲属CRC家族史校正。

基因型分布均符合Hardy-Weinberg遗传平衡定律($P>0.05$)。总体上, C677T在两组人群中的等位基因和基因型分布差异有统计学意义($P<0.001$)。CRC组及对照组677T等位基因频率分别为36.0%及44.4%, 677T型的CRC发病风险是677C型的0.70倍(95% CI: 0.58-0.83, $P<0.001$), 提示其为CRC的保护因素。与CC纯合子相比, CT杂合子的CRC风险显著降低至0.73倍(95% CI: 0.56-0.95, $P<0.05$), 而TT纯合子的CRC风险进一步降低至0.47倍(95% CI: 0.33-0.68, $P<0.001$)(表1)。

2.3 混淆因素分层分析MTHFR C677T与CRC风险 饮酒因素分层分析结果显示, C677T的CRC保护效应在非饮酒人群中略增强: 与CC基因型相比, CT和TT基因型的CRC发病风险分别降至0.72倍(95% CI: 0.53-0.98, $P<0.05$)和0.40倍(95% CI: 0.26-0.62, $P<0.001$)。而在饮酒人群中, CT和TT基因型的CRC发病风险较CC基因型虽仍有所降低, 但差异无统计学意义(CT: *OR*: 0.83, 95% CI: 0.47-1.44, $P>0.05$; TT: *OR*: 0.75, 95% CI: 0.37-1.55, $P>0.05$)(表1)。经性别、年龄、吸烟、体质指数和一级亲属CRC家族史等因素分层分析, C677T多态的CRC风险无明显差异($P>0.05$)。

2.4 MTHFR C677T与CRC肿瘤特征的相关性 荷大肿瘤(最大直径>4 cm)的CRC人群携带TT基因型的比例高于荷小肿瘤者($P<0.05$); 荷黏液腺癌者携带TT基因型的

比例高于荷乳头状腺癌及管状腺癌者($P = 0.084$)。C677T多态与肿瘤数目、位置、大体形态、组织学分级、淋巴结转移、Dukes分期以及诊断时年龄等均无显著性相关($P>0.05$)(表2)。

3 讨论

本研究结果提示MTHFR C677T是我国浙江宁波地区人群患CRC的一个遗传保护因素。这与Jiang *et al*^[3]以浙江嘉善地区人群(高叶酸摄入人群)为对象的研究结果相类似, 该研究显示TT基因型携带者患结肠癌的风险显著降低, 患直肠癌的风险虽有所降低, 但差异无显著性。我们在大样本基础上的研究结果则清楚地显示, TT基因型显著降低CRC发生风险, 对结肠癌和直肠癌发生的保护效应无明显差异, 而且CT基因型也显著降低CRC发生风险。由于嘉善与宁波两地同属浙江省, 膳食结构和生活习惯等方面相近, 因此本研究所获结果也很可能反映高叶酸摄入人群MTHFR C677T与CRC发病风险的关系。国内其他研究结果与本研究及Jiang *et al*^[3]不同, 或提示二者无关^[4-5], 或提示TT基因型增加CRC或男性结肠癌风险^[6-7]。这种不一致的研究结果可能主要与叶酸摄入量、样本数量差异及疾病遗传异质性等有关。

酒精摄入可降低叶酸的小肠吸收和肝脏摄取并可增加叶酸的肾脏排泄, 酒精代谢产物也可对叶酸产生破坏^[8], 因此饮酒可能影响MTHFR C677T与CRC遗传易感性的关系。与此推测相一致, 我们的研究结果显示, 饮酒因素削弱了677T的CRC风险保护效应。Ma *et al*^[9]对饮酒的半定量分析结果表明,

表 2 MTHFR C677T基因型频率与CRC肿瘤特征n(%)

肿瘤特征	MTHFR C677T基因型			P值
	CC	CT	TT	
大小(cm)				
4	92 (42.6)	106 (49.1)	18 (8.3)	0.038
> 4	90 (38.6)	105 (45.1)	38 (16.3)	
数目(个)				
1	174 (40.3)	205 (47.5)	53 (12.3)	0.583
2	8 (47.1)	6 (35.3)	3 (17.7)	
位置				
结肠	99 (39.4)	117 (46.6)	35 (13.9)	0.709
结肠直肠交界	1 (25.0)	2 (50.0)	1 (25.0)	
直肠	82 (42.3)	92 (47.4)	20 (10.3)	
大体形态				
隆起型	59 (41.8)	60 (42.6)	22 (15.6)	0.490
溃疡型	100 (39.1)	126 (49.2)	30 (11.7)	
浸润型	23 (44.2)	25 (48.1)	4 (7.7)	
组织学类型				
乳头状腺癌	13 (37.1)	16 (45.7)	6 (17.1)	0.084
管状腺癌	144 (41.0)	171 (48.7)	36 (10.3)	
黏液腺癌	25 (39.7)	24 (38.1)	14 (22.2)	
组织学分级				
高分化	28 (45.2)	25 (40.3)	9 (14.5)	0.248
中分化	94 (38.8)	124 (51.2)	24 (9.9)	
低分化	60 (41.4)	62 (42.8)	23 (15.9)	
淋巴结转移				
阴性	114 (41.6)	123 (44.9)	37 (13.5)	0.482
阳性	68 (38.9)	88 (50.3)	19 (10.9)	
Dukes分期				
A期	41 (45.6)	38 (42.2)	11 (12.2)	0.868
B期	62 (39.7)	74 (47.4)	20 (12.8)	
C期	54 (40.9)	64 (48.5)	14 (10.6)	
D期	25 (35.7)	34 (48.6)	11 (15.7)	
诊断时年龄(岁)				
50	38 (33.6)	59 (52.2)	16 (14.2)	0.224
> 50	144 (42.9)	152 (45.2)	40 (11.9)	

以携带CC基因型的少量或不饮酒者为参照, 携带TT基因型的少量或不饮酒者、中量饮酒者和大量饮酒者的CRC发病风险分别降低7倍、1倍和不降低。类似的, Chen *et al*^[10]报道, 每周饮酒5次或5次以上可拮抗TT基因型的CRC风险保护效应。这些研究结果提示, 饮酒可削弱甚至拮抗677T的CRC风险保护效应。

MTHFR C677T与肿瘤数目、位置、大体形态、组织学分级、淋巴结转移、Dukes分期以及诊断时年龄等均无显著相关性, 但结果提示TT基因型与肿瘤大小(最大直径>4 cm)和组织学类型(黏液腺癌)有关。Jakobsen *et al*^[11]报道, 携

带TT基因型的CRC患者对5-氟尿嘧啶的化疗敏感性高于其他基因型携带者。Odin *et al*^[12]报道, 677T携带与CRC复发有关。以上结果共同提示, MTHFR C677T可能与CRC进展有关。因此, 二者相关性研究值得深入进行。

总之, MTHFR C677T至少是我国浙江地区人群患CRC的一个遗传保护因素, 可作为该地区人群CRC发病风险的筛选指标; 饮酒可削弱该多态的CRC风险保护效应; TT基因型可能与CRC肿瘤进展有关。

4 参考文献

- 1 Brockton NT. Localized depletion: the key to colorectal cancer risk mediated by MTHFR genotype and folate? *Cancer Causes Control* 2006; 17: 1005-1016
- 2 Kono S, Chen K. Genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and colorectal cancer and adenoma. *Cancer Sci* 2005; 96: 535-542
- 3 Jiang Q, Chen K, Ma X, Li Q, Yu W, Shu G, Yao K. Diets, polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase, and the susceptibility of colon cancer and rectal cancer. *Cancer Detect Prev* 2005; 29: 146-154
- 4 何铭均, 罗劲根, 柳息洪, 陈盛强. MTHFR C677T基因多态性与直肠癌相关性的初步探讨. 解剖学研究 2005; 27: 91-93, 96
- 5 黄萍, 周紫垣, 马恒太, 刘晋伟, 周燕虹, 曹佳, 葛海燕, 余佩武, Toshiro Takezaki. 重庆地区人群亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与结直肠癌易感性关系研究. 第三军医大学学报 2003; 25: 1710-1713
- 6 缪小平, 杨桑, 谭文, 张雪梅, 叶颖江, 林东昕, 王杉. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因单核苷酸多态性与大肠癌风险的关系. 中华预防医学杂志 2005; 39: 409-411
- 7 高长明, Takezaki TOShiro, 吴建中, 丁建华, 周建农, 刘燕婷, 李苏平, 苏平, 曹佳, Hamajima Nobuyuki, Tajima Kazuo. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与结直肠癌易感性的关系. 肿瘤防治杂志 2005; 12: 1215-1222
- 8 Halsted CH, Villanueva JA, Devlin AM, Chandler CJ. Metabolic interactions of alcohol and folate. *J Nutr* 2002; 132: 2367S-2372S
- 9 Ma J, Stampfer MJ, Giovannucci E, Artigas C, Hunter DJ, Fuchs C, Willett WC, Selhub J, Hennekens CH, Rozen R. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1997; 57: 1098-1102
- 10 Chen J, Giovannucci E, Kelsey K, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Spiegelman D, Willett WC, Hunter DJ. A methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and the risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1996; 56: 4862-4864
- 11 Jakobsen A, Nielsen JN, Gyldenkerne N, Lindeberg J. Thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in normal tissue as predictors of fluorouracil sensitivity. *J Clin Oncol* 2005; 23: 1365-1369
- 12 Odin E, Wettergren Y, Carlsson G, Danenberg PV, Termini A, Willen R, Gustavsson B. Expression and clinical significance of methylenetetrahydrofolate reductase in patients with colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2006; 5: 344-349

同行评价

本文探讨了亚甲基四氢叶酸还原酶基因C677T多态与结直肠癌遗传易感性的相关性, 研究目的明确, 方法设计合理, 结果可信, 结论具有一定的指导意义。对既往的相关性研究内容有新的补充和新的见解, 有一定的参考价值。

编辑 何燕 电编 郭海丽