

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.35.007

MTHFR 基因多态性与中国北方人群脑膜瘤发病的相关性分析*

陈明辉 李瑞岩 冯 岩 蒿忠飞 赵哲峰 孙 旭 李永利[△]

(哈尔滨医科大学附属第二医院神经外科 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要 目的:探讨亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因多态性与中国北方人群脑膜瘤发病的相关性。**方法:**选择 2012 年 1 月-2013 年 12 月在黑龙江省哈尔滨医科大学附属第二医院的第一、三病房接受手术治疗的脑膜瘤患者 317 例(实验组)及 320 例非脑膜瘤患者(对照组)为研究对象,利用聚合酶链反应限制性多态性片段长度(PCR-RFLP)检测和比较两组 MTHFR 两个单核苷酸多态性位点(C677T、A1298C)各种基因型(CC、CT、TT)的分布情况及等位基因的频率。**结果:**两组 MTHFR 的 C677T 中 CC 基因型的频率和 TT 基因型的频率比较有显著性差异(CC:OR=2.012,95%CI=1.460-2.772;TT:OR=0.399,95%CI=0.254-0.628,P<0.05),实验组 MTHFR 的 (0.450)C677T 中的 T 等位基因频率明显高于对照组 (0.320)(OR=0.529,95%CI=0.420-0.666,P<0.05)。两组 A1298C 的等位基因分布比较没有统计学差别(P>0.05)。**结论:**MTHFR 基因的 C677T 中 TT 等位基因提示潜在的易患脑膜瘤的风险,而 CC 等位基因会降低中国北方人群患脑膜瘤的风险。

关键词:亚甲基四氢叶酸还原酶;脑膜瘤;多态性;关联性

中图分类号:R739.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)35-6827-03

Correlative Analysis of MTHFR Gene Polymorphism with the Incidence of Meningioma in Population of North China*

CHEN Ming-hui, LI Rui-yan, FENG Yan, HAO Zhong-fei, ZHAO Zhe-feng, SUN Xu, LI Yong-li[△]

(The Neurosurgery Department of The 2nd Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150086, China)

ABSTRACT Objective: To explore the correlation of gene polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) with the incidence of meningioma in a Han population of north China. **Methods:** A total of 317 cases of meningioma patients (experimental group) and 320 cases of non-meningioma patients (control group) were enrolled in this case-control study. The patients who underwent surgery were recruited from the First and Third Ward of Neurosurgery of the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Heilongjiang Province, North of China from January 2012 to December 2013. The distribution of different genotypes (CC, CT, TT) and allele frequencies of two SNPs (C677T and A1298C) of MTHFR were detected and compared between two groups using polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). **Results:** There were statistically significant differences in the CC and TT (CC: OR=2.012, 95% CI=1.460-2.772; TT: OR=0.399, 95% CI=0.254-0.628, P<0.05) frequencies of MTHFR C677T between two groups (P<0.05). The T allele frequency of MTHFR C677T of experimental group (0.450) was significantly higher than that of the control group (0.320) (OR=0.529, 95% CI=0.420-0.666, P<0.05). No statistically significant difference was observed in the allele distribution of A1298C between two groups (P>0.05). **Conclusion:** TT genotype of MTHFR C677T indicated a potential risk of meningioma, while the decrease of CC alleles of C677T reduced the risk of meningioma in a Han population in northern China.

Key words: MTHFR; Meningioma; Polymorphism; Association

Chinese Library Classification(CLC): R739.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)35-6827-03

脑膜瘤约占中枢神经系统肿瘤的 15-24%,是除胶质瘤外中枢神经系统最常见的肿瘤^[1]。绝大部分脑膜瘤的生物学行为属于良性,生长缓慢^[2,3]。目前,很多研究发现脑膜瘤在发生发展和转移的各个阶段,均有不同的酶基因发生缺失和突变。亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)是影响叶酸和同型半胱氨酸代谢的重要酶^[4,5],大量研究发现 MTHFR 基因突变能够引起酶活性下降,与多种脑血管疾病

具有相关性,其中研究最多的是 C677T 及 A1298C 位点多态性。C667T 基因突变与 DNA 甲基化密切相关,而 A1298C 位点突变其编码的谷氨酸被丙氨酸取代,均可影响 DNA 的合成及甲基化。叶酸可调节 DNA 的合成及甲基化,在肿瘤的发生及发展过程中有重要作用。MTHFR 能不可逆转地将 5,10- 甲基四氢叶酸去甲基化变成 5- 甲基四氢叶酸,5- 甲基四氢叶酸在同型半胱氨酸转变成蛋氨酸的过程中提供甲基,而 5- 甲基四氢

* 基金项目:黑龙江省青年科学基金项目(QC2014C108)

作者简介:陈明辉(1985-),男,硕士,主要研究方向:MTHFR 与人脑膜瘤的关系,电话:15104574926, E-mail:chenmh1985@163.com

△ 通讯作者:李永利(1970-),男,研究方向:颅内肿瘤,脑血管病的介入治疗, E-mail:liyongli999@yahoo.com

(收稿日期:2014-05-20 接受日期:2014-06-13)

叶酸为叶酸在血浆中的主要循环形式,并且是 DNA、蛋白质和神经传达因子等多种生物基质的甲基供体。因此,MTHFR 在调节 5,10- 甲基四氢叶酸和 5- 甲基四氢叶酸的过程中起着重要的作用,而这两种物质都对肿瘤细胞的发生和发展过程中有潜在的作用。因此,本实验旨在探讨 MTHFR 的两种单核苷酸多态性与中国北方人群脑膜瘤的相关性,以期为脑膜瘤的临床治疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究获得了当地伦理委员会的同意,所有的参与者在参加实验前均签署了书面的同意书。研究选取 2012 年 1 月 -2013 年 12 月黑龙江省哈尔滨医科大学附属第二医院的第一、三病房接受手术治疗的脑膜瘤患者,入选的患者均排除了患有其它脑肿瘤和接受过放疗、化疗的。脑膜瘤的诊断都有病理证实,并且根据最新的 WHO 指南进行病理类型的分级,对入选的 317 例(男 168 例、女 149 例)脑膜瘤患者采用不同的方法进行分组比较。对照组为本院收治的 320 例(男 172 例、女 148 例)非脑膜瘤患者,两组患者的年龄、性别分布比较无统计学差异,具有可比性($P>0.05$)。

1.2 试验方法

获取所有参与者的外周血(2 mL)通过 EDTA(乙二胺四乙酸)抗凝并且保存在 -20°C 。根据生产商的指示使用 QIAamp DNA Blood Mini Kit 技术在 200 微升的外周血中提取基因组 DNA。并使用 PCR-RFLP 技术来检测 MTHFR 基因的两种单核苷酸多态性的基因型。提取基因组 DNA 及细胞 DNA 后进行 PCR 反应,分别提取长度为 198 bp 的 C677T/PCR 产物,长度为

163 bp 的 A1298C PCR 产物。用 RFLP 检测 C677T 和 A1298C 多态性。

1.3 统计学方法

所有统计分析均用 SPSS 11.5 统计软件进行计算。等位基因和基因型频率直接进行计算来获得。哈代温伯格定律是通过 χ^2 检验来计算,期望频率来源于两组的每一个单核苷酸的真实频率。微软公司的 SPSS 软件被选用作为估算卡方检验来比较两组的等位基因和基因型频率,除了与罕见的等位基因相关的相对风险(评估作为一个优势比,OR: 具有 95%的可信区间,CI)。以相对危险度(OR)及其 95%可信区间表示各种基因型以及两个多态联合与脑膜瘤病的相关性。计量资料的数据用均数±标准差表示,用单因素方差分析进行均数比较,计数资料用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有显著意义。

2 结果

本研究检测了 MTHFR 中 C677T 和 A1298C 的基因型分布以及脑膜瘤的风险优势比和 95%的可信区间。两组中两种单核苷酸多态性的频率与哈代温伯格定律一致。实验组和对照组 MTHFR 的 C677T 中 CC 基因型的频率(对照组和实验组分别为 0.497 和 0.319)和 TT 基因型的频率(对照组和实验组分别为 0.100 和 0.218)比较有显著性差异(CC:OR=2.012,95%CI=1.460-2.772;TT:OR=0.399,95%CI=0.254-0.628, $P<0.05$),提示两种基因型与脑膜瘤的发生相关。两组间没有其它的基因型分布有显著性差异($P>0.05$)。实验组(0.450)C677T 中的 T 等位基因频率明显高于对照组(0.320)(OR=0.529,95%CI=0.420-0.666, $P<0.05$),提示 T 等位基因可能是脑膜瘤发生的一个保护性因子。两组人群中 A1298C 的等位基因分布没有统计学差别($P>0.05$)。

表 1 脑膜瘤与 MTHFR 多态性的相关性分析

Table 1 Correlative analysis of the MTHFR polymorphisms with meningioma

SNP	Genotype	Controls (320)		Cases(317)		P-Value	OR (95%CI)
		Genotype Count	frequency	Genotype Count	frequency		
C677T rs1801133	CC	159	0.497	101	0.319	<0.001	2.012(1.460-2.772)
	CT	129	0.403	147	0.464	0.123	0.781(0.571-1.069)
	TT	32	0.100	69	0.218	<0.001	0.399(0.254-0.628)
	C allele	447	0.698	349	0.550		
	T allele	193	0.302	285	0.450	<0.001	0.529(0.420-0.666)
A1298C rs1801131	AA	201	0.628	205	0.647	0.626	0.923(0.668-1.276)
	AC	98	0.306	96	0.303	0.925	1.016(0.725-1.424)
	CC	21	0.066	16	0.050	0.414	1.321(0.676-2.562)
	A allele	500	0.781	506	0.798		
	C allele	140	0.219	128	0.202	0.460	1.107(0.845-1.449)

3 讨论

脑膜瘤多起源于颅内的蛛网膜细胞,也可能来自硬膜成纤维细胞、软脑膜细胞等,是中枢神经系统第二大原发性肿瘤,同时是颅内最常见的良性肿瘤,约占颅内肿瘤的 20%^[6]。难以全部切除以及术后复发仍然是目前临床处理脑膜瘤的一大难题^[16-19]。既往研究已报道了 MTHFR 基因的两种多态性(C677T、

A1298C)与多种肿瘤的关联性,但其与中国北方人群脑膜瘤的相关性鲜有文献报道。因此,本研究旨在探讨 MTHFR 基因的两个突变位点与中国北方人群脑膜瘤的相关性。

MTHFR 是叶酸甲基化过程中的关键酶,可将 5,10- 甲基四氢叶酸还原为 5- 甲基四氢叶酸,为同型半胱氨酸转化成蛋氨酸提供甲基,并且是 DNA、蛋白质和神经传达因子等多种生物基质的甲基供体^[7-9]。蛋氨酸为人体内的必须氨基酸,蛋氨酸

合成受阻使蛋白质合成异常。MTHFR 可调节 DNA 的甲基化,而 DNA 的甲基化失常与肿瘤的发展有关联,并且叶酸代谢由于其通过降低 MTHFR 酶的活性而参与 DNA 的甲基化和核苷酸的合成^[10],MTHFR 在调节 5,10- 甲基四氢叶酸和 5- 甲基四氢叶酸的过程中起着重要的作用,而这两种物质都对肿瘤细胞的发生和发展过程中有潜在的影响^[14,15]。MTHFR 多态性在调节肿瘤发生和发展中的角色主要和叶酸的摄入有关。如果叶酸摄入不足量会使体内的叶酸水平下降,进而通过 677TT 基因型的保护作用使得肿瘤的患病风险增加。由于在中国北方,人们低摄入蔬菜和水果,使血清内叶酸浓度较正常人群略低。多态性和低叶酸浓度的双重作用可能会潜在的导致 DNA 低甲基化,进而引起肿瘤的发生^[11,12]。

C677T 突变是 MTHFR 基因第 4 外显子的叶酸结合部位发生了错义突变,即胸腺嘧啶(T)替换了胞嘧啶(C),使得编码的缬氨酸替代了丙氨酸。MTHFR 的另一个常见突变位点是 A1298C,位于 MTHFR 基因调节区域外显子 7 位点上,其编码的谷氨酸被丙氨酸取代。很多的证据证实 677TT 基因型是多种类型肿瘤的危险因子,包括 CNV 肿瘤,这与我们的实验结果是一致的^[13]。其它的调查显示出一些不同的调查结果: Bethke 发现 C677T 和 A1298C 两种基因型都会增加颅内原发肿瘤的患病率,并且 A1298C(OR=1.32,95%CI=1.04-1.66,P<0.05 对于脑膜瘤;OR=1.37,95%CI=1.08-1.73,P<0.05 对于胶质瘤)与脑膜瘤和胶质瘤都相关,作为两种肿瘤的一种保护性因子。Kafadar 发现 C677T 基因型与脑膜瘤之间没有关联性(P=0.755,0.783 和 0.638 对于 CC,CT 和 TT)。

本研究采用聚合酶联反应 - 限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法,检测 MTHFR C677T 及 A1298C 基因突变在人脑膜瘤患者中的频率,探讨了 MTHFR 基因多态性与脑膜瘤的关系。研究结果提示 MTHFR 基因的 C677T 中的 TT 等位基因具有潜在的易患脑膜瘤的风险,而 CC 等位基因会降低中国北方人群患脑膜瘤的机会,这为中国北方人群脑膜瘤的临床防治提供了一定的参考依据。

参考文献(References)

- [1] 周良辅主编.现代神经外科学[M].上海:复旦大学出版社,2011:429
Zhou liang-fu. Editor in chief. Modern neurosurgery [M]. Shanghai: Fudan university press, 2011:429
- [2] Chen L, Wang X, Wang H, et al. miR-137 is frequently down-regulated in glioblastoma is a negative regulator of Cox-2[J]. Eur J Cancer,2012,48(16):3104-3111
- [3] Moore LM, Zhang W. Targeting miR-21 in glioma: a small RNA with big potential[J]. Expert Opin Ther Targets,2010,14(11):1247-1257
- [4] Frosst P, Blom H J, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase [J]. Nat Genet,1995,10(1):111-113
- [5] Greco M, Chiriac F, Del BP, et al. A proteomic approach for the characterization of C677T mutation of the human methylenetetrahydrofolate reductase[J]. Proteomics, 2006,6(19):5350-5361
- [6] 司佩任, 房殿春, 张浩,等. 胃癌亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性及其与微卫星不稳定的关系 [J]. 中华流行病学杂志,2005,26(10):794-799
- [7] Si Pei-ren, Fang Dian-chun, Zhang Hao, et al. The relationship between methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and microsatellite instability in gastric cancer [J]. Chinese Journal Of Epidemiology, 2005,26(10):794-799
- [8] N Mtraoui, W Zammiti, Ghazouani. Methylenetetrahydro-folate reductase C677T and A1298C polymorphism and changes in homocysteine concentrations in women with idiopathic recurrent pregnancy losses[J]. Reproduction, 2006,131(2):395-401
- [9] Van der Put NM, Garbeels F, Stavens EM, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects?[J]. Am J Hum Genet, 1998,62(5):1044-1051
- [10] Weisberg I, Tran P, Christensen B, et al. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity [J]. Mol Genet Metab, 1998,64(3):169-172
- [11] Bethke L, Webb E, Murray A, et al. Functional polymorphisms in folate metabolism genes influence the risk of meningioma and glioma [J]. Cancer Epidemiol Biomark, 2008,17(5):1195-1202
- [12] Chen L, Han L, Zhang K, et al. VHL regulates the effects of miR-23b on glioma survival and invasion via suppression of HIF-1alpha/VEGF and beta-catenin/Tcf-4 signaling [J]. Neuro Oncol, 2012,14 (8):1026-1036
- [13] Ma R, Yan W, Zhang G, et al. Upregulation of miR-196b Confers a Poor Prognosis in Glioblastoma Patients via Inducing a Proliferative Phenotype[J]. PLoS ONE, 2012,7(6):38096
- [14] Safarinejad MR, Shafiei N, Safarinejad S. Genetic susceptibility of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene C677T, A1298C, and G1793A polymorphisms with risk for bladder transitional cell carcinoma in men[J]. Med Oncol, 2011,28 (Suppl. 1):S398-S412
- [15] Cui LH, Shin MH, Kim HN, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in patients with lung cancer in a Korean population[J]. BMC Med. Genet, 2011,12:28
- [16] Lu C, Xie H, Wang F, et al. Diet folate, DNA methylation and genetic polymorphisms of MTHFR C677T in association with the prognosis of esophageal squamous cell carcinoma[J]. BMC Cancer,2011,11:91
- [17] Ren Y, Kang CS, Yuan XB, et al. Co-delivery of as-miR-21 and 5-FU by poly(amidoamine) dendrimer attenuates human glioma cell growth in vitro [J]. Biomater Sci Polym Ed,2010,21(3):303-314
- [18] Shi L, Cheng Z, Zhang J, et al. The mechanism of apoptosis in human U87 glioma cells induced by miR-21 antisense oligonucleotide [J]. Chinese Journal of Medical Genetics, 2008,25(5):497-501
- [19] Zhou JY, Zhou C, Wang LL, et al. Influence of knockdown of miR-21 expression on the radiosensitivity of glioma SHG-44 cells[J]. Chinese Journal of Oncology, 2011,33(10):747-751
- [20] Zhou X, Zhang J, Jia Q, et al. Reduction of miR-21 induces glioma cell apoptosis via activating caspase 9 and 3 [J]. Oncol Rep,2010,24 (1):195-201