

亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性检测在肿瘤患者中的临床价值

余柳莹^{1,2}, 鲍 轶², 吴加元², 莫娟芬²

(1.蚌埠医学院研究生院, 安徽 蚌埠 233000; 2.嘉兴市第二医院, 浙江 嘉兴 314000)

摘 要: 亚甲基四氢叶酸还原酶 (methylenetetrahydrofolate reductase MTHFR) 是叶酸代谢、DNA 甲基化的关键酶。MTHFR 的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP), 包括 677 C→T 和 1298A→C 突变, 可使 MTHFR 酶活性下降, 从而影响细胞内叶酸的正常代谢。全文分析 MTHFR 基因多态性对叶酸代谢和 DNA 合成的影响及其在恶性肿瘤发生、诊治和预后的研究进展, 阐述恶性肿瘤患者中检测 MTHFR 基因多态性的价值及存在争议。

主题词: 亚甲基四氢叶酸还原酶; 单核苷酸多态性; 叶酸代谢; DNA 甲基化; 恶性肿瘤

中图分类号: R730.23 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2018)11-1103-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2018.11.B014

Detection of MTHFR Gene Polymorphism in Malignant Tumor Patients

YU Liu-ying^{1,2}, BAO Yi², WU Jia-yuan², MO Juan-fen²

(1. The Graduate School of Medical College Bengbu, Bengbu 233000, China;

2. The Second Hospital of Jiaxing, Jiaxing 314000, China)

Abstract: Methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR) is a key enzyme for folate metabolism and DNA methylation. The single nucleotide polymorphisms(SNP) of MTHFR, including 677 C→T and 1298A→C mutations, can decrease the enzymatic activity of MTHFR, thus affecting the normal metabolism of folic acid. In this article, we review the effects of MTHFR gene polymorphism on folic acid metabolism and DNA synthesis, and its roles in the development and prognosis of malignant tumors; and discuss its application in malignant tumor patients and the controversy related to the detection of MTHFR gene polymorphism.

Subject words: MTHFR; single nucleotide polymorphism; folic acid metabolism; DNA methylation; malignant tumor

亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)基因位于人类 1 号染色体短臂的末端(1p36.3), 其 cDNA 全长 2220 bp, 包括 11 个外显子和 10 个内含子^[1]。MTHFR 的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP), 包括 677 C→T 和 1298 A→C 突变, 可使 MTHFR 酶活性下降, 从而影响细胞内叶酸的正常代谢。研究表明 MTHFR SNP 与心脑血管卒中、高血压、胎儿神经管发育异常和肿瘤等多种疾病的发生和发展有着密切

相关性^[2]。本文将着重回顾 MTHFR 基因多态性对叶酸代谢和 DNA 合成的影响及其在恶性肿瘤发生、诊治和预后的研究进展。

1 MTHFR 基因多态性

MTHFR 基因主要存在单核苷酸 677 C→T 和 1298 A→C 突变, 并且在不同种族间有着较大的差异性^[3]。MTHFR 基因在 677 位点发生点突变, 在该位点上胸腺嘧啶(T)代替了胞嘧啶(C), 最终在蛋白翻译过程中, 由缬氨酸(Valine)替代了丙氨酸(Alanine)^[4], 造成酶活性下降。最近的一项研究提示 MTHFR677 C→T 纯合突变(TT 型)在中国汉族人群中大约占 15%, 杂合突变人群(CT 型)占 36%~40%^[5]。

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(LY16H070007); 浙江省医药卫生科技计划(2016KYB292); 浙江省中医药科学研究基金项目(2014ZB119); 嘉兴市科技局计划项目(2016AY23054)

通讯作者: 鲍轶, 副主任医师, 博士; 浙江省嘉兴市第二医院中心实验室, 浙江省嘉兴市环城北路 1518 号(314000); E-mail: ybao2011@gmail.com

收稿日期: 2017-08-09; **修回日期:** 2017-10-10

突变率在不同地域也存在轻度差异,如纯合突变(TT型)在中国西部大约11%,中部地区20%,东部地区约14%^[5]。综合世界各地数据,TT型纯合突变在人群中的发生率大约10%。对比野生型CC,杂合突变的MTHFR酶活性为野生型的60%,纯合突变其酶活性约是野生型的50%^[2]。另外,需要明确的一点是MTHFR SNP与MTHFR基因缺陷(MTHFR deficiency)不同,后者是一种常染色体隐性遗传病,MTHFR酶活性显著性降低(<20%),临床表现为婴幼儿神经系统发育异常及高同型胱氨酸血症(high homocysteine, HHcy)^[6]等严重的症状。

2 MTHFR 与叶酸代谢

叶酸是B族维生素,主要存在于绿叶蔬菜及草莓等水果中,必须通过饮食摄入获取。叶酸在体内的主要生物学功能是提供参与细胞代谢过程中的甲基基团,通过MTHFR关键酶的作用,将叶酸转化成5-甲基四氢叶酸,而5-甲基四氢叶酸也是血浆叶酸存在的重要形式。5-甲基四氢叶酸需要在维生素B12(VitB12)的共同作用下,提供甲基基团给同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy),使其转化为S-腺苷蛋氨酸,因此正常的叶酸代谢是保证细胞内各种甲基化过程的关键。当存在叶酸、VitB12摄入过低、吸收障碍或MTHFR酶活性存在缺陷等诱因时,都会使蛋氨酸循环发生异常,导致其中间产物Hcy升高,伴发HHcy^[7,8]。不过需要指出的是,并不是全部的Hcy都进入蛋氨酸循环,大约还有50% Hcy在胱硫醚合成酶(cystathionine synthetase)作用下合成胱硫醚(cystathionine),通过胱硫醚裂解酶(Cystathionine lyase)及VitB6的共同作用下形成半胱氨酸,最后的代谢产物为丙酮酸和水^[9]。

当MTHFR存在677CT或TT突变时,其转化叶酸至5,10-亚甲基四氢叶酸能力下降。脱氧尿苷酸(dUMP)合成脱氧胸苷酸(dTMP)是细胞核中DNA合成的限速步骤,需要5,10-亚甲基四氢叶酸提供甲基原料,5,10-亚甲基四氢叶酸减少导致细胞核dUMP增多,而dUTP减少,dUMP/dUTP的比例升高,大多数DNA聚合酶无法识别dUMP和dUTP,增加尿嘧啶错误插入水平。如果DNA合成中的错误无法被DNA修复系统识别,会破坏DNA的完整型,降

低DNA基因组的稳定性,最终会导致细胞变异的发生。另外,MTHFR酶活性降低,甲基转运的异常也会影响DNA甲基化修饰,因此低甲基化改变是原癌基因异常表达的机制之一。

3 MTHFR 基因多态性与肿瘤发生

MTHFR基因多态性与肿瘤发生的相关性研究也非常广泛。多项研究提示MTHFR基因多态性可能与多种恶性肿瘤,包括结直肠癌^[10,11]、肝癌^[12]、乳腺癌^[13-15]、卵巢癌^[16,17]等疾病的发生有关。

对台湾结直肠癌患者498例的一项研究中发现,在用氟尿嘧啶(5-Fu)基础治疗下,MTHFR677CT+TT基因型患者的总生存期(overall survival, OS)明显优于677CC基因型($P=0.03$),表明MTHFR677T杂合及纯合突变可以预测患者的良好预后,有更长的OS^[10]。该项研究也发现,1298C杂合型和纯合型与直肠癌患者OS呈负相关。但是MTHFR 677 C→T多态性如何影响5-Fu化疗患者预后尚无明确机制研究。有报道称MTHFR SNP降低了某些肿瘤风险,MTHFR多态性降低了结肠癌发生的风险^[11]。对天津汉族肝细胞癌患者2511例进行分析,MTHFR677T的TT基因型和T杂合型基因可能会对从HBV感染进展到肝细胞癌的患者产生保护作用,特别是在这个基因高患病率的男性人群中^[12]。

不过,一项巴西散发性乳腺癌(breast cancer, BC)女性患者253例与对照257人的研究表明,MTHFR基因多态性并不是BC的一个危险因素,不会改变BC的发生率,但MTHFR677T和A1298C基因多态性与乳腺癌远处转移的发生及预后有相关性^[13]。但另一项报道显示,在中国人群中,MTHFR677TT基因型增加了BC的风险^[14]。上述两项研究结果不一致,可能与入组人群不同有关。对于治疗而言,Yang等^[15]的研究认为,MTHFR677TT基因型的乳腺癌患者对化疗的反应更好,这对于指导个体化治疗方面有很大的价值。一项荟萃分析表明,在亚洲人群中,MTHFR677T多态性与卵巢癌的患病风险有强相关性,但在高加索人群中两者无明显相关性。MTHFR677T多态性可能是亚洲人群卵巢癌发生的一个危险因素^[16]。

MTHFR677T多态性也曾被报道与急性淋巴

细胞性白血病有相关性,被认为可能是一个诊断急性淋巴细胞性白血病很有前景的生物标志物^[17]。除此之外,也有报道提示 MTHFR 基因多态性促进头颈部恶性肿瘤^[18]、口腔癌^[19]、食管癌、胃癌^[15]、前列腺癌的发生。

MTHFR 的基因多态性导致肿瘤的发生被认为与以下几个方面相关:①MTHFR 酶与叶酸代谢过程密不可分,MTHFR C677T 多态性会影响酶的热稳定性,导致酶的活性降低,当 MTHFR 酶活性降低或者存在缺陷时,影响了基因特异性甲基化的过程,导致甲基化传递异常,DNA 合成过程发生错误率增加,修复功能破坏,产生致癌作用。同时 DNA 异常甲基化自身也在癌症中扮演十分重要的角色。②MTHFR 的基因多态性会使蛋氨酸循环的中间产物同型半胱氨酸升高,同型半胱氨酸被认为是肿瘤的独立危险因素^[20]。同时,MTHFR 的基因多态性与化疗药物的反应性也有一定的相关性,可能是化疗药物涉及叶酸代谢通路的一些方面,具体机制有待更详细的研究。

4 MTHFR 基因多态性检测价值及争议

MTHFR 基因存在突变时,叶酸代谢异常,Hcy 再甲基化障碍,从而导致 Hcy 升高,甲基化异常及 DNA 合成和修复异常。因此对于肿瘤高危人群检测,早期干预叶酸代谢是否可以降低肿瘤的发病率?恶性肿瘤患者存在 HHcy,或者 MTHFR 基因存在 CT 型或 TT 型多态性时,是否需要补充叶酸?

根据 Kennedy 等^[21]报道 MTHFR C677CT、TT 型人群补充大剂量叶酸后降低了大肠癌的风险。而另一项荟萃分析 13 项随机对照研究,通过 50 000 人大样本人群预防性使用叶酸 5 年后,并没有发现叶酸的使用可以增加或降低癌症发生的风险,包括结肠癌^[22],因此数据间存在不一致性,而且在中国人群中缺乏大样本数据的前瞻性研究,目前无法给出结论,需要多中心参与,并且区分人群,首先检测 MTHFR 多态性及 Hcy 水平,选择入组人群。

肿瘤细胞也必须将叶酸作为合成胸腺嘧啶、腺嘌呤和鸟嘌呤三种核苷酸的原料,用于 DNA 合成及完成肿瘤细胞有丝分裂和增殖,而肿瘤细胞增长快,可能加剧叶酸的消耗,导致叶酸相对缺乏。理论上存在 MTHFR CT 和 TT 型的患者,叶酸代谢过程中间

产物 Hcy 增加,血浆中 Hcy 水平升高。不过目前存在的问题是肿瘤 HHcy 是否要采取防止血栓的措施。恶性肿瘤患者常存在静脉血栓风险,目前较为认可的机制包括:血液的高凝状态、大部分恶性肿瘤患者存在慢性系统性凝血机制的激活,肿瘤细胞通过间接刺激机体的造血系统,包括单核细胞、血小板、血管内皮细胞,同时肿瘤患者的低蛋白血症也是引起血液高凝的诱因之一;第二,血流速率的降低,导致静脉血流瘀滞,特别是存在恶性肿瘤骨破坏需要长期卧床的患者;第三,血管内皮损伤,血管壁的重构等也是肿瘤患者易引起凝血功能激活的机制^[23]。而根据前面 Hcy 对凝血功能的影响,提示也能通过氧自由基造成血管内皮损伤,激活凝血因子,加剧血小板聚集,因此是否需要加用叶酸, VitB12 降低外周血浆中的 Hcy,而起到减轻肿瘤患者血栓风险?不过,值得思考的一点是,有研究认为通过限制肿瘤细胞叶酸的获取或抑制叶酸的代谢过程,可以作为治疗肿瘤的策略之一^[24]。正如事物存在两面性,如何兼顾值得后续研究。

对于肿瘤患者,HHcy 患者是否需要检测 MTHFR C677T SNP,目前没有相关指南的推荐及证据级别高的研究,更多的是处于临床研究阶段,不应该作为常规检查项目用于临床。事实上,在欧美国家临床医生经常会把检测 MTHFR 基因多态性作为常规检测,用此作为发生血栓性疾病风险的判断指标之一。不过也有学者认为可能是由于商业过度推广,因为无高级别证据证明 MTHFR 单核苷酸基因多态性与血栓的形成直接相关,从而认为临床上对于评估血栓风险时,并不需要常规检测 MTHFR SNP^[8]。

在肿瘤的研究中,MTHFR 多态性提示与预后及化疗疗效具有一定的相关性。比如,一项儿童急性淋巴瘤的荟萃研究提示 MTHFR C677T SNP 中存在至少一个 T 拷贝时,增加了患儿的死亡率,因此认为 MTHFR C677T SNP 的检测对个体化的治疗及预后评估有一定价值^[25]。在研究恶性肺间皮瘤患者使用培美曲塞化疗时,MTHFR 基因多态性未能显示预测化疗药物疗效的价值^[26],而在结肠癌使用 5-Fu 的结肠癌患者获得了更好的疗效及延长了 OS^[10,27]。因此在肿瘤患者检测 MTHFR 基因的多态性也获得了一定临床数据支持,认为其与一些药物疗效具有相关性,特别是和叶酸代谢相关的药物,如培美曲塞、5-

Fu 及甲氨蝶呤等。

总之, MTHFR 基因多态性对于肿瘤的发生、治疗和预后有一定的相关性, 值得关注。但是现有的数据都仅限于临床研究, 尚无证据支持在临床实践工作中常规对肿瘤高风险人群或肿瘤患者开展检测。

肿瘤发生是一个多因素、多环节、多基因综合的过程。分析 MTHFR 基因多态性与肿瘤易感之间的相关性, 可能有助于对潜在恶性肿瘤患者进行早期监控及干预, 此外, 不同 MTHFR 基因型对化疗药物的反应存在差异, 可能可作为独立的预测指标, 用于个体化治疗药物选择和判断预后等作用。

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] Liew SC, Gupta ED. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases [J]. *Eur J Med Genet*, 2015, 58(1): 1–10.
- [3] Wilcken B, Bamforth F, Li Z, et al. Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide [J]. *J Med Genet*, 2003, 40(8): 619–625.
- [4] Rosenberg N, Murata M, Ikeda Y, et al. The frequent 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism is associated with a common haplotype in whites, Japanese, and Africans [J]. *Am J Hum Genet*, 2002, 70(3): 758–762.
- [5] Yang B, Fan S, Zhi X, et al. Geographical and ethnic distribution of MTHFR gene polymorphisms and their associations with diseases among Chinese population [J]. *Clin Genet*, 2017, 92(3): 243–258.
- [6] Burda P, Schafer A, Suormala T, et al. Insights into severe 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase deficiency: molecular genetic and enzymatic characterization of 76 patients [J]. *Hum Mutat*, 2015, 36(6): 611–621.
- [7] Blom HJ, Smulders Y. Overview of homocysteine and folate metabolism with special references to cardiovascular disease and neural tube defects [J]. *J Inher Metab Dis*, 2011, 34(1): 75–81.
- [8] Long S, Goldblatt J. MTHFR genetic testing: controversy and clinical implications [J]. *Aust Fam Physician*, 2016, 45(4): 237–240.
- [9] Selhub J. Homocysteine metabolism [J]. *Annu Rev Nutr*, 1999, 19(6): 217–246.
- [10] Yeh CC, Lai CY, Chang SN, et al. Polymorphisms of MTHFR C677T and A1298C associated with survival in patients with colorectal cancer treated with 5-fluorouracil-based chemotherapy [J]. *Int J Clin Oncol*, 2017, 22(3): 484–493.
- [11] Zacho J, Yazdanyar S, Bojesen SE, et al. Hyperhomocysteinemia, methylenetetrahydrofolate reductase C677C>T polymorphism and risk of cancer: cross-sectional and prospective studies and meta-analyses of 75,000 cases and 93,000 controls [J]. *Int J Cancer*, 2011, 128(3): 644–652.
- [12] Jiao X, Luo Y, Yang B, et al. The MTHFR C677T mutation is not a risk factor recognized for HBV-related HCC in a population with a high prevalence of this genetic marker [J]. *Infect Genet Evol*, 2017, 49: 66–72.
- [13] Rezende LM, Marson FA, Lima CS, et al. Can MTHFR C677T and A1298C polymorphisms alter the risk and severity of sporadic breast cancer in Brazilian women? [J]. *Clin Breast Cancer*, 2017, 17(4): e199–e208.
- [14] Lu Q, Jiang K, Li Q, et al. Polymorphisms in the MTHFR gene are associated with breast cancer risk and prognosis in a Chinese population [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(5): 3757–3762.
- [15] Yang L, Wang XW, Zhu LP, et al. Relationship between genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and breast cancer chemotherapy response [J]. *Genet Mol Res*, 2016, Sep 23.
- [16] He L, Shen Y. MTHFR C677T polymorphism and breast, ovarian cancer risk: a meta-analysis of 19260 patients and 26364 controls [J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10: 227–238.
- [17] Zhang B, Zhang W, Yan L, et al. The association between MTHFR gene C677T polymorphism and all risk based on a meta-analysis involving 17469 subjects [J]. *Clin Chim Acta*, 2017, 466: 85–92.
- [18] Galbiatti AL, Ruiz MT, Maniglia JV, et al. Head and neck cancer: genetic polymorphisms and folate metabolism [J]. *Braz J Otorhinolaryngol*, 2012, 78(1): 132–139.
- [19] Ferlazzo N, Currò M, Zinellu A, et al. Influence of MTHFR genetic background on p16 and MGMT methylation in oral squamous cell cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(4): pii: E724.
- [20] Györfi B, Bottai G, Fleischer T, et al. Aberrant DNA methylation impacts gene expression and prognosis in breast cancer subtypes [J]. *Int J Cancer*, 2016, 138(1): 87–97.
- [21] Kennedy DA, Stern SJ, Matok L, et al. Folate intake, MTHFR polymorphisms, and the risk of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Cancer Epidemiol*, 2012, 2012: 952508.
- [22] Vollset SE, Clarke R, Lewington S, et al. Effects of folic acid supplementation on overall and site-specific cancer incidence during the randomised trials: meta-analyses of data on 50,000 individuals [J]. *Lancet*, 2013, 381(9871): 1029–1036.
- [23] Falanga A, Zacharski L. Deep vein thrombosis in cancer: the scale of the problem and approaches to management [J]. *Ann Oncol*, 2005, 16(5): 696–701.
- [24] Miller JW, Ulrich CM. Folic acid and cancer—where are we today [J]. *Lancet*, 2013, 381(9871): 974–976.
- [25] Ojha RP, Gurney JG. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and overall survival in pediatric acute lymphoblastic leukemia: a systematic review [J]. *Leuk Lymphoma*, 2014, 55(1): 67–73.
- [26] Powrózek T, Kowalski DM, Krawczyk P, et al. Correlation between TS, MTHFR, and ERCC1 gene polymorphisms and the efficacy of platinum in combination with pemetrexed first-line chemotherapy in mesothelioma patients [J]. *Clin Lung Cancer*, 2014, 15(6): 455–465.
- [27] Wu NC, Su SM, Lin TJ, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and fluorouracil-based treatment in Taiwan colorectal cancer [J]. *Anticancer Drugs*, 2015, 26(8): 888–893.