

武汉地区 353 例体检者 MTHFR C677T 基因多态性分布

任玮, 李艳, 童永清, 姜树朋

武汉大学人民医院检验科, 湖北 武汉 430060

摘要: **目的** 研究武汉地区 353 例体检者亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR) C677T 基因多态性的分布。 **方法** 采用 PCR-芯片杂交法检测 2015 年 4-8 月武汉大学人民医院体检中心 353 例体检者 MTHFR C677T 基因型。根据体检者的性别和年龄特征分析 MTHFR C677T 基因型和等位基因频率分布特点, 并与其他地区汉族健康体检人群的数据进行比较。 **结果** 体检人群 MTHFR 677CC、677CT、677TT 基因型频率分别为 36.3% (128/353)、48.4% (171/353) 和 15.3% (54/353), 677T 等位基因频率为 39.5%。男性和女性体检者的 MTHFR C677T 基因型分布差异无统计学意义 ($P=0.802$)。不同年龄组(除年龄 70~岁组外)中, 677CT 基因型均为优势基因型, 所占比例分别为年龄 ~30 岁组 47.9%、30~岁组 43.2%、50~岁组 55.7%。各年龄组间的 MTHFR C677T 基因型分布差异无统计学意义 ($P=0.120$)。与北京和青岛地区健康体检人群相比, 武汉地区 MTHFR C677T 基因型和等位基因频率分布差异有统计学意义 ($P<0.05$)。 **结论** 武汉地区 353 例体检者 MTHFR C677T 基因多态性分布不受性别和年龄的影响, 但具有地域特异性。

关键词: 亚甲基四氢叶酸还原酶; 基因多态性; 基因型分布; 体检人群

中图分类号: R34 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2016)08-1007-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2016.08.036

Distribution of MTHFR C677T gene polymorphism among 353 physical examinees in Wuhan region

REN Wei, LI Yan, TONG Yong-qing, JIANG Shu-peng

Department of Clinical Laboratory, the People's Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China

Corresponding author: LI Yan, E-mail: yanlitf1120@163.com

Abstract: **Objective** To explore the distribution of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T gene polymorphism among 353 physical examinees in Wuhan region. **Methods** PCR chip-hybridization was used to detect MTHFR C677T genotypes in 353 physical examinees from Physical Examination Center, the People's Hospital of Wuhan University from April to August 2015. According to the characteristics of gender and age of physical examinees, the distribution features of MTHFR C677T genotype and allele frequencies were analyzed, and then compared with the data about the Han ethnic physical examinees in other cities in China. **Results** Among the 353 physical examinees, MTHFR 677CC, 677CT and 677TT genotype frequencies were 36.3% (128/353), 48.4% (171/353) and 15.3% (54/353) respectively, and MTHFR 677T allele frequency was 39.5%. No statistically significant difference was found in the genotype distribution of MTHFR C677T between males and females ($P=0.802$). Among different age groups (except the age group of ≥ 70 years), MTHFR 677CT genotype was predominant and its genotype frequencies in the group of < 30 years, the group of ≥ 30 years and the group of ≥ 50 years were 47.9%, 43.2% and 55.7% respectively. No statistically significant difference was found in the genotype distribution of MTHFR C677T among different age groups ($P=0.120$). As compared with the Han ethnic physical examinees in Beijing and Qingdao regions, there were statistically significant differences in the distribution of MTHFR C677T genotype and allele frequencies in Wuhan region ($P<0.05$). **Conclusions** The distribution of MTHFR C677T gene polymorphism among the 353 physical examinees in Wuhan region is not affected by gender and age, but shows regional specificity.

Key words: Methylenetetrahydrofolate reductase; Gene polymorphism; Genotype distribution; Physical examinees

基金项目: 国家重点临床专科建设项目(财社[2010]305号)

作者简介: 任玮(1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 病原体的分子诊断。

通讯作者: 李艳, E-mail: yanlitf1120@163.com。

亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)是参与体内叶酸-甲硫氨酸循环的关键酶, 催化 5,10-亚甲基四氢叶酸还原为 5-甲基四氢叶酸。5-甲基四氢叶酸是体内叶酸的活体形式, 参与核酸的合成, DNA、蛋白质、神经

递质和脂质的甲基化以及同型半胱氨酸再甲基化生成甲硫氨酸^[1]。MTHFR C677T 是最常见的多态位点。研究发现,677TT、677CT 基因型的 MTHFR 活性相对于 677CC 基因型分别降低了 70%和 35%^[2]。而 MTHFR 活性的降低与 DNA 的低甲基化、高同型半胱氨酸血症密切相关^[3],是神经管缺陷^[4]、复发性自然流产^[5]、冠心病^[6]、胃癌^[7]等多种疾病的危险因素。已有多项研究表明,在不同国家和地区,MTHFR C677T 多态性分布存在群体差异,这种差异可能造成人群对疾病的易感性不同^[8-9]。本研究通过对武汉地区 353 例体检者的 MTHFR 分子流行病学的调查,旨在阐明相关遗传标记在本地区人群的分布特征,为个体化健康干预提供科学依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象 收集 2015 年 4-8 月武汉大学人民医院体检中心所有体检者 353 例,其中男 211 例,女 142 例,年龄 17~93 岁(中位年龄为 44 岁)。所有研究对象都没有重复纳入。

1.2 主要试剂及仪器 血液 DNA 提取试剂盒(BST01051 上海百傲公司);MTHFR (C677T) 基因检测试剂盒(上海百傲公司);PCR 扩增仪(美国伯乐 T100 型梯度 PCR 仪);BaiO[®] e-Hyb 全自动杂交仪(BSE03011 上海百傲公司);BaiO[®] BE-2.0 生物芯片识读仪(BSE01011 上海百傲公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 模板 DNA 的提取 采集各研究对象静脉血 2 ml,EDTA 抗凝,按照上海百傲公司提供的血液 DNA 提取试剂盒说明书提取 200 μl 静脉血中的基因组 DNA。

1.3.2 样本扩增 采用 PCR-芯片杂交法检测 MTHFR C677T 基因多态性,所用仪器为美国伯乐公司 T100 型梯度 PCR 仪。PCR 扩增反应体系 25 μl:2 μl DNA 模板(10~60 ng/μl),22 μl MTHFR 扩增液(氯化钾,Tris-HCl 缓冲液,氯化镁,<0.001% dNTP,<0.001% MTHFR 基因特异引物,0.1% TMS),1 μl 反应液 A(Taq 酶,UNG 酶)。反应条件:50 ℃ 预处理 5 min;94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 25 s,56 ℃ 退火 25 s,72 ℃ 延伸 25 s,共 35 个循环;再 72 ℃ 延伸 5 min。

1.3.3 基因型检测 按照 MTHFR (C677T) 基因检测试剂盒说明书检测基因型,所用仪器为上海百傲公司 BaiO[®] e-Hyb 全自动杂交仪和 BaiO[®] BE-2.0 生物芯片识读仪。取 PCR 扩增产物 10 μl,加入 190 μl 杂交缓冲液中。依照杂交显色试剂盒说明书操作,在

BaiO[®] e-Hyb 全自动杂交仪进行杂交反应。杂交反应结束后,在 BE-2.0 生物芯片识读仪上读取 MTHFR 基因芯片,用 BaiO[®] 基因芯片图像分析软件 V2.0 进行图像扫描与数据分析,确定各样本的 MTHFR 基因型。

1.3.4 质量控制 血液 DNA 提取操作过程严格要求进行,均使用一次性无菌枪头和离心管。所有试剂和标本加样前均充分混匀。提取的 DNA 样本均检测 DNA 含量,保证浓度和纯度。基因型测定操作中设立阳性和阴性对照。

1.4 统计学分析 采用 SPSS19.0 软件进行统计学分析。计数资料采用率表示,各基因型及等位基因频率在不同性别、年龄和地区间的差异采用 R×C 列表的 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MTHFR C677T 基因分型结果 基因组样本经 PCR-芯片杂交法反应后,所得结果利用分析软件确定各样本基因型,见图 1。

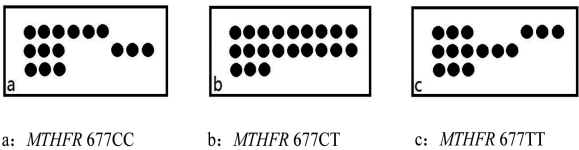


图 1 MTHFR C677T 基因分型结果

2.2 体检人群 MTHFR C677T 基因多态性分布 经 χ^2 检验,研究对象基因型分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡($\chi^2 = 0.063, P = 0.802$)。体检人群 MTHFR 677CC、677CT 和 677TT 基因型频率分别为 36.3% (128/353)、48.4% (171/353) 和 15.3% (54/353), 677T 等位基因频率为 39.5%。男性和女性体检者的 MTHFR C677T 位点的基因型频率分布差异无统计学意义($\chi^2 = 1.327, P = 0.515$),见表 1。

表 1 武汉市男性和女性体检者 MTHFR C677T 位点基因型频数和频率分布(例,%)

性别	例数	677 位点		
		CC	CT	TT
男	211	76(36.0)	99(46.9)	36(17.1)
女	142	52(36.6)	72(50.7)	18(12.7)
合计	353	128(36.3)	171(48.4)	54(15.3)

2.3 不同年龄组 MTHFR C677T 基因多态性分布情况 各组 MTHFR C677T 基因多态性分布特征见表 2 和图 2。不同年龄组(除年龄 70~岁组外)中,677CT 基因型均为优势基因型,所占比例分别为年龄~30 岁组 47.9%、30~岁组 43.2%、50~岁组 55.7%。各年龄组内 MTHFR C677T 位点的基因型频率分布差异无统

计学意义($\chi^2=10.116, P=0.120$)。

表2 武汉市不同年龄组体检者 MTHFR C677T 位点基因型频数和频率分布(例,%)

年龄组 (岁)	例数	677 位点		
		CC	CT	TT
~30	73	28(38.4)	35(47.9)	10(13.7)
30~	148	62(41.9)	64(43.2)	22(14.9)
50~	122	36(29.5)	68(55.7)	18(14.8)
70~	10	2(20.0)	4(40.0)	4(40.0)

2.4 MTHFR C677T 基因型和等位基因频率在不同地区汉族健康体检人群中的比较 见表3。武汉地区体检人群 MTHFR C677T 基因型和等位基因频率分布,

表3 不同地区汉族健康体检者 MTHFR C677T 基因型、等位基因频数和频率分布(例,%)

地区	677 位点			χ^2 值	P 值	677 位点		χ^2 值	P 值
	CC	CT	TT			C	T		
武汉(本研究)	128(36.3)	171(48.4)	54(15.3)			427(60.5)	279(39.5)		
北京 ^[10]	144(16.1)	424(47.5)	324(36.3)	83.717	0.00	712(39.9)	1072(60.1)	86.247	0.00
青岛 ^[11]	11(12.8)	42(48.8)	33(38.4)	30.612	0.00	64(37.2)	108(62.8)	30.389	0.00
西安 ^[12]	26(27.1)	53(55.2)	17(17.7)	2.823	0.24	105(55.9)	87(45.3)	2.099	0.15

注:文中统计量值和 P 值为本研究数据与相应行所在地区的比较所得。

3 讨论

人类的 MTHFR 基因位于染色体 1p36.3^[13],目前已发现该基因突变位点近 20 多个^[14],其中 C677T 是最常见且研究最多的突变位点。MTHFR 第 677 位核苷酸胞嘧啶(C)被胸腺嘧啶(T)取代后,导致氨基酸 222 位丙氨酸被缬氨酸代替,使酶活性显著降低,引起体内叶酸水平降低以及同型半胱氨酸水平升高^[3,15]。多数研究支持,MTHFR 基因多态性与神经管缺陷、复发性自然流产、冠心病等疾病密切相关,也是结直肠癌、胃癌、食管癌、乳腺癌等肿瘤的易感基因^[4-6,16-18]。MTHFR 活性下降直接影响 5,10-亚甲基四氢叶酸水平升高,进而可增强 5-氟尿嘧啶的抗肿瘤活性^[19]。Shitara 等^[20]研究证实,日本人群 677TT 基因型可显著提高胃癌患者对 5-氟尿嘧啶的敏感性。但是,陆建伟等^[21]研究表明,胃癌患者接受 5-氟尿嘧啶为基础的化疗后,其中 677TT 基因型出现化疗毒性率明显高于其他基因型。因此,MTHFR C677T 基因多态性的检测对多种疾病风险、肿瘤易感性、化疗药物疗效和毒副反应的个体化预防和治疗具有重要意义。

本研究通过对 353 例体检者 MTHFR C677T 基因分型发现,677CT 型为优势基因型,占 48.4%;其次是 677CC 型,占 36.3%;而 677TT 型仅占 15.3%。比较男

与北京^[10]和青岛^[11]地区差异均有统计学意义($P<0.05$),与西安^[12]地区差异均无统计学意义(基因型 $P=0.24$,等位基因 $P=0.15$)。

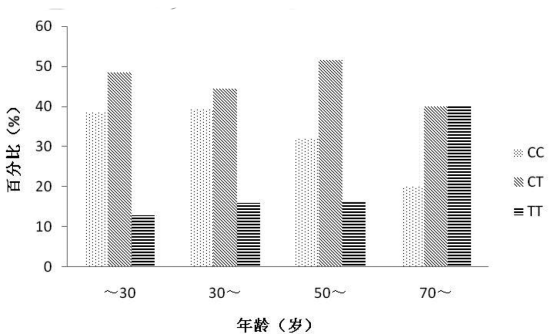


图2 不同年龄段 MTHFR C677T 基因多态性分布

性和女性体检者 MTHFR C677T 基因型频率分布差异无统计学意义($P=0.802$)。不同性别、年龄组(除年龄 70~岁组外)中,677CT 基因型均为优势基因型,男性、女性体检者中分别占 46.9%、50.7%,年龄~30 岁组、30~岁组、50~岁组中分别占 47.9%、43.2%、55.7%。但是年龄 70~岁组中,677CT 和 677TT 基因型所占比例相等,均高于 677CC 型,这可能是此年龄组的样本量较少引起。本研究显示,677T 等位基因总频率为 39.5%,这与西安地区汉族健康体检人群 MTHFR 677T 等位基因频率 45.3%相比,差异无统计学意义($P=0.15$),但与北京、青岛地区汉族健康体检人群 MTHFR 677T 等位基因频率 60.1%、62.8%相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。因此,本地区 MTHFR C677T 位点多态性分布不受性别和年龄的影响,但具有地域特征。

综上所述,由于体内叶酸浓度受遗传因素、环境因素以及营养因素的共同影响^[22],MTHFR C677T 基因多态性用于预测疾病发生、化疗疗效和毒副反应的价值有限,它是独立的危险因素,但并不是唯一因素。因此,在制定人群健康干预方案时需要综合考虑当地人群的遗传因素、环境因素以及营养因素等情况,但不能忽略遗传这一重要因素。通过 MTHFR C677T 的分子流行病学调查,有助于了解武汉市体检人群的遗传特

湖南省“十三五”卫生人力资源需求的预测研究

黄睿, 宁佩珊, 胡国清

中南大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系, 湖南 长沙 410078

摘要: **目的** 利用现有政府公布的统计数据, 建立三种预测模型, 预测 2016–2020 年湖南省卫生人力资源配置的需求情况。**方法** 利用湖南省卫生统计摘要中收集的 2002–2013 年湖南省医院人员数、执业医师数、执业助理医师数及护士数, 采用 SPSS 21.0、SAS 9.2 和 Excel 2007 构建、拟合和评估线性回归模型、曲线回归模型和灰色模型, 从中选择最优拟合模型, 对 2016–2020 年湖南省医院所需的医院人员、执业医师、执业助理医师和护士人数进行预测。**结果** 采用预测模型灰色模型 ($\bar{e} \pm s(\%) = 2.99 \pm 2.15$), 指数模型 ($\hat{Y} = 2.29E - 40 \times e^{0.05x}$), 线性模型 ($\hat{Y} = -4.93E7 + 24\ 643.75x$), 灰色模型 ($\hat{Y}(t) = 439\ 123.94 \times e^{0.10(t-1)} - 386\ 044.94$) 对 2016–2020 年湖南省医院人员数等卫生人力资源需求情况进行科学预测。预测结果为 2016–2020 年湖南省医院人员数、执业医师数、注册护士人数逐年增长, 到 2020 年, 医院人员数达到 331 775 人, 比 2013 年增长 49.1%, 执业医师数达到 131 203 人, 比 2013 年增长 39.4%, 注册护士数达到 272 352 人, 比 2013 年增长 116.6%。但执业助理医师数所需人数 2020 年为 24 644 人, 比 2013 年减少 35.2%。**结论** 2016–2020 年湖南省卫生人力资源所需数量呈逐年增加趋势, 该预测结果可为湖南省“十三五”规划期间卫生人力资源的配置提供科学的参考依据。

关键词: 湖南省; 十三五; 卫生人力资源; 需求; 预测

中图分类号: R197 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2016)08-1010-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2016.08.037

基金项目: 湖南省卫生和计划生育委员会“十三五”规划研究课题

作者简介: 黄睿 (1980–), 男, 湖南吉首人, 硕士研究生, 主治医师, 主要从事卫生管理工作。

通讯作者: 胡国清, E-mail: huguoqing@csu.edu.cn。

征, 同时也需要更多的比较分析与其他因素的关联, 以便为人群健康干预方案提供科学依据。

参考文献

- [1] Kim SY, Park SY, Choi JW, et al. Association between MTHFR 1298A>C polymorphism and spontaneous abortion with fetal chromosomal aneuploidy[J]. Am J Reprod Immunol, 2011, 66(4): 252–258.
- [2] Zetterberg H, Regland B, Palmér M, et al. Increased frequency of combined methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C mutated alleles in spontaneously aborted embryos[J]. Eur J Hum Genet, 2002, 10(2): 113–118.
- [3] 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.
- [4] Zhang T, Lou J, Zhong R, et al. Genetic variants in the folate pathway and the risk of neural tube defects: a meta-analysis of the published literature[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e59570.
- [5] Cao YL, Xu JH, Zhang ZF, et al. Association study between methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and unexplained recurrent pregnancy loss: a meta-analysis[J]. Gene, 2013, 514(2): 105–111.
- [6] Li YY. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T gene polymorphism and coronary artery disease in a Chinese Han population: a meta-analysis[J]. Metabolism, 2012, 61(6): 846–852.
- [7] Xia LZ, Liu Y, Xu XZ, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and gastric cancer susceptibility[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(32): 11429–11438.
- [8] Botto LD, Yang G. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review[J]. Am J Epidemiol, 2000, 151(9): 862–877.
- [9] Robien K, Ulrich CM. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and leukemia risk: a HuGE review[J]. Am J Epidemiol, 2003, 157(7): 571–582.
- [10] 冯琳琳, 张微, 张浩, 等. 体检人群血清同型半胱氨酸水平与 MTHFR C677T 基因型频率的调查[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(13): 2225–2229.
- [11] 张成森, 潘旭东, 刘翠薇. 西安地区汉族亚甲基四氢叶酸还原酶的两种基因多态性[J]. 第四军医大学学报, 2003, 24(7): 634–636.
- [12] 孙文萍, 万琪, 苏明权. 中国青岛汉族人群亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性分布研究[J]. 齐鲁医学杂志, 2005, 20(4): 310–312.
- [13] Govette 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.
- [14] 姜迪, 张慧杰, 张淑兰. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与宫颈癌的关系[J]. 国际妇产科学杂志, 2015, 42(1): 83–86.
- [15] Frosst P, Blom HJ, Milo 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.
- [16] 季枚, 蒋敬庭, 徐斌, 等. 亚甲基四氢叶酸还原酶 C677T 基因多态性对以 5-氟尿嘧啶为基础化疗的晚期胃癌患者生存期的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2013, 30(2): 242–244.
- [17] 毛仁芳, 范义辉, 白静, 等. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性及其与疾病的关系[J]. 国际遗传学杂志, 2007, 30(1): 39–44.
- [18] McKinnon PJ, Caldecott KW. DNA strand break repair and human genetic disease[J]. Annu Rev Genom Hum Genet, 2007, 8: 37–55.
- [19] Paz MF, Avila S, Fraga MF, et al. Germ-line variants in methyl-group metabolism genes and susceptibility to DNA methylation in normal tissues and human primary tumors[J]. Cancer Res, 2002, 62(15): 4519–4524.
- [20] Shitara K, Muro K, Ito S, et al. Folate intake along with genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase in patients with advanced gastric cancer[J]. Cancer Epidem Biom, 2010, 19(5): 1311–1319.
- [21] 陆建伟, 高长明, 吴建中, 等. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因 C677T 多态性与胃癌患者对 5-FU 化疗敏感性的关系[J]. 癌症, 2004, 23(8): 958–962.
- [22] 马路密, 鲁衍强, 李瑛, 等. 尚志市汉族女性 MTHFR 与 MTRR 基因多态性调查[J]. 实用预防医学, 2015, 22(3): 289–291.

收稿日期: 2015-12-19