

育龄妇女亚甲基四氢叶酸还原酶 (MTHFR) 基因 C677T, A1298C 位点多态性与 HR-HPV 感染的相关性研究

傅金瑞^a, 唐淑稳^b (天津市宝坻区人民医院 a. 检验科; b. 产科, 天津 301800)

摘要: 目的 探讨育龄妇女亚甲基四氢叶酸还原酶 (MTHFR) C677T, A1298C 基因多态性与高危型人乳头瘤病毒 (HR-HPV) 感染的相关性。方法 收集 2017 年 11 月 ~ 2019 年 12 月期间来天津市宝坻区人民医院孕检的育龄妇女所做 HR-HPV 及 MTHFR 多态性 (包括 C677T 和 A1298C) 检测的样本资料共 1 130 例, 比较 MTHFR 各代谢型之间 HR-HPV 的阳性率。结果 在 MTHFR 的三种代谢型中, 弱代谢型是 HR-HPV 优势型别 52 型 ($\chi^2=4.764$, $P=0.029$, OR=1.771, 95%CI: 1.054~2.975)、16 型 ($\chi^2=4.304$, $P=0.038$, OR=1.922, 95%CI: 1.027~3.599) 及多重感染 ($\chi^2=3.985$, $P=0.046$, OR=1.479, 95%CI: 1.005~2.176) 的易感型别。结论 MTHFR 代谢活性受 C677T 和 A1298C 位点基因的双重影响, 其中的弱代谢型是 HR-HPV 优势型别 52 型和 16 型, 以及多重感染的易感型别。

关键词: 亚甲基四氢叶酸还原酶; C677T; A1298C; 高危型人乳头瘤病毒

中图分类号: R373; Q786 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2021) 02-053-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2021.02.013

Study of the Relationship between MTHFR (C677T, A1298C) Polymorphism and HR-HPV Infection in Women of Childbearing Age

FU Jin-rui^a, TANG Shu-wen^b (a. Department of Laboratory Medicine; b. Department of Obstetrics, Baodi District People's Hospital of Tianjin City, Tianjin 301800, China)

Abstract: **Objective** To explore the relationship between MTHFR C677T and A1298C polymorphism and HR-HPV infection in women of childbearing age. **Methods** 1 130 women of reproductive age in Tianjin Baodi Hospital tested for MTHFR C677T and A1298C polymorphism and HR-HPV infection from November 2017 to December 2019 were enrolled, and the positivity of HR-HPV among three groups of the gene expression pattern for MTHFR were compared. **Results** The weak metabolic group of MTHFR were susceptible to the HPV dominant type 52 ($\chi^2=4.764$, $P=0.029$, OR=1.771, 95%CI: 1.054 ~ 2.975) and 16 ($\chi^2=4.304$, $P=0.038$, OR=1.922, 95%CI: 1.027 ~ 3.599) infection, and to HPV multiple infection as well ($\chi^2=3.985$, $P=0.046$, OR=1.479, 95%CI: 1.005 ~ 2.176). **Conclusion** C677T and A1298C polymorphism has a double effect on metabolic activity of MTHFR, and its weak metabolic group were susceptible to the HPV dominant type (52, 16) and HPV multiple infection.

Keywords: MTHFR; C677T; A1298C; HR-HPV

亚甲基四氢叶酸还原酶 (MTHFR) 是叶酸代谢通路的关键酶之一, 目前已发现 MTHFR 基因多态性位点有 20 余种, 以其中的 C677T 和 A1298C 多态性研究较多, 并证实会直接影响到体内叶酸、同型半胱氨酸等的水平, 引起新生儿神经管畸形、复发性流产、高血压等疾病^[1-2]。本研究通过检测 C677T 和 A1298C 多态性, 探讨 MTHFR 基因多态性与育龄女性高危型人乳头瘤病毒 (HR-HPV) 感染的相关性。

1 材料与方法

1.1 研究对象 于 2017 年 11 月 ~ 2019 年 12 月间来天津市宝坻区人民医院产科进行孕期或孕前体检的育龄女性中, 收集做 HR-HPV 和 MTHFR 多态性 (包括 C677T 和 A1298C) 检测的样本资料共 1 130

例, 平均年龄 24.07 (18~37) 岁, 排除患有遗传疾病或其他机体异常影响检测结果者。

1.2 仪器与试剂 HR-HPV 分型检测采用凯普生物化学有限公司的 HR-HPV 检测试剂盒及其配套的 HBM2 型核酸杂交仪; MTHFR C677T, A1298C 基因多态性检测采用西安金磁纳米生物技术有限公司试剂盒; 核酸扩增均使用宏石 SLAN96P 型扩增仪。

1.3 方法 HR-HPV 进行包括 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 66 和 82 等 15 种基因型的检测。采集标本时, 窥阴器暴露宫颈, 于宫颈口轻轻搓动宫颈刷使其顺时针旋转 3~5 圈, 慢慢取出将其放入装有细胞保存液的样品管中。如不能马上送检, 可暂于 4℃ 保存; 同时采集 EDTA 抗凝全血 2~3ml 进行 MTHFR C677T,

A1298C 基因多态性检测,血样本可于4℃保存5天;均依据试剂盒说明书进行检测和判断结果。收集符合条件样本的相关临床资料,进行 MTHFR 基因多态性与 HR-HPV 感染之间的相关性分析。

1.4 统计学分析 采用统计学软件 SPSS 17.0 进行数据处理与分析,多组间率的比较采用 $R \times C$ 列表 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 HR-HPV 感染和 MTHFR C677T 及 A1298C 多态性检测结果 见表1。所收集的1130例样本中,126例为HR-HPV多重感染(同时感染2个及以上型别),其中 MTHFR C677T 的 CC, CT, TT 型及 A1298C 的 AA, AC, CC 型分别为26, 60, 40例及88, 31, 7例; C677T 和 A1298C 基因多态性双重影响下 MTHFR 的代谢活性分为三种类型^[3],即正常、中间和弱代谢型。此126例样本中,正常代谢型中的 CCAA 型18例, CCAC 型8例;中间代谢型中的 CTAA 型37例, CTAC 型16例;弱代谢型中的 TTAA 型33例, TTAC 型7例, CTCC 型7例。其余1004例样本中,阳性者均为单病毒感染,HR-HPV 总阳性率为22.31% (224/1004);前三种优势型别依次是 HPV52 型6.37% (64/1004), 16 型4.18% (42/1004), 58 型1.89% (19/1004)。

表1 1004例样本 MTHFR 基因检测结果

类型	n	亚型	数量	百分率 (%) *
C677T	1004	CC	239	23.8
		CT	488	48.61
		TT	277	27.59
A1298C	1004	AA	682	67.93
		AC	302	30.08
		CC	20	1.99
正常代谢型	235	CCAA	164	23.41
		CCAC	71	
中间代谢型	481	CCCC	4	
		CTAA	332	47.91
		CTAC	145	
弱代谢型	288	TTAA	186	
		TTAC	86	28.69
		CTCC	11	
		TTCC	5	

注: * 均为占总例数(1004)的百分率。

2.2 MTHFR 基因多态性与 HR-HPV 感染相关性分析 见表2。在包含 HR-HPV 单病毒感染病例的1004例样本中, MTHFR 正常、中间、弱代谢型的 HR-HPV 阳性率分别为23.40% (55/235)、19.96% (96/481) 和25.35% (73/288), 相互之间差异无统计学意义。但就其中的优势型别52型或16型的感染率而言,若将弱代谢型与正常及中间代谢型比较,

差异均有统计学意义 [$\chi^2=4.764$, $P=0.029$, OR=1.771 (1.054~2.975); $\chi^2=4.304$, $P=0.038$, OR=1.922 (1.027~3.599)]。提示 MTHFR 的弱代谢活性增强了优势型别的易感性(处于优势型别第三位的58型因阳性例数过少故未作统计分析)。类似地,在正常、中间、弱代谢型, HR-HPV 单病毒感染与多重感染的阳性率分别为23.41% (235/1004) 和20.63% (26/126); 47.91% (481/1004) 和42.06% (53/126); 28.69% (288/1004) 和37.30% (47/126)。若在同一代谢型中比较 HR-HPV 单病毒感染与多重感染的阳性率差异,则在弱代谢型统计分析得 $\chi^2=3.985$, $P=0.046$, OR=1.479 (1.005 ~ 2.176), 提示弱代谢型也是多重感染的易感型别。

表2 HPV-52型及16型在 MTHFR 三种表现型中的阳性率比较

MTHFR 表现型	HPV-52 型			HPV-16 型		
	阳性	阴性	阳性率 (%)	阳性	阴性	阳性率 (%)
正常代谢型	12	223	5.11	7	228	2.98
中间代谢型	26	455	5.41	17	464	3.53
弱代谢型	26	262	9.03	18	270	6.25

3 讨论

目前有关 MTHFR 基因多态性与叶酸或同型半胱氨酸水平、胎儿唇裂、甲氨蝶呤化疗效果等之间关系的研究较为多见,且大多只检测 C677T 多态性,结论也比较一致^[4-6],认为 MTHFR 基因 C677T 和(或) A1298C 位点的突变与较高的血同型半胱氨酸水平、唇腭裂等胎儿出生缺陷以及宫颈癌的发生等密切相关。薛雄燕等^[7]收集均为 HPV-16 阳性的82例宫颈癌患者和82例对照者,发现与野生型(CC)相比, C677T 的突变纯合型(TT)可增加宫颈癌发生的危险 (OR = 3.485, 95%CI: 1.331~9.122), 周琰等^[8]发现在接受5-氟尿嘧啶化疗治疗的98例消化道肿瘤患者中, MTHFR 677C>T 突变型(CT 和 TT)显著增加了化疗相关毒副反应的发生风险($\chi^2=4.188$, $P<0.05$), 而 MTHFR 1298A>C 突变型(AC 和 AA)与此并无显著关联性。但有关 MTHFR 与 HPV 感染之间有无关联,国内研究较少,国外研究结论不尽一致。巴西研究者 SILVA 等^[9]收集宫颈上皮内瘤变(CIN)和宫颈鳞癌及对照组各30例,在 HPV-16 或其它型别 HR-HPV 感染率上,未发现两组间与 C677T 多态性有统计学差异。但是伊朗学者 HAJIESMAEIL 等收集96例宫颈癌和100例正常对照样本,发现 C677T 中的突变型(TT)对宫颈癌起防护作用, A1298C 中的突变型(CC)或者其与 C677T 中的野生型(CC)的组合(属于 MTHFR 中间代谢型)均可增加罹患宫颈癌的风险,同时也更

易于感染 HPV-16^[10]。事实上,仅检测 C677T 多态性,由此得出的结论可能存在偏差。宋娜等^[11]发现当 C677T-CC 合并 A1298C-CC 的时候,表达出的叶酸代谢能力是中间代谢型,这和单独检测 C677T-CC 时的正常型不一致;同样当 A1298C-CC 合并 C677T-CT 时,表达出的是弱代谢型,也和单独检测 C677T-CT 时的中间代谢型不一致。因此本课题联合检测 C677T 和 A1298C 多态性,以求得到更加客观的结论。

本课题所检测千余例样本, C677T 基因型以 CT (杂合)型为多见,占 48.61%; A1298C 基因型以 AA (野生纯合)型为多见,占 67.93%; MTHFR 代谢以中间型为多见,占 47.91%,又以其中的 CTAA 亚型为主。研究发现,在国内各地,尤其是在南北方之间,某些所述基因型的分布还是具有统计学差异的^[12-14],比如 C677T 基因位点的 TT 纯合突变型由北向南呈现出逐渐下降的趋势。经统计分析表明,在包含 HR-HPV 单病毒感染病例的 1 004 例样本中,虽然各代谢型之间 HR-HPV 阳性率无统计学差异,但相对于优势型别 52 型或 16 型而言,若将弱代谢型与正常及中间代谢型比较,则可发现弱代谢型是优势型别 52 型及 16 型的易感型别 (OR 值分别为 1.771 和 1.922)。并且,若在同一代谢型中比较 HR-HPV 单病毒感染与多重感染的阳性率差异,则发现弱代谢型同样是多重感染的易感型别 (OR 值 1.479)。究其原因,认为弱代谢型 (TTAA, TTAC, CTCC, TTCC),亦即 MTHFR 的弱代谢活性能够明显引起血清叶酸水平下降,引起 DNA 甲基化异常和 DNA 合成障碍,不但造成皮肤黏膜的损伤,影响其完整性和对病原微生物的抵抗力^[15],同时可能参与肿瘤的发生发展过程^[16-17]。本研究结果提示联合检测 C677T 和 A1298C 比单独检测 C677T 多态性能够更加客观地反映机体 MTHFR 的酶活性,联合检测的 MTHFR 弱代谢型可能是 HR-HPV 感染的优势病毒以及多重感染的易感型别,这为充分揭示叶酸代谢与皮肤黏膜病毒感染乃至转变为肿瘤之间的内在联系提供了新的理论依据,有助于更有效地防治 HPV 感染及其相关肿瘤的发生。

参考文献:

- [1] NASRI K, MIDANI F, KALLEL A, et al. Association of MTHFR C677T, MTHFR A1298C, and MTRR A66G polymorphisms with neural tube defects in Tunisian parents[J]. Pathobiology: Journal of Immunopathology, Molecular and Cellular Biology, 2019, 86(4): 190-200.
- [2] CASTIGLIA P, SANNA V, AZARA A, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T and A1298C polymorphisms in breast cancer: a Sardinian preliminary case-control study[J]. International Journal of Medical Sciences, 2019, 16(8): 1089-1095.
- [3] VAN DER PUT N M, GABREËLS F, STEVENS E M, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects[J]. American Journal of Human Genetics, 1998, 62(5): 1044-1051.
- [4] 李雅静,张瑞,吴欣,等. H 型高血压并发缺血性脑卒中患者 MTHFR C677T 基因多态性及血清 Hcy 水平的相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(2):9-13.
- [5] LI Yajing, ZHANG Rui, WU Xin, et al. Relationship between MTHFR C677T gene polymorphisms and serum Hcy level in H type hypertension with ischemic stroke[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019,34(2):9-13.
- [6] ZHANG Yuan, HE Xia, XIONG Xuan, et al. The association between maternal methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphism and birth defects and adverse pregnancy outcomes [J]. Prenatal Diagnosis, 2019, 39(1): 3-9.
- [7] 刘爽,宋再伟,易湛苗,等. 血液恶性肿瘤患者中 MTHFR 基因多态性与大剂量甲氨蝶呤血液毒性相关性的 Meta 分析 [J]. 中国药房, 2020, 31 (7): 850-858.
- [8] LIU Shuang, SONG Zaiwei, YI Zhanmiao, et al. Hematotoxicity correlation of MTHFR gene polymorphism with high-dose of methotrexate in hematological neoplasm patients: A meta-analysis[J]. China Pharmacy, 2020, 31(7):850-858.
- [9] 薛雄燕,朱端琳,潘练华,等. 叶酸水平、MTHFR 基因 C677T 多态性与宫颈癌的相关性研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2019,40(6):710-713.
- [10] XUE Xiongyan, ZHU Changlin, PAN Lianhua, et al. The relationship between Folate, MTHFR gene C677T polymorphism and cervical cancer[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2019,40(6):710-713.
- [11] 周琰,王蓓丽,张春燕,等. 消化道肿瘤患者 MTHFR 基因多态性与 5-氟尿嘧啶化疗不良反应的相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35 (3): 1-5, 38.
- [12] ZHOU Yan, WANG Beili, ZHANG Chunyan, et al. Relationship between MTHFR gene polymorphisms and adverse events by 5-FU in gastrointestinal cancer[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(3):1-5, 38.
- [13] SILVA N N T, ADRIANO S D P, TAFURI A, et al. Lack of association between methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism, HPV infection and cervical intraepithelial neoplasia in Brazilian women[J]. BMC Medical Genetics, 2019, 20(1): 100.
- [14] HAJIESMAEIL M, TAFVIZI F, SARMADI S. The effect of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms on susceptibility to human papilloma virus infection and cervical cancer[J]. Infection Genetics and Evolution, 2016, 46: 1-6.

- [11] 宋娜, 张丹, 苏滕艳, 等. MTHFR 基因 C677T, A1298C 双位点检测在男性不育症中的应用 [J]. 新疆医学, 2019, 49(4): 403-405.
SONG Na, ZHANG Dan, SU Tengyan, et al. Application of MTHFR gene C677T and A1298C double loci detection in male infertility [J]. Xinjiang Medical Journal, 2019, 49(4): 403-405.
- [12] 王飞霞, 丁丽丽, 邹爱民, 等. 陕西省汉族女性叶酸代谢相关酶基因多态性分布研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(1): 35-37.
WANG Feixia, DING Lili, ZOU Aimin, et al. Study on the distribution of gene polymorphism of folate metabolism-related enzyme gene among the han women in Shaanxi province [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29(1): 35-37.
- [13] 曹云, 周晓, 张晓艳, 等. 陕西省延安地区育龄女性 MTHFR 基因多态性和国内多地区相关报道比较分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(1): 62-66.
CAO Yun, ZHOU Xiao, ZHANG Xiaoyan, et al. Comparative analysis of MTHFR gene polymorphisms in women of childbearing age in Yan'an area of Shaanxi province and related reports in many regions in China [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(1): 62-66.
- [14] 黄娟娟, 岳红云, 张娟. MTHFR(C677T, A1298C 和 G1793A) 基因多态性对死胎的影响 [J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(1): 72-76.
HUANG Juanjuan, YUE Hongyun, ZHANG Juan, et al. Effect of polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene (C677T, A1298C and G1793A) on stillbirth [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(1): 72-76.
- [15] JIA Guifeng, CHAI Wei, HE Zhiwei, et al. Low-dose methotrexate-induced vulvar edema: A case report [J]. Medicine, 2019, 98(35): e16895.
- [16] GONG Jiaomei, SHEN Yong, SHAN Wanwan, et al. The association between MTHFR polymorphism and cervical cancer [J]. Scientific Reports, 2018, 8(2): 1564-1569.
- [17] YI Ke, YANG Lingyun, LAN Zhu, et al. The association between MTHFR polymorphisms and cervical cancer risk: a system review and meta analysis [J]. Archives of Gynecology and Obstetrics, 2016, 294(3): 579-588.

收稿日期: 2020-09-24

修回日期: 2020-10-23

(上接第31页)

- [12] 尤瑞莲, 徐鲁斌, 陈丽萌. 尿调节素及 UMOD 基因与慢性肾病的相关性研究进展 [J]. 基础医学与临床, 2020, 40(4): 557-561.
YOU Ruilian, XU Lubin, CHEN Limeng. Advances in the correlation of uromodulin and UMOD gene with chronic kidney disease [J]. Basic & Clinical Medicine, 2020, 40(4): 557-561.
- [13] 卢美红, 杨春兰, 景蓉蓉, 等. 血清人附睾蛋白 4 表达与慢性肾脏病的相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(2): 75-77, 81.
LU Meihong, YANG Chunlan, JING Rongrong, et al. Study on association with expression in patients with chronic kidney disease [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(2): 75-77, 81.
- [14] 杨晓霞, 柏明, 刘丽敏, 等. 慢性肾脏病患者血清人附睾蛋白 4 与疾病进展的关系 [J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2016, 25(2): 128-133.
YANG Xiaoxia, BO Ming, LIU Limin, et al. Significance of serum human epididymis protein 4 levels in patients with chronic kidney disease [J]. Chinese Journal of Nephrology, Dialysis & Transplantation, 2016, 25(2): 128-133.
- [15] QIAN Jing, ZHONG Jianyong, YAN Minhua, et al. Circulating α -Klotho is related to plasma aldosterone and its follow-up change predicts CKD progression [J]. Kidney Blood Press Res, 2018, 43(3): 836-846.
- [16] 李莎莎, 郁丽霞, 何敖林, 等. 分泌型 Klotho 作为慢性肾脏病患者血清学标志物的可行性研究进展 [J]. 中华肾脏病杂志, 2018, 34(12): 956-960.
LI Shasha, YU Lixia, HE Aolin, et al. Perspectives of soluble Klotho as a potential biomarker for patients with chronic kidney disease [J]. Chinese Journal of Nephrology, 2018, 34(12): 956-960.
- [17] LIU Qifeng, YE Jianming, YU Lixia, et al. Klotho mitigates cyclosporine A (CsA)-induced epithelial-mesenchymal transition (EMT) and renal fibrosis in rats [J]. International Urology and Nephrology, 2017, 49(2): 345-352.
- [18] BAILIE C, KILNER J, MAXWELL A P, et al. Development of next generation sequencing panel for UMOD and association with kidney disease [J]. PLoS One, 2017, 12(6): e0178321.
- [19] DEVUYST O, OLINGER E, RAMPOLDI L, et al. Uromodulin: From physiology to rare and complex kidney disorders (Review) [J]. Nature Reviews Nephrology, 2017, 13(9): 525-544.
- [20] LEBLEU V S, TENG Y, O'CONNELL J T, et al. Identification of human epididymis protein-4 as a fibroblast-derived mediator of fibrosis (Article) [J]. Nature Medicine, 2013, 19(2): 227-231.

收稿日期: 2020-05-11

修回日期: 2020-06-11