

· 实验研究 ·

亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性、饮酒与结直肠癌关系的病例对照研究

蒋沁婷 陈坤 马新源 缪小平 姚开颜 俞维萍 李凌云 朱益民 周海光

【摘要】 目的 研究亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因多态与结直肠癌(包括结肠癌、直肠癌)易感性的关系。方法 应用聚合酶链反应(PCR)和限制性片段长度多态性方法(RFLP),检测了126例结直肠癌患者和343名正常对照的MTHFR C677T和A1298C两个位点基因多态,并比较不同基因型单独、联合时与结直肠癌风险的关系,以及两个多态位点与饮酒的联合作用。结果 MTHFR 677T和1298C突变基因在对照组中的频率分别为39.7%和17.1%。1298C突变基因携带者与野生型相比,患结直肠癌的风险均降低;在携带677C和1298C等位基因组合个体中,结直肠癌的风险略有降低($OR=0.718, 95\%CI:0.367\sim1.407$),同时含677T和1298A等位基因者,结直肠癌的风险降低1倍;同时含有677T和1298C等位基因者,结直肠癌的风险降低4倍,直肠癌的风险降低7倍($OR=0.304, 95\%CI:0.108\sim0.852$)。在过去饮酒者中,1298A等位基因携带者结直肠癌风险性增加2倍($OR=3.307, 95\%CI:0.521\sim17.698$)。结论 MTHFR C667T和A1298C位点多态性在结直肠癌发生过程中起着一定作用,携带MTHFR 1298AC基因多态型者过去饮酒是结直肠癌的危险因素。

【关键词】 亚甲基四氢叶酸还原酶; 结直肠肿瘤; 基因多态性; 易感性

A case-control study on the polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductases, drinking interaction and susceptibility in colorectal cancer JIANG Qin-ting*, CHEN Kun, MA Xin-yuan, MIAO Xiao-ping, YAO Kai-yan, YU Wei-ping, LI Ling-yun, ZHU Yi-min, ZHOU Hai-guang.* Department of Epidemiology and Statistical, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between methylenetetrahydrofolate reductases (MTHFR) polymorphisms and colorectal cancer susceptibility. **Methods** A case-control study of 126 patients and 343 healthy controls was conducted to investigate the roles of MTHFR C677T and A1298C polymorphisms in colorectal cancer development. Genotypes of C677T and A1298C polymorphisms were analyzed by polymerase chain resection-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) methods. **Results** The frequencies of MTHFR 677T and 1298C allele were 39.7% and 17.1%, respectively. After adjustment for age and sex, the MTHFR 1298C alleles seemed to have reduced association on the risk of colorectal cancer comparing to wild types. Among those with 677T and 1298A alleles, a decreased risk of colorectal cancer was observed; a 4-fold decrease in colorectal cancer risk ($OR=0.552, 95\%CI:0.265-1.150$) in those with 677T and 1298C alleles. Men who were ex-drinkers and with MTHFR 1298C allele had a 2-fold increase in risk of colorectal cancer ($OR=3.307, 95\%CI:0.521-17.698$) while no increased risk was seen among those current-drinkers. **Conclusions** This study suggested that certain MTHFR C677T and A1298C might be associated with the risk of colorectal cancer development. The interaction between MTHFR 1298AC polymorphisms and ex-drinking might also serve as a risk factor of colorectal cancer.

【Key words】 Methylenetetrahydrofolate reductases; Colorectal neoplasms; Genetic polymorphisms; Tumor susceptibility

结直肠癌(colorectal cancer)包括结肠癌和直

肠癌,是常见的消化道恶性肿瘤,在美国每年至少有55 000例结直肠癌新发病例^[1],在我国每年大约有14万例新患病例。结直肠癌的发生是一个多因素、多步骤的过程,有报道低叶酸、低蛋氨酸饮食、重度饮酒及其他甲基基团拮抗剂等能增加结直肠癌的危

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30170828)

作者单位:310031 杭州,浙江大学医学院流行病与卫生统计学教研室(蒋沁婷、陈坤、俞维萍、李凌云、朱益民、周海光);浙江省嘉善县肿瘤防治所(马新源、姚开颜);中国协和医科大学肿瘤研究所病因及癌变研究室(缪小平)

险性^[2]。研究认为,肿瘤的发生不仅仅在于 DNA 突变,抑癌基因启动子异常甲基化可能也是一个重要因素^[3]。亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)是叶酸依赖性酶,具有遗传多态性,在叶酸和同型半胱氨酸代谢中起重要作用。关于 MTHFR 基因多态性与结直肠癌易感性的关系,国外已有报道,结果不尽一致,国内目前鲜有此类研究报道。本次选择结直肠癌高发区浙江省嘉善县^[4]作为研究地点,进行 MTHFR C677T 和 A1298C 两个位点基因多态与结直肠癌易感性的病例对照研究。

对象与方法

1. 研究对象:所有研究对象来源于浙江省嘉善县结直肠癌随访人群。该人群于 1989 年曾参加过结直肠癌筛检,共计 64 693 人,14 年来一直在有效的随访中^[5]。通过嘉善县肿瘤防治研究所的肿瘤登记系统,我们获取了完整的自 1990 年 5 月至 2002 年 4 月期间发生的,且曾经参加 1989 年筛检的原发性结直肠癌存活病例(按 ICD9-153、154 标准分类) 126 例(结肠癌 51 例,直肠癌 75 例),组成病例组,年龄在 35~80 岁。对照的选择是从同一研究人群中,采用单纯随机抽样方法抽取 400 人,排除肿瘤患者。为防止调查过程中调查对象由于死亡、搬迁等原因而引起样本量的损失,每个对照均选择 5 个候补对照,实际 343 例接受调查,应答率为 85.75%,年龄在 38~89 岁。以问卷调查和检索肠癌病例报卡方法获得所有研究对象的人口学、饮酒和病情等资料。饮酒情况以调查对象每周饮酒 2 次或以上、持续半年以上等定义为饮酒。

2. MTHFR C677T、A1298C 位点多态性基因型分析:每名调查对象现场抽取静脉血 5 ml,枸橼酸钠抗凝,采用改良盐析法抽提外周血 DNA^[6]。MTHFR C677T 和 A1298C 多态位点检测均采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法^[7]。前者引物为 5'-TGA AGG AGA AGG TGT CTG CGG GA-3' 和 5'-AGG ACG GTG CGG TGA GAG TG-3'; 后者的引物为 5'-CTT TGG GGA GCT GAA GGA CTA CTA C-3' 和 5'-CAC TTT GTG ACC ATT CCG GTT TG-3'。PCR 混合液中含 0.1 μ g 模板 DNA、0.4 μ mol/L 各引物、0.1 mol/L dNTPs、1.5 mmol/L MgCl₂、1.2 U Taq 聚合酶及 1 \times 反应缓冲液。PCR 条件为:94 $^{\circ}$ C 预变性 2 min 后,于 94 $^{\circ}$ C、61 $^{\circ}$ C 和 72 $^{\circ}$ C 进行 35 个循环,最后 72 $^{\circ}$ C 延伸

7 min。PCR 产物分别与限制性核酸内切酶 Hinf I 或 Mbo II 于 37 $^{\circ}$ C 温育 4 h。酶切产物于 3% 琼脂糖凝胶电泳分析。以上引物及试剂均购自 Takara 公司。

3. 统计学分析:分别计算病例组和对照组的 MTHFR C677T 和 A1298C 等位基因分布,两组间的差异采用四格表 χ^2 检验,各类基因型与结直肠癌风险的调整 OR 值及其 95% 可信区间(CI)通过非条件 logistic 回归模型拟合,C677T 和 A1298C 之间的联合作用及两者与饮酒的联合作用通过分层 logistic 回归模型计算,所有统计分析均采用 SPSS 11.0 统计软件。

结 果

1. 研究对象的一般情况:结肠癌、直肠癌组的年龄、性别以及饮酒状况与对照组在构成比上差别无显著性(表 1),*P* 值均 > 0.05。

表 1 研究对象的年龄、性别与饮酒状况

	结肠癌		直肠癌		对照		χ^2 值	<i>P</i> 值
	例数	构成比 (%)	例数	构成比 (%)	人数	构成比 (%)		
年龄(岁)								
≤50	7	13.21	19	26.03	100	29.15	7.02	0.14
50~	19	35.85	20	27.40	108	31.49		
>60	27	50.94	34	46.58	135	39.36		
性别								
男	26	49.06	35	47.95	162	47.23	0.07	0.97
女	27	50.94	38	52.05	181	52.77		
饮酒状况								
不饮	36	67.92	55	75.34	233	68.13	1.69	0.79
以前饮	4	7.55	5	6.85	25	7.31		
现在饮	13	24.53	13	17.81	84	24.56		

2. 在 469 名研究对象中,MTHFR 677T 等位基因在病例组和对照组中的频率分别为 35.6% 和 39.7%,差别无显著性(*P* = 0.254)。CC、CT 和 TT 基因型分布分别为 39.6%、43.7% 和 16.8%,与 Hardy-Weinberg 平衡定律预计的 37.7%、47.4% 和 14.9% 一致 (χ^2 = 0.018, *P* = 0.987)。MTHFR 1298C 等位基因在病例和对照中分布频率分别为 12.9% 和 17.1%,分布差异无显著性(*P* = 0.122)。1298CC 纯合子基因型较少,在病例和对照中的分布分别为 0.8% 和 1.8%。

3. MTHFR C677T(Ala/Val) 多态位点与结直肠癌易感性的关系未见显著性相关(表 2),在校正年龄、性别因素后,T 突变基因携带者与野生型纯合子相比,患结直肠癌(包括结肠癌和直肠癌)的风险

未见显著性变化;进一步分析不同基因型,发现 677CT 基因型携带者与 677CC 基因型者相比,患结肠癌的风险依旧 ($OR=1.073, 95\%CI: 0.688\sim 1.675$),患直肠癌的风险约增加 0.5 倍 ($OR=1.506, 95\%CI: 0.808\sim 2.807$),患直肠癌的风险略有下降。MTHFR 1298AC 杂合子与 1298CC 野生型比较,能降低结直肠癌的风险性 ($OR=0.711, 95\%CI: 0.443\sim 1.140$),对直肠癌的发生有保护作用 ($OR=0.503, 95\%CI: 0.264\sim 0.960$),后者有统计学意义 ($P<0.05$)。C 等位基因携带者与野生型纯合子相比,患结直肠癌、结肠癌的风险性略有下降,同时也是直肠癌的保护因素 ($OR=0.509, 95\%CI: 0.272\sim 0.954$)。

4. 进一步分析 MTHFR C677T 和 A1298C 位点多态性之间的联合作用。从表 3 可以看出,在 677CC 基因型者中,同时携带 1298C 多态基因型者结直肠癌的易感性均有所降低。因个别组合病例数太少,未能对一些等位基因的组合进行分析。将杂合子与纯合子多态型基因型合并后,与野生型纯合

子比较,发现含 1298C 多态基因的个体,相对与两个位点均为野生型纯合子,结直肠癌的风险有所降低 ($OR=0.718, 95\%CI: 0.367\sim 1.407$),含 677T 多态基因者,结直肠癌的风险降低 1 倍,同时含有 677T 和 1298C 多态基因者,结直肠癌的风险降低 4 倍,其中直肠癌结果有统计学显著性意义 ($OR=0.304, 95\%CI: 0.108\sim 0.852$)。

5. 饮酒与两个多态位点的联合作用见表 4。在不喝酒的人群中,C677T 位点多态性基因型与结直肠癌易感性无显著性相关,1298AC 基因型能显著降低结直肠癌的风险性 ($OR=0.500, 95\%CI: 0.271\sim 0.923$),同样,C 等位基因携带者患结直肠癌的风险也有显著性降低;在以前饮酒者中,677CT 和 TT 能降低结直肠癌危险性,但均无显著性意义,而 1298A 等位基因携带者结直肠癌风险性增加 2 倍 ($OR=3.307, 95\%CI: 0.521\sim 17.698$),但无统计学意义;在现在饮酒者中,677 和 1298 位点的多态与结直肠癌易感性之间的关系变化均不明显。

表2 MTHFR C677T 和 A1298C 基因多态与结直肠癌易感性的分析

MTHFR 基因型	对照组人数	结直肠癌		结肠癌		直肠癌		
		例数	OR 值# (95%CI)	例数	OR 值# (95%CI)	例数	OR 值# (95%CI)	
C677T*	CC	133	51	1.000	19	1.000	32	1.000
	CT	144	59	1.073(0.688~1.675)		1.506(0.808~2.807)		0.815(0.465~1.428)
	TT	63	15	0.621(0.325~1.190)		0.337(0.096~1.179)		0.793(0.383~1.644)
合并后	CC	133	51	1.000	19	1.000	32	1.000
	CT+TT	207	74	0.934(0.614~1.423)		1.146(0.626~2.098)		0.808(0.483~1.352)
A1298C**	AA	227	93	1.000	36	1.000	57	1.000
	AC	103	30	0.711(0.443~1.140)		1.032(0.553~1.923)		0.503(0.264~0.960)△
	CC	6	1	0.393(0.046~3.339)		NS	1	0.605(0.071~5.194)
合并后	AA	227	93	1.000	36	1.000	57	1.000
	AC+CC	109	31	0.693(0.435~1.103)		1.032(0.553~1.923)		0.509(0.272~0.954)△

* 实验过程中,有 3 个对照和 1 个直肠癌样本未能扩增; ** 实验过程中,有 7 个对照和 2 个直肠癌样本未能扩增; # 调整 OR,控制年龄、性别;△ 差别有统计学意义, $P<0.05$

表3 MTHFR C677T 和 A1298C 多态联合作用与结直肠癌易感性的分析

C677T	A1298C	对照组人数	结直肠癌		结肠癌		直肠癌	
基因型*	基因型*		例数	OR 值** (95%CI)	例数	OR 值** (95%CI)	例数	OR 值** (95%CI)
CC	AA	74	33	1.000	10	1.000	23	1.000
CC	AC	52	17	0.733(0.369~1.453)		1.267(0.481~3.341)		0.499(0.207~1.203)
CC	CC	4	1	0.536(0.057~5.064)		NS*	1	0.740(0.077~7.147)
CT	AA	98	46	1.058(0.616~1.818)		1.741(0.780~3.883)		0.762(0.397~1.464)
CT	AC	44	13	0.666(0.317~1.399)		1.329(0.487~3.625)		0.368(0.130~1.037)
TT	AA	55	14	0.570(0.279~1.167)		0.403(0.106~1.533)		0.646(0.290~1.438)
合并	AA	74	33	1.000	10	1.000	23	1.000
	AC+CC	56	18	0.718(0.367~1.407)		1.183(0.449~3.112)		0.516(0.221~1.205)
	AA	153	60	0.881(0.530~1.463)		1.257(0.575~2.743)		0.719(0.395~1.309)
	AC+CC	53	13	0.552(0.265~1.150)		1.108(0.409~3.003)		0.304(0.108~0.852)#

* 部分组合因样本数为 0,不能计算 OR 值,未列出; ** 调整 OR,控制年龄、性别; # 差别有统计学意义, $P<0.05$

表4 MTHFR C677T 和 A1298C 多态和饮酒联合作用与结直肠癌易感性的分析

基因型	不 饮 酒			过 去 饮 酒**			现 在 饮 酒		
	病例	对照	OR 值*(95%CI)	病例	对照	OR 值(95%CI)	病例	对照	OR 值(95%CI)
C677T									
CC	30	86	1.000	7	11	1.000	14	35	1.000
CT	47	103	1.329(0.773~2.282)	8		0.322(0.044~2.361)	33		0.697(0.266~1.826)
TT	13	41	0.902(0.425~1.910)	6		NS**	2	16	0.293(0.058~1.468)
合并									
CC	30	86	1.000	7	11	1.000	14	35	1.000
CT+TT	60	144	1.179(0.710~1.959)	14		0.182(0.030~1.082)	49		0.566(0.229~1.402)
A1298C**									
AA	72	157	1.000	3	14	1.000	18	55	1.000
AC	16	69	0.500(0.271~0.928)*	11		3.037(0.521~17.698)	23		1.057(0.400~2.794)
CC	1	2	1.021(0.089~11.703)	0		NS**	0	4	NS**
合并									
AA	72	157	1.000	3	14	1.000	18	55	1.000
AC+CC	17	71	0.515(0.282~0.930)*	11		3.307(0.521~17.698)	27		0.903(0.347~2.355)

注:同表3

讨 论

MTHFR 催化 5,10-亚甲基四氢叶酸还原为 5-甲基四氢叶酸,后者可为甲基循环提供甲基供体,5-甲基四氢叶酸也是叶酸在血浆中存在的主要形式,自 1994 年 Goycue 将 MTHFR 基因定位以来,对 MTHFR 的研究不断深入,现已发现 MTHFR 基因有多种突变类型,不同的基因突变类型对 MTHFR 的酶活性和热稳定性产生不同的影响,表现出各种不同的酶活性和热稳定性^[8]。

MTHFR C677T 是一个常见的不耐热错义突变,MTHFR 基因第 677 位密码子 C 被 T 置换,从而使一个高度保守的丙氨酸(Ala)变成了缬氨酸(Val)。该多态被认为在叶酸结合区,可使该酶的活性下降 1/3,增加酶的热不稳定性,使胞浆中叶酸含量下降,半胱氨酸含量增加。根据 Frosst 等^[9]的报告,正常的 CC 纯合子有 100% 的活性,CT 大约有 65% 的活性,而 TT 纯合子仅 30% 的活性。MTHFR C677T 突变基因在人群中呈多态性分布,在世界范围内具有相对较高的突变频率。与欧洲(24%~40%)和亚洲(2.5%~33%)相比,非洲人群中 T 等位基因频率最低(4.9%~9.1%),根据 Miao 等^[7]和 Song 等^[10]的报道,在中国人中 677T 的频率均为 41%。MTHFR 另一个常见的多态是 A1298C,该多态也能使 MTHFR 活性下降,同时和 C677T 之间存在着联合作用^[11]。MTHFR 1298C 突变基因在人群中的分布频率也不尽相同,日本人、高加索人和夏威夷人分别为 21%、30.7% 和 23.0%^[12],在中国人中的频率为 16.5% 和 17%^[7,10]。本次研究 MTHFR 677T 和 1298C 突变基因的频率分别为 39.7% 和 17.1%,和以往报道的结果基本一致。

叶酸,是体内 DNA 甲基化的主要供体,DNA 甲基化有助于减少致癌物和增加抑癌基因的表达,但 DNA 甲基化有可能因甲基供体(叶酸)不足而受影响,动物实验和细胞模型均证实叶酸能降低结肠肿瘤^[13]。流行病学调查证实低甲基饮食(低叶酸、低蛋氨酸、高酒精)是结直肠癌的危险因素^[14],Giovannucci 等^[15]在以 89 000 位女性为对象的健康调查中发现增加叶酸摄入,能降低结直肠癌的危险性。一些富含叶酸的蔬菜、水果等与结直肠癌风险呈负相关^[16]。国外已有多篇文献报道 C677T 多态是结直肠癌的保护因素^[17-20],但也有相反的报道^[21],经 Meta 分析,677TT 和结直肠癌易感性的综合 OR=0.77(95%CI:0.64~0.93),有显著统计学意义($P=0.006$)^[22]。关于 A1298C 位点基因多态性与结直肠癌易感性之间的关系目前尚无报道。本次研究认为,MTHFR C677T 和 A1298C 基因多态性在一定程度上能降低结直肠癌易感性,其中,A1298C 与结直肠癌易感性之间的关系较为紧密,同时 1298CT 基因型、T 变异基因在直肠癌中起保护作用。两个多态位点之间存在着一定的交互作用,在不同变异基因的组合下,结直肠癌的风险性呈逐渐降低的趋势。MTHFR 基因多态降低结直肠癌风险的分子机理之一可能是 CpG 岛甲基化畸变。近年来研究表明,结肠癌相关抑癌基因因 CpG 岛异常甲基化而失活在肿瘤的发展过程中起重要作用,已明确的与结肠癌有关的抑癌基因包括 APC、Hmlh1、p16 及其相邻的 p14 基因已被证实存在肿瘤的发生发展中存在 CpG 岛异常甲基化^[23]。这些资料为解释 MTHFR 基因多态与结直肠癌易感性提供了合理的分子生物学机制。

酒精,作为叶酸的拮抗剂,自从 Stocks 1957 年首次报道每日饮啤酒者结直肠癌发病的风险较非饮

酒者有所增加以来,国内外已有多多个同类研究,但均未得出一致结论^[24];国内关于饮酒与结直肠癌的 Meta 分析结果:综合 $OR=1.06$ ($95\% CI: 0.91\sim 1.24$)^[25],本次结合研究对象的饮酒状态,分析不饮酒、过去饮酒与现在饮酒与 MTHFR 677CT 和 1298AC 之间的联合作用,结果发现, MTHFR 1298C 多态在非饮酒者中为结直肠癌的保护因素, OR 为 0.515,而在过去饮酒者中,就是结直肠癌的危险因素, OR 为 3.307。这和 MTHFR 基因多态性与其相关联的癌症风险可能存在着一种取决于叶酸摄入量的基因-营养素相互作用这一假说^[26]相符。当叶酸摄入量多/拮抗剂少时,携带 MTHFR 突变基因型者癌症的风险降低,因为在这种情况下既有足够的甲基供体保证正常的甲基化,又由于 MTHFR 活性的降低,抑制了 5-甲基四氢叶酸形成的通路,从而促进了 DNA 合成、减少了 DNA 损伤的风险,而当叶酸摄入不足/存在拮抗剂的情况下,携带 MTHFR 变异基因的人 DNA 甲基化和 DNA 合成/修复异常,成为致癌的主要机制。

总之,本次研究认为 MTHFR 677 和 1298 位点的多态性对结直肠癌的影响主要表现为两方面:在一定程度上能降低结直肠癌的风险性,同时两个多态位点之间存在着微弱的联合作用,但在酒精的作用下, MTHFR 变异基因表现出增强结直肠癌易感性的作用,其中 A1298C 多态位点与结直肠癌易感性的联系相对紧密。进一步探讨 MTHFR 基因多态性在结直肠癌病因学中的作用,有必要研究 MTHFR 多态与叶酸、蛋氨酸摄入量之间的交互作用。

参 考 文 献

- 1 李世荣,主编. 结直肠癌——早期诊断、治疗和预防. 北京:科学出版社,2000. 29-35.
- 2 Giovannucci E, Rimm EB, Ascherio A, et al. Alcohol, low methionine low folate diets, and risk of colon cancer in men. *J Natl Cancer Inst*, 1995, 87 : 265-273.
- 3 范保星. DNA 甲基化与肿瘤. 国外医学分子生物学分册, 2002, 24 : 139-143.
- 4 卫生部肿瘤防治办公室主编. 中国恶性肿瘤死亡回顾调查. 北京:人民卫生出版社, 1979. 198.
- 5 陈坤,蔡剑,刘希永,等. 结肠癌和直肠癌危险因素的模式病例对照研究. *中华流行病学杂志*, 2001, 22 : 439-441.
- 6 冷曙光,宋文佳,王雅文,等. 中国汉族人口三种谷胱甘肽 S-转移酶基因多态性分析. *中华预防医学杂志*, 2001, 35 : 159-162.

- 7 Miao XP, Xing DY, Tan W, et al. Susceptibility to gastric cardia adenocarcinoma and genetic polymorphisms in methylenetetra-hydrofolate reductase in an at-risk Chinese population. *Cancer Epi Bio & Prev*, 2002, 11 : 1454-1458.
- 8 焦海燕,薛雅丽. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因(C677T)多态性研究进展. *国外医学遗传学分册*, 2002, 25 : 207-210.
- 9 Frosst P, Blom H, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease; a common mutation in methylenetetra-hydrofolate reductase. *Nat Genet*, 1995, 10 : 111-113.
- 10 Song C, Xing D, Tan W, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms increase risk of esophageal squamous cell carcinoma in a Chinese population. *Cancer Res*, 2001, 15, 61 : 3272-3275.
- 11 Van der Put NM, Gabreels F, Stevens EM, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene; an additional risk factor for neural tube defects? *Am J Hum Genet*, 1998, 62 : 1044-1051.
- 12 Marchand LL, Donlon, Hankin JH, et al. B-vitamin intake, metabolic genes, and colorectal cancer risk (United States). *Cancer Causes and Control*, 2002, 13 : 239-248.
- 13 Mason JB. Folate and colonic carcinogenesis; searching for a mechanistic understanding. *J Nutr Biochem*, 1994, 5 : 170-175.
- 14 Giovannucci E, Stampfer M, Colditz G, et al. Folate, methionine and alcohol in intake and risk of colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst*, 1993, 6685 : 875-884.
- 15 Giovannucci E, Stampfer M, Colditz G, et al. Multivitamin use, folate, and colon cancer in women in the Nurses' Health Study. *Ann Intern Med*, 1998, 129 : 517-524.
- 16 杨工,高玉堂,季步天,等. 结、直肠癌与营养因素的流行病学研究. *中华流行病学杂志*, 1994, 15 : 299-302.
- 17 Chen J, Giovannucci E, Kelsey K, et al. A methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and the risk of colorectal cancer. *Cancer Res*, 1996, 56 : 4862-4864.
- 18 Ma J, Stampfer MJ, Giovannucci E, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res*, 1997, 57 : 1098-1102.
- 19 Chen J, Giovannucci E, Hankinson SE, et al. A prospective study of methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase gene polymorphisms, and risk of colorectal adenoma. *Carcinogenesis*, 1998, 19 : 2129-2132.
- 20 Park KS, Mok JW, Kim JC. The 677C→T mutation in 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase and colorectal cancer risk. *Genet Test*, 1999, 3 : 233-236.
- 21 Marugame T, Tsuji E, Inoue H, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and risk of colorectal adenomas. *Cancer Lett*, 2000, 151 : 181-186.
- 22 Houlston RS, Tomlinson IP. Polymorphisms and colorectal tumor risk. *Gastroenterology*, 2001, 121 : 282-301.
- 23 陈建芝,张振书. 抑癌基因甲基化与结肠癌关系的研究. *医学综述*, 2002, 8 : 435-437.
- 24 Potter JD. Colorectal: molecules and populations. *J Natl Cancer Inst*, 1999, 91 : 916-931.
- 25 陈坤,袁桐良,张扬. 结直肠癌危险因素 Meta 分析. *浙江大学学报*, 2002, 31 : 254-258.
- 26 缪小平,邢德印,谭文,等. MTHFR 基因 C677T 和 A1298C 多态与贲门癌的遗传易感性. *中华医学杂志*, 2002, 82 : 669-672.

(收稿日期:2003-05-15)

(本文编辑:尹廉)