

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的关系

司佩任 房殿春 张浩 杨柳芹 罗元辉 廖化禹

【摘要】 目的 探讨胃癌亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因多态性与微卫星不稳的关系。方法 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性技术检测 122 例胃癌和 101 名正常对照的 MTHFR 基因 C677T 和 A1298C 多态性;采用 PCR 为基础的方法检测微卫星不稳定性(MSI)。结果 MTHFR C677T 多态性可分为 677CC、677CT 和 677TT 三种类型。胃癌组 3 种基因型频率分别为 47.5%、39.3% 和 13.1%;对照组分别为 48.5%、42.6% 和 8.9%,两组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。以 677CC 基因型做为参考,胃贲门癌 677CT 基因型 OR 值为 0.38,95% CI:0.15~0.98;TT 基因型 OR 值为 0.26,95% CI:0.03~2.18;677CT+TT 基因型 OR 值为 0.36,95% CI:0.07~0.98。胃体癌 677TT 基因型 OR 值为 3.03,95% CI:1.07~8.65。MTHFR A1298C 多态性可分为 1298AA、1298AC 和 1298CC 3 种类型。胃癌组 3 种基因型频率分别为 59.8%、36.1% 和 4.1%;对照组分别为 57.4%、37.6% 和 5.0%,两组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。以 1298AA 基因型的 OR 值为 1.00,胃窦癌 AC 基因型的 OR 值为 0.87,95% CI:0.42~1.82,CC 基因型的 OR 值为 0.41,95% CI:0.05~3.72。MTHFR 677TT 基因型胃癌与微卫星不稳显著相关($P < 0.05$),而 MTHFR A1298C 多态性与微卫星不稳无关($P > 0.05$)。结论 重庆地区人群中 MTHFR C677T 多态性是胃贲门癌的保护因素,是胃体癌的危险因素;MTHFR A1298C 多态性可能是胃窦癌的保护因素;677TT 基因型胃癌的发生可能涉及到 MSI 途径。

【关键词】 胃肿瘤;亚甲基四氢叶酸还原酶;微卫星不稳

The relationship between methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and microsatellite instability in gastric cancer SI Pei-ren, FANG Dian-chun, ZHANG Hao, YANG Liu-qin, LUO Yuan-hui, LIAO Hua-yu. Department of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China

Corresponding author: FANG Dian-chun, Email: fangdianchun@hotmail.com

【Abstract】 Objective To explore the relationship between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphism and microsatellite instability (MSI) in patients with gastric cancer. Methods MTHFR gene C677T and A1298C polymorphism were detected by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) and MSI was examined with PCR. Results MTHFR gene C677T and A1298C polymorphisms were analyzed on 122 gastric cancers and 110 normal controls. The genotype frequencies of MTHFR 677CC, 677CT and 677TT were 47.5%, 39.3% and 13.1% on patients with gastric cancer, and 48.5%, 42.6%, 8.9% in the controls respectively. There was no significant difference of genotype frequency between the two groups ($P > 0.05$). The individuals with 677CT genotype, 677TT genotype and 677CT+TT genotype exhibited significantly reduced risk (OR = 0.38, 95% CI: 0.15-0.98; OR = 0.26, 95% CI: 0.03-2.18 and OR = 0.36, 95% CI: 0.07-0.98) of developing gastric cardia cancer compared with those harboring the wild-type (677CC). The individuals with 677TT genotype having a 3.03-fold (95% CI: 1.07-8.65) increased risk of developing gastric corpus cancer. The genotype frequency of MTHFR 1298AA, 1298AC and 1298CC were 59.8%, 36.1% and 4.1% in gastric cancer patients, and 57.4%, 37.6%, 5.0% in the controls, respectively. The distribution of MTHFR A1298C genotype was not significantly different between gastric cancer and controls ($P > 0.05$). The individuals with 1298CC genotype had a reduced risk of developing gastric antrum cancer (OR = 0.41-

基金项目:国家自然科学基金项目(30070043);军队“十五”科研基金重点项目(01Z075)

作者单位:400038 重庆,第三军医大学西南医院全军消化专科中心

第一作者现工作单位:264000 烟台,解放军第一〇七医院消化科

通讯作者:房殿春, Email: fangdianchun@hotmail.com

fold, 95% CI: 0.03-2.18, 0.05-3.72) when comparing with those having 1298AA genotype. Patients with MSI⁺ gastric cancer had an increased frequency of the MTHFR 677TT genotype when comparing with those suffering from MSI⁻ gastric cancer ($P=0.009$) and with controlled subjects ($P=0.008$). There was no significant association found between MTHFR A1298C polymorphism and MSI ($P>0.05$). **Conclusion** Polymorphism of MTHFR C677T was associated with increased risk on gastric corpus cancer and reduced risk on gastric cardia cancer. The polymorphism of MTHFR A1298C was associated with reduced risk for gastric antrum cancer while MSI pathway was possibly involved in the development of gastric cancer with MTHFR 677TT genotype.

[Key words] Gastric neoplasm; Methylenetetrahydrofolate reductase; Microsatellite instability

流行病学和临床研究表明,低叶酸饮食摄入可增加肿瘤发生的易感性^[1]。叶酸的重要生物学功能是提供甲基基团,用于细胞内的甲基化反应,特别是 DNA 甲基化和胸腺嘧啶的起始合成。叶酸缺乏可扰乱正常 DNA 甲基化、DNA 合成和修复。亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)是叶酸代谢的关键酶,能催化 5,10-亚甲基四氢叶酸不可逆地转变成 5-甲基四氢叶酸,在叶酸代谢转变成甲基供体过程中起关键作用。MTEER 基因有两个单核苷酸多态性位点,即 C677T 和 A1298C,这两个碱基突变使其编码的 MTEER 蛋白活性和血浆叶酸水平显著降低,所以 MTEER 基因变异可能是肿瘤的遗传易感性因素^[2,3]。我们过去的研究表明,胃癌的发生涉及到 hMLH1 基因的甲基化异常,而 hMLH1 基因的甲基化异常又与微卫星不稳有密切的联系^[4]。胃癌 MTEER 基因多态性与微卫星不稳的关系国内外尚未见文献报道,为此我们检测了胃癌组织、MTEER 基因 C677T 和 A1298C 的多态性和 BAT26 位点的微卫星不稳定性。

材料与方法

1. 研究对象:122 例胃癌为西南医院 2001 年 1 月至 2003 年 5 月收治的胃癌患者,均经组织病理学确诊;101 名对照组为同期查体并行胃镜检查的健康人,全部检查对象均抽静脉血 5 ml,分离淋巴细胞, -70℃ 冰箱冻存备用。胃癌组男性 90 例,女性 32 例,年龄 30~84 岁,平均年龄 55.2 岁;对照组男 74 名,女性 27 名,年龄 29~79 岁,平均 54.6 岁。两组均无肿瘤家族史,吸烟和饮酒率差异无统计学意义。胃癌组同时取瘤及手术切缘正常组织立即置于 -70℃ 冰箱冻存备用,用于微卫星不稳检测。采用常规酚:氯仿:异戊醇抽取法提取外周血和胃癌组织 DNA。

2. MTHFR 基因的多态性检测:采用 PCR-RFLP 法。MTHFR 基因 C677T 多态性引物序列为

TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA (exonic); AGGACGGTGCAGGTGAGAGTG(intronic)^[5]。PCR 反应体系总体积 20 μl,包括 10× buffer 2 μl, 4× dNTP 各 200 μmol/L,引物各 50 ng, Taq DNA 聚合酶 1.25 U, DNA 模板 100 ng。PCR 扩增条件:94℃ 预变性 2 min; 94℃ 1 min, 62℃ 1 min, 68℃ 45 s, 共 40 个循环;最后 68℃ 延伸 5 min。PCR 扩增反应完成后,取 5 μl PCR 扩增产物, 2% 琼脂糖凝胶电泳观察扩增情况。若出现 198 bp 的清晰条带,则进行 Hinf I 内切酶酶切分析。MTHFR A1298C 多态性引物序列为 CTTTGGGGAGCTGAAGGACTA CTAC (上游引物); CACTTTGTGACCATTCC GGTTC-3' (下游引物)^[6]。PCR 反应体系同上。PCR 扩增条件:92℃ 预变性 4 min; 92℃ 1 min, 51℃ 1 min, 74℃ 40 s, 共 35 个循环; 74℃ 延伸 5 min。PCR 扩增反应完成后,取 5 μl PCR 扩增产物, 2% 琼脂糖凝胶电泳观察扩增情况。若出现 163 bp 的清晰条带,则进行 Mbo II 内切酶酶切分析。酶切产物分别在 12% 和 20% 非变性聚丙烯酰胺凝胶上电泳,电压 120 V, 时间 3.5 h, 溴化乙锭(EB)染色,紫外灯下观察并照相。

3. BAT26 微卫星不稳的检测:采用 PCR 方法。参照文献合成引物^[7], 上游引物: 5'-TGACTA CTTTGGACTTCAGCC-3'; 下游引物: 5'-AACCAT TCAACATTTTAAACCC-3', 产物长度 120 bp。PCR 反应体积 20 μl, 包括 10 mmol/L Tris-HCl (pH 8.3), 50 mmol/L KCl, 1.5 mmol/L MgCl₂, 200 μmol/L dNTP, 上下游引物各 0.5 μmol/L, 0.75 U Taq DNA 多聚酶 (Perkin-Elmer, USA), 100 ng 基因组 DNA, 0.5 μl Ci^[33P]dATP。PCR 反应条件为 94℃ 1 min, 55℃ 1 min, 72℃ 1 min, 35 个循环;最后 72℃ 延伸 10 min。PCR 产物在 5% 变性聚丙烯酰胺电泳分离,放射自显影观察。与正常组织相比,若肿瘤组织出现异常泳动条带,即判定为该位点 MSI 阳性。

4. 统计学分析:胃癌病例组和对照组的

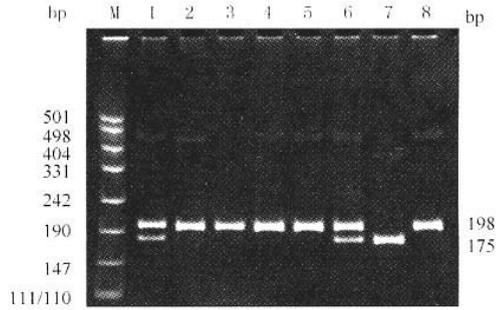
MTHFR 基因型频率差异用 χ^2 检验确定, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。胃癌与 MTHFR 基因多态性相关性的评价用比值比 (OR) 和 95% 可信区间 (95% CI) 表示。所有统计分析均使用 SPSS 10.0 统计软件处理。

结 果

1. 胃癌 MTHFR 基因 C677T 多态性: 经 PCR-RFLP 法检测, 野生型 (677CC) 只有 1 条带, 长度为 198 bp; 杂合型 (677CT) 则产生 3 条带, 分别为 198、175 和 23 bp; 纯合型 (677TT) 产生 2 条带, 分别为 175 和 23 bp, 其中 23 bp 的条带泳出胶外 (图 1)。胃癌及健康对照组 MTHFR 基因多态性见表 1, 差异无统计学意义 ($P = 0.558$)。

我们以 677CC 基因型的 OR 值为 1.00, 则 CT、TT、CT+TT 基因型的 OR 值分别为 0.94、1.50、1.04, 差异均无统计学意义 (P 值分别为 0.838、0.374 和 0.885)。

我们把胃癌按癌发生部位分为胃贲门癌、胃体癌和胃窦癌, 与对照组进行比较, 结果见表 2。可见, 以贲门癌 CC 基因型的 OR 值为 1.00, CT 基因型危险性较 CC 基因型有显著下降, 经统计学分析差异有统计学意义 ($P = 0.041$); TT 基因型危险性与 CC 基因型虽然差异无显著性意义 ($P = 0.185$), 但 OR 值下降较明显; 而 CT+TT 基因型的危险性与 CC 基因型相比差异有统计学意义 ($P = 0.023$)。以胃体癌 CC 基因型 OR 值为 1.00, TT 基因型 OR 值是 CC 基因型的 3.03 倍, 差异有统计学意义 ($P = 0.034$), CT 基因型和 CT+TT 基因型差异无统计学意义 (P 值分别为 0.541 和 0.207)。以胃窦癌 CC 基因型的 OR 值为 1.00, CT 基因型、TT 基因型、CT+TT 基因型差异无统计学意义 (P 值分别为 0.543、0.560 和 0.482)。



M: 分子量标记; 1, 6: 677CT 基因型; 2~5, 8: 677CC 基因型; 7: 677TT 基因型

图 1 胃癌 MTHFR C677T 基因多态性酶切图

表 1 MTHFR 677 基因型分布和等位基因频率与胃癌危险性的关系

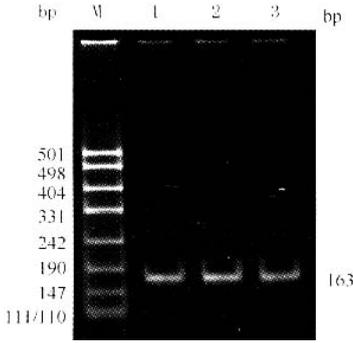
项目	胃癌组		对照组		OR 值(95% CI)	χ^2 值
	例	构成比 (%)	例	构成比 (%)		
基因型						
CC	5	47.5	49	48.5	1.00	
CT	48	39.3	43	42.6	0.94(0.54~1.65)	0.042
TT	16	13.1	9	8.9	1.50(0.61~3.70)	0.789
CT+TT	64	52.5	52	51.5	1.04(0.61~1.76)	0.021
等位基因频率 (%)						
C		67.2		68.8		
T		32.8		31.2		

2. 胃癌 MTHFR 1298AC 基因多态性: 经 PCR 扩增, 野生型 MTHFR 可见 163 bp 电泳条带 (图 2)。经限制性酶切可分为 3 个基因型, 野生型 1298AA 可见 56、31、30、28 和 18 bp 5 个片段; 杂合型 1298AC 产生 84、56、31、30、28 和 18 bp 6 个片段; 而纯合型 1298CC 则产生 84、31、30 和 18 bp 4 个片段。因 18 bp 的片段泳出胶外, 所以野生型 1298AA 只能见 56、31、30、28 bp 4 条带; 杂合型 1298AC 只能见 84、56、31、30、285 bp 5 条带; 而纯合型 1298CC 则只能见 84、31、30 bp 3 条带 (图 3)。

表 2 MTHFR 677 基因型分布和胃贲门癌、胃体癌及胃窦癌危险性的关系

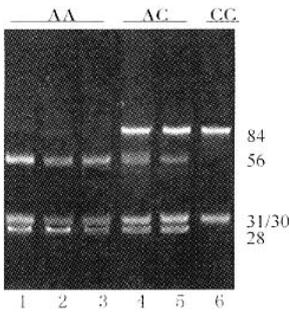
基因型	胃 癌 组			对照组 (n=101)	贲门癌与对照组		胃体癌与对照组		胃窦癌与对照组	
	胃贲门癌 (n=29)	胃体癌 (n=48)	胃窦癌 (n=45)		OR 值(95% CI)	χ^2 值	OR 值(95% CI)	χ^2 值	OR 值(95% CI)	χ^2 值
CC	21(72.4)	18(37.5)	19(42.2)	49(48.5)	1.00		1.00		1.00	
CT	7(24.1)	20(41.7)	21(46.7)	43(42.6)	0.38(0.15~0.98)	4.174	1.27(0.59~2.70)	4.475	1.26(0.60~2.65)	0.370
TT	1(3.4)	10(20.8)	5(11.1)	9(8.9)	0.26(0.03~2.18)	1.755	3.03(1.07~8.65)	0.374	1.43(0.43~4.83)	0.339
CT+TT	8(27.6)	30(62.5)	26(57.8)	52(51.5)	0.36(0.15~0.89)	5.178	1.57(0.78~3.17)	1.595	1.29(0.64~2.62)	0.495

注: 括号外数据为例数; 括号内数据为构成比 (%)



M: 分子量标记; 1~3: 肿瘤患者 DNA

图2 MTHFR A1298C 基因多态性酶切图



1~3: 1298AA 基因型; 4, 5: 1298AC 基因型; 6: 1298CC 基因型

图3 胃癌组织 MTHFR 1298 多态性酶切结果

胃癌及健康对照组 MTHFR A1298C 基因多态性见表 3。差异无统计学意义 ($P = 0.683$)。我们以 1298AA 基因型的 OR 为 1.00, AC 基因型、CC 基因型、AC+CC 基因型差异无统计学意义 (P 值分别为 0.768、0.726 和 0.716)。

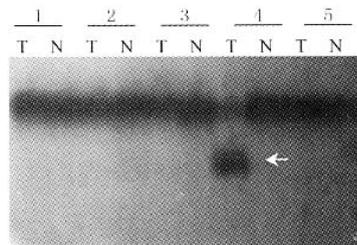
我们把胃癌按部位分为胃贲门癌、胃体癌和胃窦癌, 与对照组进行比较, 结果见表 4, 以 AA 基因型的 OR 值为 1.00, 贲门癌和胃体癌 AC 基因型、CC 基因型、AC+CC 基因型差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。胃窦癌 AC 基因型、CC 基因型、AC+CC 的 OR 值分别为 0.87、0.41、0.82, 随着变异等位基因

的增加, OR 值明显下降, 特别是 CC 基因型与 AA 基因型相比 (P 值 0.716、0.418 和 0.586), 虽统计学差异不显著, 亦提示 MTHFR A1298C 多态性可能是胃窦癌的保护因素。

3. 微卫星不稳与 MTHFR 基因多态性的关系: 122 例胃癌检出 BAT26 位点 MSI 22 例 (图 4), 阳性率为 18.0%。MTHFR C677T 和 A1298C 多态性与 MSI 的关系见表 5。由表 5 可知, MSI⁺ 胃癌 677TT 基因型的频率显著高于对照组 (8.9%) 和 MSI⁻ 胃癌组 (10.0%) (χ^2 分别为 6.806 和 7.022; P 值分别为 0.009 和 0.008)。而 CC 和 TT 基因型在各组中的频率则无显著差异 ($P > 0.05$)。A1298C 三种基因型 1298AA、1298AC 和 1298CC 在各组中的频率差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表3 MTHFR A1298C 基因型分布和等位基因频率与胃癌危险性的关系

项目	胃癌组		对照组		OR 值(95% CI)	χ^2 值
	例数	构成比 (%)	例数	构成比 (%)		
基因型						
AA	73	59.8	58	57.4	1.00	
AC	44	36.1	38	37.6	0.92(0.53~1.60)	0.087
CC	5	4.1	5	5.0	0.80(0.22~2.88)	0.123
AC+CC	49	40.2	43	42.6	0.91(0.53~1.55)	0.132
等位基因频率 (%)						
A	77.9		76.2			
C	22.1		23.8			



肿瘤 4 出现异常泳动; T: 肿瘤; N: 正常对照

图4 BAT26 微卫星不稳变性聚丙烯酰胺电泳图

表4 MTHFR A1298C 基因型分布和胃贲门癌、胃体癌及胃窦癌危险性的关系

基因型	胃癌组			对照组 (n = 101)	贲门癌与对照组		胃体癌与对照组		胃窦癌与对照组	
	胃贲门癌 (n = 29)	胃体癌 (n = 48)	胃窦癌 (n = 45)		OR 值(95% CI)	χ^2 值	OR 值(95% CI)	χ^2 值	OR 值(95% CI)	χ^2 值
AA	15(15.7)	30(62.5)	28(62.2)	58(57.4)	1.00		1.00		1.00	
AC	12(41.4)	16(33.3)	16(35.6)	38(37.6)	1.22(0.52~2.89)	0.206	0.81(0.39~1.69)	0.304	0.87(0.42~1.82)	0.132
CC	2(6.9)	2(4.2)	1(2.2)	5(5.0)	1.55(0.27~8.77)	0.246	0.77(0.14~4.23)	0.088	0.41(0.05~0.72)	0.656
AC+CC	14(48.3)	18(37.5)	17(37.8)	43(42.6)	1.26(0.55~2.88)	0.297	0.81(0.40~1.64)	0.346	0.82(0.40~1.68)	0.296

注: 括号外数据为例数; 括号内数据为构成比 (%)

表5 MTHFR C677T 多态性与 MSI 的关系

组别	例数	C677T			A1298C		
		CC	CT	TT	AA	AC	CC
MSI ⁺	22	6 (27.3)	10 (45.5)	6 (27.3)	11 (50.0)	9 (40.9)	2 (9.1)
MSI ⁻	100	52 (52.0)	38 (38.0)	10 (10.0)*	62 (62.0)	35 (35.0)	3 (3.0)
对照组	101	49 (48.5)	43 (42.6)	9 (8.9)*	58 (57.4)	38 (37.6)	5 (5.0)

注:括号外数据为例数;括号内数据为构成比(%);* P<0.05

讨 论

MTHFR 在调节叶酸代谢和甲基供体生成及核苷酸重新合成过程中发挥关键作用, MTHFR C677T 基因型变异将导致 MTHFR 活性下降, 使 DNA 甲基化、DNA 合成和修复过程发生障碍^[8]。已有研究表明, MTHFR 基因多态性与多种肿瘤的危险性增加有关。本研究分析了 MTHFR 基因多态性对胃癌危险性的影响, 发现重庆地区胃癌患者和健康人群 MTHFR C677T 基因频率分布并无显著差异。但将不同部位胃癌的 MTHFR 基因多态性进行分析发现, 677TT 纯合子胃贲门癌的危险性明显降低, 而纯合子 677TT 胃体癌危险性为对照的 3 倍, 提示重庆地区人群中 MTHFR C677T 多态性与胃癌发生的危险性有关。

不同部位胃癌的遗传易感性不尽相同。Shen 等^[9]报告江苏 MTHFR 多态性与胃贲门癌发生的关系更为密切, 本研究则提示 MTHFR 基因 677CT 多态性是胃体癌发生的危险因素和贲门癌的保护因素。其原因可能与地区和致癌因素的不同有关。江苏中部是胃癌高发区, 胃贲门癌占胃癌总数的 43.9%, 本组重庆地区 122 例胃癌中贲门癌为 29 例, 仅占 23.8%, 也支持重庆地区 MTHFR 677CT 基因多态性对胃贲门癌具有保护作用的观点。因此, 有理由认为, MTHFR 677CT 基因多态性对胃贲门癌具有保护作用, 可能是重庆地区胃癌低发的遗传学因素之一。中国人群中 MTHFR 基因多态性, 特别是 677T 等位基因非常普遍, 因此应重视 MTHFR 基因多态性对胃癌的遗传易感性的影响。

MTHFR A1298C 多态性与肿瘤发病的关系研究较少。Shen 等^[9]的研究没有发现 MTHFR A1298C 多态性与胃癌发生的危险性相关。本研究分析了 MTHFR 基因多态性对胃癌危险性的影响, 发现重庆地区胃癌患者和健康人群 MTHFR A1298C 基因频率分布并无显著差异。但将不同部

位胃癌的 MTHFR 基因多态性进行分析发现, 1298CC 纯合子胃窦癌的危险性有 59% 的下降, 提示该基因型对重庆地区人群胃窦癌的发生可能起保护作用。

我们过去的研究提示, 胃癌发生至少涉及二种不同的基因不稳方式, 即染色体不稳 (LOH 途径) 和微卫星不稳 (MSI 途径)^[10]。MSI⁺ 胃癌多表现为 hMLH1 表达的丢失和 hMLH1 启动子区高甲基化, MSI⁻L 和 MSS 肿瘤则少有甲基化, 提示 hMLH1 启动子区甲基化可能是引起 MSI⁺ 胃癌的主要机制^[11]。我们采用甲基化特异 PCR 方法检测胃癌 hMLH1 启动子区甲基化, 正常胃黏膜未见启动子区高甲基化, 胃癌常见 hMLH1 基因高甲基化, MSI⁺ 胃癌组 hMLH1 启动子区高甲基化的检出率显著高于 MSI⁻ 组, 提示 hMLH1 高甲基化参与了 MSI 途径^[12]。本研究发现, MSI⁺ 胃癌 677TT 基因型的频率显著高于 MSI⁻ 胃癌和对照组, 提示 MTHFR 677TT 与 MSI 密切相关, 表现为 677TT 基因型胃癌的发生可能涉及到 MSI 途径。深入研究 MTHFR 的多态性与 MSI 的关系, 有助于进一步阐明 MTHFR 变化导致胃癌发生的分子机制。

参 考 文 献

- Kim YI. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, folate, and cancer risk: a paradigm of gene-nutrient interactions in carcinogenesis. *Nutr Rev*, 2000, 58: 205-209.
- Singal R, Ferdinand L, Das PM, et al. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and prostate cancer risk. *Int J Oncol*, 2004, 25: 1465-1471.
- 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, 61: 3272-3275.
- Fang DC, Wang RQ, Yang SM, et al. Mutation and methylation of hMLH1 in gastric carcinomas with microsatellite instability. *World J Gastroenterol*, 2003, 9: 655-659.
- Yi P, Pogribny I, Jill James S. Multiplex PCR for simultaneous detection of 677 C → T and 1298 A → C polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase gene for population studies of cancer risk. *Cancer Lett*, 2002, 181: 209-213.
- Vander 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.
- Hoang JM, Cottu PH, Thuille B, et al. BAT-26, an indicator of the replication error phenotype in colorectal cancers and cell lines. *Cancer Res*, 1997, 57: 300-303.
- Choi SW, Mason JB. Folate and carcinogenesis: an integrated scheme. *J Nutr*, 2000, 130: 129-132.
- Shen H, Xu Y, Zheng Y, et al. Polymorphisms of 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase and risk of gastric cancer in a Chinese population: a case-control study. *Int J Cancer*, 2001, 95:

332-336.
 10 房殿春, 罗元辉, 杨仕明, 等. 胃癌微卫星不稳定性与移码突变的关系. 中华消化杂志, 1999, 19: 385-387.
 11 Yanagisawa Y, Akiyama Y, Iida S, et al. Methylation of the hMLH1 promoter in familial gastric cancer with microsatellite instability. Int J Cancer, 2000, 85: 50-53.

12 房殿春, 罗元辉, 李小安, 等. 胃癌错配修复基因 hMLH1 突变和启动子甲基化与基因不稳的关系. 中华消化杂志, 2002, 22: 327-330.

(收稿日期: 2004-12-16)
 (本文编辑: 孙强正)

· 天元科技园地 ·

山东省潍坊市三个肾综合征出血热重点管理县防治措施及效果分析

徐兆云 周健 迟镜庆

潍坊市自 1974 年发生首例肾综合征出血热(HFRS)病例后, 疫区不断扩大, 至 1984 年后发病率一直维持在 20/10 万左右, 成为山东省几个高发区之一, 特别是西部的青州、临朐、昌乐 3 个县(市)自 1997 年后发病率均在 30/10 万以上, 2001 年被山东省卫生厅列为全省 12 个 HFRS 重点管理县。为此 3 个县(市)严格按照山东省重点管理县工作实施技术要求, 贯彻落实各项防治措施, 近年来 HFRS 发病率显著下降。

1. 疫情监测: 春秋两季灭鼠前分别在每个县(市)的 1 个乡镇 2 个村做固定监测点, 每点布夹 100 个, 捕鼠 50 只左右进行鼠肺带病毒率监测(表 1)。各级医院发现 HFRS 疑似患者后在做到及时治疗的基础上, 采血进行 HFRS IgM 抗体的早期诊断, 不能做此诊断的及时向县级综合医院或疾病控制机构送检, 诊断及及时上报疫情, 并由县级疾病控制机构抽查复核 30% 的血清。3 个县(市)在做好大规模宣传发动的基础上, 在重点人群中开展了 HFRS 疫苗的预防接种, 疫苗由省卫生厅免费供给和本地政府出资购买, 全部免收成本费用注射, 2001-2003 年 3 个县(市)分别共接种疫苗 64 390、64 200 和 66 500 人份, 形成了较好的免疫屏障。

表 1 2000-2003 年山东省潍坊市 3 个县(市)鼠密度及鼠带病毒率监测

年份	鼠密度(%)		鼠带病毒率(%)	
	春季(室内)	秋季(室外)	春季(室内)	秋季(室外)
2000	5.83(35/600)	4.83(29/600)	6.25(3/48)	4.00(2/50)
2001	4.00(24/600)	3.67(22/600)	6.12(3/49)	4.17(2/48)
2002	1.17(7/600)	1.17(7/600)	4.08(2/49)	2.13(1/47)
2003	0.83(5/600)	0.67(4/600)	2.00(1/50)	0.00(0/47)

注: 括号内数据分母为布夹个数或检测只数, 分子为捕获(阳性)只数

2. 主要防治措施: 3 个县(市)被列入重点管理后, 市、县两级政府高度重视防治工作, 成立领导小组与技术小组, 负责组织协调与技术指导, 由政府召开专题会议, 下发专门文

件部署防治工作, 签订责任状, 明确职责, 把防治工作层层分解到有关领导、单位和个人, 市、县两级财政每年都有专门的防治经费, 确保各项措施的落实。市、县两级电视台、广播电台制作了专题片、稿件每周不少于 2 次定时播出, 并在报纸上开辟 HFRS 防治专题栏目, 卫生、宣传部门密切配合运用宣传车走街串户进行科普宣传, 印发宣传明白纸发放到群众手中, 每个村卫生室、学校教室都张贴宣传画, 2001-2003 年共印发宣传材料 100 万余份, 电视台、广播电台分别播放(出)专题片、稿件 421 次、394 次, 出动宣传车 635(天)次, 张贴宣传画 3 万余张。2003 年 10 月对 HFRS 防治知识进行了入户调查, 知晓率达 96.23%。市、县、乡每年至少举办 1 次以上有关专业人员防治知识培训班, 培训到乡村医生, 中小学生学习健康教育课亦增加此方面的内容。

3. 防治效果: 3 个县(市)2000 年 HFRS 发病率均在 30/10 万以上, 且临朐、昌乐县各死亡 1 例, 自 2001 年实行重点管理后, 当年发病率开始下降, 年均下降在 10% 以上, 3 年来无一例死亡病例(表 2)。

表 2 2000-2003 年山东省潍坊市 3 县(市) HFRS 发病统计

年份	临朐县		青州市		昌乐县	
	发病例数	发病率(/10 万)	发病例数	发病率(/10 万)	发病例数	发病率(/10 万)
2000	374	43.16	379	42.41	195	32.15
2001	298	34.37	196	21.91	35	5.80
2002	193	22.30	130	14.71	22	3.64
2003	205	23.79	89	11.35	78	12.99

由于市、县两级政府高度重视, 从人力、物力、财力及政策上给予倾斜与支持, 卫生、宣传等多部门密切配合, 保证了各项防治措施的落实, 使 HFRS 发病显著下降, 2004 年 5 月经山东省卫生厅中期考核各项指标达到了实行重点管理的目的与要求, 说明对 HFRS 高发病区实行重点管理意义重大、成效显著, 亦为其他传染病防治提供了参考。

(收稿日期: 2004-12-09)
 (本文编辑: 张林东)