

MTHFR、BMPRI1B 和 TYMS 多态性与先天性小耳畸形相关性研究*

刘宁¹ 刘育凤¹ 隋静² 张艳秋² 马书梅² 吴文娟² 梁戈玉² 谭谦³

[摘要] 目的:探讨 MTHFR、BMPRI1B 和 TYMS 基因多态性与先天性小耳畸形的相关性。方法:收集 180 例小耳畸形患者和 141 例健康对照,采用多重 PCR 分析方法对 MTHFR rs4846049、BMPRI1B rs1434536 和 TYMS rs2790 位点进行基因型检测,采用 χ^2 检验分析各基因型频率和等位基因频率的在病例组和对照组中的分布,采用分层分析探讨 3 种基因多态性对不同性别先天性小耳畸形发病风险的影响。结果:TYMS 基因 rs2790 位点基因型频率和等位基因频率分布在病例组与对照组中差异有统计学意义($P < 0.05$),进一步分层分析发现,TYMS rs2790 基因多态性主要增加男性先天性小耳畸形发病风险($P < 0.05$),与携带 AA 基因型的个体相比,携带基因型 AG、GG、AG+GG 的个体发病风险分别为对照组的 1.93、3.23 和 2.10 倍,95%CI 分别为 1.07~3.48、1.12~9.33 和 1.20~3.68。未发现 MTHFR rs4846049、BMPRI1B rs1434536 多态性和先天性小耳畸形有关($P > 0.05$)。结论:TYMS rs2790 基因多态性和男性先天性小耳畸形发生有关。

[关键词] 先天性小耳畸形;MTHFR; BMPRI1B; TYMS; 基因多态性

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2017.06.001

[中图分类号] R764.7 [文献标志码] A

Polymorphism analysis of MTHFR, BMPRI1B and TYMS in microtia

LIU Ning¹ LIU Yufeng¹ SUI Jing² ZHANG Yanqiu² MA Shumei²
WU Wenjuan² LIANG Geyu² TAN Qian³

(¹Department of Plastic Surgery, Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing, 210029, China; ²Key Laboratory of Environmental Medicine Engineering, Ministry of Education, School of Public Health, Southeast University; ³Nanjing Drum Tower Hospital Clinical College of Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine)

Corresponding author: TAN Qian, E-mail: smmutanqian@sina.com

Abstract Objective: To explore the relationship between MTHFR, BMPRI1B and TYMS polymorphism and congenital microtia in Chinese Han population. **Method:** A total of 180 microtia patients and 141 healthy participants were enrolled in this study. The genotyping of MTHFR rs4846049, BMPRI1B rs1434536 and TYMS rs2790 of the participants were examined with multiple PCR. Frequencies and allele distribution of MTHFR rs4846049, BMPRI1B rs1434536 and TYMS rs2790 between cases and control were analyzed with Chi-square test. **Result:** The genotype frequency distribution of TYMS rs2790 polymorphism was significantly different between two groups ($P < 0.05$). Furthermore, gender stratified analysis showed that TYMS rs2790 polymorphism mainly increase the risks of congenital microtia in male ($P < 0.05$). Compared with AA genotype, the microtia risks of subjects with AG GG AG+GG raised to 1.93, 3.23 and 2.10 times, respectively (95%CI: 1.07-3.48, 1.12-9.33 and 1.20-3.68). However, there was no relationship between MTHFR rs4846049, BMPRI1B rs1434536 and microtia. **Conclusion:** The TYMS rs2790 polymorphism may be a risk factor of microtia in male.

Key words microtia; MTHFR; BMPRI1B; TYMS; gene polymorphism

先天性小耳畸形(microtia)是最常见的人类先天性面部畸形之一,尤其在亚洲人群的发病率较高^[1]。目前研究显示,男性小耳畸形发生更频繁,

与女性相比,发生风险增加 20%~40%^[2]。然而,先天性小耳畸形的病因仍然不确定^[3-4]。目前认为出生缺陷是遗传和环境因素共同作用的结果,而环境应答基因的单核苷酸多态性(SNP)可能影响先天畸形的发生发展。据报道,叶酸代谢相关酶,如亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因多态性与唇腭裂、神经管畸形等先天性畸形有关联^[5-6],但与先天性小耳畸形的关系极少见报道。我们之前对叶酸代谢相关酶 MTHFR677C-T、1298A-C、蛋氨

* 基金项目:江苏省科技支撑计划-社会发展项目(No: BE2011817);江苏省六大人才高峰(No:2013-WSW-053)

¹南京中医药大学附属医院整形外科(南京,210029)

²东南大学公共卫生学院 教育部环境医学工程重点实验室

³南京中医药大学附属中西医结合鼓楼临床医学院烧伤整形科

通信作者:谭谦, E-mail: smmutanqian@sina.com

酸合成酶 (MTRR) rs1801394 和 5,10 亚甲基四氢叶酸脱氢酶 (MTHFDIL) rs1950902 基因多态性和先天性小耳畸形之间的关系进行了研究, 结果发现 MTHFR677C-T 基因多态性增加男性先天性小耳畸形的发病风险^[7-9]。此外, 研究显示, 胸苷酸合成酶 TYMS 也是叶酸代谢途径中的关键酶之一, 而骨形态发生蛋白受体 1B (BMPRI1B) 与软骨发育密切相关, 但是目前尚未见 TYMS 和 BMPRI1B 基因多态性与先天性小耳畸形的报道。

因此, 本次研究中我们选择了 MTHFR 的另一个多态性位点 rs4846049 以 BMPRI1B rs1434536、TYMS rs2790 位点, 应用病例-对照设计, 在 180 例先天性小耳畸形患者及其相应对照中开展 MTHFR rs4846049、BMPRI1B rs1434536 和 TYMS rs2790 基因多态性与先天性小耳畸形发病风险关系的研究。

1 材料与方法

1.1 研究对象

2012—2015 年间, 从江苏省中医院、南京医科大学附属第二医院和中大医院收集符合诊断标准的先天性小耳畸形患者 180 例作为病例组, 同期 141 例健康体检者作为对照组, 对照组与病例组年龄、性别成组匹配, 并排除先天性畸形和慢性疾病。采集病例和对照的 2 ml 全血样品, -80℃ 保存。所有受试者均获得知情同意。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 应用 RelaxGene Blood DNA System (Tiangen, 中国) 试剂盒, 根据说明书进行 DNA 提取, 将 DNA 溶解于 Milli-Q 级水中并在 -20℃ 保存。应用 NanoDrop 1000 分光光度计 (NanoDrop Technologies, 美国) 评估提取 DNA 的浓度和完整性。

1.2.2 基因型检测 通过多重 PCR 检测 MTHFR rs4846049, BMPRI1B rs1434536 和 TYMS rs2790 的基因型。各基因位点扩增的引物和 LDR 探针见表 1。初始 PCR 扩增反应体系为 20 μl, 包含 1 μl DNA (50 ng), 0.6 μl MgCl₂ (3 mmol/L), 2 μl 1 × 缓冲液 (Promega, 美国), 2 μl dNTP (2 mmol/L) (Promega 美国), 0.2 μl Taq 聚合酶 (1 U) (Takara, 中国), 2 μl 引物混合物 (HANYU, 中国) 和 12.2 μl ddH₂O (Tiangen, 中国)。PCR 扩增参数: 95℃ 2 min; 94℃ 30 s, 59℃ 90 s, 72℃ 1 min, 35 个循环; 65℃ 延伸 10 min。LDR 扩增体系为 10 μl, 包含 1 μl 1 × 缓冲液 (Promega, 美国), 1 μl Probe 混合物 (2 pmol/μl) (Bio-wing Applied Biotech Co, 中国), 0.05 μl Taq DNA 连接酶 (2 U) (Takara, 中国), 4 μl PCR 产物和 3.95 μl ddH₂O (Tiangen, 中国)。扩增条件如下: 95℃ 2 min; 94℃ 15 s, 50℃ 25 s, 40 个循环。应用 3730 测序仪对 PCR 产物进行毛细管微电泳, 结果应用 Genemapper 软件进行分析, 从而确定各基因位点的基因型。3 个基因位点的检测成功率 > 99%, 10% 样品重复测定的一致率为 100%。

1.3 统计学分析

通过 χ^2 检验分析 Hardy-Weinberg 平衡 (HWE)。应用 SPSS 软件, 卡方检验分析基因多态性和先天性小耳畸形之间的关联性, 根据 OR 及 95% 可信区间 (CI) 计算相对发病风险。以双侧 $P < 0.05$ 为统计学差异的检验水准。

2 结果

2.1 一般情况

180 例小耳畸形患者中, 男 138 例, 女 42 例, 平均年龄 (13.34 ± 7.29) 岁; 141 例健康对照中, 男 79 例, 女 62 例, 平均年龄 (14.38 ± 7.37) 岁, 两组

表 1 MTHFR、BMPRI1B 和 TYMS 基因多态性多重 PCR 检测的引物和探针

基因	多态性位点	引物	LDR 探针
MTHFR	rs4846049	5-TGTTTTGCCTGTACTGCAC-3'	5-TTTTTTTTTTTTTTTTTTTCTGGGACTCCCAGTGAACTTACC-3',
		5-AACTAAGCCCTCGAACCAAG-3'	5-TTTTTTTTTTTTTTTTTTTCTGGGACTCCCAGTGAACCTACA-3'
BMPRI1B	rs1434536	5-TCTCTGTCTTTGCCAGGTC-3'	5-TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCCAGTGGGTTTCAGACCTCACCTT-3'
		5-AAGCATCCACAGTACAAGCC-3'	5-TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCCAGTGGGTTTCAGACCTCACCTC-3'
TYMS	rs2790	5-GGATGCCGAGGTAAAAGTTC-3'	5-TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCAGATTTTGTACCTAGTTCCCTT-3'
		5-AACTGATAGGTCACGGACAG-3'	5-TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCAGATTTTGTACCTAGTTCCCTC-3'

性别分布差异有统计学意义($P < 0.05$), 年龄分布差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 Hardy-Weinberg 平衡分析

各基因位点的 Hardy-Weinberg 平衡分析结果见表 2。对照组中 MTHFR rs4846049, BMPRI1B rs1434536 和 TYMS rs2790 位点各基因型分布 HWE 分析的 P 值分别为 0.91、0.54 和 0.38, 符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。

表 2 MTHFR、BMPRI1B 和 TYMS 基因位点 Hardy-Weinberg 平衡分析

基因	多态性位点	HWE	P
MTHFR	rs4846049	0.01	0.91
BMPRI1B	rs1434536	0.37	0.54
TYMS	rs2790	0.76	0.38

2.3 MTHFR、BMPRI1B 和 TYMS 基因型频率分布与先天性小耳畸形发病风险分析

MTHFR、BMPRI1B 和 TYMS 基因型分布与先天性小耳畸形的发病风险分析见表 3。分析结果显示, TYMS 基因 rs2790 位点基因型频率分布在病例组与对照组中差异有统计学意义($P < 0.05$), 与携带 AA 基因型的个体相比, 携带变异型基因 AG、GG、AG+GG 的个体发病风险分别为对照组的 1.67、2.53 和 1.86 倍, 95%CI 分别为 (1.06~2.73)、(1.20~5.34) 和 (1.19~2.90)。未发现 MTHFR rs4846049、BMPRI1B rs1434536 位点的基因型频率分布在病例和对照组中的差异有统计学意义($P > 0.05$)。

2.4 不同性别的 MTHFR、BMPRI1B 和 TYMS 基因型频率分布与先天性小耳畸形发病风险分析

由于性别分布在病例组与对照组中存在差异, 因此本研究对不同性别的各基因型频率分布与患病风险关系分别进行了分析, 结果见表 4 和表 5。我们发现, 主要在男性中, TYMS 基因 rs2790 位点基因型频率分布在病例组与对照组中差异有统计学意义($P < 0.05$), 与携带 AA 基因型的个体相比, 携带基因型 AG、GG、AG+GG 的个体发病风险分别为对照组的 1.93、3.23 和 2.10 倍, 95%CI 分别为 (1.07~3.48)、(1.12~9.33) 和 (1.20~3.68), 但在女性中未发现 TYMS rs2790 位点基因型分布与先天性小耳畸形的发病风险具有相关性($P > 0.05$), 提示该位点突变与男性小耳畸形发生风险的关系更为密切。在男性和女性中, 均未发现 MTHFR rs4846049、BMPRI1B rs1434536 位点的基因型频率分布与先天性小耳畸形发病有关($P > 0.05$)。

表 3 MTHFR、BMPRI1B 和 TYMS 基因型分布与先天性小耳畸形的发病风险分析

基因型	病例	对照	OR	95%CI
MTHFR rs4846049				
TT	3	3	1.00	—
TG	51	34	1.50	0.29~7.87
GG	126	104	1.21	0.24~6.13
Additive model				
TT	3	3	1.00	—
TG+GG	177	138	1.29	0.26~6.45
BMPRI1B rs1434536				
GG	72	56	1.00	—
AG	75	63	0.93	0.57~1.50
AA	33	22	1.17	0.61~2.22
Additive model				
GG	72	56	1.00	—
GA+AA	108	85	0.99	0.63~1.55
TYMS rs2790				
AA	72	78	1.00	—
AG	80	51	1.67	1.06~2.73
GG	28	12	2.53	1.20~5.34
Additive model				
AA	72	78	1.00	—
AG+GG	108	63	1.86	1.19~2.90

表 4 男性中 MTHFR、BMPRI1B 和 TYMS 基因型分布与先天性小耳畸形的发病风险分析

基因型	病例	对照	OR	95%CI
MTHFR rs4846049				
TT	1	1	1.00	—
TG	40	18	2.22	0.13~37.55
GG	97	60	1.62	0.10~26.33
Additive model				
TT	1	1	1.00	—
TG+GG	137	78	1.76	0.11~28.47
BMPRI1B rs1434536				
GG	54	35	1.00	—
GA	57	33	1.12	0.61~2.05
AA	27	11	1.59	0.70~3.61
Additive model				
GG	54	35	1.00	—
GA+AA	84	44	1.24	0.74~2.17
TYMS rs2790				
AA	53	45	1.00	—
AG	66	29	1.93	1.07~3.48
GG	19	5	3.23	1.12~9.33
Additive model				
AA	53	45	1.00	—
AG+GG	85	34	2.10	1.20~3.68

表 5 女性中 MTHFR、BMPRI1B 和 TYMS 基因型分布与先天性小耳畸形的发病风险分析

基因型	病例	对照	OR	95%CI
MTHFRrs4846049				
TT	2	2	1.00	—
TG	11	16	0.69	0.08~5.64
GG	29	44	0.66	0.09~4.95
Additive model				
TT	2	2	1.00	—
TG+GG	69	60	0.67	0.09~4.95
BMPRI1Brs1434536				
GG	18	21	1.00	—
AG	18	30	0.70	0.30~1.65
AA	6	11	0.64	0.20~2.07
Additive model				
GG	18	21	1.00	—
GA+AA	24	41	0.68	0.31~1.53
TYMSrs2790				
AA	19	33	1.00	—
AG	14	22	1.11	0.46~2.65
GG	9	7	2.23	0.72~6.97
Additive model				
AA	19	33	1.00	—
AG+GG	23	29	1.03	0.53~1.99

表 6 MTHFR、BMPRI1B 和 TYMS 等位基因频率分布与先天性小耳畸形的发病风险分析

性别	基因型	病例	对照	OR	95%CI
总体	rs4846049				
	T	57	40	1.00	—
	G	303	242	0.88	0.57~1.36
	rs1434536				
	G	219	175	1.00	—
	A	141	107	1.05	0.76~1.45
	rs2790				
	A	224	207	1.00	—
	G	136	75	1.68	1.19~2.36
	男	rs4846049			
T		42	20	1.00	—
G		234	138	0.81	0.46~1.43
rs1434536					
G		165	103	1.00	—
A		111	55	1.31	0.87~1.97
rs2790					
A		172	119	1.00	—
G		104	39	1.85	1.19~2.85
女		rs4846049			
	T	15	20	1.00	—
	G	69	104	0.89	0.42~1.85
	rs1434536				
	G	72	72	1.00	—
	A	42	42	1.27	0.73~2.22
	rs2790				
	A	88	88	1.00	—
	G	36	36	1.50	0.84~2.71

2.5 MTHFR、BMPRI1B 和 TYMS 等位基因频率分布与先天性小耳畸形发病风险分析

MTHFR、BMPRI1B 和 TYMS 等位基因频率分布与先天性小耳畸形的发病风险分析见表 6。结果显示,在总体人群中, TYMS rs2790 的等位基因频率在病例组和对照组之间的分布差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),小耳畸形发生的风险增加了 68% ($OR = 1.68, 95\%CI 1.19 \sim 2.35$)。分性别分层分析后显示, TYMS rs2790 的等位基因频率仍然是主要增加男性先天小耳畸形的发病风险 ($P < 0.05$),与对照相比,先天性小耳畸形的风险增加了 85% ($OR = 1.85, 95\%CI 1.19 \sim 2.85$),未发现该等位基因对女性先天小耳畸形发病风险具有影响 ($P > 0.05$)。在男性和女性中,均未发现 MTHFR rs4846049、BMPRI1B rs1434536 等位基因频率分布与先天性小耳畸形发病有关 ($P > 0.05$)。

3 讨论

先天性小耳畸形是常见的出生缺陷之一, Mastroiacovo 等调查了 1983—1992 年意大利出生缺陷登记数据, 1 173 794 新生儿有 172 例有小耳畸形, 其中 42 例 (27.9%) 伴有其他先天性畸形^[10]。研究显示, 基因多态性可影响出生缺陷的发病风险, 如 MTHFR 基因多态性与多种出生缺陷如唇腭裂、神经管缺陷有关^[5-6], 但是关于基因多态性和先天性

小耳畸形关系的研究极少。我们之前的研究显示, MTHFR 677C-T 基因多态性与男性先天小耳畸形有关^[7-9]。本研究主要探究了 MTHFR rs4846049、BMPRI1B rs1434536 和 TYMS rs2790 多态性是否与小耳畸形易感性相关。Hardy-Weinberg 平衡分析结果显示, 在本研究中, 观察到的单核苷酸多态性的频率符合 Hardy-Weinberg 平衡定律, 说明我们的人群数据具有代表性。

TYMS 是催化叶酸代谢途径中 dUMP 转化为 dTMP 的关键酶, 尤其是 DNA 合成和修复过程的重要前体^[11-12]。目前关于 TYMS 的研究主要集中在癌症相关领域, 研究显示, TYMS 可能在肿瘤发生、细胞衰老和凋亡中起重要作用 (13、14、15、16-18)。有关 TYMS rs2790 基因多态性与疾病关系的研究很少。Xu 等^[19] 对 576 个非小细胞肺癌患者中 13 个 SNPs 进行了研究, 发现 TYMS rs2790 对患者的存活率具有显著影响。Shen 等^[20] 通过对 379 例胃癌患者和 431 例对照的 TYMS 的 SNP 进行了研究, 结果发现 rs2790 GG 基因型与胃癌的发

病风险明显相关。我们的研究发现 TYMS rs2790 G 等位基因频率在对照和病例组的分布具有明显差异,携带含有 G 等位基因的基因型可增加男性先天小耳畸形的发病风险。Xu 等^[19] 构建了包含 TYMS rs2790 A 或 G 等位基因的 2 种报告质粒,经过荧光素酶报告基因实验,发现与 A 等位基因相比,rs2790 G 等位基因的表达水平较低。这提示 TYMS rs2790 G 等位基因可降低 TYMS 基因的表达,从而进一步通过影响叶酸代谢途径或者 DNA 修复影响先天小耳畸形的发生。本研究为首次报道 TYMS rs2790 基因多态性与先天性小耳畸形发病风险的相关性。

MTHFR 是叶酸和同型半胱氨酸代谢中的限速酶,并且参与 DNA 甲基化、修复和合成^[11-12]。MTHFR 的基因突变可导致酶活性和热稳定性的降低,阻断或抑制叶酸代谢途径,并最终导致疾病的发生^[21-23]。MTHFR 基因多态性与疾病关系的研究多集中于 677C-T 和 1298A-C 这 2 个位点^[24-25]。Nan 等^[5] 研究显示,MTHFR 677C-T 多态性与山西省非综合征性唇腭裂的发病风险相关。Wang 等^[6] 研究显示,MTHFR 677C-T 和 1298A-C 与神经管缺陷发生有关,其中 677C-T 突变是神经管缺陷的危险因素,而 1298A-C 突变在神经管缺陷中起保护作用。MTHFR rs4846049 突变位点与出生缺陷的关系尚未见报道。我们首次对 MTHFR rs4846049 位点与先天性小耳畸形的发病风险进行了研究,未发现 MTHFR rs4846049 突变对先天性小耳畸形的发病有影响。

BMPRI1B 是软骨形成和发展中的关键基因,研究显示,BMPRI1B 与软骨发育不全、产仔数、短指及癌症发生密切相关^[26-32]。已经发现,BMPRI1B 基因突变可影响软骨形成^[30]。Demirhan 等于 2005 年研究显示,一个携带 BMPRI1B 纯合突变基因型的患者,具有严重的肩峰发育不良和卵巢功能障碍。本次研究中,我们首次对 BMPRI1B rs1434536 位点与先天性小耳畸形的发病风险进行了研究,未发现 BMPRI1B rs1434536 突变对先天性小耳畸形的发病有影响。

综上所述,本研究首次对 MTHFR rs4846049、BMPRI1B rs1434536、TYMS rs2790 基因多态性和先天性小耳畸形之间的关系进行了探讨,结果显示,TYMS rs2790 基因多态性和先天性小耳畸形发生有关,携带 G 等位基因的基因型可显著增加男性小耳畸形发病风险,研究为临床筛查及早期预防提供依据。

参考文献

[1] CANFIELD M A, LANGLOIS P H, NGUYEN L M, et al. Epidemiologic features and clinical subgroups of anotia/microtia in Texas. Birth defects research

[J]. Part A, Clin Molecular Teratol, 2009, 85: 905-913.

- [2] BARTEL-FRIEDRICH S. Congenital auricular malformations: description of anomalies and syndromes [J]. Facial Plastic Surg;FPS,2015,31: 567-580.
- [3] ARTUNDUAGA M A, QUINTANILLA-DIECK MDE L, GREENWAY S, et al. A classic twin study of external ear malformations, including microtia[J]. New England J Medic 2009,361:1216-1218.
- [4] LUQUETTI D V, HEIKE C L, HING A V, et al. Microtia: epidemiology and genetics[J]. Am J Med Genetics, 2012,158:124-139.
- [5] NAN X, LIU M, YUAN G. [Relationship between genetic polymorphism of MTHFR C677T and non-syndromic cleft lip with or without cleft palate in Shanxi Province of China] [J]. Chinese J Plastic Surg,2014,30:265-269.
- [6] WANG Y, LIU Y, JI W, et al. Variants in MTHFR gene and neural tube defects susceptibility in China [J]. Metabolic Brain Disease,2015,30:1017-1026.
- [7] 刘宁,刘育凤,张艳秋,等. miR-27a 基因多态性与先天小耳畸形的相关性研究[J]. 东南大学学报医学版, 2015,34(6):897-902.
- [8] 张艳秋,刘宁,刘育凤,等. MTRR 和 MTHFD1L 基因多态性与先天小耳畸形相关性[J]. 中国公共卫生 2016,32(3):302-306.
- [9] 马书梅,刘育凤,刘宁,等 MTHFR 677C-T 和 1298A-C 基因多态性与先天性小耳畸形相关性[J]. 中国公共卫生,2015,31(5):662-665.
- [10] MARQUARDT P, MULLER-HERMELINK H K. Characteristics of T-lymphocytes infiltrating human B-cell lymphomas[J]. Environmental Health Perspectives,1990,88:233-235.
- [11] MANDOLA M V, STOEHLMACHER J, ZHANG W, et al. A 6 bp polymorphism in the thymidylate synthase gene causes message instability and is associated with decreased intratumoral TS mRNA levels [J]. Pharmacogenetics,2004,4:319-327.
- [12] KIM S R, OZAWA S, SAITO Y, et al. : Fourteen novel genetic variations and haplotype structures of the TYMS gene encoding human thymidylate synthase(TS) [J]. Drug metabolism and pharmacokinetics 2006,21:509-516.
- [13] JOERGER M, HUITEMA A D, BOOT H, et al. Germline TYMS genotype is highly predictive in patients with metastatic gastrointestinal malignancies receiving capecitabine-based chemotherapy[J]. Cancer Chemotherapy Pharmacol,2015,75: 763-772.
- [14] BURDELSKI C, STRAUSS C, TSOURLAKIS M C, et al. Overexpression of thymidylate synthase (TYMS) is associated with aggressive tumor features and early PSA recurrence in prostate cancer[J]. Oncotarget,2015,6: 8377-8387.
- [15] LUO Y, LI Z, CUI S, et al. Retraction note: joint de-

- tection of ERCC1, TUBB3, and TYMS guidance selection of docetaxel, 5-fluorouracil and cisplatin (DDP) individual chemotherapy in advanced gastric cancer patients[J]. *Eur J Med Res*, 2010, 20: 29–29.
- [16] FUJISHIMA M, INUI H, HASHIMOTO Y, et al. Relationship between thymidylate synthase (TYMS) gene polymorphism and TYMS protein levels in patients with high-risk breast cancer [J]. *Anticancer Res*, 2010, 30: 4373–4379.
- [17] LEE S W, CHEN T J, LIN L C, et al. Overexpression of thymidylate synthetase confers an independent prognostic indicator in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Exp Molec Pathol* 2013, 95: 83–90.
- [18] KOTOULA V, KRIKELIS D, KARAVASILIS V, et al. Expression of DNA repair and replication genes in non-small cell lung cancer (NSCLC): a role for thymidylate synthetase (TYMS) [J]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 342–342.
- [19] XU J, TIAN S, YIN Z, et al. MicroRNA-binding site SNPs in deregulated genes are associated with clinical outcome of non-small cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2014, 85: 442–448.
- [20] SHEN R, LIU H, WEN J, et al. Genetic polymorphisms in the microRNA binding-sites of the thymidylate synthase gene predict risk and survival in gastric cancer [J]. *Molecular Carcinogenesis*, 2015, 54: 880–888.
- [21] LEWIS S J, HARBORD R M, HARRIS R, et al. Meta-analyses of observational and genetic association studies of folate intakes or levels and breast cancer risk[J]. *J National Cancer Institute*, 2006, 98: 1607–1622.
- [22] MA E, IWASAKI M, KOBAYASHI M, et al. Dietary intake of folate, vitamin B2, vitamin B6, vitamin B12, genetic polymorphism of related enzymes, and risk of breast cancer: a case-control study in Japan [J]. *Nutrition Cancer*, 2009, 61: 447–456.
- [23] SWIERKOT J, SLEZAK R, KARPINSKI P, et al. Associations between single-nucleotide polymorphisms of RFC-1, GGH, MTHFR, TYMS, and TCII genes and the efficacy and toxicity of methotrexate treatment in patients with rheumatoid arthritis [J]. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej*, 2015, 125: 152–161.
- [24] CHATURVEDI P, TULSYAN S, AGARWAL G, et al. Relationship of MTHFR and NQO1 Pharmacogenetics and Chemotherapy Clinical Outcomes in Breast Cancer Patients [J]. *Biochemical Genetics*, 2015, 53: 211–222.
- [25] D'AMICO M, PASTA F, PASTA L. Thrombophilic genetic factors PAI-1 4G-4G and MTHFR 677TT as risk factors of alcohol, cryptogenic liver cirrhosis and portal vein thrombosis, in a Caucasian population [J]. *Gene*, 2015, 568: 85–88.
- [26] CHANG C Y, CHEN Y, LAI M T, et al. BMPR1B up-regulation via a miRNA binding site variation defines endometriosis susceptibility and CA125 levels [J]. *PLoS One*, 2013, 8: e80630–e80630.
- [27] PENNEY K L, SINNOTT J A, TYEKUCHEVA S, et al. Association of prostate cancer risk variants with gene expression in normal and tumor tissue [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2015, 24: 255–260.
- [28] MAHDAVI M, NANEKARANI S, HOSSEINI S D. Mutation in BMPR-IB gene is associated with litter size in Iranian Kolehkoobi sheep [J]. *Animal Reproduction Science*, 2014, 147: 93–98.
- [29] GRAUL-NEUMANN L M, DEICHSEL A, WILLE U, et al. Homozygous missense and nonsense mutations in BMPR1B cause acromesomelic chondrodysplasia-type Grebe [J]. *EJHG*, 2014, 22: 726–733.
- [30] LEHMANN K, SEEMANN P, STRICKER S, et al. Mutations in bone morphogenetic protein receptor 1B cause brachydactyly type A2 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100: 12277–12282.
- [31] BADURA-STRONKA M, MROZ D, BEIGHTON P, et al. Novel mutation in the BMPR1B gene (R486L) in a Polish family and further delineation of the phenotypic features of BMPR1B-related brachydactyly. *Birth defects research* [J]. Part A, *Clin Molecul Teratol*, 2015, 103: 567–572.
- [32] RACACHO L, BYRNES A M, MACDONALD H, et al. Two novel disease-causing variants in BMPR1B are associated with brachydactyly type A1 [J]. *EJHG*, 2015, 23: 1640–1645.

(收稿日期: 2017-01-09)