

育龄期汉族女性 MTHFR C677T 多态性分析

何安娜^{1,2} 张梦怡^{1,2} 戎秀格^{2*}

1 华北理工大学 2 唐山工人医院

DOI:10.12238/bmtr.v4i1.4795

[摘要] 目的: 调查并分析唐山市汉族育龄妇女亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)C677T基因多态性的频率特征,为育龄期女性合理增补叶酸提供依据。方法 以2018年11月-2021年4月在唐山工人医院进行孕前和孕期检查的汉族女性人群1045例为研究对象,采集血液应用荧光定量PCR法检测MTHFR C667T的基因多态性,并与国内沿海省份其他城市的相关报道进行比较分析。结果 唐山市MTHFR C677T位点基因的CC,CT和TT基因频率分别为 49.6%,19.23%和31.20%,MTHFR 667C/T等位基因型频率为44.0%和56.0%。与国内沿海省份其他城市比较,其中与沈阳与天津比较无统计学意义($P > 0.05$)。与烟台、淄博、潍坊、镇江、无锡、苏州、上海、绍兴、丽水、温州、河源、广州、惠州、东莞、珠海、阳江和琼海的差异均有统计学意义($P < 0.05$)。MTHFR C677T等位基因分布与基因型分布情况类似。结论 唐山市育龄女性的MTHFR C667T基因多态性分布具有明显的地域性特征,根据叶酸代谢基因多态性检测结果指导本地育龄期女性合理增补叶酸剂量,预防出生缺陷。

[关键词] 5,10-甲基四氢叶酸还原酶; 叶酸; 基因多态性

中图分类号: R591.42+4 **文献标识码:** A

Polymorphism analysis of MTHFR C677T in Han women of childbearing age

Anna He^{1,2} Mengyi Zhang^{1,2} Xiuge Rong^{2*}

1 North China University of Science and Technology 2 Tangshan Workers Hospital

[Abstract] Objective To investigate and analyze the frequency characteristics of MTHFR C677T gene polymorphism in Han women of childbearing age in the Tangshan area, and provide the basis for reasonable folic acid supplementation for women of childbearing age. Methods A total of 1,045 Han women who were examined before and during pregnancy in Tangshan Workers' Hospital from November 2018 to April 2021 were taken as the research object. The blood samples were collected and the gene polymorphism of MTHFR C667T was detected by fluorescence quantitative PCR, and compared with the related reports in other cities in China's coastal provinces. Results The CC, CT and TT gene frequencies of MTHFR C677T locus gene in Tangshan were 49.6%, 19.23% and 31.20% respectively, and the MTHFR 667C/T allele frequencies were 44.0% and 56.0% respectively. Compared with other cities in China's coastal provinces, there is no significant difference between Shenyang and Tianjin ($P > 0.05$). There are significant differences between Yantai, Zibo, Weifang, Zhenjiang, Wuxi, Suzhou, Shanghai, Shaoxing, Lishui, Wenzhou, Heyuan, Guangzhou, Huizhou, Dongguan, Zhuhai, Yangjiang and Qionghai ($P < 0.05$). The allele distribution of MTHFR C677T is similar to the genotype distribution. Conclusion The distribution of MTHFR C667T gene polymorphism in women of childbearing age in Tangshan has obvious regional characteristics. According to the results of folic acid metabolism gene polymorphism, it is necessary to guide local women of childbearing age to supplement folic acid reasonably and prevent birth defects.

[Key words] 5,10 - Methylenetetrahydrofolate reductase; Folic acid; Gene polymorphism

叶酸是一种水溶性B族维生素,叶酸在孕期和胎儿发育过程中起着至关重要的作用,有研究表明叶酸的缺乏是出生缺陷高发的重要原因之一^[1]。人体自身

无法合成叶酸,必须通过外源性食物或叶酸片的摄入来补充^[2]。随着经济的发展,人们的生活水平的提高,人们对于叶酸补充的来源不再缺乏,但是不同人群

对叶酸的吸收代谢存在差异,如何根据不同人群的遗传特性确定合适的叶酸补充量成为一个研究热点^[3]。

亚甲基四氢叶酸还原酶是影响叶酸

代谢途径的关键酶,它的变异将导致人体对叶酸的代谢水平下降,最终影响胎儿的生长发育可导致胎儿开放性神经管缺陷(如无脑畸形、脊柱裂)、唐氏综合征、先天性心脏病和唇腭裂等出生缺陷^[4]。MTHFR C677T位点突变是目前针对影响叶酸代谢的遗传基因变异位点中是研究最多、最常见的突变类型^[5],目前尚未有关于河北省唐山市人群的叶酸代谢相关基因MTHFR C677T的研究报道。本研究于2018年11月至2019年4月在唐山市工人医院对1045例汉族育龄妇女进行了MTHFR基因C677T多态性分析,并基于分析MTHFR C667T的基因型和基因频率,同时回顾性分析唐山市和食物结构相似的国内沿海省份其他城市育龄期汉族女性MTHFR C667T基因多态性的差异。旨在为唐山市育龄期妇女预防 MTHFR C677T基因突变引起的新生儿出生缺陷及其相关疾病提供参考依据,指导本地育龄期妇女个体化科学补服叶酸。

1 对象与方法

1.1研究对象:选取2018年11月15日-2021年4月在唐山市工人医院产科门诊和产科病区进行孕前和孕期检查的育龄期汉族女性1045例为研究对象,年龄范围16-47岁,平均年龄(29.85±5.02)岁的。本研究已通过医院伦理委员会批准同意,患者具有知情权并签署知情同意书。

1.2研究方法:采集患者标本为乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝全血,严格按照商业化亚甲基四氢叶酸还原酶基因677C/T检测试剂盒(PCR-荧光探针法)(深圳奥萨)说明书进行全血DNA提取,美国博奥ABI7500实时荧光定量PCR仪检测MTHFR677位点的基因多态性。PCR反应体系包括:10 μl PCR混合液(缓冲液、氯化镁、脱氧核苷三磷酸、Taq聚合酶),0.25 μl 探针,5.75 μl 双蒸水,4 μl 待测样本DNA模板。PCR反应条件及循环:先进行50℃预处理2min和95℃预变性2min,再完成45个循环的扩增(95℃变性15s 60℃退火和延伸1min),反应完成后,在60℃条件下进行荧光的采集,并利用分析软件得到样品的基因分型结果。质量控制:

表1 沿海省份城市 MTHFR 等位基因型频数和基因频率分布特征 [n(%)]

城市	MTHFR C677T 基因型频率			χ²	P	MTHFR C677T 基因频率		χ²	P
	CC	CT	TT			C	T		
唐山	201(19.2)	518(49.6)	326(31.2)			920(44.0)	1170(56.0)		
沈阳 ^[32]	85(18.1)	237(50.5)	147(31.3)	0.274	0.872	407(43.4)	531(56.6)	0.104	0.747
天津 ^[33]	93(19.8)	249(53.5)	125(26.7)	3.094	0.213	441(46.6)	499(53.4)	2.198	0.138
烟台 ^[34]	497(29.8)	313(18.7)	860(51.5)	287.912	0.000	1307(39.1)	2033(60.9)	12.693	0.000
淄博 ^[35]	130(12.5)	457(43.9)	454(43.6)	40.044	0.000	717(43.6)	1365(65.5)	40.158	0.000
潍坊 ^[36]	442(15.1)	1354(46.1)	1138(38.8)	22.273	0.000	2238(38.1)	3630(61.9)	22.261	0.000
镇江 ^[37]	877(30.4)	1378(47.8)	630(21.8)	62.999	0.000	3132(54.3)	2638(45.7)	64.686	0.000
无锡 ^[38]	185(35.3)	240(45.8)	99(18.9)	57.166	0.000	610(58.2)	438(41.8)	56.229	0.000
苏州 ^[39]	565(29.9)	913(48.4)	409(21.7)	54.030	0.000	2043(54.1)	1731(45.9)	55.048	0.000
上海 ^[40]	328(33.0)	490(49.2)	177(17.8)	74.224	0.000	1146(57.6)	844(42.4)	75.085	0.000
绍兴 ^[41]	480(40.5)	531(40.5)	173(14.6)	153.305	0.000	1491(63.0)	877(37.0)	160.457	0.000
丽水 ^[42]	253(38.5)	312(47.5)	92(14.0)	105.089	0.000	818(62.2)	496(37.8)	107.337	0.000
温州 ^[43]	779(41.1)	862(45.6)	255(13.4)	206.364	0.000	2420(63.8)	1372(36.2)	215.240	0.000
河源 ^[44]	821(57.7)	496(34.9)	106(7.4)	441.092	0.000	2138(75.1)	708(24.9)	494.597	0.000
广州 ^[45]	578(51.4)	463(41.2)	83(7.4)	327.465	0.000	1619(72.0)	629(28.0)	349.839	0.000
惠州 ^[46]	186(51.8)	134(37.3)	39(10.9)	153.99	0.000	506(70.5)	212(29.5)	149.636	0.000
东莞 ^[47]	78(10.9)	268(37.3)	372(51.8)	78.834	0.000	1012(70.5)	424(29.5)	240.482	0.000
珠海 ^[48]	1288(60.2)	728(34.1)	122(5.7)	619.550	0.000	3304(77.3)	972(22.7)	695.141	0.000
阳江 ^[49]	302(59.3)	187(36.7)	20(3.9)	296.737	0.000	791(77.7)	227(22.3)	313.856	0.000
琼海 ^[50]	756(61.9)	390(31.9)	75(6.1)	486.283	0.000	1902(77.9)	540(22.1)	549.799	0.000

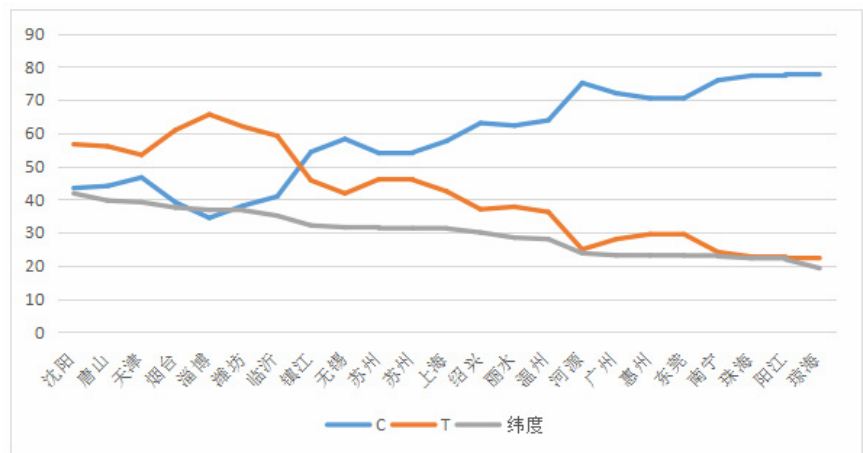


图1 沿海省份城市 MTHFR C677T 位点等位基因(C、T)随纬度变化趋势[n(%)]

每批次均设置阳性质控和阴性质控,严格按照说明书进行操作及判定结果。

1.3统计学分析:所有数据采用Excel 2019, SPSS22.0软件进行统计分析。Hardy-Weinberg 遗传平衡定律检验样本的群体代表性。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用χ²检验。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hardy-Weinberg 遗传平衡分析:对采集到的唐山市工人医院1045例研究对象的MTHFR C677T检测数据进行 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验,所得结果差异无统计学意义(χ²=0.034894, P=0.9055>0.05),表明MTHFR C677T基因型分布频率符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡,具有区域群体代表性,处于平衡状态。

2.2 MTHFR 基因分布频率:唐山市1045例育龄女性MTHFR C667T的基因型检测结果显示,研究人群中CT(杂合突变型)为优势基因型,占49.6%;CC(野生型)和TT型(纯合突变型)分别占19.23%和31.20%。677C和677T等位基因在该样本中的分布频率分别为44.02%和56.0%。

2.3唐山市与国内沿海省份其他城市育龄期汉族女性MTHFR基因C677T位点基因型和等位基因分布的比较见表1,唐山市育龄期女性MTHFR C677T各基因型分布和基因频率分布情况与沈阳与天津比较无统计学意义(P>0.05)。与烟台、淄博、潍坊、镇江、无锡、苏州、上海、绍兴、丽水、温州、河源、广州、惠州、东莞、珠海、阳江和琼海的差异均有统计学意义(P<0.05)。从各地区MTHFR

C677T基因型分布整体来看, 纯合突变型基因T的频率呈现北高南低的现象; 并且各个地区T等位基因频率呈现随着纬度降低而降低的变化趋势, 见图1。

3 讨论

出生缺陷是我国严重的公共卫生问题和社会问题, 2012年卫生部颁布的《中国出生缺陷防治报告》指出我国每年新增的出生缺陷儿数量约90万^[16]。唐山市2000~2006年出生缺陷的发生率为7.22%, 2006年有升高的趋势出生缺陷率达11.20%^[17], 且随着二胎政策的开放及三胎政策的开放, 我国高龄产妇数量将逐渐增多, 随着产妇年龄的增高, 身体器官的功能不同程度的衰退, 不仅影响母体健康也会威胁到胎儿的生长发育, 当产妇叶酸补充量不足时, 将影响胎儿的生长发育, 出现出生缺陷的几率会大大增加, 所以加强对于叶酸补充的调整, 对于降低出生缺陷率有着重要的意义^[1]。

5, 10-甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)位点映射在1号染色体的短臂末端上, MTHFR是参与叶酸代谢、DNA合成和DNA甲基化的重要酶, 主要将5, 10-甲基四氢叶酸转化为5-甲基四氢叶酸, 具有生物功能, 其活性改变可导致5-甲基四氢叶酸合成受阻, DNA、RNA、蛋白质的甲基化及同型半胱氨酸的复甲基化过程发生障碍, 进而导致叶酸代谢水平的降低及同型半胱氨酸水平的升高, 因此, MTHFR成为相关人群如孕妇需要增加叶酸摄入量的临床指标。其中目前研究很成熟的MTHFR C677T基因中, 变异的基因型的MTHFR活性有所降低, 与CC(野生型)相比较, CT(杂合突变型)的亚甲基四氢叶酸还原酶活性下降30%且TT(纯合突变)的亚甲基四氢叶酸还原酶活性下降可至65%^[18], 因此对于不同基因型别的女性要补充不同合适剂量的叶酸, 以降低胎儿出生缺陷的风险。

本研究首次对 MTHFR C677T基因多态性在唐山育龄期汉族女性中的分布情况进行了分析, 并与饮食结构相似的沿海省份的其他城市间的数据进行比较, 结果表明唐山市与沿海的大部分城市特别是南方城市相比, 唐山地区显示出明

显不同的遗传分布特征。根据本研究唐山TT\CT\CC基因型分别占19.2%、49.6%、31.2%, 而CT与TT型被认为是存在叶酸代谢风险较高和高的基因型, 由此可见唐山市有超过4/5的育龄女性存在叶酸代谢障碍的风险, 明显高于大部分南方沿海城市。对于这一部分女性基础的叶酸补充量是不够的, 应根据个体情况相应的提高补充剂量。但也有研究表明对于叶酸代谢正常的育龄女性, 不需要过量补充叶酸营养, 过量的补充叶酸将掩盖维生素B12缺乏, 从而影响体内锌代谢, 增加胎儿发育迟缓、低出生体质量的风险^[2]。应该根据个体特征, 制订个性化的叶酸补充方案, 科学合理的补充叶酸以减少妊娠期并发症及不良妊娠结局发生风险。我国幅员辽阔, 在我国不同地区的汉族育龄期妇女中MTHFR基因的C677T位点突变频率都有所不同, 但也有一定的规律可循, 总体趋势是随着地理纬度的降低, T型基因的频率逐渐减少, 即相较于南方的汉族育龄期妇女, 北方的汉族育龄期妇女T型突变频率更高, 与已有研究相一致, 也跟我国胎儿出生缺陷中神经管缺陷疾病的发生率北高南低相一致^[7]。MTHFR C677T基因多态性可能受遗传、地理、环境、饮食等各方面因素的影响, 经过长期的基因突变而形成, 具体的主要原因, 还待进一步探索。

综上所述, 本研究首次总结了唐山市的汉族育龄期女性有别于其他不同于城市的 MTHFR C677T基因多态性分布特征。由于遗传因素对于叶酸补充剂量的调整的影响作用逐渐突出, 在对于制定不同个体的围孕期叶酸补充方案时不能采取统一的标准, 应该结合多方面因素因地制宜、因人而异, 制订出适合个体特征的最佳方案, 对降低本地区出生缺陷提高人口素质有着重要意义。

[参考文献]

- [1]胡浩梅, 杨华. 叶酸与不良生育的相关研究[J]. 国际妇产科学杂志, 2021, 48(01): 89-94.
- [2]Martha S. Field, Patrick J. Stover. Safety of folic acid[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2018, 14

14(1).

[3]温瑾, 廉阳秧. Analysis of Ratio nality of Folic Acid Supplementation in Women with MTHFR Gene C677T Polymorphism and Early Pregnancy[J]. 临床医学进展, 2021, 11(02).

[4]Stephen M. Kerr, Samantha E. Parker, Allen A. Mitchell, Sarah C. Tinker, Martha M. Werler. Folic acid antagonist use before and during pregnancy and risk for selected birth defects[J]. Birth Defects Research, 2020, 112(18).

[5]庞静, 鲁衍强, 付敏, 等. 沈阳市汉族与满族女性5, 10-亚甲基四氢叶酸还原酶、甲硫氨酸合成酶还原酶基因的单核苷酸多态性分布特征[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(05): 1092-1095.

[6]谢晓媛, 冷俊宏, 鲁衍强, 等. 女性MTHFR、MTRR基因型和等位基因频率分布与其他地区女性的比较[J]. 中国优生与遗传杂志, 2016, 24(03): 12-14.

[7]师文涛, 白蓉, 黄剑林, 等. 陕西省延安地区汉族与国内其他地区育龄妇女MTHFR基因C677T位点基因型和等位基因分布研究[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(06): 78-84.

[8]田宇, 胡玉芝, 鲁衍强, 等. 无锡女性MTHFR和MTRR基因多态性研究[J]. 新医学, 2014, 45(04): 253-257.

[9]宋妙丽, 朱耿超, 魏佳玲, 等. 苏州地区育龄妇女MTHFR C677T基因多态性分布[J]. 贵州医科大学学报, 2017, 42(7): 808-811.

[10]方绮雯, 刘振球, 王俊, 等. 上海地区孕妇MTHFR C677T基因多态性与血浆同型半胱氨酸水平的关联性分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2017, 21(07): 702-705.

[11]陈宝娟, 陈瑜, 谢明聪, 等. 绍兴地区育龄女性叶酸利用能力基因多态性研究[J]. 现代妇产科进展, 2019, 28(6): 428-430.

[12]钱碧霞, 陈鹏龙, 鲁衍强, 等. 丽水地区汉族女性MTHFR与MTRR基因多态性分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2019, 27(02): 136-138+161.

[13]童郁, 陈磊, 邵展, 等. 温州地区汉

族女性亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性的频率特征[J].中国妇幼保健,2017,32(14):3249-3252.

[14]孙晓岩,韩临晓,陈博.东莞市汉族女性亚甲基四氢叶酸还原酶和甲硫氨酸合成酶还原酶的基因多态性分布[J].中国实用医药,2018,13(28):192-193.

[15]曾瑞华,鲁衍强,王宏,等.广东省阳江市汉族女性MTHFR、MTRR基因多态

性分布特征研究[J].中国妇幼保健,2018,33(01):136-138..

[16]凌寒.卫生部发布《中国出生缺陷防治报告(2012)》[J].中国当代医药,2012,19(28):1.

[17]李宗瑞,薛玲,韩淑芬.2000~2006年唐山地区出生缺陷监测结果分析[J].中国妇幼保健,2008,(32):4568-4570.

[18]Liew Siaw-Cheok, Gupta Esha

Das.Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases.[J]. European journal of medical genetics,2015,58(1).

作者简介:

何安娜(1994--),女,汉族,湖南省常德市人,研究生,研究方向:分子诊断方向。

中国知网数据库简介:

CNKI介绍

国家知识基础设施(National Knowledge Infrastructure, NKI)的概念由世界银行《1998年度世界发展报告》提出。1999年3月,以全面打通知识生产、传播、扩散与利用各环节信息通道,打造支持全国各行业知识创新、学习和应用的交流合作平台为总目标,王明亮提出建设中国知识基础设施工程(China National Knowledge Infrastructure, CNKI),并被列为清华大学重点项目。

CNKI 1.0

CNKI 1.0是在建成《中国知识资源总库》基础工程后,从文献信息服务转向知识服务的一个重要转型。CNKI1.0目标是面向特定行业领域知识需求进行系统化和定制化知识组织,构建基于内容内在关联的“知网节”、并进行基于知识发现的知识元及其关联关系挖掘,代表了中国知网服务知识创新与知识学习、支持科学决策的产业战略发展方向。

CNKI 2.0

在CNKI1.0基本建成以后,中国知网充分总结近五年行业知识服务的经验教训,以全面应用大数据与人工智能技术打造知识创新服务业为新起点,CNKI工程跨入了2.0时代。CNKI 2.0目标是将CNKI 1.0基于公共知识整合提供的知识服务,深化到与各行业机构知识创新的过程与结果相结合,通过更为精准、系统、完备的显性管理,以及嵌入工作与学习具体过程的隐性知识管理,提供面向问题的知识服务和激发群体智慧的协同研究平台。其重要标志是建成“世界知识大数据(WKBD)”、建成各单位充分利用“世界知识大数据”进行内外脑协同创新、协同学习的知识基础设施(NKI)、启动“百行知识创新服务工程”、全方位服务中国世界一流科技期刊建设及共建“双一流数字图书馆”。