

· 论著 ·

MTHFR基因多态性对宝安地区女性卵巢早衰的影响及其治疗*

深圳市宝安区石岩人民医院检验科 (广东 深圳 518108)

孟伟伟

【摘要】目的 探讨MTHFR基因多态性对宝安地区女性卵巢早衰及叶酸治疗效果的相关性。方法 募集2017年9月至2018年9月就诊于深圳市宝安区人民医院(集团)的卵巢早衰女性100例(病例组)以及同期入院体检的100例卵巢健康女性(对照组)为研究对象。比较两组受试者MTHFR C677T、A1298C位点基因型、等位基因频率以及叶酸治疗3个月后血清AMH水平。结果 相较于对照组, 病例组C677T位点CC基因型频率降低, CT、TT基因型频率升高, T等位基因频率升高($P<0.05$), A1298C位点AA基因型频率降低, AC、CC基因型频率升高, C等位基因频率升高($P<0.05$)。MTHFR基因C677T、A1298C位点不同基因型患者治疗后AMH水平差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 MTHFR基因 C677T位点T等位基因、A1298C位点C等位基因与宝安地区女性卵巢早衰风险增加相关。

【关键词】卵巢早衰; 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶; 基因多态性

【中图分类号】R711.75

【文献标识码】A

【基金项目】深圳市宝安区科技计划基础研究项目(2018JD204)

DOI: 10.3969/j.issn.1009-3257.2019.04.013

Effect of MTHFR Gene Polymorphism on Premature Ovarian Failure in Women in Baoan Area and Its Treatment*

MENG Wei-wei. Department of Clinical Laboratory, Shiyan People's Hospital of Bao'an District, Shenzhen 518108, Guangdong Province, China

【Abstract】Objective To investigate the correlation of MTHFR gene polymorphism with premature ovarian failure and folic acid treatment in Baoan area. Methods 100 cases of premature ovarian failure (case group) and 100 healthy ovarian women (control group) who were admitted to Shenzhen Baoan People's Hospital (group) from September 2017 to September 2018 were recruited for the study. The MTHFR C677T, A1298C locus genotype, allele frequency and serum AMH levels were compared between the two groups after 3 months of folic acid treatment. Results Compared with the control group, the CC genotype frequency of C677T locus decreased, the CT and TT genotype frequency increased, the T allele frequency increased ($P<0.05$), the AA genotype frequency of A1298C locus decreased, the AC and CC genotype frequency increased, and the C allele frequency increased ($P<0.05$). There was no significant difference in AMH levels between patients with different genotypes of MTHFR C677T and A1298C after treatment ($P>0.05$). Conclusion The T allele at C677T and C allele at A1298C of MTHFR gene were associated with increased risk of premature ovarian failure in women in Baoan area.

【Key words】Premature Ovarian Failure; 5,10-methylenetetrahydrofolate Reductase; Gene Polymorphism

卵巢早衰是一种40岁以下妇女至少6个月经历闭经的情况。近70%的病例的卵巢早衰病因是特发性的, 染色体分析正常, 盆腔辐射、盆腔手术、自身免疫、感染和单基因缺陷是引起卵巢早衰的主要因素。叶酸对于DNA合成、DNA和组蛋白的甲基化是必不可少的^[1]。由于核苷酸切除修复受损导致的DNA损伤, 叶酸缺乏(正常水平较低)与人类患多种疾病的风险有关。5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因编码一种关键限制酶, 能控制叶酸和蛋氨酸的代谢。MTHFR基因包含11个外显子, 染色体位点为1p36.3, 编码2.2kb的cDNA, 产生656个氨基酸的蛋白质, 在当前发

现MTHFR基因多态性位点中, C677T和A1298C多态性被表达并证实影响酶活性^[2-3]。本研究旨在探讨MTHFR基因多态性对宝安地区女性卵巢早衰及叶酸治疗效果的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 募集2017年9月至2018年9月就诊于深圳市宝安区人民医院(集团)的原因不明的卵巢早衰女性100例(病例组), 排除全身免疫系统疾病、盆腔手术史、放化疗史等明显卵巢损害的因素。选取

作者简介: 孟伟伟, 女, 硕士研究生, 主管检验师, 主要研究方向: 分子生物学检验

通讯作者: 孟伟伟

同期入院体检的100例卵巢健康女性为健康对照(对照组)。

1.2 研究方法

1.2.1 样本采集及DNA提取: 治疗前, 于清晨空腹状态下取外周血2ml, 存置于4℃冰箱中保存待测, 给予0.8mg/d的叶酸治疗3个月后, 再次抽取外周血2ml, 置于4℃冰箱中保存待测。取100ul抗凝全血加入1.5ml离心管内, 依次加入裂解液100 μl、蛋白酶K液20 μl, 混匀后温水浴10min; 加入pH为4.8的NaAc10 μl、结合缓冲液1250 μl, 混匀后离心、转移上清、离心、洗脱、离心, 留取收集管中的洗脱液备用。

1.2.2 PCR反应体系及反应条件扩增: 10 μl PCR反应体系: DNA模板(20ng/μl)1 μl, 2×Taqman Universal Master Mix 5 μl, 20×Taqman-MGB探针0.5 μl, 去离子水3.5 μl; 反应条件: 95℃10 min, 20个循环(92℃15 s, 60℃1 min), 30个循环(89℃15 s, 60℃90 s)。反应结束后, 采用荧光定量PCR仪(ABI7500型)读取样品孔中的终点荧光, 基因分型结果采用分析软件进行分析。

1.2.3 观察指标: ①比较两组受试者MTHFR C677T、A1298C位点基因型、等位基因频率。②叶酸治疗3个月后, 采用电化学发光法检测受试者血清抗苗勒管激素(Anti-mullerian hormone, AMH)水平。

1.3 统计学处理 本研究中数据全部采用SPSS20.0统计分析软件(美国IBM公司)进行处理; 组间率比较采用 χ^2 检验, 计数资料采用百分率(%)表示, $P<0.05$ 代表差异存在统计学意义。

因频率比较 病例组受试者MTHFR基因A1298C位点AA基因型频率低于对照组, AC、CC基因型频率高于对照组, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 病例组受试者C等位基因频率高于对照组, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 见表2。

2.3 C677T、A1298C位点不同基因型患者治疗后AMH水平比较 MTHFR基因C677T位点CC基因型与CT+TT基因型患者治疗后AMH水平差异无统计学意义($P>0.05$); A1298C位点AA基因型与AC+CC基因型患者治疗后AMH水平差异无统计学意义($P>0.05$), 见表3。

3 讨论

卵巢早衰定义为在预期绝经年龄前停止月经, 其特点是性腺功能亢进的卵巢缺乏, 伴有原发性或继发性闭经。20岁、30岁、40岁女性发病率分别约为0.0001%、0.001%、0.01%, 是导致女性不孕的主要原因之一。卵巢功能由促性腺激素、促卵泡激素、黄体生成激素和局部卵巢因子的联合刺激进行调节。卵巢早衰的潜在病因可分为遗传、自身免疫和医源性。在4%到31%的卵巢早衰患者中观察到了卵巢早衰综合症的家族性积聚, 这表明遗传是引起卵巢早衰的主要因素之一。卵巢早衰是妇女不孕的常见原因, 其特征是40岁以下妇女出现闭经、雌激素水平低下和促性腺激素水平升高。在过去的几年中, 已经鉴定出许多有助于卵巢早衰发展的基因。然而, 很少有基因被鉴定出能够解释大量的卵巢早衰病例。全基因组关联研究和二代测序技术的无偏方法已经确定了MTHFR基因的部

2 结果

2.1 两组受试者MTHFR基因 C677T位点基因型、等位基因频率比较

病例组受试者MTHFR基因 C677T位点CC基因型频率低于对照组, CT、TT基因型频率高于对照组, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 病例组受试者T等位基因频率高于对照组, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 见表1。

2.2 两组受试者MTHFR基因A1298C位点基因型、等位基

表1 两组受试者MTHFR基因 C677T位点基因型、等位基因频率比较 (n, %)

组别	基因型			等位基因	
	CC	CT	TT	C	T
对照组(n=100)	66 (66.00)	31 (31.00)	3 (3.00)	163 (81.50)	37 (18.50)
病例组(n=100)	48 (48.00)	42 (42.00)	10 (10.00)	138 (69.00)	62 (31.00)
χ^2 值	6.825			8.015	
P值	<0.05			<0.05	

表2 两组受试者MTHFR基因 A1298C位点基因型、等位基因频率比较 (n, %)

组别	基因型			等位基因	
	AA	AC	CC	A	C
对照组(n=100)	55 (55.00)	39 (39.00)	6 (6.00)	149 (74.50)	51 (25.50)
病例组(n=100)	40 (40.00)	51 (51.00)	9 (9.00)	131 (65.50)	69 (34.50)
χ^2 值	4.224			5.102	
P值	<0.05			<0.05	

表3 C677T、A1298C位点不同基因型患者治疗后AMH水平比较
($\bar{x} \pm s$) (ng/mL)

基因型	AMH	t值	P
C677T	CC	1.15±0.10	0.026
	CT+TT	1.16±0.12	
A1298C	AA	1.13±0.14	0.047
	AC+CC	1.16±0.16	

分多态性位点与卵巢功能相关。鉴于卵巢早衰对患者及其家庭的严重影响,分析MTHFR基因多态性位点对此类疾病发病及治疗意义的意义重大。

MTHFR基因编码的蛋白质催化5, 10-亚甲基四氢叶酸转化为5-甲基四氢叶酸酯,这是同型半胱氨酸再甲基化为蛋氨酸的共基质,该基因的遗传变异影响对闭塞性血管疾病、神经管缺陷、结肠癌和急性白血病的易感性,该基因的突变与亚甲基四氢叶酸还原酶缺乏有关^[4-5]。MTHFR基因C677T突变位于第4外显子,该外显子在密码子222处导致缬氨酸转化为丙氨酸,该位点突变导致亚甲基四氢叶酸还原酶活性降低;大量研究证实,MTHFR基因C677T多态性位点与各种疾病(血管病、癌症、神经学、糖尿病、银屑病等)有关,其多态性的流行病学因地理和种族而异^[6-8]。MTHFR基因A1298C突变导致谷氨酸盐取代丙氨酸,目前针对该位点多态性的研究主要集中在散发性乳腺癌、卵巢癌方面^[9-10],在卵巢早衰方面尚未见报道。在本研究中,亚甲基四氢叶酸还原酶对叶酸代谢很重要,叶酸代谢是DNA、RNA和蛋白质甲基化过程中细胞代谢的一个完整过程,本研究采用叶酸对卵巢早衰患者进行治疗,3个月后,并未发现C677T、A1298C位点不同基因型患者血清AMH水平之间的差异性($P>0.05$)。

综上所述,MTHFR基因C677T位点T等位基因、A1298C位点C等位基因与宝安地区女性卵巢早衰风险增加相关。

参考文献

- [1] 潘慧颖,赖东梅.叶酸代谢影响卵巢功能的研究进展[J].上海交通大学学报(医学版),2017,37(6):854-858,853.
- [2] 姜玉婵,鲁衍强,李瑛,等.亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与多囊卵巢综合征的相关性研究[J].中国妇幼保健,2015,30(22):3831-3833.
- [3] 武艳,张家颖,左文静.亚甲基四氢叶酸还原酶基因C677T单核苷酸多态性与卵巢癌易感性的关系[J].现代妇产科进展,2007,16(11):811-813.
- [4] Hou N,Chen S,Chen F,et al.Association between premature ovarian failure, polymorphisms in MTHFR and MTRR genes and serum homocysteine concentration[J].Reprod Biomed Online,2016,32(4):407-413.
- [5] Rah H,Jeon YJ,Choi Y,et al.Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR 677C>T) and thymidylate synthase (TSER and TS 1494del6) polymorphisms with premature ovarian failure in Korean women[J].Menopause,2012,19(11):1260-1266.
- [6] He L,Shen Y.MTHFR C677T polymorphism and breast, ovarian cancer risk:a meta-analysis of 19,260 patients and 26,364 controls[J].Onco Targets Ther,2017,10:227-238.
- [7] Pu D,Jiang SW,Wu J.Association between MTHFR gene polymorphism and the risk of ovarian cancer:a meta-analysis of the literature[J].Curr Pharm Des,2014,20(11):1632-1638.
- [8] Shahrokhi SZ,Kazerouni F,Ghaffari F,et al.The Relationship Between the MTHFR C677T Genotypes to Serum Anti-Müllerian Hormone Concentrations and In Vitro Fertilization/Intracytoplasmic Sperm Injection Outcome[J].Clin Lab,2017,63(5):927-934.
- [9] 熊薇,饶津宁,谭世桥.MTHFR基因突变与中国汉族妇女特发性卵巢早衰相关性研究[J].四川大学学报(医学版),2018,49(6):904-909.
- [10] Shi XY,Shen Q.MTHFR A1298C polymorphism and ovarian cancer risk:a meta-analysis[J].Genet Mol Res,2015,14(3):8211-8218.

【收稿日期】2019-03-12