

· 论著 ·

育龄女性亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性研究*

滕俊萍 索峰 张燕 王亿 缙灵山 顾茂胜*
徐州市妇幼保健院 (江苏 徐州 221009)

【摘要】目的 探索亚甲基四氢叶酸还原酶基因位点(MTHFR, C677T)在育龄女性中的多态性, 指导育龄妇女合理补充叶酸, 防止叶酸缺乏导致新生儿出生缺陷的发生。**方法** 选取来本院行孕前及孕期检查的育龄女性, 采用荧光定量PCR法(Real-time PCR)对MTHFR基因的 C677T位点进行检测。分析基因位点多态性并与其他地区育龄女性位点多态性进行比较分析。**结果** 4983例育龄女性共检测到3种基因型, 频率分别为CC型20.61%(1027/4983)、CT型48.44%(2414/4983)和TT型30.95%(1542/4983), CT型为主。与已报道张家口、郑州、临沂等地育龄女性相比无显著差异($\chi^2=1.071, P>0.05$), 与新乡、西安、德阳、三河市、淄博相比则存在显著差异($P<0.05$)。**结论** 本地区以CT型为主, 在育龄女性中MTHFR基因 C677T位点多态性存在区域差异。育龄期女性开展MTHFR C677T 基因位点检测, 对孕期合理补充叶酸具有指导作用。

【关键词】 育龄女性; 亚甲基四氢叶酸还原酶; 基因多态性
【中图分类号】 R979.2
【文献标识码】 A
【基金项目】 江苏省妇幼保健重点学科FKX202140
DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2023.07.03

Study on MTHFR C677T Gene Polymorphism among Women at Child-bearing Age*

TENG Jun-ping, SUO Feng, ZHANG Yan, WANG Yi, GUO Ling-shan, GU Mao-sheng*.
Xuzhou Maternity and Child Health Care Hospital, Xuzhou 221009, Jiangsu Province, China

Abstract: Objective To understand the distribution of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR C677T) gene locus polymorphisms in women of childbearing age, and to guide women of childbearing age to supplement folic acid reasonably. **Methods** Women of childbearing age who underwent preconception and pregnancy examination in our hospital were selected and the genotype of MTHFR C677T locus was detected by quantitative real-time PCR. The gene locus polymorphism was analyzed and compared with the women of childbearing age in other regions. **Results** Among the 4983 women of childbearing age, the MTHFR C677T genotypes were CC, CT and TT, and the frequencies were 20.61% (1027/4983), 48.44% (2414/4983) and 30.95% (1542/4983), respectively. CT was the main genotype. There was no significant difference compared with the reported women of childbearing age in Zhangjiakou, Zhengzhou, Linyi and other places ($\chi^2=1.071, P>0.05$), however, the difference was significant compared with other regions ($P<0.05$). **Conclusion** MTHFR C677T gene polymorphisms have specific distribution characteristics in women of childbearing age, and CT type is the main female of childbearing age in this study. MTHFR C677T gene mutation detection in women of childbearing age has a guiding effect on reasonable folic acid supplementation during pregnancy.

Keywords: Women of Child-bearing Age; Methylenetetrahydrofolate Reductase; Gene Polymorphism

亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)是叶酸-甲硫氨酸代谢途径中的关键酶, 可以将5,10-亚甲基四氢叶酸催化为5-甲基四氢叶酸参与多种人体内生化反应。在人类及其它真核生物中, 亚甲基四氢叶酸还原酶是由两个黄素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucleotide, FDA)分子以非共价结合形成的二聚体^[1]。因此, MTHFR基因上的位点突变会导致FDA分子发生解离, 引起酶结构和活性改变, 造成同型半胱氨酸水平增加及DNA甲基化水平降低^[2]。

MTHFR基因 C677T 位点多态性与癌症、心血管疾病、妊娠不良结局、胎儿发育异常及男性不育等多种临床疾病有关, 也有研究报道证实孕妇机体叶酸水平不足与胎儿出生缺陷的发生有密切关系^[3]。但叶酸过量服用也可能引起消化道反应、影响锌元素吸收, 诱发惊厥, 增加后代自闭症、过敏性疾病等疾病的患病风险^[4,5]。其中叶酸缺乏是由于机体利用能力差和叶酸补充不足等因素引起, 而MTHFR基因多态性会造成叶酸的利用能力受到影响。因此, 检测叶酸代谢相关代谢基因的多态性, 依据叶酸缺乏风险大小合理补充叶酸, 有助于降低孕龄女性疾病风险, 减少新生儿出生缺陷发生。本研究通过对徐州地区育龄女性MTHFR基因C677T位点多态性进行分析, 对育龄女性叶酸代谢能力进行精准评估, 以期对孕龄女性精准补充叶酸提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象 2015年6月至2021年6月于徐州市妇幼保健院行孕前及孕期检查的育龄女性4983例, 均为徐州市常住人口。所有研究对象均未重复纳入, 纳入标准: 孕前及孕期检查的育龄女性, 排除易造成叶酸代谢异常的家系遗传性疾病、血液系统或免疫

系统疾病及急慢性疾病等, 检测均经过知情同意。

1.2 方法 使用紫头管(乙二胺四乙酸, EDTA)采集2mL静脉血, Lab-Aid 824 全血基因组DNA核酸提取试剂(Zeesan, Xiamen)获取基因组DNA, NanoDrop 2000检测DNA纯度与浓度。采用实时荧光定量PCR法及MTHFR C677T基因检测试剂盒(江西诺德医疗器械有限公司)行位点多态性检测。所有实验操作严格按照操作说明书进行。

1.3 统计方法 使用SPSS 21.0对数据进行统计分析。采用百分比(%)表示计数资料, 采用 χ^2 检验组间差异是否具有显著性, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Hardy-Weinberg平衡分析 针对入组样本群体亚甲基四氢叶酸还原酶C677T位点的基因型(CC, CT, TT)进行哈迪-温伯格平衡(Hardy-Weinberg)检验, 结果显示实际频数和理论频数无显著差异($\chi^2=1.071, P=0.585>0.05$)符合哈-温平衡, 入组群体具备代表性, 见表1。

表1 Hardy-Weinberg遗传平衡分析

基因	CC	CT	TT	χ^2	P
实际频数	1027.00	2414.00	1542.00	1.071	0.585
理论频数	1001.45	2464.86	1516.69		
基因频率	0.20097	0.49465	0.30437		

2.2 MTHFR C677T 基因多态性分布 统计结果显示徐州地区育龄女性MTHFR基因C677T位点野生型(CC)、杂合突变类型(CT)及纯合突变类型(TT)频率分别为20.61%(1027/4983)、48.44%(2414/4983)和30.95%(1542/4983), 其中杂合突变CT型为主, 人体对叶酸的利用能力处于中等水平, 对叶酸的代谢基本正常, 但是为了降低胎儿发生神经

【第一作者】滕俊萍, 女, 副主任护师, 主要研究方向: 孕期营养管理研究。Email: tjp2301@163.com

【通讯作者】顾茂胜, 男, 主任技师, 主要研究方向: 罕见病检测技术应用。Email: gumaosheng2007@126.com

椎管畸形的风险,建议孕妇根据医生建议适量补充叶酸。纯合突变型TT占比超过30%,这部分育龄期妇女存在叶酸代谢障碍,需要根据医生建议加大叶酸的补给,避免对个体和新生儿产生影响。数据见表2。

2.3 徐州地区育龄女性MTHFR C677T基因多态性分布与文献报道的比较 将本研究获得的徐州地区育龄女性的MTHFR基因C677T位点多态性结果与已有文献报道的其它地区进行比较。结果显示与新乡、西安、德阳、三河市、淄博、武汉、苏州、镇

江、昆明、广东、琼海等地结果相比,徐州地区育龄女性MTHFR C677T基因型频率有显著差异($P<0.05$)。然而,徐州地区与张家口、郑州、临沂等地育龄女性相比,无明显差异($P>0.05$)。另外,此次纳入的育龄女性群体与张家口、新乡、西安、郑州、淄博、三河市、临沂、武汉、苏州、镇江、广东、琼海等区域育龄女性MTHFR C677T位点的等位基因频率比较,具有统计学意义($P<0.05$),与德阳、昆明等地相比无显著差异($P>0.05$),见表2。

表2 徐州地区育龄女性与其它地区MTHFR C677T基因型与基因频率比较

组别	例数	基因型频率			χ^2	P	基因频率		χ^2	P
		CC	CT	TT			C	T		
		例数/频率	例数/频率	例数/频率			数量/频率	数量/频率		
本研究	4983	1027/20.6%	2414/48.4%	1542/31.0%			4468/44.29%	2749/55.71%		
张家口	860	158/18.4%	429/49.9%	273/31.7%	2.274	0.321	745/43.31%	975/56.69%	197.602	0.000
新乡	1352	201/14.9%	625/46.2%	526/38.9%	39.828	0.000	1027/37.98%	1677/62.02%	455.800	0.000
郑州	249	46/18.5%	123/49.4%	80/32.1%	0.679	0.712	215/43.17%	283/56.83%	68.557	0.000
西安	3492	800/22.9%	1710/49.0%	982/28.1%	10.649	0.005	3310/47.39%	3674/52.61%	301.876	0.000
德阳	2573	1047/(40.7%)	1171(45.5%)	355(13.8%)	451.123	0.000	3265/63.45%	1881/36.55%	3.033	0.082
三河市	701	95/15.8%	281/46.8%	325/37.4%	69.036	0.000	471/33.59%	931/66.41%	384.674	0.000
淄博	1041	130/12.5%	457/43.9%	454/43.6%	75.005	0.000	717/34.44%	1365/65.56%	494.334	0.000
临沂	825	138/16.7%	398/48.2%	289/35.1%	9.073	0.011	674/40.8%	976/59.2%	244.519	0.0012
武汉	2899	1069/36.9%	1367/47.1%	463/16.0%	344.511	0.000	3505/60.45%	2293/39.55%	1281.231	0.000
苏州	1887	565/29.9%	913/48.4%	409/21.7%	92.854	0.000	2043/54.13%	1731/45.87%	62.053	0.000
镇江	2885	877/30.4%	1378/47.8%	630/21.8%	127.428	0.000	3132/54.28%	2638/45.72%	76.873	0.000
昆明	297	116/39.1%	139/46.8%	42/14.1%	70.600	0.000	371/62.46%	223/37.54%	0.070	0.791
广东	1124	578/51.4%	463/41.2%	83/7.4%	532.902	0.000	1619/72.02%	629/27.98%	76.336	0.000
琼海	1221	756/61.9%	390/31.9%	75/6.2%	872.794	0.000	1902/77.89%	540/22.11%	207.422	0.000

3 讨论

新生儿出生缺陷的发生与孕妇机体内叶酸水平不足有密切联系。有研究报道证实围孕期补充叶酸可以降低新生儿神经管缺陷发生率,降低妊娠高血压、流产、早产、死产等风险^[6]。亚甲基四氢叶酸还原酶基因C677T位点多态性可影响编码的酶活性和酶水平,影响血浆中叶酸及甲硫氨酸水平^[7]。因此,检测叶酸代谢相关基因位点多态性可以指导孕妇合理补充叶酸。本实验分析了徐州地区4983例育龄女性样本,发现徐州地区育龄女性MTHFR C677T位点CC型、CT型及TT型频率分别为20.6%(1027/4983)、48.4%(2414/4983)和31.0%(1542/4983),突变基因T的频率为55.71%。通过了解徐州地区育龄女性MTHFR基因C677T位点多态性趋势,本文对于因地制宜制定合理的叶酸补充方案具有重要参考价值。

研究资料显示,我国神经管畸形发生率的大体趋势是北高南低的趋势,这与MTHFR纯合突变TT基因型的趋势相一致^[7]。本研究TT基因型频率为31.0%,与国内其他地区进行比较TT基因型频率处于较高水平。徐州地区位于中国东部南北中部区域,是江苏的最北部,北面毗邻山东。徐州地区育龄女性TT基因型频率低于淄博、临沂、新乡等北方地区,低于南方地区,符合上述规律^[8-14]。2017版《围受孕期增补叶酸预防神经管缺陷指南》推荐无高危因素的围受孕期女性每日增补叶酸0.4mg或0.8mg,对于CT或TT型的孕妇,需要增加叶酸补充剂量或延长孕前增补时间^[4]。

人体内叶酸水平受膳食结构影响较大。有研究报道显示中国育龄妇女膳食叶酸摄入量南方比北方地区育龄妇女高,北方地区的农村较城镇低^[15-16]。值得注意的是,我国神经管畸形的患病率也具有北方较南方高的特点,且北方地区农村的发病率高于城镇^[17]。此外,血液叶酸水平与膳食叶酸摄入量情况具有相似性。这提示,围孕期叶酸的补充剂量除参考叶酸代谢基因多态性之外,需考虑膳食叶酸摄入量。对于在北方地区生活的育龄妇女,可以考虑适当增加富含叶酸食物的摄入量。

徐州地区人群叶酸代谢基因多态性具有明显的地域特征,本研究通过对叶酸代谢关键酶MTHFR基因C677T位点多态性展开研究,为本地区育龄女性叶酸补充剂量的合理选择提供科学依据。

研究结果显示,参与研究的孕龄妇女群体中TT型占31.0%,CT型占48.4%,其中育龄女性出现叶酸代谢障碍的占比较高。对

于叶酸代谢障碍的围孕期女性,常规剂量的叶酸补充(400 μ g/d)无法满足妊娠需求,需要结合孕妇个体实际情况适当补充额外剂量叶酸。此外,在建议孕妇合理增补叶酸的同时,需要提示育龄妇女多食用富含叶酸的食物,养成健康生活方式。

参考文献

- [1] 索峰,张燕,王亿,等.徐州地区MTHFR基因C677T多态性与男性不育的相关性研究[J].中国优生与遗传杂志,2019,27(12):3.
- [2] Shahzad K,Hai A,Ahmed A,et al.A structured-based model for the decreased activity of Ala222Val and Glu429Ala methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) mutants [J].Bionformation,2013,9(18): 929-936.
- [3] 代依林,刘璐,丁文成,等.湖北省汉族人群MTHFR C677T 基因多态性分析[J/OL].医药导报,2019,38(2):5.
- [4] 围受孕期增补叶酸预防神经管缺陷指南工作组.围受孕期增补叶酸预防神经管缺陷指南(2017)[J].中国生育健康杂志,2017,28(5):401-410.
- [5] 陈万杰综述,储丹丹,陈晔,等.孕期叶酸过量补充对子代影响的研究进展[J].医学研究学报,2021,34(6):5.
- [6] 陈延冰,梁杰,张艳霞.育龄女性叶酸代谢相关基因位点多态性研究[J].中国产前诊断杂志:电子版,2022,14(1):3.
- [7] 李静,郑玲利,蒋婷,等.叶酸代谢基因多态性的研究进展[J].医药导报,2019,38(2):5.
- [8] 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.
- [9] 张艳丽,李华锋,伏广照,等.临沂地区汉族女性MTHFR和MTRR基因多态性分布研究[J].山东医学高等专科学校学报,2013,35(6):401-404.
- [10] 杨彦,鲁衍强,芮欣忆,等.镇江市汉族女性MTHFR和MTRR基因多态性分布研究[J].南京医科大学学报,2012(9):1250-1253.
- [11] 周漫,刘欢,李艳.武汉市汉族女性MTHFR C677T基因多态性分布研究[J].中国热带医学,2017(11):7-10.
- [12] 颜殊苗,鲁衍强,李瑛,等.琼海市汉族女性MTHFR和MTRR基因多态性分布研究[J].海南医学院学报,2013,19(1):18-20.
- [13] 张勇,朱正英,王玮,等.四川德阳地区汉族女性人群MTHFR和MTRR基因多态性研究[J].中国循证医学杂志,2012(6):631-634.
- [14] 卢光荣,鲁衍强,马少杰,等.新乡市汉族孕龄女性MTHFR与MTRR基因多态性研究[J].河南医学研究,2014(7):7-10.
- [15] Zhao Y,Hao L,Zhang L,et al.Plasma folate status and dietary folate intake among Chinese women of childbearing age [J].Matern Child Nutr,2009,5:104-116.
- [16] Liu J,Gao L,Zhang Y,et al.Plasma folate levels in early to midpregnancy after a nation-wide folic acid supplementation program in areas with high and low prevalence of neural tube defects in China [J].Birth Defects Res A Clin Mol Teratol,2015,103:501-508.
- [17] Ma R,Wang L,Jin L,et al.Plasma folate levels and associated factors in women planning to become pregnant in a population with high prevalence of neural tube defects [J].Birth Defects Res,2017,109(13):1039-1047.

(收稿日期:2023-06-05)

(校对编辑:谢婷婷)