

育龄女性叶酸代谢相关基因位点多态性研究

陈延冰 梁杰 张艳霞

(广东省妇幼保健院, 广东 广州 511440)

【摘要】 目的 利用基因检测技术,调查广东地区育龄妇女叶酸代谢相关基因多态性分布,筛查出机体叶酸利用能力有缺陷的高风险个体,为其叶酸增补方案提供科学理论指导。**方法** 选取 5386 例育龄妇女作为研究样本,利用 DNA 提取以及多重连接探针扩增(multiplex ligation-dependent probe amplification,MLPA)检测技术,检测亚甲基四氢叶酸还原酶(methyltetrahydrofolate reductase,MTHFR)叶酸代谢相关基因多态性分布。**结果** MTHFR 基因 677 位点 CC、CT、TT 基因型频率分别为 53.5%、37.4%、9.1%;MTHFR 基因 1298 位点 AA、AC、CC 基因型的频率分别为 59.7%、35.1%、5.2%。**结论** MTHFR 基因相关位点的检测可成功筛查出叶酸利用欠缺的高风险育龄妇女,为其叶酸增补方案提供科学量化指导。

【关键词】 叶酸代谢;亚甲基四氢叶酸还原酶;多态现象

【中图分类号】 R394.3 **【文献标识码】** A

Distribution of the folate metabolism gene polymorphism in women of childbearing age

Chen Yanbing, Liang Jie, Zhang Yanxia

Guangdong Women and Children Health Care Hospital, Guangzhou 511440, Guangdong, China

【Abstract】 Objective is to use genetic detection technology, investigate the distribution of the folate metabolism gene polymorphism in women of childbearing age in Guangdong, select high-risk group of individuals where the body cannot use folic acid efficiently, and provide scientific and theoretical guidance for women's folic acid supplementation strategies. **Methods** is to select a research sample of 5386 childbearing age women, and to detect folate metabolism gene polymorphism related to methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) using DNA extraction and multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) detection technique. **Results** shows that the genotype frequencies of CC, CT and TT at MTHFR 677 loci were 53.5%, 37.4%, 9.1% respectively, and the genotype frequencies of AA, AC and CC at MTHFR 1298 loci were 59.7%, 35.1%, 5.2% respectively. **Conclusion** is that the detection of gene loci of MTHFR can be used to successfully select high-risk group with the deficiency of using folic acid, and provide scientific and quantitative guidance for their folic acid supplement strategies.

【Key words】 Folic acid deficiency; Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR); Polymorphism; Genetic; Methionine synthase reductase

《中国出生缺陷防治报告(2012)》中提到,我国出生缺陷发生率高达 5.6%,叶酸在出生缺陷的防护起到关键作用。科学合理的叶酸增补,可降低出生缺陷发生率(例如神经管畸形、唐氏综合征、先天性心脏病等)、孕妇贫血、妊娠高血压、早期流产、复

发性流产、早产等^[1,2]。因此,建议育龄妇女自孕前 3 个月开始持续增补叶酸。

叶酸匮乏的其一普遍原因是孕妇机体叶酸的利用能力低下。叶酸的利用能力与叶酸相关代谢基因有密切关联^[2-6]。具体而言,亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)和甲硫氨酸合成酶还原酶(methionine synthase

reductase, MTRR)在叶酸代谢过程中起到关键作用。*MTHFR*基因和*MTRR*基因存在多种基因多态性位点,其基因的多态性会导致酶的生物活性发生改变,进而影响叶酸水平及同型半胱氨酸水平等^[3]。本研究旨在利用基因检测技术,通过分析育龄期妇女*MTHFR*基因的典型突变位点C677T/A1298C的多态性分布,筛查出异常的叶酸相关代谢基因,并且进一步筛查出机体叶酸利用障碍的高风险育龄妇女,为其合理增补叶酸提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2020年1月至2020年8月在广东省妇幼保健院门诊自愿进行叶酸利用能力基因检测的育龄妇女作为研究对象,共计85 998例,年龄范围19~45岁,均获得受检者知情同意。

1.2 实验方法

1.2.1 DNA提取 采用乙二胺四乙酸盐(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)抗凝管抽取受试者3 ml静脉血,用厦门致善公司基因组DNA试剂盒提取DNA, TE (Tris-EDTA)缓冲液溶解,调节DNA浓度100 μ g/l。

1.2.2 四色荧光探针(见表1)荧光定量PCR检测*MTHFR* C677T、A1298C的位点多态性。相关仪器购于美国AB公司,试剂购买于北京六合华大基因科技有限公司。反应结束后在AB ViiA7型荧光定量PCR仪上读取样品孔中的终点荧光。根据荧光信号分析C677T、A1298C基因多态性,利用分析软件(Quant Studio™ Real-Time PCR Software)确定各个样本的基因分型结果。

表1 四色荧光探针

引物名称	碱基序列(5' to 3')
MTHFR677-LNA-M	FAM CGGG+AG+T+CGATTT BHQ1
MTHFR677-LNA-N	HEX GGG+AG+C+CGATTT BHQ1
MTHFR1298-MGB-M	ROX ACCAGTGAAGCAAGTGT MGB
MTHFR1298-MGB-N	CY5 ACCAGTGAAGAAAGTGT MGB

2 结果

MTHFR C677T/A1298C基因多态性分布,统计5386例正常育龄妇女*MTHFR*基因C677T/A1298C位点的基因型分布发现,*MTHFR*基因C677T位点在育龄妇女中的多态性,CC、CT、TT基因型频率分别为53.5%、37.4%、9.1%(见表1);*MTHFR*基因A1298C位点在育龄妇女中的多态性,AA、AC、CC基因型的频率分别为59.7%、35.1%、5.2%(见表2)。

表2 育龄妇女中*MTHFR*基因C677T位点基因型分布

基因型	例数(例)	比例(%)
CC 无风险	2883	53.5
CT 无风险	2012	37.4
TT 有风险	491	9.1
总计	5386	100.0

表3 育龄妇女中*MTHFR*基因A1298C位点基因型分布

基因型	例数(例)	比例(%)
AA 无风险	3218	59.7
AC 无风险	1888	35.1
CC 有风险	280	5.2
总计	5386	100.0

表4 广东地区育龄女性与其他地区育龄女性*MTHFR*基因型频率比较[例(%)]

地区	<i>MTHFR</i> C677T			χ^2	P	<i>MTHFR</i> A1298C			χ^2	P
	CC	CT	TT			AA	AC	CC		
本研究	2883(53.5)	2012(37.4)	491(9.1)	2369.554	<0.0001	3218(59.7)	1888(35.1)	280(5.2)	375.485	<0.0001
延边	551(21.0)	1253(47.8)	816(31.1)			1912(73.0)	639(24.4)	69(2.6)		
淄博	130(12.5)	457(43.9)	454(43.6)			822(79.0)	204(19.6)	15(1.4)		
廊坊	220(17.4)	617(48.7)	430(33.9)			947(74.7)	296(23.4)	24(1.9)		
遵义	114(36.0)	160(50.5)	43(13.6)			208(65.5)	98(30.9)	11(3.5)		
南宁	293(59.4)	162(32.9)	38(7.7)			279(56.6)	187(37.9)	27(5.5)		
琼海	756(61.9)	390(31.9)	75(6.1)			699(57.2)	435(35.6)	87(7.1)		
阳江	302(59.3)	187(36.7)	20(3.9)			292(57.4)	177(34.8)	40(7.9)		

位点基因型频率与其他地区女性比较,具有明显的地域差异。其中 χ^2 检验结果显示,8个地区的*MTHFR*(C677T)基因型分布有统计学差异($P < 0.05$),其中CC型琼海地区最高,占61.9%;CT型

遵义地区最高,占50.5%;TT型淄博地区最高,占43.6%。8个地区的*MTHFR*(A1298C)基因型分布有统计学差异($P < 0.05$),其中AA型淄博地区最高,占79.0%;AC型南宁地区最高,占37.9%;

CC型阳江地区最高,占7.9%,见表3。

3 讨论

MTHFR酶在叶酸代谢过程中起到关键作用。*MTHFR*基因位点的突变可导致机体叶酸水平的降低及同型半胱氨酸的升高,进而导致出生缺陷、孕妇贫血、妊娠高血压、早期流产、复发性流产、早产等^[4-7]。

本研究通过分析育龄妇女*MTHFR*基因,发现*MTHFR* C677T位点CC、CT、TT基因型频率分别为53.5%、37.4%、9.1%。TT型所占比例与已知的南宁地区TT基因型频率(7.7%)接近^[11],低于延边、淄博、廊坊地区TT基因型频率(分别为31.1%、43.6%、33.9%)^[12-17]。笔者认为,采样人群不同研究地区不同都可能造成研究结果的差异。研究结果与我国神经管畸形患病率北高南低的分布特征基本一致^[18]。有研究发现,携带677TT纯合子基因型时其体内MTHFR酶活性仅为45%,1298AC杂合子基因型其体内MTHFR酶活性为68%,而(677CT1298AC)复合杂合子基因型个体MTHFR酶活性为41%,677CT和677TT变异基因型发生较高人群的血清叶酸浓度会显著降低,同型半胱氨酸水平会升高,这些改变与巨幼细胞性贫血密切相关^[19-23]。

研究结果表明,叶酸代谢相关基因多态性检测可用于直接筛选叶酸利用能力有缺陷的个体,为制定个性化叶酸增补方案,降低出生缺陷率及实现优生提供科学量化的指导依据。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 中国出生缺陷防治报告[R]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2012.
- [2] GREENBERG JA, BELL SJ, GUAN Y, 等. 孕期补充叶酸: 不仅仅是预防神经管缺陷[J]. 妇产与遗传(电子版), 2012, 2(3):53-59.
- [3] 侯书宇. 叶酸基因多态性和唐氏综合征高危风险之间的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(22):3120-3122.
- [4] 李茜茜, 伍萍芝, 何琳琳, 等. 叶酸代谢相关酶基因多态性与不良孕产发生易感性的关系[J]. 重庆医学, 2015, 44(10):1330-1333.
- [5] 安乐, 焦晓辉, 米娜, 等. *MTHFR*基因多态性与非综合征性唇腭裂的相关性研究[J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32(5):722-725.
- [6] 谢晓媛, 张颖, 辛力, 等. 叶酸代谢酶 *MTHFR*、*MTRR* 基因多态性与原因不明复发性流产的关系[J]. 天津医药, 2016, 44(10):1243-1246.
- [7] 杨灵红, 白洁, 王德堂, 等. 西安地区妊娠孕妇不同孕期血清铁蛋白、叶酸和维生素 B12 的水平及临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(6):1088-1090.

- [8] 何敏, 向林. 重庆地区妊娠妇女早中孕期叶酸水平分析[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(11):2983-2984.
- [9] 贺宪民, 张群, 杨琦, 等. 亚甲基四氢叶酸还原酶和甲硫氨酸合成酶还原酶基因多态性研究[J]. 中国计划生育学杂志, 2010, 18(1):13-18.
- [10] 孙文萍, 万琪, 苏明权. 西安地区汉族亚甲基四氢叶酸还原酶的两基因多态性[J]. 第四军医大学学报, 2003, 24(7):634-636.
- [11] 沈立萍, 仇小强, 曾小云, 等. 广西健康育龄妇女亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与妊娠结局的关系[J]. 中国临床康复, 2005, 9(27):8-9.
- [12] 于延辉, 鲁衍强, 李瑛, 等. 延边州汉族女性 *MTHFR* 和 *MTRR* 基因遗传多态性调查[J]. 中国计划生育学杂志, 2015, 23(9):591-594.
- [13] 李俊华, 鲁衍强, 马少杰, 等. 廊坊市汉族女性 *MTHFR* 与 *MTRR* 基因多态性分析[J]. 基础医学与临床, 2014, 34(11):1564-1565.
- [14] 张玉英, 鲁衍强, 芮欣怡, 等. 淄博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基因多态性分布研究[J]. 现代妇产科进展, 2012, 21(10):779-781.
- [15] 曾瑞华, 鲁衍强, 王宏, 等. 广东省阳江市汉族女性 *MTHFR* 和 *MTRR* 基因多态性分布特征研究[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33(1):136-138.
- [16] 蒋武, 鲁衍强, 李瑛, 等. 南宁市壮族和汉族女性 *MTHFR* 和 *MTRR* 基因单核苷酸多态性比较[J]. 广西医学, 2014, 36(11):1517-1519.
- [17] 颜珠苗, 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):18-21.
- [18] 孔亚敏, 向坤, 雒瑶, 等. 中国神经管缺陷发生率地区差异及干预对策[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2015, 31(12):1110-1111.
- [19] WEISBERG IS, JACQUES PF, SELHUB J, et al. The 1298A → C polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*): in vitro expression and association with homocysteine[J]. *Atherosclerosis*, 2001, 156(2):409-415.
- [20] ZAPPACOSTA B, GRAZIANO M, PERSICHILLI S, et al. 5, 10-Methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) C677T and A1298C polymorphisms: genotype frequency and association with homocysteine and folate levels in middle- southern Italian adults[J]. *Cell Biochem Funct*, 2014, 32(1):1-4.
- [21] 马国海, 周峰英. 776 例育龄妇女不同同型半胱氨酸水平叶酸代谢关键酶基因多态性分布的调查分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2015, 35(8):29-31.
- [22] 邢金芳, 贾莉婷, 荣守华, 等. 育龄女性叶酸代谢关键酶基因多态性与维生素 B12 和同型半胱氨酸关系的研究[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(21):3498-3501.
- [23] 袁春雷, 王冬娥, 叶贵诚, 等. 叶酸代谢相关基因及血清同型半胱氨酸与出生缺陷的相关性[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(11):1860-1863.

(收稿日期:2021-10-28)

编辑:宋文颖