

陕西省延安地区育龄女性 MTHFR 基因多态性和国内多地区相关报道比较分析*

曹云¹, 周晓², 张晓艳¹, 李帅¹, 何进伟², 庞宝华²

(1. 延安市人民医院检验科, 陕西延安 716000; 2. 延安大学医学院, 陕西延安 716000)

摘要:目的 分析陕西省延安地区育龄女性叶酸代谢关键酶亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)的基因多态性及地区遗传分布特征。方法 以延安市第二医疗集团1508例育龄女性为研究对象, 用荧光定量PCR法检测其MTHFR C677T, A1298C基因位点多态性, 并和国内多地区相关报道比较分析。结果 该地区三种表现型正常型、较弱型和弱型分别占22.5%, 50.7%和26.8%。MTHFR C677T位点CC, CT和TT基因频率分别为24.7%, 48.6%和26.7%; MTHFR A1298C位点AA, AC和CC基因频率分别为71.0%, 26.7%和2.3%, 与已报道的南方城市湘潭、武汉、南宁等地区相比, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。MTHFR C677T和A1298C等位基因分布情况与其基因型分布情况类似。结论 该地区育龄女性MTHFR基因以基因型(MTHFR C677T/A1298C)CT/AA型为主, MTHFR C677T TT纯合突变型呈现北高南低的趋势, 其T等位基因频率也呈现随纬度的递减而降低的走向。

关键词:亚甲基四氢叶酸还原酶; 基因多态性; 叶酸

中图分类号: R714.1; Q786 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2019)01-062-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.01.016

Comparative Analysis of MTHFR Gene Polymorphisms in Women of Childbearing Age in Yan'an Area of Shaanxi Province and Related Reports in Many Regions in China

CAO Yun¹, ZHOU Xiao², ZHANG Xiao-yan¹, LI Shuai¹, HE Jin-wei², PANG Bao-hua²

(1. Department of Clinical Laboratory, the People's Hospital of Yan'an, Shaanxi Yan'an 716000, China; 2. Yan'an University School of Medicine, Shaanxi Yan'an 716000, China)

Abstract: **Objective** To analyze the gene polymorphisms of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), a key enzyme in folate metabolism, and its genetic distribution in women of childbearing age in Yan'an area. **Methods** A total of 1508 women of childbearing age in Yan'an Second Medical Group were selected as the study subjects. Their MTHFR C677T and MTHFR A1298C gene locus polymorphisms were analyzed by fluorescent quantitative PCR and analyzed. Regional polymorphism distribution characteristics of the genes, and compared with related reports in various regions of China. **Results** The gene expression pattern of folic acid metabolizing enzyme was 22.5% for women of reproductive age in Yan'an and 50.7% for weaker. 26.8% of the phenotypes were weak. The frequencies of CC, CT and TT genes of MTHFR 677 in Yan'an were 24.7%, 48.6% and 26.7%, respectively. The frequencies of AA, AC and CC genes in 1298 MTHFR sites in Yan'an were 71.0%, 26.7% and 2.3%, respectively. There was a statistically significant difference in gene distribution among Xiangtan, Wuhan and Nanning, etc ($P < 0.05$). The distribution of the alleles MTHFR C677T and A1298C was similar to that of their genotypes. **Conclusion** The polymorphism of MTHFR gene in women of childbearing age in Yan'an Area in Shaanxi Province was dominated by the genotype (MTHFR C677T/A1298C) CT/AA type, and the pure mutation of MTHFR C677T TT showed a trend of high North and low South, and the gene frequency of allele T also showed a trend of decreasing with the decrease of latitude.

Keywords: MTHFR; gene polymorphism; folic acid

亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)由MTHFR基因编码, 是叶酸代谢通路的关键酶之一。目前已发现MTHFR基因多态性位点有近20种, 其中C677T和A1298C是最具有临床意义的两个突变位点, 会

直接影响到体内血清和红细胞叶酸水平、同型半胱氨酸的水平, 因而对新生儿神经管畸形、21-三体综合征, 孕产妇复发性流产、妊娠期高血压等疾病产生重大的影响^[1~3]。本研究拟了解延安地区育龄女性MTHFR基因遗传突变情况, 进而指导临床

* 基金项目: 延安市科技攻关计划项目(2018KS-15)。

作者简介: 曹云(1964—), 女, 本科, 主任检验师, 主要从事临床检验质量控制及管理工作, E-mail: cy8156@126.com。

通讯作者: 张晓艳, 女, 硕士研究生, 主要从事临床检验诊断学工作, E-mail: 15829597282@163.com。

为当地育龄女性选择适宜的叶酸增补方案提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 见表1。选取2016年4月1日~2017年12月31日来延安第二医疗集团(网络单位有延安市人民医院、延安市人民医院河庄坪分院、吴起县人民医院、安塞县人民医院、子长县人民医院、富县人民医院、延长石油职工医院等)进行孕前与孕期叶酸代谢能力检测的育龄女性,共1 508例,全部来自于陕西省延安市各个区县,年龄15~49岁,平均年龄 27.61 ± 4.19 岁。

表1 研究人群来源地分布情况

地区名称	人口数(例)	15~49岁女性人口数(例)	调查人口数(例)
延安市	2 187 009	797 149	1 508
宝塔区	475 234	173 219	378
安塞县	171 552	62 529	102
延长县	125 391	45 704	92
延川县	168 375	61 372	121
子长县	216 910	79 063	169
志丹县	140 489	51 207	88
吴起县	145 061	52 873	93
甘泉县	77 188	28 134	69
富县	149 727	54 574	87
洛川县	220 684	80 438	115
宜川县	117 203	42 720	87
黄龙县	49 392	18 003	33
黄陵县	129 803	47 313	74

表2 研究群体 MTHFR C677T 和 A1298C 位点 Hardy-Weinberg 遗传平衡分析

基因型	MTHFR C677T			χ^2	P	MTHFR A1298C			χ^2	P
	CC	CT	TT			AA	AC	CC		
实际频数	373	732	403			1 071	402	35		
预期频数	362.219	753.704	392.077	1.249	>0.05	1 072.942	398.135	36.946	0.144	>0.05
基因频率	0.247	0.485	0.267			0.710	0.267	0.023		

2.2 延安地区育龄女性 MTHFR 基因 C677T 和 A1298C 位点表现型分布 见表3。延安地区1 508例育龄女性 MTHFR 基因代谢能力正常的还达不到研究群体的1/4。

表3 延安地区育龄女性 MTHFR 基因 C677T 和 A1298C 位点表现型分布($n=1 058$)

基因型(MTHFR C677T/A1298C)	表现型	n	构成比(%)
CC/AA, CC/AC	正常代谢型	339	22.5
CC/CC, CT/AA, CT/AC	较弱代谢型	765	50.7
CT/CC, TT/AA, TT/AC, TT/CC	弱代谢型	404	26.8

2.3 延安地区与国内其他地区育龄女性 MTHFR

1.2 试剂和仪器 试剂:叶酸代谢能力测定荧光试剂盒(江西诺德医疗器械有限公司)。仪器:Viia 7 Dx 全自动 PCR 荧光定量分析仪(美国 ABI 公司)。

1.3 方法 采集研究对象 EDTA 抗凝全血,提取 DNA,完全按照试剂盒及仪器标准操作流程进行操作。采用荧光定量 PCR 技术检测 MTHFR C677T, MTHFR A1298C 的基因多态性,反应体系 $20 \mu\text{l}$,反应条件: 95°C 10 min; 95°C 15 s, 60°C 40 s, 40个循环;室温冷却1 min。反应完成后,在荧光定量 PCR 仪上读取样品孔中的终点荧光,应用分析软件判读样本的基因分型并确定其结果。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。计数资料采用率(%)表示,对基因型频率及等位基因频率进行 $R \times C$ 多连列表卡方(χ^2)检验,检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 延安地区育龄女性 MTHFR 基因 C677T 和 A1298C 位点 Hardy-Weinberg 遗传平衡分析 见表2。MTHFR C677T 位点基因型有 CC(野生型), CT(杂合型)和 TT(突变型)三种。MTHFR A1298C 位点基因型也是三种: AA(野生型), AC(杂合型)和 CC(突变型)。研究群体 MTHFR C677T 和 A1298C 两个位点的基因多态性分布均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡,具有该区域群体代表性。

基因 C677T 和 A1298C 位点基因型和等位基因分布特征

2.3.1 延安地区与国内其他地区育龄女性 MTHFR 基因 C677T 和 A1298C 位点基因型分布特征,见表4。延安地区女性 MTHFR C677T 位点以杂合突变型 CT 为主,而其 A1298C 位点以野生型 AA 为主。MTHFR C677T 和 A1298C 位点基因型分布情况与湘潭、武汉、南宁等地区基因分布情况的差异有统计学意义($P<0.05$);与乌鲁木齐、辽源等地区基因分布情况的差异无统计学意义($P>0.05$)。整体来看 MTHFR C677T TT 纯合突变型呈现北高南低的趋势。见图1。

表 4 不同地区育龄女性 MTHFR 基因 C677T 和 A1298C 位点基因型分布特征[*n*(%)]

地 区	MTHFR C677T			χ^2	MTHFR A1298C			χ^2
	CC	CT	TT		AA	AC	CC	
延安	373(24.7)	732(48.5)	403(26.7)		1 071(71.0)	402(26.7)	35(2.3)	
乌鲁木齐 ^[4]	39(32.8)	49(41.2)	31(26.0)	4.079	80(67.2)	35(29.4)	4(3.4)	1.034
辽源 ^[5]	57(18.6)	161(52.6)	88(28.8)	5.249	223(72.9)	76(24.8)	7(2.3)	0.444
廊坊 ^[6]	220(17.4)	617(48.7)	430(33.9)	29.446 ^a	947(74.7)	296(23.4)	24(1.9)	4.874
烟台 ^[7]	497(18.6)	1 313(49.2)	860(32.2)	27.009 ^a	1 936(72.5)	685(25.7)	49(1.8)	1.800
湘潭 ^[8]	725(42.6)	762(44.8)	214(12.6)	160.314 ^a	1 043(61.3)	576(33.9)	84(4.8)	38.741 ^a
武汉 ^[9]	1 069(36.9)	1 367(47.1)	463(16.0)	103.453 ^a	1 901(65.6)	866(29.9)	132(4.5)	20.972 ^a
昆明 ^[10]	116(39.1)	139(46.8)	42(14.1)	34.879 ^a	194(65.3)	95(32.0)	8(2.7)	3.854
南宁 ^[11]	293(59.4)	162(32.9)	38(7.7)	215.800 ^a	279(56.6)	187(37.9)	27(5.5)	39.447 ^a
琼海 ^[12]	756(61.9)	390(31.9)	75(6.2)	433.861 ^a	699(57.2)	435(35.6)	87(7.1)	72.264 ^a

注：^a $P<0.05$ 。

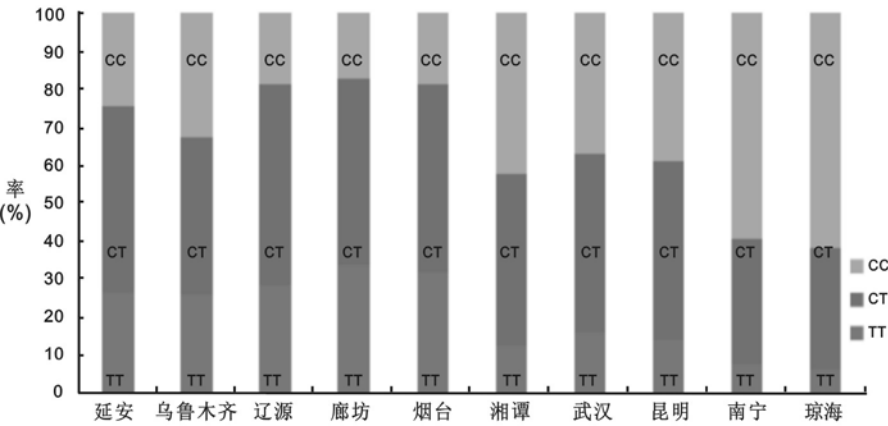


图 1 各地区人群中 MTHFR 基因 C677T 位点多态性(CC,CT,TT)分布

2.3.2 延安地区与国内其他地区育龄女性 MTHFR 基因 C677T 和 A1298C 位点等位基因分布特征,见表 5。延安地区女性 MTHFR C677T 位点等位基因 C,T 和 A1298C 位点等位基因 A,C 分布情况与廊坊、武汉、南宁等地区的等位基因分布情况的差异有统计学意义($P<0.05$);与乌鲁木齐、辽源等地区的等位基因分布情况的差异无统计学意义($P>0.05$)。并且各个地区的等位基因 T 有随着纬度下降而下降的趋势。见图 2。

表 5 不同地区育龄女性 MTHFR 基因 C677T 和 A1298C 位点等位基因分布特征[*n*(%)]

地 区	MTHFR C677T		χ^2	MTHFR A1298C		χ^2
	C	T		A	C	
延安	1 478(49.0)	1 538(51.0)		2 544(84.4)	472(15.6)	
乌鲁木齐 ^[4]	127(53.4)	111(46.6)	1.675	195(81.9)	43(18.1)	0.968
辽源 ^[5]	275(44.9)	337(55.1)	3.376	522(85.3)	90(14.7)	0.346
廊坊 ^[6]	1 057(41.7)	1 477(58.3)	29.514 ^b	2 190(86.4)	344(13.6)	4.725 ^b
烟台 ^[7]	2 307(43.2)	3 033(56.8)	26.194 ^b	4 557(85.3)	783(14.7)	1.471
湘潭 ^[8]	2 212(65.0)	1 190(35.0)	167.789 ^b	2 662(78.3)	740(21.7)	75.775 ^b
武汉 ^[9]	3 505(60.5)	2 293(39.5)	105.787 ^b	4 668(80.5)	1 130(19.5)	19.667 ^b
昆明 ^[10]	371(62.5)	223(37.5)	35.946 ^b	483(81.3)	111(18.7)	3.380
南宁 ^[11]	748(75.9)	238(24.1)	217.132 ^b	745(75.6)	241(24.4)	39.232 ^b
琼海 ^[12]	1 902(77.9)	540(22.1)	477.412 ^b	1 833(75.1)	609(24.9)	73.303 ^b

注：^b $P<0.05$ 。

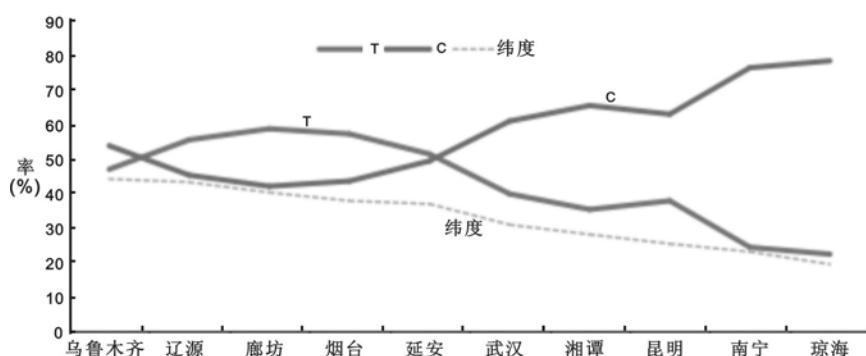


图2 MTHFR 基因 C677T 位点等位基因(C,T)随纬度变化趋势

3 讨论 MTHFR 基因突变导致的体内低叶酸水平会增加多种疾病的患病风险,包括 21-三体综合征、胎儿抗惊厥综合征、唇裂(伴或不伴腭裂)等,对于突变纯合子和突变杂合子的影响风险不同。随着医疗科技的发展与孕期叶酸补充等措施的实施,近年来新生儿出生缺陷发病率虽然有所降低,但每年新生儿出生缺陷仍高达 90 万例^[13]。本研究调查显示,陕西省延安地区超过 3/4 的育龄女性存在叶酸能力代谢不足的风险,临床常规的叶酸补充剂量(400 $\mu\text{g}/\text{d}$)可能满足不了这部分人群胎儿发育的实际需求。因此,在为育龄女性制定孕前及孕期叶酸增补方案时需考虑区域遗传特征,不能盲目进补。

该研究延安地区育龄女性以基因型(MTHFR C677T/A1298C)CT/AA 型为主,并与国内多地区相比存在差异性。有文献报道^[14],叶酸代谢基因 MTHFR C677T 位点的突变是死胎发生的危险因素,与 MTHFR A1298C 位点突变无关。另有研究指出^[15],叶酸代谢基因 MTHFR C677T 位点的突变可能是神经管缺损、先天性心脏病、21-三体综合征发生的危险因素之一,而 MTHFR A1298C 在其中的作用相对较弱。因此,深度研究了 MTHFR C677T 位点突变的规律。就总体而言,北方地区(延安、乌鲁木齐、辽源、廊坊、烟台)人群中 MTHFR C677T 纯合突变基因型 TT 所占比例比南方地区(湘潭、武汉、昆明、南宁、琼海)高,呈现北高南低的趋势;有趣的是其等位基因 T 的基因频率也呈现随纬度的递减而降低的走向,这与我国神经管畸形发病率北高于南的趋势相一致^[16],这种基因多态性分布可能受地形、地貌、经纬度、气候、生活环境、饮食等影响,是经过漫长的自然选择形成的。

目前陕西省延安地区还尚未有大样本人群的关于 MTHFR C677T, A1298C 位点的基因多态性分析报道,这一研究填补了目前这一领域的相关数据的空白。基于该地区研究结果,一方面对一些有

过出生缺陷史的育龄女性建议进一步进行 MTHFR 基因多态性精准检测是非常有必要的,进而采取有效的靶向干预措施;另一方面可为一些基层无法开展叶酸代谢能力检测的医院提供经验用药指导。

参考文献:

- [1] WU Xiaoming, WANG Xiaohuan, CHAN Ying, et al. Folate metabolism gene polymorphisms MTHFR C677T and A1298C and risk for Down syndrome offspring: a meta-analysis[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2013, 167(2): 154-159.
- [2] 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.
XIE Xiaoyuan, ZHANG Ying, XIN Li, et al. The relationship of the folate metabolism gene polymorphisms of MTHFR and MTRR with unexplained recurrent spontaneous abortion[J]. Tianjin Medicine Journal, 2016, 44(10): 1243-1246.
- [3] LI Xiujuan, JIANG Jing, XU Min, et al. Individualized supplementation of folic acid according to polymorphisms of methylenetetra-hydrofolate reductase (MTHFR), methionine synthase reductase (MTRR) reduced pregnant complications[J]. Gynecol Obstet Invest, 2015, 79(2): 107-112.
- [4] 郝友瑛, 赵红, 鲁衍强, 等. 新疆维吾尔族和汉族女性 MTHFR 和 MTRR 基因单核苷酸多态性比较[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(21): 3495-3497.
HAO Youying, ZHAO Hong, LU Yanqiang, et al. Comparison single nucleotide polymorphisms of MTHFR gene and MTRR gene between Uygur women and Han women [J]. Maternal and Child Health Care of China, 2014, 29(21): 3495-3497.
- [5] 李桂华, 鲁衍强, 李瑛, 等. 辽源市汉族女性 MTHFR 和 MTRR 的遗传多态性分析[J]. 中国妇幼保健,

- 2016,31(10):2130-2132.
- LI Guihua, LU Yanqiang, LI Ying, et al. Analysis on genetic polymorphisms of MTHFR and MTRR among Han women in Liaoyuan city[J]. Maternal and Child Health Care of China, 2016, 31(10): 2130-2132.
- [6] 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.
- LI Junhua, LU Yanqiang, MA Shaojie, et al. Analysis of MTHFR and MTRR gene polymorphism in Han women in Langfang city [J]. Basic and Clinical Medicine, 2014, 34 (11): 1564-1565.
- [7] 严倩, 鲁衍强, 李瑛, 等. 烟台市汉族女性 MTHFR 和 MTRR 基因多态性的分布特征[J]. 山东大学学报(医学版), 2014, 52(1): 79-84.
- YAN Qian, LU Yanqiang, LI Ying, et al. Polymorphisms of MTHFR and MTRR in women of Chinese Han population in Yantai city [J]. Journal of Shandong University (Health Sciences), 2014, 52 (1): 79-84.
- [8] 王淑媛, 鲁衍强, 马少杰, 等. 湘潭市汉族女性 MTHFR 和 MTRR 基因多态性分布及其与血浆 Hcy 水平的关系[J]. 天津医药, 2014, 42(12): 1205-1209.
- WANG Shuyuan, LU Yanqiang, MA Shaojie, et al. Relationship of plasma homocysteine with gene polymorphisms of MTHFR and MTRR among Han women in Xiangtan city[J]. Tianjin Medicine Journal, 2014, 42(12): 1205-1209.
- [9] 王维鹏, 鲁衍强, 芮欣忆, 等. 湖北省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]. 中国妇幼保健, 2013, 28(1): 140-143.
- WANG Weipeng, LU Yanqiang, RUI Xinyi, et al. Study on the distribution of gene polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase reductase among the Han women in Hubei province[J]. Maternal and Child Health Care of China, 2013, 28(1): 140-143.
- [10] 万莉娟, 鲁衍强, 芮欣忆, 等. 云南省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]. 中国现代医学杂志, 2013, 23(5): 46-50.
- WAN Lijuan, LU Yanqiang, RUI Xinyi, et al. Study on methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase reductase polymorphisms among the Han women in Yunnan province[J]. China Journal of Modern Medicine, 2013, 23(5): 46-50.
- [11] 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.
- JIANG Wu, LU Yanqiang, LI Ying, et al. A comparison of single nucleotide polymorphisms of MTHFR and MTRR in women between Chinese Zhuang and Han population in Nanning city[J]. Guangxi Medical Journal, 2014, 36(11): 1517-1519.
- [12] 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): 18-20.
- YAN Zhumiao, LU Yanqiang, LI Ying, et al. Polymorphisms of MTHFR and MTRR among the Han nationality women in Qionghai city[J]. Journal of Hainan Medical University, 2013, 19(1): 18-20.
- [13] 卫生部. 中国出生缺陷防治报告(2012)[J]. 中国药房, 2012, 23(39): 3693.
- Ministry of Health. Report on prevention and control of birth defects in China(2012)[J]. China Pharmacy, 2012, 23(39): 3693.
- [14] 黄娟娟, 岳红云, 张娟, 等. MTHFR(C677T A1298C 和 G1793A)基因多态性对死胎的影响[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(1): 72-76.
- HUANG Juanjuan, YUE Hongyun, ZHANG Juan, et al. Effect of polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene (C677T A1298C and G1793A) on stillbirth[J]. J Mod Lab Med, 2017, 32 (1): 72-76.
- [15] 罗丽, 陈岳明, 王贤军. 叶酸代谢基因多态性与出生缺陷的关系[J]. 国际妇产科学杂志, 2015, 42(4): 421-424.
- LUO Li, CHEN Yueming, WANG Xianjun. Advances in the relationship between polymorphisms of genes involved in the folate metabolic pathway and birth defects[J]. Journal of International Obstetrics and Gynecology, 2015, 42(4): 421-424.
- [16] 归巧娣, 苍金荣, 宫艳艳, 等. 西安地区育龄妇女 MTHFR C677T 基因型分布研究[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(1): 72-76.
- GUI Qiaodi, CANG Jinrong, GONG Yanyan, et al. Geographical distribution of MTHFR C677T gene among the gestational age women in Xi'an[J]. J Mod Lab Med, 2017, 32(1): 72-76.

收稿日期: 2018-12-05

修回日期: 2018-12-28