

# 青海地区育龄女性 MTHFR 基因 C677 位点的多态性研究

罗晓琴, 江平, 程时磊 (青海省人民医院分子病理科, 西宁 810007)

**摘要:**目的 分析青海地区育龄女性叶酸代谢关键酶 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶 (methylene tetra hydro folate reductase, MTHFR) 基因 C677 多态性的分布特点, 指导育龄女性合理补充叶酸。方法 实时荧光定量 PCR 检测技术分析叶酸代谢相关酶基因 MTHFR 位点 C677 的多态性。结果 青海地区孕前及孕早期女性 TT 纯合突变基因型频率 (20.72%) 与不孕症女性 (18.68%) 差异无统计学意义 ( $\chi^2=2.52, P>0.05$ )。青海地区汉族女性 MTHFR 位点纯合突变基因型 TT 频率 (20.70%) 同青海地区藏族女性 TT 纯合基因型频率 (11.65%) 差异有统计学意义 ( $\chi^2=25.06, P<0.05$ ), 而与回族 (19.91%) 和土族 (20.72%) 差异无统计学意义 ( $\chi^2=1.56, 1.14, 均 P>0.05$ )。青海地区汉族女性 TT 纯合基因型频率 (20.70%) 与西藏汉族女性 (20.43%) 差异无统计学意义 ( $\chi^2=0.86, P>0.05$ ), 与低海拔地区 [辽源 (28.76%)、淄博 (43.61%)、郑州 (36.78%)、南宁 (7.71%)、佛山 (27.70%) 和琼海 (6.14%)] 差异均有统计学意义 ( $\chi^2=20.58\sim 493, 均 P<0.05$ )。结论 青海地区育龄女性的叶酸代谢相关基因 MTHFR 的分布具有海拔特异性及民族特异性, 且孕前及孕早期女性与不孕症女性无相关性 ( $P>0.05$ )。

**关键词:** 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶; C677T; 基因多态性; 青海地区

**中图分类号:** R714.1; Q786 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2021) 02-089-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2021.02.021

## Study on the Polymorphism Distribution of MTHFR Gene C677 in Women of Childbearing Age in Qinghai

LUO Xiao-qin, JIANG Ping, CHENG Shi-lei

(Department of Molecular Pathology, Qinghai Provincial People's Hospital, Xining 810007, China)

**Abstract: Objective** To analyze the distribution characteristics of C677 polymorphism of MTHFR gene in women of childbearing age in Qinghai Province, and guide women of childbearing age to supplement folic acid reasonably. **Methods** The MTHFR C677 gene polymorphism was detected by real-time fluorescent quantitative PCR. **Results** The frequency of TT homozygous mutation genotype in pre pregnancy and early pregnancy women (20.72%), which was not significantly different from that in infertile women (18.68%) ( $\chi^2=2.52, P>0.05$ ). The TT frequency of MTHFR homozygous mutation genotype was (20.70%) in Qinghai Han women, which was significant statistical differences with Tibetan women (11.65%) in this area ( $\chi^2=25.06, P<0.05$ ), but no significant difference with Hui (19.91%) and Tu (20.72%) nationality ( $\chi^2=1.56, 1.14, all P>0.05$ ). There was no significant difference with the Tibetan Han women (20.43%) of high altitude area ( $\chi^2=0.86, P>0.05$ ), but it was statistically significant with low altitude areas [Liaoyuan (28.76%), Zibo (43.61%), Zhengzhou (36.78%), Nanning (7.71%), Foshan (27.70%) and Qionghai (6.14%)] ( $\chi^2=20.58\sim 493, all P<0.05$ ). **Conclusion** The distribution of MTHFR gene related to folic acid metabolism in women of childbearing age in Qinghai province had national specificity in plateau area, and there was no correlation between women infertile women with before pregnancy women and in early pregnancy women in local area ( $P>0.05$ ).

**Keywords:** 5,10-methylene tetra hydro folate reductase; C677T; gene polymorphism; Qinghai Province

叶酸 (folic) 由蝶啶 (pteridine)、对氨基苯甲酸 (PABA) 和 L-谷氨酸 (L-glutamic acid) 组成, 体内叶酸以四氢叶酸 (tetrahydrofolate, THF) 的形式起作用, 5, 10-亚甲基四氢叶酸还原酶 (methylene tetra hydro folate reductase, MTHFR) 是叶酸代谢通路中的关键酶之一<sup>[1]</sup>。据国内外多篇文献记载, 体内叶酸利用能力障碍是构成不良孕产的危险因素<sup>[2-3]</sup>, 而叶酸利用能力障碍与编码 MTHFR 多态性有关。因此, MTHFR 与神经管畸形、复发性流产和妊娠

期高血压的发病率以及不孕症等密切相关<sup>[3-5]</sup>。本研究致力于探讨青海地区育龄女性 MTHFR 在位点 C677 基因的多态性分布特征, 旨在为青海地区育龄女性叶酸个体化补充提供科学依据。

### 1 对象和方法

**1.1 研究对象** 本研究选取 2016 年 12 月 1 日~2018 年 12 月 7 日自青海省人民医院进行叶酸代谢能力检测的汉族及各少数民族育龄女性 3 036 例, 年龄 16~52 岁, 平均年龄 29.8 岁。其中孕前期及孕

期2 008例, 不孕症患者1 028例。

1.2 仪器与试剂 本研究所用仪器为美国 Applied Biosystems Viia™ 7 Dx Real-Time PCR Instrument, 使用深圳奥萨公司的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)检测。

1.3 研究方法 DNA提取与PCR扩增: 取受试者清晨空腹静脉血1~2ml, EDTA抗凝, 提取血样的全基因DNA, 借助荧光PCR技术进行检测。反应条件为: 50℃ 2min, 95℃ 2min, 95℃ 15s, 60℃ 1min, 共45个循环。

1.4 统计学分析 对本研究人群样本进行哈迪-温

表1 青海地区孕前或孕早期女性与不孕症女性MTHFR C677基因多态性比较[n(%)]

类别	n	MTHFR C677 基因			$\chi^2$	P	MTHFR C677 基因		$\chi^2$	P
		TT	CT	CC			C	T		
孕前或孕早期	2 008	416(20.72)	979(48.75)	613(30.53)	2.52	0.28	2 205(54.91)	1 811(45.09)	2.45	0.12
不孕症	1 028	192(18.68)	499(48.54)	337(32.78)			1 173(57.05)	883(42.95)		
合计	3 036	608(20.03)	1 478(48.68)	950(31.29)			3 378(55.63)	2 694(44.37)		

2.2 青海地区汉族与各少数民族女性MTHFR C677基因型多态性数据比较 见表2。通过数据比较, 汉族女性MTHFR C677的TT纯合基因型频率(20.70%)与藏族女性频率(11.65%)差异较大,

表2 青海地区不同民族女性间MTHFR C677基因多态性比较[n(%)]

民族	n	MTHFR C677 基因			$\chi^2$	P	MTHFR C677 基因		$\chi^2$	P
		TT	CT	CC			C	T		
汉族	2 503	518(20.70)	1 240(49.54)	745(29.76)	25.06	0.000	2 730(54.53)	2 276(45.47)	22.28	0.000
藏族	206	24(11.65)	88(42.72)	94(45.63)	1.56	0.459	276(66.99)	136(33.01)	0.62	0.430
回族	216	43(19.91)	100(46.30)	73(33.80)	1.14	0.564	246(56.94)	186(43.06)	0.27	0.601
土族	111	23(20.72)	50(45.05)	38(34.23)			126(56.76)	96(43.24)		

2.3 青海地区汉族女性MTHFR C677基因多态性与不同地区数据比较 见表3。通过数据比较, 青海地区汉族女性MTHFR C677的TT纯合基因型频率(20.70%)与西藏汉族女性频率<sup>[6]</sup>(20.43%)接近, 差异无统计学意义( $\chi^2=0.86, P < 0.05$ )。但是,

表3 青海地区与其他地区汉族女性MTHFR C677基因多态性比较[n(%)]

地区	MTHFR C677 基因			$\chi^2$	P	MTHFR C677 基因		$\chi^2$	P
	TT	CT	CC			C	T		
青海	518(20.70)	1 240(49.54)	745(29.76)			2 730(54.53)	2 236(45.47)		
西藏 <sup>[6]</sup>	47(20.43)	108(46.96)	75(32.61)	0.86	0.650	258(56.09)	202(43.91)	0.21	0.646
辽源 <sup>[13]</sup>	88(28.76)	161(52.61)	57(18.63)	20.58	0.000	275(44.93)	337(55.07)	22.10	0.000
淄博 <sup>[13]</sup>	454(43.61)	457(43.90)	130(12.49)	235.55	0.000	717(34.44)	1 365(65.56)	247.58	0.000
郑州 <sup>[13]</sup>	402(36.78)	493(45.10)	198(18.12)	119.41	0.000	889(40.67)	1 297(59.33)	124.28	0.000
南宁 <sup>[13]</sup>	38(7.71)	162(32.86)	293(59.43)	166.56	0.000	748(75.86)	238(24.14)	147.78	0.000
佛山 <sup>[7]</sup>	231(27.70)	251(30.10)	351(42.10)	95.58	0.000	903(55.90)	713(44.10)	0.40	0.525
琼海 <sup>[13]</sup>	75(6.14)	390(31.94)	756(61.92)	377.70	0.000	1 902(77.89)	540(22.11)	366.81	0.000

伯格定律(Hardy-Weinberg)遗传平衡检验, 使用统计分析数据软件SPSS 25.0, 对组间基因型及等位基因频率对比采用 $\chi^2$ 检验,  $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 青海地区孕前或孕早期女性与不孕症女性MTHFR在位点C677基因多态性数据比较 见表1。通过数据比较, 青海地区孕前或孕早期女性MTHFR在位点C677的TT纯合基因型频率(20.72%)与不孕症女性频率(18.68%)接近, 差异无统计学意义( $\chi^2=2.52, P=0.28$ )。

差异有统计学意义( $\chi^2=25.06, P < 0.05$ ), 而与回族、土族比较差异却无统计学意义( $P > 0.05$ ), 提示青海地区汉族、藏族两民族间的叶酸代谢能力存在明显差异。

与佛山女性频率<sup>[7]</sup>(27.70%)相比有较大差异。因此, 青海地区与低海拔地区差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ), 提示本地区基因多态性分布有高原海拔特异性。

### 3 讨论

叶酸是人体必需的水溶性维生素之一,人体叶酸摄入不足或叶酸代谢障碍,均可表现为叶酸缺乏。研究表明,叶酸代谢障碍与胎儿神经管畸形、先天性心脏病及唐氏综合征等多种出生缺陷密切相关<sup>[3]</sup>。我国是出生缺陷高发国家,卫生部发布的《2012年中国出生缺陷防治报告》指出,我国每年出生缺陷新增病例高达90万例,然而青海地区围产儿出生缺陷发生率平均为100.43/万<sup>[8]</sup>。为了预防出生缺陷,全国普遍实施了补充叶酸的措施,但是仍有部分女性即便补充了叶酸,胎儿仍会发生出生缺陷,主要原因是遗传因素导致的叶酸代谢障碍<sup>[9-10]</sup>。MTHFR是叶酸代谢过程中的关键酶,MTHFR C677是其多态性位点之一,此位点的突变将MTHFR编码蛋白中的一个丙氨酸转变为缬氨酸,造成该酶活性的改变<sup>[11-12]</sup>。有研究表明,在同等条件下CT型和TT型女性细胞内叶酸含量低于正常基因型<sup>[9]</sup>。也有研究表明,TT型易导致高同型半胱氨酸症,而高同型半胱氨酸是导致新生儿神经管缺陷的重要危险因素<sup>[12-13]</sup>。因此,根据不同基因型做个性化的叶酸补充方案对于预防出生缺陷具有重要作用。

本研究统计分析青海地区育龄女性叶酸代谢相关基因MTHFR C677基因位点多态性的分布特征,并就孕前及孕期女性和不孕症女性群体做了比较。本研究发现,青海地区孕前或孕早期女性和不孕症女性群体间无统计学差异( $P > 0.05$ )。从比较数据来看,青海地区汉族女性TT型频率(20.70%)同藏族女性(11.65%)存在较大差异,而同回族(19.91%)、土族(20.72%)无统计学差异。同时本研究发现,如果将青海地区汉族基因多态性分布情况同多个已有文献报道<sup>[9]</sup>的地区进行比较,研究显示青海地区汉族女性TT型频率(20.70%)与低海拔地区(辽源28.76%,淄博43.61%,郑州36.78%,南宁7.71%,佛山27.70%,琼海6.14%)差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而与高海拔西藏地区汉族女性(20.43%)比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。因此,本地区汉族女性基因多态性分布显然具有高原海拔特异性。

相关研究表明,人体对叶酸的利用受遗传基因影响,叶酸缺乏是导致出生缺陷的主要原因之一。青海地区是多民族聚居地,各民族情况复杂。本研究通过分析比较青海地区各民族间叶酸利用能力差异及与低海拔地区的区别,发现青海地区汉族与各民族尤其是藏族在叶酸代谢关键酶基因多态性存在分布差异。青海地区女性与低海拔地区女性基因多态性分布相比存在明显的高原海拔特异性,为后期

制定个性化的叶酸营养补充方案提供了一定的参考依据。

### 参考文献:

- [1] 张燕,王伟红,郝万鹏.乌鲁木齐汉族妇女亚甲基四氢叶酸还原酶基因变异与血清叶酸和同型半胱氨酸水平的相关性研究[J].现代检验医学杂志,2019,34(5):98-100,105.  
ZHANG Yan, WANG Weihong, HAO Wanpeng. Study on the correlation between the variation of methylenetetrahydrofolate reductase gene and folate and homocysteine in Urumqi Han women[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(5): 98-100, 105.
- [2] 孙建方,蔡新红,蒋冯霞,等.江苏省张家港地区妊娠妇女红细胞叶酸水平调查[J].现代检验医学杂志,2018,33(5):117-120.  
SUN Jianfang, CAI Xinhong, JIANG Fengxia, et al. Investigation of erythrocyte folic acid level in pregnant women in Zhangjiagang of Jiangsu[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(5): 117-120.
- [3] VAN ROOIJ I A L M, VERMEIJ-KEERS C, KLUIJT-MANS L A, et al. Does the interaction between maternal folate intake and the methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms affect the risk of cleft lip with or without[J]. Cleft Palate, 2003, 157(7): 583-891.
- [4] GAUGHAN D J, KLUIJT-MANS L A, BARBAUX S, et al. The methionine synthase reductase (MTRR) A66G polymorphism is a novel genetic determinant of plasma homocysteine concentrations[J]. Atherosclerosis, 2001, 157(2): 451-456.
- [5] DE CASTRO S C P, LEUNG KY, SAVERY D, et al. Neural tube defects induced by folate deficiency in mutant curly tail (Grhl3) embryos are associated with alteration in folate one-carbon metabolism but are unlikely to result from diminished methylation[J]. Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology, 2010, 88(8): 612-618.
- [6] 李君,鲁衍强,王宏,等.西藏地区藏族与汉族女性叶酸代谢关键酶基因位点多态性特征分布比较[J].西藏科技,2017(7): 55-57.  
LI Jun, LU Yanqiang, WANG Hong, et al. Comparison of polymorphism characteristics of folate metabolism key enzyme gene loci between Tibetan and Han women in Tibet[J]. Tibet's Science & Technology, 2017(7): 55-57.
- [7] 郭晓玲,鲁衍强,杨兴坤,等.广东省佛山市汉族女性MTHFR, MTRR基因型及等位基因频率分布与其他地区汉族女性的比较[J].中国妇幼保健,2015, 30(34): 5955-5958.  
GUO Xiaoling, LU Yanqiang, YANG Xingkun, et al. Comparison of distribution frequencies of MTHFR and MTRR genotypes and alleles between Han women in Foshan city of Guangdong province and Han women in other areas[J]. Maternal & Child Health Care of China, 2015, 30(34): 5955-5958.
- [8] 刘健男.青海省10年出生缺陷监测结果分析[J].高原医学杂志,2011,21(3): 59-61.