

郟县汉族女性 *MTHFR* 基因 C677T、A1298C 位点与 *MTRR* 基因 A66G 位点的多态性分布

李会聪¹ 吴红果¹ 鲁衍强² 王艳超¹ 王秋菊¹ 胡季芳² 杨琦³

(1 郟县妇幼保健院,河南 平顶山 467100; 2 上海张江普汇转化医学研究院; 3 中国疾病预防控制中心妇幼保健中心)

[摘要] 目的 分析郟县汉族育龄女性叶酸代谢关键酶 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶(*MTHFR*)基因和甲硫氨酸合成酶还原酶(*MTRR*)基因相关位点多态性分布的特点,旨在为孕妇增补叶酸提供参考。方法 采集 2017—2019 年在郟县妇幼保健院接受孕期检查的 554 例女性的口腔黏膜细胞样本,提取 DNA,采用相关 PCR 法对 *MTRR* 基因 A66G 位点、*MTHFR* 基因 A1298C、C677T 位点多态性进行检测并分析。结果 所有样本基因位点多态性分布符合遗传平衡定律。其中 *MTHFR* 基因 C677T 位点 TT 型、CT 型、CC 型占比分别为 42.8%、43.3%、13.9%;*MTHFR* 基因 A1298C 位点 AA 型、AC 型、CC 型占比分别为 77.3%、22.0%、0.7%;*MTRR* 基因 A66G 位点 AA 型、AG 型、GG 型占比分别为 56.7%、36.6%、6.7%。郟县汉族育龄女性 *MTHFR* 基因 C677T 和 A1298C 两位点连锁有 7 种组合,频率最高的是 TT/AA(42.8%),无 TT/AC 和 TT/CC 组合,两位点间存在强连锁不平衡 ($D' = 0.984, r^2 = 0.233$)。结论 郟县汉族育龄女性 *MTHFR*、*MTRR* 基因位点多态性特征与其他地区汉族女性有所区别,具有地域特异性,其中 *MTHFR* 基因 C677T 位点中,TT 基因型占比较高,如妊娠期女性为该基因类型,在其妊娠期间应适当增加叶酸量,并根据实际情况增加增补天数。

[关键词] 亚甲基四氢叶酸还原酶(NADPH);甲硫氨酸合成酶还原酶;多态性,单核苷酸;叶酸;孕妇

[中图分类号] R173;R394.5

[文献标志码] A

DISTRIBUTION OF *MTHFR* C677T, A1298C POLYMORPHISMS, AND *MTRR* A66G POLYMORPHISMS IN HAN WOMEN IN JIA COUNTY, CHINA LI Huicong, WU Hongguo, LU Yanqiang, WANG Yanchao, WANG Qiuju, HU Jifang, YANG Qi (Jia County Maternal and Child Health Hospital, Pingdingshan 467100, China)

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the distribution characteristics of the gene polymorphisms of key enzymes related to folate metabolism [5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) and methionine synthase reductase (*MTRR*)] in women of reproductive age of the Han nationality in Jia County, China, and to provide a reference for folate supplementation for pregnant women. **Methods** A total of 554 women who underwent examinations during pregnancy in Jia County Maternal and Child Health Hospital from 2017 to 2019 were enrolled. Oral mucosal cell samples were collected from them, followed by DNA extraction. PCR was used to examine *MTRR* (A66G) and *MTHFR* (A1298C and C677T) polymorphisms. **Results** The distribution of polymorphisms of all the samples accorded with the law of genetic equilibrium. The proportions of TT, CT, and CC genotypes at the C677T locus of the *MTHFR* gene were 42.8%, 43.3%, and 13.9%, respectively. The proportions of AA, AC, and CC genotypes at *MTHFR* A1298C were 77.3%, 22.0%, and 0.7%, respectively. The proportions of AA, AG, and GG genotypes at *MTRR* A66G were 56.7%, 36.6%, and 6.7%, respectively. There were seven combinations of *MTHFR* C677T and A1298C genotypes among the Han women of reproductive age in Jia County. TT/AA was the most frequent combination, which accounted for 42.8%. No TT/AC or TT/CC combination was found. There was a strong linkage disequilibrium between the two loci ($D' = 0.984, r^2 = 0.233$). **Conclusion** Different from those of Han women in other regions, Han women of reproductive age in Jia County show regional specificity in *MTHFR* and *MTRR* polymorphisms. There is a high proportion of the TT genotype at *MTHFR* C677T, with which genotype women should appropriately increase the dose and duration of folate supplementation according to actual situation during pregnancy.

[KEY WORDS] Methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH2); Methionine synthase reductase; Polymorphism, single nucleotide; Folic acid; Pregnant women

叶酸是人体重要的营养素之一,参与人体 DNA 合成、甲基化等生理过程。在人体叶酸代谢的过程中,很多酶发挥重要作用,其中包括甲硫氨酸合成酶还原酶(*MTRR*)以及 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶

(*MTHFR*)等^[1-5],基因位点多态性的存在是酶具有不同活性的重要原因之一,同时也导致其具有的叶酸利用能力不同,可对机体中的叶酸水平等产生重要影响,进而使机体出现多种不同临床表现,如妊娠期高血压、出生缺陷等^[6-9]。本研究选择郟县的汉族女性作为研究对象,检测其 *MTHFR* 基因 C677T、A1298C 位点和 *MTRR* 基因 A66G 位点的多态性

[收稿日期] 2022-10-30; **[修订日期]** 2023-01-23

[基金项目] 中国疾病预防控制中心妇幼保健分子遗传医学研究专项计划(FY-ZX-ZD-0338)

[通讯作者] 胡季芳,Email:hujifang@genechina.com

分布,为该区域育龄女性叶酸增补方案提供依据。现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取 2017—2019 年于郑县妇幼保健院进行孕期检查的汉族健康育龄女性共 554 例,平均年龄为 (27.77 ± 4.76) 岁。

1.2 检测方法

采集受检者口腔黏膜细胞样本,提取 DNA,使用探针技术对 *MTRR* 基因和 *MTHFR* 基因相关位点多态性进行检测,同时使用荧光定量 PCR 仪读取结果并记录,利用 *sequence detection software* 软件

确定基因分型结果。使用的主要设备、试剂等均由 ABI 公司生产。

1.3 统计学分析

采用 HaploView 4.2 软件进行连锁不平衡水平 (LD) 分析。并对理论频数与预计频数进行卡方检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Hardy-Weinberg 平衡分析

对入组对象的 *MTRR* 基因和 *MTHFR* 基因位点多态性进行分析,并且对理论频数与预计频数进行卡方检验,结果显示两者分布符合遗传平衡 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 Hardy-Weinberg 平衡分析

频数	<i>MTHFR</i> 基因 C677T			χ^2	<i>P</i>	<i>MTHFR</i> 基因 A1298C			χ^2	<i>P</i>	<i>MTRR</i> 基因 A66G			χ^2	<i>P</i>
	CC	CT	TT			AA	AC	CC			AA	AG	GG		
实际频数	77	240	237			428	122	4			314	203	37		
预计频数	70	254	230	1.66	0.20	432	115	8	2.21	0.14	312	208	35	0.29	0.59

2.2 基因型频率分析

郑县汉族育龄女性 *MTHFR* 基因 C677T 位点 CC 型、CT 型及 TT 型占比分别为 13.9%、43.3%、42.8%;*MTHFR* 基因 A1298C 位点 AA 型、AC 型及 CC 型占比分别为 77.3%、22.0%、0.7%;*MTRR* 基因 A66G 位点 AA 型、AG 型以及 GG 型占比分别为 56.7%、36.6%、6.7%。

2.3 等位基因频率分析

郑县汉族育龄女性 *MTHFR* 基因 C677T C、T 等位基因所占频率分别为 35.6%、64.4%,*MTHFR* 基因 A1298C A、C 等位基因所占频率则分别为 88.3%、11.7%,*MTRR* 基因 A66G A、G 等位基因所占频率分别为 75.0%、25.0%。

2.4 *MTHFR* 基因 C677T 和 A1298C 连锁及单倍型分析

两个基因位点之间存在着 7 种不同组合的连锁情况,其中 TT/AA 频率最高 (42.8%),然后频率依次为 CT/AA (27.6%)、CT/AC (15.5%)、CC/AA (6.9%)、CC/AC (6.5%)、CC/CC (0.5%)、CT/CC (0.2%),但两个基因位点间不存在 TT/AC 和 TT/CC 组合。

MTHFR 基因 C677T 和 A1298C 两个位点构建的单倍型总共存在 4 种组合:TA (64.3%)、CA (23.9%)、CC (11.6%)、TC (0.1%),LD 分析结果显示,两位点间存在强连锁不平衡 ($D' = 0.984$, $r^2 = 0.233$)。

3 讨论

在女性妊娠过程中,如果叶酸补充不充分,则可能会导致出生缺陷的情况出现,为了有效预防该情况的出现,有必要让妊娠期女性适当进行叶酸的补充。在 21 世纪初期我国就颁布了一系列政策用于农村育龄女性叶酸的补充,但是不同地区的出生缺陷预防效果依然存在差异。原因之一是不同地区具有不同的民俗习惯,包括饮食等,原因之二是生活在不同地区的人具有不同的基因位点多态性,因此导致不同地区的人群叶酸代谢能力不同。对不同民族、地区的人群叶酸代谢途径进行的研究显示,代谢叶酸关键酶的基因位点存在多态性,对其进行更加深入的研究可为临床干预奠定基础,从而让不同地区育龄女性个性化增补叶酸。

在人体代谢叶酸的过程中,有很多酶可发挥关键作用,其中包括 *MTHFR* 和 *MTRR*,基因位点多态性的原因导致了酶活性的不同。如 *MTHFR* 基因第 5 个外显子上 677 位置的 C 与 T 的不同,可引起编码氨基酸由 Ala 变为 Val,导致酶活性和热稳定性下降,若以携带 *MTHFR* 基因 C677T CC 基因型的个体的酶活性为 100%,则携带 CT 基因型的个体的酶活性为 71%,而基因型为 TT 的个体的酶活性只有 34%^[10]。女性处于妊娠期时,其极易发生叶酸缺乏。叶酸缺乏除膳食摄入不足和孕期需求量增加以外,还与患者的遗传物质密切相关,即使在每

天补充 400 μg 叶酸的基础上,仍有一部分孕妇因基因位点多态性导致无法在该时期补充足够的叶酸,进而引起叶酸需求量的不足。育龄妇女在妊娠前和妊娠期进行叶酸代谢相关基因位点多态性检测,可从分子水平上将叶酸利用能力差的人群筛查出来,为医生指导孕妇进行叶酸个性化补充提供科学依据。针对叶酸代谢障碍人群,从叶酸服用的时长和剂量上进行强化,以降低不良孕产、出生缺陷如神经管畸形、先天性心脏病等的出现概率^[11]。在不同地区,本研究涉及到的基因位点均具有多态性分布特点^[12]。本研究显示,在郟县汉族女性 *MTHFR* 基因中,T 等位基因频率为 64.4%,TT 频率为 42.8%,明显高于已经报道的新疆阿克苏地区^[13]、辽宁沈阳市^[14]、浙江丽水市^[15]、贵州贵阳市^[16]以及广东佛山市^[17]等地的汉族女性数据,同时也高于河南其他地区,例如郑州^[18]、新乡^[19]等,说明本地区的女性对于叶酸利用能力普遍较低,应实行个体化的叶酸增补方案,即对于 *MTHFR* 基因 C677T TT 高风险人群,可以适量增加叶酸补服剂量 400~800 μg ,同时延长叶酸增补时间;对于其他基因型,也可以结合临床生化指标,灵活调整方案。

总之,本研究结果显示,郟县的汉族育龄女性 *MTHFR* 基因 C677T 高风险型位点 TT 占比较高,如育龄女性具有该基因型则无法充分利用叶酸。因此,有必要筛查育龄女性该基因位点,识别叶酸利用能力低下人群,进行个体化干预及重点人群孕期管理,进而降低新生儿出生缺陷等情况出现概率。

伦理批准和知情同意: 本研究所有内容已经获得中国疾病预防控制中心妇幼保健中心妇幼保健分子遗传医学研究专项计划的审核批准。所有试验过程均遵照《人体医学研究的伦理准则》的条例进行。受试对象或其亲属已经签署知情同意书。

作者声明: 李会聪、吴红果、王艳超、王秋菊参与了研究设计;李会聪、鲁衍强、胡季芳、杨琦参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文。所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

[1] WEISBERG I, TRAN P, CHRISTENSEN B, et al. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) associated with decreased enzyme activity[J]. *Mol Genet Metab*, 1998,64(3):169-172.

[2] WILCKEN B, BAMFORTH F, LI Z, et al. Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5, 10 methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR*): Findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide[J]. *J Med Genet*, 2003,40(8):619-625.

[3] WANG Y X, LIU Y, JI W Y, et al. Analysis of *MTR* and *MTRR* polymorphisms for neural tube defects risk association [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2015,94(35):e1367.

[4] OUYANG S R, LI Y Y, LIU Z, et al. Association between *MTR* A2756G and *MTRR* A66G polymorphisms and maternal risk for neural tube defects: A meta-analysis[J]. *Gene*, 2013, 515(2):308-312.

[5] SALIH M A, MURSHID W R, SEIDAHMED M Z. Epidemiology, prenatal management, and prevention of neural tube defects[J]. *Saudi Med J*, 2014,35(Suppl 1):S15-S28.

[6] FIGUEIREDO R F, FIGUEIREDO N, FEGURI A, et al. The role of the folic acid to the prevention of orofacial cleft: An epidemiological study[J]. *Oral Dis*, 2015, 21(2):240-247.

[7] 尹璐,吕永刚. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与自然流产的相关性分析[J]. *吉林医学*, 2012,33(21):4520-4521.

[8] 高永海,邸文治,张瀚文,等. 沧州地区 *MTHFR* 基因多态性与妊娠期高血压相关性的研究[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2018, 26(11):28-29,38.

[9] 何丽梅,李海川,仲伟国,等. 妊娠高血压综合征患者 *MTHFR* 基因 C677T 多态性与 Hcy 及肾功能指标的相关性研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2021,42(2):181-184,188.

[10] YANG B Y, LIU Y Y, LI Y F, et al. Geographical distribution of *MTHFR* C677T, A1298C and *MTRR* A66G gene polymorphisms in China: Findings from 15357 adults of Han nationality[J]. *PLoS One*, 2013,8(3):e57917.

[11] 傅芬,刘虹,廖巧玲,等. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与妊娠高血压综合征关系的研究[J]. *江西医药*, 2003,38(6):400-402.

[12] 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.

[13] 席晓娥,鲁衍强,付敏,等. 新疆阿克苏地区汉族和维吾尔族女性 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶、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*, 2019,34(6):1313-1316.

[14] 庞静,鲁衍强,付敏,等. 沈阳市汉族与满族女性 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶、甲硫氨酸合成酶还原酶基因的单核苷酸多态性分布特征[J]. *中国妇幼保健*, 2019,34(5):1091-1094.

[15] 钱碧霞,陈鹏龙,鲁衍强,等. 丽水地区汉族女性 *MTHFR* 与 *MTRR* 基因多态性分析[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2019,27(2):136-138,161.

[16] 渠巍,鲁衍强,梁璐,等. 贵阳市汉族女性 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶、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*, 2019,34(4):855-857.

[17] 郭晓玲,鲁衍强,杨兴坤,等. 佛山市汉族人群叶酸代谢通路关键酶基因 *MTHFR* C677T 多态性分布特征调查[J]. *实用预防医学*, 2019,26(3):290-292.

[18] 崔会玲,鲁衍强,马少杰,等. 郑州市汉族女性 *MTHFR* 和 *MTRR* 基因多态性分布[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2015, 40(7):710-714.

[19] 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*, 2014,23(7):7-10.