

总体验证研究结果表明,血清 SAA 测定试剂盒在 AU5800 生化分析仪上设置的性能满足厂家声明,并可达到预期用途要求。对标本反应区间 OD 值设置有助于识别钩状效应,为临床提供准确结果。

参考文献

[1] SACK G J. Serum amyloid A-a review[J]. Mol Med, 2018,24(1):46.

[2] 中国中西医结合学会检验医学专业委员会. 血清淀粉样蛋白 A 在感染性疾病中临床应用的专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2019,42(3):186-192.

[3] 杨红玲,郑磊,周才,等. 胶体金渗滤法检测血清淀粉样蛋白 A 方法评价及其在儿童感染性疾病诊断中的应用[J]. 中华检验医学杂志, 2014,37(11):836-841.

[4] 滕晓梅. 免疫比浊法用于全自动生化分析仪中产生钩状效应的防范[J]. 国际检验医学杂志, 2015,36(12):1649-1650.

[5] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会临床检验中心,北京航天总医院,中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会北京医院. 临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证:WS/T 420-2013[S]. 北京:中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 2013.

[6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会临床检验中心,北京航天总医院,中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会北京医院. 临床检验定量测定项目精密度与正确度性能验证:WS/T 492-2016[S]. 北京:中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 2016.

[7] Clinical Laboratory and Standards Institute. Protocols determination of limits of detection and limits of quantitation;EP17-A[S]. Wayne,PA,USA:CLSI,2003.

[8] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices;EP5-

A2[S]. Wayne,PA,USA:CLSI,2004.

[9] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures;EP6-A[S]. Wayne,PA,USA:NCCLS,2003.

[10] Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory;SC28-A3[S]. Wayne,PA,USA:CLSI,2008.

[11] 王萍,余明杰,潘军峰,等. CRP 与 PCT 测定对新生儿细菌感染的诊断价值及指导合理使用抗菌药物的意义[J]. 中华医院感染学杂志, 2018,28(2):261-264.

[12] 中国医学会重症医学分会. 中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)[J]. 全科医学临床与教育, 2015,13(4):365-367.

[13] 申旺,叶丽燕,杨文丽,等. 血浆(1,3)- β -D-葡聚糖在侵袭性真菌感染临床诊治中的应用评价[J]. 中华医院感染学杂志, 2018,28(9):1288-1291.

[14] 杨德平. SAA、CRP、WBC 指标联合检测对儿童早期病毒感染性疾病的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2016,37(4):546-548.

[15] 李林峡,吴亦栋,周杰林,等. 血清淀粉样蛋白 A 在不同类型手足口病急性期中的应用[J]. 中国现代医生, 2017,55(32):43-45.

[16] 肖子衿,李永杰,王伶. OLYMPUS 生化分析仪检测尿 mALB 时后带现象预警参数设置的研究[J]. 实验与检验医学, 2018,36(6):836-839.

[17] 杨杰,李茂城,尹小毛,等. 27 项特定蛋白项目检测结果分析及钩状效应的防范方法[J]. 检验医学与临床, 2019,16(1):8-12.

[18] 杨杰,李玲,张瀚允,等. 5 种免疫透射比浊法试剂盒检测特定蛋白钩状效应的性能评估[J]. 国际检验医学杂志, 2019,40(2):140-143.

(收稿日期:2019-02-12 修回日期:2019-05-10)

(上接第 2755 页)

[4] 邓涛,谢明水,刘方方,等. 血常规检测在珠蛋白生成障碍性贫血和缺铁性贫血患者中的临床价值[J]. 中国实验诊断学, 2018,22(4):665-666.

[5] 肖奇志,周玉球,张永良,等. 单管多重 PCR 结合 RDB 技术在 α -珠蛋白生成障碍性贫血产前诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2012,33(3):271-273.

[6] 徐湘民,张新华,陈荔丽,等. 地中海贫血预防控制操作指南[M]. 北京:人民军医出版社, 2011:60.

[7] 杨宇航. 基于高通量测序技术的贵州省地中海贫血分子流行病学特征分析[D]. 遵义:遵义医学院, 2018.

[8] WANG Y,LIU C,ZHANG L,et al. Identification of a novel 44.6-kb deletion causing $\alpha 0$ -thalassemia in southern China[J]. Int J Lab Hematol, 2017,39(4):e94-e97.

[9] 黄海龙,林娜,徐两蒲,等. 产前诊断泰国缺失型 α -地中海贫血引起的胎儿巴氏水肿[J]. 中华妇产科杂志, 2010,45(7):532-533.

[10] YANG Y,LI D Z. Early onset of fetal hydrops associated with the α -thalassemia——(THAI) deletion [J]. Hemoglobin, 2014,38(6):431-434.

(收稿日期:2019-01-12 修回日期:2019-04-24)

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.19.003

叶酸代谢相关酶 MTHFR、MTRR 基因多态性与不良孕产史的关系^{*}

赵雪杰, 李晓娜, 孙 茗, 张 璐, 陈派强, 吕 毅[△]

河南大学附属郑州颐和医院检验医学中心, 河南郑州 450047

摘 要:目的 探讨育龄期女性亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)C677T、A1298C 及甲硫氨酸合成酶还原酶(MTRR)A66G 基因多态性与不良孕产史的关系。**方法** 选取 201 例有不良孕产史的女性纳入不良孕产史组, 321 例无不良孕产史女性纳入对照组, 采集所有研究对象外周静脉血标本, 提取 DNA, 采用测序技术对 MTHFR 基因 C677T、A1298C 位点和 MTRR 基因 A66G 位点的多态性进行检测。**结果** 不良孕产史组 MTHFR 基因 C677T 位点的 TT 突变纯合型、A1298C 位点的 CC 突变纯合型基因频率均高于对照组, 差异有统计学意义($\chi^2=13.00, 5.09, P<0.05$); 不良孕产史组 MTHFR 基因 C677T 位点、A1298C 位点和 MTRR 基因 A66G 位点的野生纯合型基因频率均低于对照组($\chi^2=4.42, 5.83, 4.15, P<0.05$)。**结论** 叶酸代谢相关酶 MTHFR 基因 C677T 位点、A1298C 位点的突变纯合型可能会增加不良孕产发生的风险。

关键词: 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; 不良孕产史

中图法分类号: R714.2; R446.9

文章编号: 1672-9455(2019)19-2761-03

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Relationship of the folate metabolism related gene polymorphisms of

MTHFR and MTRR with abnormal pregnancy history^{*}

ZHAO Xuejie, LI Xiaona, SUN Ming, ZHANG Lu, CHEN Paiqiang, LYU Yi[△]

Clinical Laboratory Medicine Center, Zhengzhou Yihe Hospital Affiliated to

Henan University, Zhengzhou, Henan 450047, China

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T, A1298C and methionine synthase reductase (MTRR) A66G gene polymorphisms of childbearing age women with abnormal pregnancy occurrence. **Methods** A total of 201 women with abnormal pregnancy history (abnormal pregnancy history group) and 321 women without abnormal pregnancy history (control group) were included in this study. The peripheral venous blood were collected for extracting genomic DNA. The gene sequencing technique was used to detect gene polymorphism of MTHFR C677T and A1298C and MTRR A66G. **Results** The frequencies of MTHFR 677T TT and 1298C CC homozygous mutation in the abnormal pregnancy history group were statistically significantly higher than those in the control group ($\chi^2=13.00, 5.09, P<0.05$). The frequencies of MTHFR C677T, A1298C and MTRR A66G homozygous wild-type in the abnormal pregnancy history group were statistically significantly lower than those in the control group ($\chi^2=4.42, 5.83, 4.15, P<0.05$). **Conclusion** The homozygous mutation of the folate metabolism related gene MTHFR C677T, MTHFR A1298C might related to the increased risk of abnormal pregnancy occurrence.

Key words: methylenetetrahydrofolate reductase; methionine synthase reductase; gene polymorphisms; abnormal pregnancy history

叶酸属于 B 族维生素, 是机体必需的微量元素之一, 人体自身无法合成, 机体也不能直接利用, 在人体内需经过多种酶的催化才具有代谢活性, 而 5, 10-亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)和甲硫氨酸合成酶还原酶(MTRR)是参与体内叶酸代谢的关键酶^[1]。

MTHFR、MTRR 等酶的基因位点多态性影响着编码酶的活性, 会导致血液中叶酸、维生素 B₁₂ 及同型半胱氨酸发生改变, 进而引发一系列的疾病^[2-3]。有研究表明, 孕妇体内叶酸水平与妊娠结局有密切关系, 叶酸缺乏可致胎盘早剥、子痫前期、神经管畸形、先天性

^{*} 基金项目: 河南省科技攻关项目(20160235)。

作者简介: 赵雪杰, 女, 药师, 主要从事药物基因检测和细胞遗传学研究。 [△] 通信作者, E-mail: 13598026289@163.com。

心脏病、复发性流产等风险升高^[4-5]。本研究旨在探讨 MTHFR 和 MTRR 基因多态性与不良孕产史发生的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 月至 2018 年 9 月在本院进行叶酸利用能力检测的育龄期女性为研究对象,共 522 例,年龄 18~46 岁,平均(27.1±5.2)岁;其中既往无自然流产、胚胎停止发育、死产等不良孕产史,曾生育过健康孩子的 321 例女性纳入对照组;既往发生过自然流产、胚胎停止发育、死产,或生育过神经管缺陷、唇腭裂等畸形儿的 201 例女性纳入不良孕产史组,均经内分泌检查正常,排除感染、解剖学因素及夫妻双方染色体异常。所有研究对象均自愿参与本研究,并签署知情同意书,本研究经过本院医学伦理委员会批准后进行。

1.2 仪器与试剂 DNA 提取试剂盒为北京天根公司基因组 DNA 试剂盒;普通 PCR 仪为美国 ABI 2720 型 PCR 仪;叶酸代谢障碍相关的 3 个单核苷酸基因多态性位点——MTHFR 基因 C677T、A1298C 位点和 MTRR 基因 A66G 位点的引物由北京六合华大基因科技有限公司合成,PCR 试剂购自大连 TAKARA 公司。反应所用的基因多态位点引物信息,MTHFR 基因 C677T 位点上游引物:5'-CCC CAA AGC AGA GGA CTC TCT CTG-3',下游引物:5'-CGA GGA CGG TGC GGT GAG AGT-3';MTHFR 基因 A1298C 位点上游引物:5'-GCA CGT CCC TCT GTC AGG AGT GTG-3',下游引物:5'-TTG CCA TGT CCA CAG CAT GGA G-3';MTRR 基因 A66G 位点上游引物:5'-CAT GCC TTG AAG TGA TGA GGA GGC-3',下游引物:5'-ACT TGT TCT CAC CCT GTG-3'。

1.3 方法

1.3.1 DNA 的提取和叶酸基因型检测 采集所有研究对象外周静脉血标本,采用柱式 DNA 提取试剂盒提取标本 DNA。PCR 扩增体系:去离子水 8.5 μL,Ex Taq 酶 12.5 μL,上游引物 1 μL,下游引物 1 μL,DNA 模板 2 μL,总反应体系 25 μL。PCR 扩增反应条件为:94℃ 5 min;94℃ 30 s;62℃ 30 s,72℃ 60 s,共 35 个循环;72℃ 5 min;4℃ 保存。反应结束后扩增产物送至华大基因科技有限公司进行 Sanger 测序,将测序结果与标准序列进行比对以确定各个标本的基因分型结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行数据处理及统计分析,基因计数法统计基因型频率和等位基因频率;Hardy-Weinberg 遗传平衡检验采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组 MTHFR 基因 C677T 位点基因型分布和等位基因频率比较 不良孕产史组 MTHFR 基因 C677T 位点的 TT 突变纯合型及 T 等位基因频率(41.3%、59.5%)均高于对照组(26.2%、47.7%),差异均有统计学意义($\chi^2=13.00$ 、 13.77 , $P<0.05$);CC 野生纯合型频率(22.4%)低于对照组(30.8%),差异有统计学意义($\chi^2=4.42$, $P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组 MTHFR 基因 C677T 位点基因型分布和等位基因频率比较[n(%)]

组别	n	基因型频率			等位基因频率	
		CC	CT	TT	C	T
对照组	321	99(30.8)	138(43.0)	84(26.2)	336(52.3)	306(47.7)
不良孕产史组	201	45(22.4)	73(36.3)	83(41.3)	163(40.5)	239(59.5)
χ^2		4.42	2.28	13.00	13.77	
P		0.035	0.131	0.000	0.000	

2.2 两组 MTHFR 基因 A1298C 位点基因型分布和等位基因频率比较 不良孕产史组 MTHFR 基因 A1298C 位点的 CC 突变纯合型及 C 等位基因频率(5.5%、17.7%)均高于对照组(1.9%、11.2%),差异均有统计学意义($\chi^2=5.09$ 、 8.69 , $P<0.05$);AA 野生纯合型频率(70.1%)低于对照组(79.4%),差异有统计学意义($\chi^2=5.83$, $P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组 MTHFR 基因 A1298C 位点基因型分布和等位基因频率比较[n(%)]

组别	n	基因型频率			等位基因频率	
		AA	AC	CC	A	C
对照组	321	255(79.4)	60(18.7)	6(1.9)	570(88.8)	72(11.2)
不良孕产史组	201	141(70.1)	49(24.4)	11(5.5)	331(82.3)	71(17.7)
χ^2		5.83	2.42	5.09	8.69	
P		0.016	0.120	0.024	0.003	

2.3 两组 MTRR 基因 A66G 位点基因型分布和等位基因频率比较 不良孕产史组 MTRR 基因 AA 野生纯合型频率(55.2%)低于对照组(64.2%),差异有统计学意义($\chi^2=4.15$, $P<0.05$);G 等位基因频率(26.1%)高于对照组(19.9%),差异有统计学意义($\chi^2=5.45$, $P<0.05$)。见表 3。

表 3 两组 MTRR 基因 A66G 位点基因型分布和等位基因频率比较[n(%)]

组别	n	基因型频率			等位基因频率	
		AA	AG	GG	A	G
对照组	321	206(64.2)	102(31.8)	13(4.0)	514(80.1)	128(19.9)
不良孕产史组	201	111(55.2)	75(37.3)	15(7.5)	297(73.9)	105(26.1)
χ^2		4.15	1.69	2.84	5.45	
P		0.042	0.193	0.092	0.020	

3 讨 论

叶酸在 DNA 合成、甲基化、生长发育和基因表达等方面发挥着重要作用。叶酸缺乏影响母婴健康,我国妇幼保健中心建议备孕女性孕前 3 个月至孕早期 3 个月每天补充 0.4 mg 叶酸,但由于个体遗传物质存在差异性,导致机体对叶酸的利用能力不同,仍有一部分孕妇极易发生叶酸缺乏。近年来,临床上针对叶酸代谢机制的研究越来越多,有研究表明,叶酸代谢相关酶 MTHFR 和 MTRR 基因多态性与不良孕产史的发生存在一定的关系^[6]。

MTHFR 和 MTRR 是叶酸代谢过程中的关键酶,MTHFR 基因位于 1 号染色体短臂(1p36.3),其中 C677T 和 A1298C 两个突变位点是影响叶酸代谢的关键位点;MTRR 位于 5 号染色体短臂(5p15.31),其中 A66G 基因多态性突变位点最为常见。叶酸缺乏、代谢紊乱及影响叶酸代谢的关键酶基因的多态性可能是导致非综合征型唇腭裂的重要因素,母体孕期摄入叶酸可降低非综合征型唇腭裂的患病风险^[7]。有研究表明,孕妇叶酸代谢异常促使基因组低甲基化,影响染色体分离,从而导致唐氏综合征和神经管缺陷的发生,唐氏综合征患儿母亲的 MTHFR 基因 C677T 位点突变率明显高于健康新生儿的母亲。因此,叶酸代谢相关酶基因是决定后代唐氏综合征易感性的重要因素,提示补充叶酸可降低唐氏综合征的发病风险^[8-11]。研究表明,母体 MTRR 基因 A66G 位点的突变使胚胎停止发育、胎儿神经管畸形、胎儿先天性心脏病发生率明显增高^[12-13]。有研究显示,河南地区育龄女性发生 MTHFR 基因 C677T、A1298C 位点和 MTRR 基因 A66G 位点突变与复发性流产有一定相关性,特别是当有两个基因同时发生突变时,则流产概率增加^[14]。本研究表明,叶酸代谢相关酶 MTHFR 基因 C677T 位点、A1298C 位点的突变纯合型基因频率的增加与不良孕产史的发生有关。

出生缺陷是我国严重的公共卫生和社会问题,研究证实孕妇机体叶酸水平不足是导致出生缺陷的主要原因,随着产前诊断技术的成熟和孕期叶酸补充等措施的实施,近年新生儿出生缺陷发病率有所降低,但每年新增出生缺陷人数仍高达 90 万例,给患儿的生命健康和家庭幸福都带来了极大的影响。通过检测育龄期女性叶酸代谢相关基因多态性及叶酸的水平,评估叶酸代谢能力,为其制订个体化的叶酸补充方案是未来临床的必然发展趋势。

参考文献

[1] 贺先民,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.

- [2] 李茜西,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.
- [3] 刘念,阎炯,杨林.叶酸代谢相关酶基因多态性与不良孕产关系的研究[J].中国计划生育学杂志,2015,23(5):318-320.
- [4] GUERRA-SHINOHARA E M, PEREIRA P M, KUBOTA A M, et al. Increased MMA concentration and body mass index are associated with spontaneous abortion in Brazilian women: a pilot study[J]. Clin Chimica Acta, 2010, 411(5/6):423-427.
- [5] 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):421-427.
- [6] 陆继红,施晓艳,万金华.分析叶酸代谢相关酶基因多态性与不良孕产的临床关系[J].中国实用医药,2017,12(16):88-89.
- [7] 姚涛,李三华,宋庆高.叶酸代谢关键酶基因多态性与非综合征性唇腭裂相关性研究进展[J].医学研究生学报,2017,30(3):310-314.
- [8] 侯书宁.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.
- [9] AL-GAZALI L I, PADMANABHAN R, MELNYK S, et al. Abnormal folate metabolism and genetic polymorphism of the folate pathway in a child with Down syndrome and neural tube defect[J]. Am J Med Genet, 2001, 103(2):128-132.
- [10] IZCI AY O, AY M E, ERDAL M E, et al. Folate metabolism gene polymorphisms and risk for down syndrome offspring in Turkish women[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2015, 19(4):191-197.
- [11] 安妮,张阳,宋沧桑.叶酸代谢相关基因多态性与其个体化补充的研究进展[J].中国药房,2017,28(17):2444-2448.
- [12] 秦奇,有风芝,张仪.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与胚胎停止发育的相关性研究[J].重庆医科大学学报,2016,41(3):243-246.
- [13] 石鸥燕,吴波,张瑞苹,等.叶酸代谢关键酶基因多态性与儿童神经管缺陷的相关性[J].中华实用儿科临床杂志,2016,31(10):779-782.
- [14] 高洁,王涛,肖海,等.叶酸代谢基因 MTHFR 及 MTRR 多态性与河南地区复发性流产的相关性分析[J].临床医学,2015,35(11):1-4.

(收稿日期:2019-03-26 修回日期:2019-06-18)