

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.03.021

830 例育龄妇女 MTHFR 基因 A1298C 位点多态性研究

齐国昌,王春玮

青海红十字医院检验科,青海西宁 810000

摘要:目的 探讨育龄妇女 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因 A1298C 位点基因多态性与年龄及民族是否有关,为指导育龄期妇女进行叶酸补充提供参考。方法 采集 2019 年 1 月至 2023 年 4 月在该院门诊进行孕前或孕期优生健康检查的汉族及其他民族的育龄女性外周血标本 830 例。采用 PCR 荧光探针法检测 MTHFR 基因 A1298C 位点的多态性,进行各年龄段及不同民族人群间基因多态性位点基因型分布比较。结果 830 例育龄期妇女中,MTHFR 基因 A1298C 位点 AA、AC 及 CC 基因型频率分别为 69.64%、27.35% 和 3.01%;各年龄段育龄女性 MTHFR 基因 A1298C 位点的基因型和等位基因频数和频率分布情况进行比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);汉族与藏族、回族、土族及蒙古族育龄女性间的 MTHFR 基因 A1298C 位点的基因型和等位基因频数和频率分布情况比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 育龄妇女 MTHFR 基因 A1298C 位点多态性与年龄及民族无关,但有不同于其他地区的 MTHFR 基因 A1298C 位点多态性分布特征。

关键词:亚甲基四氢叶酸还原酶; 基因; 育龄妇女; A1298C; 基因多态性; 民族

中图法分类号:R394

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)03-0376-04

Polymorphism of MTHFR gene A1298C locus in

830 women of childbearing age

QI Guochang, WANG Chunwei

Department of Laboratory, Qinghai Red Cross Hospital, Xining, Qinghai 810000, China

Abstract: Objective To investigate whether the polymorphism of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene A1298C locus is related to age and nationality in women of childbearing age, so as to provide reference for folate supplementation in women of childbearing age. **Methods** A total of 830 cases of peripheral blood samples of Han and other ethnic women of childbearing age who underwent eugenic health examination before or during pregnancy in the outpatient department of the hospital from January 2019 to April 2023 were collected. The PCR fluorescent probe was used to detect the polymorphism of MTHFR gene A1298C locus, and the genotype distribution of the polymorphism locus was compared among different age groups and different ethnic groups. **Results** The AA, AC and CC genotype frequencies at A1298C locus of MTHFR gene were 69.64%, 27.35% and 3.01% respectively, in 830 women of childbearing age. The differences of genotype, allele frequency and frequency distribution of MTHFR gene A1298C locus in women of childbearing age of all age groups were not statistically significant ($P>0.05$). There was no statistically significant differences in genotype, allele frequency and frequency distribution of MTHFR gene A1298C locus between Han and Tibetan, Hui, Tu and Mongolian women of childbearing age ($P>0.05$). **Conclusion** The polymorphism of MTHFR gene A1298C locus in women of childbearing age is not related to age or nationality, but the distribution characteristics of MTHFR gene A1298C locus are different from other regions.

Key words: 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase; gene; women of childbearing age; A1298C; genetic polymorphism; nationality

5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)主要作用是在叶酸代谢通路中将 5,10-亚甲基四氢叶酸转化为具有生物学功能的 5-甲基四氢叶酸,5-甲基四氢叶酸可以进一步进入甲基传递通路,通过同型半胱氨酸的重新甲基化过程间接为 DNA 甲基化和蛋白质甲基化提供甲基并且使血液中的同型半胱氨酸水平保持

在一个较低的水平^[1]。MTHFR 基因的缺陷将导致机体多个基础生化过程的紊乱,包括细胞周期调控、DNA 复制、DNA 以及蛋白质甲基化修饰等,进而引发神经管缺陷、癌症、心脑血管疾病等多种病症^[2]。在孕妇人群中 MTHFR 基因的缺陷会引起神经管缺陷、先天性心脏病、唇腭裂、妊娠期高血压疾病,自发

性流产^[3]。CAO 等^[4]研究提出,叶酸摄入应该控制在一个特定的范围之内,摄入不足或者过量,对后代健康均会产生不利影响。因此,本研究通过分析 830 例育龄妇女 MTHFR 基因 A1298C 位点多态性分布情况,旨在了解育龄妇女人群中 MTHFR 基因 A1298C 位点的基因多态性特征,以实现育龄妇女可根据自己的遗传体质科学、合理地补充叶酸量,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2019 年 1 月至 2023 年 4 月在本院门诊进行孕前或孕期行优生健康检查的汉族及其他民族的育龄女性 830 例作为研究对象。830 例中汉族 590 例,年龄 19~46 岁、平均(30.08±4.52)岁;藏族 104 例,年龄 20~44 岁、平均(30.76±5.18)岁;回族 89 例,年龄 17~44 岁、平均(27.5±5.77)岁;土族 25 例,年龄 27~43 岁、平均(30.8±3.64)岁;蒙古族 22 例,年龄 20~40 岁、平均(29.09±5.28)岁。本研究符合《赫尔辛基宣言》相关要求并得到本院医学伦理委员会批准(LW-2024-01)。

1.2 方法

1.2.1 标本准备和核酸提取 采集所有受试者外周静脉血 2 mL 于乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管中送检(若不能马上检测则置于 4 °C 保存,并在 1 周内完成检测)。吸取 200 μ L 进行全血 DNA 提取纯化,核酸浓度不少于 20 ng/ μ L,纯度 A260/A280 为 1.7~2.0。核酸提取与纯化试剂均购于西安天隆科技有限公司。

1.2.2 多态性位点基因的检测 取待测标本核酸和质控品各 4 μ L 加入 MTHFR 基因 A1298C 位点扩增体系中,设置反应条件:50 °C 2 min,1 个循环;95 °C 10 min,1 个循环;95 °C 变性 15 s,60 °C 退火与延伸 40 s,并在 60 °C 退火与延伸步骤收集荧光,循环数为 40 次。扩增结束后依据试剂说明书进行结果判读,根据报告荧光的不同分辨出标本中 MTHFR 基因 A1298C 位点的基因型。严格按照试剂说明书操作。MTHFR A1298C 检测试剂购置于江西诺德医疗器械有限公司。

1.3 统计学处理 采用 SPSS26.0 统计软件进行数

据分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 Hardy-Weinberg 平衡定律检验各组标本代表性。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hardy-Weinberg 平衡分析 将纳入研究人群的 MTHFR 基因 A1298C 位点的基因多态性分布进行 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验,符合遗传平衡($P>0.05$),见表 1,表明标本具有本区域群体代表性。

2.2 叶酸代谢相关基因的多态性分析 830 例育龄女性 MTHFR 基因 A1298C 位点基因型 AA、AC 及 CC 基因型频率分别为 69.64%(578/830)、27.35%(227/830)和 3.01%(25/830);A 等位基因频率为 83.32%,C 等位基因频率为 16.68%。

表 1 MTHFR 基因 A1298C 位点多态性的 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验(*n*)

基因型	实际频数	理论频数	χ^2	<i>P</i>
AA	578	576	0.146	0.702
AC	227	231		
CC	25	23		

注:当 $P>0.05$ 时,说明群体基因符合遗传平衡,数据来自同一孟德尔群体。

2.3 各年龄段间育龄女性 MTHFR 基因 A1298C 位点基因多态性比较 各年龄段育龄女性 MTHFR 基因 A1298C 位点的基因型和等位基因频数和频率分布情况比较,差异均无统计学意义($\chi^2=6.82, P=0.34; \chi^2=1.91, P=0.59$),见表 2。

2.4 不同民族育龄妇女间 MTHFR 基因 A1298C 位点基因型多态性数据比较 汉族、藏族、回族、土族和蒙古族育龄女性 MTHFR 基因 A1298C 位点的基因型均以 AA 为主,占比分别为 70.85%、62.5%、60.67%、80.00%和 90.91。汉族与本地其他少数民族间的 MTHFR 基因 A1298C 位点多态性分布比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 2 各年龄段间育龄女性 MTHFR 基因 A1298C 位点基因多态性比较[*n*(%)]

年龄段(岁)	<i>n</i>	基因型			等位基因	
		AA	AC	CC	A	C
<20 岁	11	7(63.64)	3(27.27)	1(9.09)	17(77.27)	5(22.73)
20~<30 岁	414	290(70.05)	110(26.57)	14(3.38)	690(83.33)	138(16.67)
30~<40 岁	370	261(70.54)	99(26.76)	10(2.70)	621(83.92)	119(16.08)
>40 岁	35	20(57.14)	15(42.86)	0(0.00)	55(78.57)	15(21.43)
χ^2			6.82			1.91
<i>P</i>			0.34			0.59

表 3 不同民族育龄妇女间 MTHFR 基因 A1298C 位点基因多态性比较[n(%)]

民族	n	基因型			χ^2	P	等位基因			
		AA	AC	CC			A	C	χ^2	P
汉族	590	418(70.85)	153(25.93)	19(3.22)			989(83.81)	191(16.19)		
藏族	104	65(62.50)	35(33.65)	4(3.85)	2.94	0.23	165(79.33)	43(20.67)	1.40	0.24
回族	89	54(60.67)	31(34.83)	4(4.49)	3.78	0.15	139(78.09)	39(21.91)	1.97	0.16
土族	25	20(80.00)	5(20.00)	0(0.00)	1.42	0.49	45(90.00)	5(10.00)	0.41	0.52
蒙古族	22	20(90.91)	2(9.09)	0(0.00)	4.28	0.12	42(95.45)	2(4.55)	2.18	0.14

注： χ^2 、P 是分别表示汉族与藏族、回族、土族和蒙古族育龄女性的 MTHFR 基因 A1298C 位点基因型和等位基因数据比较。

3 讨 论

MTHFR 是叶酸代谢过程的关键酶, A1298C 作为其最具有临床意义的位点之一, 它的突变会导致 MTHFR 还原酶活性下降, 进而会导致血清叶酸水平进一步降低。目前, 临床上针对育龄妇女叶酸代谢相关酶基因多态性与出生缺陷不良妊娠关系的相关研究报道较多^[5-6]。梅瑾等^[7]研究发现不良孕产史女性 MTHFR 基因 A1298C 位点的 CC 突变纯合型频率均显著高于无不良妊娠史的妇女; 同时, 有研究报道 MTHFR 基因 A1298C 位点的多态性基因多态性与不良孕产结局存在一定的关系^[8]。因此, 开展育龄妇女叶酸还原酶 MTHFR 基因 A1298C 位点多态性研究, 对于根据不同基因型做个性化的叶酸补充方案、预防出生缺陷具有重要作用。

本研究显示: 育龄妇女 MTHFR 基因 A1298C 位点突变率较低, AA 基因型频率为 69.64%, 其纯合突变基因型频率仅为 3.01%; 各年龄段育龄女性 MTHFR 基因 A1298C 位点的基因型分布比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 这说明 MTHFR 基因 A1298C 位点多态性分布特征与年龄段无关, 这一结果与吴秋红等^[9]的研究结果一致。在对汉族与其他民族育龄女性 MTHFR 基因 A1298C 位点的基因型和等位基因频数和频率分布情况进行比较时, 发现汉族与本地其他少数民族间的 MTHFR 基因 A1298C 位点多态性分布情况无明显差异, 这一结果与杨玉清等^[10]开展的银川市回族和汉族女性 MTHFR 基因 A1298C 位点研究结果, 以及初秀敏等^[11]进行的兴安盟汉族和蒙古族女性 MTHFR 基因 A1298C 位点研究结果一致。这说明汉族育龄女性与回族和蒙古族育龄女性之间的 MTHFR 基因 A1298C 位点无多态性分布特征。李君等^[12]研究显示, 西藏地区藏族与汉族女性 MTHFR 基因 A1298C 位点多态性分布特征差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 这一结果可能与同一民族不同地理分布和族裔来源存在一定关系。将本研究育龄妇女 MTHFR 基因 A1298C 位点基因型和等位基因频数和频率分布情况与其他地区女性比较, 发现本研究与甘肃^[13]、天津^[14]、郑州^[15]和昆明^[16]之间 MTHFR 基因 A1298C 位点的多态性分布差异无

统计学意义 ($P > 0.05$), 与台州^[17]、淄博^[18]、武汉^[19]、广州^[20]和临沂^[21]地区比较发现 MTHFR 基因 A1298C 位点的多态性分布差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。这说明育龄妇女 MTHFR 基因 A1298C 位点基因型和等位基因频数和频率分布在部分地区间存在不同的多态性分布特征。

综上所述, 叶酸还原酶 MTHFR 基因 A1298C 位点的分布在不同年龄段育龄女性之间以及汉族与其他民族如回族、蒙古族和土族育龄女性之间没有明显差异, 但是在部分地区间存在不同的多态性分布特征。出现这一结果可能与当地所处的地理环境、人群族裔来源、气候和饮食等相关, 在不同地区如果均采用统一标准的叶酸补充量预防出生缺陷会存在一定局限性。故明确育龄妇女 MTHFR 基因 A1298C 位点基因多态性分布特点, 根据基因型判断叶酸代谢能力的强弱, 针对性调整叶酸剂量进行个性化补充特别必要。

参考文献

- [1] 张爽, 鲁衍强, 芮欣忆, 等. 不同 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶基因型人群叶酸补服效果评价[J]. 天津医药, 2013 (7):628-631.
- [2] 李宇, 张蕾, 邓明影, 等. MTHFR 基因多态性在叶酸代谢疾病中的研究进展[C]//中国药理学会. 第五届全国治疗药物监测学术年会论文汇编, 北京: 2015. 北京: 中国药理学会治疗药物监测研究专业委员会, 2015:136.
- [3] 张锦阳, 孙莉丽, 迟祥, 等. 基于盘锦地区 259 例孕妇 MTHFR 基因多态性与不良妊娠结局相关性分析[J]. 中国计划生育学杂志, 2022, 30(3):601-604.
- [4] CAO X Y, XU J F, LIN Y L, et al. Excess folic acid intake increases DNA de novo point mutations[J]. Cell Discov, 2023, 9(1):22.
- [5] WILSON R D, AUDIBERT F, BROCK J A, et al. Preconception folic acid and multivitamin supplementation for the primary and secondary prevention of neural tube defects and other folic acid-sensitive congenital anomalies [J]. J Obstet Gynaecol Can, 2015, 37(6):534-552.
- [6] NASRI K, MIDANI F, KALLEL A, et al. Association of MTHFR C677T, MTHFR A1298C, and MTRR A66G polymorphisms with neural tube defects in tunisian parents[J]. Pathobiology, 2019, 86(4):190-200. (下转第 382 页)

- [5] 吴秋慧. 成分治疗机行自体造血干细胞采集中的持续静脉补钙方法及护理[J]. 华西医学, 2015, 30(6):1143.
- [6] HEGDE V, SETIA R, SONI S, et al. Prophylactic low dose continuous calcium infusion during peripheral blood stem cell (PBSC) collections to reduce citrate related toxicity[J]. *Transfus Apher Sci*, 2016, 54(3):373-376.
- [7] 张农惠, 简黎, 陈玉红, 等. 持续静脉滴注葡萄糖酸钙在外周血造血干细胞采集中的应用研究[J]. 吉林医学, 2019, 40(7):1623-1624.
- [8] PIERELLI L, PERSEGHIN P, MARCHETTI M, et al. Best practice for peripheral blood progenitor cell mobilization and collection in adults and children: results of a Società Italiana Di Emaferesi e Manipolazione Cellulare (SIDEM) and Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO) consensus process[J]. *Transfusion*, 2012, 52(4):893-905.
- [9] XU L, CHEN H, CHEN J, et al. The consensus on indications, conditioning regimen, and donor selection of allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematological diseases in China-recommendations from the Chinese Society of Hematology[J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1):33.
- [10] 张文佳, 孙德清. 葡萄糖酸钙注射液与不同溶媒配伍的稳定性考察[J]. 中国药房, 2021, 32(10):1230-1235.
- [11] HOWELL C, DOUGLAS K, CHO G, et al. Guideline on the clinical use of apheresis procedures for the treatment of patients and collection of cellular therapy products. British Committee for Standards in Haematology [J]. *Transfus Med*, 2015, 25:57-78.
- [12] 陈孝平, 汪建平, 等. 外科学[M]. 人民卫生出版社, 2018:38-39.
- [13] 黄晓军, 吴德沛, 等. 实用造血干细胞移植[M]. 人民卫生出版社, 2017:212-214.
- [14] 王国征, 吴远彬, 陈瑶等. 不同 ACD 与全血的体积比对供者外周血单个核细胞采集前后血液、离子及安全性的影响[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2020, 41(1):64-69.
- [15] FUJII K, FUJII N, KONDO T, et al. Effectiveness of supplemental oral calcium drink in preventing citrate-related adverse effects in peripheral blood progenitor cell collection[J]. *Transfus Apher Sci*, 2021, 60(4):103147.
- [16] 薛磊, 李娜, 韩立云, 等. 两种补钙途径在血液滤过患者中的应用效果比较[J]. 中华现代护理杂志, 2020, 26(12):1635-1638.
- [17] 姜变通, 张志刚, 靳修, 等. 无钙型局部枸橼酸抗凝用于连续性肾脏替代治疗的不同补钙途径对钙离子的影响: 前瞻性随机交叉试验方案[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(5):726-730.
- [18] 程秋泓, 宋葆云. 干细胞采集中静脉补钙时机与速度的探讨[J]. 护士进修杂志, 2014, 29(15):1415.
- [19] 吴洁玲. 机采献血者献血不良反应的原因及预防和处理[J]. 中国实用医药, 2020, 15(11):153-154.
- [20] SETIA R D, ARORA S, HANDOO A, et al. Comparison of Amicus and COBE Spectra for allogenic peripheral blood stem cell harvest: study from tertiary care centre in India[J]. *Transfus Apher Sci*, 2017, 56(3):439-444.

(收稿日期:2023-06-24 修回日期:2023-10-17)

(上接第 378 页)

- [7] 梅瑾, 卢莎, 王昊, 等. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与不良妊娠结局的关系[J]. 浙江医学, 2018, 40(17):1930-1932.
- [8] 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.
- [9] 吴秋红, 李艳平, 李雨, 等. 枣庄市 3111 名育龄女性叶酸代谢能力相关基因多态性分析[J]. 社区医学杂志, 2023, 21(7):334-339.
- [10] 杨玉清, 唐菊香, 鲁衍强, 等. 银川市回族和汉族女性 MTHFR 和 MTRR 基因单核苷酸多态性分析[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(35):6267-6269.
- [11] 初秀敏, 白龙艳, 王晓艳, 等. 兴安盟汉族和蒙古族女性 MTHFR 与 MTRR 基因的多态性分布[J]. 中国妇幼保健, 2022, 37(21):4040-4043.
- [12] 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.
- [13] 包丽娥, 申东生, 杨勇, 等. 甘肃地区叶酸代谢相关酶 MTHFR、MTRR 基因多态性研究[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(24):3557-3561.
- [14] 傅金瑞, 唐淑稳. 育龄妇女亚甲基四氢叶酸还原酶 (MTHFR) 基因 C677T, A1298C 位点多态性与 HR-HPV 感染的相关性研究[J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(2):53-56.
- [15] 何燕霞, 巩姣梅, 沈勇, 等. 河南省育龄女性叶酸利用能力现状研究[J]. 实用检验医师杂志, 2012, 4(1):6-10.
- [16] 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.
- [17] 顾婉红, 王攀, 钟情怡, 等. 台州市健康体检人群 MTHFR C677T 基因和 MTHFR A1298C 基因多态性研究[J]. 预防医学, 2018, 30(4):370-373.
- [18] 从玉英, 鲁衍强, 芮欣忆, 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.
- [19] 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.
- [20] 尹爱华, 鲁衍强, 芮欣忆, 等. 广东省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]. 中国公共卫生, 2012, 28(增刊):44-46.
- [21] 张艳丽, 鲁衍强, 李华锋, 等. 临沂市汉族女性 MTHFR 和 MZRR 基因多态性分布及其与同型半胱氨酸水平的相关性[J]. 中华医学遗传学杂志, 2012, 29(6):705-708.

(收稿日期:2023-06-11 修回日期:2023-11-28)