

汉族育龄女性 MTHFR 和 MTRR 基因多态性分布研究

庄明丽 王颖 祁娜 孙芳 云小梅

(呼和浩特市妇幼保健院 内蒙古呼和浩特 010020)

【摘要】目的 分析呼和浩特市育龄汉族女性MTHFR c.677C>T、MTHFR c.1298A>C和MTRRc.66A>G三个叶酸代谢相关基因位点的基因频率差异。方法 随机挑选到呼和浩特市妇幼保健院就诊的358例汉族育龄女性为研究对象,采集静脉血2-3ml,以微测序技术分析其MTHFR c.677C>T、MTHFR c.1298A>C和MTRRc.66A>G三个位点的基因多态性,在区外与长春、廊坊、郑州、湖北、南宁地区比较,在区内与兴安盟、赤峰、准格尔旗地区比较。结果 呼和浩特市汉族育龄女性的MTHFR c.677C>T位点的TT基因型频率为28.2%,在区外与长春、廊坊、郑州、湖北和南宁相比较,差异($P < 0.05$)存在统计学意义;在区内高于准格尔旗,差异($P < 0.05$)存在统计学意义,与兴安盟、赤峰相比较,差异($P > 0.05$)不存在统计学意义。MTHFR c.1298A>C位点纯合突变基因型CC频率为3.6%,比南宁低,差异($P < 0.05$)存在统计学意义,与长春、廊坊、郑州、湖北、兴安盟、赤峰、准格尔旗差异($P > 0.05$)不存在统计学意义;MTRRc.66A>G纯合突变基因型GG频率为(9.2%),比区外的长春、廊坊、郑州、湖北突变频率高,差异($P < 0.05$)存在统计学差异,在区内与兴安盟、赤峰、准格尔旗均无统计学差异($P > 0.05$)。结论 呼和浩特市汉族育龄女性MTHFR c.677C>T、MTHFR c.1298A>C和MTRRc.66A>G基因位点不同基因型分布情况具有本区域特点,与其他地域相比存在显著差异性。

【关键词】基因多态性; 5, 10-亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR); 甲硫氨酸合成酶还原酶(MTRR); 汉族; 育龄女性; 呼和浩特

Study on the distribution of MTHFR and MTRR gene polymorphisms in Han women of childbearing age,

Zhuang Mingli, Wang Ying, Sun Fangyuan, Xiaomei

Hohhot Maternal and Child Health Care Hospital, Inner Mongolia Hohhot 010020

[Abstract] Objective To analyze the gene frequency differences of three folic acid metabolism: MTHFR c.677C> T, MTHFR c.1298A> C and MTRRc.66A> G in han women of childbearing age in Hohhot. Methods 358 Han women of childbearing age were randomly selected and 2-3ml of venous blood were collected. The gene polymorphisms of MTHFR c.677C> C, MTHFR c.1298A> C and MTRRc.66A> G were analyzed and compared with Changchun, Langfang, Zhengzhou, Hubei and Nanning outside the region. Results The frequency of TT genotype at MTHFR c.677C> T for Han women in Hohhot was 28.2%, the difference ($P < 0.05$) in Changchun, Langfang, Zhengzhou, Hubei and Nanning, and the difference ($P < 0.05$) in the region ($P < 0.05$) compared with Xingan League, Chifeng ($P > 0.05$). The CC frequency of homozygous mutation genotype at MTHFR c.1298A> C was 3.6%, lower than Nanning, difference ($P < 0.05$), Changchun, Langfang, Zhengzhou, Hubei, Xingan League, Chifeng, Zhungeer Banner ($P > 0.05$), MTRRc.66A> G homozygous mutation GG frequency (9.2%), higher than Changchun, Langfang, Zhengzhou, Hubei, difference ($P < 0.05$), no statistical difference with Xingan League, Chifeng and Zhungeer Banner in the region ($P > 0.05$). Conclusion The distribution of different genotypes of MTHFR c.677C> T, MTHFR c.1298A> C and MTRRc.66A> G in Hohhot has regional characteristics and is significantly different compared with other regions.

[Key words] gene polymorphisms; 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR); methionine synthase reductase (MTRR); Han nationality; women of childbearing age; Hohhot

叶酸是B族维生素的一种,人体不能合成叶酸,故只能以外源摄取方式补充。叶酸对人体的作用主要是参与遗传物质(DNA)的合成及蛋白质(或氨基酸)的代谢。叶酸进入人体内,首先通过5, 10-亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)的作用生成甲基化四氢叶酸,甲基化四氢叶酸和同型半胱氨酸再通过甲硫氨酸合成酶还原酶(MTRR)的催化作用生成蛋氨酸,蛋氨酸一方面可以参与氨基酸的形成进而参与蛋白质的合成代谢过程;另一方面能够参与一碳单位的形成,提供甲基参与脱氧核糖核酸、核糖核酸的合成和核酸的甲基化过程。叶酸代谢关键酶基因MTHFR和MTRR的基因型多态性导致这两种酶的活性受到了不同程度的影响,进而导致叶酸在人体内的代谢能力受到限制^[1]。妊娠期女性对叶酸的需求显著增加^[2],当体内叶酸摄入不足或代谢障碍时将会引起DNA、RNA及蛋白质的生产障碍,从而引发多种疾病。有报道称,叶酸水平过低能够造成高Hey,叶酸干预有利于改善Hey水平,降低妊娠疾病及出生缺陷发生风险^[3]。研究还发现,叶酸代谢异常与新生儿神经管畸形、唇腭裂、先天性心脏病等遗传病和孕妇妊娠期高血压疾病、反复流产等密切相关^[4]。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)基因多态性分布存在地区、民族差异,本研究通过检测呼和浩特市汉族育龄妇女MTHFR和MTRR基因中三个最常见的突变位点,旨在找出呼和浩特地区的群体遗传学特征,为制定个体化增补叶酸方案提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

随机挑选2023年1月至2023年9月到呼和浩特市妇幼保健院就诊的358名汉族育龄女性,经本人知情同意后,采取静脉血2-3ml。样本提供者20~47岁,平均年龄 29.63 ± 3.73 岁。

1.2 检测方法与原理

检验使用天隆科技型号为SNP-U1测序反应通用试剂盒(MTHFR和MTRR基因检测试剂盒)。将EDTA抗凝血样本颠倒10次,充分混匀,用移液器将已混匀血样 $10 \mu\text{l}$ 样本与稀释液涡旋混匀,将稀释好的样本静止放置3分钟,



使白细胞充分裂解，释放核酸。取处理好的血样，加入预先设计的反应体系中，按说明书混匀体系后转移至多通道荧光分析仪中进行反应。利用荧光探针与目标序列进行杂交染色，只有和测序探针完全匹配的脱氧核糖核酸序列（SNP位点）可以通过连接酶连接，连接后可使对应的荧光信号发生改变，仪器自动捕获到该荧光信号的改变，根据连接探针的已知序列，可获得相应位点的碱基类型，从而对SNP位点（MTHFR c.677C>T、MTHFR c.1298A>C和MTRRc.66A>G）基因型进行判定。

1.3 统计学分析

分析样本是否符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡，然后应用 SPSS27.0 软件分析基因型分布及 MTHFR c.677C>T、MTHFR c.1298A>C 和 MTRRc.66A>G 等位基因频率，组间比较使用 χ^2 （卡方）检验的方法，例如比较不同基因型频率的地域差异等，以差异 $P<0.05$ 作为存在统计学意义的标准。

2 结果与分析

2.1 Hardy-Weinberg 平衡分析

用 Hardy-Winberg（哈温平衡）定律统计 MTHFR c.677C>T、MTHFR c.1298A>C 和 MTRRc.66A>G 等位基因频率，符合群体遗传平衡（ $P>0.05$ ），说明数据具有群体代表性，可进行后续分析。见表 1。

2.2 女性 MTHFR C677T 基因型频数

呼和浩特市汉族育龄女性 MTHFR c.677C>T 位点 CC（纯合野生型）频率为 24.9%（89 例）、CT（杂合突变型）频率为 46.9%（168 例）、TT（纯合突变型）频率为 28.2%（101 例）。MTHFR c.677C>T 位点基因型频率与其他各地区的差异，见表 2。

2.3 女性 MTHFR A1298C 基因型频数

呼和浩特市汉族育龄女性 MTHFR c.1298A>C 位点 AA（纯合野生型）频率为 71.5%（256 例）、AC（杂合突变型）频率为 24.9%（89 例）、CC（纯合突变型）频率 3.6%（13 例）。

例）。MTHFR c.1298A>C 位点基因型频率与其他各地区的差异，见表 3。

2.4 女性 MTRR A66G 基因型频数

呼和浩特市汉族育龄女性 MTRRc.66A>G 位点 AA（纯合野生型）频率为 49.2%（176 例）、AG（杂合突变型）频率为 41.6%（149 例）、GG（纯合突变型）频率为 9.2%（33 例）。MTRRc.66A>G 位点基因型频率与其他各地区的差异，见表 4。

3 讨论

叶酸代谢途径中两个关键酶分别是 5，10-亚甲基四氢叶酸还原酶（5，10-methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR）和甲硫氨酸合成酶还原酶（methionine synthase reductase, MTRR）。

表 1 Hardy-Weinberg 基因平衡分析

组别	实际频数	理论频数
MTHFR C677T	CC	89
	CT	168
	TT	101
	χ^2	0.685
MTHFR A1298C	P	0.71
	AA	256
	AC	89
	CC	13
MTRR A66G	χ^2	1.103
	P	0.576
	AA	176
	AG	149
	GG	33
	χ^2	0.19
	P	0.991

表 2 汉族女性 MTHFR c.677C>T 位点基因型频率的地区差异[n（%）]

组别	呼和浩特	长春 ^[5]	廊坊 ^[6]	郑州 ^[7]	湖北 ^[8]
基因型	CC 89 (24.9)	648 (19.0)	220 (17.4)	198 (18.1)	1069 (36.9)
	CT 168 (46.9)	1676 (49.2)	617 (48.7)	493 (45.1)	1367 (47.2)
	TT 101 (28.2)	1081 (31.7)	430 (33.9)	402 (36.8)	463 (16.0)
	χ^2	7.258	11.231	12.109	40.515
	P	0.027	0.004	0.002	<0.001
组别	南宁 ^[9]	兴安盟 ^[10]	赤峰 ^[11]	准格尔旗 ^[12]	
基因型	CC 293 (59.3)	38 (17.2)	90 (18.8)	165 (27.7)	
	CT 163 (33.0)	123 (55.7)	226 (47.3)	306 (51.4)	
	TT 38 (7.7)	60 (27.1)	162 (33.9)	124 (20.8)	
	χ^2	118.892	5.788	5.582	6.747
	P	<0.001	0.055	0.061	0.034

表 3 汉族女性 MTHFR c.1298A>C 位点基因型频率的地区差异[n（%）]

组别	呼和浩特	长春 ^[5]	廊坊 ^[6]	郑州 ^[7]	
基因型	AA 256 (71.5)	2511 (73.7)	947 (74.7)	798 (73.0)	
	AC 89 (24.9)	818 (24.0)	296 (23.4)	269 (24.6)	
	CC 13 (3.6)	76 (2.2)	24 (1.9)	26 (2.4)	
	χ^2	2.996	4.358	1.664	
	P	0.224	0.113	0.435	
组别	湖北 ^[8]	南宁 ^[9]	兴安盟 ^[10]	赤峰 ^[11]	准格尔旗 ^[12]
基因型	AA 1901 (65.6)	280 (56.7)	167 (75.6)	342 (71.5)	405 (68.1)

AC	866 (29.9)	187 (37.9)	51 (23.1)	124 (25.9)	166 (27.9)
CC	132 (4.6)	27 (5.5)	3 (1.4)	12 (2.5)	24 (4.0)
χ^2	5.033	19.561	3.044	0.954	1.246
P	0.081	<0.001	0.218	0.621	0.536

表4 汉族女性 MTRRc.66A>G 位点基因型频率的地区差异[n (%)]

组别	呼和浩特	长春 ^[5]	廊坊 ^[6]	郑州 ^[7]	湖北 ^[8]
AA	176 (49.2)	1937 (56.9)	705 (55.6)	624 (57.1)	1650 (56.9)
AG	149 (41.6)	1269 (37.3)	496 (39.1)	400 (36.6)	1071 (36.9)
GG	33 (9.2)	199 (5.8)	66 (5.2)	69 (6.3)	178 (6.1)
χ^2		11.05	9.955	8.111	9.937
P		0.004	0.007	0.017	0.007

组别	南宁 ^[9]	兴安盟 ^[10]	赤峰 ^[11]	准格尔旗 ^[12]
AA	272 (55.1)	108 (48.9)	275 (57.5)	306 (51.4)
AG	195 (39.5)	95 (43.0)	167 (34.9)	239 (40.2)
GG	27 (5.5)	18 (8.1)	36 (7.5)	50 (8.4)
χ^2	5.76	0.242	5.782	0.513
P	0.056	0.886	0.056	0.774

为机体蛋白合成及遗传物质合成提供物质基础。MTHFR c.677C>T 位点有 3 种基因型，即纯合野生 CC 型、杂合突变 CT 型和纯合突变 TT 型，若该位点发生 TT 型基因突变，5, 10-亚甲基四氢叶酸还原酶活性下降 60%~70%，造成体内叶酸代谢异常，增加新生儿发生唇腭裂、先天性心脏病等出生缺陷性遗传病的风险^[13]；在血清叶酸浓度较低时，纯合突变型个体血浆同型半胱氨酸浓度水平比 CC、CT 型个体高 30%左右^[14]；携带 TT 基因的孕妇孕育神经管畸形、唐氏综合征胎儿的概率显著高于 CC 基因型母亲^[15]。

MTHFR c.1298A>C 位点基因多态性是由于 1298 位点的腺嘌呤 (A) 碱基突变成胞嘧啶 (C) 碱基，进而导致合成氨基酸时，谷氨酸被丙氨酸所替代。形成了纯合野生型 AA、杂合突变型 AC 和纯合突变型 CC 三种基因型别，其突变型酶活性降低程度较 MTHFR c.677C>T 突变弱^[16]。与 MTRR 66 AA 基因型个体相比，GG 型个体胎儿发生神经管畸形的概率显著增加^[17]。本研究人群 MTHFR c.677C>T 位点的基因型别频率与长春、廊坊、郑州、湖北、南宁、准格尔旗的差异 (P<0.05) 存在统计学意义。MTHFR c.1298A>C 位点的基因型别频率与南宁的差异 (P<0.05)。MTRRc.66A>G 位点的基因频率与长春、廊坊、郑州、湖北相比，差异具有统计学意义 (P<0.05) 存在统计学意义，在内蒙古区域内与兴安盟、赤峰、准格尔旗相比，差异均无统计学意义 (P>0.05)。呼和浩特市汉族育龄女性 5, 10-亚甲基四氢叶酸还原酶基因 MTHFR (5, 10 -metylenetetrahydrofolate re

ductase, MTHFR) 和甲硫氨酸合成酶还原酶 (methionine synthase reductase, MTRR) 多态性存在地区差异性。叶酸作为人体必需的营养物质，如果其关键代谢基因 MTHFR 和 MTRR 发生突变，会影响人体的蛋白质和遗传物质合成。如果孕妇本身叶酸代谢基因发生突变，会造成其叶酸代谢异常，从而增加流产及妊娠期高血压风险。进而造成新生儿出生缺陷等遗传性疾病，神经管畸形 (NTD)、唐氏综合征 (DS)、唇腭裂 (CLP)、先天性心脏病 (CHD)。我国地域宽广，民族多样，各地人民的生存环境、饮食习惯均存在比较大的差异。不同地域人群之间 MTHFR 和 MTRR 基因频率也存在差异。所以针对不同地域人群叶酸代谢基因型特征，选择不同的叶酸补充剂量，进行个性化增补，能够避免“千人一量”造成的部分人群叶酸过量，而另外一部分人群叶酸缺乏的局面。通过对呼和浩特汉族育龄妇女 MTHFR c.677C>T 位点 CC (纯合野生型)、CT (杂合突变型)、TT (纯合突变型) 基因频率分别为 24.9% (89 例)、46.9% (168 例)、28.2% (101 例)，杂合突变型和纯合突变型占比可达到 75.7%，也就是说叶酸代谢非正常人群可达到 75.7%，因此当地对育龄女性做叶酸代谢基因检测意义重大，临床医生可以根据不同基因型，给孕妇补充不同剂量的叶酸，有针对性的差异化补充。防止叶酸代谢异常人群因叶酸补充不足而造成不良妊娠及有出生缺陷胎儿出生。真正做到预防出生缺陷从一、二级预防开始。

参考文献:

[1]毛宏梅, 石丽丽, 霍军生.个性化叶酸补充预防神经管缺陷[J].卫生研究, 2023, 52 (04): 676-681.
 [2]张伟.孕期妇女膳食指南[J].中华围产医学杂志, 2016, 19 (09): 641-648.
 [3]Guo Y, Luo R, Corsi DJ, et al.Folic acid supplementation in early pregnancy, homocysteine concentration, and risk of gestational diabetes mellitus[J]. Obstet Gynaecol Can, 2022 (2): 196-199.
 [4]修霞, 郎翠红, 牟莹莹.叶酸代谢障碍对孕妇及胎儿的不良影响[J].中国优生与遗传杂志, 2013, 21 (1): 3-23.
 [5]田红雨, 鲁衍强, 付敏, 等.长春市汉族妇女 MTHFR 与 MTRR 基因多态性分布研究[J].中国妇幼保健, 2017, 32 (09): 6.
 [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): 32.
 [7]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 (07): 710-714.
 [8]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 (01): 33.

从表 3 可以看出, 研究组生理功能评分为 (85.6 ± 7.2) 分, 心理功能评分为 (82.4 ± 6.8) 分, 社会功能评分为 (83.5 ± 7.1) 分, 总分为 (251.5 ± 21.1) 分。对照组生理功能评分为 (75.3 ± 6.9) 分, 心理功能评分为 (73.2 ± 6.5) 分, 社会功能评分为 (74.6 ± 6.8) 分, 总分为 (223.1 ± 20.2) 分。研究组在各项目的评分及总分上都比对照组高 (P 均 < 0.05)。充分说明运动疗法既能改善患者身体状况, 还能提升其心理状态, 强化他们的社会适应能力。

表 3 两组患者生活质量评分对比 ($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	n	生理功能	心理功能	社会功能	总分
研究组	25	85.6 ± 7.2	82.4 ± 6.8	83.5 ± 7.1	251.5 ± 21.1
对照组	25	75.3 ± 6.9	73.2 ± 6.5	74.6 ± 6.8	223.1 ± 20.2
t 值	-	5.234	4.892	4.568	5.673
P 值	-	0.018	0.025	0.034	0.012

3 讨论

本次研究结果显示, 运动疗法能够改善患者心肺功能各项指标, 研究组 6 分钟步行距离达到 (468.5 ± 45.2) m, 较对照组提升 76.2m, 这种提高大概率是源于本研究设计的渐进性有氧运动方案。从术后早期 2-3km/h 的缓慢步行到后期 4-5km/h 的快步走, 逐步增加运动负荷有效提高了患者耐力, 更重要的是通过运动刺激促进了心肌细胞的适应性改变。研究表明, 规律运动可增加心肌细胞线粒体数量和体积, 上调线粒体呼吸链复合物的表达, 增强 ATP 合成能力。再有, 运动还可激活 AMPK 信号通路, 促进葡萄糖转运体 4 (GLUT4) 转位, 优化心肌能量代谢^[9]。

参考文献:

- [1]张宁.阶段性健康教育结合 5E 康复护理对 EICU 冠心病 PCI 术后患者的效果研究[J].心血管病防治知识, 2023, 13 (25): 60-63.
- [2]梁夷凤.冠心病患者 PCI 术后应用基于 5E 理念的综合康复护理的效果分析[J].中外医疗, 2023, 42 (23): 155-159.
- [3]陈笑茜, 朱秀若, 张平妹, 姜文兵, 沈铖姬.微信管理在冠心病 PCI 术后出院患者心脏康复护理中的应用[J].中华全科医学, 2022, 20 (06): 1075-1079.

上接第 19 页

- [9]沈寅琛, 鲁衍强, 李瑛, 等.南宁地区汉族女性 MTHFR 与 MTRR 基因多态性研究[J].中国优生与遗传杂志, 2015, 23 (07): 18-19.
- [10]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.
- [11]王显辉, 鲁衍强, 李瑛, 等.内蒙古自治区赤峰市汉族女性 MTHFR 与 MTRR 基因多态性分布研究[J].中国妇幼保健, 2018, 33 (18): 4232-4234.
- [12]苏静, 王孝文, 康丽, 等.准格尔旗汉族女性 MTHFR 与 MTRR 基因多态性分布研究[J].中国妇幼保健, 2020, 35 (20): 3832-3834.
- [13]莫亚虹, 许琼军, 李立康.海南省女性亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性分布特征研究[J].现代预防医学, 2018, 45 (21): 3899-3902.
- [14]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 (01): 13-18.
- [15]周腊, 梁琴.叶酸代谢酶基因多态性在新生儿出生缺陷中的应用效果及干预对策研究[J].中国优生与遗传杂志, 2019, 27 (07): 861-863.
- [16]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.
- [17]ZHU H P, WICKER N, SHAW G M, et al. Homocysteine remethylation enzyme polymorphisms and increased risks for neural tube defects[J]. Mol Genet Metab, 2003, 78 (3): 216-221.

作者简介: 庄明丽 (1982—), 女, 汉族, 黑龙江齐齐哈尔人。

基金项目: 呼和浩特地区叶酸代谢相关基因筛查及叶酸服用效果分析, 呼卫健医疗, 项目编号 (202306)