

镇江市汉族女性 MTHFR 和 MTRR 基因多态性分布研究

杨彦¹, 鲁衍强^{2*}, 芮欣忆², 曹馨宇¹, 许晓芬¹, 陶莹¹

(¹镇江市妇幼保健院生殖遗传科, 江苏 镇江 212001; ²上海靶向分子医学研究所, 上海 200433)

[摘要] 目的: 探讨镇江市汉族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 基因多态性的分布特征。方法: 采用横断面调查研究方法, 以镇江市 2 885 例汉族女性为对象, 采集口腔黏膜上皮细胞, 提取基因组 DNA, 采用 Taqman-MGB 技术, 进行 MTHFR 和 MTRR 基因多态性检测。统计分析基因多态性的分布特征, 并与已报道的其他地区的数据进行比较。结果: 镇江市汉族女性的 MTHFR 677TT 纯合突变基因型频率为 21.8%, 高于海南和德阳地区, 低于潍坊和郑州地区 ($P < 0.01$)。MTHFR 1298CC 纯合突变基因型频率为 3.5%, 低于德阳和海南地区 ($P < 0.01$); 与潍坊和郑州地区的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。MTRR 66GG 纯合突变基因型频率为 6.0%, 低于海南地区 ($P < 0.01$); 与潍坊、郑州、德阳地区的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论: 镇江市汉族女性具有不同于其他地区的 MTHFR 和 MTRR 基因多态性分布特征。

[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

[中图分类号] R715

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-4368(2012)09-1250-04

Study on the MTHFR and MTRR polymorphism among the Han women in Zhenjiang city

YANG Yan¹, LU Yan-qiang^{2*}, RUI Xin-yi², CAO Xin-yu¹, XU Xiao-fen¹, TAO Ying¹

(¹Department of Reproductive and Genetics, Zhenjiang Maternity and Child Care Hospital, Zhenjiang 212001;

²Shanghai Institute of Targeted Therapy and Molecular Medicine, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the gene polymorphisms distribution of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T, A1298C and methionine synthase reductase (MTRR) A66G among the Han female in Zhenjiang, Jiangsu. **Methods:** A cross-sectional study was used. A total of 2 885 oral epithelial cells samples from recruited Han women in Zhenjiang were collected. The detections of MTHFR and MTRR gene polymorphisms conducted with Taqman-MGB technology. The distribution of gene polymorphisms of this study was analyzed and compared with partial regions of China, which included Weifang, Zhengzhou, Deyang and Hainan Province. **Results:** Among the Han women in Zhenjiang, the frequencies of MTHFR 677CC, CT, TT genotypes were 30.4%, 47.8% and 21.8%; the frequencies of MTHFR 1298AA, AC, CC genotypes were 69.1%, 27.4% and 3.5%; and the frequencies of MTRR 66AA, AG, GG genotypes were 56.9%, 37.1% and 6.0%. Compared with partial other regions, the study found that the frequency of MTHFR 677TT genotype of Han women in Zhenjiang was higher than that in Deyang and Hainan, and lower than that in Weifang and Zhengzhou (all $P < 0.01$). The frequency of MTHFR 1298CC genotype of Han women in Zhenjiang was lower than that in Deyang and Hainan (all $P < 0.01$). The genotype of MTRR A66G of Han women in Zhenjiang was lower than that in Hainan ($P < 0.01$), while no difference was found when compared with other 3 regions (all $P > 0.05$). **Conclusion:** The gene polymorphisms distributions of MTHFR C677T, A1298C and MTRR A66G among the Han women in Zhenjiang were found to be statistically different from partial other regions of China.

[Key words] methylenetetrahydrofolate reductase; methionine synthase reductase; single nucleotide polymorphisms

[Acta Univ Med Nanjing, 2012, 32(9): 1250-1253]

同型半胱氨酸(Hcy)水平升高与神经管缺陷^[1]、

唇腭裂^[2]、先天性心脏病^[3]等出生缺陷, 以及复发性流产^[4]、妊娠期高血压综合征^[5]等孕期疾病密切相关。Hcy 水平升高主要是遗传因素和营养因素共同作用的结果。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 Hcy 代谢通

[基金项目] 中国疾病预防控制中心妇幼保健中心项目 (FY-ZX-ZD-0006)

*通讯作者, E-mail: luyanqiang@genechina.com

路中的关键酶。体内的 Hcy 在甲硫氨酸合成酶的催化下,以维生素 B₁₂ 为辅酶,接受 5-甲基四氢叶酸提供的甲基生成甲硫氨酸。5-甲基四氢叶酸由 MTHFR 催化 5,10-亚甲基四氢叶酸还原而来,而维生素 B₁₂ 需要 MTRR 催化其甲基化维持辅酶的活性,使甲硫氨酸合成酶的催化反应正常进行。MTHFR 和 MTRR 具有多种基因多态性,最常见的有 MTHFR C677T、A1298C 和 MTRR A66G,这些基因多态性影响编码酶的活性^[6]、血清和红细胞叶酸浓度^[7]以及血浆 Hcy 浓度^[8]。基因多态性与叶酸、Hcy 代谢以及以上多种疾病的关系是近年研究的热点。这些相关基因多态性存在地区^[9]和民族^[10]的分布差异,但尚未见针对江苏省人群的大样本分子流行病学研究报道。本研究旨在分析镇江市汉族女性的 MTHFR 和 MTRR 遗传分布特征,为出生缺陷的病因学研究以及基于遗传特征的临床干预研究提供科学依据。

1 对象与方法

1.1 对象

依据知情同意原则,选择 2010 年 5 月~2012 年 5 月在镇江市妇幼保健院进行孕前或孕期检查的汉

族女性,纳入标准为同意进行口腔黏膜细胞采样并进行遗传检验的人群,排除 DNA 抽提不符合要求者,共获取有效样本 2 885 例,平均年龄 (27.01 ± 4.36) 岁。

1.2 方法

1.2.1 样本采集与基因组 DNA 提取

采集受检者的口腔黏膜上皮细胞,利用柱式抽提试剂盒抽提样本 DNA。

1.2.2 基因型鉴定

采用 Taqman-MGB 技术,检测 MTHFR C677T、A1298C 和 MTRR A66G 的基因多态性。相关仪器、试剂均购自美国 ABI 公司。对 3 个位点分别进行荧光定量 PCR 反应,所用 Taqman-MGB 探针信息见表 1。每个反应体系总体积 10 μl,包含浓度为 20 ng/μl 的 DNA 模板 1 μl,2×Taqman Universal Master Mix 5 μl,20×Taqman-MGB 探针 0.5 μl,去离子水 3.5 μl。反应条件为 95℃ 10 min,随后进行 20 个循环的扩增(92℃ 15 s,60℃ 1 min),再进行 30 个循环的扩增(89℃ 15 s,60℃ 90 s)。反应结束后在 ABI7900 型荧光定量 PCR 仪上读取样品孔中的终点荧光,利用分析软件确定各个样本的基因分型结果。

表 1 Taqman-MGB 探针所在位置

Table 1 Detection sequences of the three SNPs

基因多态位点	检测探针所在位置
MTHFR C677T	GAAAAGCTGCGTGATGATGAAATCG[G/A]CTCCCGCAGACACCTTCTCCTTCAA
MTHFR A1298C	AAGAACGAAGACTTCAAAGACACTT[G/T]CTTCACTGGTCAGCTCCTCCCCCA
MTRR A66G	AGGCAAAGCCATCGCAGAAGAAAT[A/G]TGTGAGCAAGCTGTGGTACATGGAT

1.3 统计学方法

采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析,基因频率采用基因计数法计算,Hardy-Weinberg 遗传平衡检验、基因型及等位基因频率组间比较均采用 R×C χ^2 检验方法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基因型及等位基因频率

对检测到的 MTHFR C677T、A1298C 和 MTRR A66G 位点分别进行 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验,均符合 Hardy-Weinberg 平衡,证明样本具有区域群体代表性。镇江市 2 885 例汉族女性的基因型及等位基因频率统计结果见表 2、3。

2.2 镇江市汉族女性 MTHFR、MTRR 基因多态性分布与其他地区的数据比较

贺宪民等^[9]和劳海红等^[10]之前报道了山东潍

坊、河南郑州、四川德阳以及海南省汉族女性的 MTHFR、MTRR 基因多态性分布,以镇江数据与这些地区的数据进行两两比较,结果显示:镇江市汉族女性纯合突变基因型 MTHFR 677TT 的频率低于潍坊和郑州,高于德阳和海南(P 均 < 0.01)。纯合突变基因型 MTHFR 1298CC 的频率低于德阳和海南(P 均 < 0.01),与潍坊、郑州的差异没有统计学意义($P > 0.05$)。纯合突变基因型 MTRR 66GG 的频率低于海南地区($P < 0.01$),与潍坊、郑州、德阳的差异均没有统计学意义(P 均 > 0.05 ,表 2)。

等位基因频率的比较结果见表 3。镇江市汉族女性的 MTHFR 677T 突变等位基因频率低于潍坊和郑州,高于德阳和海南(P 均 < 0.01)。MTHFR 1298C 突变等位基因频率低于德阳和海南(P 均 < 0.01),与潍坊和郑州的差异无统计学意义($P > 0.05$)。MTRR 66G 突变等位基因频率低于海南($P <$

表2 不同地区汉族女性 MTHFR、MTRR 基因型频数和频率分布比较

Table 2 Comparison of MTHFR and MTRR genotype distribution and frequencies by areas [n(%)]

地区	MTHFR C677T			χ^2	P	MTHFR A1298C			χ^2	P	MTRR A66G			χ^2	P
	CC	CT	TT			AA	AC	CC			AA	AG	GG		
镇江 (本研究)	877 (30.4)	1 378 (47.8)	630 (21.8)			1 993 (69.1)	791 (27.4)	101 (3.5)			1 642 (56.9)	1 071 (37.1)	172 (6.0)		
潍坊 ^[9]	24 (14.5)	72 (43.6)	69 (41.8)	41.03	< 0.01	118 (71.5)	45 (27.3)	2 (1.2)	2.56	0.279	98 (59.4)	56 (33.9)	11 (6.7)	0.73	0.696
郑州 ^[9]	46 (17.8)	123 (47.7)	89 (34.5)	29.33	< 0.01	188 (72.9)	63 (24.4)	7 (2.7)	1.70	0.427	146 (56.6)	96 (37.2)	16 (6.2)	0.03	0.986
德阳 ^[9]	55 (39.6)	72 (51.8)	12 (8.6)	14.60	0.001	75 (54.0)	56 (40.3)	8 (5.8)	14.15	0.001	79 (56.8)	54 (38.8)	6 (4.3)	0.72	0.699
海南 ^[10]	6 004 (57.0)	3 543 (33.6)	986 (9.4)	728.48	< 0.01	6 017 (57.1)	3 794 (36.0)	722 (6.9)	144.80	< 0.01	5 246 (49.8)	4 330 (41.1)	957 (9.1)	57.50	< 0.01

表3 不同地区汉族女性 MTHFR、MTRR 等位基因频数和频率分布比较

Table 3 Comparison of MTHFR and MTRR allele frequencies by areas [n(%)]

地区	MTHFR C677T		χ^2	P	MTHFR A1298C		χ^2	P	MTRR A66G		χ^2	P
	C	T			A	C			A	G		
镇江 (本研究)	3 132 (54.3)	2 638 (45.7)			4 777 (82.8)	993 (17.2)			4 355 (75.5)	1 415 (24.5)		
潍坊 ^[9]	120 (36.4)	210 (63.6)	40.26	< 0.01	281 (85.2)	49 (14.8)	1.23	0.268	252 (76.4)	78 (23.6)	0.13	0.715
郑州 ^[9]	215 (41.7)	301 (58.3)	30.27	< 0.01	439 (85.1)	77 (14.9)	1.75	0.185	388 (75.2)	128 (24.8)	0.02	0.886
德阳 ^[9]	182 (65.5)	96 (34.5)	13.40	< 0.01	206 (74.1)	72 (25.9)	13.80	< 0.01	212 (76.3)	66 (23.7)	0.09	0.767
海南 ^[10]	15 551 (73.8)	5 515 (26.2)	817.60	< 0.01	15 828 (75.1)	5 238 (24.9)	148.88	< 0.01	14 822 (70.4)	6 244 (29.6)	58.15	< 0.01

0.01),与潍坊、郑州、德阳地区的差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。

3 讨论

出生缺陷是我国严重的公共卫生问题和社会问题。江苏省每年约有数千个肉眼可见的先天畸形儿出生,加上出生后数月、数年才显现的缺陷,每年各种出生缺陷儿占年出生人口总数的3%~4%^[11],其中先天性心脏病、唇腭裂、神经管畸形是排名前列的出生缺陷类型。

目前出生缺陷的病因学研究表明,遗传因素不容忽视。与 MTHFR 677CC 基因型相比,TT 基因型将造成编码氨基酸由丙氨酸变为缬氨酸,导致 MTHFR 酶活性下降到正常的22%;另外,MTHFR 677CT 和 1298AC 存在协同作用,使 MTHFR 酶活性下降到正常的36%^[12]。李智文等^[13]的 Meta 分析表明,以 CC 基因型为参照,携带 MTHFR 677TT/CT 基因型的个体,子代发生神经管畸形的 OR 值分别

为 3.13 和 1.66。张亲凤等^[14]根据 MTHFR C677T、A1298C 和 MTRR A66G 的不同基因型组合将个体的叶酸利用能力分为不同风险等级,高度风险人群在正常孕产组和不良孕产组的构成分别为 19.45% 和 31.07%($P < 0.01$),高度风险组与未发现风险组间的相对危险度 RR 值为 2.265,表明因基因多态性导致的叶酸代谢障碍与不良孕产有着重要关系。

已有研究表明,不同地域人群的 MTHFR 和 MTRR 基因多态性分布存在差异,但尚未见针对江苏省的大样本分子流行病学调查报道。本研究分析了 MTHFR C677T、A1298C 和 MTRR A66G 基因多态性在镇江市汉族女性中的分布特征,并与已报道的其他地区的数据进行比较。其中 MTHFR 677T 突变等位基因在山东潍坊、河南郑州、江苏镇江、四川德阳和海南省的分布频率分别为 63.6%、58.3%、45.7%、34.5%和 26.2%,由北到南呈现递减趋势。这在遗传因素上解释了我国神经管缺陷发病率北高南低的事实。而遗传因素如何与营养因素、环境因素综

合作用导致出生缺陷的发生,仍需深入研究。

由于不同地区人群的遗传差异,我们在制订相关孕期保健方案时应该因地制宜、因人而异,而不能使用统一模式、执行统一标准。通过开展 MTHFR 和 MTRR 的分子流行病学研究,了解不同地区人群的遗传特征,将为我国深入开展《增补叶酸预防神经管缺陷项目管理方案》,进一步完善出生缺陷一级预防措施提供科学依据。

[参考文献]

[1] 保睿,吴建新. 人类神经管缺陷分子遗传学研究进展[J]. 中国优生与遗传杂志,2009,17(5):1-4

[2] 王苏梅,王建华,贾颀舫,等. 山东地区非综合征性唇腭裂患者 MTHFR 基因 C677T 的多态性研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2011,19(5):6-8

[3] 石建,李芬. 同型半胱氨酸、亚甲基四氢叶酸还原酶及叶酸与先天性心脏病的关系[J]. 中国全科医学,2005,8(18):1551-1553

[4] 宋绿茵,戚潜辉,余达贤,等. 同型半胱氨酸代谢相关酶基因多态性与习惯性流产关系的研究[J]. 中华围产医学杂志,2005,8(3):160-164

[5] 左金玲,易建平,陈宝丽. 妊娠高血压综合征基因遗传学研究进展[J]. 中国妇幼保健,2011,26(24):3822-3824

[6] Eskes TK. Open or closed? A world of difference;a history of homocysteine research[J]. Nutr Rev,1998,56(8):236-244

[7] Nishio K,Goto Y,Kando T,et al. Serum folate and

methyletetra-hydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism adjusted for folate intake [J]. J Epidemiol, 2008,18(3):125-131

[8] Jacques PF,Bostom AG,Williams RR,et al. Relation between folate status,a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase,and plasma homocysteine concentrations[J]. Circulation,1996,93(1):7-9

[9] 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

[10] 劳海红,贺宪民. 海南省汉族和黎族妇女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]. 中国计划生育学杂志,2011,19(11):655-657

[11] 任爱国. 美国一基金会发布全球出生缺陷报告 [J]. 中国生育健康杂志,2006,17(2):121-122

[12] Chango A,Boisson F,Barbe F,et al. The effect of 677C/T and 1298A/C mutations on plasma homocysteine and 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase activity in healthy subjects[J]. Br J Nutr,2000,83(6):593-596

[13] 李智文,张晖,王丽娜. 中国人 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与冠心病、神经管畸形易感性关系的 Meta 分析 [J]. 中国慢性病预防与控制,2004,12(4):163-165

[14] 张亲凤,林燕玲,薛燕燕,等. 荧光定量 PCR 用于孕产妇叶酸利用能力的检测研究[J]. 中国热带医学,2010,10(11):1346-1351

[收稿日期] 2012-05-21

欢迎投稿 欢迎订閱