

中国汉蒙两族人群 *MTHFR* 基因热敏感性多态性分布的比较

裴丽君¹, 朱慧萍², 沈婉英³, 赵如冰², 刀京晶², 李竹²

(1. 内蒙古包头医学院, 包头 014010; 2. 北京医科大学中国妇婴保健中心, 北京 100083; 3. 空军总医院妇产科, 北京 100034)

摘要:为比较中国蒙汉两族人群 *MTHFR* 基因第 677 位核苷酸多态性的分布情况, 获得该位点多态性的群体遗传学数据, 本研究应用 PCR 扩增技术, 其扩增产物用限制性核酸内切酶 *Hinf* I 消化后进行非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 分析蒙汉族人群中 *MTHFR* 基因第 677 位核苷酸基因型(野生型、杂合型和突变纯合型)的分布频率。结果表明, 蒙族人群基因型构成以野生型为主, 占 45.6%, 突变杂合型占 39.2%, 突变纯合型仅占 15.2%, 汉族人群基因型构成以突变杂合型为主, 占 55.7%, 野生型仅占 17.9%, 突变纯合型占 26.4%, 明显高于蒙族人群。经 χ^2 检验, 两组基因型构成比具有显著性差异 ($P < 0.001$); 蒙族人群 *MTHFR* 677T 等位基因频率为 34.8%, 经 *u* 检验显著低于汉族人群(54.2%)的频率。据此认为, 中国蒙族人群 *MTHFR* 热敏感性基因突变频率显著低于汉族人群, 提示该基因多态性分布在中国不同民族人群中存在差异。

关键词: 蒙汉族人群, 聚合酶链式反应, *MTHFR* 基因多态性

中图分类号: Q394

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2000)06-0369-03

Comparing the Distribution of Genetic Polymorphism of *MTHFR* Thermolabile between Mongolian Population and Hans of China

PEI Li-jun¹, ZHU Hui-ping², SHEN Wan-ying³, ZHAO Ru-bing², DAO Jing-jing², LI Zhu²

(1. Baotou Medical College in Inner Mongolia, Baotou, 014010, China; 2. The Reference Laboratory of Reproductive Health Care of the Health Ministry, Beijing Medical University, Beijing, 100083, China; 3. Department of Gynecology and Obstetrics in Air Service Hospital, Beijing, 100034, China)

Abstract: The purpose of this study is to compare the genetic polymorphism distribution of the 677th nucleotide of *MTHFR* between the Mongolian population and the Hans of China, and to obtain the population genetic data of this polymorphism. Using PCR-RFLP method, the authors analyzed the genotypes of the 677th nucleotide of *MTHFR* in Mongolians and Hans. Results show that in Mongolian population, the proportion of wild type is 45.6%, proportion of heterozygotes is 39.2% and that of homozygotes is 15.2%; While in Hans, proportions are wild type 17.9%, heterozygotes 55.7% and homozygotes 26.4%. The ratios of genotypes are significantly different between Mongolian and Han populations (χ^2 -test, $P < 0.001$). The 677th allele frequency in Mongolians is 34.8%, lower than that in Hans (54.2%, *u*-test, $P < 0.001$). This suggests that the mutant *MTHFR* gene frequency is significantly higher in the Han population than in the Mongolian population in China.

Key words: Mongolian population and Hans; polymerase chain reaction (PCR); *MTHFR*; genetic polymorphism

5, 10-亚甲基四氢叶酸还原酶(*MTHFR*)是一种重要的叶酸代谢酶,它在体内催化5, 10-甲基四氢叶酸还原为体内最主要的甲基供体——5-甲基四氢叶酸,具有重要的生理功能。目前越来越多的研究

表明,*MTHFR*与心血管疾病和出生缺陷如神经管畸形的发生有关^[1-4]。而这两类疾病都是在人群中发生率高、严重影响生活质量的重大疾病。*MTHFR*酶活性降低,可引起体内同型半胱氨酸(HCY)蓄

收稿日期:1999-11-26;修回日期:2000-05-23

基金项目:国家自然科学基金(39800130)卫生部生育健康重点实验室开放课题之一

作者简介:裴丽君(1962-),女,籍贯:内蒙古,学位:硕士,职称:副教授,专业:流行病学。

积,而 HCY 不仅是心血管疾病的危险因素,也是一种重要的胚胎毒性物质。

人类 *MTHFR* 基因已被克隆成功^[5],并发现了多个突变位点。其中第 677 位核苷酸多态性不仅引起酶活性降低,还与 *MTHFR* 酶的热敏感性有关。该位点已被证实与上述疾病的易感性有关。不同国家和地区的多项研究表明,正常人群中,*MTHFR* 基因第 677 位核苷酸多态性的分布存在群体差异,这种差异可能与人群对多种疾病的群体易感性有关。本研究的目的在于比较中国汉蒙两族人群 *MTHFR* 基因第 677 位核苷酸多态性的分布情况,获得该多态性位点的群体遗传学数据。

1 材料与方 法

1.1 研究对象

汉族人群:参加婚前体检或健康体检的健康汉族人,共采集血标本 106 份。蒙古族人群:来自内蒙古包头市牧区参加健康体检的健康蒙族人,共采集血标本 171 份。

1.2 样本采集

抽取静脉血约 0.5ml,滴于 S&S 公司生产的 ISOCODE 采血卡片上,卡片于室温晾干后 4℃ 保存。

1.3 DNA 制备

取一个血片(约 20 μ l 血),置于洁净的 1.5ml 离心管中,用无菌去离子水漂洗,再用无菌去离子水 50 μ l 浸泡,于 95℃ 温育 30 分钟,取 3~5 μ l 用于 25 μ l PCR 反应。

1.4 PCR 扩增

采用 Frosst 等^[5]设计的引物,上游:5'-TGA AGG AGA AGG TGT CTG CGG GA-3',下游:5'-AGG ACG GTG CGG TGA GAG TG-3'。反应体系:1 \times *Taq* 缓冲液,1.5mmol/L $MgCl_2$,1U *Taq* 聚合酶(SABC),每种引物 0.25 μ mol/L,150 μ mol/L dNTPs。反应条件:95℃ 5min,(95℃ 15",60℃ 35",72℃ 15") \times 40,72℃ 7min。

1.5 扩增产物限制性片段长度多态性分析(PCR-RFLP)

限制性内切酶 *Hinf* I (SABC) 消化 PCR 扩增产物,总体积 10 μ l,5U *Hinf* I,37℃ 消化 1~2h。8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳,在紫外灯下观察电泳条带,分析其基因型。野生型:198bp;杂合型:198bp,175bp,23bp;突变纯合型:175bp,23bp。

1.6 数据处理和分析

用 Microsoft Visual Foxpro5.0 软件建立数据库,用 SPSS for Windows7.0 统计软件进行基因型构成比和等位基因频率的显著性检验。

2 研究结果

2.1 蒙汉族人群 *MTHFR* C677T 基因型构成的比较

蒙族人群基因型分布以野生型为主,占 45.6%,而汉族人群则以突变杂合型为主,占 55.7%。蒙族人群纯合突变频率为 15.2%,低于汉族人群的 26.4%。两组构成比经 χ^2 检验,有显著性差异($P < 0.001$)(表 1)。

表 1 中国蒙汉两族人群 *MTHFR* C677T 基因型构成的比较

Table 1 Comparing the genotypes proportions of *MTHFR* C677T between Mongolian Population and Hans of China

民族	基因型			合计 N(%)
	677CC n(%)	677CT n(%)	677TT n(%)	
汉族	19(17.9)	59(55.7)	28(26.4)	106(100.0)
蒙族	78(45.6)	67(39.2)	26(15.2)	171(100.0)

χ^2 test: $P < 0.001$ 。

2.2 蒙汉两族人群 *MTHFR* 677T 等位基因频率的比较

蒙族人群 *MTHFR* 677T 等位基因频率为 34.8%,低于汉族人群的 54.2%,经 *u* 检验,有显著性差异($P < 0.001$)(表 2)。

表 2 中国蒙汉两族人群 *MTHFR* C677T 等位基因频率的比较

Table 2 Comparing the allele frequency of *MTHFR* C677T between Mongolian Population and Hans of China

民族	等位基因数(n)	染色体总数(2N)	等位基因频率
汉族	115	212	0.5425
蒙族	119	342	0.3479

u - test: $P < 0.001$ 。

3 讨论

目前,已有多项研究提示 *MTHFR* 基因纯合突变可能与神经管畸形(NTDs)等出生缺陷的发生有关,是 NTDs 的遗传易感性标志之一^[4]。研究发现,NTDs 率高的地区,其 *MTHFR* 纯合突变率也较高,如

中国的北方地区和爱尔兰；NTDs 率低发地区，其突变频率也相对较低，如非洲的一些国家和地区。本研究发现，中国的蒙族人群纯合突变频率为 15.2%，远低于汉族人群的 26.4%，但由于目前尚无蒙族人群 NTDs 发生率的准确资料，因此无法进行对比研究。*MTHFR* 基因的热敏感性多态性位点与表型的关系为不完全显性遗传。*MTHFR* 突变纯合型表现为热敏感性，特异性酶活性低于野生型酶活性的 50%；突变杂合型也表现为热敏感性，其特异性酶活性介于野生型和突变纯合型之间，是正常酶活性的 65%。因此该位点的突变等位基因是 *MTHFR* 热敏感性和酶活性的遗传标志物之一。本研究比较了中国蒙族汉族人群的等位基因频率，蒙古族为 34.8%，显著低于汉族人群的 54.2% ($P < 0.001$)。

不同种族人群 *MTHFR* 基因热敏感性多态性基因型分布存在差异。在遗传流行病学中，基因型的群体变异 (population stratification) 或种族差异 (ethnic variation) 被认为是研究遗传因素与疾病关系的重要混杂因子^[6]。*MTHFR* 热敏感性基因多态性就存在较大的群体变异^[7,8]。目前认为，同型半胱氨酸血症是心血管系统疾病的重要危险因素，高水平同型半胱氨酸诱发心血管疾病的机制与其对细胞的损伤和促平滑肌细胞增生等作用有关^[8]。而 *MTHFR* 酶活性降低是导致体内同型半胱氨酸蓄积的原因之一。同时也有人发现，生育 NTDs 的妇女血清中同型半胱氨酸蓄积，并提出：由于母亲 *MTHFR* 基因发生热敏感性纯合突变，使其体内同型半胱氨酸蓄积，而同型半胱氨酸具有胚胎毒性，这有可能诱发 NTDs 的发生^[6,8~11]。上述两类疾病均在人群中高发，作好这些疾病的早期诊断、早期预防具有重要的公共卫生意义。因此，本研究首次对蒙古族和汉族人群 *MTHFR* 酶热敏感性基因型分布进行研究，为研究 *MTHFR* 在这些疾病中的作用及其临床诊断提供可靠的基础资料。

参 考 文 献：

- [1] Dudman N P B, Guo X W, Gordon R B, *et al.* Human homocysteine catabolism: three major pathways and their relevance to development of arterial occlusive disease[J]. *J Nutr*, 1996, 126: 1295 ~ 1300.
- [2] Fletcher O, Kessling A M. *MTHFR* association with atherosclerotic vascular disease[J]. *Hum Genet*, 1998, 103: 11 ~ 21.
- [3] Whitehead A S, Gallagher P, Mills J L, *et al.* A genetic defect in 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase in neural tube defects[J]. *Q J Med*, 1995, 88: 763 ~ 766.

- [4] 朱慧萍, 李 竹. 中国人 *MTHFR* 基因多态性与神经管畸形遗传易感性[J]. *遗传* 2000, 22(4): 236 ~ 238.
- [5] Frosst P, Blom H J, Milos R, *et al.* A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase[J]. *Nat Genet*, 1995, 10: 111 ~ 113.
- [6] Motulsky A G. Nutritional ecogenetics: Homocysteine-related arteriosclerotic vascular disease, neural tube defects, and folic acid[J]. *Am J Hum Genet*, 1996, 58: 17 ~ 20.
- [7] Botto L D, Mastroiacovo P. Exploring gene-gene interactions in the etiology of neural tube defects[J]. *Clin Genet*, 1998, 53: 456 ~ 459.
- [8] Khoury M J, Flanders W D. Non-traditional epidemiologic approaches in the analysis of gene-environment interaction: case-control studies with no controls[J]. *Am J Epidemiol*, 1996, 144: 207 ~ 213.
- [9] Tsai J C, Perrella M A, Yoshizumi M, *et al.* Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: A link to atherosclerosis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 6369 ~ 6373.
- [10] MRC Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: Results of the Medical Research Council Vitamin Study[J]. *Lancet*, 1991, 338: 131 ~ 133.
- [11] 朱慧萍, 李 竹, 刀京晶, 等. 父母 *MTHFR* 基因型对后代发生神经管畸形的影响[J]. *遗传* 2000, 22(5): 285 ~ 287.

欢迎订阅《人类环境杂志》

《AMBIO—人类环境杂志》(中文版)自 1994 年问世以来,得到了国内出版界、科技界和瑞典皇家科学院的大力支持和帮助,对于我国的环境保护事业起到了很好的推动和借鉴作用。我们热切地期望广大读者继续给予我们支持并提出宝贵意见,以便把这一刊物办得更好。

《AMBIO—人类环境杂志》是国际环境生态领域的著名刊物,被国际 SCI 检索且引用率较高。近年来随着 AMBIO 在中国影响的扩大,中国科技工作者在该刊上发表的论文数量逐年增多,1999 年该刊以专刊方式全文发表了中瑞生态网络圆桌会议中方科学家的 9 篇论文。订阅《AMBIO—人类环境杂志》中文版,可使科研人员及时了解国际环境领域的研究动向,有助于将其研究成果推向世界。

2001 年《AMBIO—人类环境杂志》(中文版)仍保持 1999 年定价标准(每期 15.00 元,全年 8 期共 120.00 元),读者可通过本刊发行部订阅。

地址 北京市安定门外大屯路 917 大楼,中科院地理所
邮编 100101

收款人 赵东方

电话 010-64889816