

父母 *MTHFR* 基因型对后代发生神经管畸形的影响

朱慧萍, 李 竹, 刀京晶, 赵欣荣, 赵如冰

(北京医科大学中国妇婴保健中心, 北京 100083)

摘要: 本研究旨在探讨父母双方 *MTHFR* 基因型与其后代发生神经管畸形风险性的关系。采用成组匹配的病例对照研究方案, 用纸片法采集病例和对照外周血标本, 用 PCR-RFLP 方法确定基因型(C677T)。结果显示, 分别比较两组父亲或母亲基因型频率时, 差别不显著; 将父母基因型联合起来分析则发现, 病例组父母等位突变基因频率(*T*) 高于对照组父母, 提示后代是纯合突变(*TT*) 概率越大, 发生 NTD 的风险性也越大。结论是, 父母双方的基因型对后代发生 NTD 的风险性有同等重要的作用, 父母双方传递给胎儿的一对突变等位基因(*T/T*) 是 NTD 发生的风险因素之一。

关键词: *MTHFR*; 神经管畸形; 病例对照研究

中国分类号: R394

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2000)05-0285-03

Effect of Parental *MTHFR* Genotypes on Offspring NTD Risk

ZHU Hui-ping, LI Zhu, DAO Jing-jing, ZHAO Xin-rong, ZHAO Ru-bing

(National Center for Maternal and Infant Health Care, Beijing Medical University, Beijing, 100083, China)

Abstract: The effect of parental *MTHFR* genotypes on fetal phenotype of NTD is studied. It was designed as group matched case-control study. Venous blood from both cases and controls were collected by dry blood spots. Genotype(C677T) of each sample was decided by PCR-RFLP method. When the genotypes of father and mother are compared separately, no significant difference is discovered between cases and controls. On the other hand, when the mutant allele frequency(*T*) is computed for father and mother together, it is significantly higher in cases than in controls. Higher probabilities of the offspring being homozygotes(*TT*), higher the risk for NTD occurrence has been observed. It is concluded that genotypes of *MTHFR* for both father and mother have the same impact on NTD occurrence of their offspring. It is the pair of mutant allele(*T/T*) which transmitted to the baby from its parents that increases the risk.

Key words: *MTHFR*; neural tube defects(NTD); case-control study

神经管畸形(NTD)发病率高且临床后果严重, 是一组“多病因”疾病, 是遗传因素和环境因素共同作用的结果。孕妇叶酸缺乏是 NTD 的重要原因之一。近年来, 多项研究提示, 叶酸影响 NTD 发生可能是通过代谢途径而不仅仅是摄入不足。5, 10-亚甲基四氢叶酸还原酶(*MTHFR*)催化 5, 10-亚甲基四氢叶酸还原成体内最主要的甲基供体——5-甲基四氢叶酸。*MTHFR* 基因第 677 位核苷酸为单核苷酸多态性位点(single nucleotide polymorphism, SNP), 能使酶活性降低, 当该位点为胞嘧啶(C)时, 基因密码子编码一个丙氨酸(ala); 当该位点为胸腺嘧啶(T)

时, 编码一个缬氨酸(val), 该位点多态性的分布存在种族差异^[6]。目前已有几项病例对照研究结果显示^[2-6]: 该位点的纯合突变与 NTD 的发生存在统计学关联, *OR* 值为 3.57~7.20。本研究的目的在于应用分子生物学方法进行遗传流行病学研究, 探讨父母 *MTHFR* 基因多态性在后代神经管畸形的遗传易感性中的作用。

1 研究方法

1.1 研究设计

采取成组匹配的病例对照研究。匹配因素包括

收稿日期: 1999-09-22, 修回日期: 1999-12-06

基金项目: 国家自然科学基金(39800130)和国家“863”项目基金(863-102-10)

作者简介: 朱慧萍(1970-), 女, 湖北人, 博士, 讲师, 专业: 流行病学。

妇女分娩年龄和地区。

1.2 样本量确定

利用 Saber 软件进行样本量估计: 检验水准 $\alpha = 0.1$, 检验效能 $1 - \beta = 0.9$, 病例与对照比例定为 1:2, 以一对夫妇为一个病例, 病例需 36 对, 对照至少 72 对。

1.3 研究对象

NTD 父母资料来自河北、浙江和江苏 26 个市县妇幼保健院所, 对照为相同地区生育了非 NTD 婴儿的父母。共收集到 36 对 NTD 父母和 89 对对照父母的外周血标本。病例组中生育无脑及类似畸形的 27 对, 生育脊柱裂的 8 对, 生育脑膨出的 1 对。病例组南方父母 26 对 (72.2%), 北方父母 10 对 (27.8%); 对照组南方父母 65 对 (73.0%), 北方父母 24 对 (27.0%)。病例组妇女分娩年龄在 30 岁以下 20 岁以上者 34 例 (94.5%), 30 岁及以上者 2 例 (5.5%); 对照组妇女分娩年龄在 30 岁以下 20 岁以上者 84 例 (94.4%), 30 岁及以上者 5 例 (5.6%)。可见两组间地区和分娩年龄分布均衡。

1.4 统计分析

用 SPSS For Windows 6.0 统计软件和 Saber 软件进行以下统计分析: (1) 分别比较父亲和母亲的热敏感性基因型, 计算 OR 值和 95% 可信区间, 进行 Mantel-Haenszel χ^2 检验; (2) 比较父母四条染色体的热敏感性等位基因频率在病例组和对照组间的差异; (3) 直接计算两组父母可能生育纯合突变胎儿概率的比值。

1.5 基因型检测

PCR-RFLP 方法引物序列参考文献 [1]。

2 研究结果

2.1 病例组和对照组父亲/母亲基因型构成比的比较

分别比较病例组与对照组母亲和父亲基因型构成比, 均未见显著性差异 (母亲: $\chi^2 = 0.501$, $P =$

表 1 病例组与对照组母亲和父亲基因型构成比的比较

	基因型			合计 N (%)
	正常型 n (%)	杂合型 n (%)	纯合突变型 n (%)	
NTD 母亲	11 (30.6)	17 (47.2)	8 (22.2)	36 (100.0)
对照母亲	33 (37.1)	39 (43.8)	17 (19.1)	9 (100.0)
NTD 父亲	8 (22.2)	17 (47.2)	11 (30.6)	36 (100.0)
对照父亲	27 (30.3)	48 (53.9)	14 (15.7)	89 (100.0)

0.788; 父亲 $\chi^2 = 3.642$, $P = 0.162$), 两组间父亲和母亲基因型的构成比差异不显著 (表 1)。

2.2 病例组和对照组父母总突变等位基因频率的比较

由表 2 中可以看出, NTD 父母等位基因频率为 50.7%, 对照组为 41.9%, 二者差别有显著性意义, 可以认为病例组父母等位突变基因频率高于对照组父母。

2.3 病例组与对照组父母基因型组合的比较

表 2 病例组与对照组父母突变等位基因频率的比较

	突变等位基因数			染色体总数 (2n)	等位基因频率 (%)
	母亲	父亲	合计		
NTD 父母	34	39	73	144	50.7
对照父母	73	76	149	356	41.9

Z 检验: $P < 0.1$ 。

表 3 是按后代继承父母染色体而成为纯合突变的可能性概率划分等级计算比值比并进行显著性检验。

直接计算两组后代可能是纯合突变的概率:

表 3 病例组和对照组后代为纯合突变的概率的比较

突变概率	NTD	对照	OR 值	95% CI	P 值
0	17	49	-	-	
0.25	9	21	1.24	0.48 ~ 3.21	> 0.05
0.5	7	18	1.12	0.40 ~ 3.15	0.05
1	3	1	8.65	0.84 ~ 88.83	< 0.05

病例组 $P_1 = (17 \times 0 + 9 \times 0.25 + 7 \times 0.5 + 3 \times 1) / 36 = 0.3402$

对照组 $P_0 = (49 \times 0 + 21 \times 0.25 + 18 \times 0.5 + 1 \times 1) / 89 = 0.1713$

二者比值: $P_1 / P_0 = 1.99$, 说明后代是纯合突变概率越大, 发生 NTD 的风险性也越大。

3 讨论

近年来, 关于 *MTHFR* 与 NTD 关系的研究报道越来越多 [2-7]。以往研究显示: NTD 父母双方 *MTHFR* 纯合突变率都高于对照人群 [2,3]。本次研究对地区、分娩年龄等混杂因素进行了控制以后, 单独分析母亲和父亲的基因型, 结果显示均无显著性差异 ($P > 0.1$); 将父母双方合在一起分析, 发现 NTD 父母总的突变等位基因频率 (50.7%) 高于对照组 (41.9%) ($P < 0.1$); 提示在父母遗传给胎儿的等位基因中突变等位基因的频率可能高于正常胎儿。

父母基因型有六种可能的组合方式,由于 MTHFR 基因位于常染色体上,理论上认为,亲代将任何一条染色体上的等位基因传给子代的概率各为 50%,对子代个体来说,来自父亲和来自母亲的等位基因有同等意义。父母不同等位基因组合方式使后代可能是纯合突变的概率见表 4。

根据父母生育纯合突变胎儿的概率,分别计算

表 4 病基因型与后代纯合突变概率的关系

父母基因型	后代是纯合突变的概率
均正常	0
一方正常,一方杂合突变	0
一方正常,一方纯合突变	0
均为杂合突变	0.25
一方杂合突变,一方纯合突变	0.5
均为纯合突变	1

病例组和对照组父母可能生育的纯合突变胎儿占总胎儿数的比例,发现病例组为 34.02%,对照组为 17.13%,前者是后者的 2 倍 ($P < 0.05$)。这一结果提示:胎儿的纯合突变或突变等位基因才是决定 NTD 易感性的直接原因。胎儿的基因是来自于父母,而且已知 MTHFR 基因第 677 位核苷酸是一个高度保守的多态性位点^[1],不易受外界环境影响而发

生突变,所以,父母双方的基因对后代发生 NTD 的风险有同等重要的作用。可以认为,父母双方传递给胎儿的一对突变等位基因是 NTD 发生的遗传因素之一。

参 考 文 献:

- [1] Frosst P, Blom HJ, Milos R, *et al.* A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylene-tetrahydrofolate reductase[J]. *Nat Genet*, 1995, 10: 111 ~ 113.
- [2] Whitehead AS, Gallagher P, Mills JL, *et al.* A genetic defect in 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase in neural tube defects[J]. *Q J Med*, 1995, 88: 763 ~ 766.
- [3] van der Put NMJ, Steegers-Theunissen RPM, Frosst P, *et al.* Mutated methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for spina bifida[J]. *Lancet*, 1995, 346: 1070 ~ 1071.
- [4] de Franchis R, Sebastio G, Mandato C, *et al.* Spina Bifida, 677T > C mutation, and role of folate[J]. *Lancet*, 1995, 346: 1703.
- [5] Ou CY, Stevenson RF, Brown VK, *et al.* V677T homozygosity associated with thermolabile 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for neural tube defects [J]. *Am J Hum Genet*, 1995, 57(suppl): A223.
- [6] Posey DL, Khoury MJ, Mulinare J, *et al.* Is mutated MTHFR a risk factor for neural tube defects[J]. *Lancet*, 1996, 347: 338 ~ 339.
- [7] 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.