

DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2020.03.17

# 广东地区汉族育龄妇女 *MTHFR* 基因遗传多态性\*

何天文<sup>1,2</sup>, 黄演林<sup>1,2</sup>, 丁红珂<sup>1,2</sup>, 张彦<sup>1,2</sup>, 张艳霞<sup>1,2</sup>, 姚翠泽<sup>1,2</sup>, 杜丽<sup>1,2</sup>, 尹爱华<sup>1,2</sup> (1. 广东省妇幼保健院医学遗传中心, 广州 511442; 2. 广东省妇幼代谢与遗传病重点实验室, 广州 511442)

**摘要:** **目的** 调查并分析广东地区汉族育龄妇女 *MTHFR* 基因多态性分布情况。**方法** 选取 2016 年 1 月至 2018 年 7 月广东省妇幼保健院行婚检/孕检的育龄妇女 13 336 例, 采用 Taqman-MGB 法测定 *MTHFR* 基因 C677T、A1298C 位点的基因型, 并采用卡方检验比较本地人群与其他人群的基因型频率/等位基因频率的分布情况。**结果** *MTHFR* 基因 C667T 位点野生型(CC)、杂合突变型(CT)和纯合突变型(TT)分别占 51.5%、38.7% 和 9.8%, 突变 T 基因频率为 29.2%; *MTHFR* 基因 A1298C 位点中, 野生型(AA)、杂合突变型(AC)和纯合突变型(CC)分别占 59.3%、35.2% 和 5.5%, 突变 C 基因频率为 23.1%。广东地区汉族育龄妇女 *MTHFR* 基因 C677T、A1298C 位点基因型分布和等位基因频率分布与全国人群比较差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。广东地区汉族育龄妇女 *MTHFR* 基因 C677T、A1298C 位点的基因频率和等位基因频率与江苏、九江、齐齐哈尔和长沙等地区汉族育龄妇女人群相比差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。广东地区汉族育龄妇女 *MTHFR* 基因 C677T、A1298C 位点的等位基因频率与亚洲、东亚、南亚、欧洲、美洲地区人群等位基因频率的分布存在不同程度的差异。**结论** 广东地区人群 *MTHFR* 基因的多态性分布与其他地区相比存在明显的差异。

**关键词:** 育龄妇女; 亚甲基四氢叶酸还原酶; 基因多态性

中图分类号: R446

文献标志码: A

## Genetic polymorphism analysis of *MTHFR* gene in Han women of childbearing age in Guangdong province

HE Tianwen<sup>1,2</sup>, HUANG Yanlin<sup>1,2</sup>, DING Hongke<sup>1,2</sup>, ZHANG Yan<sup>1,2</sup>, ZHANG Yanxia<sup>1,2</sup>, YAO Cuize<sup>1,2</sup>, DU Li<sup>1,2</sup>, YIN Aihua<sup>1,2</sup> (1. Medical Genetics Center of Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou 511442, Guangdong; 2. Maternal and Children Metabolic-Genetic Key Laboratory of Guangdong, Guangzhou 511442, Guangdong, China)

**Abstract: Objective** To investigate the distribution of *MTHFR* gene polymorphism in Han women of childbearing age in Guangdong Province. **Methods** A total of 13 336 Han women of childbearing age from Guangdong Women and Children Hospital for premarital examination and pregnancy examination during January 2016 and July 2018 were enrolled in our study. The genotypes of C677T and A1298C loci in *MTHFR* gene were determined by the TaqMan-MGB method. The distributions of genotype frequency and allele frequency between the local population and other populations were compared by the Chi-square test. **Results** The frequencies of wild type (CC), heterozygous mutant (CT) and homozygous mutant (TT) at C667T locus of *MTHFR* gene accounted for 51.5%, 38.7% and 9.8%, respectively, and the frequency of mutant T gene was 29.2%. The frequencies of wild type (AA), heterozygous mutant (AC) and homozygous mutant (CC) at A1298C locus of *MTHFR* gene accounted for 59.3%, 35.2% and 5.5%, respectively, and the frequency of mutant C gene was 23.1%. The genotype distribution and allele frequency distribution at C677T and A1298C loci of *MTHFR* gene in Han women of childbearing age in Guangdong province were significantly different from those in Chinese population ( $P < 0.01$ ). The genotype frequency and allele frequency at C677T and A1298C loci of *MTHFR* gene in Han women of childbearing age in Guangdong were significantly different from those of women of childbearing age in Jiangsu, Jiujiang, Qiqihaer and Changsha ( $P < 0.05$ ). The allele frequencies at C677T and A1298C loci of *MTHFR* gene in Han women of childbearing age in Guangdong province were different from those in Asian, East Asian, South Asian, European and American populations. **Conclusion** The polymorphism distribution of *MTHFR* gene in Guangdong province is different from other areas obviously.

**Key words:** women of childbearing age; methylenetetrahydrofolate reductase; gene polymorphism

叶酸作为一种水溶性 B 族维生素, 在 DNA 合成、甲基化和基因表达等方面发挥重要作用, 是机体细胞生长和繁殖必需的物质。研究发现, 叶酸对孕妇尤其重要, 孕妇缺乏叶酸可增加胎儿患神经管发育缺陷、唐氏综合征、泌尿系统系统畸形、唇腭裂、肝

门闭锁、先天性心脏病等出生缺陷的风险<sup>[1-4]</sup>。叶酸被吸收入体内后在肝脏二氢叶酸还原酶作用下生成具有活性的四氢叶酸而发挥作用。人体叶酸缺乏主要由补充不足和利用障碍 2 个方面引起的, 其中, 叶酸代谢酶功能异常可导致叶酸利用障碍, 从而

\* 基金项目: 国家自然科学基金(8100025); 广东省科技计划项目(2017ZC0429)。

作者简介: 何天文, 1982 年生, 男, 副主任技师, 硕士, 从事分子遗传检测工作。

通信作者: 尹爱华, 主任医师, 博士, E-mail: yinaiwa@vip.126.com。

引起叶酸缺乏。亚甲基四氢叶酸还原酶(methylene tetrahydrofolic acid reductase, MTHFR)是叶酸代谢过程中的关键酶之一, MTHFR 基因多态性也成为近年来的研究热点之一。MTHFR 基因存在多个基因多态性位点, 其中 MTHFR 基因 C677T、A1298C 是最常见的突变位点, 可影响编码 MTHFR 蛋白的活性, 进而影响叶酸代谢和利用能力<sup>[5-6]</sup>。本研究旨在分析广东地区汉族育龄妇女 MTHFR 基因 C677T、A1298C 位点多态性分布情况, 以为广东地区汉族育龄妇女补充叶酸提供实验依据。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象** 选取 2016 年 1 月至 2018 年 7 月就诊于广东省妇幼保健院妇科、产科、生殖健康科和医学遗传中心且进行婚前检查、孕前检查、产前检查和不孕不育治疗的广东地区汉族育龄女性 13 336 例, 年龄(29.4±4.8)岁, 中位年龄 29.0 岁, 排除患有遗传疾病或其他机体异常者。

**1.2 主要仪器与试剂** MICROLAB STAR 全自动核酸提取工作站(瑞士 Hamilton 公司); 5430 台式离心机(德国 Eppendorf 公司); ViiA 7 Dx 荧光定量 PCR 仪(美国 Life Technologies 公司)。Magen 核酸提取试剂盒(广州美基生物公司); Premix Ex Taq(Probe qPCR)试剂(日本 TaKaRa 公司); MGB 探针(上海铂尚生物技术公司)。

### 1.3 方法

**1.3.1 标本采集** 于初次就诊时采集各研究对象外周静脉血 2 mL, 乙二胺四乙酸(EDTA-K<sub>2</sub>)抗凝, 样本置于 4~8 °C 保存, 1 周内完成检测。

**1.3.2 DNA 提取** 取 200 μL EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝外周血, 采用 MICROLAB STAR 全自动核酸提取工作站及 Magen 核酸提取试剂盒提取外周血基因组 DNA。均严格按照仪器及试剂盒说明书操作。样本置于 -20 °C 保存。

**1.3.3 基因多态性检测** 使用 Primer Premier 5.0 软件设计引物序列和探针序列, 并由北京六合华大基因科技公司合成, 以 FAM、HEX、ROX、CY5 荧光基团标记探针。MTHFR 1298 上游引物序列(F):

5'-CTCTTCTACCTGAAGAGCAAGTCC-3', 下游引物序列(R): 5'-CACTCCAGCATCACTCACTTTGT-3'; MTHFR 677 上游引物序列(F): 5'-CCGAAGCAGGGAGCTTTG-3', 下游引物序列(R): 5'-CGGTGCATGCCTTCACAA-3'。PCR 反应体系总体积为 20 μL, 包括 2×Premix Ex Taq(Probe qPCR) 10 μL, 4 条上、下游引物 2 μL(各 0.5 μL)、4 条探针 3.2 μL(各 0.8 μL)、双蒸水 3.3 μL 和 DNA 模板 2 μL。使用 ViiA 7 Dx 荧光定量 PCR 仪进行 PCR 反应。PCR 循环参数: 95 °C 预变性 3 min; 95 °C 变性 20 s, 58 °C 退火 20 s, 65 °C 延伸 45 s, 40 个循环, 每个循环延伸后采集荧光。采用 ViiA 7 Software v1.2.1 分析软件确定各个样本的 MTHFR 基因 C677T、A1298C 位点的基因型。

**1.4 统计学分析** 采用 IBM SPSS Statistics 20.0 软件进行数据分析。资料采用频数/构成比进行统计描述。用 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律检验该人群的分布, MTHFR 基因 C677T、A1298C 2 个位点分型频率及等位基因频率的组间比较采用卡方检验, 以 P<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 广东地区汉族育龄妇女人群 MTHFR 基因型频率和等位基因频率比较结果** 统计广东地区汉族育龄妇女 MTHFR 基因 C677T、A1298C 位点的基因型数据并进行 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验, 结果表明, MTHFR 基因 C677T、A1298C 位点均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡(P>0.05)。

此外, 广东地区汉族育龄妇女 MTHFR 基因 C677T 位点中, 野生型(CC)、杂合突变型(CT)和纯合突变型(TT)分别占 51.5%、38.7%和 9.8%, 突变 T 基因频率为 29.2%; MTHFR 基因 A1298C 位点中, 野生型(AA)、杂合突变型(AC)和纯合突变型(CC)分别占 59.3%、35.2%和 5.5%, 突变 T 基因频率为 23.1%。MTHFR 基因 C677T、A1298C 位点基因型分布和等位基因频率分布与全国人群以及江苏、九江、齐齐哈尔、长沙等地区报道的结果均存在一定的分布差异(P 均<0.05)。见表 1 和表 2。

表 1 广东地区与全国及其他地区 MTHFR 基因型频率比较[n(%)]

基因位点	基因型	广东	全国	江苏 <sup>[8]</sup>	九江 <sup>[9]</sup>	齐齐哈尔 <sup>[10]</sup>	长沙 <sup>[11]</sup>
MTHFR C667T	CC	6 862(51.5)	224(22.0) <sup>a</sup>	354(17.5) <sup>a</sup>	765(41.6) <sup>a</sup>	72(19.6) <sup>a</sup>	666(42.0) <sup>a</sup>
	CT	5 166(38.7)	509(50.0)	951(47.1)	835(45.4)	199(54.2)	704(44.4)
	TT	1 308(9.8)	285(28.0)	716(35.4)	239(13.0)	96(26.2)	216(13.6)
MTHFR A1298C	AA	7 913(59.3)	671(66.0) <sup>a</sup>	1 492(73.8) <sup>a</sup>	1 202(65.4) <sup>a</sup>	259(70.6) <sup>a</sup>	1 050(66.2) <sup>a</sup>
	AC	4 689(35.2)	315(31.0)	489(24.2)	569(30.9)	95(25.9)	490(30.9)
	CC	734(5.5)	31(3.0)	40(2.0)	68(3.7)	13(3.5)	46(2.9)

注: a, 与广东地区比较, P<0.05。

表 2 广东地区与全国及其他地区 *MTHFR* 基因 C677T、A1298C 位点等位基因频率比较[*n*(%) ]

基因位点	等位基因	广东	全国	江苏 <sup>[8]</sup>	九江 <sup>[9]</sup>	齐齐哈尔 <sup>[10]</sup>	长沙 <sup>[11]</sup>
<i>MTHFR</i> C667T	C	18 890(70.8)	478(47.0) <sup>a</sup>	1 659(59.0) <sup>a</sup>	2 365(64.3) <sup>a</sup>	343(46.7) <sup>a</sup>	2 036(64.2) <sup>a</sup>
	T	7 782(29.2)	539(53.0)	2 383(41.0)	1 313(35.7)	391(53.3)	1 136(35.8)
<i>MTHFR</i> A1298C	A	20 515(76.9)	829(81.5) <sup>a</sup>	3 473(85.9) <sup>a</sup>	2 236(60.8) <sup>a</sup>	613(83.5) <sup>a</sup>	2 590(81.7) <sup>a</sup>
	C	6 157(23.1)	188(18.5)	569(14.1)	1 442(19.2)	121(16.5)	582(18.3)

注:a,与广东地区比较, $P<0.05$ 。

**2.2 千人基因组数据库中不同人群等位基因频率比较** 经千人基因组数据库(<https://www.internationalgenome.org/>)查询发现,本研究中广东地区汉族育龄妇女 *MTHFR* 基因 C677T、A1298C 位点的等

位基因频率与非洲、欧洲、南亚和美洲地区人群等位基因频率的分布存在不同程度的差异( $P<0.05$ ),而与东亚人群等位基因频率的分布差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 3。

表 3 与千人基因组数据库中不同人群等位基因频率比较[*n*(%) ]

基因位点	等位基因	广东( <i>n</i> =13 336)	非洲( <i>n</i> =1 322)	东亚( <i>n</i> =1 008)	欧洲( <i>n</i> =1 006)	南亚( <i>n</i> =978)	美洲( <i>n</i> =694)
<i>MTHFR</i> C667T	C	70.8	91.0 <sup>a</sup>	70.4	63.5 <sup>a</sup>	88.0 <sup>a</sup>	53.0 <sup>a</sup>
	T	29.2	9.0	29.6	36.5	12.0	47.0
<i>MTHFR</i> A1298C	A	76.9	84.9 <sup>a</sup>	78.1	68.7 <sup>a</sup>	58.0 <sup>a</sup>	85.0 <sup>a</sup>
	C	23.1	15.1	21.9	31.3	42.0	15.0

注:a,与广东地区比较, $P<0.05$ 。

### 3 讨论

*MTHFR* 是叶酸-甲硫氨酸代谢途径中的关键酶之一,可将 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。*MTHFR* 基因存在多种基因多态性位点,其中 C677T、A1298C 是最常见的突变位点,可影响编码的 *MTHFR* 蛋白的活性,进而影响叶酸代谢和利用能力<sup>[12]</sup>。本研究采集广东地区汉族育龄女性 13 336 例样本,发现 *MTHFR* 基因 C677T 位点中杂合突变型(CT)和纯合突变型(TT)分别占 38.7%和 9.8%,突变 T 基因频率为 29.2%,结果较贺宪民等<sup>[7]</sup>报道的中国人人群相比均降低;*MTHFR* 基因 A1298C 位点中杂合突变型(AC)和纯合突变型(CC)分别占 35.2%和 5.5%,突变 T 基因频率为 23.1%,比贺宪民等<sup>[7]</sup>报道的中国人人群均升高。*MTHFR* 基因 C677T、A1298C 位点基因型分布和等位基因频率分布与贺宪民等<sup>[7]</sup>报道的中国人人群比较差异均有统计学意义。而孟宏霞等<sup>[14]</sup>报道在广东省江门地区 *MTHFR* 基因 C677T 位点基因型分布和等位基因频率与贺宪民等<sup>[7]</sup>报道的中国人人群比较情况相一致,但是其报道的 *MTHFR* 基因 A1298C 位点基因型分布和等位基因频率分布与贺宪民等<sup>[7]</sup>中国人人群比较结果不一致,分析原因可能与选择的地区人群和样本量有关。

广东地区汉族育龄妇女 *MTHFR* 基因 C677T、A1298C 位点的基因型和等位基因数据与我国其他已经报道的地区汉族育龄妇女比较发现,广东地区汉族育龄妇女 *MTHFR* 基因 C677T、A1298C 位点的

基因频率和等位基因频率与江苏<sup>[8]</sup>、九江<sup>[9]</sup>、齐齐哈尔<sup>[10]</sup>和长沙<sup>[11]</sup>等地区汉族育龄妇女人群相比存在一定的差异。广东地区汉族育龄妇女 *MTHFR* 基因 C677T 位点的纯合突变型(TT)频率和突变 T 基因频率比江苏<sup>[8]</sup>、九江<sup>[9]</sup>、齐齐哈尔<sup>[10]</sup>和长沙<sup>[11]</sup>等地区汉族育龄妇女人群均降低。广东地区育龄妇女 *MTHFR* 基因 A1298C 位点的纯合突变型(CC)频率和突变 C 基因频率与江苏<sup>[8]</sup>、九江<sup>[9]</sup>、齐齐哈尔<sup>[10]</sup>和长沙<sup>[11]</sup>等地区汉族育龄妇女人群相比均升高。本研究和其他研究结果均表明,*MTHFR* C677T、A1298C 位点的多态性分布存在地区差异<sup>[14-18]</sup>。这种地区差异可能与选择的地区人群和样本量有关。广东地区的人群主要以汉族人群为主,与其他民族人群可能存在一定的遗传异质性;此外,南方人群和北方人群由于长期生活的环境不同,也可能存在一定的遗传差异;本次研究纳入的样本量与其他研究的样本量存在较大的差异,也可能是引起分析结果不一致的一个辅助性因素。另外,通过对千人基因组数据库查询发现,本研究中广东地区汉族育龄妇女 *MTHFR* 基因 C677T、A1298C 位点的等位基因频率与非洲、欧洲、南亚和美洲地区人群等位基因频率的分布存在不同程度的差异,与东亚人群等位基因频率的分布差异无统计学意义。综上所述,本研究分析了广东地区汉族育龄妇女 *MTHFR* 基因 C677T、A1298C 位点多态性分布情况,为广东地区汉族育龄妇女补充叶酸提供了科学依据。

#### 4 参考文献

- [1] 罗丽, 陈岳明, 王贤军. 叶酸代谢基因多态性与出生缺陷的关系[J]. 国际妇产科学杂志, 2015, 42(4): 421-424.
- [2] Lifeng Y, Lin Z, Yan L, et al. Association of the maternal *MTHFR* C677T polymorphism with susceptibility to neural tube defects in offspring: evidence from 25 case-control studies [J]. PLoS One, 2012, 7(10): e41689.
- [3] 张仪, 有凤芝, 秦奇, 等. *MTHFR* 基因多态性及叶酸摄入量与不良孕产史关系的研究[J]. 医药论坛杂志, 2017, 38(1): 66-69.
- [4] 覃柳燕, 庞丽红. 叶酸代谢基因与不良妊娠结局的相关性研究进展[J]. 微创医学, 2018, 13(2): 190-192.
- [5] 李丹丹, 叶阿里, 甘勇, 等. 北京地区汉族人群 *MTHFR* C677T 基因多态性分析[J]. 临床检验杂志, 2019, 37(2): 156-160.
- [6] van Rooij IA, Vermeij-Keers C, Kluijtmans LA. Does the interaction between maternal folate intake and the methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms affect the risk of cleft lip with or without cleft palate? [J]. Am J Epidemiol, 2003, 157(7): 583-591.
- [7] 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.
- [8] 陈新, 张翠军. 江苏地区汉族育龄女性叶酸代谢酶基因多态性分析[J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(7): 1527-1530.
- [9] 方园, 鲁衍强, 薛琰, 等. 九江市汉族女性 *MTHFR*, *MTRR* 基因型和等位基因频率分布与其他地区汉族女性的比较[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(11): 1732-1735.
- [10] 李晓宏, 鲁衍强, 李瑛, 等. 齐齐哈尔市汉族女性叶酸代谢通路关键酶 *MTHFR* 基因多态性的分布情况[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(11): 2341-2343.
- [11] 吴丹, 鲁衍强, 薛琰, 等. 长沙县汉族女性 *MTHFR*, *MTRR* 基因型及其等位基因频率分布与其他地区汉族女性的比较[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(9): 1907-1910.
- [12] 朱娟娟, 唐吉斌. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性分析的临床应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2018, 10(6): 361-366.
- [13] 孟宏霞, 鲁衍强, 付敏, 等. 江门地区育龄妇女叶酸代谢障碍相关基因遗传多态性的调查分析[J]. 中国妇幼卫生杂志, 2018, 9(3): 42-45.
- [14] Mao X, Han L. The Relationship of methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism and ischemic stroke in Chinese Han population[J]. Ann Clin Lab Sci, 2018, 48(2): 242-247.
- [15] 易春华, 鲁衍强, 付敏, 等. 慈利县土家族与汉族女性 *MTHFR*, *MTRR* 的位点分布研究及与其他地区少数民族女性的比较[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(23): 5093-5096.
- [16] 罗世强, 邱萍, 严提珍, 等. 广西柳州地区苗族女性 *MTRR* 和 *MTHFR* 基因多态性分布研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2015, 23(9): 20-23.
- [17] 谢正媛, 袁彦玲, 陈涓涓, 等. 云南阿昌族、景颇族、傣族育龄妇女叶酸代谢相关基因遗传多态的比较研究[J]. 云南大学学报(自然科学版), 2017, 39(1): 155-164.
- [18] 符春翠, 鲁衍强, 李瑛, 等. 张家界市土家族与汉族女性 *MTHFR*, *MTRR* 基因型和等位基因频率分布研究及与其他地区比较[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(9): 1898-1901.

(收稿日期: 2019-11-03)

(本文编辑: 许晓蒙)