

贵州省荔波县汉族和布依族女性 *MTHFR* 与 *MTRR* 多态性的分布

覃意往¹, 莫梅香¹, 张龙炯¹, 罗银亚¹, 韦良银¹, 胡季芳², 鲁衍强^{2*}

(1. 荔波县人民医院 妇产科, 贵州 黔南布依族苗族自治州 558400; 2. 上海张江普汇转化医学研究院 项目办公室, 上海 201314)

摘要:目的 针对贵州省荔波县汉族和布依族女性开展分子流行病学调查,研究叶酸代谢关键酶亚甲基四氢叶酸还原酶(*MTHFR*)和甲硫氨酸合成酶还原酶(*MTRR*)的基因多态性分布。方法 以在荔波县人民医院进行围孕期保健的1342名健康女性为研究对象,其中汉族236人、布依族1106人。采集口腔黏膜上皮脱落细胞,抽提基因组DNA,使用荧光定量PCR检测*MTHFR* C677T、A1298C和*MTRR* A66G基因多态性,进行统计分析。结果 1)入组对象的基因多态性分布符合遗传平衡。2)汉族女性*MTHFR* 677CC、CT和TT的基因型频率分别为49.6%、39.8%和10.6%,布依族女性为61.8%、33.7%和4.4%;汉族女性*MTHFR* 1298AA、AC和CC的基因型频率分别为62.3%、33.1%和4.7%,布依族女性为47.4%、42.9%和9.7%,两位点均有差异($P<0.05$)。汉族女性*MTRR* 66AA、AG和GG的基因型频率分别为56.4%、37.4%和5.9%,布依族女性为57.0%、36.0%和7.1%,差异无统计学意义。3)汉族和布依族女性*MTHFR* C677T与A1298C两位点连锁均有6种组合,没有CT/CC、TT/AC和TT/CC。汉族女性频率最高的是CT/AA,布依族女性频率最高的是CC/AC。两个位点构建的单倍型存在CA、TA和CC3种组合,两位点间存在完全连锁不平衡。结论 获取荔波县汉族和布依族女性*MTHFR*与*MTRR*多态性的群体遗传学特征,为指导科学增补叶酸营养、实施个性化孕期保健提供依据。

关键词: 基因多态性;亚甲基四氢叶酸还原酶(*MTHFR*);甲硫氨酸合成酶还原酶(*MTRR*)

中图分类号:Q751 文献标志码:A

Distribution of *MTHFR* and *MTRR* polymorphisms in Han and Buyi women at Libo county of Guizhou province

QIN Yi-wang¹, MO Mei-xiang¹, ZHANG Long-jiong¹, LUO Yin-ya¹, WEI Liang-yin¹,
HU Ji-fang², LU Yan-qiang^{2*}

(1. Department of Obstetrics and Gynaecology, People's Hospital of Libo County, Qiannan Buyi and Miao Autonomous Prefecture 558400;
2. Project Office, Shanghai Zhangjiang Puhui Institute of Translational Medicine, Shanghai 201314, China)

Abstract: Objective To conduct molecular epidemiological investigations on Han and Buyi women at Libo county of Guizhou province aiming for the identification of genetic polymorphisms coding the key enzymes for folate metabolism *MTHFR* and *MTRR*. **Methods** A total of 1342 healthy women who received perinatal health care at the People's Hospital of Libo county were recruited, including 236 Han people and 1106 Buyi people. Oral mucosal epithelial exfoliated cells were collected for genomic DNA extraction, *MTHFR* C677T, A1298C, and *MTRR* A66G gene polymorphisms were examined with quantitative PCR for statistical analysis. **Results** 1) The genetic polymorphism distribution of the subjects was in line with genetic balance. 2) The genotype frequency of *MTHFR* 677CC, CT, and TT of Han women was 49.6%, 39.8%, and 10.6% respectively, and that

收稿日期:2020-3-11 修回日期:2021-03-02

基金项目:中国疾病预防控制中心妇幼保健中心妇幼保健分子遗传医学研究专项计划(FY-ZX-ZD-0368)

* 通信作者(corresponding author): luyanqiang@genechina.com

of Buyi women were 61.8%, 33.7% and 4.4%. The frequencies were 62.3%, 33.1%, 4.7%, and Buyi females were 47.4%, 42.9%, and 9.7%, both points are significantly different ($P<0.05$). The genotype frequencies of *MTRR* 66AA, AG, and GG of Han women were 56.4%, 37.4%, and 5.9%, respectively, and that of Buyi women were 57.0%, 36.0%, and 7.1%, with no difference. 3) Han and Buyi women *MTHFR* C677T and A1298C had 6 combinations of two-point linkage without CT/CC, TT/AC and TT/CC. The highest frequency of Han women was CT/AA, and the highest frequency of Buyi women was CC/AC. The haplotype constructed by the two loci had three combinations of CA, TA, and CC, and there was a complete linkage disequilibrium between the two loci. **Conclusions** The genetic characterization of *MTHFR* and *MTRR* polymorphisms in Han and Buyi women at Libo county provides a basis for guiding folic acid supplementation and implementation of personalized pregnancy health care.

Key words: gene polymorphism; methylenetetrahydrofolate reductase(*MTHFR*) ; methionine synthase reductase(*MTRR*)

叶酸是人体重要的营养素,叶酸摄入不足或代谢障碍会造成体内同型半胱氨酸升高和甲基化降低。孕期叶酸营养不足会导致神经管畸形^[1]、先天性心脏病^[2]、唐氏综合征^[3]、唇腭裂^[4]等出生缺陷,并与流产^[5]、早产^[6]等不良妊娠结局以及妊娠期糖尿病^[7]、妊娠期高血压^[8]等疾病密切相关。5, 10-亚甲基四氢叶酸还原酶 (methylenetetrahydrofolate reductase, *MTHFR*) 和甲硫氨酸合成酶还原酶 (methionine synthase reductase, *MTRR*) 是叶酸代谢通路中的关键酶,基因多态性决定了不同的酶活性以及叶酸利用能力。本研究针对荔波县汉族和布依族女性开展分子流行病学调查,研究 *MTHFR* C677T、A1298C 和 *MTRR* A66G 的基因多态性分布,获取本地区的群体遗传学特征。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2017 年 7 月至 2020 年 1 月在荔波县人民医院进行围孕期保健的育龄健康女性,依据知情同意原则采集口腔黏膜细胞。本研究已获得中国医学

科学院生命伦理研究中心批准。入组对象共 1 342 人,其中汉族 236 人,布依族 1 106 人。

1.2 检测方法

利用硅胶吸附法提取口腔黏膜细胞样本的基因组 DNA。采用荧光定量 PCR 技术,检测 *MTHFR* C677T、A1298C 和 *MTRR* A66G 基因多态性。相关仪器、试剂 (ABI 公司)。

1.3 统计学分析

采用 HaploView4.2 软件进行单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 的 Hardy-Weinberg 平衡、连锁不平衡水平 (linkage disequilibrium, LD) 分析。SPSS19.0 软件分析基因型和等位基因频率。

2 结果

2.1 Hardy-Weinberg 平衡分析

入组对象的 *MTHFR* C677T、A1298C 和 *MTRR* A66G 基因多态性分布符合遗传平衡 (表 1)。说明数据来自同一孟德尔群体,样本具有群体代表性。

表 1 Hardy-Weinberg 平衡分析
Table 1 Hardy-Weinberg equilibrium analysis (n)

nation		<i>MTHFR</i> C677T			<i>MTHFR</i> A1298C			<i>MTRR</i> A66G		
		CC	CT	TT	AA	AC	CC	AA	AG	GG
Han	actual frequency	117	94	25	147	78	11	133	89	14
	estimated frequency	114	100	22	147	79	11	134	88	15
Buyi	actual frequency	684	373	49	524	475	107	630	398	78
	estimated frequency	685	371	50	524	474	107	621	415	69

2.2 基因型频率分析

与汉族女性相比,布依族女性 *MTHFR* C677T、A1298C 的基因型频率有差异 ($P<0.05$), *MTRR* A66G 的基因型频率差异无统计学意义(表2)。

2.3 等位基因频率分析

与汉族女性相比,布依族女性 *MTHFR* C677T、A1298C 的等位基因频率有差异 ($P<0.05$), *MTRR*

A66G 等位基因频率差异无统计学意义(表3)。

2.4 *MTHFR* C677T 和 A1298C 连锁及单倍型分析

MTHFR C677T 和 A1298C 两位点连锁情况(表4,5)。汉族和布依族女性均有 6 种组合,没有 CT/CC、TT/AC 和 TT/CC。汉族女性频率最高的是 CT/AA,布依族女性频率最高的是 CC/AC。

表 2 汉族、布依族女性 *MTHFR* C677T、A1298C 和 *MTRR* A66G 基因型频率
Table 2 *MTHFR* C677T, A1298C, and *MTRR* A66G genotype frequencies of Han and Buyi women[*n*(%)]

nation	<i>MTHFR</i> C677T			<i>MTHFR</i> A1298C			<i>MTRR</i> A66G		
	CC	CT	TT	AA	AC	CC	AA	AG	GG
Han	117(49.6)	94(39.8)	25(10.6)	147(62.3)	78(33.1)	11(4.7)	133(56.4)	89(37.7)	14(5.9)
Buyi	684(61.8)	373(33.7)	49(4.4)	524(47.4)	475(42.9)	107(9.7)	630(57.0)	398(36.0)	78(7.1)

表 3 汉族、布依族女性 *MTHFR* C677T、A1298C 和 *MTRR* A66G 等位基因频率
Table 3 Allele frequencies of *MTHFR* C677T, A1298C, and *MTRR* A66G for Han and Buyi women [*n*(%)]

nation	<i>MTHFR</i> C677T		<i>MTHFR</i> A1298C		<i>MTRR</i> A66G	
	C	T	A	C	A	G
Han	328(69.5)	144(30.5)	372(78.8)	100(21.2)	355(75.2)	117(24.8)
Buyi	1 741(78.7)	471(21.3)	1 523(68.9)	689(31.1)	1 658(75.0)	554(25.0)

表 4 汉族女性 *MTHFR* C677T 和 A1298C 连锁型分布
Table 4 Han women's *MTHFR* C677T and A1298C linkage distributions(*n*, %)

<i>MTHFR</i> C677T	<i>MTHFR</i> A1298C		
	AA	AC	CC
CC	57(24.2)	49(20.8)	11(4.7)
CT	65(27.5)	29(12.3)	0(0)
TT	25(10.6)	0(0)	0(0)

表 5 布依族女性 *MTHFR* C677T 和 A1298C 连锁型分布
Table 5 *MTHFR* C677T and A1298C-linked distributions of Buyi women

<i>MTHFR</i> C677T	<i>MTHFR</i> A1298C		
	AA	AC	CC
CC	257(23.2)	320(28.9)	107(9.7)
CT	218(19.7)	155(14.0)	0(0)
TT	49(4.43)	0(0)	0(0)

汉族和布依族女性 *MTHFR* C677T 和 A1298C 两个位点构建的单倍型均存在 3 种组合:CA、TA、CC,两位点间存在完全连锁不平衡(表6)。

表 6 汉族、布依族女性 *MTHFR* C677T 和 A1298C 的单倍型分布频率

Table 6 Haplotype distribution frequencies of <i>MTHFR</i> C677T and A1298C for Han and Buyi women(%)		
haplotype	Han	Buyi
CA	48.3	47.6
TA	30.5	21.3
CC	21.2	31.1
<i>D'</i> value	1.0	1.0
LOD	9.53	41.7
<i>r</i> ² value	0.118	0.122

3 讨论

THFR 和 *MTRR* 的基因多态性分布具有地域和民族差异^[9]。近年来该领域的报道大多为汉族人群。中国布依族总人口有 287 万余人,97%分布在贵州省。荔波县隶属黔南布依族苗族自治州,布依族占全县人口的 65%。本研究显示,荔波县布依族

女性 *MTHFR* 677TT 基因型频率 (4.4%) 低于汉族女性 (10.6%), *MTHFR* 1298CC 基因型频率 (9.7%) 高于汉族女性 (4.7%), *MTRR* 66GG 基因型频率 (7.1%) 高于汉族女性 (5.9%)。荔波县汉族女性风险基因型 *MTHFR* 677TT 的频率为 10.6%, 677T 等位基因频率为 30.5%, 均高于已有报道的广东佛山市^[10] (5.6%, 21.5%)、广西南宁市 (7.7%, 24.2%)^[11], 低于河北廊坊市^[12] (37.8%, 60.9%)、河南新乡市^[13] (38.9%, 62.0%)、山东淄博市^[14] (43.6%, 65.6%) 等地, 这些研究调查有助于了解机体对叶酸的利用能力, 制定个性化的营养干预方案,

对于 *MTHFR* 677TT 的围孕期女性, 更应酌情增加叶酸补充剂量或延长孕前增补时间, 以避免胎儿出生缺陷以及孕产妇妊娠期并发症的发生。

通过调查各地区汉族及少数民族叶酸代谢关键酶的基因多态性分布, 可以为基于群体遗传特征的出生缺陷病因学研究和临床干预研究提供依据, 指导科学增补叶酸营养, 实施个性化保健。优化少数民族地区妇幼保健服务模式, 提高民族地区的百姓健康水平, 不仅是全面实现千年发展目标, 也是维护民族团结、建设和谐社会的要求^[15]。

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: 1-4.
- [2] 王淑媛, 黄京希, 王静, 等. *MTHFR*、*MTRR* 基因多态性及 Hcy 水平与胎儿先天性心脏病的相关性[J]. 中国妇幼保健, 2019, 33: 2521-2524.
- [3] Jiajin L, Shuyan C, Ying W, et al. Genetic polymorphisms in folate metabolism as risk for down syndrome in the southern China[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2018, 17:1-6.
- [4] 王维, 罗雅丽, 程郁离, 等. 中国汉族人群 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与非综合征性唇腭裂关系的 Meta 分析[J]. 中国妇幼保健, 2016, 2: 672-674.
- [5] 蒋武, 鲁衍强, 李瑛, 等. 南宁市汉族女性不明原因复发性流产与 *MTHFR* 基因 C677T 位点多态性相关性研究[J]. 广西医科大学学报, 2017, 34: 1728-1730.
- [6] 王瑞, 吴淑贞, 陈娟, 等. 叶酸代谢基因多态性及血浆同型半胱氨酸水平与新生儿早产、出生体重的关系[J]. 中国当代医药, 2019, 26: 4-7.
- [7] 程立子, 王冬娥, 叶贵诚, 等. 同型半胱氨酸及 C677T 基因多态性与妊娠期糖尿病关系分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37: 736-737.
- [8] 高永海, 邸文治, 张瀚文, 等. 沧州地区 *MTHFR* 基因多态性与妊娠期高血压相关性的研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2019, 26: 28-29.
- [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: 15-16.
- [10] 郭晓玲, 鲁衍强, 杨兴坤, 等. 佛山市汉族人群叶酸代谢通路关键酶基因 *MTHFR* C677T 多态性分布特征调查[J]. 实用预防医学, 2019, 26: 290-292.
- [11] 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, 23:18-19.
- [12] 顾小红, 鲁衍强, 路广平, 等. 河北省廊坊市区汉族女性 *MTHFR* 及 *MTRR* 基因多态性调查[J]. 中国妇幼保健, 2018, 33: 4221-4223.
- [13] 卢光荣, 鲁衍强, 马少杰, 等. 新乡市汉族孕龄女性 *MTHFR* 与 *MTRR* 基因多态性研究[J]. 河南医学研究, 2014, 23: 7-10.
- [14] 从玉英, 鲁衍强, 芮欣忆, 等. 淄博市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]. 现代妇产科进展, 2012, 21: 779-781.
- [15] 温春梅. 中国少数民族地区妇幼保健服务提供模式研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2011:1-3.