

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.15.021

佛山地区不良妊娠结局与 MTHFR 基因 C677T 位点多态性相关性研究

杨 康,周少雄,欧阳佩雯,庄锡伟,彭健桥

佛山复星禅诚医院检验病理诊断部,广东佛山 528000

摘要:目的 研究佛山地区不良妊娠结局患者与正常妊娠女性亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因 C677T 位点分布情况,探讨佛山地区不良妊娠结局与 MTHFR 基因 C677T 位点多态性的关系。方法 选取 2019 年 6 月至 2021 年 5 月该院不良妊娠结局患者(病例组)454 例和同期正常妊娠女性(对照组)265 例,应用荧光原位杂交法对两组的 MTHFR C677T 基因位点进行检测,分析检测结果在病例组与对照组中的差异及 MTHFR C677T 基因型发生不良妊娠结局的情况。结果 病例组中野生型(CC 型)255 例(56.18%)、突变杂合型(CT 型)147 例(32.37%)、突变纯合型(TT 型)52 例(11.45%),突变 T 基因频率 27.64%;对照组中 CC 型 166 例(62.64%)、CT 型 89(33.58%)、TT 型 10 例(3.77%),突变基因 T 基因频率 20.60%。两组女性基因型频率及等位基因频率比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。TT 型女性发生不良妊娠结局的风险为 CC 型女性的 3.385 倍($P<0.05$)。结论 佛山地区不良妊娠结局患者与正常妊娠女性 MTHFR C677T 基因型频率及等位基因频率存在差异,MTHFR C677T 基因多态性与女性妊娠发生不良结局有一定关系。

关键词:不良妊娠; MTHFR C677T 基因; 多态性**中图分类号:**R715.5**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2022)15-2105-03

Correlation between adverse pregnancy outcomes and MTHFR gene

C677T polymorphism in Foshan area

YANG Kang, ZHOU Shaoxiong, OUYANG Peiwen, ZHUANG Xiwei, PENG Jianqiao

Department of Laboratory Pathology and Diagnosis, Foshan Fuxing Chancheng Hospital,

Foshan, Guangzhou 528000, China

Abstract: **Objective** To study the distribution of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene C677T locus between patients with adverse pregnancy outcome in Foshan area and normal pregnant women, and to explore the relationship between adverse pregnancy outcome and the polymorphism of MTHFR gene C677T locus in Foshan area. **Methods** Totally 454 patients with adverse pregnancy outcomes in the hospital (case group) and 265 normal pregnant women (control group) From June 2019 to May 2021 were selected. Fluorescence in situ hybridization was used to analyze the MTHFR C677T locus of the two groups. The difference of test results between the case group and the control group and the adverse pregnancy outcome of MTHFR C677T genotype were analyzed. **Results** In the case group, there were 255 cases (56.18%) of CC type, 147 (32.37%) of CT type, 52 cases of TT type (11.45%), and the frequency of mutant T gene was 27.64%. In the control group, there were 166 cases of CC type (62.64%) and 89 cases of CT type (33.58%), 10 cases of TT type (3.77%), and the frequency of the mutant gene T gene was 20.60%. There were significant differences in genotype frequency and allele frequency between the two groups ($P<0.05$). The risk of adverse pregnancy outcomes in TT type women was 3.385 times higher than that in CC type women ($P<0.05$). **Conclusion** There are differences in the distribution of MTHFR C677T genotypes and allele frequencies between patients with adverse pregnancy outcomes and normal pregnant women in Foshan area. MTHFR C677T gene polymorphism is associated with adverse pregnancy outcomes in women.

Key words: adverse pregnancy outcomes; MTHFR C677T gene; polymorphism

不良妊娠结局指除正常妊娠以外的病理妊娠及分娩期并发症,包括胚胎停育、早产、足月低质量新生儿、出生缺陷、自然流产、死胎等,其发生给患者带来巨大的心理及经济负担,已成为严重的社会公共卫生问题之一^[1-3]。造成不良妊娠结局的病因迄今尚不明确,多数研究者认为其与遗传因素及环境因素有

关^[4-5]。伴随分子生物学飞速发展,近几年遗传因素的研究成为热点之一,尤以亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因 C677T 位点多态性与不良妊娠结局的关系研究最为突出。但目前国内外研究表明,MTHFR 基因 C677T 位点多态性存在人群和地区差异^[6-8],且鲜见佛山地区的相关研究报道。本研究通

过了解佛山地区不良妊娠结局女性和正常妊娠女性的 MTHFR C677T 基因型及基因频率,探讨佛山地区不良妊娠结局与 MTHFR 基因 C677T 位点多态性的关系,为临床医生预防不良妊娠及不良妊娠结局患者的治疗提供科学依据,以期减少不良妊娠结局的发生。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性收集 2019 年 6 月至 2021 年 5 月于本院行 MTHFR C677T 基因多态性检测的不良妊娠结局女性(病例组)454 例和同期正常妊娠女性(对照组)265 例。纳入的研究对象均为汉族,籍贯为本市且无血缘关系,本研究获得了研究对象知情同意,且符合医学伦理程序。病例组年龄 19~47 岁,平均(29.3±5.1)岁;包括不明原因复发性流产、稽留流产、自然流产、胚胎停育、不良孕产史患者。对照组年龄 19~56 岁,平均(30.8±5.0)岁;纳入标准为无不良生育史且至少一次正常生育史,无家族性遗传病史,生殖系统正常。两组女性的年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 XO-01 漩涡振荡器(北京泰普联合科技开发有限公司),5424R 型高速离心机(德国 Eppendorf 公司),TL988 型荧光定量 PCR 仪(西安天隆科技有限公司)。地高辛染色液、样本萃取液、细胞保存液(济南广音医疗科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 MTHFR C677T 基因多态性检测 采集研究对象外周血 2 mL 于乙二胺四乙酸二钾抗凝剂保存,提取白细胞。应用荧光染色原位杂交技术测定白细胞中 MTHFR C677T 基因位点。经过 95 ℃变性解链 10 min,60 ℃恒温特异性杂交并实现非酶级联荧光信号放大 90 min。经双通道荧光定量 PCR 仪进行测定结果,MTHFR C677T 基因多态性测定结果共计 3 种,分别为野生型(CC 型)、突变杂合型(CT 型)、突变纯合型(TT 型),其中 CT 型和 TT 型合称突变型。

1.3.2 观察指标 通过检测研究对象的 MTHFR C677T 基因多态性,分析病例组与对照组 MTHFR C677T 基因型和基因频率的分布差异,各基因型发生不良妊娠结局的差异并作统计分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS26.0 统计学软件进行数据处理及统计分析。使用 χ^2 检验分析基因型频率是否符合 Hardy-Weinberg(HWE)遗传平衡定律,以 $P>0.05$ 为符合。计数资料采用频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 95% 置信区间(CI)计算优势比(OR)评估基因型与不良妊娠之间的关系。检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ (双侧)为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HWE 遗传平衡定律检验 使用 χ^2 检验对对照组女性 MTHFR C677T 基因型频率进行 HWE 平衡检验,基因型分布符合 HWE 检验平衡($\chi^2=0.20$,

$P>0.05$),说明入组的佛山地区正常妊娠女性具有区域群体代表性。

2.2 MTHFR C677T 基因型和等位基因频率在病例组和对照组分布差异 病例组 CC 型 255 例(56.18%)、CT 型 147 例(32.37%)、TT 型 52 例(11.45%)、CT+TT 型 199 例(41.4%),C 等位基因频率 72.35%、T 等位基因频率 27.64%。对照组 CC 型 166 例(62.64%)、CT 型 89 例(33.58%)、TT 型 10 例(3.77%)、CT+TT 型 99 例(37.35%),C 等位基因频率 79.4%、T 等位基因频率 20.60%。两组基因型频率和等位基因频率比较差异有统计学意义($\chi^2=12.72,8.93,P<0.05$)。两组 CC 型频率比较差异无统计学意义($\chi^2=0.19,P=0.665$),两组 CT 型频率比较差异无统计学意义($\chi^2=1.58,P=0.424$),两组 TT 型频率比较差异有统计学意义($\chi^2=10.31,P<0.05$)。两组女性等位基因频率比较,差异有统计学意义($\chi^2=8.93,P<0.05$)。见表 1。

表 1 不良妊娠结局女性与正常妊娠女性 MTHFR C677T 基因型、等位基因频率比较[n(%)]

组别	n	基因型频率			等位基因频率	
		CC	CT	TT	C	T
病例组	454	255(56.16)	147(32.37)	52(11.45)	657(72.35)	251(27.64)
对照组	265	166(62.64)	89(33.58)	10(3.77) ^a	421(79.4)	109(20.60)
χ^2			12.72			8.93
P			0.002			0.003

注:与病例组同一基因型比较,^a $P<0.05$ 。

2.3 MTHFR C677T 各基因型发生不良妊娠结局情况比较 以入组所有研究对象中 MTHFR 677 CC 型女性发生不良妊娠结局的风险为对照(设定数值为 1.000),结果显示,CT 型女性发生不良妊娠结局的风险与 CC 型女性比较差异无统计学意义($\chi^2=0.19,P=0.665$);TT 型女性发生不良妊娠结局的风险为 CC 型女性的 3.385 倍(95%CI:1.674~6.847, $\chi^2=12.67,P<0.01$);(CT+TT)型女性发生不良妊娠结局的风险与 CC 型女性比较差异无统计学意义($\chi^2=2.89,P=0.089$)。

3 讨 论

不良妊娠结局的发生率在临床呈逐年递增趋势,其发生与母体遗传因素的关系已成为当前研究热点^[9]。MTHFR 基因编码的 MTHFR 是叶酸代谢通路中的关键酶,酶活性的下降会降低体内叶酸的利用率,并引起血液同型半胱氨酸水平的升高,从而影响机体纤溶系统和凝血系统,使机体血液处于高凝状态,进一步升高胎儿生长受限、流产、神经管畸形等不良妊娠结局的发生率^[8,10-13]。至今,已发现 MTHFR 基因有多种突变,最常见的是 C677T 位点的突变,此类突变具有明显的病理意义,其中 CC 型女性叶酸代谢酶活性正常,CT 型叶酸代谢酶活性较低,TT 型叶

酸代谢酶活性最低。因此,有学者认为,MTHFR C677T 基因多态性与不良妊娠结局的发生相关^[2]。

笔者通过对 MTHFR C677T 基因型和等位基因频率在病例组和对照组中的分布进行比较发现,其中病例组的 TT 型频率(11.45%)明显高于对照组(3.77%),同时 MTHFR C677T 等位基因频率在病例组和对照组中差异有统计学意义($P<0.05$),病例组的等位基因 T 频率(27.64%)明显高于对照组(20.60%),与其他文献报道一致^[2,14-15],提示 MTHFR 677 位点 TT 型女性及发生等位基因 T 突变的女性发生不良妊娠结局的风险可能更高。但也有研究报道,MTHFR C677T 基因多态性与不良妊娠结局无相关性^[16],这可能与 MTHFR C677T 基因多态性存在地区和种族差异相关。另外,本研究对 MTHFR C677T 各基因型女性发生不良妊娠结局情况进行分析,结果显示 MTHFR 677 位点 TT 型女性发生不良妊娠结局的风险为 CC 型女性的 3.385 倍,提示 TT 型女性不良妊娠结局发生率可能更高。

综上所述,MTHFR C677T 基因存在多态性,在不同地区人群中存在差异。研究结果表明,MTHFR C677T 基因多态性与女性妊娠不良结局的发生具有一定关系,其中 MTHFR 677 位点 TT 型女性发生不良妊娠结局的风险较高。因此,女性妊娠前应行 MTHFR C677T 基因多态性检测,临床可依据女性基因型的不同,在其妊娠前、妊娠期采取个性化预防措施,以期降低不良妊娠结局的发生率。本研究存在的局限有:(1)纳入的样本量较小;(2)未对不同基因型女性进行不同用药剂量设计及药物治疗效果的监测。未来可进行大样本量、多中心研究以明确 MTHFR C677T 基因多态性与女性发生不良妊娠结局的关系。

参考文献

- [1] MO H, RAO M, WANG G, et al. Polymorphism of MTHFR 1298 A>C in relation to adverse pregnancy outcomes in Chinese populations[J]. Mol Genet Genomic Med, 2019, 7(5): e642.
- [2] ZHANG Y, HE X, XIONG X, et al. The association between maternal methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphism and birth defects and adverse pregnancy outcomes[J]. Prenat Diagn, 2019, 39(1): 3-9.
- [3] XU Y, BAN Y, RAN L, et al. Relationship between unexplained recurrent pregnancy loss and 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms[J]. Fertil Steril, 2019, 111(3): 597-603.
- [4] PCOT M. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion[J]. Fertil Steril, 2012, 98(5): 1103-11.
- [5] LI Z, JUN Y, ZHONG B R, et al. Association between MTHFR C677T polymorphism and congenital heart disease a family-based meta-analysis[J]. Herz, 2015, 40(2):

- 160-167.
- [6] HAN I B, KIM O J, AHN J Y, et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR 677 C>T and 1298 A>C) polymorphisms and haplotypes with silent brain infarction and homocysteine levels in a Korean population[J]. Yonsei Med J, 2010, 51(2): 253-260.
- [7] NI J, ZHANG L, ZHOU T, et al. Association between the MTHFR C677T polymorphism, blood folate and vitamin B12 deficiency, and elevated serum total homocysteine in healthy individuals in Yunnan Province, China[J]. J Chin Med Assoc, 2017, 80(3): 147-153.
- [8] PI T, LIANG Y Q, XIA H Y, et al. Prevalence of the methylenetetrahydrofolate reductase 677 C>T polymorphism in the pregnant women of Yunnan Province, China[J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(45): e22771.
- [9] IVANOV P, GECHEVA S, TSVYATKOVSKA T, et al. A weak association of 677 C>T polymorphism in MTHFR with recurrent embryonic loss[J]. Akush Ginekol (Sofia), 2014, 53(1): 8-12.
- [10] NISHIO K, GOTO Y, KONDO T, et al. Serum folate and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism adjusted for folate intake[J]. J Epidemiol, 2008, 18: 125-131.
- [11] GUAN H, XIA M D, WANG M, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphism and the risk of diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients[J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(35): e21558.
- [12] YANG B Y, LIU Y Y, LI Y F, et al. Geographical distribution of MTHFR C677T, A1298C and MTRR A66G gene polymorphisms in China: findings from 15 357 adults of Han nationality[J]. PLoS One, 2013, 8(3): e57917.
- [13] AL-ACHKAR W, WAFA A, AMMAR S, et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T and a1298C gene polymorphisms with recurrent pregnancy loss in syrian women[J]. Reprod Sci, 2017, 24(9): 1275-1279.
- [14] CAO Y, ZHANG Z, ZHENG Y, et al. The association of idiopathic recurrent early pregnancy loss with polymorphisms in folic acid metabolism-related genes[J]. Genes Nutr, 2014, 9(3): 402.
- [15] WANG G, LIN Z, WANG X, et al. The association between 5,10 - methylenetetrahydrofolate reductase and the risk of unexplained recurrent pregnancy loss in China: a Meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2021, 100(17): e25487.
- [16] HEKMATDOOST A, VAHID F, YARI Z, et al. Methylenetetrahydrofolate vs folic acid supplementation in idiopathic recurrent miscarriage with respect to methylenetetrahydrofolate reductase C677T and a1298C polymorphisms: a randomized controlled trial[J]. PLoS One, 2015, 10(12): e0143569.