

## • 论 著 •

MTHFR 基因多态性与原因不明复发性流产的相关性研究<sup>\*</sup>华知奋<sup>1</sup>, 黄彩梅<sup>1#</sup>, 鲁衍强<sup>2</sup>, 李瑛<sup>2△</sup>, 龚波<sup>1</sup>, 杨琦<sup>3</sup>

(1. 上海市长宁区妇幼保健院 200051; 2. 上海靶向分子医学研究所 200433;

3. 中国疾病预防控制中心妇幼保健中心, 北京 100101)

**摘要:**目的 探讨亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)C677T、A1298C位点单核苷酸多态性与原因不明复发性流产的相关性。方法 采用病例对照研究的方法, 对140例原因不明复发性流产者(流产组)和143例健康妇女(对照组)采集口腔黏膜上皮细胞, 并提取基因组DNA, 利用荧光定量PCR技术对C677T、A1298C位点进行检查, 用统计学方法分析单核苷酸多态性与疾病的关系。结果 流产组和对照组的MTHFR C677T位点基因型、等位基因的分布情况差异有统计学意义( $P<0.05$ ); MTHFR A1298C位点基因型、等位基因的分布情况差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 677TT基因型携带者发生流产的风险是677CC基因型携带者的2.732倍, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 不明原因复发性流产的发生与MTHFR C677T位点单核苷酸多态性与具有相关性。

**关键词:**原因不明复发性流产; 亚甲基四氢叶酸还原酶; 单核苷酸多态性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.01.006

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)01-0016-02

Study on the correlation between MTHFR gene polymorphism and unexplained recurrent spontaneous abortion<sup>\*</sup>HUA Zhifen<sup>1</sup>, HUANG Caimei<sup>1#</sup>, LU Yanqiang<sup>2</sup>, LI Ying<sup>2△</sup>, GONG Bo<sup>1</sup>, YANG Qi<sup>3</sup>

(1. Changning District Maternal and Child Health Care Hospital, Shanghai 200051, China; 2. Institute of Targeted Therapy and Molecular Medicine of Shanghai, Shanghai 200433, China; 3. National Center for Women and Children's Health, Chinese Center of Disease and Control, Beijing 100101, China)

**Abstract: Objective** To discuss the correlation between MTHFR gene polymorphism and unexplained recurrent spontaneous abortion. **Methods** A case control study was used in this study, 140 patients with unexplained recurrent spontaneous abortion(URSA)(abortion group) and 143 cases of normal women(control group) were recruited. Genomic DNA was obtained and extracted from the oral mucosa cells. Fluorescence quantitative PCR was used to examine the MTHFR gene polymorphisms, and Taqman-MGB technology was conducted to analysis the relationship between single nucleotide polymorphism and disease. **Results** There was statistically significant difference in the frequencies of C677T genotype and alleles between the two groups( $P<0.05$ ). However, no significant difference in the frequencies of A1298C genotype and alleles between the two groups( $P>0.05$ ). **Conclusion** MTHFR gene C677T polymorphism might be one of the genetic risk factors of URSA.

**Key words:** unexplained recurrent spontaneous abortion; methylenetetrahydrofolate reductase; single nucleotide polymorphisms

复发性流产一般指连续与同一配偶发生3次或3次以上的自然流产, 近年来有学者也将连续发生2次自然流产纳入到复发性流产的范畴<sup>[1]</sup>, 由于病因复杂, 该病存在难治性, 是目前基础与临床研究的难点与热点。原因不明复发性流产(URSA)占复发性流产人群的50%左右, 为目前排除了如解剖因素、染色体因素、自身抗体因素和内分泌及感染因素等临幊上已知的因素外, 仍病因未明的人群<sup>[2]</sup>。其中叶酸代谢酶基因突变与URSA的发生具有密切相关性。一方面叶酸作为核酸合成的原料之一, 是胚胎发育阶段不可缺少的营养素;另一方面, 具有胚胎毒性的同型半胱氨酸(HCY)的水平受叶酸代谢的影响。亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)是影响叶酸在体内代谢的关键酶之一, 该酶基因上存的多种基因多态性会影响酶的催化活性。本研究从遗传因素入手, 分析入组人群MTHFR基因C677T、A1298C位点的单核苷酸多态性与URSA的相关性。

## 1 资料与方法

## 1.1 一般资料 收集2013年1月至2015年12月, 在长宁区

妇幼保健院就诊的汉族育龄妇女。共入组283例, 其中流产组140例, 入组标准: 有2次及2次以上自然流产史, 经临床检查排除动静脉血栓形成、内分泌失调、染色体异常和生殖器官畸形; 对照组143例, 入组标准: 均排除以上疾病, 且无任何不良孕产史的健康妇女, 至少有1次或以上正常分娩史。

**1.2 研究方法** 采集入组人群的口腔黏膜细胞, 采用柱式质粒DNA小量抽提试剂盒提取基因组DNA。采用荧光定量PCR技术检测MTHFR C677T、A1298C位点的基因多态性。根据荧光定量PCR仪上读取的终点荧光, 利用分析软件确定各个样本的基因分型结果。相关仪器、试剂均购于美国ABI公司。

**1.3 统计学处理** 采用SPSS19.0软件进行统计分析, 计数资料组间比较采用 $\chi^2$ 检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 Hardy-Weinberg平衡检验** 流产组及对照组标本的MTHFR C677T、A1298C位点的检验结果均符合Hardy-

\* 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项目(FY-ZX-ZD-0022);上海市长宁区青年中医医师培养计划(2015CNQNZY008)。

作者简介:华知奋,女,主治医师,主要从事孕前、孕期心理情绪障碍的筛查及评估方向的研究。△ 通信作者, E-mail:liying@genechina.com。# 共同第一作者:黄彩梅,女,主治医师,主要从事女性生殖内分泌疾病、不孕症方向的研究。

Weinberg 遗传平衡,且差异无统计学意义( $P>0.05$ ),证明研究对象具有群体代表性。

**2.2 MTHFR C677T、A1298C 位点情况分析** 流产组 MTHFR C677T 位点 TT 基因型频率为 25.7%, 高于对照组(14.7%), T 等位基因频率为 51.4%, 同样高于对照组

(39.5%), 两组人群中该位点基因型、等位基因分布情况差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。流产组 MTHFR A1298C 位点 CC 基因型频率为 2.9%, C 等位基因频率为 15.7%, 与对照组的基因型、等位基因分布情况相比, 差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 1、2。

表 1 MTHFR 基因型频率分布比较[n(%)]

组别	MTHFR C677T			$\chi^2$	P	MTHFR A1298C			$\chi^2$	P
	CC	CT	TT			AA	AC	CC		
流产组	32(22.9)	72(51.4)	36(25.7)	8.27	0.016	100(71.4)	36(25.7)	4(2.9)	4.27	0.120
对照组	51(35.7)	71(49.7)	21(14.7)			86(60.1)	53(37.1)	4(2.8)		

表 2 MTHFR 等位基因频率分布比较[n(%)]

组别	MTHFR C677T		MTHFR A1298C		$\chi^2$	P		
	C	T	A	C				
流产组	136(48.6)	144(51.4)	8.11	0.00	236(84.3)	44(15.7)	2.95	0.09
对照组	173(60.5)	113(39.5)			225(78.7)	61(21.3)		

**2.3 各基因型发生流产风险的情况比较** 针对 MTHFR C677T 位点, 设定入组人群中 CC 基因型者发生原因不明复发性流产的风险为对照(设定数值为 1.000)。携带 CT 基因型者发生流产的风险为对照的 1.616 倍, 95%CI 值为 (0.932~2.802), 但差异无统计学意义( $P=0.086$ ); 携带 TT 基因型者发生流产的风险为对照组的 2.732 倍, 95%CI 值为 (1.362~5.482), 差异有统计学意义( $P=0.004$ )。

### 3 讨 论

MTHFR 基因位于染色体 1p36.3 位置上, 目前国内外研究最多的是 MTHFR C677T、A1298C 位点。C677T 位于第 5 个外显子, 以 677CC 基因型对应的酶活力为 100%, TT 基因型对应的酶活力约为 22%。A1298C 位于第 8 个外显子, 该位点多态性会引起编码的氨基酸由谷氨酸变为丙氨酸, 进而导致酶活性降低<sup>[3]</sup>。酶活性的变化与血清和红细胞叶酸浓度<sup>[4]</sup>、血浆 HCY 水平<sup>[5]</sup>密切相关。 HCY 在体内积累, 进一步破坏机体凝血与纤溶之间的平衡, 使机体处于血栓前状态, 易导致自然流产的发生<sup>[6]</sup>。汪希鹏等<sup>[7]</sup>针对 148 例原因不明复发性流产和 82 例健康对照的研究显示, MTHFR C677T 和 A1298C 基因多态性与复发性流产的发生有关。韩红敬等<sup>[8]</sup>对 71 例 URSA 患者 MTHFR 基因的 C677T 位点多态性进行检测的结果显示, 与正常妊娠组相比, URSA 组中 MTHFR 基因 C677T 位点的 CC 基因型显著降低, 而 T 等位基因水平明显升高, 说明 C677T 位点多态性与 URSA 的发生具有相关性。胡晓东等<sup>[9]</sup>对 52 例 URSA 患者 MTHFR 基因 C677T 及 A1298C 位点多态性的分析结果表明, 该基因位点多态性与 URSA 无显著相关性。由于上述研究纳入样本量等因素的影响, MTHFR 基因多态性与 URSA 是否具有相关性, 目前尚无明确定论, 仍需进一步研究证实。

本研究结果显示, 流产组 MTHFR C677T 位点 TT 基因型频率为 25.7%, 高于对照组(14.7%), T 等位基因频率为 51.4%, 高于对照组(39.5%), 该位点基因型、等位基因在流产组和对照组的分布情况差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。流产组 MTHFR A1298C 位点 CC 基因型频率为 2.9%, C 等位基因频率为 15.7%, 与对照组的基因型、等位基因分布情况差异无统计学意义( $P>0.05$ )。677TT 基因型携带者发生流产

的风险是 677CC 基因型携带者的 2.732 倍, 两者之间差异有统计学意义( $P<0.05$ )。由此分析 MTHFR C677T 对流产的发生影响较大, A1298C 位点与流产的发生相关性尚不明确。

复发性流产的诊断重在病因学诊断, 治疗之前要进行严格、系统、全面的病因筛查, 针对原因不明者可考虑进行 MTHFR 基因筛查, 对于存在基因异常者进行针对性的叶酸补服措施并注意及早在环境影响因素、营养素补充、生化指标监测等方面进行干预, 可有效避免治疗的盲目性, 实现个性化治疗降低孕产妇疾病的目的。

### 参考文献

- 肖世金,赵爱民.复发性流产病因学研究进展[J].中国实用妇科与产科杂志,2014,30(1):41-45.
- 马韵(综述),郑梅玲(审校).不明原因复发性流产发病机制研究进展[J/CD].中华妇幼临床医学杂志(电子版),2016,12(2):237-240.
- 朱慧萍,刘明珠,刀京晶,等.mthfr 基因第 1298 位核苷酸多态性与酶活性的关系[J].北京医科大学学报,2000,32(3):262-264.
- Nishio K, Goto Y, Kando T, et al. Serum folate and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism adjusted for folate intake [J]. J Epidemiol, 2008, 18(3):125-131.
- Jacques PF, Boston AG, Williams RR, et al. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations[J]. Circulation, 1996, 93(1):7-9.
- Morales-Mach M. C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene as risk factor in women with recurrent abortion[J]. Invest Clin, 2009, 50(3):327-333.
- 汪希鹏,林其德,洪燕,等.原因不明复发性流产遗传性血凝因素研究[J].上海交通大学学报(医学版),2006,26(12):1361-1364.
- 韩红敬,沈浣,王艳槟,等.亚甲基四氢叶酸还原酶基因 677 位多态性、高同型半胱氨酸血症与复发性流产[J].生殖与避孕,2012,32(7):486-489.
- 胡晓东,梁佩燕,刁梁辉,等.亚甲基四氢叶酸还原酶基因突变与不明原因复发性流产的关系[J].中国优生与遗传杂志,2014,22(11):87-89.