

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.09.015

皖南地区 MTHFR 和 PAI-1 基因多态性分布 及与不良妊娠相关性研究*

叶 鸣,方 佳,赵 磊,爱 琳,汪思敏,朱和平[△]

(安徽省芜湖市中医医院,安徽 芜湖 241000)

摘要:目的 探讨皖南地区育龄妇女 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)C677T 和 MTHFR A1298C、血浆纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)基因多态性的分布特征,以及与不良妊娠的相关性。方法 选取医院 2020 年 10 月至 2021 年 8 月收治的育龄妇女 122 例,其中以 61 例有不良妊娠史女性为研究组,以 61 例无不良妊娠史女性为正常组。采用数字荧光分子杂交技术进行 MTHFR 和 PAI-1 基因分型,进行组间比较,并与已报道的其他地区进行比较。结果 与天津、宁夏比较,皖南地区的 PAI-1 基因多态性无显著差异($P > 0.05$);与廊坊比较,MTHFR 酶活性低风险、中风险数有显著差异($P < 0.05$);与贵州比较,MTHFR 酶活性正常、中风险数有显著差异($P < 0.05$)。MTHFR 酶活性正常占比由高到低依次为贵州(24.15%)、皖南(8.20%)、廊坊(7.48%);研究组与正常组比较,MTHFR C677T CC 和 TT 基因型,PAI-1 4G4G 和 5G5G 基因型分布有显著差异($P < 0.05$),MTHFR A1298C 无显著差异($P > 0.05$)。结论 皖南地区育龄妇女的叶酸利用风险较廊坊低,较贵州高;PAI-1 基因多态性无地区差异。MTHFR C677T 和 PAI-1 基因多态性与不良妊娠有相关性,MTHFR A1298C 与不良妊娠相关性较小。

关键词:5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶;血浆纤溶酶原激活物抑制剂-1;基因多态性;不良妊娠;相关性;皖南地区

中图分类号:R95

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)09-0065-04

Distribution of MTHFR and PAI-1 Gene Polymorphisms and Their Correlation with Adverse Pregnancy in Southern Anhui

YE Ming, FANG Jia, ZHAO Lei, AI Lin, WANG Simin, ZHU Heping

(Wuhu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhu, Anhui, China 241000)

Abstract: Objective To investigate the distribution characteristics of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T, MTHFR A1298C and plasma plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene polymorphisms and their correlation with the adverse pregnancy in Southern Anhui. **Methods** A total of 122 childbearing-aged women admitted to the hospital from October 2020 to August 2021 were selected, including 61 women with a history of adverse pregnancy as the study group and 61 women without a history of adverse pregnancy as the normal group. MTHFR and PAI-1 genotypes were analyzed by the digital fluorescence molecular hybridization (DFMH) to conduct the between-group comparisons and comparisons with those reported in other regions. **Results** Compared with those in Tianjin and Ningxia, there was no significant difference in PAI-1 gene polymorphism in Southern Anhui ($P > 0.05$). Compared with those in Langfang, there was a significant difference in the proportion of low-risk and medium-risk MTHFR enzyme activity ($P < 0.05$). Compared with those in Guizhou, there was a significant difference in the proportions of normal and medium-risk MTHFR enzyme activity. The highest proportion of normal MTHFR enzyme activity was Guizhou (24.15%), followed by Southern Anhui (8.20%) and Langfang (7.48%). There was a significant difference in the distribution of MTHFR C677T CC and TT genotypes, and PAI-1 4G4G and 5G5G genotypes between the study group and the normal group ($P < 0.05$), while there was no significant difference in MTHFR A1298C between the study group and the normal group ($P > 0.05$). **Conclusion** The risk of folic acid utilization of childbearing-aged women in Southern Anhui is lower than that in Langfang, while it is higher than that in Guizhou. There was no regional difference in PAI-1 gene polymorphism. MTHFR C677T and PAI-1 gene polymorphisms were correlated with the adverse pregnancy, while MTHFR A1298C was less correlated with the adverse pregnancy.

Key words: 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase; plasma plasminogen activator inhibitor-1; gene polymorphism; adverse pregnancy; correlation; Southern Anhui

育龄妇女叶酸缺乏可导致胎儿神经管畸形、胎盘早期剥离、早产等风险。近年来,对叶酸代谢相关基因 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)C677T 和 MTHFR A1298C 的研究较多,根据不同基因型个体化给

予叶酸,可有效减少不良妊娠事件^[1-2]。血浆纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)是多功能线性糖蛋白,可调节纤溶酶活性,与不明原因流产有相关性^[3]。本研究中以皖南地区育龄妇女为研究对象,探讨了 MTHFR 和

*基金项目:2020 年安徽省高校自然科学研究项目[KJ2020A0871]。

第一作者:叶鸣,女,硕士,主管药师,研究方向为临床药学,(电子信箱)47470897@qq.com。

[△]通信作者:朱和平,男,硕士,副主任药师,研究方向为药事管理学,(电子信箱)953525230@qq.com。

表 1 Hardy – Weinberg 平衡定律分析[例(%), *n* = 122]
Tab. 1 Analysis of Hardy – Weinberg equilibrium law[case(%), *n* = 122]

项目	MTHFR C677T			MTHFR A1298C			PAI – 1		
	CC	CT	TT	AA	AC	CC	4G4G	4G5G	5G5G
实际频数	30(24. 59)	67(54. 92)	25(20. 49)	82(67. 21)	35(28. 69)	5(4. 10)	38(31. 15)	62(50. 82)	22(18. 03)
预计频数	33(27. 05)	61(50. 00)	28(22. 95)	81(66. 39)	37(30. 33)	4(3. 28)	39(31. 97)	60(49. 18)	23(18. 85)
χ^2 值		1. 23			0. 26			0. 14	
<i>P</i> 值		0. 27			0. 61			0. 71	

PAI – 1 基因多态性的分布特征, 以及与不良妊娠的相关性。现报道如下。

1 资料与方法

1. 1 一般资料

纳入标准: 汉族; 相互无血缘关系; 年龄 22 ~ 45 岁, 平均(31. 00 ± 4. 25) 岁; 要求备孕的妇女或妊娠期(孕周不超过 20 周)。本研究经我院医学伦理委员会批准, 患者签署知情同意书。

排除标准: 糖尿病等基础疾病; 异位妊娠; 血栓栓塞性疾病及家族遗传史; 明确原因流产。

对象选择与分组: 选取我院 2020 年 10 月至 2021 年 8 月收治的育龄妇女 196 例, 最终纳入 122 例。根据既往妊娠史分为正常组(无不良妊娠史)和研究组(有不良妊娠史, 包括胚胎停育、自然流产、生化妊娠、畸胎), 各 61 例。两组研究对象年龄、体质量指数、吸烟史、饮酒史等一般资料比较, 差异均无统计学意义(*P* > 0. 05), 具有可比性。另选择天津^[4]、宁夏^[5]、廊坊^[6]、贵州^[7]已服用叶酸的育龄妇女各 150 例、383 例、922 例、236 例。

1. 2 方法

采集两组对象外周静脉血 2 ~ 3 mL, 取 200 μ L, 加入 1 mL 氯化铵, 混匀, 静置 5 min, 采用 Scilogex D1008E 型离心机(广州硕普生物科技有限公司)室温下离心(转速为 3 000 r / min)5 min, 吸净上层透明红色液体, 向富集白细胞的离心管中加入 30 ~ 50 μ L 耀金保(北京华夏时代基因科技发展有限公司), 静置 30 min; 向相应编号的耀金分试剂盒(北京华夏时代基因科技发展有限公司)中加入 1. 5 μ L 处理后的白细胞样本, 采用 Fluotec 48E 型微量荧光检测仪(西安天隆科技有限公司)检测; 运用数字荧光分子杂交技术分析 MTHFR C677T(rs1801133)、MTHFR A1298C(rs1801131)、PAI – 1(rs1799889)基因分型。

1. 3 统计学处理

采用 SPSS 18. 0 统计学软件分析。计数资料以率(%)表示, 行 χ^2 检验。*P* < 0. 05 为差异有统计学意义。

2 结果

2. 1 基因型符合 Hardy – Weinberg 平衡定律

MTHFR C677T, MTHFR A1298C, PAI – 1 基因分布

均符合 Hardy – Weinberg 平衡定律(*P* > 0. 05), 数据来自同一孟德尔群体。详见表 1。

2. 2 基因型分布特点

122 例皖南地区育龄妇女的 MTHFR C677T, MTHFR A1298C, PAI – 1 基因型分布见表 2。皖南地区 PAI – 1 基因多态性与天津、宁夏比较, 无显著差异(*P* = 0. 40, 0. 80), 详见表 3。根据 MTHFR C677T 和 MTHFR A1298C 基因型将育龄妇女的 MTHFR 酶活性分为正常(677CC / 1298AA)、低风险(677CT / 1298AA、677CC / 1298AC、677CC / 1298CC)、中风险(677TT / 1298AA、677TT / 1298AC、677CT / 1298CC、677CT / 1298AC)、高风险(677TT / 1298CC)^[8]。与廊坊比较, 低风险、中风险数有显著差异(*P* < 0. 05); 与贵州比较, 正常及中风险数有显著差异(*P* < 0. 05)。详见表 4。MTHFR 酶活性正常占比由高到低依次为贵州(24. 15%)、皖南地区(8. 20%)、廊坊(7. 48%)。

表 2 皖南地区育龄妇女 MTHFR C677T, MTHFR A1298C, PAI – 1 基因型分布[例(%), *n* = 122]

Tab. 2 Distribution of MTHFR C677T, MTHFR A1298C and PAI – 1 genotypes of childbearing – aged women in Southern Anhui [case(%), *n* = 122]

PAI – 1	677CC			677CT			677TT		
	1298AA	1298AC	1298CC	1298AA	1298AC	1298CC	1298AA	1298AC	1298CC
4G4G	3(2. 46)	5(4. 10)	1(0. 82)	19(15. 57)	6(4. 92)	0(0)	4(3. 28)	0(0)	0(0)
4G5G	7(5. 74)	6(4. 92)	0(0)	18(14. 75)	12(9. 84)	1(0. 82)	18(14. 75)	0(0)	0(0)
5G5G	0(0)	6(4. 92)	2(1. 64)	10(8. 20)	0(0)	1(0. 82)	3(2. 46)	0(0)	0(0)

2. 3 MTHFR 和 PAI – 1 基因型与不良妊娠史的相关性

122 例育龄妇女中, 61 例既往有不良妊娠史, 61 例无不良妊娠史, 两组 MTHFR C677T CC、TT 基因型比较, 正常组 CC 型较研究组多, 研究组 TT 型较正常组多, 有显著差异(*P* < 0. 05); 两组 MTHFR C677T C 和 T 等位基因分布比较, 有显著差异(*P* < 0. 05)。两组 PAI – 1 4G4G、5G5G 基因型比较, 正常组 5G5G 型较研究组多, 研究组 4G4G 型较正常组多, 有显著差异(*P* < 0. 05); 两组 PAI – 1 4G 和 5G 等位基因分布比较, 有显著差异(*P* < 0. 05)。MTHFR A1298C AA、AC、CC 基因型两组间无显著差异(*P* > 0. 05)。详见表 5。

表3 皖南地区与其他地区育龄妇女PAI-1基因多态性比较
[例(%)]

Tab. 3 Comparison of PAI-1 gene polymorphism of childbearing-aged women in Southern Anhui and other regions[case(%)]

地区	4G4G	4G5G	5G5G	4G	5G
皖南($n=122$)	38(31.15)	62(50.82)	22(18.03)	56(42.90)	66(54.10)
天津 ^[4] ($n=150$)	53(35.33)	64(42.67)	33(22.00)	85(56.67)	65(43.33)
χ^2 值	0.529 5	1.798 6	0.656 4	3.122 9	
P_a 值	0.466 8	0.179 9	0.417 8	0.077 2	
宁夏 ^[5] ($n=383$)	110(28.72)	208(54.31)	65(16.97)	214(55.87)	169(44.13)
χ^2 值	0.263 0	0.452 6	0.073 1	3.698 9	
P_b 值	0.608 0	0.501 1	0.786 9	0.054 4	

注: χ^2_a 与 P_a 和 χ^2_b 与 P_b 分别为天津、宁夏与皖南地区比较。

Note: χ^2_a and P_a refer to the comparison between Tianjin and Southern Anhui. χ^2_b and P_b refer to the comparison between Ningxia and Southern Anhui.

表4 皖南地区与其他地区育龄妇女MTHFR酶活性比较[例(%)]

Tab. 4 Comparison of MTHFR enzyme activity of childbearing-aged women in Southern Anhui and other regions[case(%)]

地区	正常 (100%)	低风险 (50%~100%)	中风险 (20%~50%)	高风险 (<20%)
皖南($n=122$)	10(8.20)	67(54.92)	45(36.88)	0
廊坊 ^[6] ($n=922$)	69(7.48)	391(42.41)	462(50.11)	0
χ^2 值	0.078 3	6.847 9	7.541 9	
P_a 值	0.779 6	0.008 9	0.006 0	
贵州 ^[7] ($n=236$)	57(24.15)	125(52.97)	54(22.88)	0
χ^2 值	13.459 4	0.123 2	7.883 5	
P_b 值	0.000 2	0.725 6	0.005 0	

注: χ^2_a 与 P_a 和 χ^2_b 与 P_b 分别为廊坊、贵州与皖南地区比较。

Note: χ^2_a and P_a refer to the comparison between Langfang and Southern Anhui. χ^2_b and P_b refer to the comparison between Guizhou and Southern Anhui.

3 讨论

本研究结果表明,MTHFR基因C677T和PAI-1多态性与不良妊娠有相关性,MTHFR酶活性与廊坊、贵州地区有差异,PAI-1与天津、宁夏地区无差异。

MTHFR是叶酸代谢的关键作用酶,但人类MTHFR基因呈多态性分布,其中C677T(rs 1801133)和A1298C(rs 1801131)为常见突变位点。基因突变会影响酶的活性,导致叶酸代谢障碍,进而增加胎儿畸形发生率^[9-10]。

据报道,MTHFR 677TT基因型妇女在孕前及孕早期未服用叶酸,唇腭裂儿的发生风险将增加5.9倍;而677TT纯合子突变会使神经管缺陷儿的发生风险增加2倍^[11]。一项Meta分析结果显示,MTHFR A1298C会增加非综合性唇腭裂发生风险^[12]。MTHFR 677T等位基因是发生习惯性流产及胎儿神经管发育缺陷的高危因素,习惯性流产与MTHFR 1298A突变为C有关^[13],故C677T与A1298C共同影响MTHFR酶的活性。育龄妇女MTHFR 677T型等位基因频率在纬度上呈“南低北高”趋势^[11],叶酸利用风险存在民族差异^[14],故选取北方地区的廊坊和少数民族众多的贵州进行对比,结果与文献^[11,14]报道相似。本研究中叶酸利用风险皖南地区优于廊坊,较贵州差。可能是由于南方和北方人群的生活环境不同,存在遗传差异,也可能与本研究中主要选择汉族人群有关。后续需进一步研究MTRR A66G皖南地区多态性特点,为育龄妇女合理利用叶酸提供科学指导。由表5可知,与正常组相比,研究组育龄妇女的MTHFR基因C667T位点CC和TT基因型,以及C和T等位基因频率有显著差异($P<0.05$);MTHFR A1298C位点AA和CC基因型及A和C等位基因频率无显著差异($P>0.05$),与文献^[8]的报道相似。A1298C多态性对酶活性的影响小于C677T多态性。

PAI-1为纤溶酶原激活物抑制基因,4G等位基因会升高血浆PAI-1水平,使体内凝血-纤溶系统失去平衡,导致胚胎供血不足,引发自然流产^[15]。本研究中,两组育龄女性的PAI-1基因多态性差异显著($P<0.05$),且研究组4G4G高于正常组。宁夏主要分布少数民族,天津与皖南地区PAI-1基因型分布有差异,但基因分布频率无显著差异($P>0.05$),这可能与地区差异、种族差异无关。

综上所述,皖南地区育龄妇女的叶酸利用风险较贵州高,MTHFR C677T和PAI-1基因多态性与不良妊娠有相关性,需在全市育龄妇女中重点推广叶酸的补充,以及进行PAI-1基因筛查,以降低不良妊娠风险。后续将对122例被调查对象进行个体化叶酸用药指导,并全程跟踪调查,监测血压、尿常规、凝血等指标,进行个体化药学服务。

参考文献

[1] 中国医药教育协会临床合理用药专业委员会,中国医疗保

表5 两组研究对象MTHFR和PAI-1基因型频率分布[例(%), $n=61$]

Tab. 5 Frequency distribution of MTHFR and PAI-1 genotypes between the two groups[case(%), $n=61$]

组别	MTHFR C677T基因型频率			MTHFR C677T等位基因频率		MTHFR A1298C基因型频率			MTHFR A1298C等位基因频率		PAI-1基因型频率			PAI-1等位基因频率	
	CC	CT	TT	C	T	AA	AC	CC	C	A	4G4G	4G5G	5G5G	4G	5G
正常组	21(34.43)	35(57.38)	5(8.20)	77(63.11)	45(36.89)	40(65.57)	19(31.15)	2(3.28)	23(18.85)	99(81.15)	11(18.03)	34(55.74)	16(26.23)	56(45.90)	66(54.10)
研究组	9(14.75)	32(52.46)	20(32.79)	50(40.98)	72(59.02)	42(68.85)	16(26.23)	3(4.92)	22(18.03)	100(81.97)	27(44.26)	28(45.90)	6(9.84)	82(67.21)	40(32.79)
χ^2 值	6.365 2	0.298 0	11.319 6	11.970 9		0.148 8	0.360 6	0.208 5	0.027 2		3.976 8	0.996 2	5.545 5	11.275 9	
P 值	0.011 6	0.585 2	0.000 8	0.000 5		0.699 7	0.548 2	0.647 9	0.868 9		0.046 1	0.318 2	0.018 5	0.000 8	