

【临床研究】

作者简介:杜濛濛(1983-),女,江苏泰州人,学士,主治医师,研究方向:医学遗传与产前诊断。

significantly higher than those in the normal delivery group ($P < 0.05$); the level of folic acid of subjects in the premature delivery group was significantly lower than that in the normal delivery group ($P < 0.05$). There was significant difference in the distribution frequency of genotype and allele of MTHFR gene C677T locus between the preterm delivery group and the normal delivery group ($P < 0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that the distribution frequency of CC genotype and allele T at C677T locus of MTHFR gene were risk factors for premature delivery in pregnant women ($P < 0.05$).

Conclusion The distribution of genotype and allele of MTHFR gene C677T locus of key genes of folic acid metabolism in pregnant women are the risk factor for premature delivery in pregnant women.

Key words: preterm birth; gene polymorphism; key gene of folic acid metabolism

早产是一类较为复杂的疾病,已成为全球性医疗问题^[1]。早产可导致新生儿出现相关后遗症,甚至死亡,增加产妇及早产儿罹患多种疾病的风险^[2]。早产发病率随着地域、国家、种族等不同存在着差异,而叶酸代谢相关基因在不同地域、国家等也存在差异性^[3-4]。叶酸是人体重要营养素之一,孕妇摄入叶酸不足可导致新生儿出生缺陷,甚至可能造成流产或早产^[5]。5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶(5,10-methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)是人体叶酸代谢及转运的关键酶的其中一种类型。相关研究表明,MTHFR 基因 C677T 位点基因多态性与胎儿神经管疾病、孕妇流产等不良妊娠的发生有关^[6-8]。但目前临床上关于 MTHFR 基因 C677T 位点基因多态性与早产的关联性研究鲜有报道。基于此,本研究调查分析了孕妇 MTHFR 基因 C677T 位点基因多态性的分布情况,并分析其与孕妇早产的关系,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2020 年 1 月至 2021 年 1 月 在南京医科大学附属泰州人民医院建立孕检档案并在孕早期做叶酸代谢关键基因筛查的 221 例孕妇为研究对象。纳入标准:(1)单胎妊娠;(2)临床生物化学检查结果及肝功能正常;(3)临床资料完整且随访至分娩者。排除标准:(1)患有肿瘤及心脏病者;(2)有吸烟及酗酒史者;(3)有胎盘早剥及前置胎盘等疾病者。根据孕妇分娩结果将研究对象分为早产组($n = 125$)和正常分娩组($n = 96$)。

1.2 方法

1.2.1 资料收集 从医院病案管理系统收集研究对象一般资料,主要包括姓名、年龄、性别、文化程度、居住地、工作、家族史、孕次、妊娠高血压综合征、怀孕方式、孕前补充叶酸时间、孕期药物应用史、自

然流产史、人工流产史、叶酸水平等。

1.2.2 基因检测 采集受试者静脉血 2 mL 置于乙二胺四乙酸抗凝管中,应用 Veriti Dx96-Well Thermal Cycler 聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增仪以金磁微粒层析法检测 MTHFR 基因 C677T 位点的基因多态性。具体方法:将扩增液与反应液混合制成 2 种 PCR 预混合液,分别标记为突变(mutation, M)型和野生型(wild type, WT),然后将预混合液分装,每管 45 μ L。然后,制作样本稀释液,取全血样本混匀,以 1 : 2 吸取全血及样本稀释液混匀,反应 2 min 后待血液呈现暗红色时进行 PCR 实验。在分装的预混合液中分别加入待测血液样本,阴性对照液、阳性对照液各 5 μ L,盖紧管盖后混匀。最后将 PCR 管置于 PCR 仪进行 50 $^{\circ}$ C 2 min、95 $^{\circ}$ C 3 min 30 s、94 $^{\circ}$ C 5 s、60 $^{\circ}$ C 10 s、65 $^{\circ}$ C 30 s 反应,共 33 个循环;65 $^{\circ}$ C 10 min;4 $^{\circ}$ C 保持。然后将 PCR 产物滴加至检测卡上的 M 孔和 WT 孔,2 ~ 5 min 内进行结果判读。根据检测线(T 线)有无出现条带来判读 C677T 位点的基因型:M 管产物在 T 线处不出现条带而 WT 管产物出现条带为 CC 型,M 型管产物在 T 线处出现条带而 WT 管产物不出现条带为 TT 型,2 个管产物均在试纸条 T 线处出现条带为 CT 型。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析。应用 HaploView 4.2 软件采用 Hardy-Weinberg 平衡分析研究对象的基因型分布是否符合遗传平衡。计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;采用多因素 logistic 回归分析 MTHFR 基因位点各基因型和等位基因频率与早产的关系; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hardy-Weinberg 平衡分析 所有研究对象的

MTHFR 基因 C677T 位点基因多态性符合遗传平衡 ($P>0.05$),说明纳入人群处于遗传平衡状态,样本具有群体代表性。

2.2 2 组受试者一般资料比较 结果见表 1。早产组与正常分娩组受试者的年龄、体质量指数、文化程度、孕前 3 个月配偶是否吸烟、孕前 3 个月配偶是否酗酒、家庭经济情况、工作、孕次、自然流产史及人工

流产史等情况比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。早产组受试者中居住在乡村、有妊娠高血压综合征、通过人工辅助生殖技术怀孕、孕前补充叶酸时间为 1 个月及有孕期服药史者所占比例显著高于正常分娩组,差异有统计学意义 ($P<0.05$);早产组受试者的叶酸水平显著低于正常分娩组,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

表 1 早产组与正常分娩组受试者一般资料比较

Tab.1 Comparison of the general data of subjects between the preterm delivery group and the normal delivery group

一般资料	早产组 (<i>n</i> = 125)	正常分娩组 (<i>n</i> = 96)	<i>t</i> / χ^2	<i>P</i>
年龄/岁	27.68 ± 5.12	28.26 ± 5.18	0.831	0.407
体质量指数/(kg · m ⁻²)	23.65 ± 1.46	23.72 ± 1.52	0.347	0.729
文化程度				
高中及以上/例(%)	76(60.80)	69(71.88)	2.952	0.086
初中及以下/例(%)	49(39.20)	27(28.12)		
孕前 3 个月配偶吸烟				
是/例(%)	42(33.60)	30(31.25)	0.137	0.712
否/例(%)	83(66.40)	66(68.75)		
孕前 3 个月配偶酗酒				
是/例(%)	51(40.80)	38(39.58)	0.033	0.855
否/例(%)	74(59.20)	58(60.42)		
居住地类型				
城镇/例(%)	53(42.40)	62(64.58)	10.706	0.001
乡村/例(%)	72(57.60)	34(35.42)		
家庭经济情况				
年收入 < 10 万/例(%)	38(30.40)	27(28.12)	0.135	0.713
年收入 ≥ 10 万/例(%)	87(69.60)	69(71.88)		
工作				
是/例(%)	81(64.80)	67(69.79)	0.612	0.434
否/例(%)	44(35.20)	29(30.21)		
孕次				
1 次/例(%)	83(66.40)	70(72.92)	1.082	0.298
2 次及以上/例(%)	42(33.60)	26(27.08)		
妊娠高血压综合征				
是/例(%)	18(14.40)	5(5.21)	4.920	0.027
否/例(%)	107(85.60)	91(94.79)		
怀孕方式				
自然怀孕/例(%)	109(87.20)	92(95.83)	4.917	0.027
人工辅助生殖技术/例(%)	16(12.80)	4(4.17)		
补充叶酸时间				
孕前 1 个月/例(%)	58(46.40)	20(20.83)	15.565	0.000
孕前 3 个月/例(%)	37(29.60)	41(42.71)		
孕前 6 个月及超过 6 个月/例(%)	30(24.00)	35(36.46)		
孕期服药史				
有/例(%)	20(16.00)	6(6.25)	4.973	0.026
无/例(%)	105(84.00)	90(93.75)		
自然流产史				
有/例(%)	17(13.60)	10(10.42)	0.513	0.474
无/例(%)	108(86.40)	86(89.58)		
人工流产史				
有/例(%)	16(12.80)	8(8.33)	1.119	0.290
无/例(%)	109(87.20)	88(91.67)		
叶酸水平/(μg · L ⁻¹)	11.95 ± 2.35	15.88 ± 3.12	10.682	0.000

2.3 早产组与正常分娩组受试者 MTHFR 基因 C677T 位点基因型比较 结果见表 2。早产组与正常

分娩组受试者 MTHFR 基因 C677T 位点基因型和等位基因的分布频率比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

表 2 早产组与正常分娩组受试者基因型比较

Tab.2 Comparison of genotype of subjects between pre-mature delivery group and normal delivery group 例(%)

组别	n	基因型			等位基因	
		CT	CC	TT	C	T
早产组	125	58(46.40)	34(27.20)	33(26.40)	75(60.00)	50(40.00)
正常分娩组	96	39(40.63)	41(42.71)	16(16.67)	42(43.75)	54(56.25)
χ^2		6.581			5.755	
P		0.037			0.016	

表 3 MTHFR 基因 C677T 位点多态性与早产的关系

Tab.3 Relationship between MTHFR gene C677T locus polymorphism and premature delivery

基因型/等位基因	回归系数	标准误	Wald χ^2	优势比	95% 置信区间		P
					下限	上限	
CC	1.287	0.412	9.758	3.622	1.459	5.785	0.000
CT	0.753	0.424	3.154	2.123	0.992	3.255	0.079
TT	0.512	0.306	2.800	1.669	0.679	2.658	0.125
等位基因 C	0.150	0.187	0.643	1.162	0.755	1.569	0.824
等位基因 T	0.633	0.248	6.515	1.883	1.013	2.754	0.000

3 讨论

目前,早产遗传学相关研究主要集中于研究相关基因分型与血清生物化学指标或环境因素的相互作用^[9]。通过文献检索发现,目前与早产相关的基因包括凝血相关基因、叶酸代谢相关基因及炎症反应相关基因。叶酸直接或间接参与人体多种生物化学代谢反应。有研究发现,叶酸相关基因多态性参与心血管疾病、复发性流产及唐氏综合征等多种疾病的发生和发展^[10-11]。

MTHFR 基因作为叶酸代谢通路中的关键酶,其 在同型半胱氨酸(homocysteine, HCY)转为蛋氨酸及 DNA 合成的过程中发挥重要作用^[12]。在围孕期补充叶酸是目前全球性的公共卫生干预方案,可有效预防神经管缺陷等疾病。但流行病学调查发现,补充叶酸的效果在不同人群中存在差异^[13]。有研究显示, MTHFR 基因 C677T 位点等位基因在不同地区分布频率不同,如在河南、广西和海南地区的分布频率分别为 62.1%、39.1%、26.2%^[14-15],整体上看由北到南表现为递减趋势,存在明显的地域差异性,提示不同的遗传特征对叶酸补充效果有较大影响。王连等^[16]研究发现,早产孕妇的血清叶酸水平显著低于正常分娩者。本研究中早产组孕妇叶酸水平低于正常分娩组,与王连等^[16]研究报道一致,提示叶酸可能参与了早产的发生,推测其原因可能为孕妇体内叶酸缺乏或者出现代谢障碍时,可导致机体血浆中 HCY 水平升高,机体出现生物化学功能异常,最终导致早产。

随着单核苷酸多态性的相关研究技术的快速发展,医学工作者发现叶酸代谢关键基因多态性与某些疾病的发生关系密切。ZHANG 等^[17]分别检测了 82

2.4 MTHFR 基因 C677T 位点多态性与早产的关系 结果见表 3。多因素 logistic 回归分析结果显示,MTHFR 基因 C677T 位点 CC 基因型及等位基因 T 分布频率是孕妇发生早产的危险因素($P < 0.05$)。MTHFR 基因 C677T 位点 CT、TT 基因型和等位基因 C 分布频率与孕妇发生早产无关($P > 0.05$)。

例自然流产者和 82 例正常分娩者的 MTHFR 基因多态性及血清 HCY 水平,结果显示,自然流产者血清 HCY 水平高于正常分娩者;该研究还发现,MTHFR 基因 C677T 位点突变是孕妇自然流产的危险因素。MTHFR 基因多态性可使相关酶活性降低,HCY 水平升高,机体出现血液高凝状态或形成血栓,进而导致绒毛间细胞结构改变,引起胎儿血管灌注不良及胎盘炎症等^[18]。胎盘血液循环受阻,可间接影响胎儿发育及分娩,可能导致早产。本研究比较了早产孕妇与正常分娩孕妇的 MTHFR 基因位点的基因型及等位基因的分布频率,结果显示,早产组孕妇 MTHFR 基因 C677T 位点基因型及等位基因分布频率与正常分娩组比较差异有统计学意义,提示 MTHFR 基因 C677T 位点多态性可能参与早产的发生。为进一步研究叶酸代谢关键基因位点多态性对早产的影响,本研究将有统计学意义的基因型及等位基因进行多因素 logistic 回归分析,结果显示,MTHFR 基因 C677T 位点 CC 基因型及等位基因 T 的分布频率是孕妇发生早产的危险因素,进一步证实了叶酸代谢关键基因位点多态性与早产有关。

综上所述,孕妇叶酸代谢关键基因多态性与早产具有一定关联性,其中 MTHFR 基因 C677T 位点 CC 基因型及等位基因 T 的分布频率是孕妇发生早产的危险因素。因此,建议 MTHFR 基因 C677T 位点 CC 基因型及 T 等位基因妇女,在备孕期间及妊娠结束前都要补充足够的叶酸,以减少因叶酸代谢问题导致的早产发生。

参考文献:

[1] VOGEL J P, CHAWANPAIBOON S, MOLLER A B, et al. The global epidemiology of preterm birth[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol

col,2018,52(10):3-12.

[2] HEDDERICH D M,BOECKH-BEHRENS T,BÄUML J G,et al. Sequelae of premature birth in young adults: incidental findings on routine brain MRI[J]. *Clin Neuroradiol*,2021,31(2):325-333.

[3] OPHELDERS D R M G,GUSSENHOVEN R,KLEIN L,et al. Preterm brain injury,antenatal triggers,and therapeutics: timing is key [J]. *Cells*,2020,9(8):1871.

[4] KWON B N,LEE N R,KIM H J,et al. Folate metabolizing gene polymorphisms and genetic vulnerability to preterm birth in Korean women[J]. *Genes Genomics*,2021,43(8):937-945.

[5] MAO Y Y,YANG L,LI M,et al. Periconceptional folic acid supplementation and the risk of spontaneous abortion among women who prepared to conceive: impact of supplementation initiation timing[J]. *Nutrients*,2020,12(8):2264.

[6] 折开娥,秦利,张凌燕. MTHFR C677T 基因多态性与胎儿神经管畸形关系[J]. 中国计划生育学杂志,2020,28(6):885-888.

SHE K E,QIN L,ZHANG L Y. Relationship between MTHFR C677T gene polymorphism and fetal neural tube malformation[J]. *Chin J Fam Plan*,2020,28(6):885-888.

[7] KHALIFE S,BISSAR-TADMOURI N. Inherited thrombophilia in a lebanese family of four generations: a case report of recurrent miscarriage[J]. *Vasc Health Risk Manag*,2020,21(16):53-56.

[8] 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.

[9] WADON M,MODI N,WONG H S,et al. Recent advances in the genetics of preterm birth[J]. *Ann Hum Genet*,2020,84(3):205-213.

[10] QIN J,LI J,LI F,et al. Association of maternal folate use and reduced folate carrier gene polymorphisms with the risk of congenital heart disease in offspring[J]. *Eur J Pediatr*,2021,180(10):3181-3190.

[11] SATA F,YAMADA H,KISHI R,et al. Maternal folate, alcohol and energy metabolism-related gene polymorphisms and the risk of recurrent pregnancy loss[J]. *J Dev Orig Health Dis*,2012,3(5):327-332.

[12] WANG W,JIAO X H,WANG X P,et al. MTR, MTRR, and MTHFR gene polymorphisms and susceptibility to nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*,2016,20(6):297-303.

[13] VANDER WINDT M,SCHOENMAKERS S,VAN RIJN B,et al. Epidemiology and (patho)physiology of folic acid supplement use in obese women before and during pregnancy [J]. *Nutrients*,2021,13(2):331.

[14] 劳海红,贺宪民. 海南省汉族和黎族妇女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]. 中国计划生育学杂志,2011,19(11):655-657.

LAO H H,HE X M. Study on methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase reductase gene polymorphism among the Han and Li women in Hainan province [J]. *Chin J Fam Plan*,2011,19(11):655-657.

[15] 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(10):779-781.

CONG Y Y,LU Y Q,RUI X Y,et al. Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase reductase genes in Han women in Zibo City[J]. *Prog Obstet Gynecol*,2012,21(10):779-781.

[16] 王连,郝胜菊,毛宝宏,等. 兰州地区育龄妇女叶酸代谢与早产的相关性研究[J]. 中国妇幼保健,2019,34(6):1234-1236.

WANG L,HAO S J,MAO B H,et al. Study on the correlation between folic acid metabolism and premature delivery in women of childbearing age in Lanzhou region[J]. *Matern Child Health Care China*,2019,34(6):1234-1236.

[17] ZHANG L,FU H,WEI T. MTHFR gene polymorphism and homocysteine levels in spontaneous abortion of pregnant women[J]. *Am J Transl Res*,2021,13(6):7083-7088.

[18] TURGAL M,GUMRUK F,KARAAGAOGLU E,et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and pregnancy outcome[J]. *Geburtshilfe Frauenheilkd*,2018,78(9):871-878.

(本文编辑:孟 月)

《新乡医学院学报》被 Scopus 数据库收录

近日,接 Elsevier 出版集团邮件通知,经严格评审遴选,《新乡医学院学报》(Journal of Xinxiang Medical University) 正式被 Scopus 数据库收录。《新乡医学院学报》是新乡医学院主管主办的综合性医药卫生类学术期刊,被 Scopus 数据库收录,标志着国际权威数据库对该刊的高度认可,这对提升该刊学术影响力、传播力和显示度有重要意义。

Scopus 数据库是由 Elsevier 出版集团推出的具有科研管理、学术评价功能的数据库,是全球规模最大的同行评议文献(科学期刊、书籍和会议记录)的文摘和引文数据库,覆盖 100% 的 Medline 期刊、100% 的 EI 期刊和约 97% 的 Web of Science 期刊,其学术影响力仅次于 Web of Science(包括 SCI、SSCI 和 A&HCI),被全球诸多重要学术排名机构(如 QS、THE 世界大学排名)作为学科产出及学科发展评估的主要数据来源。

《新乡医学院学报》编辑部衷心感谢各位编委、审稿专家、作者、读者的关心和支持,我们将再接再厉,努力提升办刊水平,积极宣传党和国家的科技政策,推动医学科学研究,促进医学信息交流,为我国医学事业的发展及全人类的健康作出积极贡献。