

# 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性、叶酸、同型半胱氨酸与神经管缺陷的关系

沈立萍 仇小强

神经管缺陷(neural tube defects, NTDs)是常见的新生儿先天畸形,主要类型有无脑儿、脊柱裂、脑膨出等,是由于新生儿在胚胎神经发育期神经管未能完全闭合引起的。NTDs是造成胎儿、婴儿死亡和残疾的主要原因之一,在出生缺陷中占一定比例,是世界范围内公共卫生的重要课题,全世界每年约有 30 万~40 万 NTDs 患儿出生。中国出生缺陷监测网资料显示,1996~2000 年中国人 NTDs 总发生率为 12.95/万,与 1986~1987 年的 27.40/万相比已大幅度下降,但发病率仍比较高<sup>[1]</sup>。NTDs 是多因子遗传病,是遗传因素和环境因素的相互作用导致胚胎和组织异常发育引起的,其发病机理和确切病因至今尚未明了。本文就 5-10-亚甲基四氢叶酸还原酶( $N^5, N^{10}$ -methylene tetrahydrofolate reductase, MTHFR)基因多态性与叶酸代谢和同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)蓄积之间的关系,以及它们之间的相互作用与 NTDs 发生的相关研究综述如下。

## 一、MTHFR

1. MTHFR 基因多态性:MTHFR 是叶酸代谢和 Hcy 再甲基化产生蛋氨酸的关键酶,人类的 MTHFR 的 cDNA 长 2.2 kb,属于常染色体隐性遗传。人们发现 MTHFR 有数十个突变位点,最常见的并与 NTDs 有一定联系的突变是 C677T,其次是 A1298C。根据第 677 位核苷酸呈多态性,可将 MTHFR 基因分为三种类型:C/C(野生基因型)、C/T(杂合突变型)、T/T(纯合突变型)<sup>[2]</sup>,MTHFR 基因的第 677 位碱基 C 被 T 置换后,导致一个高度保守的丙氨酸(A)变成了缬氨酸(V),形成纯合突变型,同时产生一个 Hinf I 和 Taq I 限制性内切酶酶切部位。第 1298 位核苷酸也呈多态性,发生 A1298C 突变后,导致一个谷氨酸被丙氨酸代替<sup>[3]</sup>。

2. MTHFR 基因多态性对酶活性及热稳定性的影响:不同的 MTHFR 基因型直接影响酶活性和热稳定性。C677T 和 A1298C 点突变都会影响酶活性,Mills 等<sup>[2]</sup>发现加热 5 min 后,T/T 的 MTHFR 酶活性下降程度明显大于 C/C、C/T。Frosst 等<sup>[4]</sup>报道发生 C677T 点突变成 T/T 的酶活性与 C/C 相比降低了 50%,热稳定性降低了 20%。A1298C 位点突变与酶活性有关,但未发现与酶的热稳定性有关,C677T 点突变对酶活性及其热稳定性的影响比 A1298C 要严重一些。两种突变都存在着国家、地区和种族差异。发生 C677T 突变的 T/T 的 MTHFR 酶活性和热稳定性较 C/C 和 C/T 要

低得多<sup>[3,5]</sup>。

3. MTHFR 基因多态性与 NTDs 的关系:MTHFR 基因多态性与 NTDs 的发生密切相关。大量的病例对照研究发现,MTHFR 基因位点多态是 NTDs 的一个可疑危险因素,但存在着种族和人群差异。De Marco 等<sup>[6]</sup>研究发现意大利人的 C677T 点突变是 NTDs 危险因素之一,A1298C 点突变在 NTDs 病例中的发生频率也比正常人高。郭小霞等<sup>[7]</sup>研究我国北方农村妇女的 MTHFR 基因多态性发现,NTDs 病例组的 T/T 比例远高于城市和农村对照组,生育 NTDs 患儿母亲的 C677T 基因突变率显著高于生育正常儿的母亲。Hansen 等<sup>[8]</sup>在小鼠胚胎的器官形成期用反义寡脱氧核苷酸技术干扰 MTHFR 的正常表达,结果造成小鼠 NTDs,从毒理学方面证实了 MTHFR 酶缺陷与 NTDs 有一定关系。在墨西哥,Gonzalez-Herrera 等<sup>[9]</sup>检测了 65 例 NTDs 病例、60 例病例母亲和 110 例健康对照的 MTHFR 的等位基因频率变化,但未发现三者之间差异有统计学意义。

## 二、叶酸与 Hcy

1. 叶酸与 NTDs 的关系:叶酸是一种辅酶,参与体内一碳单位的转移和利用及核酸、氨基酸、蛋白质和磷脂的代谢,对机体 DNA 和 RNA 的合成、细胞增殖和组织生长有重要意义。叶酸在人体内不能自身合成,必须从食物中摄取,孕妇由于需要量增加容易导致体内叶酸不足。

育龄妇女定量补充叶酸是预防 NTDs 的有效措施之一,1998 年美国开始对谷物类食品进行叶酸强化,并建议育龄妇女每天服用 0.4 mg 叶酸<sup>[10]</sup>。我国卫生部于 1993 年把“妇女增补叶酸预防 NTDs”列为国家重点科技成果推广项目,1997 年批准研制开发 NTDs 预防用药——斯利安片,并于 1998 年开始全国推广<sup>[11]</sup>。这些预防措施对减少 NTDs 发生卓有成效。

人体叶酸缺乏主要可以从两方面解释:其一是膳食缺乏,其二是吸收代谢障碍,育龄妇女通过补服叶酸可以降低大约 70% NTDs 发生率,但仍有 30% 左右不能通过补充叶酸得到解决。Molly<sup>[12]</sup>研究发现,许多叶酸营养状况较差的妇女补服叶酸后,临床缺乏状况并未得到很好的改善;大多数孕妇叶酸水平并不缺乏,而胚胎叶酸也有可能不足;怀上 NTDs 患儿的风险与母亲红细胞叶酸状态没有直接联系;一些生育过 NTDs 患儿的母亲孕期红细胞叶酸水平的变化在正常范围之内。这表明遗传因素和环境、营养因素存在交互作用,NTDs 的发生可能与患儿的先天性叶酸代谢障碍有关,

大量的叶酸摄入可能会克服叶酸代谢障碍。最好能同时检测母亲和胎儿的红细胞叶酸水平,再进一步进行比较。

2. Hcy 与 NTDs 的关系:Hcy 是一种含硫氨基酸,它通过三条途径分别转化为蛋氨酸和半胱氨酸,转化过程需要三种酶参与,即 MTHFR、蛋氨酸合成酶、胱硫醚- $\beta$ -合成酶(C $\beta$ S)。血浆 Hcy 水平受遗传及营养代谢等多方面因素的影响。近年研究表明 Hcy 代谢障碍与 NTDs 的发生密切相关。Mills 等<sup>[2]</sup>认为怀有 NTDs 患儿的妇女有轻度高 Hcy 血症,而孕期母体 Hcy 浓度轻度升高或蛋氨酸浓度轻度降低都会干扰胎儿神经管的闭合。Steegers-Theunissen 等<sup>[13]</sup>报道有些生育过 NTDs 患儿的妇女血浆 Hcy 浓度在空腹和蛋氨酸负载后均明显高于正常对照组,而且部分 NTDs 畸形儿的羊水中 Hcy 含量比正常胎儿要高。这些研究结果提示我们母体高 Hcy 血症与 NTDs 的发生成正相关,Hcy 蓄积可能是 NTDs 的危险因素之一。李勇等<sup>[14]</sup>通过鸡胚致畸实验证实 Hcy 能诱发神经系统细胞凋亡过度,对神经胚形成期和器官形成期的胚胎均有显著的致畸作用,而且凋亡部位和 NTDs 发生部位吻合。

3. 叶酸与 Hcy 的互动作用:叶酸的摄取和代谢与体内 Hcy 的蓄积之间有密切联系。叶酸、维生素 B<sub>12</sub> 和 B<sub>6</sub> 是 Hcy 代谢转化的必需因子,缺乏叶酸和 B 族维生素会导致 Hcy 的代谢障碍。临床试验证实,坚持单独服用叶酸或协同维生素 B<sub>12</sub> 和 B<sub>6</sub>,可以使血浆 Hcy 水平显著下降<sup>[15]</sup>,有报道称在美国 1995~1996 年末进行叶酸强化与 1997~1998 年进行叶酸强化后相比,老年人的血清叶酸水平有所上升,而高 Hcy 血症相应减少了 50%<sup>[16]</sup>。Stephane 等<sup>[17]</sup>给 51 个动脉硬化患者每天单独服 15 mg 叶酸 2 个月,然后每天服 15 mg 叶酸和 1 mg 维生素 B<sub>12</sub> 2 个月,分别检测他们的 Hcy 水平,发现血浆 Hcy 水平显著下降。由此可见体内叶酸水平与血浆 Hcy 水平成反比,服用大量叶酸在一定程度上可以促进 Hcy 排泄、降低血浆 Hcy 水平,但两者的因果联系有待进一步研究。

### 三、MTHFR 基因多态性与叶酸、Hcy 代谢的关系

MTHFR 是叶酸代谢和 Hcy 再甲基化产生蛋氨酸的关键酶,它催化 5-10-亚甲基四氢叶酸还原为 5-甲基四氢叶酸——人体内最主要的甲基供体,Hcy 接受 5-甲基四氢叶酸提供的甲基生成蛋氨酸,因此 MTHFR 酶缺陷必然导致 Hcy 转换为蛋氨酸发生障碍,造成体内 Hcy 积蓄,形成高 Hcy 血症。据报道,MTHFR 基因的 C677T 突变所导致的酶活性和热敏感性降低对机体的不利影响可能与身体对低叶酸水平的耐受范围有关,当有大量的叶酸摄入并且没有其他半胱氨酸代谢酶缺陷时,MTHFR 基因的 C677T 突变可无异常临床表现,当无足够叶酸摄入时,突变则可导致高 Hcy 血症<sup>[18]</sup>。

MTHFR 基因突变位点不同,对 Hcy 代谢的影响也不同。Weisberg 等<sup>[19]</sup>发现,C677T 和 A1298C 两种突变同时发生的人与只有 C677T 突变的人相比,前者的 Hcy 水平显著较高,仅仅是 A1298C 突变的人并未发现对 Hcy 水平有显著

影响,但在一定程度上协同 C677T 的作用。Hanson 等<sup>[20]</sup>检测 1238 人的 C677T 和 A1298C 的基因多态性的分布情况,并分别检测他们空腹和蛋氨酸负载的血浆 Hcy 水平,发现 677T/T 的人空腹 Hcy 显著高于 677C/C,尤其是在叶酸水平较低的情况下,但是 1298AC 和 1298CC 两组的空腹和蛋氨酸负载的血浆 Hcy 水平没有区别,即未发现 A1298C 点突变和血浆 Hcy 水平升高之间有显著联系。

维生素 B<sub>6</sub>、B<sub>12</sub> 是 C $\beta$ S 和甲基转移酶的供体,5-甲基四氢叶酸也是甲基供体,补服充足的叶酸能够缓解 MTHFR 酶缺陷造成的 Hcy 蓄积。Marja 等<sup>[21]</sup>研究发现高叶酸饮食的妇女的血浆 Hcy 水平与低叶酸饮食的妇女相比降低了 13%;同是高叶酸饮食的人,由于其 MTHFR 基因型不一样,表现出不一样的血清叶酸水平和 Hcy 蓄积水平,T/T 型血清叶酸水平最低,而血浆 Hcy 蓄积水平最高。郝玲等<sup>[22]</sup>也认为红细胞叶酸与血浆 Hcy 水平显著负相关,良好的叶酸营养状况可以降低因 MTHFR 基因突变引起的酶缺陷所造成的 Hcy 升高。

综上所述,MTHFR 基因多态性与 Hcy 代谢的关系、Hcy 蓄积与叶酸增补的关系,它们之间的协同作用及其对 NTDs 发生的致病机理等各方面的研究还不十分明了,目前这方面的研究多数属于回顾性研究,前瞻性和实验性研究开展较少,有待进一步深入探讨。

### 参 考 文 献

- 1 代礼,朱军,周光萱,等.1996~2000 年全国神经管缺陷的动态监测.中华预防医学杂志,2002,36:402-405.
- 2 Mills JL, McPartlin JM, Kirke PN, et al. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural tube defects. Lancet, 1995, 345:149-151.
- 3 Weisberg IS, Tran P, Christensen B, et al. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase associated with decreased enzyme activity. Mol Genet Metab, 1998, 64:169-172.
- 4 Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Nat Genet, 1995, 10:111-113.
- 5 Yamada K, Chen Z, Rozen R, et al. Effect of common polymorphisms on the properties of recombinant human methylenetetrahydrofolate reductase. Proc Natl Acad Sci, 2001, 98:14853-14858.
- 6 De Marco P, Calevo MG, Moroni A, et al. Study of MTHFR and MS polymorphisms as risk factor for NTDs in the Italian population. J Hum Genet, 2002, 47:319-324.
- 7 郭晓霞,高原原,詹思延,等.5-10-亚甲基四氢叶酸还原酶多态性与神经管畸形的病例对照研究.疾病控制杂志,2000,4:217-219.
- 8 Hansen DK, Barbes SA, Grafton TF, et al. Antisense modulation of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase expression produces neural tube defects in mouse embryos. Reprod Toxicol, 2001, 15:21-29.
- 9 Gonzalez-Herrera L, Orozco-Orozco L, Del Angel R, et al. Frequency of the thermolabile variant C677T in the MTHFR gene and lack of association with neural tube defects in the State of Yucatan, Mexico. Clin Genet, 2002, 62:394-398.
- 10 Williamson R. Prevention of birth defects: folic acid. Biol Res Nurs, 2001, 3:33-38.
- 11 李竹,陈新,赵平,等.妇女增补叶酸预防神经管畸形推广研究五

年成果和工作总结. 中国公共卫生 2001, 17:725-727.

12 Molly AM. Folate bioavailability and health. Int J Vitam Nutr Res, 2002, 72:46-52.

13 Steegers - Theunissen RP, Boers GH, Tribels FJ, et al. Maternal hyperhomocysteinemia: a risk factor for neural-tube defect. Metabolism, 1994, 43:1475-1480.

14 李勇, 李竹, 陈星, 等. 同型半胱氨酸诱发鸡胚神经管畸形及叶酸的保护作用. 卫生研究, 1998, 27:372-376.

15 Jacques PF, Selhub J, Boston AG, et al. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. N Engl J Med, 1999, 340:1449-1454.

16 Rader JI. Folic acid fortification, folate status and plasma homocysteine. J Nutr, 2002, 132:2466-2470.

17 Stephane B, Bruno T, Estelle C, et al. Hyperhomocysteinemia, folate and vitamin B<sub>12</sub> in unsupplemented haemodialysis patients: effect of oral therapy with folic acid and vitamin B<sub>12</sub>. Nephrol Dial Transplant, 2002, 17: 455-461.

18 Guttormsen AB, Ueland PM, Nesthus L, et al. Determinants and vitamin responsiveness of intermediate hyperhomocysteinemia

( > or = 40 micromol/liter). The Hordaland Homocysteine Study. J Clin Invest, 1996, 98:2174.

19 Weisberg IS, Jacques PF, Selhub J, et al. The 1298-C polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): in vitro expression and association with homocysteine. Atherosclerosis, 2001, 156:409-415.

20 Hanson NQ, Aras O, Yang F, et al. C677T and A1298C polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene: incidence and effect of combined genotypes on plasma fasting and post-methionine load homocysteine in vascular disease. Clin Chem, 2001, 47:661-666.

21 Marja LS, Maire R, Maritta S, et al. Polymorphisms of key enzymes in homocysteine metabolism affect diet responsiveness of plasma homocysteine in healthy women. J Nutr, 2001, 131:2643-2647.

22 郝玲, 刘明珠, 刘晓慧, 等. 血浆同型半胱氨酸与叶酸、维生素 B<sub>12</sub> 及还原酶的关系. 中华预防医学杂志, 2000, 34:22-24.

(收稿日期: 2003-02-11)  
(本文编辑: 尹廉)

## · 疾病控制 ·

# 一起腺病毒上呼吸道感染爆发的调查

陈斌 贺圆圆 余枫华 杨绍金 周红雨 袁方玉

2004 年 6 月 16 日至 7 月 4 日, 宜昌市点军区联棚乡福安村小学有多名学生先后出现发热、扁桃体肿大等症状。经现场调查, 累计发病 65 例, 全部为福安小学学生。结合临床表现、流行病学调查和实验室检测结果, 判定此次疫情为一起腺病毒引起的上呼吸道感染爆发。

1. 发病概况: 福安小学有 7 个班(含 1 个学前班) 280 名学生。学校不提供住宿, 有食堂, 但不为学生提供食物。学校使用自来水, 为学生提供冷开水。学校教室通风情况尚可, 环境卫生状况一般。共有 65 人发病, 罹患率为 23.21% (65/280)。所有病例均以持续发热、扁桃体肿大、咽部充血为主要表现, 部分病例同时有眼结膜炎; 体温最高者达 40.4℃, 现场检查体温在 38℃ 以上的有 47 例, 占发热患者的 72.31%, 39℃ 以上的有 20 例, 占 30.77%; 高热易反复, 一般持续 2~3 天, 后转为低热, 发病 5~7 天后体温恢复正常; 扁桃体肿大 27 例, 占 41.58%; 咽充血 46 例, 占 70.79%; 眼结膜充血 16 例, 占 24.65%; 少数病例有轻微头痛、乏力、咳嗽症状, 肺部无实质改变。65 例患者都曾在村卫生室和区医院就诊对症治疗, 至 7 月 10 日患者均痊愈, 无并发症。病程 7~10 天。

2. 实验室检测: 采集 22 份血液标本, 血常规显示 5 例白细胞计数升高(10.3×10<sup>9</sup>/L~13.6×10<sup>9</sup>/L)。IFA 检测抗呼吸道病原血清抗体 IgM 4 份, 均为阴性。ELISA 检测流感、副流感、呼吸道合胞病毒、柯萨奇病毒 IgM 抗体均为阴性; 采集现症患者鼻咽拭子 20 份, 其中现场检测 4 份流感病毒均为阴性, 6 份检测腺病毒 4 份阳性。5 份咽拭子送湖北省疾

病预防控制中心作细胞培养, 1 份有细胞病变, 经检测腺病毒阳性。

3. 流行病学特征: ① 首发病例为一对毗邻而居的堂姐妹, 分别为福安小学三年级学生、塘上小学五年级学生, 两人同于 6 月 16 日发病, 经治疗, 至 25 日, 均痊愈。调查表明, 两人发病前无同类患者接触史。塘上小学近期无类似病例发生。② 初期病例主要集中在三年级, 其后二年级病例逐渐增多, 三年级罹患率为 66.03% (35/53), 首发病例所在三年级一组 14 人全部发病, 二年级罹患率为 34.21% (13/38); 学前班、一年级、四至六年级各有 2~5 名学生发病。发病学生年龄 7~12 岁, 以 8、9 岁居多, 男生 28 例, 女生 37 例, 经走访患病学生家长、乡村医生, 近期周围村民和其他学校无类似病例。③ 自 6 月 16 日出现第 1 例病例后, 6 月 19 日开始出现 2 代病例, 6 月 21、25、29 日分别出现发病高峰, 7 月 4 日报告最后 1 例病例。93.85% (61/65) 的病例出现于 19~30 日的两周内, 整个疫情持续 20 天。

4. 疫情分析: 此次疫情发生突然, 病例集中, 全部为福安小学学生, 临床表现一致, 以高热、扁桃体充血及肿大、眼结膜炎为主要表现, 近 25% 的病例表现为咽结膜热; 以抗病毒、抗感染和对症治疗有效, 病程约 7 天; 实验室排除流感、副流感、呼吸道合胞病毒、柯萨奇病毒; 现场快速检测病原、实验室病毒培养分离结果均提示存在腺病毒, 通过采取针对性预防控制措施, 在较短时间内有效地控制了疫情。根据病例临床表现、现场流行病学调查资料、实验室检测结果, 确定此次疫情为一起腺病毒引起的急性上呼吸道感染爆发, 传播方式为密切接触和空气飞沫传播。

作者单位: 443005 湖北省宜昌市疾病预防控制中心(陈斌、贺圆圆、余枫华、杨绍金、周红雨); 湖北省疾病预防控制中心(袁方玉)

(收稿日期: 2004-07-29)

(本文编辑: 张林东)