

## 维生素 B<sub>12</sub> 在神经管缺陷一级预防中的作用研究进展

尚肖肖 王志萍 赵仲堂

**【关键词】** 维生素 B<sub>12</sub>; 神经管缺陷; 一级预防

**Progress on the role of vitamin B<sub>12</sub> in primary prevention of neural tube defects** SHANG Xiao-xiao, WANG Zhi-ping, ZHAO Zhong-tang. Department of Epidemiology and Health Statistics, School of Public Health, Shandong University, Jinan 250012, China

Corresponding author: WANG Zhi-ping, Email: zhipingw@sdu.edu.cn

The work was supported by a grant from the National Science and Technology Support Projects for the "Eleventh Five-Year Plan" of China (No. 2006BAI05A01)

**【Key words】** Vitamin B<sub>12</sub>; Neural tube defects; Primary prevention

维生素 B<sub>12</sub> (Vit B<sub>12</sub>) 又称钴胺素 (cobalamins), 是一组有钴结合咕啉环的红色类咕啉化合物的总称, 是一种维持人体正常代谢和机能不可缺少的、机体不能合成的微量营养素。自 1980 年 Schorah 等<sup>[1]</sup>报道低水平 Vit B<sub>12</sub> 和脑畸形发生有关后, Vit B<sub>12</sub> 与神经管缺陷 (neural tube defects, NTDs) 的关系引起广泛关注。近年来, NTDs 的一级预防干预措施主要是在育龄妇女中推广增补叶酸, 然而目前越来越多的学者呼吁应在增补叶酸的基础上同时增补 Vit B<sub>12</sub>, 以进一步降低 NTDs 发生率<sup>[2-5]</sup>。本文对近年来国内外 Vit B<sub>12</sub> 与 NTDs 的相关文献以及增补 Vit B<sub>12</sub> 所面临的问题予以综述, 以期对 NTDs 一级预防及相关问题的进一步研究提供参考。

### 一、机体低水平 Vit B<sub>12</sub> 与 NTDs 关系

1. 血清 Vit B<sub>12</sub> 与 NTDs: 相关研究表明<sup>[6-9]</sup>, 孕育 NTDs 胎儿的妇女其血清 Vit B<sub>12</sub> 水平低于正常孕妇; 提示母亲低水平 Vit B<sub>12</sub> 可能与 NTDs 发病相关联。Gaber 等<sup>[6]</sup>对 36 名有 NTDs 生育史的孕妇和 35 名正常孕妇的病例对照研究, 发现低水平的 Vit B<sub>12</sub> 将会使 NTDs 发病风险增加 2~3 倍。同样 Groenen 等<sup>[7]</sup>对 45 名有脊柱裂 (NTDs 的一种类型) 生育史的妇女及 85 名正常妇女测其血清 Vit B<sub>12</sub> 后发现, 病例组约有 21% (95%CI: 8%~33%) 的妇女 Vit B<sub>12</sub> 水平低于对照组, 而且当 Vit B<sub>12</sub> < 185 pmol/L 时, 发生脊柱裂的危险增加 3.5 倍 (95%CI: 1.3~8.9)。而在我国, 两者之间关联程度似乎更高。Zhang 等<sup>[2]</sup>对山西省吕梁县 84 名生育过 NTDs 婴儿的妇

女及 110 名正常孕妇的病例对照研究结果显示, 生育过 NTDs 胎儿的妇女血清 Vit B<sub>12</sub> 水平低于正常孕妇 ( $P < 0.01$ ); 当 Vit B<sub>12</sub> < 55 pmol/L 时, 妇女孕育胎儿发生 NTDs 风险是  $\geq 55$  pmol/L 妇女的 4.96 倍 (95%CI: 1.94~12.67)。同样, Song 等<sup>[8]</sup>在山西省吕梁县的研究表明, 血清 Vit B<sub>12</sub> < 52.5 pmol/L 时, 该地区的 NTDs 风险将会增加 7.78 倍 (95%CI: 2.00~30.28)。Ratan 等<sup>[9]</sup>还检测了父亲方的 Vit B<sub>12</sub> 水平, 发现 NTDs 胎儿父亲的血清 Vit B<sub>12</sub> 水平低下, 并推断胎儿 NTDs 的发生不仅受母亲营养缺乏的影响, 还可能受来自父亲的更为复杂的基因-营养交互作用影响。

2. Vit B<sub>12</sub>、叶酸与 NTDs: Molloy 等<sup>[4]</sup>在爱尔兰没有叶酸强化人群中进行了三组独立的巢式病例对照研究: 1 组为 95 名确诊孕育 NTDs 的孕妇与 265 名正常对照; 2 组为 107 名既往有 NTDs 生育史目前胎儿正常的孕妇与 414 名正常对照; 3 组为 76 名有其他出生缺陷 (非 NTDs) 的孕妇与 222 名正常对照。结果显示, 目前胎儿是 NTDs 的孕妇血清 Vit B<sub>12</sub> 水平最低; 三组妇女中, Vit B<sub>12</sub> 水平处于最小四分位数的人群发生 NTDs 的风险是 Vit B<sub>12</sub> 水平处于最大四分位数人群的 2~3 倍, 而且当 Vit B<sub>12</sub> < 250 ng/L (相当于 185 pmol/L) 发生 NTDs 的风险最大。加拿大的一项队列研究显示<sup>[10]</sup>, 叶酸强化之后 Vit B<sub>12</sub> 水平处于最小四分位数的妇女发生 NTDs 风险将会增加 3 倍 (95%CI: 0.95~11.00)。由此可知, 不论叶酸强化与否, Vit B<sub>12</sub> 水平低下都可能使 NTDs 发生风险增加, 提示低水平 Vit B<sub>12</sub> 可能是发生 NTDs 的一个独立危险因素。

3. 羊膜水中的 Vit B<sub>12</sub> 与 NTDs: Steen 等<sup>[11]</sup>研究发现 16 名孕育 NTDs 胎儿的妇女羊膜水 Vit B<sub>12</sub> 水平 (150 pg/ml, 相当于 110 pmol/L) 明显低于 64 名对照组的 Vit B<sub>12</sub> 水平 (540 pg/ml, 相当于 405 pmol/L)。Dawson 等<sup>[12]</sup>和 Brouns 等<sup>[13]</sup>分别报道了孕育 NTDs 胎儿的妇女羊膜水 Vit B<sub>12</sub> 水平低于正常妇女的研究结果, 并推断 NTDs 风险与妇女羊膜水中低水平 Vit B<sub>12</sub> 有关。然而, 另有研究发现<sup>[14,15]</sup>, 尽管孕育 NTDs 胎儿的妇女羊膜水中 Vit B<sub>12</sub> 水平低于正常孕妇, 但与对照组比较差异无统计学意义。其中, 第一项研究病例组和对照组的样本量分别为 8 名和 24 名, 第二项研究分别为 27 名和 31 名。样本量较少可能是导致两项研究结果没有差异的主要原因。

4. 甲基丙二酸 (methyl malonic acid, MMA) 与 NTDs: Vit B<sub>12</sub> 缺乏时, 由于甲基丙二酰辅酶 A 代谢障碍导致体内 MMA 水平升高。通过检测 MMA 水平是否增高可反映 Vit B<sub>12</sub> 是否缺乏。Adams 等<sup>[16]</sup>测定了 32 名孕育 NTDs 胎儿的孕妇和 132 名正常孕妇体内 MMA 水平, 发现母体 MMA 水平和 NTDs 风险之间有着较强的剂量反应关系, 母体 MMA 水平 > 90% 分位数时 NTDs 发病风险增加 13.3 倍 (95%CI: 2.7~65.5); 而有

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2010.05.025

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划 (2006BAI05A01)

作者单位: 250012 济南, 山东大学公共卫生学院流行病学与卫生统计学研究所

通信作者: 王志萍, Email: zhipingw@sdu.edu.cn

NTDs生育史的非孕妇同正常非孕妇MMA水平基本一致。Luo等<sup>[17]</sup>发现孕育NTDs胎儿的我国妇女较正常孕妇羊膜水和尿液中MMA水平明显增高,推测孕育NTDs胎儿的妇女体内Vit B<sub>12</sub>缺乏,表明MMA水平升高可作为NTDs早期诊断的一个敏感指标。但Song等<sup>[8]</sup>在我国NTDs高发区的一项研究显示,虽然该高发区NTDs孕妇组( $n=35$ )和正常孕妇组( $n=38$ )体内MMA水平都高于北京地区正常孕妇组( $n=102$ ),但并未发现三者之间的关联性。该作者认为其研究结果样本量相对较少,结论外推受到一定限制。

5. 全转钴胺素(Holo-Tc)与NTDs:Holo-Tc即结合了Vit B<sub>12</sub>的转钴胺素(Tc),约含血清Vit B<sub>12</sub>的20%,代表了细胞可利用的Vit B<sub>12</sub>总量,可能是更为有效的衡量Vit B<sub>12</sub>在体内生物有效性的标志物<sup>[16]</sup>。据Ray等<sup>[19]</sup>报道,在妊娠期的NTDs或有NTDs生育史的孕妇血清Holo-Tc水平低于正常对照( $n=422$ ),处于Holo-Tc最小四分位数的妇女孕育NTDs的风险是最大四分位数妇女的2.9倍(95%CI: 1.2~6.9)。Afman等<sup>[20]</sup>的病例和对照研究发现,血浆中最小四分位数的Holo-Tc II和Holo-Tc II/Total-Tc II分别可使NTDs发生率增加3倍(95%CI: 0.9~9.2)和5倍(95%CI: 1.3~19.3);该作者推测低水平的Holo-Tc/Total-Tc是NTDs的一个危险因素;然而由于研究样本例数较少,还不能就此下结论。也有报道孕育NTDs胎儿的妇女或者生育过NTDs儿的妇女羊膜水中转钴胺素II(Tc-II)水平和apo-Tc(不与Vit B<sub>12</sub>结合的Tc)水平均明显增高<sup>[13]</sup>。

综上所述, Vit B<sub>12</sub>缺乏所致的血清或羊膜水Vit B<sub>12</sub>水平降低, MMA水平升高或者Holo-Tc的减少都可能与NTDs发生相关联。由于多采用观察性研究,且样本量相对较小,所以尚需要在病因论证上具有较强说服力的随机对照试验和大规模的以人群为基础的干预研究结果进一步说明Vit B<sub>12</sub>缺乏与NTDs发病关系。

## 二、Vit B<sub>12</sub>缺乏致NTDs的生物学机制及遗传学基础

1. Vit B<sub>12</sub>缺乏致NTDs的生物学机制: Vit B<sub>12</sub>在体内有两条代谢途径。一是通过辅助叶酸参与血浆同型半胱氨酸(Hcy)甲基化生成蛋氨酸的过程;二是参加甲基丙二酰辅酶A异构化成琥珀酰辅酶A的过程。若机体Vit B<sub>12</sub>缺乏,这两个代谢过程都会受到影响。在第一个途径中, Hcy在蛋氨酸合成酶(MTR)及其辅酶Vit B<sub>12</sub>作用下与5-甲基四氢叶酸合成蛋氨酸和四氢叶酸。5-甲基四氢叶酸是该过程中甲基的供体,是由亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)催化四氢叶酸还原而来。当Vit B<sub>12</sub>缺乏时, Hcy甲基化过程受阻,会造成Hcy在体内蓄积,影响DNA的合成,从而影响细胞的正常增殖和分化。所以,目前Vit B<sub>12</sub>被认为是叶酸强化之后体内Hcy仍然处于高水平的主要决定因素<sup>[21,22]</sup>。在第二个途径中, Vit B<sub>12</sub>缺乏会造成甲基丙二酰辅酶A在体内的积累,结果引起甲基丙二酰辅酶A的水解产生MMA<sup>[18]</sup>。所以,与Vit B<sub>12</sub>缺乏相关联而增高的NTDs发病风险,可能与Vit B<sub>12</sub>缺乏以后致Hcy在体内积累<sup>[21,22]</sup>、蛋氨酸合成减少<sup>[20,23,24]</sup>、叶酸循环损伤<sup>[25]</sup>或者MMA水平升高有关<sup>[8,16,17]</sup>。

2. Vit B<sub>12</sub>缺乏致NTDs的遗传学基础: Vit B<sub>12</sub>缺乏致

NTDs的主要致病基因目前尚未确定;它是叶酸循环中蛋氨酸合成途径的辅酶,因此该过程中的一些酶,如MTHFR、MTR、蛋氨酸合酶还原酶(MTRR)等结构改变或功能障碍都可能是Vit B<sub>12</sub>缺乏时发生NTDs的遗传学基础。Wilson等<sup>[26]</sup>研究发现, MTRR基因的多态性位点A66G存在一个酶切位点I22M,其M/M基因型联合低水平Vit B<sub>12</sub>时脊柱裂发生率较I/I或I/M基因型同时Vit B<sub>12</sub>水平正常时增高5倍(OR=4.8, 95%CI: 1.5~15.8);随后, van der Linden等<sup>[27]</sup>研究发现, MTRR66GG基因型联合低水平Vit B<sub>12</sub>使脊柱裂风险增加1.7倍(OR=1.7, 95%CI: 0.7~4.0),或联合高水平的MMA使脊柱裂风险增加5.5倍(OR=5.5, 95%CI: 2.2~13.5)。MTHFR与Hcy复甲基化密切相关, MTHFR基因突变联合低水平Vit B<sub>12</sub>同样增加NTDs的发病风险。Candito等<sup>[28]</sup>发现3名生育过NTDs患儿的母亲,虽均不缺乏叶酸但都有Vit B<sub>12</sub>水平低的现象,而且1名Vit B<sub>12</sub>明显缺乏的孕妇, MTHFR C677T、MTR A2756G、MTRR A66G都发生突变, 1名A66G发生突变,另1名C677T和A66G突变。

此外,与Vit B<sub>12</sub>转运有关的Tc基因也可能是NTDs的遗传基础。在体内, Vit B<sub>12</sub>通过Tc-II转运进入细胞组织,转运失败将会造成机体Vit B<sub>12</sub>功能性缺乏,使血清MMA或Hcy水平升高<sup>[29]</sup>。编码转钴胺素的Tc-II基因的多态性位点C776G突变可能会增高NTDs发病风险,其中纯合型CC或GG等位基因会导致Holo-Tc水平降低<sup>[30]</sup>;GG等位基因可能会增加后代脊柱裂的发病风险(OR=2.22, 95%CI: 1.1~4.45)<sup>[31]</sup>;CC等位基因可能会增加后代唇裂的发病风险<sup>[32]</sup>。另外, Tc-II多态性位点C776G基因中P259R密码子多态性决定血清Tc的浓度<sup>[33]</sup>,还可能会干涉Vit B<sub>12</sub>细胞可利用度和Hcy代谢<sup>[34]</sup>。Tc基因变异可能会使Vit B<sub>12</sub>与Tc的亲合力下降<sup>[20,30]</sup>。Afman等<sup>[35]</sup>发现Tc编码区的5种单核苷酸多态性(SNP),其中S348F密码子会增强Vit B<sub>12</sub>与Tc的结合力,而P259R密码子则使Vit B<sub>12</sub>与Tc的结合力减弱。然而, Swanson等<sup>[36]</sup>未发现P259R密码子改变与NTDs风险的关联性,但S348F密码子改变可能会增加NTDs风险。所以, P259R和S348F密码子是否与NTDs有关还有待确证。2009年的一项研究发现, Vit B<sub>12</sub>受体(cubilin, CUBN)基因27区内的一个SNP(rs1907362)可能会降低脊柱裂的发病风险,同时发现体内Vit B<sub>12</sub>水平增加与其相关<sup>[37]</sup>。与Vit B<sub>12</sub>缺乏致NTDs的相关基因待进一步研究。

三、NTDs一级预防中增补Vit B<sub>12</sub>可行性及存在的问题  
鉴于Vit B<sub>12</sub>缺乏与NTDs发病风险的关联性,越来越多的专家建议在NTDs的一级预防措施中Vit B<sub>12</sub>应与叶酸同步增补<sup>[2-5]</sup>。

### 1. 增补Vit B<sub>12</sub>可行性:

(1) 增补Vit B<sub>12</sub>的人群基础:在印度次大陆、墨西哥、中美洲、南美洲和非洲部分地区均存在Vit B<sub>12</sub>缺乏问题<sup>[38]</sup>。在亚洲,素食者、婴幼儿、育龄期妇女和老年人是Vit B<sub>12</sub>缺乏的高危人群<sup>[38]</sup>。美国和英国约有6%的60岁以上老年人普遍缺乏Vit B<sub>12</sub>(<148 pmol/L)<sup>[39]</sup>。委内瑞拉某地区婴幼儿、青少年和孕妇人群中约有11.4%缺乏Vit B<sub>12</sub>(<200 pg/ml),其中孕

人群中缺乏的比例高达61.34%<sup>[40]</sup>。纽芬兰一项横断面研究显示,孕早期妇女 Vit B<sub>12</sub> 缺乏 (<130 pmol/L) 和贫血 (130~160 pmol/L) 的比例达到43.6%<sup>[41]</sup>。尼泊尔28%的孕早期妇女缺乏 Vit B<sub>12</sub> (<150 pmol/L)<sup>[42]</sup>。

Hao等<sup>[43]</sup>首次对我国35~64岁成年人中血清 Vit B<sub>12</sub> 进行了检测,发现11%南方人和37%北方人缺乏 (<185 pmol/L),北方高于南方。另外,王冰洁等<sup>[44]</sup>发现山西省出生缺陷高发地区人群 Vit B<sub>12</sub> 等营养素摄入量明显不足。

尽管各地区对于 Vit B<sub>12</sub> 缺乏的界定标准稍有差异 [WHO 定义 Vit B<sub>12</sub> 缺乏标准为 <150 pmol/L (或 <200 pg/ml)<sup>[45]</sup>], 但可以发现人群普遍存在 Vit B<sub>12</sub> 缺乏现象,尤其是孕早期妇女 Vit B<sub>12</sub> 缺乏现象更为严重。这给增补 Vit B<sub>12</sub> 的可行性提供了依据。

(2) 增补 Vit B<sub>12</sub> 可以增强叶酸预防 NTDs 效果:据 Bronstrup 等<sup>[46]</sup>的研究结果显示,联合服用4周叶酸和 Vit B<sub>12</sub> 后体内 Hcy 下降18%;该效果显著高于单独服用叶酸后 Hcy 下降率(11%)。Graulet 等<sup>[47]</sup>发现给奶牛联合增补 Vit B<sub>12</sub> 和叶酸之后,2种维生素的利用率均明显升高,提示 Vit B<sub>12</sub> 和叶酸在代谢中具有协同作用, Vit B<sub>12</sub> 可以增强叶酸的利用率。Xu 等<sup>[48]</sup>用乙醇诱导试管小鼠胚胎产生出生缺陷之后,联合应用 Vit B<sub>12</sub> 和叶酸对小鼠的保护作用高于单独用叶酸或 Vit B<sub>12</sub>, 提示 Vit B<sub>12</sub> 可以增强叶酸预防 NTDs 效果。

(3) 增补 Vit B<sub>12</sub> 可以减轻高水平叶酸对机体的某些损害: Ramos 等<sup>[49]</sup>的研究结果显示,高水平血清叶酸 (>59 nmol/L) 伴低水平 Vit B<sub>12</sub> (<148 pmol/L) 与妇女认知损害存在关联 (OR=0.28, 95%CI: 0.11~0.72); Morris 等<sup>[50]</sup>的队列研究也发现低水平的 Vit B<sub>12</sub> (<148 pmol/L) 与贫血、巨红细胞性贫血及认知功能障碍有关。印度一项研究发现<sup>[51]</sup>, 妊娠期妇女体内单纯高水平叶酸会增加后代肥胖和胰岛素拮抗风险;还有报道高剂量的叶酸可能会掩盖 Vit B<sub>12</sub> 缺乏现象,加剧 Vit B<sub>12</sub> 缺乏引起的贫血和认知功能损害<sup>[52,53]</sup>。提示增补 Vit B<sub>12</sub> 可以纠正或降低高水平叶酸对机体的某些损害。

(4) 增补 Vit B<sub>12</sub> 的其他益处: Bozkurt 等<sup>[54]</sup>研究土耳其绝经后妇女血清 Hcy、Vit B<sub>12</sub> 和叶酸水平与股骨和腰椎骨密度的关系。结果发现,骨质疏松症可能与高 Hcy 水平 (高于中位数) 合并低 Vit B<sub>12</sub> 水平 (低于最小五分位数) 相关,而不与叶酸水平相关。故建议通过膳食额外补充 Vit B<sub>12</sub> 以减少骨折风险和恢复骨骼健康。Czeizel<sup>[55]</sup>对匈牙利妇女孕前增补多种维生素制剂 (包括叶酸 0.8 mg/d 和 Vit B<sub>12</sub> 4.0 μg/d) 的随机对照和队列对照研究结果都显示,孕前增补多种维生素制剂可以使心脑血管先天异常的发病风险降低42% (OR=0.56), 泌尿道先天异常发病风险降低41% (OR=0.57), 同时孕前增补多种维生素制剂可减少恶心和呕吐的发生。

## 2. 增补 Vit B<sub>12</sub> 面临的问题:

(1) Vit B<sub>12</sub> 增补形式:一是采用强化形式,如强制性强化或自愿性强化。在美国约有49%妊娠状况是未计划的<sup>[56]</sup>;一些研究机构正在考虑是否应该像强化叶酸一样在谷物中或在某些食品中强化 Vit B<sub>12</sub><sup>[3,57]</sup>。另一种是在高危人群中推广 Vit B<sub>12</sub> 补充制剂。

对于 Vit B<sub>12</sub> 补充制剂,目前还很少有像叶酸片、斯利安一样用于预防 NTDs 的单独 Vit B<sub>12</sub> 补充制剂。在我国市面上有多种用于孕妇补充多重维生素及矿物质制剂的成分中包含叶酸和 Vit B<sub>12</sub>, 例如福施福、玛特纳、爱乐维等。由于含叶酸和 Vit B<sub>12</sub> 的多重维生素补充制剂较单纯叶酸片成本明显增加,会在一定程度上影响干预对象依从性。因此,为进一步降低 NTDs 发病率,可以考虑在推广的叶酸片中单纯添加 Vit B<sub>12</sub>。

(2) 强化 Vit B<sub>12</sub> 的载体:关于人群强化 Vit B<sub>12</sub> 载体,由于谷物 (小麦/玉米面粉) 消耗量大并且消耗量稳定,因而是叶酸、铁、多种 B 族维生素或其他营养素强化的首选载体<sup>[45]</sup>。以色列开展的关于在面粉中添加 Vit B 和铁的一项可行性试验研究结果显示,面粉中添加的 Vit B<sub>12</sub> 在烘烤时能保持稳定,且不影响面包的质量,6个月后人血清中 Vit B<sub>12</sub> 的含量略有增加<sup>[58]</sup>。Tucker 等<sup>[59]</sup>进行了随机双盲实验研究,每天给予93名50岁以上人的早餐面包中含有 Vit B<sub>12</sub> 4.8 μg、叶酸 440 μg 和 Vit B<sub>6</sub> 1.8 mg, 干预14周以后体内血清 Vit B<sub>12</sub> 水平由296 pmol/L 增加到354 pmol/L, Vit B<sub>12</sub> <185 pmol/L 的研究对象由干预前9.7%下降为干预后的3.3%;而安慰剂组 (不添加任何维生素, n=96) 血清 Vit B<sub>12</sub> 水平无明显变化。同样, Winkels 等<sup>[60]</sup>每天给予72名50岁以上人含有 Vit B<sub>12</sub> 9.6 μg 和叶酸 138 μg 的面包, 干预12周以后体内血清 Vit B<sub>12</sub> 水平由223 pmol/L 增加为331 pmol/L (增加49%), Vit B<sub>12</sub> 缺乏率 (<156 pmol/L) 由干预前的20.4%下降为干预后的1.4%;而安慰剂组血清 Vit B<sub>12</sub> 水平亦无明显变化 (n=70)。以上研究结果提示,添加 Vit B<sub>12</sub> 到食物中可以显著提高大部分人的 Vit B<sub>12</sub> 水平,在食物中添加可能是重要途径<sup>[39]</sup>。

(3) 增补 Vit B<sub>12</sub> 的剂量: RDA 推荐的正常人群 Vit B<sub>12</sub> 摄入量是2.4 μg/d。有人推荐的强化剂量应在1~15 μg/d 之间<sup>[22,45]</sup>。现有的多重维生素补充剂中 Vit B<sub>12</sub> 及叶酸的剂量不一致,每粒福施福中含 Vit B<sub>12</sub> 3 μg (叶酸0.4 mg), 玛特纳中12 μg (叶酸1 mg), 爱乐维中4 μg (叶酸0.8 mg)。因此,确定 Vit B<sub>12</sub> 增补的有效而且安全的最佳剂量,以平衡体内叶酸和 Vit B<sub>12</sub> 水平,是确定增补 Vit B<sub>12</sub> 必须解决的问题之一<sup>[5,41]</sup>。

(4) 增补 Vit B<sub>12</sub> 预防 NTDs 效果:目前还没有大规模的队列研究以及临床干预实验来说明 Vit B<sub>12</sub> 在 NTDs 一级预防中的效果。改进 Vit B<sub>12</sub> 的营养状况是否能进一步降低 NTDs 的发病率,补充 Vit B<sub>12</sub> 后是否能改善处于潜伏期尚未表现出临床症状的 Vit B<sub>12</sub> 缺乏现象等问题尚未得到确证<sup>[1]</sup>。在人群强化 Vit B<sub>12</sub> 之前必须开展的相关调查有<sup>[57]</sup>: Vit B<sub>12</sub> 的稳定性、老年人中 B 族维生素缺乏的原因和 Vit B<sub>12</sub> 缺乏对机体的影响、Vit B<sub>12</sub> 缺乏与营养吸收障碍之间剂量反应关系的研究、临床使用低剂量 Vit B<sub>12</sub> 的随机实验等。

(5) Vit B<sub>12</sub> 的安全性:改变人体中 Vit B<sub>12</sub> 水平会带来怎样的生物学后果是一个必须要考虑的问题<sup>[61]</sup>。比如补充 Vit B<sub>12</sub> 后,是否会扰乱肠道正常菌群使疾病易感性增加、过量的 Vit B<sub>12</sub> 是否会生成有害的类维生素物质、过量的 Vit B<sub>12</sub> 的代谢物是否有神经毒性等问题尚需进一步研究<sup>[1]</sup>。关于较高水平 Vit B<sub>12</sub> 与乳腺癌的关联性也需要进一步确证<sup>[62]</sup>。

#### 四、结语

综上所述,下列情况可能与NTDs发生相关联:母体血清或羊膜水中Vit B<sub>12</sub>水平降低;血清Vit B<sub>12</sub>与血清运输蛋白Tc的结合力降低;血清Hcy和MMA水平升高;母体或者胚胎MTHFR C677T、MTR A2756G、MTRR A66G、Tc- II C776G基因突变等。对于全球范围内人群尤其育龄期妇女、婴幼儿和老年人Vit B<sub>12</sub>普遍缺乏现象,如何改善人群的Vit B<sub>12</sub>营养状况,已成为一个全球性的公共卫生问题。目前已有的关于Vit B<sub>12</sub>缺乏与NTDs相关的生物学机制及遗传方面研究,多是小范围的观察性研究,缺乏在病因论证上具有较强说服力的随机对照试验和大规模的以人群为基础的干预研究。因此,有必要在现有研究的基础上,进一步开展相关研究,以进一步验证Vit B<sub>12</sub>缺乏与NTDs的关系,同时还需要开展在叶酸强化基础上增补Vit B<sub>12</sub>降低NTDs效果的前瞻性研究,为NTDs一级预防的适宜对策与措施提供依据。

#### 参 考 文 献

- [1] Schorah CJ, Smithells RW, Scott J. Vitamin B<sub>12</sub> and anencephaly. *Lancet*, 1980, 1(8173):880.
- [2] Zhang T, Xin R, Gu X, et al. Maternal serum vitamin B<sub>12</sub>, folate and homocysteine and the risk of neural tube defects in the offspring in a high-risk area of China. *Public Health Nutr*, 2009, 12(5):680-686.
- [3] Green R. Is it time for vitamin B<sub>12</sub> fortification? What are the questions? *Am J Clin Nutr*, 2009, 89(2 Suppl):S712-716.
- [4] Molloy AM, Kirke PN, Troendle JF, et al. Maternal vitamin B<sub>12</sub> status and risk of neural tube defects in a population with high neural tube defect prevalence and no folic acid fortification. *Pediatrics*, 2009, 123(3):917-923.
- [5] McNulty H, Scott JM. Intake and status of folate and related B-vitamins: considerations and challenges in achieving optimal status. *Br J Nutr*, 2008, 99(3 Suppl):S48-54.
- [6] Gaber KR, Farag MK, Soliman SE, et al. Maternal vitamin B<sub>12</sub> and the risk of fetal neural tube defects in Egyptian patients. *Clin Lab*, 2007, 53(1-2):69-75.
- [7] Groenen PM, van Rooij IA, Peer PG, et al. Marginal maternal vitamin B<sub>12</sub> status increases the risk of offspring with spina bifida. *Am J Obstet Gynecol*, 2004, 191(1):11-17.
- [8] Song YZ, Li BX, Hao H, et al. Selective screening for inborn errors of metabolism and secondary methylmalonic aciduria in pregnancy at high risk district of neural tube defects: a human metabolome study by GC-MS in China. *Clin Biochem*, 2008, 41(7-8):616-620.
- [9] Ratan SK, Rattan KN, Pandey RM, et al. Evaluation of the levels of folate, vitamin B<sub>12</sub>, homocysteine and fluoride in the parents and the affected neonates with neural tube defect and their matched controls. *Pediatr Surg Int*, 2008, 24(7):803-808.
- [10] Thompson MD, Cole DE, Ray JG. Vitamin B<sub>12</sub> and neural tube defects: the Canadian experience. *Am J Clin Nutr*, 2009, 89(2 Suppl):S697-701.
- [11] Steen MT, Boddie AM, Fisher AJ, et al. Neural-tube defects are associated with low concentrations of cobalamin (vitamin B<sub>12</sub>) in amniotic fluid. *Prenat Diagn*, 1998, 18(6):545-555.
- [12] Dawson EB, Evans DR, Harris WA, et al. Amniotic fluid B<sub>12</sub>, calcium, and lead levels associated with neural tube defects. *Am J Perinatol*, 1999, 16(7):373-378.
- [13] Brouns R, Ursem N, Lindemans J, et al. Polymorphisms in genes related to folate and cobalamin metabolism and the associations with complex birth defects. *Prenat Diagn*, 2008, 28(6):485-493.
- [14] Economides DL, Ferguson J, Mackenzie IZ, et al. Folate and vitamin B<sub>12</sub> concentrations in maternal and fetal blood, and amniotic fluid in second trimester pregnancies complicated by neural tube defects. *Br J Obstet Gynaecol*, 1992, 99(1):23-25.
- [15] Steegers-Theunissen RP, Boers GH, Blom HJ, et al. Neural tube defects and elevated homocysteine levels in amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol*, 1995, 172(5):1436-1441.
- [16] Adams MJ, Jr Khoury MJ, Scanlon KS, et al. Elevated midtrimester serum methylmalonic acid levels as a risk factor for neural tube defects. *Teratology*, 1995, 51(5):311-317.
- [17] Luo X, Zhang L, Wei H, et al. Methylmalonic acid in amniotic fluid and maternal urine as a marker for neural tube defects. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci (English)*, 2004, 24(2):166-169.
- [18] Li F, Watkins D, Rosenblatt DS. Vitamin B<sub>12</sub> and birth defects. *Mol Genet Metab*, 2009, 98(1-2):166-172.
- [19] Ray JG, Wyatt PR, Thompson MD, et al. Vitamin B<sub>12</sub> and the risk of neural tube defects in a folic-acid-fortified population. *Epidemiology*, 2007, 18(3):362-366.
- [20] Afman LA, van der Put NM, Thomas CM, et al. Reduced vitamin B<sub>12</sub> binding by transcobalamin II increases the risk of neural tube defects. *QJM*, 2001, 94(3):159-166.
- [21] Liaugaudas G, Jacques PF, Selhub J, et al. Renal insufficiency, vitamin B<sub>12</sub> status, and population attributable risk for mild hyperhomocysteinemia among coronary artery disease patients in the era of folic acid-fortified cereal grain flour. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, 21(5):849-851.
- [22] Robertson J, Iemolo F, Stabler SP, et al. Vitamin B<sub>12</sub>, homocysteine and carotid plaque in the era of folic acid fortification of enriched cereal grain products. *CMAJ*, 2005, 172(12):1569-1573.
- [23] Refsum H. Folate, vitamin B<sub>12</sub> and homocysteine in relation to birth defects and pregnancy outcome. *Br J Nutr*, 2001, 85(2 Suppl):S109-113.
- [24] Obeid R, McCaddon A, Herrmann W. The role of hyperhomocysteinemia and B-vitamin deficiency in neurological and psychiatric diseases. *Clin Chem Lab Med*, 2007, 45(12):1590-1606.
- [25] Beaudin AE, Stover PJ. Insights into metabolic mechanisms underlying folate-responsive neural tube defects: a minireview. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2009, 85(4):274-284.
- [26] Wilson A, Platt R, Wu Q, et al. A common variant in methionine synthase reductase combined with low cobalamin (vitamin B<sub>12</sub>) increases risk for spina bifida. *Mol Genet Metab*, 1999, 67(4):317-323.
- [27] van der Linden IJ, den Heijer M, Afman LA, et al. The methionine synthase reductase 66A>G polymorphism is a maternal risk factor for spina bifida. *J Mol Med*, 2006, 84(12):1047-1054.
- [28] Candito M, Houcher B, Boisson C, et al. Neural tube defects and vitamin B<sub>12</sub>: a report of three cases. *Ann Biol Clin (Paris)*, 2004, 62(2):235-238.
- [29] Turner MR, Talbot K. Functional vitamin B<sub>12</sub> deficiency. *Pract Neurol*, 2009, 9(1):37-41.
- [30] Von Castel-Dunwoody KM, Kauwell GP, Shelnett KP, et al. Transcobalamin 776C->G polymorphism negatively affects vitamin B<sub>12</sub> metabolism. *Am J Clin Nutr*, 2005, 81(6):1436-1441.

- [31] Pietrzyk JJ, Bik-Multanowski M. 776C>G polymorphism of the transcobalamin II gene as a risk factor for spina bifida. *Mol Genet Metab*, 2003, 80(3):364.
- [32] Martinelli M, Scapoli L, Palmieri A, et al. Study of four genes belonging to the folate pathway: transcobalamin 2 is involved in the onset of non-syndromic cleft lip with or without cleft palate. *Hum Mutat*, 2006, 27(3):294.
- [33] Zetterberg H, Palmer M, Borestrom C, et al. The transcobalamin codon 259 polymorphism should be designated 776C>G, not 775G>C. *Blood*, 2003, 101(9):3749-3750.
- [34] Namour F, Olivier J, Abdelmoutaleb I, et al. Transcobalamin codon 259 polymorphism in HT-29 and Caco-2 cells and in Caucasians: relation to transcobalamin and homocysteine concentration in blood. *Blood*, 2001, 97(4):1092-1098.
- [35] Afman LA, Lievers KJ, van der Put NM, et al. Single nucleotide polymorphisms in the transcobalamin gene: relationship with transcobalamin concentrations and risk for neural tube defects. *Eur J Hum Genet*, 2002, 10(7):433-438.
- [36] Swanson DA, Pangilinan F, Mills JL, et al. Evaluation of transcobalamin II polymorphisms as neural tube defect risk factors in an Irish population. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2005, 73(4):239-244.
- [37] Franke B, Vermeulen SH, Steegers-Theunissen RP, et al. An association study of 45 folate-related genes in spina bifida: Involvement of cubilin (CUBN) and tRNA aspartic acid methyltransferase 1 (TRDMT1). *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2009, 85(3):216-226.
- [38] Stabler SP, Allen RH. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency as a worldwide problem. *Annu Rev Nutr*, 2004, 24:299-326.
- [39] Allen LH. How common is vitamin B<sub>12</sub> deficiency? *Am J Clin Nutr*, 2009, 89(2 Suppl):S693-696.
- [40] Garcia-Casal MN, Osorio C, Landaeta M, et al. High prevalence of folic acid and vitamin B<sub>12</sub> deficiencies in infants, children, adolescents and pregnant women in Venezuela. *Eur J Clin Nutr*, 2005, 59(9):1064-1070.
- [41] House JD, March SB, Ratnam S, et al. Folate and vitamin B<sub>12</sub> status of women in Newfoundland at their first prenatal visit. *CMAJ*, 2000, 162(11):1557-1559.
- [42] Jiang T, Christian P, Khattry SK, et al. Micronutrient deficiencies in early pregnancy are common, concurrent, and vary by season among rural Nepali pregnant women. *J Nutr*, 2005, 135(5):1106-1112.
- [43] Hao L, Ma J, Zhu J, et al. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency is prevalent in 35- to 64-year-old Chinese adults. *J Nutr*, 2007, 137(5):1278-1285.
- [44] Wang BJ, Huo JS, Huang J, et al. Total diet study on certain nutrients in Shanxi regions with a high incidence of birth defects. *J Hygiene Research*, 2008, 37(6):702-706. (in Chinese) 王冰洁, 霍军生, 黄建, 等. 山西省出生缺陷高发地区微量营养素摄入量的总膳食研究. *卫生研究*, 2008, 37(6):702-706.
- [45] Regional Meeting Report. Flour fortification with iron, folic acid and vitamin B<sub>12</sub>. Santiago: PAHO, MOD, UNICEF, INTA. 2003. [http://www.Paho.org/English/AD/FCH/NU/CHI03\\_FinalReport.pdf](http://www.Paho.org/English/AD/FCH/NU/CHI03_FinalReport.pdf).
- [46] Bronstrup A, Hages M, Prinz-Langenohl R, et al. Effects of folic acid and combinations of folic acid and vitamin B<sub>12</sub> on plasma homocysteine concentrations in healthy, young women. *Am J Clin Nutr*, 1998, 68(5):1104-1110.
- [47] Graulet B, Matte JJ, Desrochers A, et al. Effects of dietary supplements of folic acid and vitamin B<sub>12</sub> on metabolism of dairy cows in early lactation. *J Dairy Sci*, 2007, 90(7):3442-3455.
- [48] Xu Y, Li L, Zhang Z, et al. Effects of folic acid and vitamin B<sub>12</sub> on ethanol-induced developmental toxicity in mouse. *Toxicol Lett*, 2006, 167(3):167-172.
- [49] Ramos MI, Allen LH, Mungas DM, et al. Low folate status is associated with impaired cognitive function and dementia in the Sacramento Area Latino Study on Aging. *Am J Clin Nutr*, 2005, 82(6):1346-1352.
- [50] Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, et al. Folate and vitamin B<sub>12</sub> status in relation to anemia, macrocytosis, and cognitive impairment in older Americans in the age of folic acid fortification. *Am J Clin Nutr*, 2007, 85(1):193-200.
- [51] Yajnik CS, Deshpande SS, Jackson AA, et al. Vitamin B<sub>12</sub> and folate concentrations during pregnancy and insulin resistance in the off spring: the Pune Maternal Nutrition Study. *Diabetologia*, 2008, 51(1):29-38.
- [52] Johnson MA. If high folic acid aggravates vitamin B<sub>12</sub> deficiency what should be done about it? *Nutr Rev*, 2007, 65(10):451-458.
- [53] Malouf R, Grimley Evans J. Folic acid with or without vitamin B<sub>12</sub> for the prevention and treatment of healthy elderly and demented people. *Cochrane Database Syst Rev*, 2008, (4):CD004514.
- [54] Bozkurt N, Erdem M, Yilmaz E, et al. The relationship of homocysteine, B<sub>12</sub> and folic acid with the bone mineral density of the femur and lumbar spine in Turkish postmenopausal women. *Arch Gynecol Obstet*, 2009, 280(3):381-387.
- [55] Czeizel AE. Periconceptional folic acid and multivitamin supplementation for the prevention of neural tube defects and other congenital abnormalities. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2009, 85(4):260-268.
- [56] Henshaw SK. Unintended pregnancy in the United States. *Fam Plann Perspect*, 1998, 30(1):24-29, 46.
- [57] Refsum H, Smith AD. Are we ready for mandatory fortification with vitamin B<sub>12</sub>? *Am J Clin Nutr*, 2008, 88(2):253-254.
- [58] Allen L, Vitamin B<sub>12</sub> Working Group. Vitamin B<sub>12</sub> fortification. Background Paper for the workshop, Stone Mountain, GA, 30 March to 3 April 2008. The Flour Fortification Initiative, 2008. <http://www.sph.emory.edu/wheatfour/atlan-ta08/papers.html>, accessed 11 December 2008.
- [59] Tucker KL, Olson B, Bakun P, et al. Breakfast cereal fortified with folic acid, vitamin B<sub>6</sub>, and vitamin B<sub>12</sub> increases vitamin concentrations and reduces homocysteine concentrations: a randomized trial. *Am J Clin Nutr*, 2004, 79(5):805-811.
- [60] Winkels RM, Brouwer IA, Clarke R, et al. Bread cofortified with folic acid and vitamin B<sub>12</sub> improves the folate and vitamin B<sub>12</sub> status of healthy older people: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*, 2008, 88(2):348-355.
- [61] Dary O. Establishing safe and potentially efficacious fortification contents for folic acid and vitamin B<sub>12</sub>. *Food Nutr Bull*, 2008, 29(2 Suppl):S214-224.
- [62] Carmel R. Efficacy and safety of fortification and supplementation with vitamin B<sub>12</sub>: biochemical and physiological effects. *Food Nutr Bull*, 2008, 29(2 Suppl):S177-187.
- [63] Lajous M, Lazcano-Ponce E, Hernandez-Avila M, et al. Folate, vitamin B<sub>6</sub>, and vitamin B<sub>12</sub> intake and the risk of breast cancer among Mexican women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006, 15(3):443-448.

(收稿日期:2009-10-31)

(本文编辑:尹康)