

· 综述 ·

叶酸缺乏导致人类先天性异常的机制研究进展

孙淑娜 综述 桂永浩 审校

(复旦大学儿科医院, 上海 200032)

[中图分类号] R151.2 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2006)06-0527-04

叶酸是由喋啶核、对氨苯甲酸及谷氨酸3部分组成的一种维生素。叶酸在细胞生长、分化、修复和宿主防御等方面扮演重要角色,是DNA和RNA合成过程中需要的重要物质。叶酸作为甲基供体在基因调控所需的甲基化过程中也起重要的作用,人类叶酸缺乏可导致许多先天性异常的发生率明显上升,如:神经管发育缺陷(NTD)、颌面部畸形(如唇腭裂)、先天性心脏病(CHD)(尤其是流出道畸形和室间隔缺损)、泌尿和消化系统畸形等异常^[1]。另有许多国内外流行病学调查研究表明,母亲孕期适当补充叶酸可以有效的预防这些先天性畸形的发生^[2]。叶酸缺乏与人类先天性异常的发生密切相关。

1 叶酸发挥生物学作用的机制

1.1 叶酸是一碳单位的载体

叶酸在发挥生物学作用之前必须首先在二氢叶酸还原酶作用下先转变为7,8-二氢叶酸,再转化为5,6,7,8-四氢叶酸,其N⁵或N¹⁰是一碳单位的载体,转运一碳单位参与嘌呤、嘧啶、氨基酸的合成及氨基酸之间的代谢性相互转变。

1.2 叶酸作为一种辅酶参与许多重要反应

其可引导嘌呤核的C-2,C-8进行腺嘌呤核苷酸的合成、参与胸腺嘧啶C-5的甲基合成及肌苷-5-磷酸的合成、脱氧胸苷-1-磷酸(dTMP)的合成、并参与氨基酸的相互转变(如丝氨酸和甘氨酸的相互转化)、谷氨酸与胆碱的生物合成、高半胱氨酸转变为蛋氨酸等。

2 机体叶酸缺乏的原因

2.1 摄入不足或需求量增加

人体不能合成叶酸,必须依靠外源性供给。叶酸在体内主要在空肠吸收,正常的饮食基本能提供体内叶酸的需求,正常机体每日最低需要量为50 μg,成人每日饮食提供200 μg,孕妇每日饮食提供400 μg^[3],就不会导致机体叶酸缺乏。当饮食结构不合理、或患有消化系统等异常影响叶酸的吸收时,会造成叶酸摄入不足。另外,孕妇、哺乳期的妇女对叶酸的需求量增加,此时若叶酸的摄入不相应增加,也会发生供给不足。

2.2 摄入正常,单生物学活性发挥受抑制

2.2.1 参与叶酸体内运输和代谢的相关因子功能异常 叶酸在进入体内后发挥生物学作用时,有赖于其向细胞内运输或代谢中许多因子的共同作用,如叶酸受体(folate receptor,FR)、还原叶酸载体(reduced folate carrier,RFC)、5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetra-hydrofolate reductase,MTHFR)、亚甲基四氢叶酸脱氢酶(methylenetetrahydrofolate dehydrogenase,MTHFD)、甲硫氨酸合酶(methionine synthase,MS)等。其相关基因的多态性与叶酸正常生物学作用的发挥及许多先天性畸形的发生密切相关。

(1)FR和RFC基因:叶酸受体(folate receptor,FR或folate binding protein-1,Folbp1)和还原叶酸载体(reduced folate carrier,RFC)在叶酸吸收转运进入细胞过程中发挥着关键作用。FR有三种形式,即α,β和γ,其中α被认为是主要的转运载体,其突变可引起叶酸向细胞内转运受抑。RFC在使还原型

[收稿日期]2006-08-02;[修回日期]2006-09-20

[作者简介]孙淑娜,女,博士研究生。主攻方向:先天性心脏病发病机制的研究。

[通讯作者]桂永浩,教授,复旦大学儿科医院,邮编:200032

叶酸进入细胞中发挥重要作用, RFC1 基因定位于人类的 21 号染色体。

FR 基因功能异常是导致人群中 CHD, NTD 等先天性异常发生率升高的因素之一^[4]。国外学者给予孕鼠 FR 抗血清后, 胎鼠产后有 CHD, NTD 等多发的异常, 若给予孕鼠 FR 抗血清后再予以叶酸, 则可减少这些异常的发生^[5]。Folbp1 对于细胞凋亡和细胞分化十分重要, Folbp1 缺失鼠存在心肌细胞增生减少和细胞严重的凋亡, 进一步研究发现在 Folbp1 缺失鼠中, 在神经嵴向心肌细胞分化部分的组织中有 Pax-3 表达的下调^[6]。Folbp1 功能异常还可导致 NTD 和颅面部畸形的发生率升高, Folbp1 基因功能缺陷影响了许多重要信号通路的表达和传递, 例如 Shh 信号通路, 这些信号通路的功能异常与 Folbp1 基因缺失鼠的 NTD 及颅面部畸形有关^[7,8]。

另有学者调查了颌面部或心脏异常与胎儿 RFC1 基因多态性之间的关系, 并进一步探讨了 RFC1 基因多态性的人群中, 母亲围产期应用叶酸后改善患儿先天性异常的状况, 发现 RFC1 基因 G80/G80 基因型比 G80/A80 基因型和 A80/A80 基因型导致的先天性异常严重, 且应用叶酸后可以减少包括室间隔缺损在内的畸形的发生^[9]。另有研究发现 RFC1 的基因多态性与 CHD 的发生有关。母亲携带 RFC1 (A80G) GG 基因型与携带 AA, AG 基因型相比, 后代患 CHD 的风险增加^[10]。

(2) MTHFR 基因: MTHFR 是叶酸代谢过程中的一种关键酶, 其可催化 NADPH 介导的从 5, 10 - 亚甲基四氢叶酸到 5 - 甲基四氢叶酸的还原反应。5 - 甲基四氢叶酸提供甲基, 使 Hcy 转变为甲硫氨酸, 并参与体内嘌呤核苷酸、胸腺嘧啶核苷酸等多种物质的生物合成。人类 MTHFR 基因定位于染色体 1 p36.3, cDNA 全长 2 220 bp。母亲 MTHFR 基因发生突变, 可导致胎儿出生缺陷的发生率升高。MTHFR C677T 是一个常见的不耐热错义突变, 即第 677 位密码子胞嘧啶 (C) 被胸腺嘧啶 (T) 置换, 从而使丙氨酸 (Ala) 变为缬氨酸 (Val)。C677T 位于 MTHFR 催化区域, 该突变直接影响亚甲基四氢叶酸还原酶的活性和耐热性。MTHFR 基因的 677TT 基因型 (677C->T) 可能是引起 CHD 和 NTD 的高危因素之一, MTHFR A1298C 基因多态性与人群中 NTD 发生风险升高有关^[11,12]。

国外有学者发现患有永存动脉干、肺动脉狭窄和闭锁的患儿与正常对照患儿相比 MTHFR 的基因型有明显的差异, 其发生 C677T 的突变明显增多^[13]。为了研究 MTHFR 基因第 677 位密码子胞嘧

啶 (C) 被胸腺嘧啶 (T) 置换的突变与 NTD 和 CHD 的关系, Wenstrom 等^[14]检测了 26 位确诊有复杂 CHD 并伴有 NTD 等其他系统异常的胎儿羊水中高半胱氨酸 (Hcy) 的浓度和羊水细胞中 C677T MTHFR 突变情况, 结果发现与正常对照组相比, 这 26 例中有 50% 伴有 C677T MTHFR 的突变和羊水中 Hcy 的水平升高。另有学者^[15]利用鼠进行研究, 雌性 Mthfr +/+ 和 Mthfr +/- 鼠在与雄性 Mthfr +/- 鼠交配之前被分组分别给予正常饮食和叶酸缺乏饮食, 雌鼠孕 14.5 d 时, 对胎鼠的生长发育状况、多发性先天性异常的发生情况进行检查, 发现胎鼠血浆中 Hcy 的水平、胎鼠生长发育迟缓度、心脏异常的发生率等指标 Mthfr +/- 组与 Mthfr +/+ 相比有明显升高, 叶酸缺乏饮食组与正常对照组相比也有明显升高。这说明 MTHFR 活性降低或予以低叶酸饮食都可以增加胚胎的流产率、使胚胎发育迟缓、并有心脏发育的异常。

(3) MS 基因: methionine synthase MS 以维生素 B₁₂ 为辅酶, 在将 Hcy 转化为甲硫氨酸的过程中有重要作用。MS 的功能障碍可抑制 Hcy 循环和 5-甲基四氢叶酸向甲硫氨酸的转化, 使 Hcy 在体内浓度升高, 同时引起 5-甲基四氢叶酸的积聚, 从而通过影响 dTMP 的合成对基因组的稳定性产生影响。MS 功能异常是人群中 NTD 发生的高危因素之一^[12]。父母 MS 基因的多样性也与后代 CHD 的发生有关, 其等位基因突变与后代 CHD 发生的风险降低有关^[16]。

2.2.2 机体摄入拮抗叶酸的制剂 若母亲长期或在孕期服用拮抗叶酸的药物, 如二氢叶酸还原酶抑制剂 (氨甲喋呤、乙胺嘧啶、氨苯喋啶及甲氧苄啶) 和抗癫痫药 (卡马西平、苯妥英、扑米酮、苯巴比妥) 等, 可以干扰叶酸的正常代谢, 阻碍其生物学活性的发生。国外学者对数千例母亲孕期应用过抗叶酸药物且有心血管畸形并伴有唇腭裂和输尿管畸形的婴儿进行了研究, 结果发现叶酸拮抗剂 (如甲氧苄氨嘧啶, 氨苯喋啶, 卡马西平, 苯妥英, 苯巴比妥等) 会增加 NTD 和心血管异常的发生。富含叶酸的维生素制剂可以很好的预防由于这些药物抑制二氢叶酸还原酶而导致的畸形的发生, 但对于抗癫痫类药物这种预防效果不明显^[17]。另外, 长期口服避孕药的妇女体内叶酸的生物学活性可降低, 其机制尚未明确。另有学者认为长期饮酒可造成体内叶酸生物学活性降低, 在鼠的实验中发现, 慢性酒精中毒可造成血浆叶酸含量降低及肝脏内与叶酸代谢相关酶的活性下降^[18], 而给予外源性叶酸和维生素 B₁₂

可抑制酒精的毒性作用^[19]。

2.2.3 机体产生叶酸受体的自身抗体 叶酸受体的自身免疫可降低人体对叶酸的利用进而使先天性异常疾病的发生率增加,尤其以脑内的叶酸水平降低为著^[20]。目前尚待在此领域进行进一步的研究。孕妇自身免疫产生的抗体阻止了叶酸与叶酸受体的结合而影响了叶酸向细胞内的转运,其可能与孕妇产子代发生NTD的比例升高有关^[21]。

3 叶酸缺乏导致机体先天性异常的机制

3.1 叶酸缺乏导致体内Hcy水平升高

Hcy在甲基化转变成蛋氨酸的过程中,需要5-甲基四氢叶酸-Hcy甲基转换酶的参与。叶酸缺乏会阻碍蛋氨酸的合成,导致Hcy在体内的蓄积。Hcy可抑制内皮呼吸、促使过氧化氢的形成、增加LDL的氧化^[22]而导致内皮和细胞损伤。677 TT基因型者与677 CC或677 CT基因型者相比,血浆内Hcy的水平升高。在MTHFR677 CC基因型的患者中,携带66 GG基因型者比携带66 AA基因型者的Hcy水平明显升高^[23]。

3.2 叶酸缺乏导致内皮细胞功能紊乱

叶酸可通过降低Hcy水平、抗氧化反应、对内皮型一氧化氮合酶(eNOS)的功能产生影响、抗氧化应激作用、防止内皮型一氧化氮合酶解耦联等作用改善内皮功能。叶酸还可挽救由于四氢生物喋呤(BH₄)缺乏而导致的内皮功能紊乱,且不依赖于BH₄的再生和抗氧化机制^[24]。另外,LDL的氧化与内皮细胞功能紊乱有关,这一过程与Hcy密切相关,有学者^[22]研究了叶酸与LDL氧化之间的关系,结果发现5-甲基四氢叶酸和维生素B₁₂在Hcy水平增高和正常两种情况下都可以降低LDL的氧化状况。

3.3 叶酸缺乏导致DNA合成异常

叶酸缺乏可影响DNA的甲基化与DNA甲基转移酶,并在DNA合成过程中导致dUMP掺入DNA。如果在互补DNA双链上同时掺入dUMP,掺入的dUMP被损伤修复系统识别并被切除后,将导致DNA双链断裂,进而使染色体离断。若dUMP未被切除,则在以后复制DNA的过程中会产生G-C替换,从而引起基因突变。叶酸缺乏还可影响人类基因组的稳定性。叶酸缺乏可导致人类21号染色体发生异常而使Down综合征的发生风险增加^[25]。国外学者^[23]研究发现MTHFR的C677 T, A1298C突变和MTRR的A66G突变与血浆内Hcy的水平和

体内DNA的损伤状况有关。通过检测微核序列来观测DNA的损伤状况发现,DNA的损伤状况与血浆内的Hcy水平呈正相关,677TT基因型者比677CC或677CT基因型者DNA损伤状况严重。

4 正确补充叶酸的措施

对于叶酸缺乏的人群,有学者^[26]推荐使用口服小剂量叶酸以补充。要预防叶酸缺乏导致的胎儿先天性异常的发生,妇女怀孕期间适量补充叶酸十分重要。在人群中进行的大量随机分组对照调查研究表明,母亲怀孕期间服用富含叶酸的维生素可以很好的预防NTD、CHD等异常的发生^[3]。有学者发现,妇女怀孕早期补充叶酸效果优于孕晚期^[27]。母亲怀孕期间补充400 μg/d的叶酸是理想的剂量^[3]。

[参 考 文 献]

- [1] McDonald SD, Ferguson S, Tam L, Loughheed J, Walker MC. The prevention of congenital anomalies with periconceptional folic acid supplementation [J]. J Obstet Gynaecol Can, 2003, 25 (2):115-121.
- [2] Botto LD, Mulinare J, Erickson JD. Do multivitamin or folic acid supplements reduce the risk for congenital heart defects? Evidence and gaps[J]. Am J Med Genet A, 2003, 121(2): 95-101.
- [3] Bailey LB, Berry RJ. Folic acid supplementation and the occurrence of congenital heart defects, orofacial clefts, multiple births, and miscarriage[J]. Am J Clin Nutr, 2005, 81 (5): 1213S-1217S.
- [4] De Marco P, Moroni A, Merello E, de Franchis R, Andreussi L, Finnell RH, et al. Folate pathway gene alterations in patients with neural tube defects [J]. Am J Med Genet, 2000, 95 (3): 216-223.
- [5] da Costa M, Sequeira JM, Rothenberg SP, Weedon J. Antibodies to folate receptors impair embryogenesis and fetal development in the rat [J]. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 2003, 67 (10):837-847.
- [6] Tang LS, Wlodarczyk BJ, Santillano DR, Miranda RC, Finnell RH. Developmental consequences of abnormal folate transport during murine heart morphogenesis[J]. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 2004, 70 (7): 449-458.
- [7] Tang LS, Santillano DR, Wlodarczyk BJ, Miranda RC, Finnell RH. Role of Folbp1 in the regional regulation of apoptosis and cell proliferation in the developing neural tube and craniofacies [J]. Am J Med Genet C Semin Med Genet, 2005, 135 (1): 48-58.
- [8] Tang LS, Finnell RH. Neural and orofacial defects in Folp1 knockout mice[J]. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 2003, 67 (4): 209-218.
- [9] Shaw GM, Zhu H, Lammer EJ, Yang W, Finnell RH. Genetic variation of infant reduced folate carrier (A80G) and risk of orofacial and conotruncal heart defects [J]. Am J Epidemiol, 2003, 158 (8):747-752.
- [10] 裴丽君,任爱国,郝玲,朱慧萍,朱江辉,赵文睿,等. 还原叶酸载体基因多态性与先天性心脏病和唇腭裂关联的研究[J]. 中华流行病学杂志, 2004, 25 (12):1063-1067.

- [11] O'Leary VB, Mills JL, Parle-McDermott A, Pangilinan F, Molloy AM, Cox C, et al. Screening for new MTHFR polymorphisms and NTD risk[J]. *Am J Med Genet A*, 2005, 138 (2): 99-106.
- [12] De Marco P, Calevo MG, Moroni A, Arata L, Merello E, Finnell RH, et al. Study of MTHFR and MS polymorphisms as risk factors for NTD in the Italian population[J]. *J Hum Genet*, 2002, 47 (6): 319-324.
- [13] Lee CN, Su YN, Cheng WF, Lin MT, Wang LK, Wu MH, et al. Association of the C677T methylenetetrahydrofolate reductase mutation with congenital heart diseases [J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2005, 84 (12): 1134-1140.
- [14] Wenstrom KD, Johanning GL, Johnston KE, DuBard M. Association of the C677T methylenetetrahydrofolate reductase mutation and elevated homocysteine levels with congenital cardiac malformations[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2001, 184 (5): 806-812.
- [15] Li D, Pickell L, Liu Y, Wu Q, Cohn JS, Rozen R. Maternal methylenetetrahydrofolate reductase deficiency and low dietary folate lead to adverse reproductive outcomes and congenital heart defects in mice[J]. *Am J Clin Nutr*, 2005, 82 (1): 188-195.
- [16] Zhu WL, Cheng J, Dao JJ, Zhao RB, Yan LY, Li SQ, et al. Polymorphism of methionine synthase gene in nuclear families of congenital heart disease[J]. *Biomed Environ Sci*, 2004, 17 (1): 57-64.
- [17] Hernandez-Diaz S, Werler MM, Walker AM, Mitchell AA. Folic acid antagonists during pregnancy and the risk of birth defects [J]. *N Engl J Med*, 2000, 343 (22): 1608-1614.
- [18] Min H, Im ES, Seo JS, Mun JA, Burri BJ. Effects of chronic ethanol ingestion and folate deficiency on the activity of 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase in rat liver [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2005, 29 (12): 2188-2193.
- [19] Xu Y, Li Y, Tang Y, Wang J, Shen X, Long Z. The maternal combined supplementation of folic acid and Vitamin B(12) suppresses ethanol-induced developmental toxicity in mouse fetuses [J]. *Reprod Toxicol*, 2006, 22(1): 56-61.
- [20] Schwartz RS. Autoimmune folate deficiency and the rise and fall of "horror autotoxicus" [J]. *N Engl J Med*, 2005, 352 (19): 1948-1950.
- [21] Rothenberg SP, da Costa MP, Sequeira JM, Cracco J, Roberts JL, Weedon J, et al. Autoantibodies against folate receptors in women with a pregnancy complicated by a neural-tube defect[J]. *N Engl J Med*, 2004, 350 (2): 134-142.
- [22] Ronco AM, Garrido A, Llanos MN, Guerrero-Bosagna C, Tamayo D, Hirsch S. Effect of homocysteine, folates, and cobalamin on endothelial cell- and copper-induced LDL oxidation[J]. *Lipids*, 2005, 40 (3): 259-264.
- [23] Botto N, Andreassi MG, Manfredi S, Masetti S, Cocci F, et al. Genetic polymorphisms in folate and homocysteine metabolism as risk factors for DNA damage[J]. *Eur J Hum Genet*, 2003, 11 (9): 671-678.
- [24] Moat SJ, Clarke ZL, Madhavan AK, Lewis MJ, Lang D. Folic acid reverses endothelial dysfunction induced by inhibition of tetrahydrobiopterin biosynthesis[J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 530 (3): 250-258.
- [25] Baggot PJ, Eliseo AJ, Kalamarides JA, Shoemaker JD. A folate-dependent metabolite in amniotic fluid from pregnancies with normal or trisomy 21 chromosomes [J]. *Fetal Diagn Ther*, 2006, (1): 148-152.
- [26] Berry RJ, Li Z, Erickson JD, Li S, Moore CA, Wang H, et al. Prevention of neural-tube defects with folic acid in China [J]. *N Engl J Med*, 1999, 341 (20): 1485-1490.
- [27] Lee JI, Lee JA, Lim HS. Effect of time of initiation and dose of prenatal iron and folic acid supplementation on iron and folate nutrition of Korean women during pregnancy[J]. *Am J Clin Nutr*, 2005, 82 (4): 843-849.
- (本文编辑:吉耕中)