

论著·临床研究

中国山西人群中叶酸代谢基因 MTRR 和 MTHFR 与复杂先天畸形关联研究

张勤 白宝玲 刘晓真 苗春越 李会莉

(首都儿科研究所儿童发育营养组学北京市重点实验室, 北京 100020)

[摘要] **目的** 探讨叶酸代谢基因蛋氨酸合成酶还原酶(MTRR)和5,10-甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因多态性是否与复杂先天畸形相关,进一步研究其是否与三胚层发育来源的复杂先天畸形相关。**方法** 选取中国山西省250例出生缺陷病例(包括先心病、神经管畸形和颅面畸形等复杂先天畸形)为研究对象,选择MTRR单核苷酸多态性位点rs1801394和MTHFR单核苷酸多态性位点rs1801133,利用SNaPshot方法进行基因分型,并与420例正常对照人群进行比较。**结果** rs1801394和rs1801133分别与多个先天出生缺陷有关。在隐性模型下,rs1801394 GG基因型和rs1801133 CC基因型的个体发生先天缺陷的概率低,为出生缺陷的保护性因素。rs1801133隐性纯合作为保护性因素与外胚层和内胚层器官来源复杂先天畸形相关,rs1801394隐性纯合作为保护性因素与外胚层、中胚层和内胚层器官来源的复杂先天畸形相关。**结论** 中国山西人群中叶酸代谢基因MTRR和MTHFR与复杂先天畸形相关,并与胚层发育相关。

[中国当代儿科杂志, 2014, 16(8): 840-845]

[关键词] 复杂先天畸形; 5,10-甲基四氢叶酸还原酶; 蛋氨酸合成酶还原酶; 单核苷酸多态性

Association of folate metabolism genes MTRR and MTHFR with complex congenital abnormalities among Chinese population in Shanxi Province, China

ZHANG Qin, BAI Bao-Ling, LIU Xiao-Zhen, MIAO Chun-Yue, LI Hui-Li. Beijing Municipal Key Laboratory of Child Development Nutrigenomics, Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020, China (Li H-L, Email: lihuli2011@gmail.com)

Abstract: Objective To explore the association of polymorphisms in folate metabolism genes, methionine synthase reductase (MTRR) gene and 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene, with complex congenital abnormalities and to further investigate its association with complex congenital abnormalities derived from three germ layers. **Methods** A total of 250 cases of birth defects (with complex congenital abnormalities including congenital heart disease, neural tube defects, and craniofacial anomalies) in Shanxi Province, China were included in the study. MTRR single nucleotide polymorphism (SNP) (rs1801394) and MTHFR SNP (rs1801133) were genotyped by the SNaPshot method, and the genotyping results were compared with those of controls ($n=420$). **Results** SNPs rs1801394 and rs1801133 were associated with multiple birth defects. For the recessive model, individuals with GG genotype at rs1801394 and CC genotype at rs1801133 had a relatively low risk of developing birth defects, so the two genotypes were protective factors against birth defects. The homozygous recessive genotype at rs1801133, which served as a protective factor, was associated with ectoderm- or endoderm-derived complex congenital abnormalities, while the homozygous recessive genotype at rs1801394, which served as a protective factor, was associated with ectoderm-, mesoderm- or endoderm-derived complex congenital abnormalities. **Conclusions** Among the Chinese population in Shanxi Province, the SNPs in folate metabolism genes (MTRR and MTHFR) are associated with complex congenital abnormalities and related to ectoderm, mesoderm or endoderm development.

[Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(8): 840-845]

Key words: Complex congenital abnormalities; 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase; Methionine synthase reductase; Single nucleotide polymorphism

[收稿日期] 2014-06-13; [接受日期] 2014-07-17

[基金项目] 国家自然科学基金(81300489)。

[作者简介] 张勤,女,硕士,助理研究员。

[通信作者] 李会莉,女,副研究员。

出生缺陷 (birth defect) 是指存在于婴儿或出生前的胚胎发育紊乱引起不同器官的结构性畸形^[1]。美国报道最常见的出生缺陷有先天性心脏病 (CHD)、神经管缺陷 (NTD) 及颅面畸形等, 其中包括带或不带腭裂的唇裂 (CL/P) 和单纯的腭裂 (CPO)^[2]。1987 年中国 945 所医院出生缺陷调查结果表明, 全国住院围产儿出生缺陷发生率为 131/万, 其中以山西省最高 (204/万)^[3]。2002~2004 年北大人口所流行病学在我国山西发现出生缺陷发生率为 537.2/万, 常见的类型为无脑畸形 (Ane)、CHD、脊柱裂 (SB)、先天性脑积水 (Hyd) 和脑膨出 (Enc)^[4]。而出生缺陷除了单发外, 部分表现为复杂畸形^[5-6]。但是他们是否存在发病的共同形态学基础或者共同分子机制, 目前不能十分确定。

目前研究表明, 遗传和环境因素都参与了出生缺陷的发生^[1]。叶酸在维持胚胎正常发育方面起着非常重要的作用^[2], 人类叶酸缺乏可引起多种出生缺陷的发生率升高^[7]。动物孕期叶酸缺乏可导致流产、死产及子代多发畸形^[8-9]。研究表明孕期补充叶酸可以预防 NTD 和其他先天畸形的发生^[10]。

叶酸参与核苷酸的合成和甲基转移反应, 对 DNA 和蛋白质的甲基化修饰非常重要。研究表明叶酸和同型半胱氨酸代谢途径相关的基因单核苷酸多态性 (SNP) 位点与出生缺陷相关^[11-14]。其中常见的包括 5,10 甲基四氢叶酸还原酶 (MTHFR) SNP 位点 rs1801133 (c.677C>T) 和蛋氨酸合成酶还原酶 (MTRR) SNP 位点 rs1801394 (c.66A>G)。研究表明 rs1801133 与唇腭裂、NTD 及 CHD 等相关^[11-12,15-18], rs1801394 与 CHD 及 NTD 相关^[13-14,19]。而这些畸形来源于胚胎早期的不同胚

层, 以往文献均从单个表型研究叶酸与疾病的相关性, 对于单个病例同时具有来源于多个器官的畸形的研究少见报道, 因此本研究拟研究是否多发畸形的发生与叶酸相关, 进一步探讨 rs1801133 和 rs1801394 与胚胎发育的某个胚层相关。

1 资料与方法

1.1 研究对象

病例组为中国山西省因死胎或畸形引产的出生缺陷胚胎 250 例, 标本库的建立见本课题组以往文献^[20]。已登记信息的孕妇由当地经过培训的临床医生经 B 超检查确诊, 然后在数据库中注册。在 250 例出生缺陷病例中包括 CHD、NTD 和颅面畸形等复杂畸形, 胎龄均为 13 周以上。另选取 420 例相关地区内健康受试者作为正常对照。本研究通过首都儿科研究所伦理委员会批准, 并获得父母知情同意。

1.2 SNP 鉴定和基因分型

选择病例组和对照组肌肉组织提取基因组 DNA, 用血液和组织 DNA 提取试剂盒 (QIAGEN, 德国) 提取, 操作按照说明书进行。DNA 的浓度和纯度通过 260 nm 和 280 nm 吸光值进行测定。SNPs 利用 SNaPshot 分析 (ABI) 基因分型。简言之, 基因组 DNA, 通过使用表 1 中所列的引物扩增。然后纯化, 得到模板, 其中包括靶 SNP 位点。根据说明书, 延伸引物 (表 1) 和多重快照加入到模板和热循环反应完成。随后基因在 ABI3730 (GE, 美国) 自动测序仪上进行分型样品的运行, 并通过 Peakscan 软件进行分析。

表 1 MTRR rs1801394 与 MTHFR rs1801133 的 SNP 信息

Gene	MTRR	MTHFR
Refseq	NC_000005.9	NC_000001.10
OMIM	602568	607093
SNP ID	rs1801394	rs1801133
Chr	5	1
Position*	7870973	11856378
SNP type	Missense (I22M)	Missense (A222V)
Alleles	A/G	C/T
PCR primer	F: GGAAACACAGATTCAAGCCCAA R: CCCAACCAAAATTTCTTCAAAGC	F: TCAGCGAACTCAGCACTCCA R: TCTTCATCCCTCGCCTTGAA
Extent primer	AAAGGCCATCGCAGAAGAAAT	GCTGCGTGATGATGAAATCG

注: SNP ID (单核苷酸多态性编号); Chr (染色体); OMIM (在线人类孟德尔遗传疾病编号)。* 参照 NCBI SNP 信息 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=snp>。)

1.3 统计学分析

正常对照的 Hardy-Weinberg 平衡 (HWE) 由 χ^2 检验测试, OR 值和 95% 置信区间 (CI) 之间的关联的计算与调整使用 SNPStats 网站进行年龄校正后的 logistic 回归分析 (<http://bioinfo.iconcologia.net/snpstats/start.htm>)。对每个 SNP 位点进行共显性模式, 显性模式, 隐性模式和对数模式的分析。并采用 SPSS 15.0 软件 (SPSS) 进行统计分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 疾病表型描述与分类

本研究根据 2010 公布的疾病和有关健康问题的国际统计分类第 10 次修订 (ICD-10) 版本 (图 1A) 为病例组的出生缺陷分型。根据表型发育来源分成外胚层、中胚层和内胚层 (图 1B)。并将具有 2 个或多个不相关的主要结构性畸形、不能由 1 个基本综合征来解释的定义为复杂先天畸形^[5,21]。本研究病例组单个样本最多存在 8 种畸形。

2.2 病例组中 MTRR rs1801394 和 MTHFR rs1801133 与不同出生缺陷之间的相关性

为研究 SNP 位点 rs1801394 和 rs1801133 是否与出生缺陷和胚层发育相关, 用 SNaPshot 方法对这 2 个 SNP 位点进行基因分型。结果表明, rs1801394 对照组病例共 401 例, 其中 GG 基因型为 68 例 (17.0%)。GG 基因型在 Ane 中占 7.0%, 在 SB 中占 7.4%, 在 Hyd 中占 7.3%, 在 Enc 中占 4.2%, 在四肢畸形 (LM) 中占 3.0%, 在先天性呼吸系统畸形 (CMRS) 中占 7.5% (表 2)。rs1801394 的隐性纯合的 OR 和 95% CI 在 Ane 样本中为 0.37 (0.17~0.79), SB 为 0.39 (0.21~0.72), Hyd 为 0.39 (0.17~0.87), Enc 为 0.21 (0.07~0.70), LM 为 0.15 (0.04~0.63) 和 CMRS 为 0.40 (0.19~0.86)

(表 3)。表明在隐性模型下, 携带 GG 基因型的个体发生先天缺陷的概率低。提示 MTRR 的 rs1801394 隐性纯合是复杂先天畸形的保护性因素。

rs1801133 的 CC 基因型为 85 例 (21.1%)。CC 基因型在 Ane 中占 11.4%, 在 SB 中占 14.3%, 在短颈综合征 (CFS) 中占 8.2%, 在 CMRS 中占 12.3% (表 4)。rs1801133 隐性纯合的 OR 和 95% CI 在 Ane 中为 0.48 (0.26~0.90), 在 SB 为 0.62 (0.39~1.00), 在 CFS 中为 0.33 (0.12~0.95), 在 CMRS 中为 0.52 (0.28~0.98) (表 5)。表明在隐性模型下, 携带 CC 基因型的个体发生先天缺陷的概率低。提示 MTHFR 的 rs1801133 隐性纯合是复杂先天畸形的保护性因素。

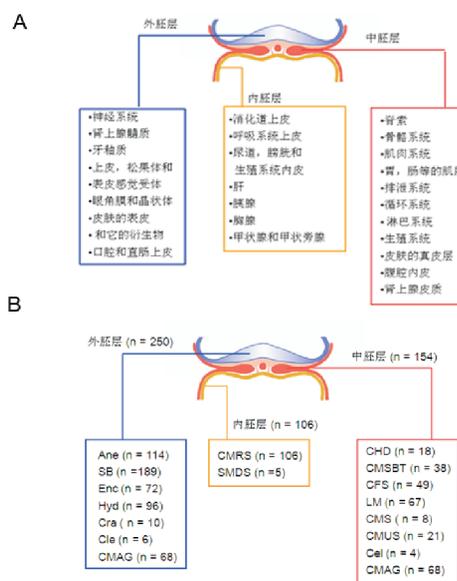


图 1 来源于 3 个胚层的出生缺陷分型 注: A 图表示正常情况下 3 个胚层来源的组织和器官; B 图表示来源于不同胚层的畸形分类, 分为外胚层、内胚层和中胚层。Ane: 无脑儿; SB: 脊柱裂; Enc: 脑膨出; Hyd: 先天性脑积水; Cra: 颅面畸形; Cle: 唇裂和腭裂; CMAG: 肾上腺先天畸形; CMRS: 呼吸系统先天畸形; CHD: 心脏病; CMSBT: 脊柱和骨性胸廓的先天畸形; CFS: 短颈综合征; LM: 四肢畸形; CMS: 脾脏先天畸形; CMUS: 泌尿系统先天畸形; Cel: 腹裂; CMRS: 呼吸系统先天畸形; SMDS: 消化系统先天畸形。

表 2 MTRR rs1801394 在各畸形分型和对照中的基因型分布 [n (%)]

SNP	基因型	对照 (n=401)	Ane (n=114)	SB (n=189)	Hyd (n=96)	Enc (n=72)	LM (n=67)	CMRS (n=106)
rs1801394	A/A	156(38.9)	55(48.2)	90(47.6)	44(45.8)	35(48.6)	31(46.3)	48(45.3)
	G/A	177(44.1)	51(44.7)	85(45)	45(46.9)	34(47.2)	34(50.8)	50(47.2)
	G/G	68(17.0)	8 (7.0)	14(7.4)	7(7.3)	3(4.2)	2(3.0)	8(7.5)

注: Ane (无脑畸形); SB (脊柱裂); Hyd (先天性脑积水); Enc (脑膨出); LM (四肢畸形); CMRS (先天性呼吸系统畸形)。

表 3 病例组和对照组 MTRR rs1801394 多态性分析

表型	共显性			显性		隐性		对数加法模式	
	OR(95%CI) _{het}	OR(95%CI) _{hom}	P 值	OR(95%CI)	P 值	OR(95%CI)	P 值	OR(95%CI)	P 值
Ane (n=114)	0.82(0.53~1.27)	0.33(0.15~0.74)	0.012	0.68(0.45~1.04)	0.075	0.37(0.17~0.79)	0.0046	0.66(0.48~0.91)	0.0084
SB (n=189)	0.83(0.58~1.20)	0.36(0.19~0.67)	0.0028	0.70(0.49~0.99)	0.046	0.39(0.21~0.72)	0.001	0.67(0.52~0.87)	0.0025
Hyd (n=96)	0.90(0.56~1.44)	0.36(0.16~0.85)	0.035	0.75(0.48~1.18)	0.22	0.39(0.17~0.87)	0.011	0.70(0.50~0.98)	0.035
Enc (n=72)	0.86(0.51~1.44)	0.20(0.06~0.66)	0.0056	0.67(0.41~1.11)	0.12	0.21(0.07~0.70)	0.0015	0.61(0.42~0.90)	0.01
LM (n=67)	0.97(0.57~1.65)	0.15(0.03~0.64)	0.0026	0.74(0.44~1.24)	0.26	0.15(0.04~0.63)	<0.01	0.63(0.42~0.93)	0.018
CMRS (n=106)	0.92(0.58~1.44)	0.38(0.17~0.85)	0.034	0.77(0.50~1.19)	0.24	0.40(0.19~0.86)	0.0099	0.72(0.52~0.98)	0.036

注: Ane (无脑畸形); SB (脊柱裂); Hyd (先天性脑积水); Enc (脑膨出); LM (四肢畸形); CMRS (先天性呼吸系统畸形); het (杂合子); hom (纯合子)。

表 4 MTHFR rs1801133 在各畸形分型和对照中的基因型分布 [n (%)]

SNP	基因型	对照 (n=402)	Ane (n=114)	SB (n=189)	CFS (n=49)	CMRS (n=106)
rs1801133	T/T	122(30.4)	45(39.5)	72(38.1)	19(39.0)	40(37.7)
	T/C	195(48.5)	56(49.1)	90(47.6)	26(53.1)	53(50.0)
	C/C	85(21.1)	13(11.4)	27(14.3)	4(8.2)	13(12.3)

注: Ane (无脑畸形); SB (脊柱裂); CFS (短颈综合征); CMRS (先天性呼吸系统畸形)。

表 5 病例组和对照组 MTHFR rs1801133 多态性分析

表型	共显性			显性		隐性		对数加法模式	
	OR(95%CI) _{het}	OR(95%CI) _{hom}	P 值	OR(95%CI)	P 值	OR(95%CI)	P 值	OR(95%CI)	P 值
Ane (n=114)	0.78(0.49~1.22)	0.41(0.21~0.82)	0.028	0.67(0.43~1.03)	0.069	0.48(0.26~0.90)	0.014	0.68(0.50~0.92)	0.011
SB (n=189)	0.78(0.53~1.15)	0.54(0.32~0.91)	0.059	0.71(0.49~1.02)	0.063	0.62(0.39~1.00)	0.043	0.74(0.58~0.95)	0.018
CFS (n=49)	0.86(0.45~1.61)	0.30(0.10~0.92)	0.056	0.69(0.37~1.27)	0.24	0.33(0.12~0.95)	0.018	0.64(0.41~0.99)	0.042
CMRS (n=106)	0.83(0.52~1.32)	0.47(0.24~0.92)	0.073	0.72(0.46~1.12)	0.15	0.52(0.28~0.98)	0.032	0.72(0.52~0.98)	0.033

注: Ane (无脑畸形); SB (脊柱裂); CFS (短颈综合征); CMRS (先天性呼吸系统畸形); het (杂合子); hom (纯合子)。

2.3 MTRR rs1801394 与 MTHFR rs1801133 与三胚层缺陷之间的相关性

rs1801394 和 rs1801133 与多种胚层来源不同的先天性畸形相关,提示 rs1801394 和 rs1801133 可能与胚胎早期发育相关,胚胎早期发育为 3 个胚层(图 1B),多发畸形可能起因于一个共同的早期营养因素叶酸的缺乏。因此,本研究进行了 rs1801394 和 rs1801133 与 3 个胚层(图 1B)风险的关联分析。结果表明,rs1801133 CC 基因型在对照中的比例是 21.1%,在外胚层、中胚层和内胚层中分别是 15%,16.3%,12.3%。而 rs1801394 GG 基因型在对照、外胚层、中胚层和内胚层中的比例分别为 17%、7%、5.4% 和 7.5%(表 6)。在内、外胚层组,rs1801133 的隐性纯合子 OR 和 95% CI 分别为 0.52 (0.28~0.98) 和 0.67 (0.44~1.02),其中 rs1801133 在外胚层缺陷组中隐性模式比较 P 值为 0.057,经对数加法模型的校正分析,其 OR 和 95% 可信区间为 0.77 (0.61~0.97),P 值为

0.024,差异有统计学意义。而 rs1801394 的隐性纯合子 OR 和 95% CI 分别为 0.37 (0.21~0.64) 和 0.40 (0.19~0.86)。在中胚层组只有 rs1801394 的隐性纯合子比值比 (OR) 和 95% 可信区间为 0.28 (0.13~0.60) (表 7)。提示 rs1801133 隐性纯合作为保护性因素与内、外胚层来源复杂先天畸形相关,rs1801394 隐性纯合作为保护性因素与 3 个胚层来源的先天畸形相关。

表 6 MTRR rs1801394 和 MTHFR rs1801133 在对照和 3 个胚层来源的畸形中的基因型分布 [n (%)]

SNP	基因型	对照	外胚层 (n=250)	中胚层 (n=154)	内胚层 (n=06)
rs1801133	T/T	122(30.4)	91(37.0)	54(36.7)	40(37.7)
	T/C	195(48.5)	116(47.5)	69(46.9)	53(50.0)
	C/C	85(21.1)	37(15.0)	24(16.3)	13(12.3)
rs1801394	A/A	156(38.9)	117(48.0)	70(47.3)	48(45.3)
	G/A	177(44.1)	110(45.1)	70(47.3)	50(47.2)
	G/G	68(17.0)	17(7.0%)	8(5.4)	8(7.5)

表 7 MTRR rs1801394 与 MTHFR rs1801133 与三胚层缺陷之间的相关性

胚层	SNP ID	共显性			显性		隐性		对数加法模式	
		OR(95%CI) _{het}	OR(95%CI) _{hom}	P 值	OR(95%CI)	P 值	OR(95%CI)	P 值	OR(95%CI)	P 值
外胚层 (n=250)	rs1801133	0.80(0.56~1.14)	0.58(0.36~0.94)	0.075	0.73(0.52~1.02)	0.07	0.67(0.44~1.02)	0.057	0.77(0.61~0.97)	0.024
	rs1801394	0.83(0.59~1.16)	0.33(0.19~0.60)	<0.01	0.69(0.50~0.95)	0.024	0.37(0.21~0.64)	<0.01	0.66(0.52~0.84)	<0.01
中胚层 (n=154)	rs1801133	0.80(0.52~1.22)	0.64(0.37~1.11)	0.26	0.75(0.50~1.12)	0.16	0.73(0.44~1.20)	0.2	0.80(0.61~1.05)	0.1
	rs1801394	0.87(0.58~1.29)	0.26(0.12~0.57)	<0.01	0.70(0.48~1.03)	0.067	0.28(0.13~0.60)	<0.01	0.64(0.48~0.86)	0.0021
内胚层 (n=106)	rs1801133	0.83(0.52~1.32)	0.47(0.24~0.92)	0.073	0.72(0.46~1.12)	0.15	0.52(0.28~0.98)	0.032	0.72(0.52~0.98)	0.033
	rs1801394	0.92(0.58~1.44)	0.38(0.17~0.85)	0.034	0.77(0.50~1.19)	0.24	0.40(0.19~0.86)	0.0099	0.72(0.52~0.98)	0.036

注: het (杂合子); hom (纯合子)。

3 讨论

本研究发现,在中国山西复杂先天畸形人群中, MTRR GG 型和 MTHFR CC 型是复杂先天畸形的保护性因素。MTHFR 的 rs1801133 和 MTRR 的 rs1801394 隐性纯合都是外胚层来源和内胚层来源器官发育的保护性因素。而 MTRR 的 rs1801394 隐性纯合是中胚层来源器官发育的保护因素。

本研究提示在人类样本中,出生缺陷与环境营养因素叶酸相关,这与以往的研究一致^[22]。以往的研究表明在小鼠模型上,编码铁转运的 Ferropoirtin (Slc40a1) 基因敲除可导致原肠胚发育形成的内胚层缺陷, Ferropoirtin 基因突变的胚胎可见发育迟缓、露脑畸形、小眼畸形和全身性水肿等表型^[23]。Tao 等^[24]对小鼠的研究表明,平面细胞极性通路(PCP)核心基因-PRICKLE1 基因缺失导致内胚层迁移和原条形成异常,从而引起内胚层发育缺陷。Bassuk 等^[25]发现纯合 PRICKLE1 突变可以引起常染色体隐性渐进性肌阵挛癫痫,共济失调综合征,而且这一突变也是通过导致原肠胚发育缺陷而产生相应的表型。这些证据表明,在胚胎发育的早期阶段,突变可引起胚层发育异常而导致胚胎的发育缺陷。此外, Ferropoirtin 基因和 PRICKLE1 基因突变均导致内胚层发育缺陷也给本研究提供了一个早期基因的异常能导致发育中的三胚层发育异常的线索。

叶酸是一种重要的环境营养因素,其代谢对维持正常胚胎发育非常重要,异常水平的叶酸可增加发生 NTD 的风险,而补充 0.4~4.0 mg/d 的叶酸能预防约 50%~70% 的神经管畸形的发生^[10]。叶酸作为一碳供体,参与核苷酸的合成和甲基转移

反应,对 DNA 和蛋白质的甲基化修饰非常重要。所以本研究推测在发育的初期,叶酸代谢紊乱影响了胚胎发育,进而导致三胚层发育异常,最后产生胎儿的复杂畸形。研究表明,叶酸代谢相关 rs1801394 和 rs1801133 SNP 是与包括 NTD 在内的复杂畸形风险相关的重要的生物标记,提示其可能为 NTD 等复杂畸形的病因之一^[11,13-14,17]。在胚胎发育过程中, MTRR 在胚胎植入前,卵母细胞发育到囊胚过程中开始表达^[26],并随后分布在神经管和其他组织^[27]。小鼠中 MTRR 基因敲除导致胚胎死亡和出生缺陷^[27-28]。这表明 MTRR 正常水平对胚胎发育至关重要,而 MTRR rs1801394 突变致病机理可能是由于 SNP 位点位于 MTRR 基因的功能结构域, MTRR 突变影响 MTRR 与蛋氨酸合成酶 MTR 的结合从而影响叶酸和一碳代谢^[29]。MTHFR 从卵母细胞发育开始表达,小鼠 MTHFR 基因敲除导致 S-腺苷甲硫氨酸表达水平显著降低,同时伴有 S-腺苷高半胱氨酸水平显著增加。S-腺苷高半胱氨酸水平升高可引起广泛的 DNA 甲基化水平降低从而导致小脑发育畸形和脂质沉积^[30]。这与本课题组以往报道的在中国山西人群中,神经管畸形病例整体 DNA 低甲基化水平是一致的^[31-32]。这些研究都提示 MTRR 和 MTHFR 在整个胚胎发生过程中表达,并且它们的 SNP 可能影响胚胎发育的早期阶段,因此导致复杂畸形的表型。

本研究表明在我国出生缺陷高发山西人群样本中,叶酸代谢相关基因多核苷酸多态性 rs1801394 和 rs1801133 与多发生出生缺陷风险相关,并与胚层发育相关,本研究结果将有助于为出生缺陷病因研究提供新的线索,为今后预防出生缺陷提供实验证据。

[参 考 文 献]

- [1] Wallingford JB, Niswander LA, Shaw GM, et al. The continuing challenge of understanding, preventing, and treating neural tube defects[J]. *Science*, 2013, 339(6123): 1222002.
- [2] Zhu H, Kartiko S, Finnell RH. Importance of gene-environment interactions in the etiology of selected birth defects[J]. *Clin Genet*, 2009, 75(5): 409-423.
- [3] 中国出生缺陷监测协作组. 中国出生缺陷地图集[M]. 成都: 成都地图出版社, 1992.
- [4] 郑晓瑛, 宋新明, 陈功. 中国出生缺陷高发地区出生缺陷的发生水平和流行病学特征[J]. *中国流行病学杂志*, 2007, 28(1): 5-9.
- [5] Ooki S. Maternal age and birth defects after the use of assisted reproductive technology in Japan, 2004-2010[J]. *Int J Womens Health*, 2013, 5: 65-77.
- [6] North K, McCredie J. Neurotomes and birth defects: a neuroanatomic method of interpretation of multiple congenital malformations[J]. *Am J Med Genet Suppl*, 1987, 3: 29-42.
- [7] 孙淑娜. 叶酸缺乏导致人类先天性异常的机制研究进展[J]. *中国当代儿科杂志*, 2006, 8(6): 527-530.
- [8] Nelson MM, Asling CW, Evans HM. Production of multiple congenital abnormalities in young by maternal pteroylglutamic acid deficiency during gestation[J]. *J Nutr*, 1952, 48(1): 61-79.
- [9] Nelson MM, Baird CD, Wright HV, et al. Multiple congenital abnormalities in the rat resulting from riboflavin deficiency induced by the antimetabolite galactoflavin[J]. *J Nutr*, 1956, 58(1): 125-134.
- [10] Bower C, D'Antoine H, Stanley FJ. Neural tube defects in Australia: trends in encephaloceles and other neural tube defects before and after promotion of folic acid supplementation and voluntary food fortification[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2009, 85(4): 269-273.
- [11] Brouns R, Ursem N, Lindemans J, et al. Polymorphisms in genes related to folate and cobalamin metabolism and the associations with complex birth defects[J]. *Prenat Diagn*, 2008, 28(6): 485-493.
- [12] Yu X, Liu J, Zhu H, et al. Synergistic association of DNA repair relevant gene polymorphisms with the risk of coronary artery disease in northeastern Han Chinese[J]. *Thromb Res*, 2014, 133(2): 229-234.
- [13] Relton CL, Wilding CS, Pearce MS, et al. Gene-gene interaction in folate-related genes and risk of neural tube defects in a UK population[J]. *J Med Genet*, 2004, 41(4): 256-260.
- [14] Cai B, Zhang T, Zhong R, et al. Genetic variant in MTRR, but not MTR, is associated with risk of congenital heart disease: an integrated meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e89609.
- [15] Huang J, Mei J, Jiang L, et al. rs1801133 C>T polymorphism is associated with an increased risk of tetralogy of Fallot[J]. *Biomed Rep*, 2014, 2(2): 172-176.
- [16] Blanton SH, Henry RR, Yuan Q, et al. Folate pathway and nonsyndromic cleft lip and palate[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2011, 91(1): 50-60.
- [17] Pangilinan F, Molloy AM, Mills JL, et al. Evaluation of common genetic variants in 82 candidate genes as risk factors for neural tube defects[J]. *BMC Med Genet*, 2012, 13: 62.
- [18] Etheredge AJ, Finnell RH, Carmichael SL, et al. Maternal and infant gene-folate interactions and the risk of neural tube defects[J]. *Am J Med Genet A*, 2012, 158A(10): 2439-2446.
- [19] Shaw GM, Lu W, Zhu H, et al. 118 SNPs of folate-related genes and risks of spina bifida and conotruncal heart defects[J]. *BMC Med Genet*, 2009, 10: 49.
- [20] Gu X, Lin L, Zheng X, et al. High prevalence of NTDs in Shanxi Province: a combined epidemiological approach[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2007, 79(10): 702-707.
- [21] Garne E, Dolk H, Loane M, et al. Paper 5: Surveillance of multiple congenital anomalies: implementation of a computer algorithm in European registers for classification of cases[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2011, 91 Suppl1: S44-S50.
- [22] 孙淑娜. 叶酸缺乏导致人类先天性异常的机制研究进展[J]. *中国当代儿科*, 2006, 8(6): 527-530.
- [23] Mao J, McKean DM, Warriar S, et al. The iron exporter ferroportin 1 is essential for development of the mouse embryo, forebrain patterning and neural tube closure[J]. *Development*, 2010, 137(18): 3079-3088.
- [24] Tao H, Suzuki M, Kiyonari H, et al. Mouse prickle1, the homolog of a PCP gene, is essential for epiblast apical-basal polarity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(34): 14426-14431.
- [25] Bassuk AG, Wallace RH, Buhr A, et al. A homozygous mutation in human PRICKLE1 causes an autosomal-recessive progressive myoclonus epilepsy-ataxia syndrome[J]. *Am J Hum Genet*, 2008, 83(5): 572-581.
- [26] Zhang P, Zucchelli M, Bruce S, et al. Transcriptome profiling of human pre-implantation development[J]. *PLoS One*, 2009, 4(11): e7844.
- [27] Elmore CL, Wu X, Leclerc D, et al. Metabolic derangement of methionine and folate metabolism in mice deficient in methionine synthase reductase[J]. *Mol Genet Metab*, 2007, 91(1): 85-97.
- [28] Deng L, Elmore CL, Lawrance AK, et al. Methionine synthase reductase deficiency results in adverse reproductive outcomes and congenital heart defects in mice[J]. *Mol Genet Metab*, 2008, 94(3): 336-342.
- [29] Olteanu H, Wolthers KR, Munro AW, et al. Kinetic and thermodynamic characterization of the common polymorphic variants of human methionine synthase reductase[J]. *Biochemistry*, 2004, 43(7): 1988-1997.
- [30] Chen Z, Karaplis AC, Ackerman SL, et al. Mice deficient in methylenetetrahydrofolate reductase exhibit hyperhomocysteinemia and decreased methylation capacity, with neuropathology and aortic lipid deposition[J]. *Hum Mol Genet*, 2001, 10(5): 433-443.
- [31] Wang L, Wang F, Guan J, et al. Relation between hypomethylation of long interspersed nucleotide elements and risk of neural tube defects[J]. *Am J Clin Nutr*, 2010, 91(5): 1359-1367.
- [32] Chen X, Guo J, Lei Y, et al. Global DNA hypomethylation is associated with NTD-affected pregnancy: A case-control study[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2010, 88(7): 575-581.

(本文编辑: 王庆红)