

# 叶酸代谢相关基因多态性与其个体化补充的研究进展

安妮<sup>1,2\*</sup>, 张阳<sup>1</sup>, 宋沧桑<sup>1,2#</sup> (1.昆明市第一人民医院药学部, 昆明 650000; 2.大理大学药学与化学学院, 云南大理 671000)

中图分类号 R983 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)17-2444-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.17.39

**摘要** 目的:了解叶酸代谢相关基因多态性与其个体化补充的研究进展。方法:查阅近年来国内外相关文献,就叶酸代谢通路的相关基因、叶酸与同型半胱氨酸(Hcy)的关系以及叶酸补充等方面的研究进行归纳和总结。结果:叶酸代谢相关基因亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)C677T和蛋氨酸合成酶还原酶(MTRR)A66G与多种疾病的发生存在相关性。Hcy血浆浓度可作为衡量叶酸水平的标准。叶酸缺乏,妊娠期妇女会出现不良妊娠结局,同时导致胚胎时期的神经管缺陷,出生后的脑病,成人期的缺血性脑卒中、痴呆、抑郁症等神经变性疾病和神经精神疾病,甚至影响男性生殖能力;叶酸过量,会掩盖因维生素B<sub>12</sub>缺乏引起的贫血和神经系统障碍等,并降低体内的自然杀伤细胞数量及机体免疫力。结论:叶酸代谢相关基因多态性导致叶酸血药浓度水平差异较大。通过检测患者叶酸代谢相关基因多态性以及叶酸和Hcy的水平,评估叶酸代谢能力,为患者制订个体化的叶酸补充方案是未来临床的必然发展趋势。

**关键词** 叶酸;亚甲基四氢叶酸还原酶;蛋氨酸合成酶还原酶;同型半胱氨酸;基因多态性;个体化补充

叶酸代谢酶亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)、蛋氨酸合成酶还原酶(MTRR)和蛋氨酸合成酶(MTR)的基因多态性是影响唇裂、唐氏综合征等疾病发病的重要因素<sup>[1-2]</sup>。叶酸代谢基因与某些临床不良事件存在一定的相关性,如不良妊娠事件(复发性流产、低体质量患儿、早产儿和出生缺陷等)、癌症(胃癌、大肠癌和宫颈癌等)、心血管疾病和精神疾病等。但叶酸代谢酶基因的单核苷酸多态性与叶酸水平及不良妊娠事件之间的关系尚不明确。鉴于此,笔者查阅近年来国内外相关文献,就叶

酸代谢通路的相关基因、叶酸与同型半胱氨酸(Hcy)的关系以及叶酸补充等方面的研究进行归纳和总结。

## 1 叶酸代谢通路的相关基因

### 1.1 MTHFR C677T 基因

MTHFR是叶酸代谢的关键酶,其互补脱氧核糖核酸(cDNA)全长为2.2 kb,位于染色体1P36.3,有11个外显子<sup>[3]</sup>。MTHFR在叶酸代谢通路中将5,10-亚甲基四氢叶酸转化为5-亚甲基四氢叶酸,而5-亚甲基四氢叶酸为Hcy转化为蛋氨酸过程中重要的甲基供体,也是叶酸代

- (3):1153-1161.
- [18] Alamuri P, Eaton KA, Himpsl SD, *et al.* Vaccination with proteus toxic agglutinin, a hemolysin-independent cytotoxin in vivo, protects against *Proteus mirabilis* urinary tract infection[J]. *Infect Immun*, 2009, 77(2):632-641.
- [19] Watts RE, Totsika M, Challinor VL, *et al.* Contribution of siderophore systems to growth and urinary tract colonization of asymptomatic bacteriuria *Escherichia coli*[J]. *Infect Immun*, 2012, 80(1):333-344.
- [20] Himpsl SD, Pearson MM, Arewang CJ, *et al.* Proteobactin and a yersiniabactin-related siderophore mediate iron acquisition in *Proteus mirabilis*[J]. *Mol Microbiol*, 2010, 78(1):138-157.
- [21] Brumbaugh AR, Smith SN, Mobley HL. Immunization with the yersiniabactin receptor, FyuA, protects against pyelonephritis in a murine model of urinary tract infection[J]. *Infect Immun*, 2013, 81(9):3309-3316.

- [22] Kosikowska P, Berlicki Ł. Urease inhibitors as potential drugs for gastric and urinary tract infections: a patent review [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2011, 21(6):945-957.
- [23] Piatek R, Zalewska-Piatek B, Dzierzbicka K, *et al.* Pili-cides inhibit the FGL chaperone/usher assisted biogenesis of the Drfimbrialpolyadhesin from uropathogenic *Escherichia coli*[J]. *BMC Microbiol*, 2013, doi: 10.1186/1471-2180-13-131.
- [24] Cusumano CK, Pinkner JS, Han Z, *et al.* Treatment and prevention of urinary tract infection with orally active FimH inhibitors[J]. *Sci Transl Med*, 2011, 3(109):109-115.
- [25] Greene SE, Pinkner JS, Chorell E, *et al.* Pilicide ec240 disrupts virulence circuits in uropathogenic *Escherichia coli* [J]. *M Bio*, 2014, 5(6):e02038.
- [26] Klein T, Abgottspon D, Wittwer M, *et al.* FimH antagonists for the oral treatment of urinary tract infections: from design and synthesis to in vitro and in vivo evaluation[J]. *J Med Chem*, 2010, 53(24):8627-8641.

\* 硕士研究生。研究方向:药物基因组学。电话:0871-67390624。E-mail:510814074@qq.com

# 通信作者:主任药师,硕士。研究方向:药物基因组学与临床药学。电话:0871-4184372。E-mail:songcs163@163.com

(收稿日期:2016-11-01 修回日期:2017-05-09)

(编辑:陶婷婷)

谢循环的主要形式。在哺乳动物中,这种转换由MTR催化,维生素B<sub>12</sub>是其中重要的辅助因子。在日常膳食蛋白中,蛋氨酸作为S-腺苷甲硫氨酸的前体,S-腺苷甲硫氨酸转甲基后形成S-腺苷Hcy进而水解生成腺苷,转变为Hcy。同理,Hcy可在维生素B<sub>6</sub>的辅助下通过转硫途径转变成甲硫氨酸<sup>[4]</sup>。

1988年,Kang SS等<sup>[5]</sup>的研究就认为MTHFR基因第677位碱基对上的丙氨酸替代缬氨酸的突变是一种常见突变,且该突变会影响血浆Hcy的代谢,导致高同型半胱氨酸血症和低叶酸水平。1995年,Frosst P等<sup>[6]</sup>的研究认为,MTHFR基因第677位碱基对上的突变会影响其Hcy的再甲基化。之后多项研究确定了MTHFR基因拥有14个与罕见酶缺陷有关的基因突变位点和1个与较温和的酶缺陷有关的常见基因突变位点(MTHFR C677T)<sup>[3, 7-8]</sup>。Rosenberg N等<sup>[9]</sup>的研究指出,MTHFR C677T基因多态性是一个在MTHFR基因第677位上由胸腺嘧啶替代半胱氨酸的点突变,其最终导致在亚甲基四氢叶酸还原酶上的缬氨酸被丙氨酸替代,使酶活性降低,并引发一系列疾病。MTHFR基因的单核苷酸多态性会降低该酶的耐热性,使其在35℃以上时活性降低。与非突变人群比较,纯合突变人群的MTHFR酶活性在35℃以下会降低50%~60%,在46℃以下会降低65%<sup>[5, 10]</sup>。MTHFR 677C>T基因突变的种族差异和地区差异显著,调查显示意大利和西班牙人群MTHFR C677T等位基因频率较高,美国黑种人群和撒哈拉以南的非洲地区人群该基因的等位基因频率较低<sup>[11]</sup>。

目前,关于MTHFR C677T基因多态性与临床疾病的研究较多,包括心血管疾病、妊娠与不孕、牛皮癣、神经系统与精神疾病、糖尿病和癌症等,研究最多的是老年人心血管疾病与妊娠期妇女的不良妊娠。然而,Brattström L等<sup>[12]</sup>的研究认为,尽管MTHFR C677T基因多态性会导致轻度的高Hcy血症,但并不会增加心血管疾病的风险。Clarke R等<sup>[13]</sup>通过Meta分析显示,MTHFR C677T基因多态性与心血管疾病无明显的相关性。Liang R等<sup>[14]</sup>的研究指出,MTHFR C677T基因多态性和Hcy水平均与高脂血症有关,是心血管疾病的已知危险因素。近期的研究也报道了MTHFR C677T基因与原发性高血压之间的相关性,且认为这和Hcy水平的升高相关<sup>[15-16]</sup>。

## 1.2 MTRR A66G 基因

MTRR编码甲硫氨酸合成酶还原酶,位于5P15.2~5P15.3,有15个外显子和14个内含子,为Hcy代谢途径主要的调节酶,通过保持维生素B<sub>12</sub>的足够活性催化还原MTR,使Hcy再甲基化生成蛋氨酸。MTRR是叶酸、Hcy正常代谢的另一重要因素。MTRR A66G基因是目前研究最多的基因位点,其A→G的转换导致MTRR编码的酶活性降低和Hcy再甲基化程度的降低,可能导致

高Hcy血症<sup>[17]</sup>。MTRR A66G与MTHFR C677T基因位点多态性均会影响叶酸-蛋氨酸代谢循环过程中的关键酶活性,导致其代谢紊乱,这可能是导致一些不良妊娠事件的重要因素。研究显示,MTRR A66G位点的基因突变容易造成胚胎停育<sup>[18]</sup>,且该位点的突变与胎儿发生神经管缺陷(NTD)有明显的相关性<sup>[19]</sup>。妊娠期妇女MTRR A66G的基因突变与后代发生先天性心脏病的风险显著相关;胎儿MTRR A66G基因突变则会增加其发生先天性心脏病的风险;当妊娠期妇女同时具有MTRR和MTR基因变异时,其胎儿发生先天性心脏病的风险会显著增高<sup>[19]</sup>。

## 2 叶酸与Hcy的关系

叶酸即蝶酰谷氨酸,是一种水溶性B族维生素,对机体生长尤其是神经系统的发育有重要作用。食物中的叶酸以聚谷氨酸的形式存在,无活性,在肝内二氢叶酸还原酶作用下形成具有活性的辅酶F(THF),即一碳转移酶系统中的辅酶。叶酸参与人体内许多重要的化学反应,如合成嘧啶和嘌呤以供DNA合成及修复、Hcy转化为甲硫氨酸、S-腺苷甲硫氨酸的产生等。叶酸的代谢异常会影响DNA的甲基化和合成,对妊娠期妇女造成不良影响。

Hcy也称高半胱氨酸,是氨基酸半胱氨酸的异种。Hcy在体内有2种代谢途径:(1)再甲基化。Hcy接受5-亚甲基四氢叶酸提供的甲基,通过维生素B<sub>12</sub>重新合成甲硫氨酸,约消耗50%的Hcy。(2)分解代谢。约50%的Hcy通过维生素B<sub>6</sub>转化为半胱氨酸,最终形成丙酮酸、硫酸和水。细胞内Hcy释放至细胞外,当细胞内甲硫氨酸水平过高时,Hcy可直接释放至血液循环中。

MTHFR C677T基因的突变会导致MTHFR酶活性的降低,使Hcy在体内蓄积,引起高Hcy血症。该基因突变不仅是心脑血管疾病和出生缺陷的一个重要危险因素,而且对老年病、糖尿病、肾病和精神疾病的发生也有重要影响。研究指出,叶酸缺乏和高Hcy与习惯性流产和一些不良妊娠事件(如妊娠诱发的高血压、先兆子痫和胎盘早剥等)有关<sup>[20-21]</sup>。高Hcy水平可能与血管功能受损引起的冠心病、卒中和认知功能障碍等疾病存在相关性<sup>[22-23]</sup>;也可能与胎盘血管的损伤有关,从而引起先兆子痫、流产和早产等不良妊娠结局<sup>[24-26]</sup>。此外,孕妇血浆和羊水中的高Hcy水平可能会引起胎儿的NTD<sup>[27-28]</sup>。1999年,James SJ等<sup>[29]</sup>的研究首次提出叶酸的异常代谢与唐氏综合征有相关性。Zintzaras E等<sup>[30]</sup>的研究肯定了MTHFR C677T基因多态性与唐氏综合征的相关性。多项系统性评价也证实了此观点,并将Hcy血浆浓度当作衡量叶酸水平的标准<sup>[31-32]</sup>。

## 3 叶酸缺乏与过量的不良影响

### 3.1 叶酸缺乏

3.1.1 不良妊娠结局 我国每年至少约有90万的缺陷

儿出生,这意味着每分钟会有2个缺陷儿出生,主要包括NTD、先天性心脏病、唇腭裂、唐氏综合征患儿和无脑儿等<sup>[33]</sup>。孕早期高Hcy血症可抑制绒毛膜的形成,减少绒毛血管的数量,影响胚胎的血流灌注,进而导致胚胎着床不良,易出现不良的妊娠结局<sup>[34]</sup>。研究证明,通过补充适量的叶酸可显著降低NTD的发生率<sup>[35]</sup>。Ebadifar A等<sup>[36]</sup>的研究显示,携带MTHFR 677TT基因的儿童患唇腭裂的风险更高,妊娠期未补充叶酸的妇女所产新生儿患唇腭裂的风险更高,且叶酸水平在伴或不伴唇裂的唇裂中占重要地位。孕期补充叶酸能有效降低唇裂的发生风险<sup>[37]</sup>。孕早期补充叶酸可降低先天性心脏缺陷发生的风险,特别是圆锥动脉干畸形和室间隔缺损<sup>[38-40]</sup>。研究还发现,唐氏综合征患儿的母亲的MTHFR C677T基因突变率明显高于正常人群,故认为叶酸代谢相关酶基因是决定后代唐氏综合征易感性的重要因素,提示补充叶酸可降低唐氏综合征的发病风险<sup>[41]</sup>。

3.1.2 其他 叶酸可促进胎儿和婴幼儿的神经细胞和脑细胞分化发育<sup>[42]</sup>。叶酸的缺乏可导致胚胎时期的NTD,出生后的脑病,甚至成人期的缺血性脑卒中、痴呆、抑郁症等神经变性疾病和神经精神疾病;口服叶酸和维生素B<sub>12</sub>均可有效预防认知功能下降<sup>[43]</sup>。高磊等<sup>[44]</sup>研究指出,叶酸缺乏患儿更易存在焦虑。

叶酸的缺乏和甲基化的异常代谢还会造成染色体异常,影响男性生殖能力。研究表明,MTHFR基因突变致该酶活性表达异常与男子精子活力存在明显的相关性<sup>[45]</sup>。MTHFR 677T基因还与多种癌变相关,该基因的突变导致该酶活性降低,使DNA甲基化水平降低,基因组不稳定及原癌基因受抑,进而增加癌症发生风险<sup>[46]</sup>。叶酸还能促进骨髓中幼细胞的成熟,叶酸缺乏会致婴幼儿巨幼红细胞贫血症等<sup>[47]</sup>。

### 3.2 叶酸过量

叶酸与维生素B<sub>12</sub>在蛋氨酸合成酶介导下的Hcy转变为蛋氨酸过程中起重要作用,但体内叶酸过量会掩盖因维生素B<sub>12</sub>缺乏引起的贫血和神经系统障碍等<sup>[48]</sup>。Wolff GL等<sup>[49]</sup>研究发现,过量的叶酸会引起小鼠DNA的过甲基化,改变其表现遗传学特征。高剂量叶酸摄取会引起小鼠胚胎发育紊乱<sup>[50-51]</sup>。Dwarkanath P等<sup>[52]</sup>研究指出,过量的叶酸摄入伴随维生素B<sub>12</sub>缺乏会引起胎儿体质量过轻。围孕期妇女体内叶酸过量与新生儿哮喘发病风险和胰岛素抵抗增加相关<sup>[53-54]</sup>。同时,叶酸过量还会降低体内的自然杀伤细胞数量及机体免疫力,增大感染风险。

## 4 叶酸的个体化补充

目前,MTHFR被认为是叶酸代谢过程中重要的代谢酶,其缺乏会导致机体叶酸代谢紊乱、血浆总Hcy升高,补充叶酸和维生素B<sub>12</sub>被认为是临床干预中最经济、

有效的手段。研究显示,补充叶酸能够降低血浆总Hcy水平的25%~33%<sup>[55]</sup>。

机体对叶酸的吸收代谢能力存在个体差异,叶酸代谢相关基因多态性与叶酸的个体化补充间关系的研究逐年增多,根据基因检测结果估算叶酸代谢能力,并调整叶酸补充剂量,对于部分有先天性心脏病、NTD和唇腭裂等出生缺陷家族史的妊娠期妇女具有重要意义。2015年,加拿大的相关指南指出:(1)妊娠期妇女应维持富含叶酸的健康饮食,并达到叶酸标准的血药水平;(2)过量叶酸可能会掩盖维生素B<sub>12</sub>缺乏所致的贫血,有出生缺陷史的高危人群除补充足量叶酸外,还需补充维生素B<sub>12</sub> 2.6 μg/d;(3)MTHFR C677T基因双突变且有出生缺陷史的人群,妊娠前至少3个月补充叶酸4 mg/d,妊娠后至哺乳期补充叶酸0.6~1.0 mg/d;(4)MTHFR C677T基因未突变且无相关出生缺陷史的低危人群,妊娠前2~3个月至产后4~6周或至哺乳结束,补充叶酸0.4 mg/d;(5)MTHFR C677T基因位点单突变的中危人群,妊娠前3个月补充叶酸1.0 mg/d,产后至哺乳结束补充叶酸0.6~0.8 mg/d<sup>[56]</sup>。

## 5 结语

综上所述,叶酸代谢相关基因MTHFR C677T和MTRR A66G与多种疾病的发生存在相关性。Hcy血浆浓度可作为衡量叶酸水平的标准。叶酸缺乏,妊娠期妇女会出现不良妊娠结局,同时导致胚胎时期的NTD,出生后的脑病,成人期的缺乏性脑卒中、痴呆、抑郁症等神经变性疾病和神经精神疾病,甚至影响男性生殖能力。叶酸过量,会掩盖因维生素B<sub>12</sub>缺乏引起的贫血和神经系统障碍等,并降低体内的自然杀伤细胞数量、机体免疫力。根据基因检测结果估算叶酸代谢能力,并调整叶酸补充剂量的个体化措施很有必要。

目前,叶酸的临床研究并不多见,且因为叶酸代谢相关基因多态性导致其血药浓度水平差异较大,易导致预期疗效降低或无效,故叶酸代谢相关基因多态性在临床的应用价值逐渐得到重视。通过检测患者叶酸代谢相关基因多态性以及叶酸和Hcy的水平,评估叶酸代谢能力,为患者制订个体化的叶酸补充方案是未来临床的必然发展趋势。

## 参考文献

- [1] Shaw GM, Rozen R, Finnell RH, et al. Infant C677T mutation in MTHFR, maternal periconceptional vitamin use, and cleft lip[J]. *Am J Med Genet*, 1998, 80(3):196-198.
- [2] Brandalize AP, Bandinelli E, Borba JB, et al. Polymorphisms in genes MTHFR, MTR and MTRR are not risk factors for cleft lip/palate in South Brazil[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2007, 40(6): 787-791.
- [3] Goyette P, Sumner JS, Milos R, et al. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping

- and mutation identification[J]. *Nat Genet*, 1994, 7(4): 551-560.
- [4] Selhub J. Homocysteine metabolism[J]. *Annu Rev Nutr*, 1999, 19(1):217-246.
- [5] Kang SS, Zhou J, Wong PW, *et al*. Intermediate homocysteinaemia: a thermolabile variant of methylenetetrahydrofolate reductase[J]. *Am J Hum Genet*, 1988, 43(4): 414-421.
- [6] Frosst P, Blom HJ, Milos R, *et al*. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase[J]. *Nat Genet*, 1995, 10(1): 111-113.
- [7] Goyette P, Christensen B, Rosenblatt DS, *et al*. Severe and mild mutations in cis for the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene, and description of five novel mutations in MTHFR[J]. *Am J Hum Genet*, 1996, 59(6): 1268-1275.
- [8] Goyette P, Pai A, Milos R, *et al*. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)[J]. *Mamm Genome*, 1998, 9(8):652-656.
- [9] Rosenberg N, Murata M, Ikeda Y, *et al*. The frequent 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism is associated with a common haplotype in Whites, Japanese and Africans[J]. *Am J Hum Genet*, 2002, 70(3): 758-762.
- [10] Rozen R. Genetic predisposition to hyperhomocysteinaemia: deficiency of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) [J]. *Thromb Haemost*, 1997, 78(1):523-526.
- [11] Botto LD, Yang Q. 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review[J]. *Am J Epidemiol*, 2000, 151(9):862-877.
- [12] Brattström L, Wilcken DE, Ohrvik J, *et al*. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of a meta-analysis[J]. *Circulation*, 1998, 98(23): 2520-2526.
- [13] Clarke R, Bennett DA, Parish S, *et al*. Homocysteine and coronary heart disease: meta-analysis of MTHFR case-control studies, avoiding publication bias[J]. *PLoS Med*, 2012, 9(2):e1001177.
- [14] Liang R, Zhou Y, Xie J, *et al*. Association of C677T gene polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and plasma homocysteine level with hyperlipidemia[J]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao*, 2014, 34(8): 1195-1198.
- [15] Cai W, Yin L, Yang F, *et al*. Association between Hcy levels and the CBS844 ins68 and MTHFR C677T polymorphisms with essential hypertension[J]. *Riomed Rep*, 2014, 2(6):861-868.
- [16] Yang KM, Jia J, Mao LN, *et al*. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T gene polymorphism and essential hypertension: a metaanalysis of 10 415 subjects[J]. *Biomed Rep*, 2014, 2(5):699-708.
- [17] Yada U, Kumar P, Yada SK, *et al*. Polymorphisms in folate metabolism genes as maternal risk factor for neural tube defects: an updated meta-analysis[J]. *Metab Brain Disease*, 2015, 30(1):7-24.
- [18] 秦奇, 有风芝, 张仪. 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与胚胎停止发育的相关性研究[J]. *重庆医科大学学报*, 2016, 41(3):243-246.
- [19] 宫婷, 李芬, Huang H, 等. MTR、MTRR 基因多态性与先天性心脏病的相关性研究[J]. *第三军医大学学报*, 2010, 32(2): 127-130.
- [20] Meka A, Reddy BM. Recurrent spontaneous abortions: an overview of genetic and non-genetic backgrounds[J]. *Int J Hum*, 2006, 6(2): 109-117.
- [21] Bogdanova N, Markoff A. Genetic predispositions to thrombophilia associated with recurrent pregnancy loss[J]. *J Reproduktionsmed Endokrinol*, 2008, 5(2): 101-105.
- [22] Eikelboom JW, Lonn E, Genest J Jr, *et al*. Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiological evidence[J]. *Ann Intern Med*, 1999, 131(5): 363-375.
- [23] Selhub J, Bagley LC, Miller J, *et al*. B vitamins, homocysteine, and neurocognitive function in the elderly[J]. *Am J Clin Nutr*, 2000, 71(2):614S-620S.
- [24] Picciano MF. Is homocysteine a biomarker for identifying women at risk of complications and adverse pregnancy outcomes? [J]. *Am J Clin Nutr*, 2000, 71(4):857-858.
- [25] Vollset SE, Refsum H, Irgens LM, *et al*. Plasma total homocysteine, pregnancy complications and adverse pregnancy outcomes: the Hordaland Homocysteine Study[J]. *Am J Clin Nutr*, 2000, 71(4):962-968.
- [26] Ray JG, Laskin CA. Folic acid and homocyst(e)ine metabolic defects and the risk of placental abruption, pre-eclampsia and spontaneous pregnancy loss: a systematic review[J]. *Placenta*, 1999, 20(7):519-529.
- [27] Mills JL, McPartlin JM, Kirke PN, *et al*. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural-tube defects[J]. *Lancet*, 1995, 345(8943):149-151.
- [28] Steegers-Theunissen RP, Boers GH, Blom HJ, *et al*. Neural tube defects and elevated homocysteine levels in amniotic fluid[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1995, 172(5): 1436-1441.
- [29] James SJ, Pogribna M, Pogribny IP, *et al*. Abnormal folate metabolism and mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene may be maternal risk factors for Down syndrome[J]. *Am J Clin Nutr*, 1999, 70(4): 495-501.
- [30] Zintzaras E, Uhlig K, Koukoulis GN, *et al*. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism as a risk fac-

- tor for diabetic nephropathy: a meta-analysis[J]. *J Hum Genet*, 2007, 52(11): 881-890.
- [31] Wu CY, Yang M, Lin M, *et al*. MTHFR C677T polymorphism was an ethnicity-dependent risk factor for cervical cancer development: evidence based on a meta-analysis [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2013, 288(3): 595-605.
- [32] Rai V, Yadav U, Kumar P, *et al*. Maternal methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and down syndrome risk: a meta-analysis from 34 studies[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e108552.
- [33] 吴颖臻, 傅味南, 方茹, 等. 当前我国生殖健康与出生缺陷的现状分析与思考[J]. *中国优生优育杂志*, 2013, 19(1): 45-50.
- [34] 肖慧英. 妊娠合并血小板减少的研究新进展[J]. *医学综述*, 2013, 19(8): 1398-1400.
- [35] Fathe K, Person MD, Finnell RH. The application of a chemical determination of N-homocysteinylated levels in developing mouse embryos: implication for folate responsive birth defects[J]. *J Nutr Biochem*, 2015, 26(5): 312-318.
- [36] Ebadifar A, KhorramKhorshid HR, Kamali K, *et al*. Maternal supplementary folate intake, methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T and A1298C polymorphisms and the risk of orofacial cleft in Iranian children [J]. *Avicenna J Med Biotechnol*, 2015, 7(2): 80-84.
- [37] Bezerra JF, Oliveira GHM, Soares CD, *et al*. Genetic and nongenetic factors that increase the risk of non-syndromic cleft lip and/or palate development[J]. *Oral Dis*, 2015, 21(3): 393-399.
- [38] Czeizel AE, Vereczkey A, Szabó I. Folic acid in pregnant women associated with reduced prevalence of severe congenital heart defects in their children: a national population-based case-control study[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2015, 193: 34-39.
- [39] Czeizel AE. Periconceptional folic acid-containing multivitamin supplementation for the prevention of neural tube defects and cardiovascular malformations[J]. *Ann Nutr Metab*, 2011, 59(1): 38-40.
- [40] Botto LD, Mulinare J, Erickson JD. Occurrence of congenital heart defects in relation to maternal multivitamin use [J]. *Am J Epidemiol*, 2000, 151(9): 878-884.
- [41] Izci Ay O, Ay ME, Erdal ME, *et al*. Folate metabolism gene polymorphisms and risk for down syndrome offspring in Turkish women[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2015, 19(4): 191-197.
- [42] McGarel C, Pentieva K, Strain JJ, *et al*. Emerging roles for folate and related B-vitamins in brain health across the lifecycle[J]. *Proc Nutr Soc*, 2015, 74(1): 46-55.
- [43] Feng L. Oral folic acid and vitamin B<sub>12</sub> supplementation to prevent cognitive decline[J]. *Am J Clin Nutr*, 2012, 95(5): 1289-1290.
- [44] 高磊, 关明杰, 孙宇, 等. 儿童注意缺陷多动障碍与血清叶酸水平关系[J]. *中国学校卫生*, 2013, 34(3): 335-339.
- [45] Mfady DS, Sadiq MF, Khanour OF, *et al*. Associations of variants in MTHFR and MTRR genes with male infertility in the Jordanian population[J]. *Gene*, 2014, 536(1): 40-44.
- [46] Lanska DJ. Chapter 30: historical aspects of the major neurological vitamin deficiency disorders: the water-soluble B vitamins[J]. *Handb Clin Neurol*, 2010, 95: 445-476.
- [47] 杨海宁. 儿童营养性贫血与微量营养素缺乏研究[J]. *现代医药卫生*, 2015, 31(6): 862-864.
- [48] Reynolds E. Vitamin B<sub>12</sub>, folic acid, and the nervous system[J]. *Lancet Neurol*, 2006, 5(11): 949-960.
- [49] Wolff GL, Kodell RL, Moore SR, *et al*. Maternal epigenetics and methyl supplements affect agouti gene expression in Avy/a mice[J]. *FASEB J*, 1998, 12(11): 949-957.
- [50] Pickell L, Brown K, Li D, *et al*. High intake of folic acid disrupts embryonic development in mice[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2011, 91(1): 8-19.
- [51] Mikael LG, Deng L, Paul L, *et al*. Moderately high intake of folic acid has a negative impact on mouse embryonic development[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2013, 97(1): 47-52.
- [52] Dwarkanath P, Barzilay JR, Thomas T, *et al*. High folate and low vitamin B<sub>12</sub> intakes during pregnancy are associated with small-for-gestational age infants in South Indian women: a prospective observational cohort study[J]. *Am J Clin Nutr*, 2013, 98(6): 1450-1458.
- [53] Whitrow MJ, Moore VM, Rumbold AR. Effect of supplemental folic acid in pregnancy on childhood asthma: a prospective birth cohort study[J]. *Am J Epidemiol*, 2009, 170(12): 1486-1493.
- [54] Yajnik CS, Deshpande SS, Jackson AA, *et al*. Vitamin B<sub>12</sub> and folate concentrations during pregnancy and insulin resistance in the offspring: the Pune Maternal Nutrition Study[J]. *Diabetologia*, 2008, 51(1): 29-38.
- [55] 刘海波. 以叶酸为基础的维生素补充治疗降低血同型半胱氨酸: 随机试验的汇总分析[J]. *英国医学杂志: 中文版*, 1998, 1(3): 119-123.
- [56] Wilson RD, Genetics C, Wilson RD, *et al*. Pre-conception folic acid and multivitamin supplementation for the primary and secondary prevention of neural tube defects and other folic acid-sensitive congenital anomalies[J]. *J Obstet Gynecol Can*, 2015, 37(6): 534-552.

(收稿日期: 2016-08-31 修回日期: 2017-05-10)

(编辑: 陶婷婷)