

DOI:10.3969/j.issn.1673-5501.2009.03.004

5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶基因 C677T 多态性与先天性心脏病关系的 Meta 分析

余章斌 韩树萍 郭锡熔

摘要 目的 对 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶 (MTHFR) 基因 C677T 多态性与先天性心脏病 (CHD) 的相关性研究进行 Meta 分析。**方法** 制定原始文献的纳入标准及检索策略,检索 PubMed、EMBASE、Ovid、Springer、中国期刊全文数据库、维普中文科技期刊数据库、万方数据库和中国生物医学文献数据库 (1994 年 1 月至 2009 年 1 月) 中的文献,收集 MTHFR 基因 C677T 多态性与 CHD 相关性的病例-对照研究,剔除不符合要求的文献,应用 RevMan 4.2 软件进行 Meta 分析,得出合并后的 OR 值及其 95% CI。**结果** 共 18 篇文献符合纳入标准进入 Meta 分析。数据合并结果显示,子代 MTHFR 基因 677 位点 TT/CC 和 (TT + CT)/CC 与 CHD 易感性有统计学意义,OR 值 (95% CI) 分别为 1.55 (1.24 ~ 1.93) 和 1.23 (1.06 ~ 1.42), $P < 0.05$; 子代 MTHFR 基因 677 位点 CT/CC 与 CHD 易感性无统计学意义,OR 值 (95% CI) 为 1.15 (0.99 ~ 1.34), $P > 0.05$ 。父亲 MTHFR 基因 677 位点 TT/CC 和 (TT + CT)/CC 与子代 CHD 的易感性有统计学意义,OR 值 (95% CI) 分别为 1.84 (1.23 ~ 2.74) 和 1.33 (1.04 ~ 1.71), $P < 0.05$; 父亲 MTHFR 基因 677 位点 CT/CC 与子代 CHD 易感性无统计学意义,OR 值 (95% CI) 为 1.25 (0.96 ~ 1.62), $P > 0.05$ 。母亲 MTHFR 基因 677 位点 TT/CC、CT/CC 和 (TT + CT)/CC 与子代 CHD 易感性均无统计学意义,OR 值 (95% CI) 分别为 1.20 (0.92 ~ 1.56)、1.03 (0.86 ~ 1.24) 和 1.07 (0.90 ~ 1.27), P 均 > 0.05 。传递不平衡分析未发现在 CHD 核心家系的 MTHFR 基因 677 位点存在突变的传递不平衡现象,OR 值为 0.90 (95% CI: 0.79 ~ 1.12), $P > 0.05$ 。**结论** 子代 MTHFR 基因 677 位点 TT 和 TT + CT 为 CHD 的危险因素之一; 父亲 MTHFR 基因 677 位点 TT 和 TT + CT 是子代 CHD 的危险因素之一; 母亲 MTHFR 基因 677 位点多态性与子代 CHD 的发生无关。

关键词 5,10-亚甲基四氢叶酸还原酶; 先天性心脏病; 基因多态性; Meta 分析

Meta-analysis of the association between 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphisms and congenital heart disease

YU Zhang-bin, HAN Shu-ping, GUO Xi-rong (Department of Pediatrics, Nanjing Maternal and Child Health Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210004, China)

Corresponding Author: HAN Shu-ping, E-mail: shupinghan@njmu.edu.cn

Abstract Objective To evaluate the relationship between 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene C677T polymorphisms and congenital heart disease (CHD). **Methods** PubMed, EMBASE, Ovid, Springer, China National Knowledge Infrastructure, Vip Chinese Periodical Database, Wanfang Chinese Periodical Database and Chinese Bio-medicine Database were searched for the case-control study on the association of MTHFR gene C677T polymorphisms with CHD from Jan 1994 to Jan 2009. According to inclusion criteria, articles were evaluated. Poor-quality studies were excluded, and RevMan 4.2 software was applied for investigating the heterogeneity among individual studies and calculating the pooled odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI). **Results** 18 eligible studies were included. Statistics of the combined data revealed a significant difference between the offsprings with CHD carrying of TT/CC, (TT + CT)/CC of MTHFR gene C677T and controls, the pooled OR of TT/CC and (TT + CT)/CC was 1.55 (1.24 - 1.93) and 1.15 (1.06 - 1.42) ($P < 0.05$); there was no difference between the offsprings with CHD carrying of CT/CC of MTHFR gene C677T and controls, the pooled OR was 1.15 (0.99 - 1.34) ($P > 0.05$). There was a significant difference between the CHD of offspring with paternal TT/CC, (TT + CT)/CC of MTHFR gene and controls, the pooled OR of TT/CC and (TT + CT)/CC of MTHFR gene C677T was 1.84 (1.23 - 2.74) and 1.33 (1.04 - 1.71)

基金项目 国家自然科学基金资助项目:30672245

作者单位 南京医科大学附属南京妇幼保健院儿科 南京,210004

通讯作者 韩树萍, E-mail: shupinghan@njmu.edu.cn

($P < 0.05$); there was no difference between the CHD of offspring with paternal CT/CC of MTHFR gene C677T and controls, the pooled OR was 1.25(0.96 - 1.62)($P > 0.05$). There was no association between the CHD of offspring and maternal MTHFR gene C677T, the pooled OR of maternal TT/CC, CT/CC and (TT + CT)/CC was 1.20(0.92 - 1.56), 1.03(0.86 - 1.24) and 1.07(0.90 - 1.27)($P > 0.05$), respectively. The results of transmission disequilibrium test (TDT) analysis showed that no allele transmission disequilibrium of MTHFR gene 677T existed in CHD nuclear families, OR = 0.90, 95% CI: 0.79 - 1.12($P > 0.05$).

Conclusions The results suggested the offspring and paternal MTHFR gene 677TT, 677(TT + CT) were both risk factors for the CHD; there was no association between maternal MTHFR gene C677T and onset of CHD in offspring.

Key words 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase; Congenital heart disease; Genetic polymorphism; Meta-analysis

5, 10-亚甲基四氢叶酸还原酶(5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)是叶酸代谢过程中的关键酶,其基因定位于1p36.3。迄今共报道了16种突变类型,其中MTHFR基因677C→T位点突变最常见,后者使编码的丙氨酸被缬氨酸替代,导致酶活力降低约50%,使叶酸在甲硫氨酸代谢循环中的作用丧失或降低,甲硫氨酸合成减少^[1]。甲硫氨酸是S-腺苷甲硫氨酸(SAM)的直接前体, SAM是细胞内重要的甲基供体,参与组织发育生长所必需的DNA、蛋白质和脂质等甲基化反应^[2];另一方面,同型半胱氨酸(homocysteine, HCY)转化甲硫氨酸减少,细胞内HCY增多,对胚胎的发育产生毒性作用^[3]。Verkleij-Hagoort等^[4]认为母亲的高HCY血症是新生儿先天性心脏病(CHD)的高危因素之一,而MTHFR基因C677T位点突变是引起HCY血症的重要原因之一,国内外已有多项研究报告MTHFR基因C677T位点突变与CHD易感性的关系^[5-22],但单项研究间结果不尽一致,为基因水平预防CHD带来困惑。由于CHD是胚胎期遗传和环境因素的共同作用,导致心脏血管发育异常,研究引起CHD的易感基因,能为以相关基因为靶点治疗CHD开辟新的途径,同时使CHD的一级预防成为可能。鉴于HCY的代谢异常在CHD的发病机制中起重要作用,而MTHFR基因活性和叶酸水平又影响HCY的浓度。同时,叶酸对CHD的预防也起到一定的作用,本文通过Meta分析的方法,阐述MTHFR基因C677T位点突变与CHD的关系,结合叶酸水平和MTHFR基因在CHD的发病机制上的作用、两者的相互关系及叶酸的防治作用进行研究分析,对MTHFR基因C677T位点突变与CHD易感性的关系进行客观评价,为CHD的一级预防提供依据。

1 方法

1.1 文献纳入和排除标准 ①原始资料为已公开发表的文献。②内容涉及CHD基因MTHFR C677T基因型频率和(或)等位基因频率的以人群为基础的病例对照研究,或以核心家系为基础的病例-父母对照研究,核心家系是指一对夫妻及其子女,其中夫妻双方1人为CHD患者,另1人正常(无CHD,但可伴其他疾病)。③原始文献有严格的对

照,且有两组人群的基本构成。④统计学方法恰当,数据表达明确。⑤各文献研究方法相似。⑥各文献观察指标均有677位点TT、CT和CC的病例组和对照组基因型频数,能进行OR值的计算。⑦通常对病例组和对照组分别进行Hardy-Weinberg平衡检验来评价基因分型的质量,如果某一位点在对照组中不符合Hardy-Weinberg平衡,该位点的基因型鉴定的质量可能受到质疑;如果该位点在对照组平衡而在病例组出现不平衡,则该位点可能和疾病有关。本文对各研究中病例组和对照组的基因型分布进行Hardy-Weinberg平衡检验,以验证研究人群的代表性,对不符合Hardy-Weinberg平衡的文献予以剔除。

1.2 文献检索策略

1.2.1 中英文检索词 5, 10-亚甲基四氢叶酸还原酶(5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase), 先天性心脏病(congenital heart disease), 先天性畸形(congenital anomalies), 基因多态性(genetic polymorphism)。

1.2.2 中文检索式 (5, 10-亚甲基四氢叶酸还原酶 or MTHFR or 5, 10- MTHFR) and (先天性心脏病【扩展全部树】/全部副主题词 or CHD or 先天性畸形【扩展全部树】/全部副主题词 or 心脏【扩展全部树】/全部副主题词) and (基因【扩展全部树】/全部副主题词 or 多态性)。

1.2.3 英文检索式 ("methylenetetrahydrofolate reductase" or MTHFR or 5, 10- MTHFR) and (MH "heart defects, congenital + " or CHD or MH "anomalies, congenital + " or MH "heart + ") and (MH "polymorphism, genetic")。

检索PubMed、EMBASE、Ovid、Springer、中国期刊全文数据库、维普中文科技期刊数据库、万方数据库和中国生物医学文献数据库,检索语种不限,获得全部有关CHD与MTHFR基因C677T多态性的研究文献。为避免漏检上述电子数据库未收录和未发表的文献资料,对国内外一些大型学术会议的论文汇编进行了手工检索。文献检索时间均从1994年1月1日至2009年1月31日。

1.3 文献质量评价 由2人分别对各独立研究从以下几方面进行质量评估,以考察各项研究是否存在偏倚及其影响程度:研究设计是否科学、研究对象的纳入标准及其基本构成特征是否明确,处理因素及其方法是否正确,统计学方

法是否恰当及是否对本研究所存在的偏倚进行了讨论。

1.4 统计学方法 采用 RevMan 4.2 软件进行 Meta 分析, 对各文献结果进行异质性检验, 并根据检验结果选用相应的数据合并方法, 若各研究结果间无统计学异质性 ($P \geq 0.05$), 则采用 Peto Mantel-Haenszel 固定效应模型进行数据合并 (M-H 法), 若结果间有统计学异质性 ($P < 0.05$), 则采用校正后的 Dersimonian-Laird 随机效应模型进行数据合并 (D-L 法), 计算总 OR 值。计算各研究等位基因频率的 OR 值及其 95% CI, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。核心家系中 MTHFR 基因 C677T 与 CHD 关系的病例-父母对照研究, 采用传递不平衡分析 (transmission disequilibrium test, TDT) 进行研究。

2 结果

2.1 文献检索结果 共检索到 257 篇文献, 其中 251 篇来自电子检索, 6 篇来自手工检索。中文文献 12 篇, 英文文献 237 篇, 其他语种文献 8 篇。通过阅读摘要, 有 56 篇文献经过初筛纳入, 进一步阅读全文后, 剔除 38 篇文献, 共

18 篇文献^[5~22] 进入 Meta 分析, 其中 16 篇文献^[5~7,9~15,17~22] 为以人群为基础的病例对照研究, 3 篇是以核心家系为基础的病例-父母对照研究^[8,16,18]。van Beynum 等^[18] 既进行以核心家系为基础的病例-父母对照研究, 同时也进行以人群为基础的病例对照研究。以人群为基础的病例对照研究中, 子代 MTHFR 基因 C677T 多态性与 CHD 关系的研究^[5~7,10~13,17~19,21,22] 病例组累计 CHD 1 532 例, 对照组累计 2 113 例; 父亲 MTHFR 基因 C677T 多态性与子代 CHD 关系的研究^[11,14,17,20,22] 病例组累计子代 CHD 的父亲 612 例, 对照组累计 597 例; 母亲 MTHFR 基因 C677T 多态性与子代 CHD 关系的研究^[7,9,11,14,15,17,18,20~22] 病例组累计子代 CHD 的母亲 1 223 例, 对照组累计 15 690 例。715 个核心家系资料进行以父母为对照的 1:1 配对病例对照研究^[8,16,18]。入选病例分别来自 8 个国家 (德国、意大利、美国、挪威、荷兰、澳大利亚、巴西和中国), 其中中国病例分别来自于 5 个省、自治区或直辖市 (辽宁、吉林、台湾、广西和上海)。入选病例来自不同的遗传背景, 包括: 白人、黑人、高加索人, 拉丁美洲人, 非洲人和亚洲人等 (表 1)。

表 1 纳入文献研究背景和设计信息
Tab 1 Descriptive characteristics of the included studies

Study	Time	Country	Case	Control	Race	Types of CHD
Wenstrom ^[5]	2001	America	26	116	Black 27%, White 69%, Others 4%	All types
Junker ^[6]	2001	Germany	114	228	Caucasian	Except patent foramen ovale
Storti ^[7]	2003	Italy	103	200	Caucasian	Conotruncal heart defects
McBride ^[8]	2004	America	50	64	Caucasian 65%, Latin American 29%, African 5%, Asian 1%	Left-to-right shunt
Nurk ^[9]	2004	Norway	25	14 484	No description	No description
Liu ^[10]	2005	Shanghai, China	97	118	Han	Conotruncal heart defects
Li ^[11]	2005	Liaoning, China	192	103	Han	Atrial septal defect, ventricular septal defect, patent ductus arteriosus, tetralogy of Fallot, others
Lee ^[12]	2005	Taiwan, China	213	195	Han	All types
Shaw ^[13]	2005	America	153	434	White of Latin American 23%, White of Non-Latin American 67%, Others 10%	Conotruncal heart defects
Zhong ^[14]	2006	Guangxi, China	115	115	Han	No description
Hobbs ^[15]	2006	America	275	118	White	Ventricular septal defect, conotruncal heart defects, others
Hobbs ^[16]	2006	America	124	117	No description	Ventricular septal defect, conotruncal heart defects, others
Zhu ^[17]	2006	Liaoning, China	56	103	Han	Ventricular septal defect, patent ductus arteriosus
van Beynum ^[18]	2006	Netherlands	159	220	Caucasian	All types
Liu ^[19]	2007	Jilin, China	132	107	Han	No description
Wintner ^[20]	2007	Australia	31	31	Caucasian	Tetralogy of Fallot, transposition of the great arteries, atrial septal defect, coarctation of the aorta, hypoplastic left heart syndrome, others
Galdieri ^[21]	2007	Brazil	58	38	White 22%, others 78%	No description
van Driel ^[22]	2008	Netherlands	229	251	No description	Tetralogy of Fallot, transposition of the great arteries, atrial septal defect, ventricular septal defect, coarctation of the aorta, hypoplastic left heart syndrome, patent ductus arteriosus

2.2 文献质量 所有文献均为配对病例对照研究。对纳入文献按照研究关系的差别进行分类,分别对子代 MTHFR 基因 C677T 多态性与 CHD 关系^[5~7,10~13,17~19,21,22]、父亲 MTHFR 基因 C677T 多态性与子代 CHD 关系^[11,14,17,20,22]、

母亲 MTHFR 基因 C677T 多态性与子代 CHD 关系^[7,9,11,14,15,17,18,20~22]的文献进行 Egger's 回归分析,并绘制漏斗图,根据图 1A~C 的漏斗图可见各研究间无明显的发表偏倚。

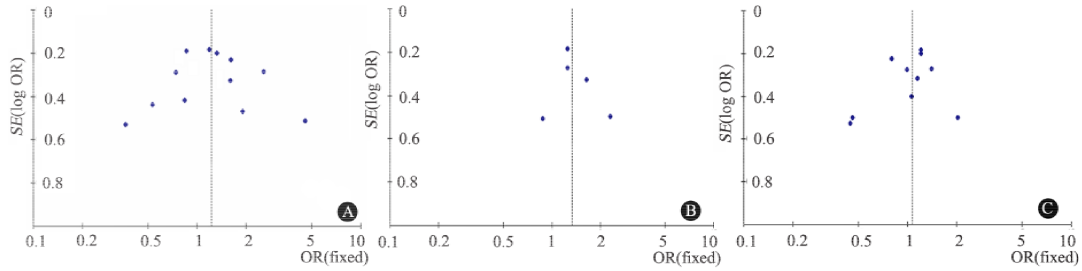


图1 MTHFR 基因 C677T 多态性与 CHD 关系的文献漏斗图

Fig 1 Funnel plot of the studies evaluating the relationship between MTHFR C677T polymorphisms and the CHD of offspring

Notes: A: their own; B: paternal; C: maternal

2.3 入选文献的异质性 各研究的 OR 值及其 95% CI 见表 2~5。异质性检验显示,子代 MTHFR 基因 677 位点 TT/CC、CT/CC 和(TT + CT)/CC 多态性与 CHD 关系研究的 χ^2 分别为 20.76、20.91 和 25.60, $df=11, P < 0.05$, 结果间存在统计学异质性,采用校正后的 D-L 随机效应模型法进行数据合并(表 5);父亲 MTHFR 基因 677 位点 TT/CC、CT/CC 和(TT + CT)/CC 多态性与子代 CHD 关系研究的 χ^2 分

别为 2.22、2.33 和 2.47, $df=4, P \geq 0.05$, 结果无统计学异质性,采用 Peto M-H 固定效应模型进行数据合并(表 5);母亲 MTHFR 基因 677 位点 TT/CC、CT/CC 和(TT + CT)/CC 多态性与子代 CHD 关系研究的 χ^2 分别为 13.07、10.83 和 10.81, $df=9, P \geq 0.05$, 结果无统计学异质性,采用 Peto M-H 固定效应模型进行数据合并(表 5)。

表2 子代 MTHFR 基因 C677T 多态性与 CHD 关系

Tab 2 The relationship between their own MTHFR C677T polymorphisms and the CHD of offspring

Study	Case group/n				Control group/n				OR(95% CI)		
	TT	CT	CC	Total	TT	CT	CC	Total	TT/CC	CT/CC	(TT + CT)/CC
Wenstrom 2001 ^[5]	1	8	17	26	3	9	104	116	2.04(1.27 - 5.02)	5.44(1.84 - 16.04)	4.59(1.68 - 12.53)
Junker 2001 ^[6]	21	42	51	114	21	78	129	228	2.53(0.20 - 20.76)	1.36(0.83 - 2.24)	1.61(1.02 - 2.53)
Storti 2003 ^[7]	20	55	28	103	40	108	52	200	0.93(0.46 - 1.88)	0.95(0.54 - 1.66)	0.94(0.55 - 1.61)
Liu 2005 ^[10]	24	54	19	97	16	69	33	118	2.61(1.12 - 6.08)	1.36(0.70 - 2.65)	1.59(0.84 - 3.03)
Li 2005 ^[11]	58	95	30	192	24	57	22	103	1.77(0.86 - 3.67)	1.22(0.64 - 2.32)	1.39(0.75 - 2.56)
Lee 2005 ^[12]	14	89	110	213	13	68	114	195	1.12(0.50 - 2.48)	1.36(0.90 - 2.04)	1.32(0.89 - 1.95)
Shaw 2005 ^[13]	16	68	69	153	52	202	180	434	0.80(0.43 - 1.50)	0.88(0.59 - 1.30)	0.86(0.60 - 1.25)
Zhu 2006 ^[17]	27	22	7	56	24	57	22	103	3.54(1.28 - 9.73)	1.21(0.45 - 3.24)	1.90(0.76 - 4.78)
van Beynum 2006 ^[18]	20	60	79	159	18	104	98	220	1.38(0.68 - 2.78)	0.72(0.46 - 1.11)	0.81(0.54 - 1.22)
Liu 2007 ^[19]	34	68	30	132	13	48	46	107	4.01(1.82 - 8.81)	2.17(1.20 - 3.92)	2.56(1.47 - 4.48)
Galdieri 2007 ^[21]	7	21	30	58	6	14	18	38	0.70(0.20 - 2.41)	0.90(0.37 - 2.20)	0.84(0.37 - 1.91)
van Driel 2008 ^[22]	27	103	99	229	25	107	119	251	1.30(0.71 - 2.38)	1.16(0.79 - 1.69)	1.18(0.79 - 1.69)

表3 父亲 MTHFR 基因 C677T 多态性与子代 CHD 关系

Tab 3 The relationship between paternal MTHFR C677T polymorphisms and the CHD of offspring

Study	Case group/n				Control group/n				OR(95% CI)		
	TT	CT	CC	Total	TT	CT	CC	Total	TT/CC	CT/CC	(TT + CT)/CC
Li 2005 ^[11]	52	102	25	179	22	57	21	100	1.99(0.92 - 4.27)	1.50(0.77 - 2.92)	1.64(0.86 - 3.11)
Zhong 2006 ^[14]	7	41	67	115	8	34	73	115	0.95(0.33 - 2.77)	1.31(0.75 - 2.31)	1.25(0.73 - 2.12)
Zhu 2006 ^[17]	18	34	6	58	22	57	21	100	2.86(0.95 - 8.61)	2.09(0.77 - 5.69)	2.30(0.87 - 6.09)
Wintner 2007 ^[20]	3	12	16	31	2	14	15	31	1.41(0.21 - 9.62)	0.80(0.28 - 2.28)	0.88(0.32 - 2.39)
van Driel 2008 ^[22]	30	94	105	229	19	103	129	251	1.94(1.03 - 3.64)	1.12(0.77 - 1.64)	1.25(0.87 - 1.79)

表4 母亲 MTHFR 基因 C677T 多态性与子代 CHD 关系

Tab 4 The relationship between maternal MTHFR C677T polymorphisms and the CHD of offspring

Study	Case group/n				Control group/n				OR(95% CI)		
	TT	CT	CC	Total	TT	CT	CC	Total	TT/CC	CT/CC	(TT + CT)/CC
Storti 2003 ^[7]	23	53	27	103	40	108	52	200	1.11(0.55 - 2.21)	0.95(0.53 - 1.67)	0.99(0.58 - 1.70)
Nurk 2004 ^[9]	1	12	12	25	1 282	6 037	7 165	14 484	0.47(0.06 - 3.58)	1.19(0.53 - 2.64)	1.06(0.48 - 2.33)
Li 2005 ^[11]	61	90	32	183	25	57	20	102	0.53(0.74 - 3.16)	0.99(0.52 - 1.89)	1.15(0.62 - 2.14)
Zhong 2006 ^[14]	15	33	67	115	5	34	76	115	3.40(1.17 - 9.86)	1.10(0.62 - 1.97)	1.40(0.82 - 2.38)
Hobbs 2006 ^[15]	30	118	127	275	14	56	48	118	0.81(0.40 - 1.66)	0.80(0.50 - 1.26)	0.80(0.52 - 1.24)
Zhu 2006 ^[17]	23	27	6	56	25	57	20	102	3.07(1.05 - 8.97)	1.58(0.57 - 4.38)	2.03(0.76 - 5.40)
van Beynum 2006 ^[18]	18	68	72	158	23	107	131	261	1.42(0.72 - 2.81)	1.16(0.76 - 1.76)	1.20(0.81 - 1.79)
Wintner 2007 ^[20]	3	12	16	31	4	17	10	31	0.47(0.09 - 2.55)	0.44(0.15 - 1.30)	0.45(0.16 - 1.25)
Galdieri 2007 ^[21]	5	15	27	47	1	15	10	26	1.85(0.19 - 17.86)	0.37(0.13 - 1.03)	0.46(0.17 - 1.23)
van Driel 2008 ^[22]	22	117	91	230	36	104	111	251	0.75(0.41 - 1.36)	1.37(0.94 - 2.01)	1.21(0.84 - 1.74)

表5 MTHFR 基因 C677T 多态性与 CHD 关系

Tab 5 The relationship between maternal MTHFR C677T polymorphisms and CHD

Gene polymorphism	χ^2	Model	Pooled OR	OR(95% CI)	Z	P
Offspring						
TT/CC	20.76	Random-effects	1.55	1.24 ~ 1.93	3.88	0.0001
CT/CC	20.91	Random-effects	1.15	0.99 ~ 1.34	1.82	0.07
(TT + CT)/CC	25.60	Random-effects	1.23	1.06 ~ 1.42	2.81	0.005
Parental						
TT/CC	2.22	Fixed-effects	1.84	1.23 ~ 2.74	2.99	0.003
CT/CC	2.33	Fixed-effects	1.25	0.96 ~ 1.62	1.64	0.10
(TT + CT)/CC	2.47	Fixed-effects	1.33	1.04 ~ 1.71	2.24	0.03
Maternal						
TT/CC	13.07	Fixed-effects	1.20	0.92 ~ 1.56	1.31	0.19
CT/CC	10.83	Fixed-effects	1.03	0.86 ~ 1.24	0.36	0.72
(TT + CT)/CC	10.81	Fixed-effects	1.07	0.90 ~ 1.27	0.77	0.44

2.4 Meta 分析结果

2.4.1 子代 MTHFR 基因 C677T 多态性与 CHD 的关系
 数据合并采用 D-L 随机效应模型(表 2,5),子代 CHD 与 MTHFR 基因 677 位点 TT/CC、CT/CC 和 (TT + CT)/CC 多态性关系研究的合并 OR 值分别为 1.55、1.15 和 1.23,OR

显著性检验的 Z 值分别为 3.88、1.82 和 2.81, 子代 MTHFR 基因 677 位点 TT/CC 和 (TT + CT)/CC 与 CHD 易感性有统计学意义 ($P < 0.05$);子代 MTHFR 基因 677 位点 CT/CC 与 CHD 易感性无统计学意义 ($P > 0.05$) (图 2 ~ 4)。

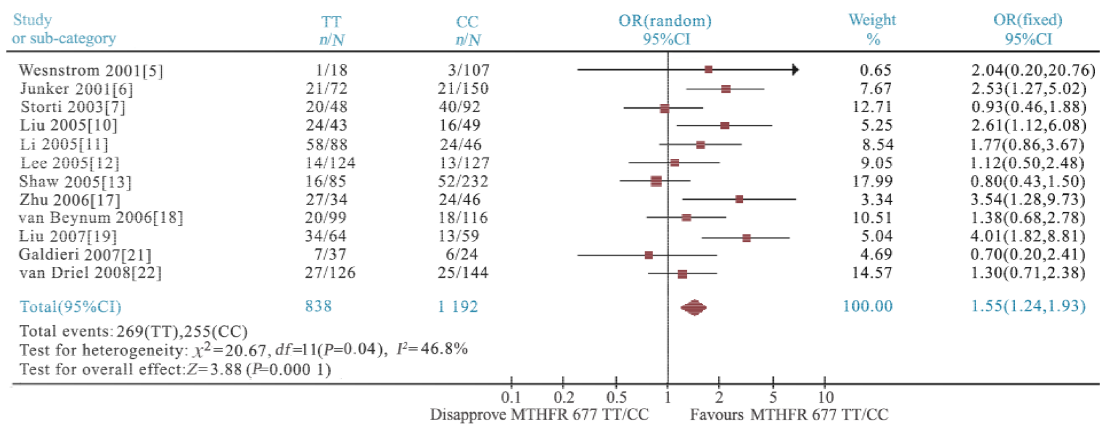


图2 子代 MTHFR 基因 677 位点 TT/CC 多态性与 CHD 关系

Fig 2 The relationship between TT/CC polymorphisms of their own MTHFR gene C677T and the CHD of offspring

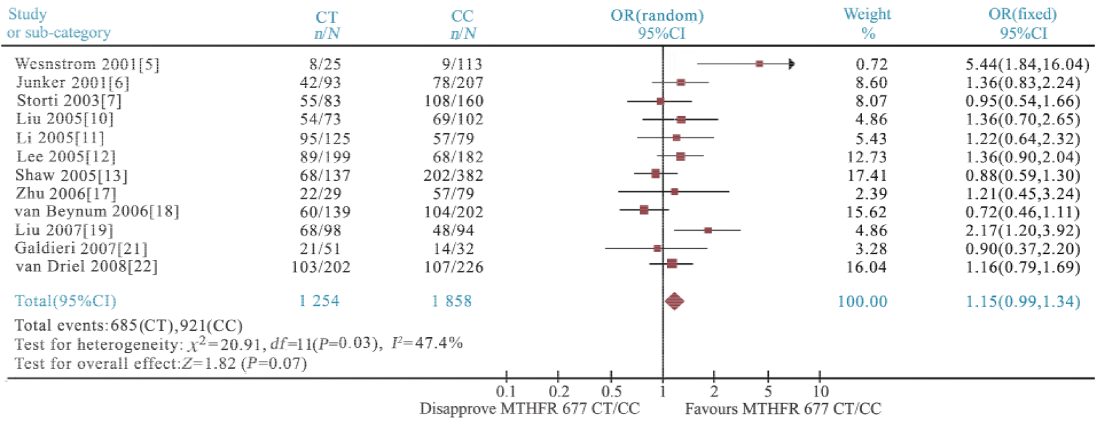


图3 子代 MTHFR 基因 677 位点 CT/CC 多态性与 CHD 关系

Fig 3 The relationship between CT/CC polymorphisms of their own MTHFR gene C677T and the CHD of offspring

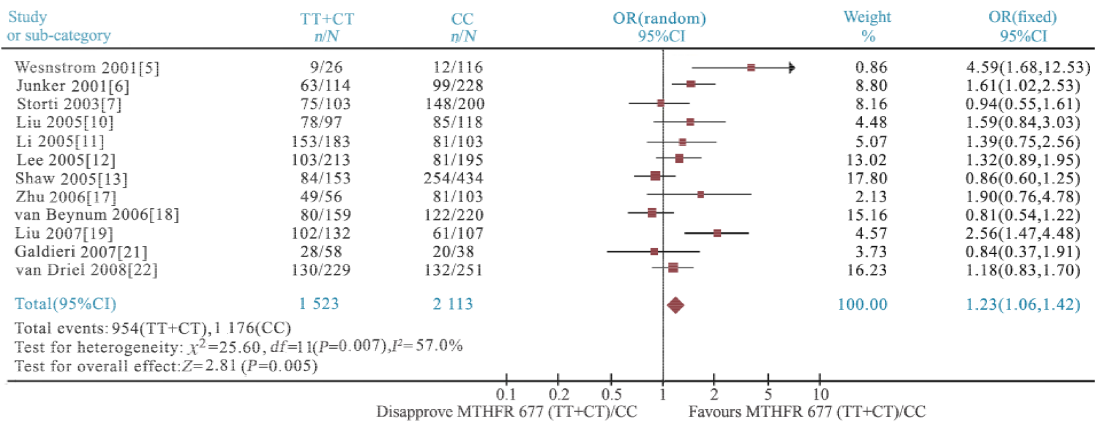


图4 子代 MTHFR 基因 677 位点 (TT + CT)/CC 多态性与 CHD 关系

Fig 4 The relationship between (TT + CT)/CC polymorphisms of their own MTHFR gene C677T and the CHD of offspring

2.4.2 父亲 MTHFR 基因 C677T 多态性与子代 CHD 的关系 数据合并采用 Peto M-H 固定效应模型(表 3 和 5),父亲 MTHFR 基因 677 位点 TT/CC、CT/CC 和 (TT + CT)/CC 多态性与子代 CHD 关系研究的合并 OR 值分别为 1.84、1.25 和 1.33,OR 显著性检验的 Z 值分别为 2.99、1.64 和

2.24, 父亲 MTHFR 基因 677 位点 TT/CC 和 (TT + CT)/CC 与子代 CHD 易感性有统计学意义 ($P < 0.05$); 父亲 MTHFR 基因 677 位点 CT/CC 与子代 CHD 易感性无统计学意义 ($P > 0.05$) (图 5 ~ 7)。

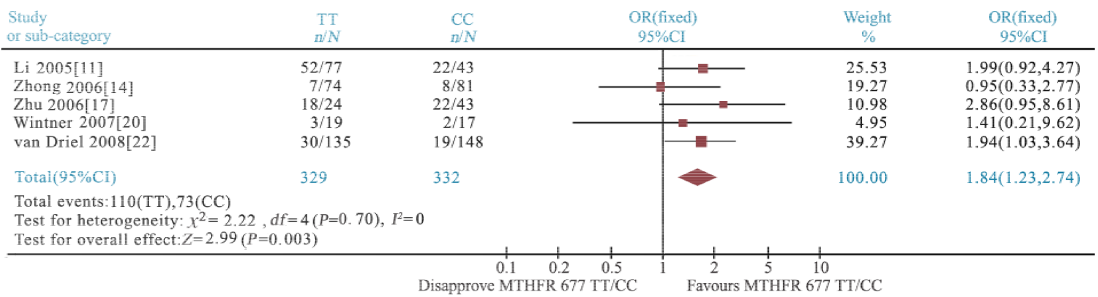


图5 父亲 MTHFR 基因 677 位点 TT/CC 多态性与子代 CHD 关系

Fig 5 The relationship between TT/CC polymorphisms of paternal MTHFR gene C677T and the CHD of offspring

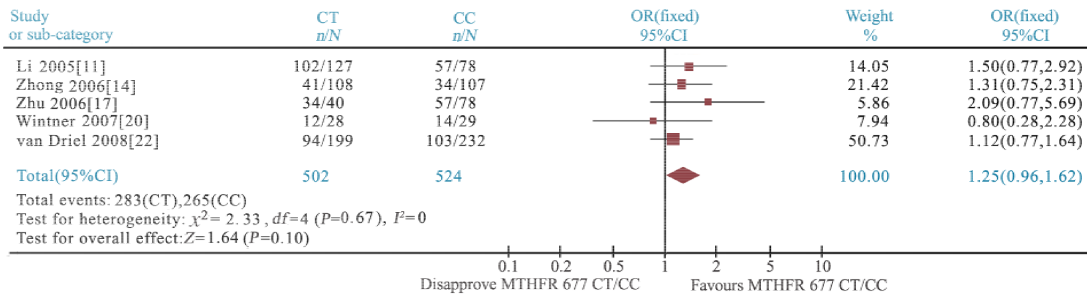


图6 父亲 MTHFR 基因 677 位点 CT/CC 多态性与子代 CHD 关系

Fig 6 The relationship between CT/CC polymorphisms of paternal MTHFR gene C677T and the CHD of offspring

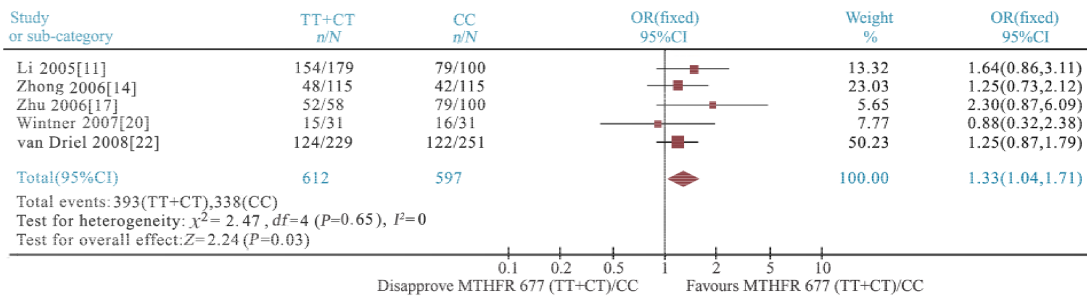


图7 父亲 MTHFR 基因 677 位点 (TT + CT)/CC 多态性与子代 CHD 关系

Fig 7 The relationship between (TT + CT)/CC polymorphisms of paternal MTHFR gene C677T and the CHD of offspring

2.4.3 母亲 MTHFR 基因 C677T 多态性与子代 CHD 的关系 数据合并采用 Peto M-H 固定效应模型(表 4 和 5),母亲 MTHFR 基因 677 位点 TT/CC、CT/CC 和 (TT + CT)/CC 多态性与子代 CHD 关系研究的合并 OR 值分别为 1.20、1.03 和 1.07,OR 显著性检验的 Z 值分别为 1.31、0.36 和 0.77,母亲 MTHFR 基因 677 位点 TT/CC、CT/CC 和 (TT + CT)/CC 与子代 CHD 易感性均无统计学意义($P > 0.05$) (图 8 ~ 10)。

2.4.4 核心家系的 MTHFR 基因 C677T 多态性与子代 CHD 关系的 TDT 数据合并采用 Peto M-H 固定效应模型(表 6),结果表明,父母传递 MTHFR 基因 C677T 等位基因

与子代 CHD 关系研究的合并 OR 值为 0.90,95% CI: 0.79 ~ 1.12,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表6 核心家系 MTHFR C677T 等位基因与 CHD 的关系

Tab 6 The association between allele of MTHFR C677T and the CHD of offspring in CHD core families

Order	Allele	No allele	OR	95% CI
McBride 2004 ^[8]	50	64	0.80	0.54 ~ 1.13
Hobbs 2006 ^[16]	124	117	1.10	0.82 ~ 1.36
van Beynum 2006 ^[18]	59	67	0.90	0.62 ~ 1.25
Total			0.90	0.79 ~ 1.12

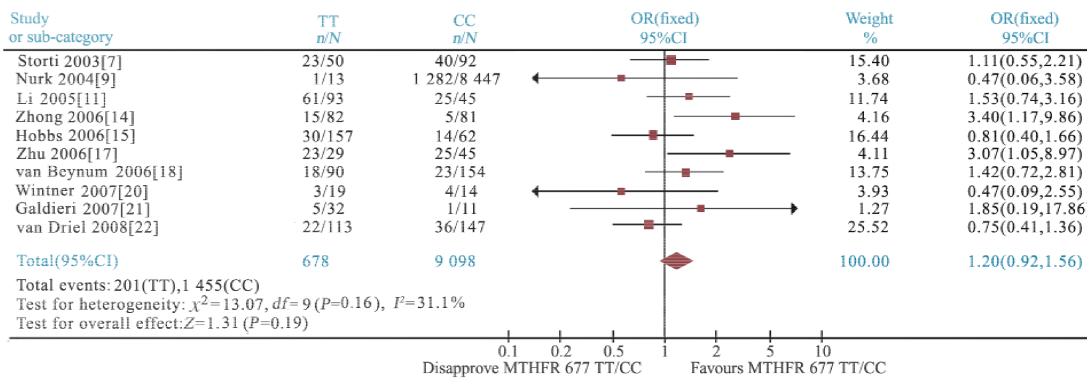


图8 母亲 MTHFR 基因 677 位点 TT/CC 多态性与子代 CHD 关系

Fig 8 The relationship between TT/CC polymorphisms of maternal MTHFR gene C677T and the CHD of offspring

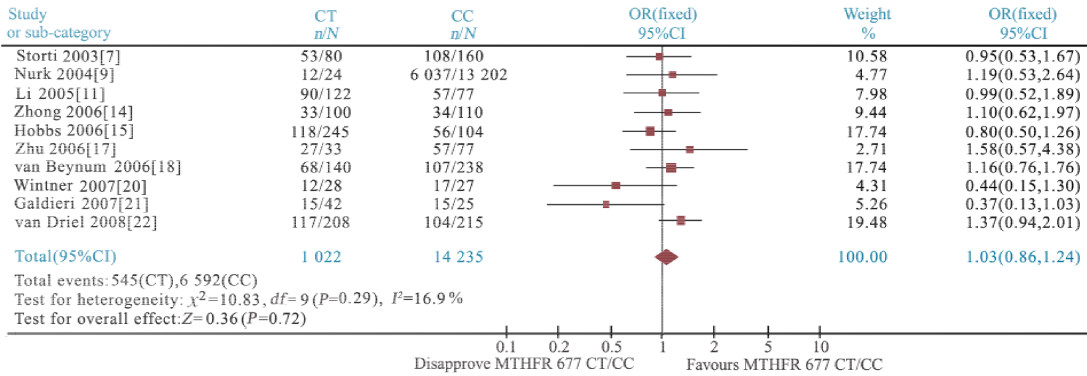


图9 母亲 MTHFR 基因 677 位点 CT/CC 多态性与子代 CHD 关系

Fig 9 The relationship between CT/CC polymorphisms of maternal MTHFR gene C677T and the CHD of offspring

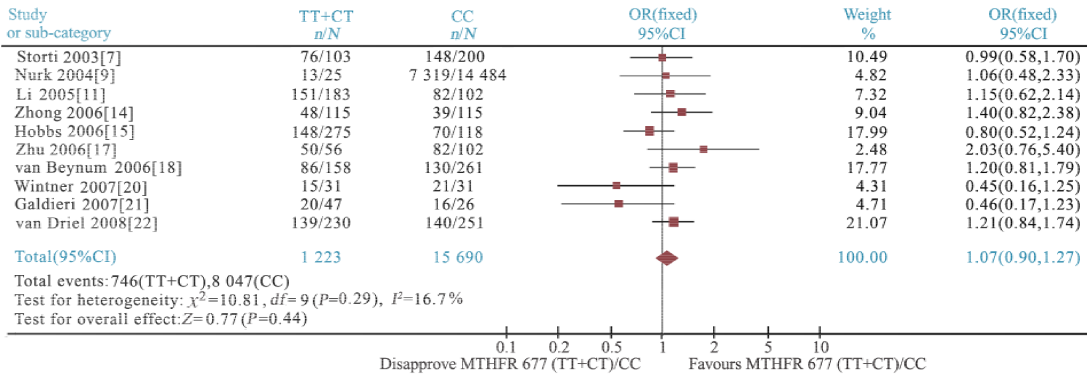


图10 母亲 MTHFR 基因 677 位点 (TT + CT)/CC 多态性与子代 CHD 关系

Fig 10 The relationship between (TT + CT)/CC polymorphisms of maternal MTHFR gene C677T and the CHD of offspring

3 讨论

本文通过增加样本量以改进和提高检验效能,既包括 MTHFR 基因 C677T 位点多态性与 CHD 关系的阴性研究,也包括阳性的研究报道,通过漏斗图检验表明对称性较好,不存在发表偏倚,研究结果的可信度较高。在以人群为基础的病例对照研究,对 MTHFR 基因 C677T 位点与 CHD 的易感性进行了分析,表明子代 MTHFR 基因 C677T 位点 TT 和 TT + CT 是 CHD 易感性的一个危险因素,OR 值分别为 1.55 和 1.23;父亲 MTHFR 基因 C677T 位点 TT 和 TT + CT 是子代 CHD 易感性的一个危险因素,OR 值分别为 1.84 和 1.33;母亲 MTHFR 基因 C677T 位点基因多态性与子代 CHD 的易感性无统计学意义。

本文对 CHD 的核心家系进行以父母为对照的 1:1 配对病例对照研究,实质是以患儿的 2 个等位基因作为“病例”,以父母未遗传给胎儿的 2 个等位基因作为“对照”,这种方法最大的优点是不必为病例寻找具有相同遗传背景的对照,从而可以克服遗传因素及种族差异的混杂因素,而这种差异是遗传流行病学研究中非常重要的混杂因素之一。该方法已越来越多地用于疾病候选基因的研究,并具有非

统计学方面的优势,例如,可以更好地相互协作和降低总的费用。

通过核心家系的研究表明,MTHFR 基因 C677T 位点多态性与子代 CHD 易感性无统计学意义,OR 值为 0.9。相对于以人群为基础的病例对照研究而言,与以核心家系为基础的病例-父母对照研究遗传背景相似,但是病例数有限,可能会影响结果的准确性。

本研究分析 MTHFR 基因 C677T 位点与所有类型 CHD 的易感性关系,未针对具体类型的 CHD。值得注意的是,闫丽盈等^[23]按 CHD 类型分组后,与对照组相比,动脉导管未闭、房间隔缺损患者 MTHFR C677T 基因型频率显著高于对照组,OR 值分别为 2.47 和 3.95;刘芳等^[10]对心脏圆锥动脉干缺损与 MTHFR 基因 C677T 多态性进行了研究,TT 基因型频率显著高于对照组,OR 值为 2.1;Juncker 等^[6]对 MTHFR 基因 C677T 多态性与 CHD 的关系进行研究,认为 MTHFR 基因 C677T 基因型与 CHD 结构畸形的发生显著相关,特别是肺动脉狭窄(3 例)、左心发育不良综合征(6 例)和主动脉缩窄(16 例),TT 基因型分别有 2、3 和 6 例,但样本量相对较少,不足以说明问题。所以,在 MTHFR 基

因 C677T 多态性与 CHD 易感性的研究中,应该采用大样本针对特定类型的 CHD 与 MTHFR 基因多态性进行分析,这样能更有效地阐明两者的关系。

在研究 CHD 与 MTHFR 基因多态性的关系中,母亲体内的叶酸水平是一个重要的影响因素。近年来,有多项研究表明孕妇早期补充叶酸可降低娩出 CHD 患儿的风险,特别是室间隔缺损和流出道畸形(主要是法洛四联症和大动脉转位)^[24]。另有研究表明在孕期服用叶酸拮抗剂,可使子代患 CHD 的风险增高 2 倍^[25]。韩树萍等^[26]进行叶酸缺乏孕鼠的子代心脏发育过程的实验研究发现,孕期叶酸缺乏的子代新生鼠有明显心脏畸形,占 69.44%。van Beynum 等^[18]的研究表明,孕期未补充叶酸的母亲 MTHFR 基因 677 位点 CT 和 TT 与子代心脏结构畸形的关系有统计学意义,OR 值分别增加 3 倍 (OR = 3.3, 95% CI: 1.46 ~ 7.32) 和 6 倍 (OR = 6.3, 95% CI: 2.32 ~ 17.27), 而孕期补充叶酸的母亲 MTHFR 基因 677 位点 CT 和 TT 与子代心脏结构畸形的关系无统计学意义,OR 值分别为 0.4 和 0.5。所以,在 MTHFR 基因 677 位点多态性与 CHD 易感性的研究中,母亲孕期叶酸补充情况、母亲体内叶酸水平及叶酸在影响 MTHFR 基因 C677T 多态性与子代 CHD 易感性关系中的作用需要在研究前进行考虑,这样结果才更具说服力。

本研究结果显示,母亲 MTHFR 基因 677 位点多态性与子代 CHD 易感性无统计学意义,可能与 1998 年后一些国家(如德国、意大利、美国和中国)制定政策进行孕期强制增补叶酸,改变了 MTHFR 基因 C677T 多态性有关^[27]。

近年来,叶酸缺乏对男性和子代的影响逐渐引起重视。人们对提供子代一半遗传物质的父系,关注很少,是否父系叶酸缺乏也会对子代造成影响,临床研究较少。Elbisch 等^[28]研究表明叶酸和锌的增补可以增加男性精子的浓度和活力,从而可以减少男性不育的发生率,对部分男性不育有一定的辅助治疗作用。本研究结果显示,父亲 MTHFR 基因 677 位点 TT 和 TT + CT 是子代 CHD 易感性的一个危险因素,这可能和人们忽视父亲孕前营养,体内叶酸缺乏有关,是否可以在母亲怀孕前给父亲补充叶酸,通过提高父亲体内的叶酸水平,进而改变 MTHFR 基因 677 位点的多态性而降低子代 CHD 的发病率,目前尚无这方面文献报道,这只是一个假设,可通过大样本的病例对照研究进行分析。如结果得以证实,这将为子代 CHD 的预防提供一个干预靶点,为从父系角度来预防子代 CHD、以及其他 CHD 提供一个新的研究方向。

本研究涉及不同的国家和民族,分别来自北美、南美、欧洲和亚洲,有着不同的遗传背景,如果按照不同的国家和民族进行分层研究 MTHFR 基因 677 位点多态性与 CHD 的关系,将更有意义,但这增加了样本量,需要跨国的多中心协作,难度较大。但本研究对父亲和母亲 MTHFR 基因 677 位点 TT/CC、CT/CC 和 (TT + CT)/CC 多态性与子代 CHD

易感性的关系进行分析,结果无统计学异质性,表明不同种族遗传差异对本文的结果影响不大。

事实上 CHD 的病因十分复杂,其发病过程中有多种基因的参与,与其相关的致病基因同时变异就可能增加 CHD 的发病率。刘永生等^[19]研究表明,MTHFR 和蛋氨酸合成酶还原酶基因变异与 CHD 的发病有协同作用;有研究表明父母胱硫醚 β 合酶基因和子代还原叶酸载体基因变异与 CHD 的发病有关^[29,30],但这些临床病例对照研究样本量较小,需要进一步进行多中心的协作,对这些叶酸代谢相关基因进行大样本的分析。

本研究的局限性:①由于纳入的文献较少,不能对不同国家、不同人种间 MTHFR 基因 677 位点多态性与 CHD 的关系进行分析,忽略了遗传背景对基因多态性的影响,尚需积累更多的文献;②父母的叶酸补充情况、体内叶酸水平在影响 MTHFR 基因 C677T 多态性与子代 CHD 易感性中的作用,是一个值得重视的问题,由于文献的样本量较小,没有对环境因素和基因多态性的影响进行具体分层评价;③ CHD 包括室间隔缺损、房间隔缺损、法洛四联症和大动脉转位等,针对具体类型的 CHD 和 MTHFR 基因 C677T 多态性的关系,由于不同文献间描述不明确,未进行 CHD 类型的分层描述。针对这方面的缺陷,仍需进行更多高质量的 RCT 研究行进一步系统评价。

综上所述,Meta 分析结果表明子代 MTHFR 基因 677 位点 TT 和 TT + CT 是 CHD 易感性的一个危险因素,母亲 MTHFR 基因 C677T 多态性与子代 CHD 易感性无统计学意义;但病例对照研究设计中未考虑 MTHFR 基因 C677T 多态性与具体类型 CHD 的关系、叶酸在影响 MTHFR 基因 C677T 多态性与子代 CHD 易感性中的作用、不同国家和民族的 MTHFR 基因 C677T 多态性与 CHD 易感性的关系、其他叶酸代谢相关基因与 MTHFR 基因在 CHD 发病中的协同作用等,需要将来开展多国协作、多中心及大样本的分层临床病例对照研究,对这些因素综合进行考虑,从基因和环境相互作用的角度研究 CHD 发病的相关因素,那将会使 CHD 在基因水平的预防成为可能。

致谢 南京医科大学附属南京妇幼保健院许争峰教授是遗传学方面的专家,文献检索和评价中涉及的遗传学方面的内容,许教授给予作者悉心的指导;许教授的研究生李静医生参与了文献的阅读和评价;对纳入的非中、英文全文文献委托南京医科大学外语系老师进行翻译。在此一并致谢!

参考文献

- [1] 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(1): 111-113

- [2] Chen Z, Schwahn BC, Wu Q, et al. Postnatal cerebellar defects in mice deficient in methylenetetrahydrofolate reductase. *Int J Dev Neurosci*, 2005,23(5):465-474
- [3] Taparia S, Gelineau-van Waes J, Rosenquist TH, et al. Importance of folate-homocysteine homeostasis during early embryonic development. *Clin Chem Lab Med*, 2007,45(12):1717-1727
- [4] Verkleij-Hagoort AC, Verlinde M, Ursem NT, et al. Maternal hyperhomocysteinemia is a risk factor for congenital heart disease. *BJOG*, 2006,113(12):1412-1418
- [5] Wenstrom KD, Johanning GL, Johnston KE, et al. Association of the C677T methylenetetrahydrofolate reductase mutation and elevated homocysteine levels with congenital cardiac malformations. *Am J Obstet Gynecol*, 2001,184(5):806-812; discussion 812-817
- [6] Junker R, Kotthoff S, Vielhaber H, et al. Infant methylenetetrahydrofolate reductase 677TT genotype is a risk factor for congenital heart disease. *Cardiovasc Res*, 2001,51(2):251-254
- [7] Storti S, Vittorini S, Lascone MR, et al. Association between 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and conotruncal heart defects. *Clin Chem Lab Med*, 2003,41(3):276-280
- [8] McBride KL, Fernbach S, Menesses A, et al. A family-based association study of congenital left-sided heart malformations and 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2004,70(10):825-830
- [9] Nurk E, Tell GS, Refsum H, et al. Associations between maternal methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and adverse outcomes of pregnancy: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Med*, 2004,117(1):26-31
- [10] Liu F(刘芳), Bai P, Chen SB, et al. Association between 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T Polymorphisms and conotruncal heart defects in Chinese children. *Chin J Contemp Pediatr(中国当代儿科杂志)*, 2005,7(2):99-102
- [11] Li Y(李勇), Cheng J, Zhu WL, et al. Study of serum Hcy and polymorphisms of Hcy metabolic enzymes in 192 families affected by congenital heart disease. *J Pek Uni, Health Sci(北京大学学报, 医学版)*, 2005,37(1):75-80
- [12] Lee CN, Su YN, Cheng WF, et al. Association of the C677T methylenetetrahydrofolate reductase mutation with congenital heart diseases. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2005, 84(12):1134-1140
- [13] Shaw GM, Iovannisci DM, Yang W, et al. Risks of human conotruncal heart defects associated with 32 single nucleotide polymorphisms of selected cardiovascular disease-related genes. *Am J Med Genet A*, 2005,138(1):21-26
- [14] Zhong QA(钟秋安), Qiu XQ, Zeng XY, et al. Association of congenital heart diseases with MTHFR gene and CBS gene. *Guangxi Med J(广西医学)*, 2006,28(1):1140-1142
- [15] Hobbs CA, James SJ, Jernigan S, et al. Congenital heart defects, maternal homocysteine, smoking, and the 677 C > T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: evaluating gene-environment interactions. *Am J Obstet Gynecol*, 2006,194(1):218-224
- [16] Hobbs CA, James SJ, Parsian A, et al. Congenital heart defects and genetic variants in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *J Med Genet*, 2006,43(2):162-166
- [17] Zhu WL, Li Y, Yan L, et al. Maternal and offspring MTHFR gene C677T polymorphism as predictors of congenital atrial septal defect and patent ductus arteriosus. *Mol Hum Reprod*, 2006,12(1):51-54
- [18] van Beynum IM, Kapusta L, den Heijer M, et al. Maternal MTHFR 677C > T is a risk factor for congenital heart defects: effect modification by periconceptional folate supplementation. *Eur Heart J*, 2006,27(8):981-987
- [19] Liu YS(刘永生), Yin XG, Wang JF, et al. Relationship between genetic polymorphism of homocysteine metabolism enzyme and congenital heart disease. *Chin J Cardiovas Rev(中国心血管病研究杂志)*, 2007,5(3):210-213
- [20] Wintner S, Hafner E, Stonek F, et al. Association of congenital cardiac defects and the C677T methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism. *Prenat Diagn*, 2007,27(8):704-708
- [21] Galdieri LC, Arrieta SR, Silva CM, et al. Homocysteine concentrations and molecular analysis in patients with congenital heart defects. *Arch Med Res*, 2007,38(2):212-218
- [22] van Driel LM, Verkleij-Hagoort AC, de Jonge R, et al. Two MTHFR polymorphisms, maternal B-vitamin intake, and CHDs. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2008,82(6):474-481
- [23] Yan LY(闫丽盈), Li Y. Association between 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphisms and congenital heart disease. *J Pek Uni, Health Sci(北京大学学报, 医学版)*, 2003,35(4):448-449
- [24] Botto LD, Mulinare J, Erickson JD. Occurrence of congenital heart defects in relation to maternal multivitamin use. *Am J Epidemiol*, 2000,151(9):878-884
- [25] Hernández-Díaz S, Werler MM, Walker AM, et al. Folic acid antagonists during pregnancy and the risk of birth defects. *N Engl J Med*, 2000,343(22):1608-1614
- [26] Han SP(韩树萍), Peng YZ, Li J, et al. Influence of folic acid deficiency during pregnancy on offspring cardiac ultrastructure and expressions of heart development-related genes in mice. *J Appl Clin Pediatr(实用儿科临床杂志)*, 2007,22(10):774-776
- [27] Williams JL, Abelman SM, Fassett EM, et al. Health care provider knowledge and practices regarding folic acid, United States, 2002-2003. *Matern Child Health J*, 2006,10(S5):67-72
- [28] Ebisch IM, Pierik FH, DE Jong FH, et al. Does folic acid and zinc sulphate intervention affect endocrine parameters and sperm characteristics in men? *Int J Androl*, 2006,29(2):339-345
- [29] Song XM, Zheng XY, Zhu WL, et al. Relationship between polymorphism of cystathionine beta synthase gene and congenital heart disease in Chinese nuclear families. *Biomed Environ Sci*, 2006,19(6):452-456
- [30] Pei L, Zhu H, Zhu J, et al. Genetic variation of infant reduced folate carrier (A80G) and risk of orofacial defects and congenital heart defects in China. *Ann Epidemiol*, 2006,16(5):352-356

(收稿日期: 2009-02-08 修回日期: 2009-02-25)

(本文编辑: 张崇凡)