



DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2022.200992

<http://xbyxb.csu.edu.cn/xbwk/fileup/PDF/20220152.pdf>

母亲围孕期服用叶酸及 *FOLR1* 和 *FOLR2* 基因多态性与子代先天性心脏病关联的病例对照研究

宋欣俐¹, 黄鹏², 王婷婷¹, 张森茂¹, 陈乐陶¹, 秦家碧¹

(1. 中南大学湘雅公共卫生学院流行病学与卫生统计学系, 长沙 410078; 2. 湖南省儿童医院心胸外科, 长沙 410007)

[摘要] 目的: 母亲围孕期服用叶酸是迄今为止减少子代先天性心脏病(congenital heart disease, CHD)最有效的一级预防措施, 既往研究提示其相关机制涉及基因和环境因素, 但仍未阐明。本研究旨在探讨母亲围孕期服用叶酸、叶酸受体1基因(*FOLR1*)和叶酸受体2基因(*FOLR2*)多态性及两者的交互作用与子代CHD的关系, 以期围孕期叶酸服用剂量的个体化指导提供流行病学证据。方法: 采用医院为基础的病例对照研究, 招募2017年12月至2020年3月在湖南省儿童医院确诊的569例单纯性CHD患儿的母亲为病例组, 以同期、该院确诊的无先天性疾病的652例正常儿的母亲为对照组。通过以问卷为基础的面对面访谈, 收集母亲人口学信息和围孕期相关暴露信息, 同时采集母亲静脉血5 mL用于*FOLR1*和*FOLR2*基因多态性检测。采用多因素logistic回归分析探讨母亲围孕期服用叶酸、*FOLR1*和*FOLR2*基因多态性及两者交互作用与子代CHD的关联性。结果: 多因素logistic回归分析显示: 调整混杂因素后, 围孕期服用叶酸能够显著降低子代CHD的风险[调整的相对危险比(adjusted odds ratio, aOR)=0.58, 95% CI: 0.35~0.95]。母亲*FOLR1*基因位点rs2071010(G/A vs G/G: aOR=0.67, 95% CI: 0.47~0.96)与子代CHD风险显著相关[P<0.05, 错误发现率P值(false discovery rate P value, FDR_P)<0.1]; *FOLR2*基因位点rs514933(T/C vs T/T: aOR=0.60, 95% CI: 0.43~0.84; C/C vs T/T: aOR=0.55, 95% CI: 0.33~0.90)在显性模型[(T/C+C/C) vs T/T: aOR=0.59, 95% CI: 0.43~0.81]和加性模型(C/C vs T/C vs T/T: aOR=0.70, 95% CI: 0.56~0.88)下均与子代CHD风险显著相关(均P<0.05, FDR_P<0.1)。rs2071010 G→A(aOR=0.59, 95% CI: 0.41~0.86)和rs514933 T→C(aOR=0.52, 95% CI: 0.37~0.74)与母亲围孕期服用叶酸在子代CHD发生中存在交互作用(P<0.05, FDR_P<0.1)。结论: 母亲携带*FOLR1*基因rs2071010 G→A与*FOLR2*基因rs514933 T→C的突变型能够降低子代CHD的发生风险, 且围孕期服用叶酸可以强化SNP rs2071010和SNP rs514933对子代发生CHD的保护作用。

[关键词] 先天性心脏病; *FOLR1*基因; *FOLR2*基因; 交互作用; 病例对照研究

Association of periconceptional folate supplements and *FOLR1* and *FOLR2* gene polymorphisms with risk of congenital heart disease in offspring: A hospital-based case-control study

SONG Xinli¹, HUANG Peng², WANG Tingting¹, ZHANG Senmao¹, CHEN Letao¹, QIN Jiabi¹

收稿日期(Date of reception): 2020-12-22

第一作者(First author): 宋欣俐, Email: 1461661756@qq.com, ORCID: 0000-0002-4941-5552

通信作者(Corresponding author): 秦家碧, Email: qinjiabi123@163.com, ORCID: 0000-0002-9360-4991

基金项目(Foundation item): 国家自然科学基金(82073653, 81803313); 湖南省科技人才托举工程项目(2020TJ-N07); 国家卫生健康委员会出生缺陷研究与预防重点实验室(湖南省妇幼保健院)开放课题(KF2020006); 湖南省重点研发计划项目(2018SK2063); 中国博士后科学基金(2020M682644)。This work was supported by the National Natural Science Foundation (82073653, 81803313), Hunan Provincial Science and Technology Talent Support Project (2020TJ-N07), Open Project from NHC Key Laboratory of Birth Defect for Research and Prevention (KF2020006), Hunan Provincial Key Research and Development Program (2018SK2063), and Postdoctoral Science Foundation (2020M682644), China.

(1. Department of Epidemiology and Health Statistics, Xiangya School of Public Health, Central South University, Changsha 410078; 2. Department of Cardiothoracic Surgery, Hunan Children's Hospital, Changsha 410007, China)

ABSTRACT

Objective: Maternal periconceptional folic acid supplement is by far the most effective primary prevention strategy to reduce the incidence of congenital heart disease (CHD) in offspring. It was revealed that the underlying mechanisms are complex, including a combination of genetic and environmental factors. The purpose of this study is to investigate the association between periconceptional folic acid supplement, the genetic polymorphisms of maternal folic acid receptor 1 gene (*FOLR1*) and folic acid receptor 2 gene (*FOLR2*) and the impact of their interaction on the risk of CHD in offspring, and to provide epidemiological evidence for individualized folic acid dosing in hygienic counseling.

Methods: A case-control study on 569 mothers of CHD infants and 652 mothers of health controls was performed. The interesting points were periconceptional folate supplements, single nucleotide polymorphisms (SNPs) of maternal *FOLR1* gene and *FOLR2* gene.

Results: Mothers who took folate in the periconceptional period were observed a decreased risk of CHD [adjusted odds ratio (aOR)=0.58, 95% CI 0.35 to 0.95]. Our study also found that polymorphisms of maternal *FOLR1* gene at rs2071010 (G/A vs G/G: aOR=0.67, 95% CI 0.47 to 0.96) and *FOLR2* gene at rs514933 (T/C vs T/T: aOR=0.60, 95% CI 0.43 to 0.84; C/C vs T/T: aOR=0.55, 95% CI 0.33 to 0.90; the dominant model: T/C+ C/C vs T/T: aOR=0.59, 95% CI 0.43 to 0.81; and the additive model: C/C vs T/C vs T/T: aOR=0.70, 95% CI 0.56 to 0.88) were significantly associated with lower risk of CHD [all $P < 0.05$, false discovery rate P value (FDR_ P) < 0.1]. Besides, significant interaction between periconceptional folate supplements and rs2071010 G→A (aOR=0.59, 95% CI 0.41–0.86) and rs514933 T→C (aOR=0.52, 95% CI 0.37 to 0.74) on CHD risk were observed (all $P < 0.05$, FDR_ $P < 0.1$).

Conclusion: Periconceptional folate supplements, polymorphisms of *FOLR1* gene and *FOLR2* gene and their interactions are significantly associated with risk of CHD. However, more studies in different ethnic populations with a larger sample and prospective designs are required to confirm our findings.

KEY WORDS

congenital heart disease; *FOLR1* gene; *FOLR2* gene; interaction effects; case-control study

先天性心脏病(congenital heart disease, CHD)是新生儿最常见的先天性疾病,我国CHD的发病率为9%^[1],约占新生儿主要出生缺陷的三分之一^[2],是导致婴儿死亡率升高的第2大原因(仅次于传染病)^[3]。CHD的病因机制复杂,目前研究^[4]认为散发性CHD的发生与遗传和环境因素密切相关,且遗传和环境因素交互作用约占CHD所有病因的80%。在环境因素中,与CHD的发生关系最为密切的因素是围孕期叶酸(维生素B9)的服用^[5]。叶酸是重要的一碳供体,

用于核酸的嘌呤和胸苷的合成,并通过S-腺苷蛋氨酸(S-adenosyl-L-methionine, SAM)间接地用于DNA、蛋白质和脂类的甲基化^[6]。此外,同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是叶酸重要的代谢产物,叶酸缺乏会使体内Hcy的水平升高。孕妇体内叶酸过低与出生缺陷的发生密切相关,围孕期补充叶酸可显著降低子代CHD的发生风险^[5, 7-9],尤其是室间隔缺损、圆锥动脉干畸形^[10],但是叶酸代谢通路影响胚胎心脏发育的机制尚不清楚。有学者^[11]推测叶酸影响心脏发

育机制可能是由于叶酸和Hcy代谢失衡影响心脏神经嵴细胞的发育及其向心脏流出道迁移的过程,进而使流出道隔心肌化过程异常。

叶酸向细胞内转运是其生物利用的基础,是维持细胞内叶酸浓度的重要方式。转运过程异常会造成叶酸利用障碍。叶酸受体1(folate receptor 1, FOLR1)和叶酸受体2(folate receptor 2, FOLR2)在介导细胞摄入叶酸的过程中发挥了重要作用。FOLR1和FOLR2是富含半胱氨酸的细胞表面糖蛋白,以极高的亲和力结合叶酸并通过胞吞作用介导细胞对叶酸的摄取^[12],在细胞内部,核内体的酸性环境促进叶酸通过质子偶联的叶酸转运体从受体中释放到细胞质中^[13]。其中FOLR1在人体组织中表达最为广泛,且在胎盘组织、神经嵴中表达显著增加^[12],而FOLR2仅在胎盘组织和骨髓细胞中表达^[14]。既往研究^[15-16]表明母体和胚胎的FOLR基因表达均会影响胚胎的正常发育。动物实验观察到叶酸结合蛋白1(Folp1)基因(小鼠中FOLR1基因的同源基因)敲除的小鼠胚胎出现致死性畸变,表现为严重的心脏畸形且全部死于宫内^[17-18],但是通过增加怀孕母鼠的叶酸供给可以避免FOLR1基因敲除的小鼠胚胎的死亡,且叶酸供给量与小鼠胚胎的心血管畸形发生呈剂量反应关系^[19]。这提示对母体进行额外的叶酸补充可以减少叶酸受体基因的异常表达。孕妇叶酸受体基因的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)也会影响胎盘叶酸的摄入,其通过直接改变宫内胚胎发育环境的叶酸浓度影响胚胎心脏的正常发育^[20]。已有研究^[21]表明FOLR1基因SNP rs35179028、FOLR2基因SNP rs35982790和SNP rs13908的多态性与神经管畸形(neural tube defects, NTD)相关,但母体FOLR1基因和FOLR2基因的SNPs与子代CHD的关系的研究尚未见报道。此外,母亲服用叶酸能够直接影响母体组织液中叶酸水平,而叶酸受体基因的表达也会影响宫内胚胎发育环境的叶酸浓度,因此我们提出两者可能存在交互作用,共同影响宫内胚胎的心脏发育的假设。基于以上背景,本研究采用病例对照研究,探讨母亲服用叶酸、FOLR1基因与FOLR2基因多态性及两者交互作用与子代CHD的关系,以期为叶酸代谢失衡影响胚胎心脏发育的机制研究提供新的线索。

1 对象与方法

1.1 对象

本研究以医院为现场开展病例对照研究。以2017年12月至2020年3月在湖南省儿童医院心胸外

科经彩色多普勒超声和/或手术确诊患单纯性CHD的0~1岁患儿的母亲为病例组($n=569$);以同期在湖南省儿童医院儿保科就诊的0~1岁患儿的母亲为对照组($n=652$),对照组患儿经临床诊断排除了先天性疾病。本研究所有研究对象均为汉族,所有患儿之间没有血缘关系,均为单胎的自然妊娠。参与本研究的研究对象均签署了知情同意书。本研究已获中南大学湘雅公共卫生学院伦理委员会审批(审批号:XYGW-2018-07),并进行了临床试验注册(注册号:ChiCTR1800016635)。

1.2 问卷调查

本研究使用统一的调查问卷,采用面对面访谈的方式行流行病学问卷调查。所有的调查员经过统一的培训。问卷内容包括:研究对象基本情况及围孕期叶酸服用情况。围孕期叶酸服用是指母亲在孕前3个月或孕早期服用过叶酸。研究对象的基本情况包括社会人口学特征(孕龄、居住地、孕妇文化程度、家庭年收入),不良孕产史(不良妊娠结局史、孕母妊娠并发症史),家族史(家族3代近亲婚配史、家族成员出生缺陷史),孕妇孕前生活习惯(主动吸烟、二手烟暴露、饮酒、饮茶),围孕期环境有害物质接触(化妆品使用频率、居住地附近环境有害污染物排放、染发、烫发),配偶基本特征(年龄、吸烟史、饮酒史、文化程度)。

1.3 DNA提取和基因多态性检测

1.3.1 DNA提取

采用乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)抗凝管收集所有研究对象3~5 mL外周静脉血。血样使用低速离心机在3 500 r/min下离心15 min,2等份分装分离后的血浆及血细胞,标记后保存于-80℃低温冰箱备用。使用QIAamp DNA Mini试剂盒(美国Qiagen)提取血细胞的DNA;使用NanoDrop2000仪器检测光密度值,1.25%琼脂糖凝胶电泳检测DNA,DNA质检合格后,转移至96孔板,储存于-20℃备用。

1.3.2 基因多态性检测

FOLR1基因和FOLR2基因是本研究的候选基因,根据已发表的研究^[18]选择相应的候选位点。应用MassARRAY飞行时间质谱对候选位点的SNPs进行检测,具体检测工作由博森生物科技(北京)有限公司完成。本研究使用美国Applied Biosystems公司提供的SNPBrowser程序(3.0版),通过该程序可以从HapMap数据库中选择SNPs标记。对于每个靶基因,基于 $r^2 \geq 0.8$ 选择标记SNPs。此外,我们还排除了最

小等位基因频率少于 10% 的 SNPs, 最终选择 *FOLR1* 基因 (rs2071010、rs11235462) 和 *FOLR2* 基因 (rs651646、rs2298444、rs514933) 作为本研究的选择位点。

1.4 统计学处理

采用 EpiData 3.1 软件建立数据库, SAS 9.1 软件进行统计分析。计数资料采用例数或构成比或率表示。二分类变量采用 χ^2 检验或 Fisher 精确概率检验, 有序多分类变量采用 Wilcoxon 秩和检验。对照组人群进行 Hardy-Weinberg 平衡检验, $P \geq 0.05$ 则说明各基因位点达到遗传平衡。本研究位点的遗传模型包括显性模型(杂合子和突变型纯合子 vs 野生型纯合子)、隐性模型(突变型纯合子 vs 野生型纯合子和杂合子)和加性模型(野生型纯合子 vs 杂合子 vs 突变型纯合子)。采用单因素和多因素 logistic 回归分析, 分别计算未调整的相对危险比(crude odds ratio, cOR)和调整的相对危险比(adjusted odds ratio, aOR)及 95% 可信区间(95% confidence interval, 95% CI), 并控制潜在的混杂因素, 以检验母亲服用叶酸、*FOLR1* 和 *FOLR2* 基因多态性、*FOLR1*、*FOLR2* 基因多态性和母亲服用叶酸相乘交互作用与 CHD 的关联强度。在基线资料的比较和探究母亲围孕期服用叶酸与子代 CHD 的关联时, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。此外, 为控制假阳性率减少 I 类错误, 在探究母亲

FOLR1、*FOLR2* 基因多态性, 以及基因多态性与服用叶酸的交互作用与子代 CHD 的关联时, 采用错误发现率 P 值(false discovery rate P value, FDR_ P) 作为校正后的 P 值, 并且当 $FDR_P < 0.1$ 时认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基线资料的比较

病例组和对对照组孕妇人口学特征(居住地、孕妇文化程度、家庭年收入)、不良孕产史(不良妊娠结局史、孕妇妊娠并发症史)、家族史(家族 3 代近亲结婚史、家族成员出生缺陷史)、孕前生活习惯(主动吸烟、二手烟暴露、饮酒、饮茶)、孕前 3 个月及孕早期环境有害物质接触(化妆品使用频率、居住地附近环境有害污染物排放、染发、烫发)、配偶基本特征(吸烟史、饮酒史、文化程度)比较, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$, 表 1)。

2.2 母亲服用叶酸与子代 CHD 的关联分析

单因素分析结果显示本次妊娠围孕期是否服用叶酸在病例组和对对照组间差异有统计学意义($\chi^2 = 29.803$, $P < 0.001$)。调整表 1 中差异有统计学意义的基线资料(混杂因素)后, 多因素 logistic 回归分析结果显示本次妊娠围孕期服用叶酸能够显著降低子代 CHD 发生风险(aOR=0.58, 95% CI: 0.35~0.95; 表 2)。

表 1 对照组和病例组的基线资料比较

Table 1 Comparison of baseline data in the case group and the control group

变量	对照组(n=652)	病例组(n=569)	统计量	P
人口学特征/例				
孕龄(<35岁/≥35岁)	560/92	494/75	$\chi^2=0.222$	0.637
居住地(农村/城镇)	349/303	428/141	$\chi^2=61.784$	<0.001
母亲文化程度(小学及以下/初中/高中/大学及以上)	9/127/210/306	85/231/162/91	Z=-14.298	<0.001
家庭年收入(≤5万元/6万~10万元/11万~15万元/≥16万元)	187/275/59/131	463/77/11/18	Z=-18.157	<0.001
不良孕产史/例				
不良妊娠结局史(无/有)	366/286	252/317	$\chi^2=17.060$	<0.001
母亲妊娠并发症史(无/有)	589/63	403/166	$\chi^2=75.911$	<0.001
家族史/例				
家族 3 代近亲结婚史(无/有)	650/2	545/24	$\chi^2=22.302$	<0.001
家族成员出生缺陷史(无/有)	648/4	529/40	$\chi^2=36.010$	<0.001

表 1(续)

变量	对照组(n=652)	病例组(n=569)	统计量	P
孕妇孕前生活习惯/例				
主动吸烟(无/有)	640/12	523/46	$\chi^2=26.180$	<0.001
二手烟暴露(无/有)	403/249	276/293	$\chi^2=21.785$	<0.001
饮酒(无/有)	607/45	491/78	$\chi^2=15.538$	0.003
饮茶(无/有)	524/128	492/77	$\chi^2=8.091$	0.004
孕前3个月及孕早期环境有害物质接触/例				
化妆品使用频率(从不/有时/经常/每天)	409/160/37/46	418/66/36/49	Z=-3.106	0.002
居住地附近环境有害污染物排放(无/有)	610/42	450/119	$\chi^2=55.592$	<0.001
染发、烫发(无/有)	610/42	499/70	$\chi^2=12.526$	<0.001
配偶基本特征/例				
年龄(<35岁/≥35岁)	428/224	367/202	$\chi^2=0.175$	0.718
吸烟史(无/有)	274/378	188/381	$\chi^2=10.427$	<0.001
饮酒史(无/有)	335/317	245/324	$\chi^2=8.439$	0.002
文化程度(小学及以下/初中/高中/大学及以上)	17/134/224/277	69/267/143/90	Z=-13.415	<0.001

表 2 母亲围孕期叶酸服用情况与子代先天性心脏病的关联

Table 2 Association of periconceptional folate supplements with the risk of congenital heart disease in offspring

组别	n	围产期是否使用叶酸/例		χ^2	P	cOR(95% CI)	aOR(95% CI)*
		未服用	服用				
对照组	652	44	608			1	1
病例组	569	95	474	29.803	<0.001	0.36(0.25~0.53)	0.58(0.35~0.95)

cOR: Crude odds ratio; aOR: Adjusted odds ratio; CI: Confidence interval. *Adjusted for residence location, education level, family income, family consanguineous marriage history, family congenital malformation history, abnormal pregnancy history, history of pregnancy complication, active and passive smoking, drinking, drinking tea, exposure history of environmental hazardous substance, cosmetics use, and dyeing or perming hair experiences as well as spouse's education level, drinking, and smoking history.

2.3 FOLR1 和 FOLR2 基因位点 Hardy-Weinberg 平衡检验及与子代 CHD 的关联

对照组 FOLR1 和 FOLR2 基因的 5 个位点的基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律(均 $P>0.05$, 表 3)。单因素分析结果显示孕妇 FOLR2 基因位点 rs514933 的基因型分布频率及其加性模型在病例组和对照组间差异均具有统计学意义(均 $FDR_P<0.1$)。多因素分析结果显示: 在调整表 1 中差异有统计学意义的基线资料(混杂因素)后, FOLR2 基因位点 rs514933 的多态性(T/C vs T/T: aOR=0.60, 95% CI: 0.43~0.84; C/C vs T/T: aOR=0.55, 95% CI: 0.33~0.90)与子代 CHD 的发生风险显著相关, 且在显性模型[(T/C+C/C) vs T/T: aOR=0.59, 95% CI: 0.43~0.81]和加性模型(C/C vs T/C vs T/T: aOR=0.70, 95% CI: 0.56~0.88)中均显著相关(均 $FDR_P<0.1$); 母亲携带 FOLR1 基因位点 rs2071010(G/A vs G/G: aOR=0.67,

95% CI: 0.47~0.96)与子代 CHD 的发生风险显著相关($FDR_P<0.1$)。FOLR1 基因位点 rs11235462、FOLR2 基因位点 rs651646 和 rs2298444 的基因型分布频率及其遗传模型在病例组和对照组间差异均没有统计学意义(均 $P>0.05$, $FDR_P>0.1$, 表 4)。

2.4 母亲服用叶酸与 FOLR1 和 FOLR2 基因多态性对子代 CHD 的交互作用

多因素分析结果显示: 在调整表 1 中差异有统计学意义的基线资料(混杂因素)后, 携带 FOLR1 基因 rs2071010 位点 G/A 或 A/A 基因型的母亲, 如果在围孕期服用叶酸(A/A+G/A vs GG: aOR=0.80, 95% CI: 0.67~0.94)可以显著降低子代 CHD 的发生风险; 携带 FOLR2 基因 rs514933 位点 T/C 或 C/C 基因型的母亲, 如果在围孕期服用叶酸(C/C+T/C vs TT: aOR=0.75, 95% CI: 0.64~0.87)也可以显著降低子代 CHD 的发生风险(表 5)。在未服用叶酸的分层中, 2 组母亲

FOLR1 基因 rs2071010 位点和 *FOLR2* 基因 rs514933 位点在显性模型下与子代 CHD 的发生风险差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。在服用叶酸的分层中, 与携带 *FOLR1* 基因 rs2071010 位点 GG 基因型的母亲相比, 携带 G/A 或 A/A 基因型的母亲的子代患有 CHD 的风险显著降低[(A/A+G/A) vs GG; aOR=0.59, 95% CI:

0.41~0.86, FDR_P<0.1]; 与携带 *FOLR2* 基因 rs514933 位点 TT 基因型的母亲相比, 携带 T/C 或 C/C 基因型的母亲的子代患有 CHD 的风险显著降低 [(C/C+T/C) vs TT; aOR=0.52, 95% CI: 0.37~0.74, FDR_P<0.1; 表6]。

表3 对照组 *FOLR1* 和 *FOLR2* 基因型 Hardy-Weinberg 平衡检验

Table 3 Hardy-Weinberg test for *FOLR1* and *FOLR2* genotype frequencies of the control group

位点	实际频数			理论频数			χ^2	P
	AA	BB	AB	AA	BB	AB		
<i>FOLR1</i> 基因								
rs2071010	445	190	17	447	186	19	0.380	0.538
rs11235462	202	340	110	212	320	120	2.682	0.102
<i>FOLR2</i> 基因								
rs651646	154	325	173	154	326	173	0.003	0.955
rs2298444	235	311	106	234	313	105	0.033	0.855
rs514933	259	286	107	248	308	96	3.406	0.065

FOLR1: Folate receptor 1; *FOLR2*: Folate receptor 2; HWE: Hardy-Weinberg equilibrium; AA: Homozygous wild-type; AB: Heterozygous variant type; BB: Homozygous variant type.

表4 母亲 *FOLR1* 和 *FOLR2* 基因型频率分布与子代先天性心脏病的关联

Table 4 Association of maternal *FOLR1* and *FOLR2* genetic frequencies with the risk of congenital heart disease in offspring

位点	cOR(95% CI)	P	FDR _P	aOR(95% CI)*	P	FDR _P
rs2071010						
G/G	1.00(reference)			1.00(reference)		
G/A	0.91(0.71~1.17)	0.444	0.684	0.67(0.47~0.96)	0.027	0.090
A/A	0.65(0.29~1.44)	0.286	0.684	1.05(0.39~2.87)	0.922	0.922
显性模型†	0.89(0.69~1.13)	0.330	0.649	0.69(0.49~0.98)	0.039	0.195
隐性模型‡	0.67(0.30~1.47)	0.317	0.649	1.19(0.44~3.24)	0.734	0.857
加性模型§	0.88(0.71~1.09)	0.246	0.649	0.76(0.56~1.04)	0.083	0.311
rs11235462						
T/T	1.00(reference)			1.00(reference)		
T/A	0.93(0.72~1.20)	0.561	0.701	1.06(0.75~1.49)	0.747	0.922
A/A	0.88(0.63~1.25)	0.479	0.684	0.73(0.45~1.20)	0.215	0.436
显性模型†	0.92(0.72~1.17)	0.481	0.665	0.98(0.70~1.36)	0.894	0.894
隐性模型‡	0.93(0.68~1.26)	0.620	0.737	0.71(0.46~1.10)	0.125	0.365
加性模型§	0.94(0.79~1.11)	0.450	0.665	0.90(0.71~1.13)	0.360	0.600
rs651646						
T/T	1.00(reference)			1.00(reference)		
T/A	1.00(0.75~1.31)	0.972	0.972	0.95(0.64~1.39)	0.784	0.922
A/A	0.86(0.62~1.18)	0.351	0.684	0.75(0.48~1.18)	0.218	0.436
显性模型†	0.95(0.73~1.23)	0.688	0.737	0.88(0.61~1.28)	0.507	0.761
隐性模型‡	0.86(0.66~1.12)	0.260	0.649	0.78(0.54~1.13)	0.185	0.396
加性模型§	0.93(0.79~1.09)	0.346	0.649	0.87(0.69~1.09)	0.217	0.407

表 4(续)

位点	cOR(95% CI)	<i>P</i>	FDR_ <i>P</i>	aOR(95% CI)§	<i>P</i>	FDR_ <i>P</i>
rs2298444						
T/T	1.00(reference)			1.00(reference)		
T/C	0.91(0.71~1.16)	0.435	0.684	0.89(0.63~1.25)	0.501	0.835
C/C	0.97(0.69~1.35)	0.833	0.926	0.97(0.61~1.53)	0.891	0.922
显性模型†	0.92(0.73~1.16)	0.488	0.665	0.91(0.66~1.25)	0.562	0.766
隐性模型‡	1.02(0.75~1.38)	0.902	0.902	1.03(0.68~1.57)	0.890	0.894
加性模型§	0.97(0.82~1.14)	0.680	0.737	0.96(0.77~1.20)	0.743	0.857
rs514933						
T/T	1.00(reference)			1.00(reference)		
T/C	0.72(0.57~0.92)	0.009	0.045	0.60(0.43~0.84)	0.003	0.030
C/C	0.55(0.39~0.78)	0.001	0.010	0.55(0.33~0.90)	0.018	0.090
显性模型†	0.68(0.54~0.85)	0.001	0.008	0.59(0.43~0.81)	0.001	0.015
隐性模型‡	0.65(0.46~0.90)	0.010	0.050	0.71(0.44~1.13)	0.146	0.365
加性模型§	0.74(0.63~0.87)	<0.001	<0.001	0.70(0.56~0.88)	0.002	0.015

FOLR1: Folate receptor 1; *FOLR2*: Folate receptor 2; cOR: Crude odds ratio; aOR: Adjusted odds ratio; CI: Confidence interval; FDR_ *P*: False discovery rate *P* value. *Adjusted for residence location, education level, family income, family consanguineous marriage history, family congenital malformation history, abnormal pregnancy history, history of pregnancy complication, active and passive smoking, drinking, drinking tea, exposure history of environmental hazardous substance, cosmetics use, and dyeing or perming hair experiences as well as spouse's education level, drinking and smoking history; †Dominant model means heterozygote and mutant type homozygote vs wild type homozygote; ‡Recessive model means mutant type homozygote vs heterozygote and wild type homozygote; §Addictive model means mutant type homozygote vs heterozygote vs mutant type homozygote.

表 5 母亲 *FOLR1* 和 *FOLR2* 基因多态性与服用叶酸对子代先天性心脏病发生的交互作用Table 5 Interaction between maternal *FOLR1* and *FOLR2* gene polymorphism and periconceptional folate supplements for the risk of congenital heart disease in offspring

SNP	与服用叶酸的交互作用		
	aOR(95% CI)*	<i>P</i>	FDR_ <i>P</i>
rs2071010†	0.80(0.67~0.94)	0.006	0.015
rs11235462	0.93(0.80~1.07)	0.304	0.304
rs651646	0.89(0.76~1.04)	0.155	0.250
rs2298444	0.91(0.79~1.05)	0.200	0.250
rs514933	0.75(0.64~0.87)	<0.001	<0.001

FOLR1: Folate receptor 1; *FOLR2*: Folate receptor 2; aOR: Adjusted odds ratio; CI: Confidence interval; FDR_ *P*: False discovery rate *P* value; SNPs: Single nucleotide polymorphisms. *Adjusted for residence location, education level, family income, family consanguineous marriage history, family congenital malformation history, abnormal pregnancy history, history of pregnancy complication, active and passive smoking, drinking, drinking tea, exposure history of environmental hazardous substance, cosmetics use, and dyeing or perming hair experiences as well as spouse's education level, drinking, and smoking history; †aOR was calculated for CHD risk based on the dominant model.

表6 母亲 *FOLR1* 和 *FOLR2* 基因型在不同叶酸服用情况下对子代先天性心脏病发生的作用

Table 6 Maternal *FOLR1* and *FOLR2* genotypes by stratification of periconceptional folate supplements for the risk of congenital heart disease in offspring

<i>FOLR1</i> 、 <i>FOLR2</i> 基因型和 叶酸服用	对照组/ [例(%)]	病例组/ [例(%)]	单因素回归分析		多因素回归分析*		
			cOR(95% CI)	P	aOR(95% CI)	P	FDR_P
未服用叶酸的母亲							
rs2071010							
野生型(G/G)	35(79.5)	56(58.9)	1.00(reference)		1.00(reference)		
突变型(G/A+A/A)	9(20.5)	39(41.1)	2.71(1.17~6.27)	0.020	1.70(0.50~5.73)	0.504	0.504
rs514933							
野生型(T/T)	9(20.5)	39(41.1)	1.00 (reference)		1.00(reference)		
突变型(T/C+C/C)	35(79.5)	56(58.9)	0.37(0.16~0.85)	0.020	0.54(0.16~1.84)	0.157	0.209
服用叶酸的母亲							
rs2071010							
野生型(G/G)	410(67.4)	347(73.2)	1.00(reference)		1.00(reference)		
突变型(G/A+A/A)	198(32.6)	127(26.8)	0.76(0.58~0.99)	0.040	0.59(0.41~0.86)	0.006	0.012
rs514933							
野生型(T/T)	250(41.1)	242(51.1)	1.00(reference)		1.00(reference)		
突变型(T/C+C/C)	358(58.9)	232(48.9)	0.67(0.53~0.85)	0.001	0.52(0.37~0.74)	<0.001	<0.001

FOLR1: Folate receptor 1; *FOLR2*: Folate receptor 2; aOR: Adjusted odds ratio; CI: Confidence interval; FDR_P: False discovery rate P value. *Adjusted for residence location, education level, family income, family consanguineous marriage history, family congenital malformation history, abnormal pregnancy history, history of pregnancy complication, active and passive smoking, drinking, drinking tea, exposure history of environmental hazardous substance, cosmetics use, and dyeing or perming hair experiences as well as spouse's education level, drinking, and smoking history.

3 讨论

叶酸是人体细胞及组织正常代谢不可或缺的营养物质, 由于人体自身无法合成叶酸, 维持生命活动所需的叶酸均需从外界摄入。已有大量病例对照研究^[22-24]、队列研究^[25]以及随机对照试验^[26]证实母亲围孕期服用叶酸增补剂可以降低子代发生CHD的风险。本研究的结果与既往研究^[22-24]结果一致, 显示围孕期服用叶酸可显著降低子代CHD的发生(OR=0.58, 95% CI: 0.35~0.95), 且与2015年发表的一篇荟萃分析^[27]的结果(RR=0.72, 95% CI: 0.63~0.82)很接近。有关叶酸补充对心脏形态发育影响的相关机制尚不清楚, 大部分与叶酸缺乏相关的心脏发育缺陷表现为心脏流出道畸形^[28]。已发表的研究证据显示: 高水平的Hcy通过增加氧化应激、干扰DNA甲基化、使重要蛋白质Hcy化以及与天冬氨酸受体结合^[11]等途径影响心脏神经嵴细胞的发育^[29]; 叶酸缺乏能够影响胚胎细胞的DNA合成以及有丝分裂, 致使对叶酸敏感的组织发育异常。在动物实验中, Tang等^[17]观察到细胞叶酸转运功能异常的小鼠心脏室间隔和动脉干出现了广泛的细胞凋亡, Holmes等^[30]发现叶酸可以

影响动脉干的形成以及动脉干分化成主动脉和肺动脉。这进一步提示叶酸与心脏流出道发育异常以及圆锥动脉干缺陷的形成密切相关。

FOLR1 和 *FOLR2* 位于细胞膜表面, 通过胞吞的方式介导叶酸转运至细胞内, 对维持细胞内叶酸池浓度以及叶酸代谢起至关重要的作用。*Folp1* 基因敲除的小鼠胚胎全部出现致死性畸变, 表现为严重的心脏畸形, 这提示 *FOLR1* 基因和 *FOLR2* 基因对心脏发育起重要作用, 然而尚无 *FOLR1* 基因和 *FOLR2* 基因多态性与 CHD 的关联研究。本研究纳入的 5 个 SNPs 分别是 *FOLR1* 基因的 rs2071010 G→A 和 rs11235462 T→A 以及 *FOLR2* 基因的 rs651646 T→A、rs2298444 T→C 和 rs514933 T→C。查询美国国家生物技术信息中心的 SNPs 数据库可知 SNP 11235462、SNP rs651646、SNP rs2298444、SNP rs514933 均位于内含子, SNP rs2071010 位于 5' 非编码区 (5'-untranslated region, 5'-UTR), 其中 SNP rs2071010 与 SNP rs514933 是目前 *FOLR1* 基因和 *FOLR2* 基因多态性与出生缺陷关联研究中最热门的 SNPs。本研究观察到与携带 rs2071010 基因型 GG 的母亲相比, 携带基因型 G/A(aOR=0.67, 95% CI: 0.47~0.96)的母亲其

子代CHD的发生风险显著降低;与携带rs514933基因型TT的母亲相比,携带基因型T/C(aOR=0.60, 95% CI: 0.43~0.84)和CC(aOR=0.55, 95% CI: 0.33~0.90)的母亲其子代CHD的发生风险也显著降低。由于目前尚无其他关于*FOLR1*基因和*FOLR2*基因多态性与CHD关联的研究,既往研究更多地关注了*FOLR1*基因与*FOLR2*基因多态性与NTD的关联,这也为本研究中关注的位点对CHD的流行病学意义提供了参考。Shaw等^[31]在一项基于473病例(包括259例NTD和214例圆锥动脉干畸形)和359对照的病例对照研究中发现SNP rs2071010及SNP rs514933与混合病例出生缺陷的发生风险无关。O'Byrne等^[21]在探究*FOLR1*基因和*FOLR2*基因多态性与脊髓脊膜突出(NTD的一种亚型)的关联中,观察到SNP rs2071010、SNP rs514933与脊髓脊膜突出发生无关;同样地,Boyles等^[32]在美国白种人群中未发现SNP rs2071010与NTD存在关联,O'Leary等^[14]在爱尔兰人群中也未发现SNP rs651646与NTD相关。本研究未发现SNP rs651646与CHD有显著关联,此外,本研究未纳入的位点如*FOLR1*基因SNP rs35179028、*FOLR2*基因SNP rs35982790和SNP rs13908均被观察到与NTD存在关联^[5]。尽管尚有一些*FOLR1*基因和*FOLR2*基因多态性与NTD的研究,但仍缺少与CHD关联研究的证据,还需要涉及不同种族人群、更多样本量的研究提供证据。在本研究观察到的与CHD有关联的SNPs中,SNP rs2071010位于5'-UTR,可能通过影响转录过程改变*FOLR1*的活性^[14];SNP rs514933是同义SNPs且位于内含子,不能直接造成*FOLR2*的功能变化,可能与*FOLR2*基因的其他未知功能性非同义SNPs处于连锁不平衡^[14],因此在完全清楚*FOLR2*基因的全部SNPs与CHD的关联前,rs514933是适合的候选位点。

本研究还观察到SNP rs2071010和SNP rs514933与围孕期服用叶酸存在交互作用,在服用叶酸的母亲中,携带rs2071010的突变型(G/A+A/A)或者携带rs514933的突变型(T/C+C/C),能够分别减少41%和48%的子代CHD发生的风险。既往研究^[33]表明:孕期母体胎盘组织为了满足胚胎发育需要的叶酸,合体滋养层细胞表面*FOLR1*和*FOLR2*的表达量远高于人体其他组织,且叶酸受体在细胞表面的表达量呈叶酸浓度依赖性,即随着母体组织液中叶酸浓度升高,*FOLR1*和*FOLR2*在胎盘组织中的表达也相应增加。这能够部分解释*FOLR1*基因和*FOLR2*基因多态性与围孕期服用叶酸的交互作用降低CHD发生风险的机制,但更深入的代谢机制有待探究。

本研究的局限性:1)是以医院为基础的病例对照

研究,通过访谈回顾性收集母亲围孕期相关暴露因素,存在回忆偏倚。为了尽量减少回忆偏倚,招募的人群皆选择0~1岁婴幼儿的母亲作为研究对象。2)由于样本量的限制,未评估围孕期服用叶酸及*FOLR1*和*FOLR2*基因多态性与CHD亚型的关系,需要扩大样本量进一步研究。

本研究首次探究母亲*FOLR1*和*FOLR2*基因多态性与子代CHD发生风险的关联,观察到母亲携带*FOLR1*基因rs2071010 G→A和*FOLR2*基因rs514933 T→C的突变型能够降低子代CHD的发生风险,并且围孕期补充叶酸和这两个位点在CHD的发生中存在交互作用。分层分析结果显示:围孕期母亲服用叶酸可以强化SNP rs2071010和SNP rs514933对子代CHD发生的保护作用。这些结果为叶酸代谢失衡影响胚胎心脏发育的病因研究提供了新线索,相关机制有待进一步深入研究。

作者贡献声明:宋欣俐,秦家碧 论文构思、撰写和修订,数据采集和统计分析。王婷婷,黄鹏 项目构建,数据采集,论文指导和修订。陈乐陶,张森茂 数据采集,数据分析和制表。

利益冲突声明:作者声称无任何利益冲突。

参考文献

- [1] Zhao QM, Ma XJ, Ge XL, et al. Pulse oximetry with clinical assessment to screen for congenital heart disease in neonates in China: a prospective study[J]. *Lancet*, 2014, 384(9945): 747-754. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60198-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60198-7).
- [2] Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, et al. Heart disease and stroke statistics—2012 update: a report from the American Heart Association[J/OL]. *Circulation*, 2012, 125(1): e2-e220 [2020-11-22]. <https://doi.org/10.1161/CIR.0b013e31823ac046>.
- [3] Bernier PL, Stefanescu A, Samoukovic G, et al. The challenge of congenital heart disease worldwide: epidemiologic and demographic facts[J]. *Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu*, 2010, 13(1): 26-34. <https://doi.org/10.1053/j.pesu.2010.02.005>.
- [4] Naghavi M, Shahraz S, Sepanlou SG, et al. Health transition in Iran toward chronic diseases based on results of Global Burden of Disease 2010[J]. *Arch Iran Med*, 2014, 17(5): 321-335.
- [5] Csáky-Szunyogh M, Vereczkey A, Kósa Z, et al. Association of maternal diseases during pregnancy with the risk of single ventricular septal defects in the offspring: a population-based case-control study[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2013, 26(8): 738-747. <https://doi.org/10.3109/14767058.2012.755170>.
- [6] Bailey LB, Gregory JF. Folate metabolism and requirements[J]. *J Nutr*, 1999, 129(4): 779-782. <https://doi.org/10.1093/jn/129.4.779>.
- [7] Li XH, Li SL, Mu DZ, et al. The association between

- periconceptional folic acid supplementation and congenital heart defects: a case-control study in China[J]. *Prev Med*, 2013, 56(6): 385-389. <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2013.02.019>.
- [8] Csáky-Szunyogh M, Vereczkey A, Kósa Z, et al. Risk and protective factors in the origin of conotruncal defects of heart: a population-based case-control study[J]. *Am J Med Genet A*, 2013, 161A(10): 2444-2452. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36118>.
- [9] van Beynum IM, Kapusta L, Bakker MK, et al. Protective effect of periconceptional folic acid supplements on the risk of congenital heart defects: a registry-based case-control study in the northern Netherlands[J]. *Eur Heart J*, 2010, 31(4): 464-471. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehp479>.
- [10] Liu SL, Joseph KS, Luo W, et al. Effect of folic acid food fortification in Canada on congenital heart disease subtypes[J]. *Circulation*, 2016, 134(9): 647-655. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.022126>.
- [11] Rosenquist TH. Folate, homocysteine and the cardiac neural crest[J]. *Dev Dyn*, 2013, 242(3): 201-218. <https://doi.org/10.1002/dvdy.23922>.
- [12] Chen C, Ke JY, Zhou XE, et al. Structural basis for molecular recognition of folic acid by folate receptors[J]. *Nature*, 2013, 500(7463): 486-489. <https://doi.org/10.1038/nature12327>.
- [13] Zhao RB, Min SH, Wang YH, et al. A role for the proton-coupled folate transporter (PCFT-SLC46A1) in folate receptor-mediated endocytosis[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(7): 4267-4274. <https://doi.org/10.1074/jbc.M807665200>.
- [14] O'Leary VB, Mills JL, Kirke PN, et al. Analysis of the human folate receptor beta gene for an association with neural tube defects[J]. *Mol Genet Metab*, 2003, 79(2): 129-133. [https://doi.org/10.1016/s1096-7192\(03\)00075-1](https://doi.org/10.1016/s1096-7192(03)00075-1).
- [15] Salbaum JM, Finnell RH, Kappen C. Regulation of folate receptor 1 gene expression in the visceral endoderm[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2009, 85(4): 303-313. <https://doi.org/10.1002/bdra.20537>.
- [16] Rosenquist TH, Chaudoin T, Finnell RH, et al. High-affinity folate receptor in cardiac neural crest migration: a gene knockdown model using siRNA[J]. *Dev Dyn*, 2010, 239(4): 1136-1144. <https://doi.org/10.1002/dvdy.22270>.
- [17] Tang LS, Wlodarczyk BJ, Santillano DR, et al. Developmental consequences of abnormal folate transport during murine heart morphogenesis[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2004, 70(7): 449-458. <https://doi.org/10.1002/bdra.20043>.
- [18] Zhu HP, Wlodarczyk BJ, Scott M, et al. Cardiovascular abnormalities in *Folr1* knockout mice and folate rescue[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2007, 79(4): 257-268. <https://doi.org/10.1002/bdra.20347>.
- [19] Spiegelstein O, Mitchell LE, Merriweather MY, et al. Embryonic development of folate binding protein-1 (*Folbp1*) knockout mice: effects of the chemical form, dose, and timing of maternal folate supplementation[J]. *Dev Dyn*, 2004, 231(1): 221-231. <https://doi.org/10.1002/dvdy.20107>.
- [20] Chen CP. Syndromes, disorders and maternal risk factors associated with neural tube defects (IV) [J]. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 2008, 47(2): 141-150. [https://doi.org/10.1016/S1028-4559\(08\)60071-6](https://doi.org/10.1016/S1028-4559(08)60071-6).
- [21] O'Byrne MR, Au KS, Morrison AC, et al. Association of folate receptor (*FOLR1*, *FOLR2*, *FOLR3*) and reduced folate carrier (*SLC19A1*) genes with meningomyelocele[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2010, 88(8): 689-694. <https://doi.org/10.1002/bdra.20706>.
- [22] Bean LJ, Allen EG, Tinker SW, et al. Lack of maternal folic acid supplementation is associated with heart defects in Down syndrome: a report from the National Down Syndrome Project [J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2011, 91(10): 885-893. <https://doi.org/10.1002/bdra.22848>.
- [23] 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. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a010291>.
- [24] Correa A, Botto L, Liu YC, et al. Do multivitamin supplements attenuate the risk for diabetes-associated birth defects? [J]. *Pediatrics*, 2003, 111(5 Pt 2): 1146-1151.
- [25] Czeizel AE, Dobó M, Vargha P. Hungarian cohort-controlled trial of periconceptional multivitamin supplementation shows a reduction in certain congenital abnormalities[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2004, 70(11): 853-861. <https://doi.org/10.1002/bdra.20086>.
- [26] Czeizel AE. Periconceptional folic acid containing multivitamin supplementation[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 1998, 78(2): 151-161. [https://doi.org/10.1016/s0301-2115\(98\)00061-x](https://doi.org/10.1016/s0301-2115(98)00061-x).
- [27] Feng Y, Wang S, Chen RS, et al. Maternal folic acid supplementation and the risk of congenital heart defects in offspring: a meta-analysis of epidemiological observational studies[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 8506. <https://doi.org/10.1038/srep08506>.
- [28] Monie IW, Nelson MM. Abnormalities of pulmonary and other vessels in rat fetuses from maternal pteroylglutamic acid deficiency[J]. *Anat Rec*, 1963, 147: 397-405. <https://doi.org/10.1002/ar.1091470311>.
- [29] Hobbs CA, Cleves MA, Melnyk S, et al. Congenital heart defects and abnormal maternal biomarkers of methionine and homocysteine metabolism[J]. *Am J Clin Nutr*, 2005, 81(1): 147-153. <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.147>.
- [30] Holmes L, Harris J, Oakley GP, et al. Teratology Society Consensus Statement on use of folic acid to reduce the risk of birth defects[J]. *Teratology*, 1997, 55(6): 381. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9926\(199706\)55:6<381::AID-TERA4>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9926(199706)55:6<381::AID-TERA4>3.0.CO;2-0).
- [31] Shaw GM, Lu W, Zhu HP, et al. 118 SNPs of folate-related genes and risks of spina bifida and conotruncal heart defects[J]. *BMC Med Genet*, 2009, 10: 49. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-10-49>.
- [32] Boyles AL, Billups AV, Deak KL, et al. Neural tube defects and folate pathway genes: family-based association tests of gene-gene and gene-environment interactions[J]. *Environ Health Perspect*, 2006, 114(10): 1547-1552. <https://doi.org/10.1289/ehp.9166>.

[33] Prasad PD, Ramamoorthy S, Moe AJ, et al. Selective expression of the high-affinity isoform of the folate receptor (FR-alpha) in the human placental syncytiotrophoblast and choriocarcinoma cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1994, 1223

(1): 71-75. [https://doi.org/10.1016/0167-4889\(94\)90074-4](https://doi.org/10.1016/0167-4889(94)90074-4).

(本文编辑 彭敏宁)

本文引用: 宋欣俐, 黄鹏, 王婷婷, 张森茂, 陈乐陶, 秦家碧. 母亲围孕期服用叶酸及 *FOLR1* 和 *FOLR2* 基因多态性与子代先天性心脏病关联的病例对照研究[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2022, 47(1): 52-62. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2022.200992

Cite this article as: SONG Xinli, HUANG Peng, WANG Tingting, ZHANG Senmao, CHEN Letao, QIN Jiabi. Association of periconceptional folate supplements and *FOLR1* and *FOLR2* gene polymorphisms with risk of congenital heart disease in offspring: A hospital-based case-control study[J]. *Journal of Central South University. Medical Science*, 2022, 47(1): 52-62. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2022.200992

本刊常用词汇英文缩写表(按英文字母排序)

英文缩写	中文名称	英文缩写	中文名称	英文缩写	中文名称
5-FU	5-氟尿嘧啶	FDA	美国食品药品监督管理局	PaCO ₂	动脉血二氧化碳分压
5-HT	5-羟色胺	GFP	绿色荧光蛋白	PaO ₂	动脉血氧分压
ABC法	抗生物素蛋白-生物素-过氧化物酶复合物法	GSH	谷胱甘肽	PBS	磷酸盐缓冲液
ACh	乙酰胆碱	HAV	甲型肝炎病毒	PCR	聚合酶链反应
AIDS	获得性免疫缺陷综合征	Hb	血红蛋白	PET/CT	正电子发射计算机断层显像仪
ALT	谷丙转氨酶	HBV	乙型肝炎病毒	PI	碘化丙啶
AngII	血管紧张素 II	HCG	人绒毛膜促性腺激素	PI3K	磷脂酰肌醇3激酶
Annexin V-FITC	膜联蛋白V标记的异硫氰酸荧光素	HDL-C	高密度脂蛋白胆固醇	PLT	血小板
APTT	活化部分凝血活酶时间	HE	苏木精-伊红染色	PT	凝血酶原时间
AST	谷草转氨酶	HGF	肝细胞生长因子	PVDF	聚偏氟乙烯
ATP	三磷酸腺苷	HIV	人类免疫缺陷病毒	RBC	红细胞
BCA	二辛可宁酸	HPF	高倍视野	real-time PCR	实时聚合酶链反应
BMI	体重指数	HR	心率	real-time RT-PCR	实时反转录聚合酶链反应
BP	血压	HRP	辣根过氧化物酶	RIPA	放射免疫沉淀法
BSA	牛血清白蛋白	HSP	热激蛋白	RNA	核糖核酸
BUN	尿素氮	IC ₅₀	半数抑制浓度	ROS	活性氧
CCK-8	细胞计数试剂盒-8	ICU	重症监护病房	RT-PCR	反转录聚合酶链反应
COX-2	环氧合酶-2	IFN	干扰素	SABC	链霉抗生物素蛋白-生物素-过氧化物酶复合物法
Cr	肌酐	IL	白细胞介素	SCr	血肌酐
CRP	C反应蛋白	iNOS	诱导型一氧化氮合酶	SDS-PAGE	SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳
CT	计算机断层摄影	IPG	固相pH梯度	SO ₂	血氧饱和度
CV	变异系数	JNK	氨基末端激酶	SOD	超氧化物歧化酶
DAB	二氨基联苯胺	LDL-C	低密度脂蛋白胆固醇	SPF	无特定病原体
ddH ₂ O	双蒸水	LPS	内毒素/脂多糖	SP法	链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶法
DMEM	杜尔贝科改良伊格尔培养基	MAP	平均动脉压	STAT	信号转导及转录激活因子
DMSO	二甲基亚砜	MAPK	丝裂原激活的蛋白激酶	TBIL	总胆红素
DNA	脱氧核糖核酸	MDA	丙二醛	TBST	Tris-盐酸洗膜缓冲液
ECG	心电图	miRNA	微RNA	TC	总胆固醇
ECL	增强化学发光法	MMP	基质金属蛋白酶	TG	三酰甘油
ECM	细胞外基质	MRI	磁共振成像	TGF	转化生长因子
EDTA	乙二胺四乙酸	mTOR	哺乳动物雷帕霉素靶蛋白	Th	辅助性T细胞
EEG	脑电图	MTT	四甲基偶氮唑盐微量酶反应	TLR	Toll样受体
EGF	表皮生长因子	NADPH	还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸	TNF	肿瘤坏死因子
ELISA	酶联免疫吸附测定	NF-κB	核因子-κB	TUNEL	原位末端脱氧核糖核苷酸转移酶标记法
eNOS	内皮型一氧化氮合酶	NK细胞	自然杀伤细胞	VEGF	血管内皮生长因子
ERK	细胞外调节蛋白激酶	NO	一氧化氮	VLDL-C	极低密度脂蛋白胆固醇
ESR	红细胞沉降率	NOS	一氧化氮合酶	WBC	白细胞
FBS	胎牛血清	NS	生理氯化钠溶液	WHO	世界卫生组织

本刊对部分常用词汇允许直接使用缩写, 即首次出现时可不标注中文。