韓國營養學會誌 35(10) : 1045~1052, 2002

임신부의 5, 10-methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) 유전자형과 엽산 및 비타민 B_{12} 섭취량이 혈중 호모시스테인 수준에 미치는 영향*

김기남 · 김영주** · 장남수§

이화여자대학교 생활환경대학 식품영양학과, 이화여자대학교 의과대학 산부인과학교실**

The Interaction of the 5, 10-methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Polymorphism with Folate and Vitamin B_{12} Intakes and Serum Homocysteine Concentrations in Pregnant Women*

Kim, Ki Nam · Kim. Young Ju** · Chang, Namsoo§

Department of Food and Nutritional Sciences, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea
*Department of Obstetrics and Gynecology,** Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea*

ABSTRACT

Hyperhomocysteinemia, resulted from an interaction between the mutation of MTHFR gene and B vitamin deficiency, is suggested as a possible cause for complications and adverse outcomes of pregnancy. The purpose of the present study was to investigate the relationship between the intakes of B vitamins and serum homocysteine concentrations with the C677T mutation in the MTHFR genotypes in 135 normal pregnant women of 24-28 weeks of gestation. Dietary intake of B vitamins did not differ among the three genotypes, but the negative correlation between dietary folate intake and the serum homocysteine level was the strongest in the T/T type ($r = -0.249$) than in other genotypes (C/T: $r = -0.040$, C/C: $r = 0.126$, $p < 0.05$). Among the subject with the T/T type, the pregnant women who consumed folate less than 50% of the RDA had higher serum homocysteine levels than those who consumed folate greater than 125% of the RDA (10.4 ± 5.9 vs 7.0 ± 1.5 μmol/L, $p < 0.05$). Serum homocysteine levels were higher in the women with micronutrient supplements than those with no supplements in the T/T type, but such relation was not present in the C/C or the C/T type. In conclusion, serum homocysteine concentrations were influenced by the interrelationship between the MTHFR polymorphisms and dietary folate intake or micronutrient supplementation. (*Korean J Nutrition* 35(10) : 1045~1052, 2002)

KEY WORDS: MTHFR polymorphism, folate intake, serum homocysteine, micronutrient supplementation, pregnant women.

서 론

혈중 호모시스테인 수준은 유전적인 요인과 식이적 요인의 상호 작용에 의해 결정되는 것으로 제안된 바 있다.[1] 혈중 호모시스테인 수준에 영향을 주는 유전적 요인으로는 5, 10-methyl tetrahydrofolate를 5-methyltetrahydrofolate로 전환시키는데 필요한 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 유전자의 돌연변이를 들 수 있다.[2] 호모시스테인 수준에 영향을 주는 식이 요인으로 비타민 B_2, 비타민 B_6, 비타민 B_{12}와 엽산은 각기 다른 생화학적 반응단계에서 호모시스테인 대사의 조효소로서 혈중 호모시스테인 수준에 영향을 미친다.[3]

임신중 혈청 호모시스테인 농도의 상승은 자연유산,[4] 임신성 고혈압,[5] 태반 박리[6]를 비롯한 여러 가지 임신 합병증과 저체중아 출산[7] 및 출생시 결함과[8][9] 관련이 있는 것으로 보고되고 있다. Vollset 등[10]은 혈장 호모시스테인 수준이 높은 임신부에서 임신성 고혈압 발병율과 미숙아 출산율, 저체중아 출산율이 각각 32%, 38%, 101%나 증가되었으며, 사산아 출생율, 신경관 결함과 내반족 (clubfoot) 발생율 역시 호모시스테인 수준과 유의적인 관계가 있음을 관찰

접수일: 2002년 9월 10일
채택일: 2002년 11월 14일
*This study was supported by a grant from the Korea Health 21 R & D Project, Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (01-PJ1-PG1-01CH15-0009).
§To whom correspondence should be addressed.

© 2002 The Korean Nutrition Society

하였다.

혈청 호모시스테인 수준은 엽산의 섭취수준에 의해 유의적인 영향을 받는 것으로 보이는데 Brouwer 등[11]은 18~40세의 가임여성들에게 하루 250 μg의 엽산을 보충시킨 결과 혈장 호모시스테인 수준을 낮출 수 있었다고 보고하였다. Bonnette 등[12]은 임신부의 엽산 섭취량을 조절하고 그들의 혈장 호모시스테인 농도를 측정한 결과 엽산 섭취량을 하루 450 μg으로 조절한 경우에 비해 섭취량을 하루 850 μg으로 조절한 임신부의 혈장 호모시스테인 수준이 더 낮다고 보고하였다.

최근에는 엽산 대사에 영향을 주는 효소 단백질의 유전자형과 엽산 섭취량의 상호작용이 혈중 호모시스테인 수준에 영향을 미친다는 연구들이 보고되고 있다. Silaste 등[13]은 엽산 섭취량이 낮은 여성의 혈장 호모시스테인 농도가 엽산 섭취량이 높은 여성의 혈장 호모시스테인 농도보다 더 높았으며, 그 차이는 MTHFR 유전자 다형성에 따라 다르게 나타났는데, MTHFR gene의 염기 서열 677번 위치에 C가 T로 치환된 동형접합성 돌연변이가 있는 T/T 형질을 가진 사람에게서 엽산 섭취량에 따른 혈장 호모시스테인 농도가 가장 차이가 컸다고 보고하였다. 이와 관련해서 Pullin 등[14]은 MTHFR의 유전적 결함이 있는 경우 wild-type에 비해 호모시스테인 수준을 동일한 수준으로 유지하는데 엽산이 더 많이 필요하다고 하였으며, Molloy 등[15]은 MTHFR의 유전적 결함이 있는 임신부의 경우 엽산 권장량이 달라져야 한다고 제안하기도 하였다.

임신중의 호모시스테인 수준의 상승은 임신 결과에 좋지 않은 영향을 줄 수 있으며, 따라서 임신중 모체의 혈중 호모시스테인 수준에 영향을 미치는 식이 요인으로서의 엽산 영양상태는 중요하다고 하겠다. 그러나 정상 임신부에서 MTHFR 유전자형과 비타민 B 섭취량의 상호작용이 혈중 호모시스테인 수준에 어떤 영향을 나타내는지에 관한 연구는 아직 수행된 바가 없었다. 따라서 본 연구에서는 정상 임신부를 대상으로 MTHFR 유전자형에 따른 엽산 섭취수준이 혈중 호모시스테인 수준에 미치는 영향에 대해서 살펴보고자 한다.

연구 방법

1. 연구 대상자 및 설문조사

본 연구는 2001년 8월에서 2002년 2월까지 E 대학 산부인과에서 산전관리를 받고 있는 임신 24에서 28주 사이의 임신부 중에서 본 연구에 참여하기를 동의한 임신부 135명을 대상으로 수행되었다. 이들은 모두 임신 전에 만성 질병을 앓은 적이 없거나 임신 중에 임신성 고혈압 등의 임신 합병증이 없는 건강한 임신부이었다. 훈련된 조사자와 1 : 1 면담을 통해 연구 대상자들의 성별, 연령, 영양보충제 복용유무, 임신전 체중 및 사회경제적 수준을 조사하였으며, 24시간 회상법으로 1일 섭취량을 조사하였다. 조사된 식이섭취 자료는 Can-Pro ver 2.0 (한국영양학회, Seoul, Korea, 2002)을 이용하여 영양소 섭취량을 분석하였다. 엽산과 비타민 B_{12}의 섭취량은 현 등[16]과 진 등[17]의 식품 중 엽산함량 자료 및 농촌진흥청의 식품성분표 (6차 개정판)에 수록되어 있는 식품 중의 비타민 B_{12} 함량 자료를 별도로 Can-Pro에 입력시킨 database를 이용하여 분석하였다.

2. 생화학적 분석

조사대상 임신부의 공복시 정맥혈을 채취한 후 3000 g에서 10분간 원심분리시켜 혈청을 분리하여 분석 직전까지 -70℃에 보관하였다. 혈청 호모시스테인 농도는 Araki와 Sako[18]의 방법을 이용하여 HPLC로 분석하였다. 혈청 100 μl에 10% /tri-n-butylphosphine 용액 10 μl을 첨가하여 4℃에서 30분간 방치한 후 10% trichloroacetic acid (TCA) 용액 100 μl를 가하고 4℃, 3,000 × g에서 5분간 원심분리하였다. 상청액 100 μl에 1.55M NaOH 20 μl, 4mM EDTA (ethylene diamine tetra acetatic disodium)를 함유하는 0.125M borate buffer (pH 9.5) 250 μl, ammonium 7-fluorobenzo-2-oxa-1,3-diazole 4-sulfonic acid (SBD-F) 용액 100 μl를 첨가한 후 60에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 용액을 냉각시켜 0.45 μm filter (HV type, Whatman)로 여과시킨 후 automatic injector (Waters Co, MA, USA)로 20 μl씩 column에 주입하여 다음과 같은 조건으로 분석하였다.

Table 1. Chromatographic conditions of homocysteine analysis

Column	XTerra ™RP_{18} (Waters Co., MA, USA) (4.6 × 250 mm, 5 μm)
HPLC pump	Waters 2690 (Waters Co., MA, USA)
Fluorescence Detector	Waters 474 (Waters Co., MA, USA)
HPLC Integrator	Younglin Autochro-win ver 2.0
Excitation wave length	385 nm
Emission wave length	515 nm
Solvent	0.1M $NaHPO_4 \cdot H_2O$, pH 6.0

3. MTHFR 유전자형 분석

MTHFR 유전자형을 분석하기 위하여 Aquapure Genomic DNA blood kit (Biorad Pacific LTD., Kowloon, Hong Kong)를 이용하여 공복시 채취한 전혈에 RNase와 proteinase K 처리후 단백질을 제거하고 DNA를 추출하여 분석 직전까지 -20℃에서 보관하였다. 추출된 DNA는

0.5 units의 Taq DNA polymerase (Takara Shuzo Co., Shiga, Japan)을 사용하여 polymerase chain reaction (PCR)을 통해 증폭시킨 후 Frosst 등[19]의 방법에 따라 *HinfI* (Takara Shuzo Co., Shiga, Japan) 제한효소로 처리하여 2.5% agarose gel에서 전기영동을 실시하였다. 677번째 nucleotide에서 C가 T로 치환된 경우는 198 bp에 해당되는 band 대신에 175 bp와 23 bp에 두개의 band가 나타났으며 이에 따라 MTHFR 유전자형을 C/C, C/T와 T/T type으로 구분하였다.

4. 통계분석

모든 자료는 SPSS 프로그램 (ver 11.0)을 이용하여 통계 처리하여 평균 ± 표준편차로 나타내었다. MTHFR 유전자형에 따른 혈청 호모시스테인 농도 자료는 분산분석후 Duncan의 multiple range test를 사용하여 사후 검증하였다. MTHFR 유전자형에 따른 영양보충제 복용율의 차이를 검증하기 위하여 Chi-square analysis를 사용하였다. 조사 대상자의 영양보충제 복용여부 및 권장량 대비 비타민 섭취 비율에 따른 혈청 호모시스테인 농도의 차이에 대한 유의성 검증은 t-test를 사용하여 판정하였다. 조사 대상 임신부의 비타민 섭취량과 혈청 호모시스테인 농도와의 상관관계는 Pearson's correlation analysis를 이용하여 유의성을 검증하고, Analysis of covariance (ANCOVA) 분석방법을 이용하여 MTHFR 유전자형간의 상관성의 차이를 검증하였다. 다중회귀분석을 이용하여 엽산과 비타민 B_{12}가 혈청 호모시스테인 수준에 미치는 영향을 분석하였다.

결 과

1. 일반사항

조사 대상 임신부의 일반사항은 Table 2에 제시하였다. 조사 대상 임신부의 평균 연령은 30.6 ± 3.4세였으며, 임신전 BMI는 평균 20.7 ± 3.2로서 정상범위에 속하였다. 영양보충제를 복용하고 있는 임신부는 전체의 56.1%였으며, 이는 MTHFR 유전자형에 따라 다르지 않았다. 전체 임신부의 11.9%가 엽산을, 7.4%가 비타민 B_{12}를 함유한 영양보충제를 복용하고 있었다. 그러나 영양보충제를 복용하는 조사 대상 임신부 중 38명 (53.5%)만이 복용하고 있는 영양보충제명을 알고 있어, 실제 엽산 혹은 비타민 B_{12} 함유된 영양보충제의 복용율은 이보다 더 높을 것으로 사료된다. 이들 비타민을 함유한 영양보충제의 복용률은 MTHFR 유전자형에 따라 통계적으로 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다. MTHFR 유전자형에 따른 조사 대상 임신부의 평균 연령, 임신전 BMI, 교육정도 및 월수입으로 본 사회 경제 수준에는 유의적인 차이가 없었다.

2. 임신부의 MTHFR 유전자 발현형 및 혈청 호모시스테인 농도

조사 대상 임신부의 15.5%가 MTHFR 유전자의 동형접합성 돌연변이 형태인 T/T 형질을, 48.9%가 C/T 형질을, 35.6%가 C/C 형질을 가지고 있었다. T/T, C/T 및 C/C 형질을 가진 임신부들의 혈청 호모시스테인 농도는 각각 9.3 ± 4.6 μmol/L, 8.3 ± 2.9 μmol/L 및 7.4 ± 2.6 μmol/L로, T/T 형질을 가진 임신부의 혈중 호모시스테인 농도가 C/C 형질을 가진 임신부에 비해 유의적으로 더 높게 나타났다 ($p < 0.05$).

3. 임신부의 엽산 및 비타민 B_{12}를 비롯한 영양소 섭취량

조사 대상 임신부의 식사를 통한 영양소 섭취량은 Table 3에 제시된 바와 같이 MTHFR 유전자형에 따라 차이가 없었다. 조사 대상 임신부의 하루 총 에너지 섭취량은 2004.6 kcal로서 임신 후반부 에너지 권장량의 약 85%를 섭취하고 있는 것으로 나타났다. 식사를 통한 칼슘과 철의 섭취량은 각각 권장량의 64%와 54%로 임신 후반부 권장량에 많이 못 미치는 수준이었다. 이들의 평균 식이를 통한 비타민 B_2 섭취량은 1.3 ± 0.5 mg으로 임신부의 권장량 1.6 mg (한국인의 영양권장량, 7차 개정판)의 82.1%를 섭취하는 것으로 나타났으며, 비타민 B_6의 식사를 통한 섭취량은 2.4 ± 1.0 mg으로 권장량의 124.9%를 섭취하고 있었다.

식사를 통한 엽산, 비타민 B_{12}의 섭취량은 Table 3에 제시된 바와 같이 MTHFR 유전자형에 따라서 유의적인 차

Table 2. General characteristics of the pregnant women

	MTHFR genotypes			Total (n = 135)
	C/C (n = 48)	C/T (n = 66)	T/T (n = 21)	
Age (yr)^{NS}	30.8 ± 3.2	30.5 ± 3.7	30.5 ± 2.9	30.6 ± 3.4
Pregavid BMI (kg/m^2)^{NS}	20.8 ± 3.5	20.7 ± 3.3	20.2 ± 2.5	20.7 ± 3.2
Education (yrs)^{NS}	14.8 ± 3.1	15.2 ± 2.2	15.5 ± 2.2	15.1 ± 2.2
Income (10,000 won/month)^{NS}	231.0 ± 76.5	243.7 ± 78.0	250.0 ± 81.6	240.3 ± 77.7
Nutrient supplementation (%)^{NS}	59.1	51.6	64.7	56.1

NS: Not significant

Table 3. Nutrient intake of the pregnant women

	MTHFR genotypes			Total (n = 135)
	C/C (n = 48)	C/T (n = 66)	T/T (n = 21)	
Energy (kcal)^{NS}	2139.2 ± 633.0	1916.1 ± 461.4	1975.4 ± 416.3	2004.6 ± 529.3
%RDA	91.0 ± 26.9	81.5 ± 19.6	84.1 ± 17.7	85.3 ± 22.5
Carbohydrate (g)^{NS}	330.0 ± 106.9	299.4 ± 99.3	288.1 ± 84.2	308.6 ± 100.6
Protein (g)^{NS}	80.0 ± 26.8	73.9 ± 26.8	82.3 ± 28.4	77.4 ± 23.6
%RDA	114.3 ± 38.3	105.5 ± 27.0	117.5 ± 40.6	110.5 ± 33.8
Fat (g)^{NS}	55.2 ± 24.5	46.7 ± 15.2	54.6 ± 26.3	50.9 ± 20.7
Calcium (mg)^{NS}	672.7 ± 335.8	629.9 ± 303.1	598.6 ± 263.7	640.2 ± 308.6
%RDA	67.3 ± 33.6	63.0 ± 30.3	59.9 ± 26.4	64.0 ± 30.9
Iron (mg)^{NS}	13.6 ± 5.0	12.2 ± 4.5	13.6 ± 3.2	12.9 ± 4.6
%RDA	56.5 ± 21.0	50.9 ± 18.8	56.5 ± 13.2	53.7 ± 19.0
Vitamin A (μgRE)^{NS}	760.5 ± 420.6	765.9 ± 678.0	1071.0 ±1106.7	811.4 ± 693.1
%RDA	95.1 ± 52.6	95.7 ± 84.8	133.9 ± 138.3	101.4 ± 86.6
Vitamin E (mgα-TE)^{NS}	12.8 ± 6.3	11.6 ± 6.2	13.5 ± 5.7	12.3 ± 6.2
%RDA	106.5 ± 52.5	96.5 ± 51.7	112.4 ± 47.6	102.5 ± 51.4
Vitamin C (mg)†	202.8 ± 166.0^{a}	131.1 ± 98.8^{b}	177.8 ± 133.2^{ab}	163.8 ± 134.7
%RDA	238.6 ± 195.3	154.2 ± 116.2	209.2 ± 156.8	209.7 ± 158.5
Vitamin B_1 (mg)^{NS}	1.4 ± 0.7	1.3 ± 0.7	1.5 ± 0.7	1.4 ± 0.7
%RDA	101.8 ± 48.4	96.3 ± 49.1	106.9 ± 53.3	99.9 ± 49.3
Niacin (mgNE)^{NS}	16.2 ± 6.5	16.0 ± 7.1	19.1 ± 8.8	16.6 ± 7.2
%RDA	108.0 ± 43.0	100.1 ± 47.3	127.5 ± 58.4	110.4 ± 47.9
Vitamin B_2(mg)^{NS}	1.27 ± 0.52	1.31 ± 0.54	1.42 ± 0.47	1.31 ± 0.52
%RDA	79.5 ± 32.6	82.0 ± 33.5	88.6 ± 30.0	82.1 ± 32.5
Vitamin B_6(mg)^{NS}	2.55 ± 1.30	2.25 ± 0.81	2.38 ± 0.81	2.37 ± 1.01
%RDA	134.0 ± 68.3	118.3 ± 42.9	125.1 ± 40.9	124.9 ± 53.2
Folate (μg)^{NS}	419.2 ± 182.3	376.8 ± 186.0	416.9 ± 232.8	398.1 ± 192.3
%RDA	83.9 ± 36.5	75.4 ± 37.2	83.4 ± 46.6	79.6 ± 38.5
Vitamin B_{12} (μg)$^{NS\#}$	1.91 ± 3.47	1.70 ± 1.53	1.78 ± 1.91	1.78 ± 2.43

NS: Not significant, #: RDA, not established, † :Significantly different at $p < 0.05$
abc: different superscript letter indicates the comparison with significant differences ($p < 0.05$).

이가 없었다. 엽산의 식사를 통한 섭취량은 398.1 ± 192.3 μg으로 권장량의 79.6%를 차지하였고, 엽산 권장량의 75% 미만으로 섭취하는 비율이 전체 임신부의 49.6%였으며, 이 중 권장량의 50%미만으로 섭취하는 비율도 27.4%로 상당수를 차지하였다. 비타민 B_{12}의 식사를 통한 평균 섭취량은 1.8 ± 2.4 μg이었다.

4. 엽산, 비타민 B_{12} 섭취에 따른 혈청 호모시스테인 수준

임신부의 식사를 통한 엽산과 비타민 B_{12} 섭취량과 혈청 호모시스테인 농도 사이의 상관관계를 살펴본 결과, 전체 임신부에서 혈청 호모시스테인 농도는 식사를 통한 엽산과 비타민 B_{12} 섭취수준과 통계적으로 유의한 상관관계가 없는 것으로 나타났다. MTHFR 유전자형에 따른 임신부의 식사를 통한 엽산 섭취량과 혈청 호모시스테인 농도 자료의 상관관계 분석 결과, T/T 형에서 혈청 호모시스테인 농도와 식사를 통한 엽산 섭취량의 음의 관계가 유의적으로 더 크게 나타났다 (T/T: $r=-0.249$, C/T: $r=-0.040$, C/C: $r=0.126$, $p<0.05$) (Fig. 1).

임신부의 식사를 통한 엽산과 비타민 B_{12} 섭취량이 혈청 호모시스테인 수준에 독립적으로 미치는 영향을 살펴보기 위한 다중회귀분석 결과, 식사를 통한 비타민 B_{12} 섭취량만이 유의한 설명변수로 나타났으며, C/C형에서 비타민 B_{12} 섭취량이 증가할수록 혈청 호모시스테인 농도가 감소하고, T/T형의 경우 비타민 B_{12} 섭취량이 증가할수록 혈청 호모시스테인 농도가 증가하는 관계를 보였다. 또한 이들 비타민의 식사를 통한 섭취량이 혈청 호모시스테인 수준에 대한 설명력은 T/T형에서 40.8%로, C/C형의 12.7%와 C/T형의 1.0%에 비해 높게 나타났다 (Table 4).

Fig. 2는 식사를 통한 권장량 대비 엽산 섭취량이 50% 미만인 임신부의 혈청 호모시스테인 농도와 식사를 통한 엽

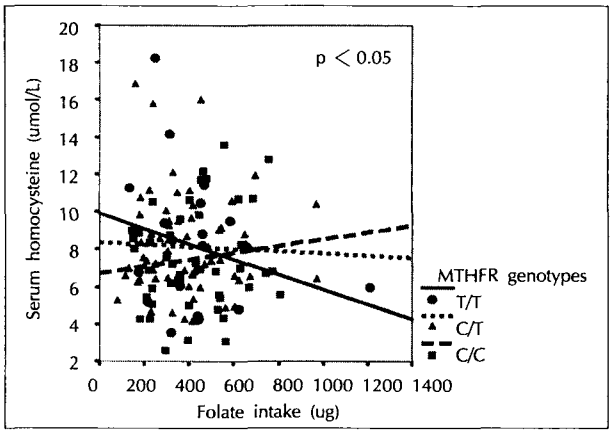

Fig. 1. Correlation between serum homocysteine concentrations and folate intake by the MTHFR genotype. The slope of the regression line for the T/T genotype was significantly different from that of the C/C or C/T genotype (T/T: $Y = -0.25X+9.90$, C/C: $Y = 0.13X+6.72$, C/T: $Y = -0.04X + 8.36$, $p < 0.05$). Pearson's correlation coefficients for the C/C, C/T and T/T genotypes were 0.126, -0.040, and -0.249 respectively. There was no significant relation between serum homocysteine concentrations and folate intakes for each genotypes.

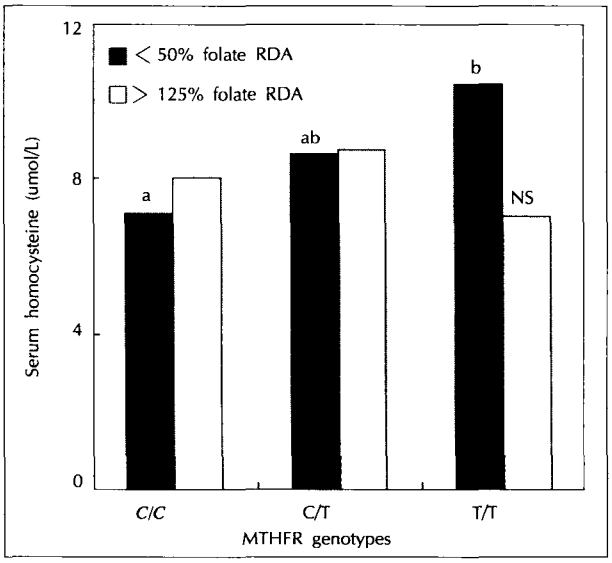

Fig. 2. Serum homocysteine concentrations by folate intake levels. abc: different superscript letter indicates the comparison with significant differences by the MTHFR genotypes when dietary folate intake were below the 50% of RDA ($p < 0.05$). NS: not significant by the MTHFR genotypes when dietary folate intake were above the 125% of RDA.

산섭취량이 권장량 대비 125%이상인 임신부의 혈청 호모시스테인 농도를 MTHFR 유전자형 별로 나타낸 것이다. C/C 또는 C/T 형질을 가진 임신부의 혈청 호모시스테인 농도는 식사를 통한 엽산 섭취량에 따라 아무런 차이가 없었으나, T/T 형질을 가진 임신부의 경우, 식사를 통한 엽산 섭취량이 권장량의 125% 이상인 임신부의 혈청 호모시스테인 수준은 권장량의 50%미만을 섭취하는 임신부에 비해 약 33%정도 더 낮았다 (7.0 ± 1.5 vs 10.4 ± 5.9 μmol/L, $p<0.05$). 엽산을 권장량의 50%미만으로 식사를 통해 섭취하는 임신부 중 T/T 형질을 가진 임신부의 혈청 호모시스테인 농도가 C/T, C/C 형질을 가진 임신부에 비해 각각 21%와 46% ($p < 0.05$)가 높은 반면, 엽산을 권장량의 125%이상으로 식사를 통해 섭취하는 T/T 형을 가진 임신부의 경우 혈청 호모시스테인 농도는 MTHFR 유전자형에 따라 유의적인 차이가 없었으며 오히려 C/T, C/C 형에 비해 20%와 13% 더 낮았다.

5. 영양보충제 복용여부에 따른 혈청 호모시스테인 수준

조사 대상 임신부의 영양보충제 복용여부와 MTHFR 유전자형에 따른 혈청 호모시스테인 수준은 Fig. 3에 제시하였다. 혈청 호모시스테인 수준은 영양보충제를 복용하는 임신부의 경우 영양보충제를 복용하지 않는 임신부에 비해 낮았고 ($p < 0.01$), 이러한 경향은 모든 MTHFR 유전자형에서 나타났으며, 특히 T/T 형질을 가진 임신부에서 영양보충제를 복용하는 임신부의 혈청 호모시스테인 농도가 C/T나 C/C형의 임신부에 비해 유난히 더 낮았다 ($p < 0.01$). 영양보충제를 복용하지 않는 T/T 형을 가진 임신부의 혈청 호모시스테인 농도는 C/C 또는 C/T 형질을 가진 임신부의 혈청 호모시스테인 농도에 비해 높았으나 ($p < 0.05$) 영양보충제를 복용하고 있는 T/T 임신부에서는 이러한 차이가 나타나지 않았다.

고 찰

본 연구에서는 임신부의 엽산 및 비타민 B_{12}의 섭취량이 MTHFR 유전자형에 따라 혈중 호모시스테인 수준에 어떠

Table 4. Coefficients from multiple regression analysis between folate and vitamin B_{12} intake and serum homocysteine concentrations in subjects according to their MTHFR genotype

Independent variables	C/C		C/T		T/T	
	b ± SE(b)	t	b ± SE(b)	t	b ± SE(b)	t
Folate intake	0.869 ± 0.002	0.421	-0.055 ± 0.002	-0.295	-0.045 ± 0.003	-1.450
Vitamin B_{12} intake	-0.257 ± 0.109	-2.370	-0.154 ± 0.222	-0.703*	1.150 ± 0.376	3.058**
R^2 of model	12.7		1.0		40.8	

b: multiple regression coefficient. R^2 of model: the percentage of variation in serum homocysteine explained by dietary folate and vitamin B 12 intakes. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

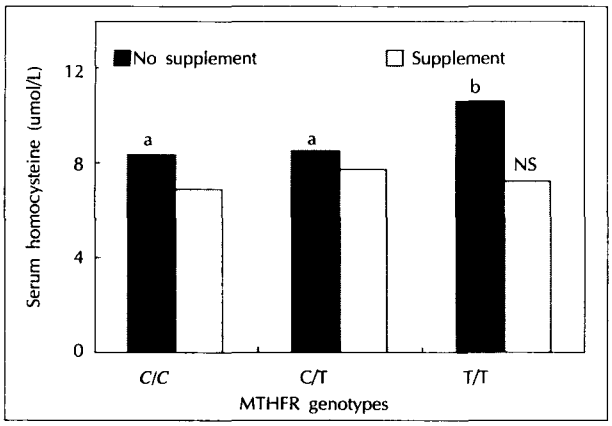

Fig. 3. Serum homocysteine concentrations by nutritional supplement use. abc: different superscript letter indicates the comparison with significant differences by the MTHFR genotypes with nutrient supplementation ($p < 0.05$). NS: not significant by the MTHFR genotypes without nutrient supplementation.

한 영향을 미치는지를 보고자 하였다. 그 결과, 엽산 섭취량과 혈청 호모시스테인 농도 사이의 음의 관계는 MTHFR 유전자의 C677T 동형접합성 변이형인 T/T형에서 가장 크게 나타났다. 또 식사를 통한 엽산 섭취량이 낮은 경우 T/T형을 가진 임신부의 혈청 호모시스테인 농도가 C/T형이나 C/C형의 유전자형을 가진 임신부 보다 각각 21%와 46% 더 높았으나, 식사를 통한 엽산 섭취량이 높은 경우 T/T형을 가진 임신부의 혈청 호모시스테인 농도가 C/T나 C/C형의 임신부에 비해 각각 20%와 13%가 더 낮았다. Silaste 등[13]은 건강한 가임 여성에게 엽산 섭취량과 혈중 호모시스테인 수준과의 관계가 MTHFR 유전자형에 따라 다르다고 보고하였는데, 엽산 섭취량을 증가시켰을 때 혈장 호모시스테인 농도가 C/C형에서 11%, C/T형에서 15%가 낮아진 데 비해 T/T형에서 18%로 낮아져 변화량이 가장 컸으며, 중재 전의 혈장 호모시스테인의 차이를 극복할 수 있었다고 보고하였다. 엽산의 섭취량과 MTHFR 유전자형과 혈중 호모시스테인 수준을 연구한 또 다른 연구[14]에서도 건강한 대상자들에게 식이로부터의 엽산 섭취량을 늘리거나 보충제를 통해 엽산을 보충할 경우 혈장 호모시스테인 농도는 각각 14%, 16%가 감소하였으며, T/T형의 대상자에서 식이 또는 보충제를 통해 엽산 섭취량을 증가시킬 경우 혈장 호모시스테인 농도가 가장 현저하게 감소하는 것이 관찰되었다. 본 연구 결과는 이러한 앞선 연구 결과를 뒷받침하는 것으로 MTHFR 유전적 결함을 가진 임신부에 있어서 임신중 엽산 섭취량의 중요성을 확인하는 것이라 할 수 있다.

혈청 호모시스테인 농도에 영향을 미치는 엽산 섭취 수준을 조사한 결과, 전체 임신부의 평균 엽산 섭취량은 398.1 ± 192.3 μg으로 권장량의 약 80% 수준이었으며, T/T형의 MTHFR 유전자형을 가진 임신부 중 47.6%의 엽산 섭취량이 엽산 권장량의 75% 미만으로 나타났다. 이는 임신부의 엽산 섭취량을 조사한 앞선 연구 결과[20,23]와 일치하는 것으로 상당수의 임신부가 식이로부터 엽산 권장량을 충족시키지 못하고 있다고 하겠다. 임신 중반 엽산 섭취량은 임신부의 엽산 영양상태에 영향을 미치고[24] 엽산 영양상태의 결핍은 혈중 호모시스테인 수준의 상승과 관련된다. 따라서 엽산 섭취량이 부족한 상당수의 임신부들이 이로 인한 고호모시스테인 혈증의 위험을 가지고 있으며, 고호모시스테인 혈증의 위험요인으로 여겨지는 MTHFR 유전자의 결함을 가진 임신부 역시 엽산 섭취량이 낮아 문제로 지적될 수 있다.

본 연구에서 전체 임신부의 비타민 B_{12} 섭취량은 1.8 μg으로 우리나라 임신부의 적정 섭취 수준 2.6 μg과 비교할 때 70%에 해당되었다. 이러한 결과는 반정량적 식품빈도표를 이용하여 임신부의 비타민 B_{12} 섭취량을 조사한 안 등의 연구 결과[25]에 비해 낮은 것으로, 이는 데이터 베이스의 차이와 식이 조사 방법상의 차이로 설명할 수 있다. 이러한 결과를 토대로 볼 때, 우리 나라 임신부의 많은 수가 B 비타민 식이 섭취 수준이 권장량을 충족시키기지 못하고 있으며, 특히 호모시스테인 대사와 관련된 엽산을 비롯한 비타민 B_{12}의 섭취량이 부족하다고 하겠다. 본 연구 결과 비타민 B_{12} 섭취량은 C/C형에서만 혈청 호모시스테인 수준에 유의적인 음의 설명력을 가지며, T/T 형에서는 오히려 양의 설명력을 가지는 것으로 나타났다. Guttormsen 등[26]은 C/C형의 MTHFR 유전자형을 가진 사람에서만 혈중 비타민 B_{12} 수준이 낮은 사람의 혈청 호모시스테인 수준이 높음을 관찰하였으며, 비타민 B_{12}를 보충하였을 때 C/C형에서만 혈장 호모시스테인 농도가 감소되었다고 하였다. Nakamura 등[27]은 이러한 이유를 C/C형에 비해 C/T나 T/T형의 MTHFR 유전자형을 가진 사람의 경우 MTHFR 효소의 산물인 5-methyltetrahydrofolate의 생성 감소로 인해 혈청 엽산 수준이 낮고, 낮은 5-methyltetrahydrofolate의 농도는 비타민 B_{12}과 호모시스테인과의 관계를 약화시킬 수 있다고 하였다.

본 연구에서 임신 24~28주 임신부들의 영양보충제를 복용율은 55.9%정도로 상당수가 식이 엽산 섭취량이 권장량에 미치지 못함에도 불구하고 영양 보충제를 복용하지 않고 있는 것으로 나타났다. 또 T/T 형을 가진 임신부에서 영양보충제를 복용하지 않는 경우 혈청 호모시스테인 농도가 C/T나 C/C형을 가진 임신부의 혈청 호모시스테인 농도에 비해 높은데 비해 영양보충제를 복용하는 T/T형을 가진 임신부의 경우 혈청 호모시스테인 농도가 MTHFR 유전자형에 따라 차이가 없었다.

정상적인 상태에서 임신중 혈청 호모시스테인 농도가 낮아짐에도 불구하고[28] 호모시스테인 대사에 관여하는 MTHFR의 유전적 변이를 가진 임신부의 경우 여전히 경증의 고호모시스테인 혈증의 위험을 가지고 있다.[29][30] 많은 연구들에서 임신중 고호모시스테인 혈증이 임신 합병증과 바람직하지 못한 임신 결과와 관련이 있음이 보고되었다.[20] 본 연구 결과 역시 MTHFR 유전자의 T/T형을 가진 임신부에서 혈청 호모시스테인 농도가 다른 MTHFR 유전자형의 임신부에 비해 유의적으로 높았다. 우리나라 사람을 대상으로 조사된 연구[31]에 따르면 우리나라 여성의 약 15~17%가 MTHFR 유전자의 677번 위치에서 동형 접합성 돌연변이를 가지고 있다. 따라서 우리나라 임신부의 상당수가 임신중 고호모시스테인 혈증에 대한 위험을 가지고 있으며, 이들의 엽산 영양상태가 부적절한 경우 임신 중 고호모시스테인혈증으로 인한 바람직하지 않은 임신 결과를 초래할 수 있을 것으로 생각된다. 본 연구에서는 식사로부터의 엽산 및 비타민 B_{12}수준이 혈청 호모시스테인 수준에 미치는 영향이 T/T형에서 40.8%로 가장 크게 나타났으며, 식이 엽산 섭취 및 영양보충제 복용이 이러한 MTHFR 유전자의 돌연변이를 가지고 있는 임신부에서 혈청 호모시스테인 농도를 낮출 수 있음을 확인하였다. 특히 임신 16주 이후에는 혈청 엽산 농도가 급격하게 감소하는 것으로 알려져 있다.[26][32][33] 따라서 이 시기에 MTHFR 유전자의 결함을 가진 임신부에게 엽산 섭취량을 증가시키거나 엽산 보충을 통해 엽산 영양상태를 호전시킬 경우 혈중 호모시스테인 수준의 상승을 예방하고 이로 인한 임신 합병증과 바람직하지 못한 임신 결과를 예방할 수 있을 것으로 생각된다.

요약 및 결론

본 연구 결과 MTHFR 유전자의 677번 위치에서 동형접합성 돌연변이를 가진 임신부의 혈청 호모시스테인 농도는 정상적인 MTHFR 유전자형을 가진 임신부의 혈청 호모시스테인 농도보다 높았으며, 엽산 섭취량과 혈중 호모시스테인 수준 사이의 음의 관계는 T/T 형의 임신부에서 유의적으로 더 크게 나타났다. 또한 T/T 형을 가진 임신부의 경우 엽산 섭취량이 권장량의 50%미만일 경우 혈청 호모시스테인 농도가 C/T 또는 C/C 형의 임신부의 혈청 호모시스테인 농도 보다 높았다. 그러나 T/T형을 가진 임신부에서도 엽산 섭취량이 권장량의 125%이상 섭취하는 경우 또는 영양보충제를 복용하는 경우에는 혈청 호모시스테인 농도가 낮았고 C/T 혹은 C/C 형을 가진 임신부의 혈청 호모시스테인 수준과 유의적인 차이가 없었다.

이상의 결과로 볼 때, 엽산 섭취량에 대한 혈중 호모시스테인 수준의 반응도는 MTHFR 유전자형에 따라서 다르게 나타나므로, MTHFR 유전자형에 따른 개별화된 관리가 필요하다고 하겠다. 임신중에는 엽산의 요구량이 증가하며 부적절한 엽산의 섭취는 모체와 태아의 혈중 엽산농도의 감소와 더불어 혈장 호모시스테인 농도의 상승과 관련되며, 호모시스테인 수준의 상승은 임신 결과와 임신 합병증 발생의 원인으로 지적되고 있다. 따라서 고호모시스테인혈증의 유전적 위험요인을 가진 임신부를 선별하고 이들에 대해서는 산전 관리시 엽산 영양상태의 중요성이 강조되어야 하며, 엽산 보충제 복용 뿐 아니라 식이로부터의 엽산 섭취량을 증가시킬 수 있도록 하여, 출산 후에도 지속적인 관리를 위한 영양교육이 필요할 것으로 생각된다.

Literature cited

1) Kang SS, Wong PWK. Genetic and nongenetic factors for moderate hyperhomocysteinemia. *Atherosclerosis* 119: 135-138, 1996
2) Powers RW, Minich LA, Lykins DL, Ness RB, Crombleholme WR, Roberts JM. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, folate, and susceptibility to preeclampsia. *J Soc Gynecol Invest* 6: 74-79, 1999
3) Ueland PM, Hustad S, Schneede J, Refsum H, Vollset SE. Biological and clinical implications of the MTHFR C677T polymorphism. *Trends in Pharmacol Sci* 22: 195-201, 2002
4) Wouters MG, Boers GH, Blom HJ, Trijbels FJ, Thomas CM, Borm GF, Steegers-Theunissen RP, Eskes TK. Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertil Steril* 60: 820-825, 1993
5) Leena M, Riyazi N, de Vries JIP, Jakobs C, van Geijn HP, Dekker GA. Effects of folic acid and vitamin B6 supplementation on women with hyperhomocysteinemia and a history of preeclampsia or fetal growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 179: 135-139, 1998
6) Goddijn-Wessel TAW, Wouters MGAJ, van den Molen EF, Spuijbroek MDEH, Steegers-Theunissen RPM, Blom HJ, Boers GHJ, Eskes TKAB. Hyperhomocysteinemia: a risk factor for placental abruption or infarction. *Eur J Obstet Gynecol* 66: 23-29, 1996
7) Burke G, Robinson K, Refsum H, Stuart B, Drumm J, Graham I. Intrauterine growth retardation, perinatal death, and maternal homocysteine levels. *N Engl J Med* 326: 69-70, 1992
8) Mill JL, McPartlin JM, Kirke PN. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural tube defects. *Lancet* 345: 149-151, 1995
9) Rosenquist TH, Ratashak SA, Selhub J. Homcysteine induces congenital defects of the heart and neural tube: effect of folic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 15227-15232, 1995
10) Vollset SE, Refsum H, Irgens LM, Emblem BM, Tverdal A, Gjessing HK, Monsen ALB, Ueland PM. Plasma total homocysteine, pregnancy complications and adverse pregnancy outcomes: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 71: 962-968, 2000
11) Brouwer IA, van Dusseldorp M, Thomas CMG, Duran M, Hautvast JGAJ, Eskes TKAB, Steegers-Theunissen RPM. Low-dose

folic acid supplementation decreases plasma homocystiene concentrations: a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 69: 99-104, 1999
12) Bonnette RE, Caudill MA, Boddie AM, Hutson AD, Kauwell GPA, Bailey LB. Plasma homocysteine concentrations in pregnant and nonpregnant women with controlled folate intake. *Am Coll Obstet Gynecol* 92: 167-170, 1998
13) Silaste ML, Rantala M, Sampi M, Alfthan G, Aro A, Kesaniemi A. Polymorphisms of key enzymes in homocysteine metabolism affect diet responsiveness of plasma homocysteine in healthy women. *J Nutr* 131: 2643-2647, 2001
14) Pullin CH, Ashfield-Watt PAL, Burr ML, Clark ZE, Lewis MJ, Moat SJ, Newcombe RG, Powers HJ, Whiting JM, McDowell IFW. Optimization of dietary folate or low-dose folic acid supplements lower homocystiene but do not enhance endothelial function in healthy adults, irrespective of the methylenetetrahydrofolate reductase (C677T) genotype. *J Am Coll Cardiol* 38: 1799-1805, 2001
15) Molloy AM, Daly S, Mills JL, Whitehead AS, Ramsbottom D, Conley MR, Weir DG, Scott JM. Thermolabile variant of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase associated with low red-cell folates: implications for folate intake recommendations. *Lancet* 349: 1591-1593, 1997
16) Hyun T, Han YH. Comparison of folate intake and food sources in college students using the 6th vs. 7th nutrient database. *Korean J Nutr* 34(7): 797-808, 2001
17) Jin HO, Lim HS. Major foods for folate and their folate contents of Korean child-bearing women. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30(1): 152-158, 2001
18) Araki A, Sako Y. Determination of free and total homocysteine in human plasma by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr* 422: 43-52, 1987
19) Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard C, Matthews R. Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP, Rozen RA. Candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 10: 111-113, 1995
20) Picciano MF. Is homocysteine a biomarker for identifying women at risk of complications and adverse pregnancy outcomes? *Am J Clin Nutr* 71: 857-858, 2000
21) Ahn HS, Kim JS, Lee GJ, Kim YT. Serum folate levels of maternal-umbilical cord blood and pregnancy outcomes. *Korean J Nutr* 33(8): 840-847, 2000
22) Lim HS, Lee JA. Folate levels of umbilical cord blood and pregnancy outcomes. *Korean J Nutr* 31(8): 1263-1269, 1998
23) Kang M, Chang NS. Effect of dietary folate intakes on serum folate levels of pregnant and lactating women. *Korean J Nutr* 26(4): 433-442, 1993
24) Caudill MA, Cruz AC, Gregory III JF, Hutson AD, Bailey LB. Folate status response to controlled folate intake in pregnant women. *J Nutr* 127: 2363-2370, 1997
25) Ahn HS, Lee GJ, Hong HK, Chung SW, Yang JH, Chung HW. Serum vitamin B_{12} levels of maternal-umbilical cord blood and pregnancy outcomes. *Korean J Nutr* 34(4): 426-432, 2001
26) Guttormsen AB, Ueland PM, Nesthus I, Nygard O, Schneede J, Vollset SE, Refsum H. Determinants and vitamin responsiveness of intermediate hyperhomocysteinemia (> or = 40 micromol/liter). The Hordaland Homocysteine Study. *J Clin Invest* 98: 2174-2183, 1996
27) Nakamura T, Saionji K, Hiejima Y, Hirayama H, Tago K, Takano H, Tajiri M, Hayashi K, Kawabata M, Funamizu M, Makita Y, Hata A. Methylenetetrahydrofolate reductase genotype, vitamin B_{12}, and folate influence plasma homocsyteine in hemodialysis patients. *Am J Kideny Diseas* 39(5): 1032-1039, 2002
28) Andersson A, Hultberg B, Brattstrom L, Isakssson A. Decreased serum homcoysteine in pregnancy. *Eur J Clin Biochem* 30: 377-379, 1992
29) Ashfield-Watt PAL, Pullin CH, Whiting JM, Clark ZE, Moat SJ, Newcombe RG, Burr ML, Lewis MJ, Powers HJ, McDowell FW. Mehtylenetetrahydrofolate reductase 677C→T genotype modulates homocysteine responses to a folate-rich diet of a low-dose folic acid supplement: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 76: 180-186, 2002
30) Murakami S, Matsubara N, Saitoh M, Miyakaw S, Shoji M, Kubo T. The relation between plasma homocysteine concentration and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in pregnant women. *J Obstet Gynaecol Res* 27(6): 349-352, 2001
31) Park KS, Podskarbi T, Yoo EA, Shin YS. The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene in Koreans. *Korean J Genetics* 20(1): 23-28, 1998
32) Cikot RJLM, Steegers-Theunissen RPM, Thomas CMG, de Boo TM, Merkus HMWM, Steegers EAP. Longitudinal vitamin and homocysteine levels in normal pregnancy. *Br J Nutr* 85: 49-58, 2001
33) Bruinse HW, van den Berg H. Changes of some vitamin levels during and after normal pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol* 61: 31-37, 1995