

임신부의 혈청 비타민 B 수준과 혈중 호모시스테인 수준 및 MTHFR 유전자형이 임신 결과에 미치는 영향*

김기남¹⁾ · 김영주²⁾ · 박혜숙³⁾ · 장남수^{1)§}

이화여자대학교 생활환경대학 식품영양학과,¹⁾ 이화여자대학교 의과대학 산부인과학교실²⁾
이화여자대학교 의과대학 예방의학교실³⁾

Effects of Maternal Serum B vitamins, Homocysteine Concentrations and the 5, 10-Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Polymorphism on Pregnancy Outcomes*

Kim, Ki Nam¹⁾ · Kim, Young Ju²⁾ · Park, Hyesook³⁾ · Chang, Namsoo^{1)§}

Department of Food and Nutritional Sciences,¹⁾ Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea
Department of Obstetrics and Gynecology,²⁾ Preventive Medicine,³⁾ Ewha Medical Research Center,
College of Medicine, Ewha Womans' University, Seoul 120-750, Korea

ABSTRACT

Maternal nutritional status has been shown to influence pregnancy outcomes. And the elevated maternal plasma homocysteine concentrations have been associated with adverse pregnancy outcomes. We investigated the effects of maternal serum levels of B vitamins and homocysteine, and the C677T MTHFR (5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase) polymorphism on pregnancy outcomes. In 177 pregnant women of 24-28 wks of gestation, the MTHFR gene mutation, serum B vitamins and homocysteine concentrations were measured, and their pregnancy outcomes were investigated from medical records. The birth length, and 1- and 5-min Apgar scores of neonates in the T/T mothers were 45.4 ± 9.3 cm, 7.6 ± 3.2 and 8.5 ± 3.8 , respectively, which were significantly lower than those in the C/T (48.6 ± 3.3 cm, 9.0 ± 0.2 , 10.0 ± 0.2) or the C/C mothers (49.4 ± 1.9 cm, 9.0 ± 0.2 , 10.0 ± 0.0). The birth weight, birth length and the gestational age of neonates at delivery from hyperhomocysteinemic mothers whose homocysteine levels higher than $15 \mu\text{mol/L}$ were 2.5 ± 1.3 kg, 43.9 ± 9.0 cm, 35.4 ± 6.3 wk, respectively, which were significantly lower than those from normohomocysteinemic mothers (3.1 ± 0.6 kg, 48.8 ± 3.6 cm, 38.5 ± 2.5 wk). The birth weight and birth length of neonates in mothers whose PLP levels were below the median were significantly lower than those from mothers with the PLP levels above the median. The 1- and 5-min Apgar scores of neonates were lower in mothers with the T/T MTHFR genotype than those with the C/T or C/C only when the serum PLP levels were below the median. The 1-, 5-min Apgar scores and birth length of neonates were lower in mothers with the T/T MTHFR genotype than those with the C/T or C/C only when the serum FMN levels were below the median. In conclusion, maternal B vitamin status, homocysteine and the C677T MTHFR genotype seem to have played an important role on pregnancy outcomes. (*Korean J Nutrition* 36(4) : 389~396, 2003)

KEY WORDS : MTHFR polymorphism, folate, PLP, homocysteine, pregnancy outcomes.

서론

일반적으로 임신중에는 혈청 호모시스테인 수준이 낮아

접수일 : 2003년 4월 11일

채택일 : 2003년 4월 28일

*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.

지는 것으로 알려져 있으나¹⁾ 임신중 혈청 호모시스테인 농도의 상승은 태내성장지연 (IUGR, intrauterine growth restriction),²⁾ 저체중아 출산²⁾ 및 선천성 기형^{3,4)}과 같은 바람직하지 못한 임신결과를 초래하며^{5,6)} 그 밖에 자연유산,⁷⁾ 임신성 고혈압,⁸⁾ 태반 박리⁹⁾를 비롯한 여러 가지 임신 합병증과 관련이 있는 것으로 보고되고 있다.

혈중 호모시스테인 수준은 각 개인의 유전적 요인과 영양적 요인의 상호작용에 의해 결정되며,¹⁰⁾ MTHFR,^{11,12)} methionine synthase,¹³⁾ RFC-1 folate transport protein¹⁴⁾

등의 호모시스테인 대사에 관련된 유전자의 돌연변이가 있는 경우 혹은 호모시스테인 대사에 필요한 효소의 조효소로 작용하는 여러 가지 비타민 B 영양상태 결핍이나 대사 이상이 있는 경우 고호모시스테인혈증이 유발되는 것으로 알려져 있다. 호모시스테인 대사와 관련된 비타민 B로는 비타민 B₂, 비타민 B₆, 엽산 및 비타민 B₁₂를 들 수 있으며, 이들 비타민들은 상호작용을 통해 호모시스테인 대사에 영향을 미친다.^{15,16)} MTHFR 유전자의 677번 염기에 동형접합성 돌연변이가 생긴 T/T 유전자형을 가진 경우 호모시스테인 대사에 관여하는 MTHFR의 활성이 매우 감소하게 되고 이로 인해 호모시스테인 수준이 상승된다고 알려져 있다.

임신 중에는 비타민 B 수준이 낮아지는 것으로 알려져 있고, 이것은 임신 중 호모시스테인 수준과 임신결과에 영향을 미친다. 임신 중 비타민 B 수준이 임신결과에 미치는 영향을 관찰한 국내 연구로 임신 말 모체 혈청의 비타민 B₆는 출생 체중과 출생 신장 및 Apgar scores 등에 영향을 미치고¹⁸⁾ 혈청 엽산 수준은 임신결과와 관련이 없다고 보고하였다.¹⁹⁾ 그러나 정상 임신부에서 비타민 B 영양상태가 임신결과에 미치는 영향을 MTHFR 유전자형과 혈청 호모시스테인 수준과 관련하여 본 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 정상 임신부를 대상으로 혈청 호모시스테인 수준에 영향을 미치는 비타민 B₂, 비타민 B₆, 엽산 및 비타민 B₁₂ 등 혈청 비타민을 측정하고 혈청 호모시스테인 수준 및 MTHFR 유전자형을 분석하여 이들과 임신결과와의 상관성을 보고자 한다.

연구방법

1. 설문조사 및 임신결과 조사

본 연구는 2001년 8월에서 2002년 2월까지 E 대학 산부인과에서 산전관리를 받고 있는 임신 24에서 28주 사이의 임신부 중에서 본 연구에 참여하기를 동의한 임신부 185명을 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 연령, 임신 전 체중 및 사회경제적 수준을 조사하였다. 이들의 임신결과를 보기 위하여, 분만시 작성된 의무기록으로부터 재태기간, 아기의 성별, 출생 체중, 출생 신장 및 1분과 5분의 Apgar scores, 조산여부, 저체중아 여부, multiple baby 여부, 선천성 기형 여부에 대한 자료를 얻었다.

2. 생화학적 분석

조사대상 임신부의 공복시 정맥혈을 채취한 후 3000 × g에서 10분간 원심분리시켜 혈청을 분리하여 분석 직전까지 -70°C에 보관하였다. 혈청 호모시스테인 농도는 Araki와 Sako의 방법²⁰⁾을 이용하여 HPLC로 분석하였다. 혈청 100 μl에 10% tri-n-butylphosphine 용액 10 μl을 첨가하여 4°C에서 30분간 방치한 후 10% trichloroacetic acid (TCA) 용액 100 μl를 가하고 4°C, 3,000 × g에서 5분간 원심분리하였다. 분리된 상청액에 1.55 M NaOH 20 μl, 4 mM EDTA를 함유하는 0.125 M borate buffer (pH 9.5) 250 μl, ammonium 7-fluorobenzo-2-oxa-1,3-diazole 4-sulfonic acid (SBD-F) 용액 100 μl를 첨가하여 60°C에서 1시간 동안 반응시키고 0.45 μm filter (HV type, Whatman)로 여과시킨 후 automatic injector (Waters Co, MA, USA)로 20 μl씩 column에 주입하여 Xterra™RP₁₈ column을 이용하여 λ_{ex} 385 nm, λ_{em} 515 nm의 fluorescence detector (Waters 474, Waters Co, MA, USA)로 분석하였다. 혈청 FAD, FMN, riboflavin 농도를 측정하기 위하여 Botticher와 Botticher의 방법²¹⁾을 변형시켜 사용하였다. 혈청 500 μl에 동량의 sodium acetate와 10% TCA solution을 가한 후 원심분리하여 상청액을 C₁₈ Sep-pak cartridge에 통과시킨 후 Xterra™RP₁₈ column을 이용하여 λ_{ex} 445 nm, λ_{em} 530 nm의 fluorescence detector (Waters 474, Waters, MA, USA)로 분석하였다. 혈청 PLP농도 및 혈청 PA 농도를 분석하기 위하여 혈청 200 μl에 precipitation reagent를 첨가하고 원심분리하여 상청액을 취한 후 neutralization reagent와 derivatization reagent를 가하여 원심분리한 상청액을 λ_{ex} 320 nm, λ_{em} 415 nm의 fluorescence detector (Waters 474, Waters Co, MA, USA)로 HPLC를 이용하여 분석하였다. 혈청 엽산 및 비타민 B₁₂ 수준은 ¹²⁵I-folic acid와 ⁵⁷Co-vitamin B₁₂ dualcount SPNB (solid phase no boil) radioassay kit를 사용하여 분석하였다. 200 μl의 혈청에 dithiothreitol과 tracer를 혼합한 working solution을 첨가한 후 NaOH/KCN을 넣고 반응을 중지시키고 binder를 넣고 원심분리 후 상청액을 버린 다음 dual γ-counter (Cobra II, auto-gamma, γ-packard a Canberra company, CT, USA)로 분석하였다.

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 protei-

nase 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 등의 방법²²⁾에 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)으로 통계 처리하여 평균 ± 표준편차로 나타내었다. MTHFR 유전자형에 따른 임신 결과에 대한 분석은 분산분석후 Duncan의 multiple range test를 사용하여 사후 검증하였다. 조사 대상자의 혈중 비타민 수준 및 혈청 호모시스테인 수준에 따른 임신결과를 비교하고자, 혈청 비타민 수준 및 혈청 호모시스테인 수준에 따라 중간값 이상과 미만으로 나누어 출생 체중, 출생 신장, 재태기간 및 Apgar scores의 차이를 t-test를 사용하여 검증하였다. MTHFR 유전자형과 혈중 비타민 수준의 상호작용에 따른 임신결과를 분석하기 위하여 이원분산분석 (two-way ANOVA)을 실시하고 각 유전자형과 각 비타민 수준에 따른 임신결과를 Student's t-test 및 Duncan의 multiple range test를 이용하여 사후 검증하였다.

결 과

1. 모체의 MTHFR 유전자형과 임신 중반 비타민 B 영양상태 및 혈청 호모시스테인 수준

조사 대상 임신부 183명의 평균 연령은 30.6 ± 3.4세로 임신 전 BMI는 20.7 ± 3.2 kg/m²으로 정상범위에 속하였다. 임신 24~28주 사이 공복 혈액 내 호모시스테인 농도와 비타민 B 수준 및 MTHFR 유전자형을 분석한 결과는 Table 1에 제시하였다. 조사 대상자의 17.5%가 MTHFR 유전자의 동형접합성 돌연변이인 T/T형이었으며, 임신 중반 모체의 평균 혈청 호모시스테인 농도는 8.1 ± 3.2 μmol/L로 15 μmol/L이상의 고호모시스테인 혈중에 속하는 임신부의 비율은 전체의 4.2%였다. 임신 중반 모체의 혈청 비타민 B₆ 영양결핍 (혈청 PLP 농도 < 30 nmol/L)으로 판정된 경우

는 74.9%였으며, 전체 임신부 중 5.1%가 엽산 결핍 (< 6.8 nmol/L)으로, 전체의 19.7%가 비타민 B₁₂ 결핍으로 판정되었다.

2. 임신 결과

조사 대상 임신부의 임신결과는 Table 2에 나타내었다. 평균 재태기간은 38.1 ± 3.5주였으며, 전체 임신부의 49.5%가 남아를, 50.5%가 여아를 출산하였다. 출생시 아기 체중은 평균 3183.4 ± 534.8 g이었고 출생 신장은 49.0 ± 2.7

Table 1. Maternal MTHFR genotypes, and the concentrations of serum B vitamins and homocysteine

	Mean ± SD	n (%)
MTHFR genotypes C/C		59 (33.3)
C/T		87 (49.2)
T/T		31 (17.5)
Serum homocysteine (μmol/L)	8.1 ± 3.2	
< 15 μmol/L		175 (94.6)
≥ 15 μmol/L		10 (4.2)
Serum FAD (nmol/L)	11.0 ± 2.7	
FMN (nmol/L)	4.2 ± 1.6	
riboflavin (nmol/L)	2.7 ± 5.4	
Serum PLP (nmol/L)	28.3 ± 29.9	
< 30 nmol/L		131 (74.9)
≥ 30 nmol/L		44 (25.1)
Serum folate (nmol/L)	20.2 ± 11.3	
< 6.8 nmol/L		9 (5.1)
≥ 6.8 nmol/L		169 (94.9)
Serum vitamin B ₁₂ (pmol/L)	339.0 ± 162.6	
< 221 pmol/L		36 (19.7)
≥ 221 pmol/L		147 (81.3)

Table 2. Pregnancy outcomes of the subjects

Gestational age at delivery (weeks)	38.1 ± 3.5
Birth weight (g)	3183.4 ± 534.8
Boys (g)	3240.4 ± 523.6
Girls (g)	3117.0 ± 545.6
Birth length (cm)	49.0 ± 2.7
Boys (cm)	49.5 ± 1.9
Girls (cm)	48.4 ± 3.2
Kaup index (kg/cm ²)	13.1 ± 1.6
Apgar scores	
1-min	8.8 ± 1.4
5-min	9.7 ± 1.6
Preterm delivery (%)	11.7
Low birth weight (%)	9.1
IUGR (%)	4.7
Multiple baby (%)	5.2
Congenital abnormality (%)	1.0

cm로 출생 체중과 신장 모두 남녀 아기 성별에 따른 유의적인 차이는 없었다. 출생 체중과 신장으로 산출한 Kaup 지수는 평균 $13.1 \pm 1.6 \text{ kg/cm}^2$ 로 역시 신생아 성별에 따른 차이는 나타나지 않았다. 38주 미만의 조산인 경우는 전체의 11.7%였고, 출생 체중 2500 g 미만의 저체중아 출산율은 9.1%, 태내 성장지연 (IUGR, intrauterine growth retardation)을 나타낸 경우는 4.7%, 기형아 출산율은 1%로 전체 조사 임신부 중 17.8%가 바람직하지 않은 임신결과를 보였다.

3. 모체의 MTHFR 유전자형 및 혈청 호모시스테인 수준이 임신 결과에 미치는 영향

Fig. 1에서 제시된 바와 같이 모체의 MTHFR 유전자형은 태아의 출생 신장 ($p < 0.05$)과 출생 1분과 5분의 Apgar scores ($p < 0.005$)에 유의적인 영향을 미치는 것으로 나타났다. T/T형인 임신부에서 태어난 아동의 출생 신장과 1분, 5분의 Apgar scores가 C/C 혹은 C/T형인 임신부에서 태어난 아동에 비해 유의적으로 더 낮았으며, T/T형의 임신부에서 재태기간이 짧은 경향을 보였다 ($p < 0.1$).

임신 중반의 혈청 호모시스테인 수준과 임신결과와의 관계를 보기 위하여 임신 중반에 고호모시스테인혈증 ($\geq 15 \mu\text{mol/L}$)으로 판정된 임신부와 혈청 호모시스테인 수준이 정상이었던 임신부의 임신결과를 비교하여 Fig. 2에 나타내었다. 임신 중반 고호모시스테인혈증으로 판정된 임신부에서 태어난 아동의 출생 체중과 출생 신장의 평균은 각각

$2535.7 \pm 1338.7 \text{ g}$ 과 $43.9 \pm 9.0 \text{ cm}$ 로서 임신 중반 호모시스테인 수준이 정상이었던 임신부에서 태어난 아동의 출생 체중 $3113.6 \pm 628.4 \text{ g}$ ($p < 0.05$)과 출생신장 $48.8 \pm 3.6 \text{ cm}$ ($p < 0.005$)에 비해 유의적으로 더 낮았다. 재태기간 역시 임신 중반 혈청 호모시스테인 수준이 정상이었던 임신부에 비해 고호모시스테인혈증을 보인 임신부의 경우 유의적으로 더 짧았다 ($p < 0.01$).

4. 임신부의 임신중반 혈청 비타민 B 농도가 임신결과에 미치는 영향

임신 중반 혈청 비타민 B 농도와 임신결과와의 관계를 살펴본 결과, 임신 중반 혈청 FAD, FMN, riboflavin과 혈청 엽산 및 비타민 B₁₂ 수준은 출생 아동의 출생 체중, 출생 신장, 재태기간, Apgar scores와 통계적으로 유의한 결과가 없었다. 임신 중반 혈청 PLP 농도는 출생 아동의 체중이나 신장과 관련이 있었으며 (Fig. 3), 혈청 PLP 농도가 중간값보다 낮았던 임신부에서 태어난 아동의 출생체중은 $2885.0 \pm 840.1 \text{ g}$ 으로 임신 중반 혈청 PLP 수준이 중간값보다 높았던 임신부에서 태어난 아동의 출생체중 $3217.6 \pm 560.2 \text{ g}$ 에 비해 유의적으로 낮았다 ($p < 0.05$). 출생 신장은 혈청 PLP 수준이 중간값보다 낮은 경우와 높은 경우, 각각 $47.4 \pm 6.0 \text{ cm}$ 와 $49.3 \pm 2.1 \text{ cm}$ 로 혈청 PLP 수준이 낮은 임신부에서 태어난 아동의 출생 신장이 유의적으로 더 낮았다 ($p < 0.005$).

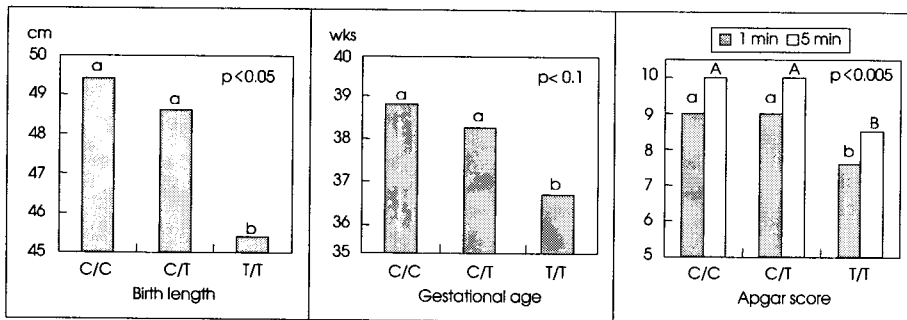


Fig. 1. The pregnancy outcomes according to the maternal MTHFR genotypes. abc: different superscript letter indicates the significant differences ($p < 0.05$).

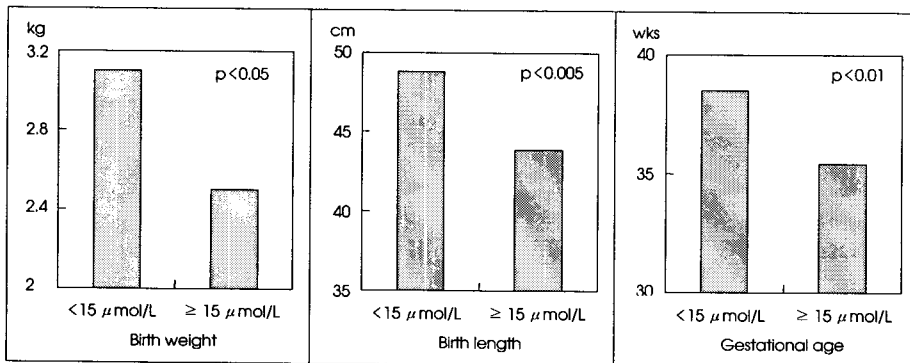


Fig. 2. The pregnancy outcomes according to the serum homocysteine levels.

5. 임신부의 MTHFR 유전자형과 혈청 비타민 B 수준의 상호작용이 임신결과에 미치는 영향

Fig. 4는 임신 중반 혈청 비타민 B 농도와 MTHFR 유전자형의 상호작용에 따른 임신결과를 분석한 것이다. 혈청 FMN 수준과 MTHFR 유전자형이 임신결과에 미치는 영향에 관한 분산 분석을 실시한 결과, 1분, 5분의 Apgar scores 및 출생 신장은 혈청 FMN 수준 및 MTHFR 유전자형과 두 가지 인자의 상호작용에 의하여 영향을 받는 것으로 나타났다. 임신 중반의 혈청 FMN 수준이 중간값 미만 이면서 동시에 MTHFR 유전자형이 T/T형인 임신부에서 태어난 아동의 1분, 5분 Apgar scores가 유의적으로 더 낮았으며 ($p < 0.001$), 출생 신장 역시 유의적으로 더 낮게 나타났다 ($p < 0.05$). 분산분석 결과, 1분, 5분의 Apgar

scores는 임신중반의 혈청 PLP 수준과 MTHFR 유전자형 및 두 가지 요인의 상호작용에 의하여 영향을 받는 것으로 나타났으며 ($p < 0.01$, $p < 0.01$), 임신 중반의 PLP 미만이면서 동시에 MTHFR 유전자형이 T/T형인 임신부에서 태어난 아동의 1분, 5분 Apgar scores가 유의적으로 더 낮았다 ($p < 0.05$).

고 찰

본 연구에서는 임신 중반 모체의 혈청 비타민 B 농도와 호모시스테인 수준 및 MTHFR 유전자형이 임신결과에 미치는 영향을 분석하고자 하였다. 그 결과, 임신중 호모시스테인 수준은 출생 아동의 체중과 신장 및 재태기간에 영향

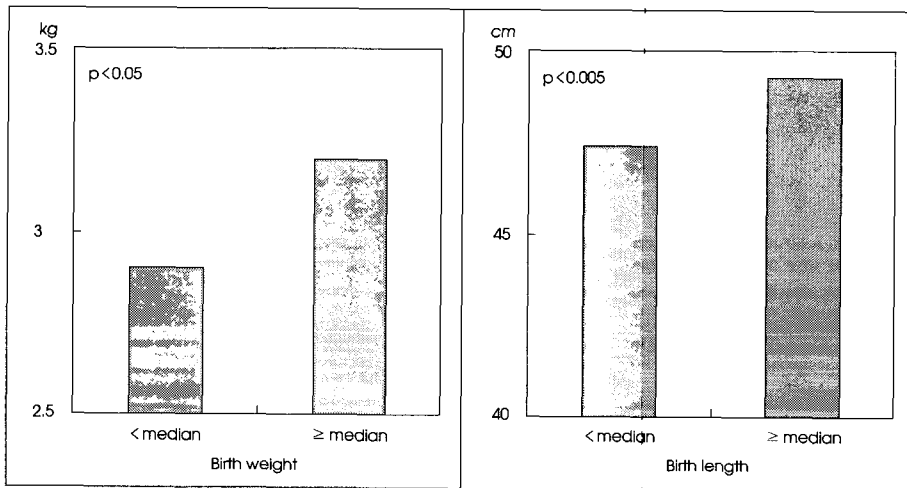


Fig. 3. The pregnancy outcomes according to the serum PLP levels.

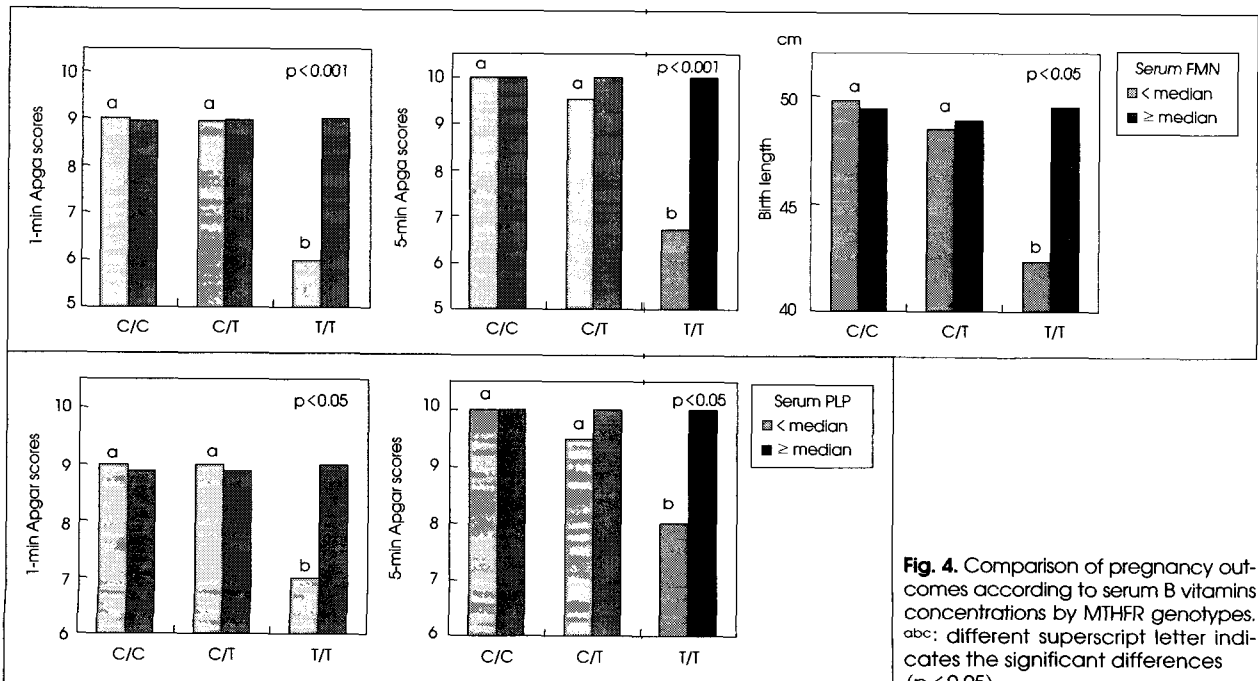


Fig. 4. Comparison of pregnancy outcomes according to serum B vitamins concentrations by MTHFR genotypes. abc: different superscript letter indicates the significant differences ($p < 0.05$).

을 미치는 것으로 나타났으며, 혈청 호모시스테인 수준이 $15 \mu\text{mol/L}$ 이상으로 고호모시스테인혈증인 임신부에서 태어난 아동의 출생 체중 ($p < 0.05$)과 출생 신장 ($p < 0.005$)이 작았고 제태기간이 더 짧은 것으로 나타났다 ($p < 0.01$). 혈청 호모시스테인 수준이 adverse pregnancy outcome의 중요한 생화학적 지표가 될 수 있는 것으로 제시된 바 있으며,²³⁾ 임신여성 145명을 대상으로 임신 중반 혈청 호모시스테인 수준과 임신 결과와의 상관관계를 분석한 결과, 임신 중 혈청 호모시스테인 수준이 $7.5 \mu\text{mol/L}$ 이상인 임신부에서 태어난 아동에서 저체중아 ($< 2500 \text{ g}$) 및 조산아 출생 비율이 유의적으로 더 높다는 보고도 있었다.²⁴⁾ 40~42세 여성들의 혈청 호모시스테인 수준을 5분위수로 나누어 이들의 과거 임신결과와의 상관성을 분석했던 Hordaland Homocysteine Study²⁵⁾에서는 혈청 호모시스테인 수준이 높을수록 저체중아 출산율과 조산아 출산율이 각각 48%와 38%나 더 증가된 것으로 나타났다. 또한 이 연구에서는 혈청 호모시스테인 수준이 $15 \mu\text{mol/L}$ 이상인 임신부에서 태반의 조기박리 (abruption) 위험이 313%나 더 높았다고 보고되었다.

본 연구 결과는 모체의 혈청 호모시스테인 수준이 바람직하지 못한 임신결과 및 임신 합병증과 관련이 있다는 연구 결과와 일치하는 것이라 하겠다. 모체의 호모시스테인 수준이 임신결과에 미치는 영향에 관한 기전으로 호모시스테인 농도가 엽산 영양 상태 불량을 반영하는 것인지 혹은 호모시스테인 자체가 해로운 것인지는 아직 밝혀져 있지 않다. Khong 등²⁶⁾은 임신부 14명 중 고호모시스테인혈증을 가진 임신부의 태반에서 병변이 있음을 관찰하였고, 임신 말기의 급성 동맥경화와 자궁내 endovascular trophoblast와 자궁태반 혈관의 혈전증을 관찰하였으며, 이 중 엽산을 보충받은 임신부에서는 임신결과가 호전되었다고 보고하였다. 임신 중 고호모시스테인혈증이 바람직하지 못한 임신결과에 영향을 미치는 기전으로는 비타민 B 영양상태가 불량한 경우 호모시스테인의 remethylation과 생화학적 methylation 및 DNA 합성에 영향을 미쳐 세포 증식과 정상적인 태아 성장에 영향을 줄 수 있다고 하였으며,²⁷⁾ Chambers 등²⁸⁾은 임신 중 모체의 혈청 호모시스테인 수준의 상승은 혈관 상피세포의 손상, smooth muscle cell의 증식과 혈전생성 및 NO 활성 감소와 같은 혈관 기능장애를 야기시키고, 이로 인해 태반의 동맥경화와 혈전증을 유발함으로써 임신 결과에 영향을 미친다고 하였다.

혈청 호모시스테인 수준에 영향을 미치는 유전적 요인인 MTHFR 유전자의 동형접합성 돌연변이 역시 바람직하지 못한 임신결과와 관련이 있는 것으로 알려져 있다. Alfirevic

등²⁹⁾은 T/T형의 MTHFR 유전자 돌연변이가 있는 경우 태내성장지연에 관한 위험이 5.0배나 높았고 이들의 혈청 호모시스테인 수준은 C/C형이나 C/T형에 비해 더 높았다고 보고하였다. Gebhardt 등³⁰⁾의 연구에서도 C677T와 A1298C의 이형접합성 돌연변이가 동시에 있는 경우 태반 조기박리와 태내성장지연 위험이 높았다고 하였다. 본 연구에서도 T/T형인 임신부에서 태어난 아동의 출생 신장 ($p < 0.05$) 및 1분과 5분의 Apgar scores ($p < 0.005$)가 C/C 혹은 C/T형인 임신부에서 태어난 아동에 비해 유의적으로 낮았다. MTHFR 유전자형의 돌연변이와 바람직하지 못한 임신결과와의 관련성은 임신 중 고호모시스테인혈증과 관련되어 있는 것으로 보인다.^{29,30)} 그밖에도 MTHFR 유전자의 돌연변이가 있는 경우 신경관 결함을 보이는 경우가 많았고, 전자간증 (preeclampsia)을 보이는 임신부의 비율이 더 높다는 보고도 있었다.

혈청 호모시스테인 수준에 영향을 미치는 영양적 요인인 비타민 B 영양상태와 임신결과를 본 결과, 임신 중반 혈청 PLP 수준이 중간값 미만인 임신부에서 태어난 아동의 출생 체중 ($p < 0.05$)과 출생 신장 ($p < 0.005$)이 유의적으로 낮았고, 특히 MTHFR 유전자형이 T/T형이면서 혈청 PLP 수준이 중간값 미만인 임신부에서 태어난 아동이 1분, 5분의 Apgar scores가 가장 낮음을 관찰하였다 ($p < 0.05$). 비타민 B₆는 임신 중 혈청 수준이 감소하는 수용성 비타민으로³¹⁾ Schuster 등^{32,33)}은 임신 중 모체의 혈청 비타민 B₆ 수준이 낮거나 비타민 B₆ 섭취량이 부족한 임신부에서 태어난 아기의 Apgar scores가 비타민 B₆ 영양상태가 정상인 임신부에서 태어난 아동에 비해 더 낮았다고 하였다. 국내 임신부를 대상으로 한 안 등¹⁷⁾의 연구에서 역시 모체의 혈청 pyridoxal 농도와 아기의 출생 체중과 양의 상관관계가 나타나 본 연구 결과와 유사한 결과를 보였다. 특히 PLP수준이 중간값 미만이면서 동시에 MTHFR 유전자형이 T/T형인 임신부에서 태어난 아동들의 Apgar scores가 가장 낮았으며, 데이터를 제시하지는 않았으나 임신 중반의 혈청 PLP 농도가 중간값 미만이면서 T/T형인 임신부들의 혈청 호모시스테인이 가장 높았다는 점 ($p < 0.05$)을 보아 임신 중의 비타민 B₆ 영양상태는 모체의 혈청 호모시스테인 수준에 영향을 미치고 임신결과에 영향을 줄 수 있는 것으로 사료된다. PLP는 비타민 B₆의 활성형태로 cystathionine synthase의 조효소로 호모시스테인 대사에 관여하며, THF (tetrahydrofolate)를 5, 10-methylene THF로 전환시키는 과정 역시 PLP가 필요하다.³⁴⁾ 몇 가지 연구들에서 비타민 B₆ 결핍이 고호모시스테인혈증을 야기시키며 이로 인해 바람직하지 못한 임신결과를 야기시킨다는 것을 보여주

었다.^{8,35)} 또한 Leena⁸⁾ 등은 임신 중 엽산과 비타민 B₆를 동시에 보충했을 때 고호모시스테인혈증을 가진 임신부에서 출생 체중의 향상을 가져올 수 있었다고 하였다.

본 실험 결과 모체의 비타민 B₂ 영양상태는 임신결과에 영향을 주지 않았으나, T/T형의 임신부에서 혈청 FMN 수준이 낮은 경우 Apgar score와 출생 신장이 가장 낮은 것으로 나타났다. 비타민 B₂는 FAD 형태로 MTHFR 효소의 조효소로 이용된다. 동물 실험에서 riboflavin이 결핍된 쥐에서 MTHFR 효소의 활성이 감소되고 간의 5-methyl THF 양이 감소한다는 결과를 얻었으며,³⁶⁾ 몇몇 연구들³⁷⁻³⁹⁾에서 혈장 비타민 B₂ 수준이 C/T형 혹은 T/T형의 대상자에서 혈장 호모시스테인 수준과 음의 dose-response한 관계가 있었음이 보고되었다. 본 실험에서 T/T형인 임신부에서 혈청 FMN 수준이 중간값 미만인 임신부의 혈청 호모시스테인 수준이 C/C형인 임신부에 비해 높았음을 볼 때, 모체의 비타민 B₂ 영양상태는 혈청 호모시스테인 수준 및 임신결과에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

본 실험 결과, 임신 중반 혈청 호모시스테인 수준은 모체의 혈청 엽산 수준과 강한 음의 상관관계를 보였고 (자료 제시하지 않음. 다중회귀분석 결과 : $\beta = -0.442, p < 0.001$), 특히 MTHFR 유전자형과의 상호작용을 통해 혈청 호모시스테인 수준을 결정하는 것 ($p < 0.001$)으로 나타났음에도 불구하고 임신 중반의 혈청 엽산 수준에 따른 임신결과는 차이가 없는 것으로 나타났다. 임신말 모체의 혈청 엽산 농도와 임신결과와의 상관성을 분석한 안 등의 연구¹⁹⁾에서도 혈청 엽산 농도는 재태기간, 출생 체중 및 Apgar scores와 관계가 없었으며, 이는 혈청 엽산 영양상태가 비교적 양호한 임신부를 대상으로 하였기 때문이라고 설명하였다

이상의 결과를 종합해 볼 때, 임신 중반의 비타민 B₂ 및 비타민 B₆ 영양상태는 임신부의 MTHFR 유전자형과 더불어 모체의 혈청 호모시스테인 수준에 영향을 미치고, 임신 중반 모체의 혈청 호모시스테인 수준의 상승은 아동의 출생 체중, 신장, 제태기간 및 Apgar scores 등에 바람직하지 못한 영향을 주는 것으로 나타났다. 따라서 바람직한 임신결과를 위해서는 임신 중 모체의 비타민 B 영양상태를 유지하여야 하며, 특히 74.9%의 임신부가 30 nmol/L미만의 결핍 수준을 보였다는 점을 감안할 때, 임신 중 비타민 B₆ 보충이 고려되어야 할 것으로 사료된다.

요약 및 결론

본 연구에서는 임신 중반의 혈청 비타민 B 영양상태와 혈

청 호모시스테인 수준 및 임신부의 MTHFR 유전자형이 임신결과에 미치는 영향을 보고자 하였다. 그 결과, 임신 중반의 모체의 혈청 PLP 수준 및 FMN 수준은 MTHFR 유전자형과의 상호작용을 통해 혈청 호모시스테인 수준에 영향을 미치고 모체의 혈청 PLP수준이 낮거나 호모시스테인 수준이 높은 경우 혹은 T/T형의 MTHFR 유전자 돌연변이가 있을 경우 바람직하지 못한 임신결과를 보이는 것으로 나타났다. 이상의 결과를 볼 때, 임신 중 비타민 B 영양결핍은 모체의 혈청 호모시스테인 수준에 영향을 미치게 되고, 이로 인해 바람직하지 못한 임신결과가 초래된다는 점과 임신 중 혈장 부피의 상승 및 비타민의 소변 배설량의 증가 등과 같은 임신에 따른 생리적 변화로 인해 상당수의 임신부에서 비타민 B 결핍이 존재한다는 점을 감안할 때, 비타민 B 영양상태의 개선을 통해 바람직하지 못한 임신결과를 예방할 수 있을 것으로 생각된다.

Literature cited

- 1) Walker MC, Smith GN, Perkins SL, Keely EJ, Garner PR. Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 180: 660-664, 1999
- 2) 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
- 3) Mill JL, McPartlin JM, Kirke PN. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural tube defects. *Lancet* 345: 149-151, 1995
- 4) Rosenquist TH, Ratashak SA, Selhub J. Homocysteine induces congenital defects of the heart and neural tube: effect of folic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 15227-15232, 1995
- 5) Aubard Y, Darodes N, Cantaloube M. Hyperhomocysteinemia and pregnancy-review of our present understanding and therapeutic implications. *Eur J Obstet Gynecol* 93: 157-165, 2000
- 6) Scholl TO, Johnson WG. Folic acid: influence on the outcome of pregnancy. *Am J Clin Nutr* 71: 1295S-1303S, 2000
- 7) Wouters MG, Boers GH, Blom HJ, Trijbels FJ, Thomas CM, Borm GF, Steegers-Theunissen RP and Eskes TK. Hyperhomocysteinemia: A risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertil Steril* 60: 820-825, 1993
- 8) 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
- 9) Goddijn-Wessel TAW, Wouters MG, v.d. 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
- 10) Kang SS, Wong PWK, Cook HY, Norusis M, Messer JV. Pro-

- tein-bound homocyst(e)ine. *J Clin Invest* 77: 1482-1486, 1986
- 11) Rady PL, Szucs S, Grady J, Hudnall SD, Kellner LH, Nitowsky H, Tying SK, Matalon RK. Genetic Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and methionine synthase reductase (MTRR) in ethnic populations in Texas: A report of a novel MTHFR polymorphic site, G1793A. *Am J Med Genet* 107: 162-168, 2002
 - 12) van der Put NMI, Blom HJ. Neural tube defects and a disturbed folate dependent homocysteine metabolism. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 92: 57-61, 2000
 - 13) Gaughan DJ, Kluijtmans LA, Barbaux S, McMaster D, Young IS, Yarnell JW, Evans A, Whitehead AS. The methionine synthase reductase (MTRR) A66G polymorphism is a novel genetic determinant of plasma homocysteine concentrations. *Atherosclerosis* 157: 451-456, 2001
 - 14) Chango A, Emery-Fillon N, de Courcy GP, Lambert D, Pfister M, Rosenblatt DS, Nicolas JP. A polymorphism (80G→A) in the reduced folate carrier gene and its associations with folate status and homocysteinemia. *Mol Genet Metab* 70: 310-315, 2000
 - 15) Perry DJ. Hyperhomocysteinemia. *Baillieres Clin Haematol* 12: 451-477, 1999
 - 16) 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, 2001
 - 17) Ahn HS, Lee GJ, Kim YT. Relationship between vitamin B₆ status of maternal-umbilical cord plasma and pregnancy outcomes. *Korean J Nutr* 33 (3): 263-270, 2000
 - 18) Ahn HS, Lee GJ, Chung HW. Maternal vitamin B₆ intake and vitamin B₆ level in maternal, umbilical cord plasma and placenta. *Korean J Nutr* 35: 322-331, 2002
 - 19) 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
 - 20) 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
 - 21) Botticher B, Botticher D. A new HPLC-method for the simultaneous determination of B₁-, B₂- and B₆-vitamins in serum and whole blood. *Int J Vitam Nutr Res* 57: 273-298, 1987
 - 22) Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard C, Matthews R, Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP, Rozen R. A candidate genetic risk factor for vascular disease: A common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 10: 111-113, 1995
 - 23) 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
 - 24) Bondevik GT, Schneede J, Refsum H, Lie RT, Ulstein M, Kvale G. Homocysteine and methylmalonic acid levels in pregnant Nepali women. Should cobalamin supplementation be considered? *Eur J Clin Nutr* 55: 856-864, 2001
 - 25) 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:
 - 26) Khong TY, Hague WM. The placenta in maternal hyperhomocysteinemia. *Br J Obstet Gynaecol* 106(3): 273-278, 1999
 - 27) Locksmith GJ, Duff P. Preventing neural tube defects: the importance of periconceptional folic acid supplements. *Obstet Gynecol* 91: 1027-1034, 1998
 - 28) Chambers JC, McGregor A, Jean-Marie J, Kooner JS. Acute hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction. *Lancet* 351: 35, 1998
 - 29) Alfirevic Z, Mousa HA, Martlew V, Briscoe L, Perez-Casal M, Toh CH. Postnatal screening for thrombophilia in women with severe pregnancy complications. *Obstet Gynecol* 97(5 Pt 1): 753-9, 2001
 - 30) Gebhardt GS, Scholtz CL, Hillermann R, Odendaal HJ. Combined heterozygosity for methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) mutations C677T and A1298C is associated with abruptio placentae but not with intrauterine growth restriction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 97(2): 174-177, 2001
 - 31) 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
 - 32) Schuster K, Bailey LB, Mahan CS. Effect of maternal pyridoxine X HCl supplementation on the vitamin B-6 status of mother and infant and on pregnancy outcome. *J Nutr* 114(5): 977-988, 1984
 - 33) Schuster K, Bailey LB, Mahan CS. Vitamin B₆ status of low-income adolescent and adult pregnant women and the condition of their infants at birth. *Am J Clin Nutr* 34(9): 1731-1735, 1981
 - 34) Bruinse HW, van den Berg H. Changes of some vitamin levels during and after normal pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol* 61: 31-37, 1995
 - 35) van den Berg M, Franken DG, Boers GHJ, Blom HJ, Jakobs C, Stehouwer CDA, Rauwerda JA. Combined vitamin B₆ plus folic acid therapy in young patients with arteriosclerosis and hyperhomocysteinemia. *J Vasc Surg* 20: 933-940, 1994
 - 36) Bates CJ, Fuller NJ. The effect of riboflavin deficiency on methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH) (EC 1.5.1.20) and folate metabolism in the rat. *Br J Nutr* 55: 455-464, 1986
 - 37) Hustad S, Ueland PM, Vollset SE, Zhang Y, Bjorke-Monsen AL, Schneede J. Riboflavin as a determinant of plasma total homocysteine: effect modification by the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism. *Clin. Chem* 46(8 Pt 1): 1065-1071, 2000
 - 38) McNulty H, McKinley MC, Wilson B, McPartlin J, Strain JJ, Weir DG, Scott JM. Impaired functioning of thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase is dependent on riboflavin status: implications for riboflavin requirements. *Am J Clin Nutr* 76: 436-441, 2002
 - 39) Jacques PF, Kambach R, Bagley P, Russo GT, Rogers G, Wilson PWF, Roseberg IH, Selhub J. The relationship between riboflavin and plasma total homocysteine in the Framingham offspring cohort is influenced by folate status and the C677T transition in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *J Nutr* 132: 283-288, 2002