

论著·临床研究

## 母亲糖尿病及 *UCP2* 基因多态性与子代先天性心脏病关联的病例对照研究

罗柳<sup>1</sup> 黄鹏<sup>2</sup> 王婷婷<sup>1</sup> 赵丽娟<sup>1</sup> 叶子薇<sup>1</sup> 张森茂<sup>1</sup> 陈乐陶<sup>1</sup>  
刁静怡<sup>1</sup> 李金琦<sup>1</sup> 李依寰<sup>1</sup> 秦家碧<sup>1</sup>

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

**[摘要]** **目的** 探讨母亲糖尿病、解偶联蛋白2基因(*UCP2*)多态性及两者的交互作用与子代先天性心脏病(CHD)的关系。**方法** 采用以医院为基础的病例对照研究,选择2018年3月至2019年8月在湖南省儿童医院确诊的464例单纯CHD患儿的母亲为病例组,选择同期住院、无先天畸形的504例患儿的母亲为对照组。通过问卷调查,收集相关暴露信息,同时采集母亲静脉血5 mL,用于*UCP2*基因多态性检测。采用多因素logistic回归分析探讨母亲糖尿病、*UCP2*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,在控制混杂因素后,患有妊娠期糖尿病( $OR=2.96$ , 95% $CI$ : 1.57~5.59)、有妊娠期糖尿病史( $OR=3.16$ , 95% $CI$ : 1.59~6.28)和妊娠前患有糖尿病( $OR=4.52$ , 95% $CI$ : 2.41~8.50)均显著增加子代CHD的风险( $P<0.05$ )。母亲*UCP2*基因两个位点rs659366(T/C vs C/C;  $OR=1.49$ , 95% $CI$ : 1.02~2.16; T/T vs C/C;  $OR=2.77$ , 95% $CI$ : 1.67~4.62)和rs660339(A/A vs G/G;  $OR=2.19$ , 95% $CI$ : 1.34~3.58)的多态性与子代CHD的风险存在关联( $P<0.05$ )。交互作用分析显示,*UCP2*基因两个位点(rs659366和rs660339)的多态性与母亲糖尿病在子代CHD发生中存在交互作用( $P<0.05$ )。**结论** 母亲糖尿病、*UCP2*基因多态性及其交互作用与子代CHD发病相关。  
**[中国当代儿科杂志, 2020, 22(10): 1092-1099]**

**[关键词]** 先天性心脏病; 糖尿病; *UCP2*基因; 病例对照研究; 交互作用; 子代

### Association of maternal diabetes mellitus and *UCP2* gene polymorphisms with congenital heart disease in offspring: a case-control study

LUO Liu, HUANG Peng, WANG Ting-Ting, ZHAO Li-Juan, YE Zi-Wei, ZHANG Sen-Mao, CHEN Le-Tao, DIAO Jing-Yi, LI Jin-Qi, LI Yi-Huan, QIN Jia-Bi. Department of Epidemiology and Health Statistics, Xiangya School of Public Health, Central South University, Changsha 410078, China (Qin J-B, Email: qinjiabi@csu.edu.cn)

**Abstract: Objective** To study the association of maternal diabetes mellitus (DM), uncoupling protein 2 (*UCP2*) gene polymorphisms, and their interaction with the risk of congenital heart disease (CHD) in offspring. **Methods** A hospital-based case-control study was conducted. A total of 464 mothers of children with CHD alone who were diagnosed in Hunan Children's Hospital from March 2018 to August 2019 were enrolled as the case group. A total of 504 mothers of healthy children who were hospitalized during the same period and did not have any deformity were enrolled as the control group. A questionnaire survey was performed to collect the information on exposure. Venous blood samples (5 mL) were collected from the mothers to detect *UCP2* gene polymorphisms. A multivariate logistic regression analysis was used to investigate the association of maternal DM, *UCP2* gene polymorphisms, and their interaction with CHD in offspring. **Results** After control for confounding factors, the multivariate logistic regression analysis showed that mothers with gestational DM ( $OR=2.96$ , 95% $CI$ : 1.57-5.59), a history of gestational DM ( $OR=3.16$ , 95% $CI$ : 1.59-6.28), and pregestational DM ( $OR=4.52$ , 95% $CI$ : 2.41-8.50) significantly increased the risk of CHD in

[收稿日期] 2020-04-02; [接受日期] 2020-08-05

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81803313); 湖南省重点研发计划项目(2018SK2063); 湖南省托举人才项目(2020TJ-N07); 湖南省自然科学基金项目(2018JJ2551)。

[作者简介] 罗柳,女,硕士研究生。

[通信作者] 秦家碧,男,教授。Email: qinjiabi@csu.edu.cn。

offspring ( $P<0.05$ ). The polymorphisms of the *UCP2* gene at rs659366 (T/C vs C/C:  $OR=1.49$ , 95% $CI$ : 1.02-2.16; T/T vs C/C:  $OR=2.77$ , 95% $CI$ : 1.67-4.62) and rs660339 (A/A vs G/G:  $OR=2.19$ , 95% $CI$ : 1.34-3.58) were significantly associated with risk of CHD in offspring ( $P<0.05$ ). The interaction analysis showed an interaction between the polymorphisms of the *UCP2* gene at rs659366 and rs660339 and maternal DM in the development of CHD ( $P<0.05$ ).

**Conclusions** Maternal DM, *UCP2* gene polymorphisms, and their interaction are associated with the development of CHD in offspring.

[Chin J Contemp Pediatr, 2020, 22(10): 1092-1099]

**Key words:** Congenital heart disease; Diabetes mellitus; *UCP2* gene; Case-control study; Interaction; Offspring

先天性心脏病 (congenital heart disease, CHD) 是最常见的出生缺陷, 全球范围内 CHD 的发病率为 9%<sup>[1]</sup>。CHD 病因复杂, 目前认为是环境和遗传因素共同作用的结果。多项前瞻性队列研究表明, 母亲患糖尿病, 包括孕前糖尿病和妊娠期糖尿病, 是 CHD 发病的重要环境因素, 且几乎与所有 CHD 亚型相关<sup>[2-5]</sup>。研究发现高氧化应激水平是糖尿病发生的重要原因<sup>[6]</sup>。动物实验发现孕前糖尿病鼠胎心脏内也存在高氧化应激水平<sup>[7]</sup>, 且发现给予孕前糖尿病小鼠抗氧化剂以降低氧化应激水平, 其胎鼠 CHD 的发生率显著减低<sup>[8]</sup>, 这提示孕前糖尿病时高氧化应激水平是导致心脏畸形的重要原因<sup>[6]</sup>。解偶联蛋白 2 (uncoupling protein 2, UCP2) 是线粒体内膜上解偶联蛋白家族成员之一, 参与调控细胞内过氧化物质的生成<sup>[9-10]</sup>。过氧化物质能通过各种机制作用于胚胎和机体<sup>[6,11-12]</sup>, 影响胚胎发育和相关疾病的发生发展。研究表明 *UCP2* 基因多态性能增加胎儿神经管畸形和 2 型糖尿病的风险<sup>[13-15]</sup>, 但与 CHD 的关系的研究尚未见报道。基于以上背景, 本研究采用病例对照研究, 探讨母亲糖尿病、*UCP2* 基因多态性及两者交互作用与子代 CHD 的关系, 以期对 CHD 的病因研究提供新的线索。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

采用以医院为基础的病例对照研究, 选择 2018 年 3 月至 2019 年 8 月在湖南省儿童医院心胸外科确诊住院的 464 例 0~1 岁单纯 CHD (指不伴有其他器官畸形) 患儿的母亲为病例组。其中所诊断的 CHD 的具体亚型包括: 室间隔缺损 (336 例)、动脉导管未闭 (130 例)、房间隔缺损 (128 例) 和房室隔缺损 (50 例)。选择同期因感冒、腹泻、外伤等就诊于同一所医院的 504 例 0~1 岁儿童的母亲为对照组, 对照组儿童经询问病史, 临床检查排除 CHD 及其他出生缺陷。所有研究对象均为汉

族。本研究已获中南大学湘雅公共卫生学院伦理委员会审批并进行了临床试验注册 (伦理审批号: XYGW-2018-07; 注册号: ChiCTR1800016635)。参与本研究的研究对象均签署了知情同意书。

### 1.2 问卷调查

本研究使用统一的问卷调查表, 所有调查员经过统一培训, 以访谈的形式对研究对象进行流行病学问卷调查。调查内容包括研究对象糖尿病暴露史和基本情况。其中糖尿病暴露史部分的调查包括询问本次怀孕妊娠期和孕前糖尿病患病情况及既往有无妊娠糖尿病史。为防止回忆偏倚, 本研究结合孕母妇幼保健手册, 以进一步确认母亲糖尿病暴露信息。研究对象的基本情况部分调查包括: 研究对象基本社会人口学特征 (孕龄、文化程度、孕前体重指数、家庭年收入、居住地等)、家族成员出生缺陷史、个人既往先天畸形史、三代以内近亲结婚家族史、孕前及孕早期叶酸补充情况、孕早期感冒和发烧史、孕前 3 个月及孕早期生活方式 (主动吸烟、二手烟暴露、饮酒史、饮茶史、喝咖啡史等)、孕前 3 个月及孕早期环境有害物质暴露情况 (化妆品使用、居住点周围工厂环境有害污染物排放、居住地周围公路或交通干道噪声、染发烫发、居室装修、宠物喂养) 和孕前 3 个月及孕早期饮食习惯 (腌制食品、烧烤或油炸食品、鲜肉、鱼虾、蔬菜、新鲜水果、新鲜鸡蛋、大豆及豆制品和奶制品的摄入频率) 等。此外, 本研究也收集研究对象配偶的年龄、饮酒史、吸烟史等基本情况。

### 1.3 DNA 的提取和基因多态性检测

(1) DNA 提取: 抽取两组研究对象 5 mL 静脉血放入 EDTA 抗凝管, 3000 r/min 离心 15 min 以分离血浆和血细胞, 分装血浆和血细胞, 将血细胞置于  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱中低温保存备用。采用 QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) 提取血细胞中的 DNA, 用紫外分光光度计测定 DNA 溶液的浓度和纯度。

(2) 基因多态性检测: 通过查阅文献筛选与糖尿病有关的 *UCP2* 基因热点突变位点。本研究选取 3 个热点突变位点 (分别为 rs659366、rs660339、rs591758) 作为研究候选位点<sup>[13-14]</sup>。应用 MassARRAY 飞行时间质谱对 3 个位点的单核苷酸多态性 (SNP) 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。其中聚合酶链反应引物、循环条件和预期产物的大小参考既往文献<sup>[13-14]</sup>。

#### 1.4 统计学分析

采用 EpiData3.1 软件建立数据库。应用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析, 以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。计数资料采用例数和构成比或率 (%) 表示。二分类变量采用  $\chi^2$  检验或者 Fisher 精确概率检验, 有序多分类变量采用 Wilcoxon 秩和检验。在描述比较基因多态性位点基因型分布频率之前, 对对照组人群进行 Hardy-Weinberg 平衡检验,  $P \geq 0.05$  则说明各基因频率达到遗传平衡。采用单因素和多因素 logistic 回归分析, 分别计算未调整和调整的相对危险比 (OR) 及 95% 可信区间 (CI), 并控制潜在的混杂因素, 以检验母亲糖尿病暴露、*UCP2* 基因多态性与 CHD 的关联强度。采用 logistic 回归模型对 *UCP2* 基因和母亲糖尿病暴露间可能存在的交互作用进行定性判断和定量分析及显著性检验。在模型中, 将诊断组 (病例组 vs 对照组) 设为因变量 (二元结果), 将相应的混杂因素、母亲糖尿病史、*UCP2* 基因的基因型、基因与糖尿病的相互作用设为自变量 (协变量), 通过 logistic 回归分析计算调整的 OR。使用交互系数 ( $\gamma$ ) 确定变量间是否存在相加交互作用。 $\gamma$  值通过 logistic 回归分析的回归系数 ( $\beta$ ) 计算获得, 计算方法如下:  $\gamma_1 = \beta_e * g / \beta_g$ ,  $\gamma_2 = \beta_e * g / \beta_g$ 。其中,  $\beta_e$  和  $\beta_g$  分别表示仅有母亲糖尿病暴露存在和仅有 *UCP2* 基因 SNP 存在时的回归系数,  $\beta_e * g$  表示 *UCP2* 基因 SNP 和母亲糖尿病暴露同时存在时的回归系数。当两个  $\gamma$  值均大于 1 且交互项回归系数  $P < 0.05$  时, 表明基因对糖尿病的效应有放大作用,

存在正交互作用, 即两因素同时存在时效应增强; 当两个  $\gamma$  值小于 1 且交互项回归系数  $P < 0.05$  时, 表明基因对糖尿病的效应有减弱作用, 存在负交互作用, 即两因素同时存在时效应减弱; 当  $\gamma$  值等于 1 时, 表明两因素之间不存在交互作用。

## 2 结果

### 2.1 两组基线资料的比较

表 1 显示, 孕母文化程度、家庭年收入、居住地、家族成员出生缺陷史、家族三代近亲结婚史、孕前 3 个月及孕早期叶酸补充情况、孕早期感冒发烧、孕前 3 个月及孕早期生活方式 (主动吸烟、二手烟暴露、饮酒、饮茶、喝咖啡)、孕前 3 个月及孕早期环境有害物质接触 (化妆品使用、居住地附近环境有害污染物排放、居住地靠近公路或交通干道、喂养宠物和染发烫发)、孕前 3 个月及孕早期饮食习惯 (烧烤或油炸食品、鱼虾、新鲜蛋类、新鲜水果、豆类食品和奶制品的摄入频率)、配偶文化程度、配偶吸烟史和配偶饮酒史在两组的比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。这些差异有统计学意义的因素将作为后续多因素分析的混杂因素进行控制。

### 2.2 母亲糖尿病与子代 CHD 的关联分析

单因素分析显示, 本次妊娠是否患妊娠期糖尿病 ( $\chi^2 = 16.018$ ,  $P < 0.001$ )、既往妊娠是否患妊娠期糖尿病 ( $\chi^2 = 14.082$ ,  $P < 0.001$ ) 和本次妊娠前是否患糖尿病 ( $\chi^2 = 28.414$ ,  $P < 0.001$ ) 的分布频率在病例组和对照组间差异有统计学意义。调整表 1 基线资料比较中差异有统计学意义的混杂因素后, 多因素 logistic 回归分析结果显示, 本次妊娠患妊娠期糖尿病 (OR=2.96, 95%CI: 1.57~5.59)、既往妊娠患妊娠期糖尿病 (OR=3.16, 95%CI: 1.59~6.28) 和本次妊娠前患糖尿病 (OR=4.52, 95%CI: 2.41~8.50) 均显著增加子代 CHD 的风险。见表 2。

表1 对照组和病例组的基线资料比较 (例)

项目	对照组 (n=504)	病例组 (n=464)	$\chi^2/Z$ 值	P 值
孕龄 (<35/ ≥ 35, 岁)	434/70	404/60	0.191	0.662
孕母文化程度 (小学及以下 / 初中 / 高中 / 大学及以上)	6/100/168/230	66/190/130/78	12.306	<0.001
孕前 BMI (<18.5/18.5~23.9/24.0~27.9/ ≥ 28.0, kg/m <sup>2</sup> )	116/288/64/36	98/286/58/22	6.326	0.176
家庭年收入 (≤ 5/6~10/11~15/ ≥ 16, 万元)	144/216/46/98	372/68/10/14	15.946	<0.001
居住地 (农村 / 城市)	276/228	344/120	39.390	<0.001
家族成员出生缺陷史 (有 / 无)	4/500	28/436	20.759	<0.001
个人既往先天畸形史 (有 / 无)	2/502	4/460	-	0.434*
家族三代近亲结婚史 (有 / 无)	2/502	18/446	14.480	<0.001
孕前3个月及孕早期叶酸补充 (有 / 无)	470/34	386/78	23.917	<0.001
孕早期感冒发烧 (有 / 无)	58/446	98/366	16.513	<0.001
孕前3个月及孕早期生活方式				
主动吸烟 (有 / 无)	10/494	32/432	14.046	<0.001
二手烟暴露 (有 / 无)	188/316	242/222	21.589	<0.001
饮酒 (有 / 无)	36/468	60/404	9.060	0.003
饮茶 (有 / 无)	102/402	60/404	9.257	0.002
喝咖啡 (有 / 无)	22/482	44/420	9.959	0.002
孕前3个月及孕早期环境有害物质接触				
化妆品使用频率 (从不 / 有时 / 经常 / 每天)	316/124/28/36	338/54/30/42	2.525	0.012
居住地附近环境有害污染物排放 (有 / 无)	34/470	94/370	38.443	<0.001
居住地靠近公路或交通干道 (有 / 无)	92/412	124/340	9.999	0.002
房屋是否装修 (有 / 无)	26/478	34/430	1.955	0.162
喂养宠物 (有 / 无)	32/472	60/404	12.168	<0.001
辐射暴露 (有 / 无)	10/494	18/446	3.089	0.079
染发烫发 (有 / 无)	30/474	58/406	12.532	<0.001
孕前3个月及孕早期饮食习惯 (次 / 周)				
腌制食品 (从不 / ≤ 2/3~5/ ≥ 6)	276/212/14/2	280/164/16/4	-1.515	0.284
烧烤或油炸食品 (从不 / ≤ 2/3~5/ ≥ 6)	306/178/16/4	358/94/10/2	-5.431	<0.001
新鲜肉类 (从不 / ≤ 2/3~5/ ≥ 6)	14/28/88/374	14/42/62/346	-0.193	0.847
鱼虾 (从不 / ≤ 2/3~5/ ≥ 6)	22/146/136/200	98/232/94/40	-13.381	<0.001
新鲜蛋类 (从不 / ≤ 2/3~5/ ≥ 6)	24/56/116/308	60/126/102/176	-8.450	<0.001
新鲜蔬菜 (从不 / ≤ 2/3~5/ ≥ 6)	2/12/22/468	2/10/22/430	-0.100	0.920
新鲜水果 (从不 / ≤ 2/3~5/ ≥ 6)	10/26/56/412	16/52/62/334	-3.806	<0.001
豆类或豆制品 (从不 / ≤ 2/3~5/ ≥ 6)	70/146/128/160	118/192/94/60	-8.029	<0.001
奶制品 (从不 / ≤ 2/3~5/ ≥ 6)	98/104/110/192	182/102/52/128	-6.488	<0.001
配偶基本特征				
年龄 (<35/ ≥ 35, 岁)	338/166	302/162	0.422	0.516
文化程度 (小学及以下 / 初中 / 高中 / 大学及以上)	12/108/178/206	56/214/116/78	11.327	<0.001
吸烟史 (有 / 无)	288/216	314/150	11.391	0.001
饮酒史 (有 / 无)	234/270	260/204	8.921	0.003

注: \* 采用 Fisher 确切概率检验。

表 2 母亲糖尿病与子代 CHD 关联的分析 [例 (%)]

母亲糖尿病	对照组 (n=504)	病例组 (n=464)	$\chi^2$ 值	P 值	未调整 OR(95%CI)	调整 OR(95%CI) <sup>a</sup>
本次妊娠是否患妊娠期糖尿病						
否	482(95.6)	412(88.8)	16.018	<0.001	1	1
是	22(4.4)	52(11.2)				
既往妊娠是否患妊娠期糖尿病						
否	486(96.4)	420(90.5)	14.082	<0.001	1	1
是	18(3.6)	44(9.5)				
本次妊娠前是否患糖尿病						
否	482(95.6)	398(85.8)	28.414	<0.001	1	1
是	22(4.4)	66(14.2)				

注: <sup>a</sup> 调整表 1 基线资料比较中差异有统计学意义的混杂因素。a 示  $P < 0.05$ 。

### 2.3 母亲 UCP2 基因多态性与子代 CHD 的关联分析

Hardy-Weinberg 平衡检验显示, 对照人群 UCP2 基因 3 个位点的基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律 (均  $P > 0.05$ ) (表 3)。

单因素分析显示, UCP2 基因两个位点 rs659366 和 rs660339 的基因型分布频率在病例组和对照组间差异均有统计学意义 ( $P < 0.001$ )。多因素 logistic 回归分析显示, 在调整表 1 基线资料比较中差异有统计学意义的混杂因素后, 在位点 rs659366 上, 携带 T/C ( $OR = 1.49$ ,  $95\%CI$ : 1.02~2.16) 或 T/T ( $OR = 2.77$ ,  $95\%CI$ : 1.67~4.62) 基因型的母亲与携带 C/C 基因型比较, 子代 CHD 的风险显著增加 ( $P < 0.05$ ); 在位点 rs660339 上, 携带 A/A ( $OR = 2.19$ ,  $95\%CI$ : 1.34~3.58) 基因型的母亲与携带 G/G 基因型比较也显著增加子代 CHD 的风险 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 3 对照组 UCP2 基因型 Hardy-Weinberg 平衡检验

UCP2 基因	实际频数	理论频数	基因频率	$\chi^2$ 值	P 值
rs659366 基因型					
C/C	252	240.29	0.50	3.16	0.08
T/C	192	215.43	0.38		
T/T	60	48.29	0.12		
rs660339 基因型					
G/G	218	208.29	0.43	3.55	0.06
G/A	212	231.43	0.42		
A/A	74	64.29	0.15		
rs591758 基因型					
G/G	180	171.50	0.36	2.43	0.12
G/C	228	245.00	0.45		
C/C	96	87.50	0.19		

表 4 母亲 UCP2 基因型频率分布与 CHD 的关系 [例 (%)]

UCP2 基因	对照组 (n=504)	病例组 (n=464)	$\chi^2$ 值	P 值	未调整 OR(95%CI)	调整 OR(95%CI) <sup>a</sup>		
rs659366 基因型								
C/C	252(50.0)	158(34.1)	29.062	<0.001	1	1		
T/C	192(38.1)	210(45.3)					1.74(1.32~2.31) <sup>a</sup>	1.49(1.02~2.16) <sup>a</sup>
T/T	60(11.9)	96(20.7)					2.55(1.75~3.73) <sup>a</sup>	2.77(1.67~4.62) <sup>a</sup>
rs660339 基因型								
G/G	218(43.3)	136(29.3)	25.185	<0.001	1	1		
G/A	212(42.1)	216(46.6)					1.63(1.23~2.17) <sup>a</sup>	1.34(0.92~1.96)
A/A	74(14.7)	112(24.1)					2.43(1.69~3.49) <sup>a</sup>	2.19(1.34~3.58) <sup>a</sup>
rs591758 基因型								
G/G	180(35.7)	160(34.5)	0.191	0.909	1	1		
G/C	228(45.2)	212(45.7)					1.05(0.79~1.39)	0.84(0.57~1.23)
C/C	96(19.0)	92(19.8)					1.08(0.76~1.54)	0.99(0.61~1.62)

注: <sup>a</sup> 调整表 1 基线资料比较中差异有统计学意义的混杂因素。a 示  $P < 0.05$ 。

## 2.4 母亲糖尿病与 UCP2 基因多态性对子代 CHD 发病的交互作用分析

交互作用结果显示,在调整表1基线资料比较中差异有统计学意义的混杂因素后,携带 rs659366 位点 T/T 基因型的母亲,如果既往妊娠患妊娠期糖尿病 ( $OR=8.56$ ,  $95\%CI: 2.10\sim 34.80$ )、本次妊娠前患糖尿病 ( $OR=8.68$ ,  $95\%CI: 7.72\sim 31.92$ ) 将显著增加子代 CHD 发生的风险 ( $P<0.05$ ); 而携带 T/C 基因型的母亲,如果本次妊娠患妊娠期糖尿病 ( $OR=7.50$ ,  $95\%CI:$

$2.41\sim 23.40$ )、既往妊娠患妊娠期糖尿病 ( $OR=5.34$ ,  $95\%CI: 1.58\sim 18.11$ )、本次妊娠前患糖尿病 ( $OR=4.77$ ,  $95\%CI: 1.67\sim 13.63$ ) 将显著增加子代 CHD 发生的风险 ( $P<0.05$ )。见表5。

携带 rs660339 位点 G/A 基因型的母亲,如果本次妊娠患有妊娠期糖尿病 ( $OR=6.75$ ,  $95\%CI: 2.23\sim 20.41$ )、本次妊娠前患糖尿病 ( $OR=3.25$ ,  $95\%CI: 1.12\sim 9.46$ ) 将显著增加子代 CHD 发生的风险 ( $P<0.05$ ), 见表6。

表5 母亲糖尿病与 UCP2 基因 rs659366 多态性对子代 CHD 发病的交互作用

母亲糖尿病	rs659366	$\beta$	P	调整 OR(95%CI) <sup>*</sup>
本次妊娠患妊娠期糖尿病				
否	C/C			1
否	T/C	0.318( $\beta g1$ )	0.149	1.38(0.89~2.12)
否	T/T	0.655( $\beta g2$ )	0.033	1.93(1.06~3.52)
是	C/C	1.824( $\beta e1$ )	0.007	6.20(1.63~23.53)
是	T/C	2.015( $\beta e1 * g1$ ) <sup>a</sup>	0.001	7.50(2.41~23.40)
是 <sup>#</sup>	T/T	20.112( $\beta e1 * g2$ )	0.999	-
既往妊娠患妊娠期糖尿病				
否	C/C			1
否	T/C	0.362( $\beta g1$ )	0.102	1.44(0.93~2.22)
否	T/T	0.541( $\beta g2$ )	0.084	1.72(0.93~3.17)
是	C/C	2.144( $\beta e1$ )	0.012	8.53(1.61~45.33)
是	T/C	1.676( $\beta e1 * g1$ ) <sup>a</sup>	0.007	5.34(1.58~18.11)
是	T/T	2.147( $\beta e1 * g2$ ) <sup>a</sup>	0.003	8.56(2.10~34.80)
本次妊娠前患糖尿病				
否	C/C			1
否	T/C	0.193( $\beta g1$ )	0.383	1.21(0.89~1.87)
否	T/T	0.320( $\beta g2$ )	0.314	1.38(0.74~2.57)
是	C/C	-0.596( $\beta e1$ )	0.529	0.55(0.09~3.53)
是	T/C	1.563( $\beta e1 * g1$ ) <sup>a</sup>	0.003	4.77(1.67~13.63)
是	T/T	2.161( $\beta e1 * g2$ ) <sup>a</sup>	0.001	8.68(7.72~31.92)

注: <sup>\*</sup> 调整了基线资料比较中差异有统计学意义的因素; <sup>#</sup> 由于样本量为0, 交互作用指标无法计算有效的 OR 值; a 示存在交互作用。

表 6 母亲糖尿病与 UCP2 基因 rs660339 多态性对子代 CHD 发病的交互作用

母亲糖尿病	rs660339	$\beta$	P	调整 OR(95%CI) <sup>*</sup>
本此妊娠患妊娠期糖尿病				
否	G/G			1
否	G/A	0.208( $\beta g1$ )	0.368	1.23(0.78~1.94)
否	A/A	0.556( $\beta g2$ )	0.062	1.74(0.97~3.13)
是	G/G	2.046( $\beta e1$ )	0.004	7.74(1.94~30.81)
是	G/A	1.909( $\beta e1 * g1$ ) <sup>a</sup>	0.001	6.75(2.23~20.41)
是 <sup>#</sup>	A/A	19.573( $\beta e1 * g2$ )	0.999	-
既往妊娠患妊娠期糖尿病				
否	G/G			1
否	G/A	0.381( $\beta g1$ )	0.104	1.46(0.93~2.32)
否	A/A	0.705( $\beta g2$ )	0.019	2.02(1.12~3.65)
是	G/G	3.346( $\beta e1$ )	<0.001	28.39(5.76~140.07)
是	G/A	1.148( $\beta e1 * g1$ )	0.057	3.15(0.97~10.28)
是	A/A	0.718( $\beta e1 * g2$ )	0.718	2.05(0.34~12.51)
本次妊娠前患糖尿病				
否	G/G			1
否	G/A	0.237( $\beta g1$ )	0.302	1.27(0.81~1.99)
否	A/A	0.514( $\beta g2$ )	0.087	1.67(0.93~3.01)
是	G/G	2.570( $\beta e1$ )	0.001	13.07(2.71~62.97)
是	G/A	1.178( $\beta e1 * g1$ ) <sup>a</sup>	0.031	3.25(1.12~9.46)
是	A/A	1.297( $\beta e1 * g2$ )	0.079	3.66(0.86~15.58)

注：<sup>\*</sup>调整了基线资料比较中差异有统计学意义的因素；<sup>#</sup>由于样本量为 0，交互作用指标无法计算有效的 OR 值；a 示存在交互作用。

### 3 讨论

本研究显示，本次妊娠前患有糖尿病 ( $OR=4.52$ ) 及本次妊娠患妊娠期糖尿病 ( $OR=2.96$ ) 的母亲，其子代发生 CHD 的风险明显增高，与既往研究结果一致，如来自美国<sup>[2]</sup>、挪威<sup>[3]</sup>、加拿大<sup>[4]</sup>和丹麦<sup>[5]</sup>的队列研究和一项最新的 Meta 分析<sup>[16]</sup>表明，孕前糖尿病和妊娠期糖尿病会增加子代总 CHD 及亚型 CHD 的发病风险。其可能的机制为：胎儿心脏发育的关键阶段是妊娠 3~8 周，妊娠早期宫内环境维持的高血糖状态<sup>[16]</sup>和高氧化应激水平<sup>[6-7]</sup>，可能导致胚胎心脏发育异常。妊娠期糖尿病通常在孕 24~28 周确诊，虽已错过胎儿心脏发育的关键时期，但研究显示其仍能增加子代 CHD 的发病风险<sup>[2]</sup>，关于妊娠期糖尿病导致 CHD 的发病机制较为复杂，其具体机制还有待进一步研究。

本研究还发现，UCP2 基因两个位点 (rs659366 和 rs660339) 的多态性与子代 CHD 发病存在关联。例如，在 rs659366 上，携带 T/T 或 T/C 基因型的母亲其子代发生 CHD 的风险分别是携带 C/C 基因

型母亲的 2.77 倍和 1.49 倍；在 rs660339 上，携带 A/A 基因型的母亲其子代发生 CHD 的风险是携带 G/G 基因型母亲的 2.19 倍。UCP2 是位于线粒体内膜上的质子载体蛋白，参与调控细胞内过氧化物质的生成，能限制活性氧的产生，对心肌细胞有保护作用<sup>[9-10]</sup>，其基因多态性能影响活性氧的调节和抗氧化物质的含量<sup>[17]</sup>。已有研究显示其基因 rs660339 位点和 rs659366 位点的多态性与糖尿病、肥胖和心血管疾病等疾病的发病有关联<sup>[13-14,18-19]</sup>。此外，既往研究表明 UCP2 基因 rs660339 位点多态性与胎儿神经管畸形相关<sup>[15]</sup>，表明 UCP2 基因多态性可能影响胎儿生长发育。但 UCP2 基因多态性影响 CHD 的具体机制有待进一步研究。

CHD 的病因尚未完全阐明，目前认为是遗传和环境危险因素共同作用的结果。本研究结果显示，母亲糖尿病暴露和 UCP2 基因 SNP 在 CHD 发病中存在交互作用。胎儿心脏发育始于胚胎早期并在胚胎中期基本完成，胎儿在胚胎早期阶段对母体内环境最为敏感。糖尿病会导致胎儿生长的微环境处于高血糖状态，影响胎儿发育异常。此

外, *UCP2* 基因多态性可以调节活性氧含量, 从而影响母亲机体内氧化应激水平<sup>[6-7]</sup>。当 *UCP2* 基因多态性和母亲糖尿病因素两者共同存在时, 引起子宫内环境改变, 导致子代 CHD 发生的风险增加。目前还没有关于 *UCP2* 基因 SNP 联合母亲糖尿病交互作用的报道。本研究是国内首次探讨母亲糖尿病暴露和 *UCP2* 基因 SNP 的交互作用在子代 CHD 发病中的作用, 有望为 CHD 的发病机制提供新的线索。今后将开展大型前瞻性队列研究证实本研究的发现。

本研究的局限性: 第一, 本研究是以医院为基础的病例对照研究, 招募对象多为需要住院治疗的 CHD 患者, 通过访谈回顾性收集相关暴露因素信息, 因此, 会不可避免存在选择偏倚和回忆偏倚。为了尽量减少偏倚, 本研究在招募目标人群时, 选择 1 岁以内儿童的母亲作为研究对象, 并结合妇幼保健手册核实母亲糖尿病暴露信息。第二, 由于样本量的限制, 未评估母亲糖尿病、*UCP2* 基因多态性与 CHD 亚型风险之间的关系, 因此需要扩大样本量进一步研究。

综上所述, 母亲糖尿病、*UCP2* 基因多态性与子代 CHD 的发生有关, 并且母亲糖尿病暴露和该基因在 CHD 发病中存在交互作用。这些发现为 CHD 的发病机制提供了新的线索, 但这些因素具体影响 CHD 发病的机制尚不清楚, 需要进一步开展大样本研究。

利益冲突声明: 所有作者均声明不存在利益冲突。

志谢: 本研究得到了湖南省儿童医院心胸外科的全力支持。该科室工作人员在繁忙的工作中承担了收集病例资料及收集标本的任务, 同时为我们进行现场调查提供支持。在此, 我们对该科室工作人员表示诚挚的感谢!

#### [参 考 文 献]

- [1] Puri K, Allen HD, Qureshi AM. Congenital heart disease[J]. *Pediatr Rev*, 2017, 38(10): 471-486.
- [2] Moore LL, Singer MR, Bradlee ML, et al. A prospective study of the risk of congenital defects associated with maternal obesity and diabetes mellitus[J]. *Epidemiology*, 2000, 11(6): 689-694.
- [3] Eidem I, Stene LC, Henriksen T, et al. Congenital anomalies in newborns of women with type 1 diabetes: nationwide population-based study in Norway, 1999-2004[J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2010, 89(11): 1403-1411.
- [4] Liu S, Joseph KS, Lisonkova S, et al. Association between maternal chronic conditions and congenital heart defects: a population-based cohort study[J]. *Circulation*, 2013, 128(6): 583-589.
- [5] Øyen N, Diaz LJ, Leirgul E, et al. Prepregnancy diabetes and offspring risk of congenital heart disease: a nationwide cohort study[J]. *Circulation*, 2016, 133(23): 2243-2253.
- [6] 王婕, 王凤, 桂永浩. 孕前糖尿病致先天性心脏病的机制研究进展[J]. *中国当代儿科杂志*, 2017, 19(12): 1297-1300.
- [7] Yamada K, Mito F, Matsuoka Y, et al. Fluorescence probes to detect lipid-derived radicals[J]. *Nat Chem Biol*, 2016, 12(8): 608-613.
- [8] Moazzen H, Lu X, Ma NL, et al. N-Acetylcysteine prevents congenital heart defects induced by pregestational diabetes[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2014, 13: 46.
- [9] Ruiz-Ramírez A, López-Acosta O, Barrios-Maya MA, et al. Cell death and heart failure in obesity: role of uncoupling proteins[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 9340654.
- [10] 李晓燕, 纪丽丽, 张红明, 等. 磷酸肌酸钠对力竭运动大鼠心肌线粒体解偶联蛋白 2 和能量代谢变化的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2015, 40(11): 897-901.
- [11] Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative stress[J]. *Annu Rev Biochem*, 2017, 86: 715-748.
- [12] Kayama Y, Raaz U, Jagger A, et al. Diabetic cardiovascular disease induced by oxidative stress[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(10): 25234-25263.
- [13] de Souza BM, Michels M, Sortica DA, et al. Polymorphisms of the *UCP2* gene are associated with glomerular filtration rate in type 2 diabetic patients and with decreased *UCP2* gene expression in human kidney[J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0132938.
- [14] Su M, Chen X, Chen Y, et al. *UCP2* and *UCP3* variants and gene-environment interaction associated with prediabetes and T2DM in a rural population: a case control study in China[J]. *BMC Med Genet*, 2018, 19(1): 43.
- [15] Lupo PJ, Canfield MA, Chapa C, et al. Diabetes and obesity-related genes and the risk of neural tube defects in the National birth defects prevention study[J]. *Am J Epidemiol*, 2012, 176(12): 1101-1109.
- [16] Chen L, Yang T, Chen L, et al. Risk of congenital heart defects in offspring exposed to maternal diabetes mellitus: an updated systematic review and meta-analysis[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2019, 300(6): 1491-1506.
- [17] 梁雪云, 姚子昂, 马斌武, 等. 解偶联蛋白 2 基因 -866G/A, Ala55Val 及 Ins/Del 多态性对宁夏回族人血清抗氧化物质含量的影响分析[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2017, 34(8): 703-706.
- [18] Gul A, Ateş Ö, Özer S, et al. Role of the polymorphisms of uncoupling protein genes in childhood obesity and their association with obesity-related disturbances[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2017, 21(9): 531-538.
- [19] Gamboa R, Huesca-Gómez C, López-Pérez V, et al. The *UCP2* -866G/A, Ala55Val and *UCP3* -55C/T polymorphisms are associated with premature coronary artery disease and cardiovascular risk factors in Mexican population[J]. *Genet Mol Biol*, 2018, 41(2): 371-378.

( 本文编辑: 邓芳明 )