

剖宫产分娩对男女童青春期发育影响的队列研究

单杰¹, 周夙妹², 方姣³, 段晓楠³, 陶芳标³, 孙莹³

1. 蚌埠市第三实验小学, 安徽 233000; 2. 蚌埠市第二实验小学; 3. 安徽医科大学公共卫生学院儿少卫生与妇幼保健学系

【摘要】 目的 探讨在控制青春期发育遗传背景后, 剖宫产分娩方式对男女童青春期发育的前瞻性影响, 为选择有利于青春期发育正常进程的分娩方式提供参考依据。**方法** 采用整群抽样方法于 2016 年在安徽省蚌埠市 2 所小学招募一至三年级学生 997 名, 建立儿童青春期发育队列。采用父母问卷调查收集儿童分娩方式、出生体重、胎龄、早期喂养方式、家庭经济状况和父母文化程度等信息, 每年评估儿童身高、体重和青春期发育(女童乳房发育 Tanner 分期和男童睾丸容积)。基于青春期相关 17 个单核苷酸多态性(SNP)位点计算青春期发育多基因遗传风险评分(PRS)。采用 Kaplan-Meier 生存分析探讨剖宫产分娩与男女童青春期发育的关联。**结果** 调查对象基线年龄为(8.01±0.84)岁, 体质量指数(BMI)为(17.96±2.96) kg/m²。男女童剖宫产比例分别为 43.30% 和 32.47%。基线和随访结束, 剖宫产女童乳房发育启动检出率(39.89%, 95.21%) 高于自然分娩组女童(4.39%, 68.48%) (χ^2 值分别为 118.65, 51.42, P 值均 <0.01)。控制 PRS、年龄、BMI、早期喂养方式等因素发现, 剖宫产与女童乳房发育启动年龄提前有关(风险比 $HR=1.98$, 95% $CI=1.67\sim 2.34$, $P<0.01$)。**结论** 剖宫产分娩可能增加女童乳房发育提前风险。需要更多研究证实自然分娩或为儿童青春期发育提前的预防途径之一。

【关键词】 剖宫产术; 青春期发育; 队列研究; 儿童

【中图分类号】 R 179 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-9817(2019)05-0658-04

Cohort study of association between caesarean section and pubertal development in boys and girls/SHAN Jie*, ZHOU Sumei, FANG Jiao, DUAN Xiaonan, TAO Fangbiao, SUN Ying. * Bengbu The Third Experimental Primary School, Bengbu (233000), Anhui Province, China

【Abstract】 Objective To examine the prospective effect of cesarean section on pubertal development after controlling the polygenic susceptibility for early puberty in boys and girls, and to provide a reference for choosing a delivery way beneficial to pubertal development. **Methods** Cluster sampling method was used to select 997 students of grade 1 to 3 from 2 primary schools in Bengbu of Anhui in 2016 to establish the puberty development cohort. Delivery mode, birth weight, gestational age, early weaning way, family income and parental educational background were derived from parental questionnaire. Breast Tanner stage and testicular volume of 997 children were annually assessed. The polygenic risk score (PRS) was computed based on 17 SNPs derived from published genome-wide association studies for early pubertal timing. Kaplan-Meier analyses was used to examine associations between cesarean section with pubertal development in boys and girls. **Results** The average age of 997 children was 8.01±0.84 years old, and average BMI was (17.96±2.96) kg/m². The prevalence of cesarean section for boys and girls was 43.30% and 32.47%, respectively. At baseline, the detection of thelarche in girls delivered by cesarean section (39.89%) was higher than that of girls delivered naturally (4.39%) ($\chi^2=118.65$, $P<0.01$). Similar result was observed during the last follow-up, the detection of thelarche in girls born by cesarean section (95.21%) was higher than girls born vaginally (68.48%), respectively ($\chi^2=51.42$, $P<0.01$). After adjusting for confounding factors (age, BMI, birthweight, infancy feeding, gestational age, household monthly income and parental education), girls delivered by cesarean section had maturation at significantly younger than girls who delivered naturally (Hazard Ratio, $HR=1.98$, 95% $CI=1.67\sim 2.34$, $P<0.01$). **Conclusion** Caesarean section might increase the risk of earlier age at pubertal onset in a sex-specific manner. Whether natural delivery could be one of the protective measures to prevent early pubertal timing in children warrants further investigation.

【Key words】 Cesarean section; Adolescent development; Cohort studies; Child

青春期是从童年期至成年期过渡的重要里程碑之一^[1]。过去几十年来, 发达国家青春期发育年龄的

下降趋势逐渐减缓, 但发展中国家青春期发动时间仍在不断提前^[2]。青春期启动年龄提前存在较大的个体间差异, 这在某种程度上反映了遗传、营养、产前环境因素及儿童早期生长发育因素的潜在影响^[3-5]。

在同一时期, 全球范围内剖宫产率增加 1 倍以上, 亚洲剖宫产率从 4.4% 上升至 19.5%, 其中东亚地区平均剖宫产率达到 34.8%^[6]。在中国, 最新报道的剖宫产率为 41%^[7]。有研究表明, 剖宫产率的上升会增加

【基金项目】 安徽省教育厅高校自然科学基金重点项目(KJ2016A338); 国家自然科学基金(81872638)。

【作者简介】 单杰(1972-), 男, 安徽蚌埠人, 大学本科, 小教高级, 主要研究方向为儿童青少年卫生。

【通讯作者】 孙莹, E-mail: yingsun@ahmu.edu.cn。

DOI: 10.16835/j.cnki.1000-9817.2019.05.006

后代一系列疾病风险,如呼吸系统疾病(支气管哮喘等)^[8-9]、1 型糖尿病^[10]等。目前,多数研究结果提示,剖宫产与童年期、青春期和成年期超重、肥胖风险增加有关^[11-14]。

本研究对安徽省蚌埠市 2 所小学一至三年级学生展开 2 年随访,结合青春期发育的客观评价(女童乳房发育、男童睾丸容积),探讨在控制青春期发育遗传背景后,剖宫产分娩方式与男女青春期发育的前瞻性关联,为选择有利于青春期发育正常进程的分娩方式提供参考依据。

1 对象与方法

1.1 对象 于 2016 年 3 月整群抽样安徽省蚌埠市 2 所小学招募 1 263 名一至三年级学生,排除已确诊患有器质性病变、慢性疾病及糖皮质激素用药的儿童,建立儿童青春期发育队列。在 2017 年 3 月进行的首次随访调查过程中,收集所有儿童口腔拭子样本进行 DNA 检测,除去 DNA 检测无效者,共有 997 名儿童保留完整的 DNA 检测数据;问卷回收中,男童分娩方式数据缺失 28 名,女童缺失 4 名;最终纳入分析 965 名(男童 390 名,女童 575 名)。年龄 7.33~11.17 岁,基线平均年龄为(8.01±0.84)岁,平均 BMI 为(17.96±2.96) kg/m²;2018 年第 2 次随访时平均年龄为(10.01±0.84)岁,平均 BMI 为(18.81±3.57) kg/m²。本研究通过了安徽医科大学伦理委员会的审批(批号:20160112),调查对象均由其父母签署知情同意书。

1.2 研究指标

1.2.1 一般信息 对研究对象父母开展问卷调查,包括儿童年龄、性别、早期喂养方式(纯母乳、配方奶和混合喂养)、分娩方式(自然分娩和剖宫产)、胎龄、出生体重、父母文化程度(初中及以下、高中或高职、专科、本科及以上)、家庭经济收入等。

1.2.2 体格检查 采用机械式身高坐高计测身高,精确到 0.1 cm;采用杠杆式体重计测量体重,精确到 0.5 kg。测量身高和体重时,要求研究对象脱鞋、穿着轻便,重复测量 2 次,取平均值,以体重(kg)/身高(m²)计算体质量指数(BMI)值。根据北京大学儿童青少年研究所和首都儿科研究所共同制定的“0~18 岁中国儿童 BMI 百分位数参照值”筛查体重状态(正常、超重和肥胖)^[15]。

1.2.3 青春期发育 由儿科内分泌专业研究生采用视诊与触诊结合的方法,依据 Tanner 分期^[16]标准(I~V 期)及标准图谱评价女童乳房发育,Tanner 分期达到 II 期及以上表示开始发育;采用 Prader 睾丸测量法^[17]测量男童睾丸容积,睾丸容积≥4 mL 界定为青春期发育^[18]。

1.2.4 口腔拭子收集与 DNA 检测

1.2.4.1 口腔拭子收集 口腔拭子样本由调查员采集,取样前 30 min 空腹,采样前嘱儿童饮 50 mL 清水

漱口约 10 s。调查员手持口腔采样棉签伸进儿童口腔一侧,在内壁黏膜上下移动刮拭 10~15 次,确保采样拭头各处都能蘸取口腔黏膜脱落细胞,常温保存并及时送检^[19]。

1.2.4.2 DNA 检测 通过 PCR-RFLP 和 Real-Time PCR 技术从口腔颊拭子中提取 DNA,并使用 Sequeom MassArray 进行基因分型和单核苷酸多态性(SNP)选择。Sequeom MassArray 靶向基因分型系统的平均一致率为 98.8%。基于全基因组关联研究(GWAS)与 87 802 名欧洲血统女性的联合分析中得到的全基因组关联重要意义的 32 个月经初潮相关位点^[20-21],研究选取 10 个与月经初潮年龄提前相关的单核苷酸多态性(SNPs)位点。另外选取了 10 个与男童声音破裂和女童月经初潮年龄提前均相关的 10 个 SNPs。排除 3 个最小等位基因频率(MAF)<5%的 SNP 后,最终采用 17 个 SNP 位点计算青春期发育多基因遗传风险评分(PRS)。计算公式为 PRS=∑Si(Si 为相应 SNPs 的个数)。该算法认为每个风险等位基因的作用相等。

1.3 统计分析 采用 EpiData 3.1 软件进行数据双录入,统计分析使用 Stata 14.0,年龄、BMI 符合正态分布,用 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 χ^2 检验比较男女童发育状态在自然分娩与剖宫产间的检出率差异。基线评价青春期已发育儿童,以“中国儿童青春期发育协作组”制定的女童乳房和男童睾丸容积的第 3 百分位年龄为观察期的开始时间,观察期终止时间为基线调查时年龄;基线评价青春期未发育儿童,观察期为基线年龄至随访期间青春期发育的年龄^[22-23]。采用 Kaplan-Meier 生存分析判定剖宫产分娩方式与青春期发育的关联。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本情况 总剖宫产率为 38.24%(男、女童分别为 43.30%和 32.47%)。男童睾丸容积≥4 mL 比例为 35.65%,女童乳房发育达到 Tanner 分期 II 期比例为 77.55%。不同分娩方式男女童青春期发育启动概率见图 1~2。

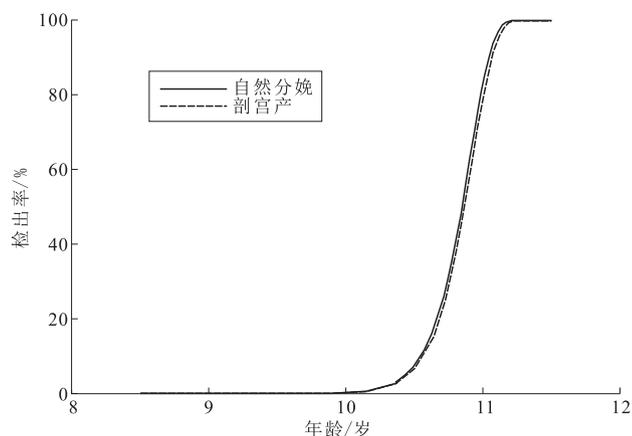


图 1 不同分娩方式男童青春期发育启动概率

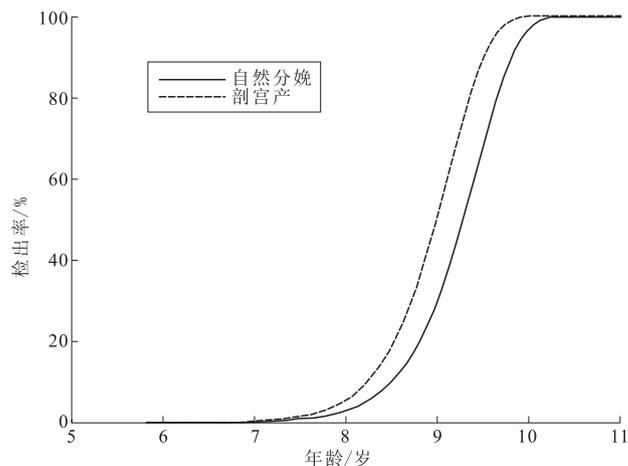


图 2 不同分娩方式女童青春期发育启动概率

2.2 基线和随访过程中自然分娩和剖宫产男童青春期发育、体重状态情况 不同分娩方式与青春期发育和体重状态的关联存在性别差异。基线调查中,乳

房发育启动检出率剖宫产女童(39.89%)高于自然分娩的女童(4.39%),差异有统计学意义($P < 0.01$);随访结束时,剖宫产女童乳房发育启动检出率(95.21%)高于自然分娩的女童(68.48%),差异有统计学意义($P < 0.01$)。自然分娩和剖宫产的男童睾丸发育启动检出率差异无统计学意义($P > 0.05$)。基线和随访结束时,剖宫产女童的超重、肥胖检出率(28.72%, 29.26%; 27.66%, 24.47%)高于自然分娩的女童(25.58%, 20.67%; 21.96%, 17.83%)(P 值均 < 0.05)。见表 1。

2.3 剖宫产分娩对男女童青春期发育启动影响的 Kaplan-Meier 生存分析 在控制青春期发育多基因遗传风险评分、年龄、BMI、出生体重、胎龄、早期喂养方式、父母文化程度和家庭经济收入后,相比自然分娩,剖宫产的女童乳房发育启动提前的风险比(hazard ratio, HR)增加了 0.98 倍($HR = 1.98, 95\% CI = 1.67 \sim 2.34, P < 0.01$)。在男童中未观察到有统计学意义($HR = 0.97, 95\% CI = 0.61 \sim 1.56, P = 0.93$)。

表 1 基线和第 2 次随访过程中自然分娩和剖宫产不同性别儿童发育和体重状态比较

性别	组别	人数	统计值	发育状态		体重状态		
				未启动	已启动	正常	超重	肥胖
男	基线	自然分娩	209	208(99.52)	1(0.48)	116(55.50)	46(22.01)	47(22.49)
		剖宫产	181	179(98.90)	2(1.10)	85(46.96)	42(23.21)	54(29.83)
			χ^2 值	0.50			3.46	
			P 值	0.48			0.18	
	随访	自然分娩	209	134(64.11)	75(35.89)	122(58.37)	45(21.53)	42(20.10)
		剖宫产	181	123(67.96)	58(32.04)	89(49.17)	38(20.99)	54(29.83)
		χ^2 值	0.64			5.27		
		P 值	0.43			0.07		
女	基线	自然分娩	387	370(95.61)	17(4.39)	208(53.75)	99(25.58)	80(20.67)
		剖宫产	188	113(60.11)	75(39.89)	79(42.02)	54(28.72)	55(29.26)
			χ^2 值	118.65			7.93	
			P 值	< 0.01			0.02	
	随访	自然分娩	387	122(31.52)	265(68.48)	233(60.21)	85(21.96)	69(17.83)
		剖宫产	188	9(4.79)	179(95.21)	90(47.87)	52(27.66)	46(24.47)
		χ^2 值	51.42			7.94		
		P 值	< 0.01			0.02		

注:()内数字为构成比/%。

3 讨论

本研究基于 997 名儿童队列,通过 3 年连续评估青春期发育,控制青春期发育遗传学背景后,研究发现,剖宫产分娩方式对儿童青春期发育启动具有提前效应,但这一效应仅见女童中,剖宫产分娩的女童乳房发育概率是同年龄自然分娩组女童的 1.98 倍。

有研究表明,自然分娩的婴儿从母体阴道和粪便微生物群中获得肠道微生物群,而剖宫产出生的婴儿是从环境中获得肠道微生物群^[24-25]。与自然分娩的婴儿相比,剖宫产婴儿在胃肠道微生物定植中携带的葡萄球菌较多,而双歧杆菌及胃肠道细菌种类较少,与生长发育过程中能量获取增加有关,因此可能是童年期和青春期超重、肥胖发生的原因之一^[26-27]。本研究控制出生体重和青春期 BMI,发现剖宫产与女童乳房发育提前仍有关联。提示这种增加能量获取的早期胃肠道微生物定植模式可能也是青春期发育的一个重要影响因素。

值得注意的是,自然分娩的儿童除从母体阴道获

取微生物菌群外,还有产道带来的机械压力和暴露于母体的高应激应答激素水平,而剖宫产的分娩方式避免了这种生理性刺激^[28]。Schuller 等^[29]认为这种围产期的分娩方式应激可能是丘脑—垂体—肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA 轴)编程过程的一部分,并且可能改变子代的应激调控系统,如相比于自然分娩的儿童,剖宫产儿童 HPA 轴对应激反应更加敏感。相关研究表明,剖宫产与脐带瘦素浓度和早期母乳喂养率较低有关^[30],且出生时较低的瘦素水平会激活下丘脑食欲中枢和神经内分泌机制^[31],可能与生命后期的生长发育不良有关(如超重、肥胖及青春期发育提前),而瘦素与脂肪细胞及脂肪累积密切相关,因此,在女童中可能有更加明显的效应。

研究结果提示,在控制青春期发育多基因遗传风险评分、年龄、BMI、产前环境因素(出生体重、胎龄、父母文化程度和家庭经济收入)以及早期喂养方式后,与自然分娩的女童相比,剖宫产的女童乳房发育启动年龄提前的风险较自然分娩的女童增加近 1 倍。这种

增加的风险值得关注,特别是在全球剖宫产率不断上升的情况下。未来的研究需要进一步探讨剖宫产与青春期发育提前关联的潜在机制,以及这一关联是否是剖宫产健康效应的中介因素。

本研究仍存在的不足有:(1)采用父母问卷收集的信息可能会存在回忆偏倚;(2)男生年龄偏小,仅有 31.82% (133/418) 男童达到青春期启动年龄,可能是男童中未观察到剖宫产与青春期发育有统计学关联的原因之一。另外,本研究缺乏母亲孕期的相关检查指标,且胎儿宫内状况未知,因此不能判断剖宫产类别(有无指征剖宫产),可能给分析结果带来误差。本课题将在后期队列随访中进一步探讨更多的产前环境因素(分娩方式、胎龄以及出生体重等)与男女童青春期发育的前瞻性关联及可能机制。

4 参考文献

- [1] BYGDELL M, KINDBLUM J M, CELIND J, et al. Childhood BMI is inversely associated with pubertal timing in normal-weight but not overweight boys[J]. *Am J Clin Nutr*, 2018,108(6):1259-1263.
- [2] GAMBLE J. Puberty: early starters[J]. *Nature*, 2017,550(7674):S10-S11.
- [3] PARENT A S, TEILMANN G, JUUL A, et al. The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends, and changes after migration[J]. *Endocr Rev*, 2003,24(5):668-693.
- [4] BIRO F M, GREENSPAN L C, GALVEZ M P, et al. Onset of breast development in a longitudinal cohort[J]. *Pediatrics*, 2013,132(6):1019-1027.
- [5] PERRY J R, MURRAY A, DAY F R, et al. Molecular insights into the aetiology of female reproductive ageing[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2015,11:725-734.
- [6] BETRÁN A P, YE J, MOLLER A B, et al. The increasing trend in caesarean section rates: global, regional and national estimates: 1990-2014[J]. *PLoS One*, 2016,11(2):e0148343.
- [7] SAEED K B, GREENE R A, CORCORAN P, et al. Incidence of surgical site infection following caesarean section: a systematic review and meta-analysis protocol[J]. *BMJ Open*, 2017,7(1):e013037.
- [8] BAGER P, WOHLFAHRT J, WESTERGAARD T. Caesarean delivery and risk of atopy and allergic disease: meta-analyses[J]. *Clin Exp Allergy*, 2008,38(4):634-642.
- [9] THAVAGNANAM S, FLEMING J, BROMLEY A, et al. A meta-analysis of the association between Caesarean section and childhood asthma[J]. *Clin Exp Allergy*, 2008,38(4):629-633.
- [10] CARDWELL C R, STENE L C, JONER G, et al. Caesarean section is associated with an increased risk of childhood-onset type 1 diabetes mellitus: a meta-analysis of observational studies[J]. *Diabetologia*, 2008,51(5):726-735.
- [11] CAI M, LOY S L, TAN K H, et al. Association of elective and emergency cesarean delivery with early childhood overweight at 12 months of age[J]. *JAMA Netw Open*, 2018,1(7):e185025.
- [12] CHEN G, CHIANG W L, SHU B C, et al. Associations of caesarean delivery and the occurrence of neurodevelopmental disorders, asthma or obesity in childhood based on Taiwan birth cohort study[J]. *BMJ Open*, 2017,7(9):e017086.
- [13] RUTAYISIRE E, WU X, HUANG K, et al. Cesarean section may increase the risk of both overweight and obesity in preschool children[J]. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2016,16(1):338.
- [14] YUAN C, GASKINS A J, BLAINE A I, et al. Association between cesarean birth and risk of obesity in offspring in childhood, adolescence, and early adulthood[J]. *JAMA Pediatr*, 2016,170(11):e162385.
- [15] WANG Y. Is obesity associated with early sexual maturation? A comparison of the association in American boys versus girls[J]. *Pediatrics*, 2002,110(5):903-910.
- [16] 李辉,季成叶,宗心南,等.中国 0~18 岁儿童青少年身高、体重的标准化生长曲线[J]. *中华儿科杂志*, 2009,47(7):487-492.
- [17] 李翠蓉,胡建群,杨进.不同测量方法对睾丸体积测量的准确性研究[J]. *实用临床医药杂志*, 2009,13(15):42-45.
- [18] MA H M, CHEN S K, CHEN R M, et al. Pubertal development timing in urban Chinese boys[J]. *Int J Androl*, 2011,34(5 Pt 2):e435-445.
- [19] BELDA-FERRE P, ALCARAZ L D, CABRERA-RUBIO R, et al. The oral metagenome in health and disease[J]. *ISME J*, 2012,6(1):46-56.
- [20] ELKS C E, PERRY J R, SULEM P, et al. Thirty new loci for age at menarche identified by a meta-analysis of genome-wide association studies[J]. *Nat Genet*, 2010,42(12):1077-1085.
- [21] DAY F R, BULIK-SULLIVAN B, HINDS D A, et al. Shared genetic aetiology of puberty timing between sexes and with health-related outcomes[J]. *Nat Commun*, 2015,6:8842. DOI:10.1038/ncomms9842.
- [22] SUN Y, TAO F B, SU P Y, et al. National estimates of the pubertal milestones among urban and rural Chinese girls[J]. *J Adolesc Health*, 2012,51(3):279-284. DOI:10.1016/j.jadohealth.2011.12.019.
- [23] SUN Y, TAO F B, SU P Y. China puberty research collaboration. national estimates of pubertal milestones among urban and rural Chinese boys[J]. *Ann Hum Biol*, 2012,39(6):461-467. DOI:10.3109/03014460.2012.712156.
- [24] GRONLUND M M, LEHTONEN O P, EEROLA E, et al. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1999,28(1):19-25.
- [25] LEUNG C Y, LEUNG G M, SCHOOLING C M. Mode of delivery and child and adolescent psychological well-being: evidence from Hong Kong's "Children of 1997" birth cohort[J]. *Sci Rep*, 2017,7(1):15673.
- [26] TURNBAUGH P J, LEY R E, MAHOWALD M A, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest[J]. *Nature*, 2006,444(7122):1027-1131.
- [27] AJSLEV T A, ANDERSEN C S, GAMBORG M, et al. Childhood overweight after establishment of the gut microbiota: the role of delivery mode, pre-pregnancy weight and early administration of antibiotics[J]. *Int J Obes (Lond)*, 2011,35(4):522-529.
- [28] KENNEDY H P, KIDANTO H, TAYLOR P, et al. Temmerman M. Short-term and long-term effects of caesarean section on the health of women and children[J]. *Lancet*, 2018,392(10155):1349-1357.
- [29] SCHULLER C, KÄNEL N, MÜLLER O, et al. Stress and pain response of neonates after spontaneous birth and vacuum-assisted and cesarean delivery[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2012,207(5):416.e1-6.
- [30] LI H T, ZHOU Y B, LIU J M. The impact of cesarean section on offspring overweight and obesity: a systematic review and meta-analysis[J]. *Int J Obes (Lond)*, 2013,37(7):893-899.
- [31] MANTZOROS C S, RIFAS-SHIMAN S L, WILLIAMS C J, et al. Cord blood leptin and adiponectin as predictors of adiposity in children at 3 years of age: a prospective cohort study[J]. *Pediatrics*, 2009,123(2):682-689.