

## 临床研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.003466

## 妊娠期糖尿病产妇初乳的菌群分析

苟 拉, 王安迪, 张 华

(重庆医科大学附属第一医院妇产科, 重庆 400016)

**【摘要】目的:**前瞻性研究妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)与正常产妇初乳菌群的丰度以及对其多样性进行评估分析。**方法:**选取符合纳入标准的30例GDM产妇作为实验组,30例健康产妇作为对照组,分娩方式均为剖宫产。从所有受试者乳汁标本中分离获得DNA,在Illumina MiSeq平台进行16s rRNA基因V3~V4区扩增子高通量测序。**结果:**正常组与GDM组之间评估菌群的丰度指数的Ace指数有统计学差异( $P=0.039$ )。2组研究对象的菌群在除Ace指数外的Alpha多样性上无差异,但在Beta多样性,差异有统计学意义( $P=0.001$ )。GDM产妇母乳中厚壁菌门和变形菌门、链球菌科和孪生球菌科、链球菌属和罗斯氏菌属的相对丰度平均值均低于对照组,而放线菌门、葡萄球菌科、葡萄球菌属的相对丰度平均值较对照组水平更高。**结论:**GDM产妇与健康产妇初乳菌群的丰度以及多样性均有差异,GDM母乳中厚壁菌门以及变形菌门相对丰度的减少,可能对其子代早期肠道菌群的建立及早期的生长发育产生影响。定量母乳菌群的构成对该人群及其子代有特殊意义。

**【关键词】**妊娠期糖尿病;母乳微生物;16S核糖体RNA

**【中图分类号】**R714.7

**【文献标志码】**A

**【收稿日期】**2023-12-28

## An analysis of bacterial flora in colostrum of postpartum women with gestational diabetes mellitus

Gou La, Wang Andi, Zhang Hua

(Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

**【Abstract】****Objective:** To prospectively study the abundance and diversity of bacterial flora in the colostrum of postpartum women with gestational diabetes mellitus (GDM) and normal postpartum women. **Methods:** According to the inclusion criteria, we enrolled 30 postpartum women with GDM and 30 healthy postpartum controls, all undergoing a cesarean delivery. Colostrum samples were collected from each subject to isolate DNA for high-throughput sequencing of the 16s rRNA V3–V4 amplicon using the Illumina MiSeq platform.

**Results:** The abundance-based coverage estimator for evaluating microbial richness was significantly different between the normal group and the GDM group ( $P=0.039$ ). The two groups showed no significant difference in alpha diversity, but differed significantly in beta diversity ( $P=0.001$ ). Compared with the control group, the GDM group showed lower mean relative abundance levels of the Firmicutes and Proteobacteria phyla, Streptococcaceae and Gemellaceae families, and Streptococcus and Roseburia genera; and higher mean relative abundance levels of the Actinobacteria phylum, Staphylococcaceae family, and Staphylococcus genus in the milk.

**Conclusion:** The abundance and diversity of colostrum microbiota are different between GDM mothers and healthy mothers, and the decreased relative abundance of Firmicutes and Proteobacteria in the breast milk of women with GDM may influence the establishment of gut microbiota and the growth and development of their children in the early stage. Quantifying the composition of breast milk microbiota has special significance for GDM mothers and their offspring.

**【Key words】**gestational diabetes mellitus; breast milk microbiota; 16s RNA

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM), 定义为妊娠期发病或首次识别的高血糖, 低

作者介绍: 苟 拉, Email: 136983916@qq.com,

研究方向: 妊娠期糖尿病方向。

通信作者: 张 华, Email: zhanghua@hospital.cqmu.edu.cn。

优先出版: <https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20240418.1442.012>  
(2024-04-22)

于2型糖尿病的诊断阈值<sup>[1]</sup>, 其患病率正在增加, 影响全球5%~18%的妊娠, 这是由育龄妇女肥胖负担增加引起的<sup>[2-3]</sup>。人类菌群及其衍生物在妊娠期代谢性疾病的发展中发挥着关键的调节作用<sup>[4]</sup>。新生儿肠道菌群的定植可能是在子宫内妊娠期开始的, 许多因素都是新生儿微生物生态学的影响因素<sup>[5]</sup>。

这些因素包括:妊娠期(足月或早产),分娩方式(阴道分娩或剖宫产),母体营养,免疫状态,母亲的乳房皮肤和母乳,特别是母乳喂养婴儿。母乳被认为是婴儿的最佳营养,提供必需营养和广泛的生物活性化合物,并支持肠道微生物群的定植,这有利于婴儿的生长发育<sup>[6]</sup>。母体菌群不仅影响婴儿在围产期的发育,还可以通过母乳进行转移,母乳是婴儿出生后唯一推荐的食物来源,从而有助于婴儿早期肠道菌群的建立和婴儿免疫系统的发育<sup>[7]</sup>。同时,母乳被认为是新生儿建立健康微生物组的主要来源<sup>[8]</sup>。由此可知,母乳和新生儿的菌群之间存在着复杂的相互作用。然而,目前关于 GDM 产妇初乳菌群的研究缺乏。本研究前瞻性对 30 例 GDM 及 30 例健康产妇的母乳进行检测,分析菌群在 GDM 产妇分娩后初乳中的分布情况,以期为 GDM 产妇子代发育的预防和治疗提供一定参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

2021 年 4 月至 2022 年 4 月重庆医科大学附属第一医院产科足月剖宫产产妇 80 例,均签署知情同意书。本研究获得重庆医科大学附属第一医院伦理委员会批准(审批号:2023-94)。将符合纳排标准的患者分为妊娠期糖尿病组和正常组。

### 1.2 纳排标准

纳入标准:①自愿参加本研究;②年龄 20~45 岁;③单胎足月妊娠;④孕前孕期无内分泌代谢疾病(如甲减,甲亢,多囊卵巢综合征,妊娠期肝内胆汁淤积症等)、高脂血症、高血压等心血管疾病以及自身免疫相关疾病,且无上述疾病家族遗传病史;⑤仅合并妊娠期糖尿病(孕中期葡萄糖耐量试验两项及以上异常);⑥重庆市区城镇孕妇。排除标准:①既往乳房手术史( $n=5$ );②人工喂养( $n=5$ );③乳腺炎( $n=10$ );④曾患乳房疾病以及有相关家族遗传病史( $n=0$ );⑤孕前肥胖,即孕前体质指数 $>30 \text{ kg/m}^2$ ;⑥吸烟( $n=0$ )。最终有 60 例产妇作为本次研究对象,纳排流程,见图 1。

### 1.3 方法

1.3.1 资料收集 面对面收集研究对象的基本信息,包括乳母年龄、孕前体质质量、孕期体质质量增量、孕期体质质量、孕次产次、孕期 75 g 口服葡萄糖耐量试验结果( $\text{mmol/L}$ )、孕期血压、新生儿胎龄、性别、出生身长和体质质量。

1.3.2 样本收集 于产后 7 d 内收集乳母乳汁,所有标本均在上午 9:00~11:00 采集,由医院专业医务人员在无菌生理盐水清洗乳头后用手挤法采集单侧乳房部分乳汁入 15 mL 聚

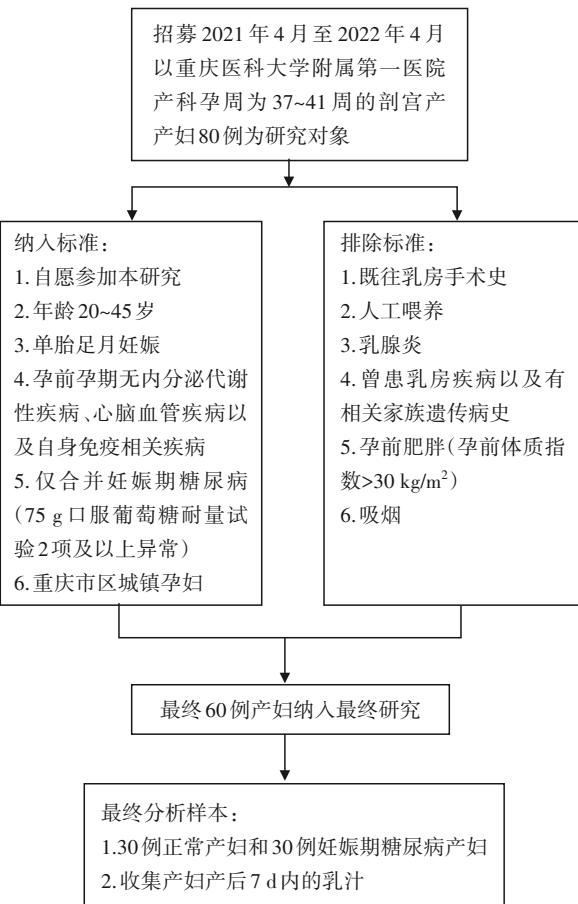


图 1 参与者的流程图研究

丙烯无菌管中,乳汁量为 5~10 mL,用干冰低温保存将样品运至实验室,使用涡旋振荡器混匀后分别分装于 2 mL 无菌冷冻管中,置于-80 °C 冰箱中保存。

1.3.3 乳汁菌群分析 将乳汁样本中提取的 DNA,在 Illumina MiSeq 平台进行 16s rRNA 基因 V3-V4 区扩增子高通量测序。

### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 26.0 和 R 4.3.1 软件进行统计学分析。经正态性分布和方差齐性检验后,计量资料以中位数(四分位数),即  $M_d(P_{25}, P_{75})$  表示,采用非参数检验,计数资料以例数和率(%)表示,采用  $\chi^2$  检验。检验水准  $\alpha=0.05$ 。采用 4 个指标,包括 Chao 指数、Ace 指数、Shannon 指数、Simpson 指数计算两组乳汁菌群的 Alpha 多样性,并使用 Wilcoxon 秩和检验进行差异检验。Beta 多样性基于未加权的 Unifrac 距离,使用 Qiime 1.9.1 软件进行主坐标分析(principal co-ordinates analysis, PCoA),配合使用置换多元方差分析(permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA)(999 次)进行统计检验,此分析利用 R 软件包“vegan”,并使用 ggplot2 程序包绘图。使用线性判别分析软件(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)基于线性判别式分析结果(linear discriminant analysis, LDA) $>3.0$  和  $P<0.05$  的标准分析 2 组之间存在

明显差异的微生物，并绘制物种聚类树图。使用 R 软件中 mean 函数，分别计算出 2 组中各个微生物在门水平、科水平、属水平的平均相对丰度。

## 2 结 果

### 2.1 孕妇及新生儿一般资料

本研究共纳入 60 例计划性剖宫产产妇，其中妊娠期糖尿病组产妇 30 例，正常组产妇 30 例。计量资料采用非参数检验分析，结果显示，2 组产妇在孕前体质指数、孕期增重、空腹血糖、餐后 1 h 血糖、餐后 2 h 血糖间的差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )，2 组在年龄、孕期体质指数、孕次、产次、收缩压、舒张压、孕周、新生儿出生身长、新生儿出生体质量间的差异无统计学意义。计数资料采用  $\chi^2$  检验分析，结果显示，2 组新生儿性别差异无统计学意义，见表 1。

### 2.2 产妇乳汁微生物数据

将乳汁样本中提取的 DNA，在 Illumina MiSeq 平台进行 16S rRNA 基因 V3~V4 区扩增子高通量测序。运用 Wilcoxon 秩和检验分析 2 组乳汁菌群的 Alpha 多样性（表 2），结果显示

示，正常组与妊娠期糖尿病组之间评估菌群的丰度指数的 Ace 指数有统计学差异 ( $P=0.039$ )。运用置换多元方差分析分别对 2 组菌群的 Beta 多样性 (PCoA) 进行分析，结果显示，正常组和妊娠期糖尿病组之间的差异有统计学意义 ( $P=0.001$ )，如图 2 所示，可以看出以蓝色标注点为中心展开的对照组，整体分布上以红色标注点为中心展开的妊娠期糖尿病组间存在明显的分离趋势。LEfSe 分析 2 组之间差异菌，结果显示，正常组和妊娠期糖尿病组之间的菌群存在显著差异，差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )，见图 3。Lefse 分析筛选 LDA 值  $> 3$  的组间差异物种，结果显示，正常组中，标志性富集的微生物为变形菌门、拟杆菌门、拟杆菌纲、鞘脂杆菌纲、 $\beta$ -变形菌纲、拟杆菌目、鞘脂杆菌目、伯克氏菌目、奈瑟菌目、假单胞菌目、普雷沃氏菌科、鞘脂杆菌科、产碱杆菌科、奈瑟氏球菌科、假单胞菌科、普雷沃氏菌属、土地杆菌属、无色杆菌属、奈瑟菌属、假单胞菌属。GDM 组中，标志性富集的微生物为孪生菌目、红螺菌目、毛螺菌科、伯克氏菌科、链球菌属、布劳特氏菌属、韦荣氏菌属、伯克霍尔德菌属、不动杆菌属。

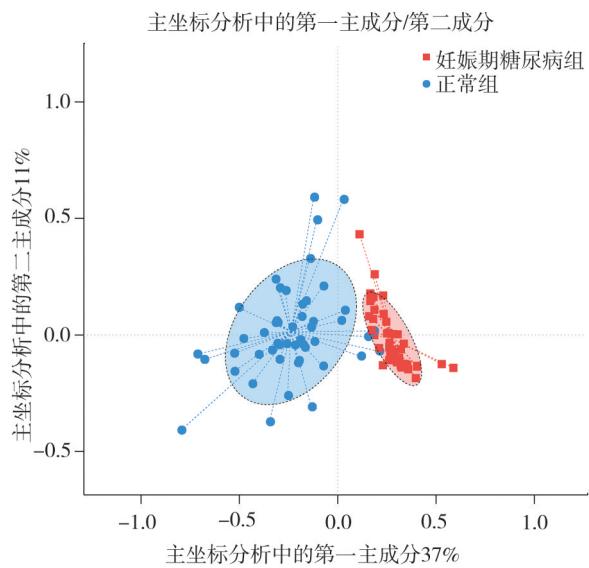
表 1 研究者与其新生儿的人口统计学和临床特征 (n, %)

指标	妊娠期糖尿病组 (n=30)	正常组 (n=30)	Z/χ <sup>2</sup> 值	P 值
年龄(岁)	30.5(29,33)	32(29,33.8)	-0.923	0.356
孕前体质指数(kg/m <sup>2</sup> )	22.7(20.6,24.8)	20.9(18.8,22.9)	-2.469	0.014
孕期体质指数(kg/m <sup>2</sup> )	28(25.2,30.7)	26.1(25,28.5)	-1.612	0.107
孕期增重(kg)	13(10,15)	15.3(13.6,17.4)	-2.547	0.011
孕次	2(1,3)	3(2,4)	-1.950	0.051
产次	1(1,2)	2(1,2)	-1.048	0.295
75 g 口服葡萄糖耐量试验(mmol/L)				
空腹血糖(mmol/L)	5.2(4.8,5.4)	4.5(4.3,4.6)	-5.502	<0.001
餐后 1 h 血糖 (mmol/L)	11.2(10.5,12)	7.6(7,7.9)	-6.641	<0.001
餐后 2 h 血糖 (mmol/L)	9.5(8.8,10.7)	6.8(5.8,7.2)	-6.340	<0.001
收缩压(mmHg)	116.5(113.3,122.5)	112(110,118)	-1.800	0.072
舒张压(mmHg)	74(69.3,78)	71(68,75)	-1.474	0.141
孕周(周)	39(38.7,39.3)	39.1(38.7,39.3)	-0.253	0.800
新生儿出生身长(cm)	49(49,50)	50(49,51)	-0.130	0.897
新生儿出生体质量(g)	3 302.5(3 083.8,3 723.8)	3 360(3 192.5,3 693.8)	-0.466	0.650
新生儿性别				
男性	20(67)	23(77)		
女性	10(33)	7(23)	0.739	0.567

表 2 菌群测序指标分析

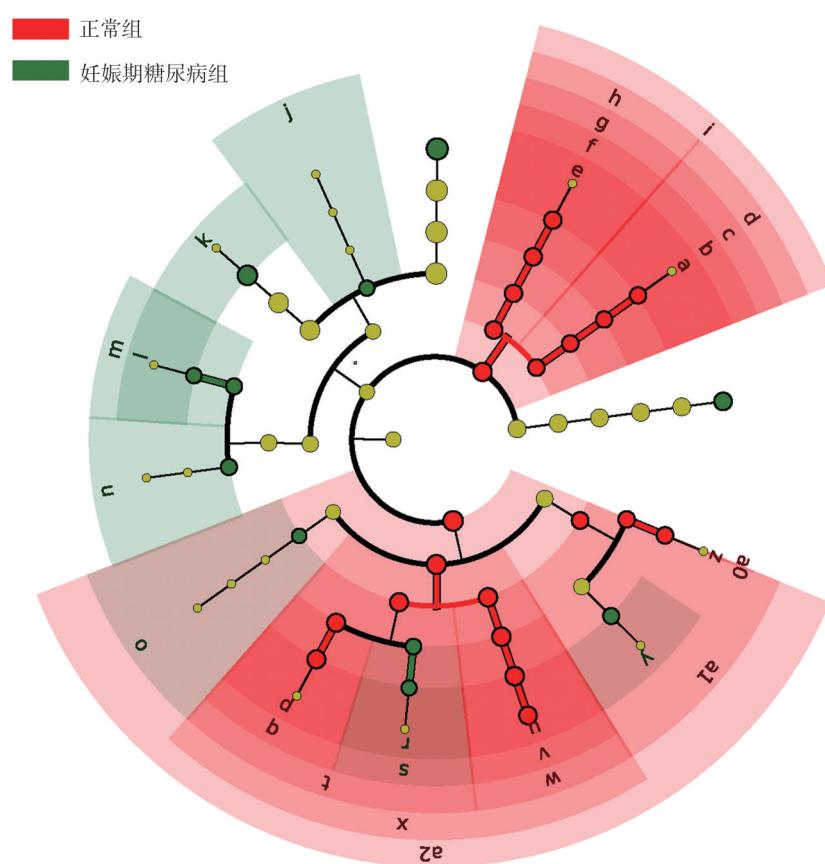
组别	Chao 指数	Ace 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
妊娠期糖尿病组	125.30(78.50,167.48)	122.50(67.75,164.25)	2.08(1.59,2.77)	0.39(0.26,0.50)
正常组	158.10(142.20,182.50)	150.00(136,179)	2.30(1.70,2.62)	0.32(0.27,0.45)
W 值	623.500	666.000	946.000	1 137.500
P 值	0.126	0.039	0.511	0.390

注：Ace 和 Chao 指数评估菌群的丰度指数；Shannon 和 Simpson 指数评估菌群的多样性



注：图为非加权 Unifrac 距离的主坐标分析图；图中每个点代表 1 个样本，x 轴表示主坐标分析中的第一主成分 (PC1)，y 轴表示第 2 主成分 (PC2)，坐标轴名称中的数值代表相应主坐标对于整体的贡献度；蓝色圆形为正常组，红色方块为妊娠期糖尿病组

图2 主坐标分析图



注：物种聚类树图，同心圆由内到外分别代表不同的分类水平，同心圆上的小圆圈代表每个分类的名称，圆圈大小代表丰度的高低，黄色表示各组间无明显差异，其他颜色为同色组的代表物种

图3 妊娠期糖尿病组和正常组物种聚类树图

### 2.3 产妇乳汁在门、科和属水平上的微生物变化

通过 16s rRNA 测序在门、科和属水平上确定产妇乳汁的微生物组成。在门水平上，厚壁菌门在正常组和妊娠期糖尿病组中分别占比 72.19% 和 70.3%。变形菌门在正常组和妊娠期糖尿病组中分别占比 25.2% 和 22.14%。放线菌门在正常组和妊娠期糖尿病组中相对丰度分别为 2.5% 和 6.87%，见图 4。

在科水平上，相对丰度前 5 名的微生物为链球菌、葡萄球菌、孪生球菌、微球菌和奈瑟菌。相比于正常组 (44.66%)，链球菌在妊娠期糖尿病组中的相对丰度减少为 40.48%。而妊娠期糖尿病组中葡萄球菌 (37.29%) 比正常组 (26.27%) 丰度更高。孪生球菌在正常组和妊娠期糖尿病组中相对丰度分别为 5.91% 和 3.5%，见图 5。

在属水平上，相对丰度前 5 名的微生物为链球菌、葡萄球菌、罗斯氏菌、棒状杆菌和奈瑟菌。相比于正常组 (44.64%)，链球菌在妊娠期糖尿病组中的相对丰度减少为 40.45%。而妊娠期糖尿病组中葡萄球菌 (37.39%) 比正常组 (26.27%) 相对丰度更高。罗斯氏菌在正常组和妊娠期糖尿病组中相对丰度分别为 5.76% 和 3.47%，见图 6。

a: 普雷沃氏菌属	a: 普雷沃氏菌属
b: 普雷沃氏菌科	b: 普雷沃氏菌科
c: 拟杆菌目	c: 拟杆菌目
d: 拟杆菌纲	d: 拟杆菌纲
e: 土地杆菌属	e: 土地杆菌属
f: 鞘脂杆菌科	f: 鞘脂杆菌科
g: 鞘脂杆菌目	g: 鞘脂杆菌目
h: 鞘脂杆菌纲	h: 鞘脂杆菌纲
i: 拟杆菌门	i: 拟杆菌门
j: 孪生菌目	j: 孪生菌目
k: 链球菌属	k: 链球菌属
l: 布劳特氏菌	l: 布劳特氏菌
m: 毛螺菌科	m: 毛螺菌科
n: 韦荣氏菌属	n: 韦荣氏菌属
o: 红螺菌目	o: 红螺菌目
p: 无色杆菌属	p: 无色杆菌属
q: 产碱杆菌科	q: 产碱杆菌科
r: 伯克霍尔德菌	r: 伯克霍尔德菌
s: 伯克氏菌科	s: 伯克氏菌科
t: 伯克氏菌目	t: 伯克氏菌目
u: 奈瑟菌属	u: 奈瑟菌属
v: 奈瑟氏球菌科	v: 奈瑟氏球菌科
w: 奈瑟菌目	w: 奈瑟菌目
x: $\beta$ -变形菌纲	x: $\beta$ -变形菌纲
y: 不动杆菌属	y: 不动杆菌属
z: 假单胞菌属	z: 假单胞菌属
a0: 假单胞菌科	a0: 假单胞菌科
a1: 假单胞菌目	a1: 假单胞菌目
a2: 变形菌门	a2: 变形菌门

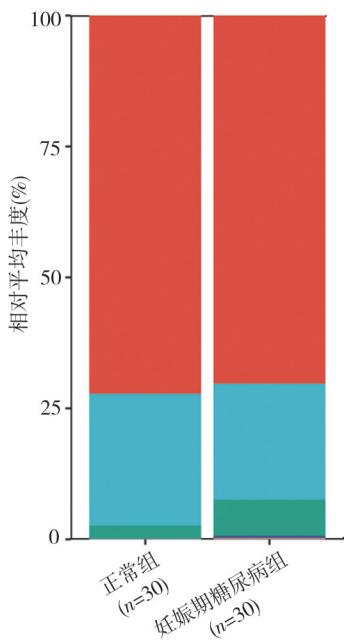


图4 门层级上各组物种组成结构图

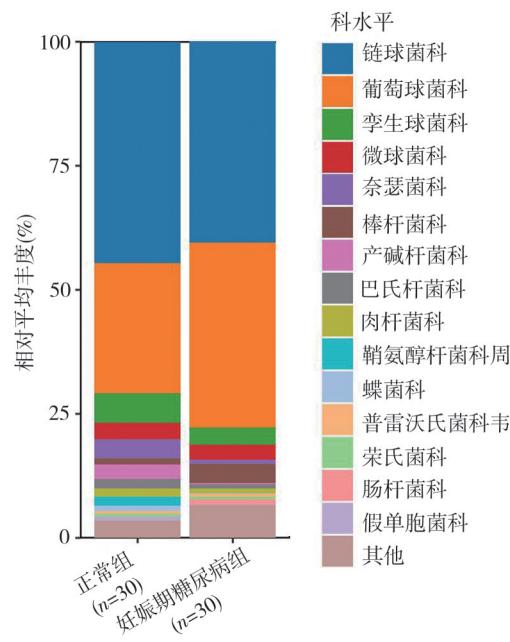


图5 科层级上各组物种组成结构图

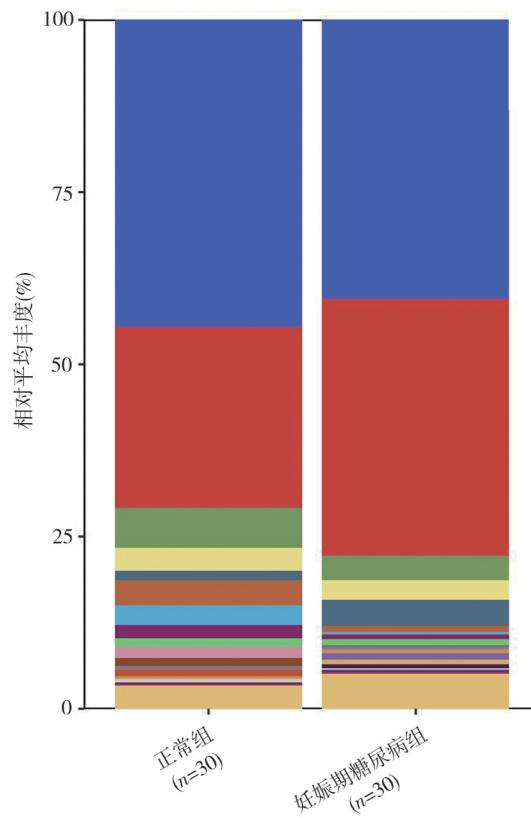


图6 属层级上各组物种组成结构图

### 3 讨 论

GDM 在我国的流行病学调查显示,其发病率为 1.7%~16.7%<sup>[9]</sup>。既往临床研究显示,妊娠期糖尿病

会增加产妇及子代后期患 2 型糖尿病及肥胖的风险,严重影响产妇及子代的生活质量<sup>[10]</sup>。母乳是婴儿的最佳天然食物,其中含有较多可以促进婴儿成长的活性物质,包括蛋白质、母乳寡糖、脂类、免疫因子、激素等<sup>[11]</sup>。母乳也是婴儿肠道共生和有益细

菌的源泉,这些菌群可以通过哺乳进而种植到婴儿肠道,从而在婴儿肠道菌群和免疫系统发育过程中发挥重要作用<sup>[12]</sup>。除此以外,母乳喂养还能有效预防子代后期肥胖症的发生。1项涵盖3 261例中国婴儿的大队列调查研究指出,与配方奶粉喂养儿相比,纯母乳喂养组儿童在青年时期,拥有更低水平的胆固醇含量,进而发生肥胖的风险更低<sup>[13]</sup>。正是由于目前正常产妇和GDM产妇初乳菌群的差异尚未明确,所以本研究分析正常产妇和GDM产妇初乳菌群的特征性并预测其代谢功能,进而探索母乳中的益生菌及其子代中“健康,核心”的肠道菌群,为GDM子代肠道健康提供切实有效的指导建议。并通过分析子代肠道菌群建立的影响因素,从GDM母婴个体本身出发,进行适时调控和干预,从而使其子代肠道菌群得到进一步优化。

相关报道,婴儿出生时初期肠道菌群的建立主要来自于妊娠期母体子宫内、分娩时母体产道和会阴部<sup>[14]</sup>,母乳中菌群构成存在明显个体差异,且分娩方式会影响母乳中较多营养素的浓度<sup>[15]</sup>。因此本研究中纳入对象均为剖宫产产妇。剖宫产新生儿的肠道菌群定植速度较慢,缺少一些有益菌,例如双歧杆菌等厌氧菌相对丰度较低<sup>[16]</sup>,这与本研究的结果一致。针对母乳菌群特点,由本研究结论可知,链球菌属,葡萄球菌属,罗斯氏菌属和棒杆菌属组成了母乳菌群的主要部分。既往的研究表明,葡萄球菌和链球菌是不同国家和地区来源的母乳中的优势菌属<sup>[17]</sup>。在对皮肤进行消毒后采集的母乳样品中,可培养细菌通常以葡萄球菌(主要是表皮葡萄球菌和其他革兰氏阴性菌)、链球菌(主要是米氏链球菌)和唾液链球菌、棒状杆菌、丙酸杆菌和其他分类上相关的革兰氏阳性细菌为主<sup>[18]</sup>。进一步证实链球菌属和葡萄球菌属在剖宫产产妇的母乳中占据优势地位。

本研究显示,GDM产妇的母乳中厚壁菌门的丰度低于正常产妇。1项研究显示GDM产妇产后仍存在胰岛素抵抗,肠道菌群异常可持续存在,表现为可降解黏液蛋白的普雷沃氏菌科比例增高,而厚壁菌门丰度降低<sup>[19]</sup>。厚壁菌门和拟杆菌门通过产生丁酸调节胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1,GLP-1)和肽酪氨酸的分泌来介导胰岛素抵抗<sup>[20]</sup>。GLP-1在体重减轻、葡萄糖稳态和营养代谢中发挥重要作用<sup>[21]</sup>。这就在分子机制上证明,厚壁菌门在

GDM疾病预防以及治疗中均发挥着至关重要的作用。同时GDM产妇的母乳中放线菌门的丰度也低于正常产妇。放线菌门主要为革兰氏阴性菌,这类菌群的细胞外膜是由脂多糖所构成的,脂多糖属于构成细胞壁的重要成分,能够对炎症反应产生刺激作用,如果肠道菌群的平衡性受到破坏,则脂多糖可进入人体循环中,进而诱发胰岛素抵抗<sup>[22]</sup>。而母乳和母乳菌群又是婴儿早期肠道菌群建立和生长发育的重要影响因素。在新生儿出生后,母乳菌群决定婴儿肠道定植微生物的多样性和种类。随着母乳中的微生物进入婴儿肠道后并开始定植,进而促进肠道相关淋巴组织成熟、稳定肠道上皮内环境。研究表明,葡萄球菌属可能参与病原体的竞争排斥,母乳提供给婴儿肠道的共生葡萄球菌菌株可能成功地与潜在的有害菌株竞争<sup>[23]</sup>。本研究中GDM产妇乳汁中的葡萄球菌属比正常产妇丰度更高,这可能与母乳菌群在预防新生儿感染方面相关,GDM产妇乳汁中可能需要提供更多的葡萄球菌属来参与病原体的竞争排斥,从而降低新生儿因外界环境发生的感染。

一方面,临床指南指出,妊娠期糖尿病产妇除加强运动和饮食控制外,母乳喂养也成为了其控制血糖的一种方式。同时母乳喂养更是预防产妇后期发展成为慢性2型糖尿病的重要生活干预方式<sup>[24]</sup>。母乳喂养通过增强与免疫和代谢活动相关的基因转录,从而使人体获益,其不仅降低新生儿早期死亡和患病的风险,还对其子代在成年后的健康带来益处。另一方面,既往研究显示,持续母乳喂养至少8个月与GDM产妇子代的平均血糖水平降低有关<sup>[25]</sup>,这表明,母乳喂养可以有效降低GDM产妇子代罹患肥胖的风险,并降低其远期罹患糖尿病的风险。

综上所述,本研究中GDM产妇乳汁菌群构成的明显改变,可能导致其子代肠道菌群的紊乱,从而影响婴儿的生长发育。厚壁菌门丰度的降低可能是GDM产妇乳汁菌群改变的关键因素之一,同时,放线菌门在GDM产妇乳汁中丰度的下降,导致对炎症反应产生刺激作用可能会进而诱发胰岛素抵抗。本研究发现GDM产妇相对于正常产妇乳汁中菌群的一些特异性变化,为前瞻性观察GDM产妇乳汁菌群的变化对其子代的肠道菌群建立及子代远期的生长发育拓展了视野。因此多中心、大样本的研究

是非常有意义的,同时母乳菌群变化对子代肠道菌群及其生长发育的影响还需进一步探索。GDM 产妇也应注意饮食均衡和保持平衡的肠道微生态,以期降低子代罹患肥胖及糖尿病的风险。

## 参 考 文 献

[1] Group Hscr, Metzger B, Lowe L, et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes[J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(19):1991–2002.

[2] McDonald SD, Malinowski A, Zhou Q, et al. Cardiovascular sequelae of preeclampsia/eclampsia: a systematic review and meta-analyses[J]. *Am Heart J*, 2008, 156(5):918–930.

[3] Zhang C, Ning Y. Effect of dietary and lifestyle factors on the risk of gestational diabetes: review of epidemiologic evidence[J]. *Am J Clin Nutr*, 2011, 94(6 Suppl):S1975–S1979.

[4] Pinto Y, Frishman S, Turjeman S, et al. Gestational diabetes is driven by microbiota-induced inflammation months before diagnosis[J]. *Gut*, 2023, 72(5):918–928.

[5] Toscano M, De GR, Grossi E, et al. Role of the human breast milk-associated microbiota on the newborns' immune system: a mini Review [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8:2100.

[6] Lokossou GAG, Kouakanou L, Schumacher A, et al. Human breast milk: from food to active immune response with disease protection in infants and mothers[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:849012.

[7] Henry LP, Bruijning M, Forsberg SKG, et al. The microbiome extends host evolutionary potential[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1):5141.

[8] Andreas NJ, Kampmann B, Mehring LK. Human breast milk: a review on its composition and bioactivity[J]. *Early Hum Dev*, 2015, 91(11):629–635.

[9] Samsuddin S, Vehtakkan SR. Authors' reply re: Maternal lipids are associated with newborn adiposity independent of GDM status, obesity and insulin resistance: a prospective observational cohort study[J]. *BJOG*, 2020, 127(7):912–913.

[10] Muggleton E, Muggleton T. Re: Maternal lipids are associated with newborn adiposity independent of GDM status, obesity and insulin resistance: a prospective observational cohort study: high carbohydrate intake influences fetal development[J]. *BJOG*, 2020, 127(7):911–912.

[11] Zimmermann P, Curtis N. Factors influencing the intestinal microbiome during the first year of life[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2018, 37(12):e315–e335.

[12] Gronlund MM, Gueimonde M, Laitinen K, et al. Maternal breast-milk and intestinal bifidobacteria guide the compositional development of the bifidobacterium microbiota in infants at risk of allergic disease[J]. *Clin Exp Allergy*, 2007, 37(12):1764–1772.

[13] Hui LL, Kwok MK, Nelson EAS, et al. Breastfeeding in infancy and lipid profile in adolescence[J]. *Pediatrics*, 2019, 143 (5) :e20183075.

[14] Ahern GJ, Hennessy AA, Ryan CA, et al. Advances in infant formula science[J]. *Annu Rev Food Sci Technol*, 2019, 10:75–102.

[15] Kamate WI, Vibhute NA, Baad RK. Estimation of DMFT, salivary streptococcus mutans count, flow rate, PH, and salivary total calcium content in pregnant and non-pregnant women: a prospective study[J]. *J Clin Diagn Res*, 2017, 11(4):ZC147–ZC151.

[16] Papachatzis E, Dimitriou G, Dimitropoulos K, et al. Pre-pregnancy obesity: maternal, neonatal and childhood outcomes[J]. *J Neonatal Perinatal Med*, 2013, 6(3):203–216.

[17] Lubiech K, Twaruzek M. Lactobacillus bacteria in breast milk[J]. *Nutrients*, 2020, 12(12):3783.

[18] Pannaraj PS, Li F, Cerini C, et al. Association between breast milk bacterial communities and establishment and development of the infant gut microbiome[J]. *JAMA Pediatr*, 2017, 171(7):647–654.

[19] Fugmann M, Breier M, Rottenkolber M, et al. The stool microbiota of insulin resistant women with recent gestational diabetes, a high risk group for type 2 diabetes[J]. *Sci Rep*, 2015, 5:13212.

[20] Tsutsumi R, Yamasaki Y, Takeo J, et al. Long-chain monounsaturated fatty acids improve endothelial function with altering microbial flora[J]. *Transl Res*, 2021, 237:16–30.

[21] Zhong X, Chen Z, Chen Q, et al. Novel site-specific fatty chain-modified GLP-1 receptor agonist with potent antidiabetic effects[J]. *Molecules*, 2019, 24(4):779.

[22] 薛爱娟, 苗士建, 孙 桦, 等. IL10RA 基因突变致极早发型炎症性肠病患儿肠道菌群特征横断面调查[J]. 中国循证儿科杂志, 2018, 13(3):200–204.

[23] Xue AJ, Miao SJ, Sun H, et al. Microbial dysbiosis in very early onset inflammatory bowel disease patients with IL10RA deficiency: a cross-sectional study[J]. *Chin J Evid Based Pediatr*, 2018, 13(3):200–204.

[24] Li Y, Shen N, Li J, et al. Changes in intestinal flora and metabolites in neonates with breast milk jaundice[J]. *Front Pediatr*, 2020, 8:177.

[25] 曹云云, 龚晓萍, 王海飞, 等. 妊娠 11~40 周子宫动脉平均搏动指数参考值范围的建立及验证[J]. 诊断学理论与实践, 2023, 22(4):374–378.

[26] Cao YY, Gong XP, Wang HF, et al. Establishment and verification of reference range of parameters related to uterine artery measured by ultrasound at 11–40 weeks of pregnancy[J]. *J Diagn Concepts Pract*, 2023, 22(4):374–378.

[27] Dugas C, Kearney M, Mecier R, et al. Early life nutrition, glycemic and anthropometric profiles of children exposed to gestational diabetes mellitus in utero[J]. *Early Hum Dev*, 2018, 118:37–41.

(责任编辑:周一青)