

“特殊类型糖尿病”专题

· 论著 ·

妊娠妇女中青少年发病的成年型糖尿病 2 型的筛查研究

元沙沙 马燕 吴南楠 柯静 赵冬

首都医科大学附属北京潞河医院内分泌代谢与免疫性疾病中心、北京市糖尿病防治重点实验室 101149

通信作者:赵冬, Email: zhaodong@ccmu.edu.cn

【摘要】 目的 在妊娠妇女中筛查葡萄糖激酶(GCK)基因突变引起的青少年发病的成年型糖尿病 2 型(MODY2), 了解MODY2的诊断和治疗现状。**方法** 回顾性分析 2016 年 1 月至 2018 年 12 月在北京潞河医院规律产检、未使用胰岛素的妊娠妇女, 以妊娠后至少 3 次空腹静脉血糖均 ≥ 5.5 mmol/L、至少 1 次血清甘油三酯 ≤ 1.43 mmol/L、75 g 口服葡萄糖耐量试验(OGTT) 2 h 血糖增量 < 4.6 mmol/L 为筛查条件, 对满足条件受试者进行 GCK 基因序列测定。**结果** 共纳入 2 956 例受试者, 符合 GCK 基因筛查条件者 24 例, 检测出 1 例 GCK 基因突变(c. G784A, p. G262R, NM_033507, NP_000153), 该患者前后 2 次妊娠期间接受胰岛素治疗, 一胎为巨大儿未携带该突变位点, 二胎新生儿携带该突变位点, 出生体重正常。**结论** 妊娠期间采用静脉血糖联合甘油三酯的筛查方法, 有助于识别MODY2患者, 明确诊断MODY2有助于指导患者进行精准血糖调控, 避免过度治疗引起的新生儿不良结局发生。

【关键词】 青少年发病的成年型糖尿病 2 型; 葡萄糖激酶; 妊娠

基金项目:通州区科技计划项目-内分泌与免疫转化医学研究(KJ2019CX013)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20210716-07046

Screening for maturity-onset diabetes of the young type 2 in pregnant women Yuan Shasha, Ma Yan, Wu Nannan, Ke Jing, Zhao Dong. Beijing Key Laboratory of Diabetes Research and Care, Center for Endocrine Metabolism and Immune Diseases, Lu He Hospital, Capital Medical University, Beijing 101149, China
Corresponding author: Zhao Dong, Email: zhaodong@ccmu.edu.cn

【Abstract】 Objective Pregnant women were screened for maturity-onset diabetes of the young 2 (MODY2) caused by GCK gene mutations, to understand the status of diagnosis and treatment of MODY2. **Methods** Retrospective analysis was performed in pregnant women who received regular obstetric examinations in Beijing Luhe Hospital from January 2016 to December 2018. Fasting blood glucose ≥ 5.5 mmol/L for at least three times after pregnancy, and serum triglyceride at least once ≤ 1.43 mmol/L and 75 g oral glucose tolerance test (OGTT) 2 h blood glucose increment < 4.6 mmol/L were the screening condition. GCK gene sequence was determined in the subjects meeting the requirements. **Results** A total of 2 956 subjects were included, 24 of whom met the criteria of GCK gene screening, and 1 case of GCK gene mutation (C. G784A, P. G262R, NM_033507, NP_000153) was detected. The patient received insulin treatment during the two pregnancies, and the first fetus was macrosomia without carrying the pathogenic sites, the second fetus carrying the mutation site had normal birth weight. **Conclusion** The screening method of fasting blood glucose combined with triglyceride during pregnancy is helpful for identification of MODY2. Accurate diagnosis is helpful to regulate blood glucose and avoid adverse neonatal outcomes caused by excessive treatment.

【Keywords】 Maturity-onset adult diabetes mellitus of the young 2; Glucokinase; Pregnancy

Fund program: Tongzhou Science and Technology Project Foundation (KJ2019CX013)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20210716-07046

葡萄糖激酶(GCK)是表达于肝脏和胰岛 β 细胞上的、调节糖代谢的重要酶,它作为胰腺的葡萄糖感受器,能使葡萄糖磷酸化转变为6-磷酸葡萄糖,从而开启糖代谢的第一步^[1]。GCK基因突变将导致胰腺对葡萄糖的感受性下降,出现轻度慢性高血糖、糖耐量受损或糖尿病,这种糖尿病称为青少年起病的成年型糖尿病2型(MODY2),又称GCK-MODY,其主要表现为儿童时期开始的轻度、持续性的、稳定性的高空腹血糖(FBG)^[2]。由于MODY2尚无明确的临床诊断标准,患者临床表现温和且患者糖尿病微血管和大血管的并发症风险低,因此容易被漏诊或误诊。多数患者在儿童时期体检被发现血糖升高或者因某些特殊人群的特殊时期的检查(如妊娠人群产检)发现^[3]。如果被误诊为1型糖尿病或者2型糖尿病,患者将会承担不必要的治疗花费、心理负担以及错误治疗带来的相关风险^[4-5]。通常,MODY2患者通过饮食及运动即可将血糖控制在合理的范围内^[4],但在特殊时期,例如患者妊娠期间,需要根据胎儿是否携带致病基因来制定个体化的降糖方案。通常,未携带致病基因的胎儿,出生体重约增加700 g,巨大儿的风险显著增加^[6],而遗传了GCK突变的婴儿与他们的母亲具有相同的稳态葡萄糖设定值,并感觉较高的葡萄糖水平是正常的,从而导致正常的出生体重。如果突变是由父亲遗传的,那么新生儿出生时体重较低^[7]。因此,从妊娠人群中有效筛查、确诊MODY2,对于患者个人及其胎儿的生长发育具有重要意义。

目前对MODY2的诊断仍依赖于GCK基因测序,但要对每个妊娠患者进行基因检测并不现实。因此探索有效、准确的筛查方法识别MODY2患者,并对其家系成员进行长期随访、制定精准的孕期血糖控制策略、减少巨大儿等不良妊娠结局、预后和遗传学咨询^[8],都具有重要意义。本研究结合现有的MODY2的临床特点制定了空腹静脉血糖联合血清甘油三酯的筛查标准,发现妊娠人群中潜在的MODY2患者,对其家系进行随访,并个体化指导患者进行血糖管理,最终达到了糖尿病精准治疗的目的。

1 对象与方法

1.1 研究对象 2015年11月1日至2018年12月31日在首都医科大学附属北京潞河医院进行常规

产检和分娩的妇女。入组标准:孕前未应用口服降糖药物和胰岛素治疗;孕期规律产检并于孕24~28周进行75 g口服葡萄糖耐量试验(OGTT)的妇女,同意参与本研究。排除标准:资料不全;严重的系统性疾病如肿瘤患者;孕前已有明确糖尿病且目前应用胰岛素治疗者;不同意参加本研究。由经过培训的北京潞河医院医务人员对受试者随访进行问卷调查、体格检查,并告知GCK基因检测的目的和方法,患者知情、理解并同意后,签署GCK基因检测知情同意书。本研究经首都医科大学附属北京潞河医院医学伦理委员会认定,该项研究的所有方法学,涉及医学伦理学方面的问题符合赫尔辛基宣言的要求。

1.2 研究方法

1.2.1 GCK突变筛查条件 本研究中制定的GCK基因突变筛查条件如下:孕期至少3次空腹静脉血糖均 ≥ 5.5 mmol/L;且至少1次血清甘油三酯 ≤ 1.43 mmol/L;孕24~28周75 g OGTT 2 h血糖增量 < 4.6 mmol/L;签署GCK基因检测知情同意书。对于满足上述标准的受试者,采集其一般临床资料,如年龄,身高,孕前体重,一级亲属糖尿病家族史,是否应用降糖方案,既往病史(巨大儿、妊娠期糖尿病、2型糖尿病、1型糖尿病、特殊类型糖尿病病史等),孕期空腹静脉血糖,甘油三酯,OGTT试验0 h、1 h、2 h静脉血糖值,收集患者全血标本并提取DNA,进行GCK基因测序。

1.2.2 GCK基因突变检测 前期研究中采用标准酚氯仿法从符合GCK检测标准的受试者外周血中提取DNA样本并于 -80°C 冰箱中存储。利用聚合酶链式反应(PCR)扩增技术捕获外显子,经ABI3730对所选样本进行Sanger测序,测序结果经DNASTAR软件子程序SeqMan软件分析,根据美国医学遗传学与基因组学学会(ACMG)基因变异分级体系对疑似致病突变分级。GCK基因外显子的PCR扩增,所用引物见表1。

1.3 统计学处理 应用EXCEL2017建立数据库,根据筛查条件,选出符合条件的受试者。JMP13.0软件进行统计分析。定量资料进行正态性检验,符合正态分布的定量资料以“均数 \pm 标准差”表示,组间均数比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 GCK 基因扩增及测序引物

引物	序列	外显子序号	碱基长度(bp)
GCK-1F	CTCAGGCAGCTCTCCATC	1	396
GCK-1R	ACACTGAGGAGGGGTGGT		
GCK-2F	CCAGCTGGTTTACCTGTAG		
GCK-2R	AGTCGAGGACTTCATTGCT	2	499
GCK-3F	TCCCTCCTCCTCTTTGTAAT		
GCK-3R	AGATGGTGACTGTGGGACT	3	460
GCK-4F	AGGAATAGCTTGGCTTGAG		
GCK-4R	ATGGTATGGGGGCTACAT	4	296
GCK-5-6F	TACTTTTATGGCCCTGTGC		
GCK-5-6R	GTAAAGTAGTTTGGTCCTCACC	5-6	497
GCK-7F	TTCCATTGTCCAGACAAA		
GCK-7R	CTTACGAACGATTGTCAGT	7	449
GCK-8F	TTCTAAAGCTCTGGCTCATT		
GCK-8R	AGGCCCTAGTTTCCCATC	8	461
GCK-9F	GGGGCAGTACTAACCAGTC		
GCK-9R	CGAAAACTGAGGGAAGAG	9-10	997

注:GCK:葡萄糖激酶;F:正向引物;R:反向引物

2 结果

2.1 筛查结果 本研究共对 2 956 名受试者进行筛查,其中符合筛查条件的受试者 24 例,实际获取受试者的外周血 DNA 样本 5 例,测得 GCK 基因突变者 1 例。GCK 基因突变患者的测序结果见图 1 (双峰处为碱基突变位点)。突变区域:c. G784A, p. G262R(参考序列 NM_033507),经比对及查阅文献,该突变位点为经典的MODY2突变位点^[9]。

2.2 GCK 基因突变者资料分析 通过追溯病史发现,该 GCK 基因突变患者(临床资料见表 2)于 2011 年首次妊娠,妊娠年龄 23 岁,身高 157 cm,孕前体重指数(BMI) < 25 kg/m²,首次怀孕期间被诊断为妊娠期糖尿病,并被建议应用胰岛素治疗,但血糖控制不佳。一胎分娩方式为剖宫产,一胎性别为男性,出生体重 6 100 g,为巨大儿。产后未复查 75 g OGTT,未使用口服降糖药物或胰岛素治疗。患者于 2017 年第 2 次妊娠,妊娠年龄 29 岁,孕前体重 65 kg, BMI 26.37 kg/m²。高危因素:瘢痕子宫,巨大儿分娩史,妊娠期糖尿病病史(首次妊娠期间胰岛素治疗)。二次妊娠期间空腹静脉血糖波动在 6.43 ~ 7.05 mmol/L,糖化血红蛋白 A1c (HbA1c) 6.4% ~ 6.8%,空腹胰岛素 10.53 mU/L, C 肽 2.54 μg/L,空腹甘油三酯 1.08 ~ 2.36 mmol/L。孕期应用胰岛素控制血糖,用药方案为三餐前即刻皮下注射门冬

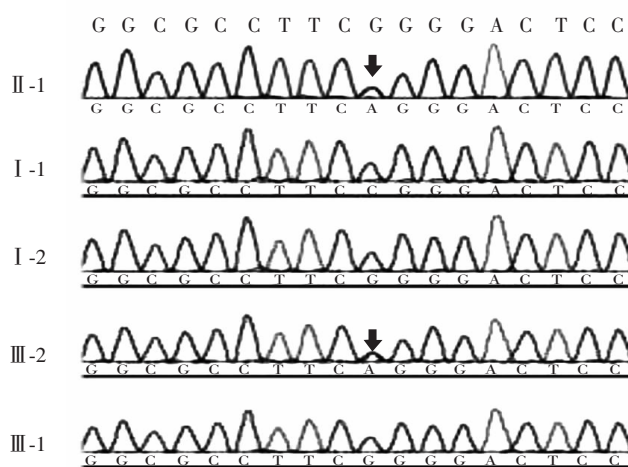
胰岛素 12 U-14 U-12 U,未使用中长效胰岛素。曾因血糖控制不佳反复于产科及内分泌科住院,自述应用胰岛素后血糖控制不佳,偶有停用胰岛素注射并无酮症发作,无反复低血糖发作病史。二次妊娠期自测 FBG 6.4 ~ 6.8 mmol/L,餐后 2 h 血糖 8 ~ 12 mmol/L,于孕 38 周剖宫产 1 名男婴,出生身高 50 cm,体重 3 000 g,新生儿Apgar评分 1、5、10 min 均为 10 分。家族史:父亲、姑姑均为糖尿病。此次产后复查:空腹静脉血糖 7.25 mmol/L,空腹甘油三酯 0.81 mmol/L, HbA1c 6.8%,空腹胰岛素 17.16 mU/L, C 肽 3.17 μg/L,现通过调整饮食结构及规律运动控制血糖,未使用任何口服降糖药物及胰岛素。

由患者资料分析可见,该患者符合 MODY2 的一些基本特征:发病年龄早,通常小于 25 岁(该患者初诊年龄为 23 岁);BMI 通常小于 25 kg/m²;家族中一级亲属有糖尿病病史;FBG 水平轻度升高,通常在 5.5 ~ 8.3 mmol/L,并且多年无恶化进展(该患者 FBG 6.0 ~ 7.5 mmol/L);HbA1c 通常小于 7.5% (该患者 HbA1c 6.4% ~ 6.8%);未携带突变的新生儿体重常超重,携带突变的新生儿出生体重正常或偏低(一胎出生体重 6 100 g,二胎出生体重 3 000 g)。对患者家系成员进行基因验证分析(图 1)提示,一胎 GCK 基因无突变,二胎 GCK 基因突变,突变位点与母亲一致,符合 MODY2 疾病表现。

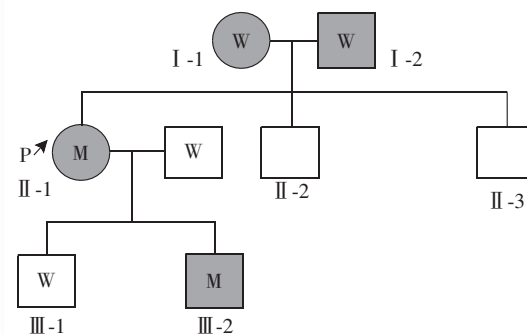
表 2 MODY2 先证者孕期及产后临床特点

项目	2011 年	2017 年	2019 年
阶段	首次妊娠	二次妊娠	产后 2 年
年龄(岁)	23	29	31
孕前 BMI	<25	26.37	26
诊断	GDM	T2DM 合并妊娠	MODY2
治疗	胰岛素	饮食及运动	饮食及运动
新生儿体重(g)	6 100	3 000	—
FBG(mmol/L)	6.4~6.8	6.43~7.05	7.25
HbA1c(%)	—	6.4~6.8	6.8
TG(mmol/L)	—	1.08~2.36	0.81
空腹胰岛素(mU/L)	—	10.53	17.16
空腹 C 肽(μg/L)	—	2.54	3.17

注:MODY2:青少年发病的成年型糖尿病 2 型;BMI:体重指数;GDM:妊娠糖尿病;T2DM:2 型糖尿病;FBG:空腹血糖;HbA1c:糖化血红蛋白;TG:甘油三酯



(a)MODY2 先证者及家系成员 GCK 基因测序



(b)MODY2 先证者及家系成员患病情况

注:MODY2:青少年发病的成年型糖尿病 2 型;GCK:葡萄糖激酶基因;M(Mutation)为携带 GCK 突变基因型,W(Wild-type)为 GCK 基因野生型,灰色为糖尿病表型

图 1 GCK 基因突变先证者及家系成员测序结果

3 讨论

在我国,关于 MODY2 的研究日益增多,有研究表明,GCK 突变在 MODY 家系中比例高达 10.4%^[10],说明中国人群中的 MODY2 患病率并不低。MODY2 不仅是造成儿童时期高血糖的主要原因^[3],也是妊娠期糖尿病中比例较高的特殊类型糖尿病。研究表明,GCK 基因突变在中国妊娠期糖尿病中的最低发生率估计为 0.27%~0.4%^[11],在中国人群中的最低发生率可能在 0.05%^[12]。迄今为止,关于我国 MODY2 的真实患病率仍旧存在争议。最新研究表明 MODY2 在自然人群和糖尿病患者中的患病率分别为 0.21% 和 1.3%^[13]。由于我国人口基数庞大,因此不能忽略潜在的庞大 MODY2 人群。对于患者而言,精确的诊断和个体化的治疗,对于孕期产前咨询和子代生长发育等均具有重要意义。GCK 突变引起的 MODY2 糖尿病在各个地区和人种中的发病

率差异较大,其中 c. G784A, p. G262R (参考序列 NM_033507)为经典的 MODY2 致病位点^[9],即 GCK 蛋白的第 262 位氨基酸由正常的甘氨酸突变为精氨酸,该突变早在 1992 年就被报道,此后几十年间,世界各地陆续报道了这种经典的错义突变形式。这种突变的致病机制是源于 GCK 的特殊结构:GCK 蛋白由 1 个大结构域和 1 个小结构域组成,结构域之间由 1 个深裂口隔开,在裂口处结合葡萄糖。而葡萄糖结合位点附近存在着甘氨酸残基,当 GCK 发生 G262R 突变后,葡萄糖结合位点结构发生改变,导致葡萄糖与 GCK 的结合受阻,引发高血糖。此外研究发现,G262R 突变患者的 FBG 及 OGTT 2 h 血糖增加量普遍高于其他突变形式,这种现象体现了 MODY2 的异质性特点。

关于 MODY2 的临床诊断标准也历经数次修正,经典的研究认为考虑 MODY2 的标准有^[14-16]:轻

度空腹高血糖 5.4 ~ 8.3 mmol/L 和轻度升高的 HbA1c 5.8% ~ 7.6%, 以及 OGTT 试验 2 h 血糖增量小于 3 mmol/L, 但这些以欧洲地区和人种为研究基础的诊断标准, 对其他种族和群体的适用性尚未得到很好的评价。尽管有研究提出 MODY2 患者的血脂并未发现明显异常, 但在中国, 低甘油三酯是 MODY2 患者的真实表现。在中国新诊断的糖尿病患者中, 以甘油三酯 1.43 mmol/L 为界值可区分中国人群中 MODY2 和 2 型糖尿病, 其敏感性和特异性分别为 100% 和 68.4%^[14]。

本研究中基于妊娠期间至少 3 次空腹血糖 \geq 5.5 mmol/L, 且至少 1 次甘油三酯 \leq 1.43 mmol/L, 且 OGTT 试验 2 h 血糖增量 $<$ 4.6 mmol/L 的筛选方法, 对于筛查妊娠期妇女中的 MODY2 患者是可行的。但也存在自身的局限性: 回顾性研究数据存在一部分失访, 筛查出的阳性病例数量较少, 很难评估筛选方法的效率。在多国研究表明 GCK 基因突变是导致妊娠期血糖异常的主要原因, 但本研究人群中, 假设未被送检的人群中 GCK 基因均无突变, 那么 GCK 突变不是孕期血糖异常的主要致病原因。由于中国人口众多, 这些人是不可忽视的。正确的筛查和诊断将有利于节约医疗资源, 提供产前咨询, 提高患者的生活质量。对于筛查出的 MODY2 患者, 笔者制定了随访计划、定期给予血糖监测指导、对于家系成员和子代发育情况定期进行监测, 并给予相应的建议, 达到了精准诊疗的目的。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Froguel P, Vaxillaire M, Sun F, et al. Close linkage of glucokinase locus on chromosome 7p to early-onset non-insulin-dependent diabetes mellitus [J]. *Nature*, 1992, 356 (6365): 162-164. DOI: 10.1038/356162a0.
- [2] Byrne MM, Sturis J, Clément K, et al. Insulin secretory abnormalities in subjects with hyperglycemia due to glucokinase mutations [J]. *J Clin Invest*, 1994, 93 (3): 1120-1130. DOI: 10.1172/JCI117064.
- [3] Feigerlová E, Pruhová S, Dittertová L, et al. Aetiological heterogeneity of asymptomatic hyperglycaemia in children and adolescents [J]. *Eur J Pediatr*, 2006, 165 (7): 446-452. DOI: 10.1007/s00431-006-0106-3.
- [4] Stride A, Shields B, Gill-Carey O, et al. Cross-sectional and longitudinal studies suggest pharmacological treatment used in patients with glucokinase mutations does not alter glycaemia [J]. *Diabetologia*, 2014, 57 (1): 54-56. DOI: 10.1007/s00125-013-3075-x.
- [5] Velho G, Vaxillaire M, Boccio V, et al. Diabetes complications in NIDDM kindreds linked to the MODY3 locus on chromosome 12q [J]. *Diabetes Care*, 1996, 19 (9): 915-919. DOI: 10.2337/diacare.19.9.915.
- [6] Chakera AJ, Steele AM, Gloyn AL, et al. Recognition and management of Individuals with hyperglycemia because of a heterozygous glucokinase mutation [J]. *Diabetes Care*, 2015, 38 (7): 1383-1392. DOI: 10.2337/dc14-2769.
- [7] Spyer G, Macleod KM, Shepherd M, et al. Pregnancy outcome in patients with raised blood glucose due to a heterozygous glucokinase gene mutation [J]. *Diabet Med*, 2009, 26 (1): 14-18. DOI: 10.1111/j.1464-5491.2008.02622.x.
- [8] Murphy R. Monogenic diabetes and pregnancy [J]. *Obstet Med*, 2015, 8 (3): 114-120. DOI: 10.1177/1753495X15590713.
- [9] Stoffel M, Froguel P, Takeda J, et al. Human glucokinase gene: isolation, characterization, and identification of two missense mutations linked to early-onset non-insulin-dependent (type 2) diabetes mellitus [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1992, 89 (16): 7698-7702. DOI: 10.1073/pnas.89.16.7698.
- [10] Liu L, Liu Y, Ge X, et al. Insights into pathogenesis of five novel GCK mutations identified in Chinese MODY patients [J]. *Metabolism*, 2018, 89: 8-17. DOI: 10.1016/j.metabol.2018.09.004.
- [11] 王志新, 平凡, 张茜, 等. 中国妊娠期血糖异常人群葡萄糖激酶基因突变初步筛查 [J]. *中华糖尿病杂志*, 2014, 6 (6): 397-401. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-5809.2014.06.010.
- [12] Wang Z, Ping F, Zhang Q, et al. Preliminary screening of mutations in the glucokinase gene of Chinese patients with gestational diabetes [J]. *J Diabetes Investig*, 2018, 9 (1): 199-203. DOI: 10.1111/jdi.12664.
- [13] Ma Y, Han X, Zhou X, et al. A new clinical screening strategy and prevalence estimation for glucokinase variant-induced diabetes in an adult Chinese population [J]. *Genet Med*, 2019, 21 (4): 939-947. DOI: 10.1038/s41436-018-0282-3.
- [14] Ellard S, Bellanné-Chantelot C, Hattersley AT, et al. Best practice guidelines for the molecular genetic diagnosis of maturity-onset diabetes of the young [J]. *Diabetologia*, 2008, 51 (4): 546-553. DOI: 10.1007/s00125-008-0942-y.
- [15] Steele AM, Wensley KJ, Ellard S, et al. Use of HbA1c in the identification of patients with hyperglycaemia caused by a glucokinase mutation: observational case control studies [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (6): e65326. DOI: 10.1371/journal.pone.0065326.
- [16] Gloyn AL, van de Bunt M, Stratton IM, et al. Prevalence of GCK mutations in individuals screened for fasting hyperglycaemia [J]. *Diabetologia*, 2009, 52 (1): 172-174. DOI: 10.1007/s00125-008-1188-4.

(收稿日期: 2021-07-16)