



胡志斌, 二级教授, 博士生导师, 南京医科大学校长, 生殖医学与子代健康全国重点实验室主任, 中国医学科学院学部委员, 中国医师协会公共卫生医师分会副会长, 中华预防医学会流行病分会常务委员, 国家重点研发计划生育健康重点专项专家组成员。长期致力于出生队列研究及生殖障碍疾病、出生缺陷等复杂疾病的分子与遗传流行病学研究, 主持国家重点研发计划项目、基金委创新研究群体项目、国家杰出青年基金、国家自然科学基金重点项目等。在 *Nat Genet*、*Nat Med*、*Cancer Cell*、*Lancet Oncol* 等国际知名杂志上发表研究论文 200 余篇, 连续入选 Elsevier“化学、遗传与分子生物学”中国高被引学者 (H 指数 65, 总 SCI 他引超 18 000 次), 研究成果获国家自然科学基金二等奖、国家科学技术进步奖二等奖及多项省部级科技进步一等奖等。

<https://gwxy.njmu.edu.cn/2017/0718/c8947a98500/page.htm>

先天性心脏病遗传和环境危险因素的研究进展

马婉婷^{1,2} 刘欣玥^{1,2} 周彦^{1,2} 顾亚云^{1,2*} 胡志斌^{1,2*}

(¹南京医科大学生殖医学与子代健康全国重点实验室, 南京 211166;

²南京医科大学公共卫生学院全球健康中心, 南京 211166)

摘要 先天性心脏病简称先心病, 是新生儿中最常见的先天性畸形, 每 100 名活产婴儿中就有 1 例先心病患儿。近年来, 随着二代测序技术的发展, 先心病易感变异和致病变异的鉴定得到了飞速进步, 基因编辑技术的成熟也促进了对遗传病因的表型研究及机制解析。环境因素作为先心病另外一类重要的危险因素一直备受关注, 但是受限于孕期暴露检测的样本收集和测试分析, 其在先心病发生中的作用和机制研究进展缓慢。近 10 年来, 国内外出生队列建设日益完善, 基于队列样本的单细胞组学、元素组学、代谢组学等技术的应用, 在遗传和环境危险因素的系统研究中发挥着重要的功能。该文就已发表的文献从遗传因素和环境因素两个方面总结了既往在先心病病因领域的研究进展, 并为该领域未来的研究方向拓展了新思路。

关键词 先天性心脏病; 遗传病因; 环境病因; 多组学; 出生队列研究

Progress in the Research of Genetic and Environmental Risk Factors for Congenital Heart Disease

MA Wanting^{1,2}, LIU Xinyue^{1,2}, ZHOU Yan^{1,2}, GU Yayun^{1,2*}, HU Zhibin^{1,2*}

(¹State Key Laboratory of Reproductive Medicine and offspring Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China;

²School of Public Health, Center for Global Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China)

收稿日期: 2024-01-06 接受日期: 2024-02-27

国家自然科学基金创新研究群体项目(批准号: 82221005)、国家自然科学基金优秀青年科学基金(批准号: 82322032)和国家重点研发计划(批准号: 2021YFC2700601)资助的课题

*通信作者。Tel: 025-86868426, E-mail: yayungu@njmu.edu.cn; Tel: 025-86868440, E-mail: zhibin_hu@njmu.edu.cn

Received: January 6, 2024 Accepted: February 27, 2024

This work was supported by the Science Fund for Program Creative Research Groups of the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82221005), the Science Fund Program for Distinguished Young Scholars of the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82322032), and the National Key Research and Development Program of China (Grant No.2021YFC2700601)

*Corresponding authors. Tel: +86-25-86868426, yayungu@njmu.edu.cn; Tel: +86-25-86868440, E-mail: zhibin_hu@njmu.edu.cn

Abstract CHD (congenital heart disease) is the most prevalent congenital anomaly among newborns, affecting nearly 1 in every 100 live births. Recent advancements in next-generation sequencing technology have facilitated rapid progress in identifying susceptibility variants and pathogenic variants associated with CHD. Furthermore, the advancement of gene editing technology has accelerated phenotypic research and mechanism analysis of genetic causes. Environmental factors, which are another risk factor for CHD, have garnered considerable attention. However, limitations in sample collection for exposure detection during pregnancy have impeded research on their role and mechanism in the development of CHD, resulting in slow progress. Over the past decade, the application of single-cell omics, elementomics, and metabolomics based on cohort samples has played a pivotal role in investigating genetic and environmental risk factors. This article reviews existing literature from both genetic and environmental perspectives to provide references for preventing and controlling CHD while suggesting future research directions.

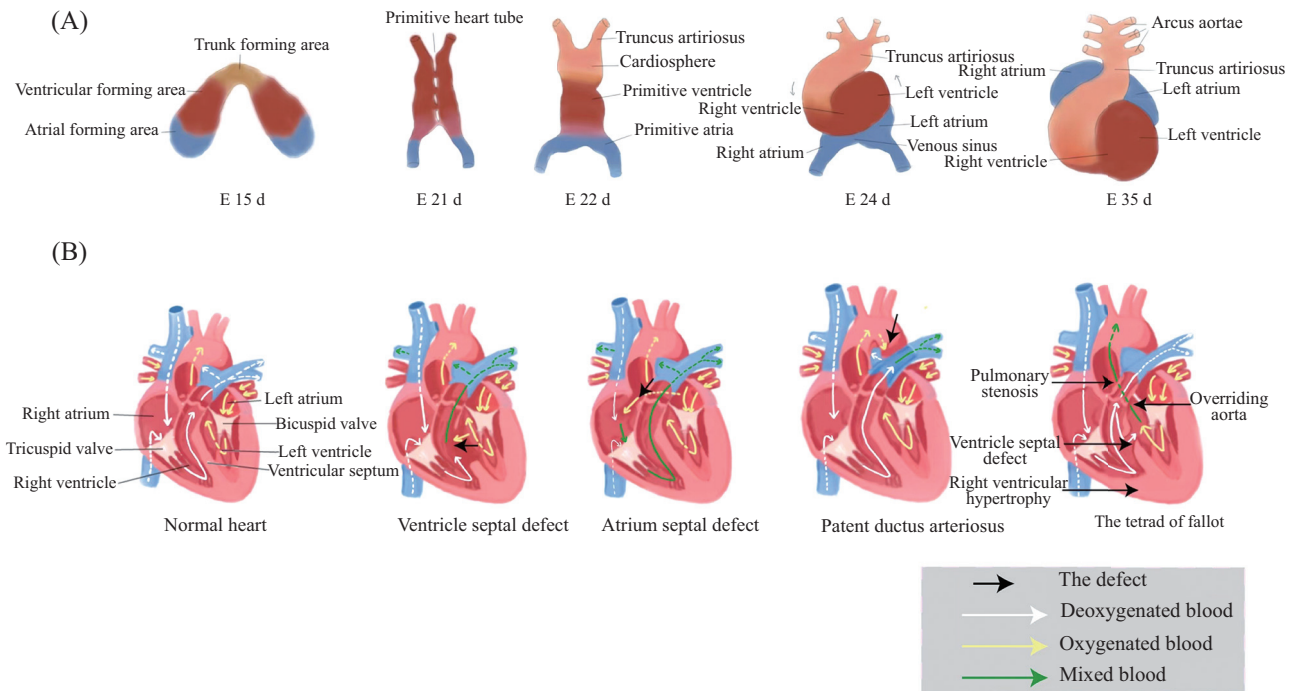
Keywords congenital heart disease; genetic factor; environmental factor; multi-omics; birth cohort study

先天性心脏病(congenital heart disease, CHD), 通常被定义为一种在出生时出现的心脏或大血管的结构异常,它是新生儿中最常见的先天性疾病^[1],发病率大约为活产儿的1%^[2]。根据《中国心血管健康与疾病报告2022概要》,CHD发病率在全国多地均位居新生儿出生缺陷的首位,其检出率多在2.9%~16%^[3]。由于并非所有CHD患者都能被早期诊断出来,实际患病率应更高。鉴于中国人口众多,CHD的高发病率可能会给我国带来巨大的社会健康和经济负担。随着医疗技术的进步,尽管大部分CHD患者可以通过手术措施干预,但这些治疗的作用是有限的,许多CHD患者需要终身治疗,有些还会出现晚期并发症,影响其生存质量。一个纳入了9项CHD队列研究的Meta分析发现,CHD与晚年心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)发生风险增加存在关联^[4],其中最常见CVD是心力衰竭和心律失常^[5-6]。同时,患有CHD的儿童罹患中风的风险也会增加^[7]。因此对CHD各亚型遗传及环境病因的解析并提出合理的三级预防策略是亟待解决的公共卫生问题。

心脏是胚胎发生过程中最早形成的系统之一。在胚胎发育的最初几周,心脏的祖细胞会先后演变成线性和环状的心管,然后继续生长、分化,最终在怀孕8周左右形成完整的心脏器官,这个过程受基因和环境因素综合调控,涉及多种信号转导通路以及表观遗传学等^[8](图1A)。因此,怀孕第3~8周是胚胎心脏发育的关键时期,也是CHD发生的高危时期^[9]。按照解剖学依据,CHD可以分为隔膜缺损、房室管缺损、左心室发育不良综合征以及圆锥动脉干畸形。其中室间隔缺损(ventricular septal de-

fect, VSD)、房间隔缺损(atrial septal defect, ASD)、持续性动脉导管未闭(persistent ductus arteriosus, PDA)是最常见的3种亚型;法洛四联症(tetralogy of Fallot, TOF)是最常见的复杂CHD,主要表现为室间隔缺损、肺动脉狭窄、主动脉骑跨和右心室肥大^[1,6](图1B)。不同类型的CHD对患者的影响差异很大。如较小的ASD、VSD等轻度的CHD无需立即手术干预,而复杂的CHD如TOF、大动脉转位(transposition of the great arteries, TGA)、左心室发育不良等则可能危及生命,需要立即手术治疗以及广泛的医疗保健^[10]。

从20世纪40年代末开始,主流的假说认为基因组变异是CHD的主要原因,1959年发现的唐氏综合征和特纳综合征的染色体异常为这一理论提供了有利的依据^[11-12]。从20世纪70年代开始,染色体缺失和基因组图谱研究确定了十几种遗传性CHD的大致基因组位置。到1991年,马凡氏综合征纤维蛋白被发现,这是第一个被发现与CHD相关的基因突变^[13]。近年来,随着新的基因组检测技术的出现,一些基因组变异可以被更准确地检测和识别。但由于遗传因素的不可干预性,人们越来越认识到环境因素在CHD中的作用和转化应用前景。研究发现高达30%的CHD发生与环境因素,如空气污染、高温、药物和生物因素等有关^[14-15]。其实,早在1908年心脏病理学先驱莫德·阿博特(Maud Abbott)就写道,CHD可能是由于“母亲在怀孕最初几周受到有害影响”而发生的^[16]。此外,也有研究证明受精后第二至第三周子宫内的环境因素会影响胎儿发育,从而导致心脏异常^[17]。本文将从CHD遗传因素、环



A: 心脏发育过程; B: 正常心脏及常见CHD亚型结构。

A: human heart development; B: normal heart and common types of congenital heart diseases.

图1 心脏发育及常见发育异常图解

Fig.1 Cardiac development and common developmental abnormalities

境因素以及二者交互作用几个角度对CHD的危险因素进行综述。

1 遗传因素

经过近一个世纪的研究, CHD遗传变异的鉴定手段日趋成熟, 既往的遗传学发现可以作为CHD遗传诊断的分子标志物, 并有助于揭示CHD潜在的发病机制, 为CHD的早期诊断、早期干预提供理论依据。在CHD遗传病因的早期研究中, 染色体核型分析、Sanger测序、荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)等传统的遗传学分析技术发挥着重要作用; 随着DNA测序技术、生物信息学和数据处理的迅猛发展, 高通量基因组测序技术, 包括染色体微阵列(chromosomal microarray analysis, CMA)、全外显子组测序(whole exome sequencing, WES)、全基因组测序(whole-genome sequencing, WGS)的应用日益广泛(图2), 为CHD遗传病因的鉴定拓展了全新的领域和视野。

1.1 非整倍体

非整倍体是最早被发现的CHD遗传因素, 表现为染色体的数目异常, 主要包括13-三体、18-三体、21-三体和性染色体非整倍体, 最初可以根据核

型分析发现, 现通常通过染色体微阵列分析进行检测^[18]。染色体非整倍体异常往往导致严重的综合征, 常见的有Down综合征和Turner综合征^[19], 其合并心脏发育异常的风险较高。Down综合征^[20]由21号染色体异常导致, 通常伴随CHD(44%), 主要表现为ASD, 同时也涵盖了VSD、PDA以及TOF等表型。Turner综合征是因X染色体部分或者全部缺失引发的罕见的女性疾病, 可表现为不同的核型, 包括经典的一条染色体完全缺失(45,X)、嵌合体(45,X/46,XX、45,X/47,XXX、45,X/46,XY)以及X染色体结构的异常, 如X染色体长臂等臂Xi(Xq), 短臂等臂Xi(Xp), 长臂或短臂缺失XXq⁻, XXp⁻, 形成环形Xxr或易位。Turner综合征合并的心脏异常通常累及心脏的左侧, 其可以单独存在也可以同时发生, 最常见的是先天性二叶式主动脉瓣畸形(bicuspid aortic valve, BAV), 其次为主动脉缩窄和主动脉扩张, 可导致夹层主动脉瘤的发生^[21]。

1.2 拷贝数变异

拷贝数变异(copy number variation, CNV)是指单个基因到数百万个碱基对的大片段缺失或重复, 可以通过染色体微阵列或二代测序技术进行基因组重复和缺失的检测, 基因组CNV可以引起10%~15%

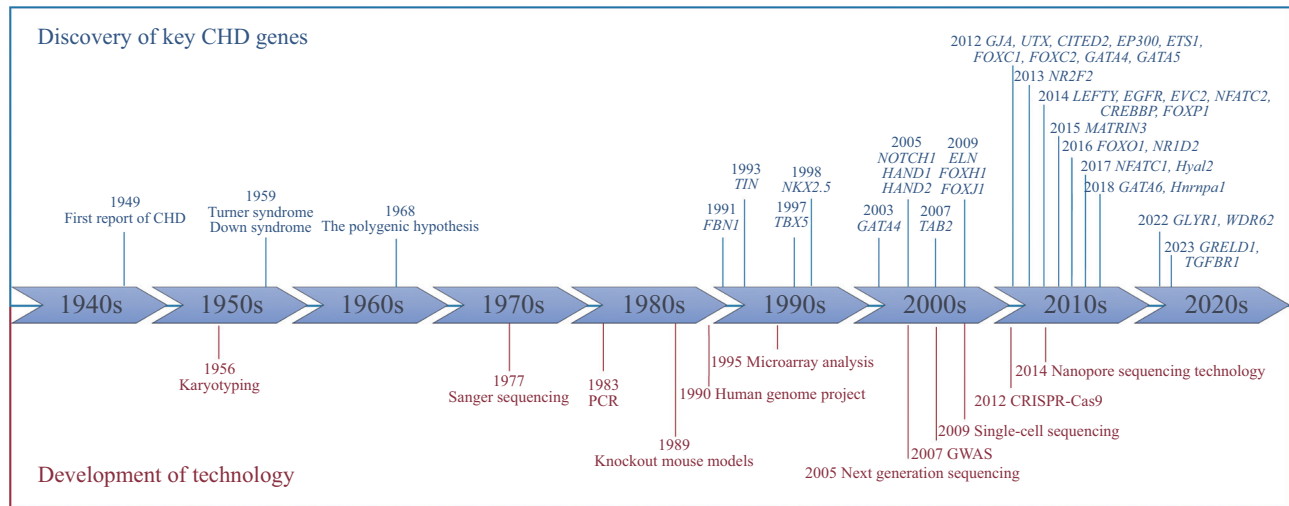


图2 CHD的遗传因素研究进展
Fig.2 Key points in the study of genetic factors of CHD

的CHD^[22]。CHD人群较正常人群拷贝数变异的负荷程度更大,且有致病性CNV的先心患儿临床结局更差,这已被一些临床研究证实。一项拷贝数变异对单心室缺陷婴儿临床结局影响的病例对照研究表明,病例组中致病性CNV的发生率(13.9%)明显高于对照组(4.4%),且有致病性CNV的患儿预后更差,表现出神经发育异常和生长发育障碍的现象^[23]。另一项临床研究发现,与健康对照组相比非综合征CHD患儿的潜在致病性CNV的负荷更高(12.1% vs 5.0%; $P=0.000\ 16$),并且这些拷贝数变异与死亡和移植风险的增高密切相关(2.55倍)^[24]。22q11微缺失也称为DiGeorge综合征(DiGeorge syndrome, DGS),是最常见的微缺失,常由侧翼低拷贝重复引起^[10]。此片段包括了T-Box转录因子的关键基因*TBX1*,其微缺失的发生可导致CHD,主要包括TOF、圆锥动脉干畸形、ASD、VSD等心血管畸形^[22,25]。位于2q13的重复或缺失影响定位于这个区域的两个基因*FBN1*和*TMEM87B*,可引起多种解剖类型的CHD发生,包括偏侧性缺陷、复杂房室间隔缺损、间隔畸形、心脏病等^[26]。*GJA5*基因位于1q21.1区域,该区域100~200 Kb的罕见重复与TOF的发生密切相关,而其缺失主要与非TOF的CHD相关,可表现为TGA、ASD以及二尖瓣发育不全伴VSD^[27]。除此之外,8p23.1、16p11.2、15q11.2、11q24、16p13.1的拷贝数缺失或者扩增也与CHD的各种亚型的发生相关^[22]。

1.3 单基因变异

单基因变异很少引起单纯性CHD,如*FBN1*基

因的突变会影响结缔组织的形成从而导致Marfan综合征,其严重的后果可表现为主动脉结缔组织衰弱引起的心脏供血不足,进而导致心脏的发育畸形^[28]。Noonan综合征与编码非受体型蛋白酪氨酸磷酸酶SHP-2的基因*PTPN11*发生错义突变有关,主要以肺动脉瓣狭窄和肥厚性心肌病为特征^[29]。近期研究还发现*CRELD1*基因的罕见变异在患有BAV的Turner综合征患者中显著富集,增加了瓣膜发育异常的风险^[30]。

*NKX2.5*是第一个被发现与非综合征型CHD有关的编码转录因子的基因^[31],作为心脏发育过程中关键的转录调节因子,其突变常会导致心脏的结构和功能异常。与NK2转录因子家族的其他成员相似,*NKX2.5*转录因子含有高度保守的同源盒结构域(homeobox gene, HD),可特异性识别并结合DNA序列。研究发现了一种位于HD的 α_1 螺旋环中的新突变A148E,该突变可导致复杂的CHD,包括右心室双出口和TGA,并伴有其他心脏畸形,如主动脉瓣闭锁、继发孔型ASD、膜周部VSD以及伴有轻度梗阻的弥漫性主动脉狭窄^[31]。同时,*NKX2.5*可以与*GATA4*相互作用,共同影响心脏中胚层的发育^[32]。*GATA4*是心脏发育必需的锌指转录因子,在心脏发育的各个阶段均发挥重要的作用。有研究表明,*GATA4*^{G296S}突变患者表现迟发性心肌病,其特征是左心室收缩功能下降、乳头肌增厚和右心室超声心动图异常^[33]。近期胡士军队^[34]首次从人心肌细胞中明确了*GATA4*^{T280M}突变与*FGF16*基因的表达下调相关,其会导致心肌细胞增殖缺陷。此外,

*TBX5*编码在心脏发育中具有明确作用的转录因子,可以维持心脏基因调控网络的稳定性,其不足会导致心室肌细胞的基因表达程序改变^[35],发生错义突变时常导致Holt-Oram综合征,主要表现为上肢畸形和心脏房室间隔缺损^[36]。*GATA4*^{G296S}突变会使*TBX5*无法正确募集到与横纹肌发育、心肌病、心脏发育和心肌收缩有关的基因超级增强子(super-enhancer, SE)元件,从而导致染色质状态的更加封闭和心脏基因的转录减少^[33]。*GATA5*基因编码一个对主动脉瓣正常发育至关重要的转录因子,其功能缺失突变与先天性BAV相关^[37]。*NKX2.5*基因突变可导致*GATA5*转录因子之间的协同转录激活作用丧失,表明*NKX2.5*功能缺失突变与人类BAV易感性增强有显著关联^[38]。

除转录调节因子外,编码信号转导通路的基因在子代CHD的发生中同样发挥着重要作用。*NOTCH1*基因编码心脏发育中重要信号通路的受体,其突变是第一个被发现的与BAV和钙化性主动脉瓣疾病(calcific aortic valve disease, CAVD)相关的突变,并且在胚胎期和出生后主动脉瓣发育中均发挥重要作用^[39]。一项早期研究通过*NOTCH1*^{G661S}和*NOTCH1*^{Δ683T}变体观察到配体诱导信号的减少,表明*NOTCH1*信号水平在心血管发育过程中受到严格调控,其相对较小的变化就有概率促进左室流出道(left ventricular outflow tract, LVOT)缺陷^[40]。此外,该通路中含有如*NOTCH1*、*ARHGAP31*、*MAMLI*、*SMARCA4*、*JARID2*、*JAG1*等编码罕见蛋白的基因,其突变会在左心室流出道梗阻缺陷中发挥作用^[41]。Nodal/TGF-Lefty信号通路在人胚胎干细胞分化的早期阶段具有重要作用,可用于指导胚胎干细胞向不同的胚胎谱系分化。*LEFTY*基因编码该信号通路中的转化生长因子,研究发现*LEFTY*基因的单核苷酸多态性与中国汉族人群的CHD显著相关^[42]。Wnt/β-catenin信号通路在发育和围产期控制心室肌细胞增殖,信号通路的差异激活是导致在心脏正常发育过程中心肌致密部和小梁部增殖率不同的原因^[43]。此外,Wnt通路调节因子*BCL9*和*PYGO*的表达异常与TOF的发生具有相关性^[44]。

2 环境因素

尽管遗传因素在CHD的发生中起着重要的作用,但CHD的发生是一个复杂的过程,遗传因素只能

解释约15%的CHD的发生^[45],且干预具有一定的难度。许多流行病学研究显示围孕期环境因素的暴露与子代CHD的发生相关,环境因素对CHD发生的影响不容忽视。常见的环境因素包括孕期母体内环境暴露、外环境致畸因素以及社会人文环境等^[46](图3)。

2.1 孕期母体内环境因子

母体健康在胎儿发育中起着关键作用。孕期母亲疾病、营养不良和药物滥用等均与子代CHD的风险增加有关。

母亲孕期疾病可能会干扰体内的微环境,从而影响胎儿的正常发育。LIANG等^[15]对广州市妇幼保健院出生的婴儿进行了回顾性队列研究,发现妊娠期流感暴露会增加子代发生CHD的风险。LIU等^[14]利用加拿大卫生信息研究所的数据,对2002年至2010年加拿大所有的母婴对进行了一项基于人群的研究,结果显示一些慢性孕产妇疾病与子代患CHD的风险增加相关。在一项为期34年、囊括了200万新生儿的队列研究中,ØYEN等^[47]发现,孕妇妊娠早期糖尿病与子代CHD风险增加4倍有关,并且可能是通过调节胰岛素敏感性的信号通路发挥致畸作用,而不是由直接的高水平葡萄糖引起^[47]。为评估母亲妊娠期高血压与子代CHD之间的关联,ZHANG等^[48]对24项研究进行了Meta分析,其结果表明妊娠期高血压的发生与总CHD的发生风险增加有关,且与大多数CHD的表型之间具有显著关联。此外,母亲血脂紊乱可能也是子代CHD的危险因素^[49]。肥胖是多种疾病的危险因素,为探索其与CHD的关联,PERSSON等^[50]进行了基于人群的队列研究,该研究包括1992—2012年出生的2 050 491名活产单胎婴儿,其研究结果表明与正常体重母亲子代相比,重度肥胖母亲的子代主动脉分支缺损、ASD和PDA的发生风险显著增加。除增加子代CHD的发生风险外,妊娠期体重异常增加也是子代单室性CHD预后恶化的新兴危险因素^[51]。

营养不良包括营养不足和营养过剩,也是CHD的一大危险因素。DILLI等^[52]对108名患有CHD的新生儿和103名健康新生儿及其母亲的微量营养素水平进行测量和比较,其结果显示维生素D的缺乏可能是子代CHD发生的危险因素。维生素A的缺乏会损害母体铁的状态和抗感染能力,但过量服用可能会对子代心血管系统的发育有一定影响^[53]。KAWAI等^[54]对日本怀孕妇女的研究显示,有多种因素会影响孕妇和子代的健康,其中维生素A的使用与子代

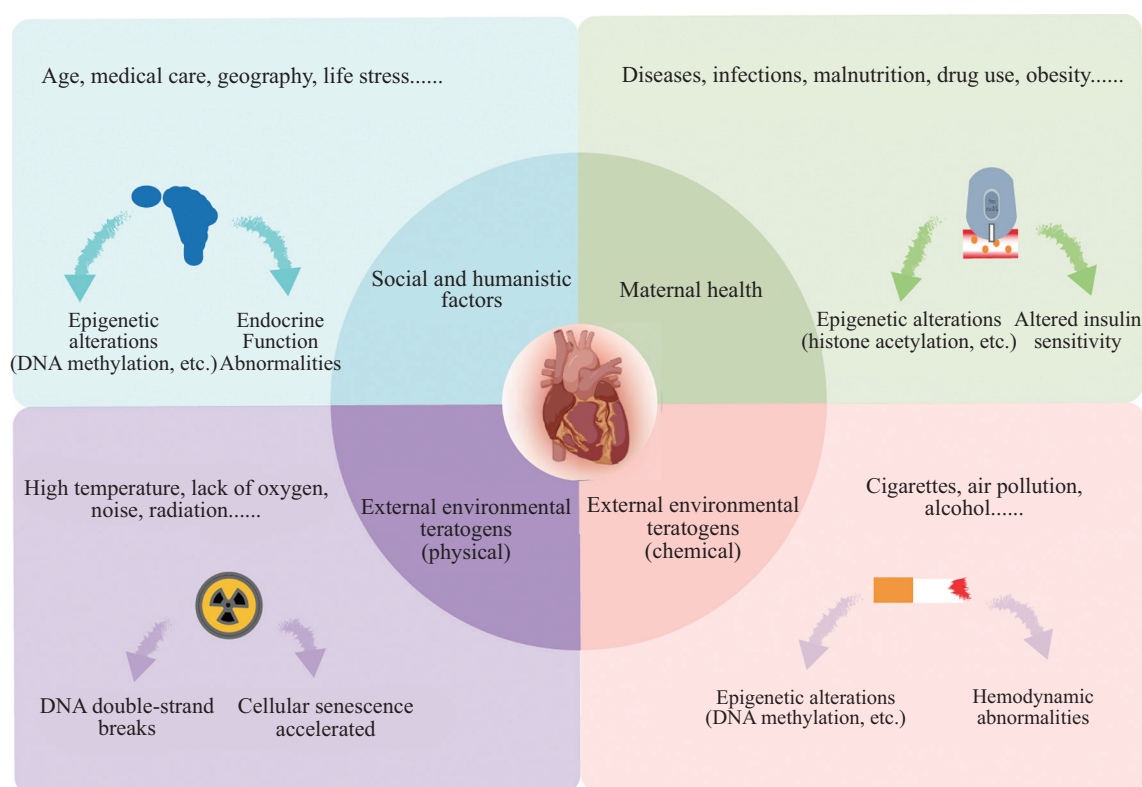


图3 环境因素对CHD的影响及部分因素的可能作用机制

Fig.3 Effects of environmental factors on CHD and the potential mechanisms of certain factors

CHD相关。维甲酸(retinoic acid, RA)是维生素A的一种产物,心脏生长和发育的不同阶段均需要适当的RA信号来进行调控,而过量的RA信号转导则可能导致心脏缺陷,这可能在一定程度上解释了维生素A过量与CHD之间的关联^[55]。叶酸在母亲孕期的作用十分关键,其水平与子代的发育息息相关。一项病例对照研究观察了营养素与子代CHD发生之间的关联,结果显示,与对照组相比,CHD患儿和他们的母亲体内叶酸水平显著较低^[56]。来自中国上海的一项病例对照研究显示,在一定范围内,子代CHD的发生风险会随着母亲妊娠期间叶酸水平的增加而下降^[57]。WANG等^[58]的研究结果表明,与不补充叶酸的孕妇相比,妊娠期服用叶酸和含有叶酸的多种微量营养素均对子代总CHD、重症CHD以及VSD的发生具有保护作用,当母亲在受孕之前就开始补充叶酸时,保护作用更为显著。同时,母亲患高同型半胱氨酸血症与子代CHD之间的关联,也与叶酸水平较低有潜在的联系^[59]。

孕期药物的使用会改变母体的激素水平,其与CHD的关联也受到了广泛的关注。既往的研究显示抗癫痫药、二氢叶酸还原酶抑制剂药物以及降血糖

药物的使用均与CHD的增加有统计学关联^[60]。一项Meta分析在探讨抗抑郁药物和子代先天性畸形的过程中,发现抗抑郁药可以显著增加子代心血管畸形的发生风险^[61]。为阐明围孕期母亲抗抑郁药的使用与子代CHD之间的关联,SUN等^[62]进行了一项前瞻性队列研究,该项目共纳入34 104例单胎妊娠女性,研究发现母亲孕前3个月内和孕早期使用抗抑郁药均与子代CHD的发生风险增加显著相关,其中孕前3个月内的暴露对TGA的发生影响最显著,孕早期的暴露对子代发生VSD的影响最大。但由于药物与疾病本身可能具有交互作用,因此其关联的真实性和可靠性需要进一步的研究来证实。

2.2 孕期致畸外环境因素

孕期致畸外环境因素是指母体周围的外环境,其可能干扰正常的胚胎发育,导致心脏结构异常,主要包括香烟、酒精和空气污染等在内的环境毒素和致畸剂等化学因素,以及高温、高海拔缺氧和环境辐射源暴露等物理因素^[63]。

2.2.1 化学因素 早在2004年,一项病例对照研究就发现母亲孕期中重度饮酒以及使用大麻均与子代VSD存在相关性^[64]。我国国家出生缺陷预防研

究数据也显示,围孕期吸烟与VSD、三尖瓣闭锁和右心室双出口的关系最为密切,且当其每天吸烟的量 ≥ 25 支时,子代患有右侧阻塞型缺陷的风险显著增加^[65]。2020年ZHAO等^[66]对1980—2019年的617项研究进行Mate分析,其结果显示与不吸烟的人相比,母亲孕前主动和被动吸烟时子代患CHD的风险分别增加25%和124%,同时该分析也发现父亲主动吸烟会导致子代CHD的发生风险增加74%。先前的研究表明被动吸烟可能会影响血液流向胎盘,从而降低血液向心脏输送氧气的能力^[67],这可能解释了部分吸烟与CHD发生的关联性。

空气中的污染也与子代CHD有一定相关性。2023年ZHANG等^[68]发表了一项纳入了26篇国内外空气污染与子代CHD关系相关研究的Meta分析,结果显示与低浓度暴露相比,高浓度的CO暴露会增加子代TOF的发生风险($OR_{\text{adjust}}=1.21$),而暴露于高浓度的NO₂会增加子代主动脉缩窄的风险($OR_{\text{adjust}}=1.14$)。YUAN等^[69]进行了一项基于全国监测的病例对照研究,分析了2014—2017年的1 434 998例新生儿中CHD与母体PM_{2.5}暴露的关联,结果显示母亲PM_{2.5}暴露每增加10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$,后代患冠心病的风险就增加2%($OR=1.02$),其中VSD受影响最大($OR=1.04$)。而AGAY-SHAY等^[70]的队列研究中发现PM_{2.5}的暴露与子代CHD的发生率降低有关,与上述研究结果不一致的可能原因是暴露于PM_{2.5}导致流产的风险增加,从而使活产婴儿的CHD患病率减少。

化学有毒物质及重金属也是促使CHD发生的重要危险因素。RAPPAZZO等^[71]使用2003—2005年北卡罗莱纳州出生队列中的出生缺陷的数据进行的病例对照研究为化学品的暴露与CHD之间的关联提供了一些证据,该研究调查了超过30万名婴儿母亲的杀虫剂暴露情况,发现与未接触杀虫剂的母亲相比,在孕期接触某种杀虫剂的母亲的子代患有ASD的概率显著升高。WANG等^[72]的研究显示,暴露于某些特定的内分泌干扰物,比如邻苯二甲酸酯和烷基酚类化合物与某些亚型的CHD发生风险增加具有相关性。根据既往的研究,许多重金属如铅、镉、砷等会在土壤、水和食物链中富集,并在自然条件下不易分解,其暴露目前已被发现可能会对胎儿的心脏发育产生影响^[73-74]。RUDNAI等^[75]的调查结果表明,孕期日常饮用的水中含有的砷浓度高于10 $\mu\text{g}/\text{L}$,会导致先天性心脏异常的发生风险增加,特别是PDA

和ASD。WANG等^[76]也发现,随着砷、镉、汞、铅和锰的混合物水平的增加,CHD的发生风险也随之增加,其中汞是混合物效应的最重要因素。

2.2.2 物理因素 近年来,温度对CHD的影响逐渐受到关注。一项回顾性队列利用加拿大1988—2012年的704 209例妊娠后2至8周胎儿的数据,探索了怀孕后2~8周室外温度与子代CHD之间的关系,发现妊娠早期30 $^{\circ}\text{C}$ 以上的高温暴露对子代ASD有显著影响^[77]。以美国人群为基础的研究也发现,春季暴露于极端高温可能会导致子代VSD和ASD^[78]。YU等^[79]于2015—2019年5月至10月在中国广东对1 918 105名妊娠2至8周的胎儿进行的回顾性队列研究,同样发现怀孕后2~8周的极端高温环境暴露与子代的CHD发生风险增加相关,其中ASD和PDA受影响最严重,且这种关联随着母体暴露的程度和时间的积累而增强。HUSTON等^[80]的实验性研究进一步表明,热激活的瞬时受体电位离子通道在心脏发育的关键窗口期存在于神经嵴细胞中,高温可影响离子通道转运活性并对胎儿的心脏发育产生负面影响。

CHUN等^[81]对来自北京市不同海拔地区学校的84 302名学生进行的横断面研究,首次通过大规模流行病学调查数据表明高海拔是CHD(主要为PDA)发生的重要危险因素。小鼠实验也证明了围产期缺氧与基因表达和心功能的改变有关^[82]。小鼠的胚胎暴露于短期缺氧可诱导未折叠蛋白反应,显著抑制第二生心区心脏祖细胞中的FGF信号转导,从而影响心脏的正常发育^[83]。2014—2016年在陕西省西安市6家医院开展的一项纳入了2 339人的病例对照研究结果表明,在怀孕早期接触电脑、电磁炉和微波炉的母亲更可能生下患有CHD的婴儿^[84]。可能的原因是电磁场暴露在一定程度上可以导致DNA双链断裂,从而导致子代心脏缺损的表型^[85]。此外,电磁场暴露也可能会介导细胞的衰老,从而对心脏的发育产生影响^[86]。为探索孕期职业性暴露与子代CHD发生风险之间的关联,GONG等^[87]对5 381例具有完整医疗记录的病例数据进行分析,结果显示病例组母亲有害噪声暴露史比例(33.1%)显著高于对照组(22.8%),提示孕期暴露在噪声环境可能会增加子代CHD的发生率。

2.3 社会人口学因素

医疗水平、营养和环境条件等可影响先天性心脏缺陷的发生,而这些因素均可能受社会经济和地

理因素的影响。年龄是许多疾病的危险因素,也可与各种危险因素起协同作用。BREND等^[88]对三氯乙烯暴露与婴儿心脏缺陷之间关联的研究发现,35岁及以上的母亲的子代患有CHD与三氯乙烯暴露具有更强的关联性,体现了年龄作为重要的混杂因素。一项回顾性病例对照研究在探索母亲吸烟与子代CHD之间的关系时也发现子代间隔缺损会受到母亲年龄影响,年龄 ≥ 35 岁的母亲重度吸烟时,其子代发生ASD和VSD的风险比年龄相仿的非吸烟者更高($OR_{\text{adjust}}=2.3$),而年龄 <35 岁的母亲重度吸烟与其子代间隔缺损发生风险的相关性较弱($OR_{\text{adjust}}=1.5$)^[65]。这与之前PM等^[90]的研究显示出了一致性^[89]。既往的研究显示,通过辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)受孕的子代患CHD风险增高主要归因于父亲的生殖细胞新生突变(gDNM),而父亲的gDNM水平可能随年龄的增加而增加。母亲孕期的社会心理因素与子代CHD之间的关联也受到关注。一项Meta分析纳入了10篇病例对照研究,发现怀孕期间的压力性生活事件可能会增加子代CHD的发生风险^[91]。LYU等^[92]于2016年6月至2017年12月进行了一项以医院为基础的病例对照研究,其分析结果同样发现,与低压力生活相比,高压生活会显著增加子代发生VSD的风险($OR=2.342$)。可能的原因是孕期的压力性生活事件会干扰孕母的植物神经和内分泌功能,这会使释放的神经介质和激素对胎儿的心脏发育产生不良的影响^[93]。此外,CHD的发生率也表现出明显的地理差异,有研究表明CHD出生患病率最高的是亚洲(9.30%),明显高于其他各大洲;欧洲的CHD总出生患病率(8.20%)位居第二,而最低的是非洲(1.90%)^[94]。一项纳入了中国东部11个城市2019年1月至12月来自CHD网络平台(NPCHD)的51 857名新生儿研究,也同样发现了明显的地理差异,在11个城市中新生儿CHD的发生率最高的城市是绍兴(8.05%),最低的城市是嘉兴(3.00%);在这项研究中还发现不同医疗水平对新生儿CHD的发生率的影响也存在显著差异,医疗机构床位数较少的地区新生儿CHD的发生率高于较多的地区;医务人员数量较高的区域新生儿CHD的发生率高于数量较少的区域^[95]。

3 环境和遗传交互作用

85%的CHD是由上述遗传和环境因素共同作

用的结果^[96],但关于其潜在的致病性机制仍无确切的研究。近年来,基因组检测技术和模式动物研究手段的发展推动了遗传和环境交互作用研究,为探索CHD遗传和环境交互作用机制提供了支撑。既往的研究显示,基于已经发现的遗传或环境危险因素进行假设来进行交互作用的研究是较为常用的方法。例如,*GATA4*可以调节抗凋亡信号转导并影响细胞的存活,阻止细胞凋亡^[89]。CHENG等^[97]使用小鼠胚胎干细胞心脏进行实验,证明了香烟的测流烟雾能抑制*Gata4*基因的表达,从而导致心脏分化异常。HOBBS等^[98]对CHD与吸烟情况、同型半胱氨酸水平以及*MTHFR* 677 C<T基因多态性之间的关联进行研究,结果显示吸烟、同型半胱氨酸水平以及*MTHFR* 677 C<T基因多态性之间的交互作用会显著增加子代CHD的发生风险。最近一项基于医院的病例对照研究纳入了464名CHD患儿的母亲和504名健康对照组的母亲,其结果也显示孕早期母亲的烟草暴露与*MTHFR1*基因具有交互作用^[99]。

在对CHD的基因-环境交互作用进行探索的过程中,人们意识到基因与环境的相互作用可以通过表观遗传方式对疾病的发生进行调控。胚胎发育是生长发育过程中重要的窗口期之一,此时的表观遗传编程对环境因素如温度、环境毒素以及母亲的健康状况等都很敏感,外部环境的改变会对表观遗传调控产生影响,从而可能改变体内的遗传物质,增加CHD的发生风险。已有的研究显示环境中重金属的暴露会引起DNA甲基化状态发生改变^[76],DNA甲基化对于在心脏发育过程所需的心脏相关基因的表达具有调控作用,这可能与重金属暴露增加CHD的发生风险有关。尽管目前对于表观遗传学与CHD的关联性尚无明确的证据,但既往报道的研究在一定程度上证明了表观遗传调控的异常是CHD发生的部分原因,对表观遗传的研究有助于我们对CHD复杂病因的进一步了解。

4 总结与展望

CHD的病因十分复杂,遗传因素、环境因素以及遗传-环境交互作用均可以影响子代心脏的发育,但其具体的作用机制仍亟待探索。

目前的研究利用多种基因组学二代、三代技术可以在很大程度上鉴定出CHD的易感、致病基因,但同时也发现了遗传因素的复杂性,需要更多的研究来

阐明CHD的发病机制及相关的遗传变异。基于二代测序技术的发展,近年来越来越多的新生突变、马赛克突变以及多基因杂合突变模式被发现。想要更全面鉴定影响子代CHD发生的易感及致病变异并解析新的遗传模式,掌握亲本的遗传物质也是十分重要的,因此基于核心家系的遗传学研究具有不可替代的优势。除致病变异鉴定方法的进步外,功能及致病机制研究方式的多样化也进一步促进了对有害变异的作用评价及机制解析。得益于CRISPR/Cas9技术的广泛应用,基于小鼠或者斑马鱼的动物模型在CHD的研究上得以广泛应用,不可否认动物实验可以帮助我们验证许多易感因素;与此同时,基于干细胞分化的心脏及血管类器官模型的兴起使得我们能更加方便、快速地研究关键危险因子的功能及其作用机制。

此外,既往研究CHD环境致病因子多是基于病例-对照研究,环境暴露相关信息多来源于婴儿出生后的问卷调查,存在不同程度的回忆偏倚,对暴露与子代CHD结局的关联结果影响较大。后续的研究需要更多基于出生队列,在探讨孕前及孕早期环境暴露与CHD之间的关联的研究中具有更大的优势。此外,大多数的研究者关注更多的是单独的遗传或者环境因素,但二者对CHD的作用并不是泾渭分明的,后续还需要基于出生队列的家系数据,结合基线材料中的环境因素和基因组分析,深入探索基因与环境的交互作用。

参考文献 (References)

- [1] LIU Y, CHEN S, ZÜHLKE L, et al. Global birth prevalence of congenital heart defects 1970-2017: updated systematic review and meta-analysis of 260 studies [J]. *Int J Epidemiol*, 2019, 48(2): 455-63.
- [2] HOFFMAN J I, KAPLAN S. The incidence of congenital heart disease [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2002, 39(12): 1890-900.
- [3] 中国心血管健康与疾病报告2022概要[J]. 中国循环杂志 (Summary of the chinese cardiovascular health and disease report 2022 [J]. *Chinese Journal of Circulation*), 2023, 38(6): 583-612.
- [4] WANG T, CHEN L, YANG T, et al. Congenital heart disease and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of cohort studies [J]. *J Am Heart Assoc*, 2019, 8(10): e012030.
- [5] VAN DER BOM T, ZOMER A C, ZWINDERMAN A H, et al. The changing epidemiology of congenital heart disease [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2011, 8(1): 50-60.
- [6] ZHAO L, CHEN L, YANG T, et al. Birth prevalence of congenital heart disease in China, 1980-2019: a systematic review and meta-analysis of 617 studies [J]. *Eur J Epidemiol*, 2020, 35(7): 631-42.
- [7] YELTON S E G, FLORES S, SUN L R, et al. Association between congenital heart disease and stroke: insights from a national database [J]. *Pediatr Cardiol*, 2023, 45(1): 1-7.
- [8] MORTON S U, QUIAT D, SEIDMAN J G, et al. Genomic frontiers in congenital heart disease [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2022, 19(1): 26-42.
- [9] KLOESEL B, DINARDO J A, BODY S C. Cardiac embryology and molecular mechanisms of congenital heart disease: a primer for anesthesiologists [J]. *Anesth Analg*, 2016, 123(3): 551-69.
- [10] ZAIDI S, BRUECKNER M. Genetics and genomics of congenital heart disease [J]. *Circ Res*, 2017, 120(6): 923-40.
- [11] LEJEUNE J, GAUTHIER M, TURPIN R. Human chromosomes in tissue cultures [J]. *C R Hebd Seances Acad Sci*, 1959, 248(4): 602-3.
- [12] FORD C E, JONES K W, POLANI P E, et al. A sex-chromosome anomaly in a case of gonadal dysgenesis (Turner's syndrome) [J]. *Lancet*, 1959, 1(7075): 711-3.
- [13] DIETZ H C, CUTTING G R, PYERITZ R E, et al. Marfan syndrome caused by a recurrent *de novo* missense mutation in the fibrillin gene [J]. *Nature*, 1991, 352(6333): 337-9.
- [14] LIU S, JOSEPH K S, LISONKOVA S, et al. Association between maternal chronic conditions and congenital heart defects: a population-based cohort study [J]. *Circulation*, 2013, 128(6): 583-9.
- [15] LIANG Q, GONG W, ZHENG D, et al. The influence of maternal exposure history to virus and medicine during pregnancy on congenital heart defects of fetus [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2017, 24(6): 5628-32.
- [16] GREGG N M. Congenital cataract following German measles in the mother. 1941 [J]. *Epidemiol Infect*, 1991, doi: 10.1017/s0950268800048627.
- [17] HUHTA J, LINASK K K. Environmental origins of congenital heart disease: the heart-placenta connection [J]. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2013, 18(5): 245-50.
- [18] HUANG H, WANG Y, ZHANG M, et al. Diagnostic accuracy and value of chromosomal microarray analysis for chromosomal abnormalities in prenatal detection: a prospective clinical study [J]. *Medicine*, 2021, 100(20): e25999.
- [19] 朱青霞, 原婷, 王玮, 等. 胎儿鼻骨发育不良与结构畸形和染色体非整倍体异常的关系探讨[J]. 中国生育健康杂志 (ZHU Q X, YUAN T, WANG W, et al. Discussion on the relationship between fetal nasal dysplasia and structural malformations and chromosomal aneuploidy abnormalities [J]. *Chinese Journal of Reproductive Health*), 2021, 32(4): 377-81.
- [20] ROIZEN N J, PATTERSON D. Down's syndrome [J]. *Lancet*, 2003, 361(9365): 1281-9.
- [21] GRAVHOLT C H, VIUFF M H, BRUN S, et al. Turner syndrome: mechanisms and management [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2019, 15(10): 601-14.
- [22] EHRlich L, PRAKASH S K. Copy-number variation in congenital heart disease [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2022, 77: 101986.
- [23] CAREY A S, LIANG L, EDWARDS J, et al. Effect of copy number variants on outcomes for infants with single ventricle heart defects [J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2013, 6(5): 444-51.
- [24] KIM D S, KIM J H, BURT A A, et al. Burden of potentially pathologic copy number variants is higher in children with isolated congenital heart disease and significantly impairs covariate-adjusted transplant-free survival [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2016, 151(4): 1147-51.e4.

- [25] GOLDMUNTZ E, CLARK B J, MITCHELL L E, et al. Frequency of 22q11 deletions in patients with conotruncal defects [J]. *J Am Coll Cardiol*, 1998, 32(2): 492-8.
- [26] DIGILIO M C, DENTICI M L, LODDO S, et al. Congenital heart defects in the recurrent 2q13 deletion syndrome [J]. *Eur J Med Genet*, 2022, 65(1): 104381.
- [27] SOEMEDI R, TOPF A, WILSON I J, et al. Phenotype-specific effect of chromosome 1q21.1 rearrangements and GJA5 duplications in 2436 congenital heart disease patients and 6760 controls [J]. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(7): 1513-20.
- [28] CONNOLLY H M, NIAZ T, BOWEN J M. What is marfan syndrome [J]? *Jama*, 2023, 329(18): 1618.
- [29] GHARIBEH L, KOMATI H, BOSSE Y, et al. GATA6 regulates aortic valve remodeling, and its haploinsufficiency leads to right-left type bicuspid aortic valve [J]. *Circulation*, 2018, 138(10): 1025-38.
- [30] PINNARO C T, BECK C B, MAJOR H J, et al. CRELD1 variants are associated with bicuspid aortic valve in Turner syndrome [J]. *Hum Genet*, 2023, 142(4): 523-30.
- [31] DIXIT R, NARASIMHAN C, BALEKUNDRI V I, et al. Functional analysis of novel genetic variants of NKX2-5 associated with nonsyndromic congenital heart disease [J]. *Am J Med Genet A*, 2021, 185(12): 3644-63.
- [32] BODMER R. The gene tinman is required for specification of the heart and visceral muscles in *Drosophila* [J]. *Development*, 1993, 118(3): 719-29.
- [33] ANG Y S, RIVAS R N, RIBEIRO A J S, et al. Disease model of GATA4 mutation reveals transcription factor cooperativity in human cardiogenesis [J]. *Cell*, 2016, 167(7): 1734-49.e22.
- [34] YE L, YU Y, ZHAO Z A, et al. Patient-specific iPSC-derived cardiomyocytes reveal abnormal regulation of FGF16 in a familial atrial septal defect [J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(3): 859-71.
- [35] KATHIRIYA I S, RAO K S, IACONO G, et al. Modeling human TBX5 haploinsufficiency predicts regulatory networks for congenital heart disease [J]. *Dev Cell*, 2021, 56(3): 292-309.e9.
- [36] BASSON C T, BACHINSKY D R, LIN R C, et al. Mutations in human TBX5 [corrected] cause limb and cardiac malformation in Holt-Oram syndrome [J]. *Nat Genet*, 1997, 15(1): 30-5.
- [37] SHI L M, TAO J W, QIU X B, et al. GATA5 loss-of-function mutations associated with congenital bicuspid aortic valve [J]. *Int J Mol Med*, 2014, 33(5): 1219-26.
- [38] QU X K, QIU X B, YUAN F, et al. A novel NKX2.5 loss-of-function mutation associated with congenital bicuspid aortic valve [J]. *Am J Cardiol*, 2014, 114(12): 1891-5.
- [39] WANG Y, FANG Y, LU P, et al. NOTCH signaling in aortic valve development and calcific aortic valve disease [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 682298.
- [40] MCBRIDE K L, RILEY M F, ZENDER G A, et al. NOTCH1 mutations in individuals with left ventricular outflow tract malformations reduce ligand-induced signaling [J]. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(18): 2886-93.
- [41] PREUSS C, CAPREDON M, WÜNNEMANN F, et al. Family based whole exome sequencing reveals the multifaceted role of notch signaling in congenital heart disease [J]. *PLoS Genet*, 2016, 12(10): e1006335.
- [42] DENG X, ZHOU J, LI F F, et al. Characterization of nodal/TGF-lefty signaling pathway gene variants for possible roles in congenital heart diseases [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e104535.
- [43] BUIKEMA J W, MADY A S, MITTAL N V, et al. Wnt/ β -catenin signaling directs the regional expansion of first and second heart field-derived ventricular cardiomyocytes [J]. *Development*, 2013, 140(20): 4165-76.
- [44] CANTÙ C, FELKER A, ZIMMERLI D, et al. Mutations in Bcl9 and Pygo genes cause congenital heart defects by tissue-specific perturbation of Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Genes Dev*, 2018, 32(21/22): 1443-58.
- [45] BOYD R, MCMULLEN H, BEQAJ H, et al. Environmental exposures and congenital heart disease [J]. *Pediatrics*, 2022, doi: 10.1542/peds.2021-052151.
- [46] KALISCH-SMITH J I, VED N, SPARROW D B. Environmental risk factors for congenital heart disease [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2020, doi: 10.1101/cshperspect.a037234.
- [47] ØYEN N, DIAZ L J, LEIRGUL E, et al. Prepregnancy diabetes and offspring risk of congenital heart disease: a nationwide cohort study [J]. *Circulation*, 2016, 133(23): 2243-53.
- [48] ZHANG S, QIU X, WANG T, et al. Hypertensive disorders in pregnancy are associated with congenital heart defects in offspring: a systematic review and meta-analysis [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 842878.
- [49] SMEDTS H P M, VAN UITERT E M, VALKENBURG O, et al. A derangement of the maternal lipid profile is associated with an elevated risk of congenital heart disease in the offspring [J]. *NMCD*, 2012, 22(6): 477-85.
- [50] PERSSON M, RAZAZ N, EDSTEDT BONAMY A K, et al. Maternal overweight and obesity and risk of congenital heart defects [J]. *JACC*, 2019, 73(1): 44-53.
- [51] ASRANI P, PINTO N M, PUCHALSKI M D, et al. Maternal predictors of disparate outcomes in children with single ventricle congenital heart disease [J]. *J Am Heart Assoc*, 2020, 9(12): e014363.
- [52] DILLI D, DOĞAN N N, ÖRÜN U A, et al. Maternal and neonatal micronutrient levels in newborns with CHD [J]. *Cardiol Young*, 2018, 28(4): 523-9.
- [53] SIRBU I O, CHIŞ A R, MOISE A R. Role of carotenoids and retinoids during heart development [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2020, 1865(11): 158636.
- [54] KAWAI S, PAK K, IWAMOTO S, et al. Association between maternal factors in early pregnancy and congenital heart defects in offspring: the japan environment and children's study [J]. *J Am Heart Assoc*, 2023, 12(17): e029268.
- [55] NAKAJIMA Y. Retinoic acid signaling in heart development [J]. *Genesis*, 2019, 57(7/8): e23300.
- [56] TYAGI R, VERMA S, DASH N, et al. Folate deficiency: a possible association with congenital heart defects [J]. *Indian J Pediatr*, 2022, 89(10): 1013-5.
- [57] Summary for patients: maternal folate level and congenital heart disease [J]. *Ann Intern Med*, 2022, doi: 10.7326/P22-0014.
- [58] WANG D, JIN L, ZHANG J, et al. Maternal periconceptional folic acid supplementation and risk for fetal congenital heart defects [J]. *J Pediatr*, 2022, 240: 72-8.
- [59] VERKLEIJ-HAGOORT A C, VERLINDE M, URSEM N T C, et al. Maternal hyperhomocysteinaemia is a risk factor for congenital heart disease [J]. *BJOG*, 2006, 113(12): 1412-8.
- [60] SAAD H, SINCLAIR M, BUNTING B. Maternal sociodemographic factors and risk of congenital heart disease [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e104535.

- graphic characteristics, early pregnancy behaviours, and livebirth outcomes as congenital heart defects risk factors: Northern Ireland 2010-2014 [J]. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2021, 21(1): 759.
- [61] GRIGORIADIS S, VONDERPORTEN E H, MAMISASHVILI L, et al. Antidepressant exposure during pregnancy and congenital malformations: is there an association? A systematic review and meta-analysis of the best evidence [J]. *J Clin Psychiatry*, 2013, 74(4): e293-308.
- [62] SUN M, ZHANG S, LI Y, et al. Effect of maternal antidepressant use during the pre-pregnancy/early pregnancy period on congenital heart disease: a prospective cohort study in central China [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 916882.
- [63] CONLEY J, RICHARDS S. Environmental teratogenesis [M]// FÉRARD J F, BLAISE C. *Encyclopedia of aquatic ecotoxicology*. Dordrecht; Springer netherlands. 2013: 457-66.
- [64] WILLIAMS L J, CORREA A, RASMUSSEN S. Maternal lifestyle factors and risk for ventricular septal defects [J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2004, 70(2): 59-64.
- [65] BOLIN E H, GOKUN Y, ROMITTI P A, et al. Maternal smoking and congenital heart defects, national birth defects prevention study, 1997-2011 [J]. *J Pediatr*, 2022, 240: 79-86.e1.
- [66] ZHAO L, CHEN L, YANG T, et al. Parental smoking and the risk of congenital heart defects in offspring: an updated meta-analysis of observational studies [J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2020, 27(12): 1284-93.
- [67] GLANTZ S A, PARMLEY W W. Passive smoking and heart disease. Mechanisms and risk [J]. *IAMA*, 1995, 273(13): 1047-53.
- [68] ZHANG W, YANG Y, LIU Y, et al. Associations between congenital heart disease and air pollutants at different gestational weeks: a time-series analysis [J]. *Environ Geochem Health*, 2023, 45(5): 2213-28.
- [69] YUAN X, LIANG F, ZHU J, et al. Maternal exposure to PM_{2.5} and the risk of congenital heart defects in 1.4 million births: a nationwide surveillance-based study [J]. *Circulation*, 2023, 147(7): 565-74.
- [70] AGAY-SHAY K, FRIGER M, LINN S, et al. Air pollution and congenital heart defects [J]. *Environ Res*, 2013, 124: 28-34.
- [71] RAPPAZZO K M, WARREN J L, MEYER R E, et al. Maternal residential exposure to agricultural pesticides and birth defects in a 2003 to 2005 North Carolina birth cohort [J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2016, 106(4): 240-9.
- [72] WANG C, ZHAN Y, WANG F, et al. Parental occupational exposures to endocrine disruptors and the risk of simple isolated congenital heart defects [J]. *Pediatric Cardiology*, 2015, 36(5): 1024-37.
- [73] JIN X, TIAN X, LIU Z, et al. Maternal exposure to arsenic and cadmium and the risk of congenital heart defects in offspring [J]. *Reprod Toxicol*, 2016, 59: 109-16.
- [74] OU Y, BLOOM M S, NIE Z, et al. Associations between toxic and essential trace elements in maternal blood and fetal congenital heart defects [J]. *Environ Int*, 2017, 106: 127-34.
- [75] RUDNAI T, SÁNDOR J, KÁDÁR M, et al. Arsenic in drinking water and congenital heart anomalies in Hungary [J]. *Int J Hyg Environ Health*, 2014, 217(8): 813-8.
- [76] WANG C, PI X, YIN S, et al. Maternal exposure to heavy metals and risk for severe congenital heart defects in offspring [J]. *Environ Res*, 2022, 212(Pt C): 113432.
- [77] AUGER N, FRASER W D, SAUVE R, et al. Risk of congenital heart defects after ambient heat exposure early in pregnancy [J]. *Environ Health Perspect*, 2017, 125(1): 8-14.
- [78] ZHANG W, SPERO T L, NOLTE C G, et al. Projected changes in maternal heat exposure during early pregnancy and the associated congenital heart defect burden in the United States [J]. *J Am Heart Assoc*, 2019, 8(3): e010995.
- [79] YU X, MIAO H, ZENG Q, et al. Associations between ambient heat exposure early in pregnancy and risk of congenital heart defects: a large population-based study [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2022, 29(5): 7627-38.
- [80] HUTSON M R, KEYTE A L, HERNÁNDEZ-MORALES M, et al. Temperature-activated ion channels in neural crest cells confer maternal fever-associated birth defects [J]. *Sci Signal*, 2017, 10(500): eaal4055.
- [81] CHUN H, YUE Y, WANG Y, et al. High prevalence of congenital heart disease at high altitudes in Tibet [J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2019, 26(7): 756-9.
- [82] ROMANOWICZ J, GUERRELLI D, DHARI Z, et al. Chronic perinatal hypoxia delays cardiac maturation in a mouse model for cyanotic congenital heart disease [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2021, 320(5): H1873-H86.
- [83] SHI H, O'REILLY V C, MOREAU J L M, et al. Gestational stress induces the unfolded protein response, resulting in heart defects [J]. *Development*, 2016, 143(14): 2561-72.
- [84] WANG C, LÜ H, LING X, et al. Association of assisted reproductive technology, germline *de novo* mutations and congenital heart defects in a prospective birth cohort study [J]. *Cell Res*, 2021, 31(8): 919-28.
- [85] MORTON L M, KARYADI D M, STEWART C, et al. Radiation-related genomic profile of papillary thyroid carcinoma after the Chernobyl accident [J]. *Science*, 2021, 372(6543): eabg2538.
- [86] KIM J H, JEON S, CHOI H D, et al. Exposure to long-term evolution radiofrequency electromagnetic fields decreases neuroblastoma cell proliferation via Akt/mTOR-mediated cellular senescence [J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2021, 84(20): 846-57.
- [87] GONG W, LIANG Q, ZHENG D, et al. Congenital heart defects of fetus after maternal exposure to organic and inorganic environmental factors: a cohort study [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(59): 100717-23.
- [88] BRENDER J D, SHINDE M U, ZHAN F B, et al. Maternal residential proximity to chlorinated solvent emissions and birth defects in offspring: a case-control study [J]. *Environ Health*, 2014, 13: 96.
- [89] SULLIVAN P M, DERVAN L A, REIGER S, et al. Risk of congenital heart defects in the offspring of smoking mothers: a population-based study [J]. *J Pediatr*, 2015, 166(4): 978-84.e2.
- [90] WANG C, LÜ H, LING X, et al. Association of assisted reproductive technology, germline *de novo* mutations and congenital heart defects in a prospective birth cohort study [J]. *Cell Res*, 2021, 31(8): 919-28.
- [91] GU J, GUAN H B. Maternal psychological stress during pregnancy and risk of congenital heart disease in offspring: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Affect Disord*, 2021, 291: 32-8.

- [92] LYU J, ZHAO K, XIA Y, et al. Associations between maternal social support and stressful life event with ventricular septal defect in offspring: a case-control study [J]. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2019, 19(1): 429.
- [93] 李娅妮, 刘中梅, 彭云珠. 先天性心脏病环境相关危险因素的研究进展[J]. *山东医药*(LI Y N, LIU Z M, PENG Y Z. Research progress on environment-related risk factors for congenital heart disease [J]. *Shandong Medicine*), 2017, 57(8): 109-12.
- [94] VAN DER LINDE D, KONINGS E E, SLAGER M A, et al. Birth prevalence of congenital heart disease worldwide: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 58(21): 2241-7.
- [95] PAN F, LI J, LOU H, et al. Geographical and socioeconomic factors influence the birth prevalence of congenital heart disease: a population-based cross-sectional study in eastern China [J]. *Curr Probl Cardiol*, 2022, 47(11): 101341.
- [96] VAN MIL N H, OOSTERBAAN A M, STEEGERS-THEUNISSEN R P. Teratogenicity and underlying mechanisms of homocysteine in animal models: a review [J]. *Reprod Toxicol*, 2010, 30(4): 520-31.
- [97] CHENG W, ZHOU R, FENG Y, et al. Mainstream smoke and sidestream smoke affect the cardiac differentiation of mouse embryonic stem cells discriminately [J]. *Toxicology*, 2016, 357-358: 1-10.
- [98] HOBBS C A, JAMES S J, JERNIGAN S, et al. Congenital heart defects, maternal homocysteine, smoking, and the 677 C>T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: evaluating gene-environment interactions [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2006, 194(1): 218-24.
- [99] SONG X, LI Q, DIAO J, et al. Association of MTHFD1 gene polymorphisms and maternal smoking with risk of congenital heart disease: a hospital-based case-control study [J]. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2022, 22(1): 88.