

miR-101、miR-122在妊娠期糖尿病患者血清和胎盘组织中表达及意义

陈丽霞,张秀薇*,禰文婷,尹镇钊,陈松锦 (广东省东莞市人民医院内分泌科,广东东莞 523000)

摘要:目的 探讨miR-101、miR-122在妊娠期糖尿病(GDM)患者血清和胎盘组织中表达及意义。方法 采用实时荧光定量PCR检测42例GDM孕妇(观察组)、30例健康孕妇(对照组)血清和胎盘组织中miR-101、miR-122水平,并分析血清miR-101、miR-122与GDM孕妇临床、胰岛素抵抗相关性。结果 观察组血清和胎盘组织中miR-101、miR-122水平明显高于对照组($P<0.01$)。血清miR-101水平与空腹血糖(FBG)呈正相关,但与空腹胰岛素(FINS)、胰岛素抵抗指数(HOMA-IS)呈负相关($P<0.05$);miR-122水平与FBG、胰岛素分泌指数(HOMA-IR)呈正相关,但与FINS呈负相关($P<0.05$)。结论 GDM患者血清与胎盘组织中miR-101与miR-122表达增高,且与胰岛素抵抗具有相关性。

关键词: miRNA; 妊娠期糖尿病; 胎盘; 胰岛素抵抗

中图分类号: R714.25

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)03-0267-04

Expression and significance of serum and placental miR-101 and miR-122 in patients with gestational diabetes mellitus

CHEN Li-xia, ZHANG Xiu-wei*, XUAN Wen-ting, YIN Zhen-zhao, CHEN Song-jin(Department of Endocrinology, Dongguan People's Hospital, Dongguan 523000, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and significance of serum and placental miR-101 and miR-122 in patients with gestational diabetes mellitus (GDM). Methods Serum and placental miR-101 and miR-122 levels in 42 GDM (observation group) and 30 healthy pregnant women (control group) were detected by qRT-PCR, and their correlations with clinical/insulin resistance parameters in GDM women were analyzed. Results Serum and placental miR-101 and miR-122 levels were higher in observation group than in control group ($P<0.01$). Serum miR-101 content was positively correlated with fasting blood glucose (FBG) but negatively with fasting insulin (FINS) and HOMA-IS ($P<0.05$). Serum miR-122 level was positively correlated with FBG and HOMA-IR but negatively with FINS ($P<0.05$). Conclusion Serum and placental miR-101 and miR-122 levels are increased and correlated with insulin resistance parameters in GDM women.

Key words: miRNA; gestational diabetes mellitus; placenta; insulin resistance

妊娠期糖尿病(GDM)是妊娠期较为常见的并发症,其指妊娠起始或妊娠过程中出现葡萄糖耐量受损。目前对于GDM发病机制尚不十分明确,既往相关研究指出孕产妇雌激素水平与其胰岛素抵抗有关,认为胰岛素抵抗是GDM重要的病理机制^[1]。近年来,随着GDM发生机制的研究进展,越来越多的研究证实多种miRNA直接或间接参与GDM的生物学行为机制进程,其中miR-101可在转录后调节多种基因的表达,与糖脂代谢异常、炎症反应等密切相关^[2];而miR-122也被证实其参与了胰岛素分泌、糖酵解、

脂肪细胞分化等生物学过程的调控^[3]。因此,笔者认为两者可能与GDM的发生与进展、胰岛素抵抗、炎症反应、胎盘滋养层细胞的迁移与侵袭等具有一定关联。因此,本研究通过分析GDM患者血清及胎盘中miR-101和miR-122的表达水平情况,分析其与胰岛素抵抗的相关性,以明确miR-101与miR-122在GDM预测、治疗及预后中的作用及意义。

1 资料和方法

1.1 病例与分组

选取2018年7月至2019年12月在东莞人民医院建档产检并分娩的GDM孕妇42例为观察组。纳入标准:(1)符合GDM诊断标准,即行口服葡萄糖耐量试验显示:空腹血糖 ≥ 5.1 mmol/L;1 h血糖 ≥ 10.0 mmol/L;2 h血糖 ≥ 8.5 mmol/L,满足任意一项即可诊

基金项目: 广东省医学科学技术研究基金项目(No.C2018053)

收稿日期: 2020-11-04; 修订日期: 2021-02-25

作者简介: 陈丽霞(1984-),女,本科,主治医师

通信作者: 张秀薇,主任医师, E-mail:13609966400@163.com

断为GDM;(2)妊娠>16周;(3)在本院规律产检。排除标准:(1)既往无糖尿病或糖尿病家族史;(2)妊娠期高血压、高血脂、心脏病等其他妊娠合并症;(3)双胎妊娠;(4)全身感染性疾病。本研究已通过本院医学伦理委员会批准,患者及家属知情且签署同意书。并随机选取同期健康孕妇30例作为对照组。

1.2 方法

1.2.1 样本采集 所有孕产妇均于清晨空腹时采集静脉血取血清,-20℃冰箱中待检。胎盘组织获取于胎儿与胎盘娩出后,生理盐水洗净,取胎盘中央母体面脐带根部组织5 mm×5 mm×5 mm大小2~4块组织,约重120 mg,静置-80℃冰箱中保存。

1.2.2 RNA提取 采用RNAeasy extraction Kit试剂提取血清RNA,用Trizol试剂提取胎盘组织中RNA,同时采用Nanodrop 2 000紫外可见分光光度计进行两样本中RNA浓度及纯度检测。所有步骤均按试剂盒说明操作。

1.2.3 miRNA逆转录 采用miRNA逆转录及特异性检测试剂盒,引物采用miR-101特异性RT-PCR引物(Forward:5'-CATCTTACCGGACAGTGCTGGA-3',下游为通用引物)检测miR-101的表达。采用miR-122特异性引物(Forward:5'-TGGAGTGTGACAATG-GTGTGTTG-3',下游为通用引物)miR-122的表达。

1.2.4 荧光实时定量PCR 试剂盒使用TaKaRa公司,反应参数:95℃预变性5 min,95℃变性30 s,60℃退火30 s,共40个循环。熔解曲线检测从65℃开始,每0.5℃检测1次。miRNA表达量以 $2^{-\Delta Ct}$ 表示,其中 $\Delta Ct = Ct_{miRNA} - Ct_{U6}$ 。

1.3 观察指标

- (1)临床参数指标:年龄,身体质量指数(BMI)。(2)胰岛素抵抗相关指标:取血清,采用全自动电化学

发光分析仪空腹血糖(FPG)及空腹胰岛素(FINS),胰岛功能采用稳态模型计算HOMA胰岛素抵抗指数($HOMA-IR = (FPG \times FINS) / 22.5$),HOMA胰岛素分泌指数($HOMA-IS = (20 \times FINS) / FPG - 3.5$)。(3)两组血清及胎盘中miR-101与miR-122表达水平差异。

1.4 统计学处理

采用SPSS 21.0统计学软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验;采用Pearson相关性分析血清miR-101与miR-122水平与临床参数和胰岛素抵抗相关指标的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床参数和胰岛素相关指标

观察组孕产妇BMI、FBG、FINS、HOMA-IS及HOMA-IR指标均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 0.01),见表1。

2.2 miR-101和miR-122在两组血清和胎盘组织中表达水平

miR-101和miR-122在观察组血清和胎盘组织中表达水平均明显高于对照组($P < 0.01$),见表2和图1、2。

2.3 各项指标与血清miR-101及miR-122水平的相关性分析

血清miR-101水平与FBG呈正相关,与FINS、HOMA-IS呈负相关($P < 0.05$);miR-122水平与FBG、HOMA-IR呈正相关,与FINS呈负相关($P < 0.05$),见表3。

3 讨论

当前,随着孕妇饮食结构及生活方式的改变,

表1 两组临床参数和胰岛素相关指标比较

($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	年龄/岁	BMI/(kg/m ²)	FBG/(mmol/L)	FINS/(mIU/L)	HOMA-IS	HOMA-IR
观察组	42	26.12±7.12	24.52±4.33 ^a	6.65±0.96 ^b	13.98±1.89 ^b	32.04±11.23 ^a	4.25±1.96 ^b
对照组	30	26.07±5.65	22.45±3.15	4.35±0.62	6.66±1.52	26.42±9.54	1.87±1.24

与对照组比较:^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$

表2 miR-101和miR-122在两组血清和胎盘组织中表达水平比较

($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-101		miR-122	
		血清	胎盘组织	血清	胎盘组织
观察组	42	1.35±0.48 ^a	1.33±0.29 ^a	1.20±0.47 ^a	1.14±0.45 ^a
对照组	30	0.88±0.40	0.95±0.36	0.82±0.34	0.84±0.35

与对照组比较:^a $P < 0.01$

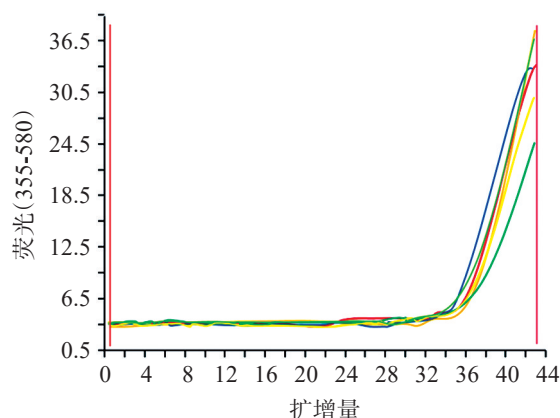


图1 miR-101的qPCR扩增曲线图

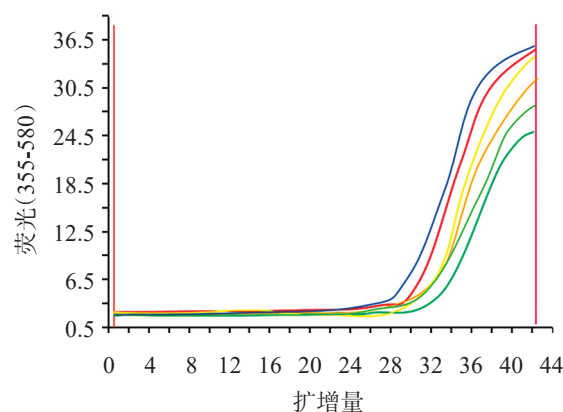


图2 miR-122的qPCR扩增曲线图

表3 各项指标与血清miR-101及miR-122水平的相关性分析

指标		年龄/岁	BMI/(kg/m ²)	FBG/(mmol/L)	FINS/(mIU/L)	HOMA-IS	HOMA-IR
miR-101	<i>r</i>	0.001	0.004	0.314	-0.235	-0.302	0.007
	<i>P</i>	0.925	0.692	0.025	0.022	0.001	0.602
miR-122	<i>r</i>	0.004	0.167	0.337	-0.434	-0.102	0.544
	<i>P</i>	0.721	0.051	0.034	0.001	0.063	0.000

GDM发病率呈逐年上升趋势。GDM易造成较多种不良妊娠结局,对母婴均有严重危害,甚至长远影响,早期诊断并及时治疗可提高孕妇及胎儿的预后^[4]。因此,新的生物学标记物在早期诊断GDM尤为重要。miRNA是一类进化过程高度保守的、广泛参与多种疾病的发生与进展的小分子非编码RNA,其在代谢调控和细胞功能中起到“动态调节器”的作用^[5]。而近年来miRNA与GDM的相关研究较为新颖,同时也为本研究提供了理论支持。

本研究结果显示,miR-101及miR-122水平在GDM患者血清及胎盘组织中均呈高表达,提示两者可能直接或间接参与了GDM的发生和发展。有多项研究证实,miR-101可通过调控EZH2/H3K27me3通路参与调控多种疾病的进展,其中在胚胎横纹肌肉瘤、肺癌、膀胱移行细胞癌中,其通过降低EZH2/H3K27me3表达,从而抑制细胞增殖来影响肿瘤进展^[6-8]。胎盘形成的前提是胎盘滋养细胞对母体子宫内膜的侵入及黏附,而miR-101在此过程中可能通过调控EZH2/H3K27me3通路来影响胎盘滋养细胞的功能,导致胎盘滋养细胞迁移及增殖能力降低,参与GDM发病^[9]。而针对miR-122而言,其是前体基因位于18q21.31位点,参与了糖酵解、脂肪细胞分化、胰岛素分泌等代谢相关的生物学过程调控^[10-11]。在胰岛素抵抗细胞模型中,miR-122呈高度表达,而通过转染miR-122模拟物,AMPK基因表达水平下调,进而加

重胰岛素抵抗程度^[12]。另外,胰岛素抵抗水平是胰岛细胞功能的一个重要指标,本研究在GDM产妇胰岛素抵抗相关指标均比正常产妇的明显增高,且在相关性分析中,GDM产妇血清miR-101水平与FBG呈正相关,与FINS、HOMA-IS呈负相关;miR-122水平与HOMA-IR、FBG呈正相关,与FINS呈负相关。说明GDM产妇在胰岛素分泌状态下,产妇血清miR-101表达显著下调;而产妇呈胰岛素抵抗状态时,其血清miR-122表达显著上调,miR-122部分的结果与褚文婷^[3]等的研究结果基本一致,但对于miR-122作用的靶向信号通路仍需作进一步的研究与探讨。

综上,miR-101及miR-122水平在GDM产妇血清及胎盘中均呈高表达状态,其可能直接或间接参与了GDM的发生和发展。此外,miR-101表达与胰岛素分泌指数呈负相关;miR-122表达则与胰岛素抵抗指数呈正相关,因此可推断,通过干预miR-101及miR-122表达,可阻止胰岛细胞功能的抑制或分泌,或可能成为GDM诊断、治疗及预后的新靶点。

参考文献:

- [1] 刘娇,韩莹,张云山.微小RNA与妊娠期糖尿病的研究进展[J].国际妇产科学杂志,2018,45(2):133-135.
- [2] WANG C Z, DENG F, LI H, et al. MiR-101: A potential therapeutic target of cancers[J]. Am J Transl Res, 2018, 10(11): 3310-3321.

- [3] 裯文婷, 黎美金, 陈丽霞, 等. 微小RNA-122在妊娠期糖尿病中的表达及意义[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2020, 36(6):549-551.
- [4] 杨筱青, 赵莉莉, 张瑞丽, 等. 妊娠期糖尿病患者血浆miR-340水平检测及其与胰岛素抵抗关系[J]. 中国计划生育学杂志, 2019, 27(8):1073-1075.
- [5] 岳宝玲, 史建平. 微小RNA与妊娠的研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25(32):3642-3645.
- [6] 明艳, 张祖艳, 胡莉, 等. 血清游离miRNA-132及miRNA-301a水平与妊娠期糖尿病相关性研究[J]. 中国医药科学, 2019, 9(4):77-80, 132.
- [7] 陈玉婷, 陶春梅, 陈倩, 等. 妊娠期糖尿病孕妇孕中期外周血miR-375表达及预测产后糖代谢异常价值[J]. 中国计划生育学杂志, 2020, 28(8):1308-1311.
- [8] 王新红. 妊娠期糖尿病孕妇血清miR-7表达与胰岛素抵抗的关系[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(24):5613-5616.
- [9] 张婧怡, 冯玲, 贾静, 等. miRNA-101通过调控胎盘滋养细胞功能参与妊娠期糖尿病的发病[J]. 现代妇产科进展, 2019, 28(7):518-522.
- [10] 李伟, 胡宝春, 龚照. 广东汉族妊娠期糖尿病妇女胎盘组织microRNA差异表达谱分析[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2017, 37(3):298-302.
- [11] 裯文婷, 陈丽霞, 黎美金, 等. 妊娠期糖尿病患者胎盘来源外泌体miRNA表达分析[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2020, 36(1):90-92.
- [12] 马文革, 李平, 李聪. GLUT1、GLUT4在妊娠期糖尿病患者胎盘组织中的表达及其与相关miRNAs的关系[J]. 海南医学院学报, 2015, 21(12):1611-1614.

胸腔闭式引流联合2HRZS方案治疗结核性胸腔积液的疗效观察

郑衍洪, 马炳太, 黄厚沐, 陈少蓬, 肖辉海 (广东省汕头市潮阳区大峰医院胸外科, 广东汕头 515154)

摘要: 目的 观察胸腔闭式引流联合标准化抗结核化疗2HRZS方案治疗结核性胸腔积液的疗效。方法 100例结核性胸腔积液患者随机分为对照组和观察组, 对照组采用胸腔闭式引流联合异烟肼、利福平方案治疗, 观察组实施胸腔闭式引流联合2HRZS方案治疗。对比两组胸膜厚度、胸腔引流管拔除时间、症状改善时间、粘连发生率、外周血炎症因子和淋巴细胞表型变化。结果 观察组胸膜厚度、胸腔引流管拔除时间、症状改善时间均优于对照组($P<0.01$), IL-2、IL-6、IL-17、IL-23、IFN- γ 和TNF- α 水平低于对照组($P<0.01$), CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺水平则高于对照组($P<0.01$)。结论 胸腔闭式引流联合2HRZS方案治疗结核性胸腔积液疗效确切, 可改善炎症反应及免疫功能。

关键词: 结核性胸腔积液; 胸腔闭式引流; 炎症因子; 免疫功能

中图分类号: R 561

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)03-0270-04

Therapeutic effect of closed thoracic drainage and 2HRZS regimen in tuberculous pleural effusion

ZHENG Yan-hong, MA Bing-tai, HUANG Hou-mu, CHEN Shao-peng, XIAO Hui-hai (Department of Thoracic Surgery, Dafeng Hospital of Chaoyang District, Shantou 515154, China)

Abstract: Objective To observe the curative effect of closed thoracic drainage (CTD) and standardized anti-tuberculosis chemotherapy regimen 2HRZS in tuberculous pleural effusion (TPE). Methods One hundred TPE patients undergoing CTD were randomly treated with isoniazid and rifampicin (control group) or 2HRZS (observation group). The pleural thickness, removal time of thoracic drainage tube, symptomatic improvement time, pleural adhesion, and inflammatory factors and lymphocyte immunotypes from peripheral blood were compared between two groups. Results Compared with control group, pleural thickness, removal time of thoracic drainage tube, symptomatic improvement time, and levels of IL-2, IL-6, IL-17, IL-23, IFN- γ and TNF- α were lower ($P<0.01$), while CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ cells and CD4/CD8 ratio were higher ($P<0.01$) in observation group. Conclusion Combined use of CTD and 2HRZS regimen is effective and improves inflammatory response and immune function in TPE.

Key words: tuberculous pleural effusion; closed thoracic drainage; inflammatory factor; immune function

收稿日期: 2020-10-24; 修订日期: 2021-03-16

作者简介: 郑衍洪(1979-), 男, 学士, 副主任医师