

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.10.008
文章编号: 1005-8982 (2022) 10-0042-05

糖尿病专题·论著

妊娠期糖尿病患者血清 microRNA-122、血管内皮生长因子的表达及与围生儿结局的关系*

杨雅媚¹, 张程举¹, 胡灏懿², 刘胜凤¹, 冉伟¹

(1. 川北医学院附属医院 妇产科, 四川 南充 637002; 2. 南充市中医医院 妇产科, 四川 南充 637000)

摘要: 目的 分析妊娠期糖尿病(GDM)患者血清 microRNA-122(miR-122)、血管内皮生长因子(VEGF)表达及与围生儿结局的关系。**方法** 选取2018年5月—2020年1月川北医学院附属医院妇产科收治的GDM患者80例作为研究组,另选取同期在该院产检的健康妊娠女性70例作为对照组。比较两组血糖、miR-122、VEGF,分析血糖水平与miR-122、VEGF的相关性;对比不同围生儿结局患者的miR-122、VEGF,绘制ROC曲线分析miR-122、VEGF预测围生儿结局的价值。**结果** 研究组血糖、miR-122、VEGF高于对照组($P < 0.05$)。不良组miR-122、VEGF高于良好组($P < 0.05$)。Pearson相关分析结果显示,GDM患者miR-122与FGB、2 hPG和HbA1c呈正相关($r = 0.605、0.752$ 和 0.542 ,均 $P < 0.05$),VEGF与FGB、2 hPG和HbA1c呈正相关($r = 0.532、0.623$ 和 0.596 ,均 $P < 0.05$)。ROC曲线结果显示,miR-122、VEGF及两者联合检测GDM患者不良围产儿结局的AUC分别为 $0.787(95\% CI: 0.687, 0.887)$ 、 $0.755(95\% CI: 0.658, 0.851)$ 、 $0.842(95\% CI: 0.760, 0.923)$ 。**结论** GDM患者血清miR-122、VEGF均存在表达失调的情况,两者与血糖呈正相关,且联合检测可有效预测不良围生儿结局。

关键词: 妊娠期糖尿病;微小核糖核酸-122;血管内皮生长因子;围生儿结局

中图分类号: R587.1

文献标识码: A

Serum levels of miR-122 and VEGF in patients with gestational diabetes mellitus and their relationship with perinatal outcome*

Ya-mei Yang¹, Cheng-ju Zhang¹, Hao-yi Hu², Sheng-feng Liu¹, Wei Ran¹

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637002, China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Nanchong Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanchong, Sichuan 637000, China)

Abstract: Objective To analyze the expressions of miR-122 and vascular endothelial growth factor (VEGF) in serum of patients with gestational diabetes mellitus (GDM) and their relationship with perinatal outcome. **Methods** A total of 80 patients with GDM admitted from May 2018 to January 2020 in the Department of Obstetrics and Gynecology of the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College were selected as the study group. In addition, 70 healthy pregnant women receiving the antenatal care in the hospital during the same period were included as the control group. The levels of blood glucose, miR-122 and VEGF were compared between the two groups, and the correlation between the levels of blood glucose and those of miR-122 and VEGF was analyzed. The levels of miR-122 and VEGF were also compared between patients with different perinatal outcomes, and the value of miR-122 and VEGF in predicting perinatal outcomes was determined by receiver operating characteristic (ROC)

收稿日期: 2022-01-06

* 基金项目: 四川省基层卫生事业发展研究中心项目(No:SWFZ21-Y-28)

curve analysis. **Results** The levels of blood glucose, miR-122 and VEGF were higher in the study group than those in the control group ($P < 0.05$), and the levels of miR-122 and VEGF in patients with poor perinatal outcomes were higher compared with those with favorable perinatal outcomes ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis showed that the levels of miR-122 ($r = 0.605, 0.752$ and 0.542 , all $P < 0.05$) and VEGF ($r = 0.532, 0.623$ and 0.596 , all $P < 0.05$) were positively correlated with FGB, 2 hPG and HbA1c. As demonstrated in the ROC curve analysis, the area under the ROC curve (AUC) of miR-122, VEGF and the combination of the two indicators for predicting adverse perinatal outcomes in GDM patients were 0.787 (95% CI: 0.687, 0.887), 0.755 (95% CI: 0.658, 0.851), and 0.842 (95% CI: 0.760, 0.923), respectively. **Conclusions** Serum miR-122 and VEGF are dysregulated in GDM patients and they are positively correlated with the level of blood glucose. The combined detection of serum miR-122 and VEGF can effectively predict the occurrence of adverse perinatal outcomes.

Keywords: gestational diabetes mellitus; miR-122; vascular endothelial growth factor; perinatal outcome

妊娠期糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM) 会使胎盘基底膜、胎盘的细胞功能及其细胞外基质发生改变, 影响胎盘生长, 导致胎儿营养物质运输与吸收障碍, 进一步造成胎儿生长发育异常^[1]。目前 GDM 的发病机制尚未完全明确, 现公认发病机制有拮抗胰岛素激素水平升高、胰岛素对抗等^[2]。近年来, 有学者提出 GDM 与 2 型糖尿病的发病机制相似^[3]。

血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 主要通过增加血管通透性参与糖尿病发病机制, 改变血管内皮细胞基因表达及促进该基因的有丝分裂, 诱导新血管生成^[4]。VEGF 在糖尿病肾病和糖尿病视网膜病变的血管改变中均起重要作用^[5]。调控基因表达主要分为 mRNA 翻译为蛋白质和调控 DNA 的转录过程, 前者为非编码 RNA 的调控, 以 microRNA (miRNA) 最受关注^[6]。越来越多研究证实, miRNA 能够调控血糖的代谢过程, 不过有关 miR-122 在糖尿病的表达研究较少。本研究目的在于探讨 miR-122、VEGF 是否参与 GDM 病理的改变, 并分析两者对 GDM 患者围生儿结局的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 5 月—2020 年 1 月川北医学院附属医院妇产科收治的 GDM 患者 80 例作为研究组。其中, 初产妇 52 例, 经产妇 28 例; 年龄 20~38 岁, 平均 (29.36 ± 4.12) 岁; 孕周 31~39 周, 平均 (35.20 ± 1.36) 周。另选取同期在本院产检的健康妊娠女性 70 例作为对照组。其中, 初产妇 45 例, 经产妇 25 例; 年龄 20~37 岁, 平均 (29.03 ± 4.07) 岁;

孕周 30~39 周, 平均 (35.07 ± 1.18) 周。研究组中胎膜早破 3 例, 胎儿窘迫 4 例, 早产 4 例, 将患者分为不良组与良好组, 分别有 11 例和 69 例。两组分娩经历、年龄、孕周等一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。本研究属于前瞻性研究, 且符合《赫尔辛基宣言》^[8]。

1.2 纳入与排除标准

1.2.1 纳入标准 ①符合《妊娠合并糖尿病诊治指南 (2014)》^[7] 诊断标准; ②为妊娠期首次诊断; ③无其他妊娠合并症; ④入组近 1 周内未使用过糖代谢药物; ⑤已签署研究知情同意书。

1.2.2 排除标准 ①胎儿唐氏综合征; ②胎儿心脏发育异常; ③胎儿宫内发育受限或畸形。

1.3 方法

1.3.1 血糖及 VEGF 水平检测 抽取受试者 2 mL 静脉血, 采用 GLM-77 型血糖分析仪 (上海益联医学仪器发展有限公司) 测定患者空腹血糖 (fasting blood glucose, FGB)、餐后 2 小时血糖 (2 hour postprandial blood glucose, 2 hPG)、糖化血红蛋白 (glycosylated hemoglobin, HbA1c); 另抽取受试者静脉血 3~4 mL, 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清, 采用 IAMMGE 特定蛋白分析仪 (美国贝克曼公司) 行酶联免疫吸附试验测定 VEGF。

1.3.2 实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 检测 miR-122 表达 采集受试者外周静脉血 3~4 mL, 3 000 r/min 离心 5 min, 取血清, 置于凝血管中, 加入 miRNA Extractor 混匀分装至 EP 管, 置入 -70°C 冰箱冷冻保存。提取 miRNA, 取出样本室温下放置 5~10 min, 完全分离核酸与核蛋白, 加入氯仿 0.2 mL, 震荡 30 s, 12 000 r/min 离心 15 min, 吸取上层水相置

于新的 EP 管中,加入 1/3 倍无水乙醇混匀,加入吸附柱中,12 000 r/min 离心 10 min,收集穿流液到新的 EP 管中,加入 2/3 倍无水乙醇混匀,将全部溶液用转液器加入吸附柱中,7 500 r/min 离心 5 min,倒掉收集管中的废液。再将吸附柱放回收集管,12 000 r/min 离心 2 min,倒掉收集管中的废液,再重复 1 次。最后将吸附柱放回收集管,12 000 r/min 离心 2 min,置入新的 EP 管中,加入 30 μ L RNase-free 水,12 000 r/min 离心 2 min,弃吸附柱,保留流出液。逆转录合成 cDNA,离心管中加入各种反应成分,混匀 12 000r/min 离心 3 ~ 5 s,反应混合物应用 TPprofessional Standard PCR 仪(德国 Biometra 公司)37 $^{\circ}$ C 温浴 60 min,85 $^{\circ}$ C 加热 5 min,使酶失活。qRT-PCR 反应中 miR-122 的引物序列,正向引物:5'-GCGGTCGACATGGTGAATGTGGAGGTGAG-3',反向引物:5'-GGAATTCAAAAAAGATTGAG AAGACTGATATC-3',均 130 bp。获得 cDNA 样本后,4 $^{\circ}$ C 保存。加入相应的样本、试剂,加样,应用实时荧光定量 PCR 仪进行反应体系操作。数据采集应用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法。

1.3.3 随访 自研究组在本院确诊妊娠期糖尿病开始,以电话、微信、短信的形式进行随访,直至其结束妊娠。若参与者中途转至其他医院产检,则随访终止。统计研究组胎膜早破、胎儿窘迫、早产等不良围生儿结局的发生情况。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 23.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较用 t 检验;相关性分析用 Pearson 法;绘制 ROC 曲线。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血糖水平比较

两组血糖水平比较,经 t 检验,差异有统计学意义($P < 0.05$),研究组高于对照组。见表 1。

2.2 两组 miR-122、VEGF 比较

两组 miR-122、VEGF 比较, t 检验,差异有统计学意义($P < 0.05$),研究组高于对照组。见表 2。

2.3 GDM 患者 miR-122、VEGF 与血糖的相关性

Pearson 相关性分析结果显示,GDM 患者 miR-122 与 FGB、2 hPG 和 HbA1c 呈正相关($r = 0.605$ 、

表 1 两组血糖水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FGB/(mmol/L)	2 hPG/(mmol/L)	HbA1c/%
对照组	70	4.92 \pm 1.38	6.34 \pm 1.77	5.05 \pm 1.56
研究组	80	8.64 \pm 2.25	14.60 \pm 3.02	8.84 \pm 1.84
<i>t</i> 值		11.996	20.061	13.502
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

表 2 两组 miR-122、VEGF 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-122	VEGF/(ng/L)
对照组	70	0.83 \pm 0.35	201.82 \pm 34.67
研究组	80	1.21 \pm 0.46	462.35 \pm 58.90
<i>t</i> 值		5.630	32.411
<i>P</i> 值		0.000	0.000

0.752 和 0.542,均 $P = 0.000$),VEGF 与 FGB、2 hPG 和 HbA1c 呈正相关($r = 0.532$ 、0.623 和 0.596,均 $P = 0.000$)。

2.4 不良组与良好组 miR-122、VEGF 比较

两组 miR-122、VEGF 比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),不良组高于良好组。见表 3。

表 3 不良组与良好组 miR-122、VEGF 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-122	VEGF/(ng/L)
良好组	69	1.03 \pm 0.42	403.69 \pm 42.52
不良组	11	1.52 \pm 0.38	493.62 \pm 55.72
<i>t</i> 值		3.636	6.234
<i>P</i> 值		0.000	0.000

2.5 ROC 曲线分析

ROC 曲线结果显示,miR-122、VEGF 及两者联合检测 GDM 患者不良围产儿结局的 AUC 分别为 0.787 (95% CI: 0.687, 0.887)、0.755 (95% CI: 0.658, 0.851)、0.842 (95% CI: 0.760, 0.923)。miR-122 诊断 GDM 患者不良围生儿结局的敏感性、特异性为 0.822 (95% CI: 0.792, 0.911) 和 0.615 (95% CI: 0.560, 0.741),VEGF 诊断 GDM 患者不良围生儿结局的敏感性、特异性为 0.778 (95% CI: 0.645, 0.874) 和 0.446 (95% CI: 0.382, 0.576),两者联合检测诊断 GDM 患者不良围生儿结局的敏感性、特异性为 0.867 (95% CI: 0.802, 0.937) 和 0.569 (95% CI: 0.464, 0.664)。见表 4 和图 1。

表 4 miR-122、VEGF 及两者联合检测预测 GDM 患者不良围生儿结局的 ROC 曲线参数

指标	截断值	P 值	AUC	95% CI		敏感性/ %	95% CI		特异性/ %	95% CI	
				下限	上限		下限	上限		下限	上限
miR-122	1.286	0.000	0.787	0.687	0.887	0.822	0.792	0.911	0.615	0.560	0.741
VEGF	439.845 ng/L	0.000	0.755	0.658	0.851	0.778	0.645	0.874	0.446	0.382	0.576
联合检测	-	0.000	0.842	0.760	0.923	0.867	0.802	0.937	0.569	0.464	0.664

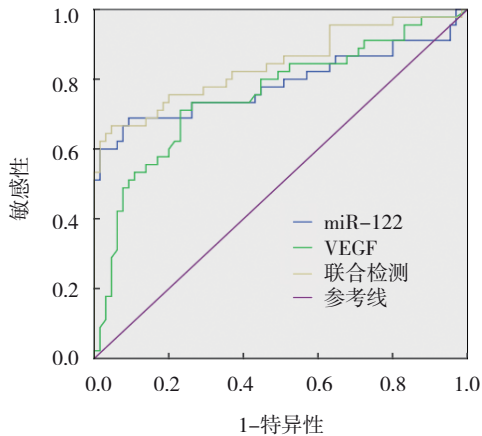


图 1 miR-122、VEGF 及两者联合检测预测 GDM 患者不良围生儿结局的 ROC 曲线

3 讨论

女性妊娠期间随孕周的增加,体内胎盘泌乳素、孕激素、催乳素等拮抗胰岛素激素水平会显著升高,使得胰岛素敏感性降低。正常情况下,机体为维持正常的血糖代谢,会不断分泌胰岛素,而 GDM 患者胰岛素分泌受限无法完成代偿,便会造成体内血糖水平升高^[9]。血糖的病理改变虽然不会给胎盘带来特异性结构的改变,但会影响许多形态上的变化,如胎盘细胞滋养层增生、绒毛小动脉增生、小血管管腔狭窄、滋养层基底膜变厚等,同时绒毛毛细血管过度充盈、毛细血管扩张,这一系列的变化是造成胎盘慢性缺氧及新生儿窒息、胎膜早破、胎儿窘迫等新生儿不良结局的主要原因^[10]。此外,血糖的升高会使胆酸含量增多,引发肝内胆汁淤积症,提高子宫前列腺素水平,刺激子宫平滑肌催产素受体,引发严重宫缩,造成早产^[11]。MUCHE 等^[12]研究指出,GDM 会增加新生儿不良结局的风险。因此,早期及时诊断 GDM,采取救治措施对改善母婴结局十分重要。

GDM 的胎盘滋养细胞的生存内环境遭到破坏,细胞功能发生适应性改变,可诱导胎盘组织凋

亡^[13-14]。这一过程与胎盘组织的血供有密不可分的关系,而 VEGF 因子是目前已知最强的血管生成因子之一。本研究结果显示,研究组 VEGF 水平高于对照组,初步推测血清 VEGF 异常表达可能与 GDM 有关。分析原因可能在于:①胎盘血管密布及胎盘床血管内皮损伤,可造成其血液灌注不足,血管活性物质分泌失衡,最终会引起胎盘血氧供应缺失^[15];高血糖状态下细胞无氧酵解增强,为适应高糖环境,糖酵解相关酶基因转录水平会发生改变,导致胎盘微血管的慢性缺氧^[16];②胎盘血管壁变厚,管腔狭窄,绒毛或部分绒毛发育不成熟,且绒毛毛细血管过分充盈,毛细血管扩张,从而导致胎盘微血管的慢性缺氧^[17]。以上过程均会导致 VEGF 表达异常升高,造成胎盘形成障碍,是引发早产及流产的重要原因。

miRNA 可以与靶基因 mRNA 3' 端非编码区互补结合,在翻译水平或转录后参与基因的表达调控。如今 miRNA 在高血脂、糖尿病等多种代谢疾病中的作用逐渐受到关注。ZHU 等^[18]在妊娠期糖尿病患者基因中获得了 184 个低 miRNA 靶向上调基因和 234 个高 miRNA 靶向下调基因,另有 67 个上调基因和 48 个下调基因受到 miRNA 异常交替的调控。DENG 等^[19]研究指出,GDM 患者血清 miR-29a/b 表达下调。ANJA 等^[20]研究指出,血清 miR-16、miR-29a 和 miR-134 在 GDM 患者中呈高表达。禚文婷等^[21]体外细胞实验证实,软脂酸诱导胰岛素抵抗状态下,miR-122 表达显著上调,原因为 miR-122 可通过下调 AMPK 基因表达,进一步加重胰岛素抵抗程度。本研究结果显示,研究组血清 miR-122 表达高于对照组,提示 GDM 患者 miR-122 表达异常可能与胰岛素抵抗有关。主要机制是通过上调二脂酰甘油酰基转移酶 2 基因和固醇调节元件结合蛋白 1 基因调节脂肪酸、低密度脂蛋白受体和胆固醇合成途径,并催化甘油三酯类合成,从而参与胰岛素抵抗调节。但也有研究得出不一样的结论,

FORNES 等^[22]研究显示, miR-122 的表达在妊娠期糖尿病大鼠及其雄性胎儿的血浆中下调, 且 miR-122 水平可通过体外过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 活化和体内富含过氧化物酶体增殖物激活受体配体的母体饮食进行调节。鉴于 miR-122 在 GDM 患者中表达的相关研究较少, 此结果还需日后扩大实验范围进一步获取实验数据。

综上所述, GDM 患者血清 miR-122、VEGF 均存在表达失调, 两者与血糖呈正相关, 且两者联合检测可有效预测不良围生儿结局的发生。

参 考 文 献 :

- [1] JUAN J, YANG H X. Prevalence, prevention, and lifestyle intervention of gestational diabetes mellitus in China[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17(24): 9517.
- [2] 范玉婷, 厉平. 早发妊娠期糖尿病研究进展[J]. *中国医师杂志*, 2021, 23(4): 623-626.
- [3] 陈培红, 金华, 张珊, 等. 妊娠期糖尿病孕妇孕晚期血脂水平的临床意义及对新生儿的影响[J]. *实用临床医药杂志*, 2019, 23(17): 96-98.
- [4] 邹兰灵. 妊娠期糖尿病孕妇血清 miR-126、VEGF 表达及其与胰岛素抵抗的关系[J]. *中国计划生育学杂志*, 2019, 27(9): 1212-1216.
- [5] KRISHNASAMY S, RAVI V, RAJARAMAN B, et al. Role of VEGF165b/VEGF total ratio in gestational diabetes mellitus[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2019, 35(9): 811-814.
- [6] DONG P P. Association of vascular endothelial growth factor expression and polymorphisms with the risk of gestational diabetes mellitus[J]. *J Clin Lab Anal*, 2019, 33(2): e22686.
- [7] 中华医学会妇产科学分会产科学组, 中华医学会围产医学分会妊娠合并糖尿病协作组. 妊娠合并糖尿病诊治指南(2014)[J]. *中华妇产科杂志*, 2014, 49(8): 561-569.
- [8] 江晨恩, 陆翔宁, 刘宏恩. 赫尔辛基宣言 2013 年版[J]. *台湾医界*, 2014, 57(4): 54-57.
- [9] DABROWSKI F A, LIPA M, BARTOSZEWICZ Z, et al. Maternal and neonatal serum expression of the vascular growth factors in hyperglycemia in pregnancy[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2021, 34(10): 1673-1678.
- [10] GILLET V, OUELLET A, STEPANOV Y, et al. miRNA profiles in extracellular vesicles from serum early in pregnancies complicated by gestational diabetes mellitus[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2019, 104(11): 5157-5169.
- [11] 马晓丽, 李莲英. 血清 RBP4, Visfatin 和 VEGF 在妊娠期糖尿病孕妇中的表达及其和围生儿结局的关系[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2020, 21(1): 81-82.
- [12] MUCHE A A, OLAYEMI O O, GETE Y K. Gestational diabetes mellitus increased the risk of adverse neonatal outcomes: a prospective cohort study in Northwest Ethiopia[J]. *Midwifery*, 2020, 87: 102713.
- [13] 赵敏, 韩星. 妊娠期糖尿病患者临床特征与产后血糖及妊娠结局的关系[J]. *临床内科杂志*, 2019, 36(9): 621-623.
- [14] 禚文婷, 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.
- [15] WANG J P, PAN Y Y, DAI F, et al. Serum miR-195-5p is upregulated in gestational diabetes mellitus[J]. *J Clin Lab Anal*, 2020, 34(8): e23325.
- [16] CASEY B M, RICE M M, LANDON M B, et al. Effect of treatment of mild gestational diabetes on long-term maternal outcomes[J]. *Am J Perinatol*, 2020, 37(5): 475-482.
- [17] KAUTZKY-WILLER A, HARREITER J, WINHOFER-STÖCKL Y, et al. Gestationsdiabetes (GDM) (update 2019)[J]. *Wien Klin Wochenschr*, 2019, 131(1): 91-102.
- [18] ZHU W Q, SHEN Y P, LIU J W, et al. Epigenetic alternations of microRNAs and DNA methylation contribute to gestational diabetes mellitus[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(23): 13899-13912.
- [19] DENG L, HUANG Y, LI L, et al. Serum miR-29a/b expression in gestational diabetes mellitus and its influence on prognosis evaluation[J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(9): 300060520954763.
- [20] ANJA E S, MIREILLE N M, GERNOT D, et al. The predictive value of miR-16, -29a and -134 for early identification of gestational diabetes: a nested analysis of the dali cohort[J]. *Cells*, 2021, 10(1): 170.
- [21] 禚文婷, 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.
- [22] FORNES D, HEINECKE F, ROBERTI S L, et al. Proinflammation in maternal and fetal livers and circulating miR-122 dysregulation in a GDM rat model induced by intrauterine programming[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2020, 510: 110824.

(李科 编辑)

本文引用格式: 杨雅媚, 张程举, 胡灏懿, 等. 妊娠期糖尿病患者血清 microRNA-122、血管内皮生长因子的表达及与围生儿结局的关系[J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(10): 42-46.

Cite this article as: YANG Y M, ZHANG C J, HU H Y, et al. Serum levels of miR-122 and VEGF in patients with gestational diabetes mellitus and their relationship with perinatal outcome[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(10): 42-46.