

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2024.16.001

文章编号: 1005-8982 (2024) 16-0001-05

妊娠期糖尿病专题·论著

## 妊娠期糖尿病患者血清 microRNA-17、 Netrin4 的表达及与妊娠结局的关系\*

包向敏<sup>1</sup>, 康心怡<sup>1</sup>, 张译心<sup>2</sup>, 陈丽平<sup>1</sup>

(1. 南通大学第二附属医院 产科, 江苏 南通 226000; 2. 海安市人民医院  
妇产科, 江苏 南通 226600)

**摘要: 目的** 探讨妊娠期糖尿病(GDM)患者血清 microRNA-17(miR-17)、Netrin4 的表达及与妊娠结局的关系。**方法** 回顾性分析2022年1月—2023年6月南通大学第二附属医院收治的GDM患者98例。根据妊娠结局将患者分为对照组(正常妊娠结局)和研究组(不良妊娠结局), 分别为65和33例。收集患者临床资料包括受试者年龄、孕产次、口服葡萄糖耐量试验(OGTT)、空腹血糖(FPG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、白蛋白(ALB)、空腹胰岛素(FINS)、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)。采用实时荧光定量聚合酶链反应检测 miR-17 和 Netrin4 的表达。分析影响 GDM 患者发生不良妊娠结局的因素。**结果** 对照组与研究组体质质量指数(BMI)、OGTT 2 h、HbA1c、HOMA-IR 比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。研究组 miR-17 相对表达量高于对照组( $P < 0.05$ ), Netrin4 相对表达量低于对照组( $P < 0.05$ )。多因素一般 Logistic 回归分析结果显示: 高水平 OGTT 2h [ $\hat{OR} = 1.548(95\% \text{ CI}: 1.512, 2.531)$ ]、高水平 HbA1c [ $\hat{OR} = 3.041(95\% \text{ CI}: 1.054, 3.412)$ ]、高表达 miR-17 [ $\hat{OR} = 2.865(95\% \text{ CI}: 0.741, 3.905)$ ] 及低表达 Netrin4 [ $\hat{OR} = 0.743(95\% \text{ CI}: 0.378, 0.835)$ ] 均是不良妊娠结局的危险因素( $P < 0.05$ )。**结论** GDM 患者血清 miR-17 表达升高和 Netrin4 表达降低是发生不良妊娠结局的影响因素。

**关键词:** 妊娠期糖尿病; microRNA-17; Netrin4; 妊娠结局; 关系

**中图分类号:** R587.1

**文献标识码:** A

## Expressions of serum microRNA-17 and netrin-4 in patients with gestational diabetes mellitus and their relationship with pregnancy outcomes\*

Bao Xiang-min<sup>1</sup>, Kang Xin-yi<sup>1</sup>, Zhang Yi-xin<sup>2</sup>, Chen Li-ping<sup>1</sup>

(1. Department of Obstetrics, The Second Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong, Jiangsu 226000; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Hai'an People's Hospital, Nantong, Jiangsu 226600)

**Abstract: Objective** To investigate the expressions of serum microRNA-17 (miR-17) and netrin-4 in patients with gestational diabetes mellitus (GDM) and their relationship with pregnancy outcomes. **Methods** A retrospective analysis was conducted on 98 GDM patients diagnosed and treated in the Second Affiliated Hospital of Nantong University from January 2022 to June 2023. According to the pregnancy outcomes, GDM patients were divided into the control group (normal pregnancy outcomes) and the study group (adverse pregnancy outcomes), with 65 and 33 cases, respectively. Clinical data of all patients were collected, including age, gravidity and parity,

收稿日期: 2024-01-24

\* 基金项目: 江苏省科技资源(重大疾病生物样本)综合服务平台开放项目(No: TC2022B019); 南通市科技局社会民生项目(No: MS22022006); 南通市科技局基础科学研究项目(No: JC12022022); 南通大学临床医学科研基金项目(No: 2022JQ004)

[通信作者] 陈丽平, E-mail: jichen0816@163.com; Tel: 15062747300

results of the oral glucose tolerance test (OGTT), fasting plasma glucose (FPG), glycosylated hemoglobin (HbA1c), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), albumin (ALB), fasting insulin (FINS), and insulin resistance index (HOMA-IR). The expressions of miR-17 and netrin-4 were measured by quantitative real-time polymerase chain reaction. The factors contributing to unfavorable pregnancy outcomes in GDM were analyzed. **Results** There were significant differences in BMI, results of OGTT at 2 h, the level of HbA1c, and HOMA-IR between the control group and the study group ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the relative expression of miR-17 in the study group was higher ( $P < 0.05$ ), while the relative expression of netrin-4 was lower in the study group ( $P < 0.05$ ). Multivariable Logistic regression analysis (inclusion of variables with  $P$ -value  $< 0.05$  and exclusion of variables with  $P$ -value  $> 0.10$ ) showed that high 2-hour plasma glucose levels in OGTT [ $\hat{OR} = 1.548$  (95% CI: 1.512, 2.531)], high HbA1c levels [ $\hat{OR} = 3.041$  (95% CI: 1.054, 3.412)], high expressions of miR-17 [ $\hat{OR} = 2.865$  (95% CI: 0.741, 3.905)], and low expressions of netrin-4 [ $\hat{OR} = 0.743$  (95% CI: 0.378, 0.835)] were all risk factors for adverse pregnancy outcomes ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The increased expression of miR-17 and the decreased expression of netrin-4 in the serum of GDM patients are both factors contributing to the adverse pregnancy outcomes.

**Keywords:** gestational diabetes mellitus; microRNA-17; netrin-4; pregnancy outcome; relationship

妊娠期糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM)指患者在妊娠前的糖代谢水平正常,妊娠期首次出现的糖代谢异常<sup>[1-2]</sup>。近年来GDM发病率呈上升趋势,是常见的妊娠并发症<sup>[3]</sup>。有研究报道许多国家的GDM患病率升高了30%以上<sup>[4]</sup>。GDM可能导致孕妇出现胎盘早剥、早产、新生儿呼吸困难和巨大儿等不良妊娠结局。此外,还增加孕妇分娩后罹患2型糖尿病的风险<sup>[5-6]</sup>。因此,寻找预测GDM患者发生不良妊娠结局的有效指标,对临床诊疗有着至关重要的作用。近年来发现microRNA(miRNA)作为一种重要的生物标志物,在疾病的诊断、治疗和预后方面扮演关键角色。其在血浆或血清中以无细胞的方式循环<sup>[7]</sup>。miRNA在外泌体介导的细胞间通信中可能发挥着重要作用<sup>[8]</sup>。有研究结果表明,miRNAs在GDM患者的表观遗传调控中发挥重要作用<sup>[9]</sup>。有学者发现microRNA-17(miR-17)是筛查GDM的标志物<sup>[10]</sup>。Netrin4在机体多部位表达,有研究发现脐带血Netrin4水平升高可影响胎儿发育,并可能反映宫内缺氧<sup>[11]</sup>。目前,尚未见miR-17、Netrin4表达水平与GDM妊娠结局关系的研究,故本研究探究GDM患者血清miR-17、Netrin4的表达及与妊娠结局的关系,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

回顾性分析2022年1月—2023年6月在南通大学第二附属医院诊治的GDM患者98例。根据妊娠结局将患者分为对照组(正常妊娠结局)和研究组

(不良妊娠结局),分别为65和33例。不良妊娠结局包括早产、胎儿宫内窘迫、胎膜早破、巨大儿和其他。本研究经医院医学伦理委员会批准,所有受试者签署知情同意书。

### 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年版)》<sup>[12]</sup>中GDM诊断标准:24~28周行口服葡萄糖耐量试验(oral glucose tolerance test, OGTT),3项中有任何一项血糖值达到或超过OGTT的正常标准;②孕期产检资料完整;③单胎自然妊娠。

**1.2.2 排除标准** ①妊娠前合并有内分泌系统疾病如糖尿病、心血管疾病等;②妊娠前或妊娠期间使用抗生素等治疗性药物;③有不良习惯,如酗酒、抽烟等;④妊娠期合并有妊娠期贫血等其他疾病。

### 1.3 方法

**1.3.1 资料收集** 临床资料包括患者年龄、孕产次、血糖相关指标及其他生化指标等。

**1.3.2 生化指标检测** 采用ADVIA Chemistry XPT全自动生化分析仪(德国西门子公司)检测患者OGTT、空腹血糖(fasting blood glucose, FPG)糖化血红蛋白(hemoglobin A1c, HbA1c);采用AU5821全自动生化分析仪(美国BECKMAN公司)检测患者总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、白蛋白(Albumin, ALB)、空腹胰岛素(fasting serum insulin, FINS)。胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR) =  $FINS(\text{mmolU/mL}) \times FPG(\mu\text{L})/22.5$ 。

**1.3.3 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测 miR-17 和 Netrin4 的表达** 清晨采集患者 3 mL 空腹静脉血至 EDTA 促凝管, 将静置后 3 000 r/min 离心 10 min, 取上层血清置于无酶 EP 管。采用 miRNA 提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司)提取血清总 miR-17 RNA, RNA 提取试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)提取总 Netrin4 RNA。将 RNA 逆转录为 cDNA, 采用 qRT-PCR 进行扩增, 检测 miR-17 和 Netrin4 相对表达量。miR-17 正向引物: 5'-GCAAAGTGCTTACAGTGCA-3', 反向引物: 5'-CATGTCGTGTCTGGAGT-3', 长度均为 27 bp。Netrin4 正向引物: 5'-CCTTTCAGCTCGGTGACCTTC-3', 反向引物: 5'-CCCAGCCTGGCTCACTCTTAT-3'; 长度均为 24 bp。qRT-PCR 反应条件: 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 变性 10 s, 60 °C 退火 30 s, 共计 40 个循环。扩增结

束后, 以 GAPDH 为内参,  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 miR-17 和 Netrin4 基因相对表达量。

## 1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 26.0 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; 计数资料以率(%)表示, 比较用  $\chi^2$  检验; 影响因素的分析采用多因素一般 Logistic 回归模型。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组临床资料比较

对照组与研究组年龄、孕周、孕次、产次、FPG、TC、TG、TP 和 ALB 比较, 经  $t/\chi^2$  检验, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。两组体质质量指数(body mass index, BMI)、OGTT 2 h、HbA1c、HOMA-IR 比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 两组临床资料比较

组别	<i>n</i>	年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$ )	孕周 ( $\bar{x} \pm s$ )	BMI/(kg/m <sup>2</sup> , $\bar{x} \pm s$ )	孕次 ( $\bar{x} \pm s$ )	产次 ( $\bar{x} \pm s$ )	OGTT 2 h/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )
对照组	65	28.93 $\pm$ 8.55	26.44 $\pm$ 0.78	24.65 $\pm$ 1.75	1.64 $\pm$ 0.32	0.97 $\pm$ 0.12	7.98 $\pm$ 0.45
研究组	33	27.98 $\pm$ 8.64	26.91 $\pm$ 0.82	28.37 $\pm$ 1.67	1.67 $\pm$ 0.43	0.96 $\pm$ 0.15	9.83 $\pm$ 1.77
$t/\chi^2$ 值		-1.634	0.584	-3.526	0.523	0.601	6.304
<i>P</i> 值		0.125	0.403	0.015	0.631	0.532	0.041

  

组别	HbA1c/(%, $\bar{x} \pm s$ )	FPG/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	HOMA-IR [M(P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> )]	TC/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	TG/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	TP/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	ALB/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )
对照组	4.21 $\pm$ 0.46	4.83 $\pm$ 0.36	1.02(0.91, 1.56)	4.45 $\pm$ 0.88	1.20 $\pm$ 0.45	74.64 $\pm$ 5.31	42.20 $\pm$ 4.02
研究组	5.48 $\pm$ 0.56	4.91 $\pm$ 0.40	1.64(0.94, 1.66)	4.53 $\pm$ 0.69	1.25 $\pm$ 0.37	73.2 $\pm$ 5.62	42.32 $\pm$ 5.01
$t/\chi^2$ 值	-3.032	0.539	6.920	-0.312	-3.912	-1.525	-1.622
<i>P</i> 值	0.034	0.607	0.040	0.632	0.446	0.604	0.102

### 2.2 两组 miR-17、Netrin4 相对表达量比较

对照组与研究组 miR-17 和 Netrin4 相对表达量比较, 经  $t$  检验, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); 研究组 miR-17 相对表达量高于对照组, Netrin4 相对表达量低于对照组。见表 2。

表 2 两组 miR-17、Netrin4 相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	miR-17	Netrin4
对照组	65	16.77 $\pm$ 2.19	44.31 $\pm$ 9.82
研究组	33	83.91 $\pm$ 13.45	13.04 $\pm$ 1.42
<i>t</i> 值		13.022	5.204
<i>P</i> 值		0.000	0.000

### 2.3 两组妊娠结局比较

对照组为正常妊娠结局, 研究组为不良妊娠结局。研究组 33 例患者中, 12 例(36.4%)发生早产, 6 例(18.2%)发生胎儿宫内窘迫, 5 例(15.2%)发生胎膜早破, 6 例(18.2%)发生巨大儿, 4 例(12.1%)发生其他不良妊娠结局。

### 2.4 GDM 患者发生不良妊娠结局的因素

以不良妊娠结局为因变量(是=0, 否=1), 高 OGTT 2 h(实测值)、高 HbA1c(实测值)、高表达 miR-17(实测值)和低表达 Netrin4(实测值)为自变量, 进行多因素一般 Logistic 回归分析, 结果显示: 高水平 OGTT 2 h [ $\hat{OR}=1.548$  (95% CI: 1.512, 2.531)], 高

水平 HbA1c [ $\hat{OR}=3.041$  (95% CI: 1.054, 3.412)]、高表达 miR-17 [ $\hat{OR}=2.865$  (95% CI: 0.741, 3.905)]及低表达 Netrin4 [ $\hat{OR}=0.743$  (95% CI: 0.378, 0.835)]均是不良妊娠结局的危险因素 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 GDM 患者发生不良妊娠结局的多因素一般 Logistic 回归参数

自变量	<i>b</i>	<i>S<sub>b</sub></i>	Wald $\chi^2$	<i>P</i> 值	$\hat{OR}$	95% CI	
						下限	上限
BMI	0.676	0.542	5.664	0.436	1.043	0.758	1.546
OGTT 2h	1.537	0.642	9.557	0.021	1.548	1.512	2.531
HbA1c	-2.058	0.069	0.367	0.042	3.041	1.054	3.412
HOMA-IR	0.159	0.052	0.075	0.523	0.996	0.563	1.427
miR-17	-0.644	0.274	2.643	0.000	2.865	0.741	3.905
Netrin4	0.799	0.673	1.568	0.000	0.743	0.378	0.835

### 3 讨论

GDM 是妊娠期女性最常见的并发症之一,不但影响妊娠女性健康,也影响着新生儿健康<sup>[13]</sup>。GDM 容易引起许多疾病,如妊娠期合并高血压、宫内感染、胎膜早破、胎儿生长受限、新生儿低血糖等,甚至可能出现胎儿窘迫、宫内死胎等严重后果<sup>[14-15]</sup>。母体高血糖使新生儿远期发生肥胖、糖尿病、心血管等风险增加<sup>[16-17]</sup>。GDM 妇女所产新生儿可能出现严重的低血糖、呼吸窘迫综合征等,可能造成不可逆的脑损伤,甚至出现新生儿死亡<sup>[18]</sup>。一项 Meta 分析纳入多达 2 万例女性,研究结果发现 FPG 和 OGTT 2 h 每增加 1 mmol/L,巨大儿的风险分别增加 2.15 倍和 1.20 倍<sup>[19]</sup>。分娩巨大儿易造成产道损伤,且增加剖宫产等风险<sup>[20-21]</sup>。因此应早期发现妊娠不良结局相关因素,减少母婴并发症发生风险。

迄今为止,GDM 发病率越来越高,需要寻找预测 GDM 妊娠不良结局的指标,为临床监测提供指导。本研究结果表明,高 OGTT 2 h 水平、高 HbA1c 水平、高表达 miR-17 及低表达 Netrin4 均是不良妊娠结局的危险因素。大量研究报道,miRNA 通过调控胰岛素抵抗和分泌等多途径,参与 GDM 疾病的发生、发展<sup>[22]</sup>。有研究指出,miR-17 可以调控低氧诱导因子,介导脂肪细胞的分化,促进 GDM 疾病进展<sup>[23]</sup>。以上研究提示可动态监测 OGTT 2 h、HbA1c、miR-17 及 Netrin4,以降低 GDM 发生妊娠不良结局风险。

综上所述,GDM 患者血清 miR-17 表达升高和 Netrin4 表达降低是发生妊娠不良结局的影响因素。

但本研究为单中心小规模研究,进一步明确 miR-17 和 Netrin4 的表达在 GDM 发生妊娠不良结局的作用机制仍需进行多中心、大规模研究。

#### 参 考 文 献 :

- [1] SWEETING A, WONG J, MURPHY H R, et al. A clinical update on gestational diabetes mellitus[J]. *Endocr Rev*, 2022, 43(5): 763-793.
- [2] YE W R, LUO C, HUANG J, et al. Gestational diabetes mellitus and adverse pregnancy outcomes: systematic review and meta-analysis[J]. *BMJ*, 2022, 377: e067946.
- [3] WANG H, LI N H, CHIVISE T, et al. IDF diabetes atlas: estimation of global and regional gestational diabetes mellitus prevalence for 2021 by international association of diabetes in pregnancy study group's criteria[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 183: 109050.
- [4] 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.
- [5] SIKORSKI C, AZAB S, de SOUZA R J, et al. Serum metabolomic signatures of gestational diabetes in South Asian and white European women[J]. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2022, 10(2): e002733.
- [6] MOON J H, JANG H C. Gestational diabetes mellitus: diagnostic approaches and maternal-offspring complications[J]. *Diabetes Metab J*, 2022, 46(1): 3-14.
- [7] FRANZAGO M, FRATICELLI F, STUPPIA L, et al. Nutrigenetics, epigenetics and gestational diabetes: consequences in mother and child[J]. *Epigenetics*, 2019, 14(3): 215-235.
- [8] 张贵英, 胡阳, 黄波, 等. 儿童重症肺炎血清炎症因子及 RNA 异常表达与肺损伤和治疗结局的相关性[J]. *中华全科医学*, 2023, 21(5): 740-743.
- [9] KE W Q, CHEN Y X, ZHENG L J, et al. miR-134-5p promotes inflammation and apoptosis of trophoblast cells via regulating

- FOXP2 transcription in gestational diabetes mellitus[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(1): 319-330.
- [10] 兰俊, 杨健睿, 张军, 等. 血清 miR-16-5p、miR-17-5p 和 miR-330-3p 联合检测对妊娠期糖尿病的诊断价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2021, 42(9): 1121-1124.
- [11] BOUTSIKOU T, GIOTAKI M, GOURGIOTIS D, et al. Cord blood netrin-1 and -4 concentrations in term pregnancies with normal, restricted and increased fetal growth[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2014, 27(18): 1849-1853.
- [12] 杨慧霞. 妊娠合并糖尿病诊治指南(2014版)[C]//2015 中国妇产科学术会议论文集. 天津: 中华医学会, 2015: 1-10.
- [13] ALESI S, GHELANI D, RASSIE K, et al. Metabolomic biomarkers in gestational diabetes mellitus: a review of the evidence[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11): 5512.
- [14] EGAN A M, DOW M L, VELLA A. A review of the pathophysiology and management of diabetes in pregnancy[J]. *Mayo Clin Proc*, 2020, 95(12): 2734-2746.
- [15] MISTRY S K, DAS GUPTA R, ALAM S, et al. Gestational diabetes mellitus (GDM) and adverse pregnancy outcome in South Asia: a systematic review[J]. *Endocrinol Diabetes Metab*, 2021, 4(4): e00285.
- [16] ZEHRABI M, MAQBOOL M, ARA I. Correlation between obesity, gestational diabetes mellitus, and pregnancy outcomes: an overview[J]. *Int J Adolesc Med Health*, 2021, 33(6): 339-345.
- [17] 王楠, 全莉梅, 章根琴, 等. 妊娠期糖尿病患者血清 25 羟维生素 D<sub>3</sub> 及血脂水平分析[J]. *中华全科医学*, 2021, 19(7): 1147-1149.
- [18] JOHNS E C, DENISON F C, NORMAN J E, et al. Gestational diabetes mellitus: mechanisms, treatment, and complications[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2018, 29(11): 743-754.
- [19] GILBERT O E, WILSON J M, VOLK J M. Giant frontotemporal cavernous malformation in a 2-month-old infant: a case report and review of the literature[J]. *Pediatr Neurosurg*, 2022, 57(1): 56-62.
- [20] SINGH R J, ALI M M, RASHI R, et al. Giant choledochal cyst in infant: a rare case report[J]. *Afr J Paediatr Surg*, 2023, 20(3): 243-244.
- [21] FARRAR D, SIMMONDS M, BRYANT M, et al. Hyperglycaemia and risk of adverse perinatal outcomes: systematic review and meta-analysis[J]. *BMJ*, 2016, 354: i4694.
- [22] 刘聪, 刘肃. miR-17-5p 调控低氧诱导因子 1 $\alpha$  介导脂肪细胞分化及血管生成的分子机制[J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(7): 1069-1074.
- [23] HROMADNIKOVA I, KOTLABOVA K, DVORAKOVA L, et al. Diabetes mellitus and cardiovascular risk assessment in mothers with a history of gestational diabetes mellitus based on postpartal expression profile of MicroRNAs associated with diabetes mellitus and cardiovascular and cerebrovascular diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(7): 2437.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 包向敏, 康心怡, 张译心, 等. 妊娠期糖尿病患者血清 microRNA-17、Netrin4 的表达及与妊娠结局的关系[J]. *中国现代医学杂志*, 2024, 34(16): 1-5.

Cite this article as: BAO X M, KANG X Y, ZHANG Y X, et al. Expressions of serum microRNA-17 and netrin-4 in patients with gestational diabetes mellitus and their relationship with pregnancy outcomes[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2024, 34(16): 1-5.