

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.09.005

View this article at: https://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2021.09.005

妊娠期糖尿病 miR-29、miR-372-3p、miR-375 表达水平及其与胰岛素抵抗的相关性

张秋艺, 陈霏, 陈学婷

(南京市中西医结合医院妇产科, 南京 212000)

[摘要] 目的: 探讨妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)miR-29、miR-372-3p、miR-375表达水平及其与胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)的相关性。方法: 选取2019年5月至2020年5月南京市中西医结合医院诊治的220例GDM患者为研究组, 并选取同期220例糖耐量正常的孕妇为对照组。检测并对比两组孕妇空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)及糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1c)水平, 计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR), 比较两组孕妇外周血miR-29、miR-372-3p、miR-375的表达水平, 并分析其与IR的相关性。结果: 研究组FINS水平明显低于对照组, FBG、HbA1c水平及HOMA-IR均明显高于对照组(均 $P<0.05$); 研究组外周血miR-29的表达水平明显低于对照组, miR-372-3p、miR-375的表达水平均明显高于对照组(均 $P<0.05$)。Pearson相关性分析结果显示: 研究组外周血miR-29的表达水平与HOMA-IR呈负相关($r=-0.379$, $P<0.05$), 外周血miR-372-3p、miR-375的表达水平与HOMA-IR呈正相关(均 $r=0.530$ 、 0.628 , $P<0.05$)。结论: GDM患者外周血miR-29、miR-372-3p、miR-375的表达水平跟糖耐量正常的孕妇相比差异具有统计学意义, 临床检测其表达水平对诊断GDM有较高的价值, 且三者均与患者HOMA-IR有一定相关性, 参与IR的发生、发展过程。

[关键词] 妊娠期糖尿病; miR-29; miR-372-3p; miR-375; 胰岛素抵抗; 相关性

Expression levels of miR-29, miR-372-3p, and miR-375 in gestational diabetes mellitus and their correlation with insulin resistance

ZHANG Qiuyi, CHEN Fei, CHEN Xueting

(Department of Gynecology and Obstetrics, Nanjing Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Nanjing 212000, China)

Abstract **Objective:** To investigate the expression levels of miR-29, miR-372-3p, and miR-375 in gestational diabetes mellitus (GDM) and their correlation with insulin resistance (IR). **Methods:** A total of 220 GDM patients who were diagnosed and treated in our hospital from May 2019 to May 2020 were selected as a study group, and 220 pregnant women with normal glucose tolerance during the same period were selected as a control group. The fasting blood glucose (FBG), fasting insulin (FINS), and glycosylated hemoglobin (HbA1c) levels in pregnant

收稿日期 (Date of reception): 2021-03-03

通信作者 (Corresponding author): 张秋艺, Email: 673013321@qq.com

women of the two groups were detected and compared, and the insulin resistance index (HOMA-IR) was calculated, the expression levels of miR-29, miR-372-3p and miR-375 in peripheral blood of pregnant women of the two groups were compared, and the correlation between them and IR was analyzed. **Results:** The level of FINS in the study group was significantly lower than that in the control group, and the levels of FBG, HbA1c and HOMA-IR were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$); the expression level of miR-29 in peripheral blood of the study group was significantly lower than that of the control group, and the expression levels of miR-372-3p and miR-375 were significantly higher than those of the control group ($P<0.05$); the results of Pearson correlation analysis showed that the expression level of miR-29 in peripheral blood of the study group patients was negatively correlated with HOMA-IR ($r=-0.379, P<0.05$), and the expression levels of miR-372-3p and miR-375 in peripheral blood were positively correlated with HOMA-IR ($r=0.530, 0.628, P<0.05$). **Conclusion:** The expression levels of miR-29, miR-372-3p, and miR-375 in the peripheral blood of GDM patients are statistically different from those of pregnant women with normal glucose tolerance, clinical detection of their expression levels is of higher value for the diagnosis of GDM, and all of them are correlated to HOMA-IR of patients to some extent, and are involved in the occurrence and development of IR.

Keywords gestational diabetes mellitus; miR-29; miR-372-3p; miR-375; insulin resistance; correlation

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)是孕产妇妊娠期常见疾病,多见于妊娠中晚期,是一种糖耐量异常、血糖异常升高的疾病,对孕妇自身及胎儿发育均有不利影响,使其代谢性疾病的发病率明显升高,且极大增加了不良妊娠结局的发生风险^[1-2]。近些年,GDM的发病率愈发升高。目前该病的发病机制尚未完全明确,研究^[3]认为疾病病发与患者胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)密切相关,因此尽早检测发现IR,做好相关预防护理,对于预防GDM疾病发生具有重要意义。microRNA(miRNA)对胎盘发育、血管生成、细胞分化、黏附、转移及凋亡等均有一定影响,是一类核苷酸长度为19~23 nt的单链非编码RNA,同时也对胰岛素分泌起重要作用^[4-5]。研究^[6]证实miRNA能够调节胰岛素分泌合成,在糖尿病发病过程中起重要作用,目前已成为GDM及相关疾病诊断治疗的新方向。本研究旨在探讨GDM患者miR-29、miR-372-3p、miR-375表达水平及其与IR的相关性。

1 对象与方法

1.1 对象

选取2019年5月至2020年5月南京市中西医结合医院接收诊治的220例GDM患者为研究组,并选取同期220例糖耐量正常的孕妇为对照组。纳入标准:1)GDM患者均符合《妊娠合并糖尿病诊治指南(2014)》^[7]中的相关诊断标准;2)单胎;3)临床资料完整;4)孕妇及其家属均知晓此研究,并同意

参与。排除标准:1)有糖尿病史;2)合并恶性肿瘤及其他妊娠并发症;3)严重心、肝、肾功能异常。

1.2 方法

分别采集两组孕妇清晨空腹状态下肘静脉血5 mL和3 mL,采用全自动生化分析仪(美国Beckman公司)对两组孕妇的空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)及糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1c)水平进行检测,并计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)=FPG×FINS/22.5。对装有3 mL静脉血的试管进行EDTA抗凝处理,依照AM1560 RNA抽提试剂盒(美国Ambion公司)的使用说明进行血清RNA的抽提,统一放置于-80 °C冰箱储存待检,之后使用TaqMan反转录试剂盒(美国APPS公司)将RNA反转录为cDNA,操作完成后将miR-29、miR-372-3p、miR-375使用实时荧光定量PCR(RT-PCR)仪进行定时定量,分别于16、42、85、4 °C反转30、30、5、5 min,于95 °C环境下行RT-PCR反应10 min,45个循环的95 °C反应15 s,60 °C反应60 s,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法分析miR-29、miR-372-3p、miR-375基因的表达水平。引物序列见表1。

1.3 观察指标

对比两组孕妇的血糖相关指标(包括FBG、FINS、HbA1c水平及HOMA-IR),比较两组孕妇外周血miR-29、miR-372-3p、miR-375的表达水平,并分析其与IR的相关性。

表1 引物序列

Table 1 Primer sequence

引物类型	引物序列(5'→3')
miR-29	CACTGGATACGACTAACCG
miR-372-3p	GCTCAAATGTCGCAGCACTTT
miR-375	CACTGGATACGACCGCAA

1.4 统计学处理

应用SPSS 19.0统计学软件进行数据分析, 计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 比较采用 t 检验, 计数资料比较采用 χ^2 检验; 指标之间的相关性采用Pearson相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表2 两组一般资料比较($n=220, \bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of general data between the two groups ($n=220, \bar{x} \pm s$)

组别	年龄/岁	孕周	孕前BMI/($\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$)	分娩前BMI/($\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$)
对照组	26.38 ± 2.68	38.51 ± 6.28	21.17 ± 2.19	27.23 ± 2.70
研究组	26.45 ± 2.51	38.54 ± 6.30	21.12 ± 2.15	27.31 ± 2.75
t	0.283	0.050	0.242	0.308
P	0.778	0.960	0.809	0.758

表3 两组血糖相关指标比较($n=220, \bar{x} \pm s$)Table 3 Comparison of blood glucose related indexes between the two groups ($n=220, \bar{x} \pm s$)

组别	FBG/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	FINS/($\text{mIU} \cdot \text{L}^{-1}$)	HbA1c/%	HOMA-IR
对照组	5.26 ± 0.54	27.37 ± 2.07	5.27 ± 0.52	1.15 ± 0.12
研究组	8.84 ± 0.91	16.22 ± 1.84	8.56 ± 0.87	3.27 ± 0.34
t	11.642	7.804	12.153	18.436
P	0.001	0.010	0.001	<0.001

表4 两组外周血miR-29、miR-372-3p、miR-375的表达水平比较($n=220, \bar{x} \pm s$)Table 4 Comparison of the expression levels of miR-29, miR-372-3p, and miR-375 in peripheral blood between the two groups ($n=220, \bar{x} \pm s$)

组别	miR-29	miR-372-3p	miR-375
对照组	76.75 ± 7.81	1.47 ± 0.13	21.62 ± 2.20
研究组	25.39 ± 2.46	3.86 ± 0.35	66.51 ± 6.73
t	15.397	6.419	14.548
P	<0.001	0.016	<0.001

2 结果

2.1 两组孕妇的一般资料比较

对比GDM患者和糖耐量正常孕妇的一般资料, 差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$, 表2)。

2.2 两组孕妇的血糖相关指标比较:

研究组患者的FINS水平明显较对照组低, FBG、HbA1c水平及HOMA-IR明显较对照组高(均 $P < 0.05$, 表3)。

2.3 两组孕妇外周血miR-29、miR-372-3p、miR-375的表达水平比较

研究组外周血miR-29的表达水平明显较对照组低, 外周血miR-372-3p、miR-375的表达水平明显较对照组高(均 $P < 0.05$, 表4)。

2.4 GDM 患者外周血 miR-29、miR-372-3p、miR-375 表达水平与 IR 的相关性分析

研究组外周血 miR-29 的表达水平与 HOMA-IR 呈负相关, 外周血 miR-372-3p、miR-375 的表达水平与 HOMA-IR 呈正相关(表5)。

表5 GDM患者外周血miR-29、miR-372-3p、miR-375表达水平与IR的相关性分析

Table 4 Correlation analysis of the expression levels of miR-29, miR-372-3p, miR-375 and IR in peripheral blood of patients with GDM

HOMA-IR	miR-29	miR-372-3p	miR-375
<i>r</i>	-0.379	0.530	0.628
<i>P</i>	0.014	0.009	0.001

3 讨论

孕妇体内内分泌环境发生明显改变, 雌激素水平显著升高导致外周组织胰岛素敏感度显著下降; 且孕妇胎盘发育会释放炎症介质, 对其胰岛功能造成一定损伤, 因此更容易发生GDM^[8]。GDM是孕产妇妊娠期常见疾病, 对患者及胎儿身体产生极大影响, 会导致产后出血、新生儿窒息等不良妊娠结局的发生。目前GDM病发机制尚未完全明确, 胰岛功能异常、IR等都可能在一定程度上影响到GDM的发生及发展过程, 且大部分的学者认为, 影响GDM发生的生理及病理基础就是IR^[9]。胰岛素作用的靶器官和组织对胰岛素的敏感性下降, 产生生物学效应响应不足的状态被称之为IR, 孕妇出现IR会增加其机体胰岛β细胞代偿性分泌胰岛素, 降低机体对胰岛素的敏感性, 进而引发孕妇体内糖代谢紊乱等症状^[10]。因此尽早寻找IR相关靶点, 对阐明GDM病发机制、筛查病变人群、积极干预治疗起积极作用。

miRNA对于机体细胞、组织生长及发育起关键作用, 但机体长期处于高糖环境下会对miRNA的表达产生一定影响, 甚至可能引发糖尿病。随着对miRNA研究的进一步深入, 发现其作用于胰岛素合成和分泌当中, 在GDM致病过程中发挥作用, 具有无创、准确的特点, 在血液中具备充足稳定性, 是研究糖尿病发病机制的重要靶点与标志^[11-12]。胚胎期组织中miR-29处于不表达或低表达状态, 而在成熟细胞(如心、肺等组织)当中却呈现广泛表达状态, 在胰岛素分泌与IR中起至关

重要的作用^[13]。实验动物模型^[14]显示: 相比正常大鼠, 糖尿病大鼠miR-29的表达水平更高。miR-29的表达水平过高, 会对胰岛素激发的葡萄糖摄取能力产生一定程度的抑制作用, 致使机体细胞对胰岛素的敏感性下降, 这与高糖导致的胰岛素失敏大致相同^[15]。持续干预2型糖尿病患者的饮食及行为后, 其体内miR-372-3p的表达水平会明显降低, 这表明miR-372-3p与糖代谢及胰岛素功能可能存在相关性^[16]。miR-375能够有效调控肌营养素的表达水平, 进而对葡萄糖刺激的胰岛素分泌能力产生调节作用, 在胰岛β细胞生理功能中起关键作用; 进而调节三磷酸肌醇依赖性蛋白激酶1(PDK1), 介导PDK1表达降低, 致使葡萄糖对胰岛素基因表达和DNA合成刺激作用降低, 最终导致严重糖尿病的发生^[17-18]。

本研究显示: 相比糖耐量正常的孕妇, GDM患者的FINS水平明显更低, FBG、HbA1c水平及HOMA-IR明显更高, 说明当GDM患者的血糖水平升高时, HOMA-IR会随之增加, 胰岛敏感性会下降, 证明β细胞功能下降导致的胰岛素分泌减少会影响到GDM的发生。当细胞中的miR-372-3p表达受到抑制后, GLUT-4表达会明显升高, 其分子机制为反义寡核苷酸解除了miR-372-3p对GLUT-4的抑制作用。本研究显示: GDM患者外周血miR-29的表达水平明显更低, 外周血miR-372-3p、miR-375的表达水平明显更高, 说明检测孕妇外周血miR-29、miR-372-3p、miR-375的表达水平对GDM的早期诊断及筛查有一定的临床价值。其原因可能为miR-372-3p表达升高会进一步提高其对GLUT-4的抑制作用, 使GLUT-4表达明显降低从而促进IR, 证明胰岛素信号通路与miR-372-3p相关; miR-375能够负向调控PDK1的表达, 进而在一定程度上影响到葡萄糖刺激胰岛素基因表达的能力及DNA的合成, 最终导致严重糖尿病的发生。miR-29的低表达水平能够在一定程度上对胰岛β细胞的分化及成熟产生抑制作用, 进而损害胰岛素的分泌功能, 造成分泌障碍。miR-372-3p的高表达通过负向调控GLUT-4的表达参与IR; miR-375的高表达促使胰岛β细胞凋亡; 当miR-29、miR-372-3p与miR-375表达异常, 患者体内胰岛β细胞数量明显减少, 细胞功能遭到削弱, IR进一步发展, 从而引发GDM。Pearson相关性分析结果显示, GDM患者外周血miR-29的表达水平与HOMA-IR呈负相关, 外周血miR-372-3p、miR-375的表达水平与HOMA-IR呈正相关, 说明外周血miR-29的表达水平降低、miR-372-3p和miR-375的表达水平升高是

影响GDM患者IR的危险因素,提示miR-29、miR-372-3p、miR-375可能参与了GDM患者IR的发生、发展过程。

综上所述,GDM患者外周血miR-29的表达水平异常降低,与HOMA-IR呈负相关;miR-372-3p、miR-375的表达水平异常升高,与HOMA-IR呈正相关,三者均参与GDM患者IR的发生、发展过程。临床检测孕妇外周血miR-29、miR-372-3p、miR-375的表达水平对诊断GDM有较高的临床价值,对GDM的早期诊断、筛查、及采取治疗措施有重要意义。

参考文献

- Alves JG, Souza ASR, Figueiroa J N, et al. Visceral adipose tissue depth in early pregnancy and gestational diabetes mellitus—a cohort study[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 2032.
- 朱洁, 高伟娜, 刘冲, 等. 妊娠期糖尿病孕妇产后糖代谢异常的危险因素和孕中期血清硒蛋白P的预测价值[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2019, 54(5): 750-753.
ZHU Jie, GAO Weina, LIU Chong, et al. The role of serum selenoprotein P in the prediction of postpartum glucose metabolism in gestational diabetes mellitus[J]. *Journal of Zhengzhou University. Medical Sciences*, 2019, 54(5): 750-753.
- Tu C, Wang L, Tao H, et al. Expression of miR-409-5p in gestational diabetes mellitus and its relationship with insulin resistance[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(4): 3324-3329.
- Flowers E, Kanaya AM, Fukuoka Y, et al. Preliminary evidence supports circulating microRNAs as prognostic biomarkers for type 2 diabetes[J]. *Obes Sci Pract*, 2017, 3(4): 446-452.
- 施凤涟, 司焕焕, 黄杰. 妊娠期糖尿病患者血清miR-126表达与胰岛素抵抗的关系[J]. *中国糖尿病杂志*, 2020, 28(6): 423-427.
SHI Fenglian, SI Huanhuan, HUANG Jie. The relationship between serum miR-126 expression and insulin resistance in patients with gestational diabetes mellitus[J]. *Chinese Journal of Diabetes*, 2020, 28(6): 423-427.
- 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.
LI Wei, HU Baochun, GONG Zhao. Differential expression profile of mi-cRNA in placental tissue of women with gestational diabetes mellitus[J]. *Journal of Nanjing Medical University (Natural Science Edition)*, 2017, 37(3): 298-302.
- 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]. *中华围产医学杂志*, 2014, 17(8): 537-545.
Obstetrics Group of Obstetrics and Gynecology Branch of Chinese Medical Association, Collaborative Group of Pregnancy and Diabetes of Perinatal Medicine Branch of Chinese Medical Association. Guidelines for diagnosis and treatment of diabetes in pregnancy (2014)[J]. *Chinese Journal of Perinatal Medicine*, 2014, 17(8): 537-545.
- 朱丹婴, 姜纓. 妊娠早期糖脂代谢指标检测预测妊娠期糖尿病发病及母婴结局的价值[J]. *中国妇幼保健*, 2018, 33(2): 310-312.
ZHU Danying, JIANG Ying. The value of glycolipid metabolism in early pregnancy in predicting the incidence and maternal and infant outcomes of gestational diabetes mellitus[J]. *Maternal & Child Health Care of China*, 2018, 33(2): 310-312.
- 江丽, 宋聃. 妊娠期糖尿病妇女产后糖尿病发生的研究进展[J]. *川北医学院学报*, 2018, 33(6): 966-970.
JIANG Li, SONG Dan. Research progress of postpartum diabetes in women with gestational diabetes[J]. *Journal of North Sichuan Medical College*, 2018, 33(6): 966-970.
- Li G, Lin L, Wang YL, et al. 1,25(OH)2D3 protects trophoblasts against insulin resistance and inflammation via suppressing mTOR signaling[J]. *Reprod Sci*, 2019, 26(2): 223-232.
- 董春萍, 吴贵福, 张雅, 等. 妊娠期糖尿病患者血清miR-149水平与胰岛素抵抗的关系[J]. *西部医学*, 2020, 32(5): 700-703.
DONG Chunping, WU Guifu, ZHANG Ya, et al. The relationship between serum miR-149 level and insulin resistance in patients with gestational diabetes mellitus[J]. *Journal of Western Medicine*, 2020, 32(5): 700-703.
- 李伟, 胡可胜, 邓小凤. miR-372-3p低表达对胰岛素抵抗细胞糖代谢的影响及机制[J]. *山东医药*, 2018, 58(37): 23-25.
LI Wei, HU Kesheng, DENG Xiaofeng. Effects of low expression of miR-372-3p on glucose metabolism and its mechanism in insulin resistant cells[J]. *Shandong Medicine*, 2018, 58(37): 23-25.
- Srensen A, Poppel MV, Desoye G, 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.
- 孙天虹, 余江. miR-29与miR-375在妊娠期糖尿病中的表达水平及临床意义研究[J]. *中国妇幼保健*, 2015, 30(30): 5144-5145.
SUN Tianhong, YU Jiang. Expression of miR-29 and miR-375 in gestational diabetes mellitus and its clinical significance[J]. *Maternal & Child Health Care of China*, 2015, 30(30): 5144-5145.
- 倪雯, 刘佳, 张弘睢. miR-29、miR-200a在妊娠期糖尿病患者外周血中表达及临床意义[J]. *中国计划生育学杂志*, 2018, 26(10): 947-950.
NI Wen, LIU Jia, ZHANG Hongju. Expression and clinical significance of miR-29 and miR-200a in peripheral blood of patients with gestational diabetes[J]. *Chinese Journal of Family Planning*, 2018,

- 26(10): 947-950.
16. 郭碧莲, 刘妍, 何荣霞, 等. 妊娠期糖尿病中miR-372-3p参与调控胰岛素抵抗的关系研究[J]. 中国妇产科临床杂志, 2020, 21(5): 532-534.
GUO Bilian, LIU Yan, HE Rongxia, et al. The role of miR-372-3p in the regulation of insulin resistance in gestational diabetes mellitus[J]. Chinese Journal of Clinical Obstetrics and Gynecology, 2020, 21(5): 532-534.
 17. 李伟, 蔡德鸿. 妊娠期糖尿病妇女外周血miR-29、miR-375的表达及临床意义[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2014, 34(3): 334-336.
LI Wei, CAI Dehong. Expression and clinical significance of miR-29 and miR-375 in peripheral blood of women with gestational diabetes mellitus[J]. Journal of Nanjing Medical University. Natural Science Edition, 2014, 34(3): 334-336.
 18. Garcia-Jacobo RE, Uresti-Rivera EE, Portales-Perez DP, et al. Circulating miR-146a, miR-34a and miR-375 in type 2 diabetes patients, pre-diabetic and normal glycaemic individuals in relation to β -cell function, insulin resistance and metabolic parameters[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2019, 46(12): 1092-1100.

本文引用: 张秋艺, 陈霏, 陈学婷. 妊娠期糖尿病miR-29、miR-372-3p、miR-375表达水平及其与胰岛素抵抗的相关性[J]. 临床与病理杂志, 2021, 41(9): 2002-2007. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.09.005

Cite this article as: ZHANG Qiuyi, CHEN Fei, CHEN Xueting. Expression levels of miR-29, miR-372-3p, and miR-375 in gestational diabetes mellitus and their correlation with insulin resistance[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2021, 41(9): 2002-2007. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.09.005