

长链非编码 RNA 在妊娠期糖尿病胎盘组织中的表达及与病理的关系研究

高金来 梅丽娜 邓再兴 王丽

妊娠期糖尿病是妊娠期特有的多系统进展性疾病,可影响母婴健康。由于妊娠期糖尿病发病机制尚未阐明,且缺乏科学的诊断和治疗手段,导致临床终止妊娠率较高^[1,2]。长链非编码 RNA (long stranded non coding RNA, lncRNA) 是在真核生物中发现的一类长度>200 个的核苷酸,由 RNA 聚合酶 II 转录形成,无长阅读框架,具备 mRNA 结构特征的 RNA。lncRNA 能直接参与表观遗传学、转录水平与转录后水平等不同层面的基因调控及表达^[3,4]。本次研究主要探讨 lncRNA 在妊娠期糖尿病胎盘组织中的表达及与病理的关系。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2020 年 5 月至 2022 年 2 月湖州市妇幼保健院收治的妊娠期糖尿病患者胎盘样本 30 份为观察组,产妇年龄 25~41 岁,平均(32.59±3.42)岁;孕周 36~41 周,平均(38.00±2.00)周;妊娠次数 1~5 次,平均(2.38±0.32)次;胎儿出生体重 2.2~4.7 kg,平均(3.09±0.32)kg;胎儿宫内生长受限 4 例、早产 6 例。选择同时间段正常妊娠产妇胎盘样本 30 份为对照组,产妇年龄 24~42 岁,平均(32.62±3.45)岁;孕周 36~42 周,平均(38.31±2.18)周;妊娠次数 1~6 次,平均(2.42±0.35)次;胎儿出生体重 2.3~4.8 kg,平均(3.13±0.34)kg;胎儿宫内生长受限 1 例、早产 4 例。本研究获得医院伦理委员批准,患者签署知情同意书。两组一般资料比较,差异均无统计学意义(P 均>0.05)。

1.2 纳入及排除标准 观察组纳入标准:①符合《妇产科学(第九版)》中妊娠期糖尿病诊断标准;

②病情尚稳定,能与孕产妇进行沟通交流;③均为单胎,并成功完成胎盘组织的收集;排除标准包括:①精神异常、凝血功能异常或伴有妊娠期糖尿病等相关妊娠合并症者;②中途放弃诊疗或中转上一级医院者;③伴有自身免疫性疾病者。

1.3 方法

1.3.1 差异性表达的 lncRNA 及基因 两组产妇分娩后 5 min 内,于胎盘母体面(尽可能避开钙化点),在胎盘的不同区域剪取数块胎盘组织,大小 1 cm×1 cm,并经焦炭酸二乙酯处理后连续完成 2 次磷酸盐缓冲液漂洗,去除水分后置于冻存管中,标记完毕后放置在液氮中,备用。提取胎盘组织中总 RNA,常规采用 NanoDrop ND-1000 完成 RNA 浓度及纯度的测定。待上述操作完毕后,借助琼脂糖甲醛变性凝胶电泳精准测定 RNA 质量,保证 RNA 中无 DNA、未降解及无蛋白质污染等,保证能顺利完成基因芯片检测及实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测。常规采用 SuperScript II RT 试剂盒完成逆转录,并实现双链互补 DNA 的合成,并对获得的 cRNA 进行生物素标记,并利用分光光度计检测 cRNA 的浓度与质量,片段化后进行杂交洗脱、染色,获得原始数据,采用 lncRNA 芯片及生物芯片分析系统完成荧光强度扫描及分析。采用实时荧光 PCR 法对差异性表达的 lncRNA 进行验证,将上述提取获得的总 RNA 进行逆转录形成 cDNA,并在 ABI 7500 荧光定量 PCR 仪上完成 qRT-PCR 验证,以磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH)为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 完成不同标本中 mRNA 水平测定。

1.3.2 病理特征 差异性表达的 lncRNA 验证完毕后,观察妊娠期糖尿病胎盘组织中形态学改变,包

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2024.003.020

基金项目:湖州市公益性应用研究项目(2021GY12)

作者单位:313000 浙江湖州,湖州市妇幼保健院病理科(高金来、邓再兴),内科(梅丽娜),妇产科(王丽)

括:绒毛状水肿、合体滋养层数量、纤维蛋白坏死、钙化、玻璃样变、合体滋养层基底膜增厚等情况。同时,将胎盘组织置于20倍放大的光学显微镜下,观察胎盘组织末端绒毛膜血管情况,并完成评分(借助图像分析系统,采用手动勾勒方法选出血管壁,借助计算机软件完成血管面积测定,将血管一部分带回终端绒毛总区域,由计算机自动评分)^[5]。

1.4 统计学方法 采用SPSS 26.0软件处理。计数资料采用例(%)表示,并采用 χ^2 检验;计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,并采用 t 检验。设 $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 差异性表达lncRNA在妊娠期糖尿病患者胎盘组织中的表达 妊娠期糖尿病患者胎盘组织中共筛选出差异性表达lncRNA及mRNA 423个,其中8个显著上调,13个显著下调。

2.2 差异性表达lncRNA表达谱芯片结果 对两组胎盘组织芯片结果进行对比发现,差异性表达lncRNA超过2倍以上共计212个,其中表达上调93个,表达下调119个,其中GPR32上调倍数最大,上调7.03倍,FAM26D下调倍数最大,下调4.21倍。

2.3 差异性表达的lncRNA与病理的关系见表1

表1 妊娠期糖尿病胎盘组织不同病理特征下差异性表达的lncRNA表达水平

病理特征		GPR32	FAM26D
绒毛状水肿	是	1.58 \pm 0.21	0.52 \pm 0.15
	否	1.57 \pm 0.20	0.53 \pm 0.16
合体体结	是	1.63 \pm 0.24	0.50 \pm 0.12
	否	1.37 \pm 0.18	0.88 \pm 0.16
纤维蛋白坏死	是	1.67 \pm 0.43	0.47 \pm 0.12
	否	1.41 \pm 0.32	0.95 \pm 0.18
钙化	是	1.58 \pm 0.39	0.43 \pm 0.10
	否	1.34 \pm 0.24	0.75 \pm 0.14
玻璃样变	是	1.59 \pm 0.23	0.51 \pm 0.14
	否	1.57 \pm 0.20	0.53 \pm 0.16
合体滋养层基底膜增厚	是	1.69 \pm 0.34	0.41 \pm 0.09
	否	1.43 \pm 0.26	0.79 \pm 0.15
脐带插入位置	中央	1.59 \pm 0.23	0.50 \pm 0.12
	边缘	1.56 \pm 0.21	0.51 \pm 0.13

由表1可见,GPR32和FAM26D基因的lncRNA表达水平与妊娠期糖尿病患者胎盘组织的脐带插入位置、绒毛状水肿及玻璃样变无明显相关,差异

均无统计学意义(t 分别=1.22、0.68;1.51、0.21;0.93、1.32, P 均 >0.05);与合体体结、纤维蛋白坏死、钙化、合体滋养层基底膜增厚明显相关,差异均有统计学意义(t 分别=6.19、5.22;5.22、7.09;5.43、7.83;7.78、8.19, P 均 <0.05)。

3 讨论

妊娠期糖尿病是妊娠期特有的严重并发症,能引起全身多器官功能损害及功能衰竭,包括:循环系统、神经系统及内分泌系统等^[6],是我国孕产妇死亡的重要原因。目前,临床上对于妊娠期糖尿病发病机制尚未阐明,普遍认为与母体、胎盘及胎儿等因素影响,并伴有炎症反应、免疫调节功能异常有关^[7]。近年来,随着医疗技术的不断发展,非编码RNA的功能受到人们的重视,且非编码RNA在调控基因表达的转录和翻译过程中发挥了重要的作用^[8]。本研究中,妊娠期糖尿病患者胎盘组织中共筛选出差异性表达lncRNA及mRNA 423个,其中8个显著上调,13个显著下调;差异性表达lncRNA超过2倍以上共计212个,其中表达上调93个,表达下调119个,其中GPR32上调倍数最大,FAM26D下调倍数最大,由此可见,妊娠期糖尿病患者体内差异性lncRNA数量较多,在疾病的发生与发展中具有重要的作用。李颖等^[9]研究表明,lncRNA能参与人体X染色体沉默、基因组印迹及染色质修饰、转录激活、转录干扰及核内运输等多种重要的调控过程。同时,差异性表达lncRNA能参与妊娠期糖尿病的发生,其可能机制由于差异性表达lncRNA能与特异性靶点mRNA碱基配对,促进mRNA的降解,改变mRNA水平。

趋化因子在炎症反应性疾病中发挥了重要的作用,对于合并多种炎症性疾病患者,胎盘组织中差异性表达lncRNA异常明显。Yang等^[10]研究表明,差异性表达lncRNA在妊娠期糖尿病患者中能引起Bax蛋白表达上调及Bel-2蛋白表达下调。同时,炎症状态下能加剧妊娠期糖尿病患者体内的氧化应激及炎症反应,导致循环细胞因子水平升高,淋巴细胞、粒细胞等均处于高水平。妊娠期糖尿病患者主要病理原因可能是由于细胞滋养层未能侵入蜕膜化子宫内膜及子宫基层,再加上妊娠前3个月螺旋状动脉转变失败,导致胎盘灌注及暗晒,从而引起胎盘缺血、缺氧,影响胎儿发育。本研究结果显示,妊娠期糖尿病患者胎盘组织中GPR32和

(下转第272页)

参考文献

- 1 Aksoy M, Dostbil A, Ince I, et al. Continuous spinal anaesthesia versus ultrasound-guided combined psoas compartment-sciatic nerve block for hip replacement surgery in elderly high-risk patients: A prospective randomised study[J]. BMC Anesthesiol, 2014, 14(1): 99.
- 2 Factor D, Perlas A. Ultrasound-assisted lumbar plexus block in a patient with scoliosis[J]. Reg Anesth Pain Med, 2020, 35(6): 568-569.
- 3 Ke X, Li J, Liu Y, et al. Surgical anesthesia with a combination of T12 paravertebral block and lumbar plexus, sacral plexus block for hip replacement in ankylosing spondylitis: CARE-compliant 4 case reports[J]. BMC Anesthesiol, 2017, 17(1): 86.
- 4 Zhang J, Wang X, Zhang H, et al. Comparison of combined lumbar and sacral plexus block with sedation versus general anaesthesia on postoperative outcomes in elderly patients undergoing hip fracture surgery (CLSB-HIPELD): Study protocol for a prospective, multicentre, randomised controlled trial[J]. BMJ Open, 2019, 9(3): e022898.
- 5 陆小龙. 超声引导下腰骶丛神经阻滞联合全麻在高龄患者髋关节置换术的临床应用[D]. 安徽: 安徽医科大学, 2019.
- 6 Bendtsen TF, Søballe K, Petersen EM, et al. Ultrasound guided single injection lumbosacral plexus blockade for hip surgery anaesthesia[J]. Brit J Anaesth, 2013, 111: 9982.
- 7 Bendtsen TF, Pedersen EM, Haroutounian S, et al. The suprasacral parallel shift vs lumbar plexus blockade with ultrasound guidance in healthy volunteers: A randomised controlled trial[J]. Anaesthesia, 2014, 69(11): 1227-1240.
- 8 Strid JM, Pedersen EM, Al-Karradi SN, et al. Real-time ultrasound/MRI fusion for suprasacral parallel shift approach to lumbosacral plexus blockade and analysis of injectate spread: An exploratory randomized controlled trial[J]. Biomed Res Int, 2017, 2017: 1873209.
- 9 Aruntasupakul V, Chalachewa T, Leurcharumee P, et al. Ultrasound with neurostimulation compared with ultrasound guidance alone for lumbar plexus block: A randomised single blinded equivalence trial[J]. Eur J Anaesthesiol, 2018, 35(3): 224-230.

(收稿日期 2023-09-11)

(本文编辑 葛芳君)

(上接第264页)

FAM26D基因与合体层结、纤维蛋白坏死、钙化、合体滋养层基底膜增厚明显相关(P 均 <0.05),说明差异性表达 lncRNA 表达水平可能与胎盘病理病因有关。

综上所述,差异性表达 lncRNA 在妊娠期糖尿病患者胎盘组织中表达异常,且与病理存在紧密联系,在疾病的发生发展中发挥重要作用。

参考文献

- 1 丁雅迪,秦漪. 妊娠期糖尿病患者糖化血红蛋白水平与新生儿出生体质量关系的研究进展[J]. 系统医学, 2022, 7(17): 187-190.
- 2 许晓红,关红琼. 子痫前期中长链非编码RNA相关研究新进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2020, 47(6): 648-652.
- 3 Chadda KR, Blakey EE, Coleman N, et al. The clinical utility of dysregulated microRNA expression in paediatric solid tumours[J]. Eur J Cancer B Oral Oncol, 2022, 176: 133-154.
- 4 陈芳荣,龚护民,郑林媚. 长链非编码RNAMALAT1与微小核糖核酸-146a相互作用对妊娠期糖尿病滋养细胞功能的影响[J]. 海南医学院学报, 2020, 26(12): 915-920.
- 5 李聪慧,郭爱英,吴波,等. 妊娠期糖尿病产妇分娩的新生儿出生24 h低血糖发生原因及护理对策[J]. 齐鲁护理杂志, 2022, 28(15): 126-129.
- 6 Jacobsen DP, Lekva T, Moe K, et al. Pregnancy and postpartum levels of circulating maternal sHLA-G in preeclampsia[J]. J Reprod Immunol, 2021, 143(255): 103249.
- 7 彭迎春,张媛,杨志娟,等. lncRNA-SNHG5在妊娠期糖尿病胎盘组织中的表达及其对滋养细胞增殖能力影响的机制[J]. 广西医学, 2020, 42(18): 2389-2393.
- 8 刘晓娟,王苏敏,杨彩,等. 母体血清内脂素、脂肪酸结合蛋白4及妊娠相关血浆蛋白A水平对高龄妊娠期糖尿病病人围产儿不良结局的预测价值[J]. 安徽医药, 2022, 26(8): 1652-1656.
- 9 李颖,杨宁,邹晓译,等. 血浆肝癌微血管侵袭相关的长链非编码RNA对子痫前期的预测价值[J]. 中华高血压杂志, 2020, 28(3): 251-256.
- 10 Yang X, Yang J, Liang XZ, et al. Landscape of dysregulated placental RNA editing associated with preeclampsia[J]. Hypertension, 2021, 75(6): 1532-1541.

(收稿日期 2023-02-07)

(本文编辑 葛芳君)