

· 综述 ·

microRNA 作为妊娠糖尿病标志物的研究进展郑妙艳¹ 石文琦² 张美琳² 单春艳¹

¹天津医科大学代谢病医院糖尿病肾病科, 国家卫生健康委员会激素与发育重点实验室(天津医科大学), 天津市代谢性疾病重点实验室, 天津医科大学代谢病医院内分泌研究所 300070; ²天津医科大学公共卫生学院 300070

通信作者: 单春艳, Email: chunyanshan@hotmail.com

【摘要】 妊娠糖尿病以糖耐量降低和胰岛素抵抗为特征, 妊娠相关不良事件发生率高。microRNA 是一组可调控基因表达的内源性小片段非编码 RNA。妊娠糖尿病差异表达的胎盘 microRNA 可能与细胞增殖、迁移、分化、滋养层血管生成以及炎症反应有关。一些胎盘 microRNA 可经外泌体等途径进入母体血液循环中, 差异表达的循环 microRNA 可能通过影响胰岛素分泌和转运通路、炎症反应、胎儿神经元分化、细胞增殖等相关基因的表达, 参与妊娠糖尿病以及不良妊娠结局的发生和进展。因此, 通过检测差异表达的 microRNA 可能发现早期预测妊娠糖尿病潜在的生物标志物。

【关键词】 MicroRNA; 妊娠糖尿病; 生物标志物; β 细胞功能

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.04.014

Perspectives in microRNA as biomarkers of gestational diabetes mellitus Zheng Miaoyan¹, Shi Wenqi², Zhang Meilin², Shan Chunyan¹. ¹Department of Diabetic Nephropathy, NHC Key Laboratory of Hormones and Development (Tianjin Medical University), Tianjin Key Laboratory of Metabolic Diseases, The Metabolic Diseases Hospital & Tianjin Institute of Endocrinology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; ²School of Public Health, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Corresponding author: Shan Chunyan, Email: chunyanshan@hotmail.com

【Abstract】 Gestational diabetes mellitus (GDM) is characterized by decreased glucose tolerance and insulin resistance, which may result in high incidence of pregnancy-related adverse events. MicroRNA is a class of small endogenous noncoding RNA demonstrated to modulate gene expression. Differentially expressed placental microRNAs in GDM may be related to cell proliferation, migration, trophoblast angiogenesis and inflammation. Some placental microRNAs are released into maternal circulation via exosomes, and differentially expressed circulating microRNAs may affect the related gene expression involved in insulin secretion and transport pathways, inflammatory response, fetal neuronal differentiation and cell proliferation, which may participate in the occurrence and progress of GDM and its adverse pregnancy outcomes. Therefore, the detection of differentially expressed microRNAs in patients with GDM may reveal potential biomarkers for early prediction of GDM.

【Key words】 MicroRNA; Gestational diabetes mellitus; Biomarkers; β cell function

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.04.014

妊娠糖尿病(GDM)是指在妊娠中、晚期首次出现或发病的不同程度的糖耐量异常^[1]。在妊娠中、晚期, 为了给胎儿提供足够的营养物质, 孕妇胰岛素抵抗生理性增强以维持血糖稳态。GDM 以糖耐量降低和血糖升高为特征, β 细胞对外周胰岛素抵抗的适应不良可能是其主要病理生理机制。目前推荐在妊娠 24~28 周进行 75 g 口服葡萄糖耐量试验筛查和诊断 GDM, 而妊娠中、晚期已出现极高的妊娠

相关不良事件发生率, 如先兆子痫、早产、胎儿低血糖、呼吸窘迫综合征、子代糖尿病等。所以需要寻找一些生物标志物早期预测 GDM 或精确监控 GDM 的状况, 以改善 GDM 不良妊娠结局。研究发现, microRNA(miRNA) 可以作为早期诊断 GDM 的潜在生物标志物^[2]。深入研究 miRNA 的功能, 可以增加对 GDM 及其并发症的病因学和病理生理学的了解。本文对近几年来 GDM 患者胎盘、循环 miRNA

方面的研究进展进行综述。

1 miRNA 概述

miRNA 是一种长度约 19 ~ 24 个核苷酸的内源性非编码单链 RNA 片段,其生物发生的过程为:首先,在细胞核内,miRNA 基因间区域和启动子在 RNA 聚合酶 II 或 III 作用下进一步加工,转录生成含 60 ~ 70 个核苷酸长发夹结构的初级 miRNA;随后,后者主动转运至细胞质,在核糖核酸酶 III Dicer 作用下分裂形成两条双链 RNA,其中主链编码 Argonaute 蛋白 1-4,形成 RNA 诱导沉默复合体。成熟的 miRNA 引导 RNA 诱导沉默复合体与目标 mRNA 分子 3' 非编码区域互补配对,负反馈抑制目标 mRNA 的翻译或者特异性地切割目标 mRNA,从而实现靶基因转录水平的调控^[3]。

miRNA 还可被动或主动分泌至细胞外液。细胞死亡或凋亡后 miRNA 多以无囊泡的形式或凋亡小体被动释放;主动转运则通过囊泡、外泌体或高密度脂蛋白、低密度脂蛋白主动分泌。miRNA 以脂质囊泡作为载体或与结合蛋白质形成复合体,可保护其免受 RNA 酶和其他 RNA 降解剂的降解,从而使 miRNA 在细胞外稳定存在^[4]。循环 miRNA 容易检测,所以可作为很多不同疾病(包括糖尿病)公认的诊断、预后、治疗的生物标志物。

2 GDM 胎盘 miRNA

人类胎盘中有 500 种以上 miRNA 表达,可分为胎盘特异性、胎盘相关性和胎盘衍生性循环 miRNA 三大类^[5]。胎盘特异性 miRNA 在胎盘组织中特异表达,主要与细胞增殖、凋亡、迁移及滋养层血管生成有关,在妊娠早期胎盘形成过程起调节作用。最近, Ding 等^[6]对 16 例 GDM 和对照组的胎盘进行测序分析,并用定量 PCR 法对差异表达的 miRNA 进行验证,发现 GDM 胎盘共表达 281 个 mRNA 和 32 个 miRNA,其生物学关系与细胞发育、功能和器官形态有关。其中,miRNA-138-5p 通过靶向转导素 β 样蛋白(TBL1X)的 3'-非翻译区,显著抑制滋养层细胞迁移和增殖,并且 miRNA-138-5p 和 TBL1X 的异常表达与胎盘重量显著相关。

胎盘相关性 miRNA 在妊娠过程中以不同形式在胎盘及其他组织中广泛表达。Cai 等^[5]最近发现,妊娠早期至晚期胎盘中存在 191 种不同表达的 miRNA;妊娠早期,主要存在与肿瘤形成、血管生成、抗凋亡相关的 miRNA;妊娠后期,主要存在与细胞分化、抗肿瘤相关的 miRNA。许多研究证明,胎盘特异

性 miRNA 和胎盘相关性 miRNA 在妊娠并发症如妊娠失败、先兆子痫、宫内发育迟缓、早产以及 GDM 中表达失调,提示其在这些疾病发病机制中发挥作用^[7]。较早的研究发现,胎盘特异性 miRNA-518d 在非糖尿病以及 GDM 孕妇妊娠 37 ~ 40 周的胎盘中均过度表达,随后发现 miRNA-518 可特异性调控 GDM 患者过氧化物酶体增殖物活化受体- α 基因和蛋白的表达,过氧化物酶体增殖物活化受体- α 在胎盘中的表达与 miRNA-518d 呈负相关^[8]。GDM 患者妊娠晚期的胎盘内皮细胞中 miRNA-221 和 miRNA-222 表达明显高于正常妊娠者,并靶向抑制组织间黏附因子 1 蛋白种类,可能抑制白细胞从血液向胎盘迁移,进而加重 GDM 患者高血糖导致的炎症反应^[9]。

胎盘衍生性循环 miRNA 主要通过合胞体滋养层,由外泌体等携带释放进入母体循环系统,其在血液中容易监测,可反映胎盘特异性和胎盘相关性 miRNA 的表达,进而反映妊娠期生理和病理情况。近期发现,miRNA-503 在 GDM 患者胎盘及外周血中均上调;动物实验发现,小鼠 β 细胞系 INS-1 中 miRNA-503 中过度表达会使细胞增生和胰岛素分泌降低,同时促进细胞凋亡。这些结果提示 GDM 期间,胎盘和 β 细胞间可能存在以 miRNA 为基础的特殊交流^[10]。

3 循环 miRNA 与 GDM

3.1 循环 miRNA 与 β 细胞功能

循环 miRNA 与 β 细胞的功能和调节相关,在糖尿病发病机制中起重要作用。早期研究主要关注循环 miRNA 在 1 型和 2 型糖尿病中的表达,只有少部分关于循环血清/血浆 miRNA 在 GDM 期间的表达及诊断作用的研究。

2011 年, Zhao 等^[11]发表了第一篇研究循环 miRNA 与 GDM 相关的报道。研究者通过 TaqMan miRNA 阵列微流控卡对 24 例 GDM 和 24 名非 GDM 妊娠 16 ~ 19 周孕妇的血清进行对比分析。结果发现,与非糖尿病受试者相比, GDM 患者血清中 3 种 miRNA (miRNA-29a、miRNA-132 和 miRNA-222) 下调。miRNA-29a 靶基因 *Insig1* 可能参与血糖稳态的基因如磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 2 的表达^[12]。此外,近来研究证明, miRNA-29a 和 miRNA-222 均直接和(或)间接调节葡萄糖转运蛋白 4,而后者在血糖控制和胰岛素诱导肌肉和脂肪组织摄取葡萄糖的过程中起关键作用^[13]。因此,循环 miRNA 介导并靶向胰岛素敏感组织的交联效应假说,对于理解 GDM 发病机制的分子线索尤为重要。

Zhu 等^[14]使用测序法对 10 例 GDM 和 10 名非 GDM 妊娠 16 ~ 19 周孕妇的血浆中 miRNA 的表达进行了评估,发现 GDM 患者血浆中 5 种 miRNA (miRNA-16-5p、miRNA-17-5p、miRNA-19a-3p、miRNA-19b-3p 和 miRNA-20a-5p) 上调。这些 miRNA 主要与胰岛素分泌相关的一些通路,如丝裂原活化蛋白激酶信号通路、胰岛素信号通路、转化生长因子- β 信号通路和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路有关。然而,Cao 等^[15]对 85 例 GDM 患者和 72 名非 GDM 者的研究发现,GDM 患者仅 miRNA-16-5p、miRNA-17-5p 和 miRNA-20a-5p 在妊娠期间表达上调,并没有检测到 miRNA-19a-3p 和 miRNA-19b-3p 的表达有显著差异。据报道,2 型糖尿病患者中 miRNA-16-5p 的靶基因(泛素连接酶 4A、Smad 家族蛋白 1、表皮生长因子受体、肌动蛋白 β 、核糖体 RNA 加工蛋白 12 和发育蛋白 2) 均下调^[16]。另外,胰岛素受体底物 1 和 2 也是 miRNA-16-5p 的靶基因,一方面可调节胰岛素样生长因子-1 和胰岛素敏感组织胰岛素信号转导,另一方面胰岛素受体底物 1 和 2 可使调节细胞生长的 Wnt/ β -catenin 信号增强,而该信号通路调节障碍已证实可以引起癌症、肥胖和糖尿病^[17]。然而,miRNA-16-5p 在红细胞中高度表达,溶血时 miRNA-16-5p 表达可能上调,因此以循环中 miRNA-16-5p 表达水平来监测 GDM 进展可能出现误导,故尚不能作为一种可靠的生物标志物。最近在南非人群中进行的研究中却发现,与对照组相比,GDM 患者的 miRNA-20a-5p 明显下降,并且 miRNA-20a-5p 连同 1 个或多个糖尿病危险因素可能是 GDM 的重要预测因子^[18]。

一项前瞻性对照队列研究中,检测了 36 例 GDM 和 80 名非 GDM 妊娠 7 ~ 23 周女性血浆中 10 种在妊娠及其并发症中起关键作用和(或)与 2 型糖尿病相关的 miRNA,发现较高水平的 miRNA-155-5p 和 miRNA-21-3p 与 GDM 呈正相关,miRNA-21-3p 和 miRNA-210-3p 仅与超重/肥胖 GDM 特异性相关,而与正常体重或偏瘦的 GDM 无明显相关。另外,有 6 种 miRNA (miRNA-155-5p、miRNA-21-3p、miRNA-146b-5p、miRNA-223-3p、miRNA-517-5p 和 miRNA-29a-3p) 水平仅与孕男性胎儿的 GDM 患者相关^[19]。

最近研究发现,GDM 患者 miRNA-657 表达明显增加,白细胞介素(IL)-37 的表达降低,二者呈负相关;体外研究中,miRNA-657 可以靶向调节 IL-37,增

强单核巨噬细胞的增殖,并可促进脂多糖诱导的 IL-6 和肿瘤坏死因子- α 的产生和核因子- κ B 的激活,而当外源重组 IL-37 被用于细胞时这种作用被抑制。提示 miRNA-657 失调可能通过 IL-37/核因子- κ B 信号转导促进 GDM 发病^[20]。

3.2 循环 miRNA 与 GDM 相关并发症 为了探讨 GDM 与循环 miRNA 改变对胎儿神经系统发育之间的潜在相关性,Lamadrid-Romero 等^[21]对 12 个胎儿神经发育相关 miRNA (miRNA-183-5p、miRNA-200b-3p、miRNA-9-5p、miRNA-17-5p、miRNA-30b-5p、miRNA-30c-5p、miRNA-124-3p、miRNA-125b-5p、miRNA-128-3p、has-191-5p、miRNA-1290 和 miRNA-137) 表达进行评估,发现与妊娠早期相比,妊娠中期女性血清中 miRNA-193-5p、miRNA-200b-3p 和 miRNA-125-5p 表达水平较高,与 GDM 无关;而 miRNA-137 在妊娠晚期的水平高于妊娠前期,揭示了这些与神经发育相关的 miRNA 存在时间差异性。此外,与对照组相比,GDM 患者在妊娠早期 miRNA-183-5p、miRNA-200b-3p、miRNA-125-5p 和 miRNA-1290 水平较高,提示这组患者胎儿神经分化和细胞增殖可能发生改变。先前的研究表明,miRNA-183 和 miRNA-200 基因家族调节人胶质细胞瘤细胞的细胞增殖,并参与果蝇视叶中神经上皮细胞增殖和成神经细胞生成之间的平衡^[22-23]。此外,miRNA-200 可抑制 Sox2 的表达,降低小鼠中脑/后脑区域神经干细胞的增殖和多能性,强烈提示其在 GDM 时过度表达可能损害胎儿神经系统发育。因此,Lamadrid-Romero 等^[21]报道,妊娠早期 GDM 患者中这些 miRNA 水平增加,表明胎儿中枢神经系统发育过程中细胞增殖减少和神经元分化增加,证实了先前在小鼠中的研究结果。另外,这些与神经发育相关的 miRNA 可以在孕妇血清中检测到,这可能反映胎儿在怀孕期间的生理或病理生长。然而在 GDM 过程中,循环 miRNA 的这种改变究竟是神经损伤的原因还是结果,还有待进一步研究。

总之,与正常妊娠者相比,无论是胎盘 miRNA 还是循环 miRNA 在 GDM 患者中均存在差异表达。这些差异表达的 miRNA 影响胰岛素分泌和转运通路、炎症反应、胎儿神经元分化等相关基因的表达,可能参与 GDM 以及相关并发症的发生和进展。循环中 miRNA 相对稳定,取材方便,易于分析,目前已筛选出一些可作为 GDM 的候选生物标志物。但由于标本种类(血清或血浆)、样品处理方法、数据分析方

法、种族差异等原因,各研究数据重复性和特异性相对较低。因此,制定全球公认和标准化的操作程序来分析循环 miRNA 是很有必要的^[24]。

参 考 文 献

- [1] American Diabetes Association. 13. Management of diabetes in pregnancy: standards of medical care in diabetes-2018[J]. Diabetes Care, 2018, 41 (Suppl 1) : S137-S143. DOI: 10. 2337/dc18-S013.
- [2] Iljas JD, Guanzon D, Elfeky O, et al. Bio-compartmentalization of microRNAs in exosomes during gestational diabetes mellitus[J]. Placenta, 2017, 54: 76-82. DOI: 10. 1016/j. placenta. 2016. 12. 002.
- [3] Wilczynska A, Bushell M. The complexity of miRNA-mediated repression[J]. Cell Death Differ, 2015, 22 (1) : 22-33. DOI: 10. 1038/cdd. 2014. 112.
- [4] Valadi H, Ekström K, Bossios A, et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells[J]. Nat Cell Biol, 2007, 9 (6) : 654-659. DOI: 10. 1038/ncb1596.
- [5] Cai M, Kolluru GK, Ahmed A. Small molecule, big prospects; microRNA in pregnancy and its complications[J]. J Pregnancy, 2017, 2017: 6972732. DOI: 10. 1155/2017/6972732.
- [6] Ding R, Guo F, Zhang Y, et al. Integrated transcriptome sequencing analysis reveals role of miR-138-5p/TBL1X in placenta from gestational diabetes mellitus[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 51 (2) : 630-646. DOI: 10. 1159/000495319.
- [7] Barchitta M, Maugeri A, Quattrocchi A, et al. The role of miRNAs as biomarkers for pregnancy outcomes: a comprehensive review[J]. Int J Genomics, 2017, 2017: 8067972. DOI: 10. 1155/2017/8067972.
- [8] Zhao C, Zhang T, Shi Z, et al. MicroRNA-518d regulates PPAR α protein expression in the placentas of females with gestational diabetes mellitus[J]. Mol Med Rep, 2014, 9 (6) : 2085-2090. DOI: 10. 3892/mmr. 2014. 2058.
- [9] Díaz-Pérez FI, Hiden U, Gauster M, et al. Post-transcriptional down regulation of ICAM-1 in feto-placental endothelium in GDM[J]. Cell Adh Migr, 2016, 10 (1-2) : 18-27. DOI: 10. 1080/19336918. 2015. 1127467.
- [10] Xu K, Bian D, Hao L, et al. microRNA-503 contribute to pancreatic beta cell dysfunction by targeting the mTOR pathway in gestational diabetes mellitus[J]. EXCLI J, 2017, 16: 1177-1187. DOI: 10. 17179/excli2017-738.
- [11] Zhao C, Dong J, Jiang T, et al. Early second-trimester serum miRNA profiling predicts gestational diabetes mellitus[J]. PLoS One, 2011, 6 (8) : e23925. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0023925.
- [12] Krapivner S, Chernogubova E, Ericsson M, et al. Human evidence for the involvement of insulin-induced gene 1 in the regulation of plasma glucose concentration[J]. Diabetologia, 2007, 50 (1) : 94-102. DOI: 10. 1007/s00125-006-0479-x.
- [13] Esteves JV, Enguita FJ, Machado UF. MicroRNAs-mediated regulation of skeletal muscle GLUT4 expression and translocation in insulin resistance[J]. J Diabetes Res, 2017, 2017: 7267910. DOI: 10. 1155/2017/7267910.
- [14] Zhu Y, Tian F, Li H, et al. Profiling maternal plasma microRNA expression in early pregnancy to predict gestational diabetes mellitus[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2015, 130 (1) : 49-53. DOI: 10. 1016/j. ijgo. 2015. 01. 010.
- [15] Cao YL, Jia YJ, Xing BH, et al. Plasma microRNA-16-5p, -17-5p and -20a-5p: novel diagnostic biomarkers for gestational diabetes mellitus[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2017, 43 (6) : 974-981. DOI: 10. 1111/jog. 13317.
- [16] Calimlioglu B, Karagoz K, Sevimoglu T, et al. Tissue-specific molecular biomarker signatures of type 2 diabetes: an integrative analysis of transcriptomics and protein-protein interaction data[J]. OMICS, 2015, 19 (9) : 563-573. DOI: 10. 1089/omi. 2015. 0088.
- [17] Geng Y, Ju Y, Ren F, et al. Insulin receptor substrate 1/2 (IRS1/2) regulates Wnt/ β -catenin signaling through blocking autophagic degradation of dishevelled2[J]. J Biol Chem, 2014, 289 (16) : 11230-11241. DOI: 10. 1074/jbc. M113. 544999.
- [18] Pheiffer C, Dias S, Rheeder P, et al. Decreased expression of circulating miR-20a-5p in south african women with gestational diabetes mellitus[J]. Mol Diagn Ther, 2018, 22 (3) : 345-352. DOI: 10. 1007/s40291-018-0325-0.
- [19] Wander PL, Boyko EJ, Hevner K, et al. Circulating early- and mid-pregnancy microRNAs and risk of gestational diabetes[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2017, 132: 1-9. DOI: 10. 1016/j. diabetes. 2017. 07. 024.
- [20] Wang P, Wang H, Li C, et al. Dysregulation of microRNA-657 influences inflammatory response via targeting interleukin-37 in gestational diabetes mellitus[J]. J Cell Physiol, 2019, 234 (5) : 7141-7148. DOI: 10. 1002/jcp. 27468.
- [21] Lamadrid-Romero M, Solís KH, Cruz-Reséndiz MS, et al. Central nervous system development-related microRNAs levels increase in the serum of gestational diabetic women during the first trimester of pregnancy[J]. Neurosci Res, 2018, 130: 8-22. DOI: 10. 1016/j. neurres. 2017. 08. 003.
- [22] Brabletz S, Bajdak K, Meidhof S, et al. The ZEB1/miR-200 feedback loop controls Notch signalling in cancer cells[J]. EMBO J, 2011, 30 (4) : 770-782. DOI: 10. 1038/emboj. 2010. 349.
- [23] Morante J, Vallejo DM, Desplan C, et al. Conserved miR-8/miR-200 defines a glial niche that controls neuroepithelial expansion and neuroblast transition[J]. Dev Cell, 2013, 27 (2) : 174-187. DOI: 10. 1016/j. devcel. 2013. 09. 018.
- [24] Garcia-Elias A, Alloza L, Puigdecana E, et al. Defining quantification methods and optimizing protocols for microarray hybridization of circulating microRNAs[J]. Sci Rep, 2017, 7 (1) : 7725. DOI: 10. 1038/s41598-017-08134-3.

(收稿日期:2018-12-01)

(本文编辑:饶颖)