

血清 *miR-210* 及 *miR-155* 对先兆子痫早期诊断的临床价值

徐峰, 王莹

(南通市第一人民医院 妇产科, 江苏 南通 226001)

[摘要] 目的: 探讨血清 *miR-210* 和 *miR-155* 水平对先兆子痫(PE)早期诊断的临床价值。方法: 选取 PE 孕妇(PE 组)和健康孕妇(对照组)各 60 例, 收集所有孕妇的临床资料(年龄、孕周、身体质量指数、收缩压、舒张压、血红蛋白、尿素氮和肌酐等), 采用实时定量荧光(PCR)法检测孕妇血清 *miR-210* 和 *miR-155* 的相对表达水平, 采用接受者操作特性曲线(ROC)分析候选 *miRNA* 作为 PE 潜在诊断标志物的准确性。结果: 两组孕妇的年龄、身体质量指数(BMI)、孕周、血红蛋白和尿素氮差异无统计学意义($P > 0.05$), PE 组孕妇收缩压、舒张压和肌酐水平均明显高于对照组孕妇, 差异有高度统计学意义($P < 0.01$); PE 组孕妇血清 *miR-210* 和 *miR-155* 水平均高于对照组孕妇, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 孕妇血清 *miR-210* 的 ROC 曲线下面积为 0.904 (95% CI 为 0.847 ~ 0.961, $P < 0.01$), *miR-155* 的 ROC 曲线下面积为 0.843 (95% CI 为 0.766 ~ 0.920, $P < 0.01$), 孕妇血清 *miR-210* 水平用于预测 PE 的灵敏度和特异性均高于 *miR-155*。结论: 孕妇血清 *miR-210* 和 *miR-155* 水平可为 PE 的早期诊断提供参考, *miR-210* 的诊断价值高于 *miR-155*。

[关键词] 先兆子痫; 早期诊断; 微 RNAs; ROC 曲线; 标志物

[中图分类号] R714.244 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2019)09-1093-04

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2019.09.021

Clinical Value of Serum *miR-210* and *miR-155* as Early Diagnostic Markers for Pre-eclampsia

XU Feng, WANG Ying

(Department of Obstetrics and Gynecology, the First People's Hospital of Nantong, Nantong 226001, Jiangsu, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the clinical value of serum *miR-210* and *miR-155* levels as early diagnostic markers of pre-eclampsia (PE). **Methods:** Sixty pregnant women with PE (PE group) and sixty healthy pregnant women (control group) were enrolled. The clinical data of all pregnant women (age, gestational age, body mass index (BMI), systolic blood pressure, diastolic blood pressure, hemoglobin, urea nitrogen and creatinine) were collected. Real-time quantitative PCR (qPCR) was used to detect the relative expression levels of maternal serum *miR-210* and *miR-155*, and the receiver operating characteristic curve (ROC) was used to analyze the accuracy of candidate *miRNAs* as potential diagnostic markers for PE. **Results:** There was no significant difference in age, BMI, gestational age, hemoglobin and urea nitrogen between the two groups ($P > 0.05$). The systolic blood pressure, diastolic blood pressure and creatinine level in the PE group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.01$). The serum levels of *miR-210* and *miR-155* in the PE group were higher than those in the control group ($P < 0.05$). The area under the ROC curve of serum *miR-210* in pregnant women was 0.904 (95% CI 0.847 ~ 0.961, $P < 0.01$), and that of *miR-155* was 0.843 (95% CI 0.766 ~ 0.920, $P < 0.01$). The sensitivity and specificity of The serum *miR-210* level to predict PE are higher than that of *miR-155* in pregnant women. **Conclusion:** The serum levels of *miR-*

210 and miR-155 in pregnant women can be biomarkers for early diagnosis of PE. The diagnostic value of miR-210 is higher than that of miR-155.

[**Key words**] pre-eclampsia; early diagnosis; microRNA; ROC curve; biomarkers

先兆子痫 (pre-eclampsia, PE) 是与高血压、蛋白尿、血小板减少或肾功能不全相关的妊娠特异性综合征, 严重危害孕产妇的健康^[1]。世界范围内孕产妇 PE 患病率为 2% ~ 5%, 病死率超过 10%^[2]。目前, PE 诊断主要依靠测量血压、分析血液和尿液标志物, 但这些指标的特异性不强^[3]。因此, 筛选出 PE 早期诊断的特异性标志物对于该病的早期预防及治疗意义重大。微小核糖核酸 (microRNA, miRNA) 是真核生物中广泛存在的长约 21 ~ 23 个核苷酸的 RNA 分子, 可调节基因表达^[4]。虽然有研究显示, miRNA 表达的失调如 miR-210 和 miR-155 等与 PE 的发生发展密切相关, 但因研究的样本人群过少 (仅 20 例), 其结果的代表性有待进一步确定^[5-6]。因此, 本研究通过选取 PE 孕妇和健康孕妇各 60 例, 比较血清 miR-210 和 miR-155 的相对表达水平, 以期对 PE 的早期诊断提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2017 年 1 月 - 2018 年 12 月就诊的 PE 孕妇和健康孕妇各 60 例, PE 孕妇要求符合《妇产科学》第 5 版诊断标准^[3], 即至少 2 次出现收缩压 ≥ 160 mmHg 或 (和) 舒张压 ≥ 110 mmHg, 且妊娠 20 ~ 34 周时伴有严重蛋白尿 (≥ 2 g/24 h), 排除多胎妊娠或非自然受孕者; 健康孕妇要求孕期无 PE 症状且临床资料完整, 排除妊娠期间有其他并发症。

1.2 血液采集和指标测定

收集所有孕妇就诊 (或孕检) 时的清晨空腹血, 将血样装于 5 mL 离心管中, 室温静置 1 h, 3 000 r/min, 4 °C 离心 5 min, 取上清液, 置于 -80 °C 冰箱中保存。此外, 收集所有孕妇就诊 (或孕检) 时的临床资料, 包括年龄、孕周、体质量指数 (body mass index, BMI)、收缩压、舒张压、血红蛋白、尿素氮和肌酐, 血压采用欧姆龙 HEM-7071 上臂式电子血压计 (上海涵飞医疗器械有限公司) 测量, 取坐位右上臂肱动脉血压, 测量 2 次记录平均值; 血红蛋白选用 XT-4000 型全自动血液分析仪 (日本希森美康株式会社) 检测, 尿素氮采用人尿素氮酶联免疫试剂盒 (上海科顺生物科技有限公司) 测定, 肌酐采用 AU5 800 全自动生化分析仪 (美国贝克曼库尔特有限公司) 测定。

1.3 血液 miR-210 和 miR-155 表达

采用 TaqMan[®] miRNA 纯化试剂盒 (赛默飞世尔科技中国有限公司) 提取细胞总 RNA。采用实时定量荧光 PCR 法检测血液 miR-210、miR-155 的表达。根据目标基因的 mRNA 序列, 按照引物设计的原则, 用设计软件 Primer express 3.0 设计并合成引物及探针, 见表 1。进行 RNA 反转录后, 以反转录产物为模板, 在 ProFlex[™] 实时定量 PCR 仪 (赛默飞世尔科技中国有限公司) 上进行扩增, 反应条件为 85 °C、3 min, 85 °C、20 s, 42 °C、40 s, 循环 35 次。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算 miR-210 和 miR-155 表达量。

表 1 miR-210、miR-155 及 U6 引物序列及产物

Tab. 1 The primer sequences used in this study

miRNA		引物序列 (5' - 3')	产物 (bp)
miR-210	上游	ACACTCCAGCTGGGCTGTGCGTGTGACAGCGG	109
	下游	CTCAACTGGTGTGCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGTCAGCCCG	
miR-155	上游	ACACTCCAGCTGGGCTGTGCGTGTGACAGCGG	64
	下游	CTCAACTGGTGTGCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGACCCCTAT	
U6	上游	CTCGCTTCGGCAGCACATATACT	206
	下游	ACGCTTCACGAATTTGCCGTGTC	

1.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件进行数据统计分析。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组比较采用

t 检验, 采用接受者操作特性曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC) 分析候选 miRNA 作为 PE 潜在诊断标志物的准确性, $P < 0.05$ 为差异

有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

两组孕妇的年龄、BMI 指数、孕周、血红蛋白和尿素氮比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);但 PE 组孕妇的收缩压、舒张压和肌酐水平明显高于对照组,差异有高度统计学意义 ($P < 0.01$),提示除收缩压、舒张压以及肌酐水平外,PE 组和对照组孕妇的一般资料均具有可比性。见表 2。

表 2 两组孕妇的一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of clinical information between two groups of pregnant women

指标	PE 组 ($n=60$)	对照组 ($n=60$)	t	P
年龄(岁)	30.12 ± 5.33	30.35 ± 5.02	0.485	1.137
BMI(kg/m^2)	28.85 ± 1.67	28.77 ± 1.81	0.322	1.438
孕周(周)	27.33 ± 3.54	27.05 ± 3.38	0.756	0.988
收缩压(mmHg)	158.25 ± 10.39	113.02 ± 9.37	7.324	<0.001
舒张压(mmHg)	102.79 ± 8.02	67.68 ± 7.35	6.928	<0.001
血红蛋白(g/L)	113.24 ± 10.25	114.33 ± 10.78	0.945	0.782
尿素氮(mmol/L)	4.39 ± 1.61	3.98 ± 1.08	1.013	0.169
肌酐($\mu\text{mol}/\text{L}$)	60.26 ± 14.97	41.22 ± 8.05	4.332	<0.001

2.2 血清 *miR-210* 和 *miR-155* 水平比较

PE 组孕妇的血清 *miR-210* 和 *miR-155* 水平均高于对照组孕妇,差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 3。

表 3 两组孕妇血清 *miR-210* 和 *miR-155* 表达水平

Tab. 3 The impact of PE on relative expression levels of serum *miR-210* and *miR-155*

指标	PE 组 ($n=60$)	对照组 ($n=60$)	t	P
<i>miR-210</i>	4.36 ± 1.06	2.52 ± 0.88	1.305	0.019
<i>miR-155</i>	3.98 ± 1.13	1.22 ± 0.37	1.764	0.007

2.3 血清 *miR-210* 和 *miR-155* 的 ROC 曲线分析

孕妇血清 *miR-210* 的 ROC 曲线下面积为 0.904 (95% CI 为 0.847 ~ 0.961, $P < 0.01$), *miR-210* 相对表达量的临界值为 3.46 时,其预测 PE 的敏感度和特异性最佳,分别为 85.3% 和 82.2%;孕妇血清 *miR-155* 的 ROC 曲线下面积为 0.843 (95% CI 为 0.766 ~ 0.920, $P < 0.01$), *miR-155* 相对表达量的临界值为 2.86 时,其预测 PE 的敏感度和特异性最佳,分别为 79.2% 和 74.9%。见图 1。

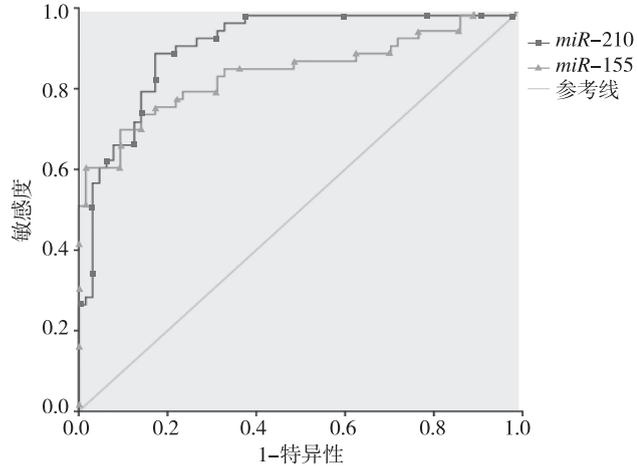


图 1 孕妇血清 *miR-210*、*miR-155*

水平预测 PE 的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curves of serum *miR-210* and *miR-155* levels used for predicting PE

3 讨论

近年来,虽然已有多种潜在蛋白质标志物用于检测或预测 PE,如妊娠相关蛋白、胎盘生长因子及其受体、内皮因子和胎盘蛋白 13,然而诊断的敏感性和特异性有待确定^[7]。与这些潜在蛋白质标志物相比,*miRNA* 的主要优点是检测成本相对较低、通量高、灵敏度和特异性高^[8]。有研究表明 *miR-210* 参与了人体内多种代谢的过程,包括氧化应激、细胞凋亡以及癌症的发生发展等^[9]。PE 孕妇妊娠过程中,由于滋养细胞重建母体血管,胎儿-母体界面的氧张力远低于健康妊娠^[10],与此同时 *miR-210* 通过靶向与胎盘线粒体功能障碍相关的几种蛋白质,如铁硫簇支架蛋白(iron-sulfur cluster scaffold homolog, *ISCU*)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸脱氢酶 1 α 亚复合体 4、钾通道调节因子 1 (potassium channel modulatory factor 1, *KCMF1*) 等,破坏线粒体的氧化还原反应,加重了胎儿-母体界面的缺氧状态^[11]。已有研究表明 Toll 样受体 3 激活通过低氧诱导因子和核因子 KB (nuclear factor-kappa B, *NF-KB*)*p50* 亚基诱导胎盘 *miR-210* 上调,导致信号转导及转录激活蛋白 6 和白介素-4 水平降低,提示缺氧/*NF-kB*/*miR-210* 通路在 PE 的发病机制中发挥了重要作用^[12]。此外,*ISCU* 可以促进 PE 的发生,*miR-210* 与 *ISCU* mRNA 3' UTR 结合可扰乱滋养细胞铁代谢,*ISCU* 下调又与胎盘缺陷有关^[11]; *miR-210* 的异常过表达也会通过干扰人胎盘

中 *KCMF1* 介导的信号传导,从而促成 PE 的发生^[13]。本研究结果显示,PE 孕妇血清 *miR-210* 水平比健康孕妇上调,与上述研究结果相符,提示血清 *miR-210* 指标可作为 PE 诊断的参考指标。

本研究结果还显示,PE 孕妇血清 *miR-155* 较对照组孕妇上调,这可能是由于 *miR-155* 是内皮依赖性血管舒张的重要调节因子^[14],可通过下调富半胱氨酸 61 参与 PE 的发生发展^[15]。已有研究证实,PE 重症孕妇胎盘 *miR-155* 水平显著增加,内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 表达降低^[16]。最新研究还表明 *miR-155* 涉及 eNOS 通路在 PE 的发病机制中的作用,*miR-155* 可抑制滋养层细胞中的细胞侵袭,而 eNOS 的过表达时 *miR-155* 的抑制作用被抵消,揭示了 *miR-155* 通过负调节 eNOS 在减弱细胞迁移行为^[17]。因此,本研究有理由认为,PE 孕妇血清 *miR-155* 水平上调参与了 PE 的发展,血清 *miR-155* 水平也可作为 PE 诊断的参考指标。

此外,本研究 ROC 曲线结果表明,*miR-210* 用作预测 PE 的 ROC 曲线下面积大于 *miR-155*,且临界值取最佳时,*miR-210* 预测 PE 的敏感度和特异性均高于 *miR-155*,表明 *miR-210* 用于预测 PE 的临床价值高于 *miR-155*。

综上所述,本研究提示孕妇血清 *miR-210* 和 *miR-155* 表达上调与 PE 的发生发展有关,可作为 PE 诊断的潜在标志物,且 *miR-210* 用于预测 PE 的临床价值高于 *miR-155*。临床上对于血清 *miR-210* 和 *miR-155* 表达过高的患者,应予以重视,预防 PE 的发生。

4 参考文献

- [1] BWJ M, ROBERTS C T, THANGARATINAM S, et al. Pre-eclampsia [J]. *Lancet*, 2016, 387 (10022): 999 - 1011.
- [2] MUNAUT C, TEBACHE L, BLACHER S, et al. Dysregulated circulating mirnas in preeclampsia [J]. *Biomedical Reports*, 2016, 5(6): 686.
- [3] 王泽华. 妇产科学 [M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004.
- [4] 胡铭阳, 明佳. LncRNA 与 miRNA 相互调控机制的研究进展 [J]. *转化医学电子杂志*, 2017, 4(2): 71 - 76.
- [5] GAN L, LIU Z, WEI M, et al. Mir-210 and mir-155 as potential diagnostic markers for pre-eclampsia pregnancies [J]. *Medicine*, 2017, 96(28): e7515.
- [6] HROMADNIKOVA I, KOTLABOVA K, HYMPANOVA L, et al. Gestational hypertension, preeclampsia and intrauterine growth restriction induce dysregulation of cardiovascular and cerebrovascular disease associated micromRNAs in maternal whole peripheral blood [J]. *Thrombosis Research*, 2016, 137(1): 126 - 140.
- [7] CUI L, CHANG S, LIU Z, et al. The expression of serum segfr, sflt-1, sendoglin and plgf in preeclampsia [J]. *Pregnancy Hypertension*, 2018, 13(1): 127 - 132.
- [8] 严欢, 张殊, 林其德. 子痫前期相关 mirnas 的研究进展 [J]. *国际妇产科学杂志*, 2016, 43(4): 377 - 380.
- [9] LIU H, WANG J, CHEN Y, et al. Npc-exs alleviate endothelial oxidative stress and dysfunction through the mir-210 downstream nox2 and vegfr2 pathways [J]. *Oxidative Medicine & Cellular Longevity*, 2017, 2017(61): 9397631.
- [10] XIN H, QUYNH-THU L, GIACCIA A J. Mir-210-mi-cromanager of the hypoxia pathway [J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2010, 16(5): 230 - 237.
- [11] NIKUEI P, DAVOODIAN N, TAHAMTAN I, et al. Predictive value of mir-210 as a novel biomarker for pre-eclampsia: A systematic review protocol [J]. *Bmj Open*, 2016, 6(9): e011920.
- [12] KOPRIVA S E, CHIASSON V L, MITCHELL B M, et al. TLR3-induced placental mir-210 down-regulates the stat6/interleukin-4 pathway [J]. *Plos One*, 2013, 8(7): e67760.
- [13] RONGCAN L, XUAN S, PENG X, et al. Microma-210 contributes to preeclampsia by downregulating potassium channel modulatory factor 1 [J]. *Hypertension*, 2014, 64(4): 839 - 845.
- [14] HAI-XIANG S, DE-YI Z, RUO-TIAN L, et al. Essential role of microma-155 in regulating endothelium-dependent vasorelaxation by targeting endothelial nitric oxide synthase [J]. *Hypertension*, 2012, 60(6): 1407 - 1414.
- [15] ZHANG Y, DIAO Z, SU L, et al. MicroRNA-155 contributes to preeclampsia by down-regulating *cyr61* [J]. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 2010, 202(5): 461 - 466; 467.
- [16] LI X, LI C, DONG X, et al. Microma-155 inhibits migration of trophoblast cells and contributes to the pathogenesis of severe preeclampsia by regulating endothelial nitric oxide synthase [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2014, 10(1): 550 - 554.
- [17] KIM J, LEE K S, KIM J H, et al. Aspirin prevents $\text{tnf-}\alpha$ -induced endothelial cell dysfunction by regulating the $\text{nf-}\kappa\text{b}$ -dependent mir-155/enos pathway: Role of a mir-155/enos axis in preeclampsia [J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2017, 104(1): 185 - 198.

(2019-06-10 收稿, 2019-08-21 修回)
中文编辑: 严征; 英文编辑: 张启芳