

不明原因复发性流产患者血清lncRNA-KCNQ1OT1、miR-29a-3p及SOCS3 mRNA水平的表达及其相关性

王珺, 周荷玲, 李洁娴, 陈雪君

【关键词】 复发性流产; lncRNA-KCNQ1OT1; miR-29a-3p; 细胞因子信号传导抑制因子 3

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.05.029

【中图分类号】 R714.21 【文献标志码】 A 【文章编号】 1671-0800(2024)05-0662-03

复发性流产是指与同一性伴侣在妊娠 28 周之前, 连续 2 次及以上发生自然流产的情况, 其病因复杂, 至今仍有 50% 以上的复发性流产病因尚未明确, 即不明原因复发性流产 (URSA) [1-2]。有研究表明 URSA 患者子宫蜕膜存在明显的炎症微环境, 可以引起性激素紊乱, 与 URSA 的发生及发展密切相关[3]。细胞因子信号传导抑制因子 3 (SOCS3) 是一个具有多项调节功能的蛋白质分子, 可以调节机体免疫炎症反应, 能够促进滋养细胞和 T 细胞增殖分化, 从而影响着复发性流产的发生和发展 [4-5]。miR-29a-3p 可以调控 SOCS 家族蛋白, 影响胎盘发育和血管生成[6], 且本课题组前期研究显示, SOCS3 蛋白存在 miR-29a-3p 的结合位点, miR-29a-3p 启动子 3'-UTR 区域存在长链非编码 RNA 钾电压门控通道亚家族 Q 成员 1 反向转录物 1 (lncRNA-KCNQ1OT1) 的明显结合位点, lncRNA-KCNQ1OT1 可以调节机体炎症因子水平, 抑制 miR-29a-3p 表达[7]。基于此, 推测 miR-29a-3p 可能通过靶向调控 SOCS3 蛋白表达, 从而影响 URSA 的病理进程。本研究检测 lncRNA-KCNQ1OT1、miR-29a-3p 及 SOCS3 mRNA 水平, 并进一步分析了三者间关系, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 前瞻性收集 2023 年 1—12 月在浙江省台州医院收治的 URSA 患者 50 例 (URSA 组), 均符合指南中的 URSA 诊断标准[8], 患者均连续发生 2 次及以上早期 (孕 6 ~ 10 周) 流产。另取本院接收的 50 例妊娠 10 周内要求人工流产的正常妊娠女性

作为对照组。URSA 患者流产次数 2 ~ 8 次, 平均 (3.26±1.04) 次; 年龄 25 ~ 40 岁, 平均 (32.5±3.0) 岁; 体质指数 (BMI) 18.5 ~ 23.5 kg/m², 平均 BMI (21.16±2.03) kg/m²。对照组年龄 25 ~ 40 岁, 平均 (32.6±3.0) 岁; BMI 18.5 ~ 23.5 kg/m², 平均 BMI (21.09±2.01) kg/m²。两组一般资料差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。本研究获得浙江省台州医院医学伦理委员会批准, 所有研究对象均同意参加本研究并签署书面知情同意书。

1.2 纳入及排除标准 纳入标准: (1) 抗核抗体等自身免疫抗体呈阴性; (2) 夫妇双方生殖道良好, 女方孕前月经规律, 男方精液常规检查正常; (3) 夫妇双方染色体核型正常; (4) 无生殖内分泌病史。排除标准: (1) 生殖道发生器质性病变; (2) 宫颈分泌物检查存在沙眼衣原体等生殖道感染; (3) 合并糖尿病等基础代谢病; (4) 泌乳素 > 30 ng/ml, 雄激素 > 1.3 ng/ml; (5) 合并恶性肿瘤、血液系统疾病等; (6) 精神意识障碍者。

1.3 检测方法 于研究对象入院时采集清晨空腹肘静脉血 5 ml, 在 10 cm 半径下以 3 000 r/min 离心 15 min, 取上清液置于 -80 °C 冰箱中备用, 采用实时荧光定量聚合酶链式反应 (PCR) 分析 SOCS3 mRNA、lncRNA-KCNQ1OT1 和 miR-29a-3p 水平 (试剂盒购自上海恒远生物科技有限公司); 采用酶联免疫吸附法检测促黄体生成素 (LH)、促卵泡激素 (FSH)、白细胞介素-10 (IL-10) 及肿瘤坏死因子- α (TNF- α) (试剂盒购自武汉华美生物工程有限公司)。

lncRNA-KCNQ1OT1 的正向引物 (5' ~ 3') 为 CCCAGAAATCCACACCTCGG, 反向引物 (5' ~ 3') 为 TCCTCAGTGAGCAGATGGAGA, 反应条件为: 95 °C 预热 10 min, 95 °C 变性 15 s, 60 °C 扩增 15 s, 72 °C 退火 30 s, 共 45 个循环, 以 GAPDH 作为内参,

基金项目: 台州市科技计划项目 (23ywb13); 台州恩泽医疗中心 (集团) 科研基金 (20EZA05)

作者单位: 317000 浙江省台州, 浙江省台州医院

通信作者: 王珺, Email: jane06292002@163.com

其正向引物(5'~3')为 GGAGCGAGATCCCTC-CAAAAT,反向引物(5'~3')为 GGCTGTTGTCA-TACTTCTCATGG。miR-29a-3p 的正向引物(5'~3')为 CGCGTAGCACCATCTGAAAT,反向引物(5'~3')为 AGTGCAGGGTCCGAGGTATT,反应条件为:95℃预热 10 s,95℃变性和扩增 5 s,60℃退火 20 s,共 40 个循环,以 U6 作为内参,其正向引物(5'~3')为 CGATACAGAGAAGATTAGCATGGC,反向引物(5'~3')为 AACGCTTCACGAATTTGCGT。SOCS3 mRNA 的正向引物(5'~3')为 TTGAA-CCGACACCCACTGGTA,反向引物(5'~3')为 GTCATGCTACGGGGCGAAATTC,反应条件为:70℃预热和变性 10 min,42℃扩增 60 min,72℃退火 15 min,以 β -actin 作为内参,其正向引物(5'~3')为 CGGACCTATCGTTGCATGTAC,反向引物(5'~3')为 TAGCAVGCAGTGAATTCCTC。lncRNA-KCNQ1OT1、miR-29a-3p 和 SOCS3 mRNA 的相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

1.4 统计方法 采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示,采用 t 检验;采用 Pearson 相关分析 URSA 患者各指标间的相关性。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 lncRNA-KCNQ1OT1、miR-29a-3p 及 SOCS3 mRNA 水平比较 URSA 组血清 lncRNA-KCNQ1OT1 高于对照组,miR-29a-3p 和 SOCS3 mRNA 水平均低于对照组(均 $P < 0.05$),见表 1。

2.2 两组性激素水平比较 URSA 组血清 LH 和 FSH 水平均高于对照组(均 $P < 0.05$),见表 2。

2.3 两组炎症因子水平比较 URSA 组血清 IL-10 水平低于对照组,TNF- α 水平高于对照组(均 $P <$

0.05),见表 3。

2.4 SOCS3 mRNA 与 lncRNA-KCNQ1OT1、miR-29a-3p 的相关性 URSA 患者血清 SOCS3 mRNA 与 lncRNA-KCNQ1OT1 表达呈负相关($r = -0.713, P < 0.05$),而与 miR-29a-3p 表达呈正相关($r = 0.723, P < 0.05$)。

2.5 SOCS3 mRNA 与血清炎症、激素水平的相关性 URSA 患者血清 SOCS3 mRNA 水平与 LH、FSH 和 TNF- α 水平均呈负相关($r = -0.539, -0.608, -0.765$, 均 $P < 0.05$),与 IL-10 水平呈正相关($r = 0.807, P < 0.05$),见图 1。

3 讨论

复发性流产是对育龄期女性造成困扰的一大重要因素,发病率为 2%~4%^[9],URSA 给患者自身及其家庭造成了巨大伤害^[10]。本研究主要是为了探索 URSA 患者发病的深层原因,为推动临床 URSA 患

表 1 两组 lncRNA-KCNQ1OT1、miR-29a-3p

及 SOCS3 mRNA 水平比较

组别	例数	lncRNA-KCNQ1OT1	miR-29a-3p	SOCS3 mRNA
对照组	50	1.02 $\pm$ 0.13	1.06 $\pm$ 0.21	1.13 $\pm$ 0.34
URSA 组	50	2.46 $\pm$ 0.23	0.59 $\pm$ 0.17	0.65 $\pm$ 0.12
t 值		38.54	12.30	9.41
P 值		< 0.05	< 0.05	< 0.05

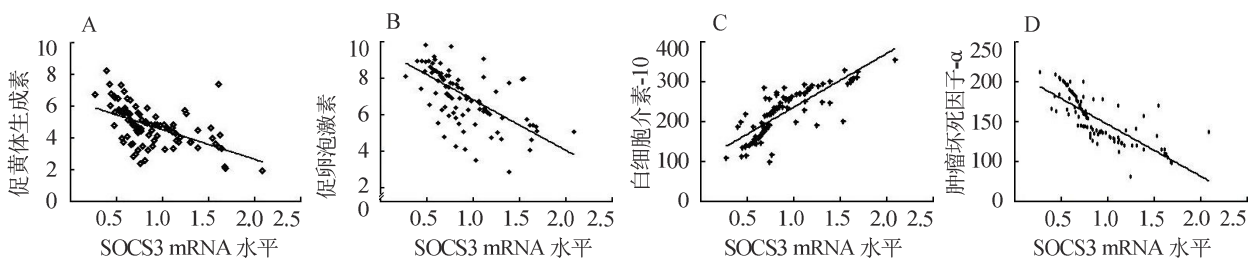
注: lncRNA-KCNQ1OT1 为长链非编码 RNA 钾电压门控通道亚家族 Q 成员 1 反向转录物 1,SOCS3 为细胞因子信号传导抑制因子 3

表 2 两组性激素水平比较

组别	例数	促黄体生成素	促卵泡激素
对照组	50	4.36 $\pm$ 1.17	6.49 $\pm$ 1.26
URSA 组	50	5.05 $\pm$ 1.23	8.04 $\pm$ 1.37
t 值		2.87	5.89
P 值		< 0.05	< 0.05

表 3 两组炎症因子水平比较

组别	例数	白细胞介素-10	肿瘤坏死因子- α
对照组	50	265.74 $\pm$ 40.13	132.56 $\pm$ 19.08
URSA 组	50	178.95 $\pm$ 36.72	180.34 $\pm$ 20.17
t 值		11.28	12.17
P 值		< 0.05	< 0.05



注:A为SOCS3 mRNA水平与促黄体生成素的相关性,B为与促卵泡激素的相关性,C为与白细胞介素-10的相关性,D为与肿瘤坏死因子- α 的相关性;SOCS3为SOCS3为细胞因子信号传导抑制因子3

图 1 SOCS3 mRNA 水平与血清炎症、激素水平的相关性

者的对症治疗提供参考。

本研究显示结果 URSA 组血清 LH 和 FSH 水平均高于对照组,这提示 URSA 患者血清性激素水平与正常妊娠妇女有差异。这可能是由于垂体释放的性激素 LH 和 FSH 能够直接对卵巢生理功能进行调节^[1],而性激素紊乱会促进 URSA 的发生,故而 URSA 患者血清 LH 和 FSH 水平更高。Pearson 相关性分析结果显示 URSA 患者血清 SOCS3 mRNA 水平与 LH、FSH 水平均呈负相关(均 $P < 0.05$);这提示 SOCS3 mRNA 可以调控其蛋白表达,即血清 SOCS3 mRNA 水平与 URSA 的发生有关。有研究显示 SOCS3 蛋白在多种异常妊娠疾病中存在表达异常^[2],且已有研究证明 SOCS3 蛋白下调是 URSA 的原因之一^[12]。

本研究结果显示 URSA 组 SOCS3 mRNA 和 IL-10 水平均低于对照组,而 TNF- α 水平高于对照组;这提示 URSA 患者 SOCS3 mRNA 水平可能与炎症因子水平有关。这可能是由于 IL-10 和 TNF- α 在炎症调控过程中起着关键作用^[13]。有研究表明当机体发生炎症时,IL-10 水平降低,TNF- α 水平升高,同时血清 SOCS3 蛋白表达降低^[14]。Pearson 相关性分析结果显示 URSA 患者血清 SOCS3 mRNA 水平与 IL-10 水平呈正相关,与 TNF- α 水平呈负相关($P < 0.05$);这进一步证明了 URSA 患者血清 SOCS3 mRNA 水平可能与炎症因子水平有关。当妊娠妇女发生 URSA 时,其炎症反应增强,导致与炎症调控相关的 lncRNA-KCNQ1OT1 水平出现波动。进而推测 URSA 患者血清 lncRNA-KCNQ1OT1 水平可能与 SOCS3 mRNA 水平存在某种紧密联系。本研究结果显示 URSA 组血清 lncRNA-KCNQ1OT1 水平高于对照组,miR-29a-3p 与 SOCS3 mRNA 水平均低于对照组。有研究报道 lncRNA-KCNQ1OT1 可负调控 miR-29a-3p 的表达,并未指明 lncRNA-KCNQ1OT1 与 SOCS3 mRNA 水平的直接联系^[15]。故而进一步推测 URSA 患者血清 lncRNA-KCNQ1OT1 可通过竞争性抑制 miR-29a-3p 的表达来下调 SOCS3 mRNA 水平。本研究结果显示 URSA 患者血清 SOCS3 mRNA 水平与 lncRNA-KCNQ1OT1 水平呈负相关,与 miR-29a-3p 水平呈正相关($P < 0.05$),这进一步证实上述观点。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] 自然流产诊治中国专家共识编写组. 自然流产诊治中国专家共识(2020 年版)[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2020,36(11):1082-1090.
- [2] YU L, ZHANG Y, XIONG J, et al. Activated $\gamma\delta$ T cells with higher CD107a expression and inflammatory potential during early pregnancy in patients with recurrent spontaneous abortion[J]. Front Immunol, 2021, 12: 724662.
- [3] 刘子维,曹雯雯,王云瑞,等.SIRT1 在不明原因型复发性流产中的潜在作用[J].上海交通大学学报(医学版),2022,42(10):1466-1473.
- [4] 黄萍,董喜凤,曾健,等.不明原因复发性流产患者蜕膜组织 SOCS-3、NK 细胞及 T 淋巴细胞亚群的表达及临床意义[J].武警后勤学院学报(医学版),2019, 28(11):49-52.
- [5] 冯莉莉,曹慧,李贺,茯苓酸通过调节 JAK2/STAT3/SOCS3 信号通路减轻急性心肌梗死大鼠的心肌纤维化[J]. 标记免疫分析与临床,2023,30(9):1539-1545.
- [6] DONG Z, YANG P, QIU X, et al. KCNQ1OT1 facilitates progression of non-small-cell lung carcinoma via modulating miRNA-27b-3p/HSP90AA1 axis[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(7): 11304-11314.
- [7] 陈芳荣,郑林媚,吴栋才,等.lncRNA KCNQ1OT1 和 miR-146a-3p 在子痫前期胎盘组织中的表达及调控机制的初步研究[J]. 中华妇产科杂志,2020,55(8):535-543.
- [8] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: asm@asm.org. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion[J]. Fertil Steril, 2020, 113(3):533-535.
- [9] POPESCU F, JASLOW C R, KUTTEH W H. Recurrent pregnancy loss evaluation combined with 24-chromosome microarray of miscarriage tissue provides a probable or definite cause of pregnancy loss in over 90% of patients[J]. Hum Reprod, 2018, 33(4): 579-587.
- [10] 冯晓玲,郭鲁秦,张杨,等.补肾活血方对不明原因复发性流产患者蜕膜与外周血中 IL-21、IL-27 的影响[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2022,24(2):649-654.
- [11] HARRIES V, BRIBIESCAS R G. Replicability of leptin associations with testosterone, estradiol, follicle-stimulating hormone, and luteinizing hormone in healthy Ache men of Paraguay: A multiple daily assessment[J]. Am J Hum Biol, 2022, 34(3):e23638.
- [12] KEATING N, NICHOLSON S E. SOCS-mediated immunomodulation of natural killer cells[J]. Cytokine, 2019, 118: 64-70.
- [13] 申鑫鑫,豆贝贝,滑天,等.高危型 HPV16 感染阴道灌洗液中 TNF- α 及 IL-12 和 IL-10 表达与宫颈上皮内瘤变级别的相关性[J]. 中华医院感染学杂志,2021,31(9):1419-1422.
- [14] 梁运特,孙平良.基于 miRNA-146a/JAK/STAT/SOCS-3 信号通路探讨安肠汤对溃疡性结肠炎大鼠炎症免疫的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(3):30-38.
- [15] 谷秀霞,林宁,戴凌,等.IL-15 与 NK 细胞在不明原因复发性流产中的临床意义[J]. 川北医学院学报,2022,37(9):1161-1165.

收稿日期:2024-01-20

(本文编辑:陈志翔)