

论 著

(临床研究)

血浆母系表达基因 3 和 H19 水平与妊娠期糖尿病胰岛素抵抗的关系

宋晓东, 朱学涛, 朱立梅, 李 伟

【摘要】 目的 探讨血浆母系表达基因 3 (MEG3)、H19 水平与妊娠期糖尿病 (GDM) 胰岛素抵抗 (IR) 的关系。**方法** 选取 2016 年 1 月至 2019 年 1 月间孕 24~28 周在南京医科大学康达学院第一附属医院行口服葡萄糖耐量试验 (OGTT) 并确诊为 GDM 的孕妇 65 例为 GDM 组, 另外选取同期 80 例孕周为 24~28 周正常妊娠孕妇为对照组, 检测 2 组空腹血糖 (FPG)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、空腹胰岛素 (FINS)、稳态模型胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR)、MEG3 和 H19 水平并进行比较; 采用 Spearman 分析 GDM 组血浆 MEG3、H19 水平与 FPG、HbA1c、FINS、HOMA-IR 的相关性; 采用 Logistic 回归模型分析影响 IR 发生的因素。**结果** GDM 组 FPG、HbA1c、FINS、HOMA-IR 均显著高于对照组 ($P<0.01$)。GDM 组血浆 MEG3 水平 (0.62 ± 0.11) 显著低于对照组 (1.03 ± 0.25), H19 水平 (1.73 ± 0.39) 显著高于对照组 (0.98 ± 0.26), 差异均有统计学意义 ($P<0.01$)。Spearman 相关分析结果显示, GDM 组血浆 MEG3 水平与 FPG、HbA1c、FINS、HOMA-IR 均成负相关 ($P<0.01$), 血浆 H19 水平与 FPG、HbA1c、FINS、HOMA-IR 均呈正相关 ($P<0.01$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示, MEG3 是 IR 发生的保护因素 ($P<0.01$), H19 是危险因素 ($P<0.01$)。**结论** GDM 患者血浆 MEG3、H19 水平与 IR 密切相关, 临床监测 MEG3、H19 水平或可评估 IR 状况, 以进行及时干预, 改善母婴结局。

【关键词】 母系表达基因 3; H19; 妊娠期糖尿病; 胰岛素抵抗

【中图分类号】 R714.2 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-271X(2021)02-0151-04

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2021.02.009

The relationship between plasma MEG3 and H19 levels and insulin resistance in gestational diabetes mellitus

SONG Xiao-dong, ZHU Xue-tao, ZHU Li-mei, LI Wei

(Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Kangda College of Nanjing Medical University, Lianyungang 222002, Jiangsu, China)

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between the levels of plasma maternal expression genes 3 (MEG3), H19 and insulin resistance (IR) in gestational diabetes mellitus (GDM). **Methods** From January 2016 to January 2019, 65 pregnant women with GDM diagnosed by oral glucose tolerance test (OGTT) in our hospital from 24 to 28 weeks of gestation were selected as GDM group, in addition, 80 normal pregnant women with 24–28 weeks gestation were selected as the control group. The levels of fasting blood glucose (FPG), glycosylated hemoglobin (HbA1c), fasting insulin (FINS), homeostasis model insulin resistance index (HOMA-IR), MEG3 and H19 were measured and compared between the two groups. Spearman was used to analyze the correlations between plasma MEG3, H19 and FPG, HbA1c, FINS, HOMA-IR. Logistic regression model was used to analyze the factors influencing the occurrence of IR. **Results** Compared with the control group, the FPG, HbA1c, FINS and HOMA-IR were higher in GDM group ($P<0.01$). The level of MEG3 in GDM group (0.62 ± 0.11) was significantly lower than that in control group (1.03 ± 0.25). The level of H19 in GDM group (1.73 ± 0.39) was significantly higher than that in control group (0.98 ± 0.26) ($P<0.01$). Spearman's results

showed that the plasma MEG3 level was negatively correlated with FPG, HbA1c, FINS and HOMA-IR ($P<0.01$), while the plasma H19 level was positively correlated with FPG, HbA1c, FINS and HOMA-IR ($P<0.01$); Logistic regression

作者单位: 222002 连云港, 南京医科大学康达学院第一附属医院检验科 (宋晓东、朱学涛、朱立梅、李 伟)

通信作者: 李 伟, E-mail: pn4x1z@163.com

analysis showed that MEG3 was the protective factor of IR ($P<0.01$), and H19 was the risk factor ($P<0.01$). **Conclusion** The levels of MEG3 and H19 in plasma of GDM patients are closely associated with IR. Clinical monitoring of MEG3 and H19 levels may be able to evaluate IR status to quickly intervene and improve the outcome of mother and infant.

[Key words] maternally expressed gene 3; H19; gestational diabetes mellitus; insulin resistance

0 引言

妊娠期糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM) 是指妊娠期间首次发生或发现的糖代谢异常,可能引起孕妇发生流产、围生期酮症酸中毒、产后出血等多种合并症,对胎儿也构成极大威胁,可能造成胎儿窘迫、早产、畸形等,孕期行口服葡萄糖耐量试验 (oral glucose tolerance test, OGTT) 筛查并及时进行干预,可改善妊娠结局。GDM 机制复杂,一般认为与胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 有关,尽早发现 IR,并采取相关措施进行控制,对于降低 GDM 发病风险有重要意义^[1-2]。哺乳动物基因组中 98% 转录序列不具备蛋白质编码功能,属于非编码 RNA,其中长度在 200 个核苷酸以上的为长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA),母系表达基因 3 (maternally expressed gene 3, MEG3)、H19 均属于 lncRNA。MEG3 基因定位于人染色体 14q32.3,具高度保守性,已有研究表明其在人胰岛 β 细胞中为高表达,可促进胰岛素分泌^[3-4]。H19 定位于人染色体 11p15.5,包含 5 个外显子,4 个内含子,具父系印记特性,选择性表达母源性等位基因,是最早被鉴定的印迹基因之一,已被报道与 IR 密切相关^[5]。本研究通过探讨血浆 MEG3、H19 水平与 GDM 患者 IR 的关系,以期对 GDM 的发病机制及临床防治工作提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月至 2019 年 1 月孕 24~28 周在我院行 OGTT 并确诊为 GDM 的孕妇 65 例为 GDM 组,年龄 22~37 岁。参照文献^[6]的诊断标准:将 75 g 葡萄糖溶于 250~300 mL 水中,受试者在 5 min 内口服完毕,分别采集服用后 1 h、2 h 静脉血,检测血糖水平,满足以下任何一项即可诊断为 GDM:空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG) ≥ 5.1 mmol/L,服糖 1 h 血糖 ≥ 10.0 mmol/L,服糖 2 h 血糖 ≥ 8.5 mmol/L。纳入标准:①经 OGTT 确诊为 GDM;②首次、单胎妊娠。排除标准:①曾被诊断为糖尿病患者;②多胎妊娠者;③有糖尿病家族史者;④肝、肾等重要器官功能障碍者;⑤临床资料不完整者。另外

选取同期 80 例孕周为 24~28 周正常妊娠孕妇为对照组,年龄 23~38 岁。本研究经医院伦理委员会批准 (批号:201511003),所有受试者均自愿签署知情同意书。

1.2 方法 受试者均于清晨抽取 5 mL 空腹静脉血。FPG 水平采用日立 7600 型生化分析仪测定,糖化血红蛋白 (glycated hemoglobin, HbA1c) 采用 Arkray HA-8180 型全自动分析仪 (日本) 检测;采用放射免疫法检测空腹胰岛素 (fasting insulin, FINS) 水平,试剂盒购于武汉博士德生物工程有限公司;采用稳态评估模型评估胰岛素抵抗指数 (homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR), $HOMA-IR \geq 2.69$ 即判为 IR^[7]。计算公式:

$$HOMA-IR = FPG (\text{mmol/L}) \times FINS (\text{mU/L}) / 22.5$$

采用 qRT-PCR 检测血浆中 MEG3、H19 水平,仪器为 Roche LightCycler 480II 型荧光定量 PCR 仪。采用 Trizol 法提取总 RNA,反转录为 cDNA,进行 PCR 扩增反应。以 GAPDH 为内参基因,MEG3 正向引物:5'-ATCATCCGTCACCTCCTTGTCTTC-3',反向引物:5'-GTATGAGCATAGCAAAGGTCAGGGC-3',反应条件:95 °C 10 min,95 °C 15 s,60 °C 1 min,40 个循环。H19 正向引物:5'-ACAGGAGAGAGACTTCCA-3',反向引物:5'-ATGTCCTGCTTGTACGTC-3',反应条件:95 °C 3 min,95 °C 30 s,60 °C 30 s,72 °C 30 s,40 个循环,引物及试剂盒均购于上海生工生物工程有限公司,操作严格按照说明书进行,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 MEG3、H19 水平。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件处理数据。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以例或百分率表示,采用卡方检验。采用 Spearman 分析 GDM 组血浆 MEG3、H19 水平与 FPG、HbA1c、FINS、HOMA-IR 相关性;采用 Logistic 回归模型对影响 IR 发生的因素进行分析。以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料比较 2 组年龄、BMI 比较,差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。GDM 组 FPG、HbA1c、FINS、HOMA-IR 均显著高于对照组 ($P<0.01$)。见表 1。

表 1 入组孕妇一般资料比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	年龄(岁)	BMI(kg/m ²)	FPG(mmol/L)	HbA1c(%)	FINS(mU/L)	HOMA-IR
对照组	80	28.39±4.25	22.34±3.24	4.66±0.78	5.21±0.76	7.71±1.38	2.12±0.42
GDM 组	65	28.67±4.53	23.21±3.31	5.42±0.73	8.35±0.95	13.35±1.50	3.67±0.56
<i>t</i> 值		0.383	1.593	6.004	22.114	23.538	19.034
<i>P</i> 值		0.702	0.113	0.000	0.000	0.000	0.000

2.2 血浆 MEG3、H19 水平比较 GDM 组血浆 MEG3 水平显著低于对照组($P<0.01$), H19 水平显著高于对照组($P<0.01$), 见表 2。

表 2 入组孕妇血浆 MEG3、H19 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	MEG3	H19
对照组	80	1.03±0.25	0.98±0.26
GDM 组	65	0.62±0.11	1.73±0.39
<i>t</i> 值		12.285	13.833
<i>P</i> 值		0.000	0.000

2.3 GDM 组血浆 MEG3、H19 水平与 FPG、HbA1c、FINS、HOMA-IR 相关性分析 Spearman 相关分析结果显示, GDM 组血浆 MEG3 水平与 FPG、HbA1c、FINS、HOMA-IR 均呈负相关($P<0.01$), 血浆 H19 水平与 FPG、HbA1c、FINS、HOMA-IR 均呈正相关($P<0.01$), 见表 3。

表 3 GDM 组血浆 MEG3、H19 水平与 FPG、HbA1c、FINS、HOMA-IR 相关性分析

指标	FPG		HbA1c		FINS		HOMA-IR	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
MEG3	-0.682	0.000	-0.596	0.000	-0.646	0.000	-0.603	0.000
H19	0.587	0.000	0.626	0.000	0.575	0.000	0.616	0.000

2.4 影响 IR 发生的多因素 Logistic 回归分析 以是否发生 IR 为因变量, 以 MEG3、H19 水平为自变量进行多因素 Logistic 回归分析, 结果表明, MEG3 是 IR 发生的保护因素($P<0.01$), H19 是危险因素($P<0.01$), 见表 4。

表 4 影响胰岛素抵抗(IR)发生的多因素 Logistic 回归分析结果

变量	B	S. E.	Wald	OR	95%CI	<i>P</i> 值
MEG3	-1.178	0.325	13.130	0.308	0.163~0.582	0.000
H19	0.871	0.226	14.863	2.390	1.535~3.722	0.000

3 讨 论

GDM 是妊娠期常见糖代谢异常疾病, 是日后患 2 型糖尿病的高危人群, 随着饮食结构变化、肥胖及

高龄产妇的增加, 近年发生率呈逐渐升高趋势, 我国发生率约为 1%~5%^[8]。GDM 发病机制目前尚未阐明, 研究发现发病原因可能是妊娠期雌激素、生乳素等由胎盘分泌的激素释放进入母体循环使全身水平升高, 增强了对胰岛素的拮抗作用, 随孕周增加胰岛素敏感性下降, 胰岛素分泌受限的孕妇则发展为 GDM^[9-11]。胰岛 β 细胞合成分泌的胰岛素是机体内唯一具有降低血糖功能的蛋白质类激素, 在维持血糖水平上起决定性作用^[4]。IR 是指胰岛素促进机体摄取及利用葡萄糖能力下降, 正常妊娠女性随着体内激素水平变化可表现出生理性、暂时性 IR 状态, 通常在孕周 24~28 周表现显著, 于 34~36 周达到峰值, 在分娩后逐渐消失, GDM 患者生理性、病理性 IR 并存^[11-12]。本研究发现, 与对照组比较, GDM 组 FPG、HbA1c、FINS、HOMA-IR 均较高, 提示 GDM 患者存在不同程度 IR, 与上述研究结果一致。

LncRNA 可在转录及转录后水平调控基因表达, 参与细胞信号传导、细胞增殖分化、免疫应答等多种生理活动过程, 与肿瘤、代谢性疾病等关系密切, 正常生理状态下, MEG3 在机体组织中为高表达, 在肿瘤组织中表达降低或缺失, 发挥抑癌基因作用^[13]。近年来 LncRNA 与 IR 的关系引起诸多研究者的兴趣, LncRNA 的作用发挥具组织特异性, 同一种 LncRNA 在不同组织中对血糖可能发挥相反调节作用。研究发现, 小鼠胰腺组织中 MEG3 与心、肝、脾等组织相比为高表达, 具有组织特异性, 抑制 MEG3 表达后, 胰岛素分泌量减少, 胰岛 β 细胞凋亡增加, 与此同时, 葡萄糖耐受能力受损, MEG3 可能通过参与胰岛素的合成及分泌, 在维持成年小鼠胰岛功能中发挥重要作用^[3-4]。本研究发现, GDM 组血浆 MEG3 水平显著低于对照组, 提示 MEG3 可能参与 GDM 患者 IR 的发生。分析原因是低水平的 MEG3 可能通过对胰十二指肠同源盒因子-1 肌腱膜纤维肉瘤癌基因同源物 A 基因表达产生抑制作用, 进而使胰岛素合成、分泌减少^[14]。另有研究表明,

MEG3 与肝糖异生关系密切,MEG3 可通过激活叉头框蛋白 1,增加葡萄糖 6 磷酸酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶表达,从而促进糖异生,减少糖原合成^[5]。

H19 在胚胎发育中呈现高表达并在出生后显著下降,仅在成年人骨骼肌及心肌中观察到持续表达,在肿瘤等细胞大量分化疾病中呈现高表达^[15]。H19 在不同的肿瘤中表达情况各异,在胃癌、宫颈癌、胰腺癌等肿瘤中呈现高表达,发挥促癌基因作用,在前列腺癌、肝癌等肿瘤中呈现低表达,发挥抑癌基因特性,H19 在不同肿瘤中可能发挥不同作用,甚至在同一肿瘤中发挥促癌及抑癌基因的双重作用^[16]。H19 与 IR 的研究越来越受到关注,研究表明,H19 在高脂饮食小鼠肝脏中高表达,高水平的 H19 可促进肝脏产生葡萄糖,进而增加高血糖、IR 发生风险,全身敲除 H19 可使胰岛素抑制肝脏糖异生的作用增强,但也有研究表明,下调肝脏中 H19 表达,可使小鼠血糖水平升高,糖耐量受损,糖异生基因表达上调,上述结论提示 H19 在肝糖异生中发挥的作用目前尚不明确^[5,17-18]。本研究发现,GDM 组血浆 H19 水平显著高于对照组,提示 H19 与 IR 关系密切。Spearman 相关分析结果显示,GDM 组血浆 MEG3、H19 水平与 FPG、HbA1c、FINS、HOMA-IR 均具相关性,提示 MEG3、H19 可能用于评估 GDM 患者 IR 严重程度。多因素 Logistic 回归分析结果显示,MEG3 是 IR 发生的保护因素,H19 是危险因素,可能从危险因素方面防治 IR,降低不良妊娠结局的发生。

综上所述,GDM 患者血浆 MEG3 呈低表达,H19 为高表达,且与 HOMA-IR 具相关性,或可为 GDM 的靶向治疗提供新思路,本研究也存在不足之处,样本量较少,可能造成结果偏差,尚需大样本研究对结果进行佐证,这将成为今后的工作重点。

【参考文献】

- [1] Russo LM, Nobles C, Ertel KA, *et al.* Physical Activity Interventions in Pregnancy and Risk of Gestational Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-analysis [J]. *Obstet Gynecol*, 2015, 125(3):576-582.
- [2] 谭 晶, 蒋双玲. 妊娠期糖尿病患者血清性激素水平变化及对糖代谢和胰岛功能的影响[J]. *贵州医药*, 2019, 43(7): 1127-1129.
- [3] Weinert LS. International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Consensus Panel. International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Recommendations on the Diagnosis and Classification of Hyperglycemia in Pregnancy[J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(7):97-97.
- [4] 李蕊珊, 欧阳春梅, 张志珊, 等. 妊娠期糖尿病患者血清 Chemerin 的变化及与胰岛素抵抗的关系[J]. *中国妇幼健康研究*, 2020, 31(1):109-112.
- [5] 孙军萍, 黎宗保, 韩耀光, 等. 妊娠糖尿病患者血清 Omentin-1、IRS-1、IRS-2 与胰岛素抵抗的关系[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2020, 21(1):83-84.
- [6] 任 巧, 任娟娟, 韩芳芳. 不同胰岛素抵抗状态与 2 型糖尿病患者心功能的相关性研究[J]. *中国糖尿病杂志*, 2018, 26(1):36-40.
- [7] 胡艳妹, 尤梁惠, 朱亚男, 等. 沉默长链非编码 RNA Meg3 损伤小鼠胰岛细胞的胰岛素分泌功能[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2016, 32(3):289-294.
- [8] 盖李乐, 王俊杰, 袁成福. 长链非编码 RNA 与胰岛素抵抗[J]. *生命的化学*, 2019, 39(3):581-587.
- [9] You LH, Wang N, Yin DD, *et al.* Downregulation of Long Non-coding RNA Meg3 Affects Insulin Synthesis and Secretion in Mouse Pancreatic Beta Cells[J]. *J Cell Physiol*, 2016, 231(4): 852-862.
- [10] 师俊梅. 妊娠期糖尿病患者的血糖控制效果对妊娠结局的影响[J]. *东南国防医药*, 2015, 17(1):40-42.
- [11] 詹雅琼, 李成江. 长链非编码 RNA 与 2 型糖尿病患者胰岛素分泌及糖代谢关系的研究进展[J]. *中国糖尿病杂志*, 2019, 27(8):635-640.
- [12] 胡雪婷, 徐 祥. 长链非编码 RNA H19 在肿瘤中的研究进展[J]. *癌症进展*, 2019, 17(20):2357-2360, 2394.
- [13] Radha V, Kanthimathi S, Anjana RM, *et al.* Genetics of gestational diabetes mellitus [J]. *J Pak Med Assoc*, 2016, 66(9 Suppl 1):S11-14.
- [14] 王昱文, 成秉林, 张淑君. lncRNA 的生物标记作用及 MEG3 在肿瘤中的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2017, 25(2): 308-311.
- [15] 高 原, 侯庆香, 陈 玲, 等. 长链非编码 RNA-H19 在妇科恶性肿瘤细胞的糖代谢中的作用[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(1):72-75.
- [16] 方迎昕, 周一军. 长链非编码 RNA 与胰岛素抵抗的关系[J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2018, 38(6):412-414, 428.
- [17] 马 敬, 唐 丹, 张 燕, 等. H19 介导 miR-let-7 的分子机制及其在妊娠期糖尿病中的作用研究[J]. *中国全科医学*, 2019, 22(8):942-946.
- [18] 李丹丹, 刘 扬, 苏冬月, 等. 妊娠期糖尿病患者胎盘组织脂蛋白酶基因多态性与患者胰岛素抵抗的关系探讨[J]. *现代预防医学*, 2018, 45(12):2154-2157, 2194.

(收稿日期:2020-05-25; 修回日期:2020-06-19)

(责任编辑:叶华珍; 英文编辑:朱一超)