

microRNA 在复发性流产中的研究进展

张雨薇,代芳芳,吴玛丽,杨冬咏,程艳香*

基金项目:国家重点研发计划(项目编号:2018YFC1003200);湖北省卫生健康委员会科研项目基金(项目编号:WJ2019M179)

作者单位:430060 湖北 武汉,武汉大学人民医院妇产科

作者简介:张雨薇,武汉大学人民医院妇产科硕士研究生在读,主要研究方向为复发性流产

* 通信作者,E-mail:yanxiangCheng@whu.edu.cn

【关键词】microRNA;复发性流产;早期诊断;标志物

【中图分类号】R 714.21 【文献标志码】A 【文章编号】1674-4020(2021)10-005-04

doi:10.3969/j.issn.1674-4020.2021.10.02

在我国,复发性流产(recurrent spontaneous abortion, RSA)是指在 28 周以前出现与同一性伴侣 3 次及 3 次以上的连续妊娠丢失^[1];美国生殖医学学会将临床确定的宫内妊娠在 20 周以前出现 2 次及 2 次以上的连续妊娠丢失定义为 RSA^[2]。RSA 是一种复杂的妊娠并发症,在育龄夫妇中发生率约为 3%~5%^[3],可能会导致子宫内损伤、子宫内膜炎、盆腔炎,甚至是不孕,严重威胁着全世界妇女的健康。RSA 的病因复杂,研究表明其与细胞遗传学异常^[4]、解剖异常^[5]、内分泌紊乱^[6]、免疫因素^[7]、血栓前状态^[8]、以及精子质量^[9]等密切相关;然而,仍然有近 50% 的 RSA 的病因尚未明确,即不明原因复发性流产(unexplained recurrent spontaneous abortion, URSA)^[10]。由于缺乏诊断标志物,RSA 目前只能以排除其他疾病后进行确诊,反复的胚胎丢失对女性自身以及家庭造成极大的身心伤害和负担,严重威胁着全人类的生殖健康。因此,寻找确切的病因以及有效的诊断标志物,对于 RSA 的诊断以及治疗具有非常重要的临床意义。

microRNA 是由 21~24 个核苷酸组成的内源性非编码小 RNA,与 mRNA 的 3'非翻译区(3'UTR)结合,通过诱导目标 mRNA 的降解介导转录调节^[11]。研究表明,microRNA 参与多种细胞生物学活动,如细胞分化、增殖、迁徙、侵袭和凋亡,其异常表达与 RSA 密切相关^[12-13]。因此,通过 microRNA 研究 RSA 的病因、寻找有效可靠的早期诊断标志物,对于治疗以及改善患者的妊娠预后具有十分重要的意义。本篇文章对目前与 RSA 发病机制及诊断相关的 microRNA 进行综述。

1 microRNA 在复发性流产中的作用

microRNA 促进滋养细胞凋亡,抑制增殖;改变免疫

因素;通过单核苷酸多态性(SNPs)或单倍体以及调控血管内皮,增加 RSA 的易感性,促进机体对胚胎的吸收,进而参与 RSA 的发生发展。关于 microRNA 与 RSA 的研究涵盖多个方面。

1.1 microRNA 参与复发性流产的诊断

目前 RSA 主要是通过排除其他可能的疾病后进行诊断,由于没有明确有效的诊断生物标志物,从而导致 RSA 的诊断存在困难^[12]。因此,寻找诊断 RSA 的有效稳定的诊断生物标志物具有非常重要的临床意义。由于这些特性,microRNA 可能作为预测 RSA 的无创新型生物标志物。

1.1.1 复发性流产患者的 microRNA 的差异表达

Qin 等^[12]收集了 27 例原 URSA 患者及 28 例健康孕妇的血浆样本,q-PCR 检测发现 microRNA-320b、microRNA-146b-5p、microRNA-221-3p 在 URSA 中上调,而 microRNA-101-3p 下调。Yang 等^[13]发现与正常妊娠女性相比,RSA 患者早期绒毛和蜕膜组织中 microRNA-27a-3p、microRNA-29a-3p、microRNA-100-5p、microRNA-23a-3p 水平显著升高,microRNA-127-3p、microRNA-486-5p 水平则显著下降。

1.1.2 microRNA 参与复发性流产的发生发展 差异表达的 microRNA 可能通过调控细胞凋亡、侵袭以及血管生成参与 RSA 的发生发展^[12]。研究发现过表达 microRNA-23-3p、microRNA-29a-3p 可抑制滋养细胞 HTR8/SVneo 侵袭性,而过表达 microRNA-127-3p 则促进细胞侵袭和迁移^[13];microRNA-149-3p 可能通过上调 MAPK 信号通路和 Notch 信号通路影响细胞的增殖、分化和凋亡,干扰胚胎发育、血管生成和胎盘血管等生理变化^[14]。

上述实验结果显示相比于正常妊娠女性,RSA 患者胎盘、蜕膜组织等部位的 microRNA 的表达存在差异,且 microRNA 参与 RSA 的发生发展。但由于样本少,目前的研究主要存在于实验方面,用于临床诊断性的 microRNA 谱尚不完全。

1.2 microRNA 通过影响滋养细胞参与复发性流产的发生发展

人类妊娠开始的关键是胚胎植入和胎盘形成,而滋养细胞是胎盘重要的组成部分,参与妊娠的多种生物学行为,如螺旋动脉的重塑、胎盘的固定、血管生成的调节、以及激素和细胞因子的分泌等^[13]。因此,滋养细胞对于胚胎成功植入以及维持妊娠至关重要,当滋养细胞功能出现缺陷时会导致如妊娠丢失、子痫前期、妊娠期高血压等一系列严重并发症^[15]。所以针对 RSA 患者滋养细胞的研究对于了解 RSA 的病因具有非常重要的临床意义。

Zhang 等^[16]实验发现相比于正常妊娠女性,RSA 患者的蜕膜基质细胞(decidual stromal cells,DSCs)、蜕膜免疫细胞(decidual immune cells,DICs)以及外周血中高表达的 microRNA-184,其通过 WIG1 上调 Fas 的表达,从而抑制 HTR8 细胞增殖,促进细胞的凋亡,增加胚胎细胞吸收率。同样有一些研究者实验发现 microRNA-378a-3p 可以通过靶向 Caspase-3^[17]、microRNA-371a-5p 可以与凋亡蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis,XIAP)-30UTR 结合,通过抑制 Caspase-3 主要内源性抑制剂,参与 XIAP-Caspases 通路,从而抑制蜕膜细胞的增殖、促进蜕膜细胞凋亡、导致滋养细胞凋亡^[18]。Liu 等^[19]通过原位杂交发现与正常女性相比,RSA 患者绒毛组织中 microRNA-93 显著升高,进一步实验证明上调 microRNA-93 可通过靶向调节因子 BCL2L2,抑制滋养细胞增殖、迁徙以及侵袭。Ding 等^[20]实验发现在 RSA 患者中 microRNA-27a-3p 通过负性调控 USP25 表达,抑制滋养细胞上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)、侵袭和迁移能力,参与 RSA 的发生。

通过以上研究结果可以表明 microRNA 可调节滋养细胞侵袭能力,影响妊娠结局。但由于研究样本不足,且具体的信号通路未得到统一的共识,因此还需要更多的细胞及动物实验进行深入探索,为 RSA 的发病机制提供更多有用的信息。

1.3 microRNA 通过调节免疫参与复发性流产的发生发展

成功妊娠的维持需要孕妇的免疫系统识别和耐受异体胎儿,并允许滋养细胞适度侵入^[21]。当母体免疫系统不能耐受异体胎儿的存在时,可能会导致流产或者异常妊娠,从而产生一系列的妊娠并发症^[22]。因此,寻找影响 RSA 的免疫因素具有非常重要的临床意义。已有研究表明,microRNA 在自身免疫性疾病中发挥关键作用^[23],如 microRNA-181a、microRNA-330a、microRNA-99a

等可调节巨噬细胞^[24-25]、NK 细胞的极化^[26],树突状细胞的凋亡和细胞因子的产生^[27]等参与 RSA 的发生发展。

Wang XQ 等^[28]收集 49 例 RSA 患者及 52 例正常妊娠孕妇的蜕膜组织和外周血,发现 RSA 患者蜕膜组织和外周血中 microRNA-30e 表达下降,且 microRNA-30e 可负性调节穿孔素-1(PRF1)促进 IFN- γ 和 TNF- α 的表达,促进 IL-4 和 IL-10 的表达;并证实 microRNA-30e 可通过调控 PRF1 表达,降低 PB-NK 及 D-NK 的细胞毒性,抑制 Th1 表型,诱导 Th2 免疫优势,从而在母胎界面形成免疫耐受的微环境。Zhu 等^[24]研究发现 RSA 患者中 microRNA-103 表达水平下降,且与 STAT1 呈负相关,进一步证实 microRNA-103 通过抑制 STAT1/IRF1 信号通路,抑制 M1 巨噬细胞极化,降低胚胎的吸收,并且 STAT1 的过表达可逆转 microRNA-103 对于 M1 极化的抑制作用。已有研究证明 HLA-G 的低表达与 RSA 有关,Wang X 等^[29]实验证明 microRNA-133a 通过与 HLA-G 的 3'UTR 结合,在蛋白水平降低 HLA-G 的表达。

上述实验结果提示 microRNA 通过调节 NK 细胞、巨噬细胞的极化以及 HLA-G 等免疫因子的表达影响母胎界面的免疫耐受微环境,从而参与 RSA 的发生发展。但由于 microRNA 当前的研究涉及补体系统等其他免疫因素方面的研究较少,microRNA 通过免疫因素调节 RSA 仍需要更多的实验研究。

1.4 microRNA 单核苷酸多态性与复发性流产之间存在密切的关系

microRNA 的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism,SNPs)与某些人类疾病的发展风险有关,可以通过影响 microRNA 的靶标选择参与疾病的发生^[30]。Wang 等^[28]研究显示 microRNA-423 编码区中的一个 SNP rs6505162C>A 与 RSA 或者 URSA 的高风险有关,且在关于两基因座单倍型分析中 miR-423-CC/TT 单倍体与 URSA 高风险有关。进一步研究表明 miR-423-CC/TT 单倍体过表达可通过改变 miR-423 的二级结构降低 miR-423 表达;且 miR-423 通过反向调控 MEDSC1 抑制 HTR-8/SVneo 细胞增殖和迁移、促进细胞凋亡。其前期研究结果也证实 miR-322b 编码区中的一个 SNP rs56103835 T>C 与 RSA 患者的高风险有关;TC 单倍型与 URSA 高风险相关,通过改变 miR-332b 的二级结构来上调 miR-332b 进而下调 Pax8 的表达,抑制 HTR-8/SVneo 细胞增殖、迁徙,促进细胞凋亡^[31],从而参与 RSA 的发生发展。Alipour^[32]纳入 120 例 RSA 患者以及 90 例健康妇女,结果表明在 RSA 组中,microRNA-149T>C 多态性的患病率高于健康对照组;microRNA-149C 和 miR-499g 等位基因的存在与 RSA 的敏感性显著相关;microRNA-146a CC/microRNA-499 GG, microRNA-149 TC/microRNA-499 AG 和 microRNA-196a2 TT/microRNA-499 GG 组合基因型与 RSA 的高风险相关。

以上的实验结果都提示 microRNA 编码区的部分 SNPs 与 RSA 易感性有关,且 microRNA 单倍体可以通过改变二倍体结构而抑制细胞增殖和迁移、促进细胞凋亡,进而参与 RSA 的发生发展。但目前已有的研究只针对部分 microRNA,尚不知是否还有更多 microRNA 单倍体或通过 SNPs 与 RSA 有关,仍待进一步的研究探索。

1.5 microRNA 调控血管内皮生成促进复发性流产的发生发展

成功的妊娠需要母婴之间进行有效的营养和废物交换,而胎盘血管形成、增殖、侵袭以及成熟分化等是物质交换的关键^[33]。因此,血管生成障碍是导致 RSA 的重要原因。Zhu 等^[29]通过免疫组化实验发现 RSA 患者的绒毛中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达水平明显下降,进一步实验表明在 RSA 患者中 microRNA-16 通过负性调控 VEGF 表达,抑制人脐静脉内皮细胞细胞管形成,从而抑制胎盘形成和血管生成,参与 RSA 的发生发展。

上述实验结果提示 microRNA 可通过抑制血管生成和胎盘形成,进而参与 RSA 的发生发展。但目前 microRNA 影响胎盘血管形成参与 RSA 的研究尚少,还需要更全面的实验研究,为 RSA 病因的研究提供新的视角。

5 结语

本文从早期诊断、影响滋养细胞、免疫因素、SNPs 以及血管内皮五个方面阐述 microRNA 参与 RSA 的发生发展。现阶段,临床上缺乏有效稳定的早期诊断 RSA 的无创生物标志物,但据目前研究来看,microRNA 能稳定存在于血清/血浆中,且正常妊娠女性和 RSA 患者血清/血浆中 microRNA 的表达不相同,为早期诊断 RSA 提供了新视角,也有望为 RSA 的早期诊断和治疗提供新的方向。但目前的研究样本较少,且缺乏一定的临床研究以证明 microRNA 确切的诊断能力,现有的用于早期诊断的 microRNA 谱尚不完全。因此,未来需要更全面和深入的研究证实 microRNA 在早期诊断 RSA 中的正确性,为临床 RSA 的早期诊断提供标志物。

【参考文献】

- [1] 张建平. 复发性流产诊治的专家共识 [J]. 中华妇产科杂志, 2016, 51(1): 3-9.
- [2] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion [J]. Fertil Steril, 2020, 98(5): 1103-1111.
- [3] Hachem EH. Recurrent pregnancy loss: current perspectives [Z]. 2017; 331-345.
- [4] Zhang T, Sun Y, Chen Z, et al. Traditional and molecular chromosomal abnormality analysis of products of conception in spontaneous and recurrent miscarriage [J]. BJOG-An International Journal of Obstetrics and Gynaecology, 2018, 125(4): 414-420.
- [5] Obstetriciansgynecologists ACO. ACOG Practice Bulletin No. 142: Cerclage for the management of cervical insufficiency [J]. Obstetrics & Gynecology, 2014, 123(2pt1): 372-379.
- [6] Arredondo F, Noble LS. Endocrinology of recurrent pregnancy loss [J]. Seminars in Reproductive Medicine, 2006, 24(1): 33-39.
- [7] Wilczyński JR. Immunological analogy between allograft rejection, recurrent abortion and pre-eclampsia - the same basic mechanism? [J]. Human Immunology, 2006, 67(7): 492-511.
- [8] Wang Y, Lin XH, Wu QJ, et al. Thrombophilia markers in patients with recurrent early miscarriage [J]. Clinical Laboratory, 2015, 61(11): 1787-1794.
- [9] Zidi-Jrah ZI. Relationship between sperm aneuploidy, sperm DNA integrity, chromatin packaging, traditional semen parameters, and recurrent pregnancy loss [J]. Fertility and Sterility, 2016, 105(1): 58-64.
- [10] Li TC, Makris M, Tomsu M, et al. Recurrent miscarriage: aetiology, management and prognosis [J]. Human Reproduction Update, 2002, 8(5): 463-481.
- [11] Iwakawa HO, Tomari Y. The functions of MicroRNAs: mRNA decay and translational repression [J]. Trends in Cell Biology, 2015, 25(11): 651-665.
- [12] Qin W, Tang Y, Tang L, et al. Potential role of circulating microRNAs as a biomarker for unexplained recurrent spontaneous abortion [J]. American Journal of Reproductive Immunology, 2013, 70(1, SI): 22-23.
- [13] Yang Q, Gu WW, Gu Y, et al. Association of the peripheral blood levels of circulating microRNAs with both recurrent miscarriage and the outcomes of embryo transfer in an in vitro fertilization process [J]. Journal of Translational Medicine, 2018, 16(1): 186.
- [14] Tang L, Gao C, Gao L, et al. Expression profile of micro-RNAs and functional annotation analysis of their targets in human chorionic villi from early recurrent miscarriage [J]. Gene, 2016, 576(1 Pt 2): 366-371.
- [15] Hung TH, Skepper JN, Charnock-Jones DS, et al. Hypoxia-reoxygenation; a potent inducer of apoptotic changes in the human placenta and possible etiological factor in preeclampsia [J]. Circulation Research, 2002, 90(12): 1274-1281.
- [16] Zhang Y, Zhou J, Li MQ, et al. MicroRNA-184 promotes apoptosis of trophoblast cells via targeting WIG1 and induces early spontaneous abortion [J]. Cell Death & Disease, 2019, 10(3): 223.
- [17] Hong L, Yu T, Xu H, et al. Down-regulation of miR-378a-3p induces decidual cell apoptosis: a possible mechanism for early pregnancy loss [J]. Human Reproduction (Oxford, England), 2018, 33(1): 11-22.
- [18] Du E, Cao Y, Feng C, et al. The possible involvement of miR-371a-5p regulating XIAP in the pathogenesis of recurrent pregnancy loss [J]. Reproductive Sciences (Thousand Oaks, Calif.), 2019, 26(11): 1468-1475.
- [19] Liu HN, Tang XM, Wang XQ, et al. MiR-93 inhibits trophoblast cell proliferation and promotes cell apoptosis by targeting BCL2L2 in recurrent spontaneous abortion [J]. Reproductive Sciences (Thousand Oaks, Calif.), 2020, 27(1): 152-162.
- [20] Ding J, Cheng Y, Zhang Y, et al. The miR-27a-3p/USP25 axis participates in the pathogenesis of recurrent miscarriage by

- inhibiting trophoblast migration and invasion [J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2019, 234(11):19951-19963.
- [21] Xu YY, Wang SC, Li DJ, et al. Co-Signaling molecules in Maternal-Fetal immunity [J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2017, 23(1): 46-58.
- [22] Odendaal J, Quenby S, Sammaritano L, et al. Immunologic and rheumatologic causes and treatment of recurrent pregnancy loss: what is the evidence? [J]. *Fertility and Sterility*, 2019, 112(6): 1002-1012.
- [23] Bosisio D. Extracellular miRNAs as activators of innate immune receptors [Z]. 2019;59-65.
- [24] Zhu X, Liu H, Zhang Z, et al. MiR-103 protects from recurrent spontaneous abortion via inhibiting STAT1 mediated M1 macrophage polarization [J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2020, 16(12):2248-2264.
- [25] Jaiswal A, Reddy SS, Maurya M, et al. MicroRNA-99a mimics inhibit M1 macrophage phenotype and adipose tissue inflammation by targeting TNF α [J]. *Cellular & Molecular Immunology*, 2019, 16(5):495-507.
- [26] Huang Q. Effect of miR-30e regulating NK cell activities on immune tolerance of maternal-fetal interface by targeting PRF1 [Z]. 2019;1478-1487.
- [27] Park H, Huang X, Lu CM, et al. MicroRNA-146a and microRNA-146b regulate human dendritic cell apoptosis and cytokine production by targeting TRAF6 and IRAK1 proteins [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2015, 290(5):2831-2841.
- [28] Wang XQ, Wang H, Zhang L, et al. Haplotype-based association of two SNPs in miR-423 with unexplained recurrent pregnancy loss in a Chinese Han population [J]. *Experimental Cell Research*, 2019, 374(1):210-220.
- [29] Wang X, Li B, Wang J, et al. Evidence that miR-133a causes recurrent spontaneous abortion by reducing HLA-G expression [J]. *Reproductive BioMedicine Online*, 2012, 25(4): 415-424.
- [30] Saunders MA, Li WH. Human polymorphism at microRNAs and microRNA target sites [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(9): 3300-3305.
- [31] Wang XQ, Li Y, Su X, et al. Haplotype-based association of two SNPs in miR-323b with unexplained recurrent spontaneous abortion in a Chinese Han population [J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2018, 233(8):6001-6017.
- [32] Alipour M, Abtin M, Hosseinzadeh A, et al. Association between miR-146a C > G, miR-149 T > C, miR-196a2 T > C, and miR-499 A > G polymorphisms and susceptibility to idiopathic recurrent pregnancy loss [J]. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 2019, 36(11):2237-2244.
- [33] Williams PJ, Bulmer JN, Innes BA, et al. Possible roles for folic acid in the regulation of trophoblast invasion and placental development in normal early human pregnancy [J]. *Biology of Reproduction*, 2011, 84(6):1148-1153.

(收稿日期:2020-09-28 编辑:舒颀)

(上接第4页)评审程序规范、不易遗漏细节,此法抓住了产科质量管理重点、痛点和堵点。开展孕产妇危重症评审工作不仅有助于提高医务人员对孕产妇危重症的早期识别、干预和救治能力,更重要的是有助于提高医疗管理者对产科服务质量管理的认识与重视,增强对产科建设的投入和管理力度,从而有利于降低孕产妇危重症发生率、避免产科医疗纠纷及提高危重症幸存者的生存质量^[5]。在党和政府的充分重视和持续推动下,全国妇幼健康机构都努力把孕产妇危重症评审工作与孕产妇死亡评审制度结合运用,将更有助于不断提升我国产科服务质量、保障医疗安全的生命线,实现妇幼健康事业更高质量的发展。

【参考文献】

- [1] Qiao J, Wang Y, Li X, et al. A Lancet Commission on 70 years of women's reproductive, maternal, newborn, child, and adolescent health in China [J]. *Lancet*, 2021, 397(10293):2497-2536.

- [2] 中国网. 国家卫生健康委员会就中国妇幼健康进展成效有关情况举行发布会 [EB/OL]. http://www.china.com.cn/zhibo/content_77448820.htm, 2021-04-29.
- [3] 戴毅敏, 胡娅莉. 防患未然, 关口前移, 积极推进孕产妇危重症评审工作 [J]. *中华围产医学杂志*, 2018, 21(9):577-580.
- [4] 吴久玲, 罗晓敏. 孕产妇危重症评审方法干预效果研究 [J]. *中国妇幼卫生杂志*, 2013, 4(5):4-6.
- [5] 吴久玲. 孕产妇危重症评审指南 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2013.
- [6] Lazzarini M, Ciuch M, Rusconi S, et al. Facilitators and barriers to the effective implementation of the individual maternal near-miss case reviews in low/middle-income countries: a systematic review of qualitative studies [J]. *BMJ Open*, 2018, 8(6):e021281.
- [7] Mengistu TS, Turner J, Flatley C, et al. Impact of severe maternal morbidity on adverse perinatal outcomes in high-income countries: systematic review and meta-analysis protocol [J]. *BMJ Open*, 2019, 9(6):e027100.

(收稿日期:2021-06-19 编辑:向晓莉)