

• 论 著 •

# 白细胞介素-6、微小 RNA-210 与子痫前期的相关性及其临床价值\*

段玉萍<sup>1</sup>, 钟丽丽<sup>2</sup>, 洪 茂<sup>1</sup>, 谢 骊<sup>1</sup>, 蔡雷鸣<sup>1</sup>, 吴晶晶<sup>2</sup>, 陈 雄<sup>2</sup>, 厉 倩<sup>1△</sup>

(上海市宝山区吴淞中心医院:1. 检验科;2 妇产科, 上海 200940)

**摘 要:**目的 探讨子痫前期患者各孕期血清白细胞介素-6(IL-6)和微小 RNA-210(miR-210)的变化规律及意义。方法 收集 82 例子痫前期患者和 82 例正常妊娠女性孕早、中、晚期血清,采用酶联免疫吸附试验检测 IL-6 水平,采用 SYBR Green 实时荧光定量反转录聚合酶链反应检测血清 miR-210 的表达水平,比较两组间不同孕期 miR-210、IL-6 水平的差异,并对 miR-210 和 IL-6 进行相关性分析。结果 随着妊娠进程,正常妊娠早、中、晚期外周血 miR-210、IL-6 表达水平差异无统计学意义( $P>0.05$ )。子痫前期孕晚期 miR-210 表达水平明显高于孕早期和孕中期,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。子痫前期孕中期和孕晚期 miR-210 表达水平明显高于正常妊娠孕中期和孕晚期,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。子痫前期孕晚期 IL-6 表达水平明显高于孕早期和孕中期,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。子痫前期孕晚期 IL-6 表达水平明显高于对照组孕晚期,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。子痫前期孕早期血清 miR-210、IL-6 表达水平与正常妊娠差异无统计学意义( $P>0.05$ )。Spearman 相关分析显示,妊娠期血清 IL-6 和 miR-210 的表达呈正相关( $r=0.57, P<0.01$ )。结论 妊娠期血清 miR-210 与 IL-6 的表达呈正相关,孕中、晚期血清 IL-6 和 miR-210 可能是子痫前期预测、诊断的良好标志物。

**关键词:**子痫前期; 白细胞介素-6; 微小 RNA-210; 生物标志物

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2020.21.011

**中图法分类号:**R714.2

**文章编号:**1673-4130(2020)21-2607-04

**文献标识码:**A

## Clinical significance and correlation of interleukin-6 and microRNA-210 in preeclampsia\*

DUAN Yuping<sup>1</sup>, ZHONG Lili<sup>2</sup>, HONG Mao<sup>1</sup>, XIE Li<sup>1</sup>, CAI Leiming<sup>1</sup>,

WU Jingjing<sup>2</sup>, CHEN Xiong<sup>2</sup>, LI Qian<sup>1△</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Obstetrics and Gynecology,

Wusong Central Hospital of Baoshan District, Shanghai 200940, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the alteration and significance of serum interleukin 6 (IL-6) and microRNA-210 (miR-210) in preeclampsia. **Methods** Serum samples in early, middle, late pregnancy were collected from 82 patients with preeclampsia and 82 pregnant women with normal pregnancy. Enzyme linked immunosorbent assay was used to detect the level of IL-6, and SYBR Green real-time fluorescent quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (SYBR Green) was used to detect the expression of serum miR-210. The differences of miR-210 and IL-6 levels in different pregnancy stages between the two groups were compared, and the correlation between miR-210 and IL-6 was analyzed. **Results** MicroRNA-210 and IL-6 in mid-late gestation of preeclampsia are higher, compared with that of control, whereas no significant difference is observed for expression of miR-210 and IL-6 in early gestation between gravidas with preeclampsia and healthy control. Spearman correlation analysis reveals a positive correlation between expression of miR-210 and IL-6. There was no significant difference in the expression of miR-210 and IL-6 in early, middle and late pregnancy ( $P>0.05$ ). The expression of miR-210 in the late pregnancy of preeclampsia was significantly higher than that in the early and middle pregnancy ( $P<0.05$ ). The expression levels of miR-210 in the middle and late pregnancy of preeclampsia were significantly higher than those in the middle and late pregnancy of normal pregnancy women ( $P<0.05$ ). The expression level of IL-6 in late pregnancy of preeclampsia was significantly higher than that in early pregnancy and mid pregnancy ( $P<0.05$ ). The expression of IL-6 in the

\* 基金项目:国家自然科学基金项目(81701468);上海市卫生和计划生育委员会科研课题(201740138);上海市宝山区科学技术委员会科技创新专项资金项目(17-E-5)。

作者简介:段玉萍,女,技师,主要从事分子诊断方面的研究。△ 通信作者, E-mail: aqianmerry@163.com。

本文引用格式:段玉萍,钟丽丽,洪茂,等. 白细胞介素-6、微小 RNA-210 与子痫前期的相关性及其临床价值[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(21):2607-2610.

late pregnancy of preeclampsia was significantly higher than that in the control group, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in the expression levels of miR-210 and IL-6 between preeclampsia group and normal group ( $P > 0.05$ ). Spearman correlation analysis showed that there was a positive correlation between the expression of IL-6 and miR-210 ( $r = 0.57, P < 0.01$ ). **Conclusion** Expression of serum miR-210 and IL-6 are correlated. Serum IL-6 and miR-210 in middle and late pregnancy may be potential biomarkers for preeclampsia prediction and diagnosis.

**Key words:** preeclampsia; interleukin 6; microRNA-210; biomarker

子痫前期(PE)是一种常见的妊娠期特发的多系统紊乱综合征,全球发病率为2%~8%,是孕产妇发病率和病死率最高的疾病之一,以妊娠20周后新发的高血压和蛋白尿为主要临床症状<sup>[1]</sup>。PE病因的异质性很强,其发病机制尚不完全清楚,被认为是一种胎盘源性疾病,去除胎盘才能根治PE。PE的预测对于早期预防、治疗及降低母婴病死率有重要意义,但目前还没有特别有效、可靠和经济的预测方法。缺氧、内皮细胞功能紊乱和无菌性系统性炎症被认为在PE发病机制中发挥重要作用<sup>[1-2]</sup>。微小RNA-210(miR-210)是低氧诱导的微小RNA,已有报道miR-210在PE患者胎盘和血清中表达水平升高<sup>[3-4]</sup>。miR-210可通过抑制靶基因的表达而发挥调控作用。炎症因子白细胞介素-6(IL-6)与妊娠及PE的发病关系密切,PE患者孕中晚期IL-6水平升高<sup>[5]</sup>,但PE患者外周血中升高的miR-210与IL-6水平是否存在相关性尚少见相关报道。本文采用实时荧光定量反转录聚合酶链反应和酶联免疫吸附试验分别检测PE患者和正常妊娠女性不同孕期血清miR-210、IL-6表达水平,探讨血清miR-210及IL-6在正常妊娠女性及PE患者妊娠过程中的变化规律,分析miR-210和IL-6的相关性及临床价值。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 经过本院伦理委员会批准,本研究纳入2015年1月至2018年12月在本院分娩的PE产妇(PE组)和无明确妊娠相关疾病产妇(对照组)各82例作为研究对象。PE的诊断标准参考第9版《妇产科学》<sup>[6]</sup>:在妊娠20周后出现收缩压 $\geq 140$  mm Hg和(或)舒张压 $\geq 90$  mm Hg,伴尿蛋白 $\geq 300$  mg/24 h,或随机尿蛋白(+),或虽无蛋白尿但合并有下列任何一项者。血小板减少、肝功能损害、肾功能损害、肺水肿、新发中枢神经系统异常或视觉障碍。本研究所有研究对象排除妊娠感染、妊娠期糖尿病,且均为单胎妊娠,对照组和PE组一般资料具有可比性,两组孕妇年龄、孕前体质质量指数(BMI)和初胎比例比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。对照组孕早期(12~14周)、孕中期(20~24周)和孕晚期(28~32周)血液标本均为82例,初胎比率为48.8%(40/82),年龄22~37岁,孕前BMI( $21.7 \pm 3.3$ ) kg/m<sup>2</sup>;PE组完成孕早期标本收集70例、孕中期标本收集80例、孕晚期标本收集82例,初胎比率为46.3%(38/82),年龄22~38岁,孕前BMI( $23.1 \pm 3.5$ ) kg/m<sup>2</sup>,PE诊

断孕周( $35.1 \pm 2.8$ )周。

**1.2 标本采集、处理及保存** 采用真空采血管采集研究对象空腹全血标本3~5 mL,静置20 min后用离心力1 500×g首次离心10 min,收集上层血清后用12 000×g离心力二次离心10 min,转移上清液至无RNA酶的无菌容器中,−80℃保存备用。

**1.3 血清RNA提取** 采用试剂盒miRNeasy Serum/Plasma kit(Qiagen)提取血清中总RNA,操作步骤参见本课题组已经发表的文章<sup>[7]</sup>,简述如下:将1 mL的Trizol溶解液加入200 μL血清中,充分颠倒混匀后室温静置2 min后加入3.5 μL的cel-miR-39( $1.6 \times 10^8$  /μL, Qiagen)作为内参,然后依次用三氯甲烷、无水乙醇、缓冲液、80%乙醇溶液等,末次洗涤后的洗脱柱高速离心5 min,最后加入14 μL无RNA酶水溶解总RNA。

**1.4 反转录PCR和荧光定量PCR** 采用二步法分别进行反转录和荧光定量PCR<sup>[7]</sup>。采用反转录试剂盒miScript II(Qiagen)合成cDNA第1链(加尾法),将总体积为20 μL的反转录体系置于扩增仪(Bioer)中,反转录条件为37℃ 1 h、95℃ 5 min。采用荧光定量PCR试剂盒miScript SYBR green PCR(Qiagen)和PCR扩增仪ABI 7500进行荧光实时定量PCR。PCR反应体系总体积为20 μL,其中含2 μL 100倍稀释的cDNA<sup>[7]</sup>。以RNA抽提过程中加入的cel-miR-39为内参基因。cel-miR-39和miR-210分别在两孔中进行扩增,每个标本每个基因均设置3个平行复孔,Ct值取3孔平均值。单个标本miR-210的表达水平用相对miR-39的Ct差值表示,miR-210差异表达的相对定量分析用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法。

**1.5 血清IL-6水平测定** 采用酶联免疫吸附试验试剂盒(BD)检测孕妇血清IL-6水平,具体操作步骤参见说明书,该试剂盒的检出限为2.2 pg/mL,且重复性、精密度和中间精密密度均 $< 10\%$ 。

**1.6 统计学处理** 采用SPSS20.0统计软件进行数据分析处理。对数据进行Shapiro-Wilk正态性检验后,同一组内不同孕期IL-6、miR-210表达水平差异采用Kruskal-Wallis H检验,并采用Bonferroni法校正显著水平。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用t检验;不符合正态分布的计量资料以 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示,组间比较采用Mann-Whitney U检验。IL-6与miR-210的相关性采用Spearman相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学

意义。

2 结 果

2.1 PE 组和对照组孕早、中、晚期血清 IL-6 表达水平比较 对照组不同孕期的血清 IL-6 表达水平差异无统计学意义( $P>0.05$ )。PE 组孕晚期 IL-6 表达水平明显高于孕早期和孕中期,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。PE 组孕晚期 IL-6 表达水平明显高于对照组孕晚期,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),PE 组孕中期 IL-6 表达水平虽然高于对照组,但差异无统计学意义( $P=0.12$ )。PE 组和对照组孕早期 IL-6 表达水平差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 1。

表 1 PE 组和对照组孕早、中、晚期血清 IL-6 表达水平比较 [ $M(P_{25} \sim P_{75})$ , pg/mL]

| 组别   | 孕早期              | 孕中期              | 孕晚期                              |
|------|------------------|------------------|----------------------------------|
| PE 组 | 5.33(0.00~80.74) | 5.58(0.00~60.69) | 17.16(0.00~417.60)* <sup>#</sup> |
| 对照组  | 5.40(0.00~18.57) | 4.98(0.00~17.50) | 5.34(0.00~21.14)                 |

注:与孕早、中期比较,\* $P<0.05$ ;与对照组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ 。

2.2 PE 组和对照组孕早、中、晚期血清 miR-210 表达水平比较 对照组不同孕期的血清 miR-210 表达水平差异无统计学意义( $P>0.05$ )。PE 组孕晚期 miR-210 表达水平明显高于孕早期和孕中期,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。PE 组孕中期和孕晚期 miR-210 表达水平均明显高于对照组孕中期和孕晚期,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );PE 组和对照组孕早期 miR-210 表达水平差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 2。

表 2 PE 组和对照组孕早、中、晚期 miR-210 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s, \Delta Ct$ )

| 组别   | 孕早期            | 孕中期                         | 孕晚期                         |
|------|----------------|-----------------------------|-----------------------------|
| PE 组 | 9.9 $\pm$ 1.8  | 8.3 $\pm$ 2.0* <sup>#</sup> | 6.7 $\pm$ 2.1* <sup>#</sup> |
| 对照组  | 10.6 $\pm$ 1.9 | 10.4 $\pm$ 1.7              | 10.8 $\pm$ 1.9              |

注:与同组孕早期比较,\* $P<0.05$ ;与对照组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ 。

2.3 孕早、中、晚期血清 IL-6 和 miR-210 相对表达水平相关性分析 进一步对血清 IL-6 和 miR-210 的表达水平进行相关性分析发现,血清 IL-6 和 miR-210 的表达水平呈正相关( $r=0.57, P<0.01$ )。见图 1。

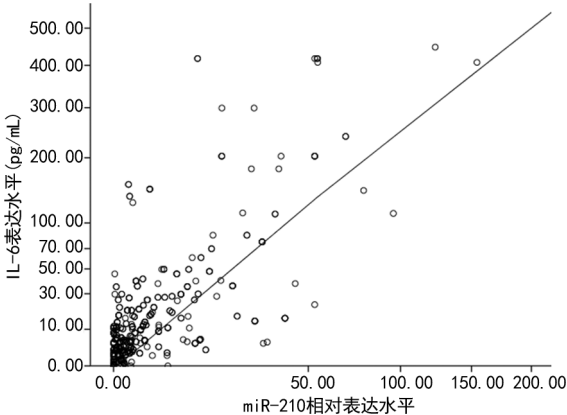


图 1 血清 IL-6 和 miR-210 表达量的相关性分析

3 讨 论

本研究通过分析 PE 患者和正常妊娠女性孕早、中、晚期血清 miR-210 和 IL-6 表达水平变化发现,在正常妊娠过程中,外周血 miR-210、IL-6 表达水平差异无统计学意义( $P>0.05$ ),但在 PE 患者妊娠过程中,在孕 20 周后 miR-210 表达水平升高,在妊娠 28 周后 IL-6 水平明显增加,且 miR-210 与 IL-6 的表达呈正相关。miR-210 是低氧诱导的微小 RNA,低氧环境可以通过增加低氧诱导因子 1 $\alpha$  的表达使 miR-210 水平上调<sup>[8]</sup>。除了低氧,氧化应激压力和炎症也能调节 miR-210 的表达水平。IL-6 是 gp130 家族的细胞因子,可由多种细胞分泌,IL-6 通过细胞膜上的 gp130 向 JAK/STAT3 通路传递信号,参与免疫反应、急性时相反应。

胎盘灌注不足进而引起全身各系统灌注减少,是 PE 的重要特征。PE 是一种动态性疾病,病情可呈持续性发展,主要表现为妊娠 20 周后出现高血压和蛋白尿,部分患者有多脏器和多系统损害,严重者可发生子痫<sup>[9]</sup>。胎盘灌注不足引起的胎盘低氧环境导致大量毒性因子释放进入外周循环,进而引起内皮细胞功能紊乱、血管收缩、血压升高,出现多系统功能紊乱,这是 PE 的基本病理变化。本研究中 PE 患者孕中、晚期 miR-210 表达水平升高的结果与 PE 患者全身低灌注的病理变化相符,也与文献<sup>[3-4]</sup>报道一致。胎盘中升高的 miR-210 可能以外泌体的形式分泌到外周血中<sup>[10]</sup>,进而引起外周血中 miR-210 表达水平升高。上调的 miR-210 可通过抑制 HOXA9、EFNA3、THSD7A 等靶基因的表达,减弱滋养细胞的迁移和侵袭能力<sup>[3-4]</sup>,但这个过程与 PE 的病因相关,发生在妊娠 20 周前。miR-210 上调可能是 PE 的病因,也可能是 PE 的表现,本研究中 PE 患者孕中、晚期外周血 miR-210 水平升高的结果提示,miR-210 水平升高可能是 PE 的一种反馈性机制,这种反馈性机制是保护性还是危害性尚不得而知。

从免疫学角度看,妊娠是一个同种异体的移植过程,是一个全身低度无菌炎症状态,表现为妊娠女性的白细胞增多、补体活化等,难治性高血压、蛋白尿等 PE 临床症状是全身失控性炎症反应的表现<sup>[11]</sup>。有文献报道,PE 患者孕中、晚期外周血炎症因子 IL-6 水平明显高于正常妊娠女性,且重度 PE 患者的循环 IL-6 水平高于轻度 PE 患者,IL-6 可以进一步诱导内皮细胞产生内皮素 1(ET-1),ET-1 与血管舒缩、水钠潴留密切相关,IL-6 中和抗体使 PE 小鼠的高血压和蛋白尿水平降低<sup>[5,12-13]</sup>,说明 IL-6 在 PE 的发病过程中发挥重要作用,降低 IL-6 水平可能控制 PE 的临床症状,从而延长妊娠时间,使母婴受益最大化。但也有研究指出,PE 患者的外周血 IL-6 水平与正常妊娠女性无差异<sup>[14-15]</sup>,这可能与标本的采集时间(孕周、是否空腹)及研究对象的组成差异相关。本研究所有标本均为空腹采集,两组研究对象孕前 BMI 无明显差异,

排除了感染、糖尿病等其他妊娠并发症,PE 患者在妊娠 28 周后血清 IL-6 水平高于同孕周的对照组,支持 PE 患者孕后期 IL-6 水平升高的论点。

本研究通过分析正常妊娠女性及 PE 患者不同孕期血清 miR-210 和 IL-6 的相关性发现,miR-210 与 IL-6 呈正相关,miR-210 可能通过某种机制与炎症反应、IL-6 分泌关联,这可能会对 PE 的发病机制研究有一定意义。本研究通过探索妊娠各期外周血中 miR-210、IL-6 的水平变化规律发现,PE 患者孕中、晚期 miR-210 和 IL-6 表达水平上调,其表达上调先于 PE 的临床诊断,提示血清 miR-210 和 IL-6 可能是 PE 的预测和诊断生物标志物。但由于本研究的病例数有限,且未对 PE 的疾病严重程度进行分类,其结果可能具有一定程度的偏倚,有待更多的研究来证实。

4 结 论

综上所述,本研究发现,妊娠期血清 miR-210 与 IL-6 的表达有一定相关性,PE 患者孕中、晚期 miR-210 和 IL-6 表达水平上调,孕中、晚期血清 IL-6 和 miR-210 可能是 PE 预测和诊断的良好标志物。

参考文献

[1] YOUNG B C,LEVINE R J,KARUMANCHI S A. Pathogenesis of preeclampsia[J]. Annu Rev Pathol,2010,5: 173-192.

[2] HARMON A C,CORNELIUS D C,LAMARCA B. The role of inflammation in the pathology of preeclampsia[J]. Clin Sci (Lond),2016,130(6):409-419.

[3] LUO R,WANG Y,XU P,et al. Hypoxia-inducible miR-210 contributes to preeclampsia via targeting thrombospondin type I domain containing 7A [J]. Sci Rep, 2016,6:19588.

[4] ZHANG Y,FEI M,XUE G,et al. Elevated levels of hypoxia-inducible microRNA-210 in pre-eclampsia; new insights into molecular mechanisms for the disease [J]. J Cell Mol Med,2012,16(2):249-259.

[5] XIAO J P,YIN Y X,GAO Y F,et al. The increased ma-

ternal serum levels of IL-6 are associated with the severity and onset of preeclampsia[J]. Cytokine,2012,60(3): 856-860.

[6] 谢幸,孔北华,段涛. 妇产科学[M]. 9 版. 北京:人民卫生出版社,2018:83.

[7] 厉倩,龙安雄,洪茂,等. 子痫前期孕妇孕早期血清 miR-520g 表达分析[J]. 检验医学,2015,30(4):345-348.

[8] HUANG X,LE Q T,GIACCIA A J. MiR-210--micromanager of the hypoxia pathway[J]. Trends Mol Med,2010,16 (5):230-237.

[9] REDMAN C W,SARGENT I L. Latest advances in understanding preeclampsia[J]. Science,2005,308(5728): 1592-1594.

[10] BIRO O,ALASZTICS B,MOLVAREC A,et al. Various levels of circulating exosomal total-miRNA and miR-210 hypoxamiR in different forms of pregnancy hypertension [J]. Pregnancy Hypertens,2017,10:207-212.

[11] COTECHINI T,GRAHAM C H. Aberrant maternal inflammation as a cause of pregnancy complications; A potential therapeutic target? [J]. Placenta,2015,36(8):960-966.

[12] ZHOU C C,IRANI R A,DAI Y,et al. Autoantibody-mediated IL-6-dependent endothelin-1 elevation underlies pathogenesis in a mouse model of preeclampsia[J]. J Immunol,2011,186(10):6024-6034.

[13] VALENCIA-ORTEGA J,ZARATE A,SAUCEDO R,et al. Placental proinflammatory state and maternal endothelial dysfunction in preeclampsia[J]. Gynecol Obstet Invest,2019,84(1):12-19.

[14] OVAYOLU A,TURKSOY V A,OVAYOLU G,et al. Analyses of interleukin-6, presepsin and pentraxin-3 in the diagnosis and severity of late-onset preeclampsia[J]. J Matern Fetal Neonatal Med,2020,21:1-9.

[15] SERRANO N C,GUIO E,BECERRA-BAYONA S M,et al. C-reactive protein, interleukin-6 and preeclampsia: large-scale evidence from the genPE case-control study [J]. Scand J Clin Lab Invest,2020,80(5):381-387.

(收稿日期:2020-03-26 修回日期:2020-09-01)

(上接第 2606 页)

[8] 张俊威. 晋中市健康妊娠妇女血细胞参考区间的建立 [J]. 山西医药杂志,2016,45(18):2195-2196.

[9] 朱凡,王欣茹,时磊,等. 妊娠期贫血相关指标参考区间的建立[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(10):1387-1388.

[10] 岳波,刘曼娇,唐大海,等. 血细胞参数个性化参考区间的建立及验证[J]. 临床检验杂志,2017,35(2):107-110.

[11] 杜雨轩,王薇,何法霖,等. 全国 861 家临床实验室特殊蛋白检测项目参考区间现状调查及结果分析[J]. 临床检验

杂志,2020,38(2):157-160.

[12] 程琼,杨妙琳,张竞文,等. 新生儿甲状腺功能指标生物参考区间的建立及验证研究[J]. 中国医学创新,2019,16 (25):39-44.

[13] 李昕,贾正仙. 基于医学检验大数据建立与验证昆明地区人群胆红素的生物参考区间[J]. 云南医药,2019,40(4): 335-337.

(收稿日期:2020-02-21 修回日期:2020-06-20)