

# 子痫前期并发幽门螺旋杆菌感染患者血清 miR-31-5p 表达与不良妊娠结局的相关性研究

于 艳<sup>1</sup>, 白青山<sup>1</sup>, 才蔚涛<sup>2</sup>

(1. 唐山市妇幼保健院, 河北唐山 063000; 2. 中国人民解放军联勤保障部队第982医院, 河北唐山 063000)

**摘要:** **目的** 探究血清微小核糖核酸-31-5p (miR-31-5p) 表达与子痫前期 (PE) 并发幽门螺旋杆菌 (Hp) 感染患者不良妊娠结局的相关性。**方法** 选取2019年1月~2020年5月在唐山市妇幼保健院就诊的204例PE并发Hp感染患者作为研究对象, 并根据妊娠结局将其分为不良妊娠组 ( $n=121$ ) 和正常妊娠组 ( $n=83$ )。用实时荧光定量PCR法检测PE确诊时 (T0)、妊娠28周第1天 (T1) 和妊娠30周第1天 (T2) 的血清miR-31-5p表达量。**结果** 不良妊娠组的收缩压、舒张压、24 h尿蛋白和剖宫产率分别为  $155.64 \pm 11.89$  mmHg,  $101.25 \pm 6.16$  mmHg,  $2.69 \pm 0.52$  g/24 h 和 85.95%, 均高于正常妊娠组 ( $151.75 \pm 11.34$  mmHg,  $97.93 \pm 8.79$  mmHg,  $2.06 \pm 0.29$  g/24 h 和 65.06%); 分娩孕周为  $34.79 \pm 2.06$  周, 低于正常妊娠组 ( $37.94 \pm 0.97$  周), 差异均有统计学意义 ( $t/\chi^2=2.344 \sim 14.631$ , 均  $P<0.05$ )。不良妊娠组的血清 T0-miR-31-5p, T1-miR-31-5p 和 T2-miR-31-5p 相对表达量分别为  $2.42 \pm 0.39$ ,  $2.20 \pm 0.42$  和  $2.10 \pm 0.25$ , 均高于正常妊娠组 ( $2.11 \pm 0.32$ ,  $1.76 \pm 0.33$  和  $1.69 \pm 0.20$ ), 差异均有统计学意义 ( $t=6.025 \sim 12.657$ , 均  $P=0.000$ )。T2-miR-31-5p 预判 PE 并发 Hp 感染患者妊娠结局的受试者工作特征曲线下面积高于 T0-miR-31-5p 和 T1-miR-31-5p, 差异均有统计学意义 ( $Z=4.957$ ,  $P=0.000$ ;  $Z=3.009$ ,  $P=0.003$ )。Logistic 回归分析结果显示 24 h 尿蛋白高 (OR=15.250, 95%CI: 2.804~81.781) 剖宫产 (OR=7.954, 95%CI: 1.416~44.675) 和 T2-miR-31-5p 高 (OR=24.479, 95%CI: 6.365~94.148) 是 PE 并发 Hp 感染患者妊娠结局不良的独立危险因素, 分娩孕周 (OR=0.244, 95%CI: 0.132~0.452) 是 PE 并发 Hp 感染患者妊娠结局不良的独立保护因素。**结论** 血清 T2-miR-31-5p 表达量高与 PE 并发 Hp 感染患者不良妊娠结局有关。

**关键词:** 子痫前期; 幽门螺旋杆菌; 微小核糖核酸-31-5p; 不良妊娠结局

**中图分类号:** R714.255; R392.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2022) 01-017-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2022.01.004

## Correlation between Serum miR-31-5p Expression and Adverse Pregnancy Outcomes in Patients with Preeclampsia Complicated with *Helicobacter Pylori* Infection

YU Yan<sup>1</sup>, BAI Qing-shan<sup>1</sup>, CAI Wei-tao<sup>2</sup>

(1. Tangshan Maternity and Child Health Hospital, Hebei Tangshan 063000, China; 2. the 982th Hospital of the Joint Logistics Support Force of the Chinese People's Liberation Army, Hebei Tangshan 063000, China)

**Abstract: Objective** To explore the correlation between serum microRNA-31-5p (miR-31-5p) expression and adverse pregnancy outcomes in patients with preeclampsia (PE) complicated with *Helicobacter pylori* (Hp). **Methods** A total of 204 patients with PE complicated with Hp treated in Tangshan Maternity and Child Health Hospital from January 2019 to May 2020 were selected as the research objects, divided into the poor pregnancy group ( $n=121$ ) and the normal pregnancy group ( $n=83$ ) according to the pregnancy outcome. The expression level of serum miR-31-5p at the time of PE diagnosis (T0), the first day of 28th week of gestation (T1) and the first day of 30th week of gestation (T2) were detected by real-time quantitative PCR. **Results** The systolic blood pressure, diastolic blood pressure, 24 h urinary protein and the rates of cesarean section in the poor pregnancy group were  $155.64 \pm 11.89$  mmHg,  $101.25 \pm 6.16$  mmHg,  $2.69 \pm 0.52$  g/24h and 85.95%, respectively, which were higher than those in the normal pregnancy group ( $151.75 \pm 11.34$  mmHg,  $97.93 \pm 8.79$  mmHg,  $2.06 \pm 0.29$  g/24 h and 65.06%), the gestational perimeter of delivery was  $34.79 \pm 2.06$  weeks, which was lower than that of the normal pregnancy group ( $37.94 \pm 0.97$ ) weeks, with statistically significant ( $t/\chi^2=2.344 \sim 12.302$ , all  $P < 0.05$ ). The relative expression levels of serum T0-miR-31-5p, T1-miR-31-5p and T2-miR-31-5p in the poor pregnancy group were  $2.42 \pm 0.39$ ,  $2.20 \pm 0.42$  and  $2.10 \pm 0.25$ , respectively, which were all higher than those in the normal pregnancy group ( $2.11 \pm 0.32$ ,  $1.76 \pm 0.33$  and  $1.69 \pm 0.20$ ), with statistically significant ( $t=6.025 \sim 12.657$ , all  $P=0.000$ ).

**基金项目:** 河北省医学科学研究基金项目 (20201487)。

**作者简介:** 于艳 (1984-), 女, 本科, 主治医师, 主要从事子痫前期的治疗及预后标志物研究, E-mail: y12356yy@163.com。

The area under the receiver operating characteristic curve of T2-miR-31-5p in predicting pregnancy outcome of patients with PE complicated with Hp was higher than that of T0-miR-31-5p and T1-miR-31-5p, with statistically significant ( $Z=4.957$ ,  $P=0.000$ ;  $Z=3.009$ ,  $P=0.003$ ). Logistic regression analysis showed that high 24 h urine protein ( $OR=15.250$ , 95%CI:2.844~81.781), high rates of cesarean section ( $OR=7.954$ , 95%CI:1.416~44.675) and high T2-miR-31-5p ( $OR=24.479$ , 95%CI:0.132~0.452) were independent risk factors for poor pregnancy outcome in patients with PE complicated with Hp, and long gestational perimeter of delivery ( $OR=0.244$ ,  $P=0.000$ ) was an independent protective factor for poor pregnancy outcome in patients with PE complicated with Hp.

**Conclusion** The high expression of serum T2-miR-31-5p is related to the adverse pregnancy outcome of patients with PE complicated with Hp.

**Keywords:** preeclampsia; *Helicobacter pylori*; microRNA-31-5p; adverse pregnancy outcome

子痫前期 (preeclampsia, PE) 是妊娠期常见的特发性疾病之一, 患者常伴有血压升高、蛋白尿等临床特征, 严重影响着母婴健康<sup>[1-2]</sup>。幽门螺旋杆菌 (*Helicobacter pylori*, Hp) 是一种常见的消化道致病菌, 其可通过炎症反应、脂代谢紊乱等引发的血管内皮功能障碍促进 PE 发病和进展<sup>[3-4]</sup>。对于 PE 并发 Hp 感染患者, 应重点关注, 以防其发生不良妊娠事件。早期预判 PE 患者妊娠结局, 并及时给予治疗, 可有效降低不良妊娠事件的发生率。微小核糖核酸 -31-5p (microRNA-31-5p, miR-31-5p) 已被证实可下调内皮一氧化氮合酶诱发血管内皮功能障碍, 促使 PE 发病和进展<sup>[5]</sup>, 或可用于预判 PE 患者妊娠结局。目前, 鲜有研究分析其与 PE 不良妊娠结局的关系, 因此, 本研究主要分析 miR-31-5p 与 PE 并发 Hp 感染患者不良妊娠结局的关系, 以期为 PE 并发 Hp 感染患者不良妊娠结局的预防和治疗提供帮助。

## 1 材料与方法

**1.1 研究对象** 选取 2019 年 1 月~2020 年 5 月在唐山市妇幼保健院就诊的 204 例 PE 并发 Hp 感染患者作为研究对象, 患者年龄 24~40 ( $31.87 \pm 3.68$ ) 岁; 孕前体质质量指数 (body mass index, BMI) 为  $25.69 \pm 2.42 \text{ kg/m}^2$ ; 辅助生殖 27 例; 发病孕周 21~27 ( $24.50 \pm 1.47$ ) 周; 确诊时的收缩压 (systolic blood pressure, SBP) 为  $154.06 \pm 11.80 \text{ mmHg}$ , 舒张压 (diastolic blood pressure, DBP) 为  $99.90 \pm 7.50 \text{ mmHg}$ ; 24 h 尿蛋白为  $2.44 \pm 0.54 \text{ g/24 h}$ ; 分娩孕周为 32~40 ( $36.07 \pm 2.30$ ) 周; 剖宫产 187 例。根据<sup>13</sup>C-尿素呼气试验检查结果确定是否存在 Hp 感染, PE 诊断参照《妇产科学 (第 9 版)》<sup>[6]</sup> 中相关标准。纳入标准: ①符合 PE 诊断标准; ②首次妊娠, 单胎; ③发病于妊娠 28 周前, 并接受降压治疗。排除标准: ①伴血液系统疾病、冠心病或恶性肿瘤等; ②严重肝肾功能异常; ③有高血压或子痫前期家族病史; ④不配合完成研究所需检查; ⑤不签署知情同意书。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》, 所有受试者知情同意并签署了知情同意书, 经唐山市妇幼保健院医学伦理委员会批准 (批号: 2019-015-001)。

**1.2 仪器与试剂** TDL5M 型低温离心机 (杭州川一实验仪器有限公司), 752 型紫外分光光度计 (上海光学仪器五厂有限公司), 9700 型 PCR 仪 (美国 ABI 公司), miR-31-5p 和内参 U6 引物 (上海吉玛制药技术有限公司), RNA 提取试剂盒和反转录试剂盒 (日本 TAKARA 公司)。

## 1.3 方法

**1.3.1 miR-31-5p 表达量检测:** 抽取 PE 并发 Hp 感染患者确诊时 (T0)、妊娠 28 周第 1 天 (T1) 和妊娠 30 周第 1 天 (T2) 的外周静脉血 10 ml, 4℃ 下离心, 提取血清, 将其冻存在 -80℃ 冰箱中。用实时荧光定量 PCR 法<sup>[7]</sup> 检测血清中 miR-31-5p 表达量。步骤如下: ①解冻血清, 用 RNA 提取试剂盒提取血清中总 RNA; ②用紫外分光光度计检测 RNA 纯度, 本实验中 RNA 的吸光度值比 ( $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ ) 在 1.9~2.0 之间; ③用反转录试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA; ④用 PCR 仪扩增 cDNA, 扩增条件为 95℃ 10 min, 95℃ 15 s, 60℃ 30 s, 72℃ 30 s, 40 个循环。miR-31-5p 上游序列: 5'-ACACTCCAGCTGGGAGGCAAGATGCTGGC-3', 下游序列: 5'-TGTGGTCGTGGAGTCG-3'; 内参 U6 上游序列: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', 下游序列: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算 miR-31-5p 的相对表达量。

**1.3.2 随访:** 本研究中所有受试者均随访至生产, 记录妊娠结局。参照文献 [8], 本研究将随访过程中出现羊水污染大于Ⅲ度 (羊水呈棕黄色, 稠厚)、胎儿宫内窘迫、胎儿死亡、子痫、HELLP 综合征、肺水肿或心衰定义为妊娠结局不良。

**1.4 统计学分析** 用 R (3.6.3 版) 软件 (<https://cran.r-project.org/>) 进行统计分析。正态分布的计量资料用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间比较用独立样本 *t* 检验; 重复测量数据用重复测量方差分析。计数资料用 *n* (%) 表示, 组间比较用  $\chi^2$  检验。用受试者工作特征 (ROC) 曲线评价 miR-31-5p 预判 PE 并发 Hp 感染患者妊娠结局的效能。用 Logistic 回归分析 miR-31-5p 与 PE 并发 Hp 感染患者不良妊娠结局的关系。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 不良妊娠组和正常妊娠组临床基线资料比较 见表1。204例PE并发Hp感染患者中有121例妊娠结局不良,其中羊水污染大于Ⅲ度58例,胎儿宫内窘迫34例,胎儿死亡4例,子痫9例,HELLP综合征6例,肺水肿4例,心衰6例。根据妊娠结局将204例PE并发Hp感染患者分为不良妊娠组

( $n=121$ )和正常妊娠组( $n=83$ )。不良妊娠组和正常妊娠组的年龄、BMI,辅助生殖占比和发病孕周差异均无统计学意义(均 $P>0.05$ )。不良妊娠组的SBP, DBP, 24 h尿蛋白和剖宫产率均高于正常妊娠组,分娩孕周低于正常妊娠组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$ )。

表1 两组临床基线资料比较 [ $\bar{x} \pm s, n(\%)$ ]

项目	不良妊娠组( $n=121$ )	正常妊娠组( $n=83$ )	$t/\chi^2$	$P$
年龄(岁)	$32.00 \pm 3.58$	$31.69 \pm 3.84$	0.596	0.552
BMI( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	$25.58 \pm 2.26$	$25.84 \pm 2.64$	0.731	0.465
辅助生殖	18(14.88)	9(10.84)	0.679	0.404
发病孕周(周)	$24.55 \pm 1.36$	$24.42 \pm 1.63$	0.607	0.545
SBP(mmHg)	$155.64 \pm 11.89$	$151.75 \pm 11.34$	2.344	0.020
DBP(mmHg)	$101.25 \pm 6.16$	$97.93 \pm 8.79$	2.977	0.003
24 h尿蛋白( $\text{g}/24\text{h}$ )	$2.69 \pm 0.52$	$2.06 \pm 0.29$	11.153	0.000
分娩孕周(周)	$34.79 \pm 2.06$	$37.94 \pm 0.97$	14.631	0.000
剖宫产	104(85.95)	54(65.06)	12.302	0.000

2.2 不良妊娠组和正常妊娠组的血清miR-31-5p表达量比较 见表2。不良妊娠组和正常妊娠组的血清miR-31-5p相对表达量差异有统计学意义( $F=199.571, P=0.000$ ),不良妊娠组的血清T0-miR-31-5p, T1-miR-31-5p和T2-miR-31-5p相对表达量均高于正常妊娠组,差异有统计学意义(均 $P<0.05$ );T0-miR-31-5p, T1-miR-31-5p和T2-miR-31-5p相对表达量差异有统计学意义( $F=66.074, P=0.000$ ),两组的血清miR-31-5p相对表达量随时间进展均降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ );妊娠结局和时间无交互效应( $F=2.372, P=0.095$ )。

2.3 血清miR-31-5p预判PE并发Hp感染患者妊娠结局的价值 见表3和图1。T2-miR-31-5p预判

PE并发Hp感染患者妊娠结局的ROC曲线下面积高于T0-miR-31-5p和T1-miR-31-5p,差异均有统计学意义( $Z=4.957, P=0.000; Z=3.009, P=0.003$ )。T0-miR-31-5p预判PE并发Hp感染患者妊娠结局的ROC曲线下面积与T1-miR-31-5p相当,差异无统计学意义( $Z=1.549, P=0.212$ )。

表2 两组的血清miR-31-5p相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

类别	不良妊娠组( $n=121$ )	正常妊娠组( $n=83$ )	$t$	$P$
T0	$2.42 \pm 0.39$	$2.11 \pm 0.32$	6.025	0.000
T1	$2.20 \pm 0.42$	$1.76 \pm 0.33$	8.080	0.000
T2	$2.10 \pm 0.25$	$1.69 \pm 0.20$	12.657	0.000

表3 血清miR-31-5p预判PE并发Hp感染患者妊娠结局的价值

项目	曲线下面积	95%CI	最佳截断点	灵敏度(%)	特异度(%)
T0-miR-31-5p	0.721	0.652 ~ 0.790	2.48	44.63	90.36
T1-miR-31-5p	0.797	0.737 ~ 0.857	1.88	82.64	63.86
T2-miR-31-5p	0.907	0.867 ~ 0.947	1.91	78.51	87.95

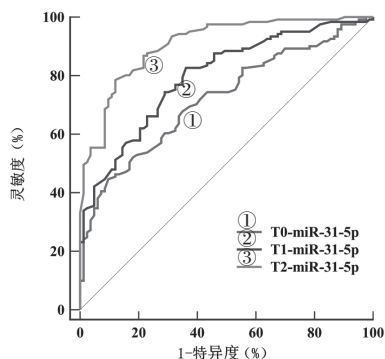


图1 血清miR-31-5p预判PE并发Hp感染患者妊娠结局的ROC曲线

2.4 PE并发Hp感染患者妊娠结局的风险因素分析 将PE并发Hp感染患者妊娠结局作为因变量,将SBP, DBP, 24 h尿蛋白、剖宫产、分娩孕周和T2-miR-31-5p作为自变量(纳入标准为单因素分析的 $P<0.10$ ),变量赋值见表4。纳入多因素Logistic回归分析,结果显示24 h尿蛋白高、剖宫产和T2-miR-31-5p高是PE并发Hp感染患者妊娠结局不良的独立危险因素( $P<0.05$ ),分娩孕周是PE并发Hp感染患者妊娠结局不良的独立保护因素( $P<0.05$ ),见表5。

## 3 讨论

PE可引发患者子痫、HELLP综合征、肺水肿



或心衰等,并可导致胎儿宫内窘迫、胎儿死亡等。目前,尚无有效药物治疗 PE,唯一治愈 PE 的方法是终止妊娠。终止妊娠过早会增加妊娠结局不良发生率,过度延长妊娠时间不仅会导致各种并发症,还可能影响妊娠结局<sup>[8]</sup>。早期预判 PE 并发 Hp 感染患者妊娠结局对于治疗方案的制定有着重要意义。miR-31-5p 已被证实与 PE 发病和进展有关<sup>[5,9-11]</sup>,本研究主要分析血清 miR-31-5p 与 PE 并发 Hp 感染患者妊娠结局的关系,以期为其后续管理提供帮助。

表 5 PE 并发 Hp 感染患者妊娠结局的风险因素分析

类别	$\beta$	SE	Wald	P	OR	95%CI
SBP	0.036	0.029	1.590	0.207	1.037	0.980 ~ 1.097
DBP	0.045	0.042	1.164	0.281	1.046	0.964 ~ 1.136
24 h 尿蛋白	2.725	0.857	10.110	0.001	15.250	2.844 ~ 81.781
剖宫产	2.074	0.880	5.547	0.019	7.954	1.416 ~ 44.675
分娩孕周	-1.409	0.314	20.152	0.000	0.244	0.132 ~ 0.452
T2-miR-31-5p	3.198	0.687	21.650	0.000	24.479	6.365 ~ 94.148

本研究结果显示不良妊娠组和正常妊娠组的血清 miR-31-5p 相对表达量随时间进展均降低,且不良妊娠组的血清 T0-miR-31-5p, T1-miR-31-5p 和 T2-miR-31-5p 相对表达量均高于正常妊娠组,上述结果提示 miR-31-5p 与 PE 并发 Hp 感染患者妊娠结局有关,是其潜在的生物标志物。本研究构建了 miR-31-5p 判断 PE 并发 Hp 感染患者妊娠结局的 ROC 曲线,结果显示 T2-miR-31-5p 预判 PE 并发 Hp 感染患者妊娠结局的 ROC 曲线下面积为 0.907,高于 T0-miR-31-5p 和 T1-miR-31-5p,该结果提示其对 PE 并发 Hp 感染患者妊娠结局有一定预判价值,可辅助临床决策。

本研究分析了 PE 并发 Hp 感染患者妊娠结局的风险因素,结果显示 T2-miR-31-5p 高是 PE 并发 Hp 感染患者妊娠结局不良的独立危险因素,推测其原因是 miR-31-5p 可下调内皮一氧化氮合酶加重血管内皮炎症损伤,进而诱发血管内皮功能障碍<sup>[5]</sup>,此外,其还可调节滋养细胞浸润<sup>[5,9-11]</sup>,上述病理生理过程均参与了 PE 的发病和进展过程,因此,miR-31-5p 表达量可反映 PE 并发 Hp 感染患者不良妊娠结局。此外,本研究结果还显示 24 h 尿蛋白高和剖宫产是 PE 并发 Hp 感染患者妊娠结局不良的独立危险因素,分娩孕周是 PE 并发 Hp 感染患者妊娠结局不良的独立保护因素,与既往研究<sup>[12-14]</sup>报道结果一致。

综上所述,血清 T2-miR-31-5p 表达量高与 PE 并发 Hp 感染患者不良妊娠结局有关,其可辅助临床医师制定 PE 治疗方案。本研究尚存在一定不足,

表 4 变量赋值

类别	赋值
SBP	原始值录入
DBP	原始值录入
24 h 尿蛋白	原始值录入
剖宫产	否 =0, 是 =1
分娩孕周	原始值录入
T2-miR-31-5p	原始值录入
妊娠结局	妊娠结局正常 =0, 妊娠结局不良 =1

一是仅选取了孕周 28 周前 PE 并发 Hp 感染患者作为研究对象,对于 miR-31-5p 是否可用于预判孕周 28 周后 PE 发病的患者或未感染 Hp 的 PE 患者的妊娠结局尚未可知;二是本研究仅分析了 PE 确诊、妊娠 28 周和妊娠 30 周时的 miR-31-5p 与妊娠结局的关系,对于其他时点的 miR-31-5p 与妊娠结局的关系还未可知;三是本研究未探究 Hp 感染与 PE 患者血清 miR-31-5p 表达的关系,今后将开展研究进行分析,以弥补本研究不足;四是纳入样本量有限,分析结果可能存在一定偶然性,后续还需开展大样本、多中心研究进行验证。

#### 参考文献:

- [1] SHI Mei, CHEN Xiuyun, LI Hui, et al.  $\delta$ -tocotrienol suppresses the migration and angiogenesis of trophoblasts in preeclampsia and promotes their apoptosis via miR-429/ ZEB1 axis[J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 1861-1873.
- [2] 徐晓锋,郭历琛,徐玲,等. 孕妇血清 PLGF,sFlt-1,Ca<sup>2+</sup>,25-(OH)-D 水平检测及其他危险因素分析对预测子痫前期的临床意义 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(5):35-39.  
XU Xiaofeng, GUO Lichen, XU Ling, et al. Clinical significance of serum PLGF,sFlt-1 ,Ca<sup>2+</sup> ,25-(OH)-D levels and other risk factors in pregnant women in predicting preeclampsia [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(5):35-39.
- [3] NOUROLAHPOUR S M, RIAHI S M, ADAM I, et al. *Helicobacter pylori* infection and risk of preeclampsia: a systematic review and meta-analysis[J]. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, 2019, 32(2): 324-331.  
(下转第 32 页)