

子痫前期患者血清 lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 水平表达与病情程度及不良妊娠结局的关系分析

张金辉, 李维玲, 闫璐 (西安高新医院妇产科, 西安 710075)

摘要: **目的** 探讨子痫前期 (Preeclampsia) 患者血清长链非编码 RNA 缺氧诱导因子-1 α -反义链 1 (lncRNA HIF1A-AS1)、CXC 趋化因子配体 9 (CXCL9) 表达与病情程度及不良妊娠结局的关系。**方法** 以 2021 年 1 月~2022 年 12 月西安高新医院收治的 83 例子痫前期患者为子痫前期组, 根据确诊时间对子痫前期患者进行分组, 分为早发型子痫前期组 ($n=39$) 和晚发型子痫前期组 ($n=44$); 根据病情严重程度将子痫前期患者分为轻度子痫前期组 ($n=51$) 和重度子痫前期组 ($n=32$); 根据妊娠结局分为正常妊娠结局组 ($n=56$) 和不良妊娠结局组 ($n=27$)。收集同期的 60 例健康妊娠孕妇为对照组。采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测血清 lncRNA HIF1A-AS1 相对表达量, 酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清 CXCL9 水平。Spearman 秩相关分析血清 lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 与病情程度的相关性, Logistic 回归分析子痫前期患者不良妊娠结局影响因素, 绘制受试者工作特征 (ROC) 曲线评估血清 lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 对不良妊娠结局预测价值。**结果** 子痫前期组血清 lncRNA HIF1A-AS1 相对表达量 (0.73 ± 0.26) 低于对照组 (1.15 ± 0.34), CXCL9 水平 (209.34 ± 45.34 pg/ml) 高于对照组 (116.80 ± 37.76 pg/ml), 差异具有统计学意义 ($t=8.379, 12.903$, 均 $P<0.05$)。早发型子痫前期组血清 lncRNA HIF1A-AS1 相对表达量 (0.58 ± 0.21) 低于晚发型子痫前期组 (0.86 ± 0.27), CXCL9 水平 (236.60 ± 31.02 pg/ml) 高于对照组 (185.18 ± 23.63 pg/ml), 差异具有统计学意义 ($t=5.226, 8.551$, 均 $P<0.05$)。重度子痫前期组血清 lncRNA HIF1A-AS1 相对表达量 (0.52 ± 0.21) 低于轻度子痫前期组 (0.97 ± 0.34), 血清 CXCL9 水平 (253.38 ± 41.20 pg/ml) 高于轻度子痫前期组 (159.65 ± 40.79 pg/ml), 差异具有统计学意义 ($t=6.409, 10.152$, 均 $P<0.05$)。血清 lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 与子痫前期病情具有相关性 ($r=-0.627, 0.651$, 均 $P<0.05$)。CXCL9 [OR (95%CI): 1.581 (1.098 ~ 2.276)] 是子痫前期不良妊娠结局独立危险因素 ($P<0.05$), lncRNA HIF1A-AS1 [OR (95%CI): 0.806 (0.673 ~ 0.965)] 是保护因素 ($P<0.05$); 早发型子痫前期 [OR (95%CI): 1.390 (1.088 ~ 1.775)] 和重度子痫前期 [OR (95%CI): 1.589 (1.222 ~ 2.066)] 是不良妊娠结局危险因素 (均 $P<0.05$)。血清 lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 及指标联合预测子痫前期不良妊娠结局的 AUC 分别为 0.770, 0.767 和 0.876, 指标联合预测价值优于单一指标, 差异具有统计学意义 ($Z=2.455, 2.398$, 均 $P<0.05$)。**结论** 子痫前期患者血清 lncRNA HIF1A-AS1 表达下调, CXCL9 表达上调, 两指标与病情严重程度及不良妊娠结局有关, 早期联合检测有望成为预测子痫前期患者不良妊娠结局的标志物。

关键词: 子痫前期; 长链非编码 RNA 缺氧诱导因子-1 α -反义链 1; CXC 趋化因子配体 9; 不良妊娠结局

中图分类号: R714.244; R392.11 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2024) 06-073-07

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2024.06.012

Analysis of Relationship between Serum lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 and Disease Severity, Adverse Pregnancy Outcomes in Patients with Preeclampsia

ZHANG Jinhui, LI Weiling, YAN Lu

(Department of Gynaecology and Obstetrics, Xi'an Gaoxin Hospital, Xi'an 710075, China)

Abstract: Objective To explore the relationship between serum long non-coding RNA hypoxia-inducible factor 1 alpha antisense RNA 1 (lncRNA HIF1A-AS1), CXC chemokine ligand 9 (CXCL9) and disease severity, adverse pregnancy outcome in patients with preeclampsia. **Methods** A total of 83 patients with preeclampsia admitted to Xi'an Gaoxin Hospital January 2021 to December 2022 were taken as preeclampsia group. According to the time of diagnosis, patients with preeclampsia were divided into early onset preeclampsia group ($n=39$) and late onset preeclampsia group ($n=44$). According to the severity of the condition, patients with preeclampsia were divided into two groups: mild preeclampsia group ($n=51$) and severe preeclampsia group ($n=32$). According to pregnancy outcomes, they were divided into a normal pregnancy outcome group ($n=56$) and an adverse pregnancy outcome group ($n=27$). At the same time, 60 healthy pregnant women with pregnancy were collected as

基金项目: 陕西省科技计划项目 (编号: 2020SF-344)。

作者简介: 张金辉 (1987-), 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 妇产科, E-mail: zhangjinhui256425@163.com。

通讯作者: 闫璐 (1985-), 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 妇产科, E-mail: 302015496@qq.com。

control group. Real-time fluorescence quantitative PC(qRT-PCR) was used to detect serum lncRNA HIF1A-AS1, and enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) was used to detect serum CXCL9. Spearman rank correlation analysis was used to analyze the association between serum lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 and severity of disease. Logistic regression analysis was used to analyze the factors influencing the adverse pregnancy outcome in patients with preeclampsia. ROC curve was drawn to assess the predictive value of serum lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 for adverse pregnancy outcome. **Results** The relative expression of serum lncRNA HIF1A-AS1 (0.73 ± 0.26) in preeclampsia group was lower than that (1.15 ± 0.34) in control group, and CXCL9 level (209.34 ± 45.34 pg/ml) higher than that (116.80 ± 37.76 pg/ml) in control group, the differences were statistically significant ($t=8.379, 12.903$, all $P<0.05$). The relative expression of serum lncRNA HIF1A-AS1 (0.58 ± 0.21) in early-onset preeclampsia group was lower than that in late-onset preeclampsia group (0.86 ± 0.27), and CXCL9 level (236.60 ± 31.02 pg/ml) higher than that in late-onset preeclampsia group (185.18 ± 23.63 pg/ml), the differences were statistically significant ($t=5.226, 8.551$, all $P<0.05$). The relative expression of serum lncRNA HIF1A-AS1 (0.52 ± 0.21) in severe preeclampsia group was lower than that in late-onset preeclampsia group (0.97 ± 0.34), and CXCL9 level (253.38 ± 41.20 pg/ml) higher than that in late-onset preeclampsia group (159.65 ± 40.79 pg/ml), the differences were statistically significant ($t=6.409, 10.152$, all $P<0.05$). Serum lncRNA HIF1A-AS1 and CXCL9 were associated with condition of preeclampsia ($r=-0.627, 0.651$, all $P<0.05$). CXCL9 [OR (95%CI): 1.581 (1.098 ~ 2.276)] was independent risk factor for adverse pregnancy outcome in patients with preeclampsia ($P<0.05$). lncRNA HIF1A-AS1 [OR (95%CI): 0.806 (0.673 ~ 0.965)] was a protective factor ($P<0.05$), and early-onset preeclampsia [OR (95%CI): 1.390 (1.088 ~ 1.775)] and severe preeclampsia [OR (95%CI): 1.589 (1.222 ~ 2.066)] were risk factors for adverse pregnancy outcome (all $P<0.05$). Serum lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 and indicators combined had predictive value for adverse pregnancy outcome in patients with preeclampsia, with AUC of 0.770, 0.767 and 0.876, respectively. And the combined prediction AUC was better than single indicator, and differences were statistically significant ($Z=2.455, 2.398$, all $P<0.05$). **Conclusion** Serum lncRNA HIF1A-AS1 expression is down-regulated and CXCL9 expression is up-regulated in patients with preeclampsia, both indicators are associated with severity of disease and adverse pregnancy outcome. Early detection of two indicators are expected to be markers for predicting adverse pregnancy outcome in patients with preeclampsia.

Keywords: preeclampsia; lncRNA HIF1A-AS1; CXCL9; adverse pregnancy outcome

子痫前期(Preeclampsia)是妊娠期特有疾病,我国发生率为5%~12%^[1],该病可致孕产妇死亡、胎盘早剥、胎儿宫内窘迫、死胎死产、早产等不良妊娠结局^[2-3]。早期识别子痫前期并评估病情严重性,同时预测患者不良妊娠结局发生风险,对临床制定个性化治疗方案有重要参考价值。子痫前期发病机制复杂,与滋养层细胞功能障碍或侵袭不足、母胎界面免疫失衡和炎症反应过度激活有关^[4]。长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)参与调控滋养层细胞系侵袭和凋亡,异常表达可引起滋养层细胞功能障碍^[5]。lncRNA缺氧诱导因子-1 α -反义链1(hypoxia-inducible factor 1 alpha antisense RNA 1, HIF1A-AS1)属于lncRNA家族成员,参与血管纤维化及恶性肿瘤发生发展,并介导滋养层细胞侵袭和上皮间质转化^[6-7]。CXC趋化因子配体9(CXC chemokine ligand 9, CXCL9)是在 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)刺激下主要由单核巨噬细胞、内皮细胞等分泌的促炎因子,与其受体特异性结合可趋化巨噬细胞和淋巴细胞向炎症部位迁移、聚集,激活并加剧炎症反应^[8]。CXCL9通过调控炎症反应介导了类风湿性关节炎等炎症疾病发病过程^[9]。关于血清lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9与子痫前期的关系,既往报道相对较少。

本研究旨在探讨两指标在子痫前期发病过程中的作用及其与病情程度的关系和对不良妊娠结局的预测价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取2021年1月~2022年12月西安高新医院收治并确诊为子痫前期的83例孕妇为子痫前期组,并进行前瞻性观察,所有患者均符合《妊娠期高血压疾病诊治指南(2020)》中子痫前期诊断标准^[10]。纳入标准:①符合子痫前期诊断标准;②自然受孕的单胎妊娠孕妇;③妊娠期首次诊断;④所有患者均随访至分娩后7天;⑤规律产检孕妇。排除标准:①心、肝、肾功能不全者;②双胎妊娠;③人工辅助生殖孕妇;④纳入研究前接受过阿司匹林等抗凝药物治疗者;⑤急、慢性炎症性疾病及自身免疫性疾病患者;⑥孕前并发高血压、糖尿病等疾病者;⑦并发其他妊娠期并发症者;⑧胎儿先天性畸形;⑨有早产史或既往有不良妊娠结局史者;⑩研究者判定的其他不适合本研究的患者如恶性肿瘤患者、精神疾病患者等。年龄23~37(30.76 ± 5.29)岁,体质指数(body mass index, BMI)21~26(23.49 ± 2.51) kg/m²,孕次1~4(2.30 ± 0.76)次,产次1~3(1.23 ± 0.26)次。

并于同期随机选取60例在我院行规律产检且

年龄与子痫前期孕妇相近的健康妊娠孕妇为对照组, 孕妇近期内未服用任何治疗药物, 也无任何基础疾病和重大外伤史。年龄 24~35 (29.33 ± 4.85) 岁, BMI 21~25 (22.73 ± 2.29) kg/m^2 , 孕次 1~3 (2.56 ± 0.89) 次, 产次 1~3 (1.15 ± 0.21) 次。两组年龄、BMI, 孕产次等基线资料组间比较差异无统计学意义 ($t=1.659, 1.852, 1.889, 1.967$, 均 $P>0.05$)。本研究符合《赫尔辛基宣言》, 并得到医院伦理委员会的批准(GYYYEC-KTSB-2021-02)。所有研究对象及家属均知情同意, 并签署知情同意书。

根据确诊时间将子痫前期患者分为早发型子痫前期组(妊娠<34周发病患者, $n=39$)和晚发型子痫前期组(妊娠 ≥ 34 周发病患者, $n=44$); 根据病情严重程度将子痫前期患者分为轻度子痫前期组 [$n=51$, 妊娠 20 周以后患者血压 $\geq 140/90$ mmHg 并伴有 24 h 尿蛋白 $\geq 0.3\text{g}$, 或者尿蛋白/肌酐 ≥ 0.3 或者随机尿蛋白(+)] 和重度子痫前期组^[10] ($n=32$, 血压 $\geq 160/110$ mmHg 并伴有 24 h 尿蛋白 $> 2\text{g}$, 或者已累及其他器官功能或胎盘和胎儿并发症)。

1.2 仪器与试剂 人 CXCL9 酶联免疫吸附测定法试剂盒(上海酶研生物科技有限公司); CE-RES900 酶标仪(美国 Bio-Tek instrument, Inc), Trizol 溶液(赛默飞公司); PrimeScript RT-polymerase 试剂盒(中国大连, 宝生物); 实时荧光定量 PCR 仪(美国应用生物系统公司); 实时荧光定量 PCR (real-time fluorescence quantitative PCR, qRT-PCR) 试剂盒(广东正一实验装备有限公司); lncRNA HIF1A-AS1 和 GAPDH 引物(武汉谷歌生物科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 血清 lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 检测: 收集子痫前期孕妇确诊时空腹肘静脉血 4ml, 以 4 000 r/min 离心 10min, 离心半径 13.5cm, 分离得到血清保存于 -80°C 冰箱中, 供后续检测。采用 ELISA 法检测血清 CXCL9 水平, 批内变异系数(CV) $< 2.6\%$, 批间 CV $< 2.88\%$, 检测过程严格按照试剂盒说明书进行。将酶标仪波长设定在 450 nm 下测定吸光度(A)值, 并根据标准品和样品 A 值计算样品 CXCL9 浓度。采用实时荧光定量 PCR 法检测血清 lncRNA HIF1A-AS1 水平: ①采用 Trizol 溶液和 PrimeScript RT-polymerase 试剂盒提取血清总 RNA, 琼脂糖凝胶电泳及紫外可见分光光度计鉴定浓度和纯度, $A_{260\text{nm}}$ 处纯度为 2.0 即合格; ②以总 RNA 为模板逆转录为 cDNA, 逆转录条件为 42°C 1h, 95°C 5min; ③以 cDNA 为底物采用 ABI9700 型定量 PCR 仪扩增, GAPDH 为

内参基因, F: 5'-GAAGGTAAGGTCGGAGT-3', R: 5'-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3'; lncRNA HIF1A-AS1: F: 5'-TCAAGAAATGGTGGCTAT-3', R: 5'-GCTCTGAGACTGGCTGAA-3'; PCR 扩增体系设计为 20 μl : cDNA 模板为 2 μl , 上下游引物各 1 μl , SYBR Green Master Mix 10 μl , 双氧水 6 μl , 反应条件设计为 95°C 预变性 2min, 95°C 变性 15s, 58°C 退火 30s, 共 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示 lncRNA HIF1A-AS1 相对表达量。

1.3.2 其他临床资料: 收集子痫前期患者年龄、孕前身高和体重、受检时孕周、受检时血压(收缩压/舒张压)和空腹血糖、孕产次、分娩孕周、分娩方式等。

1.3.3 随访: 定期随访子痫前期孕妇, 随访时间截止到分娩后第 7 天, 记录妊娠结局。不良妊娠结局包括母体不良妊娠结局如胎盘早剥、孕产妇死亡等, 围产儿不良妊娠结局如流产、胎儿宫内窘迫、胎儿宫内生长受限、早产、新生儿死亡等。根据妊娠结局分为: 正常妊娠结局组($n=56$)和不良妊娠结局组($n=27$), 其中不良妊娠结局组 7 例胎盘早剥, 5 例胎儿宫内窘迫, 6 例胎儿宫内生长受限, 7 例新生儿窒息, 2 例早产。

1.4 统计学分析 采用 SPSS25.0 统计软件分析数据。定量资料且符合正态分布用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)描述, 组间比较采用 t 检验; 定性资料用 n (%)描述, 比较采用 χ^2 检验。Spearman 秩相关分析血清 lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 与病情严重程度的相关性; 多因素 Logistic 回归分析子痫前期孕妇不良妊娠结局影响因素, 筛选变量采用逐步后退法($\alpha_{\text{入}}=0.05$, $\alpha_{\text{出}}=0.10$); 绘制受试者工作特征(ROC)曲线并计算曲线下面积(AUC)评估血清 lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 对不良妊娠结局的预测价值, 各指标间 AUC 比较采用 Z 检验, 计算公式为 $Z = \frac{AUC_1 - AUC_2}{\sqrt{SE_1^2 + SE_2^2}}$ (SE_1 和 SE_2 分别为 AUC_1 和 AUC_2 的标准误)。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 子痫前期组和对照组血清 lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 水平比较 子痫前期组血清 lncRNA HIF1A-AS1 相对表达量(0.73 ± 0.26)低于对照组(1.15 ± 0.34), 血清 CXCL9 水平(209.34 ± 45.34 pg/ml)高于对照组(116.80 ± 37.76 pg/ml), 差异具有统计学意义($t=8.379, 12.903$, 均 $P<0.001$)。

2.2 早发型和晚发型子痫前期患者血清 lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 水平比较 早发型子痫前期组血清 lncRNA HIF1A-AS1 相对表达量(0.58 ± 0.21)

低于晚发型子痫前期组 (0.86 ± 0.27)，血清 CXCL9 水平 (236.60 ± 31.02 pg/ml) 高于对照组 (185.18 ± 23.63 pg/ml)，差异具有统计学意义 ($t=5.226, 8.551$ ，均 $P < 0.001$)。

2.3 轻度和重度子痫前期患者血清 lncRNA IF1A-AS1, CXCL9 水平比较 重度子痫前期组血清 lncRNA HIF1A-AS1 相对表达量 (0.52 ± 0.21) 低于轻度子痫前期组 (0.97 ± 0.34)，血清 CXCL9 水平 (253.38 ± 41.20 pg/ml) 高于轻度子痫前期组 (159.65 ± 40.79 pg/ml)，差异具有统计学意义 ($t=6.409, 10.152$ ，均 $P < 0.001$)。血清 lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 与子痫前期病情程度 (轻度=0, 重度=1) 有相关性 ($r=-0.627, 0.651$ ，均 $P < 0.001$)。

2.4 正常妊娠结局组与不良妊娠结局组临床资料比较 见表1。与正常妊娠结局组比较，不良妊娠结局组收缩压、舒张压水平升高，早发型子痫前期比例高，重度子痫前期比例高，血清 lncRNA HIF1A-AS1 水平降低，CXCL9 水平升高，差异具有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

2.5 不良妊娠结局的多因素 logistic 回归分析 见表2。以子痫前期患者是否出现不良妊娠结局为因变量 (0=无, 1=有)，表1中差异具有统计学意义 ($P < 0.05$) 的变量收缩压、舒张压、子痫前期类型、子痫前期严重程度、lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 为自变量构建多因素 Logistic 回归模型，结果显示，收缩压 [OR (95%CI): $1.353 (1.040 \sim 1.759)$]，

CXCL9 [OR (95%CI): $1.581 (1.098 \sim 2.276)$] 是子痫前期患者不良妊娠结局发生的独立危险因素 (均 $P < 0.05$)，lncRNA HIF1A-AS1 [OR (95%CI): $0.806 (0.673 \sim 0.965)$] 是保护因素 ($P < 0.05$)，早发型子痫前期 [OR (95%CI): $1.390 (1.088 \sim 1.775)$]，重度子痫前期 [OR (95%CI): $1.589 (1.222 \sim 2.066)$] 是不良妊娠结局危险因素 ($P < 0.05$)。

表 1 正常妊娠结局组与不良妊娠结局组临床资料比较 [$\bar{x} \pm s, n (\%)$]

类别	正常妊娠结局组 (n=56)	不良妊娠结局组 (n=27)	t/χ^2	P
年龄 (岁)	30.32 ± 5.16	31.68 ± 5.83	1.089	0.284
BMI (kg/m^2)	23.08 ± 2.70	24.35 ± 3.11	1.912	0.060
孕次 (次)	2.37 ± 0.75	2.15 ± 0.62	1.326	0.190
产次 (次)	1.21 ± 0.25	1.26 ± 0.27	0.835	0.408
收缩压 (mmHg)	143.16 ± 12.93	153.79 ± 15.34	3.307	0.001
舒张压 (mmHg)	94.30 ± 8.75	102.58 ± 10.67	3.762	< 0.001
空腹血糖 (mmol/L)	6.22 ± 0.51	6.29 ± 0.56	0.571	0.572
子痫前期类型	早发型 19 (33.93)	20 (74.07)	11.787	0.001
	晚发型 37 (66.07)	7 (25.93)		
子痫前期严重程度	轻度 46 (82.14)	5 (18.52)	31.128	< 0.001
	重度 10 (17.86)	22 (81.48)		
lncRNA HIF1A-AS1	0.85 ± 0.34	0.49 ± 0.25	4.894	< 0.001
CXCL9 (pg/ml)	178.43 ± 45.21	273.46 ± 56.12	8.283	< 0.001

表 2 子痫前期患者不良妊娠结局的多因素 logistic 回归分析

因素	β	SE (β)	Wald χ^2	P	OR	95%CI
收缩压	0.302	0.134	5.079	0.002	1.353	1.040 ~ 1.759
舒张压	0.311	0.164	3.468	0.056	1.365	0.984 ~ 1.860
子痫前期类型*	0.329	0.125	6.927	0.001	1.390	1.088 ~ 1.775
子痫前期严重程度*	0.463	0.134	11.932	< 0.001	1.589	1.222 ~ 2.066
lncRNA HIF1A-AS1	-0.216	0.092	5.518	0.001	0.806	0.673 ~ 0.965
CXCL9	0.458	0.186	6.059	0.001	1.581	1.098 ~ 2.276

注：*晚发型子痫前期、轻度子痫前期为参照水平。

2.6 血清 lncRNA HIF1AAS1, CXCL9 对不良妊娠结局的预测价值 见表3。血清 lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 指标单独及联合预测不良妊娠结局的曲线下面积 (95% 置信区间) [AUC(95%CI)]

分别为 $0.770(0.693 \sim 0.845)$ ， $0.767(0.689 \sim 0.841)$ 和 $0.876(0.817 \sim 0.926)$ ，指标联合预测价值大于单一指标 ($Z=2.455, 2.398$ ，均 $P < 0.05$)。

表 3 血清 lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 对子痫前期患者不良妊娠结局的预测价值

项目	AUC (95%) CI	标准误	P 值	Youden 指数	截断值	敏感度	特异度
lncRNA HIF1A-AS1	$0.770 (0.693 \sim 0.845)$	0.032	< 0.001	0.38	0.61	0.75	0.63
CXCL9	$0.767 (0.689 \sim 0.841)$	0.035	< 0.001	0.36	239.52 pg/ml	0.79	0.57
指标联合	$0.876 (0.817 \sim 0.926)$	0.029	< 0.001	0.65	-	0.82	0.83

注：指标联合是指基于 lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 拟合 logistic 回归获得返回预测概率 logit (P)，并将其作为检验变量构建预测模型。

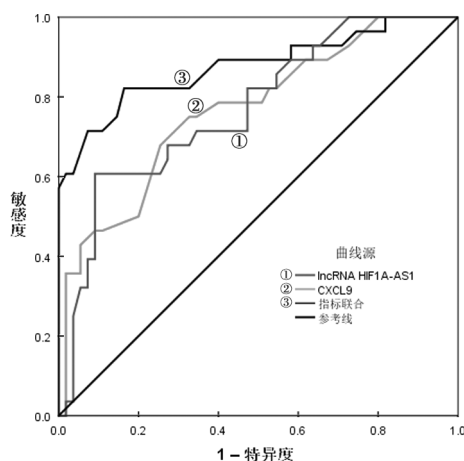


图1 血清lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9预测不良妊娠结局的ROC曲线

3 讨论

子痫前期是妊娠期妇女最常见并发症之一，通常发生于妊娠20周后，临床表现为高血压、水肿和蛋白尿^[11]。子痫前期血压升高引起全身小血管不同程度痉挛，可致多器官损伤、妊娠中断、进展为子痫等，极端情况下可致孕妇死亡，并可导致胎儿生长受限、低出生体重，增加早产和新生儿死亡风险等^[12-13]。早期评估子痫前期病情程度及母婴结局，可以提前干预以减少并发症，保障母婴安全。研究表明^[14-15]，滋养层细胞侵袭降低导致胎盘子宫螺旋动脉重构受损，胎盘血流灌注减少，胎盘因子大量分泌，机体出现过度炎症及氧化-抗氧化失衡等病理状态是子痫前期发病重要机制。血液生化指标具有取材便捷、无创、结果客观等优点，寻找与子痫前期发病密切相关的生化标记物辅助临床判断病情及预测妊娠结局一直是临床研究热点。

lncRNA是在转录过程中产生的长度超过200个核苷酸的RNA分子，在细胞内与DNA相互作用，通过影响基因转录、剪接、翻译等过程调控基因表达，并参与染色质三维结构形成以维持细胞稳态，通过调控细胞增殖、分化、凋亡和自噬等进程决定细胞命运，lncRNA异常表达介导了恶性肿瘤、心血管疾病等的发生、发展，可作为诊断疾病的潜在生物标记物或疾病治疗靶点^[16-17]。lncRNA异常表达也会影响滋养层细胞凋亡及浸润^[18]。赵丹等^[19]发现，子痫前期患者胎盘组织lncRNA RPAIN表达上调，通过激活Wnt/ β -catenin信号通路引起滋养细胞增殖和侵袭。李勤等^[20]研究显示，lncRNA HIF1A-AS2表达下调通过促进滋养层细胞侵袭及上皮间质转化可诱发子痫前期。本研究发现，子痫前期患者血清lncRNA HIF1A-AS1表达降低，与霍春霞等^[21]对青海地区子痫前期患者的研究结果相

似。结果提示lncRNA HIF1A-AS1表达降低与子痫前期有关，可能与HIF1A-AS1基因转录活性受到抑制有关，HIF1A-AS1基因启动子区域DNA甲基化抑制了HIF1A-AS1转录活性，同时子痫前期转录因子Slug及Snail等过度表达与HIF1A-AS1基因转录因子竞争结合位点，致使正常转录因子与HIF1A-AS1基因无法结合而降低其转录活性^[22-23]。此外，子痫前期患者氧化应激反应也会干扰细胞内信号转导而致HIF1A-AS1表达下调，这个过程进一步抑制滋养层细胞分化，导致胎盘滋养层细胞浸润能力下降，对螺旋动脉浸润不足，加重螺旋动脉重构障碍，加剧妊娠期高血压^[24]。本研究还发现，血清lncRNA HIF1A-AS1与子痫前期病情程度有关，提示该指标可作为辅助评估子痫前期病情的生化指标，从而指导临床制定个体化治疗方案。

CXCL是一种可诱导反应细胞定向趋化的小分子多肽类物质，与细胞膜上特异性受体结合可促使靶细胞向感染部位定向转移，激活并诱发炎症反应^[25]。CXCL9属于IFN- γ 诱导的CXCL家族成员，基因位于人第4号染色体，在正常生理状态下的非淋巴组织几乎检测不到，机体出现损伤、感染、炎症反应时，在IFN- γ 诱导下CXCL9大量产生，并与G蛋白耦联受体趋化因子受体3(chemokine receptor 3, CXCR3)特异性结合，趋化单核巨噬细胞、T淋巴细胞迁移到炎症部位，诱发并加剧免疫炎症反应^[26]。SHAMSI等^[9]发现，CXCL9表达上调与CXCR3特异性结合后趋化Th1细胞向滑膜液迁移而介导类风湿性关节炎。杨昱等^[27]的研究表明，CXCL9与炎性细胞因子形成炎症调控网络，与肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)协同作用可加剧炎症反应而加重慢性阻塞性肺疾病，并与病情程度密切相关。既往研究显示^[28]，趋化因子上调过度激活体内非特异性免疫反应，可致免疫失衡而促进子痫前期发病。本研究中子痫前期患者血清CXCL9表达上调，提示该指标可能介导了子痫前期发病过程。子痫前期患者免疫系统过度活跃造成免疫紊乱，刺激机体大量分泌CXCL9，吸引免疫细胞向炎症部位迁移加剧炎症反应，炎症因子释放及炎性细胞浸润也会进一步刺激机体产生CXCL9^[28]。此外，子痫前期患者胎盘血流受限可引起胎盘缺氧，并通过促进CXCL9的释放诱发炎症反应，吸引免疫细胞浸润。子痫前期患者血清CXCL9表达上调与病情程度密切相关，其水平越高提示患者病情越重，这对指导临床治疗有重要参考价值。

本研究结果还显示，血清CXCL9水平升高是子痫前期患者不良妊娠结局独立危险因素，过高的

CXCL9 可造成以下危害: 导致免疫失衡, 增加免疫细胞活性诱发孕期炎症和组织损伤; 减少胎盘血流, 引起胎盘缺氧和胎盘功能损伤, 影响胎儿正常发育; 促使血管内皮细胞分泌炎症因子和黏附分子, 导致血管内皮功能异常和血管壁炎症反应, 引起母体循环障碍和胎盘血流紊乱, 影响胎儿供氧和养分供应; 抑制胎儿血管生成, 导致胎盘血流和供氧不足。lncRNA HIF1A-AS1 升高是不良妊娠结局保护因素, 其水平降低可损伤胎盘功能而使胎盘血流减少及胎儿供氧不足, 导致氧化应激增加而损伤细胞并诱发炎症反应, 导致血管收缩和血栓形成, 影响胎盘灌注和营养供应而致胎儿发育不良。通过靶向促进 lncRNA HIF1A-AS1 升高则可逆转这些不良影响, 改善不良妊娠结局。ROC 曲线结果显示, 血清 lncRNA HIF1A-AS1, CXCL9 可有效预测子痫前期患者不良妊娠结局发生风险, AUC 分别为 0.770, 0.767, 联合检测预测价值更高 (0.876), 提示临床通过构建两指标的联合预测模型, 可有效改善对不良妊娠结局的预测价值, 从而指导临床实践。

综上所述, 子痫前期患者血清 lncRNA HIF1A-AS1 表达下降, CXCL9 表达上升, 两指标与病情程度及不良妊娠结局有关, 指标联合构建的预测模型能有效预测不良妊娠结局, 为临床及早制定干预方案提供参考。本研究为单中心的小样本研究, 所得结果有待开展前瞻性、多中心队列研究进一步检验, 以加强结果的外推性。

参考文献:

- [1] 王晶, 王培萍, 张婕, 等. 血清及胎盘中 Siglec-6, Glycodelin-A 水平与子痫前期发病和妊娠结局的相关性 [J]. 中国生育健康杂志, 2023, 34(6): 567-570, 封 3. WANG Jing, WANG Peiping, ZHANG Jie, et al. Correlation between Siglec-6 and Glycodelin-A levels in serum and placenta and the onset of preeclampsia and pregnancy outcomes [J]. Chinese Journal of Reproductive Health, 2023, 34(6): 567-570, F0003.
- [2] TITA A T, SZYCHOWSKI J M, BOGGESS K, et al. Treatment for mild chronic hypertension during pregnancy [J]. New England Journal of Medicine, 2022, 386(19): 1781-1792.
- [3] 王芬, 陈媛, 谢环. 孕妇血清 Collectrin 和 NEP 表达水平与子痫前期的相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2022, 37(6): 183-187. WANG Fen, CHEN Yuan, XIE Huan. Correlation of serum collectrin and NEP expression levels in pregnant women with pre-eclampsia [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2022, 37(6): 183-187.
- [4] DECARLO C, BOITANO L T, MOLINA R L, et al. Pregnancy and preeclampsia are associated with acute adverse peripheral arterial events [J]. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 2021, 41(1): 526-533.
- [5] SUN Ningxia, CHEN Huaiyan, MA Yan, et al. H3K4me3-mediated upregulation of lncRNA-HEIPP in preeclampsia placenta affects invasion of trophoblast cells [J]. Frontiers in Genetics, 2020, 11: 559478.
- [6] 肖宁, 林玮键, 龙永福. 长链非编码 RNA HIF1A-AS1 的研究现状与进展 [J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2021, 5(8): 126-128. XIAO Ning, LIN Weijian, LONG Yongfu. Current status and progress of research on long-stranded noncoding RNA HIF1A-AS1 [J]. Modern Medicine and Health Research, 2021, 5(8): 126-128.
- [7] XUE Xiang, LUO Libo. Statment of Retraction: lncRNA HIF1A-AS1 contributes to ventricular remodeling after myocardial ischemia/reperfusion injury by adsorption of microRNA-204 to regulating SOCS2 expression [J]. Cell Cycle, 2022, 21(7): 756.
- [8] PAN Minjie, WEI Xiaoshan, XIANG Xuan, et al. Targeting CXCL9/10/11-CXCR3 axis: an important component of tumor-promoting and antitumor immunity [J]. Clinical & Translational Oncology, 2023, 25(8): 2306-2320.
- [9] SHAMSI A, ROGHANI S A, ABDAN Z, et al. CXCL9 and its receptor CXCR3, an important link between inflammation and cardiovascular risks in RA patients [J]. Inflammation, 2023, 46(6): 2374-2385.
- [10] 中华医学会妇产科学分会妊娠期高血压疾病学组. 妊娠期高血压疾病诊治指南 (2020) [J]. 中华妇产科杂志, 2020, 55(4): 227-238. Hypertensive Disorders in Pregnancy Subgroup, Chinese Society of Obstetrics and Gynecology, Chinese Medical Association. Diagnosis and treatment of hypertension and pre-eclampsia in pregnancy: a clinical practice guideline in China (2020) [J]. Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology, 2020, 55(4): 227-238.
- [11] JUNG E, ROMERO R, YEO L M, et al. The etiology of preeclampsia [J]. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 2022, 226(2S): S844-S866.
- [12] YANG Yingying, LE RAY I, ZHU Jing, et al. Preeclampsia prevalence, risk factors, and pregnancy outcomes in Sweden and China [J]. JAMA Netw Open, 2021, 4(5): e218401.
- [13] ARDISSINO M, REDDY R K, SLOB E A W, et al. Maternal hypertensive traits and adverse outcome in pregnancy: a Mendelian randomization study [J]. Journal of Hypertension, 2023, 41(9): 1438-1445.
- [14] JAHAN F, VASAM G, GREEN A E, et al. Placental mitochondrial function and dysfunction in preeclampsia [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(4): 4177.
- [15] MINOPOLI M, NOËL L, MERONI A, et al. Adverse pregnancy outcomes in women at increased risk of preterm pre-eclampsia on first-trimester combined screening [J]. BJOG, 2024, 131(1): 81-87.
- [16] XU Xun, LIANG Yuan, GAREEV I, et al. lncRNA as potential biomarker and therapeutic target in glioma [J]. Molecular Biology Reports, 2023, 50(1): 841-851.
- [17] PULIK L, MIERZEJEWSKI B, SIBILSKA A, et al. The role of miRNA and lncRNA in heterotopic (下转第 140 页)

- phase 2b trial[J]. the Lancet, Respiratory Medicine, 2023, 11(1): 45-54.
- [14] CHEN Simeng, WANG Jin, WANG Jiayu, et al. Wnt/ β -catenin signaling pathway promotes abnormal activation of fibroblast-like synoviocytes and angiogenesis in rheumatoid arthritis and the intervention of Er Miao San [J]. Phytomedicine, 2023, 120: 155064.
- [15] KOÇAK A, HARMANCI D, GÜNER AKDOĞAN G, et al. Relationship of Wnt pathway activity and organ involvement in scleroderma types[J]. International Journal of Rheumatic Diseases, 2020, 23(11): 1558-1567.
- [16] WANG Qunxia, LIU Yanzhao, WU Jiazhen, et al. Potential significance of changes in serum levels of IL-17, TNF- α and DKK-1 in the progression of the rheumatoid arthritis[J]. Autoimmunity, 2023, 56(1): 2276068.
- [17] XUE Jing, WANG Yujiao, XIA Hechun, et al. Circulating dickkopf-1 as a potential biomarker associated with the prognosis of patients with rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease[J]. Chinese Medical Journal (England), 2021, 134(9): 1119-1121.
- [18] POPE J E, CHOY E H. C-reactive protein and implications in rheumatoid arthritis and associated comorbidities[J]. Seminars in Arthritis and Rheumatism, 2021, 51(1): 219-229.
- [19] LI Hang, ZHAO Caiping, LI Zeli, et al. Identification of potential pathogenic super-enhancers-driven genes in pulmonary fibrosis[J]. Frontiers in Genetics, 2021, 12: 644143.
- [20] ZOU Menglin, ZOU Jingfeng, HU Xingxing, et al. Latent transforming growth factor- β binding protein-2 regulates lung fibroblast-to-myofibroblast differentiation in pulmonary fibrosis via NF- κ B signaling [J]. Frontiers in Pharmacology, 2021, 12: 788714.
- [21] ZOU Menglin, HU Xingxing, SONG Weiwei, et al. Plasma LTBP2 as a potential biomarker in differential diagnosis of connective tissue disease-associated interstitial lung disease and idiopathic pulmonary fibrosis: a pilot study[J]. Clinical and Experimental Medicine, 2023, 23(8): 4809-4816.
- 收稿日期: 2024-02-05
修回日期: 2024-09-09
-
- (上接第78页)
- ossification pathogenesis[J]. Stem Cell Research & Therapy, 2022, 13(1): 523.
- [18] YANG Yanlin, SHANG Haixia. Silencing lncRNA-DGCR5 increased trophoblast cell migration, invasion and tube formation, and inhibited cell apoptosis via targeting miR-454-3p/GADD45A axis[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2021, 476(9): 3407-3421.
- [19] 赵丹, 安杰, 刘倩, 等. LncRNA RPAIN 在子痫前期患者胎盘组织中的表达及对滋养细胞增殖和侵袭的影响 [J]. 临床误诊误治, 2021, 34(12): 34-39.
- ZHAO Dan, AN Jie, LIU Qian, et al. Expression of long non-coding RNA RPAIN in placenta tissues of patients with preeclampsia and its effects on proliferation and invasion of trophoblast cells[J]. Clinical Misdiagnosis & Mistherapy, 2021, 34(12): 34-39.
- [20] 李勤, 许娟秀, 尧旋. LncRNA HIF1A-AS2 通过抑制 miR-138-5p 促进滋养层细胞的侵袭和上皮间充质转化 [J]. 第三军医大学学报, 2020, 42(22): 2210-2218.
- LI Qin, XU Juanxiu, YAO Xuan. LncRNA HIF1A-AS2 promotes trophoblast invasion and epithelial-mesenchymal transformation by inhibiting miR-138-Sp[J]. Journal of Third Military Medical University, 2020, 42(22): 2210-2218.
- [21] 霍春霞, 谢玲, 张爱萍. 青海地区子痫前期孕妇 lncRNA HIF1A-AS1 的表达及临床意义 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2023, 31(10): 2171-2174.
- HUO Chunxia, XIE Ling, ZHANG Aiping. Expression and clinical significance of lncRNA HIF1A-AS1 in pregnant women with preeclampsia in Qinghai area[J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2023, 31(10): 2171-2174.
- [22] ZHENG Yan, ZHENG Yunfei, JIA Lingfei, et al. Integrated analysis of lncRNA-mRNA networks associated with an SLA titanium surface reveals the potential role of HIF1A-AS1 in bone remodeling[J]. RSC Advances, 2020, 10(35): 20972-20990.
- [23] YANG Jin, GONG Zhiqiang, DONG Junjie, et al. Transcriptomics provides novel insights into the regulatory mechanism of lncRNA HIF1 A-AS1 on vascular smooth muscle cells[J]. Brazilian Journal Cardiovascular Surgery, 2023, 38(6): e20220260.
- [24] ZHOU Huan, WANG Bin, YANG Yingxi, et al. Long noncoding RNAs in pathological cardiac remodeling: a review of the update literature [J]. BioMed Research International, 2019, 2019: 7159592.
- [25] ZHOU Chenjia, GAO Ying, DING Peilun, et al. The role of CXCL family members in different diseases[J]. Cell Death Discovery, 2023, 9(1): 212.
- [26] LIU Hanqing, WANG Yihui, LE Qianqian, et al. The IFN- γ -CXCL9/CXCL10-CXCR3 axis in vitiligo: pathological mechanism and treatment [J]. Immunology, 2024, 54(4): e2250281.
- [27] 杨罡, 赵峻, 张云辉. CXC 型趋化因子及其受体轴在慢性阻塞性肺疾病中的研究进展 [J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2021, 20(10): 748-752.
- YANG Gang, ZHAO Jun, ZHANG Yunhui. CXC-type chemokine and their receptor axis in chronic obstructive lung disease[J]. Chinese Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2021, 20(10): 748-752.
- [28] 王芙蓉, 严谨, 贺丰杰. 子痫前期患者及其胎儿血清、胎盘组织中趋化因子的表达水平变化及意义 [J]. 中国生育健康杂志, 2022, 33(2): 151-155.
- WANG Furong, YAN Jin, HE Fengjie. Changes and significance of chemokine expression level in serum and placental tissues of patients with preeclampsia and their fetuses[J]. Chinese Journal of Reproductive Health, 2022, 33(2): 151-155.
- 收稿日期: 2024-01-18
修回日期: 2024-04-14