

PCOS患者血清miR-206表达及其与下丘脑-垂体-性腺轴内分泌的关系分析

戎小焕¹, 胥世凡²

(许昌市人民医院, 1.内分泌代谢科; 2.内骨外一科, 河南 许昌 461000)

摘要: **目的** 探讨多囊卵巢综合征(PCOS)患者血清微小核糖核酸-206(miR-206)表达及其与下丘脑-垂体-性腺轴内分泌的关系。**方法** 选取2020年3月至2022年12月许昌市人民医院收治的148例PCOS患者设为研究组,另同期选取133例月经正常的健康体检未孕女性设为对照组。采用实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测所有受试者血清miR-206表达,另采用化学发光免疫分析法检测血清促卵泡激素(FSH)、促黄体生成素(LH)、雌二醇(E₂)、睾酮(T)、泌乳素(PRL)、孕酮(P)水平。采用Pearson相关系数分析PCOS患者血清miR-206表达与FSH、LH、E₂、T、PRL、P的关系。**结果** 研究组血清miR-206表达(0.38±0.07)明显低于对照组(0.95±0.12)(P<0.05);研究组血清FSH、P水平[(5.12±1.19) mIU/mL、(1.52±0.44) nmol/L]均明显低于对照组[(6.58±1.34) mIU/mL、(2.49±0.62) nmol/L],血清LH、E₂、T、PRL水平[(10.96±2.24) mIU/mL、(78.63±22.49) pg/mL、(0.88±0.23) ng/mL、(21.46±5.32) ng/mL]均明显高于对照组[(6.73±1.85) mIU/mL、(49.41±10.65) pg/mL、(0.51±0.12) ng/mL、(16.35±3.21) ng/mL],差异有统计学意义(P<0.05);经Pearson相关系数分析,PCOS患者血清miR-206表达与LH、E₂、T、PRL水平均呈负相关性(r=-0.546、-0.501、-0.533、-0.485, P<0.05),与FSH、P水平均呈正相关性(r=0.493、0.528, P<0.05)。**结论** PCOS患者血清miR-206表达明显降低,其与下丘脑-垂体-性腺轴内分泌相关指标存在一定的相关性。

关键词: 多囊卵巢综合征; 微小核糖核酸-206; 下丘脑-垂体-性腺轴; 相关性

中图分类号: R711.75

Expression of serum miR-206 in patients with PCOS and its relationship with the endocrine of hypothalamus-pituitary-gonad axis

RONG Xiaohuan¹, XU Shifan²

(1. Department of Endocrinology and Metabolism; 2. Department of Orthopaedics, Xuchang People's Hospital, Xuchang 461000, China)

Abstract: **[Objective]** To investigate the expression of serum microribonucleic acid-206 (miR-206) in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS) and its relationship with hypothalamus-pituitary-gonad axis endocrine. **[Methods]** Totally 148 PCOS patients admitted to our hospital from March 2020 to December 2022 were selected as the study group, and 133 healthy non-pregnant women with normal menstruation were selected as the control group at the same time. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the expression of miR-206 in serum of all subjects, and the serum levels of follicle-stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), estradiol (E₂), testosterone (T), prolactin (PRL) and progesterone (P) were detected by chemiluminescence immunoassay. The relationships between serum miR-206 expression and FSH, LH, E₂, T, PRL, P in patients with PCOS were analyzed by Pearson correlation coefficient. **[Results]** The expression of serum miR-206 in the study group (0.38±0.07) was significantly lower than that in the control group (0.95±0.12) (P<0.05). The serum FSH and P levels in the study group (5.12±1.19 mIU/mL, 1.52±0.44 nmol/L) were significantly lower than those in the control group (6.58±1.34 mIU/mL, 2.49±0.62 nmol/L), and the levels of serum LH, E₂, T and PRL (10.96±2.24 mIU/mL, 78.63±22.49 pg/mL, 0.88±0.23 ng/mL, 21.46±5.32 ng/mL) were significantly higher than those in the control group (6.73±1.85 mIU/mL, 49.41±10.65 pg/mL, 0.51±0.12 ng/mL, 16.35±3.21 ng/mL), and the differences were statistically significant (P<0.05). Pearson correlation coefficient analysis

showed that the expression of serum miR-206 of PCOS patients was negatively correlated with the levels of LH, E₂, T and PRL ($r = -0.546, -0.501, -0.533, -0.485, P < 0.05$), but it was positively correlated with the levels of FSH and P ($r = 0.493, 0.528, P < 0.05$).
[Conclusion] The expression of serum miR-206 of patients with PCOS is significantly decreased, and there is a certain correlation between it and the endocrine related indexes of hypothalamus-pituitary-gonad axis.

Keywords: polycystic ovarian syndrome; microribonucleic acid-206; hypothalamus-pituitary-gonad axis; relevance

多囊卵巢综合征 (PCOS) 是影响育龄期女性生殖健康的常见疾病之一, 主要由内分泌系统紊乱与代谢紊乱引发, 导致患者出现月经不调、闭经甚至或不孕等^[1]。下丘脑-垂体-性腺轴对生殖发挥着重要的调控作用, 通过调节促性腺素释放激素、促卵泡激素 (FSH)、促黄体生成素 (LH) 的分泌, 影响卵泡发育、雌激素释放与排卵等, 最终影响女性月经周期与生育, 下丘脑-垂体-性腺轴内分泌功能失调是 PCOS 发病的重要病理机制^[2]。胰岛素抵抗是影响 PCOS 发病的另一公认的生理病理特征, 可促进 PCOS 患者病情进展^[3]。近年来, 微小核糖核酸 (miRNA) 在临床多种疾病诊治中的作用逐渐被探索与发现, 且已有研究^[4-5]表明 miRNA 与胰岛素抵抗、PCOS 发病存在密切关系。微小核糖核酸-206 (miR-206) 为 miRNA 家族重要成员, 有研究^[6]表明, miR-206 可通过促进胰岛素受体的磷酸化而促进胰岛素信号传导, 抑制葡萄糖生成; 另有研究^[7]报道, miR-206 可能通过调节卵巢颗粒细胞生存与凋亡而在 PCOS 中起着重要作用。但关于 PCOS 患者血清 miR-206 表达与下丘脑-垂体-性腺轴内分泌的关系尚需进一步深入探索、揭示, 鉴于此, 本研究旨在通过探讨二者间的关系, 以为临床治疗提供新思路, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取许昌市人民医院 2020 年 3 月至 2022 年 12 月收治的 148 例 PCOS 患者设为研究组, 另同期选取年龄、体质量指数与之相匹配的 133 例月经正常的健康体检未孕女性设为对照组。纳入标准: ①研究组均符合相关指南^[8]中 PCOS 诊断标准, 且为初诊患者; ②对照组月经正常; ③年龄 20~40 岁; ④受试者均知情同意。排除标准: ①伴有垂体瘤、腺垂体功能减退、甲状腺/甲状旁腺疾病、库欣综合症、先天性肾上腺皮质增生、性腺发育不全、醛固酮增多症、高泌乳素血症、卵巢

早衰等其他内分泌疾病; ②伴有心肝肾等脏器严重疾病; ③伴有肿瘤疾病; ④伴有自身免疫性疾病; ⑤近 6 个月内使用过激素类药物治疗; ⑥伴有感染性疾病; ⑦有酗酒、药物滥用史; ⑧妊娠期、哺乳期女性。

本研究已获得医院伦理委员会审批, 受试者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 血清 miR-206 表达检测 月经规律者于月经第 5 天, 月经无规律或闭经者于 B 超检查未发现优势卵泡时, 采集受试者晨起空腹肘静脉 5 mL, 离心 10 min (3 000 r/min、半径 10 cm), 提取血清, 放于 -20℃ 冰箱保存待检。采用 Trizol 法 [爱必信 (上海) 生物科技有限公司] 提取所有受试者血清总 RNA, 以紫外分光光度计鉴定其纯度、完整性, 使用 miRNeasy 提取分离试剂盒 (Qiagen 公司) 提取 miRNA。采用 miRNA Reverse Transcription Kit 反转录试剂盒 (上海慧颖生物科技有限公司) 逆转录合成 cDNA, 按照 SYBR PrimeScript RT-PCR Kit 试剂盒 (上海易汇生物科技有限公司) 说明书进行实时荧光定量聚合酶链式反应 (qRT-PCR) 操作, miR-206 引物序列: 上游 5'-ATCCAGTGCCTGTCGTG-3', 下游 5'-TGCTTGAATGTAAGGAAG-3'; 内参 U6 引物序列: 上游 5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3', 下游 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTTCAT。反应总体积 25 μL, 其中 cDNA 为 1.0 μL, SYBR Primix Ex Taq TM 为 10 μL, Primer 为 0.8 μL, RNase H₂O 为 13.2 μL。反应条件: 95℃ 预变性 5 min, 95℃ 变性 15 s, 60℃ 30 s, 72℃ 延伸 10 s, 总共 40 个循环。以 2^{-ΔΔCt} 计算 miR-206 表达。

1.2.2 血清性激素水平检测 采用化学发光免疫分析法检测血清 FSH、LH、雌二醇 (E₂)、睾酮 (T)、泌乳素 (PRL)、孕酮 (P) 水平, 全自动化学发光免疫分析仪购自北京贝尔生物工程股份有限公司, 相关试剂盒购自赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司。

1.3 观察指标

①研究组、对照组血清 miR-206 表达。②研究组、对照组血清 FSH、LH、E₂、T、PRL、P 水平。③分析 PCOS 患者血清表达与 FSH、LH、E₂、T、PRL、P 的关系。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 24.0 软件进行统计学分析。经正态性检验，年龄、体质量指数、血压、血清各指标等计量资料均符合正态分布，以均数 ± 标准差

($\bar{x} \pm s$) 表示，采用 *t* 检验；计数资料如生育史以百分率 (%) 表示，采用 χ^2 检验；血清 miR-206 表达与性激素水平的关系采用 Pearson 相关系数分析。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较

研究组年龄、体质量指数、血压、有生育史情况与对照组比较，差异均无统计学意义 (*P*>0.05)，见表 1。

表 1 两组一般资料比较

组别	<i>n</i>	年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	体质量指数($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	收缩压($\bar{x} \pm s$, mmHg)	舒张压($\bar{x} \pm s$, mmHg)	有生育史[n(%)]
研究组	148	30.25±4.28	24.45±3.19	114.36±11.38	78.92±8.63	62(41.89)
对照组	133	29.87±4.33	23.97±3.06	113.62±11.25	78.24±8.76	66(49.62)
<i>t</i> / χ^2		0.739	1.284	0.547	0.655	1.689
<i>P</i>		0.461	0.200	0.585	0.513	0.194

2.2 两组血清 miR-206 表达比较

研究组血清 miR-206 表达平均为 0.38 ± 0.07，对照组平均为 0.95 ± 0.12，研究组血清 miR-206 表达明显低于对照组，差异有统计学意义 (*t*=49.220, *P*<0.001)。

2.3 两组血清性激素水平比较

研究组血清 FSH、P 水平均明显低于对照组，差异有统计学意义 (*P*<0.05)，血清 LH、E₂、T、PRL 水平均明显高于对照组，差异有统计学意义 (*P*<0.05)，见表 2。

表 2 两组血清性激素水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FSH(mIU/mL)	LH(mIU/mL)	E ₂ (pg/mL)	T(ng/mL)	PRL(ng/mL)	P(nmol/L)
研究组	148	5.12±1.19	10.96±2.24	78.63±22.49	0.88±0.23	21.46±5.32	1.52±0.44
对照组	133	6.58±1.34	6.73±1.85	49.41±10.65	0.51±0.12	16.35±3.21	2.49±0.62
<i>t</i>		9.674	17.147	13.668	16.628	9.615	15.238
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

2.4 PCOS 患者血清 miR-206 表达与性激素水平的关系

经 Pearson 相关系数分析，PCOS 患者血清 miR-206 表达与 LH、E₂、T、PRL 水平均呈负相关

性 (*r*=-0.546、*r*=-0.501、*r*=-0.533、*r*=-0.485, *P*<0.001、*P*<0.001、*P*<0.001、*P*=0.001)，与 FSH、P 水平均呈正相关性 (*r*=0.493、*r*=0.528, *P*=0.001、*P*<0.001)，见图 1。

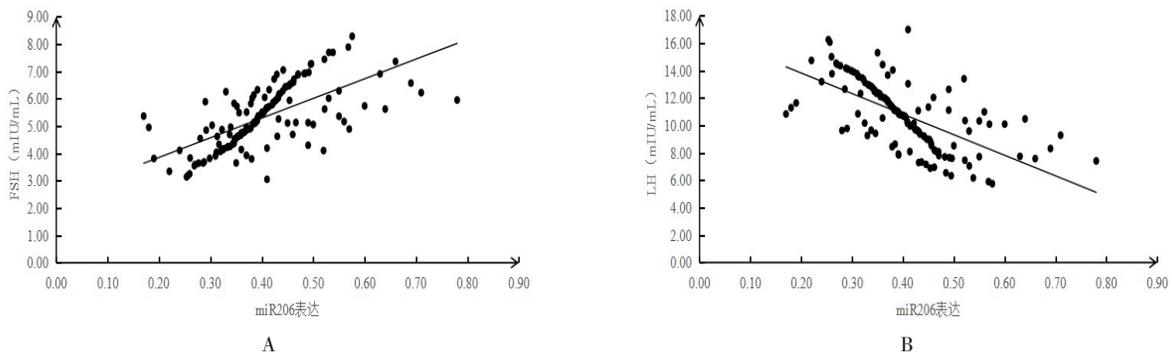
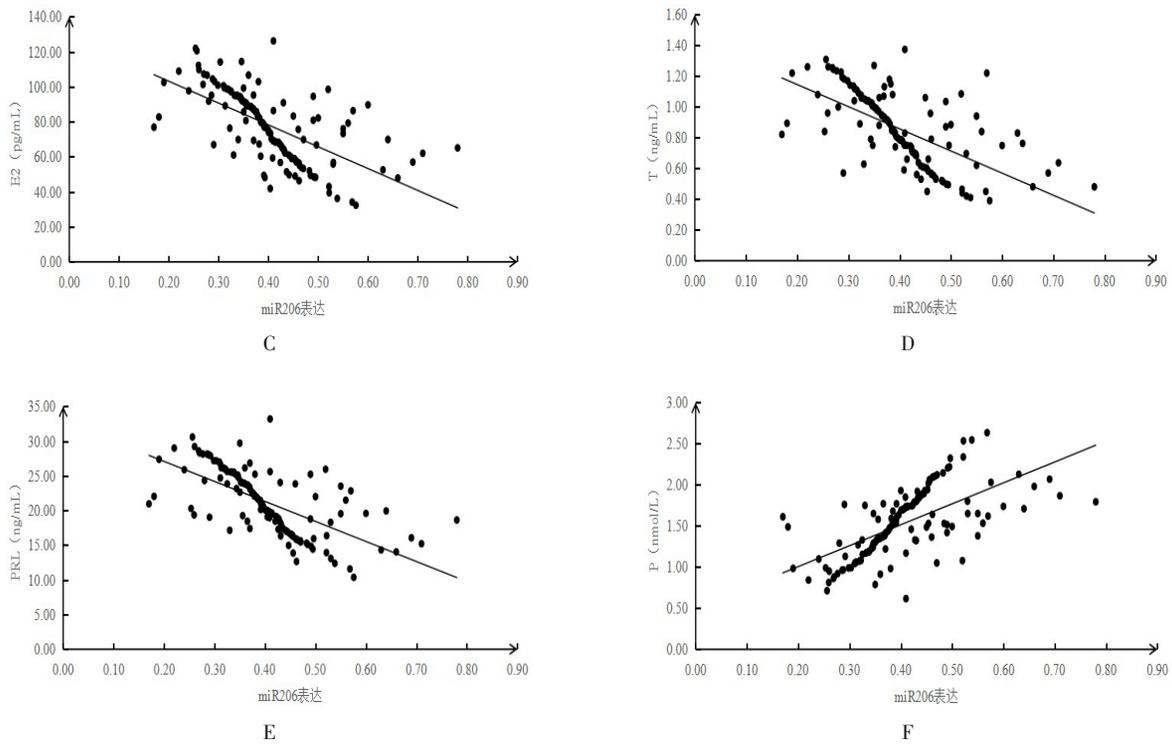


图 1 PCOS 患者血清 miR-206 表达与性激素水平的关系散点图



注: A: 血清 miR-206 表达与 FSH 的关系; B: 血清 miR-206 表达与 LH 的关系; C: 血清 miR-206 表达与 E₂ 的关系; D: 血清 miR-206 表达与 T 的关系; E: 血清 miR-206 表达与 PRL 的关系; F: 血清 miR-206 表达与 P 的关系。

续图 1 PCOS 患者血清 miR-206 表达与性激素水平的关系散点图

3 讨论

PCOS 是内分泌科常见病, 发生与遗传、环境等因素有关, 调查显示, 我国育龄期妇女 PCOS 患病率可高达 10%^[9], 并呈逐渐上升趋势。PCOS 对女性身心健康可造成严重损害, 及早对患者病情进行准确评估、为其制定合适的个体化治疗方案, 对促进其预后改善意义重大。调节内分泌激素水平、降低胰岛素抵抗等是临床治疗 PCOS 患者的重要干预途径, 而探寻影响内分泌或胰岛素抵抗等的相关因素、寻找相关分子靶点对指导临床治疗具有积极意义。

miRNA 属于非编码单链 RNA, 在胚胎发育、调节细胞增殖/分化/凋亡、调控免疫功能等生物过程中具有举足轻重的作用, 其在血清中稳定、易于检测, 目前已被证实可作为多种疾病诊断的特异性生物标志物与治疗靶点^[10-12]。miR206 位于人类染色体 6p12.2 上, 参与机体多种重要生理学过程。miR-206 可通过调节胰岛素信号传导、葡萄糖激酶活性, 抑制葡萄糖转运蛋白表达, 减少葡萄糖产生^[13], 同时其可调节人类卵巢颗粒细胞增殖

与凋亡^[14]。本研究中显示, 研究组血清 miR-206 表达较对照组明显降低, 提示 PCOS 患者血清 miR-206 表达明显下降。分析原因可能为, 当血清 miR-206 表达明显下降时, 则其调节胰岛素信号传导、卵巢颗粒细胞增殖与凋亡的作用减弱, 引起颗粒细胞功能失调, 对卵巢激素分泌和卵泡发育等产生影响, 从而参与 PCOS 的发病过程。白爱红等^[15] 研究指出, PCOS 患者血清 miR-206 表达明显低于月经规律健康女性, 本研究结果与此相一致, 共同表明血清 miR-206 低表达可能参与了 PCOS 发生发展。

另本研究中, 研究组血清 FSH、P 水平均明显低于对照组, 而血清 LH、E₂、T、PRL 水平均明显高于对照组, 提示 PCOS 患者存在下丘脑-垂体-性腺轴内分泌紊乱。高雄激素血症是 PCOS 患者重要临床特征之一, 血清 T 水平明显升高, 其可正反馈作用于下丘脑-垂体, 诱导 LH 分泌过多, FSH 处于正常状态或分泌减少; 而持续高水平 LH 又可促使卵泡膜细胞、间质细胞增生, 进而导致雄激素合成增多, 过多的雄激素通过芳香化作用可转化生成雌激素, 导致 E₂ 水平升高, 且高水平

雄激素可持续刺激垂体而促使 PRL 分泌增多。此外, 胰岛素抵抗是 PCOS 患者另一常见特征, 此可引起雄激素水平升高、P 水平降低等。黄立等^[16] 研究报道, PCOS 患者血清 T、E₂、LH 水平明显高于健康体检妇女, 本研究结果与此相符合。本研究还发现, PCOS 患者血清 miR-206 表达与 LH、E₂、T、PRL 水平均呈负相关性, 而与 FSH、P 水平均呈正相关性。研究^[17] 表明, miRNA 参与了 PCOS 中胰岛素抵抗的病理生理学过程。另有研究^[18] 报道, 血清 miRNA 表达与 E₂、P 等性激素水平具有一定的相关性。覃舒婷等^[19] 研究指出, 血清 miR-206 表达与雌激素受体表达呈负相关。miR-206 对人卵巢颗粒细胞增殖与凋亡具有一定的调节作用, 其低表达可促进 PCOS 发生发展^[20], 同时其表达上调对促进胰岛素信号改善具有一定作用^[21], 因此, 血清 miR-206 表达有可能通过上述路径而对 PCOS 患者下丘脑-垂体-性腺轴内分泌相关指标产生调节作用, 影响 LH、E₂、T、PRL、FSH、P 分泌与释放。

综上所述, PCOS 患者血清 miR-206 表达明显下降, 且与 LH、E₂、T、PRL、FSH、P 水平存在一定关系, 临床中可通过干扰 miR 表达调节下丘脑-垂体-性腺轴内分泌状态与功能, 此为 PCOS 治疗方案的研究提供了新思路。但本研究具有一定的局限性, miR-206 参与 PCOS 发生与发展的具体机制尚不明确, 后续需进一步深入探索分析。

参 考 文 献

[1] COLLÉE J, MAWET M, TEBACHE L, et al. Polycystic ovarian syndrome and infertility: overview and insights of the putative treatments[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2021, 37(10): 869-874.

[2] SILVA MSB, GIACOBINI P. New insights into anti-Müllerian hormone role in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis and neuroendocrine development[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(1): 1-16.

[3] HERNÁNDEZ-JIMÉNEZ JL, BARRERA D, ESPINOZA-SIMÓN E, et al. Polycystic ovarian syndrome: signs and feedback effects of hyperandrogenism and insulin resistance[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2022, 38(1): 2-9.

[4] KAUR P, KOTRU S, SINGH S, et al. Role of miRNAs in the pathogenesis of T2DM, insulin secretion, insulin resistance, and β cell dysfunction: the story so far[J]. *J Physiol Biochem*, 2020, 76(4): 485-502.

[5] VITALE SG, FULGHESU AM, MIKUŠ M, et al. The translational role of miRNA in polycystic ovary syndrome: from bench to bedside—a systematic literature review[J]. *Biomedicines*, 2022, 10(8): 1816.

[6] WU H, ZHANG TP, PAN F, et al. MicroRNA-206 prevents hepatosteatosis and hyperglycemia by facilitating insulin signaling and impairing lipogenesis[J]. *J Hepatol*, 2017, 66(4): 816-824.

[7] ZHOU J, JIN XJ, SHENG ZM, et al. MiR-206 serves an important role in polycystic ovary syndrome through modulating ovarian granulosa cell proliferation and apoptosis[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21(3): 179.

[8] 中华医学会妇产科学分会内分泌学组及指南专家组. 多囊卵巢综合征中国诊疗指南[J]. *中华妇产科杂志*, 2018, 53(1): 2-6.

[9] 丁志玲, 梁瑞宁. 肠道菌群在多囊卵巢综合征代谢异常中的作用[J]. *中国中西医结合杂志*, 2019, 39(10): 1272-1275.

[10] TADOKORO T, MORISHITA A, MASAKI T. Diagnosis and therapeutic management of liver fibrosis by microRNA[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(15): 8139.

[11] IAQUINTA MR, LANZILLOTTI C, MAZZIOTTA C, et al. The role of microRNAs in the osteogenic and chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells and bone pathologies[J]. *Theranostics*, 2021, 11(13): 6573-6591.

[12] KOH HS, LEE S, LEE HJ, et al. Targeting microRNA-485-3p blocks Alzheimer's disease progression[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(23): 13136.

[13] VINOD M, PATANKAR JV, SACHDEV V, et al. MiR-206 is expressed in pancreatic islets and regulates glucokinase activity[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2016, 311(1): E175-E185.

[14] CUI X, ZHOU SS, LIN YT. Protective effects of liquiritin on polycystic ovary syndrome through modulating ovarian granulosa cell proliferation and apoptosis via miR-206/PI3K/AKT pathway[J]. *Cytotechnology*, 2022, 74(3): 385-393.

[15] 白爱红, 付秀虹, 李荣香, 等. 多囊卵巢综合征患者血清 miR-206 和 IGF-1 的表达水平及临床意义[J]. *中国妇幼保健*, 2019, 34(1): 139-142.

[16] 黄立, 张玉瑾, 胡玉芳. 多囊卵巢综合征患者 25(OH)D₃、抗苗勒管激素和卵巢储备水平变化及与不孕的相关性[J]. *临床和实验医学杂志*, 2022, 21(13): 1418-1422.

[17] ZHANG CR, YU CY, LIN ZX, et al. MiRNAs expression profiling of rat ovaries displaying PCOS with insulin resistance[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2020, 302(5): 1205-1213.

[18] 郭玲, 李莉, 成小霞, 等. 稽留流产患者血清 miRNA-144 表达及与性激素水平的相关性[J]. *中国计划生育学杂志*, 2022, 30(11): 2596-2599.

[19] 覃舒婷, 莫军扬, 张敏敏, 等. MiR-206、miR-155 在乳腺癌中的表达及其与激素受体相关性分析[J]. *重庆医学*, 2019, 48(19): 3380-3383.

[20] ZHANG ZH, SANG M, LIU SQ, et al. Differential expression of long non-coding RNA Regulator of reprogramming and its molecular mechanisms in polycystic ovary syndrome[J]. *J Ovarian Res*, 2021, 14(1): 79.

[21] DING XQ, GU TT, WANG W, et al. Curcumin protects against fructose-induced podocyte insulin signaling impairment through upregulation of miR-206[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2015, 59(12): 2355-2370.

(张咏 编辑)