

• 基础科研论著 •

妊娠期糖尿病对新生小鼠脑组织形态结构及 miRNA 表达谱的影响

黄婉仪, 张又祥, 欧巧群, 刘元春, 郭家雨

广州市第一人民医院儿科, 广东 广州 510180

摘要: **目的** 研究妊娠期糖尿病(GDM)对新生小鼠脑组织形态结构及微小核糖核苷酸(miRNAs)表达谱的影响, 为 GDM 子代神经发育异常预防和治疗提供新的研究靶点。**方法** 将妊娠鼠分为模型组和对照组各 10 只, 模型组小鼠通过注射链脲佐菌素建立 GDM 模型, 测量不同时间的空腹血糖(FPG)和随机血糖(GLU)。造模成功小鼠随机分为模型 A 组和模型 C 组, 对照组小鼠分为对照 B 组和对照 D 组, 每组各 5 只。其中 A、B 组新生小鼠用于进行海马组织基因芯片检测及大脑形态结构观察; C、D 组新生小鼠用于 qRT-PCR 检测海马组织的表达差异, 以验证基因芯片筛选所得 miRNAs 差异表达基因。新生小鼠脱颈处死, 剥离脑组织观察整体形态结构, HE 显色显微镜下观察海马组织结构变化。基因芯片检测小鼠海马组织 miRNA 表达谱, 筛选差异 miRNAs 并预测其靶基因, 对靶基因进行 GO 分析及信号转导通路分析。以 qRT-PCR 验证筛选的 miRNAs 相对表达量。**结果** 与对照组比较, 模型组自给药后第 3 天起 GLU 显著上升($P < 0.01$)。肉眼观察对照 B 组小鼠脑形态结构正常, 外形结构光滑, 脑回清晰, 海马组织细胞结构排列紧密, 染色均匀, 结构完整; 模型 A 组脑沟变浅, 脑回增宽, 海马组织细胞数量减少, 排列疏松, 核固缩深染。miRNA 芯片初筛, 对照组和模型组海马组织有 11 个差异表达 miRNAs, 全部为下调 miRNAs, 包括 let-7b-5p, miR-130b-3p, miR-181c-5p, miR-181d-5p, miR-3099-3p, miR-3470a, miR-3473a, miR-3473b, miR-500-3p, miR-532-5p, miR-7047-5p($P < 0.05$)。靶基因预测和 GO 分析筛选出 2 个 miRNAs(miR-3473b, miR-7047-5p), 和 5 个与神经营养素信号通路相关的靶基因(MAPK3、MAPK11、MAPK14、CALM3、AKT3)。模型 C 组的 miR-3473b 及 miR-7047-5p 相对表达量均低于对照 D 组($t = 19.13, 6.24, P < 0.05$), 验证结果与芯片检测结果相符。**结论** 与正常妊娠小鼠子代相比, GDM 子代小鼠存在脑结构发育异常和海马神经细胞损伤, 且海马组织存在 miRNAs 异常表达, 差异表达 miRNA 可作为 GDM 子代神经发育异常预防和治疗的研究靶点。

关键词: 妊娠期糖尿病; 微小核糖核苷酸; 脑组织形态结构; 基因表达谱

中图分类号: R714.256; R722.1; R-322 文献标识码: A 文章编号: 1008-6579(2024)02-0154-05 doi: 10.11852/zgetbjzz2023-0077

Effects of gestational diabetes mellitus on brain development and miRNAs expression profile in neonatal mice

HUANG Wanyi, ZHANG Youxiang, OU Qiaqun, LIU Yuanchun, GUO Jiayu

Department of Pediatrics, Guangzhou First People's Hospital, Guangzhou, Guangdong 510180, China

Corresponding author: ZHANG Youxiang, E-mail: youxiangz@163.com

Abstract: **Objective** To study the effects of gestational diabetes (GDM) on morphological structure of brain tissue and microribonucleotide (miRNA) expression profile in neonatal mice, and to provide a new research target for the prevention and treatment of abnormal neurodevelopment in GDM progeny. **Methods** The pregnant mice were divided into model group and control group, each group consisted of 10 mice. The model group mice established a GDM model by injecting streptozotocin to measure fasting blood glucose (FPG) and random blood glucose (GLU) at different times. Successful molded mice were randomly divided into model group A and model group C, and control mice were divided into control group B and control group D, with 5 mice in each group. The newborn mice in groups A and B were used for hippocampal tissue GeneChip detection and brain morphology structure observation, and group C and D newborn mice were used for qRT-PCR detection of hippocampus tissue expression differences to verify the differentially expressed genes of miRNAs obtained by GeneChip screening. After giving birth, the neonatal mice were sacrificed by decapitation, and the brain tissue was dissected to observe the overall morphological structure. The structural changes of hippocampus were observed under HE chromogenic microscope. The Agilent mouse miRNA oligonucleotide gene chip was used to detect the miRNA expression profile of mouse hippocampus, screen differential miRNAs and predict their target genes, and conduct

基金项目: 广州市卫生健康科技西医类一般引导项目(2020A011003)

作者简介: 黄婉仪(1986-), 女, 广东人, 主治医师, 硕士学位, 主要研究方向为新生儿疾病。

通信作者: 张又祥, E-mail: youxiangz@163.com

GO analysis and signal transduction pathway analysis of target genes. The relative expression levels of the screened miRNAs were verified by qRT-PCR. **Results** Compared with the control group, the GLU increased significantly from the 3rd day after drug administration in the model group ($P < 0.01$). Macroscopic observation of control group B mice had normal brain morphology and structure, smooth appearance, clear gyrus, close arrangement of hippocampus cell structure, uniform staining and complete structure; in model group A, the number of hippocampus cells decreased, loose arrangement and deep staining. In the initial screen of miRNA microarray, there were 11 differentially expressed miRNAs between control and model groups, all of which were downregulated miRNAs, including let-7b-5p, miR-130b-3p, miR-181c-5p, miR-181d-5p, miR-3099-3p, miR-3470a, miR-3473a, miR-3473b, miR-500-3p, miR-532-5p, miR-7047-5p ($P < 0.05$). Two miRNAs (miR-3473b, miR-7047-75p) and 5 target genes (MAPK3, MAPK11, MAPK14, CALM3, AKT3). The relative expression of miR-3473b and miR-7047-5p in model group C were lower than that in control group D ($t=19.13$ and 6.24 , $P < 0.05$), and the validation results were consistent with the microarray test results. **Conclusion** Compared with the offspring of normal pregnant mice, GDM offspring mice have abnormal development of brain structure and damage of hippocampal nerve cells, and there are a large number of abnormal expression of miRNAs in hippocampal tissue. Differentially expressed miRNAs can be used as research targets for prevention and treatment of GDM offspring neurodevelopmental abnormalities.

Keywords: gestational diabetes; microRNA; morphological structure of brain tissue; gene expression profile

妊娠期糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM) 是妊娠期的常见并发症,也是导致妊娠期子痫、早产等并发症的常见原因。有研究发现,宫内的高糖环境可影响胎儿的生长发育,增加新生儿神经行为发育异常风险,尤其损害子代认知功能^[1]。目前认为,生命发育早期环境能通过相关基因的表达遗传修饰影响基因的表达,从而影响个体的器官功能发育,包括某些疾病的易感性^[2-3]。微小核糖核苷酸 (microRNA, miRNA) 作为小分子非编码蛋白的 RNA,能与靶基因的特性序列相互作用,增强靶基因活性,发挥病理生理的调节作用^[4]。且国内外文献均证实,miRNAs 在神经系统的发育及神经系统疾病的发生发展中有重要作用^[5-6]。故本研究通过建立 GDM 小鼠模型,以基因表达谱芯片分析技术筛选 GDM 子代鼠海马组织中的差异表达 miRNAs,从分子水平探讨对 GDM 致子代神经行为发育异常的作用机制,为 GDM 子代大脑发育异常的基因诊断及治疗提供新的思路。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 清洁级昆明小鼠雌、雄分别 20、10 只,8~9 周龄,通风环境饲养,温度 $22^{\circ}\text{C} \sim 26^{\circ}\text{C}$,自由进食饮水,灯光照明 12h/d。昆明小鼠由广东药科大学实验动物中心提供[批号:SYXK(粤)2017-0125]。

1.1.2 药物、主要试剂和仪器 链脲佐菌素 (Streptozotocin, STZ),纯度:98%,上海源叶生物科技有限公司;乙醚,含量 $>99\%$,常州市嘉杰新型材料科技有限公司。RIPA 蛋白裂解液,蛋白定量分

析试剂盒,美国 Thermo 公司;羊抗鼠二抗,超敏化学发光显色试剂盒,逆转录试剂盒,美国 Promega 公司。NanoDrop 2000 仪器,美国 NanoDrop 公司;Agilent Bioanalyzer 2100 仪,安捷伦科技(中国)有限公司。TCL-16M 台式高速冷冻离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;紫外线可见分光光度计,上海仪电分析仪器有限公司;水平电转槽、垂直板电泳槽、电泳仪,济南爱来宝仪器设备有限公司。

1.2 方法

1.2.1 造模及分组 依据文献^[7-8]进行动物造模,小鼠常规适应性饲养 1 周,以高脂饮食继续喂养 4 周,按照雌雄比例 2:1 合笼过夜,次日清晨观察雌鼠有无阴道栓脱落,并以棉签采集阴道分泌物进行阴道涂片,显微镜下观察阴道涂片内见大量精子为妊娠第 0.5 天,标记孕期。将妊娠鼠分为模型组 and 对照组各 10 只,模型组确定受精后空腹 12h,给予质量分数 1% 的 STZ 新鲜溶液 (柠檬酸缓冲液配置: 0.1mmol/L , pH4.4),按照 150mg/kg 腹腔注射,4h 后正常饮食,每天 1 次,连续 STZ 新鲜溶液注射 3d,对照组注射等量柠檬酸缓冲液。以血糖仪检测小鼠尾静脉血糖,分别于合笼前、妊娠 1.5d、妊娠 5.5d、妊娠 11.5d、妊娠 18.5d 检测空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG),合笼前,给药后第 1、2、3 天及妊娠第 4.5、10.5、17.5 天测定随机血糖 (glucose blood glucose, GLU)。造模成功小鼠随机分为模型 A 组和模型 C 组,对照组小鼠分为对照 B 组和对照 D 组,每组 5 只。

1.2.2 新生鼠大脑标本收集与处理 待孕鼠产后,每组各选取 10 只新生鼠,新生鼠乙醚麻醉后脱颈处死,开颅剥离脑组织,观察其整体形态结构。其中

A、B 组新生小鼠各取海马组织 30mg 行基因芯片检测,其余脑组织置于 4% 质量分数甲醛溶液中固定 24h,酒精梯度脱水,石蜡包埋,冷却凝固后制成 4 μ m 厚度切片,行 HE 染色,镜下观察海马组织 CA1 区形态结构。

1.2.3 miRNAs 基因芯片处筛 miRNAs 差异表达谱 取模型 A 组和对照 B 组新生鼠脑组织,Trizol 试剂盒提取总 RNA,经 NanoDrop 2000 仪和 Agilent Bioanalyzer 2100 仪质检,质控标准:Thermo NanoDrop 2000 为 $1.7 < A_{260}/A_{280} < 2.2$,Agilent Bioanalyzer 2100 Bioanalyzer 为 $RIN \geq 7.0$ 且 $28S/18S > 0.7$,合格样本进入芯片实验。委托上海康成科技有限公司完成芯片杂交与洗涤,使用 Axon GenePix 4000B 芯片扫描仪,扫描文件导入 GenePix Pro 6.0 分析系统。利用 Gene Ontology(GO)(<http://geneontology.org/>)分析进行 GO 分类。

1.2.4 qRT-PCR 检测海马组织的表达差异 取模型 C 组和对照 D 组新生鼠海马组织各 30mg,Trizol

法炎症总 RNA,逆转录获得 cDNA,选取经基因芯片筛选出来的 miRNAs 相对表达量,U6 为内参基因,以 $\Delta\Delta Ct$ 值表示各个 miRNAs 的相对表达量。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据的分析与处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间数据比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 模型组和对照组不同时间的 FPG 和 GLU 比较 模型组妊娠 1.5d、5.5d、11.5d、18.5d 的 FPG 均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);两组合笼前的 FPG 差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。模型组给药后第 1、2、3 天和妊娠第 4.5、10.5、17.5 天的 GLU 均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);两组合笼前的 GLU 差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 1 GDM 组和对照组不同时间的 FPG 比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of fasting blood glucose between GDM group and control group at different times($\bar{x} \pm s$)

组别	合笼前	妊娠 1.5d	妊娠 5.5d	妊娠 11.5d	妊娠 18.5d
模型组	5.01 $\pm$ 0.82	7.99 $\pm$ 1.23	12.65 $\pm$ 3.85	13.01 $\pm$ 4.01	12.89 $\pm$ 3.70
对照组	4.92 $\pm$ 0.85	5.11 $\pm$ 0.80	4.98 $\pm$ 0.72	5.05 $\pm$ 0.79	5.20 $\pm$ 0.70
t 值	0.241	6.207	6.193	6.159	6.458
P 值	0.812	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

表 2 GDM 组和对照组不同时间的 GLU 比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of random blood glucose between GDM group and control group at different time($\bar{x} \pm s$)

组别	合笼前	给药第 1 天	给药第 2 天	给药第 3 天	妊娠第 4.5 天	妊娠 10.5 天
模型组	5.11 $\pm$ 0.70	9.25 $\pm$ 1.25	15.65 $\pm$ 3.85	16.01 $\pm$ 4.01	15.89 $\pm$ 3.70	15.65 $\pm$ 3.85
对照组	5.05 $\pm$ 0.82	5.10 $\pm$ 0.85	4.91 $\pm$ 0.85	4.88 $\pm$ 0.70	5.08 $\pm$ 0.82	5.11 $\pm$ 0.75
t 值	0.176	8.682	8.614	8.670	9.020	8.498
P 值	0.862	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

2.2 新生小鼠脑组织形态结构观察 肉眼观察对照 B 组小鼠脑形态结构正常,外形结构光滑,脑回清晰,模型 A 组脑沟变浅,脑回增宽。见图 1。HE 染色镜下观察显示,对照 B 组海马组织细胞结构排列紧密,染色均匀,结构完整;模型 A 组海马组织细胞数量减少,排列疏松,核固缩深染。见图 2。

2.3 miRNA 芯片初筛 miRNAs 表达差异 利用 miRNA 芯片筛选模型 A 组与对照 B 组海马组织经 Agilent miRNA 表达谱芯片进行基因检测,所获 miRNAs 水平资料见表 3。结果显示:经 GenePix Pro 6.0 分析系统计算标准信号值的变化倍数(fold change, FC),筛选标准为差异表达在 1.5 倍($\log_2 |FC| < 0.8$)以上,且表达信号值在 7 左右,相比于对照组而言,模型 A 组 miRNAs 表达上调基因 0 个,miRNAs 表达下

调基因 11 个,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

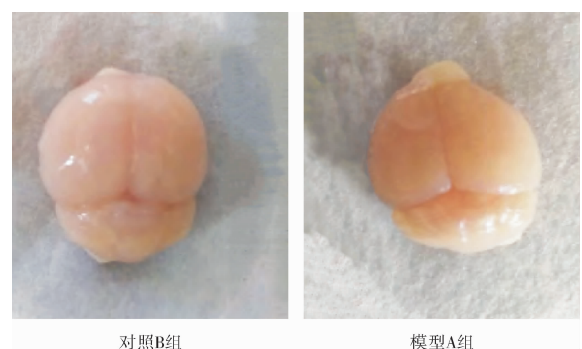


图 1 新生鼠脑形态结构大体观察

Fig. 1 General observation of brain morphology and structure of newborn rats

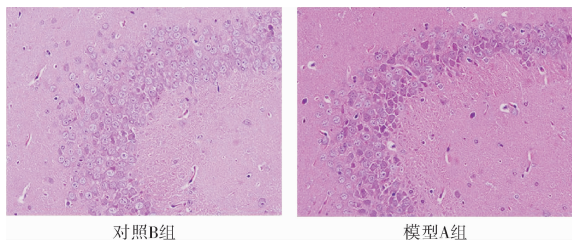


图 2 海马组织 CAI 区形态结构观察(HE×200)

Fig. 2 Morphological observation of CAI area of hippocampus (HE×200)

表 3 模型 A 组与对照 B 组差异表达 miRNAs

Tab. 3 Differential expression of miRNAs between model group A and control group B

miRNA 名称	模型 A 组水平	对照 B 组水平	FC(log ₂ FC)	P 值
let-7b-5p	10.96	11.04	1.22	0.047
miRNA-130b-3p	5.33	5.39	1.24	0.033
miRNA-181c-5p	5.45	5.49	1.26	0.045
miRNA-181d-5p	7.00	5.52	1.21	0.045
miRNA-3473b	8.18	8.99	1.74	0.021
miRNA-3099-3p	5.35	5.41	1.41	0.010
miRNA-3473a	5.40	5.61	1.47	0.009
miRNA-3470a	5.39	5.49	1.20	0.006
miRNA-7047-5p	6.09	6.81	1.64	0.004
miRNA-532-5p	5.37	5.41	1.29	0.036
miRNA-500-3p	5.55	5.61	1.24	0.029

2.4 差异表达 miRNAs 靶基因预测及 GO 分析
根据差异靶基因的分析结果,综合考虑下调倍数,结合查阅文献,利用 TargetScan, PITA, microRNAorg 数据进行差异 miRNA 靶基因预测,miR-3473b、miR-7047-5p 在神经系统疾病领域的研究较少,进行相关靶基因预测。见表 4。利用 KEGG 数据库对表 4 中靶基因进行 Pathway 分析,其中 MAPK3、MAPK11、MAPK14、CALM3、AKT3 五个基因与神经营养信号通路相关。

表 4 与神经系统疾病相关的差异表达 miRNAs 靶基因

Tab. 4 Differently expressed miRNAs target genes related to nervous system diseases

miRNAs	靶基因
miR-3473b	MAPK3、KCNJ5、GNG11、PPP2R5D、RIMS1、PRKACA、GNB5、PPP2R5A、GNAI2、CALM3、AKT3
miR-7047-5p	PPP1CC、GNG11、MAPK11、MGLL、GNB1、MAPK14、GSK3B、CACNA1B

2.5 新生鼠脑组织中相关差异基因表达水平比较
模型 C 组的 miR-3473b 及 miR-7047-5p 相对表达量均低于对照 D 组(0.32±0.22 vs. 0.66±0.12 及 0.56±0.06 vs. 0.88±0.11),差异有统计学意义($t=19.13, 6.24, P<0.05$),验证结果与芯片检测结

果相符。

3 讨论

一项调查东亚和东南亚 GDM 患病率的荟萃分析显示,我国的 GDM 发病率为 11.91%,高于日本、韩国和泰国(<8.0%),造成了严重的健康和经济负担^[9]。GDM 不仅在短期内造成妊娠期并发症及不良围产结局,而且可增加母体及其后代糖尿病和心血管疾病的患病风险^[10-11]。近年来的新生儿及婴幼儿脑超声检查中发现,GDM 母亲子代存在脑结构异常情况,表现为脑含水量多,整体均匀偏低、脑沟浅等,说明妊娠期的高糖环境可造成胎儿脑组织结构和功能的改变。研究表明,与非 GDM 的子代相比,GDM 子代的精细和粗大运动功能、语言表达能力、学习和长期记忆储存或提取方面较差^[12-13]。以上研究说明,妊娠期宫内高血糖环境可能影响胚胎的脑组织结构发育及神经系统发育。本研究结果显示,模型 A 组新生鼠脑沟变浅,脑回增宽,海马组织细胞数量减少,排列疏松,核固缩深染,提示 GDM 可影响子代脑组织结构和神经发育。

GDM 子代神经行为发育异常的相关机制尚未明确,目前认为涉及遗传、氧化应激、炎症等多个因素,而基因表达的调控作用是研究热点。Lester 等^[14]认为,胎盘功能对胎儿大脑发育程序的影响重点在于表观遗传学,包括基因和 miRNA 表达等。胚胎期是神经系统发育的重要时期,在妊娠期高糖环境能够引起炎症反应和氧化应激,进而影响神经系统的发育。既往研究说明高糖环境可影响胚胎神经系统发育过程中相关基因的表达,导致信号通路的变化,影响子代的器官功能发育。miRNA 作为序列较短、稳定性较强的内源性编码 RNA 分子,能通过调节细胞的增殖、分化、凋亡等活动在神经系统的发育及相关疾病中有重要作用^[15]。因此了解 GDM 子代脑组织 miRNAs 的差异化表达,对于新生儿神经系统发育相关病理生理的精准医学研究有重要意义。本研究结果显示模型 A 组 miRNAs 上调基因 0 个,miRNAs 下调基因 11 个,提示 GDM 子代神经发育异常与 miRNAs 的差异表达有关。

3.1 miR-3473b 及 miR-7047-5p 表达水平与神经系统发育之间的关联
根据差异 miRNAs 的分析结果,选取在神经系统疾病领域研究较少的 miR-3473b 及 miR-7047-5p。miRNA 是一类具有非常复杂功能的小片段 RNA 分子,可以影响转录和蛋白质合成。在近年来的研究中,miR-3473b 和 miR-7047-5p 的调控作用特别引起了研究者对它们及其

对糖尿病和神经系统发育的影响的兴趣。

首先,miR-3473b 在神经发育中起着关键作用。研究表明,该 microRNA 可以调节受体信号通路中关键性靶基因,如 *Nestin*、*Myc*、*Erk1/2*、*Shp2*、*c-Jun* 和 *Gata3* 等,由此可以活动神经细胞的形成和分化^[16-19]。此外,miR-3473b 可以同时调节不同类型的神经细胞的发育和功能,因此,研究者认为它可以帮助促进神经系统发育并改善神经发育缺陷,如癫痫、抑郁、精神分裂症等。其次,miR-3473b 还可通过调节胰岛素信号传导路径的表达来调控血糖水平。有报道指出,当 miR-3473b 被耗竭时,小鼠就会出现严重的血糖控制问题^[20]。此外,研究还发现,miR-3473b 还可以调节胰岛素信号转导的表达,即不良的胰岛素信号转导形式可以通过降低 miR-3473b 表达水平来加剧糖尿病症状。

另一方面,miR-7047-5p 亦可能与神经发育有关。有研究小组发现,miR-7047-5p 可以调节脊髓神经发育的抑制作用^[21]。该研究指出,随着 miR-7047-5p 浓度的升高,脊髓神经发育的障碍就会加剧。因此,通过控制 miR-7047-5p 的表达,可以改善神经发育的过程,促进神经发育的良性发展。此外,miR-7047-5p 还可以调控多巴胺中枢神经系统的形成,从而影响行为发育。研究发现,小鼠模型中,miR-7047-5p 的表达量直接影响多巴胺中枢神经系统的形成,当 miR-7047-5p 的表达水平降低时,小鼠的行为会非常异常,如出现抑郁症状^[22]。

3.2 MAPK3、MAPK11、MAPK14、CALM3、AKT3 因子在神经营养通路中相互作用的研究进展

此外,本研究利用 TargetScan, PITA, microRNAorg 数据对差异表达的 miR-3473b 及 miR-7047-5p 进行靶基因预测,再利用 KEGG 数据库进行 Pathway 分析,筛选出 5 个与神经营养信号通路相关的靶基因: *MAPK3*、*MAPK11*、*MAPK14*、*CALM3*、*AKT3*。这些蛋白质在神经营养通路中的作用是非常复杂的。

MAPK3、*MAPK11* 及 *MAPK14* 同属 MAPK 家族。研究表明,*MAPK3* 可以参与调控神经元的生长、分化和存活,同时也是神经元突触可塑性的重要因素。在神经元中,*MAPK3* 可以通过多个途径被激活,包括神经营养素的结合、G 蛋白偶联受体的激活等。*MAPK11* 和 *MAPK14* 均能参与调控神经元的应激反应和炎症反应。在神经元中,*MAPK11* 可以被多种刺激物激活,包括热激、氧化应激、细胞因子等。*MAPK14* 可以参与调控神经元的应激反应和细胞凋亡。

CALM3 是一种钙调蛋白。研究表明,*CALM3* 可以参与调控神经元的生长、分化和存活。在神经元中,*CALM3* 可以通过钙离子的结合被激活,从而调节多个下游效应分子的活性。包括 *MAPK3*、*AKT3* 等。

AKT3 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,研究表明,*AKT3* 可以参与调控神经元的生长、分化和存活。在神经元中,*AKT3* 可以通过多种途径被激活,包括神经营养素的结合、G 蛋白偶联受体的激活等。

综上所述, *MAPK3*、*MAPK11*、*MAPK14*、*CALM3* 和 *AKT3* 等多个蛋白质在神经营养通路中发挥着非常重要的作用。它们通过调节多个下游效应分子的活性,从而实现神经元的生长、分化、存活和应激反应等多种生物学过程。这些蛋白质之间的关联非常复杂,需要进一步深入研究才能更好地理解它们之间的相互作用。而 miR-3473b 及 miR-7047-5p 与这 5 个靶基因之间的具体关联及相互作用,则需要更深层次的探讨。

因此,miR-3473b 和 miR-7047-5p 对于神经系统发育具有重要的调节功能,结合本实验结果,提示可将 miR-3473b 及 miR-7047-5p 作为 GDM 子代神经发育异常预防和治疗的研究靶点。

参考文献

- [1] 郑晓芳,彭娘海,黄真轩,等. BDNF 在妊娠糖尿病小鼠胎盘中的表达及对小鼠子宫内生长发育情况的影响[J]. 中国优生与遗传杂志, 2022, 30(2):196-201.
Zheng XF, Peng NH, Huang ZX, et al. The expression of BDNF in the placenta of pregnant diabetes mice and its effect on the intrauterine growth and development of the offspring of mice[J]. Chin J Birth Health Heredity, 2022, 30(2): 196-201.
- [2] Cao T, Zhen XC. Dysregulation of miRNA and its potential therapeutic application in schizophrenia[J]. CNS Neurosci Ther, 2018, 24(7):586-597.
- [3] 周丽媛,肖新华. 生命早期营养与糖代谢异常发生发展的新启示:糖尿病防治窗口需前移[J]. 中华糖尿病杂志, 2021, 13(12):1109-1114.
Zhou LY, Xiao XH. New enlightenment from the occurrence and development of nutrition and glucose metabolism abnormalities in early life: The window for prevention and treatment of diabetes needs to move forward[J]. Chin J Diabetes Mellitus, 2021, 13(12): 1109-1114.
- [4] 何泽银,邓皓元,李汇华. miRNA-27 a 在心血管疾病中的作用机制[J]. 生理科学进展, 2021, 52(1):44-48.
He ZY, Deng HY, Li HH. The mechanism of action of miRNA-27a in cardiovascular disease[J]. Prog Physiol Sci, 2021, 52(1): 44-48.
- [5] 红梅,张凤兰,戴海龙. MiRNAs 在成体神经发生中的作用

(下转第 180 页)

- 因变异筛查[J]. 中国热带医学, 2020, 20(9): 839-842,848.
- Lu J, Pan X, Chen W, et al. Screening of mitochondrial genetic variation in 102 children with unexplained cerebral palsy[J]. Chin Tropical Med, 2020, 20(9): 839-842,848. (in Chinese)
- [60] Rodriguez J, Li T, Xu Y, et al. Role of apoptosis-inducing factor in perinatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. Neural Regen Res, 2021, 16(2): 205-213.
- [61] Dayanidhi S, Buckner EH, Redmond RS, et al. Skeletal muscle maximal mitochondrial activity in ambulatory children with cerebral palsy[J]. Dev Med Child Neurol, 2021, 63(10): 1194-1203.
- [62] Sen A, Gurdziel K, Liu J, et al. Smooth, an hnRNP-L homolog, might decrease mitochondrial metabolism by post-transcriptional regulation of isocitrate dehydrogenase (Idh) and other metabolic genes in the sub-acute phase of traumatic brain injury[J]. Front Genet, 2017, 8: 175.
- [63] Pingel J, Vandenrijt J, Kampmann ML, et al. Altered gene expression levels of genes related to muscle function in adults with cerebral palsy[J]. Tissue Cell, 2022, 76: 10174.
- [64] Aycicek A, Iscan A. Oxidative and antioxidative capacity in children with cerebral palsy[J]. Brain Res Bull, 2006, 69(6): 666-668.
- [65] 杨海燕, 吴丽文. 线粒体功能障碍与癫痫发病机制[J]. 中风与神经疾病杂志, 2018, 35(8): 766-768.
- Yang HY, Wu LW. Mitochondrial dysfunction and pathogenesis of epilepsy[J]. J Apoplexy Nerv Dis, 2018, 35(8): 766-768. (in Chinese)
- 收稿日期:2023-04-09 修回日期:2023-06-25 本文编辑:杨媛媛

(上接第 158 页)

- [J]. 临床与病理杂志, 2021, 41(3): 663-672.
- Hong M, Zhang FL, Dai HL. The role of MiRNAs in adult neurogenesis[J]. J Clin Pathol Res, 2021, 41(3): 663-672. (in Chinese)
- [6] Mathoux J, Henshall DC, Brennan GP. Regulatory mechanisms of the RNA modification m6A and significance in brain function in health and disease[J]. Front Cell Neurosci, 2021, 15: 671932.
- [7] 丁敬, 冷在华, 张秀琼. 人参皂苷 Re 通过内质网应激通路对妊娠期糖尿病大鼠妊娠结局的影响及相关机制[J]. 临床和实验医学杂志, 2021, 20(8): 804-808.
- Ding J, Leng ZH, Zhang XQ. The effect of ginsenoside Re on the pregnancy outcome of pregnant diabetes rats through endoplasmic reticulum stress pathway and related mechanisms[J]. J Lab Clin Med, 2021, 20(8): 804-808. (in Chinese)
- [8] 刘侃, 王秋明, 宋婉玉, 等. 口服益生菌对妊娠期糖尿病小鼠肠道菌群及调节性免疫细胞的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2020, 32(2): 166-171.
- Liu K, Wang QM, Song WY, et al. Effects of oral probiotics on intestinal flora and regulatory immune cells in pregnant diabetes mice[J]. Chin J Microecol, 2020, 32(2): 166-171. (in Chinese)
- [9] Nguyen CL, Pham NM, Binns CW, et al. Prevalence of gestational diabetes mellitus in eastern and southeastern Asia: A systematic review and meta-analysis[J]. J Diabetes Res, 2018, 2018: 6536974.
- [10] American Diabetes Association 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes—2020 [J]. Diabetes Care, 2020, 43(Suppl): 14-31.
- [11] Vounzoulaki E, Khunti K, Abner SC, et al. Progression to type 2 diabetes in women with a known history of gestational diabetes: Systematic review and Meta-analysis[J]. BMJ, 2020, 369: m1361.
- [12] Li C, Zhou P, Cai Y, et al. Associations between gestational diabetes mellitus and the neurodevelopment of offspring from 1 month to 72 months: Study protocol for a cohort study[J]. BMJ Open, 2020, 10(11): e040305.
- [13] Veena SR, Krishnaveni GV, Srinivasan K, et al. Childhood cognitive ability: Relationship to gestational diabetes mellitus in India [J]. Diabetologia, 2010, 53(10): 2134-2138.
- [14] Lester BM, Marsit CJ. Epigenetic mechanisms in the placenta related to infant neurodevelopment[J]. Epigenomics, 2018, 10(3): 321-333.
- [15] Channakkar AS, Singh T, Pattnaik B, et al. MiRNA-137-mediated modulation of mitochondrial dynamics regulates human neural stem cell fate[J]. Stem Cells, 2020, 38(5): 683-697.
- [16] Wang X, Chen S, Ni J, et al. miRNA-3473b contributes to neuroinflammation following cerebral ischemia [J]. Cell Death & Disease, 2018, 9(1): 1-13.
- [17] Yang X, Xie J, Jia L, et al. Analysis of miRNAs involved in mouse brain damage upon enterovirus 71 infection[J]. Front Cell Infect Mi, 2017, 7: 133.
- [18] Cao S, Yang Y, Yu Q, et al. Electroacupuncture alleviates ischaemic brain injury by regulating the miRNA-34/Wnt/autophagy axis[J]. Br J Med, 2021, 170: 155-161.
- [19] Lv Q, Zhong Z, Hu B, et al. MicroRNA-3473b regulates the expression of TREM2/ULK1 and inhibits autophagy in inflammatory pathogenesis of Parkinson disease[J]. J Neurochem, 2021, 157(3): 599-610.
- [20] Wu C, Xue Y, Wang P, et al. IFN- γ primes macrophage activation by increasing phosphatase and tensin homolog via downregulation of miR-3473b [J]. J Immunol, 2014, 193(6): 3036-3044.
- [21] Andrea L, Silvia AC, Murdocca M, et al. A perturbed microRNA expression pattern characterizes embryonic neural stem cells derived from a severe mouse model of spinal muscular atrophy (SMA)[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16: 18312-18327.
- [22] Park So-Yeon, Kim Da-Seul, Kim Hyun-Mun, et al. Human mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles promote neural differentiation of neural progenitor cells[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23: 7047.
- 收稿日期:2023-01-31 修回日期:2023-04-03 本文编辑:杨媛媛