

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.22.026

# 肥胖型多囊卵巢综合征患者外周血淋巴细胞 miR-27a、miR-141 与 PI3K/AKT 信号通路的相关性分析\*

孙潇潇<sup>1</sup> 成佳景<sup>1,2,Δ</sup> 张君宜<sup>3</sup> 陆思芸<sup>2</sup> 陈宇航<sup>2</sup> 李武<sup>2</sup>

(1 南京医科大学上海十院临床医学院 上海 211103; 2 同济大学附属第十人民医院妇产科 上海 200040; 3 同济大学附属第十人民医院内分泌科 上海 200040)

**摘要 目的:**探讨肥胖型多囊卵巢综合征(PCOS)患者外周血淋巴细胞微小核糖核酸(MicroRNA, miR)-27a、miR-141 与磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)信号通路的相关性。**方法:**选取 110 例 PCOS 患者,根据体质量指数(BMI)分为非肥胖组(40 例)和肥胖组(70 例)。检测外周血淋巴细胞 miR-27a、miR-141 和外周血 PI3K mRNA、AKT mRNA 表达水平,采用 Pearson 法分析相关性。**结果:**对比非肥胖组,肥胖组 PCOS 患者外周血淋巴细胞 miR-27a、miR-141 的表达水平更高,但外周血 PI3K mRNA、AKT mRNA 的表达水平更低( $P<0.05$ )。PCOS 患者外周血淋巴细胞 miR-27a、miR-141 表达与外周血 PI3K mRNA、AKT mRNA 表达呈负相关( $P<0.05$ )。**结论:**肥胖型 PCOS 患者外周血淋巴细胞 miR-27a、miR-141 表达增高,外周血 PI3K mRNA、AKT mRNA 表达降低。miR-27a、miR-141 高表达和与 PCOS 患者 PI3K/Akt 信号通路受到抑制有关。

**关键词:**肥胖型多囊卵巢综合征;miR-27a;miR-141;PI3K/Akt 信号通路

中图分类号:R711.7 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2024)22-4291-03

## Correlation Analysis of miR-27a, miR-141 and PI3K/AKT Signaling Pathway in Peripheral Blood Lymphocytes of Obese Patients with Polycystic Ovary Syndrome\*

SUN Xiao-xiao<sup>1</sup>, CHENG Jia-jing<sup>1,2,Δ</sup>, ZHANG Jun-yi<sup>3</sup>, LU Si-yun<sup>2</sup>, CHEN Yu-hang<sup>2</sup>, LI Wu<sup>2</sup>

(1 Clinical Medicine School of Shanghai Tenth Hospital of Nanjing Medical University, Shanghai, 211103, China;

2 Department of Gynaecology and Obstetrics, Tenth People's Hospital of Tongji University, Shanghai, 200040, China;

3 Department of Endocrinology, Tenth People's Hospital of Tongji University, Shanghai, 200040, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the correlation between microRNA (miR)-27a, miR-141 and phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K)/protein kinase B (AKT) signaling pathway in peripheral blood lymphocytes of obese patients with polycystic ovary syndrome (PCOS). **Methods:** 110 PCOS patients were selected, and patients were divided into non-obese group (40 cases) and obese group (70 cases) according to body mass index (BMI). The levels of miR-27a, miR-141 expression in peripheral blood lymphocytes and PI3K mRNA, AKT mRNA in peripheral blood were detected, and the correlation were analyzed by Pearson method. **Results:** Compared with non-obese group, the levels of miR-27a and miR-141 expression in peripheral blood lymphocytes of PCOS patients in obese group were higher, the expression levels of PI3K mRNA and AKT mRNA in peripheral blood were lower ( $P<0.05$ ). The levels of miR-27a and miR-141 expression in peripheral blood lymphocytes of PCOS patients was negatively correlated with the expression of PI3K mRNA and AKT mRNA in peripheral blood ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** The levels of miR-27a and miR-141 expression in peripheral blood lymphocytes of obese PCOS patients increased, and the levels of PI3K mRNA and AKT mRNA expression in peripheral blood decreased. The high expression of miR-27a and miR-141 are related to the inhibition of PI3K/Akt signaling pathway in PCOS patients.

**Key words:** Obese type of polycystic ovary syndrome; miR-27a; miR-141; PI3K/Akt signaling pathway

**Chinese Library Classification(CLC):** R711.7 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2024)22-4291-03

### 前言

多囊卵巢综合征(PCOS)好发于育龄妇女,多数患者伴有肥胖,增加高雄激素血症等等并发症发生风险<sup>[1]</sup>。磷脂酰肌醇 3

激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)是调控细胞增殖、存活和代谢等多种生理病理过程的信号通路,激活 PI3K/AKT 信号通路可促进 PCOS 患者卵巢颗粒细胞的存活、生长和增殖,抑制颗粒细胞凋亡<sup>[2]</sup>。微小核糖核酸(miRNA)是一种非编码 RNA,多项

\* 基金项目:国家自然科学基金青年项目(81502451)

作者简介:孙潇潇(1995-),女,硕士,住院医师,从事妇科肿瘤方向的研究,E-mail:sxx159852@163.com

Δ 通讯作者:成佳景(1963-),女,硕士,主任医师/教授,从事妇科肿瘤,生殖内分泌方向的研究,E-mail:chenjiajing0202@163.com

(收稿日期:2024-07-02 接受日期:2024-08-05)

证据表明 miRNA 在 PCOS 患者颗粒细胞、卵泡细胞和外周血中异常表达,与 PCOS 发病有关<sup>[3]</sup>。miR-27a 可促使机体脂肪累积,阻碍胰岛素信号通路传导,诱导胰岛素抵抗,PCOS 患者血清 miR-27a 水平增高与卵泡数、睾酮、空腹血糖、胰岛素抵抗指数呈正相关<sup>[4]</sup>。miR-141 可激活代谢组织中的胰岛素信号通路,抑制胰岛素抵抗,与肥胖、代谢性疾病有关,miR-141 家族成员 miR-141-3p 在 PCOS 患者中表达异常且与糖脂代谢紊乱相关<sup>[5]</sup>。miRNA-141 通过 PI3K/Akt 通路调控滋养细胞凋亡参与子痫前期疾病进展<sup>[6]</sup>。本研究拟探讨肥胖型 PCOS 患者外周血淋巴细胞 miR-27a、miR-141 表达与 PI3K/AKT 信号通路的相关性,报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

选取 2021 年 1 月至 2023 年 10 月同济大学附属第十人民医院收治的 110 例 PCOS 患者,纳入标准:①符合 PCOS 相关诊断标准<sup>[7]</sup>;②签署同意书。排除标准:①处于妊娠、哺乳期;②既往激素治疗史;③并发炎症性疾病、高泌乳素血症或代谢性疾病者;④并发恶性肿瘤者;⑤原发性卵巢功能低下或卵巢早衰者;⑥其他因素引起的高雄激素血症者。按照成年人质量指数(BMI)的标准<sup>[8]</sup>分为非肥胖组(BMI<28 kg/m<sup>2</sup>,40 例)和肥胖组(BMI≥28 kg/m<sup>2</sup>,70 例)。肥胖组:年龄 21-37 岁,平均(29.65±5.17)岁;病程 4-10 月,平均(7.35±2.06)月;闭经(停经时间≥6 个月)13 例。非肥胖组:年龄 20-38 岁,平均(29.11±5.37)岁;病程 4-11 月,平均(7.02±2.21)月;闭经(停经时间≥6 个月)15 例。两组一般资料无差异( $P>0.05$ )。本研究获得同济大学附属第十人民医院伦理委员会批准。

### 1.2 外周血淋巴细胞 miR-27a、miR-141、外周血 PI3K mRNA 和 AKT mRNA 检测

所有 PCOS 患者入组后 24 h 内采集外周静脉血 6 mL 分别注入两个肝素试管中混匀,其中一个试管标本加入与其等体积稀释的淋巴细胞分离液,离心后获得淋巴细胞,另一个试管标本混匀待检。使用 TRIzol<sup>TM</sup> 试剂从淋巴细胞中提取总 RNA,使用 QIAamp RNA Blood Mini Kit 从外周血中提取总 RNA。使用 Evo M-MLV 反转录试剂盒 II 将总 RNA 逆转录为互补核糖核酸(cDNA)。CFX96 实时 PCR 检测系统进行实时 PCR 反应,以 U6 为内参,反应条件:先 95℃ 30 s,然后 40 个循环的 95℃ 5 s,60℃ 30 s,65℃ 5 s。PCR 体系(20 μL):RNase-free H<sub>2</sub>O 7.2 μL, cDNA 2 μL,正向引物 0.4 μL,反向引物 0.4 μL,2 × SYBR<sup>®</sup> Green Pro Taq HS Premix 10 μL。所有引物均由上海生工生物技术有限公司合成。采用 2<sup>-ΔΔCT</sup> 法计算 miR-27a、miR-141、PI3K mRNA、AKT mRNA 相对表达量。

### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件。连续变量表示为均值±标准差,使用 t 检验。Pearson 法分析 miR-27a、miR-141 表达与 PI3K mRNA、AKT mRNA 表达的相关性。检验水准α=0.05。

## 2 结果

### 2.1 两组外周血淋巴细胞 miR-27a、miR-141 和外周血 PI3K mRNA、AKT mRNA 表达比较

对比非肥胖组,肥胖组 PCOS 患者外周血淋巴细胞 miR-27a 和 miR-141 表达水平更高,外周血 PI3K mRNA、AKT mRNA 表达水平更低( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 两组外周血淋巴细胞 miR-27a、miR-141 和外周血 PI3K mRNA、AKT mRNA 表达比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of miR-27a, miR-141 expression in peripheral blood lymphocytes and PI3K mRNA, AKT mRNA in peripheral blood between two groups( $\bar{x} \pm s$ )

Groups	n	miR-27a	miR-141	PI3K mRNA	AKT mRNA
Obese group	70	2.65±0.71	3.55±0.26	0.71±0.16	0.43±0.11
Non-obese group	70	0.82±0.20	1.55±0.29	1.26±0.23	0.85±0.24
t		15.916	37.205	-14.736	-12.545
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 外周血淋巴细胞 miR-27a、miR-141 表达与外周血 PI3K mRNA、AKT mRNA 表达水平的相关性

PCOS 患者外周血淋巴细胞 miR-27a、miR-141 表达与外周血 PI3K mRNA、AKT mRNA 表达呈负相关( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 外周血淋巴细胞 miR-27a、miR-141 表达与外周血 PI3K mRNA、AKT mRNA 表达水平的相关性

Table 2 Correlation between the levels of miR-27a, miR-141 expression in peripheral blood lymphocytes and PI3K mRNA, AKT mRNA expression in peripheral blood

Indexs	miR-27a		miR-141	
	r	P	r	P
PI3K mRNA	-0.569	0.000	-0.517	0.000
AKT mRNA	-0.482	0.000	-0.493	0.000

## 3 讨论

PCOS 是一种与卵泡发生异常有关的内分泌疾病,且肥胖

会加重 PCOS 病情,颗粒细胞增殖受抑制和凋亡增加是卵泡生长异常的主要因素<sup>[9]</sup>。研究表明 PI3K/Akt 信号通路被阻断会抑制颗粒细胞增殖,增强细胞凋亡,影响卵泡发育,导致 PCOS 发病<sup>[10]</sup>。miRNA 转录后参与基因表达的调控,在组织发育和分化调控过程中发挥关键作用,还可通过调控丝裂原活化蛋白激酶/细胞外信号调节激酶、PI3K/Akt 等信号通路调控颗粒细胞增殖和凋亡,参与卵母细胞成熟和卵泡形成,miRNA 失调与 PCOS 之间密切相关<sup>[11]</sup>。

miR-27a 是脂肪细胞合成的负向调节因子,通过靶向过氧化物酶体增殖因子活化受体  $\gamma$ (PPAR- $\gamma$ )调节脂质代谢、糖代谢和炎症反应等多种生理过程,且 miR-27a 在 PCOS 患者颗粒细胞及卵巢中均呈现高表达。本研究发现肥胖型 PCOS 患者外周血淋巴细胞 miR-27a 表达升高,提示 miR-27a 可能参与 PCOS 发病过程。原因可能是 miR-27a 表达升高,负向调控 PPAR- $\gamma$  阻断 PI3K/AKT 信号通路,下调葡萄糖转运体 4 表达,促进糖代谢紊乱和胰岛素抵抗,诱导 PCOS 患者脂质堆积和肥胖<sup>[12]</sup>。本研究发现 PCOS 患者外周血淋巴细胞 miR-27a 表达与外周血 PI3K mRNA、AKT mRNA 表达呈负相关,说明 miR-27a 过表达可能通过抑制 PI3K/Akt 信号通路参与 PCOS 发病过程。推测原因为 miR-27a 过表达及 PI3K/Akt 信号通路异常阻滞可能引起雄激素和雌激素失衡,导致颗粒细胞增殖抑制和凋亡,卵泡发育异常,诱导 PCOS 发病<sup>[13]</sup>。

miR-141 参与葡萄糖稳态和脂质代谢,同时其被证实与 PCOS 患者卵巢颗粒细胞的增殖、凋亡有关。本研究发现肥胖型 PCOS 患者外周血淋巴细胞 miR-141 表达升高,提示 miR-141 表达升高可能诱导 PCOS 发病。miR-141 高表达可抑制胰岛素敏感性和调节葡萄糖摄取,导致胰岛素抵抗,胰岛素抵抗可加剧糖脂代谢异常,导致脂肪积聚和肥胖<sup>[14]</sup>。本研究显示 PCOS 患者 miR-141 表达与 PI3K mRNA、Akt mRNA 呈负相关,表明 miR-141 可能调控 PI3K/Akt 信号通路参与 PCOS 发病过程。miR-141 可通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路调节 PCOS 卵巢颗粒细胞,同时 PI3K/Akt 信号通路异常不仅影响胰岛素代谢,还影响卵泡的分化与生长,导致卵母细胞质量下降,引起 PCOS。

综上所述,肥胖型 PCOS 患者外周血淋巴细胞中 miR-27a、miR-141 表达增高,可能通过抑制 PI3K/Akt 信号通路参与 PCOS 发病过程。

#### 参考文献(References)

[1] 杨婷,陈琳,程薇,等. 多囊卵巢综合征肥胖患者血清维生素 D、铁蛋白水平、sICAM-1 与胰岛素抵抗、糖脂代谢指标的相关性[J]. 现

代生物医学进展, 2022, 22(12): 2318-2321, 2327.

- [2] Tan M, Cheng Y, Zhong X, et al. LNK promotes granulosa cell apoptosis in PCOS via negatively regulating insulin-stimulated AKT-FOXO3 pathway [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13 (3): 4617-4633.
- [3] Ahmadi M, Fathi M, Malmir A, et al. Role of circular RNA/miRNA axes in the pathophysiology of polycystic ovary syndrome [J]. *Mol Biol Rep*, 2024, 51(1): 437.
- [4] 刘贝贝,刘伟靓,杜曲晓,等. 血清 miR-27a 水平与多囊卵巢综合征及其临床特征的相关性 [J]. *天津医科大学学报*, 2021, 27(2): 117-121.
- [5] Kim Y, Kim OK. Potential Roles of Adipocyte Extracellular Vesicle-Derived miRNAs in Obesity-Mediated Insulin Resistance [J]. *Adv Nutr*, 2021, 12(2): 566-574.
- [6] 邵露露. miRNA-141 通过 PI3K/Akt 通路调控滋养细胞凋亡参与子痫前期发病机制的研究[D]. 兰州大学, 2023.
- [7] 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.
- [8] 中华医学会内分泌学分会肥胖学组. 中国成人肥胖症防治专家共识[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2011, 27(9): 711-717.
- [9] Geng X, Zhao J, Huang J, et al. Inc-MAP3K13-7:1 Inhibits Ovarian GC Proliferation in PCOS via DNMT1 Downregulation-Mediated CDKN1A Promoter Hypomethylation [J]. *Mol Ther*, 2021, 29 (3): 1279-1293.
- [10] Wang W, Ge L, Zhang L, et al. MicroRNA-16 represses granulosa cell proliferation in polycystic ovarian syndrome through inhibition of the PI3K/Akt pathway by downregulation of Apelin3 [J]. *Hum Fertil (Camb)*, 2023, 26(3): 611-621.
- [11] Rashid G, Khan NA, ElSORI D, et al. miRNA expression in PCOS: unveiling a paradigm shift toward biomarker discovery [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2024, 309(5): 1707-1723.
- [12] Chen T, Zhang Y, Liu Y, et al. MiR-27a promotes insulin resistance and mediates glucose metabolism by targeting PPAR- $\gamma$ -mediated PI3K/AKT signaling [J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11 (18): 7510-7524.
- [13] Wang M, Liu M, Sun J, et al. MicroRNA-27a-3p affects estradiol and androgen imbalance by targeting Creb1 in the granulosa cells in mouse polycystic ovary syndrome model [J]. *Reprod Biol*, 2017, 17(4): 295-304.
- [14] Calcaterra V, Verduci E, Cena H, et al. Polycystic Ovary Syndrome in Insulin-Resistant Adolescents with Obesity: The Role of Nutrition Therapy and Food Supplements as a Strategy to Protect Fertility [J]. *Nutrients*, 2021, 13(6): 1848.