

• 论 著 •

## 凝血因子Ⅲ rs1801020 和抵抗素 rs1862513 基因多态性与不明原因复发性流产的相关性研究\*

王 聪<sup>1</sup>, 蒋晴晴<sup>1</sup>, 姜 雪<sup>1</sup>, 孙佳惠<sup>1</sup>, 骆 莺<sup>1</sup>, 张 祎<sup>2△</sup>

上海市长宁区妇幼保健院:1. 检验科;2. 计划生育科, 上海 200050

**摘要:**目的 探讨凝血因子 M(FⅢ)rs1801020 和抵抗素 rs1862513 基因多态性与不明原因复发性流产(URSA)的相关性。方法 选取 2020 年 1 月至 2022 年 12 月在该院产科门诊诊断为 URSA 的 189 例患者和 191 例同期健康产后女性,采用探针法 PCR 检测外周血中 rs1801020 和 rs1862513 基因多态性,观察各组间基因型及等位基因分布差异。结果 URSA-A 组 FⅢ rs1801020 基因型和等位基因分布频率分别为 4.9%(CC)、35.7%(CT)、59.5%(TT),22.7%(C)、77.3%(T);对照 A 组为 8.0%(CC)、47.1%(CT)、44.9%(TT),31.5%(C)、68.5%(T)。URSA-B 组抵抗素 rs1862513 基因型和等位基因分布频率分别为 11.3%(CC)、47.3%(CG)、41.4%(GG),34.9%(C)、65.1%(G);对照 B 组为 10.2%(CC)、34.1%(CG)、55.7%(GG),27.3%(C)、72.7%(G)。两个位点的基因型频率比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),而等位基因频率比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。FⅢ rs1801020T 等位基因在 URSA 组的分布频率高于对照组( $\chi^2=6.32$ ,  $OR=1.567$ , 95%CI:1.100~2.238,  $P=0.012$ )。抵抗素 rs1862513G 等位基因在 URSA 组的分布频率低于对照组( $\chi^2=4.96$ ,  $OR=1.433$ , 95%CI:1.050~1.969,  $P=0.026$ )。FⅢ rs1801020 T 等位基因可能是 URSA 的危险性因素,抵抗素 rs1862513G 等位基因可能是 URSA 的保护性因素( $P<0.05$ )。两个位点联合基因型分析,相较于携带具有 rs1801020 CC+rs1862513 CC 基因型组合的人群,携带 rs1801020 TT+rs1862513CG 基因型的人群患有 URSA 的风险明显增高( $OR=5.684$ , 95%CI:1.210~30.920,  $P=0.035$ )。结论 FⅢ rs1801020T 等位基因可能增加 URSA 的发生风险,抵抗素 rs1862513G 等位基因可能降低 URSA 的发生风险,rs1801020 TT+rs1862513 CG 基因型比 rs1801020 CC+rs1862513 CC 基因型组合更易导致 URSA。

**关键词:**复发性流产; 凝血因子; 抵抗素; 多态性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.01.002

中图法分类号:R714.2

文章编号:1673-4130(2024)01-0006-06

文献标志码:A

## Correlation between gene polymorphisms of coagulation factor Ⅲ rs1801020 and resistin rs1862513 and unexplained recurrent spontaneous abortion\*

WANG Cong<sup>1</sup>, JIANG Qingqing<sup>1</sup>, JIANG Xue<sup>1</sup>, SUN Jiahui<sup>1</sup>, LUO Ying<sup>1</sup>, ZHANG Yi<sup>2△</sup>

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Family Planning, Changning Maternal and Infant Health Hospital, Shanghai 200050, China

**Abstract:** **Objective** To investigate the correlation between gene polymorphisms of coagulation factor Ⅲ (FⅢ) rs1801020 and resistin rs1862513 and unexplained recurrent spontaneous abortion(URSA). **Methods** A total of 189 patients diagnosed with URSA and 191 healthy postpartum women during the same period were selected from the obstetric clinic of Changning Maternity and Infant Health Hospital from January 2020 to December 2022. The probe PCR was used to detect gene polymorphisms of rs1801020 and rs1862513 in peripheral blood, and the differences in genotype distribution between the groups were observed. **Results** The frequencies of genotypes and alleles for FⅢ rs1801020 in the URSA-A group were 4.9%(CC), 35.7%(CT), 59.5%(TT), 22.7%(C), and 77.3%(T), respectively. In the control A group, the frequencies were 8.0%(CC), 47.1%(CT), 44.9%(TT), 31.5%(C) and 68.5%(T). The frequencies of genotypes and alleles for resistin rs1862513 in the URSA-B group were 11.3%(CC), 47.3%(CG), 41.4%(GG), 34.9%(C) and 65.1%(G). In

\* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81972709);上海市长宁区卫生健康委员会科研项目(2021Y024);上海市长宁区妇幼保健院院级医学科研项目(2021Y-9)。

作者简介:王聪,女,主管技师,主要从事不良妊娠结局的遗传因素研究。△ 通信作者, E-mail: m13661903705@163.com。

the control B group, the frequencies were 10.2% (CC), 34.1% (CG), 55.7% (GG), 27.3% (C) and 72.7% (G). There was no significant difference in genotype frequency of the two loci ( $P>0.05$ ), but there was a significant difference in allele frequency ( $P<0.05$ ). The distribution frequency of FⅪ rs1801020 T allele in the URSA group was higher than that in the control group ( $\chi^2=6.32, OR=1.567, 95\%CI: 1.100-2.238, P=0.012$ ). The distribution frequency of resistin rs1862513 G allele in URSA group was lower than that in control group ( $\chi^2=4.96, OR=1.433, 95\%CI: 1.050-1.969, P=0.026$ ). The mutation of FⅪ rs1801020 C to T was a risk factor for the occurrence of URSA, while the mutation of rs1862513 C to G was a protective factor for the occurrence of URSA ( $P<0.05$ ). The combined genotype analysis showed that compared to the population carrying the rs1801020 CC+rs1862513 CC genotype combination, the population carrying the rs1801020 TT+rs1862513 CG genotype had a significantly higher risk of URSA ( $OR=5.684, 95\%CI: 1.210-30.920, P=0.035$ ). **Conclusion** FⅪ rs1801020 T allele may increase the risk of URSA and resistin rs1862513 G allele may the risk of URSA. People with rs1801020 TT+rs1862513 CG genotype combination is more likely to develop URSA than those with rs1801020 CC+rs1862513 CC genotype combination.

**Key words:** recurrent spontaneous abortion; coagulation factor; resistin; polymorphism

我国将复发性流产(RSA)定义为连续两次及以上妊娠 28 周前的妊娠丢失,包括生化妊娠<sup>[1]</sup>。根据美国的研究报道,RSA 的发病率为 1%~5%,其中不明原因 RSA(URSA)占 50%<sup>[2]</sup>。目前已知的 RSA 原因主要包括母亲免疫因素(包括自身免疫和同种免疫)、易栓症(包括遗传和获得性易栓症)、子宫解剖异常和内分泌异常<sup>[1]</sup>。有研究显示,凝血因子Ⅺ(FⅪ)缺乏与特发性自然流产关系密切。当 FⅪ 5'端非翻译区 ATG 起始密码子的上游 4 个碱基处,即 FⅪ 基因启动子区第 46 位核苷酸,C 被 T 替换后,产生了一个新的 ATG 起始密码子。T 等位基因破坏了翻译起始信号的 Kozak 共识序列(GCCAGCCATGG),导致翻译效率降低和 FⅪ 血浆水平降低<sup>[3]</sup>。

此外,妊娠期脂代谢异常已成为妇产科研究热点。脂肪细胞因子可通过影响胚胎种植、子宫内环境和母胎免疫平衡等对妊娠过程起作用。对于因不孕接受治疗的女性及自然妊娠的女性,脂代谢异常者发生流产的风险均有所增加<sup>[4]</sup>。抵抗素是白色脂肪组织分泌的脂肪细胞因子,在母体脂肪组织、胎盘和胎膜中表达,与胰岛素抵抗、2 型糖尿病等疾病的发生、发展有关<sup>[5]</sup>。抵抗素 rs1862513 C/G 基因多态性与肥胖相关,而肥胖是不良妊娠结局的危险因素<sup>[6]</sup>。关于抵抗素 rs1862513 C/G 基因多态性与 URSA 发生是否相关的研究较少。本研究采用探针法 PCR 分析 URSA 患者 FⅪ rs1801020 C/T 和抵抗素 rs1862513 C/G 基因多态性,并与无不良妊娠史的健康产后女性进行比较,从凝血和脂代谢角度探讨 URSA 发生与双基因位点多态性的相关性。

# 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2020 年 1 月至 2022 年 12 月在上海市长宁区妇幼保健院门诊就诊的 189 例 URSA

患者作为研究对象,其中 4 例在 FⅪ rs1801020 多态性检测时结果判读失败,余 185 例检测成功者为 URSA-A 组,平均年龄 32.7 岁;3 例在抵抗素 rs1862513 多态性检测时结果判读失败,余 186 例为 URSA-B 组,平均年龄 32.7 岁。其中 182 例同时成功检测了 FⅪ rs1801020 和抵抗素 rs1862513 多态性,此 182 例为 URSA-C 组,平均年龄 32.6 岁。所有患者就诊前均连续自然流产 2 次及以上,流产都发生于妊娠 28 周以前;URSA 的诊断标准:(1)B 超或子宫输卵管碘油造影检查排除子宫畸形或子宫颈机能不全;(2)子宫颈黏液支原体和衣原体检测排除感染因素;(3)患者夫妻双方及流产组织的染色体筛查排除染色体异常;(4)激素水平测定排除黄体功能不全、高泌乳素血症、高雄激素血症及代谢性疾病、甲状腺功能异常等;(5)自身免疫性疾病相关抗体筛查,包括抗核抗体、抗心磷脂抗体、狼疮抗凝物以及抗 ENA 抗体阴性;(6)患者丈夫的精液检测结果正常。选择同期 191 例无不良妊娠史的健康产后女性作为对照组,对照组均无肝、肾疾病,无自然流产史、早产史、血栓或出血史、妊娠期高血压史,并且至少有一次成功的妊娠分娩史。对其中 138 例女性检测 FⅪ rs1801020 多态性,此 138 例为对照 A 组,平均年龄 33.1 岁;对其中 176 例对照女性检测了抵抗素 rs1862513 多态性,此 176 例为对照 B 组,平均年龄 32.9 岁;只有 123 例女性同时检测了两个基因位点,此 123 例为对照 C 组,平均年龄 33.3 岁。为保证遗传背景的一致性,所有受试者均来自上海地区,签署知情同意后抽取血液标本。

**1.2 仪器与试剂** 标本采集使用 4%枸橼酸钠抗凝管。基因组 DNA 提取试剂盒为 Universal DNA Extraction Mini kit(佛山奥维生物科技有限公司)。引物、荧光探针和 PCR 反应试剂盒由南京骥骅生物技

术有限公司提供。PCR 扩增仪为美国 ABI 7500。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 留取 URSA 组和对照组研究对象 2.7 mL 外周血,采用 4%枸橼酸钠抗凝。将全血样本置于室温下以  $1\,500\times g$  离心 10 min,将白细胞层收集到 1.5 mL Ep 管中,−80 ℃ 冷冻保存。

1.3.2 基因组 DNA 提取 应用 Universal DNA Extraction Mini kit(佛山奥维生物科技有限公司)进行基因组 DNA 提取,操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。获得的基因组 DNA 置于−80 ℃ 冷冻保存。

表 1 rs1801020 和 rs1862513 引物及探针序列

| 引物及探针名称       | 序列(5′−3′)                 | 碱基数 | 温度(℃) |
|---------------|---------------------------|-----|-------|
| rs1801020-F   | CCACAGCACTCACCGAAAG       | 19  | 56.4  |
| rs1801020-R   | TTGACCAATCTCTATTTCCAAGACC | 25  | 58.6  |
| rs1801020-P-G | FAM-TCATGGCGTCCGTC-MGB    | 14  | 66.0  |
| rs1801020-P-A | VIC-TCATGGCATCCGTC-MGB    | 14  | 66.0  |
| rs1862513-F   | CACCACCTCCTGACCAGTCTCT    | 22  | 59.2  |
| rs1862513-R   | GAGCCTTCCCACTTCCAACA      | 20  | 58.7  |
| rs1862513-P-G | FAM-CATGAAGAGGGAGGC-MGB   | 15  | 60.0  |
| rs1862513-P-C | VIC-CATGAAGACGGAGGC-MGB   | 15  | 60.0  |

1.4 统计学处理 运用 GraphPad Prism 8.3.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,组间比较采用  $t$  检验;计数资料采用频数或百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。对临床样本的群体代表性进行哈迪-温伯格遗传平衡(Hardy-Weinberg equilibrium)检验,以  $P>0.05$  为符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。采用多因素 Logistic 回归分析,得到比值比(OR)及其 95%置信区间(95%CI),从而估计 FⅪ rs1801020 C/T、rs1862513 C/G 基因多态性与 URSA 易感性的关系。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 FⅪ rs1801020 C/T 基因多态性在两组女性中的分布 两组女性基本资料对比见表 2,URSA-A 组孕前体质量和体质量指数(BMI)明显高于对照 A 组( $P<0.05$ )。在 URSA-A 组和对照 A 组中,FⅪ rs1801020 C/T 基因型和等位基因分布频率均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律(URSA-A 组: $\chi^2=0.05$ , $P>0.05$ ;对照 A 组: $\chi^2=1.14$ , $P>0.05$ ),说明本研究的样本为来自总体的一个随机样本,具有群体代表性。URSA-A 组 FⅪ rs1801020 C/T 基因型为 CC 型、CT 型和 TT 型的频率分别为 4.9%、35.7%、59.5%,对照 A 组 FⅪ rs1801020 C/T 基因型为 CC 型、CT 型和 TT 型的频率分别为 8.0%、47.1%、

1.3.3 FⅪ rs1801020 C/T 和抵抗素 rs1862513 C/G 多态性基因型检测 采用 MGB 探针法 PCR 技术分析 FⅪ rs1801020 C/T 和抵抗素 rs1862513 C/G 多态性的基因型及等位基因分布。引物及探针序列见表 1。PCR 反应体系包括 0.25  $\mu\text{L}$  10  $\mu\text{mol/L}$  探针 1/2、0.50  $\mu\text{L}$  20  $\mu\text{mol/L}$  正、反向引物、2.50  $\mu\text{L}$  DNase/RNase-free  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、5.00  $\mu\text{L}$   $2\times\text{Mix}$  和 1.00  $\mu\text{L}$  模板。依托 ABI 7500 检测平台,PCR 反应程序设置为 95 ℃,10 min;95 ℃ 15 s,60 ℃ 30 s,共 40 个循环。

44.9%,两组 3 种基因型频率比较差异有统计学意义( $\chi^2=6.91$ , $P=0.032$ ),但 CT、TT 基因型频率分别与 CC 基因型频率比较则差异无统计学意义( $P>0.05$ )。URSA-A 组等位基因为 C 和 T 的频率分别为 22.7%、77.3%,对照组等位基因为 C 和 T 的频率分别为 31.5%、68.5%。T 等位基因在 URSA-A 组的分布频率明显高于对照 A 组( $\chi^2=6.32$ , $OR=1.567$ ,95%CI:1.100~2.238, $P=0.012$ ),见表 3。

表 2 两组基本资料比较( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别       | <i>n</i> | 年龄<br>(岁)      | 身高<br>(cm)      | 孕前体质量<br>(kg)   | BMI<br>(kg/m <sup>2</sup> ) |
|----------|----------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------------------|
| URSA-A 组 | 185      | 32.7 $\pm$ 5.0 | 164.0 $\pm$ 3.9 | 59.0 $\pm$ 5.7  | 22.0 $\pm$ 2.3              |
| 对照 A 组   | 138      | 33.1 $\pm$ 4.6 | 163.6 $\pm$ 3.9 | 56.9 $\pm$ 3.7* | 21.3 $\pm$ 1.6*             |

注:与 URSA-A 组比较,\* $P<0.05$ 。

2.2 抵抗素 rs1862513 C/G 基因多态性在两组女性中的分布 两组女性基本资料对比见表 4,与对照 B 组相比,URSA-B 组孕前体质量和 BMI 增高( $P<0.05$ )。抵抗素 rs1862513 C/G 基因型和等位基因分布频率在 URSA-B 组和对照 B 组中均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律(URSA-B 组: $\chi^2=0.30$ , $P>0.05$ ;对照 B 组: $\chi^2=3.48$ , $P>0.05$ ),说明样本具有群体代表性。URSA-B 组抵抗素 rs1862513 C/G 基因型为 CC 型、CG 型和 GG 型的频率分别为 11.3%、

47.3%、41.4%，对照 B 组抵抗素 rs1862513 C/G 基因型为 CC 型、CG 型和 GG 型的频率分别为 10.2%、34.1%、55.7%，两组 3 种基因型频率比较差异有统计学意义( $\chi^2=7.78, P=0.021$ )，但 CG、GG 基因型频率分别与 CC 基因型频率比较则差异无统计学意义

( $P>0.05$ )。URSA-B 组等位基因 C 和 G 的频率分别为 34.9%、65.1%，对照 B 组等位基因 C 和 G 的频率分别为 27.3%、72.7%，G 等位基因在 URSA-B 组的分布频率低于对照 B 组( $\chi^2=4.96, OR=0.698, 95\%CI:0.508\sim0.953, P=0.026$ )，见表 5。

表 3 两组 FⅦ rs1801020 C/T 基因型和等位基因分布频率的比较[n(%)]

| 基因/等位基因 | URSA-A 组(n=185) | 对照 A 组(n=138) | $\chi^2$ | P     | OR(95%CI)          |
|---------|-----------------|---------------|----------|-------|--------------------|
| CC      | 9(4.9)          | 11(8.0)       | —        | —     | Ref.               |
| CT      | 66(35.7)        | 65(47.1)      | 0.20     | 0.654 | 1.241(0.482~2.976) |
| TT      | 110(59.5)       | 62(44.9)      | 2.73     | 0.098 | 2.168(0.058~5.161) |
| CT+TT   | 176(95.1)       | 127(92.0)     | 1.31     | 0.256 | 1.694(0.703~4.070) |
| C       | 84(22.7)        | 87(31.5)      | —        | —     | Ref.               |
| T       | 286(77.3)       | 189(68.5)     | 6.32     | 0.012 | 1.567(1.100~2.238) |

注:Ref. 为参照水平;—表示无数据。

**2.3 rs1801020 C/T、rs1862513 C/G 联合分析与 URSA 发生风险的关系** 相对于携带 rs1801020 CC+rs1862513 CC 基因型组合的人群，携带 rs1801020 TT+rs1862513 CG 基因型的人群发生 URSA 的风险明显增高( $OR=5.684, 95\%CI:1.210\sim30.920, P=0.035$ )。见表 6。多因素 Logistic 分析结果表明，FⅦ rs1801020 T 等位基因可能是 URSA 的危险性因素( $OR=2.78, 95\%CI:1.33\sim5.91, P<0.05$ )，抵抗素 rs1862513G 等位基因可能是

URSA 的保护性因素( $OR=0.51, 95\%CI:0.27\sim0.96, P<0.05$ )。

表 4 两组女性基本资料比较

| 组别       | n   | 年龄<br>(岁) | 身高<br>(cm) | 孕前体质量<br>(kg) | BMI<br>(kg/m <sup>2</sup> ) |
|----------|-----|-----------|------------|---------------|-----------------------------|
| URSA-B 组 | 186 | 32.7±5.0  | 164.0±3.9  | 59.0±5.7      | 22.0±2.3                    |
| 对照 B 组   | 176 | 32.9±4.6  | 163.6±4.1  | 57.2±3.6      | 21.4±1.6*                   |

注:与 URSA-B 组比较,\* $P<0.05$ 。

表 5 两组女性抵抗素 rs1862513 C/G 基因型和等位基因分布频率的比较[n(%)]

| 基因/等位基因 | URSA-B 组(n=186) | 对照 B 组(n=176) | $\chi^2$ | P     | OR(95%CI)          |
|---------|-----------------|---------------|----------|-------|--------------------|
| CC      | 21(11.3)        | 18(10.2)      | —        | —     | Ref.               |
| CG      | 88(47.3)        | 60(34.1)      | 0.40     | 0.527 | 1.257(0.638~2.596) |
| GG      | 77(41.4)        | 98(55.7)      | 1.25     | 0.264 | 0.674(0.339~1.354) |
| CG+GG   | 165(88.7)       | 158(89.8)     | 0.11     | 0.744 | 0.895(0.458~1.696) |
| C       | 130(34.9)       | 96(27.3)      | —        | —     | Ref.               |
| G       | 242(65.1)       | 256(72.7)     | 4.96     | 0.026 | 0.698(0.508~0.953) |

注:Ref. 为参照水平;—表示无数据。

表 6 联合分析 rs1801020 C/T 与 rs1862513 C/G 基因型分布频率的比较[n(%)]

| 基因型                       | URSA-C 组(n=182) | 对照 C 组(n=123) | OR    | 95%CI        | P      |
|---------------------------|-----------------|---------------|-------|--------------|--------|
| rs1801020 CC+rs1862513 CC | 2(1.1)          | 4(3.3)        | —     | Ref.         | —      |
| rs1801020 CC+rs1862513 CG | 3(1.7)          | 4(3.3)        | 1.500 | 0.199~11.820 | 0.725  |
| rs1801020 CC+rs1862513 GG | 4(2.2)          | 8(6.5)        | 1.000 | 0.108~7.032  | >0.999 |
| rs1801020 CT+rs1862513 CC | 9(5.0)          | 4(3.3)        | 4.500 | 0.589~28.800 | 0.141  |
| rs1801020 CT+rs1862513 CG | 28(15.4)        | 19(15.4)      | 2.947 | 0.621~16.360 | 0.222  |
| rs1801020 CT+rs1862513 GG | 29(15.9)        | 21(17.1)      | 2.762 | 0.586~15.290 | 0.251  |
| rs1801020 TT+rs1862513 CC | 10(5.5)         | 11(8.9)       | 1.818 | 0.318~10.940 | 0.535  |
| rs1801020 TT+rs1862513 CG | 54(29.7)        | 19(15.4)      | 5.684 | 1.210~30.920 | 0.035  |
| rs1801020 TT+rs1862513 GG | 43(23.6)        | 33(26.8)      | 2.606 | 0.571~14.180 | 0.271  |

注:Ref. 为参照水平;—表示无数据。

### 3 讨 论

流产对女性而言是一个全球性的健康问题。尤其在发达国家或地区,受社会经济或文化的影响,女性的生育年龄往往推迟<sup>[7]</sup>。RSA 的发生率为 1%~5%,其中超过 50%的 RSA 者没有找到导致流产的原因<sup>[8]</sup>。因此,针对流产发生原因及预防手段开展的相关研究是临床关注的焦点。遗传学因素是 RSA 的主要病因之一<sup>[9]</sup>。

充足的胎盘血供是孕育生命的基础,55%的自然流产与凝血缺陷导致的胎盘血管血栓和栓塞有关<sup>[10]</sup>。RSA 患者外周凝血机制改变,胎盘部位有血栓形成,虽然患者体内的高凝状态不一定会产生较严重的血栓疾病,但是往往会导致患者凝血功能增强,纤溶功能下降,故有研究者提出凝血机制的改变可能是 RSA 的发病机制<sup>[11]</sup>。FⅡ是由肝脏合成的单链糖蛋白,包含 596 个氨基酸;FⅡ rs1801020 C/T 基因多态性是 1998 年首次报道的,FⅡ第一外显子 5'端非翻译区的 46 位点碱基上存在 C→T 置换<sup>[12]</sup>。FⅡ rs1801020 C/T 基因多态性位点不会引起 FⅡ基因的转录和 mRNA 稳定性的下降,但是可引起 FⅡ活性降低,因为该位点位于 FⅡ 5'端非翻译区 ATG 起始密码子的上游 4 个碱基处,C 被 T 替换后,产生了一个新的 ATG 起始密码子。也有研究者通过研究不同 C/T 等位基因对 FⅡ表达量的影响发现 T-FⅡ的蛋白表达量低于 C-FⅡ的蛋白表达量<sup>[10]</sup>。

本研究发现,以 FⅡ rs1801020 的 CC 基因型作为参照,URSA 组与对照组 CT、TT 基因型频率比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),而 T 等位基因在 URSA 组的分布频率明显高于对照组。本研究认为,FⅡ rs1801020 的 T 等位基因可能是育龄期女性 URSA 的致病危险因素之一。此结果与金艳慧等<sup>[13]</sup>和章艳等<sup>[14]</sup>的研究结论不同,他们的研究认为 CT 型可能与 URSA 的发生有关。而 KATHARINA 等<sup>[15]</sup>在研究高加索地区 212 例 URSA 患者与 149 例对照女性时未发现该位点基因型分布存在差异,这可能与人种、地域、生活习惯不同及研究的样本量、纳入标准、研究方法等因素有关。章艳等<sup>[14]</sup>还对 FⅡ rs1801020 不同基因型与 FⅡ活性的关系进行了研究,结果显示,无论在 URSA 组还是对照组,TT 基因型女性 FⅡ活性均呈现出明显下降的趋势。基于 FⅡ在纤溶酶原内激活途径中的作用,FⅡ活性降低后纤溶活性下降,血栓发生的风险升高,这可能解释了 T 等位基因与 URSA 发生可能相关的原因。

除凝血因素外,脂代谢在生殖领域的研究也是一大热点。脂肪因子不仅参与糖脂代谢、能量消耗、炎症反应和心血管功能,而且与生殖内分泌关系密切。

抵抗素是富含半胱氨酸的分泌蛋白,自 2001 年被发现以来,国内外研究热点集中在其与肥胖、糖尿病之间的关系<sup>[16]</sup>。作为脂肪生成和脂肪组织的反馈调节器,抵抗素可能对脂肪转化有抑制作用。SHI-GEO 等<sup>[17]</sup>发现,抵抗素在母体脂肪组织、胎盘和胎膜中表达,主要在滋养层细胞中表达,可以调节妊娠期胰岛素的敏感性。胎盘滋养细胞抵抗素在足月胎盘组织中的表达高于妊娠早期胎盘组织,孕妇血浆抵抗素水平高于非孕妇血浆抵抗素水平。糖尿病巨婴母血及脐血抵抗素水平低于对照者,而生长受限胎儿中抵抗素水平高于对照者。因此,母血和脐血抵抗素水平可能与新生儿出生体质量呈负相关<sup>[18]</sup>。抵抗素可能作为脂肪生成的反馈调节器抑制脂肪转化。但 VI-TORATOS 等<sup>[19]</sup>研究显示,妊娠期糖尿病孕妇脐带血抵抗素水平与健康孕妇无差异。因此,迄今为止,抵抗素在正常和异常妊娠中对胎儿生长和代谢的作用,还没有统一的结果。

本研究发现,URSA 组与对照组抵抗素 rs1862513 的 CG 和 GG 基因型分别与 CC 基因型频率比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),而 G 等位基因在 URSA 组的分布频率低于对照组。抵抗素 rs1862513 G 等位基因可能是 URSA 的一个保护性因素。ZAYANI 等<sup>[20]</sup>的研究发现,rs1862513 C 等位基因和 rs1862513 G 等位基因对刺激蛋白 1(Sp1)和刺激蛋白 3(Sp3)两种转录因子的结合亲和力不同,Sp1 和 Sp3 以更高的亲和力结合到 rs1862513 G 等位基因的 DNA 元件上,增强抵抗素水平表达。GG 基因型携带者与 CC 和 CG 基因型携带者相比血清抵抗素增加。CORTELAZZI 等<sup>[21]</sup>报道从妊娠 20 周开始即可从脐血中测到抵抗素,并且抵抗素水平与胎龄呈正相关。此外,足月儿出生 2 h 之内血浆抵抗素水平明显高于早产儿,并且其水平与出生体质量、身长、BMI 呈正相关<sup>[22]</sup>。结合本研究结果分析,G 等位基因可能通过增加抵抗素水平维持胎儿的正常生长发育。URSA 组 G 等位基因频率低而 C 等位基因频率高,抵抗素水平可能低于对照组,不利于胎儿的生长发育从而导致流产的发生。但抵抗素水平除了与 rs1862513 C/G 基因多态性有关,还受体质量、腰围、表达部位、妊娠时间等的影响。因此,抵抗素 rs1862513 基因多态性对 URSA 的致病机制还需要进一步探索。从两个基因位点分组基本资料分析,URSA 组女性孕前体质量及 BMI 值均略高于对照组,这也提示 URSA 组女性的脂质代谢平衡与对照组相比可能有所不同。除此之外,孕前超重或肥胖也会增加妊娠期高血压、子痫前期、妊娠期糖尿病、早产、巨大儿等不良妊娠结局的发生风险。深入研究脂质

代谢对不明原因复发性流产甚至不良妊娠结局影响的作用机制无疑是有重要意义的。

流产是一种多因素的、复杂的疾病,单独检测 FⅪ rs1801020 C/T 基因多态性或抵抗素 rs1862513 C/G 基因多态性存在一定局限性。本研究联合分析 FⅪ rs1801020 C/T 及抵抗素 rs1862513 C/G 的基因组合与 URSA 的发生风险之间的关系发现,携带 rs1801020 TT+rs1862513 CG 基因组合的人群相较于携带 rs1801020 CC+rs1862513 CC 基因组合的人群患 URSA 的风险明显增高。

综上所述,FⅪ rs1801020 C/T 的 T 等位基因和抵抗素 rs1862513 C/G 的 G 等位基因可能是育龄女性 URSA 的影响因素,同时携带 FⅪ rs1801020 TT 和抵抗素 rs1862513 CG 基因型的女性比同时携带 FⅪ rs1801020 CC 和抵抗素 rs1862513 CC 基因型的女性更容易发生 URSA。

### 参考文献

[1] 自然流产诊治中国专家共识编写组. 自然流产诊治中国专家共识(2020 年版)[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2020,36(11):1082-1090.

[2] Practice Committee of the American Society for Reproductive, American Society for Reproductive Medicine. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion[J]. Fertil Steril, 2012, 98(5): 1103-1111.

[3] ERIKO A, TAKESHI E, CHISATO YAMADA N, et al. Genotyping analysis for the 46 C/T polymorphism of coagulation factor Ⅺ and the involvement of factor Ⅺ activity in patients with recurrent pregnancy loss[J]. PLoS One, 2014, 9(12): e114452.

[4] 张小亚, 王玉霞, 杨海婷. 脂肪细胞因子在早期自然流产过程中的作用[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2017, 36(1): 57-60.

[5] 丁芳, 易晓芳. 脂联素、抵抗素及瘦素在生殖领域的研究进展[J]. 中国现代医学杂志, 2019, 29(14): 49-53.

[6] 袁海琳, 吴庆丽. 肥胖在流产中的作用研究新进展[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2014, 33(4): 325-328.

[7] EVICA R. Next generation sequencing in recurrent pregnancy loss-approaches and outcomes[J]. Eur J Med Genet, 2020, 63(2): 103644.

[8] EVDOKIA D, ELLEN M, SHIGERU S, et al. Recurrent pregnancy loss[J]. Nat Rev Dis Primers, 2020, 6(1): 98.

[9] 包文晶, 王书琴, 陈秀娟. 复发性流产遗传学病因学研究进展[J]. 生殖医学杂志, 2021, 30(3): 405-409.

[10] BICK R L. Recurrent miscarriage syndrome due to blood coagulation protein/ platelet defects: prevalence, treatment and outcome results[J]. Clin Appl Thrombosis/

Hemostasis, 2000, 6(3): 115-125.

[11] MENG L L, LIN J Z, CHEN L B, et al. Effectiveness and potential mechanisms of intralipid in treating unexplained recurrent spontaneous abortion[J]. Arch Gynecol Obstet, 2016, 294(1): 29-39.

[12] 宋敏, 许如秀. 复发性自然流产与易栓症的研究进展[J]. 中国优生与遗传杂志, 2005, 11(8): 1-4.

[13] 金艳慧, 沈晓露, 王明山, 等. 凝血因子 Ⅺ 基因 C46T 多态性与原因不明复发性流产及凝血因子 Ⅺ 活性的关系[J]. 中华妇产科杂志, 2016, 51(8): 597-601.

[14] 章艳, 刘杨, 饶慧等. 凝血因子 Ⅺ 基因 C46T 多态性与不明原因复发性流产及凝血因子 Ⅺ 活性的相关性[J]. 医学研究杂志, 2018, 47(5): 169-173.

[15] KATHARINA W, EVA-KATRIN R, CLEMENS B, Tempfer, et al. The C46T polymorphism of the coagulation factor Ⅺ gene and idiopathic recurrent miscarriage[J]. BJOG, 2005, 112(10): 1434-1436.

[16] JAMES M W, CEM Z G, QIANG T, et al. Adipose tissue resistin expression is severely suppressed in obesity and stimulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists[J]. J Biol Chem, 2001, 276(28): 25651-25653.

[17] SHIGEO Y, NORIMASA S, HIROAKI I, et al. Resistin is expressed in the human placenta[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88(3): 1394-1397.

[18] LAPPAS M, YEE K, PERMEZEL M, et al. Release and regulation of leptin, resistin and diponectin from human placenta, fetal membranes, and maternal adipose tissue and skeletal muscle from normal and gestational diabetes mellitus complicated pregnancies[J]. J Endocrinol, 2005, 186(3): 457-465.

[19] VITORATOS N, DIMITRAKAKI A, VLAHOS N F, et al. Maternal and umbilical resistin levels do not correlate with infant birth weight either in normal pregnancies and or in pregnancies complicated with gestational diabetes [J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2010, 23(9): 1019-1023.

[20] ZAYANI N, HAMDOUNI H, BOUMAIZA I, et al. Resistin polymorphisms, plasma resistin levels and obesity in Tunisian volunteers[J]. J Clin Lab Anal, 2018, 32(2): e22227.

[21] CORTELAZZI D, CORBETTA S, RONZONI S, et al. Maternal and foetal resistin and adiponectin concentrations in normal and complicated pregnancies[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2007, 66(3): 447-453.

[22] NG P C, LEE C H, LAM C W, et al. Resistin in preterm and term newborns: relation to anthropometry, leptin, and insulin[J]. Pediatr Res, 2005, 58(4): 725-730.