

论 著

· 临床研究 ·

免疫性早发性卵巢功能不全患者血清miR-21及外周血单核细胞Peli1的表达及意义

马闻擎, 李欣然, 谢嘉欣, 王袁, 杨雨涛, 付霞霏*

南方医科大学珠江医院妇产科, 广州 510282

[摘要] 目的 探讨免疫性早发性卵巢功能不全(aPOI)患者血清miR-21及外周血单核细胞(PBMC)中Peli1的表达水平及临床意义。方法 选取南方医科大学珠江医院2018年4月—2019年10月未经治疗的初诊为aPOI的26例患者(aPOI组)及30名健康青年女性(对照组)为研究对象。记录两组的一般资料, 检测血清miR-21、PBMC Peli1 mRNA表达水平, 测定血清性激素、抗苗勒管激素(AMH)、甲状腺功能、免疫相关指标, 超声检测并记录子宫及卵巢的各项指标并分析。结果 aPOI组血清miR-21及PBMC Peli1 mRNA表达水平(分别为 0.60 ± 0.14 、 0.30 ± 0.14)均明显低于对照组(分别为 1.01 ± 0.07 、 1.63 ± 0.54 , $P < 0.001$), 且二者呈正相关($r=0.719$, $P < 0.05$)。与对照组比较, aPOI组初潮年龄更早, 经期更短, 孕次、产次更少, 雌二醇(E_2)、AMH水平更低, 子宫及卵巢体积更小, 而月经周期更长, 促卵泡激素(FSH)、促黄体生成素(LH)水平更高, 更年期症状阳性数量、免疫指标阳性数量更多, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。miR-21、Peli1 mRNA均与 E_2 、AMH、子宫及卵巢体积呈正相关, 与FSH、LH、免疫指标阳性数量呈负相关。结论 aPOI患者血清miR-21与PBMC Peli1表达水平降低呈正相关; miR-21及Peli1可能参与了aPOI的发病机制, 对aPOI的辅助诊断有一定价值。

[关键词] 微小RNA-21; Peli1; 早发性卵巢功能不全; 自身免疫

[中图分类号] R711.75

[文献标志码] A

[文章编号] 0577-7402(2021)03-0252-06

[DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.2021.03.06

Expression and clinical value of serum miR-21 and PBMC Peli1 in autoimmune POI patients

Ma Wen-Qing, Li Xin-Ran, Xie Jia-Xin, Wang Yuan, Yang Yu-Tao, Fu Xia-Fei*

Department of Obstetrics and Gynecology, Zhujiang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510282

*Corresponding author, E-mail: fxf1997@smu.edu.cn

This work was supported by the Natural Science Foundation of Guangdong Province (2020A1515010205, 2021A1515010701)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression level and clinical significance of serum miR-21 and Peli1 mRNA in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of patients with autoimmune premature ovarian insufficiency (aPOI). **Methods** A total of 26 patients untreated and initially diagnosed as autoimmune POI (aPOI group) and 30 healthy young females (control group), visited during April 2018 to October 2019 in Zhujiang Hospital of Southern Medical University, were included in present study. The general data of each subject were recorded. The expression levels of serum miR-21 and PBMC Peli1 mRNA were detected by qRT-PCR, and the serum sex hormone [estradiol (E_2), follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH)], anti-Mullerian hormone (AMH), thyroid hormones and immune-related indicators were evaluated. Uterus and ovary index of all subjects were assessed by ultrasonography. **Results** The expression levels of serum miR-21 and PBMC Peli1 mRNA were significantly lower in aPOI group than those in control group (0.60 ± 0.14 vs. 1.01 ± 0.07 ; 0.30 ± 0.14 vs. 1.63 ± 0.54 , $P < 0.05$), and Peli1 mRNA was positively related with miR-21 ($r=0.719$, $P < 0.05$). Compared with control group, aPOI group showed earlier menarche age, shorter menstrual period, fewer gravidity and parity, less contents of E_2 and AMH, smaller uterus and ovaries; while longer menstrual cycle, higher levels of FSH and LH, and the number of positive menopausal symptoms and immune indexes were significantly higher than those in control group ($P < 0.05$). MiR-21 and Peli1 mRNA were positively related to E_2 , AMH, the size of uterus and ovarian volume, respectively; and negatively related to FSH, LH, and the number of positive immune indexes. **Conclusions** The serum miR-21 is positively related to the decreased expression level of PBMC Peli1 in aPOI patients, and both miR-21 and Peli1 might be involved in the pathogenesis of aPOI, therefore show some values for the auxiliary diagnosis of aPOI.

[Key words] microRNA-21; Peli1; premature ovarian insufficiency; autoimmunity

[基金项目] 广东省自然科学基金(2020A1515010205, 2021A1515010701)

[作者简介] 马闻擎, 博士研究生, 主要从事妇科内分泌疾病方面的研究。E-mail: mwq_1995@sina.com

[通信作者] 付霞霏, E-mail: fxf1997@smu.edu.cn

早发性卵巢功能不全 (premature ovarian insufficiency, POI) 是一种较为常见的女性生殖内分泌疾病, 是指女性在40岁以前出现卵巢功能减退, 主要表现为月经异常、促性腺激素水平升高及雌激素水平波动性下降^[1-2]。POI的病因具有高度异质性, 目前已知的病因包括遗传、免疫、医源性因素(手术、放化疗)、代谢异常及感染等, 但部分患者病因尚不明确^[3]。POI患者中5%~30%伴有自身免疫性疾病, 包括自身免疫性甲状腺炎、1型糖尿病、系统性红斑狼疮等^[4]。此类免疫性POI(autoimmune POI, aPOI)尚无明确的诊断标准, 目前临床上主要通过检测血清中的自身抗体以及是否伴发其他自身免疫性疾病进行诊断^[5]。

微小核糖核酸(microRNA, miRNA)是一类长度为20~24个核苷酸的非编码单链RNA分子, 参与转录后基因表达的调控, 因其在体液中具有良好的稳定性, 有望成为一类非侵入性的诊断标志物应用于临床^[6-8]。miR-21是卵巢组织中含量较丰富的miRNA之一, 通过调控其靶基因第10染色体同源丢失磷酸酶-张力蛋白基因(P¹⁶INK4/PTEN)、程序性细胞死亡-4基因(PDCD4)、原肌球蛋白-1基因(TPM1)等在细胞分化、细胞周期及细胞凋亡中发挥重要作用^[9-10]。本课题组既往研究发现, miR-21可减少卵巢颗粒细胞的凋亡, 缓解化疗药物造成的POI^[11]。为了进一步探究miR-21在aPOI中的作用, 本研究通过生物信息学方法筛选出miR-21下游一种免疫相关的靶基因Pellino-1(Peli1)。Peli1是一种新近发现的多泛素连接酶, 具有抑制T细胞活化、介导免疫耐受的作用, 同时也可影响细胞凋亡过程^[12-13]。本研究通过测定aPOI患者miR-21及Peli1的表达水平, 探讨了二者对aPOI的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取南方医科大学珠江医院2018年4月—2019年10月未经治疗的初诊为aPOI的患者26例作为aPOI组, 30名健康女性作为对照组。aPOI诊断标准: 发病年龄<40岁, 间隔4周以上进行两次检测血清基础促卵泡激素(FSH)均>25 U/L, 同时伴有自身免疫性疾病和(或)自身抗体阳性。对照组纳入标准: 18~40岁健康青年女性, 月经周期规律(28~35 d), 月经第3天测定血清性激素[雌二醇(E₂)、FSH、促黄体生成素(LH)]及抗苗勒管激素(AMH)水平正常, 自身免疫指标阴性。排除标准: 曾有激素补充治疗、免疫抑制治疗、卵巢手术史、放化疗史的女性; 曾有血栓栓塞史、严重高血压、严重肥胖、肝肾功能不全、卵巢异常及已知核型异常的女性。签署知情同意后, 采集两组病史,

记录以下一般资料: 年龄、体重指数(BMI)、初潮年龄、经期、月经周期、更年期症状(包括月经紊乱、潮热、心悸、头痛、头晕、失眠、耳鸣、注意力不集中、情绪波动、记忆力减退, 并记录阳性数量)、孕产史。本研究严格遵照赫尔辛基宣言进行, 已通过南方医科大学珠江医院伦理审查委员会审查。

1.2 外周血采集及保存 aPOI组在诊断当天、对照组在月经第3天行外周静脉穿刺采血; 留取5 ml外周血, 在4℃条件下3000 r/min离心10 min, 分离血清并于-20℃保存备用。为获取PBMC, 使用红细胞裂解液(购自Cedarlane, Ontario, Canada)按照标准流程去除红细胞, 然后在室温下12 000 r/min离心10 min, 弃上清, PBS洗涤2次; 台盼蓝染色后于显微镜下观察PBMC计数及活力。

1.3 激素及免疫指标的检测 各项激素及免疫相关指标由南方医科大学珠江医院检验科进行测定。性激素(E₂、FSH、LH)采用化学发光法检测; AMH采用ELISA法检测; 甲状腺功能[包括游离三碘甲状腺原氨酸(FT₃)、游离甲状腺素(FT₄)、促甲状腺素(TSH)]采用化学发光法检测; 免疫指标[包括抗卵巢抗体(AoAb)、抗子宫内膜抗体(EmAb)、抗心磷脂抗体(ACL)、抗核抗体(ANA)、抗双链DNA抗体(ds-DNA)、抗着丝点抗体(ACA)、免疫球蛋白G(IgG)、免疫球蛋白A(IgA)、免疫球蛋白M(IgM)、免疫球蛋白E(IgE)、补体C3(C3)、补体C4(C4)]采用ELISA法测定, 并记录阳性指标数量。

1.4 超声检查 于外周血采集当日由同一位检查者行经腹和经阴道超声检查, 记录子宫大小、卵巢大小及内膜厚度。使用Acuson 128 XP10彩色多普勒超声诊断仪(Mountain View, CA)分别测量子宫纵向及横向最大径线、前后径, 以及子宫内膜厚度(取子宫内膜与肌层回声界面之间的最大值)。同时记录双侧卵巢的3个径线, 分别计算体积后取双侧卵巢体积平均值记为该患者的卵巢体积。子宫及卵巢体积均采用简化的长椭球体积公式(纵向最大径线×横向最大径线×前后径/2)进行计算。

1.5 实时定量PCR检测 将Trizol(Invitrogen, USA)分别加入血清标本及PBMC标本, 提取总RNA 2 μg, 加入cDNA合成试剂盒(Promega, Madison, USA)合成cDNA。血清miR-21及PBMC Peli1 mRNA定量分析分别采用Cel-mirR-39 mimics、GAPDH作为内参照。引物由广州焯善生物科技有限公司合成, 引物序列见表1。使用ABI PRISM® 7500序列检测系统进行qRT-PCR。反应条件为: 95℃ 10 min预变性; 95℃ 15 s变性, 60℃ 60 s退火, 共40个循环。结果采用2^{-ΔΔC_t}法分析。所有实验步骤重复3次。

表1 qRT-PCR引物序列

Tab.1 Primers used for qRT-PCR

| 引物 | 引物序列(5'-3') |
|-----------------------|---|
| miR-21(上游) | ACACTCCAGCTGGGTAGCTTATCA GACTGA |
| miR-21(下游) | CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGC AATTCAGTTGAGTCAACATC |
| Cel-miR-39 mimics(上游) | GACTTCATCACCAGGTGTAAATC |
| Cel-miR-39 mimics(下游) | TATCGTTGTTCTCCACTCCTTGAC |
| Peli1(上游) | TGGTCCCTATGTCCTCTGT |
| Peli1(下游) | TGCGTACCATGAGGAAGTG |
| GAPDH(上游) | GGCCTCCAAGGAGTAAGAAA |
| GAPDH(下游) | GCCCCTCTGTTATTATGG |

1.6 统计学处理 采用SPSS 22.0软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,符合正态分布则两组间比较采用两独立样本t检验;计数资料以例(%)表示,计数资料及不符合正态分布的计量资料采用非参数秩和检验(Mann-Whitney检验);两变量间的相关性采用Spearman相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 一般资料比较 两组年龄、BMI差异无统计学意义。与对照组比较,aPOI组初潮年龄更早,经期更短,孕次、产次更少,而月经周期更长,更年期症状阳性数量更多,差异均有统计学意义($P < 0.05$,表2)。

表2 两组一般情况比较

Tab.2 General characteristics and menstrual condition of patients in both groups

| 指标 | aPOI组 (n=26) | 对照组 (n=30) | t/Z | P |
|---|-----------------|---------------|--------|--------|
| 年龄(岁, $\bar{x} \pm s$) | 30.92 ± 7.21 | 31.43 ± 4.73 | -0.308 | 0.759 |
| BMI(kg/m ² , $\bar{x} \pm s$) | 20.83 ± 2.54 | 19.82 ± 1.68 | 1.729 | 0.091 |
| 初潮年龄(岁, $\bar{x} \pm s$) | 13.77 ± 0.90 | 14.62 ± 1.33 | -2.405 | 0.016 |
| 经期(d, $\bar{x} \pm s$) | 3.96 ± 1.64 | 5.50 ± 1.20 | -3.525 | <0.001 |
| 月经周期(月, $\bar{x} \pm s$) | 2.54 ± 1.17 | 1.00 ± 0.00 | 5.980 | <0.001 |
| 更年期症状阳性数量(个) | 5 | 1 | 6.246 | <0.001 |
| 孕次(次) | 0 | 2 | -5.152 | <0.001 |
| 产次(次) | 0 | 1 | -4.159 | <0.001 |

BMI. 体重指数

2.2 激素、免疫指标比较 aPOI组E₂、AMH水平明显低于对照组($P < 0.05$),FSH、LH、免疫指标阳性数量明显高于对照组($P < 0.05$),但甲状腺功能指标FT₃、FT₄、TSH差异无统计学意义(表3)。

2.3 超声检查指标比较 超声检查结果显示,对照组可见窦卵泡声像,而aPOI组均未见卵泡声像(图1)。aPOI组子宫体积为(25.12 ± 15.75) cm³,卵巢体积为(3.05 ± 1.87) cm³,均明显小于对照组

表3 两组激素及免疫指标比较

Tab.3 Hormone levels and immune parameters of patients in both groups

| 指标 | aPOI组(n=26) | 对照组(n=30) | t/Z | P |
|--|-----------------|-----------------|--------|--------|
| FSH(U/L, $\bar{x} \pm s$) | 78.27 ± 40.39 | 7.57 ± 2.72 | 6.407 | <0.001 |
| LH(U/L, $\bar{x} \pm s$) | 38.78 ± 22.31 | 6.12 ± 6.42 | 5.865 | <0.001 |
| E ₂ (pmol/L, $\bar{x} \pm s$) | 117.60 ± 131.15 | 268.70 ± 279.03 | -4.249 | <0.001 |
| AMH(μg/L, $\bar{x} \pm s$) | 0.05 ± 0.08 | 1.73 ± 0.26 | -6.421 | <0.001 |
| FT ₃ (pmol/L, $\bar{x} \pm s$) | 4.97 ± 1.83 | 5.06 ± 0.51 | -0.245 | 0.808 |
| FT ₄ (pmol/L, $\bar{x} \pm s$) | 11.60 ± 2.79 | 11.68 ± 1.22 | -0.141 | 0.889 |
| TSH(mU/L, $\bar{x} \pm s$) | 1.65 ± 1.05 | 1.56 ± 0.73 | 0.333 | 0.741 |
| 免疫指标阳性数量(个) | 2 | 0 | 7.036 | <0.001 |

FSH. 促卵泡激素; LH. 促黄体生成素; E₂. 雌二醇; AMH. 抗苗勒管激素; FT₃. 游离三碘甲状腺原氨酸; FT₄. 游离甲状腺素; TSH. 促甲状腺素

[分别为(42.54 ± 14.25) cm³、(7.20 ± 2.28) cm³, $P < 0.001$];aPOI组内膜厚度[(4.53 ± 2.51) mm]与对照组[(5.72 ± 2.06) mm]比较差异无统计学意义($P = 0.057$)。

2.4 血清miR-21及PBMC Peli1 mRNA表达水平比较

aPOI组血清miR-21及PBMC Peli1 mRNA表达水平(分别为0.60 ± 0.14、0.30 ± 0.14)均明显低于对照组(分别为1.01 ± 0.07、1.63 ± 0.54, $P < 0.001$)。

2.5 miR-21、Peli1表达水平与其他指标的相关性分析

为了评估miR-21与Peli1表达量之间的关联,以及两者在aPOI患者中的诊断价值,选取上述结果中两组间有统计学差异的指标,将aPOI组血清miR-21及PBMC Peli1分别与这些指标进行Spearman相关性分析。结果表明,aPOI组PBMC Peli1与血清miR-21表达水平呈正相关($r = 0.719$, $P < 0.001$)。此外,Peli1、miR-21均与E₂、AMH、子宫体积、卵巢体积呈正相关,与FSH、LH、免疫指标阳性数量呈负相关(表4)。

表4 aPOI组PBMC Peli1、血清miR-21表达水平与其他指标的相关性

Tab.4 Spearman correlation coefficients for PBMC Peli1 and serum miR-21 of aPOI patients

| 变量 | PBMC Peli1 | | 血清miR-21 | |
|----------------|------------|--------|----------|--------|
| | r | P | r | P |
| 免疫指标阳性数量 | -0.842 | <0.001 | -0.850 | <0.001 |
| E ₂ | 0.460 | <0.001 | 0.436 | 0.001 |
| FSH | -0.687 | <0.001 | -0.773 | <0.001 |
| LH | -0.706 | <0.001 | -0.684 | <0.001 |
| AMH | 0.706 | <0.001 | 0.765 | <0.001 |
| 子宫体积 | 0.439 | 0.001 | 0.460 | <0.001 |
| 卵巢体积 | 0.581 | <0.001 | 0.649 | <0.001 |

E₂. 雌二醇; FSH. 促卵泡激素; LH. 促黄体生成素; AMH. 抗苗勒管激素

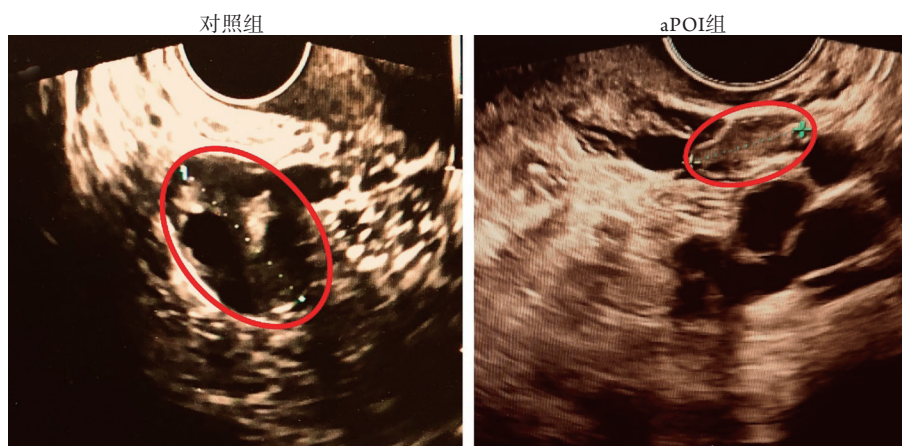


图1 两组超声检查下卵泡形成情况

Fig.1 Follicles observed under ultrasonography in both groups

红圈处为卵巢, 对照组卵巢中有低回声卵泡影, 而aPOI组卵巢较小且无卵泡影

3 讨 论

POI既往被称为卵巢早衰(premature ovarian failure, POF), 是妇科内分泌方面的常见病和疑难病。据统计, 近年我国POI发病率为1%~3%, 且逐年递增, 并呈年轻化趋势^[14]。POI的病因具有异质性, 其中近30%的患者存在免疫功能异常, 5%患有免疫性卵巢炎^[15-16]。目前aPOI尚无明确的诊断标准, 仅免疫性卵巢炎的病理学诊断较为明确, 即查见卵巢组织内大量淋巴细胞浸润(卵泡内膜、卵泡外膜、黄体内可见CD4⁺、CD8⁺的T淋巴细胞及浆细胞浸润, 偶可见累及颗粒细胞层)^[17]。但由于取材不便, 临床上不常采用此种方法。因此, 探索一种无创而特异的诊断方法成为目前aPOI相关研究的热点问题。近年来通过对aPOI发病机制、相关信号通路的研究, 已筛选出部分可用于临床诊断的血清学标志物, 包括有抗透明带抗体、类固醇细胞抗体(StCA)^[18]、抗肾上腺皮质抗体(AAA)^[19]、胚胎需要的母体抗原(MATER)^[20]、AIRE基因表达产物^[21]等。本研究通过对aPOI患者血清miR-21及PBMC Peli1表达水平的分析, 探讨二者的关系及其诊断价值和临床意义。

miRNA作为一类非编码单链RNA分子, 参与转录后基因表达的调控, 通过转录抑制或降解影响靶基因表达的稳定性。近年有研究发现, miRNA在卵巢类固醇生成、排卵、黄体发育及黄体功能等方面均可发挥作用, 且因其在体液中具有良好的稳定性, 近期已成为研究非侵入性诊断标志物的热门方向^[6]。miR-21是一种较早发现的、广泛存在于人类各种组织、细胞的miRNA, 在卵巢中含量较为丰富, 可影响卵泡的生长、分化及凋亡。现代研究表明, 颗粒细胞的数量及质量与POI的发病存在直接

关系^[12]。颗粒细胞的凋亡可诱导卵母细胞凋亡, 使卵母细胞过多地闭锁, 卵巢储备功能降低, 进而导致POI。而大量研究结果均显示, miR-21可通过凋亡、自噬等影响颗粒细胞功能。如Mase等^[22]对miRNA进行了高通量测序, 发现miR-21可影响3种人源颗粒细胞系及原代颗粒细胞的基膜形成, 进而维持其结构完整性; Donadeu等^[23]发现卵泡闭锁过程中颗粒细胞及卵泡膜细胞高表达miR-21-5p/-3p; Tian等^[24]发现高表达miR-21可通过与mTOR、凋亡及类固醇生成途径相关的靶基因维持猪的发情周期; Ma等^[25]发现miR-21-3p可通过AKT/mTOR通路抑制牛颗粒细胞自噬。本课题组既往研究结果也显示, miR-21能够通过抑制其靶基因PTEN及PDCD4表达, 减少卵巢颗粒细胞的凋亡, 部分改善卵巢结构及内分泌功能, 缓解化疗药物造成的POI^[11]。因此, miR-21及其下游靶基因在POI中的作用机制及诊断价值值得进一步探讨。

为了探讨miR-21在aPOI中的作用, 本研究通过生物信息学的方法在miRDIP、TargetScan5.1、miRecords、miRanda数据库中查找miR-21的靶基因并取其交集, 筛选出与免疫功能相关的下游基因Peli1。Peli1是免疫耐受形成过程中一种多泛素连接酶, 与多种自身免疫性疾病相关。Medvedev等^[26]发现, Peli1是T淋巴细胞的负调节因子、髓系细胞的正调节因子, 在各种免疫或炎症调节途径中起着关键作用。Qiu等^[27]发现, miR-21-Peli1-c-Rel通路可通过抑制辅助T细胞-17中的糖酵解过程, 抑制自身免疫的发生。Wang等^[28]发现, Peli1可通过非经典NF- κ B通路抑制B细胞介导的系统性红斑狼疮的发病。Yang等^[29]发现, Peli1在TLR4/TRIF/NF- κ B通路中起着促进炎症因子产生的作用。由此可见, Peli1能够影响外周血中T、B细胞的活化, 介导免疫耐

受的形成,并可在NF- κ B通路中促进炎症因子的产生,发挥促进炎症、影响细胞存活的作用。

本研究选取miR-21及其靶基因Peli1作为研究对象,测定二者在aPOI患者中的表达情况,发现二者均呈低表达,且呈正相关关系。然而,如上所述,miRNA通过转录抑制或降解影响靶基因表达的稳定性,因此较多研究中miRNA与其靶基因的表达呈负向调控关系。如Marquez等^[30]发现,在小鼠肝再生的早期阶段,NF- κ B信号通路被激活,而miR-21表达上调能够抑制NF- κ B信号通路,同时miR-21的靶基因Peli1表达下调,并为miR-21负反馈调节NF- κ B信号通路提供基础;Luther等^[13]发现,在间充质干细胞(MSC)外泌体转染心肌中上调miR-21a-5p能够抑制促凋亡基因Peli1的表达。而本研究结果显示,aPOI患者中miR-21与Peli1的表达水平均下降,为正向调控关系,原因可能为:aPOI既是一种妇科内分泌疾病,也是一种自身免疫性疾病,同时与卵巢颗粒细胞、免疫细胞功能相关。miR-21主要在细胞增殖、凋亡方面发挥作用,功能较为明确;而Peli1作为一个新发现的分子,既能在颗粒细胞中发挥促进炎症及凋亡的作用,同时也能在免疫细胞中发挥介导免疫耐受的作用。因此,对于miR-21与Peli1在aPOI中的作用机制,还须进一步在细胞及动物模型中进行定位、定量研究。

综上所述,本研究通过测定aPOI患者血清中miR-21及PBMC中Peli1的表达水平,发现aPOI患者miR-21与Peli1表达水平下降,二者呈正相关关系,且均与E₂、AMH、子宫及卵巢体积呈正相关,与FSH、LH、免疫指标阳性数量呈负相关。miR-21与Peli1可能参与了aPOI的发病,对aPOI的辅助诊断有一定参考价值。

【参考文献】

- [1] Chen ZJ, Tian QJ, Qiao J, *et al.* Chinese expert consensus on premature ovarian insufficiency[J]. *Chin J Obstet Gynecol*, 2017, 52(9): 577-581. [陈子江, 田秦杰, 乔杰, 等. 早发性卵巢功能不全的临床诊疗中国专家共识[J]. *中华妇产科杂志*, 2017, 52(9): 577-581.]
- [2] European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) Guideline Group on POI; Webber L, Davies M, *et al.* ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency[J]. *Hum Reprod*, 2016, 31(5): 926-937.
- [3] Qing YY, Zhang XR. Research advances on the immunological pathogenesis and immunotherapy of premature ovarian failure[J]. *J Shandong Univ (Health Sci)*, 2018, 56(4): 33-37. [秦莹莹, 张茜茜. 卵巢早衰的免疫学病因及免疫干预研究进展[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2018, 56(4): 33-37.]
- [4] Silva CA, Yamakami LY, Aikawa NE, *et al.* Autoimmune primary ovarian insufficiency[J]. *Autoimmun Rev*, 2014, 13(4-5): 427-430.
- [5] Sharif K, Watad A, Bridgewood C, *et al.* Insights into the autoimmune aspect of premature ovarian insufficiency[J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2019, 33(6): 101323.
- [6] Imbar T, Eisenberg I. Regulatory role of microRNAs in ovarian function[J]. *Fertil Steril*, 2014, 101(6): 1524-1530.
- [7] Liu MM, Li J, Wang JM, *et al.* Predictive value of serum miRNA-26a for high risk HPV positive cervical cancer[J]. *J Zhengzhou Univ (Med Sci)*, 2019, 54(5): 696-699. [刘曼曼, 李静, 王金铭, 等. 高危型HPV阳性患者血清miRNA-26a表达水平对宫颈癌的预测价值[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2019, 54(5): 696-699.]
- [8] Ma SQ, Xu XX, He ZZ, *et al.* Dynamic changes in peripheral blood-targeted miRNA expression profiles in patients with severe traumatic brain injury at high altitude[J]. *Mil Med Res*, 2019, 6: 12.
- [9] Bautista-Sánchez D, Arriaga-Canon C, Pedroza-Torres A, *et al.* The promising role of miR-21 as a cancer biomarker and its importance in RNA-based therapeutics[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 20: 409-420.
- [10] Carletti MZ, Fiedler SD, Christenson LK. MicroRNA 21 blocks apoptosis in mouse periovulatory granulosa cells[J]. *Biol Reprod*, 2010, 83(2): 286-295.
- [11] Fu X, He Y, Wang X, *et al.* Overexpression of miR-21 in stem cells improves ovarian structure and function in rats with chemotherapy-induced ovarian damage by targeting PDCD4 and PTEN to inhibit granulosa cell apoptosis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 187.
- [12] Xiao Y, Jin J, Chang M, *et al.* Peli1 promotes microglia-mediated CNS inflammation by regulating Traf3 degradation[J]. *Nat Med*, 2013, 19(5): 595-602.
- [13] Luther KM, Haar L, McGuinness M, *et al.* Exosomal miR-21a-5p mediates cardioprotection by mesenchymal stem cells[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 119: 125-137.
- [14] Xi HY, Zhang Y, Zhao XX, *et al.* Advances in research on the pathogenesis of premature ovarian failure[J]. *J Liaoning Univ Trad Chin Med*, 2019, 21(12): 103-106. [郗红燕, 张杨, 赵小萱, 等. 卵巢早衰病理机制最新研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2019, 21(12): 103-106.]
- [15] Szlendak-Sauer K, Jakubik D, Kunicki M, *et al.* Autoimmune polyglandular syndrome type 3 (APS-3) among patients with premature ovarian insufficiency (POI)[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2016, 203: 61-65.
- [16] Saif A, Assem M. Premature ovarian failure could be an alarming sign of polyglandular autoimmune dysfunction[J]. *Endocr Regul*, 2017, 51(2): 114-116.
- [17] Warren BD, Kinsey WK, McGinnis LK, *et al.* Ovarian autoimmune disease: clinical concepts and animal models[J]. *Cell Mol Immunol*, 2014, 11(6): 510-521.
- [18] De Bellis A, Bellastella G, Falorni A, *et al.* Natural history of autoimmune primary ovarian insufficiency in patients with Addison's disease: from normal ovarian function to overt ovarian dysfunction[J]. *Eur J Endocrinol*, 2017, 177(4): 329-337.
- [19] Gao J, Jiao X, Dang Y, *et al.* Identification of patients with primary ovarian insufficiency caused by autoimmunity[J]. *Reprod Biomed Online*, 2017, 35(4): 475-479.
- [20] Tong ZB, Bondy CA, Zhou J, *et al.* A human homologue of mouse Mater, a maternal effect gene essential for early embryonic development[J]. *Hum Reprod*, 2002, 17(4): 903-911.
- [21] Mathis D, Benoist C. A decade of AIRE[J]. *Nat Rev Immunol*,

- 2007, 7(8): 645-650.
- [22] Mase Y, Ishibashi O, Ishikawa T, *et al.* MiR-21 is enriched in the RNA-induced silencing complex and targets COL4A1 in human granulosa cell lines[J]. *Reprod Sci*, 2012, 19(10): 1030-1040.
- [23] Donadeu FX, Mohammed BT, Ioannidis J. A miRNA target network putatively involved in follicular atresia[J]. *Domest Anim Endocrinol*, 2017, 58: 76-83.
- [24] Tian M, Zhang X, Ye P, *et al.* MicroRNA-21 and microRNA-214 play important role in reproduction regulation during porcine estrous[J]. *Anim Sci J*, 2018, 89(10): 1398-1405.
- [25] Ma L, Tang X, Guo S, *et al.* MiRNA-21-3p targeting of FGF2 suppresses autophagy of bovine ovarian granulosa cells through AKT/mTOR pathway[J]. *Theriogenology*, 2020, 157: 226-237.
- [26] Medvedev AE, Murphy M, Zhou H, *et al.* E3 ubiquitin ligases pellinos as regulators of pattern recognition receptor signaling and immune responses[J]. *Immunol Rev*, 2015, 266(1): 109-122.
- [27] Qiu R, Yu X, Wang L, *et al.* Inhibition of glycolysis in pathogenic TH17 cells through targeting a miR-21-Peli1-c-Rel pathway prevents autoimmunity[J]. *J Immunol*, 2020, 204(12): 3160-3170.
- [28] Wang Y, Yuan J, Dai D, *et al.* Poly IC pretreatment suppresses B cell-mediated lupus-like autoimmunity through induction of Peli1[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2018, 50(9): 862-868.
- [29] Yang T, Zang S, Wang Y, *et al.* Methamphetamine induced neuroinflammation in mouse brain and microglial cell line BV2: Roles of the TLR4/TRIF/Peli1 signaling axis[J]. *Toxicol Lett*, 2020, 333: 150-158.
- [30] Marquez RT, Wendlandt E, Galle CS, *et al.* MicroRNA-21 is upregulated during the proliferative phase of liver regeneration, targets Pellino-1, and inhibits NF-kappaB signaling[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2010, 298(4): G535-G541.

(收稿日期: 2021-01-20; 修回日期: 2021-02-15)

(责任编辑: 张小利)