

• 论 著 •

miRNA-195a-5p 通过调控铁死亡通路影响滋养细胞功能在子痫前期发病中的作用机制研究

张艳红

复旦大学附属中山医院青浦分院产科 上海 201799

【摘要】子痫前期 (PE) 是一种以妊娠期高血压和蛋白尿为特征的严重妊娠并发症, 其发病机制与胎盘功能障碍密切相关, 但具体分子机制尚未完全阐明。本研究旨在探讨 miRNA-195a-5p 通过调控铁死亡通路在子痫前期发病中的作用。通过病例对照研究, 我们发现 PE 组胎盘组织中 miRNA-195a-5p 表达显著高于对照 ($P < 0.05$), 同时铁死亡关键蛋白 GPX4 和 SLC7A11 表达降低, 伴随氧化应激标志 GSH/GSSG 比值下降和 MDA 含量升高。体外实验中, 在滋养细胞系 JEG3 和 HTR8 中过表达 miRNA-195a-5p 可显著抑制细胞增殖、侵袭和迁移能力, 同时降低 GPX4 和 SLC7A11 蛋白表达, 加剧脂质过氧化 (表现为 MDA 升高和 GSH/GSSG 比值下降); 而抑制 miRNA-195a-5p 则产生相反效应。这些结果表明, miRNA-195a-5p 可能通过激活铁死亡通路, 进而导致滋养细胞功能障碍和胎盘氧化应激损伤, 最终参与子痫前期的发病过程。本研究首次揭示了 miRNA-195a-5p 调控铁死亡在子痫前期中的关键作用, 为开发新的诊断标志物和治疗靶点提供了理论依据。未来研究需要扩大临床样本验证, 并探索靶向干预该通路的治疗策略。

【关键词】子痫前期; miRNA-195; 铁死亡; 滋养细胞; 生物学行为

【中图分类号】R714.24

【文献标识码】A

【文章编号】1009-4393 (2025) 36-001-04

子痫前期是一种严重的妊娠并发症, 其发病机制尚未完全阐明, 特别是胎盘功能障碍在其中的作用。子痫前期不仅是孕产妇的主要死亡原因之一, 也是围产儿死亡的重要因素^[1]。在子痫前期的研究中, 越来越多的证据表明微小 RNA (miRNA) 在疾病的发生和发展中扮演着重要角色。特别是 miRNA-195 的研究引起了广泛关注, 这种 miRNA 已被证明与多种病理过程相关, 但其在子痫前期中的具体功能尚未被系统探讨^[2]。

目前, 已有一些研究揭示了 miRNA 在子痫前期中的潜在作用, 然而大多数研究并未深入探讨 miRNA-195 与铁死亡通路之间的关系。铁死亡是一种新型的细胞死亡形式, 与氧化应激密切相关, 近年来被认为在多种疾病的发生中起着重要作用^[3]。铁死亡通路中, GPX4 和 SLC7A11A 等关键蛋白的表达与细胞存活密切相关, 这使得研究铁死亡与子痫前期的关联变得尤为重要^[4]。

本研究旨在填补这一研究空白, 重点关注 miRNA-195a-5p 在胎盘组织中的表达及其对铁死亡通路的影响。通过比较子痫前期组与正常对照组胎盘组织中 miRNA-195a-5p 的表达水平, 探讨其在子痫前期发病机制中的潜在作用^[5]。此外, 基于体外实验, 研究 miRNA-195a-5p 如何通过调控滋养细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 影响其生物学行为。

本研究采用病例对照设计, 通过分析胎盘组织及滋养细胞系, 揭示 miRNA-195a-5p 通过调控铁死亡通路影响滋养细胞功能的潜在机制。具体而言, 本研究将比较子痫前期组与正常对照组胎盘组织中相关蛋白 (如 GPX4 和 SLC7A11A) 及氧化应激标志物的表达差异^[6]。同时, 体外实验将探讨 miRNA-195a-5p 的过表达或抑制对滋养细胞铁死亡水平及其生物学行为的直接影响, 从而为子痫前期的治疗靶点提供新的思路^[2]。

通过这一研究, 我们希望能子痫前期的发病机制提供新的见解, 并探索 miRNA-195a-5p 作为潜在治疗靶点的可能性。这将为未来针对子痫前期的临床干预提供基础, 并为改善孕产妇及围产儿的健康状况做出贡献^[1]。

1 材料与方法

1.1 一般资料

本研究招募 2023 年 1 月至 2023 年 12 月于复旦大学附属中山医院青浦分院产科定期行产检并以剖宫产分娩的 28 例孕妇为研究对象, 将其分为 PE 组 ($n=14$), 正常对照组 ($n=14$) 例。

PE 诊断标准参照《妊娠期高血压疾病诊治指南 (2020)》: 妊娠 20 周后孕妇出现收缩压 ≥ 140 mmHg 和 (或) 舒张压 ≥ 90 mmHg, 伴有下列任意 1 项: 尿蛋白定量 ≥ 0.3 g/24h, 或尿蛋白 / 肌酐比值 ≥ 0.3 , 或随机尿蛋白 $\geq (+)$ (无条件进行蛋白定量时的检查方法); 无蛋白尿但伴有以下任何 1 种器官或系统受累: 心、肺、肝、肾等重要器官, 或血液系统、消化系统、神经系统的异常改变, 胎盘 - 胎儿受到累及等。

正常对照组入组标准为同期剖宫产分娩的, 分娩年龄、孕产次无明显差异的正常孕妇。排除标准为: 1) 多胎妊娠; 2) 体外受精与胚胎移植; 3) 慢性高血压、糖尿病、慢性肾炎、心血管疾病、自身免疫系统疾病、感染等合并症。

本研究获得复旦大学附属中山医院青浦分院伦理委员会的批准, 且入组研究对象均签署知情同意。

1.2 方法

1.2.1 胎盘组织标本的收集与处理

于剖宫产手术中, 胎盘娩出后, 立即从母体面随机剪取并收集 3-4 块约 1cm^3 大小的全层胎盘组织 (注意避开坏死、钙化或血凝块区域), PBS 漂洗数次。根据实验类型分别行以下处理: (1) qRT-PCR: 浸没于组织 RNA 稳定保存液, -80°C 长期保存; (2) WB: 分装至多支冻存管中, -80°C 长期保存。

1.2.2 miR-195a-5p 表达量检测

采用实时荧光定量聚合酶链式反应 (qRT-PCR) 测定 miR-195a-5p 表达量。

1.2.3 GPX4 及 SLC7A11 表达量的检测

采用蛋白免疫印迹法 (western blotting WB) 检测。

1.2.4 GSH、GSSG 及 MDA 含量的检测

试剂盒法。

1.2.5 细胞培养

选取 JEG3 及 HTR8 两种滋养细胞系完成后续研究, 常规

培养条件：RPMI-1640 培养基（含 10% FBS，100 U/ml 青霉素-链霉素），37 ℃，5% CO₂。

1.2.6 细胞转染

miRNA-195a-5p mimics、inhibitor 及其对照 mimic nc 及 inhibitor nc 由广州锐博生物技术有限公司合成。

名称	引物序列
miRNA-195a-5p mimics	5' -UAGCAGCACAGAAAUUUGGC-3'
mimic nc	5' -UUUGUACUACACAAAAGUACUG-3'
miRNA-195a-5p inhibitor	5' -GCCAAUAAUUCUGUGCUGCUA-3'
inhibitor nc	5' -CAGUACUUUUGUGUAGUACAAA-3'

1.2.7 细胞增殖能力检测

CCK8 法和克隆增殖试验。

1.2.8 细胞侵袭、迁移能力检测

transwell 法及划痕试验检测。

1.3 观察指标

对比两组胎盘组织中 miRNA-195a-5p 表达量、铁死亡通路相关蛋白（GPX4 及 SLC7A11A）、胎盘脂质过氧化产物 GSH/

GSSG、MDA 含量的差异；在 JEG3 及 HTR8 两种滋养细胞系中，通过转染 miRNA-195a-5p mimics 和 inhibitor，分析 miR-195 与滋养细胞铁死亡水平及其增殖、侵袭、迁移等生物学行为的相关性。

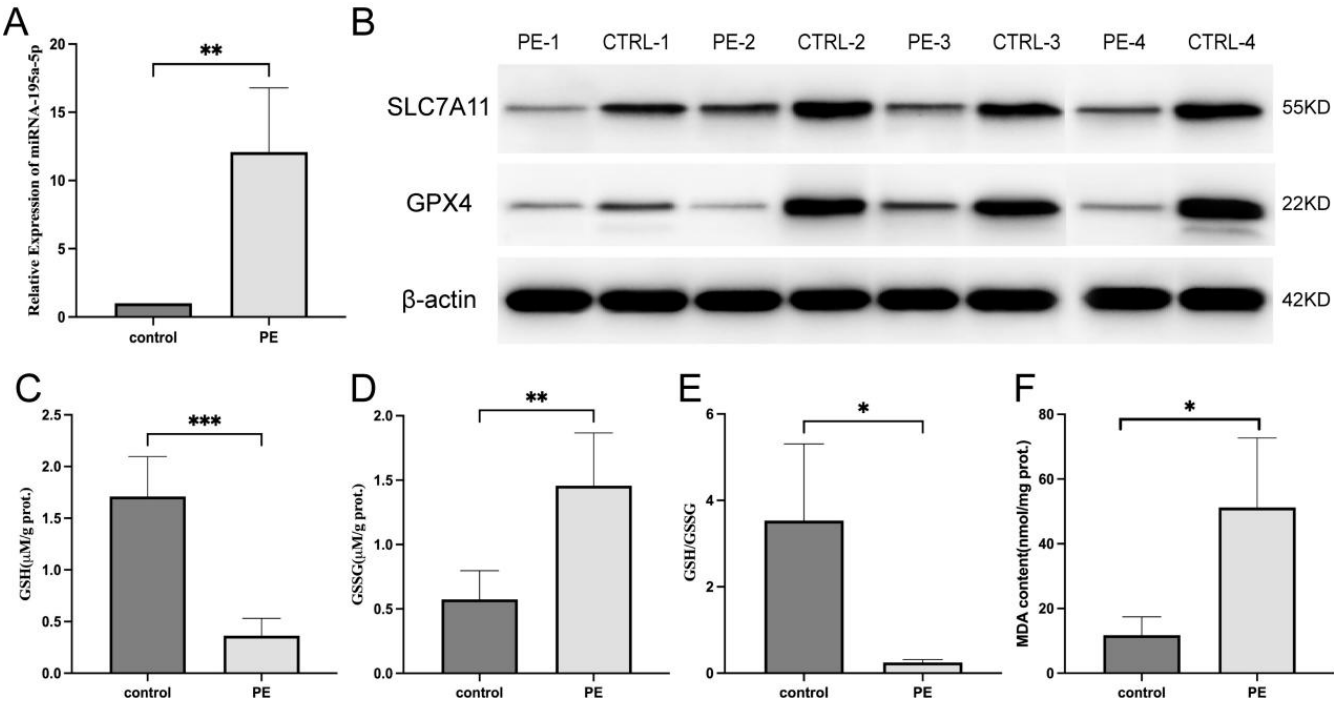
1.4 统计学分析

所有细胞实验均独立重复至少 3 次。采用 GraphPad Prism 8 软件对全部数据进行统计分析，统计学显著性通过 Student ‘s t 检验确定。所有报告的 p 值均经过双尾检验，p<0.05 视为具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组胎盘组织中 miRNA-195a-5p 表达量、铁死亡通路相关蛋白（GPX4 及 SLC7A11A）、胎盘脂质过氧化产物 GSH/GSSG、MDA 含量的比较

子痫前期患者胎盘组织中 miRNA-195a-5p 高表达，伴随铁死亡水平增加（GPX4 及 SLC7A11A 降低、GSH 降低、GSSG 升高、GSH/GSSG 升高、MDA 升高），差异有统计学意义（P < 0.05），见图一。



图一：子痫前期患者胎盘组织 miRNA-195a-5p 高表达，伴随铁死亡水平增加。（A）子痫前期患者胎盘组织中 miRNA-195a-5p 表达显著高于对照组胎盘。（B）子痫前期患者胎盘组织中 GPX4 及 SLC7A11A 的蛋白表达水平低于对照组。（C-E）子痫前期患者胎盘中 GSSG 含量高于对照组、GSH 含量低于对照组、GSH/GSSG 比值低于对照组。（F）子痫前期患者胎盘组织的 MDA 含量高于对照组。

2.2 miRNA-195a-5p 与滋养细胞生物学行为的相关性

与对照组相比，miRNA-195a-5p mimics 显著抑制滋养细胞系 JEG3 及 HTR8 的细胞活力，抑制其增殖、侵袭及迁移能力，见图二。

2.3 miRNA-195a-5p 与铁死亡的相关性

miRNA-195a-5p 促进滋养细胞细胞铁死亡的发生，见图三。

3 讨论

子痫前期（PE）是一种严重的妊娠并发症，特征为妊娠期间出现高血压和蛋白尿，严重时可导致母婴死亡。全球范围内，子痫前期是孕产妇和围产儿发病及死亡的主要原因之一^[5]。尽管已有大量研究探讨了子痫前期的发病机制，但对其分子基础的了解仍较为有限。研究表明，妊娠相关的氧化

应激和炎症反应在子痫前期的发生发展中起着关键作用，氧化应激通过促进胎盘功能障碍影响妊娠结局^{[2][7]}。因此，深入理解子痫前期的分子机制对于开发新的预防和治疗策略至关重要。

本研究聚焦于 miRNA-195a-5p 在子痫前期中的作用，探讨其通过调控铁死亡通路对滋养细胞功能的影响。我们采用病例对照设计，通过比较子痫前期组与正常对照组胎盘组织中 miRNA-195a-5p 的表达、铁死亡相关蛋白的表达及氧化应激标志物的水平，揭示其潜在机制。同时，通过体外实验分析 miRNA-195a-5p 在滋养细胞中的功能，旨在为子痫前期的发病机制提供新的见解，并探索其作为治疗靶点的可能性^{[8][9]}。

本研究揭示了 miRNA-195a-5p 在子痫前期发病中的重要

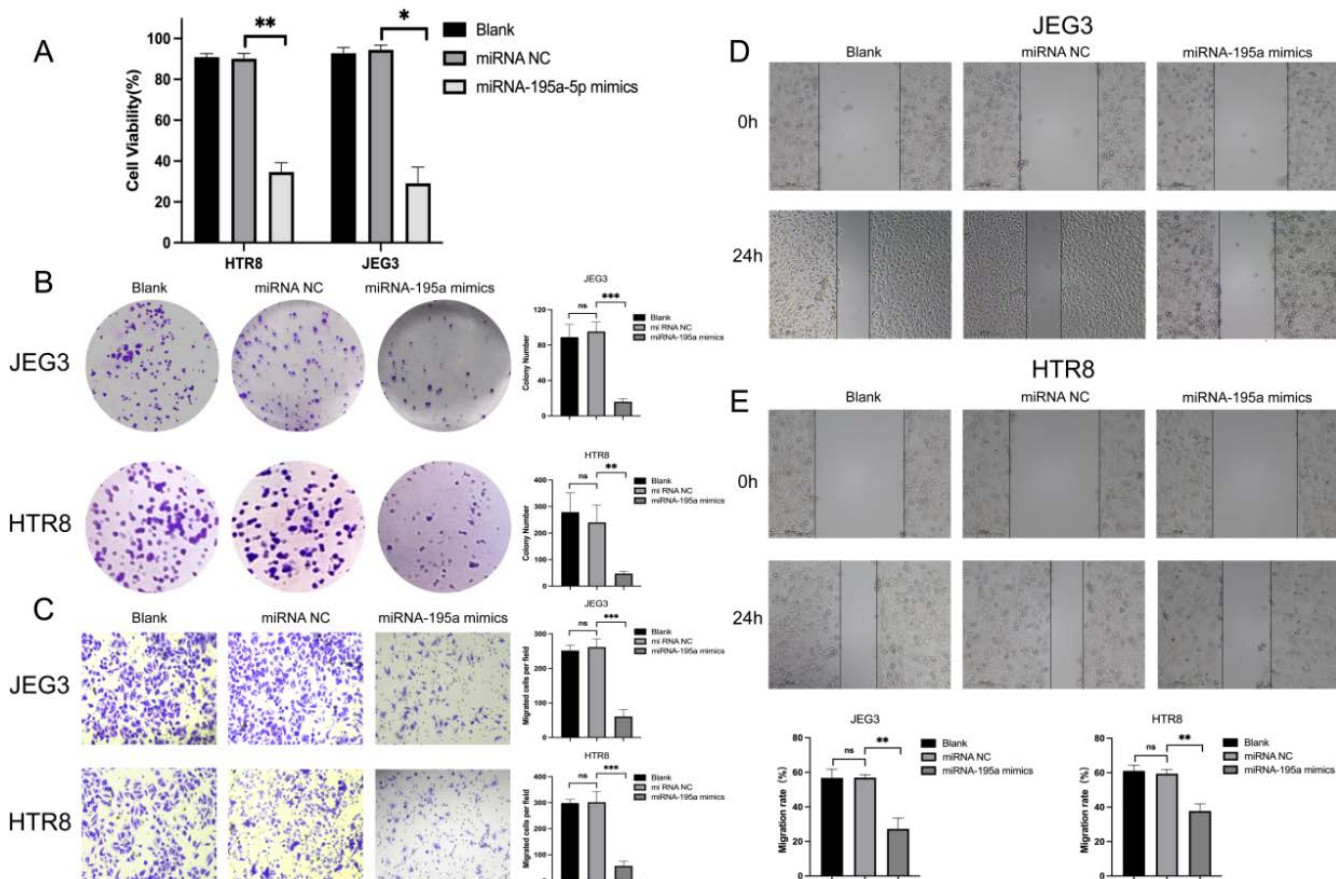


图2: miRNA-195a-5p 抑制滋养细胞增殖、侵袭、迁移能力。(A) 与对照组相比, miRNA-195a-5p mimics 显著抑制滋养细胞系 JEG3 及 HTR8 的细胞活力。与对照组相比, miRNA-195a-5p mimics 显著抑制滋养细胞系 JEG3 及 HTR8 的增殖 (B)、侵袭 (C)、迁移 (D-E) 能力。

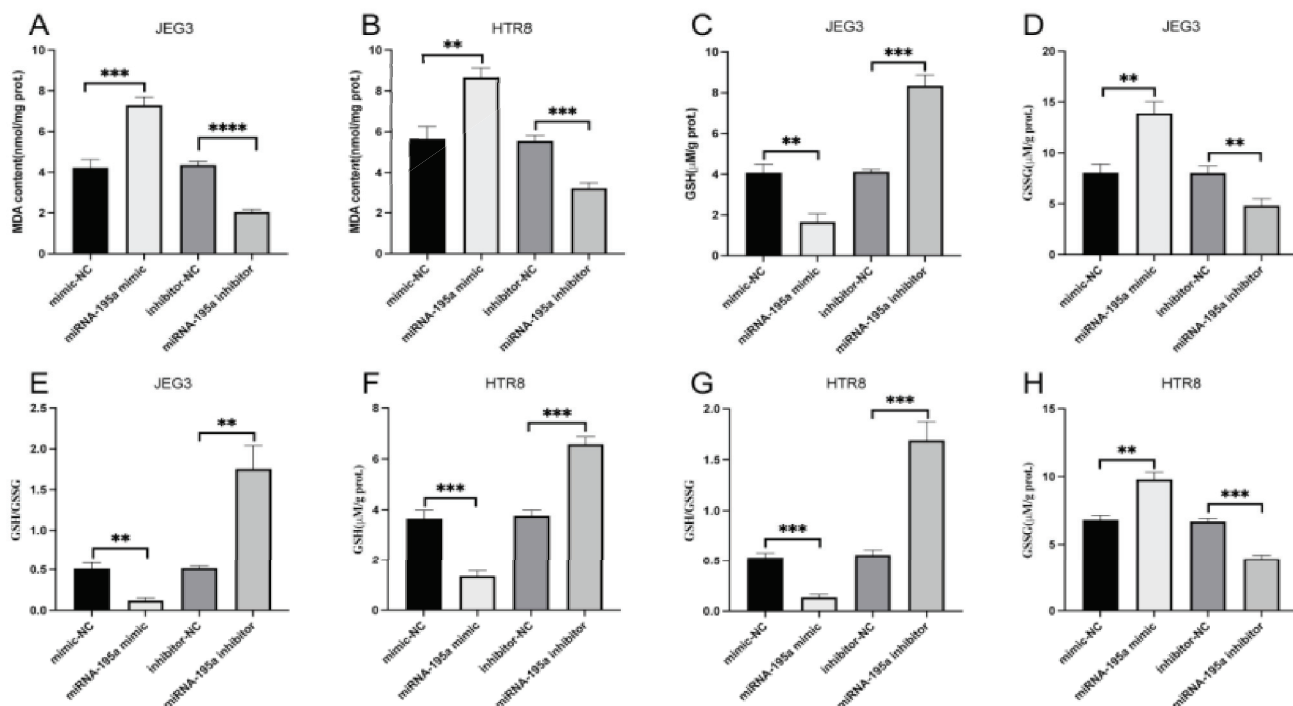


图3: miRNA-195a-5p 促进滋养细胞细胞系铁死亡。(A-B) 与对照组相比, miRNA-195a-5p mimics 显著增加滋养细胞系 JEG3 及 HTR8 的 MDA 含量, 而 miRNA-195a-5p inhibitor 降低滋养细胞系 JEG3 及 HTR8 的 MDA 含量。同时, miRNA-195a-5p mimics 处理滋养细胞系 JEG3 (C-E) 及 HTR8 (F-H) 后, 细胞内 GSH 含量降低、GSSG 含量增加、GSH/GSSG 比值降低。而 miRNA-195a-5p inhibitor 处理滋养细胞系 JEG3 (C-E) 及 HTR8 (F-H) 后, 细胞内 GSH 含量增加、GSSG 含量降低、GSH/GSSG 比值升高。

作用, 尤其是其通过调控铁死亡通路影响滋养细胞功能的机制。我们观察到, 子痫前期组胎盘组织中 miRNA-195a-5p 的表达显著升高, 同时铁死亡通路相关蛋白 (如 GPX4 和 SLC7A11A) 的表达水平降低, 这与滋养细胞的功能障碍密切相关。这些结果表明, miRNA-195a-5p 可能通过促进铁死亡而抑制滋养细胞的增殖和迁移能力, 从而在子痫前期的发病机制中发挥关键作用^{[10][11]}。此外, miRNA-195a-5p 的调控可能与胎盘中的氧化应激状态相关, 进一步影响胎盘的正常发育和功能, 从而导致妊娠并发症的发生^{[1][12]}。

在基因功能和细胞行为方面, miRNA-195a-5p 的过表达显著抑制了滋养细胞的增殖、侵袭和迁移能力, 反之, 抑制 miRNA-195a-5p 的表达则增强了这些功能。这一发现为我们理解滋养细胞在子痫前期中的角色提供了新的视角, 表明 miRNA-195a-5p 可能通过调控细胞内信号通路 (如 PI3K/AKT 通路) 影响细胞的生物学行为, 从而在妊娠时期发挥重要的生理作用^{[2][13]}。进一步的研究可以探讨其他可能受 miRNA-195a-5p 调控的分子靶点及其在子痫前期中的作用, 为未来的治疗策略提供新的思路。

最后, miRNA-195a-5p 的表观遗传学调控在子痫前期的发病中也具有重要意义。我们的研究显示, miRNA-195a-5p 的表达水平可能与胎盘组织的甲基化状态相关, 这表明表观遗传修饰在子痫前期中可能发挥重要作用^{[6][14]}。通过深入探讨 miRNA-195a-5p 与表观遗传学的关系, 我们能够更全面地理解子痫前期的发病机制, 并为其早期诊断和治疗提供新的生物标志物和靶点。

本研究的局限性主要体现在样本量较小 (每组仅 4 例), 这可能影响结果的统计效力和外推性。此外, 缺乏多中心临床验证和长期随访数据, 使得我们的发现尚需进一步验证。体外细胞实验虽然为机制研究提供了基础, 但未能完全模拟体内复杂的胎盘微环境, 这可能限制了实验结果的临床相关性。此外, 本研究未考虑 miRNA-195a-5p 在其他组织 (如母体血清) 中的表达差异, 这可能影响对其系统性作用的理解。因此, 未来的研究需扩大样本量并结合多组学数据, 以增强研究的全面性和可靠性。

综上所述, 本研究证实了 miRNA-195a-5p 通过促进胎盘铁死亡和氧化应激, 抑制滋养细胞功能, 从而在子痫前期发病中发挥关键作用。这一发现为子痫前期的分子机制提供了新的视角, 也为潜在的治疗策略提供了基础。未来的研究应着眼于 miRNA-195a-5p 作为早期诊断标志物的潜力, 以及针对铁死亡通路的干预策略的开发, 以期改善子痫前期的临床管理和预后。

参考文献:

- [1]Liu J, Kang R, Tang D. Signaling pathways and defense mechanisms of ferroptosis. *FEBS J.* 2022;289(22):7038-7050. doi:10.1111/febs.16059.
- [2]Gupta A, Sharma S, Dubey K, Dixit V. A Study of Association of Insulin Resistance with Pregnancy-induced Hypertension. *J Assoc Physicians India.* 2024;72(8):52-54.

doi:10.59556/japi.72.0589.

- [3]Bao W, Wang J, Fan K, Gao Y, Chen J. PIAS3 promotes ferroptosis by regulating TXNIP via TGF- β signaling pathway in hepatocellular carcinoma. *Pharmacol Res.* 196:106915. doi:10.1016/j.phrs.2023.106915.

- [4]Jaganjac M, Milkovic L, Zarkovic N, Zarkovic K. Oxidative stress and regeneration. *Free Radic Biol Med.* 181:154-165. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2022.02.004.

- [5]Tang Y, Xia W, Xu SQ, Liu HX, Li YY. Association of Urinary Strontium Levels with Pregnancy-induced Hypertension. *Curr Med Sci.* 2021;41(3):535-541. doi:10.1007/s11596-021-2366-6.

- [6]Agarwal GS, Agrawal AK, Singhal D, Bawiskar D, Shedge SS. Pregnancy-Induced Hypertension Pathophysiology and Contemporary Management Strategies: A Narrative Review. *Cureus.* 2024;16(7):e63961. Published 2024 Jul. doi:10.7759/cureus.63961.

- [7]Wei W, Wang X, Zhou Y, Shang X, Yu H. The genetic risk factors for pregnancy-induced hypertension: Evidence from genetic polymorphisms. *FASEB J.* 2022;36(7):e22413. doi:10.1096/fj.202101853RR.

- [8]Wojczakowski W, Duski D, Futyma K. Vitamin D and calcium status in preeclampsia and pregnancy-induced hypertension. *Biomol Biomed.* 2025;26(4):612-618. Published 2025 Oct 8. doi:10.17305/bb.2025.13081.

- [9]Ye M, Zhou C, Li L, Wang L, Zhang M. Effects of pregnancy-induced hypertension on early-onset neonatal thrombocytopenia. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2025;25(1):67. Published 2025 Jan 24. doi:10.1186/s12884-025-07193-z.

- [10]Hao S, Zhao H, Hao DH, Ferreri NR. MicroRNA-195a-5p Regulates Blood Pressure by Inhibiting NKCC2A. *Hypertension.* 2023;80(2):426-439. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.122.19794.

- [11]Fang Y, Chen L, Wang X, et al. UVB irradiation differential regulate miRNAs expression in skin photoaging. *An Bras Dermatol.* 2022 Jul-Aug;97(4):458-466. doi:10.1016/j.abd.2022.01.003.

- [12]Nunes LGA, Weingrill RB, Fredrick SBJ, et al. Trophoblast-specific Depror knockdown enhances trophoblast nutrient transport and fetal growth in mice. *Acta Physiol (Oxf).* 2025;241(4):e70012. doi:10.1111/apha.70012.

- [13]Soomro MH, England-Mason G, Liu J, et al. Associations between the chemical exposome and pregnancy induced hypertension. *Environ Res.* 2023;237(Pt 1):116838. doi:10.1016/j.envres.2023.116838.

- [14]Peng Y, Guo Y, Yang X, et al. Novel idebenone derivatives attenuated oxidative stress injury and myocardial damage. *Front Chem.* 13:1544616. Published 2025 None. doi:10.3389/fchem.2025.1544616.