

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2026.09.016

论著 · 基础

WTAP 通过 m6A 甲基化修饰 STMN1 调控子痫前期滋养细胞增殖、迁移侵袭及铁死亡

孙文萍, 海好婷, 王樵华, 邱海英, 萨日胡

基金项目: 青海省科技计划项目 (2024-SF-L03)

作者单位: 810000 青海西宁, 青海红十字医院产科

通信作者: 孙文萍, E-mail: SWPloveLZL1583@163.com



【摘要】目的 探讨 WTAP-STMN1 调控轴在滋养层细胞功能及铁死亡过程中的作用, 并阐明其与子痫前期 (PE) 发病之间的关联。**方法** 纳入 2023 年 11 月—2025 年 11 月青海红十字医院产科收治的 PE 患者 50 例为 PE 组, 正常妊娠就诊孕妇 50 例为正常妊娠组, 检测 2 组孕妇胎盘组织 WTAP、STMN1 mRNA 及蛋白表达水平。应用人绒毛外滋养层细胞系 HTR-8/SVneo 细胞进行实验, 按不同处理方式分为 7 组: 对照组 (control 组)、缺氧组 (Hyp 组)、缺氧+空载对照组 (Hyp+oe-NC 组)、缺氧+WTAP 过表达组 (Hyp+oe-WTAP 组)、缺氧+空载对照+干扰对照共转染组 (Hyp+oe-NC+sh-NC 组)、缺氧+WTAP 过表达+干扰对照共转染组 (Hyp+oe-WTAP+sh-NC 组)、缺氧+WTAP 过表达+STMN1 干扰共转染组 (Hyp+oe-WTAP+sh-STMN1 组)。检测各组细胞 WTAP、STMN1 表达水平, 采用过表达/沉默实验、m6A 甲基化修饰检测、mRNA 稳定性实验验证 WTAP 对 STMN1 的调控机制; 通过 CCK8 法检测细胞活力、流式细胞法检测细胞凋亡、划痕试验检测细胞迁移能力、Transwell 法检测细胞侵袭能力, 并检测铁死亡指标 (Fe^{2+} 、ROS、GSH、MDA), 明确 WTAP-STMN1 轴对缺氧诱导的滋养层细胞的影响。**结果** 与正常妊娠组比较, PE 组 WTAP、STMN1 mRNA 和蛋白均显著低表达 ($t = 14.470, 33.930, 9.400, 10.290, P$ 均 < 0.001)。与 control 组比较, Hyp 组 HTR-8/SVneo 细胞中 WTAP、STMN1 mRNA 及蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$); 而与 Hyp+oe-NC 组比较, Hyp+oe-WTAP 组在过表达 WTAP 后两者表达均显著升高 ($P < 0.01$)。与 Hyp+oe-NC 组相比, Hyp+oe-WTAP 组中 STMN1 mRNA 的 m6A 甲基化修饰水平显著升高 ($P < 0.01$), 同时 STMN1 mRNA 的相对富集程度也显著增加 ($P < 0.01$)。功能学实验表明, 过表达 WTAP 可逆转缺氧诱导的滋养层细胞活力下降、凋亡增加、迁移侵袭能力降低及铁死亡, 与 Hyp+oe-NC+sh-NC 组比较, Hyp+oe-WTAP+sh-NC 组上述指标均明显逆转 ($P < 0.01$), 而沉默 STMN1 的 Hyp+oe-WTAP+sh-STMN1 组上述保护效应下降 ($P < 0.01$)。**结论** PE 组织中 WTAP 及 STMN1 表达均下降, WTAP 通过 m6A-STMN1 轴调控滋养层细胞活力、凋亡、迁移侵袭及铁死亡进程, 可能参与 PE 的发病机制, 为 PE 的防治提供了新的潜在靶点。

【关键词】 子痫前期; WTAP-STMN1 调控轴; m6A 甲基化修饰; 铁死亡; 作用机制**【中图分类号】** R714.24⁺4**【文献标识码】** A

WTAP regulates proliferation, migration, invasion and ferroptosis of trophoblast cells in preeclampsia via m6A methylation modification of STMN1 Sun Wenping, Hai Yuting, Wang Pinhua, Qiu Haiying, Sa Rihu. Department of Obstetrics, Qinghai Red Cross Hospital, Qinghai, Xining 810000, China

Funding program: Qinghai Provincial Science and Technology Program (2024-SF-L03)

Corresponding author: Sun Wenping, E-mail: SWPloveLZL1583@163.com

【Abstract】 Objective To explore the role of the WTAP-STMN1 regulatory axis in trophoblast cell function and the process of ferroptosis, and to elucidate its association with the pathogenesis of preeclampsia (PE). **Methods** Differentially expressed genes were screened and candidate downstream genes of WTAP were identified using the GSE302952 and GSE149812 databases. The expression levels of WTAP and STMN1 were detected in PE tissues and hypoxia-induced HTR-8/SVneo trophoblast cells. The regulatory mechanism of WTAP on STMN1 was validated using overexpression/silencing experiments, m6A methylation modification detection, and mRNA stability assays. The impact of the WTAP-STMN1 axis on hypoxia-induced trophoblast cells was clarified through CCK-8 assay for cell viability, flow cytometry for apoptosis, scratch assay for cell migration, Transwell assay for cell invasion, and detection of ferroptosis indicators (Fe^{2+} , ROS, GSH, MDA) using commercial kits. **Results** Database screening identified STMN1 as a candidate downstream gene of WTAP, and both were significantly downregulated in PE tissues and hypoxia-induced trophoblast cells (all $P < 0.01$). Overexpression of WTAP significantly upregulated STMN1 expression ($P < 0.05$) by enhancing m6A methylation modification and stability of STMN1 mRNA.

Functional experiments demonstrated that overexpression of WTAP reversed the hypoxia-induced decrease in trophoblast cell viability, increased apoptosis, reduced migration and invasion capabilities, and suppressed ferroptosis (all $P<0.01$). However, silencing STMN1 significantly attenuated the aforementioned protective effects of WTAP (all $P<0.05$). **Conclusion** WTAP regulates trophoblast cell viability, apoptosis, migration, invasion, and the ferroptosis process through the m6A-STMN1 axis, which may be involved in the pathogenesis of PE and provides a new potential target for the prevention and treatment of PE.

【Key words】 Preeclampsia; WTAP-STMN1 regulatory axis; m6A methylation modification; Ferroptosis; Mechanism

子痫前期(preeclampsia PE)是妊娠期特有的严重并发症,以胎盘功能异常为核心病理基础,其发病机制尚未完全阐明^[1]。滋养层细胞作为胎盘的核心功能细胞,其正常的增殖、迁移、侵袭能力是保障胎盘着床与血管重塑的关键,而滋养层细胞功能异常及过度细胞死亡被证实是 PE 发生发展的重要驱动因素^[2]。近年来,铁死亡作为一种铁依赖的脂质过氧化驱动的程序性细胞死亡方式,被发现参与多种妊娠相关疾病的病理过程,但关于其在 PE 滋养层细胞损伤中的调控机制仍需深入探索^[3]。本研究聚焦 m6A 甲基转移酶 WTAP 及其下游靶基因 STMN1,系统探究二者构成的 WTAP-STMN1 调控轴对滋养层细胞功能及铁死亡的影响,为揭示 PE 的发病机制提供新的实验依据,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 临床样本:人胎盘组织样本获自青海红十字医院产科 2023 年 11 月—2025 年 11 月收治的孕妇,胎盘组织于分娩后立即采集,冻存于 -80°C 用于 RNA 和蛋白质提取。其中 PE 组 50 例,均符合美国妇产科学会(ACOG)制订的 PE 诊断标准(妊娠 20 周后新发高血压和蛋白尿)^[4];正常妊娠组 50 例,均为因非医学指征行剖宫产的健康孕妇。2 组孕妇年龄、孕周均匹配。本研究经医院伦理委员会批准(LW-2026-23),所有参与者或家属均知情同意并签署知情同意书。

1.1.2 细胞与试剂、仪器:(1)细胞。人绒毛外滋养层细胞系 HTR-8/SVneo 购自武汉尚恩生物技术有限公司(货号:SNL-212)。(2)主要试剂。胎牛血清(碧云天公司,货号 C0235)、RPMI-1640 培养基(Procell 公司,货号 PM150110)、青霉素-链霉素双抗(赛默飞世尔科技公司,货号 15140122);Lipofectamine 3000 转染试剂(赛默飞世尔科技公司,货号 L3000150);TRIzol 试剂(碧云天公司,货号 R0016)、SYBR Green qPCR 试剂盒(碧云天公司,货号 D7268S);RIPA 裂解液(碧云天公司,货号 P0013B)、BCA 蛋白定量试剂盒(碧云天公司,货号 P0012)、WTAP 抗体(Abcam 公司,货号 EPR18744)、STMN1 抗体(Abcam 公司,货号 EP1573Y)、GAPDH 抗体(Abcam 公司,货号 ab9485);CCK-8 试剂(武汉三鹰公司,货号 PF00004);Annexin

V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒(碧云天公司,货号 C1062S);ROS 试剂盒(碧云天公司,货号 S0033S)、GSH 试剂盒(碧云天公司,货号 S0052)、MDA 试剂盒(碧云天公司,货号 S0131S)、 Fe^{2+} 试剂盒(碧云天公司,货号 S1066S)。(3)主要仪器。二氧化碳培养箱(赛默飞公司,型号 Midi 40)、三气培养箱(博科公司,型号 BJPX-C160T)、实时荧光定量 PCR 仪(赛默飞公司,型号 QuantStudio 1)、酶标仪(赛默飞公司,型号 Varioskan LUX)、流式细胞仪(Agilent 公司,型号 Novo-Cyte Penton)、倒置显微镜(Olympus 公司,型号 CKX53)、高速冷冻离心机(Kaida 公司,型号 KH19A)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养、转染与分组:人绒毛外滋养层细胞系 HTR-8/SVneo 于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 和 1% 双抗(青霉素-链霉素)培养基中,在常氧条件(37°C , 5% CO_2 , 21% O_2)下常规培养。为模拟子痫前期胎盘缺氧微环境,构建缺氧模型:当细胞融合度达 70%~80%时,更换新鲜培养基,并将其置于三气培养箱中,于缺氧条件(37°C , 5% CO_2 , 94% N_2 , 1% O_2)下培养 48 h,用于后续表型与机制研究。转染操作:在缺氧或常氧处理前 24 h,使用 Lipofectamine 3000 试剂将相应质粒或 siRNA 转染入细胞,加入质粒 2 μg 和 Lipofectamine 3000 5 μl ,溶于 Opti-MEM 培养基,转染 6~8 h 后更换为新鲜完全培养基,继续培养至总处理时间点。细胞实验按不同处理分为 7 组:对照组(control 组)常氧条件下培养、不做任何转染;缺氧组(Hyp 组)缺氧条件下培养 48 h、不做任何转染;缺氧+空载对照组(Hyp+oe-NC 组)转染空载过表达质粒(oe-NC)后进行缺氧处理 48 h;缺氧+WTAP 过表达组(Hyp+oe-WTAP 组)转染 WTAP 过表达质粒(oe-WTAP)后进行缺氧处理 48 h;缺氧+空载对照+干扰对照共转染组(Hyp+oe-NC+sh-NC 组)共转染空载过表达质粒(oe-NC)和阴性对照干扰序列(sh-NC)后进行缺氧处理 48 h;缺氧+WTAP 过表达+干扰对照共转染组(Hyp+oe-WTAP+sh-NC 组)共转染 WTAP 过表达质粒(oe-WTAP)和阴性对照干扰序列(sh-NC)后进行缺氧处理 48 h;缺氧+WTAP 过表达+STMN1 干扰共转染组(Hyp+oe-WTAP+sh-STMN1 组)共转染 WTAP 过表达质粒

(oe-WTAP)和靶向 STMN1 的干扰序列(sh-STMN1)后进行缺氧处理 48 h。各组细胞均于相应处理结束后(即转染后 72 h,其中缺氧处理 48 h)统一收集,分别用于后续相应 mRNA、蛋白、细胞活力、凋亡等检测。

1.2.2 RT-qPCR 法检测胎盘组织和 HTR-8/SVneo 细胞中 WTAP、STMN1 mRNA 表达:使用 TRIzol 试剂提取各组细胞总 RNA,通过微量紫外分光光度计测定 RNA 浓度及纯度(A260/A280 比值 1.8~2.0)。取 1 μ g 总 RNA,使用反转录试剂盒逆转录为 cDNA。以 GAPDH 为内参,采用实时定量 PCR 试剂盒在实时荧光定量 PCR 仪上进行扩增。反应体系为 20 μ l,包括 cDNA 模板 2 μ l、上下游引物各 0.5 μ l、SYBR Green 预混液 10 μ l 及去离子水 7 μ l。扩增程序为:90℃ 预变性 30 s,90℃ 变性 5 s,55℃ 退火 30 s,共 30 个循环,最后进行溶解曲线分析以确保扩增产物的特异性。各引物序列见表 1。以 GAPDH 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的相对表达量。

表 1 RT-qPCR 各引物序列

Tab.1 Sequences of each primer for RT-qPCR

基因		引物(5'-3')	长度(bp)
WTAP	上游	TGCGACTAGCAACCAAGGAA	122
	下游	GTTGATCGCTGGGTCTACCA	
STMN1	上游	TGAAGCAGCTGGCTGAGAAA	165
	下游	GCAAACGTTCCAGTTTGGCA	
GAPDH	上游	ATGTTGCAACCGGAAGGAA	159
	下游	AGGAAAAGCATCACCCGGAG	

1.2.3 Western-blot 法检测胎盘组织和 HTR-8/SVneo 细胞中 WTAP、STMN1 蛋白表达:收集各组细胞,加入裂解液,冰上裂解 30 min,于 4℃、12 000 r/min 离心 15 min,收集上清液。采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。取等量蛋白(30 μ g)加入 5 $\times$ SDS 上样缓冲液,煮沸变性 10 min。蛋白样品经 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离后,湿转至 PVDF 膜。用 5%脱脂奶粉室温封闭 1 h,分别加入一抗:WTAP 抗体(稀释比例 1:1 000)、STMN1 抗体(稀释比例 1:1 000)及 GAPDH 抗体(稀释比例 1:2 000),4℃ 孵育过夜。TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,加入 HRP 标记的二抗室温孵育 1 h。再次洗涤后,采用 ECL 化学发光法显影,使用凝胶成像系统采集图像。以 GAPDH 为内参,使用 ImageJ 软件分析目的条带灰度值,计算目的蛋白的相对表达量。

1.2.4 Me-RIP qPCR 法检测 STMN1 的 m6A 修饰水平:收集各组细胞总 RNA,取 RNA 5 μ g 与抗 m6A 抗体 2 μ g 混合,加入免疫沉淀缓冲液,于 4℃ 孵育 6 h。

同时,取 50 μ l 磁珠用 2% BSA 在 4℃ 封闭 3 h,洗涤后将上述 RNA-抗体复合物加入封闭后的磁珠中,于 4℃ 旋转孵育过夜。次日,用高盐洗涤缓冲液洗涤磁珠 5 次,用 SDS 缓冲液洗脱 RNA,加入蛋白酶 K 消化后,采用酚-氯仿法纯化 RNA。纯化后的 RNA 通过 RT-qPCR 法检测 STMN1 mRNA 的表达量,以 Input 组为对照,计算 STMN1 的 m6A 富集倍数,反映其 m6A 修饰水平。

1.2.5 RIP 法检测 WTAP 与 STMN1 mRNA 的结合:收集各组细胞,加入含有蛋白酶抑制剂和 RNase 抑制剂的 RIPA 裂解液,冰上裂解 30 min,于 4℃、12 000 r/min 离心 10 min,取上清。取 50 μ l 上清作为 Input 组,剩余上清分别与预先包被好抗 WTAP 抗体或同型 IgG 对照抗体的磁珠混合,于 4℃ 旋转孵育过夜。次日,用洗涤缓冲液洗涤磁珠 5 次,每次 5 min。加入蛋白酶 K 消化液,于 55℃ 消化 30 min,从磁珠-抗体复合物中解离并纯化 RNA。通过 RT-qPCR 检测富集的 RNA 中 STMN1 mRNA 的含量,以 Input 组为对照,计算相对富集量,评估 WTAP 蛋白与 STMN1 mRNA 的结合水平。

1.2.6 CCK-8 法检测细胞活力:取对数生长期的各组细胞,经胰酶消化后离心重悬,以每孔 100 μ l 接种于 96 孔板中,每组设置 3 个复孔。另设不含细胞的空白对照孔。于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h、48 h、72 h 后,每孔加入 CCK-8 试剂 10 μ l,继续孵育 2 h。使用酶标仪测定 450 nm 波长处的吸光度值(OD 值)。细胞活力计算公式:细胞活力(%)=(实验组 OD 值-空白组 OD 值)/(对照组 OD 值-空白组 OD 值) $\times$ 100%。

1.2.7 流式细胞术检测细胞凋亡:收集各组细胞,用 PBS 洗涤 2 次,加入 Binding Buffer 500 μ l 重悬细胞,调整细胞浓度为 1×10^6 个/ml。按照 Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒说明书操作:每 100 μ l 细胞悬液中加入 5 μ l Annexin V-FITC 和 5 μ l PI,轻轻混匀,室温避光孵育 15 min。随后加入 Binding Buffer 400 μ l,用流式细胞仪进行检测。使用 FlowJo 软件分析数据,Annexin V-FITC 阳性、PI 阴性细胞为早期凋亡细胞,Annexin V-FITC 和 PI 双阳性细胞为晚期凋亡细胞,计算总凋亡率(早期凋亡率+晚期凋亡率)。

1.2.8 Transwell 法检测细胞侵袭能力:将 Matrigel 基质胶与无血清培养基按 1:8 比例稀释,取 60 μ l 稀释后的 Matrigel 均匀包被于 Transwell 小室的上室底部膜上,置于 37℃ 培养箱中孵育 2 h 使其凝固成胶。各组细胞经相应处理后,用无血清培养基重悬,调整细胞浓度为 2×10^5 个/ml。上室中加入 100 μ l 细胞悬液,下室中加入 600 μ l 含 10% 胎牛血清的完全培养基作为趋化剂。于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 后,取出

小室,用棉签轻轻擦拭上室内的未侵袭细胞。PBS 洗涤 2 次,用 4%多聚甲醛固定 15 min,0.1%结晶紫染色 20 min。PBS 洗涤后,在倒置显微镜下随机选取 3 个视野(200×)进行拍照,计数侵袭至下室的细胞数,取平均值代表细胞的侵袭能力。

1.2.9 划痕法检测细胞迁移能力:取各组对数生长期细胞,经胰酶消化后离心重悬,调整细胞浓度为 $(4\sim5)\times 10^5$ 个/ml,每孔 500 μ l 接种于 24 孔板中,每组设置 3 个复孔。待细胞生长融合至约 90%时,用无菌 200 μ l 枪头在孔板底部垂直划出一条直线,尽量保持划痕宽度一致。PBS 轻轻洗涤 2 次,去除划下的细胞,更换为无血清培养基,于倒置显微镜下拍照记录 0 h 划痕宽度。继续培养 24 h 后,再次于相同位置拍照记录划痕宽度。使用 ImageJ 软件测量划痕面积,计算细胞迁移率:划痕愈合率(%)=(0 h 划痕面积-24 h 划痕面积)/0 h 划痕面积 $\times 100\%$ 。

1.2.10 试剂盒法检测氧化应激水平:收集各组细胞培养上清液及细胞沉淀。细胞沉淀用预冷 PBS 洗涤 2 次,加入适量裂解液,冰上裂解 15 min,于 4℃、12 000 r/min 离心 10 min,取上清备用。 Fe^{2+} 水平通过比色法检测,ROS 水平以 DCFH-DA 探针法检测,GSH 水平通过 DTNB 显色法检测,MDA 水平通过硫代巴比妥酸法检测;按照各试剂盒说明书操作。

1.3 统计学方法 采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计分析。正态分布计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,方差齐时,2 组间比较采用独立样本 *t* 检验;多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA);数据不符合正态分布或方差不齐,则采用非参数检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 正常妊娠组与 PE 组 WTAP 和 STMN1 表达水平比较 与正常妊娠组比较,PE 组 WTAP、STMN1 mRNA 及蛋白表达水平均显著降低($P<0.01$),见表 2、图 1A。

表 2 正常妊娠组与 PE 组胎盘组织中 WTAP、STMN1 mRNA 及蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.2 Comparison of WTAP and STMN1 mRNA and protein expressions in placental tissues between the normal pregnancy group and the PE group

组别	例数	WTAP mRNA	STMN1 mRNA	WTAP 蛋白	STMN1 蛋白
正常妊娠组	50	1.00 $\pm$ 0.09	1.00 $\pm$ 0.35	1.00 $\pm$ 0.05	1.00 $\pm$ 0.07
PE 组	50	0.18 $\pm$ 0.15	0.23 $\pm$ 0.13	0.38 $\pm$ 0.09	0.43 $\pm$ 0.08
<i>t</i> 值		33.930	14.470	10.290	9.400
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

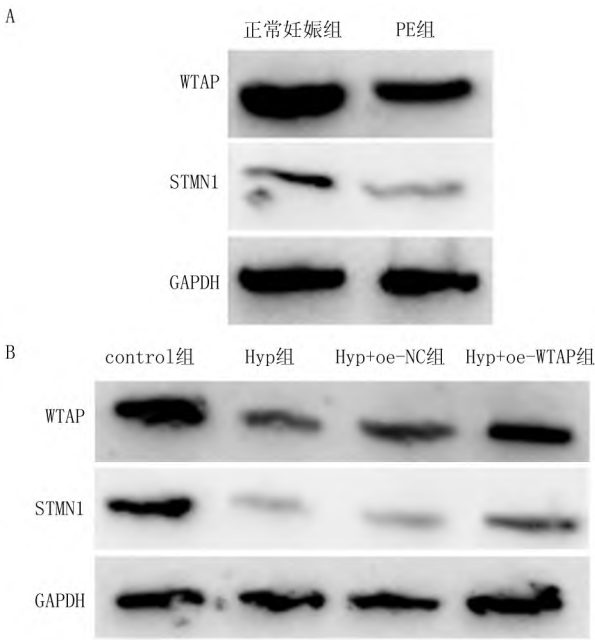
2.2 各组 HTR-8/SVneo 细胞中 WTAP 和 STMN1 表达水平比较 与 control 组比较,Hyp 组 WTAP、STMN1 mRNA 及蛋白表达水平显著降低($P<0.01$);与 Hyp+oe-NC 组比较,Hyp+oe-WTAP 组 STMN1 的 mRNA 及蛋白水平显著升高($P<0.01$),见表 3、图 1B。

表 3 各组 HTR-8/SVneo 细胞中 WTAP 和 STMN1 mRNA 及蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.3 Comparison of mRNA and protein expression of WTAP and STMN1 in each group of HTR-8/SVneo cells

组别	<i>n</i>	WTAP mRNA	STMN1 mRNA	WTAP 蛋白	STMN1 蛋白
control 组	3	1.00 $\pm$ 0.09	1.00 $\pm$ 0.06	1.00 $\pm$ 0.10	1.00 $\pm$ 0.13
Hyp 组	3	0.45 $\pm$ 0.08 ^a	0.30 $\pm$ 0.08 ^a	0.25 $\pm$ 0.05 ^a	0.18 $\pm$ 0.02 ^a
Hyp+oe-NC 组	3	0.49 $\pm$ 0.05	0.35 $\pm$ 0.02	0.33 $\pm$ 0.07	0.24 $\pm$ 0.06
Hyp+oe-WTAP 组	3	0.85 $\pm$ 0.06 ^b	0.96 $\pm$ 0.06 ^b	0.87 $\pm$ 0.06 ^b	0.79 $\pm$ 0.06 ^b
<i>F</i> 值		46.880	118.700	128.800	85.370
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 control 组比较,^a $P<0.01$,与 Hyp+oe-NC 组比较,^b $P<0.01$ 。



注:A.正常妊娠及 PE 胎盘组织;B.HTR-8/SVneo 细胞。

图 1 WTAP 和 STMN1 蛋白在各组胎盘组织及 HTR-8/SVneo 细胞中的表达

Fig.1 The expression of WTAP and STMN1 proteins in placental tissues and HTR-8/SVneo cells in each group

2.3 WTAP 通过 m6A 修饰调控 STMN1 mRNA 在缺氧诱导的 HTR-8/SVneo 细胞中,检测 WTAP 对 STMN1 mRNA m6A 修饰及富集程度的影响。结果显示,与 Hyp+oe-NC 组比较,Hyp+oe-WTAP 组中 STMN1 mRNA 的 m6A 甲基化修饰水平显著升高($P<0.01$),同时 STMN1 mRNA 的相对富集程度也显著增加($P<0.01$);而 2 组 anti-IgG 抗体比较,差异无统计学意义

($P>0.05$), 见表 4。

表 4 WTAP 对 STMN1 mRNA m6A 甲基化修饰水平及 STMN1 mRNA 富集水平的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.4 influence of WTAP on the m6A methylation modification level of STMN1 mRNA and the enrichment level of STMN1 mRNA

组 别	n	anti-IgG	anti-m6A	anti-WTAPm6A
Hyp+oe-NC 组	3	1.00±0.06	3.16±0.08	4.86±0.56
Hyp+oe-WTAP 组	3	1.00±0.11	8.96±0.12	10.33±0.86
t 值		<0.001	70.390	9.180
P 值		>0.999	<0.001	<0.001

2.4 WTAP 通过调控 STMN1 对 HTR-8/SVneo 细胞活力、凋亡的影响 与 control 组比较, Hyp 组细胞活力显著下降、凋亡率显著升高($P<0.01$); 与 Hyp+oe-NC+sh-NC 组比较, Hyp+oe-WTAP+sh-NC 组上述指标均明显逆转($P<0.01$), 细胞活力显著升高、凋亡率显著降低(均 $P<0.01$); 而 Hyp+oe-WTAP+sh-STMN1 组细胞活力较 Hyp+oe-WTAP+sh-NC 组显著下降($P<0.05$), 凋亡率显著升高($P<0.01$), 见图 2、表 5。

表 5 WTAP 通过调控 STMN1 对 HTR-8/SVneo 细胞活力、凋亡的影响 ($\bar{x}\pm s, \%$)

Tab.5 WTAP modulates the regulatory effects of STMN1 on the viability and apoptosis of HTR-8/SVneo cells

组 别	n	细胞活力	细胞凋亡
control 组	3	100.00±5.12	5.25±0.28
Hyp 组	3	52.20±1.33 ^a	26.14±3.15 ^a
Hyp+oe-NC+sh-NC 组	3	53.14±2.36	25.67±2.15
Hyp+oe-WTAP+sh-NC 组	3	86.12±9.13 ^b	13.52±1.12 ^b
Hyp+oe-WTAP+sh-STMN1 组	3	61.85±5.37 ^c	22.13±2.16 ^d
F 值		46.960	59.020
P 值		<0.001	<0.001

注: 与 control 组比较, ^a $P<0.01$; 与 Hyp+oe-NC+sh-NC 组比较, ^b $P<0.01$; 与 Hyp+oe-WTAP+sh-NC 组比较, ^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$ 。

2.5 WTAP 通过调控 STMN1 对 HTR-8/SVneo 细胞侵

袭、迁移的影响 与 control 组比较, Hyp 组侵袭细胞数显著减少、划痕愈合率显著降低($P<0.01$); 与 Hyp+oe-NC+sh-NC 组比较, Hyp+oe-WTAP+sh-NC 组侵袭细胞数显著增加、划痕愈合率显著升高($P<0.01$), 缺氧对迁移、侵袭能力的抑制作用被显著逆转; 而与 Hyp+oe-WTAP+sh-NC 组比较, Hyp+oe-WTAP+sh-STMN1 组侵袭细胞数显著减少、划痕愈合率显著降低($P<0.01$), WTAP 对迁移侵袭能力的改善效应被显著削弱, 见表 6、图 3。

表 6 WTAP 通过调控 STMN1 对 HTR-8/SVneo 细胞侵袭、迁移的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.6 WTAP regulates the effects of STMN1 on the invasion and migration of HTR-8/SVneo cells

组 别	侵袭细胞数(个)	划痕愈合率(%)
control 组	248.00±18.03	62.84±4.53
Hyp 组	85.33±4.05 ^a	25.94±2.29 ^a
Hyp+oe-NC+sh-NC 组	82.33±8.15	22.17±5.37
Hyp+oe-WTAP+sh-NC 组	172.00±17.35 ^b	54.60±2.16 ^b
Hyp+oe-WTAP+sh-STMN1 组	107.33±12.66 ^c	32.15±1.96 ^c
F 值	94.300	100.300
P 值	<0.001	<0.001

注: 与 control 组比较, ^a $P<0.01$; 与 Hyp+oe-NC+sh-NC 组比较, ^b $P<0.01$; 与 Hyp+oe-WTAP+sh-NC 组比较, ^c $P<0.01$ 。

2.6 WTAP 通过调控 STMN1 对 HTR-8/SVneo 细胞铁死亡的影响 与 control 组比较, Hyp 组细胞 GSH 水平显著下降, Fe^{2+} 、相对 ROS 水平、MDA 水平显著升高($P<0.01$); 与 Hyp+oe-NC+sh-NC 组比较, Hyp+oe-WTAP+sh-NC 组上述指标均显著逆转, 表现为 Fe^{2+} 、相对 ROS 水平、MDA 水平显著降低, GSH 水平显著升高($P<0.01$); 而与 Hyp+oe-WTAP+sh-NC 组比较, Hyp+oe-WTAP+sh-STMN1 组细胞 GSH 水平显著下降, Fe^{2+} 、相对 ROS 水平、MDA 水平显著升高($P<0.01$), WTAP 的抗铁死亡效应被显著削弱, 见表 7、图 4。

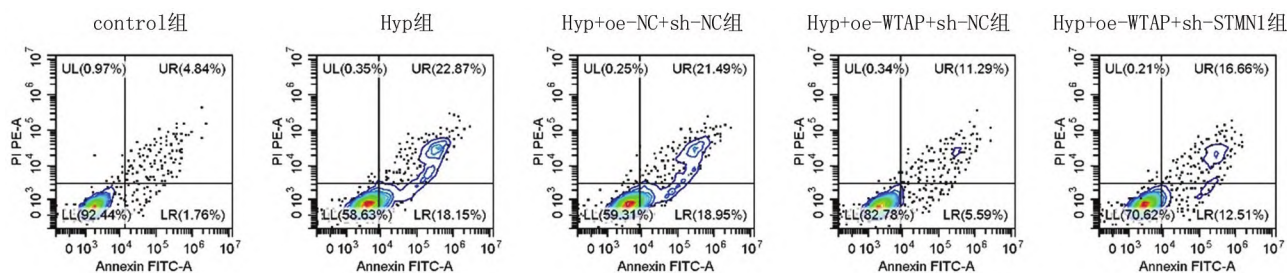
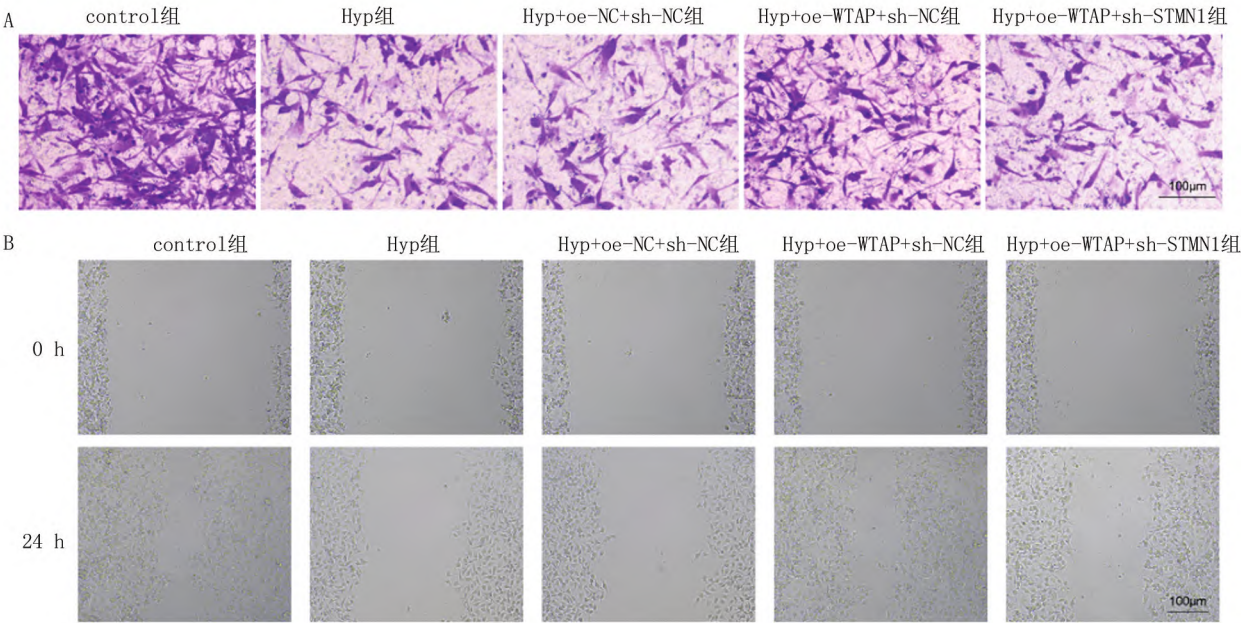


图 2 WTAP 通过调控 STMN1 对 HTR-8/SVneo 细胞凋亡的影响

Fig.2 WTAP modulates the regulatory effects of STMN1 on apoptosis of HTR-8/SVneo cells



注:A. Transwell 实验检测细胞侵袭;B.划痕实验检测细胞迁移水平。
图 3 WTAP 通过调控 STMN1 对 HTR-8/SVneo 细胞侵袭、迁移的影响

Fig.3 WTAP regulates the effects of STMN1 on the invasion and migration of HTR-8/SVneo cells

表 7 WTAP 通过调控 STMN1 的对滋养层细胞铁死亡的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.7 WTAP regulates the effect of STMN1 on ferroptosis in HTR-8/SVneo cells

组 别	Fe ²⁺ (nmol/mg)	相对 ROS 水平	GSH (nmol/mg)	MDA (nmol/mg)
control 组	0.41±0.16	1.00±0.13	8.90±0.84	2.16±0.20
Hyp 组	1.28±0.11 ^a	5.16±0.53 ^a	5.20±0.37 ^a	4.96±0.17 ^a
Hyp+oe-NC+sh-NC 组	1.26±0.15	5.96±0.07	5.40±0.76	4.88±0.13
Hyp+oe-WTAP+sh-NC 组	0.53±0.06 ^b	2.11±0.17 ^b	8.20±0.59 ^b	2.67±0.24 ^b
Hyp+oe-WTAP+sh-STMN1 组	0.98±0.01 ^c	4.25±0.45 ^c	5.90±0.61 ^c	4.16±0.09 ^c
F 值	39.090	127.500	19.760	148.800
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 control 组比较,^a $P<0.01$;与 Hyp+oe-NC+sh-NC 组比较,^b $P<0.01$;与 Hyp+oe-WTAP+sh-NC 组比较,^c $P<0.01$ 。

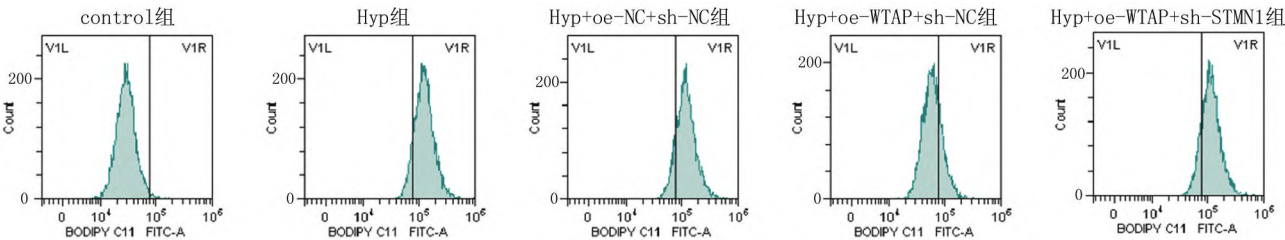


图 4 各组 HTR-8/SVneo 细胞相对 ROS 水平比较

Fig.4 Comparison of relative ROS levels in each group of HTR-8/SVneo cells

3 讨 论

PE 是一种危及生命的妊娠并发症,全球 5%~8% 妊娠女性受其影响,是导致孕产妇及新生儿死亡率升高的重要原因之一^[5]。PE 女性远期寿命缩短,脑卒中、心血管疾病及糖尿病风险显著增加;其后代则面临早产、围产期死亡、神经发育障碍及远期心血管代谢疾

病等多重风险,给母婴健康带来长期危害。作为一种复杂的多系统疾病,PE 的诊断标准为妊娠 20 周后突发高血压,且伴随至少一种相关并发症(如蛋白尿、母体器官功能障碍或子宫胎盘功能障碍),根据分娩时机可分为早产型(<37 周)、足月型(≥ 37 周)及产后型^[4]。其核心病理驱动因素为胎盘功能失调,释放异

常因子入血,引发全身炎症反应及广泛母体内皮功能障碍;目前临床治疗主要针对高血压和癫痫症状,唯一根治手段为分娩胎盘及胎儿,常导致早产,且足月型与产后型 PE 缺乏有效预测方法及预防措施,其病因至今尚未完全阐明^[6-7]。

滋养层细胞作为胎盘功能核心细胞,其正常增殖、迁移及侵袭能力是保障胎盘着床与血管重塑的关键,而滋养层细胞功能异常及过度细胞死亡已被证实是 PE 发生发展的重要驱动因素^[8]。近年来,铁死亡作为一种铁依赖的、以线粒体 ROS 产生及脂质过氧化产物蓄积为核心特征的调控性细胞死亡形式,被发现参与多种妊娠相关疾病的病理过程^[9]。值得注意的是,PE 患者存在显著铁代谢异常,循环铁水平升高,且遗传学研究显示早发型 PE 中铁死亡相关基因表达上调;而妊娠期胎盘缺氧是 PE 的典型特征,缺氧环境与铁代谢紊乱共同构成铁死亡的诱发条件,但其在 PE 滋养层细胞损伤中的具体调控机制尚不清楚^[10]。基于此,本研究聚焦 m6A 甲基转移酶 WTAP 及其下游靶基因 STMN1,系统探究二者构成的调控轴对滋养层细胞功能及铁死亡的影响,旨在揭示 PE 的发病机制,同时为临床防治提供潜在靶点。

STMN1 是 WTAP 调控的下游候选基因,且二者在 PE 组织中均呈显著低表达。随后的组织学验证及细胞实验进一步证实,PE 组患者胎盘组织及缺氧诱导的滋养层细胞中,WTAP 与 STMN1 的 mRNA 及蛋白水平均显著下调,而过表达 WTAP 可显著提升 STMN1 的表达水平。这一结果提示,WTAP 与 STMN1 的低表达可能共同参与 PE 的病理进程,且二者存在潜在的调控关系。已有研究表明,WTAP 作为 m6A 修饰复合体的核心组分,通过调控下游靶基因的 m6A 修饰参与肿瘤、心血管疾病等多种疾病的发生^[11];同时有研究提示 WTAP 在 PE 中显著低表达^[12-14],但对其调控的下游靶因子及具体作用机制尚不明确。本研究首次证实 WTAP-STMN1 轴在 PE 胎盘组织及缺氧诱导的滋养层细胞中均呈低表达,这一发现不仅提示二者的低表达可能共同参与 PE 的病理进程、存在潜在调控关系,也为深入探究该轴在 PE 中的调控机制奠定了基础。

为明确 WTAP 对 STMN1 的调控机制,本研究通过 m6A 甲基化修饰检测及 mRNA 稳定性实验发现,过表达 WTAP 可显著增强 STMN1 mRNA 的 m6A 甲基化修饰水平及相对富集程度。m6A 修饰作为真核生物 mRNA 最常见的表观遗传修饰之一,主要通过影响 mRNA 的稳定性、翻译效率等调控基因表达^[15]。此前研究证实,m6A 修饰异常与 PE 的发生密切相关,

METTL3 通过调控滋养层细胞中靶基因的 m6A 修饰参与 PE 的病理过程^[16-18]。这一机制为 m6A 修饰在 PE 中的作用提供了新的靶点。

缺氧作为 PE 胎盘的典型微环境,可显著抑制滋养层细胞活力、促进细胞凋亡,同时显著降低细胞迁移侵袭能力,还可诱导细胞发生铁死亡(表现为 Fe^{2+} 、ROS、MDA 水平升高,GSH 水平降低)^[19-21],这与 PE 患者胎盘滋养层细胞功能损伤及体内铁过载、氧化应激增强的病理状态一致^[22-23]。而过表达 WTAP 可显著逆转上述缺氧诱导的滋养层细胞损伤,具体表现为细胞活力回升、凋亡率降低、迁移侵袭能力增强,且铁死亡相关指标均恢复至接近正常水平,提示 WTAP 可能通过调控铁死亡及细胞功能稳态发挥胎盘保护作用。更重要的是,沉默 STMN1 可显著削弱 WTAP 的上述保护效应,使滋养层细胞的功能异常及铁死亡表型改变。这一结果明确证实,WTAP 对滋养层细胞的保护作用依赖于 STMN1 的介导,即 WTAP-STMN1 轴是调控滋养层细胞功能及铁死亡的关键通路。STMN1 作为一种微管解聚蛋白,此前被发现参与细胞周期调控、迁移侵袭等生物学过程,其在肿瘤细胞中的高表达与侵袭转移密切相关^[24],同时在 PE 中,血浆外泌体中 miR-222-3p 能够通过调控 STMN1 影响滋养层细胞增殖和迁移水平^[25],但是 STMN1 对滋养层细胞铁死亡调控作用尚不清楚。本研究首次证实 STMN1 可抑制缺氧诱导的滋养层细胞损伤及铁死亡,且是 WTAP 发挥保护作用的下游关键分子,这一发现不仅丰富了 PE 滋养层细胞损伤的调控网络,也为 PE 的治疗提供了新的潜在靶点。

本研究首次揭示 WTAP-STMN1 轴在 PE 滋养层细胞中的表达及调控关系,明确二者低表达与 PE 病理进程的关联性;并阐明 WTAP 通过 m6A 修饰增强 STMN1 mRNA 稳定性的具体调控机制,丰富了 m6A 修饰在 PE 中的作用靶点,同时证实 WTAP-STMN1 轴可通过调控滋养层细胞功能及铁死亡参与 PE 发病过程,为理解 PE 患者铁代谢异常与滋养层细胞损伤的内在联系提供了新视角。但本研究仍存在一定局限性:首先,主要基于体外细胞实验,缺乏动物模型验证,后续需构建更贴近临床的 PE 动物模型,进一步验证 WTAP-STMN1 轴在体内的调控作用;其次,临床样本量相对较小(组织样本 $n=50$,mRNA 及蛋白检测 $n=3$),且未区分早产型、足月型及产后型 PE 样本的表达差异,后续需扩大样本量并细分 PE 亚型,增强结果的临床说服力。

4 结 论

综上,本研究证实 WTAP 通过 m6A-STMN1 轴调

控滋养层细胞活力、凋亡、迁移侵袭及铁死亡进程,且二者在 PE 组织中均呈低表达,提示该调控轴可能通过介导滋养层细胞损伤及铁代谢紊乱参与 PE 的发病机制。这一发现不仅丰富了 PE 发病的分子机制研究,尤其为病因尚不明确的足月及产后型 PE 提供了新的研究方向,也为 PE 的防治提供了 WTAP 和 STMN1 两个新的潜在靶点,有望为开发 PE(尤其是足月及产后型)的预测标志物及靶向治疗策略提供理论基础,具有重要的理论价值和临床转化意义。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

孙文萍:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;海舒婷、王福华:实施研究过程,数据收集、分析整理,统计学处理;邱海英、萨日胡:进行文献调研与整理,论文修改及审核

参考文献

- [1] Chiang YT, Seow KM, Chen KH. The pathophysiological, genetic, and hormonal changes in preeclampsia: A systematic review of the molecular mechanisms[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(8): 4532-4533. DOI: 10.3390/ijms25084532.
- [2] Wang J, Han T, Zhu X. Role of maternal-fetal immune tolerance in the establishment and maintenance of pregnancy[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2024, 137(12): 1399-1406. DOI: 10.1097/CM9.0000000000003114.
- [3] Park C, Alahari S, Ausman J, et al. Placental hypoxia-induced ferroptosis drives vascular damage in preeclampsia[J]. *Circ Res*, 2025, 136(4): 361-378. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.124.325119.
- [4] Dimitriadis E, Rolnik DL, Zhou W, et al. Pre-eclampsia[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2023, 9(1): 8-9. DOI: 10.1038/s41572-023-00417-6.
- [5] Tossetta G, Fantone S, Piani F, et al. Modulation of NRF2/KEAP1 signaling in preeclampsia[J]. *Cells*, 2023, 12(11): 1545-1546. DOI: 10.3390/cells12111545.
- [6] Yang M, Wang M, Li N. Advances in pathogenesis of preeclampsia[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2024, 309(5): 1815-1823. DOI: 10.1007/s00404-024-07393-6.
- [7] Ali M, Ahmed M, Memon M, et al. Preeclampsia: A comprehensive review[J]. *Clin Chim Acta*, 2024, 563: 119922-119923. DOI: 10.1016/j.cca.2024.119922.
- [8] Gillmore T, Farrell A, Alahari S, et al. Dichotomy in hypoxia-induced mitochondrial fission in placental mesenchymal cells during development and preeclampsia: Consequences for trophoblast mitochondrial homeostasis[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(2): 191-192. DOI: 10.1038/s41419-022-04641-y.
- [9] Sun Y, Lv D, Xie Y, et al. PINK1-mediated mitophagy induction protects against preeclampsia by decreasing ROS and trophoblast pyroptosis[J]. *Placenta*, 2023, 143: 1-11. DOI: 10.1016/j.placenta.2023.09.010.
- [10] Xu X, Zhu M, Zu Y, et al. Nox2 inhibition reduces trophoblast ferroptosis in preeclampsia via the STAT3/GPX4 pathway[J]. *Life Sci*, 2024, 343: 122555-122556. DOI: 10.1016/j.lfs.2024.122555.
- [11] Ge Y, Chen R, Ling T, et al. Elevated WTAP promotes hyperinflammation by increasing m6A modification in inflammatory disease models[J]. *J Clin Invest*, 2024, 134(14): e177932-e177933. DOI:

- 10.1172/JCI177932.
- [12] Li C, Li Z, Ma C, et al. WTAP regulates NCOA4-mediated ferroptosis via a YTHDF2-dependent mechanism in preeclampsia[J]. *Clin Epigenetics*, 2025, 17(1): 195-196. DOI: 10.1186/s13148-025-02004-w.
- [13] Liu S, Zhang L, Li Y, et al. WTAP dysregulation mediates HLF-m6A modification to inhibit trophoblast ferroptosis in preeclampsia[J]. *FASEB J*, 2025, 39(16): e70961-e70962. DOI: 10.1096/fj.202500937RR.
- [14] Geng H, Zhou L, Zhang P, et al. WTAP targets SOX2 to inhibit trophoblast ferroptosis in the pathogenesis of preeclampsia via m6A-dependent ferroptosis regulation[J]. *Cell Signal*, 2025, 133: 111881-111882. DOI: 10.1016/j.cellsig.2025.111881.
- [15] Zhang T, Jiang Z, Yang N, et al. N6-methyladenosine (m6A) modification in preeclampsia[J]. *Reprod Sci*, 2023, 30(11): 3144-3152. DOI: 10.1007/s43032-023-01250-8.
- [16] Liu S, Chen W, Chen J, et al. m6A deficiency impairs uterine spiral artery remodeling to induce preeclampsia-like symptoms via FGF2[J]. *Sci China Life Sci*, 2025, 68(11): 3138-3150. DOI: 10.1007/s11427-024-2846-4.
- [17] Wang Y, Zhang G, Gao Y, et al. METTL3 promotes trophoblast ferroptosis in preeclampsia by stabilizing the ACSL4 m6A modification[J]. *Exp Cell Res*, 2024, 437(1): 113990-113991. DOI: 10.1016/j.yexcr.2024.113990.
- [18] Wu S, Liu K, Cui Y, et al. N6-methyladenosine dynamics in placental development and trophoblast functions, and its potential role in placental diseases[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2024, 1870(7): 167290-167291. DOI: 10.1016/j.bbdis.2024.167290.
- [19] Li L, He H, Zheng Z, et al. MLL1 promotes placental trophoblast ferroptosis and aggravates preeclampsia symptoms through epigenetic regulation of RBM15/TRIM72/ADAM9 axis[J]. *Biol Direct*, 2024, 19(1): 133-134. DOI: 10.1186/s13062-024-00572-0.
- [20] Pang H, Lei D, Huang J, et al. Elevated PGT promotes proliferation and inhibits cell apoptosis in preeclampsia by Erk signaling pathway[J]. *Mol Cell Probes*, 2023, 67: 101896-101897. DOI: 10.1016/j.mcp.2023.101896.
- [21] Lai W, Yu L, Deng Y. PPAR γ alleviates preeclampsia development by regulating lipid metabolism and ferroptosis[J]. *Commun Biol*, 2024, 7(1): 429-430. DOI: 10.1038/s42003-024-06063-2.
- [22] Liu M, Wu K, Wu Y. The emerging role of ferroptosis in female reproductive disorders[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 166: 115415-115416. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.115415.
- [23] Negre-Salvayre A, Swiader A, Salvayre R, et al. Oxidative stress, lipid peroxidation and premature placental senescence in preeclampsia[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2022, 730: 109416-109417. DOI: 10.1016/j.abb.2022.109416.
- [24] Zhang D, Dai L, Yang Z, et al. Association of STMN1 with survival in solid tumors: A systematic review and meta-analysis[J]. *Int J Biol Markers*, 2019, 34(2): 108-116. DOI: 10.1177/1724600819837210.
- [25] Yang LP, Zheng JH, Zhang JK, et al. Dysregulated miR-222-3p in plasma exosomes of preeclampsia patients and its In vitro effect on HTR8/SVneo extravillous trophoblast cells by targeting STMN1[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2022, 41: 550-551. DOI: 10.1177/09603271221138550.

(收稿日期:2026-01-14)