

# 胎膜早破并发绒毛膜羊膜炎患者胎盘组织中组蛋白 H3K4me3, H3K27me3 及修饰酶表达的临床价值研究

宋 园<sup>1</sup>, 屈小红<sup>2</sup>, 李维玲<sup>1</sup>, 李花繁<sup>1</sup>, 刘 云<sup>1</sup> (1. 西安高新医院妇产科, 西安 710060; 2. 西安国际医学中心医院产科, 西安 710100)

**摘要:** 目的 研究分析胎膜早破(PROM)并发绒毛膜羊膜炎患者胎盘组织中组蛋白 H3 第4位赖氨酸三甲基化(H3K4me3)、组蛋白 H3 第27位赖氨酸三甲基化(H3K27me3)及修饰酶的表达水平及其临床意义。方法 回顾性收集2021年6月~2023年12月因 PROM 在西安高新医院就诊的95例孕妇临床资料, 根据是否并发组织学绒毛膜羊膜炎(HCA)分为感染组( $n=41$ )和非感染组( $n=54$ ); 另选取同期30例正常妊娠产妇作为对照组。取所有受试者胎盘组织, 检测 H3K4me3, H3K27me3 的表达水平; 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 H3K4me3, H3K27me3 特异性甲基化转移酶[混合谱系白血病蛋白 1(MLL1), Zeste 增强子同源物 2 (EZH2)] 和去甲基化转移酶[赖氨酸特异性去甲基化酶 5B (KDM5B), Jumonji 结构域包含蛋白 3 (JMJD3)] 水平。分析三组 H3K4me3, H3K27me3 及特异性修饰酶表达差异及与 HCA 组织学分期相关性; 绘制受试者工作特征(ROC)曲线, 计算曲线下面积(AUC)值, 评估 H3K4me3, H3K27me3 对并发 HCA 感染的预测价值。结果 与对照组相比, 感染组和非感染组 H3K4me3 ( $0.08\% \pm 0.02\%$ ,  $0.12\% \pm 0.03\%$  vs  $0.25\% \pm 0.06\%$ ) 及 MLL1 mRNA ( $1.32 \pm 0.16$ ,  $1.44 \pm 0.23$  vs  $2.02 \pm 0.31$ ), JMJD3 mRNA ( $0.78 \pm 0.13$ ,  $0.91 \pm 0.15$  vs  $1.53 \pm 0.23$ ) 水平明显降低( $t=10.939 \sim 19.062$ ), H3K27me3 ( $0.23\% \pm 0.05\%$ ,  $0.15\% \pm 0.03\%$  vs  $0.10\% \pm 0.02\%$ ) 及 EZH2 mRNA ( $1.96 \pm 0.26$ ,  $1.85 \pm 0.25$  vs  $1.15 \pm 0.29$ ), KDM5B mRNA ( $1.46 \pm 0.15$ ,  $1.35 \pm 0.18$  vs  $0.94 \pm 0.12$ ) 水平明显升高( $t=6.077 \sim 14.974$ ), 且感染组各水平低于/高于非感染组( $t=2.017 \sim 10.688$ ), 差异具有统计学意义(均  $P<0.05$ )。PROM 胎盘组织中 H3K4me3 与 H3K27me3 水平呈显著负相关( $r=-0.604$ ,  $P<0.05$ ); H3K4me3, MLL1, JMJD3 mRNA 水平分别与 HCA 组织学分期呈负相关( $r=-0.646$ ,  $-0.489$ ,  $-0.503$ , 均  $P<0.05$ ); H3K27me3, EZH2 mRNA, KDM5B mRNA 水平分别与 HCA 组织学分期呈正相关( $r=0.632$ ,  $0.515$ ,  $0.520$ , 均  $P<0.05$ )。当 H3K4me3, H3K27me3 截断值分别取 0.10%, 0.19% 时, 两者联合预测 PROM 并发 HCA 感染的 AUC (95%CI) 值为 0.896 (0.882 ~ 0.947), 敏感度、特异度分别为 92.14% 和 86.23%, 明显高于两者单一指标诊断。结论 PROM 胎盘组织中 H3K4me3, H3K27me3 及修饰酶水平与 HCA 感染及其组织学分期密切相关, 对并发 HCA 感染具有较高的临床预测价值, 有望作为临床诊断的新型生物标志物。

**关键词:** 胎膜早破; 组织学绒毛膜羊膜炎; 组蛋白修饰; 组蛋白 H3 第4位赖氨酸三甲基化; 组蛋白 H3 第27位赖氨酸三甲基化

中图分类号: R714.433; R446 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414 (2025) 02-174-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2025.02.033

## Clinical Value of Histone H3K4me3, H3K27me3 and Modifying Enzyme Expression in Placental Tissue of Patients with Premature Rupture of Fetal Membrane Complicated with Chorioamnionitis

SONG Yuan<sup>1</sup>, QU Xiaohong<sup>2</sup>, LI Weiling<sup>1</sup>, LI Huafan<sup>1</sup>, LIU Yun<sup>1</sup> (1. Department of Obstetrics and Gynecology, Xi'an Gaoxin Hospital, Xi'an 710060, China; 2. Department of Obstetrics, Xi'an International Medical Center Hospital, Xi'an 710100, China)

**Abstract:** **Objective** To study the expression levels and clinical significance of histone H3 trimethylation at lysine 4 (H3K4me3), histone H3 trimethylation at lysine 27 (H3K27me3) and modifying enzyme in placental tissue of patients with premature rupture of membranes (PROM) with chorioamnionitis. **Methods** Clinical data of 95 pregnant women treated in the Xi'an Gaoxin Hospital due to PROM from June 2021 to December 2023 were retrospectively collected, and they were divided into infected group and a non-infected group according to whether they were complicated with histological chorioamnionitis(HCA). Another 30 normal pregnant women were selected as the control group. Placental tissues of all subjects were collected and H3K4me3 and H3K27me3 levels were detected, and the expression levels of H3K4me3, H3K27me3 specific methyltransferase [mixed lineage leukemia protein-1(MLL1), Zeste enhancer homolog 2(EZH2)] and demethyltransferase [lysine-specific demethylase

作者简介: 宋园 (1985-), 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 妇产科围产医学临床研究, E-mail: ducaiyun1016@163.com。

通讯作者: 屈小红 (1976-) 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 妇产科围产医学临床研究, E-mail: 475488918@qq.com。

5B(KDM5B), Jumonji domain-containing protein 3(JMJD3)] were detected by quantitative real-time PCR(qRT-PCR). The expression differences of H3K4me3, H3K27me3 and specific modifiers among the three groups and the correlation with the histological stage of HCA were analyzed. The Receiver operating characteristic curve (ROC) was plotted, the Area under curve (AUC) value was calculated, and H3K4me3 was evaluated. Predictive value of H3K27me3 for concurrent HCA infection. **Result** Compared with the control group, the levels of H3K4me3 ( $0.08\% \pm 0.02\%$ ,  $0.12\% \pm 0.03\%$  vs  $0.25\% \pm 0.06\%$ ), MLL1 mRNA ( $1.32 \pm 0.16$ ,  $1.44 \pm 0.23$  vs  $2.02 \pm 0.31$ ), and JMJD3 mRNA ( $0.78 \pm 0.13$ ,  $0.91 \pm 0.15$  vs  $1.53 \pm 0.23$ ) in the infected and non-infected groups were significantly decreased ( $t=10.939 \sim 19.062$ ), while the levels of H3K27me3 ( $0.23\% \pm 0.05\%$ ,  $0.15\% \pm 0.03\%$  vs  $0.10\% \pm 0.02\%$ ), EZH2 mRNA ( $1.96 \pm 0.26$ ,  $1.85 \pm 0.25$  vs  $1.15 \pm 0.29$ ) and KDM5B ( $1.46 \pm 0.15$ ,  $1.35 \pm 0.18$  vs  $0.94 \pm 0.12$ ) were significantly increased ( $t=6.077 \sim 14.974$ ), and the levels in the infected group were lower/higher than those in the non-infected group ( $t=2.017 \sim 10.688$ ), with statistically significant differences (all  $P<0.05$ ). There was a significant negatively correlation between H3K4me3 and H3K27me3 levels in placenta tissue of PROM ( $r=-0.604$ ,  $P<0.05$ ). The levels of H3K4me3, MLL1 and JMJD3 were negatively correlated with the histological stages of HCA ( $r=-0.646$ ,  $-0.489$ ,  $-0.503$ , all  $P<0.05$ ). The levels of H3K27me3, EZH2 and KDM5B were positively correlated with the histological stages of HCA ( $r=0.632$ ,  $0.515$ ,  $0.520$ , all  $P<0.05$ ). The cutoff values of H3K4me3 and H3K27me3 were 0.10% and 0.19%, respectively. The AUC (95%CI) value of the combined prediction of PROM combined with HCA infection was 0.896(0.882 ~ 0.947), and the sensitivity and specificity were 92.14% and 86.23% respectively, which was significantly higher than the diagnosis of a single index. **Conclusion** The levels of H3K4me3, H3K27me3 and modifying enzymes in the placenta tissue of PROM are closely related to HCA infection and histological stage, which has high clinical prediction value for HCA infection and is expected to be a new biomarker for clinical diagnosis.

**Keywords:** premature rupture of membranes; histological chorioamnionitis; histone modification; histone H3 trimethylation at lysine 4; histone H3 trimethylation at lysine 27

胎膜早破 (premature rupture of membranes, PROM) 指临产前胎膜发生自然破裂, 是产科常见的并发症, 而组织学绒毛膜羊膜炎 (histological chorioamnionitis, HCA) 是 PROM 常见的感染性并发症, PROM 发生后导致宫腔羊水减少, 孕妇阴道自净能力受损, 病原微生物逆行入侵引起宫内感染, 发生 HCA, 可导致产妇难产及新生儿感染, 威胁母婴生命健康<sup>[1-2]</sup>。由于 HCA 产前诊断困难, 目前临床尚无特异性预测指标, 易漏诊, 因此探寻可靠的生物标记物, 早期辅助诊断 PROM 并发 HCA, 对预测宫内感染及早期予以干预治疗, 改善母婴结局具有重要临床意义。近年随着对表观遗传学的研究, 组蛋白修饰作为重要的方式在人类多种疾病的发生发展中扮演重要角色, 以组蛋白甲基化修饰研究较为深入<sup>[3]</sup>。目前研究最为广泛的组蛋白包括组蛋白 H3 第 4 位赖氨酸三甲基化 (histone H3 trimethylation at lysine 4, H3K4me3) 和组蛋白 H3 第 27 位赖氨酸三甲基化 (histone H3 trimethylation at lysine 27, H3K27me3)<sup>[4-5]</sup>。研究报道, H3K4me3, H3K27me3 异常变化与胚胎发育密切相关<sup>[3,6]</sup>。子宫内异位症、子痫前期研究中也报道 H3K4me3, H3K27me3 修饰异常<sup>[7-8]</sup>。然而表观遗传学调控在 PROM 中的研究有限, 探究与 PROM 及 HCA 相关的表观遗传学靶标可能有助于发现新的生物标志物。因此本研究拟初步探究 H3K4me3, H3K27me3 及其修饰酶表达与 PROM 并发 HCA 的关系及临床

意义, 现总结如下。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 回顾性收集 2021 年 6 月 ~ 2023 年 12 月因 PROM 在西安高新医院就诊的 95 例孕妇临床资料, 根据产后胎盘病理结果是否并发 HCA 分为感染组 ( $n=41$ ) 和非感染组 ( $n=54$ ), 感染组 HCA 组织学分期 I 期 19 例, II 期 13 例, III 期 9 例。纳入标准: ① PROM 诊断参考《胎膜早破指南 2018 版》<sup>[9]</sup> 中相关标准, 绒毛膜羊膜炎诊断参考《妇产科学》<sup>[10]</sup> 中相关标准; ② 年龄 20 ~ 35 岁; ③ 单胎妊娠, 孕周 28 ~ 41 周; ④ 胎盘病理检查结果完整; ⑤ GBS 检测及阴道分泌物检查阴性; ⑥ 无既往 PROM 史。排除标准: ① 并发严重感染性疾病、恶性肿瘤、血液系统疾病、遗传代谢性疾病、免疫功能障碍性疾病等; ② 近一个月接受抗生素、糖皮质激素等治疗者; ③ 并发妊娠期高血压、糖尿病等并发症; ④ 存在可能导致 PROM 的其他因素, 如巨大儿、羊水过多、多胎妊娠、机械性损伤等; ⑤ 入院时进入产程者; ⑥ 并发胎盘早剥、前置胎盘; ⑦ 临床资料不全。另选取同期 30 例正常妊娠产妇作为对照组。告知孕妇及家属本研究的目的, 并签署知情同意书; 研究通过医院伦理委员会审批 (批号 20210123)。

1.2 主要试剂和仪器 组蛋白提取及 H3K4/H3K27 甲基化检测试剂盒 (美国 EpiQuik™ 公司); 电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司); 酶标仪 (Awareness 公司);

BCA 蛋白检测试剂盒（美国 Pierce 公司）；RNA 提取试剂盒（荷兰 Qiagen 公司）；PrimeScript RT Master Mix 试剂盒（美国 Invitrogen 公司）；SYBR Green 荧光定量 PCR 试剂盒（德国 QIAGEN 公司）；H3K4me3，H3K27me3 抗体（美国 Abcam 公司）。

1.3 方法

1.3.1 H3K4me3，H3K27me3 水平检测：取受试者胎盘组织匀浆处理，根据 EpiQuik™ 试剂盒说明书提取组蛋白，BCA 法检测蛋白浓度。调整蛋白浓度 400 μg/μl，取标本 5 μl 置于孔板底部，设置缓冲液空白对照和标准液阳性对照，37℃ 恒温孵育 90min，加入封闭缓冲液冲洗继续孵育 40min，缓冲液冲洗 3 次，加入相对应捕获抗体，孵育 1h，加入检测抗体，继续孵育 30min，后加入显影剂孵

育 10min，观察各孔板显影情况，待各孔板液出现蓝色后，终止液终止反应，酶标仪检测 450 nm 处光密度值（A 值）。根据公式计算样本中 H3k4，H3k27 三甲基化水平，甲基化 % =  $A_{(样本-空白对照)} / A_{(阳性对照-空白对照)} \times 100\%$ 。

1.3.2 qRT-PCR 检测组蛋白特异性修饰酶 MLL1，JMJD3，EZH2，KDM5B 表达：使用 Trizol 试剂提取胎盘组织总 RNA，使用 PrimeScript RT Master Mix 试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA，利用 SYBR Green 荧光定量 PCR 进行 qRT-PCR 反应，条件为 95℃ 3min，95℃ 15s，60℃ 25s，72℃ 延伸 30s，进行 40 个循环。PCR 引物序列由上海生工生物公司合成。以 GAPDH 作为内参基因，采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算目的基因相对表达水平。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	上游引物	下游引物
EZH2	5'-CGCCGTCTTATACCGAATC-3'	5'-CTACCTGCTGTTAGAGCC-3'
MLL1	5'-AATAGAGTCAAGAGCTTGAA-3'	5'-TGGCATGAAGTAGAATGGC-3'
JMJD3	5'-TTATTCGCCCTCAGTTCCTT-3'	5'-ACCGTCTTCTACTCTTCAGC-3'
KDM5B	5'-TTCTGTCTGGGACCTTTCTGTC-3'	5'-GGTTTGAGACTCAGGATATG-3'
GAPDH	5'-ATGCGTACACCCAACATCTTC-3'	5'-GGATAGGTTTCACCGGTACC-3'

1.4 统计学分析 使用 SPSS 21.0 进行数据分析，组蛋白 H3K4me3，H3K27me3 及特异性修饰酶水平等资料符合正态分布以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示，比较采用 One Way ANOVA 分析，进一步两两比较行 LSD 检验；计数资料以  $n(\%)$  表示，比较采用  $\chi^2$  检验；Pearson 或 Spearman 相关性分析 H3K4me3，H3K27me3 及修饰酶表达与 HCA 组织学分期的关系；绘制 ROC 曲线分析 H3K4me3，H3K27me3 对并发 HCA 感染的临床预测价值。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料及 H3K4me3，H3K27me3 表达水平比较 见表 2。三组间年龄、BMI，孕次、产次、流产史等一般资料比较，差异无统计学意义（均  $P > 0.05$ ）；与对照组相比，感染组和非感染组胎盘组织中 H3K4me3 水平明显降低（ $t = 19.062, 15.380$ ），H3K27me3 水平明显升高（ $t = 14.974, 6.077$ ），且感染组水平低于 / 高于非感染组（ $t = 5.202, 10.688$ ），差异具有统计学意义（均  $P < 0.05$ ）。

表 2 三组一般资料及 H3K4me3，H3K27me3 水平比较 [ $\bar{x} \pm s, n(\%)$ ]

项目	感染组 ( $n=41$ )	非感染组 ( $n=54$ )	对照组 ( $n=30$ )	$F/\chi^2$	$P$
年龄 (岁)	28.83 ± 3.61	29.10 ± 4.02	28.97 ± 3.79	0.058	0.944
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	23.22 ± 1.40	22.98 ± 1.29	23.12 ± 1.34	0.383	0.683
孕次 (次)	2.32 ± 0.51	2.24 ± 0.63	2.27 ± 0.58	0.222	0.802
产次 (次)	2.03 ± 0.64	1.95 ± 0.58	2.05 ± 0.62	0.332	0.718
人工流产史	11 (26.83)	18 (33.33)	7 (23.33)	1.056	0.590
H3K4me3 (%)	0.08 ± 0.02	0.12 ± 0.03	0.25 ± 0.06	192.957	<0.001
H3K27me3 (%)	0.23 ± 0.05	0.15 ± 0.03	0.10 ± 0.02	119.493	<0.001

2.2 组蛋白修饰酶 MLL1，JMJD3，EZH2，KDM5B 水平比较 见表 3。与对照组相比，感染组和非感染组 MLL1 mRNA 和 JMJD3 mRNA 表达明显降低（ $t = 12.513, 10.939; 18.692, 16.304$ ），

EZH2 mRNA 和 KDM5B mRNA 表达明显升高（ $t = 13.723, 11.416; 12.806, 11.677$ ），感染组水平低于 / 高于非感染组（ $t = 2.488, 3.758; 3.367, 2.017$ ），差异具有统计学意义（均  $P < 0.05$ ）。

表 3 三组胎盘组织中组蛋白修饰酶水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )					
项 目	感染组 (n=41)	非感染组 (n=54)	对照组 (n=30)	F	P
MLL1 mRNA	1.32 ± 0.16	1.44 ± 0.23	2.02 ± 0.31	87.023	<0.001
KDM5B mRNA	1.46 ± 0.15	1.35 ± 0.18	0.94 ± 0.12	101.579	<0.001
EZH2 mRNA	1.96 ± 0.26	1.85 ± 0.25	1.15 ± 0.29	93.936	<0.001
JMJD3 mRNA	0.78 ± 0.13	0.91 ± 0.15	1.53 ± 0.23	153.175	<0.001

2.3 不同 HCA 组织学分期 H3K4me3, H3K27me3 及修饰酶水平比较 见表 4。随着 HCA 组织学分期升高, H3K4me3 及 MLL1, JMJD3 mRNA 表达水平逐渐降低, H3K27me3 及 EZH2, KDM5B mRNA 水平逐渐升高, 差异具有统计学意义 (均  $P<0.05$ )。

表 4 不同 HCA 组织学分期 H3K4me3, H3K27me3 及修饰酶水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )					
项 目	I 期 (n=19)	II 期 (n=13)	III 期 (n=9)	F	P
H3K4me3 (%)	0.10 ± 0.02	0.07 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.06 ± 0.02 <sup>a</sup>	11.096	<0.001
H3K27me3 (%)	0.21 ± 0.04	0.24 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.26 ± 0.04 <sup>a</sup>	6.161	0.005
MLL1 mRNA	1.39 ± 0.18	1.26 ± 0.13 <sup>a</sup>	1.24 ± 0.12 <sup>a</sup>	4.149	0.023
KDM5B mRNA	1.41 ± 0.09	1.46 ± 0.13	1.55 ± 0.15 <sup>ab</sup>	4.508	0.018
EZH2 mRNA	1.87 ± 0.23	1.93 ± 0.27	2.20 ± 0.20 <sup>ab</sup>	6.052	0.005
JMJD3 mRNA	0.84 ± 0.12	0.76 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.70 ± 0.06 <sup>a</sup>	6.081	0.005

注: <sup>a</sup> 与 I 期相比,  $t=3.529, 4.185; 2.245, 3.327; 2.345, 2.407; 2.933; 3.431; 2.145, 3.339$ , 均  $P<0.05$ ; <sup>b</sup> 与 II 期相比,  $t=0.046, 2.620$ , 均  $P<0.05$ 。

2.4 H3K4me3, H3K27me3 及特异性修饰酶与 HCA 组织学分期的相关性 见表 5。结果显示, 胎盘组织中 H3K4me3 与 H3K27me3 水平、HCA 分期呈显著负相关 ( $r=-0.604, -0.646$ , 均  $P<0.05$ ); H3K27me3 水平与 HCA 分期呈显著正相关 ( $r=0.632, P<0.05$ )。H3K4me3 水平与 MLL1, JMJD3 呈正相关, 与 EZH2, KDM5B 呈负相关 (均  $P<0.05$ ); H3K27me3 水平、HCA 分期分别与 MLL1, JMJD3 呈负相关, 与 EZH2, KDM5B 呈正相关 (均  $P<0.05$ )。

表 5 相关性分析结果								
项 目	MLL1		EZH2		KDM5B		JMJD3	
	r	P	r	P	r	P	r	P
H3K4me3	0.541	<0.05	-0.528	<0.05	-0.494	<0.05	0.506	<0.05
H3K27me3	-0.517	<0.05	0.524	<0.05	0.511	<0.05	-0.499	<0.05
HCA 分期	-0.489	<0.05	0.515	<0.05	0.520	<0.05	-0.503	<0.05

2.5 H3K4me3, H3K27me3 对并发 HCA 感染的预测价值 见图 1。ROC 曲线显示, H3K4me3, H3K27me3 水平预测 HCA 感染的 AUC (95%CI) 分别为 0.823 (0.801 ~ 0.869) 和 0.815 (0.798 ~ 0.857), 当截断值分别取 0.10%, 0.19% 时, 两者预测的敏感度分别为 84.71% 和 82.53%, 特异度分别为 76.42% 和 80.34%; 两者联合预测 HCA 感染的 AUC (95%CI) 为 0.896 (0.882 ~ 0.947), 敏感度、特异度分别为 92.14% 和 86.23%, 明显高于单一指标诊断。HCA 为 PROM 的主要并发症。据报道足月 PROM 并发 HCA 的发生率约为 33%, 未足月 PROM 并发 HCA 的发生率约为 70%<sup>[11]</sup>, HCA 可增加早产、晚期流产及新生儿感染风险, 影响母婴结局。目前认为 PROM 与 HCA 互为因果关系, HCA 可导致胎膜局部防御功能障碍, 引起胎膜破裂, 而胎膜破裂发生后生殖道微生物逆行入侵会导致 HCA 发生, 形成恶性循环<sup>[12]</sup>。故尽早发现及干预 HCA 具有重要意义。

3 讨论  
PROM 是导致产妇妊娠结局不良的重要原因, 研究发现, 表观遗传学在特异性基因的表达调控及组织的分化生长中发挥重要作用, 其改变是影



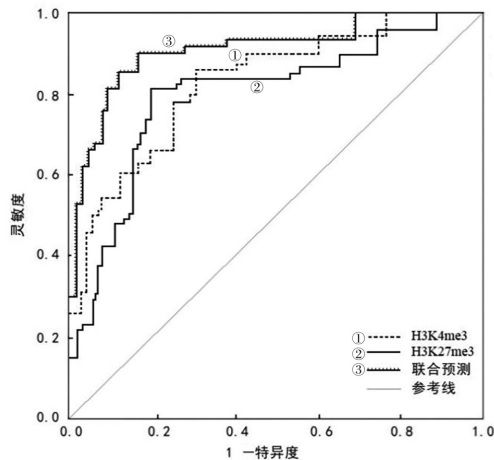


图1 H3K4me3, H3K27me3 预测 PROM 并发 HCA 感染的 ROC 曲线

响胚胎发育的分子事件, 主要涉及 DNA 甲基化、染色质重塑, miRNA 及组蛋白修饰调控等<sup>[6]</sup>, 其中组蛋白修饰是目前研究的热点之一。组蛋白修饰是指组蛋白在相关酶作用下 N-末端氨基酸残基发生泛素化、甲基化、乙酰化及磷酸化等修饰的过程, 组蛋白甲基化在该过程中发挥关键作用<sup>[3,13]</sup>。H3, H4 组蛋白是研究较为广泛的两个, 包括单甲基化、双甲基化和三甲基化, H3K4me3, H3K27me3 是组蛋白 H3 研究最为成熟的甲基化形式<sup>[14-15]</sup>, 其中 H3K4me3 是基因转录激活的标志, H3K27me3 是抑制基因转录的标志<sup>[16-17]</sup>。目前组蛋白修饰与胚胎发育的关系已被证实, 如研究报道组蛋白去乙酰化酶 2(histone deacetylase 2, HDAC2) 可催化 H3K9 发生去乙酰化, 促进滋养细胞侵袭<sup>[18]</sup>; 甲基转移酶 SETD1B 缺失会导致卵母细胞中 H3K4me3 修饰重新分布, 影响胚胎发育<sup>[19]</sup>。此外研究报道, 子宫内膜异位症患者内膜组织中 H3K27me3 及其修饰酶 EZH2 显著高表达, H3K4me3 及其修饰酶 MLL1 显著低表达, 与病变严重程度密切相关, 是临床诊治的潜在生物靶点<sup>[7]</sup>。EZH2 通过 H3K4me3 修饰影响滋养层分化, 该酶降低会导致滋养层细胞侵袭子宫, 抑制上皮间质转化, 导致流产发生<sup>[20]</sup>。本研究探究发现, PROM 并发 HCA 感染孕妇胎盘组织中 H3K4me3, H3K27me3 表达状态与文献<sup>[7]</sup>报道一致, 提示 PROM 在 H3K4, H3K27 甲基化调控上处于基因转录异常状态。

组蛋白修饰是通过特定的去甲基化转移酶和甲基化转移酶共同界定完成的<sup>[13]</sup>。H3K4me3 特异性修饰酶包括甲基化转移酶 MLL1 和去甲基化转移酶 KDM5B 和 KDM5C, H3K27me3 特异性修饰酶包括甲基化转移酶 EZH2 和去甲基化转移酶 JMJD3<sup>[3,21]</sup>。研究报道, EZH2 作为多梳抑制复合物 2 (PRC2) 的催化亚基, 可催化 H3K27me3 修饰过

程<sup>[22]</sup>。本研究中 PROM 并发 HCA 感染组 MLL1 和 JMJD3 异常降低, EZH2 和 KDM5B 异常升高, 提示 H3K4me3, H3K27me3 特异性修饰酶水平异常表达, 甲基化转移酶和去甲基化转移酶共同调节两者甲基化水平, 可能通过影响基因转录活化或抑制, 参与 PROM 发病和 HCA 感染, 然而相关具体机制还有待进一步研究。

此外研究发现, H3K4me3, H3K27me3 及特异性修饰酶水平均与 HCA 组织学分期存在显著相关性, 提示对监测 HCA 进展具有指导意义。PROM 胎盘组织中 H3K4me3, H3K27me3 水平呈明显负相关, 应与 H3K4me3 修饰促进基因转录激活, H3K27me3 修饰抑制基因表达和细胞分化相关<sup>[16-17]</sup>, 两者可能通过协同作用参与调控特异性基因表达, 进而介导 PROM 并发 HCA 感染的发生。本研究为 PROM 并发 HCA 感染研究提供了理论依据, 但更具体的作用机制还需进一步通过细胞实验进行探究。进一步分析发现, H3K4me3 联合 H3K27me3 预测 HCA 感染具有更高的诊断效能, 提示有望成为诊断 PROM 并发 HCA 感染的新型生物标志物。因此对于 PROM 孕妇, 临床可密切监测 H3K4me3, H3K27me3 水平变化评估 HCA 感染风险, 尽早给予相关干预治疗, 及时预防 HCA 感染发生。本研究的不足: 基于单中心回顾性分析, 入组 PROM 包括足月和未足月两部分孕妇, 由于并发 HCA 孕妇例数较少, 本研究未进一步分析足月和未足月 PROM 并发 HCA 感染孕妇 H3K4me3, H3K27me3 变化情况, 两者水平是否与孕周变化有关尚不清楚; 其次 H3K4me3, H3K27me3 异常表达调控 PROM 及 HCA 发生的机制还有待进一步研究阐明, 深入研究组蛋白 H3K4, H3K27 甲基化对 PROM 并发 HCA 的诊断、治疗具有重要临床意义。

综上所述, PROM 孕妇胎盘组织中 H3K4me3, H3K27me3 及修饰酶水平与 HCA 感染及其组织学分期密切相关, 对并发 HCA 感染具有较高的临床预测价值, 有望作为临床诊断的新型生物标志物。

#### 参考文献:

- [1] BENNETT P R, BROWN R G, MACINTYRE D A. Vaginal microbiome in preterm rupture of membranes[J]. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 2020, 47(4): 503-521.
- [2] 盛超, 王志坚. 绒毛膜羊膜炎: 亚临床感染与临床结局[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2023, 39(12): 1189-1192.
- [3] SHENG Chao, WANG Zhijian. Subclinical chorioamnionitis and clinical out-come[J]. *Chinese Journal of Practical Gynecology and Obstetrics*, 2023, 39(12): 1189-1192.
- [3] 柏丹丹, 燕子回, 刘善尧, 等. 组蛋白甲基化修饰与

- 早期胚胎发育及相关疾病的研究进展[J]. 中国科学: 生命科学, 2023, 53(11): 1564-1574.
- BAI Dandan, YAN Zihui, LIU Shanyao, et al. Research progress of histone methylation modification in early embryonic development and related diseases[J]. Science China Life Sciences, 2023, 53(11): 1564-1574.
- [4] WANG L H, ABERIN M A E, WU S, et al. The MLL3/4 H3K4 methyltransferase complex in establishing an active enhancer landscape[J]. Biochemical Society Transactions, 2021, 49(3): 1041-1054.
- [5] BEACON T H, DELCUVE G P, LÓPEZ C, et al. The dynamic broad epigenetic (H3K4me3, H3K27ac) domain as a mark of essential genes[J]. Clinical Epigenetics, 2021, 13(1): 138.
- [6] 张书瑜, 刘欣梅, 黄荷凤. 人类早期胚胎表观遗传修饰的研究进展[J]. 中国计划生育和妇产科, 2023, 15(3): 3-6.
- ZHANG Shuyu, LIU Xinmei, HUANG Hefeng. Research progress on epigenetic modification of early human embryos [J]. Chinese Journal of Family Planning & Gynecotokology, 2023, 15(3): 3-6.
- [7] 杜薇, 王小红, 孔令英, 等. 子宫内膜异位症中组蛋白 H3K27Me3 及其修饰酶的表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2019, 35(9): 1047-1052.
- DU Wei, WANG Xiaohong, KONG Lingying, et al. Expression and significance of histone H3K27Me3 and its modification enzyme in endometriosis [J]. Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2019, 35(9): 1047-1052.
- [8] MATSUI H, IRIYAMA T, SAYAMA S, et al. Elevated placental histone H3K4 methylation via upregulated histone methyltransferases SETD1A and SMYD3 in preeclampsia and its possible involvement in hypoxia-induced pathophysiological process [J]. Placenta, 2021, 115: 60-69.
- [9] 刘騷遥, 漆洪波. 美国妇产科医师学会“胎膜早破指南 2018 版”解读[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2018, 34(3): 266-269.
- LIU Xiyao, QI Hongbo. Interpretation of the ACOG guidelines to premature rupture of membranes(2018 edition) [J]. Chinese Journal of Practical Gynecology and Obstetrics, 2018, 34(3): 266-269.
- [10] 谢幸, 孔北华, 段涛. 妇产科学[M]. 9 版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 154-156.
- XIE Xing, KONG Beihua, DUAN Tao. Gynecology and obstetrics [M]. 9th Ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2018: 154-156.
- [11] 香钰婷, 陈锐聪, 欧宜静, 等. 未足月胎膜早破合并组织学绒毛膜羊膜炎的新型生物标志物研究进展[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2023, 39(1): 123-126.
- XIANG Yuting, CHEN Ruicong, OU Yijing, et al. Research progress on novel biomarkers of preterm premature rupture of fetal membrane associated with histological chorioamnionic inflammation [J]. Chinese Journal of Practical Gynecology and Obstetrics, 2023, 39(1): 123-126.
- [12] 徐燕华, 文敏, 沈林亚. 影响足月胎膜早破孕妇胎盘组织学绒毛膜羊膜炎发生的相关因素分析[J]. 中国妇幼保健, 2024, 39(4): 690-693.
- XU Yanhua, WEN Min, SHEN Linya. Analysis of related factors affecting the occurrence of placental histological chorioamnionitis in full-term pregnant women with premature rupture of membranes [J]. Maternal and Child Health Care of China, 2024, 39(4): 690-693.
- [13] 杨英, 张文华, 丁铭, 等. 川芎嗪通过调控组蛋白乙酰化修饰上调 SERCA2a 对心力衰竭小鼠模型的防治机制研究[J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(6): 34-40.
- YANG Ying, ZHANG Wenhua, DING Ming, et al. Research on prevention and control mechanism of the ligustrazine up regulates SERCA2a by regulating histone acetylation in a mouse model of heart failure[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(6): 34-40.
- [14] BAI Dandan, SUN Jin, CHEN Chuan, et al. Aberrant H3K4me3 modification of epiblast genes of extraembryonic tissue causes placental defects and implantation failure in mouse IVF embryos[J]. Cell Reports, 2022, 39(5): 110784.
- [15] MÖLLER M, SCHOTANUS K, SOYER J L, et al. Destabilization of chromosome structure by histone H3 lysine 27 methylation[J]. PLoS Genetics, 2019, 15(4): e1008093.
- [16] CHAN N T, HUANG Junfeng, MA Gui, et al. The transcriptional elongation factor CTR9 demarcates PRC2-mediated H3K27me3 domains by altering PRC2 subtype equilibrium[J]. Nucleic Acids Research, 2022, 50(4): 1969-1992.
- [17] WONG C H, LI C H, MAN TONG J H, et al. The establishment of CDK9/RNA PolII/H3K4me3/DNA methylation feedback promotes HOTAIR expression by RNA elongation enhancement in cancer[J]. Molecular Therapy, 2022, 30(4): 1597-1609.
- [18] WU Fan, TIAN Fujun, QIN Chuanmei, et al. Peroxiredoxin2 regulates trophoblast proliferation and migration through SPIB-HDAC2 pathway[J]. Experimental Cell Research, 2023, 422(1): 113428.
- [19] HANNA C W, HUANG Jiahao, BELTON C, et al. Loss of histone methyltransferase SETD1B in oogenesis results in the redistribution of genomic histone 3 lysine 4 trimethylation[J]. Nucleic Acids Research, 2022, 50(4): 1993-2004.
- [20] LÜ Shijian, WANG Na, LÜ Hong, et al. The attenuation of trophoblast invasion caused by the downregulation of EZH2 is involved in the pathogenesis of human recurrent miscarriage [J]. Molecular Therapy-Nucleic Acids, 2019, 14: 377-387.
- [21] 徐睿敏, 李翀, 刘晓雨, 等. 人类早期胚胎发育过程中组蛋白修饰的调控[J]. 中国科学: 生命科学, 2024, 54(1): 84-93.
- XU Ruimin, LI Chong, LIU Xiaoyu, et al. Regulation of histone modifications during human early embryo development[J]. Science China Life Sciences, 2024, 54(1): 84-93.
- [22] FUKUI Y, HIROTA Y, AIKAWA Shizu, et al. The EZH2-PRC2-H3K27me3 axis governs the endometrial cell cycle and differentiation for blastocyst invasion[J]. Cell Death & Disease, 2023, 14(5): 320.

收稿日期: 2024-07-08

修回日期: 2024-11-12