



子痫前期胎盘中印记差异甲基化区域特征分析

汤慧君, 郑晓骏, 赵欣之, 叶伟萍

引用本文:

汤慧君, 郑晓骏, 赵欣之, 等. 子痫前期胎盘中印记差异甲基化区域特征分析[J]. 中国临床医学, 2025, 32(1): 65-71.

TANG H J, JIA X J, ZHAO X Z, et al. Characteristics of imprinted differentially methylated regions in preeclampsia placenta[J]. Chin J Clin Med, 2025, 32(1): 65-71.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2025.20241021>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

胎盘中过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 对母胎健康的影响进展

The effect of peroxisome proliferator-activated receptor in placenta on maternal and fetal health: recent progress

中国临床医学. 2023, 30(1): 127-136 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2023.20222140>

子痫前期miR-4531/CX3CL1信号轴参与血管损伤的体外研究

Effects of miR-4531/CX3CL1 signaling pathway on the vascular injury in preeclampsia in vitro

中国临床医学. 2024, 31(6): 868-874 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2024.20240857>

扩张型心肌病基因型-环境-表型研究进展

Research progress of dilated cardiomyopathy from genotype to phenotype

中国临床医学. 2022, 29(2): 273-281 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20202431>

精氨酸甲基转移酶与肿瘤关系的研究进展

Research progress of the relationship between arginine methyltransferase and tumor

中国临床医学. 2021, 28(2): 310-315 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20200272>

国人脊柱与骨盆 ^{99m}Tc -MDP定量SPECT/CT标准化摄取值的正常分布特点

The normal distribution characteristics of standardized uptake value of spine and pelvis with ^{99m}Tc -MDP quantitative SPECT/CT in Chinese people

中国临床医学. 2020, 27(5): 750-755 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20201065>

亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性和疾病易感性之间的关系

Relationship between 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and disease susceptibility

中国临床医学. 2020, 27(1): 121-126 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20190736>

DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2025.20241021

· 论 著 ·

子痫前期胎盘中印记差异甲基化区域特征分析

汤慧君¹, 郝晓骏¹, 赵欣之², 叶伟萍^{1*}

1. 上海市普陀区妇婴保健院妇产科, 上海 200062

2. 上海交通大学医学院附属国际和平妇幼保健院, 上海 200030

【摘要】 目的 探讨胎盘中印记差异甲基化区域 (imprinted differentially methylated regions, iDMRs) 的特征及其与子痫前期 (preeclampsia, PE) 的相关性。**方法** 选择 2021 年 9 月至 2023 年 9 月上海市普陀区妇婴保健院和上海交通大学医学院附属国际和平妇幼保健院的健康孕妇 43 例 (对照组) 和 PE 孕妇 33 例 (PE 组)。采用 BisCap 靶向重亚硫酸盐测序 (BisCap-seq), 检测 76 例孕妇胎盘和 5 例对照组孕妇外周血样本中 62 个 iDMRs 的 3 362 个 CpG 位点的甲基化水平, 计算各位点甲基化水平和邻近位点间甲基化连锁不平衡 (methylation linkage disequilibrium, MLD) 程度。基于 MLD 构建印记甲基化单倍型区块 (imprinted methylation haplotype blocks, iMHBs), 比较健康胎盘、PE 胎盘以及外周血样本中各 CpG 位点、各 iMHBs 的甲基化水平和可变性差异。**结果** 在 iDMRs 中的 CpG 岛上, CpG 位点为中等甲基化水平, 邻近位点间呈现高度 MLD (甲基化水平 0.35~0.65, 位点间 $D' > 0.8$)。构建 185 个 iMHBs, 其中 60 个胎盘特异 iMHBs 和 38 个体细胞 iMHBs 的甲基化水平在胎盘与孕妇外周血间的差异有统计学意义 ($P_{校正} < 0.05$); 27 个 iMHBs 在不同胎盘中呈现高度甲基化可变性。与健康胎盘相比, PE 胎盘中的 iMHBs 甲基化无显著改变。在 iMHBs 结构外鉴定了 27 个差异甲基化胞嘧啶 (differentially methylated cytosines, DMCs), 其中 19 个 CpG 位点的甲基化水平在 PE 组和对照组的差异有统计学意义 ($P_{校正} < 0.05$)。通过胎盘特异甲基化单倍型 (placenta-specific haplotype, PSH) 对孕妇血浆游离 DNA 的胎盘组分进行定量估算, 结果与去卷积方法的估算结果强相关 ($r = 0.973$, $P < 0.01$)。**结论** PE 胎盘中基因组印记特征明显, 其中 PSH 可作为 PE 胎盘的潜在标志物, 用于定量估算孕妇血浆游离 DNA 中的胎盘组分。

【关键词】 印记基因; 印记差异甲基化区域; 印记甲基化单倍型区块; 胎盘; 子痫前期**【中图分类号】** R 714.24 **【文献标志码】** A

Characteristics of imprinted differentially methylated regions in preeclampsia placenta

TANG Huijun¹, JIA Xiaojun¹, ZHAO Xinzhi², YE Weiping^{1*}

1. Department of Obstetrics and Gynecology, Shanghai Putuo Maternity and Infant Health Hospital, Shanghai 200062, China

2. International Peace Maternal and Child Health Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200030, China

【Abstract】 Objective To investigate the characteristics of imprinted differentially methylated regions (iDMRs) in placentas and their correlation with preeclampsia (PE). **Methods** A total of 43 healthy pregnant women (control group) and 33 pregnant women with PE (PE group) at Shanghai Putuo Maternity and Infant Hospital and International Peace Maternal and Child Health Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine from September 2021 to September 2023 were selected. A total of 3 362 CpG sites in 62 iDMRs were analyzed in 76 placenta and 5 maternal blood samples using BisCap targeted bisulfite resequencing (BisCap-seq) assays. The CpG sites in the CpG islands of the iDMRs were assessed for their methylation levels and methylation linkage disequilibrium (MLD). Imprinted methylation haplotype blocks (iMHBs) were constructed based on MLD. The methylation levels and variability of CpG sites and iMHBs were compared among the healthy placenta, PE placenta and blood samples. **Results** The CpG sites in the CpG islands of the iDMRs exhibited intermediate methylation, with adjacent sites displaying high MLD (methylation levels: 0.35-0.65, $D' > 0.8$). A total of 185 iMHBs were constructed using these coupled CpG sites, 60 placenta-specific iMHBs and 38 somatic iMHBs were found to be differentially methylated in the placenta compared with maternal

【收稿日期】 2024-09-19 **【接受日期】** 2024-11-21**【基金项目】** 上海市自然科学基金 (22ZR1467800), 上海市普陀区卫生健康系统科技创新项目 (ptkwws202122). Supported by Natural Science Foundation of Shanghai (22ZR1467800) and Science and Technology Innovation Project of Shanghai Putuo Health Commission (ptkwws202122).**【作者简介】** 汤慧君, 主治医师. E-mail: tanghuijun517@126.com

*通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-22202038, E-mail: hhfsh@126.com

blood ($P_{\text{adj}} < 0.05$). Twenty-seven iMHBs were identified with differentially variable methylation patterns in the placenta. The iMHBs methylation was unchanged in the PE placentas compared to the healthy placentas. Twenty-seven differentially methylated cytosines (DMCs) were identified outside the iMHBs structure, among which the methylation levels of 19 CpG sites showed statistically significant differences between the PE group and the control group ($P_{\text{adj}} < 0.05$). The quantitative results of placental compositions of maternal plasma cell-free DNA (cfDNA) using placenta-specific haplotype (PSH) were highly correlated with those estimated by a deconvolution methodology ($r = 0.973$, $P < 0.01$). **Conclusions** The genomic imprinting features in the PE placentas were obvious, and PSH could be a potential marker of the placenta to quantify the placental compositions of maternal plasma cfDNA.

[Key Words] imprinted gene; imprinted differentially methylated region; imprinted methylation haplotype block; placenta; preeclampsia

胎盘功能障碍可引起多种妊娠并发症,包括妊娠期高血压疾病(hypertensive disorders of pregnancy, HDP)、胎儿生长受限(fetal growth restriction, FGR)、自发性早产和胎盘早剥^[1]。子痫前期(preeclampsia, PE)是一种严重的HDP,表现为妊娠20周后出现高血压、蛋白尿以及母体血管损伤^[2]。胎盘对PE的发生起关键作用,终止妊娠、移除胎盘是目前有效的PE治疗方法^[3]。

基因组印记是一种表观遗传现象,通过调控部分基因,限制性地表达源自母亲或父亲的等位基因(印记基因)。印记基因的DNA甲基化修饰从父母生殖细胞中获得,2个等位基因间的甲基化差异巨大,形成印记差异甲基化区域(imprinted differentially methylated regions, iDMRs)。该DNA甲基化模式的建立早于原肠胚形成时期,并通过有丝分裂遗传,因此在各种体细胞间高度类似。然而,胎盘滋养细胞谱系早在囊胚期已经分化,因此胎盘有特殊的基因组印记模式^[4]。部分基因的印记表达模式仅限于胎盘;部分印记基因在不同胎盘样本间表现出可变性^[5]和DNA甲基化多态性^[6]。

印记基因在胎盘转运母体营养物质的调控中起关键作用^[7-9],并由此影响胎儿生长^[10]。多种妊娠并发症患者的胎盘中存在印记基因DNA甲基化水平或印记状态多态性改变^[11-14]。Yamaguchi等^[11]发现,PE胎盘中有低频H19基因iDMR甲基化突变,而在正常胎盘中未发现该突变。另一项研究^[14]发现,IGF2、GNAS、MEST、DLK1、KCNQ1和PEG3印记基因座内的部分CpG位点在PE胎盘中存在甲基化异常。目前,人类胎盘中的印记基因仍未明确^[15-16],但系统研究人类胎盘

中iDMRs对了解基因组印记在PE中的作用具有重要意义。

iDMRs中多个CpG位点具有中等甲基化水平^[4],且相邻CpG位点甲基化状态紧密耦合^[17],呈现高度甲基化连锁不平衡(methylation linkage disequilibrium, MLD)。此外,紧密耦合的CpG位点组成的甲基化单倍型区块(methylation haplotype blocks, MHBs)较单个CpG位点检测游离DNA(cell-free DNA, cfDNA)的效率更高^[17]。胎盘细胞特异印记基因中的MHBs(imprinted MHBs, iMHBs)区别于其他体细胞,可能是较为理想的胎盘标志物,可用于无创产前检测(noninvasive prenatal test, NIPT)中胎儿DNA组分的定量分析。本研究应用BisCap靶向重亚硫酸盐测序(BisCap-seq)技术检测胎盘和外周血样本中的iDMRs,从而深入了解胎盘组织中的基因组印记,以及其在PE胎盘中的改变。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入2021年9月至2023年9月上海市普陀区妇婴保健院和上海交通大学医学院附属国际和平妇幼保健院的健康孕妇(对照组, $n = 43$)和PE孕妇(PE组, $n = 33$)。采集两组孕妇的胎盘样本及对照组5例孕妇的外周血全血样本。母体和新生儿特征见表1。PE诊断标准^[2]为妊娠20周后出现高血压,伴有尿蛋白 ≥ 0.3 g/24 h。同一手臂至少测量2次,收缩压 ≥ 140 mmHg和(或)舒张压 ≥ 90 mmHg定义为高血压。FGR诊断标准^[1]为胎儿的估测体质量或腹围小于相应胎龄的第10百分位数。胎盘样本在剖宫产术后1 h内收集。从胎盘的胎儿侧采集两块各0.5 cm³组织

样本置于离心管中，-80℃保存。孕妇外周血样本随常规体检采集，采集2 mL外周血置于抗凝管中，-20℃保存。

1.2 iDMRs的捕获探针组设计 纳入62个iDMRs，包括32个已知的体细胞iDMRs、20个

胎盘特异iDMRs以及10个未验证iDMRs^[4]。每个iDMR至少包含一个CpG岛（CpG island, CGI）。使用在线平台（<https://design.igenetech.com/>；艾吉泰康）设计寡核苷酸捕获探针组，以捕获iDMRs内的244段基因组序列。

表1 母体和新生儿临床特征
Table 1 Clinical characteristics of maternal and newborn

Characteristic	PE group (n=33)	Control group (n=43)	P
Mother			
Age/year	31.64±5.02	30.84±3.59	0.374
Systolic blood pressure/mmHg	157.7±24.9	117.3±10.6	<0.001
Diastolic blood pressure/mmHg	106.8±14.0	71.70±7.80	<0.001
Proteinuria/g	2.80±2.78	0	<0.001
Newborn			
Male n(%)	18(54.55)	20(46.51)	0.498
Gestational age at birth/week	32.85±3.15	38.28±2.24	<0.001
Birth weight/g	1 667±671	3 276±621	<0.001
Fetal growth restriction n(%)	25(75.6)	0	<0.001

PE: preeclampsia.

1.3 BisCap-seq检测 使用DNeasy Blood & Tissue试剂盒（Qiagen，德国）提取基因组DNA。使用Biorupter[®]超声波破碎仪（Diagenode，美国）将500 ng基因组DNA片段化。使用IGT[™] Methyl Fast文库制备试剂盒（艾吉泰康）建立测序文库，使用EZ DNA甲基化试剂盒（Zymo Research，美国）进行重亚硫酸盐转化。将测序文库与生物素标记的捕获探针组进行杂交，使用TargetSeq One BisCap杂交试剂盒（艾吉泰康）捕获目标序列。捕获后的文库扩增后在Illumina HiSeq X Ten测序平台上进行双末端测序（2×150 bp）。

1.4 BisCap-seq数据处理 原始BisCap-seq数据使用Fastp进行过滤处理^[18]，并使用BisMark将测序读数映射至人类参考基因组（GRCh37/hg19）^[19]。胞嘧啶的甲基化水平（β值和M值）计算方法： $\beta = C/(C+T)$ ，其中C和T分别为胞嘧啶的甲基化和未甲基化读数； $M = \log_2[\beta/(1-\beta)]$ 。

1.5 iMHBs构建及鉴定 仅选用具有中等甲基化水平的CpG位点（β值为0.35~0.65），按照文

献^[17]报道的方法构建iMHBs：使用各测序读数中CpG位点的位置和甲基化状态确定甲基化单倍型。对所有种类单倍型进行计数后，计算邻近位点间的MLD，以 r^2 和D'表示。将邻近位点间 $D' \geq 0.8$ 的基因组片段定义为iMHBs。

胎盘特异iMHBs的构建遵循以下标准：使用至少20个不同胎盘样本中β值为0.4~0.6的CpG位点，且这些CpG位点在相应样本中有紧密耦合（ $D' > 0.8$ ）的甲基化状态。

使用BisCap-seq技术，对81个样本中的62个iDMRs进行重测序，平均测序深度达到552.02×。经过数据处理后，成功定量3 362个CpG位点的甲基化水平（β值）。由于不同体细胞中iDMRs存在高度一致^[5]，使用5例孕妇外周血的BisCap-seq数据代表体细胞iDMRs的甲基化状态。

1.6 血浆cfDNA中的胎盘特异甲基化单倍型（placenta-specific haplotype, PSH）分析 孕妇血浆cfDNA的甲基化信息可用于PE等妊娠并发症的无创评估^[20]，其中胎儿（胎盘）组分是重要的参数。血浆cfDNA的全基因组重亚硫酸盐测序

(whole genome bisulfite sequencing, WGBS) 数据集 (GSE154378) 包括 102 例未妊娠女性和不同孕周孕妇的数据^[20]。采用该数据集分析 iMHBs 中的 PSH 是否可以定量血浆 cfDNA 的胎盘组分。

1.7 统计学处理 使用 R 4.3.1 进行统计分析。母体和新生儿的特征以 $\bar{x} \pm s$ 或 $n(\%)$ 表示, 分别采用 t 检验或 Fisher 确切概率法。采用 Mann-Whitney U 检验评估组间 iMHBs 甲基化差异, Levene 检验评估可变性差异^[21]。将单个 CpG 位点的甲基化水平转换为 M 值后, 通过 t 检验检测其与 PE 的表观遗传关联。采用 Bonferroni 校正控制多重检验中的错误发生率。基于孕妇血浆 cfDNA 的 WGBS 数据, 分别使用胎盘 iMHBs 标志物和去卷积法估算胎盘 DNA 的比例, 通过 Pearson 相关系数来评估结果间的线性相关性。

2 结果

2.1 体细胞 iDMRs 中的 iMHBs 鉴定结果 采用孕妇外周血, 通过分析 32 个已知体细胞 iDMRs 包含的 1 771 个 CpG 位点, 发现多数位于 CGI 内的 CpG 位点具有中等甲基化水平, 其中距离在 200 bp 以内的 CpG 位点之间紧密耦合 ($D' > 0.8$, $r^2 > 0.5$)。利用紧密耦合的 CpG 甲基化位点, 在已知体细胞 iDMRs 中构建 100 个 iMHBs, 每个 iDMR 中至少包含 1 个 iMHB。通过分析 10 个未验证体细胞 iDMRs 中的 403 个 CpG 位点, 发现 CGI 中的 CpG 位点呈现紧密耦合的中等甲基化状态, 与体细胞分析结果一致。在这 10 个 iDMRs 中鉴定了 25 个 iMHBs。

2.2 胎盘特异 iDMRs 中的 iMHBs 鉴定结果 分析 76 个胎盘 BisCap-seq 数据中, 20 个胎盘特异 iDMRs 内的 1 188 个 CpG 位点, 并与孕妇外周血数据比较。结果显示: 部分 iDMRs 中的 CpG 位点在不同胎盘样本中具有一致的中等甲基化水平, 部分 iDMRs 中的 CpG 位点呈现高度可变的甲基化水平, 提示胎盘印记状态可能具有多态性或可变性。基于胎盘特异 iMHBs 的构建标准, 在 20 个胎盘特异 iDMRs 中鉴定了 60 个 iMHBs, 每个 iDMR 中至少包含 1 个 iMHB。这些胎盘特异

性 iMHBs 在孕妇外周血 DNA 中呈现出二元性的甲基化状态: 10 个表现为完全甲基化区域 (FMRs, $\beta > 0.8$), 50 个表现为非甲基化区域 (UMRs, $\beta < 0.1$)。

2.3 胎盘与孕妇外周血间的 iMHBs 甲基化差异 60 个胎盘特异 iMHBs 在 76 例胎盘与 5 例孕妇外周血样品间的甲基化水平差异有统计学意义 ($P_{校正} < 0.05$)。有 15 个 iDMRs 的 38 个体细胞 iMHBs 在胎盘与孕妇外周血间的甲基化水平差异有统计学意义 ($P_{校正} < 0.05$)。其中, 在胎盘中邻近 MEG3 的基因 DMR (IG-DMR, β 值为 0.847 ± 0.042)、NNAT (3 个 iMHBs, β 值分别为 0.909 ± 0.024 、 0.888 ± 0.029 和 0.855 ± 0.044) 和 GNAS-AS1 (2 个 iMHBs, β 值分别为 0.819 ± 0.032 和 0.831 ± 0.042) 的印记基因座中的 iMHBs 呈超甲基化状态; 10 个基因座内的 25 个差异甲基化的 iMHBs 在胎盘中呈中间甲基化水平, 但 MLD 水平降低。4 个低甲基化的 iMHBs 仅影响 MEST、IGF2 和 MEG3 基因座内的部分 iDMRs, 这些基因座在胎盘中也呈印记表达模式。

2.4 胎盘中 iMHBs 的 DNA 甲基化可变性 以孕妇外周血样本中 25 个体细胞 iMHBs 的 BisCap-seq 数据为参照, 对 76 例胎盘样品中 185 个 iMHBs 进行了 Levene 检验。结果表明, 16 个 iDMRs 中的 27 个 iMHBs, 包括体细胞 iMHBs (如 IRAIN 基因座的第 2 个 iMHB) 及胎盘特异性 iMHBs (如 GLIS3 基因座的第 2 个 iMHB), 在胎盘中呈现显著升高的 DNA 甲基化可变性 ($P_{校正} < 0.05$)。高可变性的体细胞 iMHBs 在部分胎盘样本中倾向于呈现高甲基化状态 ($\beta > 0.7$); 高可变性的胎盘特异 iMHBs 则倾向于呈现低甲基化状态, 其中 8 个胎盘样本在 GLIS3 基因座的第 2 个 iMHB 未甲基化 ($\beta < 0.1$)。GLIS3 基因座的第 3 个 iMHB 呈现高度可变性, 第 5 个 iMHB 在所有胎盘样本中均呈现中等程度的甲基化状态。

2.5 与 PE 关联的差异甲基化胞嘧啶 (differentially methylated cytosines, DMCs) 鉴定 对比所有 iMHBs 在 PE 组与对照组中的甲基化水平及可变性, 未发现与 PE 关联的 iMHBs 甲基化水平或可

变性改变。检测 3 362 个 CpG 位点，在 4 个基因座中发现 27 个 DMCs，其中位于 IGF2 DMR2 基因座的 CpG 位点 chr11:2154190 甲基化水平在 PE 组与对照差异最显著 ($\Delta\beta = -0.095$, $P_{校正} < 0.001$)，且该基因座内有 19 个 GpG 位点甲基化水平在两组差异有统计学意义 (图 1)。27 个 DMCs 均定位于典型 iMHBs 结构之外的区域，在 PE 组均甲基化下调。

2.6 PSH 可能作为潜在的胎盘内参标志物 血浆

cfDNA 的全基因组重亚硫酸盐测序数据集 (GSE154378) 分析结果显示，PSH 读数在未妊娠女性的 cfDNA 中平均为 0.3%；在妊娠早期女性的 cfDNA 中平均为 2.7%，在妊娠晚期平均为 9.4%，分娩时平均为 10.7%。PSH 代表胎盘 iDMRs 中的 1 个等位基因，因此胎盘组分为 PSH 频率的 2 倍。通过 PSH 估算的血浆 cfDNA 中胎盘组分与去卷积方法估算的结果高度相关 ($r = 0.973$, $P < 0.001$ ；图 2)。

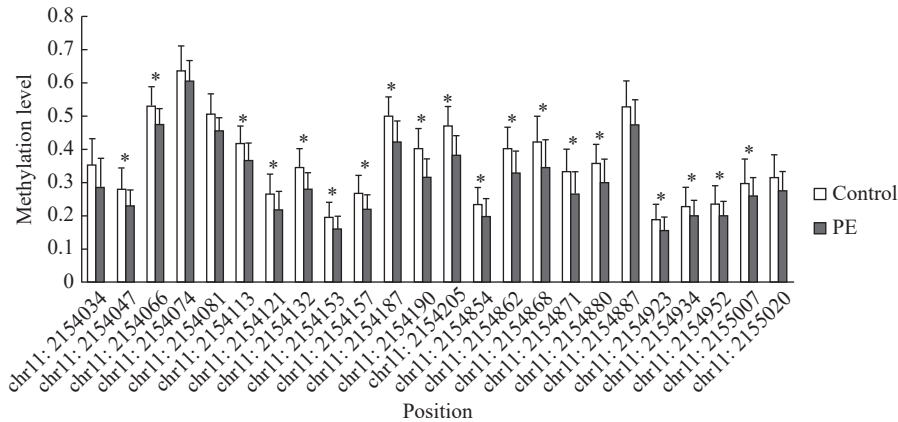


图 1 PE 组与对照组 IGF2 DMR2 基因座 CpG 位点甲基化水平比较

Figure 1 Comparison of CpG methylation levels at IGF2 DMR2 between PE group and control group

PE: preeclampsia. * $P < 0.05$.

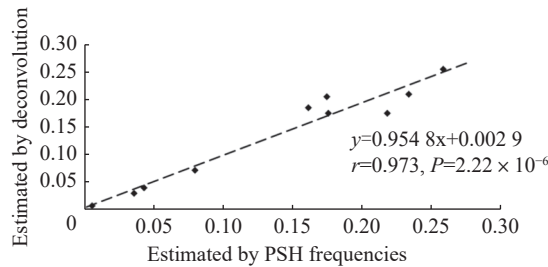


图 2 PSH 估算的孕妇血浆中游离 DNA 的胎盘组分与去卷积法估算结果的相关性分析

Figure 2 Correlation analysis of placental compositions of plasma cell-free DNA estimated by PSH and the results estimated by deconvolution method

PSH: placenta-specific haplotype.

3 讨论

本研究基于 BisCap-seq 数据，构建了 185 个 iMHBs，这些 iMHBs 具有中等甲基化水平和邻近

CpG 位点间高度 MLD，反映了 iDMRs 的亲本来源甲基化状态。多个 iMHBs 在胎盘和孕妇外周血中甲基化差异明显，有多个胎盘特异 iMHBs，部分体细胞 iMHBs 在胎盘中呈现差异甲基化，这种差异甲基化的改变可能体现了胎盘中特殊的印记表达模式，如 ZDBF2 和 NAA60 基因座内的 iMHBs 在胎盘中呈现差异甲基化，这 2 个基因也在胎盘中具有偏倚的亲本等位基因表达^[16]，而在体细胞则呈严格的印记基因表达模式^[22-23]。此外，部分 iMHBs 的 DNA 甲基化在胎盘中呈高度可变性。以往研究^[6]显示胎盘中 iDMRs 甲基化呈多态性。本研究则表明，甲基化可变性也存在于同一 iDMR 内的不同 iMHBs 间。

本研究未观察到 PE 胎盘中典型 iMHBs 的甲基化改变，表明 iMHBs 结构在 PE 发病过程中保持稳定。然而，有 27 个与 PE 关联的 DMCs 在

iMHBs 结构外被发现, 19 个位于 IGF2 基因座。该基因表达胰岛素样生长因子 2, 在胎盘发育和胎儿生长中起关键作用^[24]。该基因的甲基化和表达在 PE 胎盘中发生改变^[11,25]。27 个DMCs 均定位在低甲基化区, 代表活跃的远端调控序列^[26]。因此, 印记基因的表达可能同时受到 iDMRs 中 iMHBs 内外区域的表现遗传调控的影响, 参与 PE 的发生。

部分胎盘特异 iMHBs 保持稳定的甲基化状态, 并在 PE 胎盘中保持不变。其中部分单倍型仅存在于胎盘中, 即 PSH。本研究中, PSH 读数在妊娠与未妊娠女性以及不同妊娠期孕妇中差异显著, 可作为潜在的胎盘标志物, 用于定量孕妇血浆 cfDNA 中的胎儿 (胎盘) 组分, 表明该参数对于开发预测 PE 等妊娠并发症的 NIPT 方法具有重要意义^[20], 不仅可以直接提示疾病风险, 也可对其他胎盘来源标志物进行标准化。现有的 PSH 数量仍较少。既往研究^[6,27]在胎盘中发现了多个卵母细胞来源的候选胎盘特异 iDMRs, 未来对这些区域的进一步研究有望发现更多标志物。

综上所述, 本研究聚焦于胎盘中印记基因的表现遗传修饰, 通过 BisCap-seq 检测了 62 个 iDMRs 在胎盘和孕妇外周血的甲基化特征, 进一步揭示了胎盘特有的基因组印记模式, 发现 PE 胎盘中独立于 iMHBs 的表现遗传改变。本研究还显示部分 iMHBs 具有胎盘特异性和稳定性, 可用于定量血浆 cfDNA 的胎盘组分, 作为胎盘标志物。

伦理声明 本研究获得上海市普陀区妇婴保健院伦理委员会 (PFYLL-2021001) 和上海交通大学医学院附属国际和平妇幼保健院 (GKLW 2022-01) 批准。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献 汤慧君: 研究实施、数据分析、文章撰写; 郑晓骏: 数据收集、数据分析; 赵欣之: 数据分析、文章修改; 叶伟萍: 研究指导、文章修改。

数据分享 本研究中生成和分析的数据集可在国家基因组科学数据中心原始数据管理体系 (GSA) 中查阅 (登录号: HRA003532)。

参考文献

- [1] BROSENS I, PIJNENBORG R, VERCRUYSSSE L, et al. The "Great Obstetrical Syndromes" are associated with disorders of deep placentation[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2011, 204(3): 193-201.
- [2] MOL B W J, ROBERTS C T, THANGARATINAM S, et al. Pre-eclampsia[J]. *Lancet*, 2016, 387(10022): 999-1011.
- [3] CHAIWORAPONGSA T, CHAEMSAITHONG P, YEO L, et al. Pre-eclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2014, 10(8): 466-480.
- [4] COURT F, TAYAMA C, ROMANELLI V, et al. Genome-wide parent-of-origin DNA methylation analysis reveals the intricacies of human imprinting and suggests a germline methylation-independent mechanism of establishment[J]. *Genome Res*, 2014, 24(4): 554-569.
- [5] LAMBERTINI L, DIPLAS A I, LEE M J, et al. A sensitive functional assay reveals frequent loss of genomic imprinting in human placenta[J]. *Epigenetics*, 2008, 3(5): 261-269.
- [6] HANNA C W, PEÑAHERRERA M S, SAADEH H, et al. Pervasive polymorphic imprinted methylation in the human placenta[J]. *Genome Res*, 2016, 26(6): 756-767.
- [7] CONSTÂNCIA M, HEMBERGER M, HUGHES J, et al. Placental-specific IGF-II is a major modulator of placental and fetal growth[J]. *Nature*, 2002, 417(6892): 945-948.
- [8] JONKER J W, WAGENAAR E, VAN EIJL S, et al. Deficiency in the organic cation transporters 1 and 2 (Oct1/Oct2 [Slc22a1/Slc22a2]) in mice abolishes renal secretion of organic cations[J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(21): 7902-7908.
- [9] CHARALAMBOUS M, DA ROCHA S T, FERGUSON-SMITH A C. Genomic imprinting, growth control and the allocation of nutritional resources: consequences for postnatal life[J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2007, 14(1): 3-12.
- [10] ISHIDA M, MOORE G E. The role of imprinted genes in humans[J]. *Mol Aspects Med*, 2013, 34(4): 826-840.
- [11] YAMAGUCHI Y, TAYAMA C, TOMIKAWA J, et al. Placenta-specific epimutation at H19-DMR among common pregnancy complications: its frequency and effect on the expression patterns of H19 and IGF2[J]. *Clin Epigenetics*, 2019, 11(1): 113.
- [12] BOURQUE D K, AVILA L, PEÑAHERRERA M, et

- al. Decreased placental methylation at the H19/IGF2 imprinting control region is associated with normotensive intrauterine growth restriction but not preeclampsia[J]. *Placenta*, 2010, 31(3): 197-202.
- [13] KOUKOURA O, SIFAKIS S, ZARAVINOS A, et al. Hypomethylation along with increased H19 expression in placentas from pregnancies complicated with fetal growth restriction[J]. *Placenta*, 2011, 32(1): 51-57.
- [14] WANG X W, LIU Y Y, WU Y Y, et al. Methylation alterations of imprinted genes in different placental diseases[J]. *Clin Epigenetics*, 2024, 16(1): 132.
- [15] HAMADA H, OKAE H, TOH H, et al. Allele-specific methylome and transcriptome analysis reveals widespread imprinting in the human placenta[J]. *Am J Hum Genet*, 2016, 99(5): 1045-1058.
- [16] PILVAR D, REIMAN M, PILVAR A, et al. Parent-of-origin-specific allelic expression in the human placenta is limited to established imprinted loci and it is stably maintained across pregnancy[J]. *Clin Epigenetics*, 2019, 11(1): 94.
- [17] GUO S C, DIEP D, PLONGTHONGKUM N, et al. Identification of methylation haplotype blocks aids in deconvolution of heterogeneous tissue samples and tumor tissue-of-origin mapping from plasma DNA[J]. *Nat Genet*, 2017, 49(4): 635-642.
- [18] CHEN S F, ZHOU Y Q, CHEN Y R, et al. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(17): i884-i890.
- [19] KRUEGER F, ANDREWS S R. Bismark: a flexible aligner and methylation caller for Bisulfite-Seq applications[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(11): 1571-1572.
- [20] DEL VECCHIO G, LI Q J, LI W Y, et al. Cell-free DNA methylation and transcriptomic signature prediction of pregnancies with adverse outcomes[J]. *Epigenetics*, 2021, 16(6): 642-661.
- [21] FEINBERG A P, IRIZARRY R A. Evolution in health and medicine Sackler colloquium: Stochastic epigenetic variation as a driving force of development, evolutionary adaptation, and disease[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(Suppl 1): 1757-1764.
- [22] KOBAYASHI H, YAMADA K, MORITA S, et al. Identification of the mouse paternally expressed imprinted gene Zdbf2 on chromosome 1 and its imprinted human homolog ZDBF2 on chromosome 2[J]. *Genomics*, 2009, 93(5): 461-472.
- [23] NAKABAYASHI K, TRUJILLO A M, TAYAMA C, et al. Methylation screening of reciprocal genome-wide UPDs identifies novel human-specific imprinted genes[J]. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(16): 3188-3197.
- [24] SANDOVICI I, GEORGOPOULOU A, PÉREZ-GARCÍA V, et al. The imprinted Igf2-Igf2r axis is critical for matching placental microvasculature expansion to fetal growth[J]. *Dev Cell*, 2022, 57(1): 63-79. e8.
- [25] GUO F, ZHANG B, YANG H, et al. Systemic transcriptome comparison between early- and late-onset pre-eclampsia shows distinct pathology and novel biomarkers[J]. *Cell Prolif*, 2021, 54(2): e12968.
- [26] STADLER M B, MURR R, BURGER L, et al. DNA-binding factors shape the mouse methylome at distal regulatory regions[J]. *Nature*, 2011, 480(7378): 490-495.
- [27] SANCHEZ-DELGADO M, COURT F, VIDAL E, et al. Human oocyte-derived methylation differences persist in the placenta revealing widespread transient imprinting[J]. *PLoS Genet*, 2016, 12: e1006427.

[本文编辑] 姬静芳

引用本文

汤慧君, 郑晓骏, 赵欣之, 等. 子痫前期胎盘中印记差异甲基化区域特征分析[J]. 中国临床医学, 2025, 32(1): 65-71.

TANG H J, JIA X J, ZHAO X Z, et al. Characteristics of imprinted differentially methylated regions in preeclampsia placenta[J]. *Chin J Clin Med*, 2025, 32(1): 65-71. DOI: [10.12025/j.issn.1008-6358.2025.20241021](https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2025.20241021)