

# C5orf56 募集 miR-19a-3p/PTEN 分子调控网络 对复发性流产滋养层细胞影响的机制

黄小波

邵阳学院附属第一医院, 湖南邵阳 422000

DOI:10.61369/MRP.2026050018

**摘要 :** 目的: 探究 C5orf56 募集 miR-19a-3p/PTEN 分子调控网络对复发性流产滋养层细胞影响的机制。方法: 纳入 2024 年 1 月至 2025 年 10 月在邵阳学院附属第一医院妇产科就诊的 30 例原因不明复发性流产患者 (URSA 组) 与 30 例正常早期妊娠要求人工流产的健康孕妇 (对照组)。采用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 检测两组绒毛组织中 C5orf56、miR-19a-3p 及 PTEN mRNA 的表达水平; 采用 Western blotting 检测 PTEN 蛋白表达水平; 采用 Pearson 相关分析法分析 C5orf56、miR-19a-3p 与 PTEN mRNA 表达的相关性。体外 RT-PCR 检测 lncRNA C5orf56、miR-19a-3p、PTEN 的表达水平, Western Blot 检测相关蛋白和免疫荧光法分别检测细胞活力、细胞周期。体内 RT-PCR 和 Western blot 检测 lncRNA C5orf56、miR-19a-3p、PTEN 的表达。结果: 与对照组相比, URSA 组绒毛组织中 C5orf56 mRNA 和 PTEN mRNA 及蛋白表达水平下调, miR-19a-3p 表达水平上调 ( $P < 0.05$ ); Pearson 相关性分析显示, URSA 组绒毛组织中 C5orf56 表达与 miR-19a-3p 呈显著负相关 ( $r = -0.543$ ,  $P < 0.001$ ), 与 PTEN mRNA 呈显著正相关 ( $r = 0.612$ ,  $P < 0.001$ ); miR-19a-3p 与 PTEN mRNA 呈显著负相关 ( $r = -0.578$ ,  $P < 0.001$ )。与对照组和正常组相比, 流产组细胞中 C5orf56 和 PTEN 表达下调, miR-19a-3p 表达上调 ( $P < 0.05$ ); 与对照组和正常组相比, 流产组细胞活力降低, 凋亡率升高 ( $P < 0.05$ ); 与自然流产小鼠模型组相比, 干扰 C5orf56 组 C5orf56 和 PTEN 表达下调, miR-19a-3p 表达上调 ( $P < 0.05$ ); 过表达 C5orf56 组 C5orf56 和 PTEN 表达上调, miR-19a-3p 表达下调 ( $P < 0.05$ )。结论: 在 URSA 患者中, C5orf56 表达下调导致该调控网络失衡, 进而引起滋养层细胞功能异常, 促进流产发生。

**关键词 :** C5orf56; miR-19a-3p/PTEN 分子调控网络; 复发性流产; 滋养层细胞; 机制

## Mechanism of the Effect of C5orf56 Recruiting miR-19a-3p/PTEN Molecular Regulatory Network on Trophoblast Cells in Recurrent Spontaneous Abortion

Huang Xiaobo

The First Affiliated Hospital of Shaoyang University, Shaoyang, Hunan 422000

**Abstract :** Objective: To investigate the mechanism of the effect of C5orf56 recruiting miR-19a-3p/PTEN molecular regulatory network on trophoblast cells in recurrent spontaneous abortion (RSA). Methods: A total of 30 patients with unexplained recurrent spontaneous abortion (URSA group) and 30 healthy pregnant women with normal early pregnancy requesting induced abortion (control group) who visited the obstetrics and gynecology department of the First Affiliated Hospital of Shaoyang University from January 2024 to October 2025 were included. Real-time fluorescent quantitative PCR (RT-qPCR) was used to detect the expression levels of C5orf56, miR-19a-3p, and PTEN mRNA in the villous tissues of the two groups. Western blotting was employed to detect the protein expression level of PTEN. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between the expression of C5orf56, miR-19a-3p, and PTEN mRNA. In vitro, RT-PCR was used to detect the expression levels of lncRNA C5orf56, miR-19a-3p, and PTEN, Western Blot was used to detect related proteins, and immunofluorescence was used to detect cell viability and cell cycle. In vivo, RT-PCR and Western blot were used to detect the expression of lncRNA C5orf56, miR-19a-3p, and PTEN. Results: Compared with the control group, the expression levels of C5orf56 mRNA, PTEN mRNA, and PTEN protein in the villous tissues of the URSA group were downregulated, while the expression level of miR-19a-3p was upregulated ( $P < 0.05$ ). Pearson correlation analysis showed that in the villous tissues of the URSA

课题信息: 邵阳市科技局指导性项目。

项目名称: C5orf56 募集 miR-19a-3p/PTEN 分子调控网络对复发性流产滋养层细胞影响的机制。

项目编号: 2024PT6136

group, the expression of C5orf56 was significantly negatively correlated with miR-19a-3p ( $r = -0.543$ ,  $P < 0.001$ ) and significantly positively correlated with PTEN mRNA ( $r = 0.612$ ,  $P < 0.001$ ). miR-19a-3p was significantly negatively correlated with PTEN mRNA ( $r = -0.578$ ,  $P < 0.001$ ). Compared with the control group and the normal group, the expression of C5orf56 and PTEN in the cells of the abortion group was downregulated, and the expression of miR-19a-3p was upregulated ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group and the normal group, the cell viability in the abortion group was reduced, and the apoptosis rate was increased ( $P < 0.05$ ). Compared with the mouse model group of spontaneous abortion, the expression of C5orf56 and PTEN in the C5orf56 interference group was downregulated, and the expression of miR-19a-3p was upregulated ( $P < 0.05$ ). In the C5orf56 overexpression group, the expression of C5orf56 and PTEN was upregulated, and the expression of miR-19a-3p was downregulated ( $P < 0.05$ ). Conclusion: In URSA patients, the downregulation of C5orf56 expression leads to an imbalance in this regulatory network, which in turn causes abnormal function of trophoblast cells and promotes abortion.

**Keywords :** C5orf56; miR-19a-3p/PTEN molecular regulatory network; recurrent spontaneous abortion; trophoblast cells; mechanism

## 引言

复发性流产 (Recurrent Spontancy Abortion, RSA) 定义为连续发生两次及以上在孕20周前的妊娠丢失, 是育龄期女性面临的严重生殖健康问题<sup>[1]</sup>。流行病学数据显示, RSA在育龄夫妇中的患病率为1%-5%, 其中约半数病例属于原因不明复发性流产 (Unexplained Recurrent Spontancy Abortion, URSA)<sup>[2]</sup>。滋养层细胞作为胎盘的主要功能细胞, 对胚胎着床、胎盘形成和胎儿发育起着至关重要的作用<sup>[3]</sup>。近年来, 长链非编码 RNA (lncRNA) 在调控滋养层细胞功能中的作用逐渐受到关注, 然而其在 URSA 发病机制中的具体调控网络仍不完全明确。C5orf56 是一种新近发现的 lncRNA, 研究表明其在胎儿生长受限患者胎盘中表达下调, 参与调控滋养细胞增殖、侵袭和自噬。然而, C5orf56 在 URSA 中的作用及机制尚不明确<sup>[4]</sup>。miR-19a-3p 据报道参与多种生殖相关疾病的发生发展<sup>[5]</sup>。PTEN (phosphatase and tensin homolog) 是经典的抑癌基因, 可通过 PI3K/AKT 信号通路调控细胞增殖和凋亡, 其在滋养层细胞功能调控中发挥重要作用<sup>[6]</sup>。本研究通过体外实验 URSA 患者绒毛组织中 C5orf56、miR-19a-3p 及 PTEN 的表达验证该轴对滋养层细胞的影响, 旨在分析 URSA 发病机制并提供新诊疗靶点。

## 一、资料与方法

### (一) 一般资料

选取2024年1月至2025年10月在邵阳学院附属第一医院妇产科就诊的30例原因不明复发性流产患者作为 URSA 组。另选取同期30例正常早期妊娠要求人工流产的健康孕妇作为对照组。URSA 组年龄 ( $29.12 \pm 4.05$ ) 岁; 孕周 ( $7.69 \pm 1.24$ ) 周; BMI ( $22.68 \pm 2.47$ )  $\text{kg}/\text{m}^2$ 。对照组年龄 ( $28.63 \pm 3.87$ ) 岁; 孕周 ( $7.82 \pm 1.13$ ) 周; BMI ( $22.45 \pm 2.31$ )  $\text{kg}/\text{m}^2$ 。两组一般资料均衡可比 ( $P > 0.05$ )。经医院伦理委员会批准均签署知情同意书。

URSA 组纳入标准: (1) 年龄20~40岁; (2) 孕周6~10周; (3) 经B超确诊为宫内妊娠; (5) 经系统检查排除染色体异常、解剖结构异常、内分泌疾病、感染因素、自身免疫性疾病等明确病因。

对照组纳入标准: (1) 年龄20~40岁; (2) 既往无自然流产史; (3) 孕周6~10周; (4) B超确认胚胎发育正常。

排除标准: (1) 多胎妊娠; (2) 合并严重心、肝、肾等重要脏器疾病; (3) 孕期有明确感染史或药物使用史。

### (二) 方法

#### 1. 组织样本采集与处理

绒毛组织的样本采集在超声引导的负压吸引人工流产术中同步完成。获取的样本 (约100mg) 首先经过无菌生理盐水漂洗, 以去除血污等杂质, 随后立即于液氮内速冻, 最后转移至  $-80^\circ\text{C}$  超低温冰箱中长期保存。

#### 2. 细胞培养与转染

人绒毛膜滋养层细胞 HTR-8/SVneo 购自美国 ATCC 公司。HTR-8/SVneo 细胞 (ATCC 来源) 培养条件: DMEM/F12+10%FBS+1%双抗,  $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ , 70~80%融合度传代。转染试剂: Lipofectamine 3000, 实验质粒: pcDNA-C5orf56/NC、si-C5orf56/NC (吉玛制药)。

#### 3. 实时荧光定量 PCR 检测

提取组织总 RNA (Trizol 法), 并检测其浓度与纯度 (A260/

A280比值1.8-2.0)。取1 μg总RNA,按照试剂盒说明反转录为cDNA。采用SYBR Green法在实时荧光定量PCR仪上进行扩增,反应条件为95℃预变性30 s;95℃变性5 s,60℃退火34 s(40循环)。以GAPDH为C5orf56和PTEN的内参基因,U6为miR-19a-3p的内参基因,使用2-ΔΔCt法计算目的基因的相对表达量。

#### 4. Western blotting检测

采用含PMSF的RIPA裂解液提取组织或细胞总蛋白,经冰上孵育30分钟后,于4℃、12000 g条件下离心15分钟,并收集上清。利用BCA法对蛋白浓度进行定量。取50 μg蛋白样品进行SDS-PAGE凝胶电泳,随后通过湿转法将蛋白转移至PVDF膜。膜经5%脱脂奶粉于室温封闭1小时后,与PTEN、Bax、Bcl-2、cleaved Caspase-3及GAPDH(一抗,稀释比例均为1:1000)在4℃环境中孵育过夜。次日,使用TBST洗涤3次(每次10分钟),继而加入HRP标记的二抗(稀释比例1:5000)并室温孵育1小时。经TBST洗涤后采用ECL化学发光法进行显影,并通过Bio-Rad凝胶成像系统采集图像,利用ImageJ软件分析条带灰度值。目的蛋白的相对表达量以其与GAPDH的灰度比值表示。

#### 5. CCK-8法检测细胞增殖

将对数生长期细胞调至 $1 \times 10^4$ 个/孔接种96孔板(5复孔),分别培养24/48/72h后每孔加10 μL CCK-8溶液,继续培养2h,测450nm处OD值反映细胞增殖活力。

#### 6. 流式细胞术检测细胞凋亡

将各组细胞用PBS洗涤2次,并用结合缓冲液重悬,调整细胞密度为 $1 \times 10^6$ 个/mL。取100 μL细胞悬液,分别加入5 μL Annexin V-FITC和5 μL PI,混匀后室温避光孵育15分钟。加入400 μL结合缓冲液,立即使用流式细胞仪检测细胞凋亡率。实验独立重复3次。

#### 7. Transwell小室实验检测细胞侵袭

将Matrigel基质胶用无血清培养基按1:8稀释,取50 μL包被Transwell小室,37℃凝固2 h。取细胞( $5 \times 10^5$ 个/mL)200 μL加入上室,下室加600 μL含10% FBS的培养基。培养24 h后,擦去上室未侵袭细胞,固定、染色,显微镜下( $\times 200$ )计数5个视野的穿膜细胞数并取平均值。

### (三) 统计学处理

通过SPSS 24.0软件完成统计分析,定量数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。两组比较采用独立样本t检验;多组比较则采用单因素方差分析,若组间存在显著差异,则进一步通过LSD-t检验进行pairwise比较。采用Pearson相关分析法,评估C5orf56、miR-19a-3p的表达水平与PTEN mRNA表达水平之间的相关性。 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

## 二、结果

### (一) 两组绒毛组织中C5orf56、miR-19a-3p及PTEN表达比较

如表1所示,与对照组相比,URSA组绒毛组织中C5orf56

mRNA和PTEN mRNA及蛋白表达水平下调,miR-19a-3p表达水平上调( $P < 0.05$ )。

表1 两组绒毛组织中C5orf56、miR-19a-3p及PTEN表达比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	C5orf56 mRNA	miR-19a-3p	PTEN mRNA	PTEN蛋白
对照组	30	1.00 $\pm 0.12$	1.00 $\pm 0.15$	1.00 $\pm 0.11$	0.86 $\pm 0.09$
URSA组	30	0.48 $\pm 0.09$	2.31 $\pm 0.28$	0.52 $\pm 0.08$	0.41 $\pm 0.06$
t值		18.990	22.590	19.330	22.790
P值		0.001	0.001	0.001	0.001

### (二) URSA组绒毛组织中C5orf56、miR-19a-3p与PTEN mRNA表达的相关性分析

如表2所示,Pearson相关性分析显示,URSA组绒毛组织中C5orf56表达与miR-19a-3p呈显著负相关( $r = -0.543$ ,  $P < 0.001$ ),与PTEN mRNA呈显著正相关( $r = 0.612$ ,  $P < 0.001$ );miR-19a-3p与PTEN mRNA呈显著负相关( $r = -0.578$ ,  $P < 0.001$ )。

表2 URSA组绒毛组织中C5orf56、miR-19a-3p与PTEN mRNA表达的相关性分析

指标	r值	P值
C5orf56与miR-19a-3p	-0.543	<0.001
C5orf56与PTEN	0.612	<0.001
miR-19a-3p与PTEN	-0.578	<0.001

### (三) 各组lncRNA C5orf56、miR-19a-3p、PTEN表达水平

如表3所示,与对照组和正常组相比,流产组细胞中C5orf56和PTEN表达下调,miR-19a-3p表达上调( $P < 0.05$ )。

表3 各组lncRNA C5orf56、miR-19a-3p、PTEN表达水平( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	C5orf56	miR-19a-3p	PTEN
对照组	10	0.86 $\pm$ 0.15	0.73 $\pm$ 0.12	0.81 $\pm$ 0.14
正常组	10	1.00 $\pm$ 0.10	1.00 $\pm$ 0.09	1.00 $\pm$ 0.11
流产组	10	0.28 $\pm$ 0.11	1.98 $\pm$ 0.21	0.57 $\pm$ 0.09
t值		2.456	5.692	3.375
P值		0.024	0.002	0.003

### (四) 各组细胞活力、细胞周期比较

如表4所示,与对照组和正常组相比,流产组细胞活力降低,凋亡率升高( $P < 0.05$ )。

表4 各组细胞活力、细胞周期比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	细胞活力(%)	凋亡率(%)
对照组	10	100.07 $\pm$ 5.23	5.17 $\pm$ 1.21
正常组	10	98.74 $\pm$ 4.96	3.38 $\pm$ 1.33
流产组	10	58.39 $\pm$ 4.74	23.62 $\pm$ 3.45
F值		5.834	3.148
P值		0.005	0.005

### (五) 小鼠模型中各组C5orf56、miR-19a-3p、PTEN表达水平

如表5所示,与自然流产小鼠模型组相比,干扰C5orf56组C5orf56和PTEN表达下调,miR-19a-3p表达上调( $P < 0.05$ );

过表达 C5orf56 组 C5orf56 和 PTEN 表达上调, miR-19a-3p 表达下调 (P<0.05)。

表5 小鼠模型中各组 C5orf56、miR-19a-3p、PTEN 表达水平 (  $\bar{x} \pm s$  )

组别	例数	C5orf56	miR-19a-3p	PTEN
自然流产小鼠模型组	10	0.42 ± 0.07	1.95 ± 0.20	0.36 ± 0.06
干扰 C5orf56 组	10	0.21 ± 0.04	2.31 ± 0.25	0.19 ± 0.05
过表达 C5orf56 组	10	1.78 ± 0.15	1.02 ± 0.11	1.54 ± 0.13
F 值		8.237	3.556	6.883
P 值		0.001	0.002	0.002

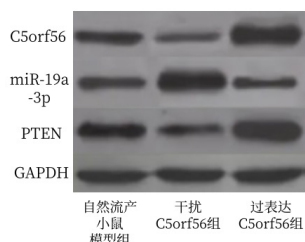


图1 C5orf56、miR-19a-3p、PTEN 表达水平

### 三、讨论

原因不明复发性流产 (URSA) 是严重困扰育龄期女性的生殖健康问题, 其病因复杂, 约 50%–70% 的复发性流产患者无法明确病因<sup>[7]</sup>。近年来, 滋养层细胞功能障碍被认为是 URSA 发生的关键环节, 但具体分子机制尚未完全阐明。长链非编码 RNA (lncRNA) 作为基因表达的重要调控分子, 在滋养层细胞增殖、侵袭、凋亡等生物学过程中发挥重要作用<sup>[8-9]</sup>。

C5orf56 作为一种 lncRNA, 可能通过分子海绵作用吸附 miR-19a-3p, 从而解除其对 PTEN 的抑制作用, 维持 PTEN 的

正常表达<sup>[10]</sup>。本研究发现, 在 URSA 患者绒毛组织中, C5orf56 表达下调, 而 miR-19a-3p 表达上调, 二者呈显著负相关; 同时, C5orf56 与 PTEN 表达呈显著正相关。这些结果表明 C5orf56 可能通过调控 miR-19a-3p 进而影响 PTEN 的表达, 形成一个潜在的分子调控网络参与 URSA 的发生发展。miR-19a-3p 作为一种微小 RNA, 已被证实可以靶向 PTEN mRNA, 抑制其翻译, 从而促进细胞增殖和抑制凋亡<sup>[11]</sup>。本研究发现, 在 URSA 患者绒毛组织中, miR-19a-3p 表达上调, 而 PTEN 表达下调, 二者呈显著负相关, 这与既往研究结果一致。PTEN 作为一种关键抑癌因子, 通过拮抗 PI3K/AKT 信号转导途径, 在调控细胞增殖、程序性死亡及运动等生命活动中发挥核心作用。现有文献证实<sup>[12]</sup>, PTEN 在滋养层细胞中呈现高水平表达状态, 对保障胎盘正常发育过程具有不可或缺的重要功能。

体外实验结果显示, 干扰 C5orf56 表达可进一步下调 PTEN 表达, 上调 miR-19a-3p 表达, 降低滋养层细胞活力, 增加凋亡率; 而过表达 C5orf56 则可上调 PTEN 表达, 下调 miR-19a-3p 表达, 增加滋养层细胞活力, 降低凋亡率。这表明 C5orf56/miR-19a-3p/PTEN 调控网络对滋养层细胞功能具有重要调控作用, 其异常可能导致滋养层细胞功能障碍, 进而参与 URSA 的发生。

体内动物实验结果进一步证实了 C5orf56/miR-19a-3p/PTEN 调控网络在 URSA 发病中的重要作用。与自然流产小鼠模型组相比, 干扰 C5orf56 组小鼠流产率进一步增加, 而过表达 C5orf56 组小鼠流产率显著降低。这表明 C5orf56 可能通过调控 miR-19a-3p/PTEN 轴改善胎盘功能, 降低流产风险。

综上所述, C5orf56/miR-19a-3p/PTEN 分子调控网络通过影响滋养层细胞增殖与凋亡参与 URSA 的发生发展, 该信号轴的异常表达可能作为 URSA 的潜在诊断标志物和治疗靶点。

### 参考文献

[1] 高静心, 陈秋平, 郑小艳, 等. 寿胎丸、举元煎作用 CBA/J × DBA/2 复发性自然流产模型的“胚-膜”免疫亚细胞群的分子串扰机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2026, 32(2): 70–87.

[2] 陈娅莉, 何隼兰, 谈秀娟, 等. 丹酚酸 B 通过 RORA/SEN1 调控复发性流产中的滋养层细胞-巨噬细胞相互作用 [J]. 华中科技大学学报 (医学版), 2024, 53(6): 733–740.

[3] Zhu X, Du M, Gu H, et al. Integrated analysis of lncRNA and mRNA expression profiles in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion. Am J Reprod Immunol. 2023 Jun; 89(6): e13691.

[4] Tang M, Li Q, Wan S, et al. LncRNA landscape and associated ceRNA network in placental villus of unexplained recurrent spontaneous abortion. Reprod Biol Endocrinol. 2023 Jun 20; 21(1): 57. doi: 10.1186/s12958-023-01107-4.

[5] Lihua C, Hua S, Wenzhan W, et al. Expression and clinical significance of lncRNA PART1 in patients with unexplained recurrent pregnancy loss. Gynecol Endocrinol. 2024 Dec; 40(1): 2375582.

[6] 彭涛, 梅雪峰, 李翔. miR-145 和 PTEN/AKT/mTOR 通路在妊娠大鼠流产及滋养层细胞损害中的作用 [J]. 环境与职业医学, 2022, 39(3): 331–336, 347.

[7] Abbaskhani H, Seifati SM, Salmani T, et al. Evaluating changes in the expression of BCL-2 gene, lncRNA SRA, and miR-361-3p in unexplained recurrent pregnancy loss. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids. 2022; 41(9): 891–899.

[8] 申思楠, 牟珍妮, 唐丽, 等. 寿胎丸通过调控 Nrf2 信号通路减轻大鼠绒毛滋养层细胞的氧化损伤治疗复发性流产 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(3): 44–51.

[9] 王玲佳, 谢吉蓉, 杜二球. miR-26a-1-3p 调控 XIAP 促进滋养层细胞凋亡而引起复发性流产的研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(24): 3009–3013.

[10] 李梦元, 李冠杉, 韩倩, 等. 外泌体调节复发性流产小鼠子宫内皮细胞上皮间充质转化的作用机制研究 [J]. 中国全科医学, 2025, 28(8): 962–972.

[11] 张艳, 孟玉茜, 李庆慧, 等. FBXO22、BACH-1、PTEN 在复发性流产患者绒毛及蜕膜中的表达研究 [J]. 生殖医学杂志, 2025, 34(2): 213–218.

[12] 徐丹, 谢君, 刘佳, 等. 稽留流产患者绒毛组织 miR-19b 与 PTEN 的表达及临床意义 [J]. 医学信息, 2024, 37(12): 85–88.