

LDHA-H3K18lac 介导 METTL3/YTHDF1/SCD1 轴调控子宫内膜异位症的机制分析

郑爽, 王敏, 罗菁, 彭媛, 陈俐媛

武汉市第一医院妇产科, 湖北 武汉 430000

【摘要】 **目的** 探究乳酸脱氢酶 A (LDHA) 介导的组蛋白 H3 赖氨酸 18 乙酰化 (Histone H3 lysine 18 acylation, H3K18lac) 调控 METTL3/YTHDF1/SCD1 轴参与子宫内膜异位症 (endometriosis, EMT) 的分子机制。**方法** 以永生化人子宫内膜异位基质细胞 (Immortalized human endometriosis stromal cells, ihESCs)、永生化人子宫内膜基质细胞 (Human endometrial stromal cells, HESC) 及构建的小鼠腹膜 EMT 模型为研究对象。细胞层面, 转染 shRNA 及过表达质粒, 检测乳酸含量、m6A 甲基化水平; 通过免疫沉淀及双荧光素酶报告基因实验探究分子机制。动物层面, 对照组腹腔注射正常小鼠子宫内组织碎片及生理盐水, 模型组腹腔注射经苯甲酸雌二醇预处理的小鼠子宫内组织碎片, 同时尾静脉注射 shNC 或 shMETTL3。通过组织染色观察组织病理变化及相关蛋白表达, qRT-PCR 和蛋白质印迹检测炎症因子及脂代谢相关蛋白水平。**结果** 与 HESC 相比, ihESCs 中 LDHA、H3K18lac、METTL3 表达及乳酸含量显著升高; 敲低 LDHA 可降低 H3K18lac 和 METTL3 水平, 过表达 LDHA 或乳酸处理则相反, 且 H3K18lac 富集于 METTL3 近端启动子区; 敲低 METTL3 能下调炎症因子及 SCD1 的 m6A 水平与表达, YTHDF1 可识别 SCD1 的 m6A 修饰并增强其 mRNA 稳定性, METTL3 过表达时敲低 YTHDF1 能逆转对 SCD1 的上调。动物实验中, 敲低 METTL3 可缓解 EMT 小鼠病理改变, 降低炎症因子及相关蛋白表达。**结论** 细胞和动物水平证实, LDHA-H3K18lac 介导的 METTL3 通过 YTHDF1 调控 SCD1 表达, 为 EMT 治疗提供新靶点。

【关键词】 子宫内膜异位症; 组蛋白乙酰化; 甲基转移酶样 3; YTH 结构域家族蛋白 1; 硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1

【中图分类号】 R711.71

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-6170(2026)03-0071-09

Mechanism analysis of LDHA-H3K18lac mediated METTL3/YTHDF1/CD1 axis regulation in endometriosis ZHENG Shuang, WANG Min, LUO Jing, PENG Yuan, CHEN Li-yuan *Department of Obstetrics and Gynecology, Wuhan First Hospital, Wuhan 430000, China*

【Corresponding author】 CHEN Li-yuan

- [11] Ding H, Wang JJ, Zhang XY, et al. Lycium barbarum polysaccharide antagonizes lps-induced inflammation by altering the glycolysis and differentiation of macrophages by triggering the degradation of PKM2[J]. *Biol Pharm Bull*, 2021,44(3):379-388.
- [12] Zhang X, Mao J, Shao L, et al. Screening of active components of melastoma dodecandrum lour. against diabetic osteoporosis using cell membrane chromatography-mass spectrometry[J]. *Front Pharmacol*, 2024,15:1450154.
- [13] Wong SK, Chin KY, Ima-Nirwana S. Quercetin as an agent for protecting the bone: a review of the current evidence[J]. *Int J Mol Sci*, 2020,21(17):6448.
- [14] Lai WF, Wong WT. Design and optimization of quercetin-based functional foods[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2022,62(26):7319-7335.
- [15] Song W, Liu W, Li SY, et al. Remodeling the senescent microenvironment for promoting osteoporotic tendon-to-bone healing via synergizing senolytic quercetin and aligned nanowire-structured hydrogels[J]. *ACS Nano*, 2025,19(19):18364-18385.
- [16] Zheng Y, Zhao J, Chang S, et al. β -sitosterol alleviates neuropathic pain by affect microglia polarization through inhibiting TLR4/NF- κ B signaling pathway[J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2023,18(4):690-703.
- [17] Zhang P, Liu N, Xue M, et al. Anti-inflammatory and antioxidant properties of β -Sitosterol in Copper sulfate-induced inflammation in Zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2023,12(2):391.
- [18] Yang S, Zhang Y, Zheng C. β -Sitosterol mitigates apoptosis, oxidative stress and inflammatory response by inactivating TLR4/NF- κ B pathway in cell models of diabetic nephropathy[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2025,83(1):1249-1262.
- [19] Jiang Y, Chen J, Guo S, et al. Role of TRPM2 in oxidative stress-mediated bone loss in periodontitis [J]. *J Dent Res*, 2025;104(10):1105-1115.
- [20] Tian H, Chen H, Yin X, et al. CORM-3 inhibits the inflammatory response of human periodontal ligament fibroblasts stimulated by LPS and high glucose[J]. *J Inflamm Res*, 2024,17:4845-4863.
- [21] Duarte PM, Gurgel BCV, Miranda TS, et al. Distinctive genes and signaling pathways associated with type 2 diabetes-related periodontitis: Preliminary study[J]. *PLoS One*, 2024,19(1):e296925.
- [22] Gutowska K, Czajkowski K, Kurylowicz A. Receptor for the Advanced Glycation End Products (RAGE) Pathway in Adipose Tissue Metabolism[J]. *Int J Mol Sci*, 2023,24(13):10982.
- [23] Lao A, Wu J, Li D, et al. Functionalized metal-organic framework-modified hydrogel that breaks the vicious cycle of inflammation and ROS for repairing of diabetic bone defects [J]. *Small*, 2023,19(36):2206919.

(收稿日期:2025-08-19;修回日期:2026-03-04)

(本文编辑:侯晓林)

【Abstract】 Objective To explore the molecular mechanism of LDHA mediated histone H3 lysine 18 acetylation (H3K18lac) regulating the METTL3/YTHDF1/CD1 axis in endometriosis (EMT). **Methods** Immortalized human endometriosis stromal cells (ihESCs), immortalized human endometrial stromal cells (HESCs) and a constructed mouse peritoneal EMT model were used as research subjects. At the cellular level, transfection with shRNA and overexpression plasmids was performed to detect lactate content and m6A methylation levels. Molecular mechanisms were investigated through immunoprecipitation and dual-luciferase reporter assays. At the animal level, the control group received intraperitoneal injections of normal mouse endometrial tissue fragments or saline. The model group received intraperitoneal injections of mouse endometrial tissue fragments pretreated with estradiol benzoate. At the same time, either shNC or shMETTL3 was injected to tail vein. Histopathological changes and related protein expression were observed through tissue staining. Levels of inflammatory factors and lipid metabolism-related proteins were detected by qRT-PCR and Western blot. **Results** Compared with HESC, the expression of LDHA, H3K18lac, METTL3 and lactate content in ihESCs were significantly increased. Knockdown of LDHA reduced H3K18lac and METTL3 levels. Overexpression of LDHA or lactate treatment showed the opposite effect. H3K18lac was enriched in the proximal promoter region of METTL3. METTL3 knockdown downregulated inflammatory factors and reduced m6A level and expression of SCD1. YTHDF1 recognized m6A modifications on SCD1 and enhanced its mRNA stability. Knockdown of YTHDF1 reversed the upregulation of SCD1 induced by METTL3 overexpression. In vivo, METTL3 knockdown alleviated histopathological lesions and reduced the expression of inflammatory factors and related proteins in EMT mice. **Conclusions** Cellular and animal studies confirm that LDHA-H3K18lac-mediated METTL3 regulates SCD1 expression via YTHDF1. This provides a novel therapeutic target for EMT treatment.

【Key words】 Endometriosis; Histone lactylation; Methyltransferase-like 3; YTH domain family protein 1; Stearoyl-CoA desaturase

子宫内膜异位症(endometriosis, EMT)是一种常见的妇科疾病,以异位内膜组织异常生长为特征,常伴随慢性疼痛和不孕,严重影响患者的生活质量^[1]。目前临床治疗主要依赖激素疗法和手术,但存在复发率高及副作用明显等问题^[2-5],因此亟需深入探索其发病机制并为治疗提供新靶点。代谢重编程是 EMT 细胞适应异位微环境的核心特征之一,其中乳酸代谢异常尤为突出^[6,7]。乳酸脱氢酶 A (lactate dehydrogenase A, LDHA) 催化丙酮酸转化为乳酸,而乳酸不仅是一种代谢产物,近年研究发现它还参与表观遗传调控^[8]。组蛋白乙酰化作为一种新型翻译后修饰,通过调节染色质开放性影响基因转录过程。其中,组蛋白 H3 赖氨酸 18 乙酰化 (Histone H3 lysine 18 acylation, H3K18lac) 已被报道可以促进 EMT 中高迁移率组盒 1 的表达,进而参与疾病保护机制^[9]。然而其在 EMT 发生发展中的具体调控机制尚未完全明确。N6-甲基腺苷 (N6-methyladenosine, m6A) 是真核生物 mRNA 中最常见的化学修饰,甲基转移酶样 (Methyltransferase-Like, METTL) 3 及 METTL14 作为其核心甲基转移酶,通过调控靶基因表达参与 EMT 的炎症反应、侵袭和血管生成过程^[10-12]。YTH 结构域家族蛋白 1 (YTH domain family protein 1, YTHDF1) 是一种 m6A 识别蛋白,可通过增强 mRNA 稳定性促进翻译过程,其异常表达与 EMT 细胞增殖密切相关^[13,14]。硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1 (stearoyl-coA desaturase 1, SCD1) 是脂肪酸代谢中的关键酶,调节脂质合成^[15]。目前

尚无研究探讨组蛋白乙酰化与 m6A 修饰之间的交叉对话是否通过 METTL3/YTHDF1/SCD1 轴参与 EMT 进展。

本研究以永生化人子宫内膜异位基质细胞 (immortalized human endometriosis stromal cells, ihESCs) 及小鼠腹膜 EMT 模型为对象,旨在探究 LDHA 介导的 H3K18lac 对 METTL3 表达的调控作用,以及 METTL3 是否通过 YTHDF1 影响 SCD1 表达,进而推动疾病进展,以期 EMT 提供新的治疗策略。

1 对象与方法

1.1 实验对象 实验于 2024 年 1 月至 2025 年 6 月在武汉市第一医院中心实验室进行。ihESCs 购自厦门逸漠生物科技有限公司;永生化人子宫内膜基质细胞 (human endometrial stromal cells, HESC) 购自上海雅吉生物科技有限公司。6~8 周龄雌性 C57BL/6 小鼠购自赛业生物科技股份有限公司。主要试剂:无酚红 DMEM/F12 培养基购自美国 Gibco 公司;细胞乳酸检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所;Lipofectamine[®] 3000 购自美国 Life Technologies;Trizol 试剂购自美国 Invitrogen;逆转录试剂盒和 TransStart[®] Green qPCR SuperMix 试剂盒购自北京全式金生物技术有限公司;BCA 蛋白定量试剂盒和 ECL 化学发光试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司;抗 ACC 购自美国 Invitrogen,抗 H3 和抗 H3K18la 购自杭州景杰生物,其余一抗及辣根过氧化物酶 (Horseradish Peroxidase, HRP) 标记二抗均购自美国 Abcam; m6A 相关检测试剂盒购自 Millipore; pGL3 载体购自 Promega; 苏木精-曙红 (Hematoxylin-Eosin, H&E) 染色试剂盒、马森三色 (Masson's trichrome) 染色试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;抗基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9,

【基金项目】湖北省自然科学基金计划 (编号:2023AFB506);武汉市卫健委中医药科研项目 (编号:S202206070015)

【通讯作者】陈丽媛

MMP9)和抗细胞间黏附分子 1(intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)购自北京博奥森生物技术有限公司;抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)购自 Abcam。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养和转染 ihESC 和 HESC 细胞在 37 °C、5% CO₂ 的条件下,用含 15% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素/链霉素及 1 mM 丙酮酸钠的无酚红 DMEM/F-12 培养基培养。采用 Lipofectamine[®] 3000 转染靶向 LDHA、METTL3、YTHDF1、胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白(sh Insulin-like Growth Factor 2 mRNA-Binding Protein, shIGF2BP) 1、IGF2BP2、IGF2BP3、YTHDF2 的短发夹 RNA(short hairpin RNA, shRNA)(编号 1#/2#)及相应过表达(over expression, oe)质粒(oeLDHA、oeMETTL3、oeYTHDF1),以及阴性对照

(negative control, NC)shNC 和 oeNC。转染前 12 h 以 2×10⁵ 细胞/孔的密度接种于 6 孔板中,转染 6 h 后换液,48 h 后收集细胞。通过实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)和蛋白质印迹(western blot, WB)验证转染效率。

1.2.2 qRT-PCR 采用 Trizol 试剂从组织或 ihESCs 细胞中提取总 mRNA 并逆转录为 cDNA。使用 TransStart[®] Green qPCR SuperMix 试剂盒检测 mRNA 表达。反应条件:95 °C 预变性 30 s;95 °C 变性 5 s,60 °C 退火 30 s,40 个循环;溶解曲线分析。靶基因表达以 2^{-ΔΔCT} 计算,GAPDH 为内参。引物序列见表 1。为了测定 SCD1 mRNA 稳定性,用 10 mg/L 放线菌素 D 处理细胞 0、1、2、4 和 8 h。提取 RNA 后 qPCR 检测 SCD1 表达。

表 1 RT-PCR 引物序列

基因名称	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')
LDHA	ATGGCAACTCTAAAGGATCAGC	CCAACCCCAACAACCTGTAATCT
FTO	CTGCAGACCTGGCTGAATGT	TGGGTAGCCAGGATGTAGCC
ALKBH5	GAGGCTGGAATGGGAGTGAC	CAGCCAAACACATCCCAAT
WTAP	TGGAGACCTGGGTTTGTTC	GCTCCACCTTCACCTCCTTC
RBM15	CAGCAGATCAACAAGCGGAA	GTGTTGGCATTGCTGTTGGA
VIRMA	GCTGGGATTACAGGCGTGAG	CACCAGGTTCTCCGAAATGC
METTL3	GCTGCTGCTGAAGAAGATGG	CAGGTAGGTGCTGCTGATGG
TNF-α	CCCTCACACTCAGATCATCTTCT	GCTACGGGCTTGCTCACTCGA
IL-6	CCACTCACCTCTTCAGAACGA	TTGGTCCTTAGCCACTCCTTC
IL-1β	ATGATGGCTTATTACAGTGGC	TCTCCACAGCTCCACGTC
YTHDF1	AAGCCAGAGAGCCAAGATGA	GCTGCTGCTGTTGTTGTTGT
SCD1	TTCTTGGATACACTCTGGTGC	CGGGATTGAATGTTCTTGTCTGT
GAPDH	CTCACCGGATGCACCAATGTT	CGCGTTGCTCACAATGTTTCAT

1.2.3 WB 异位内膜组织经激光捕获显微切割技术纯化(WB 证实 CD31 与 α-SMA 无表达),使用 RIPA 裂解液提取细胞和异位内膜组织总蛋白,BCA 法测定浓度,经 10% SDS-PAGE 电泳分离后转印至 PVDF 膜,5% 脱脂牛奶封闭 60 min,4 °C 一抗孵育过夜,次日加入对应二抗(1:5000)孵育 1.5 h,ECL 显影。抗体信息:LDHA(1:5000)、SCD1(1:800)、固醇调节元件结合蛋白 1(sterol regulatory element-binding protein 1, SREBP1)(1:800)、脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)(1:600)、METTL3(1:1000)、METTL14(1:1000)、H3(1:500)、H3K18la(1:500)、ACC(1:1200)和 β-action(1:2500)。

1.2.4 m6A 甲基化水平检测 使用 EpiQuik m6A RNA 甲基化定量试剂盒检测细胞总 RNA 中的 m6A 含量,严格按试剂盒操作。

1.2.5 染色质免疫沉淀(chromatin immunoprecipitation, ChIP)实验 使用 H3K18lac 抗体进行 ChIP 实验,兔源 IgG 为阴性对照。细胞经 1% 甲醛交联 10 min 后甘氨酸终止。预冷 PBS 清洗后超声破碎,染色质与抗体及 A/G 蛋白磁珠 4 °C 孵育过夜,Chel-ex 解离免疫沉淀 DNA 后 qPCR 分析。

1.2.6 m6A RNA 免疫沉淀(m6A RNA immunoprecipitation, MeRIP)实验 使用 Magna MeRIP m6A 试剂盒检测 SCD1 的 m6A 甲基化水平,RNA 与 3 μg 抗 m6A 抗体及 A/G 磁珠 4 °C 共孵育 12 h,免疫沉淀缓冲液孵育后分离 RNA,qRT-PCR 检测 SCD1 的 m6A 富集程度。

1.2.7 RNA 免疫沉淀(RNA immunoprecipitation, RIP)实验 采用 Magna RIP 试剂盒分析 YTHDF1 与 SCD1 的相互作用,转染 METTL3 后用 RIP 裂解缓冲

液处理细胞,提取物与 IgG 抗体及 RIP 缓冲液孵育 1 h,磁珠处理后蛋白酶 K 消化蛋白,提取 RNA 并 RT-qPCR 检测 SCD1 表达。

1.2.8 双荧光素酶报告基因实验 将 SCD1 野生型 (SCD1-wt) 或突变型 (SCD1-mut) 3'-UTR 片段克隆至 pGL3 载体。ihESC 接种于 24 孔板,共转染 shMETTL3/shYTHDF1 或 oeMETTL3/oeYTHDF1 与重组质粒。48 h 后使用双荧光素酶报告系统检测相对荧光素酶活性。

1.2.9 小鼠造模及分组 雌性 C57BL/6 小鼠适应性喂养 2 周。随机分为供体 ($n=15$) 和受体 ($n=30$)。供体术前肌肉注射苯甲酸雌二醇 0.1 mg/(kg·d),7 天后处死取子宫角剪碎 (<1 mm),受体腹腔注射子宫内膜碎片混悬液(子宫组织:生理盐水=1:2),21 天后确认 EMT 建模成功。将 EMT 小鼠随机分为模型+shNC 组和模型+shMETTL3 组 ($n=6$),尾静脉注射 shNC 或 shMETTL3;对照组 ($n=6$) 腹腔注射正常小鼠子宫内膜碎片及生理盐水。实验结束后收集异位子宫内膜(剔除周围正常组织)。实验获机构动物伦理委员会批准。

1.2.10 组织染色 收集异位子宫内膜组织,10% 福尔马林固定,石蜡包埋切片(4 μ m)。切片经二甲

苯脱蜡、梯度乙醇水化后,按说明书行 H&E 和 Masson 染色,光学显微镜观察并采集图像。

1.2.11 免疫组织化学染色 组织切片经脱蜡、抗原修复、过氧化氢阻断、2% 牛血清白蛋白封闭后,4 $^{\circ}$ C 孵育抗 MMP9、抗 ICAM-1、抗 VEGF 一抗(1:400)过夜,37 $^{\circ}$ C HRP 标记二抗孵育 60 min,DAB 显色。选 5 个视野采集图像,Image-Pro Plus6.0 软件计算平均积分光密度定量。

1.3 统计学方法 使用 GraphPad Prism 7 软件分析数据。体外实验均设置 3 个生物学重复,体内实验设置 6 个生物学重复,每个生物学重复独立检测 3 次。符合正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差表示,两组间比较采用非配对 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,RNA 稳定性分析采用双因素方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ihESCs 中 LDHA 和 H3K18lac 的表达情况

与 HESC 细胞相比,ihESCs 中乳酸含量及 LDHA 的 mRNA 水平显著升高,H3K18lac 和 LDHA 的蛋白表达也明显上调(图 1)。H3 作为组蛋白内参,在两组中表达差异无统计学意义($P>0.05$),可用于 H3K18lac 表达校准。

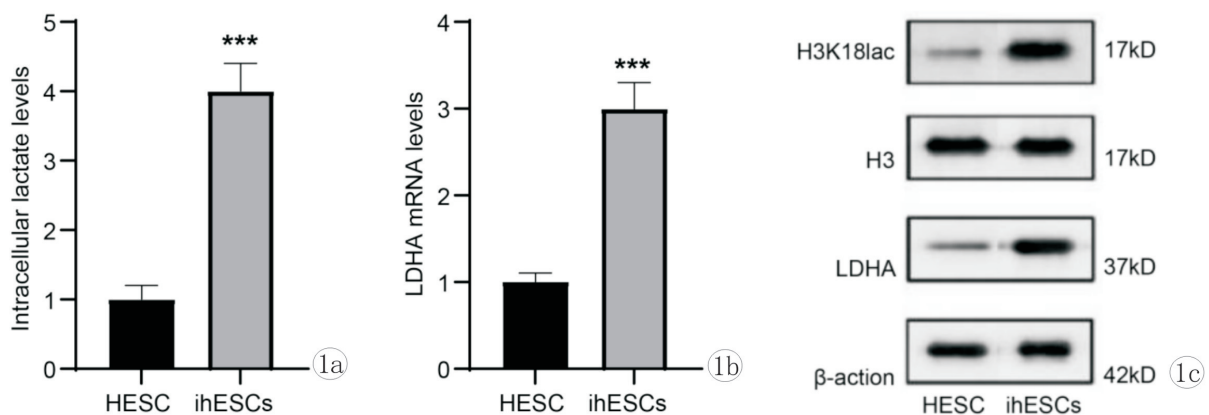


图1 LDHA 和 H3K18lac 在 ihESCs 细胞中表达上调 a:乳酸水平;b:LDHA 的 mRNA 表达水平;c:H3K18lac 和 LDHA 的蛋白表达水平 *** $P<0.001$

2.2 H3K18lac 对 METTL3 基因启动子的结合作用 shLDHA 转染后,H3 在各组细胞中的表达水平差异无统计学意义($P>0.05$),ihESC 细胞中 LDHA 的 mRNA(图 2a)和蛋白(图 2b)水平均显著降低,乳酸含量(图 2c)和 H3K18lac 水平(图 2d)也明显下降。相反,过表达 LDHA (oeLDHA) 引起细胞内 LDHA 表达升高(图 2e,f),并伴随乳酸(图 2g)和 H3K18lac 水平(图 2h)的显著上升。

与 HESC 细胞相比,ihESC 细胞中的 m6A 水平显著升高(图 3a),METTL3 和 METTL14 的表达均

上升($P<0.05$)(图 3b)。然而,在 LDHA 敲低后,ihESC 细胞中的 METTL3 的表达出现下调,而 METTL14 表达无显著变化(图 3c,d)。ChIP 实验结果显示,H3K18lac 主要富集于 METTL3 的近端启动子区,LDHA 敲低显著抑制了该位点的 H3K18lac 占据(图 3e,f)。乳酸处理可显著提高 shLDHA 组的乳酸(图 3g)及 H3K18lac 水平(图 3h)。相反,LDHA 敲低导致 ihESC 细胞中 METTL3 启动子上的 H3K18lac 富集显著减少(图 3i)。

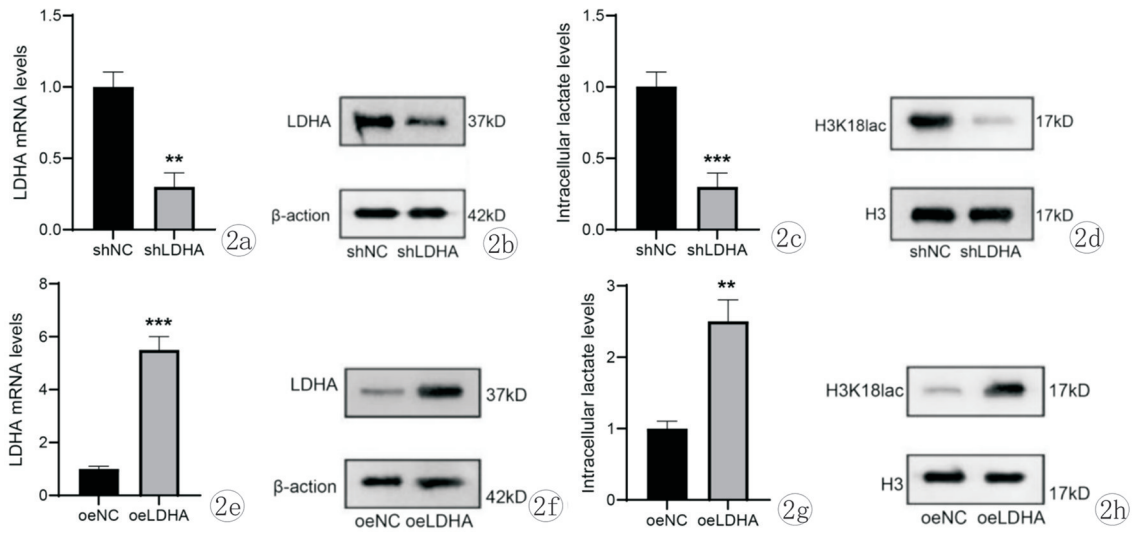


图2 敲低和过表达 LDHA 对 ihESCs 细胞中 LDHA 和 H3K18lac 表达的影响 a、b: shLDHA 转染后的转染效率; c、d: shLDHA 转染后乳酸含量和 H3K18lac 蛋白表达; e、f: oeLDHA 转染后的转染效率; g、h: oeLDHA 转染后乳酸含量和 H3K18lac 蛋白表达 ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

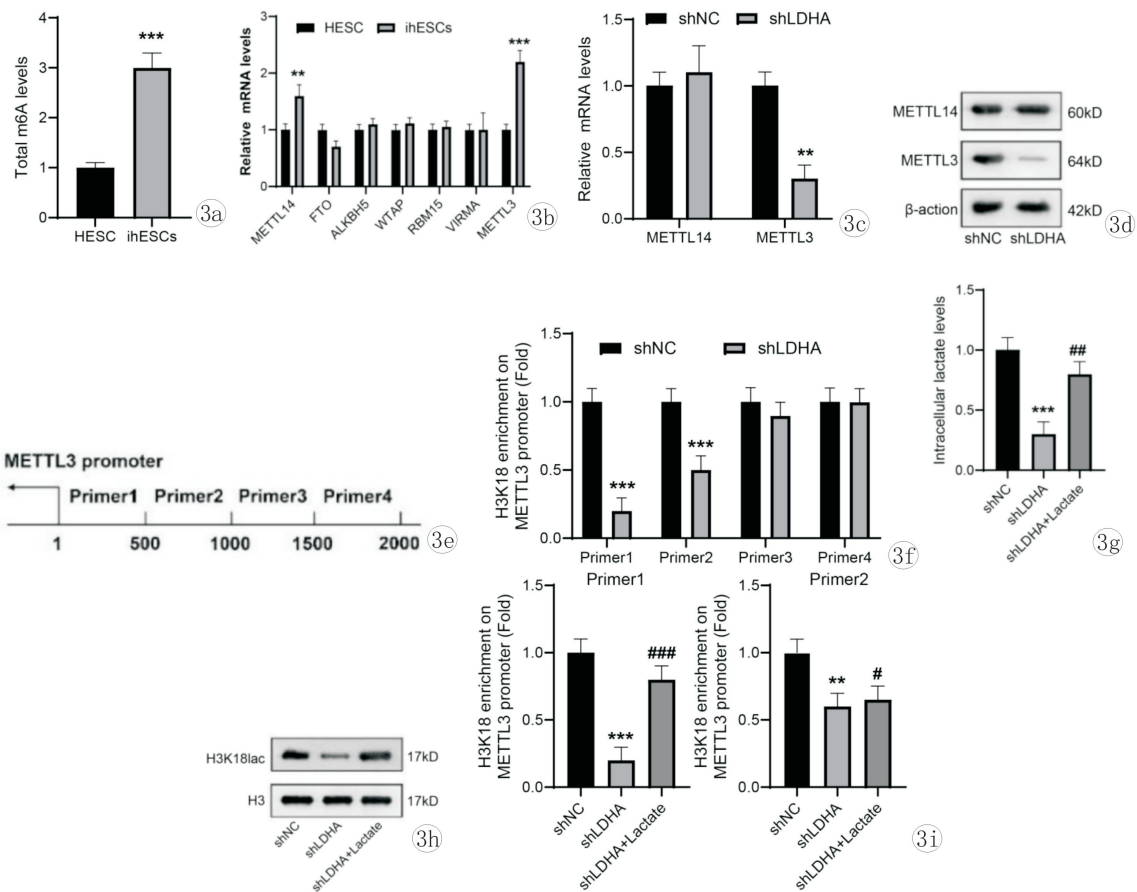


图3 LDHA 通过 H3K18lac 上调 METTL3 的表达 a: m6A 水平; b: m6A 甲基化相关酶的表达; c、d: shLDHA 转染的 ihESC 细胞中 METTL3 和 METTL14 的 mRNA 及蛋白水平; e、f: ChIP 检测 ihESC 细胞中 METTL3 启动子区域 H3K18lac 富集; g: shLDHA 与乳酸处理的 ihESC 细胞中乳酸含量; h、i: ihESC 细胞中 H3K18lac 水平及 METTL3 启动子上的 H3K18 富集情况。与 shNC 组比较, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与 shLDHA 组比较, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$

2.3 METTL3 对炎症因子表达的调控作用
shMETTL3 转染后, 细胞中 METTL3 的 mRNA 及蛋白水平均显著下降(图 4a、b), 炎症因子 TNF- α 、

IL-6 和 IL-1 β 的 mRNA 水平明显降低($P < 0.001$) (图 4c~e)。

2.4 METTL3 对 SCD1 的 m6A 修饰及表达的调

控作用 RIP 实验发现 METTL3 可与 SCD1 结合,但与 FAS、ACC 及 SREBP1 无显著结合(图 5a)。敲低 METTL3 显著降低 SCD1 的 m6A 修饰水平,而过表达 METTL3 则显著提高($P<0.05$)(图 5b)。荧光素酶报告实验证实 METTL3 通过 SCD1 mRNA 的 m6A 位点调控其表达, METTL3 敲低下调 SCD1 mRNA 表达,过表达则上调其转录水平($P<0.001$)(图 5c、d)。生物信息学分析预测 SCD1 mRNA 上有多个潜在 m6A 甲基化位点(图 5e)。

2.5 YTHDF1 对 SCD1 mRNA 稳定性的调控作用

敲低多种 m6A 阅读蛋白后(图 6a、b),仅 YTHDF1 敲低显著降低 SCD1 表达($P<0.05$)。过表达 YTHDF1 可上调自身及 SCD1 的 mRNA 水平(图 6c、d)($P<0.001$)。荧光素酶报告实验显示(图 6e),YTHDF1 敲低可抑制 SCD1-wt 的启动子活性,而其过表达则增强该活性($P<0.01$)。mRNA 稳定性实验表明(图 6f),YTHDF1 敲低缩短 SCD1 mRNA 半衰期,过表达则延长其稳定性($P<0.05$)。在 METTL3 过表达背景下敲低 YTHDF1,可逆转 METTL3 对 SCD1 的上调效应($P<0.001$)(图 6g、h)。

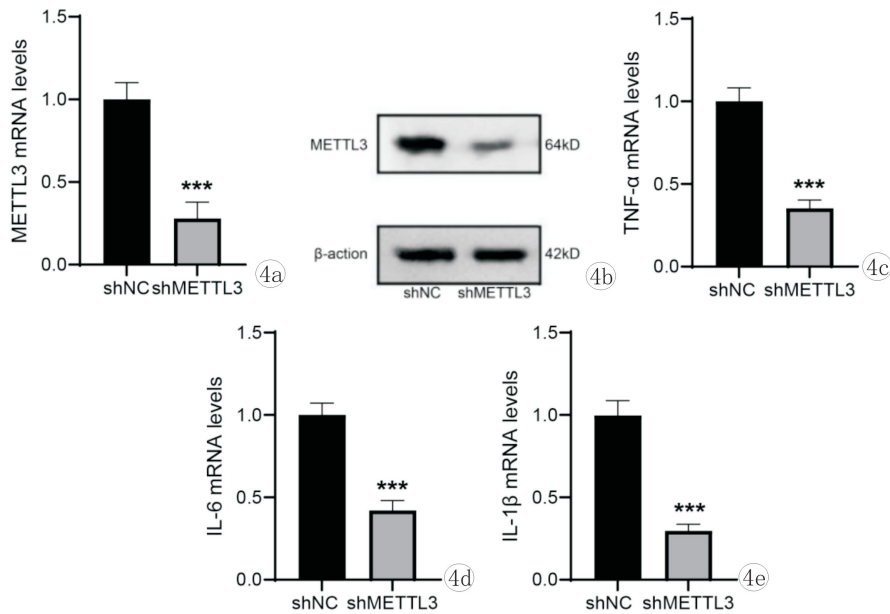


图 4 METTL3 调控 iHESC 细胞中炎症因子的表达 a、b:shMETTL3 转染的转染效率;c~e:TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的 mRNA 表达水平 *** $P<0.001$

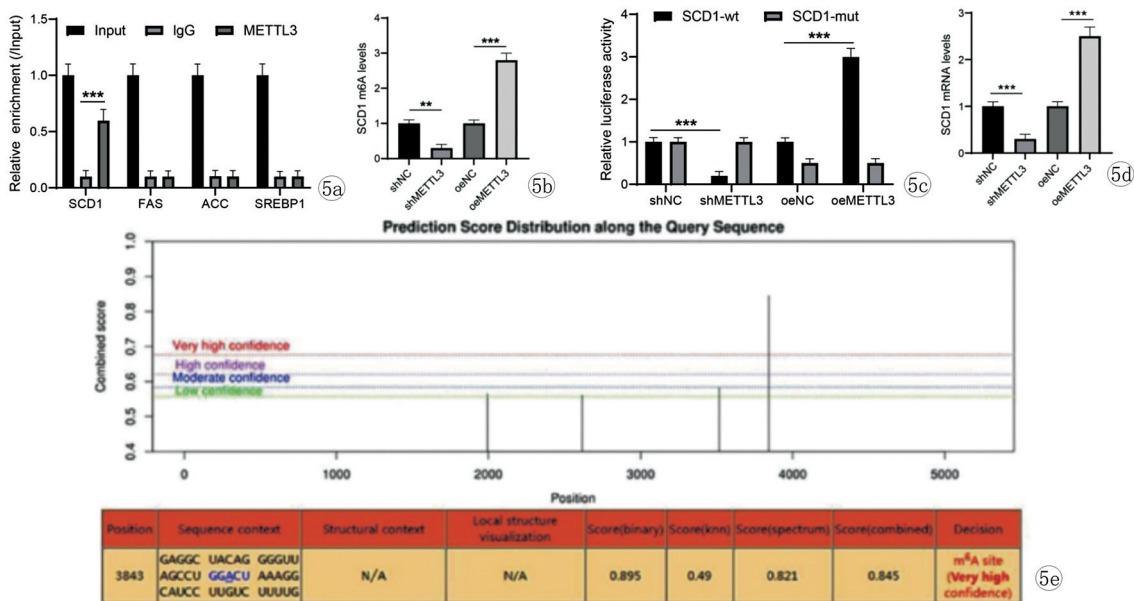


图 5 METTL3 通过 m6A 修饰促进 SCD1 的表达 a:RIP 实验检测 METTL3 与 SCD1、FAS、ACC 及 SREBP1 的结合情况;b:SCD1 的 m6A 水平;c:SCD1-wt 及 SCD1-mut 报告基因活性;d:SCD1 的 mRNA 表达水平 ;e:SCD1 m6A 甲基化位点预测 ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

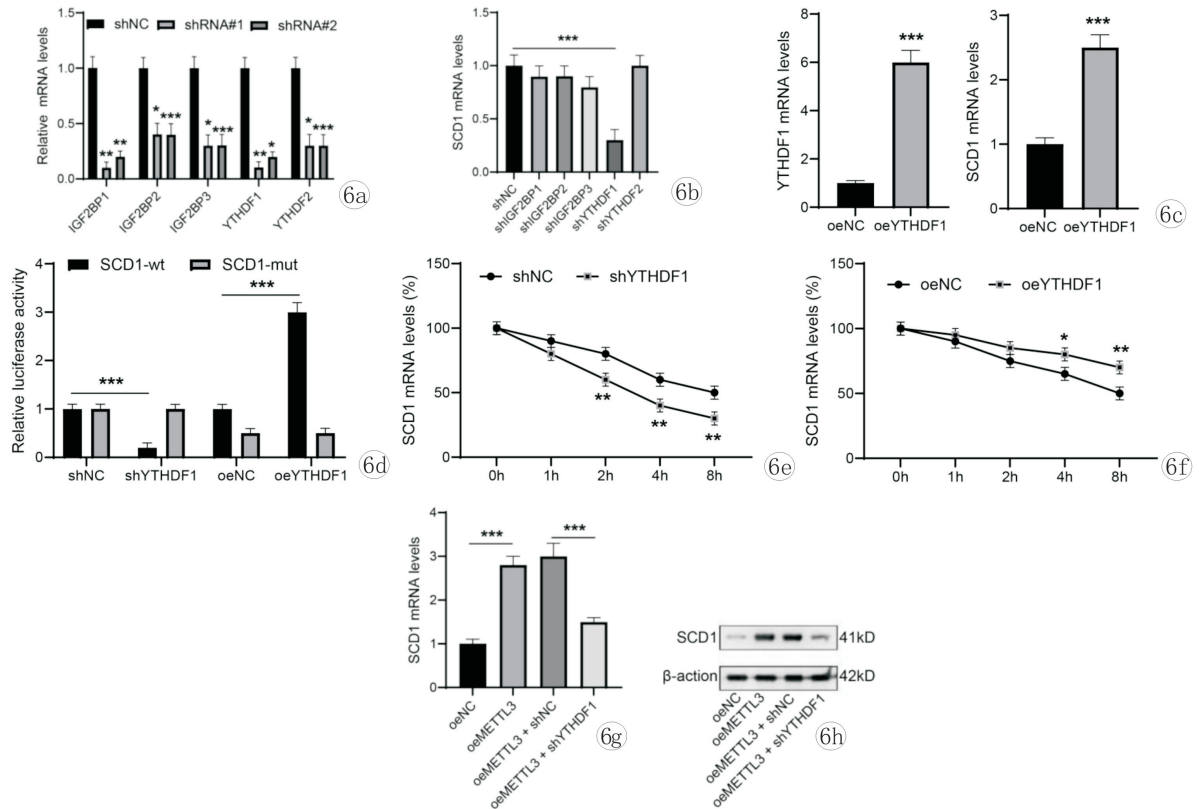


图6 YTHDF1以m6A依赖性方式提高SCD1 mRNA的稳定性 a:不同m6A阅读蛋白敲低后的转染效率验证;b:敲低各m6A阅读蛋白后SCD1的表达水平;c,d:YTHDF1及SCD1的mRNA水平;e:SCD1-wt和SCD1-mut的荧光素酶活性;f:SCD1 mRNA的稳定性;g,h:oeMETTL3和shYTHDF1共转染后SCD1的mRNA及蛋白水平 * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

2.6 敲低METTL3对EMT小鼠损伤的改善作用

HE染色结果显示(图7a),模型+shNC组小鼠的异位子宫内膜单层柱状上皮细胞减少,被覆以扁平或低柱状上皮,同时Masson染色提示其纤维沉积显著增加(图7b)。敲低METTL3可明显缓解上述病理改变。qPCR验证显示,上皮标志物CK19及间质标志物Vimentin的表达占比超过95%,证实提取的RNA来源于异位内膜组织。再进行RT-qPCR检测,结果显示,模型+shNC组炎症因子TNF- α 、IL-6和IL-1 β 的mRNA水平均显著上

升,而METTL3敲低有效抑制了这些因子的表达($P<0.001$)(图7c~e)。

如图8a、b所示,与对照组相比,模型+shNC组小鼠异位子宫内膜中MMP-9、ICAM-1、VEGF表达水平显著升高($P<0.001$)。METTL3敲低则显著逆转了这一趋势。WB结果显示(图8c、d),模型+shNC组中METTL3、SCD1、FAS、ACC及SREBP1的蛋白水平均明显上调,而敲低METTL3可一致性地抑制这些蛋白的表达($P<0.001$)。

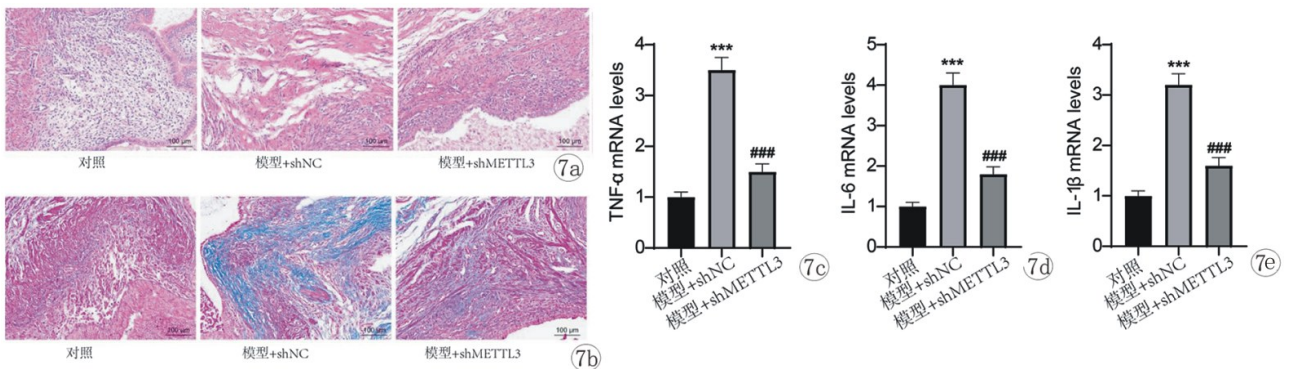


图7 敲低METTL3改善EMT小鼠异位子宫内膜组织的病理变化和炎症反应 a,b:HE和Masson染色(比例尺:100 μ m);c~e:炎症因子mRNA表达。与对照组比较,*** $P<0.001$;与模型+shNC组比较,### $P<0.001$

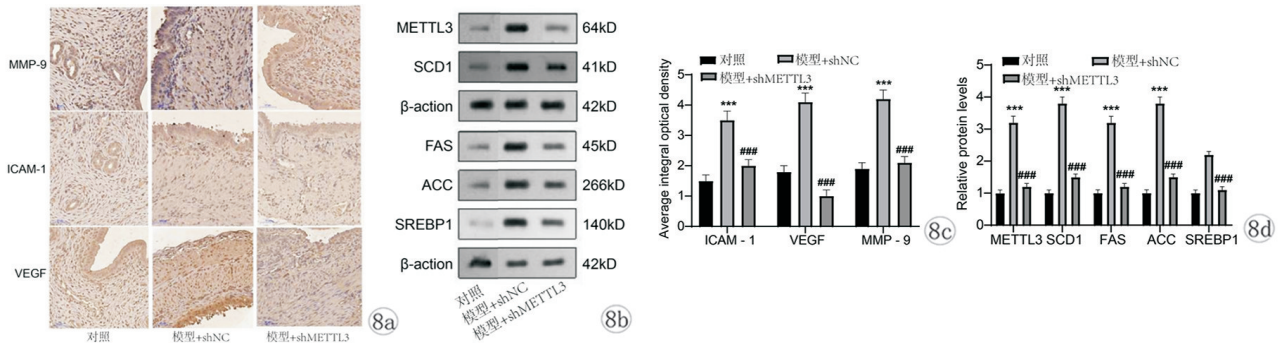


图 8 敲低 METTL3 抑制异位内膜中侵袭/血管生成相关分子及脂代谢关键蛋白的表达 a,b: MMP-9、ICAM-1 和 VEGF 的免疫组化染色结果(阳性呈棕色; $n=6$; 放大倍数: $\times 200$); c,d: 各组中 METTL3、SCD1、FAS、ACC 及 SREBP1 的蛋白表达水平。与对照组比较, * * * $P < 0.001$; 与模型+shNC 组比较, ### $P < 0.001$

3 讨论

本研究通过细胞实验与动物模型系统验证,明确 LDHA-H3K18lac 介导的 METTL3/YTHDF1/SCD1 轴在 EMT 中的核心调控作用,为解析 EMT 发病机制提供全新实验依据。

本研究揭示 LDHA-H3K18lac 轴是 METTL3 表达的关键上游调控机制。与 HESC 相比,ihESC 中 LDHA 表达及乳酸水平升高, H3K18lac 修饰增强。敲低 LDHA 可降低乳酸生成及 H3K18lac 水平,并抑制 METTL3 表达,而过表达 LDHA 或外源乳酸处理可逆转此效应。ChIP 实验证实 H3K18lac 富集于 METTL3 启动子区, LDHA 敲低减少其富集。该发现拓展了组蛋白乙酰化的功能边界,此前研究多聚焦其在肿瘤、代谢疾病中的作用^[16, 17]。Chen 等^[9]发现组蛋白 H3K18lac 乙酰化与子宫内膜异位症进展密切相关;刘激等^[18]也指出,组蛋白 H3K18lac 乙酰化对子宫内膜癌的预测具有良好的预测价值。但上述研究均未进一步探讨其与下游 m6A 修饰之间的调控关系。本研究将 LDHA-H3K18lac 轴与 m6A 甲基转移酶 METTL3 关联,填补了代谢产物-表观修饰-m6A 调控在 EMT 中的研究空白,拓展了组蛋白乙酰化的功能边界。此外,本研究鉴定的 LDHA-H3K18lac-METTL3 调控轴,与既往研究提出的乳酸代谢驱动表观修饰调控妇科疾病进展的结论相符^[19],提示代谢重塑-表观遗传修饰-转录后调控之间的跨层次网络,可能是 EMT 过程中共同的发病机制之一。进一步研究发现 METTL3 以 m6A 依赖方式调控 SCD1 表达。RIP 与 MeRIP 实验显示 METTL3 特异性结合 SCD1 mRNA 并催化其 m6A 修饰,生物信息学分析预测 SCD1 mRNA 存在多个 m6A 位点。双荧光素酶报告实验证实, METTL3 通过这些位点调控 SCD1 表达。功能上, METTL3 敲低显著降低了 ihESCs 中炎症因子、SCD1 及脂代谢关

键蛋白表达。研究显示, METTL3 在 EMT 中的作用已被初步探索。METTL3 介导的 m6A 修饰促进 EMT 模型中的细胞增殖和侵入,诱导 M2 巨噬细胞极化^[20, 21]。而 SCD1 作为脂肪酸代谢的核心分子,其异常表达与生殖系统疾病相关,但尚未明确其上游 m6A 调控机制。本研究阐明 METTL3-SCD1 的特异性调控关系,衔接了 m6A 修饰与脂代谢紊乱在 EMT 中的病理作用,完善了甲基转移酶-靶基因-代谢表型的调控链条。以往研究指出, METTL3 具有调节炎症和脂代谢的作用^[22-24]。该结果进一步验证了 METTL3 参与 EMT 炎症与代谢交互紊乱的病理特征^[25, 26]。

本研究明确 YTHDF1 是 METTL3-SCD1 通路的核心下游介质。筛选多种 m6A 阅读蛋白后,证实仅 YTHDF1 可调控 SCD1 表达,且通过识别 m6A 位点增强 SCD1 mRNA 稳定性; METTL3 过表达背景下敲低 YTHDF1 可逆转对 SCD1 的上调效应,证明 YTHDF1 是必需中介因子。研究发现, YTHDF1 介导 FTO 对 EMT 的调控作用,但未明确其在 METTL3-SCD1 通路中的特异性功能^[14]。本研究通过筛选多种 m6A 阅读蛋白,证实 YTHDF1 是 SCD1 的特异性识别蛋白,完善了 m6A “写入 (METTL3)-读取 (YTHDF1)-靶基因调控 (SCD1)” 的完整通路,为 EMT 中 m6A 修饰的精准调控机制提供了新例证。体内实验进一步证实 METTL3/YTHDF1/SCD1 轴在 EMT 中的关键作用, shMETTL3 处理可显著改善 EMT 小鼠病理损伤、抑制炎症及脂代谢异常。从临床转化角度看,靶向 LDHA 的抑制剂已在肿瘤研究中证实可抑制乳酸生成^[27],本研究提示该类药物或可通过降低 H3K18lac 水平抑制 METTL3 表达,为 EMT 的非激素治疗提供新方向。

综上,本研究系统揭示组蛋白乙酰化介导的 METTL3/YTHDF1/SCD1 轴在 EMT 中的调控机制,

建立了代谢、表观遗传与 mRNA 修饰的跨层次调控网络,不仅丰富了 EMT 发病机制的理论研究,更为开发靶向 LDHA、METTL3 或 YTHDF1 的新型治疗策略提供实验基础。

【参考文献】

- [1] Chen LH, Lo WC, Huang HY, et al. A lifelong impact on endometriosis: pathophysiology and pharmacological treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(8): 7503.
- [2] 刘东京,殷宝莹,何娅,等. 基于网络药理学结合分子对接技术分析参芪益母膏治疗异常子宫出血的潜在作用机制[J]. *保健医学研究与实践*, 2025, 22(7): 98-106.
- [3] As-Sanie S, Mackenzie SC, Morrison L, et al. Endometriosis: a review[J]. *Jama*, 2025, 334(1): 64-78.
- [4] Zhong Q, Yang S, Li X, et al. A multifunctional molecular probe for multimodal imaging-guided potent photothermal/photodynamic therapy of endometriosis[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2025; e11126.
- [5] 毛萍萍,张帅. 醋酸亮丙瑞林微球治疗子宫内腺异位症的研究[J]. *实用医院临床杂志*, 2025, 22(5): 124-128.
- [6] Kim BS, Kim B, Yoon S, et al. Warburg-like metabolic reprogramming in endometriosis: from molecular mechanisms to therapeutic approaches[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2025, 18(6): 813.
- [7] Wang X, Chen Y, Wu Q, et al. Integrated analysis of lactate-related genes identifies S100A4 as a novel marker promoting the migration and invasion of endometrial stromal cell in endometriosis[J]. *Reprod Sci*, 2025, 32(8): 2558-2573.
- [8] Zhang YM, Yang F, Li Q, et al. Role of histone lactylation in neurological disorders[J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(16): 7949.
- [9] Chen J, Qin P, Sun Y, et al. Histone lactylation promotes cell proliferation, migration and invasion through targeting HMGB1 in endometriosis[J]. *J Biomed Res*, 2023, 37(6): 470-478.
- [10] 陈美华,兰瑞红,杨扬,等. 子病前期中 m6A 甲基化修饰的研究新进展[J]. *西部医学*, 2025, 37(5): 776-781.
- [11] Li L, Wang X, Wu Y, et al. METTL14/YTHDF2 m6A axis protects against M2 macrophage polarization in endometriosis by regulating KLF4 stability[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2025, 197(8): 5535-5551.
- [12] Peng Y, Wang P, Lou Y, et al. Mechanism of FBXW7 mRNA degradation mediated by circSMAD2 through METTL3-METTL14 m6A axis affects proliferation and invasion of endometrial stromal cells[J]. *J Reprod Immunol*, 2025, 169: 104523.
- [13] Huang S, Huang J, Lu Y, et al. ALKBH5 regulates inflammation and pyroptosis of coronary heart disease by targeting spen in a YTHDF1-mediated manner[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2026, 40(2): 475-491.
- [14] Ding XY, Zhang HY, Chen JH, et al. A novel mechanism of FTO modulating the progression of endometriosis through mediating the m6A methylation of GEF-H1 in a YTHDF1-dependent manner[J]. *Mol Med*, 2025, 31(1): 78.
- [15] Tu J, Bi C, Li Y, et al. Stearoyl-CoA desaturase 1-mediated fatty acid metabolism inhibition drives intestinal injury in offspring exposed to maternal acetaminophen[J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 320(Pt 2): 145839.
- [16] Zhu J, Wu X, Mu M, et al. TEC-mediated tRF-31R9J regulates histone lactylation and acetylation by HDAC1 to suppress hepatocyte ferroptosis and improve non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Clin Epigenetics*, 2025, 17(1): 9.
- [17] Jin S, Chen P, Yang J, et al. *Phocaeicola vulgatus* alleviates diet-induced metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease progression by downregulating histone acetylation level via 3-HPAA[J]. *Gut Microbes*, 2024, 16(1): 2309683.
- [18] 刘澈,姚升郊,代晟. 组蛋白乳酸化对子宫内腺癌的预测价值研究[J]. *中国计划生育和妇产科*, 2023, 15(11): 37-40.
- [19] Yang X, Zhang W, Zhu W. Profiling of immune responses by lactate modulation in cervical cancer reveals key features driving clinical outcome[J]. *Heliyon*, 2023, 9(4): e14896.
- [20] Shen L, Zhang C, Zhang Y, et al. METTL3 and METTL14-mediated N(6)-methyladenosine modification promotes cell proliferation and invasion in a model of endometriosis[J]. *Reprod Biomed Online*, 2023, 46(2): 255-265.
- [21] Gou Y, Wang H, Wang T, et al. Ectopic endometriotic stromal cells-derived lactate induces M2 macrophage polarization via Mettl3/Trib1/ERK/STAT3 signalling pathway in endometriosis[J]. *Immunology*, 2023, 168(3): 389-402.
- [22] Lu Q, Wang Z, Cao S, et al. Unraveling the Role of METTL3 in *Helicobacter pylori*-induced gastritis via m6A-CXCL1/NF- κ B modulation[J]. *Cell Death Dis*, 2025, 16(1): 625.
- [23] Zhang L, Zuo F, Li J, et al. METTL3 suppresses inflammatory responses by regulating SIRT1-mediated HMGB1 release in sepsis[J]. *Eur J Pharmacol*, 2025, 1003: 177959.
- [24] Chen Z, Yan D, Guo S, et al. METTL3/miR-192-5p/SCD1 axis regulates lipid metabolism to affect T cell differentiation in asthma[J]. *Mediators Inflamm*, 2025, 2025: 4955849.
- [25] Werge MP, McCann A, et al. Alterations in one-carbon metabolism in metabolic dysfunction associated steatotic liver disease may be modified by semaglutide[J]. *Ann Hepatol*, 2025, 30(2): 102107.
- [26] Shi Y, Wang CC, Wu L, et al. Pathophysiological insight into fatty acid-binding protein-4: multifaced roles in reproduction, pregnancy, and offspring health[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(16): 12655.
- [27] Rao K, Zhang X, Luo Y, et al. Lactylation orchestrates ubiquitin-independent degradation of cGAS and promotes tumor growth[J]. *Cell Rep*, 2025, 44(4): 115441.

(收稿日期:2025-10-30;修回日期:2026-01-22)

(本文编辑:彭羽)