

m6A 甲基化修饰对血管性认知障碍影响的研究进展

杜隽 颜习武 张秋池 陈兆耀 常诚

【中图分类号】 R743 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2022)03-0284-07

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2022.03.018

N6-甲基腺苷(N6-methyladenosine, m6A)是RNA中最普遍的表现遗传修饰,参与RNA剪接、运输、翻译和降解等生物过程。m6A甲基化修饰在中枢神经系统中含量丰富,目前已被证实m6A甲基化修饰对大脑发育、记忆学习能力、应激状态及轴突和突触的功能结构有调控作用。血管性认知障碍是脑血管病导致的认知功能减退,是第二大常见的痴呆病因,对其发病机制的研究对本病的诊治具有重要的理论意义和应用价值。本研究对m6A甲基化修饰对中枢神经系统的调节机制进行整理分析,并总结m6A甲基化修饰对血管性认知障碍发生机制和危险因素的作用途径。

血管性认知障碍(Vascular cognitive impairment, VCI)是脑血管病变及其危险因素导致的临床认知功能下降^[1], VCI根据严重程度可分为非痴呆型血管性认知障碍(Vascular cognitive impairment no dementia, VCIND)和血管性痴呆(Vascular dementia, VaD),前者是指认知功能受损但尚未达到痴呆的阶段。

随着当今全球人口老龄化及饮食习惯、生活方式的改变,认知功能障碍的患病率逐年升高。在中国65岁以上人群VCI的患病率约为8.7%^[2]。根据国内流行病学调查研究表示,65~84岁老年人中VCI发病率最高的亚型是VCIND,如不及时施加干预手段,约半数会在3年后进展为痴呆^[3]。VCI的治疗尚无各国指南统一推荐的特效药物,目前主要是在控制各种危险因素的基础上长期口服多奈哌齐、尼麦角林、胞二磷胆碱钠等药物,且现阶段尚无有效方法可以改变或逆转VCI的病程进展。因此,探索VCI的基础发病机制、延缓疾病进展和改善认知功能成了目前亟需解决的问题。

近年来,越来越多的证据表明m6A甲基化修饰对RNA的动态调节可能在生长发育、干细胞更新、细胞凋亡等多种生物学过程中发挥关键作用。VaD被认为是继阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)之后第二大常见的痴呆病因,占全世界痴呆病例的15%~30%^[4],是当今人类常见的威胁。最近一系列研究表明,m6A的甲基化可能在中枢神经系统疾病中对突触传递、神经凋亡、轴索损伤、炎症、脑的发育等方面有较大影响。

基金项目:江苏省中医药管理局(编号为RC201901)、江苏省科技厅(编号为BE2017770);江苏省教育厅(编号为SJ CX21_0772);江苏省中医院(编号为Y2018CX56)

作者单位:210000 南京中医药大学附属医院[杜隽 颜习武 张秋池 陈兆耀 常诚(通信作者)]

本研究将总结m6A甲基化修饰在中枢神经系统中的一般特征、机制和功能,并就m6A甲基化修饰在血管性认知障碍中的最新研究进展和可能调控机制展开讨论。此外,还将讨论受m6A甲基化修饰影响的血管性认知功能障碍的潜在危险因素包括高血压病、2型糖尿病、脂肪生成等,进一步了解m6A甲基化修饰与上述危险因素的关系,可能为治疗血管性认知功能障碍提供新的治疗策略。

1 m6A 甲基化修饰

1.1 m6A 甲基化修饰的概述

甲基化修饰可在核酸(DNA, RNA)和包括组蛋白在内的几种蛋白质中观察到,被认为是真核细胞中调控基因表达和蛋白结构的关键过程^[5]。其中m6A RNA甲基化修饰最早发现于20世纪70年代,是最丰富的转录后修饰之一,修饰RNA约占细胞总RNA水平的50%^[6]。同时,m6A甲基化修饰也是成人脑中含量最丰富的可逆mRNA修饰^[7]。近年来,随着测序技术的进步以及m6A特异性抗体的可获得性,对m6A在酵母、植物和哺乳动物的减数分裂和细胞分化等基本细胞过程中的调控过程有了较多发现^[8]。其中meRIP-seq技术发现这种甲基化修饰主要分布在mRNA的编码区、终止密码子附近和3'非编码区(3' Untranslated region, 3'UTR)^[9]。

与m6A密切相关的三种蛋白包括甲基化转移酶(Writers)、去甲基化酶(Eraser)以及识别和结合m6A标记的甲基化阅读蛋白(Readers)。甲基化转移酶主要包括甲基转移酶样蛋白(Methyltransferase like protein, METTL)3/14、RNA结合基序蛋白(RNA binding motif protein, RBM)15、CCCH型锌指蛋白13(Zinc finger CCCH domain-containing protein 13, ZC3H13)、肾母细胞瘤1关联蛋白(Recombinant wilms tumor 1 associated protein, WTAP)和vir样甲基转移酶(Vir like m6A methyltransferase associated, Virma)等^[10-11]。m6A甲基转移酶复合体催化甲基从供体底物S-腺苷蛋氨酸转移到受体RNA底物中的腺嘌呤核苷酸^[12]。METTL3和METTL14是主要的m6A甲基转移酶复合体。METTL3为催化亚基, METTL14负责底物识别,两者形成异源二聚体,保持复合体的完整性以及介导复合体对靶RNA的选择性沉积^[13]。另外,有研究发现METTL3、METTL14结合比单独提高METTL3或METTL14表达具有更高的甲基化转移酶活性^[14],表明两者具有协同效应。WTAP等辅助蛋白则负责维持各组分间的相互作用以及招募m6A甲基体,可能通过整合细胞信号通路的方式来调节

m6A 的沉积^[15-16]。去甲基化酶包括肥胖相关蛋白(Fat mass and obesity-associated protein, FTO)和 Alk B 同源蛋白 5 (Alk B homologue 5, ALKBH5)^[17-18],其减少或过表达均可影响 m6A RNA 甲基化水平。FTO 通过优先去甲基化 N6, 2'-O-二甲基腺苷(N6, 2'-O-dimethyladenosine, m6Am)并降低 m6Am mRNAs 的稳定性来下调甲基化水平^[19]。ALKBH5 则通过直接去除甲基化修饰后腺苷中的甲基完成相应的生理功能^[20]。YTHDF1 同源结构域蛋白[YTHDF1 homologous, YTHDF1(YTH)]家族的是目前已知的研究较多的 m6A 甲基化阅读蛋白。YTH 家族有 5 个已知成员,包括 YTH 结构域包含蛋白(YTH domain containing, YTHDC)1、YTH 结构域家族蛋白(YTH domain family protein, YTHDF)1、YTHDF2、YTHDF3 和 YTHDC2。其中 YTHDF1-3 高度同源,很大程度上与调节 mRNA 的稳定性、翻译和降解有关^[21-22]。YTHDC1 对于基因的剪切和 mRNA 的输出至关重要^[23]。YTHDC2 含有解旋酶结构域,可优先定位于核周区域,通过提高翻译效率和降低 m6A 的丰度来执行阅读蛋白的功能^[24-25]。除了 YTH 家族外,一些 RNA 结合蛋白包括人异质性胞核核糖核蛋白 C(Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C, HNRNPC)、人异质性胞核核糖核蛋白 G(Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein G, HNRNPG)、人异质性胞核核糖核蛋白 A2/B1(Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1, HNRNPA2B1)以及胰岛素样生长因子-2mRNA 结合蛋白 1-3(Insulin like growth factor 2 mRNA binding protein 1-3, IGF2BP1-3)也可以作为阅读蛋白而发挥其生物学功能^[26-27]。

1.2 m6A 甲基化修饰对中枢神经系统的影响

1.2.1 脑的发育

在哺乳动物的大脑中 m6A 甲基化修饰在神经发生发育过程中对神经前体细胞^[28]和成年神经干细胞^[29]的生长与分化必不可少。胚胎皮质发育涉及神经前体细胞分化为神经元亚型,然后迁移到不同的皮质板层的过程。m6A 甲基化在这个过程中可以促进与调控细胞周期、干细胞和神经元分化相关的 mRNAs 的消亡。Yoon 等发现在小鼠胚胎中 METTL14 的表达缺失可导致 m6A 缺失,进而引起神经前体细胞周期进程延长,细胞分化延迟,皮质神经发生延迟至出生阶段^[28]。另外,有研究证明 YTHDF2 的缺失可导致大脑皮层中神经干细胞的不对称分裂,从而影响小鼠大脑皮质的分化及发育而阻碍小鼠的存活^[30]。小脑发育过程也与 m6A 甲基化修饰密切相关,相关调节酶包括 METTL3、14 和 FTO^[31]。Wang 等观察到在敲除 METTL3 基因后小鼠小脑中促凋亡相关基因的 mRNA 半衰期延长,最终影响小脑的发育^[32]。Li 等发现 FTO 水平的下降减少了神经干细胞的增殖和分化,最终会导致小脑发育不良^[29]。这些结果均表明 m6A 甲基化修饰在哺乳动物中枢和外周神经系统的建立和发育中发挥重要作用。

1.2.2 学习和记忆

越来越多的动物实验证明 m6A 甲基化修饰对大脑学习及记忆功能有重要的调控作用。Zhang 等人发现特异性敲除 METTL3 的小鼠的记忆巩固能力下降,而过表达 MET-

TL3 可以增强小鼠的长时记忆能力^[33]。记忆形成还受到 FTO 的调控,有研究发现内侧前额叶皮质(Medial prefrontal cortex, mPFC)或海马 CA1 区中 FTO 水平的降低增高了 m6A 水平^[34],并增强了记忆的维持。另一项研究表明,YTHDF1 的缺失损害了海马突触的长期增强,导致记忆形成的损害^[35]。此外,纹状体神经元中的 METTL14 缺失可导致 m6A 甲基化减少,并损害小鼠的学习能力^[36]。

中脑的多巴胺能回路通过整合与激励价值和显著相关的感觉信息来支持奖赏学习^[37]。对 FTO 和 METTL14 敲除小鼠的研究揭示了 m6A 信号在调节纹状体多巴胺能神经元可塑性方面的关键作用。特异性 FTO 敲除小鼠表现为突触前多巴胺释放减少,中脑多巴胺信号减弱以及纹状体依赖性可卡因反应的减弱^[38]。METTL14 的细胞特异性缺失则损害了纹状体介导的学习、多巴胺信号传递和神经元兴奋性的改变^[36]。

1.2.3 应激反应

在急性和慢性压力下产生的应激反应在大脑中会影响神经传递和突触可塑性,甚至会影响认知功能的改变和情绪精神行为的变化^[39-40]。最近的研究显示,应激反应可对 m6A 甲基化修饰产生显著影响。Engel 等^[41]通过对急性束缚应激后小鼠的研究发现小鼠 RNA 甲基化修饰水平在杏仁核增高,而在内侧前额叶皮质中降低;该研究也发现海马及大脑皮层神经元 METTL3 和 FTO 的基因缺失会增强小鼠在记忆消退过程中的恐惧记忆,引发小鼠自发行为的改变。上述实验推测大脑中 m6A 甲基化修饰的动态改变也是调节与应激相关的行为适应学习的一种重要的转录机制。

1.2.4 轴突再生和髓鞘可塑性

轴突包裹在髓鞘中,电信号通过跳跃式传导在轴突中快速传播,主要是由少突胶质细胞实现的。少突胶质细胞由少突胶质前体细胞(Oligodendrocyte precursor cells, OPCs)发育而来,OPC 是成人脑中最大的分裂细胞,这一过程被认为是由神经元活动调节的^[42]。Xu 等研究发现对于出生早期小鼠,敲除 METTL14 会出现少突胶质细胞成熟度下降及髓鞘发育异常,导致小鼠胼胝体和视神经中的髓鞘变薄。在细胞实验中可观测到 METTL14 缺失导致的少突胶质细胞分化减少和细胞周期延长。从机制上讲,METTL14 缺失导致的少突胶质细胞的髓鞘减少可归因于 OPC 和少突胶质细胞的过度剪接,表明选择性剪接是 m6A 甲基化修饰控制少突胶质细胞发生分化的潜在机制^[43]。在外周神经中 m6A 甲基化修饰对轴突再生同样有重大意义。有研究表明在轴突损伤后可通过 YTHDF1 提高 m6A 甲基化修饰水平来促进蛋白质合成以加速轴突再生^[44]。

2 VCI 和 m6A 甲基化修饰

2.1 VCI 发病机制

VCI 的发病机制主要有以下几点,即 1)胆碱能系统:大脑的皮质、海马及大细胞基底核细胞的萎缩以及胆碱能传导通路的受损可以引起胆碱能系统的缺陷及学习记忆功能障碍,从而造成血管性痴呆患者记忆功能的障碍^[45];2)突触的改变:突触传递是记忆学习功能的生理基础^[46]。发生于脑

血管病后的脑组织缺血缺氧性损害可以诱发相关部位的突触结构或功能的改变,所以这可能是导致 VaD 患者学习、记忆功能障碍的原因之一;3)兴奋性氨基酸:脑缺血后兴奋性氨基酸释放过多,其中以谷氨酸释放最多,谷氨酸作用于突触后膜的 NMDA 受体,使钙离子内流,胞内钙超载,产生一系列病理反应^[47],引起突触间信息传递障碍,导致学习记忆功能缺损;4)氧化应激^[48]:脑缺血时会产生氧化应激过程,产生过量自由基,自由基由于连锁反应而发生的急速蓄积,进一步攻击其他细胞的生物膜结构,造成细胞的坏死;5)炎性机制:脑缺血后的炎性反应是 1 个连锁过程,与再灌注损伤、钙超载循环进展有关;大量研究证明,与脑缺血有关的急性炎性反应促进了继发性脑损伤的发展^[49]。

2.2 m6A 甲基化修饰作用于发病机制的途径

2.2.1 m6A 甲基化修饰对海马、皮层的影响

成年新生神经元的产生及其与海马回路的整合被认为在学习和记忆中起着重要作用^[50-51]。m6A 甲基化修饰对上述两方面的调控必不可少。Li 等研究者通过免疫荧光染色发现 FTO 在小鼠成体神经干细胞(Adult neural stem cells, ANSCs)及成熟神经元中高表达;FTO 的丧失显著降低侧脑室下区和海马齿状回颗粒细胞下区的 ANSCs 的增殖和分化,小鼠表现出空间学习及记忆受损^[29]。Walters 的研究发现则相反,他们观测到 FTO 高表达于小鼠海马 CA1 背侧神经元的核、树突和树突附近,而关联调节恐惧会降低这些神经元的 FTO 水平。后期实验中他们特异性减少了 FTO,小鼠则出现了记忆增强的表现^[34]。与这一观点一致的是 Widagdo 最近的一项研究发现,在小鼠的听觉线索恐惧记忆形成过程中 mPFC 中 mRNA 的 m6A 甲基化修饰水平升高,靶向敲除 mPFC 中的 FTO 可导致了线索恐惧记忆的强化^[52]。上述实验均可证实 FTO 在与海马相关的记忆形成的过程中有重要作用。其他辅助蛋白在记忆形成中同样可发挥不可缺少的作用。Zhang 等人在缺乏 METTL3 的小鼠中也评估了海马依赖的学习和记忆能力,这些小鼠海马结构虽然可以表现出正常的基础突触传递和短期可塑性,但出现了 LTP 受损、学习曲线减慢、长期空间记忆缺陷等表现^[33]。最近的一项研究还表明,METTL3 的缺失可下调组蛋白 H3 的第 27 个氨基酸上三甲基化(Trimethylation of lysine 27 on histone 3, H3K27me3)的水平,从而抑制体外培养的 ANSCs 的增殖和分化。H3K27me3 是成年海马神经发生和记忆所必需的^[53-54]。另外,有实验发现通过结合蛋白 YTHDF1,可以促进目标转录本的蛋白质翻译,以响应成年小鼠海马中的神经元刺激,从而促进学习和记忆;YTHDF1 基因缺失的小鼠则会表现出学习和记忆缺陷以及海马突触传递和长时程增强受损^[35]。另外,在对糖尿病小鼠的研究中有人发现 DM 啮齿动物模型存在海马结构损伤和神经元丢失,研究人员认为 m6A 修饰介导的海马神经元凋亡可能是糖尿病大鼠模型出现认知功能障碍的一种机制^[55]。除了海马以外,大脑皮质也参与了记忆的形成。在七氟醚对认知功能影响的药理研究中实验者发现通过下调 YTHDF1 可导致皮层神经元的蛋白质合成障碍,从而引发精细运动控制和认知功能的减退^[56]。本研究推测,m6A 甲基化修饰对海马及大脑皮质结

构及生理功能的影响可能是导致 VCI 认知功能减退的重要途径之一。

2.2.2 m6A 甲基化修饰对突触传递的影响

突触传递是神经系统发挥作用的生理学基础。SHI 等人的实验发现 YTHDF1 的缺失削弱了基础的兴奋性突触传递,降低了海马中树突棘的密度,并且发现该现象与突触可塑性相关的关键分子(包括谷氨酸受体亚单位和钙/钙调蛋白依赖性激酶 II(Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinases II, CaMKII))丰度的普遍降低相关^[35]。此外,Mercurjev 通过 RNA 甲基化测序(Methylated RNA immunoprecipitation sequencing, MERIP-SEP)的技术证明了几种 m6A 相关蛋白在突触的富集包括 METTL14, YTHDF1-3 以及 m6A 标记的多聚腺苷酸尾,揭示了 m6A 甲基化修饰的突触 RNA 对神经元功能有关键的调节作用。另外,敲除阅读器蛋白 YTHDF1 或 YTHDF3 将会引发神经元形态异常、突触传递减慢的现象,甚至出现脊髓形态改变等显著变化^[57]。综上所述,VCI 可能与 m6A 甲基化修饰导致的突触传递功能的变化相关。

2.2.3 m6A 甲基化修饰对脑梗死的影响

脑梗死是 VCI 发生的关键病因。短暂性局灶性脑缺血诱发的脑卒中会导致 FTO 表达水平的显著降低,从而上调皮层梗死周围区域的整体 m6A 水平^[58-59],其中介导细胞凋亡和炎症的转录本在缺血的大脑中被高度甲基化。Zhang 等研究发现 YTHDC1 通过促进 10 号染色体上缺失的磷酸酶与张力蛋白同源物(Phosphatase and tensin homolog, Pten)mRNA 的降解对缺血性脑损伤起到保护作用^[60]。对脑外伤的老鼠的研究发现脑损伤降低了啮齿类动物中 METTL3, METTL14 和 FTO 的表达水平,从而导致海马 m6A 甲基化修饰水平的整体下降^[61-62]。

脑梗死后出现的炎症反应是 VCI 发生的关键病理机制^[49]。过度的炎症会引发免疫紊乱,导致后续严重的组织损伤^[63]。有实验证实 METTL3 和 YTHDF2 可通过抑制相关信号通路来减轻炎症反应^[64-65]。Yu 的实验发现在脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)刺激的小鼠巨噬细胞的炎症反应中 YTHDF2 mRNA 水平在前 6 h 显著升高,然后下降。此外,研究者还证明了 YTHDF2 通过 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)信号通路、p65 核因子- κ B(p65 nuclear factor kappa B, p65 NF- κ B)信号通路和细胞外调节蛋白激酶(Extracellular regulated protein kinases, ERK)信号通路来降低小鼠巨噬细胞中炎症细胞因子的表达水平^[64]。另有研究报道,METTL3 可通过抑制人牙髓细胞(Human dental pulp cell, HDPC)的丝裂原活化蛋白激酶和 NF- κ B 信号通路来抑制脂多糖刺激下的炎症反应^[65]。基于这些证据,本研究可以推测 m6A 通过调节炎症反应信号通路来影响血管性认知功能障碍的发生发展。

2.3 m6A 甲基化修饰和危险因素

血管性认知功能障碍的危险因素包括高血压病、糖尿病、高脂血症、心脏病、脑小血管病变、动脉粥样硬化等^[66], m6A 可能通过对危险因素产生的作用来影响 VCI 的发病与进展。

2.3.1 m6A 甲基化修饰与高血压病

高血压病是一种严重的慢性疾病,因为持续的高血压会对心脏和肾脏等靶器官产生负面影响,与心脑血管疾病密切相关^[67]。Wu 等采用高通量测序检测高血压大鼠血管周细胞的 m6A 甲基化水平,结果表明与正常威斯达大鼠周细胞相比,高血压大鼠 m6A 甲基化在 mRNA 的编码序列 3'-UTR 和 5'-UTR 中更为丰富,由此推测高血压病的发病机制可能与微血管中周细胞的 m6A 甲基化水平的改变有关^[68]。Mo 等人表明 m6A 在血压的调节中起着至关重要的作用^[69]。遗传变异通过改变靶位点的 RNA 序列来影响 m6A 的表达,这被称为 m6A 相关的单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)^[70]。全基因组关联研究(Genome-wide association study, GWAS)发现许多与 m6A 相关的 SNPs,通过影响相关基因的表达[如 1 号染色体开放阅读框 167 (Chromosome 1 open reading frame 167, C1orf167)、类端粒沉默干扰体 1(Disruptor of telomeric silencing 1-like, DOTIL)]而导致血压升高^[69]。

2.3.2 m6A 甲基化修饰与糖尿病

2 型糖尿病(Type 2 diabetes mellitus, T2DM)是以糖代谢紊乱和高血糖为特征的一种常见的代谢性疾病^[71],是血管性认知功能障碍的危险因素。既往研究发现,m6A 甲基化修饰与 2 型糖尿病密切相关,2 型糖尿病患者和大鼠的 mRNA 中总 m6A 的水平明显低于对照组,并且发现 m6A 的低水平与 FTO 的表达增加有关^[72]。Jesus 在对 T2DM 患者胰岛细胞的研究中发现,m6A 甲基化修饰在 β 细胞中显著减少,为 m6A 控制胰岛细胞的分泌功能提供了证据。随后的通路分析表明,低 m6A 水平下调胰岛素样生长因子-1/蛋白激酶 B/胰十二指肠同源框-1(Insulin-like growth factors-1/Serine-threonine kinase/Pancreatic and duodenal homeobox 1, IGF1/AKT/PDX)通路,从而损害胰岛素的分泌^[73]。实验研究发现 T2DM 患者肝组织中 METTL3 表达及 m6A 甲基化修饰和 METTL3 水平高于无糖尿病个体,且与胰岛素抵抗指数(Homeostasis model assessment-IR, homa-IR)呈正相关,与 β 细胞功能(Homeostasis model assessment- β , HOMA- β)呈负相关;敲除 METTL3 可改善小鼠胰岛素敏感性,抑制脂肪酸合成^[74]。另有一项研究表明 T2DM 患者中 FTO 水平升高诱导了叉头框蛋白 O1(Forkhead box O1, FOXO1)、葡萄糖-6-磷酸酶催化亚基(Glucose-6-phosphatase catalytic subunit, G6PC)和二酰基甘油 O-酰基转移酶 2(Diacylglycerol O-acyltransferase 2, DGAT2)等糖异生相关基因的表达,促进了糖异生导致血糖水平升高^[75]。上述实验均提示 m6A 在 T2DM 发病中起重要作用。

2.3.3 m6A 甲基化修饰与脂肪代谢

大量研究表明,m6A 广泛参与脂肪生成的各个方面。Mo 等^[76]在对超过 18 万名欧洲后裔的全基因组关联研究中发现许多 SNP 与 TG(Triglyceride)、总胆固醇(Total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(High density lipoprotein cholesterol, HDLC)和低密度脂蛋白胆固醇(Low density lipoprotein cholesterol, LDLC)水平相关,其中有部分表现出与 HDLC 和 TG 水平显著相关。FTO 可以通过调节剪接位

点附近 m6A 的水平来控制成脂调节因子 RNA 的剪接,从而影响前脂肪细胞的分化^[77]。肝脏是内源性脂质生成的主要部位,在脂质生成与代谢过程中发挥着关键作用。LPS 可引起肝脏脂质过量沉积,从而导致脂质代谢紊乱。近来有研究发现,姜黄素可引起小型猪模型肝脏中 METTL3 和 METTL14 水平的升高及 ALKBH5、FTO 和 YTHDF2 水平的降低,使 m6A 甲基化水平增高,降低血浆中的天冬氨酸氨基转移酶和乳酸脱氢酶水平,改善 LPS 诱导的肝脏脂代谢紊乱和肝脏损伤^[78]。Jia 等^[79]人发现 LPS 可通过 FTO 介导的 m6A 甲基化,促进肝脏 TG 蓄积,而过表达 METTL3 可抑制过氧化物酶体增殖物激活受体 α (Peroxisome proliferators-activated receptor α , PPAR α)表达,降低 TG 水平。还有人发现 m6A 甲基化修饰水平的升高可调控 PPAR α mRNA 的稳定性和半衰期,引起与昼夜节律变化相关所致的脂代谢紊乱。这些发现进一步揭示了 m6A 在脂质代谢中的重要作用^[80]。

3 总结和展望

随着表观遗传学的兴起,人类对疾病的认知深入到分子 RNA 水平。m6A 甲基化修饰是人体含量丰富的 RNA 修饰模式之一,目前已被揭示在肿瘤、代谢性疾病、心脑血管疾病等多方面有关重要的潜在相关性,而关于 m6A 甲基化修饰在中枢神经中的可能作用机制和调控途径的研究则相对不足。本研究推测 m6A 甲基化修饰对大脑的发育、大脑记忆和学习能力、应激状态及轴突和突触结构和传导等有调控作用。血管性认知功能障碍的发生发展机制主要与大脑皮质和海马的细胞结构和胆碱能通路、突触的改变、兴奋性氨基酸、氧化应激、炎症等方面有关;通过对相关文献的搜索及总结,本研究推测 m6A 甲基化修饰主要通过调控海马和皮质的结构和功能、影响突触传递及炎症反应来介导血管性认知功能障碍的发生和进展。

目前关于 m6A 修饰在血管认知功能障碍中的作用途径仍有一些问题需要探讨,包括脑内不同细胞层中 m6A 甲基化修饰的影响是否有差异;神经元可塑性是否会随疾病进展反馈调节 m6A 甲基化修饰以及 m6A 甲基化修饰对神经递质传导通路影响仍不明确,这些问题仍等待去探索发现。随着检测技术的发展,已经涌现出更多关于 m6A 甲基化修饰的研究,这对于探索更多神经系统疾病的发生发展机制提供了更大的可能和必要的帮助。

参 考 文 献

- [1] 2019 年中国血管性认知障碍诊治指南[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(35):2737-2744.
- [2] Han Y, Zhou A, Li F, et al. Apolipoprotein E ϵ 4 allele is associated with vascular cognitive impairment no dementia in Chinese population[J]. J Neurol Sci, 2020, 409:116606.
- [3] 祝铁军,刘彬,于美婷,等. 非痴呆型血管性认知功能障碍的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(20):3990-3992, 4000.
- [4] Goodman RA, Lochner KA, Thambisetty M, et al. Prevalence of dementia subtypes in United States Medicare fee-for-

- service beneficiaries, 2011-2013 [J]. *Alzheimers Dement*, 2017, 13(1): 28-37.
- [5] Moore LD, Le T, Fan G. DNA methylation and its basic function[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2013, 38(1): 23-38.
 - [6] Tuncel G, Kalkan R. Importance of m N(6)-methyladenosine (m(6)A) RNA modification in cancer[J]. *Med Oncol*, 2019, 36(4): 36.
 - [7] Chang M, Lv H, Zhang W, et al. Region-specific RNA m(6) A methylation represents a new layer of control in the gene regulatory network in the mouse brain[J]. *Open Biol*, 2017, 7 (9): 170166.
 - [8] Yue Y, Liu J, He C. RNA N6-methyladenosine methylation in post-transcriptional gene expression regulation[J]. *Genes Dev*, 2015, 29(13): 1343-1355.
 - [9] Meyer KD, Saletore Y, Zumbo P, et al. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons[J]. *Cell*, 2012, 149(7): 1635-1646.
 - [10] Meyer KD, Jaffrey SR. The dynamic epitranscriptome: N6-methyladenosine and gene expression control[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(5): 313-326.
 - [11] Balacco Dario L, SollerMatthias. The mA writer: rise of a Machine for growing tasks[J]. *Biochemistry*, 2019, 58(5): 363-378.
 - [12] Bokar JA, Shambaugh ME, Polayes D, et al. Purification and cDNA cloning of the AdoMet-binding subunit of the human mRNA (N6-adenosine)-methyltransferase [J]. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997, 3(11):1233-47.
 - [13] Wang P, Doxtader KA, Nam Y. Structural basis for cooperative function of mettl3 and mettl14 methyltransferases[J]. *Mol Cell*, 2016, 63(2): 306-317.
 - [14] Liu J, Yue Y, Han D, et al. A METTL3-METTL14 complex mediates mammalian nuclear RNA N6-adenosine methylation [J]. *Nat Chem Biol*, 2014, 10(2): 93-95.
 - [15] Balacco DL, Soller M. The m(6)A writer: rise of a machine for growing tasks[J]. *Biochemistry*, 2019, 58(5): 363-378.
 - [16] LivnehIdo, Moshitch-Moshkovitz Sharon, Amariglio Ninette, et al. The mA epitranscriptome: transcriptome plasticity in brain development and function[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2020, 21(1): 36-51.
 - [17] Jia G, Fu Y, Zhao X, et al. N6-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO[J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 7(12): 885-887.
 - [18] Zheng G, Dahl JA, Niu Y, et al. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility[J]. *Mol Cell*, 2013, 49(1): 18-29.
 - [19] Mauer J, Luo X, Blanjoie A, et al. Reversible methylation of m6Am in the 5' cap controls mRNA stability[J]. *Nature*, 2017, 541(7637): 371-375.
 - [20] Chen W, Zhang L, Zheng G, et al. Crystal structure of the RNA demethylase ALKBH5 from zebrafish[J]. *FEBS Lett*, 2014, 588(6): 892-898.
 - [21] Shi Hailing, Wang Xiao, Lu Zhike, et al. YTHDF3 facilitates translation and decay of N-methyladenosine-modified RNA[J]. *Cell Res*, 2017, 27(3): 315-328.
 - [22] Li Ang, Chen Yusheng, Ping Xiaoli, et al. Cytoplasmic mA reader YTHDF3 promotes mRNA translation[J]. *Cell Research*, 2017, 27(3): 444-447.
 - [23] Huang Huilin, Weng Hengyou, Chen Jianjun, mA Modification in Coding and Non-coding RNAs: Roles and Therapeutic Implications in Cancer[J]. *Cancer Cell*, 2020, 37(3): 270-288.
 - [24] Hsu Phillip J, Zhu Yunfei, MaHonghui, et al. Ythdc2 is an N-methyladenosine binding protein that regulates mammalian spermatogenesis[J]. *Cell Res*, 2017, 27(9): 1115-1127.
 - [25] Wojtas Magdalena Natalia, Pandey Radha Raman, Mendel Mateusz, et al. Regulation of mA Transcripts by the 3'→5' RNA Helicase YTHDC2 Is Essential for a Successful Meiotic Program in the Mammalian Germline[J]. *Mol Cell*, 2017, 68 (2): 374-387, e12.
 - [26] BerlivetSoizik, ScutenaireJérémy, Deragon Jean-Marc, et al. Readers of the mA epitranscriptomic code[J]. *BiochimBiophys Acta Gene Regul Mech*, 2019, 1862(3): 329-342.
 - [27] Huang H, Weng H, Sun W, et al. Recognition of RNA N6-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation[J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(3): 285-295.
 - [28] Yoon Ki-Jun, Ringeling Francisca Rojas, Vissers Caroline, et al. Temporal Control of Mammalian Cortical Neurogenesis by mA Methylation[J]. *Cell*, 2017, 171(4): 877-889, e17.
 - [29] Li L, Zang L, Zhang F, et al. Fat mass and obesity-associated (FTO) protein regulates adult neurogenesis[J]. *Hum Mol Genet*, 2017, 26(13): 2398-2411.
 - [30] Li Miaomiao, Zhao Xu, Wang Wei, et al. Ythdf2-mediated mA mRNA clearance modulates neural development in mice [J]. *Genome Biol*, 2018, 19(1): 69.
 - [31] Ma C, Chang M, Lv H, et al. RNA m(6)A methylation participates in regulation of postnatal development of the mouse cerebellum[J]. *Genome Biol*, 2018, 19(1): 68.
 - [32] Wang CX, Cui GS, Liu X, et al. METTL3-mediated m6A modification is required for cerebellar development[J]. *PLoS Biol*, 2018, 16(6): e2004880.
 - [33] Zhang Z, Wang M, Xie D, et al. METTL3-mediated N(6)-methyladenosine mRNA modification enhances long-term memory consolidation[J]. *Cell Res*, 2018, 28(11): 1050-1061.
 - [34] Walters BJ, Mercaldo V, Gillon CJ, et al. The role of the RNA demethylase FTO (fat mass and Obesity-Associated) and mRNA methylation in hippocampal memory formation [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2017, 42(7): 1502-1510.
 - [35] Shi Hailing, Zhang Xuliang, Weng Yilan, et al. mA facilitates hippocampus-dependent learning and memory through YTHDF1[J]. *Nature*, 2018, 563(7730): 249-253.
 - [36] Koranda JL, Dore L, Shi H, et al. Mettl14 is essential for epitranscriptomic regulation of striatal function and learning[J]. *Neuron*, 2018, 99(2): 283-292, e5.
 - [37] Bromberg-Martin Ethan S, Matsumoto Masayuki, Hikosaka Okihide, et al. Dopamine in motivational control: rewarding, aversive, and alerting[J]. *Neuron*, 2010, 68(5): 815-834.
 - [38] Hess ME, Hess S, Meyer KD, et al. The fat mass and obesity associated gene (Fto) regulates activity of the dopaminergic midbrain circuitry[J]. *Nat Neurosci*, 2013, 16(8): 1042-1048.
 - [39] Popoli M, Yan Z, Mcewen BS, et al. The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2011, 13(1): 22-37.

- [40] Radley J, Morilak D, Viau V, et al. Chronic stress and brain plasticity: Mechanisms underlying adaptive and maladaptive changes and implications for stress-related CNS disorders[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2015, 58:79-91.
- [41] Engel M, Eggert C, Kaplick PM, et al. The role of m(6)A/mRNA methylation in stress response regulation[J]. *Neuron*, 2018, 99(2): 389-403. e9.
- [42] Gibson EM, Purger D, Mount CW, et al. Neuronal activity promotes oligodendrogenesis and adaptive myelination in the mammalian brain[J]. *Science*, 2014, 344(6183): 1252304.
- [43] Xu H, Dzhashiashvili Y, Shah A, et al. m(6)A mRNA methylation is essential for oligodendrocyte maturation and CNS myelination[J]. *Neuron*, 2020, 105(2): 293-309. e5.
- [44] Weng Yilan, Wang Xu, An Ran, et al. Epitranscriptomic mA Regulation of Axon Regeneration in the Adult Mammalian Nervous System[J]. *Neuron*, 2018, 97(2): 313-325. e6.
- [45] Kalaria RN, Akinyemi R, Ihara M. Stroke injury, cognitive impairment and vascular dementia[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1862(5): 915-925.
- [46] Nyberg F. Structural plasticity of the brain to psychostimulant use[J]. *Neuropharmacology*, 2014, 87:115-124.
- [47] Kowiański P, Lietzau G, Czuba E, et al. BDNF: A key factor with multipotent impact on brain signaling and synaptic plasticity[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2018, 38(3): 579-593.
- [48] Liu H, Zhang JJ. Cerebral hypoperfusion and cognitive impairment: the pathogenic role of vascular oxidative stress[J]. *International Journal of Neuroscience*, 2012, 122(9): 494-499.
- [49] Iadecola C. The pathobiology of vascular dementia[J]. *Neuron*, 2013, 80(4): 844-866.
- [50] Deng W, Aimone JB, Gage FH. New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory?[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2010, 11(5): 339-350.
- [51] Christian KM, Song H, Ming GL. Functions and dysfunctions of adult hippocampal neurogenesis[J]. *Annu Rev Neurosci*, 2014, 37(1): 243-262.
- [52] Widagdo J, Zhao QY, Kempen MJ, et al. Experience-Dependent accumulation of N6-Methyladenosine in the prefrontal cortex is associated with memory processes in mice[J]. *J Neurosci*, 2016, 36(25): 6771-6777.
- [53] Chen Junchen, Zhang Yichang, Huang Chunmin, et al. m6A regulates neurogenesis and neuronal development by modulating histone methyltransferase Ezh2 [J]. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 2019, 17(2):154-168.
- [54] Zhang J, Ji F, Liu Y, et al. Ezh2 regulates adult hippocampal neurogenesis and memory[J]. *J Neurosci*, 2014, 34(15): 5184-5199.
- [55] Song Y, Wang Q, Li L, et al. Comprehensive epigenetic analysis of m6A modification in the hippocampal injury of diabetic rats[J]. *Epigenomics*, 2020, 12(20): 1811-1824.
- [56] Zhang L, Cheng Y, Xue Z, et al. Sevoflurane impairs m6A-mediated mRNA translation and leads to fine motor and cognitive deficits [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2021, Doi: 10.1007/s10565-021-09601-4.
- [57] Merkurjev Daria, Hong Wanting, Iida Kei, et al. Synaptic N-methyladenosine (mA) epitranscriptome reveals functional partitioning of localized transcripts[J]. *Nat Neurosci*, 2018, 21(7): 1004-1014.
- [58] Xu K, Mo Y, Li D, et al. N6-methyladenosine demethylases Alkbh5/Fto regulate cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Ther Adv Chronic Dis*, 2020, 11. Doi: 10.1177/2040622320916024.
- [59] Chokkalla Anil K, Mehta Suresh L, KimTae Hee, et al. Transient focal ischemia significantly alters the mA epitranscriptomic tagging of RNAs in the brain[J]. *Stroke*, 2019, 50(10): 2912-2921.
- [60] Zhang Z, Wang Q, Zhao X, et al. YTHDC1 mitigates ischemic stroke by promoting Akt phosphorylation through destabilizing PTEN mRNA[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(11): 977.
- [61] Wang Y, Mao J, Wang X, et al. Genome-wide screening of altered m6A-tagged transcript profiles in the hippocampus after traumatic brain injury in mice[J]. *Epigenomics*, 2019, 11(7): 805-819.
- [62] Yu J, Zhang Y, Ma H, et al. Epitranscriptomic profiling of N6-methyladenosine-related RNA methylation in rat cerebral cortex following traumatic brain injury[J]. *Mol Brain*, 2020, 13(1): 11.
- [63] Park SB, Park GH, Um Y, et al. Wood-cultivated ginseng exerts anti-inflammatory effect in LPS-stimulated RAW264.7 cells[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 116:327-334.
- [64] Yu R, Li Q, Feng Z, et al. m6A reader YTHDF2 regulates LPS-Induced inflammatory response[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(6): 1323.
- [65] Feng Z, Li Q, Meng R, et al. METTL3 regulates alternative splicing of MyD88 upon the lipopolysaccharide-induced inflammatory response in human dental pulp cells[J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(5): 2558-2568.
- [66] Iadecola C, Duering M, Hachinski V, et al. Vascular cognitive impairment and dementia: JACC scientific expert panel [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73(25): 3326-3344.
- [67] Han M, Li Q, Liu L, et al. Prehypertension and risk of cardiovascular diseases: a meta-analysis of 47 cohort studies[J]. *J Hypertens*, 2019, 37(12): 2325-2332.
- [68] Wu Q, Yuan X, Han R, et al. Epitranscriptomic mechanisms of N6-methyladenosine methylation regulating mammalian hypertension development by determined spontaneously hypertensive rats pericytes[J]. *Epigenomics*, 2019, 11(12): 1359-1370.
- [69] Mo Xingbo, Lei Shufeng, Zhang Yonghong, et al. Examination of the associations between mA-associated single-nucleotide polymorphisms and blood pressure[J]. *Hypertens Res*, 2019, 42(10): 1582-1589.
- [70] Zheng Y, Nie P, Peng D, et al. m6AVar: a database of functional variants involved in m6A modification[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D139-D145.
- [71] Gilbert ER, Liu D. Epigenetics: the missing Link to understanding β -cell dysfunction in the pathogenesis of type 2 diabetes[J]. *Epigenetics*, 2012, 7(8): 841-852.
- [72] Shen F, Huang W, Huang JT, et al. Decreased N(6)-methyladenosine in peripheral blood RNA from diabetic patients is associated with FTO expression rather than ALKBH5[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100(1): E148-E154.
- [73] De Jesus DF, Zhang Z, Kahraman S, et al. m(6)A mRNA methylation regulates human β -Cell biology in physiological

states and in type 2 diabetes[J]. *Nat Metab*, 2019, 1(8): 765-774.

- [74] Xie W, Ma LL, Xu YQ, et al. METTL3 inhibits hepatic insulin sensitivity via N6-methyladenosine modification of Fasn mRNA and promoting fatty acid metabolism[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 518(1): 120-126.
- [75] Yang Y, Shen F, Huang W, et al. Glucose is involved in the dynamic regulation of m6A in patients with type 2 diabetes[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2019, 104(3): 665-673.
- [76] Mo Xingbo, Lei Shufeng, Zhang Yonghong et al. Genome-wide enrichment of mA-associated single-nucleotide polymorphisms in the lipid loci[J]. *Pharmacogenomics J*, 2019, 19: 347-357.
- [77] Zhao X, Yang Y, Sun BF, et al. FTO-dependent demethylation of N6-methyladenosine regulates mRNA splicing and is required for adipogenesis[J]. *Cell Res*, 2014, 24(12): 1403-

1419.

- [78] Lu Na, Li Xingmei, Yu Jiayao, et al. Curcumin attenuates lipopolysaccharide-induced hepatic lipid metabolism disorder by modification of m6A RNA methylation in piglets[J]. *Lipids*, 2018, 53(1): 53-63.
- [79] Jia X, Nie Q, Lamont SJ, et al. Variation in sequence and expression of the avian FTO, and association with glucose metabolism, body weight, fatness and body composition in chickens[J]. *Int J Obes (Lond)*, 2012, 36(8): 1054-1061.
- [80] Zhong Xiang, Yu Jiayao, Frazier Katya, et al. Circadian clock regulation of hepatic lipid metabolism by modulation of m6A mRNA methylation[J]. *Cell Rep*, 2018, 25(7): 1816-1828, e4.

(2021-08-31 收稿)

(上接第 283 页)

- [35] Perez DN, Sobrino T, Silva Y, et al. Iron related brain damage in patients with intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 2010, 41(4): 810-813.
- [36] Shi H, Zheng K, Su Z, et al. Sinomenine enhances microglia M2 polarization and attenuates inflammatory injury in intracerebral hemorrhage[J]. *Neuroimmunology*, 2016, 299(1): 28-34.
- [37] Zhao F, Xi G, Liu W, et al. Minocycline attenuates Iron-Induced brain injury[J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2016, 121: 361-365.
- [38] Wu ZH, Zou X, Zhu W, et al. Minocycline is effective in intracerebral hemorrhage by inhibition of apoptosis and autophagy[J]. *J Neurol Sci*, 2016, 371: 88-95.
- [39] Chang JJ, Kim-Tenser M, Emanuel BA, et al. Minocycline and matrix metalloproteinase inhibition in acute intracerebral hemorrhage: a pilot study[J]. *European Journal of Neurology*, 2017, 24(11): 1384-1391.
- [40] Selim M. Deferoxamine mesylate in patients with intracerebral haemorrhage (i-DEF): multicentre, randomised, placebo-controlled, double-blind phase 2 trial[J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(5): 428-438.
- [41] Nakae S, Iikura M, Suto H, et al. TIM-1 and TIM-3 enhancement of Th2 cytokine production by mast cells[J]. *Blood*, 2007, 110(7): 2565-2568.
- [42] Anderson AC, Anderson DE, Bregoli L, et al. Promotion of tissue inflammation by the immune receptor Tim-3 expressed

on innate immune cells[J]. *Science*, 2007, 318(5853): 1141-1143.

- [43] Ndhlovu LC, Lopez-Verges S, Barbour JD, et al. Tim-3 marks human natural killer cell maturation and suppresses cell-mediated cytotoxicity[J]. *Blood*, 2012, 119(16): 3734-3743.
- [44] Liu X, You J, Zhao D, et al. Dysregulated expression of T cell immunoglobulin and mucin domain 3 is associated with the disease severity and the outcome of patients with spontaneous intracerebral hemorrhage[J]. *Clin Biochem*, 2013, 46(15): 1502-1508.
- [45] Yu AY, Zhang XJ, Li M, et al. Tim-3 enhances brain inflammation by promoting M1 macrophage polarization following intracerebral hemorrhage in mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 53: 143-148.
- [46] Tao X, Xie L, Duan C, et al. Up-Regulation of interferon regulatory factor 3 involves in neuronal apoptosis after intracerebral hemorrhage in adult rats[J]. *Neurochem Res*, 2016, 41(11): 2937-2947.
- [47] Smits HH, Van Beelen AJ, Hessel C, et al. Commensal gram-negative bacteria prime human dendritic cells for enhanced IL-23 and IL-27 expression and enhanced Th1 development[J]. *Eur J Immunol*, 2004, 34(5): 1371-1380.
- [48] Zhao X, Ting SM, Liu CH, et al. Neutrophil polarization by IL-27 as a therapeutic target for intracerebral hemorrhage[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 602.

(2021-09-09 收稿)