

网络出版时间: 2024-07-02 16:18:28 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20240702.1451.029>

m⁶A 甲基化与脑缺血再灌注相关性的研究进展

王亚敏^{1,2}, 阮晓迪¹, 吕 转², 高 静² 综述 冯晓东² 审校

摘要 缺血性脑卒中是一种由多种原因导致脑部血管阻塞或供血不足致使脑组织损伤进而引起相应神经功能缺失症状的疾病,其高发病率和致残率严重影响人类的健康。m⁶A 甲基化修饰作为表观遗传修饰的一种,是 RNA 甲基化中最丰富的修饰,也是维持神经元正常功能的关键因素,在调控缺血性脑卒中的病理生理过程中发挥着重要的作用。该文通过概述 m⁶A 甲基化的甲基转移酶、去甲基化酶和 RNA 结合蛋白及其在缺血性脑卒中的作用,以期为进一步探索缺血性脑卒中的分子机制和治疗靶点提供新的视角。

关键词 m⁶A 甲基化; 脑缺血再灌注; 缺血性脑卒中

中图分类号 R 743.3

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)07-1289-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.07.029

缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)是一种由于脑的供血动脉狭窄或闭塞而导致脑供血不足致使相应区域神经功能受损,进而出现该区域主导的功能障碍为特征的一系列脑血管疾病^[1]。目前,临床上对急性 IS 的治疗主要是静脉注射重组组织型纤溶酶原激活剂或施行血管内血栓切除术^[2]。然而,由

于闭塞血管的再通不可避免会引发脑的二次损伤,即脑缺血再灌注损伤,因此,从新角度探索其发展机制,是目前亟待解决的关键问题。

m⁶A 甲基化作为最常见的表观遗传修饰之一,其甲基化过程主要受甲基转移酶(Writers)、去甲基化酶(Erasers)和 RNA 结合蛋白(Readers)的调节。研究^[3]显示, Writers、Erasers 和 Readers 的失调与 IS 的发生和转化密切相关。因此,该文探讨了 m⁶A 甲基化在 IS 后的生理和病理作用,以期深入了解 IS 的机制和探索新的治疗靶点提供思路。

1 m⁶A 甲基化概述

m⁶A 甲基化是一种在 RNA 腺嘌呤的第 6 号氮原子上的单甲基化修饰^[4]。目前,有关 m⁶A 甲基化的研究方法主要有高通量测序技术检测 m⁶A 的表观遗传修饰,免疫印迹法对样品中的 DNA、RNA 及蛋白质样品进行半定量测定,高效液相色谱技术测定 RNA 中 m⁶A 的甲基化程度,高分辨率溶解技术对 RNA 上特定位点的 m⁶A 修饰进行定量分析^[5]。研究人员通过利用现有技术发现 m⁶A 甲基化修饰与 Writers、Erasers、Readers 三种蛋白相关,其中 Writers 负责将甲基基团写入 RNA 中, Erasers 负责将 RNA 上的甲基基团擦除,提供去甲基化的效果, Readers 则通过特异性识别 m⁶A 甲基化的碱基位点,调节 RNA 易位、剪切、出核、翻译、稳定和降解^[6],三者相互协调动态调节真核生物转录组。

1.1 Writers 及其功能 Writers 是一类能够催化腺嘌呤碱基位点甲基化修饰的关键蛋白,其作用是

2024-02-26 接收

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(编号: 82174473); 国家自然科学基金联合项目(编号: U2004131); 国家中医药管理局科研项目(编号: 2022KYCX054); 河南省科技研发计划联合基金(编号: 222301420064)

作者单位: ¹河南中医药大学康复医学院, 郑州 450046

²河南中医药大学第一附属医院康复中心, 郑州 450000

作者简介: 王亚敏, 女, 硕士研究生;

冯晓东, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: fxd0502@163.com

[28] 马 岩, 王中江, 杨靖瑜, 等. 动物双歧杆菌乳亚种 XLTG11 对葡聚糖硫酸钠诱导小鼠溃疡性结肠炎的缓解作用[J]. 食品科学 2022, 43(17): 164-73.

[29] 钟世顺, 梁 玮, 许炎钦, 等. 双歧杆菌对结肠癌细胞 DLD-4 增殖、侵袭及迁移的影响[J]. 中国现代医药杂志 2023, 25(4): 6-9.

[30] Sivan A, Corrales L, Hubert N, et al. Commensal bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy[J]. Science 2015, 350(6264): 1084-9.

[31] 张殿龙, 詹 学. 粪菌移植治疗艰难梭菌属感染新进展[J]. 儿科药理学杂志 2023, 29(8): 63-6.

[32] Rosshart S P, Vassallo B G, Angeletti D, et al. Wild mouse gut microbiota promotes host fitness and improves disease resistance[J]. Cell 2017, 171(5): 1015-28.

[33] Yu H, Li X X, Han X, et al. Fecal microbiota transplantation inhibits colorectal cancer progression: Reversing intestinal microbial dysbiosis to enhance anti-cancer immune responses[J]. Front Microbiol 2023, 14: 1126808.

[34] Bell H N, Rebernick R J, Goyert J, et al. Reuterin in the healthy gut microbiome suppresses colorectal cancer growth through altering redox balance[J]. Cancer Cell 2021, 40(2): 185-200.

将具有活性的甲基底物与腺苷酸第6位的含氮碱基结合形成 m^6A , 进而上调 RNA 甲基化水平的过程^[4]。Writers 的核心蛋白包括: 甲基转移酶样蛋白 3 (methyltransferase-like 3, METTL3)、甲基转移酶样蛋白 14 (methyltransferase-like 14, METTL14)、I 型 Wilms 肿瘤相关蛋白 (Wilms tumor 1-associated protein, WTAP)、病毒样 m^6A 甲基转移酶相关蛋白 (virus-like m^6A methyltransferase-associated protein, VIRMA)、RNA 结合基序蛋白 15 (RNA binding motif protein 15, RBM15) 和含 13 的锌指 CCCH 型 (zinc finger CCCH-type containing 13, ZC3H13) 等^[7]。

METTL3 是一种 S-腺苷甲硫氨酸结合蛋白, 是 m^6A 甲基化的关键蛋白, 负责催化 RNA 中第6个氮原子的甲基化, 促进细胞质中的蛋白质翻译^[8]。而 METTL14 无催化功能, 主要用作底物结合的平台, 需要与 METTL3 结合形成异二聚体并识别 m^6A 特定序列^[9]。WTAP 是一种剪接调节因子, 其 N 端与 METTL3 的 N 端前导螺旋相互作用, 通过引导 METTL3-14 异二聚体定位到细胞核来促进 m^6A 甲基化。此外, 它能够稳定异源二聚体、定位核位点、促进 RNA 降解、调节细胞分化^[10]。VIRMA, 又称为 KIAA1429, 是甲基转移酶复合物的骨架, 主要影响 m^6A 在特定位置的安装, 可通过其 N 端招募甲基转移酶 METTL3-14/WTAP 复合物至特定 RNA 区域来调节 m^6A 甲基化水平^[11]。RBM15 和其同源物 RBM15B 含有 RNA 结合结构域, 可招募 Writers 复合体与 mRNA 特定位点结合^[11]。ZC3H13 能与 WTAP 结合促进甲基转移酶复合物在核中沉积并增强 m^6A 修饰^[7]。由此可知, 这些甲基转移酶在生物体内并不是独立的, 而是形成复合物共同发挥作用。

1.2 Erasers 及其功能

Erasers 主要负责去除甲基化基团并保持 m^6A 甲基化的动态可逆性, 脂肪量和肥胖相关蛋白 (fat mass and obesity associated protein, FTO)、 α -酮戊二酸依赖性双加氧酶 ALKB 同源物 5 (α -ketoglutarate-dependent dioxygenase alk B homolog 5, ALKBH5) 和 ALKB 同源物 3 (ALKB homolog 3, ALKBH3) 是目前已知的去甲基化酶^[7]。

FTO 是第1个被发现的去甲基化酶, 在哺乳动物大脑尤其是神经元中富集, 其对于维持大脑正常生理功能具有重要作用。FTO 去甲基化过程依赖 Fe^{2+} 和 2-酮戊二酸的催化, 先将其氧化为 N6-羟甲基腺苷, 进而氧化为 N6-甲酰腺苷, 从而实现 m^6A 的去甲基化^[12]。而 ALKBH5 是一种针对单链 RNA 的去甲基化酶, ALKBH5 去甲基化后, mRNA 聚集于细

胞核, 研究^[13]表明 ALKBH5 的缺失会导致 mRNA 易位至细胞质中, 因此 ALKBH5 可影响 mRNA 的出核输出。ALKBH3 作为一种新型去甲基化酶蛋白, 对 tRNA 具有更强的底物特异性, 可介导 tRNA 上 N6-腺苷酸甲基化、N1-腺苷酸甲基化和 3-甲基胞苷的去甲基化^[13]。

1.3 Readers 及其功能

m^6A 的 Writers 和 Erasers 功能之间的相互作用决定了 m^6A 修饰的动态和可逆调节, 然而对于不同的下游生物学功能是由 Readers 和 Anti-Readers 共同作用以识别特定的结合位点, 读取 RNA 甲基化修饰的信息, 指导并参与 RNA 代谢的各个阶段^[6]。RNA 结合蛋白主要包括胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 (insulin-like growth factor 2 mRNA-binding proteins, IGF2BPs)、YT521-B 结构域家族蛋白 1/2/3 (YTH521-B homology domain containing family protein 1/2/3, YTHDF 1/2/3) 和 YT521-B 结构域蛋白 1/2 (YTH domain containing protein 1/2, YTHDC 1/2), 以及异质核糖核蛋白 (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, HNRNP)^[7]。

IGF2BPs 通过提高 mRNA 的稳定性和翻译效率来调节基因的表达^[14]。而 YTHDC1 是细胞核内的主要识别蛋白, 参与 mRNA 的出核和剪切, YTHDC2 通过识别 m^6A 甲基化修饰来影响 mRNA 的稳定及翻译来发挥作用。YTHDF1 和 YTHDF3 促进 m^6A 修饰 mRNA 的翻译。YTHDF2 对 m^6A 进行选择识别并招募碳分解抑制剂, 以加速 mRNA 降解^[15]。HNRNP 位于细胞核中, 通过 4 个特殊的 RNA 结合结构域识别并结合 RNA 中的 m^6A 修饰区域, 从而改变目标 RNA 的结构和功能^[16]。

综上所述, m^6A 甲基化是一种动态可逆的表观遗传修饰方式, Writers、Erasers 和 Readers 可通过影响 RNA 的剪切、出核、翻译以及稳定性等过程调控 RNA 转录过程 (表 1)。

2 m^6A 甲基化在 IS 中的作用

IS 的病理生理过程涉及多种方式, 包括氧化应激、炎症反应、血管再生、铁死亡、线粒体自噬和细胞凋亡等^[17]。 m^6A 甲基化作为真核生物 RNA 最普遍的化学修饰, 在中枢神经系统中的含量比其他器官中的含量高, 针对 IS 的 m^6A 转录图谱显示, 脑缺血后总 RNA 的 m^6A 甲基化水平明显升高^[3], 这表明 m^6A 甲基化在正常大脑发育和功能中发挥着关键作用。因此, 本部分内容将以 m^6A 甲基化过程中

表 1 m⁶A 相关调控蛋白及功效

类别	主要蛋白	定位	功效	参考文献
Writers	METTL3	细胞核	催化甲基转移至 RNA 以发生甲基化	[8]
	METTL14	细胞核	与 METTL3 形成稳定的异质二聚体、增强催化活性	[9]
	WTAP	细胞核	促进 METTL3-14/WTAP 和 RNA 底物结合	[10]
	VIRMA	细胞核	起到支架作用并指导发生选择性甲基化	[11]
	RBM15	细胞核	招募 writers 复合物至特定位点	[11]
	ZC3H13	细胞核	诱导 writers 复合物准确定位于细胞核	[7]
Erasers	FTO	细胞核	擦除甲基基团, 靶向 RNA 发生去甲基化	[12]
	ALKBH5	细胞核	靶向单链 RNA 的去甲基化, 介导 mRNA 的出核	[13]
	ALKBH3	细胞核	对 tRNA 具有更强的底物特异性	[13]
Readers	YTHDF1	细胞质	促进 mRNA 翻译	[15]
	YTHDF2	细胞质	加速 RNA 降解	[15]
	YTHDF3	细胞质	影响 RNA 翻译	[15]
	YTHDC1	细胞核	调节细胞核内 mRNA 剪接、出核、翻译和降解	[15]
	YTHDC2	细胞质	调节 mRNA 翻译与降解	[15]
	IGF2BPs	细胞质	提升 RNA 稳定性与翻译效率	[14]
	HNRNP	细胞核	识别 m ⁶ A 位点、调节 RNA 的剪切和成熟过程	[16]

Writers、Erasers 和 Readers 三种关键蛋白为出发点, 分类阐述这 3 种关键蛋白对 IS 的调控作用。

2.1 Writers 在 IS 中的作用

2.1.1 METTL3

学习记忆是一种由多种神经细胞和突触相互作用而形成的一种高级脑活动过程。脑缺血后, 缺血脑组织周围神经元受损, 进而出现学习和记忆障碍。Zhang et al^[18]通过构建 METTL3 特异性敲除小鼠, 结果发现 METTL3 特异性敲除后, 神经干细胞向胶质细胞分化受损, 小鼠的记忆形成能力明显下降, 但通过足够的训练或恢复 METTL3 甲基化酶的功能, 可以挽救敲除小鼠的学习记忆缺陷, 增强长期记忆巩固, 表明 METTL3 在调节神经元的发育和长期记忆形成中具有重要的作用。

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是进化上高度保守的长 22 个核苷酸左右的小单链非编码 RNA, 自身不能编码蛋白质, 但可以干扰翻译过程, 从而抑制或改变蛋白质的合成。目前发现许多 miRNA 可通过调控细胞凋亡、神经炎症、氧化应激等病理过程参与 IS 在内的神经系统疾病的发生发展^[19]。研究^[20]显示, 在氧糖剥夺/复氧糖 (oxygen-glucose deprivation/reoxygenation, OGD/R) 模型中, METTL3 通过 m⁶A 修饰促进了 miR-335 的成熟, 增加应激颗粒的形成, 阻止 mRNA 的翻译, 以减少蛋白质的错误折叠, 降低神经元和细胞的凋亡水平, 提高急性脑缺血早期细胞的存活率。

2.1.2 METTL14

METTL14 作为 METTL3 的同系物, 可作为 2 种蛋白质复合体的平台, 促进 RNA 与底物的结合, 进一步的翻译。若敲除小鼠胚胎神经干细胞中的 METTL14, 则神经干细胞表现出明显的

增殖减少和过早分化, 而协调的 m⁶A 甲基化可维持神经干细胞的正常自我更新并抑制其过早的分化为具有专一功能的细胞亚群, 从而确保神经干细胞库的储备^[21]。

METTL14 不仅可以调控神经干细胞分化为具有特异功能的细胞, 而且在神经发育过程中, 可以调节少突胶质细胞的功能。例如, 在小鼠出生后早期, 条件性敲除 METTL14 可导致少突胶质细胞成熟减少和髓鞘磷脂异常, 并且在缺乏 METTL14 的少突胶质细胞前体细胞中, 不能正确分化为成熟的少突胶质细胞, 此外会导致少突胶质细胞细胞周期进程延长^[22]。这表明 METTL14 甲基化酶在少突胶质细胞的成熟和分化过程中有重要作用。

总体而言, 这些研究证实 METTL3 和 METTL14 作为 Writers 的成员可以通过调控脑缺血后的神经发生、miRNA 的翻译过程和神经干细胞以及少突胶质细胞的分化和功能, 参与到 IS 的发生发展过程中, 这可能为 IS 的治疗和预防提供新的策略。

2.2 Erasers 在 IS 中的作用

2.2.1 FTO

正常情况下, 炎症是针对有害刺激的重要生理免疫反应, 然而, 为应对脑缺血再灌注损伤, 过度的炎症反应可引起有害的影响。小胶质细胞作为中枢神经系统的常驻免疫细胞, 在脑缺血再灌注期间, 最先参与脑损伤的病理过程中。脑组织受损后, 环磷酸鸟苷-腺苷合成酶/干扰素基因刺激因子信号通路被激活, 释放一系列炎症因子, 促进小胶质细胞向 M1 促炎表型极化, 加重缺血性脑损伤。然而, FTO 可以通过 m⁶A 去甲基化降低环磷酸鸟苷-腺苷合成酶 mRNA 稳定性, 来抑制环磷酸鸟苷-

腺苷合成酶的表达,减轻 M1 型小胶质细胞介导的神经炎症反应和脑损伤^[23]。

FTO 除调控神经炎症反应之外,与氧化应激也有密切关系。适当的氧化应激有利于去除细胞内错误折叠或聚集的蛋白质和内质网稳态,但在脑缺血后,受损细胞会产生大量活性氧,引起过度氧化应激反应,加重脑损伤。核因子-红细胞 2 相关因子(nuclear factor-erythroid 2-related factor, Nrf2) 作为一个重要的转录因子,具有重要的抗氧化作用,在帮助细胞抵抗有害刺激和保护细胞方面发挥重要作用。在大脑中动脉闭塞/再灌注(middle cerebral artery occlusion/reperfusion, MCOA/R) SD 大鼠模型中,发现 FTO 和 Nrf2 表达水平降低,过表达 FTO 可以通过降低 Nrf2 的 m⁶A 甲基化水平上调 Nrf2 的表达,抑制氧化应激反应,减少脑缺血梗死面积,从而减轻 MCOA/R 大鼠脑损伤^[24]。

铁死亡作为一种非凋亡形式的细胞死亡,其发生过程依赖于铁蛋白介导的脂质过氧化和自由基的形成。酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4(acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4) 是多不饱和脂肪酸代谢的重要同工酶,在脑缺血后 ACSL4 通过增强脂质过氧化促进神经元发生铁死亡,而黄芪甲苷作为一种有前景的治疗药物,它可以通过上调转录激活因子 3 来促进 FTO 的转录,降低 ACSL4 的 m⁶A 甲基化水平,从而抑制脂质过氧化来减轻铁死亡,进而改善 IS 引起的神经元损伤^[25]。

此外,研究^[26]显示,FTO 在大脑中含量很高,并且 FTO 的表达水平与青少年和老年人的脑容量减少有关。在脑缺血皮质神经元中,FTO 去甲基化酶表达下降,敲除 FTO 会增加小鼠恐惧记忆的保留,导致大脑尺寸和体质量下降,减少体内成体神经干细胞的增殖和神经元的分化,从而导致学习和记忆受损,而过表达 FTO,结果发现可显著降低 m⁶A 甲基化水平,减少脑卒中后灰质和白质损伤,改善运动和认知功能^[27]。这表明 FTO 在脑缺血再灌注后的学习记忆障碍中发挥着重要作用。

环状 RNA(circular RNA, circRNA) 的结构与普通 RNA 不同,它们是由 1 个或多个环状结构组成的环状分子,参与 IS 的神经炎症、神经元死亡、血脑屏障损伤、动脉粥样硬化等多个环节^[28]。而血管再生作为改善 IS 长期预后的关键恢复措施之一, Li et al^[29] 研究发现, circSCMH1 通过促进泛素化修饰的 FTO 发生核易位,导致磷脂磷酸酶 3 mRNA 的 m⁶A 去甲基化,诱导内皮细胞中脂质磷酸酶 3 的表

达,从而增强 IS 后的血管修复。

FTO 除了可以影响环状 RNA 的甲基化之外,还可以调控长非编码 RNA。既往研究^[30]表明, lncRNA-ZFAS1 在 IS 患者血清中表达下调,过表达 lncRNA-ZFAS1 可以通过外泌体转录因子 Krüppel 样因子 4 与启动子结合来增加 lncRNA-ZFAS1 的表达,进而靶向 FTO 来抑制线粒体动力相关蛋白 1 的 m⁶A 甲基化,缩小脑梗死体积,发挥对损伤大脑的保护作用。

总体而言, FTO 可以通过抑制神经炎症、减轻氧化应激和铁死亡、调节环状 RNA 和长非编码 RNA 的去甲基化等改善神经元损伤,进而改善 MCOA/R 大鼠的运动、学习和记忆障碍,这表明靶向 FTO 可能是治疗 IS 的新方向。

2.2.2 ALKBH5 细胞凋亡是一种由特定基因控制的程序性死亡方式。IS 发生后,细胞内外环境的改变可激活神经元发生凋亡程序。Xu et al^[31] 通过构建原代皮质神经元 OGD/R 模型,发现 ALKBH5 表达水平上调而 FTO 表达水平下降,过表达 FTO 可降低半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 的水平,减轻 OGD/R 诱导的神经元损伤,相反敲低 ALKBH5 则会加剧神经元凋亡,表明 ALKBH5 和 FTO 共同调节细胞凋亡的机制可能是 ALKBH5 和 FTO 选择性地使抗凋亡蛋白 B 细胞淋巴瘤 2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 去甲基化,阻止 Bcl-2 转录本降解并诱导 Bcl-2 蛋白表达。

2.3 Readers 在 IS 中的作用

2.3.1 YTHDF1 脑缺血后神经元轴突丧失,神经连接受损,在自发恢复期可诱导不同程度的突触可塑性,从而促进神经修复。研究^[32]表明,敲除成年小鼠海马体中的 YTHDF1,小鼠表现出学习、记忆缺陷,海马突触传递和长时程增强受损,在重表达 YTHDF1 后拯救了小鼠行为缺陷和突触可塑性。这表明 m⁶A 甲基化中 YTHDF1 可参与靶向海马神经元 m⁶A 修饰转录本的蛋白质翻译,从而促进学习和记忆的恢复。

此外, Zheng et al^[33] 研究发现,无论在体内还是体外缺血再灌注损伤期间, miR-421-3p 显著减少,过表达 miR-421-3p 可以特异性靶向 YTHDF1 抑制 p65 mRNA 翻译,从而减轻缺血再灌注导致的炎症反应。这表明 YTHDF1 可通过调节 miRNA 来抑制脑缺血后的炎症反应,从而减轻脑损伤。

2.3.2 YTHDC1 磷酸酶和张力蛋白同源物(phosphatase and tension homologous protein, PTEN) 是一

表 2 m⁶A 相关蛋白在 IS 的作用

m ⁶ A 相关蛋白	模型	功能效应	主要影响	参考文献
METTL3	METTL3 敲除小鼠	METTL3 参与海马体长期记忆的形成	促进神经发生	[18]
	OGD/R 原代皮质神经元	METTL3 增加了 miR-335 的成熟,促进应激颗粒形成并降低细胞凋亡水平	下调细胞凋亡水平	[20]
METTL14	METTL14 敲除 C57 小鼠	敲除 METTL14 神经干细胞增殖减少、分化提前	调节神经干细胞增殖、分化	[21]
	METTL14 敲除鼠	敲除 METTL14 少突胶质细胞成熟减少、髓鞘磷脂异常	调节少突胶质细胞的成熟	[22]
FTO	MCAO/R C57 小鼠	FTO 可以降低环磷酸鸟苷-腺苷合成酶 mRNA 稳定性,来抑制环磷酸鸟苷-腺苷合成酶的表达,进而改善神经炎症反应	下调神经炎症反应	[23]
	MCAO/R	FTO 上调 Nrf2 的表达,减轻氧化应激反应,减少脑缺血梗死面积	减轻氧化应激	[24]
	MCAO/R	FTO 下调 ACSL4 的 m ⁶ A 甲基化水平,抑制脂质过氧化,减轻铁死亡水平	下调铁死亡	[25]
	MCAO/R	FTO 降低 m ⁶ A 甲基化水平,减少脑卒中后灰质和白质损伤,改善运动和认知功能	改善神经损伤	[27]
	MCAO/R C57 小鼠	circSCMH1 促进 FTO 发生核易位,导致 Plpp3 去甲基化,诱导 LPP3 表达	促进血管再生	[29]
ALKBH5	MCAO/R	KLF 通过与启动子结合来增加 lncRNA-ZFAS1 的表达,进而靶向 FTO 来抑制线粒体动力相关蛋白 1 的 m ⁶ A 甲基化	改善线粒体功能障碍	[30]
	MCAO/R; OGD/R	敲低 ALKBH5 可加剧神经元凋亡	调节细胞凋亡	[31]
YTHDF1	YTHDF1 敲除鼠	敲除 YTHDF1 小鼠表现出学习、记忆缺陷,海马突触传递和长时程增强受损	改善突触可塑性	[32]
	MCAO/R C57 小鼠	miR-421-3p 靶向 YTHDF1 来抑制 p65 的翻译,从而减轻炎症反应	减轻神经炎症	[33]
YTHDC1	MCAO/R	过表达 YTHDC1 通过促进 PTEN 的降解增加 AKT 磷酸化,上调 Bcl-2 的表达	调节细胞凋亡	[34]

种新发现的抑癌因子。Zhang et al^[34]发现,在 MCAO/R 大鼠模型中,YTHDC1 在缺血性脑卒中的早期阶段表达上调。而敲低 YTHDC1 会通过抑制 PTEN 的降解从而阻止蛋白激酶 B/雷帕霉素靶蛋白信号通路,下调 Bcl-2 的表达,并增加半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 的表达,加剧缺血性脑损伤。相反,过表达 YTHDC1 会通过促进 PTEN 降解以增加 AKT 磷酸化,从而提高 Bcl-2 的表达,降低半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 的表达,促进缺血性中风后神经元的存活,来减轻脑神经功能缺陷。

以上研究结果发现 Writers、Erasers 和 Readers 在 IS 的不同区域表达变化不同,提示 m⁶A 甲基化可以通过不同的作用机制,如细胞凋亡、神经炎症、神经发生、血管再生、线粒体自噬、氧化应激、铁死亡、突触可塑性以及调控非编码 RNA 的甲基化等参与调控 IS 的发生发展,并可能为分子靶向研究改善 IS 相关神经元损伤的治疗提供线索(表 2)。

3 小结与展望

IS 作为常见的脑血管疾病之一,其高发病率和致残率严重影响着患者的日常生活。m⁶A 甲基

化作为研究最广的表观遗传修饰之一,是各种转录后基因调控过程的关键调节器。IS 发生后的脑缺血再灌注损伤可引起 m⁶A 甲基化异常。m⁶A 甲基化相关蛋白可通过调节氧化应激、炎症反应、血管再生、神经发生、铁死亡、线粒体自噬、细胞凋亡等过程参与脑损伤的发生发展,因此 m⁶A 甲基化在 IS 后脑损伤过程中的作用不可忽视。

但是目前有关 m⁶A 甲基化与 IS 的研究存在诸多局限性,许多 m⁶A 甲基化修饰蛋白在 IS 发生发展过程中的功能和作用机制仍不明了。此外,m⁶A 甲基化相关蛋白是在同一过程中发挥协同作用还是拮抗作用尚不清晰,其确切的调控机制在很大程度上仍未明确。靶向干预 m⁶A 甲基化进程进而调控 IS 后脑损伤的基础和临床研究是极具前景的研究方向。

参考文献

- [1] Feske S K. Ischemic stroke[J]. Am J Med 2021, 134(12): 1457-64.
- [2] 张艳,周霞,王幼萌,等.急性缺血性脑卒中机械取栓术后出血转化及其对预后的影响[J].安徽医科大学学报,2022,57

- (6): 987–90.
- [3] Chokkalla A K ,Mehta S L ,Kim T ,et al. Transient focal ischemia significantly alters the m⁶A epitranscriptomic tagging of RNAs in the brain [J]. *Stroke* 2019 50(10) : 2912–21.
 - [4] Tang Y ,Chen K ,Song B ,et al. m6A-Atlas: A comprehensive knowledgebase for unraveling the N6-methyladenosine (m6A) epitranscriptome [J]. *Nucleic Acids Res* 2021 49(D1) : D134–43.
 - [5] 钱晓芬,曾平,刘金富,等. m⁶A RNA 甲基化修饰相关酶的研究进展[J]. *中国免疫学杂志* 2023 39(5) : 1073–84.
 - [6] Jang K H ,Heras C R ,Lee G. m⁶A in the signal transduction network [J]. *Mol Cells* 2022 45(7) : 435–43.
 - [7] Sendinc E ,Shi Y. RNA m6A methylation across the transcriptome [J]. *Mol Cell* 2023 83(3) : 428–41.
 - [8] Zhang Z ,Wang M ,Xie D ,et al. METTL3-mediated N6-methyladenosine mRNA modification enhances long-term memory consolidation [J]. *Cell Res* 2018 28(11) : 1050–61.
 - [9] Dou X ,Huang L ,Xiao Y ,et al. METTL14 is a chromatin regulator independent of its RNA N6-methyladenosine methyltransferase activity [J]. *Protein Cell* 2023 14(9) : 683–97.
 - [10] Scholler E ,Weichmann F ,Treiber T ,et al. Interactions ,localization ,and phosphorylation of the m⁶A generating METTL3-METTL14-WTAP complex [J]. *RNA* 2018 24(4) : 499–512.
 - [11] Sommerkamp P ,Brown J A ,Haltali M L R ,et al. m6A RNA modifications: Key regulators of normal and malignant hematopoiesis [J]. *Exp Hematol* 2022 111: 25–31.
 - [12] Li L ,Xu N ,Liu J ,et al. m6A Methylation in cardiovascular diseases: From mechanisms to therapeutic potential [J]. *Front Genet* , 2022 13: 908976.
 - [13] Kumari R ,Ranjan P ,Suleiman Z G ,et al. mRNA modifications in cardiovascular biology and disease: With a focus on m6A modification [J]. *Cardiovasc Res* 2022 118(7) : 1680–92.
 - [14] Ramesh-Kumar D ,Guil S. The IGF2BP family of RNA binding proteins links epitranscriptomics to cancer [J]. *Semin Cancer Biol* , 2022 86(Pt 3) : 18–31.
 - [15] Zhou W ,Wang X ,Chang J ,et al. The molecular structure and biological functions of RNA methylation ,with special emphasis on the roles of RNA methylation in autoimmune diseases [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2022 59(3) : 203–18.
 - [16] Huang J ,Shao Y ,Gu W. Function and clinical significance of N6-methyladenosine in digestive system tumours [J]. *Exp Hematol Oncol* 2021 10(1) : 40.
 - [17] Qin C ,Yang S ,Chu Y H ,et al. Signaling pathways involved in ischemic stroke: Molecular mechanisms and therapeutic interventions [J]. *Signal Transduct Target Ther* 2022 7(1) : 215.
 - [18] Zhang Z ,Wang M ,Xie D ,et al. METTL3-mediated N6-methyladenosine mRNA modification enhances long-term memory consolidation [J]. *Cell Res* 2018 28(11) : 1050–61.
 - [19] Todoran R ,Falcione S R ,Clarke M ,et al. microRNA as a therapeutic for ischemic stroke [J]. *Neurochem Int* , 2023 ,163: 105487.
 - [20] Si W ,Li Y ,Ye S ,et al. Methyltransferase 3 mediated miRNA m6A methylation promotes stress granule formation in the early stage of acute ischemic stroke [J]. *Front Mol Neurosci* 2020 13: 103.
 - [21] Wang Y ,Li Y ,Yue M ,et al. N6-methyladenosine RNA modification regulates embryonic neural stem cell self-renewal through histone modifications [J]. *Nat Neurosci* 2018 21(2) : 195–206.
 - [22] Wang L ,Geng J ,Qu M ,et al. Oligodendrocyte precursor cells transplantation protects blood-brain barrier in a mouse model of brain ischemia *via* Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Cell Death Dis* 2020 , 11(1) : 9.
 - [23] Yu Z ,Zheng L ,Geng Y ,et al. FTO alleviates cerebral ischemia/ reperfusion-induced neuroinflammation by decreasing cGAS mRNA stability in an m6A-dependent manner [J]. *Cell Signal* 2023 109: 110751.
 - [24] Hou L ,Li S ,Li S ,et al. FTO inhibits oxidative stress by mediating m6A demethylation of Nr2 to alleviate cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. *J Physiol Biochem* 2023 79(1) : 133–46.
 - [25] Jin Z ,Gao W ,Guo F ,et al. Astragaloside IV alleviates neuronal ferroptosis in ischemic stroke by regulating fat mass and obesity-associated-N6-methyladenosine-acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 axis [J]. *J Neurochem* 2023 166(2) : 328–45.
 - [26] Wang X L ,Wei X ,Yuan J J ,et al. Downregulation of fat mass and obesity-related protein in the anterior cingulate cortex participates in anxiety and depression-like behaviors induced by neuropathic pain [J]. *Front Cell Neurosci* 2022 16: 884296.
 - [27] Chokkalla A K ,Jeong S ,Mehta S L ,et al. Cerebroprotective role of N6-methyladenosine demethylase FTO (fat mass and obesity-associated protein) after experimental stroke [J]. *Stroke* ,2023 54(1) : 245–54.
 - [28] 唐琛兰,瑞,付雪琴,等. 环状 RNA 在缺血性脑卒中领域研究进展 [J]. *中国比较医学杂志* 2023 33(10) : 100–5.
 - [29] Li B ,Xi W ,Bai Y ,et al. FTO-dependent m⁶A modification of Plpp3 in circSCMH1-regulated vascular repair and functional recovery following stroke [J]. *Nat Commun* 2023 14(1) : 489.
 - [30] Wang Q S ,Xiao R J ,Peng J ,et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomal KLF4 alleviated ischemic stroke through inhibiting N6-methyladenosine modification level of drp1 by targeting lncRNA-ZFAS1 [J]. *Mol Neurobiol* 2023 60(7) : 3945–62.
 - [31] 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: 2040622320916024.
 - [32] Shi H ,Zhang X ,Weng Y L ,et al. m⁶A facilitates hippocampus-dependent learning and memory through YTHDF1 [J]. *Nature* 2018 , 563(7730) : 249–53.
 - [33] Zheng L ,Tang X ,Lu M ,et al. microRNA-421-3p prevents inflammatory response in cerebral ischemia/reperfusion injury through targeting m6A Reader YTHDF1 to inhibit p65 mRNA translation [J]. *Int Immunopharmacol* 2020 88: 106937.
 - [34] 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.