

m⁶A 修饰对中枢神经系统功能及疾病的影响

史佳宾^{1,2,3}, 王大勇^{1,2,3}, 夏晴^{1,2,3}, 高旭^{1,2,3}

1. 哈尔滨医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 哈尔滨 150081

2. 哈尔滨医科大学北方转化医学研究合作中心, 哈尔滨 150081

3. 黑龙江省医学科学院, 哈尔滨 150081

摘要: 6-甲基腺嘌呤(*N*⁶-methyladenosine, m⁶A)是一种重要的 RNA 修饰, 参与细胞内 mRNA 的整个代谢活动, 调控基因的表达, 调节多种生物过程, 在大脑组织中丰度较高。稳定的 m⁶A 修饰有助于胚胎大脑发育、记忆力的形成, 在维持中枢神经系统的功能中起到重要作用。当 m⁶A 修饰水平及相关蛋白表达水平发生改变时, 将会引起神经系统功能异常, 包括脑组织发育迟缓、轴突再生能力障碍、记忆力改变以及干细胞更新和分化紊乱等。近年来的研究还发现, m⁶A 修饰及其相关蛋白在阿尔茨海默症、帕金森症、脆性 X 染色体综合征、抑郁症和胶质母细胞瘤等众多神经系统疾病的发展进程中扮演关键角色。本文主要综述了近年来在中枢神经系统中 m⁶A 修饰调控机制研究的相关进展, 重点介绍了 m⁶A 修饰介导的基因表达调控对中枢神经系统生物学功能以及多种相关疾病的影响, 以期为中心神经系统疾病提供新的研究靶点和治疗方向。

关键词: 6-甲基腺嘌呤(m⁶A); 中枢神经系统; 干细胞; 突触; 记忆

The effects of m⁶A modification in central nervous system function and disease

Jiabin Shi^{1,2,3}, Dayong Wang^{1,2,3}, Qing Xia^{1,2,3}, Xu Gao^{1,2,3}

1. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Harbin Medical University, Harbin 150081, China

2. Translational Medicine Research and Cooperation Center of Northern China, Harbin Medical University, Harbin 150081, China

3. Heilongjiang Academy of Medical Sciences, Harbin 150081, China

Abstract: *N*⁶-methyladenosine (m⁶A) is an important RNA modification, which is highly active in brain tissues,

收稿日期: 2020-07-21; 修回日期: 2020-10-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 81701078, 81773165), 黑龙江省自然科学基金项目(编号: QC2017090), 黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划项目(编号: UNPYSCT-2016190), 中国博士后科学基金(面上资助)项目(编号: 2016M600261), 中国博士后科学基金(特别资助)项目(编号: 2018T110317), 哈尔滨医科大学校级创新科学研究资助项目(编号: 2016JCZX37)和黑龙江省博士后经费项目(编号: LBH-Z15163)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 81701078,81773165), Natural Science Foundation of Heilongjiang Province of China (No. QC2017090), the University Nursing Program for Young Scholars with Creative Talents in Heilongjiang Province (No. UNPYSCT-2016190), China Postdoctoral Science Foundation (Nos. 2016M600261, 2018T110317), the Innovative Science Research Project of Harbin Medical University (No. 2016JCZX37), and Heilongjiang Postdoctoral Financial Assistance (No. LBH-Z15163)]

作者简介: 史佳宾, 在读硕士研究生, 专业方向: 阿尔茨海默的疾病机制及治疗研究。E-mail: shijiabin950314@163.com

通讯作者: 高旭, 博士, 教授, 研究方向: 遗传改变模式动物的建立及复杂疾病机制研究, 抗体药物发现。E-mail: gaoxu_671227@163.com

DOI: 10.16288/j.ycz.20-233

网络出版时间: 2020/10/29 9:53:26

URI: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.r.20201028.1052.003.html>

participates in global intracellular mRNA metabolism, and regulates gene expression and a variety of biological processes. Stable m⁶A modification contributes to the normal embryonic brain development and memory formation and plays an important role in maintaining the functions of the central nervous system. However, changes in the level of m⁶A modification and the expression of its related proteins cause abnormal nervous system functions, including brain tissue development retardation, axon regeneration disorders, memory changes, and stem cell renewal and differentiation disorders. Recent studies have also found that m⁶A modification and its related proteins play key roles in the development of various nervous system diseases, such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, fragile X-chromosome syndrome, depression and glioblastoma. In this review, we summarize the research progresses of m⁶A modification regulation mechanism in the central nervous system in recent years, and discusses the effects of gene expression regulation mediated by m⁶A modification on the biological functions of the central nervous system and related diseases, thereby providing some insights on the new research targets and treatment directions for the central nervous system diseases.

Keywords: N⁶-methyladenosine (m⁶A); central nervous system; stem cell; synapse; memory

近年来,随着对 RNA m⁶A 甲基化功能的不断研究,发现 m⁶A 修饰水平的动态改变能够直接影响 RNA 代谢、蛋白质功能。目前已在多个与肿瘤相关的癌基因中发现 m⁶A 修饰的身影,提示 m⁶A 修饰有可能是控制肿瘤发生、抗肿瘤免疫的重要调控修饰^[1]。此外 m⁶A 修饰还具有调控生物机体昼夜节律、DNA 损伤修复、脂肪生成、神经发生和大脑发育等分子功能。m⁶A 修饰即 mRNA 上的腺嘌呤第 6 位 N 在甲基转移酶复合物(methyltransferase complex, MTC)的作用下发生甲基化反应形成的一种甲基化修饰,它是一个受到甲基化转移酶和去甲基化转移酶共同调控的可逆过程。利用高通量测序等方法对 m⁶A 修饰进行检测发现, m⁶A 修饰通常富集在终止密码子和非编码区附近, RNA 在甲基化转移酶的催化作用下发生甲基化,在去甲基化转移酶催化作用下去除甲基化, m⁶A 甲基化位点可被识别蛋白识别,参与并调控转录后修饰过程^[2]。目前在真核生物中已发现 100 多种不同类型的 RNA 修饰,包括 6-甲基腺嘌呤(N⁶-methyladenosine, m⁶A)、1-甲基腺嘌呤(N¹-methyladenosine, m¹A)、5-甲基胞嘧啶(5-methylcytidine, m⁵C)、5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytidine, hm⁵C)、肌苷修饰(inosine, I)、假尿苷修饰(pseudouridine, ψ)等,其中 m⁶A 修饰丰度最高, m⁶A 修饰和 m⁵C 修饰均能够调控 RNA 代谢过程等重要的生物学功能,目前研究者发现了 m⁶A 修饰在机体生物学功能中的多种调控机制,但是对于 mRNA 中

m⁵C 修饰的具体作用方式并不完全清楚^[3]。在大脑中存在着丰富的 m⁶A 修饰,该修饰通过调控 mRNA 代谢使神经系统正常行使其功能。当参与 m⁶A 修饰的关键酶表达异常时, m⁶A 修饰水平会发生改变,从而影响 mRNA 代谢紊乱,转录和翻译障碍等分子功能,继而导致机体神经系统的生理功能障碍。本文对 m⁶A 修饰的基本概念、m⁶A 修饰调控 RNA 代谢的分子机制以及 m⁶A 修饰在中枢神经系统及疾病中的生物学作用等方面进行了相关的阐述,以期能够更深入地了解 m⁶A 修饰的作用方式,探寻 m⁶A 修饰与中枢神经系统疾病发展的关联。

1 影响 m⁶A 修饰的相关酶和识别蛋白

m⁶A 是一种重要的表观遗传学修饰,需要写入基因(Writers),擦除基因(Erasers),读取基因(Readers)编码的多种调控蛋白共同参与^[4]。甲基化转移酶复合物参与 m⁶A 修饰的产生,去甲基化转移酶(FTO 和 ALKBH5)等能够去除 m⁶A,二者在细胞内共同维持 mRNA 的甲基化和非甲基化之间的动态平衡。Readers 编码的蛋白是一类 RNA 结合蛋白,这种蛋白能够识别发生 m⁶A 修饰的位点并与 m⁶A 结合,与甲基化转移酶复合物和去甲基化转移酶共同参与调控 mRNA 的代谢活动。m⁶A 修饰的多样性和可逆性使 m⁶A 修饰在参与机体中枢神经系统功能的调控中具有更复杂的生理机制(表 1)。

表 1 m⁶A 修饰的相关酶在中枢神经系统中的功能与作用Table 1 Functions of enzymes related to m⁶A modification in central nervous system

类别	基因	功能	作用	参考文献
甲基化转移酶 (Writers)	<i>METTL3</i>	影响 <i>Dapk1</i> 、 <i>Fadd</i> 、 <i>Ngfr</i> 的 mRNA 半衰期	<i>METTL3</i> 缺失可使 m ⁶ A 修饰异常, 导致小脑发育不全、长期记忆能力减弱, 影响干细胞的自我更新和分化	[10]
	<i>METTL14</i>	识别并影响 <i>Pten</i> 蛋白的翻译	<i>METTL14</i> 敲除可影响轴突再生能力	[11]
	<i>ZC3h13</i>	<i>ZC3h13</i> 使 <i>Zc3h13</i> -WTAP-Virilizer-Hakai 复合物留在核内, 提高 mESC 内的 mRNA m ⁶ A 修饰水平	<i>ZC3h13</i> 敲除将导致复合物从细胞核转移到细胞质, 使 m ⁶ A 水平降低, 破坏 mESC 自我更新并诱导进行分化	[12]
去甲基化转移酶 (Erasers)	<i>FTO</i>	<i>FTO</i> 可抑制突触神经节中 <i>Syp</i> 基因 mRNA 的转录, 降低 <i>Spy</i> 的蛋白水平	降低 <i>FTO</i> 的表达后可提高 <i>Syp</i> 蛋白水平, 从而提高记忆能力	[13]
识别蛋白 (Readers)	<i>YTHDF1</i>	<i>YTHDF1</i> 识别并结合发生 m ⁶ A 修饰的 <i>GRIN1</i> 、 <i>GRIN2A</i> 、 <i>GRIA1</i> 、 <i>CAMK2A</i> 、 <i>CAMK2B</i> 基因的 mRNA, 促进翻译过程	<i>YTHDF1</i> 缺失引起相关蛋白的翻译异常, 导致记忆力下降	[14]
	<i>YTHDF3</i>	<i>YTHDF3</i> 可特异性识别胞浆中发生 m ⁶ A 修饰的 <i>Apc</i> 基因 mRNA, 与 <i>YTHDF1</i> 共同调控翻译过程	<i>YTHDF1</i> 和 <i>YTHDF3</i> 缺失引起 <i>Apc</i> 蛋白翻译异常, 可导致神经元发育异常, 突触传递能力降低	[15]

1.1 Writers

m⁶A 修饰的甲基化转移酶复合物, 主要由 *METTL3*、*METTL14*、*WTAP* 和 *KIAA1429* 组成^[5,6], 还包括 *ZFP217*、*RBM15*、*RBM15B*、*HAKAI* (*CBLL1*)、*ZC3H13* 等组分。其中 *METTL3* 是甲基化转移酶的核心组分, 起催化作用, *METTL14* 负责募集 RNA, 二者形成异源二聚体, 共同促进 m⁶A 修饰的产生。*WTAP* 负责稳定复合物的作用, *RBM15*、*RBM15B* 负责协助 *METTL3* 与 *WTAP* 结合, 使它们可以准确定位到靶位点, 与其他蛋白共同参与 m⁶A 修饰的产生。此外, 还有新的与甲基化相关的酶类陆续被发现, 例如 *METTL5* 可通过与甲基化转移酶激活剂 *TRMT112* 结合形成异源二聚体的方式, 参与 18S rRNA 的 m⁶A 修饰, *ZCCHC4* 也是一种 m⁶A 修饰酶, 它可参与 28S rRNA 上 A4220 位的 m⁶A 修饰^[7]。*METTL16* 作为甲基化转移酶不仅可以催化 U6 snRNA 发生甲基化, 还能够结合蛋氨酸腺苷转移酶 II (*MAT2A*) 3'UTR 中的发卡结构 (hp1), 调节 *MAT2A* mRNA 的稳定性和剪接, 进而调控 S-腺苷甲硫氨酸 (SAM) 的稳态^[8,9]。这些研究结果提示可能还存在其他可以调控 m⁶A 生成及变化的作用因子, 在未来的研究中有待发现。

1.2 Erasers

m⁶A 修饰的去甲基化转移酶, 可催化已发生

m⁶A 修饰的碱基进行去甲基化, 目前只鉴定出 ALKB 家族的肥胖相关蛋白 (*FTO*) 和 ALKB 同源蛋白 5 (*ALKBH5*) 属于该类转移酶^[16-18]。2007 年, 研究者发现 *FTO* 是一种与肥胖相关的基因^[19,20]。2011 年美国芝加哥大学的何川教授首次证实 *FTO* 能够催化 m⁶A 发生去甲基化, 证明 m⁶A 修饰是动态可逆的过程^[17]。随着不断对 *FTO* 介导的 m⁶A 修饰机制的深入研究, 发现 *FTO* 能将 m⁶A 依次氧化成不稳定的中间产物 N⁶-羟甲基腺苷 (hm⁶A) 和 N⁶-甲酰腺苷 (f⁶A), 然后转变成正常的腺苷酸 (A), 并且由于 *FTO* 定位不同, 发生去甲基化的对象也不同, 在细胞核内 *FTO* 介导发生 m⁶A 去甲基化反应, 细胞质内 *FTO* 介导发生 N⁶,2'-O 二甲基腺苷 (m⁶Am) 去甲基化反应^[21,22]。此外研究者在 2013 年发现了第二种去甲基化转移酶: *ALKBH5* 蛋白, 该蛋白主要利用氧化性催化 RNA 上 m⁶A 发生去甲基化反应, *FTO* 和 *ALKBH5* 这两种蛋白水平的变化都会对 m⁶A 修饰水平产生显著的影响^[16]。

1.3 Readers

m⁶A 结合蛋白, 包括 YTH 结构域蛋白 (*YTHDF1-3*)、异质核糖核酸蛋白 (*hnRNPC*、*hnRNPG*、*hnRNPA2B1*) 以及胰岛素样生长因子 2 结合蛋白 (*IGF2BP1*、*IGF2BP2*、*IGF2BP3*) 等。这类蛋白能够识别 mRNA 上发生甲基化的碱基位点, 通过直接或间接的方式

与其结合,从而影响 RNA 的代谢^[23]。其中, RNA 结合蛋白 *YTHDF1* 能够在细胞质中与翻译起始因子协调促进 RNA 翻译过程。RNA 结合蛋白 *YTHDF2* 可与发生 m⁶A 甲基化的 mRNA 结合,与 *CONT1* 相互作用,使靶 mRNA 去腺苷酸化,调控 mRNA 的降解。RNA 结合蛋白 *YTHDF1* 与 *YTHDF3* 共同协调作用促进转录翻译过程, *YTHDF3* 影响 *YTHDF2* 介导的 mRNA 降解过程。RNA 结合蛋白 *IGF2BP* 识别并结合 m⁶A 位点可增强 mRNA 稳定性并促进翻译过程^[24]。RNA 结合蛋白 *HNRNPA2B1* 识别细胞核内 pri-miRNA 上的 m⁶A 修饰调控外显子的选择性剪接^[25]。随着对 RNA 识别位点的精确定位以及高通量测序等技术的应用,研究者不断发现了各种 m⁶A 结合蛋白,这使 m⁶A 的调控功能具有了更多的复杂性和多样性。

2 m⁶A 修饰在 RNA 代谢中的作用

m⁶A 修饰参与 mRNA 代谢的整个过程,与 RNA 结合蛋白通过直接或间接的结合方式,在 RNA 成熟体加工、RNA 可变剪接、RNA 出核转运、RNA 翻译和 RNA 稳定等过程中发挥不可替代的作用。

2.1 m⁶A 修饰参与 miRNA 成熟体的加工过程

microRNA (miRNA) 是一类长度为 18~25nt 的内源性单链非编码 RNA,通过碱基互补配对的方式阻止 mRNA 的翻译或使 mRNA 降解,miRNA 是调控转录后基因表达的重要分子。miRNA 成熟的第一步是 RNA 结合蛋白 *DGCR8* 识别初级转录本 (pri-miRNA),招募与 III 型核糖核酸酶 *Drosha* 并形成复合体,然后裂解双链 RNA,产生具有茎环结构的 precursor miRNAs (pre-miRNA)。研究者于 2015 年首次证实了 m⁶A 修饰水平改变能够影响 miRNA 的成熟过程,这是由于 m⁶A 甲基化转移酶 *METTL3* 介导 pri-miRNA 发生甲基化反应,然后被 *DGCR8* 特异性识别并与该位点结合,从而剪切双链 RNA 产生 pre-miRNA。且当降低 *METTL3* 表达时, *DGCR8* 与 pri-miRNA 的结合能力下降,导致 pre-miRNA 表达量降低,而 pri-miRNA 含量增加,证明 *METTL3* 介导的 m⁶A 修饰参与了 miRNA 的加工过程^[26]。此

外, RNA 结合蛋白 *HNRNPA2B1* 能够识别并结合细胞核内 pri-miRNA 上的 m⁶A 修饰,与 *DGCR8* 协同作用,调控外显子的选择性剪接,促进 pri-miRNA 的加工,因此 *HNRNPA2B1* 作为 m⁶A 的阅读蛋白在一定程度上影响着 pri-miRNA 的加工成熟过程^[25]。

2.2 m⁶A 修饰参与 RNA 的可变剪接

RNA 的剪接过程是 RNA 代谢过程中的重要一环,其中包括精确的切除内含子和正确的连接外显子,从而确保产生具有生物学功能的成熟 mRNA。随着研究者们的不断研究,发现剪接的外显子和内含子上均存在显著的 m⁶A 修饰,因此提示我们由 m⁶A 结合蛋白介导的 m⁶A 修饰参与并调控 mRNA 的选择性剪接过程。例如, m⁶A 修饰的 RNA 因短双螺旋结构被破坏发生去折叠,暴露隐藏的蛋白质结合位点,可被异质核糖核蛋白 *hnRNPC* 和 *hnRNPG* 识别并结合,从而促进其外显子的连接。RNA 结合蛋白 *YTHDC1* 可直接与 m⁶A 位点结合,募集剪接因子 *SRSF3*,阻断 *SRSF10*,从而促进外显子的连接,参与 m⁶A 修饰有关的 RNA 剪接过程的调控^[27]。

2.3 m⁶A 修饰参与 mRNA 的出核转运过程

研究者发现加工成熟的 mRNA 在 TAP-P15 复合体和衔接蛋白的协同作用下从细胞核中转移到细胞质中,然后在细胞质中进行翻译表达或者降解,而 m⁶A 修饰水平的变化可以影响 mRNA 的出核转运过程。例如去甲基化转移酶 *ALKBH5* 通过调控 ASF/SF2 的磷酸化水平,影响 mRNA 的出核过程,当 *ALKBH5* 缺失时, ASF/SF2 的磷酸化水平降低,增强了与 TAP-P15 复合体的相互作用,促进 mRNA 出核^[16]。甲基化转移酶 *METTL3* 的表达降低可使 mRNA 的出核转运过程受到抑制, RNA 结合蛋白 *ALKBH5* 表达降低将导致 mRNA 向细胞质运输的能力增强^[16,28]。此外, *SRSF3* 是 *NXF1* 介导的出核转运途径中的关键因子, *YTHDC1* 与 *SRSF3* 相互作用,促进发生 m⁶A 修饰的 mRNA 出核。mRNA 的出核转运过程是连接 mRNA 转录和翻译的关键过程,而 m⁶A 相关蛋白介导的 m⁶A 修饰能够影响该途径中的关键因子,因此 m⁶A 修饰对该过程的调控可能是影响基因表达的重要原因。

2.4 m⁶A 修饰促进 mRNA 翻译

真核生物中 mRNA 的翻译包括起始、翻译和终止 3 个阶段, 其中起始阶段最为关键。翻译起始机制有两种, 分别为经典的帽依赖性扫描机制和非帽依赖性翻译机制^[29]。在成熟的 mRNA 外显子上还存在着丰富的 m⁶A 修饰, 它通过调控不同的翻译起始机制来影响转录本的翻译过程。例如, m⁶A 修饰的结合蛋白 YTHDF1 可将发生甲基化的 mRNA 与核糖体偶联, 招募翻译起始因子 3 (eIF3) 增强翻译的限速步骤, 以此促进 mRNA 的翻译过程^[30]。甲基化转移酶 METTL3 以不依赖甲基化转移酶活性的方式也参与了 mRNA 的翻译过程, 在人类肺癌细胞中 METTL3 通过与翻译起始相关因子相关作用, 增强了表皮生长因子受体(EGFR)、TAZ 等重要癌基因的 mRNA 翻译, 促进了癌细胞的生长, 虽然在此研究中并未发现 m⁶A 修饰的直接作用, 但它可能以其他某种方式参与了该过程, 具体还有待人们进行深入研究^[31]。此外在成年哺乳动物的神经系统中, 甲基化转移酶 METTL14 和 RNA 结合蛋白 YTHDF1 的缺失能够抑制因损伤引起的蛋白翻译过程, 从而降低外周神经系统的轴突再生功能^[11]。

2.5 m⁶A 影响 mRNA 的稳定性

mRNA 降解是 mRNA 代谢过程中的最后一步,

RNA 结合蛋白 YTHDF2 是第一个证明了 m⁶A 修饰参与 mRNA 降解的蛋白。该蛋白具有双结构域, 羧基末端 YTH 结构域可选择性的与发生甲基化的 mRNA 结合, 而其氨基末端的功能结构域将结合了 YTHDF2 的 mRNA 传递到细胞质中, 通过招募 CCR4-NOT 去腺苷酸复合物从而使 mRNA 发生降解^[32,33]。研究发现, 降低斑马鱼胚胎中 YTHDF2 的表达, 可以减弱发生 m⁶A 修饰的 mRNA 的降解能力, 导致合子基因组的激活受阻, 细胞周期暂停, 影响正常发育^[23]。

3 m⁶A 修饰在中枢神经系统及疾病中的生物学作用

中枢神经系统(central nervous system, CNS)是机体神经系统的重要组成部分, 包括脑和脊髓, 作用是接收传入机体的信息, 并进行整合、存储、加工, 中枢神经系统是机体学习和记忆的重要基础。近年来, 众多研究表明 m⁶A 修饰在中枢神经系统中丰富存在, 由 RNA 结合蛋白介导的 m⁶A 修饰调控各种神经传导通路的激活, 对神经元的发育、分化和再生均发挥着不可替代的作用, m⁶A 修饰的改变对机体脑组织的发育、学习记忆能力、干细胞的更新和分化、突触再生等生物学功能有重要影响(图 1)。

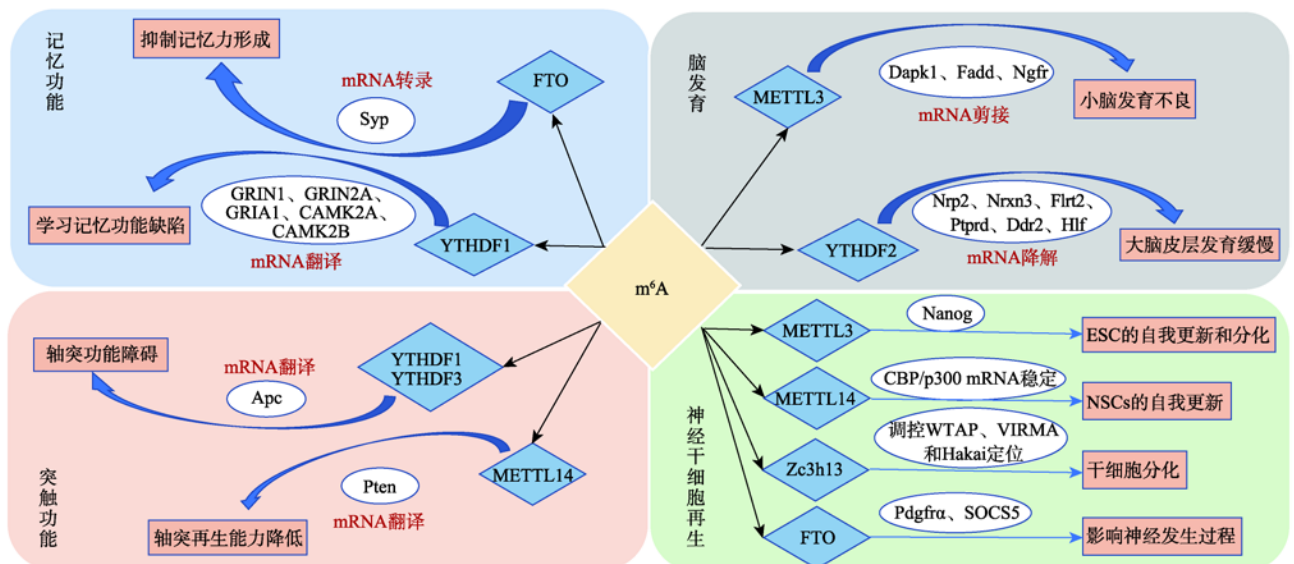


图 1 m⁶A 修饰在中枢神经系统中的作用

Fig. 1 The effect of N⁶-methyladenosine in central nervous system

3.1 m⁶A 修饰影响脑的发育及其功能

m⁶A 修饰参与机体的多种生命活动,与生物学功能密切相关。已有研究发现,在大脑的成熟过程中,可检测到 m⁶A 甲基化水平的上调,表明大脑中 RNA 的 m⁶A 修饰与脑组织的发育和功能具有重要的联系^[11]。研究发现在不同脑区以及不同类型的神经细胞中, m⁶A 修饰水平均不相同,常见甲基化 mRNAs 的 m⁶A 修饰水平显著高于特异性甲基化 mRNAs 的 m⁶A 修饰水平,小鼠小脑的 m⁶A 修饰水平高于大脑皮层,神经元中 RNA 的 m⁶A 修饰水平高于胶质细胞,这些结果均证明 m⁶A 修饰具有区域特异性和异质性,不同靶 mRNA、不同的甲基化位点以及不同的甲基化水平都会对脑组织的生物学功能产生影响^[34]。研究表明, *YTHDF2* 缺失可促使大脑皮层中的神经干细胞发生不对称分裂,使神经前体细胞数量减少,最终分化成熟的神经元数量明显低于正常发育的脑组织中的成熟神经元数量,导致大脑皮层发育缓慢且伴随功能异常^[35]。

METTL3 介导的 m⁶A 修饰在哺乳动物小脑的发育和功能中也发挥着不可替代的作用,将小鼠大脑中的 *METTL3* 基因条件性敲除后, m⁶A 修饰水平失调,导致小脑中促凋亡相关基因 *Dapk1*、*Fadd*、*Ngfr* 的 mRNA 半衰期延长,剪接过程出现异常,蛋白表达障碍,最终引起小脑发育不全^[10]。综上所述, m⁶A 修饰经多种调控机制影响着脑组织的生长发育和生物功能。m⁶A 甲基化转移酶、去甲基化转移酶以及 RNA 结合蛋白的表达异常,都将导致大脑神经细胞发育迟缓,神经元再生障碍,最终导致脑组织发育异常。

3.2 m⁶A 修饰可增强记忆能力

学习和记忆是大脑的重要功能之一,记忆力的形成需要由基因表达和蛋白质合成共同协作完成。已有研究发现, m⁶A 修饰水平的改变与记忆的形成相关。例如,研究者利用 Cre/LoxP 系统在小鼠大脑的皮层和海马区中特异性敲除甲基化转移酶 *METTL3*,发现 *METTL3* 可通过调控 m⁶A 修饰影响 *IEG* 蛋白的翻译过程,导致 *IEG* 蛋白分泌不足,记忆巩固能力降低。给予一定训练后记忆能力可恢复,而过表达 *METTL3* 发现长期记忆能力显著增强,证明 m⁶A

修饰直接影响长期记忆力形成,并且个体的记忆差异经反复学习可得到补偿。综上所述, m⁶A 修饰通过影响蛋白质的合成直接参与调控长期记忆力的形成^[36]。

记忆力的形成还受到 m⁶A 结合蛋白 *YTHDF1* 的影响^[14]。在成年小鼠海马中, m⁶A 修饰与结合蛋白 *YTHDF1* 结合,促进成年小鼠海马神经元刺激下的靶 mRNA 的翻译,增强海马依赖的学习与记忆能力。敲除 *YTHDF1* 基因可导致突触传递受损,小鼠学习记忆功能产生缺陷,使 *YTHDF1* 再表达后,则可以修复突触功能的缺陷。

FTO 具有抑制记忆力形成的作用,在大脑中高度富集。在小鼠海马神经元中的细胞核、树突等位置均可检测到 *FTO* 的表达。*Spy* 是一种与突触定位相关的基因, *FTO* 能够抑制 *Spy* 的表达。在外界条件刺激下,降低海马背侧 *FTO* 的表达可提高 *Spy* 基因 mRNA 的转录,提高 *Spy* 的蛋白水平,显著增强小鼠的记忆力,表明 *FTO* 能够抑制记忆力形成,进一步证实了 m⁶A 修饰与记忆力形成的相关性,提示 m⁶A 可能是参与记忆力形成的新型调控因子^[13]。

3.3 m⁶A 调控神经干细胞的自我更新和分化

对小鼠和人类胚胎干细胞中 m⁶A 修饰进行定位,发现 m⁶A 修饰在进化过程中呈现高度保守性和稳定性^[37]。m⁶A 在众多 mRNA 和长链非编码 RNA 确定的基序上富集,通过标记不稳定的转录本而发挥其功能。例如甲基化转移酶 *METTL3* 基因的敲除或失活将导致 m⁶A 修饰水平降低,分化时影响 *Nanog* 基因的表达,使 ESC 从自我更新向分化的过程中受损。

研究发现,在小鼠胚胎的神经干细胞(neural stem cell, NSCs)中,利用 Cre/loxP 系统特异性敲除甲基化转移酶 *METTL14*,并观察细胞表型,可发现 NSCs 增殖能力降低,细胞分化提前,证明 m⁶A 可能具有增强 NSCs 自我更新的能力^[38]。组蛋白修饰是 NSCs 基因表达和活性变化的重要基础。该研究还发现 *METTL14* 缺失能够增强组蛋白 *CBP* 和 *p300* 的 mRNA 稳定性,导致 *H3K27ac* 表达水平升高, NSCs 中特异性组蛋白修饰水平增加。综上所述, m⁶A 修饰能通过改变组蛋白 mRNA 的稳定性来调控组蛋白修饰,促进 NSCs 增殖,使其正常分化,以保障 NSCs 细胞库的储备。这种新型的基因调控机

制在细胞生命活动中发挥着重要作用,将有助于研究神经系统疾病的干细胞治疗和基因靶向治疗。

Zc3h13 通过影响 m⁶A 修饰调控 mESC 的自我更新过程^[12]。在小鼠胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESCs)敲除 *Zc3h13* 基因后, mRNA 中整体 m⁶A 水平显著下降, *WTAP*、*Virilizer* 和 *Hakai* 从细胞核转移到细胞质中, mESC 的自我更新受阻且提前进行分化。证明 *Zc3h13* 通过将 *WTAP-Virilizer-Hakai* 复合物准确定位到核内,来促进 m⁶A 甲基化反应,继而调控 mESC 的自我更新。

FTO 作为 m⁶A 去甲基化转移酶,能够动态调控神经干细胞的增殖和分化^[39]。最新研究发现, *FTO* 的缺失可导致 STAT3 通路中关键调控因子 *Pdgfra* 的表达增加和 *SOCS5* 的表达减少,继而引起 STAT3 通路的过度激活,最终导致成体神经干细胞的增殖和神经元分化异常,影响神经发生过程。此外, *FTO* 的缺失还能抑制 *MMP-9* 因子表达,控制神经营养因子 *BDNF* 的加工过程,从而引起下丘脑-垂体-肾上腺轴(the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA)通路异常激活,最终导致小鼠神经元分化异常,应激水平升高现象,影响机体的认知功能^[40]。

3.4 m⁶A 调控轴突再生

突触能够将数十亿个神经元连接到功能性神经元和神经胶质回路中,通过改变传递效率来影响神经元活动,是神经网络结构和脑功能的基本特征^[41]。在哺乳动物神经系统受损时, m⁶A 修饰参与调控蛋白合成和轴突再生。例如坐骨神经受损,小鼠背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)中许多 m⁶A 修饰的再生相关基因的 mRNA 水平提高,促进蛋白质合成。若敲低 DRGs 中的 *METTL14* 或 RNA 结合蛋白 *YTHDF1*,将抑制再生相关基因的蛋白翻译过程,并降低体内神经系统的轴突再生功能。此外,在成熟中枢神经系统中, *METTL14* 介导的 m⁶A 修饰能够调控抑癌基因 *Pten* 的表达,影响视网膜神经元轴再生能力^[11]。另有研究揭示了神经胶质细胞在信息传导和调控突触产生过程中的重要作用,发现了由突触前末梢、突触后末梢和神经胶质细胞构成的三突触^[42]。在三突触中可检测到丰富的突触定位转录组,它具有促进突触局部蛋白合成的重要功能,突触局部蛋

白在维持神经元的持续性活动中发挥了重要作用,研究认为局部翻译失调是神经发育与神经精神疾病的重要病理机制^[43,44]。在突触定位转录组中存在着 m⁶A 修饰, m⁶A 选择性修饰三突触所有细胞内的不同转录本,甲基化转移酶介导的 m⁶A 修饰能够改变 mRNA 的转化率,调节突触 RNA 的翻译过程。此外通过敲除 RNA 结合蛋白 *YTHD1* 和 *YTHDF3*,抑制突触定位转录组成员 *Apc* 的 mRNA 翻译过程,将会引发神经元形态异常、突触传递减弱的现象^[15]。综上所述, m⁶A 可通过调控 mRNA 来控制翻译过程,继而影响突触功能,引起神经系统异常。

3.5 m⁶A 在中枢神经系统疾病发生发展中的作用

大脑中 m⁶A 修饰水平的改变会对大脑的发育及正常神经细胞的功能产生影响,在中枢系统相关疾病中, m⁶A 修饰改变引起的神经系统重要功能异常是许多神经系统疾病发生的潜在原因。

阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)作为最典型的神经退行性疾病之一,是最常见的痴呆类型。AD 的经典病理学特征为老年斑和神经纤维缠结,患者表现出明显的认知功能障碍及记忆力损伤^[45-47]。*FTO* 作为 m⁶A 去甲基化转移酶在神经疾病中是一种新兴因子,早有研究发现 *FTO* 基因中的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)参与多种神经疾病的发生和发展,近年研究陆续证明了 *FTO* 参与大脑发育和神经发生等多个神经系统相关的生物学过程^[48]。*Tau* 蛋白过度磷酸化形成的神经纤维缠结是 AD 的典型病理特征之一。研究者构建了具有神经特异性敲除 *FTO* 的 3 xTg-AD 小鼠,并在 3 xTg-AD 小鼠脑组织中检测到 *FTO* 的 mRNA 水平及蛋白水平显著升高,将 3 xTg-AD 小鼠神经元中敲除 *FTO* 导致 *TSC1* 的总水平和磷酸化水平上调,降低了 mTOR 信号的激活。以上结果表明 *FTO* 能通过增加 mTOR 上游抑制剂 *TSC1* 的 mRNA 水平来激活 mTOR 信号通路,促进 *Tau* 蛋白磷酸化,进而推动 AD 疾病的发展^[49]。最新研究提出了另一种相反观点,对比 APP/PS1 转基因小鼠和对照组 C57BL/6 小鼠 RNA 上 m⁶A 甲基化水平,发现 APP/PS1 转基因小鼠的皮质和海马中 m⁶A 甲基化更高,而且在 AD

小鼠中, m⁶A 甲基化转移酶 *METTL3* 的表达升高, 而 m⁶A 去甲基化转移酶 *FTO* 的表达降低, 并分析突触、神经元发育和生长有关的途径, 提出 m⁶A 可能对 AD 的疾病发展起推动作用^[50]。虽然还不能确定 m⁶A 修饰对 AD 的影响, 但是目前的研究结果有助于我们探寻 AD 病理机制和选择治疗靶点。

帕金森症(Parkinson's disease, PD)也是一种常见的神经退行性疾病, 发病病因尚不明确, 主要表现为静止性震颤、运动迟缓、肌强直和姿势平衡障碍, 主要病理改变为中脑黑质多巴胺能神经元的变性死亡和路易小体形成, 从而引起纹状体多巴胺含量减少、多巴胺与乙酰胆碱递质失衡。有研究发现, 在神经毒素 6-羟基多巴胺(6-OHDA)诱导的 PC12 细胞和 PD 大鼠脑纹状体中检测到 m⁶A 修饰水平降低, 在多巴胺能神经元内过表达甲基化转移酶 *FTO* 或利用 m⁶A 抑制剂降低 m⁶A 修饰水平, 能够诱导 *NMDAR1* 受体的表达, 促进氧化应激和 Ca²⁺内流, 导致多巴胺能神经元凋亡, 结果表明 *FTO* 介导的 m⁶A 修饰通过调控 *NMDAR1* 的表达影响多巴胺能神经元细胞发育, 因此提示我们 *FTO* 在 PD 的疾病进程可能发挥重要作用^[51]。

脆性 X 染色体综合征(fragile X syndrome, FXS)是由于脆性 X 智力低下蛋白(*FMRP*)功能异常引起的一种 X 连锁不完全外显性遗传的单基因病。*FMRP* 是一种由 *FMR1* 基因编码的 RNA 结合蛋白, 在大脑神经元中高度表达, 可调节突触相关基因的转录翻译。研究发现, *FMRP* 能够与其 mRNA 上的 m⁶A 位点结合, 维持 mRNA 的稳定性。而且 *FMRP* 还以非 RNA 的方式与 *YTHDF2* 相互作用, 表明 *FMRP* 可能与 *YTHDF2* 共同调节 m⁶A 修饰介导的 mRNA 稳定性^[52]。*FMRP* 和 m⁶A 修饰的关系为寻找 FXS 的治病机制和治疗靶点提供了新的思路。

抑郁症(major depressive disorder, MDD)是一种多因素精神类疾病, 病因及发病机制尚不清楚, 临床表现为情绪低落、缺乏兴趣、食欲不佳和睡眠质量差等。已有研究结果表明 *FTO* 基因与 MDD 的发病风险相关, 且对汉族人群的 m⁶A 修饰基因与 MDD 的相关性进行数据分析, 显示 m⁶A 修饰很有可能影响 MDD 的发病机制^[53]。最新研究发现, 在星形胶质细胞中过表达环状 RNA *STAG1* (circular RNA

STAG1, *circSTAG1*)可抑制 *ALKBH5* 向细胞核中转运, 降低 *FAAH* 基因 mRNA 的 m⁶A 修饰水平, 导致 *FAAH* 降解, 从而显著减轻星形细胞功能障碍和抑郁行为^[54]。*ALKBH5* 介导的 m⁶A 修饰与 *circSTAG1* 之间的联系很有可能成为治疗 MDD 的新靶点。

胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)是一种星形细胞肿瘤中恶性程度最高的胶质瘤, 具有很强侵袭性和致死性。mRNA 水平的调节影响肿瘤的多个方面, 包括生长、胶质瘤干细胞自我更新和肿瘤发生。近年来有部分研究表明, 在胶质瘤干细胞(glioma stem cells, GSC)中敲除 *METTL3*、*METTL14* 降低了 m⁶A 修饰水平, 能够增强 GSC 的增殖能力, 促进肿瘤生长。叉头框蛋白质 M1 (forkhead box protein M1, *FOXM1*)是一种在细胞周期调节、自我更新和肿瘤发生中起关键作用的转录因子。研究发现, *ALKBH5* 缺失可以使 *FOXM1* 的 mRNA 发生过度甲基化, 导致 *FOXM1* 的 mRNA 水平和蛋白水平显著降低, 抑制了 GSC 的增殖能力和致瘤性, 表明 *ALKBH5* 在胶质母细胞瘤中起积极调节的作用。因此猜测 m⁶A 修饰可能成为胶质母细胞瘤治疗的靶点, 但也有研究证明 m⁶A 修饰在 GSC 中水平升高, 在胶质母细胞瘤中起致癌作用, 因此 m⁶A 修饰对 GSC 的影响还存在争议。

4 结语与展望

m⁶A 作为 RNA 修饰中丰度最高的修饰, 在调控基因表达、细胞命运和维护中枢神经系统功能中发挥重要的作用。m⁶A 修饰水平由甲基化转移酶和去甲基化转移酶共同调节, 在 RNA 结合蛋白的作用下影响着 RNA 的代谢过程。m⁶A 修饰在脑组织中的丰度比其他组织中高, 说明 m⁶A 修饰在大脑的正常功能以及神经发育的不同阶段均起着至关重要的作用, 在维护神经系统正常的功能中也扮演重要角色。首先 m⁶A 修饰水平失衡及其关键酶表达水平的异常将导致大脑皮层和小脑发育缺陷。其次在胚胎神经发生、干细胞更新和分化的过程也需要 m⁶A 修饰的精确调控。m⁶A 修饰还影响着机体记忆力的形成、长期记忆力的巩固以及学习能力, 当 *METTL3*、*FTO* 等关键调控蛋白表达异常时, 将引起记忆功能的改

变。 m^6A 修饰在神经损伤诱导的轴再生过程中也是不可或缺的重要一环, m^6A 修饰能够促进损伤后局部蛋白翻译,提高轴再生相关的蛋白质水平,影响突触功能。总的来说, m^6A 修饰对中枢神经系统的影响是毋庸置疑的,但是其中的调控作用机制还需要进一步探索。

m^6A 修饰不仅与记忆功能、神经再生、神经元的突触功能直接相关,还能影响神经元凋亡、细胞增殖和分化,这些都是阿尔茨海默症、帕金森等神经疾病中至关重要的表现及功能变化。由此猜测, m^6A 在神经疾病进程中必将扮演着重要角色,很有可能成为研究神经疾病治疗机制的突破点。所以揭示 m^6A 及其关键酶在神经疾病中的作用至关重要。

随着科学技术的高速发展,除了现有用于检测 m^6A 的技术如 ChIP-seq、PAR-CLIP、MeRIP-seq 外,还逐渐涌现出一些研究单个 m^6A 的技术^[55]。目前已有研究成功构建了基于 dCas13b 的特定读码器,主要用来研究特定的内源性单链 RNA 的调控功能^[56]。此外为了研究单个 m^6A 修饰的作用,研究者开发出了 m^6A 修饰编辑器^[57]。该编辑器是利用 CRISPR-Cas9 分别与 m^6A 甲基转移酶融合物、去甲基化转移酶(*FTO* 或 *ALKBH5*)结合,从而对 RNA 的特定位点进行 m^6A 的安装和去除,在不改变主序列的前提下改变 RNA 二级结构。最新研究中,研究者还构建出了更为高效精准的编辑器:TRM 编辑器,该编辑器以 CRISPR-Cas13 为基础,利用融合蛋白和向导 RNA,构建出 dCas13-M3nls 和 dCas13-M3M14nes 两种 TRM 编辑器,在大肠杆菌中实现高效率、低脱靶的 RNA 编辑^[58]。并且在 HEK293T 细胞中利用 TRM 编辑器发现在 *Actb* 基因 mRNA 的 A1216 位点发生 m^6A 修饰,能够降低 mRNA 的水平,有助于研究 m^6A 修饰水平对 mRNA 丰度的调控作用以及 mRNA 转录本中特定位点的 m^6A 修饰对 RNA 剪接的调控过程。 m^6A 的修饰可以在组学测序及 m^6A 芯片的帮助之下进行表达谱层面的分析,预测及验证 m^6A 修饰改变在疾病或生物功能中的作用。此外随着技术的进步,各种精准编辑 RNA 特定位点的 m^6A 编辑修饰工具将陆续被研发出来,最终实现单一 RNA 特定位点 m^6A 修饰改变,并研究其对基因功能及生物功能的影响。 m^6A 修饰的功能研究将更加的

精准,其在大脑中的功能也将陆续被揭示出来。

关于 m^6A 修饰的功能研究还有一些问题有待解决,例如在特定 mRNA 亚型上的不同位点发生的 m^6A 修饰,它的调控功能是否有差异;RNA 结合蛋白与不同位点的 m^6A 结合是否会影响 RNA 命运;甲基化转移酶、去甲基化转移酶和阅读蛋白之间是否存在某种作用方式;它们相互之间是否存在协调或拮抗的作用,在机体正常生理情况下和异常情况下,作用方式是否发生改变。这些问题等待着人们去进行解析。也许这些工作的揭示会帮助研究者对复杂的大脑功能与疾病的机制进行进一步的探索。

参考文献(References):

- [1] Wang TG, Ye M. Advances on the roles of m^6A in tumorigenesis. *Hereditas(Beijing)*, 2018, 40(12): 1055–1065.
王天工, 叶孟. m^6A 甲基化与肿瘤研究进展. 遗传, 2018, 40(12): 1055–1065. [DOI]
- [2] Fu Y, Dominissini D, Rechavi G, He C. Gene expression regulation mediated through reversible m^6A RNA methylation. *Nat Rev Genet*, 2014, 15(5): 293–306. [DOI]
- [3] Yang Y, Chen YS, Sun BF, Yang YG. RNA methylation: regulations and mechanisms. *Hereditas (Beijing)*, 2018, 40(11): 964–976.
杨莹, 陈宇晟, 孙宝发, 杨运桂. RNA 甲基化修饰调控和规律. 遗传, 2018, 40(11): 964–976. [DOI]
- [4] Zhang X, Jia GF. RNA epigenetic modification: N^6 -methyladenosine. *Hereditas (Beijing)*, 2016, 38(4): 275–288.
张笑, 贾桂芳. RNA 表观遗传修饰: N^6 -甲基腺嘌呤. 遗传, 2016, 38(4): 275–288. [DOI]
- [5] Wang X, Feng J, Xue Y, Guan ZY, Zhang DL, Liu Z, Gong Z, Wang Q, Huang JB, Tang C, Zou TT, Yin P. Structural basis of $N(6)$ -adenosine methylation by the METTL3-METTL14 complex. *Nature*, 2016, 534(7608): 575–578. [DOI]
- [6] Ping XL, Sun BF, Wang L, Xiao W, Yang X, Wang WJ, Adhikari S, Shi Y, Lv Y, Chen YS, Zhao X, Li A, Yang Y, Dahal U, Lou XM, Liu X, Huang J, Yuan WP, Zhu XF, Cheng T, Zhao YL, Wang XQ, Rendtlew Danielsen JM, Liu F, Yang YG. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N^6 -methyladenosine methyltransferase. *Cell Res*, 2014, 24(2): 177–189. [DOI]
- [7] van Tran N, Ernst FGM, Hawley BR, Zorbas C, Ulryck N,

- Hackert P, Bohnsack KE, Bohnsack MT, Jaffrey SR, Graille M, Lafontaine DLJ. The human 18S rRNA m⁶A methyltransferase METTL5 is stabilized by TRMT112. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(15): 7719–7733. [DOI]
- [8] Pendleton KE, Chen BB, Liu KQ, Hunter OV, Xie Y, Tu BP, Conrad NK. The U6 snRNA m⁶A methyltransferase METTL16 regulates SAM synthetase intron retention. *Cell*, 2017, 169(5): 824–835.e14. [DOI]
- [9] Mendel M, Chen KM, Homolka D, Gos P, Pandey RR, McCarthy AA, Pillai RS. Methylation of structured RNA by the m⁶A writer METTL16 is essential for mouse embryonic development. *Mol Cell*, 2018, 71(6): 986–1000.e11. [DOI]
- [10] Wang CX, Cui GS, Liu XY, Xu K, Wang M, Zhang XX, Jiang LY, Li A, Yang Y, Lai WY, Sun BF, Jiang GB, Wang HL, Tong WM, Li W, Wang XJ, Yang YG, Zhou Q. METTL3-mediated m⁶A modification is required for cerebellar development. *PLoS Biol*, 2018, 16(6): e2004880. [DOI]
- [11] Weng YL, Wang X, An R, Cassin J, Vissers C, Liu YY, Liu YJ, Xu TL, Wang XY, Wong SZH, Joseph J, Dore LC, Dong Q, Zheng W, Jin P, Wu H, Shen B, Zhuang XX, He C, Liu K, Song HJ, Ming GL. Epitranscriptomic m⁶A regulation of axon regeneration in the adult mammalian nervous system. *Neuron*, 2018, 97(2): 313–325.e6. [DOI]
- [12] Wen J, Lv RT, Ma HH, Shen HJ, He CX, Wang JH, Jiao FF, Liu H, Yang PY, Tan L, Lan F, Shi YG, He C, Shi Y, Diao JB. Zc3h13 regulates nuclear RNA m⁶A methylation and mouse embryonic stem cell self-renewal. *Mol Cell*, 2018, 69(6): 1028–1038.e6. [DOI]
- [13] Walters BJ, Mercaldo V, Gillon CJ, Yip M, Neve RL, Boyce FM, Frankland PW, Josselyn SA. The role of the RNA demethylase FTO (fat mass and obesity-associated) and mRNA methylation in hippocampal memory formation. *Neuropsychopharmacology*, 2017, 42(7): 1502–1510. [DOI]
- [14] Shi HL, Zhang XL, Weng YL, Lu ZY, Liu YJ, Lu ZK, Li JN, Hao PL, Zhang Y, Zhang F, Wu Y, Delgado JY, Su YJ, Patel MJ, Cao XH, Shen B, Huang XX, Ming GL, Zhuang XX, Song HJ, He C, Zhou T. m⁶A facilitates hippocampus-dependent learning and memory through YTHDF1. *Nature*, 2018, 563(7730): 249–253. [DOI]
- [15] Merkurjev D, Hong WT, Iida K, Oomoto I, Goldie BJ, Yamaguti H, Ohara T, Kawaguchi SY, Hirano T, Martin KC, Pellegrini M, Wang DO. Synaptic N⁶-methyladenosine (m⁶A) epitranscriptome reveals functional partitioning of localized transcripts. *Nat Neurosci*, 2018, 21(7): 1004–1014. [DOI]
- [16] Zheng GQ, Dahl JA, Niu YM, Fedorcsak P, Huang CM, Li CJ, Vågbo CB, Shi Y, Wang WL, Song SH, Lu ZK, Bosmans RPG, Dai Q, Hao YJ, Yang X, Zhao WM, Tong WM, Wang XJ, Bogdan F, Furu K, Fu Y, Jia GF, Zhao X, Liu J, Krokan HE, Klungland A, Yang YG, He C. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility. *Mol Cell*, 2013, 49(1): 18–29. [DOI]
- [17] Jia GF, Fu Y, Zhao X, Dai Q, Zheng GQ, Yang Y, Yi CQ, Lindahl T, Pan T, Yang YG, He C. N⁶-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO. *Nat Chem Biol*, 2011, 7(12): 885–887. [DOI]
- [18] Li LP, Zang LQ, Zhang FR, Chen JC, Shen H, Shu LQ, Liang F, Feng CY, Chen D, Tao HK, Xu TL, Li ZY, Kang Y, Wu H, Tang LC, Zhang PM, Jin P, Shu Q, Li XK. Fat mass and obesity-associated (FTO) protein regulates adult neurogenesis. *Hum Mol Genet*, 2017, 26(13): 2398–2411. [DOI]
- [19] Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, Perry JRB, Elliott KS, Lango H, Rayner NW, Shields B, Harries LW, Barrett JC, Ellard S, Groves CJ, Knight B, Patch AM, Ness AR, Ebrahim S, Lawlor DA, Ring SM, Ben-Shlomo Y, Jarvelin MR, Sovio U, Bennett AJ, Melzer D, Ferrucci L, Loos RJF, Barroso I, Wareham NJ, Karpe F, Owen KR, Cardon LR, Walker M, Hitman GA, Palmer CNA, Doney ASF, Morris AD, Smith GD, Hattersley AT, McCarthy MI. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*, 2007, 316(5826): 889–894. [DOI]
- [20] Scuteri A, Sanna S, Chen WM, Uda M, Albai G, Strait J, Najjar S, Nagaraja R, Orrù M, Usala G, Dei M, Lai S, Maschio A, Busonero F, Mulas A, Ehret GB, Fink AA, Weder AB, Cooper RS, Galan P, Chakravarti A, Schlessinger D, Cao A, Lakatta E, Abecasis GR. Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. *PLoS Genet*, 2007, 3(7): e115. [DOI]
- [21] Fu Y, Jia GF, Pang XQ, Wang RN, Wang X, Li CJ, Smemo S, Dai Q, Bailey KA, Nobrega MA, Han KL, Cui Q, He C. FTO-mediated formation of N⁶-hydroxymethyladenosine and N⁶-formyladenosine in mammalian RNA. *Nat Commun*, 2013, 4: 1798. [DOI]
- [22] Wei JB, Liu FG, LuK Z, Fei QL, Ai YX, He PC, Shi HL, Cui XL, Su R, Klungland A, Jia GF, Chen JJ, He C. Differential m⁶A, m⁶A_m, and m¹A demethylation mediated by FTO in the cell nucleus and cytoplasm. *Mol Cell*, 2018,

- 71(6): 973–985.e5. [DOI]
- [23] Wang X, Lu ZK, Gomez A, Hon GC, Yue YN, Han DL, Fu Y, Parisien M, Dai Q, Jia GF, Ren B, Pan T, He C. N6-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability. *Nature*, 2014, 505(7481): 117–120. [DOI]
- [24] Huang HL, Weng HY, Sun WJ, Qin X, Shi HL, Wu HZ, Zhao BS, Mesquita A, Liu C, Yuan CL, Hu YC, Huttelmaier S, Skibbe JR, Su R, Deng XL, Dong L, Sun M, Li CY, Nachtergaele S, Wang YG, Hu C, Ferchen K, Greis KD, Jiang X, Wei MJ, Qu LH, Guan JL, He C, Yang JH, Chen JJ. Recognition of RNA N⁶-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(3): 285–295. [DOI]
- [25] Alarcon CR, Goodarzi H, Lee H, Liu XH, Tavazoie S, Tavazoie SF. HNRNPA2B1 is a mediator of m⁶A-dependent nuclear RNA processing events. *Cell*, 2015, 162(6): 1299–1308. [DOI]
- [26] Alarcón CR, Lee H, Goodarzi H, Halberg N, Tavazoie SF. N6-methyladenosine marks primary microRNAs for processing. *Nature*, 2015, 519(7544): 482–485. [DOI]
- [27] Kasowitz SD, Ma J, Anderson SJ, Leu NA, Xu Y, Gregory BD, Schultz RM, Wang PJ. Nuclear m⁶A reader YTHDC1 regulates alternative polyadenylation and splicing during mouse oocyte development. *PLoS Genet*, 2018, 14(5): e1007412. [DOI]
- [28] Covelo-Molares H, Bartosovic M, Vanacova S. RNA methylation in nuclear pre-mRNA processing. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2018, 9(6): e1489. [DOI]
- [29] Zheng CX, Ma XF, Zhang YH, Li HJ, Zhang GF. Research progress in the mechanism of translation initiation of eukaryotic mRNAs. *Hereditas (Beijing)*, 2018, 40(8): 607–619. 郑超星, 马小凤, 张永华, 李洪杰, 张根发. 真核生物 mRNA 翻译起始机制研究进展. *遗传*, 2018, 40(8): 607–619. [DOI]
- [30] Wang X, Zhao BS, Roundtree IA, Lu ZK, Han DL, Ma HH, Weng XC, Chen K, Shi HL, He C. N(6)-methyladenosine modulates messenger RNA translation efficiency. *Cell*, 2015, 161(6): 1388–1399. [DOI]
- [31] Lin SB, Choe J, Du P, Triboulet R, Gregory RI. The m⁶A methyltransferase METTL3 promotes translation in human cancer cells. *Mol Cell*, 2016, 62(3): 335–345. [DOI]
- [32] Du H, Zhao Y, He JQ, Zhang Y, Xi HR, Liu MF, Ma JB, Wu LG. YTHDF2 destabilizes m⁶A-containing RNA through direct recruitment of the CCR4-NOT deadenylase complex. *Nat Commun*, 2016, 7: 12626. [DOI]
- [33] Zhao BS, Wang X, Beadell AV, Lu ZK, Shi HL, Kuuspalu A, Ho RK, He C. m⁶A-dependent maternal mRNA clearance facilitates zebrafish maternal-to-zygotic transition. *Nature*, 2017, 542(7642): 475–478. [DOI]
- [34] Chang MQ, Lv HY, Zhang WL, Ma CH, He X, Zhao SL, Zhang ZW, Zeng YX, Song SH, Niu YM, Tong WM. Region-specific RNA m⁶A methylation represents a new layer of control in the gene regulatory network in the mouse brain. *Open Biol*, 2017, 7(9): 170166. [DOI]
- [35] Li MM, Zhao X, Wang W, Shi HL, Pan QF, Lu ZK, Perez SP, Suganthan R, He C, Bjørås M, Klungland A. Ythdf2-mediated m⁶A mRNA clearance modulates neural development in mice. *Genome Biol*, 2018, 19(1): 69. [DOI]
- [36] Zhang ZY, Wang M, Xie DF, Huang ZH, Zhang LS, Yang Y, Ma DX, Li WG, Zhou Q, Yang YG, Wang XJ. METTL3-mediated N⁶-methyladenosine mRNA modification enhances long-term memory consolidation. *Cell Res*, 2018, 28(11): 1050–1061. [DOI]
- [37] Batista PJ, Molinie B, Wang JK, Qu K, Zhang JJ, Li LJ, Bouley DM, Lujan E, Haddad B, Daneshvar K, Carter AC, Flynn RA, Zhou C, Lim KS, Dedon P, Wernig M, Mullen AC, Xing Y, Giallourakis CC, Chang HY. m⁶A RNA modification controls cell fate transition in mammalian embryonic stem cells. *Cell Stem Cell*, 2014, 15(6): 707–719. [DOI]
- [38] Wang Y, Li Y, Yue MH, Wang J, Kumar S, Wechsler-Reya RJ, Zhang ZL, Ogawa Y, Kellis M, Duester G, Zhao JC. N⁶-methyladenosine RNA modification regulates embryonic neural stem cell self-renewal through histone modifications. *Nat Neurosci*, 2018, 21(2): 195–206. [DOI]
- [39] Cao YH, Zhuang YL, Chen JC, Xu WZ, Shou YK, Huang XL, Shu Q, Li XK. Dynamic effects of Fto in regulating the proliferation and differentiation of adult neural stem cells of mice. *Hum Mol Genet*, 2020, 29(5): 727–735. [DOI]
- [40] Spychala A, Rütther U. FTO affects hippocampal function by regulation of BDNF processing. *PLoS One*, 2019, 14(2): e0211937. [DOI]
- [41] Citri A, Malenka RC. Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 2008, 33(1): 18–41. [DOI]
- [42] Perea G, Navarrete M, Araque A. Tripartite synapses: astrocytes process and control synaptic information. *Trends Neurosci*, 2009, 32(8): 421–431. [DOI]
- [43] Bassell GJ, Warren ST. Fragile X syndrome: loss of local mRNA regulation alters synaptic development and function. *Neuron*, 2008, 60(2): 201–214. [DOI]
- [44] Kelleher RJ, Govindarajan A, Tonegawa S. Translational regulatory mechanisms in persistent forms of synaptic

- plasticity. *Neuron*, 2004, 44(1): 59–73. [DOI]
- [45] Gouras GK, Tampellini D, Takahashi RH, Capetillo-Zarate E. Intraneuronal beta-amyloid accumulation and synapse pathology in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*, 2010, 119(5): 523–541. [DOI]
- [46] Brier MR, Gordon B, Friedrichsen K, McCarthy J, Stern A, Christensen J, Owen C, Aldea P, Su Y, Hassenstab J, Cairns NJ, Holtzman DM, Fagan AM, Morris JC, Benzinger TLS, Ances BM. Tau and A β imaging, CSF measures, and cognition in Alzheimer's disease. *Sci Transl Med*, 2016, 8(338): 338ra66. [DOI]
- [47] Fitzpatrick AWP, Falcon B, He SD, Murzin AG, Murshudov G, Garringer HJ, Crowther RA, Ghetti B, Goedert M, Scheres SHW. Cryo-EM structures of tau filaments from Alzheimer's disease. *Nature*, 2017, 547(7662): 185–190. [DOI]
- [48] Zhao X, Yang Y, Sun BF, Zhao YL, Yang YG. FTO and obesity: mechanisms of association. *Curr Diab Rep*, 2014, 14(5): 486. [DOI]
- [49] Li HJ, Ren Y, Mao KS, Hua F, Yang YL, Wei N, Yue CX, Li DW, Zhang H. FTO is involved in Alzheimer's disease by targeting TSC1-mTOR-Tau signaling. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 498(1): 234–239. [DOI]
- [50] Han M, Liu Z, Xu YY, Liu XT, Wang DW, Li F, Wang Y, Bi JZ. Abnormality of m⁶A mRNA methylation is involved in Alzheimer's disease. *Front Neurosci*, 2020, 14: 98. [DOI]
- [51] Chen XC, Yu CY, Guo MJ, Zheng XT, Ali S, Huang H, Zhang LH, Wang SS, Huang YH, Qie SY, Wang J. Down-regulation of m⁶A mRNA methylation is involved in dopaminergic neuronal death. *ACS Chem Neurosci*, 2019, 10(5): 2355–2363. [DOI]
- [52] Zhang FR, Kang Y, Wang ML, Li YJ, Xu TL, Yang W, Song HJ, Wu H, Shu Q, Jin P. Fragile X mental retardation protein modulates the stability of its m⁶A-marked messenger RNA targets. *Hum Mol Genet*, 2018, 27(22): 3936–3950. [DOI]
- [53] Du TF, Rao SQ, Wu L, Ye N, Liu ZY, Hu HL, Xiu JB, Shen Y, Xu Q. An association study of the m⁶A genes with major depressive disorder in chinese han population. *J Affect Disord*, 2015, 183: 279–286. [DOI]
- [54] Huang RR, Zhang Y, Bai Y, Han B, Ju MZ, Chen BL, Yang L, Wang Y, Zhang HX, Zhang HS, Xie CM, Zhang ZJ, Yao HH. N⁶-methyladenosine modification of fatty acid amide hydrolase messenger RNA in circular RNA STAG1-regulated astrocyte dysfunction and depressive-like behaviors. *Biol Psychiatry*, 2020, 88(5): 392–404. [DOI]
- [55] Li YL, Yu J, Song SH. Recent progresses in RNA N⁶-methyladenosine research. *Hereditas(Beijing)*, 2013, 35(12): 1340–1351.
李语丽, 于军, 宋述慧. RNA 中 6-甲基腺嘌呤的研究进展. *遗传*, 2013, 35(12): 1340–1351. [DOI]
- [56] Rauch S, He C, Dickinson BC. Targeted m⁶A reader proteins to study epitranscriptomic regulation of single RNAs. *J Am Chem Soc*, 2018, 140(38): 11974–11981. [DOI]
- [57] Liu XM, Zhou J, Mao YH, Ji QQ, Qian SB. Programmable RNA N⁶-methyladenosine editing by CRISPR-Cas9 conjugates. *Nat Chem Biol*, 2019, 15(9): 865–871. [DOI]
- [58] Wilson C, Chen PJ, Miao Z, Liu DR. Programmable m⁶A modification of cellular RNAs with a Cas13-directed methyltransferase. *Nat Biotechnol*, 2020, doi: 10.1038/s41587-020-0572-6. [DOI]

(责任编辑: 王晓群)