

N⁶-甲基化腺嘌呤 RNA 甲基化修饰在中枢神经系统中的作用研究进展

王万莹, 罗富成*

昆明理工大学 灵长类转化医学研究院 省部共建非人灵长类生物医学国家重点实验室, 云南 昆明 650500

王万莹, 罗富成. N⁶-甲基化腺嘌呤 RNA 甲基化修饰在中枢神经系统中的作用研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(1): 45-59.

WANG Wanying, LUO Fucheng. Role of N⁶-methyladenosine RNA methylation in central nervous system: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(1): 45-59.

摘 要: mRNA 存在多种转录后修饰, 这些修饰调控 mRNA 的稳定和剪接、翻译、转运等多个过程, 进而影响细胞发育、机体免疫、学习认知等重要生理功能。其中 m⁶A 修饰是转录后修饰中最丰富的一种, 广泛存在于 mRNA 中, 调控 mRNA 的代谢活动, 影响基因表达。m⁶A 修饰的稳态对神经系统的发育和功能维持至关重要。近年研究发现, 在神经退行性疾病、精神疾病和脑肿瘤中均存在 m⁶A 修饰的身影。因此本文对近几年 m⁶A 甲基化修饰在中枢神经系统发育、功能及相关疾病中的作用进行总结, 为神经系统疾病提供潜在的临床治疗靶点。

关键词: m⁶A 修饰; 中枢神经系统; 神经发育; 中枢神经系统疾病

Role of N⁶-methyladenosine RNA methylation in central nervous system: a review

WANG Wanying, LUO Fucheng*

State Key Laboratory of Primate Biomedical Research, Institute of Primate Translational Medicine, Kunming University of Science and Technology, Kunming, 650500, Yunnan, China

Abstract: There are a variety of post-transcriptional modifications in mRNA, which regulate the stability, splicing, translation, transport and other processes of mRNA, followed by affecting

资助项目: 国家自然科学基金(82060234); 云南省基础研究计划(202101BE070001-065, 202102AA100053); 云南省科技厅科技人才与平台计划(202005AE160019)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (82060234), the Basic Research Projects in Yunnan Province (202101BE070001-065, 202102AA100053), and the Science and Technology Talents and Platform Program of Yunnan Science and Technology Department (202005AE160019).

*Corresponding author. E-mail: luofc@lpbr.cn

Received: 2022-03-29; Accepted: 2022-07-20; Published online: 2022-07-27

cell development, body immunity, learning and cognition and other important physiological functions. m⁶A modification is one of the most abundant post-transcriptional modifications widely existing in mRNA, regulating the metabolic activities of RNA and affecting gene expression. m⁶A modified homeostasis is critical for the development and maintenance of the nervous system. In recent years, m⁶A modification has been found in neurodegenerative diseases, mental diseases and brain tumors. This review summarizes the role of m⁶A methylation modification in the development, function and related diseases of the central nervous system in recent years, providing potential clinical therapeutic targets for neurological diseases.

Keywords: N⁶-methyladenosine (m⁶A); central nervous system; neurodevelopment; central nervous system (CNS) diseases

表观遗传修饰这一概念于 1942 年由 Conrad Waddington 提出^[1], 它是指在不改变基因序列的情况下, 通过一些化学修饰调控基因的表达, 这种调控方式是可遗传的且不依赖基因序列的, 主要包括 DNA、RNA、蛋白 3 个层面的修饰。其中, 越来越多的证据显示, RNA 的化学修饰, 也称为表观转录组学修饰, 参与了中枢神经系统发育过程及相关疾病的病理进程^[2]。目前已知的 RNA 化学修饰有 170 多种, 其中常见的包括 N⁶-甲基化腺嘌呤(N⁶-methyladenosine, m⁶A)修饰、5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, m⁵C)修饰、5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, hm⁵C)修饰、N¹-甲基化腺嘌呤(N¹-methyladenosine, m¹A)、次黄嘌呤(hypoxanthine)、假尿嘧啶(pseudouridine)等^[3]。在这些化学修饰中最丰富的是 mRNA 的 m⁶A 修饰, 研究表明, 它具有高度动态性和选择修饰性。对 m⁶A 修饰进行转录组学分析发现, m⁶A 修饰在调控细胞发育的基因中富集, 而对于保守的管家基因则是去富集状态, 它可以影响 mRNA 的出核过程、剪接、翻译等方面, 在很多生理过程中扮演多重角色。这说明 m⁶A 在许多细胞发育过程中起到关键作用^[4]。中枢神经系统是人体的“信息处理中心”, 中枢神经系统的发育是一个长期复杂的过程, 这一过程的构建需要众多分子和细胞在时间和空间上的精

确配合。这些过程的失调影响中枢神经系统的结构与功能, 也会导致神经系统相关疾病的发生。大量研究表明, m⁶A 修饰在中枢神经系统发育及相关疾病中扮演必不可少的角色。因此我们总结了近年 m⁶A 修饰在中枢神经系统中的研究进展, 旨在深入了解中枢神经系统发育及相关疾病中 m⁶A 修饰的作用, 探讨基于 m⁶A 治疗神经疾病的可能性。

1 m⁶A 修饰概述

m⁶A 首次发现于 20 世纪 70 年代, 研究发现小鼠 L 细胞和肝癌细胞中均存在 m⁶A 修饰^[5]。但由于当时技术的限制, 关于这一修饰的生物学功能没有深入研究。直到 1997 年, Bokar 等首次从 HeLa 细胞中分离出 MT-A70, 即甲基转移酶样蛋白 3 (methyltransferase-like 3, Mettl3)^[6], 研究发现这种酶几乎可以参与合成 mRNA 转录组中所有的 m⁶A 修饰。之后一些研究表明, 在酵母和拟南芥中, Mettl3 同源基因的缺失会导致细胞发育特定阶段的停滞^[7-8]。m⁶A 测序技术^[9-10]的发展, 大大促进了关于 m⁶A 的功能研究。随后大量研究表明 m⁶A 是转录组中最常见的化学修饰之一, 并在细胞发育和疾病进展中发挥重要功能。

1.1 甲基转移酶

甲基转移酶是 m⁶A 修饰过程中的“writer”,

主要作用是催化 RNA 发生甲基化。甲基转移酶是一个复合体, 主要由 Mettl3、甲基转移酶样蛋白 14 (methyltransferase-like 14, Mettl14)、WT1 相关蛋白(wilms tumor associated protein, WTAP)和病毒样 m⁶A 甲基转移酶相关蛋白(vir like m⁶A methyltransferase associated protein, VIRMA/KIAA1429)等组成。Mettl3 是复合体的核心成员, 是其中“唯一”具有催化功能的亚基, 全长由 580 个氨基酸组成, 包括锌指结构域和甲基转移酶结构域, 这 2 个结构域都是酶活性所必需的。唐淳和殷平实验室合作发现锌指结构域包含 ZnF1 和 ZnF2 型锌指结构, 2 个结构串联组成, 并由一个反向平行的 β 折叠连接, 该结构域负责识别特定 mRNA。Mettl3 的甲基转移酶结构域由一个罗斯曼折叠形成, 该结构由 8 条链的 β 折叠和两侧的 α -螺旋组成^[11]。与 Mettl3 相比, Mettl14 缺乏锌指结构域且内部带负电荷, 同 Mettl3 1:1 形成稳定的异质二聚体结构并促进复合体与 RNA 的结合。研究表明 Mettl14 敲除显著降低了甲基转移酶的催化活性^[12]。2014 年研究发现 WTAP 与 Mettl3、Mettl14 相互结合, 也是复合体中的重要组成部分。在体内, WTAP 位于核斑点处, 参与 m⁶A 甲基转移酶的催化过程。在 WTAP 缺失的情况下, 复合体结合 mRNA 的能力明显减弱。此外研究发现, 溶质载体家族(solute carrier, SLC)的转录组中存在 m⁶A 富集, 利用光激活核糖核苷增强交联免疫沉淀(photoactivatable ribonucleoside-enhanced cross-linking and immunoprecipitation, PAR-CLIP)技术证明 SLC 的 mRNA 与 WTAP 和 Mettl3 存在相互作用, WTAP 和 Mettl3 可以调节转录和加工 RNA 的相关基因表达。在斑马鱼胚胎中, 吗啉(morpholino)介导的靶向 WTAP 和 Mettl3 的敲低可导致组织分化缺陷并发生凋亡。这些发现显

示 WTAP 作为 m⁶A 甲基转移酶复合物的调节亚基, 在 RNA 代谢调控中发挥关键作用^[13]。VIRMA/KIAA1429 是复合体的另一组成成分。2014 年 Schwartz 等首次发现 KIAA1429 对于保证体内甲基转移酶复合体的活性完整是必不可少的^[14], 在人体内, 它与 WTAP 均位于核斑点处, 并且 VIRMA/KIAA1429 可以通过 N 端招募 Mettl3、Mettl14、WTAP 等组分, 作为一个支撑 Mettl3/Mettl14/WTAP 复合体的支架, 从而实现目标 mRNA 的精确定位与结合^[15]。

1.2 去甲基酶

去甲基酶是这一化学修饰中的“eraser”, 可以擦去 RNA 的 m⁶A 修饰。目前已知的去甲基化酶只有 2 种: 脂肪量与肥胖相关蛋白(fat mass and obesity associated, FTO)和 ALKB 同源蛋白 5 (α -ketoglutarate-dependent dioxygenase alkB homolog 5, ALKBH5)。FTO 是首个被发现的 RNA 去甲基化酶, 它在体内体外都能去除 m⁶A 的甲基基团^[16]。芝加哥大学何川课题组通过交联免疫沉淀(cross-linking immunoprecipitation, CLIP)和高通量测序(high-throughput sequencing)进一步验证 FTO 的结合靶点, 证实 FTO 通过氧化 N⁶-甲基腺苷(N⁶-methyladenosine)生成 N⁶-羟甲基腺苷(N⁶-hydroxymethyladenosine, hm⁶A)作为中间产物, 进一步氧化为 N⁶-甲酰腺苷(N⁶-formyl adenosine, f⁶A), 从而最终去除 m⁶A 甲基化^[17]。2013 年, 何川团队发现了第 2 个以 m⁶A 为底物的去甲基化酶 ALKBH5^[18]。研究发现, ALKBH5 缺陷会导致 m⁶A 水平升高, 加速核斑点处 mRNA 的输出, 并且在雄性小鼠中敲除 ALKBH5 会导致精子发生异常。虽然 FTO 和 ALKBH5 同为 ALKB 家族成员, 但两者存在组织表达差异, FTO 在大脑中的表达含量最高, 而 ALKBH5 在睾丸中的表达含量最为丰富, 两者通过不同的去甲基化过程参与不同的生物学

过程,从而发挥不同的生物学功能。

1.3 甲基阅读蛋白

甲基阅读蛋白是 m^6A 修饰中的“reader”,帮助识别 m^6A 修饰并发挥其功能。通过 RNA 拉拽实验(RNA pull down)发现,可以将甲基阅读蛋白根据结构域的不同分为 2 类,一类含有 YTH 结构域,另一类为 m^6A 的结构开关,它们含有常见的 RNA 结构域如 KH 结构域、RRM 结构域、RGG 结构域等。这些结构域证明对 m^6A 具有亲和力,可以优先结合含有 m^6A 的 mRNA 序列^[19]。2019 年一项研究发现一种新型 m^6A 阅读蛋白,PRRC2a (proline rich coiled-coil 2A)并不属于以上两类^[20]。第一类 m^6A 阅读蛋白含有相同的结构域 YTH (YT521-B)同源结构域,包括 YTHDF1 (YTH N^6 -methyladenosine RNA binding protein 1)、YTHDF2 (YTH N^6 -methyladenosine RNA binding protein 2)、YTHDF3 (YTH N^6 -methyladenosine RNA binding protein 3)、YTHDC1 (YTH domain containing 1) 和 YTHDC2 (YTH domain containing 2)。其中 YTHDF1、YTHDF2 和 YTHDF3 均位于细胞质中,YTHDF1 通过识别 m^6A 修饰,与翻译起始因子相互作用,从而促进 mRNA 的翻译,提高蛋白质的合成效率^[21]。2016 年,中国科学院上海国家蛋白质科学中心吴立刚研究组与复旦大学生命科学学院麻锦彪研究组合作研究发现 YTHDF2 通过 N 端区域直接招募 CCR4-NOT 复合物(carbon catabolite repression 4-negative on TATA-less),与该复合物的 CNOT1 亚基的 SH 结构域相互作用,加速 m^6A 修饰的转录本降解^[22]。YTHDF3 与 YTHDF1 存在协同作用时会促进蛋白质合成,与 YTHDF2 合作则介导 mRNA 降解。这 3 个 YTHDF 蛋白存在相互作用,这种作用受多种因素调控,从而共同影响与 m^6A 修饰相关的基

本生物过程。YTHDC1 存在细胞核中,何川团队与多伦多大学闵金荣课题组合作解析了 YTHDC1 的晶体结构,并对其结合位点鉴定证明 YTHDC1 能有效识别 m^6A 结构并发挥生物学功能^[23]。研究证明 YTHDC1 具有多种作用,比如 YTHDC1 通过招募富含丝氨酸和精氨酸的剪接因子 3 (serine and arginine rich splicing factor 3, SRSF3)促进靶向目标 mRNA 的剪接,同时阻断富含丝氨酸和精氨酸的剪接因子 10 (serine and arginine rich splicing factor 10, SRSF10)与 mRNA 的结合^[24]。此外,研究发现在 HeLa 细胞中,YTHDC1 能加速含有 m^6A 的 mRNA 从细胞核到细胞质的输出^[25]。YTHDC2 存在于细胞质中,它能选择性结合 mRNA,提高目的 mRNA 的翻译效率。并且 YTHDC2 与生殖系统关系密切,在雄性小鼠中敲除 YTHDC2 会导致雄性不育、睾丸缩小,雌性小鼠中敲除 YTHDC2 则会导致卵巢发育不良^[26]。

另一类是 m^6A 的结构开关,因为含有 m^6A 的 mRNA 倾向于形成线性结构,所以 m^6A 更容易被含有 KH 结构域、RRM 结构域、RGG 结构域的蛋白识别捕获优先结合,从而发挥不同生物学功能^[4]。一些异质核糖核蛋白(heterogeneous nuclear ribonucleoproteins, hnRNPs)属于这一类别,包括 hnRNPC (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C)、hnRNPG (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein G) 和 hnRNPA2B1 (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2B1)。hnRNPC 是一种核 RNA 结合蛋白,存在于细胞核中,主要负责 mRNA 的前加工。潘滔课题组利用 PAR-CLIP 和 m^6A 免疫沉淀 (methylated RNA immunoprecipitation, MeRIP) 等方法,发现 hnRNPC 能识别结合含有 m^6A 的 mRNA 序列,并影响 RNA 的选择性剪接。相似地, hnRNPG 也会在含有 m^6A 的 mRNA 序列周

围富集, 调控 mRNA 的表达和剪接方式^[27]。hnRNPA2B1 可以在体内和体外识别并直接结合含有 m⁶A 的 RNA 序列, 并且 hnRNPA2B1 缺陷会影响 RNA 选择性剪接^[28]。还有一类 m⁶A 阅读蛋白, 胰岛素样生长因子 2-mRNA 结合蛋白 1-3 (insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 1-3IGF2BP1-3)能够识别 m⁶A 修饰从而稳定 mRNA 结构及蛋白翻译, 进而调控基因表达^[29]。

总而言之, 如图 1 所示, m⁶A 是一种广泛存在于 mRNA 的化学修饰, 由甲基转移酶、去甲基酶和甲基阅读蛋白三者调控并受到精密的时间和空间影响, 处于一种动态平衡之中。

2 m⁶A 修饰在中枢神经系统发育以及功能行使中的作用

神经系统是最早开始发育的系统之一, 但同时也是发育完成最晚的系统之一。神经发生

始于胚胎发育早期, 由囊胚的外胚层发育为早期的神经系统细胞——神经上皮细胞, 经过一系列分化发育为放射状胶质细胞, 最后遵循“先内后外”的原则迁移到大脑皮层各个区域, 最终分化为各种类型的神经元。神经胶质细胞, 主要是少突胶质细胞和星形胶质细胞, 同样来源于放射状胶质细胞, 但神经胶质细胞的发育稍晚于神经元^[32]。目前一些研究表明, m⁶A 修饰参与神经元及胶质细胞的发育过程。

2.1 m⁶A 修饰在神经元中的作用

研究发现, 在胚胎神经元发育过程中, Mettl14 在放射状胶质细胞中表达最高。在小鼠胚胎中敲除 Mettl14 降低 m⁶A 水平, 会延长放射状胶质细胞的细胞周期, 并推迟皮质神经元发育, 敲除 Mettl3 也会导致相似的结果。这说明 m⁶A 参与调控大脑神经发生^[33]。Mettl3 缺失会抑制神经元发育, 并且会使骨髓间充质干细胞更倾向于胶质细胞分化, 影响成年大脑

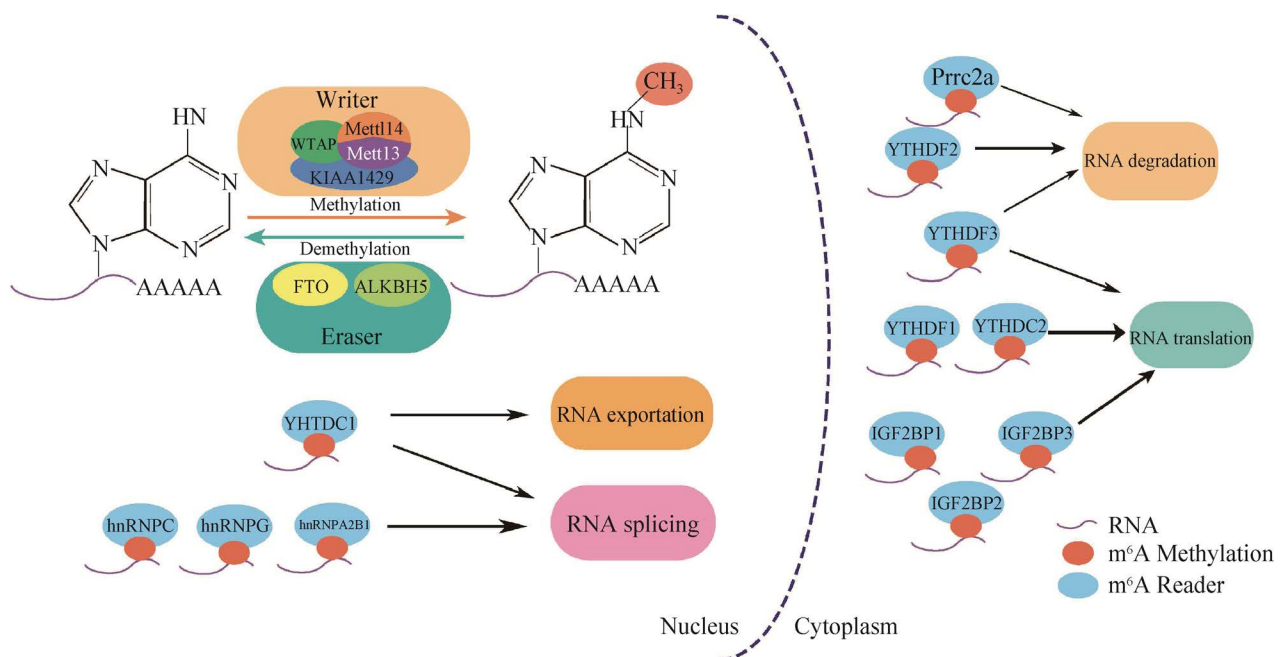


图 1 m⁶A RNA 甲基化修饰过程示意图(根据参考文献[30-31]修改)

Figure 1 m⁶A RNA methylation modification process (modified from references [30-31]).

中新生神经元的形态成熟。Zeste 同系物增强子 2 (enhancer of zeste homolog 2, Ezh2) 是一种组蛋白甲基转移酶, 调控 DNA 的甲基化。Mettl3 敲低后会导致 Ezh2 蛋白的表达降低, 也会降低组蛋白 H3 第 27 位赖氨酸的三甲基化修饰(maternal trimethylation of H3 on lysine 27, H3K27me3) 的表达水平, 进一步导致神经元发育不良, 而 Ezh2 过表达后会挽救这一结果^[34], 这说明 Mettl3 在 mRNA 水平调控组蛋白等 DNA 表观修饰相关蛋白的表达, 进一步从多层次参与调节神经元发育。此外, 研究发现 FTO 可以通过多种途径调控神经发生。FTO 不仅是 m⁶A 去甲基化酶, 还是一种与肥胖相关的基因。浙江大学转化医学研究院李学坤课题组发现, 脂质可以在出生后的大脑神经元发育过程中积累。条件性敲除脂质中的 FTO, 会降低小鼠脑内脂质水平, 会促进脂肪细胞的腺苷分泌, 进而导致新生神经元凋亡同时损害小鼠的学习记忆能力^[35], 但当时研究并没有发现 FTO 作为去甲基酶的作用, 没有排除神经系统中是否存在 m⁶A 修饰水平的变化。中国医学科学院佟伟民团队发现 Mettl3 和去甲基化酶 ALKBH5 的异常表达导致 mRNA 甲基化的失衡, 进一步导致小脑发育缺陷。这说明小脑 mRNA 甲基化平衡对于小脑发育过程至关重要^[36]。同时这也说明 mRNA 甲基化是动态平衡而不是一成不变的, 并且在不同组织器官中的“平衡”也不尽相同。此外, 还有研究发现 ALKBH5 在小鼠发育时期的嗅球和灰质神经元中表达量较高, 在发育过程中随着时间的推移 ALKBH5 表达量逐渐下降, 这暗示 m⁶A 修饰可能在大脑发育早期发挥更重要的作用^[37]。2018 年 Shi 等的研究发现 YTHDF1 识别目标 mRNA 的 m⁶A 可以加速蛋白质的合成, 有助于小鼠海马区学习和记忆的形成, YTHDF1 的缺失则会损害海马区突触的传

导并且影响记忆的形成^[38]。同年, 王秀杰团队和杨运桂团队合作发现小鼠大脑海马区的学习记忆的形成(图 2), 尤其是长时程记忆的巩固高度依赖于 Mettl3, Mettl3 丰度越高, 其学习能力越强并且记忆越巩固^[39]。Klungland 等发现在小鼠出生后早期发育时期敲除 YTHDF2 会影响神经干细胞(neural stem cells, NSCs)的增殖和分化状态而导致脑发育缺陷, 胚胎时期敲除 YTHDF2 则表现为脑皮质发育迟缓^[40]。并且 YTHDF2 缺失会导致 NSCs 增殖数量下降, 使 NSCs 倾向于神经元分化, 但分化的神经元轴突较短^[40]。

2.2 m⁶A 修饰在神经胶质细胞中的作用

神经胶质细胞主要是来自中枢神经系统放射状胶质细胞的少突胶质细胞和星形胶质细胞^[41]。研究发现, 在少突胶质细胞前体细胞(oligodendrocyte progenitor cells, OPCs)和少突胶质细胞中, 存在许多 m⁶A 动态标记的转录本, 其中有很多是组蛋白修饰因子相关的转录本, 这表明 m⁶A 修饰在少突胶质谱系细胞中可能通过调节表观遗传修饰因子的表达而发挥作用^[42]。在少突胶质谱系细胞中特异性敲除 Mettl14 会破坏少突胶质谱系细胞的分化, 但对 OPCs 的增殖无明显影响。同时有趣的是, m⁶A 测序结果显示特异性敲除 Mettl14 会导致 OPCs 和少突胶质细胞的大量转录本异常, 包括一些组蛋白修饰相关蛋白的转录本剪接异常。其中, NF155 是构成郎飞氏结结构的关键蛋白, 特异性敲除 Mettl14 导致 m⁶A 水平下降并且发生 NF155 转录本剪接异常, 从而使得郎飞氏结结构出现异常。这些结果表明 m⁶A 在 OPCs 和少突胶质细胞中的调控可能具有时间特异性^[43]。此外, 研究发现 PRRC2a 参与调控 OPCs 的增殖和分化。在少突胶质谱系细胞中特异性敲除 PRRC2a 导致小鼠体重、脑重减小, 中枢神经系统髓鞘厚度变薄, 并伴有认知和行为功能障碍^[20]。

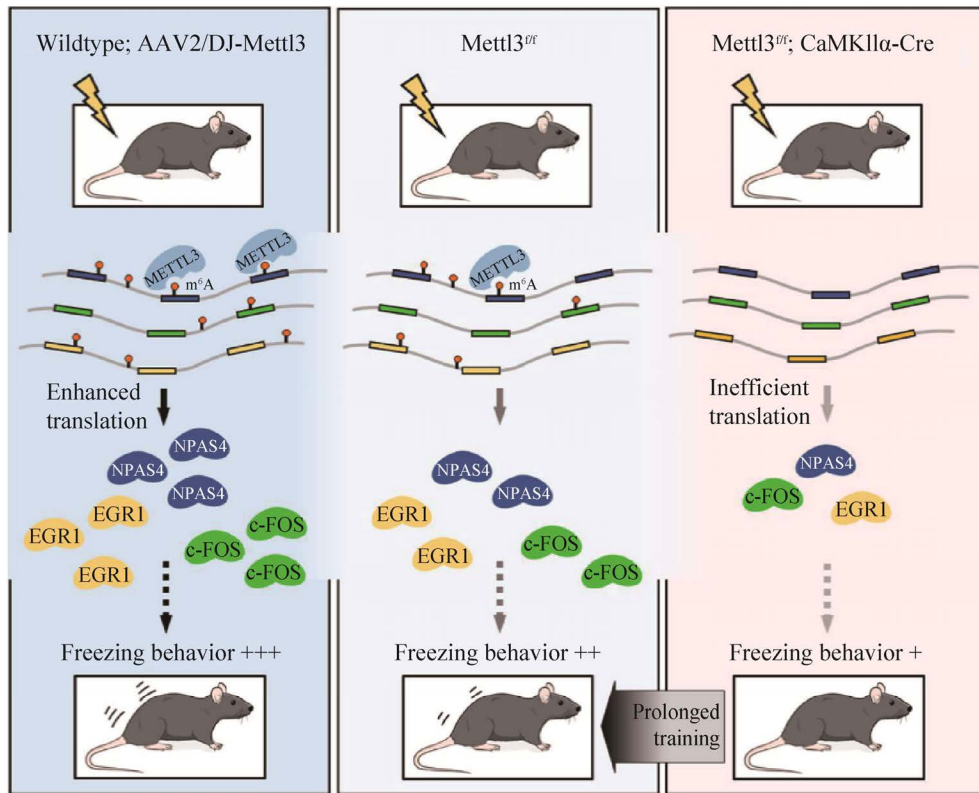


图2 Mettl3介导的m⁶A水平升高促进长时程记忆巩固^[39]

Figure 2 METTL3-mediated m⁶A modification regulates long-term memory consolidation^[39].

在 NSCs 分化过程中, Mettl3 调节 NSCs 倾向神经元分化, 并且 m⁶A 修饰的存在会导致新生星形胶质细胞的数量下降^[34]。在小鼠胚胎时期 E11.5 d 时的神经干细胞中敲除 Mettl14 [nestin-Mettl14(-/-)], 导致 P5 时星形胶质细胞的数量明显减少^[33]。在小脑发育早期, 通过慢病毒敲低小脑局部 Mettl3 表达, 结果发现小脑星形胶质细胞形态异常^[36]。以上这些研究都说明在星形胶质细胞发育, 尤其是发育的早期, m⁶A 修饰在其中发挥必不可少的作用。

尽管目前 m⁶A 在神经胶质细胞中的相关报道并不是很多, 但仅目前研究说明, m⁶A 在神经胶质细胞发育及分化中存在动态调控, 并具有时间和空间特异性。关于 m⁶A 修饰在神经胶质细胞中的功能仍需我们进一步研究。

3 中枢神经系统疾病中 m⁶A 修饰的异常调控

中枢神经系统疾病主要包括退行性疾病、精神疾病和脑肿瘤等, 这些疾病的发病机制并不清楚。近年研究表明, m⁶A 参与了这些疾病的发生发展(表 1)。

3.1 m⁶A 修饰与帕金森病

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种常见的神经系统退行性疾病, 多见于老年人, 平均发病年龄为 60 岁左右。我国 65 岁以上人群 PD 的患病率大约是 1.7%。其主要特征是静止性震颤、运动迟缓、僵直和姿势不稳以及各种其他运动和非运动症状, 如快速眼动睡眠障碍、嗅觉缺失、便秘和抑郁^[53],

主要的神经病理学表现为路易小体 α -突触核蛋白(α -synuclein)的过表达和多巴胺能神经元缺失,从而导致自发性运动功能降低^[54]。帕金森病病因目前仍不清楚。研究显示,多巴胺能神经元的变性死亡与遗传因素、环境因素、年龄老化、氧化应激等多种因素有关。如前所述, *Mettl14* 是甲基转移酶复合体的重要组成部分,

介导 *Mettl3* 与目标 mRNA 结合并大大增加了复合体的催化效率。纹状体功能的异常是 PD 患者的一个重要病理现象, Koranda 等通过特定细胞类型造成 *Mettl14* 的条件性缺失,发现 *Mettl14* 对于成年哺乳动物大脑中 m^6A 修饰是不可或缺的,并且 m^6A 缺失严重会影响成年小鼠的基因表达及纹状体功能。这说明 m^6A 是维持成年

表 1 m^6A 修饰在中枢神经系统疾病中的作用

Table 1 Role of m^6A modification in central nervous system diseases

Disease	m^6A related proteins	Expression changes	Effect	References
Parkinson's disease	<i>Mettl14</i>	↓	Specific knockout of <i>Mettl14</i> gene in D1R and D2R cells resulted in abnormal striatum function	[44]
	FTO	↑	Decreased m^6A level induced NMDA1 expression and the apoptosis of dopaminergic neurons	[45]
	ALKBH5	-	ALKBH5 may be a potential risk gene for Parkinson's disease	[46]
Alzheimer's disease	<i>Mettl3</i>	↑	<i>Mettl3</i> was highly expressed in AD mice, while demethylase FTO expression was decreased. The abnormal m^6A -modified genes are involved in presynaptic membrane, postsynaptic membrane and synaptic growth	[47]
	FTO	↓		
	<i>Mettl3</i>	↓	<i>Mettl3</i> expression is down-regulated in the hippocampal of AD patients. The decreased methylation levels are associated with decreased AD protein levels, which may be a factor in the development of AD	[48]
Multiple sclerosis	<i>Mettl14</i>	↓	Specific knockout of <i>Mettl14</i> gene in oligodendrocyte lineage results in oligodendrocyte depletion and hypomyelination in the central nervous system	[43]
	<i>Prre2a</i>	↓	Specific knockout of <i>Prre2a</i> gene in neural stem cells or oligodendrocyte lineage cells resulted in significant myelin reduction, shortened lifespan, motor and cognitive impairment in mice	[29]
Major depressive disorder	FTO	↓	FTO deficiency resulted in anxiety and depressive behaviors	[49]
glioblastoma	<i>Mettl3</i>	↓	The expression of <i>Mettl3</i> or <i>Mettl14</i> in GSCs was down-regulated, which reduced m^6A mRNA level and promoted the growth and self-renewal of GSCs	[50]
	<i>Mettl14</i>	↓		
	<i>Mettl3</i>	↓	In U251 cells, m^6A level was reduced, resulting in increased cell migration and proliferation	[51]
	FTO	↑		
	ALKBH5	↑	ALKBH5 expression was significantly increased in GSCs ALKBH5 can promote GSCs tumorigenesis by regulating FOXM1 expression	[52]

↑: Up-regulated; ↓: Down-regulated; -: Unknown.

小鼠纹状体功能和学习能力所必需的^[44]。6-羟多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)是一种神经毒素,它能选择性杀死多巴胺类神经元,因此常被用来研究与帕金森病相关的病理机制。2019年Chen等在脑内特定区域注射6-OHDA的大鼠和体外6-OHDA诱导的PC12细胞中发现,mRNA的整体m⁶A水平下降^[45]。研究人员进一步过表达FTO或使用m⁶A抑制剂,降低多巴胺能细胞中的m⁶A水平。结果表明,m⁶A水平降低可诱导N-甲基-D-天冬氨酸受体1(N-methyl-D-aspartic acid receptor 1, NMDA1)的表达从而导致多巴胺能神经元凋亡。这是由于氧化应激水平升高,Ca²⁺内流引起的。这暗示m⁶A修饰可能在多巴胺能神经元的凋亡中发挥重要作用^[45]。Qiu等在PD患者中利用大规模全基因组关联研究(genome-wide association studies, GWAS)研究m⁶A单核苷酸多态性位点分析(m⁶A-single nucleotide polymorphisms, m⁶A-SNPs)的潜在功能变异,通过表达数量性状位点分析(expression quantitative trait locus, eQTL)和差异基因表达分析进一步筛选潜在的m⁶A-SNPs,发现ALKBH5可能是帕金森病潜在危险基因^[46]。m⁶A修饰在PD中具体发挥怎样的作用,目前机制并不明确。深入研究两者之间的关系,可以帮助我们加深对PD的认识,探索这一疾病新的治疗方向。

3.2 m⁶A修饰与阿尔兹海默症

越来越多的研究表明,为了应对神经元功能和活动的变化,m⁶A水平的稳定对正常的大脑功能非常重要,m⁶A相关蛋白在调节神经元活性功能过程中起到至关重要的作用。阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种病因不明,进行性发展的神经系统退行性疾病,是最常见的痴呆类型。临床上主要表现为渐进性的认知衰退及记忆丢失,从病理学角度来看,该

疾病的典型病理特征为大脑皮层萎缩,神经纤维缠结并且记忆相关的神经元大量丢失^[55]。阿尔茨海默病的生物学标记主要有2种——由过渡磷酸化的微管相关蛋白Tau和细胞外淀粉样蛋白A β 斑块沉淀^[56]。虽然AD发病机制并不清楚,但研究普遍认为,突触的病变是AD发展中的一个关键过程。最近的一项研究表明,与正常C57小鼠相比,AD模型小鼠(APP/PS1双转基因小鼠)中存在m⁶A失调的现象,该研究利用高通量测序技术将AD模型小鼠和正常小鼠中RNA的m⁶A甲基化水平进行量化比较,数据显示AD模型小鼠的皮质和海马区m⁶A甲基化水平升高。同时,AD小鼠中m⁶A甲基转移酶Mettl3的表达升高,去甲基酶FTO的表达降低。而m⁶A修饰异常的基因中,有一些是参与突触前膜、突触后膜和突触生长关键性基因。因此,这说明m⁶A可能确实参与了AD,但具体机制或功能并不清楚^[47]。而另外一项研究表明,在AD患者死后的大脑海马区中Mettl3表达下调,并且甲基化水平降低与AD蛋白水平的降低有关,这可能是AD发生的一个因素^[48]。2篇文章存在较大差异,这可能是由于AD模型选择的不同或者疾病发展阶段的不同造成的。这也说明小鼠大脑和人类大脑中甲基化调控存在差异。除此之外,Reitz等发现FTO基因中内含子1、2或3的遗传变异与AD有关,研究数据表明,AD病例中FTO的表达显著降低,并且FTO的内含子2表达水平存在遗传变异的影响^[57]。

3.3 m⁶A修饰与多发性硬化

多发性硬化(multiple sclerosis, MS)是一种中枢神经系统脱髓鞘和神经退行性病变的慢性炎症。虽然它的发病机制也还不清楚,但目前普遍认为是由于外界环境和易感基因等多种因素共同作用导致该疾病的发生^[58]。MS的病理

特征包括中枢神经系统白细胞浸润、脱髓鞘和星形胶质细胞增生，导致感觉、运动、自主神经和神经认知功能等出现进行性恶化。多发性硬化症的病程很长，在大多数患者中，多发性硬化症具有易复发性。数据显示，约 85% 的 MS 患者为复发-缓解模式(relapsing-remitting MS, RRMS)，即初次发作后病症缓解，之后复发且复发时间持续至少 24 h，大约 50% 的 RRMS 患者最终在 10 年内转变为继发性 MS，因此人们也普遍认为多发性硬化症不仅是一种炎症性疾病，也是一种神经退行性疾病^[59]。中枢神经系统髓鞘由少突胶质细胞发育分化而来，一项分析表明，少突胶质谱系细胞的发展伴随着 m⁶A 转录组的动态变化。在少突胶质谱系细胞中特异性敲除 *Mettl14* 会导致少突胶质细胞的减少和中枢神经系统的低髓鞘化。体外实验证明，特异性敲除 *Mettl14* 会导致少突胶质前体细胞向成熟的少突胶质细胞分化失败，并造成少突胶质前体细胞和少突胶质细胞的转录组表达异常。*Mettl14* 会导致 RNA 转录本的异常剪接，并且特异性敲除 *Mettl14* 导致郎飞氏结构的

异常，但研究并未发现小鼠明显的行为认知功能异常^[43]。除此之外，有研究发现在神经干细胞或少突胶质谱系细胞中特异性敲除小鼠 *PRRC2a* 均可导致小鼠显著的髓鞘减少、寿命缩短、运动障碍和认知障碍，这说明 *PRRC2a* 参与少突胶质细胞前体细胞增殖和少突胶质细胞的命运决定^[29]。

3.4 m⁶A 修饰与精神疾病

重度抑郁症(major depressive disorder, MDD)是一种使人衰弱的疾病，其特征是情绪低落、兴趣减退，严重时出现认知功能受损，如睡眠或食欲紊乱。MDD 的病因是多因素的，没有明确的机制可以解释这种疾病的所有方面^[60]。该疾病遗传因素约为 35%，而后天环境因素，如儿童期的虐待、生命早期应激(early life stress, ELS)与重度抑郁症的患病风险同样密切相关。研究发现，表观遗传因子参与了这一疾病的发展进程^[61]。图 3 总结了组蛋白修饰等一些重要的 DNA 表观遗传因子与 ELS 的关系^[61]。DNA 表观遗传因子参与 ELS 相关的 3 条主要途径的改变：下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA axis)、

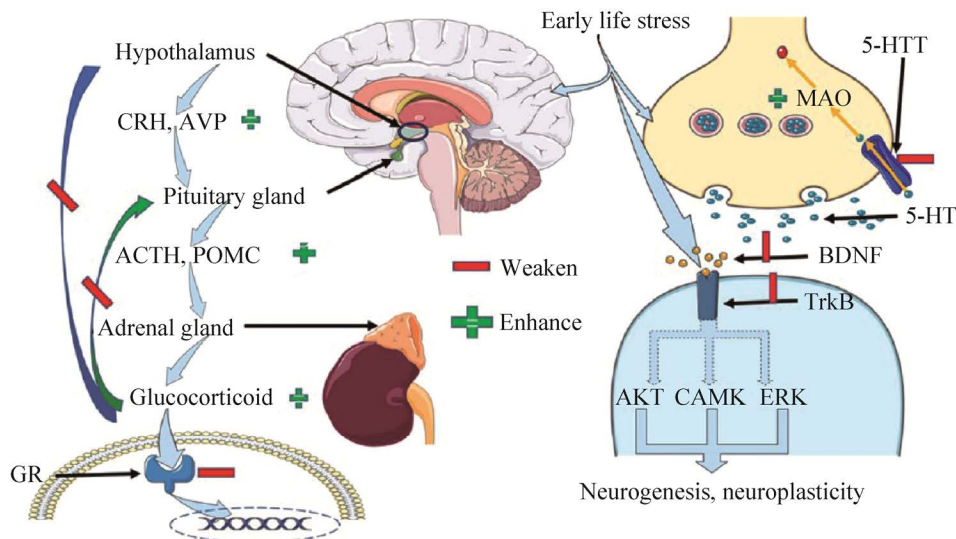


图 3 与 DNA 表观遗传因子相关的 ELS 相关信号途径的改变^[61]

Figure 3 Early life stress-induced alterations of depressive-related paths due to epigenetic modification^[61].

5-羟色胺(5-HT)途径、脑源性营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)途径。这3条途径的改变与MDD关系密切。除此之外,转录后调控同样在该疾病中扮演重要角色。研究表明RNA去甲基化酶FTO是与抑郁症相关的基因之一,FTO缺乏会导致焦虑和抑郁的行为^[49]。之前有研究表明,抑郁症患者中患有肥胖相关疾病的人群比例有所增加。如前所述,FTO同时还是一种与肥胖相关的基因,该基因突变会导致人类肥胖。Rivera等分析了2442例重度抑郁症患者和809例对照的临床确诊样本中FTO基因的88个SNPs。这一发现表明,FTO可能参与了情绪障碍和肥胖之间关联的潜在机制^[62]。反之,重症抑郁症患者相较于非重症抑郁症患者更容易出现肥胖、糖尿病、冠心病等身体疾病^[63]。

3.5 m⁶A修饰与脑肿瘤

大量研究显示,m⁶A对多种肿瘤的发生至关重要。在中枢神经系统中,神经胶质瘤是最常见的恶性肿瘤。其中胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)发生率最高,占所有脑肿瘤的50%。GBM患者的平均生存时间只有14.6个月,中位生存时间仍仅为12–15个月,只有3%–5%的患者生存时间长于3年^[64]。胶质母细胞瘤起源于低分化的胶质细胞,具有核异型性、细胞多态性和高度有丝分裂活性的特点^[65]。研究表明,mRNA m⁶A水平的稳定对维持胶质细胞瘤干细胞(glioma stem cells, GSCs)的生长、自我更新和肿瘤发展至关重要。在体外GSCs中敲低Mettl3或Mettl14的表达,降低mRNA中m⁶A水平并促进GSCs的生长和自我更新。研究者利用m⁶A测序技术(m⁶A-seq)发现,Mettl3/Mettl14的缺失导致大量转录本m⁶A富集状态的改变,其中包括ADAM19这一关键靶点,最终调控GSCs的自我更新过程^[50]。

2019年Li等^[51]收集了10对GBM和正常组织,研究发现GBM组织中m⁶A水平明显低于正常组织。通过qPCR等实验显示GBM组织中m⁶A水平下降的原因可能是Mettl3表达水平降低,FTO表达量上升。研究人员通过调节人胶质瘤细胞系U251细胞中的Mettl3和FTO水平调控m⁶A水平升高或降低,最终结果表明,在U251细胞中下调Mettl3或上调FTO基因表达,降低m⁶A水平,导致细胞迁移和增殖能力显著增强。这说明m⁶A在调节人脑胶质瘤U251细胞增殖中具有重要作用。并且研究人员还发现,在体外m⁶A水平越低,凋亡细胞越少。于是研究人员采用TUNEL法检测U251细胞的凋亡情况,并检测过表达Mettl3的U251细胞中的HSP90水平,结果表明m⁶A通过调节HSP90水平调控细胞凋亡进而影响胶质瘤的增殖,这为GBM的治疗提供了新的思路^[51]。此外,2018年黄素云课题组与何川课题组合作^[52]发现ALKBH5参与GSCs的增殖过程。研究显示ALKBH5表达水平在GSCs中显著增加,在体外和体内ALKBH5缺陷均对GSC的肿瘤发生有抑制作用。同时,ALKBH5在GSCs中沉默会导致G0/G1期细胞比例增加,S期和G2/M期细胞比例减少。之前研究已经发现,转录因子FOXM1表达增加会促进GSC的增殖和自我更新。而ALKBH5则可通过维持FOXM1的表达和增殖来促进GSCs的致癌性^[52]。

综上所述,m⁶A修饰在中枢神经系统疾病中发挥不同的作用,参与调节的机制也不尽相同。有意思的是,不仅参与的机制不同,不同的团队所发现的结果有时也会存在矛盾,这说明m⁶A修饰存在很强的异质性。目前这些发现显示还有进一步探索的必要,研究m⁶A修饰在中枢神经系统疾病发生发展中的作用机制,可以加深我们对于疾病的认识,也许有助于我们

找到对于疾病治疗的新靶点。

4 总结与展望

随着技术的发展,越来越多的研究显示出 m⁶A 修饰灵活、动态地参与到各种生物过程和疾病中。目前已知 m⁶A 是 mRNA 中最丰富的修饰,与神经系统的发育、功能及相关疾病的发生发展都有密切关系。m⁶A 已被证明参与胚胎和出生后的神经发育,从 NSCs 的增殖分化到成年神经细胞功能的维持。这些功能同样也与阿尔茨海默病、胶质母细胞瘤等疾病关系密切。这说明, m⁶A 肯定在其中发挥至关重要的功能。

目前研究多集中在胚胎及发育早期,但在成年后的神经元及胶质细胞发育过程中 m⁶A 发挥怎样的功能目前并不清楚。并且目前研究显示, m⁶A 修饰在中枢神经系统发育、功能及相关疾病发生过程并非以“单一”身份参与其中,因此在研究中枢神经系统发育、功能及其相关疾病与 m⁶A 修饰关系时,除了研究“m⁶A 修饰”这一整体对于中枢神经系统发育、功能及其相关疾病的关系,还应将 m⁶A 的 3 个成员之间的互作对于中枢神经系统发育、功能及相关疾病的影响考虑在研究之中。那么 m⁶A 的 3 个成员之间的互作方式成为研究的必要,尤其在正常和异常情况下成员之间的互作方式是否发生改变,这一问题亟需我们解答。最终我们能否从 m⁶A 修饰入手治疗神经系统疾病? 这些答案有助于我们加深对中枢神经系统发育、功能及相关疾病发生的认识。

随着认知的深入,我们会发现 m⁶A 很复杂。这种复杂体现在多个方面: (1) RNA 种类的繁多、剪接体的多样,并且 RNA 具有很强的异质性。(2) RNA 翻译及定位的复杂等。这些“复杂”同时又加大了研究 m⁶A 的困难程度,所以这其中也需要技术的进步去更好地回答这些

问题。而以上问题的答案,也许能帮助我们加深对神经系统的认识,并找到神经系统疾病更好的治疗方法。

REFERENCES

- [1] ALLIS CD, JENUWEIN T. The molecular hallmarks of epigenetic control[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2016, 17(8): 487-500.
- [2] YAO B, CHRISTIAN KM, HE C, JIN P, MING GL, SONG HJ. Epigenetic mechanisms in neurogenesis[J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2016, 17(9): 537-549.
- [3] BOCCALETTO P, STEFANIAK F, RAY A, CAPPANNINI A, MUKHERJEE S, PURTA E, KURKOWSKA M, SHIRVANIZADEH N, DESTEFANIS E, GROZA P, AVŞAR G, ROMITELLI A, PIR P, DASSI E, CONTICELLO SG, AGUILO F, BUJNICKI JM. MODOMICS: a database of RNA modification pathways. 2021 update[J]. *Nucleic Acids Research*, 2022, 50(D1): D231-D235.
- [4] ZACCARA S, RIES RJ, JAFFREY SR. Reading, writing and erasing mRNA methylation[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2019, 20(10): 608-624.
- [5] DESROSIERS R, FRIDERICI K, ROTTMAN F. Identification of methylated nucleosides in messenger RNA from Novikoff hepatoma cells[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1974, 71(10): 3971-3975.
- [6] BOKAR JA, SHAMBAUGH ME, POLAYES D, MATERA AG, ROTTMAN FM. Purification and cDNA cloning of the AdoMet-binding subunit of the human mRNA (N⁶-adenosine)-methyltransferase[J]. *RNA: New York, N Y*, 1997, 3(11): 1233-1247.
- [7] CLANCY MJ, SHAMBAUGH ME, TIMPTE CS, BOKAR JA. Induction of sporulation in *Saccharomyces cerevisiae* leads to the formation of N⁶-methyladenosine in mRNA: a potential mechanism for the activity of the *IME4* gene[J]. *Nucleic Acids Research*, 2002, 30(20): 4509-4518.
- [8] ZHONG SL, LI HY, BODI Z, BUTTON J, VESPA L, HERZOG M, FRAY RG. MTA is an *Arabidopsis* messenger RNA adenosine methylase and interacts with a homolog of a sex-specific splicing factor[J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(5): 1278-1288.
- [9] MEYER KD, SALETTORE Y, ZUMBO P, ELEMENTO O, MASON CE, JAFFREY SR. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons[J]. *Cell*, 2012, 149(7):

- 1635-1646.
- [10] DOMINISSINID, MOSHITCH-MOSHKOVITZ S, SCHWARTZ S, SALMON-DIVON M, UNGAR L, OSENBURG S, CESARKAS K, JACOB-HIRSCH J, AMARIGLIO N, KUPIEC M, SOREK R, RECHAVI G. Topology of the human and mouse m⁶A RNA methylomes revealed by m⁶A-seq[J]. *Nature*, 2012, 485(7397): 201-206.
- [11] HUANG JB, DONG X, GONG Z, QIN LY, YANG S, ZHU YL, WANG X, ZHANG DL, ZOU TT, YIN P, TANG C. Solution structure of the RNA recognition domain of METTL3-METTL14 N⁶-methyladenosine methyltransferase[J]. *Protein & Cell*, 2019, 10(4): 272-284.
- [12] WANG P, DOXTADER KA, NAM Y. Structural basis for cooperative function of Mettl3 and Mettl14 methyltransferases[J]. *Molecular Cell*, 2016, 63(2): 306-317.
- [13] 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, et al. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N⁶-methyladenosine methyltransferase[J]. *Cell Research*, 2014, 24(2): 177-189.
- [14] SCHWARTZ S, MUMBACH MR, JOVANOVIĆ M, WANG T, MACIAG K, BUSHKIN GG, MERTINS P, TER-OVANESYAN D, HABIB N, CACCHIARELLI D, SANJANA NE, FREINKMAN E, PACOLD ME, SATIJA R, MIKKELSEN TS, HACOEN N, ZHANG F, CARR SA, LANDER ES, REGEV A. Perturbation of m⁶A writers reveals two distinct classes of mRNA methylation at internal and 5' sites[J]. *Cell Reports*, 2014, 8(1): 284-296.
- [15] YUE YN, LIU J, CUI XL, CAO J, LUO GZ, ZHANG ZZ, CHENG T, GAO MS, SHU X, MA HH, WANG FQ, WANG XX, SHEN B, WANG YZ, FENG XH, HE C, LIU JZ. VIRMA mediates preferential m⁶A mRNA methylation in 3'UTR and near stop codon and associates with alternative polyadenylation[J]. *Cell Discovery*, 2018, 4: 10.
- [16] 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[J]. *Nature Communications*, 2013, 4: 1798.
- [17] WEI JB, LIU FG, LU ZK, 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[J]. *Molecular Cell*, 2018, 71(6): 973-985.e5.
- [18] ZHENG GQ, DAHL JA, NIU YM, FEDORCSAK P, HUANG CM, LI CJ, VÅGBØ 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 KR, et al. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility[J]. *Molecular Cell*, 2013, 49(1): 18-29.
- [19] SHI HL, WEI JB, HE C. Where, when, and how: context-dependent functions of RNA methylation writers, readers, and erasers[J]. *Molecular Cell*, 2019, 74(4): 640-650.
- [20] WU R, LI A, SUN BF, SUN JG, ZHANG JH, ZHANG T, CHEN YS, XIAO YJ, GAO YH, ZHANG QY, MA J, YANG X, LIAO YJ, LAI WY, QI XL, WANG SK, SHU YS, WANG HL, WANG FC, YANG YG, et al. A novel m⁶A reader Prrc2a controls oligodendroglial specification and myelination[J]. *Cell Research*, 2019, 29(1): 23-41.
- [21] WANG X, ZHAO BS, ROUNDTREE IA, LU ZK, HAN DL, MA HH, WENG XC, CHEN K, SHI HL, HE C. N⁶-methyladenosine modulates messenger RNA translation efficiency[J]. *Cell*, 2015, 161(6): 1388-1399.
- [22] 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[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 12626.
- [23] XU C, WANG X, LIU K, ROUNDTREE IA, TEMPEL W, LI YJ, LU ZK, HE C, MIN JR. Structural basis for selective binding of m⁶A RNA by the YTHDC1 YTH domain[J]. *Nature Chemical Biology*, 2014, 10(11): 927-929.
- [24] XIAO W, ADHIKARI S, DAHAL U, CHEN YS, HAO YJ, SUN BF, SUN HY, LI A, PING XL, LAI WY, WANG X, MA HL, HUANG CM, YANG Y, HUANG N, JIANG GB, WANG HL, ZHOU Q, WANG XJ, ZHAO YL, et al. Nuclear m⁶A reader YTHDC1 regulates mRNA splicing[J]. *Molecular Cell*, 2016, 61(4): 507-519.
- [25] ROUNDTREE IA, LUO GZ, ZHANG ZJ, WANG X, ZHOU T, CUI Y, SHA JH, HUANG XX, GUERRERO L, XIE P, HE E, SHEN B, HE C. YTHDC1 mediates nuclear export of N⁶-methyladenosine methylated mRNAs[J]. *eLife*, 2017, 6: e31311.
- [26] HSU PJ, ZHU YF, MA HH, GUO YS, SHI XD, LIU YY, QI MJ, LU ZK, SHI HL, WANG JY, CHENG YW, LUO GZ, DAI Q, LIU MX, GUO XJ, SHA JH, SHEN

- B, HE C. Ythdc2 is an N6-methyladenosine binding protein that regulates mammalian spermatogenesis[J]. *Cell Research*, 2017, 27(9): 1115-1127.
- [27] LIU N, ZHOU KI, PARISIEN M, DAI Q, DIATCHENKO L, PAN T. N6-methyladenosine alters RNA structure to regulate binding of a low-complexity protein[J]. *Nucleic Acids Research*, 2017, 45(10): 6051-6063.
- [28] ALARCÓN CR, GOODARZI H, LEE H, LIU XH, TAVAZOIE S, TAVAZOIE SF. HNRNPA2B1 is a mediator of m⁶A-dependent nuclear RNA processing events[J]. *Cell*, 2015, 162(6): 1299-1308.
- [29] HUANG HL, WENG HY, SUN WJ, QIN X, SHI HL, WU HZ, ZHAO BS, MESQUITA A, LIU C, YUAN CL, HU YC, HÜTTELMAIER S, SKIBBE JR, SU R, DENG XL, DONG L, SUN M, LI CY, NACHTERGAELE S, WANG YG, et al. Recognition of RNA N6-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation[J]. *Nature Cell Biology*, 2018, 20(3): 285-295.
- [30] WANG J, SHA YQ, SUN T. m⁶A modifications play crucial roles in glial cell development and brain tumorigenesis[J]. *Frontiers in Oncology*, 2021, 11: 611660.
- [31] YEN YP, CHEN JN. The m⁶A epitranscriptome on neural development and degeneration[J]. *Journal of Biomedical Science*, 2021, 28(1): 40.
- [32] SILBEREIS JC, POCHAREDDY S, ZHU Y, LI MF, SESTAN N. The cellular and molecular landscapes of the developing human central nervous system[J]. *Neuron*, 2016, 89(2): 248-268.
- [33] YOON KJ, RINGELING FR, VISSERS C, JACOB F, POKRASS M, JIMENEZ-CYRUS D, SU YJ, KIM NS, ZHU YH, ZHENG L, KIM S, WANG XY, DORÉ LC, JIN P, REGOT S, ZHUANG XX, CANZAR S, HE C, MING GL, SONG HJ. Temporal control of mammalian cortical neurogenesis by m⁶A methylation[J]. *Cell*, 2017, 171(4): 877-889.e17.
- [34] CHEN JC, ZHANG YC, HUANG CM, SHEN H, SUN BF, CHENG XJ, ZHANG YJ, YANG YG, SHU Q, YANG Y, LI XK. m⁶A regulates neurogenesis and neuronal development by modulating histone methyltransferase Ezh2[J]. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 2019, 17(2): 154-168.
- [35] GAO H, CHENG XJ, CHEN JC, JI C, GUO HF, QU WZ, DONG XX, CHEN YY, MA LH, SHU Q, LI XK. Fto-modulated lipid niche regulates adult neurogenesis through modulating adenosine metabolism[J]. *Human Molecular Genetics*, 2020, 29(16): 2775-2787.
- [36] MA CH, CHANG MQ, LV HY, ZHANG ZW, ZHANG WL, HE X, WU GL, ZHAO SL, ZHANG Y, WANG D, TENG XF, LIU CY, LI Q, KLUNGLAND A, NIU YM, SONG SH, TONG WM. RNA m⁶A methylation participates in regulation of postnatal development of the mouse cerebellum[J]. *Genome Biology*, 2018, 19(1): 68.
- [37] DU TF, LI GX, YANG JL, MA KL. RNA demethylase Alkbh5 is widely expressed in neurons and decreased during brain development[J]. *Brain Research Bulletin*, 2020, 163: 150-159.
- [38] 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, et al. m6A facilitates hippocampus-dependent learning and memory through YTHDF1[J]. *Nature*, 2018, 563(7730): 249-253.
- [39] 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[J]. *Cell Research*, 2018, 28(11): 1050-1061.
- [40] 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[J]. *Genome Biology*, 2018, 19(1): 69.
- [41] ROWITCH DH, KRIEGSTEIN AR. Developmental genetics of vertebrate glial-cell specification[J]. *Nature*, 2010, 468(7321): 214-222.
- [42] ZHOU H, WANG B, SUN H, XU XS, WANG YX. Epigenetic regulations in neural stem cells and neurological diseases[J]. *Stem Cells International*, 2018, 2018: 6087143.
- [43] XU H, DZHASHIASHVILI Y, SHAH A, KUNJAMMA RB, WENG YL, ELBAZ B, FEI QL, JONES JS, LI YI, ZHUANG XX, MING GL, HE C, POPKO B. m⁶A mRNA methylation is essential for oligodendrocyte maturation and CNS myelination[J]. *Neuron*, 2020, 105(2): 293-309.e5.
- [44] KORANDA JL, DORE L, SHI HL, PATEL MJ, VAASJO LO, RAO MN, CHEN K, LU ZK, YI YT, CHI WH, HE C, ZHUANG XX. *Mettl14* is essential for epitranscriptomic regulation of striatal function and learning[J]. *Neuron*, 2018, 99(2): 283-292.e5.
- [45] 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[J]. ACS Chemical Neuroscience, 2019, 10(5): 2355-2363.
- [46] QIU XH, HE HH, HUANG YN, WANG J, XIAO YS. Genome-wide identification of m⁶A-associated single-nucleotide polymorphisms in Parkinson's disease[J]. Neuroscience Letters, 2020, 737: 135315.
- [47] 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[J]. Frontiers in Neuroscience, 2020, 14: 98.
- [48] HUANG H, CAMATS-PERNA J, MEDEIROS R, ANGGONO V, WIDAGDO J. Altered expression of the m⁶A methyltransferase METTL3 in Alzheimer's disease[J]. eNeuro, 2020, 7(5): ENEURO.0125-ENEURO.0120.2020.
- [49] SHEN J, YANG L, WEI WS. Role of Fto on CaMKII/CREB signaling pathway of hippocampus in depressive-like behaviors induced by chronic restraint stress mice[J]. Behavioural Brain Research, 2021, 406: 113227.
- [50] CUI Q, SHI HL, YE P, LI L, QU QH, SUN GQ, SUN GH, LU ZK, HUANG Y, YANG CG, RIGGS AD, HE C, SHI YH. m⁶A RNA methylation regulates the self-renewal and tumorigenesis of glioblastoma stem cells[J]. Cell Reports, 2017, 18(11): 2622-2634.
- [51] LI F, ZHANG C, ZHANG GF. m⁶A RNA methylation controls proliferation of human glioma cells by influencing cell apoptosis[J]. Cytogenetic and Genome Research, 2019, 159(3): 119-125.
- [52] ZHANG SC, ZHAO BS, ZHOU AD, LIN KY, ZHENG SP, LU ZK, CHEN YH, SULMAN EP, XIE KP, BÖGLER O, MAJUMDER S, HE C, HUANG SY. m⁶A demethylase ALKBH5 maintains tumorigenicity of glioblastoma stem-like cells by sustaining FOXM1 expression and cell proliferation program[J]. Cancer Cell, 2017, 31(4): 591-606.e6.
- [53] JANKOVIC J, TAN EK. Parkinson's disease: etiopathogenesis and treatment[J]. Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry, 2020, 91(8): 795-808.
- [54] ASCHERIO A, SCHWARZSCHILD MA. The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention[J]. The Lancet Neurology, 2016, 15(12): 1257-1272.
- [55] SORIA LOPEZ JA, GONZÁLEZ HM, LÉGER GC. Alzheimer's disease[A]//Handbook of Clinical Neurology[M]. Amsterdam: Elsevier, 2019: 231-255.
- [56] BALMIK AA, CHINNATHAMBI S. Methylation as a key regulator of Tau aggregation and neuronal health in Alzheimer's disease[J]. Cell Communication and Signaling: CCS, 2021, 19(1): 51.
- [57] REITZ C, TOSTO G, MAYEUX R, LUCHSINGER JA, GROUP NL FS, INITIATIVE ADN. Genetic variants in the Fat and Obesity Associated (*FTO*) gene and risk of Alzheimer's disease[J]. PLoS One, 2012, 7(12): e50354.
- [58] CORREALE J, GAITÁN MI, YSRRAELIT MC, FIOLE MP. Progressive multiple sclerosis: from pathogenic mechanisms to treatment[J]. Brain, 2017, 140(3): 527-546.
- [59] ZHANG N, DING CH, ZUO YX, PENG Y, ZUO LL. N⁶-methyladenosine and neurological diseases[J]. Molecular Neurobiology, 2022, 59(3): 1925-1937.
- [60] SCHRAMM E, KLEIN DN, ELSAESSER M, FURUKAWA TA, DOMSCHKE K. Review of dysthymia and persistent depressive disorder: history, correlates, and clinical implications[J]. The Lancet Psychiatry, 2020, 7(9): 801-812.
- [61] LI M, FU XY, XIE W, GUO WX, LI BJ, CUI RJ, YANG W. Effect of early life stress on the epigenetic profiles in depression[J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2020, 8: 867.
- [62] RIVERA M, COHEN-WOODS S, KAPUR K, BREEN G, NG MY, BUTLER AW, CRADDOCK N, GILL M, KORSZUN A, MAIER W, MORS O, OWEN MJ, PREISIG M, BERGMANN S, TOZZI F, RICE J, RIETSCHEL M, RUCKER J, SCHOSSER A, AITCHISON KJ, et al. Depressive disorder moderates the effect of the *FTO* gene on body mass index[J]. Molecular Psychiatry, 2012, 17(6): 604-611.
- [63] FARMER A, KORSZUN A, OWEN MJ, CRADDOCK N, JONES L, JONES I, GRAY J, WILLIAMSON RJ, MCGUFFIN P. Medical disorders in people with recurrent depression[J]. The British Journal of Psychiatry: the Journal of Mental Science, 2008, 192(5): 351-355.
- [64] LOUIS DN, PERRY A, REIFENBERGER G, von DEIMLING A, FIGARELLA-BRANGER D, CAVENEE WK, OHGAKI H, WIESTLER OD, KLEIHUES P, ELLISON DW. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary[J]. Acta Neuropathologica, 2016, 131(6): 803-820.
- [65] ZHANG YH, GENG XC, LI Q, XU JL, TAN YL, XIAO ML, SONG J, LIU FL, FANG C, WANG H. m⁶A modification in RNA: biogenesis, functions and roles in gliomas[J]. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 2020, 39(1): 192.

(本文责编 郝丽芳)