

N⁶-甲基嘌呤介导的 RNA 甲基化修饰与心血管疾病

汤宇 喻溥蛟 许嘉鸿

【摘要】 N⁶-甲基嘌呤(m⁶A)甲基化修饰是 RNA 最主要的转录后修饰方式,是一种由甲基化转移酶、去甲基化酶以及识别蛋白共同催化的动态可逆的修饰方式,对 RNA 的转录有重要的调控作用。该文介绍了 m⁶A 介导的 RNA 甲基化修饰在高血压、心脏再灌注损伤及心室重构中的研究进展。

【关键词】 RNA; 甲基化; N⁶-甲基嘌呤; 心血管疾病

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2020.05.009

在过去几十年间,绝大多数表观遗传学的研究重点都聚焦于 DNA 修饰以及 DNA 相关组蛋白的化学标记上,这些可逆的、不同的修饰方法和化学标记影响着基因的表达、决定了个体的表型性状,影响着细胞的分化和发育。近年来,随着基础研究的不断深入,人们发现在 mRNA 以及其他 RNA,包括一些非编码 RNA 中也存在类似的调控机制。已有 100 多种 RNA 转录后修饰方式被鉴定出来^[1-2],其中以 N⁶-甲基嘌呤(m⁶A)的甲基化修饰最为常见,这种可逆的 RNA 修饰参与调控了众多的病理生理进程。

1 m⁶A 概述

m⁶A 是最常见的一种 RNA 转录后修饰,于 1974 年在哺乳动物细胞的聚腺苷酸 RNA 中首次被发现^[3]。2012 年,两支团队各自独立发布了 m⁶A 的首个位点图谱,通过 RNA 甲基化免疫共沉淀高通量测序(MeRIP-Seq)的方法揭示了来自人类和小鼠中约 7 000 个基因的 mRNA 上的 12 000 多个甲基化位点。m⁶A 修饰主要发生在 RNA 的 5'-RRACH-3'序列中(R 可以是 A 或 G,H 可以是 A、C 或 U),高通量测序证明了 m⁶A 修饰不是随机分布在成熟的转录本中,而是在特定的转录标记处富集,如最后 1 个转录的外显子,接近 5'UTR,终止密码子附近以及临近终止密码子的 3'UTR^[4-5]。研究显示,m⁶A 修饰广泛存在于不同种属的真核生物中,包括果蝇、酵母、拟南芥等,甚至病毒中也存在 m⁶A 修饰。m⁶A 介导了超过

80%的 RNA 碱基甲基化,而这种甲基化不仅会影响 RNA 的剪切,还会影响翻译 RNA 的稳定性^[6]。

2 m⁶A 酶系统

m⁶A 的功能目前普遍认为由 3 个部分决定,包括编码器(writer)、消码器(eraser)和读码器(reader)。

编码器是指甲基转移酶,可催化 RNA 上的碱基发生 m⁶A 修饰,已知的酶有甲基转移酶样 3 (METTL3)、甲基转移酶样 14 (METTL14)、Wilms 肿瘤 1 相关蛋白(WTAP)等。这些蛋白形成复合物,共同行使催化功能,其中 METTL3 和 METTL14 可形成稳定的异二聚体催化 m⁶A 修饰。WTAP 等则协助 METTL3-METTL14 异二聚体的核定位,促进 m⁶A 沉积。

消码器是指去甲基化酶,已知的复合物有 α-酮戊二酸酯依赖性双加氧酶同系物 5 (ALKBH5)和脂肪量和肥胖相关蛋白(FTO),它们都属于 ALKB 家族。

RNA 的 m⁶A 修饰可视为甲基转移酶和去甲基化酶参与的动态可逆过程,最终只有识别 m⁶A 的结合蛋白与修饰后的 RNA 结合,才能发挥特定的功能,这些蛋白也被称为读码器。

3 m⁶A 在心血管系统中的研究进展

大多数关于 m⁶A 的研究集中在肿瘤和代谢性疾病中^[7],RNA 的甲基化修饰对于各脏器各类型细胞的生长发育凋亡都有较强的调控作用。m⁶A 甲基化修饰参与调控了心肌细胞的基因表达,参与了心肌细胞的生长^[8],这也说明 m⁶A 在心血管系统中的作用非常重要。

3.1 m⁶A 在高血压中的作用

m⁶A 甲基化修饰与高血压发病有密切联系。研究显示,在高尔基体中 SNAP 受体复合物 2 基因上的 m⁶A 相关单核苷酸多态性(m⁶A-SNP)突变(Lys67Arg 和 rs197922)与白种人高血压发病呈正相关^[9]。m⁶A-SNP(rs9847953 和 rs197922)可以改变血压相关基因的表达,mRNA 的稳定性和体内稳态调控,与中国人高血压也有一定的相关性^[10]。此外 m⁶A-SNP(Arg386Gly、rs1801253、Ser49Gly、rs1801253)可以影响编码 β 1-肾上腺素能受体,而后者正是高血压病理生理机制中重要的组成部分^[11-12]。FTO 的一些常见遗传变异与高血压微小 RNA 患者的血压变化呈正相关^[13]。研究显示,m⁶A 可以在缺氧的条件下通过调控环状 RNA(circRNA)-微小 RNA(miRNA)-mRNA 的信号网络介导肺动脉高压的发生,m⁶A-circXpo6 和 m⁶A-circTmtc3 可能是其中重要的 2 个 m⁶A 修饰后分子^[14]。

3.2 m⁶A 在心脏缺血再灌注损伤中的功能及作用

缺血再灌注损伤的机制包括氧自由基的堆积、心肌细胞的凋亡、钙离子超载、炎性瀑布反应等^[15-16]。缺氧状态下一些 mRNA 的稳定性也与 m⁶A 甲基化修饰密切相关^[17]。研究显示 METTL3 介导的 miRNA-873-5p 的 m⁶A 修饰能够通过调节 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1/核因子 E2 相关因子 2 信号通路(Keap1/Nrf2),降低肾脏缺血再灌注损伤中的氧化应激反应^[18],这提示 m⁶A 对于心脏的缺血再灌注损伤可能也有同样的调控作用。METTL3 参与调控了转录因子 EB(TFEB) mRNA 的 m⁶A 甲基化修饰,最终导致 TFEB 表达下降,氧化应激损伤后的心肌细胞自噬水平降低,促进心肌细胞凋亡。而去甲基化酶 ALKBH5 的过表达则可以逆转 METTL3 的恶化作用^[19]。在一项纳入 207 例动脉粥样硬化患者以及 142 名健康对照者的研究中发现,动脉粥样硬化患者外周血白细胞的 m⁶A 水平显著低于健康对照者 $[(0.04 \pm 0.002)\% \text{ 对 } (0.013 \pm 0.004)\%]$,外周血白细胞的 m⁶A 水平与血小板大小($r = -0.255, P = 0.048$)以及易脆性($r = -0.462, P < 0.01$)呈负相关,敲除 ALKBH1 能够改善动脉粥样硬化后升高的心肌梗死相关转录本,ALKBH1 可能用于动脉粥样硬化的早期诊断^[20]。

3.3 m⁶A 在心室重构中的作用

心室重构是慢性心力衰竭的主要病理基础,转

录后调控对于心肌肥大至关重要。METTL3 介导的 m⁶A 甲基化是心肌肥大所必须的调控步骤,单纯增强 METTL3 促进 m⁶A 甲基化可以在没有刺激条件下产生适应性的心肌细胞肥大^[21]。有研究报道小鼠心脏中 m⁶A 的水平在心肌梗死后的 1 周即显著增加,而 FTO 在心力衰竭的小鼠心脏中表达明显下降,FTO 能够介导心肌收缩相关转录物的选择性去甲基化,这些收缩相关转录物的 mRNA 能够稳定表达是心脏能够保持正常收缩功能的关键因子,人为地上调 FTO 在小鼠心脏中的表达水平可以显著抑制缺血再灌注损伤后心脏的病理性重构以及心脏纤维化^[22]。心脏特异性敲除 FTO 的小鼠可表现为基础心率和紧张后心率较正常小鼠增加、发生心房颤动和心室颤动的概率增加、诱导后更容易产生心律失常、基础条件下即可发生心肌肥大等特点^[23]。进一步研究显示,FTO 的作用可能通过影响非受体酪氨酸激酶 2/信号转导子和转录激活子 3 通路(JAK2/STAT3)通路实现,但这种影响是否因 FTO 改变了 m⁶A 的水平还需要进一步验证^[24]。

4 展望

目前,m⁶A 的调控在生理条件下的作用有待进一步明确;m⁶A 对心脏再生、稳定心脏电生理活动的作用亦有待探索。近年来,许多 miRNA、circRNA 相继被发现参与调控了心脏中重要的病理生理过程,m⁶A 也被证实可以对非编码 RNA 进行修饰^[25-26],这提示 m⁶A 的作用可能更广泛。

参考文献

- [1] Boccaletto P, Machnicka MA, Purta E, et al. MODOMICS: a database of RNA modification pathways. 2017 update[J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(D1):D303-D307.
- [2] Blanco S, Frye M. Role of RNA methyltransferases in tissue renewal and pathology[J]. Curr Opin Cell Biol, 2014, 31: 1-7.
- [3] Desrosiers R, Friderici K, Rottman F. Identification of methylated nucleosides in messenger RNA from novikoff hepatoma cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1974, 71(10):3971-3975.
- [4] Dominissini D, Moshitch-Moshkovitz S, Schwartz S, et al. Topology of the human and mouse m⁶A RNA methylomes revealed by m⁶A-seq [J]. Nature, 2012, 485(7397): 201-206.
- [5] 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.

- [6] Batista PJ. The RNA modification N(6)-methyladenosine and its implications in human disease[J]. *Genom Proteom Bioinf*, 2017, 15(3):154-163.
- [7] Li Y, Wang J, Huang C, et al. RNA N6-methyladenosine; a promising molecular target in metabolic diseases[J]. *Cell Biosci*, 2020, 10:19.
- [8] Kmietczyk V, Riechert E, Kalinski L, et al. M(6)A-mRNA methylation regulates cardiac gene expression and cellular growth[J]. *Life Sci Alliance*, 2019, 2(2):e201800233.
- [9] Jiang S, Xie Y, He Z, et al. m⁶ASNP: a tool for annotating genetic variants by m⁶A function[J]. *Gigascience*, 2018, 7(5):giy035.
- [10] Mo XB, Lei SF, Zhang YH, et al. Examination of the associations between m⁶A-associated single-nucleotide polymorphisms and blood pressure[J]. *Hypertens Res*, 2019, 42(10):1582-1589.
- [11] Kong H, Li X, Zhang S, et al. The β 1-adrenoreceptor gene Arg389Gly and Ser49Gly polymorphisms and hypertension; a meta-analysis[J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(6):4047-4053.
- [12] Wang H, Liu J, Liu K, et al. β 1-adrenoceptor gene Arg389Gly polymorphism and essential hypertension risk in general population; a meta-analysis[J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(6):4055-4063.
- [13] Sun Y, Sun J, Wu J, et al. Combined effects of FTO rs9939609 and MC4R rs17782313 on elevated nocturnal blood pressure in the Chinese Han population[J]. *Cardiovasc J Afr*, 2016, 27(1):21-24.
- [14] Su H, Wang G, Wu L, et al. Transcriptome-wide map of m(6)A circRNAs identified in a rat model of hypoxia mediated pulmonary hypertension[J]. *BMC Genomics*, 2020, 21(1):39.
- [15] Braunwald E, Kloner RA. Myocardial reperfusion: a double-edged sword? [J]. *J Clin Invest*, 1985, 76(5):1713-1719.
- [16] Bugiardini R. Coronary microcirculation and ischemic heart disease, today [J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(25):2891-2892.
- [17] Fry NJ, Law BA, Ilkayeva OR, et al. N(6)-methyladenosine is required for the hypoxic stabilization of specific mRNAs[J]. *RNA*, 2017, 23(9):1444-1455.
- [18] Wang J, Ishfaq M, Xu L, et al. METTL3/m(6)A/miRNA-873-5p attenuated oxidative stress and apoptosis in colistin-induced kidney injury by modulating Keap1/Nrf2 pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10:517.
- [19] Song H, Feng X, Zhang H, et al. METTL3 and ALKBH5 oppositely regulate m(6)A modification of TFEB mRNA, which dictates the fate of hypoxia/reoxygenation-treated cardiomyocytes[J]. *Autophagy*, 2019, 15(8):1419-1437.
- [20] Wu L, Pei Y, Zhu Y, et al. Association of N(6)-methyladenine DNA with plaque progression in atherosclerosis via myocardial infarction-associated transcripts [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(12):909.
- [21] Dorn LE, Lasman L, Chen J, et al. The N(6)-methyladenosine mRNA methylase METTL3 controls cardiac homeostasis and hypertrophy[J]. *Circulation*, 2019, 139(4):533-545.
- [22] Mathiyalagan P, Adamiak M, Mayourian J, et al. FTO-dependent N(6)-methyladenosine regulates cardiac function during remodeling and repair[J]. *Circulation*, 2019, 139(4):518-532.
- [23] Carnevali L, Graiani G, Rossi S, et al. Signs of cardiac autonomic imbalance and proarrhythmic remodeling in FTO deficient mice[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4):e95499.
- [24] Gan XT, Zhao G, Huang CX, et al. Identification of fat mass and obesity associated (FTO) protein expression in cardiomyocytes; regulation by leptin and its contribution to leptin-induced hypertrophy [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9):e74235.
- [25] Yang Y, Fan X, Mao M, et al. Extensive translation of circular RNAs driven by N(6)-methyladenosine[J]. *Cell Res*, 2017, 27(5):626-641.
- [26] Gomes CPC, Schroen B, Kuster GM, et al. Regulatory RNAs in heart failure [J]. *Circulation*, 2020, 141(4):313-328.

(收稿:2020-04-21 修回:2020-07-14)

(本文编辑:丁媛媛)