

· 综述 ·

N⁶-腺苷酸甲基化修饰在心血管疾病中的研究进展

袁群凯 张群吉 侯经远 钟志雄

【摘要】 N⁶-腺苷酸甲基化(m⁶A)是真核生物 mRNA 最常见的转录后修饰,是一种动态可逆的过程。m⁶A 受甲基化酶、去甲基化酶及甲基化阅读蛋白的调节,参与多种基因表达调控和疾病的病理过程。随着测序技术的发展,m⁶A 在心血管疾病中的研究逐渐增多。该文介绍 m⁶A 在心血管疾病中的相关研究,探讨其在心血管疾病发生中的作用及可能机制。

【关键词】 心血管疾病; N⁶-腺苷酸甲基化; 转录后修饰

doi: 10.3969/j.issn.1673-6583.2023.06.001

心血管疾病(CVD)是世界范围内引起死亡的主要原因,迫切需要加强疾病机制研究,开发新的预防治疗策略^[1]。近年来,随着 N⁶-腺苷酸甲基化(m⁶A)测序(MeRIP Seq)技术的发展,m⁶A 在 CVD 领域的相关研究逐渐增多^[2]。

1 m⁶A 概述

m⁶A 是指 RNA 的腺嘌呤 N⁶ 位发生甲基化,是真核细胞中最常见的转录后修饰,参与多种细胞基因表达调控与生物学过程^[3]。m⁶A 是动态、可逆的过程,受多种调节蛋白调控。m⁶A 的调节蛋白主要包括“Writers”甲基化酶、“Erasers”去甲基化酶和“Readers”甲基化阅读蛋白,分别发挥“写”“擦”“读”的作用^[4]。甲基化酶包括肾母细胞瘤 1 相关蛋白(WTAP)、甲基转移酶样 3/14 蛋白(METTL3/14)、CCCH 型锌指蛋白 13(ZC3H13)等,主要以甲基化酶复合物(MTC)的形式发挥作用,催化 RNA 的腺苷酸发生 m⁶A。METTL3 和 METTL14 形成的异质二聚体是 MTC 的核心复合物,催化 RNA 的甲基化修饰。其他蛋白包括 WTAP、病毒样 m⁶A 甲基转移酶相关蛋白(KIAA1429)、ZC3H13 和 RNA 结合基序蛋白 15/15B(RBM15/RBM15B),组成 MTC 的调控亚基,引导 MTC 的核心复合物到达特定区域,发挥重要的调控作用,

如 WTAP 可诱导 MTC 在核斑点聚集,导致目标腺嘌呤甲基化^[5]。此外,不同的 MTC 调控亚基可诱导不同部位的 RNA 修饰^[6-7]。去甲基化酶包括肥胖相关基因蛋白(FTO)、 α -酮戊二酸依赖性双加氧酶同源蛋白 5(ALKBH5)等,可特异性识别并去除 RNA 上的 m⁶A。1999 年, Peters 等^[8]在小鼠体内发现了第 1 个去甲基化酶——FTO,提示 m⁶A 是动态可逆的。现已证明 FTO 存在于核斑点内,通过调控目标 RNA 的 m⁶A,影响机体生物学功能^[9]。甲基化阅读蛋白包括 YTH 结构域家族蛋白(YTHDF1-3、YTHDC1-2),胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 1-3(IGF2BP1-3)等,可以通过识别特定位置的 m⁶A,调控 RNA 可变剪接,维持 RNA 稳定性,诱导 RNA 衰变,进而影响基因表达,调控细胞活动,如 YTHDC1 可通过调节 pre-mRNA 剪接因子与目标 mRNA 的结合调控 mRNA 剪接^[10]。m⁶A 在多种 CVD 中发挥重要作用。既往对甲基化酶 METTL3 及甲基化阅读蛋白 YTHDC2 的研究较多,其主要参与调控动脉粥样硬化、急性心肌梗死、心力衰竭等 CVD 的发生发展。

2 m⁶A 与高血压

高血压是 CVD 最主要的危险因素,目前认为其发病主要是遗传及环境因素共同作用的结果^[11]。单核苷酸多态性(SNPs)指单个核苷酸改变导致的核酸序列多态性,研究发现发生在 m⁶A 位点或临近位点的 SNPs 可导致 m⁶A 形成受阻,称为 m⁶A 相关的 SNP(m⁶A-SNPs)^[12]。Mo 等^[13]研究发

基金项目:国家自然科学基金(82002216)

作者单位:514021 广东医科大学梅州临床医学院心血管内科(袁群凯,钟志雄);514031 梅州市人民医院科研实验中心,梅州市医学科学院心血管病研究所(张群吉,侯经远)

通信作者:钟志雄, E-mail: zhongzhixiong@mzrmyy.com

现, m^6A -SNPs 可能在血压调节中发挥重要作用, 这为高血压发病机制的研究提供了新的线索。另外, Wu 等^[14]研究发现, 原发性高血压小鼠周细胞中 m^6A 水平较正常小鼠明显下降, 这些甲基化的差异主要涉及炎症反应、近端小管发生、核糖核酸甲基转移酶活性改变等高血压相关信号通路, 表明 m^6A 水平改变可能与高血压的发病机制密切相关。

3 m^6A 与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化为慢性炎症及脂质代谢紊乱性疾病, 巨噬细胞介导的炎症反应在动脉粥样硬化各个阶段中发挥重要作用, 研究发现 m^6A 与动脉粥样硬化有关^[15]。RNA 结合基序蛋白 4 (RBM4) 是参与 RNA 剪接和翻译的 RNA 结合蛋白, 可与 YTHDF2 相互作用, 靶向作用于信号转导及转录激活因子 1 (STAT1) mRNA 的 m^6A 位点, 降低 STAT1 mRNA 的稳定性, 抑制 STAT1 介导的 M1 型巨噬细胞极化和炎症反应^[16]。另有研究发现, METTL3、YTHDF2 等甲基化相关蛋白在 M1 型巨噬细胞极化和巨噬细胞介导的炎症反应中发挥调控作用^[17-18]。此外, METTL3 在低密度脂蛋白诱导的血管内皮细胞中表达升高, 并通过 IGF2BP1 结合 JAK2 mRNA 的 m^6A 位点, 作用于 JAK2/STAT3 信号通路, 促进血管生成和动脉粥样硬化, 敲除 METTL3 可发挥一定的抗动脉粥样硬化作用^[19]。

4 m^6A 与心肌梗死

动脉粥样硬化进一步发展可导致管腔狭窄、闭塞, 冠状动脉急性、持续性缺血缺氧造成心肌梗死。Shi 等^[20]研究发现, 梗死心肌组织与对照组织中 FTO、YTHDF3、ZC3H13 和 WTAP 的表达水平有明显差异, 且 WTAP 的 SNPs 与心肌梗死进展显著相关。另有研究发现, 心肌细胞缺氧应激时, METTL3 与 RNA 的结合能力增强, 促使 METTL3 介导的 m^6A 增加^[21]。Yao 等^[22]发现缺氧应激的血管内皮细胞中 METTL3 高表达, Wnt 信号通路的 m^6A 甲基化增强, 进而促进血管生成, 敲除 METTL3 后内皮细胞活力下降, 细胞增殖、迁移及血管生成受抑。Wnt 蛋白家族成员 Wnt5A 在促血管生成中发挥重要作用, Zhao 等^[23]研究发现缺氧心肌中 ALKBH5 表达增加, 导致 Wnt5A 的 m^6A 水平降低, Wnt5A 表达减少, 心肌细胞增殖、迁移及血管生成能力下降, 敲除 ALKBH5 可减轻缺氧诱导的心肌细胞功能障碍, 促进血管新生。Kumari 等^[24]的研究也表明, ALKBH5 在心肌缺氧时通过调控 mRNA

甲基化水平, 影响血管内皮的生成。另有研究表明, 沉默 METTL3 和 ALKBH5 可通过调控 m^6A 水平, 调控心肌缺血导致的细胞自噬和凋亡, 促进心肌细胞存活^[25-26]。METTL3 还可降低纤维化相关基因的 m^6A 水平, 抑制心肌成纤维细胞的活化, 减轻心肌梗死后的心肌纤维化^[27]。 m^6A 在心肌细胞缺氧应激、血管再生及心肌梗死后心肌纤维化中发挥重要作用, 为疾病提供了潜在的诊断标记物及治疗靶点。

5 m^6A 与心肌缺血再灌注损伤

及时有效的再灌注治疗是急性心肌梗死的首选治疗方法, 但同时可能诱导缺血再灌注损伤 (MIRI)^[28], m^6A 参与该过程。激活转录因子 4 (ATF4) 是线粒体、内质网应激的关键转录因子, 在线粒体缺氧时被激活^[29]。WTAP 在缺氧/复氧的心肌细胞中表达升高, 并通过调控 m^6A 影响 ATF4 的表达, 引起内质网应激和细胞凋亡增加, 加重 MIRI^[30]。Pang 等^[31]研究发现, 在心肌缺血再灌注时, METTL14 表达明显升高, Wnt1 mRNA 的 m^6A 增加, 引起 Wnt1 蛋白表达水平升高, 进而激活 Wnt/ β -catenin 信号通路, 减轻 MIRI。

6 m^6A 与心力衰竭

心室重构是心力衰竭发生的基本病理机制, m^6A 可能参与心室重构, 在心力衰竭治疗方面具有巨大潜力^[32]。Xu 等^[33]研究发现, 在心力衰竭动物模型及心肌细胞中 YTHDF2 的 mRNA 表达水平均升高, YTHDF2 通过识别肌球蛋白重链 7 (MYH7) 的 m^6A 甲基化位点, 促进 MYH7 蛋白降解, 减少其合成, 抑制心肌肥厚的进展。另有研究认为, 当心脏后负荷增加时, METTL3 介导的 m^6A 水平提高可增强心肌细胞的反应, 导致代偿性心肌肥厚, 而 METTL3 缺失可导致正常心脏结构及功能的长期缺失; 体外实验显示抑制 METTL3 可导致心肌细胞失去适应性肥厚的能力。该研究证明 METTL3 介导的 m^6A 水平提高对心肌细胞适应性肥厚是必要的, 且在维持正常心脏功能方面具有重要作用^[34]。Mathiyalagan 等^[35]证实, FTO 在改善心力衰竭心脏收缩功能、延缓心室重构方面发挥重要作用。另外, Hinger 等^[36]通过全基因组分析明确了人衰竭心脏中所有 m^6A 调控位点, 与小鼠肥厚心肌细胞中 m^6A 调控位点进行比较, 确定了跨物种保守的心肌细胞特异性 m^6A , 提示 m^6A 在心力衰竭中的重要作用。

7 m⁶A 与其他 CVD

主动脉夹层是死亡率较高的 CVD，发病机制尚不明确。Zhou 等^[37] 通过对主动脉夹层患者进行 m⁶A 测序，筛选出 1 790 个差异基因，结果显示主动脉夹层患者的 METTL14 表达水平较对照组显著上调，而 FTO 表达水平显著下调，提示 m⁶A 与主动脉夹层的发生发展密切相关。另外，肥胖相关心肌病是发生在肥胖者的独立于高血压、冠状动脉粥样硬化性心脏病以及其他心脏疾病的心肌病变^[38]，控制饮食和体重是最有效的治疗方案。研究显示，间歇性禁食法能够降低实验动物的 m⁶A 表达水平，减轻高脂饮食诱导的肥胖相关心肌病，改善心功能并

减少心脏结构损伤^[39]。

8 小结

CVD 的发生机制复杂，m⁶A 贯穿于 CVD 由轻到重的各个阶段，影响疾病的发生发展，表 1 和图 1 总结了 m⁶A 和 m⁶A 调节蛋白在 CVD 中的研究概况。然而，m⁶A 在 CVD 研究中是相对较新的领域，相关研究仍有限，且多限于表达水平及功能研究，机制研究涉及较浅。需要进一步深入对 CVD m⁶A 的研究，从表观遗传学角度了解 CVD 的发病机制，以期对疾病的预防、诊断和治疗提供潜在的生物标志物及治疗靶点。

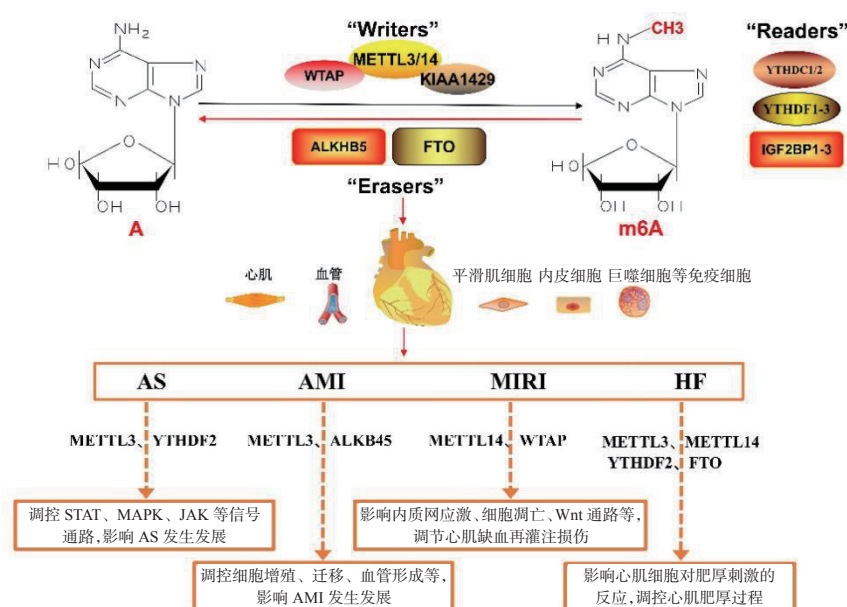


图1 m⁶A在心血管疾病中的作用

表1 m⁶A调节蛋白在心血管疾病中作用的相关研究

m ⁶ A调节蛋白	表达水平	靶标	功能	参考文献
动脉粥样硬化				
YTHDF2	升高	STAT1	抗动脉粥样硬化	[16]
METTL3	升高	STAT1	促进M1型巨噬细胞极化和炎症反应	[17]
YTHDF2	升高	MAP2K4、MAP4K4	抑制巨噬细胞介导的炎症反应	[18]
METTL3	升高	JAK2	促进动脉粥样硬化	[19]
心肌梗死				
METTL3	升高	LRP6、DVL1	促进细胞增殖、迁移及血管生成	[22]
ALKBH5	升高	Wnt5A	降低细胞增殖、迁移及血管生成	[23]
ALKBH5	升高	SPHK1	促进血管内皮生成	[24]
METTL3	升高	TFEB	降低细胞自噬，增加细胞凋亡	[26]
METTL3	升高	α-SMA	促进肌成纤维细胞生成和胶原累积	[27]

表1 m⁶A调节蛋白在心血管疾病中作用的相关研究 (续)

m ⁶ A调节蛋白	表达水平	靶标	功能	参考文献
心肌缺血再灌注损伤				
WTAP	升高	ATF4	增加内质网应激和细胞凋亡, 加重心肌缺血再灌注损伤	[30]
METTL14	升高	Wnt1	减轻心肌缺血再灌注损伤	[31]
心力衰竭				
YTHDF2	升高	MYH7	抑制心肌肥厚	[33]
METTL3	升高	MAP3K6、MAP4K5、MAPK14等	增强心肌细胞产生适应性肥厚的能力, 引起代偿性心肌肥厚	[34]
FTO	降低	Nppa、Myh7、Serca2a、Ryr2等	降低心肌细胞的收缩功能	[35]

参 考 文 献

- [1] Wu S, Zhang S, Wu X, et al. m⁶A RNA methylation in cardiovascular diseases[J]. Mol Ther, 2020, 28(10):2111-2119.
- [2] Chen J, Wei X, Yi X, et al. RNA modification by m⁶A methylation in cardiovascular disease[J]. Oxid Med Cell Longev, 2021, 2021:8813909.
- [3] Zaccara S, Ries RJ, Jaffrey SR. Reading, writing and erasing mRNA methylation[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(10):608-624.
- [4] Yang Y, Hsu PJ, Chen YS, et al. Dynamic transcriptomic m⁶A decoration: writers, erasers, readers and functions in RNA metabolism[J]. Cell Res, 2018, 28(6):616-624.
- [5] Jiang X, Liu B, Nie Z, et al. The role of m⁶A modification in the biological functions and diseases[J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1):74.
- [6] Aoyama T, Yamashita S, Tomita K. Mechanistic insights into m⁶A modification of U6 snRNA by human METTL16[J]. Nucleic Acids Res, 2020, 48(9):5157-5168.
- [7] Pinto R, Vågbo CB, Jakobsson ME, et al. The human methyltransferase ZCCHC4 catalyses N⁶-methyladenosine modification of 28S ribosomal RNA[J]. Nucleic Acids Res, 2020, 48(2):830-846.
- [8] Peters T, Ausmeier K, Rütther U. Cloning of Fatso (Fto), a novel gene deleted by the Fused toes (Ft) mouse mutation[J]. Mamm Genome, 1999, 10(10):983-986.
- [9] Jia GF, Fu Y, Zhao X, et al. N⁶-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO[J]. Nat Chem Biol, 2011, 7(12):885-887.
- [10] Huang HL, Weng HY, Sun WJ, et al. Recognition of RNA N⁶-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation[J]. Nat Cell Biol, 2018, 20(3):285-295.
- [11] Oparil S, Zaman MA, Calhoun DA. Pathogenesis of hypertension[J]. Ann Intern Med, 2003, 139(9):761-776.
- [12] Luo XT, Li HQ, Liang JQ, et al. RMVar: an updated database of functional variants involved in RNA modifications[J]. Nucleic Acids Res, 2021, 49(D1):D1405-D1412.
- [13] 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.
- [14] Wu QB, Yuan XC, Han RQ, et al. Epitranscriptomic mechanisms of N⁶-methyladenosine methylation regulating mammalian hypertension development by determined spontaneously hypertensive rats pericytes[J]. Epigenomics, 2019, 11(12):1359-1370.
- [15] Liu M, Xu KM, Saaoud F, et al. 29 m⁶A-RNA methylation (epitranscriptomic) regulators are regulated in 41 diseases including atherosclerosis and tumors potentially via ROS regulation—102 transcriptomic dataset analyses[J]. J Immunol Res, 2022, 2022:1433323.
- [16] Huangfu N, Zheng WY, Xu ZY, et al. RBM4 regulates M1 macrophages polarization through targeting STAT1-mediated glycolysis[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 83:106432.
- [17] Liu YH, Liu ZJ, Tang H, et al. The N⁶-methyladenosine (m⁶A)-forming enzyme METTL3 facilitates M1 macrophage polarization through the methylation of STAT1 mRNA[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2019, 317(4):C762-C775.
- [18] Yu RQ, Li QM, Feng ZH, et al. m⁶A reader YTHDF2 regulates LPS-induced inflammatory response[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(6):1323.
- [19] Dong G, Yu J, Shan G, et al. N⁶-methyladenosine methyltransferase METTL3 promotes angiogenesis and atherosclerosis by upregulating the JAK2/STAT3 pathway via m⁶A reader IGF2BP1[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9:731810.
- [20] Shi X, Cao Y, Zhang X, et al. Comprehensive analysis of N⁶-methyladenosine RNA methylation regulators expression identify distinct molecular subtypes of myocardial infarction[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9:756483.
- [21] Ye F, Wang XY, Tu S, et al. The effects of NCBP3 on METTL3-mediated m⁶A RNA methylation to enhance translation process in hypoxic cardiomyocytes[J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(18):8920-8928.
- [22] Yao MD, Jiang Q, Ma Y, et al. Role of METTL3-dependent N⁶-methyladenosine mRNA modification in the promotion of angiogenesis[J]. Mol Ther, 2020, 28(10):2191-2202.

(下转第 349 页)

- 2021, 320(2):H604-H612.
- [34] Zhou S, Lei D, Bu F, et al. MicroRNA-29b-3p targets SPARC gene to protect cardiocytes against autophagy and apoptosis in hypoxic-induced H9c2 cells[J]. J Cardiovasc Transl Res, 2019, 12(4):358-365.
- [35] Xia N, Lu Y, Gu M, et al. A unique population of regulatory T cells in heart potentiates cardiac protection from myocardial infarction[J]. Circulation, 2020, 142(20):1956-1973.
- [36] Horn MA, Graham HK, Richards MA, et al. Age-related divergent remodeling of the cardiac extracellular matrix in heart failure: collagen accumulation in the young and loss in the aged[J]. J Mol Cell Cardiol, 2012, 53(1):82-90.
- [37] Berezin AE, Kremzer AA. Predictive value of circulating osteonectin in patients with ischemic symptomatic chronic heart failure[J]. Biomed J, 2015, 38(6):523-530.
- [38] Pollack A, Kontorovich AR, Fuster V, et al. Viral myocarditis—diagnosis, treatment options, and current controversies[J]. Nat Rev Cardiol, 2015, 12(11):670-680.
- [39] Rienks M, Carai P, van Teeffelen J, et al. SPARC preserves endothelial glycocalyx integrity, and protects against adverse cardiac inflammation and injury during viral myocarditis[J]. Matrix Biol, 2018, 74:21-34.
- [40] Deckx S, Johnson DM, Rienks M, et al. Extracellular SPARC increases cardiomyocyte contraction during health and disease[J]. PLoS One, 2019, 14(4):e0209534.
- (收稿:2023-01-10 修回:2023-07-25)
(本文编辑:胡晓静)

(上接第 340 页)

- [23] Zhao YC, Hu JJ, Sun XL, et al. Loss of m⁶A demethylase ALKBH5 promotes post-ischemic angiogenesis via post-transcriptional stabilization of WNT5A[J]. Clin Transl Med, 2021, 11(5):e402.
- [24] Kumari R, Dutta R, Ranjan P, et al. ALKBH5 regulates SPHK1-dependent endothelial cell angiogenesis following ischemic stress[J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 8:817304.
- [25] Wang XW, Guo ZK, Ding ZF, et al. Inflammation, autophagy, and apoptosis after myocardial infarction[J]. J Am Heart Assoc, 2018, 7(9):e008024.
- [26] Song HW, Feng X, Zhang H, et al. METTL3 and ALKBH5 oppositely regulate m⁶A modification of TFEB mRNA, which dictates the fate of hypoxia/reoxygenation-treated cardiomyocytes[J]. Autophagy, 2019, 15(8):1419-1437.
- [27] Li TT, Zhuang YT, Yang WQ, et al. Silencing of METTL3 attenuates cardiac fibrosis induced by myocardial infarction via inhibiting the activation of cardiac fibroblasts[J]. FASEB J, 2021, 35(2):e21162.
- [28] Hausenloy DJ, Yellon DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target[J]. J Clin Invest, 2013, 123(1):92-100.
- [29] Mukherjee D, Bercz LS, Torok MA, et al. Regulation of cellular immunity by activating transcription factor 4[J]. Immunol Lett, 2020, 228:24-34.
- [30] Wang JY, Zhang JH, Ma Y, et al. WTAP promotes myocardial ischemia/reperfusion injury by increasing endoplasmic reticulum stress via regulating m⁶A modification of ATF4 mRNA[J]. Aging, 2021, 13(8):11135-11149.
- [31] Pang P, Qu ZZ, Yu ST, et al. Mettl14 attenuates cardiac ischemia/reperfusion injury by regulating Wnt1/β-Catenin signaling pathway[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9:762853.
- [32] Choy MT, Xue RC, Wu YZ, et al. Role of N⁶-methyladenosine modification in cardiac remodeling[J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9:774627.
- [33] Xu HF, Wang Z, Chen M, et al. YTHDF2 alleviates cardiac hypertrophy via regulating Myh7 mRNA decoy[J]. Cell Biosci, 2021, 11(1):132.
- [34] Dorn LE, Lasman L, Chen J, et al. The N⁶-methyladenosine mRNA methylase METTL3 controls cardiac homeostasis and hypertrophy[J]. Circulation, 2019, 139(4):533-545.
- [35] Mathiyalagan P, Adamiak M, Mayourian J, et al. FTO-dependent N⁶-methyladenosine regulates cardiac function during remodeling and repair[J]. Circulation, 2019, 139(4):518-532.
- [36] Hinger SA, Wei J, Dorn LE, et al. Remodeling of the m⁶A landscape in the heart reveals few conserved post-transcriptional events underlying cardiomyocyte hypertrophy[J]. J Mol Cell Cardiol, 2021, 151:46-55.
- [37] Zhou X, Chen Z, Zhou J, et al. Transcriptome and N⁶-methyladenosine RNA methylome analyses in aortic dissection and normal human aorta[J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8:627380.
- [38] Ren J, Wu NN, Wang SY, et al. Obesity cardiomyopathy: evidence, mechanisms, and therapeutic implications[J]. Physiol Rev, 2021, 101(4):1745-1807.
- [39] Xu ZJ, Qin Y, Lv BB, et al. Intermittent fasting improves high-fat diet-induced obesity cardiomyopathy via alleviating lipid deposition and apoptosis and decreasing m⁶A methylation in the heart[J]. Nutrients, 2022, 14(2):251.
- (收稿:2023-02-19 修回:2023-08-22)
(本文编辑:胡晓静)