

m6A甲基化修饰在心血管疾病中的调控作用及机制

蒲锐^{1,2} 陈子扬^{1,2} 袁凌燕^{2*}

(¹长江大学教育与体育学院, 荆州 434023; ²上海师范大学体育学院, 上海 200234)

摘要 N6-甲基腺嘌呤(N6-methyladenosine, m6A)是真核生物mRNA中最普遍的内部化学修饰。研究表明, m6A甲基化在心力衰竭、心肌肥厚、动脉粥样硬化、缺血性心肌病等心血管疾病中发挥着重要的调控作用。如m6A甲基转移酶可延缓心力衰竭并促进心力衰竭后的心肌修复, 为心力衰竭的治疗提供新的视角; 各类m6A甲基化调节因子可通过调节内皮细胞功能、炎症反应和细胞周期进程, 从而抑制动脉粥样硬化的进程; 在缺血性心肌病中, m6A甲基化转移酶与去甲基化酶通过反馈调节机制为缺血性心肌病的治疗奠定基础。此外, 新近的研究表明, mRNA的表观遗传修饰对心肌肥厚有很大的影响, 同时研究人员在表观遗传修饰调节心肌肥厚分子机制的研究中取得了重大进展, 发现m6A甲基化通过调节相关信号通路可作为维持心脏功能与稳态的治疗靶点。鉴于此, 该文通过综述近三年国内外最新研究进展, 深入探讨了m6A甲基化在各类心血管疾病中的调控作用及其分子机制, 旨在为各类心血管疾病的防治提供理论参考。

关键词 m6A甲基化; 心力衰竭; 心肌肥厚; 动脉粥样硬化; 缺血性心肌病; 调控

Regulatory Effects and Mechanisms of m6A Methylation Modification in Cardiovascular Diseases

PU Rui^{1,2}, CHEN Ziyang^{1,2}, YUAN Lingyan^{2*}

(¹College of Education and Sports Sciences, Yangtze University, Jingzhou 434023, China; ²Institute of Physical Education, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China)

Abstract m6A (N6-methyladenine) is the most common internal chemical modification in eukaryotic mRNA. Studies have shown that M6A methylation plays an important role in the regulation of cardiovascular diseases such as heart failure, myocardial hypertrophy, atherosclerosis and ischemic cardiomyopathy, and has made great progress in the past three years. For example, m6A methyltransferase can delay heart failure and promote myocardial repair after heart failure, which provides a new perspective for the treatment of heart failure; various m6A methylation regulators can inhibit the process of atherosclerosis by regulating endothelial cell function, inflammatory response and cell cycle progression. In ischemic cardiomyopathy, m6A methyltransferase and demethylase lay a foundation for the treatment of ischemic cardiomyopathy through feedback regulation. In addition, recent studies have shown that epigenetic modification of mRNA has a great effect on cardiac hypertrophy. At the same time, researchers have made great progress in the study of the molecular mechanism of epigenetic modification in the regulation of cardiac hypertrophy. It has been found that m6A methylation can be used as a therapeutic target for maintaining cardiac function and homeostasis by regulating related signal pathways. In view of this, by reviewing

收稿日期: 2021-06-07 接受日期: 2021-07-27

国家自然科学基金(批准号: 31371196)资助的课题

*通讯作者。Tel: 021-64322311, E-mail: yanziyuan@shnu.edu.cn

Received: June 7, 2021 Accepted: July 27, 2021

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31371196)

*Corresponding author. Tel: +86-21-64322311, E-mail: yanziyuan@shnu.edu.cn

the latest research progress at home and abroad in the past three years, this paper deeply discussed the regulatory role and molecular mechanism of m6A methylation in various cardiovascular diseases, in order to provide theoretical reference for the prevention and treatment of various cardiovascular diseases.

Keywords m6A methylation; heart failure; myocardial hypertrophy; atherosclerosis; ischemic cardiomyopathy; regulation

心血管疾病已成为社会重大的公共卫生问题, 严重危害人类健康^[1]。目前通过各种药物以及适当的运动在心血管疾病的预防和治疗中取得了一定进展, 但心血管疾病患病率和死亡率仍逐年上升, 使得心血管疾病的防治刻不容缓^[2]。近年来, 表观遗传修饰已成为自然科学领域的研究热点, 诸多研究表明表观遗传修饰在调控基因表达、细胞增殖与免疫中具有重要作用^[3]。现阶段随着测序技术的改进, 表观遗传修饰的机制研究已取得显著的突破。表观遗传修饰主要包括DNA甲基化修饰、非编码RNA修饰和组蛋白修饰^[4]。

迄今为止, 已发现超过170种的RNA修饰被报道, 包括m6A甲基化、5甲基胞嘧啶甲基化、N1-甲基腺嘌呤甲基化等。其中m6A甲基化是哺乳动物中最普遍且最丰富的RNA修饰, 大约占到了RNA甲基化修饰的80%^[5-6]。m6A甲基化修饰是由甲基转移酶、去甲基化酶和甲基化识别蛋白共同调节的, 其动态可逆的过程影响着mRNA的剪接、转录、翻译和降解, 进而调节哺乳动物的细胞分化、免疫和代谢等进程^[7]。新近的研究发现, m6A甲基化广泛参与各类心血管疾病的发生发展, 在心力衰竭、心肌肥厚、动脉粥样硬化和缺血性心肌病中发挥重要调节作用, 但其机制尚未阐明。因此, 本文通过综述国内外m6A甲基化修饰在各种心血管疾病中的调控作用及其分子机制的最新进展, 以期对心血管疾病的诊断和治疗寻找新的分子标志物并提供科学的理论依据。

1 m6A甲基化概述

m6A甲基化是指发生在腺嘌呤第6位N原子上的甲基化修饰, 这种动态可逆的表观遗传修饰影响着RNA分子的命运^[8]。20世纪70年代, m6A在肝癌细胞的真核mRNA中被发现, 此后的研究发现m6A是真核生物中最普遍的内部碱基修饰^[8-9]。近些年的研究证明了转录中的m6A修饰可以改变mRNA的二级结构, 以促进调节蛋白的结合, 从而影响并决定mRNA的翻译潜力。因此, m6A甲基化修饰在调节

细胞分化与代谢、免疫耐受和神经元信号转导中发挥关键作用。此外, m6A修饰的生物学功能主要通过m6A甲基转移酶(writers)、m6A去甲基化酶(erasers)和甲基化识别蛋白(readers)共同调节^[10]。

1.1 m6A甲基转移酶

m6A修饰由甲基化转移酶复合物催化, 该复合物主要包括甲基转移酶样3(methyltransferase-like 3, METTL3)、甲基转移酶样14(methyltransferase-like 14, METTL14)以及Wilms肿瘤1结合蛋白(Wilms tumor 1 associated protein, WTAP)^[10-11]。METTL3与METTL14相互作用形成杂合物, 并催化甲基从S-腺苷甲硫氨酸转移到特定的RNA腺嘌呤。其中METTL3是具有催化活性的亚基, METTL14在底物识别中发挥关键作用, 从而在体内外催化RNA发生m6A甲基化修饰^[12]。此外, WTAP是m6A甲基转移酶复合物的第三个关键成分, 其本身不具有任何甲基化活性, 但WTAP可促进杂合物向核斑点转移, 从而间接增强复合物的催化能力^[13]。另有研究发现, WTAP可帮助甲基转移酶复合物募集其他未知因子, 以调节其甲基化活性^[14]。由此可见, WTAP和METTL3-METTL14在体内共同形成甲基转移酶复合物进而影响m6A修饰。

近年来, 越来越多的甲基转移酶复合物中的其他关键蛋白被报道, 包括病毒样m6A甲基转移酶相关蛋白(vir like m6A methyltransferase associated protein, VIRMA)、CCCH型锌指蛋白13(zinc finger CCCH-type containing 13, ZC3H13)、CCHC型锌指蛋白4(zinc finger CCHC-type containing 4, ZCCHC4)、甲基转移酶样16(methyltransferase-like 16, METTL16)以及RNA结合基序蛋白15/15B(RNA binding motif protein 15/15B, RBM15/15B)。这些甲基转移酶的共同作用催化mRNA上腺苷酸发生m6A修饰^[15-16]。

1.2 m6A去甲基化酶

m6A去甲基化酶的功能是对已发生m6A修饰的碱基进行去甲基化。m6A去甲基化酶主要由脂肪

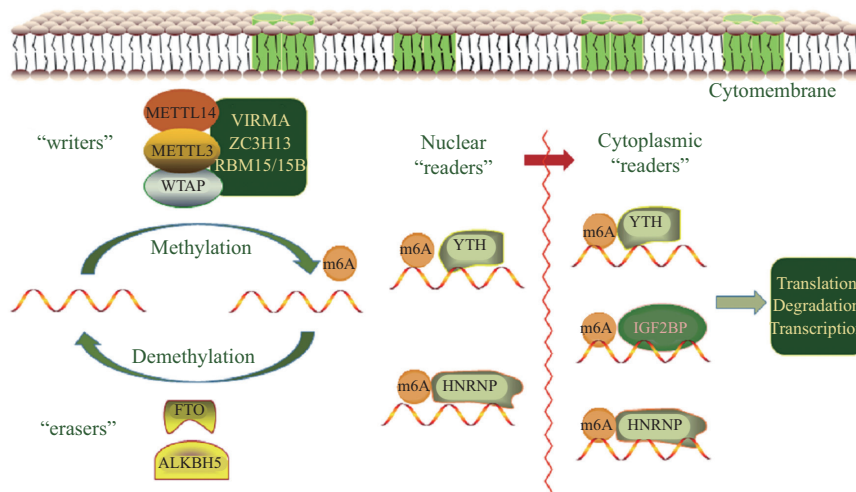


图1 m6A分子组成及动态调节过程

Fig.1 Molecular composition and dynamic regulation of m6A

与肥胖相关蛋白 (fat mass and obesity-associated protein, FTO) 和 Alk B 同源蛋白 5 (Alk B homologue 5, ALKBH5) 组成。FTO 是第一个被发现的去甲基化酶, 可在体外有效催化 m6A 的氧化去甲基化。FTO 的发现意味着 m6A 甲基化是可逆的, 并受到精确的调控^[17]。ALKBH5 也是关键的 m6A 去甲基化酶, 它的沉默可促进 m6A 水平的积累, 对 mRNA 的代谢至关重要^[18]。

FTO 与 ALKBH5 可对已发生 m6A 修饰的碱基进行去甲基化修饰。虽然两者均能定位于核斑点中, 但 FTO 与 ALKBH5 具有不同的细胞内定位和组织分布。此外, 有研究发现 FTO 氧化去甲基化能力强于 ALKBH5, 但其原因还需更深层次探讨^[19]。

1.3 m6A 甲基化识别蛋白

m6A 甲基化识别蛋白通过选择性识别发生 m6A 修饰的碱基, 激活下游信号通路, 进而调控 mRNA 的输出、翻译、代谢和稳定性。甲基化识别蛋白中的 YT521-B 同源 (YT521-B homology, YTH) 结构域蛋白 (YTHDF1~3、YTHDC1~2) 具有特定的结构域, 能直接结合 m6A^[20]。YTHDF1~3 主要位于细胞质中, 其中 YTHDF1 可提高 m6A 甲基化中 mRNA 的翻译效率, YTHDF2 通过诱导基因衰减导致基因的不稳定性, 目前 YTHDF3 的功能尚未被阐明; 此外, YTHDC1~2 主要位于细胞核中, YTHDC1 调节 mRNA 的剪接, YTHDC2 再进一步加速 mRNA 的降解^[21]。

异质核糖核蛋白 (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, HNRNP) 家族成员 (HNRNPA2B1、HNRNPC 和 HNRNPG) 也是潜在的 m6A 甲基化识别蛋白, 在调控 RNA 底物的加工和成熟进程以及基

因的表达中发挥关键作用^[22]。胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 (insulin-like growth factor 2 mRNA-binding proteins, IGF2BPs) 作为一种新型 m6A 识别蛋白, 几乎只在细胞质中表达, 可识别 mRNA 上保守的 GG(m6A)C 序列, 从而增强目标 mRNA 的稳定性, 提高 mRNA 翻译效率^[23]。此外, 脆性 X 智力低下蛋白 (fragile X mental retardation protein, FMRP)、真核起始因子 3 (eukaryotic initiation factor 3, EIF3)、富含脯氨酸卷曲螺旋蛋白 2A (proline richcoiled-coil 2A, PRRC2A) 等其他识别蛋白也相继被报道^[24-25]。

综上所述, m6A 通过甲基转移酶、去甲基化酶和识别蛋白的相互作用, 以调节 RNA 剪接、加工、成熟、翻译和降解参与基因表达, 从而广泛参与各种生物进程和多种疾病的发生发展 (图 1)。

2 m6A 甲基化在心血管疾病中的调控

作为真核生物 mRNA 最普遍的化学修饰, m6A 甲基化已成为表观遗传中的研究热点。前期对于 m6A 的研究主要集中于癌症的生物标记物方向。近些年来, m6A 甲基化在各类心血管疾病 (如心力衰竭、心肌肥厚、肺动脉高压、冠心病和动脉粥样硬化) 中的实证研究呈指数形式增长 (表 1)。

2.1 m6A 甲基化与心力衰竭

心力衰竭是指由于心脏收缩或舒张功能的障碍而引起的心脏循环障碍症, 且病因多种多样^[26]。目前, m6A 甲基化在心力衰竭中扮演重要角色, 尤其是 m6A 去甲基化酶 FTO 和 m6A 甲基转移酶 METTL3。

最近有研究揭示了 m6A 甲基化调控心力衰竭

的新机制。BERULAVA等^[27]发现, m6A甲基化水平的改变主要与RNA翻译、代谢和调节途径以及蛋白质生成有关, 且翻译调控并不依赖于转录过程。而条件性敲除m6A去甲基化酶FTO会导致小鼠心脏功能下降并加速心力衰竭进程。提示m6A甲基化可能成为心力衰竭的潜在治疗干预目标。此外, 心力衰竭模型小鼠FTO可通过选择性去甲基化抑制心肌收缩转录物的降解, 并在缺血条件下增加其蛋白的表达, 从而保护心肌收缩功能。FTO表达的增加可抑制心肌梗死后产生的不良心脏重塑, 并减轻缺氧诱导的心肌细胞功能障碍。此外, 心肌梗死小鼠心肌细胞中FTO过表达可促进血管新生并抑制心肌纤维化, 但其具体机制有待进一步研究^[28]。SHEN等^[29]通过主动脉缩窄建立心力衰竭模型并将心肌细胞暴露于缺氧/复氧中, 发现心衰小鼠心肌组织中FTO和肌球蛋白重链相关RNA转录物(myosin heavy chain-associated RNA transcript, Mhrt)表达下降, 且Mhrt的m6A甲基化水平升高, 而FTO的过表达会导致缺氧/复氧心肌细胞中Mhrt的上调, 并降低Mhrt的m6A甲

基化水平。说明FTO通过调节m6A对Mhrt的修饰, 从而抑制心力衰竭小鼠的心肌细胞凋亡。上述研究表明, FTO的缺失会对心脏产生不利影响, 而FTO的过表达可增强心脏功能、抑制心肌细胞凋亡, 从而延缓心力衰竭, 证实了FTO在心力衰竭中调节心脏功能和心脏重塑的关键作用。

KMIETCZYK等^[30]在心力衰竭小鼠模型和人类心力衰竭样本中成功定位m6A转录本, 发现m6A甲基转移酶METTL3影响心肌细胞的生长和心脏功能, 且m6A甲基化可调节心肌细胞mRNA的稳定性和翻译效率, 并在基因表达中增加转录后的步骤, 从而调节和影响心肌细胞的命运。进一步研究表明, 其机制可能与METTL3过表达抑制鸟嘌呤核苷酸交换因子3的表达, 提高肌球蛋白轻链2水平有关。此外, SAXENA等^[31]发现, 调节m6A甲基化水平可促进心脏保护性蛋白表达的稳定性, 从而增强心力衰竭小鼠的心脏功能并减少心肌梗死面积, 但其具体机制尚未被阐明。由此可见, m6A甲基转移酶METTL3的上调可延缓心力衰竭并促进心力衰竭后的心肌

表1 m6A甲基化在心血管疾病中的调控作用

Table 1 The regulatory role of m6A methylation in cardiovascular diseases

疾病类型 Disease type	m6A调节因子 m6A regulator	功能效应 Functional effect	参考文献 References
Heart failure	FTO	Overexpression of FTO enhances cardiac function	[27]
Heart failure	FTO	Increase angiogenesis and inhibit myocardial fibrosis	[28]
Heart failure	FTO	Overexpression of FTO can inhibit apoptosis of cardiomyocytes	[29]
Heart failure	METTL3	Affect the growth of cardiomyocytes and cardiac function	[30]
Myocardial hypertrophy	METTL3	METTL3 knockout inhibates poor cardiomyocyte remodeling and cardiac dysfunction in the heart	[33]
Myocardial hypertrophy	IGF2BP2	Regulation of cardiac cell proliferation and cardiac hypertrophy	[34]
Myocardial hypertrophy	METTL3	Promote pathological hypertrophy and cardiac remodeling	[36]
Atherosclerosis	METTL14	Promote the proliferation of vascular endothelial cells	[39]
Atherosclerosis	METTL14	METTL14 gene knockout can reduce the formation of atherosclerotic plaque	[40]
Atherosclerosis	METTL3, YTHDF2	METTL3 overexpression can inhibit fat cell biochemistry	[42]
Atherosclerosis	FTO, YTHDF2	FTO overexpression promotes adipogenesis	[43]
Ischemic cardiomyopathy	METTL3, ALKBH5	Overexpression of METTL3 or inhibition of m6A demethylase ALKBH5 can promote cardiomyocyte apoptosis	[45]
Ischemic cardiomyopathy	METTL3	Inhibition of METTL3 reduces acute coronary syndrome	[46]
Ischemic cardiomyopathy	ALKBH5	Knockout of ALKBH5 gene increases blood flow recovery rate and capillary density	[47]
Abdominal aortic aneurysm	METTL3	Down-regulation of METTL3 can reduce vascular inflammation and the formation of abdominal aortic aneurysms	[48]
Pulmonary Hypertension	YTHDF1	Improve pulmonary artery smooth muscle cell proliferation and inhibit the development of pulmonary hypertension	[49]

修复,表明METTL3在心肌损伤和心脏重塑中具有重要的调节作用,为心力衰竭的治疗与干预提供新的视野。在未来的研究中,需更深入地探索FTO和METTL3以外的关键蛋白在心力衰竭中的作用,从而为其诊疗提供更多的选择与理论依据。

2.2 m6A甲基化与心肌肥厚

心肌肥厚是由心脏后负荷长期压力过大或心肌损伤导致的,也是导致心力衰竭的主要原因。新近的研究表明,mRNA的表观遗传修饰对心肌肥厚有很大的影响,同时研究人员在表观遗传修饰调节心肌肥厚中分子机制的研究中取得了重大进展。编码丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)与胰岛素样生长因子2-mRNA结合蛋白2(insulin-like growth factor 2-mRNA binding protein 2, IGF2BP2)则成为了调控心肌肥厚的突破口。

MAPK是普遍存在于真核生物中的一类保守的丝氨酸类蛋白激酶,MAPK信号途径也是病理性心肌肥厚的重要信号通路^[32]。DORN等^[33]研究发现,m6A甲基化酶METTL3的过表达可通过激活MAPK中MAP3K6、MAP4K5和MAPK14,进而在体内外诱导心肌细胞肥厚,而心肌特异性METTL3基因敲除会诱导心脏产生不良的心肌细胞重塑和心脏功能障碍,并抑制心肌细胞肥厚的进一步发展,突出了METTL3在维持心脏稳态和心脏功能中的重要性。此外,QIAN等^[34]发现了m6A甲基化参与心肌肥厚调控的新机制。心肌组织中IGF2BP2复合物可促进miR-133a对心肌肥厚的抑制作用。进一步研究发现,IGF2BP2作为一种m6A甲基化结合蛋白可与真核翻译起始因子2C2(eukaryotic translation initiation factor 2C subunit 2, EIF2C2)相互作用促进miR-133a的表达,而沉默FTO可减缓miR-133a对心肌细胞增殖和心肌肥厚的抑制作用。上述2项研究也为m6A甲基化调控心肌肥厚提供了新的策略。

piRNA(Piwi-interacting RNA)是一类长度约为24~32 nt(nucleotide)的非编码RNA,可与Piwi(P-element induced wimpy testis)蛋白家族成员相互作用发挥其生物学效应^[35]。piRNA在心脏肥厚过程中大量表达,但piRNA在调控心肌肥厚中的作用和分子机制仍然未知。最近,WANG等^[36]研究团队在piRNA介导的表观遗传修饰调控心肌肥厚的分子机制研究中取得重大进展,发现与心肌肥厚相关的piRNA(CHAPIR)可通过靶向调控METTL3介导

的多聚腺苷酸二磷酸核糖聚合酶10(polyadenosine diphosphate ribose polymerase 10, *Parp10*)来促进病理性肥厚和心脏重塑,CHAPIR缺失可显著减轻心脏肥厚并增强心脏功能,而CHAPIR模拟物的给药可增强压力超负荷模型小鼠的病理性心肌肥厚。进一步研究发现,CHAPIR-PIWIL4复合物可直接与METTL3相互作用并抑制*PARP10* mRNA转录物的m6A甲基化,从而上调PARP10的表达,而CHARPR依赖性PARP10的增加会促进糖原合成酶激酶-3 β 的ADP核糖基化并影响其蛋白质功能并抑制其激酶的活性,从而导致核钙调磷酸酶依赖4(nuclear factor of activated T-cells 4, NFATC4)的积累,并促进病理性心肌肥厚的进一步发展。因此,这一研究提示piRNA介导的RNA表观遗传修饰参与了心脏肥厚的调节,且CHAPIR/METTL3/PARP10/NFATC4信号通路可作为病理性心肌肥厚和不良的心脏重塑的治疗靶标。

综上所述,MAPK和piRNA介导的m6A甲基化通过调节METTL3可维持病理性心肌肥厚模型动物的心脏功能、心脏稳态,并抑制心肌肥厚的进一步发展,从而为心肌肥厚提供新的靶向治疗途径,也可通过FTO/IGF2BP2途径参与心肌肥厚的调控。但现阶段关于m6A甲基化与心肌肥厚研究尚少,且局限于METTL3中。若对此进行深入研究,可为心血管疾病的诊疗提供新的靶点。

2.3 m6A甲基化与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化是常见的慢性炎症性疾病,其特点在于由于局部脂质积聚、血管平滑肌细胞增殖和迁移等原因导致的内皮细胞功能障碍、斑块破裂炎症反应和局部血栓的形成,这些也是导致冠心病、外周血管病和脑梗死的主要原因^[37]。目前研究表明,mRNA的表观遗传修饰影响着动脉粥样硬化的发生发展,尤其是m6A的甲基化。

血管内皮细胞功能障碍和炎症反应是动脉粥样硬化的主要病理特征^[38]。ZHANG等^[39]发现,METTL14增加了pri-miR-19a的m6A修饰和成熟miR-19a的加工,从而促进血管内皮细胞的增殖和侵袭。这一研究提示,METTL14/m6A/miR-19a信号通路可能成为动脉粥样硬化治疗的新靶点。此外,为研究m6A甲基化对内皮细胞炎症的改变及动脉粥样硬化发展的影响,JIAN等^[40]建立稳定的肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)诱导的

内皮细胞炎症模型,通过RNA免疫共沉淀测序鉴定参与m6A甲基化修饰的mRNAs,发现METTL14基因敲除可显著降低TNF- α 的叉头盒转录因子01(Forkhead box factor 01, FOXO1)的表达,而METTL14直接与FOXO1 mRNA结合,增加其m6A修饰,并通过YTHDF1识别增强其翻译,直接作用于细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)和血管细胞间黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)的启动子区域,促进其转录,从而诱导内皮细胞炎症反应和动脉粥样硬化斑块的形成。体内实验表明, METTL14基因敲除可显著减少动脉粥样硬化斑块的形成。提示METTL14可参与动脉粥样硬化相关的内皮细胞炎症的调节。上述2项研究表明, METTL14通过不同信号通路介导的m6A甲基化在调节血管内皮细胞功能和炎症反应中发挥重要作用。

先前研究已证明,动脉粥样硬化的病变是以脂质代谢障碍为基础的^[41]。过表达METTL3可上调细胞周期蛋白D1(cyclinD1, CCND1) mRNA的m6A甲基化水平,从而促进YTHDF2识别并降解细胞周期蛋白,导致细胞周期进程受阻,脂肪生成受到抑制^[42]。此外,转录因子锌指蛋白217(zinc finger protein 217, ZNF217)可直接激活m6A去甲基化酶FTO的表达,并结合YTHDF2促进FTO对m6A mRNA的结合,从而促进脂肪生成^[43]。

综上所述,各类m6A甲基化调节因子可通过调节内皮细胞功能、炎症反应和细胞周期进程,从而参与脂肪细胞分化、脂质代谢并抑制动脉粥样硬化斑块的形成,提示m6A甲基化对动脉粥样硬化的发生发展至关重要。

2.4 m6A甲基化与缺血性心肌病

缺血性心肌病是指由冠状动脉粥样硬化引起的长期心肌缺血,从而导致心肌弥漫性纤维化的临床综合征^[44]。新近的研究表明,表观遗传修饰通过调控细胞自噬从而参与缺血性心肌病的发生发展。

SONG等^[45]通过建立缺氧再灌注和缺血再灌注小鼠模型,发现心肌细胞中m6A甲基化水平增加,且METTL3是导致m6A甲基化异常修饰的主要原因。通过沉默METTL3可增强缺氧/复氧处理心肌细胞的自噬通量并抑制心肌细胞凋亡,而过表达METTL3或抑制m6A去甲基酶ALKBH5则促进心肌细胞凋亡,提示METTL3是自噬的负调控因子。进一步研

究发现, METTL3可通过转录因子EB(transcription factor EB, TFEB)的调节以增强自噬通量,并促进m6A甲基化识别蛋白HNRNP与TFEB前体mRNA结合,从而抑制TFEB转录蛋白的活性。这一研究表明, METTL3-ALKBH5和自噬之间存在关键联系,为m6A甲基化在缺血性心脏病中的治疗提供了新的方向。此外, GUO等^[46]发现急性冠脉综合征患者中巨噬细胞HSA_CIRC_0029589相对RNA表达降低,而巨噬细胞中HSA_CIRC_0029589的m6A甲基化水平和m6A甲基转移酶METTL3的表达水平显著升高。巨噬细胞中过表达干扰素调节因子1(interferon regulatory factor 1, IRF1)可抑制HSA_CIRC_0029589的表达,但可诱导其m6A水平和METTL3的表达。此外, HSA_CIRC_0029589过表达或抑制METL3均可显著增加HSA_CIRC_0029589的表达,从而减轻急性冠状动脉综合征的症状。上述研究共同表明, METTL3-m6A通过反馈机制调节细胞自噬和抑制心肌细胞凋亡,为缺血性心肌病的治疗奠定基础,但其具体机制仍需要进一步研究。

另有研究探究了缺血后ALKBH5对血管生成的影响及其机制, ZHAO等^[47]发现ALKBH5通过m6A依赖的转录后mRNA调控无翅型MMTV整合位点家族成员5A(wingless-type MMTV integration site family, member 5A, Wnt5A)的表达,降低了Wnt5A的稳定性,进而阻碍了缺氧后心肌微血管内皮细胞的血管生成。此外, ALKBH5的过表达阻碍了后肢缺血小鼠的血流恢复,并降低了CD31和平滑肌肌动蛋白的表达。而基因敲除ALKBH5小鼠在后肢缺血后表现出更好的血流恢复速度、毛细血管密度。由此可见, ALKBH5是缺血后血管生成的负性调节因子,靶向ALKBH5可能是缺血性心脏疾病的潜在治疗选择。

2.5 m6A甲基化与其他心血管疾病

除上述心血管疾病外, m6A甲基化也广泛参与腹主动脉瘤、肺动脉高压等心血管相关疾病的发生发展^[48-49]。m6A甲基转移酶METTL3通过促进miR-34a的成熟,诱导腹主动脉瘤的恶化。在两种腹主动脉瘤模型中, METTL3的下调抑制了血管炎症和腹主动脉瘤的形成,其机制可能与METTL3通过以DGCR8依赖的方式加速pri-miR34a成熟,并抑制miR34a靶基因SIRT1的表达,从而促进AAA的形成有关^[48]。这一研究发现了m6A甲基化介导的miR-

34a在腹主动脉瘤中成熟的新机制。此外, m6A甲基化水平和YTHDF1蛋白表达在人和啮齿动物肺动脉高压模型中显著增加, 进一步研究发现YTHDF1以m6A依赖的方式识别并促进人黑色素瘤抗原相关基因D1(human melanoma antigen encoding gene D1, MAGED1)的翻译, 并改善肺动脉平滑肌细胞增殖和表型转换, 从而抑制肺动脉高压的进一步发展。此外, MAGED1沉默可下调增殖细胞核蛋白的表达, 从而抑制缺氧诱导的肺动脉平滑肌细胞增殖^[49]。这一研究证实了m6A甲基化和MAGED1是肺动脉平滑肌细胞和肺动脉高压病理变化的新型媒介物。

综上所述, m6A甲基化在抑制血管炎性反应和改善肺动脉平滑肌细胞增殖及表型转换方面与METTL3的下调和YTHDF1的上调有关, 也为腹主动脉瘤和肺动脉高压的诊治提供了新的见解。

3 m6A甲基化在心血管疾病中的诊断

新型生物标记物的发掘可为各种疾病的预防和诊断提供更多的靶向治疗方案。先前的研究已表明, m6A甲基化可通过各种机制影响癌症的发展, 也可作为生物标记物为其临床诊断提供更多的可能性^[50]。新近的研究发现, m6A的特异性变化可用于心血管疾病的前期诊断, 其中m6A去甲基化酶FTO, m6A甲基转移酶中METTL3、METTL14被广泛关注。

FTO作为一种肥胖与脂肪相关因子在心血管疾病的诊断中扮演重要角色。有研究发现, FTO在心力衰竭模型心肌组织和缺氧心肌细胞中的表达均显著降低, 从而增加m6A甲基化水平并减弱心肌细胞的收缩功能。在心肌梗死动物模型中, FTO表达也显著降低^[28]。此外, 在脑缺血再灌注12 h和24 h后, m6A水平均显著增加, 且FTO与m6A的表达成反比。同时该研究也证明了多种mRNA在脑卒中后发生的差异性变化与炎症、细胞凋亡和m6A的转录调节有关^[51]。上述2项研究提示, FTO可能成为诊断心血管疾病生理病理进程的有效指标, 但FTO的变化在各种心血管损伤模型中的时效性仍有待进一步研究。

METTL3水平的改变反映心肌肥厚、心力衰竭和腹主动脉瘤等多种心血管疾病的病理变化, 如m6A的表达与心肌细胞肥厚程度呈正相关^[34]。SONG等^[31]在心力衰竭动物模型中发现, m6A甲基转移酶中的METTL4、METTL14、WATP和VIRMA

等蛋白在心肌缺血再灌注后的心肌细胞中的表达并未发生显著性变化, 但心肌缺血再灌注诱导了METTL3的上调。这一研究提示, METTL3水平的变化可反映缺血再灌注的进程。另有研究证明了METTL3的表达也在一定程度上反映了腹主动脉瘤的病理发展^[48]。此外, 在人动脉平滑肌细胞钙化模型中, METTL14表达的上升会降低血管修复功能, 并促进血管钙化^[52]。这些研究提示, m6A甲基转移酶METTL3和METTL14可作为心血管疾病的新型潜在生物标记物。

单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)指的是由单个核苷酸的改变而引起的DNA序列改变, 是研究人类和动植物物种遗传变异的重要依据, 因此被广泛用于生物起源、进化以及疾病相关基因的研究^[53]。MO等^[54]发现, 在检测到的4 390个m6A SNP位点中, 有304个与冠心病显著相关。由此提示, SNP rs12286位点与冠心病在全基因组水平上呈显著相关, 并推测rs12286会影响m6A甲基化, 且具有改变相关基因序列的潜力。表明m6A水平的变化与冠状动脉疾病关系密切。另有研究探讨了m6A-SNPs与血脂水平的相关性, 发现脊髓灰质炎病毒相关受体2(poliovirus receptor-related 2, *PVRL2*)基因在3'UTR处的m6A-SNP rs6859可能是导致高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、总胆固醇和甘油三酯水平变化以及冠状动脉疾病的关键因素, 并且这些与脂质代谢相关的变化会影响冠心病的发病率, 目前仍需深层次研究并阐明其具体机制^[55]。

基于上述研究, m6A及其相关酶的变化与心力衰竭、心肌肥厚、冠心病等心血管疾病的发生发展关系密切, 并可作为一种前瞻性的生物标记物, 在各类心血管疾病的诊断中发挥关键作用。

4 小结与展望

综上所述, m6A甲基化广泛参与各类心血管疾病的发生发展, m6A甲基化相关蛋白也在心力衰竭、心肌肥厚、动脉粥样硬化、缺血性心肌病等心血管疾病中发挥关键调节作用。此外, m6A的特异性变化可用于心血管疾病的前期诊断, m6A甲基转移酶中METTL3、METTL14, m6A去甲基化酶FTO的动态变化可作为心血管疾病潜在的生物标记物。

但现阶段关于m6A在心血管疾病中的研究仍有诸多问题有待解决, 如m6A甲基化识别蛋白

YTHDF3识别m6A修饰的碱基以及影响mRNA的翻译和转录的机制尚未解释; FTO氧化去甲基化能力强于ALKBH5的原因还需探讨; m6A甲基化调节因子在发挥心血管疾病调控作用中的相互作用机制以及各调节因子间对心血管的调控效应的差异仍需探讨; 截至目前, 并未有运动介导m6A在心血管疾病中的实证研究, 因此可初步研究运动在m6A与各类心血管疾病中的作用, 从而为运动促进心血管健康提供新的视角。此外, 目前关于m6A甲基化的研究主要集中在癌症的诊断。因此, 未来仍需进一步研究m6A甲基化在心血管疾病调控中的具体分子机制及其潜能, 从而更好地为心血管疾病的诊断和治疗提供科学理论依据。

参考文献 (References)

- [1] WHO CVD RISK CHART WORKING GROUP. World Health Organization cardiovascular disease risk charts: revised models to estimate risk in 21 global regions [J]. *Lancet Glob Health*, 2019, 7(10): e1332-45.
- [2] GENOVESI S, GIUSSANI M, ORLANDO A, et al. Prevention of cardiovascular diseases in children and adolescents [J]. *High Blood Press Cardiovasc Prev*, 2019, 26(3): 191-7.
- [3] SKVORTSOVA K, IOVINO N, BOGDANOVIĆ O. Functions and mechanisms of epigenetic inheritance in animals [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(12): 774-90.
- [4] ERSON-BENSAN A E, BEGIK O. m6A modification and implications for microRNAs [J]. *Microma*, 2017, 6(2): 97-101.
- [5] LEONETTI A M, CHU M Y, RAMNARAIGN F O, et al. An emerging role of m6A in memory: a case for translational priming [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20): 7447.
- [6] 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.
- [7] DIXIT D, PRAGER B C, GIMPLE R C, et al. The RNA m6A reader YTHDF2 maintains oncogene expression and is a targetable dependency in glioblastoma stem cells [J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(2): 480-99.
- [8] SCHÖLLER 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.
- [9] DESROSIERS R, FRIDERICI K, ROTTMAN F. Identification of methylated nucleosides in messenger RNA from Novikoff hepatoma cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1974, 71(10): 3971-85.
- [10] SHI H, WEI J, HE C. Where, when, and how: context-dependent functions of RNA methylation writers, readers, and erasers [J]. *Mol Cell*, 2019, 74(4): 640-50.
- [11] GARCIAS M D, REYES J L. A birds'-eye view of the activity and specificity of the mRNA m6A methyltransferase complex [J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2021, 12(1): e1618.
- [12] MA Z, LI Q, LIU P, et al. METTL3 regulates m6A in endometrioid epithelial ovarian cancer independently of METTL14 and WTAP [J]. *Cell Biol Int*, 2020, 44(12): 2524-31.
- [13] DU Y, HOU G, ZHANG H, et al. SUMOylation of the m6A-RNA methyltransferase METTL3 modulates its function [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(10): 5195-208.
- [14] DENG X, SU R, WENG H, et al. RNA N6-methyladenosine modification in cancers: current status and perspectives [J]. *Cell Res*, 2018, 28(5): 507-17.
- [15] MELSTROM L, CHEN J. RNA N6-methyladenosine modification in solid tumors: new therapeutic frontiers [J]. *Cancer Gene Ther*, 2020, 27(9): 625-33.
- [16] KNUCKLES P, LENCE T, HAUSSMANN I U, et al. Zc3h13/Flacc is required for adenosine methylation by bridging the mRNA-binding factor Rbm15/Spentito to the m6A machinery component Wtap/FI(2)d [J]. *Genes Dev*, 2018, 32(5/6): 415-29.
- [17] LI J, HAN Y, ZHANG H, et al. The m6A demethylase FTO promotes the growth of lung cancer cells by regulating the m6A level of USP7 mRNA [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 512(3): 479-85.
- [18] ZHANG J, GUO S, PIAO H Y, et al. ALKBH5 promotes invasion and metastasis of gastric cancer by decreasing methylation of the lncRNA NEAT1 [J]. *J Physiol Biochem*, 2019, 75(3): 379-89.
- [19] HUANG Y, YAN J, LI Q, et al. Meclofenamic acid selectively inhibits FTO demethylation of m6A over ALKBH5 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(1): 373-84.
- [20] ANITA R, PARAMASIVAM A, PRIYADHARSINI J V, et al. The m6A readers YTHDF1 and YTHDF3 aberrations associated with metastasis and predict poor prognosis in breast cancer patients [J]. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(8): 2546-54.
- [21] KASOWITZ S D, MA J, ANDERSON S J, et al. Nuclear m6A reader YTHDC1 regulates alternative polyadenylation and splicing during mouse oocyte development [J]. *PLoS Genet*, 2018, 14(5): e1007412.
- [22] ALARCÓN C R, GOODARZI H, LEE H, et al. HNRNPA2B1 is a mediator of m(6)A-dependent nuclear RNA processing events [J]. *Cell*, 2015, 162(6): 1299-308.
- [23] HUANG H, WENG H, SUN W, et al. Recognition of RNA N6-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation [J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(3): 285-95.
- [24] HWANG S Y, JUNG H, MUN S, et al. L1 retrotransposons exploit RNA m6A modification as an evolutionary driving force [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 880.
- [25] WU R, LI A, SUN B, et al. A novel m6A reader Prrc2a controls oligodendroglial specification and myelination [J]. *Cell Res*, 2019, 29(1): 23-41.
- [26] TANAI E, FRANTZ S. Pathophysiology of heart failure [J]. *Compr Physiol*, 2015, 6(1): 187-214.
- [27] BERULAVA T, BUCHHOLZ E, ELERDASHVILI V, et al. Changes in m6A RNA methylation contribute to heart failure progression by modulating translation [J]. *Eur J Heart Fail*, 2020, 22(1): 54-66.
- [28] MATHIYALAGAN P, ADAMIAMAK M, MAYOURIAN J, et al. FTO-dependent N6-methyladenosine regulates cardiac function during remodeling and repair [J]. *Circulation*, 2019, 139(4): 518-32.
- [29] SHEN W, LI H, SU H, et al. FTO overexpression inhibits apo-

- tosis of hypoxia/reoxygenation-treated myocardial cells by regulating m6A modification of Mhrt [J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(5): 2171-9.
- [30] KMIETCZYK V, RIECHERT E, KALINSKI L, et al. m6A-mRNA methylation regulates cardiac gene expression and cellular growth [J]. *Life Sci Alliance*, 2019, 2(2): e201800233.
- [31] SAXENA R, WEINTRAUB N L, TANG Y. Optimizing cardiac ischemic preconditioning and postconditioning via epitranscriptional regulation [J]. *Med Hypotheses*, 2020, 135: 109451.
- [32] CHEN L, LI Q, LEI L, et al. Dioscin ameliorates cardiac hypertrophy through inhibition of the MAPK and Akt/GSK3 β /mTOR pathways [J]. *Life Sci*, 2018, 209(1): 420-9.
- [33] DORN L E, LASMAN L, CHEN J, et al. The N6-methyladenosine mRNA methylase mettl3 controls cardiac homeostasis and hypertrophy [J]. *Circulation*, 2019, 139(4): 533-45.
- [34] QIAN B, WANG P, ZHANG D, et al. m6A modification promotes miR-133a repression during cardiac development and hypertrophy via IGF2BP2 [J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 157.
- [35] HUANG X, HU H, WEBSTER A, et al. Binding of guide piRNA triggers methylation of the unstructured N-terminal region of Aub leading to assembly of the piRNA amplification complex [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 4061.
- [36] GAO X Q, ZHANG Y H, LIU F, et al. The piRNA CHAPIR regulates cardiac hypertrophy by controlling METTL3-dependent N6-methyladenosine methylation of Parp10 mRNA [J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(11): 1319-31.
- [37] BENSON J C, CHEEK H, AUBRY M C, et al. Cervical carotid plaque MRI: review of atherosclerosis imaging features and their histologic underpinnings [J]. *Clin Neuroradiol*, 2021, 31(2): 295-306.
- [38] GIMBRONE M A, GARCÍA G. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2016, 118(4): 620-36.
- [39] ZHANG B Y, HAN L, TANG Y F, et al. METTL14 regulates M6A methylation-modified primary miR-19a to promote cardiovascular endothelial cell proliferation and invasion [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(12): 7015-23.
- [40] JIAN D, WANG Y, JIAN L, et al. METTL14 aggravates endothelial inflammation and atherosclerosis by increasing FOXO1 N6-methyladenosine modifications [J]. *Theranostics*, 2020, 10(20): 8939-56.
- [41] NEELAND I J, ROSS R, DESPRÉS J P, et al. Visceral and ectopic fat, atherosclerosis, and cardiometabolic disease: a position statement [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2019, 7(9): 715-25.
- [42] LIU Q, ZHAO Y, WU R, et al. ZFP217 regulates adipogenesis by controlling mitotic clonal expansion in a METTL3-m6A dependent manner [J]. *RNA Biol*, 2019, 16(12): 1785-93.
- [43] SONG T, YANG Y, WEI H, et al. Zfp217 mediates m6A mRNA methylation to orchestrate transcriptional and post-transcriptional regulation to promote adipogenic differentiation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(12): 6130-44.
- [44] MAHMOUDI M, YU M, SERPOOSHAN V, et al. Multiscale technologies for treatment of ischemic cardiomyopathy [J]. *Nat Nanotechnol*, 2017, 12(9): 845-55.
- [45] SONG H, 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): 1419-37.
- [46] GUO M, YAN R, JI Q, et al. IFN regulatory factor-1 induced macrophage pyroptosis by modulating m6A modification of circ_0029589 in patients with acute coronary syndrome [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 86: 106800.
- [47] ZHAO Y, HU J, SUN X, 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.
- [48] ZHONG L, HE X, SONG H, et al. METTL3 induces AAA development and progression by modulating N6-methyladenosine-dependent primary miR34a processing [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 21: 394-411.
- [49] HU L, WANG J, HUANG H, et al. YTHDF1 regulates pulmonary hypertension through translational control of MAGED1 [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2021, 203(9): 1158-72.
- [50] MÜLLER S, GLASS M, SINGH A K, et al. IGF2BP1 promotes SRF-dependent transcription in cancer in a m6A- and miRNA-dependent manner [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(1): 375-90.
- [51] 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.
- [52] CHEN J, NING Y, ZHANG H, et al. METTL14-dependent m6A regulates vascular calcification induced by indoxyl sulfate [J]. *Life Sci*, 2019, 239: 117034.
- [53] PIEKOSZEWSKA P, TURSKA A, OLCZAK D. Single nucleotide polymorphism in the aetiology of caries: systematic literature review [J]. *Caries Res*, 2017, 51(4): 425-35.
- [54] MO X B, LEI S F, ZHANG Y H, et al. Detection of m6A-associated SNPs as potential functional variants for coronary artery disease [J]. *Epigenomics*, 2018, 10(10): 1279-87.
- [55] MO X, LEI S, ZHANG Y, et al. Genome-wide enrichment of m6A-associated single-nucleotide polymorphisms in the lipid loci [J]. *Pharmacogenomics J*, 2019, 19(4): 347-57.