

综述

DNMT1点突变导致神经退行性疾病的机制研究进展

刘火源 胡甘露 范国平*

(上海科技大学免疫化学研究所, 干细胞与表观遗传学实验室, 上海 201210)

摘要 DNA甲基转移酶1(DNA methyltransferase 1, DNMT1)是维持DNA甲基化的重要修饰酶, 负责在CpG二核苷酸序列的胞嘧啶5号位碳原子上加上甲基修饰, 在真核生物体内的生命活动中行使着重要功能。DNMT1 RFTS结构域上的非同义点突变会导致两种罕见的神经退行性疾病——伴有痴呆和听力丧失的遗传性感神经病1E型(hereditary sensory neuropathy with dementia and hearing loss type 1E, HSN1E)以及常染色体显性小脑共济失调、耳聋和嗜睡症(autosomal dominant cerebellar ataxia, deafness and narcolepsy, ADCA-DN), 这两种疾病均在患者成年后发病, 但致病机制尚不明确。该综述旨在总结DNMT1维持DNA甲基化的机制和其他重要的生物学功能, 以及DNMT1突变致病机制的研究进展, 同时探讨DNMT1突变导致神经退行性疾病的分子机理。

关键词 DNMT1点突变; DNA甲基化; 神经退行性疾病; HSN1E; ADCA-DN

Recent Advances in the Study of Neurodegenerative Diseases Caused by DNMT1 Point Mutations

LIU Huoyuan, HU Ganlu, FAN Guoping*

(Lab of Stem Cells and Epigenetics, Shanghai Institute for Advanced Immunochemical Studies, ShanghaiTech University, Shanghai 201210, China)

Abstract DNMT1 (DNA methyltransferase 1) is required for maintaining DNA methylation by adding a methyl group to the fifth carbon atom of cytosine base of CpG dinucleotide. Nonsynonymous mutations on the DNMT1 RFTS domain will lead to two rare neurodegenerative diseases: HSN1E (hereditary sensory neuropathy with dementia and hearing loss type 1E) and ADCA-DN (autosomal dominant cerebellar ataxia, deafness and narcolepsy). The onset of these two diseases occurs in adulthood, but their pathogenesis remains unclear. This review summarizes the mechanism of DNMT1 in catalyzing DNA methylation and other important biological functions, as well as the recent advances in the study of neurodegenerative diseases caused by DNMT1 point mutations. This review will further discuss the possible molecular mechanisms underlying these DNMT1-mutation mediated diseases.

Keywords DNMT1 mutation; DNA methylation; neurodegenerative disease; HSN1E; ADCA-DN

DNA甲基化是一种不改变DNA序列的表观遗传修饰, 作为最重要的表观遗传修饰之一, 在真核生物和细菌中广泛存在^[1]。胞嘧啶5号位的甲基化

(5mC)是最常见的甲基化修饰, 由DNA甲基转移酶(DNA methyltransferases, DNMTs)催化完成。人类基因组中有60%~80%的CpG位点具有甲基化修饰, 这些位点占胞嘧啶总数的4%~6%^[2]。在哺乳动物中, 基因组甲基化水平的稳定对胚胎发育和维持个体的正常生理功能均至关重要。与此同时, 肿瘤发生和

收稿日期: 2023-06-14

接受日期: 2023-10-08

*通讯作者。Tel: 15901901050, E-mail: fangp@shanghaitech.edu.cn

Received: June 14, 2023

Accepted: October 8, 2023

*Corresponding author. Tel: +86-15901901050, E-mail: fangp@shanghaitech.edu.cn

其他疾病的发展通常伴随着基因组甲基化水平的异常变化^[3-4]。

DNA甲基转移酶1(DNA methyltransferase 1, DNMT1)、DNA甲基转移酶3A(DNA methyltransferase 3A, DNMT3A)和DNA甲基转移酶3B(DNA methyltransferase 3B, DNMT3B)是哺乳动物基因组甲基化谱的维持和建立所必需的三种DNA甲基转移酶,其中DNMT3A和DNMT3B行使从头甲基化催化功能。DNMT1的功能主要是在DNA复制后将母链上的甲基化模式复制到子链上,维持子链CpG位点的甲基化水平,从而被称为维持性甲基化酶^[5-6]。DNMT1在胚胎发育和代谢过程中对于个体基因组甲基化模式的建立和维持起着重要作用,在神经元的发育和存活乃至损伤修复过程中也发挥着重要功能^[6-13]。

DNMT1上的一些非同义突变会导致疾病^[14-20],例如位于复制位点识别序列(replication foci targeting sequence, RFTS)结构域上的点突变可以引起伴有痴呆和听力丧失的遗传性感觉神经病1E型(hereditary sensory neuropathy with dementia and hearing loss type 1E, HSN1E)以及常染色体显性小脑共济失调、耳聋和嗜睡症(autosomal dominant cerebellar ataxia, deafness and narcolepsy, ADCA-DN)。这两种疾病均在患者成年后发病,但其致病机制尚不完全清楚。基于DNMT1在基因调控网络中的重要作用,先前的研究初步分析了DNMT1点突变对基因组甲基化水平和转录组的影响,也对DNMT1酶活力、稳定性进行了蛋白水平上的研究。本综述基于上述组学、结构、酶学方面的研究结果,旨在全面阐述DNMT1的功能,并总结由DNMT1突变引起的神经退行性疾病的研究进展和挑战,以期为揭示这些疾病的致病机制和寻找有效的治疗策略提供参考。

1 DNMT1的结构与功能

1.1 DNMT1结构

DNMT1基因位于19号染色体上的p13.2位置,其转录本2(DNMT1b)编码的蛋白包含1 616个氨基酸,而转录本1(DNMT1a)编码的蛋白包含1 632个氨基酸。小鼠内同源基因Dnmt1则位于9号染色体上,其编码的最长的全长蛋白包含1 679个氨基酸。本综述中所涉及的氨基酸点突变位点均根据转录本2(DNMT1b)的序列进行标注(NCBI参考序号: NP_001370.1)。

DNMT1是一个多结构域的蛋白,如图1所示,其

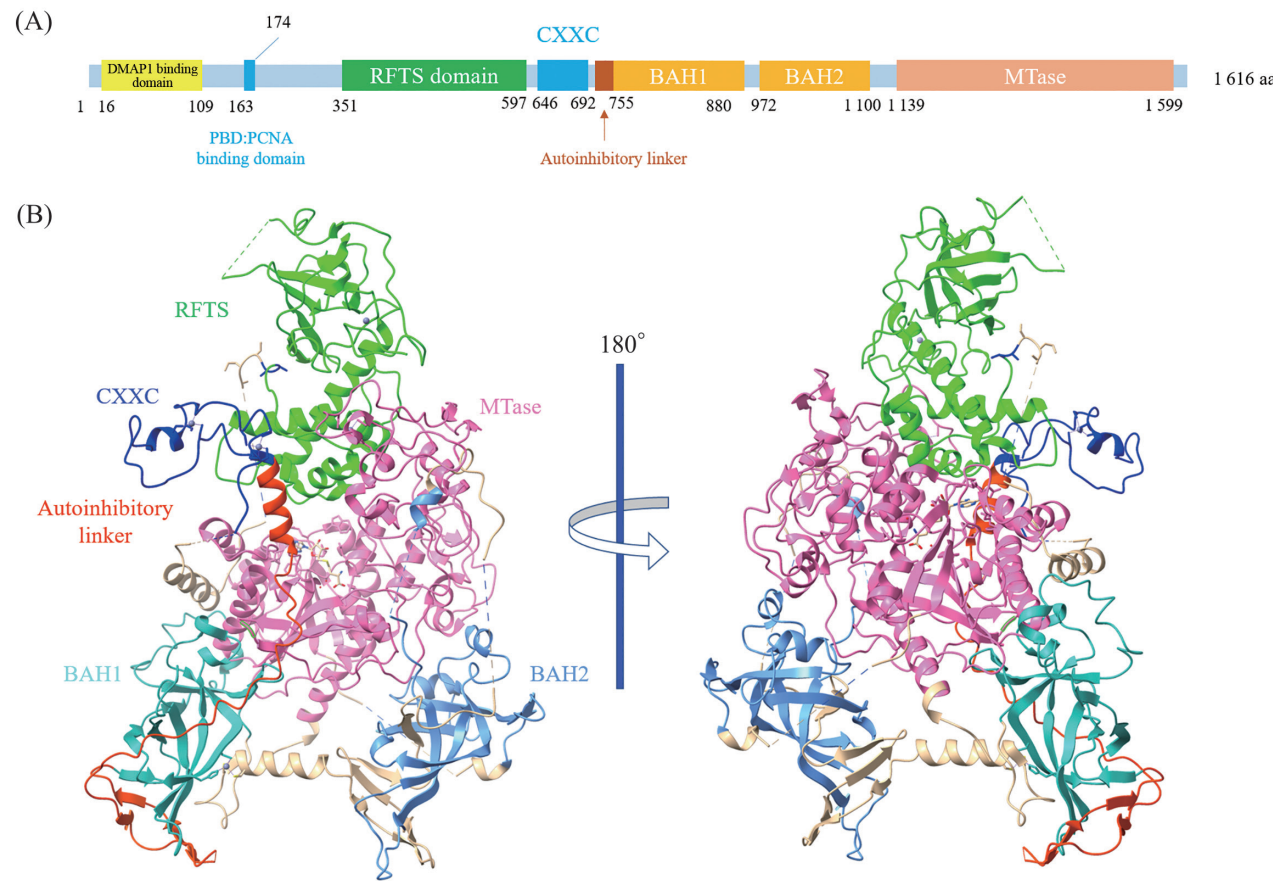
主要包括N-端的调控区域和C-端的催化域。N-端的调控区域对于DNMT1与其他蛋白的互作至关重要,该段序列包括DMAP1(DNA methyltransferase-associated protein 1)结合区域、RFTS结构域、CXXC锌指结构域,以及两个溴相邻同源结构域(Bromo adjacent homology domain, BAH)^[21]。

DNMT1的DMAP1识别区域能够结合DMAP1,而DMAP1可以召集转录共抑制子TSG101(tumor susceptibility gene 101 protein),从而发挥转录抑制活性。在S期后期,可观察到DMAP1和组蛋白去乙酰化酶2(histone deacetylase 2, HDAC2)均与DNMT1共定位, DNMT1将DMAP1招募到复制位点上,从而协助复制后的组蛋白去乙酰化过程^[22]。另一个与DNA复制相关的蛋白增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)通过PBD结构域与DNMT1结合^[24]。RFTS结构域可以识别并结合半甲基化DNA底物和一些互作因子如UHRF1,以及H3K9me3等染色质修饰^[25]。第一个溴相邻同源结构域BAH1(Bromo adjacent homology domain 1)能够识别并结合组蛋白H4K20三甲基化修饰(H4K-20me3)^[26]。CXXC能够特异性识别非甲基化的DNA,并将染色质修饰相关因子招募至CpG岛上^[27]。RFTS和CXXC也与DNMT1的自抑制机制有关^[28-29]。

1.2 DNMT1的功能与调控

1.2.1 DNMT1的维持性甲基化活性 在DNA半保留复制过程中,新合成的子链上没有甲基化修饰,此时DNMT1以母链为模板给子链的CpG位点加上甲基化修饰,以维持子链的甲基化水平,这一过程即维持性甲基化过程。

DNMT1可在多种辅助因子的协助下结合到半甲基化DNA底物上并发挥催化活性^[30]。在非催化状态下, DNMT1自身处于自抑制构象,其RFTS结构域与催化结构域中的TRD结构域结合,占据了DNA的催化口袋,而BAH与CXXC之间的自抑制连接子则锚定在DNA和DNMT1的活性位点之间,抑制了从头甲基化催化活性^[21]。在DNA复制时,PCNA将DNMT1招募至DNA复制叉上^[24]。UHRF1(ubiquitin-like, containing PHD and RING finger domains 1)在DNA复制时和复制后分别通过泛素化H3和PAF15为PAF15Ub2和H3Ub2来招募DNMT1靶向半甲基化位点,以确保甲基化模式复制过程能精确完成^[31]。UHRF1通过TTD结构域识别并结合PAF15Ub2和H3Ub2^[32],然后通过其泛素样结构域(ubiquitin-like domain, UBL)招募DNMT1,同时



A: DNMT1全长结构域图示。B: DNMT1结构(基于现有已解析最长片段的hDNMT1₃₅₁₋₁₆₀₀晶体结构修改, PDB序号: 4WXX)。各结构域分别用以下颜色标识。RFTS: 橙绿色; CXXC: 蓝色; 自抑制连接子(autoinhibitory linker): 橙色; BAH1: 浅海绿色; BAH2: 浅蓝色; MTase: 艳粉色。
A: schematic diagram of DNMT1 domains. B: structural representation of DNMT1 (modified from the longest crystal structure of hDNMT1₃₅₁₋₁₆₀₀, PDB accession code: 4WXX). Each domain is identified by the following color. RFTS: lime; CXXC: blue; autoinhibitory linker: orange; BAH1: light sea green; BAH2: cornflower blue; MTase: hot pink.

图1 DNMT1结构域示意图(根据参考文献[22-24]修改)
Fig.1 Schematic diagram of DNMT1 domains (modified from the references [22-24])

释放出DNMT1的RFTS结构域, 从而将DNMT1的自抑制状态打开。随后, RFTS结构域中的泛素识别基序(ubiquitin interacting motif, UIM)与PAF15Ub2和H3Ub2上的泛素分子结合, 从而定位到半甲基化位点, 催化新生DNA链胞嘧啶的甲基化^[33-35]。在甲基化过程完成后, 由USP7催化H3Ub2和PAF15Ub2去泛素化, 将DNMT1从复合物中释放出来^[36]。

近来有研究报道, DNMT1也具有从头甲基化活性, 并且这种活性受到BAH1结构域的调控^[37]。LI等^[38]通过精巧的实验在体内证实了DNMT1在*Stella*基因敲除的卵子中对某些母系基因具有从头甲基化活性, HAGGERTY等^[39]用类似的方法也证明了DNMT1在体内和体外均对转座子有从头甲基化活性。

1.2.2 DNMT1参与DNA损伤修复 DNMT1还参

与DNA损伤修复的过程, 有助于维持基因组的稳定性。GUO等^[40]在小鼠胚胎干细胞中发现DNMT1参与DNA错配修复, 敲除*Dnmt1*可造成胚胎干细胞中微卫星位点的稳定性下降。MORTUSEWICZ等^[41]发现, 在DNA损伤后DNMT1迅速被PCNA募集到损伤位点, 敲除DNMT1的PBD结构域则影响了DNMT1的正常招募, 导致了DNA损伤程度增加, DNA修复效率降低。KYUNGSOO等^[42]发现除PCNA之外, 还有包括检查点激酶CHK1和RAD9两个蛋白在内的多个因子也可招募DNMT1至DNA损伤位点。DING等^[43]在氧化损伤诱导的修复过程中也发现DNMT1被错配修复蛋白异源二聚体MSH2-MSH6招募到染色质上, 以减少转录活动及潜在的对修复过程的干扰。

综上所述, DNMT1可以促进基因组稳定并调

节DSB修复速率。DNMT1的突变可能导致复制过程中的DNA损伤修复受阻,进而使得DNA突变率上升。而在衰老过程中,成熟神经元可能会在应激压力下产生DNA损伤,但DNMT1的缺陷是否会影响DNA的损伤修复仍有待研究。

1.2.3 DNMT1的翻译后修饰 细胞内DNMT1的表达量在G₁期较低,在S期达到最高,而在G₂期和M期DNMT1仍有一定表达。DNMT1的含量受到UHRF1、赖氨酸乙酰转移酶5(lysine acetyltransferase 5, KAT5)、去泛素化酶7(ubiquitin specific peptidase 7, USP7)、组蛋白去乙酰化酶1(histone deacetylase 1, HDAC1)等因子的动态调控^[44],以避免不恰当的甲基化发生。

DNMT1被KAT5乙酰化后,UHRF1可进一步催化其泛素化,促进DNMT1的降解;相反,HDAC1和USP7则通过去乙酰化和去泛素化帮助DNMT1维持稳定^[44-45]。ZHOU等^[46]报道在人乳腺癌细胞中添加HDAC抑制剂LBH589会促进DNMT1的降解。AGOSTON等^[47]在HMECs(human mammary epithelial cells)中发现DNMT1的N-端前120个氨基酸上存在一个与泛素化和降解相关的破坏域,在人乳腺癌细胞MCF-7中,缺失该破坏域的DNMT1蛋白稳定性提高。USP7去泛素酶活性对DNMT1和UHRF1蛋白稳定性都具有调控作用,在细胞中敲除USP7后发现DNMT1的含量明显减少,而DNMT1的泛素化程度增加^[48]。

1.2.4 DNMT1和组蛋白修饰之间的互作 DNA甲基化和组蛋白修饰均为重要的表观遗传修饰,可以协同影响基因的表达。如1.2.1所述,DNMT1通过UHRF1介导与组蛋白修饰互作,而近年来研究发现,DNMT1还可以直接通过其RFTS结构域识别H3K9me3等组蛋白修饰,而且泛素化后的H3K-9me3Ub2与DNMT1的亲合力增强^[25,49]。RFTS上的关键位点突变(W464A/W465A)会导致DNMT1与H3K-9me3Ub2结合力下降,影响DNMT1在干细胞中的核定位,并严重降低基因组DNA的甲基化水平和损害其稳定性。DNMT1还能够通过其BAH1结构域特异性地结合组蛋白上的H4K20me3修饰,从而准确定位到异染色质上,完成对LINE-1逆转座子的甲基化^[26]。这些研究表明,DNMT1可通过识别多种组蛋白修饰来调节DNA甲基化模式。

此外,在癌症治疗中,使用DNA甲基化酶抑制剂可以抑制抑癌基因上的甲基化,但是治疗结束后这些抑癌基因会重新被甲基化。WONG等^[50]发现这

种甲基化恢复过程是由H3K9me3修饰和H3K27me3修饰招募DNMT1催化完成的。

1.2.5 RNA调控DNMT1功能 近年来研究发现,DNMT1能够与包括其自身RNA在内的多种RNA结合,其功能也受到部分非编码RNA的调控,特别是在一些疾病进程中也发现RNA通过调控DNMT1功能来影响基因表达量,这使得RNA适配子在调控基因组甲基化水平上具有一定的成药潜力^[51-52]。这些RNA的调控方式主要包括招募DNMT1到特定位点降低相应基因的表达量,或通过特异性地结合DNMT1来抑制其对相应位点的甲基化,从而促进基因表达。例如*ecCEBP*就是一种具有这种调控作用的RNA^[53-55]。另外*CCDC26*(一段基因间区的长非编码RNA)能够将DNMT1招募到细胞核核周,当*CCDC26*被敲除后,DNMT1完全分布在细胞质中^[56]。因此,DNMT1是否受RNA调控也是研究相关疾病机制和治疗策略的一个潜在方向。

2 DNMT1与神经退行性疾病的关系

2.1 DNMT1在神经元内的表达及功能

在分裂后的神经元中仍能观察到大量DNMT1的表达,DNMT1在神经系统的发育、功能维持和疾病发生中起着重要作用^[57]。研究表明*DNMT1*可以影响中间神经元的迁移和存活^[7]。在小鼠视前区(preoptic area, POA)衍生的皮质中间神经元中组织特异性地敲除*Dnmt1*会导致其无法正常迁移到皮层^[58]。有趣的是,在表达小清蛋白(parvalbumin, PV)的小鼠皮质中间神经元中特异性地敲除*Dnmt1*反而可以提高该类神经元在衰老过程中的长期存活率,这与蛋白稳态的调控有关^[7]。这说明DNMT1在不同时期可能以不同的机制发挥作用。类似地,NOGUCHI等^[9]发现于出生前敲除*Dnmt1*会影响小鼠神经元的形成,导致成年小鼠大脑中出现炎症反应的特征,并使小鼠表现出焦虑行为。RHEE^[8]等发现,视网膜组细胞中仍表达大量DNMT1,而在*Chx10-Cre*小鼠视网膜中特异性地敲除*Dnmt1*会严重地影响视网膜细胞的正常分化和感光细胞的分化、存活,DNA低甲基化也会导致视网膜细胞快速退化。

周围神经系统中的成熟神经元在轴突损伤后可以转换到再生状态,损伤发生、修复的过程也伴随着DNMT1参与调控的表观遗传和基因表达变化。例如,SUN等^[10]发现DNMT1通过抑制背根神经节

中 *Kcna2* 基因的表达参与神经病理性疼痛的发生。OH 等^[11]发现在外周神经轴突损伤后再生修复过程中, H3K9me3 和 DNMT1 会富集到 RE1 沉默转录因子 (RE1 silencing transcription factor, *REST*) 的启动子上, 通过 UHRF1 依赖的 DNA 甲基化来抑制 *REST* 的表达, 从而促进轴突再生。

因此, DNMT1 在神经系统发育、正常功能维持、损伤修复过程中均发挥重要作用, DNMT1 的缺陷可能影响神经细胞正常功能的维持。

2.2 DNMT1 RFTS 结构域上的突变导致神经退行性疾病

DNMT1 的 RFTS 结构域上的杂合突变导致 HSN1E^[14-19] 和 ADCA-DN^[17,19,59] 两种迟发性疾病, 这两种疾病的发病率均小于 1/1 000 000, 多为家族性遗传 (数据来源于 Orphanet 数据库, OMIM 序号分别为 614116 和 604121)^[60]。

这两种疾病的患者基本上都是在成年后才出

现退行性症状, 通常从青年 (平均在 37.7 岁) 开始出现轻微的感官神经功能障碍, 例如较为常见的神经性听力丧失, 该症状随年龄增加而加重; 到中年 (平均在 45 岁) 逐渐出现步态失调和痴呆等症状, 继而可能出现猝倒等症状^[63-64], 通过核磁成像可见大脑和小脑萎缩^[17]。这两种疾病的临床表征略有不同, 其中 HSN1E 的临床特征主要为神经性听力损失、感觉神经病变、行为异常和痴呆, 有相当部分的患者还伴有久治不愈的足溃疡 (ulcers) 甚至需要截肢 (表 1), 也有患者出现腿肌肉阵挛性抽搐^[14,61,65]。ADCA-DN 的临床特征则包括小脑共济失调、步态失调^[59]、发作性睡病伴猝倒、感音神经性耳聋和痴呆, 部分患者还伴有执行性功能障碍和整体认知障碍。嗜睡则是两种疾病共有的症状^[17], 而猝倒一般只在 ADCA-DN 患者中出现。

足溃疡在 HSN1E 患者中是一个常见的并发症, 其发生与自主神经病变也有关。HSN1E 患者足溃

表 1 HSN1E 和 ADCA-DN 疾病表型
Table 1 Phenotypes of HSN1E and ADCA-DN patients

疾病 Diseases	突变位点 Mutation position	外显子 Exon	表型 Phenotype	参考文献 References
HSN1E (hereditary sensory neuropathy with dementia and hearing loss type 1E)	Cys353Phe	20	Progressive perceptive hearing loss; progressive gait difficulties; foot ulcerations; haemorrhagic stroke; visual and auditory hallucinations; bilateral renal atrophy	[14]
	Tyr495Cys	20	Deafness, dementia; sensory neuropathy; foot ulcers; sensory ataxia and sensory neuropathy in the legs; global cortical and cerebellar atrophy	[14,16,61]
	Tyr495His	20	Hearing loss and sensory neuropathy; dementia; memory decline; diffuse cerebral and cerebellar atrophy; mild cognitive impairment; generalized seizure; peripheral neuropathy; gait ataxia, vibratory sensory loss; cerebellar Purkinje cell loss with Bergmann gliosis	[14,16,61]
	Asp490Glu-Pro-491Tyr	20	Hearing loss/loss of sensation; extremity sensory loss; cerebellar ataxia; foot ulcers	[61]
	His553Arg	21	Perception decrease in distal lower limbs; osteomyelitis; hearing loss; gait difficulties; foot ulcers and mutilations; mild mental retardation; bone destruction, cortical bone	[16]
ADCA-DN (autosomal dominant cerebellar ataxia, deafness and narcolepsy)	Ala554Val	21	Narcolepsy-cataplexy, hearing loss, memory problem, excessive daytime sleepiness, depression (age 43); lower limb lymphedema (age 45); cerebellar ataxia (age 46); peripheral sensory neuropathy (age 47); optic atrophy, high CSF tau protein level	[62,64]
	Cys580Arg	21	Cerebellar ataxia, deafness, and narcolepsy; amenorrhea; mild vertical nystagmus; absent lower limb tendon reflexes, mild brain atrophy	[59,62]
	Gly589Ala	21	Cerebellar ataxia, excessive daytime sleepiness, cataplexy, hearing loss; absent ankle reflexes, lower limbs hypopallesthesia and oedema; hypnagogic hallucination	[17,62,64]
	Val596Phe	21	Narcolepsy-cataplexy, hearing loss, dementia; excessive daytime sleepiness (age 18), memory problem; cerebellar ataxia (age 37), and optic atrophy (age 38), high CSF tau protein level	[62,64]

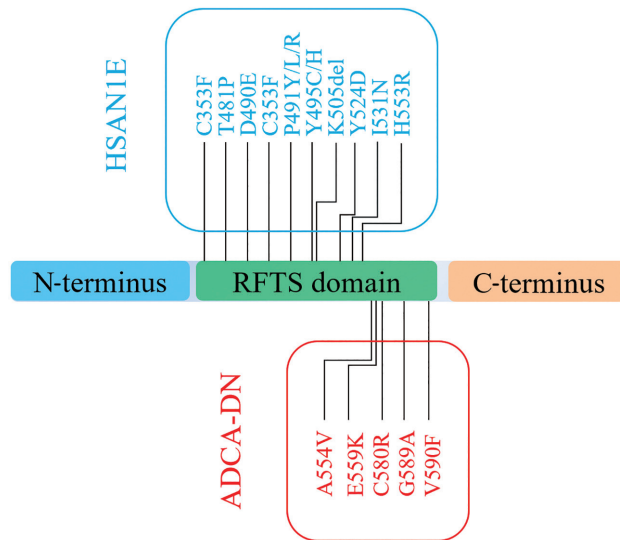


图2 DNMT1中的HSAN1E和ADCA-DN致病突变位点图示(根据参考文献[61-62]修改)

Fig.2 HSN1E and ADCA-DN mutations in DNMT1 (modified from the references [61-62])

病的表型与糖尿病足患者的表型类似,但糖尿病足患者是由于外周神经病变导致无法正常感知创伤,在受伤后持续摩擦容易发生溃疡^[66]。以上表型表明,HSAN1E病人的外周神经系统可能也会发生障碍,但具体病理机制尚不清楚。

有趣的是,导致上述两种疾病的致病突变分别位于DNMT1 RFTS结构域的N-端和C-端(图2),这些突变对应的DNA突变位点则分别在*DNMT1*的20和21号外显子上(表1)。导致HSAN1E的点突变通常位于20号外显子上,但近年来陆续有报道称一些HSAN1E病例由于*DNMT1*外显子21上的突变致病^[16,67-68]。需要注意的是,第553位的H553R(H569R)突变导致HSAN1E,而其下一个氨基酸的突变A554V则导致ADCA-DN疾病表型。尽管这两个突变位置相邻,但可能导致蛋白结构改变的方式不一样,从而导致两种疾病的表型略有差异。

针对上述DNMT1相关神经退行性疾病,目前尚无有效疗法,只能针对不同的临床表型,采取药物管理、康复训练等对症治疗来缓解患者的症状,例如使用助听器或移植人工耳蜗以改善耳聋症状^[63],以及通过镇静类药物治疗和康复训练缓解精神错乱和运动障碍等症状。为了开发有效的治疗方案,仍需进一步研究来深入理解DNMT1突变导致以上神经退行性疾病的分子机制。

3 DNMT1相关疾病致病机制的研究进展

以往的研究已在分子、细胞、动物水平上对

DNMT1点突变造成的差异进行了一定程度的分析,以下简要概括了相关致病机制,并将部分机制总结于图3中。

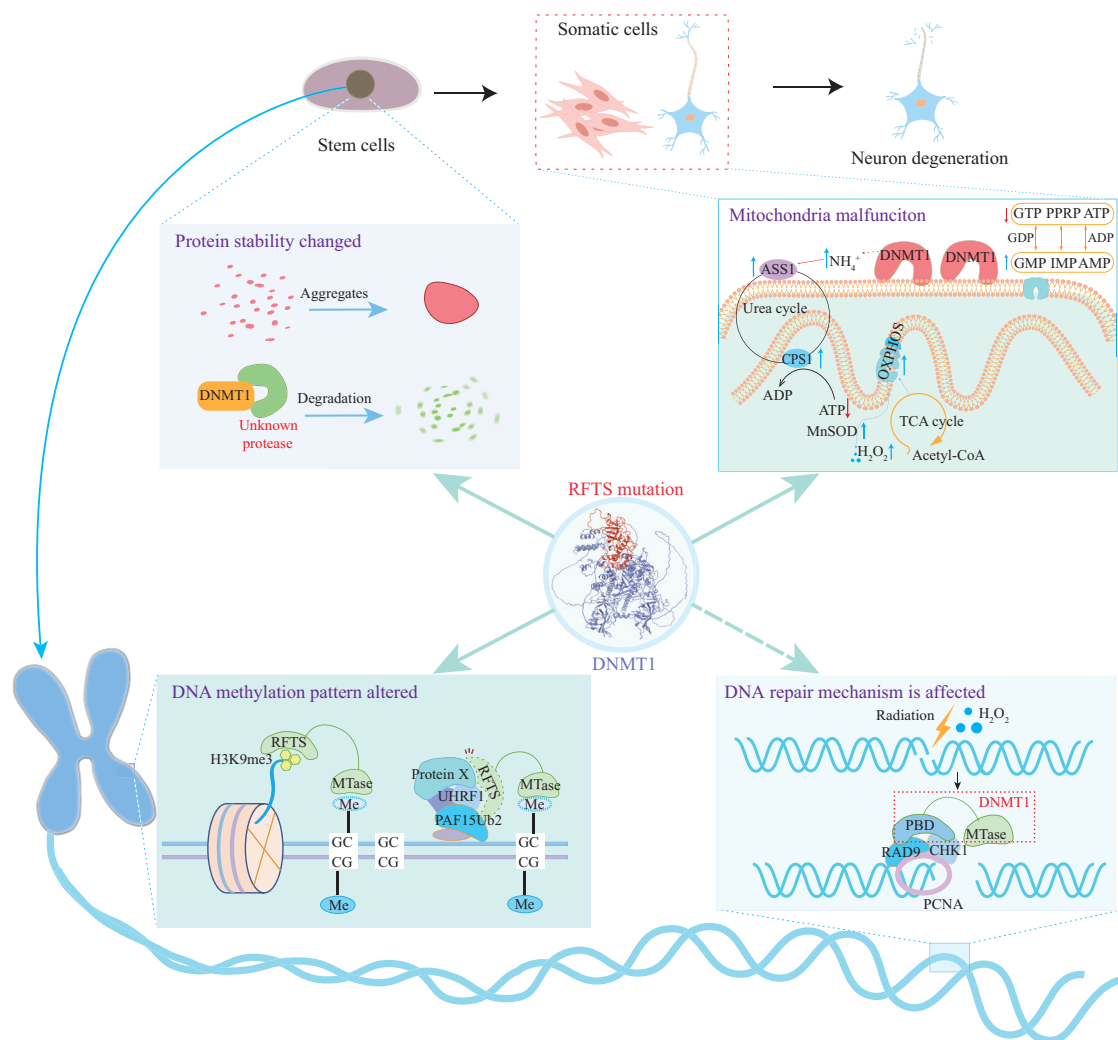
3.1 HSN1E相关点突变导致DNMT1酶活降低并使其在胞质中聚集

KLEIN等^[61]于2011年在HSAN1E患者中发现了DNMT1上的Y495C(c.A1484G)突变和双氨基酸突变D490E-P491Y(c.1470TCC-1472ATA)。他们发现HSAN1E患者的基因组整体甲基化水平降低,但部分启动子区域的甲基化程度升高。此外,在HeLa细胞中进行的实验表明这些突变导致DNMT1过早降解,且与DNA的结合能力降低,并使细胞分裂G₂期DNMT1在异染色质上的结合能力减弱。2015年KLEIN等^[14]在HEK293细胞中研究了包括C353F、T481P、P491L、Y524D、I531N在内的多个突变位点,发现突变蛋白在S期可以正常与PCNA结合,但在G₂期被转运到胞质中并形成聚集。

这些研究结果表明,HSAN1E相关突变会影响DNMT1的酶活性、稳定性、与DNA的结合能力,导致DNA甲基化模式异常和细胞功能异常。

3.2 HSN1E相关点突变导致基因组甲基化水平降低

KLEIN等^[18]于2014年对携带Y495C突变的HSAN1E患者及其兄弟姐妹的外周淋巴细胞进行了全基因组测序(whole genome bisulfite sequencing, WGBS),发现携带*DNMT1*突变的患者淋巴细胞的基因组甲基化水平较低,尤其在基因间CpG岛上的差异



图中展示了DNMT1突变导致神经退行性病变的四种分子机制。左上: 突变导致DNMT1稳定性降低。右上: DNMT1突变与线粒体供能减弱相关。研究发现DNMT1结合在线粒体外膜上。DNMT1突变后尿素降解和嘌呤代谢、氧化磷酸化活动均增强, ATP、GTP含量反而降低, 最终表现为线粒体供能减弱。正中: DNMT1全长结构预测图(基于AlphaFold2预测结构修改, PDB序号: AF-P26358-F1)^[69]。左下: DNMT1突变导致DNA甲基化模式改变。RFTS结构域负责识别H3K9me3、UHRF1、PAF15Ub2等互作因子, 完成甲基化催化过程, DNMT1突变有可能阻碍催化过程。右下: DNA损伤后DNMT1被CHK1和RAD9招募到损伤位点, 参与DNA损伤修复过程, DNMT1突变可能会阻碍修复过程, 损害细胞的正常功能。蓝色箭头: 上调; 红色箭头: 下调; 红色虚线箭头: 此处省略的中间代谢过程; 浅绿色虚线箭头: 潜在的致病机制; Protein X: 潜在的DNMT1互作因子。

The figure illustrates four molecular mechanisms of neurodegenerative diseases caused by DNMT1 point mutations. Upper left: DNMT1 stability is reduced with mutations. Upper right: DNMT1 mutations are associated with reduced mitochondrial energy supply. DNMT1 has been found to bind to the mitochondrial outer membrane. However, the activities of urea degradation, purine metabolism and oxidative phosphorylation in cells with DNMT1 mutations are enhanced, while the contents of ATP and GTP are decreased, which ultimately results in the weakened mitochondrial energy supply. Middle: predicted full-length structure of DNMT1 (modified from AlphaFold2 predicted structure, PDB accession code: AF-P26358-F1)^[69]. Bottom left: DNMT1 mutations lead to altered DNA methylation patterns. RFTS domain is responsible for binding with interacting factors such as H3K9me3, UHRF1 and PAF15Ub2 to complete the catalytic methylation process, which may be hindered by DNMT1 mutation. Bottom right: DNMT1 is recruited by CHK1 and RAD9 to the DNA damage site and participates in the repair process of DNA damage, and DNMT1 mutation may impede the repair process and impair the normal function of cells. Blue arrow: up-regulated; red arrow: down-regulated; red dashed arrow: intermediate reactions not shown; dashed light green arrow: the possible pathogenic mechanism; Protein X: potential DNMT1-interacting proteins.

图3 DNMT1突变致病机制示意图

Fig.3 Schematic diagram of pathogenic mechanisms of DNMT1 mutations

更加显著。转录起始位点甲基化水平明显下降, 在X染色体和18号染色体上甲基化水平下降尤其显著(5%~10%), 这表明DNMT1突变引起的影响可能具有

染色体和区域特异性。

这一结果与他们2011年的研究结论一致, 均表明DNMT1突变导致了整体基因组甲基化水平普

遍降低,但是仍有部分位点甲基化程度升高,说明 *DNMT1* 突变导致甲基化模式异常可能不仅仅是由于酶活降低,还可能与 *DNMT1* 在基因组上的定位改变而导致位点差异甲基化有关,但尚未确定这种异常甲基化模式是否仅由染色质结合异常导致(图3左下)。

3.3 HSN1E疾病成因与DNMT1蛋白的降解有关

WONG等^[69]于2021年构建了两个分别模拟 HSN1E患者的常见突变位点 Y495C和D490E-P491Y的 *Dnmt1* 点突变小鼠模型(Y500C突变的M1小鼠和P496Y突变的M2小鼠),杂合突变小鼠表现出神经退行表型,但个体发育正常,M2纯合突变小鼠则在胚胎发育的第9.5到第10.5天死亡。这与 *Dnmt1* 敲除小鼠的表型一致,并且10.5天胚胎中的 *DNMT1* 含量明显降低。这表明 HSN1E疾病的成因与 *DNMT1* 蛋白的降解有关,但是这种降解与溶酶体和泛素-蛋白酶体无关。进一步研究发现人神经胶质细胞中的突变 *DNMT1*(D490E-P491Y)被裂解,裂解产物在核仁聚集且DNA甲基化异常,细胞增殖受到抑制并发生凋亡。然而在HeLa细胞中,突变 *DNMT1* 的核定位和酶活性均未发生明显改变,这表明 *DNMT1* 在神经胶质细胞中的含量受到特异的蛋白酶调控,而HeLa细胞中缺乏这种酶。

综上所述,突变有可能影响 *DNMT1* 蛋白的细胞内稳定性,从而影响DNA甲基化水平和细胞功能。然而,这仍无法解释为何患者成年后才发病,以及疾病成因是否与甲基化水平的改变有关,此外,突变引起的 *DNMT1* 稳定性降低是否受到翻译后修饰的影响尚待进一步研究阐明。

3.4 HSN1E相关点突变影响RFTS结构域与UHRF1结合

SMETS等^[70]于2017年研究了P496Y和Y500C突变对 *DNMT1* 在细胞内功能的影响。他们也发现 HSN1E相关点突变扰乱了 *DNMT1* 与异染色质的结合,并降低了S期晚期和G₂期 *DNMT1* 蛋白的稳定性。此外,RFTS点突变也影响了RFTS结构域与UHRF1的结合。研究还发现,表达突变 *DNMT1* 的小鼠胚胎干细胞容易发生凋亡,无法向神经元谱系分化。

3.5 ADCA-DN相关点突变导致DNMT1的DNA结合力和甲基化活性增强

DOLEN等^[71]于2019年选取了G589A和V590F两个ADCA-DN疾病相关的 *DNMT1* 突变进行生化性质研究。结果显示突变蛋白的热稳定性降低,但是

与DNA的结合能力和酶活力均增强。这些变化主要是RFTS结构域的自抑制功能减弱所致。在他们的实验体系中,突变的RFTS结构域抑制效果仅为野生型的一半,与KLEIN报道的HSAN1E相关点突变(Y495C和D490E-P491Y)导致 *DNMT1* 酶活降低的结论略有不同,这表明RFTS结构域上不同位点的突变可能导致不同的生化性质变化,其致病机理可能也不同。

3.6 DNMT1突变影响线粒体功能

近年来,不断有研究表明DNA甲基化对线粒体功能有影响,RFTS结构域上的点突变可能也会削弱线粒体功能。2011年,SHOCK等^[72]首次报道了 *DNMT1* 可以进入线粒体内,随后SAINI等^[73]进一步明确了 *DNMT1* 缺失入核信号(nuclear localization signal, NLS)的3号转录本(isoform 3)参与调控线粒体功能。然而MARESCA等^[62]在2020年的研究中发现 *DNMT1* 精准定位于线粒体外膜而非线粒体内。MARESCA等^[62]采集了4个ADCA-DN患者和2个HSAN-1E患者的成纤维细胞,发现突变细胞系线粒体DNA上CpG甲基化水平未发生明显变化,但有丝分裂和氧化磷酸化增强。代谢组学数据显示突变细胞中嘌呤、精氨酸/尿素循环和谷氨酸代谢水平发生显著变化,导致H₂O₂含量明显上升,但ATP含量却下降,总体供能减少(相关过程图示见图3右上方)。这表明 *DNMT1* RFTS突变可能导致嘌呤代谢和尿素循环代谢增强,造成ATP水平下降,从而引起非分裂细胞的退行性症状。其他神经退行性疾病如阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的研究结果显示,一些疾病模型小鼠的神经元内出现了线粒体自噬,这种自噬现象导致供能减少,从而造成突触受损^[74]。因此,对于 *DNMT1* 突变导致线粒体功能改变的具体机制值得进行更深入的研究。

综上所述,现有研究表明 *DNMT1* 突变除了导致酶活力的变化,还可能在蛋白质稳态、线粒体功能、基因组甲基化模式、神经元的存活等不同水平上影响基因组稳定性和细胞的正常功能。图3展示了 *DNMT1* 突变在不同水平上的几种可能的致病机制。

4 总结与展望

DNA甲基化是一种重要的表观遗传修饰, *DNMT1* 在DNA甲基化维持过程中扮演重要角色,在特定条件下也能行使从头甲基化功能,因此探清点突变致病机

制对于增加对DNMT1功能的认识、相关疾病的治疗方案以及所涉及通路的药物靶点开发都有重大意义。

DNMT1的RFTS结构域上的突变导致HSAN1E和ADCA-DN的发生, 以往的研究通过细胞内过表达突变体DNMT1、构建小鼠模型和干细胞模型^[75]等方法, 发现突变体DNMT1的含量降低, 基因组甲基化程度降低, 以及线粒体功能减弱等表型。这些研究在一定程度上揭示了突变造成的细胞以及蛋白水平上的差异, 但仍未揭示受影响的具体信号通路和生理过程。另外, 小鼠分裂后神经元中*Dnmt1*仍大量表达, 且主要存在于胞质中, 提示DNMT1可能在DNA复制后的甲基化谱维持之外还有其他功能。

对于非分裂的神经元细胞(以及其他类型的神经细胞), DNMT1的突变到底如何影响其自身稳定性和活性, 以及与其他因子互作, 继而调控细胞内基因表达或能量代谢等过程, 还需进一步研究揭示其分子机制。这有赖于建立更合理的疾病模型, 包括患者细胞来源的iPS细胞系、点突变小鼠模型甚至类器官模型, 并在这些模型的基础上获取更多组织形态学、分子和细胞水平的证据以及精度更高的测序数据。结合先前研究揭示的甲基化组、转录组数据, 以及线粒体功能、DNMT1蛋白稳定性甚至非编码RNA调控等机制, 可以揭示完整的疾病发生发展过程, 解析其中涉及的具体通路。这些努力将有助于更深入地了解DNMT1的功能, 并为潜在的药物靶点开发和治疗这两种疾病提供参考。例如, 根据本综述中提及的致病机制, 或许有望通过RNA治疗、能量干预、线粒体功能改善等手段干预病情进程。如果疾病成因与异常的DNMT1蛋白形成有关, 可使用DNMT1抑制剂促进DNMT1蛋白降解。另外根据甲基化程度影响细胞正常功能的机理, 有望通过基因治疗等手段干预病情进展。这也是未来研究DNMT1相关疾病致病机制和治疗策略的重要方向。

参考文献 (References)

- [1] JÄHNER D, STUHLMANN H, STEWART C L, et al. *De novo* methylation and expression of retroviral genomes during mouse embryogenesis [J]. *Nature*, 1982, 298(5875): 623-8.
- [2] LAURENT L, WONG E, LI G, et al. Dynamic changes in the human methylome during differentiation [J]. *Genome Res*, 2010, 20(3): 320-31.
- [3] MICHAUD E J, VAN VUGT M J, BULTMAN S J, et al. Differential expression of a new dominant agouti allele (Aiapy) is correlated with methylation state and is influenced by parental lineage [J]. *Genes Dev*, 1994, 8(12): 1463-72.
- [4] SMITH Z D, CHAN M M, HUMM K C, et al. DNA methylation dynamics of the human preimplantation embryo [J]. *Nature*, 2014, 511(7511): 611-5.
- [5] OKANO M, BELL D W, HABER D A, et al. DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development [J]. *Cell*, 1999, 99(3): 247-57.
- [6] DAHLET T, ARGÜESO LLEIDA A, AL ADHAMI H, et al. Genome-wide analysis in the mouse embryo reveals the importance of DNA methylation for transcription integrity [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3153.
- [7] HAHN A, PENSOLD D, BAYER C, et al. DNA methyltransferase 1 (DNMT1) function is implicated in the age-related loss of cortical interneurons [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 639.
- [8] RHEE K D, YU J, ZHAO C Y, et al. Dnmt1-dependent DNA methylation is essential for photoreceptor terminal differentiation and retinal neuron survival [J]. *Cell Death Dis*, 2012, 3: e427.
- [9] NOGUCHI H, KIMURA A, MURAO N, et al. Prenatal deletion of DNA methyltransferase 1 in neural stem cells impairs neurogenesis and causes anxiety-like behavior in adulthood [J]. *Neurogenesis*, 2016, 3(1): e1232679.
- [10] SUN L, GU X, PAN Z, et al. Contribution of DNMT1 to neuropathic pain genesis partially through epigenetically repressing *Kcna2* in primary afferent neurons [J]. *J Neurosci*, 2019, 39(33): 6595-607.
- [11] OH Y M, MAHAR M, EWAN E E, et al. Epigenetic regulator UHRF1 inactivates REST and growth suppressor gene expression via DNA methylation to promote axon regeneration [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(52): E12417-E26.
- [12] LI E, BESTOR T H, JAENISCH R. Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality [J]. *Cell*, 1992, 69(6): 915-26.
- [13] GOLSHANI P, HUTNICK L, SCHWEIZER F, et al. Conditional Dnmt1 deletion in dorsal forebrain disrupts development of somatosensory barrel cortex and thalamocortical long-term potentiation [J]. *Thalamus Relat Syst*, 2005, 3(3): 227-33.
- [14] BAETS J, DUAN X, WU Y, et al. Defects of mutant DNMT1 are linked to a spectrum of neurological disorders [J]. *Brain*, 2015, 138(Pt 4): 845-61.
- [15] KLEIN C J, BIRD T, ERTEKIN-TANER N, et al. DNMT1 mutation hot spot causes varied phenotypes of HSAN1 with dementia and hearing loss [J]. *Neurology*, 2013, 80(9): 824-8.
- [16] YUAN J H, HIGUCHI Y, NAGADO T, et al. Novel mutation in the replication focus targeting sequence domain of DNMT1 causes hereditary sensory and autonomic neuropathy IE [J]. *J Peripher Nerv Syst*, 2013, 18(1): 89-93.
- [17] MOGHADAM K K, PIZZA F, LA MORGIA C, et al. Narcolepsy is a common phenotype in HSAN IE and ADCA-DN [J]. *Brain*, 2014, 137(Pt 6): 1643-55.
- [18] SUN Z, WU Y, ORDOG T, et al. Aberrant signature methylome by DNMT1 hot spot mutation in hereditary sensory and autonomic neuropathy IE [J]. *Epigenetics*, 2014, 9(8): 1184-93.
- [19] MOGHADAM K K, PIZZA F, TONON C, et al. Polysomnographic and neurometabolic features may mark preclinical autosomal dominant cerebellar ataxia, deafness, and narcolepsy due to a mutation in the DNA (cytosine-5-)methyltransferase gene, DNMT1 [J]. *Sleep Med*, 2014, 15(5): 582-5.

- [20] GONG Y, ZHANG X, ZHANG Q, et al. A natural DNMT1 mutation elevates the fetal hemoglobin level via epigenetic derepression of the γ -globin gene in β -thalassemia [J]. *Blood*, 2021, 137(12): 1652-7.
- [21] SONG J, RECHKOBLIT O, BESTOR T H, et al. Structure of DNMT1-DNA complex reveals a role for autoinhibition in maintenance DNA methylation [J]. *Science*, 2011, 331(6020): 1036-40.
- [22] ROUNTREE M R, BACHMAN K E, BAYLIN S B. DNMT1 binds HDAC2 and a new co-repressor, DMAP1, to form a complex at replication foci [J]. *Nat Genet*, 2000, 25(3): 269-77.
- [23] ZHANG Z M, LIU S, LIN K, et al. Crystal structure of human DNA methyltransferase 1 [J]. *J Mol Biol*, 2015, 427(15): 2520-31.
- [24] JIMENJI T, MATSUMURA R, KORI S, et al. Structure of PCNA in complex with DNMT1 PIP box reveals the basis for the molecular mechanism of the interaction [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 516(2): 578-83.
- [25] REN W, FAN H, GRIMM S A, et al. Direct readout of heterochromatic H3K9me3 regulates DNMT1-mediated maintenance DNA methylation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(31): 18439-47.
- [26] REN W, FAN H, GRIMM S A, et al. DNMT1 reads heterochromatic H4K20me3 to reinforce LINE-1 DNA methylation [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 2490.
- [27] LONG H K, BLACKLEDGE N P, KLOSE R J. ZF-CxxC domain-containing proteins, CpG islands and the chromatin connection [J]. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41(3): 727-40.
- [28] FELLINGER K, ROTHBAUER U, FELLE M, et al. Dimerization of DNA methyltransferase 1 is mediated by its regulatory domain [J]. *J Cell Biochem*, 2009, 106(4): 521-8.
- [29] KIKUCHI A, ONODA H, YAMAGUCHI K, et al. Structural basis for activation of DNMT1 [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 7130.
- [30] BOSTICK M, KIM J K, ESTÈVE P O, et al. UHRF1 plays a role in maintaining DNA methylation in mammalian cells [J]. *Science*, 2007, 317(5845): 1760-4.
- [31] NISHIYAMA A, MULHOLLAND C B, BULTMANN S, et al. Two distinct modes of DNMT1 recruitment ensure stable maintenance DNA methylation [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1222.
- [32] ABHISHEK S, NAKARAKANTI N K, DEEKSHA W, et al. Mechanistic insights into recognition of symmetric methylated cytosines in CpG and non-CpG DNA by UHRF1 SRA [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 170: 514-22.
- [33] LI T, WANG L, DU Y, et al. Structural and mechanistic insights into UHRF1-mediated DNMT1 activation in the maintenance DNA methylation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(6): 3218-31.
- [34] QIN W, WOLF P, LIU N, et al. DNA methylation requires a DNMT1 ubiquitin interacting motif (UIM) and histone ubiquitination [J]. *Cell Res*, 2015, 25(8): 911-29.
- [35] SUN J, LIU F, YUAN L, et al. Mechanism studies of the activation of DNA methyltransferase DNMT1 triggered by histone H3 ubiquitination, revealed by multi-scale molecular dynamics simulations [J]. *Sci China Life Sci*, 2023, 66(2): 313-23.
- [36] MIYASHITA R, NISHIYAMA A, QIN W, et al. The termination of UHRF1-dependent PAF15 ubiquitin signaling is regulated by USP7 and ATAD5 [J]. *eLife*, 2023, 12: e79013.
- [37] YARYCHKIVSKA O, SHAHABUDDIN Z, COMFORT N, et al. BAH domains and a histone-like motif in DNA methyltransferase 1 (DNMT1) regulate *de novo* and maintenance methylation *in vivo* [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(50): 19466-75.
- [38] LI Y, ZHANG Z, CHEN J, et al. Stella safeguards the oocyte methylome by preventing *de novo* methylation mediated by DNMT1 [J]. *Nature*, 2018, 564(7734): 136-40.
- [39] HAGGERTY C, KRETZMER H, RIEMENSCHNEIDER C, et al. Dnmt1 has *de novo* activity targeted to transposable elements [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2021, 28(7): 594-603.
- [40] GUO G, WANG W, BRADLEY A. Mismatch repair genes identified using genetic screens in Blm-deficient embryonic stem cells [J]. *Nature*, 2004, 429(6994): 891-5.
- [41] MORTUSEWICZ O, SCHERMELLEH L, WALTER J, et al. Recruitment of DNA methyltransferase I to DNA repair sites [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(25): 8905-9.
- [42] HA K, LEE G E, PALII S S, et al. Rapid and transient recruitment of DNMT1 to DNA double-strand breaks is mediated by its interaction with multiple components of the DNA damage response machinery [J]. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(1): 126-40.
- [43] DING N, BONHAM E M, HANNON B E, et al. Mismatch repair proteins recruit DNA methyltransferase 1 to sites of oxidative DNA damage [J]. *J Mol Cell Biol*, 2016, 8(3): 244-54.
- [44] DU Z, SONG J, WANG Y, et al. DNMT1 stability is regulated by proteins coordinating deubiquitination and acetylation-driven ubiquitination [J]. *Sci Signal*, 2010, 3(146): ra80.
- [45] YAMAGUCHI L, NISHIYAMA A, MISAKI T, et al. Usp7-dependent histone H3 deubiquitylation regulates maintenance of DNA methylation [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 55.
- [46] ZHOU Q, AGOSTON A T, ATADJA P, et al. Inhibition of histone deacetylases promotes ubiquitin-dependent proteasomal degradation of DNA methyltransferase 1 in human breast cancer cells [J]. *Mol Cancer Res*, 2008, 6(5): 873-83.
- [47] AGOSTON A T, ARGANI P, YEGNASUBRAMANIAN S, et al. Increased protein stability causes DNA methyltransferase 1 dysregulation in breast cancer [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(18): 18302-10.
- [48] CHENG J, YANG H, FANG J, et al. Molecular mechanism for USP7-mediated DNMT1 stabilization by acetylation [J]. *Nat Commun*, 2015, 6(1): 7023.
- [49] MISHIMA Y, BRUECKNER L, TAKAHASHI S, et al. Enhanced processivity of Dnmt1 by monoubiquitinated histone H3 [J]. *Genes Cells*, 2020, 25(1): 22-32.
- [50] WONG C M, WONG C C, NG Y L, et al. Transcriptional repressive H3K9 and H3K27 methylations contribute to DNMT1-mediated DNA methylation recovery [J]. *PLoS One*, 2011, 6(2): e16702.
- [51] JANSSON-FRITZBERG L I, SOUSA C I, SMALLEGAN M J, et al. DNMT1 inhibition by pUG-fold quadruplex RNA [J]. *RNA*, 2023, 29(3): 346-60.
- [52] ESPOSITO C L, AUTIERO I, SANDOMENICO A, et al. Targeted systematic evolution of an RNA platform neutralizing DNMT1 function and controlling DNA methylation [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 99.
- [53] WANG Q, LI G, MA X, et al. LncRNA TINCR impairs the efficacy of immunotherapy against breast cancer by recruiting DNMT1 and downregulating miR-199a-5p via the STAT1-

- TINCR-USP20-PD-L1 axis [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(2): 76.
- [54] DI RUSCIO A, EBRALIDZE A K, BENOUKRAF T, et al. DNMT1-interacting RNAs block gene-specific DNA methylation [J]. *Nature*, 2013, 503(7476): 371-6.
- [55] SONG H, CHEN L, LIU W, et al. Depleting long noncoding RNA HOTAIR attenuates chronic myelocytic leukemia progression by binding to DNA methyltransferase 1 and inhibiting PTEN gene promoter methylation [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(5): 440.
- [56] JONES R, WIJESINGHE S, WILSON C, et al. A long intergenic non-coding RNA regulates nuclear localization of DNA methyltransferase-1 [J]. *iScience*, 2021, 24(4): 102273.
- [57] INANO K, SUETAKE I, UEDA T, et al. Maintenance-type DNA methyltransferase is highly expressed in post-mitotic neurons and localized in the cytoplasmic compartment [J]. *J Biochem*, 2000, 128(2): 315-21.
- [58] PENSOLD D, SYMMANK J, HAHN A, et al. The DNA methyltransferase 1 (DNMT1) controls the shape and dynamics of migrating POA-derived interneurons fated for the murine cerebral cortex [J]. *Cereb Cortex*, 2017, 27(12): 5696-714.
- [59] PEDROSO J L, POVOAS BARSOTTINI O G, LIN L, et al. A novel *de novo* exon 21 DNMT1 mutation causes cerebellar ataxia, deafness, and narcolepsy in a Brazilian patient [J]. *Sleep*, 2013, 36(8): 1257-9,9A.
- [60] AMBERGER J S, BOCCHINI C A, SCHIETTECATTE F, et al. OMIM.org: Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM®), an online catalog of human genes and genetic disorders [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(Database issue): D789-98.
- [61] KLEIN C J, BOTUYAN M V, WU Y, et al. Mutations in DNMT1 cause hereditary sensory neuropathy with dementia and hearing loss [J]. *Nat Genet*, 2011, 43(6): 595-600.
- [62] MARESCA A, DEL DOTTO V, CAPRISTO M, et al. DNMT1 mutations leading to neurodegeneration paradoxically reflect on mitochondrial metabolism [J]. *Hum Mol Genet*, 2020, 29(11): 1864-81.
- [63] BI H, HOJO K, WATANABE M, et al. Expanded genetic insight and clinical experience of DNMT1-complex disorder [J]. *Neurol Genet*, 2020, 6(4): e456.
- [64] WINKELMANN J, LIN L, SCHORMAIR B, et al. Mutations in DNMT1 cause autosomal dominant cerebellar ataxia, deafness and narcolepsy [J]. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(10): 2205-10.
- [65] ZHENG W, YAN Z, HE R, et al. Identification of a novel DNMT1 mutation in a Chinese patient with hereditary sensory and autonomic neuropathy type IE [J]. *BMC Neurol*, 2018, 18(1): 174.
- [66] VOLMER-THOLE M, LOBMANN R. Neuropathy and diabetic foot syndrome [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(6): 917.
- [67] COELHO P, OLIVEIRA SANTOS M. First portuguese patient presenting with hereditary sensory and autonomic neuropathy type 1E associated with a novel mutation in DNMT1 gene [J]. *Neurol Sci*, 2020, 41(5): 1289-90.
- [68] PARISSIS D, CHRISTODOULOU K, KLEOPA K A. Novel *de novo* DNMT1 gene mutation associated with hereditary sensory and autonomic neuropathy 1E (HSAN1E) [J]. *Neurol Sci*, 2023, 44(6): 2199-201.
- [69] WANG W, ZHAO X, SHAO Y, et al. Mutation-induced DNMT1 cleavage drives neurodegenerative disease [J]. *Sci Adv*, 2021, 7(36): eabe8511.
- [70] SMETS M, LINK S, WOLF P, et al. DNMT1 mutations found in HSAN1E patients affect interaction with UHRF1 and neuronal differentiation [J]. *Hum Mol Genet*, 2017, 26(8): 1522-34.
- [71] DOLEN E K, MCGINNIS J H, TAVORY R N, et al. Disease-associated mutations G589A and V590F relieve replication focus targeting sequence-mediated autoinhibition of DNA methyltransferase 1 [J]. *Biochemistry*, 2019, 58(51): 5151-9.
- [72] SHOCK L S, THAKKAR P V, PETERSON E J, et al. DNA methyltransferase 1, cytosine methylation, and cytosine hydroxymethylation in mammalian mitochondria [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(9): 3630-5.
- [73] SAINI S K, MANGALHARA K C, PRAKASAM G, et al. DNA methyltransferase 1 (DNMT1) isoform3 methylates mitochondrial genome and modulates its biology [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1525.
- [74] HAN S, ZHANG M, JEONG Y Y, et al. The role of mitophagy in the regulation of mitochondrial energetic status in neurons [J]. *Autophagy*, 2021, 17(12): 4182-201.
- [75] CHOUDHURY S, MOHAN K N. Generation of a transgenic mouse embryonic stem cell line expressing Dnmt1 mutation associated with HSAN1E disorder [J]. *Stem Cell Res*, 2021, 56: 102561.