



电子、语音版

·论著·

mRNA N6-甲基腺苷甲基化在帕金森病患者血液中的变化

李冉¹, 吕占云², 邢春叶³, 郝延磊³

1. 山东大学基础医学院, 山东 济南 250100

2. 浙江大学医学院, 浙江 杭州 310058

3. 济宁医学院附属医院神经内科, 山东 济宁 272000

摘要:目的 探究帕金森病(PD)患者血液中mRNA N6-甲基腺苷(m6A)甲基化水平以及相关的甲基转移酶[甲基转移酶样蛋白14(METTL14)]和去甲基化酶[脂肪与肥胖相关基因蛋白(FTO)、AlkB同源蛋白5(ALKBH5)]的变化情况。方法 连续性收集2020年1月至2021年6月在该院神经内科门诊及住院就诊的PD患者(PD组, 50例)以及健康对照人群(对照组, 50例)。通过酶联免疫吸附测定(ELISA)、蛋白质印迹(WB)、实时定量PCR(QPCR)、m6A甲基化定量等实验, 检测两组血浆及外周单个核细胞(PBMC)的METTL14、FTO、ALKBH5及m6A水平。结果 与对照组比较, 血浆中PD组的METTL14、FTO、ALKBH5蛋白水平较低, 差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组比较, 外周单个核细胞(PBMC)中PD组的METTL14、FTO、ALKBH5蛋白条带灰度值较低, 差异有统计学意义($P<0.05$); 与对照组比较, PBMC的mRNA中PD组的METTL14、FTO、ALKBH5表达水平较低, 差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组比较, PBMC的mRNA中PD组的m6A水平较低, 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 在PD患者血浆和PBMC中METTL14、FTO、ALKBH5和m6A甲基化水平均有不同程度的下降, 表明mRNA m6A甲基化与PD的发生发展存在一定的联系。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2022, 49(3): 46-50.]

关键词: 帕金森病; mRNA; N6-甲基腺苷甲基化; 甲基转移酶14; 脂肪与肥胖相关基因蛋白; AlkB同源蛋白5

中图分类号: R742.5

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2022.03.009

mRNA N6-methyladenosine changes in the blood of patients with Parkinson's disease

LI Ran¹, LV Zhan-Yun², XING Chun-Ye³, HAO Yan-Lei³

1. School of Basic Medical Science, Shandong University, Jinan, Shandong 250100, China

2. Zhejiang University Medical Center, Hangzhou, Zhejiang 310058, China

3. Department of Neurology, Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining, Shandong 272000, China

Corresponding author: HAO Yan-Lei, Email: yanleihao301@live.com

Abstract: **Objective** To explore the changes in the levels of mRNA N6-methyladenosine (m6A) and the related methyltransferase (methyltransferase-like protein 14 [METTL14]) and demethylases (fat mass and obesity-associated protein [FTO] and AlkB homolog 5 [ALKBH5]) in the blood of patients with Parkinson's disease (PD) compared with healthy controls. **Methods** We consecutively enrolled 50 patients with PD at the inpatient and outpatient departments of neurology of the Affiliated Hospital of Jinan Medical University from January 2020 to June 2021, with 50 healthy participants as the control. The PD group and control group were compared with regard to the levels of METTL14, FTO, ALKBH5, and m6A in plasma and peripheral blood mononucleated cells (PBMC) by enzyme-linked immunosorbent assay, Western blotting, quantitative real-time PCR, and m6A methylation quantification assay. **Results** Compared with the control group, the PD group showed significantly lower levels of METTL14, FTO, and ALKBH5 proteins in plasma and significantly lower gray

基金项目: 国家自然科学基金项目(81771360); 山东省高等学校科技计划项目(J18KA300)。

收稿日期: 2021-12-01; 修回日期: 2022-05-04

作者简介: 李冉, 博士研究生, 主要研究方向: 阿尔茨海默病、帕金森病、神经肌肉疾病等。

通信作者: 郝延磊, 博士, 主任医师, 教授, 主要研究方向: 神经退行性疾病、周围神经病、神经肌肉疾病等。Email: yanleihao301@live.com。

values of METTL14, FTO, and ALKBH5 protein bands in PBMC (all $P<0.05$). The expression levels of METTL14, FTO, and ALKBH5 in PBMC mRNA were significantly lower in the PD group than in the control group (all $P<0.05$). The PD group had a significantly lower m6A level in PBMC mRNA than the control group ($P<0.05$). **Conclusions** Patients with PD have varying degrees of declines in METTL14, FTO, ALKBH5, and m6A levels in plasma and PBMC, suggesting a certain link between m6A and the development and progression of PD.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2022, 49(3): 46–50.]

Keywords: Parkinson's disease; mRNA; N6-methyladenosine; methyltransferase-like 14 protein; fat mass and obesity-associated protein; AlkB homolog 5

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是仅次于阿尔茨海默病的第二常见神经退行性疾病,平均发病年龄为60岁左右,大多为散发病例。其病理改变主要是中脑黑质致密部(substantia nigra compacta, SNpc)多巴胺(dopamine, DA)能神经元的变性死亡,进而引起纹状体DA含量显著减少,以及黑质残存神经元胞质内 α -突触核蛋白异常聚集,形成嗜酸性包涵体,即路易小体。导致这些病理改变的原因尚不明确,衰老、氧化应激、遗传和环境等因素均可能参与PD的DA能神经元变性死亡过程;此外,严重脑外伤、吸烟等因素亦可增加罹患PD的风险^[1-5]。

之前研究表明,DNA甲基化和组蛋白乙酰化修饰与PD的发病机制密切相关,PD患者组蛋白H3或H4乙酰化失调会导致细胞凋亡,损害神经元功能;而DNA甲基化的减少则导致 α -突触核蛋白表达增加,过量的 α -突触核蛋白可直接与组蛋白H3结合,抑制其乙酰化,导致染色质凝聚、基因表达异常,最终导致细胞死亡,进而使PD病情恶化^[6-8]。最近研究强调了N6-甲基腺苷(N6-methyladenosine, m6A)甲基化修饰在神经系统中的生物学意义,m6A是真核生物mRNA中最丰富的化学修饰,在大脑中高度富集,参与调控神经系统的生长发育及相关功能;在甲基转移酶3/14(methyltransferase-like 3/14, METTL3/14)、Wilms肿瘤1结合蛋白等甲基转移酶,脂肪与肥胖相关基因蛋白(fat mass and obesity-associated, FTO)、AlkB同源蛋白5(AlkB homologue 5, ALKBH5)等去甲基化酶介导参与下,m6A甲基化的过程动态可逆,其失调与神经发育异常和神经系统相关疾病如PD等退行性疾病有关^[9-11]。

目前关于m6A甲基化与PD之间的研究尚且较少,Chen等^[8]通过PD大鼠模型发现,纹状体中m6A甲基化水平明显降低,而全脑组织或单纯大脑皮质、海马、中脑则无显著变化;纹状体中ALKBH5表达明显增高、FTO却无显著变化;中脑中FTO表达明显增高、ALKBH5却无显著变化。另有研究在PD细胞模型中发现,m6A甲基化水平降低、FTO表达明显增高、ALKBH5却无显著变化^[9]。此外,有研究发现METTL14对维持纹状体的正常功能至关重要,若敲除METTL14基因在不改变星形胶质细胞数量

和形态的情况下可降低纹状体m6A甲基化水平,增加纹状体神经元的兴奋性,减少纹状体神经环路对脉冲频率的适应,损害纹状体的功能,导致肌张力升高和不由自主运动的发生,可出现运动迟缓、震颤、手足徐动和舞蹈症等PD临床症状^[9,12]。所以,本研究将着重探究FTO、ALKBH5、METTL14和m6A甲基化水平,且从血液层面对PD患者和对照组人群进行研究对比分析。

1 对象与方法

1.1 研究对象

连续性收集2020年1月至2021年6月在济宁医学院附属医院神经内科门诊及住院就诊的PD患者以及健康对照人群,每组共50例,且均取得知情同意并签署知情同意书。

PD组纳入标准:①根据中国帕金森病的诊断标准(2016版)明确诊断为PD^[5];②年龄50~80岁;③无合并肿瘤、心肌梗死、肝肾功能不全等其他严重疾病。

对照组纳入标准:①年龄50~80岁;②无PD史及家族史;③无活动性神经或精神疾病病史;④无肿瘤、心肌梗死、肝肾功能不全等其他严重疾病。

两组排除标准:①无法明确诊断PD的疑似者;②正在参加其他临床试验者;③依从性差、家属拒绝参与等。

PD的临床诊断由具有丰富诊断经验的临床医生进行,该研究由济宁医学院附属医院医学实验伦理委员会审查并批准(伦理批号:2021-12-C012)。

PD组和对照组在性别、年龄、PD病程年限等方面差异无统计学意义($P<0.05$),两组具有可比性。

1.2 研究方法

1.2.1 样本处理 采集入组患者的血样,2 500 r/min、离心20 min,吸取上层血浆至1.5 mL离心管中,封口膜封存于-80℃。向剩余血样中加入等体积1×PBS,充分混匀;向新的1.5 mL离心管中加入与1×PBS混匀后的血样等体积的人全血单个核细胞分离液(天津市灏洋生物制品科技有限责任公司,LDS1075),倾斜离心管,将与1×PBS混匀后的血样缓慢平稳加至分离液层上,注意不要掺入到分离液层中,550 r/min、离心30 min。收集分层界面上的外周单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell,

PBMC)环状层移至新的1.5 mL离心管中;4℃、12 000 r/min、离心15 min,弃上清;加1×PBS洗涤1遍,4℃、12 000 r/min、离心5 min,弃上清,封口膜封存于-80℃。

1.2.2 蛋白和RNA的提取 使用预冷的1×PBS洗涤PBMC 2次,4℃、3 000 r/min、离心5 min后收集细胞沉淀,按照每(1×10⁶)个细胞加入含有蛋白酶抑制剂(Servicebio, G2008)和磷酸酶抑制剂(Servicebio, G2007)的RIPA裂解液(Solarbio, R0010)200 μL,反复吹打,置于冰上充分裂解;4℃、12 000 r/min、离心10 min,吸取上清。测量蛋白浓度后进行蛋白变性,向样本蛋白溶液中按4:1的比例加入5×蛋白上样缓冲液(Servicebio, G2013),干浴锅100℃变性10 min,冷却后置于-20℃保存备用。

取细胞沉淀(1×10⁶)个/样本置于1.5 mL离心管中,加入1 mL Trizol(Ambion, 15596026),反复吹打,置于冰上充分裂解;4℃、12 000 r/min、离心10 min,吸取上清于新的1.5 mL离心管中,加入200 μL氯仿(国药集团化学试剂有限公司, 10006818),充分混匀,室温静置3 min;4℃、12 000 r/min、离心10 min,吸取上清于新的1.5 mL离心管中,加入与上清等体积的异丙醇(国药集团化学试剂有限公司, 80109218),充分混匀,室温静置15 min;4℃、12 000 r/min、离心15 min,弃上清;加入1 mL的75%乙醇,漂洗沉淀,4℃、7 500 r/min、离心5 min,弃上清;重复上步再次漂洗沉淀1遍后,室温干燥10 min,加入40 μL无菌无酶水(Solarbio, R1600)溶解RNA。检测RNA纯度和浓度,OD260/OD280比值为1.8~2.0之间,将浓度过高的RNA样本进行适当稀释,使其最终浓度为100~500 ng/μL,置于-80℃保存备用。

1.2.3 血浆中METTL14、FTO和ALKBH5的蛋白水平测定 采用酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)进行测定。血浆样本应在6个月内完成检测,使用人甲基化转移酶14(METTL14)酶联免疫分析试剂盒(酶免, MM-0395H2)、人肥素(FTO)酶联免疫分析试剂盒(酶免, MM-2545E1)、人去甲基化酶Alk B同源蛋白5(ALKBH5)酶联免疫分析试剂盒(酶免, MM-51110H2)进行检测。在450 nm波长下测定吸光度(OD值),通过标准曲线计算人血浆样本中METTL14、FTO和ALKBH5的含量。

1.2.4 PBMC中METTL14、FTO和ALKBH5的蛋白水平测定 采用蛋白质印迹(Western blotting, WB)进行测定。根据目的蛋白分子量,配置10%下层分离胶和5%上层浓缩胶,每孔蛋白上样量为40 μg;电泳设置浓缩胶(80 V, 40 min)、分离胶(120 V, 60 min),电泳至溴酚蓝刚跑出即可终止。转膜选用湿转,设置恒流转膜(220 mA, 70 min);转膜前用甲醇浸泡活化PVDF膜5 min、再用冰冷的转膜缓冲液浸泡2 min,三明治法排列(3层滤纸/胶/PVDF膜/3层滤纸),注意避免气泡。将转好的膜于摇床上用

5%脱脂牛奶(TBST配)室温封闭1.5 h;使用TBST稀释一抗[以β-Actin(43 kDa, Abclonal, AC026)1:50 000为内参, METTL14(68 kDa, Abclonal, A8530)1:500、FTO(58 kDa, Abcam, ab124892)1:1 000、ALKBH5(44 kDa, Abcam, ab195377)1:1 000],4℃孵育过夜;用TBST于室温摇床上洗涤3次,每次10 min;用TBST稀释HRP标记的二抗[Goat Anti-Rabbit IgG H&L (Abcam, ab6721)1:5 000],室温孵育1 h;用TBST于室温摇床上洗涤3次,每次10 min。取ECL发光液(Millipore, WBKLS0500)A和B等量混匀,滴加于膜上完全覆盖,置于全自动化学发光分析仪(上海天能, Tanon-5200)中检测。使用Image J软件分析不同蛋白条带的灰度值,计算各自的蛋白表达水平。

1.2.5 PBMC中METTL14、FTO、ALKBH5的mRNA表达水平测定 采用实时定量PCR(quantitative real-time PCR, qPCR)进行测定。

设计合成引物序列为(5'-3'): [METTL14-F(TG-GACCTTGGAAGAGTGTGTT), METTL14-R(GAAGTCCCC-GTCTGTGCTAC), 扩增片段长度(191 bp)]; [FTO-F(TGAATTCTATCAGCAGTGGCAGC), FTO-R(TGGATCCTA-ACCAGGTCCCG), 扩增片段长度(150 bp)]; [ALKBH5-F(CGGCTGCAAGTTCCAGTTCA), ALKBH5-R(CAGCAG-CATATCCACTGAGCAC), 扩增片段长度(101 bp)]。

反转录按照以下体系加入: Total RNA 500 ng, 5×PrimeScript II Buffer 4 μL, 10 mmol/L dNTP Mix(Solarbio, PC2200) 2 μL, Oligo DT18 primer(Takara, 3806) 1 μL, Recombinant RNase Inhibitor(40 u/μL)(Takara, 2313A) 1 μL, PrimeScript II RTase(200 u/μL)(Takara, 2690A) 1 μL, 添加无菌无酶水(Solarbio, R1600)至总体积为20 μL。使用PCR仪(杭州柏恒, GE48527),设置反应程序(42℃, 60 min)、(70℃, 15 min)。反转录产物置于4℃保存备用。

将制备好的cDNA进行PCR扩增,按照以下体系加入: SYBR FAST qPCR Master Mix(Kapa biosystems, KM4101) 10 μL, 正向引物F和反向引物R(10 μmol/L)各0.5 μL, cDNA模板1 μL, 无菌无酶水(Solarbio, R1600) 8 μL。使用荧光定量PCR仪(Bio-Rad, CFX-Connect96),设置反应程序(95℃, 3 min), [(95℃, 5 s)、(56℃, 10 s)、(72℃, 25 s)×40, 65℃→95℃, 每升温0.5℃, 采集一次荧光信号。以β-actin作为内参,得到实验结果Ct值计算成2^{-ΔΔCt}值进行统计分析。

1.2.6 m6A甲基化定量 使用m6A RNA甲基化定量试剂盒(Abcam, ab185912)测量PBMC mRNA m6A甲基化水平。每种试剂置于冰上(稀释的洗涤液除外),任何剩余试剂如果不在同一天内使用则应丢弃(稀释的洗涤液除外)。确保RNA质量良好,每个样本PBMC mRNA上样200 ng,在450 nm波长下测量OD值,绘制标准曲线(R²>

0.9,即正常拟合),至少包括4个浓度点,使用线性回归确定斜率为OD/ng,然后计算每个样本PBMC mRNA m6A甲基化水平,公式: $m6A = (\text{样本 OD} - \text{阴性对照 OD}) / \text{斜率}$; $m6A\% = m6A / \text{所加样本 RNA 的量} \times 100\%$ 。

1.3 统计学方法

所有实验数据均采用IBM SPSS Statistics 23软件统计分析,采用GraphPad Prism 8软件绘制统计图。定量资料服从正态分布的以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间的比较采用独立样本 t 检验。统计检验均为双侧检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组间血浆和PBMC中METTL14、FTO和ALKBH5蛋白水平比较

与对照组比较,PD组的血浆中METTL14、FTO和ALKBH5蛋白水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

与对照组比较,PD组的PBMC中METTL14、FTO和ALKBH5蛋白水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2、图1。

表1 两组间血浆中METTL14、FTO和ALKBH5蛋白水平比较

组别	METTL14/(ng/mL)	FTO/(pg/mL)	ALKBH5/(ng/mL)
PD组	12.99 \pm 2.47	61.34 \pm 5.33	13.42 \pm 2.29
对照组	15.64 \pm 1.51	69.69 \pm 3.23	16.04 \pm 1.61
t 值	5.023	7.341	5.132
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

表2 两组间PBMC中METTL14、FTO和ALKBH5蛋白水平比较

组别	METTL14/(ng/mL)	FTO/(pg/mL)	ALKBH5/(ng/mL)
PD组	0.28 \pm 0.04	0.34 \pm 0.01	1.08 \pm 0.17
对照组	0.54 \pm 0.04	0.63 \pm 0.03	2.18 \pm 0.22
t 值	8.135	15.22	6.887
P 值	0.001	0.004	0.002

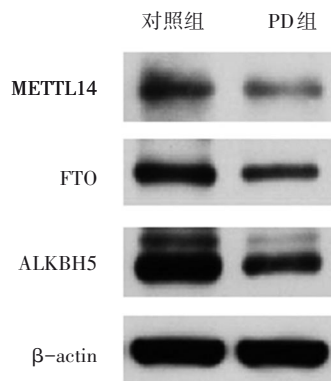


图1 PBMC中METTL14、FTO和ALKBH5蛋白水平WB条带

2.2 两组间PBMC mRNA中METTL14、FTO和ALKBH5表达水平比较

与对照组比较,PD组的PBMC mRNA中METTL14、FTO和ALKBH5的表达水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组间PBMC的mRNA中METTL14、FTO和ALKBH5表达水平比较

组别	METTL14	FTO	ALKBH5
PD组	0.48 \pm 0.031	0.67 \pm 0.07	0.42 \pm 0.03
对照组	1.00 \pm 0.084	1.00 \pm 0.09	1.00 \pm 0.09
t 值	10.070	5.025	10.200
P 值	0.001	0.007	0.001

2.3 两组间PBMC的mRNA中的m6A水平比较

PBMC的mRNA中的m6A定量,PD组(0.000 687 0 \pm 0.000 302 3)%与对照组[(0.000 912 1 \pm 0.000 296 3)%]比较水平降低,差异有统计学意义($t=2.913$, $P=0.005$)。

3 讨论

PD起病隐袭、进展缓慢,首发症状通常是一侧肢体的震颤或活动笨拙,进而累及对侧肢体;临床主要表现为静止性震颤、运动迟缓、肌强直和姿势步态障碍;同时患者可伴有便秘、情绪低落、焦虑抑郁、睡眠障碍和认知障碍等非运动症状。左旋多巴等药物是目前治疗PD的主要手段,但也只能改善患者症状提高生活质量,无法阻止病情进展和根治疾病^[1-5]。

D2样受体包括2型(D2R)、3型(D3R)和4型(D4R),是DA能中脑回路中调节学习和奖赏行为的关键信号通路分子。Hess等^[13]在FTO基因敲除小鼠的中脑和纹状体中发现,m6A甲基化水平增加,虽然D2R和D3R的表达不变,但损害了D2R和D3R对神经元活动和行为反应的依赖性控制,同时也表现出G蛋白偶联的内向感应钾(GIRK)通道传导的激活减弱;DA神经元在缺乏FTO的情况下,会损害这些细胞中D2R-D3R-GIRK介导的DA抑制效应,影响突触前和突触后的DA信号转导,导致基础活动增多,并增强对运动和奖赏刺激作用的敏感性。Qiu等^[14]通过基因检测,确定了ALKBH5也是一个与PD基因表达改变相关的风险因素;同时,ALKBH5还在嗅球和黑质神经元中有相对较高的表达,这在PD的发展中起着重要作用;若敲除ALKBH5基因可增加m6A甲基化水平,并加速mRNA从细胞核向细胞质的输出。有研究证明了METTL14对维持纹状体的正常功能至关重要;若敲除METTL14基因可降低纹状体m6A甲基化水平,而星形胶质细胞的数量和形态并未改变,但却损害了纹状体的功能:包括显著降低了电流阈值、增加了纹状体神经元的兴奋性,减少了纹状体神经环路对脉冲频率的适应,改变了固有的神经元放电、从而产生单一的或一系列动作电位

等;这严重影响了纹状体介导的行为,导致肌张力升高和自主运动的发生,临床可出现运动迟缓、震颤、手足徐动和舞蹈症等PD症状^[9,12]。Koranda等^[12]的研究发现,纹状体 METTL14 的缺失也增加了对多巴胺能药物的敏感性;编码纹状体识别基因,如 TAC1、PDYN、PENK、DRD2 等,也因纹状体 METTL14 的缺失而下调。此外,D1 神经元中的 Mettl14 缺失导致的表型比 A2A 神经元中的 METTL14 缺失导致的表型更为严重,这是因为虽然 D1R 主要在纹状体皮质神经元中表达,但也在一些皮质神经元中表达,而 A2AR 的表达更局限于纹状体皮质神经元。

有研究在 PD 大鼠模型的中脑中发现,FTO 表达明显增高、ALKBH5 无显著变化,而在纹状体中发现 ALKBH5 表达明显增高、FTO 无显著变化,且 m6A 甲基化水平明显降低;同时,在经 6-OHDA 处理的 PC12 细胞这一 PD 细胞模型中发现,m6A 甲基化水平降低、FTO 表达明显增高、ALKBH5 无显著变化;并且通过使用 m6A 抑制剂(如环亮氨酸)处理细胞发现,其 m6A 甲基化水平明显下降并发生与 FTO 过表达引起 DA 能神经元细胞凋亡一样的过程。以上的机制是 SNpc 处的 FTO 表达在 mRNA 和蛋白水平均增加,通过 DA 能神经元轴突传递到纹状体神经元,诱导 m6A 甲基化水平减少,提高了 DA 信号通路相关基因 GRIN1 等的表达,该基因能够表达离子型谷氨酸受体 1(NMDAR1),致使神经元细胞 Ca^{2+} 大量内流,引起细胞内 Ca^{2+} 水平超载,触发一系列 Ca^{2+} 相关的级联反应,包括:①氧化应激水平升高,细胞内超氧化物歧化酶(SOD)活性下降,清除氧自由基的能力降低;②细胞内钙离子浓度升高,线粒体膜电位降低、线粒体呼吸链复合物 II(琥珀酸脱氢酶)活性降低,导致线粒体功能受损,增加琥珀酸脱氢酶中活性氧的产生,以及活性脂质、蛋白质和 DNA 的氧化。综上最终导致 DA 能神经元变性或凋亡、纹状体多巴胺减少。此外,若敲除 FTO 基因则可增加 m6A 甲基化水平,进而抑制 Grin1 的表达导致 NMDAR1 减少,减少谷氨酸与受体结合,起到抗凋亡的保护作用,从而降低神经毒性;这再次证明了 FTO 介导的 mRNA m6A 甲基化修饰可能在 PD 的发病机制中发挥重要作用,参与 DA 能神经元的死亡并使病情恶化^[8,9]。

本研究结果表明相,较于正常对照,PD 患者的 METTL14、FTO 和 ALKBH5 在血浆蛋白水平、PBMC 蛋白水平和 PBMC 的 mRNA 表达水平中均有不同程度的降低;且 PBMC 的 mRNA 中 m6A 甲基化水平亦降低。结合以往研究,进一步验证了在 METTL14、FTO 和 ALKBH5 介导下的 m6A 甲基化与 PD 的发生发展存在紧密联系。但本研究的结果中 FTO 和 ALKBH5 水平均有不同程度的降低,与前人的研究并不相符,我们推测造成这一结果的原因如下:①可能是 METTL14 水平减少所引起的后期事件;②存在其他相关酶与蛋白的变化共同影响导致;③人源与鼠源的种

属差异缘故,亦或是脑组织与血液组织的样本不同缘故等。

总而言之,需要进一步探究的方面还有很多,如 PD 患者病情的严重程度与 m6A 甲基化水平的关系、m6A 甲基化及相关酶与蛋白在 PD 患者脑组织与血液组织二者之间的关联、以及是否存在其他相关酶与蛋白发挥作用等,这些问题都有待于我们进行探索 and 解决。

参 考 文 献

- [1] REICH SG, SAVITT JM. Parkinson's disease[J]. Med Clin North Am, 2019, 103(2): 337-350.
- [2] HAYES MT. Parkinson's disease and parkinsonism[J]. Am J Med, 2019, 132(7): 802-807.
- [3] DORSEY ER, BLOEM BR. The Parkinson pandemic - a call to action[J]. JAMA Neurol, 2018, 75(1): 9-10.
- [4] ASCHERIO A, SCHWARZSCHILD MA. The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention[J]. Lancet Neurol, 2016, 15(12): 1257-1272.
- [5] 中华医学会神经病学分会帕金森病及运动障碍学组,中国医师协会神经内科医师分会帕金森病及运动障碍专业. 中国帕金森病的诊断标准(2016版)[J]. 中华神经科杂志, 2016, 49(4): 268-271.
- [6] SONG C, KANTHASAMY A, JIN H, et al. Paraquat induces epigenetic changes by promoting histone acetylation in cell culture models of dopaminergic degeneration[J]. Neurotoxicology, 2011, 32(5): 586-595.
- [7] TAN YY, WU L, ZHAO ZB, et al. Methylation of α -synuclein and leucine-rich repeat kinase 2 in leukocyte DNA of Parkinson's disease patients[J]. Parkinsonism Relat Disord, 2014, 20(3): 308-313.
- [8] CHEN XC, YU CY, GUO MJ, et al. Down-regulation of m6A mRNA methylation is involved in dopaminergic neuronal death [J]. ACS Chem Neurosci, 2019, 10(5): 2355-2363.
- [9] 李冉,郝延磊. mRNA N6-甲基腺苷甲基化在神经系统作用的研究进展[J]. 中华神经科杂志, 2020, 53(10): 819-823.
- [10] 李冉,郝延磊. mRNA 甲基化与疾病的研究进展[J]. 基础医学与临床, 2021, 41(11): 1671-1679.
- [11] ZACCARA S, RIES RJ, JAFFREY SR. Reading, writing and erasing mRNA methylation[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(10): 608-624.
- [12] KORANDA JL, DORE L, SHI HL, et al. Mettl14 is essential for epitranscriptomic regulation of striatal function and learning[J]. Neuron, 2018, 99(2): 283-292.e5.
- [13] HESS ME, HESS S, MEYER KD, et al. The fat mass and obesity associated gene (Fto) regulates activity of the dopaminergic mid-brain circuitry[J]. Nat Neurosci, 2013, 16(8): 1042-1048.
- [14] QIU XH, HE HH, HUANG YN, et al. Genome-wide identification of m⁶A-associated single-nucleotide polymorphisms in Parkinson's disease[J]. Neurosci Lett, 2020, 737: 135315.

责任编辑:龚学民