

mRNA 转录后调控异常在阿尔茨海默病发病机制中的研究进展

孙静瑶, 佟伟民, 牛亚梅*

(中国医学科学院基础医学研究所 北京协和医学院基础学院 病理学系, 北京 100005)

摘要: mRNA 在转录合成之后, 会经历剪接、出核、翻译或降解等转录后调控模式, 这是确保蛋白质合成与功能发挥的重要前提, 而脑内 mRNA 转录后调控异常是导致阿尔茨海默病 (AD) 发生的原因之一。本文介绍了 AD 发病过程中 *APP*、*MAPT* 等致病基因的转录后调控异常事件; 同时基于表观转录修饰 RNA N⁶-甲基腺嘌呤甲基化 (m⁶A) 对 RNA 代谢的调节作用, 以及其上游调控因子在 AD 中的异常表现, 提出 m⁶A 介导的转录后调控异常可能是引起 AD 发病的重要机制之一。

关键词: 阿尔茨海默病; mRNA; 转录后调控; RNA m⁶A 甲基化

中图分类号: R741.02 文献标志码: A

Research progress on post-transcriptional dysregulation of mRNA in pathogenesis of Alzheimer's disease

SUN Jing-yao, TONG Wei-min, NIU Ya-mei*

(Department of Pathology, Institute of Basic Medical Sciences CAMS, School of Basic Medicine PUMC, Beijing 100005, China)

Abstract: Post-transcriptional regulation of mRNA is an essential step from RNA transcription to gene translation, the process includes mRNA splicing, nuclear export, translation, and decay. Post-transcriptional dysregulation in the brain is one of the causal factors of Alzheimer's disease. This review summarizes the dysfunctional post-transcriptional regulation of *APP*, *MAPT* and many other risk genes of AD identified so far. Meanwhile, RNA N⁶-methyladenosine methylation is the most abundant epitranscriptomic mark on mRNA and regulate almost every step in mRNA metabolism. Due to the abnormal expression of m⁶A regulators and participation in alternative splicing of risk genes in AD, the hypothesis proposes that post-transcriptional dys-regulation mediated by m⁶A may function as a novel pathogenic factor of AD.

Key words: Alzheimer's disease; mRNA; post-transcriptional regulation; RNA m⁶A methylation

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是各种痴呆中最常见的一种病症, 临床上主要表现为记忆、认知功能障碍以及其他行为和精神症状, 给家庭和公共卫生带来沉重的经济负担^[1]。因此, 亟需阐明 AD 的发病机制, 并进而研发有效的诊治手段。

迄今为止, 多项 DNA 层面上的研究已在编码淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP)、早老素 1 (presenilin 1, PSEN1) 和早老素 2 (presenilin 2, PSEN2) 的基因中鉴定出与早发型 AD 发生有关的基因突变, 同时也鉴定出多个与晚发型 AD 发病

收稿日期: 2020-05-09 修回日期: 2020-08-24

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2016I2M1004)

* 通信作者 (corresponding author): niuyam@ibms.pumc.edu.cn

有关的风险基因^[2]。蛋白质层面的研究则发现 β -淀粉样肽 (β -amyloid peptides, A β) 沉积导致的淀粉样斑块^[3]和微管相关蛋白 tau (microtubule associated protein tau, MAPT) 异常磷酸化导致的神经纤维缠结^[4]是 AD 的主要病理特征。转录后调控是 RNA 转录生成之后包括转录、剪接、出核、翻译等多个环节在内的一系列调控事件,这一过程的正常进行是确保该基因生物学功能得以正常发挥的必要前提之一,其中任一环节异常均有可能导致疾病的发生。N⁶-甲基腺嘌呤 (N⁶-methyladenosine, m⁶A) 是 mRNA 上最为常见的表观转录修饰,而且在脑组织中高丰度存在^[5],几乎参与调控 mRNA 代谢过程的每个环节,因此推测 m⁶A 甲基化失衡也可能与 AD 发生相关。本文在此总结了迄今已报道的 AD 发生过程中出现的各种 mRNA 转录后调控异常,并根据现今 RNA 表观转录调控领域的发展提出了研究 AD 发病机制新的方向。

1 mRNA 的选择性剪接

选择性剪接 (alternative splicing) 是真核生物中一种重要的 mRNA 转录后调控模式,在神经系统中尤为普遍,并与包括 AD 在内的多种神经系统疾病的发生有关^[6]。

AD 中淀粉样斑块与神经元缠结的形成即与 mRNA 选择性剪接调节的异常密切相关。APP RNA 含有 18 个外显子,其选择性剪接产物主要有 3 种形式:表达包含所有外显子的 APP770、缺少外显子 8 的 APP751 和缺少外显子 7、8 的 APP695,其中 APP695 在神经元中表达丰富,但在 AD 患者脑中表达下降,而 APP770 则表达增加,这可能与神经元 ELAVL 蛋白家族的调节有关^[6]。APP 代谢相关基因的 mRNA 剪接异常也参与 AD 的发生,如剪接调节因子 hnRNPA2/B1 的表达降低可导致 β -分泌酶 BACE1 基因的异常剪接^[7],一些早发型 AD 病例的研究也发现 PSEN1 或 PSEN2 中突变引起的剪接异常可导致蛋白质功能丧失^[2]。MAPT 基因由 16 个外显子组成,其选择性剪接可产生 6 种亚型,其中按照外显子 10 的剪接分为含有 3 个微管重复结构域的 3R-tau 和含有 4 个微管重复结构域 4R-tau,在成人正常脑组织中二者比例约为 1:1,但在 AD 患者中这一比例失调^[8]。

另外,许多 AD 风险基因也存在剪接的失调。载脂蛋白 E APOE 有 3 种类型的等位基因变异体,携带等位基因 APOE ϵ 4 的个体其 A β 的清除率低,AD 发病风险增高显著,是 AD 最主要的风险基因^[1]。APOE 有包含外显子 1 的 APOE-001、APOE-002 和不包含外显子 1 的 APOE-005 共 3 种剪接亚型,后者在颞叶中上调而前者下调^[1]。AD 的另一风险基因 TREM2 在脑中也存在多种不同的转录本,其中包含全部 5 个外显子和仅缺少外显子 5 的蛋白产物通过跨膜结构域定位在细胞膜上,而缺少外显子 4 的转录本编码可溶性的 TREM2 在 AD 患者脑脊液中呈升高现象,这可能是由跨膜蛋白的裂解或不同转录本表达改变导致^[9]。

剪接因子等 RNA 结合蛋白在选择性剪接过程中发挥重要的作用,如 MAPT mRNA 的剪接即受到 SC35 和 ASF/SF2 蛋白等多种 SR 剪接因子的复杂调控,通过此途径可影响 tau 亚型的比例并改变小鼠的认知功能^[8]。已有研究尝试利用反义寡核苷酸干扰 mRNA 与剪接相关 RNA 结合蛋白的结合及其剪接过程,可在细胞水平减少 A β 的产生^[3],这是目前 AD 治疗方法研究的新方向之一。

2 mRNA 出核运输

真核细胞中核酸的核质转运过程一般通过核孔复合体进行,一旦发生核孔复合体损伤,转运相关蛋白或核膜异常,则会影响包括 mRNA 在内的核酸转运进程。核孔复合体由富含 FG 结构域的多种核孔蛋白 (phenylalanine-glycine rich, Nups) 核孔蛋白组装而成,其中 Nup98 直接参与 mRNA 的出核运输,而 AD 中它可与病理性 tau 蛋白直接相互作用,导致 Nup98 错误定位于细胞质,同时加速 tau 蛋白在细胞质中的聚集和纤维化^[4]。

核膜的异常也会对核质运输产生影响,AD 患者死后的脑组织中发现大约 60% 的神经元存在核膜内陷,这种核质网扩张可能是 tau 蛋白诱导的 Lamin 蛋白水平降低导致的^[10]。由于从转录位点扩散到核孔复合体是 mRNA 出核转运的限速步骤,而内陷的核被膜上有核孔,故猜想核质网扩张可以促进 mRNA 的出核转运^[10]。在 AD 的果蝇模型中发现了核质网的内陷以及附近 poly(A) RNA 的聚集,而敲除或抑制与 RNA 出核转运相关的重要蛋白

如 NTF2 样输出因子 1 (nuclear transport factor 2-like export factor 1, NXT1) 后, tau 转基因果蝇中神经元死亡减少, 虽然还未证明 NXT1 等蛋白是否存在其他功能导致这种现象, 但这可以作为未来疗法研究的新方向^[10]。

3 mRNA 翻译

成熟的 mRNA 在核糖体中翻译合成蛋白质, 稳定的翻译对突触的功能至关重要^[11], 核糖体功能障碍和蛋白质合成的改变在 AD 早期即可出现。Tau 蛋白可以与核糖体蛋白 S6 相互作用使得后者功能损伤^[11], A β 42 寡聚肽会导致 45S pre-rRNA 和 18S 和 28S rRNA 的水平下调, 影响 rRNA 的合成和加工^[12], 这都可能使 AD 患者中 mRNA 翻译过程受到影响, 进而导致学习、记忆和认知障碍^[11]。

另外, 神经元轴突和神经末梢的蛋白质局部合成对轴突和突触功能至关重要^[13]。例如, 在正常情况下 tau 蛋白主要位于轴突, 而 AD 患者中 tau RNA 与 RNA 结合蛋白共同定位于树突和突触后的颗粒结构中, 受到特定刺激会引起 mRNA 翻译迅速上调^[14]。蛋白质局部合成过程受到多种 RNA 结合蛋白的调控, 如脆性 X 智力低下蛋白 FMRP 可以通过结合定位于突触的 mRNA、妨碍核糖体发挥作用达到抑制翻译的作用, APP RNA 的翻译即通过这种机制受到抑制, 而 mGluR5 的激活可解除这种抑制, 导致 APP 上调^[15]。虽然目前在 AD 患者中没有观察到 FMRP 表达水平的显著变化, 其功能的调节在 AD 发病过程中的机制尚有待于进一步研究探索^[15]。

4 mRNA 降解

除了转录和翻译之外, mRNA 的丰度同样取决于其降解速度, 非编码 RNA 与 RNA 结合蛋白都在此过程的调控中发挥重要作用。例如, AD 患者的脑样本中 BACE1 mRNA 的稳定性是由于 lncRNA BACE1-AS 表达上调、抑制了 miR-485-5p 介导的 RNA 降解所致^[16]。而 AD 中 tau RNA 稳定性会因 RNA 结合蛋白 TDP-43 表达下调而降低从而进一步导致 tau 蛋白的表达抑制, 提示 TDP-43 的下调可能与 AD 和相关神经退行性疾病有关^[17]。Rbfox 蛋白家族也可调节 mRNA 稳定性, 其中 Rbfox1 在 AD 中下调, 可能通过影响相关突触传递蛋白 mRNA 的稳定性和丰度而导

致突触损伤, 同时 Rbfox1 的表达与性别及年龄密切相关, 在女性及老年人中表达水平低也与 AD 风险因素一致^[18]。因此, 鉴定 AD 中的 mRNA 降解异常基因也是最终阐明 AD 发病机制的重要环节。

5 m⁶A 调控因子在 AD 疾病中的异常表现

m⁶A 甲基化平衡主要由甲基转移酶(包括 METTL3、METTL4 等)和去甲基化酶(包括 ALKBH5、FTO)共同调控^[5]。其中, 去甲基化酶 FTO 在 AD 小鼠模型脑组织中上调, 通过 TSC1-mTOR-Tau 信号通路调节 tau 蛋白的磷酸化^[19], 虽然 FTO 是否能够对 TSC1 RNA 直接去甲基化并影响其稳定性需要进一步研究证实, 但提供了 m⁶A 参与 AD 病理的可能性。另一方面, m⁶A 对 RNA 代谢的调控功能主要通过其结合蛋白[如 YTH(YT521-B homology)家族]介导完成。其中 YTHDC1 可与多个 SR 蛋白(serine/arginine-rich protein)家族成员发生相互作用, 与 SRSF3 的结合可参与调节 mRNA 的剪接和出核^[20-21]。在参与 tau 蛋白选择性剪接的 SR 蛋白家族中, SRSF2 可结合有 m⁶A 的 RNA 并促进外显子的包含^[22]。另外, 参与 APP mRNA 翻译调节的 FMRP (fragile mental retardation protein) 也可识别 m⁶A, 并有可能籍此调控神经元突触的局部蛋白质合成^[23]或参与调节 m⁶A 依赖的 mRNA 出核运输^[24]。

6 问题和展望

本课题组主要从事表观转录标记 m⁶A 在脑肿瘤与神经退行性疾病中的作用与机制的研究。前期研究已发现, 与正常脑组织相比, AD 患者的颞叶脑组织中 RNA m⁶A 水平发生明显改变(未发表数据), 由此推测 m⁶A 介导的 mRNA 代谢改变可能与 AD 的发病有关, 而其中的机制还有待进一步阐明。

综上所述, AD 发病过程中存在多种 mRNA 转录后调控异常, 因素多种多样且仍有很多不明之处。随着 RNA 生物学领域的不断发展, 对 AD 以及其他神经退行性疾病中 mRNA 代谢的研究将变得更加便利。负责维持 m⁶A 甲基化平衡、介导其生物学作用的 m⁶A 调控基因在 AD 中表现异常, 我们推测这有可能进一步破坏正常的 RNA 代谢过程, 因此研究 AD 发病过程中的 m⁶A 甲基化变化将为阐明 AD 的发病机制提供新的思路与方向。

参考文献:

- [1] Twine NA, Janitz K, Wilkins MR, *et al.* Whole transcriptome sequencing reveals gene expression and splicing differences in brain regions affected by Alzheimer's disease [J]. *PLoS One*, 2011, 6: e16266. doi:10.1371/journal.pone.0016266.
- [2] Braggin JE, Bucks SA, Course MM, *et al.* Alternative splicing in a presenilin 2 variant associated with Alzheimer disease [J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2019, 6: 762-777.
- [3] Chang JL, Hinrich AJ, Roman B, *et al.* Targeting amyloid-beta precursor protein, APP, splicing with antisense oligonucleotides reduces toxic amyloid-beta production [J]. *Mol Ther*, 2018, 26: 1539-1551.
- [4] Eftekharzadeh B, Daigle JG, Kapinos LE, *et al.* Tau protein disrupts nucleocytoplasmic transport in Alzheimer's disease [J]. *Neuron*, 2018, 99: 925-940.
- [5] Ma C, Chang M, Lv H, *et al.* RNA m⁶A methylation participates in regulation of postnatal development of the mouse cerebellum [J]. *Genome Biol*, 2018, 19: 68. doi: 10.1186/s13059-018-1435-z.
- [6] Fragkouli A, Koukouraki P, Vlachos IS, *et al.* Neuronal ELAVL proteins utilize AUF-1 as a co-partner to induce neuron-specific alternative splicing of APP [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 44507. doi:10.1038/srep44507.
- [7] Kolisnyk B, Al-Onaizi M, Soreq L, *et al.* Cholinergic surveillance over hippocampal RNA metabolism and Alzheimer's-like pathology [J]. *Cereb Cortex*, 2017, 27: 3553-3567.
- [8] Wang ZH, Liu P, Liu X, *et al.* Delta-secretase (AEP) mediates tau-splicing imbalance and accelerates cognitive decline in tauopathies [J]. *J Exp Med*, 2018, 215: 3038-3056.
- [9] Del-Aguila JL, Benitez BA, Li Z, *et al.* TREM2 brain transcript-specific studies in AD and TREM2 mutation carriers [J]. *Mol Neurodegener*, 2019, 14: 18. doi: 10.1186/s13024-019-0319-3.
- [10] Cornelison GL, Levy SA, Jenson T, *et al.* Tau-induced nuclear envelope invagination causes a toxic accumulation of mRNA in *Drosophila* [J]. *Aging Cell*, 2019, 18: e12847. doi:10.1111/acel.12847.
- [11] Koren SA, Hamm MJ, Meier SE, *et al.* Tau drives translational selectivity by interacting with ribosomal proteins [J]. *Acta Neuropathol*, 2019, 137: 571-583.
- [12] Maina MB, Bailey LJ, Doherty AJ, *et al.* The involvement of Abeta42 and tau in nucleolar and protein synthesis machinery dysfunction [J]. *Front Cell Neurosci*, 2018, 12: 220. doi:10.3389/fncel.2018.00220.
- [13] Cefaliello C, Penna E, Barbato C, *et al.* Deregulated local protein synthesis in the brain synaptosomes of a mouse model for Alzheimer's disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2020, 57: 1529-1541.
- [14] Kobayashi S, Tanaka T, Soeda Y. Local somatodendritic translation and hyperphosphorylation of tau protein triggered by AMPA and NMDA receptor stimulation [J]. *EBioMedicine*, 2017, 20: 120-136.
- [15] Renoux AJ, Carducci NM, Ahmady AA. Ahmady, *et al.* Fragile X mental retardation protein expression in Alzheimer's disease [J]. *Front Genet*, 2014, 5: 360. doi: 10.3389/fgene.2014.00360.
- [16] Zeng T, Ni H, Yu Y, *et al.* BACE1-AS prevents BACE1 mRNA degradation through the sequestration of BACE1-targeting miRNAs [J]. *J Chem Neuroanat*, 2019, 98: 87-96.
- [17] J. Gu J, Wu F, Xu W, *et al.* TDP-43 suppresses tau expression via promoting its mRNA instability [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45: 6177-6193.
- [18] Alkallas R, Fish L, Goodarzi H, *et al.* Inference of RNA decay rate from transcriptional profiling highlights the regulatory programs of Alzheimer's disease [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 909. doi:10.1038/s41467-017-00867-z.
- [19] Li H, Ren Y, Mao K, *et al.* FTO is involved in Alzheimer's disease by targeting TSC1-mTOR-Tau signaling [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 498: 234-239.
- [20] Xiao W, Adhikari S, Dahal U, *et al.* Nuclear m⁶A reader YTHDC1 regulates mRNA splicing [J]. *Mol Cell*, 2016, 61: 507-519.
- [21] Roundtree IA, Luo GZ, Zhang Z, *et al.* YTHDC1 mediates nuclear export of N⁶-methyladenosine methylated mRNAs [J]. *eLife*, 2017, 6: e31311. doi: 10.7554/eLife.31311.
- [22] Zhao X, Yang Y, Sun BF, *et al.* FTO-dependent demethylation of N⁶-methyladenosine regulates mRNA splicing and is required for adipogenesis [J]. *Cell Res*, 2014, 24: 1403-1419.
- [23] Chang M, Lv H, Zhang W, *et al.* Region-specific RNA m⁶A methylation represents a new layer of control in the gene regulatory network in the mouse brain [J]. *Open Biol*, 2017, 7: 170166. doi:10.1098/rsob.170166.
- [24] Edens BM, Vissers C, Su J, *et al.* FMRP modulates neural differentiation through m⁶A-dependent mRNA nuclear export [J]. *Cell Rep*, 2019, 28: 845-854.