



编者按 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种病因未明的原发退行性大脑疾病, 是最常见的引发老年性痴呆的疾病。其发病隐匿, 进展缓慢。具有特征性的神经病理和神经生化改变, 包括伴有神经原纤维缠结和神经炎性嗜银斑的皮质萎缩, 胆碱乙酰转移酶、乙酰胆碱及其他神经递质和神经调质明显减少。临床上表现为记忆功能、视觉空间关系、语言、抽象思维、学习、计算能力和行为能力下降, 性格、人格和精神行为异常, 出现严重的认知障碍。随着人类老龄化的严重, AD的死亡率呈逐年上升趋势。虽然世界各国政府和科学家投入了大量的人力、物力和财力推动AD的研究, 迄今为止, AD的发病机制仍然未知, 也没有治疗AD的有效手段。本期《生物化学与生物物理进展》刊出了5篇AD研究领域论文, 分别从表观遗传修饰在AD中的调控作用、三磷酸腺苷结合盒转运体A7对AD相关表型的影响、精神分裂症断裂基因1的甲基化与AD的关系、E3泛素连接酶在AD中的表达特征以及AD发病过程中的年龄和性别差异研究的小鼠模型建立这几个角度, 为诊断和治疗AD提供新的思路, 为探索AD的发病机制提示新的方向。特集结为《阿尔茨海默病研究专题》, 以飨读者。

《生物化学与生物物理进展》编辑部

2022年4月

表观遗传修饰调控阿尔茨海默病的研究进展*

林苏扬^{1,2)} 潘召韬¹⁾ 马宇涛¹⁾ 高君妍¹⁾ 单江晖¹⁾ 储超扬¹⁾ 谢 凯²⁾
沈 巍²⁾ 王清娟²⁾ 李丽萍^{1,2)**}

(¹⁾ 宁波大学医学院生理与药理学科, 宁波 315211; ²⁾ 宁波大学医学院附属医院康复科, 宁波 315211)

摘要 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种临床上常见的以进行性认知功能障碍和记忆减退为主要特征的神经退行性疾病。近些年研究发现, 表观遗传修饰如DNA修饰、组蛋白修饰、RNA修饰及非编码RNA在A β 沉积、Tau蛋白过度磷酸化、神经再生、突触可塑性和认知功能中发挥不同程度的调控作用, 进而改善或加剧AD病理进程。临床数据表明表观遗传修饰的改变与AD风险呈显著相关性, 运用药物、物理刺激、siRNA等干预手段在AD动物模型中改变表观遗传修饰水平可改善AD病理和认知能力。本文综述了不同的表观遗传修饰在AD中的调控作用, 为进一步理解AD的表观遗传学机制及通过干预表观遗传修饰改善或治疗AD的可行性提供理论依据。

关键词 阿尔茨海默病, 表观遗传, DNA修饰, RNA修饰, 组蛋白修饰, 非编码RNA

中图分类号 R74

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0252

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种以进行性认知功能障碍和记忆减退为主要特征的神经退行性疾病, 已成为威胁中老年人身心健康的主要疾病之一。AD以细胞外 β 淀粉样蛋白 (amyloid β , A β) 异常沉积形成老年斑、细胞内Tau蛋白过度磷酸化形成神经原纤维缠结 (neurofibrillary tangle, NFT) 及神经元丢失等为主的病理特征, 临床表现为记忆障碍、失语、失用、失认、视空间技能损害、执行功能障碍以及人格和行为改变等。《2019年世界老年痴呆症报告》统计显示, 全球每3秒钟就有1例痴呆患者确诊, 其中2/3痴呆患者将发展成AD, 到2050年全球患AD人数将从目前4 700万上升至1.31亿^[1]。目前, 中国平均每年有30万新发病例。随着人口老龄化

日益严重, AD已成为全球最重要的社会医学问题之一。AD是一种由遗传因素 (载脂蛋白E4、淀粉样前体蛋白、早老素1、早老素2等基因突变) 和非遗传因素 (年龄、吸烟、嗜酒等因素刺激) 相互作用引起的复杂疾病, 但其发病机制尚不清楚, 也尚无治疗AD的有效手段。携带相似或相同易感基因的个体在发生AD风险、其病理程度和临床表现

* 国家自然科学基金 (82001155), 宁波大学教研项目 (JYXMXZD2021029), 浙江省自然科学基金 (LQ19H090005), 浙江省医药卫生科技计划 (2022KY1144), 宁波大学科研基金 (理)/基金项目 (XYL20030), 宁波大学“大学生科技创新计划” (2021SRIP1917, 2021SRIP1912) 和宁波大学王宽诚幸福基金资助。

** 通讯联系人。

Tel: 0574-87609594, E-mail: liliping@nbu.edu.cn

收稿日期: 2021-08-25, 接受日期: 2021-10-19

中出现差异,提示表观遗传修饰可能在AD的异质性中发挥作用^[2]。

表观遗传修饰是指在不改变DNA序列的情况下,受环境因素影响导致基因表达发生可遗传改变。表观遗传修饰主要包括DNA甲基化、组蛋白甲基化、组蛋白乙酰化、RNA修饰和非编码RNA等,这些表观遗传修饰相互作用,可以调节基因表达,进而影响突触的可塑性、记忆的获得和巩固、神经通路的连接以及神经信号的传递等。大量研究表明,表观遗传学在AD发生发展过程中发挥重要的作用^[3]。本文综述了近几年表观遗传修饰在AD发生发展中的调控机制,以期表观遗传修饰作为AD治疗靶点或预测标志物的可行性提供新思路。

1 DNA修饰对AD的调控作用

DNA甲基化是目前研究最广泛的表观修饰方式之一。为了探究DNA甲基化对AD发病的影响,West等^[4]证明,AD患者颞叶APP基因启动子甲基化水平低于非痴呆人群和非AD型变性痴呆患者。随后,在AD患者的额中回(middle frontal gyrus, MFG)和颞中回(middle temporal gyrus, MTG)中发现,5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC)和5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5hmC)总体水平显著提升,而在海马和内嗅皮层中均出现差异甲基化现象^[5-7]。本文检索近几年DNA甲基化修饰改变与AD发病风险相关程度的临床实验数据(表1),检

Table 1 Study on the relationship between genomic DNA methylation and AD risk in patient

表1 患者基因组DNA修饰与AD风险相关性研究

病例	样本来源	检测手段	涉及基因	表观遗传修饰水平	表观遗传修饰改变与AD风险相关程度	参考文献
对照(n=48或46) AD(发现队列n=96; 验证队列1 n=104; 验证队列2 n=48或46) ¹⁾	内嗅皮层组织	450k甲基化芯片、焦磷酸测序	ANK1、FBXL16	5hmC ↓	FBXL16(4个探针)中5hmC水平降低; ANK1(4个CpG)中5hmC水平降低	[7]
对照(n=12) AD(n=30) ²⁾	海马组织	5-羟甲基化DNA免疫沉淀结合RT-qPCR	TREM2	5hmC ↑	5hmC富集程度与TREM2 mRNA水平呈显著正相关	[8]
NCI(n=6) MCI(n=4) AD(n=20) ³⁾	背外侧前额叶皮层组织	ChIP 测序	ABAT、KCNA6	5hmC ↑	DNA羟甲基化的改变与AD病理相关	[9]
无/轻度AD(n=38) 中度AD(n=32) 重度AD(n=31) ⁴⁾	前额叶皮层组织	亚硫酸氢盐挂锁探针技术	DSCAML1	5mC ↓	大部分差异甲基化发生在AD神经元的CpH位点,且靶向BACE1的DSCAML1基因中大量增强子发生显著低甲基化	[10]
对照(n=49) AD(n=24) ⁵⁾	海马、内嗅皮层、背外侧前额叶皮层和小脑组织	450k甲基化芯片	ANKRD30B、ANK1	5mC ↑	5mC与基因表达水平间存在相关性	[11]
中年病例(n=3) NFT病理分期I~VI(n=17) ⁶⁾	蓝斑组织	850k甲基化芯片	KIAA0566	5mC ↓	NFT病理状况下, KIAA0566 mRNA表达显著降低	[12]
NC(n=30) AD(n=30) DLB(n=21) ⁷⁾	颞下回	450k甲基化芯片	BRCA1	5mC ↓	AD病理状况下, BRCA1基因内5mC的水平降低; BRCA1 5mC与APOE ε4等位基因数量相关	[13]

¹⁾ 发现队列:亚硫酸氢钠组平均年龄为(81.2±9.5)岁和氧化亚硫酸氢钠组平均年龄为(81.3±9.5)岁,验证队列1:亚硫酸氢钠组平均年龄为(84.9±8.7)岁,验证队列2:亚硫酸氢钠组平均年龄为(85.0±7.2)岁和氧化亚硫酸氢钠组平均年龄为(84.8±7.3)岁;²⁾ AD患者平均年龄(82.3±11.3)岁,对照组平均年龄(50.7±21.5)岁;³⁾ 所有患者平均年龄(91.1±4.6)岁;⁴⁾ 所有患者平均年龄83.03岁;⁵⁾ 病例年龄段无数据;⁶⁾ 中年患者平均年龄(50±1)岁,神经纤维缠结(neurofibrillary tangle, NFT)病理分期I~II患者平均年龄(68±6.3)岁; NFT病理分期III~IV患者平均年龄(85.1±7.0)岁, NFT病理分期V~VI患者平均年龄(76.3±12.5)岁;⁷⁾ 正常健康者(normal control, NC)平均年龄(76.7±7.4)岁, AD患者平均年龄(79.4±7.4)岁,路易体痴呆(dementia with Lewy bodies, DLB)患者平均年龄(81.2±8.5)岁。

测发现某一基因中 5mC 或 5hmC 修饰水平改变与 AD 发生发展存在相关性, 提示该基因 DNA 修饰水平可以作为预测或诊断 AD 病理程度。此外, 在 AD 模型小鼠中采用生活环境刺激、药物诱导、过表达 Tet 催化区等治疗手段, 发现通过改变 DNA 甲基化修饰水平可改善 AD 病理程度, 提示通过干预 DNA 修饰水平可以减轻 AD 病理程度和提高记忆 (表 2)。

Table 2 Effects of different interventions mediated DNA modification on different strains of mice
表2 不同干预手段介导DNA修饰对不同品系小鼠的影响

小鼠品系	月龄	干预手段	表观遗传修饰变化	表观遗传学评估方法	病理特征变化	参考文献
C57BL/6J	2	高甲硫氨酸饮食 ¹⁾	5mC ↑	5mC免疫组织化学法	Aβ增加, 神经元损伤, 认知记忆缺陷	[14]
APP/PS1/Tau ²⁾	0.55	虫草素、虫草酸处理	5hmC ↑	5hmC 斑点印记 (5hmC dot blot)	原代神经元轴突增长, 树突分支增加	[15]
APP/PS1/Tau	3、6、9、12	过表达hTETCDs ³⁾ 基因	5hmC ↑	hMeDIP-seq	减少Aβ积累和Tau蛋白过度磷酸化, 并改善突触功能障碍	[16]
5×FAD ⁴⁾	8	喂食G9a/GLP组蛋白甲基转移酶抑制剂 UNC0642	5mC ↓ 5hmC ↑	甲基化定量试剂盒 (比色法)、羟甲基化DNA定量试剂盒 (比色法) ⁵⁾	Aβ减少, 挽救小鼠认知障碍	[17]
5×FAD	4~6	丰富环境刺激	5mC ↓ 5hmC ↑	甲基化定量试剂盒 (比色法)、羟甲基化DNA定量试剂盒 (比色法)	Tau蛋白磷酸化和Aβ合成减少, 氧化应激和炎症反应降低, 挽救小鼠认知障碍	[18]
APP/PS1 ⁶⁾	5	腹腔注射雷公藤内酯醇和雷公藤氯内酯醇	5mC ↓	ChIP、MeDIP	提高突触可塑性	[19]
APP/PS1	10	注射MER5101疫苗	5hmC ↓	5hmC免疫组织化学法	Aβ水平降低	[20]

¹⁾ 连续7周维持2% 高甲硫氨酸 (methionine, Met) 饮食诱导C57BL/6J小鼠为AD模型; ²⁾ APP/PS1/Tau三转基因小鼠 (3×Tg-AD), 背景为C57BL/6J; ³⁾ hTETCDs: human TET catalytic domains, 人源Tet催化域; ⁴⁾ 5×FAD: APPSwFILon, PSEN1*M146L*L286V 6799Vas/Mmjax 转基因小鼠, 背景为B6SJL-Tg; ⁵⁾ DNA甲基化定量试剂盒: MethylFlash Methylated DNA Quantification Kit, 羟甲基化DNA定量试剂盒: MethylFlash Hydroxymethylated DNA Quantification Kit (比色法); ⁶⁾ APP/PS1双转基因小鼠背景为B6C3-Tg。

DNA 甲基化和去甲基化在神经发育和维持大脑突触可塑性过程中起重要作用。DNA 甲基化是指在 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferase, DNMT) 的作用下, 由 S-腺苷甲硫氨酸 (S-adenosyl methionine, SAM) 提供一个甲基基团, 与 DNA 序列上特定的碱基共价结合的化学修饰过程。DNA 甲基化生成物质主要包括 5mC、N⁴-甲基胞嘧啶 (N⁴-methylcytosine, 4mC) 和 N⁶-甲基腺嘌呤 (N⁶-methyladenine, 6mA)。在哺乳动物中, 目前研究比较多的是发生于胞嘧啶 (C)-磷酸 (p)-鸟嘌呤 (G) 二核苷酸 (CpG) 上胞嘧啶环第 5 号碳原子上甲基化修饰 (5mC)。C 和 G 含量大于 50% 且序列长度大于 200 bp 的 CpG 聚集区称为 CpG 岛。CpG 岛主要位于基因启动子区域/转录起始位点的 5' 非翻译区 (5'-untranslated regions, 5'-UTRs), 该区域中的甲基化可以抑制靶基因的转录, 因此被认为是转录调控的形式之一^[21]。其主要作用机制是: a. 在 CpG 岛基因启动子区域发生 DNA 甲基化, 抑

制转录因子与该基因的启动子区域结合; b. 甲基-CpG 结合蛋白 (methyl-CpG-binding proteins, MBDPs) 与甲基化的 DNA 序列结合, 从而发挥阻抑作用, 抑制基因表达。目前研究表明, 哺乳动物随着年龄的增长, 血液中基因组整体 DNA 甲基化呈现降低趋势^[22]。DNA 去甲基化 5hmC 修饰是一种不同于 5mC 的表观遗传修饰。DNA 去甲基化主要通过 Tet 蛋白家族催化 5mC 转变为 5hmC, 5hmC 还可以进一步氧化形成 5 甲酰基胞嘧啶 (5-formylcytosine, 5fC) 和 5 羧基胞嘧啶 (5-carboxylcytosine, 5caC), 进而产生未甲基化的胞嘧啶 C。另外, 在胞嘧啶脱氨酶的作用下 5hmC 也可以转成 5 羟甲基尿嘧啶 (5-hydroxymethyluracil, 5hmU)。因此, 5hmC 也是一种 DNA 去甲基化的中间代谢产物。相比于 5mC, 5hmC 在基因组总体水平较低且富含于中枢神经系统。5hmC 通常富集于基因的转录起始位点 (transcription start site, TSS) 和 5'-UTR 处, 表明 5hmC 与基因转录或翻译有

关^[23]。研究显示, 5hmC在TSS上游区域、基因体和多聚腺苷酸化位点 (polyadenylation site, PAS) 下游区域中修饰水平与基因表达呈正相关, 通过调控转录机制或作用于阻遏物来促进基因表达, 从而影响大脑中神经系统的正常功能^[24]。5hmC在正常神经发育和衰老过程中保持动态平衡, 且其修饰水平的改变在一定程度上与AD病理变化相关。5hmC水平在APP/PSEN1双转基因小鼠海马中随年龄老化而下降^[25]。目前, DNA甲基化和去甲基化的改变与AD病理之间相关性受到越来越多的关注。

AD患者脑组织基因组5mC改变影响AD病理进程。5mC免疫组织化学分析AD患者脑组织病理切片, 发现背外侧前额叶、小脑、内嗅皮层和海马中的DNA甲基化水平降低^[11]。有研究指出, 大脑中DNA甲基化水平降低引起星形胶质细胞和小胶质细胞的活化, 从而导致许多病理过程的恶性循环^[26]。AD患者脑组织DNA甲基化与剪切A β 的分泌酶表达存在相关性。AD的主要病因学假说是淀粉样变途径, 该假说指出具有神经毒性的A β 寡聚体是由 β 分泌酶和 γ 分泌酶切割淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 后形成的。其中, β 分泌酶1 (beta-site APP cleaving enzyme 1, BACE1) 是大脑中 β 分泌酶的主要表达形式。体内实验证实喂食BACE1抑制剂NB-360后, APP转基因小鼠脑组织和脑脊液 (cerebrospinal fluid, CSF) 中A β 水平显著降低^[27], 表明抑制BACE1可降低A β 表达水平。全基因组检测AD患者前额皮层 (prefrontal cortex, PFC) DNA增强子甲基化水平, 发现BACE1增强子低甲基化, 提示在AD中BACE1低甲基化水平可能提高BACE1 mRNA水平, 进而促进A β 表达^[10]。 γ 分泌酶是膜内裂解蛋白复合物, 负责裂解APP膜内位点, 并最终释放出A β 。早老素1 (presenilin 1, PSEN1) 是 γ 分泌酶的催化亚单位, 通过调节 γ 分泌酶活性进而影响A β 生成^[28]。研究发现在晚发性AD (late-onset AD, LOAD) 大脑中PSEN1低甲基化水平与AD进展程度相关, 提示PSEN1甲基化水平也可能通过调节A β 生成进而影响AD进程^[29]。此外, PSEN1突变导致AD患者大脑区域微管相关蛋白Tau启动子甲基化减少, 提示PSEN1也可调节Tau表达^[30]。另外研究发现, AD患者血清基因组DNA甲基化的改变使其体内代谢产物水平发生异常变化, 可能与A β 神经毒性及认知障碍存在关

联^[31]。血同型半胱氨酸 (homocysteine, HCY) 水平的增加、血清叶酸和维生素B12水平的降低被认为是引起AD发病的危险因素。机体内的一碳代谢包括叶酸和甲硫氨酸循环, 正常甲硫氨酸饮食不能满足体内甲基化反应需求, 机体需要摄入叶酸以提供甲基, 而食物中的叶酸主要形式为5甲基四氢叶酸 (5-methyltetrahydrofolate, 5-Me-THF), 在维生素B12作用下, 5-Me-THF和HCY反应产生可以被细胞利用的四氢叶酸 (tetrahydrofolate, THFA) 和甲硫氨酸。因此, 叶酸和维生素B12是SAM产生必不可少的元素。SAM带有一个活化的甲基, 参与甲基转移反应, 通过充当主要的甲基供体, 维持机体正常DNA甲基化。在正常条件下, SAM提供甲基, 产生S-腺苷同型半胱氨酸 (S-adenosylhomocysteine, SAH), SAH经过水解生成HCY, 此后与甲硫氨酸相作用发生甲基转移, 将HCY转变为SAM, 该代谢循环需要不断供应叶酸和维生素B12。SAH是DNMT抑制剂, 对诱导体内低甲基化水平有实质性影响^[32]。体内研究表明, 与喂食SAM组相比, 喂食缺乏叶酸/B12/B6食物的APP转基因小鼠血液表现出SAH水平增加及PSEN1启动子低甲基化, 并引起PSEN1和BACE mRNA水平上升, 最终导致神经元内A β 沉积和认知缺陷^[33]。若在此基础上施用外源性SAM, 可发现PSEN1和BACE甲基化水平下降, 并降低了A β 沉积^[34]。因此, 通过外源性给药提升SAM水平, 促进BACE1的DNA甲基化, 可以缓解A β 产生和认知缺陷。此外, A β 斑块沉积能够引起降解酶如中性内肽酶 (neprilysin, NEP) 高甲基化, 并下调NEP表达, 而NEP低表达又促进A β 进一步沉积。NEP是一种A β 降解酶, 通过酶切清除A β 沉积。NEP在AD患者的脑内表达下降^[35], 而在AD小鼠中过表达NEP能够显著降低A β 水平^[36]。A β 通过使NEP的启动子区域CpG岛的胞嘧啶高度甲基化, 进一步抑制NEP基因表达; 而NEP表达的减少则引起A β 沉积。增多的A β 又使NEP基因高甲基化, 从而形成A β 沉积和NEP高甲基化之间负反馈调节的恶性循环。

在哺乳动物机体内调控DNA去甲基化的Tet蛋白有3个家族成员: Tet1、Tet2和Tet3, 它们的表达具有细胞类型特异性, 在不同的细胞中调节不同的基因表达。在背角神经元中Tet1通过提高DNA去甲基化水平而促进脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 的表达, 进而

增加突触可塑性^[37]; 此外, 研究发现, 成年小鼠脑中 Tet1 基因缺陷可使甘丙肽 (galanin, GAL)、红蛋白 (neuroglobin, Ngb)、含钾通道四聚化结构域 14 (potassium channel tetramerization domain-containing 14, KCTD14) 等神经发生相关基因启动子高甲基化, 进而抑制基因转录, 导致神经干细胞 (neural stem cells, NSCs) 自我更新能力及增殖分化能力降低, 并进一步导致神经发生受损, 提示 Tet1 介导 DNA 去甲基化水平调控神经元和 NSCs 功能而参与认知过程^[38]。全身敲除 Tet2 基因的小鼠, 5hmC 水平降低, 并抑制成体神经干细胞 (adult neural stem cells, aNSCs) 分化能力, 提示 Tet2 介导 5hmC 调控 NSCs 分化能力^[39]。在体外细胞水平, 过表达 Tet2 提高 5hmC 水平, 可以促进老年 2×Tg-AD 小鼠海马 aNSCs 神经再生, 提示 Tet2 介导 5hmC 可能具有对抗 AD 神经再生障碍的作用^[40]。此外, 在早期 2×Tg-AD 小鼠海马区敲低 Tet2, 导致 5hmC 水平降低, 并引发早期 AD 表现出晚期 AD 相关的病理学特征, 包括 A β 沉积、GFAP 阳性星形胶质细胞增生、Iba1 阳性小胶质细胞过度生长以及促炎因子过度产生^[40]; 在体内, 老年 2×Tg-AD 小鼠海马区过表达 Tet2, 导致 5hmC 水平提高, 并提高神经再生能力及减轻 A β 的负担, 提示 Tet2 是改善 AD 神经再生障碍的靶标^[41]。在神经前体细胞 (neural precursor cells, NPCs) 中敲除 Tet3 导致全基因组 5mC 水平降低、大规模的 DNA 低甲基化及 Oct4、Nanog、Tcl1 等多能性基因表达受抑制, 提示在 NPCs 中 Tet3 通过调节 DNA 去甲基化而维持 NSCs 多能性^[42]。此外, 研究发现, Tet3 通过 JAK2/STAT3 信号通路调节 NSCs 分化^[43]。JAK2/STAT3 信号轴是介导神经保护活动的主要传感器, 激活 JAK2/STAT3 轴可以抑制 A β 相关的神经毒性, 而失活 JAK2/STAT3 轴引起胆碱能神经元功能障碍, 从而导致与 AD 相关的记忆障碍^[44]。目前, 仍缺乏以 Tet 蛋白为靶点治疗 AD 的药物, 但从动物实验研究表明, 提高 Tet 蛋白表达可以增强神经干细胞增殖分化, 促进神经再生, 并改善学习和记忆障碍。

此外, 目前已被证实 DNA 去甲基化过程中伴随活性物质甲醛 (formaldehyde, FA) 生成^[45]。正常生理大脑中的 FA 水平较低, 其含量约为 0.2~0.4 mmol/L^[46]。据报道与正常健康者相比, AD 患者尿液和海马组织中 FA 水平较高, 提示高水平的 FA 与 AD 患者严重的认知缺陷可能存在关联^[47]。

已有研究证实, 外源性 FA 过量接触或内源性 FA 代谢障碍均可导致 FA 异常累积, 是诱发与年龄相关认知障碍的原因之一^[48]。将正常小鼠暴露于高浓度 FA, 发现小鼠出现认知缺陷且其大脑皮层发生 A β 异常积聚、Tau 蛋白过度磷酸化等一系列早期 AD 样变化^[49]。另一项动物体内实验证明, 向恒河猴脑室内注射 FA 导致其海马、内嗅皮层和前额叶皮层出现 A β 沉积, 同时加剧 Tau 磷酸化, 进而引起认知障碍^[50]。目前认为, 过量 FA 能够与 A β ₄₂ 的 Lys28 残基相互作用从而加速 A β 聚集, 此外 A β 可抑制甲醛脱氢酶 (formaldehyde dehydrogenase, FDH) 的活性, 从而减少 FA 降解, 导致 FA 积累^[51], 因此形成过量 FA 与 A β 之间的正反馈循环。向 APP/PS1 小鼠腹腔注射甲醛清除剂 NaHSO₃ 或辅酶 Q10, 导致 AD 小鼠大脑区域 FA 浓度降低, 同时减少 A β 聚集, 改善 APP/PS1 小鼠认知能力, 从而缓解 AD 病理症状^[51]。因此, 过量外源性或内源性 FA 可能是诱导 AD 发生发展的危险因素之一。

综上, DNA 甲基化和去甲基化的过程影响 A β 生成、Tau 蛋白磷酸化和神经再生, 引起 AD 病理改变。SAH、PSEN1 和 BACE 等基因的 DNA 低甲基化修饰导致其表达水平升高, 从而导致 A β 沉积。而 A β 沉积使与 A β 降解相关的基因如 NEP 发生高甲基化, 进一步加重 A β 沉积。DNA 去甲基化过程中伴随 FA 生成, 而 FA 异常累积, 引起 A β 沉积、Tau 蛋白磷酸化, 从而诱发 AD。同时, Tet 蛋白家族通过调控不同类型细胞中 DNA 的去甲基化, 如 Tet1 调控神经元和 NSCs、Tet2 调控 aNSCs、Tet3 调控 NPCs 等而影响神经再生。因此, 提高机体叶酸、维生素 B12 含量以及过表达 NEP, 有利于减少 A β 斑块生成, 同时提高 Tet 蛋白家族表达, 保持 5hmC 修饰高表达, 有利于神经干细胞增殖分化, 可以对抗 AD 神经再生和认知功能障碍。

2 组蛋白修饰对 AD 的调控作用

组蛋白是一种由 H2A、H2B、H3 和 H4 组成的八聚体, 可与 DNA 交联形成核小体。组蛋白在其 N 端尾部发生修饰, 影响染色体三维结构, 最终导致基因转录改变。常见组蛋白修饰包括乙酰化、甲基化、磷酸化和泛素化^[52]。本文总结了近几年组蛋白修饰与 AD 患者病变的关联性, 研究发现组蛋白修饰水平改变参与 AD 发病相关机制 (表 3)。在 AD 动物模型中, 通过抑制剂或药物干预组蛋白修饰水平, 可以对抗 AD 神经病理和认知衰退 (表 4)。

Table 3 Study on the relationship between genomic histone modification and AD risk in patient

表3 患者基因组组蛋白修饰与AD风险相关性研究

病例	样本来源	检测手段	表观遗传修饰变化	表观遗传修饰改变与AD风险相关程度	参考文献
AD (n=24) 对照 (n=23) ¹⁾	内嗅皮层组织	ChIP-seq	H3K27ac ↑	与Tau和淀粉样蛋白神经病理学相关的基因附近鉴定出乙酰化峰	[53]
AD (n=8) 对照 (n=7) ²⁾	额叶皮层和海马组织	蛋白免疫印迹	额叶皮层H3ac和H2Bac ↑ 海马H2Bac ↑ H3ac ↓	额叶皮层F2区组蛋白乙酰化失调比海马更严重	[54]
AD (n=34) MCI (n=15) 对照 (n=31) ³⁾	单核细胞	定量荧光试剂盒	H4K12ac ↑	只有MCI患者血液单核细胞H4K12ac显著升高	[55]
AD (n=6) 对照 (n=6) ⁴⁾	额叶皮层组织	LC/MS-MS	H2BK108me ↓ H4R55me ↓ H4K12acK16ac ↑ H2BK120ub ↑	与表观遗传修饰改变相关的酶可作为AD药物靶点	[56]
颞下回 AD (n=14) 对照 (n=17) 颞中回 AD (n=29) 对照 (n=28) ⁵⁾	颞下回和中回组织	免疫组化和组织微矩阵	H3、H4、AcH3、 AcH4 ↑	泛素负载与组蛋白修饰呈正相关	[57]
AD (n=11) 对照 (n=4) ⁶⁾	颞叶组织	蛋白质印迹分析	H3K18ac ↓ H3K23 ac ↓	AD 颞叶的组蛋白乙酰化显著低于老年对照组	[58]

¹⁾ 所有患者平均年龄为77.43岁, AD患者平均Braak阶段为6.00, 健康人群平均 Braak 阶段为1.30; ²⁾ AD患者平均年龄为 (80.4±4.7) 岁, 健康人群平均年龄为 (76.4±7.5) 岁; ³⁾ AD患者平均年龄为 (79±1) 岁, MCI平均年龄为 (78±1) 岁, 健康人群平均年龄为 (75±1) 岁; ⁴⁾ AD患者平均年龄为80.1岁, 健康人群平均年龄为87.3岁; ⁵⁾ 颞下回组AD患者平均年龄为 (74.1±9.1) 岁, 健康人群平均年龄为 (58.9±20.6) 岁; ⁶⁾ AD患者平均年龄为85.2岁, 健康人群平均年龄为69.3岁。

Table 4 Effects of different interventions mediated histone modification on different strains of mice

表4 不同干预手段介导组蛋白修饰对不同品系小鼠的影响

小鼠品系	月龄	干预手段	表观遗传修饰变化	表观遗传学评估方法	病理特征变化	参考文献
5×FAD ¹⁾	8	喂食G9a/GLP组蛋白甲基转移酶抑制剂UNC0642	海马H3K9me2 ↓	蛋白质印迹分析	Aβ减少, 挽救小鼠认知障碍	[17]
5×FAD ²⁾	5~6	注射EHMT1/2抑制剂BIX01294	前额皮层 H3K9me2 ↓	蛋白质印迹分析	谷氨酸受体功能和兴奋性突触功能恢复	[59]
3×Tg-AD ³⁾	9	选择性 HDAC3 抑制剂RGFP-966	H4K12乙酰化 ↑	蛋白质印迹分析	Tau蛋白磷酸化和Aβ ₄₂ 合成减少, 空间记忆能力改善	[60]
APP/PS1 ⁴⁾	7	注射丙戊酸	海马H3乙酰化 ↑	蛋白质印迹分析	Aβ和炎症因子减少, 空间记忆能力改善	[61]
APP/PS1	6~7	口服萝卜硫素	皮层H3K9ac、 H4K12ac ↑	蛋白质印迹分析	Aβ合成减少, 认知记忆功能改善	[62]
PS19 ⁵⁾	5~6	注射Sgk1抑制剂WDR5-0103	前额皮层 H3K4me3 ↓	蛋白质印迹分析	Tau蛋白过度磷酸化减少, 谷氨酸受体功能恢复, 认知记忆功能改善	[63]
C57BL/6	—	暴露于铅 ⁶⁾	皮层H3K9ac、 H3K4me2 ↓ H3K27me3 ↑	蛋白质印迹分析	认知记忆功能损伤	[64]

— 表示无数据; ¹⁾ 5×FAD: 携带人类淀粉样前体蛋白 (K670N/M671L+I716V+V717I) 和人类早老素1 (M146L+L286V) 的转基因小鼠, 背景为B6SJL-Tg, GLP; G9a样蛋白 (G9a-like protein); ²⁾ 5×FAD: 同上; ³⁾ 3×Tg AD: APP sw/PS1 M146V/Tau P301L转基因小鼠; ⁴⁾ APP/PS1双转基因小鼠背景为B6C3-Tg; ⁵⁾ PS19: P301S转基因Tau小鼠遗传背景为 (C57BL/6×C3H) F1; ⁶⁾ 暴露于铅诱导C57BL/6J小鼠为AD模型。

2.1 组蛋白甲基化/去甲基化与AD发生发展

已往研究认为, 组蛋白中N-CH₃键具有高热力学稳定性, 因而难以去除甲基基团, 甲基化修饰是不可逆转的。直到最新研究发现, 组蛋白甲基化和组蛋白去甲基化在生命进程中处于动态平衡, 组蛋白甲基化是在组蛋白甲基化转移酶 (histone methyltransferase, HMT) 催化下在氨基酸残基中添加甲基基团, 而组蛋白去甲基化则通过组蛋白去甲基化酶 (histone demethylase, HDM) 将甲基基团脱去。

目前发现的HMT主要有常染色质组蛋白赖氨酸甲基转移酶2 (euchromatic histone lysine methyltransferase 2, EHMT2/G9a)、混合谱系白血病蛋白1 (mixed lineage leukaemia protein-1, MLL1)、SET结构域蛋白1A (SET domain containing 1A, SETD1A)、SET结构域蛋白1B (SET domain containing 1B, SETD1B)、ZESTE同源物增强子2 (enhancer of zeste homolog 2, EZH2)、去甲基化酶有赖氨酸特异性去甲基化酶1 (lysine-specific demethylase 1, LSD1) 以及含有Jumonji C结构域 (Jumonji C domain-containing, JMJD) 蛋白家族。组蛋白甲基化的常见作用位点包括赖氨酸 (Lys) 残基上组蛋白H3的K4、K9、K27、K36、K79及组蛋白H4的K20, 精氨酸 (Arg) 残基上组蛋白H3的R2、R17、R26及组蛋白H4的R3, 以及Lys残基上组蛋白H1的N末端, 这些氨基酸残基上不同程度的甲基化水平, 大大增加了组蛋白修饰和基因表达的复杂性。组蛋白甲基化与转录激活和抑制有关, 而且取决于其被修饰的氨基酸残基的位置及残基上甲基基团的数目。对CK-p25 AD小鼠海马组织进行ChIP-seq分析揭示了记忆认知功能的改变主要与位于启动子的H3K4me3有关, 而异染色质或多梳区域的H3K9me3和H3K27me3影响较小^[65]。小鼠海马中H3K4me3和H3K9me2在长期记忆的形成过程中起重要作用。不同的是, H3K9me2与基因沉默有关, 而H3K4me3与基因激活有关^[66-67]。G9a是一种具有SET结构域的组蛋白甲基化转移酶, 参与体内H3K9me2修饰^[68], GLP最初被描述为编码G9a样蛋白的基因, 与G9a在组蛋白上具有相同的底物特异性。G9a/GLP复合物与记忆和学习有关, 参与长时程增强 (long-term potentiation, LTP), 维持突触可塑性以及上调BDNF^[69]。用G9a/GLP抑制剂UNC0642作用于5×FAD转基因小鼠, 可以降低

H3K9me2并改变5mC和5hmC的总体水平, 增加突触可塑性和减少神经炎症, 防止Aβ斑块积聚和提高认知能力^[15]。因此, 抑制G9a/GLP活性可能是治疗AD潜在的靶点。SET1/MLL家族表达上调是导致机体内H3K4me3异常升高的潜在原因, 研究发现, 抑制SET1/MLL HMT催化活性, 能够降低PFC中H3K4me3水平, 恢复谷氨酸能突触受体表达且增加PFC突触可塑性, 进一步改善AD小鼠认知障碍^[63]。

目前已发现的HDM包括两种: 赖氨酸特异性去甲基化酶 (lysine-specific histone demethylase, LSD/KDM1), 属于黄素腺嘌呤二核苷酸 (flavin adenine dinucleotide, FAD) 依赖性胺氧化酶的超家族; JMJD蛋白家族, 以Fe²⁺和α-酮戊二酸 (α-ketoglutaric acid, α-KG) 为辅离子, 属于α-酮戊二酸氧化酶超家族, 其中LSD1是第一个被发现的组蛋白去甲基化酶。在FAD的参与下, LSD1在体外可以特异去除H3K4的一甲基和二甲基修饰, 在体内则可以去除H3K9的一甲基和二甲基修饰。LSD1参与NSCs的正常表达, 并参与学习和记忆的维持^[70]。研究发现, 敲除LSD1能够激活Klf4、Myc和Foxo1 3个多能性基因, 并诱发AD病变, 这表明LSD1抑制多能性基因转录及阻止AD发生^[71]。同时, 研究发现, 在海马神经元中过表达LSD1可以挽救细胞死亡, 并抑制炎症反应发生, 提示提高LSD1介导的组蛋白去甲基化有助于抑制细胞凋亡和炎症^[72]。然而正常情况下LSD1分布在细胞核内, 根据AD患者尸体检查发现, NFT中存在LSD1蛋白积累, 且均异常定位于细胞质中, 病理性Tau蛋白可将LSD1隔离在细胞质, 并消耗细胞核中LSD1, 从而加速神经元死亡^[71-72]。含有Jumonji域的蛋白质3 (Jumonji domain-containing proteins, JMJD3) 又称为赖氨酸特异性去甲基酶6B (lysine-specific demethylase 6B, KDM6B), 是一种组蛋白H3K27去甲基酶, 在成人脑室下区域神经发生的重要激活剂。高表达JMJD3将增强DLX2、MLL1和MASH1等相关基因H3K27me3去甲基化, 进而促进神经元分化^[73-74]。

综上, 组蛋白甲基化和去甲基化与认知记忆能力有密切联系, 通过调节G9a/GLP复合体和SET1/MLL HMT家族活性, 调节H3K4me3和H3K9me2水平, 影响认知相关基因表达; 也可以通过作用LSD1和JMJD3, 调节神经元增殖分化, 进一步改善AD认知障碍。

2.2 组蛋白乙酰化/去乙酰化与AD发生发展

组蛋白乙酰化和去乙酰化修饰过程分别由组蛋白乙酰转移酶 (histone acetylases, HATs) 和组蛋白去乙酰酶 (histone deacetylases, HDACs) 催化产生。HATs使组蛋白发生乙酰化修饰, 组蛋白乙酰化导致赖氨酸残基正电荷被中和, 进而使染色质的正电荷与脱氧核糖核酸负电荷分离, 核小体结构疏松, 从而增强转录。HATs包括CREB结合蛋白 (CREB binding protein, CBP)^[75]、p300^[76]或p300/CBP相关因子 (p300/CBP-associated factor, PCAF)^[77], 它们与短期记忆 (short-term memory, STM) 和长期记忆 (long-term memory, LTM) 维持有关。正常机体形成空间记忆过程中, 海马区CBP、p300和PCAF表达和活性上调^[77]。在海马区利用小干扰RNA (small interfering RNA, siRNA) 或药物靶向抑制CBP或p300发现损害LTM, 而抑制PCAF会损害STM和LTM, 提示不同类型的HATs对短长期记忆的作用效果有差异^[78]。AD患者海马和额叶皮质均出现CBP表达水平的显著降低, 且额叶皮质F2区还发现PCAF水平显著降低^[54], AD患者额叶以及APP/PS1小鼠海马中组蛋白乙酰化水平显著降低^[58, 79], 提示HATs减少介导组蛋白乙酰化水平下降可能与AD记忆衰退有关。

HDACs则通过去除Lys残基末端乙酰基团而使组蛋白发生去乙酰化, 从而抑制转录。AD患者脑区中高水平的去乙酰化酶与其认知记忆障碍相关。研究发现, AD患者海马和额叶区域均可见高水平的HDACs^[58, 79], HDAC2和HDAC6在AD患者的皮质和海马中过表达^[80]。HDAC2可以通过调节PKA依赖的环磷腺苷效应元件结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB) 磷酸化抑制记忆相关基因的表达^[81]。在HDAC2过表达小鼠中, 沿海马CA1区锥体神经元和齿状回 (dentate gyrus, DG) 颗粒层神经元树突棘密度显著降低, 且在CA1区纹状体中突触素表达也显著降低, 表明HDAC2高表达则会抑制神经元结构和功能^[81]。因此I类HDAC, 尤其是HDAC2和HDAC3被认为是记忆巩固的负调节剂^[81-82]。与此相反, HDAC6通过使微管蛋白去乙酰化, 在改善微管稳定性中起关键作用^[83]。HDAC表达减少增加 α 微管蛋白乙酰化, 将促使泛素锌指结合域 (binder of ubiquitin zinc finger domain, BUZ) 与泛素化的底物蛋白结合, 沿微管将异常蛋白运输到微

管组织中心形成聚集体, 从而经自噬-溶酶体通路清除错误折叠和聚集的蛋白质, 通过进一步减轻异常蛋白质积累, 发挥神经保护作用^[84]。抑制HDAC6可有效清除Tau和A β ^[85]。随着不断深入研究, 发现HDAC抑制剂 (HDAC inhibitors, HDACis) 在对抗神经病理和认知障碍方面的具有潜在作用。Pan-HDAC抑制剂 (如丙戊酸、曲古抑菌素A、4-苯基丁酸钠和伏立诺他 (vorinostat)) 与锌依赖性HDAC蛋白 (I类、II类和IV类) 相互作用, 参与调控A β 沉积及Tau过度磷酸化, 进而影响AD病理改变^[86]。III类NAD⁺依赖性HDAC的竞争性抑制剂 (如烟酰胺) 选择性地抑制苏氨酸 (Thr) 第231位点上Tau磷酸化, 并增加了乙酰化 α 微管蛋白的表达, 可用于治疗AD^[87]。以上研究结果, 提示HDACis在治疗AD具有潜在疗效。

综上, HATs介导组蛋白乙酰化调控短期和长期记忆, 提高HATs活性有助于记忆形成。HDACs介导的组蛋白去乙酰化参与神经元突触可塑性、A β 沉积及Tau磷酸化, 影响AD神经病理和记忆能力。HDAC2、HDAC3和HDAC6是记忆巩固的负调节剂。利用HDACis抑制HDAC2、HDAC3和HDAC6表达, 可以清除A β 和Tau蛋白, 有效对抗神经病理和认知障碍。

3 RNA上m6A修饰对AD的调控作用

在mRNA上N⁶甲基腺苷 (N⁶-methyladenosine, m6A) 修饰水平的改变对神经干细胞分化及突触功能调控具有重要影响。目前已发现m6A甲基转移酶有甲基转移酶3 (methyltransferase like 3, Mettl3) 和甲基转移酶14 (methyltransferase like 14, Mettl14), m6A去甲基酶有ALKBH5和脂肪量和肥胖相关蛋白 (fat mass and obesity-associated protein, FTO), m6A结合蛋白有YTH结构域家族蛋白 (YTHDF1-3和YTHDC1-2)。m6A结合蛋白通过与mRNA结合来提高翻译效率及加速RNA降解。对处于增殖和分化条件下的aNSCs样品进行MeRIP-seq显示m6A主要富集于神经发生和发育有关的转录本, 因此m6A水平异常可能影响神经发育相关蛋白表达, 干扰正常神经功能^[88]。

Mettl3和Mettl14作为m6A甲基化转移酶, 通过改变m6A水平, 调控神经分化程度及突触可塑性。研究发现, 5 $\times$ FAD小鼠大脑中m6A修饰水平相较于正常小鼠低^[89]。已有研究证明, AD患者海马中Mettl3表达降低^[90]。在小鼠和人类胚胎干细

胞中失活 Mettl3 将导致 m6A 水平降低, 从而使神经元从自我更新到分化的过程受到严重抑制^[91]。研究发现, 在正常小鼠 NSCs 敲除 Mettl14 基因, m6A 水平降低, 导致 NSCs 增殖数量明显减少, 并伴有过早的神经元分化, 表明 m6A 修饰能够促进 NSC 自我更新并阻止细胞的过早分化, 从而确保神经干细胞库的储备^[92]。FTO 作为 m6A 去甲基化酶, 能够动态调控神经系统的发育及神经递质的传递, 参与调控胰岛素, 并诱发 AD^[93-94]。近期研究发现, 在 5×FAD 小鼠脑组织中, FTO 表达水平上调^[89]。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 是一种蛋白激酶, 在胰岛素信号通路中起着至关重要的作用, 与胰岛素缺陷导致的 AD 有关^[95]。在 3×Tg-AD 小鼠脑组织中发现, FTO 能够激活下游 mTOR, 促进 Tau 磷酸化^[94]。相反, 降低 FTO 表达将增加 m6A 水平, 达到改善记忆的目的^[96]。

另外, 一些研究指出在 m6A 修饰过程中, YTH 结构域家族蛋白能够增强突触信号传递效率及突触蛋白合成, 从而改善小鼠学习记忆能力。敲除 YTHDF1 或 YTHDF3 发现神经元形态异常改变, 自发兴奋性突触传递减弱并抑制突触蛋白的翻译^[97]。利用 shRNA 敲低小鼠 Mettl3 或 YTHDF1 发现海马突触信号传递和 LTP 受损, 从而导致记忆能

力及突触可塑性降低^[98]。以上研究揭示, m6A 甲基化主要通过 YTHDF1 和 YTHDF3 促进记忆相关转录本的翻译, 增加神经系统信号传递功能, 从而提高学习记忆能力。另外, m6A 还可能在神经元修复和轴突再生中发挥关键作用。轴突损伤后发现 m6A 水平升高, 而 YTHDF1 将促进参与轴突再生和恢复的蛋白质合成, 导致 mRNA 翻译增强^[99]。

综上, m6A 甲基转移酶 Mettl3、Mettl14 和去甲基化酶 FTO 协同作用调节神经元分化及突触可塑性, 从而影响认知能力。m6A 结合蛋白 YTHDF1 和 YTHDF3 则在翻译水平上影响突触蛋白合成, 从而改变神经系统信息传递效率, 调控记忆发生。因此, 通过靶向作用于 Mettl3、Mettl14、FTO、YTHDF1 和 YTHDF3 调控 m6A 水平, 可能有助于改善 AD 中神经元凋亡和神经突触的丢失, 进而改善记忆功能障碍。

4 非编码RNA对AD的调控作用

非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 指无法翻译蛋白质的 RNA 分子。已有研究证实, 在 AD 患者外周循环 (血清、血浆、外泌体、全血、外周血单核细胞) 和脑脊液中检测到异常表达的 ncRNA, 其引起 Aβ 聚集、Tau 磷酸化、神经炎症、突触可塑性和自噬等病理生理过程 (表 5)。通过

Table 5 Study on the relationship between genomic ncRNAs and AD risk in patient
表5 患者基因组ncRNAs与AD风险相关性研究

病例	样本来源	检测手段	表观遗传修饰变化	表观遗传修饰改变与AD风险相关程度	参考文献
AD (n=50) 对照 (n=49) ¹⁾	脑脊液	qRT-PCR	miR-29a-3p ↑	可作为辅助AD诊断的生物标志物	[100]
AD (n=29) NCI (n=7) ²⁾	颞叶组织	qRT-PCR	miR-298 ↓	与BACE1、APP表达有关	[101]
AD (n=26) 对照 (n=19) ³⁾	上颞叶新皮质组织	miRNA阵列	miR-34a ↑	与AD神经病理学改变有关	[102]
AD (n=7) TPD (n=21) 对照 (n=20) ⁴⁾	脑组织	qPCR	miR-219 ↓	参与调节Tau蛋白沉默	[103]
AD (n=15) 对照 (n=14) ⁵⁾	内嗅皮层组织	NFT 相关 lncRNA-mRNA网络分析	lncRNA AP000265.1、KB-1460A 1.5、RP11-145M9.4	在AD NFT发挥重要作用	[104]
AD (n=9) 对照 (n=8) ⁶⁾	皮层组织	RNA-seq	miR3180-2 ↑、miR3180-3 ↑、RP3-522J7 ↑	与AD神经病理学改变有关	[105]

¹⁾ AD患者平均年龄为 (69.52±7.27) 岁, 健康人群平均年龄为 (67.78±9.43) 岁; ²⁾ 病例年龄段无数据; ³⁾ AD患者平均年龄为 (76.1±9.3) 岁, 健康人群平均年龄为 (75.4±8.5) 岁; ⁴⁾ AD患者平均年龄为 (93±3.9) 岁, 缠结型痴呆患者 (tangle-predominant dementia, TPD) 平均年龄为 (89±3.4) 岁, 健康人群平均年龄为 (89±4.5) 岁; ⁵⁾ AD患者平均年龄为 (84.7±7.5) 岁, 健康人群平均年龄为 (80.1±7.9) 岁; ⁶⁾ 病例年龄段无数据。

调控 ncRNA, 策略有两种方式: a. 直接调节 ncRNA 表达; b. 应用 siRNA 或 ncRNA 模拟物操控 ncRNA 表达。靶向抑制或促进 ncRNA 表达, 可影响下游 BACE、APP 等靶基因的表达, 进而治疗

AD (表6)。因此, 靶向调控 ncRNA 可能成为 AD 的治疗策略之一, 但仍需深入研究 ncRNA 靶点以提高治疗效果。

Table 6 Effects of different interventions mediated ncRNAs on different strains of mice

表6 不同干预手段介导ncRNAs对不同品系小鼠的影响

小鼠品系	月龄	干预手段	表观遗传 修饰变化	表观遗传学 评估方法	病理特征变化	参考 文献
SAMP8 ¹⁾	6	注射BACE1-AS siRNA	海马BACE1-AS ↓	qRT-PCR	Aβ合成和Tau蛋白磷酸化减少, 学习记忆能力改善	[106]
3×Tg-AD ²⁾	12	注射AMPK-siRNA	海马miR-101b	qRT-PCR	Tau蛋白病变和树突损伤减弱, 挽救小鼠记忆缺陷	[107]
APP/PS1 ³⁾	—	辛伐他汀治疗	皮层miR-106b、 lncRNA n336694 ↓	qRT-PCR	Aβ合成减少, 神经元存活率增加, 挽救小鼠记忆缺陷	[108]
APP/PS1	9	蛇床子素治疗	海马miRNA-101a-3p ↑	微阵列分析	Aβ合成减少, 学习记忆能力改善	[109]
APP/PS1	8	自愿运动	海马miR-129 - 5p ↑	qRT-PCR	炎症反应减少和认知功能改善	[110]
APP/PS1	7	胃内给予当归芍药散	脑组织lnc RNA AI504432 ↑、 RP24-454N4.2 ↓	qPCR	Aβ合成减少, 挽救小鼠记忆缺陷	[111]
5×FAD TG ⁴⁾	4~6	注射MAGL选择性抑制剂JZL184 ⁵⁾	海马miR-188-3p ↑	RT-PCR	Aβ合成和炎症反应减少, 突触可塑性增加, 认知功能改善	[112]

—表示无数据; ¹⁾ SAMP8: AD小鼠模型, BACE1反义 (BACE1 antisense, BACE1-AS); ²⁾ 3×Tg-AD: Tg (APPSwe, tauP301L) 1Lfa转基因小鼠; ³⁾ APP/PS1双转基因小鼠背景为B6C3-Tg; ⁴⁾ 5×FAD TG: APP (695) /M146L/L286V转基因小鼠; ⁵⁾ MAGL: 单酰基甘油酯脂肪酶 (monoacylglycerol lipase), 能够水解2花生四烯酰甘油。

4.1 miRNA与AD发生发展

microRNA (miRNA) 是长度为22个核苷酸的小分子 ncRNAs, 广泛存在于血液、外泌体、CSF、脑组织等部位。目前已被证明是一种参与AD发生的潜在调节因子。

miRNA 最初以 pri-miRNA 转录初产物形式存在于细胞核中, 经 RNase III 酶 Drosha 加工转化为由 60 个氨基酸组成的茎环状 miRNA 前体 (pre-miRNA), 随后通过输出蛋白 5 (exportin-5, Exp-5) 和 Ran-GTP 输出到细胞质中。在细胞质中, pre-miRNA 被内切核酸酶 Dicer 进一步加工以产生双链 miRNA。其中成熟 miRNA 同具有催化活性的 Argonaute (AGO) 蛋白一起形成 RNA 介导的沉默复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC), RISC 可通过结合特定信使 RNA (message RNA, mRNA) 的 3'非翻译区 (3'-untranslated regions, 3'-UTRs), 从而靶向抑制转录后翻译或诱导目标 mRNA 及 miRNA 降解, 提示 miRNA 通过结合 mRNA 3'-UTR 来抑制目的基因表达。研究显示, AD 患者病理改变同时伴随大量 miRNA (miR-29c、miR-124、miR-195、miR-219、miR-132/212、

miR-101、miR-124、miR-193b 等) 表达水平下调, 以及少部分 miRNA (miR-7、miR-9、miR-34a、miR-125b、miR-146a 和 miR-155 等) 表达水平上调^[113]。关于 miRNA 调控 AD 发病机制的研究非常广泛, 但总体围绕 5 个方向研究: a. 通过直接改变 APP 表达影响 Aβ 水平; b. 通过改变 BACE1 表达影响 Aβ 水平; c. 直接调节 Tau 磷酸化; d. 参与突触可塑性; e. 调控神经炎症发生发展。

miRNA 可直接或间接调节 Aβ 形成。近年研究发现, miR-17-5p、miR-31-5p、miR-101-3p、miR-144-3p、miR-153-3p、miR-200c-3、miR-381-3p、miR-383-5、miR-497-5p 均可以与人源或鼠源 APP mRNA 3'-UTR 相结合, 降低 APP 表达^[114-115]。用特定保护剂阻断 miR-101-3p 与 APP mRNA 3'-UTR 相结合, 导致 HeLa 细胞中 APP 表达水平增强^[116]。在 C57BL/6J 小鼠脑中敲除 miR-101, 抑制 miRNA-101 与肝细胞核因子 4α (hepatocyte nuclear factor 4α, HNF-4A) 结合, 使 AMP 活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 过度磷酸化, 导致小鼠表现出认知功能障碍, 提示 miR-101 介导 HNF-4A/AMPK 通路参与维持认知功能^[107]。

与其他 miRNA 不同的是, miR-346 与 APP mRNA 5'UTR 相结合, 能够上调 HeLa 细胞 APP 水平, 但在 AGO 2 表达减少情况下, miR-346 活性降低, 其促进 A β 生成的能力减弱^[117]。miR-29 家族 (hsa-miR-29a、hsa-miR-29b、hsa-miR-29c) 特异性调节 BACE1 间接影响 A β 沉积。研究发现, AD 患者脑组织神经原纤维缠结周围发生 TATA 结合蛋白 (TATA-binding protein, TBP) 异常积累, 导致脑内干扰素 γ (interferon-gamma, IFN- γ) 释放增加, IFN- γ 激活 STAT1 信号通路, 从而抑制 miR-29a/b 表达^[118]。在 AD 患者脑组织和外周血中 miR-29 表达显著下降, 而 BACE1 表达和活性增强^[119-120]。体外研究表明, 在 SH-SY5Y 细胞中提高 miR-29c 水平, 可以使得 BACE1 和 APP- β 蛋白水平显著降低, 进一步分析发现 miR-29c 通过靶向与 BACE1 mRNA 3'-UTR 相结合, 抑制 BACE1 表达^[120]。miR-29c-3p 还可以直接靶向与肿瘤坏死因子- α 诱导蛋白 1 (tumor necrosis factor- α -inducible protein-1, TNFAIP1) mRNA 3'-UTR 相结合, 过表达 miR-29c-3p 可以抑制 TNFAIP1 表达, 进而调节 NF- κ B 信号通路, 减弱 A β 沉积^[121], 提示 miR-29 通过抑制 BACE1 和 TNFAIP1 表达, 降低 A β 沉积。miR-31 能够降低 3 $\times$ Tg-AD 小鼠海马中 APP 和 BACE1 mRNA 的表达, 进而抑制海马中 A β 沉积^[114], 表明 miR-31 通过调控 BACE1 表达间接影响 A β 沉积。

miRNA 可直接调节 Tau 基因表达和代谢。miR-34a 在 AD 患者脑组织和血液中表达上调, miR-34a 与 Tau mRNA 3'UTR 结合, 可以降低 Tau 蛋白水平^[122]。miR-219 在 AD 患者脑组织中表达下调, miR-219 表达减少促使 Tau 蛋白合成, 并加剧 Tau 蛋白的神经毒性^[103]。miR-128a 与 BAG2 mRNA 3'UTR 结合, 降低 BAG2 表达, 而 BAG2/Hsp70 复合物与微管相连, 将 Tau 蛋白输送至蛋白酶体进行降解, 提示 miR-128a 可以参与 BAG2/Hsp70/Tau 降解机制^[123]。蛋白激酶和磷酸酶之间的平衡决定 Tau 蛋白磷酸化状态。miRNA 也可调控 Tau 蛋白磷酸化。过表达 miR-125b 可激活细胞周期蛋白依赖性激酶 5 (cyclin-dependent kinase 5, CDK5), 进而诱导 Tau 过度磷酸化^[124]。miR-124 通过激活非受体型蛋白磷酸酶 1 (non-receptor-type protein phosphatase 1, PTPN1) 信号传导通路, 可诱导糖原合酶激酶 3 (glycogen synthase kinase-3, GSK-3) 激活和蛋白磷酸酶 2A (protein

phosphatase 2A, PP2A) 失活^[125], 提示 miR-124 参与调控 Tau 蛋白激酶/磷酸酶平衡。APP/PS1 转基因小鼠海马和大脑皮层中 miR-137 表达水平降低, 钙电压门控通道亚基 α -1C (calcium voltage-gated channel subunit alpha-1 C, CACNA1C) 蛋白表达增加, 提示 miRNA 可通过调节电压门控钙通道介导钙进入神经元并调控如突触可塑性^[126]。在 rTg4510 小鼠 (Tau 小鼠模型) 大脑皮质神经元中过表达 miR-142 出现胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP) 和集落刺激因子 1 (colony stimulating factor 1, CSF1) 的 mRNA 水平增高, 并伴随小胶质细胞和星形胶质细胞增生, 提示过表达 miR-142 可能诱发 Tau 小鼠模型脑内神经炎症反应^[127]。

综上, 大部分 miRNA (miR-29、miR-31、miR-101、miR-346 等) 直接或通过调控 BACE1 间接影响 A β 沉积, 部分 miRNA (miR-34a、miR-219、miR-128a、miR-125b、miR-124) 间接调控 Tau 表达或直接影响 Tau 蛋白过度磷酸化, miR-137 调控突触可塑性以及 miR-142 影响炎症发生, 从而在多方面引起 AD 病理改变。

4.2 长链非编码 RNA 与 AD 发生发展

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 属于内源性 ncRNAs, 长度超过 200 nt。研究发现, 多种 lncRNA 在脑组织中特异性表达, 分布于细胞核、细胞质和线粒体中。lncRNA 参与调控 A β 沉积、神经发育、突触可塑性和神经营养因子分泌等生物过程。迄今为止研究最多的 lncRNA 是 BACE1-AS, 由定位于 11 号染色体 BACE1 基因座位 (11q23.3) 的对侧链转录而成, 其作用是在 mRNA 和蛋白质水平上调节 BACE1 表达。BACE1-AS 可与 BACE1 mRNA 形成双链结构复合物, 避免 BACE1 mRNA 被核酸酶或 miR-485-5p 降解, 增加 BACE1 mRNA 稳定及蛋白质的高表达^[128], 提示上调 BACE1-AS 可促使 A β 生成。在 AD 患者脑部持续产生的 A β 可以诱导 BACE1-AS 表达上调, A β 和 BACE1-AS 之间形成正反馈机制, 进一步促进 A β 表达, 加剧病理恶化^[129]。敲除 BACE1-AS, 可以改善 AD 小鼠学习记忆能力^[106]。通过判断血浆 BACE1-AS 含量改变, 可以诊断 AD 进展情况^[130]。此外, BACE1-AS 还参与细胞损伤和细胞凋亡途径。自噬被认为是除降解酶外最重要的 A β 清除途径。因此, 自噬-溶酶体系统调控异常被认为是病理条件下产生 A β 的关键途径。自噬相

关基因5 (autophagy-related genes 5, ATG5) 是AD患者机体内一个关键的自噬基因, 在AD患者的血浆样本中表达增加^[131]。BACE1-AS通过与miR-214-3p结合位点相互作用, 导致miR-214-3p靶基因ATG5蛋白含量增加, 从而促进自噬介导的神经元损伤作用^[132]。黄连素治疗联合BACE1-AS敲除能够降低miR-132-3p表达, 减轻A β_{25-35} 诱导的神经元损伤^[133]。脑细胞质200 (brain cytoplasmic 200, BC200) 主要在海马和新皮质神经元的胞体和树突中表达^[134]。BC200通过与真核起始因子4A (eukaryotic initiation factor 4, eIF4A) 相结合, 参与维持突触可塑性^[135]。敲除BC200能够抑制BACE1表达, 增加AD细胞模型中细胞存活率^[136]。但是, 有研究指出AD患者脑组织BC200表达增加, 可能是由于神经元突触退化后发生代偿, 导致BC200发生错误定位及在体细胞的过度表达^[137]。

参与神经营养因子分泌的lncRNA主要有BDNF-AS和GDNFOS两种。BDNF-AS是BDNF的天然反义转录物, 在机体内抑制BDNF表达。研究发现, 敲低BDNF-AS将提高BDNF mRNA水平, 增加BDNF蛋白表达, 有利于神经元生长和分化^[138]。A β_{25-35} 诱导细胞内BDNF-AS含量增加, 导致嗜铬细胞瘤12 (pheochromocytoma, PC12) 细胞存活率下降。敲除BDNF-AS后, PC12细胞中BDNF表达显著提升, 抑制细胞色素C (cytochrome C, CytC) 释放, 降低CC3 (cleaved caspase-3) 和Bcl-2相关X蛋白 (Bcl-2-associated X protein, Bax) 表达, 提示BDNF-AS参与线粒体介导细胞凋亡^[139]。以上结果表明, 靶向抑制BDNF-AS对治疗AD有积极影响。胶质细胞源性神经营养因子 (glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF) 是一种重要的生物活性营养因子, 能够营养神经细胞, 促进神经元存活, 并参与轴突损伤修复。机体内GDNF消耗与AD发病存在密切关系。lncRNA GDNFOS1和GDNFOS2是GDNF的反义转录物, 可与GDNF mRNA 5'-UTR外显子结合, 抑制GDNF前体表达, 导致GDNF蛋白水平下降^[140]。而在AD患者血清中GDNF表达显著下调, 提示lncRNA GDNFOS1和GDNFOS2可能参与调控GDNF表达, 进而阻断神经保护作用^[141]。

综上, 随lncRNA的研究不断拓展, 发现lncRNA是AD的理想生物标志物。血浆BACE1-AS含量改变可诊断AD进展情况, 同时BACE1-AS上

调与A β 生成形成正反馈机制, 加速机体细胞损伤和凋亡机制; 脑组织过表达BC200, 提高BACE1表达以加速A β 沉积。lncRNA BDNF-AS和GDNFOS则分别通过抑制BDNF和GDNF表达, 抑制神经发育。

5 结论与展望

表观遗传修饰在AD神经病理和认知功能中发挥重要的调控作用。临床分别采集AD患者CSF、外周血或脑组织样本进行检测, 发现异常的DNA修饰、组蛋白修饰、RNA修饰、ncRNAs等表观遗传修饰与AD发生发展密切相关, 揭示了表观遗传修饰的改变与AD风险呈显著的相关性且可用于预测或诊断AD。表观遗传修饰是一种动态、可逆的变化过程, 因此通过干预逆转异常的表观修饰, 可达到改善AD的目的。在AD小鼠模型中, 大量研究结果证明通过物理刺激 (运动、丰富环境等)、药物 (蛇床子素、当归芍药散等)、酶抑制剂 (DNA甲基转移酶抑制剂、HDAC抑制剂等)、siRNA等干预方法调控酶的活性或水平, 进而修正异常的表观修饰, 可以调控A β 沉积、Tau蛋白过度磷酸化、突触可塑性、神经炎症反应、神经营养因子释放等, 从而抑制AD病理变化及改善小鼠认知能力 (图1)。

由于临床实验数据采集的样本、病例数、疾病程度、检测手段等存在差异, 导致部分实验结果相悖。目前临床使用操纵表观遗传修饰药物, 主要是HDAC抑制剂, 如西达本胺、伏立诺他 (vorinostat)、罗米地辛 (romidepsin)、帕比司他 (panobinostat)、贝利司他 (belinostat) 等, 这些药物开发最初目的是抗癌, 但是后来研究发现在治疗中枢退行性疾病中也发挥一定治疗作用。抑制剂治疗的瓶颈在于给药方式、药效持续时间和副作用。有些抑制剂药物因不能穿过血脑屏障, 只能采用脑内植入和脑室内注射, 这种创伤性的治疗方法给AD患者造成二次伤害; 有些抑制剂药物半衰期很短, 需要进一步研发脂质体、聚合物胶束或纳米粒为载体材料包裹; 有些抑制剂药物会使得患者产生头痛、恶心、呕吐、腹泻甚至更为严重的副作用, 且治疗成本高、疗效有限。应用药物、物理刺激或遗传学等手段干预调控各种修饰酶的表达水平, 引起全基因组表观遗传修饰的广泛改变, 但不能精确调控单基因的表观修饰, 因此, 目前尚缺乏特异性操控单基因表观遗传修饰的干预手段。研发以单基

因、单一组蛋白或单一 lncRNA 或 miRNA 的表观遗传修饰为靶标的干预手段, 更有助于理解表观遗传机制的具体作用过程。此外, 在表观遗传机制中 DNA 修饰、组蛋白修饰、RNA 修饰和 ncRNA 之间复杂的相互作用共同调控下游靶基因的表达, 因此, 未来研究需全面而系统的探究不同表观修饰在 AD 发生发展进程中内在关系。目前干预治疗措施

大多针对 AD 动物模型, 在临床转化中对 AD 患者的治疗效果仍需进一步探究。将来, 重点研发有效的、安全的、低成本的操纵全基因组表观修饰的药物, 或研发特异性操纵单个表观遗传学靶标的干预方法, 全面而系统地探究表观遗传机制在 AD 病理中的调控作用, 才能真正实现干预可行性、特异性和临床有效性三者合一的治疗效果。

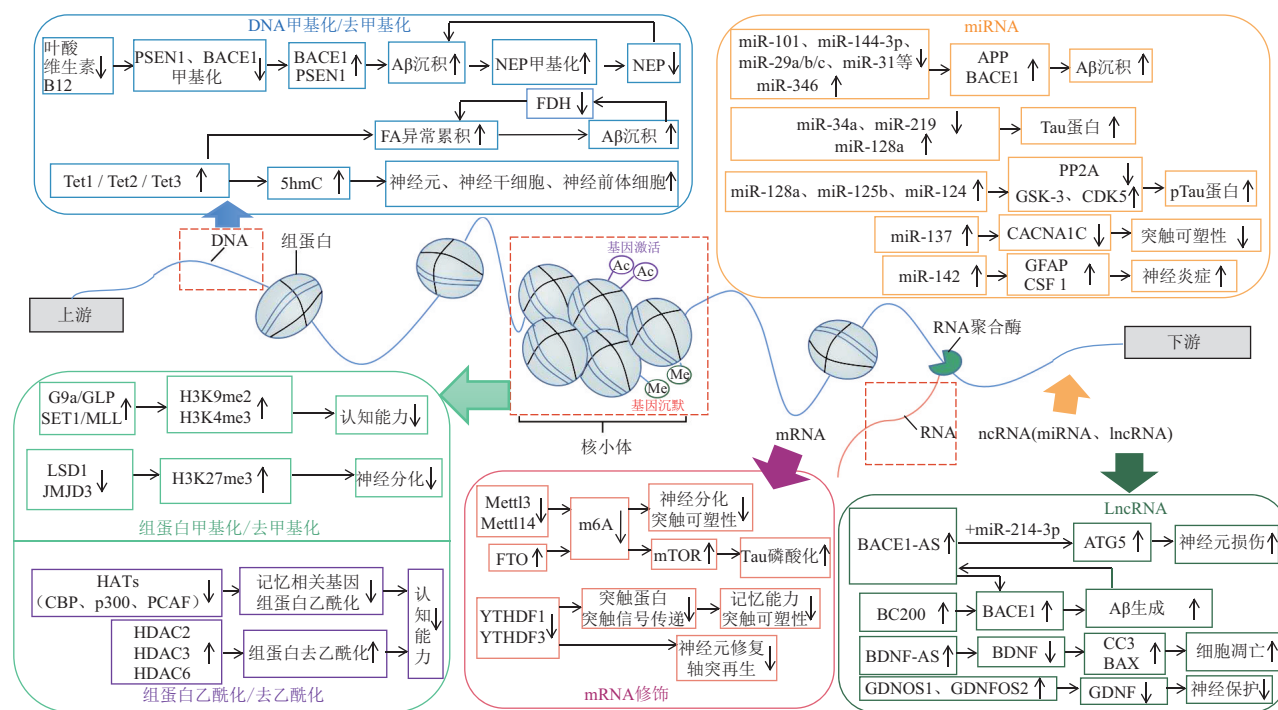


Fig. 1 Mechanism of different epigenetic modifications regulate Alzheimer's disease via multiple pathways

图1 不同表观遗传修饰介导多种途径调控AD的作用机制

参 考 文 献

- [1] Prince M, Comas-Herrera A, Knapp M, *et al.* World Alzheimer's Report 2016: Improving Healthcare for People Living with Dementia: Coverage, Quality and Costs now and in the Future. London: Alzheimer's Disease International, 2016
- [2] Nazarian A, Yashin A I, Kulminski A M. Summary-based methylome-wide association analyses suggest potential genetically driven epigenetic heterogeneity of Alzheimer's disease. *J Clin Med*, 2020, **9**(5): 1489
- [3] Mayo S, Benito-León J, Peña-Bautista C, *et al.* Recent evidence in epigenomics and proteomics biomarkers for early and minimally invasive diagnosis of Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Curr Neuropharmacol*, 2020, **19**(8): 31
- [4] West R L, Lee J M, Maroun L E. Hypomethylation of the amyloid precursor protein gene in the brain of an Alzheimer's disease patient. *J Mol Neurosci*, 1995, **6**(2): 141-146
- [5] Coppieters N, Dieriks B V, Lill C, *et al.* Global changes in DNA methylation and hydroxymethylation in Alzheimer's disease human brain. *Neurobiol Aging*, 2014, **35**(6): 1334-1344
- [6] Altuna M, Urdániz-Casado A, Sánchez-Ruiz De Gordo J, *et al.* DNA methylation signature of human hippocampus in Alzheimer's disease is linked to neurogenesis. *Clin Epigenetics*, 2019, **11**(1): 91
- [7] Smith A R, Smith R G, Pishva E, *et al.* Parallel profiling of DNA methylation and hydroxymethylation highlights neuropathology-associated epigenetic variation in Alzheimer's disease. *Clin Epigenetics*, 2019, **11**(1): 52
- [8] Celarain N, Sánchez-Ruiz De Gordo J, Zelaya M V, *et al.* TREM2 upregulation correlates with 5-hydroxymethylcytosine enrichment in Alzheimer's disease hippocampus. *Clin Epigenetics*, 2016, **8**: 37-47
- [9] Zhao J, Zhu Y, Yang J, *et al.* A genome-wide profiling of brain DNA hydroxymethylation in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2017, **13**(6): 674-688

- [10] Li P, Marshall L, Oh G, *et al.* Epigenetic dysregulation of enhancers in neurons is associated with Alzheimer's disease pathology and cognitive symptoms. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 2246
- [11] Semick S A, Bharadwaj R A, Collado-Torres L, *et al.* Integrated DNA methylation and gene expression profiling across multiple brain regions implicate novel genes in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*, 2019, **137**(4): 557-569
- [12] Andrés-Benito P, Delgado-Morales R, Ferrer I. Altered regulation of KIAA0566, and katanin signaling expression in the locus coeruleus with neurofibrillary tangle pathology. *Front Cell Neurosci*, 2018, **12**: 131-142
- [13] Mano T, Nagata K, Nonaka T, *et al.* Neuron-specific methylome analysis reveals epigenetic regulation and tau-related dysfunction of BRCA1 in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, **114**(45): E9645-E9654
- [14] Pi T, Wei S, Jiang Y, *et al.* High methionine diet-induced Alzheimer's disease like symptoms are accompanied by 5-methylcytosine elevated levels in the brain. *Behav Neurol*, 2021, **2021**: 6683318
- [15] Cao D, Jiang D, Zhou D, *et al.* A comparative study on 5hmC targeting regulation of neurons in AD mice by several natural compounds. *Biomed Res Int*, 2020, **2020**: 5016706
- [16] Zhang Y, Zhang Z, Li L, *et al.* Selective loss of 5hmC promotes neurodegeneration in the mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB J*, 2020, **34**(12): 16364-16382
- [17] Griñán-Ferré C, Marsal-García L, Bellver-Sanchis A, *et al.* Pharmacological inhibition of G9a/GLP restores cognition and reduces oxidative stress, neuroinflammation and β -Amyloid plaques in an early-onset Alzheimer's disease mouse model. *Aging*, 2019, **11**(23): 11591-11608
- [18] Griñán-Ferré C, Izquierdo V, Otero E, *et al.* Environmental enrichment improves cognitive deficits, AD hallmarks and epigenetic alterations presented in 5xFAD mouse model. *Front Cell Neurosci*, 2018, **12**: 224
- [19] Lu X, Yang B, Yu H, *et al.* Epigenetic mechanisms underlying the effects of triptolide and tripchlorolide on the expression of neuroligin-1 in the hippocampus of APP/PS1 transgenic mice. *Pharm Biol*, 2019, **57**(1): 453-459
- [20] Lardenoije R, Van Den Hove D L A, Jung S E, *et al.* Active amyloid- β vaccination results in epigenetic changes in the hippocampus of an Alzheimer's disease-like mouse model. *Curr Alzheimer Res*, 2019, **16**(9): 861-870
- [21] Jabbari K, Bernardi G. Cytosine methylation and CpG, TpG CpA) and TpA frequencies. *Gene*, 2004, **333**: 143-149
- [22] Kochmanski J, Marchlewicz E H, Cavalcante R G, *et al.* Age-related epigenome-wide DNA methylation and hydroxymethylation in longitudinal mouse blood. *Epigenetics*, 2018, **13**(7): 779-792
- [23] Pastor W A, Pape U J, Huang Y, *et al.* Genome-wide mapping of 5-hydroxymethylcytosine in embryonic stem cells. *Nature*, 2011, **473**(7347): 394-397
- [24] Guo J U, Szulwach K E, Su Y, *et al.* Genome-wide antagonism between 5-hydroxymethylcytosine and DNA methylation in the adult mouse brain. *Front Biol (Beijing)*, 2014, **9**(1): 66-74
- [25] Shu L, Sun W, Li L, *et al.* Genome-wide alteration of 5-hydroxymethylcytosine in a mouse model of Alzheimer's disease. *BMC Genomics*, 2016, **17**: 381
- [26] Velmeshev D, Magistri M, Mazza E M C, *et al.* Cell-type-specific analysis of molecular pathology in autism identifies common genes and pathways affected across neocortical regions. *Mol Neurobiol*, 2020, **57**(5): 2279-2289
- [27] Neumann U, Machauer R, Shimshek D R. The β -secretase (BACE) inhibitor NB-360 in preclinical models: from amyloid- β reduction to downstream disease-relevant effects. *Br J Pharmacol*, 2019, **176**(18): 3435-3446
- [28] Chávez-García C, Aguayo-Ortiz R, Dominguez L. Quantifying correlations between mutational sites in the catalytic subunit of γ -secretase. *J Mol Graph Model*, 2019, **88**: 221-227
- [29] Wang S C, Oelze B, Schumacher A. Age-specific epigenetic drift in late-onset Alzheimer's disease. *PLoS One*, 2008, **3**(7): e2698
- [30] Coupland K G, Kim W S, Halliday G M, *et al.* Effect of PSEN1 mutations on MAPT methylation in early-onset Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*, 2015, **12**(8): 745-751
- [31] An Y, Feng L, Zhang X, *et al.* Dietary intakes and biomarker patterns of folate, vitamin B(6), and vitamin B(12) can be associated with cognitive impairment by hypermethylation of redox-related genes NUDT15 and TXNRD1. *Clin Epigenetics*, 2019, **11**(1): 139
- [32] Lin N, Qin S, Luo S, *et al.* Homocysteine induces cytotoxicity and proliferation inhibition in neural stem cells *via* DNA methylation *in vitro*. *FEBS J*, 2014, **281**(8): 2088-2096
- [33] Fuso A, Nicolai V, Cavallaro R A, *et al.* B-vitamin deprivation induces hyperhomocysteinemia and brain S-adenosylhomocysteine, depletes brain S-adenosylmethionine, and enhances PS1 and BACE expression and amyloid-beta deposition in mice. *Mol Cell Neurosci*, 2008, **37**(4): 731-746
- [34] Fuso A, Seminara L, Cavallaro R A, *et al.* S-adenosylmethionine/homocysteine cycle alterations modify DNA methylation status with consequent deregulation of PS1 and BACE and beta-amyloid production. *Mol Cell Neurosci*, 2005, **28**(1): 195-204
- [35] Zhang X, Xi Y, Yu H, *et al.* 27-hydroxycholesterol promotes A β accumulation *via* altering A β metabolism in mild cognitive impairment patients and APP/PS1 mice. *Brain Pathol*, 2019, **29**(4): 558-573
- [36] Klein C, Roussel G, Brun S, *et al.* 5-HIAA induces neprilysin to ameliorate pathophysiology and symptoms in a mouse model for Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun*, 2018, **6**(1): 136
- [37] Hsieh M C, Lai C Y, Ho Y C, *et al.* Tet1-dependent epigenetic modification of BDNF expression in dorsal horn neurons mediates neuropathic pain in rats. *Sci Rep*, 2016, **6**: 37411
- [38] Zhang R R, Cui Q Y, Murai K, *et al.* Tet1 regulates adult hippocampal neurogenesis and cognition. *Cell Stem Cell*, 2013, **13**(2): 237-245

- [39] Li X, Yao B, Chen L, *et al.* Ten-eleven translocation 2 interacts with forkhead box O3 and regulates adult neurogenesis. *Nat Commun*, 2017, **8**: 5903
- [40] Li L, Qiu Y, Miao M, *et al.* Reduction of Tet2 exacerbates early stage Alzheimer's pathology and cognitive impairments in 2×Tg-AD mice. *Hum Mol Genet*, 2020, **29**(11): 1833-1852
- [41] Li L, Miao M, Chen J, *et al.* Role of ten eleven translocation-2 (Tet2) in modulating neuronal morphology and cognition in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 2021, **157**(4): 993-1012
- [42] Santiago M, Antunes C, Guedes M, *et al.* Tet3 regulates cellular identity and DNA methylation in neural progenitor cells. *Cell Mol Life Sci*, 2020, **77**(14): 2871-2883
- [43] Kong X, Gong Z, Zhang L, *et al.* JAK2/STAT3 signaling mediates IL-6-inhibited neurogenesis of neural stem cells through DNA demethylation/methylation. *Brain Behav Immun*, 2019, **79**: 159-173
- [44] Chiba T, Yamada M, Aiso S. Targeting the JAK2/STAT3 axis in Alzheimer's disease. *Expert Opin Ther Targets*, 2009, **13**(10): 1155-1167
- [45] Wu S C, Zhang Y. Active DNA demethylation: many roads lead to Rome. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, **11**(9): 607-620
- [46] Tulpule K, Dringen R. Formaldehyde in brain: an overlooked player in neurodegeneration?. *J Neurochem*, 2013, **127**(1): 7-21
- [47] Tong Z, Han C, Qiang M, *et al.* Age-related formaldehyde interferes with DNA methyltransferase function, causing memory loss in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 2015, **36**(1): 100-110
- [48] Li T, Wei Y, Qu M, *et al.* Formaldehyde and de/methylation in age-related cognitive impairment. *Genes*, 2021, **12**(6): 913
- [49] Liu X, Zhang Y, Wu R, *et al.* Acute formaldehyde exposure induced early Alzheimer-like changes in mouse brain. *Toxicol Mech Methods*, 2018, **28**(2): 95-104
- [50] Zhai R, Rizak J, Zheng N, *et al.* Alzheimer's disease-like pathologies and cognitive impairments induced by formaldehyde in non-human primates. *Curr Alzheimer Res*, 2018, **15**(14): 1304-1321
- [51] Fei X, Zhang Y, Mei Y, *et al.* Degradation of FA reduces A β neurotoxicity and Alzheimer-related phenotypes. *Mol Psychiatry*, 2021, **26**(10): 5578-5591
- [52] Barnes C E, English D M, Cowley S M. Acetylation & Co: an expanding repertoire of histone acylations regulates chromatin and transcription. *Essays Biochem*, 2019, **63**(1): 97-107
- [53] Marzi S J, Leung S K, Ribarska T, *et al.* A histone acetylome-wide association study of Alzheimer's disease identifies disease-associated H3K27ac differences in the entorhinal cortex. *Nat Neurosci*, 2018, **21**(11): 1618-1627
- [54] Schueller E, Paiva I, Blanc F, *et al.* Dysregulation of histone acetylation pathways in hippocampus and frontal cortex of Alzheimer's disease patients. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2020, **33**: 101-116
- [55] Plagg B, Ehrlich D, Kniewallner K M, *et al.* Increased acetylation of histone H4 at lysine 12 (H4K12) in monocytes of transgenic Alzheimer's mice and in human patients. *Curr Alzheimer Res*, 2015, **12**(8): 752-760
- [56] Anderson K W, Turko I V. Histone post-translational modifications in frontal cortex from human donors with Alzheimer's disease. *Clin Proteomics*, 2015, **12**: 26
- [57] Narayan P J, Lill C, Faull R, *et al.* Increased acetyl and total histone levels in post-mortem Alzheimer's disease brain. *Neurobiol Dis*, 2015, **74**: 281-294
- [58] Zhang K, Schrag M, Crofton A, *et al.* Targeted proteomics for quantification of histone acetylation in Alzheimer's disease. *Proteomics*, 2012, **12**(8): 1261-1268
- [59] Zheng Y, Liu A, Wang Z J, *et al.* Inhibition of EHMT1/2 rescues synaptic and cognitive functions for Alzheimer's disease. *Brain*, 2019, **142**(3): 787-807
- [60] Janczura K J, Volmar C H, Sartor G C, *et al.* Inhibition of HDAC3 reverses Alzheimer's disease-related pathologies *in vitro* and in the 3xTg-AD mouse model. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, **115**(47): E11148-E11157
- [61] Xuan A G, Pan X B, Wei P, *et al.* Valproic acid alleviates memory deficits and attenuates amyloid- β deposition in transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol*, 2015, **51**(1): 300-312
- [62] Zhang J, Zhang R, Zhan Z, *et al.* Beneficial effects of sulforaphane treatment in Alzheimer's disease may be mediated through reduced HDAC1/3 and increased P75NTR expression. *Front Aging Neurosci*, 2017, **9**: 121
- [63] Cao Q, Wang W, Williams J B, *et al.* Targeting histone K4 trimethylation for treatment of cognitive and synaptic deficits in mouse models of Alzheimer's disease. *Sci Adv*, 2020, **6**(50): eabc8096
- [64] Eid A, Bihaqi S W, Renehan W E, *et al.* Developmental lead exposure and lifespan alterations in epigenetic regulators and their correspondence to biomarkers of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (Amst)*, 2016, **2**: 123-131
- [65] Gjonneska E, Pfenning A R, Mathys H, *et al.* Conserved epigenomic signals in mice and humans reveal immune basis of Alzheimer's disease. *Nature*, 2015, **518**(7539): 365-369
- [66] Barski A, Cuddapah S, Cui K, *et al.* High-resolution profiling of histone methylations in the human genome. *Cell*, 2007, **129**(4): 823-837
- [67] Gupta-Agarwal S, Franklin A V, Deramus T, *et al.* G9a/GLP histone lysine dimethyltransferase complex activity in the hippocampus and the entorhinal cortex is required for gene activation and silencing during memory consolidation. *J Neurosci*, 2012, **32**(16): 5440-5453
- [68] Shinkai Y, Tachibana M. H3K9 methyltransferase G9a and the related molecule GLP. *Genes Dev*, 2011, **25**(8): 781-788
- [69] Sharma M, Dierkes T, Sajikumar S. Epigenetic regulation by G9a/GLP complex ameliorates amyloid-beta 1-42 induced deficits in long-term plasticity and synaptic tagging/capture in hippocampal pyramidal neurons. *Aging Cell*, 2017, **16**(5): 1062-1072

- [70] Longaretti A, Forastieri C, Toffolo E, *et al.* LSD1 is an environmental stress-sensitive negative modulator of the glutamatergic synapse. *Neurobiol Stress*, 2020, **13**: 100280
- [71] Christopher MA, Myrick DA, Barwick B G, *et al.* LSD1 protects against hippocampal and cortical neurodegeneration. *Nat Commun*, 2017, **8**(1): 805
- [72] Engstrom A K, Walker A C, Moudgal R A, *et al.* The inhibition of LSD1 *via* sequestration contributes to tau-mediated neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, **117**(46): 29133-29143
- [73] Park D H, Hong S J, Salinas R D, *et al.* Activation of neuronal gene expression by the JMJD3 demethylase is required for postnatal and adult brain neurogenesis. *Cell Rep*, 2014, **8**(5): 1290-1299
- [74] Dai J P, Lu J Y, Zhang Y, *et al.* Jmjd3 activates Mash1 gene in RA-induced neuronal differentiation of P19 cells. *J Cell Biochem*, 2010, **110**(6): 1457-1463
- [75] Chen G, Zou X, Watanabe H, *et al.* CREB binding protein is required for both short-term and long-term memory formation. *J Neurosci*, 2010, **30**(39): 13066-13077
- [76] Oliveira A M, Estévez M A, Hawk J D, *et al.* Subregion-specific p300 conditional knock-out mice exhibit long-term memory impairments. *Learn Mem*, 2011, **18**(3): 161-169
- [77] Bousiges O, Vasconcelos A P, Neidl R, *et al.* Spatial memory consolidation is associated with induction of several lysine-acetyltransferase (histone acetyltransferase) expression levels and H2B/H4 acetylation-dependent transcriptional events in the rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology*, 2010, **35**(13): 2521-2537
- [78] Mitchnick K A, Creighton S D, Cloke J M, *et al.* Dissociable roles for histone acetyltransferases p300 and PCAF in hippocampus and perirhinal cortex-mediated object memory. *Genes Brain Behav*, 2016, **15**(6): 542-557
- [79] Francis Y I, Fà M, Ashraf H, *et al.* Dysregulation of histone acetylation in the APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2009, **18**(1): 131-139
- [80] Gräff J, Rei D, Guan J S, *et al.* An epigenetic blockade of cognitive functions in the neurodegenerating brain. *Nature*, 2012, **483**(7388): 222-226
- [81] Guan J S, Haggarty S J, Giacometti E, *et al.* HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity. *Nature*, 2009, **459**(7243): 55-60
- [82] McQuown S C, Barrett R M, Matheos D P, *et al.* HDAC3 is a critical negative regulator of long-term memory formation. *J Neurosci*, 2011, **31**(2): 764-774
- [83] Hubbert C, Guardiola A, Shao R, *et al.* HDAC6 is a microtubule-associated deacetylase. *Nature*, 2002, **417**(6887): 455-458
- [84] Kawaguchi Y, Kovacs J J, McLaurin A, *et al.* The deacetylase HDAC6 regulates aggresome formation and cell viability in response to misfolded protein stress. *Cell*, 2003, **115**(6): 727-738
- [85] Zhang L, Liu C, Wu J, *et al.* Tubastatin A/ACY-1215 improves cognition in Alzheimer's disease transgenic mice. *J Alzheimers Dis*, 2014, **41**(4): 1193-1205
- [86] De Simone A, Milelli A. Histone deacetylase inhibitors as multitarget ligands: new players in Alzheimer's disease drug discovery?. *ChemMedChem*, 2019, **14**(11): 1067-1073
- [87] Green K N, Steffan J S, Martinez-Coria H, *et al.* Nicotinamide restores cognition in Alzheimer's disease transgenic mice *via* a mechanism involving sirtuin inhibition and selective reduction of Thr231-phosphotau. *J Neurosci*, 2008, **28**(45): 11500-11510
- [88] Chen J, Zhang Y C, Huang C, *et al.* M(6)A regulates neurogenesis and neuronal development by modulating histone methyltransferase Ezh2. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2019, **17**(2): 154-168
- [89] Shafik A M, Zhang F, Guo Z, *et al.* N6-methyladenosine dynamics in neurodevelopment and aging, and its potential role in Alzheimer's disease. *Genome Biol*, 2021, **22**(1): 17
- [90] Huang H, Camats-Perna J, Medeiros R, *et al.* Altered expression of the m6A methyltransferase METTL3 in Alzheimer's disease. *eNeuro*, 2020, **7**(5): ENEURO.0125-20.2020
- [91] Angelova M T, Dimitrova D G, Dinges N, *et al.* The emerging field of epitranscriptomics in neurodevelopmental and neuronal disorders. *Front Bioeng Biotechnol*, 2018, **6**: 46
- [92] Wang Y, Li Y, Yue M, *et al.* N(6) -methyladenosine RNA modification regulates embryonic neural stem cell self-renewal through histone modifications. *Nat Neurosci*, 2018, **21**(2): 195-206
- [93] Cao Y, Zhuang Y, Chen J, *et al.* Dynamic effects of Fto in regulating the proliferation and differentiation of adult neural stem cells of mice. *Hum Mol Genet*, 2020, **29**(5): 727-735
- [94] Li H, Ren Y, Mao K, *et al.* FTO is involved in Alzheimer's disease by targeting TSC1-mTOR-tau signaling. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, **498**(1): 234-239
- [95] Orr M E, Salinas A, Buffenstein R, *et al.* Mammalian target of rapamycin hyperactivity mediates the detrimental effects of a high sucrose diet on Alzheimer's disease pathology. *Neurobiol Aging*, 2014, **35**(6): 1233-1242
- [96] Walters B J, Mercaldo V, Gillon C J, *et al.* The role of the RNA demethylase FTO (fat mass and obesity-associated) and mRNA methylation in hippocampal memory formation. *Neuropsychopharmacology*, 2017, **42**(7): 1502-1510
- [97] Merkurjev D, Hong W T, Iida K, *et al.* Synaptic N(6) -methyladenosine (m(6)A) epitranscriptome reveals functional partitioning of localized transcripts. *Nat Neurosci*, 2018, **21**(7): 1004-1014
- [98] Shi H, Zhang X, Weng Y L, *et al.* M(6)A facilitates hippocampus-dependent learning and memory through YTHDF1. *Nature*, 2018, **563**(7730): 249-253
- [99] Weng Y L, Wang X, An R, *et al.* Epitranscriptomic m(6)A regulation of axon regeneration in the adult mammalian nervous system. *Neuron*, 2018, **97**(2): 313-325.e316
- [100] Lusardi T A, Phillips J I, Wiedrick J T, *et al.* MicroRNAs in human cerebrospinal fluid as biomarkers for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2017, **55**(3): 1223-1233
- [101] Chopra N, Wang R, Maloney B, *et al.* MicroRNA-298 reduces levels of human amyloid- β precursor protein (APP), β -site APP-

- converting enzyme 1 (BACE1) and specific tau protein moieties. *Mol Psychiatry*, 2021, **26**(10): 5636-5657
- [102] Pogue A I, Lukiw W J. Up-regulated pro-inflammatory microRNAs (miRNAs) in Alzheimer's disease (AD) and age-related macular degeneration (AMD). *Cell Mol Neurobiol*, 2018, **38**(5): 1021-1031
- [103] Santa-Maria I, Alaniz M E, Renwick N, *et al.* Dysregulation of microRNA-219 promotes neurodegeneration through post-transcriptional regulation of tau. *J Clin Invest*, 2015, **125**(2): 681-686
- [104] Wang L K, Chen X F, He D D, *et al.* Dissection of functional lncRNAs in Alzheimer's disease by construction and analysis of lncRNA-mRNA networks based on competitive endogenous RNAs. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, **485**(3): 569-576
- [105] Shi Y, Liu H, Yang C, *et al.* Transcriptomic analyses for identification and prioritization of genes associated with Alzheimer's disease in humans. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, **8**: 31
- [106] Zhang W, Zhao H, Wu Q, *et al.* Knockdown of BACE1-AS by siRNA improves memory and learning behaviors in Alzheimer's disease animal model. *Exp Ther Med*, 2018, **16**(3): 2080-2086
- [107] Liu D, Tang H, Li X Y, *et al.* Targeting the HDAC2/HNF-4A/miR-101b/AMPK pathway rescues tauopathy and dendritic abnormalities in Alzheimer's disease. *Mol Ther*, 2017, **25**(3): 752-764
- [108] Huang W, Li Z, Zhao L, *et al.* Simvastatin ameliorate memory deficits and inflammation in clinical and mouse model of Alzheimer's disease *via* modulating the expression of miR-106b. *Biomed Pharmacother*, 2017, **92**: 46-57
- [109] Lin Y, Liang X, Yao Y, *et al.* Osthole attenuates APP-induced Alzheimer's disease through up-regulating miRNA-101a-3p. *Life Sci*, 2019, **225**: 117-131
- [110] Li Z, Chen Q, Liu J, *et al.* Physical exercise ameliorates the cognitive function and attenuates the neuroinflammation of Alzheimer's disease *via* miR-129-5p. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2020, **49**(2): 163-169
- [111] Song Z, Li F, He C, *et al.* In-depth transcriptomic analyses of lncRNA and mRNA expression in the hippocampus of APP/PS1 mice by danggui-shaoyao-san. *Aging*, 2020, **12**(23): 23945-23959
- [112] Zhang J, Hu M, Teng Z, *et al.* Synaptic and cognitive improvements by inhibition of 2-AG metabolism are through upregulation of microRNA-188-3p in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 2014, **34**(45): 14919-14933
- [113] Zhao Y, Pogue A I, Lukiw W J. MicroRNA (miRNA) signaling in the human CNS in sporadic Alzheimer's disease (AD)-novel and unique pathological features. *Int J Mol Sci*, 2015, **16**(12): 30105-30116
- [114] Barros-Viegas A T, Carmona V, Ferreira E, *et al.* MiRNA-31 improves cognition and abolishes amyloid- β pathology by targeting APP and BACE1 in an animal model of Alzheimer's disease. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, **19**: 1219-1236
- [115] Zhou Q, Luo L, Wang X, *et al.* Relationship between single nucleotide polymorphisms in the 3'UTR of amyloid precursor protein and risk of Alzheimer's disease and its mechanism. *Biosci Rep*, 2019, **39**(5): BSR20182485
- [116] Long J M, Lahiri D K. MicroRNA-101 downregulates Alzheimer's amyloid- β precursor protein levels in human cell cultures and is differentially expressed. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, **404**(4): 889-895
- [117] Long J M, Maloney B, Rogers J T, *et al.* Novel upregulation of amyloid- β precursor protein (APP) by microRNA-346 *via* targeting of APP mRNA 5'-untranslated region: implications in Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry*, 2019, **24**(3): 345-363
- [118] Roshan R, Choudhary A, Bhambri A, *et al.* MicroRNA dysregulation in polyglutamine toxicity of TATA-box binding protein is mediated through STAT1 in mouse neuronal cells. *J Neuroinflammation*, 2017, **14**(1): 155
- [119] Pereira P, Sousa Â, Queiroz J, *et al.* Purification of pre-miR-29 by arginine-affinity chromatography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014, **951-952**: 16-23
- [120] Lei X, Lei L, Zhang Z, *et al.* Downregulated miR-29c correlates with increased BACE1 expression in sporadic Alzheimer's disease. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, **8**(2): 1565-1574
- [121] Liu Z, Zhang H, Sun L, *et al.* MiR-29c-3p increases cell viability and suppresses apoptosis by regulating the TNFAIP1/NF- κ B signaling pathway *via* TNFAIP1 in A β -treated neuroblastoma cells. *Neurochem Res*, 2020, **45**(10): 2375-2384
- [122] Dickson J R, Kruse C, Montagna D R, *et al.* Alternative polyadenylation and miR-34 family members regulate tau expression. *J Neurochem*, 2013, **127**(6): 739-749
- [123] Carrettiero D C, Hernandez I, Neveu P, *et al.* The cochaperone BAG2 sweeps paired helical filament-insoluble tau from the microtubule. *J Neurosci*, 2009, **29**(7): 2151-2161
- [124] Ma X, Liu L, Meng J. MicroRNA-125b promotes neurons cell apoptosis and tau phosphorylation in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*, 2017, **661**: 57-62
- [125] Hou T Y, Zhou Y, Zhu L S, *et al.* Correcting abnormalities in miR-124/PTPN1 signaling rescues tau pathology in Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 2020, **154**(4): 441-457
- [126] Jiang Y, Xu B, Chen J, *et al.* Micro-RNA-137 inhibits tau hyperphosphorylation in Alzheimer's disease and targets the CACNA1C gene in transgenic mice and human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Med Sci Monit*, 2018, **24**: 5635-5644
- [127] Sharma S, Khadimallah I, Corya A W, *et al.* Presymptomatic change in microRNAs modulates tau pathology. *Sci Rep*, 2018, **8**(1): 9251
- [128] Faghihi M A, Zhang M, Huang J, *et al.* Evidence for natural antisense transcript-mediated inhibition of microRNA function. *Genome Biol*, 2010, **11**(5): R56
- [129] Li F, Wang Y, Yang H, *et al.* The effect of BACE1-AS on β -amyloid generation by regulating BACE1 mRNA expression. *BMC Mol Biol*, 2019, **20**(1): 23
- [130] Feng L, Liao Y T, He J C, *et al.* Plasma long non-coding RNA BACE1 as a novel biomarker for diagnosis of Alzheimer disease.

- BMC Neurol, 2018, **18**(1): 4
- [131] Cho S J, Lim H J, Jo C, *et al.* Plasma ATG5 is increased in Alzheimer's disease. *Sci Rep*, 2019, **9**(1): 4741
- [132] Zhou Y, Ge Y, Liu Q, *et al.* LncRNA BACE1-AS promotes autophagy-mediated neuronal damage through the miR-214-3p/ATG5 signalling axis in Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 2021, **455**: 52-64
- [133] Ge Y, Song X, Liu J, *et al.* The combined therapy of berberine treatment with lncRNA BACE1-AS depletion attenuates A β (25-35) induced neuronal injury through regulating the expression of miR-132-3p in neuronal cells. *Neurochem Res*, 2020, **45**(4): 741-751
- [134] McMullen J R, Drew B G. Long non-coding RNAs (lncRNAs) in skeletal and cardiac muscle: potential therapeutic and diagnostic targets?. *Clin Sci (Lond)*, 2016, **130**(24): 2245-2256
- [135] Lin D, Pestova T V, Hellen C U, *et al.* Translational control by a small RNA: dendritic BC1 RNA targets the eukaryotic initiation factor 4A helicase mechanism. *Mol Cell Biol*, 2008, **28**(9): 3008-3019
- [136] Li H, Zheng L, Jiang A, *et al.* Identification of the biological affection of long noncoding RNA BC200 in Alzheimer's disease. *Neuroreport*, 2018, **29**(13): 1061-1067
- [137] Mus E, Hof P R, Tiedge H. Dendritic BC200 RNA in aging and in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(25): 10679-10684
- [138] Modarresi F, Faghihi M A, Lopez-Toledano M A, *et al.* Inhibition of natural antisense transcripts *in vivo* results in gene-specific transcriptional upregulation. *Nat Biotechnol*, 2012, **30**(5): 453-459
- [139] Guo C C, Jiao C H, Gao Z M. Silencing of lncRNA BDNF-AS attenuates A β (25-35) -induced neurotoxicity in PC12 cells by suppressing cell apoptosis and oxidative stress. *Neurol Res*, 2018, **40**(9): 795-804
- [140] Airavaara M, Pletnikova O, Doyle M E, *et al.* Identification of novel GDNF isoforms and *cis*-antisense GDNFOS gene and their regulation in human middle temporal gyrus of Alzheimer disease. *J Biol Chem*, 2011, **286**(52): 45093-45102
- [141] Sharif M, Noroozian M, Hashemian F. Do serum GDNF levels correlate with severity of Alzheimer's disease?. *Neurol Sci*, 2021, **42**(7): 2865-2872

Research Progress of Epigenetic Modification in The Regulation of Alzheimer's Disease*

LIN Su-Yang^{1,2)}, PAN Zhao-Tao¹⁾, MA Yu-Tao¹⁾, GAO Jun-Yan¹⁾, SHAN Jiang-Hui¹⁾,
CHU Chao-Yang¹⁾, XIE Kai²⁾, SHEN Wei²⁾, WANG Qing-Juan²⁾, LI Li-Ping^{1,2)**}

⁽¹⁾Department of Physiology and Pharmacology, Ningbo University School of Medicine, Ningbo 315211, China;

⁽²⁾The Affiliated Hospital of Medical School, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract Alzheimer's disease (AD) is a clinically common neurodegenerative disease characterized by progressive cognitive dysfunction and memory loss. In recent years, studies have found that various epigenetic modifications such as DNA modification, histone modification, RNA modification and non-coding RNA play pivotal roles in the regulation of A β deposition, hyperphosphorylated Tau proteins, nerve regeneration, synaptic plasticity and cognitive function, thereby improving or aggravating the pathological process of AD. Decreasing 5-methylcytosine of PSEN1 and BACE1 genes may cause A β production *via* promotion of PSEN1 and BACE1 expression. Increasing DNA modifications of 5-hydroxymethylcytosine by Tet1/Tet2/Tet3 protein can regulate proliferation, differentiation and function of neurons, neural stem cells, and neural progenitor cells. Moreover, increasing histone methylation (H3K9me2 and H3K4me3) and demethylation (H3K27me3) catalyzed by histone methyltransferase and demethylase respectively can decrease neuronal differentiation and cognition. Low acetylation levels of histones maintained by the suppression of histone acetylases and activation of histone deacetylases (HDAC2, HDAC3 and HDAC6) can be contributed to inducing cognitive impairment. Furthermore, N⁶-methyladenosine (m6A) RNA modification catalyzed by the RNA methyltransferases Mettl3 and Mettl14 (writers), removed by the demethylases FTO (erasers), and interacted with m6A-binding proteins YTHDF1 and YTHDF (readers) is involved in synaptic plasticity, neuronal apoptosis and synaptic transmission. In addition, low expression of miR-29, miR-31 and miR-101 causes A β deposition by improving BACE1 and APP levels. Either declining miR-34a, miR-219 or raising miR-128a, miR-125b, and miR-124 can lead to high levels of Tau protein and Tau hyperphosphorylation. The up-regulation of miR-137 and miR-142 can reduce synaptic plasticity and stimulate neuroinflammation, respectively. Overexpression of lncRNA BACE1-AS and BC200 can promote A β deposition by boosting BACE1 expression, while enhancing BDNF-AS and GDNFOS result in neurodevelopment disorder by inhibiting BDNF and GDNF expression. Clinical data shows that changes in epigenetic modifications are significantly correlated with AD risk. The use of drugs, physical stimulation, siRNA and other interventions to change the level of epigenetic modifications in AD animal models can ameliorate AD pathology and cognitive impairment. Our paper reviews the regulatory effects of various epigenetic modifications in AD and in the hope of providing a theoretical basis for further understanding of the epigenetic mechanism in AD and a feasible interventions for preventing or treating AD *via* alteration epigenetic modifications.

Key words Alzheimer's disease, epigenetics, DNA modification, RNA modification, histone modification, non-coding RNA

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0252

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (82001155), Ningbo University Teaching and Research Project (JYXMZD2021029), the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LQ19H090005), the Medical Health Science and Technology Project of Zhejiang Provincial Health Commission (2022KY1144), the Scientific Research Fund Project of Ningbo University (XYL20030), the Student Research, Innovation Program (SRIP) of Ningbo University (2021SRIP1917, 2021SRIP1912), and the K. C. Wong Magna Fund in Ningbo University.

** Corresponding author.

Tel: 86-574-87609594, E-mail: liliping@nbu.edu.cn

Received: August 25, 2021 Accepted: October 19, 2021