

• 特约综述 •

“表观遗传与神经精神疾病”专题

# mRNA 乙酰化修饰在神经系统的功能研究进展\*

周海倩, 金浩洁银, 张家玮, 朱朕, 殷东敏<sup>△</sup>

(脑功能基因组学教育部和上海市重点实验室, 华东师范大学生命科学学院, 上海 200062)

**摘要** RNA 存在多种化学修饰, 这些修饰赋予核苷酸结构多样性, 参与调控 RNA 代谢、蛋白质合成和多种细胞功能。目前真核细胞中唯一已知的 RNA 乙酰化修饰即 N4-乙酰胞苷(N4-acetylcytidine, ac4C)。以往的研究表明, ac4C 主要发生在核糖体 RNA(ribosome RNA, rRNA) 和转运 RNA(transfer RNA, tRNA)。最近的研究表明, ac4C 也可以发生在信使 RNA(messenger RNA, mRNA), 并促进 mRNA 的稳定性和翻译效率。相对于被广泛研究的 mRNA 甲基化修饰(如 m6A), 人们对 ac4C 修饰的功能和调控机制的研究尚处于起步阶段。本文主要综述 mRNA 的 ac4C 修饰在神经系统生理和病理过程, 如学习记忆、疼痛及阿尔茨海默病中的作用, 并讨论 ac4C 研究领域有待解决的关键科学问题, 以促进 RNA 化学修饰调控神经功能的研究。

**关键词** RNA 乙酰化; N4-乙酰胞苷; 学习记忆; 疼痛; 阿尔茨海默病

**中图分类号** Q522

**Advances in Functional Studies of mRNA Acetylation in the Nervous System\*** ZHOU Hai-Qian, JIN Hao-Jie-Yin, ZHANG Jia-Wei, ZHU Zhen, YIN Dong-Min<sup>△</sup> (*Key Laboratory of Brain Functional Genomics, Ministry of Education and Shanghai, School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China*)

**Abstract** RNAs are subject to a variety of chemical modifications that confer structural diversity to the nucleotides and are involved in the regulation of RNA metabolism, protein synthesis and a variety of cellular functions. N4-acetylcytidine (ac4C) is the only known form of RNA acetylation in eukaryotes. Ac4C has long been identified in ribosomal RNA (rRNA) and transfer RNA (tRNA). Recent studies have shown that ac4C also occurs in messenger RNA (mRNA), promoting mRNA stability and translation efficiency. Compared with the widely studied mRNA methylation modifications (e. g. m6A), the functions and regulatory mechanisms of ac4C modifications of mR-

**引用格式:**周海倩, 金浩洁银, 张家玮, 朱朕, 殷东敏. mRNA 乙酰化修饰在神经系统的功能研究进展. 生理科学进展, 2024, 55(5) : 385~392.

ZHOU Hai-Qian, JIN Hao-Jie-Yin, ZHANG Jia-Wei, ZHU Zhen, YIN Dong-Min. Advances in functional studies of mRNA acetylation in the nervous system. Progress in Physiological Sciences, 2024, 55(5) : 385~392. DOI:10. 20059/j. cnki. pps. 2024. 08. 1101

收稿日期: 2024-06-03; 修回日期: 2024-07-15; 接受日期: 2024-07-18

\* 科技创新 2030-重大项目(2021ZD0202500); 华东师范大学优秀博士生学术创新能力提升计划(YBNLTS2022-011)资助课题

<sup>△</sup> 通信作者 dmyin@brain.ecnu.edu.cn

NA are far less well-known. This review aims to summarize the function of ac4C modifications of mRNA in physiological and pathological processes in the nervous system, such as learning and memory, pain, and Alzheimer's disease. Moreover, this review will discuss the critical questions that should be addressed in the ac4C field to promote the research of RNA modification in the nervous system.

**Key words** RNA acetylation; ac4C; learning and memory; pain; Alzheimer's disease

中心法则指出,遗传信息的流动方向主要是从DNA转录为RNA,随后翻译成蛋白质<sup>[1]</sup>。表观遗传学领域涉及DNA甲基化和组蛋白修饰等,虽然DNA序列本身未发生变化,但基因表达却能发生可遗传且可逆性的改变。然而,作为“信使”的RNA在这一法则中常被忽视。近年来,研究表明在酵母菌、Hela细胞、L细胞中鉴定出了多种不同的RNA碱基位点修饰<sup>[2~4]</sup>,自此有关RNA修饰的表观转录组学研究才逐渐拉开序幕。

RNA修饰作为一种转录后水平的调控形式,参与RNA代谢的各个方面,包括加工、折叠、转运、翻译、降解等。目前已经发现了超过170种不同的RNA化学修饰<sup>[5]</sup>,包括N6-甲基腺嘌呤(N6-methyladenosine, m6A)、N1-甲基腺嘌呤(N1-methyladenosine, m1A)、N6,2'-O-二甲基腺嘌呤(N6,2'-O-dimethyladenosine, m6Am)、7-甲基鸟嘌呤(7-methylguanosine, m7G)、5-甲基胞嘧啶(5-methylcytidine, m5C)、假尿嘧啶(pseudouridine,  $\Psi$ )等。这些化学修饰广泛存在于tRNA、rRNA和mRNA等各类RNA中。RNA修饰对RNA的稳定性、翻译效率、保真度等均有影响,能够调控不同基因的表达和功能,并影响DNA修复和基因组稳定性,进而影响疾病的发生和发展,是一种具有高度特异性的有效的调控生物分子功能的方式<sup>[6~9]</sup>。其中,真核生物RNA中目前唯一已知的乙酰化修饰是N4-乙酰胞苷(N4-acetylcytidine, ac4C),这是一种新兴的转录后调控机制,ac4C的发现为表观转录研究提供了新视角,对于揭示RNA功能的复杂性和调控机制具有重要意义。

### 一、RNA ac4C 修饰概况

N4-乙酰胞苷(N4-acetylcytidine, ac4C)即RNA胞嘧啶核苷酸第四位氨基端发生的乙酰化修饰,是真核生物RNA中唯一已知的乙酰化修饰。ac4C修饰是一种功能重要且高度保守的转录后调控机制<sup>[10~12]</sup>,广泛存在于不同种类功能的RNA中。ac4C修饰最早发现于酵母菌的tRNA中<sup>[13]</sup>,且酵母菌中ac4C修饰一般存在于tRNA<sub>1</sub><sup>Ser</sup>和tRNA<sub>2</sub><sup>Ser</sup>

链的第12位<sup>[14]</sup>。而后又于大肠杆菌tRNA Met的第一位反密码子处发现了ac4C修饰<sup>[15]</sup>。tRNA的ac4C修饰对于正确识别密码子以及维持tRNA分子三级结构的稳定性发挥着重要作用。rRNA中的ac4C修饰最早在大鼠肝脏的18S rRNA中被鉴定<sup>[11]</sup>,之后又被发现对嗜热菌中5S rRNA的热稳定性具有潜在影响<sup>[16]</sup>。Sharma等<sup>[17]</sup>在出芽酵母、裂变酵母及人类细胞中鉴定出了ac4C乙酰化修饰的位点,其中包括影响翻译准确性的helix 34位点和位于解码位点附近的helix 45位点。

2018年Arango等<sup>[12]</sup>发现ac4C修饰存在于mRNA中,并在mRNA的翻译和稳定性方面发挥正向调控作用,且N-乙酰转移酶10(N-Acetyltransferase 10, NAT10)是哺乳动物细胞中ac4C修饰的主要“Writer”(写入酶)。mRNA中的ac4C主要集中在翻译起始位点附近,尤其富集在编码序列(coding sequence, CDS)和5'非翻译区(5' untranslated regions, 5' UTR),但在3'UTR中数量较少<sup>[12]</sup>。ac4C修饰是目前真核生物RNA中唯一已知的乙酰化修饰,其修饰酶还知之甚少。目前已知的ac4C修饰酶包括酿酒酵母的核糖体RNA胞苷乙酰转移酶1(ribosomal RNA cytidine acetyltransferase 1, RRA1)、大肠杆菌的tRNA(Met)胞苷乙酰转移酶(tRNA(Met) cytidine acetyltransferase, TmcA)以及哺乳动物的NAT10<sup>[18~21]</sup>。NAT10不仅能催化18S rRNA中ac4C的形成,也是已知唯一能催化mRNA中ac4C修饰的乙酰转移酶。Remodelin被鉴定为有效的NAT10抑制剂<sup>[22]</sup>,能与NAT10在乙酰辅酶A结合口袋稳定结合<sup>[23]</sup>。有研究通过免疫共沉淀和质谱分析鉴定出NAT10的潜在结合蛋白异质核糖核蛋白Q(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein Q, HNRNPQ)、甲状腺激素受体相关蛋白3(thyroid hormone receptor associated protein 3, THRAP3)、核仁蛋白58(nucleolar protein 58, NOP58)、转导素 $\beta$ 样蛋白3(transducin beta-like protein 3, TBL3)<sup>[24~26]</sup>,但上述蛋白作为ac4C修饰阅读蛋白的真实性还需进一步实验验证。沉默

调节蛋白 7(recombinant sirtuin 7, SIRT7)可能是 18S rRNA ac4C 修饰的一种 NAD<sup>+</sup> 非依赖性去乙酰化酶<sup>[27]</sup>, 目前对于 SIRT7 参与 18S rRNA 基因表

达调控的作用机制尚未明确。因此,关于 ac4C 修饰的“Reader”(阅读蛋白)和“Eraser”(去除酶)还有待进一步的研究(图 1)。

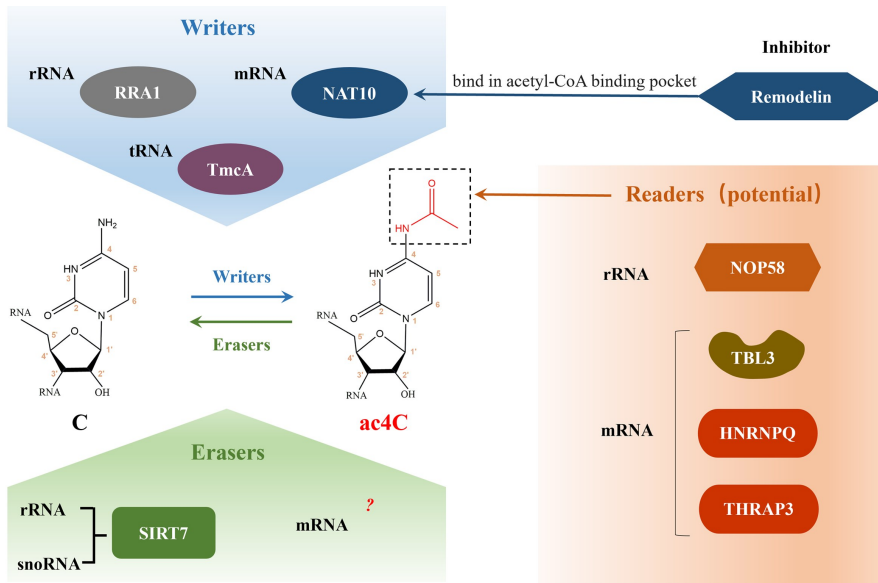


图 1 ac4C 修饰的修饰酶、去修饰酶以及可能的阅读蛋白

ac4C 修饰的“Writer”(写入酶)是 NAT10,在 mRNA 中催化 ac4C 修饰。SIRT7 被认为是一种特异性的 ac4C rRNA 和 snoRNA“Eraser”(去除酶)。然而,mRNA 中 ac4C 修饰的“Eraser”(去除酶)尚未被发现。此外,有研究预测了可能与 ac4C RNA 相互作用的“Reader”(阅读蛋白),如异质核糖核蛋白 Q(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein Q, HNRNPQ)、甲状腺激素受体相关蛋白 3(thyroid hormone receptor associated protein 3, THRAP3)、核仁蛋白 58(nucleolar protein 58, NOP58)、转导素  $\beta$  样蛋白 3(transducin beta-like protein 3, TBL3)

## 二、RNA ac4C 修饰的基本生物学功能

在 tRNA 和 rRNA 中,ac4C 修饰有助于维持结构稳定性和提高翻译效率。具体而言,ac4C 修饰通过增加 tRNA 的结构稳定性,确保 tRNA 在蛋白质合成过程中的准确性和效率。在 rRNA 中,ac4C 修饰增强了核糖体的功能,从而促进蛋白质高效合成。对于 mRNA,ac4C 修饰则主要影响 mRNA 的稳定性和翻译效率,从而调控基因表达。

(一)参与转录后基因调控 ac4C 修饰通过影响 mRNA 的翻译、剪接和稳定性等过程,参与转录后基因表达和功能的调控。Arango 等<sup>[12]</sup>通过表观转录组学研究发现 ac4C 主要富集在 mRNA 的 CDS 区及 5' UTR 区内,3'端内的修饰位点较少,且 ac4C 丰度从 5' 端到 3' 端逐渐降低。ac4C 修饰在 mRNA 中的位置偏差表明其在基因表达中具有调节功能,并且这种修饰通过位置依赖性方式影响 mRNA 的翻译调控(图 2)。CDS 区 ac4C 修饰通过提高 mRNA 对核酸外切酶的抗性增加 mRNA 稳定性,进而促进其表达。尤其是位于摆动位点处的 C 碱基发生 ac4C 修饰,能够增强其与 G 碱基间的亲和力,从而通过促进 mRNA 与同源 tRNA 的相互作用来增强翻译效率<sup>[12]</sup>。发生在 5' UTR 区

ac4C 修饰通过形成翻译起始抑制性结构和直接调控 AUG 侧翼 Kozak 序列中与 C 碱基产生有利的互作来抑制翻译起始过程<sup>[28]</sup>。发生在 3' UTR 区的 ac4C 修饰则对 mRNA 稳定性的维持具有重要作用。NAT10 通过添加 ac4C 修饰能维持 Runt 相关转录因子 2(runt-related transcription factor 2, RUNX2)mRNA 的稳定性并延长其半衰期,且能在骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BMSCs)成骨分化过程中提高 RUNX2 蛋白表达,影响体外 BMSCs 成骨细胞分化的能力<sup>[29]</sup>。此外,终止密码子附近的 ac4C 修饰也会影响 mRNA 的稳定性,由乙酰转移酶 NAT10 通过 GCN5 相关 N-乙酰基转移酶(GCN5-related N-acetyltransferase, GNAT)结构域和解旋酶结构域直接和 mRNA 相互作用,进而调节终止密码子附近 ac4C 修饰的 mRNA 的稳定性,并介导桥粒联结蛋白影响 DNA 损伤修复蛋白富集到染色质的能力<sup>[24]</sup>。另有研究表明 ac4C 修饰可以增强双链 RNA 中 C-G 碱基对的稳定性,并且 ac4C 修饰可以通过调节非编码 RNA 在高温下的结构动态来调节 tRNA 半衰期和整体适应性<sup>[30]</sup>。

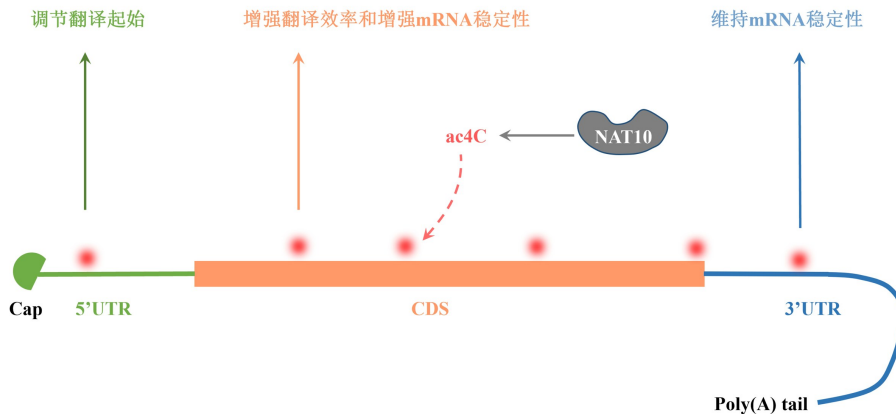


图2 NAT10催化mRNA上的ac4C修饰

NAT10作为一种催化酶,介导mRNA上ac4C修饰的形成。ac4C修饰在mRNA的不同区域具有不同的功能

ac4C修饰在基因调控中扮演重要角色,通过多种机制参与细胞代谢和生理功能。NAT10介导的ac4C修饰在多种癌症中显示出关键作用,如通过修饰Septin9 mRNA,激活HIF-1通路,促进葡萄糖代谢重编程,增强胃癌细胞的缺氧耐受性<sup>[31]</sup>。同时,ac4C修饰稳定脂肪酸代谢基因mRNA,影响脂肪酸代谢,调控铁死亡相关基因SLC7A11和FSP1的转录本稳定性,进而调控癌细胞的铁死亡<sup>[32,33]</sup>。此外,ac4C修饰还能通过调节IRES功能,影响病毒RNA的翻译及稳定性,对研究病毒与宿主的表观遗传相互作用具有重要意义<sup>[34]</sup>。

(二)参与细胞周期调控 ac4C修饰通过影响mRNA稳定性、翻译过程和转录后调控,参与细胞周期的精细调控,对细胞的生长和分裂等过程具有重要意义。ac4C修饰在不同细胞中表现出修饰水平或修饰位点的选择性,反映出其在不同功能和发育过程中的特殊生物学作用。通过比较不同细胞系mRNA ac4C修饰率,结果发现293T细胞的mRNA ac4C修饰率最高,其次是HeLa细胞,生殖细胞相对较低,表明ac4C修饰具有细胞特异性。将野生型人类胚胎干细胞(hESC)的ac4C修饰转录组谱与HeLa细胞中的测序对比,结果表明ac4C峰在hESC的CDS中富集,在HeLa细胞中,ac4C峰在5'UTR中的富集程度较低,而在3'UTR中较多<sup>[35]</sup>。与细胞周期相关的染色质修饰因子赖氨酸去甲基化酶4B(lysine demethylase 4B, Kdm4B)的mRNA在5'UTR区存在ac4C修饰,这表明5'UTR区ac4C修饰可能在细胞增殖中发挥作用。在HeLa细胞中敲除NAT10后引起细胞周期转变,表明5'UTR区的ac4C修饰能调节细胞状态以应对特定刺

激<sup>[28]</sup>。NAT10基因的缺失和突变可能导致染色体排列和分离异常,影响多核巨细胞有丝分裂过程,也可能通过S期阻滞来延缓细胞周期进程<sup>[36]</sup>。此外,NAT10还可能通过促进细胞有丝分裂后期核仁和中间体的重组以及微管的稳定,在细胞分裂过程中发挥重要作用<sup>[37]</sup>。高通量测序显示,NAT10的失活会导致靶基因上ac4C水平降低,促进编码核心多能性调节因子OCT4转录本的衰减,干扰hESC的自我更新,导致其早期分化。相反,过表达NAT10则能促进hESC的增殖。这表明NAT10介导的ac4C mRNA修饰能调控OCT4 mRNA的稳定性,这对维持hESC自我更新是必需的<sup>[35]</sup>。

ac4C修饰除调节体细胞的细胞周期外,对生殖细胞减数分裂过程也具有调控作用。NAT10的下调导致精原细胞中mRNA ac4C修饰水平显著降低,进一步影响mRNA稳定性,使精子发生的关键基因表达下调,导致雄性小鼠不育<sup>[38]</sup>。NAT10的下调使卵母细胞在MI期阻滞,卵泡发育停滞在次级卵泡阶段,表明NAT10介导的ac4C修饰对卵母细胞减数分裂前期I进程、生长和成熟至关重要<sup>[39]</sup>。以上研究同样表明NAT10介导的ac4C修饰在生理条件下发挥作用,例如生殖细胞发生过程中ac4C修饰的动态变化,以及氧化应激条件下酵母菌mRNA上ac4C修饰水平的增加<sup>[40]</sup>。

### 三、RNA ac4C修饰在神经系统的功能

RNA ac4C修饰,作为一种在转录后层面高度保守且功能重要的调控机制,已被证明在神经系统的生理和病理过程中扮演着关键角色。它对神经细胞的生长、分化及信息传递等关键过程产生深远影响。ac4C修饰可能参与调节神经细胞发育、突触可

塑性和应激反应等多个环节,在诸如阿尔茨海默病和疼痛等神经系统疾病中,ac4C 修饰的水平变化可能导致靶基因的表达失调和蛋白质功能异常。因此,ac4C 修饰不仅在理解神经系统疾病的发病机制方面具有重要意义,而且对于开发相关疾病新的治疗策略也起着至关重要的作用。

#### (一)ac4C 修饰在神经系统中的生理作用

ac4C 修饰在神经系统中的功能主要体现在细胞周期调控和神经细胞的分化过程中。NAT10 通过影响 KDM4B mRNA 的 ac4C 修饰降低其蛋白质表达量,从而调控神经细胞的增殖<sup>[28]</sup>。另一方面,NAT10 基因的缺失会导致 OCT4 mRNA 的稳定性降低,干扰人类胚胎干细胞(hESC)的自我更新,并促进其早期分化<sup>[35]</sup>。此外,ac4C 修饰在外胚层神经上皮细胞中的水平较高,通过促进核受体亚家族 2F 组成员 1(nuclear receptor subfamily 2 group F member 1, Nr2f1)mRNA 表达,增强其翻译效率和稳定性,从而促进外胚层的分化<sup>[41]</sup>。tRNA ac4C 修饰也在神经发育中具有重要作用。研究表明,常染色体隐性遗传智力障碍候选基因 *THUMPDI* 的双等位基因功能缺失突变,会导致 tRNA 的 ac4C 修饰丧失,进而引发微小 RNA(microRNA)和单独纯化的 tRNA-Ser-CGA 中乙酰化 ac4C 修饰的丧失,并最终导致综合性智力障碍<sup>[42]</sup>。这一发现强调了 tRNA ac4C 修饰在神经系统发育过程中的关键作用,进一步表明 ac4C 修饰在维持神经元功能和正常神经发育中的重要性。

本实验室前期研究工作也发现,饥饿会下调小鼠嗅觉粘膜(olfactory mucosa, OM)中酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, Th) mRNA 的 ac4C 修饰,从而减少小鼠嗅觉粘膜中局部 TH 蛋白和多巴胺的合成,进而导致饥饿时嗅觉能力的增强<sup>[43]</sup>。本实验室近期的研究结果揭示<sup>[44]</sup>,神经活动如学习记忆,可以特异性地调节突触局部的 ac4C-mRNA 修饰水平,从而参与突触可塑性。我们对接受 Morris 水迷宫训练的成年小鼠海马组织进行 acRIP-seq 联合 mRNA-seq 分析,获取发生 ac4C 修饰的 mRNA 及其乙酰化修饰水平。结果发现突触局部的 ac4C-mRNA 在记忆形成后上调,但在自然遗忘后回到基础水平。此外,记忆形成后,ac4C 的催化酶 NAT10 在突触的蛋白质水平也相应增加,但在自然遗忘后又恢复到基础水平。这些结果显示,学习记忆对 ac4C 的调节具有局部性、动态性和特异性。最后,使用 Cre/loxP 策略下调小鼠海马中的 NAT10 会

损害突触可塑性和学习记忆能力。总而言之,NAT10 催化的 ac4C 修饰可能是调节突触可塑性和学习记忆的一种表观转录机制。

#### (二)ac4C 修饰在神经系统疾病中的作用

1. ac4C 修饰在阿尔茨海默病中的作用:阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是常见的中枢神经系统疾病,可引起特定大脑区域的神经病理表征,如海马、颞叶皮层、杏仁核等。研究发现,微小 RNA(microRNA)、长非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)、环状 RNA(circle RNA)等的化学修饰与阿尔茨海默病的发生发展有关,并对 tau 蛋白磷酸化过程的调控也有影响<sup>[45~48]</sup>。对阿尔茨海默病小鼠模型-APP/PS1 双转基因小鼠的大脑皮层 ac4C 修饰进行了高通量测序,发现 lncRNA ac4C 修饰的丰度在对照和 APP/PS1 双转基因小鼠中存在显著差异:APP/PS1 双转基因小鼠中 Gm26508 和 A430046D13Rik 被高乙酰化并下调了 RNA 水平,而 lncRNA 9530059O14Rik 则被低乙酰化并上调其 RNA 水平,表明 lncRNA 上 ac4C 修饰与 AD 的发生发展相关<sup>[49]</sup>。对 APP/PS1 双转基因小鼠大脑皮层 ac4C 高通量测序还发现了 134 个 mRNA 在 ac4C 水平和 RNA 表达水平上同时发生变化,这些 mRNA 参与调控 GABA 能突触和 PI3K/AKT 信号通路,为 RNA 的 ac4C 修饰参与 AD 发生提供了初步的临床前证据<sup>[50]</sup>。然而,以上研究仍存在一定的局限性,对筛选所得关键 RNA 在 AD 进展中的作用及具体的分子机制仍有待实验证明。

2. ac4C 修饰在神经病理性疼痛中的作用:神经病理性疼痛是由神经系统原发性损害和功能障碍所引起的疼痛,研究报道 NAT10 通过调控 ac4C 修饰水平参与神经性疼痛的诱导和加剧。具体而言,周围神经损伤后,上游转录因子 1(upstream transcription factor 1, USF1)激活,导致受损的背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)中 NAT10 表达和 ac4C 水平增加。此外,DRG 中 NAT10 敲除或基因缺失可抑制 Syt9 mRNA 中 ac4C 水平和 SYT9 的蛋白质表达,从而减轻神经损伤引起的痛觉过敏,在没有损伤的情况下,模拟 NAT10 上调则会引起 Syt9 ac4C 和 SYT9 蛋白的升高,并诱导神经性疼痛样行为的发生。由此表明,USF1 调控的 NAT10 通过靶向调控外周痛觉感觉神经元的 Syt9 ac4C 调节神经性疼痛,证实 NAT10 是痛觉行为的关键内源性启动子<sup>[51]</sup>。3' UTR 区增强的 ac4C 修饰还能促

进血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factors A, VEGFA) mRNA 中多聚体的招募, 提高选择性神经损伤 (spared nerve injury, SNI) 后 Vegfa mRNA 的翻译效率, 进而介导 SNI 后背角神经元中 VEGFA 蛋白表达的上调。此外, HNRNPK 和 Vegfa mRNA 的结合增加还能促进 NAT10 募集并进一步上调 Vegfa mRNA 上 ac4C 修饰水平, 从而诱导 SNI 后背角神经元的中枢敏感性和神经性疼痛的产生<sup>[52]</sup>。阻断这一级联反应可能是治疗神经病理性疼痛的一种新方法。RNA ac4C 修饰还能参与调节癌症性骨痛, 骨癌会增强 NAT10 活性, 促进脊髓背角神经元中癌症性骨痛相关基因 *Nfat5*、*Pafah1b1*、*Srgap3*、*Nrxn2* 等 RNA 发生 ac4C 乙酰化, 进而提高 mRNA 稳定性, 延长 mRNA 半衰期, 参与调控癌症性骨痛相关的靶基因表达<sup>[53]</sup>。

3. ac4C 修饰在其他神经系统疾病中的作用: RNA ac4C 修饰除在 AD 和神经病理性疼痛中发挥了重要作用外, 乙酰转移酶 NAT10 被报道在慢性轻度应激小鼠海马中的表达显著增加, 且使用 Remodelin 抑制 NAT10 表达可明显改善小鼠焦虑、抑郁样行为。在海马神经元中过表达 NAT10 后, 能通过增加沉默信息调节因子 1 (silent information regulator1, SIRT1) 蛋白质水平、降低树突棘密度的方式促进焦虑和抑郁样行为。这提示海马中的 NAT10 可能与重度抑郁症的发生密切相关, 对其病理过程具有加剧作用<sup>[54]</sup>。此外, ac4C 修饰能通过腺苷 A2A 受体 (adenosine A2A receptor, A2AR) 信号激活 BV2 小胶质细胞, 诱导高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1, HMGB1) 的持续表达和释放, 激活核因子  $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B, NF $\kappa$ B) 信号通路, 并上调 NACHT、LRR 和 PYD 结构域蛋白 3 (NACHT, LRR, and PYD domains-containing protein 3, NLRP3) 表达和活化 NLRP3 炎症体, 从而通过介导 NLRP3 炎症体的持续激活来维持神经炎症反应<sup>[55]</sup>。临床实验数据显示 ac4C 修饰通过氧化应激增加白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 的分泌, 触发炎症小体激活, 这与老年人群的全因死亡率有关<sup>[56]</sup>。另有研究发现, 在超罕见基因变体中, NAT10<sup>P. E811D</sup> 可能具有精神分裂症致病风险, NAT10 突变导致的染色质调控和组蛋白修饰异常可能与精神分裂症的表现遗传学机制相关, 但还需更多的功能研究进行验证<sup>[57]</sup>。未来随着对 RNA ac4C 修饰研究的不断深入, 将揭示一些复

杂神经系统疾病的转录后调控机制, 为相关疾病的诊断和治疗提供新的思路。

#### 四、结语与展望

作为转录后调控的新兴机制, RNA ac4C 修饰近年来引起了领域内的广泛关注。这种修饰在基因调控和细胞周期调控中扮演着关键角色, 对于理解生理和病理状态具有深远影响。ac4C 修饰不仅是表观遗传学领域的研究热点, 而且在神经系统的生理及病理过程中也发挥着重要作用, 其在与疾病发生发展密切相关的领域中的应用, 为疾病临床治疗提供了新的思路和潜在标志物。

目前, RNA ac4C 修饰的检测技术仍存在一定局限性, 主要包括分辨率较低和抗体特异性不高。利用特异性 ac4C 抗体捕获 ac4C 修饰的 RNA 后进行二代测序 (acetylated RNA immunoprecipitation followed by next generation sequencing, acRIP-Seq) 是目前常用的检测 RNA ac4C 修饰的方法。该方法存在不同样本之间重复性差, 只能识别发生 ac4C 修饰的某个区域, 不能实现 ac4C 修饰的单碱基分辨。测序深度和灵敏度的不足同样导致低丰度的 ac4C 修饰难以检测, 从而影响整体测序结果。另一种化学依赖的 RNA ac4C 修饰检测技术 ac4C RedaC: T-seq 存在转化效率不稳定的问题。该技术的反应效率受温度、pH 值和试剂浓度等实验条件影响, 影响检测结果的稳定和可靠。此外, 化学依赖的反应中可能发生非特异性副反应, 导致其他 RNA 位点被修饰或转化, 从而干扰 ac4C 修饰的特异性。将来需要针对上述的高通量测序技术的不足进行改进, 例如开发特异性识别 ac4C 修饰的测序技术, 提高检测准确性和灵敏度。此外, 新算法和软件工具的开发将有助于分析和解释 ac4C 修饰的复杂数据, 揭示其在生物学过程中的作用。此外, 单分子实时测序技术和特异性结合 ac4C 修饰的化学探针的应用, 将直接检测和研究不同生物样本中 ac4C 的分布和功能, 将极大推进对 RNA ac4C 修饰的理解。

ac4C 修饰的研究领域仍存在诸多未解之谜。目前对 ac4C 修饰的乙酰转移酶的研究主要集中于 NAT10, 对于去乙酰化酶及结合蛋白的认识仍相对有限。深入探究 ac4C 修饰酶的催化机制和调控模式, 以及位点的选择性, 对于准确理解 ac4C 在 RNA 层面的调控作用至关重要。伴随着生物信息学和结构生物学的发展, ac4C 修饰酶的三维结构解析已成为可能, 这将有助于设计更高效的酶抑制剂或激活剂, 为针对相关疾病的新型治疗策略提供理论基础。

探究 ac4C 修饰在不同疾病中的具体作用将成为未来研究的重点。通过比较不同物种和组织中 ac4C 修饰酶的表达及活性,可以揭示新的生理功能和疾病机制,为新药的开发提供理论支撑。同时,揭示 ac4C 在各类疾病中的功能和影响,有望为疾病的早期诊断和治疗提供新的生物标志物和干预策略。对以上问题的研究,将使我们更加深入地了解 RNA ac4C 修饰的生理及病理作用,并为相关疾病的预防和治疗提供新的策略。

### 参 考 文 献

- Thieffry D, Sarkar S. Forty years under the central dogma. *Trends in Biochemical Sciences*, 1998, 23 : 312 ~ 316.
- Holley RW, Everett GA, Madison JT, et al. Nucleotide sequences in the yeast alanine transfer ribonucleic acid. *J Biol Chem*, 1965, 240 : 2122~2128.
- Iwanami Y, Brown GM. Methylated bases of ribosomal ribonucleic acid from HeLa cells. *Arch Biochem Biophys*, 1968, 126 : 8~15.
- Iwanami Y, Brown GM. Methylated bases of transfer ribonucleic acid from HeLa and L cells. *Arch Biochem Biophys*, 1968, 124 : 472~482.
- Cappannini A, Ray A, Purta E, et al. MODOMICS: a database of RNA modifications and related information. 2023 update. *Nucleic Acids Research*, 2024, 52 : D239 ~ D244
- Moshitch-Moshkovitz S, Dominissini D, Rechavi G. The epitranscriptome toolbox. *Cell*, 2022, 185 : 764~776.
- Das AS, Alfonzo JD, Accornero F. The importance of RNA modifications: From cells to muscle physiology. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2022, 13 : e1700.
- Lee SY, Kim JJ, Miller KM. Emerging roles of RNA modifications in genome integrity. *Brief Funct Genomics*, 2021, 20 : 106~112.
- Cayir A. RNA modifications as emerging therapeutic targets. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2022, 13 : e1702.
- Stern L, Schulman LH. The role of the minor base N4-acetylcytidine in the function of the Escherichia coli noninitiator methionine transfer RNA. *J Biol Chem*, 1978, 253 : 6132~6139.
- Thomas G, Gordon J, Rogg H. N4-Acetylcytidine. A previously unidentified labile component of the small subunit of eukaryotic ribosomes. *J Biol Chem*, 1978, 253 : 1101~1105.
- Arango D, Sturgill D, Alhusaini N, et al. Acetylation of cytidine in mRNA promotes translation efficiency. *Cell*, 2018, 175 : 1872~1886. e1824.
- Zachau HG, Dütting D, Feldmann H. The structures of two serine transfer ribonucleic acids. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem*, 1966, 347 : 212~235.
- Kruppa J, Zachau HG. Multiplicity of serine-specific transfer RNAs of brewer's and baker's yeast. *Biochim Biophys Acta*, 1972, 277 : 499~512.
- Oashi Z, Murao K, Yahagi T, et al. Characterization of C + located in the first position of the anticodon of Escherichia coli tRNA Met as N4-acetylcytidine. *Biochim Biophys Acta*, 1972, 262 : 209~213.
- Bruenger E, Kowalak JA, Kuchino Y, et al. 5S rRNA modification in the hyperthermophilic archaea *Sulfolobus solfataricus* and *Pyrodicticum occultum*. *FASEB J*, 1993, 7 : 196~200.
- Sharma S, Langhendries JL, Watzinger P, et al. Yeast Kre33 and human NAT10 are conserved 18S rRNA cytosine acetyltransferases that modify tRNAs assisted by the adaptor Tan1/THUMPDI. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43 : 2242~2258.
- Ito S, Akamatsu Y, Noma A, et al. A single acetylation of 18 S rRNA is essential for biogenesis of the small ribosomal subunit in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem*, 2014, 289 : 26201~26212.
- Ikeuchi Y, Kitahara K, Suzuki T. The RNA acetyltransferase driven by ATP hydrolysis synthesizes N4-acetylcytidine of tRNA anticodon. *EMBO J*, 2008, 27 : 2194~2203.
- Chimnarong S, Suzuki T, Manita T, et al. RNA helicase module in an acetyltransferase that modifies a specific tRNA anticodon. *EMBO J*, 2009, 28 : 1362~1373.
- Ito S, Horikawa S, Suzuki T, et al. Human NAT10 is an ATP-dependent RNA acetyltransferase responsible for N4-acetylcytidine formation in 18 S ribosomal RNA (rRNA). *J Biol Chem*, 2014, 289 : 35724~35730.
- Larrieu D, Britton S, Demir M, et al. Chemical inhibition of NAT10 corrects defects of laminopathic cells. *Science*, 2014, 344 : 527~532.
- Dalhat MH, Altayb HN, Khan MI, et al. Structural insights of human N-acetyltransferase 10 and identification of its potential novel inhibitors. *Sci Rep*, 2021, 11 : 6051.
- Xie R, Cheng L, Huang M, et al. NAT10 drives cisplatin chemoresistance by enhancing ac4C-associated DNA repair in bladder cancer. *Cancer Res*, 2023, 83 : 1666 ~ 1683.
- Kudrin P, Meierhofer D, Vågbo CB, et al. Nuclear RNA-acetylation can be erased by the deacetylase SIRT7. *BioRxiv*, 2021 : 2021. 2004. 2006. 438707.
- Xiang Y, Zhou C, Zeng Y, et al. NAT10-mediated N4-acetylcytidine of RNA contributes to post-transcriptional regulation of mouse oocyte maturation in vitro. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9 : 704341.
- Xu C, Zhang J, Zhang J, et al. SIRT7 is a deacetylase of N4-acetylcytidine on ribosomal RNA. *Genome Instability & Disease*, 2021, 2 : 253~260.
- Arango D, Sturgill D, Yang R, et al. Direct epitranscriptomic regulation of mammalian translation initiation through N4-acetylcytidine. *Mol Cell*, 2022, 82 : 2797~2814. e11.

- 29 Yang W, Li HY, Wu YF, et al. ac4C acetylation of RUNX2 catalyzed by NAT10 spurs osteogenesis of BMSCs and prevents ovariectomy-induced bone loss. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 26 : 135~147.
- 30 Bartee D, Nance KD, Meier JL. Site-specific synthesis of N(4)-acetylcytidine in RNA reveals physiological duplex stabilization. *J Am Chem Soc*, 2022, 144 : 3487~3496.
- 31 Yang Q, Lei X, He J, et al. N4-acetylcytidine drives glycolysis addiction in gastric cancer via NAT10/SEPT9/HIF-1 $\alpha$  positive feedback loop. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, 10 : e2300898.
- 32 Dalhat MH, Choudhry H, Khan MI. NAT10, an RNA cytidine acetyltransferase, regulates ferroptosis in cancer cells. *Antioxidants (Basel)*, 2023, 12 : 1116.
- 33 Zheng X, Wang Q, Zhou Y, et al. N-acetyltransferase 10 promotes colon cancer progression by inhibiting ferroptosis through N4-acetylation and stabilization of ferroptosis suppressor protein 1 (FSP1) mRNA. *Cancer Commun (Lond)*, 2022, 42 : 1347~1366.
- 34 Hao H, Liu W, Miao Y, et al. N4-acetylcytidine regulates the replication and pathogenicity of enterovirus 71. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50 : 9339~9354.
- 35 Oh TI, Lee YM, Lim BO, et al. Inhibition of NAT10 suppresses melanogenesis and melanoma growth by attenuating microphthalmia-associated transcription factor (MITF) expression. *Int J Mol Sci*, 2017, 18 : 1924.
- 36 Shen Q, Zheng X, McNutt MA, et al. NAT10, a nucleolar protein, localizes to the midbody and regulates cytokinesis and acetylation of microtubules. *Exp Cell Res*, 2009, 315 : 1653~1667.
- 37 Liu R, Wubulikasimu Z, Cai R, et al. NAT10-mediated N4-acetylcytidine mRNA modification regulates self-renewal in human embryonic stem cells. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51 : 8514~8531.
- 38 Chen L, Wang WJ, Liu Q, et al. NAT10-mediated N4-acetylcytidine modification is required for meiosis entry and progression in male germ cells. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50 : 10896~10913.
- 39 Jiang X, Cheng Y, Zhu Y, et al. Maternal NAT10 orchestrates oocyte meiotic cell-cycle progression and maturation in mice. *Nat Commun*, 2023, 14 : 3729.
- 40 Tardu M, Jones JD, Kennedy RT, et al. Identification and Quantification of Modified Nucleosides in *Saccharomyces cerevisiae* mRNAs. *ACS Chem Biol*, 2019, 14 : 1403~1409.
- 41 Ge J, Wang Z, Wu J. NAT10-mediated ac(4) C modification promotes ectoderm differentiation of human embryonic stem cells via acetylating NR2F1 mRNA. *Cell Prolif*, 2023, 57 : e13577.
- 42 Broly M, Polevoda BV, Awayda KM, et al. THUMPDI bi-allelic variants cause loss of tRNA acetylation and a syndromic neurodevelopmental disorder. *Am J Hum Genet*, 2022, 109 : 587~600.
- 43 Zhou HQ, Zhuang LJ, Bao HQ, et al. Olfactory regulation by dopamine and DRD2 receptor in the nose. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119 : e2118570119.
- 44 Zhou HQ, Zhang JW, Zhu Z, et al. Dynamic regulation of mRNA acetylation at synapses by learning and memory. *BioRxiv*, 2024 : 2024.2006.2001.596932.
- 45 Zhang X, Trebak F, Souza LAC, et al. Small RNA modifications in Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis*, 2020, 145 : 105058.
- 46 Garofalo M, Pandini C, Sproviero D, et al. Advances with long non-coding RNAs in Alzheimer's disease as peripheral biomarker. *Genes (Basel)*, 2021, 12 : 1124.
- 47 Yu CC, Jiang T, Yang AF, et al. Epigenetic Modulation on Tau Phosphorylation in Alzheimer's Disease. *Neural Plast*, 2019, 2019 : 6856327.
- 48 Zhang Y, Zhao Y, Liu Y, et al. Exploring the regulatory roles of circular RNAs in Alzheimer's disease. *Transl Neurodegener*, 2020, 9 : 35.
- 49 Ma Y, Li W, Fan C, et al. Comprehensive Analysis of Long Non-Coding RNAs N4-Acetylcytidine in Alzheimer's Disease Mice Model Using High-Throughput Sequencing. *J Alzheimers Dis*, 2022, 90 : 1659~1675.
- 50 Ma Y, Fan C, Wang Y, et al. Comprehensive analysis of mRNAs in the cerebral cortex in APP/PS1 double-transgenic mice with Alzheimer's disease based on high-throughput sequencing of N4-acetylcytidine. *Funct Integr Genomics*, 2023, 23 : 267.
- 51 Zhang M, Yang K, Wang QH, et al. The Cytidine N-Acetyltransferase NAT10 Participates in Peripheral Nerve Injury-Induced Neuropathic Pain by Stabilizing SYT9 Expression in Primary Sensory Neurons. *J Neurosci*, 2023, 43 : 3009~3027.
- 52 Xu T, Wang J, Wu Y, et al. Ac4C Enhances the Translation Efficiency of Vegfa mRNA and Mediates Central Sensitization in Spinal Dorsal Horn in Neuropathic Pain. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, 10 : e2303113.
- 53 Xu L, Zheng S, Liu B, et al. Epitranscriptomic profiling of N4-acetylcytidine-related RNA acetylation in the spinal dorsal horn of rat with cancer-induced bone pain. *Mol Pain*, 2023, 19 : 17448069231178487.
- 54 Guo XF, Wang XH, Fu YL, et al. Elevation of N-acetyltransferase 10 in hippocampal neurons mediates depression- and anxiety-like behaviors. *Brain Res Bull*, 2022, 185 : 91~98.
- 55 Duan J, Zhang Q, Hu X, et al. N(4)-acetylcytidine is required for sustained NLRP3 inflammasome activation via HMGB1 pathway in microglia. *Cell Signal*, 2019, 58 : 44~52.
- 56 Furman D, Chang J, Lartigue L, et al. Expression of specific inflammasome gene modules stratifies older individuals into two extreme clinical and immunological states. *Nat Med*, 2017, 2 : 174~184.
- 57 Huang YC, Ping LY, Hsu SH, et al. Indicators of HSV1 Infection, ECM-Receptor Interaction, and Chromatin Modulation in a Nuclear Family with Schizophrenia. *J Pers Med*, 2023, 13 : 1392.