

YTHDC1 介导 ABCB6 上调诱导 AD 小鼠神经元细胞铁死亡促进认知功能障碍机制的实验研究

吴雅欣¹, 赵锦华¹, 孟清琳², 潘娜², 刘养凤², 苟英之² (1. 咸阳市第一人民医院神经内科, 陕西咸阳 712000; 2. 中国人民解放军空军第九八六医院神经内科, 西安 710054)

摘要: 目的 研究 ATP 结合盒 B 亚家族转运蛋白 6 (ATP-binding cassette subfamily B transporter 6, ABCB6) 对阿尔兹海默症 (Alzheimer's disease, AD) 小鼠认知功能障碍的影响及其可能的潜在调控分子机制。方法 通过注射 β -淀粉样蛋白 (amyloid β -protein, A β) 构建体内 AD 小鼠模型; 采用水迷宫测试和 Y 迷宫测试评估大鼠学习与记忆能力、空间探索能力。通过神经元 HT22 细胞和 A β 构建体外 AD 细胞模型; 采用 RNA 免疫沉淀 (RNA immunoprecipitation, RIP) 分析 YTH 结构域包含蛋白 1 (YTH domain containing proteins 1, YTHDC1) 与 ABCB6 的结合关系; 实时定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 检测过表达和敲低转染效率; Western blot 检测 YTHDC1 和 ABCB6 蛋白, 以及铁死亡相关蛋白 [溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)、谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4)] 表达水平; CCK-8 检测细胞活力; 检测丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH)、活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平及 Fe^{2+} 含量。结果 AD 小鼠海马组织及 A β 诱导的 HT22 细胞中 ABCB6 mRNA (3.51 ± 0.17 vs 1.02 ± 0.01 , 3.45 ± 0.21 vs 1.02 ± 0.01) 和蛋白 (3.25 ± 0.14 vs 1.01 ± 0.01 , 3.14 ± 0.16 vs 1.01 ± 0.01) 水平均显著上调, 差异具有统计学意义 ($t = -46.238, -20.349; -50.468, -23.013$, 均 $P < 0.001$)。敲低 ABCB6 显著降低 AD 小鼠抵达平台的时间、到达平台距离, 增加小鼠自发交替率和进入新异臂次数的比值 ($t = 27.007, 11.264, 24.414, 19.901$, 均 $P < 0.001$)。敲低 ABCB6 促进 HT22 细胞增殖, 抑制 A β 诱导的 MDA, Fe^{2+} 水平上调和 GSH 水平下调, 减少 ROS 生成, 促进 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达 ($t = 2.883 \sim 26.122$, 均 $P < 0.05$)。YTHDC1 蛋白通过与 ABCB6 mRNA 结合促进其稳定性, 上调 ABCB6 蛋白表达。敲低 YTHDC1 显著降低 ABCB6 蛋白水平 ($t = 18.504$, $P < 0.001$), 促进 HT22 细胞增殖, 升高 GSH 含量及 SLC7A11 和 GPX4 蛋白水平, 降低 MDA 和 Fe^{2+} 含量, 抑制 ROS 生成 ($t = 4.404 \sim 14.486$, 均 $P < 0.05$)。敲低 YTHDC1 可以改善 AD 小鼠学习与记忆能力和空间探索能力。过表达 ABCB6 可逆转敲低 YTHDC1 对 HT22 细胞铁死亡和 AD 小鼠认知功能障碍的影响。结论 YTHDC1 可能通过介导 ABCB6 上调, 诱导神经元细胞铁死亡, 进而促进 AD 小鼠的认知功能障碍发生。

关键词: 阿尔兹海默症; YTH 结构域包含蛋白 1; ATP 结合盒 B 亚家族转运蛋白 6; 铁死亡; 认知功能障碍

中图分类号: R-332 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2024)06-054-08

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2024.06.009

Experimental Study on the Mechanism of YTHDC1 Mediating Upregulation of ABCB6 and Inducing Neuronal Ferroptosis and Promoting Cognitive Dysfunction in AD Mice

WU Yaxin¹, ZHAO Jinhua¹, MENG Qinglin², PAN Na², LIU Yangfeng², GOU Yingzhi²

(1. Department of Neurology, the First People's Hospital of Xianyang, Shaanxi Xianyang 712000, China; 2. Department of Neurology, the 986th Hospital of the Chinese People's Liberation Army Air Force, Xi'an 710054, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of ATP-binding cassette subfamily B transporter 6 subfamily B (ABCB6) on cognitive dysfunction in Alzheimer's disease (AD) rats and its possible potential regulatory molecular mechanisms. **Methods** Amyloid β -protein (A β) was injected to construct the AD mouse model in vivo. Water maze test and Y maze test were used to evaluate the learning and memory ability and space exploration ability of rats. An in vitro AD cell model was constructed by HT22 cells and A β . The binding relationship between YTH domain containing 1 (YTHDC1) and ABCB6 was analyzed by RNA immunoprecipitation (RIP). Quantitative real time polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect

作者简介: 吴雅欣 (1990-), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 认知障碍、神经系统免疫疾病、周围神经病, E-mail: wyx6457@163.com。

通讯作者: 孟清琳 (1979-), 男, 本科, 主治医师, 研究方向: 脑血管介入, E-mail: MQL0419@163.com。

overexpression and knockdown transfection efficiency. Western blot analysis was performed to detect the expression levels of YTHDC1 and ABCB6 proteins, as well as ferroptosis related proteins [Solute Carrier Family 7 Member 11 (SLC7A11), Glutathione peroxidase 4(GPX4)]. Cell viability was detected with CCK-8. Malondialdehyde (MDA), Glutathione (GSH), Reactive oxygen species (ROS) levels and Fe^{2+} content were analyzed by the assay kit. **Results** The ABCB6 mRNA (3.51 ± 0.17 vs 1.02 ± 0.01 , 3.45 ± 0.21 vs 1.02 ± 0.01) and protein (3.25 ± 0.14 vs 1.01 ± 0.01 , 3.14 ± 0.16 vs 1.01 ± 0.01) levels in the hippocampus of AD mice and $A\beta$ -induced HT22 cells were up-regulated, and the differences were statistically significant ($t=-46.238$, -20.349 ; -50.468 , -23.013 , all $P<0.001$). Knocking down ABCB6 decreased the time and distance of AD mice reaching the platform, and increased the ratio of spontaneous exchange rate to the number of times of entered the new arm ($t=27.007$, 11.264 , 24.414 , 19.901 , all $P<0.001$). Knockdown ABCB6 promoted HT22 cell proliferation, decreased levels of MDA and Fe^{2+} , increased GSH levels, reduced ROS generation, and promoted expression of SLC7A11 and GPX4 proteins ($t=2.883 \sim 26.122$, all $P<0.05$). YTHDC1 protein promoted its stability by binding to ABCB6 mRNA and up-regulated the expression of ABCB6 protein. Knockdown of YTHDC1 decreased ABCB6 protein level ($t=18.504$, $P<0.001$), promoted the proliferation of HT22 cells, increased GSH content, SLC7A11 and GPX4 protein levels, decreased MDA and Fe^{2+} content, and inhibited ROS production ($t=4.404 \sim 14.486$, all $P<0.05$). Knocking down YTHDC1 could improve the learning and memory ability and spatial exploration ability of AD mice. Over-expression of ABCB6 reversed the effects of YTHDC1 knockdown on ferroptosis in HT22 cells and cognitive dysfunction in AD mice. **Conclusion** YTHDC1 may induce ferroptosis of neuronal cells by mediating the up-regulation of ABCB6, thus promoting cognitive dysfunction in AD mice.

Keywords: Alzheimer's disease; YTH domain containing 1; ATP-binding cassette subfamily B transporter 6; ferroptosis; cognitive dysfunction

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种慢性进行性神经退变疾病, 临床以记忆障碍、言语能力丧失或情感淡漠为主要症状, 严重影响患者日常生活, 给家庭及社会带来极大负担^[1]。目前, AD 发病机制尚未完全明确, 但是 β -淀粉样蛋白 (amyloid β -protein, $A\beta$) 细胞外沉积和包括神经原纤维缠结的异常修饰的 Tau 蛋白积累是其主要的病理学特征^[1-2]。现阶段基于分子生物学研究为人类多种疾病的诊疗奠定了基础, 故积极研究 AD 发病机制及可能的生物分子靶标具有重要临床意义。铁是参与中枢神经系统重要生物过程的必需元素, 如氧运输、神经递质的合成和代谢等, 在 AD 病理特征中, 过量的铁积聚在不溶性淀粉样斑块和神经原纤维缠结中^[3-4]。神经元铁含量升高会加剧神经元细胞的氧化损伤, 引发多种病变, 最终导致 AD 明显的认知缺陷^[4]。另一方面, ATP 结合盒 B 亚家族转运蛋白 6 (ATP-binding cassette subfamily B transporter 6, ABCB6) 是已知的能量依赖性卟啉转运蛋白, 参与血红素生物的合成^[5]。而相关研究报道, 血红素可以诱导神经元细胞铁死亡, 在中枢神经系统损伤后的应激反应和 AD 神经元细胞凋亡中发挥重要作用^[6-7]。那么 ABCB6 是否可能通过调控 AD 神经元铁死亡, 进而参与 AD 进展尚不明确。因此, 本研究通过构建体内 AD 小鼠模型和体外神经元 HT22 细胞模型, 利用功能获得和缺失实验探究了 ABCB6 对 AD 小鼠认知功能障碍的影响及其潜在的调节机制, 旨在为开发新的有效的 AD 治疗靶标提供新的方向

和参考。

1 材料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 实验动物: 选取 70 只 8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠, 由西安交通大学实验动物中心提供, 实验动物使用许可证号 SYXK (陕) 2020-005。将动物饲养在 12 h 光照/黑暗循环, 温度 20 °C, 湿度 60% 左右的环境中饲养。动物程序按照美国国立卫生研究院出版的《实验动物护理和使用指南》进行, 并在本院伦理委员会批准后执行 (伦理批号: 2023-1003)。

1.1.2 实验细胞: 神经元 HT22 细胞由中国科学院干细胞库提供, 在补充有 10 g/dl 胎牛血清的 DMEM (100 U/ml 青霉素-链霉素) 培养液中培养, 置于 37 °C 培养箱, 每 48 h 更换一次培养液, 待细胞生长密度达到 70% 以上时进行传代。

1.2 主要试剂与仪器 $A\beta_{25-35}$ 粉末 (纯度 > 97%, 批号: 053M4804V, 实验前将 $A\beta_{25-35}$ 溶于生理盐水配置成所需浓度溶液保存备用) 购自 Sigma 公司; TRIzol 试剂, PrimeScript RT Master Mix 试剂盒 (美国 Invitrogen 公司); DMEM 培养液和胎牛血清 (美国 Thermo Fisher 公司); CCK-8 测定试剂盒和 Fe^{2+} 测定试剂盒 (美国 BioVision 公司); 还原型谷胱甘肽 (Glutathione, GSH) 及丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 测定试剂盒 (南京建成生物工程研究所); 免疫印记检测蛋白一抗 (英国 Abcam 公司); ABCB6 过表达载体 (ABCB6) 和 shRNA (sh-ABCB6), YTH 结构域包含蛋白 1 (YTH

domain containing proteins 1, YTHDC1) 过表达载体 (YTHDC1) 和 shRNA (sh-YTHDC1) 及阴性对照 (vector 和 sh-NC) (上海生物工程科技有限公司); ABCB6 腺病毒载体 (Ad-ABCB6), YTHDC1 腺病毒载体 (Ad-YTHDC1) 及阴性对照 (Ad-NC) (上海 GenePharma 公司); ABI Prism®7500 荧光定量 PCR 仪 (美国 Applied Biosystems 公司); 酶标仪 (美国 Bio-Rad 实验室)。

1.3 方法

1.3.1 动物实验方法

1.3.1.1 AD 模型构建: 通过注射 A β 至双侧海马建立 AD 大鼠模型^[8], 剪除小鼠后眼角到两耳间的毛发, 消毒后剪开头皮暴露颅骨, 棉签蘸取少量 30% 过氧化氢溶液擦拭创面, 使得颅骨缝清晰可见。使用颅骨钻钻穿颅骨, 将小鼠固定在脑立体定位仪上, 微量进样器与颅骨钻孔平面垂直, 缓慢匀速进针。使用自动进样泵缓慢匀速推入 2 μ g/ml 的 A β 溶液 (使用前将 A β ₂₅₋₃₅ 溶于生理盐水配置成所需浓度溶液, 过滤, 37 $^{\circ}$ C 孵育 7 天), 假手术组小鼠注射等量生理盐水。结束注射后留针 90 s, 缓慢出针, 缝合头皮, 消毒创口。

1.3.1.2 实验动物分组: 将实验小鼠随机分为假手术组 (Sham 组, $n=10$) 和 AD 造模组 (AD 组, $n=60$), 造模组通过注射 A β 至双侧海马建立 AD 大鼠模型。建模成功后将 AD 造模组随机分为模型 AD 组, AD+sh-NC1 组 (转染 ABCB6 阴性对照序列), AD+sh-ABCB6 组 (转染小干扰 sh-ABCB6 序列), AD+sh-NC2 组 (转染 YTHDC1 阴性对照序列), AD+sh-YTHDC1 组 (转染小干扰 sh-YTHDC1 序列), AD+sh-YTHDC1+ABCB6 组 (共转染 sh-YTHDC1 序列+Ad-ABCB6 腺病毒载体), 每组 10 只; 分别按照各组对应将相应序列和 (或) 腺病毒载体通过颅骨上的转孔注射入小鼠双侧海马区, 培养 14 天后进行测试。然后腹腔注射 2g/dl 戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 实施安乐死, 分离小鼠双侧海马组织进行后续分析。

1.3.1.3 Morris 水迷宫实验评估小鼠学习与记忆能力: 将装有适温清水的黑色圆形水箱 (直径 170 cm, 高度 50 cm) 分成四个均等象限, 在水箱特定目标象限中放置直径 12 cm 的逃跑平台。前 5 天进行位置导航测试, 将小鼠头朝池壁放入水中指定象限, 记录小鼠找到水下平台的时间, 如果时间超过 120 s, 由实验人员将小鼠引导到平台上, 停留 10 s, 将大鼠移走、干燥并放回相应的笼子; 最后一次训练测试后 24 h, 拆除平台, 进行探针测试。将小鼠放在与目标象限 (原平台象限) 相反的位置, 记录小鼠进入目标象限的时间及次数, 以此评估小鼠的

记忆能力。

1.3.1.4 Y 迷宫实验检测小鼠空间探索能力: Y 迷宫由 3 个不透明塑料臂组成, 分别命名起始臂、新异臂和其他臂。实验前, 用一块小隔板遮挡住新异臂入口, 将小鼠从起始臂起点放进 Y 迷宫里任其自由活动 10 min。取走新异臂入口隔板, 将小鼠从同一起点处放入 Y 迷宫, 进行 5 min 自由探索。两只小鼠测试间隔中需及时用 75% 酒精清洁 Y 迷宫, 以确保气味不干扰实验。由 SMART-V 系统采集记录小鼠活动轨迹及相关指标参数。

1.3.2 细胞实验方法

1.3.2.1 实验细胞分组: 待 HT22 细胞培养至 70% 左右融合度时, 将其分为对照组 (Control 组, 采用与 A β 溶液等量的生理盐水处理 24h, 其余不做任何处理), A β 组 (采用 30 μ mol/L 的 A β 溶液处理, 溶液配置同动物实验), A β +sh-NC1 组 (转染 ABCB6 阴性对照序列), A β +sh-ABCB6 组 (转染小干扰 sh-ABCB6 序列), A β +sh-NC2 组 (转染 YTHDC1 阴性对照序列), A β +sh-YTHDC1 组 (转染小干扰 sh-YTHDC1 序列), A β +sh-YTHDC1+Vector 组 (转染 sh-YTHDC1 序列+Vector 空载体), A β +sh-YTHDC1+ABCB6 组 (转染 sh-YTHDC1 序列+过表达 ABCB6 载体), 除 Control 组和 A β 组细胞外, 其余各组细胞在转染相应序列或载体后 48 h, 再次采用 30 μ mol/L 的 A β 处理 24 h, 然后收集细胞。

1.3.2.2 qRT-PCR 检测转染效率: 使用 Trizol 试剂提取组织和细胞总 RNA, 后使用 PrimeScript RT-PCR 试剂盒根据说明书将 RNA 逆转录为 cDNA。使用 SYBR Green 进行 PCR 扩增, 反应条件为 95 $^{\circ}$ C 预变性 3min, 95 $^{\circ}$ C 变性 30s, 58 $^{\circ}$ C 退火 30s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30s, 进行 30 个循环。以 GAPDH 作为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算目的基因相对表达水平。PCR 引物序列: ABCB6(F): 5'-GCGGCAGAATATGGCTTAG-3', (R)5'-GATGGACGACAATCATCGG-3'; GAPDH (F): 5'-ATGCTCAAGTACACCCTCATC-3', (R) 5'-GGACACCGTAGGTTTACTGC-3'。

1.3.2.3 Western blot 检测 YTHDC1, ABCB6, 溶质载体家族 T 成员 II (solute carrier family T member II, SLC7A11), 谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase-4, GPX4) 蛋白表达: 采用放射免疫沉淀测定 (RIPA) 裂解液提取组织和细胞中总蛋白, 通过 BCA 测定试剂盒测量蛋白质浓度。在十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 中分离蛋白样品, 转移到聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上, 用 5g/dl 脱脂牛奶室温封闭 2 h, 加入 Anti-

YTHDC1 (1 : 300)、Anti-ABCB6 (1 : 300)、Anti-SLC7A11 (1 : 500)和Anti-GPX4 (1 : 500)一抗,4℃孵育过夜,次日加入HRP偶联二抗(1 : 1000),室温孵育1h, TBST洗膜三次,采用ECL试剂盒在凝胶成像系统上进行拍照,Image J软件测定蛋白条带灰度值。

1.3.2.4 RNA免疫沉淀(RIP)测定:采用Magna RIP试剂盒进行RIP实验。将转染的细胞用裂解缓冲液裂解,裂解物与抗胰岛素样生长因子II mRNA结合蛋白(Anti-IGF2BP1)或阴性对照IgG抗体偶联的磁珠孵育。用蛋白酶K消化这些小珠子中的蛋白质和RNA,后用qPCR检测免疫沉淀RNA。

1.3.2.5 RNA稳定性测定:放线菌素D实验用于测定RNA稳定性。将细胞在6孔板中培养过夜,加入5 μg/ml放线菌素D到细胞中,以抑制基因不同时间点的转录表达。提取RNA并通过qPCR进行测定,计算指定组中不同时间点的RNA水平。

1.3.2.6 CCK-8检测细胞活力:根据试剂盒说明,将转染后的HT22细胞悬液以 5×10^3 个/孔接种至96孔板培养24h,每孔加入10 μl CCK-8溶液,细胞培养箱继续培养2h。利用酶标仪检测450 nm处细胞的吸光度(A值)进行数据分析。

1.3.2.7 生化指标检测:提取细胞裂解物,按照制造商说明,分别采用丙二醛(MDA)测定试剂盒、还原谷胱甘肽(GSH)测定试剂盒和 Fe^{2+} 检测试剂盒检测MDA, GSH含量及细胞内 Fe^{2+} 相对水平;细胞活性氧(reactive oxygen species, ROS)使用

ROS检测试剂盒测量。

1.4 统计学分析 通过SPSS 21.0进行数据统计分析,最终结果以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。组间样本两两比较采用Student's *t*检验;多组间样本比较采用单因素方差分析,进一步行组间两两比较采用LSD检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 ABCB6在AD小鼠海马区的表达 结果显示,AD组小鼠海马区Aβ蛋白(2.43 ± 0.12 vs 1.00 ± 0.02)和磷酸化Tau蛋白(1.74 ± 0.09 vs 1.01 ± 0.03)水平显著高于Sham组,差异具有统计学意义($t = -37.171, -24.333$, 均 $P < 0.001$),提示AD模型构建成功。此外发现,AD组小鼠海马区ABCB6 mRNA(3.51 ± 0.17 vs 1.02 ± 0.01)和蛋白(3.25 ± 0.14 vs 1.01 ± 0.01)表达水平也显著高于Sham组,差异具有统计学意义($t = -46.238, -50.468$, 均 $P < 0.001$)。

2.2 敲低ABCB6改善AD小鼠认知功能障碍 见表1。敲低ABCB6表达显著降低AD小鼠海马区ABCB6蛋白水平。迷宫实验检测发现,与Sham组相比,AD组小鼠抵达平台时间和到达平台距离均明显增加,自发交替率和进入新异臂次数比值明显较低($t = 31.649, 14.953, 28.205, 23.768$, 均 $P < 0.001$);与AD组相比,敲低ABCB6表达明显抑制AD小鼠抵达平台时间和到达平台距离,促进自发交替率和进入新异臂次数比值($t = 27.007, 11.264, 24.414, 19.901$, 均 $P < 0.001$)。

表1 敲低ABCB6表达对AD小鼠认知功能的影响($\bar{x} \pm s$)

项目	Sham组	AD组	AD+sh-NC1组	AD+sh-ABCB6组	F	P
ABCB6蛋白	1.01 ± 0.01	3.25 ± 0.14^a	3.29 ± 0.15	1.45 ± 0.11^b	945.844	<0.001
抵达平台时间(s)	19.87 ± 1.16	59.42 ± 3.23	60.25 ± 3.27	25.67 ± 2.96	593.807	<0.001
到达平台距离(cm)	21.12 ± 1.76	38.59 ± 2.97	38.19 ± 3.14	25.43 ± 2.35	116.154	<0.001
自发交替率(%)	58.66 ± 3.57	22.06 ± 2.13	22.54 ± 2.07	53.74 ± 3.48	459.829	<0.001
进入新异臂次数比值(%)	49.52 ± 3.02	20.63 ± 2.25	21.07 ± 2.10	44.82 ± 3.31	317.612	<0.001

注:^a与sham组相比, $t = 42.990, P < 0.05$; ^b与AD组相比, $t = 34.545, P < 0.05$ 。

2.3 ABCB6在Aβ诱导的海马神经元细胞中的表达 研究采用HT22细胞构建体外AD模型,结果显示与Control组相比,Aβ组HT22细胞中ABCB6 mRNA(3.49 ± 0.21 vs 1.02 ± 0.01)和蛋白(3.14 ± 0.16 vs 1.01 ± 0.01)表达水平显著上调,差异具有统计学意义($t = -20.349, -23.013$, 均 $P < 0.001$)。

2.4 敲低ABCB6抑制Aβ诱导的海马神经元细胞铁死亡 见表2。敲低ABCB6显著降低HT22细胞中ABCB6蛋白水平。与Control组相比,Aβ组

细胞活力和GSH含量显著降低,MDA,ROS和 Fe^{2+} 水平显著升高,铁死亡相关蛋白SLC7A11和GPX4表达水平也显著降低,差异具有统计学意义($t = 9.681, 26.122, 3.211, 7.168, 7.341, 6.131, 6.821$, 均 $P < 0.05$);与Aβ组相比,敲低ABCB6则显著升高细胞活力和GSH蛋白表达,降低MDA,ROS和 Fe^{2+} 水平,升高SLC7A11和GPX4蛋白表达,差异具有统计学意义($t = 14.522, 2.883, 21.624, 5.878, 6.180, 5.497, 6.223$, 均 $P < 0.05$)。

表2 敲低 ABCB6 对 A β 诱导的海马神经元细胞铁死亡的影响 ($\bar{x} \pm s$)

项目	Control 组	A β 组	A β +sh-NC1 组	A β +sh- ABCB6 组	F	P
ABCB6 蛋白	1.00 \pm 0.02	3.23 \pm 0.15 ^a	3.26 \pm 0.14	1.33 \pm 0.08 ^b	358.389	<0.001
细胞活力 (A 值)	1.25 \pm 0.10	0.57 \pm 0.06	0.51 \pm 0.04	1.53 \pm 0.12	103.176	<0.001
MDA (nmol/mg)	2.34 \pm 0.25	5.76 \pm 1.79	5.71 \pm 1.86	2.64 \pm 0.28	6.217	<0.01
GSH (nmol/mg)	53.47 \pm 2.04	18.97 \pm 1.23	19.12 \pm 1.17	47.68 \pm 1.85	386.365	<0.001
Fe ²⁺ (μ mol/L)	3.04 \pm 0.36	8.41 \pm 1.22	8.36 \pm 1.15	4.06 \pm 0.52	29.772	<0.001
ROS(%)	13.26 \pm 2.13	29.87 \pm 3.42	30.01 \pm 3.27	15.69 \pm 2.30	30.063	<0.001
SLC7A11 蛋白	1.01 \pm 0.02	0.43 \pm 0.12	0.46 \pm 0.10	0.98 \pm 0.17	22.600	<0.001
GPX4 蛋白	1.02 \pm 0.03	0.45 \pm 0.11	0.44 \pm 0.08	0.96 \pm 0.15	28.532	<0.001

注: ^a 与 Control 组相比, $t=24.702$, $P<0.05$; ^b 与 A β 组相比, $t=21.379$, $P<0.05$ 。

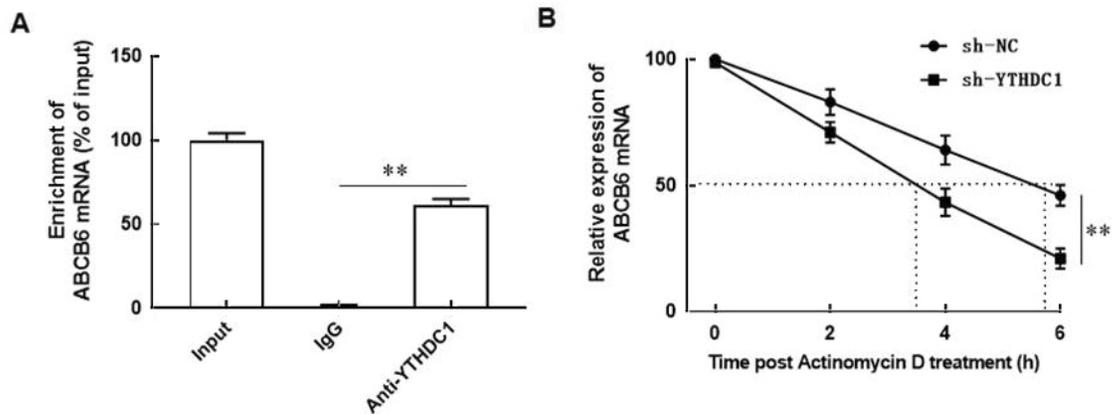
2.5 YTHDC1 通过促进 ABCB6 mRNA 稳定性上调其蛋白表达 RIP 分析验证发现 ABCB6 mRNA 在 Anti-YTHDC1 抗体下拉的复合物中显著富集 ($P<0.01$), 图 1A。与 A β 组 HT22 细胞相比, 敲

低 YTHDC1 显著降低 ABCB6 mRNA 稳定性, 降低 ABCB6 蛋白水平 ($P<0.001$), 见图 1B, 表 3。表明 YTHDC1 可能通过与 ABCB6 mRNA 结合促进其稳定性, 从而上调 ABCB6 蛋白表达。

表3 YTHDC1 对 ABCB6 mRNA 稳定性及蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

项目	Control 组	A β 组	A β +sh-NC2 组	A β +sh- YTHDC1 组	F	P
YTHDC1 蛋白	1.01 \pm 0.01	2.98 \pm 0.13 ^a	3.04 \pm 0.16	1.19 \pm 0.08 ^b	299.273	<0.001
ABCB6 蛋白	1.00 \pm 0.02	3.23 \pm 0.15 ^a	3.19 \pm 0.13	1.27 \pm 0.10 ^b	348.825	<0.001

注: ^a 与 Control 组相比, $t=21.799$, 24.477 , 均 $P<0.05$; ^b 与 A β 组相比, $t=19.808$, 21.514 , 均 $P<0.05$ 。



A. RIP 法测定 ABCB6 mRNA 在 YTHDC1 抗体下拉复合物中富集情况; B. 放线菌素 D 实验用于测定 ABCB6 mRNA 稳定性; ** $P<0.01$ 。

图1 YTHDC1 对 ABCB6 mRNA 稳定性的影响

2.6 过表达 ABCB6 逆转敲低 YTHDC1 对海马神经元细胞铁死亡的抑制作用 见表 4。敲低 YTHDC1 显著降低 HT22 细胞中 YTHDC1 和 ABCB6 蛋白水平 ($P<0.001$), 过表达 ABCB6 显著促进 ABCB6 蛋白表达 ($P<0.001$), 但对 YTHDC1 蛋白水平没有影响 ($P>0.05$)。此外发现, 敲低 YTHDC1 显著升高 HT22 细胞活力, 降低 MDA 和 Fe²⁺ 含量, 升高 GSH 含量, 减少 ROS 产生, 促进铁死亡相关蛋白 SLC7A11 和 GPX4 表达 (均 $P<0.05$); 过表达 ABCB6 能够逆转敲低 YTHDC1 对 HT22 细胞活力及铁死亡的影响 (均 $P<0.05$)。

2.7 YTHDC1 通过上调 ABCB6 促进 AD 小鼠认知

功能障碍 见表 5。敲低 YTHDC1 显著降低 AD 小鼠海马组织中 YTHDC1 和 ABCB6 蛋白水平 (均 $P<0.001$); 敲低 YTHDC1 显著降低 AD 小鼠海马组织中 Fe²⁺ 含量, 促进 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达 (均 $P<0.001$); 过表达 ABCB6 可抵消敲低 YTHDC1 对 Fe²⁺ 含量及铁死亡蛋白表达的影响 (均 $P<0.001$)。同时发现, 敲低 YTHDC1 显著缩短了 AD 小鼠抵达平台的时间及到达平台的距离, 增加了小鼠自发交替率和进入新异臂次数的比值 (均 $P<0.001$); 过表达 ABCB6 可逆转敲低 YTHDC1 对小鼠认知功能障碍的影响 (均 $P<0.001$)。

表4 YTHDC1 调控 ABCB6 表达对海马神经元铁死亡的影响 ($\bar{x} \pm s$)

项目	A β +sh-NC2 组	A β +sh-YTHDC1 组	A β +sh-YTHDC1+Vector 组	A β +sh-YTHDC1 +ABCB6 组	F	P
YTHDC1 蛋白	3.04 \pm 0.16	1.19 \pm 0.08 ^a	1.21 \pm 0.10	1.20 \pm 0.09	202.747	<0.001
ABCB6 蛋白	3.19 \pm 0.13	1.27 \pm 0.10 ^a	1.20 \pm 0.11	3.52 \pm 0.16 ^b	281.814	<0.001
细胞活力 (A 值)	0.63 \pm 0.07	1.48 \pm 0.23 ^a	1.50 \pm 0.20	0.71 \pm 0.11 ^b	51.946	<0.001
MDA (nmol/mg)	5.21 \pm 0.32	2.34 \pm 0.17 ^a	2.36 \pm 0.16	5.03 \pm 0.29 ^b	127.623	<0.001
GSH (nmol/mg)	19.24 \pm 1.22	49.51 \pm 3.26 ^a	50.03 \pm 3.15	24.67 \pm 2.04 ^b	120.389	<0.001
Fe ²⁺ (μ mol/L)	8.16 \pm 1.97	3.43 \pm 0.74 ^a	3.50 \pm 0.69	7.85 \pm 1.42 ^b	11.942	0.003
ROS(%)	23.56 \pm 1.46	14.36 \pm 1.12 ^a	14.25 \pm 1.15	25.30 \pm 1.50 ^b	59.803	<0.001
SLC7A11 蛋白	1.02 \pm 0.01	3.20 \pm 0.67 ^a	3.24 \pm 0.71	1.32 \pm 0.46 ^b	14.590	0.001
GPX4 蛋白	1.00 \pm 0.01	3.31 \pm 0.70 ^a	3.28 \pm 0.73	1.27 \pm 0.50 ^b	14.776	0.001

注: ^a与 A β +sh-NC2 组相比, $t=20.245, 18.504, 10.470, 14.320, 14.486, 4.404, 8.543, 4.948, 5.015$, 均 $P<0.05$; ^b与 A β +sh-YTHDC1 组相比, $t=21.684, 5.689, 13.422, 11.887, 4.115, 10.159, 4.267, 4.429$, 均 $P<0.05$ 。

表5 YTHDC1 调控 ABCB6 表达对 AD 小鼠认知功能障碍的影响 ($\bar{x} \pm s$)

项目	Sham 组	AD 组	AD+sh-NC2 组	AD+sh-YTHDC1 组	AD+sh-YTHDC1+ ABCB6 组	F	P
YTHDC1 蛋白	1.01 \pm 0.02	2.87 \pm 0.16 ^a	2.90 \pm 0.14	1.25 \pm 0.09 ^b	1.26 \pm 0.07	758.592	<0.001
ABCB6 蛋白	1.01 \pm 0.01	3.25 \pm 0.14 ^a	3.19 \pm 0.15	1.37 \pm 0.11 ^b	3.09 \pm 0.17 ^c	723.269	<0.001
Fe ²⁺ (μ mol/L)	4.74 \pm 0.56	11.67 \pm 2.05 ^a	11.73 \pm 1.98	5.59 \pm 0.12 ^b	10.85 \pm 1.65 ^c	53.413	<0.001
SLC7A11 蛋白	1.00 \pm 0.01	0.35 \pm 0.17 ^a	0.37 \pm 0.16	1.16 \pm 0.32 ^b	0.44 \pm 0.15 ^c	41.373	<0.001
GPX4 蛋白	1.01 \pm 0.02	0.41 \pm 0.13 ^a	0.39 \pm 0.15	1.23 \pm 0.28 ^b	0.46 \pm 0.16 ^c	53.442	<0.001
抵达平台时间 (s)	19.87 \pm 1.16	59.42 \pm 3.23 ^a	58.97 \pm 3.17	24.65 \pm 2.43 ^b	54.71 \pm 2.48 ^c	565.232	<0.001
到达平台距离 (cm)	21.12 \pm 1.76	38.59 \pm 2.97 ^a	40.01 \pm 2.58	26.84 \pm 2.05 ^b	41.25 \pm 3.04 ^c	127.249	<0.001
自发交替率 (%)	58.66 \pm 3.57	22.06 \pm 2.13 ^a	22.24 \pm 2.06	56.91 \pm 2.73 ^b	27.12 \pm 2.26 ^c	530.561	<0.001
进入新异臂次数比值 (%)	49.52 \pm 3.02	20.63 \pm 2.25 ^a	19.68 \pm 1.99	45.97 \pm 3.21 ^b	24.18 \pm 2.30 ^c	312.832	<0.001

注: ^a与 Sham 组相比, $t=38.418, 38.829, 10.366, 7.671, 7.911, 31.649, 14.953, 28.205, 23.768$, 均 $P<0.05$; ^b与 AD 组相比, $t=33.461, 32.589, 9.095, 9.559, 10.812, 29.867, 10.383, 29.846, 21.813$, 均 $P<0.05$; ^c与 AD+sh-YTHDC1 组相比, $t=29.815, 7.868, 8.497, 10.153, 25.821, 12.733, 25.513, 18.757$, 均 $P<0.05$ 。

3 讨论

近年大脑铁含量失调在神经退行性疾病发病机制研究中得到广泛报道,如帕金森病、亨廷顿舞蹈症 (Huntington's disease, HD)、肌萎缩侧索硬化 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS) 和 AD 等^[9-12]。铁死亡 (Ferroptosis) 存在于与各种神经系统疾病相关的神经细胞死亡中,并伴有脂质过氧化、线粒体功能障碍和谷胱甘肽过氧化物酶 4 (GPX4) 减少^[13-15]。脂质过氧化和 GPX4 失活被认为是中枢神经病变过程中神经元死亡的重要机制^[7,16]。因此 AD 发生与神经元铁死亡的关系是目前众多学者研究的方向之一。

ABCB6 是已知的能量依赖性卟啉转运蛋白,能够参与血红素生物合成,而血红素是 AD 发生发展的一个重要调节因子^[5]。有研究报道,血红素可以与 AD 大脑组织中的 A β 蛋白形成 A β -血红素复合物,随着血源性游离血红素的积累, A β -血红素复合物不断聚集,可导致 AD 病理损伤^[17]。血

红素加氧酶 -1(HO-1) 能够将促氧化血红素转化为胆绿素和胆红素(抗氧化剂),在 AD 大脑应激条件下,促进恢复合适的组织氧化还原微环境,其代谢产物可能会放大细胞内的氧化应激,加剧 AD 进展^[18]。本研究通过体内 AD 小鼠模型和体外细胞模型均证实 ABCB6 可显著促进 Fe²⁺ 积累,降低了铁死亡相关蛋白水平,表明 ABCB6 可能通过促进铁死亡参与 AD 的发生发展。此外,有研究表明将 A β 寡聚物注射到海马体中诱导的 A β 毒性可以增加铁的积累,这一过程是由 Tau 介导的^[19-20]。本研究发现 AD 小鼠海马区 A β 和磷酸化 Tau 蛋白升高,而 A β 处理能直接诱导神经元细胞和海马组织中 ABCB6 升高,表明 A β 形成、Tau 聚集、ABCB6 上调和铁积累的复杂恶性循环。另一方面,程序性细胞死亡途径的异常激活参与了神经退行性疾病的过程,铁死亡的特征,如铁和脂质过氧化物的积累,在神经系统疾病中广泛存在,与 AD 发病机制特征相一致^[12,21]。铁死亡被认为是 AD 发病机制中细胞

死亡的一种独特机制^[21],最新研究表明,铁死亡抑制剂,如铁蛋白抑制素-1和利普司他汀-1,可以改善退行性脑疾病(如帕金森病)以及缺血性和出血性中风模型中的神经元损失和认知障碍^[22]。在本研究中发现,过表达 ABCB6 促进 AD 小鼠记忆丧失和 A β 诱导的神经元细胞铁死亡;敲低 ABCB6 则抑制了 AD 小鼠记忆障碍和神经元铁死亡,进一步证实了 ABCB6 在 AD 中的关键作用。

YTHDC1 是一种独特的 m6A 阅读器,其在细胞核中的主要位置赋予了自身转录后调控功能,如 pri-mRNA 剪接、mRNA 输出和 mRNA 稳定性^[23-24]。AURKA 的核易位是 RNA 异常剪接的先决条件,核 AURKA 将 hnRNP 招募到 YTHDC1,破坏 SRSF3 与 YTHDC1 的结合,可抑制 m6A-YTHDC1-SRSF3 复合物诱导的 RBM4-FL 产生,导致 m6A-YTHDC1-hnRNP 依赖性外显子跳跃产生 RBM4-S^[25]。研究表明,YTHDC1 可以通过调节 mRNA 剪接和核输出促进肌肉干细胞的激活/增殖^[26]。本研究发现,YTHDC1 可以与 ABCB6 mRNA 结合,并促进其稳定,从而上调 ABCB6 蛋白;敲低 YTHDC1 能够抑制神经元铁死亡和 AD 小鼠认知功能障碍,过表达 ABCB6 可逆转 YTHDC1 的作用。本研究强调了铁死亡在 AD 发病中的作用,证实 YTHDC1/ABCB6 参与 AD 小鼠认知功能障碍与其调控神经元铁死亡相关,然而其两者发生作用的分子机制还需后期进一步继续研究证实。

综上所述,YTHDC1 可能通过介导 ABCB6 上调,促进神经元细胞铁死亡,进而诱导 AD 小鼠神经元缺失和认知功能障碍。靶向 YTHDC1/ABCB6 或抑制铁死亡可能是未来 AD 治疗的一种新策略。

参考文献:

- [1] PASSERI E, ELKHOURY K, MORSINK M, et al. Alzheimer's disease: treatment strategies and their limitations[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(22): 13954.
- [2] PANIRI A, HOSSEINI M M, AKHAVAN-NIAKI H. Alzheimer's disease-related epigenetic changes: novel therapeutic targets[J]. *Molecular Neurobiology*, 2024, 61(3): 1282-1317.
- [3] WANG Qi, SUN Jingyi, CHEN Tian, et al. Ferroptosis, pyroptosis, and cuproptosis in Alzheimer's disease[J]. *ACS Chemical Neuroscience*, 2023, 14(19): 3564-3587.
- [4] WANG Feixue, WANG Jiandong, SHEN Ying, et al. Iron dyshomeostasis and ferroptosis: a new Alzheimer's disease hypothesis?[J]. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 2022, 14: 830569.
- [5] SONG Guangyuan, ZHANG Sensen, TIAN Mengqi, et al. Molecular insights into the human ABCB6 transporter[J]. *Cell Discovery*, 2021, 7(1): 55.
- [6] 鲁玉宝,郑世敏,关心,等.血红素加氧酶-1在中枢神经系统疾病中的作用[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2019, 28(3): 287-291.
- [7] LU Yubao, ZHENG Shimin, GUAN Xin, et al. The role of heme oxygenase-1 in central nervous system diseases[J]. *Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 2019, 28(3): 287-291.
- [8] CHEN Xi, LI Dan, SUN Haiying, et al. Relieving ferroptosis may partially reverse neurodegeneration of the auditory cortex[J]. *FEBS Journal*, 2020, 287(21): 4747-4766.
- [9] ZHANG Xiaowen, ZHU Xiangxing, TANG Dongsheng, et al. Targeting autophagy in Alzheimer's disease: animal models and mechanisms[J]. *Zoological Research*, 2023, 44(6): 1132-1145.
- [10] WANG Yi, LÜ Mengnan, ZHAO Weijiang. Research on ferroptosis as a therapeutic target for the treatment of neurodegenerative diseases[J]. *Ageing Research Reviews*, 2023, 91: 102035.
- [11] WANG Zhangli, YUAN Lin, LI Wen, et al. Ferroptosis in Parkinson's disease: glia-neuron crosstalk[J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2022, 28(4): 258-269.
- [12] DAR N J, JOHN U, BANO N, et al. Oxytosis/ferroptosis in neurodegeneration: the underlying role of master regulator glutathione peroxidase 4 (GPX4)[J]. *Molecular Neurobiology*, 2024, 61(3): 1507-1526.
- [13] XIANG Yao, SONG Xiaohua, LONG Dingxin. Ferroptosis regulation through Nrf2 and implications for neurodegenerative diseases[J]. *Archives of Toxicology*, 2024, 98(3): 579-615.
- [14] FENG Fuhai, HE Shasha, LI Xiaoling, et al. Mitochondria-mediated ferroptosis in diseases therapy: from molecular mechanisms to implications[J]. *Aging and Disease*, 2024, 15(2): 714-738.
- [15] WANG Yi, LI Hongjing, HE Qianxiong, et al. Ferroptosis: underlying mechanisms and involvement in neurodegenerative diseases[J]. *Apoptosis*, 2024, 29(1/2): 3-21.
- [16] ZHOU Dongmei, LU Peipei, MO Xianglai, et al. Ferroptosis and metabolic syndrome and complications: association, mechanism, and translational applications[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2023, 14: 1248934.
- [17] URSINI F, MAIORINO M. Lipid peroxidation and ferroptosis: the role of GSH and GPX4[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2020, 152: 175-185.
- [18] ROY M, PAL I, NATH A K, et al. Peroxidase activity of heme bound amyloid β peptides associated with Alzheimer's disease[J]. *Chemical Communications (Cambridge, England)*, 2020, 56(33): 4505-4518.
- [19] SI Zizhen, WANG Xidi. The neuroprotective and neurodegeneration effects of heme oxygenase-1 in Alzheimer's disease[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2020, 78(4): 1259-1272.
- [20] JIA Jianping, NING Yuye, CHEN Meilin, et al. Biomarker changes during 20 years preceding Alzheimer's disease[J]. *New England Journal of Medicine*, 2024: 712-722.
- [21] GUO Lin, LI Xiaoting, GOULD T, et al. T cell aging

- review of cervical cancer: incidence and disparities[J]. *Journal of the National Medical Association*, 2020, 112(2): 229-232.
- [2] 高红敏, 杨红英, 刘鑫. 血清中 microRNA-106b 对宫颈癌患者的早期诊断及预后预测价值 [J]. *现代检验医学杂志*, 2020, 35(6): 85-86, 182.
GAO Hongmin, YANG Hongying, LIU Xin. Value analysis of serum microRNA-106b in early diagnosis of cervical cancer[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2020, 35(6): 85-86, 182.
- [3] WANG Ziwei, LIU Yan, ZHANG Jun, et al. An immune-related long noncoding RNA signature as a prognostic biomarker for human endometrial cancer[J]. *Journal of Oncology*, 2021, 2021: 9972454.
- [4] BERSELLI A, BENFENATI F, MARAGLIANO L, et al. Multiscale modelling of claudin-based assemblies: a magnifying glass for novel structures of biological interfaces[J]. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2022, 20: 5984-6010.
- [5] HAO Shiyu, YANG Chunyan, SONG Peng, et al. CLDN4 promotes growth of acute myeloid leukemia cells via regulating AKT and ERK1/2 signaling[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2022, 619: 137-143.
- [6] HU Pan, LEI Li, WANG Ying, et al. CLDN4 as a novel diagnostic and prognostic biomarker and its association with immune infiltrates in ovarian cancer[J]. *Mediators of Inflammation*, 2023, 2023: 1075265.
- [7] XU Yichi, PAN Shuya, CHEN Hong, et al. MEX3A suppresses proliferation and EMT via inhibiting Akt signaling pathway in cervical cancer[J]. *American Journal of Cancer Research*, 2021, 11(4): 1446-1462.
- [8] LI Jina, LIU Gaoming, LUO Jiayou, et al. Cervical cancer prognosis and related risk factors for patients with cervical cancer: a long-term retrospective cohort study[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12(1): 13994.
- [9] FANG Chenyan, ZHANG Ping, YU Aijun, et al. Different prognosis of stage IIIB cervical cancer patients with lower third of vaginal invasion and those without[J]. *Gynecologic Oncology*, 2021, 162(1): 50-55.
- [10] LIAO Yuandong, HUANG Jiaming, LIU Pan, et al. Downregulation of LNMAS orchestrates partial EMT and immune escape from macrophage phagocytosis to promote lymph node metastasis of cervical cancer[J]. *Oncogene*, 2022, 41(13): 1931-1943.
- [11] LUO Aoran, LAN Xiaoxiao, QIU Qiongzi, et al. LncRNA SFTA1P promotes cervical cancer progression by interaction with PTBP1 to facilitate TPM4 mRNA degradation[J]. *Cell Death & Disease*, 2022, 13(11): 936.
- [12] HAN Sai, LIU Xiaoli, JU Shuang, et al. New mechanisms and biomarkers of lymph node metastasis in cervical cancer: reflections from plasma proteomics[J]. *Clinical Proteomics*, 2023, 20(1): 35.
- [13] BERSELLI A, ALBERINI G, BENFENATI F, et al. Computational study of ion permeation through claudin-4 paracellular channels[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2022, 1516(1): 162-174.
- [14] JIE Youkun, YE Lu, CHEN He, et al. ELFN1-AS1 accelerates cell proliferation, invasion and migration via regulating miR-497-3p/CLDN4 axis in ovarian cancer[J]. *Bioengineered*, 2020, 11(1): 872-882.
- [15] WANG Hao, XU Hongfa, MA Feng, et al. Zinc finger protein 703 induces EMT and sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma by transactivating CLDN4 expression[J]. *Cell Death & Disease*, 2020, 11(4): 225.
- [16] LIN Heng, KRYCZEK I, LI Shasha, et al. Stanniocalcin 1 is a phagocytosis checkpoint driving tumor immune resistance[J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(4): 480-493. e6.
- [17] KROEMER G, ZITVOGEL L. Subversion of calreticulin exposure as a strategy of immune escape[J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(4): 449-451.
- [18] ZHU Jiaqi, JIANG Qi. Twist1-mediated transcriptional activation of Claudin-4 promotes cervical cancer cell migration and invasion[J]. *Oncology Letters*, 2023, 26(2): 335.
- [19] FUJIWARA-TANI R, MORI S, OGATA R, et al. Claudin-4: a new molecular target for epithelial cancer therapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(6): 5494.
- [20] LUO Jie, WANG Huaiming, CHEN Huanjie, et al. CLDN4 silencing promotes proliferation and reduces chemotherapy sensitivity of gastric cancer cells through activation of the PI3K/Akt signalling pathway[J]. *Experimental Physiology*, 2020, 105(6): 979-988.

收稿日期: 2024-01-14

修回日期: 2024-04-16

(上接第60页)

- and Alzheimer's disease[J]. *Frontiers in Immunology*, 2023, 14: 1154699.
- [21] VILLALÓN-GARCÍA I, POVEA-CABELLO S, ÁLVAREZ-CÓRDOBA M, et al. Vicious cycle of lipid peroxidation and iron accumulation in neurodegeneration[J]. *Neural Regeneration Research*, 2023, 18(6): 1196-1202.
- [22] MOHAN S, ALHAZMI H A, HASSANI R, et al. Role of ferroptosis pathways in neuroinflammation and neurological disorders: from pathogenesis to treatment[J]. *Heliyon*, 2024, 10(3): e24786.
- [23] WIDAGDO J, ANGGONO V, WONG J J L. The multifaceted effects of YTHDC1-mediated nuclear m6A recognition[J]. *Trends in Genetics*, 2022, 38(4): 325-332.
- [24] JIANG Xiulin, LIU Baiyang, NIE Zhi, et al. The role of m6A modification in the biological functions and diseases[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2021, 6(1): 74.
- [25] LI Sisi, QI Yangfan, YU Jiachuan, et al. Nuclear aurora kinase A switches m(6)A reader YTHDC1 to enhance an oncogenic RNA splicing of tumor suppressor RBM4[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2022, 7(1): 97.
- [26] QIAO Yulong, SUN Qiang, CHEN Xiaona, et al. Nuclear m6A reader YTHDC1 promotes muscle stem cell activation/proliferation by regulating mRNA splicing and nuclear export[J]. *eLife*, 2023, 12: e82703.

收稿日期: 2024-03-22

修回日期: 2024-04-18