

本文引文格式: 蔺佳. FTO 在帕金森病细胞模型中调控机制作用研究[J].  
右江民族医学院学报, 2021, 43(4): 470-475.

【论著与临床报道】

## FTO 在帕金森病细胞模型中调控机制作用研究

蔺佳<sup>1,2</sup>

1. 新乡医学院药学院, 河南 新乡 453000;
2. 新乡医学院第一附属医院, 河南 新乡 453000

**摘要:** **目的** 探索 m6A 在帕金森病(PD)细胞模型中的调控机制。 **方法** 本实验观察了 6-OHDA 模拟诱导的帕金森损伤神经元中 m6A 含量的变化,并检测了调控 m6A 的甲基转移酶和去甲基化酶的表达水平。建立 FTO 敲低细胞系,观察了敲低 FTO 后,PD 疾病相关基因和多巴胺信号通路相关基因的表达情况。 **结果** 观察到 FTO 在 PD 模型细胞中有显著升高 ( $P < 0.05$ ),m6A 的相对含量有一定程度下降。在敲低了 FTO 的细胞中,发现与 PD 疾病密切相关的一些基因的表达并未出现明显变化,但多巴胺信号通路相关基因 GRIN1 的表达则显著降低 ( $P < 0.05$ )。 **结论** 揭示了 FTO 在帕金森细胞模型对多巴胺代谢的影响和作用机制。

**关键词:** 帕金森病; m6A 甲基化; m6A 甲基转移酶

**中图分类号:** R742.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2021)04-0470-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2021.04.006

## The regulatory mechanism of FTO in cellular models for Parkinson's disease

Lan Jia<sup>1,2</sup>

1. School of Pharmacy, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453000, Henan, China;
2. The First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453000, Henan, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the regulatory mechanism of m6A in cellular models for Parkinson's disease (PD). **Methods** In this experiment, we observed the changes of m6A content in injured Parkinson's neurons induced by 6-OHDA, and detected the expression of methyltransferase and demmethylation enzymes that regulate m6A. FTO knockdown cell lines were established to observe the expressions of genes related to PD disease and dopamine signaling pathway after knockdown of FTO. **Results** FTO increased significantly in the cells of PD models ( $P < 0.05$ ), and the relative content of m6A decreased to some extent. In the FTO knockdown cells, no significant change was found in the expression of some genes closely related to PD disease. However, the expression of GRIN1, a gene related to the dopamine signaling pathway, significantly reduced ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** This study revealed the effect and mechanism of FTO on dopamine metabolism in cell models of Parkinson's.

**Key words:** Parkinson's disease; m6A methylation; m6A methyltransferase

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种临床上常见的老年神经退行性疾病,其发病特征主要是黑

质的多巴胺能神经元变性和过度死亡,以及因此引起的纹状体多巴胺能神经元数量减少。肌肉强直、运动

迟缓、静止性震颤及姿势步态障碍等为其主要临床表现,帕金森病的治疗目前主要是对症治疗,治疗效果也因病情的不同而有明显不同<sup>[1-3]</sup>。患者在患病后,生活质量会随着病情的加重而出现不同程度的下降,在疾病后期会发生多种并发症,甚至致残,从而导致预后不良<sup>[4]</sup>。目前认为,该病的发病机制与神经元内 $\alpha$ -syn-*cline*的异常聚集密切相关<sup>[5]</sup>。但其详细的发病因素,尤其是非基因突变的病理因素仍不十分清楚。

众所周知,真核细胞中的RNA上有超过100种化学修饰,其中m6A是在真核生物mRNA和lncRNA中含量最为丰富的一种修饰碱基<sup>[6-7]</sup>。在哺乳动物细胞中,平均每个mRNA上约有3~5个m6A碱基。研究发现mRNA甲基化的形成是一个可逆过程,甲基转移酶和去甲基化酶共同作用调控了mRNA上m6A的含量变化<sup>[8]</sup>。其中m6A甲基转移酶是一个复合物,它主要由METTL3(methyltransferase like 3)、METTL14(methyltransferase like 14)和WTAP(Wilms tumour 1 associating protein)三部分构成<sup>[9]</sup>。RNA去甲基化酶主要有FTO(fat mass and obesity associated protein)和ALKBH5(alkylation repair homolog 5),并且FTO和ALKBH5都是铁离子和 $\alpha$ -酮戊二酸依赖型双加氧酶<sup>[10]</sup>。mRNA上的m6A碱基在胞质会被不同的“reader”蛋白读取,然后引发不同的效应。在帕金森病中,相关基因mRNA的m6A修饰状况如何,是否也存在表观转录组学层面的调控?对此问题的详细研究还较少,有许多未知需要去探索<sup>[11-12]</sup>。因此,本实验研究6-OHDA诱导的帕金森损伤神经元中m6A含量的变化,并检测了调控m6A的甲基转移酶和去甲基化酶的表达水平,探究m6A修饰在帕金森细胞模型中可能的作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 试剂和仪器 细胞总RNA所用提取试剂盒购自天根生物;实验所用胎牛血清购买自Hyclone公司;DMEM高糖培养基购自Gibico公司;所使用PCR引物均购自于上海生工,详细序列见表1;实验使用FTO siRNA的相关序列为:5'-GCAGTGTATCT-GAGGAGCTCCATAA-3';所用m6A抗体(ab2085-77)购自abcam公司。FTO抑制剂FB23-2由华盛顿大学李静副教授惠赠。

1.1.2 细胞株 本实验所使用的SHSY-5Y细胞株,购自上海生化细胞所。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养和分组 实验中按照双抗:胎牛血清:DMEM高糖培养基=1:10:90的比例来培养SH-SY5Y细胞,之后置于20% O<sub>2</sub>、5% CO<sub>2</sub>,37℃细

胞培养箱中正常培养,隔夜换液。培养至2~3 d时使用胰蛋白酶对SH-SY5Y细胞进行消化传代(1:4)。取处于对数生长期状态良好的细胞进行实验。设空白对照组和6-OHDA处理组,调整细胞密度为 $1 \times 10^5$ 个/毫升,之后每孔按照150  $\mu$ l接种于96孔板,根据相关文献<sup>[8]</sup>描述,对6-OHDA组以0.025 mg/ml的6-OHDA孵育24 h进行损伤诱导处理,各浓度设置6个副孔,然后取样进行相关实验。对于FB23-2处理过程,则将0.1  $\mu$ M的FB23-2再收集细胞进行相关实验。

1.2.2 CCK8实验检测细胞活力 取处于对数生长期的SH-SY5Y细胞进行实验。之后调整细胞密度,设置空白对照组和6-OHDA实验组。根据预实验,6-OHDA组以0.025 mg/ml的6-OHDA孵育进行损伤诱导处理,各组并设置6个副孔。之后在细胞培养箱中培养24 h后,直接每孔加入10  $\mu$ l CCK8试剂,再置培养箱中继续培养4 h,最后使用酶标仪测定每孔在450 nm处的吸光度。

1.2.3 LDH法检测细胞毒性 将被检测的细胞进行损伤诱导处理后,按照LDH检测试剂盒的步骤要求,对照组和实验组各做6个复孔,每孔各抽取50  $\mu$ l上清液加至一个新的酶标检测板中;之后加入配好的底物缓冲液50  $\mu$ l,避光孵育30 min后,每孔加入50  $\mu$ l终止液,最后在490 nm处进行吸光度检测。

1.2.4 Real-time PCR法检测SH-SY5Y细胞中甲基化相关酶mRNA表达 先根据Total RNA Kit试剂盒操作说明分别抽提对照组和实验组细胞的总RNA。之后取各组总RNA各1  $\mu$ g,进行去除基因组反应和逆转录反应,从而合成cDNA,之后以cDNA为模板进行PCR扩增。具体操作根据试剂盒所带说明书和仪器操作说明书[PCR反应体系10  $\mu$ l;cDNA 1  $\mu$ l,primers(10  $\mu$ mol/L)0.5  $\mu$ l,2 $\times$ Taq PCR MasterMix 5  $\mu$ l,RNase Free water 3  $\mu$ l],PCR引物见表1。PCR反应条件为DNMT1:预变性95℃ 7 min,变性95℃ 5 s,退火60℃ 30 s,延伸60℃ 30 s,循环数为40次。本实验中以GAPDH为内参基因,目的基因的相对表达量=2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup>,其中 $\Delta\Delta$ Ct=(Ct靶基因-Ct内参)实验组-(Ct靶基因-Ct内参)对照组。每个目的基因进行3次重复试验,最终以Ct值做统计分析。见表1。

1.2.5 Western blot法检测两种细胞与凋亡相关的蛋白酶表达 首先分别将两种细胞用含1%PMSF的RIPA(强)蛋白裂解液进行裂解,后用考马斯亮蓝结合法进行蛋白质含量定量。每组按照浓度的大小加入不同体积的PBS缓冲液和蛋白上样缓冲液调至各组蛋白浓度一致,之后10%SDS-PAGE电泳直至溴酚蓝到达分离胶底部停止,转移至PVDF膜(100 V,2 h),预

表 1 PCR 所用引物

	正义链	反义链
METTL3	5'-AAGCAGCTGGACTCTCTGCG-3'	5'-GCACTGGGCTGTCACTACGG-3'
METTL14	5'-AGTGCCGACAGCATTGGTG-3'	5'-GGAGCAGAGGTATCATAGGAAGC-3'
FTO	5'-GCTGCTTATTTCTGGGACCTG-3'	5'-AGCCTGGATTACCAATGAGGA-3'
ALKBH5	5'-CGGCGAAGGCTACACTTACG-3'	5'-CCACCAGCTTTTGGATCACCA-3'
PINK1	5'-ATGGATGGGCATAGGTAGT-3'	5'-AGATGTCGTCTCAAAGGGA-3'
Parkin	5'-AGAAATGGCTAACAAAGGTA-3'	5'-ATTGAAAAGAATGGAGGATG-3'
SYN1	5'-TGACCACAAGTTCCACGAT-3'	5'-GCCCTTCATTGATGCTAAA-3'
DJ-1	5'-TGCCGTTTCATCATTTTGT-3'	5'-TTCACCTACTCCGACCG-3'
GRIN1	5'-AGTGACAATCCACCAAGAGC-3'	5'-TGACCACAAGTTCCACGAT-3'

染蛋白 marker 确定蛋白分子量标准位置。含 5% 脱脂奶粉的 TBST 封闭液封闭 1 h, 抗体 METLL14 (Proteintech, 26158, 1 : 1000)、METTL3 (Abcam, 195352, 1 : 1000)、FTO (Abcam, ERP6894, 1 : 1000)、ALKBH5 (Abcam, ERP18958, 1 : 1000)、GRIN1 (Biorbyt, 131784, 1 : 1000)  $\beta$ -actin (Sant Cruz, 水槽 30656, 1 : 5000) 分别用封闭液按比例稀释后, 放置室温摇床上摇 30 min, 之后 4℃ 孵育过夜。第 2 天 TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min; 二抗 (1 : 5000) 室温孵育 1 h。再用 TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min。最后使用天能凝胶成像机进行 ECL 曝光。ChemiScope analysis 软件分析各个目的条带与  $\beta$ -actin 条带的灰度比值, 从而计算蛋白相对表达量。

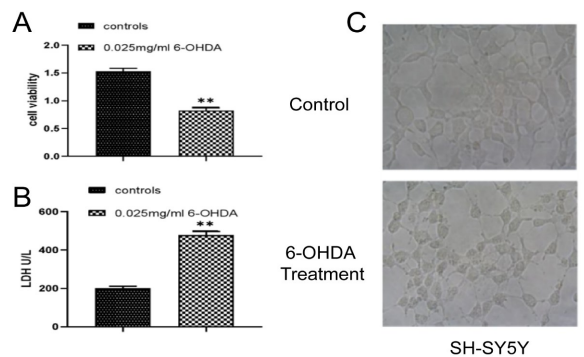
1.2.6 HPLC-MS 法检测 m6A 含量 按照实验要求抽提细胞总 RNA, 之后用 mRNA 富集试剂盒对 mRNA 进行富集, 随后对 mRNA 进行酶降解后用碱性磷酸酶去除磷酸基团, 自备单碱基检测液, 然后进行检测。

1.2.7 小鼠帕金森模型的建立 将 AAV 介导 shFTO 定位注射在 B6 小鼠纹状体, 并确定敲降结果。野生型小鼠和纹状体 FTO 基因敲降小鼠各 8 只, 均腹腔注射 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 (MPTP), 根据密度换算, 即每只小鼠每日腹腔注射剂量为 0.01 ml/kg (25 mg/kg, 每周 2 次), 连续 14 d, 建模成功后, 进行行为学检测: 爬杆实验: 将两组小鼠分别悬挂于一根长线上, 其评分标准为, 小鼠双后肢勾住挂线记为 3 分; 小鼠仅一只后肢勾住电线记为 2 分, 小鼠双后肢均未勾住电线记为 1 分。并且记录小鼠从悬挂到掉落的时间, 即为潜伏期时长。转棒实验: 将小鼠分别放在转棒疲劳仪, 在转棒上进行适应性放置 30 s 后, 启动疲劳仪, 转速为 5 r/min, 让小鼠适应性 90 s 后, 将疲劳仪转速调整为 16 r/min, 记录小鼠从转棒上第一次跌落的时间。最后分别收集小鼠的纹状体检测人合氨酸受体亚基 (GRIN1) 表达水平, 以及氧化还原应激相关指标, 本研究中小鼠处置方式均符合动物伦理学规定。

1.3 统计学方法 所有数据用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 用 SPSS 22.0 统计学软件进行数据处理, 两组间比较采用  $t$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

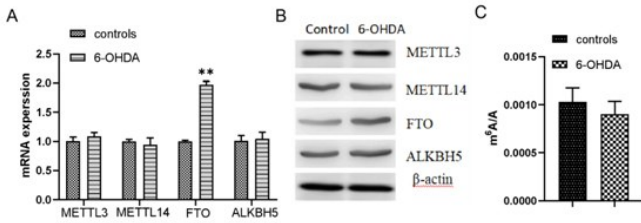
2.1 6-OHDA 诱导的模拟 PD 神经元损伤模型 实验结果显示 0.025 mg/ml 的 6-OHDA 会明显诱导 SH-SY5Y 细胞损伤, CCK8 和 LDH 法检测都表明了 0.025 mg/ml 6-OHDA 所致的细胞毒性 (图 1A 和 1B)。细胞形态的变化 (见图 1C), 表明 6-OHDA 造成了显著的细胞损伤, 符合 PD 的细胞模型。



注: A: CCK8 检测细胞活力; B: LDH 检测细胞毒性; C: 细胞形态; \* \* 表示  $P < 0.01$ 。

图 1 6-OHDA 诱导 SH-SY5Y 细胞损伤的 PD 模型

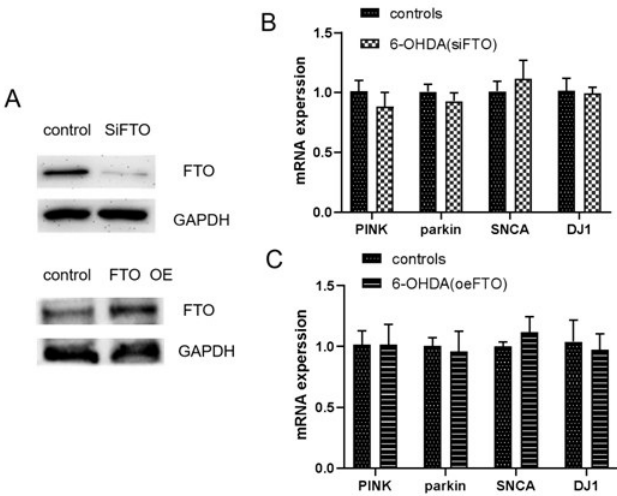
2.2 6-OHDA 对细胞中甲基转移酶 mRNA 和 m6A 含量的影响 qPCR 检测 6-OHDA 诱导的神经细胞中表达的与 m6A 相关的甲基转移酶 METTL3、METTL14 和去甲基化酶 FTO、ALKBH5 的 mRNA 含量的变化 (见图 2A), 发现只有 FTO 在细胞内显著升高。同时检测了它们的蛋白表达水平 (见图 2B), 结果与 mRNA 表达水平一致, 仅有 FTO 发生显著变化。HPLC-MS 法直接检测正常细胞和 PD 模型细胞 mRNA 中 m6A 的含量变化, 发现 6-OHDA 组虽然有一定程度的下降, 但没有显著性差异 (见图 2C), 这可能和细胞内 m6A 动态调控的复杂机制有关。



注:A:mRNA 的相对表达量;B:蛋白的相对表达量;C:m6A 相对含量; \* \* 表示  $P < 0.01$ 。

图 2 6-OHDA 诱导损伤的 PD 模型细胞中甲基转移酶 mRNA 和 m6A 含量变化

2.3 FTO 敲低或过表达不影响 PD 发病相关基因的表达 在确定帕金森模型细胞中 FTO 升高之后,那么 6-OHDA 处理诱导的 FTO 表达升高是否会影响 PD 发病相关基因的表达水平,为验证该假设,通过 siRNA 敲低 FTO 的表达并用慢病毒构建了 FTO 高表达细胞株,观察在 6-OHDA 处理 24 h 后,FTO 敲低和过表达对 PD 疾病密切相关基因的表达变化,结果显示无论敲低或过表达 FTO,与 PD 疾病密切相关基因的表达与对照组相比没有显著性变化(见图 3A、图 3B 和图 3C)。

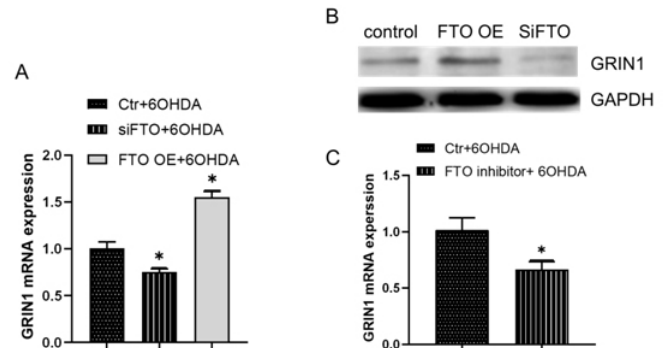


注:A:FTO 的敲低和过表达效率;B:FTO 敲低后对 PD 模型细胞中 PD 相关基因表达的影响;C:FTO 过表达后对 PD 模型细胞中 PD 相关基因表达的影响。

图 3 FTO 敲低或过表达后对 PD 发病相关基因的影响

2.4 FTO 对多巴胺信号通路相关基因 GRIN1 的表达变化的影响 为了进一步探究 6-OHDA 是如何通过调控 FTO,诱导了哪些与 PD 疾病相关的变化,我们对一些多巴胺信号通路相关基因进行了检测,结果显示 SH-SY5Y 细胞在 6-OHDA 处理的情况下,过表达 FTO 则促进 GRIN1 的表达,mRNA 和蛋白的检测结果是(见图 4A 和图 4B);与此相反,敲低 FTO 后,GRIN1 表达明显减少。同时我们使用了 FTO 抑

制剂 结合前面的实验结果,猜测 6-OHDA 处理升高了 FTO 的表达,而高表达的 FTO 又导致多巴胺通路相关基因 GRIN1 发生改变。



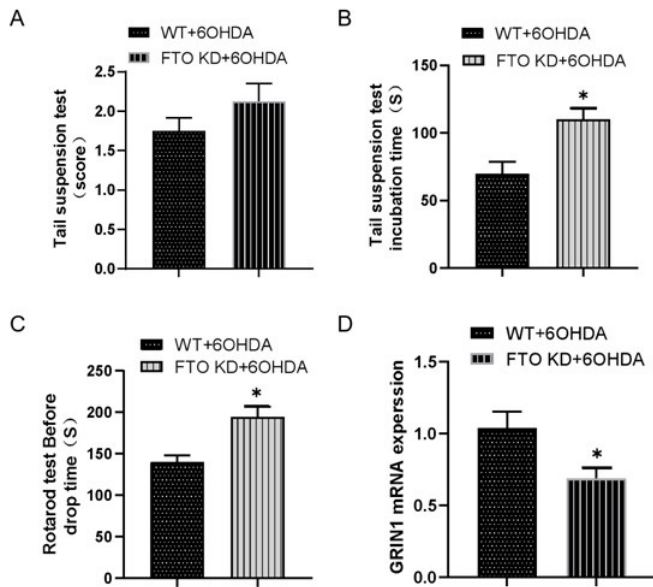
注:A:mRNA 的变化;B:蛋白含量的变化;B、C:FTO 抑制剂处理后 GRIN1 的 mRNA 表达变化; \* 表示  $P < 0.05$

图 4 FTO 敲低或过表达后多巴胺信号通路相关基因 GRIN1 的表达变化

2.5 敲降 FTO 基因降低了帕金森模型小鼠脑中 GRIN1 的表达 为在动物模型上验证上述结果,纹状体 FTO 敲降小鼠和野生型对照被腹腔注射 MPTP 造成帕金森病模型,通过动物行为学实验检测发现,在悬尾实验中,FTO 敲降小鼠的得分比野生型小鼠要高,但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见图 5A;但悬尾实验中 FTO 敲降小鼠的潜伏期要长于野生型小鼠 ( $P < 0.05$ ),见图 5B。在转盘实验中,FTO 敲降小鼠的掉落时间要远远长于野生型小鼠 ( $P < 0.05$ ),见图 5C。表明 FTO 敲降对帕金森模型小鼠有一定的意义。另外取出小鼠纹状体,检测 GRIN1 的表达,与细胞模型上的结果类似,GRIN1 也有一定程度的降低 ( $P < 0.05$ ),见图 5D。这表明在帕金森疾病模型中 FTO 的水平会直接调控 GRIN1 的表达。

### 3 讨论

PD 的发生过程中会伴随着许多基因表达的变化,越来越多的研究表明表观转录修饰在 PD 的发生发展过程中扮演了非常重要的角色<sup>[13-14]</sup>。现有研究表明, RNA 甲基化可能与神经退行性疾病的病变有着紧密的联系<sup>[15]</sup>。但相关的研究主要集中在 m6A 和神经突触维持之间的关系,还没有详细的关于 PD 病理过程中 m6A 含量变化和机制的研究<sup>[16-17]</sup>。因此本文初步探讨了 PD 细胞模型中 m6A 相关的甲基转移酶和去甲基化酶的表达变化。本课题采用了经典的 6-OHDA 法诱导 SH-SY5Y 细胞,作为 PD 模型细胞。CCK8 法和 LDH 检测法结果显示 0.025 mg/ml 的 6-OHDA 会导致 SH-SY5Y 细胞产生明显的损伤,这和 PD 患者内多巴胺能神经元减少类似。综上所述,我们认为



注:A:悬尾实验的评分结果;B:悬尾实验潜伏期;C:转棒实验的掉落时间;D:小鼠纹状体中 GRIN1 的 mRNA 表达水平; \* 表示  $P < 0.05$ 。

图 5 MPTP 诱导的 FTO 中枢敲降小鼠和野生型小鼠帕金森病模型行为学检测

0.025 mg/ml 的 6-OHDA 处理可以有效地模拟 PD 细胞损伤。首先 qPCR 法检测了 6-OHDA 处理的 SH-SY5Y 细胞中 m6A 相关酶 FTO、ALKBH5、METTL3、METTL14 的 mRNA 表达量的变化,结果显示大部分甲基转移酶和去甲基化酶没有明显变化,仅 FTO 有明显的表达升高。Western-blot 检测了对应的蛋白表达,结果与 mRNA 一致,仅仅 FTO 明显升高。FTO 作为一个去甲基化酶,在 m6A 形成的动态调节中具有重要作用。脑内 FTO 的过高表达可降低神经元内一些基因的 mRNA 中 m6A 的含量,导致下游基因表达的改变,最终可能引起一系列脑损伤病变<sup>[18-20]</sup>。最近研究表明,FTO 的异常表达将影响学习记忆、昼夜节律等,并猜测可能与一些神经退行性疾病的发病有一定的相关性<sup>[21-22]</sup>。我们又用 HPLC-MS 检测 6-OHDA 对 SH-SY5Y 细胞中 m6A 的含量的影响,结果显示 6-OHDA 可以降低细胞中 m6A 的含量,虽然差异无统计学意义。这很可能是因为细胞内 m6A 的调控机制比较复杂,还存在其他潜在的调控机制。

后续主要以 FTO 为 6-OHDA 的主要影响靶点,首先用 siRNA 敲低 FTO,同时用制作 FTO 高表达细胞株;并检验了敲低和过表达效果,然后检测了 6-OHDA 对正常细胞、siFTO 和 FTO 过表达细胞的影响,我们着重观察了和 PD 发病相关的 PINK1、parkin、SNCA 和 DJ1 的 mRNA 表达量,发现差异无统计学意义,这可能是因为 m6A 的动态调控机制比较复杂,其

写入和擦除受到多种酶和细胞因子的共同调控<sup>[23]</sup>。因此仅仅敲低或过表达 FTO,在 6-OHDA 诱导损伤的细胞中与 PD 疾病密切相关基因的 mRNA 上甲基化位点还是得以保存,才会导致其表达基本不变,通过查询相关研究的文献<sup>[8]</sup>,我们又检测了与多巴胺信号通路相关的其他一些基因,经过筛选,实验结果显示敲低 FTO 导致 GRIN1 有较为明显的下降,而升高 FTO 则促进其表达,mRNA 和蛋白水平的检测结果是一致的,而过表达 FTO 则会在一定程度的升高该基因的 mRNA 水平。以此我们推测 FTO 可能是通过调控多巴胺信号通路相关基因 GRIN1 在 PD 中发挥了一定的作用。GRIN1 基因能够表达离子型谷氨酸受体 NMDAR1,致使  $Ca^{2+}$  大量内流,造成神经元内  $Ca^{2+}$  超载,触发一系列  $Ca^{2+}$  相关的级联反应,如氧化应激水平升高,线粒体功能损伤加剧等。在纹状体 FTO 敲低的帕金森模型小鼠脑内,我们也发现了类似效果,证明 FTO 在小鼠体内和体外均可对 GRIN1 的表达产生影响。但 FTO 是否直接减少了 GRIN1 mRNA 上的 m6A 并且 GRIN1 mRNA 上的 m6A 又是被哪种阅读蛋白读取,其具体的机制还需要进一步的研究。

综上所述,我们观察了 6-OHDA 诱导的神经细胞中 m6A 的含量差异,也观察了相关的甲基转移酶和去甲基化酶的表达变化,我们发现了 FTO 在 6-OHDA 损伤中有一定表达升高,并且利用 siRNA 敲低 FTO 后,最终发现多巴胺信号通路相关基因 GRIN1 在 FTO 敲低的情况下有显著的下调,而升高 FTO 则会促进 FTO 的表达。因此我们推测,FTO 可能通过调控 GRIN1 的表达,在 PD 的发病过程中发挥了一定的作用。

致谢:该项目被河南省自然科学基金“Sirt6 经 LKB1/AMPK/PGC1 $\alpha$ /NRF 上调线粒体生物合成”(编号 202300410325)支持。

#### 参考文献:

- [1] 蒋政,欧汝威,商慧芳,等. 帕金森病靶向治疗研究进展[J]. 中国现代神经疾病杂志,2019,19(11):902-908.
- [2] 张满菊. 对帕金森病运动障碍采取司来吉兰与左旋多巴联合治疗的临床疗效[J]. 海峡药学,2018,30(9):195.
- [3] 张志川. 盐酸司来吉兰联合左旋多巴治疗老年帕金森病患者的临床效果[J]. 中国民康医学,2020,32(20):29-31.
- [4] 李佳昱,于兰,陈敏. 帕金森病相关基因异常诱导自噬障碍[J]. 广东医学,2019,40(10):1351-1355.
- [5] Schrag A, Ben-Shlomo Y, Quinn NP. Cross sectional prevalence survey of idiopathic Parkinson's disease and Parkinsonism in London[J]. BMJ,2000,321(7252):21-22.
- [6] 龙文林,郭辉,盛杰,等. m6A RNA 甲基化在肿瘤发生发展中的作用[J]. 生物技术通报,2019,35(6):178-186.

- [7] Yang Y, Shen F, Huang W, et al. Glucose Is Involved in the Dynamic Regulation of m6A in Patients With Type 2 Diabetes[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2019, 104(3): 665-673.
- [8] 郭敏军. mRNA 中 m6A 修饰在帕金森病发病机制中的作用研究[D]. 北京:北京工业大学, 2018.
- [9] Antony PMA, Diederich NJ, Krüger R, et al. The hallmarks of Parkinson's disease[J]. *FEBS J*, 2013, 280(23): 5981-5993.
- [10] Chen XC, Yu CY, Guo MJ, et al. Down-Regulation of m6A mRNA Methylation Is Involved in Dopaminergic Neuronal Death[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2019, 10(5): 2355-2363.
- [11] Yang C, Hu YY, Zhou B, et al. The role of m6A modification in physiology and disease[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(11): 960.
- [12] Qin LX, Min SS, Shu L, et al. Genetic analysis of N6-methyladenosine modification genes in Parkinson's disease[J]. *Neurobiol Aging*, 2020, 93: 143.
- [13] 黄贤贞, 多巴丝肼片联合金刚烷胺治疗 45 例帕金森病门诊患者的疗效评估[J]. *海峡药学*, 2019, 31(12): 159-160.
- [14] 陈宗元, 黄春丽, 官检发, 等. 帕金森病的流行病学、发病机制及药物的研究进展[J]. *海峡药学*, 2018, 30(3): 48-50.
- [15] 王丹平, 王丹丹, 陆光临. 帕金森细胞模型的研究进展[J]. *海峡药学*, 2015, 27(6): 12-14.
- [16] Qiu XH, He HH, Huang YN, et al. Genome-wide identification of m6A-associated single-nucleotide polymorphisms in Parkinson's disease[J]. *Neurosci Lett*, 2020, 737: 135315.
- [17] Liu ZX, Li LM, Sun HL, et al. Link Between m6A Modification and Cancers[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2018, 6: 89.
- [18] Venhovens J, Meulstee J, Bloem BR, et al. Neurovestibular Dysfunction and Falls in Parkinson's Disease and Atypical Parkinsonism: A Prospective 1 Year Follow-Up Study[J]. *Front Neurol*, 2020, 11: 580285.
- [19] Opara J, Małeckki A, Małeczka E, et al. Motor assessment in Parkinson's disease[J]. *Ann Agric Environ Med*, 2017, 24(3): 411-415.
- [20] 张志川. 普拉克索联合美多芭治疗帕金森病的临床疗效观察[J]. *海峡药学*, 2020, 32(8): 145-146.
- [21] 彭彦茜, 杜军, 王红胜. m6A 在肿瘤恶性生物学行为中的作用及靶向治疗策略[J]. *药科学报*, 2019, 54(10): 1771-1782.
- [22] 臧彩霞, 鲍秀琦, 孙华, 等. 神经炎症调控靶点在帕金森病治疗中的作用[J]. *药科学报*, 2016, 51(5): 677-683.
- [23] 汪梦霞, 赵静宇, 孙冬梅, 等. 三七总皂苷对 6-羟基多巴胺诱导 SH-SY5Y 细胞损伤的保护作用及可能机制[J]. *药科学报*, 2016, 56(6): 898-906.

收稿日期: 2021-04-11; 修回日期: 2021-06-16

(上接第 459 页)

#### 参考文献:

- [1] Rogers CR, Guyer AE, Nishina A, et al. Developmental change in sibling support and school commitment across-adolescence[J]. *J Res Adolesc*, 2018, 28(4): 858-874.
- [2] Elliott MC, Shuey EA, Leventhal T. Adolescent functioning in housing and family contexts: a mixed methods study [J]. *J Fam Psychol*, 2016, 30(6): 676-686.
- [3] Wikle JS, Ackert E, Jensen AC. Companionship patterns and emotional states during social interactions for adolescents with and without siblings[J]. *J Youth Adolesc*, 2019, 48(11): 2190-2206.
- [4] Lara DR, Bisol LW, Brunstein MG, et al. The affective and emotional composite temperament (AFECT) model and scale: a system-based integrative approach[J]. *J Affect Disord*, 2012, 140(1): 14-37.
- [5] Sukhodolsky DG, Ruchkin VV. Association of normative beliefs and anger with aggression and antisocial behavior in Russian male juvenile offenders and highschool students [J]. *J Abnorm Child Psychol*, 2004, 32(2): 225-236.
- [6] Bronfenbrenner U, Morris PA. The bioecological model of human development [M]//Damon W, Lerner RM. *Handbook of Child Psychology Volume I. Theoretical Models of Human Development*. New York: John Wiley & Sons, Inc, 2006: 793-828.

收稿日期: 2021-06-17; 修回日期: 2021-07-20