



表观遗传修饰在学习记忆中的研究进展*

常 远^{**,***} 张金铭^{**} 张俊敏^{**} 谷巧芬 朱文朋 韩 静^{***}

(陕西师范大学现代教学技术教育部重点实验室, 西安 710062)

摘要 学习记忆是大脑的重要功能. 记忆的形成涉及基因转录、新蛋白质合成和突触可塑性改变等一系列分子和细胞乃至神经环路的变化. 近些年研究者逐渐发现各种表观遗传修饰, 包括DNA甲基化、组蛋白修饰及RNA修饰在各种学习记忆类型、记忆阶段和突触可塑性中发挥了不同程度的作用. 本文阐述了参与学习记忆的不同表观遗传调控因子, 为进一步理解学习记忆的机制提供一定的理论依据.

关键词 学习记忆, 表观遗传修饰, 突触可塑性, DNA甲基化, 组蛋白修饰, RNA修饰

中图分类号 Q42

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0333

大脑如何将短暂的感觉刺激转换为持久的记忆一直是神经科学的研究重点^[1]. 记忆的编码和储存涉及多个大脑结构在分子、细胞、突触和神经环路水平的动态调节^[2]. 新记忆的形成需要通过长时程增强(long-term potentiation, LTP)和长时程抑制(long-term depression, LTD)两个过程来响应学习引起的特定神经元受体的活化, 从而重塑突触的结构和功能, 而以上改变是通过记忆相关分子的基因转录和新蛋白质合成, 以及精确调控细胞内一系列信号传递的级联反应实现的^[3]. 表观遗传(epigenetics)通常被理解为DNA序列没有发生改变的情况下基因功能或细胞类型的可遗传变化^[4]. 表观遗传机制最初被认为在细胞分化和发育中起关键的调节作用. 近期研究发现, 表观遗传机制可以在有丝分裂后的神经元中调控学习记忆引起的相关基因表达改变, 并能持续影响行为的响应^[5]. 然而这些机制具体如何影响神经元功能并将信息编码到各种记忆中尚不清楚. 目前神经表观遗传学已经成为研究大脑如何利用表观遗传机制调节行为和神经可塑性的表观遗传学新领域^[6-8]. 针对神经表观遗传学领域技术和研究的飞速发展, 结合神经科学研究技术, 本文概述了学习记忆相关表观遗传研究的新进展, 并阐述了这些表观遗传学机制如何高度参与记忆形成相关基因的调控作用, 以及如何将学习记忆的经历在染色质结构和突触生理学水平上进行

整合^[5].

1 学习记忆的一般理论

学习和记忆是大脑的高级功能, 学习是获取新知识的生物过程, 而记忆是随着时间的推移保留和重建所学知识的过程. 学习记忆对于生物的适应性行为至关重要, 它允许过去的经验指导未来的决策. 海马是哺乳动物大脑中最直接参与复杂记忆的结构, Bliss等^[9-11]1973年发现, 在海马CA1区, 谷氨酸激活N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDAR)可在突触后诱导LTP, 使得突触的强度产生长期变化, 以此解释突触传递参与记忆形成. 此后, 突触传递的LTP被认为是潜在的信息存储和学习记忆的细胞机制. LTP根据其分子机制可以划分为两个阶段, 一个即诱导、触发和增强的阶段, 另外一个为增强效应的维持阶段. 多个分子参与了LTP的诱导, 在学习和记忆巩固中发挥重要作用, 目前为止, 大部分研究都

* 国家自然科学基金(81771227)和陕西省创新能力支撑计划(2020TD-037)资助项目.

** 并列第一作者.

*** 通讯联系人. Tel: 029-85308178

常远. E-mail: yuanchang2020@126.com

韩静. E-mail: jhan2012@snnu.edu.cn

收稿日期: 2020-09-16, 接受日期: 2020-12-14

集中在长期记忆形成的领域. Kandel^[12]发现海马LTP具有阶段性, 早期LTP仅持续1~3 h并且无新的蛋白质合成, LTP的晚期阶段(L-LTP)持续至少1 d, 并且必须进行基因的转录和翻译, 激活cAMP元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB), 促进L-LTP的基因表达. 一系列动作电位通过激活NMDAR来启动早期LTP, 接着Ca²⁺流入细胞, 第二信使被激活, 同时招募腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC), 从而激活cAMP依赖性蛋白激酶(cAMP-dependent protein kinase, PKA), PKA转运到细胞核, 导致CREB磷酸化. CREB是一种在大脑中广泛表达的转录因子, 通过调节多种基因发挥作用, 因此在调节神经元兴奋性中发挥至关重要的作用^[13]. 在短期记忆中, PKA在细胞质中起作用以改变突触传递, 然而在长期记忆中, PKA的催化亚基易位至细胞核, 使CREB-1磷酸化. 一旦发生磷酸化, CREB就会募集其转录共激活因子CREB结合蛋白(CREB-binding protein, CBP)调控靶基因的转录水平. CREB的功能性激活导致靶基因的表达, 其中包括立即早期基因(immediate early genes, IEGs), CCAAT框/增强子结合蛋白(C/EBP)是IEGs的产物, 通过与激活蛋白的二聚作用调节晚期应答基因的表达^[14-15]. LTP的维持, 即如何随着时间的推移保持和更新记忆涉及了更为复杂的神经机制. 在学习的过程中, Ca²⁺流入细胞后, 一系列激酶持续活跃, 包括Ca²⁺/钙调蛋白依赖性蛋白激酶II(calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, CaMKII)和蛋白激酶C(protein kinase C, PKC), 后者的亚型PKM ζ 存在于哺乳动物海马中, 在记忆维持期间具有持续活性. 体外实验表明, PKM ζ 对于LTP的维持是充分和必要条件^[16]. 尽管LTP和LTD在学习和记忆中的作用仍然处于争论中^[17], 目前普遍认为长期记忆的巩固和维持需要mRNA转录、新的蛋白质合成以及突触水平的改变^[18-19]. 利用光遗传技术对神经元活动进行操作使我们能够监控和操纵“记忆痕迹”. Nabavi等^[20]利用光遗传技术刺激突触, 可以消除恐惧记忆, 也可以重新激活恐惧记忆. 这一发现与长期以来的观点一致, 即突触可塑性是学习记忆的细胞相关因素. 这种可塑性取决于关键的分子信号级联, 并且这些级联有助于加强特定的突触连接, 以巩固离散脑网络中的记忆^[21].

2 表观遗传学与学习记忆

长期记忆的巩固和维持需要合成新蛋白质和RNA, 表明基因转录和表达的改变对于学习记忆至关重要. 表观遗传作为一种动态的分子机制, 可以增强和抑制基因转录, 持久影响基因的转录, 因此越来越多研究人员将目光投向表观遗传学. “表观遗传”一词最初是由Conrad Waddington创造的, 用以描述环境与基因组之间动态的相互作用, 并将生物体的表现特征描述为“表型”^[22]. 表观遗传改变是非永久性的、潜在的、调节基因表达的遗传变化, 其修饰是动态且可逆的. 传统上将控制基因表达水平变化的表观遗传机制分为以下几类: DNA甲基化、组蛋白修饰及RNA修饰等.

2.1 DNA甲基化

DNA甲基化是被研究最广泛的表观遗传学机制之一, 最初被认为是沉默基因的静态机制, 后来被证明是可逆的修饰. DNA甲基化是指在DNA甲基化转移酶(DNMT)包括DNMT1、DNMT3a和DNMT3b的作用下, 在基因CpG二核苷酸胞嘧啶上第5位碳原子共价键结合一个甲基基团^[23]. DNA甲基化修饰对于细胞发育过程的重编程、细胞分化和胚胎发育至关重要^[24], 在小鼠中敲除这3个DNMT中的任何一个都会发生胚胎致死^[25]. 哺乳动物脑中最丰富、最常见的DNA甲基化修饰是5-甲基胞嘧啶(5mC), DNA甲基化修饰是动态且可逆的^[26]. 研究证明, 在学习记忆过程中, DNA甲基化除了可以发生经验依赖性改变从而影响基因表达, 还可通过调节LTP/LTD的作用, 在海马突触可塑性调节、记忆提取、记忆巩固和联想学习中发挥关键作用^[27-31].

5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)是近年新发现的DNA去甲基化中间体, 是5mC的羟基化形式^[32], 其转化需要10-11异位酶(ten-eleven translocation enzymes, TETs)^[33]. 5-hmC在成年人的大脑中高表达, 在整个神经元基因组中都发挥着活跃的DNA去甲基化作用, 同时密切参与许多细胞过程, 例如胚胎发育、基因表达、基因组印迹(genomic imprinting)、X染色体失活以及染色质结构调控^[34]. 学习可诱导大脑中DNA甲基化的改变, 亦可引起DNA主动去甲基化, 说明DNA甲基化和去甲基化作用均参与突触可塑性和记忆形成, 这种动态过程建立了神经可塑性和记忆形成所必需的表观遗传状态.

由于条件恐惧记忆模型可以诱导甲基化修饰快速而强烈的变化, 因此在神经表观遗传研究中多用此模型探讨表观遗传学和学习记忆之间的联系. 多项体外研究已表明, DNMT活性是突触可塑性所必需的^[35-36]. 同时敲除DNMT1和DNMT3a会导致基因组DNA总甲基化水平的下降, 海马同一突触LTP消失, LTD增强, 小鼠记忆获得和提取缺陷^[37-38], 海马DNMT3a的过表达可以逆转衰老小鼠的空间记忆缺陷^[39-40]. 在外侧杏仁核 (lateral amygdala, LA) 的皮层和丘脑输入处诱导LTP也需要DNMT活性. Maddox等^[36]在记忆再巩固 (memory reconsolidation) 的窗口期分别在LA内注射两种不同的DNMT抑制剂 (5-AZA和RG108), 均可抑制DNA甲基化, 并损害听觉恐惧记忆的再巩固. 阿尔茨海默病 (Alzheimer disease, AD) 患者脑内DNA总甲基化水平、DNMT蛋白表达水平和酶活性均降低^[40-42]. 尽管以上研究均表明DNMT在跨大脑结构的突触可塑性中的保守作用, 但DNMT功能失调导致的DNA总甲基化水平降低具体如何导致记忆缺陷尚不清楚. 该领域需要更多的研究来观察DNMT如何影响基因表达, 以及哪些大脑区域和细胞类型受DNA甲基化机制影响最大.

Halder等^[43]在条件恐惧记忆的不同阶段, 对海马和前扣带回皮质 (anterior cingulate cortex, ACC) 两个脑区的DNA甲基化改变进行全基因组复杂性状分析 (genome-wide complex trait analysis, GCTA), 发现海马DNA甲基化修饰在记忆巩固期间改变, 但记忆的维持阶段无变化, 而ACC的改变正好相反, 其中海马CA1区域对于短期记忆形成至关重要, 而ACC对于联想记忆的获取和维持很重要. 这说明DNA修饰与学习记忆的过程保持着一种时空相关性, 尤其在联想学习中更明显. 在大鼠海马内注射DNMT抑制剂zebularine可触发脑源性神经营养因子 (brain derived neurotrophic factor, BDNF) 基因DNA去甲基化并阻碍条件恐惧记忆巩固, 并且**bdnf**基因上CpG位点甲基化的改变足以介导**bdnf**基因在成熟大鼠海马中的表达^[44]. 情境恐惧记忆的最初形成取决于海马, 而记忆的维持和提取都有皮层的参与. Miller等^[38]发现, 海马依赖性学习可以在皮层引起基因特异性高甲基化修饰, 学习后一个月药物抑制甲基化会损害长期记忆. DNA甲基化作用是高度动态和脑区特异性的, 恐惧记忆学习后24 h内, 海马的DNA甲基化程度便会回到记忆前的基线水平, 而皮层的

DNA甲基化改变可以维持更久.

TET1蛋白发挥了DNA去甲基化作用, 改变TET1的表达会影响记忆形成过程^[45-47], 此类研究为表观遗传机制参与学习记忆提供了必要性依据. 利用腺病毒相关病毒 (adenovirus associated virus, AAV) 在背侧海马过表达TET1会在转录水平差异调节许多与突触可塑性和记忆形成相关的基因, 例如显著提高了BDNF的mRNA, 还提高了其他活动依赖性IEGs的水平, 包括cFos、Arc、Egr1等, BDNF和IEGs的表达普遍认为与突触可塑性、LTP以及记忆巩固和维持密切相关. AAV介导海马过表达TET1在条件恐惧记忆模型中损害长期记忆, 不影响短期记忆^[45]. Rudenko等^[47]的研究表明, 敲除Tet3可增强海马LTD, 但不改变LTP的诱导. Tet3的基因表达受神经元活动双向调节, Tet3的过表达诱导“突触削减” (synaptic downscaling), 敲低Tet3则通过AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid, AMPA) 受体GluR1表达水平下降促进突触效能增强^[48]. 与海马Tet1基因操纵相反, 前额叶皮层中的Tet1敲低不会影响记忆形成和消退^[49]. 因此, 普遍认为DNA去甲基化也是记忆形成的关键表观遗传调控因子.

甲基-CpG结合蛋白2 (methyl CpG binding protein 2, MeCP2) 是与甲基化DNA特异性结合的染色体蛋白, 可抑制和激活转录, 与RNA剪接机制相关, 可与microRNA (miRNA) 相互作用, 在维持神经元突触活动方面具有特殊功能^[50-51]. MeCP2分布广泛, 在大脑中表达水平最高, 与神经系统疾病雷特综合征 (Rett syndrome) 密切相关^[52], 雷特综合征是一种严重的产后神经发育障碍, 大多数表型来自于中枢神经系统中MeCP2功能的丧失. 早期研究发现了雷特综合征神经元的轴突运输障碍, 促进BDNF转运足以恢复皮层神经网络中的突触连接性, 并可改善MeCP2基因敲除小鼠的表型和存活率^[53]. MeCP2是长期记忆形成所必需的, 并且它控制记忆整合所需海马神经元学习诱导的转录反应^[54]. MeCP2突变小鼠早在2周龄时就显示出树突形态上的显著差异和小脑皮质厚度降低^[55], 破坏MeCP2的功能可能会影响神经元的成熟和突触形成, 这些影响可能是雷特综合征患者中所观察到认知障碍的原因^[56]. MeCP2除与DNA甲基化有协同作用外, 与组蛋白修饰也存在相互作用.

以上研究表明, DNA修饰中DNA甲基化和去

甲基化均参与了突触可塑性和稳态的调节,在调节记忆形成相关分子、突触和行为过程中具有重要作用.不可否认,目前对于DNA甲基化参与学习记忆的研究仍然处于起步阶段,未来需要更深入的研究来解释这种修饰具体如何影响大脑回路中神经元的实际连接以改变记忆功能.

2.2 组蛋白修饰

转录的动态调控是神经元发挥功能的重要组成部分.染色质包裹和保护遗传物质,是生命活动的遗传信息中心.DNA缠绕组蛋白形成染色质的基本组成单位核小体,这些DNA包裹在组蛋白H2A、H2B、H3和H4(每个2个)形成的八聚体周围.组蛋白由球形结构域和一个N端尾部组成,该末端含有几个残基,这些残基是双向翻译后修饰(乙酰化/脱乙酰化、甲基化/脱甲基化、泛素化/去泛素化等)的底物,其中组蛋白乙酰化的研究最为广泛.组蛋白修饰不仅存在于有丝分裂细胞中,而且还存在于有丝分裂后的成人神经元中.从Shi等^[57]发现第一个组蛋白去甲基化酶-赖氨酸特异性脱甲基酶1(LSD1)至今,组蛋白修饰已经被公认为是表观遗传的核心组成之一.多项研究表明,组蛋白修饰可调节与记忆存储相关基因表达的激活或抑制^[58].

组蛋白乙酰基转移酶(histone acetyltransferase, HAT)催化乙酰基向组蛋白的转移引起组蛋白乙酰化,进而形成“开放”的染色质状态.而组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)则使组蛋白去乙酰化,从而降低基因的转录速度^[59].在记忆形成、巩固和消退过程中, HATs和HDACs之间的相互作用对于调节记忆相关基因表达至关重要^[60-61].

哺乳动物中存在11种经典HDAC蛋白亚型,其中HDAC2和HDAC3对于调节突触可塑性和记忆形成更为重要,组蛋白乙酰化修饰通常富集在可塑性相关基因的启动子上发挥作用.海马过表达HDAC2会损害海马依赖的联想学习和空间学习记忆;相反,海马敲除HDAC2的小鼠联想学习和空间学习记忆能力增加了.此外,神经元特异性过表达HDAC2的小鼠表现为树突棘密度、突触数量和突触可塑性的降低,而HDAC2敲除小鼠的树突棘密度和突触数量显著增加^[62].敲除HDAC2改善了联想学习,对非联想学习任务没有影响,提示HDAC2可能会特定作用于不同的学习类型^[63].HDAC1可与HDAC2形成一个“开关”,该开关控制突触的成熟和功能,从而决定整个神经网络的成

熟状态^[64].条件恐惧记忆消退模型中,中央杏仁核(central amygdaloid nucleus, CeA)的HDAC1和HDAC2在恐惧学习后下调,HDAC1在消退学习后上调而HDAC2不变.在恐惧学习和恐惧记忆消退后中央外侧杏仁核(lateral CeA, CeL)的HDAC1上调,而HDAC2下调.HDAC3在海马中高表达^[65],可反向调节学习记忆^[66],背侧海马敲除HDAC3可增强长期记忆.HDAC3被认为参与了应激诱导的糖皮质激素受体(glucocorticoid receptors, GRs)信号通路,以参与长期记忆形成,具体机制尚待阐明^[67].P300和CBP是乙酰基转移酶的转录因子,与脑可塑性分子机制相关^[68-69].P300/CBP相关因子(P300/CBP associated factor, PCAF)充当乙酰化酶,可乙酰化组蛋白中的特定赖氨酸残基,从而重塑染色质结构.PCAF敲除小鼠随着年龄增长由短期记忆障碍发展为长期记忆障碍,并对应激更为敏感^[70].研究表明,DNA甲基化、HATs/HDACs和CREB是相互影响的.HDAC抑制剂可通过激活CBP转录复合物相关的关键基因来增强记忆^[71].HDACs和NMDAR在AD的发生和发展中紧密相关.NMDAR拮抗剂可以促进*bdnf*基因启动子区的组蛋白乙酰化,从而调节现有突触连接的强度并加强新突触的连接^[72-73].因此,HDAC2可作为AD等认知障碍的新兴靶标,HDAC抑制剂不仅具有治疗神经发育和神经退行性疾病引起认知障碍的巨大潜力,还可以作为认知健康者的认知增强剂^[74-76].需要注意的是,每种HDAC在学习记忆中的具体功能尚待阐明,并且药理学方法虽是更快的干预措施,但是大多数药物会同时对几种HDAC产生影响,因而限制了药物的使用.

组蛋白甲基化和脱甲基化分别由组蛋白甲基转移酶(histone methyl transferase, HMT)和组蛋白脱甲基酶(histone demethylase, HDM)帮助完成^[57].组蛋白乙酰化可以很快逆转,而组蛋白甲基化则相对稳定,尤其是三甲基化修饰^[77].组蛋白赖氨酸甲基化在学习和记忆中起着重要作用,尤其是组蛋白H3赖氨酸4-三甲基化(H3K4me3)参与突触可塑性调节^[78].H3K4me3是与转录调控相关的标记,AD患者脑内H3K4me3异常定位^[79],学习诱导海马中H3K4me3的增加挽救了高龄小鼠的记忆缺陷^[80].不同的表观遗传机制也会协同作用以调节学习记忆.海马的H3K4me3在情境恐惧记忆模型中上调^[81],敲除H3K4me3特异性甲基转移酶Mll1或Mll2会削弱情境恐惧记忆的巩固^[82].

Collins 等^[83]发现, 重要的学习和记忆基因由更宽的 H3K4me3 峰标记, 并且暴露在新环境下的记忆形成过程, 与学习和记忆相关的基因其 H3K4me3 波峰的宽度增加. 记忆激活增加了海马和 ACC 中 H3K4me3 的总水平, 记忆提取触发了海马和 ACC 而非杏仁核中的 DNA 上 5hmC 升高^[84], 表明虽然在提取短期或长期记忆时这两种表观遗传机制是同时发生的, 但其基因靶点因大脑区域而异.

LSD1 在大脑发育中可作为神经元分化的正向调节剂, 成年大脑丧失 LSD1 可导致整个皮质和海马区广泛的神经元死亡. 神经元中 LSD1 敲除小鼠在 Barnes 迷宫中表现出空间学习记忆缺陷^[85]. G9a/EHMT2 和 GLP/EHMT1 充当异聚体复合物^[86], 是常染色质中 H3K9me1 和 H3K9me2 的单甲基化和二甲基化的关键酶, 可抑制基因表达^[87]. H3K9me2 在突触缩放过程中动态改变, 体外和体内的稳态突触放大需要 EHMT1/2 参与, EHMT1/2 介导 H3K9me2 在 *bdnf* 基因启动子处的修饰抑制了 BDNF^[88]. G9a 甲基化了包括肿瘤抑制蛋白 p53 在内的几种非组蛋白, 是癌症治疗中公认的药物靶标. 最近的报道将 G9a/GLP 称为“突触可塑性的双向调节器”, 在 LTP 的维持即长期记忆维持中发挥作用^[89-91]. 突触的稳态可塑性, 在发育中和成熟的神经元网络中, 保持了总体兴奋性与抑制性之间的良好平衡. 高浓度 G9a/GLP 抑制剂 BIX 不影响内嗅皮层 (entorhinal cortex, EC) 前穿质通路 (perforant path), 但可抑制海马 Schaffer-CA1 通路突触处由高频刺激 (high frequency stimulation, HFS) 诱导的 L-LTP 维持, 较低浓度的 BIX 可抑制 G9a/GLP 复合物并且不会影响 Schaffer-CA1 通路突触中瞬时早期 LTP 的诱导, 它以 NMDAR 和蛋白质合成依赖的方式将早期 LTP 增强为持续 4 h 的 L-LTP^[92]. 在记忆巩固期, G9a/GLP 差异调控海马和 EC 中的基因转录, 在 EC 而非海马中抑制 G9a/GLP 会通过改变突触可塑性增强情景条件恐惧记忆^[89]. G9a/GLP 复合物与多种可塑性相关蛋白质和基因的调节有关, 包括 BDNF、PKM ζ 、IEGs 和 Arc. 重复给予可卡因可降低伏隔核 H3K9 甲基化水平, G9a 下调增加伏隔核神经元的树突棘可塑性, 并增强可卡因的偏好^[93]. G9a 以细胞类型特异性的方式调节伏隔核中两类神经元的兴奋性^[94]. 以上结果表明, G9a/GLP 复合物可以通过活动依赖性、细胞类型特异性的方式积极调控可塑性相关基因的表达, 从而调节突触可塑性^[89].

组蛋白的转录后修饰在调节方式、动力学和功能上有很大的差异, 远不是单一的现象. 此外, 组蛋白修饰作为表观遗传机制可以持续改变细胞的分子特征, 应更深入地观察其对记忆的长期影响. 另外, 如果要进一步了解组蛋白修饰在学习记忆过程中的作用, 仍需在因果关系以及表观遗传学相关过程与经典转录机制之间进行明确区分^[95-96].

2.3 RNA 修饰

RNA 以多种形式与蛋白质和 DNA 结合在一起并相互作用, 在从 DNA 到蛋白质的信息传递中起着核心作用, 是细胞动力学不可或缺的组成部分, 它甚至是具有自主功能的分子. DNA 甲基化是最充分的表观遗传机制, 是真核生物中最丰富、最稳定的表观遗传标记, 与基因调控密切相关. 相比之下, 人们对不同 RNA 化学修饰的作用以及各种 RNA 修饰蛋白的了解却很少. DNA 的甲基化于 1925 年被发现^[97], 但是 RNA 的甲基化直到 1968 年才被发现^[98]. 由于当时技术手段的限制, 科学家们对其确切作用和亚细胞定位知之甚少. RNA 修饰发生在几乎所有类型的 RNA, 包括 tRNA、rRNA、mRNA、srRNA、snoRNA、snRNA 和 lncRNA. 迄今为止, 在细胞 RNA 中已经鉴定出 170 多种化学修饰. 细胞中 rRNA 和 tRNA 具有高拷贝数和复杂的 3D 结构, 可介导核糖体功能和蛋白质翻译, 破坏这些修饰严重的可致死, 与生长缺陷、智力残疾、糖尿病和癌症相关^[99-100]. 近些年质谱 (mass spectrometry, MS)、高通量测序技术、免疫沉淀结合化学酶促方法的飞速发展使得开发研究整个转录组 RNA 修饰成为可能, 增加了对已知 RNA 修饰的了解. RNA 修饰作用于生命的各个方面, 在编码和非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 中, 这种动态修饰都代表了遗传信息调控的新层面, 其研究开始阐明基因表达程序的复杂编排以及 RNA 修饰途径在学习记忆中的作用^[101-102].

2.3.1 ncRNA 修饰

ncRNA 是指从 DNA 转录但未编码蛋白质的 RNA, 包含多种功能不同的 RNA 类型, 最多的研究集中在 miRNA^[103] 和长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 中^[104-105]. ncRNA 在大脑中大量富集, 显示出精细的时空表达特征和调控, 通过影响 mRNA 功能、DNA 甲基化或组蛋白修饰来调节蛋白质表达^[106]. 原位杂交技术鉴定出成年小鼠大脑中表达的 849 种 ncRNA (共有 1 328 种), 并且大多数与特定的神经解剖区域、细胞类

型或亚细胞区室相关^[107]. 神经元的形态和功能高度复杂, 信息通过突触在神经元之间传递, 突触的改变和活动依赖修饰需要基因表达在时间和空间上精确调控. mRNA 穿梭到突触并以活性依赖性方式控制其突触翻译的过程对于突触功能至关重要, 这要求 mRNA 的转录物必须穿梭至特定的亚细胞区域, 并在这些区域中进行局部翻译. ncRNA 参与 mRNA 翻译的时空调控过程, 这种调控对于功能特异的神经元非常重要, 这可能也是 ncRNA 在大脑中高表达的原因^[104]. 多项研究发现, 突触和 ncRNA 之间存在着双向调节: ncRNA 介导突触过程, 突触活动会反过来影响 ncRNA 的表达、细胞内转运和功能^[108]. ncRNA 的靶标包括突触蛋白、离子通道、神经递质受体和基本信号级联的组成部分^[109], 它们在发育过程中和成年后以精确的区域和时间模式在大脑表达, 参与神经发育、突触可塑性及学习记忆的调控^[110].

miRNA 是调节性、短的 ncRNA, 可通过 mRNA 降解或翻译抑制来微调基因的表达, miRNA 表达失调与癌症的发展高度相关^[111]. 单个 miRNA 调节多种基因表达并同时调节多种细胞信号传导途径, 因此, miRNA 可以用作诊断及治疗靶点^[112]. 除了介导 mRNA 翻译的靶向调控外, miRNA 还为自身表达提供反馈调控^[113]. 越来越多的研究表明, miRNA 参与大脑发育、突触可塑性和学习记忆^[114-117].

在神经元中, miRNA 的产生和作用受神经元活性的调节, 这种调节对于 miRNA 活性对突触功能耦合至关重要^[118-119]. 许多 miRNA 的启动子具有转录因子的结合位点, miR132 位于 CREB 激活的下游, 通过 BDNF 依赖性和 CREB 依赖性机制上调, 并在体内外响应 BDNF 和 K⁺ 诱导的去极化, 是成人海马新生神经元树突正常成熟所必需的^[120]. miRNA 生物合成的相关蛋白质如脆性 X 智力低下蛋白 (FMRP) 存在于 RNA 颗粒中, 在突触棘和突触后致密区 (post synaptic density, PSD) 中均表达, 并存在活动依赖性信号转导^[121]. 另外, 激活的突触中 miRNA 的产生增加. miR-132 响应新的学习任务诱导, 在海马和皮层的表达发生上调^[122-123]. miR-125b 和 miR-132 负向调节海马神经元的树突棘和突触形态, NMDAR 亚基 NR2A 为 miR-125b 的靶标, NR2A 表达受 miR-125b 的负调控^[113]. miR-132 调节 NMDAR 相关的 GTPase 活化蛋白 p250GAP, 以维持树突棘形态^[124]. 在周围神

经皮质中过表达 miR-132 可调节突触可塑性和记忆力, 在海马中下调 miR-132 的转基因动物记忆增强, 过表达 miR-132 会损伤学习记忆^[122]. miR-324/133 a 可作为募集新突触神经支配和联想记忆细胞的主动因素^[125]. miR-132 的靶标之一是 MeCP2, 该基因与认知缺陷为特征的雷特综合征发病机理有关, 雷特综合征患者树突棘的形态是高度可变的, 与行为结果的相关性很差^[126]. 上述研究说明, 神经元中的 miRNA 靶向多种突触蛋白和翻译调节因子, 高度参与树突和轴突中的局部翻译机制, 在突触可塑性过程和学习记忆中发挥重要作用.

lncRNA 是长度超过 200 个核苷酸的新型 RNA 分子, 位于细胞核或细胞质中, 虽然没有蛋白质编码的潜能, 但在分子生物学中显示出保守的二级结构和功能. 与小型 ncRNA (如 miRNA 和 siRNA) 相比, lncRNA 的功能了解较少, 目前认为 lncRNA 在维持细胞生理功能中起着关键作用, 而且在一系列人类疾病如心血管疾病和癌症等中也发挥关键作用^[127]. 40% 左右的人类 lncRNA 仅在大脑中表达, lncRNA 因其在海马、前额叶皮层、杏仁核等脑区的组织和细胞上呈现特异性表达模式^[128], 而成为研究记忆形成和存储的潜在目标. Maag 等^[129] 对大脑中 lncRNA 进行转录组分析, 发现高频刺激海马前穿质通路 30 min、2 h 和 5 h 后 lncRNA 的动态表达谱有许多与突触可塑性呈高度正相关的蛋白质编码基因, 表明它们可能参与了 LTP. 条件恐惧记忆训练后进行转录组测序, 发现前额叶皮层中的 lncRNA 也具有活性依赖性表达的特点^[130]. lncRNA Malat1 在海马神经元中表达丰富, 与精神分裂症相关, Malat1 可以通过激活 ERK/MAPK 信号转导途径促进海马神经突生长和突触形成^[130]. 母系表达基因 3 (maternally expressed gene 3, Meg3) 是第一个被发现具有肿瘤抑制功能的 lncRNA, 条件恐惧记忆训练可在海马诱导 Meg3 表达, 敲除 Meg3 可降低 AMPA 受体的表达并增加甘氨酸诱导的 AMPA 受体亚基 GluA1^[131].

2.3.2 mRNA 修饰

真核生物 mRNA 的内部修饰包括腺苷的其他甲基化形式, 如 m¹A、m⁶A_m 等. 其中, 最丰富的 mRNA 修饰是 m⁶A, 此修饰广泛存在于真核生物, 影响 RNA 剪接、翻译和稳定性. 最早在 1974 年就首次在 poly(A) RNA 片段中检测到 m⁶A 修饰^[132-133], 但长期以来缺乏检测 mRNA 中 m⁶A 位点的方法, 该领域一直没有突破性研究. 2012 年, 两个研究组

分别利用 m⁶A 甲基化特异性免疫沉淀技术结合高通量测序的方法 (MeRIP-Seq) 以及抗体介导的 m⁶A 捕获和测序 (m⁶A-seq) 技术, 鉴定了 7 676 个包含 m⁶A 修饰的哺乳动物 mRNA 和 7 000 种人类基因的 12 000 个 m⁶A 位点, 发现 m⁶A 位点存在于超过 25% 的人类转录物中并且表现出高度的特异性, 在发育中的大脑显著增加^[134-135]。另外, m⁶A 修饰位点主要集中在终止密码子和 3'UTRs 附近。这些发现均提示 RNA 的 m⁶A 修饰在调节基因表达中具有重要作用。

在哺乳动物中, 由甲基转移酶复合物加上 m⁶A 修饰, 甲基转移酶复合物由 METTL3、METTL14 和其他组件组成, 同时也可被脱甲基酶 FTO 和 ALKBH5 等去除^[136-137]。此外, 还有多种 m⁶A 结合蛋白 YTHDF 家族蛋白负责转录后基因调控^[138]。mRNA 的 m⁶A 甲基化修饰在人类中更为普遍, 在皮层神经发生的动态过程和不同阶段, m⁶A 修饰通过调控转录组组成参与神经干细胞、细胞周期及神经元分化^[139]。另外, 与精神疾病遗传风险相关的许多基因只在人类中有 m⁶A 修饰, 在小鼠中没有^[140]。

mRNA 的 m⁶A 修饰是动态改变的, m⁶A 修饰以脑区特异性和基因特异性的方式动态响应外部环境刺激^[141-142]。应激造成 m⁶A/m 修饰的广泛变化, 成年小鼠神经元上敲除 Mettl3 或 Fto 均可改变 m⁶A/m 转录组, 增加条件恐惧记忆。条件恐惧学习后, Fto 条件性敲除小鼠较 Mettl3 条件性敲除小鼠表现出更多基因表达的改变^[143]。海马中缺失 Mettl3 会损害 LTP 而不影响神经元内在电生理特性和短期可塑性, 研究认为 METTL3 丰度与学习效能相关, 可以增强长期记忆形成^[144]。

m⁶A 通过其结合蛋白 YTHDF1 在响应外界刺激条件下促进海马相关 mRNA 的翻译, 从而促进学习和记忆。敲除小鼠 Ythdf1 可引起学习记忆和海马突触可塑性以及 LTP 的损害, 重新表达 Ythdf1 可挽救行为缺陷和突触可塑性损害^[145]。对行为训练后 2 h 的小鼠内侧前额叶皮层 (medial prefrontal cortex, mPFC) 进行 MeRIP-seq, 改变的基因其功能主要集中于突触传递和跨膜转运调节^[146]。Walters 等^[147]发现, 在背侧海马 CA1 区神经元的细胞核、树突和树突棘附近均有脱甲基酶 FTO 的表达, 条件恐惧记忆后 0.5 h, 海马 CA1 区神经元的 Fto 基因表达水平下降, 尤其突触附近下降最明显, 因而研究者认为 FTO 的作用在于限制恐惧记

忆的形成。另外, 敲低背侧海马 FTO 水平可增强恐惧记忆习得。在纹状体 D1/D2 神经元上条件性敲除 Mettl14, 阻碍了纹状体介导的学习并改变了多巴胺能信号。m⁶A-seq 发现 m⁶A 修饰位点多位于神经元特异性结构: 如突触、突触后膜、轴突和树突, 下调的 mRNA 在脑中多编码突触可塑性相关的基因如 Homer1 和 Cdk5r1。纹状体依赖的行为需要完整的皮质-纹状体-丘脑环路, 条件性敲除 Mettl14 后, 两组小鼠的感觉运动学习能力出现障碍^[148]。m⁶A 修饰大量存在于突触相关部位, 因而转录后可对突触部位基因表达进行微调, 是调节神经活动迅速而有效的方法。另外, m⁶A 修饰在损伤反应和功能性轴突再生中也发挥关键作用。在成年小鼠背根神经节 (dorsal root ganglions, DRGs), m⁶A 通过结合蛋白 YTHDF1 在轴突损伤诱导的新蛋白质合成的协调中起关键作用^[149]。这也说明, m⁶A 修饰介导的转录组可塑性使得神经系统在生理和病理情况下对外界刺激可以进行更灵活、更精细的响应。

尽管许多最新研究都概述了 mRNA 修饰的重要性, 但由于 mRNA 修饰量通常很低且高度动态, 转录组范围内的修饰定位仍面临重大挑战。目前的测定方法要求大量的 mRNA, 因此当前的研究方法可能会产生高度可变的结果, 并有误报的可能^[150-151]。另外, mRNA 修饰的研究目前无法特定于细胞类型, 且当前的方法一次只能评估一种类型的修饰, 而实际很可能在给定的转录本上存在修饰的组合^[152]。

3 总结与展望

以上的研究已经表明, 表观遗传机制是学习记忆和突触可塑性的重要调控者。在学习过程中, 不同的表观遗传调控因子会协同工作, 接收上游的级联信号并以精确的时空特异性操纵下游的基因表达, 以建立稳定的神经基础并产生适当的行为学结果。反之, 学习记忆过程中经验依赖性的突触蛋白改变也会反过来影响表观遗传机制。在学习记忆领域, 人们对于表观遗传修饰如何协作影响基因表达, 并通过特定的突触参与学习记忆的机制研究也仅仅处于起步阶段 (表 1)。目前仍不清楚在学习引起的基因表达改变中, 各种表观遗传机制具体如何持续改变神经元功能, 并且能够随着时间的推移, 在系统巩固的记忆重组过程中发挥作用。高通量测序技术的进步以及精确计算的发展帮助人们在表观基因组范围内系统地获取数据、解释大

型数据集、挖掘有用的信息以及精确识别调控基因表达时DNA甲基化、染色质修饰和RNA修饰之间复杂的相互作用至关重要^[153]。表观基因组的各种修饰酶在学习记忆中发挥重要功能,通过药理和遗传学手段调控这些酶可以在分子和细胞层次改变突触可塑性、记忆形成和长期记忆的持久性,并且影响参与学习记忆的神经元编码信息的能力甚至数

量。但表观遗传机制影响许多转录过程,操纵这些机制可能会导致非特异性后果。由于下游靶标多,操纵单个表观遗传学靶标比一般抑制剂具有更高的特异性。为提高干预的特异性,未来的研究应明确在记忆的形成、巩固和维持中表观遗传机制的具体下游靶标。

Table 1 Regulation of learning and memory through epigenetic mechanisms

表1 学习记忆中常见的表观遗传调控

分类	调控者	功能	在学习记忆和突触可塑性中的相关研究	参考文献
DNMT	DNMT1	DNA甲基化转移酶	敲除前脑Dnmt1抗焦虑和抑郁	[37]
	DNMT3a	DNA甲基化转移酶	敲除前脑Dnmt3a引起海马依赖性学习记忆障碍	[37, 39]
TETs	TET1	DNA甲基化羟化酶	敲除Tet1增强记忆的巩固和储存	[45-47]
	TET3	DNA甲基化羟化酶	TET3水平升高和降低双向影响兴奋性突触传递	[48-49]
HATs	CBP/P300	转录辅激活因子	参与海马LTP的转录依赖性阶段	[68-69]
HDACs	PCAF	P300 / CBP相关因子	敲除PCAF后随着年龄增长短期记忆障碍发展为长期记忆障碍	[70]
	HDAC1	组蛋白去乙酰化酶	中枢杏仁核HDAC1恐惧学习后下调	[64]
	HDAC2	组蛋白去乙酰化酶	海马过表达HDAC2损害海马依赖的联想学习和空间学习记忆	[62-64]
	HDAC3	组蛋白去乙酰化酶	敲除背侧海马HDAC3增强长期记忆	[65-67]
HMTs	EHMT	组蛋白甲基转移酶	参与突触缩放稳态	[86]
	G9a/GLP	组蛋白甲基转移酶	突触可塑性的双向调节器	[89-94]
HDM	LSD1	组蛋白脱甲基酶	在学习记忆基础的细胞和电路活动中促进IEG诱导	[85]
其他	MeCP2	甲基CpG结合蛋白	参与长期记忆形成	[53-55]
	METTL3	m ⁶ A甲基转移酶	参与长期记忆形成	[144]
	METTL14	m ⁶ A甲基转移酶	参与纹状体介导的学习	[148]
	FTO	m ⁶ A脱甲基酶	限制条件恐惧记忆的形成	[143, 147]
	YTHDF1	m ⁶ A结合蛋白	敲除小鼠海马Ythdf1损害突触可塑性及LTP	[145]

参 考 文 献

- [1] McGaugh J L. Memory - A century of consolidation. *Science*, 2000, **287**(5451): 248-251
- [2] Kukulshkin N V, Carew T J. Memory takes time. *Neuron*, 2017, **95**(2): 259-279
- [3] Kandel E R, Dudai Y, Mayford M R. The molecular and systems biology of memory. *Cell*, 2014, **157**(1): 163-186
- [4] Goldberg A D, Allis C D, Bernstein E. Epigenetics: a landscape takes shape. *Cell*, 2007, **128**(4): 635-638
- [5] Campbell R R, Wood M A. How the epigenome integrates information and reshapes the synapse. *Nat Rev Neurosci*, 2019, **20**(3): 133-147
- [6] Miller C A, Sweatt J D. Covalent modification of DNA regulates memory formation. *Neuron*, 2007, **53**(6): 857-869
- [7] Flamand M N, Meyer K D. The epitranscriptome and synaptic plasticity. *Curr Opin Neurobiol*, 2019, **59**: 41-48
- [8] Guan J S, Xie H, Ding X L. The role of epigenetic regulation in learning and memory. *Exp Neurol*, 2015, **268**: 30-36
- [9] Bliss T V, Gardner A R. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol*, 1973, **232**(2): 357-374
- [10] Gallistel C R, Matzel L D. The neuroscience of learning: beyond the hebbian synapse. *Annu Rev Psychol*, 2013, **64**: 169-200
- [11] Gallistel C R, Balsam P D. Time to rethink the neural mechanisms of learning and memory. *Neurobiol Learn Mem*, 2014, **108**: 136-144
- [12] Kandel E R. The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Med Sci*, 2001, **294**: 1030-1039
- [13] Bartsch D, Casadio A, Karl K A, *et al.* CREB1 encodes a nuclear activator, a repressor, and a cytoplasmic modulator that form a regulatory unit critical for long-term facilitation. *Cell*, 1998, **95**(2): 211-223
- [14] Kandel E R. The biology of memory: a forty-year perspective. *J Neurosci*, 2009, **29**(41): 12748-12756
- [15] Bartsch D, Ghirardi M, Casadio A, *et al.* Enhancement of memory-related long-term facilitation by ApAF, a novel transcription factor that acts downstream from both CREB1 and CREB2. *Cell*, 2000, **103**(4): 595-608

- [16] Sacktor T, Cajal R, Kandel E R, *et al.* Memory maintenance by PKM ζ -an evolutionary perspective. *Mol Brain*, 2012, **5**: 31
- [17] Malenka R C, Bear M F. LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron*, 2004, **44**(1): 5-21
- [18] Dudai Y. The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram?. *Annu Rev Psychol*, 2004, **55**: 51-86
- [19] Asok A, Leroy F, Rayman J B, *et al.* Molecular mechanisms of the memory trace. *Trends Neurosci*, 2019, **42**(1): 14-22
- [20] Nabavi S, Fox R, Proulx C D, *et al.* Engineering a memory with LTD and LTP. *Nature*, 2014, **511**(7509): 348-352
- [21] Mayford M, Siegelbaum S A, Kandel E R. Synapses and memory storage. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2012, **4**(6): 1-18
- [22] Waddington C H. The epigenotype. *Int J Epidemiol*, 1942, **41**(1): 10-13
- [23] Suzuki M M, Bird A. DNA methylation landscapes: provocative insights from epigenomics. *Nat Rev Genet*, 2008, **9**(6): 465-476
- [24] Lister R, Mukamel E A, Nery J R, *et al.* Global epigenomic reconfiguration during mammalian brain development. *Science*, 2013, **341**(6146): 1237905
- [25] Okano M, Bell D W, Haber D A, *et al.* DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for *de novo* methylation and mammalian development. *Cell*, 1999, **99**(3): 247-257
- [26] Schübeler D. Function and information content of DNA methylation. *Nature*, 2015, **517**(7534): 321-326
- [27] Poon C H, Chan Y S, Fung M L, *et al.* Memory and neuromodulation: a perspective of DNA methylation. *Biobehav Rev*, 2020, **111**: 57-68
- [28] Nikitin V P, Solntseva S V, Kozyrev S A, *et al.* Long-term memory consolidation or reconsolidation impairment induces amnesia with key characteristics that are similar to key learning characteristics. *Neurosci Biobehav Rev*, 2020, **108**: 542-558
- [29] Kennedy A J, Rahn E J, Paulukaitis B S, *et al.* Tcf4 regulates synaptic plasticity, DNA methylation, and memory function. *Cell Rep*, 2016, **16**(10): 2666-2685
- [30] Day J J, Childs D, Guzman M C, *et al.* DNA methylation regulates associative reward learning. *Nat Neurosci*, 2013, **16**(10): 1445-1452
- [31] Day J J, Sweatt J D. DNA methylation and memory formation. *Nat Neurosci*, 2010, **13**(11): 1319-1323
- [32] Kriaucionis S, Heintz N. The nuclear DNA base 5-hydroxymethylcytosine is present in purkinje neurons and the brain. *Science*, 2009, **324**(5929): 929-930
- [33] Ito S, Shen L, Dai Q, *et al.* Tet proteins can convert 5-methylcytosine to 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine. *Science*, 2011, **333**(6047): 1300-1303
- [34] Bachman M, Uribe-Lewis S, Yang X, *et al.* 5-Hydroxymethylcytosine is a predominantly stable DNA modification. *Nat Chem*, 2014, **6**(12): 1049-1055
- [35] Levenson J M, Roth T L, Lubin F D, *et al.* Evidence that DNA (cytosine-5) methyltransferase regulates synaptic plasticity in the hippocampus. *J Biol Chem*, 2006, **281**(23): 15763-15773
- [36] Maddox S A, Watts C S, Schafe G E. DNA methyltransferase activity is required for memory-related neural plasticity in the lateral amygdala. *Neurobiol Learn Mem*, 2014, **107**: 93-100
- [37] Feng J, Zhou Y, Campbell S L, *et al.* Dnmt1 and Dnmt3a maintain DNA methylation and regulate synaptic function in adult forebrain neurons. *Nat Neurosci*, 2010, **13**(4): 423-430
- [38] Miller C A, Gavin C F, White J A, *et al.* Cortical DNA methylation maintains remote memory. *Nat Neurosci*, 2010, **13**(6): 664-666
- [39] Oliveira A M, Hemstedt T J, Bading H. Rescue of aging-associated decline in Dnmt3a2 expression restores cognitive abilities. *Nat Neurosci*, 2012, **15**(8): 1111-1113
- [40] Su S C, Tsai L H. DNA methylation in cognition comes of age. *Nat Neurosci*, 2012, **15**(8): 1061-1062
- [41] Mastroeni D, Grover A, Delvaux E, *et al.* Epigenetic changes in Alzheimer's disease: decrements in DNA methylation. *Neurobiol Aging*, 2010, **31**(12): 2025-2037
- [42] Mastroeni D, Grover A, Delvaux E, *et al.* Epigenetic mechanisms in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 2011, **32**(7): 1161-1180
- [43] Halder R, Hennion M, Vidal R O, *et al.* DNA methylation changes in plasticity genes accompany the formation and maintenance of memory. *Nat Neurosci*, 2015, **19**(1): 102-110
- [44] Lubin F D, Roth T L, Sweatt J D. Epigenetic regulation of bdnf gene transcription in the consolidation of fear memory. *J Neurosci*, 2008, **28**(42): 10576-10586
- [45] Kaas G A, Zhong C, Eason D E, *et al.* TET1 controls CNS 5-Methylcytosine Hydroxylation, active DNA demethylation, gene transcription, and memory formation. *Neuron*, 2013, **79**(6): 1086-1093
- [46] Kumar D, Aggarwal M, Kaas G A, *et al.* Tet1 oxidase regulates neuronal gene transcription, active DNA hydroxymethylation, object location memory, and threat recognition memory. *Neuroepigenetics*, 2015, **4**: 12-27
- [47] Rudenko A, Dawlaty M M, Seo J, *et al.* Tet1 is critical for neuronal activity-regulated gene expression and memory extinction. *Neuron*, 2013, **79**(6): 1109-1122
- [48] Yu H, Su Y, Shin J, *et al.* Tet3 regulates synaptic transmission and homeostatic plasticity via DNA oxidation and repair. *Nat Neurosci*, 2015, **18**(6): 836-843
- [49] Li X, Wei W, Zhao Q Y, *et al.* Neocortical Tet3-mediated accumulation of 5-hydroxymethylcytosine promotes rapid behavioral adaptation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(19): 7120-7125
- [50] Horvath P M, Monteggia L M. MeCP2 as an activator of Gene expression. *Trends Neurosci*, 2018, **41**(2): 72-74
- [51] Lavery L A, Zoghbi H Y. The distinct methylation landscape of maturing neurons and its role in Rett syndrome pathogenesis. *Opin Neurobiol*, 2019, **59**: 180-188
- [52] Amir R E, Van den Veyver I B, Wan M, *et al.* Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nat Genet*, 1999, **23**(2): 185-188
- [53] Djukic A, Holtzer R, Shinnar S, *et al.* Pharmacologic treatment of Rett Syndrome with Glatiramer acetate. *Pediatr Neurol*, 2016, **61**: 51-57
- [54] Gulmez K, Brito D, Zeuch B, *et al.* Adult hippocampal MeCP2 preserves the genomic responsiveness to learning required for

- long-term memory formation. *Neurobiol Learn Mem*, 2018, **149**: 84-97
- [55] Fukuda T, Itoh M, Ichikawa T, *et al.* Delayed maturation of neuronal architecture and synaptogenesis in cerebral cortex of Mecp2-deficient mice. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2005, **64**(6): 537-544
- [56] Chao H T, Zoghbi H Y, Rosenmund C. MeCP2 controls excitatory synaptic strength by regulating glutamatergic synapse number. *Neuron*, 2007, **56**(1): 58-65
- [57] Shi Y, Lan F, Matson C, *et al.* Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1. *Cell*, 2004, **119**(7): 941-953
- [58] Vecsey C G, Hawk J D, Lattal K M, *et al.* Histone deacetylase inhibitors enhance memory and synaptic plasticity via CREB: CBP-dependent transcriptional activation. *J Neurosci*, 2007, **27**(23): 6128-6140
- [59] Haberland M, Montgomery R L, Olson E N. The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy. *Nat Rev Genet*, 2009, **10**(1): 32-42
- [60] Ahmad G S, Ramadoss M, Mahadevan V. Histone deacetylase (HDAC) inhibitors - emerging roles in neuronal memory, learning, synaptic plasticity and neural regeneration. *Curr Neuropharmacol*, 2015, **14**(1): 55-71
- [61] Volmar C H, Wahlestedt C. Histone deacetylases (HDACs) and brain function. *Neuroepigenetics*, 2015, **1**: 20-27
- [62] Guan J S, Haggarty S J, Giacometti E, *et al.* HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity. *Nature*, 2009, **459**(7243): 55-60
- [63] Morris M J, Mahgoub M, Na E S, *et al.* Loss of histone deacetylase 2 improves working memory and accelerates extinction learning. *J Neurosci*, 2013, **33**(15): 6401-6411
- [64] Akhtar M W, Raingo J, Nelson E D, *et al.* Histone deacetylases 1 and 2 form a developmental switch that controls excitatory synapse maturation and function. *J Neurosci*, 2009, **29**(25): 8288-8297
- [65] Norwood J, Franklin J M, Sharma D, *et al.* Histone deacetylase 3 is necessary for proper brain development. *J Biol Chem*, 2014, **289**(50): 34569-34582
- [66] 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
- [67] White A O, Wood M A. Does stress remove the HDAC brakes for the formation and persistence of long-term memory?. *Neurobiol Learn Mem*, 2014, **112**: 61-67
- [68] Alarcón J M, Malleret G, Touzani K, *et al.* Chromatin acetylation, memory, and LTP are impaired in CBP[±] mice: a model for the cognitive deficit in Rubinstein-Taybi syndrome and its amelioration. *Neuron*, 2004, **42**(6): 947-959
- [69] Lipinski M, Blanco B, Barco A. CBP/p300 in brain development and plasticity: disentangling the KAT's cradle. *Opin Neurobiol*, 2019, **59**: 1-8
- [70] Duclot F, Jacquet C, Gongora C, *et al.* Alteration of working memory but not in anxiety or stress response in p300/CBP associated factor (PCAF) histone acetylase knockout mice bred on a C57BL/6 background. *Neurosci Lett*, 2010, **475**(3): 179-183
- [71] Rahn E J, Guzman M C, David S J. Cellular, molecular, and epigenetic mechanisms in non-associative conditioning: implications for pain and memory. *Neurobiol Learn Mem*, 2013, **105**: 133-150
- [72] Tian J, Xu Z, Shen C, *et al.* One-dimensional boron nanostructures: prediction, synthesis, characterizations, and applications. *Nanoscale*, 2010, **2**(8): 1375-1389
- [73] Bredy T W, Wu H, Crego C, *et al.* Histone modifications around individual BDNF gene promoters in prefrontal cortex are associated with extinction of conditioned fear. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2007: 268-276
- [74] Choubey S K, Jeyakanthan J. Molecular dynamics and quantum chemistry-based approaches to identify isoform selective HDAC2 inhibitor - a novel target to prevent Alzheimer's disease. *J Recept Signal Transduct*, 2018, **38**(3): 266-278
- [75] Gräff J, Tsai L H. The potential of HDAC inhibitors as cognitive enhancers. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2013, **53**: 311-330
- [76] Sozio P, Cerasa L S, Laserra S, *et al.* Memantine-sulfur containing antioxidant conjugates as potential prodrugs to improve the treatment of Alzheimer's disease. *Eur J Pharm Sci*, 2013, **49**(2): 187-198
- [77] Jenuwein T. The epigenetic magic of histone lysine methylation. *FEBS J*, 2006, **273**(14): 3121-3135
- [78] Suri D, Veenit V, Sarkar A, *et al.* Early stress evokes age-dependent biphasic changes in hippocampal neurogenesis, BDNF expression, and cognition. *Biol Psychiatry*, 2013, **73**(7): 658-666
- [79] Mastroeni D, Delvaux E, Nolz J, *et al.* Aberrant intracellular localization of H3K4me3 demonstrates an early epigenetic phenomenon in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 2015, **36**(12): 3121-3129
- [80] Morse S J, Butler A A, Davis R L, *et al.* Environmental enrichment reverses histone methylation changes in the aged hippocampus and restores age-related memory deficits. *Biology*, 2015, **4**(2): 298-313
- [81] Gupta S, Kim S Y, Artis S, *et al.* Histone methylation regulates memory formation. *J Neurosci*, 2010, **30**(10): 3589-3599
- [82] Kerimoglu C, Agis R C, Kranz A, *et al.* Histone-methyltransferase mll2 (kmt2B) is required for memory formation in mice. *J Neurosci*, 2013, **33**(8): 3452-3464
- [83] Collins B E, Sweatt J D, Greer C B. Broad domains of histone 3 lysine 4 trimethylation are associated with transcriptional activation in CA1 neurons of the hippocampus during memory formation. *Neurobiol Learn Mem*, 2019, **161**: 149-157
- [84] Webb W M, Sanchez R G, Perez G, *et al.* Dynamic association of epigenetic H3K4me3 and DNA 5hmC marks in the dorsal hippocampus and anterior cingulate cortex following reactivation of a fear memory. *Neurobiol Learn Mem*, 2017, **142**: 66-78
- [85] Wang J, Telese F, Tan Y, *et al.* LSD1n is a H4K20 demethylase regulating memory formation via transcriptional elongation control. *Nat Neurosci*, 2016, **18**(9): 1256-1264
- [86] Tachibana M, Ueda J, Fukuda M, *et al.* Histone methyltransferases G9a and GLP form heteromeric complexes and are both crucial for

- methylation of euchromatin at H3-K9. *Genes Dev*, 2005, **19**(7): 815-826
- [87] Tachibana M, Sugimoto K, Nozaki M, *et al.* G9a histone methyltransferase plays a dominant role in euchromatic histone H3 lysine 9 methylation and is essential for early embryogenesis. *Genes Dev*, 2002, **16**(14): 1779-1791
- [88] Benevento M, Iacono G, Selten M, *et al.* Histone methylation by the Kleefstra syndrome protein EHMT1 mediates homeostatic synaptic scaling. *Neuron*, 2016, **91**(2): 341-355
- [89] Gupta AS, Franklin AV, 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
- [90] Frega M, Linda K, Keller JM, *et al.* Neuronal network dysfunction in a model for Kleefstra syndrome mediated by enhanced NMDAR signaling. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 4928
- [91] Kramer J M, Kochinke K, Oortveld M A, *et al.* Epigenetic regulation of learning and memory by Drosophila EHMT/G9a. *Plos Biol*, 2011, **9**(1): e1000569
- [92] Wang X, Shen X, Ma S, *et al.* Threshold effect of G9a/Glp on peripheral nerve injury-induced hypersensitivity. *Mol Pain*, 2017, **13**: 1744806917729305
- [93] Maze I, Covington 3rd H E, Dietz D M, *et al.* Essential role of the histone methyltransferase G9a in cocaine-induced plasticity. *Science*, 2010, **327**(5962): 213-216
- [94] Maze I, Chaudhury D, Dietz D M, *et al.* G9a influences neuronal subtype specification in striatum. *Nat Neurosci*, 2014, **17**(4): 533-539
- [95] Day J J, Sweatt J D. Epigenetic mechanisms in cognition. *Neuron*, 2011, **70**(5): 813-829
- [96] Lopez-Atalaya J P, Barco A. Can changes in histone acetylation contribute to memory formation?. *Trends Genet*, 2014, **30**(12): 529-539
- [97] Johnson T B, Coghill R D. The discovery of 5-methyl-cytosine in tuberculinic acid, the nucleic acid of the tubercle bacillus. *J Am Chem Soc*, 1925, **47**(11): 2838-2844
- [98] Yopie W F, Ahmadi A. Perancangan sistem informasi peminjaman buku pada perpustakaan SMK negeri kebonagung. *Indones J Netw Secur*, 2015, **4**(2): 8-12
- [99] Dezi V, Ivanov C, Haussmann I U, *et al.* Nucleotide modifications in messenger RNA and their role in development and disease. *Biochem Soc Trans*, 2016, **44**(5): 1385-1393
- [100] Frye M, T. Haranda B T, Behm M, *et al.* Expression during development. *Science*, 2018, **361**(6409): 1346-1349
- [101] Li S, Mason C E. The pivotal regulatory landscape of RNA modifications. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2014, **15**: 127-150
- [102] Frye M, Jaffrey S R, Pan T, *et al.* RNA modifications: what have we learned and where are we headed?. *Nat Rev Genet*, 2016, **17**(6): 365-372
- [103] Leighton L J, Bredy T W. Functional interplay between small non-coding RNAs and RNA modification in the brain. *Non-coding RNA*, 2018, **4**(2): 15
- [104] Raveendra B L, Swarnkar S, Avchalumov Y, *et al.* Long noncoding RNA GM12371 acts as a transcriptional regulator of synapse function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, **115**(43): E10197-E10205
- [105] He M, Liu Y, Wang X, *et al.* Cell-type-based analysis of microRNA profiles in the mouse brain. *Neuron*, 2012, **73**(1): 35-48
- [106] Elling R, Chan J, Fitzgerald K A. Emerging role of long noncoding RNAs as regulators of innate immune cell development and inflammatory gene expression. *Eur J Immunol*, 2016, **46**(3): 504-512
- [107] Mercer T R, Dinger M E, Sunkin S M, *et al.* Specific expression of long noncoding RNAs in the mouse brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105**(2): 716-721
- [108] Qureshi I A, Mehler M F. Emerging roles of non-coding RNAs in brain evolution, development, plasticity and disease. *Nat Rev Neurosci*, 2012, **13**(8): 528-541
- [109] Zampa F, Hartzell A L, Zolboot N, *et al.* Non-coding RNAs: the gatekeepers of neural network activity. *Curr Opin Neurobiol*, 2019, **57**: 54-61
- [110] Miska E A, Alvarez-Saavedra E, Townsend M, *et al.* Microarray analysis of microRNA expression in the developing mammalian brain. *Genome Biol*, 2004, **5**(9): R68
- [111] Carthew R W, Sontheimer E J. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell*, 2009, **136**(4): 642-655
- [112] Sato F, Tsuchiya S, Meltzer S J, *et al.* MicroRNAs and epigenetics. *FEBS J*, 2011, **278**(10): 1598-1609
- [113] Spies N, Burge C B, Bartel D P. 3' UTR-Isoform choice has limited influence on the stability and translational efficiency of most mRNAs in mouse fibroblasts. *Genome Res*, 2013, **23**(12): 2078-2090
- [114] Petri R, Malmevik J, Fasching L, *et al.* MiRNAs in brain development. *Exp Cell Res*, 2014, **321**(1): 84-89
- [115] Saab B J, Mansuy I M. Neuroepigenetics of memory formation and impairment: the role of microRNAs. *Neuropharmacology*, 2014, **80**: 61-69
- [116] Wang W, Kwon E J, Tsai L H. MicroRNAs in learning, memory, and neurological diseases. *Learn Mem*, 2012, **19**(9): 359-368
- [117] Bredy T W, Lin Q, Wei W, *et al.* MicroRNA regulation of neural plasticity and memory. *Neurobiol Learn Mem*, 2011, **96**(1): 89-94
- [118] Siegel G, Saba R, Schrott G. MicroRNAs in neurons: manifold regulatory roles at the synapse. *Curr Opin Genet Dev*, 2011, **21**(4): 491-497
- [119] Eacker S M, Keuss M J, Berezikov E, *et al.* Neuronal activity regulates hippocampal miRNA expression. *Plos One*, 2011, **6**(10): e25068
- [120] Magill S T, Cambronne X A, Luikart B W, *et al.* MicroRNA-132 regulates dendritic growth and arborization of newborn neurons in the adult hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(47): 20382-20387
- [121] Kenny P J, Zhou H, Kim M, *et al.* MOV10 and FMRP regulate AGO2 association with microRNA recognition elements. *Cell Rep*, 2014, **9**(5): 1729-1741

- [122] Hansen K F, Karelina K, Sakamoto K, *et al.* MiRNA-132: A dynamic regulator of cognitive capacity. *Brain Struct Funct*, 2013, **218**(3): 817-831
- [123] Mellios N, Sugihara H, Castro J, *et al.* MiR-132, an experience-dependent microRNA, is essential for visual cortex plasticity. *Nat Neurosci*, 2011, **14**(10): 1240-1242
- [124] Nakazawa T, Kuriu T, Tezuka T, *et al.* Regulation of dendritic spine morphology by an NMDA receptor-associated Rho GTPase-activating protein, p250GAP. *J Neurochem*, 2008, **105**(4): 1384-1393
- [125] Wu R, Cui S, Wang J H. miRNA-324/-133a essential for recruiting new synapse innervations and associative memory cells in coactivated sensory cortices. *Neurobiol Learn Mem*, 172: 107246
- [126] Wang I T J, Reyes A R S, Zhou Z. Neuronal morphology in MeCP2 mouse models is intrinsically variable and depends on age, cell type, and Mecp2 mutation. *Neurobiol Dis*, 2013, **58**: 3-12
- [127] Tan L, Yu J T, Hu N, *et al.* Non-coding RNAs in Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol*, 2013, **47**(1): 382-393
- [128] Derrien T, Johnson R, Bussotti G, *et al.* The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: analysis of their gene structure, evolution, and expression. *Genome Res*, 2012, **22**(9): 1775-1789
- [129] Maag J L V, Panja D, Sporild I, *et al.* Dynamic expression of long noncoding RNAs and repeat elements in synaptic plasticity. *Front Neurosci*, 2015, **9**: 351
- [130] Spadaro P A, Flavell C R, Widagdo J, *et al.* Long noncoding RNA-directed epigenetic regulation of gene expression is associated with anxiety-like behavior in mice. *Biol Psychiatry*, 2015, **78**(12): 848-859
- [131] Tan M P, Dolton G M, Gerry A B, *et al.* Human leucocyte antigen class I-redirected anti-tumour CD4+ T cells require a higher T cell receptor binding affinity for optimal activity than CD8+ T cells. *Clin Exp Immunol*, 2017, **187**(1): 124-137
- [132] Desrosiers R, Friderici K, Rottman F. Identification of methylated nucleosides in messenger RNA from Novikoff hepatoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1974, **71**(10): 3971-3975
- [133] Perry R P, Kelley D E. Existence of methylated messenger RNA in mouse L cells. *Cell*, 1974, **1**(1): 37-42
- [134] Dominissini D, Moshitch-Moshkovitz S, Schwartz S, *et al.* Topology of the human and mouse m6A RNA methylomes revealed by m6A-seq. *Nature*, 2012, **485**(7397): 201-206
- [135] Meyer K D, Saletore Y, Zumbo P, *et al.* Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons. *Cell*, 2012, **149**(7): 1635-1646
- [136] Wang X, Huang J, Zou T, *et al.* Human m6A writers: two subunits, 2 roles. *RNA Biol*, 2017, **14**(3): 300-304
- [137] Zheng G, Dahl J A, Niu Y, *et al.* ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility. *Mol Cell*, 2013, **49**(1): 18-29
- [138] Zhao, B, Roundtree I, He C. Post-transcriptional gene regulation by mRNA modification. *Physiol Behav*, 2017, **176**(3): 139-148
- [139] Yoon K, Ringeling F R, Vissers C, *et al.* Temporal control of mammalian cortical neurogenesis by m⁶A methylation. *Cell*, 2017, **171**(4): 877-889.e17
- [140] Yoon K J, Vissers C, Ming G, *et al.* Epigenetics and epitranscriptomics in temporal patterning of cortical neural progenitor competence. *J Cell Biol*, 2018, **217**(6): 1901-1914
- [141] Jia G, Fu Y, Zhao X, *et al.* N6-Methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO. *Nat Chem Biol*, 2012, **8**(12): 1008
- [142] Mauer J, Luo X, Blanjoie A, *et al.* Reversible methylation of m6Am in the 5' cap controls mRNA stability. *Nature*, 2017, **541**(7637): 371-375
- [143] Engel M, Eggert C, Kaplick P M, *et al.* The role of m6A/m-RNA methylation in stress response regulation. *Neuron*, 2018, **99**(2): 389-403
- [144] Zhang Z, Wang M, Xie D, *et al.* METTL3-mediated N6-methyladenosine mRNA modification enhances long-term memory consolidation. *Cell Res*, 2018, **28**(11): 1050-1061
- [145] Shi H, Zhang X, Weng Y L, *et al.* m6A facilitates hippocampus-dependent learning and memory through YTHDF1. *Nature*, 2018, **563**(7730): 249-253
- [146] Widagdo X J, Zhao X Q, Kempen X M, *et al.* Experience-dependent accumulation of N6 -methyladenosine in the prefrontal cortex is associated with memory processes in mice. 2016, **36**(25): 6771-6777
- [147] 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
- [148] Koranda J L, Dore L, Shi H, *et al.* Mettl14 is essential for epitranscriptomic regulation of striatal function and learning. *Neuron*, 2018, **99**(2): 283-292
- [149] Weng Y L, Wang X, An R, *et al.* Epitranscriptomic m6A regulation of axon regeneration in the adult mammalian nervous system. *Neuron*, 2018, **97**(2): 313-325
- [150] Jiang T, Yu N, Kim J, *et al.* Oligonucleotide sequence mapping of large therapeutic mRNAs via parallel ribonuclease digestions and LC-MS/MS. *Anal Chem*, 2019, **91**(13): 8500-8506
- [151] Molinie B, Giallourakis C C. RNA methylation: methods and protocols. *Meth Mol Biol*, 2017, **1562**(14): 45-53
- [152] Anreiter I, Mir Q, Simpson J T, *et al.* New twists in detecting mRNA modification dynamics. *Trends Biotechnol*, 2021, **39**(1): 72-89
- [153] Bassi S, Tripathi T, Monziani A, *et al.* Neuroepigenomics in aging and disease. *Exp Cell Res*, 2017, **978**(2): 244-253

Research Progress of Epigenetic Modification in Learning and Memory^{*}

CHANG Yuan^{**,***}, ZHANG Jin-Ming^{**}, ZHANG Jun-Min^{**}, GU Qiao-Fen,
ZHU Wen-Peng, HAN Jing^{***}

(Key Laboratory of Modern Teaching Technology, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract Learning and memory are important works of brain. Formation of memory involves a series of molecular and cellular changes which including gene transcription, *de novo* protein synthesis and synaptic plasticity alterations. The studies discussed here strongly indicate that various epigenetic modifications, including DNA methylation, histone modification and RNA modification, play an integral role in learning and memory, and has garnered the attention of researchers in the past decade. In this Review, we examine the involvement of different epigenetic regulators involved in memory and learning functions and provide a theoretical basis for future research.

Key words learning and memory, epigenetic modification, synaptic plasticity, DNA methylation, histone modifications, RNA modifications

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0333

^{*} This study was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China(81771227)and Shaanxi Innovation Capability Support Plan(2020TD-037).

^{**} These authors contributed equally to this work.

^{***} Corresponding author.

Tel: 86-29-85308178

CHANG Yuan. E-mail: yuanchang2020@126.com

HAN Jing. E-mail: jhan2012@snnu.edu.cn

Received: September 16, 2020 Accepted: December 14, 2020