

[综述]

苯丙胺类兴奋剂使用障碍表观遗传研究进展*

董慧茜¹ 沈屹东² 郝伟^{2**}¹(中南大学湘雅医院临床心理中心,长沙 410008)²(中南大学湘雅二医院精神卫生研究所;国家精神心理疾病临床医学研究中心;精神疾病诊疗技术工程实验室;湖南省精神病学与精神卫生重点实验室,长沙 410011)

关键词 甲基苯丙胺;苯丙胺;组蛋白乙酰化;组蛋白甲基化;DNA 甲基化;非编码 RNA

doi: 10.13936/j.cnki.cjdd1992.2018.04.001

中图分类号 R749.64

物质成瘾被认为是一种终身存在的行为异常,即易感个体反复滥用药物而不顾不良后果。成瘾复杂的表型和行为特征可能由持续的基因表达改变所致,尤其是犒赏脑区(中脑边缘及中脑皮质通路)内的改变,即使在停用成瘾物质后仍持续存在。既往的研究发现表观遗传修饰在改变和调节基因表达中起着至关重要的作用,是机体响应环境因素与遗传因素相互作用的关键环节。成瘾表观遗传学机制的研究对于认识成瘾疾病的发生发展,开发新的检测 and 更有效的治疗具有重要意义。本文将对目前流行的新型毒品中的中枢兴奋剂——甲基苯丙胺(Methamphetamine, METH)和苯丙胺(Amphetamine, AMPH)使用障碍的表观遗传学的研究进展进行综述。

1 表观遗传的概念

表观遗传学的定义是指在不改变 DNA 序列的前提下,通过基因修饰,使基因的表达与功能发生改变,并产生可遗传的表型,从而调控机体的生长、发育及病理过程。其主要内容包括两类,一类为基因转录前的调控,包括 DNA 甲基化、基因组印记、组蛋白修饰和染色质重塑;另一类为基因转录后的调控,包括基因组中非编码 RNA、微小 RNA 和反义 RNA 等。此外,还包括可遗传的非 DNA 编码的有丝分裂及减数分裂引起的转录改变^[1]。不同的表观遗传调节机制之间存在复杂的相互作用,共同决定细胞表型。

表观遗传修饰通常发生于真核细胞内核小体。

核小体是染色质(体)的基本结构单位,由 DNA、组蛋白(histone)和一些其他蛋白质构成,其中组蛋白包括 H2A、H2B、H3 和 H4 四种,每种组蛋白都包含二个分子,形成一个八聚体,约 146 碱基对(bp, base pairs)的 DNA 分子盘绕在组蛋白八聚体的外面,形成了一个核小体^[2]。组蛋白八聚体呈球状结构,组蛋白亚基的氨基末端对外游离,称为氨基端尾巴(N 端, histone tail)。N 端的许多残基可以被共价修饰,例如甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化、小泛素相关修饰、瓜氨酸化及二磷酸腺苷(ADP)核糖基化^[3-5]。而同一单位上可以发生级联修饰,如甲基化有 4 种状态:无甲基化(me0)、单甲基化(me1)、双甲基化(me2)和三甲甲基化(me3)。这些修饰能够在一些酶的催化下形成或去除,通过改变染色质构象、激活或抑制调控因子结合到 DNA 序列上而促进或抑制基因表达(见图 1^[6])。染色质被认为存在两种结构状态:(1) 活跃、开放的常染色质:通常组蛋白乙酰化能够打开核小体,允许转录因子和基础转录复合物结合(图 2, 左上);(2) 非活跃、凝聚的异染色质:沉默所有基因活动(图 2, 左下)。在上述转化中,染色质呈连续的功能状态,即活跃、开放、压缩、非活跃。乙酰化通常发生在 N 端特定的赖氨酸(K)残基上,乙酰官能基能够中和 1 个正电荷,增加核小体间间距,使染色体解凝,促进基因表达。而甲基化、磷酸化可以促进或抑制基因表达,取决于发生甲基化或磷酸化的氨基酸残基类型。例如大多情况下组蛋白甲基化能够降低基因的表达,而组蛋白 H3K4 甲基化能够增加转录活性^[7-8]。下面将对近年来与 METH 和 AMPH 相关的组蛋白修饰、DNA 甲基化和非编码 RNA 的表观遗传机制进行综述。

* 国家重点研发计划资助项目(2017YFC3140401), 973 项目(2015CB553500) 资助

** 通信作者: E-mail: weihao57@163.com

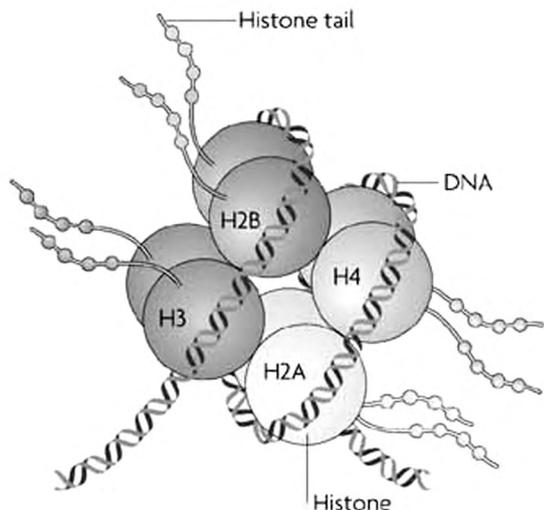


图1 核小体结构

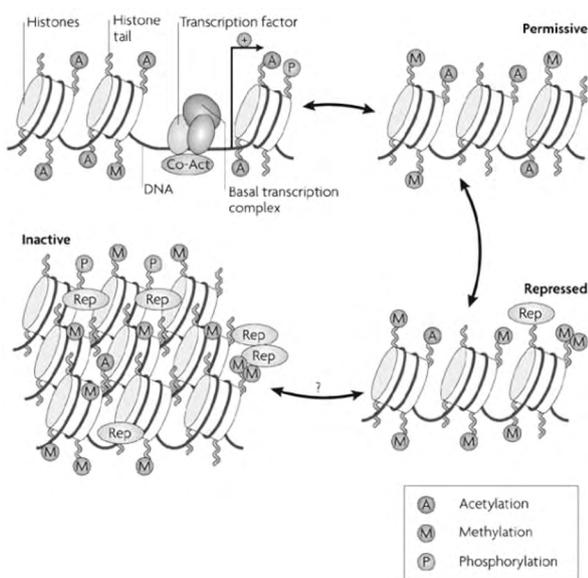


图2 染色质结构转变

2 组蛋白修饰

2.1 组蛋白乙酰化

METH 诱导的条件性位置偏爱 (Conditioned Place Preference, CPP) 与小鼠边缘前脑的组蛋白 H3 乙酰化相关^[9]。啮齿类动物模型中发现, METH 和能够引起自发活动增加和行为敏化^[10]。向腹腔内^[11-12]、杏仁核^[13]、前额叶^[13]、和纹状体^[13-14]注射 METH 或 AMPH 与非选择性组蛋白去乙酰化酶 (HDACs) 抑制剂, 如丙戊酸 (VPA) 和丁酸钠 (NaB) 结果小鼠的活动自发活动减少。而单次注射 HDAC1/2 选择性抑制剂 Cp60, 可以减少 AMPH 诱发的活动增加^[15]。但是 HDACs 抑制剂对于 METH 和 AMPH 诱发的行为敏化的获得和维持影响

不尽相同^[16-19] 这可能由于不同类别 HDACs 发挥不同的作用所致。目前, 已发现 18 种 HDACs, 按照序列相似性分: I 类 (HDAC1, HDAC2, HDAC3, 和 HDAC8)、II A 类 (HDAC4, HDAC5, HDAC7 和 HDAC9)、II B 类 (HDAC6 and HDAC10)、III 类 (Sirtuins1-7) 和 IV (HDAC11)。类 I, II 和 IV 类的 HDACs 为 Zn²⁺ - 依赖酶, 而 III 类 HDACs 是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD) 1 - 依赖酶。在体外, NaB 和 VPA 能够抑制 I 类 HDACs, 但是对 II 类无作用。另外, VPA 能够调节 GABA 信号通路, 可能影响多巴胺神经功能^[20], 所以使用非选择性 HDACs 抑制剂的对于行为敏化的影响存在矛盾的结果。

组蛋白 H3 和 H4 乙酰化在 METH 诱导的转录反应中起着关键作用。单次 METH 注射就可以使伏隔核内产生随时间变化的组蛋白 H4K5 和 H4K8 乙酰化增加, 组蛋白 H3K9, H3K18 和 H4K16 乙酰化减低^[21]。而 H4K5 和 H4K8 高乙酰化导致激活转录因子 2 (ATF2) 蛋白表达增加, HDAC1 表达降低。另外, RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 介导的 HDAC1 敲除能够使 H4K5 乙酰化增加, 但同时代偿地引起 HDAC2 表达增加, 并导致 H3K9、H3K18 和 H4K16 乙酰化降低^[22]。急性 METH 腹腔注射引起纹状体 H4 乙酰化增加^[18], 随后导致 cAMP 应答元件 (CREB) 结合蛋白 (CBP) 表达增加, 而 CBP 可以进一步增加组蛋白乙酰化^[23]。

METH 注射后前额叶 HDACs I 类和 II 类的改变与时间相关。急性 METH 注射注后, 前额叶 HDAC1 mRNA 水平降低, 伏隔核情况相似; 但慢性 METH 注射或在戒断期 HDAC1 的表达没有变化。急性或慢性 METH 注射前额叶 HDAC2 表达都降低。而 HDAC4、HDAC5 表达仅在戒断期降低。这些复杂的结果表明, 在戒断期可能存在由 HDAC 由 I 类到 II 类的功能转化^[24-25]。同样, 在可卡因成瘾模型中 HDACs I 类和 II 类的作用也存在差异。例如, 可卡因能够导致 HDAC I 类 HDAC1/2 增加^[26], 而在伏隔核内 HDAC II 类 HDAC5 表达过度会抑制可卡因诱导的 CPP^[27]。另一项研究发现, 腹腔连续注射 8 次 METH (10 mg/kg, 1 次/2h) 能够降低纹状体内 HDAC8 (HDAC I 类)、HDAC6、9、10 (HDAC II 类)、HDAC11 (HDAC IV 类) 和 Sirtuins2、5、6 (HDAC III 类) mRNA 表达^[27]。另外, HDAC2 可能是 METH 调节其他 HDAC 表达的关键因子, 急性 METH 给药能够降低小鼠伏隔核 HDAC 3、4、7、8 和 11 的 mRNA 表达, 但相反在 HDAC2 敲除的小鼠伏隔核

HDAC 3、4、7、8 和 11 的 mRNA 表达反而增加^[28]。

全基因组染色质免疫沉淀 - 测序 (ChIP - Sequencing) 能够发现组蛋白乙酰化的精确位置, 能够更好的了解组蛋白乙酰化与基因表达的关系。Cadet 等发现急性 METH 注射能够导致背侧纹状体 H4K5 乙酰化增加, 并与基因的转录起始位点 (Transcription start sites, TSSs) 大量结合^[29]。另外两个研究也发现了相同的结果^[16, 19]。相比, 在慢性 METH 使用也引起乙酰化的 H4K5 与纹状体基因 TSS 区域结合, 并导致基因表达改变, 但基因的位点存在差异^[30]。慢性 METH 诱导的 H4K5 乙酰化基因表达的改变相对急性 METH 弱, 这说明 METH 诱导的 H4K5 乙酰化可能不能持续改变转录和基因表达。另外, 使用 DNA 微阵列技术检测与核酸代谢、翻译后修饰、蛋白质折叠、细胞生存和死亡、神经系统发育、行为调节及神经系统疾病相关的 1846 个基因表达水平改变, 发现急性 METH 使用使基因表达整体升高(受影响的 86 个基因中, 60 个表达上调, 26 个下调), 而慢性 METH 使用基因表达呈整体降低(受影响的 71 个基因中, 18 个表达上调, 53 个下调), 后者可能由于 H4K5 乙酰化在后期不再继续显著改变基因表达所致。

芯片技术也可以发现与 HDACs 相互作用的特定蛋白, 最终导致染色质结构调整。观察一个长期 METH 自我给药模型发现, METH 不仅会影响 HDACs 本身, 也会作用于 HDACs 激活剂和抑制剂。例如 METH 自我给药后能够使脑富含膜附着信号蛋白 1 (brain abundant signal protein 1, BASP1) mRNA 水平增加^[31]。BASP1 能够招募 HDAC1, 协同抑制伏隔核 WT1 靶基因^[31]。METH 自我给药使 Krueppel 样因子 (Krueppel-like factor 10, klf10) 上调, 其蛋白产物的 R1 域能够与 HDAC 抑制剂和 Sin3A 相互作用^[32]。纹状体内这两个物质能够上调, 使 HDAC 介导的组蛋白高乙酰化, 使转录降低。

AP-1 转录因子复合物能够在许多生理或病理刺激下调节基因表达^[33]。其中 JunD 和 Δ fosB (FosB 的剪接变体) 是奖赏的重要调节物质^[34]。c-fos 是由 Fos 蛋白和 Jun 蛋白结合后形成的异二聚体, 是 Fos 蛋白家族主要活性作用形式。药物诱导的纹状体内 Δ fosB 稳定的聚集可能与急性或慢性药物使用引起的转录相关^[35]。急性 METH 注射后, 纹状体 FosB/ Δ fosB、c-Fos、c-Jun 和 JunB mRNA 水平均增加, 而慢性 METH 注射后环磷腺苷效应元件结合蛋白 (cAMP response element binding, CREB)、AP-

1、Erg1-3 和 Nr4a1 与对照组相比表达降低^[36]。慢性 METH 自我给药后, 外侧下丘脑、后腹侧被盖区、中央杏仁核和中缝背核内 FosB/ Δ fosB 蛋白水平也增加^[37]。组蛋白乙酰化在这些步骤中可能起到不同的作用。慢性 AMPH 使用能够调节纹状体内组蛋白 H4 乙酰化, 进而调节 fosB 基因表达, 这可能与 Δ fosB 表达增加相关^[19]。此外, 还可以增加纹状体 CREB, 减少 CREB 与 HDAC1 的相互作用及被再次招募到 Δ FosB 启动子区^[19]。慢性 AMPH 暴露, Δ FosB 增加并结合到 c-Fos 启动子区, 另外 Δ FosB 进一步招募 HDAC1, 使 c-fos 乙酰化降低, 表达减少; 而病毒介导的纹状体内 Δ FosB 或 HDAC1 过度表达证实了以上结果^[38]。因此, 慢性 AMPH 暴露引起的 c-Fos 减敏可能是 Δ FosB 与 HDAC1 调节引起的。今后的研究应对娱乐性使用和强迫性使用毒品两个时段都给予观察。

慢性 METH 暴露能够使 GluA1/A2 和 GluN1 表达下降。纹状体中, MeCP2 非依赖性招募 CoREST 与 SIRT2 复合物, 或 MeCP2 依赖性招募 CoREST, HDAC2 和 DNMT1 到 GluA1 基因 CpG 岛区的上游阻遏序列 (Upstream Repressive Sequence, URS) 和 GluA2 基因的启动子区, 协同催化组蛋白 H4 去乙酰化, 使染色质凝聚, 抑制转录。而 GluN1 基因启动子区 REST 与 HDAC1 复合物结合后, 组蛋白 H4 去乙酰化, 导致 GluN1 表达下降^[39-40]。

2.2 组蛋白甲基化

组蛋白甲基化对基因表达的调节相对更灵活, 既可以促进, 亦可以抑制。组蛋白 H3 赖氨酸 4 三甲基化 (H3K4me3) 通常与转录激活相关。METH 诱导的行为敏化^[41]、CPP^[42] 模型中, 伏隔核区的 H3K4me3 增加, 前者主要集中在 CC 趋化因子受体 (C-C chemokine receptor 2, CCR2) 基因启动子区并使 CCR mRNA 表达增加, 但是在背侧纹状体 c-fos、fosB、c-jun 和 Bdnf 基因启动子区 H3K4me3 不增加^[43]。而 ccr2 敲除的小鼠 METH 行为敏化的持续时间减少^[41]。在 METH 相关的记忆形成期间, H3K4me3 与伏隔核一些基因上调相关。使用小分子干扰核糖核酸 (Small interfering RNA, siRNA) 技术发现, 慢性 METH 注射、METH 相关记忆的形成和持续过程中, KMT2A (组蛋白 H3K4 三甲基化参与酶) 增加。另一个 H3K4 去甲基化酶 KDM5C 也参与 METH 的 CPP 的维持。可见, 慢性 METH 使用能够使许多基因启动子区 H3K4me3 发生适应性改变。慢性 AMPH 使用能够增加 KMT1 (组蛋白 H3K9 甲

基转移酶)的表达^[38],同时在 *c-fos* 启动子区组蛋白 H3 赖氨酸 9 残基双甲基化 (H3K9me2),后者能够抑制 *c-fos* 基因表达^[43]。另外一项研究也发现慢性 AMPH 使用 *c-fos* 基因减敏与 KMT1A 表达增加及 H3K9me3 对启动子区的抑制作用相关^[38]。而 H3K4me3 和 H3K9me3 的串扰作用也可能解释时间相关的表观遗传修饰改变。另外, METH 自我给药后纹状体内 KLF10 增加,并与 KDM5B (H3K4me3 去甲基酶)^[44], HDAC (Sin3a 复合物) 相互作用^[32]。

3 DNA 甲基化

DNA 甲基化是一种相对稳定的表观遗传学标志,利用 *s*-腺苷甲硫氨酸 (*s*-adenosylmethionine, SAM) 提供的甲基,在基因 CpG 岛区胞嘧啶的 C5 位置添加一个甲基。在基因组中 CpG 岛分布不均匀, CpG 岛被定义为一个至少含有 200bp 碱基的区域,其中 GC 所占比例超过 50%,且 CpG 的观察值与预测值的比例必须超过 0.6。而基因组中散在分布的 CpG 通常处于甲基化状态。DNA 甲基化反应被 DNA 甲基转移酶 (DNMT) 所催化,包括 DNMT1, DNMT3A 和 DNMT3B^[45]。底物的特异性和不同的激活对于 DNMT 参与神经、精神疾病病理状态具有重要作用^[46]。在 METH 或 AMPH 动物模型中, DNA 甲基化的研究较少。小鼠脑内 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferases, DNMTs) 持续高表达, METH 能够调节伏隔核内 DNMT1 的表达。Fischer 344/N 大鼠尾状核及伏隔核 DNMT1 mRNA 表达增加,海马区 DNMT1 mRNA 表达降低,抵抗 METH 诱导行为敏化;而 Lewis/N 大鼠尾状核 DNMT1 mRNA 表达降低,在伏隔核与小脑无改变,且增强 METH 诱导的行为敏化^[47],这可能说明不同基因型对于 METH 的反应可能存在差异。AMPH 暴露 2 周后,伏隔核、内侧前额叶皮质和眶额叶皮质中 DNA 甲基化水平整体升高^[48],与 METH 戒断期间转录水平整体降低保持一致。此外,与正常对照比较, METH 的使用者外周血提取的 DNA 中 BDNF 启动子区内一长度为 69bp 区域中 1 个 CpG 位点呈低甲基化^[49], PVALB 启动子区 GRCh38 内 3 个 CpG 位点呈高甲基化^[50]。

在哺乳动物中, DNA 甲基化的主要方式是形成 5-甲基胞嘧啶 (5mC),以甲基 CpG (mCpG) 的形式出现,甲基 CpG 结合蛋白 (Methyl-CpG-binding protein, MeCPs) 能够特异性识别 mCpG,且对 mCpG 周围的基因序列无特殊要求,因而能广泛抑制基因

转录。MeCP2 在脑发育过程中起到关键作用, MeCP2 突变被发现与孤独谱系障碍和 MRett 综合征相关^[51]。MeCP2 参与 AMPH 触发的行为反应活动,病毒介导的伏隔核内 MeCP2 过度表达能够调节 AMPH 诱导的 CPP,降低 AMPH 的犒赏作用,相反 MeCP2 敲除能够增加 AMPH 的犒赏作用^[52]。急性 AMPH 能够引起短暂的, NAc 特异的 MeCP2 的 Ser241 残基乙酰化,抑制 MeCP2 活性,进而调节脑内脑源性神经营养因子 (Bdnf) 的表达,例如 METH 自我给药后大鼠的海马区^[53]及人血浆中均发现 BDNF 升高^[54]。而对于 MeCP2 Ser421Ala 敲入的小鼠,非乙酰化的 MeCP2 也被发现可以降低 AMPH 诱发行敏化的药物剂量的阈值^[55]。METH 暴露大鼠旋转试验和旷场试验均表现出行为损害,染色质免疫沉淀和亚硫酸氢盐测序均发现黑质中 MeCP2 与 DNMT1 Snca 启动子区结合,导致 Snca 甲基化降低,其编码的 α -synuclein 蛋白表达增加,而后者与神经元缺失及运动功能障碍相关^[56]。METH 能够影响一些即早基因的甲基化水平,与生理盐水组相比,慢性 METH 给药的小鼠前额叶皮质 Arc 启动子区的 8 个 CpG 位点甲基化水平较低, Fos 中 1 个 CpG 位点甲基化水平较高;海马 Klf10 中 6 个 CpG 位点甲基化水平偏高, Nr4a1 的 3 个 CpG 位点甲基化水平偏低^[57]。

METH 对 DNA 甲基化的影响甚至延续至后代。最近的一项研究慢性 METH 暴露雄性和雌性 C57Bl/6J 小鼠的后代,甲基化 DNA 免疫沉淀 (Methylated DNA immunoprecipitation, MeDIP 或 mDIP) 和亚硫酸盐测序两种方法均发现其后代的海马区 DNA 甲基化发生了改变。这说明在宫内 METH 暴露可以影响胚胎发育过程中表观遗传修饰重塑机制^[58]。而这些后代甚至表现出行为异常,如雄性后代可卡因诱导的 CPP 位置偏好行为减弱,雄性和雌性后代对恐惧反应降低^[58]。

4 非编码 RNA

早期研究发现,正义和反义 RNA 均能够干扰或减少基因表达,且 RNA 干扰能够传代影响^[54]。之后的研究发现了一些非编码 RNAs (Non-coding RNAs),包括微小 RNA (miRNAs),长链非编码 RNA (lncRNAs), Piwi 蛋白相作用 RNA (piwi-RNAs 或 piRNAs) 及环状 RNA (circRNAs)。miRNA 与靶基因的 mRNA 互补配对,对基因表达在转录后水平上产生负调控,抑制翻译和基因表达。

在给予小鼠 AMPH 5 d 后,其四个将多巴胺能神经元投射到腹侧被盖区的脑区(海马、前额叶皮质、边缘前脑皮质下、腹侧中脑) miRNA - 181a 水平升高。miRNA 是一种能够负性调节海马神经元内转录后 AMPA 样谷氨酸受体 (AMPA - R) 亚基 GluA2 的表达,树突棘形成和微兴奋性突触后电位 (mEPSC) 的频率^[59]。而 AMPA 是产生突触可塑性和成瘾物质神经适应性的重要物质,提示 miRNA - 181a 可调节突触功能。此外,小鼠慢性给予 AMPH 5 d 后^[60],大部分脑区内 miR - 29a/b 和 miR - 182/183 明显增加,中脑腹侧和边缘前脑皮层下其中 miR - 200/429 明显升高,其中 miRNA - 29a/b 能够

调节突触形态。检测生理盐水注射、单次腹腔注射 METH (5 mg/kg) 与递增交替腹腔 METH 注射 15 d (0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mg/kg) 小鼠的伏隔核 miRNA 水平,发现慢性 METH 注射组与单次 METH 注射组相比 52 个 miRNAs 上调、7 个 miRNAs 下调;慢性 METH 注射组与生理盐水注射组相比 166 个 miRNAs 上调、4 个 miRNAs 下调,并发现其中 miR - 496 - 3p, miR - 194 - 5p, miR - 200b - 3p and miR - 181a - 5p 与 METH 成瘾相关^[61]。对 METH 使用障碍患者血浆中的 723 个 circRNAs 进行微阵列筛查,发现 miR - 181a, miR - 15b, miR - let - 7e and miR - let - 7d 与对照组相比显著降低^[62]。

表 1 METH 和 AMPH 导致的表观遗传学改变总结^[63]

基因或 miRNA	处理方式	效应
Arc	METH 2 mg/kg 隔天给药 16 次后	小鼠前额叶皮质 Arc 启动子区的 8 个 CpG 位点甲基化水平较低 ^[56]
BDNF	METH 自我给药(8 d; 15 h) METH 慢性使用患者	纹状体: 磷酸化 CREB 与 BDNF 启动子区结合增加 ^[43] 外周血淋巴细胞 DNA 中 BDNF 启动子区 1 个 CpG 甲基化水平较低 ^[49]
CamkIIa	慢性皮下 METH 注射 2 d 1 次, 每次 0.5 - 2 mg/kg, 共 6 d	边缘前脑 CamkIIa 启动子区组蛋白 H3 高乙酰化 ^[9]
Cdk5	慢性皮下 METH 注射 2 d 1 次, 每次 0.5 - 2 mg/kg, 共 6 d	边缘前脑 Cdk5 启动子区组蛋白 H3、H4 高乙酰化 ^[9]
c - Fos	急性腹腔注射: 5 mg/kg METH 自我给药(8 d; 15 h) 慢性性腹腔注射, 每次 4 mg/kg, 7 d	纹状体: 组蛋白 H4K5Ac 与 c - fos 启动子区结合增加 ^[30] 纹状体: 磷酸化 CREB 与 c - fos 启动子结合增加 ^[43] 纹状体: c - fos 启动子 H3K9 双甲基化, Kmt1a/Suv39h1 mRNA 升高 ^[38]
CoREST	慢性皮下 METH 注射, 逐渐加量 0.5 - 3 mg/kg, 共 2 周	纹状体: CoREST 蛋白增加 ^[39]
Creb	慢性皮下 METH 注射 2 d 1 次, 每次 0.5 - 2 mg/kg, 共 6 d	边缘前脑 Creb 启动子区组蛋白 H3 高乙酰化 ^[9]
Dlg4	慢性皮下 METH 注射 2 d 1 次, 每次 0.5 - 2 mg/kg, 共 6 d	边缘前脑 Dlg4 启动子区组蛋白 H3 高乙酰化 ^[9]
Egr2	急性腹腔注射: 5 mg/kg	纹状体: 组蛋白 H4K5Ac 与 Egr2 启动子区结合增加 ^[30]
FosB	METH 自我给药(8 d; 15 h)	纹状体: 磷酸化 CREB 与 FosB 启动子结合增加 ^[43]
DNMT1	慢性皮下 METH 注射, 逐渐加量 0.5 - 3 mg/kg, 共 2 周 急性 METH 腹腔注射(4 mg/kg) 慢性 METH 腹腔注射(4 mg/kg, 每天 1 次, 持续 21 d)	纹状体内 DNMT1 蛋白增加 ^[39] 尾状核、小脑 DNMT1 表达增加 ^[47] 伏隔核 DNMT1 表达增加 ^[47]
GluA1 GluA2	慢性皮下 METH 注射 2 d 1 次, 每次 0.5 - 2 mg/kg, 共 6 d 慢性腹腔 METH 注射, 逐渐加量 0.5 - 3 mg/kg, 共 2 周	边缘前脑 GluA1 启动子区组蛋白 H3 高乙酰化 ^[9] 纹状体内使阻滞因子 CoREST, MeCP2 和 HDAC 结合在 GluA1 与 GluA2 的启动子区, 使 GluA1 与 GluA2 表达下降 ^[37]

续表

基因或 miRNA	处理方式	效应
GluN1 GluN2a GluN2b	慢性腹腔 METH 注射 逐渐加量 0.5 - 3 mg/kg 共 2 周 慢性皮下 METH 注射 2 d 1 次 每次 0.5 - 2 mg/kg 共 6 d	纹状体内使阻滞因子 REST 与 HDAC1 与 GluN1 启动子结合 导致 GluN1 表达下降 ^[37] 边缘前脑 GluN2a GluN2b 启动子区组蛋白 H3 高乙酰化 ^[9]
HDAC1 HDAC2	急性腹腔注射 20 mg/kg 急性皮下注射 5 mg/kg 慢性腹腔 METH 注射 逐渐加量 0.5 - 3 mg/kg 共 2 周	伏隔核内瞬间出现 HDAC1 蛋白降低 ,HDAC2 蛋白升高 ^[21] 前额叶皮质 HDAC1、HDAC2 表达下降 ^[24] 纹状体内 HDAC1、HDAC2 蛋白增高 ^[37]
HDAC8、6、9、10、11 Sirtuins2、5、6	腹腔连续注射 8 次 METH (10 mg/kg ,1 次/2 h ,共 16 h)	纹状体 HDAC8、6、9、10、11 与 Sirtuins2、5、6mRNA 降低 ^[27]
Klf10	METH 2 mg/kg 隔天给药 16 次后	海马中 Kof10 启动子区 6 个 CpG 位点甲基化水平偏高 ^[56]
MeCP2	急性腹腔注射 AMPH 3 mg/kg 慢性腹腔 METH 注射 逐渐加量 0.5 - 3 mg/kg 共 2 周	Nac 内磷酸化 MeCP2 瞬间增加 ^[48] 纹状体 MeCP2 蛋白增加 ^[37]
Nrxn	慢性皮下 METH 注射 2 d 1 次 每次 0.5 - 2 mg/kg 共 6 d	边缘前脑 Nrxn 启动子区组蛋白 H3 高乙酰化 ^[9]
Nr4a1	METH 2 mg/kg 隔天给药 16 次后	海马中 Nr4a1 启动子区 3 个 CpG 位点甲基化水平偏低 ^[56]
PVALB	METH 依赖患者	外周血 PVALB 启动子区 GRCh38 内 3 个 CpG 位点呈高甲基化 ^[50]
REST	慢性腹腔 METH 注射 逐渐加量 0.5 - 3 mg/kg 共 2 周	纹状体 REST 蛋白增加 ^[39]
SIRT1 SIRT2	慢性腹腔 METH 注射 逐渐加量 0.5 - 3 mg/kg 共 2 周	纹状体 SIRT1 和 SIRT2 蛋白增加 ^[39]
Syp	慢性皮下 METH 注射 2 d 1 次 每次 0.5 - 2 mg/kg 共 6 d METH 自我给药(8 d; 15 h)	边缘前脑 Nrxn 启动子区组蛋白 H3 高乙酰化 ^[9] 纹状体: 磷酸化 CREB 与 Syp 启动子结合增加 ^[43]
Snca	慢性腹腔 METH 注射 20 mg/kg ,5 d	首次注射后第 14 d ,黑质 Snca 启动子区甲基化降低 , α - synuclein 蛋白表达增加 ^[57]
miRNA - 181a	慢性腹腔 d - amphetamine - d ₃ 5 mg/kg 每天一次 5 d	miRNA - 181a 表达增加 ^[60]
miR - 29a/b miR - 182/183 miR - 200/429	慢性腹腔 d - amphetamine - d ₃ 5 mg/kg 每天一次 5 d	大部分脑区内 miR - 29a/b 和 miR - 182/183 明显增加 ,中脑腹侧和边缘前脑皮下其中 miR - 200/429 明显升高 ^[61]
miR - 496 - 3p , miR - 194 - 5p , miR - 200b - 3p , miR - 181a - 5p	递增交替腹腔 METH 注射 15 d (0.25 ,0.5 , 1 , 2 , 3 , 4 , 5 mg/kg)	miR - 496 - 3p , miR - 194 - 5p , miR - 200b - 3p and miR - 181a - 5p 与 METH 成瘾相关 ^[62]
miR - 181a , miR - 15b , miR - let - 7e and miR - let - 7d	METH 使用障碍患者	血浆中 miR - 181a , miR - 15b , miR - let - 7e and miR - let - 7d 降低 ^[63]

5 小结

AMPH 和 METH 暴露引起了复杂的组蛋白修饰、DNA 甲基化及转录水平的改变。不同组蛋白修饰的串扰作用及染色质结构变化能够进一步调节基因表达和改变蛋白产物(表 1)。在这些过程中,一

些特殊的基因能够触发级联反应,最终产生复杂的行为改变,而发现这些导致成瘾形成的初始反应对于研发早期干预药物提供了思路。此外,对毒品使用导致的表观遗传改变的研究对于今后戒毒药物的研发、开发靶向治疗、恢复大脑稳态十分重要。

6 参考文献

- [1] Kota SK, Feil R. Epigenetic transitions in germ cell development and meiosis [J]. *Dev Cell* 2010, 19(5): 675-686.
- [2] Kouzarides T. Chromatin modifications and their function [J]. *Cell* 2007, 128(4): 693-705.
- [3] Schneider A, Chatterjee S, Bousiges O, et al. Acetyltransferases (HATs) as targets for neurological therapeutics [J]. *Neurotherapeutics* 2013, 10(4): 568-588.
- [4] Seto E, Yoshida M. Erasers of histone acetylation: the histone deacetylase enzymes [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2014, 6(4): a18713.
- [5] Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code [J]. *Science* 2001, 293(5532): 1074-1080.
- [6] Nestler EJ. Epigenetic mechanisms of drug addiction [J]. *Neuropharmacology*, 2014, 76 Pt B: 259-268.
- [7] Marmorstein R, Roth SY. Histone acetyltransferases: function, structure, and catalysis [J]. *Curr Opin Genet Dev* 2001, 11(2): 155-161.
- [8] Shilatifard A. Molecular implementation and physiological roles for histone H3 lysine 4 (H3K4) methylation [J]. *Curr Opin Cell Biol* 2008, 20(3): 341-348.
- [9] Shibasaki M, Mizuno K, Kurokawa K, et al. L-type voltage-dependent calcium channels facilitate acetylation of histone H3 through PKC gamma phosphorylation in mice with methamphetamine-induced place preference [J]. *J Neurochem* 2011, 118(6): 1056-1066.
- [10] Jing L, Zhang M, Li JX, et al. Comparison of single versus repeated methamphetamine injection induced behavioral sensitization in mice [J]. *Neurosci Lett*, 2014, 560: 103-106.
- [11] Frey BN, Andreazza AC, Cereser KM, et al. Effects of mood stabilizers on hippocampus BDNF levels in an animal model of mania [J]. *Life Sci* 2006, 79(3): 281-286.
- [12] Moretti M, Valvassori SS, Varela RB, et al. Behavioral and neurochemical effects of sodium butyrate in an animal model of mania [J]. *Behav Pharmacol*, 2011, 22(8): 766-772.
- [13] Arent CO, Valvassori SS, Fries GR, et al. Neuroanatomical profile of antimanic effects of histone deacetylase inhibitors [J]. *Mol Neurobiol* 2011, 43(3): 207-214.
- [14] Kim WY, Kim S, Kim JH. Chronic microinjection of valproic acid into the nucleus accumbens attenuates amphetamine-induced locomotor activity [J]. *Neurosci Lett*, 2008, 432(1): 54-57.
- [15] Schroeder FA, Lewis MC, Fass DM, et al. A selective HDAC 1/2 inhibitor modulates chromatin and gene expression in brain and alters mouse behavior in two mood-related tests [J]. *PLoS One* 2013, 8(8): e71323.
- [16] Kalda A, Heidmets LT, Shen HY, et al. Histone deacetylase inhibitors modulates the induction and expression of amphetamine-induced behavioral sensitization partially through an associated learning of the environment in mice [J]. *Behav Brain Res*, 2007, 181(1): 76-84.
- [17] Coccurello R, Caprioli A, Ghirardi O, et al. Valproate and acetyl-L-carnitine prevent methamphetamine-induced behavioral sensitization in mice [J]. *Ann N Y Acad Sci* 2007, 1122: 260-275.
- [18] Harkness JH, Hitzemann RJ, Edmunds S, et al. Effects of sodium butyrate on methamphetamine-sensitized locomotor activity [J]. *Behav Brain Res* 2013, 239: 139-147.
- [19] Shen HY, Kalda A, Yu L, et al. Additive effects of histone deacetylase inhibitors and amphetamine on histone H4 acetylation, cAMP responsive element binding protein phosphorylation and DeltaFosB expression in the striatum and locomotor sensitization in mice [J]. *Neuroscience* 2008, 157(3): 644-655.
- [20] Owens MJ, Nemeroff CB. Pharmacology of valproate [J]. *Psychopharmacol Bull*, 2003, 37 Suppl 2: 17-24.
- [21] Martin TA, Jayanthi S, McCoy MT, et al. Methamphetamine causes differential alterations in gene expression and patterns of histone acetylation/hypoacetylation in the rat nucleus accumbens [J]. *PLoS One* 2012, 7(3): e34236.
- [22] Ma P, Schultz RM. Histone deacetylase 1 (HDAC1) regulates histone acetylation, development, and gene expression in

- preimplantation mouse embryos[J]. *Dev Biol* ,2008 ,319(1) :110 – 120.
- [23] Henry RA ,Kuo YM ,Andrews AJ. Differences in specificity and selectivity between CBP and p300 acetylation of histone H3 and H3/H4 [J]. *Biochemistry* ,2013 ,52(34) :5746 – 5759.
- [24] Li H ,Li F ,Wu N ,et al. Methamphetamine induces dynamic changes of histone deacetylases in different phases of behavioral sensitization [J]. *CNS Neurosci Ther* 2014 ,20(9) :874 – 876.
- [25] Liu PK ,Liu CH. Epigenetics of amphetamine – induced sensitization: HDAC5 expression and microRNA in neural remodeling[J]. *J Biomed Sci* ,2016. 23(1) : 90.
- [26] Kennedy PJ ,Feng J ,Robison AJ ,et al. Class I HDAC inhibition blocks cocaine – induced plasticity by targeted changes in histone methylation[J]. *Nat Neurosci* 2013 ,16(4) :434 – 440.
- [27] Renthal W ,Maze I ,Krishnan V ,et al. Histone deacetylase 5 epigenetically controls behavioral adaptations to chronic emotional stimuli [J]. *Neuron* 2007 ,56(3) :517 – 529.
- [28] Torres OV ,Ladenheim B ,Jayanthi S ,et al. An Acute Methamphetamine Injection Downregulates the Expression of Several Histone Deacetylases (HDACs) in the Mouse Nucleus Accumbens: Potential Regulatory Role of HDAC2 Expression [J]. *Neurotox Res* ,2016. 30(1) : 32 – 40.
- [29] Omonijo O ,Wongprayoon P ,Ladenheim B ,et al. Differential effects of binge methamphetamine injections on the mRNA expression of histone deacetylases (HDACs) in the rat striatum [J]. *Neurotoxicology* 2014 ,45:178 – 184.
- [30] Cadet JL ,Jayanthi S ,Mccoy MT ,et al. Genome – wide profiling identifies a subset of methamphetamine (METH) – induced genes associated with METH – induced increased H4K5Ac binding in the rat striatum [J]. *BMC Genomics* 2013 ,14:545.
- [31] Toska E ,Campbell HA ,Shandilya J ,et al. Repression of transcription by WT1 – BASP1 requires the myristoylation of BASP1 and the PIP2 – dependent recruitment of histone deacetylase [J]. *Cell Rep* 2012 ,2(3) :462 – 469.
- [32] Zhang JS ,Moncrieffe MC ,Kaczynski J ,et al. A conserved alpha – helical motif mediates the interaction of Sp1 – like transcriptional repressors with the corepressor mSin3A [J]. *Mol Cell Biol* 2001 ,21(15) :5041 – 5049.
- [33] Hess J ,Angel P ,Schorpp – Kistner M. AP – 1 subunits: quarrel and harmony among siblings [J]. *J Cell Sci* 2004 ,117(Pt 25) :5965 – 5973.
- [34] Pitchers KK ,Vialou V ,Nestler EJ ,et al. Natural and drug rewards act on common neural plasticity mechanisms with DeltaFosB as a key mediator [J]. *J Neurosci* ,2013 ,33(8) :3434 – 3442.
- [35] Nestler EJ ,Barrot M ,Self DW. DeltaFosB: a sustained molecular switch for addiction [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001 ,98(20) :11042 – 11046.
- [36] Mccoy MT ,Jayanthi S ,Wulu JA ,et al. Chronic methamphetamine exposure suppresses the striatal expression of members of multiple families of immediate early genes (IEGs) in the rat: normalization by an acute methamphetamine injection [J]. *Psychopharmacology (Berl)* 2011 ,215(2) :353 – 365.
- [37] Cornish JL ,Hunt GE ,Robins L ,et al. Regional c – Fos and FosB/DeltaFosB expression associated with chronic methamphetamine self – administration and methamphetamine – seeking behavior in rats [J]. *Neuroscience* ,2012 ,206: 100 – 114.
- [38] Renthal W ,Carle TL ,Maze I ,et al. Delta FosB mediates epigenetic desensitization of the c – fos gene after chronic amphetamine exposure [J]. *J Neurosci* 2008 ,28(29) :7344 – 7349.
- [39] Jayanthi S ,Mccoy MT ,Chen B ,et al. Methamphetamine downregulates striatal glutamate receptors via diverse epigenetic mechanisms [J]. *Biol Psychiatry* 2014 ,76(1) :47 – 56.
- [40] Cadet JL ,Jayanthi S. Epigenetics of methamphetamine – induced changes in glutamate function [J]. *Neuropsychopharmacology* ,2013 ,38(1) :248 – 249.
- [41] Ikegami D ,Narita M ,Imai S ,et al. Epigenetic modulation at the CCR2 gene correlates with the maintenance of behavioral sensitization to methamphetamine [J]. *Addict Biol* 2010 ,15(3) :358 – 361.
- [42] Aguilar – Valles A ,Vaissiere T ,Griggs EM ,et al. Methamphetamine – associated memory is regulated by a writer and an eraser of permissive histone methylation [J]. *Biol Psychiatry* 2014 ,76(1) :57 – 65.
- [43] Krasnova IN ,Chiflikyan M ,Justinova Z ,et al. CREB phosphorylation regulates striatal transcriptional responses in the self – administration model of methamphetamine addiction in the rat [J]. *Neurobiol Dis* 2013 ,58:132 – 143.
- [44] Kim J ,Shin S ,Subramaniam M ,et al. Histone demethylase JARID1B/KDM5B is a corepressor of TIEG1/KLF10 [J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2010 ,401(3) :412 – 416.

- [45] Kinney SR , Pradhan S. Regulation of expression and activity of DNA (cytosine – 5) methyltransferases in mammalian cells [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2011 ,101: 311 – 333.
- [46] Baets J , Duan X , Wu Y , et al. Defects of mutant DNMT1 are linked to a spectrum of neurological disorders [J]. *Brain* 2015 , 138(Pt 4) : 845 – 861.
- [47] Numachi Y , Shen H , Yoshida S , et al. Methamphetamine alters expression of DNA methyltransferase 1 mRNA in rat brain [J]. *Neurosci Lett* 2007 414(3) : 213 – 217.
- [48] Mychasiuk R , Muhammad A , Illytsky S , et al. Persistent gene expression changes in NAc , mPFC , and OFC associated with previous nicotine or amphetamine exposure [J]. *Behav Brain Res* 2013 256: 655 – 661.
- [49] Xu X , Ji H , Liu G , et al. A significant association between BDNF promoter methylation and the risk of drug addiction [J]. *Gene* 2016 584(1) : 54 – 59.
- [50] Veerasakul S , Watiktinkorn P , Thanoi S , et al. Increased DNA methylation in the parvalbumin gene promoter is associated with methamphetamine dependence [J]. *Pharmacogenomics* ,2017. 18(14) : 1317 – 1322.
- [51] Ramocki MB , Zoghbi HY. Failure of neuronal homeostasis results in common neuropsychiatric phenotypes [J]. *Nature* 2008 , 455(7215) : 912 – 918.
- [52] Deng JV , Rodriguiz RM , Hutchinson AN , et al. MeCP2 in the nucleus accumbens contributes to neural and behavioral responses to psychostimulants [J]. *Nat Neurosci* 2010 13(9) : 1128 – 1136.
- [53] Mcfadden LM , Vieira – Brock PL , Hanson GR , et al. Methamphetamine self – administration attenuates hippocampal serotonergic deficits: role of brain – derived neurotrophic factor [J]. *Int J Neuropsychopharmacol* 2014 17(8) : 1315 – 1320.
- [54] Kim DJ , Roh S , Kim Y , et al. High concentrations of plasma brain – derived neurotrophic factor in methamphetamine users [J]. *Neurosci Lett* 2005 388(2) : 112 – 115.
- [55] Deng JV , Wan Y , Wang X , et al. MeCP2 phosphorylation limits psychostimulant – induced behavioral and neuronal plasticity [J]. *J Neurosci* 2014 ,34(13) : 4519 – 4527.
- [56] Cheng MC , Hsu SH , Chen CH. Chronic methamphetamine treatment reduces the expression of synaptic plasticity genes and changes their DNA methylation status in the mouse brain [J]. *Brain Res* ,2015. 1629: 126 – 134.
- [57] Jiang W , Li J , Zhang Z , et al. Epigenetic upregulation of alpha – synuclein in the rats exposed to methamphetamine [J]. *Eur J Pharmacol* 2014 745: 243 – 248.
- [58] Itzhak Y , Ergui I , Young JL. Long – term parental methamphetamine exposure of mice influences behavior and hippocampal DNA methylation of the offspring [J]. *Mol Psychiatry* 2015 20(2) : 232 – 239.
- [59] Fire A , Xu S , Montgomery MK , et al. Potent and specific genetic interference by double – stranded RNA in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nature* ,1998 391(6669) : 806 – 811.
- [60] Saba R , Storchel PH , Aksoy – Aksel A , et al. Dopamine – regulated microRNA MiR – 181a controls GluA2 surface expression in hippocampal neurons [J]. *Mol Cell Biol* 2012 32(3) : 619 – 632.
- [61] Lippi G , Steinert JR , Marczylo EL , et al. Targeting of the Arpc3 actin nucleation factor by miR – 29a/b regulates dendritic spine morphology [J]. *J Cell Biol* 2011 194(6) : 889 – 904.
- [62] Yan Z , Kai Z , Haifeng J , et al. Decreased Expression of Plasma MicroRNA in Patients with Methamphetamine (MA) Use Disorder [J]. *J of Neuroimmune Pharma* ,2016 11(3) : 542 – 548
- [63] Cadet JL , Mccoy MT , Jayanthi S. Epigenetics and addiction [J]. *Clin Pharmacol Ther* 2016 99(5) : 502 – 511.

收稿日期: 2018 – 06 – 04

修回日期: 2018 – 07 – 24