

网络出版时间:2026-02-09 10:50:48 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20260408.1041.026

PTSD小鼠前额叶区m6A甲基化相关蛋白的研究

陆家瑛,杨罗东,陆可可,邢文龙,李斌,李区珑,张桂青

(石河子大学第一附属医院临床心理科,石河子 832000)

摘要 目的 研究创伤后应激障碍(PTSD)小鼠前额叶神经元、甲基转移酶样3(METTL3)、脂肪量和肥胖相关基因(FTO)、Alkb同源物5(Alkbh5)的蛋白表达情况。方法 使用单次延长应激与电击足底刺激(SPS&S)的方法建立PTSD小鼠模型,通过旷场实验、Y迷宫实验、强迫游泳实验检测PTSD小鼠绝望、焦虑及学习记忆;通过HE染色、尼氏染色检测神经元的损伤;然后采用Western blot实验、免疫荧光染色检测METTL3、FTO、Alkbh5以及神经元核蛋白(NEUN)的表达。结果 与对照组相比,SPS&S造模后PTSD小鼠表现出了绝望、焦虑及学习记忆障碍;HE及尼氏染色结果显示PTSD小鼠前额叶神经元出现了损伤;Western blot和免疫荧光结果显示PTSD小鼠前额叶m6A相关蛋白METTL3、FTO表达降低,Alkbh5蛋白表达增高,此外,NEUN蛋白也显示出了下降趋势。结论 PTSD的发病机制可能与前额叶区神经元损伤、m6A甲基化蛋白的改变有关。

关键词 创伤后应激障碍;前额叶;SPS&S造模;m6A相关蛋白;神经元

中图分类号 R 395.4

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2026)03-0495-06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2026.03.015

创伤后应激障碍(post-traumatic stress disorder, PTSD)是一种复杂的精神疾病,在个体经历严重生命威胁的事件后发生,主要症状包括创伤记忆的闪回、高度警觉、对创伤事件的回避以及负性情绪的产生^[1],其患者经常会对相对较小的刺激表现出过度的防御反应,表现出被激怒的行为和对被经历的侵入性创伤事件的反复痛苦记忆^[2]。中国一项大规模横断面流行病学研究^[3]显示,暴露于任何类型创伤事件后PTSD的患病率为17.2%,尽管目前PTSD的患病率较高,但PTSD的病理生理学机制尚不明确。前额叶皮质是整合和调节整体大脑活动的认知中枢,多项临床研究^[4-5]显示,PTSD患者前额叶皮质表现出功能及结构的异常。而近年来,表观遗传学的发展为PTSD提供了一种新的研究方法,在表观遗传学中,N6-甲基腺苷(N6-methyladenosine, m6A)是RNA研究中最多的表观遗传修饰。研究表明,重度抑郁症、精神分裂症、注意力缺陷多动障碍等精神疾病中m6A相关蛋白均发生了改变,但在PTSD疾病中尚未见m6A相关报道,因此,本研究旨在探讨m6A相关蛋白在PTSD中的改变情况。

2025-12-21 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:32260208)

作者简介:陆家瑛,女,硕士研究生;

张桂青,女,教授,主任医师,博士生导师,通信作者,E-

mail: firstli@126.com

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选择20只雄性清洁级C57BL/6j小鼠(4~6周),体质量约为(18±2)g,购自斯贝福(北京)生物科技股份有限公司,实验动物许可证号[SCXK(京)2024-0001]。动物饲养于石河子大学实验动物中心(清洁级),饲养环境温度(23±2)°C、相对湿度(55±5)%,光暗循环12h交替,所有小鼠可自由获取食物和水,每笼4只喂养。在进行实验前1周让小鼠适应环境。本研究通过石河子大学伦理委员会的批准(批准号:A2024-361),动物的处理符合美国国立卫生研究院《实验动物的护理和使用指南》。

1.1.2 主要仪器与试剂 甲基转移酶样3(methyltransferase-like 3, METTL3)抗体(货号:80323-1-RR),脂肪量和肥胖相关基因(the fat mass and obesity associated gene, FTO)抗体(货号:27226-1-AP)、Alkb同源物5(alkb homolog5, Alkbh5)抗体(货号:82083-1-RR)、神经元核蛋白(neuronal nuclei, NEUN)抗体(货号:26975-1-AP)均购自武汉三鹰公司,小鼠抗GAPDH mAb抗体(货号:TA-08)购自北京中杉金桥公司。甘氨酸(货号:1275GR500, 500g)购自美国BIO FROXX公司,牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)(货号:36101ES60)购自上海翌圣生物公司,抗荧光衰减封片剂(货号:

S2100)、DAPI(货号:C0065)购自北京索莱宝公司。抗体稀释液(货号:WB100D)购自苏州新赛美公司,TRITonX-100(货号:GC204003)、EDTA 抗原修复液(货号:G1203)、HE 染色试剂盒(货号:G1076)、尼氏染液(货号:G1036)均购自武汉赛维尔公司,动物行为轨迹记录系统(Tracking masterV 4.0)购自北京众实迪创科技有限公司,荧光显微镜购自日本 Nikon 公司(型号:Eclipse E200)。

1.2 方法

1.2.1 实验分组及 PTSD 模型的建立 选择 20 只健康的雄性 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组和 PTSD 组。按照先前的描述方法^[6]用单次延长应激与电击足底刺激(single prolonged stress and electric foot shock, SPS&S)造模,即先将 C57BL/6J 小鼠置于束缚器束缚 2 h;之后立即放入装满水的塑料容器内强迫其游泳 20 min,水温(24±1)℃;然后擦干水让小鼠在笼子中休息 15 min;后将小鼠置于有七氟烷的塑料箱子中直至其失去意识,30 min 恢复期后,小鼠连续遭受两次不可避免的足部电击,电击强度为 0.8 mA,间隔为 10 s,每次电击持续 10 s,小鼠在电击室中再停留 30 s后;最后将小鼠放回干净笼子中饲养,7 d 内不被打扰。

1.2.2 小鼠行为学测定 两组小鼠在 SPS&S 后第 8 天开始进行旷场实验(open field test, OFT)、Y 迷宫(Y Maze)实验和强迫游泳(forced swimming test, FST)实验来测定小鼠的焦虑、绝望及学习记忆障碍。旷场实验中记录小鼠 5 min 内在中心区域花费的时间及在中心区域停留的距离;Y 迷宫实验中记录小鼠 10 min 内交替百分比;强迫游泳实验中记录小鼠 3~6 min 的不动时间,每次测试结束后均擦拭迷宫及换水防止对后续小鼠的行为学产生影响。

1.2.3 Western blot 实验 在行为学结束后,用戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔注射麻醉小鼠,待小鼠完全进入稳定麻醉状态(通过夹趾反射消失确认),随后取出脑组织分离前额叶,立即将组织放入液氮速冻,后转移至-80℃冰箱保存。取出前额叶组织按照前额叶:RIPA:PMSF(10:100:1)的比例加入对应量的 RIPA 和 PMSF 进行研磨,然后放于预冷的 4℃高速离心机中,12 000 r/min 离心 15 min,吸取蛋白上清液。采用 BCA 法测定蛋白浓度后进行配平。经 SDS-PAGE 电泳、转膜、封闭于 5% 的脱脂牛奶(TBST 配)室温下摇床 2.5 h。一抗兔抗 4℃孵育过夜,二抗孵育 1.5 h。加入 ECL 溶液,进行显影。以

GAPDH 作为内参,用 ImageJ 计算各蛋白的相对表达量。

1.2.4 免疫荧光 行为学实验结束后,麻醉小鼠,完整地剥离小鼠的整个大脑,放入 4% 多聚甲醛中固定,石蜡包埋,切片常温保存。小鼠前额叶组织切片脱蜡后,用 EDTA(pH=9.0)进行抗原修复,用 3% 的过氧化氢室温封闭 10 min,然后室温下用 0.1%TRITonX-100、10%BSA 和 22.5 mg/mL 甘氨酸渗透及封闭 70 min。随后用一抗(METTL3、FTO、ALKBH5、NEUN)在 4℃孵育过夜。然后复温 30 min,与二抗(对应种属)37℃孵育 2 h。使用 DAPI 染色 5 min,滴加抗荧光淬灭剂,指甲油封片。置于荧光显微镜下采集图片。

1.2.5 HE 染色 将石蜡包埋的组织切片置于二甲苯中脱蜡,经过梯度乙醇浸泡,将切片浸入 HE 染液中染色,蒸馏水快速漂洗,切片依次进行脱水、渗透、密封,显微镜下观察、拍照。

1.2.6 尼氏染色 切片脱蜡、梯度乙醇脱水、尼氏染液染色 5 min 后用水清洗,加入 0.1% 的无水乙酸分化反应,自来水终止分解,脱水、渗透、密封,显微镜下观察、拍照。

1.3 统计学处理 采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行数据分析。数据经正态性检验后,所有数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,使用独立样本 *t* 检验进行组间比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PTSD 小鼠表现出焦虑、绝望及学习记忆障碍 在 OFT 中,PTSD 小鼠与对照组小鼠在旷场中行走的总路程无差异($t=1.989, P>0.05$,图 1A、1B),与对照组相比,PTSD 组小鼠在中心区域行走的路程和花费的时间减少($t=3.129, 3.472, P<0.01$,图 1C、1D)。在 Y Maze 中,与对照组相比,PTSD 组小鼠交替百分比减少($t=4.734, P<0.001$,图 1E)。在 FST 中,与对照组相比,PTSD 组小鼠的静止时间增加($t=6.093, P<0.0001$,图 1F)。上述行为学的结果表明 PTSD 小鼠出现了焦虑、绝望行为及学习记忆障碍。

2.2 PTSD 小鼠前额叶神经元损伤 HE 结果显示,对照组小鼠前额叶神经元胞体大小正常,形态规则,轮廓清楚,排列整齐(图 2A),PTSD 组小鼠前额叶神经元胞体周围存在少量空泡化,部分神经元轮廓不清(图 2B)。尼氏染色结果显示,对照组小鼠前额叶尼氏小体分布较均匀,形态清晰,大小相对

一致,未见异常堆积现象(图2C),PTSD组小鼠前额叶尼氏小体在个别神经元中分布不均匀,部分神经元中尼氏小体的颗粒有所减弱,边缘较模糊(图2D)。上述结果表明PTSD小鼠前额叶神经元出现了损伤。

2.3 PTSD小鼠前额叶METTL3、FTO、ALKBH5、NEUN蛋白的表达发生了改变 Western blot结果显示,与对照组相比,PTSD组小鼠前额叶METTL3蛋白表达下降($t=7.096, P<0.01$,图3A、

3B)、FTO蛋白表达下降($t=2.960, P<0.05$,图3A、3C)、ALKBH5蛋白表达升高($t=4.323, P<0.05$,图3A、3D)、NEUN蛋白表达下降($t=3.527, P<0.05$,图3A、3E)。

免疫荧光结果显示,与对照组相比,PTSD组小鼠前额叶METTL3蛋白荧光表达下降($t=3.510, P<0.05$,图4A、4E)、FTO蛋白荧光表达下降($t=2.857, P<0.05$,图4B、4F)、ALKBH5蛋白荧光表达升高($t=3.294, P<0.05$,图4C、4G)、NEUN蛋白荧光表达下

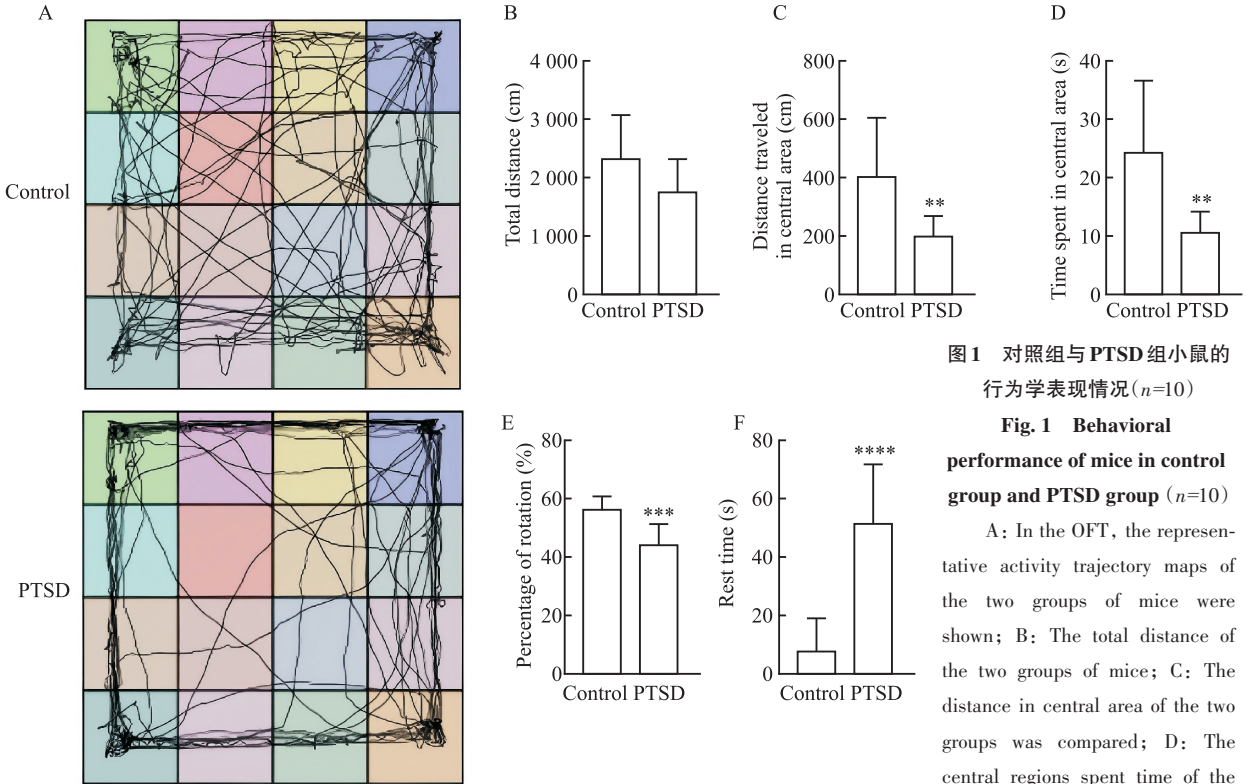


图1 对照组与PTSD组小鼠的行为学表现情况(n=10)

Fig. 1 Behavioral performance of mice in control group and PTSD group (n=10)

A: In the OFT, the representative activity trajectory maps of the two groups of mice were shown; B: The total distance of the two groups of mice; C: The distance in central area of the two groups was compared; D: The central regions spent time of the

two groups was compared; E: Y maze rotation percentage of the two groups was compared; F: In the FST, immobile time of the two groups was compared; ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$ vs Control group.

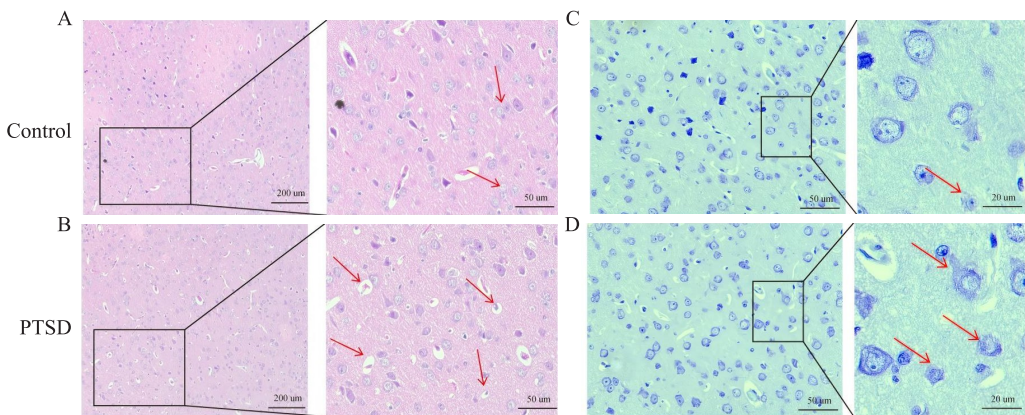


图2 对照组与PTSD组小鼠前额叶组织的HE染色和尼氏染色

Fig. 2 HE staining and Nissl staining of prefrontal cortex tissue of mice in control group and PTSD group

A: HE staining image of the Control group; B: HE staining image of the PTSD group; C: Nissl staining image of the Control group; D: Nissl staining image of the PTSD group.

降($t=2.879, P<0.05$,图4D、4H)。

3 讨论

PTSD是一种严重的精神疾病,在暴露于严重创伤后的数月或数年内发生,研究^[7]表明个体在受到创伤后患 PTSD 的风险是多因素的,其中包括基因和环境两方面,并且这类风险中至少有 30%~40%是可遗传的。越来越多的研究开始关注表观遗传调控在精神心理疾病中的作用,特别是关于 RNA 的表观遗传修饰,其中最常见的是 m6A 修饰,这是高等真核生物中最丰富的内部 mRNA 修饰,在调节细胞过程中发挥着多种作用^[8]。

本研究通过SPS&S的造模方法建立了PTSD小鼠模型,通过行为学的方法测试显示,PTSD小鼠表现出焦虑、绝望及学习记忆障碍。然后通过HE和尼氏染色显示,PTSD小鼠前额叶神经元发生了改变,表现为神经元排列结构紊乱及尼氏小体的减少;通过Western blot和免疫荧光实验显示,PTSD小鼠前额叶神经元蛋白表达量降低。此外,该实验选择了m6A相关蛋白中几个重要的甲基化酶进行了研究,通过Western blot和免疫荧光实验表明,m6A甲基转移酶METTL3表达降低,去甲基化酶FTO表

达降低,去甲基化酶ALKBH5表达升高。这可能为PTSD的发病机制提供了新的思路。

SPS&S是PTSD小鼠中经常用到的模型,可以模拟PTSD的行为学症状及发病的分子生物学机制^[9]。本研究选择SPS&S的方法建立PTSD小鼠模型,然后通过OFT、Y Maze、FST的行为学实验方法测试显示,与对照组相比,PTSD组小鼠表现出焦虑、绝望及学习记忆障碍。这与之前的研究^[9]结果一致,证明本研究建立的PTSD小鼠模型是成功的。

前额叶是PTSD发病机制研究中主要涉及的脑区,既往啮齿动物研究^[10]表明PTSD模型中前额叶突触超微结构出现了改变,且在情绪相关研究^[11]中显示前额叶参与了皮质控制投射的恐惧记忆,此外,临床影像学研究中也证实了PTSD患者前额叶结构与功能发生了变化。神经元是中枢神经系统中重要组成部分,NEUN是有丝分裂后神经元的专属标志物,研究^[12]表明NEUN表达的变化与神经元变性有关。在本研究中使用HE染色和尼氏染色方法显示,PTSD小鼠前额叶区域神经元发生了损伤,这也验证了临床研究中PTSD患者前额叶脑区结构与功能改变的结果。

m6A也称为N6-甲基腺昔,是一种丰富的RNA

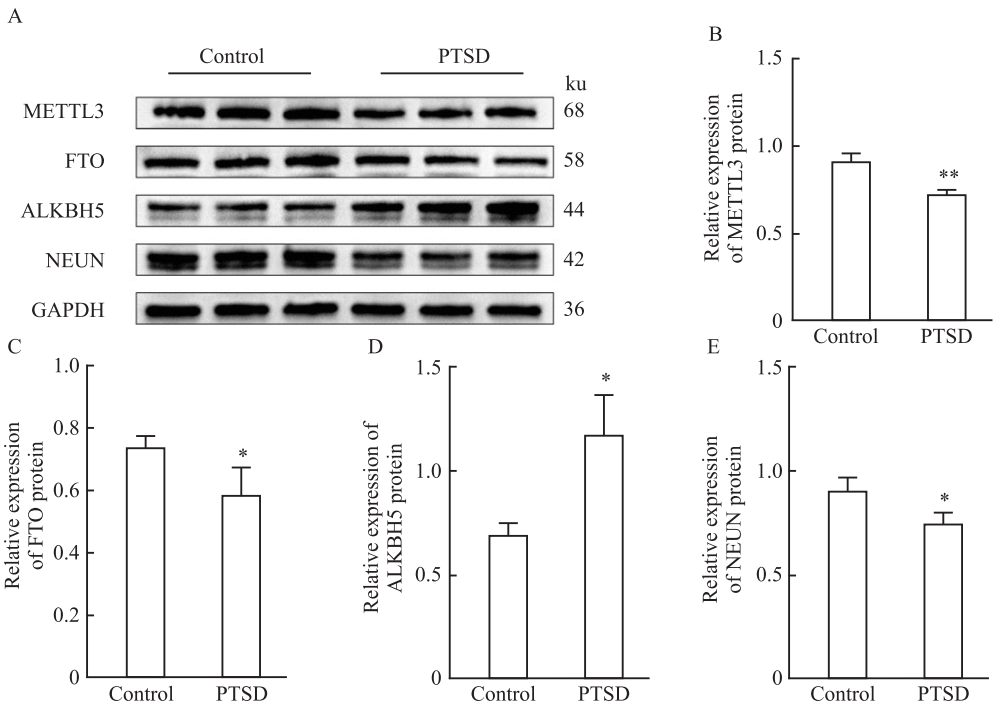


图3 Western blot检测对照组与PTSD组小鼠前额叶区METTL3、FTO、ALKBH5、NEUN的蛋白表达情况

Fig. 3 Western blot detection of protein expression levels of METTL3, FTO, ALKBH5, and NEUN in the prefrontal cortex of mice in control group and PTSD group

A: Western blot bands showing protein expression in the prefrontal cortex of mice; B-E: METTL3, FTO, ALKBH5, NEUN levels in the prefrontal cortex of mice; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs Control group.

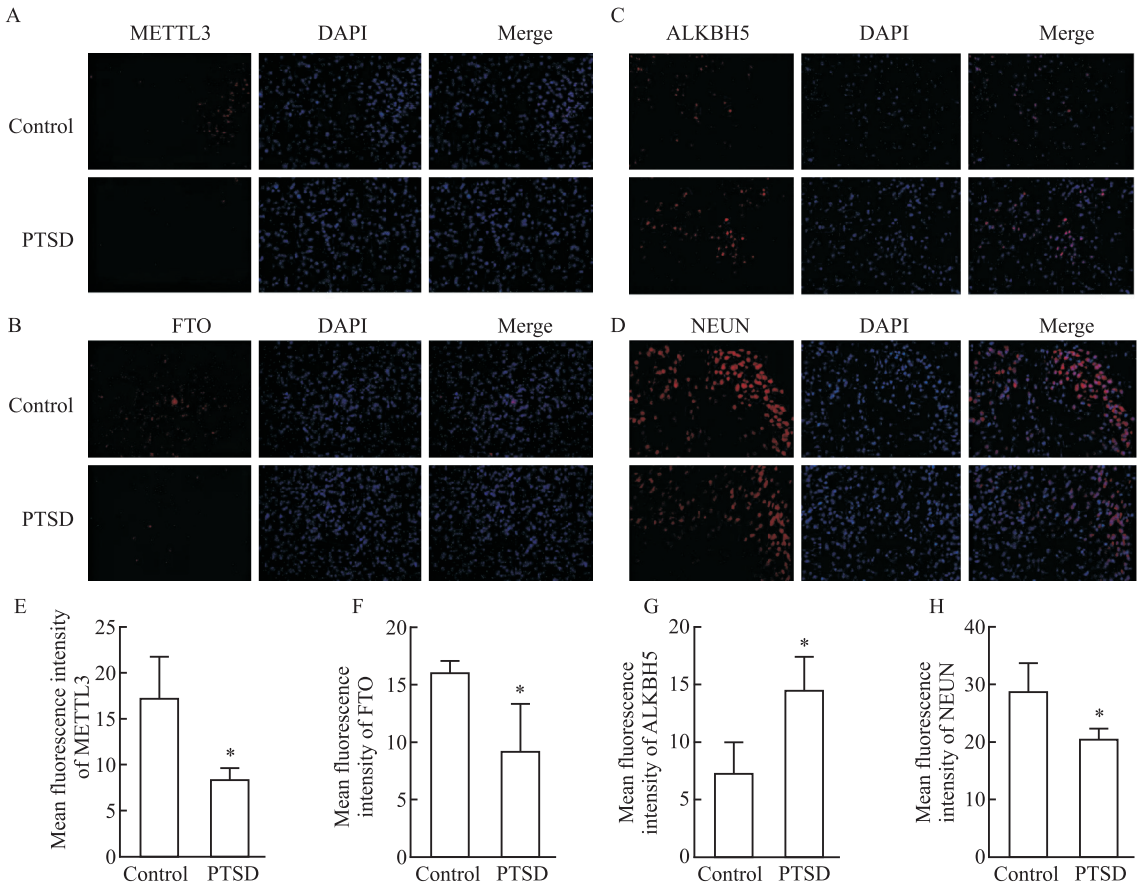


图4 免疫荧光检测对照组与PTSD组小鼠前额叶区METTL3、FTO、ALKBH5、NEUN的表达情况 ×200

Fig. 4 Immunofluorescence detection of METTL3, FTO, ALKBH5, and NEUN expression in the prefrontal cortex of mice in control and PTSD group ×200

A-D: METTL3, FTO, ALKBH5, NEUN levels in the prefrontal cortex of mice; E-H: Statistical graph of METTL3, FTO, ALKBH5, NEUN expression in the prefrontal cortex region; * $P < 0.05$ vs Control group.

修饰, m6A 在中枢神经系统中的含量高于人体其他的任何组织。在中枢神经系统中, m6A 的 RNA 修饰已被证实能够调节关键细胞的周期, 例如大脑发育、学习和记忆以及轴突再生等^[13], 其修饰包括甲基转移酶(写入酶)、去甲基酶(擦除酶)和识别因子调控。在这些酶中, 甲基转移酶包括 METTL3、METTL14、肾母细胞瘤 1 相关蛋白等; 去甲基酶包含 FTO 以及 ALKBH5 等。

在 PTSD 的发病机制中, 研究者提出 PTSD 可能是由病理性记忆导致的持续性损害的疾病, 前期研究^[14]也表明 PTSD 患者出现了记忆损伤, 而在动物模型中发现 PTSD 大鼠学习记忆障碍及神经元改变的证据^[15]。此外, 有研究^[16]表明甲基转移酶 METTL3 可以促进神经元早期反应基因的翻译, 其丰度与学习效能呈正相关, 过表达的 METTL3 显著增强了长期记忆的巩固, 而去甲基化酶 FTO、ALKBH5 则参与了小鼠的学习记忆以及突触可塑性的功能和区域神经元的改变^[17-18]。在其他精神心理疾病中, 大量

研究表明 ALKBH5、METTL3 和 FTO 发生了改变, 如在一项重度抑郁症的研究中显示, 患者外周血中甲基转移酶和去甲基化酶 METTL3、FTO、ALKBH5 改变的证据, 具体表现为这些蛋白在重度抑郁症患者外周血中表达下降^[19], 而在精神分裂症患者的研究^[20]中也显示了去甲基化酶 FTO 的下降。另一项研究^[21]还表明, 在急性应激后, 人类和小鼠的外周血中 m6A 的甲基化水平会暂时下降, 而在重度抑郁症患者外周血和抑郁症模型小鼠中, 显示甲基转移酶 METTL3 和去甲基化酶 FTO 下降、去甲基化酶 ALKBH5 的增高。本研究结果与之一致, 可能是 m6A 相关蛋白与记忆相关, 而 PTSD 和抑郁症患者均有情绪记忆改变的原因。本研究表明 PTSD 小鼠出现了学习记忆障碍, 并且前额叶 METTL3、FTO 和 ALKBH5 蛋白发生了改变, 与上述结果基本一致。

参考文献

[1] Chen L, Zhang Y, Wang Z, et al. Activation of GPER1 by G1

- prevents PTSD-like behaviors in mice: illustrating the mechanisms from BDNF/TrkB to mitochondria and synaptic connection[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2024, 30(7): e14855. doi: 10.1111/ens.14855.
- [2] Fenster R J, Lebois L A M, Ressler K J, et al. Brain circuit dysfunction in post-traumatic stress disorder: from mouse to man [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2018, 19(9): 535-51. doi:10.1038/s41583-018-0039-7.
- [3] Li W, Cheng P, Liu Z, et al. Post-traumatic stress disorder and traumatic events in China: a nationally representative cross-sectional epidemiological study [J]. *Psychiatry Res*, 2023, 326: 115282. doi:10.1016/j.psychres.2023.115282.
- [4] Heyn S A, Bailowitz S, Russell J D, et al. Sex-based variations of prefrontal structure and longitudinal symptoms in pediatric posttraumatic stress disorder [J]. *Depress Anxiety*, 2022, 39(12): 902-12. doi:10.1002/da.23296.
- [5] Clausen A N, Francisco A J, Thelen J, et al. PTSD and cognitive symptoms relate to inhibition-related prefrontal activation and functional connectivity [J]. *Depress Anxiety*, 2017, 34(5): 427-36. doi:10.1002/da.22613.
- [6] Teng Y, Niu J, Liu Y, et al. Ketamine alleviates fear memory and spatial cognition deficits in a PTSD rat model *via* the BDNF signaling pathway of the hippocampus and amygdala [J]. *Behav Brain Res*, 2024, 459: 114792. doi: 10.1016/j.bbr.2023.114792.
- [7] Ressler K J, Berretta S, Bolshakov V Y, et al. Post-traumatic stress disorder: clinical and translational neuroscience from cells to circuits [J]. *Nat Rev Neurol*, 2022, 18(5): 273-88. doi: 10.1038/s41582-022-00635-8.
- [8] Xiao Y L, Liu S, Ge R, et al. Transcriptome-wide profiling and quantification of N⁶-methyladenosine by enzyme-assisted adenosine deamination [J]. *Nat Biotechnol*, 2023, 41(7): 993-1003. doi:10.1038/s41587-022-01587-6.
- [9] Cai M, Park H R, Yang E J. Corrigendum to “Hominis Placenta modulates PTSD-like behaviors in SPSS-induced PTSD mice: regulating energy metabolism and neuronal activity” [Biomed. Pharmacother. 178 (2024) 117243 [J]]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 180: 117443. doi:10.1016/j.biopha.2024.117443.
- [10] Ni L, Xu Y, Dong S, et al. The potential role of the HCN1 ion channel and BDNF-mTOR signaling pathways and synaptic transmission in the alleviation of PTSD [J]. *Transl Psychiatry*, 2020, 10(1): 101. doi:10.1038/s41398-020-0782-1.
- [11] Gunduz-Cinar O, Castillo L I, Xia M, et al. A cortico-amygdala neural substrate for endocannabinoid modulation of fear extinction [J]. *Neuron*, 2023, 111(19): 3053-67. e10. doi:10.1016/j.neuron.2023.06.023.
- [12] Santamaría G, Rengifo A C, Torres-Fernández O. NeuN distribution in brain structures of normal and Zika-infected suckling mice [J]. *J Mol Histol*, 2023, 54(3): 245-53. doi: 10.1007/s10735-023-10128-7.
- [13] Dabrowski K R, Daws S E. Morphine-driven m6A epitranscriptomic neuroadaptations in primary cortical cultures [J]. *Mol Neurobiol*, 2024, 61(12): 10684-704. doi:10.1007/s12035-024-04219-z.
- [14] 孟瑶, 胡敏, 徐婧姍, 等. 车祸创伤暴露者 PTSD 症状与记忆功能变化的相关性研究 [J]. *东南大学学报 (医学版)*, 2020, 39(5): 603-7. doi: 10.3969/j.issn.1671-6264.2020.05.009.
- [14] Meng Y, Hu M, Xu J S, et al. Study on the correlation between PTSD symptoms and changes in memory function in people exposed to car accident trauma [J]. *J Southeast Univ Med Sci Ed*, 2020, 39(5): 603-7. doi:10.3969/j.issn.1671-6264.2020.05.009.
- [15] 杨罗东, 石岩, 张子维, 等. 创伤后应激障碍大鼠海马区炎症激活及髓鞘改变 [J]. *安徽医科大学学报*, 2024, 59(12): 2135-41. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.12.010.
- [15] Yang L D, Shi Y, Zhang Z W, et al. Inflammatory activation and myelin alterations in the hippocampus of post-traumatic stress disorder rats [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2024, 59(12): 2135-41. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.12.010.
- [16] Zhang Z, Wang M, Xie D, et al. METTL3-mediated N⁶-methyladenosine mRNA modification enhances long-term memory consolidation [J]. *Cell Res*, 2018, 28(11): 1050-61. doi: 10.1038/s41422-018-0092-9.
- [17] Wen Y, Fu Z, Li J, et al. Targeting m⁶A mRNA demethylase FTO alleviates manganese-induced cognitive memory deficits in mice [J]. *J Hazard Mater*, 2024, 476: 134969. doi:10.1016/j.jhazmat.2024.134969.
- [18] Meng X, Wang Y, Zhao W, et al. Identification of differential m6A RNA methylomes and ALKBH5 as a potential prevention target in the developmental neurotoxicity induced by multiple sevoflurane exposures [J]. *FASEB J*, 2024, 38(14): e23793. doi:10.1096/fj.202400664R.
- [19] Liu S, Xiu J, Zhu C, et al. Fat mass and obesity-associated protein regulates RNA methylation associated with depression-like behavior in mice [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 6937. doi: 10.1038/s41467-021-27044-7.
- [20] Chang R, Huang Z, Zhao S, et al. Emerging roles of FTO in neuropsychiatric disorders [J]. *Biomed Res Int*, 2022, 2022: 2677312. doi:10.1155/2022/2677312.
- [21] Guo F, Fan J, Liu J M, et al. Astrocytic ALKBH5 in stress response contributes to depressive-like behaviors in mice [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 4347. doi:10.1038/s41467-024-48730-2.

The study of m6A methylation-related proteins in the prefrontal cortex of PTSD mice

Lu Jiaying, Yang Luodong, Lu Keke, Xin Wenlong, Li Bin, Li Qulong, Zhang Guiqing

(Department of Clinical Psychology, First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832000)

Abstract Objective To investigate the expression of prefrontal cortical neurons, methyltransferase-like 3 (METTL3), fat mass and obesity-associated gene (FTO), and AlkB homolog 5 (ALKBH5) proteins in a mouse

网络出版时间:2026-02-09 09:52:40 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20260408.1042.027

G3BP2对肝星状细胞活化、增殖与迁移能力的影响

董琪琪^{1,2},孙文杰^{1,2},李明慧^{1,2},杨晶晶²,周仁鹏^{1,2},胡伟^{1,2},鲁超^{1,3}

(¹安徽医科大学药学科学学院,合肥 230032;²安徽医科大学第二附属医院药物临床试验研究中心,合肥 230601;³安徽理工大学第一附属医院药物临床试验研究中心,淮南 232007)

摘要 目的 探究 Ras-GAP SH3 结构域结合蛋白家族 2(G3BP2)在调控肝星状细胞(HSCs)活化、增殖及迁移中的作用。方法 采用 5 μg/L 转化生长因子-β1(TGF-β1)处理小鼠 HSCs(JS-1 细胞系)24 h 建立 HSCs 活化增殖模型,通过 siRNA 干扰技术构建 G3BP2 敲低体系,实验设置对照(Control)组、TGF-β1 处理组、TGF-β1+si-NC 组及 TGF-β1+G3BP2-siRNA 4 组。通过 Western blot 和 RT-qPCR 检测纤维化关键指标 I 型胶原蛋白(Collagen I)、α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA)及 G3BP2 的表达;应用 CCK-8 增殖检测试剂盒和 EdU 荧光标记技术评估细胞增殖活性;采用划痕愈合实验和 Transwell 迁移实验分析细胞迁移能力;借助免疫荧光显微技术来定量应激颗粒形成水平,研究活化 HSCs 中 G3BP2 对应激颗粒形成的影响。结果 TGF-β1 刺激上调 JS-1 细胞中 G3BP2 表达(RT-qPCR: $P < 0.0001$; Western blot: $P < 0.0001$),而在 G3BP2 基因沉默组中表达量呈降低趋势(RT-qPCR: $P < 0.01$; Western blot: $P < 0.0001$)。与对照组相比,TGF-β1 组 α-SMA 和 Collagen I 的蛋白表达水平均升高(RT-qPCR: 均 $P < 0.01$; Western blot: $P < 0.01$, $P < 0.05$),同时伴随应激颗粒数量增加和细胞增殖迁移能力增强(均 $P < 0.001$)。实验显示,G3BP2 敲除有效逆转上述表型,与阴性对照组相比,G3BP2 基因沉默组纤维化指标表达降低(均 $P < 0.01$),应激颗粒形成减少($P < 0.01$),且细胞增殖迁移能力下降(均 $P < 0.05$)。结论 G3BP2 通过促进应激颗粒的生成,增强 HSCs 的活化增殖与迁移能力,进而加速肝纤维化的病理进程。提示应激颗粒可能是参与调控 HSCs 活化、增殖和迁移的重要调节因子。

关键词 G3BP2;HSCs;应激颗粒;增殖;迁移;肝纤维化

中图分类号 R 966

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2026)03-0501-08

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2026.03.016

2025-11-20 接收

基金项目:安徽省自然科学基金项目(编号:2408085MH213);安徽省卫生健康科研项目(编号:2024Aa40016);安徽省高校自然科学基金研究重点项目(编号:2024AH050803)

作者简介:董琪琪,男,硕士研究生;

鲁超,男,研究员,博士生导师,通信作者,E-mail:chaolu@aust.edu.cn

肝纤维化是由不同程度损伤和纤维沉积引起的一类肝病,目前仍是未解决的医学难题^[1-2]。其核心病理特征为肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)的异常增殖、迁移及胶原蛋白过度累积^[3-6]。在真核细胞中,外界刺激可诱导胞质形成无膜细胞器——应激颗粒。研究^[7]表明,线粒体来源双链

model of post-traumatic stress disorder (PTSD). **Methods** A PTSD mouse model was established using a single prolonged stress and foot shock stimulation (SPS&S) method. The despair, anxiety, and learning and memory functions of PTSD mice were assessed through the open field test, Y-maze test, and forced swimming test. Neuronal damage was detected via HE and Nissl staining. The expression levels of METTL3, FTO, ALKBH5, and neuronal nuclear protein (NEUN) were assessed by Western blot and immunofluorescence staining. **Results** Compared to control group, PTSD mice subjected to SPS&S exhibited signs of despair, anxiety, and impaired learning and memory. HE and Nissl staining results showed neuronal damage in the prefrontal cortex of PTSD mice. Western blot and immunofluorescence staining results showed that the expression of the m6A-related proteins METTL3 and FTO decreased, while the expression of ALKBH5 increased in the prefrontal cortex. Additionally, NEUN protein levels showed a declining trend. **Conclusion** The pathogenesis of PTSD may be associated with neuronal damage in the prefrontal cortex and alterations in m6A methylation proteins.

Key words post-traumatic stress disorder; prefrontal cortex; SPS&S model; m6A-related proteins; neurons

Fund program National Natural Science Foundation of China (No. 32260208)

Corresponding author Zhang Guiqing, E-mail: firstli@126.com