

DOI: 10.13376/j.cbls/2024094
文章编号: 1004-0374(2024)07-0917-12

脑内特定基因DNA甲基化在焦虑症中的生物学机制

张文欣^{1,2}, 闫文静^{1,2}, 王月^{1,2}, 刘怀玉^{1,2}, 李米亚^{1,2}, 何治^{1,2,3*}

(1三峡大学国家中医药管理局中药药理科研三级实验室, 宜昌 443002;

2三峡大学健康医学院, 宜昌 443002; 3嘉兴大学医学院, 嘉兴 314000)

摘要: 焦虑症是一种常见的精神障碍性疾病。DNA 甲基化是焦虑症发展中关键的表观遗传学机制, 其能够在不改变 DNA 序列的前提下改变遗传表型, 并通过 DNA 甲基转移酶的作用在基因组 CpG 二核苷酸的胞嘧啶 5 号碳位共价键结合一个甲基基团, 抑制基因转录、影响染色质结构和调节组蛋白修饰, 从而影响基因表达。焦虑症动物模型的相关大脑区域中 DNA 甲基化水平发生改变, 影响基因表达和神经递质调节等生物学过程, 但 DNA 甲基化在焦虑中的作用机制尚不完全清楚。本文主要阐述脑内特定基因, 如糖皮质激素受体 (GR) 基因、脑源性神经营养因子 (BDNF) 基因以及 5-羟色胺 (5-HT) 相关基因的甲基化与焦虑症之间的关系, 并总结研究进展和提出相应见解, 旨在为焦虑症的预防和治疗提供理论依据。

关键词: DNA 甲基化; 表观遗传学; 焦虑症

中图分类号: Q75 ; R749.7+2 文献标志码: A

Biological mechanisms of DNA methylation of brain specific genes in anxiety disorders

ZHANG Wen-Xin^{1,2}, YAN Wen-Jing^{1,2}, WANG Yue^{1,2}, LIU Huai-Yu^{1,2}, LI Mi-Ya^{1,2}, HE Zhi^{1,2,3*}

(1 Third-grade Pharmacological Laboratory on Traditional Chinese Medicine, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China Three Gorges University, Yichang 443002, China; 2 Health Medical College, China Three Gorges University, Yichang 443002, China; 3 Jiaxing University School of Medicine, Jiaxing 314000, China)

Abstract: Anxiety disorder is a common mental disorder. DNA methylation is a key epigenetic mechanism in the development of anxiety disorders, which can alter genetic expression without altering the DNA sequence and binds a methyl group to the cytosine 5 carbon of CpG dinucleotide through the action of DNA methyltransferase, thereby inhibiting gene transcription, affecting chromatin structure, and regulating histone modification in ways to affect gene expression. Animal models of anxiety disorders involve mechanisms by which altered levels of DNA methylation in relevant brain regions affect gene expression and regulate neurotransmitters. The mechanism of action of DNA methylation in anxiety is not fully understood. This paper focuses on the relationship between DNA methylation of brain specific genes, such as glucocorticoid receptor (GR), brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and 5-hydroxytryptamine (5-HT) related gene and anxiety disorders, and summarizes the research and puts forward corresponding opinions, aiming at providing theoretical basis for the prevention and treatment of anxiety disorders.

Key words: DNA methylation; epigenetics; anxiety disorder

收稿日期: 2024-03-12; 修回日期: 2024-05-09

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82073824)

*通信作者: E-mail: z15672728215@163.com

焦虑症是全球患病率较高的精神疾病之一。据报道,截至2020年全球共有19%的人患有焦虑症^[1]。广泛性焦虑障碍(general anxiety disorder, GAD)、惊恐障碍(panic disorder, PD)、强迫障碍(compulsive disorder, CD)和特定恐惧症(specific phobia, SP)等都是焦虑症的常见类型。焦虑症患者往往伴随着更高的心血管疾病和早逝风险,还可能并发抑郁症等其他精神障碍^[2]。该病由多种基因和环境因素相互作用所致^[3]。神经递质和基因之间密切相关,神经递质的合成、释放和再摄取等过程都受到编码合成和调控神经递质的酶和蛋白质的基因的调控,因此基因突变或表达异常可能会导致神经递质的异常,进而引发神经系统疾病^[4-5]。5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、多巴胺(dopamine, DA)、去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)、γ-氨基丁酸(gamma-aminobutyric Acid, GABA)等神经递质都在焦虑症的发生过程中起关键作用,当人类大脑中血清素含量较低或GABA这种抑制性神经递质功能异常时会引发焦虑症状或加重焦虑^[6]。焦虑症也与大脑神经回路的异常密切相关,焦虑症患者的脑区如杏仁核(amygdala)、前额叶皮层(prefrontal cortex, PFC)、海马(hippocampus)等表现出结构及功能的异常^[7]。遗传学研究表明某些基因组结构变异与焦虑症的发生有关,如5-羟色胺转运体(serotonin transporter, 5-HTT)、脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、促肾上腺皮质激素释放激素受体1型(corticotropin-releasing hormone receptor 1, CRHR1)等^[3]。

环境因素可以通过影响DNA甲基化、RNA甲基化和组蛋白修饰等方式来调节焦虑症患者内在基因的表达,进而影响神经系统的功能和焦虑症的发生发展,这种影响通常被称为“表观遗传学”^[8]。甲基化模式在胚胎发育初期就已经形成,环境对于甲基化的影响在人类一生中明显存在^[9]。表观遗传相关基因在基因调控网络中极其关键,若人体表观遗传学控制的基因表达模式被破坏,可能会导致神经系统疾病、自身免疫性疾病、癌症以及各种其他疾病的发生^[10]。DNA甲基化是表观遗传学中最重要的机制之一,其发生在CpG岛,CpG岛大部分位于基因的启动子区域,是胞嘧啶和鸟嘌呤含量较高的DNA片段^[11]。焦虑症患者的DNA甲基化模式与健康人群存在差异,焦虑症患者基因组的DNA甲基化水平可能发生改变,这些改变可能涉及与焦虑症相关的基因,因此更需要了解DNA甲

基化与焦虑症之间的关系^[12]。

1 焦虑症的发病机制

下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)轴在焦虑症的病理生理中发挥着重要作用,促肾上腺皮质激素释放因子(corticotropin-releasing factor, CRF)及CRHR1在HPA轴和应激反应中扮演关键角色^[13]。CRHR1结合应激信号后引起下丘脑分泌CRF,触发促肾上腺皮质激素(adrenocorticotropic hormone, ACTH)的释放,进而介导肾上腺分泌皮质醇,CRHR1通过向蓝斑等区域的皮质激素神经元传递信息,影响NE的释放和应激反应,进而影响焦虑情绪的处理和应对能力^[14]。CRHR1基因敲除可减少小鼠焦虑样行为,这表明CRHR1基因在调节焦虑情绪中发挥重要作用^[15]。另一方面,焦虑症患者在发病时,交感神经系统被激活,导致肾上腺髓质分泌肾上腺素,进而引起心率和血压升高^[16];并且交感神经系统中多个神经元产生的电位增加,导致神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)释放增加^[17]。焦虑症患者大脑中NE、3-甲氧基-4-羟基苯二醇(3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol, HMPG)、3,4-二羟基苯二醇(3,4-dihydroxyphenylglycol, DHPG)和5-HT代谢产物5-羟基吲哚乙酸(5-hydroxyindole acetic acid, 5-HIAA)显著增加,并且大脑中5-HT的周转量增加约7倍,这表明焦虑症可能是由于大脑中5-HT能的激活引起的^[18]。

BDNF通过激活酪氨酸激酶受体B(tyrosine receptor kinase B, TrkB)来帮助发育过程中的神经元存活,并促进成人大脑的连通性和可塑性^[19]。TrkB缺失可导致成人颗粒细胞(granule cells, GC)中树突棘生长减少,损害新生神经元突触的可塑性^[20]。BDNF/TrkB通路可以调节5-HT和其他神经递质,这一途径与抑郁症和焦虑症的病理生理和治疗有关^[21]。在银屑病导致焦虑症的小鼠海马及PFC中, BDNF和TrkB基因表达显著下降,给予氟西汀治疗之后显著提高了BDNF和TrkB基因的表达,而且此作用可被TrkB拮抗剂所逆转^[22]。骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)部分通过BDNF/TrkB信号通路激活肺支配迷走神经的感觉神经元,这些感觉神经元会投射到孤束核(solitary nucleus),并诱导该核中5-HT的释放,吸入TrkB激动剂的小鼠的焦虑样行为得到改善,这表明BDNF/TrkB信号通路参与了小鼠抑郁和焦虑样行为的发生^[23]。此外, BDNF是调节GABA能

神经可塑性的关键信号分子, GABA-A型受体通过ERK/BDNF信号通路调节GABA能突触可塑性^[24]。在缺氧预处理(hypoxic preconditioning, HP)的条件下, BDNF过表达激活了海马中GABA能神经元,并通过改变α-氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸受体(α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid receptor, AMPAR)和N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR)亚基的表达降低Ca²⁺振幅^[25]。在老年小鼠中敲除BDNF mRNA可导致GABA能神经可塑性的功能障碍和更明显的焦虑表型^[26]。

焦虑症病因复杂,可能涉及多个基因以及环境、神经生物学、心理社会等多方面因素的相互作用^[27]。焦虑症患者神经化学机制的潜在变化目前尚不完全清楚,单一基因很难完全解释焦虑症的发病机制。

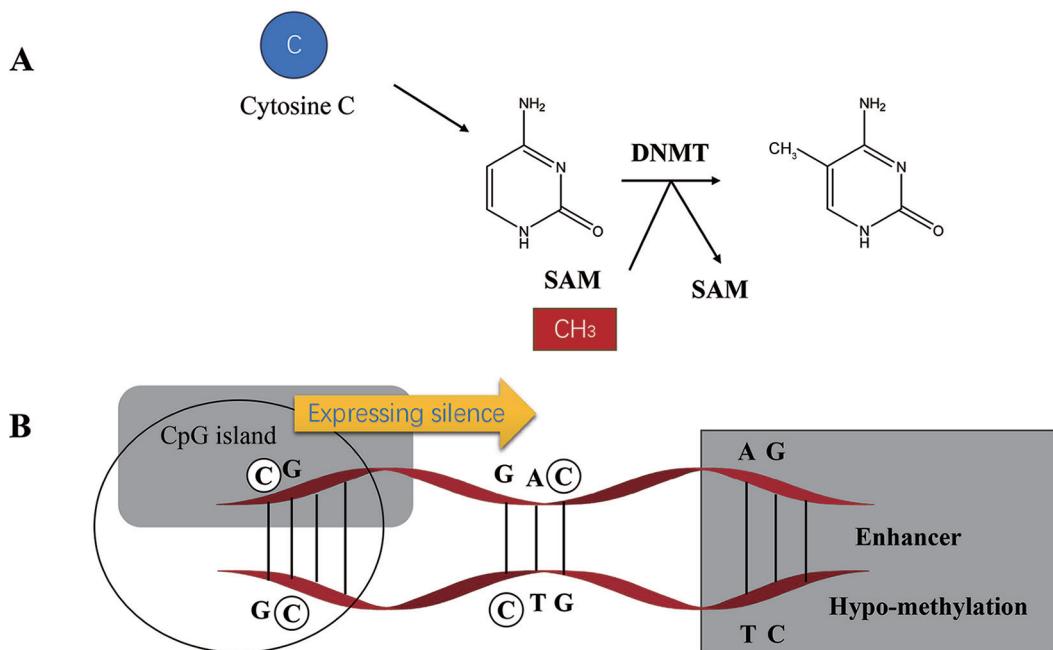
2 DNA甲基化

2.1 DNA甲基化机制

DNA甲基化是一种化学修饰,是研究最彻底的表观遗传机制之一,它可以在不改变DNA序列的情况下使遗传表型发生改变;它通过DNA甲基化转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)的作用在基因组CpG二核苷酸的胞嘧啶5号碳位共价键结合一个甲基基团(-CH₃),胞嘧啶由此被修饰为5甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC)^[28](图1)。DNMT

在人类中有5种类型:DNMT1、DNMT2、DNMT3A、DNMT3B和DNMT3L,其中DNMT1、DNMT3A、DNMT3B是核心成员。DNMT的结构包括三个主要部分:N端调控结构域、C端催化结构域和中心接头区域^[29]。DNMT家族是一类在表观遗传调控中具有基本功能的保守的DNA修饰酶^[30]。DNMT的功能紊乱、活性变化、表达水平异常,会引起多种神经发育异常,导致神经精神疾病、神经退行性疾病和脑癌等多种疾病^[31]。DNMT1负责维持已有的CpG岛的DNA甲基化模式,它由1620个氨基酸残基和10个与其催化功能有关的保守基序组成,在真核生物中高度保守,并在分裂细胞中持续表达^[32-33]。DNMT2通过在tRNA的C38位点上添加甲基基团,实现对tRNA的甲基化修饰,这不仅可增强tRNA的稳定性,还可促进rRNA功能正常发挥^[34]。DNMT3A和DNMT3B是在胚胎发育中建立DNA甲基化的主要酶,两者具有相似的结构^[35-36]。DNMT3A、DNMT3B负责DNA从头甲基化并建立动态甲基化模式,它们与未甲基化的DNA链结合,将甲基转移到CpG或非CpG位点的胞嘧啶核苷酸上,两者都在未修饰的胞嘧啶残基的甲基化中发挥着重要功能^[37]。DNMT3L不具有任何酶活性,但可增强DNMT3A和DNMT3B的催化活性^[29]。

DNA甲基化修饰有多种方式,其在正常条件下一般不发生甲基化。在高水平甲基化的哺乳动物



(A) DNA甲基化的一个整体过程; (B) 通过DNA甲基转移酶将甲基选择性地添加到DNA分子上

图1 DNA甲基化机制图

基因组中, CpG 岛出现频率较高的原因常与启动子区及基因表达启动有关^[38]。但在某些情况下, CpG 岛发生的甲基化也可能会导致基因沉默^[39]。DNA 甲基化在基因组中起着重要的调控作用, 影响基因表达和细胞分化^[40]。DNA 甲基化水平升高常与基因表达的下调有关, 例如在慢性神经性疼痛小鼠模型中, 小鼠 PFC 中与线粒体功能障碍相关的核受体亚家族 4A 组成员 1 (nuclear receptor subfamily 4 group A member 1, *NR4A1*) 和胆碱激酶 β (choline kinase beta, *CHKB*) 基因的甲基化水平降低, 针灸治疗 6 个月改变了小鼠 PFC 中 DNA 甲基化模式, 且 Ras 鸟嘌呤核苷酸释放蛋白 1 (RAS guanyl releasing protein 1, *RASGRPI*)、Ras 关联域家族成员 1 (Ras association domain family member 1, *RASSF1*)、*NR4A1* 和 *CHKB* 相关基因表达增加, 缓解了小鼠的慢性疼痛^[41]。人体处于应激状态下时大脑中 DNA 甲基化水平升高, 导致抑郁症患者的海马和 PFC 中 BDNF 与 TRKB 受体水平降低, 使用 DNMT 抑制剂可增强 PFC 和海马中的 BDNF 和 TRKB 信号转导, 并恢复应激诱导的神经可塑性受损, 起到快速和持续的抗抑郁作用^[42]。这表明慢性抗抑郁药 (DNMT 抑制剂) 可逆转应激诱导的 DNA 甲基化基因表达水平变化。

在精神分裂症 (schizophrenia, SCZ) 患者的外周血单核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMCs) 中, Y- 盒结合蛋白 -1 (Y-box binding protein 1, YBX1) 与 SH3 和多重锚蛋白重复结构域 3 (SH3 and multiple ankyrin repeat domains 3, *SHANK3*) 启动子高甲基化区域结合, 在诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs) 分化为皮层抑制性神经元时, *SHANK3* 的表达也受到 DNA 甲基化的调控, 将 YBX1 敲低在神经元中证实了 YBX1 对 *SHANK3* 表达的直接和正向调节作用。这些结果表明 DNA 甲基化在 SCZ 的病理机制中起着重要的作用, 并且 *SHANK3* 的高甲基化可能成为 SCZ 的潜在外周生物标志物^[43]。也有报道称 DNA 甲基化水平与基因表达呈正相关, 这表明表观遗传调控机制更加多样化, 例如前列腺癌患者中 DNA 甲基化水平升高与基因表达上调之间存在很强的关联。这些结果挑战了 DNA 甲基化总是与抑制基因表达相关的经典观点, 强调了在评估 DNA 甲基化的下游调控作用时考虑相应表达数据的重要性^[44]。此外, DNA 甲基化受到多种因素调控, 例如环境因素、生活方式和遗传因素等均可以影响 DNA 甲基化的模式和水平^[45]。

因此, 进一步研究 DNA 甲基化机制对于理解疾病的发病机制以及开发相关疾病的治疗方法具有重要意义。

2.2 脑组织中DNA甲基化对突触/神经元的影响

脑内 DNA 甲基化修饰是维持脑功能的关键步骤, 如神经干细胞 (neural stem cell, NSC) 增殖与分化、突触可塑性、神经修复和学习记忆等^[46]。突触长时程增强 (long-term synaptic plasticity, LTP) 是学习记忆和突触可塑性的基础, 研究发现将小鼠海马和皮层中的 DNMT 敲除后, LTP 被阻滞, 突触形成受到抑制, 并且海马组织中 DNMT3A 过表达能够改善老龄小鼠空间记忆功能障碍^[47]。DNMT3A 可促进 NSCs 定向分化为神经元, DNMT3A 基因缺失的小鼠 NSC 定向神经元分化的数目显著下降, 但向神经胶质细胞分化的数目增加^[48]。在动物模型中, 分别抑制 DNMT1/3A 可降低全基因组的甲基化程度, 使海马区相同的突触 LTP 消失, 长时程增强, 并使小鼠的学习记忆能力受损^[49]。在细胞实验中, 缺乏 DNMT1 和 DNMT3A 会改变原代海马神经元的树突形态并破坏突触生成^[50]。

MECP2 基因编码了一个甲基化的 DNA 结合蛋白, 它在调控 DNA 甲基化和基因表达中起着重要作用^[51]。*MECP2* 基因突变可导致 Rett 综合征, 表现为大脑萎缩、皮质锥体细胞数量减少、突触形成障碍^[52]。*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^[53]。*MECP2* 在神经元中高表达, 在胶质细胞中低表达。在神经干细胞中 *MeCP2* 的表达阻碍其向星形胶质细胞分化并促进其向神经元分化^[54]。

DNA 甲基化修饰与 AD 的发生和发展密切相关, 异常修饰导致基因转录异常、蛋白酶功能障碍、突触紊乱和记忆障碍^[55]。理论上, 由表观遗传修饰引起的疾病可以用药物逆转, 如叶酸增加 DNA 甲基化抑制 Aβ 沉积, 褪黑激素逆转 EPACs/miR-124/Egr1 信号转导提高神经元棘密度, SGK1 抑制剂调节蛋白磷酸化, 这为 AD 治疗提供了新途径^[56]。强迫症患者大脑中与突触可塑性和免疫系统相关的基因的 DNA 甲基化变化可能是遗传和环境因素影响强迫症发生的一种重要机制^[57]。Chen 等^[58] 在健康对照组中的背外侧 PFC 中发现了具有性别差异的 DNA 甲基化基因, 这些基因在 SCZ 相关风险基因和突触相关通路中富集。综上所述, 在脑组织中 DNA 甲基化可以调控突触形成和神经元功能, 从而影响神经系统的发育和功能。

2.3 应激状态可诱导DNA甲基化

应激诱导的表观遗传改变主要发生在哺乳动物的大脑组织中, 包括组蛋白乙酰化和DNA甲基化过程, 哺乳动物在应激状态下体内GC水平升高, 并伴随信号级联反应的激活, 这些级联反应可引起表观遗传酶的激活或抑制, 进而引起表观遗传机制和转录基因的改变^[59]。在应激条件下, 海马区域中DNMT3A的表达增加, DNMT3A酶与受影响的即刻早期基因(immediate-early gene, IEG)的CpG位点结合增加。通过大鼠强迫游泳实验发现, 这种急性应激可导致FBJ小鼠骨肉瘤病毒癌基因同源物(*C-FOS*)和早期生长反应因子1(early growth responsive gene-1, *EGR-1*)基因启动子内特定的CpG位点的DNA甲基化减少, 同时影响了齿状回(dentate gyrus, DG)神经元中的非翻译区域; 给予内源性甲基供体S-腺苷蛋氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)显著增加了这些*C-FOS*和*EGR-1*基因位点的DNA甲基化, 并抑制了DG神经元中*C-FOS*和*EGR-1*的诱导作用, 从而维持应激后的行为反应^[60]。创伤后应激障碍患者(post traumatic stress disorder, PTSD)的DNMT1基因的DNA甲基化增加, DNMT3A和DNMT3B基因的DNA甲基化水平升高^[61]。人类主要组织相容性复合体II类DPB1(major histocompatibility complex, class II, DP beta 1, *HLA-DPB1*)和精子发生和中心粒相关1样(spermatogenesis and centriole-associated 1 like, *SPATCIL*)与PTSD相关的两个区域具有差异性甲基化位点, 与对照组相比, 两种差异性甲基化区域(differentially methylated region, DMR)都显示PTSD患者的甲基化增加^[62]。因此, 应激状态可以影响DNA甲基转移酶的活性, 从而导致DNA甲基化水平的变化。

3 相关脑区的DNA甲基化与焦虑

杏仁核, 又名杏仁体, 位于大脑前额叶背内侧部, 是大脑中处理感觉信息和调节情绪的中心。杏仁核和背内侧前额叶皮层(dorsal medial prefrontal cortex, dmPFC)之间的功能耦联与负面情感状态的产生有关^[63]。焦虑症患者的脑区如杏仁核、PFC、海马等表现出结构以及功能的异常^[64]。在动物实验中, Liu等^[65]发现内侧前额叶皮层(medial prefrontal cortex, mPFC)和杏仁核之间有紧密的联系, 并且这种联系可能参与调节动物的焦虑样行为。例如, 在抑郁、焦虑、恐惧等多种精神疾病中, dmPFC向基底外侧杏仁核椎体神经元(basolateral amygdala

projection neurons, BLA PNs)单向投射调控异常是其致病机理之一。基底外侧杏仁核(BLA)是杏仁核的主要组成部分, BLA将外界环境的感官信息进行整合, 从而激发中央杏仁核(central amygdaloid nucleus, CeA), CeA是杏仁核的一个亚区, 它通过投射到脑干、下丘脑和基底前脑区域的效应系统来发挥主要的杏仁核输出功能, BLA通过投射纤维将信息传递给CeA, 而CeA也通过反馈投射纤维将调节信号发送回BLA, 这种相互连接和相互作用使得BLA和CeA能够共同参与情绪调节和应激反应调控^[66]。BLA PNs内兴奋性神经传导的增加与慢性压力所致的焦虑程度呈正相关^[67]。终纹床核(bed nucleus of the stria terminalis, BNST)和杏仁核之间有广泛的连接, 又被称为“延伸的杏仁核”, 由前背侧终纹床核(anterodorsal bed nucleus of the stria terminalis, adBNST)和椭圆形BNST两个亚区组成, 它是大脑编码焦虑、恐惧等负性情绪的重要脑区, 选择性激活adBNST投射到外侧下丘脑(lateral hypothalamus, LH)产生抗焦虑作用^[68]。在动物研究中发现, 光遗传激活BLA向mPFC投射能够增加大鼠焦虑样行为, 而光遗传抑制BLA向mPFC投射则减少大鼠焦虑样行为, mPFC向BLA投射在生理状态下对大鼠的焦虑样行为也具有调节作用^[69]。海马体是压力介质的主要靶标, 位于大脑的内侧颞叶部位, 与认知功能和调节焦虑情绪有关^[70]。焦虑样行为增强时海马体活动增加, 腹侧海马体(ventral hippocampus, vHPC)在小鼠的抗焦虑中扮演着重要的角色^[71]。vHPC向PFC的投射对PFC中肾上腺素能介导的谷氨酸能神经传递的可塑性起着调节作用, 大鼠的vHPC病变引起vHPC向PFC投射受损, 可能导致PFC中恐惧记忆的消退和α1肾上腺素能对谷氨酸能突触可塑性的调节功能受损, 这些投射参与调节病理性恐惧泛化^[20]。另外, 腹侧CA1区神经元群投射到下丘脑外侧区(lateral hypothalamus, LH)可以调节恐惧反应和焦虑以及自主神经系统, 并增加HPA轴活动^[72]。

在早期发育期间, 杏仁核内的DNA甲基化在之后精神疾病的发展中起着重要作用, 暂时抑制发育中杏仁核中的DNMT3B表达可减少成年期大鼠的焦虑样行为, 有明显焦虑样行为的低新奇反应(low responder, LR)大鼠在出生后早期杏仁核中表现出DNA甲基化水平升高^[73]。与给予盐水的成年大鼠相比, 在给予乙醇的成年大鼠的杏仁核中, 神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)和BDNF外显子IV的

DNA 甲基化水平升高，引起杏仁核中 DNA 甲基化机制紊乱，从而导致成年期出现焦虑样行为^[74]。持续给予小鼠疼痛刺激引起的炎症性疼痛会导致动物出现焦虑样行为，增加血液中皮质酮的释放，使小鼠杏仁核中的整体 DNA 甲基化水平降低，但 PFC 和腹侧海马体中 DNA 甲基化水平未发生改变^[75]。Wanner 等^[76]发现发育中的小鼠大麻二酚(cannabidiol)暴露导致焦虑样行为性别特异性的增加，检测全基因组 DNA 甲基化水平发现，F1 代小鼠海马中核受体共抑制因子 2 (nuclear receptor corepressor 2, NCOR2)、锌指同源盒 3 (zinc finger homeobox 3, ZFHX3)、GSE1 卷曲螺旋蛋白 (Gse1 coiled-coil protein, GSE1)、皮层中 PR 结构域蛋白 16 (PR domain-containing 16, PRDM16)、骨骼肌 LIM 蛋白 1 (four and a half LIM domains 1, FHL1) 等基因都呈现低甲基化水平。具有冒险性的高新奇反应 (bred high responder, bHR) 和具有焦虑行为的低新奇反应 (bred low responder, bLR) 的大鼠幼崽的海马体特定区域内 DNMT1 mRNA 表达水平发生改变，与 bLR 大鼠相比，在产后第 7 天时 bHR 大鼠海马 CA3 区和其幼崽 DG 区中 DNMT1 表达水平升高，表明 bHRs 大鼠在产后 7 天时特定海马亚区内甲基化水平升高^[77]。

因此，在大脑中，DNA 甲基化在不同的脑区可能起着不同的作用。上述这些研究有助于深入了解大脑中基因表达的调控机制，以及认知功能障碍和情绪障碍等疾病的发病机制。

4 相关基因的DNA甲基化与焦虑

4.1 GR基因甲基化与焦虑

应激暴露后会导致大量的表观遗传学改变，其中 HPA 轴相关基因甲基化起到关键作用^[78]。HPA 轴是参与慢性应激反应的重要介质，它可以通过诱导细胞微观结构变化而对脑组织的结构和功能产生广泛的影响，HPA 轴关键基因 (*NR3C1*、*FKBP5*) 的甲基化水平与焦虑症、抑郁症患者的海马、额下回、额上回、顶叶、后扣带束皮层等脑区的结构和功能存在关联，DNA 甲基化是一种表观遗传学上的修饰，可能会影响基因的表达和调控，从而导致 *NR3C1* 基因以及 *FKBP5* 的功能发生改变^[79-83]。GR 是一种类固醇激素激活的转录因子，可与各种 GC 反应元件结合，并调节众多代谢、发育、应激反应和炎症反应基因的转录^[84]。在应激状态下，肾上腺皮质分泌 GC，通过适当激活下丘脑和垂体中的 GR 信号，以负反馈调节机制严格控制循环 GC 的水平，

并抑制 CRH、ACTH 的表达，随后抑制 GC 的分泌从而维持重要激素的全身稳态^[85]。HPA 轴的功能障碍部分归因于 GR 和盐皮质激素受体(mineralocorticoid receptor, MR) 之间的不平衡，研究表明 GR 功能在焦虑症中受损^[86]。

暴露与产前创伤的小鼠皮质酮水平升高和焦虑样行为增加，其左背侧海马体中 *CRH1* 表达增加和 *FKBP5* 表达降低。这些基因表达的差异使 *CRH1* 甲基化水平降低和 *FKBP5* 启动子区域中 CpG 位点发生高甲基化^[87]。DNA 甲基化是一种动态的改变，它可以受到环境和生活方式的影响而发生变化，承载着遗传性信息的改变^[88-89]。*NR3C1* 启动子区域高甲基化与动物和人类早期心理社会性应激源暴露有关，母亲孕晚期焦虑情绪增加与 *NR3C1* 在预测的 NGFI-A 结合位点的甲基化增加有关^[90]。围产期母亲高度焦虑会引起新生儿脐带血中 *NR3C1* 基因甲基化增加^[91]。暴露于亲密伴侣暴力的母子中 *NR3C1* 基因甲基化与焦虑症之间存在显著的正相关^[92]。Schmidt 等^[93] 使用杂合子 *NR3C1* 敲除小鼠不仅发现小鼠胎盘中的 DNA 甲基化与成年期额叶皮层 DNA 甲基化和焦虑样表型相关，并且还发现 GR 的近端调节因子 *FKBP5* 的 CG 甲基化水平对成年期焦虑样行为有显著的调节作用。

综上所述，焦虑症可导致体内 *NR3C1* 基因甲基化水平的变化。表观遗传学改变可能是精神病的致病机制，它是基因调控的基础，并且可以被早期生活压力环境刺激所改变，因此表观遗传过程可能是早期生活压力对身心健康产生影响的主要机制^[94]。

4.2 BDNF基因甲基化与焦虑

神经营养因子是诱导神经元存活、发育和功能的蛋白质家族，其成员包括神经生长因子 (nerve growth factor, NGF)、BDNF、神经营养因子 3 (neurotrophin-3, NT-3)、NT-4 等。它们可促进外周和中枢神系统的细胞分化、存活以及维持突触可塑性，与精神分裂症、焦虑症、抑郁症、创伤后应激障碍密切相关^[95]。BDNF 是神经营养因子家族的成员，在中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 神经元的发育和存活中至关重要，是大脑中含量最高的一种神经营养因子。BDNF 在 DA 能、 γ -氨基丁酸能、胆碱能及 5-HT 能神经元的正常发育及生存中起着关键作用，同时也在学习及记忆过程中起着重要作用^[96-97]。BDNF 及其受体广泛存在于神经系统中，对突触可塑性和神经元的生长和发育起着非常重要的调控作用，DNA 甲基化是 BDNF 基因转录的主

要表观遗传调控机制^[98]。表观遗传学研究表明, *BDNF* 基因会受到表观遗传修饰的影响, 环境压力可使 *BDNF* 基因甲基化水平升高, 基因表达降低, 影响神经元的功能和神经递质的释放, 进而引发焦虑症^[99]。

越来越多的研究表明, 在动物模型中, *BDNF* 的高甲基化水平与焦虑相关^[100-101]。通过动物短期跑步训练、行为学、基因表达分析等实验发现, 短期跑步运动会调节海马体内神经元一氧化氮合酶 (neuronal nitric oxide synthase, nNOS) 和 *BDNF* 启动子 IV 甲基化, 激活海马 nNOS/*BDNF*, 从而起到抗焦虑的作用^[102]。处于应激状态下的孕鼠的后代在出生后 21 天和 80 天时杏仁核和海马体中的 *BDNF* 基因表达水平下降, 这些大鼠后代中 *BDNF* 基因表达的差异可能是 DNA 甲基化的结果^[103]。甲基化一般与基因的表达量成反比, 也就是说, 当甲基化增加时, 基因的表达量就会降低; 相反, 甲基化降低则会提高基因的表达量^[104]。另有研究发现, 其他神经生长因子也与酒精依赖患者的戒断后焦虑有关, 例如 *NGF* I 启动子的甲基化与 IL-6 血清水平和停药期间的 STAI-I 评分显著相关, 戒断严重程度和焦虑影响着 *BDNF* 和 *NGF* 的表观遗传调控和细胞因子释放, 意味着神经营养因子甲基化的变化可能通过影响相关的下游信号级联反应来促进酒精依赖的焦虑症状^[105]。

4.3 5-HT系统相关基因甲基化与焦虑

5-HT 是一种神经递质, 它可以影响人体的各种生理活动, 包括消化道、心血管、CNS, 在大脑的发育、记忆力、认知、情感等方面都发挥着非常重要的作用^[106]。5-HT 能神经递质系统的异常与焦虑症的发生有关^[107]。由 *SLC6A4* 基因编码的 5-HTT 是一种主要的单胺转运体, 它调控突触间隙的 5-HT 神经传递, 并调控细胞外 5-HT 浓度、信号强度以及突触后对 5-HT 反应的持续时间, 从而对情绪和应激反应产生影响^[108]。因此, 它是调控突触间隙 5-HT 水平的重要因子, 其功能异常可能会引起 5-HT 能系统紊乱。在 5-HT 系统中, *SLC6A4* 基因的甲基化与幼年时期的生存压力密切相关^[109]。5-HT 转运蛋白 (serotonin transporter, SERT) 是选择性 5-羟色胺再摄取抑制剂 (selective serotonin reuptake inhibitors, SSRIs) 的靶标, 是调节 5-HT 能系统功能的关键蛋白之一, 参与情绪控制^[110]。处于应激状态下的小鼠的 PFC 中 5-HT 释放减少和摄取减少, SERT 蛋白水平降低, 5-HT 摄取的减少与焦虑样行为相关;

在投射到处于应激状态下的小鼠 PFC 的 5-HT 能神经元中, *SLC6A4* 的 CpG 岛中的 DNA 甲基化增加, 小鼠焦虑样行为增加^[111]。5-羟色胺 1A 受体 (5-hydroxytryptamine receptor 1A, 5-HTR1A) 是 5-HT 受体的一个重要亚型, 敲除 5-HTR1A 基因的小鼠的焦虑样行为增加^[112-113]。压力会影响其他物种的 5-HT 系统相关基因甲基化, 早期生活压力或较轻的生活压力都会导致人类或啮齿动物的 *SLC6A4* 或 5-HTR1A 甲基化水平升高^[114-115]。5-羟色胺 2A 受体 (5-HTR2A) 基因及其表达变化是情感障碍的危险因素^[116]。中脑导水管周灰质区 5-HTR2A 受体的活化能抑制惊恐反应, 而杏仁核中 5-HTR2A 受体的激活与广泛性焦虑密切相关, 且分别通过抑制逃避和条件恐惧发挥作用^[117]。此外, 5HT2AR 启动子区甲基化水平与 5HT2AR 的表达显著相关^[118]。因此 5-HTR1A 及 5-HTR2A 启动子甲基化可能与精神病有关, 提示 5-HT 系统基因的表观遗传失调在精神疾病的发病机制中起重要作用。

其他单胺类神经递质, 如 DA 也有一些研究。社会失败应激 (social defeat stress, SDS) 被广泛用于焦虑症等精神病的动物模型。在 SDS 小鼠中 PFC 中多巴胺 D2 受体 (dopamine D2 receptor, Drd2) 甲基化水平显著增加, 而 Drd1 甲基化水平未检测到显著差异, 易感组小鼠与对照组小鼠之间以及不敏感组小鼠与对照组小鼠之间的 Drd1、Drd2 甲基化水平无显著差异, 表明 SDS 在甲基化和蛋白质水平上不会影响多巴胺能系统^[119]。另有研究表明, 早期生活压力降低了成年雌性小鼠伏隔核 (nucleus accumbens, NAc) 中 Drd1 的表达, 且 Drd1a 启动子区域甲基化水平升高, 表明早期生活压力通过表观遗传修饰对中脑边缘多巴胺系统具有长期影响^[120]。因此, DA 与 DNA 甲基化可能在焦虑症的发生发展中起着重要作用, 但具体的机制还需要进一步的研究来阐明。焦虑症相关基因及其功能和表达位置总结于表 1。图 2 为焦虑症脑内相关基因 DNA 甲基化机制图。

5 总结与展望

综上所述, 焦虑症患者脑组织中 DNA 甲基化修饰不仅通过调控突触的形成和神经元功能来影响神经系统的发育, 而且在不同的脑区起着不同的作用和影响特定基因的表达, 如 *BDNF*、*NR3C1*、*FKBP5*、*SLC6A4* 等。尽管这些基因的甲基化在焦虑症研究中具有重要意义, 但目前具体机制研究较

表1 焦虑症相关基因及其功能和表达位置

焦虑症相关基因	功能	表达位置	甲基化
FK-506结合蛋白(<i>FKBP5</i>)基因	调节糖皮质激素受体的敏感性,进而影响下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴的活性,从而参与调节应激相关的心理过程	海马(鼠类)	增加
糖皮质激素受体基因(<i>NR3C1</i>)	(1)作为其他转录因子的调节因子;(2)作为转录因子与糖皮质激素反应基因启动子中的糖皮质激素反应元件结合以激活其转录	脐带血、胎盘(人类)	增加
脑源性神经营养因子(<i>BDNF</i>)基因	作用于CNS和外周神经系统特定的神经元,维持已有神经元的生存,并能促进新生神经元和突触的生长与分化	海马(鼠类)	增加
溶质载体家族6成员4 (<i>SLC6A4</i>)基因	编码一种完整的膜蛋白,可将神经递质血清素从突触空间转运至突触前神经元	PFC(鼠类)	增加

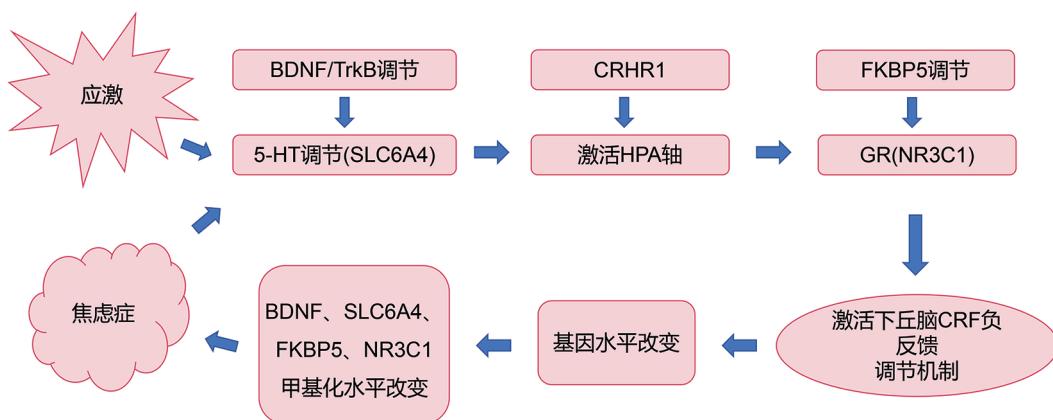


图2 焦虑症脑内相关基因DNA甲基化机制图

为薄弱,未来需要更加全面、深入地探讨这些基因甲基化与焦虑症之间的关系,以揭示其潜在的作用机制。

近年来, m^6A 在焦虑症中的作用也有越来越多的文章报道。RNA 甲基化水平在患有焦虑症的个体中可能发生改变,特定基因的 RNA 甲基化异常可能会影响相关基因的表达,从而影响神经递质的合成和神经元的功能,进而导致焦虑症等精神疾病的发生。有研究表明处于慢性约束应激 (chronic restraint stress, CRS) 状态下具有焦虑样行为的成年小鼠,其 m^6A RNA 稳态在 mPFC 中被破坏,运动治疗增强了小鼠兴奋性突触相关基因上的 m^6A ,激活了 mPFC 神经元及其向 BLA 的投射,使小鼠应激能力得到恢复,因此运动训练发挥了抗小鼠焦虑作用^[121]。因此, RNA 甲基化在焦虑症研究中具有潜在重要性,今后可深入探讨 RNA 甲基化与焦虑症之间的关系,以更全面地了解焦虑症的发病机制。

组蛋白去乙酰化酶抑制剂 (histone deacetylase inhibitor, HDACi) 和 DNA 甲基转移酶抑制剂 (DNA methyltransferase inhibitors, DNMTi) 两类表观遗传药物在临床上的使用主要集中在肿瘤治疗上, DNMTi

具有抑制运动神经元凋亡和提供神经保护的作用,因此表观遗传药物可用来治疗神经和精神疾病^[122]。大部分焦虑症的药理研究都选择使用表观遗传药物 HDACi。HDACi 在治疗焦虑症的临床前和临床药物试验中都显示出良好的结果,但作用模式和具体分子机制尚不完全明确^[123]。目前还没有针对焦虑症的特定表观遗传药物。因此,需要进一步实验来确定表观遗传药物与焦虑症之间的关系,确定其在治疗焦虑症中的潜在作用,从而为焦虑症的预防和治疗提供更有效的策略。

[参 考 文 献]

- [1] Wagen AZ, Coath W, Keshavan A, et al. Life course, genetic, and neuropathological associations with brain age in the 1946 British Birth Cohort: a population-based study. Lancet Healthy Longev, 2022, 3: e607-16
- [2] Kandola A, Stubbs B. Exercise and anxiety. Adv Exp Med Biol, 2020, 1228: 345-52
- [3] Schiele MA, Domschke K. Epigenetics at the crossroads between genes, environment and resilience in anxiety disorders. Genes Brain Behav, 2018, 17: e12423
- [4] Kolk SM, Rakic P. Development of prefrontal cortex. Neuropsychopharmacology, 2022, 47: 41-57
- [5] Teleanu RI, Niculescu AG, Roza E, et al. Neurotransmitters --

- key factors in neurological and neurodegenerative disorders of the central nervous system. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 5954
- [6] Kamel AS, Wahid A, Abdelkader NF, et al. Boosting amygdaloid GABAergic and neurotrophic machinery via dapagliflozin-enhanced LKB1/AMPK signaling in anxious demented rats. *Life Sci*, 2022, 310: 121002
- [7] Olivier J, Olivier B. Translational studies in the complex role of neurotransmitter systems in anxiety and anxiety disorders. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1191: 121-40
- [8] Peedicayil J. Genome-environment interactions and psychiatric disorders. *Biomedicines*, 2023, 11: 1209
- [9] Nicolaides NC, Kanaka-Gantenbein C, Pervanidou P. Developmental neuroendocrinology of early-life stress: impact on child development and behavior. *Curr Neuropharmacol*, 2024, 22: 461-74
- [10] Zhang L, Lu Q, Chang C. Epigenetics in health and disease. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1253: 3-55
- [11] Wang Q, Xiong F, Wu G, et al. Gene body methylation in cancer: molecular mechanisms and clinical applications. *Clin Epigenetics*, 2022, 14: 154
- [12] Penner-Goeke S, Binder EB. Epigenetics and depression. *Dialogues Clin Neurosci*, 2019, 21: 397-405
- [13] Zhu J, Wang C, Wang Y, et al. Electroacupuncture alleviates anxiety and modulates amygdala CRH/CRHR1 signaling in single prolonged stress mice. *Acupunct Med*, 2022, 40: 369-78
- [14] Eghtesad M, Elahdadi SM, Lashkarbolouki T, et al. Lateral hypothalamus corticotropin-releasing hormone receptor-1 inhibition and modulating stress-induced anxiety behavior. *Basic Clin Neurosci*, 2022, 13: 373-84
- [15] Muller MB, Zimmermann S, Sillaber I, et al. Limbic corticotropin-releasing hormone receptor 1 mediates anxiety-related behavior and hormonal adaptation to stress. *Nat Neurosci*, 2003, 6: 1100-7
- [16] Bigalke JA, Durocher JJ, Greenlund IM, et al. Blood pressure and muscle sympathetic nerve activity are associated with trait anxiety in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2023, 324: H494-503
- [17] Rana T, Behl T, Sehgal A, et al. Exploring the role of neuropeptides in depression and anxiety. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2022, 114: 110478
- [18] Esler M, Alvarenga M, Pier C, et al. The neuronal noradrenaline transporter, anxiety and cardiovascular disease. *J Psychopharmacol*, 2006, 20: 60-6
- [19] Mao D, He Z, Xuan W, et al. Effect and mechanism of BDNF/TrkB signaling on vestibular compensation. *Bioengineered*, 2021, 12: 11823-36
- [20] Ghasemi M, Navidhamidi M, Rezaei F, et al. Anxiety and hippocampal neuronal activity: relationship and potential mechanisms. *Cogn Affect Behav Neurosci*, 2022, 22: 431-49
- [21] Xia B, Liu X, Li X, et al. Sesamol ameliorates dextran sulfate sodium-induced depression-like and anxiety-like behaviors in colitis mice: the potential involvement of the gut-brain axis. *Food Funct*, 2022, 13: 2865-83
- [22] Wu J, Sun H, ShengXiang X, et al. Depression- and anxiety-like behaviour is related to BDNF/TrkB signalling in a mouse model of psoriasis. *Clin Exp Dermatol*, 2018, 43: 254-61
- [23] Huang J, Huang W, Yi J, et al. Mesenchymal stromal cells alleviate depressive and anxiety-like behaviors via a lung vagal-to-brain axis in male mice. *Nat Commun*, 2023, 14: 7406
- [24] Brady ML, Pilli J, Lorenz-Guertin JM, et al. Depolarizing, inhibitory GABA type A receptor activity regulates GABAergic synapse plasticity via ERK and BDNF signaling. *Neuropharmacology*, 2018, 128: 324-39
- [25] Turovskaya MV, Gaidin SG, Vedunova MV, et al. BDNF overexpression enhances the preconditioning effect of brief episodes of hypoxia, promoting survival of GABAergic neurons. *Neurosci Bull*, 2020, 36: 733-60
- [26] Zhu G, Sun X, Yang Y, et al. Reduction of BDNF results in GABAergic neuroplasticity dysfunction and contributes to late-life anxiety disorder. *Behav Neurosci*, 2019, 133: 212-24
- [27] Ilango S, Paital B, Jayachandran P, et al. Epigenetic alterations in cancer. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2020, 25: 1058-109
- [28] Li Y. Modern epigenetics methods in biological research. *Methods*, 2021, 187: 104-13
- [29] Chattopadhyaya S, Ghosal S. DNA methylation: a saga of genome maintenance in hematological perspective. *Hum Cell*, 2022, 35: 448-61
- [30] Qureshi MZ, Sabitaliyevich UY, Rabandiyarov M, et al. Role of DNA methyltransferases (DNMTs) in metastasis. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2022, 68: 226-36
- [31] Yildiz CB, Zimmer-Bensch G. Role of DNMTs in the brain. *Adv Exp Med Biol*, 2022, 1389: 363-94
- [32] Loaeza-Loaeza J, Beltran AS, Hernandez-Sotelo D. DNMTs and impact of CpG content, transcription factors, consensus motifs, lncRNAs, and histone marks on DNA methylation. *Genes (Basel)*, 2020, 11: 1336
- [33] Ye F, Kong X, Zhang H, et al. Biochemical studies and molecular dynamic simulations reveal the molecular basis of conformational changes in DNA methyltransferase-1. *ACS Chem Biol*, 2018, 13: 772-81
- [34] Jeltsch A, Ehrenhofer-Murray A, Jurkowski TP, et al. Mechanism and biological role of Dnmt2 in nucleic acid methylation. *RNA Biol*, 2017, 14: 1108-23
- [35] Zeng Y, Chen T. DNA methylation reprogramming during mammalian development. *Genes (Basel)*, 2019, 10: 257
- [36] Guan Y, Liu H, Ma Z, et al. Dnmt3a and Dnmt3b-decommissioned fetal enhancers are linked to kidney disease. *J Am Soc Nephrol*, 2020, 31: 765-82
- [37] Peedicayil J. The potential role of epigenetic drugs in the treatment of anxiety disorders. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2020, 16: 597-606
- [38] Takahashi Y, Morales VM, Yu Y, et al. Transgenerational inheritance of acquired epigenetic signatures at CpG islands in mice. *Cell*, 2023, 186: 715-31
- [39] Nishiyama A, Nakanishi M. Navigating the DNA methylation landscape of cancer. *Trends Genet*, 2021, 37:

- 1012-27
- [40] Huang W, Li H, Yu Q, et al. LncRNA-mediated DNA methylation: an emerging mechanism in cancer and beyond. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41: 100
- [41] Jang JH, Song EM, Do YH, et al. Acupuncture alleviates chronic pain and comorbid conditions in a mouse model of neuropathic pain: the involvement of DNA methylation in the prefrontal cortex. *Pain*, 2021, 162: 514-30
- [42] Sales AJ, Maciel IS, Suavinh A, et al. Modulation of DNA methylation and gene expression in rodent cortical neuroplasticity pathways exerts rapid antidepressant-like effects. *Mol Neurobiol*, 2021, 58: 777-94
- [43] Ni P, Zhou C, Liang S, et al. YBX1-mediated DNA methylation-dependent *SHANK3* expression in PBMCs and developing cortical interneurons in schizophrenia. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, 10: e2300455
- [44] Rauluseviciute I, Drablos F, Rye MB. DNA hypermethylation associated with upregulated gene expression in prostate cancer demonstrates the diversity of epigenetic regulation. *BMC Med Genomics*, 2020, 13: 6
- [45] Liu C, Jiao C, Wang K, et al. DNA methylation and psychiatric disorders. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2018, 157: 175-232
- [46] Younesian S, Yousefi AM, Momeny M, et al. The DNA methylation in neurological diseases. *Cells*, 2022, 11: 3439
- [47] Su SC, Tsai LH. DNA methylation in cognition comes of age. *Nat Neurosci*, 2012, 15: 1061-2
- [48] Wu Z, Huang K, Yu J, et al. Dnmt3a regulates both proliferation and differentiation of mouse neural stem cells. *J Neurosci Res*, 2012, 90: 1883-91
- [49] Feng J, Zhou Y, Campbell SL, et al. Dnmt1 and Dnmt3a maintain DNA methylation and regulate synaptic function in adult forebrain neurons. *Nat Neurosci*, 2010, 13: 423-30
- [50] Sun W, Kong Q, Zhang M, et al. Virus-mediated Dnmt1 and Dnmt3a deletion disrupts excitatory synaptogenesis and synaptic function in primary cultured hippocampal neurons. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 526: 361-7
- [51] Schmidt A, Frei J, Poetsch A, et al. MeCP2 heterochromatin organization is modulated by arginine methylation and serine phosphorylation. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 941493
- [52] Collins BE, Neul JL. Rett syndrome and MECP2 duplication syndrome: disorders of MeCP2 dosage. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2022, 18: 2813-35
- [53] Wang Q, Tang B, Hao S, et al. Forniceal deep brain stimulation in a mouse model of Rett syndrome increases neurogenesis and hippocampal memory beyond the treatment period. *Brain Stimul*, 2023, 16: 1401-11
- [54] Nakashima H, Tsujimura K, Irie K, et al. MeCP2 controls neural stem cell fate specification through miR-199a-mediated inhibition of BMP-Smad signaling. *Cell Rep*, 2021, 35: 109124
- [55] Bahado-Singh RO, Radhakrishna U, Gordevicius J, et al. Artificial intelligence and circulating cell-free DNA methylation profiling: mechanism and detection of Alzheimer's disease. *Cells*, 2022, 11: 1744
- [56] Chen Z, Wu M, Lai Q, et al. Epigenetic regulation of synaptic disorder in Alzheimer's disease. *Front Neurosci*, 2022, 16: 888014
- [57] de Oliveira KC, Camilo C, Gastaldi VD, et al. Brain areas involved with obsessive-compulsive disorder present different DNA methylation modulation. *BMC Genom Data*, 2021, 22: 45
- [58] Chen C, Zhou J, Xia Y, et al. A higher dysregulation burden of brain DNA methylation in female patients implicated in the sex bias of schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 2023, 28: 4842-52
- [59] Sales AJ, Guimaraes FS, Joca S. DNA methylation in stress and depression: from biomarker to therapeutics. *Acta Neuropsychiatr*, 2021, 33: 217-41
- [60] Saunderson EA, Spiers H, Mifsud KR, et al. Stress-induced gene expression and behavior are controlled by DNA methylation and methyl donor availability in the dentate gyrus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113: 4830-5
- [61] Sipahi L, Wildman DE, Aiello AE, et al. Longitudinal epigenetic variation of DNA methyltransferase genes is associated with vulnerability to post-traumatic stress disorder. *Psychol Med*, 2014, 44: 3165-79
- [62] Katrinli S, Zheng Y, Gautam A, et al. PTSD is associated with increased DNA methylation across regions of HLA-DPB1 and SPATC1L. *Brain Behav Immun*, 2021, 91: 429-36
- [63] McMakin DL, Kimbler A, Tustison NJ, et al. Negative overgeneralization is associated with anxiety and mechanisms of pattern completion in peripubertal youth. *Soc Cogn Affect Neurosci*, 2022, 17: 231-40
- [64] Mah L, Szabuniewicz C, Fiocco AJ. Can anxiety damage the brain? *Curr Opin Psychiatry*, 2016, 29: 56-63
- [65] Liu WZ, Zhang WH, Zheng ZH, et al. Identification of a prefrontal cortex-to-amygdala pathway for chronic stress-induced anxiety. *Nat Commun*, 2020, 11: 2221
- [66] Neugebauer V, Mazzitelli M, Cragg B, et al. Amygdala, neuropeptides, and chronic pain-related affective behaviors. *Neuropharmacology*, 2020, 170: 108052
- [67] Zhang JY, Liu TH, He Y, et al. Chronic stress remodels synapses in an amygdala circuit-specific manner. *Biol Psychiatry*, 2019, 85: 189-201
- [68] Yamauchi N, Sato K, Sato K, et al. Chronic pain-induced neuronal plasticity in the bed nucleus of the stria terminalis causes maladaptive anxiety. *Sci Adv*, 2022, 8: eabj5586
- [69] Felix-Ortiz AC, Burgos-Robles A, Bhagat ND, et al. Bidirectional modulation of anxiety-related and social behaviors by amygdala projections to the medial prefrontal cortex. *Neuroscience*, 2016, 321: 197-209
- [70] Shi HJ, Wang S, Wang XP, et al. Hippocampus: molecular, cellular, and circuit features in anxiety. *Neurosci Bull*, 2023, 39: 1009-26
- [71] Alvarez DD, Giacomini D, Yang SM, et al. A disynaptic feedback network activated by experience promotes the integration of new granule cells. *Science*, 2016, 354: 459-65
- [72] Fakhoury M, Salman I, Najjar W, et al. The lateral hypothalamus: an uncharted territory for processing

- peripheral neurogenic inflammation. *Front Neurosci*, 2020, 14: 101
- [73] McCoy CR, Glover ME, Flynn LT, et al. Altered DNA methylation in the developing brains of rats genetically prone to high versus low anxiety. *J Neurosci*, 2019, 39: 3144-58
- [74] Sakharkar AJ, Kyzar EJ, Gavin DP, et al. Altered amygdala DNA methylation mechanisms after adolescent alcohol exposure contribute to adult anxiety and alcohol drinking. *Neuropharmacology*, 2019, 157: 107679
- [75] Spinieli RL, Cazuza RA, Sales AJ, et al. Persistent inflammatory pain is linked with anxiety-like behaviors, increased blood corticosterone, and reduced global DNA methylation in the rat amygdala. *Mol Pain*, 2022, 18: 804322587
- [76] Wanner NM, Colwell M, Drown C, et al. Developmental cannabidiol exposure increases anxiety and modifies genome-wide brain DNA methylation in adult female mice. *Clin Epigenetics*, 2021, 13: 4
- [77] Simmons RK, Howard JL, Simpson DN, et al. DNA methylation in the developing hippocampus and amygdala of anxiety-prone versus risk-taking rats. *Dev Neurosci*, 2012, 34: 58-67
- [78] Szyf M. Perinatal stress and epigenetics. *Handb Clin Neurol*, 2021, 180: 125-48
- [79] Na KS, Chang HS, Won E, et al. Association between glucocorticoid receptor methylation and hippocampal subfields in major depressive disorder. *PLoS One*, 2014, 9: e85425
- [80] Tozzi L, Farrell C, Booij L, et al. Epigenetic changes of FKBP5 as a link connecting genetic and environmental risk factors with structural and functional brain changes in major depression. *Neuropsychopharmacology*, 2018, 43: 1138-45
- [81] Suh JS, Fiori LM, Ali M, et al. Hypothalamus volume and DNA methylation of stress axis genes in major depressive disorder: a CAN-BIND study report. *Psychoneuroendocrinology*, 2021, 132: 105348
- [82] Muehlhan M, Miller R, Strehle J, et al. FKBP5 methylation predicts functional network architecture of the rostral anterior cingulate cortex. *Brain Struct Funct*, 2020, 225: 33-43
- [83] Han KM, Won E, Sim Y, et al. Influence of FKBP5 polymorphism and DNA methylation on structural changes of the brain in major depressive disorder. *Sci Rep*, 2017, 7: 42621
- [84] Frank F, Ortlund EA, Liu X. Structural insights into glucocorticoid receptor function. *Biochem Soc Trans*, 2021, 49: 2333-43
- [85] Lin YL, Wei CW, Lerdall TA, et al. Crabb1 modulates HPA axis homeostasis and anxiety-like behaviors by altering FKBP5 expression. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 12240
- [86] Juruena MF, Eror F, Cleare AJ, et al. The role of early life stress in HPA axis and anxiety. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1191: 141-53
- [87] Plank AC, Frey S, Basedow LA, et al. Prenatally traumatized mice reveal hippocampal methylation and expression changes of the stress-related genes *Crhr1* and *Fkbp5*. *Transl Psychiatry*, 2021, 11: 183
- [88] Focking M, Doyle B, Munawar N, et al. Epigenetic factors in schizophrenia: mechanisms and experimental approaches. *Mol Neuropsychiatry*, 2019, 5: 6-12
- [89] Wroblewski A, Strycharz J, Swiderska E, et al. Molecular insight into the interaction between epigenetics and leptin in metabolic disorders. *Nutrients*, 2019, 11: 1872
- [90] Oberlander TF, Weinberg J, Papsdorf M, et al. Prenatal exposure to maternal depression, neonatal methylation of human glucocorticoid receptor gene (*NR3C1*) and infant cortisol stress responses. *Epigenetics*, 2008, 3: 97-106
- [91] Dercix AE, Ledyard R, Redhunt AM, et al. Maternal anxiety and depression in pregnancy and DNA methylation of the *NR3C1* glucocorticoid receptor gene. *Epigenomics*, 2021, 13: 1701-9
- [92] Wadji DL, Morina N, Martin-Soelch C, et al. Methylation of the glucocorticoid receptor gene (*NR3C1*) in dyads mother-child exposed to intimate partner violence in Cameroon: association with anxiety symptoms. *PLoS One*, 2023, 18: e273602
- [93] Schmidt M, Lax E, Zhou R, et al. Fetal glucocorticoid receptor (*Nr3c1*) deficiency alters the landscape of DNA methylation of murine placenta in a sex-dependent manner and is associated to anxiety-like behavior in adulthood. *Transl Psychiatry*, 2019, 9: 23
- [94] Srivastava A, Dada O, Qian J, et al. Epigenetics of schizophrenia. *Psychiatry Res*, 2021, 305: 114218
- [95] Abdolahi S, Zare-Chahoki A, Noorbakhsh F, et al. A review of molecular interplay between neurotrophins and miRNAs in neuropsychological disorders. *Mol Neurobiol*, 2022, 59: 6260-80
- [96] Colucci-D'Amato L, Speranza L, Volpicelli F. Neurotrophic factor BDNF, physiological functions and therapeutic potential in depression, neurodegeneration and brain cancer. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 7777
- [97] Chen Z, Gu J, Lin S, et al. Saffron essential oil ameliorates CUMS-induced depression-like behavior in mice via the MAPK-CREB1-BDNF signaling pathway. *J Ethnopharmacol*, 2023, 300: 115719
- [98] Kumar A, Misra S, Nair P, et al. Epigenetics mechanisms in ischemic stroke: a promising avenue? *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2021, 30: 105690
- [99] Borges JV, Pires VN, de Freitas BS, et al. Behavior, BDNF and epigenetic mechanisms in response to social isolation and social support in middle aged rats exposed to chronic stress. *Behav Brain Res*, 2023, 441: 114303
- [100] Baker-Andresen D, Flavell CR, Li X, et al. Activation of BDNF signaling prevents the return of fear in female mice. *Learn Mem*, 2013, 20: 237-40
- [101] Sagarkar S, Bhamburkar T, Shelkar G, et al. Minimal traumatic brain injury causes persistent changes in DNA methylation at BDNF gene promoters in rat amygdala: a possible role in anxiety-like behaviors. *Neurobiol Dis*, 2017, 106: 101-9
- [102] Tomiga Y, Sakai K, Ra SG, et al. Short-term running exercise alters DNA methylation patterns in neuronal

- nitric oxide synthase and brain-derived neurotrophic factor genes in the mouse hippocampus and reduces anxiety-like behaviors. *FASEB J*, 2021, 35: e21767
- [103] Boersma GJ, Lee RS, Cordner ZA, et al. Prenatal stress decreases *Bdnf* expression and increases methylation of *Bdnf* exon IV in rats. *Epigenetics*, 2014, 9: 437-47
- [104] Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol*, 2010, 28: 1057-68
- [105] Heberlein A, Schuster R, Kleimann A, et al. Joint effects of the epigenetic alteration of neurotrophins and cytokine signaling: a possible exploratory model of affective symptoms in alcohol-dependent patients? *Alcohol Alcohol*, 2017, 52: 277-81
- [106] Kanova M, Kohout P. Serotonin-its synthesis and roles in the healthy and the critically ill. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 4837
- [107] Pourhamzeh M, Moravej FG, Arabi M, et al. The roles of serotonin in neuropsychiatric disorders. *Cell Mol Neurobiol*, 2022, 42: 1671-92
- [108] Huang C, van Wijnen AJ, Im HJ. Serotonin transporter (5-hydroxytryptamine transporter, SERT, SLC6A4) and sodium-dependent reuptake inhibitors as modulators of pain behaviors and analgesic responses. *J Pain*, 2024, 25: 618-31
- [109] Mariani WI, Mascheroni E, Fontana C, et al. The role of maternal touch in the association between SLC6A4 methylation and stress response in very preterm infants. *Dev Psychobiol*, 2021, 63: e22218
- [110] Singh I, Seth A, Billesbolle CB, et al. Structure-based discovery of conformationally selective inhibitors of the serotonin transporter. *Cell*, 2023, 186: 2160-75
- [111] Araki R, Kita A, Ago Y, et al. Chronic social defeat stress induces anxiety-like behaviors via downregulation of serotonin transporter in the prefrontal serotonergic system in mice. *Neurochem Int*, 2024, 174: 105682
- [112] Parks CL, Robinson PS, Sibille E, et al. Increased anxiety of mice lacking the serotonin1A receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95: 10734-9
- [113] Dulawa SC, Gross C, Stark KL, et al. Knockout mice reveal opposite roles for serotonin 1A and 1B receptors in prepulse inhibition. *Neuropsychopharmacology*, 2000, 22: 650-9
- [114] Palma-Gudiel H, Fananas L. An integrative review of methylation at the serotonin transporter gene and its dialogue with environmental risk factors, psychopathology and 5-HTLPR. *Neurosci Biobehav Rev*, 2017, 72: 190-209
- [115] Le Francois B, Soo J, Millar AM, et al. Chronic mild stress and antidepressant treatment alter 5-HT1A receptor expression by modifying DNA methylation of a conserved Sp4 site. *Neurobiol Dis*, 2015, 82: 332-41
- [116] Cuijpers P, Cristea IA, Karyotaki E, et al. How effective are cognitive behavior therapies for major depression and anxiety disorders? A meta-analytic update of the evidence. *World Psychiatry*, 2016, 15: 245-58
- [117] Zangrossi HJ, Viana MB, Zanoveli J, et al. Serotonergic regulation of inhibitory avoidance and one-way escape in the rat elevated T-maze. *Neurosci Biobehav Rev*, 2001, 25: 637-45
- [118] Polesskaya OO, Aston C, Sokolov BP. Allele C-specific methylation of the 5-HT2A receptor gene: evidence for correlation with its expression and expression of DNA methylase DNMT1. *J Neurosci Res*, 2006, 83: 362-73
- [119] Rami FZ, Nguyen TB, Oh YE, et al. Risperidone induced DNA methylation changes in dopamine receptor and stathmin genes in mice exposed to social defeat stress. *Clin Psychopharmacol Neurosci*, 2022, 20: 373-88
- [120] Sasagawa T, Horii-Hayashi N, Okuda A, et al. Long-term effects of maternal separation coupled with social isolation on reward seeking and changes in dopamine D1 receptor expression in the nucleus accumbens via DNA methylation in mice. *Neurosci Lett*, 2017, 641: 33-9
- [121] Yan L, Wei JA, Yang F, et al. Physical exercise prevented stress-induced anxiety via improving brain RNA methylation. *Adv Sci (Weinh)*, 2022, 9: e2105731
- [122] Gladkova MG, Leidmaa E, Anderzhanova EA. Epidrugs in the therapy of central nervous system disorders: a way to drive on? *Cells*, 2023, 12: 1464
- [123] 李玉娇. 焦虑症的表观遗传学机制及相关治疗药物研究进展. *空军军医大学学报*, 2023, 44: 369-74