

m⁶A甲基化调节非编码RNA在心血管疾病中的作用

李昌金, 郭志福, 黄松群*

(海军军医大学附属长海医院心血管内科, 上海 200433)

摘要: N⁶-甲基腺嘌呤(m⁶A)是一种高度动态的RNA修饰, 非编码RNA(ncRNA)在心血管疾病(CVDs)中起关键作用。m⁶A甲基化修饰ncRNA在肿瘤、代谢、心血管发育及疾病中具有重要作用。本文对ncRNA的m⁶A甲基化在CVDs中的研究进展进行总结, 分析了m⁶A甲基化在心血管稳态、疾病以及危险因素中的作用, 以期推动CVDs分子治疗的创新。

关键词: m⁶A甲基化; 非编码RNA; 心血管疾病

m⁶A methylation regulates non-coding RNAs in cardiovascular diseases

LI Changjin, GUO Zhifu, HUANG Songqun*

(Department of Cardiovascular Medicine, Changhai Hospital Affiliated to Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

Abstract: N⁶-methyladenine (m⁶A) is a highly dynamic RNA modification. Non-coding RNAs (ncRNA) play a key role in cardiovascular diseases (CVDs). Previous studies have confirmed that m⁶A methylation-modified ncRNA plays an important role in tumor, metabolism, cardiovascular development and disease. This paper summarizes the research progress of m⁶A methylation of ncRNA in CVDs, analyzes the role of m⁶A methylation in cardiovascular homeostasis, diseases and risk factors, in order to promote the innovation of CVDs molecular therapy.

Key Words: m⁶A methylation; non-coding RNA; cardiovascular diseases

心血管疾病(cardiovascular diseases, CVDs)是全球最常见的死亡原因, 每年有超过400万人死于CVDs, 占有死亡人数的31.5%^[1]。迄今为止, 研究人员已在遗传与表观遗传层面对CVDs进行了广泛研究, 极大地加深了我们对CVDs的认识。RNA修饰能影响RNA分子的稳定性、翻译和降解的共转录、转录后调控类型。目前, MODOMICS数据库报告了172种RNA修饰, 包括72种RNA甲基化修

饰^[2]。N⁶-甲基腺嘌呤(N⁶-methyladenosine, m⁶A)甲基化是发生在腺嘌呤第6位N原子上的甲基化修饰, 属于RNA表观遗传修饰, 是各种转录后基因调控过程的关键调节因子^[3]。m⁶A甲基化主要存在于信使RNA(messenger RNA, mRNA)中, 在非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)中也同样存在。绝大多数人类基因组被转录为ncRNA, 与人类疾病相关的大部分遗传变异存在于基因组的非编码

收稿日期: 2022-05-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(82000283); 上海市自然科学基金项目面上(20ZR1456700); 上海市卫生健康委员会科研项目面上项目(202140497); 上海市“医苑新星”杰出青年人才计划项目(20224Z0007)

第一作者: E-mail: 16340700005@fudan.edu.cn

*通信作者: E-mail: hsq8593@163.com

区。根据ncRNA核苷酸数量可将其分为微小RNA (microRNA, miRNA)和长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)。它们均在心肌梗死、心肌肥厚、心力衰竭、心律失常等CVDs发生发展的过程中起关键作用。高通量测序技术发现, 在miRNA和lncRNA中存在丰富的m⁶A位点, 提示它们内部存在丰富的m⁶A甲基化修饰。目前对m⁶A甲基化的研究主要聚焦于mRNA, 关于ncRNA的m⁶A甲基化亟需探索。本文对ncRNA的m⁶A甲基化在CVDs中的研究进展进行了总结, 分析了m⁶A甲基化在心血管稳态、疾病以及危险因素中的作用, 以便更好地理解RNA表观遗传学机制, 推动CVDs分子治疗的创新。

1 m⁶A甲基化的分子机制

m⁶A甲基化修饰于1974年在poly(A) RNA片段中首次被鉴定, 但由于缺乏检测RNA中m⁶A位点的方法, 对其研究并未引起实质性关注。随着测序技术的出现, m⁶A甲基化研究得以继续, 该技术可以检测整个转录组中的m⁶A位点。目前研究发现, m⁶A甲基化在多个物种中广泛存在, 此过程受修饰“效应器”的动态调节, 包括“编码器”“擦码器”和“读码器”, 它们分别安装和去除甲基化或识别化学标记^[4]。甲基转移酶样蛋白3 (methyltransferase-like 3, METTL3)、METTL14、肾母细胞瘤1关联蛋白(Wilms' tumor 1-associated protein, WTAP)和KIAA1429组合形成甲基转移酶复合物, 其中METTL3是具有甲基转移酶活性的亚基, 可作为编码器在RNA上安装m⁶A分子。2011年鉴定出m⁶A去甲基化酶脂肪量和肥胖相关蛋白(fat mass and obesity-associated protein, FTO), 此后AlkB同源物5(AlkB homolog 5, ALKBH5)也被证明具有去甲基化酶活性。ALKBH5和FTO在不同的病理生理条件下作为擦码器表现出m⁶A活性擦除。RNA被m⁶A编码器甲基化后, YT521-B同源性(YT521-B homology, YTH)结构域家族的蛋白质YTHDF1、YTHDF2、YTHDF3和YTHDC1, 异质性胞核核糖核蛋白(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, hnRNP)家族蛋白HNRNPA2B1和HNRNPC作为读码器结合识别甲基化RNA并决定它们的命运。研究表明, m⁶A甲基化是一种高度

普遍的修饰, 它会影响RNA的剪接、输出、翻译以及稳定性, 参与调节细胞分化、胚胎发育、应激反应和多种疾病。

2 非编码RNA中的m⁶A修饰

2.1 MiRNA中的m⁶A修饰

MiRNA是一类长度约为22个核苷酸的内源性非编码小RNA, 通常在转录后负向调节基因的表达水平^[5]。MiRNA在进化上高度保守, 在心血管系统中发挥重要作用, 可通过调控心肌细胞(cardiomyocytes, CM)、内皮细胞、血管平滑肌细胞等来影响心脏血管的发育发生, 在包括冠心病(coronary heart disease, CHD)、心律失常等CVDs中发挥作用。

成熟miRNA是由初级转录物pri-miRNA经RNA结合蛋白DGCR8和Ⅲ型核糖核酸酶Drosha识别剪切加工后产生的。METTL3会使pri-miRNA发生甲基化, 标记的pri-miRNA可以被DGCR8识别加工。敲低METTL3会降低DGCR8与pri-miRNA的结合, 引起成熟体miRNA表达量降低, 而未经加工的pri-miRNA含量增加^[6]。该研究证明了m⁶A甲基化是参与miRNA加工的一种新型调控方式, 是一种重要的RNA标记方式, 能够介导激活下游的DGCR8和Drosha, 从而启动pri-miRNA向成熟miRNA的加工过程。此外, 该研究推测, METTL3异常表达可能会引起肿瘤中miRNA的异常高表达。

研究发现, m⁶A与miRNA结合位点之间存在很强的相关性, 含有m⁶A峰的67%的3'非翻译区(3'-untranslated region, 3'UTR)也含有至少一个miRNA结合位点。m⁶A峰和miRNA结合位点反向定位, m⁶A峰通常在终止密码子附近更丰富, 且沿着3'UTR频率降低, 而miRNA靶位点在3'UTR的3'末端更丰富。此外, 尽管腺苷甲基化不会阻止构成AU配对的两个氢键的形成, 但会使这些键不稳定。因此, 靶转录物3'UTR中m⁶A残基的存在会降低双链体的稳定性并影响miRNA-mRNA相互作用。近年来许多研究关注m⁶A修饰对miRNA的加工作用, 其中大部分集中在癌症生物学。MiRNA在心血管系统中的作用已有大量研究, 随着m⁶A修饰在miRNA中重要性的发现, 我们预测它们的相互作

用将成为未来几年的心血管基础热门研究领域。

2.2 lncRNA中的m⁶A修饰

lncRNA是长度超过200个核苷酸的ncRNA。在生理和病理条件下, lncRNA在转录和转录后水平的基因调控中均发挥关键作用^[7]。超过1 000种lncRNA包含RNA修饰, m⁶A甲基化会影响lncRNA的结构、稳定性、转运、切割和降解, 从而通过调节它们的表达水平或它们与蛋白质和其他RNA分子的相互作用来影响其生物学功能, 且与未修饰的转录本相比, m⁶A甲基化的lncRNA更有可能发生选择性剪接^[8], 以此调节lncRNA的不同异构体。m⁶A甲基化发挥抑制lncRNA X染色体失活特异转录因子(X-inactive specific transcript, XIST)功能的作用。XIST是m⁶A位点丰度最高的人类lncRNA, 检测到78个m⁶A残基^[9]。XIST通过与RBM15/RBM15B、WTAP和METTL3形成多蛋白复合物来沉默X染色体, 进而募集沉默复合物。XIST通过靶向特定的miRNA参与多种CVDs, 如心肌梗厚和心肌梗塞(myocardial infarction, MI)^[10,11]。鉴于m⁶A修饰对XIST抑制功能的重要性, 推测m⁶A可能会影响XIST与这些miRNA的相互作用。

此外, m⁶A修饰在lncRNA肺腺癌转移相关转录本1(metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1)中发挥作用。已在MALAT1中确定了4个m⁶A位点(A2515、A2577、A2611和A2720)。这些修饰影响MALAT1的核定位和结构变化, 包括与HNRNPC、HNRNPG和METTL16的相互作用^[12,13]。m⁶A修饰位点A2577位于MALAT1 RNA发夹中。该残基的甲基化导致RNA发夹不稳定, 使其更容易与HNRNPC结合。此外, MALAT1与心肌缺血再灌注损伤的炎症反应有关^[14], 同时近期研究结果证实, m⁶A修饰参与了心脏和大脑的缺血/再灌注损伤^[15,16]。

在心脏纤维化中起关键作用的lncRNA生长阻滞特异性转录因子5(growth arrest-special transcript 5, GAS5)也存在m⁶A修饰。有研究在癌症中发现, m⁶A通过YAP途径介导GAS5降解, 这一信号通路在调节心血管过程中也起着重要作用^[17]。GAS5直接与YAP相互作用促进其磷酸化, 从而促进其泛素介导的降解。但目前尚未有研究报道

GAS5 m⁶A在CVDs中的证据, 未来需要实验进行验证。

3 m⁶A甲基化在心血管稳态和疾病中的作用

RNA甲基化的最新进展揭示了表观遗传修饰与CVDs之间的密切关系, 为诊断和治疗CVDs带来了潜在的新靶点。m⁶A甲基化参与了心血管稳态和疾病(表1)。有研究发现, METTL3介导的m⁶A甲基化与维持心脏功能和心肌肥厚相关^[18], 在给予肥厚刺激的CM中m⁶A修饰水平增加。此外, METTL3过表达小鼠CM RNA中m⁶A水平增加, 发生心肌肥厚^[18]。CM特异性METTL3基因敲除小鼠在细胞和形态学水平上没有表现出心脏重塑, 表示METTL3对于出生后心脏发育的作用较小。然而, 在老年METTL3基因敲除动物中观察到心脏结构改变和心脏功能下降, 与心力衰竭进展一致。在METTL3敲除模型的后续研究中可以更深入地了解METTL3在心脏衰老中的作用。METTL3在对心脏的刺激适应中起着至关重要的作用。体外利用小干扰RNA(siRNA)敲低METTL3可在刺激后完全阻断心肌肥厚。此外, METTL3基因敲除小鼠在受到横向主动脉缩窄刺激时表现出加速的心衰进展^[18]。

m⁶A去甲基化酶FTO是一种新的维持心脏稳态和心肌修复的关键介质^[19]。研究发现, 人、猪和小鼠MI模型中m⁶A水平升高, FTO在衰竭心脏中减少, 其失调与m⁶A的转录组范围异常增加有关。FTO在CM收缩功能中也具有重要意义, 其消耗导致心律失常事件增加。另一方面, FTO过表达减轻了与缺氧相关的CM功能障碍。体内实验证实了FTO的心脏修复功能, 过表达FTO明显改善了MI后的心脏功能, 同时减少了梗塞边界区的纤维化和血管生成。研究通过m⁶A的转录组范围分析了FTO发挥的心脏保护功能的机制, 阐明了包括SERCA2a、MYH6/7和RyR2在内的心脏收缩转录物会优先去甲基化, 以防止m⁶A加速降解并改善其缺血状态下的蛋白质表达。与此同时, FTO还会选择性地靶向与细胞外基质、血管生成、纤维化和心肌肥大有关的lncRNA相关的非收缩通路, 进一步解释了在过表达FTO的MI心脏中疤痕大小减少和血管生成增强的实验结果^[19]。

表1 m⁶A甲基化参与心血管稳态和疾病

m ⁶ A分子	对心血管的作用	参考文献
METTL3	心脏功能维护	[18]
	心肌肥厚	[18,21]
	心脏发育	[18]
	心脏衰老	[18]
	心力衰竭	[18,22]
	缺血再灌注损伤保护	[16]
	CM自噬	[16]
	血管生成	[23,24]
	心肌纤维化	[20]
WTAP	脑动静脉畸形	[25]
METTL14	动脉粥样硬化	[26]
FTO	心肌肥厚	[22]
	冠心病	[27,28]
	心力衰竭	[22]
	动脉粥样硬化	[27]
	心脏移植排斥反应	[28]
	心肌梗塞	[19]
	心肌纤维化	[19]
	血管生成	[19]
ALKBH5	CM自噬	[16]
YTHDF1	血管生成	[23]
YTHDF3	心肌梗塞	[29]

心肌缺血性损伤后的血流恢复对于防止永久性心肌损伤至关重要，但再灌注可能导致心肌损伤增加，此现象称为缺血再灌注损伤(ischemia-reperfusion, I/R)。研究发现，体内I/R和体外缺氧/复氧模型中m⁶A甲基化水平异常升高^[16]。CM自噬是一个已知受I/R负调节的过程，METTL3和ALKBH5在调节CM自噬中有相反作用。过表达METTL3或抑制ALKBH5会导致自噬通量受损和随后的细胞凋亡增加。敲低METTL3显示出相反的效果，表明METTL3可能是自噬的负调节剂。此外，METTL3在MI后的心肌中有促纤维化作用^[20]。在TGF-β1处理的成纤维细胞和慢性MI小鼠的心脏纤维化组织中可以观察到METTL3的表达增加。在建立MI诱导模型前2周通过冠状动脉递送慢病毒颗粒消耗METTL3导致梗死边界区胶原沉积减少，发现在MI模型建立后4周会改善小鼠心脏功能。有研究猜测，METTL3介导的心脏纤维化部分通过

Smad2/3途径调节^[20]。

4 m⁶A甲基化在CVDs危险因素中的作用

两项在瑞典人群中的病例对照研究发现，FTO单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)与CHD的易感性增加有关^[30]。在巴基斯坦进行的一项队列研究证实了FTO与冠状动脉疾病(coronary artery disease, CAD)和肥胖症的关联^[31]。研究还调查了FTO变异对心血管事件和相关死亡的影响，发现FTO可预测CHD——AA基因型FTO显示出更高的CVDs事件发生和死亡风险，且发现FTO变体是动脉粥样硬化的独立危险因素^[27]。另一研究发现，FTO SNP与心脏移植患者较高的排斥风险相关^[28]。

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是CVDs的主要危险因素。研究发现，m⁶A修饰失调会导致2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)的发生。最初

研究发现,在T2DM患者的外周血样本中,总m⁶A水平降低与FTO表达增加一致^[32]。之后的研究进一步证实了这种负相关性,与低血糖紧急情况相比,在患有高血糖紧急情况的T2DM患者中观察到FTO上调^[33]。此外,高糖刺激可增强FTO表达,进而促进T2DM中参与脂质和葡萄糖代谢的关键基因的表达,包括二酯酰甘油酰基转移酶2(diacylglycerol O-acyltransferase 2, DGAT2)和葡萄糖-6-磷酸酶催化亚基(glucose-6-phosphatase catalytic subunit, G6PC)。此外,甲基转移酶METTL3、METTL14和WTAP的表达水平在T2DM患者中也升高,而METTL3、METTL14和KIAA1429的表达水平与m⁶A水平呈负相关,表明在T2DM患者中可能存在维持m⁶A含量平衡的调节机制^[33]。

肥胖是CVDs的独立危险因素,多项全基因组关联研究(genome wide association studies, GWAS)确定了FTO SNP与肥胖易感性增加有关。过表达FTO的小鼠模型表现出脂肪量增加、摄食过多和循环瘦素水平降低,表明FTO过表达可能会影响瘦素表达或脂肪组织的分泌。FTO调节体重和脂肪量的潜在机制研究揭示了FTO在调节肥胖早期阶段时通过增强Runx1相关转录因子1(runx-related transcription factor 1, RUNX1)介导脂肪生成。敲低FTO会降低自噬相关蛋白5(autophagy-related 5, ATG5)和ATG7的表达,减少自噬体形成,进而抑制自噬和脂肪生成^[34]。

m⁶A SNP与血压调节关联的大规模GWAS研究揭示了m⁶A SNP作为功能变体具有改变血压相关基因表达的潜力^[35],对自发性高血压大鼠微血管壁细胞中m⁶A的转录组分析显示m⁶A整体减少,表明m⁶A甲基化的变化可能与高血压的发病机制有关^[36]。

5 总结

m⁶A甲基化水平的变化与多种CVDs及心血管危险因素有关,m⁶A水平升高出现在心肌肥厚、缺血性心肌、心肌病和心力衰竭中。ncRNA在心血管中的研究也处于一个快速发展的阶段,过去m⁶A的大部分功能是从mRNA修饰的已知研究结果推断出来的,且关于ncRNA m⁶A甲基化修饰的研究也大都聚焦于癌症领域,对于心血管领域的ncRNA

m⁶A甲基化正处于新兴阶段。我们认为未来对m⁶A甲基化在ncRNA的机制和治疗研究,需要进一步了解m⁶A在ncRNA中的结合位点和方式、蛋白质与核酸的相互作用及其具体生理功能。此外,大量未知的m⁶A读码器仍有待发现,已知的m⁶A结合蛋白如YTHDF3、YTHDC1和YTHDC2的生物学功能则需要进一步研究,为制定更好的CVDs预防、早期诊断和准确的个性化治疗策略提供方向。如FTO可减轻纤维化并增强血管生成,是开发新疗法的候选靶标,也是具有诊断或预后价值的潜在临床生物标志物。利用当前技术基于m⁶A甲基化的CVDs靶向治疗将为心脏病专家提供更多选择。m⁶A甲基化修饰只是150多种已知RNA修饰中的一种,它们共同构成了表观转录组。因此,基础研究不仅要考虑心血管系统中其他RNA修饰的参与,还要考虑它们与m⁶A的关系,以揭示最终的表观遗传调控机制,以更好地理解RNA表观遗传学机制,推动CVDs分子治疗的创新。

参考文献

- [1] Townsend N, Wilson L, Bhatnagar P, et al. Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016. *Eur Heart J*, 2016, 37(42): 3232-3245
- [2] Boccaletto P, Machnicka MA, Purta E, et al. MODO-MICS: a database of RNA modification pathways. 2017 update. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D303-D307
- [3] Peer E, Rechavi G, Dominissini D. Epitranscriptomics: regulation of mRNA metabolism through modifications. *Curr Opin Chem Biol*, 2017, 41: 93-98
- [4] Liu J, Harada BT, He C. Regulation of gene expression by N⁶-methyladenosine in cancer. *Trends Cell Biol*, 2019, 29(6): 487-499
- [5] O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, et al. Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Front Endocrinol*, 2018, 9: 402
- [6] Alarcón CR, Lee H, Goodarzi H, et al. N⁶-methyladenosine marks primary microRNAs for processing. *Nature*, 2015, 519(7544): 482-485
- [7] Yao RW, Wang Y, Chen LL. Cellular functions of long noncoding RNAs. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(5): 542-551
- [8] Xiao S, Cao S, Huang Q, et al. The RNA N⁶-methyladenosine modification landscape of human fetal tissues. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(5): 651-661
- [9] Patil DP, Chen CK, Pickering BF, et al. m⁶A RNA methylation promotes XIST-mediated transcriptional re-

- pression. *Nature*, 2016, 537(7620): 369-373
- [10] Xiao L, Gu Y, Sun Y, et al. The long noncoding RNA XIST regulates cardiac hypertrophy by targeting miR-101. *J Cell Physiol*, 2019, 234(8): 13680-13692
- [11] Zhou T, Qin G, Yang L, et al. LncRNA XIST regulates myocardial infarction by targeting miR-130a-3p. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6): 8659-8667
- [12] Nance DJ, Satterwhite ER, Bhaskar B, et al. Characterization of METTL16 as a cytoplasmic RNA binding protein. *PLoS One*, 2020, 15(1): e0227647
- [13] Liu N, Zhou KI, Parisien M, et al. N⁶-methyladenosine alters RNA structure to regulate binding of a low-complexity protein. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(10): 6051-6063
- [14] Ruan Z, Wang S, Yu W, et al. LncRNA MALAT1 aggravates inflammation response through regulating PTGS2 by targeting miR-26b in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Int J Cardiol*, 2019, 288: 122
- [15] Chokkalla AK, Mehta SL, Kim TH, et al. Transient focal ischemia significantly alters the m⁶A epitranscriptomic tagging of RNAs in the brain. *Stroke*, 2019, 50(10): 2912-2921
- [16] Song H, Feng X, Zhang H, et al. METTL3 and ALKBH5 oppositely regulate m⁶A modification of *TFEB* mRNA, which dictates the fate of hypoxia/reoxygenation-treated cardiomyocytes. *Autophagy*, 2019, 15(8): 1419-1437
- [17] Del Re DP. Beyond the cardiomyocyte. *Circ Res*, 2018, 123(1): 30-32
- [18] Dorn LE, Lasman L, Chen J, et al. The N⁶-methyladenosine mRNA methylase METTL3 controls cardiac homeostasis and hypertrophy. *Circulation*, 2019, 139(4): 533-545
- [19] Mathiyalagan P, Adamiak M, Mayourian J, et al. FTO-dependent N⁶-methyladenosine regulates cardiac function during remodeling and repair. *Circulation*, 2019, 139(4): 518-532
- [20] Li T, Zhuang Y, Yang W, et al. Silencing of METTL3 attenuates cardiac fibrosis induced by myocardial infarction via inhibiting the activation of cardiac fibroblasts. *FASEB J*, 2021, 35(2): e21162
- [21] Kmietczyk V, Riechert E, Kalinski L, et al. m⁶A-mRNA methylation regulates cardiac gene expression and cellular growth. *Life Sci Alliance*, 2019, 2(2): e201800233
- [22] Berulava T, Buchholz E, Elerdashvili V, et al. Changes in m⁶A RNA methylation contribute to heart failure progression by modulating translation. *Eur J Heart Fail*, 2020, 22(1): 54-66
- [23] Yao MD, Jiang Q, Ma Y, et al. Role of METTL3-dependent N⁶-methyladenosine mRNA modification in the promotion of angiogenesis. *Mol Ther*, 2020, 28(10): 2191-2202
- [24] Chamorro-Jorganes A, Sweaad WK, Katore R, et al. METTL3 regulates angiogenesis by modulating let-7e-5p and miRNA-18a-5p expression in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41(6): E325
- [25] Wang LJ, Xue Y, Li H, et al. Wilms' tumour 1-associating protein inhibits endothelial cell angiogenesis by m⁶A-dependent epigenetic silencing of desmoplakin in brain arteriovenous malformation. *J Cell Mol Medi*, 2020, 24(9): 4981-4991
- [26] Jian D, Wang Y, Jian L, et al. METTL14 aggravates endothelial inflammation and atherosclerosis by increasing FOXO1 N⁶-methyladenosine modifications. *Theranostics*, 2020, 10(20): 8939-8956
- [27] Äijälä M, Ronkainen J, Huusko T, et al. The fat mass and obesity-associated (FTO) gene variant rs9939609 predicts long-term incidence of cardiovascular disease and related death independent of the traditional risk factors. *Ann Med*, 2015, 47(8): 655-663
- [28] Hubacek JA, Vymetalova J, Lanska V, et al. The fat mass and obesity related gene polymorphism influences the risk of rejection in heart transplant patients. *Clin TransPlant*, 2018, 32(12): e13443
- [29] Wakil SM, Ram R, Muiya NP, et al. A genome-wide association study reveals susceptibility loci for myocardial infarction/coronary artery disease in Saudi Arabs. *Atherosclerosis*, 2016, 245: 62-70
- [30] Gustavsson J, Mehlig K, Leander K, et al. FTO genotype, physical activity, and coronary heart disease risk in Swedish men and women. *Circ Cardiovasc Genet*, 2014, 7(2): 171-177
- [31] Shahid SU, Shabana SU, Rehman A, et al. Role of a common variant of fat mass and obesity associated (FTO) gene in obesity and coronary artery disease in subjects from Punjab, Pakistan: a case control study. *Lipids Health Dis*, 2016, 15(1): 29
- [32] Shen F, Huang W, Huang JT, et al. Decreased N⁶-methyladenosine in peripheral blood RNA from diabetic patients is associated with *FTO* expression rather than *ALKBH5*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100(1): E148-E154
- [33] Yang Y, Shen F, Huang W, et al. Glucose is involved in the dynamic regulation of m⁶A in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 2019, 104(3): 665-673
- [34] Wang X, Wu R, Liu Y, et al. m⁶A mRNA methylation controls autophagy and adipogenesis by targeting *Atg5* and *Atg7*. *Autophagy*, 2020, 16(7): 1221-1235
- [35] Mo XB, Lei SF, Zhang YH, et al. Examination of the

- associations between m6A-associated single-nucleotide polymorphisms and blood pressure. [Hypertens Res](#), 2019, 42(10): 1582-1589
- [36] Wu Q, Yuan X, Han R, et al. Epitranscriptomic mechanisms of N6-methyladenosine methylation regulating mammalian hypertension development by determined spontaneously hypertensive rats pericytes. [Epigenomics](#), 2019, 11(12): 1359-1370