

李瑞学, 谢雅彬, 邵国. DNA 甲基转移酶在缺氧/缺血预处理 DNA 中的神经保护作用研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34 (12): 111-116.

Li RX, Xie YB, Shao G. Role of DNA methyltransferases in neuroprotection during hypoxia/ischemia preconditioning [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(12): 111-116.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.12.013

DNA 甲基转移酶在缺氧/缺血预处理 DNA 中的神经保护作用研究

李瑞学¹, 谢雅彬^{1*}, 邵国^{1,2*}

(1. 包头医学院低氧转化医学重点实验室, 内蒙古 包头 014040; 2. 龙岗区第三人民医院转化医学中心, 广东 深圳 518112)

【摘要】 低氧/缺血预适应 (hypoxic/ischemic preconditioning, H/IPC) 可诱导内源性保护机制使神经细胞增加对低氧/缺血的耐受, 这种保护机制是细胞在生死抉择时基因表达的变化。DNA 甲基化作为基因表达调控的重要机制, 在低氧/缺血耐受中发挥着至关重要的作用。DNA 甲基化转移酶 (DNA methyltransferases, DNMTs) 通过调控 DNA 甲基化水平影响基因表达, 从而对神经保护产生重要作用。因此, DNMTs 在低氧/缺血预适应诱导的神经保护中具有重要功能。本文对 DNMTs 在此过程中的作用进行了综述, 为以 DNMTs 为靶点的神经保护研究提供了一定思路。

【关键词】 神经保护; 低氧/缺血预适应; DNA 甲基化转移酶

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 12-0111-06

Role of DNA methyltransferases in neuroprotection during hypoxia/ischemia preconditioning

LI Ruixue¹, XIE Yabin^{1*}, SHAO Guo^{1,2*}

(1. Key Laboratory of Hypoxia Translational Medicine, Baotou Medical College, Baotou 014040, China.

2. Center for Translational Medicine, the Third People's Hospital of Longgang District, Shenzhen 518112)

【Abstract】 Hypoxic/ischemic preconditioning (H/IPC) can induce endogenous protective mechanisms that increase the tolerance of nerve cells to hypoxia/ischemia. This protective mechanism involves changes in gene expression during the critical decision-making period between cell survival and death. DNA methylation, as a crucial mechanism for gene expression regulation, plays an essential role in hypoxia/ischemia tolerance. DNA methyltransferases (DNMTs) contribute to neuroprotection by influencing gene expression via regulating DNA methylation levels. DNMTs thus have important functions in the neuroprotection induced by hypoxic/ischemic preconditioning. This paper reviews the role of DNMTs in this process, providing insights into neuroprotection targeting DNMTs.

【Keywords】 nerve protection; hypoxic/ischemic preconditioning; DNA methyltransferases

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

【基金项目】 国家自然科学基金 (82060337); 深圳市龙岗区医疗卫生科技计划项目 (LGKCYLWS2021000033, LGKCYLWS2023025); 深圳市科技计划项目基础研究面上项目 (JCYJ20220531092412028, JCYJ20230807121306012); 内蒙古自治区自然科学基金项目 (2021LHMS08022); 包头医学院博士科研启动基金项目 (BSJJ201804)。

【作者简介】 李瑞学 (1999—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 低氧缺血神经保护。E-mail: 342373425@qq.com

【通信作者】 谢雅彬 (1982—), 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 低氧神经保护。E-mail: zhe8753_ynmz@163.com

邵国 (1972—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 低氧缺血神经保护。E-mail: shao_guo_china@163.com * 共同通信作者

低氧/缺血预适应 (hypoxic/ischemic preconditioning, H/IPC) 可通过短暂重复的亚致死性的低氧/缺血刺激来增加机体对随后严重低氧/缺血的抵抗能力^[1-2]。H/IPC 诱导神经内源性保护机制与基因表达变化相关,表观遗传学也涉及其中,而 DNA 甲基化则是其中的重要机制^[3]。H/IPC 引起的基因表达变化是在压力条件下的基因表达变化,包括上调神经保护基因以及下调神经损伤基因^[4]。本文对 DNMTs 在 H/IPC 神经保护中的作用进行综述。

1 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferases, DNMTs)

DNMTs 是调节 DNA 甲基化的关键酶,包括 DNA 甲基转移酶 1 (DNMT1)、DNA 甲基转移酶 3A (DNMT3A) 和 DNA 甲基转移酶 3B (DNMT3B) 等。DNA 甲基化由 DNA 甲基转移酶催化调节, DNMT1 主要负责维持已有的甲基化状态,而 DNMT3A 和 DNMT3B 则参与新的甲基化的建立^[5-6]。

2 DNMTs 与神经保护

DNA 甲基化是一种典型的表观遗传修饰,在细胞的基因表达调控和非活性染色质的平衡中扮演着至关重要的角色。DNA 甲基化发生在胞嘧啶碱基的 5 位碳上,形成 CpG 二核苷酸^[7],在神经细胞中具有关键作用^[8]。DNMTs 在维持细胞正常功能方面至关重要,异常表达可能导致异常甲基化并引发疾病^[9-10]。DNMTs 通过催化甲基转移至 DNA 链中的 CpG 序列内的胞嘧啶核苷酸,导致构象改变,从而影响转录因子的结合,进而抑制甲基化基因的表达水平^[11],DNMTs 的下调被认为是 HPC 诱导的一种内源性细胞机制,参与神经保护作用^[12]。基因表达与 DNA 甲基化水平密切相关,即高甲基化导致基因低表达和低甲基化诱导较高基因表达水平^[13]。有研究表明,用地西他滨 (5-aza-2'-deoxycytidine, 5-aza-dC) 治疗的大脑中动脉阻塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 60 min 后大鼠显示出低甲基化和皮质中梗死体积的减少,星形胶质细胞 DNA 甲基化水平降低。地西他滨可上调星形胶质细胞 p27 mRNA 和蛋白的表达,抑制星形胶质细胞的增殖。地西他滨可能通过抑制 p27 基因的甲基化而促进其表达,从而减少缺血性卒中后星形胶质细胞的增殖、神经元死亡和梗死体积^[14]。有研究发现,大鼠大脑中动脉闭塞/再灌注 (middle cerebral artery

occlusion/reperfusion, MCAO/R) 后 24 h, 这些神经元中 DNA 甲基化增加, N-甲基-D-天冬氨酸 (N-methyl-D-aspartate, NMDA) 处理后, 这些神经元中 DNA 甲基化增加,可能是通过 DNMT3A 的激活。此外, NMDA 处理的神经元通过用 DNMTs 抑制剂处理而得到保护,伴随 DNA 甲基化的抑制^[15]。因此, DNMTs 催化的 DNA 甲基化可能是神经细胞死亡的起始因子,抑制这种甲基化可能成为神经保护的有效策略。

2.1 DNMT1 与神经保护

DNMT1 是一种维持型 DNA 甲基转移酶,分子量为 184 kDa,定位于人类染色体 19p13.2,主要职责是在 DNA 复制后进行甲基化,以确保新合成的 DNA 链与母链具有相似的甲基化模式,从而维持基因组的稳定性^[16-17]。这种作用有助于保持基因组的正常功能。DNMT1 可以识别半甲基化的 DNA 序列,并将甲基基团转移到新合成的 DNA 链上,从而保持细胞中 DNA 甲基化状态的连续性。DNMT1 的这种功能对于细胞分裂过程中基因表达的调控和细胞命运的决定非常重要^[18]。有研究发现,小鼠模型中缺乏 DNMT1 的胚胎在发育早期即会死亡^[19]。此结果进一步证明了 DNMT1 在维持基因组甲基化模式和正常发育中必不可少。

DNMT1 低表达增加低氧/缺血后神经细胞的耐受。有研究显示, DNA 甲基转移酶基因缺失的杂合突变小鼠对轻度缺血性损伤具有抵抗力,表明 DNA 甲基化的增加与 MCAO 闭塞后脑损伤的加重有关,但不会改变 DNMT1 或 DNMT3 的表达^[20]。另有研究指出, DNMT1 的部分缺失在有丝分裂后神经元中对缺血性损伤具有保护作用^[21]。因此, DNMT1 的表达可能影响 DNA 甲基化水平,进而影响神经元对缺血性损伤的反应以及梗死面积和神经保护效果。

有研究显示, DNMT1 表达的下降可能与缺血诱导的迟发性神经元死亡有关, DNMT1 的活性在缺血后的神经保护过程中发挥一定作用^[22]。此外,在严重低氧/缺血条件下,小鼠通过调节与生存相关的基因来生存,并在低氧后进行 DNA 重新甲基化, DNMT1 在急性反复低氧的小鼠海马体中保持稳定^[12]。因此 DNMT1 在短暂性脑缺血后下调可能与神经元死亡相关,表明 DNMT1 在神经保护中可能发挥重要作用。然而,在急性反复低氧的条件下, DNMT1 的表达没有变化,这表明 DNMT1 可能在不同类型的脑缺血/低氧情况下的作用机制存在差异。

这些研究结果启示了在神经保护和修复中 DNMT1 的潜在作用以及其在不同脑损伤条件下的表达差异。因此, DNMT1 可能是一个潜在的治疗靶点, 其抑制可能有助于减轻脑缺血损伤所导致的神经细胞死亡。

2.2 DNMT3A 与神经保护

DNMT3A 是一种从头甲基转移酶, 分子量为 130 kDa, 由人类染色体 2p23 上的 23 个外显子编码, 主要负责在 DNA 中重新建立甲基化模式^[23]。DNMT3A 在细胞中扮演着关键角色, 通过调节 DNA 的甲基化水平影响基因表达和细胞功能^[24-25]。低氧环境会引起异常的甲基化, 导致正常转录活性的关闭或削弱, 从而改变基因的表达水平^[26]。因此, 维持适当 DNA 甲基化水平对于保持基因的正常功能和细胞稳态至关重要。有研究显示在小鼠模型中, 纯合突变会导致严重的发育缺陷并引发新生儿死亡, 证明 DNMT3A 在正常发育中的关键作用^[27]。

DNMT3A 低表达增加低氧/缺血后神经细胞的耐受。研究表明, miR-29c 在缺血和缺氧葡萄糖剥夺 (oxygen-glucose deprivation, OGD) 后显著下调, 而 premiR-29c 治疗可以显著防止 OGD 诱导的细胞死亡并减少大鼠缺血后的梗塞体积。相反, antagomiR-29c 处理会增加细胞死亡。DNMT3A 是 miR-29c 的主要靶标, DNMT3A siRNA 处理同样显著减少了 PC12 细胞和大鼠缺血后的细胞死亡和梗塞体积。此外, HT22 细胞经过 5-aza-dC 处理后, DNMT1 和 DNMT3A 的 mRNA 和蛋白表达下降^[28-29], 这表明 HT22 细胞的凋亡与 DNA 甲基化调控因子 DNMT1 和 DNMT3A 的表达改变相关。这些结果表明, DNA 甲基化调控因子如 DNMT1 和 DNMT3A 的表达变化与细胞凋亡相关以及 DNA 甲基化在缺血性损伤中的重要作用。研究还发现, 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 是一种重要的促血管生成因子, 在低氧环境中能够诱导新血管的形成, 对于低氧适应和组织修复至关重要^[30]。促红细胞生成素 (erythropoietin, EPO) 不仅在造血过程中发挥关键作用, 还具有神经保护作用, 能够减少低氧和缺血对神经细胞的损伤^[31]。此外, DNMT3A 的下调还可能与其他神经保护相关基因的表达水平变化有关, 这些基因可能通过不同途径参与了神经细胞的保护和修复。有报道称, DNMT3A 通过调节 VEGF 和 EPO 启动子的 DNA 甲基化水平, 影响其表达, 在 HPC 诱导的神经保护中

发挥重要作用^[32]。因此, DNMT3A 在低氧预适应诱导的神经保护中发挥重要作用。MCAO/R 后 24 h 这些神经元中的 DNA 甲基化增加, 并且这种增加可能通过 DNMT3A 的激活机制发生^[15]。DNMT3A 能够催化 DNA 的甲基化, 进而影响基因表达, 这表明 DNMT3A 在脑缺血后的早期阶段发挥了重要作用。缺血性卒中导致大量 Ca^{2+} 从细胞外间隙通过 NMDA 受体内流诱导的神经元细胞死亡, NMDA 是一种谷氨酸受体激动剂, 可以诱导神经元细胞死亡, 而在 NMDA 处理后, 这些神经元中的 DNA 甲基化立即增加。值得注意的是, NMDA 处理的神经元在接受 DNMTs 抑制剂处理时显示出保护作用, 同时抑制了 DNA 甲基化。这进一步支持了 DNMT3A 在响应缺血性损伤时的关键作用。NMDA 处理可能通过增加 DNMT3A 的活性, 导致 DNA 甲基化的增强, 从而影响神经元的命运。有研究表明, miR-138-5p 被发现在氧和葡萄糖剥夺/复氧 (oxygen-glucose deprivation/reoxygenation, OGD/R) 刺激的星形胶质细胞分泌的外泌体中高表达, 通过自噬影响 OGD/R 损伤的神经元的恢复。miR-138-5p 通过 DNMT3A 促进大脑中富集的 Ras 同源物 1 (Rheb1) 的稳定表达, 从而增强泛素依赖性线粒体自噬提高神经元存活^[33]。有研究发现, Piwil2 在低氧后处理 (hypoxic postconditioning, HPC) 诱导的短暂性全脑缺血 (transient global cerebral ischemia, tGCI) 导致 DNMT3A 显著减少, 从而消除 tGCI 诱导的环 AMP 反应元件结合蛋白 2 (cAMP-response element-binding protein, CREB2) DNA 甲基化的增加, 进而促进 CREB2 的 mRNA 和蛋白表达。下调 Piwil2 可以恢复树突的复杂性和长度, 防止树突棘的损失, 从而改善 tGCI 后的认知功能。可见, Piwil2 通过调节 DNMT3A 影响 CREB2 的表观遗传调控在 HPC 介导的脑缺血神经保护中发挥重要作用^[34]。

因此, DNMT3A 在低氧和缺血条件下的表达和活性显著变化, 并在神经保护和神经元损伤中发挥关键作用。在 HPC 中, DNMT3A 的下调与 VEGF 和 EPO 表达呈负相关, 促进神经保护; 而在 MCAO/R 模型中, DNMT3A 的激活增加了 DNA 甲基化水平, 导致神经元损伤。通过抑制 DNMT3A 的表达或活性, 可以显著减少缺血性脑损伤, 表明 DNMT3A 是潜在的治疗靶点。

2.3 DNMT3B 与神经保护

DNMT3B 是 DNA 甲基转移酶家族的重要成员,

分子量约 97 kDa,定位于染色体 20q11.2,主要负责建立和维持正常的 DNA 甲基化模式,这对于细胞功能的正常运作至关重要^[35]。研究表明,纯合突变会导致发育异常和胚胎致死^[27]。在小鼠模型中, DNMT3B 的缺失会引起显著的胚胎发育缺陷,最终导致胚胎致死,证明了 DNMT3B 在正常发育中的关键作用。

DNMT3B 低表达增加低氧/缺血后神经细胞的耐受。有研究显示, RIPC 血清中的外泌体 miRNA-126 通过下调 DNMT3B 表达和活性发挥神经保护作用^[36]。RIPC 可能通过上调血清外泌体 miRNA-126 来下调神经细胞中 DNMT3B 的表达,从而发挥神经保护作用。也有研究显示, GAS5 可能通过抑制 DNMT3B 介导的 MAP4K4 甲基化来减少神经元凋亡,改善缺血性中风的神经功能^[37]。有研究发现, ELAVL1 通过 DNMT3B/PINK1 轴在预防铁死亡引起的缺血再灌注损伤(ischemic/reperfusion, I/R)中发挥关键作用^[38]。因此, DNMT3B 低表达通过多种机制增强神经细胞对低氧/缺血的耐受性并发挥神经保护作用,包括 miRNA-126 的下调、GAS5 抑制的甲基化调控和 ELAVL1 的 DNMT3B/PINK1 轴介导的作用。

3 DNMTs 在神经系统疾病中的应用前景

DNMTs 可能成为神经系统疾病的潜在治疗靶点。通过调节 DNMTs 的活性,可以修复异常的 DNA 甲基化水平,恢复基因的正常表达,减缓或逆转疾病进展。研究发现,脑梗死后, DNMT1 和 DNMT3A 的 mRNA 和蛋白表达增加, DNMTs 活性增强, TIMP-2 DNA 甲基化水平升高。使用 5-aza-dC 治疗可以逆转这些影响^[39]。在低氧/缺血条件下,星形胶质细胞中的 DNMT1 和 DNMT3A 的活性升高,而甲基结合蛋白 2(MBD2)的表达水平下调。这些变化导致星形胶质细胞中 EAAT2/GLT1 基因启动子 CpG 岛的高甲基化增加。研究显示,在同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)处理的大鼠脑缺血模型中,新生成细胞中的 DNMTs 活性和总体 5-甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5hmC)水平降低。这种 DNMTs 活性的降低可能主要由 S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosyl methionine, SAM)和 S-腺苷高半胱氨酸(S-adenosyl-homocysteine, SAH)浓度介导,进而导致 Hcy 诱导的 DNA 低甲基化^[40-42]。这表明,脑卒中恢复过程中的神经发生机制可能受到 DNMTs 活性的调节。然而,脑卒中后 Hcy 水平的升高可能抑

制 DNMTs 活性,阻碍神经系统的正常再生和修复。研究发现,使用非核苷类 DNMTs 抑制剂 RG108(N-邻苯酐-L-色氨酸)后,小鼠坐骨神经损伤后的轴突再生明显减少。这表明 DNA 甲基化对于轴突再生过程至关重要, DNMTs 活性可能是这一过程的关键调节因子之一^[43]。因此,抑制 DNMTs 活性对小鼠坐骨神经损伤后轴突再生产生了影响。此外,在海马分化神经元中, DNMT1 和 DNMT3A 的升高可能导致 DNA 甲基化水平的增加,进而影响相关基因的转录活性。这些基因可能参与了与学习和记忆相关的突触传递和神经信号传导过程。因此, DNMT1 和 DNMT3A 在海马分化神经元中的升高可能反映了神经元在学习和记忆过程中基因表达模式的调节^[44]。有研究发现, HPC 可降低 HMEC-1 中 DNMTs 水平和整体甲基化水平,并增加 miR-126 的表达, HPC 处理的 HMEC-1 的分离培养液(culture medium, CM)也减轻了 SY5Y 细胞的损伤,而过表达 miR-126 的 HMEC-1 的 CM 可以减轻 OGD 条件下 SY5Y 细胞的损伤^[45]。有研究显示, HPC 可以通过降低 Notch1 启动子的 DNA 甲基化水平来增加 Notch1 在小鼠海马和小鼠海马神经元细胞系 HT22 中的表达。因此,假设 DNA 甲基化降低可能是一种通过上调海马 Notch 信号来促进学习和记忆改善的分子机制^[46]。有研究显示, tGCI 后 HPC 或 AS-ODN 诱导 Piwil2 下调,导致 DNMT3A 显著降低,从而消除 tGCI 诱导的 CREB2 DNA 甲基化的增加,从而增加 CREB2 的 mRNA 和蛋白。最后,下调 Piwil2 可以恢复树突的复杂性和长度,防止树突棘的丢失,从而改善 tGCI 后的认知功能^[34]。有研究表明, HPC 可上调 TSC 1 的表达,下调 P-mTOR(Ser 2448)和 P-p70 S6 K(Thr 389)的表达,增强自噬的活性。TSC 1 在 HPC 中的表达增加可能与其启动子区的 DNA 低甲基化有关。HPC 还可以降低 HT22 细胞的能耗。TSC 1 的过表达和敲低可影响缺氧条件下 HT22 细胞的存活率、细胞凋亡和代谢^[47]。有研究发现,大鼠大脑中动脉闭塞法建立脑缺血再灌注损伤模型,并腹腔注射 DNA 甲基化抑制剂 5-aza-2'-dC 能明显改善脑缺血再灌注损伤大鼠的神经功能、认知、社会 and 空间记忆能力,并能增加海马突触密度和 SYP、SHANK 2 蛋白的表达。这提示 5-aza-2'-dC 抑制 DNA 甲基化可促进大鼠局灶脑缺血溶栓后学习记忆功能的恢复^[48]。

因此, DNMTs 在神经系统的再生和修复过程中

扮演关键角色。调节 DNMTs 活性可以成为治疗神经系统疾病的一种潜在策略,通过恢复正常的 DNA 甲基化水平,促进基因的正常表达,减缓或逆转疾病的进展。

4 展望

本文对 DNMTs 在 H/IPC 神经保护中的作用进行了全面总结,并回顾了其作用机制和调控方式。同时,着重强调了在 H/IPC 过程中甲基化调控对神经保护的重要性。DNMTs 被认为可能是神经损伤治疗的理想药物靶点,这为神经系统相关疾病的诊断和治疗提供了新的视角和希望。随着对神经系统疾病的深入研究,DNMTs 的作用可能会成为未来临床实践中的重要依据,为患者带来更好的治疗效果。

参考文献:

- [1] LU G W, YU S, LI R H, et al. Hypoxic preconditioning: a novel intrinsic cytoprotective strategy [J]. Mol Neurobiol, 2005, 31(1/2/3): 255-271.
- [2] LIU J, GU Y, GUO M, et al. Neuroprotective effects and mechanisms of ischemic/hypoxic preconditioning on neurological diseases [J]. CNS Neurosci Ther, 2021, 27(8): 869-882.
- [3] LI S, REN C, STONE C, et al. Hamartin: an endogenous neuroprotective molecule induced by hypoxic preconditioning [J]. Front Genet, 2020, 11: 582368.
- [4] LI J, ZHAO H, XING Y, et al. A genome-wide analysis of the gene expression and alternative splicing events in a whole-body hypoxic preconditioning mouse model [J]. Neurochem Res, 2021, 46(5): 1101-1111.
- [5] BESPALOV A G, TREGUB P P, KULIKOV V P, et al. The role of VEGF, HSP-70 and protein S-100B in the potentiation effect of the neuroprotective effect of hypercapnic hypoxia [J]. Patol Fiziol Eksp Ter, 2014, 58(2): 24-27.
- [6] CHEN Z, ZHANG Y. Role of mammalian DNA methyltransferases in development [J]. Annu Rev Biochem, 2020, 89: 135-158.
- [7] LEE H J, HORE T A, REIK W. Reprogramming the methylome: erasing memory and creating diversity [J]. Cell Stem Cell, 2014, 14(6): 710-719.
- [8] SHCHERBAK N S, SUCHKOVA I O, PATKIN E L, et al. DNA methylation in experimental ischemic brain injury [J]. Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova, 2022, 122(8. Vyp. 2): 32-40.
- [9] SCHÜBELER D. Function and information content of DNA methylation [J]. Nature, 2015, 517(7534): 321-326.
- [10] RHEE I, BACHMAN K E, PARK B H, et al. DNMT1 and DNMT3b cooperate to silence genes in human cancer cells [J]. Nature, 2002, 416(6880): 552-556.

- [11] QURESHI M Z, SABITALIYEVICH U Y, RABANDIYAROV M, et al. Role of DNA methyltransferases (DNMTs) in metastasis [J]. Cell Mol Biol, 2022, 68(1): 226-236.
- [12] ZHANG S, ZHANG Y, JIANG S, et al. The effect of hypoxia preconditioning on DNA methyltransferase and PP1 γ in hippocampus of hypoxia preconditioned mice [J]. High Alt Med Biol, 2014, 15(4): 483-490.
- [13] MELLER R, PEARSON A, SIMON R P. Dynamic changes in DNA methylation in ischemic tolerance [J]. Front Neurol, 2015, 6: 102.
- [14] ZHANG Q, LI D, ZHAO H, et al. Decitabine attenuates ischemic stroke by reducing astrocytes proliferation in rats [J]. PLoS One, 2022, 17(8): e0272482.
- [15] ASADA M, HAYASHI H, MURAKAMI K, et al. Investigating the relationship between neuronal cell death and early DNA methylation after ischemic injury [J]. Front Neurosci, 2020, 14: 581915.
- [16] BESTOR T H, VERDINE G L. DNA methyltransferases [J]. Curr Opin Cell Biol, 1994, 6(3): 380-389.
- [17] YEN R W, VERTINO P M, NELKIN B D, et al. Isolation and characterization of the cDNA encoding human DNA methyltransferase [J]. Nucleic Acids Res, 1992, 20(9): 2287-2291.
- [18] KIM G D, NI J, KELESOGLU N, et al. Co-operation and communication between the human maintenance and *de novo* DNA (cytosine-5) methyltransferases [J]. EMBO J, 2002, 21(15): 4183-4195.
- [19] LI E, BESTOR T H, JAENISCH R. Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality [J]. Cell, 1992, 69(6): 915-926.
- [20] ENDRES M, MEISEL A, BINISZKIEWICZ D, et al. DNA methyltransferase contributes to delayed ischemic brain injury [J]. J Neurosci, 2000, 20(9): 3175-3181.
- [21] ENDRES M, FAN G, MEISEL A, et al. Effects of cerebral ischemia in mice lacking DNA methyltransferase 1 in post-mitotic neurons [J]. Neuroreport, 2001, 12(17): 3763-3766.
- [22] LEE J C, PARK J H, YAN B C, et al. Effects of transient cerebral ischemia on the expression of DNA methyltransferase 1 in the gerbil hippocampal CA1 region [J]. Neurochem Res, 2013, 38(1): 74-81.
- [23] ROBERTSON K D, UZVOLGYI E, LIANG G, et al. The human DNA methyltransferases (DNMTs) 1, 3a and 3b: coordinate mRNA expression in normal tissues and overexpression in tumors [J]. Nucleic Acids Res, 1999, 27(11): 2291-2298.
- [24] CHÉDIN F. The DNMT3 family of mammalian *de novo* DNA methyltransferases [J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2011, 101: 255-285.
- [25] KINNEY S R, 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.
- [26] NANDURI J, SEMENZA G L, PRABHAKAR N R. Epigenetic changes by DNA methylation in chronic and intermittent hypoxia

- [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2017, 313(6): L1096–L1100.
- [27] OKANO M, BELL D W, HABER D A, et al. DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for *de novo* methylation and mammalian development [J]. *Cell*, 1999, 99(3): 247–257.
- [28] PANDI G, NAKKA V P, DHARAP A, et al. MicroRNA miR-29c down-regulation leading to de-repression of its target DNA methyltransferase 3a promotes ischemic brain damage [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e58039.
- [29] YANG J, TIAN X, YANG J, et al. 5-Aza-2'-deoxycytidine, a DNA methylation inhibitor, induces cytotoxicity, cell cycle dynamics and alters expression of DNA methyltransferase 1 and 3A in mouse hippocampus-derived neuronal HT22 cells [J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2017, 80(22): 1222–1229.
- [30] GÓRA-KUPLAS K, JOŠKO J. The neuroprotective function of vascular endothelial growth factor (VEGF) [J]. *Folia Neuropathol*, 2005, 43(1): 31–39.
- [31] MONTERO M, POULSEN F R, NORABERG J, et al. Comparison of neuroprotective effects of erythropoietin (EPO) and carbamylerythropoietin (CEPO) against ischemia-like oxygen-glucose deprivation (OGD) and NMDA excitotoxicity in mouse hippocampal slice cultures [J]. *Exp Neurol*, 2007, 204(1): 106–117.
- [32] LIU N, ZHANG Y, ZHANG P, et al. Vascular endothelial growth factor and erythropoietin show different expression patterns in the early and late hypoxia preconditioning phases and may correlate with DNA methylation status in the mouse hippocampus [J]. *High Alt Med Biol*, 2022, 23(4): 361–368.
- [33] ZHU X, LIU Q, ZHU F, et al. An engineered cellular carrier delivers miR-138-5p to enhance mitophagy and protect hypoxic-injured neurons via the DNMT3A/Rheb1 axis [J]. *Acta Biomater*, 2024, 186: 424–438.
- [34] ZHAN L, CHEN M, PANG T, et al. Attenuation of Piwi2 induced by hypoxic postconditioning prevents cerebral ischemic injury by inhibiting CREB2 promoter methylation [J]. *Brain Pathol*, 2023, 33(1): e13109.
- [35] HANSEN R S, WIJMEGA C, LUO P, et al. The *DNMT3B* DNA methyltransferase gene is mutated in the ICF immunodeficiency syndrome [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(25): 14412–14417.
- [36] CUI J, LIU N, CHANG Z, et al. Exosomal microRNA-126 from RIPC serum is involved in hypoxia tolerance in SH-SY5Y cells by downregulating DNMT3B [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 20: 649–660.
- [37] DENG Y, CHEN D, GAO F, et al. Silencing of long non-coding RNA GAS5 suppresses neuron cell apoptosis and nerve injury in ischemic stroke through inhibiting DNMT3B-dependent MAP4K4 methylation [J]. *Transl Stroke Res*, 2020, 11(5): 950–966.
- [38] DU Y, ZHANG R, ZHANG G, et al. Downregulation of ELAVL1 attenuates ferroptosis-induced neuronal impairment in rats with cerebral ischemia/reperfusion *via* reducing DNMT3B-dependent PINK1 methylation [J]. *Metab Brain Dis*, 2022, 37(8): 2763–2775.
- [39] MONDAL N K, BEHERA J, KELLY K E, et al. Tetrahydrocurcumin epigenetically mitigates mitochondrial dysfunction in brain vasculature during ischemic stroke [J]. *Neurochem Int*, 2019, 122: 120–138.
- [40] GOU Y, YE Q, LIANG X, et al. Homocysteine restrains hippocampal neurogenesis in focal ischemic rat brain by inhibiting DNA methylation [J]. *Neurochem Int*, 2021, 147: 105065.
- [41] DAYAL S, BOTTIGLIERI T, ARNING E, et al. Endothelial dysfunction and elevation of S-adenosylhomocysteine in cystathionine beta-synthase-deficient mice [J]. *Circ Res*, 2001, 88(11): 1203–1209.
- [42] LI J G, BARRERO C, GUPTA S, et al. Homocysteine modulates 5-lipoxygenase expression level via DNA methylation [J]. *Aging Cell*, 2017, 16(2): 273–280.
- [43] OH Y M, MAHAR M, EWAN E E, et al. Epigenetic regulator *UHRF1* inactivates REST and growth suppressor gene expression via DNA methylation to promote axon regeneration [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(52): E12417–E12426.
- [44] KAVALALI E T, NELSON E D, MONTEGGIA L M. Role of MeCP2, DNA methylation, and HDACs in regulating synapse function [J]. *J Neurodev Disord*, 2011, 3(3): 250–256.
- [45] ZHANG P, FU G, XU W, et al. Up-regulation of miR-126 *via* DNA methylation in hypoxia-preconditioned endothelial cells may contribute to hypoxic tolerance of neuronal cells [J]. *Mol Biol Rep*, 2024, 51(1): 808.
- [46] CHANG Z, LIU Q, FAN P, et al. Hypoxia preconditioning increases Notch1 activity by regulating DNA methylation *in vitro* and *in vivo* [J]. *Mol Biol Rep*, 2024, 51(1): 507.
- [47] QI R, XIE Y, ZHANG X, et al. Possible involvement of DNA methylation in TSC1 gene expression in neuroprotection induced by hypoxic preconditioning [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 9306097.
- [48] SHI G, FENG J, JIAN L Y, et al. DNA hypomethylation promotes learning and memory recovery in a rat model of cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(4): 863–868.