doi:10.11659/jjssx.09E024027

·基础研究·

沉默METTL3促进脓毒症小鼠脑微血管内皮细胞线粒体自噬的机制研究

林 博[1,2],叶馨怡[1,2],李羽茜[1,2] (1.福建医科大学附属第一医院麻醉科,福建 福州 350000;2.福建医科大学麻醉学研究所,福建 福州 350000)

[摘 要] **目的** 探讨甲基转移酶样3(METTL3)对脓毒症小鼠脑微血管内皮细胞中Sigma-1受体(Sigma-1R)mRNA的m6A甲基化和线粒体自噬的调控作用。**方法** 将12只成年雄性C57BL/6J小鼠随机分为假手术组(不进行盲肠结扎穿孔)和脓毒症组(进行盲肠结扎穿孔术),每组6只。分别使用m6A Dot blot、RT-qPCR和Western blot检测脑微血管组织中的m6A甲基化水平、METTL3和Sigma-1R mRNA及蛋白相对表达量。体外培养bEnd.3细胞株,分为对照组(正常培养)、模型组[脂多糖(LPS)诱导体外脓毒症]、si-NC组(LPS处理联合转染si-NC)、si-METTL3组(LPS处理联合转染si-METTL3)。使用m6A Dot blot检测各组细胞中m6A甲基化水平;RT-qPCR检测METTL3和Sigma-1R mRNA的表达;Western blot检测METTL3、Sigma-1R以及自噬相关蛋白Bnip3、LC3B和Beclin1的表达。用m6A免疫共沉淀-qPCR检测各组细胞中Sigma-1R的m6A甲基化水平。用JC-1探针法检测各组细胞线粒体膜电位,ATP检测试剂盒检测线粒体ATP含量。**结果** 与假手术组比较,脓毒症组小鼠脑微血管组织中m6A甲基化水平和METTL3的表达增加($P<0.05$),而Sigma-1R的表达降低($P<0.05$)。与对照组比较,模型组和si-NC组细胞中m6A甲基化水平、METTL3表达和Sigma-1R mRNA的m6A甲基化水平增加,Sigma-1R表达、线粒体膜电位正常率和增加率降低,ATP含量减少,Bnip3、LC3B、Beclin1蛋白表达均下调,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与si-NC组比较,si-METTL3组细胞中m6A甲基化水平、METTL3表达和Sigma-1R mRNA的m6A甲基化水平降低,Sigma-1R表达、线粒体膜电位正常率和增加率升高,ATP含量增加,Bnip3、LC3B、Beclin1蛋白表达均上调,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 沉默METTL3抑制Sigma-1R mRNA的m6A甲基化并促进脓毒症小鼠脑微血管内皮细胞的线粒体自噬。

[关键词] 甲基转移酶样3;Sigma-1受体;m6A甲基化;脓毒症;脑微血管内皮细胞;线粒体自噬

[中图分类号] R631+.2 [文献标志码] A [收稿日期] 2024-09-05

Mechanism of silencing METTL3-mediated mitophagy in cerebral microvascular endothelial cells of mice with sepsis

LIN Bo[1,2], YE Xin-yi[1,2], LI Yu-qian[1,2] (1.Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou Fujian 350000, China; 2. Institute of Anesthesiology, Fujian Medical University, Fuzhou Fujian 350000, China)

Abstract: Objective To explore the regulatory effect of methyltransferase-like 3 (METTL3) on m6A methylation of Sigma-1 receptor (Sigma-1R) mRNA and mitophagy in cerebral microvascular endothelial cells of sepsis mice. **Methods** Twelve adult male C57BL/6J mice were randomly divided into the Sham group (without cecal ligation or puncture) and the sepsis group (received cecal ligation and puncture), with 6 mice in each group. m6A methylation levels, and relative expression of METTL3 and Sigma-1R mRNA and protein in cerebral microvascular tissues were detected by m6A Dot blot, RT-qPCR, and Western blot, respectively. The bEnd. 3 cells were cultured in vitro and divided into the control group (normal culture), model group [lipopolysaccharide (LPS)-induced in vitro sepsis], si-NC group (LPS treatment combined with si-NC transfection), and si-METTL3 group (LPS treatment combined with si-METTL3 transfection). m6A Dot blot was used to detect m6A methylation levels of cells in each group; RT-qPCR was used to detect the mRNA expression of METTL3 and Sigma-1R; and Western blot was used to detect the expression of METTL3, Sigma-1R, and autophagy-related proteins of Bnip3, LC3B, and Beclin1. m6A chromatin immunoprecipitation-qPCR was used to detect m6A methylation level of Sigma-1R of cells in each group. JC-1 probe was used to detect the mitochondrial membrane potential, and the ATP assay kit was used to detect the mitochondrial ATP content. **Results** Compared with the Sham group, the sepsis group showed increased m6A methylation level and METTL3 expression ($P<0.05$), and decreased Sigma-1R expression in cerebral microvascular tissues ($P<0.05$). Compared with the control group, m6A methylation level, METTL3 expression and m6A methylation level of Sigma-1R mRNA increased, the expression of Sigma-1R, the normal rate and increase rate of mitochondrial membrane potential, and the ATP content decreased, and the protein expression of Bnip3, LC3B and Beclin1 downregulated in the model group and the si-NC group, with statistically significant differences ($P<0.05$). Compared with the si-NC group, m6A methylation level, METTL3 expression and m6A methylation level of Sigma-1R mRNA decreased, the expression of Sigma-1R, the normal rate and

[基金项目] 福建省自然科学基金项目(2022J01225)

[通信作者] 林 博,E-mail:linbo2472@163.com

increase rate of mitochondrial membrane potential elevated, the ATP content increased, and the protein expression of Bnip3, LC3B and Beclin1 upregulated in the si-METTL3 group, with statistically significant differences ($P<0.05$). **Conclusion** Silencing METTL3 can inhibit m6A methylation of Sigma-1R mRNA and promote the mitophagy in cerebral microvascular endothelial cells of septic mice.

Keywords: methyltransferase-like 3; Sigma-1 receptor; m6A methylation; sepsis; cerebral microvascular endothelial cells; mitophagy

脓毒症是一种严重的全身性感染,易引发系统性炎症反应综合征[1]。脓毒症可影响脑微血管内皮细胞,导致血脑屏障的通透性增加[2]。脑微血管内皮细胞在维持血脑屏障的完整性中起着至关重要的作用,而其中线粒体自噬过程在细胞应激和损伤中尤为关键[1]。然而,目前针对脑微血管内皮细胞线粒体自噬功能障碍的改善方案和治疗靶点研究仍然较少。Sigma-1受体(Sigma-1 receptor,Sigma-1R)是大脑中丰富表达的一种细胞内伴侣蛋白[3]。Sigma-1R可被右美托咪定激活从而减轻脑微血管内皮细胞通透性并增强细胞的自噬[4-5],提示Sigma-1R是一种理想的血脑屏障保护靶点。甲基转移酶样3(methyltransferase-like 3, METTL3)是主要负责N6-甲基腺苷(N6-methyladenosine,m6A)甲基化修饰的重要酶,在脓毒症引发的心肌损伤和肺损伤中发挥关键作用[6-8]。目前METTL3对Sigma-1R的m6A甲基化修饰作用尚不清楚。本研究主要探讨脓毒症中METTL3对Sigma-1R mRNA的m6A甲基化修饰作用以及对脓毒症引起的脑微血管内皮细胞线粒体自噬的调控功能,为未来开发新的治疗策略提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试剂与耗材

12只SPF级8周龄雄性C57BL/6J小鼠购自福建医科大学实验动物中心[动物生产许可证号:SCXK(闽)2022-0001],体质量(22±2)g。脂多糖(lipopolysaccharides,LPS)购自美国Sigma-Aldrich公司。RT-qPCR检测试剂盒购自南京天根生化科技公司。TRIzol试剂购自美国Life Technologies公司。PrimeScript™ RT Reagent Kit购自日本Takara公司。METTL3、Sigma-1R、B细胞淋巴瘤因子2相互作用蛋白3(BCL2 interacting protein 3,Bnip3)、微管相关蛋白1轻链3B(microtubule-associated protein 1 light chain 3 beta,LC3B)、自噬相关蛋白Beclin1、GAPDH一抗和二抗购自美国Cell Signaling Technology公司。ECL发光液购自美国Millipore公司。bEnd.3细胞株购自武汉普诺赛生命科技有限公司。m6A Dot blot试剂购自美国Millipore公司;JC-1探针试剂购自上海碧昂生物科技有限公司。m6A抗体购自英国Abcam公司。沉默METTL3的siRNA重组质粒(si-METTL3)和阴性对照(si-NC)购自广州吉因加生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 动物饲养 12只小鼠在标准饲养条件下进行饲养,温度(22±2)℃,相对湿度(55±5)%,光照周期为12 h光/12 h暗,提供标准小鼠饲料和无菌水,所有小鼠均自由饮食。本实验通过福建医科大学附属第一医院动物伦理委员会的批准(批准号:2023-0115)。

1.2.2 动物建模、分组及脑微血管组织分离 将12只小鼠随机分为假手术组和脓毒症组,每组6只。脓毒症组小鼠通过盲肠结扎穿孔术建模[9],小鼠通过腹腔注射50 mg/kg戊巴比妥钠进行麻醉,开腹后暴露盲肠,结扎盲肠并在远端穿刺2次,脓毒症判断标准见表1。48 h后,迅速分离小鼠新鲜全脑组织,去除小脑和嗅球,置于液氮中,然后-80 ℃保存。将脑组织用3 mL冷蔗糖缓冲液(0.32 mol/L蔗糖、5 mmol/L羟乙基哌嗪乙硫磺酸,pH=7.4)进行充分匀浆,随后以1 000 g离心10 min,弃上清。再次用3 mL蔗糖缓冲液重悬后以1 000 g离心10 min,弃掉髓磷脂层,继续以40 g低速离心10 min,弃掉大血管组织,其余沉淀用1 mL蔗糖缓冲液清洗4次,350 g离心10 min,弃掉上清从而获得脑微血管组织,置于-80 ℃冷冻保存,用于后续实验。

表1 脓毒症判断标准

类别	检测时间点	关键指标
行为学	术后6~48 h动态观察	活动减少、竖毛、体温下降、呼吸急促
血液学	术后24 h	白细胞减少、血小板减少、乳酸升高
炎症因子	术后6~12 h	白细胞介素-6≥500 pg/mL,肿瘤坏死因子-α≥200 pg/mL
器官损伤	术后24 h	丙氨酸氨基转移酶/天冬氨酸氨基转移酶、肌酐/尿素氮升高
病理学	术后48 h(处死后)	盲肠坏死、器官炎性浸润

1.2.3 bEnd.3细胞株的培养和分组处理 将bEnd.3细胞株复苏后移至含10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素混合物的DMEM高糖培养基中,于37 ℃、含5%CO_2和95%空气的培养箱中培养。在细胞融合度为70%~80%时进行传代。将bEnd.3细胞分为4组:对照组正常培养,不进行任何处理;模型组用1 μg/mL LPS诱导体外脓毒症;si-NC组用1 μg/mL LPS处理联合转染2 nmol/L si-NC;si-METTL3组用1 μg/mL LPS处理联合转染2 nmol/L si-METTL3。处理24 h后,收集各组细胞用于后续实验。

1.2.4 m6A Dot blot检测 取各组小鼠脑微血管组织和bEnd.3细胞,TRIzol法提取总RNA,然后将RNA样品稀释至100 ng/μL。将10 μL RNA均匀点滴至硝

酸纤维素膜上,自然干燥后用0.01%亚甲蓝染色进行阳性对照,使用专用m6A Dot blot检测套件(美国Cell Signaling Technology公司)进行m6A检测。膜上的m6A信号通过化学发光法检测并定量。

1.2.5 RT-qPCR法检测METTL3和Sigma-1R的表达 使用TRIzol试剂提取总RNA,使用PrimeScript™ RT Reagent Kit试剂进行逆转录反应,合成cDNA后,用SYBR® Premix Ex Taq™进行RT-qPCR,反应体系及条件均依据试剂盒说明书进行。引物序列:METTL3正向引物5′-AGGCTTCTGGTAAGAATG-3′,反向引物5′-CGATTTCCTCCCATTTCTC-3′;Sigma-1R正向引物5′-GCCCAGATGTACCAACACC-3′,反向引物5′-GCTAATTCCGAAGGCTTATCAG-3′。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算METTL3、Sigma-1R的相对表达量。

1.2.6 Western blot检测相关蛋白表达 提取蛋白后,用BCA蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度,并取等量蛋白样品进行SDS-PAGE电泳分离。转膜后与METTL3(1∶500)、Sigma-1R(1∶1 000)、Bnip3(1∶600)、LC3B(1∶1 000)和Beclin1(1∶800)一抗孵育,随后加入HRP标记的抗兔IgG二抗(1∶2 000)孵育。使用ECL发光液进行显色,使用Image Lab软件进行定量分析。

1.2.7 免疫共沉淀-qPCR技术检测Sigma-1R mRNA的m6A甲基化水平 提取总RNA后,使用抗m6A抗体(工作浓度1∶1 000)进行免疫共沉淀反应,qPCR检测方法同RT-qPCR。Sigma-1R-UTR的引物设计如下:正向引物5′-TCAAACACAGCCGCCAAAG-3′,反向引物5′-GGGAGGCAATTTGCAAGTAGG-3′。

1.2.8 JC-1探针法检测线粒体膜电位 PBS重悬细胞后,加入5 μmol/L JC-1工作液,37 ℃孵育20 min,使用荧光显微镜捕捉红色荧光(高膜电位线粒体)和绿色荧光(低膜电位线粒体)图像,通过荧光信号比值(红/绿)判断细胞的膜电位变化。线粒体膜电位正常率=红色荧光细胞数/总细胞数×100%;线粒体膜电位增加率=非对照组红绿色荧光比值/对照组红绿色荧光比值×100%。

1.2.9 三磷酸腺苷(adenosine triphosphate,ATP)含量检测 裂解细胞后,在超声波处理池中以冰浴方式匀浆5 min,4 ℃下以12 000 g离心10 min,收集上清液。根据ATP含量检测试剂盒(上海碧昂生物科技有限公司)说明书标准曲线制作流程,采用深96孔板和生物荧光检测仪(山东优云谱光电科技有限公司)进行检测,最终产物于560 nm波长处测量吸光度值,按标准曲线计算ATP含量。

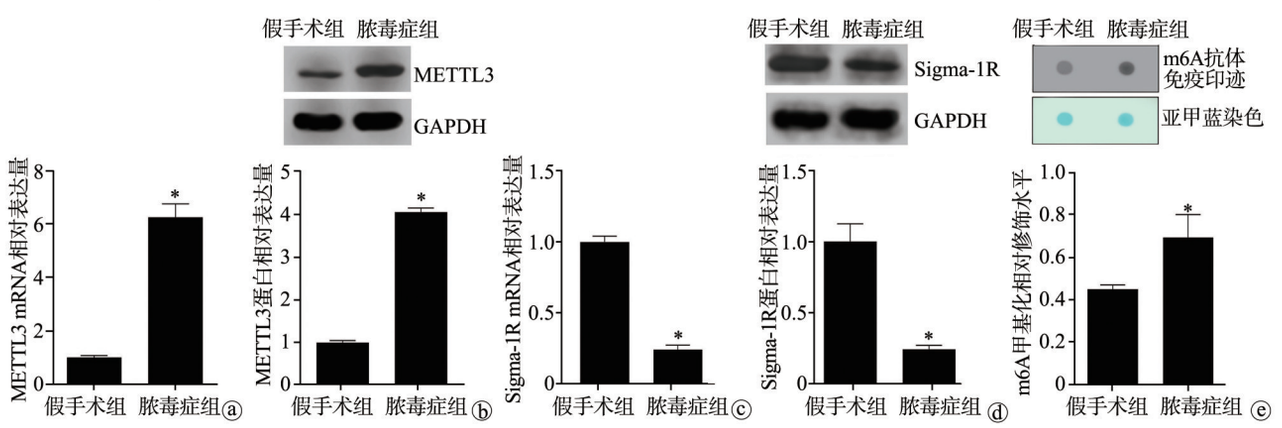
1.3 统计学分析

采用SPSS 21.0统计学软件进行数据分析,结果以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,使用独立样本t检验进行2组间比较,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用*LSD-t*法。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脓毒症小鼠脑微血管组织中的m6A甲基化水平及METTL3和Sigma-1R的表达

与假手术组比较,脓毒症组小鼠脑微血管组织中METTL3的mRNA和蛋白表达均上调($P<0.05$),Sigma-1R的mRNA和蛋白表达均下调($P<0.05$),m6A甲基化水平增加($P<0.05$),见图1。

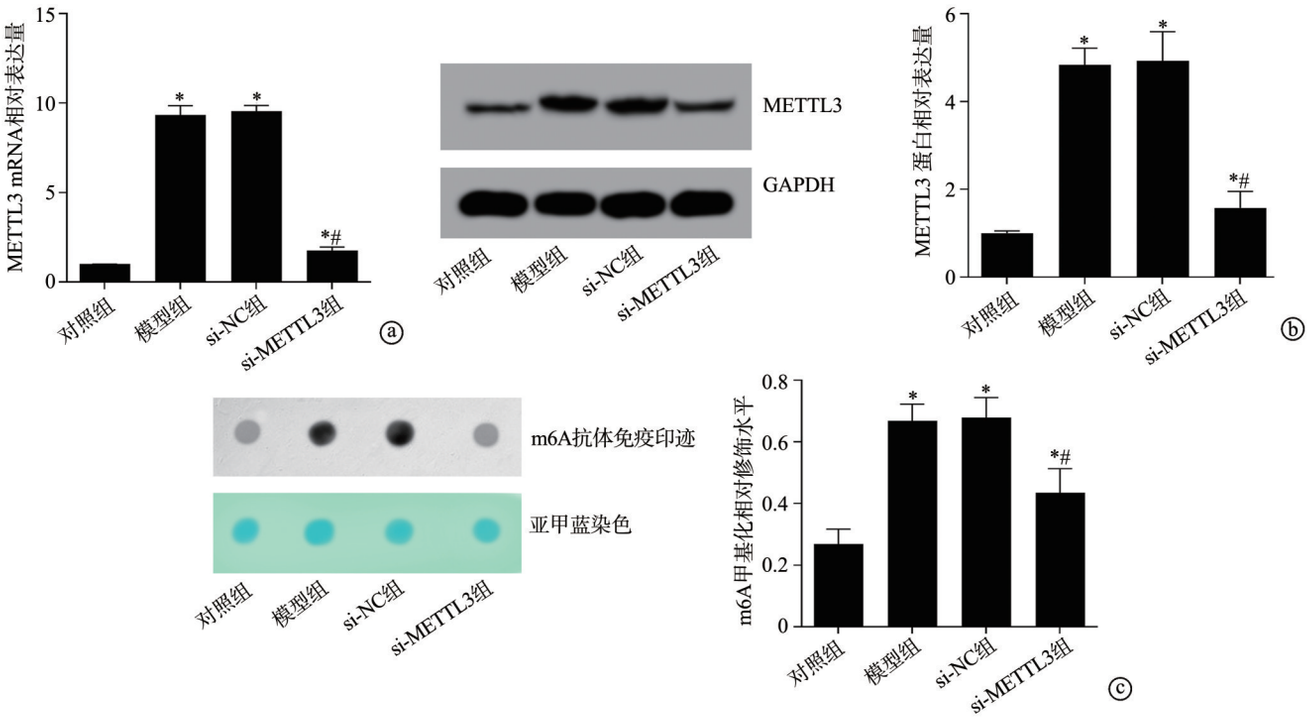


a、b:METTL3的mRNA和蛋白表达;c、d:Sigma-1R的mRNA和蛋白表达;e:m6A甲基化修饰水平 *:与假手术组比较,$P<0.05$

图1 脓毒症小鼠脑微血管组织中的m6A甲基化水平及METTL3和Sigma-1R的表达

2.2 沉默METTL3调控LPS刺激下脑微血管内皮细胞中METTL3的表达和m6A甲基化水平

与对照组比较,模型组和si-NC组细胞中METTL3的mRNA和蛋白表达上调,且m6A甲基化水平增加,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与si-NC组比较,si-METTL3组细胞中METTL3的mRNA和蛋白表达下调,m6A甲基化水平降低,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图2。

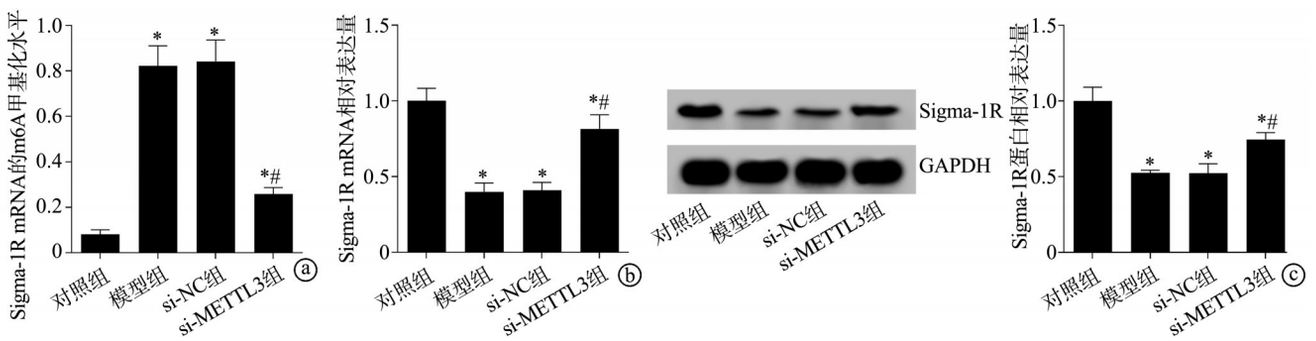


a、b:各组细胞中METTL3的mRNA和蛋白表达;c:各组细胞中m6A甲基化修饰水平 *:与对照组比较,$P<0.05$;#:与si-NC组比较,$P<0.05$

图2 沉默METTL3调控LPS刺激下脑微血管内皮细胞中METTL3的表达和m6A甲基化水平

2.3 沉默METTL3调控LPS刺激下脑微血管内皮细胞中Sigma-1R的表达以及m6A甲基化水平

与对照组比较,模型组和si-NC组细胞中Sigma-1R mRNA的m6A甲基化水平增加($P<0.05$),Sigma-1R的mRNA和蛋白表达下调($P<0.05$)。与si-NC组比较,si-METTL3组细胞中Sigma-1R mRNA的m6A甲基化水平降低($P<0.05$),Sigma-1R的mRNA和蛋白表达上调($P<0.05$),见图3。



a:各组细胞中Sigma-1R mRNA的m6A甲基化修饰水平;b、c:各组细胞中Sigma-1R的mRNA和蛋白表达 *:与对照组比较,$P<0.05$;#:与si-NC组比较,$P<0.05$

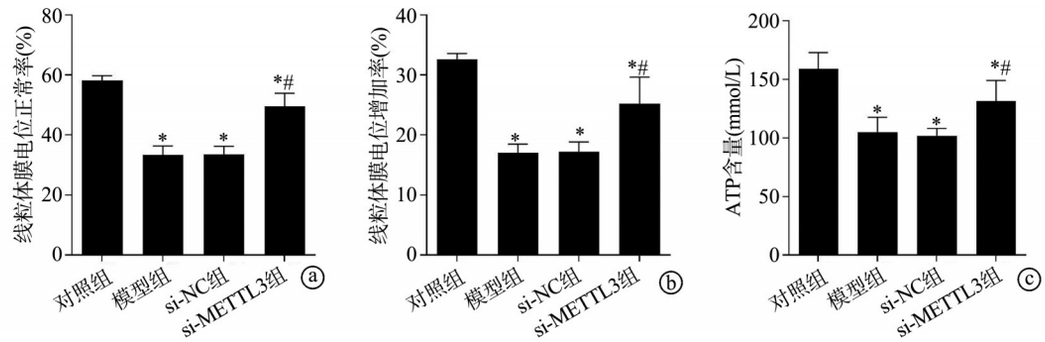
图3 沉默METTL3调控LPS刺激下脑微血管内皮细胞中Sigma-1R的表达以及m6A甲基化水平

2.4 沉默METTL3调控LPS刺激下脑微血管内皮细胞的线粒体功能

与对照组比较,模型组和si-NC组细胞中线粒体膜电位正常率和增加率均降低($P<0.05$),ATP含量减少($P<0.05$);与si-NC组比较,si-METTL3组细胞中线粒体膜电位正常率和增加率均升高($P<0.05$),ATP含量增加($P<0.05$),见图4。

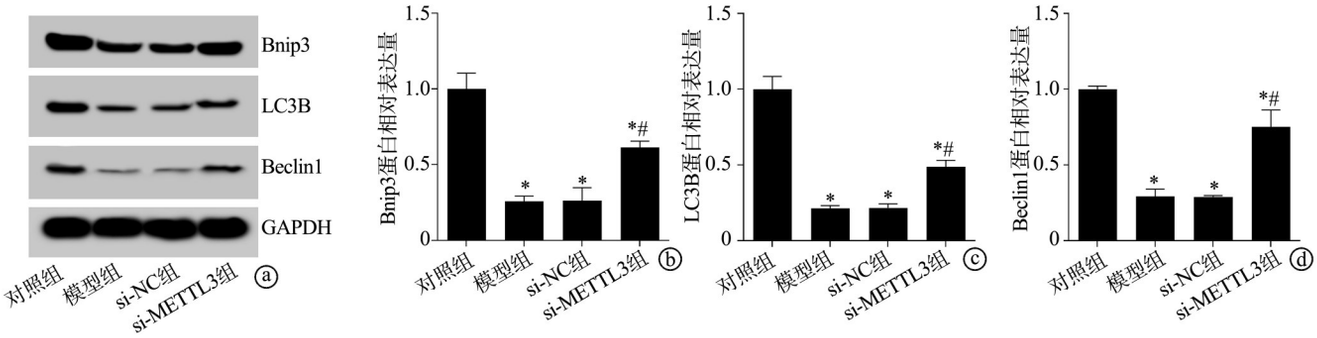
2.5 沉默METTL3调控LPS刺激下脑微血管内皮细胞中的线粒体自噬

与对照组比较,模型组和si-NC组细胞中Bnip3、LC3B、Beclin1蛋白表达均下调($P<0.05$);与si-NC组比,si-METTL3组细胞中Bnip3、LC3B、Beclin1蛋白表达均上调($P<0.05$),见图5。



a、b:各组细胞中线粒体膜电位的变化;c:各组细胞中ATP含量 *:与对照组比较,$P<0.05$;#:与si-NC组比较,$P<0.05$

图4 沉默METTL3调控LPS刺激下脑微血管内皮细胞的线粒体功能



a:各组细胞中Bnip3、LC3B、Beclin1蛋白条带;b~d:各组细胞中Bnip3、LC3B、Beclin1蛋白表达 *:与对照组比较,$P<0.05$;#:与si-NC组比较,$P<0.05$

图5 沉默METTL3调控LPS刺激下脑微血管内皮细胞中的线粒体自噬

3 讨论

m6A甲基化作为常见的mRNA表观遗传修饰,在多种疾病的发生发展中起关键作用[10]。已有研究表明,METTL3介导的m6A修饰参与了脓毒症相关器官损伤的调控,如心肌病变和肺损伤等[6-8]。Sigma-1R作为一种位于线粒体相关内质网膜的伴侣蛋白,在调节线粒体功能和细胞自噬中具有重要作用,其激活可改善神经系统功能障碍[4]。本研究通过建立脓毒症小鼠模型和体外细胞实验发现,脓毒症使脑微血管组织中的m6A甲基化水平和METTL3表达显著增加,Sigma-1R表达降低;而沉默METTL3可有效抑制Sigma-1R mRNA的m6A甲基化水平,上调Sigma-1R的表达,并改善线粒体膜电位和ATP含量。这些结果提示,METTL3可能通过m6A甲基化负调控Sigma-1R的表达,导致脑微血管内皮细胞线粒体功能障碍和自噬失调。本研究的发现为进一步理解脓毒症相关脑损伤的机制提供了新的视角,也为脑微血管内皮功能障碍的治疗提供了新的依据。

METTL3是m6A甲基化修饰的主要催化酶,m6A修饰已被证明在多种病理过程中发挥重要作用[10]。以往研究显示,m6A甲基化在神经系统疾病中参与调控细胞功能和神经可塑性等过程[11]。在脓毒症中,中枢神经系统的炎症反应显著,而脑微血管作为血脑屏障的重要组成部分,其功能障碍直接关系到脑部健康[12]。本研究结果显示,脓毒症小鼠脑微血管中的m6A甲基化水平明显升高,同时METTL3的表达也显著增加。由此可以推测,在脓毒症状态下,METTL3介导的m6A甲基化可能通过调控关键信号通路和相关基因表达,促进脑微血管障碍的发生发展;此外,沉默METTL3不仅降低了m6A甲基化水平,还影响了脑微血管内皮细胞的线粒体自噬和能量代谢,这提示m6A修饰可能通过多层面调控,共同参与脓毒症引起的脑微血管障碍。

本研究在体内外脓毒症模型中均证明了Sigma-1R mRNA的m6A甲基化水平显著升高,而Sigma-1R的mRNA和蛋白表达下降,提示m6A甲基化对Sigma-1R的负调控可能是导致脓毒症脑微血管内皮细胞线粒体自噬功能障碍的重要原因。Sigma-1R在线粒体自噬和能量代谢中起着至关重要的作用,其可增强线粒体功能,促进ATP生成,并通过调控钙离子稳态保护细胞免受应激损伤[5,13-14]。而脓毒症状态下,Sigma-1R表达下降可能导致线粒体功能不全,进一步引发细胞能量危机和损伤。本研究沉默METTL3后,Sigma-1R的表达显著恢复,线粒体膜电位正常率和ATP含量显著上升,表明Sigma-1R的恢复可能对改善线粒体功能具有积极作用,且Sigma-1R可能通过调控自噬相关蛋白LC3B和Beclin1促进线粒体自噬,从而维持线粒体

质量和功能。

线粒体在维持细胞能量供应、氧化还原平衡和细胞增殖活性中具有重要作用,尤其是在脑微血管内皮细胞中,线粒体功能失调可直接影响血脑屏障的完整性和通透性[15-16]。研究表明,脓毒症加剧线粒体损伤,导致能量代谢紊乱[17]。本研究发现,沉默METTL3可显著改善线粒体功能障碍,提高线粒体膜电位和ATP含量,减少氧化应激。由此可见,通过调控METTL3和m6A甲基化,可以有效缓解脓毒症引起的脑微血管功能障碍,这为寻找新的脓毒症治疗靶点提供了依据。

Bnip3和LC3B是线粒体自噬过程中的关键蛋白,Beclin1是线粒体自噬的早期信号,三者在调控细胞自噬水平和维持线粒体稳态中发挥重要作用[18]。本研究结果显示,脓毒症可使脑微血管内皮细胞中的Bnip3、Beclin1、LC3B表达下调,而沉默METTL3则可使上述蛋白的表达恢复。这提示METTL3可能通过调控m6A甲基化水平影响Bnip3、Beclin1和LC3B的表达,进而调控线粒体自噬过程。

然而本研究仍存在局限性:样本量较小,需要在未来的研究中加大样本量深入研究;仅关注了m6A甲基化在个别关键基因中的作用,关于m6A修饰对整个转录组水平的影响并未完全阐明,未来可利用高通量测序技术(如m6A-Seq)进一步研究;虽然沉默METTL3对改善线粒体功能障碍和自噬过程有显著效果,但具体的信号通路及机制仍需更深入的研究。

综上所述,METTL3介导的m6A甲基化在脓毒症诱导的脑微血管内皮细胞功能障碍中具有关键作用。沉默METTL3可降低m6A甲基化水平,抑制Sigma-1R mRNA的m6A甲基化,从而恢复Sigma-1R表达,进而改善线粒体自噬和功能。表明靶向METTL3介导的Sigma-1R m6A甲基化修饰可成为调控脓毒症脑微血管内皮细胞线粒体自噬的新策略,为脓毒症的治疗提供了新的思路和潜在靶点。

[参考文献]

[1] Ding H, Li Y, Chen S, et al. Fisetin ameliorates cognitive impairment by activating mitophagy and suppressing neuroinflammation in rats with sepsis-associated encephalopathy[J]. CNS Neurosci Ther, 2022, 28(2):247-258. doi:10.1111/cns.13765.

[2] Yue J, Tan Y, Huan R, et al. Mast cell activation mediates blood-brain barrier impairment and cognitive dysfunction in septic mice in a histamine-dependent pathway[J]. Front Immunol, 2023, 14:1090288. doi:10.3389/fimmu.2023.1090288.

[3] Ooi K, Hu L, Feng Y, et al. Sigma-1 receptor activation suppresses microglia M1 polarization via regulating endoplasmic reticulum-mitochondria contact and mitochondrial functions in stress-induced hypertension rats[J]. Mol Neurobiol, 2021, 58(12):6625-6646. doi:10.1007/s12035-021-02488-6.

[4] Zhao Q, Yu S, Ling Y, et al. The protective effects of dexmedetomidine against hypoxia/reoxygenation-induced inflammatory injury and permeability in brain endothelial cells mediated by Sigma-1 receptor [J]. ACS Chem Neurosci, 2021, 12(11):1940-1947. doi:10.1021/acschemneuro.1c00032.

[5] Lin CY, Wu HE, Weng EF, et al. Fluvoxamine exerts Sigma-1R to rescue autophagy via Pom121-mediated nucleocytoplasmic transport of TFEB[J]. Mol Neurobiol, 2024, 61(8):5282-5294. doi:10.1007/s12035-023-03885-9.

[6] Liang L, Liu S, Wu Q, et al. m6A-mediated upregulation of miRNA-193a aggravates cardiomyocyte apoptosis and inflammatory response in sepsis-induced cardiomyopathy via the METTL3/miRNA-193a/BCL2L2 pathway[J]. Exp Cell Res, 2023, 430(1):113712. doi:10.1016/j.yexcr.2023.113712.

[7] Wu D, Spencer CB, Ortoga L, et al. Histone lactylation-regulated METTL3 promotes ferroptosis via m6A-modification on ACSL4 in sepsis-associated lung injury[J]. Redox Biol, 2023, 74:103194. doi:10.1016/j.redox.2023.103194.

[8] Qu M, Chen Z, Qiu Z, et al. Neutrophil extracellular traps-triggered impaired autophagic flux via METTL3 underlies sepsis-associated acute lung injury[J]. Cell Death Discov, 2022, 8(1):375. doi:10.1038/s41420-022-01108-7.

[9] Feng D, Guo R, Liao W, et al. Plantamajoside alleviates acute sepsis-induced organ dysfunction through inhibiting the TRAF6/NF-κB axis [J]. Pharm Biol, 2023, 61(1):897-906. doi:10.1038/s41420-022-01166-3.

[10] Jiang X, Liu B, Nie Z, et al. The role of m6A modification in the biological functions and diseases[J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1):74. doi:10.1038/s41392-020-00450-x.

[11] Zhang N, Ding C, Zuo Y, et al. N6-methyladenosine and neurological diseases[J]. Mol Neurobiol, 2022, 59(3):1925-1937. doi:10.1007/s12035-022-02739-0.

[12] Cheng X, Ren Z, Jia H, et al. METTL3 mediates microglial activation and blood-brain barrier permeability in cerebral ischemic stroke by regulating NLRP3 inflammasomes through m6A methylation modification [J]. Neurotox Res, 2023, 48(4):992-1006. doi:10.1007/s12640-024-00687-2.

[13] Wang SM, Wu HE, Yasui Y, et al. Nucleoporin POM121 signals TFEB-mediated autophagy via activation of SIGMAR1/sigma-1 receptor chaperone by pridopidine[J]. Autophagy, 2023, 19(1):126-151. doi:10.1080/15548627.2022.2063003.

[14] Moriguchi S, Sakagami H, Yabuki Y, et al. Stimulation of Sigma-1 receptor ameliorates depressive-like behaviors in CaMKIV null mice [J]. Mol Neurobiol, 2015, 52(3):1210-1222. doi:10.1007/s12035-014-8923-2.

[15] McCall CE, Zhu X, Zabalawi M, et al. Sepsis, pyruvate, and mitochondria energy supply chain shortage[J]. J Leukoc Biol, 2022, 112(6):1509-1514. doi:10.1002/JLB.3MR0322-692RR.

[16] Hu Y, Bi Y, Yao D, et al. Omi/HtrA2 protease associated cell apoptosis participates in blood-brain barrier dysfunction[J]. Front Mol Neurosci, 2019, 12:48. doi:10.3389/fnmol.2019.00048.

[17] Wu B, Song H, Fan M, et al. Luteolin attenuates sepsis-induced myocardial injury by enhancing autophagy in mice[J]. Int J Mol Med, 2020, 45(5):1477-1487. doi:10.3892/ijmm.2020.4536.

[18] Fu ZJ, Wang ZY, Xu L, et al. HIF-1α-BNIP3-mediated mitophagy in tubular cells protects against renal ischemia/reperfusion injury[J]. Redox Biol, 2020, 36:101671. doi:10.1016/j.redox.2020.101671.

(编辑:龙小芬)