

尼克酰胺 - N - 甲基转移酶的研究进展

李座宇 麻 勇

摘 要 尼克酰胺 - N - 甲基转移酶 (nicotinamide N - methyltransferase, NNMT) 的主要功能是将尼克酰胺 (nicotinamide, NAM) 甲基化, 生成甲基尼克酰胺 (N1 - methylnicotinamide, MNA)。最初 NNMT 被发现是因其甲基化功能在多种组织的代谢过程中起着非常重要的作用, 例如脂肪组织、肝脏、癌组织等。近年又有研究发现, NNMT 在炎症反应、肿瘤形成等过程中也具有重要的作用, 然而其作用机制尚未被阐明。因此, NNMT 是一种非常具有研究潜力的蛋白。本文旨在对 NNMT 近年来的相关研究进展做一简要综述。

关键词 尼克酰胺 - N - 甲基转移酶 研究进展 综述

中图分类号 R34 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.08.004

1951 年, 尼克酰胺 - N - 甲基转移酶 (nicotinamide N - methyltransferase, NNMT) 被提纯出来并确定了其具有甲基化的功能, 但具体的作用机制未明。最初对 NNMT 的研究多为其甲基化功能对脂肪细胞功能及能量代谢的影响。后续的研究发现 NNMT 在炎症反应、肿瘤形成等也具有重要作用, 相关生物学效应成为了多个领域的研究热点。

NNMT 编码基因位于第 11 号染色体, 由 2 个内含子和 3 个外显子构成, 全长 16.5kb, 转录生成的 mRNA 具有 1579 个碱基, 编码的蛋白具有 264 个氨基酸。NNMT 最重要的功能是以 S - 腺苷基甲硫氨酸 (S - adenosyl methionine, SAM) 为甲基供体催化尼克酰胺 (nicotinamide, NAM) 的甲基化反应, 生成 S - 腺苷 - L - 高半胱氨酸 (s - adenosyl - l - homocysteine, SAH) 和甲基尼克酰胺 (N1 - methylnicotinamide, MNA)。NNMT 基因在肝脏中的表达最高, 其次在脂肪组织 (皮下及内脏)、动脉 (主动脉和冠状动脉)、肌肉及间叶组织中高表达, 在中枢神经系统和造血细胞中低表达。然而, NNMT 基因在肝脏和脂肪组织中的表达也可受代谢状态的影响而发生大幅变化^[1-3]。目前已知 NNMT 基因在癌细胞中的表达活性可受信号转导与转录激活子 - 3 (signal transducer and activator of transcription - 3, Stat3)、肝细胞核因子 - 1 β (hepatocyte nuclear factor 1 β , HNF - 1 β) 等调

节因子的调节, 但其具体机制尚未阐明。

一、NNMT 与烟酰胺腺嘌呤二核苷酸代谢

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺) 最重要的功能是为线粒体复合体 I 提供电子以及调节多种氧化还原反应酶的功能, 也可以和去乙酰化酶、聚 - ADP - 核糖基转移酶共同参与脱乙酰作用及 ADP - 核糖基化反应, 从而调节多种代谢过程^[4,5]。研究 NNMT 的实验中的最佳底物是 NAM, NAM 是生成 NAD⁺ 的前体, 因此理论上 NNMT 甲基化 NAM 的过程可影响 NAD⁺ 依赖性酶的活性。但实验证实 NNMT 并不直接调节细胞内 NAM 及 NAD⁺ 的量, 降低活体小鼠 NNMT 基因的表达未引起 NAM 在肝脏及脂肪组织中堆积, 也未引起肝细胞内 NAD⁺ 量的改变, 但是现在尚没有充足的证据解释这种现象^[3,6]。

二、NNMT 与炎症

在小鼠和人类的炎症损伤中, 组织中 NNMT 表达明显升高。例如伴有肌肉萎缩的 COPD 患者的肺组织及骨骼肌、营养不良患者的骨骼肌、刀豆球蛋白 A 引起的肝炎及肺动脉高压等^[7,8]。在患有上述基础疾病的患者及实验模型中, 炎症反应被认为是促进 NNMT 表达及活性增加的因素。在细胞水平的实验中, 用 IL - 6、TNF - α 或 TGF - β 刺激人骨骼肌成肌细胞, 可导致 NNMT 表达升高。因此, NNMT 及 MNA 在炎症反应中被认为是保护因素, 但具体的保护机制仍待进一步研究^[9]。

三、NNMT 与氧化应激

有研究发现, 用高浓度 H₂O₂ 处理成肌细胞, NNMT 的表达降低。若上调骨骼肌细胞 NNMT 的表

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81470876, 81270527); 黑龙江省留学归国人员科学基金资助项目 (LC2018037)

作者单位: 150001 哈尔滨医科大学附属第一医院肝脏外科

通讯作者: 麻勇, 教授, 博士生导师, 电子信箱: mayong@ems.hrbmu.edu.cn

达,则降低了蛋白质氧化和 H_2O_2 诱导的细胞死亡,从而证明了 NNMT 在骨骼肌细胞的氧化应激反应中起保护作用。

Tanaka 等^[10]用棕榈酸脂-白蛋白刺激肾小管上皮细胞并检测 19 种候选酶的 mRNA 表达情况,发现 NNMT 基因编码的 mRNA 表达水平最高,游离脂肪酸集合白蛋白刺激小鼠肾脏也产生同样的趋势,血浆检测发现 NNMT 的代谢物 MNA 也明显增加。用游离脂肪酸集合白蛋白刺激 NNMT 基因过表达小鼠的肾脏,与野生型小鼠比较,肾小管细胞凋亡的比例明显降低。口服 MNA 也可改善游离脂肪酸集合白蛋白过载的小鼠肾脏中的氧化应激、凋亡、坏死、炎症和纤维化。由此证明 NNMT 通过生成 MNA 保护肾小管上皮细胞免受氧化应激损伤。

四、NNMT 与癌症

随着基因芯片技术进步及蛋白组学技术发展,人们研究发现 NNMT 在不同的癌组织中呈现差异性表达。当前研究发现,NNMT 在脑胶质瘤、甲状腺乳头状癌、肾透明细胞癌、膀胱癌等癌组织中的表达量明显高于邻近的正常组织,然而,NNMT 仅在肝细胞癌组织中呈现表达量降低。在膀胱癌、肾透明细胞癌、胰腺癌、口腔鳞状细胞癌等细胞中,下调 NNMT 的表达可使癌细胞的增殖及侵袭能力减弱,提示 NNMT 在癌细胞中高表达是增加癌细胞侵袭性的因素之一,但促使癌细胞中 NNMT 表达增高的因素尚未发现^[11,12]。

上述研究表明 NNMT 在不同的癌症表型中确实起着重要的作用,但其作用机制尚未阐明。因此,ULanovskaya 提出了一个假说,即 NNMT 可能起到甲基供体库的作用^[13]。SAM 被认为是所有甲基转移酶的辅因子,包括 NNMT 及组蛋白甲基转移酶,所以常用 SAM 与其产物 SAH 的比值(SAM/SAH)来描述甲基转移酶的活性。在肾透明细胞癌细胞中过表达 NNMT,SAM/SAH 的值下降,与转录抑制因子有关的结合位点甲基化水平下降,而某些促癌基因产物的表达增加。若使卵巢癌细胞 SKOV3 的 NNMT 基因低表达,则情况相反。类似的甲基化也发生在一种非甲基化蛋白——蛋白磷酸酶 2 上,这提示细胞内仍有其他靶点可以随着 NNMT 表达情况的改变而呈现出不同的甲基化水平^[14]。由此可见,NNMT 与癌细胞的表观遗传学之间具有特定的联系,但这种联系仍需进一步探索。

五、NNMT 与内皮

有研究发现,NNMT 甲基化 NAM 的产物-MNA

具有促进内皮细胞释放前列环素的功能,从而减缓血栓形成及炎性反应。MNA 通过促进内皮细胞释放 NO 抵抗钙通道和乙酰胆碱的缩血管作用,并能够通过调节 ADMA-DDAH 通路减轻动脉粥样硬化的形成^[15,16]。MNA 对内皮细胞的保护功能可能是通过环氧化酶-2 及内皮型一氧化氮合酶介导,但具体机制尚未阐明。因此,对 MNA 的研究可能成为内皮细胞功能障碍疾病(如血栓、高血压、动脉粥样硬化等)治疗药物研发的新方向。

六、NNMT 与脂肪组织

脂肪组织中 NNMT 及 MNA 的表达与胰岛素抵抗及 BMI 指数呈正相关^[1,2]。Kannt 等^[1]发现与健康人群相比,2 型糖尿病患者的皮下及网膜的脂肪组织中 NNMT 的表达量成倍增加。网膜脂肪组织中 NNMT 及 MNA 的表达与胰岛素抵抗呈正相关,增加患者的胰岛素敏感度,脂肪组织中的 NNMT 表达量降低。但这项研究并没有探讨 NNMT 的表达与 BMI 的关系。Liu 等^[2]通过分析 1160 个中国人血清样本发现,MNA 的表达与 BMI、腰臀围呈正相关。Kannt 等^[1]开展的研究显示,2 型糖尿病患者与对照组的 BMI 分别为 47kg/m^2 和 33kg/m^2 。Liu 等^[2]的研究对象只有 $23 \sim 24\text{kg/m}^2$,比较以上 3 组研究对象的 BMI 与 NNMT 的表达情况却并不遵循上述规律,而造成这种差异的原因尚不清楚,可能归因于种族特性和研究队列的大小。上述研究表明,NNMT 甲基化 NAM 的过程可能造成胰岛素抵抗。然而,NNMT 抑制剂应用于肥胖和糖尿病的治疗仍有待于深入研究,长期应用 NNMT 抑制剂对肝脏及内皮等组织的影响是其应用于临床前需要解决的问题。

七、其他

NNMT 在人胚胎干细胞中高表达,其甲基化功能消耗了大量的 SAM,从而抑制了其他甲基化酶的功能,导致 DNA 和组蛋白处于低甲基化状态,这是低分化多能性胚胎干细胞的特性。随着低分化多能性胚胎干细胞发育,NNMT 的表达逐渐降低,更多的 SAM 被用于其他甲基化酶催化的反应。

NNMT 在肝脏表达最强,但肝脏中大多数的甲基供体被胍基乙酸 N-甲基转移酶及磷脂酰乙醇胺 N-甲基转移酶所利用。因此降低 NNMT 表达后,肝脏中 SAM/SAH 的值无显著变化。高剂量的 NNMT 底物——NAM 可引起肝脏 SAM 消耗,但仅限于饲以低甲基供体的饮食。

综上所述,随着对 NNMT 研究的增多,其生物学

效应越来越被大家重视。对 NNMT 的研究主要基于 NNMT 的甲基化功能、NAM 的代谢和 MNA 的代谢功能。对 MNA 生理学功能的研究最重要的是找到其下游靶点而发现新功能。NNMT 在许多疾病的发生、发展过程中均起作用,如哮喘、非酒精性脂肪肝、精神疾病(如精神分裂症及癫痫)等,但具体机制仍有待研究^[17-19]。2017 年 10 月 26 日,欧盟批准了 MNA 作为新资源食品的申请,随着对 NNMT 研究的深入,其科研前景及临床应用价值将被进一步发掘。

参考文献

- 1 Kannt A, Pfenninger A, Teichert L, *et al.* Association of nicotinamide - N - methyltransferase mRNA expression in human adipose tissue and the plasma concentration of its product, 1 - methylnicotinamide, with insulin resistance[J]. *Diabetologia*, 2015, 58(4): 799 - 808
- 2 Liu M, Li L, Chu J, *et al.* Serum N(1) - methylnicotinamide is associated with obesity and diabetes in Chinese [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100(8): 3112 - 3117
- 3 Hong S, Moreno - Navarrete JM, Wei X, *et al.* Nicotinamide N - methyltransferase regulates hepatic nutrient metabolism through Sirt1 protein stabilization[J]. *Nat Med*, 2015, 21(8): 887 - 894
- 4 Canto C, Menzies KJ, Auwerx J. NAD(+) metabolism and the control of energy homeostasis: a balancing act between mitochondria and the nucleus[J]. *Cell Metab*, 2015, 22(1): 31 - 53
- 5 Yang Y, Sauve AA. NAD(+) metabolism: bioenergetics, signaling and manipulation for therapy[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1864(12): 1787 - 1800
- 6 Kraus D, Yang Q, Kong D, *et al.* Nicotinamide N - methyltransferase knockdown protects against diet - induced obesity[J]. *Nature*, 2014, 508(7495): 258 - 262
- 7 Zhang H, Ryu D, Wu Y, *et al.* NAD(+) repletion improves mitochondrial and stem cell function and enhances life span in mice[J]. *Science*, 2016, 352(6292): 1436 - 1443
- 8 Fedorowicz A, Mateuszuk L, Kopec G, *et al.* Activation of the nicotinamide N - methyltransferase (NNMT) - 1 - methylnicotinamide (MNA) pathway in pulmonary hypertension[J]. *Respir Res*, 2016, 17(1): 108
- 9 Jakubowski A, Sternak M, Jablonski K, *et al.* 1 - Methylnicotinamide protects against liver injury induced by concanavalin A via a

prostacyclin - dependent mechanism: a possible involvement of IL - 4 and TNF - alpha[J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 31: 98 - 104

- 10 Tanaka Y, Kume S, Araki H, *et al.* 1 - Methylnicotinamide ameliorates lipotoxicity - induced oxidative stress and cell death in kidney proximal tubular cells[J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, 89: 831 - 841
- 11 Yu T, Wang YT, Chen P, *et al.* Effects of nicotinamide N - methyltransferase on PANC - 1 cells proliferation, metastatic potential and survival under metabolic stress[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35(2): 710 - 721
- 12 Pozzi V, Sartini D, Morganti S, *et al.* RNA - mediated gene silencing of nicotinamide N - methyltransferase is associated with decreased tumorigenicity in human oral carcinoma cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e71272
- 13 Ulanovskaya OA, Zuhl AM, Cravatt BF. NNMT promotes epigenetic remodeling in cancer by creating a metabolic methylation sink[J]. *Nat Chem Biol*, 2013, 9(5): 300 - 306
- 14 Palanichamy K, Kanji S, Gordon N, *et al.* NNMT silencing activates tumor suppressor PP2A, inactivates oncogenic STKs, and inhibits tumor forming ability[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(9): 2325 - 2334
- 15 Domagala TB, Szeffler A, Dobrucki LW, *et al.* Nitric oxide production and endothelium - dependent vasorelaxation ameliorated by N1 - methylnicotinamide in human blood vessels [J]. *Hypertension*, 2012, 59(4): 825 - 832
- 16 Jiang N, Wang M, Song J, *et al.* N - methylnicotinamide protects against endothelial dysfunction and attenuates atherogenesis in apolipoprotein E - deficient mice[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2016, 60(7): 1625 - 1636
- 17 Bromberg A, Lerer E, Udawela M, *et al.* Nicotinamide - N - methyltransferase (NNMT) in schizophrenia: genetic association and decreased frontal cortex mRNA levels[J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2012, 15(6): 727 - 737
- 18 Wang GX, Zhang Y, Lv ZW, *et al.* Female specific association between NNMT gene and schizophrenia in a Han Chinese population [J]. *Int J Med Sci*, 2014, 11(12): 1234 - 1239
- 19 Sazci G, Sazci B, Sazci A, *et al.* Association of Nicotinamide - N - methyltransferase gene rs694539 variant with epilepsy[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(6): 4197 - 4200

(收稿日期: 2018 - 10 - 29)

(修回日期: 2018 - 11 - 02)

(接第 19 页)

- 20 Ho YC, Cheng JK, Chiou LC. Impairment of adenylyl cyclase - mediated glutamatergic synaptic plasticity in the periaqueductal grey in a rat model of neuropathic pain[J]. *J Physiol*, 2015, 593(13): 2955 - 2973
- 21 Lovick TA. Estrous cycle and stress: influence of progesterone on the female brain[J]. *Brazilian J Med Biol Res*, 2012, 45(4): 314 - 320
- 22 Devall AJ, Santos JM, Fry JP, *et al.* Elevation of brain allopregnanolone rather than 5 - HT release by short term, low dose fluoxetine treatment prevents the estrous cycle - linked increase in stress sensitivity in female rats[J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2015, 25(1):

113 - 123

- 23 Reddy DS. Chapter 8 - neurosteroids: endogenous role in the human brain and therapeutic potentials[J]. *Progr in Brain Res*, 2010, 186(186): 113 - 137
- 24 Lovick TA. Estrous cycle and stress: influence of progesterone on the female brain[J]. *Brazilian J Med Biol Res*, 2012, 45(4): 314 - 320
- 25 Devall AJ, Santos JM, Lovick TA. Estrous cycle stage influences on neuronal responsiveness to repeated anxiogenic stress in female rats [J]. *Behav Brain Res*, 2011, 225(1): 334 - 340

(收稿日期: 2018 - 10 - 05)

(修回日期: 2018 - 11 - 12)