

RNA m⁶A甲基化在呼吸系统疾病中的研究进展

王艳华^{1,2*}

(¹三峡大学肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室, 宜昌 443000; ²三峡大学医学院病理学系, 宜昌 443000)

摘要: RNA m⁶A甲基化是较常见的表观遗传修饰方式之一, 在不改变mRNA序列的前提下, 可通过化学修饰调节基因转录后的表达水平。RNA甲基化修饰受RNA甲基转移酶、RNA去甲基化酶以及RNA甲基化结合蛋白的动态调控。RNA甲基化失调可导致多种疾病的发生。本文介绍了RNA甲基化异常在慢性阻塞性肺疾病、呼吸系统肿瘤、特发性肺纤维化、肺动脉高压以及肺尘埃沉着病发生中的作用机制, 指出METTL3、FTO调节的NF-κB通路, METTL3、METTL14、ALKBH5调节的Wnt5a/5b通路, METTL3、METTL14、WTAP调节的JAK-STAT通路, METTL3表达下调、YTHDF1表达上调, 以及TRAF2高甲基化和CDKN1A低甲基化, 可能分别是上述疾病发生的分子基础。本文总结了RNA甲基化修饰在上述疾病中的研究进展, 以期为RNA甲基化修饰相关药物的研发及临床应用提供新思路。

关键词: 呼吸疾病; 甲基化; 进展; 纤维化; 肿瘤

Research progress of ribonucleic acid m⁶A methylation in respiratory diseases

WANG Yanhua^{1,2*}

(¹Hubei Provincial Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy, China Three Gorges University, Yichang 443000, China; ²Department of Pathology, Medical Science College of China Three Gorges University, Yichang 443000, China)

Abstract: RNA m⁶A methylation is one of the commonly epigenetic modifications, which can regulate the expression level of certain genes after transcription through chemical modification without changing the mRNA sequence. RNA methylation is dynamically regulated by RNA methyltransferase, RNA demethylase and RNA methylation binding protein. Maladjustment of RNA methylation can lead to many diseases. This review introduces the mechanism of abnormal RNA methylation in the development of chronic obstructive pulmonary disease, respiratory tumors, idiopathic pulmonary fibrosis, pulmonary hypertension and pneumoconiosis, and points out the NF-κB pathway regulated by METTL3 and FTO, and the Wnt5a/5b pathway regulated by METTL3, METTL14 and ALKBH5, the JAK-STAT pathway regulated by METTL3, METTL14, and WTAP, the down-regulation of METTL3 expression and the up-regulation of YTHDF1 expression, and the hyper-methylation of TRAF2 and hypo-methylation of CDKN1A may be the molecular basis for the occurrence of the above-mentioned diseases. Therefore, this review summarizes the research progress of RNA methylation modification in the above-mentioned diseases, in order to provide new ideas for the development and clinical application of RNA methylation modification related drugs.

收稿日期: 2021-05-17

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(81602559)

*通信作者: E-mail: wangyanhua@ctgu.edu.cn

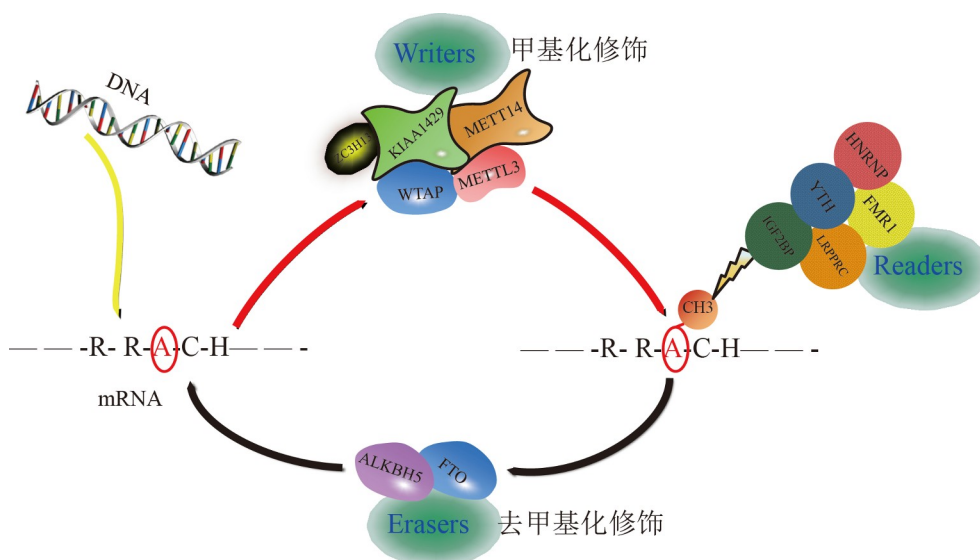
Key Words: respiratory diseases; methylation; progress; fibrosis; tumor

RNA腺苷酸6位上氮原子甲基化(ribonucleic acid N6-methyladenosine, RNA m⁶A)是真核生物广泛存在的一种动态可逆的表观遗传修饰方式,主要参与mRNA的可变剪接、转运、翻译和降解等事件^[1]。RNA m⁶A修饰主要发生在RRACH(R=G或A, H=A, C或U)共有序列中,并富集于mRNA的长外显子区、终止密码子区和3'端非翻译区。RNA m⁶A甲基化修饰受RNA甲基转移酶、RNA去甲基化酶以及RNA甲基化结合蛋白的动态调控,以维持基因的正常表达。其中,所涉及的调控因子有:(1)RNA甲基转移酶(writers),亦称编码器,包括Wilms肿瘤抑制1相关蛋白(wilms tumor suppressor-1-associated protein, WTAP)、病毒样甲基转移酶相关蛋白(vir-like m⁶A methyltransferase associated protein, KIAA1429/VIRMA)和含有CCCH型锌指结构域的蛋白13(zinc finger CCCH-type containing 13, ZC3H13)分子,以及除具有催化非编码RNA或核糖体RNA发生甲基化的甲基转移酶16分子之外的、能介导信使RNA发生m⁶A甲基化的甲基转移酶3(methyltransferase-like 3, METTL3)和甲基转移酶14(methyltransferase-like 14, METTL14)分子,它们主要负责RNA特定位点的甲基化;(2)RNA去甲基化酶(erasers),亦称消码器,包括 α 酮戊二酸依赖的双加氧酶AlkB同源物5(AlkB homolog 5, ALKBH5)和脂肪指数及肥胖相关蛋白(fat mass and obesity-associated protein, FTO)分子,负责对m⁶A修饰进行去甲基化,可逆调节基因表达;(3)RNA甲基化结合蛋白(readers),亦称读码器,包含YTH(YT521-B homology, YTH)结构域蛋白、胰岛素样生长因子2 mRNA结合蛋白(insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein, IGF2BP)、异构核核糖核蛋白(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, HNRNP)、脆性X染色体智力发育迟缓蛋白1和含亮氨酸PPR基序的蛋白质分子,用以识别m⁶A修饰的mRNA^[2,3]。上述RNA m⁶A甲基化调节因子的相互作用如图1所示。

随着研究的深入,人们发现RNA m⁶A甲基化调节紊乱参与了多种疾病的病理进程。在肺腺癌和黑素瘤的生长及转移中, *METTL3*缺失将减弱程

序性细胞死亡蛋白1免疫检查点阻断的治疗功效。RNA m⁶A甲基化测序发现, *METTL3*的缺失会损害YT521B同源结构域家族蛋白1(YT521B homology domain family 1, YTHDF1)介导的出芽相关EVH1域包含蛋白2的翻译,从而通过细胞外信号调控激酶途径增强核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)和信号转导转录激活蛋白3的激活,导致Lewis肺腺癌细胞(Lewis lung carcinoma cell, LLC)和黑素瘤细胞B16的快速生长和转移^[4]。与之相反,在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中, *METTL3*高表达将提高癌细胞的增殖活性及转移潜能。机制研究发现, *METTL3*的3'端非翻译区与翻译起始因子3的h亚基交互作用,导致mRNA易与核糖体结合,增强部分致癌基因的翻译,促进NSCLC细胞的增殖和侵袭^[5]。此外,在另一种NSCLC H1299细胞中, m⁶A修饰的睾丸相关高保守致癌链非编码RNA THOR (LncRNA THOR)可调节癌细胞的增殖,而敲除LncRNA THOR后, H1299癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力下降^[6]。测序检测发现, m⁶A在LncRNA THOR转录本中高度富集,其中包含GA(m⁶A)CA、GG(m⁶A)CU和UG(m⁶A)CU基序,而特定的m⁶A读码器YTHDF1和YT521B同源结构域家族蛋白2(YT521B homology domain family 2, YTHDF2)可以读取m⁶A模体,并调节LncRNA THOR的稳定性。这些依赖m⁶A的RNA-蛋白质相互作用可以维持LncRNA THOR的致癌作用。以上研究表明, RNA m⁶A甲基化调控因子可以不同方式、不同的作用途径调节不同类型肺癌的病理进程。

除了不同组织类型的肺癌外, RNA m⁶A甲基化修饰还可参与其他类型呼吸疾病, 诸如慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)、特发性肺纤维化、肺动脉高压、肺尘埃沉着病等的发生及发展。因而, 本文梳理了RNA m⁶A甲基化修饰在呼吸系统疾病中的进展, 特别是在COPD、呼吸系统肿瘤、特发性肺纤维化、肺动脉高压、肺尘埃沉着病以及化疗耐药等中的作用机制, 以期从表观遗传学角度为防范上述类型呼

图1 RNA m⁶A甲基化与去甲基化修饰模式图

吸系统疾病提供新思路。

1 RNA m⁶A甲基化与呼吸系统疾病

当前包括新冠病毒所致肺炎在内的呼吸系统疾病严重影响着人们的身心健康^[7]。其中，慢性阻塞性肺疾病、呼吸系统肿瘤、特发性肺纤维化、肺动脉高压、肺尘埃沉着病等均是呼吸专科较常见的疾病类型，以通气、换气功能损伤为病变特征，伴或不伴肺内血液循环障碍及纤维化形成。而经济全球化发展、大气污染和生活节律的加快均使女性肺癌的发病率及死亡率明显升高，并出现年轻化的趋向^[8]。与呼吸相关的分子生物学研究发现，RNA m⁶A甲基化修饰可能参与了上述疾病的发展进程^[9]。

1.1 RNA m⁶A甲基化与慢性阻塞性肺疾病

COPD是一组以慢性气道阻塞为特征的呼吸系统疾病，其共同特点是肺实质及小气道的损伤，导致慢性气道阻塞，呼吸阻力增加和肺功能不全，临床主要包括慢支、支气管哮喘、支气管扩张和肺气肿等类型^[10]。在COPD的发病进程中，METTL3和FTO均表达下调，导致受METTL3正调节的*GADI*、*SEMA5B*、*SPPI*、*MUCL1*基因表达降低，受FTO负调节的溶质载体家族7成员11 (*SLC7A11*)、*CLEC5A*、*PLA2G7*、*AHRR*、*CYP1B1*、*CYP1A1*、*ALDH3A1*、*GPX2*、*BCL2A1*、*PROK2*、*CEACAM5*和*STATH*基因表达增

强，加重了气道上皮损伤^[11]。同样，在陈丽娜等^[12]的研究中也发现，COPD患者的RNA去甲基化酶FTO表达降低，而通过质粒转染使FTO过表达时，可抑制细颗粒物诱导的小鼠肺泡巨噬细胞M1型极化及NF-κB信号通路的激活，进而阻遏COPD的病理进程。以上研究说明，RNA甲基化调控因子METTL3和FTO参与了COPD的发生及发展。

1.2 RNA m⁶A甲基化与呼吸系统肿瘤

呼吸系统肿瘤以肺癌最为常见，近半个世纪以来肺癌的发病率和死亡率一直居高不下^[13]。据统计，在多数发达国家肺癌居恶性肿瘤的首位；在我国，大多数城市肺癌的发病率和死亡率仍居恶性肿瘤的第一位或第二位，且随着生活节奏的加快以及女性吸烟者人数的飙升，男女患者比例已由4:1上升到1.5:1。表观遗传学研究发现，RNA m⁶A甲基化与呼吸系统肿瘤的恶性发展密切相关，在调控癌细胞增殖、迁移和侵袭中发挥了重要作用^[14]。

1.2.1 RNA m⁶A甲基化与非小细胞肺癌

NSCLC约占肺癌总数的85%~90%。NSCLC患者体细胞存在不同的基因突变，如表皮生长因子受体、Ras家族成员-K、棘皮微管相关蛋白样4基因-间变性淋巴瘤激酶、c-ros致癌基因1等，这与RNA m⁶A甲基化修饰异常密切相关。在NSCLC A549细胞系中，采用白介素37(interleukin-37, IL-37)干预治疗后，RNA m⁶A编码器——METTL3、

METTL14和WTAP, 以及RNA m⁶A消码器——ALKBH5和FTO表达增强, 说明IL-37可能导致A549细胞中RNA m⁶A甲基化水平和相关分子表达水平的改变, 并可能通过抑制A549细胞中的Wnt5a/5b途径来下调癌细胞的增殖^[15]。另有研究发现, 参与调节RNA m⁶A甲基化的5种调节因子, 即异质核糖核蛋白A2/B1、异质核糖核蛋白C (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C, HNRNPC)、KIAA1429/VIRMA、RNA结合基序蛋白15(RNA-binding motif protein 15, RBM15)和METTL3, 与肺腺癌患者的整体生存率密切相关, 它们参与调控细胞周期、DNA复制、RNA降解、核苷酸切除修复和一些信号传导途径的活化等, 可作为肺癌患者的1年、3年和5年生存率的预后评价指标^[16]。有趣的是, 在NSCLC H1299细胞移植小鼠模型中G蛋白偶联雌激素受体可以阻止确定相关蛋白1(yes associated protein 1, YAP1)磷酸化, 并促进确定相关蛋白1-转录增强子相关结构域(transcriptional enhancer-associated domain, YAP1-TEAD)对KH区域含有的RNA结合蛋白的转录调控, 促进环状NOTCH1的合成, 后者与NOTCH1 mRNA竞争结合METTL14分子, 而METTL14在NOTCH1 mRNA上缺少m⁶A修饰, 使NOTCH1 mRNA更稳定并且更容易进行蛋白质翻译, 进而促进了H1299癌细胞的生长^[17]。此外, RNA m⁶A去甲基化酶ALKBH5也参与调节YAP表达, 抑制NSCLC肿瘤增殖、侵袭、迁移和上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)进程。ALKBH5可消除YAP的m⁶A甲基化修饰, 下调YAP的表达。此外, ALKBH5还可通过人类抗原R依赖的方式抑制miR-107和肿瘤抑制酶2介导的YAP活性, 进而抑制肿瘤侵袭和迁移^[18]。除了ALKBH5酶以外, 另一种RNA m⁶A去甲基化酶FTO在人NSCLC中起促癌细胞生长作用。研究显示, FTO mRNA和蛋白质水平在人NSCLC组织和细胞系中呈过表达状态, 这与RNA m⁶A含量降低有关。采用慢病毒介导的小发夹RNA敲低人NSCLC细胞系中FTO的表达, 癌细胞的增殖速率减慢, 集落形成能力减弱。进一步研究发现, FTO可降低泛素特异性肽酶7的m⁶A水平并提高其mRNA稳定性, 使泛素特异性肽酶7在肺癌组织中过表达, 进而促进肺

癌细胞的增殖及集落形成能力^[19]。以上研究说明, RNA m⁶A甲基化调控因子, 可通过不同的作用方式参与NSCLC的增殖、侵袭和转移。其中, 如METTL3、METTL14、WTAP、ALKBH5、FTO、异质核糖核蛋白A2/B1、HNRNPC、KIAA1429/VIRMA、RBM15和G蛋白偶联雌激素受体分子, 在NSCLC中的作用方式已有较多报道, 然而在复杂的肿瘤微环境中, 是否还存在其他的RNA m⁶A甲基化调控分子或其下游作用靶标, 尚需要更多探索研究。

1.2.2 RNA m⁶A甲基化与肺腺癌

肺腺癌是女性肺癌较常见的类型, 多为非吸烟者, 常发生于较小的支气管上皮。肿瘤组织常位于胸膜下, 境界不清, 并常伴纤维化和瘢痕形成。肺腺癌发生的潜在分子机制尚未完全明确, 可能与RNA m⁶A甲基化异常有关。如METTL3在转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)诱导的肺癌细胞系EMT中发挥重要作用: 在TGF- β 诱导的A549和LC2/ad肺癌细胞中, METTL3酶活性增强且RNA m⁶A甲基化修饰增加。抑制METTL3表达将抑制TGF- β 诱导的EMT进程。进一步研究表明, METTL3敲低将降低AP-1转录因子家族成员JUNB的m⁶A修饰, 使其mRNA稳定性降低, 进而抑制肺癌细胞EMT发展^[20]。又如在肺腺癌细胞和组织中, KIAA1429和跨膜黏蛋白3A表达显著升高, KIAA1429通过m⁶A修饰来调节跨膜黏蛋白3A表达, 使肿瘤直径增大, 肿瘤淋巴结转移率升高, 总生存率降低。反之, 采用小干扰RNA下调KIAA1429的表达, 将使肺腺癌细胞周期停滞于G₁期, 进而抑制癌细胞增殖、迁移^[21]。同样, 在肺腺癌腺泡亚型病例或异种移植小鼠模型中, YTHDC2以m⁶A依赖的方式使溶质载体家族7成员11 mRNA不稳定, 促进其衰变, 进而抑制癌细胞对胱氨酸的摄取, 最终抑制肺腺癌的增殖^[22]。以上研究说明, 在肺腺癌增殖转移中, RNA m⁶A甲基化调控分子METTL3和KIAA1429以促癌的方式发挥作用, 而YTHDC2分子则以抗癌的方式抑制肿瘤增殖。

RNA m⁶A表观遗传修饰也有助于肺腺癌的临床诊断和预后评估。如收集肺腺癌组织和健康人肺组织进行对比分析13种RNA甲基化结合蛋白的

表达差异, 结果发现, 癌组织中存在12个RNA m⁶A异常表达基因, 包括*WTAP*、*RBM15*、*KIAA1429*、*YTHDF1*和*YTHDF2*等, 它们与肺腺癌的TNM分期、淋巴结分期等存在一定的关联, 是肺腺癌发病的独立危险因素^[23]。同样, 肺癌基因组图谱和基因型组织表达数据库分析显示, 癌组织中RNA甲基化结合蛋白HNRNPC、*YTHDF1*、*KIAA1429*、*RBM15*、*YTHDF2*和*METTL3*的表达水平显著上调, 而*FTO*、*ZC3H13*、*METTL14*、*YTHDC1*和*WTAP*的表达水平显著下调^[24]。以上研究表明, RNA m⁶A甲基化修饰参与了肺腺癌发病及发展。

1.2.3 RNA m⁶A甲基化与肺鳞癌

临床上肺鳞癌以中老年男性吸烟患者居多, 常发生于较大的支气管^[25]。研究显示, 肺鳞癌患者癌细胞中存在3种与RNA m⁶A修饰相关的基因(*WTAP*、*YTHDC1*和*YTHDF1*), 它们可作为肺鳞癌总体存活率的独立预后指标。如对临床收集的502例肺鳞癌组织和49例癌旁正常组织标本, 通过差异表达分析发现, *IGF2BP1*、*RBM15*、*METTL14*、*ZC3H13*、*YTHDF3*基因在上述的癌组织和正常组织中表达无差异, 而其他差异表达的相关基因均与RNA m⁶A修饰呈正相关; 更进一步通过肿瘤基因组图谱筛选发现, *WTAP*、*YTHDC1*和*YTHDF1*可作为疾病预后的重要评估基因^[26]。除了RNA m⁶A修饰调节基因外, 一些参与RNA m⁶A修饰的关键酶在肺鳞癌的病理进程中也发挥了重要作用。采用肿瘤基因组图谱分析发现, RNA m⁶A甲基化调节酶*FTO*可参与肺鳞癌的发展进程。功能检测发现, 抑制*FTO*酶活性将有效抑制癌细胞增殖和侵袭, 同时促进L78和NCI-H520癌细胞凋亡。而过表达*FTO*将会促进CHLH-1癌细胞的恶性表型。进一步机制研究发现, *FTO*可通过降低髓性锌指1 mRNA转录物中的m⁶A水平和mRNA的稳定性, 进而上调髓性锌指1表达, 最终增强癌细胞的增殖活性和侵袭潜能^[27]。以上研究表明, RNA m⁶A甲基化修饰基因(*WTAP*、*YTHDC1*和*YTHDF1*)和相关调节酶(*FTO*)可参与肺鳞癌的进展, 可作为肺鳞癌治疗和预后评估的潜在靶点。

1.3 RNA m⁶A甲基化与肺纤维化

特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary

fibrosis, IPF)是一种慢性致死性肺疾病, 以进行性、不可逆的肺实质异常基质沉积为病变特征, 预后较差。导致肺纤维化的最重要的一种细胞——肌成纤维细胞, 能分泌大量的胶原纤维, 它们数目和活性的提高可加速纤维化进程。这些细胞主要来源于组织内残留的成纤维细胞, 通过成纤维细胞-肌成纤维细胞表型转换(fibroblast-to-myofibroblast transition, FMT)发育而来。因此, 如何维持肌成纤维细胞在肺组织中的数目和活性处于正常稳态是纤维化防控的重点。有趣的是, 研究发现, 在博来霉素诱导的肺纤维化小鼠模型、FMT演化的肌成纤维细胞和IPF患者肺样本中, RNA m⁶A甲基化修饰水平较高, 通过沉默*METTL3*降低RNA m⁶A水平, 可抑制体外和体内FMT进程。机制研究发现, RNA m⁶A修饰可通过*YTHDF1*依赖的方式调节电压门控钾通道 α 亚单位蛋白的翻译及FMT过程, 靶向*METTL3*的m⁶A修饰可能成为治疗肺纤维化的一种有前途的策略^[28]。同样, 在COVID-19感染幸存者中, 约有20%病例发生了COVID-19感染后IPF, 这是由于新冠病毒(severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2, SARS-CoV-2)与宿主细胞表面ACE2结合, 扰乱了Ras信号下游分子的活性, 促进肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-6和TGF- β 等炎症因子风暴形成, 引发了成纤维细胞的增生^[29]。而Janus激酶信号转导转录激活蛋白(Janus kinases-signal transducer and activator of transcription proteins, JAK-STAT)抑制剂Ruxolitinib能有效抑制细胞因子(TNF- α 、IL-6、IL-8、CXCL10)风暴, 阻遏由SARS-CoV-2病毒感染引起的IPF^[30]。更值得关注的是, 在COVID-19感染后IPF中, pri-miRNA-126的m⁶A修饰能活化PI3K/AKT/mTOR通路, 加速肺纤维化。同时, RNA m⁶A甲基化调控因子(*METTL3*、*METTL14*和*WTAP*)可使溴区结构域蛋白4基因以及Ras同源物A基因发生RNA m⁶A甲基化修饰, 促进了溴区结构域蛋白4基因介导的肺成纤维细胞活化及NF- κ B依赖的气道EMT, 同时也提高了Ras同源物A基因调节的肺成纤维细胞cyclin D1的表达及其增殖活性, 加速了纤维化发展^[31]。以上研究说明, COVID-19感染后IPF与m⁶A-SARS-CoV-2之间存在密切关联, 这将有助于感染所致肺

纤维化疾病的预后评估。

1.4 RNA m⁶A甲基化与肺动脉高压

肺动脉高压是一种以慢性、进行性发展为特征的血管疾病，主要累及肺动脉主干及远端肺动脉血管，使其收缩性重塑受损，而导致肺动脉压力、阻力增加，最终导致心力衰竭。在肺动脉高压中，RNA甲基化修饰驱动肺内血管的重塑和血管平滑肌的增生，其中伴随mRNA甲基化水平和RNA m⁶A读码器蛋白YTHDF1表达的显著增加。在缺氧动物模型中，m⁶A介导的YTHDF1募集有利于血管平滑肌的增生，促进了病态血管的重构，机制研究发现，缺氧导致RNA甲基转移酶METTL3活性下降，上调了YTHDF1表达及黑色素瘤抗原结构域蛋白1的翻译，进而促进血管平滑肌的过度增生，提升了肺动脉主干的压力^[32]。同样，在产后缺氧所致的肺动脉高压中，METTL3、METTL14表达下调，上调了肺动脉高压相关基因 α -平滑肌特异性抗体、内皮一氧化氮合酶和血管内皮生长因子的表达，提高了肺动脉压力^[33]。以上研究表明，RNA m⁶A甲基化调控因子METTL3、METTL14和YTHDF1表达失常是促进肺动脉高压形成的重要原因，如何维持上述分子表达水平处于稳态，是预防血管异常增生、血压升高的关键。

1.5 RNA m⁶A甲基化与肺尘埃沉着病

肺尘埃沉着病是一种以慢性炎症、进行性纤维化发展为病变特征的职业病。各种尘埃颗粒沉积于肺组织，均会导致肺功能的慢性损伤。急性颗粒物沉积易导致体细胞基因组DNA甲基化减少、RNA甲基化增加^[34]。研究显示，人支气管上皮细胞(16HBE14系)暴露于25~100 $\mu\text{g/mL}$ 碳纳米管颗粒一天后，肿瘤坏死因子受体相关因子2(TNF receptor-associated factor 2, TRAF2)基因CpG位点呈现高甲基化，mRNA上腺嘌呤呈现低甲基化，而将同种支气管上皮细胞暴露于2.5 $\mu\text{g/mL}$ 的铁石棉颗粒一天后，细胞周期依赖激酶抑制剂1A(cyclin-dependent kinase inhibitor 1A, CDKN1A)的CpG位点甲基化水平显著降低^[35]。当人体呼吸系统暴露于不同类型尘埃颗粒(如亚砷酸钠、双酚A和长春啉)时，体细胞基因组RNA m⁶A甲基化水平整体降低^[36]。以上研究说明，RNA甲基化修饰可能参

与了肺尘埃沉着病的病变进程。然而，当前研究仅显示，肺尘埃沉着病的发生与RNA甲基化修饰存在一定的关系，鲜有研究揭示具体哪些RNA m⁶A甲基化调控分子在肺尘埃沉着病的哪个病期、哪一环节、通过何种路径促进了肺尘埃沉着病的进展。未来，在以上方面的探索研究，势必会为RNA甲基化修饰在肺尘埃沉着病发生机制中的理解带来全新的启发。

2 RNA m⁶A甲基化与耐药性

肿瘤细胞对化疗药物耐药是导致患者治疗失败的重要原因之一。研究发现，RNA m⁶A甲基化参与呼吸系统肿瘤的化疗耐药。如有学者建立了对阿法替尼敏感的NSCLC细胞系A549，以及对阿法替尼耐药的NSCLC细胞系H1299，对比分析了RNA m⁶A差异表达基因及其修饰水平和基因表达水平之间的相关性。结果发现，RNA m⁶A甲基化修饰可能影响癌细胞的细胞周期相关基因表达，进而影响它们对阿法替尼的敏感性。生存分析亦表明，RNA m⁶A修饰可能会影响NSCLC患者的预后^[37]。RNA m⁶A修饰所介导的细胞自噬在肿瘤耐药中也发挥一定的作用，如RNA甲基转移酶METTL3介导的自噬在逆转NSCLC细胞中的 β -榄香烯对吉非替尼的耐药性中起关键调控作用。肺腺癌组织中高表达的METTL3可使耐药细胞的RNA m⁶A甲基化水平降低，增加自噬途径关键基因如整合体1、微管相关蛋白1B-轻链3-II、自噬相关基因5和自噬相关基因7的表达，提高 β -榄香烯产量，最终逆转NSCLC细胞对吉非替尼的耐药^[38]。令人诧异的是，另一种RNA甲基转移酶KIAA1429却介导NSCLC细胞(PC9-GR系)对吉非替尼的耐药，其高表达与患者不良预后密切相关。当敲除KIAA1429时，PC9-GR癌细胞增殖速度减慢。机制研究发现，KIAA1429可通过靶向Hox基因同源盒A1基因的3'端非编码区，增强Hox基因同源盒A1 mRNA的稳定性，提高癌细胞对吉非替尼的药物抗性^[39]。同样，有关NSCLC细胞对顺铂耐药机理的研究也发现，RNA甲基转移酶METTL3启动的m⁶A mRNA甲基化，可通过将YTHDF1/3和真核翻译起始因子3b募集到翻译起始复合体，促进YAP mRNA的翻译，并通过调节miR-1914-3p-YAP轴来提高YAP

mRNA的稳定性, 表达上调的YAP可诱导NSCLC细胞对顺铂的药物抗性, 并增强其转移潜能^[40]。以上研究表明, RNA甲基化调控因子METTL3和KIAA1429可通过不同的方式参与肺癌细胞对化疗药物的耐药。

3 总结与展望

呼吸系统疾病(包括COPD、肿瘤、纤维化、肺动脉高压和肺尘埃沉着病等)是以肺功能损伤为特征的一大类慢性疾病。RNA甲基化调控因子(包括RNA甲基转移酶、RNA去甲基化酶、RNA甲基化结合蛋白等)可通过多种途径调控上述疾病的发展进程。针对RNA甲基化调控因子的深入研究, 为RNA甲基化药物研发及其在呼吸系统疾病治疗上的应用提供了重要的科学依据。尤其是近年出现的高通量m⁶A测序技术, 推进了RNA m⁶A修饰相关研究, 也奠定了呼吸系统肿瘤分子机制发现研究的化学基础, 使RNA m⁶A修饰调控成为抑制呼吸系统肿瘤增殖转移的潜在治疗靶点。但当前有关RNA m⁶A甲基化修饰在呼吸系统疾病中的研究范围相对局限, 未能诠释其在呼吸疾病发生、发展中的动态调控机制: 一方面, 在呼吸系统疾病中发挥作用的RNA m⁶A调控因子尚未被完全鉴定出来, 其功能和作用机制在很大程度上是未知的; 另一方面, 虽然许多研究显示, RNA m⁶A相关调控因子和RNA m⁶A靶向信号轴可作为肿瘤性疾病的治疗靶点, 但缺乏临床大样本数据支持。因此, 深入研究RNA m⁶A修饰与呼吸系统疾病之间的动态调控分子机制, 并结合临床研究评估RNA m⁶A修饰与疾病的相关性及其预后, 将增强我们对RNA m⁶A修饰在转录后水平调控的理解。相信随着研究的细化、深化, RNA m⁶A作为一种新兴的RNA表观遗传修饰方式, 未来有望为临床呼吸系统疾病的治疗带来全新的视角和启发。

参考文献

- [1] Gui Y, Yuan S. Epigenetic regulations in mammalian spermatogenesis: RNA-m⁶A modification and beyond. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(11): 4893-4905
- [2] Baquero-Perez B, Antanaviciute A, Yonchev ID, et al. The Tudor SND1 protein is an m⁶A RNA reader essential for replication of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *Elife*, 2019, 8: e47261
- [3] 孙慧颖, 郝亚娟, 平晓丽, 等. 动态RNA甲基化修饰及其调控机制研究进展. *生命科学*, 2016, 28(5): 539-550
- [4] Yin H, Zhang X, Yang P, et al. RNA m⁶A methylation orchestrates cancer growth and metastasis via macrophage reprogramming. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 1394
- [5] Han SH, Choe J. Diverse molecular functions of m⁶A mRNA modification in cancer. *Exp Mol Med*, 2020, 52(5): 738-749
- [6] Liu H, Xu Y, Yao B, et al. A novel N6-methyladenosine (m⁶A)-dependent fate decision for the lncRNA THOR. *Cell Death Dis*, 2020, 11(8): 613
- [7] Trautemberg U, Fritzler MJ, Rottapel R, et al. COVID-19-associated autoimmunity as a feature of acute respiratory failure. *Intensive Care Med*, 2021, 47(7): 801-804
- [8] Rodriguez-Lara V, Avila-Costa MR. An overview of lung cancer in women and the impact of estrogen in lung carcinogenesis and lung cancer treatment. *Front Med*, 2021, 8: 600121
- [9] Wang X, Wang W, Chen M, et al. Dysregulation of m⁶A reader IGF2BP1 in lung adenocarcinoma affects the immune microenvironment and indicates a poor recovery. *J Thoracic Oncol*, 2021, 16(3): S330-S331
- [10] Divo M, Celli BR. Multimorbidity in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Chest Med*, 2020, 41(3): 405-419
- [11] Huang X, Lv D, Yang X, et al. m⁶A RNA methylation regulators could contribute to the occurrence of chronic obstructive pulmonary disease. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(21): 12706-12715
- [12] 陈丽娜, 薛岑, 杜丽娟, 等. COPD患者m⁶A甲基化酶水平观察及FTO对PM2.5刺激后MH-S细胞极化和NF-κB信号活化的影响. *实用药物与临床*, 2021, 24(7): 577-585
- [13] Bolognesi C, Bruzzone M, Fontana V, et al. The role of micronucleus assay to detect genetic instability in respiratory cancer patients. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2019, 38(4): 345-352
- [14] Xu R, Pang G, Zhao Q, et al. The momentous role of N6-methyladenosine in lung cancer. *J Cell Physiol*, 2021, 236(5): 3244-3256
- [15] Mu X, Zhao Q, Chen W, et al. IL-37 confers anti-tumor activity by regulation of m⁶A methylation. *Front Oncol*, 2021, 10: 526866
- [16] Wang H, Zhao X, Lu Z. m⁶A RNA methylation regulators act as potential prognostic biomarkers in lung adenocarcinoma. *Front Genet*, 2021, 12: 622233
- [17] Shen Y, Li C, Zhou L, et al. G protein-coupled oestrogen receptor promotes cell growth of non-small cell lung cancer cells via YAP1/QKI/circNOTCH1/m⁶A methylated NOTCH1 signalling. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(1):

- 284-296
- [18] Jin D, Guo J, Wu Y, et al. m⁶A demethylase ALKBH5 inhibits tumor growth and metastasis by reducing YTHDFs-mediated YAP expression and inhibiting miR-107/LATS2-mediated YAP activity in NSCLC. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 40-63
- [19] Li J, Han Y, Zhang H, et al. The m6A demethylase FTO promotes the growth of lung cancer cells by regulating the m6A level of USP7 mRNA. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 512(3): 479-485
- [20] Wanna-Udom S, Terashima M, Lyu H, et al. The m6A methyltransferase METTL3 contributes to transforming growth factor-beta-induced epithelial-mesenchymal transition of lung cancer cells through the regulation of JUNB. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 524(1): 150-155
- [21] Zhao W, Xie Y. KIAA1429 promotes the progression of lung adenocarcinoma by regulating the m6A level of MUC3A. *Pathol Res Pract*, 2021, 217: 153284
- [22] Ma L, Chen T, Zhang X, et al. The m6A reader YTHDC2 inhibits lung adenocarcinoma tumorigenesis by suppressing SLC7A11-dependent antioxidant function. *Redox Biol*, 2021, 38: 101801-101816
- [23] Zhuang Z, Chen L, Mao Y, et al. Diagnostic, progressive and prognostic performance of m⁶A methylation RNA regulators in lung adenocarcinoma. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(11): 1785-1797
- [24] Li F, Wang H, Huang H, et al. m6A RNA methylation regulators participate in the malignant progression and have clinical prognostic value in lung adenocarcinoma. *Front Genet*, 2020, 11: 994
- [25] Xu F, Zhang H, Chen J, et al. Immune signature of T follicular helper cells predicts clinical prognostic and therapeutic impact in lung squamous cell carcinoma. *Int Immunopharmacol*, 2020, 81: 105932-105941
- [26] Gu C, Shi X, Qiu W, et al. Comprehensive analysis of the prognostic role and mutational characteristics of m6A-related genes in lung squamous cell carcinoma. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 661792-661800
- [27] Liu J, Ren D, Du Z, et al. m⁶A demethylase FTO facilitates tumor progression in lung squamous cell carcinoma by regulating MZF1 expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 502(4): 456-464
- [28] Zhang JX, Huang PJ, Wang DP, et al. m6A modification regulates lung fibroblast-to-myofibroblast transition through modulating KCNH6 mRNA translation. *Mol Ther*, 2021, 29(12): 3436-3448
- [29] Wigén J, Löfdahl A, Björner L, et al. Converging pathways in pulmonary fibrosis and covid-19—the fibrotic link to disease severity. *Respiratory Med X*, 2020, 2: 100023
- [30] Caradec E, Mouren D, Zrounba M, et al. COVID-19 in a patient with idiopathic pulmonary fibrosis successfully treated with Ruxolitinib. *Respiratory Med Res*, 2021, 79: 100799
- [31] Li X, Peng C, Zhu Z, et al. The networks of m⁶A-SARS-CoV-2 related genes and immune infiltration patterns in idiopathic pulmonary fibrosis. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(5): 6273-6288
- [32] Bonnet S, Gomez D. RNA methylation: a new regulator of vascular remodeling in pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*, 2021, 203(9): 1060-1062
- [33] Xu S, Xu X, Zhang Z, et al. The role of RNA m⁶A methylation in the regulation of postnatal hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Respir Res*, 2021, 22(1): 121
- [34] Li Z, Li N, Guo C, et al. The global DNA and RNA methylation and their reversal in lung under different concentration exposure of ambient air particulate matter in mice. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2019, 172: 396-402
- [35] Emerce E, Ghosh M, Öner D, et al. Carbon nanotube- and asbestos-induced DNA and RNA methylation changes in bronchial epithelial cells. *Chem Res Toxicol*, 2019, 32(5): 850-860
- [36] Cayir A, Barrow TM, Guo L, et al. Exposure to environmental toxicants reduces global N6-methyladenosine RNA methylation and alters expression of RNA methylation modulator genes. *Environ Res*, 2019, 175: 228-234
- [37] Meng Q, Wang S, Zhou S, et al. Dissecting the m⁶A methylation affection on afatinib resistance in non-small cell lung cancer. *Pharmacogenomics J*, 2020, 20(2): 227-234
- [38] Liu S, Li Q, Li G, et al. The mechanism of m⁶A methyltransferase METTL3-mediated autophagy in reversing gefitinib resistance in NSCLC cells by β -elemene. *Cell Death Dis*, 2020, 11(11): 969
- [39] Tang J, Han T, Tong W, et al. N⁶-methyladenosine (m⁶A) methyltransferase KIAA1429 accelerates the gefitinib resistance of non-small-cell lung cancer. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 108
- [40] Jin D, Guo J, Wu Y, et al. m⁶A mRNA methylation initiated by METTL3 directly promotes YAP translation and increases YAP activity by regulating the MALAT1-miR-1914-3p-YAP axis to induce NSCLC drug resistance and metastasis. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 135