

## 综述

RNA N<sup>6</sup>-甲基腺嘌呤异常修饰影响肿瘤干细胞促进恶性肿瘤发生、发展的研究进展朱正阳<sup>1,2\*</sup>, 王 成<sup>3\*</sup>, 姜辰一<sup>1#</sup>, 赵福军<sup>1,3,4#</sup>

1. 上海交通大学附属第一人民医院泌尿外科, 上海 200080; 2. 上海交通大学附属第一人民医院临床医学院, 上海 200080; 3. 南京医科大学附属上海市第一人民医院临床医学院泌尿外科, 上海 200080; 4. 新疆维吾尔自治区喀什地区第二人民医院泌尿外科, 喀什 844000

**[摘要]** RNA N<sup>6</sup>-甲基腺嘌呤 (N<sup>6</sup>-methyladenosine, m<sup>6</sup>A) 修饰是 RNA 较常见的表观遗传修饰形式, 受到甲基化酶、去甲基化酶以及多种识别蛋白调节, 与基因的表达调控密切相关。近年来研究发现 RNA m<sup>6</sup>A 异常修饰在恶性肿瘤发生、进展及转移中起到重要作用。深入研究提示 RNA m<sup>6</sup>A 异常修饰可能诱导肿瘤干细胞形成, 提高肿瘤细胞对治疗后损伤的抗性, 促进恶性肿瘤放射治疗和化学治疗抵抗的产生, 从而导致恶性肿瘤进展或复发。该文回顾 RNA m<sup>6</sup>A 修饰的调节机制, 及其在恶性肿瘤进展、复发中的作用机制研究进展, 同时结合肿瘤干细胞对放射治疗和化学治疗产生抵抗的机制, 以探讨 RNA m<sup>6</sup>A 异常修饰通过影响肿瘤干细胞促进肿瘤进展的可能机制。

**[关键词]** RNA 甲基化; N<sup>6</sup>-甲基腺嘌呤; 恶性肿瘤; 肿瘤干细胞; 复发

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1674-8115.2020.03.018 **[中图分类号]** R73 **[文献标志码]** A

Aberrant RNA N<sup>6</sup>-methyladenosine modification causes tumorigenesis, progression and metastasis of malignant tumors by affecting cancer stem cellsZHU Zheng-yang<sup>1,2\*</sup>, WANG Cheng<sup>3\*</sup>, JIANG Chen-yi<sup>1#</sup>, ZHAO Fu-jun<sup>1,3,4#</sup>

1. Department of Urology, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200080, China; 2. Clinical Medical College, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200080, China; 3. Department of Urology, Shanghai General Hospital of Nanjing Medical University, Shanghai 200080, China; 4. Department of Urology, Kashgar Prefecture Second People's Hospital, Xinjiang, Kashgar 844000, China

**[Abstract]** RNA N<sup>6</sup>-methyladenosine (m<sup>6</sup>A) modification is one of the most pervasive epigenetic modifications that correlate with gene expression, regulated by a variety of methylases, demethylases and reader proteins. m<sup>6</sup>A has been found crucial during cancer progression, aberrant changes of which contribute to tumorigenesis and metastasis. It's also been reported to be influential on chemotherapy and radiotherapy resistance of malignant tumors by inducing cancer stem cells (CSC) generation and enhancing post-therapy damage resistance, thus causing the progression or recurrence. In this review, we review the regulation of RNA m<sup>6</sup>A modification and focus on recent advances in functions of dysregulated m<sup>6</sup>A modification in the pathogenesis of cancer progression and recurrence. In addition, we also discuss the possible participation of CSC in this process combining current perspectives on the chemotherapy and radiotherapy resistance mechanism of CSC.

**[Key words]** RNA methylation; N<sup>6</sup>-methyladenosine (m<sup>6</sup>A); malignant tumor; cancer stem cells; recurrence

近年来, RNA 表观遗传修饰相关调节分子及其作用机制在恶性肿瘤中的作用逐渐被认知。各类 RNA 修饰都能对疾病的发生、发展产生一定影响, 其中 RNA N<sup>6</sup>-甲基腺嘌呤 (N<sup>6</sup>-methyladenosine, m<sup>6</sup>A) 异常修饰及其修饰相关分子的异常表达与白血病、乳腺癌、神经胶质瘤等多种恶性肿瘤的发生、进展相关<sup>[1]</sup>。然而, 其中的机制仍未完全阐明。在 RNA m<sup>6</sup>A 异常修饰促进恶性肿瘤进展、复发

和治疗抵抗的过程中, 肿瘤干细胞可能发挥关键作用。

肿瘤干细胞理论的核心在于恶性肿瘤细胞具有异质性和层级结构: 具有干性的恶性肿瘤细胞逐级分化生成异质性肿瘤细胞, 或者分化较好的肿瘤细胞去分化为肿瘤干细胞, 进而介导肿瘤的发生、发展<sup>[2]</sup>。研究<sup>[3]</sup>表明肿瘤干细胞能通过调节微环境、自噬等多种机制逃避免疫监视及避免氧化磷酸化来抵抗治疗。一定比例的肿瘤干细胞还能在

**[基金项目]** 国家自然科学基金 (81772746); 新疆维吾尔自治区自然科学基金 (2019D01C091)。

**[作者简介]** 朱正阳 (1997—), 男, 本科生; 电子信箱: Lennox@sjtu.edu.cn。王 成 (1993—), 男, 硕士生; 电子信箱: wang1313lj@163.com。\* 为共同第一作者。

**[通信作者]** 赵福军, 电子信箱: drzhaofujun@yahoo.com。姜辰一, 电子信箱: chenyi\_jiang@126.com。# 为共同通信作者。

**[Funding Information]** National Natural Science Foundation of China (81772746); Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2019D01C091)。

**[Corresponding Author]** ZHAO Fu-jun, E-mail: drzhaofujun@yahoo.com。JIANG Chen-yi, E-mail: chenyi\_jiang@126.com。#Co-corresponding authors。



放射治疗和化学治疗中保持静息态以降低细胞损伤,并在治疗后重新进入细胞周期,导致肿瘤复发<sup>[4]</sup>。

恶性肿瘤细胞在层级分化或去分化的过程中,表观遗传改变及其相关调控分子的异常表达常常促进肿瘤恶化。作为RNA表观遗传修饰的重要形式之一,RNA m<sup>6</sup>A异常修饰是否能影响肿瘤干细胞在抗肿瘤治疗中的抗性,进而引起肿瘤进展和复发?本文即以肿瘤干细胞为纽带,综述了相关研究进展,以探讨mRNA m<sup>6</sup>A修饰与肿瘤发生、发展之间的联系。

## 1 RNA m<sup>6</sup>A 修饰

表观遗传修饰广泛存在于DNA、RNA中,其中RNA的表观遗传修饰极其丰富。近年来已发现N<sup>1</sup>-甲基腺嘌呤(N<sup>1</sup>-methyadenosine, m<sup>1</sup>A)、N<sup>5</sup>-甲基胞嘧啶(N<sup>5</sup>-methylcytosine, m<sup>5</sup>C)、N<sup>7</sup>-甲基鸟嘌呤(N<sup>7</sup>-methylguanine, m<sup>7</sup>G)、m<sup>6</sup>A、2'-O-甲基化(2'-O-methylation, 2'OME)等多种修饰<sup>[5]</sup>。m<sup>6</sup>A修饰是较常见的RNA表观遗传修饰形式,一般发生于高度保守的RNA区域,在mRNA的终止密码子、3'端非翻译区(untranslated region, UTR)以及长外显子处富集。

### 1.1 RNA m<sup>6</sup>A 修饰的调控

RNA m<sup>6</sup>A修饰在人体组织内广泛存在且高度保守。m<sup>6</sup>A修饰可逆,由甲基转移酶样蛋白3(methyltransferase-like protein 3, METTL3)、METTL14与其调控蛋白肾母细胞瘤1-相关蛋白(Wilms tumor 1-associating protein, WTAP)、病毒样m<sup>6</sup>A甲基转移酶相关蛋白(vir like m<sup>6</sup>A methyltransferase associated, VIRMA)、RNA结合基序蛋白15(RNA-binding protein 15, RBM15)、锌指CCCH域蛋白13(zinc finger CCCH domain-containing protein 13, Zc3H13)组成的甲基转移酶复合体催化修饰,由去甲基化酶脂肪和肥胖相关蛋白(fat mass and obesity-associated protein, FTO)、 $\alpha$ -酮戊二酸依赖型加双氧酶同源物5( $\alpha$ -ketoglutarate-dependent dioxygenase homolog 5, ALKBH5)催化去除修饰,受m<sup>6</sup>A结合蛋白YTH结构域家族蛋白1/2/3(YTH domain-containing family protein 1/2/3, YTHDF1/2/3)、胰岛素样生长因子2 mRNA结合蛋白1/2/3(insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 1/2/3, IGF2BP1/2/3)等读取并调节。真核细胞内RNA m<sup>6</sup>A修饰由甲基转移酶复合体在核内完成,复合体核心由METTL3、METTL14组成,其中METTL3是催化核心,METTL14起协同、稳定作用<sup>[6-7]</sup>。WTAP是其主要调

控蛋白,能够促进复合体合成,介导其募集<sup>[8]</sup>。VIRMA可以影响WTAP的功能,RBM15、Zc3H13能够促进WTAP定位于特定的核内mRNA<sup>[5,9]</sup>。去甲基化酶FTO、ALKBH5均属于Fe(II)和 $\alpha$ -酮戊二酸依赖型加双氧酶( $\alpha$ -ketoglutarate-dependent dioxygenase, AlkB)家族,都以单链RNA为主要底物。FTO可以催化单链RNA中的m<sup>6</sup>A氧化去甲基化,ALKBH5则能够直接将m<sup>6</sup>A转化为腺苷,并且抑制被修饰的mRNA出核转运、代谢,促进其加工因子聚集<sup>[10-11]</sup>。YTHDF和IGF2BP可以读取m<sup>6</sup>A修饰,进而影响mRNA的翻译、转运、剪切、分解等<sup>[6,9]</sup>。

### 1.2 RNA m<sup>6</sup>A 修饰的功能

作为RNA的主要修饰方式,多种重要生理功能的调节与m<sup>6</sup>A修饰有关。细胞层面上,m<sup>6</sup>A修饰参与调控各种RNA的加工、降解及翻译。组织层面上,m<sup>6</sup>A修饰参与特定组织的分化、发育,还会影响能量平衡的调节。在人乳腺癌细胞(MDA-MB-231)中敲减METTL3导致成熟微小RNA(microRNA, miRNA)合成水平降低<sup>[12]</sup>;FTO与METTL3共同调节3'UTR长度和RNA可变剪切<sup>[13]</sup>。在卵母细胞中敲除YTH(YT521-B homology)结构域蛋白1(YTH domain-containing 1, YTHDC1)可导致mRNA可变剪切出现严重缺陷<sup>[14]</sup>。m<sup>6</sup>A修饰参与RNA可变剪切的调节,在外显子剪切增强子区域的m<sup>6</sup>A修饰促进富含丝氨酸/精氨酸剪接因子2(serine/arginine-rich splicing factors 2, SRSF2)与mRNA结合,能够增加外显子表达<sup>[15]</sup>。m<sup>6</sup>A修饰参与RNA翻译,位于3'或5'UTR的m<sup>6</sup>A修饰可以与翻译起始因子真核起始因子3(eukaryotic initiation factor 3, eIF3)、80 kDa核帽结合蛋白(80 kDa nuclear cap-binding protein, CBP80)和真核起始因子4E(eukaryotic initiation factor 4E, eIF4E)相互作用,促进RNA翻译启动<sup>[16]</sup>;YTHDF1促进核糖体与m<sup>6</sup>A修饰的mRNA结合,促进翻译<sup>[17]</sup>;YTHDF3配合YTHDF1、YTHDF2发挥作用,并在m<sup>6</sup>A修饰驱动环状RNA(circular RNA, circRNA)翻译初始阶段起作用<sup>[18-19]</sup>。m<sup>6</sup>A修饰降低mRNA稳定性,参与RNA降解,YTHDF2介导m<sup>6</sup>A修饰的mRNA降解<sup>[20]</sup>。m<sup>6</sup>A修饰影响T细胞稳态,m<sup>6</sup>A修饰通过白细胞介素7(interleukin-7, IL-7)/信号转导及转录激活蛋白5(signal transducer and activator of transcription 5, STAT5)/细胞因子信号抑制物(suppressor of cytokine signaling, SOCS)通路控制T细胞稳态,m<sup>6</sup>A修饰的减少抑制幼稚T细胞增殖分化,维持细胞自我更新<sup>[21]</sup>。m<sup>6</sup>A修饰调节精子形成,其缺失会导致二倍体精原细胞生成精子受阻<sup>[22]</sup>。m<sup>6</sup>A修饰影响胚胎发育,通过抑制干性基因如NANOG、性别决

定相关基因簇 2 (sex determining region Y-box 2, *SOX2*) 以及 *IGFBP* 的 mRNA 的稳定性, 进而促进各类谱系标志物表达, 诱导胚胎干细胞分化<sup>[23]</sup>; 转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 也能通过 m<sup>6</sup>A 修饰依赖途径促进神经外胚层发育<sup>[24]</sup>。m<sup>6</sup>A 修饰帮助细胞产生热休克应激, 在热休克应激下, m<sup>6</sup>A 可以优先修饰于应激诱导转录的热休克蛋白 70 (heat shock protein 70, *HSP70*) mRNA 的 5'UTR 处, 促进非 cap 依赖型翻译的启动<sup>[25]</sup>。

## 2 m<sup>6</sup>A 异常修饰与肿瘤发生、发展

m<sup>6</sup>A 修饰不仅生理作用丰富, 其异常修饰在恶性肿瘤的发生和进展中也起到了相当重要的作用。并且 m<sup>6</sup>A 修饰在不同类型的肿瘤细胞中可以发挥完全相反的作用。

一些研究显示, m<sup>6</sup>A 修饰的异常下调可能促进肿瘤发生与进展。在急性髓细胞性白血病 (acute myelocytic leukemia, AML) 患者携带基因突变的造血细胞中, FTO 过表达促进异常造血细胞增殖, 抑制细胞凋亡<sup>[26]</sup>。FTO 减少致癌基因 *MYC* 的 mRNA 5' 端及外显子中的 m<sup>6</sup>A 修饰, 抑制 YTHDF2 介导的 RNA 降解, 提高对应蛋白质表达, 促进肿瘤发生<sup>[27]</sup>。在急性早幼粒细胞白血病 (acute promyelocytic leukemia, APL) 的异常造血细胞中, FTO 抑制锚蛋白重复序列与 SOCS 盒蛋白 2 (ankyrin repeat and SOCS box protein 2, ASB2) 和视黄酸受体  $\alpha$  (retinoic acid receptor  $\alpha$ , RARA) 表达, 增强致癌基因介导的细胞转化和白血病发生<sup>[26]</sup>。在肺鳞状细胞癌中, FTO 促进髓样锌指蛋白 1 (myeloid zinc finger 1, MZF1) 表达, 进而抑制细胞凋亡, 促进癌细胞增殖、侵袭<sup>[28]</sup>。在肝细胞癌中, METTL14 下调导致 miR-126 的前体 RNA 上 m<sup>6</sup>A 修饰减少, 造成 DiGeorge 综合征危象区蛋白 8 (DiGeorge syndrome critical region 8, DGCR8) 对其识别和结合的能力下降, 使参与肿瘤转移的成熟 miR-126 水平明显下调, 促进肿瘤转移<sup>[29]</sup>。在黑色素瘤中, FTO 的异常上调使 C-X-C 趋化因子受体 4 (C-X-C chemokine receptor type 4, *CXCR4*) 和 *SOX10* 的转录片段 m<sup>6</sup>A 修饰减少, 抑制 YTHDF2 介导的转录片段降解, 促进蛋白质表达, 介导肿瘤的发生、发展<sup>[30]</sup>。

与之相对应, 另一些研究报道 m<sup>6</sup>A 修饰的异常上调也会导致肿瘤发生。在 AML 中, 携带基因突变的造血细胞中异常增多的 METTL14 和 METTL3 分别提高致癌基因 *MYB*、*MYC* 和 *BCL2*、*PTEN* 的转录片段 m<sup>6</sup>A 修饰水平, 增加其表达, 促进白血病干细胞增殖、自我更新, 抑制骨髓分化<sup>[31-32]</sup>。在肝细胞癌中, METTL3 上调导

致 *SOCS2* 转录片段 m<sup>6</sup>A 过度修饰, 更易被 YTHDF2 识别降解, 使 *SOCS2* 对酪氨酸受体激酶 (tyrosine-protein kinase, JAK) /STAT 通路的抑制减弱, 导致肿瘤增殖<sup>[33]</sup>。在乳腺癌中, 乙型肝炎病毒 X 蛋白结合蛋白 (hepatitis B virus X-interacting protein, HBXIP) 阻碍 miRNA let-7g 生成, 增加 METTL3 表达, 而高表达的 METTL3 进一步提高 *HBXIP* 的转录片段 m<sup>6</sup>A 修饰水平, 增加 *HBXIP* 表达, 从而形成正反馈, 促进肿瘤发生<sup>[34]</sup>。在胃癌中, METTL3 异常增多提高 AKT 的磷酸化水平, 促进 AKT 信号通路, 介导下游效应子核糖体蛋白 S6 激酶 (ribosomal protein S6 kinase, p70S6K) 和细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1) 表达, 提高胃癌细胞增殖性和侵袭性<sup>[35]</sup>。在肺腺癌中, METTL3 异常增多提高了表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 和 TAZ (tafazzin) 蛋白表达, 促进癌细胞生长、侵袭<sup>[36]</sup>。在结直肠癌中, METTL3 异常增多提高致癌基因 *SOX2* 的转录片段编码区 (coding DNA sequence, CDS) 的 m<sup>6</sup>A 修饰水平, 促进转录片段被胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 2 (insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 2, IGF2BP2) 识别, 提高其稳定性, 促进肿瘤生长<sup>[37]</sup>。在骨肉瘤中, METTL3 提高淋巴增强子结合因子 1 (lymphoid enhancer-binding factor 1, *LEF1*) 的转录片段 m<sup>6</sup>A 修饰水平, 促进 *LEF1* 表达, 激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路, 促进肿瘤发生<sup>[38]</sup>。此外, m<sup>6</sup>A 还可以影响肿瘤免疫, 促进肿瘤进展。m<sup>6</sup>A 可以通过 IL-7/STAT5/SOCS 通路影响 T 细胞稳态, 从而影响肿瘤患者免疫力<sup>[21]</sup>。

## 3 RNA m<sup>6</sup>A 异常修饰与肿瘤干细胞

### 3.1 RNA m<sup>6</sup>A 异常修饰与肿瘤干细胞的形成与维持

肿瘤细胞存在异质性, 肿瘤在增殖过程中内部进化出不同性质的细胞类型, 其中具有干性、可以自我更新和不对称分裂、进而分化形成其他瘤内细胞的细胞亚群即是肿瘤干细胞。

在前文中, 我们介绍了 m<sup>6</sup>A 修饰的异常上调破坏 *NANOG*、*SOX2*、*IGFBPs* 等干性基因 mRNA 片段的稳定性, 从而诱发胚胎干细胞分化<sup>[5]</sup>。在肿瘤发生与发展过程中, 很可能存在相反的过程, 即 m<sup>6</sup>A 修饰在干性促进基因的转录片段上异常下调, 促进基因表达, 介导体细胞或分化较好的肿瘤细胞去分化, 进而形成肿瘤干细胞。虽然目前对于肿瘤干细胞如何形成的认识不足, 尚未有实验直接支持这一猜想, 但是 m<sup>6</sup>A 修饰促进致癌基因表达, 促进肿瘤干细胞增殖、分化, 从而促进肿瘤进展、复发的过



程与其具有相似性。在乳腺癌中, 缺氧微环境通过缺氧诱导因子 1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ) 提高 ALKBH5 表达, 使干性因子 *NANOG*、*KLF4* 的转录片段去甲基化, 从而避免 m<sup>6</sup>A 修饰介导的 mRNA 降解, 使干性因子表达增加<sup>[39]</sup>。类似地, 缺氧微环境通过 HIF 提高锌指蛋白 217 (zinc finger protein 217, ZNF217) 表达, 抑制 METTL3 对 *KLF4* 转录片段的 m<sup>6</sup>A 修饰, 从而提高转录片段的稳定性<sup>[39]</sup>。抑制 m<sup>6</sup>A 修饰使肿瘤细胞干性基因表达增加, 最终可能去分化成为肿瘤干细胞, 由此可见, m<sup>6</sup>A 修饰极有可能参与肿瘤干细胞形成。

m<sup>6</sup>A 修饰通过对 RNA 剪切、加工、翻译的密切影响参与维持肿瘤干细胞的自我更新。在神经胶质瘤干细胞中, METTL3 或 METTL14 的异常下调导致胞内 m<sup>6</sup>A 修饰水平整体降低, 进而引起致癌基因 *ADAM19*、*EPHA3* 和 *KLF4* 表达上调, 抑癌基因 *CDKN2A*、*BRCA2* 和 *TP53/11* 表达下调, 促进了肿瘤干细胞的肿瘤形成和自我更新<sup>[40-41]</sup>。ALKBH5 的高表达降低 m<sup>6</sup>A 修饰水平, 使非 m<sup>6</sup>A 修饰的细胞周期调控因子叉头框 M1 (forkhead box protein M1, *FoxM1*) 的转录片段被人抗原 R (Hu-antigen R, HuR, ELAV1) 蛋白结合, 增加 *FoxM1* 转录片段的稳定性, 促进 *FoxM1* 蛋白的表达, 从而提高了肿瘤干细胞的增殖和自我更新能力<sup>[42]</sup>。因此, RNA m<sup>6</sup>A 修饰在肿瘤干细胞形成及维持过程中可能起到非常重要的作用。

### 3.2 RNA m<sup>6</sup>A 异常修饰与肿瘤干细胞相关的肿瘤复发

作为肿瘤细胞层级制度的初级细胞, 肿瘤干细胞是肿瘤放射治疗和化学治疗抵抗和治疗后复发的重要原因。肿瘤干细胞导致肿瘤复发可能通过以下 2 种机制: 一方面, 治疗时部分肿瘤干细胞通过休眠、微环境改变或自身调节等极大降低甚至规避损伤; 另一方面, 治疗后肿瘤干细胞的自身损伤修复, 使其重新进入细胞增殖分裂周期。

肿瘤干细胞可以通过调节自身膜受体和跨膜转运系统降低化学治疗带来的损伤。研究<sup>[43]</sup>发现, 过表达 ATP 结合盒 (ATP-binding cassette, ABC) 的肿瘤干细胞可以在化学治疗后进一步增殖。ABCB1 的过表达给予肿瘤干细胞多种耐药性, 包括对秋水仙碱、阿霉素、依托泊苷、长春碱和紫杉醇的抗性<sup>[44-45]</sup>。神经母细胞瘤高表达 ABCG2 和 ABCA3 转运体, 排出药物的能力提高<sup>[3]</sup>。也有研究<sup>[46]</sup>表明, CD44 高表达的胃癌细胞中 Hedgehog 通路蛋白与化学治疗耐药性有关。

肿瘤干细胞可以通过调节代谢减少抗肿瘤治疗引起的氧化损伤。氧化损伤的主要机制是氧化磷酸化和脂质过

氧化。肿瘤干细胞可以通过提高糖酵解率和增加活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 清除剂表达来抵抗氧化磷酸化引起的氧化损伤。转移性黑色素瘤通过叶酸途径增加还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 生成, 还原氧化型谷胱甘肽, 提高谷胱甘肽水平, 从而清除 ROS, 减轻氧化应激<sup>[47]</sup>。肝癌肿瘤干细胞则通过过表达 CD13 清除 ROS<sup>[48]</sup>。肿瘤干细胞中, 乙醛脱氢酶 (aldehyde dehydrogenase, ALDHs) 合成增加可以降低脂质过氧化产物水平, 减轻氧化应激, 还可以保护肿瘤干细胞不受烷基化剂的影响, 从而增加对环磷酰胺、紫杉醇等的耐药性<sup>[3]</sup>。

肿瘤干细胞还可以通过调节组织微环境降低化学治疗带来的损伤。肿瘤干细胞生存在壁龛 (niche) 中, 壁龛是维持和赋予干细胞活性的特殊微环境。壁龛有利于细胞通过黏附连接和细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 进行细胞间交流。ECM 通过整合蛋白 (integrin)、旁分泌素 (paracrine)、近分泌素 (juxtacrine) 和激素信号、机械传感和神经信号传递信息。肿瘤干细胞可以使相邻的成纤维细胞转变为肿瘤相关成纤维细胞, 调节壁龛组织微环境, 利于肿瘤增殖和浸润<sup>[49]</sup>。肿瘤干细胞亚群中, 一部分细胞处于休眠态, 因而可以避免抗肿瘤治疗造成的损伤。放射治疗和大部分化学治疗仅对增殖中的肿瘤细胞有效, 而研究<sup>[4, 50]</sup>发现, 胶质瘤和乳腺癌中约 1/3 的肿瘤干细胞处于休眠态, 并且在治疗后可以重新进入细胞周期。

除了通过维持肿瘤干细胞数量、促进其增殖间接对抗放射治疗和化学治疗, m<sup>6</sup>A 修饰也参与肿瘤干细胞对抗肿瘤治疗的直接抵抗。在神经胶质瘤干细胞中, METTL3 下调导致 *SOX2* 转录片段的 m<sup>6</sup>A 修饰水平降低, 促进 HuR 与 *SOX2* 转录片段结合, 提高其稳定性, 增加 *SOX2* 表达。*SOX2* 进一步激活 DNA 修复通路, 提高胶质瘤干细胞的自我修复能力, 降低放射治疗敏感性<sup>[51]</sup>。在宫颈癌中, FTO 的上调使  $\beta$ -catenin mRNA 的 m<sup>6</sup>A 水平降低, 促进  $\beta$ -catenin 表达, 进而介导上皮间质转化以及核苷酸切除修复调节子 ERCC1 (excision repair cross-complementing 1) 表达<sup>[52]</sup>。在结直肠癌中, YTHDF1 过表达增强了 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路, 从而提高肿瘤细胞自我修复能力<sup>[53]</sup>。由于肿瘤干细胞往往是放射治疗和化学治疗抵抗的关键, 可见 RNA 的表观修饰提高了宫颈癌干细胞和结直肠癌干细胞的自我修复能力及放射治疗和化学治疗抵抗。不难看出, RNA 的 m<sup>6</sup>A 修饰主要通过提高肿瘤干细胞自我修复能力对抗治疗。然而, 又有研究<sup>[26]</sup>发现, 在 APL 中, FTO 降低 *ASB2* 和 *RARA* 的 mRNA UTR 区 m<sup>6</sup>A 修饰水平, 从而降低其 mRNA 稳定性, 进而减少其蛋白质表达, 导致全



反式维甲酸 (all-trans retinoic acid, ATRA) 诱导的细胞分化被抑制, ATRA 疗效降低。

## 4 展望

肿瘤细胞异质性是恶性肿瘤的特征之一, 肿瘤干细胞

仅占肿瘤的一小部分, 而其他肿瘤细胞无法实现不断自我更新, 或者自我更新能力被剥夺。在肿瘤干细胞促进恶性肿瘤发生、进展和复发的过程中, 以 m<sup>6</sup>A 异常修饰为代表的 RNA 表观修饰很可能起到了至关重要的作用。因此, 以 m<sup>6</sup>A 和肿瘤干细胞为切入点, 探索控制肿瘤进展、抑制肿瘤复发的治疗靶点, 是未来研究的重要方向之一。

## 参·考·文·献

- [1] Wang S, Chai P, Jia R, et al. Novel insights on m<sup>6</sup>A RNA methylation in tumorigenesis: a double-edged sword[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 101.
- [2] Beck B, Blanpain C. Unravelling cancer stem cell potential[J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(10): 727-738.
- [3] Carnero A, Garcia-Mayea Y, Mir C, et al. The cancer stem-cell signaling network and resistance to therapy[J]. *Cancer Treat Rev*, 2016, 49: 25-36.
- [4] Vlashi E, Pajonk F. Cancer stem cells, cancer cell plasticity and radiation therapy[J]. *Semin Cancer Biol*, 2015, 31: 28-35.
- [5] Chen J, Wang C, Fei W, et al. Epitranscriptomic m<sup>6</sup>A modification in the stem cell field and its effects on cell death and survival[J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(4): 752-764.
- [6] Wu R, Jiang D, Wang Y, et al. N<sup>6</sup>-methyladenosine (m<sup>6</sup>A) methylation in mRNA with a dynamic and reversible epigenetic modification[J]. *Mol Biotechnol*, 2016, 58(7): 450-459.
- [7] Patil DP, Chen CK, Pickering BF, et al. m<sup>6</sup>A RNA methylation promotes XIST-mediated transcriptional repression[J]. *Nature*, 2016, 537(7620): 369-373.
- [8] Ping XL, Sun BF, Wang L, et al. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N<sup>6</sup>-methyladenosine methyltransferase[J]. *Cell Res*, 2014, 24(2): 177-189.
- [9] Scholler E, Weichmann F, Treiber T, et al. Interactions, localization, and phosphorylation of the m<sup>6</sup>A generating METTL3-METTL14-WTAP complex[J]. *RNA*, 2018, 24(4): 499-512.
- [10] Zhang M, Zhang Y, Ma J, et al. The demethylase activity of FTO (fat mass and obesity associated protein) is required for preadipocyte differentiation[J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0133788.
- [11] Zheng G, Dahl JA, Niu Y, et al. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility[J]. *Mol Cell*, 2013, 49(1): 18-29.
- [12] Alarcon CR, Lee H, Goodarzi H, et al. N<sup>6</sup>-methyladenosine marks primary microRNAs for processing[J]. *Nature*, 2015, 519(7544): 482-485.
- [13] Bartosovic M, Molares HC, Gregorova P, et al. N<sup>6</sup>-methyladenosine demethylase FTO targets pre-mRNAs and regulates alternative splicing and 3'-end processing[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(19): 11356-11370.
- [14] Kasowitz SD, Ma J, Anderson SJ, et al. Nuclear m<sup>6</sup>A reader YTHDC1 regulates alternative polyadenylation and splicing during mouse oocyte development[J]. *PLoS Genet*, 2018, 14(5): e1007412.
- [15] Zhao X, Yang Y, Sun BF, et al. FTO-dependent demethylation of N<sup>6</sup>-methyladenosine regulates mRNA splicing and is required for adipogenesis[J]. *Cell Res*, 2014, 24(12): 1403-1419.
- [16] Coots RA, Liu XM, Mao Y, et al. m<sup>6</sup>A facilitates eIF4F-independent mRNA translation[J]. *Mol Cell*, 2017, 68(3): 504-514. e7.
- [17] Wang X, Zhao BS, Roundtree IA, et al. N<sup>6</sup>-methyladenosine modulates messenger RNA translation efficiency[J]. *Cell*, 2015, 161(6): 1388-1399.
- [18] Shi H, Wang X, Lu Z, et al. YTHDF3 facilitates translation and decay of N<sup>6</sup>-methyladenosine-modified RNA[J]. *Cell Res*, 2017, 27(3): 315-328.
- [19] Yang Y, Fan X, Mao M, et al. Extensive translation of circular RNAs driven by N<sup>6</sup>-methyladenosine[J]. *Cell Res*, 2017, 27(5): 626-641.
- [20] Wang X, Lu Z, Gome z A, et al. N<sup>6</sup>-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability[J]. *Nature*, 2014, 505(7481): 117-120.
- [21] Li HB, Tong J, Zhu S, et al. m<sup>6</sup>A mRNA methylation controls T cell homeostasis by targeting the IL-7/STAT5/SOCS pathways[J]. *Nature*, 2017, 548(7667): 338-342.
- [22] Lin Z, Hsu PJ, Xing X, et al. Mettl3-/Mettl14-mediated mRNA N<sup>6</sup>-methyladenosine modulates murine spermatogenesis[J]. *Cell Res*, 2017, 27(10): 1216-1230.
- [23] Geula S, Moshitch-Moshkovitz S, Dominissini D, et al. Stem cells. m<sup>6</sup>A mRNA methylation facilitates resolution of naive pluripotency toward differentiation[J]. *Science*, 2015, 347(6225): 1002-1006.
- [24] Bertero A, Brown S, Madrigal P, et al. The SMAD2/3 interactome reveals that TGF $\beta$  controls m<sup>6</sup>A mRNA methylation in pluripotency[J]. *Nature*, 2018, 555(7695): 256-259.
- [25] Zhou J, Wan J, Gao X, et al. Dynamic m<sup>6</sup>A mRNA methylation directs translational control of heat shock response[J]. *Nature*, 2015, 526(7574): 591-594.
- [26] Li Z, Weng H, Su R, et al. FTO plays an oncogenic role in acute myeloid leukemia as a N<sup>6</sup>-methyladenosine RNA demethylase[J]. *Cancer Cell*, 2017, 31(1): 127-141.
- [27] Su R, Dong L, Li C, et al. R-2HG exhibits anti-tumor activity by targeting FTO/m<sup>6</sup>A/MYC/CEBPA signaling[J]. *Cell*, 2018, 172(1/2): 90-105.e23.
- [28] Liu J, Ren D, Du Z, et al. m<sup>6</sup>A demethylase FTO facilitates tumor progression in lung squamous cell carcinoma by regulating MZF1 expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 502(4): 456-464.
- [29] Ma JZ, Yang F, Zhou CC, et al. METTL14 suppresses the metastatic potential of hepatocellular carcinoma by modulating N<sup>6</sup>-methyladenosine-dependent primary microRNA processing[J]. *Hepatology*, 2017, 65(2): 529-543.
- [30] Yang S, Wei J, Cui YH, et al. m<sup>6</sup>A mRNA demethylase FTO regulates melanoma tumorigenicity and response to anti-PD-1 blockade[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2782.
- [31] Weng H, Huang H, Wu H, et al. METTL14 inhibits hematopoietic stem/progenitor differentiation and promotes leukemogenesis via mRNA m<sup>6</sup>A modification[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(2): 191-205. e9.
- [32] Vu LP, Pickering BF, Cheng Y, et al. The N<sup>6</sup>-methyladenosine (m<sup>6</sup>A)-forming enzyme METTL3 controls myeloid differentiation of normal hematopoietic and leukemia cells[J]. *Nat Med*, 2017, 23(11): 1369-1376.
- [33] Chen M, Wei L, Law CT, et al. RNA N<sup>6</sup>-methyladenosine methyltransferase-like 3 promotes liver cancer progression through YTHDF2-dependent posttranscriptional silencing of SOCS2[J]. *Hepatology*, 2018, 67(6): 2254-2270.
- [34] Cai X, Wang X, Cao C, et al. HBXIP-elevated methyltransferase METTL3 promotes the progression of breast cancer via inhibiting tumor suppressor let-7g[J]. *Cancer Lett*, 2018, 415: 11-19.
- [35] Lin S, Liu J, Jiang W, et al. METTL3 promotes the proliferation and mobility of gastric cancer cells[J]. *Open Med (Wars)*, 2019, 14: 25-31.
- [36] Lin S, Choe J, Du P, et al. The m<sup>6</sup>A methyltransferase METTL3 promotes translation in human cancer cells[J]. *Mol Cell*, 2016, 62(3): 335-345.
- [37] Li T, Hu PS, Zuo Z, et al. METTL3 facilitates tumor progression via an m<sup>6</sup>A-IGF2BP2-dependent mechanism in colorectal carcinoma[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 112.
- [38] Miao W, Chen J, Jia L, et al. The m<sup>6</sup>A methyltransferase METTL3 promotes osteosarcoma progression by regulating the m<sup>6</sup>A level of LEF1[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 516(3): 719-725.
- [39] Zhang C, Zhi WI, Lu H. Hypoxia-inducible factors regulate pluripotency factor expression by ZNF217- and ALKBH5-mediated modulation of RNA methylation in breast cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2014, 7(40): 64527-64542.
- [40] Cui Q, Shi H, Ye P, et al. m<sup>6</sup>A RNA methylation regulates the self-renewal and tumorigenesis of glioblastoma stem cells[J]. *Cell Rep*, 2017, 18(11): 2622-2634.
- [41] Pan Y, Ma P, Liu Y, et al. Multiple functions of m<sup>6</sup>A RNA methylation in cancer[J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1): 48.
- [42] Zhang S, Zhao BS, Zhou A, et al. m<sup>6</sup>A demethylase ALKBH5 maintains tumorigenicity of glioblastoma stem-like cells by sustaining FOXM1 expression and cell proliferation program[J]. *Cancer Cell*, 2017, 31(4): 591-606. e6.
- [43] Eckford PD, Sharom FJ. ABC efflux pump-based resistance to chemotherapy drugs[J]. *Chem Rev*, 2009, 109(7): 2989-3011.
- [44] Fletcher JI, Williams RT, Henderson MJ, et al. ABC transporters as mediators of drug resistance and contributors to cancer cell biology[J]. *Drug Resist Updat*,



- 2016, 26: 1-9.
- [45] Chow EK, Fan LL, Chen X, et al. Oncogene-specific formation of chemoresistant murine hepatic cancer stem cells[J]. Hepatology, 2012, 56(4): 1331-1341.
- [46] Yoon C, Park DJ, Schmidt B, et al. CD44 expression denotes a subpopulation of gastric cancer cells in which Hedgehog signaling promotes chemotherapy resistance[J]. Clin Cancer Res, 2014, 20(15): 3974-3988.
- [47] Piskounova E, Agathocleous M, Murphy MM, et al. Oxidative stress inhibits distant metastasis by human melanoma cells[J]. Nature, 2015, 527(7577): 186-191.
- [48] Kim HM, Haraguchi N, Ishii H, et al. Increased CD13 expression reduces reactive oxygen species, promoting survival of liver cancer stem cells *via* an epithelial-mesenchymal transition-like phenomenon[J]. Ann Surg Oncol, 2012, 19(Suppl 3): S539-S548.
- [49] Tsuyada A, Chow A, Wu J, et al. CCL2 mediates cross-talk between cancer cells and stromal fibroblasts that regulates breast cancer stem cells[J]. Cancer Res, 2012, 72(11): 2768-2779.
- [50] Lagadee C, Vlashi E, Della Donna L, et al. Survival and self-renewing capacity of breast cancer initiating cells during fractionated radiation treatment[J]. Breast Cancer Res, 2010, 12(1): R13.
- [51] Visvanathan A, Patil V, Arora A, et al. Essential role of METTL3-mediated m<sup>6</sup>A modification in glioma stem-like cells maintenance and radioresistance[J]. Oncogene, 2018, 37(4): 522-533.
- [52] Zhou S, Bai ZL, Xia D, et al. FTO regulates the chemo-radiotherapy resistance of cervical squamous cell carcinoma (CSCC) by targeting  $\beta$ -catenin through mRNA demethylation[J]. Mol Carcinog, 2018, 57(5): 590-597.
- [53] Bai Y, Yang C, Wu R, et al. YTHDF1 regulates tumorigenicity and cancer stem cell-like activity in human colorectal carcinoma[J]. Front Oncol, 2019, 9: 332.

[ 收稿日期 ] 2019-05-20

[ 本文编辑 ] 崔黎明

## 抗疫小知识

### 新型冠状病毒病原学特点

新型冠状病毒属于  $\beta$  属的冠状病毒, 有包膜, 颗粒呈圆形或椭圆形, 常为多形性, 直径 60 ~ 140 nm。其基因特征与 SARS-CoV 和 MERS-CoV 有明显区别。目前研究显示, 与蝙蝠 SARS 样冠状病毒 (bat-SL-CoVZC45) 同源性达 85% 以上。体外分离培养时, 新型冠状病毒 96 h 左右即可在人呼吸道上皮细胞内发现, 而在 Vero E6 和 Huh-7 细胞系中分离培养需约 6 d。

对冠状病毒理化特性的认识多来自对 SARS-CoV 和 MERS-CoV 的研究。病毒对紫外线和热敏感, 56  $^{\circ}\text{C}$  30 min 以及乙醚、75% 乙醇、含氯消毒剂、过氧乙酸和氯仿等脂溶剂均可有效灭活病毒, 氯己定不能有效灭活病毒。

——摘自《新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第七版)》