

# m6A修饰在乳腺癌中的分子机制研究进展

郑仁靖\*, 喻远航, 邓惠芳, 吕莲秋, 王涵, 张波#

华中科技大学同济医学院附属协和医院乳腺甲状腺外科, 湖北 武汉

收稿日期: 2022年4月11日; 录用日期: 2022年5月6日; 发布日期: 2022年5月13日

## 摘要

RNA的N6-甲基腺苷(m6A)修饰是参与肿瘤恶性进程的最广泛的表观遗传修饰。大量研究表明, m6A甲基化与乳腺癌的增殖、侵袭、转移和发展密切相关。近年来, 随着m6A修饰及其相关调控蛋白在乳腺癌中的生物学功能和特异性分子机制研究的不断深入, 两者之间复杂的调控关系逐渐清晰。本文旨在探讨近年来m6A修饰在肿瘤学中的研究进展。此外, 我们试图探讨m6A修饰的新型小分子药物在乳腺癌治疗中的前景和局限性。

## 关键词

乳腺癌, N6-甲基腺苷修饰, 靶向治疗

# Progress in Molecular Mechanism of RNA N6-Methyladenosine Modification in Breast Cancer

Renjing Zheng\*, Yuanhang Yu, Huifang Deng, Lianqiu Lv, Han Wang, Bo Zhang#

Department of Breast and Thyroid Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan Hubei

Received: Apr. 11<sup>th</sup>, 2022; accepted: May 6<sup>th</sup>, 2022; published: May 13<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

N6-methyladenosine RNA (m6A) is mRNA's most abundant and extensive epigenetic modification involved in the malignant process of tumors. It is widely reported that m6A is involved in mam-

\*第一作者。

#通讯作者 Email: union\_bzhang@hust.edu.cn

mary carcinogenesis, invasion, metastasis and development. Recently, as the studies of m6A are getting further, the complex modulation network between breast cancer and m6A is getting clearer. This review aims to elaborate current status and perspectives of m6A study in oncology. In addition, we discuss the application prospects and limitations of small-molecule drugs targeting m6A in breast cancer.

## Keywords

Breast Cancer, N6-Methyladenosine Modification, Targeted Therapy

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

m6A 修饰是真核细胞 RNA 中最常见的修饰形式, 通常指第 6 位腺苷酸上的甲基化修饰。它在 19 世纪 70 年代首次被发现, 但直到 2012 年, 随着高通量测序技术的快速发展, m6A 在人类基因组中的作用才逐渐揭开面纱。m6A 修饰主要受甲基转移酶、去甲基化酶和 m6A 修饰结合蛋白的调控, 广泛参与 RNA 转录后过程的调控, 包括选择性剪接, RNA 输出, RNA 稳定性, RNA 转录后翻译以及其他 RNA 加工和代谢过程[1] [2] [3]。根据已有的研究证据, m6A 修饰调控乳腺癌中致癌基因的表达, 与乳腺癌的基因分型、预后有关, 在肿瘤细胞增殖、侵袭、转移、耐药性和细胞干性等恶性表型中有重要的调控作用[4]-[14]。为促进 m6A 修饰在乳腺癌研究中的深入研究, 阐明 m6A 修饰在乳腺癌中的作用机制, 本文综述了 m6A 修饰调控蛋白在乳腺癌中的不同作用机制, 并从临床转化的角度探讨了靶向 m6A 修饰的小分子抑制剂在乳腺癌中的治疗前景。

## 2. m6A 甲基化酶在乳腺癌中的作用

m6A 甲基转移酶, 即编码器, 是由 METTL3、METTL14、WTAP、KIAA129 组成的蛋白复合体, 介导 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)向特定的 RNA 碱基上转移的过程[1] [2] [15] [16]。其中, METTL3 是肿瘤领域中分子机制研究最为深入的 m6A 甲基化酶, 在乳腺癌中扮演着致癌基因的角色[17] [18] [19] [20]。Cai 及其同事发现, METTL3 在乳腺癌细胞中表达水平高于正常乳腺细胞, 同时, METTL3 通过上调癌基因 HBXIP 的 m6A 修饰水平, 在转录后水平促进 HBXIP 的表达。HBXIP 蛋白可以抑制 microRNA let-7g 的表达, let-7g 靶向 METTL3 的 3'-UTR 区域从而抑制 METTL3 的表达。因此形成正反馈环, 放大增殖信号, 促进乳腺癌细胞的恶性增殖[4]。METTL3 广泛调控与乳腺癌细胞凋亡、侵袭、转移密切相关的基因, 例如 Bcl-2、Sox2 等[4] [8] [21]。m6A 甲基转移酶受到细胞外刺激和细胞间通讯的调控。Wang 等人的最新研究揭示了肿瘤微环境中的乳酸累积调控 METTL3 介导肿瘤浸润免疫细胞(TILs)的 m6A 修饰, 促进 TILs 发挥免疫抑制功能, 介导乳腺癌的免疫逃逸[12]。同时, METTL3 的过表达常常伴随着肿瘤细胞中宏观 m6A 修饰水平的增加, 提示 m6A 修饰的上调可能作为触发乳腺上皮细胞恶变的关键因素。上述研究结果揭示了 METTL3 作为乳腺癌潜在治疗靶标的临床意义。

METT14 是甲基转移酶蛋白复合物的重要成员[22]。在体外实验中, METTL14<sup>KD</sup> 乳腺癌细胞系的增殖、侵袭和转移能力大幅降低, 利用裸鼠异种移植瘤模型对 METTL14<sup>KD</sup> 乳腺癌细胞系进行体内成瘤实验, 进一步证实上述结论。Panneerdoss 等人提出, METTL14/ALKBH5/HuR/TGF- $\beta$  形成了一个潜在的正反馈

回路, METTL14 通过调节 TGF- $\beta$  的信号转导通路基因的 RNA m6A 修饰, 从转录后调控水平抑制上述基因的表达, 从而促进乳腺癌细胞的增殖与恶性进展[20]。但 Wang 等人通过结合 TCGA 数据库的 RNA 测序数据及临床数据, 鉴定 METTL14 的高表达与更好的三阴性乳腺癌的预后直接相关[23]。甲基转移酶 KIAA1429, 又称为 VIRMA, 在乳腺癌中的作用已被初步阐明, 其促进乳腺癌细胞的增殖和上皮间质样转化, 并介导 m6A 依赖的 CDK1 的 RNA 稳定性[20]。WTAP 作为甲基化酶复合体的核心成员, 缺乏催化 SAM 转移的结构域, 因此 WTAP 可能作为稳定 METTL3 与 METTL14 的结构而存在。Huang 等人的研究表明, WTAP 受到 lncRNA-AS 的调控, 同时, WTAP 通过 m6A 依赖途径介导 DLGAP-1-AS 的表达, 增强乳腺癌细胞的利霉素耐药性[24]。其中, METTL16 作为最新被鉴定的甲基化酶在乳腺癌中的发挥的作用尚不清楚, 有待进一步研究。以上研究探讨了 m6A 甲基化酶在乳腺癌发生发展过程中的不同功能, 揭示了 m6A 甲基化酶在乳腺癌发病中的复杂调控作用。

### 3. m6A 去甲基化酶在乳腺癌中的作用

m6A 去甲基化酶, 又称为消码器, 通过催化 m6A 的去甲基化, “擦除” m6A 修饰, 揭示了 m6A 修饰的动态可逆性[1] [2]。FTO, 作为首个被发现 m6A 去甲基化酶, 也被证实参与乳腺癌细胞的恶性转化的调控。Niu 等通过体外成球实验证实 FTO 增强乳腺癌细胞的恶性增殖能力, FTO 通过介导 Bcl-2 家族蛋白 BNIP3 的去 m6A 甲基化, 从转录后水平抑制 BNIP3 的表达从而抑制乳腺癌细胞凋亡[6]。Liu 等人报道, FTO 通过 m6A 依赖途径影响下游 PI3K/AKT 信号通路, 参与乳腺癌细胞糖酵解和能量代谢的调控。PI3K/AKT 通路参与肿瘤细胞增殖、代谢、肿瘤免疫应答等关键生物学过程[5]。FTO 与 PI3K/AKT 信号通路的相互作用可能会对乳腺癌产生复杂深远的影响, 有待进一步的研究。去甲基化酶 ALKBH5 介导 m6A 去甲基化的过程与 FTO 相似。Zhang 等人发现 ALKBH5 在缺氧环境中通过 NANOG 介导乳腺癌干性转化, 同时, 缺氧条件下, 癌基因 ZNF217 的表达增加, 其上调抑制 METTL3 的表达, 后者与 FTO 协同降低细胞内的 m6A 水平[14]。Wu 等人发现 PRMT5 在乳腺癌中促进 ALKBH5 的核异位, 在阿霉素的作用下, ALKBH5 抑制了 BRCA1 的 m6A 修饰, 进一步增强了 DNA 修复能力, 从而降低了阿霉素在乳腺癌细胞中的疗效[11]。Wang 等人设计了由 ALKBH5 和 METTL14 组成的预后预测模型, 结合 TNM 分期预测三阴性乳腺癌的预后[23]。FTO、ALKBH5 与乳腺癌发生发展存在密切联系, 有可能成为治疗乳腺癌的新型分子靶点。

### 4. m6A 结合蛋白在乳腺癌中的作用

m6A 结合蛋白, 又称为读取器, 参与识别 m6A 位点从而影响 RNA 的加工、代谢等过程, 主要由 YTH 家族、hnRNP 家族等组成。在同一转录本中, m6A 修饰位置不同, 读取器介导的调控功能也不同。同样, 不同类型的 m6A 结合蛋白即使结合相同的下游目标基因, 也会介导不同的 RNA 命运[1] [2] [25]。Liu 等人利用 TCGA 数据库中的 RNA-seq 数据, 证实了 m6A 结合蛋白 YTHDF1、YTHDF2、hnRNPC 和 hnRNPA2B1 在乳腺肿瘤组织中的高表达水平, 且部分 m6A 结合蛋白与乳腺癌的不良预后有关[22]。Niu 等人的研究不仅验证了 FTO 与 BNIP3 的结合, 还发现 YTHDF2 参与了识别与结合 BNIP3 潜在的 m6A 位点, 促进其 mRNA 的降解, 从而促进乳腺癌细胞的发生发展[6]。在敲除 METTL14 和 ALKBH5 基的乳腺癌细胞中, YTHDF3 水平显著升高, 干扰 YTHDF3 的表达显著抑制乳腺癌细胞的增殖与侵袭。但 m6A 甲基化酶调控 YTHDF3 的具体分子机制尚不清楚。Belinda 等人发现 m6A 结合蛋白 hnRNPA2B1 参与调控乳腺癌细胞对他莫昔芬和氟维司群的药物敏感性[26]。基于上述结论, 读取器作为 m6A 功能执行者, 识别 m6A 位点是否存在特异性, 在不同的肿瘤细胞中是否具有相同的调控作用, 需要进一步的研究与探索。

## 5. 基于 m6A 修饰的新型分子靶向药物的研究进展

m6A 修饰在恶性肿瘤中展现出了强大的调控作用, 靶向 m6A 修饰的新型药物研究尚处于早期阶段。Deng 等人的研究表明, 在白血病中, R-2-羟基戊二酸(R-2HG)靶向 FTO, 作为 IDH1/2 酶突变的代谢产物, R-2HG 可升高 m6A 水平并增强 YTHDF2 介导的 MYC、ASB2 和 RARA 转录物的降解, 显示出广谱抗血液肿瘤的疗效[27]。同时, 另一项研究表明, R-2HG 可以减少神经胶质瘤细胞增殖、迁移, 促进细胞凋亡。

甲氧芬那酸(MA)是一种非甾体类抗炎药物, 已被证实能够竞争性结合 FTO 结合位点, 从而抑制神经胶质瘤的肿瘤进展。Chen 等人开发了两种 MA 衍生物, FB23 和 FB23-2, 均在急性髓系白血病(AML)细胞展现出 FTO 抑制活性, 但抑制程度并不理想[28]。Eliza 等人研发出了一种低毒性小分子抑制剂 STM2457, 特异性靶向 METTL13 活性位点, 能够有效缓解 AML 的进展[29]。在白血病和恶性神经胶质瘤等恶性肿瘤中展现出治疗前景。与现有的抗肿瘤药物联合使用, 也许能显示出更有效的抗肿瘤作用。然而, m6A 修饰抑制剂的在乳腺癌中的临床药物研发及应用的有关研究非常有限, 因此迫切需要开发特异性靶向乳腺癌异常 m6A 修饰的新型药物。同时, 结合现有的 m6A 修饰机制研究, 鉴定预测 m6A 抑制剂在乳腺癌中疗效的特异性生物标志物, 从而指导乳腺癌的精准治疗。

## 6. 总结与展望

近年来, 随着测序技术的发展, 对于 RNA 修饰在基因转录后调控中的复杂性的认识进一步加深。m6A 修饰的调控不仅取决于细胞的状态, 还取决于外界环境的刺激和细胞间的相互作用。因此, 现有的关于恶性肿瘤中 m6A 修饰的调节作用的研究, 大多使用了单纯的细胞系进行体外实验, 简单的细胞系模型在探索 RNA 甲基化的整体生物学功能方面存在局限性。因此, 不同研究中, 相同的 m6A 调控蛋白在相同的癌症类型中能够发挥截然不同的作用。为了充分的理解 m6A 修饰在肿瘤细胞中的作用, 有必要构建更接近肿瘤微环境的实验体系[2]。

基于前文结论, 不难发现 m6A 修饰对肿瘤细胞的调控是一把“双刃剑”。METTL3 与 FTO 在 m6A 修饰水平上的作用完全相反, 但它们在乳腺癌发病的分子机制中同样扮演致癌基因的角色, 甚至调控同样的下游靶点, 如 Sox2 [9]。METTL14 可通过抑制 TGF- $\beta$  信号通路促进乳腺癌进展, 但一项基于测序数据的预后分析研究认为 METTL14 在乳腺癌中发挥抑癌作用[23]。m6A 修饰调控细胞中许多关键的转录后调控过程, m6A 修饰失调在乳腺癌的增殖、迁移、侵袭、凋亡、耐药等中的复杂调控作用不容忽视。探索 m6A 修饰在乳腺癌中的修饰谱及具体的分子机制, 有望成为未来乳腺癌表观遗传学研究的重要方向, 为乳腺癌个体化、精准化治疗中靶向 m6A 修饰的策略提供理论依据。

## 参考文献

- [1] Roundtree, I.A., Evans, M.E., Pan, T. and He, C. (2017) Dynamic RNA Modifications in Gene Expression Regulation. *Cell*, 169, 1187-1200. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.045>
- [2] Shi, H., Wei, J. and He, C. (2019) Where, When, and How: Context-Dependent Functions of RNA Methylation Writers, Readers, and Erasers. *Molecular Cell*, 74, 640-650. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.04.025>
- [3] Zhou, J., Wan, J., Gao, X., Zhang, X., Jaffrey, S.R. and Qian, S.-B. (2015) Dynamic m<sup>6</sup>A mRNA methylation directs translational control of heat shock response. *Nature*, 526, 591-594. <https://doi.org/10.1038/nature15377>
- [4] Cai, X., Wang, X., Cao, C., Gao, Y., Zhang, S., Yang, Z., et al. (2018) HBXIP-Elevated Methyltransferase METTL3 Promotes the Progression of Breast Cancer via Inhibiting Tumor Suppressor Let-7g. *Cancer Letters*, 415, 11-19. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.11.018>
- [5] Liu, Y., Wang, R., Zhang, L., Li, J., Lou, K. and Shi, B. (2017) The Lipid Metabolism Gene FTO Influences Breast Cancer Cell Energy Metabolism via the PI3K/AKT Signaling Pathway. *Oncology Letters*, 13, 4685-4690. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.6038>



- [6] Niu, Y., Lin, Z., Wan, A., Chen, H., Liang, H., Sun, L., Wang, Y., *et al.* (2019) RNA N6-Methyladenosine Demethylase FTO Promotes Breast Tumor Progression through Inhibiting BNIP3. *Molecular Cancer*, **18**, Article No. 46. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-1004-4>
- [7] Song, Y., Zheng, C., Tao, Y., Huang, R. and Zhang, Q. (2021) N6-Methyladenosine Regulators Are Involved in the Progression of and Have Clinical Impact on Breast Cancer. *Medical science Monitor*, **27**, Article ID: e929615. <https://doi.org/10.12659/MSM.929615>
- [8] Wang, H., Xu, B. and Shi, J. (2020) N6-Methyladenosine METTL3 Promotes the Breast Cancer Progression via Targeting Bcl-2. *Gene*, **722**, Article ID: 144076. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.144076>
- [9] Wei, M., Bai, J.W., Niu, L., Zhang, Y.Q., Chen, H.Y. and Zhang, G.J. (2020) The Complex Roles and Therapeutic Implications of m<sup>6</sup>A Modifications in Breast Cancer. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **8**, Article ID: 615071. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.615071>
- [10] Wu, L., Wu, D., Ning, J., Liu, W. and Zhang, D. (2019) Changes of N6-Methyladenosine Modulators Promote Breast Cancer Progression. *BMC Cancer*, **19**, Article No. 326. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5538-z>
- [11] Wu, Y., Wang, Z., Han, L., Guo, Z., Yan, B., Guo, L., *et al.* (2022) PRMT5 Regulates RNA m<sup>6</sup>A Demethylation for Doxorubicin Sensitivity in Breast cancer. *Molecular Therapy*. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2022.03.003>
- [12] Xiong, J., He, J., Zhu, J., Pan, J., Liao, W., Ye, H., *et al.* (2022) Lactylation-Driven METTL3-Mediated RNA m<sup>6</sup>A Modification Promotes Immunosuppression of Tumor-Infiltrating Myeloid Cells. *Molecular Cell*. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2022.02.033>
- [13] Yue, L., Li, L., Liu, F., Hu, N., Zhang, W., Bai, X., *et al.* (2013) The Oncoprotein HBXIP Activates Transcriptional Coregulatory Protein LMO4 via Sp1 to Promote Proliferation of Breast Cancer Cells. *Carcinogenesis*, **34**, 927-935. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgs399>
- [14] Zhang, C., Samanta, D., Lu, H., Bullen, J.W., Zhang, H., Chen, I., *et al.* (2016) Hypoxia Induces the Breast Cancer Stem Cell Phenotype by HIF-Dependent and ALKBH5-Mediated m<sup>6</sup>A-Demethylation of NANOG mRNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **113**, E2047-E2056. <https://doi.org/10.1073/pnas.1602883113>
- [15] Fu, Y., Dominissini, D., Rechavi, G. and He, C. (2014) Gene Expression Regulation Mediated through Reversible m<sup>6</sup>A RNA Methylation. *Nature Reviews Genetics*, **15**, 293-306. <https://doi.org/10.1038/nrg3724>
- [16] He, C. (2010) Grand Challenge Commentary: RNA Epigenetics? *Nature Chemical Biology*, **6**, 863-865. <https://doi.org/10.1038/nchembio.482>
- [17] Deng, X., Su, R., Feng, X., Wei, M. and Chen, J. (2018) Role of N<sup>6</sup>-Methyladenosine Modification in Cancer. *Current Opinion in Genetics & Development*, **48**, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2017.10.005>
- [18] Deng, X., Su, R., Weng, H., Huang, H., Li, Z. and Chen, J. (2018) RNA N<sup>6</sup>-Methyladenosine Modification in Cancers: Current Status and Perspectives. *Cell Research*, **28**, 507-517. <https://doi.org/10.1038/s41422-018-0034-6>
- [19] Esteve-Puig, R., Bueno-Costa, A. and Esteller, M. (2020) Writers, Readers and Erasers of RNA Modifications in Cancer. *Cancer Letters*, **474**, 127-137. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.01.021>
- [20] Panneerdoss, S., Eedunuri, V.K., Yadav, P., Timilsina, S., Rajamanickam, S., *et al.* (2018) Cross-Talk among Writers, Readers, and Erasers of m<sup>6</sup>A Regulates Cancer Growth and Progression. *Science Advances*, **4**, Article No. eaar8263. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aar8263>
- [21] Chai, R., Chang, Y., Chang, X., Pang, B., An, S., Zhang, K., *et al.* (2021) YTHDF2 Facilitates *UBXN1* mRNA Decay by Recognizing METTL3-Mediated m<sup>6</sup>A Modification to Activate NF-κB and Promote the Malignant Progression of Glioma. *Journal of Hematology & Oncology*, **14**, Article No. 109. <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01124-z>
- [22] Liu, J., Yue, Y., Han, D., Wang, X., Fu, Y., Zhang, L., *et al.* (2014) A METTL3-METTL14 Complex Mediates Mammalian Nuclear RNA N6-Adenosine Methylation. *Nature Chemical Biology*, **10**, 93-95. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1432>
- [23] Wang, S., Zou, X., Chen, Y., Cho, W.C. and Zhou, X. (2020) Effect of N6-Methyladenosine Regulators on Progression and Prognosis of Triple-Negative Breast Cancer. *Frontiers in Genetics*, **11**, Article ID: 580036. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.580036>
- [24] Huang, T., Cao, L., Feng, N., Xu, B., Dong, Y. and Wang, M. (2021) N<sup>6</sup>-Methyladenosine (m<sup>6</sup>A)-Mediated lncRNA DLGAP1-AS1enhances Breast Canceradriamycin Resistance through miR-299-3p/WTAP Feedback Loop. *Bioengineering*, **12**, 10935-10944. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2000198>
- [25] Wang, X., Zhao, B.S., Roundtree, I.A., Lu, Z., Han, D., Ma, H., *et al.* (2015) N<sup>6</sup>-Methyladenosine Modulates Messenger RNA Translation Efficiency, *Cell*, **161**, 1388-1399. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.014>
- [26] Petri, B.J., Piell, K.M., South Whitt, G.C., Wilt, A.E., Poulton, C.C., Lehman, N.L., *et al.* (2021) HNRNPA2B1 Regulates Tamoxifen- and Fulvestrant-Sensitivity and Hallmarks of Endocrine Resistance in Breast Cancer Cells. *Cancer Letters*, **518**, 152-168. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2021.07.015>

- 
- [27] Su, R., Dong, L., Li, C., Nachtergaele, S., Wunderlich, M., Qing, Y., *et al.* (2018) R-2HG Exhibits Anti-Tumor Activity by Targeting FTO/m<sup>6</sup>A/MYC/CEBPA Signaling. *Cell*, **172**, 90-105.e123. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.11.031>
- [28] Chen, B., Ye, F., Yu, L., Jia, G., Huang, X., Zhang, X., *et al.* (2012) Development of Cell-Active N6-Methyladenosine RNA Demethylase FTO Inhibitor. *Journal of the American Chemical Society*, **134**, 17963-17971. <https://doi.org/10.1021/ja3064149>
- [29] Yankova, E., Blackaby, W., Albertella, M., Rak, J., De Braekeleer, E., Tsagkogeorga, G., *et al.* (2021) Small-Molecule Inhibition of METTL3 as a Strategy against Myeloid Leukaemia. *Nature*, **593**, 597-601. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03536-w>