



DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2024.02.02

文章编号: 2095-1264(2024)02-0139-11

## RNA 甲基化修饰调控 DNA 损伤修复过程及其在肿瘤耐药中的作用\*

周家银<sup>1</sup>, 储志敏<sup>2</sup>, 李 洋<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>安徽医科大学第一临床医学院, 安徽合肥, 230032; <sup>2</sup>安徽医科大学生命科学院, 安徽合肥, 230012)

**摘要:** DNA 损伤修复是指纠正 DNA 两条单链间错配的碱基、清除 DNA 链上受损的碱基、恢复 DNA 正常结构的过程。细胞内存在多种机制来应对不同类型的 DNA 损伤,同源重组修复便是重要的修复机制之一。在同源重组修复过程中,RNA 的合成发挥着重要作用,而 RNA 甲基化修饰作为一个普遍存在于真核细胞中的调控机制,也参与了这一复杂的修复过程。肿瘤发生过程中普遍存在 RNA 甲基化修饰失调导致的 DNA 损伤累积,从而引起肿瘤的恶性转化。此外,RNA 甲基化修饰还可以影响放化疗后细胞对 DNA 损伤的修复能力,使肿瘤细胞的放化疗敏感性发生改变,进而影响治疗效果。本文综述了目前已知的不同类型 RNA 甲基化修饰在 DNA 损伤修复过程中的作用,并进一步分析 RNA 甲基化修饰介导的 DNA 损伤修复异常在肿瘤临床诊断、预后判断和作为治疗靶点等方面的应用前景。

**关键词:** RNA 甲基化修饰; DNA 损伤修复; 肿瘤耐药

**中图分类号:** R730 **文献标识码:** A

## Regulation of RNA methylation modifications during DNA damage repair and their roles in tumor drug resistance\*

ZHOU Jiayin<sup>1</sup>, CHU Zhimin<sup>2</sup>, LI Yang<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>First Clinical Medical College, Anhui Medical University, Hefei, 230032, Anhui, China; <sup>2</sup>School of Life Science, Anhui Medical University, Hefei, 230012, Anhui, China)

**Abstract:** DNA damage repair refers to the process of correcting mismatches between bases on two single DNA strands, removing damaged bases from the DNA chain, and restoring the normal structure of DNA. There are various mechanisms within cells to address different types of DNA damage, and homologous recombination repair is one of the significant repair mechanisms. In the process of homologous recombination repair, the synthesis of new RNA plays a crucial role, and RNA methylation modification, as a ubiquitous regulatory mechanism in eukaryotic cells, also participates in this complex repair process. In the process of tumor development, there is a common accumulation of DNA damage caused by the dysregulation of RNA methylation modifications, resulting in the malignant transformation of tumors. Additionally, RNA methylation modifications can also affect the repair capacity of cells after radiotherapy and chemotherapy, causing changes in the sensitivity of tumor cells to radiotherapy and chemotherapy, thereby affecting the treatment effect. In the current review, we summarized the types of RNA methylation modifications and their roles in the process of DNA damage repair, and further discussed their application prospects in the clinical diagnosis, prognosis and therapeutic targets of tumors.

**Keywords:** RNA methylation modifications; DNA damage repair; Tumor drug resistance

\*基金项目:国家自然科学基金面上项目(8187231)

作者简介:周家银,男,本科生,研究方向:临床医学。

\*通信作者:李洋,男,博士,教授,研究方向:肿瘤表观遗传。

## 0 前言

RNA 修饰是一种动态、可逆且广泛存在的表观遗传学调控机制,目前已知的 RNA 化学修饰达 170 多种<sup>[1]</sup>。RNA 修饰既可以发生在编码 RNA 上,也可发生在非编码 RNA 上,构成细胞内“表观转录组”的重要部分。其中,甲基化是最主要的 RNA 修饰之一,也是目前研究的热点。由于 RNA 甲基化修饰参与调控了细胞内众多 RNA 的剪切、转运、稳定性、结构和翻译效率等,因此广泛介导了基因表达调控及多个生理、病理进程。RNA 甲基化修饰还可以直接参与调控 DNA 损伤修复过程,进而从另一个方面调节肿瘤的发生、发展,并在化疗耐药中发挥重要作用。本文主要总结目前 RNA 甲基化修饰在 DNA 损伤修复过程中的调控及在肿瘤发生和治疗耐受中的作用。

## 1 RNA 甲基化修饰的定义和类型

在自然界, RNA 修饰广泛存在于多种核苷酸中,如 A、U、C、G、I,其中甲基化修饰约占修饰总量的 2/3<sup>[2]</sup>。在真核生物中,普遍存在着氮 6-甲基腺苷(*N*<sup>6</sup>-methyladenosine, m<sup>6</sup>A)、5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, m<sup>5</sup>C)、7-甲基鸟嘌呤(*N*<sup>7</sup>-methylguanosine, m<sup>7</sup>G)、氮 6,2-O-二甲基腺嘌呤(*N*<sup>6</sup>,2-O-dimethyladenine, m<sup>6</sup>Am)和氮 1-甲基腺苷(*N*<sup>1</sup>-methyladenosine, m<sup>1</sup>A)等多种 RNA 甲基化修饰。

### 1.1 m<sup>6</sup>A

m<sup>6</sup>A 是指在碱基 A 第 6 位 N 原子上发生的甲基化,参与了正常和异常生物过程中的多个重要环节,如 RNA 的剪切、翻译和降解等<sup>[3]</sup>。现已发现, m<sup>6</sup>A 修饰主要分布在 mRNA 的编码区、剪切位点附近、终止密码子区及 3' 非编码区(3' UTR)<sup>[4]</sup>,同时外显子区也有 m<sup>6</sup>A 的存在,具有 RRACH 的保守序列(R 通常为 G 和 A, H 通常为 A、C 和 U),序列中最经典的是 GGACU<sup>[5]</sup>。

RNA 的 m<sup>6</sup>A 修饰有 3 类蛋白参与:甲基转移酶(writers)、去甲基化酶(erasers)、甲基化阅读蛋白(readers),其本质是由甲基转移酶催化形成,在去甲基化酶的作用下去除,且修饰位点可以被甲基化阅读蛋白所识别的动态、可逆的过程。

现有研究表明, m<sup>6</sup>A 修饰会影响 mRNA 本身的稳定性、蛋白翻译效率及染色质重塑和组蛋白修饰等。有研究显示,在 RNA 转录过程中, m<sup>6</sup>A 修饰可

直接使邻近 DNA 去甲基化,从而增强染色质可及性及所在基因的表达<sup>[6]</sup>。除了具有调控基因表达的功能外, m<sup>6</sup>A 甲基化水平异常还会引起下游基因表达失调,从而导致包括肿瘤<sup>[7]</sup>、心血管功能障碍<sup>[8]</sup>和阿尔茨海默症<sup>[9]</sup>在内的多种疾病。

**1.1.1 m<sup>6</sup>A 甲基转移酶** m<sup>6</sup>A 甲基转移酶是一种分子量较大的蛋白质复合物,主要包括甲基转移酶样蛋白 3(methyltransferase like 3, METTL3)、METTL14、METTL16、Wilms 肿瘤 1 相关蛋白(Wilms tumor 1-associated protein, WTAP)、锌指 CCCH 结构域蛋白 13(zinc finger CCCH domain-containing protein 13, ZC3H13)、RNA 结合基序蛋白 15/15B(RNA-binding motif protein 15/15B, RBM15/15B)等一系列蛋白<sup>[10]</sup>。在 m<sup>6</sup>A 修饰过程中,位于细胞核中的甲基转移酶复合物(methyltransferase complex, MTC)发挥了主要功能。MTC 是以 S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)为甲基供体,由 METTL3 与 METTL14 结合形成二聚体后,再与 WTAP 结合形成的稳定的甲基转移酶复合物。作为最早被报道的 m<sup>6</sup>A 甲基化酶, METTL3 是 MTC 中重要的催化亚基,具有调控细胞周期和分化及炎症发生等一系列作用,敲低 METTL3 会影响细胞中 m<sup>6</sup>A 甲基化修饰水平<sup>[11]</sup>。METTL14 则在 MTC 中起支架作用,使 MTC 更加稳定的同时增强其活性,对整个催化过程产生积极效应<sup>[12]</sup>。而 WTAP 作为 MTC 的一个亚基,虽然没有活性,但与二聚体结合后可影响 MTC 的活性及其在细胞核内亚细胞器(核散斑)的定位。不仅如此,主要由 METTL3/METTL14 介导的 m<sup>6</sup>A 甲基化还可与由 NSUN2 介导的 m<sup>5</sup>C 甲基化协同作用,提高 p21 的翻译水平,导致氧化应激诱导的衰老细胞中 p21 表达升高<sup>[13]</sup>。

此外,有研究也指出了 METTL16 的相关作用,其表达下调可导致细胞中 m<sup>6</sup>A 甲基化水平降低<sup>[14]</sup>。METTL16 在细胞核内通过催化 m<sup>6</sup>A 修饰调控 U6 snRNA 剪接与甲硫氨酸腺苷转移酶 2A(methionine adenosyltransferase 2A, MAT2A)介导的 SAM 稳态<sup>[15-16]</sup>。同时, METTL16 还可通过 m<sup>6</sup>A 非依赖方式参与 DNA 损伤修复, METTL16 高表达胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)患者有望从多腺苷二磷酸核糖聚合酶抑制剂[poly-(ADP-ribose)polymerase inhibitors, PARPi]单药或与吉西他滨联合使用中获得更好疗效<sup>[17]</sup>。

**1.1.2 m<sup>6</sup>A 去甲基化酶** m<sup>6</sup>A 去甲基化酶介导了修

饰过程的可逆性,与甲基转移酶共同构成动态协调网络。在真核细胞中,已被发现的去甲基化酶主要包括脂肪量和肥胖相关蛋白(fat mass and obesity-associated protein, FTO)及 $\alpha$ 酮戊二酸依赖性双加氧酶同系物 5( $\alpha$ -ketoglutarate-dependent dioxygenase AlkB homolog 5, ALKBH5)两种,它们同属于 AlkB 家族,可在 $\text{Fe}^{2+}$ 和 $\alpha$ -酮戊二酸的催化作用下去除 $\text{m}^6\text{A}$ 修饰。FTO是最早被发现的去甲基化酶,位于细胞核内,可介导少量 mRNA 的去甲基化,其活性可影响 $\text{m}^6\text{A}$ 去甲基化水平<sup>[18]</sup>。ALKBH5是一种在大多数生物中表达的去甲基化酶,定位于核散斑,可影响 mRNA 的输出及代谢过程<sup>[19]</sup>。除此之外,相关研究发现,AlkB 亚家族还有另一个成员 ALKBH3,当细胞内发生 $\text{m}^6\text{A}$ 甲基化修饰时,它会优先作用于 tRNA,发挥相应功能<sup>[20]</sup>。

**1.1.3  $\text{m}^6\text{A}$  甲基化阅读蛋白**  $\text{m}^6\text{A}$ 甲基化阅读蛋白可特异性识别 RNA 上的 $\text{m}^6\text{A}$ 位点并与其结合,参与 RNA 的修饰与调控。现已经鉴定出多种阅读蛋白,研究较多的是 YTH 结构域蛋白家族(YTHDF1~3, YTHDC1~2)<sup>[21]</sup>。研究报道,YTHDF1 通过与 EIF3C mRNA 结合并以 $\text{m}^6\text{A}$ 依赖方式增强其翻译水平,影响卵巢癌细胞生长和转移<sup>[22]</sup>。YTHDF2 在胶质母细胞瘤中通过特异性识别 $\text{m}^6\text{A}$ 修饰位点,降解肿瘤基因启动子区域和抑癌基因的 mRNA,调控 mRNA 的不稳定性;还可通过促进肝 X 受体 $\alpha$ (recombinant liver X receptor alpha, LXR $\alpha$ )和人免疫缺陷病毒 1 增强子结合蛋白 2(human immunodeficiency virus type I enhancer binding protein 2, HIVEP2)的 $\text{m}^6\text{A}$ 依赖性 mRNA 降解,影响胶质瘤患者的生存<sup>[23]</sup>。YTHDF3 与 YTHDF1 共同促进蛋白质合成,并影响 YTHDF2 介导的 mRNA 甲基化降解<sup>[24]</sup>。此外,YTHDC1 可调控 RNA 的剪接和输出<sup>[25]</sup>,而 YTHDC2 虽然与位点结合的亲和力较弱,但可以调控 mRNA 降解<sup>[26]</sup>。同时,胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白家族(insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein, IGF2BP)、真核起始因子(eukaryotic initiation factor, eIF)及核不均一核糖核蛋白(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, hnRNP)也可与 $\text{m}^6\text{A}$ 修饰位点结合,发挥相应作用(表 1)。

## 1.2 $\text{m}^5\text{C}$

$\text{m}^5\text{C}$ 也是一种动态、可逆的修饰,广泛存在于 rRNA、mRNA、tRNA 及许多非编码 RNA 中。mRNA 中的 $\text{m}^5\text{C}$ 修饰主要富集在非翻译区(3' UTR 和 5'

UTR)、GC 富集区域及 AGO 蛋白结合位点附近,具有 AUCGANGU 基序<sup>[34]</sup>。RNA 的 $\text{m}^5\text{C}$ 甲基化修饰可介导多种生物学功能,如 RNA 的输出及核糖体的组装、翻译等。与 $\text{m}^6\text{A}$ 类似, $\text{m}^5\text{C}$ 也有 writers、erasers 和 readers 的参与。

**1.2.1  $\text{m}^5\text{C}$  甲基转移酶** 有研究发现,包括 NOL1/NOP2/SUN 结构域(NSUN)家族成员(NSUN1~7)、DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferases, DNMT)同源物 DNMT2 和 tRNA 特异性甲基转移酶(tRNA specific methyltransferases, TRDMT)家族成员等在内的 10 多种 $\text{m}^5\text{C}$ 甲基转移酶均以 SAM 为甲基供体,将甲基转移至胞嘧啶,催化形成 5-甲基胞嘧啶。已有较多研究揭示了 NSUN2 与 NSUN6 介导的多种生物学功能。NSUN2 在多种肿瘤细胞中高表达,影响肿瘤的发生发展。研究发现,敲低 NSUN2 可抑制体外胆囊癌细胞<sup>[35]</sup>和肝癌细胞<sup>[36]</sup>等的增殖和生长。与 NSUN2 相反,NSUN6 在肿瘤细胞中呈下调状态。进一步研究表明,高表达的 NSUN6 与肿瘤患者的良好预后有关<sup>[37]</sup>。对于 $\text{m}^5\text{C}$ 甲基转移酶,由于相关家族成员的研究较少, $\text{m}^5\text{C}$ 的催化形成过程仍有待进一步了解。

**1.2.2  $\text{m}^5\text{C}$  去甲基化酶** TET(ten-eleven translocation)家族蛋白属于 DNA 双加氧酶,包括 TET1、TET2 和 TET3,具有甲基化酶的潜力,最初被鉴定对 DNA 基因组如 dsDNA 和 ssDNA 具有氧化作用,后来被发现对 ssRNA 和 DNA-RNA 杂交链均可发挥氧化作用,从而介导去甲基化<sup>[38]</sup>。DNA 甲基化作为生物体内最重要的甲基化修饰之一,是在甲基转移酶的作用下,以 SAM 为供体,发生在胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤(cytosine-phosphate-guanine, CpG)位点的过程,结果是生成 5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC),同时,这一过程可经去甲基化逆向生成 5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5hmC)<sup>[39]</sup>。相关研究表明,TET 蛋白通过与配体核旁斑点结构蛋白 1(paraspeckle component 1, PSPC1)结合产生物理关联后,以 RNA 依赖方式参与 RNA 中 5mC 至 5hmC 的氧化,具体机制表现为 PSPC1 与内源性逆转录病毒(endogenous retrovirus, ERV)转录物结合后,使组蛋白脱乙酰基酶 1(histone deacetylase 1, HDAC1)或 HDAC2 的活性受到抑制及 5hmC 降解,并招募 TET2 进行调节<sup>[40]</sup>。

**1.2.3  $\text{m}^5\text{C}$  甲基化结合酶** RNA 发生 $\text{m}^5\text{C}$ 修饰后实现相应功能离不开甲基化结合蛋白。 $\text{m}^5\text{C}$ 甲基化结

表 1 m<sup>6</sup>A 甲基化阅读蛋白类型总结

Tab. 1 Summary of the types of m<sup>6</sup>A methylation reading proteins

m <sup>6</sup> A 识别机制	蛋白名称	细胞定位	功能
与 m <sup>6</sup> A 直接结合	YTHDC1 <sup>[25]</sup>	细胞核	优先结合非编码 RNA 中的 m <sup>6</sup> A 位点;可能结合 mRNA 并影响其剪接和输出
	YTHDC2 <sup>[26]</sup>	细胞核和细胞质	以弱亲和力结合 m <sup>6</sup> A 位点;在睾丸中高表达;与 mRNA 降解的起始调控有关
	YTHDF1 <sup>[27]</sup>	细胞核	优先结合胞质 mRNA 中的 m <sup>6</sup> A 位点;促进含 m <sup>6</sup> A mRNA 亚类的翻译
	YTHDF2 <sup>[21]</sup>	细胞核	优先与胞质 mRNA 中的 m <sup>6</sup> A 位点结合;通过将含 m <sup>6</sup> A mRNA 靶向细胞质处理小体来促进含有 m <sup>6</sup> A 的 mRNA 降解
	YTHDF3 <sup>[21]</sup>	细胞核	优先结合胞质 mRNA 中的 m <sup>6</sup> A 位点;可识别环状 RNA;促进含 m <sup>6</sup> A mRNA 的翻译和降解
	eIF3 <sup>[28]</sup>	细胞质	结合 RNA 5' UTR 上发生 m <sup>6</sup> A 修饰的位点,招募核糖体形成蛋白复合物,促进 RNA 的翻译
	METTL3 <sup>[29]</sup>	细胞核和细胞质	结合细胞质中的一小部分 m <sup>6</sup> A 修饰 mRNA;促进其翻译
	Ribosome <sup>[30]</sup>	细胞质	在翻译过程中识别 m <sup>6</sup> A;核糖体停滞可能发生在 m <sup>6</sup> A 位点
由 m <sup>6</sup> A 诱导的结构变化调节的结合	HNRNPC、HNRNPG <sup>[31]</sup>	细胞核	优先结合非编码 RNA;可能结合 mRNA 上的 m <sup>6</sup> A 位点并影响其剪接
	HNRNPA2B1 <sup>[28]</sup>	细胞核	优先结合非编码 RNA;介导 m <sup>6</sup> A 依赖性的 miRNA 加工;可能影响剪接
	IGF2BP1、IGF2BP2、IGF2BP3 <sup>[32]</sup>	细胞核和细胞质	以弱亲和力结合 m <sup>6</sup> A;促进 m <sup>6</sup> A 修饰 mRNA 的稳定性
与 m <sup>6</sup> A 结合蛋白结合(间接结合)	FMRP <sup>[33]</sup>	细胞核和细胞质	以弱亲和力识别编码序列中的 m <sup>6</sup> A;直接结合 YTHDF2,从而间接维持含 m <sup>6</sup> A mRNA 的稳定性

注: YTHDC1~2、YTHDF1~3 属于 YTH 家族; eIF3 属于 eIF 家族; HNRNPA2B1、HNRNPC、HNRNPG 属于 hnRNP 家族; IGF2BP1~3 属于 IGF2BP 家族。

Note: YTHDC1~2 and YTHDF1~3 belong to the YTH family. The eIF3 belongs to the eIF family. HNRNPA2B1, HNRNPC and HNRNPG belong to the hnRNP family. IGF2BP1~3 belong to the IGF2BP family.

合蛋白主要包括 Aly/REF 输出因子(Aly/REF export factor, ALYREF)和 Y-框结合蛋白 1(Y-box binding protein 1, YBX1)两种。ALYREF 是第一个在细胞核中发现的 m<sup>5</sup>C 甲基化结合酶,其活性可影响 m<sup>5</sup>C 甲基化修饰水平。ALYREF 还可特异性识别 m<sup>5</sup>C 修饰的 mRNA,并参与 mRNA 出核过程。例如,ALYREF 与丙酮酸激酶同工酶 M2(pyruvate kinase isozyme type M2, PKM2)mRNA 的修饰位点结合可达到稳定出核效果,从而促进膀胱癌细胞增殖,而这一过程受到 NSUN2 的调节,NSUN2 缺失将导致输出失调<sup>[41]</sup>。与 ALYREF 不同的是,YBX1 是位于细胞质中的甲基化结合酶,通过 YBX1 冷休克领域中的残基 Trp45 识别并结合 m<sup>5</sup>C 修饰的 mRNA,发挥稳

定 mRNA 的功能<sup>[42]</sup>。

### 1.3 m<sup>7</sup>G

m<sup>7</sup>G 最早发现于真核生物 mRNA、tRNA、rRNA 内部,其最典型的酶为 METTL1,其它相关的酶目前研究较少。mRNA 内的 m<sup>7</sup>G 修饰在 5' UTR 处富集,并可伴随应激改变进行动态调节,其作用是促进翻译过程。对于 rRNA,m<sup>7</sup>G 修饰由 WBSCR22 介导,但其作用仍有待进一步探索<sup>[43]</sup>。相关研究表明,METTL1 介导 miRNA 中的 m<sup>7</sup>G 甲基化,通过抑制 miRNA 中一个特定亚基 let-7 促进转录及前体 miRNA 的加工,从而调节 miRNA 结构,最终影响细胞分化和迁移,故 METTL1 缺失将影响基因表达和表型改变。m<sup>7</sup>G 修饰的 miRNA 有形成 G-四联体的倾向,且鸟苷

11 作为 let-7e-5p 内的残基,可促进前体 miRNA 的加工<sup>[44]</sup>。

在 tRNA 中, m<sup>7</sup>G 甲基转移酶复合物蛋白 METTL1 和辅助蛋白 WDR4 在食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)组织中显著上调,并与不良预后相关。同时, RPTOR 基因/自噬轴在 ESCC 的进展中有介导 METTL1 功能的重要作用,而 METTL1 可以调控 ESCC 中的 tRNA m<sup>7</sup>G 修饰、tRNA 表达和 mRNA 翻译<sup>[45]</sup>。研究显示,敲除 METTL1/WDR4 可在体内外抑制 ESCC 进展,表明 METTL1/WDR4 介导的 tRNA m<sup>7</sup>G 修饰在选择致癌性 mRNA 翻译和 ESCC 进展中具有强大的生物学功能,可为 ESCC 的治疗提供新的策略。

## 2 DNA 损伤修复与肿瘤发生

### 2.1 DNA 损伤的原因、修复方式

DNA 因时刻遭受细胞内外源因素的攻击而受到损伤,导致基因组不稳定。这种基因组不稳定性是促进肿瘤发生、发展的重要原因之一。

不同的损伤因素会造成不同的 DNA 损伤。DNA 损伤主要包括 DNA 单链及双链断裂(DNA double-strand break, DSB)、碱基错配、链间交联等<sup>[46]</sup>,其中 DSB 对细胞的毒害作用最大。为了保持基因组结构完整,细胞会通过直接修复、碱基切除修复、核酸切除修复、错配修复、同源重组修复(homologous recombination repair, HRR)、非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)等多种修复方式应对不同类型的 DNA 损伤。HRR 作为 DNA 双链损伤中最重要和最精确的修复方式,占据重要地位<sup>[47]</sup>。

### 2.2 DNA 损伤修复的缺失与肿瘤治疗

细胞内 DNA 损伤修复异常可导致 DNA 突变,危及基因组稳定性,从而介导正常细胞向恶性转化。研究显示, DNA 损伤修复通路是肿瘤发生通路之一<sup>[48]</sup>, DNA 损伤修复缺陷可促进肿瘤发生。与正常组织相比,肿瘤组织中细胞增殖异常, DNA 损伤程度增加,在这种情况下,凋亡基因 P53 失活而驱动基因被激活,导致 DNA 复制压力增大, DNA 损伤尤其是 DSB 的发生率增高<sup>[49]</sup>。DNA 损伤后,一方面,毛细血管扩张性共济失调突变(ataxia telangiectasia-mutated, ATM)蛋白激酶、ATM 和 Rad3 相关(ATM and Rad3-related, ATR)蛋白激酶等快速感知损伤,并启动 DNA 损伤修复机制,激活抑癌基因

P53, 诱导细胞凋亡;另一方面, DNA 损伤的积累造成基因组不稳定,提高肿瘤的发生率,最终使正常组织发展为恶性肿瘤<sup>[50]</sup>。

DNA 损伤修复能否有效进行,不仅决定着肿瘤的发生、发展,也决定着肿瘤细胞对放化疗等相关治疗的敏感性或耐受性。放疗、拓扑异构酶抑制剂、烷化剂(如替莫唑胺)、DNA 链交联剂(如顺铂、环磷酰胺)等均可诱导不同形式的 DNA 损伤,并启动不同形式的 DNA 损伤修复<sup>[51]</sup>。交联剂与 DNA 可形成 DNA 链间交联体,从而抑制肿瘤细胞 DNA 复制和转录,其典型化学结构类型有铂类、丝裂霉素 C 和氮芥类。其中,由铂类造成的 DNA 损伤分为 4 类:链间交联、链内交联、DNA 加合物、DNA-蛋白质交联<sup>[51]</sup>。此外,放疗的作用机制是诱导肿瘤细胞发生 DNA 单、双链损伤。相关研究结果表明, DNA 损伤修复相关蛋白的功能决定了肿瘤细胞对放疗的敏感性,且抑制其表达能增强细胞对放疗的敏感性<sup>[52]</sup>。以上的研究提示, DNA 损伤修复缺陷可以成为肿瘤治疗靶点(表 2)。

## 3 RNA 甲基化修饰对 DNA 损伤的调控与化疗耐药

DSB 是一种最具有细胞毒性的 DNA 损伤,未及时修复会损害基因组稳定性和染色体完整性。在哺乳动物中, DSB 修复主要有两个途径:同源重组(homologous recombination, HR)和 NHEJ。相关研究显示, RNA 在 DNA 损伤反应(DNA-damage response, DDR)中发挥了重要的作用,尤其是 dilncRNA 和 DDRNA 被报道可能存在于 DSB 位点,从而促进 DNA 双链断裂修复(DNA double-strand breaks repair, DSBR)<sup>[53]</sup>。同时,更多证据表明, dilncRNA 可以在 DSB 位点形成 DNA-RNA 杂交双链,从而促进乳腺癌易感蛋白 1(breast cancer susceptibility protein 1, BRCA1)、BRCA2、DNA 修复蛋白 RAD51 和减数分裂重组蛋白 11(meiotic recombination 11, MRE11)等 DNA 修复蛋白向近端 DSB 位点靠近,提高 DSB 修复效率<sup>[47]</sup>。除此之外,基因组转录活性区域的 DSB 也可诱导形成 DNA-RNA 杂交双链,活性氧的诱导也可发挥相同作用<sup>[54-55]</sup>。

### 3.1 m<sup>6</sup>A 对 DNA 损伤修复的调控与化疗耐药

m<sup>6</sup>A 作为 mRNA 和非编码 RNA 上最丰富的甲基化修饰,在 RNA 分子的代谢中发挥着极其重要的作用。同时, m<sup>6</sup>A 对于 DNA 损伤修复有直接调控和间接调控作用。对于直接调控, m<sup>6</sup>A 可影响 DNA 损

表 2 DNA 损伤修复基因与肿瘤治疗

Tab. 2 DNA damage repair genes and tumor treatment

基因	基因表达蛋白在 DNA 损伤修复中的作用	常见突变肿瘤	小分子靶向药物
BRCA1/2	通过同源重组通路参与 DNA 双链损伤的修复	乳腺癌、卵巢癌等	PARPi(如奥拉帕利、尼拉帕利)
ATM	使组蛋白 H2AX 在 DSB 后发生磷酸化,是 DNA 修复的基础	直肠癌、胃癌、胰腺癌等	ATM 抑制剂(如 AZD0156),与其它药物联合使用
ATR	被各种单链损伤激活,参与多种 DNA 损伤的修复	肺癌、乳腺癌、咽喉癌等	ATR 抑制剂(如 berzosertib),与顺铂(体内)联合使用时提高抗肿瘤活性
CHK1	是 ATR 下游的蛋白激酶及 S <sub>2</sub> /M 细胞周期检查点的关键调节因子	鼻咽癌、乳腺癌等	CHK1 抑制剂(MK8776、prexasertib),显示出单药和联合活性
WEE1	与 CHK1 具有协同效应,调节细胞周期蛋白依赖性激酶,不直接对 DNA 损伤作出反应	直肠癌、卵巢癌等	WEE1 抑制剂(如 AZD1775),具有单药和联合(与拓扑异构酶抑制剂)活性

伤修复过程中杂交链的形成、积累及降解等。当紫外线(ultraviolet, UV)照射造成 DNA 损伤时, DNA 损伤位点对应的 RNA 部位可快速发生 m<sup>6</sup>A 修饰, PARP 将 METTL3 招募到 DNA 损伤位点,并在 METTL3 的催化下招募 DNA 聚合酶  $\kappa$  (polymerase  $\kappa$ , Pol  $\kappa$ ) 快速定位到 DNA 损伤位点,加速修复。如果缺失 METTL3,细胞将会存在修复障碍,并且对 UV 照射更加敏感。UV 照射引起的反应涉及多种 DNA 聚合酶,其中一些负责重新合成被核苷酸去除修复途径移除的 DNA,另外一些则参与了跨损伤修复,使得细胞忽略 S 期损伤而继续复制过程。这说明 RNA m<sup>6</sup>A 修饰在 UV 诱导的 DNA 损伤反应中的主要功能是指导细胞快速准确地将 Pol  $\kappa$  募集到损伤位点,并且加速 DNA 损伤修复,促使细胞存活,揭示了 METTL3/m<sup>6</sup>A RNA/Pol  $\kappa$  这一通路在 UV 引起的 DDR 反应早期的重要作用<sup>[56]</sup>。有研究发现,FTO 可以介导  $\beta$ -catenin 表达上调<sup>[57]</sup>。作为 mRNA m<sup>6</sup>A 去甲基化酶,FTO 降低了  $\beta$ -catenin 的 m<sup>6</sup>A 水平,导致该基因在 mRNA 和蛋白质水平上表达上调。不仅如此,切除修复交叉互补基因 1 (excision repair cross-complementation group 1, ERCC1) 蛋白被发现是通过 FTO 上调  $\beta$ -catenin 的下游调节因子。FTO/ $\beta$ -catenin/ERCC1 轴可能在宫颈鳞状细胞癌(cervical squamous cell carcinoma, CSCC)放化疗耐药的调节中起关键作用,这一发现为 DNA 损伤修复反应机制研究提供了新的证据,说明了 m<sup>6</sup>A 修饰与 DNA 损伤修复反应之间的间接关系。有研究显示, METTL3 和 m<sup>6</sup>A 修饰的 RNA 参与了 HR 介导的 DNA 双链修复过程<sup>[47]</sup>。DNA 双链损伤使得 METTL3 在 S43 被 ATM 介导的磷酸化激活,与 Pol II 结合后定位于 DSB 位点,使损伤位点处大量累积的 RNA 发生 m<sup>6</sup>A 甲基化

修饰,并招募 m<sup>6</sup>A 甲基化阅读蛋白 YTHDC1 进行保护,从而形成 METTL3/m<sup>6</sup>A/YTHDC1 轴,调节 DNA-RNA 杂交链在 DSB 损伤位点的积累。

DNA-RNA 杂交链可招募 RAD51 和 BRCA1 进行 HRR。在缺失 METTL3 和 YTHDC1 的细胞中, HRR 受损导致基因组不稳定。这与在伴随转录时存在的特殊结构 R 环密切相关,这一特殊结构由 DNA-RNA 杂交链和另一条 DNA 单链形成,其在 DNA 损伤位点处的累积阻碍了修复过程的进行。这说明在 DSB 介导的 HRR 过程中, METTL3/m<sup>6</sup>A-RNA/YTHDC1/DNA-RNA 杂交链轴发挥着重要作用。YTHDC1 与赖氨酸特异性去甲基化酶 3B (recombinant lysine specific demethylase 3B, KDM3B) 之间还存在相互作用。YTHDC1 可以与 m<sup>6</sup>A 相关染色质区域发生物理相互作用,并将 KDM3B 募集到相关染色质区域,促进 H3K9me2 的去甲基化和基因表达<sup>[58]</sup>;还可以识别微小染色体维持蛋白 4 (minichromosome maintenance protein 4, MCM4) 上的 m<sup>6</sup>A 修饰,结合 MCM4 从而稳定其 mRNA<sup>[59]</sup>。这种物理相互作用可能具体表现为 YTHDC1 在保护 mRNA 时形成了具有液相性质的凝聚物,即核 YTHDC1-m<sup>6</sup>A 凝聚体 (nuclear YTHDC1-m<sup>6</sup>A condensate, nYAC),从而保护其不被降解并促进其表达<sup>[60]</sup>。这表明 YTHDC1 通过特异性结合 m<sup>6</sup>A 修饰的 mRNA 使其稳定的方式来调控其表达,与 YTHDC1 通过 carRNA<sup>[61]</sup>/转座子<sup>[61]</sup>、染色质修饰<sup>[58]</sup>等来调控细胞转录,以及通过调控 mRNA 选择性剪接<sup>[25]</sup>、亚细胞定位<sup>[62]</sup>等来调控下游靶基因表达都有所不同。而当相互作用被破坏时,表达的产物也会受到影响。例如,极光激酶 A (aurora kinase A, AURKA) 可破坏丝氨酸/精氨酸富集剪接因子 3 (serine/arginine-rich

splicing factor 3, SRSF3) 与 m<sup>6</sup>A 阅读蛋白 YTHDC1 的结合,阻碍 m<sup>6</sup>A/YTHDC1/SRSF3 介导的肿瘤抑制异构体 RBM4-FL 的产生;而 AURKA 可增强 hnRNP K 与 YTHDC1 的相互作用,促进 m<sup>6</sup>A/YTHDC1/hnRNP K 介导的促肿瘤异构体 RBM4-S 产生<sup>[63]</sup>。研究显示,人多能干细胞中的多数 R 环结构可检测到 m<sup>6</sup>A 修饰对 mRNA 代谢的促进作用,且含有 m<sup>6</sup>A 的 R 环在细胞周期中的 G<sub>2</sub>/M 期累积,在 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 阶段耗尽。YTHDF2 与分裂细胞中富含 R 环的位点相互作用,敲除 YTHDF2 可引起 R 环积累、基因组不稳定,以及细胞生长迟缓<sup>[64]</sup>。

此外,研究发现 METTL3 可催化端粒重复序列 RNA (telomeric repeat-containing RNA, TERRA) 形成 m<sup>6</sup>A 修饰,并形成 R 环结构,调节端粒的 HRR 过程<sup>[65]</sup>。m<sup>6</sup>A 修饰出现在 TERRA 的次端粒区域并使其稳定,缺失 METTL3 可影响端粒的稳定性。机制上,m<sup>6</sup>A 在 TERRA 上的修饰由 METTL3 催化,由 m<sup>6</sup>A 阅读蛋白 YTHDC1 识别和稳定。敲低 METTL3 或 YTHDC1 均可促进 TERRA 降解;m<sup>6</sup>A 修饰的 TERRA 形成 R 环并促进 HR,这对肿瘤细胞中的端粒替代延长 (alternative lengthening of telomeres, ALT) 通路至关重要;METTL3 损失可能导致 R 环减少、端粒缩短和不稳定。以上发现揭示, METTL3 可通过催化 TERRA 上的 m<sup>6</sup>A 修饰来保护端粒,表明抑制或删除 METTL3 可能是肿瘤治疗的新途径。

RNA m<sup>6</sup>A 相关修饰蛋白可增强或者抑制肿瘤细胞对治疗的敏感性和抗性,这取决于单个 m<sup>6</sup>A 分化蛋白、癌症类型和采取的治疗方式。由以上可知,当 DNA 双链断裂时,PARP 将 METTL3 招募到 DNA 损伤位点,而 METTL3 募集 YTHDC1,引起 DNA 损伤相关 RNA 的 m<sup>6</sup>A 甲基化。METTL3/m<sup>6</sup>A/YTH-

DC1 轴诱导 DNA-RNA 杂交积累,Pol  $\kappa$  定位到 DNA 损伤位点进行核苷酸切除修复,并招募 RAD51 和 BRCA1 进行 HR 介导的修复。相对于正常组织, METTL3 及 YTHDC1 在肿瘤细胞中均表达异常。METTL3 在体外和小鼠模型中显著抑制肿瘤细胞对基于 DNA 损伤的放疗和化疗 (如顺铂) 敏感性<sup>[47]</sup>。敲低 METTL3 可增强胰腺癌细胞对吉西他滨、5-氟尿嘧啶、顺铂等抗肿瘤药物的敏感性<sup>[66]</sup>。METTL3 通过促进 FOXO3 mRNA m<sup>6</sup>A 甲基化和增强 FOXO3 mRNA 稳定性,使肝癌细胞对索拉非尼治疗敏感<sup>[67]</sup>。在急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 中,AML 细胞需要 nYAC 来维持细胞存活和未分化状态,敲低 YTHDC1 可显著抑制 AML 的发展<sup>[60]</sup>。另外,IGF2BP2 蛋白作为 m<sup>6</sup>A 阅读器,可通过调控谷氨酰胺代谢促进 AML 的发生、发展和维持,靶向 IGF2BP2 的抑制剂具有潜在的抗白血病效果<sup>[68]</sup>。在 CSCC 中,FTO 高度表达,是患者预后不良的标志。FTO 通过使 m<sup>6</sup>A 修饰的  $\beta$ -catenin mRNA 去甲基化并上调其表达,介导 DNA 损伤反应,并使宫颈癌细胞对化疗产生耐药性<sup>[57]</sup>。因此,改变这些肿瘤细胞中修饰蛋白的表达量,调节下游靶基因,可能抑制肿瘤的发展,为肿瘤靶向治疗提供新的思路 (表 3)。

### 3.2 m<sup>5</sup>C 对 DNA 损伤修复的调控与化疗耐药

m<sup>5</sup>C 作为在 DNA 损伤位点上对 RNA 进行的另一种局部甲基化修饰,其修饰蛋白也可调节下游靶基因并招募 DNA 修复蛋白 (表 4)。研究发现,当 DNA 损伤后,甲基转移酶 TRDMT1 被招募到损伤位点并促进 RNA 的 m<sup>5</sup>C 修饰<sup>[74]</sup>。在体外实验中,损伤位点发生 m<sup>5</sup>C 修饰会增强 RAD52 对 DNA 的亲合力,并提高 HRR 效率。在这一过程中,FMRP 作为 TRD-

表 3 m<sup>6</sup>A 中的下游靶基因

Tab. 3 Downstream target genes in m<sup>6</sup>A

基因	作用
YAP1 <sup>[69]</sup>	METTL3 增强 YAP1 m6A 甲基化,使 YAP1 在人类肺癌细胞系中稳定表达,且 YAP1 水平升高可介导非小细胞肺癌对顺铂的耐药性
MCM2/5 <sup>[70]</sup>	YTHDF2 的 O-GlcNAc 糖基化修饰增强,以 m <sup>6</sup> A 依赖方式调控下游靶基因 MCM2/5,促进 HBV 相关的肝细胞癌进展
MFSD2A <sup>[71]</sup>	IGF2BP2 识别 m <sup>6</sup> A 修饰位点调控 PRMT6 mRNA 稳定性,PRMT6 通过催化 H3R2me2a 修饰抑制 MFSD2A 表达,从而调控脂肪酸转运,维持白血病干细胞功能
APOE <sup>[72]</sup>	FTO 通过 IGF2BP2 介导的 m6A 修饰抑制 APOE 表达,且可能通过调节 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路来抑制甲状腺乳头状癌 (papillary thyroid carcinoma, PTC) 的糖酵解代谢,从而抑制 PTC 生长
PER1 <sup>[73]</sup>	ALKBH5 通过消除 m <sup>6</sup> A-YTHDF2 依赖的 mRNA 降解来增加 PER1 mRNA 水平,抑制胰腺癌细胞增殖、迁移和侵袭

MT1 的相互作用因子是依赖于 TRDMT1 的, 可以被招募到 DNA 损伤位点, 并协助 TET1 介导的去甲基化过程<sup>[75]</sup>。FMRP 蛋白虽然不能直接催化 m<sup>5</sup>C 的去甲基化反应, 但可以招募 TET1 到损伤位点, 提高 TET1 的 m<sup>5</sup>C 去甲基化能力, 促进 HRR。在 DNA 修复过程中, FMRP 依赖的 RNA m<sup>5</sup>C 去甲基化修饰和 R 环分解对于完成修复和保持基因组稳定性十分重要。

故在 HRR 中, TRDMT1/FMRP/TET1 起着关键作用。若 TRDMT1 缺失, 则 HR 将遭到破坏, 细胞对

DSB 的敏感性增强, RAD51 和 RAD52 将无法定位到 DNA 损伤位点。若 FMRP 缺失, R 环则在 DNA 损伤位点累积, 阻碍 HRR 过程, 相对应地, RAD51 和 RAD52 也会滞留在修复过程后期的 DNA 损伤位点。

不仅如此, 敲低 TRDMT1 和 FMRP 还可提高肿瘤细胞对放疗和 PARPi 的敏感性<sup>[75]</sup>。研究表明, HR 缺陷肿瘤细胞对 TRDMT1 丢失和 PARP 抑制特别敏感, 揭示 TRDMT1 抑制剂可能提高 HR 缺陷肿瘤对 PARPi 的敏感性, 并有可能克服肿瘤细胞对 PARPi 的耐药性<sup>[74]</sup>。

表 4 m<sup>5</sup>C 中的下游靶基因  
 Tab. 4 Downstream target genes in m<sup>5</sup>C

基因	作用
HDFG <sup>[42]</sup>	YBX1 通过冷休克结构域(cold shock domain, CSD)上的 W65 吡啶环识别 m <sup>5</sup> C 修饰的 mRNA, 并招募 ELAV 样蛋白(ELAV-like protein 1, ELAVL1)来稳定肝素结合生长因子(hepatoma-derived growth factor, HDGF) mRNA, 最终促进膀胱癌细胞增殖和转移
p57 <sup>Kip2</sup> <sup>[76]</sup>	NSUN2 在胃癌组织中高表达, 通过依赖 m <sup>5</sup> C 的方式抑制 p57 <sup>Kip2</sup> 的表达, 促进胃癌细胞增殖
ICAM-1 <sup>[77]</sup>	NSUN2 通过上调 ICAM-1 mRNA 甲基化, 增强 ICAM-1 的表达, 影响血管炎症以及动脉硬化
IL-17A <sup>[78]</sup>	NSUN2 在大鼠 T 淋巴细胞中通过使 C466 位点发生甲基化来促进 IL-17A 的翻译; 然而, 尚不清楚 IL-17A mRNA 的 m <sup>5</sup> C 修饰是否与免疫疾病有关

#### 4 总结与展望

综上所述, RNA 甲基化修饰对 DNA 损伤的调控在肿瘤发生和化疗耐药中都发挥了至关重要的作用, 相关修饰蛋白更是这一过程中的关键因子。METTL3、FTO、YTHDC1-2、YTHDF1-3 和 IGF2BP1-3 蛋白能促进肿瘤的发生, METTL3、METTL14、FTO、ALKBH5、NSUN2 和 NSUN6 蛋白则能促进或抑制肿瘤细胞的分化与增殖。同样, METTL3、FTO、ALKBH5、TRDMT1 和 FMRP 可以影响肿瘤细胞对放疗的敏感性或耐药性。然而, RNA 甲基化修饰对 DNA 损伤修复调节的研究仍较浅显, 如其它甲基化修饰的相关机制在 DNA 损伤修复中的作用, 以及它们之间是否存在协同或拮抗的关系等, 尚待进一步探讨。

因此, 未来的研究一方面可通过检测 RNA 甲基化修饰蛋白与肿瘤细胞的靶向 mRNA 选择性之间的相关性, 探明更多的机制及相关蛋白的更多功能。另一方面, 可根据这些蛋白的功能, 通过化学合成、虚拟筛选等多种方法开发出更有效的选择性抑制剂和激活剂。未来, 小分子 RNA 甲基化修饰蛋白抑制剂或激活剂可作为单一疗法或与其他抗肿

瘤药物联合应用, 为以 RNA 甲基化修饰蛋白异常为特征的肿瘤患者提供新的治疗方案, 实现 RNA 甲基化修饰作为新型肿瘤标志物的价值。

#### 参考文献

- [1] BOCCALETTO P, STEFANIAK F, RAY A, et al. MODOMICS: a database of RNA modification pathways. 2021 update [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(D1): D231-D235. DOI: 10.1093/nar/gkab1083.
- [2] HELM M, MOTORIN Y. Detecting RNA modifications in the epitranscriptome: predict and validate [J]. *Nat Rev Genet*, 2017, 18(5): 275-291. DOI: 10.1038/nrg.2016.169.
- [3] PAN X Y, HUANG C, LI J. The emerging roles of m<sup>6</sup>A modification in liver carcinogenesis [J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(1): 271-284. DOI: 10.7150/ijbs.50003.
- [4] MEYER K D, SALETTORE Y, ZUMBO P, et al. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons [J]. *Cell*, 2012, 149(7): 1635-1646. DOI: 10.1016/j.cell.2012.05.003.
- [5] DOMINISSINI D, MOSHITCH-MOSHKOVITZ S, SCHWARTZ S, et al. Topology of the human and mouse m<sup>6</sup>A RNA methylomes revealed by m<sup>6</sup>A-seq [J]. *Nature*, 2012, 485(7397): 201-206. DOI: 10.1038/nature11112.
- [6] DENG S, ZHANG J L, SU J C, et al. RNA m<sup>6</sup>A regulates transcription via DNA demethylation and chromatin accessibility [J]. *Nat Genet*, 2022, 54(9): 1427-1437. DOI: 10.1038/s41588-022-01173-1.
- [7] HUANG H L, WENG H Y, CHEN J J. m<sup>6</sup>A modification in coding and non-coding RNAs: roles and therapeutic implica-



- tions in cancer [J]. *Cancer Cell*, 2020, 37(3): 270–288. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.02.004.
- [8] ZHANG W Q, SONG M S, QU J, et al. Epigenetic modifications in cardiovascular aging and diseases [J]. *Circ Res*, 2018, 123(7): 773–786. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.312497.
- [9] YIN H L, JU Z, ZHENG M H, et al. Loss of the m6A methyltransferase METTL3 in monocyte-derived macrophages ameliorates Alzheimer’s disease pathology in mice [J]. *PLoS Biol*, 2023, 21(3): e3002017. DOI: 10.1371/journal.pbio.3002017.
- [10] DENG X L, SU R, WENG H Y, et al. RNA N<sup>6</sup>-methyladenosine modification in cancers: current status and perspectives [J]. *Cell Res*, 2018, 28(5): 507–517. DOI: 10.1038/s41422-018-0034-6.
- [11] LIU S P, ZHUO L J, WANG J J, et al. METTL3 plays multiple functions in biological processes [J]. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(6): 1631–1646.
- [12] YANG Z Z, YANG S, CUI Y H, et al. METTL14 facilitates global genome repair and suppresses skin tumorigenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(35): e2025948118. DOI: 10.1073/pnas.2025948118.
- [13] LI Q, LI X, TANG H, et al. NSUN2-mediated m<sup>5</sup>C methylation and METTL3/METTL14-mediated m<sup>6</sup>A methylation cooperatively enhance p21 translation [J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(9): 2587–2598. DOI: 10.1002/jcb.25957.
- [14] SUN L H, ZHANG Y, YANG B Y, et al. Lactylation of METTL16 promotes cuproptosis via m<sup>6</sup>A-modification on FDX1 mRNA in gastric cancer [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 6523. DOI: 10.1038/s41467-023-42025-8.
- [15] MENDEL M, CHEN K M, HOMOLKA D, et al. Methylation of structured RNA by the m<sup>6</sup>A writer METTL16 is essential for mouse embryonic development [J]. *Mol Cell*, 2018, 71(6): 986–1000.e11. DOI: 10.1016/j.molcel.2018.08.004.
- [16] PENDLETON K E, CHEN B B, LIU K Q, et al. The U6 snRNA m<sup>6</sup>A methyltransferase METTL16 regulates SAM synthetase intron retention [J]. *Cell*, 2017, 169(5): 824–835.e14. DOI: 10.1016/j.cell.2017.05.003.
- [17] ZENG X Y, ZHAO F, CUI G F, et al. METTL16 antagonizes MRE11-mediated DNA end resection and confers synthetic lethality to PARP inhibition in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Nat Cancer*, 2022, 3(9): 1088–1104. DOI: 10.1038/s43018-022-00429-3.
- [18] JIA G F, FU Y, ZHAO X, et al. N<sup>6</sup>-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO [J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 7(12): 885–887. DOI: 10.1038/nchembio.687.
- [19] WANG J Y, WANG J Q, GU Q, et al. The biological function of m<sup>6</sup>A demethylase ALKBH5 and its role in human disease [J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20: 347. DOI: 10.1186/s12935-020-01450-1.
- [20] UEDA Y, OOSHIO I, FUSAMAE Y, et al. AlkB homolog 3-mediated tRNA demethylation promotes protein synthesis in cancer cells [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42271. DOI: 10.1038/srep42271.
- [21] LASMAN L, KRUPALNIK V, VIUKOV S, et al. Context-dependent functional compensation between Ythdf m<sup>6</sup>A reader proteins [J]. *Genes Dev*, 2020, 34(19–20): 1373–1391. DOI: 10.1101/gad.340695.120.
- [22] LIU T, WEI Q L, JIN J, et al. The m6A reader YTHDF1 promotes ovarian cancer progression via augmenting EIF3C translation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(7): 3816–3831. DOI: 10.1093/nar/gkaa048.
- [23] FANG R P, CHEN X, ZHANG S C, et al. EGFR/SRC/ERK-stabilized YTHDF2 promotes cholesterol dysregulation and invasive growth of glioblastoma [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 177. DOI: 10.1038/s41467-020-20379-7.
- [24] SHI H L, WANG X, LU Z K, et al. YTHDF3 facilitates translation and decay of N<sup>6</sup>-methyladenosine-modified RNA [J]. *Cell Res*, 2017, 27(3): 315–328. DOI: 10.1038/cr.2017.15.
- [25] XIAO W, ADHIKARI S, DAHAL U, et al. Nuclear m<sup>6</sup>A reader YTHDC1 regulates mRNA splicing [J]. *Mol Cell*, 2016, 61(4): 507–519. DOI: 10.1016/j.molcel.2016.01.012.
- [26] MAO Y H, DONG L M, LIU X M, et al. m<sup>6</sup>A in mRNA coding regions promotes translation via the RNA helicase-containing YTHDC2 [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 5332. DOI: 10.1038/s41467-019-13317-9.
- [27] SUN Y, DONG D, XIA Y H, et al. YTHDF1 promotes breast cancer cell growth, DNA damage repair and chemoresistance [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(3): 230. DOI: 10.1038/s41419-022-04672-5.
- [28] CAO G C, LI H B, YIN Z N, et al. Recent advances in dynamic m<sup>6</sup>A RNA modification [J]. *Open Biol*, 2016, 6(4): 160003. DOI: 10.1098/rsob.160003.
- [29] SONG H W, FENG X, ZHANG H, et al. METTL3 and ALKBH5 oppositely regulate m<sup>6</sup>A modification of *TFFB* mRNA, which dictates the fate of hypoxia/reoxygenation-treated cardiomyocytes [J]. *Autophagy*, 2019, 15(8): 1419–1437. DOI: 10.1080/15548627.2019.1586246.
- [30] LEPPEK K, DAS R, BARNA M. Functional 5’ UTR mRNA structures in eukaryotic translation regulation and how to find them [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(3): 158–174. DOI: 10.1038/nrm.2017.103.
- [31] HUANG G Z, WU Q Q, ZHENG Z N, et al. m<sup>6</sup>A-related bioinformatics analysis reveals that HNRNPC facilitates progression of OSCC via EMT [J]. *Aging*, 2020, 12(12): 11667–11684. DOI: 10.18632/aging.103333.
- [32] HUANG H L, WENG H Y, SUN W J, et al. Recognition of RNA N<sup>6</sup>-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation [J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(3): 285–295. DOI: 10.1038/s41556-018-0045-z.
- [33] EDENS B M, VISSERS C, SU J, et al. FMRP modulates neural differentiation through m<sup>6</sup>A-dependent mRNA nuclear export [J]. *Cell Rep*, 2019, 28(4): 845–854.e5. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.06.072.
- [34] EDELHEIT S, SCHWARTZ S, MUMBACH M R, et al. Transcriptome-wide mapping of 5-methylcytidine RNA modifications in bacteria, archaea, and yeast reveals m<sup>5</sup>C within archaeal mRNAs [J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(6): e1003602. DOI: 10.1371/journal.pgen.1003602.
- [35] GAO Y, WANG Z, ZHU Y D, et al. NOP2/Sun RNA methyltransferase 2 promotes tumor progression via its interacting partner RPL6 in gallbladder carcinoma [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(11): 3510–3519. DOI: 10.1111/cas.14190.
- [36] SUN Z, XUE S L, ZHANG M Y, et al. Aberrant NSUN2-mediated m<sup>5</sup>C modification of H19 lncRNA is associated with poor differentiation of hepatocellular carcinoma [J]. *Oncogene*, 2020, 39(45): 6906–6919. DOI: 10.1038/s41388-020-01475-w.

- [37] SELMI T, HUSSAIN S, DIETMANN S, et al. Sequence- and structure-specific cytosine-5 mRNA methylation by NSUN6 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(2): 1006-1022. DOI: 10.1093/nar/gkaa1193.
- [38] DENIZIO J E, LIU M Y, LEDDIN E M, et al. Selectivity and promiscuity in TET-mediated oxidation of 5-methylcytosine in DNA and RNA [J]. *Biochemistry*, 2019, 58(5): 411-421. DOI: 10.1021/acs.biochem.8b00912.
- [39] WU X J, ZHANG Y. TET-mediated active DNA demethylation: mechanism, function and beyond [J]. *Nat Rev Genet*, 2017, 18(9): 517-534. DOI: 10.1038/nrg.2017.33.
- [40] GUALLAR D, BI X J, PARDAVILA J A, et al. RNA-dependent chromatin targeting of TET2 for endogenous retrovirus control in pluripotent stem cells [J]. *Nat Genet*, 2018, 50(3): 443-451. DOI: 10.1038/s41588-018-0060-9.
- [41] WANG J Z, ZHU W, HAN J, et al. The role of the HIF-1 $\alpha$ /ALYREF/PKM2 axis in glycolysis and tumorigenesis of bladder cancer [J]. *Cancer Commun*, 2021, 41(7): 560-575. DOI: 10.1002/cac2.12158.
- [42] CHEN X, LI A, SUN B F, et al. 5-methylcytosine promotes pathogenesis of bladder cancer through stabilizing mRNAs [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(8): 978-990. DOI: 10.1038/s41556-019-0361-y.
- [43] HAAG S, KRETSCHMER J, BOHNSACK M T. WBSR22/Merm1 is required for late nuclear pre-ribosomal RNA processing and mediates N<sup>7</sup>-methylation of G1639 in human 18S rRNA [J]. *RNA*, 2015, 21(2): 180-187. DOI: 10.1261/rna.047910.114.
- [44] PANDOLFINI L, BARBIERI I, BANNISTER A J, et al. METTL1 promotes let-7 microRNA processing via m<sup>7</sup>G methylation [J]. *Mol Cell*, 2019, 74(6): 1278-1290.e9. DOI: 10.1016/j.molcel.2019.03.040.
- [45] HAN H, YANG C L, MA J Y, et al. N<sup>7</sup>-methylguanosine tRNA modification promotes esophageal squamous cell carcinoma tumorigenesis via the RPTOR/ULK1/autophagy axis [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 1478. DOI: 10.1038/s41467-022-29125-7.
- [46] CURTIN N J. DNA repair dysregulation from cancer driver to therapeutic target [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(12): 801-817. DOI: 10.1038/nrc3399.
- [47] ZHANG C F, CHEN L P, PENG D, et al. METTL3 and N<sup>6</sup>-methyladenosine promote homologous recombination-mediated repair of DSBs by modulating DNA-RNA hybrid accumulation [J]. *Mol Cell*, 2020, 79(3): 425-442.e7. DOI: 10.1016/j.molcel.2020.06.017.
- [48] BLUM A, WANG P, ZENKLUSEN J C. SnapShot: TCGA-analyzed tumors [J]. *Cell*, 2018, 173(2): 530. DOI: 10.1016/j.cell.2018.03.059.
- [49] GORGOULIS V G, VASSILIOU L V F, KARAKAIDOS P, et al. Activation of the DNA damage checkpoint and genomic instability in human precancerous lesions [J]. *Nature*, 2005, 434(7035): 907-913. DOI: 10.1038/nature03485.
- [50] HALAZONETIS T D, GORGOULIS V G, BARTEK J. An oncogene-induced DNA damage model for cancer development [J]. *Science*, 2008, 319(5868): 1352-1355. DOI: 10.1126/science.1140735.
- [51] BASOURAKOS S P, LI L K, APARICIO A M, et al. Combination platinum-based and DNA damage response-targeting cancer therapy: evolution and future directions [J]. *Curr Med Chem*, 2017, 24(15): 1586-1606. DOI: 10.2174/0929867323666161214114948.
- [52] CHEN Y K, JIANG T, ZHANG H Y, et al. LRR31 inhibits DNA repair and sensitizes breast cancer brain metastasis to radiation therapy [J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(10): 1276-1285. DOI: 10.1038/s41556-020-00586-6.
- [53] MICHELINI F, PITCHIAYA S, VITELLI V, et al. Damage-induced lncRNAs control the DNA damage response through interaction with DDRNAs at individual double-strand breaks [J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(12): 1400-1411. DOI: 10.1038/ncb3643.
- [54] AYMARD F, BUGLER B, SCHMIDT C K, et al. Transcriptionally active chromatin recruits homologous recombination at DNA double-strand breaks [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2014, 21(4): 366-374. DOI: 10.1038/nsmb.2796.
- [55] KESKIN H, SHEN Y, HUANG F, et al. Transcript-RNA-templated DNA recombination and repair [J]. *Nature*, 2014, 515(7527): 436-439. DOI: 10.1038/nature13682.
- [56] XIANG Y, LAURENT B, HSU C H, et al. RNA m<sup>6</sup>A methylation regulates the ultraviolet-induced DNA damage response [J]. *Nature*, 2017, 543(7646): 573-576. DOI: 10.1038/nature21671.
- [57] ZHOU S, BAI Z L, 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. DOI: 10.1002/mc.22782.
- [58] LI Y, XIA L J, TAN K F, et al. N<sup>6</sup>-Methyladenosine co-transcriptionally directs the demethylation of histone H3K9me2 [J]. *Nat Genet*, 2020, 52(9): 870-877. DOI: 10.1038/s41588-020-0677-3.
- [59] SHENG Y, WEI J B, YU F, et al. A critical role of nuclear m6A reader YTHDC1 in leukemogenesis by regulating MCM complex-mediated DNA replication [J]. *Blood*, 2021, 138(26): 2838-2852. DOI: 10.1182/blood.2021011707.
- [60] CHENG Y M, XIE W, PICKERING B F, et al. N<sup>6</sup>-Methyladenosine on mRNA facilitates a phase-separated nuclear body that suppresses myeloid leukemic differentiation [J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(7): 958-972.e8. DOI: 10.1016/j.ccell.2021.04.017.
- [61] LIU J, DOU X Y, CHEN C Y, et al. N<sup>6</sup>-methyladenosine of chromosome-associated regulatory RNA regulates chromatin state and transcription [J]. *Science*, 2020, 367(6477): 580-586. DOI: 10.1126/science.aay6018.
- [62] ROUNDTREE I A, LUO G Z, ZHANG Z J, et al. YTHDC1 mediates nuclear export of N<sup>6</sup>-methyladenosine methylated mRNAs [J]. *eLife*, 2017, 6: e31311. DOI: 10.7554/eLife.31311.
- [63] LI S S, QI Y F, YU J C, et al. Nuclear aurora kinase A switches m<sup>6</sup>A reader YTHDC1 to enhance an oncogenic RNA splicing of tumor suppressor RBM4 [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 97. DOI: 10.1038/s41392-022-00905-3.
- [64] ABAKIR A, GILES T C, CRISTINI A, et al. N<sup>6</sup>-methyladenosine regulates the stability of RNA: DNA hybrids in human cells [J]. *Nat Genet*, 2020, 52(1): 48-55. DOI: 10.1038/s41588-019-0549-x.
- [65] CHEN L P, ZHANG C F, MA W B, et al. METTL3-mediated m<sup>6</sup>A modification stabilizes TERRA and maintains telomere stability [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(20): 11619-11634. DOI: 10.1093/nar/gkac1027.
- [66] TAKETO K, KONNO M, ASAI A, et al. The epitranscriptome m<sup>6</sup>A writer METTL3 promotes chemo- and radioresistance in

- pancreatic cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2018, 52(2): 621–629. DOI: 10.3892/ijo.2017.4219.
- [67] LIN Z Y, NIU Y, WAN A, et al. RNA m<sup>6</sup>A methylation regulates sorafenib resistance in liver cancer through FOXO3<sup>-</sup> mediated autophagy [J]. *EMBO J*, 2020, 39(12): e103181. DOI: 10.15252/embj.2019103181.
- [68] WENG H Y, HUANG F, YU Z J, et al. The m<sup>6</sup>A reader IGF2BP2 regulates glutamine metabolism and represents a therapeutic target in acute myeloid leukemia [J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(12): 1566–1582.e10. DOI: 10.1016/j.ccell.2022.10.004.
- [69] JIN D, GUO J W, WU Y, et al. m<sup>6</sup>A 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]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 32. DOI: 10.1186/s13045–021–01048–8.
- [70] YANG Y, YAN Y, YIN J X, et al. O–GlcNAcylation of YTHDF2 promotes HBV–related hepatocellular carcinoma progression in an N<sup>6</sup>–methyladenosine–dependent manner [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 63. DOI: 10.1038/s41392–023–01316–8.
- [71] CHENG Y, GAO Z Y, ZHANG T T, et al. Decoding m<sup>6</sup>A RNA methylome identifies PRMT6–regulated lipid transport promoting AML stem cell maintenance [J]. *Cell Stem Cell*, 2023, 30(1): 69–85.e7. DOI: 10.1016/j.stem.2022.12.003.
- [72] HUANG J P, SUN W, WANG Z H, et al. FTO suppresses glycolysis and growth of papillary thyroid cancer via decreasing stability of APOE mRNA in an N<sup>6</sup>–methyladenosine–dependent manner [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1): 42. DOI: 10.1186/s13046–022–02254–z.
- [73] GUO X Y, LI K, JIANG W L, et al. RNA demethylase ALKBH5 prevents pancreatic cancer progression by posttranscriptional activation of PER1 in an m<sup>6</sup>A–YTHDF2–dependent manner [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 91. DOI: 10.1186/s12943–020–01158–w.
- [74] CHEN H, YANG H B, ZHU X L, et al. m<sup>5</sup>C modification of mRNA serves a DNA damage code to promote homologous recombination [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 2834. DOI: 10.1038/s41467–020–16722–7.
- [75] YANG H B, WANG Y M, XIANG Y F, et al. FMRP promotes transcription–coupled homologous recombination via facilitating TET1–mediated m<sup>5</sup>C RNA modification demethylation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119(12): e2116251119. DOI: 10.1073/pnas.2116251119.
- [76] MEI L, SHEN C, MIAO R, et al. RNA methyltransferase NSUN2 promotes gastric cancer cell proliferation by repressing p57<sup>Kip2</sup> by an m<sup>5</sup>C–dependent manner [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(4): 270. DOI: 10.1038/s41419–020–2487–z.
- [77] LUO Y H, FENG J, XU Q B, et al. NSun2 deficiency protects endothelium from inflammation via mRNA methylation of ICAM–1 [J]. *Circ Res*, 2016, 118(6): 944–956. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.307674.
- [78] WANG N, TANG H, WANG X, et al. Homocysteine upregulates interleukin–17A expression via NSun2–mediated RNA methylation in T lymphocytes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 493(1): 94–99. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.09.069.

校稿: 王娟 李征

**本文引用格式:** 周家银, 储志敏, 李洋. RNA 甲基化修饰调控 DNA 损伤修复过程及其在肿瘤耐药中的作用[J]. *肿瘤药理学*, 2024, 14(2): 139–149. DOI: 10.3969/j.issn.2095–1264.2024.02.02.

**Cite this article as:** ZHOU Jiayin, CHU Zhimin, LI Yang. Regulation of RNA methylation modifications during DNA damage repair and their roles in tumor drug resistance [J]. *Anti-tumor Pharmacy*, 2024, 14(2): 139–149. DOI: 10.3969/j.issn.2095–1264.2024.02.02.