

DOI: 10.13376/j.cbls/2023055

文章编号: 1004-0374(2023)04-0472-08

m⁶A修饰在肝纤维化中的研究进展

谢苏杰, 杨悦, 赖渤文, 尹昊瓚, 杨富*
(海军军医大学基础医学院医学遗传学教研室, 上海 200433)

摘要: *N*⁶-甲基腺苷 (*N*⁶-methyladenosine, m⁶A) 作为真核生物中最丰富的 RNA 内部修饰, 影响 RNA 的加工, 调节 mRNA 翻译效率, 并与多种表观遗传学机制发生交互作用, 进而在多种生理过程中调控基因的表达。肝纤维化是细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 蛋白 (主要是 I 型和 III 型胶原蛋白) 积累形成的纤维瘢痕取代正常组织的过程, 是肝脏对慢性损伤的病理性修复反应。m⁶A 修饰直接参与肝细胞损伤、炎症细胞募集和肝星状细胞激活等肝纤维化过程, 并通过降低 HBV 蛋白的表达、与微 RNA (microRNA) 和肠道菌群相互作用等途径间接影响肝纤维化的发生发展。由于肝脏的再生能力较强, 当慢性炎症或肝损伤的主要病因去除后, 早期已经发生纤维化的肝脏可逆转为正常肝脏。m⁶A 修饰在肝纤维化中的双重作用可为平衡机体纤维化过程提供思路。该文综述了 m⁶A 修饰在肝纤维化中的功能和作用机制, 以期对相关疾病的诊疗提供新的思路。

关键词: m⁶A; 肝纤维化; RNA 修饰

中图分类号: R575.2 **文献标志码:** A

Research progress on m⁶A modification in liver fibrosis

XIE Su-Jie, YANG Yue, LAI Bo-Wen, YIN Hao-Zan, YANG Fu*

(Department of Medical Genetics, College of Basic Medical Sciences, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

Abstract: *N*⁶-methyladenosine (m⁶A) is the most abundant RNA internal modification in eukaryotes. This modification controls specific gene expression in various physiological processes through affecting the process of RNA, regulating the efficiency of mRNA translation and performing crosstalks with other epigenetic mechanisms. As liver fibrosis is a process in which fibrous scars formed by the accumulation of extracellular matrix (ECM) proteins (mainly collagen types I and III) replace normal tissues. This process is a pathological repair response of the liver to chronic injury. The m⁶A modification is directly involved in liver fibrotic processes such as hepatocyte injury, inflammatory cell recruitment, and activation of hepatic stellate cells. Moreover, it may reduce HBV protein expression, interact with microRNAs and intestinal flora to affect the development and progression of liver fibrosis indirectly. Due to the strong regenerative capacity of the liver, liver fibrosis at an early stage can be reversed to a normal liver when the primary cause of chronic inflammation or liver injury is removed. The dual roles of m⁶A modification in liver fibrosis may provide views for balancing the fibrotic process in the organism. This review summarizes the functions and mechanisms of m⁶A modification in liver fibrosis, aiming to provide new ideas for the diagnosis and treatment of related diseases.

Key words: *N*⁶-methyladenosine; liver fibrosis; RNA modification

肝纤维化是细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 蛋白积累形成的纤维瘢痕取代正常组织的过程, 是肝脏对慢性损伤的病理性修复反应^[1]。肝纤维化不断发展, 形成再生结节和假小叶引发肝硬化, 肝硬

收稿日期: 2022-08-15; 修回日期: 2022-09-29

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81972657); 国家重点研发计划项目 (2016YFC1302303)

*通信作者: E-mail: yangfusq1997@smmu.edu.cn

化晚期会导致门静脉高压、腹水和肝性脑病等多种临床并发症的发生^[2]。值得注意的是,纤维化程度与肝功能密切相关,也是肝细胞癌的主要危险因素之一^[3]。但遗憾的是,目前临床治疗的选择仍然有限^[4]。

N⁶-甲基腺苷(N⁶-methyladenosine, m⁶A)是指腺嘌呤的第6位氮原子(N)发生甲基化修饰,超过7 000种编码RNA和300种非编码RNA含有m⁶A,主要出现在共有序列“RRACH”中(其中R=A或G, H=A、C或U)^[5]。m⁶A位点在终止密码子附近和3'非编码区(3'untranslated region, 3'UTR)中富集^[6],可影响mRNA的代谢(转录、剪接、翻译),参与基因表达和细胞生物学功能发挥^[7]。目前,研究显示m⁶A修饰在器官纤维化(肝、肾、心、肺)中发挥综合调控的作用,干预不同mRNA中的m⁶A修饰可作为潜在治疗方法^[8]。本文对m⁶A修饰在肝纤维化中的研究进展进行综述,为后续m⁶A修饰作为肝纤维化治疗靶点提供思路。

1 m⁶A修饰机制与其他表观遗传学

1.1 m⁶A修饰调节因子

m⁶A调节因子可分为3类:编码器(writers)、读码器(readers)、消码器(erasers)。m⁶A通过多亚基m⁶A甲基转移酶复合物以高度特异性的方式添加到RNA中,编码器中由甲基转移酶样蛋白(methyltransferase-like, METTL) METTL3、METTL14和Wilms肿瘤相关蛋白(Wilms' tumor-associated protein, WTAP)

组成的m⁶A甲基转移酶复合物,在细胞核中以共转录的方式添加m⁶A修饰^[9]。m⁶A消码器是将m⁶A转化为腺苷的去甲基化酶,也可塑造m⁶A表观转录组^[10]。消码器也位于细胞核中,ALKB同源物5(alkB homolog 5, ALKBH5)和脂肪含量和肥胖相关蛋白(fat mass and obesity-associated protein, FTO)可去除RNA上的m⁶A^[11]。

在细胞核中,m⁶A可结合特定的核阅读器蛋白,主要是YTH结构域包含蛋白1(YTH domain-containing protein 1, YTHDC1),影响mRNA的剪接和核输出过程^[12-13]。当mRNA输出到细胞质后,位于细胞质的读码器,包括YTH结构域家族蛋白(YTH domain-containing family protein, YTHDF) YTHDF1、YTHDF2、YTHDF3和真核翻译起始因子3(eukaryotic initiation factor 3, eIF3)等,将影响mRNA的翻译、降解和定位^[14](图1)。

1.2 m⁶A修饰与组蛋白修饰

组蛋白是形成染色体的染色质复合物的一部分。核小体是由DNA和组蛋白形成的染色质基本结构单位。每个核小体由146 bp的DNA缠绕组蛋白八聚体1.75圈形成。组蛋白八聚体包含H2A、H2B、H3和H4蛋白各2个拷贝,它们形成核小体的核心^[15]。核心组蛋白具有从核小体突出的N末端尾部,可进行转录后修饰,例如乙酰化、磷酸化、甲基化、泛素化^[16]。组蛋白甲基化通常在组蛋白H3和H4的赖氨酸残基上添加甲基,是最重要的转

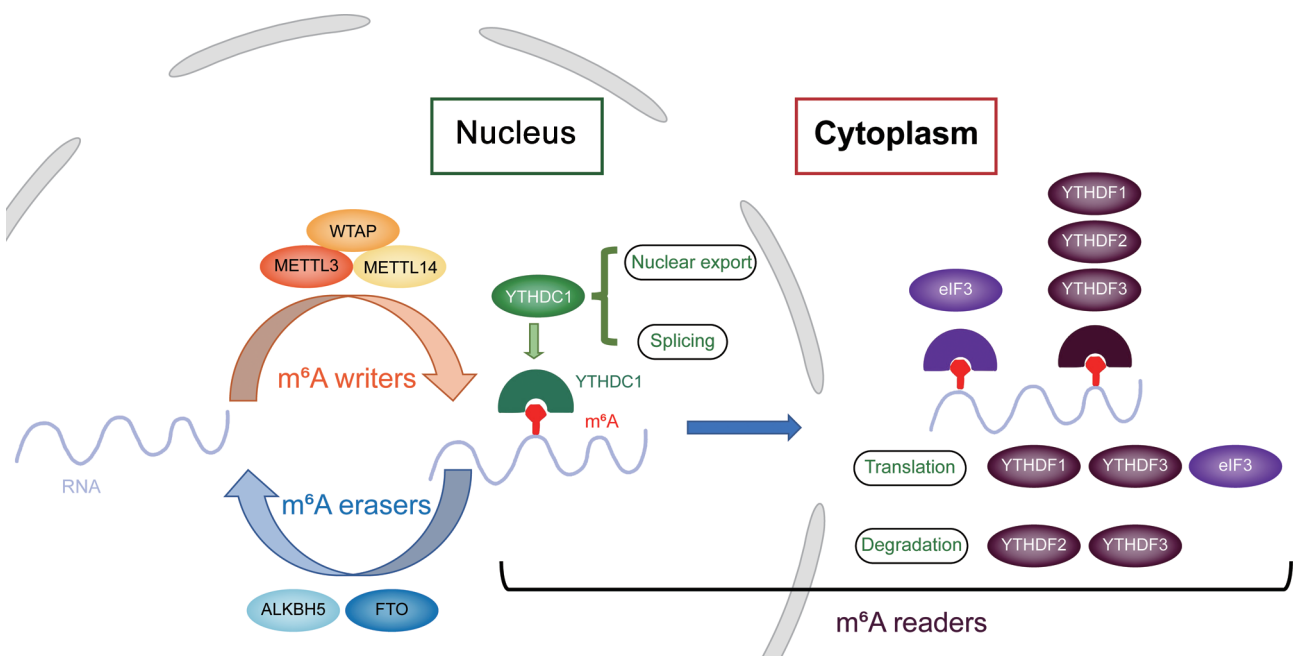


图1 m⁶A修饰的动态变化及功能^[14]

录后修饰之一^[17]。

H3第36位赖氨酸三甲基化(H3 lysine 36 trimethylation, H3K36me3)组蛋白修饰是一种转录延伸的标记,可全局指导m⁶A修饰。m⁶A修饰位点和H3K36me3组蛋白修饰位点有相似的编码区(coding sequence, CDS)和3'UTR分布模式,69.2%的m⁶A峰与H3K36me3修饰重叠。通过敲低含SET结构域蛋白2(SET domain containing 2, SETD2)(一种H3K36me3甲基化酶)或过表达赖氨酸特异性去甲基化酶4A(histone lysine demethylase 4A, KDM4A)(一种H3K36me3去甲基化酶)抑制细胞中的H3K36me3,会导致总RNA和poly(A)RNA中m⁶A水平显著降低;而m⁶A甲基转移酶复合物基因的沉默不影响细胞中H3K36me3水平^[18]。也有研究提示m⁶A修饰可对组蛋白修饰产生影响,Chen等^[19]发现组蛋白甲基转移酶EZH2转录本上m⁶A的存在会增加H3K27me3水平,而METTL3的敲低会降低EZH2蛋白表达和H3K27me3水平。m⁶A修饰与组蛋白修饰之间存在串扰,不同组蛋白分子产生的效应不同,这也是m⁶A修饰调控的重要外部因素之一。

1.3 m⁶A修饰与非编码RNA

尽管大多数关于m⁶A修饰的研究都集中在mRNA上,但最近的一些研究表明,m⁶A修饰及其相关调节因子也对非编码RNA具有生物学效应。非编码RNA主要包括长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)、环状RNA(circular RNA, circRNA)和微RNA(microRNA, miRNA)^[5]。其中miRNA与肝纤维化的关系较为密切,将在3.1中详细叙述。

lncRNA可与蛋白质、RNA和DNA结合,通过基因印记、染色质重塑、剪接调控、mRNA降解和翻译调控等机制控制基因表达水平^[20]。lncRNA X非活性特异性转录本(X-inactive specific transcript, XIST)可通过募集特定蛋白质复合物介导X染色体上的基因转录沉默(包括一些lncRNA)^[21]。XIST介导的基因沉默需要m⁶A的形成,RBM15/15B作为支架将WTAP-METTL3甲基化复合物锚定到XIST的特定位点,导致m⁶A在相邻位点形成,并且XIST的甲基化会触发其与YTHDC1的结合,促进XIST介导的转录沉默^[22]。

circRNA是一种以共价闭环结构为特征的非编码RNA,它们通过海绵化miRNA、调节可变剪接、调节基因表达、充当蛋白质支架在疾病的发生和发展中发挥重要作用^[23]。不同类型circRNA的m⁶A修饰丰度取决于其外显子特征。与由多外显子组成

的circRNA相比,由单外显子组成的circRNA包含更多m⁶A,m⁶A峰更丰富^[24]。Rao等^[25]研究发现,乙肝病毒x蛋白(HBV x protein, HBx)能够上调甲基转移酶METTL3的表达,增加circ-ARL3的m⁶A修饰;而YTHDC1与m⁶A修饰的circ-ARL3结合,有利于其反向剪接和生物合成。m⁶A修饰以不同方式影响circRNA的生物发生和表达。

2 m⁶A修饰与肝纤维化的发生发展

肝纤维化本质是ECM的进行性累积和重塑减少^[26]。当病毒、药物、酒精和代谢综合征等肝损伤因素刺激肝脏时,首先引发肝细胞的损伤和炎症细胞的浸润,而后肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)被激活向肌成纤维细胞转分化并形成ECM^[27]。轻度肝损伤时,ECM的沉积和降解保持动态平衡,在取代受损组织后及时重塑并引导肌成纤维细胞的沉默或凋亡;而慢性肝病时,ECM的累积失控,导致肝组织正常生理结构的破坏^[28]。

2.1 m⁶A修饰对肝细胞损伤的影响

肝细胞损伤是肝纤维化的初始事件,慢性病毒感染、酒精和代谢综合征等多种病因首先引发肝细胞损伤^[1]。损伤或凋亡的肝细胞主动或被动释放损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs),包括核酸、核蛋白、胞内蛋白、嘌呤核苷酸、线粒体或化合物等^[29],向周围细胞发出危险信号,募集炎症细胞并激活HSC,引发后续肝纤维化过程^[30]。m⁶A修饰在此过程中主要影响各种病因以及DAMPs的释放。

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是全球肝病流行的主要原因之一,m⁶A修饰可降低HBV RNA转录物的稳定性和HBV蛋白的表达,减少病毒对肝细胞的损伤^[31]。HBV RNA中位于Epsilon茎环结构内的m⁶A共有基序是m⁶A修饰的位点,HBV mRNA的3'UTR处存在此结构,此处进行m⁶A修饰会使HBV转录物不稳定,最终影响其编码的蛋白质表达。如果敲低感染HBV细胞中的m⁶A编码器METTL3/METTL14和读码器YTHDF,则会增加HBV蛋白的表达^[31]。肝细胞脂质超载是肝细胞损伤的主要驱动因素之一,它可通过内质网应激、线粒体功能障碍等影响细胞功能,加速纤维化的发展^[32]。Wei等^[33]研究表明,METTL14参与内质网应激中的未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR),积累的未折叠/错误折叠蛋白质会选择性地诱导METTL14表达。METTL14可促进

C/EBP 同源蛋白 (C/EBP-homologous protein, CHOP) mRNA 的 m⁶A 修饰而加速其降解, 从而抑制其下游促凋亡靶基因的表达, 防止肝细胞凋亡并减少了 DAMPs 的产生。高迁移率族蛋白 B1 (high-mobility group box-1, HMGB1) 是肝病中研究最多的 DAMPs 之一, 作为一种高度保守的核蛋白, 可由死亡的肝细胞被动释放^[34]。m⁶A 消码器 FTO 可通过减少 HMGB1-mRNA m⁶A 修饰而增加其 mRNA 与蛋白的表达, FTO mRNA 水平与 HMGB1 的基因表达水平呈正相关^[35]。Chen 等^[36] 研究发现, ALKBH5 可以通过 HMGB1 介导的干扰素基因刺激因子 (stimulator of interferon genes, STING) 信号通路促进辐射诱导的肝细胞凋亡且读码器 YTHDF2 可识别 m⁶A 修饰的 HMGB1 mRNA 并促进其降解。可见 m⁶A 修饰在病毒、脂质超载等因素损伤肝细胞的过程中发挥着重要作用。

2.2 m⁶A修饰对炎症细胞的影响

肝损伤之后, 炎症细胞接收到来自受损肝细胞的 DAMPs 或入侵病原体的病原体相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), 向受损细胞处迁移, 清除病原体或受损细胞并修复组织^[37]。中性粒细胞、巨噬细胞、DC 细胞和 T 细胞等可产生多种细胞因子激活 HSC, 促进肝纤维化的发生^[1]。常驻于肝血窦内的 Kupffer 细胞和骨髓来源的单核细胞, 是肝巨噬细胞的两个主要来源, 在肝纤维化过程中起到重要作用^[38]。

m⁶A 修饰可影响巨噬细胞的激活和分化。巨噬细胞借助 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 识别危险信号 (DAMPs 和 PAMPs), 激活下游 MyD88 依赖性途径, 实现病原体清除和促炎细胞因子的合成^[39]。m⁶A 编码器 METTL3 可修饰 TLR 信号通路的重要负调节因子: IL-1 受体相关激酶 3 (IL-1 receptor-associated kinase 3, IRAK3) 的 mRNA, 加速其降解, 促进 TLR 信号转导, 导致巨噬细胞的激活^[40]。激活后的巨噬细胞主要分化为两种表型, 促炎型和调节型^[41]。损伤早期主要是促炎型的巨噬细胞分泌 IL-1 β 、TGF- β 1、CCL2 等细胞因子激活 HSC 并募集其他免疫细胞^[41]。活化后的巨噬细胞可激活 METTL3/METTL14, 增加 TGF- β 1 mRNA 中 5'UTR 的 m⁶A 修饰, 导致 TGF- β 1 mRNA 以不依赖帽结构的方式进行翻译, 促进 TGF- β 1 的表达, 有利于 HSC 的激活^[42]。损伤后期, 调节型的巨噬细胞可分泌基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP), 例如 MMP9 和 MMP12 参与基质降解和纤维化消退^[43]。

Shu 等^[44] 发现 METTL3 可通过多条信号级联通路促使巨噬细胞向 M1 型分化并加重肝纤维化。有趣的是, 在前列腺癌相关巨噬细胞中抑制 METTL3 可释放脂氧素 A4 (lipoxin A4, LXA4) 从而促进巨噬细胞向调节型分化^[45], 这提示 METTL3 影响巨噬细胞分化, 或可成为肝纤维化的治疗靶点。

2.3 m⁶A修饰对ECM过度沉积的影响

在肝细胞受损和炎症细胞释放的细胞因子等的刺激作用下, 肝星状细胞、门静脉成纤维细胞和间皮细胞等分化形成肌成纤维细胞^[46]。肌成纤维细胞是纤维化肝脏中 ECM 的主要来源^[47]。活化的肌成纤维细胞中 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA) 和胞内微丝表达增加, 合成并分泌多种胶原蛋白, 促进 ECM 的沉积, 并释放基质金属蛋白酶抑制剂 1 (tissue inhibitor of metalloproteinase 1, TIMP1) 防止 ECM 降解^[27]。ECM 沉积和降解的失衡会破坏肝脏的生理结构, 导致肝硬化的发生^[48]。

m⁶A 修饰可通过调控 HSC 的激活而影响 ECM 的过度沉积。一项使用 MeRIP-Seq 动态分析肝纤维化中 m⁶A 修饰变化的研究发现, 在肝纤维化的发展过程中, 与炎症或免疫反应相关的基因 (如 TNF、IL-16 和 NF- κ B) 和与胶原分解代谢相关的基因 (如 MMP8、MMP9 和 MMP25) 的 m⁶A 修饰均显著增加。经过基因本体论 (Gene Ontology, GO) 分析, 差异 m⁶A 修饰主要富集于氧化应激和细胞色素代谢相关过程中^[49]。肝细胞和炎症细胞累积的 ROS 可激活 HSC, 不断分泌胶原蛋白并诱导 ECM 在肝脏中积累^[50]。Sun 等^[51] 研究发现 m⁶A 读码器 YTHDF3 可调节过氧化物氧化还原酶 3 (peroxiredoxin 3, PRDX3) 翻译, 抑制氧化应激和 HSC 的活化, 改善肝纤维化。肝纤维化过程需要多种细胞中众多信号通路激活并协同作用, 其中 Hedgehog 信号转导通路参与 HSC 的激活和 ECM 的产生^[52]。Yang 等^[53] 发现 ALKBH5 通过激活跨膜受体蛋白 PTCH1 (Patched 1) 表达抑制 Hedgehog 信号转导, 降低 α -SMA 和 I 型胶原蛋白表达水平, 缓解间质纤维化。m⁶A 修饰在 ECM 沉积阶段参与 HSC 激活和 ECM 分泌过程, 或可成为肝纤维化的治疗靶点。

3 m⁶A修饰与肝纤维化的影响因素

上述研究主要聚焦于 m⁶A 修饰通过改变肝细胞损伤、炎症细胞聚集和 ECM 沉积三个过程直接参与肝纤维化的发生发展, 除此之外, m⁶A 修饰也可以通过调控 miRNA 和肠道菌群间接影响肝纤维

化的进程。

3.1 m⁶A修饰与miRNA

miRNA是在转录后调节RNA表达的内源性小非编码RNA,通过与特定mRNA靶标结合促进其降解或抑制其翻译,在转录后阶段调节基因表达^[54]。研究发现,miRNA的表达改变可在多个层面影响肝纤维化的发展,例如miRNA-21可以通过影响TGF- β 通路参与HSC的活化;miRNA-223可以改变巨噬细胞的表型以及miRNA-29可以抑制HSC中胶原蛋白和 α -SMA的表达^[55]。m⁶A修饰还可通过miRNA前体或改变外泌体中miRNA的表达量影响肝纤维化的发生发展。

miRNA-21是在血液中检测到的最丰富的miRNA之一,在肝脏中有较高表达,可在HSC中通过TGF- β 1/Smad信号通路参与肝纤维化过程^[55]。而METTL3介导的m⁶A修饰在肾小管上皮细胞中可以促进pri-miRNA-21的识别和加工,帮助miRNA-21-5p成熟,导致肾纤维化的发生^[56]。Zhu等^[57]研究发现,METTL3通过影响HSC中miRNA-350的加工,上调其表达并抑制下游靶基因Sprouty同源物2(Sprouty homolog 2,SPRY2)的表达,进一步介导PI3K/AKT和ERK通路的激活,引发肝纤维化的发生。m⁶A修饰还可影响细胞外泌体抑制miRNA的表达。Shu等^[58]研究发现,METTL3介导m⁶A修饰增强巨噬细胞外泌体中NEAT1的表达,NEAT1能够作用于HSC抑制miRNA-342并促进其活化。如果沉默NEAT1,则可通过miRNA-342/Sp1/TGF- β 1/Smad信号通路对肝纤维化发挥预防作用。m⁶A修饰上调促进肝纤维化的miRNA(如miRNA-21、miRNA-350)的表达,并下调阻碍肝纤维化的miRNA(如miRNA-342),以此促进肝纤维化的发生发展。

3.2 m⁶A修饰与肠道菌群

肠道菌群失调与肝纤维化之间存在相互作用。一方面,肠道菌群失调导致肠道屏障功能障碍,大分子(如脂多糖或细菌DNA等)或肠道内微生物损害肝细胞,引发肝纤维化;另一方面,肝纤维化导致胆汁酸分泌减少,引发严重的肠道菌群失调^[59]。肠道菌群可改变m⁶A修饰进而影响肝纤维化的发展。一项宏基因组学定量对比分析了来自123名肝硬化患者和114名健康人的肠道菌群后发现:在肝硬化组中,拟杆菌属(*Bacteroides*)显著下降,但梭杆菌属(*Fusobacterium*)、链球菌属(*Streptococcus*)和乳杆菌属(*Lactobacillus*)富集^[60]。Jabs等^[61]研究发现,植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)可合成叶

酸以增加肝脏中的m⁶A修饰,Ingenuity Pathway Analysis(IPA)分析结果显示,与常规小鼠相比,*L.plantarum*小鼠因差异m⁶A修饰导致细胞代谢途径改变显著。肠道菌群可通过增强m⁶A修饰的方式促进肝纤维化的发展,但目前m⁶A修饰改变肠道菌群的研究较少,仍有待进一步研究。

4 m⁶A修饰与肝纤维化的可逆性和治疗

由于肝脏的强再生能力,当慢性炎症或肝损伤的主要病因去除后,早期肝纤维化可逆转为正常肝脏^[62-64]。肝纤维化逆转的基础可以概括为:(1)去除导致慢性肝损伤的有害因素;(2)清除或灭活肌成纤维细胞(主要是活化的HSC);(3)炎症反应的消退;(4)细胞外基质的降解^[65]。目前肝纤维化的治疗药物也主要围绕这四个方向开发^[66],下面我们将讨论m⁶A修饰在其中发挥的作用。

首先,m⁶A修饰可以减少有害因素对肝细胞的损害,在前文中我们已经提到:m⁶A修饰可以降低HBV蛋白表达以及减少脂质沉积带来的肝细胞凋亡^[31,33]。其次,目前关于肝纤维化的治疗,研究主要集中于清除已活化的HSC这一方向。一项使用MeRIP-Seq动态分析肝纤维化中m⁶A修饰变化的研究发现,在肝纤维化的逆转过程中差异m⁶A修饰主要富集于免疫反应和细胞凋亡相关的过程^[49]。Shen等^[67]发现m⁶A修饰是双氢青蒿素(dihydroartemisinin,DHA)诱导HSC铁死亡改善肝纤维化的关键。DHA可下调FTO的表达,使得自噬相关基因BECN1(Beclin 1)mRNA中m⁶A修饰上调。YTHDF1可增强BECN1 mRNA稳定性,促使HSC铁死亡的发生。在炎症反应的消退中,m⁶A修饰也起到重要作用。如前文所述:敲低METTL3可以减少促炎因子TGF- β 1的翻译^[42]并抑制巨噬细胞向M1促炎表型分化^[44]。基质金属蛋白酶(MMP)和其抑制剂(TIMP)影响细胞外基质的降解^[68]。Sang等^[69]研究发现,过表达METTL3后MMP1和MMP3在mRNA和蛋白水平表达增加,TIMP1和TIMP2表达降低。METTL3过表达可能通过调整TIMP和MMP之间的平衡影响细胞外基质降解。

目前已发现多种靶向m⁶A的治疗策略。Chen等^[70]通过基于人工智能的方法开发了一系列FTO抑制剂。天然产物大黄酸被确定为第一个用于细胞的FTO抑制剂,它还可抑制ALKBH2活性,IC₅₀值与2012年同期测定的FTO是相同数量级(IC₅₀=21 μ mol/L)。在计算对接的帮助下,Lan等^[71]鉴定

了METTL3/ METTL14的笼状分子激活剂MPCH, 其可在不同细胞中经过紫外线照射短时间内激活METTL3/ METTL14, 导致高的m⁶A甲基化, 并已在肿瘤治疗中显示出有效的治疗效果。多种m⁶A靶向分子为肝纤维化治疗提供了新的方案, 已有研究发现姜黄素因其抗炎和抗氧化作用而被广泛用于抗纤维化模型。姜黄素是一种天然酚类化合物, 可降低ALKBH5的表达并诱导更高的m⁶A修饰的TNF受体相关因子4 (TNF receptor-associated factor 4, TRAF4) mRNA, 该mRNA与YTHDF1结合, 导致TRAF4的翻译增强^[72], 可通过调节氧化应激和自噬来阻断肝细胞的上皮-间充质转变(EMT)来缓解肝纤维化^[73]。m⁶A修饰可通过多个方面影响肝纤维化的治疗, 不同的m⁶A修饰因子对肝纤维化有不同作用(促进或抑制), 或可作为肝纤维化新的治疗靶点, 从而开发更有效的治疗方案。

5 总结与展望

综上所述, m⁶A修饰在肝纤维化发生发展中存在双重作用。抗纤维化相关的m⁶A修饰可降低病毒RNA的稳定性并阻止肝细胞的凋亡, 抑制HSC活化, 防止ECM沉积; 而促纤维化相关的m⁶A修饰

上调HMGB1分子促使肝细胞凋亡, 诱导巨噬细胞向促炎表型分化, 帮助促纤维化因子TGF-β1翻译激活HSC, 促进ECM沉积以及上调促纤维化的miRNA的表达(图2)。纤维化过程是机体抗损伤修复的重要阶段, 缺失纤维化机体难以修复, 过度纤维化机体功能损伤。m⁶A修饰在肝纤维化中的双重作用也许可以为平衡机体纤维化过程提供思路。随着高通量测序技术的不断发展, m⁶A修饰在不同分子中的作用逐渐明晰, 深入研究m⁶A修饰对肝纤维化不同阶段的影响, 将有利于对肝纤维化发展的认识, 也可为肝纤维化提供新的治疗策略。

[参 考 文 献]

- [1] Kisseleva T, Brenner D. Molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis and its regression. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18: 151-66
- [2] D'Amico G, Morabito A, D'Amico M, et al. New concepts on the clinical course and stratification of compensated and decompensated cirrhosis. *Hepatol Int*, 2018, 12: 34-43
- [3] Llovet JM, Kelley RK, Villanueva A, et al. Hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7: 7
- [4] 陆伦根, 尤红, 谢渭芬, 等. 肝纤维化诊断及治疗共识(2019年). *实用肝脏病杂志*, 2019, 22: 793-803
- [5] Wang T, Kong S, Tao M, et al. The potential role of RNA

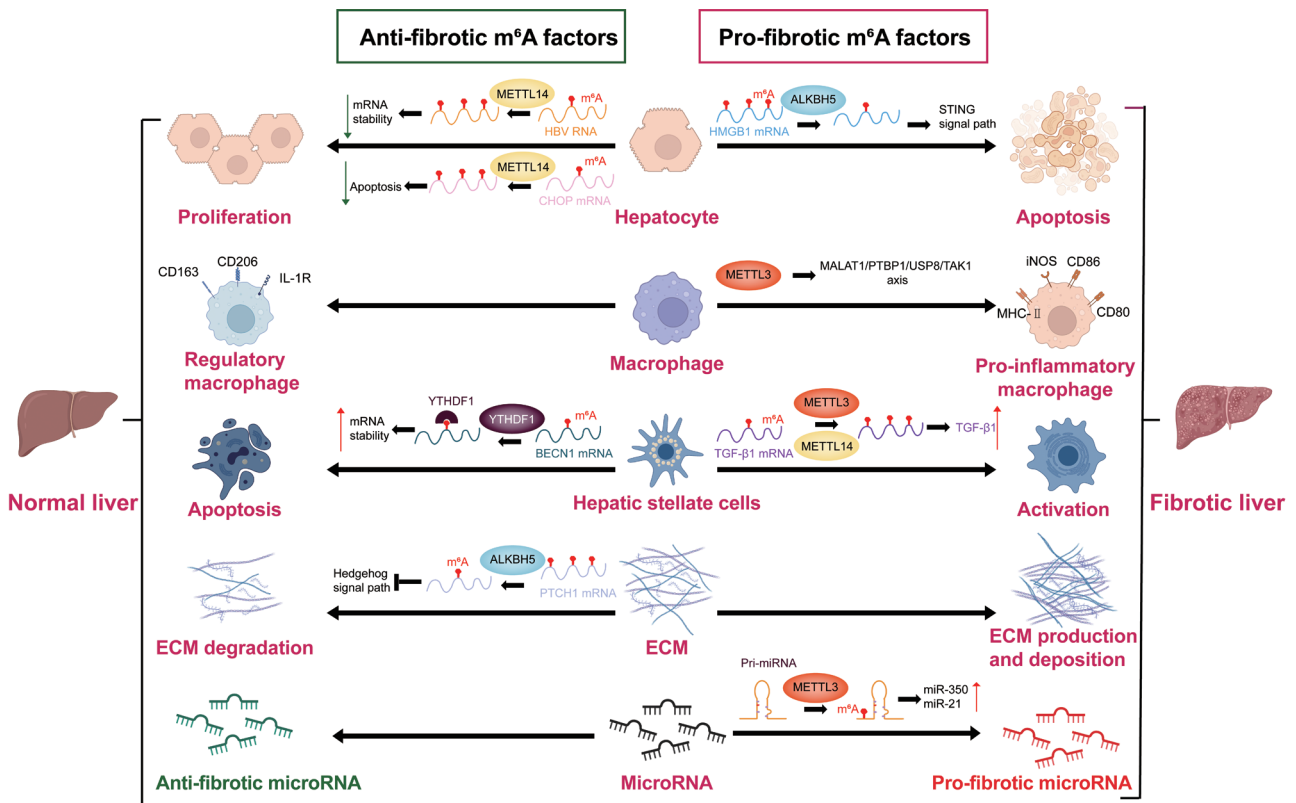


图2 m⁶A修饰对肝纤维化可逆性的影响

- N6-methyladenosine in cancer progression. *Mol Cancer*, 2020, 19: 88
- [6] Meyer KD, Saletore Y, Zumbo P, et al. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons. *Cell*, 2012, 149: 1635-46
- [7] He L, Li H, Wu A, et al. Functions of N6-methyladenosine and its role in cancer. *Mol Cancer*, 2019, 18: 176
- [8] Xue T, Qiu X, Liu H, et al. Epigenetic regulation in fibrosis progress. *Pharmacol Res*, 2021, 173: 105910
- [9] Slobodin B, Han R, Calderone V, et al. Transcription impacts the efficiency of mRNA translation via co-transcriptional N6-adenosine methylation. *Cell*, 2017, 169: 326-37.e12
- [10] Jia G, Fu Y, Zhao X, et al. N6-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO. *Nat Chem Biol*, 2011, 7: 885-7
- [11] Jiang X, Liu B, Nie Z, et al. The role of m⁶A modification in the biological functions and diseases. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6: 74
- [12] Xiao W, Adhikari S, Dahal U, et al. Nuclear m⁶A reader YTHDC1 regulates mRNA splicing. *Mol Cell*, 2016, 61: 507-19
- [13] Roundtree I, Luo GZ, Zhang Z, et al. YTHDC1 mediates nuclear export of N-methyladenosine methylated mRNAs. *Elife*, 2017, 6: e31311
- [14] Zaccara S, Ries RJ, Jaffrey SR. Reading, writing and erasing mRNA methylation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20: 608-24
- [15] Zhang Y, Sun Z, Jia J, et al. Overview of histone modification. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1283: 1-16
- [16] Papait R, Serio S, Condorelli G. Role of the epigenome in heart failure. *Physiol Rev*, 2020, 100: 1753-77
- [17] Xu Z, Xie T, Sui X, et al. Crosstalk between histone and m⁶A modifications and emerging roles of m⁶A RNA methylation. *Front Genet*, 2022, 13: 908289
- [18] Huang H, Weng H, Zhou K, et al. Histone H3 trimethylation at lysine 36 guides m⁶A RNA modification co-transcriptionally. *Nature*, 2019, 567: 414-9
- [19] Chen J, Zhang YC, Huang C, et al. m⁶A regulates neurogenesis and neuronal development by modulating histone methyltransferase Ezh2. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2019, 17: 154-68
- [20] Tan YT, Lin JF, Li T, et al. LncRNA-mediated posttranslational modifications and reprogramming of energy metabolism in cancer. *Cancer Commun (Lond)*, 2021, 41: 109-20
- [21] Yi YC, Chen XY, Zhang J, et al. Novel insights into the interplay between m⁶A modification and noncoding RNAs in cancer. *Mol Cancer*, 2020, 19: 121
- [22] Patil DP, Chen CK, Pickering BF, et al. m⁶A RNA methylation promotes XIST-mediated transcriptional repression. *Nature*, 2016, 537: 369-73
- [23] Li X, Yang L, Chen LL. The biogenesis, functions, and challenges of circular RNAs. *Mol Cell*, 2018, 71: 428-42
- [24] Zhou C, Molinie B, Daneshvar K, et al. Genome-wide maps of m⁶A circRNAs identify widespread and cell-type-specific methylation patterns that are distinct from mRNAs. *Cell Rep*, 2017, 20: 2262-76
- [25] Rao X, Lai L, Li X, et al. N6-methyladenosine modification of circular RNA circ-ARL3 facilitates hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma via sponging miR-1305. *IUBMB Life*, 2021, 73: 408-17
- [26] Elpek G. Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of liver fibrosis: an update. *World J Gastroenterol*, 2014, 20: 7260-76
- [27] Roehlen N, Crouch E, Baumert TF. Liver fibrosis: mechanistic concepts and therapeutic perspectives. *Cells*, 2020, 9: 875
- [28] Iredale J. Models of liver fibrosis: exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ. *J Clin Invest*, 2007, 117: 539-48
- [29] Mihm S. Danger-associated molecular patterns (DAMPs): molecular triggers for sterile inflammation in the liver. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 3104
- [30] Schwabe RF, Luedde T. Apoptosis and necroptosis in the liver: a matter of life and death. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 15: 738-52
- [31] Imam H, Khan M, Gokhale NS, et al. N6-methyladenosine modification of hepatitis B virus RNA differentially regulates the viral life cycle. N6-methyladenosine modification of hepatitis B virus RNA differentially regulates the viral life cycle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: 8829-34
- [32] Musso G, Cassader M, Paschetta E, et al. Bioactive lipid species and metabolic pathways in progression and resolution of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology*, 2018, 155: 282-302.e8
- [33] Wei J, Harada BT, Lu D, et al. HRD1-mediated METTL14 degradation regulates m⁶A mRNA modification to suppress ER proteotoxic liver disease. *Mol Cell*, 2021, 81: 5052-65.e6
- [34] Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature*, 2002, 418: 191-5
- [35] Lappalainen T, Kolehmainen M, Schwab U, et al. Gene expression of FTO in human subcutaneous adipose tissue, peripheral blood mononuclear cells and adipocyte cell line. *J Nutrigenet Nutrigenomics*, 2010, 3: 37-45
- [36] Chen G, Zhao Q, Yuan B, et al. ALKBH5-modified HMGB1-STING activation contributes to radiation induced liver disease via innate immune response. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2021, 111: 491-501
- [37] Koyama Y, Brenner DA. Liver inflammation and fibrosis. *J Clin Invest*, 2017, 127: 55-64
- [38] van der Heide D, Weiskirchen R, Bansal R. Therapeutic targeting of hepatic macrophages for the treatment of liver diseases. *Front Immunol*, 2019, 10: 2852
- [39] Ge S, Yang W, Chen H, et al. MyD88 in macrophages enhances liver fibrosis by activation of NLRP3 inflammasome in HSCs. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 12413
- [40] Tong J, Wang X, Liu Y, et al. Pooled CRISPR screening identifies m6A as a positive regulator of macrophage activation. *Sci Adv*, 2021, 7: eabd4742
- [41] Wang C, Ma C, Gong L, et al. Macrophage polarization

- and its role in liver disease. *Front Immunol*, 2021, 12: 803037
- [42] Feng Y, Dong H, Sun B, et al. METTL3/METTL14 transactivation and m⁶A-dependent TGF- β 1 translation in activated Kupffer cells. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2021, 12: 839-56
- [43] Ramachandran P, Pellicoro A, Vernon MA, et al. Differential Ly-6C expression identifies the recruited macrophage phenotype, which orchestrates the regression of murine liver fibrosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: E3186-95
- [44] Shu B, Zhou YX, Li H, et al. The METTL3/MALAT1/PTBP1/USP8/TAK1 axis promotes pyroptosis and M1 polarization of macrophages and contributes to liver fibrosis. *Cell Death Discov*, 2021, 7: 368
- [45] Jia G, Wang X, Wu W, et al. LXA4 enhances prostate cancer progression by facilitating M2 macrophage polarization via inhibition of METTL3. *Int Immunopharmacol*, 2022, 107: 108586
- [46] Parola M, Pinzani M. Liver fibrosis: pathophysiology, pathogenetic targets and clinical issues. *Mol Aspects Med*, 2019, 65: 37-55
- [47] Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*, 2008, 134: 1655-69
- [48] Cordero-Espinoza L, Huch M. The balancing act of the liver: tissue regeneration versus fibrosis. *J Clin Invest*, 2018, 128: 85-96
- [49] Cui Z, Huang N, Liu L, et al. Dynamic analysis of m⁶A methylation spectroscopy during progression and reversal of hepatic fibrosis. *Epigenomics*, 2020, 12: 1707-23
- [50] Higashi T, Friedman SL, Hoshida Y. Hepatic stellate cells as key target in liver fibrosis. *Adv Drug Deliv Rev*, 2017, 121: 27-42
- [51] Sun R, Tian X, Li Y, et al. The m⁶A reader YTHDF3-mediated PRDX3 translation alleviates liver fibrosis. *Redox Biol*, 2022, 54: 102378
- [52] Machado MV, Diehl AM. Hedgehog signalling in liver pathophysiology. *J Hepatol*, 2018, 68: 550-62
- [53] Yang JJ, Wang J, Yang Y, et al. ALKBH5 ameliorated liver fibrosis and suppressed HSCs activation via triggering PTCH1 activation in an m⁶A dependent manner. *Eur J Pharmacol*, 2022, 922: 174900
- [54] Fabian MR, Sonenberg N, Filipowicz W. Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs. *Annu Rev Biochem*, 2010, 79: 351-79
- [55] Wang X, He Y, Mackowiak B, et al. MicroRNAs as regulators, biomarkers and therapeutic targets in liver diseases. *Gut*, 2021, 70: 784-95
- [56] Liu E, Lv L, Zhan Y, et al. METTL3/N6-methyladenosine/miR-21-5p promotes obstructive renal fibrosis by regulating inflammation through SPRY1/ERK/NF- κ B pathway activation. *J Cell Mol Med*, 2021, 25: 7660-74
- [57] Zhu Y, Pan X, Du N, et al. ASIC1a regulates miR-350/SPRY2 by N6-methyladenosine to promote liver fibrosis. *FASEB J*, 2020, 34: 14371-88
- [58] Shu B, Zhang RZ, Zhou YX, et al. METTL3-mediated macrophage exosomal NEAT1 contributes to hepatic fibrosis progression through Sp1/TGF- β 1/Smad signaling pathway. *Cell Death Discov*, 2022, 8: 266
- [59] Albillos A, de Gottardi A, Rescigno M. The gut-liver axis in liver disease: pathophysiological basis for therapy. *J Hepatol*, 2020, 72: 558-77
- [60] Qin N, Yang F, Li A, et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis. *Nature*, 2014, 513: 59-64
- [61] Jabs S, Biton A, Bécavin C, et al. Impact of the gut microbiota on the m⁶A epitranscriptome of mouse cecum and liver. *Nat Commun*, 2020, 11: 1344
- [62] D'Ambrosio R, Aghemo A, Rumi MG, et al. A morphometric and immunohistochemical study to assess the benefit of a sustained virological response in hepatitis C virus patients with cirrhosis. *Hepatology*, 2012, 56: 532-43
- [63] Schuppan D, Surabattula R, Wang XY. Determinants of fibrosis progression and regression in NASH. *J Hepatol*, 2018, 68: 238-50
- [64] Marcellin P, Gane E, Buti M, et al. Regression of cirrhosis during treatment with tenofovir disoproxil fumarate for chronic hepatitis B: a 5-year open-label follow-up study. *Lancet*, 2013, 381: 468-75
- [65] Caligiuri A, Gentilini A, Pastore M, et al. Cellular and molecular mechanisms underlying liver fibrosis regression. *Cells*, 2021, 10: 2759
- [66] Tan Z, Sun H, Xue T, et al. Liver fibrosis: therapeutic targets and advances in drug therapy. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 730176
- [67] Shen M, Guo M, Li Y, et al. m⁶A methylation is required for dihydroartemisinin to alleviate liver fibrosis by inducing ferroptosis in hepatic stellate cells. *Free Radic Biol Med*, 2022, 182: 246-59
- [68] Roeb E. Matrix metalloproteinases and liver fibrosis (translational aspects). *Matrix Biol*, 2018, 68-69: 463-73
- [69] Sang W, Xue S, Jiang Y, et al. METTL3 involves the progression of osteoarthritis probably by affecting ECM degradation and regulating the inflammatory response. *Life Sci*, 2021, 278: 119528
- [70] Chen B, Ye F, Yu L, et al. Development of cell-active N6-methyladenosine RNA demethylase FTO inhibitor. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 17963-71
- [71] Lan L, Sun YJ, Jin XY, et al. A light-controllable chemical modulation of m⁶A RNA methylation. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2021, 60: 18116-21
- [72] Chen Y, Wu R, Chen W, et al. Curcumin prevents obesity by targeting TRAF4-induced ubiquitylation in m⁶A-dependent manner. *EMBO Rep*, 2021, 22: e52146
- [73] Cai FF, Wu R, Song YN, et al. Yinchenhao decoction alleviates liver fibrosis by regulating bile acid metabolism and TGF- β /Smad/ERK signalling pathway. *Sci Rep*, 2018, 8: 15367