

DOI: 10.13376/j.cbls/2025072

文章编号: 1004-0374(2025)06-0724-11

N^6 -甲基腺苷RNA甲基化修饰 在肝纤维化中的研究新进展

陈培杰^{1,2*}, 王 涵^{1,2}

(1 安徽医科大学第一附属医院药学部, 合肥 230012; 2 安徽省公共卫生临床中心药学部, 合肥 230012)

摘要: N^6 -甲基腺嘌呤 (N^6 -methyladenosine, m^6A) 是真核生物中最常见的 RNA 甲基化修饰, 在肝脏中含量较高。 m^6A 主要由甲基转移酶、去甲基化酶及甲基识别蛋白催化调节, 可通过影响 RNA 的转录、剪切、降解及翻译等过程发挥生物学功能, 参与多种疾病进程。肝纤维化 (hepatic fibrosis, HF) 是以肝内结缔组织增生和胶原沉积为主要特征的肝脏慢性病变, m^6A 修饰可通过调节多种靶基因的表达影响肝纤维化。本文主要综述 m^6A 修饰及其调节因子在肝纤维化中的表达变化和生物学功能, 以期对肝纤维化研究提供参考。

关键词: 肝纤维化; 肝星状细胞; RNA 甲基化; m^6A 修饰

中图分类号: Q522; R575.2 **文献标志码:** A

New advances of N^6 -methyladenosine RNA methylation modifications in hepatic fibrosis

CHEN Pei-Jie^{1,2*}, WANG Han^{1,2}

(1 Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230012, China;

2 Department of Pharmacy, Anhui Public Health Clinical Center, Hefei 230012, China)

Abstract: N^6 -methyladenosine (m^6A) is the most common and abundant RNA methylation modification in eukaryotic cells, with a high content in liver tissue. m^6A is mainly regulated by methyltransferases, demethylases and methyl recognition proteins. It plays significant roles in various diseases by influencing RNA transcription, splicing, degradation and translation. Hepatic fibrosis (HF) is a chronic liver disease characterized by connective tissue hyperplasia and collagen deposition in liver. m^6A can be involved in liver fibrosis by regulating the expression of target genes. In this review, we focus on the expression and functions of m^6A and its regulatory factors in the context of liver fibrosis. Our review aims to provide valuable references and insights for future studies of HF.

Key words: hepatic fibrosis (HF); hepatic stellate cell (HSC); RNA methylation; N^6 -methyladenosine (m^6A)

肝纤维化 (hepatic fibrosis, HF) 是致病因子长期损伤肝脏后引起的纤维化性病变, 是多种慢性肝脏疾病 (如病毒性肝炎、酒精性肝病、非酒精性脂肪肝、自身免疫性肝病等) 持续发展共有的病理改变, 其主要特征是肝内异常增多的结缔组织和细胞外基质 (extracellular matrix, ECM)^[1,2]。肝纤维化初期是可逆的, 当去除病因后纤维化病变可逆转^[3], 但若未及时干预, 肝纤维化可进一步发展为肝硬化甚至肝癌^[4]。近期一项中国普通人群的前瞻性研究显示, 一般人群中肝纤维化和肝硬化的发生率分别为

2.55% 和 1.16%, 在特定的高风险人群 (如肥胖) 中则发生率更高^[5]。肝星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 的活化是肝纤维化发病机制中的关键事件。当肝脏受损时, 肝脏枯否细胞 (Kupffer cells, KCs) 等免疫细胞会分泌多种细胞因子如转化生长因子 $\beta 1$

收稿日期: 2024-10-29; 修回日期: 2025-02-14

基金项目: 安徽高校自然科学基金项目(KJ2020A-0188); 安徽医科大学学校科研基金项目(2019xkj055)

*通信作者: E-mail: peijiechen@163.com

(transforming growth factor β 1, TGF- β 1) 等, 诱导 HSC 活化, 活化的 HSC 增殖能力增强, 并大量合成、分泌以胶原为主要成分的 ECM, 最终导致 HF 的发生^[6]。肝纤维化早期症状不明显因而难以被发现, 且发病机制复杂不明, 目前除了控制肝损伤的初始因素外, 临床上治疗肝纤维化的选择相对有限^[7]。 N^6 -甲基腺嘌呤 (N^6 -methyladenosine, m^6A) 修饰是一种常见的 RNA 修饰方式, 是 RNA 腺苷酸第六位氮原子处发生的甲基化, 广泛存在于真核生物中^[8]。 M^6A 修饰可以通过影响 RNA 的稳定性、翻译效率和降解速率等, 影响基因表达, 参与多种生理过程及疾病进展^[9, 10]。研究表明 m^6A 在肝脏疾病中承担了重要角色^[11, 12]。本文就肝纤维化过程中 m^6A 的作用及机制研究进展、 m^6A 调节因子的表达变化及具体作用、靶向 m^6A 的抗 HF 策略进行综述, 以期对肝纤维化研究提供新的认识和参考。

1 M^6A 修饰

M^6A 修饰是指 RNA 分子腺嘌呤第六位氮原子处发生的甲基化修饰, 主要发生于靠近终止密码子和 3' 非翻译区的共有序列 RRACH (R=G 或 A, H=A、C 或 U) 中, 是真核生物最丰富的 RNA 甲基化修饰方式^[13], 在多种物种之间高度保守, 多表达在哺乳动物的脑、肝脏、肾脏等部位^[8]。 M^6A 修饰可以通过影响 RNA 转录、剪切、降解及翻译等过程发挥生物学功能。 M^6A 修饰是一种可逆的过程, 由 RNA 甲基转移酶和去甲基化酶动态催化调节, 同时可被相关识别蛋白识别结合, 并最终发挥对 RNA 的调控作用, 具体可见图 1。

M^6A 甲基转移酶负责催化形成 m^6A 修饰, 发

挥“编码器 (writers)”的功能, 常见的 m^6A 甲基转移酶有甲基转移酶样 3 (methyltransferase-like 3, METTL3)^[14]、甲基转移酶样 4 (methyltransferase-like 4, METTL4)^[15]、甲基转移酶样 14 (methyltransferase-like 14, METTL14)^[14]、甲基转移酶样 16 (methyltransferase-like 16, METTL16)^[16]、肾母细胞瘤 1 关联蛋白 (wilms tumor 1 associated protein, WTAP)^[17] 等。病毒样 m^6A 甲基转移酶 (vir like m^6A methyltransferase associated protein, VIRMA)^[18]、RNA 结合基序蛋白 15 (RNA-binding motif protein 15, RBM15)^[19]、锌指 CCCH 结构域蛋白 13 (zinc finger CCCH domain-containing protein 13, ZC3H13)^[20] 及 E3 泛素蛋白连接酶 HAKAI^[21] 等也可发挥甲基转移酶的作用。去甲基化酶负责催化消除 RNA 中的甲基, 发挥“消码器 (erasers)”的功能, 主要包括脂肪量和肥胖相关蛋白 (fat mass and obesity associated protein, FTO)^[22]、ALKB 同系物 5 (ALKB homologue 5, ALKBH5)^[23]、ALKB 同系物 3 (ALKB homologue 3, ALKBH3)^[24]。甲基识别蛋白可以识别并结合到 RNA 的 m^6A 修饰位点上, 发挥“阅读器 (readers)”的功能, 通过影响 RNA 的剪切、翻译、降解等, 从而影响下游的生物学功能。常见的甲基识别蛋白是含 YTH 结构域的 RNA 结合蛋白 (YTHDF1、YTHDF2、YTHDF3、YTHDC1、YTHDC2)^[25]。此外, 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)^[26] 和异质核糖核蛋白 A2B1/C/G (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein; hnRNPA2B1, hnRNPC, hnRNPG)^[27-29] 等也具备甲基识别蛋白的功能。

已有报道提示, m^6A 及相关分子与肝脏的生理

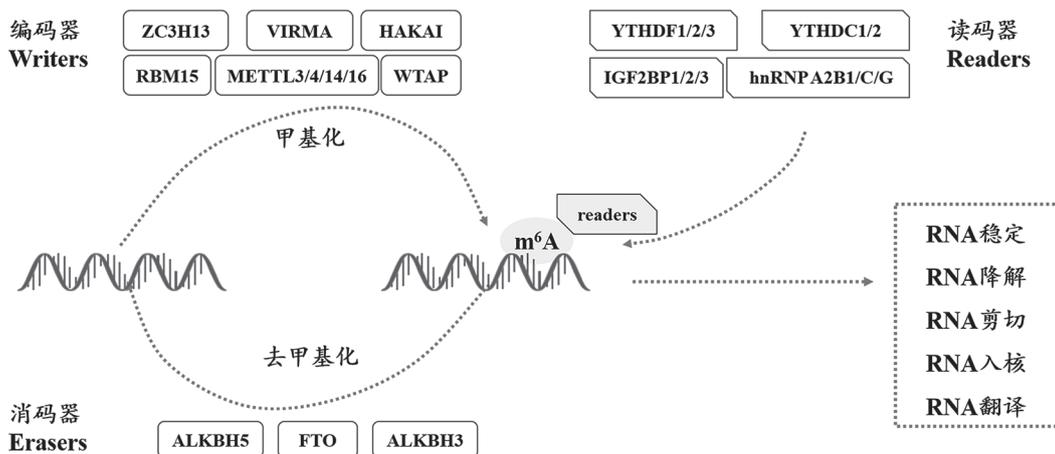


图1 M^6A 修饰的动态可逆性调控

功能密切相关。例如, m^6A 可能影响了肝脏的生长发育, 在新生儿期、哺乳期和成年期三个阶段的猪肝中, 基因发生了不同程度的 m^6A 修饰, 且 m^6A 水平与基因表达水平呈负相关^[30]。其中, 高 m^6A 水平的基因在新生儿时期显著富集在胆汁酸分泌及营养素代谢过程; 哺乳期则与糖或糖蛋白代谢有关; 成年期主要与代谢活动和节律相关^[30], 这说明随着发育阶段的变化, 肝脏转录组也经历 m^6A 甲基化程度及表达水平的改变。肝脏本身的再生能力对于维持肝脏稳态至关重要, m^6A 修饰也能够影响肝再生, 若敲除肝脏 METTL3 或 METTL14 则会导致肝再生能力减弱^[31, 32]。此外, m^6A 也能够调节肝细胞色素 (cytochrome, CYP) 的表达, CYP 是肝内参与药物代谢和生物转化的重要酶系, 抑制 m^6A 修饰后 CYP2C8 表达明显上调^[33]。关于 m^6A 在肝脏病理过程的作用也已被大量报道, 本文主要综述 m^6A 在肝纤维化中的研究进展。

2 M^6A 修饰在肝纤维化中的作用及机制

2.1 甲基转移酶

2.1.1 METTL3

METTL3 是第一个被鉴定的 m^6A 甲基转移酶, 主要定位于细胞核内, 和 METTL14 共同构成了甲基转移酶复合物, 介导 m^6A 修饰^[14]。METTL3 作为甲基转移酶复合物的核心成分, 发挥主要的催化作用, METTL14 则主要在识别底物中发挥作用^[14]。在纤维化肝组织^[34, 35]及活化的 HSC 中^[36, 37], METTL3 表达明显上调。敲除 METTL3 可减少 m^6A 修饰, 显著抑制 HSC 活化, 缓解肝纤维化^[35, 38]。METTL3 常与 METTL14 协同介导 m^6A 修饰, 而参与肝纤维化进程。THY1 是胆道闭锁 (biliary atresia, BA) 型肝纤维化的促纤维化因子之一, 与 BA 预后相关, 能够促进 HSC 活化及纤维化进程。METTL3 协同 METTL14 促进了 THY1 的 m^6A 修饰, 引起 THY1 表达上调, 进而促进 HSC 增殖活化和加重肝纤维化^[35]。此外, METTL3 也能够协同 METTL14 调控环状 RNA (circular RNA, circRNA) 的 m^6A 修饰。CircIRF2 可直接靶向 miR-29b-1-5p, 并诱导叉头框蛋白 O3 (forkhead box protein O3, FOXO3) 核转位和聚集, 从而缓解肝损伤及肝纤维化^[39]。而 METTL3/METTL14 能够介导 circIRF2 发生 m^6A 修饰并降低其稳定性, 减少其表达, 进而加重肝纤维化^[39]。此外, METTL3 协同 METTL14 能够通过增加 KC 细胞 TGF- β 1 mRNA 的 m^6A 修饰, 上调 KC 中 TGF- β 1 的表达和分泌, 间

接促进 HSC 的增殖与活化, 从而加重肝纤维化^[40]。

除了与 METTL14 协同作用外, 也有报道提示 METTL3 在肝纤维化中能够独立发挥作用。METTL3 能够催化胶原的 m^6A 修饰, 促进胶原的表达, 维持 HSC 的活化状态^[36]。METTL3 可介导 pri-miR-350 的 m^6A 修饰, 促进 miR-350 的加工及表达, 进而抑制其靶基因 Sprouty 受体酪氨酸激酶信号拮抗剂 2 (sprouty RTK signaling antagonist 2, SPRY2)、激活下游 PI3K/AKT 和 MAPK/ERK 通路, 促进 HSC 活化及肝纤维化进展^[37]。METTL3 也可介导大肿瘤抑制激酶 2 (large tumor suppressor kinase 2, Lats2) 发生 m^6A 修饰并加速其 mRNA 降解, 减少 Lats2 的表达, 从而促进下游 YAP 的磷酸化及核移位, 促进 HSC 活化及肝纤维化发展^[38]。此外, METTL3 也能够影响肝脏巨噬细胞表型而参与肝纤维化。肝纤维化时, 枯否细胞可发生 M1 型极化, 并伴随胞内 METTL3 的上升。METTL3 可介导 MALAT1 发生 m^6A 修饰, 上调其表达, 进而通过与 PTBP1 相互作用促进 USP8 mRNA 降解。这种 METTL3/MALAT1/PTBP1/USP8 信号级联反应, 刺激了 KC 细胞焦亡和 M1 型极化, 进一步加重了肝纤维化^[41]。也有研究表明, METTL3 能够介导 KC 外泌体中 NEAT1 的 m^6A 修饰, 上调其表达^[42]。NEAT1 可进一步作用于 HSC, 通过负调控 miR-342, 激活 Sp1/TGF- β 1/Smad 通路, 促进 HSC 的增殖活化及肝纤维化^[42]。

但是我们也发现了有趣的现象, 虽然大量研究证实了 METTL3 能够促进肝纤维化的发生发展, 但在某些研究中也观察到了 METTL3 对肝纤维化潜在的抑制作用。笔者认为这种差异主要是因为研究对象是不同的肝纤维化模型, 面对不同的损伤因素 m^6A 呈现出了差异性。例如, 在慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 患者的肝组织中, 随着纤维化程度的加重 METTL3 表达逐渐降低, 且 METTL3 表达与肝纤维化程度呈负相关^[43]。在氯化镉 (cadmium chloride, CdCl₂) 诱导的 HF 模型中, METTL3 表达呈时间依赖性下降, 且与肝纤维化程度相关^[44]。过表达 METTL3 可以缓解 CdCl₂ 诱导的小鼠肝脏脂肪变性及肝纤维化, 同时抑制 HSC 活化及胶原沉积^[44]。此外, 肝脏 METTL3 缺失可以加速非酒精性肝炎向肝纤维化进展, 而过表达 METTL3 则可以改善纤维化病变^[45]。

2.1.2 METTL14

METTL14 是 METTL3 的同源物, 常位于细胞核, 被认为是 METTL3 的伴侣蛋白, 与 METTL3

共同形成甲基转移酶复合物介导 m^6A 修饰^[14]。在纤维化肝脏及活化的 HSC 中, METTL14 表达上调, 体内敲除 METTL14 可缓解小鼠肝纤维化, 体外沉默 METTL14 可显著抑制 HSC 的增殖、活化及胶原沉积^[35, 40, 46, 47]。机制研究结果提示, 除了与 METTL3 协同介导 THY1 及 circIRF2 的 m^6A 修饰外, METTL14 也可以调控其他靶基因而影响 HSC 活化。如 METTL14 能够介导 HSC 中 TGF- β 1 的 m^6A 修饰, 提高其 mRNA 稳定性并上调 TGF- β 1 的表达, 进而激活 TGF- β /Smad 通路, 诱导 HSC 活化, 加重 HF^[47]。相反, 也有研究提示在 HF 患者及动物模型的肝脏中, METTL14 表达下调, 并发挥抗纤维化作用^[43, 48]。在 CHB 患者的肝组织中, 随着纤维化程度的加重 METTL14 表达逐渐降低, 且与肝纤维化程度呈负相关^[43]。METTL14 可介导 NOVA2 的 m^6A 修饰, 并通过 YTHDF2 加速 NOVA2 mRNA 降解, 降低 NOVA2 的表达, 从而抑制 HSC 的活化, 减缓 HF 进展^[48]。以上关于 METTL14 在肝纤维化中的不同结论, 笔者认为可能与肝纤维化损伤因素和样本量的差异性有关; 此外, 不同的研究中锚定的下游靶基因不同, 若再辅以不同的甲基识别蛋白去识别靶基因, 最终可能赋予不同的作用。

2.1.3 WTAP

WTAP 是一种保守的蛋白质, 主要定位于细胞核, 在多个组织中普遍表达, 最初作为剪切因子被发现, 后来被证实能够与 METTL3 和 METTL14 共同组成甲基转移酶复合物参与 m^6A 修饰^[14, 17, 49]。WTAP 本身没有催化活性, 但能够帮助甲基转移酶复合物定位而参与 m^6A 修饰^[49]。据报道, 肝纤维化时 WTAP 表达下调, WTAP 能够抑制 HSC 的增殖、活化及胶原沉积^[50]。但其在肝纤维化中的作用尚存争议。另有研究显示纤维化肝组织及活化的 HSC 中 WTAP 表达升高, 并加重了 HF^[35, 51, 52]。WTAP 靶向补缀同源物 1 (patched 1, Ptch1), 促进 m^6A 修饰, 进而上调其表达, 并激活 Hedgehog 通路^[51]。WTAP 也可协同 METTL3、METTL14 及 YTHDF2 介导 circIRF2 发生 m^6A 修饰并降低其稳定性, 减少其表达, 进而抑制下游 FOXO3 的核转位, 加重肝纤维化^[39]。此外, WTAP 也能够催化外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶 1 (ecto-nucleotide pyrophosphatase/ phosphodiesterase 1, ENPP1) 的 m^6A 修饰, 上调 ENPP1 的表达。ENPP1 进一步与低氧脂滴诱导相关蛋白 (hypoxia-inducible lipid droplet-associated protein, HILPDA) 相互作用, 加重脂质过氧化, 从而促进 HSC 增殖活化及肝纤

维化^[52]。

2.1.4 METTL4

METTL4, METTL3 的同源物之一, 是甲基转移酶家族的一员, 广泛存在于机体各组织, 主要定位于细胞核^[53]。研究证实, METTL4 可通过调控 HSC 铁死亡参与肝纤维化进程。铁死亡是一种铁依赖性的、新的程序性细胞死亡方式, 有助于肝纤维化的缓解^[54]。HSC 发生铁死亡时, m^6A 修饰水平升高, 且高水平的 m^6A 修饰与 METTL4 表达水平上调有关^[54]。沉默 METTL4 可明显降低 m^6A 修饰水平并抑制 HSC 铁死亡。METTL4 通过协同 YTHDF1 促进 BECN1 的 m^6A 修饰, 上调 BECN1 表达, 进而激活自噬通路, 诱导 HSC 铁死亡, 缓解 HF^[54, 55]。

2.1.5 METTL16

METTL16, METTL3 的另一同源物, 是 m^6A 甲基转移酶的新成员之一, 可独立发挥甲基转移酶的作用, 参与多种生物学过程^[16, 56]。研究显示 METTL16 是 HF 潜在的标志物之一, 在伴有纤维化的 CHB 患者的肝组织中, METTL16 的表达及 m^6A 水平存在明显差异, METTL16 及 m^6A 水平在重度纤维化肝组织的表达明显高于轻度纤维化组^[57]。此外, METTL16 的表达与 CHB 的易感性相关基因——人类白细胞中抗原 DPB1 (human leukocyte antigen DPB1, HLA-DPB1) 呈正相关。METTL16 能够介导 HSC 中 HLA-DPB1 发生 m^6A 修饰, 上调其表达, 而参与 CHB 纤维化^[57]。

2.1.6 ZC3H13

ZC3H13 是一种高度保守的 C3H 型锌指蛋白, 主要存在于细胞质中, 是新发现的甲基转移酶成员^[20, 58]。研究显示, ZC3H13 在纤维化肝脏及活化的 HSC 中表达上调, ZC3H13 能够介导肝脏生物节律基因发生 m^6A 修饰而影响肝纤维化^[59]。核受体亚家族 1 d 组成员 1 (nuclear receptor subfamily 1 group d member 1, NR1D1) 是肝脏生物节律基因之一, 肝纤维化时 NR1D1 表达明显下降, 过表达 NR1D1 能够抑制 HSC 活化、缓解小鼠肝纤维化损伤^[59]。实验证实, 肝纤维化时 NR1D1 的下调是 m^6A 修饰所致。ZC3H13 协同 YTHDC1 介导 NR1D1 发生 m^6A 修饰, 促进 NR1D1 mRNA 降解, 降低了 NR1D1 的表达。NR1D1 的减少进一步抑制了动力相关蛋白 1 (dynein-related protein 1, Drp1) 的磷酸化, 导致 HSC 线粒体分裂功能减弱, 线粒体 DNA 释放增加, 进而激活 cGMP-AMP 合成酶途径, 促进 HSC 活化及肝纤维化进展^[59]。

2.2 去甲基化酶

2.2.1 FTO

FTO 是第一个被证实的 m⁶A 去甲基化酶, 存在于脊椎动物和少数几种高度保守的海藻中, 大多定位于细胞核, 主要通过将 m⁶A 氧化而去除甲基^[22, 60, 61]。研究提示, FTO 抑制了 HF 的发展, 在纤维化肝脏中 FTO 表达下调并伴随 m⁶A 水平的下降, 过表达 FTO 可以抑制 HSC 的增殖活化^[59]。也有研究发现 FTO 加重了肝纤维化, 肝纤维化时 FTO 表达上调, 下调 FTO 的表达能够抑制 HSC 活化, 减轻肝纤维化。FTO 可通过去除自噬激活激酶 ULK1 (unc-51-like autophagy activating kinase 1) 的 m⁶A 修饰, 上调 ULK1 表达, 从而增强自噬, 促进 HSC 活化, 最终加重肝纤维化^[62]。此外, FTO 也可通过调控铁死亡而加重肝纤维化。HSC 发生铁死亡时, m⁶A 修饰水平升高, 且伴随 FTO 表达下调^[54]。过表达 FTO 可明显降低 m⁶A 修饰水平, 并通过去除 BECN1 的 m⁶A 修饰, 下调 BECN1 表达, 进而抑制自噬通路以及 HSC 铁死亡的发生, 加重 HF^[54, 55]。

2.2.2 ALKBH5

ALKBH5 作为第二个被发现的 m⁶A 去甲基化酶, 多存在于细胞核中, 其去甲基化活性与 FTO 相当, 可直接催化 m⁶A 去除甲基^[63]。研究发现 ALKBH5 可以抑制 HF 进程。在纤维化肝脏及活化的 HSC 中, ALKBH5 水平明显下降, 并伴随 m⁶A 水平的升高^[64-66]。过表达 ALKBH5 可显著降低 HSC 增殖、迁移及活化的能力, 缓解小鼠肝脏损伤及纤维化^[64-66]。ALKBH5 能够去除 Ptch1 的 m⁶A 修饰, 上调 Ptch1 表达水平, 进而抑制 Hedgehog 通路, 缓解肝纤维化^[64]。ALKBH5 也可以与 Snail1 结合并抑制其 m⁶A 修饰, 降低 Snail1 的 mRNA 稳定性及表达水平, 从而抑制 HSC 增殖活化及肝纤维化^[66]。此外, ALKBH5 也可以通过减轻线粒体分裂, 改善肝纤维化。当肝纤维化时, Drp1 介导线粒体发生分裂, 并促进了 HSC 的增殖与活化^[65]。ALKBH5 则可以与 Drp1 结合, 并介导 Drp1 mRNA 的 m⁶A 去甲基化, 使 Drp1 表达降低, 进而抑制线粒体分裂, 抑制 HSC 增殖与活化, 缓解肝纤维化^[65]。

相反, 另有研究显示 ALKBH5 促进了 HF 的发生。放射性肝纤维化 (radiation-induced liver fibrosis, RILF) 是由于辐射引起了 HSC 活化, 是肝癌放疗常见的并发症。在射线诱导活化的 HSC 中, ALKBH5 水平明显上升, 且 ALKBH5 促进了 HSC 的增殖活化^[67]。ALKBH5 能够介导 Toll- 白介素 1 受体结构

域衔接蛋白 (Toll-interleukin 1 receptor domain-containing adaptor protein, TIRAP) 的 m⁶A 去甲基化, 上调 TIRAP 的表达, 并激活下游 NF- κ B 和 JNK/Smad2 通路; 并且 TIRAP 也可以进一步上调 ALKBH5 的表达, 由此形成正反馈环路, 不断促进 HSC 活化及 RILF 进程^[67]。此外, ALKBH5 还可调节趋化因子 CCL5 发生 m⁶A 去甲基化, 使 HSC 中 CCL5 分泌增加, 进而促进单核细胞募集和 M2 型极化, 进一步加重 RILF^[67]。

2.3 甲基识别蛋白

2.3.1 YTH蛋白家族

YTH 蛋白家族成员有 YTHDF1~3、YTHDC1 和 2, 均含有保守的 YTH 结构域, 可直接与 m⁶A 位点结合, 调控 RNA 功能。其中, YTHDF2 作为首个被发现的 m⁶A 识别蛋白, 具备更强的 m⁶A 识别能力, 主要在调控 mRNA 稳定性方面发挥作用^[68, 69]; YTHDF1 则侧重于调节 RNA 翻译^[70]; YTHDF3 可以与 YTHDF1 或 YTHDF2 相互作用, 协同调控 RNA 翻译与降解^[71]。YTHDC1 是唯一的核内 YTH 家族甲基识别蛋白, 可调控 RNA 剪切和出核^[72-74]; YTHDC2 主要调控 RNA 翻译^[75]。研究发现, YTH 蛋白家族能够以 m⁶A 依赖的方式, 调节多种靶基因的功能而参与肝纤维化。

在纤维化肝脏中, YTHDF1 表达水平明显下降^[50], YTHDF1 能够识别 BECN1 的 m⁶A 位点, 稳定其 mRNA 并上调 BECN1 表达水平, 进而激活自噬途径, 诱导 HSC 铁死亡, 缓解肝纤维化^[54, 55]。相反, 也有报道提示在纤维化肝脏及活化的 HSC 中, YTHDF1 表达水平上升, 并加重了肝纤维化, 沉默 YTHDF1 可以缓解 HSC 的活化及肝纤维化^[36, 52, 65]。YTHDF1 能够识别胶原蛋白的 m⁶A 修饰位点, 提高其 mRNA 稳定性并上调其表达, 维持 HSC 的活化状态, 加重肝纤维化^[36]。YTHDF1 也可以通过识别 Drp1 的 m⁶A 位点, 提高其 mRNA 稳定性并促进翻译, 导致线粒体分裂, 进而加重肝纤维化^[65]。此外, YTHDF1 以 m⁶A 依赖的方式识别 ENPP1 mRNA 并上调其稳定性, 增强 ENPP1 的表达, ENPP1 通过与下游 HILPDA 相互作用导致脂质过氧化, 进而促进了 HSC 活化及肝纤维化^[52]。

YTHDF2 的表达水平在活化的 HSC 中显著升高, 且可以促进 HSC 的增殖活化^[76]。CircIRF2 可以靶向 miR-29b-1-5p, 并诱导下游 FOXO3 核转位, 从而缓解肝纤维化^[39]。YTHDF2 能够识别 circIRF2 的 m⁶A 修饰位点, 降低 circIRF2 的稳定性及表达, 进而加重肝纤维化^[39]。但 YTHDF2 在 HF 中的作

用尚存争议, 也有研究显示 YTHDF2 可以通过识别 NOVA mRNA 的 m⁶A 位点, 加速 NOVA2 mRNA 的降解, 降低 NOVA2 的表达, 从而缓解纤维化^[48]。

在肝纤维化时, YTHDF3 表达水平明显下降, 且通过 m⁶A 依赖的方式发挥抗肝纤维化作用^[77]。过氧化还原酶 3 (peroxiredoxin 3, PRDX3) 是线粒体氧化应激的主要调节因子, 具有肝保护作用, 可以抑制线粒体活性氧 (reactive oxygen species, ROS)/TGF- β 1/Smad 通路, 进而抑制 HSC 活化^[77]。YTHDF3 能够与 PRDX3 的 m⁶A 位点结合, 促进 PRDX3 mRNA 翻译, 上调 PRDX3 蛋白表达水平, 进而缓解 HF^[77]。

在肝纤维化时, YTHDC1 及 YTHDC2 表达水平明显上调, 且以 m⁶A 依赖方式参与 HF^[59, 62]。YTHDC1 通过结合 NR1D1 的 m⁶A 修饰位点, 降低其稳定性, 下调 Drp1 表达水平, 进而激活 cGMP-AMP 合成酶途径, 促进 HSC 活化及 HF 进展^[59]。YTHDC2 则能够识别 ULK1 的 m⁶A 结合位点, 降低 ULK1 mRNA 的稳定性及表达水平^[62]。ULK1 是 HSC 自噬的重要启动因子, ULK1 的下调最终抑制了自噬和 HSC 活化, 缓解了肝纤维化^[62]。

2.3.2 IGF2BPs

IGF2BPs 作为真核生物中高度保守的蛋白家族, 是新型的 RNA 甲基识别蛋白, 成员有 IGF2BP1、IGF2BP2 和 IGF2BP3^[26]。与 YTH 家族甲基结合蛋白功能相反, IGF2BPs 可以识别 m⁶A 修饰, 增强靶 mRNA 的稳定性并促进翻译^[26]。据报道, IGF2BP2 和 IGF2BP3 参与了肝纤维化。

在纤维化肝组织及活化的 HSC 中, IGF2BP2 表达水平明显上调; 且其在肝硬化患者的肝脏及血清中也明显升高, 是肝硬化的标志物之一^[47, 78]。沉默 IGF2BP2 可以明显缓解小鼠肝纤维化, 并抑制 HSC 的增殖活化, 恢复胞内脂滴存量^[78]。IGF2BP2 能够识别并结合 TGF- β 1 的 m⁶A 位点, 提高其 mRNA 稳定性并上调表达, 进而激活 TGF- β /Smad 通路, 诱导 HSC 活化, 加重 HF。另有研究发现, IGF2BP2 能够通过调节糖酵解代谢而参与肝纤维化^[78]。活跃的糖酵解能产生大量乳酸, 为组蛋白乳酸化提供底物, 促进 HSC 的活化^[78]。IGF2BP2 则可以靶向醛缩酶 A (aldolase A, ALDOA), 提高 ALDOA mRNA 稳定性并上调其表达, 引发糖酵解, 促进组蛋白乳酸化修饰, 进而加重 HF^[78]。

此外, IGF2BP3 也是促肝纤维化的分子之一, 肝硬化患者伴有肝内 IGF2BP3 水平的显著升高, 且与纤维化的严重程度相关^[79], 敲除 IGF2BP3 可明显

缓解小鼠肝纤维化, 抑制 HSC 的激活^[79]。IGF2BP3 主要通过识别 Jag1 的 m⁶A 位点, 上调其表达, 激活 Notch/Jag1 通路, 进而上调谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 的表达, 抑制 HSC 铁死亡的发生, 从而加重了 HSC 的活化和 HF^[79]。

3 M⁶A 作为潜在靶点的研究进展

M⁶A 修饰与肝纤维化的研究显示, 部分 m⁶A 调节因子高表达, 通过调控 m⁶A 促进肝纤维化的发生发展, 可能是潜在的 HF 治疗靶点。因此, 针对 m⁶A 调节因子开发特异性抑制剂, 靶向 m⁶A 甲基转移酶或去甲基化酶, 以调控 m⁶A 动态过程, 是 HF 防治策略的新方向, 目前已经有研究聚焦于此。例如, N-乙酰基-丝氨酸-天门冬酰-赖氨酸-脯氨酸 (N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline, AcSDKP), 可通过抑制 WTAP 表达, 抑制 Ptc1 mRNA 的 m⁶A 修饰, 下调 Ptc1 表达, 进而缓解 HF^[51]。JQ1, 一种 IGF2BP3 的抑制剂, 能够抑制 HSC 的活化, 明显降低 α -SMA、胶原等活化标志物的表达^[79]。双氢青蒿素 (dihydroartemisinin, DHA) 可以通过诱导 HSC 发生铁死亡抑制肝纤维化, 而这其中的关键靶点就是 m⁶A 的相关分子^[55]。DHA 可下调 FTO 的表达, 致使 BECN1 的 m⁶A 修饰水平上升, 进而诱导 HSC 发生铁死亡, 从而缓解肝纤维化^[55]。此外, DHA 也能够靶向 YTHDC1 并促进其降解, 进而恢复 NR1D1 表达而缓解肝纤维化^[59]。这些基于 m⁶A 的药物或试剂研究为靶向 m⁶A 的抗 HF 策略提供了初步证据, 但仍然需要进一步探索, 以寻找安全性、有效性和特异性更高的抑制剂, 不断促进实验室研究向临床应用的转化。此外, 除了开发抑制剂, 借助基因编辑技术如 CRISPR 技术 (规律间隔成簇短回文重复序列, clustered regularly interspaced short palindromic repeats), 对过度表达的 m⁶A 调节因子 (如 METTL3、METTL14) 进行调控, 也可以是抗 HF 研究的新方向。关于基因编辑技术在肝纤维化研究中的应用已有报道, 例如以 CRISPR 技术敲除 RSPO4 (顶板特异性脊椎蛋白 4, R-spondin 4) 或 LRP6 (低密度脂蛋白受体相关蛋白 6, low-density lipoprotein receptor-related protein 6) 可以缓解肝纤维化, 抑制 HSC 活化或使活化的 HSC 逆转失活^[80, 81]。是否可以利用基因编辑技术直接调节 m⁶A 相关分子的表达, 或对其下游 RNA 靶点进行 m⁶A 添加或去除的特异性编辑, 以促进肝纤维化的基因治疗, 值得进一步研究。

4 小结与展望

肝纤维化时伴随着多种 m⁶A 调节因子的表达水平变化, 并通过调控多种靶基因的 m⁶A 修饰而影响肝纤维化进程, 具体见表 1。其中, TGF- β 1 作为 HSC 活化的主要诱导剂, 其 m⁶A 水平能够被 METTL3、METTL14 和 FTO 动态调控, m⁶A 修饰使其表达水平上升。m⁶A 修饰也能够影响 TGF- β 1 的下游效应物如 Smad、PI3K/AKT、MAPK/ERK、JNK/Smad2 通路, 进而激活 HSC。Hedgehog 通路也是 m⁶A 修饰调控 HSC 活化的主要途径之一, WTAP 及 ALKBH5 能够动态调控 Ptch1 的 m⁶A 修饰水平, 经由 Hedgehog 通路影响 HSC 活化。此外, m⁶A 修饰还可以通过影响自噬和铁死亡过程间接调控 HSC 活化, METTL4

协同 YTHDF1 促进自噬相关基因的 m⁶A 修饰, 激活自噬通路并诱导 HSC 铁死亡; 而 FTO 则通过去除相关基因的 m⁶A 修饰, 抑制自噬和铁死亡。综上所述, m⁶A 修饰在肝纤维化进程中发挥重要的作用, 有望成为抗肝纤维化研究的潜在靶点。然而, m⁶A 在肝纤维化中的作用及机制尚未完全阐明, 靶向 m⁶A 的干预策略也缺乏临床验证, 需要不断探索。

[参 考 文 献]

- [1] Villesen IF, Daniels SJ, Leeming DJ, et al. Review article: the signalling and functional role of the extracellular matrix in the development of liver fibrosis. *Aliment Pharmacol Ther*, 2020, 52: 85-97
- [2] Berumen J, Baglieri J, Kisseleva T, et al. Liver fibrosis: pathophysiology and clinical implications. *WIREs Mech*

表1 m⁶A调节因子在肝纤维化中的作用

| 类别 | 名称 | 表达 | 作用 | 靶点 | 机制 | 参考文献 | | | | |
|---------|--------|-----|------------------|---|--|---------|--|--|-------|--|
| 甲基转移酶 | METTL3 | ↑ | 促HF | 1.胶原 | 1.催化胶原的m ⁶ A修饰, 提高胶原mRNA稳定性。 | [34-42] | | | | |
| | | | | 2.pri-miR-350 | 2.催化pri-miR-350的m ⁶ A修饰, 促进miR350的加工及表达, 激活PI3K/AKT、MAPK/ERK通路。 | | | | | |
| | | | | 3.Lats2 | 3.催化Lats2的m ⁶ A修饰, 加速Lats2 mRNA降解, 减少其表达, 促进YAP的磷酸化及核移位。 | | | | | |
| | | | | 4.circIRF2 | 4.催化circIRF2的m ⁶ A修饰, 降低circIRF2稳定性和表达, 抑制FOXO3核转位和聚集。 | | | | | |
| | | | | 5.THY1 | 5.催化THY1的m ⁶ A修饰, 上调THY1表达。 | | | | | |
| | | | | 6.TGF- β 1 | 6.催化TGF- β 1的m ⁶ A修饰, 上调TGF- β 1表达。 | | | | | |
| | | | | 7.MALAT | 7.催化MALAT的m ⁶ A修饰, 上调MALAT表达, 促进USP8 mRNA降解。 | | | | | |
| | | | | 8.NEAT1 | 8.催化NEAT1的m ⁶ A修饰, 上调NEAT1表达, 激活Sp1/TGF- β 1/ Smad通路。 | | | | | |
| | | | | | ↓ | | 抗HF | / | / | [43, 44] |
| | | | | | METTL4 | | / | 抗HF | BECN1 | 催化BECN1的m ⁶ A修饰, 上调BECN1表达, 激活自噬通路, 诱导HSC铁死亡。 |
| METTL14 | ↑ | 促HF | 1.THY1 | 1.催化THY1的m ⁶ A修饰, 上调THY1表达。 | [35, 39, 40, 46, 47] | | | | | |
| | | | 2.TGF- β 1 | 2.催化TGF- β 1的m ⁶ A修饰, 增强TGF- β 1的mRNA稳定性及表达, 激活TGF- β /Smad通路。 | | | | | | |
| | | | 3.circIRF2 | 3.催化circIRF2的m ⁶ A修饰, 降低circIRF2的稳定性和表达, 抑制FOXO3核转位和聚集。 | | | | | | |
| | | | ↓ | 抗HF | | NOVA | 催化NOVA2的m ⁶ A修饰, 加速NOVA2 mRNA降解, 下调其表达。 | [43, 48] | | |
| | | | METTL16 | ↑ | | 促HF | HLA-DPB1 | 催化HLA-DPB1的m ⁶ A修饰, 上调HLA-DPB1表达。 | [57] | |
| WTAP | ↑ | 促HF | 1.Ptch1 | 1.催化Ptch1的m ⁶ A修饰, 上调Ptch1表达, 激活Hedgehog通路。 | [35, 39, 51, 52] | | | | | |
| | | | 2.circIRF2 | 2.催化circIRF2的m ⁶ A修饰, 降低circIRF2的稳定性和表达, 抑制FOXO3核转位和聚集。 | | | | | | |
| | | | 3.ENPP1 | 3.催化ENPP1的m ⁶ A修饰, 增强ENPP1的mRNA稳定性及表达, 上调HILPA表达, 促进脂质过氧化。 | | | | | | |
| | | | ↓ | 抗HF | | / | / | [50] | | |

表1 m⁶A调节因子在肝纤维化中的作用(续表)

| 类别 | 名称 | 表达 | 作用 | 靶点 | 机制 | 参考文献 |
|--------|---------|----|-----|---------------------------|--|--------------|
| | ZC3H13 | ↑ | 促HF | NR1D1 | 催化NR1D1的m ⁶ A修饰, 促进NR1D1 mRNA降解, 抑制Drp1磷酸化, 激活cGAS通路。 | [59] |
| 去甲基转移酶 | FTO | ↓ | 抗HF | / | / | [59] |
| | | ↑ | 促HF | 1.BECN1 2.ULK1 | 1.去除BECN1的m ⁶ A修饰, 下调BECN1表达, 抑制自噬通路, 抑制HSC铁死亡。 2.去除ULK1的m ⁶ A修饰, 上调ULK1表达, 促进自噬及HSC激活。 | [54, 55, 62] |
| | ALKBH5 | ↓ | 抗HF | 1.Ptch1 | 1.去除Ptch1的m ⁶ A修饰, 上调Ptch1表达, 抑制Hedgehog通路。 | [64-66] |
| | | | | 2.Sail1 | 2.去除Snail1的m ⁶ A修饰, 降低Snail1的mRNA稳定性和表达。 | |
| | | | | 3. Drp1 | 3.去除Drp1的m ⁶ A修饰, 下调Drp1表达, 抑制线粒体分裂。 | |
| | | ↑ | 促HF | 1.TIRAP | 1.去除TIRAP的m ⁶ A修饰, 上调TIRAP的表达, 激活NF-κB、JNK/Smad2通路。 | [67] |
| | | | | 2.CCL5 | 2.去除CCL5的m ⁶ A修饰, 促进CCL5分泌, 促进单核细胞募集和M2型极化。 | |
| 甲基识别蛋白 | YTHDF1 | ↓ | 抗HF | BECN1 | 增强BECN1的mRNA稳定性和表达, 激活自噬, 诱导HSC铁死亡。 | [50, 54, 55] |
| | | ↑ | 促HF | 1.胶原 2.Drp1 3.ENPP1 | 1.增强胶原mRNA稳定性和表达。 2.增强Drp1mRNA稳定性和表达, 导致线粒体分裂。 3.增强ENPP1的mRNA稳定性及表达, 上调HILPA表达, 促进脂质过氧化。 | [36, 52, 65] |
| | YTHDF2 | ↑ | 促HF | circIRF2 | 降低circIRF2稳定性和表达, 抑制FOXO3核转位和聚集。 | [39, 76] |
| | | / | 抗HF | NOVA2 | 加速NOVA2 mRNA的降解, 下调NOVA2的表达。 | [48] |
| | YTHDF3 | ↓ | 抗HF | PRDX3 | 促进PRDX3 mRNA翻译, 上调PRDX3表达, 抑制ROS/TGF-β1/Smad通路。 | [77] |
| | YTHDC1 | ↑ | 促HF | NR1D1 | 降低NR1D1的mRNA稳定性和表达, 激活cGAS通路。 | [59] |
| | YTHDC2 | ↑ | 抗HF | ULK1 | 降低ULK1的mRNA稳定性和表达, 抑制自噬, 抑制HSC活化。 | [62] |
| | IGF2BP2 | ↑ | 促HF | ALDOA | 增强ALDOA的mRNA稳定性和表达, 促进糖酵解, 促进组蛋白乳酸化修饰。 | [47, 78] |
| | IGF2BP3 | ↑ | 促HF | Jag1 | 增强Jag1的表达, 激活Notch/Jag1通路, 抑制HSC铁死亡。 | [79] |

Dis, 2021, 13: e1499

[3] Ramachandran P, Iredale JP, Fallowfield JA. Resolution of liver fibrosis: basic mechanisms and clinical relevance. *Semin Liver Dis*, 2015, 35: 119-31

[4] Dhar D, Baglieri J, Kisseleva T, et al. Mechanisms of liver fibrosis and its role in liver cancer. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2020, 245: 96-108

[5] Liu S, Wan H, Yang L, et al. High prevalence of steatotic liver disease and fibrosis in the general population: a large prospective study in China. *J Hepatol*, 2025, 82: e23-5

[6] Zhao YQ, Deng XW, Xu GQ, et al. Mechanical homeostasis imbalance in hepatic stellate cells activation and hepatic fibrosis. *Front Mol Biosci*, 2023, 10: 1183808

[7] 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

[8] Meyer Kate D, 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

[9] 薛翔澜, 丁洋洋, 刘悦, 等. 哺乳动物m⁶A与生长发育相关生物学功能研究进展. *生物技术通报*, 2021, 37: 251-9

[10] 谢苏杰, 杨悦, 赖渤文, 等. m⁶A修饰在肝纤维化中的研究进展. *生命科学*, 2023, 35: 472-9

[11] 马艳珍, 吴芙蓉, 张家富, 等. N⁶-甲基腺嘌呤甲基化在肝脏疾病中的作用. *临床肝胆病杂志*, 2021, 37: 2719-22

- [12] 申敏, 李余佳, 邵江娟, 等. RNA N6-腺苷酸甲基化修饰在慢性肝病中作用的研究进展. 中国药理学与毒理学杂志, 2021, 35: 51-7
- [13] Harper JE, Miceli SM, Roberts RJ, et al. Sequence specificity of the human mRNA N6-adenosine methylase *in vitro*. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18: 5735-41
- [14] Liu J, Yue Y, Han D, et al. A METTL3–METTL14 complex mediates mammalian nuclear RNA N6-adenosine methylation. *Nat Chem Biol*, 2013, 10: 93-5
- [15] Sang A, Zhang J, Zhang M, et al. METTL4 mediated-N6-methyladenosine promotes acute lung injury by activating ferroptosis in alveolar epithelial cells. *Free Rad Biol Med*, 2024, 213: 90-101
- [16] Warda AS, Kretschmer J, Hackert P, et al. Human METTL16 is a N(6)-methyladenosine (m(6)A) methyltransferase that targets pre-mRNAs and various non-coding RNAs. *EMBO Rep*, 2017, 18: 2004-14
- [17] Horiuchi K, Kawamura T, Iwanari H, et al. Identification of Wilms' tumor 1-associating protein complex and its role in alternative splicing and the cell cycle. *J Biol Chem*, 2013, 288: 33292-302
- [18] Yue Y, Liu J, Cui X, et al. VIRMA mediates preferential m6A mRNA methylation in 3'UTR and near stop codon and associates with alternative polyadenylation. *Cell Discov*, 2018, 4: 10
- [19] Cheng H, Wu J, Li L, et al. RBM15 protects from myocardial infarction by stabilizing NAE1. *JACC Basic Transl Sci*, 2024, 9: 631-48
- [20] Wen J, Lv R, Ma H, et al. Zc3h13 regulates nuclear RNA m6A methylation and mouse embryonic stem cell self-renewal. *Mol Cell*, 2018, 69: 1028-38.e6
- [21] Bawankar P, Lence T, Paolantoni C, et al. Hakai is required for stabilization of core components of the m6A mRNA methylation machinery. *Nat Commun*, 2021, 12: 3778
- [22] 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
- [23] Tang C, Klukovich R, Peng H, et al. ALKBH5-dependent m6A demethylation controls splicing and stability of long 3'-UTR mRNAs in male germ cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 115: E325-33
- [24] Ueda Y, Ooshio I, Fusamae Y, et al. AlkB homolog 3-mediated tRNA demethylation promotes protein synthesis in cancer cells. *Sci Rep*, 2017, 7: 42271
- [25] Liao S, Sun H, Xu C. YTH domain: a family of N6-methyladenosine (m6A) readers. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2018, 16: 99-107
- [26] Huang H, Weng H, Sun W, et al. Recognition of RNA N6-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation. *Nat Cell Biol*, 2018, 20: 285-95
- [27] Jiang F, Tang X, Tang C, et al. HNRNPA2B1 promotes multiple myeloma progression by increasing AKT3 expression via m6A-dependent stabilization of ILF3 mRNA. *J Hematol Oncol*, 2021, 14: 54
- [28] Lian B, Yan S, Li J, et al. HNRNPC promotes collagen fiber alignment and immune evasion in breast cancer via activation of the VIRMA-mediated TFAP2A/DDR1 axis. *Mol Med*, 2023, 29: 103
- [29] Liu N, Zhou KI, Parisien M, et al. N6-methyladenosine alters RNA structure to regulate binding of a low-complexity protein. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45: 6051-63
- [30] He S, Wang H, Liu R, et al. mRNA N6-methyladenosine methylation of postnatal liver development in pig. *PLoS One*, 2017, 12: e0173421
- [31] Meng J, Zhao Z, Xi Z, et al. Liver-specific Mettl3 ablation delays liver regeneration in mice. *Genes Dis*, 2022, 9: 697-704
- [32] Cao X, Shu Y, Chen Y, et al. Mettl14-mediated m(6)A modification facilitates liver regeneration by maintaining endoplasmic reticulum homeostasis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2021, 12: 633-51
- [33] Nakano M, Ondo K, Takemoto S, et al. Methylation of adenosine at the N(6) position post-transcriptionally regulates hepatic P450s expression. *Biochem Pharmacol*, 2020, 171: 113697
- [34] Feng Y, Hu Y, Hou Z, et al. Chronic corticosterone exposure induces liver inflammation and fibrosis in association with m6A-linked post-transcriptional suppression of heat shock proteins in chicken. *Cell Stress Chaperones*, 2020, 25: 47-56
- [35] Wang J, Du M, Meng L, et al. Integrative analysis implicates the significance of m6A in the liver fibrosis of biliary atresia by regulating THY1. *Hepatol Commun*, 2023, 7: e0004
- [36] Feng Y, Guo S, Zhao Y, et al. DNA 5mC and RNA m(6)A modification successively facilitates the initiation and perpetuation stages of HSC activation in liver fibrosis progression. *Cell Death Differ*, 2023, 30: 1211-20
- [37] Zhu Y, Pan X, Du N, et al. ASIC1a regulates miR-350/SPRY2 by N(6)-methyladenosine to promote liver fibrosis. *FASEB J*, 2020, 34: 14371-88
- [38] Li Y, Kang X, Zhou Z, et al. The m6A methyltransferase Mettl3 deficiency attenuates hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. *Mol Ther*, 2022, 30: 3714-28
- [39] Chen X, Zhu S, Li HD, et al. N6-methyladenosine-modified circIRF2, identified by YTHDF2, suppresses liver fibrosis via facilitating FOXO3 nuclear translocation. *Int J Biol Macromol*, 2023, 248: 125811
- [40] 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
- [41] 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
- [42] 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
- [43] 林万宝, 黄玉菲, 蔡铭, 等. m⁶A甲基转移酶METTL3、METTL14在慢性乙型肝炎患者肝组织中表达及与病情的关系. 热带医学杂志, 2021, 21: 477-81+534

- [44] Li W, Tan M, Wang H, et al. METTL3-mediated m6A mRNA modification was involved in cadmium-induced liver injury. *Environ Pollut*, 2023, 331: 121887
- [45] Li X, Yuan B, Lu M, et al. The methyltransferase METTL3 negatively regulates nonalcoholic steatohepatitis (NASH) progression. *Nat Commun*, 2021, 12: 7213
- [46] 张君佩, 陈颖, 沈丹杰, 等. METTL14促进肝纤维化的机制研究. *肝脏*, 2021, 26: 159-61+66
- [47] Qiu T, Hou K, Zhang J, et al. Sodium arsenite induces hepatic stellate cells activation by m6A modification of TGF- β 1 during liver fibrosis. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2024, 278: 116435
- [48] Hou X, Li Y, Song J, et al. METTL14 reverses liver fibrosis by inhibiting NOVA2 through an m6A-YTHDF2-dependent mechanism. *Hepato Comm*, 2023, 7: e0199
- [49] Ping XL, Sun BF, Wang L, et al. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N6-methyladenosine methyltransferase. *Cell Res*, 2014, 24: 177-89
- [50] Fan C, Ma Y, Chen S, et al. Comprehensive analysis of the transcriptome-wide m6A methylation modification difference in liver fibrosis mice by high-throughput m6A sequencing. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 767051
- [51] Wei A, Zhao F, Hao A, et al. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline (AcSDKP) mitigates the liver fibrosis via WTAP/m6A/Ptch1 axis through Hedgehog pathway. *Gene*, 2022, 813: 146125
- [52] Sun F, Wang J, Yang Y, et al. Epitranscriptomic regulation of lipid oxidation and liver fibrosis via ENPP1 mRNA m(6)A modification. *Cell Mol Life Sci*, 2024, 81: 387
- [53] Chen H, Gu L, Orellana EA, et al. METTL4 is an snRNA m(6)Am methyltransferase that regulates RNA splicing. *Cell Res*, 2020, 30: 544-7
- [54] Shen M, Li Y, Wang Y, et al. N6-methyladenosine modification regulates ferroptosis through autophagy signaling pathway in hepatic stellate cells. *Redox Biol*, 2021, 47: 102151
- [55] 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 Rad Biol Med*, 2022, 182: 246-59
- [56] Palazzo AF, Nance DJ, Satterwhite ER, et al. Characterization of METTL16 as a cytoplasmic RNA binding protein. *PLoS One*, 2020, 15: e0227647
- [57] Gao H, Wang X, Ma H, et al. METTL16 regulates m6A methylation on chronic hepatitis B associated gene HLA-DPB1 involved in liver fibrosis. *Front Genet*, 2022, 13: 996245
- [58] Ouna BA, Stewart M, Helbig C, et al. The *Trypanosoma brucei* CCCH zinc finger proteins ZC3H12 and ZC3H13. *Mol Biochem Parasitol*, 2012, 183: 184-8
- [59] Chen L, Xia S, Wang F, et al. m⁶A methylation-induced NR1D1 ablation disrupts the HSC circadian clock and promotes hepatic fibrosis. *Pharmacol Res*, 2023, 189: 106704
- [60] Wu J, Xiao H, Wang T, et al. N6-Hydroperoxymethyladenosine: a new intermediate of chemical oxidation of N⁶-methyladenosine mediated by bicarbonate-activated hydrogen peroxide. *Chem Sci*, 2015, 6: 3013-7
- [61] Gerken T, Girard CA, Tung YCL, et al. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. *Science*, 2007, 318: 1469-72
- [62] Huang T, Zhang C, Ren J, et al. FTO-mediated m(6)A demethylation of ULK1 mRNA promotes autophagy and activation of hepatic stellate cells in liver fibrosis. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2024, 56:1509-20
- [63] Zheng G, Dahl John A, Niu Y, et al. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility. *Mol Cell*, 2013, 49: 18-29
- [64] 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
- [65] Wang J, Yang Y, Sun F, et al. ALKBH5 attenuates mitochondrial fission and ameliorates liver fibrosis by reducing Drp1 methylation. *Pharmacol Res*, 2023, 187: 106608
- [66] Zhou HY, Wang BQ, Chen MX, et al. KDM4C represses liver fibrosis by regulating H3K9me3 methylation of ALKBH5 and m6A methylation of snail1 mRNA. *J Dig Dis*, 2024, 25: 298-309
- [67] Chen Y, Zhou P, Deng Y, et al. ALKBH5-mediated m6A demethylation of TIRAP mRNA promotes radiation-induced liver fibrosis and decreases radiosensitivity of hepatocellular carcinoma. *Clin Translat Med*, 2023, 13: e1198
- [68] Wang X, Lu Z, Gomez A, et al. N6-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability. *Nature*, 2013, 505: 117-20
- [69] Abakir A, Giles TC, Cristini A, et al. N6-methyladenosine regulates the stability of RNA:DNA hybrids in human cells. *Nat Genet*, 2019, 52: 48-55
- [70] Wang X, Zhao BS, Roundtree IA, et al. N⁶-methyladenosine modulates messenger RNA translation efficiency. *Cell*, 2015, 161: 1388-99
- [71] Shi H, Wang X, Lu Z, et al. YTHDF3 facilitates translation and decay of N(6)-methyladenosine-modified RNA. *Cell Res*, 2017, 27: 315-28
- [72] Roundtree IA, Luo GZ, Zhang Z, et al. YTHDC1 mediates nuclear export of N6-methyladenosine methylated mRNAs. *eLife*, 2017, 6: e31311
- [73] Nayler O, Hartmann AM, Stamm S. The ER repeat protein YT521-B localizes to a novel subnuclear compartment. *J Cell Biol*, 2000, 150: 949-62
- [74] Xiao W, Adhikari S, Dahal U, et al. Nuclear m6A reader YTHDC1 regulates mRNA splicing. *Mol Cell*, 2016, 61: 507-19
- [75] Mao Y, Dong L, Liu XM, et al. m(6)A in mRNA coding regions promotes translation via the RNA helicase-containing YTHDC2. *Nat Commun*, 2019, 10: 5332
- [76] 孙峰, 王娟, 杨晶晶, 等. YTHDF2对肝星状细胞活化增殖与迁移能力的影响. *中国药理学通报*, 2023, 39: 1085-90
- [77] Sun R, Tian X, Li Y, et al. The m6A reader YTHDF3-mediated PRDX3 translation alleviates liver fibrosis.

- Redox Biol, 2022, 54: 102378
- [78] Zhou Y, Yan J, Huang H, et al. The m6A reader IGF2BP2 regulates glycolytic metabolism and mediates histone lactylation to enhance hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. *Cell Death Dis*, 2024, 15: 189
- [79] Li X, Li Y, Zhang W, et al. The IGF2BP3/Notch/Jag1 pathway: a key regulator of hepatic stellate cell ferroptosis in liver fibrosis. *Clin Transl Med*, 2024, 14: e1793
- [80] Yu L, Wang L, Yi H, et al. LRP6-CRISPR prevents activation of hepatic stellate cells and liver fibrogenesis in rats. *Am J Transl Res*, 2020, 12: 397-408
- [81] Yu L, Wang L, Wu X, et al. RSPO4-CRISPR alleviates liver injury and restores gut microbiota in a rat model of liver fibrosis. *Commun Biol*, 2021, 4: 230