

m7G RNA 甲基化修饰在癌症中的研究进展

刘巧玲, 李鹏涛, 迟瑞玲, 刘洪训*

青岛市黄岛区中心医院 山东青岛

【摘要】 RNA 甲基化已成为表观遗传调控的一个基本过程。诸多证据表明, RNA 甲基化对许多生物学功能至关重要, 其失调与人类癌症进展有关。RNA 甲基化具有多种生物学特性, 包括 m6A、m6Am、m7G 等。m7G 参与调控细胞内 RNA 的可变剪接, 定位, 稳定性, 影响动态修饰 RNA 分子的命运, 以及维持 RNA 正常结构, 蛋白质翻译, RNA-蛋白质相互作用等。目前对 m7G 的研究已经成为热点, 但对其功能的认识还不足。本文整理描述了 m7G 修饰在肿瘤发病机制和药物反应/耐药中的病理作用和潜在的分子机制的最新研究成果; 同时, 我们对 RNA 甲基化的生物学功能和机制进行总结。

【关键词】 RNA 甲基化; m7G; METTL1; 癌症

【基金项目】 青岛市医药卫生科研项目 (2022-WJZD254), 青岛大学医疗集团科研专项资金项目 (YLJT20202024)

【收稿日期】 2022 年 8 月 23 日 **【出刊日期】** 2023 年 4 月 8 日 **【DOI】** 10.12208/j.ijcr.20230154

Research progress of m7G RNA methylation in Cancer

Qiaoling Liu, Pengtao Li, Ruiling Chi, Hongxun Liu*

Department of General, Qingdao Huangdao District Central Hospital, Qingdao, Shandong

【Abstract】 RNA methylation has become a fundamental process of epigenetic regulation. Evidence suggests that RNA methylation is essential for many biological functions, and its dysregulation is associated with human cancer progression. RNA methylation has a variety of biological properties, including m6A, m6Am, m7G, etc. m7G is involved in the regulation of variable splicing, localization, and stability of RNA in cells, affecting the fate of dynamically modified RNA molecules, and maintaining the normal structure of RNA, protein translation, and RNA-protein interactions. At present, the research of m7G has become a hot topic, but the understanding of its function is still insufficient. In this paper, we summarized the latest research results on the pathological effects and potential molecular mechanisms of m7G modification in tumor pathogenesis and drug response/resistance. At the same time, we summarize the biological functions and mechanisms of RNA methylation.

【Keywords】 RNA methylation; M7G; METTL1; Cancer

引言

早在 1950 年首次报道了 RNA 甲基化, 对 RNA 甲基化分类, 主要包括 N6-腺苷酸甲基化 (m6A)、N6-2-O-二甲基腺苷 (m6Am)、N1-腺苷酸甲基化 (m1A)、胞嘧啶羟甲基化 (m5C) 和 N7-甲基鸟苷 (m7G)。RNA 的甲基化通过多种方式影响蛋白质的合成, 包括翻译的准确性和修饰后的 RNA 的整体结构。此外, 甲基化过程导致依赖于 RNA 聚合酶 III 的转录调节, 促进细

胞内转移 RNA 类型的丰度, 这已被证明是致癌信号通路的影响。研究表明, RNA 修饰和 RNA 修饰蛋白异常表达在肿瘤组织中。癌细胞中 RNA 修饰酶有助于维持细胞增殖和肿瘤进展。RNA 修饰和负责其 Writers、Readers 和 Erasers 的酶在不同类型的癌症中起特定的作用, 并且与环境有关。正常细胞向癌细胞的转化需要癌基因的功能获得, 从而导致突变或肿瘤抑制基因的功能丧失。RNA 甲基转移酶在促进正常细

作者简介: 刘巧玲, 女, 医学硕士, 主治医师, 研究方向: 恶性肿瘤综合治疗。

*通讯作者: 刘洪训, 男, 医学硕士, 副主任医师, 研究方向: 恶性肿瘤综合治疗。

胞向癌细胞转化中起着重要作用。癌细胞比正常细胞有更高的蛋白质合成速率, 这反过来又增加了它们的增殖能力。N7-甲基鸟苷 (m7G) 修饰是人类最常见的转移 RNA (tRNA) 修饰之一。m7G 修饰通过影响包括信使 RNA、核糖体 RNA、微小 RNA 和转移 RNA 在内的各种 RNA 分子的代谢, 积极参与生物和病理功能。研究证实, 特定 tRNA 修饰的失调与一系列遗传疾病和癌症有关, m7G 几乎调控 mRNA 生命周期的每一步^[1, 2]; 且异常的 m7G 水平通过调节多个癌基因和肿瘤抑制基因的表达与肿瘤发生和进展密切相关^[3]。癌细胞选择性地促进特定致癌转录物的翻译以促进癌症存活和进展, 但其潜在机制知之甚少。目前, m7G 修饰在癌症中的潜在分子机制尚不完全清楚。

1 RNA 上 m7G 修饰的调控和功能

研究报道, N7-甲基鸟嘌呤 (m7G) 位于 46 号核苷酸上, 在原核生物、真核生物和一些古菌中都是保守的。在酵母中, m7G 存在于 11 个 tRNA 物种的可变区域^[4], 包括 PheGAA、ValAAC、ValCAC、MetCAT 和 LysTTT^[5], tRNAPhe 结构显示了 C13-G22 - m7G46 碱基的三重相互作用^[6]。m7G 是真核生物 mRNA 5'帽的一种重要的正电荷修饰, 调节 mRNA 的输出、翻译和剪接; 但在真核 mRNA 中的存在和分布仍有待研究; 而哺乳动物 mRNA 内部也被发现存在 m7G 位点^[7]。最近, m7G 与癌症相关的通路部分转移 RNA (tRNAs) 受到许多转录后修饰, 可控制 tRNA 的折叠、稳定性和信使 RNA (mRNA) 翻译的功能。m7G, 主要由 METTL1、METTL1/WDR4 甲基复合物催化, tRNA 上的 m7G 由 METTL1-WDR4 复合体介导; rRNA 上的 m7G 由 Williams Beuren 综合征染色体 22 区蛋白 (WBSR22; 也称为 BUD23) 介导, 但其作用尚不完全清楚; 可能是在各种生物过程中被特定阅读器识别而发挥作用。m7G 在 mRNA 5'帽中最丰富的修饰之一, 内部 m7G 在 5'UTR 处靠近翻译起始位点富集, 发现其可以促进翻译, 并且 mRNA 上的内部 m7G 是在压力条件下上调的动态修饰, METTL1 介导的 m7G tRNA 修饰对维持 ESC 自我更新至关重要^[8]。目前, 识别 m7G 位点与疾病联系检测技术包括 m7G-merip-seq、m7G-miclip-seq、m7G-seq 和 m7GDisAI 等^[9]。因此, 疾病相关 m7G 位点的识别将加速从分子水平上对疾病发病机制的认识, 进一步有利于人类复杂疾病的预后、诊断、评估、治疗和预防。

2 m7G 甲基转移酶 1 (Methyltransferase like 1, METTL1) 调控

METTL1 位于人类第 12 染色体上, 负责介导 m7G 的形成, 并调节 mRNA 翻译, 同时, 它也影响 miRNA 功能、基因调控和剪接。METTL1 在各种组织和器官中表达, 具有多种功能。METTL1 介导的甲基化通过破坏初级 miRNA 转录本 (pri-miRNA) 中的抑制性二级结构, 增强了 let-7 miRNA 的加工。这些结果表明, 依赖于 METTL1 的 m7G 甲基化是一种新的 RNA 修饰途径, 调控 miRNA 的结构、生物发生和细胞迁移。在应对各种挑战的细胞中, 内部 mRNA m7G 可能是一种新的转录组调节因子, 在 mRNA 翻译方面具有重要意义^[10]。研究发现, METTL1 介导的 m7G tRNA 修饰和 m7G 密码子通过 mRNA 密码子频率依赖的方式调控 mRNA 的翻译, 这表明了一种选择性翻译导致恶性肿瘤行为的新机制^[11]。研究发现, METTL1-KD 可通过激活 MAPK/ERK 信号通路促进内皮祖细胞体外功能, 同时, 促进了内皮祖细胞的分化^[12]。许多机制控制细胞迁移和肿瘤侵袭, 其中最重要的驱动因子之一是 AKT 致癌信号通路^[13]。值得注意的是, AKT 已被证明可以直接磷酸化 METTL1 以抑制其酶活性^[14]。在癌症中的 AKT 过度激活可能会降低包含 m7G 的肿瘤抑制 miRNA 的水平, 包括 let-7 miRNA 家族, 其家族通过调节 RAS、MYC 和 HMGA2 等关键癌基因的表达, 抑制包括肺癌在内的许多肿瘤的进展和侵袭性^[15]。METTL1 可使具瘤抑制作用的 pri-miRNA 的特定子集 (包括 let-7 家族) 甲基化, m7G 是产生成熟 miRNA 并维持高水平的 let-7e 成熟所必需的。在结肠癌 (colon cancer, CC) 中, METTL1 下调导致 let-7e 水平降低; METTL1 过表达通过上调 let-7e miRNA 来抑制 HMGA2, 即 let-7e 表达的改变影响其下游靶蛋白高迁移率组 AT-hook 2 (HMGA2), 从而促进细胞增殖、侵袭和 EMT, 从而抑制 CC 的进展^[16, 17]。通过 m7G 途径控制 let-7 家族成员可能代表了一种共同的机制来调节他们的表达和活动。除了癌症, let-7 还与神经退行性疾病有关, 如阿尔茨海默病, let-7 显著上调^[18]。此外, 低水平的 let-7 已被证明可以通过重新编程细胞代谢来改善组织修复^[19, 20]。体外实验证明, METTL1 的耗竭使癌细胞迁移潜力增加。METTL1 表达的上调被证明可以促进肿瘤的致瘤活性和调节抗肿瘤药物的耐药性, 可降低癌细胞对抗肿瘤药物顺铂和 5-氟尿嘧啶的敏感性^[21]。研究证实, 过表达 METTL1 通过调控 miR-149-3p/S100A4/p53 信号通路, 提高了结肠癌细胞对顺铂的化疗敏感性, 同时 miR-149-3p 是 METTL1 的下游靶点, 过表达 miR-149-3p 可降低卵巢癌、食管

癌、胃癌、非小细胞肺癌等多种肿瘤对顺铂的化疗耐药^[22],并诱导过表达 NANOG 和 Kruppel 因子 4(KLF4),两个磷酸酶和 tensin 同族体(PTEN-regulated 分子^[23], METTL1 在肝细胞癌(HCC)中促进细胞增殖和迁移; METTL1 通过抑制 PTEN/AKT 发挥致癌活性, RNA 修饰调节 RNA 代谢的许多方面,影响 mRNA 的翻译,并在包括 HCC 在内的癌症中成为重要的调节因子^[24]。METTL1 在不同条件下也可能是增殖的驱动力。研究报道, METTL1 是人胶质母细胞瘤中的潜在驱动因子, METTL1 的高表达促进胶质瘤的增殖,并可能调节丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路,而该基因被特异性扩增并与不良预后相关; METTL3 也属于 METTL1 基因家族,被发现胶质瘤中促进肿瘤进展^[25-26]。此外, METTL1 对 AML 细胞的生存是必需的。最近在肝细胞癌中也报道了 METTL1 过表达,与肿瘤抑制因子 PTEN 的下调和不良预后有关^[27-28]。m7G tRNA 修饰在 m7G-tRNA 解码密码子频率依赖的机制中选择性地调节致癌转录本的翻译,包括细胞周期和表皮生长因子受体(EGFR)通路基因的翻译,而癌细胞已经改变了翻译控制,以促进特定的癌细胞行为。METTL1 缺失导致 m7G 修饰的 tRNAs 丰度减少,改变细胞周期并抑制致癌性。相反, METTL1 过表达诱导致癌细胞转化和癌症。从机制上讲,我们发现 m7G 修饰的 tRNAs 数量增加,特别是 Arg-TCT-4-1, mRNA 翻译增加,包括在相应 AGA 密码子中富集的细胞周期调节因子^[29]。肝癌死亡率预将达到全球癌症患者第 4 位,每年约有 84.1 万例新发病例和 78.2 万例死亡。肝癌最常见的类型是肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC),由转化的肝细胞发展而来,约占肝癌病例的 75%以上。通过建立 METTL1 敲除小鼠模型,发现 METTL1 介导的 m7G tRNA 修饰和 m7G 密码子通过 mRNA 密码子频率依赖的方式调控 mRNA 的翻译,同时 METTL1/WDR4 会减少神经基因的翻译,从而损害干细胞的自我更新和神经分化,揭示了 METTL1/WDR4 复合物介导的 m7G tRNA 修饰在体外和体内促进肝癌(HCC)发生和发展中的关键作用,说明靶向 m7G tRNA 修饰是一种很有前途的治疗 HCC 患者的策略^[30]。同时,发现在人类肺癌样本中的 METTL1/WDR4 过表达促进 tRNAm7G 修饰水平,促进其增加稳定性,并与患者预后呈负相关,表现在 METTL1/WDR4 缺失后, tRNA 修饰受损,稳定性破坏,导致体外和体内肺癌细胞增殖、集落形成、细胞侵袭和致瘤能力受损,揭示了通过 tRNA 修饰和相应

的 mRNA 密码子组成在肺癌中 mRNA 翻译调控^[31]。研究证实, METTL1 和 tRNA m7G 修饰在食管鳞状细胞癌(ESCC)起始和进展中的重要致癌作用, METTL1 促进 mTOR 信号转导相关基因的翻译, mTOR 通路经常被过度激活并促进各种类型癌症中的 mRNA 翻译和癌症进展,并且是癌症治疗的有希望的治疗靶点, mTOR 通路在 ESCC 中异常激活,并通过自噬的负调控促进 ESCC 进展, METTL1 通过下调 RPTOR mRNA 的翻译引起 ULK1 的异常磷酸化,导致 ESCC 细胞中的自噬增加^[32]。研究表明, METTL1 在膀胱癌(BC)中过表达,其水平与患者不良预后相关,表现在在体外和体内,沉默 METTL1 可以抑制 BC 细胞的增殖、迁移和侵袭; METTL1 介导的 m7G tRNA 修饰改变了某些靶基因的表达,包括 EGFR/EFEMP1; METTL1 通过修饰某些 tRNAs 调控 EGFR/EFEMP1 的翻译^[33]。METTL1 所介导的 tRNA 的修饰或能通过重复 mRNA 的翻译来增加附近生长的蛋白质的表达从而确定细胞的癌变转化,同时这种 RNA 修饰也能代表一种潜在的抗癌靶点^[34]。因此,在这些病理背景下,直接靶向 METTL1 可能是一种有效且尚未探索的治疗策略。

3 展望

近年来,人们致力于研究 m7G 修饰在癌症中的作用,得出诸多用于相关数据,使其在癌症中认识到提高,但仍有一些重要问题有待解决;如相同的 RNA 修饰蛋白如何选择性催化不同癌症类型中的不同靶转录物。通过对大量的实验数据分析,提高了人们对 m7G 修饰的作用及其相关机制在各种类型癌症中的认识。与癌症相关的 RNA 修饰蛋白是细胞事件的重要调节剂,通过调节 RNA 代谢和癌细胞增殖、转化、侵袭和其他恶性行为所需的某些基因的表达。癌症患者的耐药性和预后与 m7G 水平和 m7G 甲基化酶 Writers/Erasers/Readers 的表达失调存在可能相关。另外, m7G 甲基化酶可通过调节癌症在 mRNA 上的碱基修饰水平,从而影响其在各种类型的癌症中发挥重要作用(通常是促癌作用)。值得注意的是,在某些类型的癌症如 AML、乳腺癌、肺癌和胃癌中, m7G 的 Writers 和 Erasers 均异常表达,并起重要的致癌作用。癌症中 m7G 修饰的研究是癌症研究中的一个新领域,伴着 5G 网络 and 大数据已经广泛在临床实践中,通过使用其方法技术将 m7G 与各肿瘤中信号通路进行网络架构关联探究。

综上所述,有效抑制靶向失调的 m7G 甲基化酶(或通过靶向转录层面编辑靶向靶向突变或功能失调

的 m7G 位点)可能具有治疗各种类型癌症的强大治疗潜力。

参考文献

- [1] Kirchner S, Ignatova Z. Emerging roles of tRNA in adaptive translation, signalling dynamics and disease[J]. *Nat Rev Genet*, 2014, 16(2):98-112.
- [2] Torres AG, Batlle E, Ribas de Pouplana L. Role of tRNA modifications in human diseases[J]. *Trends Mol Med*, 2014, 20(6):306-314.
- [3] Luo Y, Yao Y, Wu P, et al. The potential role of N7-methylguanosine (m7G) in cancer[J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1):63.
- [4] Mathias S, Carsten H, Melissa B, et al. Compilation of tRNA sequences and sequences of tRNA genes[J]. *Nucleic Acids Research*, 1998(1):148-153.
- [5] Phizicky EM, Alfonzo JD. Do all modifications benefit all tRNAs? [J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(2):265-71.
- [6] Jovine L, Djordjevic S, Rhodes D. The crystal structure of yeast phenylalanine tRNA at 2.0 Å resolution: cleavage by Mg²⁺ in 15-year old crystals[J]. *J Mol Biol*, 2000, 301(2):401-414.
- [7] Zhang LS, Liu C, Ma H, et al. Transcriptome-wide Mapping of Internal N(7)-Methylguanosine Methylome in Mammalian mRNA[J]. *Mol Cell*, 2019, 74(6): 1304-1316.e8.
- [8] Lin S, Liu Q, Lelyveld VS, et al. Mettl1/Wdr4-Mediated m(7)G tRNA Methylome Is Required for Normal mRNA Translation and Embryonic Stem Cell Self-Renewal and Differentiation[J]. *Mol Cell*, 2018, 71(2):244-255.e5.
- [9] Ma J, Zhang L, Chen J, et al. m(7)G DisAI: N7-methylguanosine (m(7)G) sites and diseases associations inference based on heterogeneous network[J]. *BMC Bioinformatics*, 2021, 22(1): 152.
- [10] Malbec L, Zhang T, Chen YS, et al. Dynamic methylome of internal mRNA N(7)-methylguanosine and its regulatory role in translation[J]. *Cell Res*, 2019, 29(11): 927-941.
- [11] Chen Z, Zhu W, Zhu S, et al. METTL1 promotes hepatocarcinogenesis via m(7) G tRNA modification-dependent translation control[J]. *Clin Transl Med*, 2021, 11(12): e661.
- [12] Deng Y, Zhou Z, Lin S, et al. METTL1 limits differentiation and functioning of EPCs derived from human-induced pluripotent stem cells through a MAPK/ERK pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 527(3): 791-798.
- [13] Irie HY, Pearline RV, Grueneberg D, et al. Distinct roles of Akt1 and Akt2 in regulating cell migration and epithelial-mesenchymal transition[J]. *J Cell Biol*, 2005, 171(6):1023-1034.
- [14] Cartlidge RA, Knebel A, Pegg M, et al. The tRNA methylase METTL1 is phosphorylated and inactivated by PKB and RSK in vitro and in cells[J]. *Embo j*, 2005, 24(9):1696-1705.
- [15] Balzeau J, Menezes MR, Cao S, et al. The LIN28/let-7 Pathway in Cancer[J]. *Front Genet*, 2017, 8:31.
- [16] Liu Y, Zhang Y, Chi Q, et al. Methyltransferase-like 1 (METTL1) served as a tumor suppressor in colon cancer by activating 7-methylguanosine (m7G) regulated let-7e miRNA/HMGA2 axis[J]. *Life Sci*, 2020, 249:117480.
- [17] De Paolis V, Lorefice E, Orecchini E, et al. Epitranscriptomics: A New Layer of microRNA Regulation in Cancer[J]. *Cancers*, 2021, 13(13):3372.
- [18] Lehmann SM, Krüger C, Park B, et al. An unconventional role for miRNA: let-7 activates Toll-like receptor 7 and causes neurodegeneration[J]. *Nat Neurosci*, 2012, 15(6): 827-35.
- [19] McDaniel K, Hall C, Sato K, et al. Lin28 and let-7: roles and regulation in liver diseases[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2016, 310(10):G757-765.
- [20] Shyh-Chang N, Zhu H, Yvanka de Soysa T, et al. Lin28 enhances tissue repair by reprogramming cellular metabolism[J]. *Cell*, 2013, 155(4):778-792.
- [21] Visvanathan A, Patil V, Arora A, et al. Essential role of METTL3-mediated m(6)A modification in glioma stem-like cells maintenance and radioresistance[J]. *Oncogene*, 2018, 37(4):522-533.
- [22] Liu Y, Yang C, Zhao Y, et al. Overexpressed methyltransferase-like 1 (METTL1) increased chemosensitivity of colon cancer cells to cisplatin by regulating miR-149-3p/S100A4/p53 axis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(24):12328-12344.
- [23] He M, Zheng B, Zhang Y, et al. KLF4 mediates the link between TGF-β1-induced gene transcription and H3

- acetylation in vascular smooth muscle cells[J]. *Faseb j*, 2015.29(9): 4059-4070.
- [24] Tian QH, Zhang MF, Zeng JS, et al. METTL1 overexpression is correlated with poor prognosis and promotes hepatocellular carcinoma via PTEN[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2019. 97(11): 1535-1545.
- [25] Ji JW, Zhang YD, Lai YJ, et al. Mettl3 regulates the proliferation, migration and invasion of glioma cells by inhibiting PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020. 24(7):3818-3828.
- [26] Li L, Yang Y, Wang Z, Xu C, et al. Prognostic role of METTL1 in glioma[J]. *Cancer Cell Int*, 2021. 21(1):633.
- [27] Pandolfini L, Barbieri I, Bannister AJ, et al. METTL1 Promotes let-7 MicroRNA Processing via m7G Methylation[J]. *Mol Cell*, 2019.74(6):1278-1290.e9.
- [28] Barbieri I, Kouzarides T. Role of RNA modifications in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2020.20(6):303-322.
- [29] Orellana EA, Liu Q, Yankova E, et al. METTL1-mediated m(7)G modification of Arg-TCT tRNA drives oncogenic transformation[J]. *Mol Cell*, 2021.81(16):3323-3338.e14.
- [30] Dai Z, Liu H, Liao J, et al. N(7)-Methylguanosine tRNA modification enhances oncogenic mRNA translation and promotes intrahepatic cholangiocarcinoma progression[J]. *Mol Cell*, 2021.81(16):3339-3355.e8.
- [31] Ma J, Han H, Huang Y, et al. METTL1/WDR4-mediated m(7)G tRNA modifications and m(7)G codon usage promote mRNA translation and lung cancer progression[J]. *Mol Ther*, 2021.29(12):3422-3435.
- [32] Han H, Yang C, Ma J, et al. N(7)-methylguanosine tRNA modification promotes esophageal squamous cell carcinoma tumorigenesis via the RPTOR/ ULK1/ autophagy axis[J]. *Nature communications*, 2022.13(1): 1478-1478.
- [33] Ying X, Liu B, Yuan Z, et al. METTL1-m(7) G-EGFR/ EFEMP1 axis promotes the bladder cancer development[J]. *Clin Transl Med*, 2021.11(12):e675.
- [34] Orellana EA, Liu Q, Yankova E, et al. METTL1-mediated m7G modification of Arg-TCT tRNA drives oncogenic transformation[J]. *Molecular Cell*, 2021.81 (16): 3323-3338.e14.

版权声明: ©2023 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS