

# N-6 甲基腺嘌呤在乳腺癌发病机制及 临床治疗中的研究进展

司君茹,徐玉清

(哈尔滨医科大学附属第二医院,黑龙江 哈尔滨 150001)

**摘要:**自 DNA 和组蛋白修饰的突破性发现以来, RNA 修饰成为研究重点。在真核生物中,作为一种内表观遗传修饰,这种转录后 RNA N6-甲基腺嘌呤(N6-methyladenosine, m6A)修饰是动态和可逆的。乳腺癌是最常见的女性恶性肿瘤,表现出显著的遗传、表观遗传和表型多样性。mRNA 中的 m6A 可以控制肿瘤的自我更新和细胞命运,在乳腺癌发生发展中起着重要作用,是一种新的乳腺癌干预靶点。全文就 m6A 甲基化修饰在乳腺癌形成和发展中的分子机制,以及在乳腺癌临床治疗等方面的作用进行综述。

**关键词:**乳腺癌;表观修饰;N6-甲基腺嘌呤

**中图分类号:**R737.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2020)12-1025-06

**doi:**10.11735/j.issn.1671-170X.2020.12.B003

## Research Progress of N6-methyladenosine in the Pathogenesis and Clinical Treatment of Breast Cancer

SI Jun-ru, XU Yu-qing

(The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

**Abstract:** Since the discovery of DNA and histone modification, RNA modification has become a focus of research. In eukaryotes, as an internal epigenetic modification, post-transcriptional RNA N6-methyladenosine(m6A) modification is dynamic and reversible. Breast cancer is the most common cancer among female malignant tumors, showing significant genetic, epigenetic and phenotypic diversity. The m6A in mRNA can control the self-renewal and cell fate of tumors, and plays an important role in the occurrence and development of breast cancer. M6A is also a novel intervention target for breast cancer. This article reviews the molecular mechanism of m6A methylation modification in the formation and development of breast cancer, as well as the prospects for clinical treatment of breast cancer.

**Subject words:** breast cancer; epigenetic modification; N-6methyladenosine(m6A)

乳腺癌是最常见的女性恶性肿瘤<sup>[1]</sup>,也是女性因癌症死亡的首要原因。随着根治性手术和相关辅助治疗的发展,乳腺癌患者的预后得到了不断的改善,但仍有较高的复发率和死亡率。远处转移(如转移至肺、骨、肝和脑)是乳腺癌高死亡率的主要原因之一<sup>[2-3]</sup>。乳腺癌具有异质性<sup>[4]</sup>,遗传或表观遗传在其中扮演重要角色,我们虽已深入研究了乳腺癌基因表达谱,但关于临床上乳腺癌形成和发展的分子机制尚未得到充分阐明。因此,需要对调节乳腺癌细胞基因表达的后转录和翻译途径进行新的研究,以探索

抑制肿瘤细胞生长和转移的新的治疗靶点。

表观遗传修饰是一种影响基因转录及翻译而核苷酸序列不发生改变的基因表达调控方式,与哺乳动物的生殖、发育和寿命<sup>[5-7]</sup>等多种生物活动有关。除了众所周知的经典表观遗传调控机制,如染色体重塑、DNA 甲基化修饰和组蛋白共价修饰之外, RNA 修饰被认为是基因表达的重要后转录调节因子,并且在哺乳动物细胞中, m6A 被认为是最丰富的 mRNA 修饰。表观遗传失调是多种癌症的共同特征<sup>[8]</sup>, m6A 的异常调节通过癌基因表达的增加和/或肿瘤抑制基因的沉默<sup>[9]</sup>参与肿瘤的发生和进展。最近研究也证实了异常的 m6A 修饰与乳腺癌的发生发展息息相关<sup>[10]</sup>。

**通信作者:**徐玉清,主任医师,博士;哈尔滨医科大学附属第二医院肿瘤内科一病房,黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路 246 号(150001);E-mail:xyqingx@126.com

**收稿日期:**2020-09-17; **修回日期:**2020-10-08

在哺乳动物细胞中, m6A 修饰被认为是 mRNA、lncRNA 和 rRNA 中最普遍、最丰富、最保守的内部修饰。动态性和可逆性是 m6A 修饰最显著的特征, 由甲基化转移酶、去甲基化酶和结合蛋白严密调控其动态平衡, 影响 RNA 的成熟、转录、定位、翻译和代谢<sup>[11]</sup>。同时也在哺乳动物生命活动中有重要生物学意义, 如神经系统发育、昼夜节律、DNA 损伤反应、热休克反应和肿瘤发生<sup>[12]</sup>等。本文就 m6A 甲基化修饰在乳腺癌的发病机制以及临床治疗等方面进行综述, 为开发新的 m6A 修饰异常的乳腺癌分子靶点疗法提供科学依据。

## 1 M6A 甲基化转移酶在乳腺癌中的作用

M6A 甲基化转移酶以复合物形式存在, 在核散斑体内催化特定靶 RNA 发生甲基化修饰, 该复合物主要由甲基转移酶样 3 (methyltransferase like 3, METTL3)、甲基转移酶样 14 (methyltransferase like 14, METTL14)、Wilms 肿瘤 1-相关蛋白 (Wilms tumor 1-associated protein, WTAP)、类病毒 m6A 甲基转移酶 (Vir-like m6A methyltransferase-associated protein, VIRMA; 又称 KIAA1429) 等组成。METTL3 能够在体内、体外催化 mRNA 发生 m6A 修饰, 它的异常表达可以改变 m6A 的甲基化水平<sup>[13]</sup>, 在该复合物中, METTL3 是催化活性亚单位, 与其辅助因子 METTL14 共同介导细胞中 m6A 在哺乳动物 mRNA 上的沉积, WTPA 在此过程中起协同作用。METTL3-METTL14 复合物通过 m6A 修饰相关的 mRNA 提高肿瘤相关基因的表达, 从而控制肿瘤干细胞的多能性、肿瘤发生、上皮间充质转化 (epithelial-mesenchymal, EMT)、血管生成和 DNA 损伤反应。

在乳腺癌中, Cai 等<sup>[14]</sup>发现 METTL3 的表达与哺乳动物乙型肝炎 X 相互作用蛋白 (hepatitis B X-interacting protein, HBXIP) 的表达呈正相关。METTL3 在乳腺癌中表达上调, 它通过降低肿瘤抑制因子 let-7g 的活性来促进乳腺癌进展。从机制上, HBXIP 通过抑制 let-7g 使 METTL3 表达升高, 而 METTL3 则通过 m6A 甲基化修饰上调 HBXIP 的表达, 从而形成 HBXIP/let-7g/METTL3/HBXIP 的正反馈环, 导致乳腺癌细胞的增殖。此外, 最新研究发现, LNC942 (一种长链非编码 RNA) 可以通过促进细胞

增殖、集落形成、抑制细胞凋亡产生强大的致癌作用, 随后提高乳腺癌细胞中 METTL14 介导的 m6A 甲基化水平及其相关 mRNA 的稳定性和趋化因子 CXCR4、细胞色素 CYP1B1 蛋白表达, 此过程形成的 LNC942-METTL14-CXCR4/CYP1B1 信号轴或许可成为调控乳腺癌的新的分子机制<sup>[15]</sup>。

## 2 M6A 去甲基化酶在乳腺癌中的作用

M6A 去甲基化酶主要有 2 种: 脂肪团和肥胖相关蛋白 (fat mass and obesity associated, FTO) 和  $\alpha$ -酮戊二酸依赖的加双氧酶 ALKB 同源蛋白 5 ( $\alpha$ -ketoglutarate-dependent dioxygenase ALKB homolog 5, ALKBH5), 它用来去除 RNA 上的甲基化修饰, 使 m6A 修饰具有动态性和可逆性。多项研究提示 FTO 在多种实体瘤中高度表达, 参与肿瘤细胞的发生和转化<sup>[16]</sup>。在黑色素瘤中, FTO 促进癌细胞生长并降低程序性死亡蛋白-1 (programmed death-1, PD-1) 免疫治疗的效果<sup>[17]</sup>, 且在胶质瘤中通过抑制 FTO 可以抑制肿瘤干细胞的生长和自我更新<sup>[18]</sup>。

乳腺癌干细胞 (breast cancer stem cell, BCSC) 具有自我更新和无限增殖的能力<sup>[19]</sup>, 这些细胞表型通常以几个核心多能性因子表达为特征, 主要有 Kruppel 样因子 4 (Kruppel-like factor 4, KLF4)、八聚体结合转录因子 (octamer-binding transcription factor 4, Oct-4) 和 NANOG。ALKBH5 对缺氧诱导因子 (hypoxia inducible factor, HIF) 具有依赖性, 它在缺氧环境下表达上调, 促进 NANOG mRNA 的去甲基化, 提高了其稳定性和表达水平, 维持 BCSCs 的干性, 导致乳腺癌的转移。MDAMB231 (人乳腺癌细胞中一种病变的细胞) 中 ALKBH5 的缺失通过减少 BCSCs 的数量来降低肿瘤发生和转移至肺部的能力。同样地, 敲除 ALKBH5 基因可减少体内的 BCSCs, 抑制肿瘤的形成<sup>[20]</sup>。ALKBH5 和 METTL14 通过相互作用抑制 YTHDF3 的活性, 从而促进肿瘤血管生成, 并且 METTL14 和 ALKBH5 与 RNA 结合蛋白 HuR 构成一个正反馈环, 调节细胞周期进程、上皮间充质转化和血管生成<sup>[21]</sup>。

在乳腺癌中, FTO 可将 BNIP3 (一种 BCL-2 家族的促凋亡基因) mRNA 3'UTR 去甲基化, 通过抑制 BNIP3 来促进肿瘤的发展<sup>[22]</sup>。类似地, FTO 与 METTL3 均可作用于 Bcl-2<sup>[23]</sup>, 而 Bcl-2 家族成员已经多次被

证明与乳腺癌的发生发展有关。此外急性髓系白血病中的 METTL3<sup>[24]</sup>和上皮性卵巢癌的 ALKBH5<sup>[25]</sup>也可促进 Bcl-2 家族成员的活性。因此,作用于 m6A 蛋白或许可以达到更好的临床治疗效果。

### 3 M6A 识别蛋白在乳腺癌中的作用

M6A 识别蛋白可以识别 RNA 甲基化修饰的信息,主要由 YTH 结构域家族 YTHDF1-3 和 YTHDC1-2、核不均一核糖体蛋白家族 HNRNPC 等组成,参与 RNA 的翻译、稳定性和/或剪接。

在乳腺癌中,有研究表明 HNRNPC 有助于乳腺癌肿瘤微环境的形成,在乳腺癌细胞 MCF7 和 T47D 中抑制 HNRNPC 可以抑制细胞增殖和肿瘤生长<sup>[26]</sup>。癌症基因组谱 (TCGA) 数据分析显示,KIAA1429、YTHDF1 和 YTHDF3 在乳腺癌组织中表达上调,其表达水平与淋巴结转移密切相关<sup>[27]</sup>,预示患者预后不良。此外,YTHDF3 的表达水平是乳腺癌独立的预后因子,提示 YTHDF3 可以作为评价乳腺癌预后的标志物<sup>[28]</sup>。目前关于识别蛋白在乳腺癌中的研究相对较少,仍有很大的空间进一步探索。

### 4 M6A 甲基化修饰与乳腺癌的治疗

乳腺癌是一种高度异质性的疾病,由不同的组织学特征、潜在的分子病因和临床行为组成。探讨乳腺癌形成和发展的分子机制对于促进未来的临床诊断和治疗至关重要。越来越多的证据表明,乳腺癌的发生是一个多步骤的过程,遗传或表观遗传因素在发生发展中发挥重要作用<sup>[29]</sup>。

传统化疗方案耐药发生率高,常采用多种疗法的联合使用来提高临床治疗的效果。近年来,免疫检查点抑制剂的发现开启了恶性肿瘤治疗的新纪元,临床上以 PD-1 及其配体(programmed death ligand 1,PD-L1)为靶点的免疫检查点抑制剂已应用于多种实体瘤,并明显提高了患者的总生存率<sup>[30-31]</sup>。Han 等<sup>[32]</sup>研究发现,与野生型小鼠相比,YTHDF1 缺陷型小鼠有更强的抗肿瘤免疫应答,且阻断 PD-L1 可增强 YTHDF1 缺陷型小鼠的抗肿瘤免疫应答反应。因此,免疫检查点抑制剂疗法和 m6A 相关蛋白抑制剂的联合应用在治疗乳腺癌中有很好的发展前景。

Qian 等<sup>[33]</sup>体内体外实验证实 KIAA1429 与乳腺

癌的增殖和转移有关,同时发现了乳腺癌的一个潜在致癌靶基因细胞周期蛋白依赖激酶 1(cyclin-dependent kinase,CDK1),且 KIAA1429 可通过 m6A 甲基化修饰独立调节 CDK1,促进乳腺癌进展。CDK1 抑制剂可逆转 KIAA1429 的促肿瘤生长功能,5-氟尿嘧啶可显著降低 KIAA1429 和 CDK1 在乳腺癌细胞株上的表达,因此 KIAA1429 是乳腺癌治疗的新靶点,它提供了一种新的治疗策略,尤其是与 CDK1 抑制剂治疗相结合。

另外,针对 m6A 甲基化转移酶的靶向治疗,研究发现 METTL3 在乳腺组织和细胞中高表达,METTL3 通过靶向 Bcl-2 促进乳腺癌进展,在体内体外敲除 METTL3 可以降低甲基化水平,从而调节乳腺癌细胞的增殖和凋亡,为治疗提供了新的方向<sup>[23]</sup>。Zhang 等<sup>[20]</sup>研究发现,在缺氧条件下,ZNF217(一种 m6A 甲基转移酶抑制剂)与 ALKBH5 相互作用并抑制多能性因子 NANOG 和 KLF4 mRNA 甲基化,最终导致 KLF4 和 NANOG 表达升高,增加 BCSCs 的数量,从而促进乳腺癌发生。由于这些多能性因子的 HIF 依赖性,HIF 有可能成为新的乳腺癌治疗靶点。此外,需要进一步的研究来评估 ALKBH5 的竞争性激动剂是否可以作为针对 BCSCs 治疗的新方法。这些研究均提示 m6A 修饰在乳腺癌发生中的潜在作用机制,为其治疗提高潜在的药物靶点。

### 5 小结与展望

根据目前研究可以看出,m6A 甲基化修饰在乳腺癌中起重要作用,它能够影响乳腺癌多能干细胞的自我更新、增殖及分化过程,从而促进乳腺癌的发生发展。但目前关于 m6A 甲基化在乳腺癌缺氧诱导恶性转化、微环境塑造、转移及化疗耐药等恶性过程中的作用机制仍需进一步阐明。

此外,m6A 相关基因组靶点可被认为是乳腺癌的生物标志物、预后指标或治疗靶点。YTHDF1 表达上调可以预测不良的肝癌预后<sup>[34]</sup>,白血病中 FTO 表达的增加与化疗药物 R-2-羟基戊二酸脂(R-2-hydroxyglutarate,R-2HG)的敏感性有关<sup>[35]</sup>,靶向 METTL14 的小分子抑制剂联合标准分化诱导剂,可增强白血病患者对化疗药物的敏感性<sup>[36]</sup>。因此,研究 m6A 相关基因靶点在乳腺癌耐药机制中的作用具有重要意义。总之,在个性化医疗背景下,乳腺癌中

频繁改变的基因组靶点可以为个体化干预的发展提供理论依据。此外,根据不同患者中不同的 m6A 基因失调,全基因组分析在针对 m6A 相关基因靶点的 m6A 特异性药物研究中具有广阔的发展前景。

## 参考文献:

- [1] Fahad Ullah M. Breast cancer: current perspectives on the disease status[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1152: 51–64.
- [2] Song Y, Barry WT, Seah DS, et al. Patterns of recurrence and metastasis in BRCA1/BRCA2-associated breast cancers[J]. *Cancer*, 2020, 126(2): 271–280.
- [3] Zhang X, Yu X, Zhao Z, et al. MicroRNA-429 inhibits bone metastasis in breast cancer by regulating CrkL and MMP-9[J]. *Bone*, 2020, 130: 115139.
- [4] Kalinowski L, Saunus JM, McCart Reed AE, et al. Breast cancer heterogeneity in primary and metastatic disease[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1152: 75–104.
- [5] Xu Q, Xie W. Epigenome in early mammalian development: inheritance, reprogramming and establishment [J]. *Trends Cell Biol*, 2018, 28(3): 237–253.
- [6] Zhang W, Qu J, Liu GH, et al. The ageing epigenome and its rejuvenation[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(3): 137–150.
- [7] Fransquet PD, Wrigglesworth J, Woods RL, et al. The epigenetic clock as a predictor of disease and mortality risk: a systematic review and meta-analysis[J]. *Clin Epigenetics*, 2019, 11(1): 62.
- [8] Wang YP, Lei QY. Metabolic recoding of epigenetics in cancer[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2018, 38(1): 25.
- [9] Chen XY, Zhang J, Zhu JS. The role of m6A RNA methylation in human cancer[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 103.
- [10] Wu L, Wu D, Ning J, et al. Changes of N6-methyladenosine modulators promote breast cancer progression [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 326.
- [11] Hu BB, Wang XY, Gu XY, et al. N6-methyladenosine (m6A) RNA modification in gastrointestinal tract cancers: roles, mechanisms, and applications [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 178.
- [12] Zhou Z, Lv J, Yu H, et al. Mechanism of RNA modification N6-methyladenosine in human cancer[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 104.
- [13] Si W, Li Y, Ye S, et al. Methyltransferase 3 mediated miRNA m6A methylation promotes stress granule formation in the early stage of acute ischemic stroke [J]. *Front Mol Neurosci*, 2020, 13: 103.
- [14] Cai X, Wang X, Cao C, et al. HBXIP-elevated methyltransferase METTL3 promotes the progression of breast cancer via inhibiting tumor suppressor let-7g [J]. *Cancer Lett*, 2018, 415: 11–19.
- [15] Sun T, Wu Z, Wang X, et al. LNC942 promoting METTL14-mediated m6A methylation in breast cancer cell proliferation and progression [J]. *Oncogene*, 2020, 39(31): 5358–5372.
- [16] Chen J, Du B. Novel positioning from obesity to cancer: FTO, an m6A RNA demethylase, regulates tumour progression[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2019, 145(1): 19–29.
- [17] Yang S, Wei J, Cui YH, et al. m6A mRNA demethylase FTO regulates melanoma tumorigenicity and response to anti-PD-1 blockade[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2782.
- [18] Cui Q, Shi H, Ye P, et al. M6A RNA methylation regulates the self-renewal and tumorigenesis of glioblastoma stem cells[J]. *Cell Rep*, 2017, 18(11): 2622–2634.
- [19] Bai X, Ni J, Beretov J, et al. Cancer stem cell in breast cancer therapeutic resistance [J]. *Cancer Treat Rev*, 2018, 69: 152–163.
- [20] Zhang C, Samanta D, Lu H, et al. Hypoxia induces the breast cancer stem cell phenotype by HIF-dependent and ALKBH5-mediated m<sup>6</sup>A-demethylation of NANOG mRNA [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(14): E2047–E2056.
- [21] Panneerdoss S, Eedunuri VK, Yadav P, et al. Cross-talk among writers, readers, and erasers of m6A regulates cancer growth and progression[J]. *Sci Ad*, 2018, 4(10): eaar8263.
- [22] Niu Y, Lin Z, Wan A, et al. RNA N6-methyladenosine demethylase FTO promotes breast tumor progression through inhibiting BNIP3[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 46.
- [23] Wang H, Xu B, Shi J. N6-methyladenosine METTL3 promotes the breast cancer progression via targeting Bcl-2[J]. *Gene*, 2020, 722: 144076.
- [24] Vu LP, Pickering BF, Cheng Y, et al. The N6-methyladenosine (m6A)-forming enzyme METTL3 controls myeloid differentiation of normal hematopoietic and leukemia cells[J]. *Nat Med*, 2017, 23(11): 1369–1376.
- [25] Zhu H, Gan X, Jiang X, et al. ALKBH5 inhibited autophagy of epithelial ovarian cancer through miR-7 and BCL-2[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 163.
- [26] Wu Y, Zhao W, Liu Y, et al. Function of HNRNPC in breast cancer cells by controlling the dsRNA-induced interferon response[J]. *EMBO J*, 2018, 37(23): e99017.
- [27] Anita R, Paramasivam A, Priyadharsini JV, et al. The m6A readers YTHDF1 and YTHDF3 aberrations associated with metastasis and predict poor prognosis in breast cancer patients[J]. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(8): 2546–2554.
- [28] Liu L, Liu X, Dong Z, et al. N6-methyladenosine-related genomic targets are altered in breast cancer tissue and associated with poor survival[J]. *J Cancer*, 2019, 10(22): 5447–5459.
- [29] Pasculli B, Barbano R, Parrella P. Epigenetics of breast cancer: Biology and clinical implication in the era of precision medicine[J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 51: 22–35.
- [30] Schmid P, Chui SY, Emens LA. Atezolizumab and nab-paclitaxel in advanced triple-negative breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(10): 987–988.
- [31] Adams S, Schmid P, Rugo HS, et al. Pembrolizumab monotherapy for previously treated metastatic triple-negative breast cancer: cohort A of the phase II KEYNOTE-086 study[J]. *Ann Oncol*, 2019, 30(3): 397–404.
- [32] Han D, Liu J, Chen C, et al. Anti-tumour immunity controlled through mRNA m6A methylation and YTHDF1 in dendritic cells[J]. *Nature*, 2019, 566(7743): 270–274.
- [33] Qian JY, Gao J, Sun X, et al. KIAA1429 acts as an oncogenic factor in breast cancer by regulating CDK1 in an N6-methyladenosine-independent manner [J]. *Oncogene*, 2019, 38(33): 6123–6141.
- [34] Zhao X, Chen Y, Mao Q, et al. Overexpression of YTHDF1 is associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Biomark*, 2018, 21(4): 859–868.
- [35] Su R, Dong L, Li C, et al. R-2HG exhibits anti-tumor activity by targeting FTO/m6A/MYC/CEBPA signaling [J]. *Cell*, 2018, 172(1–2): 90–105, e23.
- [36] Weng H, Huang H, Wu H, et al. METTL14 inhibits hematopoietic stem/progenitor differentiation and promotes leukemogenesis via mRNA m6A modification[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(2): 191–205, e9.