

· 综述 ·

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2024.06.012

m⁶A 修饰在肝细胞癌药物治疗中作用研究进展

冯加其^{1,2}, 刘雄青^{1,2}, 黄鑫昱³, 刘璐⁴, 王甘露²✉

(1. 广东医科大学第一临床医学院, 广东 湛江 524023; 2. 广东医科大学深圳宝安临床医学院, 广东 深圳 518101; 3. 深圳市宝安区福永人民医院肝胆外科, 广东 深圳 518101; 4. 深圳市宝安区人民医院, 广东 深圳 518101)

【摘要】 肝细胞癌 (HCC) 患者长期生存率不佳, 药物疗效是影响其预后的重要因素。N6-甲基腺嘌呤 (m⁶A) 修饰是真核生物 RNA 中最丰富的修饰, 可通过调节与癌症相关的生物学功能来影响癌症的发生发展及药物疗效。然而, m⁶A 修饰在 HCC 药物治疗中的作用尚未完全阐明, 因此, 文章通过 m⁶A 修饰过程的 3 种调节成员 (甲基转移酶、去甲基转移酶和结合蛋白) 来论述其在 HCC 药物治疗中发挥的生物学作用, 进而提出 m⁶A 修饰调节成员可作为 HCC 预后评估的生物标志物以及具有成为治疗靶点的潜力, 为 HCC 精准医疗提供新的见解。

【关键词】 肝细胞癌; m⁶A 修饰; 药物; 系统治疗

Research progress in m⁶A methylation modification in the treatment of hepatocellular carcinoma

FENG Jiaqi^{1,2}, LIU Xiongqing^{1,2}, HUANG Xinyu³, LIU Lu⁴, WANG Ganlu²✉

(1. The First Clinical Medical College of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, China; 2. Shenzhen Baoan Clinical Medical College, Guangdong Medical University, Shenzhen 518101, China; 3. Department of Hepatobiliary Surgery, Fuyong People's Hospital, Baoan District, Shenzhen 518101, China; 4. Shenzhen Baoan District People's Hospital, Shenzhen 518101, China)
Corresponding author: WANG Ganlu, E-mail: wangganlu12@163.com

【Abstract】 The long-term survival rate of patients with hepatocellular carcinoma (HCC) is poor, and drug efficacy is an important factor affecting clinical prognosis. N6-methyladenosine (m⁶A) modification is the most abundant modification in eukaryotic RNA, which can affect the occurrence and development of HCC and drug efficacy by regulating cancer-related biological functions. However, the role of m⁶A modification in HCC drug treatment has not been fully elucidated. Therefore, the biological functions of different regulatory members of the m⁶A modification process (methyltransferase, demethyltransferase and binding protein) in HCC drug treatment were illustrated, proposing that regulatory members of the m⁶A modification process can be used as biomarkers for HCC prognosis evaluation and have the potential to become therapeutic targets and providing novel insights for HCC precision medicine.

【Key words】 Hepatocellular carcinoma; m⁶A modification; Drug; Systemic treatment

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是最常见的恶性肿瘤之一, 占有原发性肝癌患者的 75% 以上, 其发病率在全球恶性肿瘤中居第 6 位, 病死率居第 3 位^[1]。既往 HCC 的治疗手段主要为局部措施, 包括手术切除、肝移植、局部消融等。但大部分患者被发现时已处于中晚期, 无法接受根治性治疗, 5 年生存率小于 20%^[2]。近年来, 随着生物医学的进步, 系统治疗为这一类中晚期患者带来了新的曙光, 然而其总体生存率仍

然不佳^[3]。因此, 为 HCC 患者开发更有效的治疗方法刻不容缓。

随着表观遗传学研究的不断深入, RNA 修饰开始受到人们的关注, 成为近年来较为火热的研究领域。RNA 修饰中甲基化修饰是一种十分普遍的修饰, 其中 N6-甲基腺嘌呤 (N6-methyladenosine, m⁶A) 修饰已被证明是真核生物 RNA 中最丰富的修饰, 其调节成员的异常与 HCC 等多种人类恶性肿瘤有关^[4]。研究表明, HCC 中

收稿日期: 2024-03-13

基金项目: 深圳市科技计划项目 (JCYJ20230807144059002)

作者简介: 冯加其, 硕士研究生, 研究方向: 肝细胞癌的基础与临床研究, E-mail: 306635965@qq.com; 王甘露, 通信作者, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向: 肝细胞癌的基础研究, E-mail: wangganlu12@163.com

m⁶A 的总体水平及调节成员的表达均为异常，且与临床预后相关，此外，m⁶A 修饰调节成员可以上调肝脏脂肪生成基因表达，在肝病中发挥着至关重要的作用^[5]。

药物耐受或缺乏有效预后标记物是 HCC 患者长期生存率不高的主要原因，但对于 m⁶A 修饰如何影响 HCC 治疗在很大程度上仍未可知。因此，本文通过深入探索两者关系，以期寻找有效的治疗靶点，并开发新的靶向干预策略，为 HCC 患者的个性化治疗方案提供更多可能性。

1 m⁶A 修饰调节成员概述

m⁶A 修饰调节成员包括甲基转移酶、去甲基转移酶及结合蛋白^[6-7]，成员相关信息见表 1。

2 m⁶A 修饰调节成员在 HCC 治疗药物中的作用

HCC 治疗药物包括系统抗肿瘤治疗（靶向治疗、免疫治疗、化学治疗、中药治疗及基础治疗）、经导管动脉化疗栓塞（transcatheter arterial

chemoembolization, TACE）中的药物及放射性核素^[8]，以下分别进行介绍，见图 1。

2.1 m⁶A 修饰调节成员在 HCC 靶向治疗药物中的作用

2.1.1 m⁶A 修饰调节成员与索拉非尼

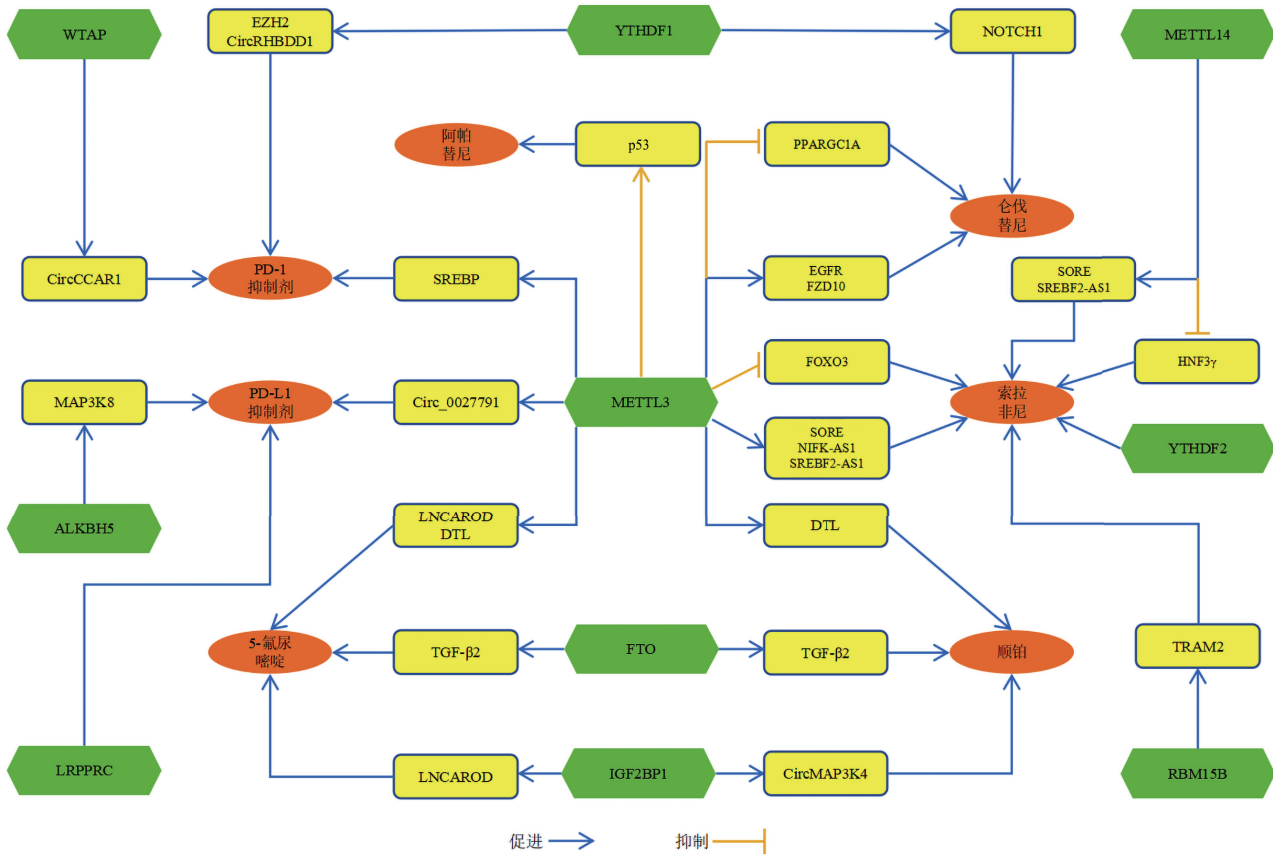
在肝癌的诊疗指南中，索拉非尼长期占据主导地位，是美国食品药品监督管理局批准的治疗晚期 HCC 的一种多靶点受体酪氨酸激酶抑制剂，可通过阻断肿瘤细胞增殖、抑制血管生成以及诱导肿瘤细胞凋亡发挥作用^[8]，然而耐药性限制其疗效。既往 Lin 等^[9]发现缺氧条件下，METTL3 降低自噬相关基因叉头框蛋白 O3（forkhead box protein O3, FOXO3）mRNA 的稳定性以增加 HCC 中索拉非尼的耐药，而过表达 FOXO3 可抑制 HCC 自噬来增强该药疗效。Xu 等^[10]发现 METTL3/14 水平增加，可通过修饰上调环状 RNA（circular RNA, circRNA）-SORE，竞争性激活 Wnt/ β -catenin 信号通路并促进 HCC 患者对索拉非尼产生耐药性。这两项研究初步表明 METTL3/14 及其介导的信号因子可能是解决索拉非尼耐药的重要靶点。随着研究不断深入，METTL3/14 通过其他途径促进索拉

表 1 m⁶A 修饰调节成员及功能简介

Table 1 Introduction to m⁶A modification modulators and their functions

类别	成员	描述	功能
甲基转移酶	WTAP	Wt1 相关蛋白	催化 RNA 腺苷酸发生 m ⁶ A 修饰并维持 m ⁶ A 甲基化的稳定性
	CBLL1	Cbl 原癌基因样 1	
	PCIF1	磷酸化 CTD 相互作用因子 1	
	RBM15/15B	RNA 结合基序蛋白 15/15B	
	METTL3/14	甲基转移酶 3/14, N6 - 腺苷甲基转移酶复合体催化亚单位	
	METTL4/5/16	甲基转移酶 4/5/16	
	ZCCHC4/13	含锌指 CCHC 型 4/13	
	KIAA1429	病毒样 m ⁶ A 甲基转移酶相关	
	去甲基转移酶	FTO	
ALKBH3/5		ALKB 同源体 3/5, α -酮戊二酸依赖型双加氧酶	
结合蛋白	EIF3	真核翻译起始因子 3	结合选择性的 m ⁶ A, 影响 RNA 剪接、定位、翻译和稳定性
	FMRP	脆性 X 智力障碍蛋白	
	SND1	含葡萄糖球菌核酸酶和 Tudor 结构域 1	
	HNRNPC/G	异质核核糖核蛋白 C/G	
	LRPPRC	富含亮氨酸的三角五肽重复序列	
	PRRC2A	富含脯氨酸的卷曲螺旋 2A	
	YTHDC1/2	YTH N6- 甲基腺苷 RNA 结合蛋白 C1/2	
	YTHDF1/2/3	YTH N6- 甲基腺苷 RNA 结合蛋白 F1/2/3	
	IGF2BP1/2/3	胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 1/2/3	
	HNRNPA2B1	异质核核糖核蛋白 A2/B1	

注：描述部分来自 GeneCards 数据库(网址：<https://www.genecards.org>)。



注：绿色表示 m⁶A 修饰调节成员，黄色表示下游信号因子，橙色表示药物。

图 1 m⁶A 修饰调节成员对 HCC 治疗耐药的作用 [9-12, 14-28, 38-41]

Figure 1 The effect of m⁶A modified members on the therapeutic resistance of HCC

非尼耐药相继被揭示。研究发现 METTL14 依赖的 m⁶A 甲基化可通过介导肝细胞核因子 3γ (hepatocyte nuclear factor 3γ, HNF3γ) 表达下调，下调的 HNF3γ 转录激活肿瘤干细胞 (cancer stem cell, CSC) 以及下调 OATP1B1 和 OATP1B3 (影响索拉非尼吸收的两种主要膜转运蛋白) 的表达而致 HCC 进展及索拉非尼耐药^[11]。相似的是，另一团队发现 METTL3 依赖的 m⁶A 甲基化调节长链非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA) NIFK-AS1 在 HCC 组织和细胞中高表达，亦可通过下调蛋白 OATP1B1 和 OATP1B3 致 HCC 患者对索拉非尼耐药^[12]。

自此，研究者们将目光集中于非编码 RNA。而后 Kong 等^[13]研究表明，HCC 中长基因间非蛋白编码 RNA-1273 (LINC01273) 与 METTL3 形成的反馈轴失调，该化合物过表达而致索拉非尼耐药性增加并促进肿瘤进展。Wu 等^[14]揭示 METTL3/14 介导 lncRNA SREBF2-AS1 启动子处的 DNA 去甲基

化和 SREBF2 的上调，亦可促进 HCC 进展及对索拉非尼耐药。这些研究进一步丰富了 METTL3/14 形成索拉非尼耐药的机制，除了上述调节成员之外，其他修饰调节成员也参与着索拉非尼的耐药，与之相关研究较少。研究证实 RBM15B 被阴阳蛋白 1 转录激活，并以 m⁶A 依赖的方式上调髓系细胞触发受体 2 mRNA 的稳定性，进而促进 HCC 细胞增殖和侵袭及对索拉非尼耐药^[15]。Liao 等^[16]研究表明热休克蛋白 90 阻碍含 STIP1 同源性和 U-box 的蛋白 1 诱导的 YTHDF2 泛素化和降解，提高了 YTHDF2 的表达进而增加 HCC 对索拉非尼耐药。综上所述，m⁶A 引起索拉非尼的耐药机制非常复杂，涉及自噬基因失活、药物转运蛋白表达减少、细胞信号通路的异常活化及 CSC 激活等，仍需对其调控网络进行深入研究。

2.1.2 m⁶A 修饰调节成员与仑伐替尼

仑伐替尼是近期被授权的一线靶向药物，与索拉非尼药理作用相似，但对 HCC 患者具有更

好的客观疗效及安全性,然而其耐药机制未完全阐明。Wang等^[17]通过诱导产生仑伐替尼抗药性HCC细胞,发现与亲代细胞相比,抗药性细胞中METTL3水平显著上调,并促进表皮生长因子受体翻译,从而引发仑伐替尼耐药。Zhang等^[18]发现,METTL3可通过m⁶A-YTHDF2依赖性机制下调过氧化物酶体增殖激活受体 γ 共激活因子1 α (PPARGC1A),该化合物及下游信号通路失调促进HCC的进展以及对仑伐替尼耐药。CSC中卷曲类受体10(frizzled class receptor 10, FZD10)是由METTL3介导的,FZD10可上调Wnt/ β -catenin和Hippo信号通路,从而促进CSC激活及致瘤性并减弱仑伐替尼的药效,而靶向FZD10或使用 β -连环蛋白抑制剂可以恢复仑伐替尼反应^[19];此外,YTHDF1亦可增强HCC的干细胞性,其通过增强NOTCH1基因表达促进CSC更新,以及对靶向药物产生耐药,而使用靶向YTHDF1的脂质纳米颗粒显著增强了仑伐替尼的疗效^[20]。因此,CSC激活至关重要,进一步研究m⁶A修饰调节成员与该激活信号轴对于减缓HCC进展转移及提高靶向药物疗效意义重大。

2.1.3 m⁶A修饰调节成员与阿帕替尼

与索拉非尼及仑伐替尼药物不同,阿帕替尼仅以血管内皮生长因子2为靶点,其药效为索拉非尼的10倍,但预后仍不乐观;研究发现联合抑制METTL3可进一步增强其疗效,p53激活剂RG7112和阿帕替尼组合减少METTL3的表达进而减少p53 mRNA的m⁶A修饰,从而增强HCC对阿帕替尼的敏感性^[21]。但目前暂无更多对于该药及其他HCC靶向药物的研究,研究人员可于未来进行相关探索,进一步提高靶向药物的使用价值。

2.2 m⁶A修饰调节成员在HCC免疫治疗药物中的作用

自2017年以来,免疫检查点抑制剂(immun checkpoint inhibitor, ICI),包括程序性细胞死亡蛋白1(programmed death-1, PD-1)/程序性细胞死亡蛋白配体1(programmed death-ligand 1, PD-L1)及细胞毒性T细胞相关抗原4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)抑制剂,已成为HCC治疗的关键组成部分,但人群选择及耐药现象成为当前难题,迫切需要寻求有效途径加以解决。

2.2.1 m⁶A修饰调节成员与ICI

肿瘤微环境(tumor micro-environment, TME)

是ICI药效的主要影响因素,m⁶A修饰单一调节成员可促进HCC免疫抑制TME形成,包括增加免疫抑制细胞、抑制免疫杀伤细胞等,从而直接引起ICI产生耐药。既往发现ALKBH5以m⁶A依赖的方式上调丝裂原活化蛋白激酶8(MAP3K8)的表达,从而介导HCC细胞的增殖转移以及PD-L1巨噬细胞的募集致PD-L1抑制剂药效下降^[22];LRPPRC亦可通过上调HCC中PD-L1表达促进肿瘤进展和免疫耐药,抑制LRPPRC观察到肿瘤减缓并改善CD4⁺和CD8⁺T细胞的浸润^[23]。近期Wang等^[24]研究表明YTHDF1通过调节增强子同源物2(EZH2)-IL-6信号轴引起抑制CD8⁺T功能障碍致PD-1抑制剂药效降低;与此类似,Pan等^[25]揭示METTL3介导甾醇调节元件结合蛋白(SREBP)裂解激活蛋白mRNA的m⁶A修饰并促进其翻译,同样损害HCC中的CD8⁺T细胞引起PD-1抑制剂耐药。此外,有学者发现circRNA可抑制ICI药物疗效,m⁶A修饰调节成员可对其调控间接引起耐药。如YTHDF1可与circRHBDD1相互作用,并加速磷酸肌醇3-激酶调节亚基1的翻译,以增强有氧糖酵解并抑制HCC的PD-1抑制剂治疗^[26]。WTAP通过结合IGF2BP3可增强circCCAR1的稳定性,并由HCC细胞以HNRNPA2B1依赖的方式进行分泌,稳定PD-1蛋白并引起CD8⁺T细胞功能障碍,进而增加PD-1抑制剂的抗性^[27]。METTL3介导circ_0027791的m⁶A修饰并稳定其表达,通过促进PD-L1的表达及M2型巨噬细胞极化,进而降低PD-L1抑制剂疗效^[28]。以上证据表明,m⁶A修饰可能是免疫逃逸的调节因子,在免疫耐药中发挥重要作用。对其进一步研究,不仅可以提高我们对HCC免疫治疗的理解,还可以为个体化免疫治疗方案的制定提供支持和指导,促进免疫治疗的长远发展和应用。

2.2.2 m⁶A修饰调节成员模型评分与ICI

ICI预后标记物及人群选择是影响其疗效的另一重要因素,m⁶A修饰调节成员所构建的预后模型及风险评分可成为潜在的免疫治疗预测因子。研究通过YTHDF1、YTHDF2、METTL3、KIAA1429和ZC3H13的表达模型构建风险评分,发现其可预测HCC预后,且风险评分与HCC患者总生存期、对索拉非尼及PD-1免疫治疗的反应呈负相关^[29]。另有研究进一步建立YTHDF1、YTHDF2、METTL3、IGF2BP3、KIAA1429和ZC3H13模型并评分,包括免疫表型评分(immunophenoscore, IPS)、IPS-CTLA4阻断剂评分、IPS-PD-1/PD-L1阻

断剂评分, 同样发现低评分的患者更适合免疫治疗, 其中 ZC3H13 的表达水平与免疫检查点显著正相关, 揭示 ZC3H13 在 ICI 治疗中发挥着关键作用^[30]。另外一些使用更多数量的 HCC 患者以及 m⁶A 修饰调节成员所构建的模型相继出现并持有同样见解。如 Liu 等^[31]、Zhao 等^[32] 使用多种 m⁶A 修饰调节成员建立模型及评分, 表明高 m⁶A 评分者总生存期较低, 低评分的 HCC 患者更受益于 ICI 药物治疗。然而, 也有研究显示与之相反的结论, 在 Du 等^[33]、Zhou 等^[34] 研究中发现高评分 HCC 患者单独使用 ICI 或两种 ICI 药物疗效更强。以上结论不一可能基于不同来源及数目的 HCC 患者、不同数量的 m⁶A 修饰调节成员所建立模型和评分, 以及不同工作者判断标准差异导致。而 m⁶A 修饰调节成员自身不仅可预测预后, 与之相关的 lncRNA 也可进行预测。一项研究鉴定出 14 个 m⁶A 相关 lncRNA 模型, 并根据风险评分将 HCC 患者分为高低组, 发现低风险组的 IPS、IPS-PD-1/PD-L1 阻断剂、IPS-CTLA4 阻断剂评分显著较高^[35]。更进一步研究鉴定出 82 个 m⁶A 相关 lncRNA, 基于此将 HCC 患者分为 3 种亚型, 发现 C1 亚类表现出活跃的免疫反应以及对 ICI 药物的高敏感性, 预后最佳; C2 亚类表现出高代谢活性和无免疫浸润状态, 预后良好; C3 亚类与衰竭的免疫环境及不良预后有关^[36]。总之, 这些研究表明 m⁶A 修饰在重塑多样化和复杂的 TME 中发挥了不可忽视的作用, 继续量化 HCC 的 m⁶A 修饰模式可增强对 TME 特征的理解, 以便对患者危险分层并向精准治疗方向发展。

2.3 m⁶A 修饰调节成员在 HCC 化学及放射治疗药物中的作用

若患者不适合或不耐受靶向或免疫治疗, 化学及放射治疗也许能带来一定帮助。然而化学治疗药物对 HCC 患者的疗效较低, 持续时间有限, 且耐药现象较常发生, 因此很多药物的临床价值有限。

2.3.1 m⁶A 修饰调节成员与化学治疗药物

HCC 常见的化学治疗药物包括顺铂、5-氟尿嘧啶 (5-FU)、阿霉素及奥沙利铂等^[8], m⁶A 修饰调节成员对其作用呈两面性。如 Wang 等^[37] 发现 ZC3H13 通过 m⁶A-丙酮酸激酶 M2 型 (pyruvate kinase M2, PKM2) 途径抑制糖酵解以减慢 HCC 的进展, 可加强 HCC 细胞对顺铂敏感性。而 Duan 等^[38] 发现 IGF2BP1 识别并促进 circMAP3K4 翻

译, 其产物可以保护 HCC 细胞免受顺铂暴露, 致使 HCC 患者的预后更差。以上研究揭示不同的 m⁶A 修饰调节成员可以产生相反的作用, 但具体机制尚不清楚, 需要进一步探索。另一项研究发现 METTL3/IGF2BP1 介导的 m⁶A 修饰参与 LNCAROD 稳定性并维持其上调, 可在缺氧微环境下诱导 PKM2 增加, 从而增加 HCC 细胞有氧糖酵解以增加 5-FU 耐药性^[39]。这表明同一修饰调节成员对不同的药物会产生相似的作用, 更加证明 HCC 发生发展的复杂性及难治性。而这些研究局限于单一药物, 无法同时进行药物之间比较, 有学者进一步对此研究, 补充了相关结论。研究报道 HNRNP 家族成员 RALY-RNA 结合蛋白样基因, 可与 FTO 协同上调转化生长因子-β2 (transforming growth factor-β2, TGF-β2) mRNA 的稳定性, 在其研究中使用顺铂和 5-FU 以不同浓度处理后, 发现 RALY-RNA 结合蛋白样基因过表达细胞的细胞活力显著高于对照, 从而增加 HCC 细胞的化学治疗耐药性^[40]。另一项研究发现 METTL3 在高嘌呤合成代谢的 HCC 细胞中可上调无齿 E3 泛素蛋白连接酶同系物 (DTL) 促进 HCC 生长、引起 DNA 损伤修复功能障碍, 并增加顺铂及 5-FU 耐药性^[41]。

m⁶A 修饰调节成员及其相关基因构建的预后模型不仅可预测 ICI 疗效, 在化学治疗中亦可发挥类似功能。RBM15、LRPPRC、YTHDC2、IGFBP2 被用于建立模型, 该模型可预测 HCC 患者对 TACE 治疗的反应, 并且研究中还开发了该模型的内源性 RNA 网络, 进一步揭示了模型的分子机制^[42]。另一项研究采用 m⁶A 相关血管生成基因构建预后模型并定义风险组, 发现与低危组患者相比, 高危组的 HCC 患者预后较差, 且准确度高于临床指标, 在其研究中进行药物筛选发现阿霉素在高危组更敏感, 奥沙利铂在低危组更有效^[43]。综上, m⁶A 修饰调节成员与 HCC 常见化学治疗药物关系繁杂, 在不同情况下采取相对应的靶向药物进行抑制, 才能增强该药疗效以及减少药物副作用, 实现更加精准的治疗目标。

2.3.2 m⁶A 修饰调节成员与放射治疗

HCC 放射治疗包括内照射及外照射, 内照射使用 ⁹⁰钇、¹³¹碘、碘化油等核素药物, 外照射仅采用辐射治疗^[8]。研究显示 HCC 中 ALKBH5 上调, 介导单核细胞募集和 M2 型巨噬细胞极化, 形成正反馈促进肝纤维化并降低放射治疗敏感性, 揭示 ALKBH5 具有 TME 调节因子和放射增敏靶点的双

重作用^[44]。其他消化道肿瘤，如胃癌靶向 WTAP，胰腺癌靶向 METTL3 或 HNRNPC，可增加放射治疗敏感性^[45]；然而目前关于 m⁶A 修饰与 HCC 放射敏感性的研究较少且不够详细，因此需要进行深入研究，以确定更多 m⁶A 放射增敏靶点。

2.4 m⁶A 修饰调节成员在 HCC 中药及基础治疗药物中的作用

2.4.1 m⁶A 修饰调节成员与中药药物

近年来，中药活性成分调控 m⁶A 修饰调节成员治疗 HCC 的潜力已被医学界认可。丹参在肝癌中药治疗中发挥重要功能，其有效成分之一丹参酮 II_A，被证明可上调 METTL14 依赖的 m⁶A 修饰，增加促凋亡蛋白表达同时降低抑凋亡蛋白表达，从而抑制 HCC^[46]；另外，还有诸多中药的抗癌功效已在治疗应用处进行归纳总结。

2.4.2 m⁶A 修饰调节成员与基础药物

HCC 患者往往伴随着肝炎、肝纤维化、肝硬化等基础肝病，并因一系列抗肿瘤治疗加重上述肝损伤。从肝炎到肝硬化再到 HCC 的致病过程涉及 m⁶A 的调节，其中 HBx 蛋白是 HBV 致癌潜力的主要因素，通过向肿瘤抑制因子添加 m⁶A 修饰来发挥其促肿瘤潜力，研究发现抑制 FTO、ALKBH5 显著减少 HBV 蛋白的产生，而抑制 METTL3、METTL14、YTHDF2 和 YTHDF3 会增加 HBV 蛋白水平^[47]。对以上 m⁶A 修饰调节成员进行靶向和/或联合抗病毒药物对于进一步减少病毒复制具有极大潜力。一些靶向 m⁶A 修饰调节成员对肝病发挥治疗作用的药物也已被验证^[48-49]：如甜菜碱对非酒精性脂肪性肝病有保护作用，部分原因是通过降低 FTO 的表达和肝脏 m⁶A 水平介导的；苓桂术甘汤通过降低细胞因子信号传导抑制因子 2 的 m⁶A 水平来降低其表达，成为改善非酒精性脂肪性肝病的有效配方；膳食姜黄素通过调节 METTL3、METTL14、FTO、ALKBH5 和 YTHDF2 表达，从而改善脂多糖诱导的肝损伤和脂质代谢失调；艾塞那肽、甲氯芬酸、恩他卡彭为 FTO 抑制剂，可改善肝病患者的肝脂肪变性，减轻脂肪量。总之，m⁶A 修饰在 HCC 的发生和发展中起着重要作用，但关于 m⁶A 修饰与代谢性或病毒性肝病的研究仍处于起步阶段，迫切需要大量的探索，根据 HCC 患者的病因和发病机制制定治疗方案，将更加优化个体化治疗。

3 m⁶A 修饰调节成员在 HCC 治疗中的应用

m⁶A 修饰与 HCC 的发生发展、治疗及预后密切相关，异常的 m⁶A 调节成员已被确定为新型抗癌药物靶点，在此简要进行阐述。

3.1 天然药物

天然药物即为中药，与化学药物相比，这些药物的活性成分在具有疗效的基础上毒性相对较低，对于身体衰弱的 HCC 患者更为适用，因此开发其抗癌潜力很有必要。目前研究已揭示黄芩苷可通过调节 METTL3/m⁶A/HKDC1 轴抑制 HCC 的进展^[50]；龙血竭乙醇提取物可通过下调 METTL3 表达及降低 METTL3 与凋亡抑制基因 Survivin mRNA 的结合率，从而发挥抗 HCC 作用^[51]；槲皮素已被鉴定为 METTL3 抑制剂，它可以填充 S-腺苷蛋氨酸的腺苷部分，降低其酶活性，从而抑制 HCC 细胞增殖^[52]。白藜芦醇可通过降低 YTHDF2 表达水平进而调控肝癌细胞的脂质和能量代谢，抑制 HCC 增殖^[53]。大黄酸为第一个确定的 FTO 抑制剂，与阿霉素相互作用可进一步减低耗氧率，抑制线粒体能量代谢而发挥协同抗 HCC 作用^[54]。人参皂苷 Rh2 具有广泛的抗肿瘤效果，通过影响甲基转移酶 ZC3H13/CBLL1 的核定位，降低 IGFBP1 表达而抑制肿瘤细胞生长^[55]；黄连碱可通过促进 IGF2BP1 泛素化抑制 HCC 发展和转移^[56]。葫芦素 B 可以靶向 IGF2BP1 发挥变构抑制作用，从而诱导 HCC 细胞凋亡、增加免疫细胞浸润并抑制 PD-L1 表达提高 ICI 疗效^[57]。

3.2 合成药物

合成药物经历了从单纯化学合成到将人工智能和化学合成集成到药物领域的现代技术，并且人工智能可能在未来持续引领药物研发。ALK-04 为靶向 ALKBH5 的小分子抑制剂，可通过调节肿瘤浸润淋巴细胞改善免疫抑制 TME，将其与 ICI 药物联合应用可缓解耐药，增强多种癌症的免疫疗效^[58]。Huang 等^[59]于 2019 年开发了 2 种有前景的 FTO 抑制剂，即 FB23 和 FB23-2，并指出 FB23-2 对急性髓性白血病细胞有明显的抑瘤作用；而后研究人员通过人工纳米平台，将 FB23-2 和肿瘤相关抗原递送到肿瘤浸润树突状细胞（DC）中，发现其可以促进 DC 成熟及 CD8⁺T 细胞浸润，从而抑制 HCC 细胞增殖并提高 ICI 疗效^[60]。STM2457

是一种高效、选择性的 METTL3 抑制剂，可增强 HCC 对仑伐替尼的敏感性^[17]。纳米颗粒小干扰 RNA，为一种新型 METTL3 靶向药物，其联合 PD-1 抑制剂可协同激活 CD8⁺T 细胞并介导 HCC 消退^[25]。

4 结论与展望

越来越多的证据表明 m⁶A 修饰对 HCC 的治疗及预后具有重要意义。m⁶A 修饰调节成员在 HCC 药物治疗中起着至关重要的作用，我们可以通过现有或研发更新的药物靶向失调的 m⁶A 修饰调节成员，以及将其与 HCC 治疗药物进行联合应用均具有可观的潜力。但目前 m⁶A 修饰在 HCC 诊断和治疗中的应用仍处于早期阶段，以下问题有待进一步研究：① m⁶A 修饰调节成员间关系错综复杂，其修饰过程动态可逆，在不同研究中甚至显示作用相互矛盾，如何明确三者功能需要进一步探索；② m⁶A 修饰调节成员对 HCC 治疗药物主要产生抑制作用，但在某些情况下亦可表现出“双刃剑”功效，需要深入探索相关机制并细致分类以便更好利用；③ 本文列举靶向失调的 m⁶A 调节成员药物可能冰山一角，其特异性差及不良反应大等缺点亦不容忽视，将其与抗肿瘤药物联合应用可能发挥更大潜力，期待在未来研究中找到更优药物或实现老药新用。相信将会有更多关于 HCC 发生发展的调控机制和治疗靶点被开发，以造福更多的患者。

参 考 文 献

- [1] RUMGAY H, FERLAY J, MARTEL C D, et al. Global, regional and national burden of primary liver cancer by subtype [J]. *Eur J Cancer*, 2022, 161 : 108-118. DOI: 10.1016/j.ejca.2021.11.023.
- [2] 段建平, 杜镭, 宋霆, 等. 甲胎蛋白、AFP-L3% 和 DCP 在 HBV 相关肝细胞癌早期诊断中的临床价值 [J]. *新医学*, 2023, 54 (8) : 564-568. DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2023.08.007.
DUAN J P, DU L, SONG T, et al. Clinical value of alpha-fetoprotein: alpha-fetoprotein-L3 isoform ratio and des- γ -carboxyprothrombin in early diagnosis of HBV-related hepatocellular carcinoma [J]. *J New Med*, 2023, 54 (8) : 564-568. DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2023.08.007.
- [3] ALSHAREEFY Y, SHEN C Y, PREKASH R J. Exploring the molecular pathogenesis, diagnosis and treatment of fibrolamellar hepatocellular carcinoma: a state of art review of the current literature [J]. *Pathol Res Pract*, 2023, 248 : 154655. DOI: 10.1016/j.prp.2023.154655.
- [4] HUANG H, BAI Y, LU X, et al. N6-methyladenosine associated prognostic model in hepatocellular carcinoma [J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8 (10) : 633. DOI: 10.21037/atm-20-2894.
- [5] WANG S, GAO S, YE W, et al. The emerging importance role of m⁶A modification in liver disease [J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2023, 162 : 114669. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.114669.
- [6] LIU L, LI H, HU D, et al. Insights into N6-methyladenosine and programmed cell death in cancer [J]. *Mol Cancer*, 2022, 21 (1) : 32. DOI: 10.1186/s12943-022-01508-w.
- [7] QU N, BO X, LI B, et al. Role of N6-methyladenosine (m⁶A) methylation regulators in hepatocellular carcinoma [J]. *Front Oncol*, 2021, 11 : 755206. DOI: 10.3389/fonc.2021.755206.
- [8] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗指南 (2022 年版) [J]. *中国实用外科杂志*, 2022, 42 (3) : 241-273. DOI: 10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2022.03.01. Medical Administration Bureau of National Health Commission of the People's Republic of China. Standardization for diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma (2022 edition) [J]. *Chin J Pract Surg*, 2022, 42 (3) : 241-273. DOI: 10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2022.03.01.
- [9] LIN Z, NIU Y, WAN A, et al. RNA m⁶A methylation regulates sorafenib resistance in liver cancer through FOXO₃-mediated autophagy [J]. *EMBO J*, 2020, 39 (12) : e103181. DOI: 10.15252/embj.2019103181.
- [10] XU J, WAN Z, TANG M, et al. N⁶-methyladenosine-modified CircRNA-SORE sustains sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma by regulating β -catenin signaling [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19 (1) : 163. DOI: 10.1186/s12943-020-01281-8.
- [11] ZHOU T, LI S, XIANG D, et al. m⁶A RNA methylation-mediated HNF₃ γ reduction renders hepatocellular carcinoma dedifferentiation and sorafenib resistance [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5 (1) : 296. DOI: 10.1038/s41392-020-00299-0.
- [12] CHEN Y T, XIANG D, ZHAO X Y, et al. Upregulation of lncRNA NIFK-AS1 in hepatocellular carcinoma by m⁶A methylation promotes disease progression and sorafenib resistance [J]. *Hum Cell*, 2021, 34 (6) : 1800-1811. DOI: 10.1007/s13577-021-00587-z.
- [13] KONG H, SUN J, ZHANG W, et al. Long intergenic non-protein coding RNA 1273 confers sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma via regulation of methyltransferase 3 [J]. *Bioengineered*, 2022, 13 (2) : 3108-3121. DOI: 10.1080/21655979.2022.2025701.
- [14] WU X, ZENG M, WEI Y, et al. METTL3 and METTL14-mediated N⁶-methyladenosine modification of SREBF2-AS1 facilitates hepatocellular carcinoma progression and sorafenib resistance through DNA demethylation of SREBF2 [J]. *Sci Rep*, 2024, 14 (1) : 6155. DOI: 10.1038/s41598-024-55932-7.
- [15] TAN C, XIA P, ZHANG H, et al. YY1-targeted RBM15B

- promotes hepatocellular carcinoma cell proliferation and sorafenib resistance by promoting TRAM2 expression in an m⁶A-dependent manner[J]. *Front Oncol*, 2022, 12 : 873020. DOI: 10.3389/fonc.2022.873020.
- [16] LIAO Y, LIU Y, YU C, et al. HSP90 β impedes STUB1-induced ubiquitination of YTHDF2 to drive sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma[J]. *Adv Sci*, 2023, 10 (27) : e2302025. DOI: 10.1002/advs.202302025.
- [17] WANG L, YANG Q, ZHOU Q, et al. METTL3-m⁶A-EGFR-axis drives lenvatinib resistance in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2023, 559 : 216122. DOI: 10.1016/j.canlet.2023.216122.
- [18] ZHANG Q, XIONG L, WEI T, et al. Hypoxia-responsive PPAR γ C1A/BAMBI/ACSL5 axis promotes progression and resistance to lenvatinib in hepatocellular carcinoma[J]. *Oncogene*, 2023, 42 (19) : 1509-1523. DOI: 10.1038/s41388-023-02665-y.
- [19] WANG J, YU H, DONG W, et al. N⁶-methyladenosine-mediated up-regulation of FZD10 regulates liver cancer stem cells' properties and lenvatinib resistance through WNT/ β -catenin and hippo signaling pathways[J]. *Gastroenterology*, 2023, 164 (6) : 990-1005. DOI: 10.1053/j.gastro.2023.01.041.
- [20] ZHANG X, SU T, WU Y, et al. N⁶-methyladenosine reader YTHDF1 promotes stemness and therapeutic resistance in hepatocellular carcinoma by enhancing NOTCH1 expression[J]. *Cancer Res*, 2024, 84 (6) : 827-840. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-23-1916.
- [21] KE W, ZHANG L, ZHAO X, et al. p53 m⁶A modulation sensitizes hepatocellular carcinoma to apatinib through apoptosis[J]. *Apoptosis*, 2022, 27 (5/6) : 426-440. DOI: 10.1007/s10495-022-01728-x.
- [22] YOU Y, WEN D, ZENG L, et al. ALKBH5/MAP3K8 axis regulates PD-L1+ macrophage infiltration and promotes hepatocellular carcinoma progression[J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18 (13) : 5001-5018. DOI: 10.7150/ijbs.70149.
- [23] WANG H, TANG A, CUI Y, et al. LRPPRC facilitates tumor progression and immune evasion through upregulation of m⁶A modification of PD-L1 mRNA in hepatocellular carcinoma[J]. *Front Immunol*, 2023, 14 : 1144774. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1144774.
- [24] WANG L, ZHU L, LIANG C, et al. Targeting N⁶-methyladenosine reader YTHDF1 with siRNA boosts antitumor immunity in NASH-HCC by inhibiting EZH2-IL-6 axis[J]. *J Hepatol*, 2023, 79 (5) : 1185-1200. DOI: 10.1016/j.jhep.2023.06.021.
- [25] PAN Y, CHEN H, ZHANG X, et al. METTL3 drives NAFLD-related hepatocellular carcinoma and is a therapeutic target for boosting immunotherapy[J]. *Cell Rep Med*, 2023, 4 (8) : 101144. DOI: 10.1016/j.xcrm.2023.101144.
- [26] CAI J, CHEN Z, ZHANG Y, et al. CircRHBDD1 augments metabolic rewiring and restricts immunotherapy efficacy *via* m⁶A modification in hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2022, 24 : 755-771. DOI: 10.1016/j.omto.2022.02.021.
- [27] HU Z, CHEN G, ZHAO Y, et al. Exosome-derived circCCAR1 promotes CD8⁺T-cell dysfunction and anti-PD1 resistance in hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Cancer*, 2023, 22 (1) : 55. DOI: 10.1186/s12943-023-01759-1.
- [28] YU F, FANG P, FANG Y, et al. Circ_0027791 contributes to the growth and immune evasion of hepatocellular carcinoma *via* the miR-496/programmed cell death ligand 1 axis in an m⁶A-dependent manner[J]. *Environ Toxicol*, 2024. DOI: 10.1002/tox.24188.
- [29] JIANG H, NING G, WANG Y, et al. Identification of an m⁶A-related signature as biomarker for hepatocellular carcinoma prognosis and correlates with sorafenib and anti-PD-1 immunotherapy treatment response[J]. *Dis Markers*, 2021, 2021 : 5576683. DOI: 10.1155/2021/5576683.
- [30] XU Q, XU H, DENG R, et al. Landscape of prognostic m⁶A RNA methylation regulators in hepatocellular carcinoma to aid immunotherapy[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9 : 669145. DOI: 10.3389/fcell.2021.669145.
- [31] LIU F, ZHANG X, LIU Z, et al. M⁶A modifier-mediated methylation characterized by diverse prognosis, tumor microenvironment, and immunotherapy response in hepatocellular carcinoma[J]. *J Oncol*, 2022, 2022 : 2513813. DOI: 10.1155/2022/2513813.
- [32] ZHAO K, WEI B, ZHANG Y, et al. M⁶A regulator-mediated immune infiltration and methylation modification in hepatocellular carcinoma microenvironment and immunotherapy[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13 : 1052177. DOI: 10.3389/fphar.2022.1052177.
- [33] DU Y, MA Y, ZHU Q, et al. An m⁶A-related prognostic biomarker associated with the hepatocellular carcinoma immune microenvironment[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12 : 707930. DOI: 10.3389/fphar.2021.707930.
- [34] ZHOU D, WANG Y, WEI W, et al. m⁶A regulator-mediated methylation modification highlights immune infiltration patterns for predicting risk in hepatocellular carcinoma[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2023, 149 (7) : 3661-3680. DOI: 10.1007/s00432-022-04255-z.
- [35] SONG D, TIAN Y, LUO J, et al. An N⁶-methyladenosine-associated lncRNA signature for predicting clinical outcome and therapeutic responses in hepatocellular carcinoma[J]. *Ann Transl Med*, 2022, 10 (8) : 464. DOI: 10.21037/atm-22-1583.
- [36] XIE X, LIANG H, RUAN Q, et al. Comprehensive analysis of N⁶-methyladenosine-related lncRNAs reveals distinct hepatocellular carcinoma subtypes with immunotherapeutic implications[J]. *Am J Transl Res*, 2022, 14 (9) : 6504-6520.
- [37] WANG Q, XIE H, PENG H, et al. ZC3H13 inhibits the progression of hepatocellular carcinoma through m⁶A-PKM2-mediated glycolysis and enhances chemosensitivity[J]. *J Oncol*, 2021, 2021 : 1328444. DOI: 10.1155/2021/1328444.
- [38] DUAN J L, CHEN W, XIE J J, et al. A novel peptide encoded by N⁶-methyladenosine modified circMAP3K4 prevents apoptosis in hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Cancer*, 2022, 21 (1) :

93. DOI: 10.1186/s12943-022-01537-5.
- [39] JIA G, WANG Y, LIN C, et al. LNCAROD enhances hepatocellular carcinoma malignancy by activating glycolysis through induction of pyruvate kinase isoform PKM2 [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40 (1): 299. DOI: 10.1186/s13046-021-02090-7.
- [40] WANG X, WANG J, TSUI Y M, et al. RALYL increases hepatocellular carcinoma stemness by sustaining the mRNA stability of TGF- β 2 [J]. *Nat Commun*, 2021, 12 (1): 1518. DOI: 10.1038/s41467-021-21828-7.
- [41] HUNG M H, CHANG C W, WANG K C, et al. Purine anabolism creates therapeutic vulnerability in hepatocellular carcinoma through m⁶A-mediated epitranscriptomic regulation [J]. *Hepatology*, 2023, 78 (5): 1462-1477. DOI: 10.1097/HEP.000000000000420.
- [42] HUANG D, HUANG D. Relationship between M⁶A methylation regulator and prognosis in patients with hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial chemoembolization [J]. *Heliyon*, 2022, 8 (10): e10931. DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e10931.
- [43] QU X, ZHANG L, LI S, et al. m⁶A-related angiogenic genes to construct prognostic signature, reveal immune and oxidative stress landscape, and screen drugs in hepatocellular carcinoma [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 8301888. DOI: 10.1155/2022/8301888.
- [44] 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 [J]. *Clin Transl Med*, 2023, 13 (2): e1198. DOI: 10.1002/ctm2.1198.
- [45] ZHANG Y, GU W, SHAO Y. The therapeutic targets of N⁶-methyladenosine (m⁶A) modifications on tumor radioresistance [J]. *Discov Oncol*, 2023, 14 (1): 141. DOI: 10.1007/s12672-023-00759-3.
- [46] 徐鑫. 丹参酮 II A 通过 METTL14 介导 miR-125a-5p 促进肝癌细胞凋亡的作用机制研究 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2020.
- XU X. Study on the mechanism of tanshinone II A promoting hepatocellular carcinoma cell apoptosis via METTL14-mediated MiR-125a-5p [D]. Shanghai: Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 2020.
- [47] KOSTYUSHEVA A, BREZGIN S, GLEBE D, et al. Host-cell interactions in HBV infection and pathogenesis: the emerging role of m⁶A modification [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2021, 10 (1): 2264-2275. DOI: 10.1080/22221751.2021.2006580.
- [48] YANG L, TIAN S, ZHENG X, et al. N⁶-methyladenosine RNA methylation in liver diseases: from mechanism to treatment [J]. *J Gastroenterol*, 2023, 58 (8): 718-733. DOI: 10.1007/s00535-023-02008-4.
- [49] LU J, QIAN J, YIN S, et al. Mechanisms of RNA N⁶-methyladenosine in hepatocellular carcinoma: from the perspectives of etiology [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 1105. DOI: 10.3389/fonc.2020.01105.
- [50] JIANG H, YAO Q, AN Y, et al. Baicalin suppresses the progression of type 2 diabetes-induced liver tumor through regulating METTL3/m⁶A/HKDC1 axis and downstream p-JAK2/STAT1/cleaved Capase3 pathway [J]. *Phytomedicine*, 2022, 94: 153823. DOI: 10.1016/j.phymed.2021.153823.
- [51] ZHANG L, KE W, ZHAO X, et al. Resina Draconis extract exerts anti-HCC effects through METTL3-m6A-Survivin axis [J]. *Phytother Res*, 2022, 36 (6): 2542-2557. DOI: 10.1002/ptr.7467.
- [52] DU Y, YUAN Y, XU L, et al. Discovery of METTL3 small molecule inhibitors by virtual screening of natural products [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 878135. DOI: 10.3389/fphar.2022.878135.
- [53] 李毅. 白藜芦醇对肝脏脂代谢和能量代谢及 RNA 甲基化修饰影响的研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2019.
- LI Y. Study of resveratrol on liver lipid metabolism, energy metabolism and RNA methylation modification [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2019.
- [54] WU L, LIU X, CAO K X, et al. Synergistic antitumor effects of Rhein and doxorubicin in hepatocellular carcinoma cells [J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121 (10): 4009-4021. DOI: 10.1002/jcb.27514.
- [55] HU C, YANG L, WANG Y, et al. Ginsenoside Rh2 reduces m6A RNA methylation in cancer via the KIF26B-SRF positive feedback loop [J]. *J Ginseng Res*, 2021, 45 (6): 734-743. DOI: 10.1016/j.jgr.2021.05.004.
- [56] 范金花. 黄连碱通过促进 IGF2BP1 泛素化抑制肝细胞癌增殖和转移的机制研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2022.
- FAN J H. The mechanism of coptisine inhibiting the proliferation and metastasis of hepatocellular carcinoma by promoting the ubiquitination of IGF2BP1 [D]. Chongqing: Southwest University, 2022.
- [57] LIU Y, GUO Q, YANG H, et al. Allosteric regulation of IGF2BP1 as a novel strategy for the activation of tumor immune microenvironment [J]. *ACS Cent Sci*, 2022, 8 (8): 1102-1115. DOI: 10.1021/acscentsci.2c00107.
- [58] LI N, KANG Y, WANG L, et al. ALKBH5 regulates anti-PD-1 therapy response by modulating lactate and suppressive immune cell accumulation in tumor microenvironment [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117 (33): 20159-20170. DOI: 10.1073/pnas.1918986117.
- [59] HUANG Y, SU R, SHENG Y, et al. Small-molecule targeting of oncogenic FTO demethylase in acute myeloid leukemia [J]. *Cancer Cell*, 2019, 35 (4): 677-691.e10. DOI: 10.1016/j.ccell.2019.03.006.
- [60] XIAO Z, LI T, ZHENG X, et al. Nanodrug enhances post-ablation immunotherapy of hepatocellular carcinoma via promoting dendritic cell maturation and antigen presentation [J]. *Bioact Mater*, 2023, 21: 57-68. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2022.07.027.

(责任编辑: 杨江瑜)