



RNA 修饰相互作用的分子机制及其在肿瘤诊疗中的作用

方嘉雯¹⁾ 柘 钊¹⁾ 徐玲婷¹⁾ 李林海^{1)*} 肖 斌^{2)*}

(¹⁾ 广州医科大学附属清远医院 (清远市人民医院) 检验医学部, 清远 511518; ²⁾ 南方医科大学中西医结合医院检验科, 广州 510315)

摘要 RNA 修饰是一类发生在 RNA 上的转录后化学修饰形式, 它通过多种途径调控 RNA 稳定性以及翻译效率, 进而影响蛋白质的表达水平, RNA 修饰广泛参与细胞增殖、分化、凋亡、侵袭转移等多种关键生物学进程。不同类型的 RNA 修饰之间存在着多种复杂的关联机制, 包括协同增效、负向调控、竞争占位、功能串扰等, 从而构成了复杂的“RNA 修饰-RNA 修饰”相互作用网络。RNA 修饰酶在信号通路中存在上下游的承接关系, 或在平行通路的关键节点存在交叉重叠, 多种 RNA 修饰酶通过共享调控蛋白或形成复合物等方式形成复杂的调控架构, 是介导并深刻影响 RNA 修饰相互作用的直接原因。本综述系统总结了不同类型 RNA 修饰之间直接或间接的相互作用机制, 介绍了基于 RNA 修饰相互作用的创新评分体系和疾病预测模型, 并在多种疾病背景下发现了 RNA 修饰相互作用的下游核心信号轴, 从而深入剖析 RNA 修饰相互作用在疾病诊断、治疗靶点开发等临床应用层面的潜在价值, 为解析 RNA 修饰在细胞生物学中的多维调控功能提供重要的理论支撑。RNA 修饰的相互作用揭示了 RNA 在转录后调控层面上的复杂性, 更为阐明 RNA 修饰酶对特定底物的选择性修饰机制提供了新的思路。

关键词 表观遗传, RNA 修饰, RNA 修饰酶, RNA 修饰相互作用, m6A, 肿瘤诊疗

中图分类号 Q75, Q52

DOI: 10.3724/j.pibb.2025.0052

CSTR: 32369.14.pibb.20250052

RNA 修饰广泛存在于多种生命形式中, 它不仅精确调控 RNA 的衰变、剪接、翻译、细胞内定位、稳定性及周转等核心分子过程, 还通过影响 RNA 与 RNA 结合蛋白 (RNA binding proteins, RBPs) 的相互作用, 极大地丰富了遗传信息的多样性^[1-2]。RNA 修饰可以分为甲基化修饰与非甲基化修饰两类^[3-4]。甲基化修饰约占 RNA 修饰数量的 2/3, 6-甲基腺嘌呤 (N6-methyladenosine, m6A) 因其在 mRNA 中的高修饰丰度而备受瞩目, 成为 RNA 修饰领域的研究焦点^[5-6]。此外, 假尿嘧啶 (pseudouridine, ψ)、次黄嘌呤 (hypoxanthine, I) 和乙酰化修饰 N4-乙酰胞苷 (N4-acetylcytidine, ac4C) 等非甲基化修饰也在 RNA 生物学中发挥着不可替代的作用^[7-9]。

RNA 修饰通过调节 RNA 二级结构构象及其与 RBPs 的相互作用, 形成了复杂的调控网络, 从而广泛影响 RNA 的剪接、输出、亚细胞定位、翻译效率和稳定性。这种调节机制贯穿于神经系统发

育、免疫应答调节、细胞命运决定、疾病发生发展等进程^[10-14]。可逆性是 RNA 修饰的核心特征, 这一平衡由“写入酶 (writer)”、“擦除酶 (eraser)”及“阅读酶 (reader)”协作维系^[15]。写入酶、阅读酶和擦除酶在不同组织和生物学进程的动态变化, 共同维持 RNA 修饰的平衡^[16]。RNA 表观遗传通过可逆的 RNA 修饰调控 RNA 代谢与功能, 而不同 RNA 修饰类型间的相互作用提升了网络的复杂性。RNA 修饰相互作用通过协同或竞争调控 RNA 代谢, 介导疾病发生发展^[5, 17]。不同的 RNA 修饰酶之间也存在着串扰、协同、竞争等相互作用关系, 这些相互作用如同准确的分子开关, 调节着 RNA 修饰的开启状态与修饰程度。解析 RNA 修饰的相互作用不仅能够揭示疾病中修饰稳

* 通讯联系人。

肖斌 Tel: 13611413216, E-mail: xiaobin2518@163.com

李林海 Tel: 18818857232, E-mail: mature303@126.com

收稿日期: 2025-02-05, 接受日期: 2025-06-20

态失衡的分子基础, 更为 mRNA 药物开发提供了新思路。

本综述旨在揭示多种类型 RNA 修饰之间的相互作用网络, 总结 RNA 修饰及其 RNA 修饰酶之间的相互作用机制并介绍多种 RNA 修饰协同特征的量化评分体系与疾病预测模型, 探讨 RNA 修饰相互作用在疾病诊断、治疗靶点开发中的应用潜力, 全面展现其对未来生物医学研究的深远影响。

1 不同RNA修饰之间的相互作用

1.1 RNA修饰相互作用的发现和分类

RNA 修饰相互作用的核心概念, 最初由 Xiang 等^[18]在探索 m6A 修饰与腺苷到次黄嘌呤编辑 (adenosine-to-inosine editing, A-to-I) 间的相互作用机制时确立。该研究揭示了 RNA 修饰相互作用的一种模式, 即一种 RNA 修饰酶通过调控另一种 RNA 修饰酶的活性和表达水平, 从而在两种酶关联的 RNA 修饰之间建立起分子纽带。后续研究不断拓宽并深化了这一领域的认知边界, 揭示了 RNA 修饰之间更为多元、复杂的相互作用类型及其背后的分子机制^[19]。根据 RNA 修饰相互作用的部位和 RNA 类型, 可以将其分为 3 类: a. 发生于同一 RNA 同种碱基上的两种 RNA 修饰的相互作用; b. 发生于同一 RNA 不同碱基上的两种 RNA 修饰的相互作用; c. 发生于不同 RNA 上的两种 RNA 修饰的相互作用 (图 1)。

1.2 同一RNA同种碱基上的两种RNA修饰的相互作用

在 RNA 表观遗传调控领域, 同一 RNA 分子的同种碱基上发生的双重修饰相互作用依据空间拓扑特征划分为两种基础范式^[20]。第一种为同位点竞争性修饰模式, 当两种化学修饰基团靶向同一碱基的相同原子位点时, 由于空间位阻效应形成排他性修饰格局, 这种动态竞争机制通过交替占据修饰位点实现 RNA 二级结构动态重构或调控蛋白质结合域的分子识别过程。第二种为异位点协同修饰模式, 当两种修饰基团定位于同一碱基的不同原子位点时, 可通过化学基团的电子效应或空间构象改变产生协同增强、拮抗抑制或信号级联等效应, 从而实现对 RNA 分子稳定性、翻译保真度及亚细胞转运路径的协同调控。这种碱基水平的多层次调控机制为构建 RNA 修饰相互作用的调控模型提供了关键分子机制支撑。

1.2.1 m6A和A-to-I的相互作用

m6A 修饰和 A-to-I 编辑是 RNA 上最常见的两种表观修饰形式。尽管这两种修饰均发生于 RNA 的腺嘌呤核苷酸 (腺苷) 上, 但它们的作用位点不同, 在催化机制和表观遗传层面却存在显著差异。RNA 的 A-to-I 编辑由腺苷脱氨酶 (adenosine deaminase, ADAR) 介导, 主要发生在双链 RNA 的腺苷上, 目前尚未发现对应的擦除酶^[21-23]。而 m6A 修饰主要由甲基转移酶样蛋白 (methyltransferase-like protein, METTL) 3/14 催化, 并受到去甲基化酶脂肪质量和肥胖相关蛋白 (fat mass and obesity-associated protein, FTO) 和烷基化修复同源蛋白 (AlkB homolog, ALKBH) 5 的调节, 其主要作用位点为单链 RNA 的腺苷^[24-25]。

Xiang 等^[18]通过挖掘 m6A 阳性和 m6A 阴性的 RNA-seq 数据, 首次揭示了 m6A 对 A-to-I 的负调控作用。该研究发现, 在 m6A 缺失的细胞中, A-to-I 编辑水平显著增加, 而在 m6A 阳性转录本上则出现 A-to-I 编辑的下调, 并且含有 m6A 的转录本与来自相同基因位点的 m6A 缺失转录本相比, 对 ADAR1 的结合亲和力明显下降, 表明 m6A 通过与 ADAR 结合来抑制甲基化转录本的 A-to-I 编辑^[18]。此外, METTL3 和/或 METTL14 的缺失会下调 m6A 修饰, 进而导致全细胞 m6A 修饰组表达的丰度变化, 这可能间接促进 A-to-I 编辑^[26-27]。m6A 和 A-to-I 之间的相互作用已在多项研究中被证实。在胶质母细胞瘤中, 上调 METTL3 的表达能够促进 ADAR1 的蛋白质表达水平, 使其结合并稳定细胞周期蛋白依赖性激酶 2 转录本, 导致细胞周期加速, 从而在转录层面连接了 m6A 与 A-to-I^[28-29]。此外, 在 METTL3 沉默的胶质瘤干细胞样细胞中, ADAR 表达下调, 而 C-to-U 编辑酶——载脂蛋白 B mRNA 编辑酶催化亚基 1 和载脂蛋白 B mRNA 编辑酶催化亚基 3A 表达上调, 并且 ADAR 是 METTL3 的直接靶标, 意味着 METTL3 可以直接甲基化 ADAR mRNA, 促进 ADAR 的表达, 从而间接促进 mRNA 编辑过程^[30-31]。因此, 这表明 METTL3 可通过改变 ADAR 编辑酶的水平来调节 mRNA 编辑。

1.2.2 m6A和m1A的相互作用

RNA 腺苷不仅可以在 N6 位置形成 m6A 修饰, 也可以在 N1 位置形成 N1-甲基腺苷 (N1-methyladenosine, m1A) 修饰^[32]。m1A 广泛存在于 tRNAs、rRNAs、线粒体 RNA 等非编码 RNA 中^[33-36], 对 RNA 稳定性、翻译效率、环境应激响

应以及多种疾病的发生发展具有显著影响^[37]。m6A与m1A可能在RNA的同一腺嘌呤碱基的不同甲基化位点发生修饰形成相互作用关系。研究显示, YTH结构域家族蛋白(YTH domain-family protein, YTHDF) 1和YTH结构域包含蛋白1(YTH domain-containing protein-1, YTHDC1)作为m6A阅读酶能够通过自身的YTH结构域识别并结合m1A修饰位点。敲除*YTHDF2*显著增加了m1A修饰转录本的稳定性, 而敲除*YTHDF1*显著降低了其翻译效率^[38]。Dai等^[38]发现, m1A阅读酶热反应分泌蛋白12(heat responsive secretory protein 12, HRSP12)与YTHDF2相互作用, 具体表现为: 当mRNA同时包含m1A与m6A修饰时, HRSP12结合到mRNA上促使YTHDF2识别m6A, 形成HRSP12-YTHDF2复合物促进底物mRNA的快速降解。此外, ALKBH3作为m6A的擦除酶能够去除mRNA和tRNA上m1A修饰^[39-40]。在增生性瘢痕形成过程中, ALKBH3通过识别成纤维细胞mRNA的m1A甲基化位点, 抑制YTHDF2对METTL3转录本的降解, 从而维持I型胶原 $\alpha 1$ 链和纤连蛋白1 mRNA的稳定性, 表明mRNA上的m1A和m6A之间的串扰作用推动了增生性瘢痕的病理转化^[40]。而ALKBH3与tRNA共孵育显著降低了tRNA上的m1A和m6A修饰水平, 并提高了底物RNA的翻译效率, 表明m1A和m6A修饰可以通过ALKBH3形成协同效应, 共同提高底物RNA的翻译效率^[39]。

1.2.3 m6A和m6Am的相互作用

N6,2'-O-甲基腺苷(N6,2'-O-dimethyladenosine, m6Am)也是发生于腺苷N6位的甲基化修饰, 主要存在于脊椎动物加帽mRNAs的转录起始核苷酸上^[41-42]。m6A与m6Am的相互作用模式存在同位点竞争与异位点协同的可能性。具体而言, 二者既可靶向同一腺苷酸残基的N6原子形成互斥性修饰, 也可通过分别占据腺苷酸不同化学位点建立协同调控网络。目前相关报道主要集中于后者。二者不仅同时存在于mRNAs、snRNAs、lncRNAs上, 还共同参与调控转录、前mRNA剪接、稳定性和翻译等多个生物学过程^[41, 43]。FTO作为首个被发现的RNA去甲基化酶, 能够结合并介导mRNA、snRNA和tRNA等RNA的去甲基化^[44]。最初, FTO被认为是m6A的特异性去甲基化酶^[45]。随后研究发现, FTO还能够可逆地选择生物发生过程中m6Am进行去甲基化修饰, 从而建立起m6A修饰

和m6Am修饰之间的桥梁, 也揭示了FTO在底物选择方面的复杂性^[46]。FTO介导的去甲基化修饰具有高度的底物选择性。Nabeel-Shah等^[47]研究发现, 锌指和BTB结构域蛋白48(zinc finger and BTB domain-containing protein 48, ZBTB48)是一种具有端粒维护功能的C2H2-锌指蛋白, ZBTB48与FTO能够发生相互作用, 并促进FTO富集到HEK293细胞的*JUN*和*FOXO3* mRNA。ZBTB48的消耗减少FTO对m6A/m6Am修饰位点的靶向, 上调了细胞m6A/m6Am水平, 靶RNA的衰减率升高, 从而控制靶RNA的表达^[47]。FTO的底物选择性还依赖于FTO的亚细胞定位。在细胞核中, FTO优先去甲基化m6A, 而在细胞质中则优先选择m6Am, 在心肌细胞中, FTO同时存在于细胞质和细胞核中, FTO在心肌细胞中可能同时调控m6A和m6Am的去甲基化^[48-49]。敲低FTO时, 同时含有帽端m6Am的内部m6A的转录本, 其稳定性提升幅度显著高于不含或仅含m6Am的转录本, 这表明两种修饰的共存可能协同调控mRNA的稳定性^[45-46, 50-51]。综上所述, FTO作为m6A与m6Am相互作用的关键节点, 连接着m6A与m6Am的协同或竞争性调控网络。

1.3 同一RNA不同位置上的两种RNA修饰的相互作用

1.3.1 m6A和m5C的相互作用

RNA修饰之间的相互作用不仅体现在相同碱基位置上, 也存在于不同碱基位置上的同类型修饰之间^[20]。5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, m5C)是指发生于RNA胞嘧啶碱基第5位上的一种甲基化修饰, 广泛分布于tRNA、mRNA、rRNA以及其他非编码RNA中^[52-54]。在真核生物中, m5C修饰由多种甲基转移酶催化完成, 包括含有NOL1/NOP2/SUN结构域的NSUN家族成员、DNA甲基转移酶2(DNA methyltransferase 2, DNMT2)以及tRNA天冬氨酸甲基转移酶1(tRNA aspartic acid methyltransferase 1, TRDMT1)^[55]。m6A和m5C之间也存在着潜在的协同关系。研究表明, p21的mRNA在3'非翻译区(3' untranslated region, 3'UTR)区域同时拥有m5C和m6A两种修饰。METTL3/14在促进m6A甲基化的同时, 也增强了NOP2/Sun RNA甲基转移酶(NOP2/Sun RNA methyltransferase 2, NSUN2)介导的m5C修饰, 而NSUN2则反馈促进METTL3/14介导的m6A修饰。这种协同作用显著增强了p21的表达^[56]。此

外, YTHDF2通过YTH结构域中得到Trp432在体外直接结合编码与非编码RNA中的m5C, 这一结合位点在m6A识别中同样发挥重要作用, 提示YTH结构域在识别m5C和m6A具有高度相似性^[57]。此外, 敲除YTHDF2也会导致rRNA中大多数m5C位点的甲基化水平显著上升^[58]。

1.3.2 其他RNA修饰之间的相互作用

Ψ是一种重要的RNA修饰核苷, 由尿嘧啶和核糖的第五个位置连接所形成的嘧啶核苷, 广泛存在于tRNA、rRNA和各种小RNA中, 在调节基因表达、调控发育、应激反应、翻译保真度和终止等具有重要作用^[59-60]。研究表明, 同时发生Ψ和m5C修饰的mRNA在细胞内展示出显著的翻译效率提升和RNA稳定性增强。Ψ和m5C的共修饰已被证明在治疗方面有巨大潜力, Warren等^[61]研究证实, 在绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)编码转录物中, m5C与Ψ的共修饰能够显著提高角质形成细胞存活率, 并增强外源蛋白GFP的表达, 表明m5C和Ψ的共修饰能够维持mRNA稳定性, 促进翻译起始复合物组装, 从而优化外源基因传递系统的性能。

此外, Andries等^[62]证实, 相较于Ψ和m5C的共修饰, 同时含有N1-甲基-假尿苷(N1-methylpseudouridine, m1Ψ)和m5C的共修饰mRNA表现出了更长的RNA寿命和更高RNA翻译效率。m1Ψ是核碱基N1位置上进行甲基修饰的假鸟苷衍生物, 存在于18s rRNA和多数生物体中tRNA^[63]。研究表明, 与仅在mRNA的3'UTR发生m1Ψ修饰相比, 同时发生mRNA 3'UTR的m1Ψ修饰和mRNA 5'非翻译区(5' untranslated region, 5'UTR)/编码序列(coding sequence, CDS)的m5C修饰, 不仅能大幅度提高mRNA翻译效率(2.0~2.5倍), 还能显著降低白介素(interleukin, IL)-6的表达^[64]。这种共修饰模式在小鼠模型和多种细胞系(包括HeLa、C2C12、A549等)中均能促进mRNA翻译能力提升, 有效减少细胞毒性并激活先天免疫反应^[62]。

1.4 不同RNA上的两种RNA修饰的相互作用

RNA修饰的相互作用关系还扩展至不同类型的RNA之间。tRNA以其高修饰丰度和多样化的修饰方式在RNA分子类型中独树一帜^[65-67]。tRNA上不同RNA修饰的出现遵循特定的时空顺序, 不同位点上的修饰存在相互作用, 且两种或多种修饰间存在叠加效应, 这种现象被称为tRNA修饰的协同效应^[68]。在人外周血单核细胞中, 赖氨酸tRNA第

54位的m5U/Um共修饰能有效抑制Toll样受体7(Toll-like receptor 7, TLR7)的过度自我免疫攻击, 导致血液免疫反应受损。TLR7反应的沉默和拮抗程度取决于碱基的氢模式和亲脂性相互作用, 5-甲基尿苷-2'-O-甲基化(m5Um)修饰所产生的这种效应取决于C5和2'O位置的两个甲基协同存在, 而单独的5-甲基尿苷(m5U)或2'-O-甲基尿苷(Um)则不具备这种效应^[69]。

此外, RNA修饰相互作用在调控tRNA与mRNA的表达上扮演着关键角色^[70]。假尿苷合成酶6(pseudouridine synthase 6, Pus6)是甲硫氨酸转运RNA(tRNA^{Met})第31位Ψ(Ψ31)和YEF3 mRNA第1074位Ψ(Ψ1074)的合成酶^[71]。研究发现, 甲硫氨酸-tRNA合成酶(methionyl-tRNA synthetase, MetRS)可特异性结合YEF3 mRNA, 而酵母内质网蛋白3(yeast endoplasmic protein 3, YEP3)作为延伸因子, 可帮助核糖体沿开放阅读框运动, 并在核糖体循环中促进MetRS的结合^[72]。当Pus6缺失时, MetRS与tRNA^{Met}和YEF3 mRNA的结合能力降低, 导致tRNA^{Met}氨酰化效率降低和核糖体滞留现象增加。此时细胞需上调YEF3蛋白以解救滞留的核糖体。这表明Pus6通过介导tRNA^{Met}Ψ31和YEF3 mRNAΨ1074的协同作用, 促进MetRS对YEF3 mRNA翻译进程及上调YEF3蛋白表达^[71]。另一项研究聚焦于tRNA甲基转移酶10A(tRNA methyltransferase 10A, TRMT10A)^[73]。TRMT10A与FTO结合形成蛋白质复合物, 通过调节胞核和胞质tRNA N1-甲基鸟苷9(N1-methylguanosine 9, m1G9)的甲基化状态(由TRMT10A影响)和mRNA的m6A甲基化状态(由FTO影响), 来协调特定mRNA与同源tRNA之间的数量关系。TRMT10A:FTO复合物的功能表明, tRNA和mRNA的相互作用并不依赖于两种RNA上相同的修饰或相同的阅读子。这一发现揭示, mRNA和tRNA的RNA修饰酶之间通过相互作用和平衡tRNA与mRNA的甲基化修饰, 实现基因表达的精细调节^[74]。此外, 作为tRNA中m1A的去甲基化酶ALKBH1, 在控制tRNA^{iMet}细胞水平、翻译延伸及翻译效率方面发挥着重要作用^[75-76]。ALKBH1介导的tRNA m1A去甲基化, 可以直接降低tRNA在翻译中的运行效率, 减少蛋白质的合成, 并通过间接下调靶tRNA的m5C甲基化状态和可用性来干扰小鼠皮肤干细胞mRNA翻译延伸^[77-78]。此外, A-to-I、m5C等修饰也被视为协

调tRNA和mRNA之间转录、加工、翻译等动态过程的潜在“候选者”。A-to-I、m5C等修饰通过提升tRNA反密码子识别mRNA的能力，来优化密码子使用以及细胞质和线粒体mRNA的翻译^[79-81]。

尽管具体的交互网络尚未明确，但tRNA和mRNA上的协同甲基化揭示了一种全新的基因表达调控机制，也为RNA修饰相互作用领域的研究添加了新的证据。

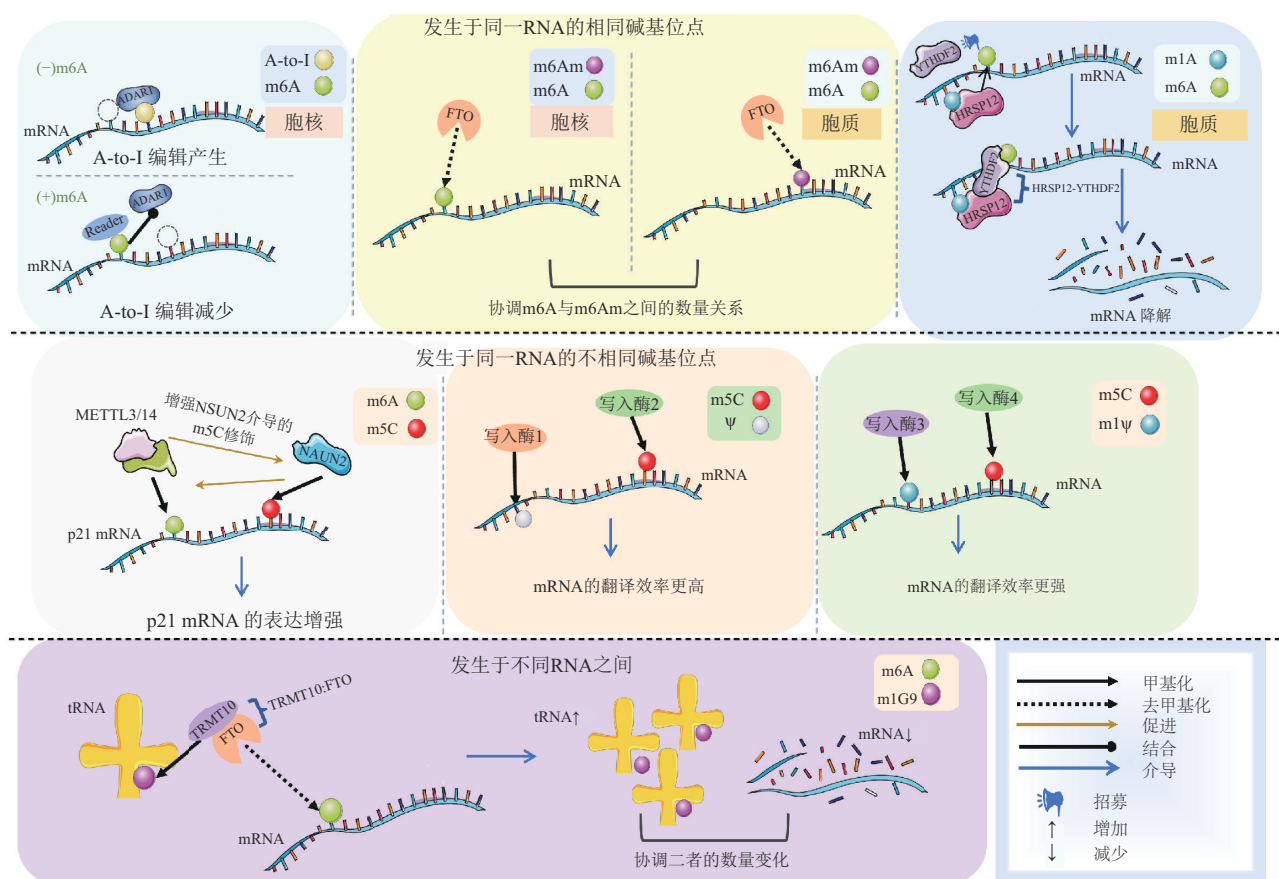


Fig. 1 Types and manifestations of RNA modification interactions

图1 RNA修饰相互作用的类型及表现形式

图中展示3种RNA修饰相互作用类型，即同一RNA相同碱基、同一RNA不同碱基、不同RNA间的修饰相互作用，呈现了各种类型中典型表现形式。m6A: 6-甲基腺嘌呤 (N6-methyladenosine); A-to-I: 腺苷到次黄嘌呤编辑 (adenosine-to-inosine editing); m6Am: N6,2'-O-甲基腺苷 (N6,2'-O-dimethyladenosine); m1A: N1-甲基腺苷 (N1-methyladenosine); m5C: 5-甲基胞嘧啶 (5-methylcytosine); ψ: 假尿嘧啶 (pseudouridine); m1ψ: N1-甲基-假尿苷 (N1-methyl-pseudouridine); m1G9: N1-甲基鸟苷9 (N1-methylguanosine 9); ADAR: 腺苷脱氨酶 (adenosine deaminase); FTO: 脂肪质量和肥胖相关蛋白 (fat mass and obesity-associated protein); HRSP12: 热反应分泌蛋白12 (heat responsive secretory protein 12); YTH结构域家族蛋白2 (YTH Domain-Family Protein-2, YTHDF2); METTL3/14: 甲基转移酶样蛋白3/14 (methyltransferase-like protein 3/14); NSUN2: NOP2/Sun RNA甲基转移酶 (NOP2/Sun RNA methyltransferase 2); TRMT10A: tRNA甲基转移酶10A (tRNA methyltransferase 10A)。

2 基于RNA修饰相互作用的肿瘤诊断和预后评估评分模型

基于RNA修饰间串扰、协同等作用机制和RNA修饰酶间的相互作用关系，科学家们已经构建了多种预测肿瘤疾病模式的模型，这对全面理解RNA修饰酶在肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 和免疫调节中的作用机

制提供了重要线索 (表1)。结直肠癌 (colorectal carcinoma, CRC) 是癌症死亡的第二大原因，也是全球第三常见的癌症类型^[82]。Chen等^[83]通过分析TCGA数据库中1 695例CRC组织样本，系统研究了26种写入酶的表达模式。发现m6A、m1A、A-to-I和替代聚腺苷酸化 (alternative polyadenylation, APA, 一种RNA转录后修饰方式^[84-85])的多种写入酶之间存在显著协同表达关

系, 其中约70%的RNA修饰酶的表达呈正相关, 并且m6A、m1A、A-to-I和APA写入酶的遗传突变在CRC中协同发生率高达29.46%, 发生遗传突变的患者预后显著较差。m6A、m1A、A-to-I和APA的写入酶与大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog, KRAS)原癌基因、IL-6/Janus激酶(Janus kinase, JAK)/信号转导及转录激活蛋白(signal transducer and activator of transcription, STAT)3等促癌通路显著相关, 表明多RNA修饰写入酶的协同突变可能通过扰乱免疫-炎症信号通路, 从而加剧CRC恶性进展。研究人员进一步利用机器学习算法构建了MW_Score评分模型。通过对TCGA数据库的562个CRC患者样本进行无监督聚类分析区分出WM_Score高、低分组。在该模型中, m6A、m1A、A-to-I和APA修饰协同调控CRC的进展, 特别是当APA和A-to-I编辑丰度降低时, 可导致HEAT重复序列包含蛋白3(HEAT repeat containing 3, HEATR3)、Y盒结合蛋白2(Y-box binding protein 2, YBX2)等关键基因的3'UTR缩短, 进而激活蛋白激酶B通路和双链RNA感应信号通路, 驱动WM_Score低分组具有更高的肿瘤突变负荷和新生抗原水平, 使得免疫微环境以M1巨噬细胞和活化树突状细胞为主, 从而对免疫检查抑制点(如程序性死亡受体配体1(programmed death-ligand 1, PD-L1)阻断剂)更敏感^[85-86]。

胰腺癌(pancreatic cancer, PC)的免疫基因组学和分子生物学发展是由RNA修饰的多条激活通路和串扰事件相互作用而实现的^[87]。研究表明, m6A、m1A、APA和A-to-I四种RNA修饰的写入酶呈现正相关性, 通过协同调控上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)和转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)等肿瘤关键通路, 影响肿瘤免疫微环境的形成和免疫治疗应答效率。Gao等^[88]通过筛选评估41个RNA修饰酶(包括20个m6A写入酶、6个m1A写入酶、12个APA写入酶和3个A-to-I写入酶)的非同义体细胞突变频率及表达之间相关性, 发现YTHDC2与转录终止因子PCF11、YTHDC1、RNA结合基序蛋白X染色体、tRNA甲基转移酶10B呈负相关, 进一步评估这些写入酶在PC中的转录变异和突变状态后, 发现多种写入酶具有区分正常细胞和PC的能力。通过LASSO-Cox算法, 基于10个表达差异基因(包括CXCL9、GREM1、INHBA、

SEMA3C、CIS、PGGHG、PABPCIL、BRICD5、PCSKIN和C4orf48)建立了WM_Score模型, 发现高分组富含EMT、TGF- β 和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合体1(mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1)信号通路, 可作为转录和转录后调控、靶向治疗和免疫治疗的预测因子, 且WM_Score高组患者可能对免疫治疗更敏感^[88-89]。上述4种m6A、m1A、APA和A-to-I的写入酶之间的相互作用, 为PC患者获得靶向治疗和免疫治疗的临床反应提供一个反应器, 为PC的辅助治疗策略提供新的思路。同样地, 在胃癌(gastric carcinoma, GC)中, 为了体现多种RNA修饰写入酶相关基因模式变化对GC的影响, 研究人员利用m1A、m6A、APA和A-to-I四种RNA修饰对应的26个写入酶和192个关联基因, 进行了单因素Cox回归分析和无监督聚类分析, 并据此构建了两类GC患者分类系统(gene.Cluster_1、gene.Cluster_2)。结果显示, Cluster_1富集在代谢和RNA修饰相关, Cluster_2与细胞增殖、迁移和自噬高度相关, 这两种系统在生存分析存在显著差异, 而聚类分析300个GC样本时表现出相近的水平, 表明根据RNA修饰写入酶开发GC预后特征评估具有可靠性, 进一步建立与RNA修饰写入酶相关的基因预测WM评分系统。该评分系统与TME、临床特征、肿瘤突变负荷、化疗药物的敏感性以及抗程序性死亡受体1(programmed death-1, PD-1)治疗效果显著相关, 揭示了RNA修饰写入酶在调节胃癌生物过程中的核心作用, 为GC预后的预测和靶向治疗的决策提供了有力支持^[90]。

在乳腺癌(breast cancer, BC)中, RNA修饰蛋白已被证实肿瘤进展和转移过程中发挥关键作用^[91-92]。Wang等^[93]整合GEO数据库、METABRIC数据库、TCGA数据库后发现, 48个RNA修饰蛋白(RNA modification proteins, RMPs)包括10个m6A写入酶、2个m6A擦除酶、15个m6A阅读酶、4个m1A写入酶、2个m1A擦除酶、12个APA写入酶和3个A-to-I写入酶)表达具有显著正相关性。该团队根据LASSO算法和生存分析结果构建了一个BC风险预测模型, 能够评估基因组突变、免疫细胞浸润程度和治疗反应等。功能富集分析提示风险高危组的细胞分裂、细胞周期、染色体分离和有丝分裂等增殖相关生物学功能更强, 而BC风险模型高危组与细胞周期非特异性药物阿霉素、S期或G2期细胞周期特异性药物阿

糖胞苷、吉西他滨和博来霉素的耐药性相关，但对M期细胞周期特异性药物敏感^[93]。

在卵巢癌（ovarian cancer, OC）的相关研究中，Zheng等^[94]通过差异分析和套索回归方法，研究了59个RNA修饰调控基因（RNA-modified regulated genes, RRGs）（包括8种RNA修饰：m1A、m6A、m6Am、m5C、N7-甲基鸟苷（N7-methylguanosine, m7G）、ac4C、N3-甲基胞嘧啶（N3-methylcytosine, m3C）和Ψ）的交互关联，构建了包含ALY/REF输出因子（ALY/REF export factor, ALYREF）、锌指CCCH型结构域蛋白13

（zinc finger CCCH-type containing 13, ZC3H13）、Wilms瘤1关联蛋白（Wilms tumor 1-associated protein, WTAP）和METTL1四个差异表达RNA修饰相关基因（four differentially expressed RNA modification-related genes, 4-DERRG）特征模型。这一模型是由多种RNA修饰参与的、能够区分OC高低风险组的独立预后模型。模型评估显示：OC高低风险组之间存在差异显著的富集通路，其中高风险组靶向的通路多为心血管系统疾病的关键通路，表明靶向上述通路的心血管疾病类药物在降低OC风险和治疗方面具有潜在作用^[94]。

Table 1 Tumor diagnosis and prognostic assessment models based on RNA modification interactions				
表1 RNA修饰相互作用的肿瘤诊断和预后评估模型				
模型名称	疾病	组成	应用	参考文献
WM_Score	CRC	m1A、m6A、APA、A-to-I	能够有效预测CRC和GC的预后，并预测PC的治疗效果	[85, 88, 90]
	PC			
	GC			
Breast Cancer Risk Prediction Model	BC	m1A、m6A、APA、A-to-I	能够评估BC的基因组突变、免疫细胞浸润水平及治疗反应	[93]
4-DERRG Signature Model	OC	m1A、m6A、m6Am、m5C、m7G、ac4C、m3C、ψ	能够评估OC的独立预后及制定治疗方案	[94]

m1A: N1-甲基腺苷 (N1-methyladenosine); m6A: N6-甲基腺苷 (N6-methyladenosine); A-to-I: 腺苷到次黄嘌呤编辑 (adenosine-to-inosine editing); APA: 替代聚腺苷酸化 (alternative polyadenylation); m6Am: N6,2'-O-甲基腺苷 (N6,2'-O-dimethyladenosine); m5C: 5-甲基胞嘧啶 (5-methylcytosine); ψ: 假尿嘧啶 (pseudouridine); m7G: 7-甲基鸟苷 (7-methylguanosine); ac4C: N4-乙酰胞嘧啶 (N4-acetylcytidine); m3C: N3-甲基胞嘧啶 (N3-methylcytosine); GMB: 胶质母细胞瘤 (glioblastoma); PC: 胰腺癌 (pancreatic cancer); GC: 胃癌 (gastric carcinoma); BC: 乳腺癌 (breast cancer); OC: 卵巢癌 (ovarian cancer)。

3 RNA修饰相互作用参与肿瘤等疾病的发生和发展

随着RNA修饰相互作用机制的进展，其在疾病中的作用逐渐明朗。RNA修饰相互作用通过核心信号轴调控修饰格局，影响疾病发生发展。尽管完整作用路径尚待阐明，但分子层面的相互作用机制已初现端倪，其中多种RNA修饰酶的协同或拮抗作用构建了复杂的信号网络，在肿瘤进展和免疫应答中发挥关键作用。两种或多种RNA修饰相互作用背后存在的核心信号轴将多种修饰酶串扰或协同联系，共同参与人体生理或病理代谢活动来调控疾病的特定过程（图2）。

3.1 RNA修饰相互作用参与多种肿瘤的发生、发展

RNA修饰相互作用在肿瘤发生发展中扮演重

要角色，通过调控基因表达和RNA代谢重塑肿瘤细胞特性，特别是m6A和A-to-I编辑之间的相互作用，与肿瘤增殖、迁移和侵袭能力直接相关。RNA修饰相互作用所连接形成的信号轴还涉及肿瘤免疫逃逸、代谢调整以及化疗的特性，为癌症治疗策略开发提供新视角。胶质母细胞瘤（glioblastoma, GMB）是全球最具挑战性的脑肿瘤之一^[95]。Tassinari等^[29]研究表明，由METTL3/ADAR1轴串联的m6A和A-to-I编辑事件是GBM进展中的关键途径。METTL3能够催化ADAR1 mRNA发生m6A修饰，进而促进YTHDF1介导的ADAR1 mRNA翻译效率和蛋白质表达水平增强，ADAR1能够结合并稳定细胞周期蛋白依赖性激酶2（cyclin-dependent kinase 2, CDK2）转录本，从而促进GMB细胞增殖，形成“METTL3-YTHDF1-ADAR1”的促肿瘤信号轴^[28-29, 96]。

既往研究已揭示，ADAR1在BC中表达上调，

并与BC细胞的增殖、迁移和侵袭能力的增强相关^[97-99]。Li等^[100]的研究揭示了ADAR1和METTL3之间的直接相互作用,并证实ADAR1通过调控“METTL3-Rho GTP酶激活蛋白5(Rho GTPase-activating protein 5, ARHGAP5)-YTHDF1”信号轴促进BC细胞的恶性行为。该研究利用蛋白质印迹和定量实时聚合酶链反应技术,证实BC中ADAR1的表达水平分别与METTL3和ARHGAP5的表达呈正相关。进一步下游基因筛选和Pearson相关性分析,确定ARHGAP5为METTL3的靶基因,其在BC中的表达增加能够促进肿瘤细胞的增殖和侵袭。METTL3 mRNA增强ARHGAP5的m6A修饰水平,进而促进YTHDF1 mRNA翻译。此外,研究还发现,BC细胞中ADAR1介导的METTL3 mRNA编辑事件改变了miR-532-5p结合位点,使METTL3表达升高,METTL3通过甲基化修饰增强ARHGAP5表达,并与YTHDF1相互作用,共同推动BC进展,由此形成“ADAR1-METTL3-ARHGAP5-YTHDF1”信号轴,呈现出A-to-I编辑和m6A修饰复杂调控网络^[100]。

作为tRNA、rRNA和mRNA的保守化学修饰,ac4C的修饰酶N-乙酰转移酶10(N-acetyltransferase 10, NAT10)是唯一已知同时具有乙酰转移酶和RNA结合活性的酶^[101-103]。在骨肉瘤中,癌细胞的能量代谢重编程特征是其有限的糖酵解依赖性,这一特性为癌症治疗提供了新的靶向机会^[104]。Mei等^[105]发现,ac4C乙酰化关键酶NAT10在人骨肉瘤组织中高表达,敲低NAT10可增加m6A修饰的含量,并显著抑制骨肉瘤细胞的生长、迁移和侵袭,揭示了骨肉瘤中从未被识别“NAT10-YTHDC1”的信号轴。从机制上来说,沉默NAT10可抑制YTHDC1 mRNA稳定性和翻译,抑制YTHDC1介导的糖酵解磷酸果糖激酶和乳糖脱氢酶A的m6A修饰识别,进而促使葡萄糖摄取量增加、乳酸产量和丙酮酸含量降低^[105]。因此,由ac4C修饰驱动的m6A修饰能够正向调节肿瘤细胞的糖酵解和细胞增殖,表明ac4C/m6A修饰之间的协同效应对于肿瘤的发生发展至关重要。

此外,ac4C与m6A的相互作用也通过NAT10和丝氨酸/精氨酸的剪接因子2(serine/arginine-rich splicing factor 2, SRSF2)建立起信号交联,在GC细胞增殖和转移中发挥重要作用。Liu等^[106]发现,NAT10与GC细胞的mRNA剪接因子SRSF2相互作用,使SRSF2乙酰化并提高稳定性。乙酰化的

SRSF2能够直接与YTHDF1 pre-mRNA结合,增强YTHDF1 pre-mRNA外显子4跳跃增强,促使YTHDF1的剪接变异体YTH结构域家族蛋白1短亚型(YTH domain family protein 1 short isoform, YTHDF1-S)的表达,从而增强GC细胞的增殖和迁移。该研究揭示,ac4C和m6A的协同相互作用串联了以“NAT10-SRSF2-YTHDF1”为代表促癌信号通路的信号传递与激活,这在乳腺癌的增殖转移中具有重要意义。

3.2 RNA修饰相互作用参与免疫调节

RNA修饰的相互作用能够通过调控RNA稳定性,影响免疫相关基因的表达,进而参与自身免疫疾病和炎症性疾病的发生和发展,为免疫治疗提供了新的靶点。Terajima等^[107]发现,m6A修饰可促进ADAR1的表达水平,通过ADAR1响应干扰素(interferon, INF)介导的先天免疫反应,这一研究揭示了m6A修饰和A-to-I编辑通过RNA二级结构相互作用,在抑制异常先天性抗病毒免疫反应中的功能作用。INF的重要作用之一是对病毒感染的抗病毒免疫反应,而相关研究表明,ADAR1对INF信号转导的适当调节对于先天免疫系统维持稳态至关重要^[108-110]。YTHDF1在调控A-to-I编辑酶ADAR1的表达上调起着核心作用,敲低YTHDF1减弱了INF介导的ADAR1 p150诱导,且YTHDF1的敲除降低了INF诱导的A-to-I RNA编辑的总体水平,从而激活双链RNA感应通路,并上调INF刺激基因的表达。在重组水泡性口炎病毒感染期间,YTHDF1的缺失促使INF反应增强而表现出抗病毒活性。该研究提出一种可能机制:m6A对A-to-I RNA编辑的调节限制了INF反应的强度和持续时间,从而在高度感染或INF刺激期间平衡细胞的毒性效应^[107]。总的来说,m6A甲基化和A-to-I编辑相互作用所形成的“YTHDF1-INF-ADAR1”信号轴参与调节免疫作用。

此外,m6A和m5C修饰之间得协同作用可能在激活cGAS-STING信号通路方面为癌症免疫应答研究带来新的突破。Chen等^[111]研究表明,GPX4在多种癌症类型中表现出显著上调,m6A和m5C修饰可能协同通过激活结肠腺癌(colon adenocarcinoma, COAD)的环状GMP-AMP合酶(cyclic GMP-AMP synthetase, cGAS)干扰素刺激物(stimulator of interferon genes, STING)G信号通路而进行免疫治疗。MeRIP-qPCR分析揭示,COAD的谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione

peroxidase 4, *GPX4*) mRNA的表达仅在*RBM15B*、*IGFBP2*和*NSUN5*基因敲低后显著下调。而*GPX4*是防止脂质过氧化和维持细胞氧化还原稳态的重要酶^[112-113]。从机制上讲,*RBM15B*和*IGFBP2*修饰酶介导的m6A和*NSUN5*修饰酶介导的m5C促使*GPX4*通过激活cGAS-STING信号转导,从而维持COAD中的氧化还原稳态来促进抗癌免疫^[111, 114]。

此外,相关报道称*NSUN6*能够上调*METTL3*的表达并催化其在COAD细胞中的m5C修饰,再次证实m5C和m6A修饰间的相互作用^[115]。综上所述,*GPX4*上的m6A和m5C修饰的相互作用可能通过激活COAD中的cGAS-STING信号通路,从而成为癌症免疫治疗的有前途的靶点。

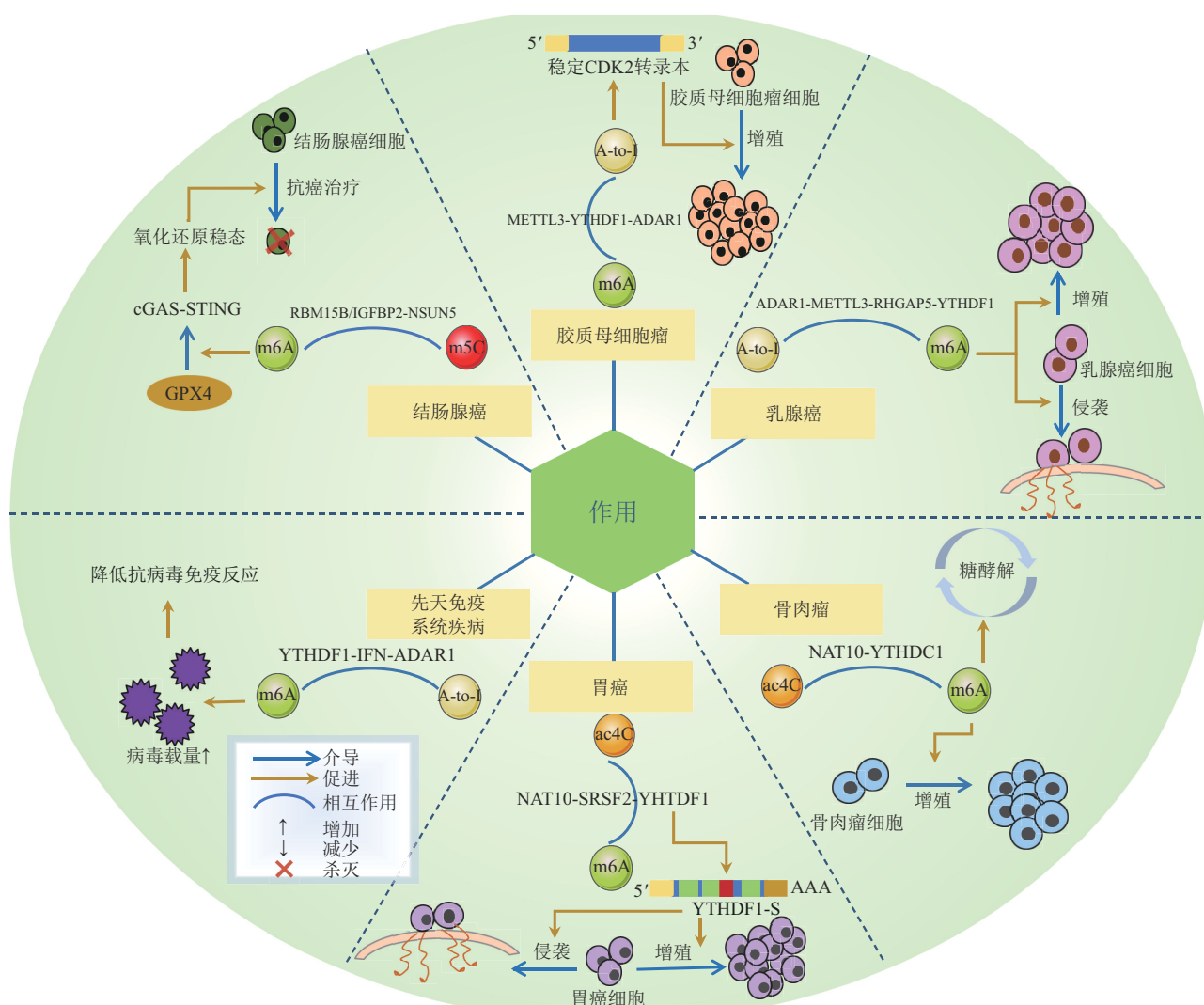


Fig. 2 The role of RNA modification interplay in different diseases

图2 RNA修饰相互作用在疾病中的作用

图中展示RNA修饰相互作用在胃癌、骨肉瘤、乳腺癌、胶质母细胞瘤、结肠腺癌及先天免疫系统中发挥作用的过程。m6A: 6-甲基腺嘌呤 (N6-methyladenosine); A-to-I: 腺苷到次黄嘌呤编辑 (adenosine-to-inosine editing); m5C: 5-甲基胞嘧啶 (5-methylcytosine); ac4C: N4-乙酰胞苷 (N4-acetylcytidine); *GPX4*: 谷胱甘肽过氧化物酶4 (glutathione peroxidase 4); *CDK2*: 细胞周期蛋白依赖性激酶2 (cyclin-dependent kinase 2); *YTHDF1-S*: YTH结构域家族蛋白1短亚型 (YTH domain family protein 1 short isoform)。

4 总结与展望

总而言之, RNA修饰作为表观遗传学重要组

成部分, 参与各种生物过程^[86]。RNA修饰相互作用基于信号通路的关键节点, 通过协同增效、负向调控、竞争占位以及功能串扰等多种机制, 调控

RNA的剪接、转运、定位、翻译、稳定性等功能,为多种癌症的诊断、治疗和预后评估提供新策略及新模型。此外,肿瘤背景下证实RNA修饰相互作用串联了核心信号轴,表明RNA修饰相互作用可能是肿瘤研究的新方向,其背后揭示了转录后调控的复杂性。在疾病特异性RNA修饰调控网络中,不同病理状态下RNA修饰相互作用模式呈现显著异质性。这种异质性可能源于3种核心机制:a.在单一RNA修饰丰度层面,关键RNA修饰类型在不同疾病体系中呈现显著差异的定量分布特征,其相对丰度占比形成病理特异的层级结构;b.在RNA共修饰网络层面,修饰间的协同增效、负向调控、竞争占位、功能串扰通过动态再编程形成疾病特征性的空间分布规律;c.在分子机制层面,RNA修饰酶的特异性表达谱与底物选择性共同导致差异化的信号转导通路激活,进而构建疾病特异的分子表型特征。这种多层次的调控机制最终导致不同疾病在RNA表观转录组形成独特的分子指纹。

当前,无论是在不同的生理或病理状态还是技术层面中,围绕RNA修饰相互作用的相关研究尚未得到充分阐明。首先,RNA修饰相互作用在不同的生物学过程中的动态变化仍未研究透彻,尤其是在不同生理或病理阶段中,RNA修饰相互作用发挥差异化作用的具体机制仍不清楚;其次,修饰酶在RNA修饰相互作用过程中的添加和移除是如何被精确调控,目前仍是一个未解问题,这对精确选择治疗靶点构成了挑战;第三,RNA修饰相互作用信息是否能够用于改进基因编辑和基因治疗策略目前仍不明确。此外,RNA修饰相互作用位点的结合在新技术上的研发尚未取得明显的突破,对RNA空间结构的折叠与位置的解析可能有助于对RNA修饰相互作用机制的产生及其作用机制更进一步理解,也为未来的基因编辑和治疗策略提供新的途径。

参 考 文 献

- [1] Corley M, Burns M C, Yeo G W. How RNA-binding proteins interact with RNA: molecules and mechanisms. *Mol Cell*, 2020, **78**(1): 9-29
- [2] Nombela P, Miguel-López B, Blanco S. The role of m⁶A, m⁵C and Ψ RNA modifications in cancer: novel therapeutic opportunities. *Mol Cancer*, 2021, **20**(1): 18
- [3] Ovcharenko A, Rentmeister A. Emerging approaches for detection of methylation sites in RNA. *Open Biol*, 2018, **8**(9): 180121
- [4] Tegowski M, Flamand M N, Meyer K D. scDART-seq reveals distinct m⁶A signatures and mRNA methylation heterogeneity in single cells. *Mol Cell*, 2022, **82**(4): 868-878.e10
- [5] Roundtree I A, Evans M E, Pan T, *et al.* Dynamic RNA modifications in gene expression regulation. *Cell*, 2017, **169**(7): 1187-1200
- [6] 陈宇晟, 杨莹. RNA修饰类型及调控蛋白. *生命科学*, 2018, **30**(4): 391-406
Chen Y S, Yang Y. *Chin Bull Life Sci*, 2018, **30**(4): 391-406
- [7] Zhang M, Jiang Z, Ma Y, *et al.* Quantitative profiling of pseudouridylation landscape in the human transcriptome. *Nat Chem Biol*, 2023, **19**(10): 1185-1195
- [8] Arango D, Sturgill D, Yang R, *et al.* Direct epitranscriptomic regulation of mammalian translation initiation through N4-acetylcytidine. *Mol Cell*, 2022, **82**(15): 2797-2814.e11
- [9] Cappannini A, Ray A, Purta E, *et al.* MODOMICS: a database of RNA modifications and related information. 2023 update. *Nucleic Acids Res*, 2024, **52**(d1): D239-D244
- [10] Yang C, Hu Y, Zhou B, *et al.* The role of m⁶A modification in physiology and disease. *Cell Death Dis*, 2020, **11**(11): 960
- [11] Wang S, Li H, Lian Z, *et al.* The role of RNA modification in HIV-1 infection. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(14): 7571
- [12] Orsolic I, Carrier A, Esteller M. Genetic and epigenetic defects of the RNA modification machinery in cancer. *Trends Genet*, 2023, **39**(1): 74-88
- [13] Delaunay S, Helm M, Frye M. RNA modifications in physiology and disease: towards clinical applications. *Nat Rev Genet*, 2024, **25**(2): 104-122
- [14] Han D, Xu M M. RNA modification in the immune system. *Annu Rev Immunol*, 2023, **41**: 73-98
- [15] Flamand M N, Tegowski M, Meyer K D. The proteins of mRNA modification: writers, readers, and erasers. *Annu Rev Biochem*, 2023, **92**: 145-173
- [16] 曹潇月, 石毓君. 复杂多样的RNA修饰与癌症. *中国普外基础与临床杂志*, 2022, **29**(10): 1270-1272
Cao X Y, Shi Y J. *Chin J Bases Clin Gen Surg*, 2022, **29**(10): 1270-1272
- [17] Zaccara S, Ries R J, Jaffrey S R. Reading, writing and erasing mRNA methylation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, **20**(10): 608-624
- [18] Xiang J F, Yang Q, Liu C X, *et al.* N 6-methyladenosines modulate A-to-I RNA editing. *Mol Cell*, 2018, **69**(1): 126-135.e6
- [19] Rengaraj P, Obrdlík A, Vukić D, *et al.* Interplays of different types of epitranscriptomic mRNA modifications. *RNA Biol*, 2021, **18**(sup1): 19-30
- [20] Kha T K, Zhao Y, Zhu R Y. Site-selective modification and labeling of native RNA. *Chem*, 2025, **31**(12): e202404244
- [21] Nishikura K. Functions and regulation of RNA editing by ADAR deaminases. *Annu Rev Biochem*, 2010, **79**: 321-349
- [22] Nishikura K. A-to-I editing of coding and non-coding RNAs by ADARs. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, **17**(2): 83-96
- [23] Mboukou A, Rajendra V, Messmer S, *et al.* Dimerization of ADAR1 modulates site-specificity of RNA editing. *Nat Commun*, 2024, **15**(1): 10051

- [24] Fu Y, Dominissini D, Rechavi G, *et al.* Gene expression regulation mediated through reversible m⁶A RNA methylation. *Nat Rev Genet*, 2014, **15**(5): 293-306
- [25] Xiao Y L, Liu S, Ge R, *et al.* Transcriptome-wide profiling and quantification of N⁶-methyladenosine by enzyme-assisted adenosine deamination. *Nat Biotechnol*, 2023, **41**(7): 993-1003
- [26] Tassinari V, La Rosa P, Guida E, *et al.* Contribution of A-to-I RNA editing, M⁶A RNA methylation, and alternative splicing to physiological brain aging and neurodegenerative diseases. *Mech Ageing Dev*, 2023, **212**: 111807
- [27] Li S, Mason C E. The pivotal regulatory landscape of RNA modifications. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2014, **15**: 127-150
- [28] Wang J, Yang T, Xu G, *et al.* Cyclin-dependent kinase 2 promotes tumor proliferation and induces radio resistance in glioblastoma. *Transl Oncol*, 2016, **9**(6): 548-556
- [29] Tassinari V, Cesarini V, Tomaselli S, *et al.* ADAR1 is a new target of METTL3 and plays a pro-oncogenic role in glioblastoma by an editing-independent mechanism. *Genome Biol*, 2021, **22**(1): 51
- [30] Visvanathan A, Patil V, Abdulla S, *et al.* N⁶-methyladenosine landscape of glioma stem-like cells: *METTL3* is essential for the expression of actively transcribed genes and sustenance of the oncogenic signaling. *Genes: Basel*, 2019, **10**(2): E141
- [31] Pecori R, Di Giorgio S, Paulo Lorenzo J, *et al.* Functions and consequences of AID/APOBEC-mediated DNA and RNA deamination. *Nat Rev Genet*, 2022, **23**(8): 505-518
- [32] Dominissini D, Nachtergaele S, Moshitch-Moshkovitz S, *et al.* The dynamic N¹-methyladenosine methylome in eukaryotic messenger RNA. *Nature*, 2016, **530**(7591): 441-446
- [33] Peifer C, Sharma S, Watzinger P, *et al.* Yeast Rps8p, a novel methyltransferase responsible for m¹A 645 base modification of 25S rRNA. *Nucleic Acids Res*, 2013, **41**(2): 1151-1163
- [34] Safra M, Sas-Chen A, Nir R, *et al.* The m¹A landscape on cytosolic and mitochondrial mRNA at single-base resolution. *Nature*, 2017, **551**(7679): 251-255
- [35] Zhang C, Jia G. Reversible RNA modification N¹-methyladenosine (m¹A) in mRNA and tRNA. *Genom Proteom Bioinform*, 2018, **16**(3): 155-161
- [36] Li J, Zhang H, Wang H. N¹-methyladenosine modification in cancer biology: current status and future perspectives. *Comput Struct Biotechnol J*, 2022, **20**: 6578-6585
- [37] Jin H, Huo C, Zhou T, *et al.* m¹A RNA modification in gene expression regulation. *Genes: Basel*, 2022, **13**(5): 910
- [38] Dai X, Wang T, Gonzalez G, *et al.* Identification of YTH domain-containing proteins as the readers for N¹-methyladenosine in RNA. *Anal Chem*, 2018, **90**(11): 6380-6384
- [39] 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
- [40] Tu L, Gu S, Xu R, *et al.* ALKBH3-mediated M¹A demethylation of METTL3 endows pathological fibrosis: interplay between M¹A and M⁶A RNA methylation. *Adv Sci*, 2025, **12**(19): 2417067
- [41] Oerum S, Meynier V, Catala M, *et al.* A comprehensive review of m⁶A/m⁶Am RNA methyltransferase structures. *Nucleic Acids Res*, 2021, **49**(13): 7239-7255
- [42] Jia J, Wei Z, Sun M. EMDL_m⁶Am: identifying N⁶, 2'-O-dimethyladenosine sites based on stacking ensemble deep learning. *BMC Bioinform*, 2023, **24**(1): 397
- [43] Linder B, Grozhik A V, Olarerin-George A O, *et al.* Single-nucleotide-resolution mapping of m⁶A and m⁶Am throughout the transcriptome. *Nat Methods*, 2015, **12**(8): 767-772
- [44] Fu Y, Jia G, Pang X, *et al.* FTO-mediated formation of N⁶-hydroxymethyladenosine and N⁶-formyladenosine in mammalian RNA. *Nat Commun*, 2013, **4**: 1798
- [45] 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**(12): 885-887
- [46] Mauer J, Sindelar M, Despic V, *et al.* FTO controls reversible m⁶Am RNA methylation during snRNA biogenesis. *Nat Chem Biol*, 2019, **15**(4): 340-347
- [47] Nabeel-Shah S, Pu S, Burke G L, *et al.* Recruitment of the m⁶A/m⁶Am demethylase FTO to target RNAs by the telomeric zinc finger protein ZBTB48. *Genome Biol*, 2024, **25**(1): 246
- [48] Wei J, Liu F, Lu Z, *et al.* Differential m⁶A, m⁶Am, and m¹A demethylation mediated by FTO in the cell nucleus and cytoplasm. *Mol Cell*, 2018, **71**(6): 973-985.e5
- [49] Benak D, Kolar F, Zhang L, *et al.* RNA modification m⁶Am: the role in cardiac biology. *Epigenetics*, 2023, **18**(1): 2218771
- [50] Mauer J, Luo X, Blanjoie A, *et al.* Reversible methylation of m⁶A_m in the 5' cap controls mRNA stability. *Nature*, 2017, **541**(7637): 371-375
- [51] Bartosovic M, Molaes H C, Gregorova P, *et al.* N⁶-methyladenosine demethylase FTO targets pre-mRNAs and regulates alternative splicing and 3'-end processing. *Nucleic Acids Res*, 2017, **45**(19): 11356-11370
- [52] Hussain S, Sajini A A, Blanco S, *et al.* NSun2-mediated cytosine-5 methylation of vault noncoding RNA determines its processing into regulatory small RNAs. *Cell Rep*, 2013, **4**(2): 255-261
- [53] Yang X, Yang Y, Sun B, *et al.* 5-methylcytosine promotes mRNA export - NSUN2 as the methyltransferase and ALYREF as an m⁵C reader. *Cell Res*, 2017, **27**(5): 606-625
- [54] Malebary S J, Alromema N, Suleman M T, *et al.* m⁵c-iDeep: 5-methylcytosine sites identification through deep learning. *Methods*, 2024, **230**: 80-90
- [55] Bohnsack K E, Höbartner C, Bohnsack M T. Eukaryotic 5-methylcytosine (m⁵C) RNA methyltransferases: mechanisms, cellular functions, and links to disease. *Genes (Basel)*, 2019, **10**(2): E102
- [56] Li Q, Li X, Tang H, *et al.* NSUN2-Mediated m⁵C methylation and METTL3/METTL14-mediated m⁶A methylation cooperatively enhance p21 translation. *J Cell Biochem*, 2017, **118**(9): 2587-2598
- [57] Chen L, Gao Y, Xu S, *et al.* N⁶-methyladenosine reader YTHDF family in biological processes: structures, roles, and mechanisms. *Front Immunol*, 2023, **14**: 1162607

- [58] Dai X, Gonzalez G, Li L, *et al.* YTHDF2 binds to 5-methylcytosine in RNA and modulates the maturation of ribosomal RNA. *Anal Chem*, 2020, **92**(1): 1346-1354
- [59] Xue C, Chu Q, Zheng Q, *et al.* Role of main RNA modifications in cancer: N(6)-methyladenosine, 5-methylcytosine, and pseudouridine. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, **7**(1): 142
- [60] Dai Q, Zhang L S, Sun H L, *et al.* Quantitative sequencing using BID-seq uncovers abundant pseudouridines in mammalian mRNA at base resolution. *Nat Biotechnol*, 2023, **41**(3): 344-354
- [61] Warren L, Manos P D, Ahfeldt T, *et al.* Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. *Cell Stem Cell*, 2010, **7**(5): 618-630
- [62] Andries O, Mc Cafferty S, De Smedt S C, *et al.* N1-methylpseudouridine-incorporated mRNA outperforms pseudouridine-incorporated mRNA by providing enhanced protein expression and reduced immunogenicity in mammalian cell lines and mice. *J Control Release*, 2015, **217**: 337-344
- [63] Monroe J, Eyley D E, Mitchell L, *et al.* N1-Methylpseudouridine and pseudouridine modifications modulate mRNA decoding during translation. *Nat Commun*, 2024, **15**(1): 8119
- [64] Xu Y, Qi S, Zhang G, *et al.* One-pot ligation of multiple mRNA fragments on dsDNA splint advancing regional modification and translation. *Nucleic Acids Res*, 2025, **53**(1): gkae1280
- [65] Phizicky E M, Hopper A K. tRNA biology charges to the front. *Genes Dev*, 2010, **24**(17): 1832-1860
- [66] El Yacoubi B, Bailly M, de Crécy-Lagard V. Biosynthesis and function of posttranscriptional modifications of transfer RNAs. *Annu Rev Genet*, 2012, **46**: 69-95
- [67] Pan T. Modifications and functional genomics of human transfer RNA. *Cell Res*, 2018, **28**(4): 395-404
- [68] Li J, Zhu W Y, Yang W Q, *et al.* The occurrence order and cross-talk of different tRNA modifications. *Sci China Life Sci*, 2021, **64**(9): 1423-1436
- [69] Keller P, Freund I, Marchand V, *et al.* Double methylation of tRNA-U54 to 2'-O-methylthymidine (Tm) synergistically decreases immune response by Toll-like receptor 7. *Nucleic Acids Res*, 2018, **46**(18): 9764-9775
- [70] Levi O, Arava Y S. RNA modifications as a common denominator between tRNA and mRNA. *Curr Genet*, 2021, **67**(4): 545-551
- [71] Levi O, Arava Y S. Pseudouridine-mediated translation control of mRNA by methionine aminoacyl tRNA synthetase. *Nucleic Acids Res*, 2021, **49**(1): 432-443
- [72] Samra N, Atir-Lande A, Pnueli L, *et al.* The elongation factor eEF3 (Yef3) interacts with mRNA in a translation independent manner. *BMC Mol Biol*, 2015, **16**: 17
- [73] Vilardo E, Amman F, Toth U, *et al.* Functional characterization of the human tRNA methyltransferases TRMT10A and TRMT10B. *Nucleic Acids Res*, 2020, **48**(11): 6157-6169
- [74] Ontiveros R J, Shen H, Stoute J, *et al.* Coordination of mRNA and tRNA methylations by TRMT10A. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, **117**(14): 7782-7791
- [75] Kawarada L, Suzuki T, Ohira T, *et al.* ALKBH1 is an RNA dioxygenase responsible for cytoplasmic and mitochondrial tRNA modifications. *Nucleic Acids Res*, 2017, **45**(12): 7401-7415
- [76] Xiao M Z, Fu J Y, Bo L T, *et al.* ALKBH1: emerging biomarker and therapeutic target for cancer treatment. *Discov Oncol*, 2024, **15**(1): 816
- [77] Blanco S, Bandiera R, Popis M, *et al.* Stem cell function and stress response are controlled by protein synthesis. *Nature*, 2016, **534**(7607): 335-340
- [78] Liu F, Clark W, Luo G, *et al.* ALKBH1-mediated tRNA demethylation regulates translation. *Cell*, 2016, **167**(3): 816-828. e16
- [79] Gerber A P, Keller W. RNA editing by base deamination: more enzymes, more targets, new mysteries. *Trends Biochem Sci*, 2001, **26**(6): 376-384
- [80] Tuorto F, Liebers R, Musch T, *et al.* RNA cytosine methylation by Dnmt2 and NSun2 promotes tRNA stability and protein synthesis. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, **19**(9): 900-905
- [81] Huang T, Chen W, Liu J, *et al.* Genome-wide identification of mRNA 5-methylcytosine in mammals. *Nat Struct Mol Biol*, 2019, **26**(5): 380-388
- [82] Lu J, Tan K Y. Colorectal cancer: getting the perspective and context right. *World J Clin Oncol*, 2024, **15**(5): 599-602
- [83] Chen H, Yao J, Bao R, *et al.* Cross-talk of four types of RNA modification writers defines tumor microenvironment and pharmacogenomic landscape in colorectal cancer. *Mol Cancer*, 2021, **20**(1): 29
- [84] Tian B, Manley J L. Alternative polyadenylation of mRNA precursors. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, **18**(1): 18-30
- [85] Chan J J, Tabatabaiean H, Tay Y. 3'UTR heterogeneity and cancer progression. *Trends Cell Biol*, 2023, **33**(7): 568-582
- [86] Jung G, Hernández-Illán E, Moreira L, *et al.* Epigenetics of colorectal cancer: biomarker and therapeutic potential. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, **17**(2): 111-130
- [87] Miller K D, Nogueira L, Devasia T, *et al.* Cancer treatment and survivorship statistics, 2022. *CA A Cancer J Clin*, 2022, **72**(5): 409-436
- [88] Gao W, Chen D, Liu J, *et al.* Interplay of four types of RNA modification writers revealed distinct tumor microenvironment and biological characteristics in pancreatic cancer. *Front Immunol*, 2022, **13**: 1031184
- [89] Foucher E D, Ghigo C, Chouaib S, *et al.* Pancreatic ductal adenocarcinoma: a strong imbalance of good and bad immunological cops in the tumor microenvironment. *Front Immunol*, 2018, **9**: 1044
- [90] Zhang S, Kuang G, Huang Y, *et al.* Cross talk between RNA modification writers and tumor development as a basis for guiding personalized therapy of gastric cancer. *Hum Genomics*, 2022, **16**(1): 14
- [91] Zhang X, An K, Ge X, *et al.* NSUN2/YBX1 promotes the progression of breast cancer by enhancing HGH1 mRNA stability through m⁵C methylation. *Breast Cancer Res*, 2024, **26**(1): 94

- [92] Dai Y, Zhao S, Chen H, *et al.* RNA methylation and breast cancer: insights into m6A, m7G and m5C. *Mol Biol Rep*, 2024, **52**(1): 27
- [93] Wang X, Ye F, Xiong M, *et al.* Cross-talk of four types of RNA modification proteins with adenosine reveals the landscape of multivariate prognostic patterns in breast cancer. *Front Genet*, 2022, **13**: 943378
- [94] Zheng P, Li N, Zhan X. Ovarian cancer subtypes based on the regulatory genes of RNA modifications: novel prediction model of prognosis. *Front Endocrinol: Lausanne*, 2022, **13**: 972341
- [95] Schaff LR, Mellinghoff IK. Glioblastoma and other primary brain malignancies in adults: a review. *JAMA*, 2023, **329**(7): 574-587
- [96] Chen Z, Liu X, Kawakami M, *et al.* CDK2 inhibition disorders centrosome stoichiometry and alters cellular outcomes in aneuploid cancer cells. *Cancer Biol Ther*, 2023, **24**(1): 2279241
- [97] Ding H Y, Yang W Y, Zhang L H, *et al.* 8-chloro-adenosine inhibits proliferation of MDA-MB-231 and SK-BR-3 breast cancer cells by regulating ADAR1/p53 signaling pathway. *Cell Transplant*, 2020, **29**: 963689720958656
- [98] Binothman N, Aljadani M, Alghanem B, *et al.* Identification of novel interacts partners of ADAR1 enzyme mediating the oncogenic process in aggressive breast cancer. *Sci Rep*, 2023, **13**(1): 8341
- [99] Baker A R, Miliotis C, Ramirez-Moya J, *et al.* Transcriptome profiling of ADAR1 targets in triple-negative breast cancer cells reveals mechanisms for regulating growth and invasion. *Mol Cancer Res*, 2022, **20**(6): 960-971
- [100] Li Y, Wang N X, Yin C, *et al.* RNA editing enzyme ADAR1 regulates METTL3 in an editing dependent manner to promote breast cancer progression *via* METTL3/ARHGAP5/YTHDF1 axis. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(17): 9656
- [101] Chimnarank S, Suzuki T, Manita T, *et al.* RNA helicase module in an acetyltransferase that modifies a specific tRNA anticodon. *EMBO J*, 2009, **28**(9): 1362-1373
- [102] Arango D, Sturgill D, Alhusaini N, *et al.* Acetylation of cytidine in mRNA promotes translation efficiency. *Cell*, 2018, **175**(7): 1872-1886.e24
- [103] Bartee D, Nance K D, Meier J. Site-specific synthesis of N4-acetylcytidine in RNA reveals physiological duplex stabilization. *J Am Chem Soc*, 2022, **144**(8): 3487-3496
- [104] Tang B L. Glucose, glycolysis, and neurodegenerative diseases. *J Cell Physiol*, 2020, **235**(11): 7653-7662
- [105] Mei Z, Shen Z, Pu J, *et al.* NAT10 mediated ac4C acetylation driven m6A modification *via* involvement of YTHDC1-LDHA/PFKM regulates glycolysis and promotes osteosarcoma. *Cell CommunSignal*, 2024, **22**(1): 51
- [106] Liu S, Lin C, Lin X, *et al.* NAT10 phase separation regulates YTHDF1 splicing to promote gastric cancer progression. *Cancer Res*, 2024, **84**(19): 3207-3222
- [107] Terajima H, Lu M, Zhang L, *et al.* N6-methyladenosine promotes induction of ADAR1-mediated A-to-I RNA editing to suppress aberrant antiviral innate immune responses. *PLoS Biol*, 2021, **19**(7): e3001292
- [108] Rice G I, Kasher P R, Forte G M, *et al.* Mutations in ADAR1 cause Aicardi-Goutières syndrome associated with a type I interferon signature. *Nat Genet*, 2012, **44**(11): 1243-1248
- [109] Porritt R A, Hertzog P J. Dynamic control of type I IFN signalling by an integrated network of negative regulators. *Trends Immunol*, 2015, **36**(3): 150-160
- [110] Vuillier F, Li Z, Black I, *et al.* IFN-I inducible *miR-3614-5p* targets ADAR1 isoforms and fine tunes innate immune activation. *Front Immunol*, 2022, **13**: 939907
- [111] Chen B, Hong Y, Zhai X, *et al.* m6A and m5C modification of GPX4 facilitates anticancer immunity *via* STING activation. *Cell Death Dis*, 2023, **14**(12): 809
- [112] Yang W S, SriRamaratnam R, Welsch M E, *et al.* Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell*, 2014, **156**(1/2): 317-331
- [113] Chen W, Lee G E, Jeung D, *et al.* Cyclic GMP-AMP synthase in cancer prevention. *J Cancer Prev*, 2023, **28**(4): 143-196
- [114] Xue Q, Lai H, Zhang H, *et al.* Selenium attenuates radiation colitis by regulating cGAS-STING signaling. *Adv Sci*, 2024, **11**(44): 2403918
- [115] Cui Y, Lv P, Zhang C. NSUN6 mediates 5-methylcytosine modification of METTL3 and promotes colon adenocarcinoma progression. *J Biochem Mol Toxicol*, 2024, **38**(6): e23749

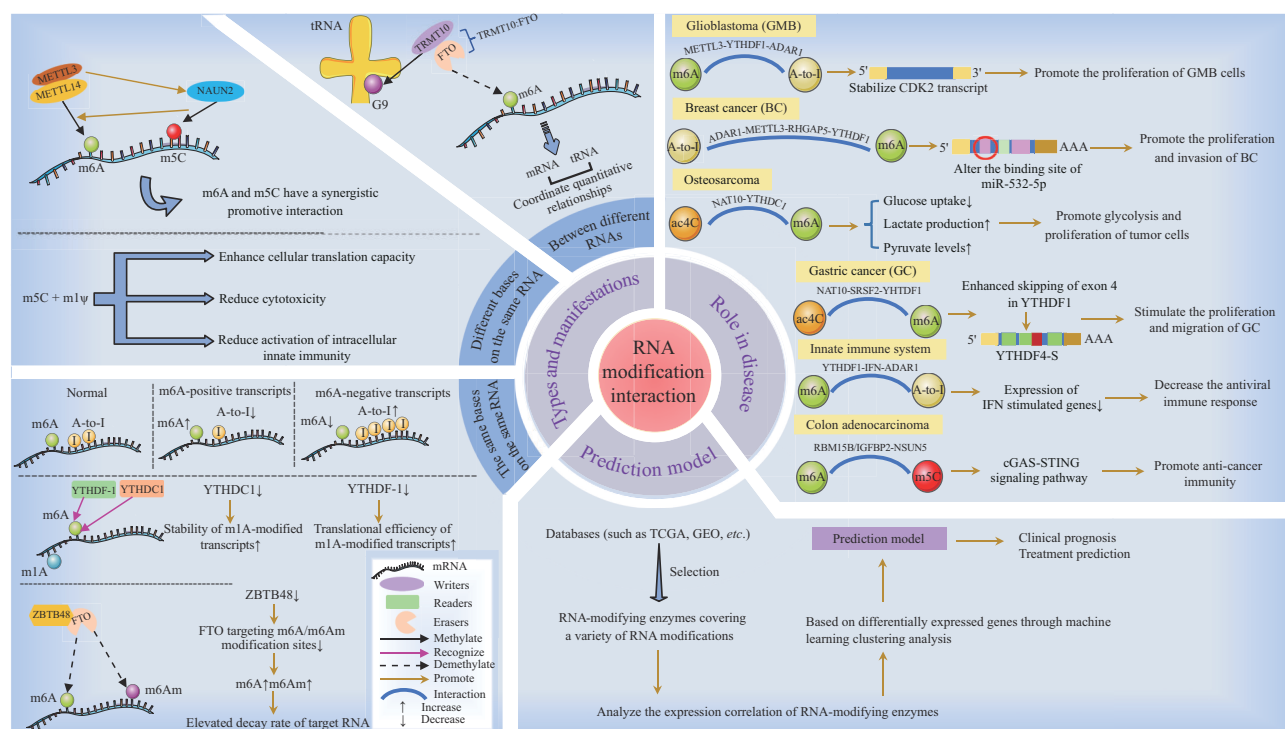
Molecular Mechanisms of RNA Modification Interactions and Their Roles in Cancer Diagnosis and Treatment

FANG Jia-Wen¹⁾, ZHE Chao¹⁾, XU Ling-Ting¹⁾, LI Lin-Hai^{1)*}, XIAO Bin^{2)*}

¹⁾Department of Laboratory Medicine, The Affiliated Qingyuan Hospital (Qingyuan People's Hospital), Guangzhou Medical University, Qingyuan 511518, China;

²⁾Department of Laboratory Medicine, Southern Medical University Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510315, China)

Graphical abstract



Abstract RNA modifications constitute a crucial class of post-transcriptional chemical alterations that profoundly influence RNA stability and translational efficiency, thereby shaping cellular protein expression profiles. These diverse chemical marks are ubiquitously involved in key biological processes, including cell proliferation, differentiation, apoptosis, and metastatic potential, and they exert precise regulatory control over these functions. A major advance in the field is the recognition that RNA modifications do not act in isolation. Instead, they participate in complex, dynamic interactions—through synergistic enhancement, antagonism,

* Corresponding author.

XIAO Bin. Tel: 86-13611413216, E-mail: xiaobin2518@163.com

LI Lin-Hai. Tel: 86-188188572321, E-mail: mature303@126.com

Received: February 5, 2025 Accepted: June 20, 2025

competitive binding, and functional crosstalk—forming what is now termed the “RNA modification interactome” or “RNA modification interaction network.” The formation and functional operation of this interactome rely on a multilayered regulatory framework orchestrated by RNA-modifying enzymes—commonly referred to as “writers,” “erasers,” and “readers.” These enzymes exhibit hierarchical organization within signaling cascades, often functioning in upstream-downstream sequences and converging at critical regulatory nodes. Their integration is further mediated through shared regulatory elements or the assembly into multi-enzyme complexes. This intricate enzymatic network directly governs and shapes the interdependent relationships among various RNA modifications. This review systematically elucidates the molecular mechanisms underlying both direct and indirect interactions between RNA modifications. Building upon this foundation, we introduce novel quantitative assessment frameworks and predictive disease models designed to leverage these interaction patterns. Importantly, studies across multiple disease contexts have identified core downstream signaling axes driven by specific constellations of interacting RNA modifications. These findings not only deepen our understanding of how RNA modification crosstalk contributes to disease initiation and progression, but also highlight its translational potential. This potential is exemplified by the discovery of diagnostic biomarkers based on interaction signatures and the development of therapeutic strategies targeting pathogenic modification networks. Together, these insights provide a conceptual framework for understanding the dynamic and multidimensional regulatory roles of RNA modifications in cellular systems. In conclusion, the emerging concept of RNA modification crosstalk reveals the extraordinary complexity of post-transcriptional regulation and opens new research avenues. It offers critical insights into the central question of how RNA-modifying enzymes achieve substrate specificity—determining which nucleotides within specific RNA transcripts are selectively modified during defined developmental or pathological stages. Decoding these specificity determinants, shaped in large part by the modification interactome, is essential for fully understanding the biological and pathological significance of the epitranscriptome.

Key words epigenetics, RNA modification, RNA modification enzyme, RNA modification interaction, m6A, tumor diagnosis and treatment

DOI: 10.3724/j.pibb.2025.0052

CSTR: 32369.14.pibb.20250052