

DOI:10.13350/j.cjpb.230522

• 综述 •

m6A 甲基化修饰在人类病毒感染复制中的作用

彭倩¹, 乔嘉璐², 李卫玲², 孙宾莲², 胡康洪^{1*}

(1. 湖北工业大学中德生物医学中心, 教育部及国家外专局细胞调控与分子药理学“111”创新引智基地, 教育部及湖北省工业发酵协同创新中心, 湖北武汉 430068; 2. 江汉大学医学院, 武汉生物医学研究院)

【摘要】 真核细胞内 RNA 的 m6A 甲基化修饰通过调节基因的剪接、定位、稳定和翻译影响基因功能, 其中甲基转移酶、去甲基化酶和阅读蛋白参与甲基化修饰过程。病毒感染引起传染性疾​​病, 近年发现在病毒与宿主的博弈过程中, 病毒 RNA 会受宿主 m6A 修饰系统的调控进而影响病毒复制, 病毒蛋白通过影响宿主甲基化修饰相关调节因子从而影响整体修饰水平, 改变细胞因子水平、干扰免疫细胞增殖和活性以及降低应激反应, 以确保病毒顺利复制。本文概述了 m6A 甲基化修饰在甲型流感病毒(IAV)、人类 I 型免疫缺陷病毒(HIV-1)、新型冠状病毒(SARS-CoV-2)这三种典型的 RNA 病毒及乙型肝炎病毒(HBV)、Epstein-Barr 病毒(EBV)、腺病毒(AdV)的 DNA 病毒感染复制中的作用。这些工作有助于探索靶向 m6A 调节因子的抑制剂, 为开发新的抗病毒药物提供理论基础。

【关键词】 m6A 甲基化修饰; 病毒感染; 免疫应答; 应激反应; 抗病毒药物; 综述

【中图分类号】 R373

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)05-0603-06

[*Journal of Pathogen Biology*. 2023 May;18(5):603-608.]

The role of m6A methylation in human virus infection and replication

PENG Qian¹, QIAO Jialu², LI Weiling², SUN Binlian², HU Kanghong¹ (1. Sino-German Biomedical Center, National “111” Center for Cellular Regulation and Molecular Pharmaceutics, Cooperative Innovation Center of Industrial Fermentation (Ministry of Education & Hubei Province), Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China; 2. Wuhan Institute of Biomedical Sciences, School of Medicine, Jiangnan University)

【Abstract】 The m6A methylation of RNA in eukaryotic cells affects gene function by regulating the splicing, localization, stabilization and translation of RNA, and methyltransferase, demethylase and reading proteins are involved in the methylation modification process. In recent years, it has been found that in the battle between virus and host, and host m6A modification system might affect viral replication by regulating viral RNA. In the same time, viral proteins also affect the overall m6A modification extent by influencing methylation modification-related factors to change the level of cytokines, interfere with the proliferation and the activity of immune cells, and reduce stress response, ultimately to ensure that the virus replicates successfully. This article summarizes the roles of m6A modification during the infection and replication of three types of RNA viruses, including influenza A virus (IAV), human immunodeficiency virus type I (HIV-1), and novel coronavirus (SARS-CoV-2), as well as three types of DNA viruses: hepatitis B virus (HBV), Epstein Barr virus (EBV), and adenovirus (AdV). These studies contribute to explore the inhibitors targeting m6A regulatory factors and will provide a theoretical clue toward the development of novel antiviral drugs.

【Key words】 m6A methylation modification, virus infection, immune response, stress reaction, antivirals; review

*** RNA 的甲基化修饰是影响基因功能的重要因素, 甲基化修饰包括多种形式, 其中 6-腺苷酸甲基化(m6A), 1-腺苷酸甲基化(m1A)和 5-胞嘧啶甲基化(m5C)修饰目前研究较为清晰^[1], 而 m6A 修饰是高等生物 mRNA 上最为普遍的修饰^[2-3]。m6A 修饰主要集中在 RNA 的终止密码子附近及 3'端非翻译区, 其碱基序列特点为[G/A/U][G>A]m6AC[U>A>C]。病毒感染是影响人类健康的重要因素, 病毒的复制依赖于靶细胞, 而靶细胞会启动清除病毒的机制。研究发现, 在病毒感染复制过程中, 病毒和宿主 RNA 的 m6A 修饰水平均会发生改变, 这些变化影响病毒的复制和靶细胞的状态; 而且不同类型的病毒感染中, m6A 修饰发挥的作用不尽相同。m6A 修饰在病毒复制过程中调控机制的研究表明, m6A 修饰对于病毒复制的调控是通过影响病毒 mRNA 或基因组 RNA 的稳定性来实现的, 而

m6A 修饰对宿主的影响在一定程度上与宿主的免疫系统有关。

1 m6A 修饰概述

m6A 修饰是指 RNA 分子腺嘌呤第 6 位 N 处发生甲基化, 广泛存在于自然界中, 包括哺乳动物、植物、昆虫以及微生物等^[4-5], 其修饰过程主要在以下几种酶的作用下完成: 甲基转移酶复合物(writers)、去甲基化酶(erasers)和阅读蛋白

* **【基金项目】** 湖北省重点研发计划项目(社会发展领域)(No. 2022BCA018)。

** **【通讯作者】** 胡康洪, E-mail: hukh@hbut.edu.cn

【作者简介】 彭倩(1990-), 女, 河南洛阳人, 博士研究生, 主要研究方向: 分子病毒学 E-mail: pengqian199034@163.com

(readers),这三者共同调控 RNA 的 m6A 修饰水平,最终影响相关基因的功能(图 1)。

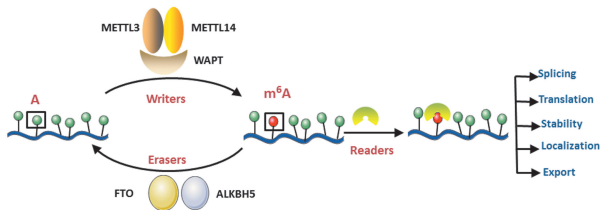


图 1 m6A 修饰的分子作用机制
Fig. 1 The molecular mechanism of m6A modification

1.1 甲基转移酶复合物 目前研究较清晰的甲基转移酶复合物包含甲基转移酶样 3/14 (methyltransferase like 3/14, METTL3/14)和 wilms 肿瘤蛋白 1 相关蛋白 (wilms tumor 1-associating protein, WTAP), METTL3/14 主要定位在细胞核中,均包含 S-腺苷硫酸(SAM)结合位点和具有催化作用的 DP-PW 结构域^[6-7]。二者高度同源,相互结合形成甲基转移酶复合物,在催化过程中 METTL3 充当催化亚基,而 METTL14 则提供 RNA 结合支架,激活并增强 METTL3 的催化活性,协同增强催化作用提高甲基化修饰水平^[6-7]。WTAP 没有催化活性,但能稳定核心复合物,促进 METTL3-METTL14 复合物定位于富含 mRNA 剪切因子和出核转运因子的核斑,以调节 RNA 转录的 m6A 水平^[8]。近年来又发现了一系列 m6A 甲基转移酶复合物的新组分,包括 KIAA1429、RBM15、HAKAI 和 METTL16^[9-11]。甲基转移酶成员的不断增加,提示 m6A 甲基化是一个复杂且重要的 RNA 修饰,对其进行研究将有助于理解 RNA 的调控机制。

1.2 去甲基化酶 FTO(fat mass and obesity associated)是第一个被发现的去甲基化酶,属于非血红素 Fe(II)和 α-KG 依赖性双加氧酶 ALKB 蛋白家族的成员之一^[12-13]。在 FTO 上含有 Fe²⁺和 α-酮戊二酸的结合位点,两者共同作用能够将 m6A

氧化为 N6-羟甲基腺苷(hm6A)以及 N6-甲酰腺苷(f6A),有效去除细胞内以及体外 RNA 的 m6A 甲基化修饰。AlkB 同源物 5(AlkB homolog 5, ALKBH5)是第二个被发现的去甲基化酶。ALKBH5 只对单链 RNA 上的 m6A 具有去甲基化作用^[14]。与 FTO 不同的是,ALKBH5 在行使功能时并未形成中间产物,而直接将 m6A 逆转腺苷,从而达到去甲基化的效果^[15]。去甲基化酶的发现证明甲基化修饰是一个可逆的过程。

1.3 阅读蛋白 阅读蛋白在 m6A 修饰过程中也发挥重要作用,这些蛋白可以调节靶 RNA 的稳定性、剪接效率、多聚腺苷酸化、核输出和翻译效率等。阅读蛋白主要包括 YTH (YTH521-B homology) 结构域蛋白、核不均一核糖蛋白(hnRNP)、胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白(IGF2BP)以及真核起始因子(eIF)。YTH 结构域是阅读蛋白的重要标志,目前发现的含有 YTH 结构域的阅读蛋白主要有 YTHDF1、YTHDF2、YTHDF3、YTHDC1 和 YTHDC2 五种类型^[16-17], YTHDF1-3 主要在细胞质中特异性识别 m6A 修饰位点,而 YTHDC1-2 作用部位在细胞核^[18],能够通过与多种剪接因子的互作,调控 mRNA 的剪接。hnRNP 除了激活 miRNA 初级体(pri-miRNA)下游通路外还与 miRNA 前体(pre-miRNA)加工有关,IGF2BP 采用 m6A 依赖性方式来提高目标 mRNA 的稳定性和贮存,eIF 能够与 RNA5'端 UTR 上发生 m6A 修饰的碱基相结合,从而促进 mRNA 的翻译^[19-20]。

2 m6A 修饰与病毒感染

病毒感染靶细胞后会利用细胞的资源和系统进行复制,合成病毒基因 RNA 或者 DNA,然后转录成 mRNA 并进一步翻译合成病毒蛋白,最终组装新病毒分泌到细胞外。同样地,病毒 RNA 也会被宿主细胞内 m6A 甲基化修饰系统所调节,使病毒复制受到干扰。同时,病毒的一些蛋白可以与 m6A 甲基化修饰相关因子相互作用,抵御宿主基因的免疫功能,确保病毒复制及参与到病毒的致病过程中。近年来针对不同病毒陆续开展了一系列相关研究(见表 1)。

表 1 m6A 修饰对不同病毒感染及复制的调控作用
Table 1 Regulatory role of m6A modification on the infectivity and replication of different viruses

病毒种类 Virus type	病毒名称 Virus name	涉及的分子 Molecules involved	改变方式 Alteration	生物学功能的表型变化 Phenotypic changes of biological function	参考文献 References
RNA 病毒	IAV	METTL3 YTHDF2	敲低 过表达	抑制病毒复制 促进病毒复制和感染	21
	HIV-1	METTL3/METTL14 ALKBH5 YTHDF3	敲低 敲低 过表达	抑制病毒复制,gag 合成减少 促进病毒复制和释放 抑制病毒感染	23,24,26
	SARS-CoV-2	METTL3/METTL14 YTHDF2 YTHDF1-3	敲低 敲低 敲低	Huh-7 细胞促进病毒复制,A549 细胞抑制病毒复制 抑制病毒复制 抑制病毒复制	28,29,30
	HBV	METTL3/METTL14 FTO/ALKBH5 YTHDF2	敲低 敲低 敲低	促进病毒蛋白的表达 抑制病毒蛋白的表达 增加病毒 mRNA 与 RIG-I 的相互作用	31,32
DNA 病毒	EBV	METTL14 METTL3	敲低 沉默	潜伏基因表达降低,裂解基因表达增加 降低了病毒裂解蛋白的表达,减少后代病毒粒子的产生	36,37,39
	AdV	METTL3	敲除	抑制病毒晚期基因的表达	41

2.1 m6A 甲基化修饰对 RNA 病毒的影响

2.1.1 甲型流感病毒 甲型流感病毒(Influenza A virus, IAV)是一种分节段的负链 RNA 病毒,其基因组由 PB2、PB1、PA、HA、NP、NA、M 和 NS 8 个片段组成。IAV 是常见流感病毒,感染后可引起急性呼吸道传染病,对人类公共健康构成威胁。IAV 是第一个在病毒 RNA 中发现 m6A 修饰的病毒。IAV 转录基因组包含 24 个 m6A 位点,其中 NA 基因有 7 个,HA 基因有 8 个,具有较高水平的甲基化修饰^[21-22]。METTL3 基因敲除后病毒复制受到抑制,在 A549 细胞中,METTL3 的突变失活抑制 IAV 复制,而 YTHDF2 的异位过表达增强 IAV 复制和感染性颗粒产生^[23]。加入 m6A 抑制剂 3-去氮腺苷(DAA)可以抑制 IAV 基因的表达和病毒 RNA 复制。DAA 通过消耗细胞内甲基供体 s-腺苷甲硫氨酸(SAM)的水平来抑制 m6A 修饰^[24]。提示 m6A 修饰水平的降低可抑制病毒的复制。YTHDF2 过表达后病毒基因的表达和复制增加,而 YTHDF1/3 对病毒的复制没有明显影响。研究表明 m6A 对 IAV 基因表达和病毒粒子生成有促进作用,这些发现增加了对 IAV 中 m6A 修饰的理解。

2.1.2 人类 I 型免疫缺陷病毒 人类 I 型免疫缺陷病毒(HIV-1)是单链 RNA 病毒,感染人体后可引起获得性免疫缺陷综合征(AIDS)。病毒侵入靶细胞后,在逆转录酶的作用下合成 cDNA,整合到宿主基因组中,与基因组一起转录翻译成病毒蛋白,病毒蛋白与新合成的病毒核酸一起包装成新的病毒粒子。YTHDF1-3 都能够识别 m6A 修饰的 HIV-1 RNA,通过靶向病毒 RNA 逆转录合成 cDNA 的步骤,抑制 HIV-1 复制感染。当 HIV-1 感染 CD4⁺ T 细胞时,病毒和宿主 mRNA 的 m6A 修饰水平明显增加,沉默甲基转移酶后会减少 HIV-1 的复制;反之沉默去甲基化酶,则 HIV-1 复制增加^[25]。利用 RNAi 技术预先沉默甲基转移酶的细胞感染 HIV-1 后,衣壳蛋白 gag 的合成减少,相应的病毒粒子的释放同样减少。而沉默去甲基酶,病毒的复制及释放水平却明显增加^[26]。结果提示病毒结构蛋白 Gag 的表达可能受 m6A 甲基化修饰的影响,细胞整体甲基化水平的降低可抑制 HIV-1 的复制。研究发现 YTHDC1 和 YTHDF2 可结合在 HIV-1 RNA 基因组的多个不同和重叠位点,实验证明 YTHDC1 可调节 HIV-1 RNA 的选择性剪接,而 YTHDF2 与 HIV-1 转录本上 m6A 位点结合,导致病毒 RNA 的稳定性显著增加^[27]。YTHDF3 以核衣壳依赖的方式被纳入 HIV-1 粒子,可抑制病毒的感染性。HIV-1 蛋白酶能够切割整合进病毒粒子的 YTHDF3 蛋白,这一过程可以被 HIV-1 蛋白酶抑制剂阻断^[28]。这一发现提示,如果不受 HIV-1 蛋白酶的抑制,整合入病毒的 YTHDF3 可作为 HIV-1 生物学的调节因子。同时,病毒蛋白也反过来影响宿主 RNA 的 m6A 修饰。有研究发现 HIV-1 包膜蛋白独立于病毒复制而上调细胞 RNA 的 m6A 修饰,进而影响多种基因的功能^[29]。目前 HIV-1 感染者体内的病毒可以有效地被控制但是尚不能被清除。

2.1.3 新型冠状病毒 新型冠状病毒(SARS-CoV-2)为正向的单链 RNA 病毒,主要引起急性呼吸窘迫综合征(ARDS),严重时可引起全身脏器衰竭。研究表明 SARS-CoV-2 基因组的 m6A 修饰主要富集在 3'UTR 区,共有 8 个 m6A 位点,分别为 ORF1ab 区域 3 个、ORF7a 区域 1 个、N 区域 3 个和 ORF10 区

域 1 个^[30]。当病毒感染 Huh-7 细胞后,宿主整体 m6A 修饰水平增加,而且 m6A 在 mRNA 中的定位和序列发生改变,其中 CDS 的 m6A 修饰水平升高,而 3'UTR 的 m6A 水平降低。在 Huh-7 细胞中敲低 m6A 调节因子后感染病毒,发现敲低 METTL3/METTL14,病毒复制增加。敲低 ALKBH5,病毒复制减少,而在敲低 YTHDF1-3 当中,只有敲低 YTHDF2 才有利于病毒的复制和感染。提示宿主因子调控 m6A 甲基化影响病毒复制,m6A 对 SARS-CoV-2 的感染起负调控作用。而在 A549 细胞中却发现,敲低 METTL3 或者 YTHDF1-3 抑制病毒的复制^[31]。在 SARS-CoV-2 感染 METTL3 敲低的 Caco-2 细胞中,病毒 RNA 的 m6A 修饰减少,宿主免疫效应基因(如:IL8,CXCL1,CXCL3,CCL20 等)的表达增多,提示 SARS-CoV-2 RNA m6A 水平降低可能会增加宿主细胞对病毒感染免疫力。病毒 RNA 中的 m6A 修饰减少增加了病毒核糖核酸与 RIG-I 结合,继而增强了下游先天性免疫信号传导途径和炎症基因表达。而且,在重型新冠病毒感染患者中 METTL3 表达减少^[32]。提示 METTL3 可能调节宿主因子影响 SARS-CoV-2 生命周期和病毒复制。这些工作增进了对 COVID-19 发病机理的理解,并有助于进一步研究调节 SARS-CoV-2 感染的先天免疫应答,实现免疫反应平衡,避免炎症基因的过度激活。

2.2 m6A 修饰对 DNA 病毒感染的影响

2.2.1 乙型肝炎病毒 乙型肝炎病毒(HBV)是一种 DNA 病毒,主要通过一种被称为前基因组 RNA(pgRNA)的中间体来完成生命周期。HBV 感染是慢性肝炎的主要原因,并有发展为肝硬化和原发性肝细胞癌(HCC)的风险。HBV mRNA 的 m6A 甲基化修饰,位于其 3'端、pgRNA 的 5'端和 3'端的 ε 茎环上,旨在调节 HBV 的生命周期^[33]。其中,pgRNA 的 5'端 m6A 修饰可以正向调控转录过程,而其 3'端的 m6A 修饰位点可破坏转录本的稳定性,表明 m6A 对 HBV 具有双重调节作用,修饰水平和位点的改变会不同方向地影响 HBV 复制^[33]。敲低 METTL3/METTL14 明显降低 HBV mRNA 中 m6A 的水平,并增加 HBsAg、HBcAg 的表达及稳定性;相反,敲低 FTO/ALKBH5 可减少 HBV 蛋白的产生。表明 m6A 在 HBV mRNA 上的存在会降低 RNA 稳定性和病毒蛋白质的产生^[33]。YTHDF2 能够与 RIG-I 竞争性结合 HBV mRNA 的 m6A 位点。降低 YTHDF2 表达能够增加 HBV mRNA 与 RIG-I 的相互作用;另外,YTHDF2 通过将核酸外切酶(ISG20)招募到 HBV pgRNA 的 m6A 位点以增强其抗病毒活性^[34-35]。此外,HBV 感染还可增强 PTEN mRNA 的 m6A 修饰,导致其不稳定和蛋白质表达下降,同时抑制 IFN 信号转导,促进 HCC 的发生^[36]。以上研究提示,HBV mRNA 受宿主 m6A 修饰系统的影响,修饰水平的增加降低病毒的复制水平;病毒和细胞转录本的 m6A 修饰是 HBV 病毒复制的重要调节因子。更为重要的,HBV RNA 的 m6A 修饰可能是病毒免疫逃逸的主要手段之一,有助于病毒的持续性感染。

2.2.2 EB 病毒 EB 病毒(EBV)是第一个在人类体内发现的与 B 细胞淋巴瘤、胃癌和鼻咽癌等肿瘤相关的 DNA 病毒^[37]。EBV 具有溶解性感染和潜伏性感染两个阶段,EBV 在潜伏期时可以表达 6 种核抗原(EBNA1、2、3A、3B、3C 和 LP)^[38]。METTL14 在 EBV 潜伏感染的细胞中显著增加,并在 EBV 溶解感染过程中下调。敲低 METTL14 基因导致潜伏基因表达

降低和裂解基因表达增加。对病毒介导的细胞转化至关重要的 EBV 潜伏抗原 EBNA3C 的 m6A 修饰水平上调,可能是通过 METTL14 介导的,该研究提示 METTL14 是 EBV 诱导肿瘤发生的关键因子^[39]。因此,靶向 METTL14 可能是控制 EBV 相关癌症的重要策略。EBV 潜伏基因 mRNA 的 m6A 修饰,增加了病毒 mRNA 的稳定性,而裂解基因 mRNA 的 m6A 修饰则促进了其转录物的降解,表明 m6A 甲基化修饰有助于维持 EBV 潜伏期^[39-40]。此外,部分 EBV 裂解基因的 m6A 修饰介导 RNA 衰变,导致病毒复制减少^[41]。沉默 METTL3 或通过 DAA 或 UZH1a 抑制甲基化,明显降低了病毒裂解蛋白的表达并减少了后代病毒粒子的产生^[42]。沉默 METTL3 后,潜伏抗原 EBNA2 mRNA 和蛋白水平降低^[43]。提示 m6A 修饰增加可促进 EBV 感染细胞中病毒的复制和增殖,可能参与病毒介导的肿瘤形成过程。

2.2.3 腺病毒 腺病毒(AdV)是一种核复制 DNA 病毒,具有线性双链基因组,主要引起呼吸道、胃肠道和尿路感染。腺病毒 mRNA 具有 m6A 修饰,但具体位置尚不清楚。使用直接 RNA 长读测序相结合的方法进行分析发现,病毒感染并没有影响 m6A 调节子的表达,调节因子仅集中在病毒 DNA 复制位点周围的环状结构旁。病毒感染的 A549 细胞,利用 meRIP-seq 技术测序,在病毒转录本中共检测到 25 个 m6A 峰。在 METTL3 基因敲除后,病毒早期基因表达略有降低而晚期基因表达显著降低,并且 m6A 修饰能够介导晚期病毒 RNA 的剪接效率^[44]。表明 m6A 修饰可以调节病毒不同阶段基因的表达,在病毒感染晚期阶段优先发挥作用。

3 m6A 修饰调节宿主对病毒感染的反应

宿主细胞可以利用模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)来感知病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)并启动先天免疫反应,激活细胞因子通路诱导限制病毒复制的抗病毒基因表达,并进一步激活适应性免疫反应。而病毒也进化出诸多能够抵御宿主免疫清除的功能。因此,病毒与宿主细胞之间的相互作用错综复杂,细胞在被感染过程中经历持续的动态变化,病毒蛋白通过影响 m6A 修饰相关蛋白的表达及活性影响宿主的 m6A 修饰,进而影响细胞因子水平、干扰免疫细胞增殖和活性以及降低应激反应,以确保病毒顺利复制。

3.1 m6A 修饰影响细胞因子水平 当机体检测到外来微生物的蛋白、核酸及其他成分后,信号通路由 PRRs 激活并驱动细胞因子的产生,进一步启动抗病毒反应并诱导适应性免疫应答^[45]。病毒 RNA 通过调节免疫反应通路中信号分子的产生(如 TBK1、TRAF2、TRAF3 等)激活固有免疫反应。研究表明,m6A 修饰在此过程中发挥重要作用^[46]。在小鼠的巨噬细胞中,MAVS、TRAF3 和 TRAF6 的转录本具有 m6A 修饰,RNA 解旋酶 Dead-Box 46(DDX46)可以在病毒感染后与这些 mRNA 结合,招募 m6A 去甲基化酶 ALKBH5,使这些转录本去甲基化。去甲基化后的 mRNAs 越来越多地保留在细胞核中,抑制了信号传导和 IFN 的产生^[47]。阅读蛋白 YTHDF2 可以抑制内毒素诱导的炎症反应^[48],内毒素通过 TLR4 信号激活核因子 KappaB(NF- κ B)和丝裂原激活的蛋白激酶信号^[49]。表明 m6A 修饰可以通过调节信号分子的表达来激活抗病毒信号通路,增加细胞因子的产生,诱导炎症反应的发生。

3.2 m6A 修饰影响免疫细胞的激活 病毒感染过程中产生的细胞因子会影响免疫细胞的成熟和激活。m6A 还可以调节病毒感染细胞和免疫细胞之间的通讯。树突状细胞(dendritic cells, DC)是一类在连接天然免疫反应和获得性免疫反应中起重要作用的抗原提呈细胞。已有证据表明 m6A 可以调节 DC 的成熟^[50]。使用小鼠 DC 细胞,发现 METTL3 促进 DC 成熟的方式依赖其对 m6A 修饰的催化活性,可能是通过促进 m6A 修饰的 CD40 和 CD80 转录本和 TIRAP 的翻译,而 TIRAP 是 TLR4/MyD88 途径中的一种信号蛋白。因此,它的表达对 TLR4 信号和下游 DC 激活具有重要意义,而 CD40 和 CD80 是共刺激分子,识别 T 细胞激活的第二信号^[51]。缺乏 METTL3 的 DC 缺乏促进 T 细胞增殖的能力,表明 m6A 在 DC 的成熟和抗原提呈中具有重要作用。METTL3 基因敲除的小鼠中 T 细胞缺乏增殖和分化为效应性 T 细胞的能力,证明 m6A 修饰在 T 细胞的动态平衡和分化过程中必不可少^[52]。这些工作表明 m6A 修饰对病毒感染后宿主的免疫反应、调节免疫细胞功能具有重要意义。

3.3 m6A 修饰影响应激反应 除了诱导免疫反应外,病毒感染还可以诱导细胞应激反应,从而影响细胞的新陈代谢^[53]。黄病毒科 RNA 病毒感染改变了特定细胞 mRNA 的 m6A 修饰,包括 RIOK3 和 CIRBP 等,依赖于先天性免疫感应和内质网(ER)应激途径。在病毒感染过程中,RIOK3 的 m6A 修饰可促进其翻译,而 CIRBP 的 m6A 修饰减少可促进选择性剪接。研究表明,病毒感染激活的内质网应激反应参与了 RIOK3 或 CIRBP 中 m6A 的变化^[54-55]。提示病毒感染诱导的先天免疫应答和内质网应激导致宿主 mRNA 甲基化修饰水平的改变。内质网应激是否诱发了先天免疫反应从而被 m6A 调控以应对病毒感染仍有待探索。多种病毒扰乱 m6A 机制的表达,其中包括人巨细胞病毒,它增加了 m6A 的丰度^[56-57],肠道病毒 71 增加了 METTL3 和 METTL14 的表达,并改变了阅读蛋白、甲基化酶和去甲基化酶的亚细胞定位^[58]。研究发现在小鼠 VSV 感染期间,ALKBH5 的去甲基化活性被削弱,增加了参与柠檬酸循环的氧代二酸脱氢酶(OGDH)mRNA 的 m6A 修饰,降低其 mRNA 的稳定性,导致病毒复制必需的代谢产物亚甲基丁二酸的产量降低,最终抑制病毒复制^[59]。这些结果表明,在病毒感染期间,m6A 与细胞代谢发挥协同作用,为病毒性疾病的干预与治疗提供潜在药物靶点。

4 小结

在不同的细胞模型中,m6A 相关调节因子对同一病毒的复制影响具有相互矛盾的结果,而且对不同病毒的复制也具有完全相反的调节作用,更明确的结论需要未来实验进一步验证。病毒蛋白也可以反过来通过影响 m6A 修饰调节因子而调节宿主 m6A 的修饰水平,从而最终影响病毒的复制及致病性。因此,研究 m6A 修饰的调控对筛选病毒与宿主相互作用的下游靶标具有重要意义,能为后续抗病毒药物的研发提供帮助。另外,m6A 修饰在病毒生命周期中发挥重要作用,开发靶向 m6A 调节因子抑制剂可作为新的治疗方法来达到抗病毒目的。目前主要运用高通量测序、比色法以及液相色谱质谱联用(LC-MS)等技术手段来检测 m6A 水平,具体方法包括 GLORI、MeRIP-seq、miCLIP-seq、SCARLET、LC-MS/MS 等。m6A 修饰与病毒感染相关性的研究鲜有报道,不同病毒感染

后准确定位 m6A 的修饰靶点,可为开发新的抗病毒药物提供理论基础。

【参考文献】

- [1] Yue Y, Liu J, He C. RNA N6-methyladenosine methylation in post-transcriptional gene expression regulation [J]. *Genes Dev*, 2015, 29(13):1343-1355.
- [2] Visvanathan A, Somasundaram K. mRNA traffic control reviewed: N6-Methyladenosine (m(6)A) takes the driver's seat [J]. *BioEssays*, 2018, 40(1):201700093.
- [3] Gams R A, Omura GA, Velez-Garcia E, et al. Alternating sequential combination chemotherapy in the management of advanced Hodgkin's disease [J]. *Cancer*, 1986, 58(9):1963-8.
- [4] Levis R, Penman S. 5'-terminal structures of poly(A) + cytoplasmic messenger RNA and of poly(A) + and poly(A)-heterogeneous nuclear RNA of cells of the dipteran *Drosophila melanogaster* [J]. *J Mol Biol*, 1978, 120(4):487-515.
- [5] Clancy MJ, Shambaugh ME, Timpte CS, et al. Induction of sporulation in *Saccharomyces cerevisiae* leads to the formation of N6-methyladenosine in mRNA: a potential mechanism for the activity of the IME4 gene [J]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(20):4509-4518.
- [6] Ito T, Kimura S, Seto K, et al. Peroxiredoxin I plays a protective role against UVA irradiation through reduction of oxidative stress [J]. *J Dermatol Sci*, 2014, 74(1):9-17.
- [7] Huang H, Weng H, Zhou K, et al. Histone H3 trimethylation at lysine 36 guides m(6)A RNA modification co-transcriptionally [J]. *Nature*, 2019, 567(7748):414-419.
- [8] Ping XL, Sun BF, Wang L, et al. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N6-methyladenosine methyltransferase [J]. *Cell Res*, 2014, 24(2):177-189.
- [9] Schwartz S, Mumbach MR, Jovanovic M, et al. Perturbation of m6A writers reveals two distinct classes of mRNA methylation at internal and 5' sites [J]. *Cell Rep*, 2014, 8(1):284-296.
- [10] Horiuchi K, Kawamura T, Iwanari H, et al. Identification of Wilms' tumor 1-associating protein complex and its role in alternative splicing and the cell cycle [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(46):33292-33302.
- [11] Pendleton KE, Chen B, Liu K, et al. The U6 snRNA m(6)A methyltransferase METTL16 regulates SAM synthetase intron retention [J]. *Cell*, 2017, 169(5):824-835.
- [12] Jia G, Fu Y, Zhao X, et al. N6-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO [J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 7(12):885-887.
- [13] Gerken T, Girard CA, Tung YC, et al. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase [J]. *Science*, 2007, 318(5855):1469-1472.
- [14] Tong J, Flavell RA, Li HB. RNA m(6)A modification and its function in diseases [J]. *Front Med*, 2018, 12(4):481-489.
- [15] Aik W, Scotti JS, Choi H, et al. Structure of human RNA N-methyladenine demethylase ALKBH5 provides insights into its mechanisms of nucleic acid recognition and demethylation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(7):4741-4754.
- [16] Xiao W, Adhikari S, Dahal U, et al. Nuclear m(6)A reader YTHDC1 regulates mRNA splicing [J]. *Mol Cell*, 2016, 61(4):507-519.
- [17] Patil DP, Pickering BF, Jaffrey SR. Reading m(6)A in the Transcriptome: m(6)A-Binding Proteins [J]. *Trends Cell Biol*, 2018, 28(2):113-127.
- [18] Wang X, Lu Z, Gomez A, et al. N6-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability [J]. *Nature*, 2014, 505(7481):117-120.
- [19] Yang Y, Hsu PJ, Chen YS, et al. Dynamic transcriptomic m6A decoration: writers, erasers, readers and functions in RNA metabolism [J]. *Cell Res*, 2018(28):616-624.
- [20] Huang H, Weng H, Sun W, et al. Recognition of RNA N6-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation [J]. *Nat Cell Biol*, 2018(20):285-295.
- [21] To EE, Luong R, Diao J, et al. Novel endosomal NOX2 oxidase inhibitor ameliorates pandemic influenza A virus-induced lung inflammation in mice [J]. *Respirology (Carlton, Vic)*, 2019, 24(10):1011-1017.
- [22] Narayan P, Ayers DF, Rottman FM, et al. Unequal distribution of N6-methyladenosine in influenza virus mRNAs [J]. *Mol Cell Biol*, 1987, 7(4):1572-1575.
- [23] Courtney DG, Kennedy EM, Dumm RE, et al. Epitranscriptomic enhancement of influenza A virus gene expression and replication [J]. *Cell Host Microbe*, 2017, 22(3):377-386.
- [24] Fustin JM, Doi M, Yamaguchi Y, et al. RNA-methylation-dependent RNA processing controls the speed of the circadian clock [J]. *Cell*, 2013, 155(4):793-806.
- [25] Lichinchi G, Gao S, Saletore Y, et al. Dynamics of the human and viral m(6)A RNA methylomes during HIV-1 infection of T cells [J]. *Nat Microbiol*, 2016(1):16011.
- [26] Tirumuru N, Zhao BS, Lu W, et al. N(6)-methyladenosine of HIV-1 RNA regulates viral infection and HIV-1 Gag protein expression [J]. *eLife*, 2016(5):e15528.
- [27] Tsai K, Bogerd O HP, Kennedy EM, et al. Epitranscriptomic addition of m(6)A regulates HIV-1 RNA stability and alternative splicing [J]. *Genes Dev*, 2021, 35(13-14):992-1004.
- [28] Jurczynszak D, Zhang W, Terry SN, et al. HIV protease cleaves the antiviral m6A reader protein YTHDF3 in the viral particle [J]. *PLoS Pathog*, 2020, 16(2):e1008305.
- [29] Tirumuru N, Wu L. HIV-1 envelope proteins up-regulate N(6)-methyladenosine levels of cellular RNA independently of viral replication [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(9):3249-3260.
- [30] Liu J, Xu YP, Li K, et al. The m(6)A methylome of SARS-CoV-2 in host cells [J]. *Cell Res*, 2021, 31(4):404-414.
- [31] Burgess HM, Depledge DP, Thompson L, et al. Targeting the m6A RNA modification pathway blocks SARS-CoV-2 and HCoV-OC43 replication [J]. *Genes Dev*, 2021, 35(13-14):1005-1019.
- [32] Li N, Hui H, Bray B, et al. METTL3 regulates viral m6A RNA modification and host cell innate immune responses during SARS-CoV-2 infection [J]. *Cell Rep*, 2021, 35(6):109091.
- [33] Imam H, Khan M, Gokhale NS, et al. N6-methyladenosine modification of hepatitis B virus RNA differentially regulates the viral life cycle [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(35):8829-8834.

- [34] 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.
- [35] Iman H, Kim GW, Mir SA, et al. Interferon-stimulated gene 20 (ISG20) selectively degrades N6-methyladenosine modified Hepatitis B Virus transcripts [J]. *PLoS Pathog*, 2020, 16(2): e1008338.
- [36] Kim GW, Iman H, Khan M, et al. HBV-induced increased N6 methyladenosine modification of pten rna affects innate immunity and contributes to HCC [J]. *Hepatology*, 2021, 73(2): 533-547.
- [37] Su WH, Hildesheim A, Chang YS. Human leukocyte antigens and epstein-barr virus-associated nasopharyngeal carcinoma: old associations offer new clues into the role of immunity in infection-associated cancers [J]. *Front Oncol*, 2013(3): 299.
- [38] Hernadi K, Szalmas A, Mogyrosi R, et al. Prevalence and activity of Epstein-Barr virus and human cytomegalovirus in symptomatic and asymptomatic apical periodontitis lesions [J]. *J Endod*, 2010, 36(9): 1485-1489.
- [39] Lang F, Singh RK, Pei Y, et al. EBV epitranscriptome reprogramming by METTL14 is critical for viral-associated tumorigenesis [J]. *PLoS Pathog*, 2019, 15(6): e1007796.
- [40] Zhang K, Zhang Y, Maharjan Y, et al. Caspases switch off the m(6)A RNA modification pathway to foster the replication of a ubiquitous human tumor virus [J]. *mBio*, 2021, 12(4): e0170621.
- [41] Xia TL, Li X, Wang X, et al. N(6)-methyladenosine-binding protein YTHDF1 suppresses EBV replication and promotes EBV RNA decay [J]. *EMBO Rep*, 2021, 22(4): e50128.
- [42] Yanagi Y, Watanabe T, Hara Y, et al. EBV exploits RNA m(6)A modification to promote cell survival and progeny virus production during lytic cycle [J]. *Front Microbiol*, 2022(13): 870816.
- [43] Zheng X, Wang J, Zhang X, et al. RNA m(6)A methylation regulates virus-host interaction and EBNA2 expression during Epstein-Barr virus infection [J]. *Immun Inflamm Dis*, 2021, 9(2): 351-62.
- [44] Price AM, Hayer KE, McIntyre ABR, et al. Direct RNA sequencing reveals m(6)A modifications on adenovirus RNA are necessary for efficient splicing [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 6016.
- [45] Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation [J]. *Cell*, 2010, 140(6): 805-820.
- [46] Shulman Z, Stern-Ginossar N. The RNA modification N6-methyladenosine as a novel regulator of the immune system [J]. *Nat Immunol*, 2020, 21(5): 501-512.
- [47] Zheng Q, Hou J, Zhou Y, et al. The RNA helicase DDX46 inhibits innate immunity by entrapping m(6)A-demethylated antiviral transcripts in the nucleus [J]. *Nat Immunol*, 2017, 18(10): 1094-1103.
- [48] Yu R, Li Q, Feng Z, et al. m6A reader YTHDF2 regulates LPS-induced inflammatory response [J]. *Intern J Mol Sci*, 2019, 20(6): e5012.
- [49] Lester SN, Li K. Toll-like receptors in antiviral innate immunity [J]. *J Mol Biol*, 2014, 426(6): 1246-1264.
- [50] Wang H, Hu X, Huang M, et al. Mettl3-mediated mRNA m(6)A methylation promotes dendritic cell activation [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1898.
- [51] Van Gool SW, Vandenberghe P, De Boer M, et al. CD80, CD86 and CD40 provide accessory signals in a multiple-step T-cell activation model [J]. *Immunol Rev*, 1996(153): 47-83.
- [52] Li HB, Tong J, Zhu S, et al. m(6)A mRNA methylation controls T cell homeostasis by targeting the IL-7/STAT5/SOCS pathways [J]. *Nature*, 2017, 548(7667): 338-342.
- [53] Moreno-Altamirano MMB, Kolstoe SE, Sanchez-Garcia FJ. Virus control of cell metabolism for replication and evasion of host immune responses [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019(9): 95.
- [54] Gokhale NS, McIntyre ABR, Mattocks MD, et al. Altered m(6)A modification of specific cellular transcripts affects flaviviridae infection [J]. *Mol Cell*, 2020, 77(3): 542-555.
- [55] Blázquez AB, Escribano-Romero E, Merino-Ramos T, et al. Stress responses in flavivirus-infected cells: activation of unfolded protein response and autophagy [J]. *Front Microbiol*, 2014(5): 266.
- [56] Rubio RM, Depledge DP, Bianco IC, et al. RNA m(6)A modification enzymes shape innate responses to DNA by regulating interferon β [J]. *Genes Dev*, 2018, 32(23-24): 1472-1484.
- [57] Lee BK, Cho IS, Oh JS, et al. Continuous neuromuscular blockade infusion for out-of-hospital cardiac arrest patients treated with targeted temperature management: A multicenter randomized controlled trial [J]. *PLoS One*, 2018, 13(12): e0209327.
- [58] Hao H, Hao S, Chen H, et al. N6-methyladenosine modification and METTL3 modulate enterovirus 71 replication [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(1): 362-374.
- [59] Liu Y, You Y, Lu Z, et al. N(6)-methyladenosine RNA modification-mediated cellular metabolism rewiring inhibits viral replication [J]. *Science*, 2019, 365(6458): 1171-1176.

【收稿日期】 2022-11-28 【修回日期】 2023-02-12