

信使 RNA 甲基化在肾脏病中研究进展

张诗文^{1,2} 栾军军¹ 周华¹

¹ 中国医科大学附属盛京医院肾内科, 沈阳 110004; ² 抚顺市中心医院重症医学科, 抚顺 113006

通信作者: 周华, Email: huazhou_cmu@163.com

【摘要】 信使 RNA (messenger RNA, mRNA) 甲基化修饰近年来研究普遍, 包括 N6-甲基腺苷 (m^6A)、N5-甲基胞苷 (m^5C) 和 N1-甲基腺苷 (m^1A) 等多种修饰在内。mRNA 甲基化修饰的动态可逆生物学过程包括“编码器 (Writer)”“消码器 (Eraser)”和“读码器 (Reader)”的参与, 甲基化修饰中出现异常, 可导致多种疾病的发生、发展, 其中包括急性肾损伤和慢性肾脏病等肾脏相关疾病。mRNA 甲基化修饰逐渐成为诊断和监测人类肾脏疾病发生、发展的生物标志物。本文将对 mRNA 甲基化在各种人类肾脏疾病中的研究展开简要论述。

【关键词】 mRNA 甲基化; 急性肾损伤; 慢性肾脏病; N6-甲基腺苷; N1-甲基腺苷; N5-甲基胞苷

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFC0907400); 国家自然科学基金 (82170740, 82100743); 辽宁省重点研发指导计划 (2019JH8/10300009); 辽宁省兴辽英才计划 (XLYC2002081); 辽宁省攀登学者 (2013222); “盛京学者”支持计划 (202206)

DOI: [10.3969/j.issn.1671-2390.2024.02.009](https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-2390.2024.02.009)

Research advances of mRNA methylation in kidney diseases

Zhang Shi-wen^{1,2}, Luan Jun-jun¹, Zhou Hua¹

¹ Department of Nephrology, Affiliated Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, China; ² Department of Critical Care Medicine, Central Municipal Hospital, Fushun 113006, China

Corresponding author: Zhou Hua, Email: huazhou_cmu@163.com

【Abstract】 Recently mRNA methylation modification has been extensively examined, including N6-methyladenosine (m^6A), N5-methylcytidine (m^5C) and N1-methyladenosine (m^1A). The dynamic reversible biological processes of mRNA methylation modification include the participations of "Writer", "Eraser" and "Reader". Abnormal methylation may lead to the occurrence and development of acute kidney injury (AKI) and chronic kidney disease (CKD). And mRNA methylation modification shall become a practical biomarker for diagnosing and monitoring kidney diseases.

【Key words】 RNA methylation; acute kidney injury; chronic kidney disease; m^6A ; m^1A ; m^5C

Fund program: National Nature Science Foundation of China (82170740 & 82100743); Key R&D Guidance Plan of Liaoning Province (2019JH8/10300009); Liaoning Provincial Grant of Talent Revitalization (XLYC2002081); Emerging Scholars of Liaoning Province (2013222); Outstanding Scientific Grant of Shengjing Hospital (202206).

DOI: [10.3969/j.issn.1671-2390.2024.02.009](https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-2390.2024.02.009)

急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 的发病率近年来呈上升趋势, 在入院的患者中, 大约有 10%~15% 的患者发生 AKI, 而在重症监护的患者中, 有超过 50% 的患者报告发生 AKI^[1], 并且超过 30% 存活的 AKI 患者在 2 至 5 年内会发展为慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD)^[2]。尽管

进行了广泛的研究, 但没有有效的治疗方法来促进或加速肾脏的恢复。因此, 目前的方法致力于早期识别患有 AKI 的高危人群, 并采取早期应对措施, 防止病情发展到 CKD 阶段^[3]。

信使核糖核酸即信使 RNA (messenger RNA, mRNA),

是一类单链核糖核酸,不仅可以指导蛋白质合成而且携有遗传信息。甲基化是指甲基基团的催化转移,甲基化过程可以发生在活性甲基化合物到其他化合物上。或是某些蛋白质或核酸被化学修饰等,从而导致各种甲基化产物形成。近年来研究,mRNA 甲基化参与调控临床多种疾病,越来越多的证据表明,mRNA 甲基化作为最常见的 mRNA 修饰,在肾脏疾病的发生、发展过程中具有重要意义。本文将从常见的 mRNA 甲基化在肾脏疾病中的研究进展进行简要综述。

一、mRNA 甲基化的分类及相关酶与蛋白

RNA 修饰包括转移 RNA(transfer RNA, tRNA)、核糖体 RNA(ribosomal RNA, rRNA)和 mRNA,以及各种短和长的非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA),2021 年有 172 个新的修饰残基被添加到 MODOMICS 数据库中^[4]。RNA 修饰对人类健康和疾病的影响迅速扩大,几乎每天都有新的研究将 RNA 修饰与疾病状况联系起来。其中 mRNA 甲基化修饰包括 N6-甲基腺苷(m⁶A)、5-甲基胞嘧啶(m⁵C)、N1-甲基腺苷(m¹A)、5-羟甲基胞嘧啶(hm⁵C)和假尿苷(Ψ)等,其中 m⁶A 最为丰富,研究也较多^[5]。1983 年 m⁶A 被发现可加速哺乳动物细胞中的前 mRNA 加工和 mRNA 转运,对哺乳动物至关重要^[6]。mRNA 甲基化修饰发生过程由一系列蛋白复合物参与,这些蛋白被定义为“编码器(Writer)”“消码器(Eraser)”和“读码器(Reader)”,分别对应 mRNA 的甲基转移催化酶、去甲基化酶和阅读蛋白。(表 1)

1. m⁶A 甲基化修饰相关酶与蛋白 m⁶A 甲基化修饰发生在腺嘌呤的第 6 个 N 原子上,是影响多种生物学过程的最常见也是最丰富的甲基化修饰。目前研究发现 m⁶A 的“编码器(Writer)”主要有甲基转移酶 3/14 (methyltransferase like 3/14, METTL3/14)、Wilms 肿瘤结合蛋白 1(Wilms'tumor 1-associating protein, WTAP)、类病毒样 m⁶A 相关甲基转移酶(Vir like m⁶A methyltransferase associated, VIRMA)、RNA 结合基序蛋白 15/15B(RNA binding motif protein 15/15B, RBM15/15B)、锌指 CCCH 域蛋白 13(zinc finger CCCH-type containing 13, ZC3H13)和 Cbl 原癌基因 1(Cbl proto ncogene like 1, CBLL1)^[7]。m⁶A 的“消码器”去甲基化酶可以将 m⁶A 去甲基化后转化为 A。包括最早发现的脂肪量和肥胖相关基因蛋白,即 α-酮戊二酸依赖性双加氧酶(fat mass and obesity-associated protein, FTO)^[8]

和 AlkB 同源蛋白 5(Alk B homologue 5, ALKBH5)^[9]。m⁶A 的“读码器(reader)”,即 m⁶A 结合蛋白,识别并结合 mRNA 上的 m⁶A 位点,主要包括脆性 X 智力低下蛋白(fragile X mental retardation protein, FMRP)、异质核核糖核蛋白 A2B1(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2B1, HNRNPA2B1)、胰岛素样生长因子 II mRNA 结合蛋白(insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 1, IGF2BP)包括 IGF2BP1、IGF2BP2 和 IGF2BP3 以及研究最广泛的含有 YTH(YT521-B homology)结构域的 RNA 结合蛋白(YTH domain containing/YTH domain family, YTHDC/YTHDF),包括 YTHDF1、YTHDF2、YTHDF3 和 YTHDC1、YTHDC2^[7]。m⁶A 甲基化发生的动态过程如图 1 所示。

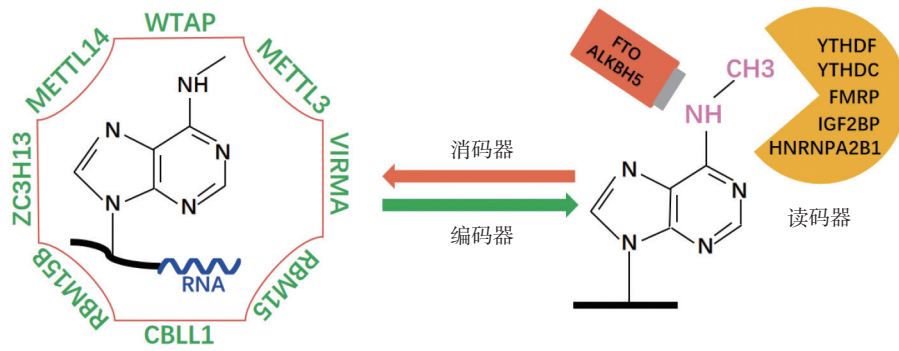
2. m⁵C 甲基化修饰相关酶与蛋白 m⁵C 甲基化修饰发生在胞嘧啶的第 5 位 C 原子上。m⁵C 是一种丰富的,广泛存在于多种 RNA 中的修饰,包括细胞质和线粒体 rRNAs 和 tRNAs,以及 mRNAs、增强子 RNAs(enhancer RNAs, eRNAs)和许多非编码 RNAs。在真核生物中,m⁵C 的“编码器(Writer)”包括 NOL1/NOP2/SUN 结构域(NSUN)家族的酶,该家族在人类中包含 7 个成员,NSUN1-7^[10],以及 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferases, DNMT)的同源物 DNMT1、DNMT3A、DNMT3B 和 DNMT2(又称 TRDMT1)^[11]。先前研究表明 NSUN2 和 DNMT2 能够参与 mRNA 的代谢过程^[12-13],近年研究者进一步发现甲基转移酶 NSUN6 也可靶向 mRNA^[14]。m⁵C 的“消码器(Eraser)”包括主动逆转 DNA 甲基化的 Fe(II)/α-酮戊二酸依赖性双加氧酶家族 Ten-Eleven Translocation(TET)蛋白,以 3 种亚型存在:TET1、TET2、TET3^[15],随后表明也可作用于 RNA 甲基化^[16-17]。m⁵C 的“读码器(Reader)”主要包括 YTH 结构域的家族的 YTHDF2^[18]、ALY/REF 输出因子(Aly/REF export factor ALYREF,一种 mRNA 转运适配器,又称 THOC4)是一种特异性 mRNA m⁵C 结合蛋白,调节 mRNA 的转录以及 Y-盒结合蛋白-1(Y-box-binding-protein 1,YBX1)^[19-21],众所周知的多功能 DNA 和 RNA 结合蛋白,在肿瘤疾病中研究颇多^[22-23]。m⁵C 甲基化发生的动态过程如图 2 所示。

3. m¹A 甲基化修饰相关酶与蛋白 m¹A 甲基化修饰发生在腺嘌呤第 1 个 N 原子上。m¹A 这种转录后修饰发生在酵母到哺乳动物的真核细胞中数千种不同的基因转录本上^[24],在真核生物 tRNA 和 rRNA 具有很高的丰度,近期

表 1 mRNA 甲基化的分类及相关酶与蛋白

Tab 1 Classification of mRNA methylation and related enzymes and proteins

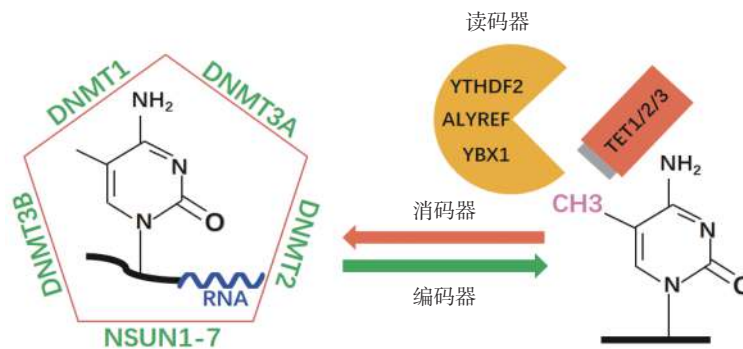
甲基化种类	编码器	消码器	读码器
m ⁶ A	METTL3/14,WTAP, VIRMA,RBM15/15B ZC3H13,CBLL1	FTO,ALKBH5	FMRP,HNRNPA2B1,IGF2BP, IGF2BP2,IGF2BP3, YTHDF1,YTHDF2,YTHDF3, YTHDC1,YTHDC2
m ⁵ C	NSUN1-7, DNMT1, DNMT3A, DNMT3B, DNMT2	TET1, TET2, TET3	YTHDF2,ALYREF YBX1
m ¹ A	TRMT6/61A,TRMT10C, TRMT61B	ALKBH1,ALKBH3, FTO,ALKBH7	YTHDF1,YTHDF2,YTHDF3, YTHDC1



注: WTAP 为 Wilms 肿瘤结合蛋白 1; METTL3/14 为甲基转移酶 3/14; VIRMA 为类病毒样 m⁶A 相关甲基转移酶; RBM15/15B 为 RNA 结合基序蛋白 15/15B; CBLL1 为 Cbl 原癌基因 1; ZC3H13 为锌指 CCCH 域蛋白 13; FTO 为 α -酮戊二酸依赖性双加氧酶; ALKBH5 为 AlkB 同源蛋白 5; YTHDF/YTHDC 为 YTH(YT521-B homology)结构域的 RNA 结合蛋白; FMRP 为脆性 X 智力低下蛋白; IGF2BP 为胰岛素样生长因子 II mRNA 结合蛋白; HNRNPA2B1 为异质核糖核糖核蛋白 A2B1。

图 1 m⁶A 甲基化动态过程

Fig 1 Dynamic process of m⁶A methylation



注: DNMT1/DNMT3A/DNMT2/DNMT3B 为 DNA 甲基转移酶的同源物; NSUN1-7 为 NOL1/NOP2/SUN 结构域家族酶; YTHDF2 为 YTH(YT521-B homology)结构域的 RNA 结合蛋白 2; ALYREF 为 ALY/REF 输出因子; YBX1 为 Y-盒结合蛋白-1; TET1/2/3 为 Fe(II)/ α -酮戊二酸依赖性双加氧酶家族蛋白。

图 2 m⁵C 甲基化动态过程

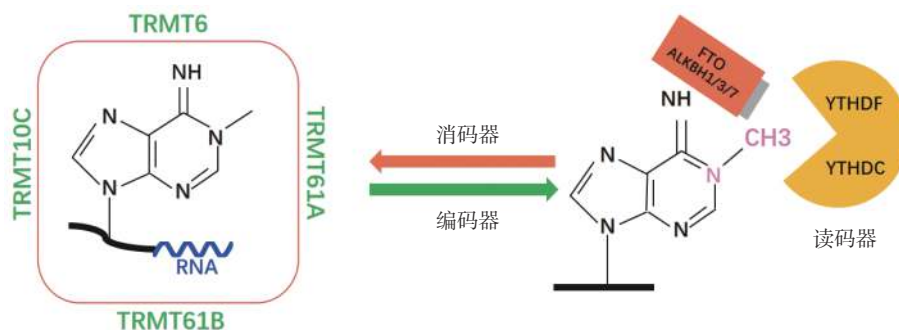
Fig 2 Dynamic process of m⁵C methylation

研究表明 m¹A 修饰亦可调控 mRNA 翻译^[25-26]。目前研究发现 m¹A 的“编码器(Writer)”主要有 tRNA 甲基转移酶 6/61A(tRNA methyltransferase 6/61A, TRMT6/61A)、tRNA 甲基转移酶 10C(TRMT10C)、tRNA 甲基转移酶 61B(TRMT61B)^[27-31]。m¹A 的“消码器(Eraser)”去甲基化酶可以将 m¹A 去甲基化后转化为 A。包括 α -酮戊二酸依赖性双加氧酶 alkB 同源酶 1(ALKBH1)^[32]、ALKBH3^[33-34] 和 FTO(又称 ALKBH9),均属于 Fe(II)/ α -酮戊二酸依赖性双加氧酶 AlkB 家族^[35]。其中 FTO 是 2018 年何川教授团队通过对 FTO CLIP-seq 数据的分析,发现 FTO 可以结合 tRNA,发挥 tRNA 的 m¹A 去甲基化酶作用,并进一步影响蛋白的翻译速度^[36]。最新报道人类的 ALKBH7 可使 ILE 中的 m¹A 和线粒体中的 Leu1 前 tRNA 脱甲基,作为新的 m¹A 的“消码器”^[37]。m¹A 的“读码器(Reader)”是在 2018 年被证实了含有 YTH 结构域的蛋白质特别是 YTHDF1-3 和 YTHDC1 直接与带有 m¹A 的 RNA 相互作用^[38]。2020 年研究者进一步在细胞中证明了 YTHDF2 作为 m¹A 的 reader 识别 m¹A 修饰^[39]。m¹A 甲基化修饰近几年研究愈加

广泛,逐渐新兴研究方向。m¹A 甲基化发生的动态过程如图 3 所示。

二、m⁶A mRNA 甲基化在肾脏疾病中相关研究

1. m⁶A mRNA 甲基化在 AKI 中相关研究 AKI 是以肾功能短时间内迅速下降为特征,由多种致病因素引起的,如缺血、肾毒性药物、氧化应激、炎症、尿路梗阻和铁死亡^[40]。AKI 发病率和病死率高,并逐年上升,更加亟须明确 AKI 的发病机制,使之得到有效治疗。近年来 mRNA 甲基化在肾脏领域研究逐年增多,为肾脏相关疾病的治疗提供了新思路^[41]。在肾缺血再灌注(ischemia-reperfusion, I/R)鼠的模型中,甲基转移酶 METTL3 的蛋白水平与 m⁶A 的 RNA 水平呈正相关,发生 I/R 期间, METTL3 蛋白水平和 m⁶A 的 RNA 水平均升高^[42]。在顺铂诱导的 AKI 小鼠模型中 m⁶A 的 RNA 水平也被证实升高^[43]。METTL14 可以通过抑制 YAP1 促进 I/R 的发生发展^[44]。Wang 等^[47]团队在脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的 AKI、单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstruction, UUO)诱导的 AKI 以及 I/R AKI 模型中研究发现 METTL3 通过 IGF2BP2 依赖的机制



注: TRMT6/61A 为 tRNA 甲基转移酶 6/61A; TRMT61B 为 tRNA 甲基转移酶 61B; TRMT10C 为 tRNA 甲基转移酶 10C; FTO 为 α -酮戊二酸依赖性双加氧酶; ALKBH1/3/7 为 α -酮戊二酸依赖性双加氧酶 alkB 同源酶 1/3/7; YTHDF/YTHDC 为 YTH(YT521-B homology) 结构域的 RNA 结合蛋白。

图 3 m^1A 甲基化动态过程

Fig 3 Dynamic process of m^1A methylation

促进 TAB3 的 m^6A 修饰并增强其稳定性。METTL3 基因和药理学抑制均可减轻肾损伤和炎症,提示 METTL3/TAB3 轴是治疗 AKI 的潜在靶点^[45]。脱甲基酶 FTO 在顺铂诱导的 AKI 中表达降低,而 RNA m^6A 水平升高,加重了肾脏损害^[46]。右美托咪定在体外通过抑制 ALKBH5 的表达而抑制 LPS 处理的人肾小管上皮(human kidney-2, HK-2)细胞的活性;诱导细胞凋亡;减少炎症细胞因子的产生,可能为脓毒症所致肾损伤的防治提供了潜在靶点。

2. m^6A mRNA 甲基化在 CKD 中相关研究 CKD 是由于各种原因导致肾脏结构和功能发生改变的一种进展性疾病,其中慢性纤维化是 CKD 的关键因素。通常被定义为肾功能下降,估算肾小球滤过率(estimated glomerular filtration rate, eGFR)低于 $60 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot (1.73 \text{ m}^2)^{-1}$,或肾脏损害的标志物,如蛋白尿、血尿或通过影像学检测不正常,且至少存在 3 个月。在 CKD 中研究者发现 m^6A 甲基化修饰在梗阻性肾病肾间质纤维化中具有重要作用,通过 UUO 模型发现 METTL3、METTL14 随着纤维化进程发展逐渐下降,而 FTO 则相反、逐渐升高。同样在 UUO 模型中研究发资金雀异黄素可增加 UUO 所致肾纤维化中 ALKBH5 的表达,降低 RNA m^6A 水平,从而改善肾损害^[48]。最近研究表明 YTHDF1 在 UUO、大剂量叶酸和单侧 I/R 损伤(U-I/R)动物模型中均表达上调,通过下调 YAP 进而可能抑制 YTHDF1 来减轻肾纤维化,发现一种有希望的减轻肾纤维化的进展治疗策略^[49]。此外,CKD 患者的白细胞 m^6A 的含量明显降低,FTO 蛋白升高,这些发现为 CKD 相关细胞功能障碍的机制提供了新的见解^[50]。糖尿病肾脏疾病(diabetic kidney disease, DKD)是 CKD 的主要病因。它们共同的病理表现是肾纤维化,将近 1/2 的 2 型糖尿病患者和 1/3 的 1 型糖尿病患者会发展为 CKD^[51]。研究者用高糖处理 HK-2 细胞,作为 DKD 的细胞模型,发现高糖处理后的细胞中 METTL14 表达和 m^6A 甲基化的水平均降低,经 PTEN 介导的 METTL14 调节的 PI3K/Akt 信号通路使 HDAC5 上调,导致 DKD 肾小管细胞上皮间质转化^[52]。METTL14 还可通过对 α -Klotho 的 m^6A 修饰,促进高糖诱导的肾小球内皮细胞损伤和 DKD 的发生发展^[53]。秋葵中提取的总黄酮通过调节

NLRP3 炎症小体和 PTEN/PI3K/Akt 信号通路的激活,以 METTL3 依赖的方式改善足细胞焦亡和损伤,揭示了 DKD 足细胞焦亡和损伤的潜在机制^[54]。此外,吴永贵团队刚刚发表的研究结果首次提出 METTL3 在 1 型和 2 型 DKD 模型中的高表达,并通过 IGF2BP2 依赖的机制提高足细胞 TIMP2 的 m^6A 修饰水平,增强其稳定性,通过上调 Notch3/4 信号通路促进 DKD 足细胞炎症和凋亡的发生发展。抑制 TIMP2 表达可以减轻 DKD 足细胞损伤,揭示了 DKD 的一种新的致病机制,为探索有效的 DKD 治疗策略开辟了新的途径^[55]。

3. m^6A mRNA 甲基化在其他肾脏疾病中相关研究

m^6A mRNA 甲基化在肾脏疾病中是研究最为广泛的甲基化。除了在以上肾脏病中有研究外,还有研究结果发现粘菌素诱导的肾损伤肾组织中 m^6A 总甲基化水平, METTL3 显著降低。METTL3 介导的 m^6A 甲基化修饰通过 Keap1/Nrf2 信号通路介导细胞凋亡参与粘菌素诱导的肾毒性^[56]。足细胞在蛋白尿性肾病的进展中起着决定性的作用,足细胞病和足细胞损伤患者 METTL14 的上调, METTL14 敲除后改善 ADR 肾病小鼠细胞凋亡和炎症反应,随着检测技术的革新, m^6A RNA 水平和 METTL14 表达水平的检测可以作为一种新的诊断蛋白尿性肾病的生物标志物^[57]。此外 m^6A 甲基化也同样调控狼疮性肾炎的免疫特性^[58]。因此, m^6A mRNA 甲基化在肾脏疾病中研究最为广泛。

三、 m^5C mRNA 甲基化在肾脏疾病中相关研究

m^5C mRNA 甲基化是第二种常见类型,仅次于 m^6A 。较 m^1A 甲基化在肾脏病中的研究稍多一些,逐渐成为新兴的研究领域,其中 m^5C 的甲基转移酶未见肾脏方面研究报道, DNA 甲基化水平脱甲基酶 TET2 在基础状态下对肾脏的发育和功能是不可或缺的,同时可能通过抑制炎症反应来保护肾脏免受 I/R 损伤。提示 TET2 可能是 I/R 诱导的 AKI 的潜在干预靶点^[58]。另外, TET2 在正常足细胞中表达升高,在 FSGS 大鼠和 TGF- β 1 诱导的足细胞上皮间充质细胞转化过程中其表达降低,其参与了足细胞损伤^[59]。但此研究结果并没有分析 mRNA 甲基化水平。相比较 m^5C

RNA 甲基化结合蛋白 YBX1 在肾脏中的作用较为突出, 可以减轻 UUO 小鼠的肾脏纤维化^[60], 在 HK-2 细胞中, YBX1 与 TGF-β15'UTR 结合并促进 TGF-β1 翻译, 并提示 YBX1 可能是一种理想的治疗靶点 CKD, 但同时更加明确了 YBX1 的双相作用, 低浓度的 YBX1 刺激增强 mRNA 翻译, 但较高浓度的 YBX1 抑制 mRNA 的翻译^[61]。2021 年研究发现 YBX1 作为细胞周期调节因子, 在 CKD 治疗后其表达水平显著下降, 为 CKD 治疗新策略提供可靠分子靶点^[62]。此外研究发现 YBX1 在狼疮肾炎中发挥抗炎作用^[63]。(表 2)

四、m¹A mRNA 甲基化在肾脏疾病中相关研究

m¹A mRNA 甲基化是近年来才被挖掘出在疾病中发挥特定的作用, 2017 年研究发现 m¹A 在线粒体编码的转录本中很普遍。通过线粒体定位 m¹A 甲基转移酶 TRMT61B 操纵 m¹A 水平从而干扰翻译。结果表明, 除了 mt-tRNA 和 mt-rRNA 外, TRMT61B 还可以修饰 mt-mRNA^[29]。在不同的肾组织损伤大鼠模型(I/R、中毒性损伤和照射)及人急性肾缺血中, 循环 tRNA 衍生物水平迅速升高, 利用 tRNA 特异性修饰的 m¹A 抗体, 发现 tRNA 损伤可反映早期氧化应激损伤^[64]。而 m¹A 调控 mRNA 水平在肾脏疾病中未见研究报告, 需要发掘更多的证据证明 m¹A 在肾脏病中的作用机制。

五、甲基化相关检测技术

基于甲基化研究广泛, 相关的研究技术也颇为丰富。分别是(1)基于抗体的检测方法: meRIP-seq、CLIP/IP、mi-CLIP、LAIC-seq、meRIP-qPCR 以及 ELISA。(2)基于消化的检测方法: LC-MS、SCARLET、2D-TLC、specific deoxyribozymes、MazF 以及 MAZTER-seq。(3)基于 RT 的检

测方法: 4SedTTP-RT、Tth polymerase 以及 RT-KTQ polymerase。(4)基于连接的检测方法: T3/T4 DNA ligase-qPCR 和 SELECT。(5)基于杂交的检测方法: melting-qPCR。(6)直接基于 RNA 的检测方法: Nanopore 和 SMRT。其中最为常用的是 meRIP-seq, 称为高通量测序法^[7]。检测患者中异常的甲基化修饰水平和异常表达的调控通路, 对人类肾脏疾病的诊断和治疗具有重要意义^[65]。

六、展望

随着甲基化的在疾病中的作用越来越多地被发现, mRNA 甲基化修饰成为新兴的领域。其中 m⁶A 甲基化、m⁵C 甲基化和 m¹A 甲基化是 mRNA 甲基化修饰研究最为广泛丰富的三个方面, 本文也综述了二者在肾脏病中的研究现状。在过去的几年里, 我们对甲基化修饰机制在肾功能和疾病的贡献方面取得了迅速的进展, 这为潜在的新的诊断和治疗策略提供了线索。这些研究也突出了甲基化修饰的复杂性, 以及参与 mRNA 甲基化过程的相互作用因子, 提供了对甲基化修饰基本要素的更好理解, 特别是在 AKI 及 CKD 中, 但在疾病发生发展中具体的影响机制尚需要更多的研究证明。该领域的进一步研究也将继续确定新的治疗靶点以及敏感和特异的肾脏疾病诊断的生物标志物。

利益冲突 所有作者均声明没有利益冲突

参 考 文 献

[1] Ronco C, Bellomo R, Kellum JA. Acute kidney injury[J]. *Lancet*, 2019, 394(10212): 1949-1964. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32563-2.

表 2 mRNA 甲基化在肾脏疾病中的相关研究

Tab 2 Researches of mRNA methylation in renal diseases				
甲基化类型	肾脏疾病种类	研究疾病模型	相关酶的表达水平及作用	参考文献
m ⁶ A	急性肾损伤	I/R 诱导鼠模型	m ⁶ A↑ METTL3↑	42
			METTL14 通过抑制 YAP1 促进疾病发生发展	44
		顺铂诱导鼠模型	m ⁶ A↑	43
			m ⁶ A↑ FTO↓	46
		LPS UUO I/R 分别诱导鼠模型	METTL3 被抑制后减轻疾病发生发展	45
		LPS 处理 HK-2 细胞	右美托咪定使 ALKBH5↓减轻疾病发生发展	47
	慢性肾脏病	UUO 诱导鼠模型	金雀异黄素使 ALKBH5↑ RNA m ⁶ A↓减轻疾病发生发展	48
		FA UUO U-I/R 分别诱导鼠模型	YTHDF1↑	49
		慢性肾脏病患者	白细胞中 m ⁶ A↓ FTO↑	50
	糖尿病肾脏疾病	高糖处理 HK-2 细胞	m ⁶ A↓ METTL14↓	52
		高糖处理肾小球内皮细胞	METTL14 调节 <i>α-Klotho</i> 的 m ⁶ A 修饰促进疾病发生发展	53
		高糖处理足细胞	秋葵总黄酮调节 METTL3 依赖的 m ⁶ A 减轻疾病发生发展	54
STZ 诱导鼠模型		METTL3↑	55	
其他非肿瘤肾脏病	粘菌素处理的小鼠肾小管上皮细胞	m ⁶ A↓ METTL3↓	56	
	足细胞病和足细胞损伤患者	METTL14↑	57	
m ⁵ C	慢性肾脏病	UUO 诱导鼠模型	YBX1 减轻肾纤维化, 减轻疾病发生发展	60
		HK-2 细胞	HK-2 细胞的 TGF-β1 翻译需要 YBX1 结合其 mRNA 5'-非翻译区的高亲和位点; 而与低亲和位点结合会抑制翻译	61

- [2] Neyra JA, Chawla LS. Acute kidney disease to chronic kidney disease[J]. *Crit Care Clin*, 2021, 37(2): 453-474. DOI: [10.1016/j.ccc.2020.11.013](https://doi.org/10.1016/j.ccc.2020.11.013).
- [3] Liu KD, Goldstein SL, Vijayan A, et al. AKI!Now initiative: recommendations for awareness, recognition, and management of AKI[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2020, 15(12): 1838-1847. DOI: [10.2215/CJN.15611219](https://doi.org/10.2215/CJN.15611219).
- [4] Boccaletto P, Stefaniak F, Ray A, et al. MODOMICS: a database of RNA modification pathways. 2021 update[J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(D1): D231-D235. DOI: [10.1093/nar/gkab1083](https://doi.org/10.1093/nar/gkab1083).
- [5] Roundtree IA, Evans ME, Pan T, et al. Dynamic RNA modifications in gene expression regulation[J]. *Cell*, 2017, 169(7): 1187-1200. DOI: [10.1016/j.cell.2017.05.045](https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.045).
- [6] Finkel D, Groner Y. Methylations of adenosine residues (m6A) in pre-mRNA are important for formation of late Simian virus 40 mRNAs[J]. *Virology*, 1983, 131(2): 409-425. DOI: [10.1016/0042-6822\(83\)90508-1](https://doi.org/10.1016/0042-6822(83)90508-1).
- [7] Zaccara S, Ries RJ, Jaffrey SR. Reading, writing and erasing mRNA methylation[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(10): 608-624. DOI: [10.1038/s41580-019-0168-5](https://doi.org/10.1038/s41580-019-0168-5).
- [8] Gerken T, Girard CA, Tung YC L, et al. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase[J]. *Science*, 2007, 318(5855): 1469-1472. DOI: [10.1126/science.1151710](https://doi.org/10.1126/science.1151710).
- [9] Zheng GQ, Dahl JA, Niu YM, et al. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility[J]. *Mol Cell*, 2013, 49(1): 18-29. DOI: [10.1016/j.molcel.2012.10.015](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.10.015).
- [10] Reid R, Greene PJ, Santi DV. Exposition of a family of RNA m(5)C methyltransferases from searching genomic and proteomic sequences[J]. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(15): 3138-3145. DOI: [10.1093/nar/27.15.3138](https://doi.org/10.1093/nar/27.15.3138).
- [11] Turek-Plewa J, Jagodziński PP. The role of mammalian DNA methyltransferases in the regulation of gene expression[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2005, 10(4): 631-647.
- [12] Xue SL, Xu H, Sun Z, et al. Depletion of TRDMT1 affects 5-methylcytosine modification of mRNA and inhibits HEK293 cell proliferation and migration[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 520(1): 60-66. DOI: [10.1016/j.bbrc.2019.09.098](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.09.098).
- [13] Chen SY, Chen KL, Ding LY, et al. RNA bisulfite sequencing reveals NSUN2-mediated suppression of epithelial differentiation in pancreatic cancer[J]. *Oncogene*, 2022, 41(22): 3162-3176. DOI: [10.1038/s41388-022-02325-7](https://doi.org/10.1038/s41388-022-02325-7).
- [14] Liu JH, Huang T, Zhang YS, et al. Sequence- and structure-selective mRNA m⁵C methylation by NSUN6 in animals[J]. *Nat Sci Rev*, 2020, 8(6): nwaa273. DOI: [10.1093/nsr/nwaa273](https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa273).
- [15] Lan J, Rajan N, Bizet M, et al. Functional role of Tet-mediated RNA hydroxymethylcytosine in mouse ES cells and during differentiation[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 4956. DOI: [10.1038/s41467-020-18729-6](https://doi.org/10.1038/s41467-020-18729-6).
- [16] Guallar D, Bi XJ, Pardavila JA, et al. RNA-dependent chromatin targeting of TET2 for endogenous retrovirus control in pluripotent stem cells[J]. *Nat Genet*, 2018, 50(3): 443-451. DOI: [10.1038/s41588-018-0060-9](https://doi.org/10.1038/s41588-018-0060-9).
- [17] Shen QC, Zhang Q, Shi Y, et al. Tet2 promotes pathogen infection-induced myelopoiesis through mRNA oxidation[J]. *Nature*, 2018, 554(7690): 123-127. DOI: [10.1038/nature25434](https://doi.org/10.1038/nature25434).
- [18] Dai XX, Gonzalez G, Li L, et al. YTHDF2 binds to 5-methylcytosine in RNA and modulates the maturation of ribosomal RNA[J]. *Anal Chem*, 2020, 92(1): 1346-1354. DOI: [10.1021/acs.analchem.9b04505](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b04505).
- [19] Yang X, Yang Y, Sun BF, et al. 5-methylcytosine promotes mRNA export - NSUN2 as the methyltransferase and ALYREF as an m⁵C reader[J]. *Cell Res*, 2017, 27(5): 606-625. DOI: [10.1038/cr.2017.55](https://doi.org/10.1038/cr.2017.55).
- [20] Shi M, Zhang H, Wu XD, et al. ALYREF mainly binds to the 5' and the 3' regions of the mRNA *in vivo*[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(16): 9640-9653. DOI: [10.1093/nar/gkx597](https://doi.org/10.1093/nar/gkx597).
- [21] He ZZ, Xu J, Shi HR, et al. m5CRegpred: epitranscriptome target prediction of 5-methylcytosine (m5C) regulators based on sequencing features[J]. *Genes*, 2022, 13(4): 677. DOI: [10.3390/genes13040677](https://doi.org/10.3390/genes13040677).
- [22] Wang LF, Zhang J, Su YF, et al. Distinct roles of m⁵C RNA methyltransferase NSUN2 in major gynecologic cancers[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 786266. DOI: [10.3389/fonc.2022.786266](https://doi.org/10.3389/fonc.2022.786266).
- [23] Zhang QF, Liu FR, Chen W, et al. The role of RNA m⁵C modification in cancer metastasis[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(13): 3369-3380. DOI: [10.7150/ijbs.61439](https://doi.org/10.7150/ijbs.61439).
- [24] Dominissini D, Nachtergaale S, Moshitch-Moshkovitz S, et al. The dynamic N1-methyladenosine methylome in eukaryotic messenger RNA[J]. *Nature*, 2016, 530(7591): 441-446. DOI: [10.1038/nature16998](https://doi.org/10.1038/nature16998).
- [25] Jin H, Huo CX, Zhou TH, et al. m¹A RNA modification in gene expression regulation[J]. *Genes*, 2022, 13(5): 910. DOI: [10.3390/genes13050910](https://doi.org/10.3390/genes13050910).
- [26] Zhou HQ, Rauch S, Dai Q, et al. Evolution of a reverse transcriptase to map N1-methyladenosine in human messenger RNA[J]. *Nat Methods*, 2019, 16(12): 1281-1288. DOI: [10.1038/s41592-019-0550-4](https://doi.org/10.1038/s41592-019-0550-4).
- [27] Su ZL, Monshaugen I, Wilson B, et al. TRMT6/61A-dependent base methylation of tRNA-derived fragments regulates gene-silencing activity and the unfolded protein response in bladder cancer[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 2165. DOI: [10.1038/s41467-022-29790-8](https://doi.org/10.1038/s41467-022-29790-8).
- [28] Safra M, Sas-Chen A, Nir R, et al. The m1A landscape on cytosolic and mitochondrial mRNA at single-base resolution[J]. *Nature*, 2017, 551(7679): 251-255. DOI: [10.1038/nature24456](https://doi.org/10.1038/nature24456).
- [29] Li XY, Xiong XS, Zhang ML, et al. Base-resolution mapping reveals distinct m¹A methylome in nuclear- and mitochondrial-encoded transcripts[J]. *Mol Cell*, 2017, 68(5): 993-1005.e9. DOI: [10.1016/j.molcel.2017.10.019](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.10.019).
- [30] Chujo T, Suzuki T. Trmt61B is a methyltransferase responsible for 1-methyladenosine at position 58 of human mitochondrial tRNAs[J]. *RNA*, 2012, 18(12): 2269-2276. DOI: [10.1261/rna.035600.112](https://doi.org/10.1261/rna.035600.112).
- [31] Bar-Yaacov D, Frumkin I, Yashiro Y, et al. Mitochondrial 16S

- rRNA is methylated by tRNA methyltransferase TRMT61B in all vertebrates[J]. *PLoS Biol*, 2016, 14(9): e1002557. DOI: [10.1371/journal.pbio.1002557](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002557).
- [32] Liu FG, Clark W, Luo GZ, et al. ALKBH1-mediated tRNA demethylation regulates translation[J]. *Cell*, 2016, 167(7): 1897. DOI: [10.1016/j.cell.2016.11.045](https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.11.045).
- [33] Cheng WT, Ma JH, Tao QF, et al. Demethylation of m1A assisted degradation of the signal probe for rapid electrochemical detection of ALKBH3 activity with practical applications[J]. *Talanta*, 2022, 240: 123151. DOI: [10.1016/j.talanta.2021.123151](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.123151).
- [34] Xie SS, Jin H, Yang F, et al. Programmable RNA N1-methyladenosine demethylation by a Cas13d-directed demethylase[J]. *Angew Chem*, 2021, 133(36): 19744-19749. DOI: [10.1002/ange.202105253](https://doi.org/10.1002/ange.202105253).
- [35] Xu BF, Liu DY, Wang ZR, et al. Multi-substrate selectivity based on key loops and non-homologous domains: new insight into ALKBH family[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(1): 129-141. DOI: [10.1007/s00018-020-03594-9](https://doi.org/10.1007/s00018-020-03594-9).
- [36] Wei JB, Liu FG, Lu ZK, et al. Differential m⁶A, m⁶A_m, and m¹A demethylation mediated by FTO in the cell nucleus and cytoplasm[J]. *Mol Cell*, 2018, 71(6): 973-985.e5. DOI: [10.1016/j.molcel.2018.08.011](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.08.011).
- [37] Zhang LS, Xiong QP, Peña Perez S, et al. ALKBH7-mediated demethylation regulates mitochondrial polycistronic RNA processing[J]. *Nat Cell Biol*, 2021, 23(7): 684-691. DOI: [10.1038/s41556-021-00709-7](https://doi.org/10.1038/s41556-021-00709-7).
- [38] Dai XX, Wang TL, Gonzalez G, et al. Identification of YTH domain-containing proteins as the readers for N1-methyladenosine in RNA[J]. *Anal Chem*, 2018, 90(11): 6380-6384. DOI: [10.1021/acs.analchem.8b01703](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b01703).
- [39] Seo KW, Kleiner RE. YTHDF2 recognition of N¹-methyladenosine (m¹A)-modified RNA is associated with transcript destabilization[J]. *ACS Chem Biol*, 2020, 15(1): 132-139. DOI: [10.1021/acscchembio.9b00655](https://doi.org/10.1021/acscchembio.9b00655).
- [40] Yan LJ. Folic acid-induced animal model of kidney disease[J]. *Animal Model Exp Med*, 2021, 4(4): 329-342. DOI: [10.1002/ame2.12194](https://doi.org/10.1002/ame2.12194).
- [41] Li CM, Li M, Zhao WB, et al. Alteration of N6-methyladenosine RNA profiles in cisplatin-induced acute kidney injury in mice[J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 8: 654465. DOI: [10.3389/fmolb.2021.654465](https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.654465).
- [42] Meng FH, Liu YG, Chen QY, et al. METTL3 contributes to renal ischemia-reperfusion injury by regulating Foxd1 methylation[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2020, 319(5): F839-F847. DOI: [10.1152/ajprenal.00222.2020](https://doi.org/10.1152/ajprenal.00222.2020).
- [43] Shen JX, Wang WP, Shao XH, et al. Integrated analysis of m6A methylome in cisplatin-induced acute kidney injury and berberine alleviation in mouse[J]. *Front Genet*, 2020, 11: 584460. DOI: [10.3389/fgene.2020.584460](https://doi.org/10.3389/fgene.2020.584460).
- [44] Xu Y, Yuan XD, Wu JJ, et al. The N6-methyladenosine mRNA methylase METTL14 promotes renal ischemic reperfusion injury via suppressing YAP1[J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(1): 524-533. DOI: [10.1002/jcb.29258](https://doi.org/10.1002/jcb.29258).
- [45] Wang JN, Wang F, Ke J, et al. Inhibition of *METTL3* attenuates renal injury and inflammation by alleviating *TAB3* m6A modifications via IGF₂BP₂-dependent mechanisms[J]. *Sci Transl Med*, 2022, 14(640): eabk2709. DOI: [10.1126/scitranslmed.abk2709](https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abk2709).
- [46] Zhou PH, Wu M, Ye CY, et al. Meclofenamic acid promotes cisplatin-induced acute kidney injury by inhibiting fat mass and obesity-associated protein-mediated m⁶A abrogation in RNA[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(45): 16908-16917. DOI: [10.1074/jbc.RA119.011009](https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.011009).
- [47] Zhu SM, Lu Y. Dexmedetomidine suppressed the biological behavior of HK-2 cells treated with LPS by down-regulating ALKBH5[J]. *Inflammation*, 2020, 43(6): 2256-2263. DOI: [10.1007/s10753-020-01293-y](https://doi.org/10.1007/s10753-020-01293-y).
- [48] Ning YC, Chen J, Shi YQ, et al. Genistein ameliorates renal fibrosis through regulation snail via m6A RNA demethylase ALKBH5[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 579265. DOI: [10.3389/fphar.2020.579265](https://doi.org/10.3389/fphar.2020.579265).
- [49] Xing J, He YC, Wang KY, et al. Involvement of YTHDF1 in renal fibrosis progression via up-regulating YAP[J]. *FASEB J*, 2022, 36(2): e22144. DOI: [10.1096/fj.202100172RR](https://doi.org/10.1096/fj.202100172RR).
- [50] Wang CY, Lin TN, Ho MY, et al. Regulation of autophagy in leukocytes through RNA N⁶-adenosine methylation in chronic kidney disease patients[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 527(4): 953-959. DOI: [10.1016/j.bbrc.2020.04.138](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.04.138).
- [51] Cheng Y, Chen YN, Wang GD, et al. Protein methylation in diabetic kidney disease[J]. *Front Med*, 2022, 9: 736006. DOI: [10.3389/fmed.2022.736006](https://doi.org/10.3389/fmed.2022.736006).
- [52] Xu ZX, Jia KQ, Wang H, et al. METTL14-regulated PI3K/Akt signaling pathway via PTEN affects HDAC5-mediated epithelial-mesenchymal transition of renal tubular cells in diabetic kidney disease[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(1): 32. DOI: [10.1038/s41419-020-03312-0](https://doi.org/10.1038/s41419-020-03312-0).
- [53] Li MN, Deng L, Xu GS. METTL14 promotes glomerular endothelial cell injury and diabetic nephropathy via m6A modification of α -klotho[J]. *Mol Med*, 2021, 27(1): 106. DOI: [10.1186/s10020-021-00365-5](https://doi.org/10.1186/s10020-021-00365-5).
- [54] Liu BH, Tu Y, Ni GX, et al. Total flavones of *Abelmoschus manihot* ameliorates podocyte pyroptosis and injury in high glucose conditions by targeting METTL3-dependent m⁶A modification-mediated NLRP3-inflammasome activation and PTEN/PI3K/akt signaling[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 667644. DOI: [10.3389/fphar.2021.667644](https://doi.org/10.3389/fphar.2021.667644).
- [55] Jiang L, Liu XQ, Hu XR, et al. METTL3-mediated m⁶A modification of TIMP2 mRNA promotes podocyte injury in diabetic nephropathy[J]. *Mol Ther*, 2022, 30(4): 1721-1740. DOI: [10.1016/j.ymthe.2022.01.002](https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2022.01.002).
- [56] Xia CL, Wang J, Wu ZY, et al. METTL3-mediated M6A methylation modification is involved in colistin-induced nephrotoxicity through apoptosis mediated by Keap1/Nrf2 signaling pathway[J]. *Toxicology*, 2021, 462: 152961. DOI: [10.1016/j.tox.2021.152961](https://doi.org/10.1016/j.tox.2021.152961).
- [57] Lu ZH, Liu H, Song NN, et al. METTL14 aggravates podocyte injury and glomerulopathy progression through N⁶-methyladenosine-dependent downregulating of Sirt1[J]. *Cell Death Dis*, 2021,

- 12(10): 881. DOI: [10.1038/s41419-021-04156-y](https://doi.org/10.1038/s41419-021-04156-y).
- [58] Zhao HH, Pan SK, Duan JY, et al. Integrative analysis of m⁶A regulator-mediated RNA methylation modification patterns and immune characteristics in lupus nephritis[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 724837. DOI: [10.3389/fcell.2021.724837](https://doi.org/10.3389/fcell.2021.724837).
- [59] Wan F, Tang YW, Tang XL, et al. TET2 mediated demethylation is involved in the protective effect of triptolide on podocytes[J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(3): 1233-1244.
- [60] Wang JL, Gibbert L, Djurdjaj S, et al. Therapeutic nuclear shuttling of YB-1 reduces renal damage and fibrosis[J]. *Kidney Int*, 2016, 90(6): 1226-1237. DOI: [10.1016/j.kint.2016.07.008](https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.07.008).
- [61] Fraser DJ, Phillips AO, Zhang X, et al. Y-box protein-1 controls transforming growth factor-beta1 translation in proximal tubular cells[J]. *Kidney Int*, 2008, 73(6): 724-732. DOI: [10.1038/sj.ki.5002719](https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002719).
- [62] Wang L, Zhu N, Jia JS, et al. Trimethylamine N-oxide mediated Y-box binding protein-1 nuclear translocation promotes cell cycle progression by directly downregulating Gadd45a expression in a cellular model of chronic kidney disease[J]. *Life Sci*, 2021, 271: 119173. DOI: [10.1016/j.lfs.2021.119173](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119173).
- [63] Breitkopf DM, Jankowski V, Ohl K, et al. The YB-1: Notch-3 axis modulates immune cell responses and organ damage in systemic lupus erythematosus[J]. *Kidney Int*, 2020, 97(2): 289-303. DOI: [10.1016/j.kint.2019.09.031](https://doi.org/10.1016/j.kint.2019.09.031).
- [64] Mishima E, Inoue C, Saigusa D, et al. Conformational change in transfer RNA is an early indicator of acute cellular damage[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(10): 2316-2326. DOI: [10.1681/ASN.2013091001](https://doi.org/10.1681/ASN.2013091001).
- [65] Luan JJ, Kopp JB, Zhou H. N6-methyladenine RNA methylation epigenetic modification and kidney diseases[J]. *Kidney Int Rep*, 2022, 8(1): 36-50. DOI: [10.1016/j.ekir.2022.10.009](https://doi.org/10.1016/j.ekir.2022.10.009).

(收稿日期: 2023-02-03)