

m⁶A 甲基化与肿瘤研究进展

王天工¹, 叶孟²

1. 宁波大学医学院, 宁波 315211

2. 宁波大学医学院附属医院, 宁波 315211

摘要: m⁶A 甲基化是 20 世纪 70 年代被发现的一种 RNA 分子上的甲基化修饰, 存在于各种 RNA 中, 但主要在 mRNA 中出现。与 DNA 甲基化相似, m⁶A 甲基化也可以在不改变碱基序列的情况下对基因的转录后表达水平具有调控作用。它主要是通过影响 mRNA 与读取蛋白的结合, 从而调控 mRNA 的可变剪接、翻译效率和稳定性等, 进而改变基因表达。研究早期, 受限于 m⁶A 甲基化位点的检测技术不够灵敏, 转录组中的 m⁶A 位点无法被完整而有效地鉴别。随着二代测序与生物信息学的发展, 已有多种方法可以对 m⁶A 甲基化位点进行检测和预测。目前的研究表明, m⁶A 甲基化与肿瘤的发生发展也密切相关。本文结合近期的研究进展, 对 m⁶A 甲基化的概念、检测和预测手段, 特别是 m⁶A 与肿瘤发生之间的关系进行了综述, 旨在为肿瘤的分子病理诊断和分子靶向治疗寻找新方向。

关键词: m⁶A 甲基化; RNA 甲基化; 表观遗传; 肿瘤

Advances on the roles of m⁶A in tumorigenesis

Tiangong Wang¹, Meng Ye²

1. Medical School of Ningbo University, Ningbo 315211, China

2. The Affiliated Hospital of Medical School of Ningbo University, Ningbo 315211, China

Abstract: Predominantly found in mRNA, m⁶A methylation of RNA molecules regulates post-transcriptional gene expression without changing RNA sequence. m⁶A methylation alters gene expression by modulating mRNA processing and metabolism, including alternative splicing, translation efficiency, and stability. Current research shows that m⁶A methylation is involved in tumorigenesis, highlighting the importance of further study. However, traditional methods are not sensitive enough to detect the full patterns of m⁶A methylation in the transcriptome. The development of new technologies, such as single-nucleotide detection combined with next generation sequencing, allows for the quick and accurate prediction and identification of m⁶A methylation sites. In this review, we summarize the recent progress of m⁶A in tumorigenesis and outline a new direction for both molecular pathology diagnosis and targeted therapy of tumor.

Keywords: m⁶A; RNA methylation; epigenetics; tumor

收稿日期: 2018-05-18; 修回日期: 2018-07-31

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(编号: Y16H160019)资助 [Supported by Zhejiang Provincial Natural Science Foundation of China (No. Y16H160019)]

作者简介: 王天工, 硕士研究生, 专业方向: 肿瘤学。E-mail: tonywoolf21@gmail.com

通讯作者: 叶孟, 博士, 主任医师, 研究方向: 肿瘤学。E-mail: ndfy_yemeng@163.com

DOI: 10.16288/j.ycz.18-098

网络出版时间: 2018/9/26 7:23:18

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20180926.0723.002.html>

肿瘤是一种基因组疾病,具有可遗传性,也可能由于各种理化因素和(或)生物因素等所导致,通常表现为正常细胞出现异常分化与增殖,不受正常的细胞周期、凋亡等因素调控,甚至具有侵袭性、转移性和促血管生成的能力。 m^6A 甲基化是在 RNA 分子上的一种表观遗传修饰。早在 20 世纪 70 年代,遗传学家们就在真核生物的信使 RNA (message RNA, mRNA) 上发现了这一甲基化修饰^[1]。由于检测技术手段的局限,起初科学家们认为 m^6A 甲基化位点只存在于 mRNA 中,但近年来的研究发现多种类型 RNA 中均存在 m^6A 甲基化的身影^[2]。随着高通量测序技术的快速发展以及表观遗传学研究领域的逐步深入, m^6A 甲基化在不同生物学过程中的功能和作用再次受到人们的关注。目前,已有成熟的单位点甚至高通量单位点检测手段可对 m^6A 位点进行准确而有效地检测。但是,由于全转录组检测通常需要花费大量的时间和资金,因此人们也开发了多种预测 m^6A 甲基化位点的生物信息学平台^[3]。这些工具为人们研究 m^6A 甲基化提供了极大的帮助。

DNA 上携带的遗传信息首先转录为 mRNA,然后才被进一步翻译为有功能的蛋白质。在细胞癌变的过程中, m^6A 甲基化这一表观遗传修饰能通过调控癌基因、抑癌基因的 mRNA 分子的表达水平来影响肿瘤的发生发展。与 DNA 甲基化相似, m^6A 甲基化受甲基转移酶和去甲基酶的调控,且在不改变碱基序列的情况下调控基因的转录后表达水平,但其调控机制却远比 DNA 甲基化复杂得多。结合近年来发表的与肿瘤相关的 m^6A 甲基化的研究,本文对 m^6A 甲基化的相关概念、检测和预测手段以及与肿瘤的关系等几方面进行阐述,以期能更深入地探索 m^6A 甲基化与肿瘤发生发展的关联,并希望能够为肿瘤的分子病理诊断和分子靶向治疗寻找新的标志物和潜在靶点。

1 RNA 的 m^6A 甲基化

1.1 m^6A 甲基化的相关概念

RNA 的 m^6A 甲基化是腺嘌呤(A)第 6 位 N 通过甲基转移酶催化形成的一种甲基化修饰^[4,5]。 m^6A 甲基化在 mRNA 上最为常见,同时也可以出现在转运

RNA (transfer RNA, tRNA)、核糖体 RNA (ribosome RNA, rRNA) 甚至非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 中^[6]。也有研究发现 m^6A 甲基化可出现在多个常见的长链非编码 RNA (long non-coding RNA, LncRNA) 中,如 MALAT1、HOTAIR、XIST 和 SRA1^[7]。近期,有文献报道了在微小 RNA (microRNA 和 miRNA) 中也发现了 m^6A 甲基化^[8]。值得关注的是, m^6A 甲基化不但可以通过影响微小 RNA 前体的生成来改变微小 RNA 的表达, m^6A 甲基化同样可以出现在成熟的微小 RNA 中^[9]。大量的研究证明, m^6A 甲基化主要与 3 类蛋白质相互作用。第一类是 m^6A 甲基转移酶,它会促进 RNA 中的 m^6A 甲基化修饰,其编码基因被称为写入基因(Writers),最早发现的写入基因有 *METTL3*、*METTL14* 和 *WATP* 等,它们形成的复合物共同促使 m^6A 甲基化基团写入 RNA 中^[10-12]。随后,又有文献报道发现 *METTL16*、*KIAA1429* 和 *RBM15* 等更多新的写入基因^[13-16]。第二类蛋白质是 m^6A 去甲基酶,它可以去除 RNA 中的 m^6A 甲基化基团,其编码基因被称为擦除基因(Erasers),常见的擦除基因有 *FTO* 和 *ALKBH5*^[17]。由此可见, m^6A 甲基化其实是一个动态、可逆的过程(图 1)。最后一类蛋白则能够与 RNA 中的 m^6A 甲基化位点结合进而发挥特定作用,它们的编码基因被称为读取基因(Readers)。最早发现的读取基因是 YTH 结构域家族蛋白的编码基因,包括 YTHDFs 和 YTHDCs 两个亚型。YTHDCs 亚型中的读取基因为 *YTHDC1* 和 *YTHDC2*^[14,18]。而 YTHDFs 亚型的读取基因分别为 *YTHDF1*、*YTHDF2* 和 *YTHDF3*^[19]。除了 YTH 结构域家族蛋白基因,随后又有多个读取基因被发现,分别为 *eIF3*、*hnRNP C* 和 *hnRNP A2/B1* 基因^[20-22]。读取蛋白会与 RNA 上的 m^6A 位点结合,进而产生各种生物学功能。目前对于 m^6A 甲基化的生物学功能尚未完全了解,但已有研究发现 YTHDFs 亚型的蛋白质主要定位在细胞质中,*YTHDF1* 和 *YTHDF3* 蛋白会提高 mRNA 的翻译效率,而 *YTHDF2* 蛋白与 m^6A 位点结合则与缩短 mRNA 的半衰期有关^[23,24]。但是,也有研究发现 *YTHDF2* 蛋白会在核内通过与 m^6A 位点结合以阻止 *FTO* 蛋白去除 5'UTR 区的 m^6A 甲基化进而促进 RNA 的帽非依赖性翻译^[25]。而 YTHDCs 亚型的蛋白质则主要在核内发挥功能。有报道显示,*YTHDC1*

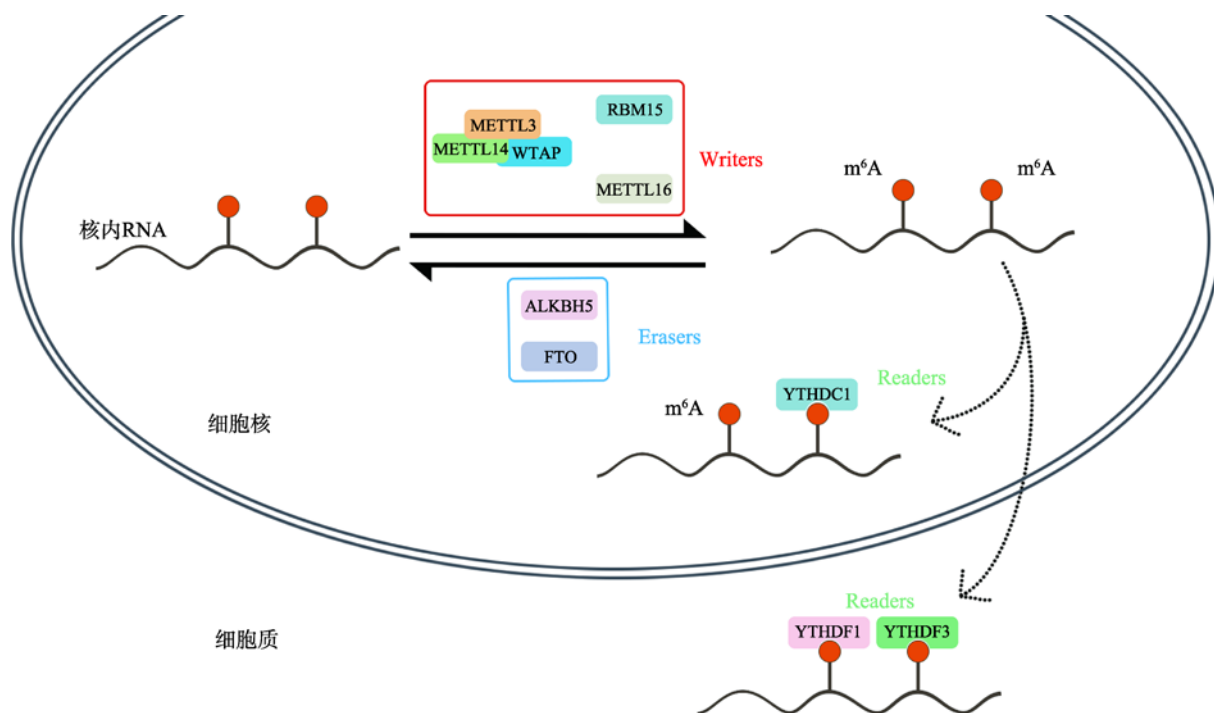


图 1 m⁶A 甲基化的分子机制

Fig. 1 The molecule mechanism of m⁶A methylation

METTL3、METTL14 和 WTAP 形成的复合物, RBM15 和 METTL16 为常见的 Writers(写入蛋白)。ALKBH5、FTO 为常见的 Erasers(擦除蛋白)。YTHDC1、YTHDF1 和 YTHDF3 为常见的 Readers(读取蛋白)。核内 RNA 在 Writers 的作用下, 出现了 m⁶A 甲基化位点。核内 RNA 的 m⁶A 甲基化位点也可在 Erasers 的作用下被擦除。随后, 在核内 RNA 的进一步加工中, 核内的 Readers(读取蛋白)会与 m⁶A 甲基化位点结合; 当成熟的 RNA 出核后, 依然会有一些存在与核外的 Readers 会与其 m⁶A 位点结合。值得注意的是, 不同的 Reader 结合到 m⁶A 位点上会产生不同的生物学作用。

蛋白对编码和非编码基因的转录都具有调控作用, 且可通过影响 mRNA 前体的可变剪接来调控 mRNA 的表达水平^[18,26]。目前对于 YTHDC2 与 m⁶A 甲基化的功能了解甚少, 有文献报道 YTHDC2 蛋白在核内核外均可存在, 且会选择性地与非编码 RNA 上的 m⁶A 位点结合^[14], 但所产生的生物学功能依然是一个谜。另外, 在 hnRNP 家族中发现 hnRNP A2/B1 蛋白可能参与了前体 miRNA 转录的调控过程^[20], 而 hnRNP C 蛋白则会影响 mRNA 和 LncRNA 的局部二级结构^[21]。由此推测, m⁶A 甲基化很可能参与了更为广泛的生物学调控过程。目前, 与 m⁶A 甲基化有关的新的写入蛋白和读取蛋白依然在源源不断地被人们鉴别出来, 可见人们对 RNA 上 m⁶A 甲基化水平的动态调控以及潜在的生物学调控功能依然有非常广阔的探索空间。期望未来, 人们可以更全面地了解 m⁶A 甲基化的生物学功能, 使表观遗传在对于转录后层面的基因表达有更多的认识和补充。

1.2 m⁶A 甲基化的检测方法

早期由于检测技术落后, 科研工作者们对于 m⁶A 甲基化位点知之甚少。由于 RNA 的 m⁶A 甲基化并不影响其逆转录, 也不能像 m⁷G 甲基化那样可以被特异性地切割, 以至于 m⁶A 位点的鉴别在初期研究中显得非常困难^[27,28]。但随着二代测序的出现, 两种相似的 m⁶A 甲基化位点检测技术应运而生, 这就是 m⁶A-seq^[29]和 MeRIP-seq^[30]技术。这两种检测方法其实是应用免疫共沉淀技术将具有 m⁶A 甲基化的 RNA 片段捕捉后再使用二代测序来鉴定其序列。随后, 大量的 m⁶A 甲基化位点被发现, 科研工作者分别在人和小鼠的 7000 余个基因中发现了多达 12 000 个 m⁶A 信号峰, 这些信号峰都富集在靠近 3' 端的终止密码子附近, 且发现这些位点在人和小鼠中都具有高度保守性。这一发现为 m⁶A 甲基化在转录后对与基因表达水平的调控提供了有力证据, 且

可能与各类遗传疾病有关。这种检测手段的缺陷是该技术所捕获的 RNA 片段被限制在 100~200nt 左右, 并且该技术无法识别两个非常接近的 m^6A 位点, 所以这种方法不能对全转录组的 m^6A 甲基化位点作出精准的鉴别。另外有文献报道, 在 mRNA 中的 5'端含有 m^6A_m 修饰^[31], 因为 m^6A_m 修饰同 m^6A 修饰一样具有第六位甲基, 因而 m^6A -seq 和 MeRIP-seq 都可能将这种修饰误读为 m^6A 修饰。由于以上种种原因, 人们对检测技术做出了改进。有 3 个实验室在 2015 年均发文报道了使用紫外交联免疫共沉淀技术可以更为精确地在 RNA 的单个碱基上去捕捉 m^6A 甲基化位点。这 3 种相似的技术分别为 miCLIP^[32]、PA- m^6A -seq^[33]和 m^6A -CLIP(或称为 UV-CLIP)^[34]。另有一项检测 m^6A 甲基化水平的技术为 m^6A -LAIC-seq^[35], 这项技术在 m^6A -seq 的基础上引入了 spike-in RNAs 作为内参, 从而计算出全转录组中每段基因上的 m^6A 甲基化水平, 其缺点是无法检测出单个 m^6A 甲基化位点。除了高通测序外, 单基因的 m^6A 甲基化位点检测手段也非常重要。其中最著名的当属 SCARLET^[36]检测法。这种方法可以在 mRNA 和 LncRNA 中精确地检测单个 m^6A 甲基化位点, 并由此计算出整段 RNA 的 m^6A 甲基化水平。虽然 SCARLET 属于低通量检测且费用较为昂贵, 但极高的精准性使其成为用于检验高通量检测 m^6A 甲基化位点的准确性的一种常用方法。也有文献报道, SCARLET 同样可以用于检测其他类型的 RNA 表观遗传修饰, 例如 RNA 的 m^5C 修饰和 Ψ 修饰^[37]。荧光定量 PCR 同样也可以作为检测 m^6A 甲基化水平的方法。Golovina 等^[38]研究了多种 RNA, 发现在同一种 RNA 中不同的 m^6A 甲基化水平在荧光定量 PCR 检测下会产生不同的熔解曲线, 这是由于 m^6A 甲基化水平的不同使 RNA-DNA 复合物的熔解温度发生改变。由此作者提出了 HRM 检测方法, 该技术可以在 RNA 中检测已知的 m^6A 甲基化水平是否发生变化。但是, Golovina 等只在 rRNA、tRNA 以及 snRNA 中进行了实验, 所以该技术能否推广到其他 RNA 中还有待验证。时至今日, 高通量测序技术已经非常成熟, 但荧光定量检测依然是目前最为经济和便捷的分子检测手段之一, 开发荧光定量 PCR 用于 m^6A 的检测仍然非常重要。随着 m^6A 甲基化位点

的检测手段的逐步提高, 人们对其认识日渐深入, 从而为研究 m^6A 甲基化与各类疾病特别是与肿瘤的关系打下坚实的基础。

1.3 m^6A 甲基化位点的预测方法

由于 m^6A 甲基化位点的检测需要花费大量的人力物力, 而通过生物信息学预测则可以极大地提高研究效率。近年来, 生物信息学发展迅速, 在各类分子生物学的研究中应用广泛, 以下几种方法可以帮助人们更有效地预测 m^6A 的甲基化位点。Zhang 等^[39]最早提出了使用隐藏马尔科夫模型(HIDDEN MARKOV MODEL, HMM)来预测已知位点周边的残余位点。随后, Liu 等^[40]又开发了更快速更稳定的 pRNAm-PC 方法来预测位点。同时, Chen 等^[41]也开发了 iRNA-Methyl 方法。两者的共同特点是都应用了支持向量机(support vector machine, SVM)模型。在此基础上, Jia 等^[42]开发了 RNA-methylPred 方法, 这要比前两者更为稳定和高效。随后 Li 等^[43]提出了更好的 TargetM6A 方法, 但是这种方法只能在初级 RNA 序列中预测 m^6A 的甲基化位点。而 Zhou 等^[44]则综合了多种数学模型提出了 SRAMP 方法。这种方法可以更有效地在哺乳动物的 RNA 中预测 m^6A 甲基化位点。近期有文献报道, 名为 RMBase-V2.0^[45]数据库网站已经建立(网址: <http://rna.sysu.edu.cn/rmbase/>), 其收录了 13 个物种的多个 RNA 表观遗传修饰的测序数据, 其中包括了大量关于 m^6A 的甲基化位点的数据。此数据库可对需要研究的 RNA 的 m^6A 甲基化信息加以预测(表 1)。

2 m^6A 甲基化与肿瘤

2.1 m^6A 高甲基化与肿瘤

在早期的基础研究中, 已有国内学者发现 m^6A 甲基化参与了脊椎动物的造血干细胞的分化过程^[46], 这提示 m^6A 甲基化很可能与血液系统肿瘤的发生发展有着密切联系。Barbieri 等^[47]研究发现, *METTL3* 基因对小鼠和人的多种急性髓细胞白血病(acute myelocytic leukemia, AML)细胞系的增值和生长均有不同程度的影响, 其中对小鼠 *KMT2A-MLLT3* 融

表 1 m⁶A 甲基化的检测和预测手段
Table 1 The methods to detect and predict m⁶A methylation

方法	特点	参考文献
检测方法		
m ⁶ A-Seq	高通量	[29]
MeRIP-Seq	高通量	[30]
miCLIP	高通量、单位点	[32]
PA-m6A-Seq	高通量、单位点	[33]
m6A-CLIP	高通量、单位点	[34]
m6A-LAIC-Seq	高通量、精确	[35]
SCARLET	低通量、精确	[36]
HRM	低通量	[37]
预测方法		
HMM	数据库	[39]
pRNA ^m -PC	数据库	[40]
iRNA-Methyl	数据库	[41]
RNA-methylPred	数据库	[42]
TargetM6A	数据库	[43]
SRAMP	数据库	[44]
RMBaseV2.0	网站	[45]

合基因及 *Flt3* 基因内部串联复制型的 AML 细胞系影响最为明显。研究发现, *METTL3* 基因表达下调会促进 AML 细胞的分化, 由于转录因子 CEBPZ 调控 *METTL3* 的表达上升, 从而使癌基因 *SP1* 所转录的 mRNA 上的 m⁶A 甲基化水平明显上升, 最终导致 *SP1* 蛋白表达量升高。同时发现, *SP1* 蛋白可以持续影响造血干细胞向 AML 细胞分化。这一研究提示 *METTL3* 基因可能成为 *KMT2A-MLLT3* 基因和 *Flt3* 基因突变型 AML 的潜在治疗靶点。Vu 等^[48]也报道了 *METTL3* 与 AML 的发生发展有关。该研究发现, 对 CD34+ 的造血干细胞的 *METTL3* 基因下调后, 该细胞的 *pAKT* 基因的表达上升, 从而起到促进正常造血干细胞分化为 AML 细胞的作用, 反之则会产生抑制作用。同时研究还发现, m⁶A 甲基化会促进该细胞中 *c-MYC*、*BCL2* 和 *PTEN* 等基因的转录。Weng 等^[49]发现, *METTL14* 基因在正常的造血干细胞和混合表形 AML 细胞(伴 t(11q23)、t(15;17)或 t(8;21))中呈高表达但在正常分化的骨髓细胞中则呈现低表达。*METTL14* 基因编码写入蛋白, 其升高会导致某些转录组中的 m⁶A 甲基化水平升高。该研究在 AML 细

胞系中发现, 敲低 *METTL14* 的表达会降低 *MYB* 和 *MYC* 所转录的 mRNA 的稳定性, 使其加速降解。这说明, *MYB* 和 *MYC* 受到了 *METTL14* 的调控。*METTL14* 对造血干细胞分化为 AML 细胞有一定的作用, 并在白血病的进展、维持和自我更新等方面都有一定作用。该研究还发现, 沉默 *METTL14* 的表达可以有效地抑制 AML 细胞系的增殖。这一研究揭示了 *SPI1-METTL14-MYB/MYC* 通路对 AML 的影响, 为 AML 的诊断和治疗提供了新的方向。Chen 等^[50]发现 *METTL3* 会改变抑癌基因 *SOCS2* 的 m⁶A 甲基化水平。并且 *METTL3* 过表达会促进肝细胞癌(HCC)的增殖和迁移, 而降低 *METTL3* 则会抑制细胞的生长和转移。他们在进一步研究中发现, *SOCS2* 在 HCC 中表现为抑癌基因, 而 *METTL3* 通过调控 m⁶A-YTHDF2 通路, 进而加速 *SOCS2* 的 mRNA 的降解, 这项研究证明 m⁶A 高甲基化与 HCC 的发生发展也具有相关性。

2.2 m⁶A 低甲基化与肿瘤

Li 等^[51]发现在 *MLL* 基因重排的 AML 中高表达的 *FTO* 可以降低 *ASB2* 和 *RARA* 基因的 mRNA 中 m⁶A 甲基化的水平从而引起 AML 的发生发展, 同时发现高表达的 *FTO* 会抑制全反式维 A 酸介导 AML 细胞向正常血细胞分化的作用。这使得 *FTO* 这一去甲基化基因成为了 *MLL* 型 AML 的癌基因。Zhou 等^[52]发现在宫颈鳞状细胞癌(cervical squamous cell carcinoma, CSCC)患者的肿瘤组织中 *FTO* 表达显著升高, 并发现这些患者对放疗产生了耐受, 这可能是由于 *FTO* 降低了某些基因的 m⁶A 甲基化水平进而激活 β -catenin 通路并影响到了 *ERCC1* 基因的表达而产生的作用。同时发现, CSCC 患者中 *FTO* 和 β -catenin 表达同时升高相比较单独升高的患者, 表现出了更差的预后($P = 0.041$)。由此可见, *FTO* 和 β -catenin 的表达对于 CSCC 的临床预后具有一定的评估价值。Wang 等^[53]研究了 286 例宫颈癌患者的大样本数据后发现, 肿瘤组织中的 m⁶A 甲基化总体水平显著降低。同时发现 *METTL3* 和 *METTL14* 的表达量明显减少, 而 *FTO* 和 *ALKBH5* 的表达量则明显升高。他们推测, m⁶A 低甲基化可能在宫颈癌的发生发展中发挥了重要作用。通过对临床数据分

析显示, m^6A 低甲基化的患者的无病生存率(disease free survival, DFS)和总生存率(overall survival, OS)显著降低, 且低甲基化患者具有更高的复发率($P < 0.01$)。随后作者通过功能实验发现, 宫颈癌细胞中 m^6A 总水平高甲基化会产生明显的增殖抑制作用。由于肿瘤中的 m^6A 甲基化水平的高低往往取决于转甲基酶和去甲基酶的水平, 所以研究肿瘤中这两种酶的基因表达水平有助于深入了解肿瘤的发生发展与 m^6A 甲基化的相关性, 帮助建立肿瘤早期诊断及预后分析的新方法(表 2)。

2.3 m^6A 甲基化读取基因与肿瘤

读取蛋白可以与 RNA 上的 m^6A 位点特异性地结合, 不同的读取蛋白与 m^6A 位点结合后, 会产生不同的生物学功能(表 2)。如 YTHDF2 蛋白与 mRNA 中的 m^6A 位点结合, 起到加快 mRNA 降解的作用。Chen 等^[50]在研究中发现, HCC 的抑癌基因 *SOCS2* 所表达的 mRNA 中 m^6A 甲基化水平上调, 这使得 YTHDF2 蛋白拥有了更多的 m^6A 结合位点最终促进了 mRNA 降解。Nishizawa 及其团队^[54]发现 *YTHDF1* 基因在结直肠癌患者中处于高表达。通过临床病理数据分层研究中发现, *YTHDF1* 基因的表达与肿瘤

直径($P=0.009$)、淋巴结转移($P=0.044$)、远处转移($P=0.036$)和临床分期($P=0.0226$)具有相关性, 但对于具体的调控机制未作研究。Yang 等^[55]收集了 31 例 TNM 三期的 HCC 患者样本, 发现 *YTHDF2* 表达升高率高达 83.9% (26/31), 怀疑 HCC 晚期病人极可能与部分基因的 m^6A 位点结合了 YTHDF2 蛋白相关。随后, 作者在 HepG2 细胞系中过表达 miR-145 以降低 *YTHDF2* 的表达, 发现 HepG2 细胞的增殖受到明显抑制。这提示 miR-145 可能成为 HCC 的潜在治疗手段。Zhao 等^[56]对 TCGA 中的肝癌数据进行研究发现, *YTHDF1* 在 TNM 三、四期的 HCC 患者中相比于二期患者表达明显上调, 且 *YTHDF1* 上调的患者具有更差预后; 并发现受 YTHDF1 蛋白调控的潜在靶基因可能与肿瘤的细胞周期、多种氨基酸的降解以及各种脂类代谢有关, 这些细胞生理功能的异常很可能与 HCC 的发生发展有关。最后作者通过分析 TCGA 和 ChIP-atlas 数据库数据预测并通过实验验证了 *c-Myc* 是调控 *YTHDF1* 的上游基因。

2.4 m^6A 甲基化与肿瘤干细胞

肿瘤干细胞具有自我更新和无限增值的能力, 在肿瘤的发生发展、转移及复发中起到重要作用。

表 2 m^6A 甲基化与肿瘤

Table 2 m^6A methylation related to tumorigenesis

m^6A 甲基化相关蛋白编码基因	表达趋势	肿瘤类型	调控基因	参考文献
写入基因(writers)				
<i>METTL3</i>	↑	白血病	<i>SP1</i> 、 <i>c-MYC</i> 、 <i>BCL2</i> 、 <i>PTEN</i>	[47,48]
	↑	肝癌	<i>SOCS2</i>	[50]
	↓	胶质母细胞瘤	<i>ADAM19</i> 、 <i>EPHA3</i> 、 <i>KLF4</i> <i>CDKN2A</i> 、 <i>BRCA2</i> 、 <i>TP53</i>	[59]
<i>METTL14</i>	↑	白血病	<i>MYB</i> 、 <i>MYC</i>	[49]
	↓	胶质母细胞瘤	<i>ADAM19</i> 、 <i>EPHA3</i> 、 <i>KLF4</i> <i>CDKN2A</i> 、 <i>BRCA2</i> 、 <i>TP53</i>	[59]
擦除基因(erasers)				
<i>FTO</i>	↑	白血病	<i>ASB2</i> 、 <i>RARA</i> 、 <i>TP53</i>	[51]
	↑	宫颈癌	β -catenin 通路	[53]
<i>ALKBH5</i>	↑	乳腺癌	<i>KLF4</i> 、 <i>NANOG</i>	[57]
读取基因(readers)				
<i>YTHDF1</i>	↑	结直肠癌	未知	[54]
	↑	肝癌	未知	[56]
<i>YTHDF2</i>	↑	肝癌	<i>SOCS2</i>	[50]

Zhang 等^[57]发现缺氧的状态下乳腺癌干细胞(breast cancer stem cells, BCSCs)会产生富集。并发现在低氧状态下,乳腺癌细胞会依赖 HIF 通路并影响 *ZNF217* 和 *ALKBH5* 的表达,从而影响 *KLF4* 和 *NANOG* 的 mRNA 表达。*ALKBH5* 蛋白是一种擦除蛋白,可以降低 RNA 上的 m⁶A 甲基化水平,而 *KLF4* 和 *NANOG* 则是与多能干细胞相关的转化基因。由此推测, m⁶A 甲基化可能与低氧状态下乳腺癌干细胞的生成有一定联系。并在分子病理检查中发现,雌、孕激素受体(ER、PR)阳性和人表皮生长因子受体 2 (HER2)阳性的患者具有更高的 *ALKBH5* 或 *HIF-1 α* 阳性率。同时发现,低水平的 *ALKBH5* 表达与乳腺癌的发生以及肺转移具有一定的相关性。众所周知,肿瘤细胞对于能量和氧的消耗极高,这一研究发现低氧条件会升高 *ALKBH5* 表达可能影响了 *KLF4* 和 *NANOG* 的表达上调,使乳腺癌细胞向肿瘤干细胞转化,这为肿瘤干细胞的研究提供了新的思路。TAKETO 等^[58]发现下调胰腺癌细胞系的 *METTL3* 表达可以使细胞成球能力明显降低,这表明 *METTL3* 可以促进肿瘤干细胞的形成。进一步研究发现在 *METTL3* 表达降低的胰腺癌细胞中,抗癌药物对其具有更明显的作用,也对放射性外照射更加敏感。Cui 等^[59]在 m⁶A 甲基化与胶质母细胞瘤干细胞(CSC)的研究中发现, m⁶A 甲基化水平能影响 SCS 的分化。*METTL3* 或 *METTL14* 基因高表达可以抑制 CSC 的生长和自我更新。同时发现下调 *METTL3* 和(或) *METTL14* 基因会促进肿瘤的进展并缩短接种 GSC 动物模型的生存时间。其后,作者发现使用 *FTO* 抑制剂可以明显地抑制 GSC 细胞的生长并减少 GSC 细胞的转化为肿瘤干细胞的频率。在 *METTL3* 和(或) *METTL14* 下调的 CSC 细胞中发现,癌基因 *ADAM19*、*EPHA3* 和 *KLF4* 出现上调,而抑癌基因 *CDKN2A*、*BRCA2* 和 *TP53* 则出现下调。为验证这些癌基因表达的改变是由于 *METTL3* 和(或) *METTL14* 下调导致 m⁶A 甲基化水平下降而引起的。作者进一步通过上调 *METTL3* 基因的表达和使用 *FTO* 抑制剂使 m⁶A 甲基化水平上升,发现 *ADAM19*、*EPHA3* 和 *KLF4* 这 3 个癌基因表达出现下降,这表明 *METTL3* 蛋白可能通过影响 m⁶A 甲基化而提高了这 3 个基因的表达并最终引起

SCS 的发生。

2.5 m⁶A 甲基化与抗肿瘤药物

TAKETO 等^[58]发现,使用吉西他滨(GEM)可以使 *METTL3* 低表达的胰腺癌细胞出现凋亡。Nishizawa 等^[54]则发现将 *YTHDF1* 基因表达降低后,肿瘤细胞的增殖得到了明显的抑制,且对 5-氟脲嘧啶(5-FU)和奥沙利铂(L-OHP)这两种化疗药更为敏感。常规的化疗药物在恶性肿瘤的治疗中一直扮演着重要的角色,除了具有较强的副作用外,其最大的缺点就是容易产生耐药,所以在临床中往往会选择联合用药,以上两项 m⁶A 甲基化与化疗药物的研究为在肿瘤的临床用药提供了新的思路。Lai 等^[60]发现鼻咽癌也与 m⁶A 甲基化相关,并发现黄芩苷可以通过上调鼻咽癌中的 m⁶A 甲基化水平来影响 mRNA 的剪接,这会对鼻咽癌细胞的凋亡和细胞周期产生影响。黄芩苷是一种有名的中药成分,该研究为人们在中药中寻找合适的抗癌药物提供了指引。大黄素(Rhein)是首个发现的 *FTO* 抑制剂,可以有效增加细胞内的 m⁶A 甲基化水平。虽然大黄素对于 *FTO* 的抑制效果很强,但也发现大黄素的专一性却很差^[61]。随后 Huang 等^[17]发现 MA(meclofenamic acid)类抗炎药物可以作为 *FTO* 抑制剂,它可以在 RNA 中的 m⁶A 位点与 *FTO* 蛋白竞争性结合,从而起到抑制 *FTO* 的去甲基作用。同时,他们发现 MA 的乙酯化异构体 MA2,该药物具有更好的细胞穿透性且能显著地提高细胞内的 m⁶A 甲基化水平。而 Cui 等^[59]发现,对胶质母细胞瘤使用 MA2 可以有效抑制 *FTO* 的表达并抑制肿瘤的进展。这也为人们寻找新的靶向药物提供了指引。同时也有文献报道 IOX3 可以抑制细胞内的 *FTO* 基因的表达,但是否能改变细胞内的 m⁶A 甲基化水平尚未得出明确结论^[62]。柠檬酸盐结晶也被发现可以抑制细胞内 *ALKBH5* 基因的表达^[63]。另有两篇文献报道了 N-CDPCB 和 CHTB 药物可以通过与 *FTO* 转录的 mRNA 特异性结合而可以作为 *FTO* 抑制剂^[64,65]。目前,虽然已经文献报道了多种 m⁶A 去甲基酶的小分子药物的存在(表 3),但无论是其特异性或有效性都不能很好的达到精准治疗的目的,精准、有效的 m⁶A 靶向药物依然有待进一步研发。

表 3 去甲基酶抑制剂

Table 3 Inhibitors of demethylation

药物种类	是否作用于 <i>FTO</i>	是否作用于 <i>ALKBH5</i>	参考文献
Rhein	是	未知	[61]
MA	是	否	[17]
IOX3	是	是	[62]
Citrate	是	是	[63]
N-CDPCB	是	未知	[64]
CHTB	是	未知	[65]

3 结语与展望

m⁶A 甲基化作为众多 RNA 表观遗传修饰家族中的一员，基于目前对其与肿瘤的认识，其本身并无“好坏”之分，主要通过调控相关的癌基因或抑癌基因的 mRNA 表达量起到对肿瘤细胞的促进或抑制作用。随着人们对 m⁶A 甲基化机制的研究逐渐深入，发现与其相关的 RNA 水平的调控变得更加复杂和多样。有趣的是，读取蛋白结合 m⁶A 甲基化位点后，既可能促进相关 mRNA 的表达，也可能降低相关 mRNA 的稳定性而加速降解。此外，非编码 RNA 可以调控目的基因的表达水平，而 m⁶A 甲基化出现在非编码 RNA 中，又会调控非编码 RNA 本身的表达水平。m⁶A 甲基化这种双面调控行为特别是对于非编码 RNA 的调控，也许能够帮助人们从新角度去阐明一些原本无法解释的问题。肿瘤干细胞是一种获得了多能性的肿瘤细胞，其恶性程度极高，拥有自我更新能力使其能更快地突变以产生耐药能力或适应微环境的改变。研究发现，目前有一定数量的 m⁶A 甲基化与肿瘤的研究都与肿瘤干细胞有关，这为人们对于肿瘤干细胞的认识提供了一个新的视角，并对于更全面地理解肿瘤细胞的发生发展和突变提供了很好的帮助，也为对肿瘤干细胞相关肿瘤的治疗指引了新的方向。如今，肿瘤的诊断和治疗已步入了分子时代，肿瘤的分子诊断现已广泛开展，分子靶向药物的研制也取得了一定的突破。对于不同肿瘤中 m⁶A 甲基化位点的研究可以帮助医疗工作者们寻找新的分子诊断位点。另外，RNA 中的 m⁶A 甲基化水平与细胞内写入、擦除基因的表达量密切相关，而读取基因表达的蛋白分子则与 m⁶A 甲基化位点相结合从而执行一系列生物学功能。所以在肿瘤

中，无论是 m⁶A 相关的基因还是蛋白的表达水平改变都将有可能成为肿瘤分子诊断的潜在标志物，同时也将为临床分子靶向治疗药物的研发提供新的靶点。

参考文献(References):

[1] Dubin DT, Taylor RH. The methylation state of poly A-containing messenger RNA from cultured hamster cells. *Nucleic Acids Res*, 1975, 2(10): 1653–1668. [DOI]

[2] Lee M, Kim B, Kim VN. Emerging roles of RNA modification: m⁶A and U-tail. *Cell*, 2014, 158(5): 980–987. [DOI]

[3] Wei W, Ji X, Guo X, Ji S. Regulatory Role of N⁶-methyladenosine (m⁶A) Methylation in RNA processing and human diseases. *J Cell Biochem*, 2017, 118(9): 2534–2543. [DOI]

[4] Zhang X, Jia GF. RNA epigenetic modification: N⁶-methyladenosine. *Hereditas(Beijing)*, 2016, 38(4): 275–288. 张笑, 贾桂芳. RNA 表观遗传修饰：N⁶-甲基腺嘌呤. *遗传*, 2016, 38(4): 275–288. [DOI]

[5] Li YL, Yu J, Song SH. Recent progresses in RNA N6-methyladenosine research. *Hereditas(Beijing)*, 2013, 35(12): 1340–1351. 李语丽, 于军, 宋述慧. RNA 中 6-甲基腺嘌呤的研究进展. *遗传*, 2013, 35(12): 1340–1351. [DOI]

[6] Visvanathan A, Somasundaram K. mRNA traffic gontrol reviewed: N6-Methyladenosine (m⁶A) takes the driver's seat. *Bioessays*, 2018, 40(1). doi: 10.1002/bies.201700093. [DOI]

[7] Jacob R, Zander S, Gutschner T. The Dark side of the epitranscriptome: chemical modifications in long non-coding RNAs. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(11): pii: E2387. [DOI]

[8] Alarcón CR, Lee H, Goodarzi H, Halberg N, Tavazoie SF. N6-methyladenosine marks primary microRNAs for processing. *Nature*, 2015, 519(7544): 482–485. [DOI]

[9] Berulava T, Rahmann S, Rademacher K, Klein-Hitpass L, Horsthemke B. N6-adenosine methylation in MiRNAs. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0118438. [DOI]

[10] Bokar JA, Shambaugh ME, Polayes D, Matera AG, Rottman FM. Purification and cDNA cloning of the AdoMet-binding subunit of the human mRNA (N6-adenosine)-methyltransferase. *RNA*, 1997, 3(11): 1233–1247. [DOI]

[11] Wang Y, Li Y, Toth JJ, Petroski MD, Zhang Z, Zhao JC. N6-methyladenosine modification destabilizes developmental

- regulators in embryonic stem cells. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(2): 191–198. [DOI]
- [12] Ping XL, Sun BF, Wang L, Xiao W, Yang X, Wang WJ, S Adhikari, Shi Y, Lv Y, Chen YS, Zhao X, Li A, Yang Y, U Dahal, Lou XM, Liu X, Huang J, Yuan WP, Zhu XF, Cheng T, Zhao YL, Wang X, Rendtlew Danielsen JM, Liu F, Yang YG. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N⁶-methyladenosine methyltransferase. *Cell Res*, 2014, 24(2): 177–189. [DOI]
- [13] Horiuchi K, Kawamura T, Iwanari H, Ohashi R, Naito M, Kodama T, Hamakubo T. Identification of Wilms' tumor 1-associating protein complex and its role in alternative splicing and the cell cycle. *J Biol Chem*, 2013, 288(46): 292–302. [DOI]
- [14] Patil DP, Chen CK, Pickering BF, Chow A, Jackson C, Guttman M, Jaffrey SR. m⁶A RNA methylation promotes XIST-mediated transcriptional repression. *Nature*, 2016, 537(7620): 369–373. [DOI]
- [15] Pendleton, KE, Chen B, Liu K, Hunter OV, Xie Y, Tu BP, Conrad NK. The U6 snRNA m⁶A methyltransferase METTL16 regulates SAM synthetase intron retention. *Cell*, 2017, 169(5): 824–835 e14. [DOI]
- [16] Schwartz S, Mumbach MR, Jovanovic M, Wang T, Maciag K, Bushkin GG, Mertins P, Ter-Ovanesyan D, Habib N, Cacchiarelli D, Sanjana NE, Freinkman E, Pacold ME, Satija R, Mikkelsen TS, Hacohen N, Zhang F, Carr SA, Lander ES, Regev A. Perturbation of m⁶A writers reveals two distinct classes of mRNA methylation at internal and 5' sites. *Cell Rep*, 2014, 8(1): 284–296. [DOI]
- [17] Huang Y, Yan J, Li Q, Li J, Gong S, Zhou H, Gan J, Jiang H, Jia GF, Luo C, Yang CG. Meclofenamic acid selectively inhibits FTO demethylation of m⁶A over ALKBH5. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(1): 373–384. [DOI]
- [18] Meyer KD, Jaffrey SR. Rethinking m⁶A readers, writers, and erasers. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2017, 33: 319–342. [DOI]
- [19] Wang X, Lu Z, Gomez A, Hon GC, Yue Y, Han D, Fu Y, Parisien M, Dai Q, Jia G, Ren B, Pan T, He C. N⁶-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability. *Nature*, 2014, 505(7481): 117–120. [DOI]
- [20] Alarcon CR, H Goodarzi, Lee H, Liu X, S Tavazoie, SF Tavazoie. HNRNPA2B1 is a mediator of m⁶A-dependent nuclear RNA processing events. *Cell*, 2015, 162(6): 1299–1308. [DOI]
- [21] Liu N, Dai Q, Zheng G, He C, Parisien M, Pan T. N(6)-methyladenosine-dependent RNA structural switches regulate RNA-protein interactions. *Nature*, 2015, 518(7540): 560–564. [DOI]
- [22] Meyer KD, Patil DP, Zhou J, Zinoviev A, Skabkin MA, Elemento O, Pestova TV, Qian SB, Jaffrey SR. 5' UTR m⁶A promotes cap-independent translation. *Cell*, 2015, 163(4): 999–1010. [DOI]
- [23] Li A, Chen YS, Ping XL, Yang X, Xiao W, Yang Y, Sun HY, Zhu Q, Baidya P, Wang X, Bhattacharai DP, Zhao YL, Sun BF, Yang YG. Cytoplasmic m⁶A reader YTHDF3 promotes mRNA translation. *Cell Res*, 2017, 27(3): 444–447. [DOI]
- [24] Wang X, Zhao BS, Roundtree IR, Lu Z, Han D, Ma H, Weng X, Chen K, Shi H, He C. N(6)-methyladenosine modulates messenger RNA translation efficiency. *Cell*, 2015, 161(6): 1388–1399. [DOI]
- [25] Zhou J, Wan J, Gao X, Zhang X, Jaffrey SR, Qian SB. Dynamic m⁶A mRNA methylation directs translational control of heat shock response. *Nature*, 2015, 526(7574): 591–594. [DOI]
- [26] Xiao W, Adhikari S, Dahal U, Chen YS, Hao YJ, Sun BF, Sun HY, Li A, Ping XL, Lai WY, Wang X, Ma HL, Huang CM, Yang Y, Huang N, Jiang GB, Wang HL, Zhou Q, Wang XJ, Zhao YL, Yang YG. Nuclear m⁶A reader YTHDC1 regulates mRNA splicing. *Mol Cell*, 2016, 61(4): 507–519. [DOI]
- [27] Wintermeyer W, Zachau HG. A specific chemical chain scission of tRNA at 7-methylguanosine. *FEBS Lett*, 1970, 11(3): 160–164. [DOI]
- [28] Bakin A, Ofengand J. Four newly located pseudouridylate residues in Escherichia coli 23S ribosomal RNA are all at the peptidyltransferase center: analysis by the application of a new sequencing technique. *Biochemistry*, 1993, 32(37): 9754–9762. [DOI]
- [29] Dominissini D, Moshitch-Moshkovitz S, Schwartz S, Salmon-Divon M, Ungar L, Osenberg S, Cesarkas K, Jacob-Hirsch J, Amariglio N, Kupiec M, Sorek R, Rechavi G. Topology of the human and mouse m⁶A RNA methylomes revealed by m⁶A-seq. *Nature*, 2012, 485(7397): 201–206. [DOI]
- [30] Meyer KD, Saletore Y, Zumbo P, Elemento O, Mason CE, Jaffrey SR. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons. *Cell*, 2012, 149(7): 1635–1646. [DOI]
- [31] Mauer J, Luo X, Blanjoie A, Jiao X, Grozhik AG, Patil DP, Linder B, Pickering BF, Vasseur JJ, Chen Q, Gross SS, Elemento O, Debart F, Kiledjian M, Jaffrey SR. Reversible methylation of m⁶Am in the 5' cap controls mRNA stability. *Nature*, 2017, 541(7637): 371–375. [DOI]

- [32] Linder B, Grozhik AV, Olarerin-George AO, Meydan C, Mason CE, Jaffrey SR. Single-nucleotide-resolution mapping of m⁶A and m⁶Am throughout the transcriptome. *Nat Methods*, 2015, 12(8): 767–772. [DOI]
- [33] Chen K, Lu Z, Wang X, Fu Y, Luo GZ, Liu N, Han D, Dominissini D, Dai Q, Pan T, He C. High-resolution N⁶-methyladenosine (m⁶A) map using photo-crosslinking-assisted m⁶A sequencing. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2015, 54(5): 1587–1590. [DOI]
- [34] Ke S, Alemu EA, Mertens C, Gantman EC, Fak JJ, Mele A, Haripal B, Zucker-Scharff I, Moore MJ, Park CY, Vågbo CB, Kusznierczyk A, Klungland A, Darnell JE Jr, Darnell RB. A majority of m⁶A residues are in the last exons, allowing the potential for 3' UTR regulation. *Genes Dev*, 2015, 29(19): 2037–2053. [DOI]
- [35] Molinie B, Wang JK, Lim KS, Hillebrand R, Lu ZX, Van Wittenberghe N, Howard BD, Daneshvar K, Mullen AC, Dedon P, Xing Y, Giallourakis CC. m⁶A-LAIC-seq reveals the census and complexity of the m⁶A epitranscriptome. *Nat Methods*, 2016, 13(8): 692–698. [DOI]
- [36] Liu N, Parisien M, Dai Q, Zheng G, He C, Pan T. Probing N⁶-methyladenosine RNA modification status at single nucleotide resolution in mRNA and long noncoding RNA. *RNA*, 2013, 19(12): 1848–1856. [DOI]
- [37] Li X, Zhu P, Ma S, Song J, Bai J, Sun F, Yi C. Chemical pulldown reveals dynamic pseudouridylation of the mammalian transcriptome. *Nat Chem Biol*, 2015, 11(8): 592–597. [DOI]
- [38] Golovina AY, Dzama MM, Petriukov KS, Zatsepin TS, Sergiev PV, Bogdanov AA, Dontsova OA. Method for site-specific detection of m⁶A nucleoside presence in RNA based on high-resolution melting (HRM) analysis. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(4): e27. [DOI]
- [39] Zhang YC, Zhang SW, Liu L, Liu H, Zhang L, Cui X, Huang Y, Meng J. Spatially enhanced differential RNA methylation analysis from affinity-based sequencing data with hidden markov model. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 852070. [DOI]
- [40] Liu Z., Xiao X, Yu DJ, Jia J, Qiu WR, Chou KC. pRNAm-PC: Predicting N(6)-methyladenosine sites in RNA sequences via physical-chemical properties. *Anal Biochem*, 2016, 497: 60–67. [DOI]
- [41] Chen W, Feng P, Ding H, Lin H, Chou KC. iRNA-Methyl: Identifying N(6)-methyladenosine sites using pseudo nucleotide composition. *Anal Biochem*, 2015, 490: 26–33. [DOI]
- [42] Jia CZ, Zhang JJ, Gu WZ. RNA-MethylPred: A high-accuracy predictor to identify N⁶-methyladenosine in RNA. *Anal Biochem*, 2016, 510: 72–75. [DOI]
- [43] Li GQ, Liu Z, Shen HB, Yu DJ. TargetM6A: Identifying N⁶-Methyladenosine sites from RNA sequences via position-specific nucleotide propensities and a support vector machine. *IEEE Trans Nanobioscience*, 2016, 15(7): 674–682. [DOI]
- [44] Zhou Y, Zeng P, Li YH, Zhang Z, Cui Q. SRAMP: prediction of mammalian N⁶-methyladenosine (m⁶A) sites based on sequence-derived features. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(10): e91. [DOI]
- [45] Xuan JJ, Sun WJ, Lin PH, Zhou KR, Liu S, Zheng LL, Qu LH, Yang JH. RMBase v2.0: deciphering the map of RNA modifications from epitranscriptome sequencing data. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D327–D334. [DOI]
- [46] 张春霖, 刘峰. m⁶A 甲基化修饰调控造血干细胞命运决定. *遗传*, 2017, 39(9): 863–864. [DOI]
- [47] Barbieri I, Tzelepis K, Pandolfini L, Shi J, Millán-Zambrano G, Robson SC, Aspris D, Migliori V, Bannister AJ, Han N, De Braekeleer E, Ponstingl H, Hendrick A, Vakoc CR, Vassiliou GS, Kouzarides T. Promoter-bound METTL3 maintains myeloid leukaemia by m⁶A-dependent translation control. *Nature*, 2017, 552(7683): 126–131. [DOI]
- [48] Vu LP, Pickering BF, Cheng Y, Zaccara S, Nguyen D, Minuesa G, Chou T, Chow A, Saletore Y, MacKay M, Schulman J, Famulare C, Patel M, Klimek VM, Garrett-Bakelman FE, Melnick A, Carroll M, Mason CE, Jaffrey SR, Kharas MG. The N⁶-methyladenosine (m⁶A)-forming enzyme METTL3 controls myeloid differentiation of normal hematopoietic and leukemia cells. *Nat Med*, 2017, 23(11): 1369–1376. [DOI]
- [49] Weng H, Huang H, Wu H, Qin X, Zhao BS, Dong L, Shi H, Skibbe J, Shen C, Hu C, Sheng Y, Wang Y, Wunderlich M, Zhang B, Dore LC, Su R, Deng X, Ferchen K, Li C, Sun M, Lu Z, Jiang X, Marcucci G, Mulloy JC, Yang J, Qian Z, Wei M, He C, Chen J. METTL14 inhibits hematopoietic stem/progenitor differentiation and promotes leukemogenesis via mRNA m⁶A modification. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(2): 191–205. [DOI]
- [50] Chen M, Wei L, Law CT, Tsang FH, Shen J, Cheng CL, Tsang LH, Ho DW, Chiu DK, Lee JM, Wong CC, Ng IO, Wong CM. RNA N⁶-methyladenosine methyltransferase-like 3 promotes liver cancer progression through YTHDF2-dependent posttranscriptional silencing of SOCS2. *Hepatology*, 2017, 67(6): 2254–2270. [DOI]
- [51] Li Z, Weng H, Su R, Weng X, Zuo Z, Li C, Huang H, Nachtergaele S, Dong L, Hu C, Qin X, Tang L, Wang Y,

- Hong GM, Huang H, Wang X, Chen P, Gurbuxani S, Arnovitz S, Li Y, Li S, Strong J, Neilly MB, Larson RA, Jiang X, Zhang P, Jin J, He C, Chen J. FTO plays an oncogenic role in acute myeloid leukemia as a N⁶-methyladenosine RNA demethylase. *Cancer Cell*, 2017, 31(1): 127–141. [DOI]
- [52] Zhou S, Bai ZL, Xia D, Zhao ZJ, Zhao R, Wang YY, Zhe H. FTO regulates the chemo-radiotherapy resistance of cervical squamous cell carcinoma (CSCC) by targeting β -catenin through mRNA demethylation. *Mol Carcinog*, 2018, 57(5): 590–597. [DOI]
- [53] Wang X, Li Z, Kong B, Song C, Cong J, Hou J, Wang S. Reduced m⁶A mRNA methylation is correlated with the progression of human cervical cancer. *Oncotarget*, 2017, 8(58): 98918–98930. [DOI]
- [54] Nishizawa Y, Konno M, Asai A, Koseki J, Kawamoto K, Miyoshi N, Takahashi H, Nishida N, Haraguchi N, Sakai D, Kudo T, Hata T, Matsuda C, Mizushima T, Satoh T, Doki Y, Mori M, Ishii H. Oncogene c-Myc promotes epitranscriptome m⁶A reader YTHDF1 expression in colorectal cancer. *Oncotarget*, 2018, 9(7): 7476–7486. [DOI]
- [55] Yang Z, Li J, Feng G, Gao S, Wang Y, Zhang S, Liu Y, Ye L, Li Y, Zhang X. MicroRNA-145 modulates N⁶-methyladenosine levels by targeting the 3'-untranslated mRNA region of the N⁶-methyladenosine binding YTH domain family 2 protein. *J Biol Chem*, 2017, 292(9): 3614–3623. [DOI]
- [56] Zhao X, Chen Y, Mao Q, Jiang X, Jiang W, Chen J, Xu W, Zhong L, Sun X. Overexpression of YTHDF1 is associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Biomark*, 2018, 21(4): 859–868. [DOI]
- [57] Zhang C, Zhi W, Lu H, Samanta D, Chen I, Gabrielson E, Semenza GL. Hypoxia-inducible factors regulate pluripotency factor expression by ZNF217- and ALKBH5-mediated modulation of RNA methylation in breast cancer cells. *Oncotarget*, 2016, 7(40): 64527–64542. [DOI]
- [58] Taketo K, Konno M, Asai A, Koseki J, Toratani M, Satoh T, Doki Y, Mori M, Ishii H, Ogawa K. The epitranscriptome m⁶A writer METTL3 promotes chemo- and radioresistance in pancreatic cancer cells. *Int J Oncol*, 2018, 52(2): 621–629. [DOI]
- [59] Cui Q, Shi H, Ye P, Li L, Qu Q, Sun G, Sun G, Lu Z, Huang Y, Yang CG, Riggs AD, He C, Shi Y. m⁶A RNA methylation regulates the self-renewal and tumorigenesis of glioblastoma stem cells. *Cell Rep*, 2017, 18(11): 2622–2634. [DOI]
- [60] Lai W, Jia J, Yan B, Jiang Y, Shi Y, Chen L, Mao C, Liu X, Tang H, Gao M, Cao Y, Liu S, Tao Y. Baicalin hydrate inhibits cancer progression in nasopharyngeal carcinoma by affecting genome instability and splicing. *Oncotarget*, 2018, 9(1): 901–914. [DOI]
- [61] Chen B, Ye F, Yu L, Jia G, Huang X, Zhang X, Peng S, Chen K, Wang M, Gong S, Zhang R, Yin J, Li H, Yang Y, Liu H, Zhang J, Zhang H, Zhang A, Jiang H, Luo C, Yang CG. Development of cell-active N⁶-methyladenosine RNA demethylase FTO inhibitor. *J Am Chem Soc*, 2012, 134(43): 17963–17971. [DOI]
- [62] McMurray F, Demetriades M, Aik W, Merkestein M, Kramer H, Andrew DS, Scudamore CL, Hough TA, Wells S, Ashcroft FM, McDonough MA, Schofield CJ, Cox RD. Pharmacological inhibition of FTO. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0121829. [DOI]
- [63] Xu C, Liu K, Tempel W, Demetriades M, Aik W, Schofield CJ, Min J. Structures of human ALKBH5 demethylase reveal a unique binding mode for specific single-stranded N⁶-methyladenosine RNA demethylation. *J Biol Chem*, 2014, 289(25): 17299–17311. [DOI]
- [64] He W, Zhou B, Liu W, Zhang M, Shen Z, Han Z, Jiang Q, Yang Q, Song C, Wang R, Niu T, Han S, Zhang L, Wu J, Guo F, Zhao R, Yu W, Chai J, Chang J. Identification of a novel small-molecule binding site of the fat mass and obesity associated protein (FTO). *J Med Chem*, 2015, 58(18): 7341–7348. [DOI]
- [65] Qiao Y, Zhou B, Zhang M, Liu W, Han Z, Song C, Yu W, Yang Q, Wang R, Wang S, Shi S, Zhao R, Chai J, Chang J. A novel inhibitor of the obesity-related protein FTO. *Biochemistry*, 2016, 55(10): 1516–1522. [DOI]

(责任编辑: 宋旭)