

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2020.10.018

· 综述 ·

## m6A 甲基化在肿瘤发生发展中作用的研究进展

### Research progress on the role of N6-methyladenosine in tumorigenesis and development

程子硕 综述;刘丽华 审阅(河北医科大学第四医院 肿瘤免疫治疗科,河北 石家庄 050035)

**[摘要]** 近年来,表观遗传修饰在恶性肿瘤发生发展中的调控作用受到广泛关注。早期的表观遗传修饰研究主要集中于DNA和蛋白质水平,随着RNA深度测序技术和生物信息学方法的发展,以N6-甲基腺嘌呤(N6-methyladenosine, m6A)为主的RNA表观遗传修饰逐渐成为生物科学领域的研究热点。m6A是存在于所有高等真核生物中最普遍的mRNA表观修饰,具有动态可逆的特点,涉及许多复杂细胞过程的精细调控,如RNA的加工、运输、定位、翻译及降解等。最新研究表明,m6A可通过“写入”、“擦除”和“阅读”相关因子的异常表达,可逆地动态调节RNA运输、定位、翻译及降解等方面,通过多种机制在肿瘤的发生发展过程中发挥促进或抑制作用。本文就近年来m6A的生物学特性、RNA修饰的调控机制及其在肿瘤发生发展中的作用研究进展作一综述。

**[关键词]** 表观遗传修饰;RNA甲基化;m6A甲基化;恶性肿瘤

**[中图分类号]** R735.1; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)10-1183-07

表观遗传修饰是指在不改变DNA核苷酸序列的前提下引起基因表达的可遗传性改变,与肿瘤的发生发展密切相关。近年来,随着肿瘤表观遗传学研究的不断发展,特别是继异常的DNA甲基化、微小RNA(microRNA, miRNA)和非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)失调以及组蛋白修饰研究的深入,N6-甲基腺嘌呤(N6-methyladenosine, m6A)不仅开创了真核生物转录后基因调控的新纪元,并迅速成为RNA甲基化修饰领域中的研究热点。作为存在于所有高等真核生物中最普遍的mRNA内部修饰,m6A已被证实在多种肿瘤中异常表达,并在细胞增殖、侵袭、转移等一系列恶性生物学行为的调控中均发挥重要作用。本文就m6A与肿瘤的研究进展作一综述,旨在为深刻认识恶性肿瘤发生发展并寻找肿瘤预测生物标志物和治疗靶点提供理论基础。

#### 1 m6A的生物学特性

m6A是发生在腺苷N6位的甲基化,于1974年首次在poly(A)RNA中被检测到,并认为可能是一种广泛的修饰,具有选择性控制基因表达的潜力<sup>[1]</sup>。然而,当时的检测技术手段无法满足m6A修饰生物学意义研究的要求。随着免疫共沉淀技术以及高通量测序技术的发展,才使得研究人员能够对m6A修饰进行更精准的定位,m6A重新成为人们关注的焦点,开启了RNA表观遗传修饰的新篇章。近年研究<sup>[2-3]</sup>发现,m6A是mRNA和ncRNA中的一种非常普遍的修饰,它影响RNA的剪切、翻译、稳定性以及某些ncRNA的表观遗传效应,平均每1000个核苷酸中就含有1~2个m6A残基。m6A主要发生在3'非编码区

(3' untranslated region, 3' UTR)、终止密码子以及长外显子附近的RRACH序列中(其中R=A或G,H=A、C或U)<sup>[3]</sup>。越来越多的证据表明,m6A几乎影响mRNA代谢的各个阶段,从细胞核的处理到细胞质的翻译和衰变,进而影响昼夜节律、调控细胞周期、加速细胞状态改变、调节细胞分化及重编程,最终影响机体的稳态,引起包括肿瘤在内的多种疾病<sup>[4]</sup>。

#### 2 m6A RNA修饰的调控机制

m6A RNA修饰在哺乳动物细胞中是动态可逆的,其调控过程主要由m6A写入基因、擦除基因和阅读蛋白控制<sup>[5]</sup>。RNA在m6A修饰后会出现电荷、碱基配对、二级结构和蛋白质-RNA相互作用等性质的改变,进而影响RNA的运输、定位、翻译及降解,最终发挥调控基因表达的功能。

##### 2.1 m6A修饰的写入基因

写入基因又称“Writer”,可通过编码m6A甲基转移酶,在RNA分子的特定位置加入m6A修饰<sup>[5]</sup>。m6A甲基转移酶目前确定的成分包括甲基转移酶样3(methyltransferase like 3, METTL3)、METTL14、Wilms瘤1相关蛋白(Wilms' tumor 1 associated

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No. 81871894);河北省自然科学基金资助项目(No. H2018206318)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81871894), and the Natural Science Foundation of Hebei Province (No. H2018206318)

**[作者简介]** 程子硕(1996-),男,硕士生,主要从事肿瘤免疫治疗的临床与基础研究,E-mail: 13180078682@163.com

**[通信作者]** 刘丽华(LIU Lihua, corresponding author),博士,教授、主任医师,博士生导师,主要从事肿瘤免疫与生物治疗相关研究,E-mail: lihualiu567@hotmail.com

protein, WTAP)、Virilizer样 m6A 甲基转移酶相关蛋白 (Virilizer like m6A methyltransferase associated protein, VIRMA/KIAA1429)、RNA 结合基序蛋白 15 (RNA binding motif protein 15, RBM15)、锌指 CCCH 结构域蛋白 13 (zinc finger CCCH domain-containing protein 13, Zc3h13)、Casitas B 系淋巴瘤原癌基因转化序列样蛋白 1 (Casitas B-lineage lymphoma-transforming sequence-like protein 1, CBLL1/HAKAI)。还有研究<sup>[6]</sup>发现, 存在一个单独的 m6A 甲基转移酶 METTL16, 除了可以作用于 mRNA, 还可甲基化 U6 snRNA 和多种 ncRNA。

作为甲基转移酶复合物的核心成分, METTL3 和 METTL14 具有相似的甲基转移酶结构域 (methyltransferase domain, MTD), 二者通过该结构域形成异源二聚体。METTL3 作为催化活性亚基, 负责将甲基从 S-腺苷甲硫氨酸 (S-adenosylmethionine, SAM) 或 S-腺苷同型半胱氨酸 (S-adenosylhomocysteine, SAH) 转移至受体腺嘌呤 6 号氮原子<sup>[7]</sup>。METTL14 通过结合 mRNA 并协助甲基定位, 为 RNA 结合提供平台, 对底物识别起关键作用, 从而增强 METTL3 甲基转移酶活性<sup>[8]</sup>。WTAP 通过协助 METTL3 与 METTL14 定位于核斑, 稳定 METTL3 与 METTL14 的相互作用, 发挥调节亚基的作用<sup>[9]</sup>。KIAA1429 通过募集甲基转移酶核心成分 METTL3/METTL14/WTAP, 介导 3' UTR 和终止密码子区域选择性 m6A 修饰<sup>[10]</sup>。RBM15 可通过结合于尿嘧啶丰富的区域后, 作为衔接蛋白招募 WTAP/METTL3 复合物, 使其选择性地特定的 m6A 共识位点进行甲基化<sup>[11]</sup>。Zc3h13 作为甲基化特异性介质, 负责与 RBM15 的连接, 发挥支架作用以协助 Zc3h13/WTAP/ KIAA1429/HAKAI 复合物进行核定位, 以此调控 m6A 水平<sup>[12]</sup>。HAKAI 在甲基转移酶复合物中的作用尚不明确, 但有实验<sup>[13]</sup>证实敲除 HAKAI 可导致 m6A 水平的降低。

机体在 METTL3/METTL14/WTAP/KIAA1429/RBM15/Zc3h13/HAKAI 甲基转移酶复合物调控下, 实现在特定区域的 m6A 选择性修饰。目前, 对于 m6A 甲基转移酶的认知处于探索阶段, 仍需对已知成分进行功能挖掘, 并对未知成分进行鉴定筛选。通过对于“Writer”的进一步研究可能为肿瘤诊断提供新型的生物标志物, 并为肿瘤治疗靶点的发现拓展新思路。

## 2.2 m6A 修饰的擦除基因

擦除基因又称“Eraser”, 可通过编码 m6A 去甲基化酶, 将 RNA 分子中的 m6A 修饰去除, 这是 m6A 修饰过程可逆的关键<sup>[5]</sup>。目前, 已确定的“Eraser”主要是肥胖相关基因 (fat mass and obesity associated,

FTO) 和 AlkB 同源物 5 (AlkB homolog 5, ALKBH5), 二者虽具有相似的功能, 但作用过程却存在差异。

FTO 是最早发现的 m6A 去甲基化酶, 研究发现 FTO 优先以转录起始位点处的 N6,2'-O-二甲基腺苷 (N6,2'-O-dimethyladenosine, m6Am) 为靶点, m6Am 是细胞 mRNA 中第二常见的修饰核苷酸, 在转录组调控中发挥重要作用<sup>[14]</sup>。FTO 对 m6Am 的催化效率约是其对 m6A 催化效率的 100 倍, m6Am 的 2'-O-甲基及 m7G 帽结构对 FTO 的去甲基化活性有重要作用。通过这一机制, FTO 实现对 m6Am 和 Am 比例的调控, m6Am 的存在增加了 mRNA 的稳定性, 而 Am 与基线的稳定性相关, 然而其机制尚不明确。MAUER 等<sup>[15]</sup>在 2017 年通过敲除 FTO 后检测 mRNA 稳定性, 认为 m6Am 可增强 mRNA 稳定性, 但 AKICHIKA 等<sup>[16]</sup>在 2018 年通过 RNA-seq 及数据分析认为 m6Am 对 mRNA 稳定性并无显著影响, 这一问题仍有待进一步探索, 并使得许多依赖 FTO 损耗来解释 m6A 功能的研究必须重新解释。目前达成共识的是, m6Am 可通过抑制 miRNA 介导的 mRNA 降解发挥调控功能<sup>[15]</sup>。另外, 5' UTR 中的 m6Am 和 m6A 增加都与翻译增强相关, 表明 5' UTR 中不同形式的腺苷甲基化会促进翻译的起始<sup>[17]</sup>。

ALKBH5 是迄今为止发现的第 2 种以 m6A 为唯一已知底物的 RNA 去甲基酶, 其去甲基活性会显著影响 mRNA 的输出、RNA 的代谢以及核斑中 mRNA 加工因子的装配<sup>[18]</sup>。ALKBH5 虽然与 FTO 同为去甲基化酶, 但二者发挥作用的过程却不同。ALKBH5 可直接将 m6A 氧化为普通的腺苷, 而 FTO 则是分阶段实现, N6-甲基首先被氧化成一个羟甲基, 随后产生甲醛和去甲基碱基; 另外, 二者对底物的选择性和序列的偏好性也具有差异, 这意味着 m6A 可能作为“构象标记”动态调节 m6A 去甲基酶的底物选择性<sup>[19]</sup>。值得注意的是, 不同组织间 ALKBH5 和 FTO 表达模式不同。例如, ALKBH5 在小鼠睾丸中表达最高, 而 FTO 在小鼠大脑中表达水平最高<sup>[18]</sup>。组织间 ALKBH5 和 FTO 的差异表达以及其对底物和序列的选择性可能是这两种 m6A 去甲基酶参与不同生物学途径的原因之一。

FTO 和 ALKBH5 的发现对 m6A 领域研究具有重要意义, 其不同的作用机制或可为逆转治疗提供帮助, 但是目前对于 m6A 去甲基化酶的研究并不多, 且存在诸多争议, 仍有待深入研究。

## 2.3 m6A 修饰的阅读蛋白

m6A 阅读蛋白又称“Reader”, 是 m6A 研究的核心问题。m6A 修饰可以直接招募“Reader”直接发挥功能, 或通过改变 RNA 二级结构影响其与“Reader”

的亲合力间接发挥功能<sup>[20]</sup>。目前对于“Reader”的研究主要集中在 YTH 域蛋白家族 (YT521-B homology domain family, YTHDF)、YTH 域包含家族 (YT521-B homology domain containing, YTHDC)、hnRNP 结合蛋白家族 (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein binding protein, HNRNP)、胰岛素样生长因子 II mRNA 结合蛋白 2 家族 (insulin like growth factor 2 mRNA binding protein 2, IGF2BP2)、真核翻译起始因子 3 (eukaryotic translation initiation factor, eIF3) 以及 ELVA 样 RNA 结合蛋白 1 (ELAV like RNA binding protein 1, ELAVL1/HuR)。按其识别机制可分为直接识别和间接识别两种。

阅读蛋白通过直接识别和结合 m6A 修饰位点发挥调控作用被称为直接识别, 其中研究最为广泛的就是 YTHDF 和 YTHDC。YTHDF1/2/3 和 YTHDC1/2 中的 YT521-B 同源 (YT521-B homolog, YTH) 结构域是负责识别 m6A 的主要模块, 通过对 YTH 结构域的研究发现, m6A 进入 YTH 结构域后可与其形成多个碱基特异性氢键, 因此 YTH 结构域对 m6A 的募集具有特异性。YTHDF1 和 YTHDF3 可发挥协同作用影响 m6A mRNA 的翻译, YTHDF2 可加速 mRNA 的降解<sup>[21]</sup>。另外, YTHDC1 可通过募集 SRSF3 并抑制 SRSF10 调控 mRNA 的可变剪切, 影响其目标 mRNA 的核加工, 此外, SRSF3 的募集还可加速 mRNA 运输<sup>[22-23]</sup>。YTHDC2 可调控 mRNA 的稳定性, 提高翻译效率并降低 mRNA 的丰度<sup>[24]</sup>。除此之外, IGF2BP1/2/3 是高度保守的癌胚 RNA 结合蛋白, 通过识别 GG (m6A) C 共有序列, 以 m6A 依赖途径增加目标 mRNA 的稳定性和存储<sup>[25]</sup>。另外, eIF3 是翻译起始复合物的关键成分, 不但可以直接与 5' UTR 中的 m6A 结合, 介导一个非真核翻译起始因子 4E (eukaryotic initiation factor 4e, eIF4E) 依赖的翻译起始, 还可被 YTHDF1 募集到 5' UTR 中, 与接近终止密码子的 m6A 结合<sup>[17,26]</sup>。

m6A 通过调控结构依赖的 RNA 结合基序 (RNA binding motif, RBM), 进而影响 RNA 与靶蛋白的亲合性, 这一识别机制被称为间接识别, 又称为“m6A 开关”<sup>[27]</sup>。其中最典型的是 HNRNP 家族的 HNRNPC、HNRNPG 和 HNRNPA2/B1, 通过添加 m6A 修饰重塑 RNA 二级结构, 调节其对 pre-miRNA 的选择性剪接等加工能力<sup>[27-28]</sup>。另外, WANG 等<sup>[29]</sup>发现, HuR 也通过间接识别机制发挥作用, m6A 甲基化水平的降低会增强 HuR 的 RNA 结合能力, 提高 RNA 的稳定性。

可以直接或间接识别 m6A 修饰的“Reader”潜在数量庞大且靶向广泛, 具有广阔的研究空间。由于 m6A 修饰依赖于“Reader”发挥其生物学功能, 同样的

m6A 修饰在与不同“Reader”结合后可能发挥截然相反的生物效应。因此 mRNA 转录可根据“Reader”的不同进行分组, 这些组共同形成一个影响细胞功能的网络, 这一网络在生理条件下受到机体的严格调控。当调控出现问题时, 会导致包括肿瘤在内的诸多疾病的发生, 通过促进或阻断 m6A RNA 与“Reader”结合, 可能成为未来肿瘤治疗的另一手段。

### 3 m6A RNA 甲基化修饰在肿瘤发生发展中的作用

m6A 修饰的异常调节通过影响肿瘤相关基因的表达在多种类型的肿瘤中均扮演重要角色, m6A 修饰对肿瘤发生发展既可发挥促进作用, 也可发挥抑制作用。首先, 这是由于 m6A 修饰的靶基因具有多样性, 其靶基因既可以是癌基因也可以是抑癌基因。其次, 参与 m6A 调控通路的“Writer”或“Eraser”的不同, 会对 m6A 水平的升高或降低产生不同的影响。另外, m6A 修饰后可通过招募不同的“Reader”影响其目标 mRNA 在肿瘤发生发展中发挥不同作用。对于不同肿瘤 m6A 修饰的差异表达及其修饰后调控机制的深入研究, 有助于全面揭示 m6A 在肿瘤中的作用机制。

#### 3.1 m6A 对急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 的调控作用

AML 是急性白血病中最常见的类型。早期研究<sup>[30-32]</sup>发现, AML 中 METTL3 和 METTL14 水平均出现显著改变。其中, METTL3 为 AML 细胞增殖的必需基因, 对于 AML 病理状态的维持至关重要<sup>[30]</sup>, METTL3 可增强 c-MYC、BCL2 和 PTEN 等癌基因的翻译, 促进造血干/祖细胞 (hematopoietic stem/progenitor cell, HSPC) 增殖并抑制其分化<sup>[31]</sup>。另外, METTL14 不但可以增强 MYB 和 MYC 的翻译促进 AML 进展, 而且在白血病干/起始细胞 (leukemia stem/initiation cell, LSC/LIC) 的维持和自我更新中发挥重要作用<sup>[32]</sup>。之后的研究发现, FTO 在伴有 t(11q23)/MLL-重排、t(15;17)/PML-RARA、FLT3-ITD 和/或 NPM1 突变的 AML 中高表达, 在促进 AML 发生发展的同时, 抑制全反式维甲酸 (all-trans-retinoic acid, ATRA) 诱导 AML 细胞分化<sup>[33]</sup>。随后, HUANG 等<sup>[34]</sup>设计了 FTO 抑制剂 FB23-2, 并通过体外实验证实 FB23-2 可在抑制 AML 细胞增殖的同时促进其分化。最新研究<sup>[35]</sup>表明, YTHDF2 的失活可以延长 AML 中 m6A 修饰转录本的半衰期, 特异性地抑制恶性骨髓间充质干细胞的同时, 促进干细胞或原始祖细胞的扩增, 增强其重建和骨髓分化潜能, 赋予正常骨髓间充质干细胞竞争优势。越来越多的证据表明, m6A 修饰在 AML 治疗中存在巨大潜力, 对 m6A 修饰的进一步研究可为

AML的治疗提供更多选择。

### 3.2 m6A对肺癌的调控作用

肺癌作为全球范围内发病率和病死率最高的恶性肿瘤,一直是研究的热点<sup>[36]</sup>。LIU等<sup>[37]</sup>通过癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库对13种常见的m6A RNA修饰调控因子进行分析,寻找其与肿瘤发生发展及预后的联系,发现在肺腺癌和肺鳞癌中,大多数被研究基因的表达水平都发生了显著改变。值得注意的是,METTL3可以促进BRD4、EGFR、TAZ、MAPKAPK2和DNMT3A等多个癌基因在人肺癌细胞中的表达<sup>[38]</sup>。其中,在肺腺癌中,METTL3通过与eIF3形成mRNA环来促进核糖体循环,进而增强癌基因BRD4的翻译,说明METTL3不仅可以催化m6A,而且还可作为“Reader”参与靶mRNA的甲基化后调控<sup>[39]</sup>。而METTL3的耗竭会导致肿瘤细胞凋亡增加,抑制肿瘤细胞增殖和侵袭,削弱肿瘤细胞的生存能力<sup>[38]</sup>。另一项研究<sup>[40]</sup>发现,在肺鳞癌中FTO高表达,FTO可抑制m6A的甲基化并增强mRNA的稳定性,进而促进癌基因MZF1的表达,发挥致癌功能。此外,LI等<sup>[41]</sup>发现FTO在肺癌细胞的另一个靶点是泛素特异性蛋白酶7(ubiquitin specific protease 7, USP7),FTO通过降低USP7的m6A水平并提高其mRNA稳定性促进肺癌细胞增殖。另外,在肺癌中还发现了YTHDF2的上调,YTHDF2可通过促进6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶(6-phosphogluconate dehydrogenase, 6PGD)mRNA的翻译促进肿瘤生长<sup>[42]</sup>。随着m6A修饰在肺癌发生发展中机制研究的不断深入,或可为肺癌的诊疗提供可靠的诊断及预后指标,并为肺癌临床治疗方案的优化提供帮助。

### 3.3 m6A对乳腺癌的调控作用

乳腺癌死亡的主要原因为复发和转移<sup>[36]</sup>。在乳腺肿瘤进展过程中,随着肿瘤细胞的不断增殖,肿瘤细胞与其周围间质血管间的距离增加会导致肿瘤内部发生缺氧,同时肿瘤异常活跃的代谢会加重缺氧,缺氧会促进ALKBH5的表达,从而抑制NANOG mRNA的甲基化,使NANOG水平升高,促进乳腺癌干细胞(breast cancer stem cell, BCSC)的富集,BCSC可通过自我更新进行无限增殖并形成继发性肿瘤,在乳腺癌的转移中扮演重要角色<sup>[43]</sup>。抑制ALKBH5可通过减少BCSC的富集抑制肿瘤发生,可能是预防乳腺癌转移的重要手段。有研究<sup>[44]</sup>发现,乳腺癌中乙型肝炎病毒X蛋白结合蛋白(hepatitis B X-interacting protein, HBXIP)可通过抑制miRNA let-7g上调METTL3的表达。有趣的是,METTL3的表达会进一步增加HBXIP表达,形成HBXIP/let-7g/METTL3/HBXIP的正反馈回路,从而增进乳腺癌细胞的增殖<sup>[44]</sup>。还有

研究<sup>[45]</sup>发现,抑癌基因的过早聚酰化(pre-mature polyadenylation, pPA)会抑制抑癌基因的功能。pPA激活的乳腺癌细胞中MAGI3外显子内m6A水平低于未转化的乳腺细胞,这一现象在LATS1和BRCA1等多个基因中也得到证实。pPA对抑癌基因的截断效应或与m6A修饰存在联系,但其机制仍有待深入研究。最新研究<sup>[46]</sup>发现,乳腺癌中FTO的表达较高且与较低的生存率相关,FTO可作用于促凋亡基因BNIP3的3' UTR,通过使其m6A去甲基诱导BNIP3的降解,进而促进乳腺癌细胞的增殖、集落形成和转移。这一发现提示,FTO可能成为治疗乳腺癌的新靶点。随着m6A与乳腺癌发生发展机制的进一步研究,将会为乳腺癌的临床诊疗提供更多选择。

### 3.4 m6A对肝癌的调控作用

肝癌是男性继肺癌之后的第2大肿瘤死亡原因<sup>[36]</sup>,其预后差的主要原因是术后高复发率和转移率。研究<sup>[47]</sup>表明,在肝癌中METTL3和YTHDF1水平较高,且与较差的总体生存率相关。Snail是上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的关键转录因子,Snail编码区(coding sequence, CDS)中的m6A可以通过招募YTHDF1触发肿瘤细胞中Snail mRNA的翻译,进而调控肝癌细胞的EMT。另外,当降低METTL3的水平时,低水平的m6A可阻碍肿瘤细胞发生EMT<sup>[47]</sup>。还有研究<sup>[48]</sup>发现,在HCC组织中KIAA1429的表达也较高,KIAA1429的通过增强ID2的m6A修饰抑制ID2 mRNA的表达,促进肿瘤细胞的侵袭与转移。在随后的研究<sup>[49]</sup>中,WTAP的表达升高也被认为与HCC的发生发展相关,并可作为HCC生存的独立预测因子。WTAP上调导致ETS1发生m6A修饰,随后通过HuR相关方式导致ETS1的表观沉默。此外,WTAP的沉默可通过ETS1-p21/p27轴使HCC细胞阻滞于G2/M期<sup>[49]</sup>。最新研究<sup>[50]</sup>发现,YTHDF2可直接结合EGFR 3' UTR的m6A修饰位点,促进EGFR mRNA在HCC细胞中的降解,发挥抑癌作用。YTHDF2作为一种m6A阅读蛋白,可能与HCC进展密切相关,这在未来有待深入研究,将有助于发现潜在的治疗靶点以优化肝癌的诊疗策略。

## 4 结语

随着全球人口的增长和老龄化,肿瘤的诊断、治疗及预后评估的重要性日益突出,对于肿瘤发生发展的机制亟需新的理解。m6A作为一种动态可逆的表观遗传学修饰,其发现为通过开关修饰来影响mRNA生命周期的各个阶段提供了可能。目前认为,m6A修饰通过调控肿瘤相关基因的表达,参与肿

瘤恶性表型的调控。但是, m6A 修饰研究尚处于起步阶段, 以下问题尚待进一步解决: (1) 为了精准地分析 m6A 在基因调控中的机制, m6A 的检测技术与功能验证方法需要提高; (2) m6A 研究多集中于“写入”、“擦除”和“阅读”相关因子的异常表达阶段, m6A 修饰对肿瘤与正常细胞间差异转录本调控的分子机制及下游信号通路研究仍需深入; (3) 目前对 m6A 修饰的研究虽然发现了一些调控机制, 仍多限于体外实验, m6A 的功能可能比现有的认知更加广泛, 关于 m6A 修饰对整体的影响仍有待进一步深入; (4) m6A 修饰研究的最终目的是提高肿瘤诊断与治疗水平, 作为肿瘤诊断方法的准确性和治疗手段的安全性应在研究中同时关注。相信随着 m6A 机制及功能的不断深入探索, 可以更加全面地理解整个表观遗传调控网络在肿瘤发生发展中的作用, 并为肿瘤的早期诊断、临床治疗及预后评估提供新的思路。总之, m6A 的发现为表观遗传学与疾病特别是肿瘤相关性疾病的研究开辟了新道路, 为肿瘤调控机制提供了新思路, 但是 m6A 在实现从理论到临床转化方面仍任重道远。

#### [参考文献]

- [1] DESROSIERS R, FRIDERICI K, ROTTMAN F. Identification of methylated nucleosides in messenger RNA from Novikoff hepatoma cells[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1974, 71(10): 3971-3975[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC434308/>. DOI: 10.1073/pnas.71.10.3971.
- [2] KRUG R M, MORGAN M A, SHATKIN A J. Influenza viral mRNA contains internal N6-methyladenosine and 5'-terminal 7-methylguanosine in cap structures[J/OL]. *J Virol*, 1976, 20(1): 45-53[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC354964/>.
- [3] MEYER K D, SALETTORE Y, ZUMBO P, et al. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons[J/OL]. *Cell*, 2012, 149(7): 1635-1646[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3383396/>. DOI:10.1016/j.cell.2012.05.003.
- [4] ZHAO B S, ROUNDTREE I A, HE C. Post-transcriptional gene regulation by mRNA modifications[J/OL]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18(1): 31-42[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5167638/>. DOI:10.1038/nrm.2016.132.
- [5] ROUNDTREE I A, EVANS M E, 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.
- [6] WARDA A S, KRETSCHMER J, HACKERT P, et al. Human METTL16 is a N6-methyladenosine (m6A) methyltransferase that targets pre-mRNAs and various non-coding RNAs[J/OL]. *EMBO Rep*, 2017, 18(11): 2004-2014[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5666602/>. DOI:10.15252/embr.201744940.
- [7] BOKAR J A, SHAMBAUGH M E, POLAYES D, et al. Purification and cDNA cloning of the AdoMet-binding subunit of the human mRNA (N6-adenosine)-methyltransferase[J/OL]. *RNA*, 1997, 3(11): 1233-1247[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1369564/>.
- [8] WANG P, DOXTADER K A, NAM Y. Structural basis for cooperative function of Mett13 and Mett14 methyltransferases[J/OL]. *Mol Cell*, 2016, 63(2): 306-317[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4958592/>. DOI:10.1016/j.molcel.2016.05.041.
- [9] PING X L, SUN B F, WANG L, et al. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N6-methyladenosine methyltransferase[J/OL]. *Cell Res*, 2014, 24(2): 177-189[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3915904/>. DOI:10.1038/cr.2014.3.
- [10] YUE Y N, LIU J, CUI X L, et al. VIRMA mediates preferential m6A mRNA methylation in 3'UTR and near stop Codon and associates with alternative polyadenylation[J/OL]. *Cell Discov*, 2018, 4: 10[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5826926/>. DOI: 10.1038/s41421-018-0019-0.
- [11] PATIL D P, CHEN C K, PICKERING B F, et al. M(6)A RNA methylation promotes XIST-mediated transcriptional repression[J/OL]. *Nature*, 2016, 537(7620): 369-373[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5509218/>. DOI:10.1038/nature19342.
- [12] KNUCKLES P, LENCE T, HAUSSMANN I U, et al. Zc3h13/Flacc is required for adenosine methylation by bridging the mRNA-binding factor Rbm15/Spentito to the m6A machinery component Wtap/FI(2)D[J/OL]. *Genes Dev*, 2018, 32(5/6): 415-429[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5900714/>. DOI: 10.1101/gad.309146.117.
- [13] RŮŽIČKA K, ZHANG M, CAMPILHO A, et al. Identification of factors required for m6A mRNA methylation in Arabidopsis reveals a role for the conserved E3 ubiquitin ligase HAKAI[J/OL]. *New Phytol*, 2017, 215(1): 157-172[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5488176/>. DOI:10.1111/nph.14586.
- [14] WEI C, GERSHOWITZ A, MOSS B. N6, O2'-dimethyladenosine a novel methylated ribonucleoside next to the 5' terminal of animal cell and virus mRNAs[J]. *Nature*, 1975, 257(5523): 251-253. DOI: 10.1038/257251a0.
- [15] MAUER J, LUO X B, BLANJOIE A, et al. Reversible methylation of m6Am in the 5' cap controls mRNA stability[J/OL]. *Nature*, 2017, 541(7637): 371-375[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5513158/>. DOI:10.1038/nature21022.
- [16] AKICHIKA S, HIRANO S, SHICHINO Y, et al. Cap-specific terminal N6-methylation of RNA by an RNA polymerase II-associated methyltransferase[J]. *Science*, 2019, 363(6423): eaav0080. DOI: 10.1126/science.aav0080.
- [17] MEYER K D, PATIL D P, ZHOU J, et al. 5' UTR m(6)A promotes cap-independent translation[J/OL]. *Cell*, 2015, 163(4): 999-1010[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4695625/>. DOI: 10.1016/j.cell.2015.10.012.
- [18] ZHENG G Q, DAHL J A, NIU Y M, et al. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility[J/OL]. *Mol Cell*, 2013, 49(1): 18-29[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3646334/>. DOI: 10.1016/j.molcel.2012.10.015.
- [19] ZOU S, TOH J D, WONG K H, et al. N(6)-Methyladenosine: a conformational marker that regulates the substrate specificity of human demethylases FTO and ALKBH5[J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 25677[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4860565/>.

- DOI:10.1038/srep25677.
- [20] ARGUELLO A E, DELIBERTO A N, KLEINER R E. RNA chemical proteomics reveals the N<sup>6</sup>-met hyladenosine (m<sup>6</sup>A)-regulated protein-RNA interactome[J]. *J Am Chem Soc*, 2017, 139(48): 17249-17252. DOI:10.1021/jacs.7b09213.
- [21] LIAO S H, SUN H B, XU C. YTH domain: a family of N<sup>6</sup>-methyladenosine (m<sup>6</sup>A) readers[J/OL]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2018, 16(2): 99-107[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6112328/>. DOI:10.1016/j.gpb.2018.04.002.
- [22] 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. DOI:10.1016/j.molcel.2016.01.012.
- [23] ROUNDTREE I A, LUO G Z, ZHANG Z J, et al. YTHDC1 mediates nuclear export of N<sup>6</sup>-methyladenosine methylated mRNAs[J/OL]. *Elife*, 2017, 6: e31311[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5648532/>. DOI:10.7554/eLife.31311.
- [24] HSU P J, ZHU Y F, MA H H, et al. Ythdc2 is an N<sup>6</sup>-methyladenosine binding protein that regulates mammalian spermatogenesis[J/OL]. *Cell Res*, 2017, 27(9): 1115-1127[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5587856/>. DOI: 10.1038/cr.2017.99.
- [25] HUANG H L, WENG H Y, SUN W J, et al. Recognition of RNA N<sup>6</sup>-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation[J/OL]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(3): 285-295[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5826585/>. DOI:10.1038/s41556-018-0045-z.
- [26] WANG X, ZHAO B S, ROUNDTREE I A, et al. N(6)-methyladenosine modulates messenger RNA translation efficiency[J/OL]. *Cell*, 2015, 161(6): 1388-1399[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4825696/>. DOI:10.1016/j.cell.2015.05.014.
- [27] LIU N, DAI Q, ZHENG G Q, et al. N(6)-methyladenosine-dependent RNA structural switches regulate RNA-protein interactions[J/OL]. *Nature*, 2015, 518(7540): 560-564[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4355918/>. DOI: 10.1038/nature14234.
- [28] WU B X, SU S C, PATIL D P, et al. Molecular basis for the specific and multivalent recognitions of RNA substrates by human hnRNP A2/B1[J/OL]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 420[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5789076/>. DOI: 10.1038/s41467-017-02770-z.
- [29] WANG Y, LI Y, TOTTH J I, et al. N6-methyladenosine modification destabilizes developmental regulators in embryonic stem cells[J/OL]. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(2): 191-198[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4640932/>. DOI:10.1038/ncb2902.
- [30] BARBIERI I, TZELEPIS K, PANDOLFINI L, et al. Promoter-bound METTL3 maintains myeloid leukaemia by m<sup>6</sup>A-dependent translation control[J/OL]. *Nature*, 2017, 552(7683): 126-131[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6217924/>. DOI:10.1038/nature24678.
- [31] VU L P, PICKERING B F, CHENG Y M, et al. The N<sup>6</sup>-methyladenosine (m<sup>6</sup>A)-forming enzyme METTL3 controls myeloid differentiation of normal hematopoietic and leukemia cells[J/OL]. *Nat Med*, 2017, 23(11): 1369-1376[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5677536/>. DOI:10.1038/nm.4416.
- [32] WENG H Y, HUANG H L, WU H Z, et al. METTL14 inhibits hematopoietic stem/progenitor differentiation and promotes leukemogenesis via mRNA m<sup>6</sup>A modification[J/OL]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(2): 191-205.e9[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5860916/>. DOI:10.1016/j.stem.2017.11.016.
- [33] LI Z J, WENG H Y, SU R, et al. FTO plays an oncogenic role in acute myeloid leukemia as a N<sup>6</sup>-methyladenosine RNA demethylase[J/OL]. *Cancer Cell*, 2017, 31(1): 127-141[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5234852/>. DOI:10.1016/j.ccell.2016.11.017.
- [34] HUANG Y, SU R, SHENG Y, et al. Small-molecule targeting of oncogenic FTO demethylase in acute myeloid leukemia[J/OL]. *Cancer Cell*, 2019, 35(4): 677-691.e10[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6812656/>. DOI:10.1016/j.ccell.2019.03.006.
- [35] PARIS J, MORGAN M, CAMPOS J, et al. Targeting the RNA m<sup>6</sup>A reader YTHDF2 selectively compromises cancer stem cells in acute myeloid leukemia[J/OL]. *Cell Stem Cell*, 2019, 25(1): 137-148.e6[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6617387/>. DOI:10.1016/j.stem.2019.03.021.
- [36] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424. DOI:10.3322/caac.21492.
- [37] LIU Y, GUO X C, ZHAO M, et al. Contributions and prognostic values of m<sup>6</sup>A RNA methylation regulators in non-small-cell lung cancer[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(9): 6043-6057. DOI: 10.1002/jcp.29531.
- [38] LIN S B, CHOE J, DU P, et al. The m(6)A methyltransferase METTL3 promotes translation in human cancer cells[J/OL]. *Mol Cell*, 2016, 62(3): 335-345[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4860043/>. DOI:10.1016/j.molcel.2016.03.021.
- [39] CHOE J, LIN S B, ZHANG W C, et al. mRNA circularization by METTL3-eIF3h enhances translation and promotes oncogenesis[J/OL]. *Nature*, 2018, 561(7724): 556-560[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6234840/>. DOI:10.1038/s41586-018-0538-8.
- [40] LIU J Q, REN D L, DU Z H, et al. M<sup>6</sup>A demethylase FTO facilitates tumor progression in lung squamous cell carcinoma by regulating MZF1 expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 502(4): 456-464. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.05.175.
- [41] LI J, HAN Y, ZHANG H M, et al. The m6A demethylase FTO promotes the growth of lung cancer cells by regulating the m6A level of USP7 mRNA[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 512(3): 479-485. DOI:10.1016/j.bbrc.2019.03.093.
- [42] SHENG H, LI Z, SU S X, et al. YTH domain family 2 promotes lung cancer cell growth by facilitating 6-phosphogluconate dehydrogenase mRNA translation[J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(5): 541-550. DOI:10.1093/carcin/bgz152.
- [43] ZHANG C Z, SAMANTA D, LU H Q, et al. Hypoxia induces the breast cancer stem cell phenotype by HIF-dependent and ALKBH5-mediated m<sup>6</sup>A-demethylation of NANOG mRNA[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(14): E2047-E2056[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4833258/>. DOI: 10.1073/pnas.1602883113.
- [44] CAI X L, WANG X, CAO C, et al. HBXIP-elevated methyltransferase METTL3 promotes the progression of breast cancer via inhibiting

- ing tumor suppressor let-7g[J]. *Cancer Lett*, 2018, 415: 11-19. DOI: 10.1016/j.canlet.2017.11.018.
- [45] NI T K, ELMAN J S, JIN D X, et al. Premature polyadenylation of MAGI3 is associated with diminished N<sup>6</sup>-methyladenosine in its large internal exon[J/OL]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 1415[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5780518/>. DOI: 10.1038/s41598-018-19916-8.
- [46] NIU Y, LIN Z Y, WAN A, et al. RNA N<sup>6</sup>-methyladenosine demethylase FTO promotes breast tumor progression through inhibiting BNIP3[J/OL]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 46[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6437932/>. DOI: 10.1186/s12943-019-1004-4.
- [47] LIN X Y, CHAI G S, WU Y M, et al. RNA m<sup>6</sup>A methylation regulates the epithelial mesenchymal transition of cancer cells and translation of Snail[J/OL]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2065[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6502834/>. DOI:10.1038/s41467-019-09865-9.
- [48] CHENG X Y, LI M, RAO X, et al. KIAA1429 regulates the migration and invasion of hepatocellular carcinoma by altering m6A modification of ID2 mRNA[J/OL]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 3421-3428[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6510231/>. DOI:10.2147/OTT.S180954.
- [49] CHEN Y H, PENG C H, CHEN J R, et al. WTAP facilitates progression of hepatocellular carcinoma via m6A-HuR-dependent epigenetic silencing of ETS1[J/OL]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 127[2020-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6704583/>. DOI:10.1186/s12943-019-1053-8.
- [50] ZHONG L, LIAO D, ZHANG M F, et al. YTHDF2 suppresses cell proliferation and growth via destabilizing the EGFR mRNA in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2019, 442: 252-261. DOI: 10.1016/j.canlet.2018.11.006.

[收稿日期] 2020-03-12

[修回日期] 2020-08-20

[本文编辑] 党瑞山