

DOI: 10.13376/j.cblls/2019022

文章编号: 1004-0374(2019)02-0153-07

# N<sup>6</sup>-甲基腺嘌呤修饰在临床恶性肿瘤中的研究进展

黄景涛<sup>1,2</sup>, 刘松梅<sup>2\*</sup>

(1 武汉大学人民医院检验医学中心, 武汉 430060; 2 武汉大学中南医院检验科, 基因诊断中心, 武汉 430071)

**摘要:** N<sup>6</sup>-甲基腺嘌呤 (m<sup>6</sup>A) 是发生于哺乳动物 mRNA 中最为常见的修饰方式, 参与 mRNA 的剪切、翻译和降解, 影响基因的表达。近年来, m<sup>6</sup>A 修饰及其调控蛋白在肿瘤发生发展中的作用已成为生物医学研究的热点领域之一。现从人体器官系统角度, 对 m<sup>6</sup>A 修饰及其调控蛋白在多种肿瘤进程中的作用以及分子机制进行综述。

**关键词:** N<sup>6</sup>-甲基腺嘌呤修饰; 恶性肿瘤; 表观遗传学

**中图分类号:** Q522; R73 **文献标志码:** A

## The role of N<sup>6</sup>-methyladenosine modification in mRNA in clinical cancers

HUANG Jing-Tao<sup>1,2</sup>, LIU Song-Mei<sup>2\*</sup>

(1 Department of Clinical Laboratory, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China;  
2 Center for Gene Diagnosis, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China)

**Abstract:** N<sup>6</sup>-methyladenosine (m<sup>6</sup>A) is the most common modification in mRNA, which mainly occurs in 3'-UTR region or near stop codon. As an important epigenetic modification, m<sup>6</sup>A regulates mRNA stability, splicing and translation to control gene functions. Recently, the regulatory functions of m<sup>6</sup>A and its machinery proteins in tumorigenesis have become the hot research area. This review summarized the roles of m<sup>6</sup>A in different clinical cancers according to human system organs.

**Key words:** N<sup>6</sup>-methyladenosine; cancer; epigenetics

表观遗传学是指在不改变 DNA 序列的情况下, 发生可遗传的基因表达或细胞表型改变, 主要包括 DNA 甲基化 (DNA methylation)、RNA 甲基化 (RNA methylation)、组蛋白修饰 (histone modification)、非编码 RNA (non-coding RNA) 调控和染色体重塑等等。迄今为止已发现超过 100 种的 RNA 修饰, 包括信使 RNA (mRNA)、核糖体 RNA (rRNA)、转运 RNA (tRNA)、核仁小 RNA (snoRNA) 和长链非编码 RNA (lncRNA) 等的修饰<sup>[1]</sup>。甲基化修饰是最常见的 RNA 修饰方式。其中 N<sup>6</sup>-甲基腺嘌呤 (N<sup>6</sup>-methyladenosine, m<sup>6</sup>A) 是发生于腺苷 N<sup>6</sup> 位置上的甲基化, 是哺乳动物 mRNA 和 lncRNA 上最常见的 RNA 修饰方式<sup>[2]</sup>。高通量测序研究发现, 在人类和小鼠细胞中, 有超过 12 000 个 m<sup>6</sup>A 修饰位点, 这些 m<sup>6</sup>A 位点分布在超过 7 000 个编码基因转录的 mRNA 和 300 个非编码基因转录的非编码 RNA 上,

大约每 2 000 个核苷酸就有 1 个 m<sup>6</sup>A 修饰, 而且主要分布在终止密码子附近和 3'UTR 区<sup>[3]</sup>。m<sup>6</sup>A 修饰主要发生在 mRNA 的高度保守基序 RRACH (R = G 或 A; H = A、C 或 U) 中“A”, 这种修饰也存在于 tRNA、rRNA、snRNA 和 snoRNA 等 RNA 上, 但不具有与 mRNA 相同的保守序列<sup>[3]</sup>。m<sup>6</sup>A 在人体中的分布具有组织特异性和时间特异性, 在大脑、心脏和肾脏含量最高, 成人体内 m<sup>6</sup>A 含量显著高于胎儿大脑<sup>[4]</sup>。另外, 在植物体内中, 其 m<sup>6</sup>A 分布不同于哺乳动物, 主要集中于 mRNA 的翻译起始密码子和终止密码子附近<sup>[5]</sup>, 其修饰主要发生在保守基序 UGRUAY (R = G 或 A; Y = U 或 A) 上<sup>[6]</sup>。

收稿日期: 2018-09-13; 修回日期: 2018-10-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(81772276); 国家重点临床专科建设项目(财社[2010] 305号)

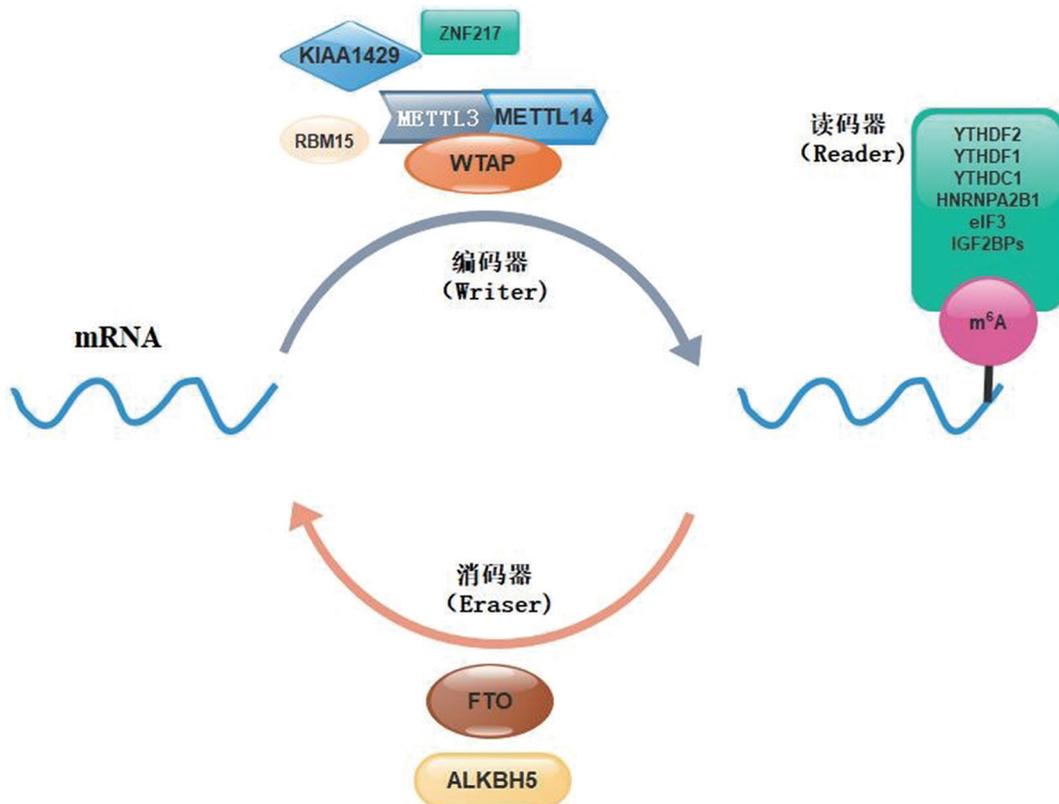
\*通信作者: E-mail: smliu@whu.edu.cn

## 1 多种酶参与m<sup>6</sup>A修饰的动态平衡调节

在人体内, m<sup>6</sup>A 修饰受到多种酶共同调节, 其含量是动态变化的。其中甲基转移酶复合体是由甲基转移酶 3 (methyltransferase like 3, METTL3)、甲基转移酶 14 (methyltransferase like 14, METTL14) 和 Wilms 瘤相关蛋白 (Wilms tumor 1 associated protein, WTAP) 共同构成, 它们共同利用 S-腺苷甲硫氨酸 (SAM) 作为甲基供体, 将腺嘌呤第 6 位上的 H 进行甲基化修饰, 形成 m<sup>6</sup>A。近年来, 研究人员发现脂肪和肥胖相关蛋白 (fat mass and obesity associated protein, FTO) 和 AlkB 家族蛋白 5 (AlkB family member 5 protein, ALKBH5) 是主要的 m<sup>6</sup>A 去甲基化酶<sup>[7-8]</sup>。FTO 和 ALKBH5 均属于  $\alpha$ -酮戊二酸和 Fe<sup>2+</sup> 依赖的 AlkB 双加氧酶家族, 其对 RNA 去甲基化的作用形式同 TET 蛋白对 DNA 去甲基化作用形式类似, 将 m<sup>6</sup>A 氧化形成 N<sup>6</sup>-羟甲基腺嘌呤 (N<sup>6</sup>-hydroxymethyladenosine, hm<sup>6</sup>A) 和 N<sup>6</sup>-醛基腺嘌呤 (N<sup>6</sup>-formyladenosine, f<sup>6</sup>A), 但后两者的稳定性不好, 会进一步形成腺嘌呤<sup>[9]</sup>。在体内 m<sup>6</sup>A 通过 m<sup>6</sup>A 结合蛋白识别并介导其发挥

生物学功能, 研究者通过质谱分析发现了许多 m<sup>6</sup>A 结合蛋白, 并经过体内体外验证实验发现 YTH 蛋白家族是一类主要的 m<sup>6</sup>A 结合蛋白<sup>[10]</sup>。借助以上蛋白, m<sup>6</sup>A 在体内发生动态修饰, 在这一过程中, 甲基转移酶被称为 m<sup>6</sup>A 的编码器 (Writers), 去甲基化酶被喻为 m<sup>6</sup>A 的消码器 (Erasers), 而识别 m<sup>6</sup>A 位点发挥功能的 m<sup>6</sup>A 结合蛋白被称为读码器 (Readers)<sup>[11]</sup>。m<sup>6</sup>A 修饰动态过程见图 1。

m<sup>6</sup>A 水平的改变受到甲基转移酶复合体的调控, METTL3 是最早被发现的甲基转移酶。早期研究发现, m<sup>6</sup>A 甲基转移酶由 MT-A (200 kDa) 和 MT-B (800 kDa) 这两部分复合物构成; 随后研究人员发现, 在 MT-A 中, 部分 70 kDa 的蛋白被证明具有甲基化活性, 故将其命名为 MT-A70 或者 METTL3<sup>[12]</sup>。METTL3 广泛存在于人体组织中, 尤其是睾丸; 免疫荧光显示 METTL3 主要存在于核斑点中, 预示着 m<sup>6</sup>A 对 RNA 的加工有重要功能<sup>[12]</sup>。近年来发现, 与 METTL3 高度同源的 METTL14 蛋白是甲基转移酶复合体的一员, 具有甲基转移酶活性<sup>[13]</sup>。细胞实



m<sup>6</sup>A 修饰受到编码器(writer)、消码器(eraser)的动态调控, 其中编码器包括METTL3、METTL14、WTAP、KIAA1429、RBM15、ZNF217等多种蛋白质, 消码器主要有FTO和ALKBH5。读码器(YTHDFs、YTHDCs、IGF2BPs、HNRNPA2B1、eIF3)识别m<sup>6</sup>A位点, 影响蛋白质翻译, 调控mRNA的降解、剪切和运输, 影响mRNA的稳定性。

图1 m<sup>6</sup>A修饰动态调控过程

验证实, 敲除 METTL14 会导致 mRNA 上 m<sup>6</sup>A 水平降低; 体外实验发现单独的 METTL14 较 METTL3 酶活性更高; 但是当二者以 1:1 形成异二聚体时, 酶活性大大提升。此外, 研究发现, METTL3-METTL14 甲基转移酶复合体对 RNA 底物有很强的偏好性, 对于 GGACU 优先甲基化, 这与之前的测序结果一致<sup>[13]</sup>。第三个被发现的 m<sup>6</sup>A 甲基转移酶复合体组分是 WTAP。在 HeLa 细胞中, 免疫共沉淀发现 WTAP 可与 METTL3-METTL14 复合体结合, 并且这一结合作用弱于 METTL3 与 METTL14 间的结合作用<sup>[13]</sup>。随后实验证实, WTAP 不具有催化区域, 本身不具备甲基转移酶活性, 它主要通过 METTL3-METTL14 复合体相互作用, 将甲基转移酶复合体定位于核斑点, 介导 RNA 甲基化的发生<sup>[14]</sup>; 同时, 研究人员证实 WTAP 结合的 RNA 底物与 METTL3、METTL14 一致性达 36%, 进一步证实 WTAP 是甲基转移酶复合体的组分<sup>[13]</sup>。研究者通过敲除 METTL3、METTL14 和 WTAP 并检测 m<sup>6</sup>A 的水平, 认为 METTL3-METTL14 两种蛋白构成的稳定甲基转移酶复合体参与哺乳动物细胞内的 m<sup>6</sup>A 的甲基化过程, 而 WTAP 作为一种剪接因子与 METTL3-METTL14 复合体相互作用, 并影响这一过程<sup>[13]</sup>。KIAA1429 在果蝇中的同系物在性别特异性剪接中与果蝇 WTAP 相互作用。另一项基于单碱基分辨率的甲基化图谱的方法, 通过 siRNA 抑制人类 A549 细胞中的 KIAA1429 后检测 m<sup>6</sup>A 水平, 发现 KIAA1429 也是 m<sup>6</sup>A 形成过程中所必需的<sup>[15]</sup>。ZNF217<sup>[16]</sup>、RBM15<sup>[17]</sup> 等蛋白相继被发现也可以调节 m<sup>6</sup>A 的动态水平。此外, 由于 pri-miRNAs 富含 GGAC 基序, 与 m<sup>6</sup>A 修饰位点 (RRACH) 相似, METTL3 可催化 pri-miRNAs 甲基化, 与 microRNA 成熟蛋白 DGCR8 相互作用, 促进 miRNAs 成熟; 敲减 METTL3 引起 pri-miRNAs 的 m<sup>6</sup>A 降低, DGCR8 的识别结合能力减弱, 导致成熟 miRNAs 大量减少、pri-miRNAs 堆积<sup>[18]</sup>; 随后又发现 RNA 结合蛋白 HNRNPA2B1 选择性识别 pri-miRNAs 的 m<sup>6</sup>A, 促进 miRNAs 成熟<sup>[19]</sup>。METTL14 与 DGCR8 相互作用, 通过 m<sup>6</sup>A 调控 pri-miRNA-126 成熟过程, 调控肝癌进程<sup>[20]</sup>。

FTO 和 ALKBH5 是 m<sup>6</sup>A 主要的去甲基化酶, 动态调节 m<sup>6</sup>A 含量的消码器。2007 年, 研究人员发现 FTO 是肥胖基因 *FTO* (fat mass and obesity associated gene) 编码的蛋白质, 广泛表达于人体组织中, 在控制食欲和能量代谢中发挥重要作用, 在 2 型糖尿病、癌症、多囊卵巢综合征、心血管疾病以及老年

痴呆等疾病的发生中发挥重要作用<sup>[21-22]</sup>。通过构建野生型和突变型的 FTO 蛋白与甲基化作用底物相互作用, 发现 FTO 对单链 RNA 上的 m<sup>6</sup>A 具有去甲基化功能; 敲减 FTO 使细胞中 mRNA 上的 m<sup>6</sup>A 水平显著上升, 过表达 FTO 使细胞中 mRNA 上的 m<sup>6</sup>A 水平下降<sup>[7]</sup>。在 FTO 发现后不久, ALKBH5 被证实为第二个哺乳动物体内的 m<sup>6</sup>A 去甲基化酶<sup>[8, 23]</sup>。ALKBH5 对 m<sup>6</sup>A 的作用方式与 FTO 类似, 优先作用于单链 RNA。敲减 ALKBH5 后, 小鼠体内 mRNA 上的 m<sup>6</sup>A 含量升高, 睾丸萎缩伴随有精子数目和活力下降, 表明 ALKBH5 通过 m<sup>6</sup>A 调节哺乳动物的生殖能力<sup>[8]</sup>。

在 m<sup>6</sup>A 的读码器 m<sup>6</sup>A 结合蛋白参与下, m<sup>6</sup>A 在体内发挥对 mRNA 的调节功能, 降低 mRNA 的稳定性<sup>[24]</sup>、促进蛋白质翻译<sup>[25]</sup>和调控 mRNA 的剪接<sup>[26]</sup>。YTH 蛋白是目前发现的主要 m<sup>6</sup>A 结合蛋白, YTHDF2 是首个发现的, 可通过结合 m<sup>6</sup>A 使所在的 mRNA 和 ncRNA 降解<sup>[24]</sup>。PAR-CLIP 实验证实 YTHDF2 蛋白具有 3 000 多个 RNA 靶点 (大部分是 mRNA, 小部分为 ncRNA), 调控 RNA 降解, 其作用底物序列 G(m<sup>6</sup>A)C 说明 YTHDF2 的作用位点与 m<sup>6</sup>A 分布一致, 是 m<sup>6</sup>A 的结合蛋白。研究人员通过实验发现, YTHDF1、YTHDF2 和 YTHDC1 是 m<sup>6</sup>A 潜在的选择性连接蛋白, 核糖体图谱分析发现 YTHDF2 通过与 mRNA 上的 m<sup>6</sup>A 位点结合介导 mRNA 的降解<sup>[24]</sup>; 实验发现, YTHDF1 促进靶 RNA 与核糖体结合, 促进蛋白质翻译<sup>[25]</sup>; YTHDC1 通过 m<sup>6</sup>A 位点调控 mRNA 的剪切<sup>[26]</sup>。HNRNPA2B1 蛋白与 DGCR8 作用, 识别 pri-miRNA 上的 m<sup>6</sup>A 位点, 促进 pri-miRNA 成熟和剪切<sup>[19]</sup>, 而 eIF3 蛋白识别 mRNA 上 5'UTR 区的 m<sup>6</sup>A 位点, 影响其翻译<sup>[27]</sup>。2018 年, 研究发现 IGF2BP 蛋白家族识别 mRNA 上的 GG(m<sup>6</sup>A)C 序列, 促进 mRNA 的稳定和维持, 影响肿瘤进程<sup>[28]</sup>。

## 2 m<sup>6</sup>A 修饰与多种肿瘤的发生发展相关

近年来研究发现 m<sup>6</sup>A 修饰具有重要的生物学功能, 其关键调控蛋白通过调节 mRNA 上 m<sup>6</sup>A 修饰改变, 影响 mRNA 的剪切、翻译和降解, 介导多种肿瘤的发生发展<sup>[29-30]</sup>。

### 2.1 神经系统

m<sup>6</sup>A 修饰参与胶质母细胞瘤 (GBM) 的发病过程。m<sup>6</sup>A 的去甲基化酶 ALKBH5 被认为是胶质母细胞瘤的致癌蛋白, 影响肿瘤干细胞的增殖和自我

更新<sup>[31]</sup>。通过对数据库分析发现, ALKBH5 在胶质瘤干细胞 (GSC) 中高表达, 提示预后不佳; 小鼠实验证实, 降低 ALKBH5 能显著抑制胶质母细胞瘤细胞的增殖, 延长小鼠的生存时间; 随后 MeRIP-seq 实验发现, FOXM1 是 ALKBH5 的重要靶基因, ALKBH5 通过降低 FOXM1 的 mRNA 上的 3' UTR 区的 m<sup>6</sup>A 水平来增强 FOXM1 表达, 促进肿瘤进程; 此外, 一个新发现的长链非编码 RNA, FOXM1-AS, 参与调节 FOXM1 表达, 敲低 FOXM1-AS 导致 ALKBH5 与 FOXM1 的结合减弱, 影响 GSC 的增殖<sup>[31]</sup>。而且 m<sup>6</sup>A 水平在诱导分化的 GSC 中上升, 过表达 METTL3 可促进 GSCs 分化, 抑制 GSCs 增殖和自我更新; 与之相反, 敲除 METTL3/METTL14 促进 GSCs 细胞增殖和自我更新; 使用 FTO 抑制剂 MA2 升高 mRNA 上 m<sup>6</sup>A 含量, 可抑制肿瘤的发展, 提示 METTL3/METTL14 在 GSC 中发挥抑制肿瘤的作用, FTO 抑制剂 MA2 也有类似的作用<sup>[32]</sup>。然而, Visvanathan 等<sup>[33]</sup>的研究与上述结果不同: 他们发现 METTL3 在 GSC 中高表达, 在 GSC 分化过程中降低; 在小鼠体内沉默 *METTL3* 可以抑制肿瘤生长, 延长小鼠的生存时间; 同时, 沉默 *METTL3* 的 GSC 对放疗更敏感<sup>[33]</sup>。他们发现 METTL3 在 GBM 患者中升高, 伴随预后不佳, 是由于 METTL3 对 SOX2 mRNA 的 3'UTR 区的甲基化导致的<sup>[33]</sup>。因此, 目前研究结果尚不一致, 需要更多、更系统的临床样本研究来明确 m<sup>6</sup>A 修饰在胶质母细胞瘤中的作用。

## 2.2 血液系统肿瘤

在过去, FTO 被认为是一个重要的糖脂代谢基因, 其单核苷酸多态性 (SNPs) 与糖尿病和肥胖关系密切<sup>[34]</sup>。最新研究发现, FTO 作为 m<sup>6</sup>A 去甲基转移酶, 参与了急性髓系白血病 (AML) 的发病、转归和耐药等多个方面。研究者发现 FTO 在 MLL 重排型的 AML 中高表达, FTO 通过增强白血病细胞增殖、转化, 抑制凋亡而促进白血病的发生<sup>[35]</sup>。随后, 通过 m<sup>6</sup>A-Seq 技术和 RNA-Seq 技术, 研究人员发现 FTO 通过靶向 *ASB2* 和 *RARA* 的 3' UTR 区和 5' UTR 区上的 m<sup>6</sup>A, 使其含量改变, 调控其 mRNA 表达, 促进白血病细胞转化、抑制全反式维甲酸 (ATRA) 疗效<sup>[35]</sup>。2013 年, *Science* 报道了 *IDH* 突变将导致  $\alpha$ -酮戊二酸代谢异常、羟戊二酸 (R-2HG) 过量积聚, 导致细胞分化受阻和促进 AML 细胞癌变, 致使 AML 和神经胶质母细胞瘤 (GBM) 的发病<sup>[36-38]</sup>。近日, 陈建军教授课题组通过筛选出 R-2HG 敏感型和 R-2HG 不敏感型白血病细

胞, 发现在敏感型细胞中 R-2HG 抑制 FTO 活性使 m<sup>6</sup>A 的水平升高, 引起细胞停滞及凋亡, 进而抑制肿瘤增殖, 而对 R-2HG 不敏感的细胞并没有此作用<sup>[39]</sup>。经过 MeRIP-seq 实验和 RNA-seq 实验证实, R-2HG 及 FTO 蛋白对白血病的调控作用是通过 MYC 信号通路完成的: R-2HG 异常积聚或 FTO 敲除显著增加 MYC mRNA 上的 m<sup>6</sup>A 含量, 导致 mRNA 降解和 MYC 表达下降<sup>[39]</sup>。另外一个重要的白血病相关基因 *CEBPA* 也参与了 R-2HG 及 FTO 蛋白对 m<sup>6</sup>A 调节, 共同决定白血病细胞对 R-2HG 的敏感性, 这一研究结果可用于评价化疗药物疗效<sup>[39]</sup>。除了 m<sup>6</sup>A 去甲基化酶 FTO, m<sup>6</sup>A 甲基转移酶 METTL3/METTL14 也被发现在血液肿瘤发病中发挥重要作用<sup>[40-41]</sup>。研究证实, METTL14 在正常的造血干/祖细胞 (HSPCs) 及部分 AML 细胞中高表达; 抑制 METTL14 功能, 促进 HSPCs 和 AML 细胞髓样分化、抑制 AML 细胞增殖和自我更新; 这一功能也是通过靶向 *MYB/MYC* 上的 m<sup>6</sup>A 修饰完成的<sup>[41]</sup>。METTL3 具有类似的作用, 通过调控 HSPCs 和 AML 细胞分化、凋亡来影响白血病的发展<sup>[40]</sup>。一项基于肿瘤基因组图谱 (TCGA) 数据库的研究发现, 在 AML 患者中 m<sup>6</sup>A 调控基因突变或拷贝数变异与 TP53 突变呈现正相关, 提示预后不佳<sup>[42]</sup>。在小鼠模型和人脐带血 (hUCB) 细胞中, 敲除 *YTHDF2*, 调节 mRNA 的衰减, 增加关键转录因子 (如 *Gata2*、*TAL1* 等) 表达, 引起造血干细胞增殖<sup>[43]</sup>。

## 2.3 消化系统肿瘤

最近, 海军医科大学的孙树汉教授团队<sup>[20]</sup>发现 m<sup>6</sup>A 在肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 中发挥重要作用: 通过 RNA 点杂交技术测定了肝癌肿瘤组织、癌旁组织和正常肝组织的总 RNA、富含 poly(A) 尾的 RNA 中的 m<sup>6</sup>A 含量, 发现 m<sup>6</sup>A 含量在 HCC 中降低; 此外, 肝癌患者中肝癌组织 METTL14 含量降低, 预后不佳; 敲减 METTL14 可以有效增加 HCC 的侵袭性, 过表达 METTL14 会降低 HCC 的侵袭性<sup>[20]</sup>。进一步研究发现, METTL14 可与介导 microRNA 成熟的 DGCR8 蛋白相互作用, 影响 miR-126 的表达, 影响 HCC 的进程<sup>[20]</sup>。另一项关于 m<sup>6</sup>A 在肝癌中的作用的研究则发现, METTL3 在 HCC 患者组织中升高, 并且提示预后不良<sup>[44]</sup>。通过转录组测序, 他们发现 METTL3 在 HCC 中升高; 细胞实验证实, 敲除 METTL3 可以有效抑制 HCC 的增殖转移, 过表达 METTL3 会促进 HCC 的增殖和侵袭性<sup>[44]</sup>。m<sup>6</sup>A-seq 和 m<sup>6</sup>A 特异性的 RNA 免疫共沉淀实

验证实, METTL3 通过介导 *SOCS2* 终止密码子附近的 m<sup>6</sup>A 修饰, 改变其 mRNA 稳定性, 影响 *SOCS2* 发挥抑制肿瘤的作用, 影响 HCC 的进程<sup>[44]</sup>。基于 TCGA 数据库的生物信息学研究发现, m<sup>6</sup>A 识别蛋白 YTHDF1 在 HCC 中升高, 提示预后不良<sup>[45]</sup>。

m<sup>6</sup>A 修饰除了发生在 mRNA 上, 在 lncRNA、miRNA 上都有涉及, 影响肿瘤的发生。最近, 南京医科大学的一项研究发现 m<sup>6</sup>A 修饰影响 lncRNA 的表达水平, 参与胰腺癌的发展<sup>[46]</sup>。去甲基化酶 ALKBH5 降低 lncRNA *KCNK15-AS1* 的 m<sup>6</sup>A 水平, 增强 *KCNK15-AS1* 的表达, 抑制上皮间质转化 (EMT), 抑制胰腺癌细胞的迁移和侵袭能力<sup>[46]</sup>。也有研究报道, YTHDF2 在胰腺癌中高表达, 促进胰腺癌细胞增殖, 影响上皮间质转化, 调控癌细胞侵袭和转移<sup>[47]</sup>。结直肠癌患者中, m<sup>6</sup>A 的识别蛋白 YTHDF1 表达升高, 临床数据分析发现 YTHDF1 表达与肿瘤浸润、淋巴结转移和恶性进程呈现正相关, 患者预后不佳<sup>[48]</sup>。

#### 2.4 呼吸系统肿瘤

在肺腺癌中, METTL3 通过 m<sup>6</sup>A 修饰调控 *EGFR*、*TAZ* 等基因, 促进人类肺癌细胞的增殖、存活和侵袭<sup>[49]</sup>。在非小细胞肺癌中, 研究人员发现 miR-33a 与 *METTL3* mRNA 的 3'UTR 区直接结合, 降低 *METTL3* 的含量, 抑制癌细胞的增殖<sup>[50]</sup>; 最近一项研究表明, FTO 升高导致肺鳞癌预后不佳, 而在肺腺癌中没有这一现象; FTO 通过调节 *MZF1* mRNA 上的 m<sup>6</sup>A 水平, 增强 *MZF1* mRNA 的稳定性, 影响肺癌的进程; 降低 FTO 可以显著抑制肺癌细胞的增殖和侵袭能力, 升高 FTO 会增强癌细胞的增殖和侵袭能力, 降低凋亡作用<sup>[51]</sup>。

#### 2.5 女性相关肿瘤

在缺氧条件下, ALKBH5 影响 *NANOG* 的 mRNA 上 3'UTR 区的 m<sup>6</sup>A 含量; 过表达 ALKBH5 可以降低 *NANOG* 的甲基化水平, 增加 *NANOG* 的表达, 增加人类乳腺癌干细胞 (BCSCs) 的百分比, 影响乳腺癌的发生发展; 此外, 在乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 中降低 ALKBH5 水平, 可以降低 BCSCs 的含量, 抑制肿瘤的形成<sup>[52]</sup>; 此外, 研究人员还发现 ZNF217 也能降低 *NANOG* 的 mRNA 甲基化水平, 增加 BCSCs 含量<sup>[53]</sup>。最近发现, METTL3 也参与了乳腺癌的发生发展<sup>[54]</sup>。METTL3 通过影响致癌基因 *HBXIP* 上的 m<sup>6</sup>A 修饰促进 *HBXIP* 的表达, 同时 *HBXIP* 通过介导 let-7g 上调 METTL3 的表达, 形成 *HBXIP*/let-7g/METTL3/*HBXIP* 正反馈机制, 影响乳

腺癌细胞的增殖<sup>[54]</sup>。此外, FTO 在宫颈鳞状细胞癌中高表达, 通过降低  $\beta$ -catenin mRNA 的 m<sup>6</sup>A 水平促进  $\beta$ -catenin 表达, 影响其放化疗的敏感性<sup>[55]</sup>。2018 年, 本课题组参与的何川教授团队研究发现, m<sup>6</sup>A 修饰参与子宫内膜癌的发生发展<sup>[56]</sup>: m<sup>6</sup>A 水平降低出现在 70% 子宫内膜癌组织中, 与 METTL14 的 R298P 突变和 METTL3 的低表达息息相关, 细胞实验证实 m<sup>6</sup>A 水平降低通过调节 AKT 信号通路的相关基因 (*PHLPP2*、*PRR5*、*PRR5L*、*MTOR*) 的表达, 介导肿瘤细胞增殖、迁移能力增加, 影响子宫内膜癌的进程<sup>[56]</sup>。

#### 2.6 其他肿瘤

除了上述疾病之外, m<sup>6</sup>A 修饰及相关蛋白还参与了其他肿瘤的发生发展, 如前列腺癌<sup>[57]</sup>、肾细胞癌<sup>[58]</sup>等。YTHDF2 在前列腺癌中低表达, 导致 m<sup>6</sup>A 水平升高, 抑制前列腺癌细胞增殖和迁移<sup>[57]</sup>。肾细胞癌中, METTL3 在肿瘤组织中降低, 与肿瘤大小、病理分级和预后相关; 通过介导上皮间充质转换和 PI3K-AKT-mTOR 信号通路发挥抑癌作用<sup>[58]</sup>。越来越多的蛋白质 (如 IGF2BPs<sup>[28]</sup>) 也被发现参与 m<sup>6</sup>A 修饰识别过程, 影响肿瘤的发生发展。

### 3 结语

近年来越来越多的研究发现, m<sup>6</sup>A 异常修饰是导致包括肿瘤在内的多种疾病发生发展的主要因素之一, 但是目前的研究结果尚不一致<sup>[31-33]</sup>。m<sup>6</sup>A 修饰在不同的肿瘤中作用不一, 涉及细胞的自我更新, 影响肿瘤侵袭、转移、放化疗敏感度等多个方面的具体机制仍不清楚, 故未来研究需要更多的投入, 进行多中心研究和临床验证, 从而进一步阐明 RNA 修饰在临床恶性肿瘤中的生物学功能。

#### [参 考 文 献]

- [1] Sun WJ, Li JH, Liu S, et al. RMBase: a resource for decoding the landscape of RNA modifications from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44: D259-65
- [2] Yue Y, Liu J, He C. RNA N<sup>6</sup>-methyladenosine methylation in post-transcriptional gene expression regulation. *Genes Dev*, 2015, 29: 1343-55
- [3] Dominissini D, Moshitch-Moshkovitz S, Schwartz S, et al. Topology of the human and mouse m<sup>6</sup>A RNA methylomes revealed by m<sup>6</sup>A-seq. *Nature*, 2012, 485: 201-6
- [4] Meyer KD, Saletore Y, Zumbo P, et al. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons. *Cell*, 2012, 149: 1635-46

- [5] Luo GZ, MacQueen A, Zheng G, et al. Unique features of the m6A methylome in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Commun*, 2014, 5: 5630
- [6] Wei LH, Song P, Wang Y, et al. The m(6)A reader ECT2 controls trichome morphology by affecting mRNA stability in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2018, 30: 968-85
- [7] Jia G, Fu Y, Zhao X, et al. N6-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO. *Nat Chem Biol*, 2011, 7: 885-7
- [8] Zheng G, Dahl JA, Niu Y, et al. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility. *Mol Cell*, 2013, 49: 18-29
- [9] Fu Y, Jia G, Pang X, et al. FTO-mediated formation of N6-hydroxymethyladenosine and N6-formyladenosine in mammalian RNA. *Nat Commun*, 2013, 4: 1798
- [10] Zhu T, Roundtree IA, Wang P, et al. Crystal structure of the YTH domain of YTHDF2 reveals mechanism for recognition of N6-methyladenosine. *Cell Res*, 2014, 24: 1493-6
- [11] 张笑, 贾桂芳. RNA表观遗传修饰:N-6-甲基腺嘌呤. *遗传*, 2016, 38: 275-88
- [12] Bokar JA, Shambaugh ME, Polayes D, et al. Purification and cDNA cloning of the AdoMet-binding subunit of the human mRNA (N6-adenosine)-methyltransferase. *RNA*, 1997, 3: 1233-47
- [13] Liu J, Yue Y, Han D, et al. A METTL3-METTL14 complex mediates mammalian nuclear RNA N6-adenosine methylation. *Nat Chem Biol*, 2014, 10: 93-5
- [14] Ping XL, Sun BF, Wang L, et al. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N6-methyladenosine methyltransferase. *Cell Res*, 2014, 24: 177-89
- [15] Schwartz S, Mumbach MR, Jovanovic M, et al. Perturbation of m6A writers reveals two distinct classes of mRNA methylation at internal and 5' sites. *Cell Rep*, 2014, 8: 284-96
- [16] Aguilo F, Zhang F, Sancho A, et al. Coordination of m(6)A mRNA methylation and gene transcription by ZFP217 regulates pluripotency and reprogramming. *Cell Stem Cell*, 2015, 17: 689-704
- [17] Patil DP, Chen CK, Pickering BF, et al. m(6)A RNA methylation promotes XIST-mediated transcriptional repression. *Nature*, 2016, 537: 369-73
- [18] Alarcon CR, Lee H, Goodarzi H, et al. N6-methyladenosine marks primary microRNAs for processing. *Nature*, 2015, 519: 482-5
- [19] Alarcon CR, Goodarzi H, Lee H, et al. HNRNPA2B1 is a mediator of m(6)A-dependent nuclear RNA processing events. *Cell*, 2015, 162: 1299-308
- [20] Ma JZ, Yang F, Zhou CC, et al. METTL14 suppresses the metastatic potential of hepatocellular carcinoma by modulating N6-methyladenosine-dependent primary microRNA processing. *Hepatology*, 2017, 65: 529-43
- [21] Loos RJ, Yeo GS. The bigger picture of FTO: the first GWAS-identified obesity gene. *Nat Rev Endocrinol*, 2014, 10: 51-61
- [22] Church C, Moir L, McMurray F, et al. Overexpression of Fto leads to increased food intake and results in obesity. *Nat Genet*, 2010, 42: 1086-92
- [23] Thalhammer A, Bencokova Z, Poole R, et al. Human AlkB homologue 5 is a nuclear 2-oxoglutarate dependent oxygenase and a direct target of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ). *PLoS One*, 2011, 6: e16210
- [24] Wang X, Lu Z, Gomez A, et al. N6-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability. *Nature*, 2014, 505: 117-20
- [25] Xu C, Wang X, Liu K, et al. Structural basis for selective binding of m6A RNA by the YTHDC1 YTH domain. *Nat Chem Biol*, 2014, 10: 927-9
- [26] Xiao W, Adhikari S, Dahal U, et al. Nuclear m(6)A reader YTHDC1 regulates mRNA splicing. *Mol Cell*, 2016, 61: 507-19
- [27] Meyer KD, Patil DP, Zhou J, et al. 5' UTR m(6)A promotes cap-independent translation. *Cell*, 2015, 163: 999-1010
- [28] Huang H, Weng H, Sun W, et al. Recognition of RNA N(6)-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation. *Nat Cell Biol*, 2018, 20: 285-95
- [29] Liu ZX, Li LM, Sun HL, et al. Link between m6A modification and cancers. *Front Bioeng Biotechnol*, 2018, 6: 89
- [30] Deng X, Su R, Weng H, et al. RNA N(6)-methyladenosine modification in cancers: current status and perspectives. *Cell Res*, 2018, 28: 507-17
- [31] Zhang S, Zhao BS, Zhou A, et al. m6A demethylase ALKBH5 maintains tumorigenicity of glioblastoma stem-like cells by sustaining FOXM1 expression and cell proliferation program. *Cancer Cell*, 2017, 31: 591-606 e6
- [32] Cui Q, Shi H, Ye P, et al. m(6)A RNA methylation regulates the self-renewal and tumorigenesis of glioblastoma stem cells. *Cell Rep*, 2017, 18: 2622-34
- [33] Visvanathan A, Patil V, Arora A, et al. Essential role of METTL3-mediated m6A modification in glioma stem-like cells maintenance and radioresistance. *Oncogene*, 2018, 37: 522-33
- [34] Yang J, Loos RJ, Powell JE, et al. FTO genotype is associated with phenotypic variability of body mass index. *Nature*, 2012, 490: 267-72
- [35] Li Z, Weng H, Su R, et al. FTO plays an oncogenic role in acute myeloid leukemia as a N6-methyladenosine RNA demethylase. *Cancer Cell*, 2017, 31: 127-41
- [36] Losman JA, Looper RE, Koivunen P, et al. (R)-2-hydroxyglutarate is sufficient to promote leukemogenesis and its effects are reversible. *Science*, 2013, 339: 1621-5
- [37] Rohle D, Popovici-Muller J, Palaskas N, et al. An inhibitor of mutant IDH1 delays growth and promotes differentiation of glioma cells. *Science*, 2013, 340: 626-30
- [38] Wang F, Travins J, DeLaBarre B, et al. Targeted inhibition of mutant IDH2 in leukemia cells induces cellular differentiation. *Science*, 2013, 340: 622-6
- [39] Su R, Dong L, Li C, et al. R-2HG exhibits anti-tumor activity by targeting FTO/m(6)A/MYC/CEBPA signaling. *Cell*, 2018, 172: 90-105
- [40] Vu LP, Pickering BF, Cheng Y, et al. The N(6)-

- methyladenosine (m(6)A)-forming enzyme METTL3 controls myeloid differentiation of normal hematopoietic and leukemia cells. *Nat Med*, 2017, 23: 1369-76
- [41] Weng H, Huang H, Wu H, et al. METTL14 inhibits hematopoietic stem/progenitor differentiation and promotes leukemogenesis via mRNA m(6)A modification. *Cell Stem Cell*, 2018, 22: 191-205 e9
- [42] Kwok CT, Marshall AD, Rasko JE, et al. Genetic alterations of m(6)A regulators predict poorer survival in acute myeloid leukemia. *J Hematol Oncol*, 2017, 10: 39
- [43] Li Z, Qian P, Shao W, et al. Suppression of m(6)A reader Ythdf2 promotes hematopoietic stem cell expansion. *Cell Res*, 2018, 28: 904-17
- [44] Chen M, Wei L, Law CT, et al. RNA N6-methyladenosine methyltransferase METTL3 promotes liver cancer progression through YTHDF2 dependent post-transcriptional silencing of SOCS2. *Hepatology*, 2017, 67: 2254-70
- [45] Zhao X, Chen Y, Mao Q, et al. Overexpression of YTHDF1 is associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Biomark*, 2018, 21: 859-68
- [46] He Y, Hu H, Wang Y, et al. ALKBH5 inhibits pancreatic cancer motility by decreasing long non-coding RNA KCNK15-AS1 methylation. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48: 838-46
- [47] Chen J, Sun Y, Xu X, et al. YTH domain family 2 orchestrates epithelial-mesenchymal transition/proliferation dichotomy in pancreatic cancer cells. *Cell Cycle*, 2017, 16: 2259-71
- [48] Nishizawa Y, Konno M, Asai A, et al. Oncogene c-Myc promotes epitranscriptome m(6)A reader YTHDF1 expression in colorectal cancer. *Oncotarget*, 2018, 9: 7476-86
- [49] Lin S, Choe J, Du P, et al. The m(6)A methyltransferase METTL3 promotes translation in human cancer cells. *Mol Cell*, 2016, 62: 335-45
- [50] Du M, Zhang Y, Mao Y, et al. MiR-33a suppresses proliferation of NSCLC cells via targeting METTL3 mRNA. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 482: 582-9
- [51] Liu J, Ren D, Du Z, et al. m(6)A demethylase FTO facilitates tumor progression in lung squamous cell carcinoma by regulating MZF1 expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 502: 456-64
- [52] Zhang C, Samanta D, Lu H, et al. Hypoxia induces the breast cancer stem cell phenotype by HIF-dependent and ALKBH5-mediated m(6)A-demethylation of NANOG mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: E2047-56
- [53] Zhang C, Zhi WI, Lu H, et al. Hypoxia-inducible factors regulate pluripotency factor expression by ZNF217- and ALKBH5-mediated modulation of RNA methylation in breast cancer cells. *Oncotarget*, 2016, 7: 64527-42
- [54] Cai X, Wang X, Cao C, et al. HBXIP-elevated methyltransferase METTL3 promotes the progression of breast cancer via inhibiting tumor suppressor let-7g. *Cancer Lett*, 2018, 415: 11-9
- [55] Zhou S, Bai ZL, Xia D, et al. FTO regulates the chemoradiotherapy resistance of cervical squamous cell carcinoma (CSCC) by targeting  $\beta$ -catenin through mRNA demethylation. *Mol Carcinog*, 2018, 57: 590-7
- [56] Liu J, Eckert MA, Harada BT, et al. m(6)A mRNA methylation regulates AKT activity to promote the proliferation and tumorigenicity of endometrial cancer. *Nat Cell Biol*, 2018, 20: 1074-83
- [57] Li J, Meng S, Xu M, et al. Downregulation of N(6)-methyladenosine binding YTHDF2 protein mediated by miR-493-3p suppresses prostate cancer by elevating N(6)-methyladenosine levels. *Oncotarget*, 2018, 9: 3752-64
- [58] Li X, Tang J, Huang W, et al. The m6A methyltransferase METTL3: acting as a tumor suppressor in renal cell carcinoma. *Oncotarget*, 2017, 8: 96103-16