

DOI: 10.13376/j.cblls/20230039

文章编号: 1004-0374(2023)06-0714-10

# m<sup>6</sup>A甲基转移酶METTL3在胚胎发育中的作用研究进展

王璇璇<sup>1,2,3,4</sup>, 韩兵社<sup>1,2,3,4\*</sup>, 张俊芳<sup>1,2,3,4</sup>

(1 上海海洋大学, 水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306; 2 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306; 3 上海海洋大学, 科技部海洋生物科学国际联合研究中心, 上海 201306; 4 临港新片区海洋生物医药科技创新型平台, 上海 201306)

**摘要:** 胚胎发育调控机制是一个非常重要的生物学基础问题, 而其中的表观遗传学机制成为最近的研究热点。研究发现, 甲基转移酶样 3 (methyltransferase-like 3, METTL3) 催化产生的 m<sup>6</sup>A 修饰在卵母细胞成熟、母源-合子转化、胚胎干细胞命运调控以及血管生成等胚胎发育过程中发挥重要作用。同时, 靶向 METTL3 的化合物也不断被发现与合成, 有望应用于 m<sup>6</sup>A 相关疾病的靶向治疗。本文就 METTL3 的结构、催化机制、调控机制、在 RNA 代谢和胚胎发育中的作用以及 METTL3 靶向化合物进行介绍。

**关键词:** RNA 甲基化; m<sup>6</sup>A; METTL3; 胚胎发育

**中图分类号:** Q75; Q954.4 **文献标志码:** A

## Research progress on the role of m<sup>6</sup>A methyltransferase METTL3 in embryonic development

WANG Xuan-Xuan<sup>1,2,3,4</sup>, HAN Bing-She<sup>1,2,3,4\*</sup>, ZHANG Jun-Fang<sup>1,2,3,4</sup>

(1 Key Laboratory of Ministry of Education for Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2 National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3 International Research Center of Ministry of Science and Technology for Marine Biosciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 4 Marine Biomedical Science and Technology Innovation Platform of Lin-gang Special Area, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** The regulatory mechanism of embryonic development is a very important fundamental question in biology, and the role of epigenetic modification has become a recent research hotspot. Accumulating studies showed that m<sup>6</sup>A modification produced by methyltransferase-like 3 (METTL3) plays important roles during embryonic development such as oocyte maturation, maternal-to-zygotic transition, embryonic stem cell fate regulation and angiogenesis. Meanwhile, compounds targeting METTL3 have also been continuously discovered and synthesized, which are expected for targeting m<sup>6</sup>A-related diseases. In this paper, the structure, catalytic mechanism and regulatory mechanism of METTL3 are reviewed, its function in RNA metabolism and embryonic development, and METTL3-targeted compounds are also introduced.

**Key words:** RNA methylation; m<sup>6</sup>A; METTL3; embryonic development

表观遗传学机制可以在不改变 DNA 序列的前提下, 产生可以遗传给子代细胞或个体的基因表达模式改变。目前已经发现的表观遗传学机制包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰以及非编码 RNA 等, 这些机制在各种生命活动中发挥重要作用<sup>[1]</sup>。前期的表观遗传学机制研究主要探索了 DNA 和不同组蛋

白的多种共价修饰在基因表达中的调控作用, 近年来科学家发现 RNA 也可以发生各种共价修饰, 如

收稿日期: 2023-02-10; 修回日期: 2023-03-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(81770165)

\*通信作者: E-mail: bs-han@shou.edu.cn; Tel: 021-61900476

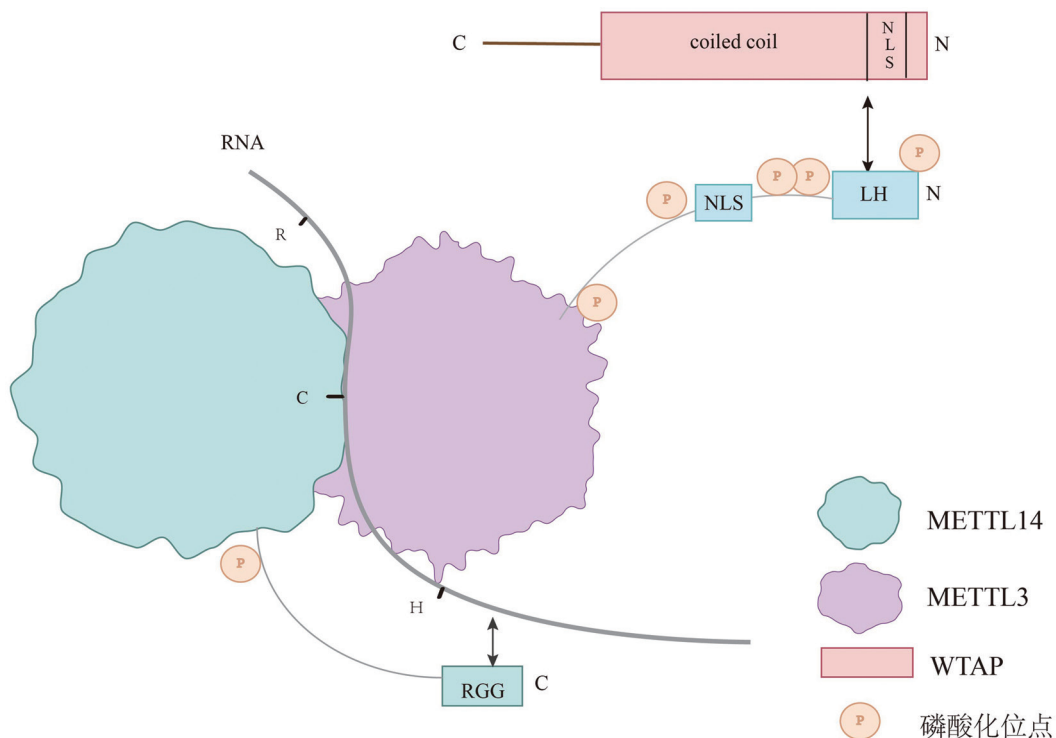
甲基化、羟甲基化、乙酰化等。其中已经发现的 RNA 甲基化类型包括 N6- 甲基腺苷 (N6-methyladenosine, m<sup>6</sup>A)、N1- 甲基腺苷 (N1-methyladenosine, m<sup>1</sup>A)、5- 甲基胞嘧啶 (N5-methylcytidine, m<sup>5</sup>C) 和 N7- 甲基鸟苷 (N7-methyladenosine, m<sup>7</sup>G) 等<sup>[2]</sup>。RNA 甲基化可以在多种生命活动中发挥作用, 包括胚胎发育、DNA 损伤修复、细胞应激、神经系统发育和癌症发生等<sup>[3]</sup>。

m<sup>6</sup>A 是真核细胞中常见的一种化学修饰, 指 RNA 分子腺嘌呤第六位 N 处发生甲基化。m<sup>6</sup>A 修饰可通过影响 mRNA 的剪接、出核、降解、稳定性和翻译等过程, 进而影响基因的表达, 调控多种生物学过程<sup>[4]</sup>。Desrosiers 等<sup>[5]</sup> 在哺乳动物细胞 mRNA 中首次发现 N6- 甲基腺苷残基、N7- 甲基鸟苷残基和 2'-O 甲基核苷残基的存在。m<sup>6</sup>A 修饰可由甲基转移酶复合物 (METTL3、METTL14、WTAP 和 KIAA1429) 生成, 由去甲基化酶 (FTO 和 ALKBH5) 去除, 并被结合蛋白 (YTHDF1~3、YTHDC1~2 和 hnRNP 家族蛋白) 识别<sup>[6]</sup>。其中, 甲基转移酶样 3 (methyltransferase-like 3, METTL3) 在卵母细胞成熟、精子发生和母源-合子转化 (maternal-to-zygotic transition, MZT) 等胚胎发育过程中发挥重要作用。

## 1 METTL3的结构与催化机制

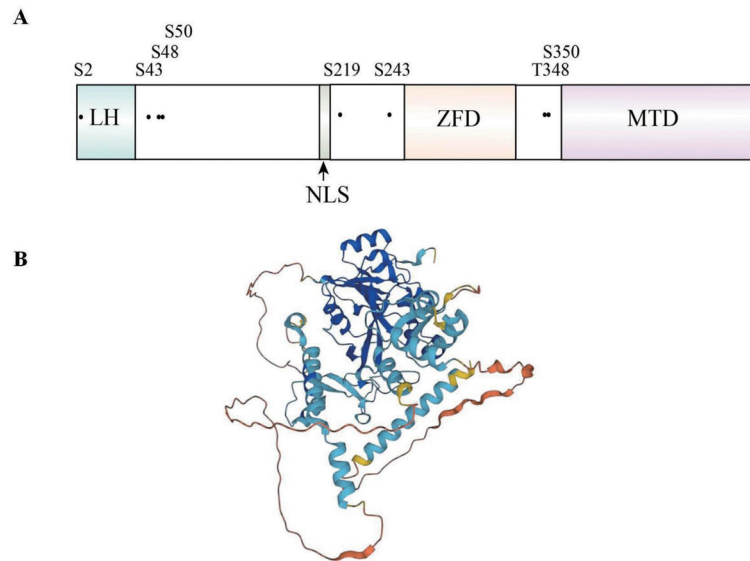
METTL3 是第一个被发现与 m<sup>6</sup>A 修饰过程相关的甲基转移酶。1994 年, Bokar 团队利用 HeLa 细胞核提取物和牛催乳素 mRNA 组成的体外甲基化系统分离纯化出了 N6- 腺苷甲基转移酶复合物, 其主要由三种组分组成, 相对分子质量分别为 30、200 和 875 kDa。其中, 200 kDa 组分的一个 70 kDa 亚基上含有 S- 腺苷甲硫氨酸 (S-adenosyl methionine, SAM) 结合位点, 被称为 MT-A70 (MT-A 亚单位, 70 kDa), 也就是现在所称的 METTL3<sup>[7]</sup>。METTL3 可与 METTL14 形成异源二聚体, 再与 WTAP 结合形成 m<sup>6</sup>A 甲基转移酶复合物, METTL3 作为催化核心发挥作用 (图 1)<sup>[8-9]</sup>。

METTL3 的编码基因位于人类染色体 14q11.2 处, 该蛋白由前导螺旋结构域 (LH)、核定位序列 (NLS)、CCCH 型锌指结构域 (ZFD) 和甲基转移酶结构域 (MTD) 组成 (图 2A)<sup>[8-9]</sup>。LH 含有疏水氨基酸残基, 可能是 WTAP-METTL3 相互作用的部位<sup>[9]</sup>; NLS 介导 METTL3-METTL14 甲基转移酶异源二聚体入核; ZFD 作为识别域, 特异性结合到含有 5'-GGACU-3' 识别序列的 RNA 上, 并与 METTL3-



NLS: 核定位序列; RRACH: m<sup>6</sup>A修饰主要发生序列; LH: 前导螺旋结构域。

图1 甲基转移酶复合物中METTL3、METTL14和WTAP的相互作用示意图



A: METTL3结构域和磷酸化位点; B: METTL3三维结构。LH: 前导螺旋结构域; NLS: 核定位序列; ZFD: CCCH型锌指结构域; MTD: 甲基转移酶结构域; S2、S43、S50、S219、S243、T348、S350: 磷酸化位点。

图2 METTL3的结构域、磷酸化位点及三维结构

METTL14的MTD共同进行催化<sup>[10]</sup>。MTD可以和SAM结合<sup>[11]</sup>。METTL3在从酵母到人类的大多数真核生物中高度保守<sup>[12]</sup>，其磷酸化修饰位点在物种间也是保守的，分别位于N端LH附近(S2、S43、S48、S50)、中央NLS区域(S219)、ZFD附近(S243)以及MTD附近(T348、S350)，磷酸化修饰可能对其活性起调节作用<sup>[9]</sup>。

m<sup>6</sup>A修饰在mRNA和非编码RNA中均可以发生，研究人员通过突变分析发现m<sup>6</sup>A修饰主要发生在RRACH共识基序中(其中,R=A/G,H=U/A/C)<sup>[12]</sup>。而METTL3和METTL14的MTD可以识别这些序列位点，利用甲基转移酶的催化活性将甲基从SAM转移到腺苷上<sup>[13]</sup>。METTL3催化位点内的保守序列DPPW基序中的Asp是引发甲基化的催化残基，MTD在分子间结合界面附近有个大空腔，SAM结合位点位于MTD内部空腔的一侧，空腔的其余部分可能用于识别RNA底物，组成该腔的氨基酸序列在进化上高度保守<sup>[11]</sup>。

## 2 METTL3在RNA代谢调控中的作用及其功能调节

### 2.1 METTL3在RNA代谢调控中的作用

METTL3在RNA整个生命周期中扮演着重要角色，包括影响RNA稳定性、RNA剪接、RNA翻译及出核等过程。目前已发现METTL3的多个RNA底物，这些RNA底物的代谢受到METTL3的

调控，进而影响肿瘤发生、炎症反应、昼夜节律、血管生成和胚胎发育等过程。

#### 2.1.1 mRNA翻译

METTL3介导的m<sup>6</sup>A修饰对于mRNA翻译有多种调控机制。第一种调控机制主要与YT521-B同源结构域家族蛋白1(YT521-B homology domain family 1, YTHDF1)和翻译起始因子3(eukaryotic initiation factor 3, eIF3)有关: YTHDF1与mRNA 3'非翻译区(3'UTR)中的m<sup>6</sup>A结合，并招募eIF3到5'端;利用闭环模型即eIF4G-eIF4E-poly(A)结合蛋白(PABP)-poly(A)的相互作用，使mRNA的5'和3'末端结合在一起，从而促进翻译<sup>[14]</sup>。第二种调控机制为METTL3直接与eIF3作用促进翻译<sup>[15]</sup>。另外有研究报道METTL3还可以在mRNA的编码区域进行甲基化修饰，通过减少核糖体停滞促进翻译<sup>[16]</sup>。

METTL3对于mRNA的翻译调控具有双重作用。例如，METTL3可以促进TRAF6(TNF receptor associated factor 6)、MYC(MYC proto-oncogene, BHLH transcription factor)、BCL-2(B-cell lymphoma-2)mRNA翻译<sup>[17-20]</sup>，也可以降低ABCE1(ATP-binding cassette E1)、NLRP4E(NLR family pyrin domain containing 4E)、YWHAH(tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein eta)mRNA翻译速率<sup>[21]</sup>。

#### 2.1.2 mRNA稳定性

研究发现，METTL3可以催化mRNA 3'UTR

甲基化, 增强 mRNA 稳定性<sup>[22]</sup>。但同时有研究发现, METTL3 也可以通过 YTHDF2 (YTHDF2 homology domain family 2) 降低 mRNA 稳定性<sup>[23]</sup>, 其降解机制为: YTHDF2 的 C 末端结构域能够特异性地与含 m<sup>6</sup>A 的 mRNA 结合, 而 N 末端结构域则负责将 YTHDF2-mRNA 复合物定位到 mRNA 降解位点, 从而调节 mRNA 的降解<sup>[24]</sup>。此外, RNA 结合蛋白 HuR、YTHDF1、IGF2BP2 (insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 2) 可通过识别 METTL3 在 mRNA 上不同区域产生的 m<sup>6</sup>A 位点, 增强 mRNA 的稳定性<sup>[22, 25-26]</sup>。

METTL3 对 mRNA 稳定性的调控同样具有双重作用。METTL3 可增强 mRNA 的稳定性, 上调 MYC、VEGF-A (vascular endothelial growth factor A)、GATA3 (GATA binding protein 3)、NANOG (Nanog homeobox)、SOX2 (SRY-box transcription factor 2)、CDX2 (caudal-type homeobox protein 2) 和 SOX17 (SRY-box transcription factor 17) mRNA 水平<sup>[22, 25-30]</sup>; 也可促进 ATG5 (autophagy related 5)、SOCS2 (suppressor of cytokine signaling 2)、HOXA10 (homeobox A10) mRNA 降解<sup>[22-23, 31-32]</sup>; 此外, METTL3 经 SUMO (small ubiquitin-like modifier) 化后可以上调环状 RNA (circular RNA) circ\_0000677 水平<sup>[33]</sup>。

### 2.1.3 mRNA剪接

近年来研究发现, YTHDC1 (也称剪切因子 YT521) 通过募集 pre-mRNA 剪接因子 SRSF3 (serine

and arginine rich splicing factor 3), 同时抑制 SRSF10 的 RNA 结合活性, 促进 SRSF3 与靶向转录本结合, 从而调节选择性剪接, 该过程依赖于 METTL3 介导的 m<sup>6</sup>A 甲基化<sup>[34]</sup>。

### 2.1.4 mRNA出核

在 HeLa 细胞中, YTHDC1 可介导甲基化 mRNA 从细胞核输出到细胞质。敲降 YTHDC1 可导致甲基化 mRNA 的核积累, 而 YTHDC1 的结合可促进转录本向细胞质的重新分布; YTHDC1 通过与 SRSF3 和核输出衔接蛋白相互作用, 促进 m<sup>6</sup>A 甲基化修饰的靶 mRNA 出核<sup>[35]</sup>。

### 2.1.5 miRNA加工

METTL3 参与 microRNA (miRNA) 的加工, 主要通过促进 miRNA 成熟参与调控各种生理活动。研究人员发现哺乳动物细胞中的 METTL3 可以甲基化标记 miRNA 初级转录本 (pri-miRNA), 敲降 METTL3 可抑制 DGCR8 (DiGeorge syndrome critical region gene 8) 与 pri-miRNA 结合, 导致成熟 miRNA 减少, 伴随未加工的 pri-miRNA 的积累<sup>[36]</sup>。香烟烟雾浓缩物 (cigarette smoke condensate, CSC) 可促进 METTL3 过表达, 增强 miR-25-3p 的 m<sup>6</sup>A 修饰, 促进其成熟<sup>[37]</sup>。另有研究表明, METTL3 可增强 DGCR8 对 pri-miR-873 和 pri-miR221/222 的识别, 促进成熟 miR-873-5p 与 miR221/222 的产生<sup>[38-39]</sup>。

METTL3 在 RNA 代谢中的功能总结见表 1。

表1 METTL3在RNA代谢中的功能

在RNA代谢中的功能	METTL3表达	RNA底物	生物学效应	参考文献
促进mRNA翻译	↑	TRAF6、MYC、BCL-2	促进炎症反应; 抑制骨髓分化、 囊肿生成; 促进乳腺癌细胞 的增殖, 抑制其凋亡	[17-20]
抑制mRNA翻译	↑	ABCE1、NLRP4E、YWHAH	抑制卵母细胞成熟, 导致母源- 合子转化缺陷	[21]
提高mRNA水平	↑	MYC、VEGF-A、GATA3、 NANOG、SOX2、CDX2、 SOX17、Circ_0000677	介导膀胱癌细胞的增殖; 促进 肿瘤血管生成; 导致胚胎发 育缺陷; 促进胶质母细胞瘤 和结直肠癌发生	[22, 25-30, 33]
降低mRNA水平	↑	ATG5、SOCS2、HOXA10	促进囊胚发育; 促进肝癌发生; 不利于胚胎体外植入	[22-23, 31-32]
干扰mRNA选择性剪接	↓	\	\	[34]
干扰mRNA出核	↓	PER2和ARNT1	延长昼夜节律周期	[40]
促进miRNA成熟	↑	miR-25-3p miR-873-5p miR221/222	促进胰腺癌发展 减少氧化应激与细胞凋亡 促进膀胱癌细胞增殖	[37-39]

注: ↑表示METTL3表达上调, ↓表示METTL3表达下调。

## 2.2 METTL3的功能调节

METTL3 可以被磷酸化、乙酰化与类泛素化修饰。胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinases, ERKs) 在三个高度保守的残基 (S43、S50 和 S525) 上磷酸化 METTL3, 减少 METTL3 泛素化与降解, 从而增加 METTL3 活性, 促进小鼠胚胎干细胞分化和肿瘤发生发展<sup>[41]</sup>。共济失调毛细血管扩张突变基因 (ataxia telangiectasia-mutated, ATM) 也可以通过 S43 磷酸化激活 METTL3, 促进 DNA 损伤修复<sup>[42]</sup>。METTL3 被组蛋白乙酰转移酶 (P300) 在 K177 位点上乙酰化后活性降低, 可以抑制乳腺癌细胞的生长和转移<sup>[43]</sup>。SUMO1 (small ubiquitin like modifier 1) 在 K177、K211、K212 和 K215 位点上修饰 METTL3, SUMO 化可以降低其针对 mRNA 的甲基转移酶活性, 但对其稳定性、细胞定位及蛋白质相互作用没有影响<sup>[44]</sup>。METTL3 在 K459 处也可以发生 SUMO 化修饰<sup>[33]</sup>。

## 3 METTL3与胚胎发育

动物胚胎发育大体经历受精、卵裂、桑葚胚、囊胚、原肠胚与器官形成等阶段, 胚胎发育各阶段中基因的表达受表观遗传修饰调控, 如在早期胚胎发育过程中 DNA 甲基化需要经历重编程<sup>[45]</sup>。组蛋白修饰能够影响转录调控因子与染色质的结合, 从而调控受精后染色质重塑等早期胚胎发育过程<sup>[46]</sup>。RNA m<sup>6</sup>A、m<sup>5</sup>C 和假尿昔 ( $\Psi$ ) 修饰均参与调节干细胞自我更新与命运决定<sup>[47]</sup>。其中, m<sup>6</sup>A 在胚胎干细胞的自我更新与分化、细胞重编程、配子发生、母源-合子转化等过程中发挥重要作用<sup>[48]</sup>。

## 3.1 METTL3在胚胎发育不同阶段中的作用

研究表明, METTL3 所介导的 m<sup>6</sup>A 修饰在卵母细胞成熟、受精、囊胚形成、胎盘发育与着床和早期胚胎器官发生等阶段至关重要 (图 3)。

### 3.1.1 卵母细胞成熟及受精

研究发现, METTL3 在卵母细胞成熟与受精过程中发挥重要作用。METTL3 mRNA 水平在卵母细胞阶段最高, 随细胞分裂逐渐降低, 在 8 细胞阶段达到较低水平, 随后趋于稳定, 直到囊胚阶段水平再次升高<sup>[49]</sup>。METTL3 功能障碍可抑制卵母细胞成熟。在猪卵母细胞减数分裂过程中, METTL3 和 m<sup>6</sup>A 的水平上升, 利用环亮氨酸抑制 METTL3 活性可以通过下调多能性标志物 LIN28 的转录来抑制卵母细胞成熟<sup>[50]</sup>。此外, 在生发泡期 (germinal vesicle, GV) 卵母细胞中显微注射 METTL3 siRNA (small interfering RNA) 或反义吗啉环寡核苷酸 (morpholino anti-sense oligos, MOs), 可观察到卵母细胞中 CLTC (clathrin heavy chain)、PCNT (pericentrin)、SPDL1 (spindle apparatus coiled-coil protein 1) 和 MSY2 (也称 Ybx2, Y box binding protein 2) 的翻译效率降低<sup>[21]</sup>。METTL3 siRNA 显微注射小鼠 GV 期卵母细胞可导致减数分裂中纺锤体和第一极体形成缺陷, 研究显示 METTL3 功能下调会导致核糖体亚基蛋白 mRNA 水平下降<sup>[51]</sup>。

敲降 METTL3 还可抑制母源-合子转化。在 GV 期卵母细胞中微注射 METTL3 siRNA 或 MOs, 卵母细胞中 ABCE1、NLRP4E、YWHAH 的 mRNA 发生降解<sup>[21]</sup>, 说明 METTL3 介导的 m<sup>6</sup>A 修饰在母源-合子转化阶段能够维持卵母细胞中 mRNA 的稳

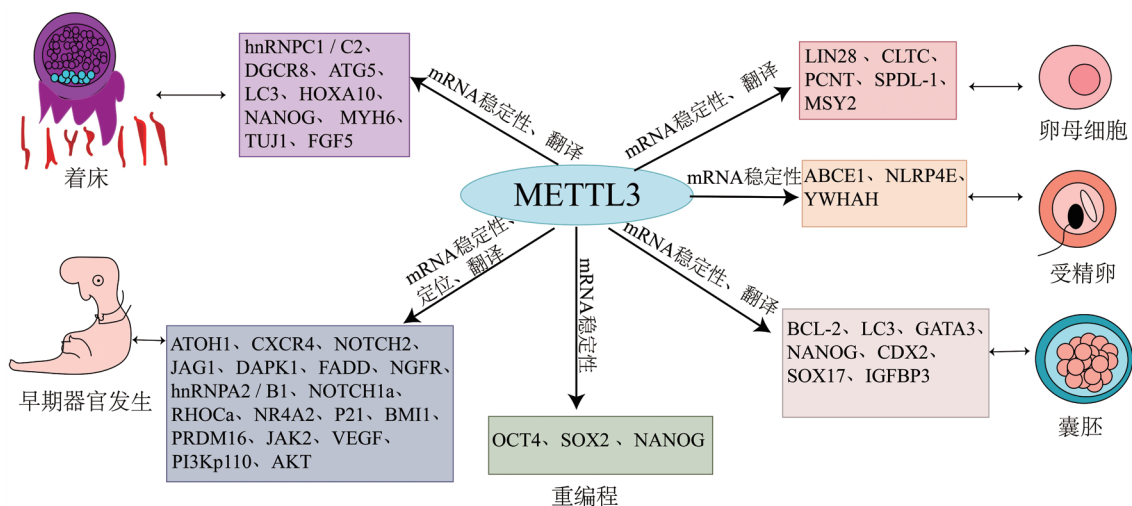


图3 METTL3与胚胎发育

定性<sup>[52]</sup>。

### 3.1.2 囊胚形成

METTL3也是囊胚形成所必需的。m<sup>6</sup>A水平在桑葚胚到囊胚过渡阶段升高,利用甲基酶抑制剂环亮氨酸处理原核期猪胚胎7d后,m<sup>6</sup>A水平与囊胚形成减少,BCL-2 mRNA水平显著降低,LC3(light chain 3) mRNA水平及翻译水平提高,猪囊胚的凋亡与自噬增强<sup>[53]</sup>。此外,在缺氧条件下敲降METTL3降低了山羊胚胎转录因子(GATA3、NANOG、CDX2和SOX17)的mRNA水平,导致胚胎发育迟缓;然而,在常氧条件下METTL3过表达对囊胚发育并无显著影响<sup>[30]</sup>。

胚胎干细胞来源于囊胚期内细胞团,METTL3参与调控胚胎干细胞的基态、启动与分化。m<sup>6</sup>A甲基化会阻碍RNA结合蛋白HuR与mRNA[特别是编码发育调控因子的mRNA,如胰岛素样生长因子结合蛋白-3(insulin like growth factor binding protein 3,IGFBP3)]的结合,使mRNA稳定性降低,从而维持小鼠胚胎干细胞(mouse embryonic stem cells,mESCs)的基态稳定;如果METTL3缺失,mESCs则变得不稳定<sup>[28]</sup>。METTL3作为终止幼稚多能性(naïve pluripotency)的调节因子,其催化的m<sup>6</sup>A修饰可以降低幼稚多能性关键基因mRNA的稳定性;当敲除METTL3时,mESCs中m<sup>6</sup>A缺失将抑制其启动和分化,导致“超”幼稚多能表型以及植入后发育异常<sup>[54]</sup>。

囊胚在子宫内选择合适位置开始着床,随后胎盘逐渐形成与发育,METTL3在其中发挥重要作用。先兆子痫胎盘滋养层中METTL3蛋白水平和m<sup>6</sup>A水平明显高于血压正常的胎盘,抑制METTL3可降低先兆子痫胎盘滋养层中m<sup>6</sup>A水平以及hnRNP C1/C2(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C1/C2)的表达<sup>[55]</sup>。在大鼠孕期给予恐惧刺激后,出生率、出生体重和胎盘质量均降低,胎盘中METTL3、METTL14和WTAP表达水平升高,去甲基化酶FTO水平降低,RNA甲基化水平升高;同时,该研究运用MeRIP-seq和RNA-seq技术分析了受到影响的基因<sup>[56]</sup>。子痫患者胎盘中METTL3和METTL14的表达均上调,研究发现Wnt/β-catenin信号通路以及癌症相关通路基因过高的m<sup>6</sup>A修饰水平可能导致先兆子痫的发生<sup>[57]</sup>。有研究报道METTL3敲降和过表达均可导致猪滋养外胚层细胞(trophectoderm)发育缺陷,其机制可能是:在滋养外胚层细胞中METTL3作为自噬基因ATG5和LC3的负调控因子发挥作用,

而自噬抑制剂3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine,3-MA)可以挽救部分METTL3敲降导致的发育异常<sup>[31]</sup>。复发性植入失败患者子宫内膜中METTL3和m<sup>6</sup>A水平均显著升高,在人子宫内膜癌细胞(Ishikawa)中过表达METTL3可抑制人胎盘绒毛膜癌细胞(BeWo)细胞球黏附,机制可能为METTL3促进HOXA10 mRNA的m<sup>6</sup>A甲基化修饰和降解<sup>[32]</sup>。

第二次细胞命运决定发生在囊胚由输卵管进入子宫发生着床时,METTL3表达被抑制后胚胎干细胞命运转换停滞。细胞命运转变涉及基因表达变化和染色质重塑<sup>[58]</sup>;METTL3可以上调肌球蛋白重链6(myosin heavy chain 6,MYH6)与β III微管蛋白(beta III tubulin,TUJ1)的mRNA水平;敲除METTL3则结果相反,进而阻断细胞定向分化,导致畸胎瘤形成。敲除METTL3同时可增强NANOG mRNA的稳定性,抑制其降解,延迟谱系启动和命运转换<sup>[59]</sup>。METTL3缺失还能提高成纤维细胞生长因子5(fibroblast growth factor 5,FGF5) mRNA的稳定性,进而激活MEK1/2(mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase 1/2)、ERK1/2和AKT(protein kinase B,PKB)通路;MEK1/2与ERK1/2激活导致NANOG下调,AKT激活则导致NANOG上调,从而调节胚胎干细胞的多能性退出<sup>[60]</sup>。其中,ERK被磷酸化激活可以促进胚胎干细胞多能性退出;而AKT被激活后可进一步激活Wnt信号通路,促进多能性的维持<sup>[61]</sup>。

### 3.1.3 早期胚胎器官发生

METTL3参与早期胚胎器官发生。早期胚胎发育从受精卵开始,经过一系列重编程和转化获得全能性,在此过程中伴随表观遗传修饰的变化<sup>[62]</sup>。有研究报道敲降METTL3抑制胚胎干细胞自我更新<sup>[28]</sup>,导致胚胎发育与组织分化缺陷<sup>[63]</sup>。

m<sup>6</sup>A甲基转移酶是小脑、眼睛与神经管等器官早期发育所必需的。在斑马鱼胚胎中使用反义MOs敲除WTAP和METTL3后出现组织分化与胚胎发育缺陷,同时发生细胞凋亡。光活性增强的核糖核苷交联和免疫共沉淀(photoactivatable ribonucleoside-enhanced crosslinking and immunoprecipitation,PAR-CLIP)结果显示,METTL3主要影响转录和RNA加工相关基因的表达和可变性剪接<sup>[63]</sup>。在小鼠神经系统内条件性敲除METTL3可导致小脑发育不全,同时小脑发育相关基因(*Atoh1*、*Cxcr4*、*Notch2*及其配体*Jag1*)和凋亡相关基因(*Dapk1*、*Fadd*和*Ngfr*) mRNA稳定性增加,小脑板外表面的外颗粒

细胞层细胞凋亡增加<sup>[64]</sup>。核不均一核糖核蛋白 A2/B1 (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1, hnRNPA2/B1) 对早期胚胎发育过程至关重要, 敲降 hnRNPA2/B1 导致小鼠胚胎发育停滞, 而 METTL3 敲降会导致 hnRNPA2/B1 定位错误, 继而影响早期胚胎发育<sup>[65]</sup>。METTL3/METTL14/WTAP 甲基转移酶复合体在发育中的斑马鱼眼部大量表达, 敲降该复合物后, p53 信号通路被激活, 细胞凋亡增加, 视网膜祖细胞 (retinal progenitor cell, RPC) 延迟分化, 导致小眼症形成<sup>[66]</sup>。据报道, METTL3 还与神经管发育相关, 其敲降可抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路并促进细胞凋亡, 导致神经管发育缺陷<sup>[67]</sup>。

血管形成对于胚胎发育、着床、侵入母体及构建母体-胚胎之间丰富的毛细血管网非常重要。RNA 修饰已经被证实和血管生成有关, 其中 RNA 的 m<sup>6</sup>A 修饰可通过多种机制影响造血过程, 而敲降 METTL3 可以抑制造血祖细胞 (hematopoietic stem and progenitor cells, HSPCs) 的产生以及造血干细胞 (hematopoietic stem cells, HSCs) 的自我更新和血管生成<sup>[68-69]</sup>。

METTL3 敲除小鼠 Vav-Cre METTL3<sup>-/-</sup> (VCM3<sup>-/-</sup>) 胚胎死亡率升高, 幸存小鼠体型变小, 体色苍白, 全血细胞减少, 骨髓细胞数量显著降低。E14.5 胚胎肝脏中 Lin<sup>+</sup>Sca<sup>+</sup>c-Kit<sup>+</sup> (LSK)、HPC-1 (CD48<sup>+</sup>CD150) 和 HPC-2 (CD48<sup>+</sup>CD150<sup>+</sup>) 比例增高, 克隆形成能力下降, 克隆形态异常, 且无法通过移植挽救辐射处理小鼠的造血功能<sup>[70]</sup>。斑马鱼 METTL3 功能缺失导致胚胎发育过程中 HSPCs 生成受阻, NOTCH1a (Notch receptor 1a) 与 RHOCa (Ras homolog family member Ca) mRNA 的降解受到抑制, 从而阻碍了内皮-造血转化 (endothelial to hematopoietic transition, EHT) 过程<sup>[71]</sup>。METTL3 也是造血干细胞自我更新的重要调节因子, 其敲降后 NR4A2 (nuclear receptor subfamily 4 group A member 2)、P21 (cyclin-dependent kinase inhibitor 1A)、BMI1 (B lymphoma Mo-MLV insertion region 1) 和 PRDM16 (PR domain-containing 16) mRNA 水平显著降低<sup>[69]</sup>。人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVECs) 中的 IGF2BP1 (insulin like growth factor 2 mRNA binding protein 1) 通过直接结合 JAK2 (Janus kinase 2) mRNA 内的 m<sup>6</sup>A 位点, 正向调控 JAK2 mRNA 稳定性和表达; 敲低 METTL3 可通过下调 JAK2 的表达抑制 JAK2/STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) 信号通路, 从而抑制内皮细胞增殖、

迁移和血管生成<sup>[72]</sup>。研究表明, 敲除比格犬内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPCs) 中的 METTL3 时, VEGF mRNA 稳定性以及 PI3K (phosphatidylinositol 3-kinases) 催化亚基 p110 和 AKT mRNA 翻译效率均下降, PI3K/AKT 通路活性降低, 导致 EPCs 血管生成能力减弱<sup>[73]</sup>, 说明 METTL3 是祖细胞血管生成的重要调节器。

### 3.2 METTL3参与胚胎发育中的重编程

在小鼠胚胎发育重编程过程中, 当过表达 METTL3 时, OCT4 (octamer-binding transcription factor 4)、SOX2 和 NANOG mRNA 水平上调, 促进胚胎成纤维细胞 (MEFs) 重编程为多能干细胞; 相反, 当敲低 METTL3 时, OCT4、SOX2 和 NANOG mRNA 水平下调, 阻碍重编程<sup>[74]</sup>。m<sup>6</sup>A 修饰能够调节卵母细胞向胚胎的转变和体细胞诱导为多能干细胞的重新编程, 在 8 细胞阶段, 体细胞核移植 (somatic cell nuclear transfer, SCNT) 胚胎中 METTL3 的表达水平显著高于孤雌激活 (PA) 胚胎<sup>[53]</sup>。因此, METTL3 对 m<sup>6</sup>A 修饰的调节对于正常的早期胚胎发育以及 SCNT 胚胎中的异常重编程必不可少。

## 4 METTL3调节剂

METTL3 在胚胎发育、肿瘤发生等生理过程中起重要作用, 可作为药物治疗的相关靶点。近年来研究人员致力于开发 METTL3 调节剂, 希望可以改变 METTL3 活性, 进而调控 RNA 修饰并治疗相关疾病。 $\beta$ -榄香烯 ( $\beta$ -elemene) 是一种从姜黄中分离出来的主要活性成分, 研究发现其能够抑制 METTL3 转录和翻译, 使得 METTL3 mRNA 与蛋白质水平下降, 从而抑制肺癌细胞生长<sup>[75]</sup>。转录因子 EB (transcription factor EB, TFEB) 作为溶酶体生物发生和自噬基因的主要调节因子, 不仅受 METTL3 调节, 反过来还可以下调 METTL3 mRNA 的稳定性, 负调控其表达, 有望成为缺血性心脏病治疗靶点<sup>[76]</sup>。研究人员还开发了特异性的 METTL3 抑制剂 (UZH1a、STM2457、腺嘌呤衍生物), 在 METTL3 依赖性肿瘤的抗癌药物开发方面展现出了较好的应用潜力<sup>[77-79]</sup>。还有研究人员通过新型药物筛选平台 (SBDD) 筛选了 METTL3-METTL14-WTAP 复合物的分子库, 发现该复合物的小分子激活剂可以诱导细胞分化, 而胚胎和其他干细胞应用于组织再生的安全性和有效性取决于尽可能安全地引导细胞分化到所需表型<sup>[80]</sup>。这些调节剂 (表 2) 的发现为 m<sup>6</sup>A 靶向药物治疗开辟了新途径。

表2 METTL3调节剂

调节剂名称	METTL3表达	应用	参考文献
β-elemene	↓	促进肺癌细胞凋亡	[75]
TFEB	↓	减少心肌细胞凋亡, 治疗缺血性疾病	[76]
UZH1a	↓	抑制白血病、骨髓瘤和人胚胎肾细胞的生长	[77]
STM2457	↓	促进急性髓系白血病细胞凋亡	[78]
腺嘌呤衍生物	↓	\	[79]
小分子激活剂	↑	再生医学, 引导细胞分化到所需表型; 抗癌	[80]

注: ↑表示METTL3表达上调, ↓表示METTL3表达下调。

## 5 总结与展望

METTL3 作为 m<sup>6</sup>A 甲基转移酶的催化核心, 可以影响 RNA 代谢, 在胚胎干细胞分化、肿瘤发生、DNA 损伤修复等过程中发挥重要调控作用。

研究表明在胚胎发育整个进程中, 表观遗传扮演着重要角色。组蛋白甲基化及乙酰化、DNA 甲基化都被证实可以调控胚胎发育, 近些年发现 RNA 也参与调控此过程, 例如 miRNA、长链非编码 RNA (lncRNA)。本文主要综述了催化 RNA 发生 m<sup>6</sup>A 修饰的甲基转移酶 METTL3 在胚胎发育中的作用, 为进一步探究胚胎发育中的表观遗传修饰提供了更多新思路。现今多种 METTL3 靶向化合物被发现, 为治疗 METTL3 相关疾病提供了新手段。METTL3 的靶向药物多为治疗癌症的抗癌药物, 虽然一些小分子激活剂可用于再生医学, 引导细胞分化到所需表型, 但在胚胎发育中的应用仍存在空白。利用蛋白质-配体复合物和 SBDD 进行虚拟筛选, 开发靶向 METTL3 的调节剂, 在生殖和其他 m<sup>6</sup>A 相关疾病治疗方面应用前景广阔。

### [参 考 文 献]

- [1] Peixoto P, Cartron PF, Serandour AA, et al. From 1957 to nowadays: a brief history of epigenetics. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 7571
- [2] Zha LF, Wang JL, Cheng X. The effects of RNA methylation on immune cells development and function. *FASEB J*, 2022, 36: e22552
- [3] Song PZ, Tayier S, Cai ZH, et al. RNA methylation in mammalian development and cancer. *Cell Biol Toxicol*, 2021, 37: 811-31
- [4] Jiang XL, Liu BY, Nie Z, et al. The role of m<sup>6</sup>A modification in the biological functions and diseases. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6: 74
- [5] Desrosiers RC, Friderici KH, Rottman FM. Characterization of Novikoff hepatoma mRNA methylation and heterogeneity in the methylated 5' terminus. *Biochemistry*, 1975, 14: 4367-74
- [6] Li MM, Zhao X, Wang W, et al. YTHDF2-mediated m<sup>6</sup>A mRNA clearance modulates neural development in mice. *Genome Biol*, 2018, 19: 69
- [7] Bokar JA, Rath-Shambaugh ME, Ludwiczak R, et al. Characterization and partial purification of mRNA N6-adenosine methyltransferase from HeLa cell nuclei. Internal mRNA methylation requires a multisubunit complex. *J Biol Chem*, 1994, 269: 17697-704
- [8] Zeng CW, Huang WX, Li YQ, et al. Roles of METTL3 in cancer: mechanisms and therapeutic targeting. *J Hematol Oncol*, 2020, 13: 117
- [9] Schöller E, Weichmann F, Treiber T, et al. Interactions, localization, and phosphorylation of the m<sup>6</sup>A generating METTL3-METTL14-WTAP complex. *RNA*, 2018, 24: 499-512
- [10] Huang JB, Dong X, Gong Z, et al. Solution structure of the RNA recognition domain of METTL3-METTL14 N6-methyladenosine methyltransferase. *Protein Cell*, 2019, 10: 272-84
- [11] Wang P, Doxtader KA, Nam YS. Structural basis for cooperative function of METTL3 and METTL14 methyltransferases. *Mol Cell*, 2016, 63: 306-17
- [12] Maity A, Das B. N6-methyladenosine modification in mRNA: machinery, function and implications for health and diseases. *FEBS J*, 2016, 283: 1607-30
- [13] Liu JZ, Yue YN, Han DL, et al. A METTL3-METTL14 complex mediates mammalian nuclear RNA N6-adenosine methylation. *Nat Chem Biol*, 2014, 10: 93-5
- [14] Kahvejian A, Roy G, Sonenberg N. The mRNA closed-loop model: the function of PABP and PABP-interacting proteins in mRNA translation. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2001, 66: 293-300
- [15] Choe JH, Lin SB, Zhang WC, et al. MRNA circularization by METTL3-eIF3h enhances translation and promotes oncogenesis. *Nature*, 2018, 561: 556-60
- [16] Barbieri I, Tzelepis K, Pandolfini L, et al. Promoter-bound METTL3 maintains myeloid leukaemia by m<sup>6</sup>A-dependent translation control. *Nature*, 2017, 552: 126-31
- [17] Zong X, Zhao J, Wang H, et al. METTL3 deficiency sustains long-chain fatty acid absorption through suppressing Traf6-dependent inflammation response. *J Immunol*, 2019, 202: 567-78
- [18] Vu LP, Pickering BF, Cheng YM, et al. The N6-methyladenosine (m<sup>6</sup>A)-forming enzyme METTL3 controls myeloid differentiation of normal hematopoietic and leukemia cells. *Nat Med*, 2017, 23: 1369-76



- [19] Ramalingam H, Kashyap S, Cobo-Stark P, et al. A methionine-METTL3-N6-methyladenosine axis promotes polycystic kidney disease. *Cell Metab*, 2021, 33: 1234-47.e7
- [20] Wang H, Xu B, Shi J. N6-methyladenosine METTL3 promotes the breast cancer progression via targeting Bcl-2. *Gene*, 2020, 722: 144076
- [21] Sui XS, Hu Y, Ren C, et al. METTL3-mediated m<sup>6</sup>A is required for murine oocyte maturation and maternal-to-zygotic transition. *Cell Cycle*, 2020, 19: 391-404
- [22] Visvanathan A, Patil V, Arora A, et al. Essential role of METTL3-mediated m<sup>6</sup>A modification in glioma stem-like cells maintenance and radioresistance. *Oncogene*, 2018, 37: 522-33
- [23] Chen MN, Wei L, Law CT, et al. RNA N6-methyladenosine methyltransferase-like 3 promotes liver cancer progression through YTHDF2-dependent posttranscriptional silencing of SOCS2. *Hepatology*, 2018, 67: 2254-70
- [24] Wang X, Lu ZK, Gomez A, et al. N6-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability. *Nature*, 2014, 505: 117-20
- [25] Zhao W, Cui YM, Liu LN, et al. METTL3 facilitates oral squamous cell carcinoma tumorigenesis by enhancing c-Myc stability via YTHDF1-mediated m<sup>6</sup>A modification. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 20: 1-12
- [26] Li T, Hu PS, Zuo ZX, et al. METTL3 facilitates tumor progression via an m<sup>6</sup>A-IGF2BP2-dependent mechanism in colorectal carcinoma. *Mol Cancer*, 2019, 18: 112
- [27] Wang GP, Dai YR, Li K, et al. Deficiency of METTL3 in bladder cancer stem cells inhibits bladder cancer progression and angiogenesis. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 627706
- [28] Wang Y, Li Y, Toth JI, et al. N6-methyladenosine modification destabilizes developmental regulators in embryonic stem cells. *Nat Cell Biol*, 2014, 16: 191-8
- [29] Cheng MS, Sheng L, Gao Q, et al. The m<sup>6</sup>A methyltransferase METTL3 promotes bladder cancer progression via AFF4/NF-κB/MYC signaling network. *Oncogene*, 2019, 38: 3667-80
- [30] Li DX, Liu ZF, Deng MT, et al. The function of the m<sup>6</sup>A methyltransferase METTL3 in goat early embryo development under hypoxic and normoxic conditions. *Theriogenology*, 2022, 177: 140-50
- [31] Cao ZB, Zhang L, Hong RY, et al. METTL3-mediated m<sup>6</sup>A methylation negatively modulates autophagy to support porcine blastocyst development. *Biol Reprod*, 2021, 104: 1008-21
- [32] Xue PP, Zhou WB, Fan WQ, et al. Increased METTL3-mediated m<sup>6</sup>A methylation inhibits embryo implantation by repressing HOXA10 expression in recurrent implantation failure. *Reprod Biol Endocrinol*, 2021, 19: 187
- [33] Liu Q, Huang Q, Liu H, et al. SUMOylation of methyltransferase-like 3 facilitates colorectal cancer progression by promoting circ\_0000677 in an m<sup>6</sup>A-dependent manner. *J Gastroenterol Hepatol*, 2022, 37: 700-13
- [34] Xiao W, Adhikari S, Dahal U, et al. Nuclear m<sup>6</sup>A reader YTHDC1 regulates mRNA splicing. *Mol Cell*, 2016, 61: 507-19
- [35] Roundtree IA, Luo GZ, Zhang ZJ, et al. YTHDC1 mediates nuclear export of N6-methyladenosine methylated mRNAs. *Elife*, 2017, 6: e31311
- [36] Alarcón CR, Lee HS, Goodarzi H, et al. N6-methyladenosine marks primary microRNAs for processing. *Nature*, 2015, 519: 482-5
- [37] Zhang JL, Bai RH, Li M, et al. Excessive miR-25-3p maturation via N6-methyladenosine stimulated by cigarette smoke promotes pancreatic cancer progression. *Nat Commun*, 2019, 10: 1858
- [38] Wang J, Ishfaq M, Xu L, et al. METTL3/m<sup>6</sup>A/miRNA-873-5p attenuated oxidative stress and apoptosis in colistin-induced kidney injury by modulating Keap1/Nrf2 pathway. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 517
- [39] Han J, Wang JZ, Yang X, et al. METTL3 promote tumor proliferation of bladder cancer by accelerating pri-miR221/222 maturation in m<sup>6</sup>A-dependent manner. *Mol Cancer*, 2019, 18: 110
- [40] Fustin JM, Doi M, Yamaguchi Y, et al. RNA-methylation-dependent RNA processing controls the speed of the circadian clock. *Cell*, 2013, 155: 793-806
- [41] Sun HL, Zhu AC, Gao YW, et al. Stabilization of ERK-phosphorylated METTL3 by USP5 increases m<sup>6</sup>A methylation. *Mol Cell*, 2020, 80: 633-47.e7
- [42] hang CF, Chen LP, Peng D, et al. METTL3 and N6-methyladenosine promote homologous recombination-mediated repair of DSBs by modulating DNA-RNA hybrid accumulation. *Mol Cell*, 2020, 79: 425-42.e7
- [43] Li YP, He XN, Lu X, et al. METTL3 acetylation impedes cancer metastasis via fine-tuning its nuclear and cytosolic functions. *Nat Commun*, 2022, 13: 6350
- [44] Du YZ, Hou GF, Zhang HL, et al. SUMOylation of the m<sup>6</sup>A-RNA methyltransferase METTL3 modulates its function. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46: 5195-208
- [45] Zeng Y, Chen TP. DNA methylation reprogramming during mammalian development. *Genes (Basel)*, 2019, 10: 257
- [46] Xu RM, Li C, Liu XY, et al. Insights into epigenetic patterns in mammalian early embryos. *Protein Cell*, 2021, 12: 7-28
- [47] Frye M, Blanco S. Post-transcriptional modifications in development and stem cells. *Development*, 2016, 143: 3871-81
- [48] Zhang M, Zhai YH, Zhang S, et al. Roles of N6-methyladenosine (m<sup>6</sup>A) in stem cell fate decisions and early embryonic development in mammals. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 782
- [49] McGraw S, Vigneault C, Sirard MA. Temporal expression of factors involved in chromatin remodeling and in gene regulation during early bovine *in vitro* embryo development. *Reproduction*, 2007, 133: 597-608
- [50] Wang YK, Yu XX, Liu YH, et al. Reduced nucleic acid methylation impairs meiotic maturation and developmental potency of pig oocytes. *Theriogenology*, 2018, 121: 160-7
- [51] Zhu Y, Wu WJ, Chen SQ, et al. METTL3 downregulation in germinal vesicle oocytes inhibits mRNA decay and the first polar body extrusion during maturation(dagger). *Biol*

- Reprod, 2022, 107: 765-78
- [52] Wu Y, Xu XC, Qi MJ, et al. N6-methyladenosine regulates maternal RNA maintenance in oocytes and timely RNA decay during mouse maternal-to-zygotic transition. *Nat Cell Biol*, 2022, 24: 917-27
- [53] Yu T, Qi X, Zhang L, et al. Dynamic reprogramming and function of RNA N6-methyladenosine modification during porcine early embryonic development. *Zygote*, 2021, 29: 417-26
- [54] Geula S, Moshitch-Moshkovitz S, Dominissini D, et al. Stem cells. m<sup>6</sup>A mRNA methylation facilitates resolution of naïve pluripotency toward differentiation. *Science*, 2015, 347: 1002-6
- [55] Gu Y, Chu XD, Morgan JA, et al. Upregulation of METTL3 expression and m<sup>6</sup>A RNA methylation in placental trophoblasts in preeclampsia. *Placenta*, 2021, 103: 43-9
- [56] Wang QY, Pan MM, Zhang T, et al. Fear stress during pregnancy affects placental m<sup>6</sup>A-modifying enzyme expression and epigenetic modification levels. *Front Genet*, 2022, 13: 927615
- [57] Wang J, Gao FC, Zhao XH, et al. Integrated analysis of the transcriptome-wide m<sup>6</sup>A methylome in preeclampsia and healthy control placentas. *PeerJ*, 2020, 8: e9880
- [58] Brumbaugh J, Di Stefano B, Wang XY, et al. Nudt21 controls cell fate by connecting alternative polyadenylation to chromatin signaling. *Cell*, 2018, 172: 629-31
- [59] Batista PJ, Molinie B, Wang JK, et al. m<sup>6</sup>A RNA modification controls cell fate transition in mammalian embryonic stem cells. *Cell Stem Cell*, 2014, 15: 707-19
- [60] Jin KX, Zuo RJ, Anastassiadis K, et al. N6-methyladenosine (m<sup>6</sup>A) depletion regulates pluripotency exit by activating signaling pathways in embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118: e2105192118
- [61] Hassani SN, Totonchi M, Gourabi H, et al. Signaling roadmap modulating naïve and primed pluripotency. *Stem Cells Dev*, 2014, 23: 193-208
- [62] Cui GN, Xu YW, Cao SY, et al. Inducing somatic cells into pluripotent stem cells is an important platform to study the mechanism of early embryonic development. *Mol Reprod Dev*, 2022, 89: 70-85
- [63] 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
- [64] Wang CX, Cui GS, Liu XY, et al. METTL3-mediated m<sup>6</sup>A modification is required for cerebellar development. *PLoS Biol*, 2018, 16: e2004880
- [65] Kwon JW, Jo YJ, Namgoong S, et al. Functional roles of hnRNPA2/B1 regulated by METTL3 in mammalian embryonic development. *Sci Rep*, 2019, 9: 8640
- [66] Huang LG, Liang HL, Wang SF, et al. M<sup>6</sup>A writer complex promotes timely differentiation and survival of retinal progenitor cells in zebrafish. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 567: 171-6
- [67] Zhang L, Cao R, Li DD, et al. Ethionine-mediated reduction of S-adenosylmethionine is responsible for the neural tube defects in the developing mouse embryo-mediated m<sup>6</sup>A modification and is involved in neural tube defects via modulating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Epigenetics Chromatin*, 2021, 14: 52
- [68] Vasic R, Gao YM, Liu CY, et al. The role of RNA epigenetic modification in normal and malignant hematopoiesis. *Curr Stem Cell Rep*, 2020, 6: 144-55
- [69] Yao QJ, Sang LN, Lin MH, et al. METTL3-METTL14 methyltransferase complex regulates the quiescence of adult hematopoietic stem cells. *Cell Res*, 2018, 28: 952-4
- [70] Gao YM, Vasic R, Tebaldi T, et al. METTL3 mediated m<sup>6</sup>A modification is essential in fetal hematopoiesis. *Blood*, 2018, 132: 3825
- [71] Zhang CX, Chen YS, Sun BF, et al. m<sup>6</sup>A modulates haematopoietic stem and progenitor cell specification. *Nature*, 2017, 549: 273-6
- [72] Dong G, Yu JB, Shan GJ, et al. N6-methyladenosine methyltransferase METTL3 promotes angiogenesis and atherosclerosis by upregulating the JAK2/STAT3 pathway via m<sup>6</sup>A reader IGF2BP1. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 731810
- [73] Jiang WD, Zhu PQ, Huang FF, et al. The RNA methyltransferase METTL3 promotes endothelial progenitor cell angiogenesis in mandibular distraction osteogenesis via the PI3K/AKT pathway. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 720925
- [74] Chen T, Hao YJ, Zhang Y, et al. m<sup>6</sup>A RNA methylation is regulated by microRNAs and promotes reprogramming to pluripotency. *Cell Stem Cell*, 2015, 16: 289-301
- [75] Feng YX, Li CC, Liu SW, et al.  $\beta$ -Elemene restrains PTEN mRNA degradation to restrain the growth of lung cancer cells via METTL3-mediated N6 methyladenosine modification. *J Oncol*, 2022, 2022: 3472745
- [76] Song HW, Feng X, Zhang H, et al. METTL3 and ALKBH5 oppositely regulate m<sup>6</sup>A modification of TFEB mRNA, which dictates the fate of hypoxia/reoxygenation-treated cardiomyocytes. *Autophagy*, 2019, 15: 1419-37
- [77] Moroz-Omori EV, Huang DZ, Kumar Bedi R, et al. METTL3 inhibitors for epitranscriptomic modulation of cellular processes. *ChemMedChem*, 2021, 16: 3035-43
- [78] Yankova E, Blackaby W, Albertella M, et al. Small-molecule inhibition of METTL3 as a strategy against myeloid leukaemia. *Nature*, 2021, 593: 597-601
- [79] Bedi RK, Huang DZ, Eberle SA, et al. Small-molecule inhibitors of METTL3, the major human epitranscriptomic writer. *ChemMedChem*, 2020, 15: 744-8
- [80] Selberg S, Blokhina D, Aatonen M, et al. Discovery of small molecules that activate RNA methylation through cooperative binding to the METTL3-14-WTAP complex active site. *Cell Rep*, 2019, 26: 3762-71.e5