

· 综述 ·

RNA m⁶A 修饰及在肿瘤中的作用

孙洁¹, 杨振坤¹, 陆培华², 吴兵^{3*}

¹南京医科大学附属无锡人民医院临床研究中心, ²肿瘤科, ³普外科, 江苏 无锡 214023

[摘要] 6-甲基腺嘌呤(N6-methyladenosine, m⁶A)是真核生物RNA内部序列中最常见的一种修饰方式,该过程依赖于书写器、擦除器、阅读器等三类分子的精准调控。m⁶A修饰参与调控基因表达,与肿瘤、神经系统疾病、胚胎发育迟缓等多种疾病相关,近年来该领域成为表观转录组学中新的研究热点。文章详细阐述了m⁶A修饰在肿瘤发生发展中的作用,包括m⁶A修饰参与肿瘤干细胞自我更新与分化,调控肿瘤细胞增殖以及参与放化疗抵抗,讨论靶向m⁶A治疗可能带来的临床干预措施,以期为肿瘤精准治疗提供新手段。

[关键词] m⁶A修饰;RNA甲基化;肿瘤;表观遗传学

[中图分类号] R730.231

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2020)03-447-07

doi:10.7655/NYDXBNS20200327

N6-methyladenine RNA modification and its role in cancer

SUN Jie¹, YANG Zhenkun¹, LU Peihua², WU Bing^{3*}

¹Center of Clinical Research, ²Department of Oncology, ³Department of General Surgery, Wuxi People's Hospital of Nanjing Medical University, Wuxi 214023, China

[Abstract] N6-methyladenine(m⁶A)is identified as the most abundant internal RNA modification in eukaryotic cells, which depends on proteins that are “writers”, “erasers” and “readers” of m⁶A. The m⁶A modification regulates gene expression and plays vital roles in many human diseases, such as cancer, nervous system disease and embryonal growth retardation. This field has become a new research hotspot in the field of epitranscriptomics. In this comprehensive review, we have described the roles played by m⁶A modification in the development of cancer. Generally, the m⁶A modification takes part in the self-renewal and differentiation of tumor stem cells, regulates tumor cell proliferation, and is related to chemoradiation resistance. Possible interventions targeting m⁶A are also discussed in this review, which may be advantageous for precise treatment of tumor.

[Key words] N6-methyladenine(m⁶A);RNA methylation;cancer;epigenetics

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(03):447-453]

表观转录组学(epitranscriptomics)是指RNA修饰与编辑介导的基因转录后水平调控,与代表DNA修饰和蛋白质修饰的表观基因组学和表观蛋白质组学相呼应,共同调控真核生物基因的表达。表观基因组学和表观蛋白质组学已取得很多成果,表观转录组学是近年来兴起的前沿科学。已知的RNA修饰方式已达一百多种,多存在于真核生物中,许多RNA修饰是进化保守的,具有重要功能。mRNA

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81472305);无锡市卫生健康委科研项目(Q201819)

*通信作者(Corresponding author),E-mail: Wub999999@163.com

作为连接DNA和蛋白质的中间信使,其在基因功能调控中的作用最为人们关注。mRNA甲基化修饰方式包括6-甲基腺嘌呤(N6-methyladenosine, m⁶A)、1-甲基腺嘌呤(m¹A)、5-甲基胞嘧啶(m⁵C)等。m⁶A是指RNA分子腺嘌呤第6位氮原子上发生甲基化,首先于20世纪70年代被发现^[1],此后在多种哺乳动物及病毒的mRNA中都检测到m⁶A修饰的存在,因此m⁶A修饰是最主要的RNA修饰方式。长期以来由于缺乏检测m⁶A修饰的有效技术手段,m⁶A修饰调控RNA的生物学功能研究不多。2012年,Jaffrey课题组和Rechavi课题组同时绘制出第一个转录组

范围的 mRNA 修饰图。这项研究运用甲基化 RNA 免疫共沉淀结合高通量测序技术(methylated RNA immunoprecipitation with next generation sequencing, MeRIP seq),又称为 m⁶A seq 方法(m⁶A-specific methylated RNA immunoprecipitation sequencing),第一次从全转录组水平上大范围、高通量地鉴定了人和小鼠的 m⁶A 修饰水平,揭示了约 7 000 个基因的 mRNA 和 300 个非编码 RNA 上存在 12 000 个 m⁶A 修饰位点^[2-3],表明 RNA m⁶A 修饰在广谱基因表达中发挥着基础性调节作用。近年来,随着 m⁶A 修饰的关键蛋白陆续被发现,m⁶A 修饰与多种疾病的关系逐渐被明确,从而开启了 RNA 表观转录组学研究的新纪元。

m⁶A 修饰作为真核生物 mRNA 和长链非编码 RNA 上最主要也是研究最多的甲基化形式,是一种由甲基化酶和去甲基化酶等多种蛋白共同维持的动态平衡过程。哺乳动物中每条 mRNA 上含有 3~5 个 m⁶A 修饰,但其分布并不是随机的,通过高通量测序和生物信息分析发现大量的 m⁶A 修饰分布于 RRACH 基序(R=G, A; H=A, C, U)内^[4],另外也富集在终止密码子和 3'非编码区等区域。m⁶A 修饰参与调控 mRNA 的翻译、前体剪切加工、核转运及降解等过程,因此可以说其决定了 mRNA 的整个生命过程^[5]。细胞内的其他 RNA,包括转运 RNA(tRNA)、核糖体 RNA(rRNA)和长链非编码 RNA(lncRNA)也存在大量的 m⁶A 修饰,而且研究发现 tRNA 和 rRNA 中 m⁶A 修饰更丰富、更保守,表明 m⁶A 修饰调控基因表达的作用广泛而复杂。已有研究表明,m⁶A 修饰与组织发育、生物钟、DNA 损伤反应、性别决定、肿瘤的发生发展密切相关^[6]。研究表明,m⁶A 修饰参与肿瘤干细胞自我更新与分化,调控肿瘤细胞增殖与侵袭。因此研究 m⁶A 修饰在肿瘤中的作用对于阐明肿瘤机制和临床治疗具有重要意义。本文将详细介绍 RNA m⁶A 修饰在肿瘤中的研究进展,并探讨 RNA m⁶A 修饰在肿瘤治疗中的应用前景。

1 m⁶A 修饰的检测方法

表观转录组学领域近年来的爆发式发展首先得益于技术方法的突破,2012 年发明的 MeRIP seq 技术是把免疫沉淀和高通量测序结合起来用于定位全转录组中 m⁶A 修饰的新方法^[2-3],其原理是通过特异性 m⁶A 抗体富集高甲基化的 mRNA 片段,然后将富集到的 mRNA 片段纯化后构建高通量测序文库进行检测,另外构建一个普通的转录组文库作为对照,将两个测序文库进行生物信息学分析,从而

在全转录组范围内对 m⁶A 修饰情况进行系统分析。当然这种方法存在一定局限性,MeRIP seq 技术只能鉴定 m⁶A 修饰区域(m⁶A peak)100~200 nt 范围,不能鉴定修饰残基的精确位置。最近,Jaffrey 实验室提出一种高分辨率的 m⁶A 检测方法,称为 m⁶A 单核苷酸分辨率交联与免疫沉淀法(MeRIP seq resolution crosslinking immunoprecipitation, MiCLIP)^[7]。其原理是将含有 m⁶A 的 RNA 与 m⁶A 抗体结合后,通过紫外线进行交联,逆转录得到的 cDNA 的特异性位点将发生突变或者截断,最后对这种突变特征进行测序。该方法灵敏度高,分辨率达到单核苷酸水平,并且可能适用于长度较小的 RNA。

2 m⁶A 修饰过程的参与者

肥胖相关基因(fat mass and obesity-associated protein, FTO)此前作为肥胖和糖尿病基因为人熟知。2011 年,何川研究组发现 FTO 存在 RNA 的去甲基化酶功能^[8],由此开启了 m⁶A 研究的热潮。m⁶A 甲基转移酶和去甲基化酶各组分的陆续发现和鉴定,对揭示 m⁶A 甲基化的功能和调控规律非常重要。目前认为 m⁶A 修饰是通过系统酶协同作用的,其丰度受到三类组分的共同调控。

书写器(writer)是甲基转移酶,以 S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)作为甲基供体,介导 RNA 的甲基化修饰过程。RNA 甲基转移酶以复合物形式存在,由两个主要蛋白 METTL3(methyltransferase-like 3)和 METTL14(methyltransferase-like 14)形成异二聚体催化核心并和一个调节亚基 WTAP(Wilms' tumor-associated protein)组成。METTL3 具有活化的甲基转移酶结构域,能够在体外和体内催化 mRNA 发生 m⁶A 修饰,METTL14 的作用是特异性促进 METTL3 识别 RNA 底物。METTL3 和 METTL14 定位在 mRNA 加工相关亚细胞器核散斑体(nuclear speckle)上,其定位依赖于 WTAP。HeLa 和 293T 细胞特异性敲减 WTAP 蛋白后,甲基转移酶复合物的催化活性大幅下降,提示 WTAP、METTL14、METTL3 在体内形成功能复合物,协同催化 RNA 甲基化^[9]。METTL3/METTL14 甲基化酶复合体组分可能还包括 RBM15 及其同源蛋白 RBM15B,它们的作用是帮助复合体与目标蛋白结合,此外还有 VIRMA 和 KIAA1429,但分子机制尚不明确^[10]。

擦除器(eraser)是去甲基化酶,介导 RNA 去甲基化修饰过程。FTO 是第一个被发现的去甲基化酶,它是 α -酮戊二酸依赖的核酸修复 AlkB 家族氧化

酶的人同源蛋白,FTO调节异常与肥胖、大脑畸形和生长迟缓相关,FTO对小鼠肾小球系膜细胞的m⁶A修饰影响其增殖能力,提示m⁶A可能对这些疾病具有重要的调节功能^[11-14]。去甲基化酶Alk B同源蛋白5(alpha-ketoglutarate-dependent dioxygenase homolog 5, ALKBH5)是另一种去甲基化酶,其以RNase A敏感的方式与核散斑体共定位,可直接催化6-甲基化腺苷去除甲基,而与FTO的氧化去甲基化的作用方式不同。ALKBH5敲除雄性小鼠虽然生理生长状态不受影响,但是出现生殖异常,这可能与精子发生相关基因表达改变有关^[15]。

阅读器(reader)是甲基化阅读蛋白,识别RNA甲基化修饰信息,通过与m⁶A修饰区域特异性结合或者改变RNA二级结构使蛋白利于与RNA结合等方式行使功能。阅读器包括YTH结构域家族YTHDF 1~3和YTHDC 1~2、核不均一核糖蛋白家族HNRNPC和HNRNPA2B1以及真核起始因子eIF3等。这些阅读器蛋白的功能丰富多样,通过识别不同的m⁶A修饰位点调控RNA的剪切、翻译、转运、降解等过程。YTHDF 1~3主要在胞浆中特异性识别m⁶A修饰的mRNA,YTHDF1促进标记有m⁶A的转录物有效合成蛋白质^[16],YTHDF2识别m⁶A导致mRNA发生降解^[17],YTHDF3与YTHDF1相互作用,促进两者共同结合的转录本的翻译效率,揭示了YTHDF3和YTHDF1在促进翻译过程中的协同作用^[18]。YTHDC 1~2的作用部位主要在核内,YTHDC1可能与核散斑体RNA加工蛋白相互作用进而影响RNA的剪切过程^[19]。HNRNPA2B1与m⁶A修饰的碱基不能直接结合,它与作为miRNA初级体(pri-miRNA)微处理器复合物组分的DGCR8蛋白相互作用,促进pri-miRNA的加工^[20]。eIF3蛋白能够与mRNA 5'UTR端的m⁶A修饰位点结合促进mRNA翻译,这是一种不依赖于帽子结合因子(cap-independent)的eIF3激活翻译起始的新机制^[21]。

3 m⁶A修饰在肿瘤发生发展中的作用

近年来的研究证明m⁶A与多种肿瘤密切相关。m⁶A修饰酶表达量的变化通过改变肿瘤相关基因mRNA的甲基化水平,进而影响下游致癌基因或抑癌基因的表达,提示研究RNA表观遗传修饰将极大地帮助我们揭示肿瘤的未知奥秘,开辟肿瘤治疗的新途径。

3.1 m⁶A修饰与急性髓细胞性白血病(acute myelocytic leukemia, AML)

AML是一种常见的血液恶性肿瘤,约占急性白

血病的70%。何川和陈建军课题组发现FTO作为m⁶A去甲基化酶是AML的致癌基因。研究表明FTO的表达在多种核型的AML中异常升高,通过降低抑癌基因ASB2和RARA的mRNA m⁶A修饰水平抑制ASB2和RARA的表达,进而促进AML发展。此外FTO还可以抑制全反式维甲酸(all-trans-retinoic acid, ATRA)介导的AML细胞分化,降低ATRA的治疗效果^[22]。METTL14在正常造血干/祖细胞(hematopoietic stem progenitor cell, HSPC)以及携带有t(11q23)、t(15;17)或者t(8;21)的AML细胞中有较高的表达水平,其表达量随着髓系分化过程下降。沉默METTL14能够促进正常的HSPC和AML细胞的终末髓系分化,并且抑制AML细胞的存活和增殖。METTL14在AML以及白血病干/起始细胞(leukemia stem/initiation cell, LSC/LIC)的发展以及维持过程中发挥重要作用。METTL14参与正常和恶性造血的作用是通过SPI1-METTL14-MYB/MYC信号轴调控的m⁶A依赖的髓系分化抑制以及促进HSPC和LSC/LIC的自我更新来实现的^[23]。METTL3亦参与正常细胞和白血病细胞的髓系分化,敲减METTL3蛋白诱导AML细胞分化和凋亡,延缓AML细胞移植受体小鼠的白血病进程^[24]。此外,Barbieri等^[25]揭示了METTL3作用的新机制,即METTL3能结合到基因的启动子上,调节下游致癌基因SP1、SP2转录本蛋白编码序列的甲基化水平调控翻译效率,提示特异性抑制METTL3表达可以阻碍AML细胞必需的蛋白质合成而不影响正常细胞功能。有研究表明30%的AML患者存在WTAP表达量升高,并且与FLT3-ITD和NPM1突变相关。WTAP缺失的AML细胞增殖和存活受到抑制,具体机制尚未阐明^[26]。

3.2 m⁶A修饰与胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)

肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)是肿瘤组织中一群数量极其稀少、但具有极强致瘤能力的细胞,它们的重要特征是通过自我更新和无限增殖维持着肿瘤细胞群的生命力,CSC被认为是临床上放疗耐药和肿瘤复发的关键因素。GBM是一种恶性程度极高的脑瘤,大部分患者进展迅速,预后差,并表现出一定的放疗耐受性。研究表明m⁶A修饰参与调控胶质母细胞瘤干细胞(glioblastoma stem-like cell, GSC)的自我更新和肿瘤分化。RNA去甲基化酶ALKBH5在GSC中高表达,与胶质瘤不良预后有关,过表达ALKBH5促进GSC自我更新和增殖。对比sh-ALKBH5和sh-control细胞系的芯片及MeRIP-seq实验的数据,发现FOXM1是ALKBH5的

主要靶基因, ALKBH5 靶向 FOXM1 的作用依赖于 FOXM1 的反义非编码 RNA (FOXM1-AS), 证明了 lnc-RNA 参与 mRNA 的 m⁶A 修饰^[27]。Cui 等^[28]发现过表达 METTL3 蛋白或者敲减 FTO 后抑制 GSC 自我更新和增殖以及促进 GSC 分化。反之, 敲减 METTL3 或 METTL14 蛋白诱导 GSC 癌基因 ADAM19、EPA3 和 KLF4 mRNA 的表达, 促进 GSC 的生长和自我更新。体内实验证明, 敲减 FTO 蛋白抑制肿瘤生长和延长 GSC 成瘤小鼠的寿命。另一项研究的结论则相反, 认为 METTL3 促进 GBM 进展、GSC 干性维持并与 GBM 放疗抵抗有关, METTL3 通过 m⁶A 修饰提高靶基因 SOX2 mRNA 的稳定性^[29]。综上所述, m⁶A 修饰异常通过多种机制促进 GBM 的发生和进展。

3.3 m⁶A 修饰与乳腺癌

缺氧诱导微环境下 ALKBH5 以低氧诱导因子 (hypoxia inducible factor, HIF) 依赖的方式上调表达, 特异性地降低多能性因子 NANOG mRNA 的 m⁶A 修饰水平, 从而提高了 NANOG mRNA 的稳定性和表达水平, 促进乳腺癌干细胞 (breast cancer stem cell, BCSC) 的干性维持, 促进乳腺癌转移^[30]。进一步研究发现, 缺氧条件下 BCSC 分化程度受 NANOG 和另一个多能性因子 KLF4 mRNA 的低 m⁶A 修饰水平的抑制, NANOG 和 KLF4 的高表达依赖于 ALKBH5 和 ZNF217 调控^[31]。另一项研究发现, 乳腺癌组织中乙肝病毒 X 蛋白结合蛋白 (hepatitis B X-interacting protein, HBXIP) 的过表达降低了 METTL3 的抑制因子 miRNA let-7g 的表达水平, 因此 METTL3 的表达上调促进 BCSC 增殖。值得一提的是, METTL3 通过提高 HBXIP 的 m⁶A 甲基化水平促进其表达上调, 从而形成 HBXIP/let-7g/METTL3/HBXIP 的正反馈回路加速乳腺癌细胞增殖^[32]。以上研究为乳腺癌的治疗提供了新思路。

3.4 m⁶A 修饰与肺癌

促癌基因异常活化是导致肿瘤发生的重要因素。METTL3 在肺癌中表达显著上调, 过表达 METTL3 促进肺癌细胞的生长、存活和侵袭。MeRIP-seq 检测发现 A549 细胞存在 9 298 个 m⁶A 富集区域 (peak), 且这些修饰主要分布在终止密码子附近。值得注意的是, 进一步机制研究发现 METTL3 可能作为一个细胞质的 m⁶A 阅读器, 促进 EGFR、TAZ、DNMT3A 等癌基因的翻译, 该作用不依赖于 METTL3 的甲基转移酶活性和阅读器蛋白 (YTHDF1 和 YTHDF2) 的识别功能, 而是 METTL3 通过招募翻译起始元件 eIF3b, 形成 mRNA-核糖核蛋白复合体以

促进癌基因的翻译^[33]。Du 等^[34]发现非小细胞肺癌 (non-small-cell lung carcinoma, NSCLC) 中 METTL3 蛋白的表达量显著高于癌旁组织, 并且 METTL3 的表达量与 miR-33a 呈负相关, 提示 miR-33a 可能是 METTL3 的负调控因子。miR-33a 与 METTL3 mRNA 的 3'非编码区直接结合, 抑制 METTL3 的表达, 从而抑制 NSCLC 细胞的增殖, 提示 METTL3 有望作为肺癌治疗的新靶点。

目前大部分研究集中在修饰酶的功能和 m⁶A 修饰异常与疾病的关联上, 对于修饰酶本身的调控研究很少。余健秀课题组首次揭示 SUMO 化修饰调控 METTL3 催化功能的新机制, SUMO 化修饰可显著抑制 METTL3 甲基转移酶的活性, 促进癌细胞的克隆形成及肿瘤发生^[35]。本研究使我们相信 RNA 甲基化的关键蛋白及其复合物必然存在其他蛋白质翻译后修饰, 如泛素化、乙酰化等, 这些修饰蛋白如何自我调控需要进一步研究。

3.5 m⁶A 修饰与肝癌

一些报道指出肝癌的发生发展与 m⁶A 修饰水平异常有关。孙树汉课题组报道了 METTL14 是肝癌的抑癌基因, METTL14 和 m⁶A 甲基化修饰水平在肝癌中特别是转移性肝癌中显著降低。METTL14 低表达与患者低生存率有关, 并参与肝癌的侵袭和转移。其机制是, METTL14 与 DGCR8 蛋白相互作用, 以 m⁶A 依赖的方式促进 miR-126 的加工, 而后者负调控 METTL14 的表达促进肝癌的发生和转移^[36]。Chen 等^[37]发现 METTL3 在肝癌中表达上调, 机制研究揭示 METTL3 通过 m⁶A 修饰 SOCS2 蛋白抑制其表达, 该修饰作用依赖于 m⁶A 阅读器蛋白 YTHDF2 的协同作用。该研究证明 METTL14 在肝癌中表达升高, 是肝癌的促癌基因, 促进肝癌细胞的增殖和侵袭。不同课题组得到的结果不一致, 说明 METTL14 的作用需要在不同来源的肝癌组织和细胞系中进行进一步的验证。Yang 等^[38]发现 YTHDF2 在肝癌中表达量显著升高, 其表达水平与 miR-145 表达呈负相关。荧光素酶报告基因实验发现 miR-145 作用于 mRNA 3'非编码区下调 YTHDF2 的表达从而抑制肝癌细胞增殖。

4 m⁶A 修饰与肿瘤治疗

已知 m⁶A 修饰调控紊乱在肿瘤发生发展中扮演重要角色, RNA 甲基化和去甲基化修饰是一个可逆的过程, 并且结构高度保守, 说明改变 RNA 表观遗传学修饰有可能为肿瘤精准治疗带来新的希望。例如促进或抑制 m⁶A 修饰过程的某些关键酶将改变

细胞内的 m⁶A 修饰水平,以期干预肿瘤进程。Huang 等^[39]发现非甾体抗炎药甲氯芬那酸(meclofenamic acid, MA)高选择性地抑制 FTO 去甲基化功能,该研究实现了 RNA 去甲基化的选择性化学干预。MA 的乙酯衍生物 MA2 已经被美国食品药品监督管理局(FDA)批准应用于临床治疗,并在胶质瘤模型中表现出较好疗效。MA2 治疗能抑制 GBM 进展以及延长 GSC 移植小鼠的生存期^[27]。其他已经报道的 FTO 抑制剂还有 Rhein、NCDPCB、CHTB、IOX3 等。异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, IDH)在 GBM 和 ALL 中存在很高的突变率,它的突变使 α -KG 转变为羟基戊二酸(R-2-hydroxyglutarate, R-2HG),长期以来, R-2HG 被认为是促癌代谢物。但是临床数据表明,具有 IDH 突变的 GBM 患者的生存期比 IDH 野生型患者更长,并且在 ALL 患者中也观察到类似的现象。Su 等^[40]研究表明 R-2HG 在 GBM 和 ALL 中发挥抗肿瘤作用。R-2HG 抑制 27 种不含 IDH 突变的 ALL 细胞的增殖和活力。给荷瘤小鼠注射 R-2HG 以及利用转基因的方法导入可诱导表达的 IDH1 突变基因,发现对于注射 R-2HG 敏感细胞系的小鼠,两者均能显著延长它们的生存期。FTO 的表达量与细胞对 R-2HG 的敏感度呈正比,其机制是通过 FTO/m⁶A/MYC/CEBPA/FTO 正反馈回路。研究发现单独使用 FTO 抑制剂或 R-2HG,以及它们分别与其他化疗药物联合使用,对 IDH 突变型和野生型白血病的治疗都有更好的疗效。

综上所述,在表观遗传学治疗肿瘤研究领域, DNA 甲基转移酶抑制剂和组蛋白去乙酰化酶抑制剂已应用于临床治疗,但有关调控 RNA 甲基化修饰的小分子药物的研究刚刚起步,目前仅报道了若干个 FTO 等修饰酶的选择性抑制剂,治疗效果需要更多临床研究验证。在未来需要研发更多靶向 m⁶A 调控蛋白的小分子抑制剂,并将这些抑制剂和其他治疗药物联合应用,期望实现最优的治疗效果。随着 RNA 甲基化研究的不断深入,相信 m⁶A 靶向小分子药物在肿瘤新药研究中将发挥重要价值。

5 展 望

通过绘制转录组范围的 mRNA 修饰图,证明 mRNA 中的 m⁶A 修饰在广谱基因表达中发挥着基础性调节作用,并且多个课题组相继鉴定出 m⁶A 修饰的关键蛋白,标志着表观转录组学取得重大突破。已有大量研究表明 RNA m⁶A 修饰在肿瘤发生发展中发挥重要作用,与白血病、胶质瘤、乳腺癌、肺癌

和肝癌等多种肿瘤密切相关。目前研究主要围绕 RNA 修饰的关键酶的功能展开,但还有很多问题需要解决,例如是否存在其他修饰酶,进一步揭示 m⁶A 与多种肿瘤的相关性, m⁶A 参与肿瘤的具体分子机制是什么,此外 m⁶A 修饰酶的表达也受到上游信号的调控,因此这是一个复杂的动态体系。再者, RNA 甲基化检测技术的不断改进,开发低成本、高灵敏度的新方法十分必要。

值得注意的是,鉴于 RNA 甲基化修饰的复杂性以及肿瘤异质性特点, m⁶A 修饰在不同肿瘤甚至同一种肿瘤中的作用都是不同的。例如, METTL3 在肺癌中是致癌基因,在胶质瘤中却是抑癌基因。同样地, ALKBH5 促进胶质瘤发展,却抑制白血病生成。甚至,本应发挥相反作用的甲基化酶 METTL14 和去甲基化酶 FTO 在 AML 中均表达量升高,推动 AML 进展。这些看似矛盾的现象正说明 RNA 表观遗传修饰系统是非常复杂的,因为 m⁶A 修饰酶既可以识别抑癌基因也可以识别促癌基因,在不同肿瘤中,同一修饰酶的作用可能完全不同,不同的修饰酶也许会有相同的抑癌或致癌作用。总体来说, m⁶A 修饰对于肿瘤来说是把“双刃剑”, m⁶A 对靶基因的过度修饰导致 RNA 剪切和翻译水平的改变,加速肿瘤生成,与之相反,某些肿瘤基因位点的 RNA 甲基化缺失也会导致肿瘤发生。因此,需要进一步研究在不同肿瘤以及肿瘤发展不同阶段中,参与 m⁶A 修饰过程的蛋白及其调控肿瘤的机制。此外,靶向 m⁶A 治疗必须充分评估 m⁶A 修饰调节功能的两面性,以获得一个相对平衡的状态。值得注意的是,在某些条件下, m⁶A 甲基化酶作为调控因子行使功能并不依赖于其甲基转移酶的活性^[33]。综上所述,随着对 m⁶A 修饰功能研究的进一步深入,以及 m⁶A 调控蛋白靶向药物的研发, RNA 甲基化修饰研究将在肿瘤早期诊断和肿瘤精准治疗中具有良好的应用前景。

[参考文献]

- [1] DESROSIERS R, FRIDERICI K, ROTTMAN F. Identification of methylated nucleosides in messenger RNA from Novikoff hepatoma cells [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1974, 71(10):3971-3975
- [2] MEYER K D, SALETTORE Y, ZUMBO P, et al. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons [J]. Cell, 2012, 149(7):1635-1646
- [3] DOMINISSINI D, MOSHITCH - MOSHKOVITZ S,

- SCHWARTZ S, et al. Topology of the human and mouse m6A RNA methylomes revealed by m6A-seq[J]. *Nature*, 2012, 485(7397):201-206
- [4] KE S, ALEMU EA, MERTENS C, et al. A majority of m6A residues are in the last exons, allowing the potential for 3' UTR regulation [J]. *Genes Dev*, 2015, 29(19):2037-2053
- [5] ROIGNANT J Y, SOLLER M. m6A in mRNA: an ancient mechanism for fine-tuning gene expression [J]. *Trends Genet*, 2017, 33(6):380-390
- [6] DENG X, SU R, FENG X, et al. Role of N⁶-methyladenosine modification in cancer [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2018, 48:1-7
- [7] LINDER B, GROZHIK A V, OLARERIN-GEORGE A O, et al. Single-nucleotide-resolution mapping of m⁶A and m⁶Am throughout the transcriptome [J]. *Nat Methods*, 2015, 12(8):767-772
- [8] JIA G, FU Y, ZHAO X, et al. N6-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO[J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 7(12):885-887
- [9] LIU J, YUE Y, HAN D, et al. A METTL3-METTL14 complex mediates mammalian nuclear RNA N6-adenosine methylation[J]. *Nat Chem Biol*, 2014, 10(2):93-95
- [10] EAR J, LIN S. RNA methylation regulates hematopoietic stem and progenitor cell development[J]. *J Genet Genomics*, 2017, 44(10):473-4
- [11] FU Y, JIA G, PANG X, et al. FTO-mediated formation of N6-hydroxymethyladenosine and N6-formyladenosine in mammalian RNA[J]. *Nat Commun*, 2013, 4:1798
- [12] DINA C, MEYRE D, GALLINA S, et al. Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity [J]. *Nat Genet*, 2007, 39(6):724-726
- [13] BOISSEL S, REISH O, PROULX K, et al. Loss-of-function mutation in the dioxygenase-encoding FTO gene causes severe growth retardation and multiple malformations[J]. *Am J Hum Genet*, 2009, 85(1):106-111
- [14] 陈天宇, 陈欣, 张恒璐, 等. FTO对小鼠肾小球系膜细胞 m6A 修饰及增殖能力的影响[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2019, 39(6):851-855
- [15] ZHENG G, DAHL J A, NIU Y, et al. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility[J]. *Mol Cell*, 2013, 49(1):18-29
- [16] WANG X, ZHAO B S, ROUNDTREE I A, et al. N(6)-methyladenosine modulates messenger RNA translation efficiency[J]. *Cell*, 2015, 161(6):1388-1399
- [17] WANG X, LU Z, GOMEZ A, et al. N6-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability [J]. *Nature*, 2014, 505(7481):117-120
- [18] LI A, CHEN Y S, PING X L, et al. Cytoplasmic m⁶A reader YTHDF3 promotes mRNA translation [J]. *Cell Res*, 2017, 27(3):444-447
- [19] XIAO W, ADHIKARI S, DAHAL U, et al. Nuclear m⁶A reader YTHDC1 regulates mRNA splicing[J]. *Mol Cell*, 2016, 61(4):507-519
- [20] ALARCÓN C R, GOODARZI H, LEE H, et al. HNRNPA2B1 is a mediator of m(6)A-dependent nuclear RNA processing events[J]. *Cell*, 2015, 162(6):1299-1308
- [21] MEYER K D, PATIL D P, ZHOU J, et al. 5'UTR m(6)A promotes cap-independent translation[J]. *Cell*, 2015, 163(4):999-1010
- [22] LI Z, WENG H, SU R, et al. FTO plays an oncogenic role in acute myeloid leukemia as a N6-methyladenosine RNA demethylase[J]. *Cancer Cell*, 2017, 31(1):127-141
- [23] WENG H Y, HUANG H L, WU H Z, et al. METTL14 inhibits hematopoietic stem/progenitor differentiation and promotes leukemogenesis via mRNA m(6)A modification [J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(2):191
- [24] VU L P, PICKERING B F, CHENG Y, et al. The N6-methyladenosine (m⁶A)-forming enzyme METTL3 controls myeloid differentiation of normal hematopoietic and leukemia cells[J]. *Nat Med*, 2017, 23(11):1369-1376
- [25] BARBIERI I, TZELEPIS K, PANDOLFINI L, et al. Promoter-bound METTL3 maintains myeloid leukaemia by m6A-dependent translation control[J]. *Nature*, 2017, 552(7683):126-131
- [26] BANSAL H, YIHUA Q, IYER S P, et al. WTAP is a novel oncogenic protein in acute myeloid leukemia[J]. *Leukemia*, 2014, 28(5):1171-1174
- [27] ZHANG S C, ZHAO B S, ZHOU A D, et al. m(6)A demethylase ALKBH5 maintains tumorigenicity of glioblastoma stem-like cells by sustaining FOXM1 expression and cell proliferation program [J]. *Cancer Cell*, 2017, 31(4):591
- [28] CUI Q, SHI H, YE P, et al. m6A RNA methylation regulates the self-renewal and tumorigenesis of glioblastoma stem cells[J]. *Cell Rep*, 2017, 18(11):2622-2634
- [29] Visvanathan A, Patil V, Arora A, et al. Essential role of METTL3-mediated m⁶A modification in glioma stem-like cells maintenance and radioresistance [J]. *Oncogene*, 2018, 37(4):522-533
- [30] 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(6)A-demethylation of NANOG mRNA [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(14):E2047-E2056
- [31] ZHANG C, ZHI W I, LU H, et al. Hypoxia-inducible factors regulate pluripotency factor expression by ZNF217- and ALKBH5-mediated modulation of RNA methylation

- in breast cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (40) : 64527-64542
- [32] CAI X, WANG X, CAO C, et al. HBXIP-elevated methyltransferase METTL3 promotes the progression of breast cancer via inhibiting tumor suppressor let-7g [J]. *Cancer Lett*, 2018, 415: 11-19
- [33] LIN S, CHOE J, DU P, et al. The m(6)A methyltransferase METTL3 promotes translation in human cancer cells [J]. *Mol Cell*, 2016, 62(3) : 335-345
- [34] DU M J, ZHANG Y J, MAO Y S, et al. MiR-33a suppresses proliferation of NSCLC cells via targeting METTL3 mRNA [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 482(4) : 582-589
- [35] DU Y, HOU G, ZHANG H, et al. SUMOylation of the m⁶A-RNA methyltransferase METTL3 modulates its function [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(10) : 5195-5208
- [36] MA J Z, YANG F, ZHOU C C, et al. METTL14 suppresses the metastatic potential of hepatocellular carcinoma by modulating N6-methyladenosine-dependent primary microRNA processing [J]. *Hepatology*, 2017, 65 (2) : 529-543
- [37] CHEN M N, WEI L, LAW C T, et al. RNA N6-methyladenosine methyltransferase-like 3 promotes liver cancer progression through YTHDF2-dependent posttranscriptional silencing of SOCS2 [J]. *Hepatology*, 2018, 67(6) : 2254-2270
- [38] YANG Z, LI J, FENG G, et al. MicroRNA-145 modulates N6-methyladenosine levels by targeting the 3'-untranslated mRNA region of the N6-methyladenosine binding YTH domain family 2 protein [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(9) : 3614-3623
- [39] HUANG Y, YAN J, LI Q, et al. Meclofenamic acid selectively inhibits FTO demethylation of m⁶A over ALKBH5 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(1) : 373-384
- [40] SU R, DONG L, LI C, et al. R-2HG exhibits anti-tumor activity by targeting FTO/m6A/MYC/CEBPA signaling [J]. *Cell*, 2018, 172(1/2) : 90-105
- [收稿日期] 2018-12-12

(上接第442页)

- for cesarean delivery, when compared to crystalloid preload: a meta-analysis [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 3462529
- [8] CENKOWSKI M J, MAGUIRE D, KOWALSKI S, et al. Hemodynamic effects of low-dose bupivacaine spinal anesthesia for cesarean section: A randomized controlled trial [J]. *Saudi J Anaesth*, 2019, 13(3) : 208-214
- [9] 茆庆洪, 宋娟. 剖宫产腰麻痛觉阻滞平面上界的相关因素分析 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2009, 29(9) : 1293-1295
- [10] BILGI K, KAMATH S, SULTANA N. Bezold Jarisch reflex and acute cardiovascular collapse during craniotomy [J]. *Indian J Anaesth*, 2017, 61(2) : 176-177
- [11] LEE D Y, TRINH T, ROY S K. Torsades de pointes after ondansetron infusion in 2 patients [J]. *Tex Heart Inst J*, 2017, 44(5) : 366-369
- [12] LEVY R J. Serotonin transporter mechanisms and cardiac disease [J]. *Circulation*, 2006, 113(1) : 2-4
- [13] WHALEN E J, JOHNSON A K, LEWIS S J. Functional evidence for the rapid desensitization of 5-HT(3) receptors on vagal afferents mediating the Bezold-Jarisch reflex [J]. *Brain Res*, 2000, 873(2) : 302-305
- [14] SABE S A, FENG J, LIU Y, et al. Decreased contractile response of peripheral arterioles to serotonin after CPB in patients with diabetes [J]. *Surgery*, 2018, 164(2) : 288-293
- [15] GOLPARVAR M, SAGHAEI M, SAADATI M A, et al. Effect of ondansetron on prevention of post-induction hypotension in elderly patients undergoing general anesthesia: a randomized, double-blind placebo-controlled clinical trial [J]. *Saudi J Anaesth*, 2015, 9(4) : 365-369
- [16] TUBOG T D, KANE T D, PUGH M A. Effects of ondansetron on attenuating spinal anesthesia-induced hypotension and bradycardia in obstetric and nonobstetric subjects: a systematic review and meta-analysis [J]. *AANA J*, 2017, 85(2) : 113-122
- [17] EL KHOULY N I, MELIGY A M. Randomized controlled trial comparing ondansetron and placebo for the reduction of spinal anesthesia-induced hypotension during elective cesarean delivery in Egypt [J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2016, 135(2) : 205-209
- [收稿日期] 2019-08-21