

m⁶A RNA 甲基化修饰参与干细胞多向分化调控的研究进展



扫码阅读电子版

张旭 秦文 刘佳 金作林

军事口腔医学国家重点实验室, 国家口腔疾病临床医学研究中心, 陕西省口腔疾病临床医学研究中心, 第四军医大学口腔医院正畸科, 西安 710032

通信作者: 金作林, Email: zuolinj@163.com



金作林

【摘要】 m⁶A 修饰是 RNA 中普遍存在的甲基化修饰方式之一, 属于转录后水平的表观遗传调控。m⁶A RNA 甲基化修饰包括编写、擦除和读取过程, 通过参与干细胞多向分化, 从而影响多种生物学功能。近年来研究发现, 无论在生理或者病理状态下, m⁶A 修饰均可以通过调控干细胞的自我更新和分化, 从而改变干细胞的复制能力

和分化方向, 进而影响组织成熟过程和疾病的发生与进展。本文对 m⁶A 在 RNA 中的修饰机制进行阐述, 重点对 m⁶A 修饰参与几种干细胞的自我更新和多向分化调控展开论述。

【关键词】 m⁶A 修饰; 干细胞; RNA 甲基化

基金项目: 国家自然科学基金(81701002)

引用著录格式: 张旭, 秦文, 刘佳, 等. m⁶A RNA 甲基化修饰参与干细胞多向分化调控的研究进展[J/CD]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2020, 14(4): 201-206.

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2020.04.001

Research progress of m⁶A RNA methylation modification involved in the regulation of stem cell multidirectional differentiation

Zhang Xu, Qin Wen, Liu Jia, Jin Zuolin

State Key Laboratory of Military Stomatology & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Shaanxi Clinical Research Center for Oral Diseases, Department of Orthodontics, School of Stomatology, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

Corresponding author: Jin Zuolin, Email: zuolinj@163.com

【Abstract】 m⁶A modification is one of the most pervasive methylation modifications in RNA, which belongs to the epigenetic regulation at the post-transcriptional level. m⁶A RNA methylation modification includes the process of writing, erasing and reading, which affects a variety of biological functions by participating in the multidirectional differentiation

of stem cells. In recent years, it has been found that whether in physiological or pathological state, m⁶A modification can change the replication ability and differentiation direction of stem cells by regulating the self-renewal and differentiation of stem cells, and subsequently affect the process of tissue maturation and disease progression. This article described the modification mechanism of m⁶A in RNA, and focused on the role of m⁶A modification in the regulation of self-renewal and multidirectional differentiation of several kinds of stem cells.

【Key words】 m⁶A modification; Stem cells; RNA methylation

Fund program: National Natural Science Foundation of China(81701002)

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2020.04.001

RNA 甲基化修饰是一类表观遗传学修饰方式, 影响转录后水平的基因表达。不同种类的 RNA, 如信使核糖核酸(messenger RNA, mRNA)^[1]、长链非编码 RNA(long noncoding RNA, lncRNA)^[2]、微小 RNA(microRNA, miRNA)^[3]、核糖体 RNA(ribosomal RNA, rRNA)^[4]等都可以发生甲基化修饰, 甲基化修饰的方式包括 N¹-甲基腺嘌呤(N¹-methyladenosine, m¹A)修饰、N⁶-甲基腺嘌呤(m⁶A)修饰、N⁵-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine modification, m⁵C)修饰、N⁷-甲基鸟嘌呤(N⁷-methylguanine modification, m⁷G)修饰、2-O-甲基化(N⁶, 2'-O-dimethyladenosine, m⁶Am)修饰等^[5]。其中, m⁶A 修饰在大多数真核生物 mRNA 和 lncRNA 中最为普遍。m⁶A 修饰于 20 世纪 70 年代发现, 近年来基于免疫沉淀和高通量测序方面的最新进展, 学者们揭示了 m⁶A 修饰在细胞功能中的作用^[6-7]。干细胞的自我更新功能和细胞类型转变的分化功能, 都需要精确而复杂的调控。近年来研究表明, m⁶A 修饰对多种干细胞的功能均有相应的调控作用^[8-10]。本文就 m⁶A RNA 甲基化修饰的机制和参与干细胞更

新与分化的调控进行深入探讨。

一、m⁶A RNA 甲基化修饰的机制与作用

RNA 中的 m⁶A 修饰是双向可逆的过程, Writers (编写器)、Erasers (擦除器) 和 Readers (读取器) 的动态相互作用决定了 m⁶A 修饰的效应。其中, m⁶A mRNA 甲基化修饰过程参考图 1^[11]。

1. m⁶A RNA 甲基化修饰的编写过程: m⁶A RNA 甲基化修饰的“编写器”是一类甲基转移酶, 可以分为两类亚复合物: m⁶A-METTL 复合物(m⁶A-METTL complex, MAC), 包括 METTL3 和 METTL14^[12]; m⁶A-METTL 相关复合物(m⁶A-METTL-associated complex, MACOM), 包括肾母细胞瘤 1 关联蛋白(Wilms tumor 1 associated protein, WTAP)、CCCH 型锌指结构域蛋白 13(zinc finger CCCH domain-containing protein 13, ZC3H13)、RNA 结合基序蛋白 15/15B(RNA binding motif protein 15/15B, RBM15/15B)、病毒样 m⁶A 甲基转移酶相关蛋白(vir like m⁶A methyltransferase associated, VIRMA)等^[11]。绝大多数 mRNA 和胞核 lncRNA 由 METTL3/METTL14 异质二聚体完成 m⁶A 修饰的编写作用。简言之, 该反应需要将 1 个甲基从 S-腺苷甲硫氨酸分子转移到腺苷碱基的第 6 个氮上, METTL3 作为催化亚基, 与 S-腺苷甲硫氨酸甲基供体结合^[13-14]。METTL14 本身不起催化作用, 但它对于维持甲基转移酶的活性、提供结构稳定性和变构增强 METTL3 的活性必不可少^[15]。同时 METTL3 和 METTL14 之间的相互作用使 MAC 形成空腔, 结合底物 RNA。MAC 的目标靶点位于 m⁶A 基序 RRACH 中, 但这种序列只有一小部分腺苷实际被修饰, 其余则由 m⁶A 相关复合物进行调控。以 mRNA 为例, 有研究发现, 通过与 m⁶A 相关复合物 MACOM 的作用, MAC 可以被选择性的招募到特定的 RNA 底物上^[14]。WTAP 是甲基转移酶的第 3 个亚

基, 它在反应催化和底物选择中不发挥作用, 但对于 MAC 正确定位必不可少^[16]。类似于 WTAP, ZC3H13 在 MAC 核定位中也发挥作用, 有研究证明, 当 WTAP 或 ZC3H13 缺失时, 会导致 m⁶A 修饰大幅减少。VIRMA 可以将 MAC 招募到终止密码子附近 3' UTR 内的位点, 而 RBM15/15B 使 MAC 在 5' UTR 中富集^[17]。此外, rRNA 与 mRNA 的 m⁶A 编写过程亦有不同, 如在 28S rRNA 中, 茎环结构 A4220 位点的 m⁶A 修饰由 CCHC 型锌指结构域蛋白 4(zinc finger CCHC domain containing 4, ZCCHC4) 引入^[18]。

2. m⁶A RNA 甲基化修饰的擦除过程: 清除 m⁶A RNA 甲基化修饰的“擦除器”是两种 AlkB 家族的去甲基酶: ALKBH5 和 FTO (ALKBH9)。ALKBH5 和 FTO 都可以通过直接拮抗 METTL3, 达到清除 m⁶A 修饰的作用^[19]。“擦除器”首先通过 α -酮戊二酸(α -ketoglutarate, α KG) 结构域识别发生 m⁶A 修饰的 RNA, 然后通过 Fe(II) 和 α KG 辅助因子与修饰位点结合并进行清除^[20]。ALKBH5 蛋白定位于核小点, 可以作用于前体 mRNA^[21], 而 FTO 穿梭于细胞核和细胞质之间, 可以同时影响前体和成熟的 mRNA^[22]。在大多数转录过程中, m⁶A 修饰“擦除器”的作用必不可少, 然而缺乏“擦除器”对机体功能的影响还有待明确。如产生 ALKBH5 的基因在被敲除后除导致小鼠精子发生缺陷外, 对小鼠的其余健康状态并无影响^[23]。因此, 学者们推测 ALKBH5 只针对部分 m⁶A 位点去甲基化, 但目前还缺乏证据说明 ALKBH5 如何实现选择性^[24]。与 ALKBH5 不同, FTO 相关基因敲除对小鼠肥胖和神经系统功能存在密切影响。但最近发现, FTO 同时为 m⁶A 修饰和 m⁶Am 修饰的去甲基化酶, 虽然甲基化 RNA 免疫沉淀测序(MeRIP-seq)在一定程度上有 m⁶A 抗体特异性, 但目前还很难区分 m⁶A 和 m⁶Am^[25], 需要进一步研究 FTO

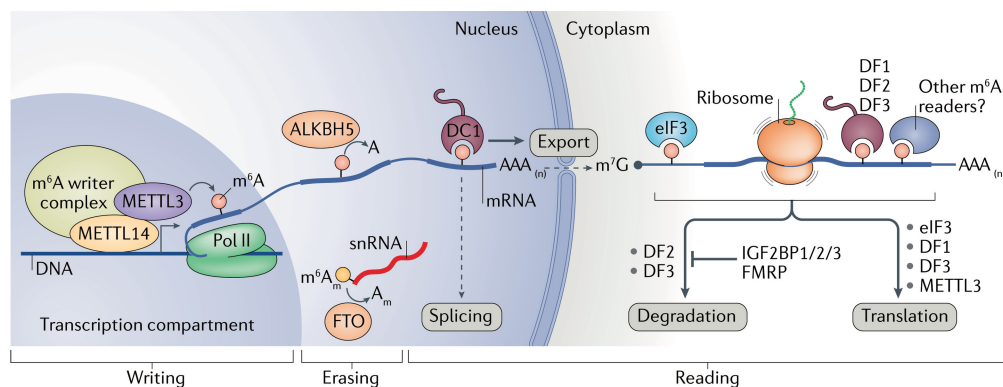


图1 m⁶A mRNA 修饰的编写、擦除与读取过程^[11]

对基因表达的影响中有多少比例来自于m⁶A修饰。

3. m⁶A RNA 甲基化修饰的读取过程:m⁶A RNA 甲基化修饰通过“读取器”的作用,影响RNA二级结构、与蛋白质的结合或与其他RNA的结合,进而对翻译、加工、输出或降解过程产生影响。最典型的m⁶A修饰“读取器”是含有YTH结构域的蛋白质家族成员YTHDF1-3、YTHDC1和YTHDC2,然而目前还不清楚每个YTH蛋白是否通过识别特有的基序来作用于某个特定的mRNA^[26]。在细胞核中,生理状态下YTH蛋白家族中只有YTHDC1发生富集,YTHDC1可以直接与剪接因子*SRSF3*和*SRFS10*相互作用,调节外显子增加;而在细胞质中其他YTH结构蛋白含量丰富,因此有学者推测m⁶A修饰的RNA所处位置与“读取器”是否发生作用相关联^[27]。5'UTR端的m⁶A修饰可以招募翻译起始因子(eukaryotic initiation factor 3, eIF3),而eIF3通过与40s核糖体亚基结合促进非帽子依赖的翻译途径,并影响翻译起始位点的选择^[28]。有研究指出,在热休克情况下,细胞质中的YTHDF2重新定位到细胞核中,特异性地保护5'UTR端m⁶A位点不被FTO去甲基化,同时在3'UTR端,YTHDF1通过招募eIF3促进翻译,YTHDF2通过与m⁶A结合促进mRNA降解,有利于分化过程转录本的更新和细胞状态的转变^[29]。YTHDC2还可以识别CDS区域的m⁶A修饰,从而正向调节翻译过程,起到蛋白的延长促进作用^[30]。除此之外,YTHDC2还可以直接与m⁶A修饰的转录本相互作用,对于雄性生殖细胞从有丝分裂到减数分裂的转换起重要作用^[31]。此外,胰岛素样生长因子2的mRNA结合蛋白(recombinant human insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 2, IGF2BP2)也可以读取识别m⁶A,同时可以将m⁶A修饰的mRNA隔离到应激颗粒中实现转录本的衰变。

二、m⁶A RNA 甲基化修饰参与干细胞多向分化调控

通过“编写器”调节m⁶A与RNA结合位点及调控“编写器”自身活性,通过“擦除器”在相应的时机结合RNA发挥作用,通过“读取器”选择相应m⁶A修饰位点产生不同作用,m⁶A修饰得以在一定的区域、一定发育阶段发挥重要作用,对多种干细胞的自我更新与多向分化调控产生显著影响。

1. 胚胎干细胞的m⁶A RNA 甲基化修饰:胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)由早期胚胎或原始性腺中分离,被认为是最有潜力的多能干细胞。

ESC在再生医学、器官移植和药物开发等方面有重要意义,也为研究细胞特性和哺乳动物早期发育提供了强大的模型。m⁶A修饰对于调节ESC的自我更新和多能性有着重要作用^[8]。有研究表明,m⁶A修饰在naive(幼稚态)ESC中起到分子开关的调节因子作用,可以下调多能性因子的表达,促进ESC由幼稚态转变为primed(始发态),保证正确的谱系启动和分化^[32]。而在METTL3敲除的ESC中,其mRNA中m⁶A修饰缺失,虽然ESC仍可存活,然而因不能充分终止幼稚态,ESC会发生异常和限制性的谱系启动,从而导致早期胚胎致死。对猪诱导多能干细胞(porcine induced pluripotent stem cell, piPSC)的研究得出了类似的结论,piPSCs中的Janus激酶2(Janus kinase 2, JAK2)和细胞因子信号转导抑制因子3(suppressor of cytokine signaling-3, SOCS3)在3'UTR都存在m⁶A修饰,JAK2通过JAK2-STAT3(signal transducers and activators of transcription 3, 信号传导及转录激活因子3)途径磷酸化STAT3,上调STAT3-KLF4(Krüppel-like factor 4, Krüppel样因子4)-SOX2(sex determining region Y-box 2, Sry相关HMG盒2)信号轴的表达,维持ESC的多能性,其中JAK2的m⁶A修饰通过YTHDF1识别发挥作用。而SOCS3负向调节JAK2-STAT3途径,其m⁶A修饰通过YTHDF2识别降解,从而抑制ESC的多能性。当METTL3缺失时,JAK2和SOCS3的m⁶A水平降低,抑制YTHDF1介导的JAK2的mRNA翻译,减少YTHDF2依赖的SOCS3 mRNA降解,JAK2和SOCS3表达的改变最终抑制JAK2-STAT3途径,使piPSC自我更新功能减退,触发piPSC的分化^[33]。此外,lncRNA的m⁶A修饰同样可以影响ESC,细胞质中的linc1281发生m⁶A修饰后,可以通过内源竞争RNA(ceRNA)作用,吸附多能性相关的let-7家族相关miRNA,从而抑制let-7/Lin28通路,解除let-7家族miRNA对Lin28 mRNA翻译的抑制,使心肌细胞标志基因表达水平和神经标志物表达水平等表达升高,从而促进mESC的分化^[34]。

2. 骨髓间充质干细胞的m⁶A RNA 甲基化修饰:骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC),是一种多能干细胞,在组织再生、免疫豁免等方面具有多种重要功能。BMSC在体外和体内均能分化为中胚层细胞,如成骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞,在多种退行性疾病的细胞治疗方法中有很高的应用前景。m⁶A修饰主要参与BMSC的分化方向选择。有研究指出,猪骨髓间充质干细胞

(porcine BMSC, pBMSC) 中的 Janus 激酶 1 (Janus kinase 1, JAK1) 通过促进信号传导及转录激活因子 5 (signal transducers and activators of transcription 5, STAT5) 的表达和提高 STAT5 的活性, 增强脂肪生成标志物 CCAAT/增强子结合蛋白 β (CCAAT/enhancer binding protein β , C/EBP β) 启动子的活性, 介导 JAK1 调控的脂肪基因表达, 从而共同影响脂肪形成过程^[9]。而 METTL3 的表达会促进 JAK1 mRNA 的 m⁶A 修饰, 在被 YTHDF2 识别后促进 JAK1 mRNA 的降解, 抑制了 JAK1/STAT5/C/EBP β 信号通路, 进而抑制 pBMSC 特异性终末分化为脂肪细胞, 反而促进其成骨分化的进行。还有研究指出, BMSC 中的甲状旁腺激素受体-1 (parathyroid hormone receptor, Pth1r) 的 mRNA 发生 m⁶A 修饰后, 甲状旁腺激素 (PTH) 才能在 PTH/Pth1r 的作用下发挥功能, 激活下游的 cAMP 依赖蛋白激酶 A (cAMP-dependent protein kinase, PKA)、细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 等信号通路, 促进 BMSC 成骨, Pth1r-mRNA 缺乏 m⁶A 修饰时, 骨髓脂肪组织沉积, 促进 BMSC 的成脂分化^[10]。有趣的是, m⁶A 修饰还可以发生反向作用, 有研究发现, 人经血来源间充质干细胞 (menstrual blood-derived mesenchymal stem cell, MenSC) 中髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MYD88) mRNA 发生 m⁶A 修饰后, 可以激活下游的核转录因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路, 抑制成骨向分化, 而 m⁶A 修饰被 ALKBH5 擦除后, 其成骨向分化恢复正常^[35]。除 mRNA 外, miRNA 中的 m⁶A 修饰也对 BMSC 分化产生影响。miR-320 前体 (pre-miR-320) 可以发生 METTL3 介导的 m⁶A 修饰, 并被 YTHDF2 识别并降解, 减少 miR-320 在 BMSC 中的表达, 可以使 miR-320 抑制 runt 相关转录因子 2 (runt-related transcription factor 2, RUNX2) 表达的作用被解除, 从而上调 RUNX2 在细胞中表达水平, 促进了 BMSC 成骨分化。同时, RUNX2 的 mRNA 上也可以直接发生 m⁶A 修饰, 从而延长 RUNX2 的半衰期。可见, m⁶A 修饰可以通过直接和间接两种方式调控 RUNX2 水平, 从而促进 BMSC 的成骨分化^[36]。此外, 炎症环境对 BMSC 分化的影响也与 m⁶A 修饰有关。肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 通过抑制 FTO 的表达, 导致 *Nanog* mRNA 的 m⁶A 修饰不能被有效清除, 降低 *Nanog* mRNA 的稳定性, 从而下调 *Nanog* 的表达水平, 降低 BMSC 的分化潜能^[37]。

3. 造血干细胞的 m⁶A RNA 甲基化修饰: 造血干细胞 (hematopoietic stem cell, HSC) 具有长期的自我更新能力和维持血液中髓系、淋巴系等输出的分化能力, 两种能力的平衡是通过细胞分裂过程中的细胞分化选择来调节的。HSC 中核内原癌基因 *MYC* 家族的 mRNA 是 m⁶A 修饰的直接靶点, 当 *MYC* mRNA 上发生 m⁶A 修饰时, HSC 趋向于细胞分化, 促进血细胞数量的增加^[38]。METTL3 缺失导致 *MYC* mRNA 缺乏 m⁶A 修饰时, HSC 趋向分化成类似多能祖细胞的中间细胞状态, 在代谢上比 HSC 更活跃, 该状态虽保持多谱系分化能力, 但缺乏 HSC 的长期移植活性, 不能进行细胞分化以发挥正常的造血功能^[39], 此外也有研究表明, 缺乏 m⁶A 修饰的 HSC 会停留在幼稚态不能分化^[40]。但在急性髓性白血病 (acute myelocytic leukemia, AML) 环境下, *c-MYC*、B 淋巴细胞瘤-2 (*B-cell lymphoma-2*, *BCL2*) 等的 mRNA 发生过度的 m⁶A 修饰, 促进相关蛋白的表达, 抑制了 HSC 正常分化的进程, 而靶向 METTL3 调控是 AML 的一种潜在治疗策略^[41-42]。

4. 成体神经干细胞与胶质母细胞瘤干细胞的 m⁶A RNA 甲基化修饰: 成人的脑组织中, 成体神经干细胞 (adult neural stem cell, aNSC) 可以自我更新, 并表现出分化成神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞的多潜能。aNSC 中 Zeste 基因增强子同源物基因 2 (enhancer of zeste homolog 2, *Ezh2*) mRNA 发生 m⁶A 修饰后, 可以对组蛋白 H3 的赖氨酸 27 三甲基化修饰 (trimethylation of histone 3 lysine 27, H3K27me3) 添加抑制标记, 阻止 aNSC 的早期分化, 保证成体后脑内可生成足够数量神经元, 当 METTL3 敲除后, aNSC 发生早期分化, 且分化方向更倾向于胶质细胞系^[43]。相反的是, 当 FTO 缺失致使血小板衍生生长因子受体 (alpha-type platelet-derived growth factor receptor, PDGFRA) 和细胞因子信号转导抑制因子 5 (suppressor of cytokine signaling-5, SOCS5) mRNA 中 m⁶A 修饰增加时, 可以通过激活下游的 STAT3 通路, 长期培养表现出抑制 aNSC 向神经元的方向分化的状态^[44]。当发生胶质母细胞瘤时, ALKBH5 在胶质母细胞瘤干细胞 (glioma stem cell, GSC) 中高表达, 使叉头框转录因子 M1 (fox family transcription factor 1, FOXM1) mRNA 中的 m⁶A 修饰被擦除, FOXM1 表达增强, 促进 GSC 分裂, 抑制其分化, 加速肿瘤的进展^[45]。

三、小结与展望

如前所述, m⁶A RNA 甲基化修饰有助于维持干

细胞处于一种平衡状态,促使干细胞既能自我更新,又可以有效的多向分化。可以认为,m⁶A修饰对细胞的更新与分化有一定的“决策权”。然而,正因m⁶A修饰在各类RNA中的广泛存在,不同位点的m⁶A修饰可能通过影响数量相当广泛的下游通路,产生相互促进或拮抗的效应。在干预m⁶A修饰过程中,干细胞的分化方向在不同时间段可能产生变化,目前研究难以预测长期分化进程。此外,m⁶A修饰相关的机制研究仍存在大量的未知领域,如在干细胞分裂分化状态改变的过程中,m⁶A修饰的“编写器”甲基转移酶活性如何进行自身调节,m⁶A修饰和非编码RNA之间的相互作用及其对细胞命运的影响等,都需进一步研究。因此,更深入阐明m⁶A修饰的机制,探索不同生理病理条件下m⁶A修饰对干细胞分化调节的变化,并针对干预m⁶A修饰以调控干细胞分化方向,从而发挥某些特定作用等,将是未来干细胞医学研究的重点方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Sui X, Hu Y, Ren C, et al. METTL3-mediated m⁶A is required for murine oocyte maturation and maternal-to-zygotic transition [J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(4):391-404. DOI: 10.1080/15384101.2019.1711324.
- [2] Zuo X, Chen Z, Gao W, et al. M6A-mediated upregulation of LINC00958 increases lipogenesis and acts as a nanotherapeutic target in hepatocellular carcinoma[J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1):5. DOI: 10.1186/s13045-019-0839-x.
- [3] Peng W, Li J, Chen R, et al. Upregulated METTL3 promotes metastasis of colorectal Cancer via miR-1246/SPRED2/MAPK signaling pathway[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1):393. DOI: 10.1186/s13046-019-1408-4.
- [4] Ren W, Lu J, Huang M, et al. Structure and regulation of ZCCHC4 in m⁶A-methylation of 28S rRNA [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):5042. DOI: 10.1038/s41467-019-12923-x.
- [5] Chen L, Wang P, Bahal R, et al. Ontogenic mRNA expression of RNA modification writers, erasers, and readers in mouse liver [J]. *PLoS ONE*, 2019, 14(12):e0227102. DOI: 10.1371/journal.pone.0227102.
- [6] 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. DOI: 10.1038/nature11112.
- [7] Meyer KD, Saletore 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. DOI: 10.1016/j.cell.2012.05.003.
- [8] Liao CH, Wang YH, Chang WW, et al. Leucine-Rich Repeat Neuronal Protein 1 Regulates Differentiation of Embryonic Stem Cells by Post-Translational Modifications of Pluripotency Factors [J]. *Stem Cells*, 2018, 36(10):1514-1524. DOI: 10.1002/stem.2862.
- [9] Yao Y, Bi Z, Wu R, et al. METTL3 inhibits BMSC adipogenic differentiation by targeting the JAK1/STAT5/C/EBPβ pathway via an m⁶A-YTHDF2-dependent manner [J]. *FASEB J*, 2019, 33(6):7529-7544. DOI: 10.1096/fj.201802644R.
- [10] Wu Y, Xie L, Wang M, et al. Mettl3-mediated m⁶A RNA methylation regulates the fate of bone marrow mesenchymal stem cells and osteoporosis[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):4772. DOI: 10.1038/s41467-018-06898-4.
- [11] Zaccara S, Ries RJ, Jaffrey SR. Reading, writing and erasing mRNA methylation [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(10):608-624. DOI: 10.1038/s41580-019-0168-5.
- [12] 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. DOI: 10.1038/nchembio.1432.
- [13] Wang P, Dostader KA, Nam Y. Structural Basis for Cooperative Function of Mettl3 and Mettl14 Methyltransferases [J]. *Mol Cell*, 2016, 63(2):306-317. DOI: 10.1016/j.molcel.2016.05.041.
- [14] Li Y, Wu K, Quan W, et al. The dynamics of FTO binding and demethylation from the m⁶A motifs [J]. *RNA Biol*, 2019, 16(9):1179-1189. DOI: 10.1080/15476286.2019.1621120.
- [15] Wang X, Feng J, Xue Y, et al. Structural basis of N⁶-adenosine methylation by the METTL3-METTL14 complex [J]. *Nature*, 2016, 534(7608):575-578. DOI: 10.1038/nature18298.
- [16] Schöller E, Weichmann F, Treiber T, et al. Interactions, localization, and phosphorylation of the m⁶A generating METTL3-METTL14-WTAP complex [J]. *RNA*, 2018, 24(4):499-512. DOI: 10.1261/rna.064063.117.
- [17] Yue Y, Liu J, Cui X, et al. VIRMA mediates preferential m⁶A mRNA methylation in 3'UTR and near stop codon and associates with alternative polyadenylation [J]. *Cell Discov*, 2018, 4(1):10. DOI: 10.1038/s41421-018-0019-0.
- [18] Pinto R, Vågbo CB, Jakobsson ME, et al. The human methyltransferase ZCCHC4 catalyses N⁶-methyladenosine modification of 28S ribosomal RNA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(2):830-846. DOI: 10.1093/nar/gkz1147.
- [19] 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. DOI: 10.1093/nar/gku1276.
- [20] Fedeles BI, Singh V, Delaney JC, et al. The AlkB Family of Fe(II)/α-Ketoglutarate-dependent Dioxygenases: Repairing Nucleic Acid Alkylation Damage and Beyond [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(34):20734-20742. DOI: 10.1074/jbc.R115.656462.
- [21] Zheng G, Dahl JA, 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. DOI: 10.1016/j.molcel.2012.

- 10.015.
- [22] Wei J, Liu F, Lu Z, et al. Differential m⁶A, m⁶A_m, and m¹A Demethylation Mediated by FTO in the Cell Nucleus and Cytoplasm[J]. *Mol Cell*, 2018, 71(6):973-985. DOI:10.1016/j.molcel.2018.08.011.
 - [23] Tang C, Klukovich R, Peng H, et al. ALKBH5-dependent m⁶A demethylation controls splicing and stability of long 3' UTR mRNAs in male germ cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(2):E325-E333. DOI:10.1073/pnas.1717794115.
 - [24] Zou S, Toh JD, Wong KH, et al. N⁶-Methyladenosine: a conformational marker that regulates the substrate specificity of human demethylases FTO and ALKBH5[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1):25677. DOI:10.1038/srep25677.
 - [25] Koh CWQ, Goh YT, Goh WSS. Atlas of quantitative single-base-resolution N⁶-methyl-adenine methylomes [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):5636. DOI:10.1038/s41467-019-13561-z.
 - [26] Zhao YL, Liu YH, Wu RF, et al. Understanding m⁶A Function Through Uncovering the Diversity Roles of YTH Domain -Containing Proteins[J]. *Mol Biotechnol*, 2019, 61(5):355-364. DOI:10.1007/s12033-018-00149-z.
 - [27] Li Y, Bedi RK, Wiedmer L, et al. Flexible Binding of m⁶A Reader Protein YTHDC1 to Its Preferred RNA Motif[J]. *J Chem Theory Comput*, 2019, 15(12):7004-7014. DOI:10.1021/acs.jctc.9b00987.
 - [28] Meyer KD, Patil DP, Zhou J, et al. 5'UTR m⁶A Promotes Cap-Independent Translation [J]. *Cell*, 2015, 163(4):999-1010. DOI:10.1016/j.cell.2015.10.012.
 - [29] Wang X, Zhao BS, Roundtree IA, et al. N⁶-methyladenosine Modulates Messenger RNA Translation Efficiency [J]. *Cell*, 2015, 161(6):1388-1399. DOI:10.1016/j.cell.2015.05.014.
 - [30] Mao Y, Dong L, Liu X, et al. m⁶A in mRNA coding regions promotes translation via the RNA helicase-containing YTHDC2 [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):5332. DOI:10.1038/s41467-019-13317-9.
 - [31] Jain D, Puno MR, Meydan C, et al. Ketu mutant mice uncover an essential meiotic function for the ancient RNA helicase YTHDC2[J]. *Elife*, 2018(7):e30919. DOI:10.7554/eLife.30919.
 - [32] Geula S, Moshitch-Moshkovitz S, Dominissini D, et al. m⁶A mRNA methylation facilitates resolution of naïve pluripotency toward differentiation [J]. *Science*, 2015, 347(6225):1002-1006. DOI:10.1126/science.1261417.
 - [33] Wu R, Liu Y, Zhao Y, et al. m⁶A methylation controls pluripotency of porcine induced pluripotent stem cells by targeting SOCS3/JAK2/STAT3 pathway in a YTHDF1/YTHDF2-orchestrated manner[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(3):171. DOI:10.1038/s41419-019-1417-4.
 - [34] Yang D, Qiao J, Wang G, et al. N⁶-Methyladenosine modification of lincRNA 1281 is critically required for mESC differentiation potential[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(8):3906-3920. DOI:10.1093/nar/gky130.
 - [35] Yu J, Shen L, Liu Y, et al. The m⁶A methyltransferase METTL3 cooperates with demethylase ALKBH5 to regulate osteogenic differentiation through NF-κB signaling[J]. *Mol Cell Biochem*, 2020, 463(1-2):203-210. DOI:10.1007/s11010-019-03641-5.
 - [36] Yan G, Yuan Y, He M, et al. m⁶A Methylation of Precursor-miR-320/RUNX2 Controls Osteogenic Potential of Bone Marrow -Derived Mesenchymal Stem Cells[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 19:421-436. DOI:10.1016/j.omtn.2019.12.001.
 - [37] Wang Y, Wang R, Yao B, et al. TNF-α suppresses sweat gland differentiation of MSCs by reducing FTO - mediated m⁶A - demethylation of Nanog mRNA[J]. *Sci China Life Sci*, 2020, 63(1):80-91. DOI:10.1007/s11427-019-9826-7.
 - [38] Lee H, Bao S, Qian Y, et al. Stage - specific requirement for Mettl3-dependent m⁶A mRNA methylation during haematopoietic stem cell differentiation [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(6):700-709. DOI:10.1038/s41556-019-0318-1.
 - [39] Cheng Y, Luo H, Izzo F, et al. m⁶A RNA Methylation Maintains Hematopoietic Stem Cell Identity and Symmetric Commitment [J]. *Cell Rep*, 2019, 28(7):1703-1716. DOI:10.1016/j.celrep.2019.07.032.
 - [40] Li H, Tong J, Zhu S, et al. m⁶A mRNA methylation controls T cell homeostasis by targeting the IL-7/STAT5/SOCS pathways[J]. *Nature*, 2017, 548(7667):338-342. DOI:10.1038/nature23450.
 - [41] Weng H, Huang H, Chen J. RNA N⁶-Methyladenosine Modification in Normal and Malignant Hematopoiesis [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1143:75-93. DOI:10.1007/978-981-13-7342-8_4.
 - [42] Vu LP, Pickering BF, 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. DOI:10.1038/nm.4416.
 - [43] Chen J, Zhang Y, Huang C, et al. m⁶A Regulates Neurogenesis and Neuronal Development by Modulating Histone Methyltransferase Ezh2[J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2019, 17(2):154-168. DOI:10.1016/j.gpb.2018.12.007.
 - [44] Cao Y, Zhuang Y, Chen J, et al. Dynamic effects of Fto in regulating the proliferation and differentiation of adult neural stem cells of mice[J]. *Hum Mol Genet*, 2020, 29(5):727-735. DOI:10.1093/hmg/ddz274.
 - [45] 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 [J]. *Cancer Cell*, 2017, 31(4):591-606. DOI:10.1016/j.ccell.2017.02.013.

(收稿日期:2020-02-25)

(本文编辑:王嫚)