

·生物化学与分子生物学·

DOI:10.16605/j.cnki.1007-7847.2022.07.0172

m⁶A 修饰在哺乳动物生理发育与疾病发生中的功能和机制

谢梅英¹, 侯连杰^{2*}

(1. 广东生态工程职业学院, 中国广东 广州 510520; 2. 广州医科大学 附属第六医院, 中国广东 清远 511518)

摘要: 基因时空特异性表达在机体发育和疾病发生中起重要调控作用。N⁶-甲基腺苷(N⁶-methyladenosine, m⁶A)是真核生物 RNA 中最常见的表观遗传修饰方式。m⁶A 修饰通过改变 RNA 结构、RNA 与 RNA 结合蛋白的相互作用, 调控 RNA 剪接、亚细胞定位、翻译和稳定性等过程, 保证基因及时准确的表达。研究表明, m⁶A 不仅在机体发育中发挥重要作用, 其功能障碍通过改变细胞功能, 参与多种疾病的发生。本文总结了 m⁶A 修饰在哺乳动物生理发育与疾病发生中的功能和机制, 以期为 m⁶A 修饰进行转化研究和临床治疗应用提供理论依据。

关键词: 生理发育; 疾病发生; 表观遗传学; N⁶-甲基腺苷(m⁶A)

中图分类号: Q756

文献标志码: A

文章编号: 1007-7847(2023)05-0392-07

The Function and Mechanism of m⁶A Modification in Mammalian Physiological Development and Disease Occurrence

XIE Meiyong¹, HOU Lianjie^{2*}

(1. Guangdong Eco-Engineering Polytechnic, Guangzhou 510520, Guangdong, China; 2. The Sixth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Qingyuan 511518, Guangdong, China)

Abstract: The spatiotemporal specific expression of genes plays an important regulatory role in organism development and disease occurrence. N⁶-Methyladenosine (m⁶A) is the most common epigenetic modification in eukaryotic RNAs. The m⁶A modification ensures timely and accurate gene expression by changing RNA structure and the interaction between RNAs and RNA-binding proteins, and regulating RNA splicing, sub-cellular localization, translation and stability. Recent studies have shown that m⁶A not only plays an important role in the development of organisms, but also is involved in the occurrence of various diseases by changing cell functions. This review focused on the function and mechanism of m⁶A modification in mammalian physiological development and disease occurrence, hoping to provide a theoretical basis for using m⁶A modification in clinical treatment.

Key words: physiological development; disease occurrence; epigenetics; N⁶-methyladenosine (m⁶A)

(*Life Science Research*, 2023, 27(5): 392-398)

N⁶-甲基腺苷(N⁶-methyladenosine, m⁶A)是所有 RNA 中最丰富的表观遗传修饰方式^[1-2]。m⁶A 修饰是一个动态且可逆的过程, m⁶A 甲基化主要由甲基转移酶样 3 (methyltransferase-like 3, METTL3)和 METTL14 完成; m⁶A 去甲基化主要由脂肪量和肥胖相关蛋白(fat mass and obesity associated

protein, FTO)以及 alkB 同源物 5 (alkB homolog 5, ALKBH5)执行; 发生 m⁶A 修饰的 RNA 被 YTH 结构域蛋白家族(YTHDF1/2/3、YTHDC1/2)和胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 1/2/3 (insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 1/2/3, IGF-2BP1/2/3)等 m⁶A 阅读蛋白识别, 进而影响 RNA 剪

收稿日期: 2022-07-22; 修回日期: 2022-11-14; 网络首发日期: 2023-02-22

基金项目: 广东省自然科学基金项目(2022A1515012446, 2021A1515110305)

作者简介: 谢梅英(1989—), 女, 广东云浮人, 博士, 讲师, 主要从事新型营养因子的生理功能研究; *通信作者: 侯连杰(1990—), 男, 山东潍坊人, 博士, 副研究员, 主要从事代谢性疾病的表观遗传调控机制研究, E-mail: houlianjie@gzhmu.edu.cn.

接、稳定性、出入核和翻译等生物学过程(图 1)^[3-4]。

随着甲基化 RNA 免疫沉淀测序(methylated RNA immunoprecipitation sequencing, MeRIP-seq)技术的广泛应用, m⁶A 在哺乳动物生理发育和疾病发生中的重要作用也逐渐被揭示, 如: m⁶A 通过影响 RNA 代谢维持小鼠胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)的自我更新和细胞分化, 为胚胎干细胞谱系成熟提供保障^[5]; *ALKBH5* 敲除增加小鼠 m⁶A 修饰水平, 从而导致小鼠睾丸变小、生精异常^[6]; 在阿尔茨海默病患者和小鼠模型中, 大脑皮层和海马体中的 m⁶A 甲基化升高^[7]。此外, m⁶A 修饰相关蛋白质的异常表达与肝癌的发病机制具有明显的相关性, 其中, *METTL3*、*METTL14* 与 Wilms 肿瘤 1 相关蛋白(Wilms' tumor 1-associated protein, WTAP)上调促进肝细胞癌的增殖、转移和侵袭^[8]; *FTO* 表达水平较低导致肝内胆管细胞癌的细胞凋亡减少, 病人预后也更差^[9]。这些发现表明: m⁶A 在哺乳动物生理发育过程中发挥重要调控作用, 其功能障碍可能与多种疾病发生相关。本文讨论了 m⁶A 修饰在哺乳动物生理发育和疾病发生中

的作用, 并总结展望了 m⁶A 修饰作为疾病诊断生物标志物和潜在治疗靶点的应用前景。

1 m⁶A 修饰调控 RNA 功能的多维机制

1.1 m⁶A 编写者: 甲基化酶复合物

METTL3/*METTL14*/*WTAP* 复合物是最先被发现并确认的 RNA 甲基转移酶复合物, 它通过识别高度保守的共同位点将腺苷的 N⁶-氨基特异性甲基化^[10]。*METTL3*-*METTL14* 的稳定异二聚体复合物是甲基转移酶复合物的核心, *METTL3* 发挥将甲基转移到 RNA 中的催化作用, *METTL14* 则发挥底物识别与结合、维持复合物完整性等功能^[11]。*WTAP* 是一种哺乳动物剪接因子, 可以与 *METTL3*-*METTL14* 复合物相互作用, 对 *METTL3*-*METTL14* 定位到核斑点及 *METTL3* 催化活性的维持至关重要; *WTAP* 缺失降低了 *METTL3*-*METTL14* 的 RNA 结合能力, 表明 *WTAP* 促进 m⁶A 甲基转移酶复合物募集到 RNA 靶标^[12]。

此外, *METTL16* 也是一种有活性的 m⁶A 甲基转移酶, 可与非编码 RNA 和 mRNA 前体结合, 在

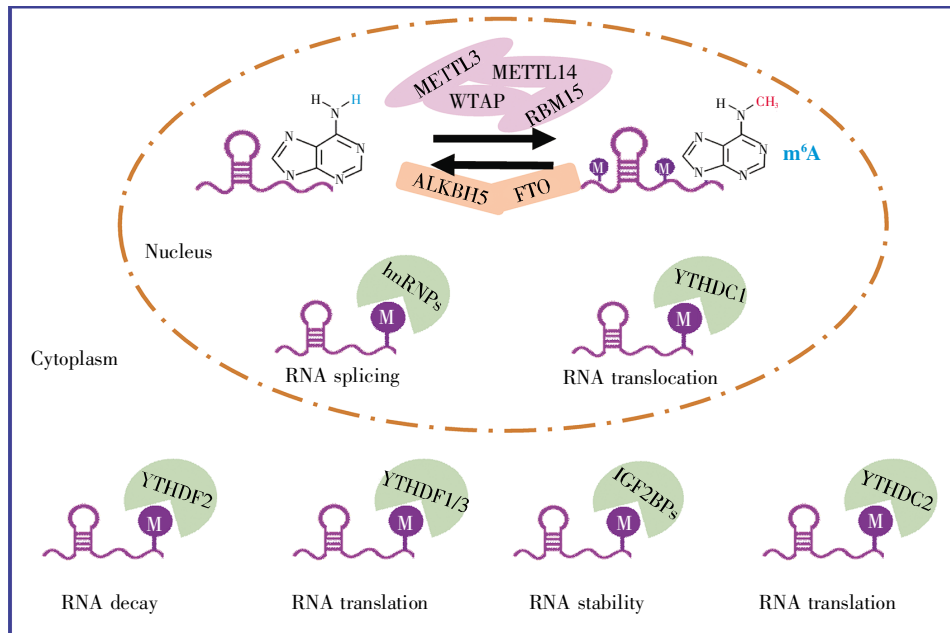


图 1 m⁶A 修饰调控基因表达的表现遗传学机制

m⁶A 甲基化由 *METTL3*、*METTL14*、Wilms 肿瘤 1 相关蛋白(Wilms' tumor 1-associated protein, WTAP)等甲基化酶催化。m⁶A 修饰被包括 *FTO* 和 *ALKBH5* 在内的去甲基化酶清除。m⁶A 修饰被 *YTHDF1/2/3*、*YTHDC1/2*、*IGF2BP1/2/3* 和 *hnRNPC/A2B1* 等 m⁶A 阅读蛋白识别, 从而调节 RNA 的转位、可变剪接、翻译、衰变和稳定性等生物学过程。

Fig.1 Epigenetic mechanism of m⁶A modification regulating gene expression

m⁶A is catalyzed by methylation enzymes such as *METTL3*, *METTL14* and Wilms' tumor 1-associated protein (WTAP). The m⁶A modification is eliminated by demethylases including *FTO* and *ALKBH5*. m⁶A modification is recognized by m⁶A reading proteins such as *YTHDF1/2/3*, *YTHDC1/2*, *IGF2BP1/2/3* and *hnRNPC/A2B1* and regulates biological processes such as RNA translocation, alternative splicing, translation, decay and stability.

RNA 可变剪切中发挥调控作用^[13]; *METTL5* 被定义为 18S rRNA 的甲基转移酶, 参与调控小鼠胚胎干细胞多能性和分化潜能的维持^[14-15]。

1.2 m⁶A 擦除器: 去甲基化酶

去甲基化酶的发现表明 m⁶A 修饰是动态的、可逆的。迄今为止, 研究人员已鉴定出两种能够去除 m⁶A 甲基化的酶: FTO 和 *ALKBH5*^[16]。2007 年, FTO 首次在全基因组关联研究中被发现与体重指数(body mass index, BMI)增加有关^[17]。2011 年, He 等^[18]发现: 在小鼠体内调控 FTO 表达会导致细胞内 m⁶A 水平发生变化; FTO 以 m⁶A 依赖的方式调节矮小相关转录因子 mRNA 的选择性剪接, 进而影响哺乳动物脂肪形成^[19]。

ALKBH5 定位于细胞核, *ALKBH5* 基因缺失导致细胞内 mRNA 核输出、RNA 代谢和 mRNA 加工因子的组装等功能受损^[20]。*ALKBH5* 在大多数组织中都有表达, 在睾丸中尤其丰富; 虽然 *ALKBH5* 基因缺失小鼠可以存活, 但由于 *ALKBH5* 是 mRNA 正确剪接所必需, *ALKBH5* 的缺失导致异常剪接和较短转录物的积累, 最终诱发小鼠精母细胞凋亡和小鼠生育能力受损^[21-22]。

1.3 m⁶A 读码器: m⁶A 阅读蛋白

m⁶A 阅读蛋白与发生 m⁶A 修饰的 RNA 结合, 进而影响 RNA 代谢的多个方面, 许多蛋白质已被鉴定为 m⁶A 阅读蛋白^[23-24]。其中, *YTHDF2* 选择性地结合 m⁶A 修饰的 RNA, 并将它们招募到 RNA 衰变位点, 从而控制 RNA 稳定性^[25]; *YTHDF1* 通过与翻译复合物相互作用促进目标 mRNA 的翻译过程^[26]; *YTHDF3* 则通过与 *YTHDF1* 合作来增强翻译。此外, *YTHDF3* 还可以影响 *YTHDF2* 介导的 mRNA 衰减^[27]。细胞核定位的 m⁶A 阅读蛋白 *YTHDC1* 通过与丝氨酸/精氨酸剪接因子 3 (serine/arginine-rich splicing factor 3, *SRSF3*) 相互作用, 促进发生 m⁶A 修饰的 RNA 与核 RNA 输出因子 1 结合, 从而加速 RNA 从细胞核输出到细胞质^[28]。

异质核核糖核蛋白(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, hnRNP)家族和 *IGF2BP* 家族也是常见的 m⁶A 阅读蛋白。*hnRNPA2/B1* 通过与 microRNA (miRNA) 前体剪切蛋白质 *DGCR8* (DiGeorge syndrome critical region gene 8) 结合, 促进发生 m⁶A 修饰的 miRNA 前体的成熟^[29]。此外, m⁶A 修饰通过改变 RNA 二级结构, 促进 RNA 与 *hnRNPG/hnRNPC* 结合, 从而影响 RNA 的可变剪接^[30]。与 *YTHDF2* 促进 RNA 衰减的功能相反, *IG-*

F2BP 是保守的单链 RNA 结合蛋白, 可以通过典型的 m⁶A 基序[GG(m⁶A)C]与 RNA 结合, 从而增强 RNA 的稳定性^[31]。

2 m⁶A 修饰在哺乳动物生理发育过程中发挥重要调控作用

鉴于生殖系统、造血系统和中枢神经系统在动物发育与物种生存中的重要作用, 本文将以此 3 个系统为例, 总结并讨论 m⁶A 修饰在哺乳动物生理发育过程中的作用。

2.1 m⁶A 修饰调节生殖系统发育

有性生殖始于父母双方减数分裂产生的配子, 随后卵细胞和精子结合启动后代的发育程序^[32]。研究表明, m⁶A 修饰在卵母细胞成熟和精子发生中起着关键作用^[33]。

m⁶A 去甲基化酶基因 *ALKBH5* 已被鉴定在雄性小鼠睾丸中高度表达, *ALKBH5* 敲除使得 P53 通路相关基因的 mRNA m⁶A 水平增加, 导致小鼠睾丸萎缩和生育力降低^[6]。Ivanova 等^[34]发现, *YTHDF2* 是卵母细胞成熟和早期合子发育所必需的。此外, m⁶A 阅读蛋白 *YTHDC1* 与 mRNA 前体加工因子 *SRSF3*、*SRSF7* 以及剪切和多聚腺苷酸化特异性因子 6 (cleavage and polyadenylation specific factor 6, *CPSF6*) 相互作用, 调节胎儿发育期间细胞核中 mRNA 前体的加工过程^[35]。另有研究表明, 与同窝对照组小鼠相比, *YTHDC2* 的缺乏导致小鼠睾丸和卵巢发育障碍^[36]。

2.2 m⁶A 修饰调节造血系统发育

造血系统包含 10 多种不同类型且功能特异的细胞, 例如: 白细胞主要参与先天免疫和获得性免疫; 红细胞参与氧气和二氧化碳的运输与交换; 巨核细胞在伤口愈合过程中产生血小板^[37-39]。造血系统的多能造血干细胞群能够分化为功能各异的血细胞, 从而保证循环系统细胞供应^[40]。多项研究表明, m⁶A 修饰在造血干细胞分化过程中起重要作用, 如: 小鼠胚胎 *METTL3* 基因缺失可促进内源性双链 RNA 形成, 从而激活造血干/祖细胞中蛋白激酶 R、真核细胞翻译起始因子 2 α 等信号通路的转导, 导致造血衰竭和围产期死亡^[41]; *YTHDF2* 缺失能够显著促进小鼠和人类造血干细胞增殖, 这暗示了其在临床血液移植中的潜在作用^[42]。

2.3 m⁶A 修饰调节中枢神经系统发育

现有研究发现, m⁶A 修饰在中枢神经系统中

比在其他器官中更加丰富,从胚胎到成人脑, m⁶A 的总体丰度增加,表明其在正常大脑发育和功能中具有关键作用^[43]。在胚胎小鼠大脑中, ME-TTL3 缺失延长了放射状胶质细胞的细胞周期,并将皮质神经发生延长至出生后阶段^[44]。METTL14 的体内条件性消融,导致少突胶质细胞数量和中枢神经系统髓鞘形成减少^[45]。此外, FTO 在成体神经干细胞和神经元中高度表达,其缺失降低了神经干细胞的增殖和神经元分化,从而引起脑体积和重量的减小,导致学习和记忆功能受损^[46]。

在小鼠大脑中, YTHDF1 在空间学习和记忆相关脑区域的表达上调^[47];在成年小鼠海马体中, YTHDF1 加速 m⁶A 修饰 mRNA 的翻译过程,从而提升小鼠的学习和记忆能力^[48]。此外, YTHDF2 缺失会抑制小鼠胚胎大脑皮层神经干细胞的自我更新,增加胚胎发育后期死亡风险^[49]。

上述研究表明, m⁶A 修饰在不同组织的不同生理发育阶段均发挥重要调控作用。因此,解析 m⁶A 修饰在哺乳动物生理发育中的分子机制将有助于理解其在人类疾病发生中的作用。

3 m⁶A 修饰参与多种疾病的发生发展

由于 m⁶A 修饰在基因表达中的重要调控作用, m⁶A 修饰在多种疾病发生发展中的作用机制也逐渐被揭示,包括肥胖和代谢相关疾病、癌症、心血管疾病、神经系统相关疾病和病毒感染等^[4]。

3.1 m⁶A 修饰与肥胖和代谢相关疾病

在高脂饮食诱导代谢紊乱小鼠的肝脏中, METTL3 表达和 m⁶A 修饰水平均显著上调,而肝细胞特异性敲除 METTL3 减轻了脂质积累并改善了胰岛素敏感性^[50]。人类 II 型糖尿病患者的胰岛组织 m⁶A 测序结果表明,与胰岛素分泌、细胞周期进程和胰岛素/胰岛素样生长因子通路相关的多个基因的 mRNA m⁶A 水平显著降低;进一步的研究显示,小鼠胰岛 β 细胞的 METTL14 敲除可降低细胞 m⁶A 水平,同时小鼠出现与人类 II 型糖尿病相似的病理表现^[51]。此外, m⁶A 去甲基化酶 FTO 与多个人群和种族群体的肥胖有关^[52]。小鼠 FTO 基因敲除和过表达结果显示, FTO 在体重控制和脂肪沉积方面发挥重要作用^[19]。FTO 敲除可增加细胞周期蛋白 A2 和周期蛋白依赖性激酶 2 mRNA 的 m⁶A 水平,导致它们被 YTHDF2 识别和降解,最终延长细胞周期进程以抑制脂肪生成^[52]。有趣的是,在肥胖小鼠模型和非酒精性脂肪性肝病

患者肝脏组织中 YTHDC2 显著减少, YTHDC2 敲除通过上调甾醇调节元件结合蛋白 1C、脂肪酸合酶和乙酰辅酶 A 羧化酶 1 等脂肪生成相关因子的表达,导致肝细胞中过量的甘油三酯积累^[53]。

3.2 m⁶A 修饰与癌症

近年来, m⁶A 修饰在肿瘤发生发展中的作用也逐渐被揭示^[54]。在肝癌中, METTL14 的下调通过改变肿瘤转移相关 miRNA miR-126 的加工过程,增强肝癌细胞的转移能力^[55]。在子宫内膜癌细胞中, METTL14 敲除通过调控蛋白激酶 B mRNA 稳定性和翻译,抑制癌细胞的增殖和致瘤性^[56]。有研究报道,甲基化酶 METTL3/METTL14 通过增加癌基因 MYC (*Myc proto-oncogene*) mRNA m⁶A 水平,增强 MYC mRNA 稳定性和翻译,从而促进慢性粒细胞白血病的发生^[57]。此外,在胶质母细胞瘤中去甲基化酶 ALKBH5 的高表达预示患者预后较差, ALKBH5 通过降低转录因子叉头盒蛋白 M1 (forkhead box M1, FOXM1) mRNA m⁶A 水平,上调 FOXM1,从而诱导胶质母细胞瘤自我更新和肿瘤发生^[58]。

3.3 m⁶A 修饰与心血管疾病

最新研究表明, m⁶A 修饰与心血管疾病的发生发展密切相关,如心脏肥大、心力衰竭、缺血性心脏病和肺动脉高压^[59-60]。心肌肥大诱因刺激后,心肌细胞肥大相关信号通路基因的 mRNA m⁶A 水平显著增加,且 METTL3 过表达可在体外和体内显著促进心肌细胞肥大^[61]。另一项研究表明,在缺氧/复氧处理的心肌细胞及缺血/再灌注处理的小鼠心脏中, METTL3 通过增加心肌细胞 m⁶A 水平,降低细胞自噬流,从而诱导心肌细胞凋亡^[62]。此外, METTL14 通过选择性甲基化血管平滑肌细胞成骨转录物,加速动脉血管钙化^[63]。以上研究表明, m⁶A 修饰可能成为未来心血管疾病新的生物标志物和治疗靶点。

3.4 m⁶A 修饰与神经系统相关疾病

阿尔茨海默病是一种以记忆丧失和认知障碍为特征的神经退行性疾病。研究发现, METTL3 和 METTL14 与人类和小鼠海马的长期记忆形成及正常纹状体学习功能有关^[64]。与 C57BL/6 对照小鼠相比,阿尔茨海默病小鼠的皮质和海马中的整体 m⁶A 水平持续升高^[65]。此外,在小鼠成年神经元中, METTL3 或 FTO 的突变通过改变 RNA m⁶A 修饰增加恐惧记忆^[66]。Keller 等^[67]开展的一项前瞻性队列研究表明,与 TT 携带者相比, FTO AA 基

因型群体患阿尔茨海默病的风险更高。

帕金森病是一种以震颤、运动迟缓和肌肉僵硬为特征的神经退行性疾病,主要是由多巴胺神经元变形、死亡和多巴胺含量下降导致。在帕金森病大鼠模型中, m⁶A 甲基化水平在纹状体区域显著降低^[68]。此外,多巴胺能神经元中 FTO 的过度表达会降低离子型谷氨酸受体 1 mRNA 的 m⁶A 修饰水平,同时增强其稳定性和表达;离子型谷氨酸受体 1 则通过促进氧化应激和 Ca²⁺内流,导致多巴胺能神经元的退化或凋亡^[69]。这些结果表明, m⁶A 甲基化在神经系统相关疾病的发生过程中起着重要调控作用。

3.5 m⁶A 修饰和病毒感染

细胞溶质维甲酸诱导基因 I (retinoic acid-inducible gene I, RIG-I)通过识别和结合入侵病原体核酸,在激活先天免疫信号转导中起关键作用^[70];研究发现,经 m⁶A 修饰的病毒转录本与 RIG-I 结合不佳,不能有效刺激 RIG-I 介导的抗病毒信号转导^[71]。目前,研究人员在原型多瘤病毒猿猴空泡病毒 40 (simian vacuolating virus 40, SV40 virus) mRNA 上发现了多个 m⁶A 位点,这些位点在调节 SV40 病毒基因表达中起积极作用;而且,这些 m⁶A 位点或 YTHDF2/METTL3 的失活,会抑制 SV40 病毒在非洲绿猴肾细胞中的复制^[3]。Lichinchi 等^[72]发现,急性病毒感染引发宿主 m⁶A 修饰水平显著升高,而且 56 个与病毒感染相关的宿主基因的 m⁶A 修饰水平均显著增加。另有研究报道,宿主 YTH 家族阅读蛋白的缺失,导致寨卡病毒和丙型肝炎病毒在宿主体内产生更高的病毒颗粒;针对丙型肝炎病毒 E1 基因中 m⁶A 位点的诱变实验表明,病毒 RNA 与宿主 YTHDF 蛋白的相互作用受病毒基因上 m⁶A 修饰的调节^[73-74]。

4 总结与展望

机体在胚胎发育期间和出生之后都面临着无数的生理挑战,执行既定的发育程序和应对环境挑战需要对基因进行精确表达调控^[75]。m⁶A 修饰通过转录后调控 RNA 功能,在人类健康维持中起着至关重要的作用^[76],提示 m⁶A 修饰在疾病诊断和治疗中具有巨大应用潜力。

越来越多的证据表明,靶向调控 m⁶A 修饰过程可能成为多种疾病的有效治疗策略。例如:FTO 抑制剂 FB23 和 FB23-2 被开发用于选择性抑制 FTO 的 m⁶A 去甲基化酶活性,从而显著抑制急性

髓性白血病细胞的增殖并促进其凋亡^[77];化合物 MO-I-500 被确定为 FTO 的选择性抑制剂,该抑制剂显著抑制三阴性乳腺癌细胞的增殖^[78];此外,甲基化阻断药物 3-脱氮腺苷可以抑制人类免疫缺陷病毒 I 型、劳斯肉瘤病毒和甲型流感病毒的复制^[79]。

由于 m⁶A 修饰涉及多种途径,很难定义 m⁶A 修饰对人类疾病发展的促进或抑制作用,而 m⁶A 修饰相关调控机制的进一步解析可作为转化研究和治疗的理论依据。因此,未来的研究应主要集中在以下 3 个方向: 1) 阐明 m⁶A 调节基因表达的基本机制,并进一步鉴定未知的 m⁶A 修饰相关蛋白质; 2) 解析 m⁶A 修饰酶及下游 RNA 作为不同疾病诊断标志物和治疗靶标的应用价值; 3) 探索 m⁶A 修饰在不同疾病中的特异性调控方式,并开发针对特定 m⁶A 修饰的药物以减少不良副作用。

参考文献(References):

- [1] WANG Y, ZHAO J C. Update: mechanisms underlying N⁶-methyladenosine modification of eukaryotic mRNA[J]. Trends in Genetics, 2016, 32(12): 763-773.
- [2] ZHANG T, ZHANG S W, ZHANG S Y, *et al.* m⁶A-express: uncovering complex and condition-specific m⁶A regulation of gene expression[J]. Nucleic Acids Research, 2021, 49(20): e116.
- [3] MCFADDEN M J, HORNER S M. N⁶-Methyladenosine regulates host responses to viral infection[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2021, 46(5): 366-377.
- [4] HE P C, HE C. m⁶A RNA methylation: from mechanisms to therapeutic potential[J]. The EMBO Journal, 2021, 40(3): e105977.
- [5] WEI B, ZENG M Y, YANG J, *et al.* N⁶-Methyladenosine RNA modification: a potential regulator of stem cell proliferation and differentiation[J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2022, 10: 835205.
- [6] ZHENG G Q, DAHL J A, NIU Y M, *et al.* ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility[J]. Molecular Cell, 2013, 49(1): 18-29.
- [7] ZHANG R J, ZHANG Y Z, GUO F Z, *et al.* RNA N⁶-methyladenosine modifications and its roles in Alzheimer's disease[J]. Frontiers in Cellular Neuroscience, 2022, 16: 820378.
- [8] ZHANG Y L, CHEN W J, ZHENG X W, *et al.* Regulatory role and mechanism of m⁶A RNA modification in human metabolic diseases[J]. Molecular Therapy Oncolytics, 2021, 22: 52-63.
- [9] LIU J D, WANG D Y, ZHOU J Y, *et al.* N⁶-methyladenosine reader YTHDC2 and eraser FTO may determine hepatocellular carcinoma prognoses after transarterial chemoembolization[J]. Archives of Toxicology, 2021, 95(5): 1621-1629.
- [10] YANG Y, HSU P J, CHEN Y S, *et al.* Dynamic transcriptomic m⁶A decoration: writers, erasers, readers and functions in RNA metabolism[J]. Cell Research, 2018, 28(6): 616-624.
- [11] WOODCOCK C B, HORTON J R, ZHANG X, *et al.* Beta class amino methyltransferases from bacteria to humans: evolution and structural consequences[J]. Nucleic Acids Research, 2020, 48(18): 10034-10044.
- [12] PING X L, SUN B F, WANG L, *et al.* Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N⁶-methyladenosine methyltransferase[J]. Cell Research, 2014, 24(2): 177-189.

- [13] PENDLETON K E, CHEN B B, LIU K Q, *et al.* The U6 snRNA m⁶A methyltransferase METTL16 regulates SAM synthetase intron retention[J]. *Cell*, 2017, 169(5): 824–835.e14.
- [14] VAN TRAN N, ERNST F G M, HAWLEY B R, *et al.* The human 18S rRNA m⁶A methyltransferase METTL5 is stabilized by TRMT112[J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(15): 7719–7733.
- [15] LEISMANN J, SPAGNUOLO M, PRADHAN M, *et al.* The 18S ribosomal RNA m⁶A methyltransferase Mett15 is required for normal walking behavior in *Drosophila*[J]. *EMBO Reports*, 2020, 21(7): e49443.
- [16] GARBO S, ZWERGEL C, BATTISTELLI C. m⁶A RNA methylation and beyond: the epigenetic machinery and potential treatment options[J]. *Drug Discovery Today*, 2021, 26(11): 2559–2574.
- [17] FRAYLING T M, TIMPSON N J, WEEDON M N, *et al.* A common variant in the *FTO* gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity[J]. *Science*, 2007, 316(5826): 889–894.
- [18] JIA G F, FU Y, ZHAO X, *et al.* N⁶-Methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO[J]. *Nature Chemical Biology*, 2011, 7(12): 885–887.
- [19] ZHAO X, YANG Y, SUN B F, *et al.* FTO-dependent demethylation of N⁶-methyladenosine regulates mRNA splicing and is required for adipogenesis[J]. *Cell Research*, 2014, 24(12): 1403–1419.
- [20] QU J W, YAN H M, HOU Y F, *et al.* RNA demethylase ALKBH5 in cancer: from mechanisms to therapeutic potential[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2022, 15: 8.
- [21] TANG C, KLUKOVICH R, PENG H Y, *et al.* ALKBH5-dependent m⁶A demethylation controls splicing and stability of long 3'-UTR mRNAs in male germ cells[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 2018, 115(2): E325–E333.
- [22] HONG S H, SHEN X Z, LUO C H, *et al.* Comparative analysis of the testes from wild-type and *Alkbh5*-knockout mice using single-cell RNA sequencing[J]. *G3*, 2022, 12(8): jkae130.
- [23] BATACLAN M, LEONI C, MONTICELLI S. RNA-binding proteins and RNA methylation in myeloid cells[J]. *Immunological Reviews*, 2021, 304(1): 51–61.
- [24] ZACCARA S, RIES R J, JAFFREY S R. Reading, writing and erasing mRNA methylation[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2019, 20(10): 608–624.
- [25] EINSTEIN J M, PERELIS M, CHAIM I A, *et al.* Inhibition of YTHDF2 triggers proteotoxic cell death in MYC-driven breast cancer[J]. *Molecular Cell*, 2021, 81(15): 3048–3064.e9.
- [26] WANG S Y, GAO S S, ZENG Y, *et al.* N⁶-methyladenosine reader YTHDF1 promotes ARHGEF2 translation and RhoA signaling in colorectal cancer[J]. *Gastroenterology*, 2022, 162(4): 1183–1196.
- [27] ZACCARA S, JAFFREY S R. A unified model for the function of YTHDF proteins in regulating m⁶A-modified mRNA[J]. *Cell*, 2020, 181(7): 1582–1595.e18.
- [28] WIDAGDO J, ANGGONO V, WONG J J L. The multifaceted effects of YTHDC1-mediated nuclear m⁶A recognition[J]. *Trends in Genetics*, 2022, 38(4): 325–332.
- [29] CHEN Z Y, CHEN X, LEI T Y, *et al.* Integrative analysis of NSCLC identifies LINC01234 as an oncogenic lncRNA that interacts with HNRNPA2B1 and regulates miR-106b biogenesis[J]. *Molecular Therapy*, 2020, 28(6): 1479–1493.
- [30] ZHU S P, WANG Z Y, XU J K. Connecting versatile lncRNAs with heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K and pathogenic disorders[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2019, 44(9): 733–736.
- [31] RAMESH-KUMAR D, GUIL S. The IGF2BP family of RNA binding proteins links epitranscriptomics to cancer[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2022, 86(Pt 3): 18–31.
- [32] CLIFT D, SCHUH M. Restarting life: fertilization and the transition from meiosis to mitosis[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2013, 14(9): 549–562.
- [33] GUI Y Q, YUAN S Q. Epigenetic regulations in mammalian spermatogenesis: RNA-m⁶A modification and beyond[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2021, 78(11): 4893–4905.
- [34] IVANOVA I, MUCH C, DI GIACOMO M, *et al.* The RNA m⁶A reader YTHDF2 is essential for the post-transcriptional regulation of the maternal transcriptome and oocyte competence[J]. *Molecular Cell*, 2017, 67(6): 1059–1067.e4.
- [35] KASOWITZ S D, MA J, ANDERSON S J, *et al.* Nuclear m⁶A reader YTHDC1 regulates alternative polyadenylation and splicing during mouse oocyte development[J]. *PLoS Genetics*, 2018, 14(5): e1007412.
- [36] HSU P J, ZHU Y F, MA H H, *et al.* Ythdc2 is an N⁶-methyladenosine binding protein that regulates mammalian spermatogenesis[J]. *Cell Research*, 2017, 27(9): 1115–1127.
- [37] KULL T, SCHROEDER T. Analyzing signaling activity and function in hematopoietic cells[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 2021, 218(7): e20201546.
- [38] MCCRATH K E, FRAME J M, FEGAN K H, *et al.* Distinct sources of hematopoietic progenitors emerge before HSCs and provide functional blood cells in the mammalian embryo[J]. *Cell Reports*, 2015, 11(12): 1892–1904.
- [39] ALAGPULINSA D A, TORIBIO M P, ALHALLAK I, *et al.* Advances in understanding the molecular basis of clonal hematopoiesis[J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2022, 28(5): 360–377.
- [40] ZHANG Y F, GAO S, XIA J, *et al.* Hematopoietic hierarchy: an updated roadmap[J]. *Trends in Cell Biology*, 2018, 28(12): 976–986.
- [41] GAO Y M, VASIC R, SONG Y B, *et al.* m⁶A modification prevents formation of endogenous double-stranded RNAs and deleterious innate immune responses during hematopoietic development[J]. *Immunity*, 2020, 52(6):1007–1021.e8.
- [42] WANG H, ZUO H N, LIU J, *et al.* Loss of YTHDF2-mediated m⁶A-dependent mRNA clearance facilitates hematopoietic stem cell regeneration[J]. *Cell Research*, 2018, 28(10): 1035–1038.
- [43] HESS M E, HESS S, MEYER K D, *et al.* The fat mass and obesity associated gene (*Fto*) regulates activity of the dopaminergic midbrain circuitry[J]. *Nature Neuroscience*, 2013, 16(8): 1042–1048.
- [44] ZHANG Z Y, WANG M, XIE D F, *et al.* METTL3-mediated N⁶-methyladenosine mRNA modification enhances long-term memory consolidation[J]. *Cell Research*, 2018, 28(11): 1050–1061.
- [45] XU H, DZHASHIASHVILI Y, SHAH A, *et al.* m⁶A mRNA methylation is essential for oligodendrocyte maturation and CNS myelination[J]. *Neuron*, 2020, 105(2): 293–309.e5.
- [46] LI L P, ZANG L Q, ZHANG F R, *et al.* Fat mass and obesity-associated (FTO) protein regulates adult neurogenesis[J]. *Human Molecular Genetics*, 2017, 26(13): 2398–2411.
- [47] LEIN E S, HAWRYLYCZ M J, AO N, *et al.* Genome-wide atlas of gene expression in the adult mouse brain[J]. *Nature*, 2007, 445(7124): 168–176.
- [48] SHI H L, ZHANG X L, WENG Y L, *et al.* m⁶A facilitates hippocampus-dependent learning and memory through YTHDF1[J]. *Nature*, 2018, 563(7730): 249–253.
- [49] LI M M, ZHAO X, WANG W, *et al.* Ythdf2-mediated m⁶A mRNA clearance modulates neural development in mice[J]. *Genome Biology*, 2018, 19: 69.

- [50] LI Y H, ZHANG Q Y, CUI G S, *et al.* m⁶A regulates liver metabolic disorders and hepatogenous diabetes[J]. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 2020, 18(4): 371–383.
- [51] DE JESUS D F, ZHANG Z J, KAHRAMAN S, *et al.* m⁶A mRNA methylation regulates human β -cell biology in physiological states and in type 2 diabetes[J]. *Nature Metabolism*, 2019, 1(8): 765–774.
- [52] LEE H J, HORE T A, REIK W. Reprogramming the methylome: erasing memory and creating diversity[J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 14(6): 710–719.
- [53] ZHOU B, LIU C Z, XU L Y, *et al.* N⁶-Methyladenosine reader protein YT521-B homology domain-containing 2 suppresses liver steatosis by regulation of mRNA stability of lipogenic genes[J]. *Hepatology*, 2021, 73(1): 91–103.
- [54] LI X X, MA S B, DENG Y C, *et al.* Targeting the RNA m⁶A modification for cancer immunotherapy[J]. *Molecular Cancer*, 2022, 21: 76.
- [55] 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.
- [56] LIU J, ECKERT M A, HARADA B T, *et al.* m⁶A mRNA methylation regulates AKT activity to promote the proliferation and tumorigenicity of endometrial cancer[J]. *Nature Cell Biology*, 2018, 20(9): 1074–1083.
- [57] IANNIELLO Z, SORCI M, CECI GINISTRELLI L, *et al.* New insight into the catalytic -dependent and -independent roles of METTL3 in sustaining aberrant translation in chronic myeloid leukemia[J]. *Cell Death & Disease*, 2021, 12(10): 870.
- [58] ZHANG S C, ZHAO B S, ZHOU A D, *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.e6.
- [59] XU Z J, LV B B, QIN Y, *et al.* Emerging roles and mechanism of m⁶A methylation in cardiometabolic diseases[J]. *Cells*, 2022, 11(7): 1101.
- [60] WU S Y, ZHANG S C, WU X G, *et al.* m⁶A RNA methylation in cardiovascular diseases[J]. *Molecular Therapy*, 2020, 28(10): 2111–2119.
- [61] DORN L E, LASMAN L, CHEN J, *et al.* The N⁶-methyladenosine mRNA methylase METTL3 controls cardiac homeostasis and hypertrophy[J]. *Circulation*, 2019, 139(4): 533–545.
- [62] SONG H W, FENG X, ZHANG H, *et al.* METTL3 and ALKBH5 oppositely regulate m⁶A modification of *TFEB* mRNA, which dictates the fate of hypoxia/reoxygenation-treated cardiomyocytes[J]. *Autophagy*, 2019, 15(8): 1419–1437.
- [63] CHEN J, NING Y C, ZHANG H, *et al.* METTL14-dependent m⁶A regulates vascular calcification induced by indoxyl sulfate[J]. *Life Science*, 2019, 239: 117034.
- [64] MATHOUX J, HENSHALL D C, BRENNAN G P. Regulatory mechanisms of the RNA modification m⁶A and significance in brain function in health and disease[J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2021, 15: 671932.
- [65] HAN M, LIU Z, XU Y Y, *et al.* Abnormality of m⁶A mRNA methylation is involved in Alzheimer's disease[J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2020, 14: 98.
- [66] CHEN X C, YU C Y, GUO M J, *et al.* Down-regulation of m⁶A mRNA methylation is involved in dopaminergic neuronal death[J]. *ACS Chemical Neuroscience*, 2019, 10(5): 2355–2363.
- [67] KELLER L, XU W L, WANG H X, *et al.* The obesity related gene, *FTO*, interacts with *APOE*, and is associated with Alzheimer's disease risk: a prospective cohort study[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2011, 23(3): 461–469.
- [68] LEI C G, WANG Q Z. The progression of N⁶-methyladenosine study and its role in neuropsychiatric disorders[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(11): 5922.
- [69] HUANG R R, ZHANG Y, BAI Y, *et al.* N⁶-Methyladenosine modification of fatty acid amide hydrolase messenger RNA in circular RNA *STAG1*-regulated astrocyte dysfunction and depressive-like behaviors[J]. *Biological Psychiatry*, 2020, 88(5): 392–404.
- [70] DURBIN A F, WANG C, MARCOTRIGIANO J, *et al.* RNAs containing modified nucleotides fail to trigger RIG-I conformational changes for innate immune signaling[J]. *mBio*, 2016, 7(5): e00833–16.
- [71] COURTNEY D G. Post-transcriptional regulation of viral RNA through epitranscriptional modification[J]. *Cells*, 2021, 10(5): 1129.
- [72] LICHINCHI G, GAO S, SALETTORE Y, *et al.* Dynamics of the human and viral m⁶A RNA methylomes during HIV-1 infection of T cells[J]. *Nature Microbiology*, 2016, 1(4): 16011.
- [73] GOKHALE N S, MCINTYRE A B R, MCFADDEN M J, *et al.* N⁶-Methyladenosine in Flaviviridae viral RNA genomes regulates infection[J]. *Cell Host & Microbe*, 2016, 20(5): 654–665.
- [74] FLEMING A M, NGUYEN N L B, BURROWS C J. Colocalization of m⁶A and G-quadruplex-forming sequences in viral RNA (HIV, Zika, hepatitis B, and SV40) suggests topological control of adenosine N⁶-methylation[J]. *ACS Central Science*, 2019, 5(2): 218–228.
- [75] KAN R L, CHEN J J, SALLAM T. Crosstalk between epitranscriptomic and epigenetic mechanisms in gene regulation[J]. *Trends in Genetics*, 2022, 38(2): 182–193.
- [76] DENG L J, DENG W Q, FAN S R, *et al.* m⁶A modification: recent advances, anticancer targeted drug discovery and beyond[J]. *Molecular Cancer*, 2022, 21: 52.
- [77] HUANG Y, SU R, SHENG Y, *et al.* Small-molecule targeting of oncogenic FTO demethylase in acute myeloid leukemia[J]. *Cancer Cell*, 2019, 35(4): 677–691.e10.
- [78] SINGH B, KINNE H E, MILLIGAN R D, *et al.* Important role of FTO in the survival of rare panresistant triple-negative inflammatory breast cancer cells facing a severe metabolic challenge[J]. *PLoS One*, 2016, 11(7): e0159072.
- [79] ZHAO B X, WANG W J, ZHAO Y, *et al.* Regulation of antiviral immune response by N⁶-methyladenosine of mRNA[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 789605.