

综述

m⁶A去甲基化酶在急性髓系白血病中的研究进展

卢伟杰¹, 曾海锋², 肖业臣^{1,2*}¹广东医科大学基础医学院生物技术系, 东莞 523808;²广东医科大学广东省医学分子诊断重点实验室, 东莞 523808)

摘要: 急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是血液系统中常见的恶性肿瘤。肥胖相关蛋白(fat mass and obesity-associated protein, FTO)和AlkB同系物5(AlkB homolog 5, ALKBH5)在AML的发生与发展中起着重要的调控作用, 两者通过介导N⁶-甲基腺苷(N⁶-methyladenine, m⁶A)去甲基化的方式促进细胞增殖、抑制细胞凋亡和介导化疗药物耐受等。抑制FTO和ALKBH5的去甲基化活性能够延缓AML的发生与发展。因此, FTO和ALKBH5是治疗AML的潜在靶点。本文主要对m⁶A去甲基化酶在AML中发挥作用的分子机制以及通过小分子抑制剂靶向FTO和ALKBH5治疗AML的研究进展作一综述。

关键词: 肥胖相关蛋白; AlkB同系物5; 急性髓系白血病; m⁶A去甲基化; 靶向治疗

Research progress of m⁶A demethylase in acute myeloid leukemia

LU Weijie¹, ZENG Haifeng², XIAO Yechen^{1,2*}¹Department of Biotechnology, Basic Medical School, Guangdong Medical University,Dongguan 523808, China; ²Guangdong Provincial Key Laboratory of Medical Molecular

Diagnostics, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China)

Abstract: Acute myeloid leukemia (AML) is a common malignant tumor in the blood system. Fat mass and obesity-associated protein (FTO) and AlkB homolog 5 (ALKBH5) play an important regulatory role in the occurrence and development of AML. Both of them mediate N⁶-methyladenine (m⁶A) demethylation of glycoside, which promotes cell proliferation, inhibits apoptosis and mediates chemotherapy drug resistance. Inhibiting the demethylation activity of FTO and ALKBH5 can delay the occurrence and development of AML. Therefore, FTO and ALKBH5 are potential targets for the treatment of AML. This paper mainly reviews the molecular mechanism of the role of m⁶A demethylase in AML and the research progress in the treatment of AML through small molecule inhibitors targeting FTO and ALKBH5.

Key Words: fat mass and obesity-associated protein; AlkB homologue 5; acute myeloid leukemia; m⁶A demethylation; targeted therapy

急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是一种影响造血干/祖细胞功能的克隆性血液

收稿日期: 2023-05-15

基金项目: 广东省自然科学基金面上项目(2022A1515010028); 广东医科大学学科建设“冲补强”项目

第一作者: E-mail: 1147899790@qq.com

*通信作者: E-mail: yechenxiao2400@126.com

系统肿瘤,由获得性遗传和表观遗传突变引起,是一种临床和遗传高度异质性的疾病,其特征是造血系统中造血细胞增殖、分化异常且白血病细胞浸润骨髓、血液和其他组织^[1,2]。AML是继慢性淋巴细胞白血病之后最常见的类型,超过80%的患者存在生存期短或预后不良。在过去的10~20年里,美国食品和药物管理局批准的治疗淋巴恶性肿瘤的药物数量激增,但治疗AML的药物研发严重滞后,罕有用于治疗AML的新药被批准^[3]。

N⁶-甲基腺苷(N⁶-methyladenine, m⁶A)由腺苷酸的第六位N原子发生甲基化得来,是真核细胞中mRNA最丰富的修饰方法,是目前表观遗传学中最前沿的研究热点。m⁶A是一种可逆的、动态的RNA修饰,该过程的调控因子包括甲基化转移酶、去甲基化酶和甲基化阅读蛋白,通过对这些蛋白质的鉴定揭示了m⁶A修饰在mRNA的生命周期以及各种细胞、发育、疾病过程中的作用^[4]。在细胞核中, m⁶A在甲基化转移酶和去甲基化酶的作用下发生甲基化和去甲基化修饰,并结合特定的核阅读蛋白转运到细胞质中,然后在甲基化阅读蛋白的作用下发生翻译和降解^[5]。m⁶A修饰这一动态过程中每个环节的酶都能发挥重要的生物学功能,本文主要研究的是m⁶A去甲基化修饰过程中的去甲基化酶。

越来越多的研究证实, m⁶A修饰这一表观遗传学修饰能够通过调控癌基因、抑癌基因等基因mRNA的m⁶A水平参与肿瘤的发生与发展。已有研究表明, m⁶A去甲基化酶肥胖相关蛋白(fat mass and obesity-associated protein, FTO)和AlkB同系物5(AlkB homolog 5, ALKBH5)在乳腺癌、胃癌、胰腺癌、膀胱癌、结直肠癌以及白血病等肿瘤中发挥着重要的作用^[6,7], 这为FTO和ALKBH5成为治疗癌症的靶点提供了理论依据。本文主要介绍m⁶A的去甲基化修饰在AML中的研究进展以及靶向抑制FTO和ALKBH5以治疗AML的应用进展,旨在为临床治疗AML提供新的思路。

1 m⁶A去甲基化酶基本概述

1.1 m⁶A去甲基化酶简介

2012年,有研究者开发出了一种基于m⁶A抗体免疫沉淀的高通量测序技术——m⁶A-seq,并利用该技术测定和分析了人类和小鼠m⁶A修饰的情况。

这为后续研究m⁶A的功能以及m⁶A修饰调控因子的鉴定奠定了重要基础^[8]。到目前为止,已经报道的m⁶A去甲基化酶有FTO和ALKBH5。2007年, Frayling等^[9]通过全基因组关联研究发现了首个与脂肪量和肥胖相关的基因FTO。FTO属于非血红素Fe^{II}/α-KG依赖性双加氧酶AlkB家族蛋白。2011年, Jia等^[10]通过体外酶活实验发现, FTO过夜处理的核酸底物相对分子质量减少了14。在核酸酶P1和碱性磷酸酶的作用下将底物消化成核苷,通过高效液相色谱检测发现, FTO处理的底物中的m⁶A完全转化为了腺苷。在HeLa细胞和293T细胞中敲减FTO后, m⁶A在mRNA中的占比显著增加;而在HeLa细胞中过表达FTO后, m⁶A在mRNA中的占比显著降低,表明m⁶A是FTO的直接作用底物, FTO是一种去甲基化酶。同时也发现, FTO是以Fe^{II}和α-KG依赖的方式催化m⁶A的氧化去甲基化。这一发现开启了后续RNA可逆化学修饰对生物学调控方向的研究。也有研究通过体外酶活实验和高效液相色谱-质谱联用得到了相同的结果,并通过共聚焦免疫荧光显像观察FTO在五种不同细胞系中的定位,发现FTO在细胞核和细胞质中的相对比例因细胞系而异,揭示了定位于细胞核的FTO介导了m⁶A的去甲基化^[11]。

2013年,何川教授团队运用与鉴定FTO类似的体外酶活、高效液相色谱、质谱分析等方法对ALKBH5进行了鉴定^[12]。通过m⁶A核酸底物与重组ALKBH5蛋白体外混合实验,发现重组蛋白ALKBH5可以让m⁶A完全去甲基化。同样通过在HeLa细胞中对ALKBH5基因进行敲减和过表达,发现ALKBH5对m⁶A能够产生和FTO相同的效应。此外,与野生型小鼠相比,从Alkbh5基因敲除小鼠组织分离的总mRNA样品中观察到m⁶A增加。这些结果证明了ALKBH5是继FTO之后的第二种m⁶A去甲基化酶。ALKBH5属于AlkB家族蛋白,在体外和体内催化核RNA(主要是mRNA)上m⁶A的去甲基化,它的去甲基化活性影响核RNA的输出和代谢、基因表达等^[12]。这更加表明mRNA上可逆的m⁶A修饰在基本生物学过程中起着广泛而关键的作用。

1.2 m⁶A去甲基化酶的结构与功能

在结构上, FTO和ALKBH5都含有一个保守双链β-螺旋结构域(double-stranded β-helix, DSBH)的

核心催化结构域(介导去甲基化酶活性, 用于RNA和DNA的去甲基化), 以及其他的结构域^[13](图1)。2010年, 研究者首次解析了人FTO与3-甲基胸腺嘧啶络合物的晶体结构, 该结构含有505个氨基酸残基, 并分为两个可以相互作用的N端结构域(N-terminal domain, NTD, 残基1-326)和C端结构域(C-terminal domain, CTD, 残基327-505)。NTD作为包含一个被称为果冻卷模体的DSBH结构域的催化核心, 拥有RNA去甲基化酶活性。果冻卷模体的一侧由两个 α 螺旋($\alpha 3$ 和 $\alpha 4$)支撑, 另一侧被 $\beta 5$ 和 $\beta 6$ 连接形成的长环覆盖。CTD的主要构成部分 $\alpha 7$ 、 $\alpha 8$ 、 $\alpha 10$ 组成的三螺旋束可以和NTD中的螺旋结构相互作用破坏NTD的构象, 所以CTD在激活去甲基化活性方面也起着重要作用。FTO的 $\beta 1$ -2环能够识别双链DNA、单链DNA或者单链RNA^[14]。

ALKBH5全长有395个氨基酸, 其催化核心也包含一个DSBH结构域, 该结构域由11个 β 链和5个 α 螺旋组成。在底物特异性方面, 和其他AlkB家族成员不同的是, ALKBH5在半胱氨酸230和半胱氨酸267之间具有二硫键, 这使ALKBH5能够特异性识别单链核酸。两种酶特有的结构可能是设计选择性抑制剂的关键位点^[15]。

真核生物mRNA中的m⁶A影响mRNA的剪接、输出、稳定性和代谢。因此, m⁶A去甲基化酶FTO和ALKBH5参与了人类的许多生理功能。FTO和代谢有着密切的联系, 如肥胖、能量代谢和心肌细

胞收缩等^[10,16,17]。FTO参与昼夜节律的调控, 起到调节生物钟的作用^[18]。ALKBH5可以调节mRNA从细胞核到细胞质的易位以及降低新生RNA的合成速率, 维持RNA的整体稳定性^[19]。ALKBH5在精子发生过程、妊娠和复发性流产中起着重要作用^[20,21]。ALKBH5能够抑制抗病毒先天免疫反应^[22]。FTO和ALKBH5拥有广泛的生物学功能, 提示FTO和ALKBH5可能参与许多疾病的发生与发展, 并且可以作为潜在的治疗靶点。

2 m⁶A去甲基化酶在急性髓系白血病中的作用机制

2.1 FTO在急性髓系白血病中的作用

FTO自从被鉴定为首个m⁶A去甲基化酶, 越来越多的研究揭示了m⁶A去甲基化修饰在AML中的作用。Li等^[23]发现, FTO在某些白血病亚型, 如t(11q23)/MLL基因重排、t(15;17)/PML-RARA基因融合、FLT3-ITD和NPM1突变引起的AML中高表达。在体外, 过表达FTO能显著增强人AML细胞的活力和增殖能力, 同时抑制细胞凋亡; 当FTO被敲除时, 作用正好相反。在体内, Fto的过表达和敲除分别显著促进和抑制MLL融合基因介导的小鼠白血病发生。机制研究证实, FTO的功能依赖其m⁶A去甲基化酶活性, 若突变FTO的催化结构域, FTO功能即丧失。进一步研究发现, FTO通过降低其关键靶基因如锚蛋白重复序列和细胞信号抑制

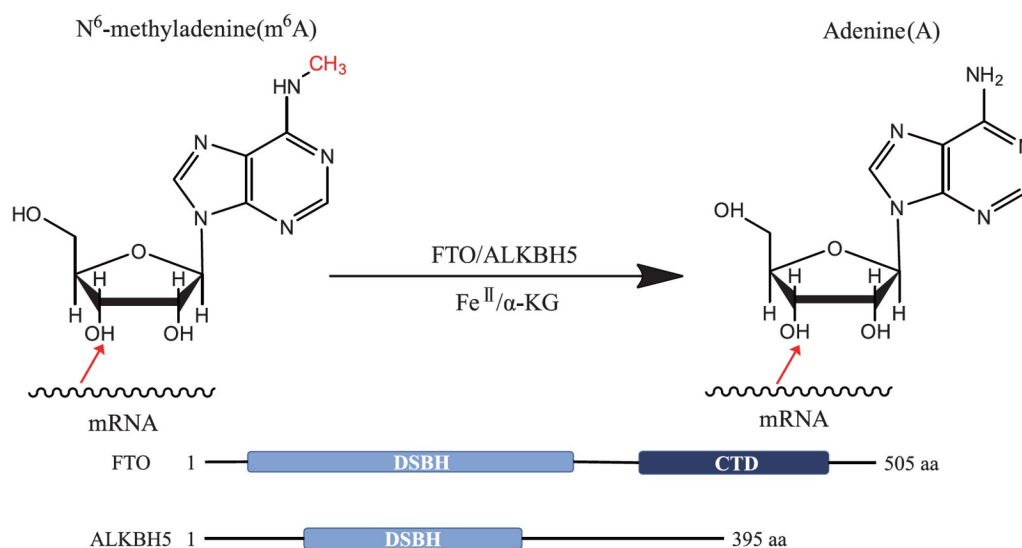


图1 FTO/ALKBH5的催化作用机制及其结构域的组成

因子盒蛋白2(ankyrin repeat and SOCS box containing 2, *ASB2*)以及视黄酸受体 α (retinoic acid receptor α , *RARA*)的mRNA转录本中的m⁶A水平, 触发相应的信号通路, 促进AML癌基因介导的细胞转化和AML的发生。

Su等^[24]发现, 右旋二羟基戊二酸(R-2-hydroxyglutarate, R-2HG)通过抑制FTO的活性, 激活FTO/m⁶A/MYC/CEBPA信号通路以抑制AML细胞增殖, 促进细胞周期阻滞和凋亡。Qing等^[25]发现, R-2HG可以通过靶向FTO/m⁶A/PFKP/LDHB信号通路抑制R-2HG敏感白血病细胞的糖酵解, 发挥抗肿瘤的作用。在体内, *Fto*敲除显著抑制了AML细胞移植小鼠白血病的发展; 6-磷酸果糖激酶血小板型(6-phosphofructokinase platelet type, *Pfkfb*)或者乳酸脱氢酶B(lactate dehydrogenase B, *Ldhd*)的敲除也显著延缓了体内AML的发生, 尽管和*Fto*相比程度较轻。*Fto*、*Pfkfb*或者*Ldhd*的敲除显著降低了小鼠骨髓和外周血中AML细胞的比例, 同时抑制了细胞向脾脏和肝脏的浸润, 并且显著延长了异种移植小鼠的生存时间。总之, FTO可以通过作用于PFKP和LDHB这两种糖酵解酶的mRNA, 影响AML细胞的糖酵解进而影响AML的发展。Xiao等^[26]发现, 核磷素1(nucleophosmin 1, *NPM1*)突变的AML中高表达的FTO导致m⁶A整体丰度下调。FTO的过表达部分原因是由于NPM1突变型A通过阻断蛋白酶体途径上调。FTO能够促进该亚型白血病细胞的增殖和抑制细胞的凋亡。机制研究表明, FTO通过其m⁶A去甲基化酶活性激活PDGFRB/ERK信号通路, 从而促进AML细胞存活。

以上研究通过体内外实验为证明FTO在AML的发生与发展中起着重要调控作用提供了有力的证据。因此, FTO可能在AML或者其他癌症的发生与治疗中有广泛的影响。

2.2 ALKBH5在急性髓系白血病中的作用

FTO已被证实在AML中发挥关键的促癌作用, 另外一种去甲基化酶ALKBH5也被证实在AML中有重要的生物学功能。2017年, Kwok等^[27]基于对癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA) AML队列数据集的分析, 发现*ALKBH5*在AML患者中通常是缺失的, 尤其是在*TP53*突变的病例中。

2020年, Shen等^[28]发现, *ALKBH5*在人类AML中表达增加, 并且它的表达水平和AML的不良预后相关。通过重新分析TCGA中的AML数据集, 以及其他几个独立的AML队列数据集, 发现*ALKBH5*缺失在AML中不常见, 其表达水平与癌症中的*TP53*突变无关。体内外实验证明: 敲除*ALKBH5*可以显著抑制人AML细胞的生长和诱导细胞凋亡, 并且AML细胞的整体m⁶A水平显著升高。与野生型小鼠相比, *Alkbh5*敲除的小鼠发育正常, 生长和寿命均未见明显缺陷。通过体外克隆形成实验发现, *Alkbh5*的敲除显著抑制了*MLL-AF9*融合基因介导的细胞永生。将*MLL-AF9*融合基因诱导的AML细胞进行骨髓移植发现, *Alkbh5*表达的缺失显著延迟了白血病的发生, 并以剂量依赖的形式延长了受体小鼠的生存时间。在分子机制上, *ALKBH5*作为m⁶A去甲基化酶, 通过调控靶基因酸性卷曲转化相关蛋白3(transforming acidic coiled-coil containing protein 3, TACC3), 在促进白血病发生和白血病干细胞/白血病起始细胞(leukemia stem cells/leukemia initiating cells, LSCs/LICs)自我更新方面发挥关键作用, 但*ALKBH5*对正常的造血功能影响不大, 这凸显了靶向*ALKBH5*/m⁶A/TACC3信号通路在治疗AML中的潜力。Wang等^[29]同样发现, *ALKBH5*在AML中高表达, 并且与预后不良相关。*ALKBH5*对于LSCs是选择性需要的, 对正常HSC不是必需的。在AML患者白血病细胞中赖氨酸去甲基化酶4C(lysine demethylase 4C, KDM4C)和*ALKBH5*的表达呈正相关。KDM4C通过减少抑制性组蛋白修饰H3K9me3的积累, 增加染色质可及性以及促进MYB原癌基因转录因子、RNA聚合酶II-CTD结构域和*ALKBH5*启动子的结合来调控AML细胞中*ALKBH5*的表达。*ALKBH5*以依赖m⁶A的方式调节AML患者白血病细胞中受体酪氨酸激酶AXL的mRNA稳定性。揭示了KDM4C-*ALKBH5*-AXL信号通路在AML发生和维持中的作用。总之, 这两项研究均证明了*ALKBH5*通过维持mRNA的稳定性来调节其靶点, 通过控制白血病干细胞的自我更新能力维持AML的发展。重要的是, 这两项研究扩展了AML发展所需的转录组调控因子, 表明了*ALKBH5*是AML治疗的新靶点, 这更加突出了靶向*ALKBH5*以治疗AML的潜力^[30]。

有研究者从山羊肝脏中分离得到生物活性肽(bioactive peptide, BP), 并探究了BP在AML预防和治疗中的潜在作用。BP在体外可以抑制AML细胞增殖和促进凋亡, 在体内可以抑制AML发展。ALKBH5可以降低MTOR相关蛋白——LST8同系物(MTOR associated protein, LST8 homolog, MLST8)和真核翻译起始因子4E结合蛋白1(eukaryotic translation initiation factor 4E binding protein 1, EIF4EBP1)的m⁶A水平, 导致mRNA稳定性降低。BP通过下调ALKBH5抑制MLST8/EIF4EBP1 mRNA的m⁶A去甲基化, 从而抑制AML细胞增殖和肿瘤生长^[31]。

ALKBH5在AML发生机制和LSCs/LICs的自我更新中起重要的作用。与FTO在正常造血中的功能尚不清楚不同的是, ALKBH5在正常造血中不是必需的, 并且ALKBH5基因表达的升高与AML患者预后不良显著相关^[28,29]。这些都说明针对ALKBH5治疗AML是一种非常有前景的治疗策略。

3 小分子抑制剂靶向FTO/ALKBH5治疗急性髓系白血病

近年来, 越来越多关于FTO或者ALKBH5的表观遗传学研究证明了两者在AML的发生与发展中起重要的调控作用(表1), 以及揭示了m⁶A去甲基化酶作为AML治疗靶点的潜力。目前报道的FTO/ALKBH5抑制剂主要有2OG类似物和底物竞争性抑制剂^[32](图2)。R-2HG是突变型异柠檬酸脱氢酶1/2产生的一种肿瘤代谢物, 在结构上和 α -酮戊二酸(α -ketoglutaric acid, α -KG)相似, 能够竞争性抑制一系列Fe^{II}/ α -KG依赖性双加氧酶。FTO高表达导致AML细胞对R-2HG敏感, 而MYC信号的过度激活增强了耐药性, 这种耐药性可以通过抑制MYC信号来逆转。R-2HG的体内治疗显著抑制了敏感细

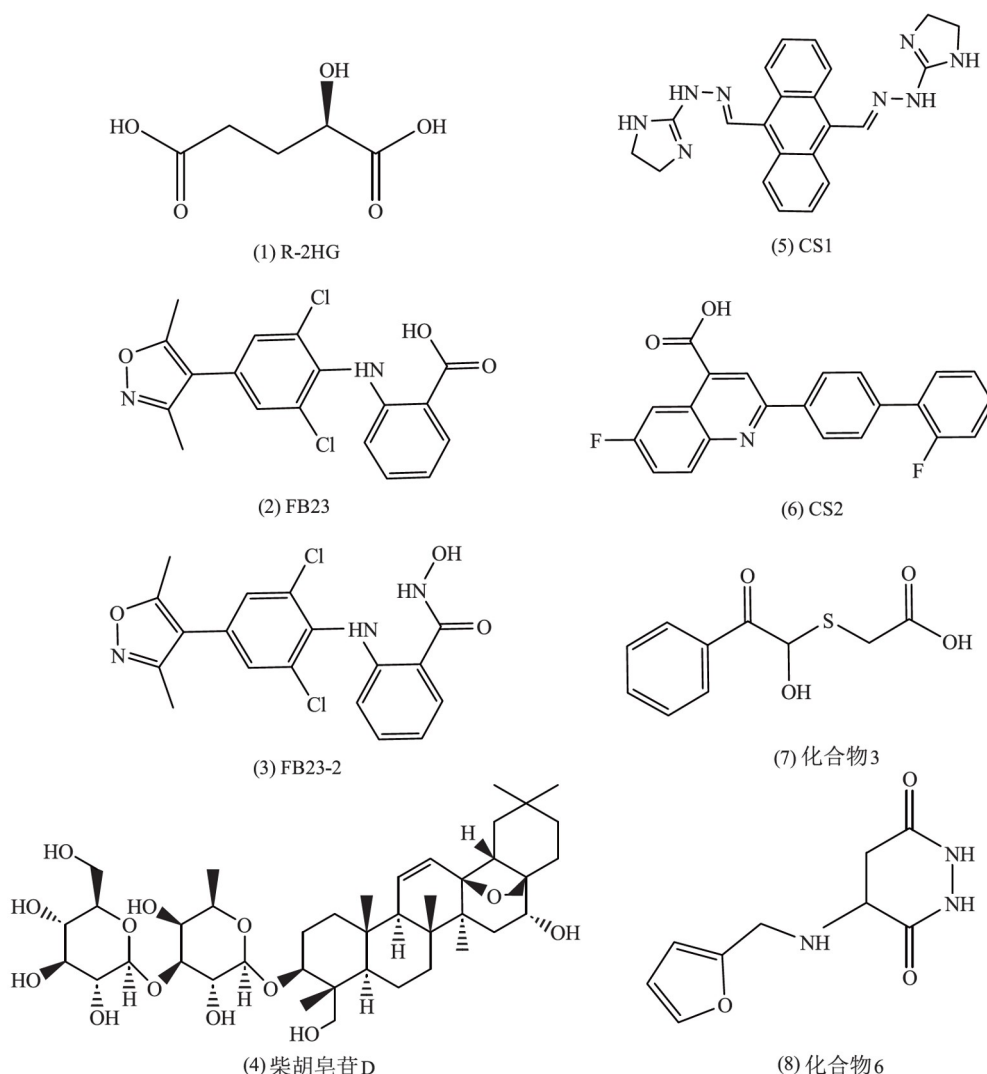
胞异种移植小鼠的AML进展并延长了小鼠的存活时间, 但对移植耐药细胞的小鼠没有效果。R-2HG通过靶向作用于FTO发挥广泛的体内外抗AML功能^[24]。

继发现R-2HG可以靶向抑制FTO并激活FTO/m⁶A/MYC/CEBPA信号通路发挥广泛的体内外抗AML功能之后, 有研究者开发了两种很有前景的FTO抑制剂——FB23和FB23-2, 两者可以直接结合FTO, 并选择性地抑制FTO的m⁶A去甲基化酶活性。FB23-2模拟FTO缺失, 在体外显著抑制人AML细胞系和原代AML细胞的增殖, 促进细胞的分化和凋亡。此外, FB23-2在异种移植小鼠中显著抑制人AML细胞系和原代细胞的发展并且提高了小鼠的存活率。总之, FTO是一个潜在的药物靶点, 小分子抑制剂靶向FTO具有治疗AML的潜力^[33]。尽管FB23和FB23-2在抑制人AML细胞FTO活性和生存能力方面有较好的效果, 但是对于AML细胞活力的抑制程度并不能达到令人满意的效果。因此, 开发有效的FTO抑制剂来治疗AML仍然是一个迫切和未满足的需求。

2020年, Su等^[34]筛选出了两种有效的小分子FTO抑制剂比生群(bisantrene, CS1)和布喹那(brequinar, CS2)。CS1和CS2是一种高效的体内外抗白血病FTO抑制剂。CS1或CS2对FTO的抑制和FTO敲除的作用一致, 两种处理均能导致人AML细胞凋亡显著增加和细胞周期阻滞以及显著降低小鼠AML模型中LSCs/LICs的发生频率。50 nmol/L的CS1几乎可以完全抑制AML细胞的再生能力, 突出了该抑制剂在抑制LSCs/LICs自我更新方面的有效作用。CS2治疗异种移植模型显著减少了白血病浸润, 并且将小鼠的生存时间延长了一倍。CS1或CS2可以抑制免疫检查点基因的表达, 从而使AML细胞对T细胞毒性敏感, 克服去甲基化药物诱导的

表1 m⁶A去甲基化酶在AML中的调控作用

m ⁶ A去甲基化酶	调控基因/信号通路	调控作用	参考文献
FTO	ASB2、RARA	促癌和抑制化疗药物	[23]
FTO	MYC、CEBPA	抑制AML细胞增殖以及促细胞周期阻滞和凋亡	[24]
FTO	PFKP、LDHB	抑制AML细胞的糖酵解	[25]
FTO	PDGFRB、ERK	促进AML细胞存活	[26]
ALKBH5	TACC3	促进AML的发生和LSCs/LIC的自我更新	[28]
ALKBH5	KDM4C-ALKBH5-AXL	促进AML的发生以及预后不良	[29]



注: (1)-(6)为FTO抑制剂, (7)和(8)为ALKBH5抑制剂

图2 小分子抑制剂结构图

免疫逃逸。CS1和CS2于20世纪末已经开展了肿瘤治疗的临床试验, 研究还发现, CS1和CS2能够缩小小鼠体内乳腺癌的成瘤体积, 在体外抑制恶性胶质瘤、胰腺癌、乳腺癌细胞的增殖。FTO抑制剂CS1和CS2在各种类型肿瘤中的强大作用, 展现了其用于临床治疗AML的潜力。

2021年, Sun等^[35]研究了柴胡皂苷D(Saikosaponin-d, SsD)在体外、小鼠、原代患者细胞和酪氨酸激酶抑制剂耐药细胞中的药理活性和作用机制。SsD在体内和体外均能广泛抑制AML细胞增殖, 促进细胞凋亡和细胞周期阻滞。在机制上, SsD直接靶向FTO, 从而增加RNA的整体甲基化, 进而降低下游基因转录本的稳定性, 导致相关通路的抑

制。同时, SsD还克服了FTO/ m^6A 介导的白血病对酪氨酸激酶抑制剂的耐药性。

有关FTO抑制剂治疗AML的研究相对于ALKBH5较多, 作为另外一种 m^6A 去甲基化酶, 开发ALKBH5抑制剂用于治疗AML具有很好的前景。除了近期报道的生物活性肽可以下调ALKBH5以外^[31], 有研究者筛选出两种低微摩尔活性ALKBH5抑制剂: 2-[(1-羟基-2-氧基-2-苯基乙基)磺酰]乙酸(化合物3)和4-[(呋喃-2-基)甲基]氨基}-1,2-二噻烷-3,6-二酮(化合物6)应用于成人AML细胞系的培养, 研究了ALKBH5抑制对细胞活力的影响。在不同浓度下, 化合物3和6对HL-60 AML细胞系活力的抑制作用呈时间依赖性, 低浓度化合物处

理细胞4 h后抑制效果已经显著, 时间延长到48 h抑制效果更好^[36]。

进一步优化和开发ALKBH5抑制剂化合物, 能为开发临床治疗AML的抗癌药物提供一定的参考价值。此外, 近期有研究开发出了甲基化转移酶METTL3的特异性小分子抑制剂STM2457。在体外, STM2457可以抑制AML细胞的增殖, 促进分化和凋亡; 在体内, 能够延长AML小鼠的存活时间^[37]。另外, 有研究者开发出了m⁶A阅读蛋白IGF2BP2的小分子抑制剂CW11-2, 该抑制剂能够结合IGF2BP2并抑制其与m⁶A修饰的靶转录本的相互作用。CW11-2单独或联合柔红霉素、高三尖杉酯碱靶向IGF2BP2治疗AML具有良好的疗效^[38]。这表明m⁶A修饰这一动态过程中的每个环节都与AML有一定的关联, 鉴定m⁶A修饰相关的酶在AML中的功能并开发出相应的小分子抑制剂对于临床治疗AML是十分有前景的。

4 小结

FTO和ALKBH5在各种肿瘤的发生与发展中扮演着重要的角色, 表观遗传修饰剂在治疗各种癌症中能起到不错的效果。FTO和ALKBH5在AML细胞中高表达, 无论体内还是体外, 两者通过相关信号通路对AML起着重要的调控作用。越来越多的研究者开发和筛选出了FTO和ALKBH5的高效抑制剂, 通过抑制FTO和ALKBH5介导的m⁶A去甲基化从而起到体内外抗AML的作用。目前已经发现的R-2HG、FB23-2、CS1、CS2和SsD以及化合物3和6都能够抑制AML, 但是由于生物利用度低、敏感性和选择性差, 导致临床应用较少。不断深入研究FTO和ALKBH5在AML中发挥作用的分子机制, 能够为未来开发更加高效的靶向抑制剂提供理论基础, 进而为临床靶向治疗AML提供策略和方向。

参考文献

- [1] Dohner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*, 2015, 373(12): 1136-1152
- [2] Pan D, Rampal R, Mascarenhas J. Clinical developments in epigenetic-directed therapies in acute myeloid leukemia. *Blood Adv*, 2020, 4(5): 970-982
- [3] Watts J, Nimer S. Recent advances in the understanding and treatment of acute myeloid leukemia. *F1000Res*, 2018, 7: 1196
- [4] Roundtree IA, Evans ME, Pan T, et al. Dynamic RNA modifications in gene expression regulation. *Cell*, 2017, 169(7): 1187-1200
- [5] Zaccara S, Ries RJ, Jaffrey SR. Reading, writing and erasing mRNA methylation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(10): 608-624
- [6] Li Y, Su R, Deng X, et al. FTO in cancer: functions, molecular mechanisms, and therapeutic implications. *Trends Cancer*, 2022, 8(7): 598-614
- [7] Qu J, Yan H, Hou Y, et al. RNA demethylase ALKBH5 in cancer: from mechanisms to therapeutic potential. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 8
- [8] Dominissini D, Moshitch-Moshkovitz S, Schwartz S, et al. Topology of the human and mouse m6A RNA methylomes revealed by m6A-seq. *Nature*, 2012, 485(7397): 201-206
- [9] Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*, 2007, 316(5826): 889-894
- [10] Jia G, Fu Y, Zhao X, et al. N6-Methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO. *Nat Chem Biol*, 2011, 7(12): 885-887
- [11] Wei J, Liu F, Lu Z, et al. Differential m⁶A, m⁶Am, and m¹A demethylation mediated by FTO in the cell nucleus and cytoplasm. *Mol Cell*, 2018, 71(6): 973-985.e5
- [12] Zheng G, Dahl JA, Niu Y, et al. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility. *Mol Cell*, 2013, 49(1): 18-29
- [13] Tsujikawa K, Koike K, Kitae K, et al. Expression and sub-cellular localization of human ABH family molecules. *J Cell Mol Med*, 2007, 11(5): 1105-1116
- [14] Han Z, Niu T, Chang J, et al. Crystal structure of the FTO protein reveals basis for its substrate specificity. *Nature*, 2010, 464(7292): 1205-1209
- [15] Feng C, Liu Y, Wang G, et al. Crystal structures of the human RNA demethylase Alkbh5 reveal basis for substrate recognition. *J Biol Chem*, 2014, 289(17): 11571-11583
- [16] Stratigopoulos G, Padilla SL, LeDuc CA, et al. Regulation of Fto/Ftm gene expression in mice and humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2008, 294(4): R1185-R1196
- [17] Mathiyalagan P, Adamiak M, Mayourian J, et al. FTO-dependent N⁶-methyladenosine regulates cardiac function during remodeling and repair. *Circulation*, 2019, 139(4): 518-532
- [18] Wang CY, Shie SS, Hsieh IC, et al. FTO modulates

- circadian rhythms and inhibits the CLOCK-BMAL1-induced transcription. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 464(3): 826-832
- [19] Dauksaite V, Akusjärvi G. Human splicing factor ASF/SF2 encodes for a repressor domain required for its inhibitory activity on pre-mRNA splicing. *J Biol Chem*, 2002, 277(15): 12579-12586
- [20] Li XC, Jin F, Wang BY, et al. The m6A demethylase ALKBH5 controls trophoblast invasion at the maternal-fetal interface by regulating the stability of CYR61 mRNA. *Theranostics*, 2019, 9(13): 3853-3865
- [21] Zhang Y, Tang C, Yu T, et al. MicroRNAs control mRNA fate by compartmentalization based on 3' UTR length in male germ cells. *Genome Biol*, 2017, 18(1): 105
- [22] Zheng Q, Hou J, Zhou Y, et al. The RNA helicase DDX46 inhibits innate immunity by entrapping m⁶A-demethylated antiviral transcripts in the nucleus. *Nat Immunol*, 2017, 18(10): 1094-1103
- [23] Li Z, Weng H, Su R, et al. FTO plays an oncogenic role in acute myeloid leukemia as a N⁶-methyladenosine RNA demethylase. *Cancer Cell*, 2017, 31(1): 127-141
- [24] Su R, Dong L, Li C, et al. R-2HG exhibits anti-tumor activity by targeting FTO/m6A/MYC/CEBPA signaling. *Cell*, 2018, 172(1-2): 90-105.e23
- [25] Qing Y, Dong L, Gao L, et al. R-2-hydroxyglutarate attenuates aerobic glycolysis in leukemia by targeting the FTO/m6A/PFKFB3/LDHB axis. *Mol Cell*, 2021, 81(5): 922-939.e9
- [26] Xiao Q, Lei L, Ren J, et al. Mutant NPM1-regulated FTO-mediated m6A demethylation promotes leukemic cell survival via PDGFRB/ERK signaling axis. *Front Oncol*, 2022, 12: 817584
- [27] Kwok CT, Marshall AD, Rasko JEJ, et al. Genetic alterations of m6A regulators predict poorer survival in acute myeloid leukemia. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1): 39
- [28] Shen C, Sheng Y, Zhu AC, et al. RNA demethylase ALKBH5 selectively promotes tumorigenesis and cancer stem cell self-renewal in acute myeloid leukemia. *Cell Stem Cell*, 2020, 27(1): 64-80.e9
- [29] Wang J, Li Y, Wang P, et al. Leukemogenic chromatin alterations promote AML leukemia stem cells via a KDM4C-ALKBH5-AXL signaling axis. *Cell Stem Cell*, 2020, 27(1): 81-97.e8
- [30] Cheng Y, Luo H, Kharas MG. Rubbing out leukemia stem cells by erasing the eraser. *Cell Stem Cell*, 2020, 27(1): 3-5
- [31] Zhang L, Su X. Bioactive peptide inhibits acute myeloid leukemia cell proliferation by downregulating ALKBH5-mediated m6A demethylation of EIF4EBP1 and MLST8 mRNA. *Cell Oncol*, 2022, 45(3): 355-365
- [32] You Y, Fu Y, Huang M, et al. Recent advances of m6A demethylases inhibitors and their biological functions in human diseases. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(10): 5815
- [33] Huang Y, Su R, Sheng Y, et al. Small-molecule targeting of oncogenic FTO demethylase in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell*, 2019, 35(4): 677-691.e10
- [34] Su R, Dong L, Li Y, et al. Targeting FTO suppresses cancer stem cell maintenance and immune evasion. *Cancer Cell*, 2020, 38(1): 79-96.e11
- [35] Sun K, Du Y, Hou Y, et al. Saikosaponin D exhibits anti-leukemic activity by targeting FTO/m⁶A signaling. *Theranostics*, 2021, 11(12): 5831-5846
- [36] Selberg S, Seli N, Kankuri E, et al. Rational design of novel anticancer small-molecule RNA m6A demethylase ALKBH5 inhibitors. *ACS Omega*, 2021, 6(20): 13310-13320
- [37] Yankova E, Blackaby W, Albertella M, et al. Small-molecule inhibition of METTL3 as a strategy against myeloid leukaemia. *Nature*, 2021, 593(7860): 597-601
- [38] Weng H, Huang F, Yu Z, et al. The m⁶A reader IGF2BP2 regulates glutamine metabolism and represents a therapeutic target in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell*, 2022, 40(12): 1566-1582.e10