

综述

m6A甲基化修饰在急性髓系白血病中的研究进展

李东华¹, 杨锦才¹, 赵 丽^{2*}

(¹兰州大学第一临床医学院, 兰州 730000; ²甘肃省血液病分子诊断与治疗临床医学研究中心,
兰州大学第一医院临床细胞分子遗传与免疫检验室, 兰州 730000)

摘要: 急性髓系白血病是一种在发生原因、遗传背景以及预后结果等方面呈现出高度差异的血液系统恶性肿瘤, 其病死率和复发率极高。因此, 探索新的诊断策略和治疗方法是提高急性髓系白血病患者生存率的途径之一。N6-甲基腺苷(m6A)甲基化是真核生物RNA中广泛存在的修饰方式, 在基因转录中、转录后及翻译等方面发挥重要作用。研究表明, m6A甲基化修饰与急性髓系白血病的发生、发展、耐药和预后密切相关。本文就m6A甲基化修饰在急性髓系白血病中的作用及相关抑制剂研究进展作一简要综述, 旨在为优化白血病的诊疗提供新的策略。

关键词: 急性髓系白血病; N6-甲基腺苷; 甲基化

Research progress of m6A methylation modification
in acute myeloid leukemiaLI Donghua¹, YANG Jincan¹, ZHAO Li^{2*}

(¹The First School of Clinical Medicine, The Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;

²Gansu Clinical Medical Research Center for Molecular Diagnosis and Treatment of Hematology Diseases, Clinical Molecular Cytogenetics and Immunology Laboratory, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Acute myeloid leukemia is a hematological malignancy that is highly variable in terms of causes, genetic background, and prognosis. Its mortality and recurrence rates are extremely high. Therefore, exploring new diagnostic strategies and treatments is one of the ways to improve the survival rate of patients with acute myeloid leukemia. N6-methyladenosine (m6A) methylation is a widespread modification in eukaryotic RNA and plays an important role in gene transcription, post-transcription and translation. Current research shows that m6A methylation modification is closely related to the occurrence, development, drug resistance and prognosis of acute myeloid leukemia. This paper provides a brief review on the role of m6A methylation modification in acute myeloid leukemia and the progress of related inhibitor research, aiming to provide new strategies for optimizing the diagnosis and treatment of leukemia.

Key Words: acute myeloid leukemia; N6-methyladenosine; methylation

急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是一种严重危害人类健康的造血干细胞的恶性克隆疾病^[1]。AML的病因复杂, 涉及化疗药物、

电离辐射、前驱血液病等因素, 表观遗传修饰在AML的发生进展过程中具有重要作用^[2]。表观遗传学涉及RNA甲基化、DNA甲基化、组蛋白甲基化

收稿日期: 2023-12-29

第一作者: E-mail: 2050311454@qq.com

*通信作者: E-mail: zhaoli@lzu.edu.cn

等。其中, DNA甲基化、组蛋白甲基化和RNA甲基化参与细胞周期调控、DNA损伤反应、细胞增殖、分化和凋亡等过程^[3]。

RNA甲基化在组蛋白结构形成和基因表达方面具有重要作用, 包括mRNA、lncRNA等多种修饰方式^[4]。其中, m6A甲基化修饰是最常见的RNA甲基化修饰, 其不仅在DNA损伤、组织生长、生物昼夜节律调节等方面发挥重要作用, 还调控着肿瘤的进展及预后^[5]。文献报道, m6A甲基化修饰与AML密切相关, 其相关酶参与调控AML发生、细胞增殖、分化及凋亡, 在AML的进展、耐药和预后等方面具有重要意义, 临床上可作为AML判断预后的新型标志物及潜在治疗靶点^[6]。同时, 随着酶学技术的发展及对m6A甲基化作用机制的不断探索, 一些小分子抑制剂在AML治疗中广泛应用, 表明m6A相关抑制剂在临床治疗中存在巨大潜力^[4,5]。本文主要就m6A甲基化修饰在AML中的作用及m6A相关抑制剂在AML治疗中的最新研究进展作一综述。

1 m6A甲基化修饰的概述

m6A甲基化修饰通过甲基转移酶复合物装配、去甲基酶去甲基化, 然后再被m6A识别蛋白所识别, 从而参与RNA的代谢、加工等过程, 并与基因的转录调控有关^[7]。其中, m6A甲基化主要在转录后调节剪接、RNA的翻译、核转运和衰变, m6A甲基化修饰各成分功能多样并通过调控相关靶基因(表1), 在AML发病过程及进展中发挥重要作用^[8,9]。

1.1 m6A甲基转移酶复合物

m6A甲基化酶复合体可以催化RNA的6号原子甲基化, 从而实现RNA的甲基化。目前发现的m6A修饰复合体包括METTL3、METTL14、WTAP、RBM15、KIAA1429及ZC3H13等^[10](图1)。其中, METTL3具有催化m6A甲基化的功能, 对m6A甲基化的形成具有最重要的作用^[11]; METTL14可与METTL3结合形成m6A甲基化复合物, 强化METTL3的催化作用^[12]; WTAP在稳定异质二聚体方面发挥作用, 可促进复合物定位于核小斑^[13]; RBM15可通过与METTL3、WTAP相互作用, 诱导m6A甲基化修饰的形成^[14]; KIAA1429通

过调节3'UTR和终止密码子附近区域的m6A甲基化, 进而影响mRNA的多聚腺苷化, 同时其也可与WTAP相互作用, 催化m6A修饰的形成^[15], 而ZC3H13通过与核内RNA结合蛋白相互作用来调节m6A的沉积^[16]。

1.2 m6A去甲基化酶

m6A去甲基化酶主要包括FTO和ALKBH5等。FTO位于16q122, 其第一个内含子中存在与肥胖相关的单核苷酸多态性位点(single nucleotide polymorphism, SNP)^[17]。FTO具有基因多态性, 可以通过多种途径调节相关邻近基因如*IRX3*(*iroquoishomeobox 3*)、*IRX5*、*RPGRIP1L*(*retinitis pigmentosa GTPase regulator-interacting protein 1 like*)、*RBL2*(*retinoblastoma like 2*)等, 从而参与肿瘤的进展^[18]。ALKBH5是人源ALKB双加氧酶蛋白家族成员之一, 其N端存在卷曲螺旋结构和富集丙氨酸。ALKBH5通过上调RNAaseA敏感性, 进而对细胞核中的mRNA进行去甲基化修饰, 从而参与调控转录及翻译^[19]。

1.3 m6A识别蛋白

m6A识别蛋白可以识别并结合mRNA的修饰位点^[20,21]。其中, YTHDF2属于YTH蛋白家族(YTHDF1/2/3和YTHDC1/2), 也是重要的m6A识别蛋白之一, 其不仅可以通过与m6A位点结合缩短mRNA的半衰期, 还可促进其降解。另外, 细胞核中的YTHDF2可以结合靶mRNA的5'UTR中的m6A, 从而促进其cap帽子结构无关翻译^[22]。YTHDF1和YTHDC2都具有增强m6A修饰mRNA的翻译效率的作用^[23,24], YTHDF3则在调节mRNA翻译和降解方面与YTHDF1和YTHDF2具有协同作用^[25]; YTHDC1在核内则调节m6A标记的mRNA的加工和出核^[26]。另一个m6A识别蛋白——IGF2BP2属于IGF2BP家族(IGF2BP1/2/3), 其功能是增强目标mRNA的稳定性和翻译^[27]。另外, hnRNPs在RNA加工和维持其稳定性等方面起作用, 如hnRNP C介导mRNA剪接, hnRNP A2B1促进初级microRNA加工^[28]。

2 m6A甲基转移酶复合物在AML中的作用

2.1 METTL3在AML中的作用

METTL3在正常造血与恶性造血中发挥重要作

表 1 m6A各成分功能及调控靶点

类别	m6A相关蛋白	功能及调控的靶基因
书写器(Writers)	METTL3	具有催化m6A甲基化的功能, 通过升高 <i>C-MYC</i> 、 <i>BCL-2</i> 、 <i>PTEN</i> 及 <i>ITGA4</i> 的m6A甲基化水平上调其表达, 进而促进AML细胞增殖
	METTL14	与METTL3结合形成m6A甲基化复合物, 强化METTL3的催化作用; METTL14可通过m6A甲基化上调 <i>MYB</i> 、 <i>MYC</i> mRNA稳定性; miR-1306-5p可下调METTL14表达, 进而降低 <i>MYB</i> 和 <i>MYC</i> m6A甲基化水平, 下调二者转录本的mRNA稳定性; lncRNA <i>UCA1</i> 通过与METTL14蛋白结合促进其稳定性, 上调 <i>CXCR4</i> 和 <i>CYP1B1</i> 蛋白水平
	WTAP	稳定异质二聚体, 可促进复合物定位于核小斑, 可上调 <i>KDM4B</i> 蛋白表达, 下调 <i>H3K9me3</i> 活性
	RBM15	与METTL3、WTAP相互作用, 诱导m6A甲基化的形成
	KIAA1429	可与WTAP相互作用, 催化m6A修饰的形成
	ZC3H13	通过与核内RNA结合蛋白相互作用来调节m6A的沉积
擦除器(Eraser)	FTO	介导m6A去甲基化修饰, 通过下调 <i>ASB2</i> 和 <i>RARA</i> m6A甲基化水平降低二者蛋白质水平; 通过下调 <i>CEBP4</i> 和 <i>TP53INP2</i> m6A甲基化水平上调其蛋白质水平
	ALKBH5	介导m6A去甲基化修饰, 可上调 <i>AXL</i> 基因表达水平; 通过调控 <i>TACC3</i> mRNA稳定性下调P21和上调MYC蛋白水平
阅读器(Reader)	YTHDF1	增强m6A修饰mRNA的翻译效率
	YTHDF2	促进m6A标记mRNA的降解, 可抑制 <i>TNF-α</i> 和 <i>TNFRSF1b</i> 基因表达
	YTHDF3	在调节mRNA翻译和降解方面与YTHDF1和YTHDF2具有协同作用
	YTHDC1	在核内调节m6A标记的mRNA的加工和出核
	YTHDC2	增加m6A修饰mRNA的翻译效率
	hnRNP C	介导mRNA剪接
	hnRNP A2B1	促进初级microRNA加工
	IGF2BP1/2/3	增强mRNA稳定性, IGF2BP2可上调 <i>MYC</i> 、 <i>SLC1A5</i> 、 <i>GPT2</i> 及 <i>BCL-2</i> 水平

注: METTL3: 甲基转移酶样蛋白3(methyltransferase-like 3); C-MYC: C-骨髓细胞瘤癌基因(myelocytomatosis oncogene gene); BCL-2: B细胞淋巴瘤-2基因(B-cell lymphoma-2); PTEN: 磷酸酶及张力蛋白同源基因(phosphatase and tensin homologous gene); ITGA4: 整合素α4(integrin α4); MYB: V-myb禽成髓细胞瘤病毒癌基因同源物(V-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog); CXCR4: CXC趋化因子受体4(CXC chemokine receptor 4); CYP1B1: 细胞色素P4501B1(cytochrome P4501B1); WTAP: Wilms肿瘤1相关蛋白(Wilms tumor 1-associated protein); KDM4B: 精氨酸去甲基化酶4B(lysine-specific demethylase 4B); RBM15: RNA结合基序蛋白15(RNA-binding motif 15); KIAA1429: 病毒样m6A转移酶相关蛋白(virus-like m6A methyltransferase-associated protein); ZC3H13: CCCH型锌指蛋白13(zinc finger CCCH-type containing 13); FTO: 肥胖相关蛋白(fat mass and obesity-associated protein); ASB2: 细胞因子信号抑制盒2(a suppressor of cytokine signaling box-2); RARA: 视黄酸受体α(retinoic acid receptor alpha); CEBPA: 增强CCAAT增强子结合蛋白A(CCAAT enhancer binding protein A); TP53INP2: 肿瘤蛋白p53诱导核蛋白2(tumor protein p53 inducible nuclear protein 2); ALKBH5: ALKB同系5(alpha-ketoglutarate-dependent dioxygenase alkB homolog 5); AXL: Anexelekto(属于受体酪氨酸激酶家族成员); TACC3: 转化酸性卷曲螺旋蛋白3(transforming acidic coiled-coil containing protein 3); P21: 细胞周期蛋白依赖性抑制剂1A(cyclin dependent kinase inhibitor 1A); YTHDF1: YTH结构域家族蛋白1(YTH domain family 1); TNF-α: 肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α); TNFRSF1b: 肿瘤坏死因子受体超家族成员1b(tumor necrosis factor receptor super family member 1b); YTHDC1: YTH结构域蛋白1(YTH domain containing protein 1); hnRNP C: 异质性胞核核糖核蛋白C(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C); IGF2BP2: 胰岛素样生长因子2 mRNA结合蛋白2(insulin-like growth factor 2 mRNA binding proteins-2); SLC1A5: 溶质载体家族1成员5(solute carrier family 1 member 5); GPT2: 谷丙转氨酶2(glutamate pyruvic transaminase 2)

用。METTL3可维持正常造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)骨髓微环境的稳态, 抑制HSCs髓系分化^[29,30], 沉默METTL3及低水平m6A甲基化水平可诱导骨髓间充质干细胞分化、凋亡, 导致造血衰竭^[31]。与正常HSCs相比, METTL3在AML中过表达, 通过其m6A甲基化酶功能, METTL3升高*MYC*、*BCL-2*和*PTEN*的m6A甲基化水平并上调其表达, 从而抑制正常HSCs分化, 诱导造血停滞在较早阶段^[32,33]。Sang等^[34]发现, 敲除*METTL3*可诱导AML细胞分化, 促进细胞凋亡。同时, 该研究

还发现, METTL3在AML患者确诊和未缓解时表达上调, 在达到完全缓解后下调, 说明METTL3可能与AML耐药相关。另一项研究中, Li等^[35]通过对完全缓解和复发AML患者的RNA测序发现, METTL3在AML化疗耐药中发挥重要作用。通过细胞实验证实, METTL3以m6A依赖的方式增强*ITGA4* mRNA稳定性, 上调*ITGA4*蛋白表达, 从而增强AML细胞的黏附性和迁移性, 诱导骨髓微环境AML细胞的归巢和植入, 最终导致化疗耐药。

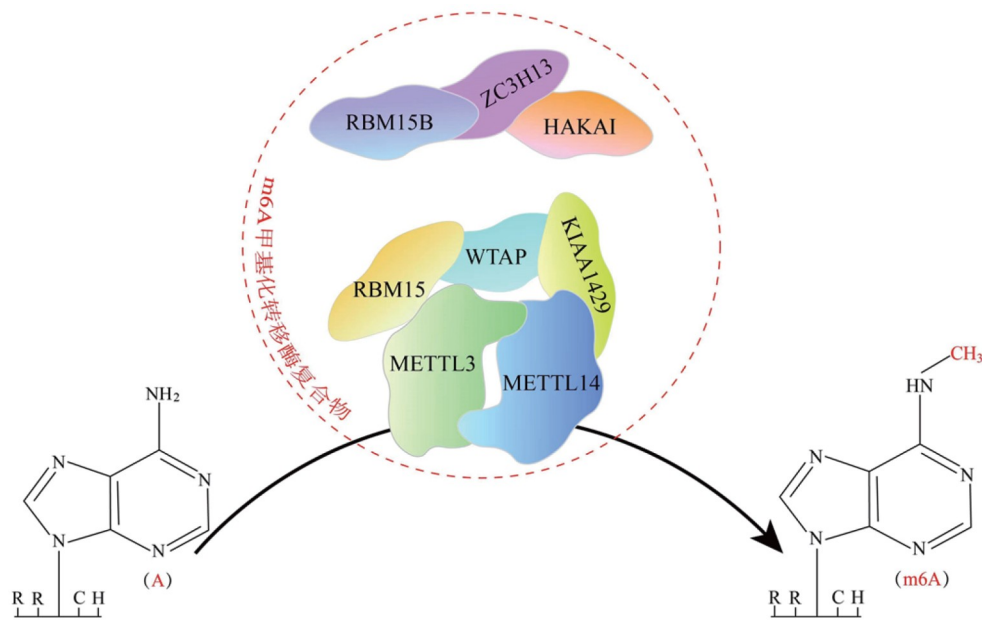


图1 m6A复合物构成

2.2 METTL14、WTAP在AML中的作用

研究表明, METTL14在AML细胞中高表达, 其通过m6A甲基化修饰上调转录因子*MYB*、*MYC* mRNA稳定性, 进而促进AML白血病干细胞/起始细胞(LSCs/LICs)自我更新能力, 在AML中发挥致癌作用^[12,36]。Li等^[37]发现, METTL14在AML中的致癌作用受lncRNA正调控, 通过体内外实验证实lncRNA UCA1通过与METTL14蛋白结合促进其稳定性, 上调CXCR4和CYP1B1蛋白水平, 从而达到促进AML细胞增殖及AML进展的目的, 该研究把METTL14与lncRNA结合起来, 提示了促进AML发生的新的分子机制, 这也为探究AML细胞增殖及进展提供了新思路。而另一项研究则将METTL14与miRNA联系起来, 并验证了miR-1306-5p可下调METTL14表达, 进而降低*MYB*和*MYC* m6A甲基化水平, 下调其转录本的mRNA稳定性, 促进了AML细胞凋亡^[38], miRNA在AML中的负调控作用, 也为未来AML的治疗提供了新的思路。以上研究显示, 除了参与对mRNA的调控, m6A甲基化修饰还参与对lncRNA及miRNA的调节。

除了与非编码RNA的调控相关, Shao等^[39]发现了另一个m6A甲基转移酶WTAP对组蛋白修饰的调节作用。该研究证实, 转录激活因子缺氧诱导

因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF1 α)通过与WTAP结合正调控KDM4B mRNA转录本中m6A甲基化水平来上调KDM4B蛋白表达, 进而抑制H3K9me3的活性, 从而达到促进AML细胞增殖的目的, 这从WTAP与组蛋白甲基化修饰相互作用的角度, 阐述了AML发生及进展的新思路。

综上, METTL14和WTAP分别在lncRNA、miRNA和组蛋白修饰中的作用表明, m6A甲基化修饰是一种广泛的基因表达调控, 通过与组蛋白甲基化修饰、非编码RNA等其他表观遗传学调控相互作用, 进而调节AML细胞增殖及疾病进展。因此, 这将为未来对AML治疗方案的制订和疾病进展的控制, 提供新的及多方位的思考与策略。

3 m6A去甲基化酶在AML中的作用

3.1 FTO在AML中的作用

研究表明, FTO在具有*FLT3-ITD*和*NPM1*突变的AML中过表达, 并通过下调*ASB2*和*RARA* mRNA的m6A甲基化修饰水平来下调*ASB2*和*RARA*蛋白表达, 从而抑制全反式维甲酸对AML细胞的敏感性, 进而达到抑制细胞增殖及促进AML进展的目的^[40]。因此, 靶向FTO抑制剂联合全反式维甲酸对AML治疗具有巨大的潜在价值。

早有研究报道, FTO抑制剂通过增强 *CEBPA* mRNA的m6A甲基化降低CEBPA蛋白水平, 最终达到抑制AML细胞增殖的目的^[41]。因此, 靶向FTO/m6A/*CEBPA*通路也可作为AML治疗的策略。对于特定亚型的*NPM1*突变的AML来说, 其具有较高的自噬活性, 然而维持高自噬水平的具体机制尚未阐明。Huang等^[42]实验证实, FTO在维持*NPM1*⁺AML高自噬活性方面发挥重要作用。FTO通过降低*TP53INP2* mRNA的m6A甲基化水平, 上调*TP53INP2*蛋白的表达, 从而增强与胞质内自噬相关蛋白微管相关蛋白1轻链3(microtubule associated protein 1 light chain 3, LC3)和自噬相关因子7(autophagy related gene 7, ATG7)的相互作用, 进而上调*NPM1*⁺AML细胞的自噬活性, 诱导了细胞存活及增殖。因此, 靶向抑制FTO及*TP53INP2*提高了治疗的精确性, 对高表达FTO的*NPM1*⁺AML类型效果可能更佳, 未来可应用于临床中。以上研究表明, FTO在AML中的作用机制涉及不同的细胞调控通路, 这也为FTO抑制剂的研发提供了理论基础。

3.2 ALKBH5在AML中的作用

Wang等^[43]研究发现, 在AML的白血病发生过程中, ALKBH5的表达受到染色质状态改变的调节, 并且是维持白血病干细胞(leukemia stem cells, LSCs)功能所必需的。进一步机制研究证实, 赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶4C(lysine-specific histone demethylase 4C, KDM4C)通过下调H3K9me3表达增加ALKBH5基因的染色质可及性, 促进了MYB以及Pol II的募集来维持ALKBH5的高表达; *AXL*基因是ALKBH5靶点之一, ALKBH5以m6A依赖的方式来调控由YTHDF2介导的*AXL*的mRNA稳定性, 从而促进AML细胞增殖及AML LSCs功能的维持, 为靶向ALKBH5进而清除LSCs及克服AML耐药提供了理论基础。另一项研究中, Shen等^[44]发现, *TACC3*是ALKBH5的另一个靶点。ALKBH5通过调控*TACC3* mRNA稳定性下调P21和上调MYC蛋白水平, 从而促进AML细胞增殖及LSCs的自我更新, 与AML患者的不良结局相关。因此, 靶向抑制ALKBH5及*TACC3*未来有望成为AML治疗的方案。

4 m6A识别蛋白在AML中的作用

Paris等^[45]发现, YTHDF2通过m6A介导的mRNA衰减机制抑制*TNF- α* 的表达, 从而抑制细胞凋亡, 促进LSCs自我更新及AML的发生、发展。同时, 另一项研究表明, YTHDF2在t(8;21)的AML中上调, 并且是AML1/ETO-HIF1 α 的特异性靶标, 抑制AML1/ETO或HIF1 α 下调YTHDF2的表达, 进而增强*TNFRSF1b* mRNA的甲基化水平, 上调其表达, 从而促进AML细胞凋亡, 抑制白血病干细胞增殖^[46]。另一个m6A识别蛋白IGF2BP2也参与调控LSCs和AML进展。IGF2BP2以m6A依赖的方式增强*MYC*、*SLC1A5*和*GPT2* mRNA的稳定性, 促进其翻译表达, 从而维持白血病干细胞/起始细胞的功能, 加速AML的进展^[47]。另外, Y结合蛋白1(Y box binding protein 1, YBX1)可通过与IGF2BP2相互作用在mRNA转录后水平对AML进行调控。Feng等^[48]研究证实, YBX1通过与识别蛋白IGF2BP2相互作用, 以m6A依赖的方式增强*MYC*和*BCL-2* mRNA稳定性并上调其翻译表达, 从而促进AML细胞存活, 同时为靶向YBX1治疗AML提供了理论依据。目前, AML耐药与复发的根本原因是化疗药物不能有效清除LSCs, YTHDF2和IGF2BP2均通过m6A甲基化修饰, 以不同的调控方式维持LSCs的功能及存活。因此, YTHDF2和IGF2BP2未来可作为良好的清除LSCs的靶标, 为克服耐药及治愈AML提供新的可能。

5 m6A相关抑制剂

m6A甲基化修饰作为最常见的RNA甲基化修饰, 参与RNA的代谢、加工及基因转录等过程, 同时将非编码RNA、组蛋白修饰与AML的发生发展联系起来, 从而调控AML细胞增殖、侵袭转移、分化凋亡及LSCs的自我更新, 与AML的发生发展及耐药密切相关, 因此, m6A相关成分可作为AML治疗的潜在靶标。随着高通量测序等技术的发展, 越来越多的m6A相关抑制剂被相继研发, 为AML的治疗提供了更多的选择(表2)。

5.1 去甲基化酶抑制剂

非甾体抗炎药甲氯芬那酸(meclofenamic acid, MA)可以抑制FTO活性。因此, Huang等^[49]基于甲

表 2 m6A相关抑制剂汇总

类别	抑制剂	相关机制
FTO	R-2HG	竞争性抑制FTO, 降低MYC和CEBPA蛋白水平
	FB23、FB23-2	抑制FTO的m6A去甲基化, 下调MYC、CEBPA表达, 增高RARA和ASB2蛋白水平, 从而抑制AML细胞增殖
	13a	与FB23-2、FB23类似, 具有更强的抗增殖能力
类别	11b	抑制FTO的m6A去甲基化, 下调MYC和上调RARA蛋白水平, 抑制了AML细胞的存活
	GNPIPP12MA	促进m6A RNA修饰, 降低LSCs转录
	CS1/CS2	直接与FTO残基如H231、E234、K216、S229及H231结合, 降低MYC和CEBPA蛋白水平; 抑制LILRB4表达, 活化T淋巴毒性
ALKBH5	TD19	与ALKBH5残基C100和C26结合, 抑制ALKBH5去甲基酶活性
	DDO-2728	降低TACC3 mRNA稳定性, 促进AML细胞凋亡
IGF2BP2	CW11-2	直接结合IGF2BP2, 竞争性抑制其m6A结合蛋白活性
METTL3	STM2457	结合S-腺苷甲硫氨酸位点, 降低BRD4、SPI、c-Myc表达
	UZH1a	降低METTL3活性
	艾曲波帕	结合METTL3-14复合物中METTL3亚基来阻断其甲基转移酶活性

LILRB4: 白细胞免疫球蛋白样受体亚家族成员B4(leukocyte immunoglobulin like receptor B4); BRD4: 溴结构域蛋白4(bromodomain containing 4); SPI: 特异性蛋白1(specificity protein 1)

氯芬那酸(meclofenamic acid, MA)进行结构优化得到其两种衍生物FB23和FB23-2(表2), 进一步研究发现, FB23、FB23-2能特异性地抑制FTO的m6A去甲基化, 进而增加MYC、CEBPA、RARA和ASB2 mRNA转录本的m6A水平, 下调MYC、CEBPA蛋白表达, 增高RARA和ASB2蛋白水平, 从而达到抑制AML细胞增殖的目的。Liu等^[50]在研究三苯环酸的构效关系后又发现了异构体13a(表2)。该异构体在体外对FTO酶活性的抑制效果与FB23类似。二者相比, 13a对AML肿瘤细胞显示出了更显著的抑制增殖能力。R-2HG也是FTO的抑制剂(表2), 由异柠柠檬酸脱氢酶1/2(IDH1/2)催化产生。Su等^[41]在动物实验中发现, R-2HG可通过竞争性抑制FTO, 促进m6A甲基化, 使其下游MYC、CEBPA mRNA稳定性下降, 最终抑制AML细胞增殖。同时, R-2HG可上调AML细胞对低甲基化剂(如阿扎胞苷和地西他滨)的敏感性, 从而促进AML细胞的凋亡, 有助于预防HMA诱导的AML耐药。另一项实验研发了两种FTO抑制剂CS1和CS2(表2), 二者可抑制LILRB4表达, 活化T淋巴毒性; CS1和CS2可直接与FTO残基如H231、E234、K216、S229及H231结合, 进而抑制其甲基转移酶活性, 上调MYC、CEBPA及snRNA等的mRNA的m6A丰度, 从而达到抑制白血病进展的目的^[51]。随后, Prakash

等^[52]设计了化合物11b(表2), 其通过增加FTO的m6A甲基化水平, 进而下调MYC和上调RARA蛋白水平, 抑制了AML细胞的存活, 达到治疗AML的目的, 表明利用抑制剂片段融合成新的合成物在临床应用中的可能性。有团队设计了FTO抑制剂GNPIPP12MA(表2), 其通过增加m6A的mRNA修饰, 降低LSCs表达水平, 从而达到靶向LSCs及白血病细胞的作用, 为临床靶向抑制剂的设计提供了新思路^[53]。

Lai等^[54]发现了一种新的ALKBH5选择性抑制剂, 即TD19(表2), 其选择性地结合ALKBH5残基C100和C26, 通过抑制ALKBH5与靶mRNA结合, 下调ALKBH5的m6A去甲酶活性, 从而发挥抗白血病的作用。此外, Wang等^[55]基于结构优化, 研发设计了一种ALKBH5选择性抑制剂DDO-2728(表2), DDO-2728通过增加TACC3 mRNA转录本上的m6A丰度降低mRNA稳定性, 从而促进AML细胞凋亡, 特别是DDO-2728显著抑制了异种移植小鼠原代细胞的生长, 显示出抗白血病作用。TD19和DDO-2728均是新近研发的靶向制剂, 与FTO/ALKBH5双重抑制剂IOX3、MV1035^[56]、ALK-04^[57]及cmp-3等不同, TD19和DDO-2728具有高选择性和有效性的特点, 它们可选择性靶向ALKBH5, 而对FTO无影响, 更有效地对AML细

胞进行专一调控,促进肿瘤细胞凋亡。

5.2 甲基化酶抑制剂

Yankova等^[58]发现了一种METTL3抑制剂STM2457(表2),其可通过结合METTL3的S-腺苷甲硫氨酸结合位点下调其甲基转移酶活性,进而降低METTL3靶基因*BRD4*、*SP1*、*c-Myc*等的m6A甲基化修饰水平,并抑制靶基因的翻译,从而达到诱导细胞凋亡及抑制AML细胞增殖的作用。UZH1a是一种具有选择性和细胞渗透性的非核苷类METTL3纳摩尔抑制剂(表2),对映体为UZH1b。Moroz-Omort等^[59]用剂量递增的UZH1a处理AML细胞株(MOLM-13细胞),发现MOLM-13细胞转录本mRNA的m6A甲基化水平随UZH1a的剂量呈依赖性降低,同时UZH1a可下调METTL3活性,从而达到促进白血病细胞凋亡及抑制疾病进展的目标。此外, Lee等^[60]研究发现,艾曲波帕可通过结合METTL3-14复合物中METTL3亚基来阻断其甲基转移酶活性,进而降低靶基因mRNA的m6A甲基化修饰水平,从而促进AML细胞凋亡及抑制细胞增殖(表2);该研究还发现,艾曲波帕和白血病治疗药物维奈克拉、阿扎胞苷具有协同效应,可延缓白血病进展。

5.3 识别蛋白抑制剂

识别蛋白抑制剂的出现在多种恶性肿瘤的治疗中起着重要作用。Dixit等^[61]在胶质母细胞瘤中研究发现, Linsitinib作为IGF1/IGF1R的抑制剂,可通过下调YTHDF2蛋白水平来降低胶质母细胞瘤干细胞活性,从而抑制肿瘤细胞的增殖、延缓疾病进展。随后, Feng等^[62]在急性淋巴细胞白血病中研发了一种小分子IGF2BP2抑制剂JX5,通过抑制IGF2BP2降低其m6A甲基化修饰水平, JX5减弱跨膜受体蛋白NOTCH1 mRNA稳定性以下调其表达,从而达到抑制白血病细胞增殖的作用。基于此,在对AML研究过程中, Weng等^[47]设计出了一种小分子IGF2BP2抑制剂——CW11-2(表2),其可直接结合IGF2BP2,竞争性抑制其m6A结合蛋白活性,从而抑制AML细胞增殖,显示出显著的抗白血病作用。该研究还发现, CW11-2联合其他白血病化疗药物如柔红霉素和高尖杉酯碱,在AML治疗中显示出良好的治疗效果。然而,识别蛋白抑制剂在AML治疗中的应用研究极少报道,这可能

提示m6A识别蛋白在血液系统恶性肿瘤尤其是AML中有着更复杂的作用机制,尚需进一步的研究。

综上, m6A相关抑制剂的单独使用或与化疗等的联合使用可发挥抗AML的作用,证实了靶向m6A治疗AML的巨大潜力,同时为开发新型的靶向药物奠定了基础。

6 总结

m6A是一种广泛存在于真核细胞内的RNA甲基化修饰,在AML发生、发展、预后及治疗抵抗中发挥了关键作用,在疾病诊断及转录靶向药物治疗AML中的前景可观。但目前m6A修饰研究尚处于探索阶段,修饰酶的种类和生物学功能尚未完全阐明,其在AML中的确切作用及相关酶的抑制剂的研究应用尚不明确,如新发现的METTL16、KIAA1429在AML中的作用仍在探索之中,而识别蛋白抑制剂在AML治疗中的应用研究极少报道。因此,相信随着m6A甲基化修饰的深入研究, m6A甲基化修饰在AML发生、发展、预后与耐药中的作用将被进一步阐述,靶向m6A相关成分的药物研究也将为未来的AML治疗提供巨大潜能。

参考文献

- [1] Long NA, Golla U, Sharma A, et al. Acute myeloid leukemia stem cells: origin, characteristics, and clinical implications. *Stem Cell Rev Rep*, 2022, 18(4): 1211-1226
- [2] Du W, Xu A, Huang Y, et al. The role of autophagy in targeted therapy for acute myeloid leukemia. *Autophagy*, 2021, 17(10): 2665-2679
- [3] Wingelhofer B, Somervaille TCP. Emerging epigenetic therapeutic targets in acute myeloid leukemia. *Front Oncol*, 2019, 9: 850
- [4] Liao X, Chen L, Liu J, et al. m⁶A RNA methylation regulators predict prognosis and indicate characteristics of tumour microenvironment infiltration in acute myeloid leukaemia. *Epigenetics*, 2023, 18(1): 2160134
- [5] Hu L, Gao Y, Shi Z, et al. DNA methylation-based prognostic biomarkers of acute myeloid leukemia patients. *Ann Transl Med*, 2019, 7(23): 737
- [6] Yankova E, Aspris D, Tzelepis K. The N⁶-methyladenosine RNA modification in acute myeloid leukemia. *Curr Opin Hematol*, 2021, 28(2): 80-85
- [7] Zhao Y, Peng H. The role of N⁶-methyladenosine (m⁶A) methylation modifications in hematological malignancies.

- Cancers*, 2022, 14(2): 332
- [8] Moshitch-Moshkovitz S, Dominissini D, Rechavi G. The epitranscriptome toolbox. *Cell*, 2022, 185(5): 764-776
 - [9] Livneh I, Moshitch-Moshkovitz S, Amariglio N, et al. The m⁶A epitranscriptome: transcriptome plasticity in brain development and function. *Nat Rev Neurosci*, 2020, 21(1): 36-51
 - [10] Zheng HX, Zhang XS, Sui N. Advances in the profiling of N⁶-methyladenosine (m⁶A) modifications. *Biotechnol Adv*, 2020, 45: 107656
 - [11] Wang S, Lv W, Li T, et al. Dynamic regulation and functions of mRNA m6A modification. *Cancer Cell Int*, 2022, 22(1): 48
 - [12] Guan Q, Lin H, Miao L, et al. Functions, mechanisms, and therapeutic implications of METTL14 in human cancer. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 13
 - [13] Li G, Ma L, He S, et al. WTAP-mediated m⁶A modification of lncRNA NORAD promotes intervertebral disc degeneration. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 1469
 - [14] Coker H, Wei G, Moindrot B, et al. The role of the Xist 5' m6A region and RBM15 in X chromosome inactivation. *Wellcome Open Res*, 2020, 5: 31
 - [15] Zhou Y, Pei Z, Maimaiti A, et al. m⁶A methyltransferase KIAA1429 acts as an oncogenic factor in colorectal cancer by regulating SIRT1 in an m⁶A-dependent manner. *Cell Death Discov*, 2022, 8(1): 83
 - [16] Wu S, He G, Liu S, et al. Identification and validation of the N6-methyladenosine RNA methylation regulator ZC3H13 as a novel prognostic marker and potential target for hepatocellular carcinoma. *Int J Med Sci*, 2022, 19(4): 618-630
 - [17] Azzam SK, Alsafar H, Sajini AA. FTO m6A demethylase in obesity and cancer: implications and underlying molecular mechanisms. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(7): 3800
 - [18] Zheng QK, Ma C, Ullah Jnr I, et al. Roles of N6-methyladenosine demethylase FTO in malignant tumors progression. *Onco Targets Ther*, 2021, 14: 4837-4846
 - [19] 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
 - [20] Yi YC, Chen XY, Zhang J, et al. Novel insights into the interplay between m⁶A modification and noncoding RNAs in cancer. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 121
 - [21] Xu Y, Zhang W, Shen F, et al. YTH Yth domain proteins: a family of m⁶A readers in cancer progression. *Front Oncol*, 2021, 11: 629560
 - [22] Lee Y, Choe J, Park OH, et al. Molecular mechanisms driving mRNA degradation by m⁶A modification. *Trends Genet*, 2020, 36(3): 177-188
 - [23] Li J, Chen K, Dong X, et al. YTHDF1 promotes mRNA degradation via YTHDF1-AGO2 interaction and phase separation. *Cell Prolif*, 2022, 55(1): e13157
 - [24] Wang X, Hu Y, Li X, et al. YTHDC2-mediated m6A mRNA modification of Id3 suppresses cisplatin resistance in non-small cell lung cancer. *J Thorac Dis*, 2023, 15(3): 1247-1257
 - [25] Shi H, Wang X, Lu Z, et al. YTHDF3 facilitates translation and decay of N⁶-methyladenosine-modified RNA. *Cell Res*, 2017, 27(3): 315-328
 - [26] Roundtree IA, Luo GZ, Zhang Z, et al. YTHDC1 mediates nuclear export of N⁶-methyladenosine methylated mRNAs. *Elife*, 2017, 6: e31311
 - [27] Wang J, Chen L, Qiang P. The role of IGF2BP2, an m6A reader gene, in human metabolic diseases and cancers. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1): 99
 - [28] Das U, Nguyen H, Xie J. Transcriptome protection by the expanded family of hnRNPs. *RNA Biol*, 2019, 16(2): 155-159
 - [29] Lv J, Zhang Y, Gao S, et al. Endothelial-specific m⁶A modulates mouse hematopoietic stem and progenitor cell development via Notch signaling. *Cell Res*, 2018, 28(2): 249-252
 - [30] Lee H, Bao S, Qian Y, et al. Stage-specific requirement for Mettl3-dependent m⁶A mRNA methylation during haematopoietic stem cell differentiation. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(6): 700-709
 - [31] Pan ZP, Wang B, Hou DY, et al. METTL3 mediates bone marrow mesenchymal stem cell adipogenesis to promote chemoresistance in acute myeloid leukaemia. *FEBS Open Bio*, 2021, 11(6): 1659-1672
 - [32] Barbieri I, Tzelepis K, Pandolfini L, et al. Promoter-bound METTL3 maintains myeloid leukaemia by m⁶A-dependent translation control. *Nature*, 2017, 552(7683): 126-131
 - [33] Vu LP, Pickering BF, Cheng Y, et al. The N⁶-methyladenosine (m⁶A)-forming enzyme METTL3 controls myeloid differentiation of normal hematopoietic and leukemia cells. *Nat Med*, 2017, 23(11): 1369-1376
 - [34] Sang L, Wu X, Yan T, et al. The m⁶A RNA methyltransferase METTL3/METTL14 promotes leukemogenesis through the mdm2/p53 pathway in acute myeloid leukemia. *J Cancer*, 2022, 13(3): 1019-1030
 - [35] Li M, Ye J, Xia Y, et al. METTL3 mediates chemoresistance by enhancing AML homing and engraftment via ITGA4. *Leukemia*, 2022, 36(11): 2586-2595
 - [36] Weng H, Huang H, Wu H, et al. METTL14 inhibits hematopoietic stem/progenitor differentiation and promotes leukemogenesis via mRNA m⁶A modification. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(2): 191-205.e9
 - [37] Li J, Li Z, Bai X, et al. Lncrna UCA1 promotes the progression of AML by upregulating the expression of

- CXCR4 and CYP1B1 by affecting the stability of METTL14. *J Oncol*, 2022, 2022: 2756986
- [38] Li J, Wu Y, Wang M, et al. MicroRNA-1306-5p regulates the METTL14-guided m⁶A methylation to repress acute myeloid leukemia. *Comput Math Methods Med*, 2022, 2022: 5787808
- [39] Shao YL, Li YQ, Li MY, et al. HIF1 α -mediated transactivation of WTAP promotes AML cell proliferation via m⁶A-dependent stabilization of KDM4B mRNA. *Leukemia*, 2023, 37(6): 1254-1267
- [40] 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
- [41] 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
- [42] Huang J, Sun M, Tao Y, et al. Cytoplasmic expression of TP53INP2 modulated by demethylase FTO and mutant NPM1 promotes autophagy in leukemia cells. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(2): 1624
- [43] 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
- [44] 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
- [45] Paris J, Morgan M, Campos J, et al. Targeting the RNA m⁶A reader YTHDF2 selectively compromises cancer stem cells in acute myeloid leukemia. *Cell Stem Cell*, 2019, 25(1): 137-148.e6
- [46] Chen Z, Shao YL, Wang LL, et al. YTHDF2 is a potential target of AML1/ETO-HIF1 α loop-mediated cell proliferation in t(8;21) AML. *Oncogene*, 2021, 40(22): 3786-3798
- [47] 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
- [48] Feng M, Xie X, Han G, et al. YBX1 is required for maintaining myeloid leukemia cell survival by regulating BCL2 stability in an m⁶A-dependent manner. *Blood*, 2021, 138(1): 71-85
- [49] 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
- [50] Liu Z, Duan Z, Zhang D, et al. Structure-activity relationships and antileukemia effects of the tricyclic benzoic acid FTO inhibitors. *J Med Chem*, 2022, 65(15): 10638-10654
- [51] 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
- [52] Prakash M, Itoh Y, Fujiwara Y, et al. Identification of potent and selective inhibitors of fat mass obesity-associated protein using a fragment-merging approach. *J Med Chem*, 2021, 64(21): 15810-15824
- [53] Cao K, Du Y, Bao X, et al. Glutathione-bioimprinted nanoparticles targeting of N⁶-methyladenosine FTO demethylase as a strategy against leukemic stem cells. *Small*, 2022, 18(13): e2106558
- [54] Lai GQ, Li Y, Zhu H, et al. A covalent compound selectively inhibits RNA demethylase ALKBH5 rather than FTO. *RSC Chem Biol*, 2024, 5(4): 335-343
- [55] Wang YZ, Li HY, Zhang Y, et al. Discovery of pyrazolo [1,5-a]pyrimidine derivative as a novel and selective ALKBH5 inhibitor for the treatment of AML. *J Med Chem*, 2023, 66(23): 15944-15959
- [56] Malacrida A, Rivara M, Di Domizio A, et al. 3D proteome-wide scale screening and activity evaluation of a new ALKBH5 inhibitor in U87 glioblastoma cell line. *Bioorg Med Chem*, 2020, 28(4): 115300
- [57] Li N, Kang Y, Wang L, et al. ALKBH5 regulates anti-PD-1 therapy response by modulating lactate and suppressive immune cell accumulation in tumor microenvironment. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(33): 20159-20170
- [58] 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
- [59] Moroz-Omori EV, Huang D, Kumar Bedi R, et al. METTL3 inhibitors for epitranscriptomic modulation of cellular processes. *ChemMedChem*, 2021, 16(19): 3035-3043
- [60] Lee JH, Choi N, Kim S, et al. Eltrombopag as an allosteric inhibitor of the METTL3-14 complex affecting the m⁶A methylation of RNA in acute myeloid leukemia cells. *Pharmaceuticals*, 2022, 15(4): 440
- [61] Dixit D, Prager BC, Gimple RC, et al. The RNA m⁶A reader YTHDF2 maintains oncogene expression and is a targetable dependency in glioblastoma stem cells. *Cancer Discov*, 2021, 11(2): 480-499
- [62] Feng P, Chen D, Wang X, et al. Inhibition of the m⁶A reader IGF2BP2 as a strategy against T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, 2022, 36(9): 2180-2188