

黄慧琳博士, 中山大学肿瘤防治中心研究员, 博士生导师, 华南恶性肿瘤防治全国重点实验室独立PI。课题组主要研究方向为肿瘤RNA表观遗传学, 聚焦RNA表观修饰及其调控蛋白, 通过深入研究阐明其在血液肿瘤及实体瘤的发生、进展和治疗抵抗中的功能与机制, 并开发多个RNA表观抑制剂和联合治疗方法, 取得一系列原创性成果: 揭示RNA m⁶A甲基化与组蛋白修饰的表观互作在干细胞命运中的决定作用、发现一类全新的m⁶A读码器并阐明m⁶A修饰的新功能、阐明RNA m⁶A甲基化和ac4C乙酰化在急性髓系白血病中的致癌作用并开发靶向干预策略。黄慧琳博士作为负责人主持多项国家和省市级科研项目, 共发表SCI论文40余篇, 引用超过9 000次, 以通信或第一作者身份在*Nature*、*Nat Cell Biol*(2篇)、*Cancer Cell*、*Cell Stem Cell*和*Sci Immunol*等国际著名期刊发表高水平研究论文, 并受邀在*Nat Rev Clin Oncol*、*Cancer Cell*和*Cancer Commun*等期刊发表综述。申请4项中国发明专利, 其中3项已获授权。研究成果被*Nat Rev Genet*、*Nat Cell Biol*和*Cell Stem Cell*等期刊多次重点评述, 并被广泛正面引用(8篇ESI高引论文)。自2021年起, 黄慧琳博士连续4年入选全球前2%顶尖科学家年度科学影响力榜单。

急性髓系白血病中RNA修饰的异常调控及其 靶向干预

张速博 李垣佩 黄慧琳*

(华南恶性肿瘤防治全国重点实验室, 广东省恶性肿瘤临床医学研究中心, 中山大学肿瘤防治中心, 广州 510060)

摘要 急性髓系白血病(AML)是一种具有高度异质性的血液系统恶性肿瘤, 其发病机制复杂, 涉及多种表观遗传机制的异常调控。近年来, 研究发现RNA修饰在AML的发生和发展中扮演着重要角色, 尤其是RNA甲基化m⁶A-甲基腺嘌呤(m⁶A)的异常调控得到了大量深入的研究。m⁶A甲基化通过调节RNA代谢的多个方面, 如RNA稳定性、翻译效率和剪接, 参与调控白血病干细胞干性维持及自我更新。此外, RNA乙酰化修饰N⁴-乙酰胞嘧啶(ac4C)也在AML代谢重编程及干性维持中发挥着关键作用。该综述以m⁶A、5-甲基胞嘧啶(m⁵C)、ac4C、假尿嘧啶(Ψ)和A-to-I RNA编辑为代表, 详细总结了多种RNA修饰对基因表达调控的影响并深入探讨了其在AML疾病过程中的重要作用。此外, 该文还讨论了目前靶向RNA修饰的小分子抑制剂的开发进展, 提出了靶向RNA修饰作为AML新型治疗策略的良好前景。

关键词 急性髓系白血病; 表观调控; RNA修饰; 表观抑制剂

收稿日期: 2024-12-05

接受日期: 2025-01-03

国家自然科学基金(批准号: 82470161、82201377、32400475)、中国博士后创新人才支持计划(批准号: BX2021393)、中国博士后科学基金(批准号: 2022M723652、2024M753725)、广州市科技计划(批准号: 2024A04J6321)和中山大学肿瘤防治中心青年人才提升计划(批准号: YTP-SYSUCC-0044)资助的课题

*通信作者。Tel: 020-87340134, E-mail: huanghl1@sysucc.org.cn

Received: December 5, 2024

Accepted: January 3, 2025

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82470161, 82201377, 32400475), the Postdoctoral Innovation Fellowships Program (Grant No.BX2021393), the Fellowship of China Postdoctoral Science Foundation (Grant No.2022M723652, 2024M753725), the Science and Technology Program of Guangzhou (Grant No.2024A04J6321), and the Young Talents Program of Sun Yat-sen University Cancer Center (Grant No.YTP-SYSUCC-0044)

*Corresponding author. Tel: +86-20-87340134, E-mail: huanghl1@sysucc.org.cn

Aberrant Regulation and Targeting of RNA Modifications in Acute Myeloid Leukemia

ZHANG Subo, LI Yuanpei, HUANG Huilin*

(State Key Laboratory of Oncology in South China, Guangdong Provincial Clinical Research Center for Cancer,
Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China)

Abstract AML (acute myeloid leukemia) is a highly heterogeneous hematologic malignancy with a complex pathogenesis involving various epigenetic regulatory mechanisms. In recent years, emerging evidence shows that RNA modifications play a crucial role in the occurrence and development of AML. Particularly, the aberrance of m⁶A (N⁶-methyladenosine) in AML has been well and extensively studied. It has been revealed that m⁶A methylation participates in regulating the maintenance of leukemic stem cell stemness and self-renewal by modulating RNA metabolism in many aspects, including stability, translation efficiency, and splicing. Besides, other RNA modifications, such as ac4C (N⁴-acetylcytidine), also play key roles in metabolic reprogramming and stemness maintenance of AML cells. This review summarizes the effects of various RNA modifications on gene expression regulation and explores their significant roles in AML. Furthermore, this review compiles the current development and application of small molecule inhibitors targeting RNA modifications and discusses the promising prospects of targeting RNA modifications as a novel therapeutic strategy for AML.

Keywords acute myeloid leukemia; epigenetic regulation; RNA modifications; epigenetic inhibitors

1 RNA修饰及其生物学功能

在分子生物学的中心法则中,遗传信息从DNA传递到RNA,然后再传递到蛋白质。由于DNA和蛋白质上均存在可逆的化学修饰,可以控制基因的表达和蛋白的功能,研究人员相信并证明RNA上同样也存在可逆的化学修饰并且可作为基因表达调控的功能性介质^[1]。事实上,多种化学修饰,如N⁶-甲基腺嘌呤(N⁶-methyladenosine, m⁶A)、5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, m⁵C)、N⁴-乙酰胞嘧啶(N⁴-acetylcytidine, ac4C)、假尿嘧啶和A-to-I RNA编辑等已经在真核生物的mRNA上被发现并解析,本文将重点讨论以上几种RNA修饰在急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)中的异常调控和靶向干预。

1.1 N⁶-甲基腺嘌呤(m⁶A)

m⁶A是发生在腺嘌呤第6位氮原子(N⁶)上的甲基化修饰,是mRNA上丰度最高且研究最深入的RNA修饰之一。它在几乎所有的生理行为中起着广泛而关键的作用。1974年,DESROSIERS等^[2]首次在mRNA上发现了m⁶A。随着高通量m⁶A测序方法如meRIP-seq^[3]、miCLIP-seq^[4]、m⁶A-LAIC-seq^[5]、m⁶ACE-seq^[6]、DART-seq^[7]、SLIM-seq^[8]、m⁶A-

SAC-seq^[9]和eTAM-seq^[10]等的开发以及RNA表观遗传学和生化研究方法的进展,研究人员对m⁶A的认识逐渐深入。m⁶A以RACH(R=A或G, H=A, C或U)为基序,大部分位点位于终止密码子附近和较长的外显子中^[11]。

RNA的m⁶A修饰水平主要受到“书写器”和“擦除器”控制。甲基转移酶样3(methyltransferase-like 3, METTL3)、甲基转移酶样14(methyltransferase-like 14, METTL14)、Wilms肿瘤1-相关蛋白(Wilms' tumor 1-associating protein, WTAP)为核心的蛋白复合物(m⁶A methyltransferase complex, MTC)主要负责催化mRNA上的m⁶A,而METTL16可单独催化富含二级结构的RNA上的m⁶A形成^[12-14]。mRNA上的m⁶A具有共转录生成的特点,形成染色质-RNA聚合酶-新生RNA-MTC的多元复合物^[15]。在这一过程中,MTC写入m⁶A修饰的位点特异性受到转录因子、表观修饰和剪切体等多种因素的影响^[16]。2019年我们发表于*Nature*的工作报道了m⁶A修饰由转录活跃的组蛋白修饰标记H3K36me3招募METTL14,指导MTC对新生RNA的CDS和3'端区域进行m⁶A修饰^[15],首次从全基因组和转录组角度揭示了m⁶A对RNA的修饰位点集中在终止密码子附近的选择决

定机制。2023年何川^[17]和SCHWARTZ^[18]团队分别报道了m⁶A的特异性受到“抑制子”——外显子连接复合物(exon junction complexes, EJC)的全面调控, 这些抑制子可以防止m⁶A在非甲基化转录组区域的沉积, 表明外显子结构广泛地决定了m⁶A调控复合物对局部mRNA的可及性。肥胖相关蛋白(fat mass and obesity-associated protein, FTO)和AlkB同源蛋白5(AlkB homolog 5, ALKBH5)均属于Alkb家族成员, 是两种主要的m⁶A清除蛋白^[19-20]。FTO是被发现的首个具有RNA去甲基化酶功能的蛋白, 虽然可以催化m⁶A、m⁶Am和m³U等多种RNA甲基化的去除, 但其在细胞核内仍以m⁶A为主要底物^[19]。与FTO相比, ALKBH5可以较为专一地去除m⁶A甲基化^[20]。

m⁶A功能发挥依赖于“读取器”。读取器主要负责识别并结合m⁶A位点, 解码m⁶A并产生功能信号。含YT521-B同源性(YTH)结构域蛋白家族成员是最早发现的m⁶A读取器, 其中YTHDF2/3可以促进RNA降解^[21-22], YTHDF1/3和YTHDC2可以促进RNA翻译^[21-23], YTHDC1可以调控RNA的出核和剪接^[24-25]。2018年我们发表于*Nature Cell Biology*的工作鉴定到IGF2BP家族蛋白作为新一类的m⁶A读取器促进RNA的稳定性和翻译^[26], 该工作首次鉴定到正向调控基因表达的m⁶A读取器, 完善了人们对m⁶A调控基因表达的机制和功能的认知。结构学研究指出YTH家族成员由YTH结构域的三个色氨酸残基形成疏水口袋捕获m⁶A, 而IGF2BP家族成员通过KH4结构域上的缬氨酸-缬氨酸-脯氨酸序列形成一个较浅的疏水凹槽识别腺嘌呤上的甲基, 代表了两类不同的m⁶A识别机制。近年来, 多种包含KH结构域的RNA结合蛋白(RNA binding protein, RBP)如FMR1、FXR1、FXR2等也被陆续发现具有m⁶A识别的偏好性^[27-29]。此外, hnRNPC和hnRNPG等代表了由m⁶A修饰引起的RNA结构转换介导的m⁶A结合蛋白^[30-31]。

近年来, 越来越多的证据揭示了m⁶A修饰与染色质之间的密切联系。一方面如上文所讲, 我们团队的研究发现组蛋白修饰H3K36me3可以调控m⁶A的共转录发生, 在小鼠胚胎干细胞分化的过程中协同调控多能干性因子*Oct4*、*Sox2*、*Nanog*和*Klf4*等的转录和RNA稳定性, 使其退出干性。另一方面, 染色质相关调控RNA(chromosome-associated regulatory RNA, carRNA)上的m⁶A还能调节附近的染色质状态和下游转录^[32]。METTL3也可以结合小鼠胚胎

干细胞ERV中的IAPEz转座子元件, 并维持其异染色质状态, 其结合染色质依赖其m⁶A催化活性^[33]。同样, YTHDC1能够直接结合转座子元件转录出来的RNA上的m⁶A修饰, 并招募SETDB1到相应的染色质位置, 催化转座元件上的H3K9me3形成异染色质并使这些转座元件沉默^[34]。此外, RBFOX2可以将MTC招募到carRNA上进行m⁶A修饰, YTHDC1能够识别其m⁶A并招募PRC2到RBFOX2结合位点进而抑制全局染色质可及性与转录^[35]。这一机制对维持白血病干细胞(leukemia stem cell, LSC)的自我更新具有重要意义, 因此敲降RBFOX2可显著抑制AML细胞的生长和存活, 并促进髓系分化^[35]。

1.2 5-甲基胞嘧啶(m⁵C)

在20世纪70年代, 研究人员首次发现了m⁵C修饰。类似于DNA 5mC修饰, 甲基供体S-腺苷-甲硫氨酸(S-adenosyl methionine, SAM)被添加到RNA的胞嘧啶碱基的C5位置, 形成m⁵C修饰^[2]。m⁵C修饰广泛存在于mRNA、tRNA、rRNA和其他非编码RNA中。m⁵C修饰在许多物种中都有报道, 但其分布存在差异。例如, 在真核生物中的tRNA和mRNA比细菌具有更多的m⁵C修饰^[36]。m⁵C在哺乳动物mRNA中占总胞苷的0.02%~0.09%, 其中大部分位于CDS区域^[37]。m⁵C书写器主要有NSUN家族(NSUN1~7)和DNMT2^[38-39], 这些真核m⁵C书写器选择性地根据RNA类型进行修饰。例如, NSUN2和NSUN6负责mRNA的m⁵C修饰, NSUN1和NSUN5修饰细胞质rRNA, 而线粒体RNA m⁵C由NSUN3和NSUN4修饰^[38]。双加氧酶TET2可以氧化RNA的m⁵C修饰, 其过表达可以显著降低细胞中RNA的m⁵C水平^[40-42]。Aly/REF输出因子(ALYREF)和Y-box结合蛋白1(Y-box binding protein 1, YBX1)作为m⁵C读取器, 可直接与mRNA中的m⁵C结合, 行使对RNA代谢的调控功能^[43-44]。近期, SRSF2作为一个新的m⁵C读取器被发现可以调控mRNA的剪接过程^[45]。

在tRNA中, 已证明m⁵C可以维持内部平衡、优化密码子-反密码子配对、控制翻译效率和准确性^[46-49]。rRNA的m⁵C修饰能够维持rRNA-tRNA-mRNA复合物结构稳定性^[50]。在转录组中, m⁵C通常以修饰水平和位点依赖性的方式上调mRNA的稳定性^[51]。m⁵C修饰还参与了mRNA的核输出, NSUN2缺失可导致m⁵C修饰而非未修饰mRNA的核积累显著增加^[43]。

1.3 N^4 -乙酰基胞嘧啶(ac4C)

ac4C是真核生物RNA上唯一已知的乙酰化修饰。它于1965年首次被报道^[52],并随后被确定作为一种普遍保守的修饰,存在于生命的各个领域。过去的研究主要发现ac4C在tRNA和rRNA上的丰度较高,包括各种细菌和古细菌的tRNA、古细菌的5S rRNA以及真核生物中的tRNA^{Ser/Leu}和18S rRNA^[53-58]。在这些情况下,ac4C通常存在于短RNA螺旋茎环区,在维持这些非编码RNA稳定性和辅助加工方面起着至关重要的作用。ac4C通过增强双链RNA结构中鸟嘌呤形成的沃森-克里克碱基配对来发挥其稳定作用^[59]。从机理上讲,ac4C促进了羧基氧原子与C5质子之间分子内相互作用,这种排列使得 N^4 氮上的氢原子更容易与鸟嘌呤形成氢键^[60]。ac4C的初步研究主要集中在酵母和细菌的tRNA和rRNA上。最近多项研究发现,真核生物mRNA能够在N-乙酰转移酶10(N-acetyltransferase 10, NAT10)的催化下检测到ac4C修饰^[61-64]。CDS中的胞苷乙酰化已被证明可以提高mRNA的翻译效率^[61],而5'UTR ac4C修饰可能通过产生阻碍核糖体扫描的结构抑制翻译起始^[62]。此外,ac4C修饰也可以提高mRNA的稳定性^[64-65]。

1.4 其他RNA修饰

假尿嘧啶(Ψ)是尿苷的C5-糖苷异构体。正常嘧啶核苷是杂环的N1原子与戊糖的C1原子结合形成糖苷键,而假尿嘧啶核苷是杂环的C5原子与戊糖的C1键相连。 Ψ 是最早发现的,也是目前RNA中含量最多的修饰核苷,约占人类mRNA中尿苷总数的0.2%~0.6%,被称为RNA中的“第五核苷”^[66-68]。尿嘧啶到 Ψ 的转化是由 Ψ 合成酶[在真核生物中也称为假尿嘧啶核苷合成酶(pseudouridine synthases, PUSs)]催化的。最近的研究发现,PUS1、PUSL1、PUS3、PUS7、PUS7L、TruB假尿嘧啶合成酶家族成员1(TruB pseudouridine synthase homolog 1, TRUB1)、TRUB2和dyskerin假尿嘧啶合成酶1(dyskerin pseudouridine synthase 1, DKC1)负责mRNA的假尿嘧啶修饰,特别是TRUB1和DKC1介导了绝大多数 Ψ 修饰^[69-70]。PUS蛋白通常以不依赖RNA的方式发挥作用,而DKC1是一种RNA依赖的PUS家族合成酶,需要H/ACA snoRNA作为指导其rRNA和mRNA假尿嘧啶化的向导^[71-72]。目前没有发现假尿嘧啶修饰特定的“读取器”和“擦除器”。之所以没有擦除蛋白,是因为

Ψ 中碱基和核糖之间形成的C-C键比C-N键惰性更强得多,使得假尿嘧啶化过程不可逆^[73]。先前的研究表明 Ψ 修饰可以增强pre-mRNA剪接^[74]。PUS1和PUS7也被证明影响pre-mRNA 3'端的选择性切割和聚腺苷化^[74]。在酵母热休克后,PUS7的缺失导致其靶mRNA表达水平降低^[75],而在TRUB1缺失的HeLa细胞中,靶mRNA的稳定性下降^[70]。此外,使用基于CRISPR的敲除方法发现PUS1、PUS7和TRUB1敲除与野生型HEK293细胞之间, Ψ 修饰变化的转录本的稳定性没有差异^[69]。不同的评估系统、不同的方法和某些RBP的参与可能导致以上相悖的结论。这些研究表明, Ψ 修饰可能在不同的系统和条件下对mRNA的稳定性具有不同的作用。

A-to-I RNA编辑指在特异性RNA编辑酶作用下,转录初产物RNA前体中特定部位的A中的腺嘌呤C6位氨基水解脱氨,转变为次黄嘌呤,结果在mRNA分子中生成了原基因序列中没有的新核苷——肌苷(I)^[76]。由于次黄嘌呤在碱基配对时被识别为鸟嘌呤,因而此作用相当于将mRNA中的一个A转变为G,一方面可以改变原有翻译密码子;另一方面还可能导致mRNA前体中原有剪接位点改变,最终都将导致翻译出的蛋白质一级结构和功能发生变化^[77]。A-to-I RNA编辑还可以通过影响microRNA和mRNA之间的相互作用来调节mRNA的稳定性^[78]。此外,A-to-I RNA编辑还会诱导含有多个肌苷的核糖体在密码子上停滞,这提出另一种基于肌苷的mRNA翻译调节机制^[79]。A-to-I RNA编辑酶被称为RNA腺苷脱氨酶(adenosine deaminases acting on RNA, ADARs),在哺乳动物中主要有ADAR1、ADAR2、ADAR3和ADATs。它们都具有相似的催化结构域。ADAR1和ADAR2的N末端具有能与双链RNA结合的结构域,在功能上也具有相似性,能够识别mRNA前体中的特殊双链结构,催化特定部位的A转变为I^[80]。ADAR3兼具双链和单链RNA结合区域,仅分布在脑中,功能尚不清楚,体外实验发现其可以抑制ADARs家族其他成员的催化活性,提示可能对RNA编辑起调控作用^[81]。ADATs是tRNA特异性腺苷脱氨酶,组织分布也极为广泛,具有与ADAR1和ADAR2类似的酶活性区,但缺乏dsRNA结合区域,因此对dsRNA和mRNA前体无编辑作用,ADAT1的作用主要是

将丙氨酸 tRNA 反密码环上的 37 位 A 转变为 I, 而 ADAT2 和 ADAT3 的作用则是将 tRNA 的 34 位 A 催化为 I^[82]。

2 RNA 修饰在正常造血中的重要作用

造血是一个受到严格调控的多层级谱系分化过程, 各种类型的成熟血细胞由一小部分具有自我更新和多向分化潜能的造血干细胞 (hematopoietic stem cells, HSCs) 逐级分化形成。近年来, 研究发现包括 m⁶A 甲基化、A-to-I RNA 编辑在内的等多种 RNA 表观修饰在维持 HSC 活性及调控正常造血过程中起到了至关重要的作用。

作为 m⁶A MTC 复合物中唯一的催化亚单位, METTL3 在斑马鱼及哺乳动物等多种生物造血系统中的重要作用得到了广泛的研究。斑马鱼胚胎中 m⁶A 水平的维持对于正常内皮-造血转换过程 (endothelial-hematopoietic transition, EHT) 具有重要作用^[83]。缺乏 mettl3 会导致 m⁶A 水平下降, 进而下调 ythdf2 介导的 *notch1a* 和 *rhoca* 基因转录本的降解, 从而阻碍了造血干祖细胞 (hematopoietic stem/progenitor cell, HSPC) 的生成。该机制在小鼠造血系统中被进一步证实^[84]。LEE 等^[85]则发现 METTL3 及其介导的 MYC 的 m⁶A 修饰及表达调控参与了 HSCs 的分化。VU 和其团队^[86]通过应用短发夹 RNAs (shRNAs) 降低人类 HSPCs 中 METTL3 的表达, 发现这导致了细胞生长的抑制并增强了髓系分化。除了 METTL3 以外, 我们 2018 年发表于 *Cell Stem Cell* 的研究也发现 m⁶A 书写器 METTL14 在小鼠 HSPCs 和 Lin⁻ Sca-1⁺ c-kit⁺ (LSK) 细胞中的表达水平较高, 而在髓系生成过程中其表达水平出现下降, 表现为在髓系祖细胞、粒细胞-单核细胞祖细胞, 尤其是成熟髓系细胞中含量降低^[87]。而敲低 HSPCs 中的 METTL14, 则可以明显促进髓系分化^[87]。

此外, 作为一种 m⁶A 去甲基化酶, ALKBH5 可以通过减少 *Cebpa* 的 m⁶A 修饰并维持基因表达水平来调节造血, ALKBH5 缺失导致几种祖细胞群体数量适度增加, 同时损害了造血干细胞的长期自我更新能力^[88]。另一项研究则指出, ALKBH5 以 m⁶A 依赖的方式调节线粒体 ATP 的产生, 并影响 HSPCs 的适应能力, ALKBH5 缺失则会显著抑制小鼠和人类造血细胞的体外能量产生, 使 HSPCs 处于竞争劣势^[89]。

LI 等^[90]报道说, 沉默小鼠或人类脐带血中

Ythdf2 将以 m⁶A 依赖的方式调节靶基因 RNA 稳定性及表达, 进而显著增加功能性 HSCs 的数量。PARIS 等^[91]也发现, YTHDF2 的缺失可以增强 HSC 活性。MAPPERLEY 等^[92]则深入探究了 YTHDF2 缺失对 HSC 维持和多谱系造血的长期影响, 结果表明 YTHDF2 作为 HSC 中炎症通路的抑制因子, 是长期 HSC 维持的关键因素。而沉默 m⁶A 另一个阅读蛋白 YTHDC1 则会显著损害造血和 HSC 功能^[93]。此外, YIN 等^[94]还发现, m⁶A 阅读蛋白 IGF2BP2 通过抑制线粒体活性参与造血干细胞功能维持。

A-to-I RNA 编辑是另一种在哺乳动物转录组中普遍存在的 RNA 修饰。ADAR 蛋白家族负责引入 A-to-I 编辑, 在此过程中, 腺苷被去氨基化转化为肌苷。在 mRNA 翻译过程中, 肌苷被识别为鸟苷, 因此导致氨基酸的替换^[76]。目前研究发现 A-to-I RNA 编辑对 HSC 自我更新和分化具有重要影响, 其中 ADAR1 突变或缺失会损害正常造血, 尤其是红系及髓/粒系祖细胞的含量, 进而导致胚胎致死^[95-96]。这也提示了 ADAR 介导的 A-to-I 编辑在造血干细胞稳态中的重要性。

上述研究表明, RNA 修饰在 HSC 造血稳态维持及血细胞分化中具有重要调控功能。当正常造血的调控网络失调, 例如由于 RNA 修饰的调控酶的表达出现异常, 会打破 HSC 自我更新与分化之间的平衡, 从而引发异常造血, 例如正常造血向恶性转变, 导致白血病等血液系统肿瘤疾病^[97-98]。

3 AML 中 RNA 修饰的异常调控

急性髓系白血病 (AML) 是一种以骨髓中未成熟髓系细胞异常增殖为特征的恶性血液疾病, 是成年人中最常见且致命的急性白血病形式^[99]。AML 的总体治疗效果欠佳, 患者 5 年生存率仅为 31.7% (引自美国国立癌症研究所 2013 至 2019 年统计数据)。临床上, AML 的治疗仍主要依赖传统化疗, 并辅以免疫疗法或同种异体干细胞移植^[100]。在过去几十年中, 尽管 AML 的初始治疗完全缓解率和总体生存率有所提高, 但化疗的耐药及化疗后的高复发率仍然是现代医学面临的重大挑战^[101]。

LSCs 由 DICK 等^[102]在 1994 年成功分离得到, 是一类具有自我更新能力和分化潜力等干细胞特性的细胞, 且能够生成异质性白血病细胞群体。近期研究发现, LSCs 在 AML 的发生、进展和复发中发挥着

关键作用^[103]。大多数LSCs保持在静止状态,使其对传统的化疗高度耐药,并可能在化疗后驱动克隆多样性,从而导致更具侵袭性的疾病进展和致命结果。因此,目前普遍认为,LSCs的持续存在是白血病复发和耐药的主要原因之一,探究其发生机制并寻找攻克靶点则显得至关重要。

AML的发病机制复杂,既涉及遗传因素,例如t(11q23)、t(15;17)和t(8;21)等染色体异常和*RAS*、*NPM1*和*FLT3*等基因突变^[104-108],也有表观遗传因素,例如DNA甲基化和组蛋白修饰异常^[109-111]。近年来,逐渐有研究发现以m⁶A甲基化为代表的RNA表观修饰异常在AML的发生、发展,尤其是LSCs的自我更新中起到重要作用^[112],为解析AML的机制研究提供了新视角。因此,针对RNA修饰深入探究其在AML发生发展中的重要作用及潜在治疗靶点,具有深远意义。

3.1 AML中RNA甲基化的异常调控

FTO是第一个被报道在AML中起原癌作用的m⁶A调控子^[113]。在多种不同AML亚型的白血病细胞中都可观察到FTO的高表达。敲除或抑制FTO可抑制LSCs的自我更新和AML的进展。在机制上,FTO以依赖m⁶A的方式控制*ASB2*和*RARA* mRNA的降解。由于FTO是 α -酮戊二酸依赖的双加氧酶,其活性可被R-2-氢戊二酸(R-2-hydroxyglutarate, R-2HG)竞争性抑制,而R-2HG在结构上与 α -酮戊二酸接近。在R-2HG敏感的白血病细胞中使用R-2HG处理,可以在不影响FTO表达的情况下提高m⁶A的总体水平,并降低*MYC*和*CEBPA* mRNA的稳定性^[87]。R-2HG还能降低FTO/m⁶A/YTHDF2介导的2个关键糖酵解基因磷酸果糖激酶(phosphofructokinase platelet, *PFKP*)和乳酸脱氢酶B(lactate dehydrogenase B, *LDHB*)的上调,从而抑制白血病细胞的糖酵解^[114]。ALKBH5在AML中也存在异常高表达,其表达水平增加与AML患者的不良预后相关^[115-116]。研究揭示ALKBH5是AML发展和维持所必需的,同时也是白血病干细胞/起始细胞(leukemia stem/initiation cells, LSCs/LICs)自我更新所必需的,但其敲除对于小鼠的正常造血没有显著影响^[115-116]。从机理上讲,组蛋白去甲基化酶KDM4C通过降低组蛋白H3K9me3水平来增加*ALKBH5*基因座的染色质开放性和转录活性,而ALKBH5通过擦除其关键靶标*TACC3*和*AXL*等mRNA上m⁶A提高其RNA稳定性而在AML中发挥促肿瘤作用^[115-116]。

MTC的主要蛋白成员在AML中的作用也被揭示。METTL3缺失抑制细胞生长,促进分化和凋亡,并显著延长AML异种移植小鼠的存活期^[117]。这些作用主要是以m⁶A依赖的方式通过改变*c-MYC*、*BCL2*和*PTEN*的mRNA翻译介导的。此外, METTL3可以单独结合染色质并定位到活性基因的转录起始位点。启动子结合的METTL3招募CEBPZ并调节下游致癌驱动因子SP1和SP2的翻译,随后调节*c-MYC*的表达^[117-118]。我们2018年发表在*Cell Stem Cell*上的研究发现, METTL14的沉默可促进正常HSPC和AML细胞的终末骨髓分化,并抑制AML细胞的存活和增殖^[119]。METTL14是AML的发育和维持以及白血病干细胞/起始细胞(LSCs/LICs)自我更新所必需的。从机制上讲, METTL14通过m⁶A修饰调节其mRNA靶标(例如*MYB*和*MYC*)来发挥其致癌作用,而FTO本身则受到SPI1的负向调节。总的来说,我们的结果揭示了SPI1-METTL14-MYB/MYC信号轴在骨髓生成和白血病发生中的作用,并强调了METTL14和m⁶A修饰在正常和恶性造血中的关键作用^[119]。此外, WTAP也在AML患者中高表达,且与AML患者的总生存率呈负相关。WTAP的缺失抑制AML细胞的增殖、分化和集落形成。WTAP的稳定性受Hsp90的调控,在AML肿瘤发生中具有重要作用^[120]。METTL16在人类AML细胞中异常过表达,特别是在LSCs和LICs中^[121]。METTL16缺失显著抑制AML起始/发展和维持,减弱LSCs/LICs自我更新,同时影响小鼠正常造血。在机制上, METTL16通过促进支链氨基酸(branched-chain amino acid, BCAA)转氨酶1(branched-chain amino acid transaminase 1, BCAT1)和BCAT2以m⁶A依赖的方式在AML中表达和重编程BCAA代谢发挥致癌作用^[121]。m⁶A写入器与擦除器虽然对RNA的m⁶A修饰发挥相反的作用,但它们可能通过调控不同的靶基因对白血病的进展产生相同的影响,就像DNA甲基化一样, DNMT3A(DNA 5mC写入器)或TET蛋白(DNA 5mC擦除器)的突变都可以促进AML的发展^[109-110], m⁶A写入器或擦除器的异常表达而导致的RNA m⁶A失衡也可能会使基因表达的平衡发生倾斜,从而促进白血病的发生和发展。

除了m⁶A的写入和擦除外,其读取器蛋白在白血病发生中的作用也被广泛研究。敲除*YTHDC1*严重阻碍小鼠AML的发展以及LSC的自我更新。在机制上, YTHDC1通过识别DNA复制的关键调控因子

*MCM4*上的m⁶A修饰稳定其mRNA^[93]。YTHDC1也可以结合m⁶A修饰的RNA, 进而通过液相分离的方式形成凝聚物, 促进*MYC*转录本的稳定性及AML的发展^[122]。YTHDF2的缺失可以延长*TNFR2* m⁶A修饰转录本的半衰期, 从而促进TNF信号通路介导的细胞凋亡, 损害AML的起始和增殖, 而不影响正常的造血功能^[91]。我们2022年发表于*Cancer Cell*的研究表明IGF2BP2的高表达预示着AML患者预后不良, IGF2BP2蛋白作为m⁶A读取器在AML中通过调控谷氨酰胺代谢促进AML的发生、发展及维持, 以及白血病干细胞的自我更新。还进一步开发了靶向IGF2BP2的小分子抑制剂——CWI1-2, 并在小鼠模型中证实了靶向IGF2BP2作为AML治疗策略的可行性^[123]。张好建研究团队^[124]报道IGF2BP2识别蛋白精氨酸甲基转移酶*PRMT6* mRNA上的m⁶A修饰, 并促进其转录本稳定性, 代表了IGF2BP2在AML中的另一类下游功能靶点。IGF2BP1通过关键转录因子HOXB4和MYB以及调节醛脱氢酶ALDH1A1的表达来影响白血病细胞的增殖和致癌潜能。IGF2BP1的缺失抑制细胞增殖, 促进髓系分化, 降低AML细胞的致癌潜能^[125]。IGF2BP3在AML中特异性高表达。IGF2BP3以m⁶A依赖的方式与*RCC* mRNA互作并延长其半衰期, IGF2BP3的表达下调通过降低*RCC*表达显著抑制了AML细胞增殖^[126]。RNA结合蛋白YBX1可以通过其CDS区域与IGF2BPs相互作用, 结合并稳定m⁶A修饰的mRNA如*MYC*和*BCL2*, 从而促进髓系白血病细胞的存活^[127]。综上所述, 这些研究揭示了不同的m⁶A调控子(书写器、擦除器和读取器)通过完全不同的机制在AML中发挥重要的功能作用。

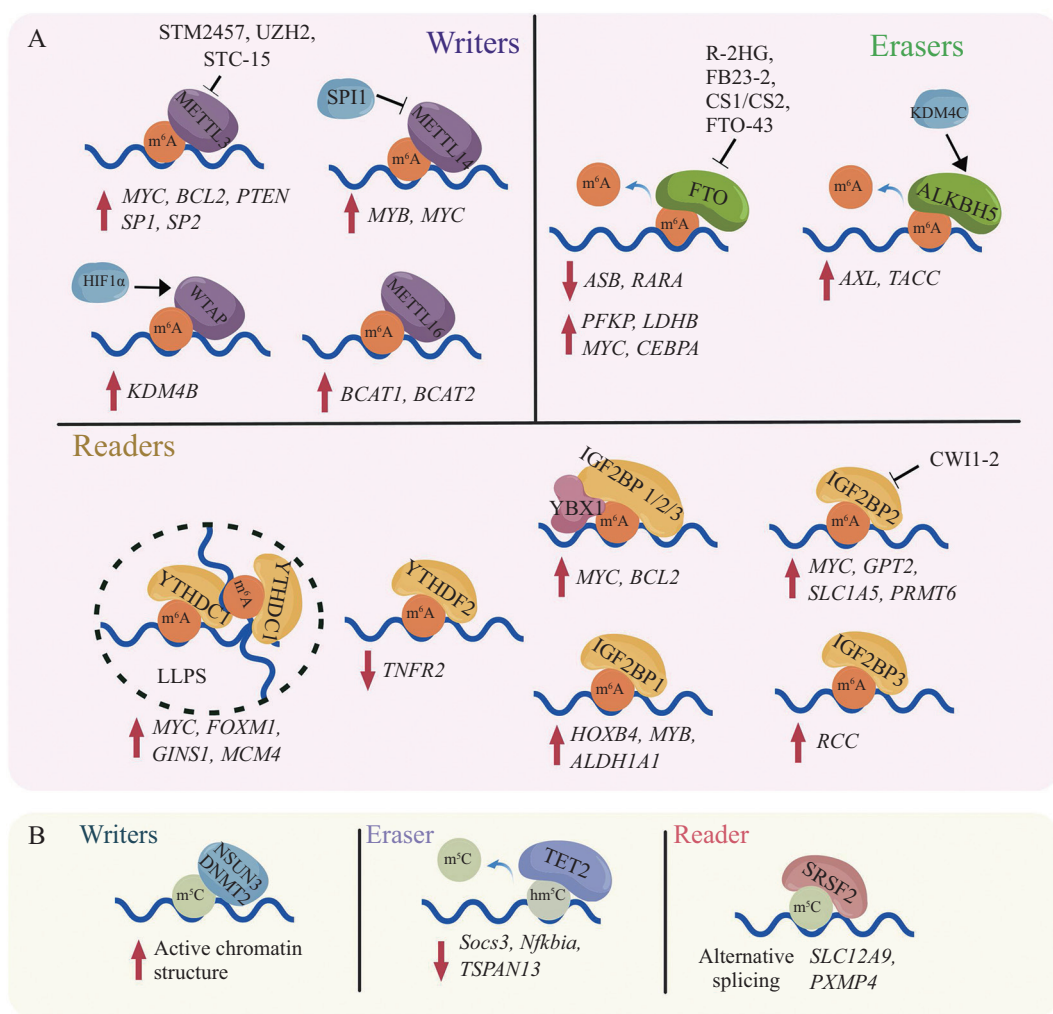
m⁵C的整体修饰及其调控因子在各种类型的癌症中都异常表达。新出现的证据表明, 甲基化状态与癌症的发病机制(包括发生、转移、进展以及耐药性和复发)密切相关。NSUN3和DNMT2介导的m⁵C能够直接结合RNA结合蛋白hnRNPK, 并通过转录因子GATA1和SPI1/PU相互作用, 在新生RNA上募集RNA聚合酶II, 导致活跃染色质结构的形成, 从而调控白血病细胞对5-氮杂胞苷的耐药^[128]。2024年*Nature & Cell Stem Cell*同期报道了TET2介导的RNA m⁵C修饰通过不同的机制调控AML的发生发展^[129-130]。前者发现m⁵C可以被CpG结合结构域蛋白MBD6识别, 它可以引导H2AK119ub的去泛素化, 从而促进染色质

开放状态。TET2氧化m⁵C并拮抗MBD6依赖性的H2AK119ub去泛素化。MBD6缺失选择性地阻断TET2突变型白血病细胞的增殖, 并在很大程度上逆转小鼠模型中Tet2缺失引起的造血缺陷^[129]。后者发现TET2缺失导致*TSPAN13* mRNA中m⁵C修饰的积累; YBX1特异性识别m⁵C修饰, 增加*TSPAN13*转录本的稳定性和表达水平, 从而激活CXCR4/CXCL12信号, 导致LSCs增加了向BM生态位的归巢/迁移^[130]。研究人员还发现m⁵C读取器SRSF2与m⁵C结合受损是白血病发生的潜在因素。白血病中常见的SRSF2^{P95H}突变降低了SRSF2与mRNA m⁵C的结合亲和力。SRSF2^{P95H}突变导致其与许多白血病相关转录本的结合减少, 并导致全局RNA剪接模式的改变。低NSUN2表达水平的患者总体上m⁵C水平降低, 低NSUN2表达水平与SRSF2^{P95H}和AML患者不良预后之间存在关联^[45](图1)。

3.2 AML中RNA乙酰化的异常调控

NAT10作为目前唯一已知的RNA乙酰基转移酶, 参与多种肿瘤, 如卵巢癌^[131]、膀胱癌^[132]、结直肠癌^[133]的发生发展。通过数据分析及临床样品检测, LIANG等^[134]发现NAT10在AML患者中的表达水平明显上升, 可以作为AML的潜在预后和治疗的生物标志物。我们团队通过对TCGA和MILE Study等数据库分析及实验验证发现, NAT10在AML及其他血液恶性肿瘤中高度表达, 且AML患者的原发性骨髓单核细胞(bone marrow mononuclear cells, BM-MNCs)中NAT10水平显著高于健康对照组和骨髓增生异常综合症(myelodysplastic syndromes, MDS)患者^[135]。进一步, 我们发现NAT10在携带t(11q23)/MLL重排(MLLr)或FLT3-ITD突变的两类高危AML亚型中具有较高的表达。且白血病干细胞(leukemia stem cells, LSCs)也表现出更高的NAT10水平, 提示NAT10可能参与AML的发生及干性维持。我们发现在MLL-AF9致癌融合基因转化的白血病小鼠模型中敲低或者敲除Nat10, 可以显著延长受体小鼠的生存期, 并减少未成熟细胞在外周血、骨髓及肝脾中的浸润。此外, Nat10的缺失严重损害了MLL-AF9转化的HSPC细胞的克隆形成能力及AML细胞的干性, 明显下降了LSCs/LICs频率, 表明Nat10对维持白血病LSC/LIC自我更新具有至关重要的作用。

2020年ZI等^[136]的文章报道了在AML细胞系



A: m⁶A及其书写器、擦除器和读取器在AML中的作用机制。B: m⁵C及其书写器、擦除器和读取器在AML中的作用机制。黑色箭头, 促进作用; 黑色抑制箭头, 抑制作用; 红色向上箭头, 表达量升高; 红色向下箭头, 表达量下降。通过BioGDP.com进行绘制。

A: the functions and mechanisms of m⁶A and its writers, erasers and readers in AML. B: the functions and mechanisms of m⁵C and its writers, erasers and readers in AML. Black arrow indicates promoting; black inhibition symbol indicates inhibiting; upwards red arrow indicates an increase in the expression level; downwards red arrow indicates a decrease in the expression level. Created with BioGDP.com.

图1 RNA甲基化调控蛋白在AML中的作用机制

Fig.1 The functions and mechanisms of RNA methylation regulatory proteins in AML

中, 靶向NAT10可以抑制细胞周期调节因子CDK2、CDK4、CyclinD1、CyclinE的表达, 上调p16、p21的水平, 并通过激活Bax/Bcl-2轴、增强内质网应激信号通路在AML细胞中触发凋亡信号, 诱导凋亡。但NAT10的功能是否依赖于RNA乙酰化修饰, 并不清楚。我们的研究发现, 在AML细胞中敲低或敲除NAT10可显著降低RNA乙酰化修饰水平, 而对蛋白的乙酰化影响不大^[135]。此外只有过表达野生型, 而非酶活突变型或RNA结合区截短型NAT10时, 可以上调RNA乙酰化修饰, 并促进细胞生长。既往研究中, NAT10已被报道可以催化人源细胞中18S rRNA^[137]、tRNA^[138-139]以及mRNA^[61-62]上的ac4C修饰。

因而我们对RNA不同组分进行了分离, 发现在AML细胞中, 敲除或敲低NAT10可以显著降低mRNA中的ac4C水平, 而对rRNA和tRNA中ac4C的降低程度则相对较小, 进一步提示NAT10的致癌功能可能主要依赖于其对mRNA上进行的ac4C修饰写入。

近年来, 越来越多的研究表明, 包括丝氨酸在内的肿瘤代谢异常及其代谢依赖性, 在AML细胞快速增殖和LSC的干性维持中具有重要作用, 特别是FLT3-ITD突变型的AML对丝氨酸代谢具有极大依赖性^[140-142]。我们通过转录组、代谢组、乙酰化修饰表观组等多组学手段分析发现, NAT10介导的ac4C乙酰化修饰对丝氨酸代谢具有重要影响。机制

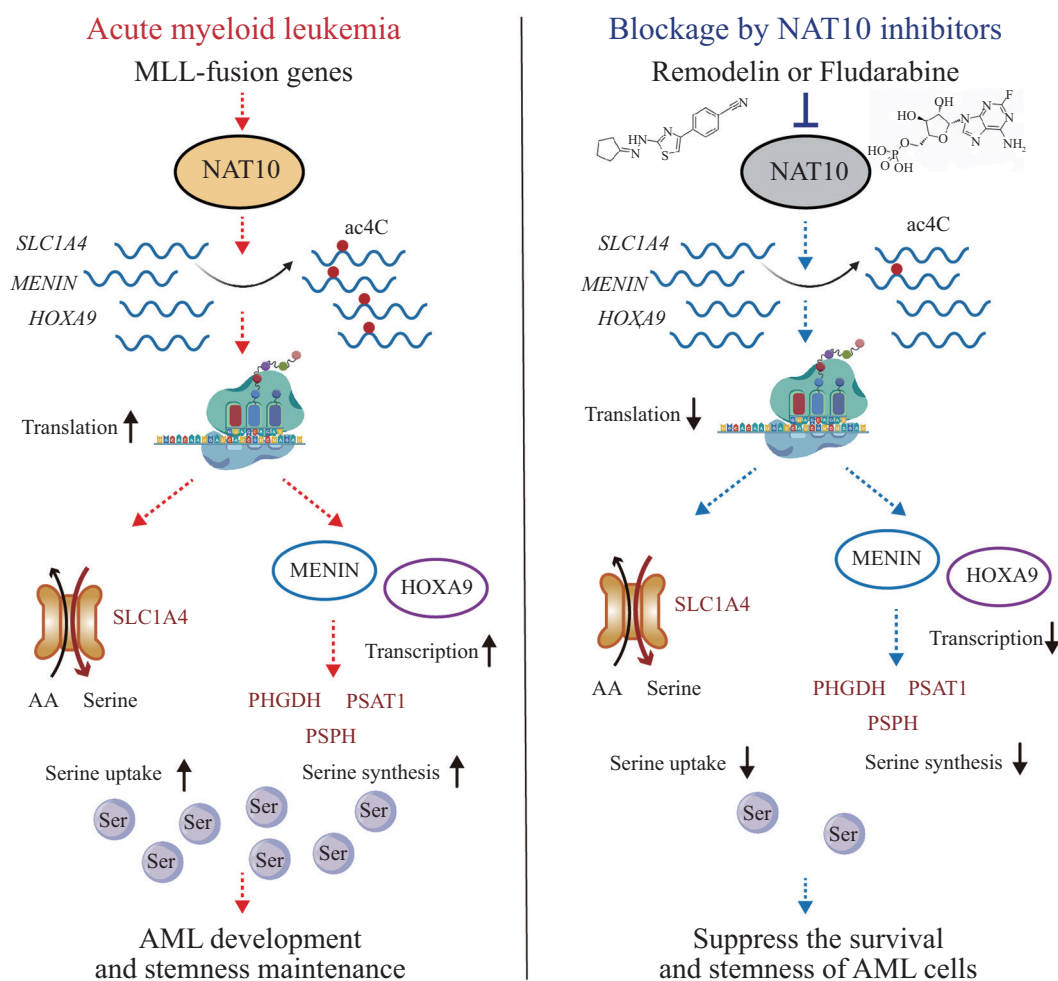
上,我们发现NAT10可以通过增强RNA翻译,上调丝氨酸转运体蛋白SLC1A4的表达,促进丝氨酸外源摄取。同时我们还发现NAT10可以增强转录因子HOXA9及H3K4me3识别因子MENIN(由MEN1编码)的表达,进而通过上调丝氨酸合成途径的三个关键代谢酶,即PHGDH、PSAT1和PSPH的转录,促进丝氨酸的内源合成,参与丝氨酸代谢重塑。

总体而言,我们的研究系统性地展示了RNA乙酰基转移酶NAT10在代谢调控和驱动白血病发生及干性维持中的重要功能,解析了NAT10所介导的RNA ac4C乙酰化修饰在调控基因表达中的分子机制,并最终为靶向NAT10进行AML的治疗提供了新的重要靶点(图2)。

3.3 其他RNA修饰在AML中的作用

除m⁶A甲基化和ac4C乙酰化以外,我们对其他RNA修饰在AML中的生物学功能的理解仍然非常有限,但随着RNA表观遗传学领域的不断发展,目前对于该领域的研究也逐渐增多。这里我们将对A-to-I RNA编辑及假尿嘧啶在AML中的研究进行讨论。

近年来,逐渐有研究发现A-to-I RNA编辑在髓系造血异常中的重要作用。研究者发现,ADAR1的激活促进了髓系祖细胞向LSCs/LICs的恶性重编程,增强了LSC/LIC的自我更新,并通过对细胞周期调节和肿瘤抑制RNA的过度编辑促进了慢性髓性白血病(chronic myelogenous leukemia, CML)祖细胞的扩增^[143-145]。而在AML中,最新的研究发现,A-to-



左图为NAT10参与调控AML发生及干性维持的机制过程。右图显示Remodelin或Fludarabine通过抑制NAT10下调白血病细胞活性及干性的机制过程。黑色向上箭头,上调;黑色向下箭头,下调。

The left figure shows the mechanism by which NAT10 participates in regulating the development and maintenance of AML. The right figure shows that Remodelin or Fludarabine suppresses leukemia cell survival and stemness by inhibiting NAT10. Upwards black arrow indicates promoting; downwards black arrow indicates decreasing.

图2 RNA乙酰化及其抑制剂在AML中的作用与机制示意图

Fig.2 Schematic diagram showing the function and mechanism of RNA acetylation and its inhibitors in AML

I RNA编辑酶ADAR2在核心结合因子(core binding factor, CBF) AML中特异性下调, 进而由于对靶基因 *COP4* 和 *COG3* mRNA编辑的失调, 介导t(8;21)型AML的白血病发生, 这在人源细胞系和小鼠模型中均得到了证实^[146]。

假尿嘧啶核苷最早在1951年即被识别发现^[147-148]。1983年NIELSEN等^[149]发现在未治疗AML和CML患者尿液中, 假尿嘧啶的排泄量分别较正常人升高了82%和87%。2022年HE等^[150]利用SFC-TQ-MS对血清中的假尿嘧啶和尿嘧啶进行定量分析, 提供了一种灵敏且可重复的临床诊断方法, 而假尿嘧啶的高浓度则被认为是AML患者的独立预后指标。2022年GUZZI等^[151]的研究发现, 在多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)中, 假尿嘧啶修饰的tRNA衍生物mTOG, 可以通过抑制异常的蛋白合成机制, 促进HSPC细胞分化, 而当其表达调控出现异常时, 将诱发难治型MDS向AML进展。但近年来该修饰在AML中的研究依然较少, 未来仍有待更多的分子机制研究来揭示其在AML中的潜在作用。

4 RNA修饰的靶向干预及其在AML治疗中的潜在应用

4.1 RNA甲基化(m⁶A)相关抑制剂的研究进展

由于多种m⁶A调控子在AML中高表达, 因此药理性的靶向这些调控子开发小分子抑制剂可能对于改善AML患者的预后是理想的方案。2018年陈建军教授研究团队及其合作者们^[87]发现一个过去被认为具有致癌作用的小分子代谢物R-2HG实际上可以通过抑制FTO调控其下游靶基因mRNA上的m⁶A水平, 从而在白血病和神经胶质瘤中发挥广泛的抑癌作用。抑制FTO/m⁶A/PFKP/LDHB信号通路有望成为一个安全、副作用小的白血病治疗策略。FTO抑制剂的开发及临床应用成为近年的研究热点。陈建军教授研究团队及其合作者们^[152-153]就在2019年和2020年发表的两篇 *Cancer Cell* 研究论文中分别报道了FB23-2以及CS1/CS2多个新型FTO小分子抑制剂在白血病中的治疗作用, 凸显了靶向FTO信号通路在白血病治疗中潜在的重大临床应用价值。通过对FB23-2的衍生物进行合理的结构优化, 得到了一种高选择性的氧太尼类FTO抑制剂FTO-43。FTO-43增加AML细胞中m⁶A的水平, 在一定程度上与FTO敲除观察到的现象相似, 并抑制AML细胞的

体外增殖^[154]。

大多数METTL3抑制剂在结构上与其甲基供体SAM相关, 因此常以竞争结合原理为抑制剂设计模式。BEDI等^[155]对SAM的4 000种类似物及衍生物进行了针对METTL3的虚拟筛选, 发现了两种候选的METTL3抑制剂有很好的配体结合效率。随后, 他们对筛选到的抑制剂进行了优化, 使其效价提高了1 400倍, 命名为UZH2。UZH2处理能够显著杀伤AML细胞并降低mRNA中的m⁶A/A比例^[156]。2021年, YANKOVA等^[157]报道了一种高效、选择性的METTL3催化抑制剂, 命名为STM2457; 虽然与SAM结构相似性无关, 但STM2457与METTL3-METTL14配合物的晶体结构证实了该抑制剂在SAM结合位点内结合。STM2457在多种AML小鼠模型中显著抑制AML细胞生长和增殖, 同时促进细胞凋亡和分化, 并具有良好的治疗活性, 包括对关键LSC亚群的治疗作用。2022年针对最新一代METTL3抑制剂STC-15开始了人体临床研究, 其作为可口服的高选择性的小分子抑制剂, 在用于AML患者的1期研究中已经完成首例患者给药^[158]。

近年也有针对m⁶A读取器的小分子抑制剂被开发和研究。2022年我们利用虚拟筛选进行IGF2BP2小分子抑制剂的开发, 最终发现一个化合物并命名为CWI1-2。CWI1-2可直接结合IGF2BP2的KH4结构域, 竞争性抑制IGF2BP2与m⁶A修饰的靶RNA结合。小鼠模型中证实了以CWI1-2靶向IGF2BP2作为AML治疗策略的可行性, 并基于细胞实验提出以CWI1-2联合化疗药物作为AML治疗手段的设想^[123]。

在其他肿瘤中也有众多关于m⁶A修饰抑制剂的开发工作, 比如: 针对食管鳞状细胞癌的METTL3抑制剂Elvitegravir^[159]、针对三阴性乳腺癌的FTO抑制剂MO-I-500^[160]、针对黑色素瘤的IGF2BP1抑制剂BTYNB^[161]。可见开发针对RNA m⁶A相关蛋白的特异性抑制剂具有重大的临床价值。类似于CS1/CS2、FB23-2、FTO-43和STM2457这些m⁶A相关抑制剂不仅对AML有较强的抑制效果, 同时也能够对胰腺癌、乳腺癌、胶质瘤和肝细胞癌有显著的杀伤作用^[154, 162-163]。鉴于RNA修饰相关酶在包括血液瘤和实体瘤在内的多种癌细胞中高表达, 在实体瘤中开发的这些针对RNA甲基化的小分子抑制剂可能也会在AML中显示出有希望的治疗效果(表1)。

表1 靶向RNA修饰调控蛋白的小分子抑制剂

Table 1 Small-molecule inhibitors targeting regulators of RNA modifications

靶点 Target	名称 Name	作用机制 Mechanism	在AML中的效应 Effect in AML	报道时间 Report time	临床试验阶段 Clinical trial stage	参考文献 Reference
FTO	R-2HG	Competitive binds to FTO with α -ketoglutaric acid	Inhibits leukemia cell proliferation/viability and promotes cell-cycle arrest and apoptosis	2018	Not entering clinical trials	[87]
	FB23-2	Directly binds to FTO and selectively inhibit FTO's m ⁶ A demethylase activity	Suppresses proliferation and promotes the differentiation/apoptosis of human AML cells	2019	Not entering clinical trials	[152]
	CS1/CS2	Disrupts the binding of FTO with its target RNAs	Suppresses LSC/LIC self-renewal and sensitizes leukemia cells to T cell cytotoxicity and overcomes hypomethylating agent-induced immune evasion	2020	Not entering clinical trials	[153]
	FTO-43	Directly binds to FTO and selectively inhibit FTO's m ⁶ A demethylase activity	Inhibits AML cell growth	2022	Not entering clinical trials	[154]
METTL3	UZH2	Competitive binds to METTL3 with SAM	Reduces m ⁶ A/A levels in leukemia cells	2021	Not entering clinical trials	[156]
	STM2457	Competitive binds to METTL3/METTL14 protein complex with SAM	Suppresses AML cell growth and proliferation, promotes apoptosis and differentiation and targets key stem cell subpopulations of AML	2021	Not entering clinical trials	[157]
	STC-15	No relevant reports	Anti-cancer immune responses and inhibition of leukemia stem cell function	2022	Phase 1	[158]
IGF2BP2	CWI1-2	Inhibits the interaction of IGF2BP2 with m ⁶ A-modified target transcripts	Suppresses Gln uptake, impairs mitochondria function, induces cell differentiation and apoptosis, and inhibits self-renewal of LSCs	2022	Not entering clinical trials	[123]
NAT10	Remodelin	Binds to the acetyl-CoA binding pocket of NAT10 and affects the acetyltransferase activity	Inhibits cell proliferation and induces cell cycle arrest in the G ₁ phase and apoptosis in AML cells Targets serine metabolic vulnerability and inhibits leukemogenesis and stemness maintenance of LSCs	2014; 2020; 2024;	Not entering clinical trials	[135] [136] [164]
	Fludarabine phosphate	Binds to the acetyl-CoA binding pocket of NAT10 and affects the acetyltransferase activity	Targets serine metabolic vulnerability and inhibits leukemogenesis and stemness maintenance of LSCs	2024	FDA-approved drug	[135]

4.2 RNA乙酰化(ac4C)相关抑制剂的研究进展

Remodelin是首个报道的NAT10小分子抑制剂。LARRIEU等^[164]在进行早衰抑制剂筛选时发现小分子抑制剂Remodelin可以恢复细胞核形态及整体染色质致密程度,缓解因核纤层蛋白Lamin A/C下调或突变所导致的细胞核变形及染色质结构改变。进一

步分子实验鉴定出Remodelin的分子靶点为NAT10,因其与乙酰辅酶A竞争结合NAT10的乙酰基转移酶活性区,可以抑制NAT10的催化活性^[164]。在此之后,研究发现Remodelin可以在肿瘤及其他多种疾病中抑制NAT10的多个非组蛋白乙酰化靶点和RNA ac4C乙酰化靶点^[132-133,165-167]。在AML中,ZI等^[136]的

研究发现,使用Remodelin可以显著引起白血病细胞系G₁期阻滞,并诱导凋亡。而我们最新的研究则明确了Remodelin可以通过下调RNA乙酰化修饰,抑制靶基因*SLC1A4*、*HOXA9*和*MENIN*的表达,从而阻断丝氨酸外源摄取和内源合成,在体内和体外有效抑制AML细胞的存活^[135]。2021年DALHAT等^[168]针对NAT10乙酰基转移酶活性口袋区进行分子模拟及药物对接,发现除Remodelin以外,4个FDA获批的药物与NAT10的酶活口袋区具有更高的亲和力和稳定性。基于此项研究,我们对上述药物进行系统筛选,并通过药物亲和反应靶向稳定性及细胞热转移等实验明确NAT10是Fludarabine的直接靶点^[135]。在AML中,Fludarabine可以通过抑制NAT10的RNA乙酰基转移酶活性及靶基因*SLC1A4*、*HOXA9/MENIN*的表达,靶向AML细胞的丝氨酸代谢酶^[135]。同时,LIU等^[131]发现Fludarabine可以通过靶向NAT10抑制脂肪酸代谢,从而抑制卵巢癌细胞的体外生长和在鼠体内皮下成瘤。基于靶向NAT10可以有效降低AML中一个关键的治疗靶点MENIN的蛋白水平,我们进一步发现NAT10抑制剂Remodelin和Fludarabine对MENIN抑制剂Revumenib耐药的病人细胞也有很好的抑制作用,提示临床转化上NAT10抑制剂可能具有克服MENIN抑制剂耐药的潜能^[135](表1)。

目前,基于对RNA修饰相关调控酶的有限认知,对于RNA乙酰化相关抑制剂的研究仍处于比较早期阶段,未来当更多的RNA乙酰化修饰相关调控酶被逐渐报道之后,针对这些酶的新型抑制剂的筛选及研究将具有重要的临床意义及转化价值。

5 未来展望与挑战

目前,RNA修饰在AML中的研究显示出其作为诊断标志物和治疗靶点的巨大潜力。*m⁶A*修饰与AML的发生和进展密切相关,这为早期诊断和个性化治疗提供了新的方向。大样本的临床图谱的绘制及适用于临床样品的、高特异性和灵敏的检测方法的开发将为实现这一转化应用提供重要基础。此外,针对这些RNA修饰的靶向治疗策略正在开发中,旨在通过调节RNA修饰的水平来恢复正常的细胞功能,从而抑制白血病细胞的增殖^[169-171]。同时,基础研究中揭示的RNA修饰的功能机制,也将有利于开发将RNA修饰抑制剂与现有化学治疗、靶向治疗或免疫治疗联用的AML治疗策略。

然而,开发针对RNA修饰的新型疗法依然面临诸多科学和技术挑战。首先,RNA修饰的种类繁多且功能复杂,不同修饰在不同细胞类型和疾病状态下的作用机制尚未完全阐明,且RNA修饰的动态变化特性也增加了治疗策略实施的复杂性及临床实际应用的难度^[172]。其次,针对RNA修饰的药物开发需要克服生物相容性、靶向性和有效性等问题,以确保治疗的安全性和有效性^[171]。例如,如何有效地将药物递送到特定的细胞类型,并减少对正常细胞的影响,是一个亟待解决的技术难题。因此,尽管RNA修饰在AML研究中展现出广阔前景,但仍需跨学科的合作与创新,以推动这一领域的发展。

参考文献 (References)

- [1] FU Y, DOMINISSINI D, RECHAVI G, et al. Gene expression regulation mediated through reversible m(6)A RNA methylation [J]. *Nat Rev Genet*, 2014, 15(5): 293-306.
- [2] DESROSIER 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): 3971-5.
- [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): 201-6.
- [4] LINDER B, GROZHIK A V, OLARERIN-GEORGE A O, et al. Single-nucleotide-resolution mapping of m(6)A and m6Am throughout the transcriptome [J]. *Nat Methods*, 2015, 12(8): 767-72.
- [5] MOLINIE B, WANG J, LIM K S, et al. m(6)A-LAIC-seq reveals the census and complexity of the m(6)A epitranscriptome [J]. *Nat Methods*, 2016, 13(8): 692-8.
- [6] KOH C W Q, GOH Y T, GOH W S S. Atlas of quantitative single-base-resolution N(6)-methyl-adenine methylomes [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 5636.
- [7] MEYER K D. DART-seq: an antibody-free method for global m(6)A detection [J]. *Nat Methods*, 2019, 16(12): 1275-80.
- [8] YIN R, CHANG J, LI Y, et al. Differential m(6)A RNA landscapes across hematopoiesis reveal a role for IGF2BP2 in preserving hematopoietic stem cell function [J]. *Cell Stem Cell*, 2022, 29(1): 149-59.e7.
- [9] HU L, LIU S, PENG Y, et al. m(6)A RNA modifications are measured at single-base resolution across the mammalian transcriptome [J]. *Nat Biotechnol*, 2022, 40(8): 1210-9.
- [10] XIAO Y L, LIU S, GE R, et al. Transcriptome-wide profiling and quantification of N(6)-methyladenosine by enzyme-assisted adenosine deamination [J]. *Nat Biotechnol*, 2023, 41(7): 993-1003.
- [11] WEI C M, MOSS B. Nucleotide sequences at the N6-methyladenosine sites of HeLa cell messenger ribonucleic acid [J]. *Biochemistry*, 1977, 16(8): 1672-6.
- [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): 93-5.
- [13] PING X L, SUN B F, WANG L, et al. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N6-methyladenosine methyltransferase [J]. Cell Res, 2014, 24(2): 177-89.
- [14] PENDLETON K E, CHEN B, LIU K, et al. The U6 snRNA m(6)A methyltransferase METTL16 regulates SAM synthetase intron retention [J]. Cell, 2017, 169(5): 824-35, e14.
- [15] HUANG H, WENG H, ZHOU K, et al. Histone H3 trimethylation at lysine 36 guides m(6)A RNA modification co-transcriptionally [J]. Nature, 2019, 567(7748): 414-9.
- [16] HUANG H, WENG H, CHEN J. The biogenesis and precise control of RNA m(6)A methylation [J]. Trends Genet, 2020, 36(1): 44-52.
- [17] HE P C, WEI J, DOU X, et al. Exon architecture controls mRNA m(6)A suppression and gene expression [J]. Science, 2023, 379(6633): 677-82.
- [18] UZONYI A, DIERKS D, NIR R, et al. Exclusion of m6A from splice-site proximal regions by the exon junction complex dictates m6A topologies and mRNA stability [J]. Mol Cell, 2023, 83(2): 237-51, e7.
- [19] 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): 885-7.
- [20] ZHENG G, DAHL JOHN 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.
- [21] WANG X, ZHAO B S, ROUNDTREE I A, et al. N(6)-methyladenosine modulates messenger RNA translation efficiency [J]. Cell, 2015, 161(6): 1388-99.
- [22] SHI H, WANG X, LU Z, et al. YTHDF3 facilitates translation and decay of N(6)-methyladenosine-modified RNA [J]. Cell Res, 2017, 27(3): 315-28.
- [23] HSU P J, ZHU Y, MA H, et al. Ythdc2 is an N(6)-methyladenosine binding protein that regulates mammalian spermatogenesis [J]. Cell Res, 2017, 27(9): 1115-27.
- [24] ROUNDTREE I A, LUO G Z, ZHANG Z, et al. YTHDC1 mediates nuclear export of N(6)-methyladenosine methylated mRNAs [J]. eLife, 2017, doi: 10.7554/eLife.31311.
- [25] XIAO W, ADHIKARI S, DAHAL U, et al. Nuclear m(6)A reader YTHDC1 regulates mRNA splicing [J]. Mol Cell, 2016, 61(4): 507-19.
- [26] HUANG H, WENG H, SUN W, et al. Recognition of RNA N(6)-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation [J]. Nat Cell Biol, 2018, 20(3): 285-95.
- [27] EDUPUGANTI R R, GEIGER S, LINDEBOOM R G H, et al. N(6)-methyladenosine (m(6)A) recruits and repels proteins to regulate mRNA homeostasis [J]. Nat Struct Mol Biol, 2017, 24(10): 870-8.
- [28] ZHANG F, KANG Y, WANG M, et al. Fragile X mental retardation protein modulates the stability of its m6A-marked messenger RNA targets [J]. Hum Mol Genet, 2018, 27(22): 3936-50.
- [29] 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): 1299-308.
- [30] LIU N, DAI Q, ZHENG G, et al. N(6)-methyladenosine-dependent RNA structural switches regulate RNA-protein interactions [J]. Nature, 2015, 518(7540): 560-4.
- [31] LIU N, ZHOU K I, PARISIEN M, et al. N6-methyladenosine alters RNA structure to regulate binding of a low-complexity protein [J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(10): 6051-63.
- [32] LIU J, DOU X, CHEN C, et al. N (6)-methyladenosine of chromosome-associated regulatory RNA regulates chromatin state and transcription [J]. Science, 2020, 367(6477): 580-6.
- [33] XU W, LI J, HE C, et al. METTL3 regulates heterochromatin in mouse embryonic stem cells [J]. Nature, 2021, 591(7849): 317-21.
- [34] LIU J, GAO M, HE J, et al. The RNA m(6)A reader YTHDC1 silences retrotransposons and guards ES cell identity [J]. Nature, 2021, 591(7849): 322-6.
- [35] DOU X, XIAO Y, SHEN C, et al. RBFOX2 recognizes N(6)-methyladenosine to suppress transcription and block myeloid leukaemia differentiation [J]. Nat Cell Biol, 2023, 25(9): 1359-68.
- [36] EDELHEIT S, SCHWARTZ S, MUMBACH M R, et al. Transcriptome-wide mapping of 5-methylcytidine RNA modifications in bacteria, archaea, and yeast reveals m5C within archaeal mRNAs [J]. PLoS Genet, 2013, 9(6): e1003602.
- [37] HUBER S M, VAN DELFT P, MENDIL L, et al. Formation and abundance of 5-hydroxymethylcytosine in RNA [J]. ChemBiochem, 2015, 16(5): 752-5.
- [38] BOHNSACK K E, HÖBARTNER C, BOHNSACK M T. Eukaryotic 5-methylcytosine (m⁵C) RNA methyltransferases: mechanisms, cellular functions, and links to disease [J]. Genes, 2019, 10(2): 102.
- [39] GOVINDARAJU G, JABEENA C A, SETHUMADHAVAN D V, et al. DNA methyltransferase homologue TRDMT1 in Plasmodium falciparum specifically methylates endogenous aspartic acid tRNA [J]. Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech, 2017, 1860(10): 1047-57.
- [40] SHEN Q, ZHANG Q, SHI Y, et al. Tet2 promotes pathogen infection-induced myelopoiesis through mRNA oxidation [J]. Nature, 2018, 554(7690): 123-7.
- [41] SHEN H, ONTIVEROS R J, OWENS M C, et al. TET-mediated 5-methylcytosine oxidation in tRNA promotes translation [J]. J Biol Chem, 2021, 296: 100087.
- [42] FU L, GUERRERO C R, ZHONG N, et al. Tet-mediated formation of 5-hydroxymethylcytosine in RNA [J]. J Am Chem Soc, 2014, 136(33): 11582-5.
- [43] YANG X, YANG Y, SUN B F, et al. 5-methylcytosine promotes mRNA export-NSUN2 as the methyltransferase and ALYREF as an m(5)C reader [J]. Cell Res, 2017, 27(5): 606-25.
- [44] ZOU F, TU R, DUAN B, et al. Drosophila YBX1 homolog YPS promotes ovarian germ line stem cell development by preferentially recognizing 5-methylcytosine RNAs [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 117(7): 3603-9.
- [45] MA H L, BIZET M, SOARES DA COSTA C, et al. SRSF2 plays an unexpected role as reader of m(5)C on mRNA, linking epitranscriptomics to cancer [J]. Mol Cell, 2023, 83(23): 4239-54, e10.
- [46] CHEN Y, SIERZPUTOWSKA-GRACZ H, GUENTHER R, et al. 5-Methylcytidine is required for cooperative binding of Mg²⁺ and a conformational transition at the anticodon stem-loop of yeast phenylalanine tRNA [J]. Biochemistry, 1993, 32(38): 10249-53.
- [47] SCHAEFER M, POLLEX T, HANNA K, et al. RNA methylation

- by Dnmt2 protects transfer RNAs against stress-induced cleavage [J]. *Genes Dev*, 2010, 24(15): 1590-5.
- [48] TUORTO F, LIEBERS R, MUSCH T, et al. RNA cytosine methylation by Dnmt2 and NSun2 promotes tRNA stability and protein synthesis [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, 19(9): 900-5.
- [49] CHAN C T, PANG Y L, DENG W, et al. Reprogramming of tRNA modifications controls the oxidative stress response by codon-biased translation of proteins [J]. *Nat Commun*, 2012, 3: 937.
- [50] JANIN M, ORTIZ-BARAHONA V, DE MOURA M C, et al. Epigenetic loss of RNA-methyltransferase NSUN5 in glioma targets ribosomes to drive a stress adaptive translational program [J]. *Acta Neuropathol*, 2019, 138(6): 1053-74.
- [51] YANG Y, WANG L, HAN X, et al. RNA 5-methylcytosine facilitates the maternal-to-zygotic transition by preventing maternal mRNA decay [J]. *Mol Cell*, 2019, 75(6): 1188-202, e11.
- [52] PHILIPPSEN P. Enzymatic splitting of tRNAs and tRNA-fragments [J]. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem*, 1972, 353(5): 744.
- [53] ZACHAU H G, DÜTTING D, FELDMANN H. Nucleotide sequences of two serine-specific transfer ribonucleic acids [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 1966, 5(4): 422.
- [54] KOWALSKI S, YAMANE T, FRESCO J R. Nucleotide sequence of the "denaturable" leucine transfer RNA from yeast [J]. *Science*, 1971, 172(3981): 385-7.
- [55] KOWALAK J A, DALLUGE J J, MCCLOSKEY J A, et al. The role of posttranscriptional modification in stabilization of transfer RNA from hyperthermophiles [J]. *Biochemistry*, 1994, 33(25): 7869-76.
- [56] OASHI Z, MURAO K, YAHAGI T, et al. Characterization of C+ located in the first position of the anticodon of *Escherichia coli* tRNA Met as N4-acetylcytidine [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1972, 262(2): 209-13.
- [57] THOMAS G, GORDON J, ROGG H. N4-Acetylcytidine. A previously unidentified labile component of the small subunit of eukaryotic ribosomes [J]. *J Biol Chem*, 1978, 253(4): 1101-5.
- [58] BRUENGER E, KOWALAK J A, KUCHINO Y, et al. 5S rRNA modification in the hyperthermophilic archaea *Sulfolobus solfataricus* and *Pyrodicticum occultum* [J]. *FASEB J*, 1993, 7(1): 196-200.
- [59] BARTEE D, NANCE K D, MEIER J L. Site-specific synthesis of N(4)-acetylcytidine in RNA reveals physiological duplex stabilization [J]. *J Am Chem Soc*, 2022, 144(8): 3487-96.
- [60] KUMBHAR B V, KAMBLE A D, SONAWANE K D. Conformational preferences of modified nucleoside N(4)-acetylcytidine, ac4C occur at "wobble" 34th position in the anticodon loop of tRNA [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2013, 66(3): 797-816.
- [61] ARANGO D, STURGILL D, ALHUSAINI N, et al. Acetylation of cytidine in mRNA promotes translation efficiency [J]. *Cell*, 2018, 175(7): 1872-86.
- [62] ARANGO D, STURGILL D, YANG R, et al. Direct epitranscriptional regulation of mammalian translation initiation through N4-acetylcytidine [J]. *Mol Cell*, 2022, 82(15): 2797-814, e11.
- [63] LIU R, WUBULIKASIMU Z, CAI R, et al. NAT10-mediated N4-acetylcytidine mRNA modification regulates self-renewal in human embryonic stem cells [J]. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51(16): 8514-31.
- [64] YAN Q, ZHOU J, WANG Z, et al. NAT10-dependent N(4)-acetylcytidine modification mediates PAN RNA stability, KSHV reactivation, and IFI16-related inflammasome activation [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 6327.
- [65] TSAI K, JAGUVA VASUDEVAN A A, MARTINEZ CAMPOS C, et al. Acetylation of cytidine residues boosts HIV-1 gene expression by increasing viral RNA stability [J]. *Cell Host Microbe*, 2020, 28(2): 306-12, e6.
- [66] CERNECKIS J, CUI Q, HE C, et al. Decoding pseudouridine: an emerging target for therapeutic development [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43(6): 522-35.
- [67] LI X, ZHU P, MA S, et al. Chemical pulldown reveals dynamic pseudouridylation of the mammalian transcriptome [J]. *Nat Chem Biol*, 2015, 11(8): 592-7.
- [68] LI X, MA S, YI C. Pseudouridine: the fifth RNA nucleotide with renewed interests [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2016, 33: 108-16.
- [69] ZHANG M, JIANG Z, MA Y, et al. Quantitative profiling of pseudouridylation landscape in the human transcriptome [J]. *Nat Chem Biol*, 2023, 19(10): 1185-95.
- [70] DAI Q, ZHANG L S, SUN H L, et al. Quantitative sequencing using BID-seq uncovers abundant pseudouridines in mammalian mRNA at base resolution [J]. *Nat Biotechnol*, 2023, 41(3): 344-54.
- [71] KARIJOLICH J, YU Y T. Converting nonsense codons into sense codons by targeted pseudouridylation [J]. *Nature*, 2011, 474(7351): 395-8.
- [72] SÁNCHEZ-VÁSQUEZ E, ALATA JIMENEZ N, VÁZQUEZ N A, et al. Emerging role of dynamic RNA modifications during animal development [J]. *Mech Dev*, 2018, 154: 24-32.
- [73] CHARETTE M, GRAY M W. Pseudouridine in RNA: what, where, how, and why [J]. *IUBMB Life*, 2000, 49(5): 341-51.
- [74] MARTINEZ N M, SU A, BURNS M C, et al. Pseudouridine synthases modify human pre-mRNA co-transcriptionally and affect pre-mRNA processing [J]. *Mol Cell*, 2022, 82(3): 645-59, e9.
- [75] SCHWARTZ S, BERNSTEIN D A, MUMBACH M R, et al. Transcriptome-wide mapping reveals widespread dynamic-regulated pseudouridylation of ncRNA and mRNA [J]. *Cell*, 2014, 159(1): 148-62.
- [76] POLSON A G, CRAIN P F, POMERANTZ S C, et al. The mechanism of adenosine to inosine conversion by the double-stranded RNA unwinding/modifying activity: a high-performance liquid chromatography-mass spectrometry analysis [J]. *Biochemistry*, 1991, 30(49): 11507-14.
- [77] RUETER S M, DAWSON T R, EMESON R B. Regulation of alternative splicing by RNA editing [J]. *Nature*, 1999, 399(6731): 75-80.
- [78] NISHIKURA K. A-to-I editing of coding and non-coding RNAs by ADARs [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17(2): 83-96.
- [79] LICHT K, HARTL M, AMMAN F, et al. Inosine induces context-dependent recoding and translational stalling [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(1): 3-14.
- [80] WONG S K, SATO S, LAZINSKI D W. Substrate recognition by ADAR1 and ADAR2 [J]. *Rna*, 2001, 7(6): 846-58.
- [81] CHEN C X, CHO D S, WANG Q, et al. A third member of the RNA-specific adenosine deaminase gene family, ADAR3, contains both single- and double-stranded RNA binding domains [J]. *Rna*, 2000, 6(5): 755-67.
- [82] SCHAUB M, KELLER W. RNA editing by adenosine deami-

- nases generates RNA and protein diversity [J]. *Biochimie*, 2002, 84(8): 791-803.
- [83] ZHANG C, CHEN Y, SUN B, et al. m(6)A modulates haematopoietic stem and progenitor cell specification [J]. *Nature*, 2017, 549(7671): 273-6.
- [84] LÜ J, ZHANG Y, GAO S, et al. Endothelial-specific m(6)A modulates mouse hematopoietic stem and progenitor cell development via Notch signaling [J]. *Cell Res*, 2018, 28(2): 249-52.
- [85] LEE H, BAO S, QIAN Y, et al. Stage-specific requirement for Methyl3-dependent m(6)A mRNA methylation during haematopoietic stem cell differentiation [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(6): 700-9.
- [86] VU L P, PICKERING B F, CHENG Y, et al. The N(6)-methyladenosine (m(6)A)-forming enzyme METTL3 controls myeloid differentiation of normal hematopoietic and leukemia cells [J]. *Nat Med*, 2017, 23(11): 1369-76.
- [87] SU R, DONG L, LI C, et al. R-2HG exhibits anti-tumor activity by targeting FTO/m(6)A/MYC/CEBPA signaling [J]. *Cell*, 2018, 172(1-2): 90-105, e23.
- [88] YANG B, LIU Y, XIAO F, et al. Alkbh5 plays indispensable roles in maintaining self-renewal of hematopoietic stem cells [J]. *Open Med*, 2023, 18(1): 20230766.
- [89] GAO Y, ZIMMER J T, VASIC R, et al. ALKBH5 modulates hematopoietic stem and progenitor cell energy metabolism through m(6)A modification-mediated RNA stability control [J]. *Cell Rep*, 2023, 42(10): 113163.
- [90] LI Z, QIAN P, SHAO W, et al. Suppression of m(6)A reader Ythdf2 promotes hematopoietic stem cell expansion [J]. *Cell Res*, 2018, 28(9): 904-17.
- [91] PARIS J, MORGAN M, CAMPOS J, et al. Targeting the RNA m(6)A reader YTHDF2 selectively compromises cancer stem cells in acute myeloid leukemia [J]. *Cell Stem Cell*, 2019, 25(1): 137-48, e6.
- [92] MAPPERLEY C, VAN DE LAGEMAAT L N, LAWSON H, et al. The mRNA m6A reader YTHDF2 suppresses proinflammatory pathways and sustains hematopoietic stem cell function [J]. *J Exp Med*, 2021, 218(3): e20200829.
- [93] SHENG Y, WEI J, YU F, et al. A critical role of nuclear m6A reader YTHDC1 in leukemogenesis by regulating MCM complex-mediated DNA replication [J]. *Blood*, 2021, 138(26): 2838-52.
- [94] YIN R, CHANG J, LI Y, et al. Differential m(6)A RNA landscapes across hematopoiesis reveal a role for IGF2BP2 in preserving hematopoietic stem cell function [J]. *Cell Stem Cell*, 2022, 29(1): 149-59, e7.
- [95] HARTNER J C, SCHMITTWOLF C, KISPERT A, et al. Liver disintegration in the mouse embryo caused by deficiency in the RNA-editing enzyme ADAR1 [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(6): 4894-902.
- [96] WANG Q, KHILLAN J, GADUE P, et al. Requirement of the RNA editing deaminase ADAR1 gene for embryonic erythropoiesis [J]. *Science*, 2000, 290(5497): 1765-8.
- [97] YE M, ZHANG H, YANG H, et al. Hematopoietic differentiation is required for initiation of acute myeloid leukemia [J]. *Cell Stem Cell*, 2015, 17(5): 611-23.
- [98] OLSON O C, KANG Y A, PASSEGUE E. Normal hematopoiesis is a balancing act of self-renewal and regeneration [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2020, 10(12): a035519.
- [99] PELCOVITS A, NIROULA R. Acute myeloid leukemia: a review [J]. *R I Med J*, 2020, 103(3): 38-40.
- [100] SHIMONY S, STAHL M, STONE R M. Acute myeloid leukemia: 2023 update on diagnosis, risk-stratification, and management [J]. *Am J Hematol*, 2023, 98(3): 502-26.
- [101] NEWELL L F, COOK R J. Advances in acute myeloid leukemia [J]. *BMJ*, 2021, 375: n2026.
- [102] LAPIDOT T, SIRARD C, VORMOOR J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice [J]. *Nature*, 1994, 367(6464): 645-8.
- [103] VETRIE D, HELGASON G V, COPLAND M. The leukaemia stem cell: similarities, differences and clinical prospects in CML and AML [J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(3): 158-73.
- [104] DOHNER H, ESTEY E H, AMADORI S, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet [J]. *Blood*, 2010, 115(3): 453-74.
- [105] DOHNER H, WEISDORF D J, BLOOMFIELD C D. Acute myeloid leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(12): 1136-52.
- [106] MARCUCCI G, MROZEK K, BLOOMFIELD C D. Molecular heterogeneity and prognostic biomarkers in adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics [J]. *Curr Opin Hematol*, 2005, 12(1): 68-75.
- [107] ROWLEY J D. Chromosomal translocations: revisited yet again [J]. *Blood*, 2008, 112(6): 2183-9.
- [108] CHEN J, ODENIKE O, ROWLEY J D. Leukaemogenesis: more than mutant genes [J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(1): 23-36.
- [109] LEY T J, DING L, WALTER M J, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(25): 2424-33.
- [110] DELHOMMEAU F, DUPONT S, DELLA VALLE V, et al. Mutation in TET2 in myeloid cancers [J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(22): 2289-301.
- [111] WONG S H, GOODE D L, IWASAKI M, et al. The H3K4-methyl epigenome regulates leukemia stem cell oncogenic potential [J]. *Cancer Cell*, 2015, 28(2): 198-209.
- [112] DENG X, QING Y, HORNE D, et al. The roles and implications of RNA m(6)A modification in cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20(8): 507-26.
- [113] LI Z, WENG H, SU R, et al. FTO plays an oncogenic role in acute myeloid leukemia as a N(6)-methyladenosine RNA demethylase [J]. *Cancer Cell*, 2017, 31(1): 127-41.
- [114] QING Y, DONG L, GAO L, et al. R-2-hydroxyglutarate attenuates aerobic glycolysis in leukemia by targeting the FTO/m(6)A/PFKFB3 axis [J]. *Mol Cell*, 2021, 81(5): 922-39, e9.
- [115] WANG J, LI Y, WANG P, et al. Leukemogenic chromatin alterations promote AML leukemia stem cells via a KDM4C-ALKBH5-AXL signaling axis [J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 27(1): 81-97, e8.
- [116] SHEN C, SHENG Y, ZHU A C, et al. RNA demethylase ALKBH5 selectively promotes tumorigenesis and cancer stem cell self-renewal in acute myeloid leukemia [J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 27(1): 64-80, e9.
- [117] BARBIERI I, TZELEPIS K, PANDOLFINI L, et al. Promoter-bound METTL3 maintains myeloid leukaemia by m(6)A-dependent translation control [J]. *Nature*, 2017, 552(7683): 126-31.

- [118] GELTINGER C, HÖRTNAGEL K, POLACK A. TATA box and Sp1 sites mediate the activation of c-myc promoter P1 by immunoglobulin kappa enhancers [J]. *Gene Expr*, 1996, 6(2): 113-27.
- [119] WENG H, HUANG H, WU H, et al. METTL14 inhibits hematopoietic stem/progenitor differentiation and promotes leukemogenesis via mRNA m(6)A modification [J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(2): 191-205, e9.
- [120] BANSAL H, YIHUA Q, IYER S P, et al. WTAP is a novel oncogenic protein in acute myeloid leukemia [J]. *Leukemia*, 2014, 28(5): 1171-4.
- [121] HAN L, DONG L, LEUNG K, et al. METTL16 drives leukemogenesis and leukemia stem cell self-renewal by reprogramming BCAA metabolism [J]. *Cell Stem Cell*, 2023, 30(1): 52-68, e13.
- [122] CHENG Y, XIE W, PICKERING B F, et al. N(6)-methyladenosine on mRNA facilitates a phase-separated nuclear body that suppresses myeloid leukemic differentiation [J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(7): 958-72, e8.
- [123] WENG H, HUANG F, YU Z, et al. The m(6)A reader IGF2BP2 regulates glutamine metabolism and represents a therapeutic target in acute myeloid leukemia [J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(12): 1566-82, e10.
- [124] CHENG Y, GAO Z, ZHANG T, et al. Decoding m(6)A RNA methylome identifies PRMT6-regulated lipid transport promoting AML stem cell maintenance [J]. *Cell Stem Cell*, 2023, 30(1): 69-85, e7.
- [125] ELCHEVA I A, WOOD T, CHIAROLANZIO K, et al. RNA-binding protein IGF2BP1 maintains leukemia stem cell properties by regulating HOXB4, MYB, and ALDH1A1 [J]. *Leukemia*, 2020, 34(5): 1354-63.
- [126] ZHANG N, SHEN Y, LI H, et al. The m6A reader IGF2BP3 promotes acute myeloid leukemia progression by enhancing RCC2 stability [J]. *Exp Mol Med*, 2022, 54(2): 194-205.
- [127] 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 [J]. *Blood*, 2021, 138(1): 71-85.
- [128] CHENG J X, CHEN L, LI Y, et al. RNA cytosine methylation and methyltransferases mediate chromatin organization and 5-azacytidine response and resistance in leukaemia [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1163.
- [129] ZOU Z, DOU X, LI Y, et al. RNA m(5)C oxidation by TET2 regulates chromatin state and leukaemogenesis [J]. *Nature*, 2024, doi: 10.1038/s41586-024-07969-x.
- [130] LI Y, XUE M, DENG X, et al. TET2-mediated mRNA demethylation regulates leukemia stem cell homing and self-renewal [J]. *Cell Stem Cell*, 2023, 30(8): 1072-90, e10.
- [131] LIU Y, LI J, XU J, et al. m(6)A-driven NAT10 translation facilitates fatty acid metabolic rewiring to suppress ferroptosis and promote ovarian tumorigenesis through enhancing ACOT7 mRNA acetylation [J]. *Oncogene*, 2024, 43(48): 3498-516.
- [132] XIE R, CHENG L, HUANG M, et al. NAT10 drives cisplatin chemoresistance by enhancing ac4C-associated DNA repair in bladder cancer [J]. *Cancer Res*, 2023, 83(10): 1666-83.
- [133] JIN C, WANG T, ZHANG D, et al. Acetyltransferase NAT10 regulates the Wnt/beta-catenin signaling pathway to promote colorectal cancer progression via ac(4)C acetylation of KIF23 mRNA [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1): 345.
- [134] LIANG P, HU R, LIU Z, et al. NAT10 upregulation indicates a poor prognosis in acute myeloid leukemia [J]. *Curr Probl Cancer*, 2020, 44(2): 100491.
- [135] ZHANG S, HUANG F, WANG Y, et al. NAT10-mediated mRNA N⁴-acetylcytidine reprograms serine metabolism to drive leukemogenesis and stemness in acute myeloid leukaemia [J]. *Nature Cell Biology*, 2024, 26(12): 2168-82.
- [136] ZI J, HAN Q, GU S, et al. Targeting NAT10 induces apoptosis associated with enhancing endoplasmic reticulum stress in acute myeloid leukemia cells [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 598107.
- [137] ITO S, HORIKAWA S, SUZUKI T, et al. Human NAT10 is an ATP-dependent RNA acetyltransferase responsible for N⁴-acetylcytidine formation in 18S ribosomal RNA (rRNA) [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(52): 35724-30.
- [138] SHARMA S, LANGHENDRIES J L, WATZINGER P, et al. Yeast Kre33 and human NAT10 are conserved 18S rRNA cytosine acetyltransferases that modify tRNAs assisted by the adaptor Tan1/THUMP1 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(4): 2242-58.
- [139] WEI W, ZHANG S, HAN H, et al. NAT10-mediated ac4C tRNA modification promotes EGFR mRNA translation and gefitinib resistance in cancer [J]. *Cell Rep*, 2023, 42(7): 112810.
- [140] BJELOSEVIC S, GRUBER E, NEWBOLD A, et al. Serine biosynthesis is a metabolic vulnerability in FLT3-ITD-driven acute myeloid leukemia [J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(6): 1582-99.
- [141] DI MARCANTONIO D, MARTINEZ E, KANEFSKY J S, et al. ATF3 coordinates serine and nucleotide metabolism to drive cell cycle progression in acute myeloid leukemia [J]. *Mol Cell*, 2021, 81(13): 2752-64, e6.
- [142] JEONG S, SAVINO A M, CHIRAYIL R, et al. High fructose drives the serine synthesis pathway in acute myeloid leukemic cells [J]. *Cell Metab*, 2021, 33(1): 145-59, e6.
- [143] JIANG Q, CREWS L A, BARRETT C L, et al. ADAR1 promotes malignant progenitor reprogramming in chronic myeloid leukemia [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(3): 1041-6.
- [144] ZIPETO M A, COURT A C, SADARANGANI A, et al. ADAR1 activation drives leukemia stem cell self-renewal by impairing Let-7 biogenesis [J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 19(2): 177-91.
- [145] JIANG Q, ISQUITH J, ZIPETO M A, et al. Hyper-editing of cell-cycle regulatory and tumor suppressor RNA promotes malignant progenitor propagation [J]. *Cancer Cell*, 2019, 35(1): 81-94, e7.
- [146] GUO M, CHAN T H M, ZHOU Q, et al. Core-binding factor fusion downregulation of ADAR2 RNA editing contributes to AML leukemogenesis [J]. *Blood*, 2023, 141(25): 3078-90.
- [147] COHN W E. 5-Ribosyl uracil, a carbon-carbon ribofuranosyl nucleoside in ribonucleic acids [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1959, 32: 569-71.
- [148] COHN W E. Pseudouridine, a carbon-carbon linked ribonucleoside in ribonucleic acids: isolation, structure, and chemical characteristics [J]. *J Biol Chem*, 1960, 235: 1488-98.
- [149] NIELSEN H R, KILLMANN S A. Urinary excretion of beta-aminoisobutyrate and pseudouridine in acute and chronic myeloid leukemia [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1983, 71(5): 887-91.
- [150] HE R, QIAO J, WANG X, et al. A new quantitative method for pseudouridine and uridine in human serum and its clinical application in acute myeloid leukemia [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2022, 219: 114934.

- [151] GUZZI N, MUTHUKUMAR S, CIESLA M, et al. Pseudouridine-modified tRNA fragments repress aberrant protein synthesis and predict leukaemic progression in myelodysplastic syndrome [J]. *Nat Cell Biol*, 2022, 24(3): 299-306.
- [152] 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): 677-91, e10.
- [153] SU R, DONG L, LI Y, et al. Targeting FTO suppresses cancer stem cell maintenance and immune evasion [J]. *Cancer Cell*, 2020, 38(1): 79-96, e11.
- [154] HUFF S, KUMMETHA I R, ZHANG L, et al. Rational design and optimization of m(6)A-RNA demethylase FTO inhibitors as anticancer agents [J]. *J Med Chem*, 2022, 65(16): 10920-37.
- [155] BEDI R K, HUANG D, EBERLE S A, et al. Small-molecule inhibitors of METTL3, the major human epitranscriptomic writer [J]. *ChemMedChem*, 2020, 15(9): 744-8.
- [156] DOLBOIS A, BEDI R K, BOCHENKOVA E, et al. 1,4,9-triazaspiro[5.5]undecan-2-one derivatives as potent and selective METTL3 inhibitors [J]. *J Med Chem*, 2021, 64(17): 12738-60.
- [157] YANKOVA E, BLACKABY W, ALBERTELLA M, et al. Small-molecule inhibition of METTL3 as a strategy against myeloid leukaemia [J]. *Nature*, 2021, 593(7860): 597-601.
- [158] STORM Therapeutics selects first-in-class clinical candidate targeting METTL3 [Z]. Storm Therapeutics Ltd. 2020
- [159] LIAO L, HE Y, LI S J, et al. Anti-HIV drug elvitegravir suppresses cancer metastasis via increased proteasomal degradation of m6A methyltransferase METTL3 [J]. *Cancer Res*, 2022, 82(13): 2444-57.
- [160] 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.
- [161] MAHAPATRA L, ANDRUSKA N, MAO C, et al. A novel IMP1 inhibitor, BTYNB, targets c-myc and inhibits melanoma and ovarian cancer cell proliferation [J]. *Transl Oncol*, 2017, 10(5): 818-27.
- [162] DONG L, MAO Y, ZHOU A, et al. Relaxed initiation pausing of ribosomes drives oncogenic translation [J]. *Sci Adv*, 2021, 7(8): eabd6927.
- [163] PAN Y, CHEN H, ZHANG X, et al. METTL3 drives NAFLD-related hepatocellular carcinoma and is a therapeutic target for boosting immunotherapy [J]. *Cell Rep Med*, 2023, 4(8): 101144.
- [164] LARRIEU D, BRITTON S, DEMIR M, et al. Chemical inhibition of NAT10 corrects defects of laminopathic cells [J]. *Science*, 2014, 344(6183): 527-32.
- [165] GUO Q, YU W, TAN J, et al. Remodelin delays non-small cell lung cancer progression by inhibiting NAT10 via the EMT pathway [J]. *Cancer Med*, 2024, 13(11): e7283.
- [166] XU T, WANG J, WU Y, et al. Ac4C enhances the translation efficiency of Vegfa mRNA and mediates central sensitization in spinal dorsal horn in neuropathic pain [J]. *Adv Sci*, 2023, 10(35): e2303113.
- [167] LIU H Y, LIU Y Y, YANG F, et al. Acetylation of MORC2 by NAT10 regulates cell-cycle checkpoint control and resistance to DNA-damaging chemotherapy and radiotherapy in breast cancer [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(7): 3638-56.
- [168] DALHAT M H, ALTAYB H N, KHAN M I, et al. Structural insights of human N-acetyltransferase 10 and identification of its potential novel inhibitors [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 6051.
- [169] QUATTROCCHI A, CAPPELLI L V, DE SIMONE G, et al. Biomarkers in acute myeloid leukemia: from state of the art in risk classification to future challenges of RNA editing as disease predictor and therapy target [J]. *Asp Mol Med*, 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.amolm.2023.100023>.
- [170] HU R, LIAO P, XU B, et al. N6-methyladenosine RNA modifications: a potential therapeutic target for AML [J]. *Ann Hematol*, 2024, 103(8): 2601-12.
- [171] QIU L, JING Q, LI Y, et al. RNA modification: mechanisms and therapeutic targets [J]. *Mol Biomed*, 2023, 4(1): 25.
- [172] BARBIERI I, KOUZARIDES T. Role of RNA modifications in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(6): 303-22.