**RNA修饰的N6-甲基腺苷作为免疫系统的新型调节剂**

**摘要**：机体通过免疫系统的激活保护自身免受有害病原体的侵害，而免疫系统的激活依赖于严格的基因调节表达。人们发现RNA修饰物N6-甲基腺苷(m6A)在这种调控中发挥了重要作用。在这篇综述中，我们总结了m6A在控制免疫的方面的机制，以及与疾病中异常修饰的m6A RNA。

RNA的修饰是指转录后对有可能改变RNA功能的化学成分的改变。虽然已经在RNA中已经发现了100多种不同的修饰碱基，但其中大多数是非编码RNA，特别是tRNA和rRNA[1]。然而，据报道，有几种不同的修饰发生在哺乳动物mRNAs。其中，最普遍的内部修饰碱基是N6-甲基腺苷（m6A）。m6A于20世纪70年代首次在细胞mRNA上被鉴定出来[2]。然而，由于缺乏映射m6A在转录本上的精确位置的方法，以及缺乏产生和识别m6A残基的细胞因子的信息，使得该领域受到了严重的限制。在20世纪90年代末，人们发现了m6A修饰mRNA的酶[3]，随着全基因组m6A-mapping方法的发展，又发现了m6A在整个转录组中的普遍存在[4]。人们形成了对RNA修饰机制的巨大兴趣。此后，m6A在调控mRNA命运中的作用及其在各种细胞类型中的功能重要性得到了广泛的研究, m6A正作为一种广泛的调控机制，在不同的生理过程中控制基因表达。在本综述中，我们总结了近期描述m6A修饰在微调免疫反应中的作用的研究，讨论了m6A修饰在控制免疫方面的机制。这里介绍的研究描绘了m6A在塑造平衡免疫反应中的重要性，同时也说明了RNA修饰在发病过程中的调节作用。

**m6A writers**

m6A是由METTL3-METTL14异聚体和许多额外的适应性蛋白组成的多亚基 "写体复合物"添加到mRNA中[5]-[8]。METTL3是该复合物的酶活性成分，而METTL14是一种异源性激活剂，也与目标RNA结合。写体复合物还包括WTAP、RBM15或RBM15B、ZC3H13和VIRMA(又称KIAA1429)亚单位。WTAP是m6A沉积的必要条件，并将METTL3-METTL14异构体定位到转录位点，ZC3H13维持复合物的核定位，RBM15/15B和VIRMA被认为提供了额外的特异性。写体复合物在m6A共识序列DRACH(其中D = A，G或U；R = G或A；H = A，C或U)处共转录腺苷的甲基化[9]。虽然这个序列是杂交的，每个转录本都有许多潜在的甲基化位点，但m6A的沉积是比较受限制的，因为只有某些mRNA含有m6A，而且这些转录本中只有一小部分共识位点被甲基化。此外，m6A在不同位点上的甲基化程度（即修饰和未修饰的腺嘌呤的比例）可以不同[10]。最近的一项分析显示，高达45%的甲基化水平的变异性可能是由侧翼序列中的特征解释的，但对沉积特异性的许多方面仍不甚了解。

由于写体复合物的作用是共转录的，所以m6A被认为主要在核内形成。然而，令人惊讶的是，细胞质RNA病毒（其RNA是在细胞质中转录的）也被证明是m6A修饰的，这表明写体复合物的某种形式也可能存在于细胞核外。

除了典型的写体复合体外，其他几种酶已被证明可作为m6A甲基化酶[11]：METTL16修饰U6小核RNA、MAT2A转录本可能是额外的mRNA；ZCCHC4和METTL5将m6A添加到18S和28S核糖体RNA中；PCIF1催化m6A在2-O-甲基化腺嘌呤存在于核糖体的2-O-甲基化腺嘌呤上的甲基化；PCIF1催化m6A在核糖体的2-O-甲基化腺嘌呤上的甲基化；PCIF1催化m6A在核糖体的2-O-甲基化腺嘌呤上的甲基化。m7G-capped mRNA的转录起始位点产生N6,2′-O-二甲基腺苷（m6Am）。由这些酶产生的m6A修饰位点没有与免疫相关；因此，本综述重点关注典型的m6A mRNA修饰。

**m6A readers**

与m6A结合的RNA结合蛋白被称为m6A readers。这些蛋白介导m6A对修饰性RNA的调节功能。含YTH域的蛋白质以m6A依赖的方式结合RNA[12]-[15]。在哺乳动物基因组中，有5种含YTH域的蛋白质。这些蛋白可分为三类。YTHDC1，表达广泛，主要在细胞核内；YTHDC2，表达受组织限制，可以是核蛋白和细胞质蛋白；细胞质YTHDF蛋白家族，包括三个高度相似的副系谱（YTHDF1、YTHDF2和YTHDF3）。YTHDF蛋白在氨基酸序列上有很高的相似性，而关于它们是否会诱导类似的结果，或是否对m6A修饰的mRNA有特殊的影响，目前还存在矛盾的证据。多项研究报道了YTHDF1能增强m6A修饰的mRNA的翻译，YTHDF2能促进mRNA的降解，YTHDF3能增强这两种功能[16]。然而，其他研究表明，YTHDF1、2和3在mRNA降解中的作用类似。此外，最近的研究表明，这3种YTHDF蛋白都能介导相分离[17]，有助于将m6A修饰后的mRNA靶向P-bodies、应激颗粒和其他RNA-蛋白集合体，表明这3种YTHDF蛋白有共同的作用机制。

YTHDC1是一种核m6A reader，与mRNA拼接、表观遗传沉默和mRNA的核输出有关。YTHDC2基因敲除小鼠主要表现出精子发生缺陷，这支持了其具有睾丸特异性功能的观点。尽管如此，在基因组数据库信息的基础上，免疫细胞表达中等水平的YTHDC2，因此，该m6A reader在免疫细胞中也有相同作用的可能性。

除了含YTH域的m6A readers外，还有几个额外的RNA结合蛋白被报道可优先结合到含m6A的RNA。这些蛋白包括eIF3D、FMR1、IGF2BP1-3、HNRNPC、HNRNPG和HNRNPA2B148-54。然而，这些RNA结合蛋白的调控功能，以及它们是否直接结合m6A而不是通过典型的m6A结合剂间接结合m6A，仍不清楚。此外，由于m6A的存在降低了RNA形成二次结构的能力，m6A的RNA修饰可以提供更多的RNA结合蛋白。这一概念在HNRNPC中得到了证明，它优先结合m6A修饰的位点。m6A在RNA中形成非结构化区域的倾向性使其难以确定RNA结合蛋白是直接结合到m6A，还是由于可及性的增加而优先结合到m6A修饰的RNA上。

**m6A erasers**

有人提出了两种酶，即FTO和ALKBH5，可以从m6A的mRNA中去除m6A[18]。FTO很可能同时脱甲基化m6A和终端m6Am，而ALKBH5特异性地脱甲基化m6A。尽管m6A erasers提供了以动态和信号依赖性方式调节m6A水平的手段，但HeLa细胞中的代谢标记研究表明，m6A水平在整个mRNA生命周期中基本稳定，这表明动态的m6A erase可能仅限于特定条件或组织。RNA脱甲基化在其他生理环境下的潜在影响仍然需要进一步评估。

**m6A介导的分子机制**

使用特定的m6A机制蛋白删除的研究发现，m6A调控mRNA生命周期的许多方面。m6A修饰mRNA的途径始于当m6A writer和erase开始时的转录过程中。随后，核m6A readers可以影响mRNA的拼接和输出，并可能影响其他核过程。当m6A输出到细胞质时，m6A会影响mRNA的稳定性、翻译和定位，而这些影响主要是由细胞质的m6A readers介导的（图1）。

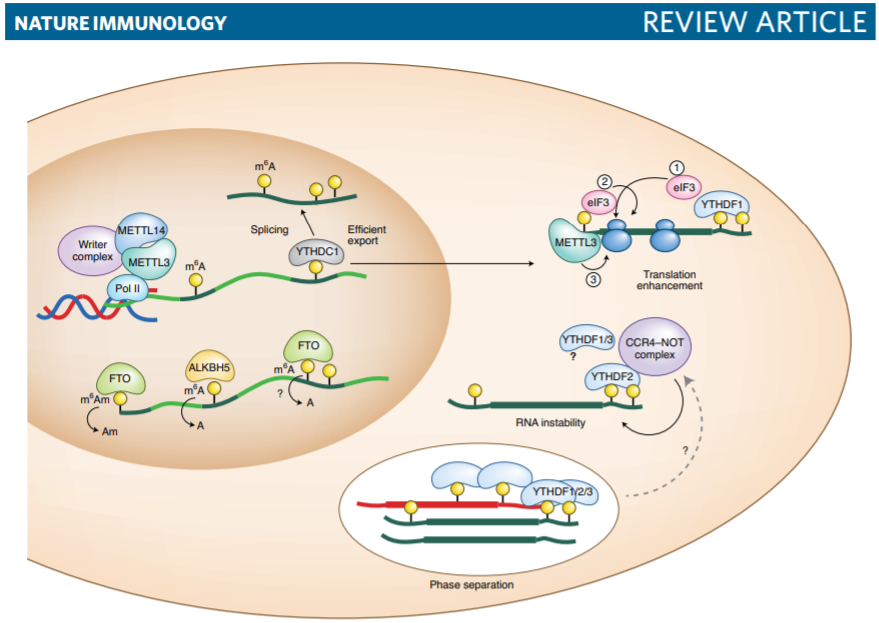


图1 | 细胞内的m6A机制及其潜在的分子功能

m6A由METTL3、METTL14和一组附属蛋白组成的写体复合物共转录添加。m6A可以在细胞核中被两种潜在的m6A脱甲基化酶ALKBH5和FTO清除。FTO也可以去除转录本第一碱基处的m6Am甲基化。当m6A在细胞核中时，m6A可被核读蛋白（主要是YTHDC1）识别，这可能会调节剪接和mRNA输出。在mRNA输出到细胞质后，m6A会被细胞质阅读器蛋白识别，主要是YTHDF1、YTHDF2和YTHDF3，它们介导不同的转录后过程，包括mRNA翻译、稳定和定位。可能是在应激条件下，YTHDF1结合，然后招募真核生物翻译启动因子eIF3；eIF3在mRNA 5'UTR中直接识别m6A；METTL3直接招募核糖体。YTHDF2，以及可能还有YTHDF1和YTHDF3，加速了含m6A的mRNA的降解。YTHDF1、2和3蛋白在含有多个m6A位点的mRNA存在时，可能导致液相分离。这种液相分离可能介导含m6A的mRNA被招募到无膜小室，如应激颗粒和P-bodies等。

m6A最确定的功能是破坏mRNA的稳定。20世纪70年代的代谢放射性同位素标记研究表明了这一点[19]。此后，对不同细胞类型和生物体中METTL3消耗的探究表明，m6A水平在全球范围内与修改后的mRNA的半衰期较短有关。然而，也有人认为，RNA结合蛋白IGF2BP对m6A的识别也可提高m6A的稳定性。由于m6A的沉积发生在细胞核中，因此，m6A很可能是决定mRNA进入细胞室后的半衰期的标志。

m6A介导翻译变化的能力是复杂的，可能比它对RNA稳定性的影响更依赖于前后的作用。许多研究将m6A与翻译率的增加联系在一起，但有几种不同的机制被提出。其中一种机制涉及到读物YTHDF1，它招募真核细胞翻译启动因子复合体eIF3。这种复合体反过来招募小核糖体亚单位，导致m6A修饰的mRNA的翻译增强。另一种翻译调节机制涉及eIF3与5′UTR（未翻译区域）中的m6A直接结合。在这两种情况下，m6A的存在绕过了对eIF4E（主要的细胞质帽结合蛋白）的正常要求，使含m6A的mRNA的子集在应激状态下被翻译。第三种翻译增强的机制涉及METTL3的直接激活[20]。在这种情况下，METTL3被认为是保持与m6A修饰后的转录本结合，并直接在细胞质中招募eIF3。

m6A参与剪接调控的有力证据来自于对黑腹果蝇的研究，其中m6A的修饰影响了对性别决定至关重要的一个基因的剪接。在哺乳动物中，m6A和mRNA拼接之间的一般联系不太清楚。METTL3依赖性剪接事件的总体数量较少，这表明如果m6A参与剪接调控，可能是针对有限的基因或特定条件下的基因，应进一步评估m6A的作用。此外，m6A可能会增强mRNA从细胞核内输出的功能[21]。然而，目前还不清楚m6A是否存在m6A依赖性的mRNA导出率的变异。

**检测m6A的方法**

要理解m6A机制蛋白的删除所导致的表型变化以及含m6A的转录本如何在分子水平上受到影响，需要检测m6A修饰的转录本并量化m6A水平（即修饰的腺嘌呤与未修饰的腺嘌呤的比例）。这种全基因组的方法，至今仍被广泛使用，其有利于鉴定修饰的转录组，并提供了这些RNA中m6A修饰位置的定位。然而，该方法缺乏单碱基分辨率，在最简单的实施过程中不具备定量能力，而且由于抗体的非特异性结合，容易出现假阳性结果。因此，利用m6A抗体的紫外线交联的m6A-抗体新技术被开发出来，即m6A-CLIP和miCLIP[22]。这些方法虽然提供了单碱基的分辨率，但是比较费力，而且需要大量的输入，随机性信息仍然丢失。

最近，人们新增了几种与抗体无关的m6A鉴定方法。MAZTER-seq利用了MazF核糖核酸酶在未甲基化的ACA动机上有裂解RNA的能力，但在甲基化的对应物上无法裂解RNA的特点[23]。该方法是第一个在单核苷酸分辨率下提供m6A定量剖析的方法，但由于MazF的特异性，它仅检测到哺乳动物m6A修饰位点的16%左右。DART-seq，其中胞苷脱氨酶APOBEC1与m6A结合的YTH域融合，C-to-U脱氨酶发生在m6A残基附近的位点上。其随后通过RNA-seq鉴定和量化。这种方法需要靶细胞中的融合蛋白的异位表达。最后，使用纳米孔技术的直接RNA测序可以检测到原生RNA中的m6A。这种检测方法是基于捕捉m6A位置出现的误差和基调精度下降的原因。虽然这种方法仍然没有很高的纯度，并且目前还无法定量，但它可能允许直接评估m6A位点与不同RNA同工酶的关系。

**疾病中m6A RNA的异常修饰**

在急性髓细胞白血病（AML）中，FTO会降低AML某些某些亚型中ASB2和RARA mRNA的m6A丰度，包括t（11q23）/ MLL重排，t（15; 17）/ PML-RARA，FLT3-ITD和/ 或NPM1突变[24]。此外，通过限制YTHDF2介导的衰变，FTO降低了MYC mRNA上的m6A频率，METTL3通过上调m6A水平来促进BCL2和PTEN mRNA的翻译，并借助转录因子CEBPZ结合独特区域来支持SP1的表达， METTL14增强MYB和MYC的mRNA表达。所有病理途径均有助于AML中的癌变。 根据The Cancer Genome Atlas的数据集，近10.5％的AML患者携带ALKBH5的拷贝数变异（CNV），这预示了不良的预后和p53突变[25]。

在胃癌（GC）中，METTL3可以导致m6A在HDGF mRNA上积累，这表明其增殖和预后不良，并增强了含1（ZMYM1）mRNA的锌指MYM型的稳定性，从而加速了上皮-间质转化（EMT）和转移[26]。但是，借助MiR4429，METTTL3也可以减少SEC62上的m6A。在肝细胞癌（HCC）中，METTL3与YTHDF2一起促进含m6A的SOCS2 mRNA的降解。此外，YTHDF2通过使EGFR mRNA不稳定来抑制ERK / MAPK信号传导级联和细胞增殖。在临床诊断方面，在肝癌患者中检测到METTL14的表达下调，并且转移性HCC中的表达水平进一步降低。在胰腺癌中，肿瘤样本中的m6A和METTL3蛋白和mRNA水平远高于癌旁样本。同时，YTHDF2的上调通过启动AKT /GSK3β/ cyclin D1途径破坏YAP mRNA的表达，从而促进胰腺癌的增殖并抑制其迁移[27]。

在肺癌中，METTL3增强EGFR和TAZ mRNA的翻译[28]。 此外，SUMO化的METTL3通过减少m6A的量来促进非小细胞肺癌（NSCLC）的生长。 此外，YTHDF2通过与肺癌细胞中的给定区域结合来增强6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶（6PGD）mRNA的翻译。 同时，FTO在人NSCLC组织中过表达并且通过稳定和增加泛素特异性蛋白酶7（USP7）的表达来刺激肺癌[29]。 在肺鳞状细胞癌（LUSC）中，过表达的FTO通过减少m6A和稳定mRNA来加速癌基因MZF1表达。

对于神经系统，降低的METTL3或METTL14的水平决定了ADAM19 mRNA上m6A的减少，从而促进了蛋白质表达[30]。相反，ALKBH5水平升高导致FOXM1 mRNA上m6A水平降低并增强蛋白质表达。因此，高水平的ALKBH5预示不良预后。但是，这两种途径均可导致胶质母细胞瘤。随后，过表达的METTL3将HuR募集到修饰的SOX2 mRNA上，并增强了抗辐射性。METTL3在胶质母细胞瘤中起着致癌作用，暗示预后不良，也可能是一种潜在的治疗策略[31]。

在前列腺癌中，减少的YTHDF2会显着提高m6A含量，从而抑制增殖和迁移[32]。在膀胱癌中，增加的METTL3预测存活率较低，因为在pri-miR221 / 222的帮助下，上调的METTL3导致PTEN的下调和癌症的发生

异常的m6A修饰也可能导致生殖系统癌变。据报道，ZNF217和ALKBH5的协同作用可抑制KLF4和NANOG上的m6A，特别是以HIF依赖性方式，从而增强mRNA的稳定性并在低氧的微环境中对乳腺癌作出贡献[33]。增加的METTL3导致乙型肝炎X相互作用蛋白（HBXIP）上的m6A增强和乳腺癌干细胞（BCSCs）增殖。此外，升高的FTO导致BNIP3的甲基化水平下降和降解。提示FTO可增强乳腺癌的菌落形成和转移。然而，在宫颈鳞状细胞癌（CSCC）中，FTO的高表达和低水平的β-catenin会导致放化疗耐药，这提示FTO是提高CSCC放化疗敏感性的潜在靶点。在子宫内膜癌中，突变的METTL14或降低的METTL3都会限制m6A的表达。但是，有限的m6A会通过降低负AKT调节剂PHLPP2和增加正AKT调节剂mTORC2来激活AKT信号通路并刺激增殖和致瘤性[34]。

除了上面提到的具有高发病率的常规癌症外，异常的m6A修饰也在感觉器官中起作用。 眼黑色素瘤的命运可以通过m6A修饰来调节。 在YTHDF1的帮助下，甲基化的HINT2 mRNA（一种治疗眼黑色素瘤的抑制剂）的翻译显着加快，这意味着m6A修饰明显抑制了眼黑色素瘤的进展。 此外，对眼黑素瘤样本的调查表明，m6A水平降低与不良预后高度相关[35]。

**结论**

总之，m6A mRNA化学修饰对细胞生命的许多过程至关重要，如mRNA前剪接、核输出、转录本稳定性和翻译启动。重要的是，m6A mRNA修饰在驱动癌症细胞命运中起着关键作用。RNA修饰与各种疾病之间的关系的重要性尤为重要。当然，本篇综述提到的m6A mRNA修饰的相关疾病只是自然界中影响人类的一小部分，同时这些修饰中尚未明确的地方仍需要在接下来的研究中加以阐明。

**参考文献**

[1] Li, S. & Mason, C. E. Te pivotal regulatory landscape of RNA modifcations. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 15, 127–150 (2014)

[2] Desrosiers, R., Friderici, K. & Rottman, F. Identifcation of methylated nucleosides in messenger RNA from Novikof hepatoma cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 71, 3971–3975 (1974).

[3] Bokar, J. A., Shambaugh, M. E., Polayes, D., Matera, A. G. & Rottman, F. M. Purifcation and cDNA cloning of the AdoMet-binding subunit of the human mRNA (N6 -adenosine)-methyltransferase. *RNA* 3, 1233–1247 (1997).

[4] Meyer, K. D. et al. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3′ UTRs and near stop codons. *Cell* 149, 1635–1646 (2012).

[5] Śledź, P. & Jinek, M. Structural insights into the molecular mechanism of the m6 A writer complex. *Elife* 5, e18434 (2016).

[6] Wang, P., Doxtader, K. A. & Nam, Y. Structural basis for cooperative function of Mettl3 and Mettl14 methyltransferases. *Mol. Cell* 63, 306–317 (2016).

[7] Wang, X. et al. Structural basis of N6 -adenosine methylation by the METTL3–METTL14 complex. *Nature* 534, 575–578 (2016); erratum 542, 260 (2017).

[8] Liu, J. et al. A METTL3–METTL14 complex mediates mammalian nuclear RNA N6 -adenosine methylation. *Nat. Chem. Biol.* 10, 93–95 (2014).

[9] Yue, Y. et al. VIRMA mediates preferential m6 A mRNA methylation in 3′UTR and near stop codon and associates with alternative polyadenylation. *Cell Discov.* 4, 10 (2018).

[10] Liu, N. et al. Probing N6 -methyladenosine RNA modifcation status at single nucleotide resolution in mRNA and long noncoding RNA. *RNA* 19, 1848–1856 (2013).

[11] Darnell, R. B., Ke, S. & Darnell, J. E. Jr. Pre-mRNA processing includes N6 methylation of adenosine residues that are retained in mRNA exons and the fallacy of “RNA epigenetics”. *RNA* 24, 262–267 (2018).

[12] Li, F., Zhao, D., Wu, J. & Shi, Y. Structure of the YTH domain of human YTHDF2 in complex with an m6 A mononucleotide reveals an aromatic cage for m6 A recognition. *Cell Res*. 24, 1490–1492 (2014).

[13] Zhu, T. et al. Crystal structure of the YTH domain of YTHDF2 reveals mechanism for recognition of N6 -methyladenosine. *Cell Res*. 24, 1493–1496 (2014).

[14] Xu, C. et al. Structural basis for the discriminative recognition of N6 -methyladenosine RNA by the human YT521-B homology domain family of proteins. *J. Biol. Chem*. 290, 24902–24913 (2015).

[15] Xu, C. et al. Structural basis for selective binding of m6 A RNA by the YTHDC1 YTH domain. *Nat. Chem. Biol.* 10, 927–929 (2014).

[16] Wang, X. et al. N6 -methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability. *Nature* 505, 117–120 (2014).

[17] Ries, R. J. et al. m6 A enhances the phase separation potential of mRNA. *Nature* 571, 424–428 (2019).

[18] Jia, G. et al. N6 -methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO. *Nat. Chem. Biol.* 7, 885–887 (2011).

[19] Sommer, S., Lavi, U. & Darnell, J. E. Jr. Te absolute frequency of labeled N-6-methyladenosine in HeLa cell messenger RNA decreases with label time. *J. Mol. Biol.* 124, 487–499 (1978).

[20] Zhou, J. et al. N6 -methyladenosine guides mRNA alternative translation during integrated stress response. *Mol. Cell* 69, 636–647.e7 (2018).

[21] Lesbirel, S. et al. Te m6 A-methylase complex recruits TREX and regulates mRNA export. *Sci. Rep.* 8, 13827 (2018).

[22] Grozhik, A. V., Linder, B., Olarerin-George, A. O. & Jafrey, S. R. Mapping m6 A at individual-nucleotide resolution using crosslinking and immunoprecipitation (miCLIP). *Methods Mol. Biol*. 1562, 55–78 (2017).

[23] Liu, H. et al. Accurate detection of m6 A RNA modifcations in native RNA sequences. *Nat. Commun.* 10, 4079 (2019).

[24] Li Z, Weng H, Su R, Weng X, Zuo Z, Li C, Huang H, Nachtergaele S, Dong L, Hu C, et al. FTO plays an oncogenic role in acute myeloid leukemia as a N(6)-methyladenosine RNA demethylase. *Cancer cell*. 2017;31:127–41.

[25] Kwok CT, Marshall AD, Rasko JE, Wong JJ. Genetic alterations of m(6)A regulators predict poorer survival in acute myeloid leukemia. *J Hematol Oncol.* 2017;10:39.

[26] Wang Q, Chen C, Ding Q, Zhao Y, Wang Z, Chen J, Jiang Z, Zhang Y, Xu G, Zhang J, et al. METTL3-mediated m(6)A modification of HDGF mRNA promotes gastric cancer progression and has prognostic significance. *Gut*. 2019.

[27] Chen J, Sun Y, Xu X, Wang D, He J, Zhou H, Lu Y, Zeng J, Du F, Gong A, Xu M. YTH domain family 2 orchestrates epithelial-mesenchymal transition/ proliferation dichotomy in pancreatic cancer cells. *Cell Cycle*. 2017;16:2259–71.

[28] Lin S, Choe J, Du P, Triboulet R, Gregory RI. The m(6)A methyltransferase METTL3 promotes translation in human cancer cells. *Mol Cell.* 2016;62:335– 45.

[29] Sheng H, Li Z, Su S, Sun W, Zhang X, Li L, Li J, Liu S, Lu B, Zhang S, Shan C. YTH domain family 2 promotes lung cancer cell growth by facilitating 6- phosphogluconate dehydrogenase mRNA translation. *Carcinogenesis*. 2019.

[30] Cui Q, Shi H, Ye P, Li L, Qu Q, Sun G, Sun G, Lu Z, Huang Y, Yang CG, et al. m(6)A RNA methylation regulates the self-renewal and tumorigenesis of glioblastoma stem cells. *Cell Rep.* 2017;18:2622–34.

[31] Visvanathan A, Patil V, Arora A, Hegde AS, Arivazhagan A, Santosh V, Somasundaram K. Essential role of METTL3-mediated m(6)A modification in glioma stem-like cells maintenance and radioresistance. *Oncogene.* 2018;37: 522–33.

[32] Li J, Meng S, Xu M, Wang S, He L, Xu X, Wang X, Xie L. Downregulation of N(6)-methyladenosine binding YTHDF2 protein mediated by miR-493-3p suppresses prostate cancer by elevating N(6)-methyladenosine levels. *Oncotarget.* 2018;9:3752–64.

[33] Zhang C, Zhi WI, Lu H, Samanta D, Chen I, Gabrielson E, Semenza GL. Hypoxia-inducible factors regulate pluripotency factor expression by ZNF217- and ALKBH5-mediated modulation of RNA methylation in breast cancer cells. *Oncotarget*. 2016;7:64527–42.

[34] Liu J, Eckert MA, Harada BT, Liu SM, Lu Z, Yu K, Tienda SM, Chryplewicz A, Zhu AC, Yang Y, et al. m(6)A mRNA methylation regulates AKT activity to promote the proliferation and tumorigenicity of endometrial cancer. *Nat Cell Biol.* 2018;20:1074–83.

[35] Jia R, Chai P, Wang S, Sun B, Xu Y, Yang Y, Ge S, Jia R, Yang YG, Fan X. m(6)A modification suppresses ocular melanoma through modulating HINT2 mRNA translation. *Mol Cancer*. 2019;18:161.