

RNA m6A 甲基化修饰调控椎间盘退变的研究进展

Research progress of RNA m6A methylation modification in regulating intervertebral disc degeneration

萧鑫, 江华

(广西医科大学第一附属医院脊柱骨病外科 530021 南宁市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2023.02.10

中图分类号: R681.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2023)-02-0169-06

椎间盘退变(intervertebral disc degeneration, IDD)是导致腰痛的主要原因之一^[1]。目前 IDD 尚缺乏确切有效的非手术治疗手段,究其原因是我们还未清楚其复杂的发病机制。因此,深入明确 IDD 的发病机制并寻求新的预防与治疗策略是当前的主要研究方向。N6-甲基腺苷(N6-methyladenosine, m6A)即 RNA 上腺嘌呤第 6 位氮原子处发生的甲基化修饰,是哺乳动物中最丰富的 RNA 化学修饰之一^[2]。m6A 修饰具有动态可逆性,其改变了 RNA 与蛋白质之间的相互作用,此类相互作用可调节剪接、翻译、降解等一系列 RNA 代谢过程,最终影响相关基因的表达,导致生理或病理水平上的改变,如细胞的凋亡、衰老、自噬、焦亡等^[3]。随着研究技术的不断突破,m6A 修饰日益成为表观遗传学中的研究热点,已被证明在骨质疏松症、骨关节炎、骨肉瘤等骨相关疾病的发生发展中起到关键的调控作用^[4-5]。近年来,也陆续有研究揭示了 m6A 修饰在 IDD 病理生理过程中扮演的关键角色。在此,我们对现有的 m6A 修饰相关知识体系进行归纳,并阐述现阶段 m6A 修饰在 IDD 发病机制中的作用,旨在为 IDD 的预防、治疗及其后续研究奠定基础。

1 m6A 修饰概述

RNA 甲基化是 RNA 转录后重要的化学修饰之一,主要包括了 N6-甲基腺苷(N6-methyladenosine, m6A)、m1A、m5C 等形式。其中 m6A 指的是 RNA 上腺嘌呤第 6 位氮原子处发生的甲基化修饰,在真核生物所有的 RNA 甲基化修饰中丰度占比高达 80%,广泛存在于 mRNA 及各类非编码 RNA 中,其修饰位点主要富集在终止密码子周围、3' 非编码区、核心序列 DRACH(D=A/G/U, H=A/U/C)上^[6,7]。相

对于其他 RNA 甲基化修饰而言,m6A 修饰位置更特殊且高度保守,特异性抗体及高通量测序等研究技术的应用更为成熟。因此,m6A 日益成为近来表观遗传学中的热点,生物学特性及功能愈发明晰。m6A 作为一种动态可逆的 RNA 修饰方法,通过改变 RNA 与蛋白质之间的相互作用来调节 RNA 代谢,包括翻译、剪接、稳定性等,最终影响相关基因的表达,导致细胞的凋亡、坏死、自噬、焦亡等生理或病理水平上的改变,以此方式普遍参与了骨相关疾病的进展^[3-5]。m6A 经甲基化转移酶“Writers”添加,由去甲基化酶“Erasers”去除,被结合蛋白“Readers”识别结合后产生调节 RNA 代谢的效应,其相关研究都建立在对这三种 m6A 修饰相关因子作用认识的基础之上。

1.1 m6A 甲基化转移酶

m6A 修饰主要经甲基化转移酶复合物(methyltransferase complex, MTC)催化,MTC 主要由甲基化转移酶样蛋白 3(methyltransferase like 3, METTL3)、METTL14、Wilms 肿瘤 1 关联蛋白(Wilms tumor 1 associated protein, WTAP)三个核心成分组成,其中 METTL3 作为催化核心介导 RNA 的 m6A 修饰,METTL14 将 MTC 定位到特殊 RNA 序列并增强 METTL3 的催化效果,WTAP 起到稳定以及引导 MTC 的作用^[8,9]。MTC 的其他组分还包括:类病毒 m6A 甲基化转移酶相关蛋白 VIRMA、CCH 锌指蛋白 13(ZC3H13)、RNA 结合基序蛋白 15(RBM15)、泛素连接酶 HAKAI 等^[10,11],这些分子在维持 MTC 的稳定性及核定位中发挥着举足轻重的作用。近年来,METTL16、METTL5、ZCCHC4 也陆续被证实具有催化 m6A 修饰的功能^[12-14]。

1.2 m6A 去甲基化酶

目前发现的 m6A 去甲基化酶主要包括脂肪堆积和肥胖相关蛋白(fat mass and obesity associated, FTO)和 AlkB 同源物 5(AlkB homolog 5, ALKBH5)。其中 FTO 的去甲基化功能与其细胞内定位密切相关,主要在细胞核中氧化去除带 polyA 尾 RNA 上的 m6A 修饰^[15]。而 ALKBH5 可以作用于多种 RNA 底物上的 m6A 修饰^[16]。

1.3 m6A 结合蛋白

“Readers”负责识别结合 m6A 修饰位点来发挥调控

基金项目:国家自然科学基金(81860406);广西自然科学基金(2018GXNSFAA281127)

第一作者简介:男(1999-),硕士研究生在读,研究方向:脊柱外科的基础与临床研究

电话:(0771)5350189 E-mail:xiaoxin112399@163.com

通讯作者:江华 E-mail:drjianghua@163.com

功能,主要有 YTH 结构域蛋白家族(包括 YTHDC1-2 和 YTHDF1-3)、异质核糖核蛋白家族(包括 HNRNPA2B1、HNRNPC 和 HNRNPG)、胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白(IGF2BP1-3)、真核起始因子 3(eIF3)等。YTHDF2 的主要作用是加速 RNA 的降解^[17],而 IGF2BP1-3 可以增强 RNA 的稳定性^[18]。YTHDF1、YTHDC2、eIF3 都能提高靶 mRNA 的翻译效率^[19-21]。YTHDF3 被认为可以增强 YTHDF1/2 的功能^[22]。YTHDC1 调控 pre-mRNA 的选择性剪接和核输出,还与 RNA 降解有关^[23]。异质核糖核蛋白家族都具有调节 pre-mRNA 选择性剪接的作用,其中 HNRNPA2B1 还可以促进 pri-miRNA 的加工^[24-26]。

2 m6A 修饰参与椎间盘退变的机制

椎间盘由纤维环、髓核和软骨终板构成,IDD 在形态学上主要表现为椎间隙高度的丢失、髓核脱水纤维化、纤维环破裂和软骨终板钙化等。IDD 的病因复杂多样,但无论何种因素引起的 IDD,其最终结果均表现为椎间盘细胞的退变,如细胞数量减少、代谢紊乱、细胞外基质减少等,这是 IDD 发病机制的关键组成部分^[27-28]。而 m6A 修饰对调控椎间盘细胞的代谢起到至关重要的调节作用,以下分别就 m6A 修饰在动物及人类 IDD 中的相关研究展开分述。

2.1 m6A 修饰在椎间盘退变动物模型中的研究

基于 m6A 甲基化 RNA 免疫沉淀与高通量测序(methylated RNA immunoprecipitation sequencing, MeRIP-Seq)技术,Zhu 等^[29]探明了小鼠髓核组织退变后基因组转录谱的改变与 m6A 修饰之间的关系,其中 30 个基因同时具有 m6A 修饰及 mRNA 表达水平的显著变化,可能是导致小鼠 IDD 的 m6A 修饰关键基因。此外,Go 及 Kegg 分析提示存在 m6A 修饰差异的基因在小鼠 IDD 进展过程中可能参与 PI3K-Akt、Rap1 及 AMPK 信号通路及细胞高分子代谢、细胞内信号转导、金属离子结合等细胞代谢过程。Wang 等^[30]建立了 IDD 大鼠与假手术组大鼠模型,并通过 m6A 高通量芯片检测了两组大鼠髓核组织中 RNA 的 m6A 修饰水平,结果显示 759 个 mRNA 和 261 个 lncRNA 的 m6A 水平存在显著差异,令人惊讶的是其中只有 3 个 mRNA 的 m6A 修饰水平表现为上调,过表达的 FTO 可能是导致这些 RNA 低 m6A 修饰水平的主要因素,而包括 PREX2、CLPSL2 和 EXOC6B 在内的 3 种反义 lncRNA 可能起到了引导 m6A 去甲基化酶到 RNA 上的作用。其中,生物信息学分析提示 lncRNA LOC102555094 可能是 FTO 的主要靶点之一,其 m6A 水平的下调降低了与 miR-431 竞争结合 GSK-3 β mRNA 的活性,进而使 Wnt 信号通路抑制剂 GSK-3 β 的表达减少,随后髓核细胞中 Wnt 信号通路过度激活而引起糖代谢异常,表明 m6A 修饰可以通过调节髓核细胞 Wnt 信号通路来参与 IDD 进程。

因此,通过高通量测序技术或高通量芯片分析,寻找具有 m6A 修饰以及表达水平差异的 RNA,再结合生物信息学分析进一步挖掘这些 RNA 的功能可为今后探索 IDD

的机制奠定良好基础。

2.2 m6A 修饰在人椎间盘退变中的研究

2.2.1 METTL3 在 IDD 中的作用 IL-1 β 和 TNF- α 被普遍认为是强效的促炎细胞因子,与椎间盘的炎症反应、基质代谢、细胞衰老、凋亡等病理过程密切相关^[31]。Liang 等^[32]发现 METTL3 的表达水平会随软骨终板退变的进展而升高,而过表达的 METTL3 介导丰富了 pri-miR-126 上的 m6A 修饰,于此促使 RNA 加工蛋白 DGCR8 识别结合 pri-miR-126,随后成熟的 miR-126 增多,进而靶向抑制 PIK3R2 mRNA 的表达,最终减弱了 PI3K/Akt 信号通路对终板软骨细胞的保护作用,导致细胞活力下降和凋亡增加;并且发现 IL-1 β 可诱导 METTL3 的表达,而沉默 METTL3 后挽救了 IL-1 β 的促软骨终板细胞凋亡效应,说明 METTL3 是 IL-1 β 产生效应必不可少的下游分子。此外,Liang 等^[33]的后续研究进一步在体内和体外水平评估了 METTL3 对软骨终板退变的影响。在体外水平,软骨终板细胞中 METTL3 的表达可以被张力刺激诱导上调,而过表达的 METTL3 通过介导 SOX9 mRNA 的 m6A 修饰来破坏其稳定性,使 SOX9 的表达减少,从而抑制 SOX9 靶基因 COL2A1 的表达,导致细胞外基质的合成代谢紊乱、终板组织营养扩散功能受损;在体外水平,研究人员证明向大鼠的终板软骨中注射 METTL3 siRNA 试剂后可显著改善椎间盘的营养状况,同时减缓了软骨终板、髓核及纤维环的退变程度,提示了 METTL3 作为 IDD 治疗靶点的可能性。另有研究表明,在 IDD 患者的髓核细胞中,METTL3 亦呈现高表达水平,其介导的 m6A 修饰提高了 SIAH1 mRNA 的稳定性,使 SIAH1 的表达增多,进而靶向抑制了 X 连锁凋亡抑制蛋白(XIAP)的表达,最终引起髓核细胞的凋亡、衰老、炎症反应以及细胞外基质的合成受限^[34]。而 m6A 修饰影响 SOX9 mRNA 及 SIAH1 mRNA 稳定性的具体机制,目前尚不明确。综上,METTL3 介导的 m6A 修饰在调节椎间盘细胞的细胞外基质代谢、凋亡、炎症反应及衰老中发挥关键作用。

2.2.2 METTL14 在 IDD 中的作用 在人髓核细胞中,METTL14 的表达水平与 IDD 严重程度以及促炎因子 TNF- α 浓度呈正相关,并介导了 TNF- α 的促衰老效应;机制上,METTL14 通过上调 pri-miR-34 的 m6A 修饰水平来促使 DGCR8 将 pri-miR-34 加工成 miR-34a-5p,进而抑制 SIRT1 mRNA 的表达,最终导致去乙酰化酶 SIRT1 表达减少,引起髓核细胞衰老、细胞周期阻滞以及细胞活力的显著降低^[35]。此外,Yuan 等^[36]的研究也发现,IDD 患者髓核细胞中 METTL14 的表达明显上调,并进一步揭示了它的分子生物学功能,METTL14 提高了炎性小体 NLRP3 mRNA 上的 m6A 修饰丰度,使 NLRP3 mRNA 经 IGF2BP2 识别结合后稳定性更强,随后 NLRP3 的表达量增加,引起后续 Gasdermin D 蛋白的活化以及白介素 IL-1 β 、IL-18 的生成,导致了髓核细胞的焦亡和炎症反应;同时,该研究证明使用 shRNA 沉默 METTL14 或通过人脐带间充质干细

胞外泌体传递 miR-26a-5p 靶向抑制 METTL14 的表达,可显著减缓髓核细胞的退变。综上,METTL14 可作为抑制髓核细胞焦亡、衰老、抑制促炎因子表达的潜在治疗靶点。

2.2.3 WTAP 在 IDD 中的作用 与 Zhu 等^[35]的研究结论不同,Li 等^[37]则表明在 TNF- α 诱导的衰老髓核细胞中,METTL3 及 METTL14 的表达并无明显变化,而 WTAP 表达明显增多。其中,WTAP 启动子区域内组蛋白 H3K4me3 甲基化修饰的增加,提高了 WTAP 染色质区域的可及性,是 WTAP 表达增多的主要原因。尽管 WTAP 并无催化 m6A 修饰的功能,但其引导 MTC 上调了 lncRNA NORAD 的 m6A 修饰水平,使 YTHDF2 对 lncRNA NORAD 的识别结合增加,从而加速了 lncRNA NORAD 的降解,功能实验进一步证明 lncRNA NORAD 可以通过结合 Pumilio 蛋白,在转录后水平减缓 Pumilio 蛋白对转录因子 E2F3 的抑制作用,于此挽救髓核细胞的衰老及细胞周期阻滞;并且,在用 siRNA 沉默 WTAP 后,TNF- α 诱导的衰老髓核细胞中 P21 及 P16 等衰老标记物的表达量明显减少,进一步揭示了 WTAP 与髓核细胞衰老之间的关系。

2.2.4 METTL16 在 IDD 中的作用 氧化应激也是 IDD 的一个基本致病因素,会强烈触发髓核细胞的自噬、凋亡和衰老等效应^[38]。近有研究表明氧化应激后续效应的产生与 METTL16 密不可分,在 IDD 患者及针刺小鼠模型的髓核组织中,METTL16 都具有高表达趋势,而且在氧化刺激状态下人髓核细胞中 METTL16 的表达会显著增加,其介导的 m6A 修饰会促使 MAT2Apre-mRNA 降解,进而 MAT2A 的表达量减少,S-腺苷蛋氨酸(SAM)水平也随之下降,最终导致髓核细胞凋亡,并且研究人员发现在向小鼠椎间盘中注射 METTL16 慢病毒载体后,明显加速了小鼠 IDD 的进展^[39],进一步揭示了氧化应激通过 m6A 修饰致病的分子机制。

2.2.5 ALKBH5 在 IDD 中的作用 细胞自噬是一类保守的蛋白质降解途径,可以维持细胞内部稳态,椎间盘细胞自噬功能障碍被认为是 IDD 的关键原因^[40]。骨髓源性间充质干细胞可以诱导人髓核细胞中 ALKBH5 的表达,ALKBH5 通过下调人类自噬复合物的核心亚基 FIP200 mRNA 的 m6A 修饰水平来保护 FIP200 mRNA 免受 YTHDF2 的识别降解,使 FIP200mRNA 的表达增加,进而增强髓核细胞的自噬而减缓凋亡^[41],为应用于细胞治疗 IDD 提供了新思路。此外,Li 等^[42]发现 TNF- α 也能诱导人髓核细胞中 ALKBH5 的表达,而 ALKBH5 启动子中组蛋白 H3K9me3 的减少是其表达增多的主要原因。过表达的 ALKBH5 降低了 DNMT3B mRNA 上的 m6A 修饰水平,使 YTHDF2 对 DNMT3B mRNA 的识别结合减少,随后 DNMT3B 的表达量增加并进一步抑制下游转录因子 E4F1 的表达,以此介导了 TNF- α 促髓核细胞衰老的效应;并且研究人员在 IDD 小鼠模型中证实,沉默椎间盘中 ALKBH5 的表达可显著减轻 IDD 小鼠的退变程度。总之,ALKBH5 介导的 m6A 去甲基化修饰可以通过调控自噬功能、抑制转录因子表达影响髓核细胞凋亡和衰老过程。有趣的是,在上述研究中,ALKBH5 对 IDD 进展的调控效应并不一致,因此如何恰当利用 ALKBH5 的功能来干预 IDD 的进程尚需进一步探索。

综上,m6A 修饰水平会随着 IDD 的进展发生不同程度的改变,通过影响 RNA 的表达水平调节靶基因的表达,从而密切参与调控椎间盘细胞的衰老、凋亡、炎症反应及细胞外基质合成等过程;此外,m6A 修饰的功能还可能被环境因素或细胞因子触发并介导了它们产生的后续效应。而 m6A 修饰相关因子作为调节 m6A 修饰水平的重要因素,其表达趋势的改变在不同样本中也存在较大差异(表 1),这些差异表达因子可能与 IDD 的进展过程休戚相关。

表 1 文献报道的 IDD 样本中 m6A 修饰及其相关因子的表达趋势

样本来源	样本类型	样本量	总 RNA m6A 修饰 水平	差异表达的 m6A 修饰相关因子		参考文献
				上调 Up	下调	
人	髓核组织	20D/10N	上调	METTL3、METTL14 WTAP		Yuan ^[36]
人	髓核组织	30D/10N	上调	METTL3、METTL14、WTAP		Zhu ^[35]
人	髓核细胞	3D/3N		WTAP、ALKBH5		Li ^[37,42]
人	髓核细胞	3D/3N		METTL3		Fang ^[34]
人	髓核组织	5D/3N		METTL16		Chen ^[39]
人	终板软骨	51D/15N	上调 Up	METTL3		Xiao ^[32]
人	终板软骨	70D/17N	上调 Up	METTL3、ALKBH5、YTHDC2	WTAP	Xiao ^[33]
C57BL/6 雄性小鼠	髓核组织	5D/5N	上调 Up	METTL3、METTL14、WTAP、 VIRMA、YTHDC1、eIF3	FTO、HNRNPC	Zhu ^[29]
Sprague-Dawley 大鼠	髓核细胞	20D/20N	下调	FTO		Wang ^[30]

注:D,退变的椎间盘组织或细胞;N,作为对照的椎间盘组织或细胞

3 总结与展望

总之，以上 m6A 修饰相关信号轴以及其功能的揭示,为寻求生物治疗策略提供了广阔的前景。引起我们关注的是，现阶段 m6A 修饰的研究主要集中在肿瘤相关疾病上，并且已经揭示了许多 m6A 修饰相关因子调节癌症表观转录组的通路网络,在治疗上甚至靶向解决了部分肿瘤细胞耐药性的问题^[43]。然而在 IDD 的发病机制中,现只有部分 m6A 修饰相关因子的调控作用被证明，其余 m6A 修饰相关因子是否及如何参与 IDD 的进展,值得我们进一步探索。此外,m6A 修饰广泛存在于各类骨组织中^[7],而当

前对 IDD 中 m6A 修饰相关的研究大部分集中于髓核退变方面，纤维环及软骨终板作为椎间盘的重要组成部分,却鲜有研究关注于 m6A 修饰对纤维环及软骨终板退变的影响,因此这可能是揭示 IDD 复杂发病机制的新方向。在此，我们整合了目前报道的 m6A 修饰相关分子调节 RNA 代谢的功能(图 1)以及 m6A 修饰与 IDD 之间的分子调控通路(表 2),希望能为 IDD 的治疗提供新的研究靶点,也期待未来更多的研究关注于 m6A 修饰相关因子在 IDD 进展中的调控关系，为实现 IDD 的精准治疗甚至预防奠定基础。

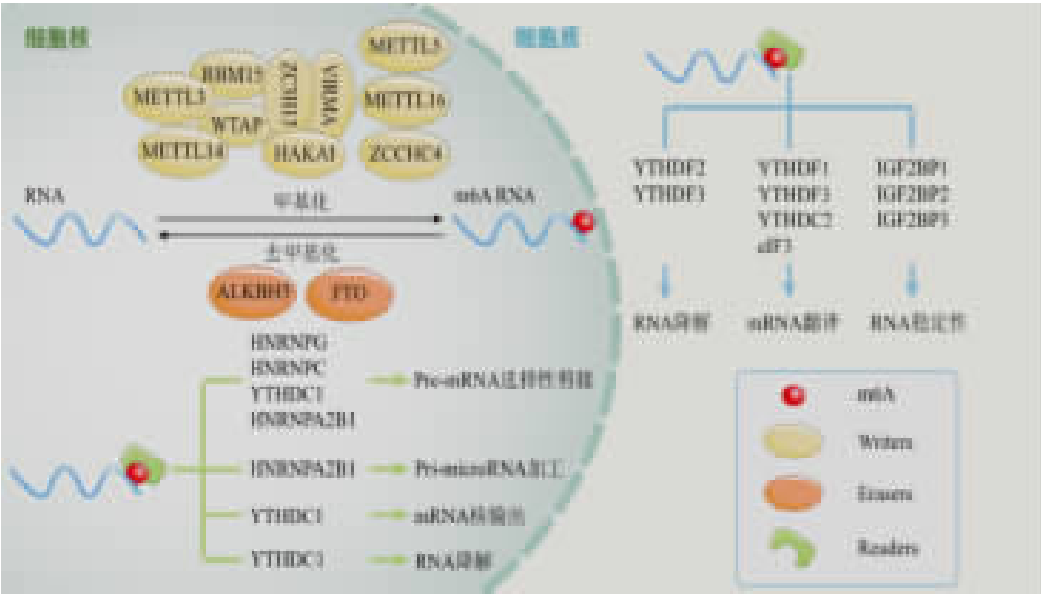


图 1 m6A 修饰调控 RNA 代谢的分子机制示意图 (m6A:N6-甲基腺苷;Writers:m6A 甲基化转移酶;Erasers:m6A 去甲基化酶;Readers:m6A 结合蛋白)

表 2 IDD 相关细胞生物过程中 m6A 修饰相关因子的调控作用

细胞类型	m6A 修饰相关因子	调控 RNA	调控趋势	分子通路	功能	参考文献
终板软骨细胞	METTL3	pri-miR-126/DGCR8	miR-126 上调	IL-1 β /METTL3/miR-126/PI3K/Akt	促进细胞凋亡	Liang ^[32]
		SOX9 mRNA	下调	METTL3/SOX9/COL2A1	抑制 ECM 合成	Liang ^[33]
NP细胞	METTL3	SIAH1 mRNA	上调	METTL3/SIAH1/XIAP	促进细胞凋亡、衰老与炎症反应;抑制 ECM 合成	Fang ^[34]
	METTL14	pri-miR-34/DGCR8	miR-34a-5p 上调	TNF- α /METTL14/miR-34a-5p/SIRT1	促进细胞衰老	Zhu ^[35]
		NLRP3 mRNA/IGFBP2	上调	METTL14/NLRP3/Gasdermin D,IL-1 β ,IL-18	促细胞焦亡、炎症反应	Yuan ^[36]
	WTAP	NORAD/YTHDF2	下调	TNF- α /H3K4me3/WTAP/NORAD/Pumilio/E2F3	促细胞衰老	Li ^[37]
	METTL16	MAT2A pre-mRNA	MAT2A mRNA 下调	METTL16/MAT2A,SAM	促进细胞凋亡	Chen ^[39]
	ALKBH5	FIP200 mRNA/YTHDF2	上调	ALKBH5/FIP200	增强细胞自噬,抑制细胞凋亡	Lan ^[41]
		DNMT3B mRNA/YTHDF2	上调	TNF- α /H3K9me3/ALKBH5/DNMT3B/E4F1	促进细胞衰老	Li ^[42]
	FTO	LOC102555094	下调	FTO/LOC102555094/miR-431/GSK-3 β /Wnt	调节糖代谢	Wang ^[30]

注:NP,髓核;ECM,细胞外基质

4 参考文献

- Hartvigsen J, Hancock MJ, Kongsted A, et al. What low back pain is and why we need to pay attention[J]. *Lancet*, 2018, 391(10137): 2356–2367.
- Liu N, Pan T. RNA epigenetics[J]. *Transl Res*, 2015, 165(1): 28–35.
- Xu L, Zhang C, Yin H, et al. RNA modifications act as regulators of cell death[J]. *Rna Biol*, 2021, 18(12): 2183–2193.
- Chen JB, Tian YH, Zhang Q, et al. Novel insights into the role of N6-methyladenosine RNA modification in bone pathophysiology[J]. *Stem Cells Dev*, 2021, 30(1): 17–28.
- Han J, Kong H, Wang X, et al. Novel insights into the interaction between N6-methyladenosine methylation and noncoding RNAs in musculoskeletal disorders [J]. *Cell Prolif*, 2022, 55(10): e13294
- Zheng HX, Zhang XS, Sui N. Advances in the profiling of N(6)-methyladenosine m(6A) modifications[J]. *Biotechnol Adv*, 2020, 45: 107656.
- Meyer KD, Saletore Y, Zumbo P, et al. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons[J]. *Cell*, 2012, 149(7): 1635–1646.
- Wang X, Feng J, Xue Y, et al. Structural basis of N-6-adenosine methylation by the METTL3-METTL14 complex [J]. *Nature*, 2016, 534(7608): 575–578.
- Scholler E, Weichmann F, Treiber T, et al. Interactions, localization, and phosphorylation of the m(6A) generating METTL3-METTL14-WTAP complex[J]. *RNA*, 2018, 24(4): 499–512.
- Garcias Morales D, Reyes JL. A birds'-eye view of the activity and specificity of the mRNA m(6A) methyltransferase complex[J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2021, 12(1): e1618.
- Bawankar P, Lence T, Paolantoni C, et al. Hakai is required for stabilization of core components of the m(6A) mRNA methylation machinery[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3778.
- van Tran N, Ernst FGM, Hawley BR, et al. The human 18S rRNA m6A methyltransferase METTL5 is stabilized by TRMT112[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(15): 7719–7733.
- Warda AS, Kretschmer J, Hackert P, et al. Human METTL16 is a N-6-methyladenosine (m(6A)) methyltransferase that targets pre-mRNAs and various non-coding RNAs [J]. *Embo Rep*, 2017, 18(11): 2004–2014.
- Pinto R, Vagbo CB, Jakobsson ME, et al. The human methyltransferase ZCCHC4 catalyses N6-methyladenosine modification of 28S ribosomal RNA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(2): 830–846.
- Wei J, Liu F, Lu Z, et al. Differential m(6A), m(6)Am, and m(1)A demethylation mediated by FTO in the cell nucleus and cytoplasm[J]. *Mol Cell*, 2018, 71(6): 973–985.
- Zheng GQ, Dahl JA, Niu YM, et al. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility[J]. *Mol Cell*, 2013, 49(1): 18–29.
- Du H, Zhao Y, He JQ, et al. YTHDF2 destabilizes m(6A)-containing RNA through direct recruitment of the CCR4–NOT deadenylase complex[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 12626
- 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): 285–295.
- Chen Z, Zhong X, Xia M, et al. The roles and mechanisms of the m6A reader protein YTHDF1 in tumor biology and human diseases [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 26: 1270–1279.
- Mao Y, Dong L, Liu XM, et al. m(6A) in mRNA coding regions promotes translation via the RNA helicase-containing YTHDC2[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 5332.
- Meyer KD, Patil DP, Zhou J, et al. 5' UTR m(6A) promotes cap-independent translation[J]. *Cell*, 2015, 163(4): 999–1010.
- 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): 315–328.
- Widagdo J, Anggono V, Wong JJ. The multifaceted effects of YTHDC1-mediated nuclear m(6A) recognition [J]. *Trends Genet*, 2022, 38(4): 325–332
- Zhou KI, Shi H, Lyu R, et al. Regulation of co-transcriptional pre-mRNA splicing by m(6A) through the low-complexity protein hnRNPG[J]. *Mol Cell*, 2019, 76(1): 70–81. e79.
- Liu N, Dai Q, Zheng G, et al. N(6)-methyladenosine-dependent RNA structural switches regulate RNA-protein interactions[J]. *Nature*, 2015, 518(7540): 560–564.
- Alarcon CR, Goodarzi H, Lee H, et al. HNRNPA2B1 is a mediator of m(6A)-dependent nuclear RNA processing events [J]. *Cell*, 2015, 162(6): 1299–1308.
- 邱晨生, 邓念, 相宏飞, 等. 椎间盘退变相关危险因素的研究进展[J]. *中华骨科杂志*, 2021, 41(10): 654–659.
- 姜超, 张永远, 黄大耿, 等. 非编码 RNA 在椎间盘退变中的作用机制及应用前景[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2020, 30(11): 1046–1054.
- Zhu B, Chen HX, Li S, et al. Comprehensive analysis of N6-methyladenosine (m(6A)) modification during the degeneration of lumbar intervertebral disc in mice [J]. *J Orthop Translat*, 2021, 31: 126–138.
- Wang X, Chen N, Du Z, et al. Bioinformatics analysis integrating metabolomics of m(6A) RNA microarray in intervertebral disc degeneration[J]. *Epigenomics*, 2020, 12(16): 1419–1441.
- Wang Y, Che M, Xin J, et al. The role of IL-1 β and TNF- α in intervertebral disc degeneration [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 131: 110660.
- Xiao L, Zhao Q, Hu B, et al. METTL3 promotes IL-1 β -

(下转第 178 页)

- [J]. J Pediatr Orthop, 2021, 41(7): E575-E579.
31. Cheung PWH, Canavese F, Chan CYW, et al. The utility of a novel proximal femur maturity index for staging skeletal growth in patients with idiopathic scoliosis [J]. J Bone Joint Surg Am, 2022, 104(7): 630-640.
 32. Magnide E, Tchaha GW, Joncas J, et al. Automatic bone maturity grading from EOS radiographs in adolescent idiopathic scoliosis[J]. Comput Biol Med, 2021, 136: 104681.
 33. Biondi J, Weiner DS, Bethem D, et al. Correlation of risser sign and bone -age determination in adolescent idiopathic scoliosis[J]. J Pediatr Orthop, 1985, 5(6): 697-701.
 34. 邱勇, 王渭君, 郑欣, 等. 不同 Risser 征定义对女性青少年特发性脊柱侧凸生长潜能评估的比较[J]. 中华骨科杂志, 2012, 32(1): 7-12.
 35. 史本龙, 毛赛虎, 朱泽章, 等. 青少年特发性脊柱侧凸生长潜能及侧凸进展风险评估的研究进展 [J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2016, 26(5): 471-474.
 36. Ryan PM, Puttler EG, Stotler WM, et al. Role of the triradiate cartilage in predicting curve progression in adolescent idiopathic scoliosis[J]. J Pediatr Orthop, 2007, 27(6): 671-676.
 37. Troy MJ, Miller PE, Price N, et al. The "Risser plus" grade: a new grading system to classify skeletal maturity in idiopathic scoliosis[J]. Eur Spine J, 2019, 28(3): 559-566.
 38. Vira S, Husain Q, Jalai C, et al. The interobserver and intraobserver reliability of the sanders classification versus the risser stage[J]. J Pediatr Orthop, 2017, 37(4): E246-E249.
 39. Minkara A, Bainton N, Tanaka M, et al. High risk of mismatch between sanders and risser staging in adolescent idiopathic scoliosis: are we guiding treatment using the wrong classification[J]. J Pediatr Orthop, 2020, 40(2): 60-64.
 40. Bian Z, Guo Y, Lyu XM, et al. Relationship between hand and wrist bone age assessment methods [J]. Medicine, 2020, 99(39): E22392.

(收稿日期:2022-03-22 末次修回日期:2022-11-24)

(本文编辑 彭向峰)

(上接第 173 页)

- induced degeneration of endplate chondrocytes by driving m6A-dependent maturation of miR-126-5p [J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(23): 14013-14025.
33. Xiao L, Hu B, Ding B, et al. N(6)-methyladenosine RNA methyltransferase like 3 inhibits extracellular matrix synthesis of endplate chondrocytes by downregulating sex-determining region Y-box transcription factor 9 expression under tension [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2022, 30(4): 613-625.
 34. Fang S, Zeng F, Chen R, et al. SIAH1 promotes senescence and apoptosis of nucleus pulposus cells to exacerbate disc degeneration through ubiquitinating XIAP [J]. Tissue Cell, 2022, 76: 101820.
 35. Zhu H, Sun B, Zhu L, et al. N6-methyladenosine induced miR-34a-5p promotes TNF- α -induced nucleus pulposus cell senescence by targeting SIRT1[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 642437.
 36. Yuan XQ, Li TF, Shi L, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells deliver exogenous miR-26a-5p via exosomes to inhibit nucleus pulposus cell pyroptosis through METTL14/NLRP3[J]. Mol Med, 2021, 27(1): 91.
 37. Li G, Ma L, He S, et al. WTAP-mediated m(6)A modification of lncRNA NORAD promotes intervertebral disc degeneration[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 1469.
 38. Li Y, Chen L, Gao Y, et al. Oxidative stress and intervertebral disc degeneration: pathophysiology, signaling pathway, and therapy[J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022:1984742.
 39. Chen PB, Shi GX, Liu T, et al. Oxidative stress aggravates apoptosis of nucleus pulposus cells through m(6)A modification of MAT2A pre-mRNA by METTL16[J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 4036274.
 40. Lan T, Shiyu H, Shen Z, et al. New insights into the interplay between miRNAs and autophagy in the aging of intervertebral discs[J]. Ageing Res Rev, 2021, 65: 101227.
 41. Li GC, Song Y, Liao ZW, et al. Bone-derived mesenchymal stem cells alleviate compression-induced apoptosis of nucleus pulposus cells by N6 methyladenosine of autophagy[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(2): 103.
 42. Li G, Luo R, Zhang W, et al. m6A hypomethylation of DNMT3B regulated by ALKBH5 promotes intervertebral disc degeneration via E4F1 deficiency[J]. Clin Transl Med, 2022, 12(3): e765.
 43. Huang W, Chen TQ, Fang K, et al. N6-methyladenosine methyltransferases: functions, regulation, and clinical potential [J]. J Hematol Oncol, 2021, 14(1): 117.

(收稿日期:2022-10-10 末次修回日期:2023-02-09)

(本文编辑 彭向峰)