

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.01.004

METTL3 通过上调 ING5 抑制非小细胞肺癌细胞增殖 *

吴映彤¹ 张 勇¹ 徐雷棣¹ 车映刚¹ 张 健^{2Δ} 张 艰^{1Δ}

(1 空军军医大学西京医院呼吸内科 陕西 西安 710032; 2 空军军医大学基础医学院生物化学教研室 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探讨 METTL3 在非小细胞肺癌中的表达及作用,并探讨其可能的机制。**方法:**通过慢病毒转染,在 HCC827 细胞中过表达和敲除 METTL3,并通过免疫印迹验证 METTL3 蛋白表达。免疫印迹检测 HCC827 细胞中生长抑制物家族成 5 (Methyltransferase Like 3, 甲基转移酶 3) 调控 ING5 (Inhibitor Of Growth Family Member 5, METTL3)。使用基因表达交互分析 (Gene Expression Profiling Interactive Analysis, GEPIA) 探究了 METTL3 和 ING5 在非小细胞肺癌组织和正常组织中的表达相关性。用 CCK-8 法检测 METTL3 和 ING5 表达对非小细胞肺癌细胞增殖的影响。使用 KM-plotter 验证 METTL3、ING5 的表达与非小细胞肺癌的总生存期(OS)、进展后生存期(PPS)和无进展生存期(PFS)之间的相关性。**结果:**免疫印迹结果显示,在 HCC827 细胞中 METTL3 过表达上调了 ING5 蛋白的表达,而 METTL3 表达下调了 ING5 蛋白的表达。GEPIA 数据库分析显示 METTL3 在非小细胞肺癌中的表达明显低于正常组织($P < 0.05$)。CCK-8 检测结果显示,与对照组相比 METTL3 缺失促进了 HCC827 细胞的增殖能力,而 METTL3 过表达显著抑制了 HCC827 细胞的增殖能力。此外, METTL3 通过 ING5 调控非小细胞肺癌细胞的增殖能力。KM-plotter 分析显示 METTL3、ING5 mRNA 的表达与非小细胞肺癌患者的生存有较好的预后关系。**结论:**METTL3 在非小细胞肺癌低表达,并通过调控 ING5 的表达在非小细胞肺癌的发生进展中发挥重要地抑癌基因作用。

关键词: METTL3; ING5; 非小细胞肺癌; 增殖

中图分类号: R-33; R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2022)01-21-06

METTL3 Inhibited Proliferation of Non-small Cell Lung Cancer Cells by Targeting ING5*

WU Ying-tong¹, ZHANG Yong¹, XU Lei-di¹, CHE Ying-gang¹, ZHANG Jian^{2Δ}, ZHANG Jian^{1Δ}

(1 Department of Respiratory Diseases, Xijing Hospital, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Department of Biochemistry, Basic Medical College, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To determine the expression level and effect of METTL3 in the Non-small cell lung cancer (NSCLC, Non-small cell lung cancer), and explore the potential mechanism. **Methods:** Lentivirus transfection were used to overexpress and knockdown METTL3 in HCC827 cells, and western blot was used to validate the METTL3 protein expression. METTL3 regulated ING5 in HCC827 cells was detected by Western blot. GEPIA was used to analyze the expression correlation of METTL3 and ING5 in NSCLC tissues and normal tissues. The effect of METTL3 and ING5 expression on the proliferation of NSCLC cells was detected by CCK-8 assay. KM-plotter was used to validate the correlation between the expression of METTL3 and the overall survival (OS), post-progression survival(PPS), and progression-free survival (PFS) of NSCLC. **Results:** Western blot show that METTL3 overexpression in HCC827 cells upregulated ING5 protein levels, whereas METTL3 knockdown decreased ING5 protein expression. Analysis of GEPIA database indicated that METTL3 expression was significantly lower in NSCLC than in normal tissues ($P < 0.05$). CCK-8 assay showed that, compared to in control cells, METTL3 depletion promoted HCC827 cell proliferation ability and its overexpression significantly inhibited cell proliferation ability. Moreover, ING5 overexpression rescued the anti-tumor phenotype impaired by METTL3 knockdown. KM-plotter analysis showed that the better prognostic relationship between METTL3 mRNA expression and the survival of patients with NSCLC. **Conclusions:** METTL3 was low expressed in NSCLC, and played an important anti-cancer role in inhibiting the development of NSCLC by regulating the expression of ING5.

Key words: METTL3; ING5; Non-small cell lung cancer; Proliferation

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R734.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)01-21-06

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81773153)

作者简介: 吴映彤(1995-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向: 呼吸内科, E-mail: YingtongWoo@163.com

Δ 通讯作者: 张艰(1970-), 女, 博士生导师, 教授, 主要研究方向: 呼吸内科, E-mail: zjafmu@163.com, 电话: 029-84771135;

张健(1978-), 男, 博士生导师, 教授, 主要研究方向: 肿瘤细胞分子调控机制,

E-mail: biozhangj@fmmu.edu.cn, 电话: 13572503615

(收稿日期: 2021-04-24 接受日期: 2021-05-21)

前言

肺癌是全世界癌症发病率和死亡率中所占比例最高的恶性肿瘤^[1],而非小细胞肺癌是肺癌的主要病理类型。尽管最近在诊断和治疗策略方面不断改进与发展,但非小细胞肺癌患者的生存率仍然很低。识别与癌症相关的表观遗传修饰是一个迅速发展的分子生物学机制研究领域。研究表明, RNA 靶向修饰在肿瘤发生中具有重要的生物学意义。m6A 是最丰富的 mRNA 内部修饰并介导多种生物学过程, 其中就包括肿瘤的发生与进展^[2-4]。同时, m6A 修饰在不同基因组背景或不同肿瘤亚型中起着致癌或抑癌作用^[5-7]。m6A 甲基转移酶复合物包含多种酶并被称为 "书写者", 其中 METTL3 最为重要, 它通过影响 RNA 的稳定性、mRNA 的降解和翻译来调节基因表达。ING5 是生长抑制因子家族的第五位成员, 在肿瘤学研究中通常发挥肿瘤抑制因子的作用, 参与靶向组蛋白乙酰转移酶(HAT)或组蛋白去乙酰化酶(HDAC)蛋白复合物的形成, 参与 DNA 损伤反应、凋亡和染色质重塑等重要生物学过程^[8-11]。然而, METTL3 在非小细胞肺癌中是否调控 ING5 稳定性或功能仍未有研究。因此, 本研究探讨了 m6A 表观遗传修饰中关键催化酶 METTL3 是否通过靶向调控 ING5 表达从而抑制非小细胞肺癌的细胞增殖。

1 材料与方法

1.1 材料

HCC827 细胞系来源于美国模式培养物集存库 (American type culture collection, ATCC); METTL3 shRNA 质粒购于上海吉凯基因公司; 过表达 METTL3 质粒购于上海和元基因公司; 胎牛血清 (fetal bovine serum) 购于美国 BI 公司; DMEM 及 0.25% 胰酶 Trypsin 购于美国 Invitrogen 公司; 二甲基亚砜(DMSO)、lipo2000 及 TRIZOL 购于美国 Invitrogen 公司; METTL3 抗体购于美国 Abcam 公司; GAPDH 抗体、过氧化物酶二级偶联抗体购自 Santa Cruz 生物技术公司; ING5 抗体购于武汉三鹰公司; 氯仿、酒精(浓度为 75%)及逆转录试剂盒购于美国 ABI Applied Biosystems 公司; 光学显微镜、全自动酶标仪及 Real-time PCR 仪购于美国 bio-rad 公司; GEPIA (<http://gepia.cancer-pku.cn/>)^[12]; CCK-8 试剂购于日本 Dojindo 公司; 免疫组化组织购于上海卓灏生物公司; KM-plotter (<http://kmplot.com/analysis/>)^[13]; 实时定量 PCR 试剂盒购于日本 Takara 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 在 37℃、5%CO₂ 的细胞培养箱中, 将非小细胞肺癌细胞系 HCC827 细胞置于含有 10% 胎牛血清的 1640 培养基中培养, 在过去 6 个月内检测了支原体污染, 传代数<10。

1.2.2 肿瘤组织和免疫组化 非小细胞肺癌组织及周围组织购自上海灏卓生物技术公司(中国上海)。免疫组化染色时, 切片在二甲苯中脱蜡, 用分级乙醇再水化, 在 95℃ 下用 0.1% 柠檬酸钠缓冲液(pH 6.0)孵育 20 分钟以提取抗原。用 3% H₂O₂·dH₂O 淬灭内源性过氧化物酶活性并用 1% 牛血清白蛋白缓冲液阻断非特异性结合后, 用抗体在 4℃ 孵育过夜。几次洗涤后, 切片在室温下用辣根过氧化物酶标记的二抗处理 30 分钟, 用 0.05% 的 3,3'-二氨基联苯胺四盐酸盐染色。使用虚拟载玻片显微镜拍

摄, 并使用 Image-Pro Plus 6.0 软件)分析。免疫组化切片由两名独立学者进行分析。

1.2.3 基因过表达和敲除 将 HCC827 细胞以 2.5×10⁶ 细胞的密度接种在 6 厘米的培养皿中, 使其附着 12 小时, 观察并确认细胞生长状态良好后用 METTL3 敲减或过表达的慢病毒感染细胞 48 小时, 换液并用嘌呤霉素筛选细胞。

1.2.4 免疫印迹分析法检测细胞蛋白水平 细胞用冰冷的 PBS 洗净, 从培养皿中用细胞刮刮下细胞, 收集于离心管后离心并用 RIPA 裂解液裂解, 再次离心后小心取上清使用 BCA 蛋白测定蛋白浓度。然后用 SDS-PAGE 分离蛋白质, 转移到聚偏二氟乙烯膜上, 用 5% 脱脂牛奶封闭一小时。接下来, 作为对照, 膜与抗体或与辣根过氧化物酶结合在室温下孵育。使用电化学发光试剂对蛋白质进行可视化, 并使用成像系统进行检测。

1.2.5 细胞增殖实验 使用 CCK-8 试剂盒, 根据制造商的说明将细胞接种于 96 孔板(细胞密度为 5×10³ 个/孔)中。在指定的时间点加入稀释的 CCK-8 溶液(约占总容量的 10%), 再孵育 1.5 小时。严格限制每次的孵育时间, 用分光光度计在 570 nm 处测定吸光度。实验重复了三次。

1.3 统计学分析

本文中统计免疫组化结果以及制作细胞生长曲线使用的软件为 GraphPad Prism 8.0, 计算连续变量的平均值和标准差, 计算连续变量的平均值和标准差。采用单因素方差分析确定多组间的方差。采用 Kaplan-Meier 法和 log-rank 检验评估生存曲线。P<0.05 为差异, 有统计学意义。

2 结果

2.1 非小细胞肺癌细胞中 METTL3 过表达和干涉效果验证

首先, 我们利用慢病毒构建了 METTL3 过表达或敲除系统来研究 METTL3 在非小细胞肺癌中的功能, 并用 Western blot 检测稳转株构建的过表达或敲减 METTL3 的效率。结果显示, 经过表达 METTL3 的 HCC827 细胞中 METTL3 蛋白水平明显较对照组细胞增高; 而敲减 METTL3 的 HCC827 细胞中, METTL3 蛋白水平较对照细胞明显降低(图 1A)。

A

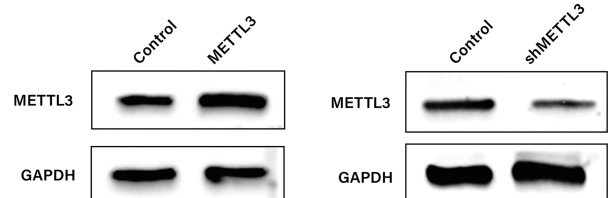


图 1 非小细胞肺癌细胞中 METTL3 过表达和干涉效果验证

Fig.1 Overexpression and knockdown of METTL3 in non-small cell lung cancer cells

2.2 METTL3 正向调控 ING5 的表达

在 Western blot 检测的结果中我们发现, 在 HCC827 细胞中 METTL3 过表达上调了 ING5 蛋白水平, 而 METTL3 敲减显著降低了 ING5 蛋白的表达(图 2A)。使用在线工具 GEPIA 分析了 TCGA 数据库中的非小细胞肺癌患者 ING5 与 MET-

TL3 的相关性.有趣的是,在非小细胞肺癌中 ING5 的表达与 METTL3 呈正相关(图 2B)。因此,我们预测 ING5 的缺失与非

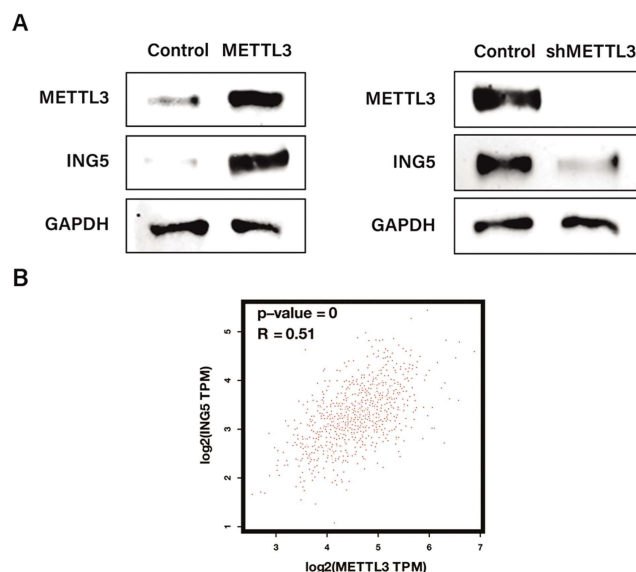


图 2 METTL3 正向调控 ING5 的表达

Fig.2 METTL3 positively regulated the expression of ING5

2.3 METTL3 在非小细胞肺癌组织中呈低表达

我们使用基于 TCGA 数据库的在线工具 GEPIA 分析了 METTL3 在非小细胞肺癌患者中 mRNA 的表达情况。结果显示与正常肺组织相比(图 3A),在非小细胞肺癌的主要病理亚型腺癌和鳞癌中,METTL3 的 mRNA 的表达水平均较低 ($P <$

0.05), 预示其可能与预后不良相关。随后,我们还分析了 METTL3 蛋白在非小细胞肺癌组织和癌旁组织中的表达差异。免疫组化染色检测结果显示,METTL3 在非小细胞肺癌组织中的染色程度低于癌旁组织中的染色程度(图 3B),表明在非小细胞肺癌中 METTL3 的蛋白表达水平低于正常邻近肺组织。

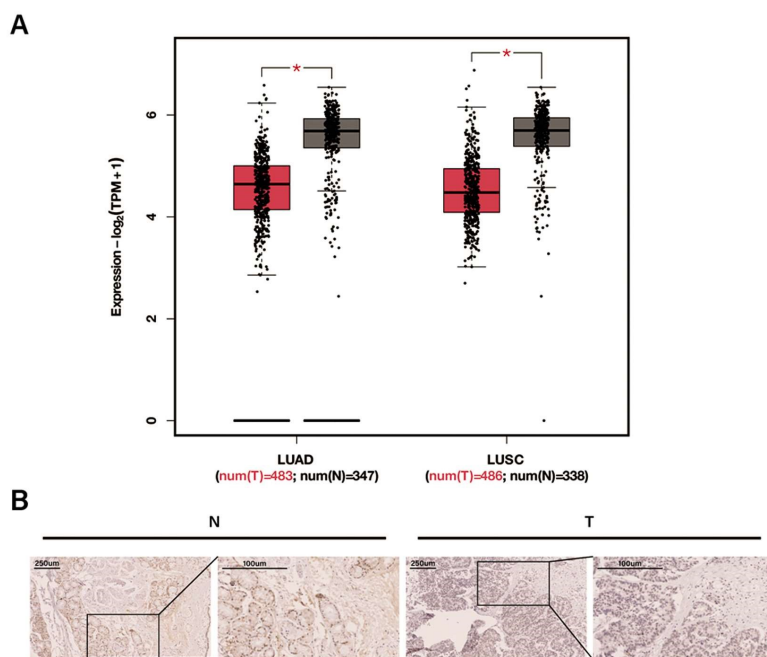


图 3 METTL3 在非小细胞肺癌组织中呈低表达

(注: *, $P < 0.05$ 。)

Fig.3 METTL3 was downregulated in NSCLC

(Note: *, $P < 0.05$ 。)

2.4 METTL3 低表达与非小细胞肺癌预后不良预后相关

为了研究 METTL3 对非小细胞肺癌发生的影响,我们关注在各种癌症进展中起关键作用的细胞增殖能力变化。虽然 METTL3 的敲低促进了 HCC827 细胞的增殖,但与对照组细胞

相比,METTL3 的过表达阻碍了细胞增殖(图 4A)。此外,我们通过公开数据集评估 METTL3 的 mRNA 表达水平与非小细胞肺癌患者的预后相关性。Kaplan-Meier 曲线显示,METTL3 表达较高的非小细胞肺癌患者总生存期(OS, overall survival)、进展

后生存期(PPS, post-progression survival)和无进展生存期(PFS, progression-free survival)更好(图 4B)。同样的,非小细胞肺癌患者的受 METTL3 靶向调控的 ING5 表达高,其总生存期、进展后生存期和无进展生存期也更好(图 4C)。这些结果表明,

METTL3 和其调控的 ING5 表达对非小细胞肺癌患者生存与预后发挥着重要的抑癌作用,METTL3 表达水高的非小细胞肺癌患者生存预后较好。

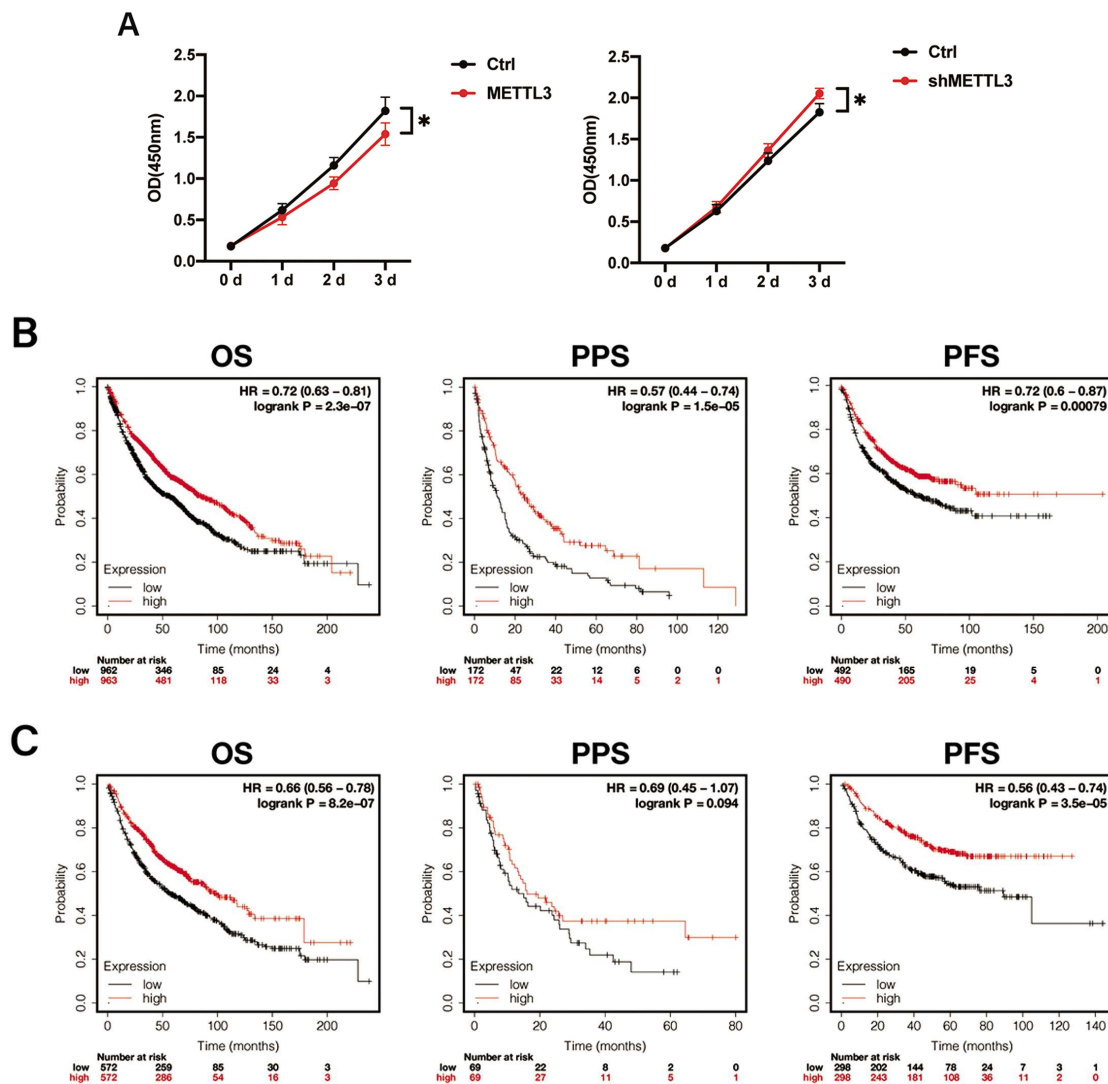


图 4 METTL3 低表达与非小细胞肺癌不良预后相关

(注: *, $P < 0.05$.)

Fig.4 Low METTL3 expression was associated with poor prognosis of Non-small cell lung cancer

(Note: *, $P < 0.05$.)

2.5 METTL3 通过 ING5 调控非小细胞肺癌细胞的增殖能力

为了验证 METTL3 敲减细胞的肿瘤发生表型受损是否依赖于 ING5 的减少,我们在敲减 METTL3 的 HCC827 细胞中过表达 ING5。细胞增殖实验结果表明,过表达 ING5 部分减弱了因 METTL3 敲减而导致的肿瘤细胞增殖能力增强的趋势(图 5A),即过表达 ING5 的 METTL3 敲减细胞的增殖能力相比 METTL3 敲减细胞降低($P < 0.05$)。总的来说,本实验结果表明 METTL3 通过 ING5 调控非小细胞肺癌细胞的增殖能力。

3 讨论

鉴定与癌症相关的表观遗传修饰是一个高速发展的分子生物学机制研究领域,研究表明,RNA 的靶向修饰在肿瘤发生发展中具有极其重要的生物学意义^[14]。已知的 170 多个 RNA

修饰中,m6A 是最丰富的 mRNA 修饰。既往研究表明,m6A 修饰在哺乳动物中参与了许多生物学过程,包括 mRNA 的剪接、输出、定位、翻译和稳定性^[2,15]。m6A 修饰过程中的甲基转移酶复合物包含多种酶,其中 METTL3 通过影响 RNA 的稳定性、mRNA 的降解和翻译来调节基因表达而发挥重要作用^[16,17]。相比之下,FTO 和 ALKBH5 有可能通过"擦除酶"的作用从 mRNA 中去除 m6A^[18,19]。此外,YTH 家族蛋白 IGF2BPs 和 eIF3s 已被证明可以作为 m6A 的"阅读酶",影响着 mRNA 的稳定性和翻译,从而介导多重下游效应^[20-22]。近期研究证明,多种基因 RNA 的 m6A 甲基化与广泛的癌症类型的肿瘤发生与进展密切相关^[23],包括白血病^[24]、乳腺癌^[24]、肝癌^[25]和子宫内膜癌^[26]。此外,多种 m6A 调控蛋白及其靶 mRNA 在癌症中表现出不同的表达谱,表明 m6A 修饰在不同基因组背景或不同肿瘤

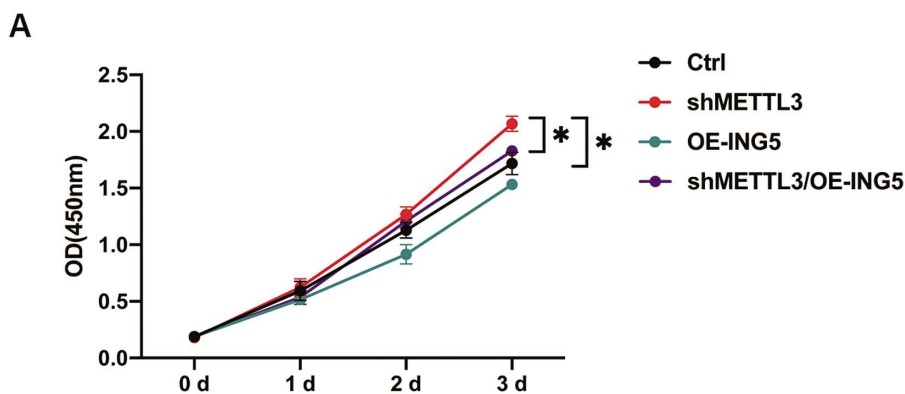


图 5 METTL3 通过 ING5 调控非小细胞肺癌细胞的增殖能力

(注: *, $P < 0.05$ 。)

Fig.5 METTL3 regulates proliferation of non-small cell lung cancer cells through ING5 in vitro

(Note: *, $P < 0.05$.)

亚型中发挥着致癌或抑癌作用^[27]。因此,有必要详细阐明其机制,以揭示 m6A 修饰在不同肿瘤发生中的确切生物学过程及作用。值得关注的是,当 METTL3 发挥不同的分子生物学行为来介导癌症的发生和发展时,它似乎扮演了一把双刃剑的角色,即扮演抑癌基因或癌基因的角色。例如,近期有研究者发现过表达 METTL3 可以抑制肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[28],同时亦有团队证实过表达 METTL3 抑制肠癌的肿瘤发生和转移^[29,30]。本实验中,我们发现 METTL3 在非小细胞肺癌组织中表达显著低于相应的癌旁组织,并与预后显著相关。因此,继续研究 METTL3 的上下游调控网络将为阐明非小细胞肺癌增殖的机制提供重要的线索。

ING5 在肿瘤中发挥着重要的抑癌功能,ING5 低表达水平预示着不良的肿瘤患者预后,有必要进一步探索其上游调控机制。例如,已有研究证实 MicroRNA-196b-5p 在肠癌中调控了 ING5 的表达^[31,32]。有学者发现 ING5 在 p53 乙酰化中发挥着重要的作用^[9],进而发挥抑制细胞的生长并诱导细胞凋亡的功能^[11,33]。此外,已有研究证实 ING5 抑制了肺癌的增殖、迁移和侵袭^[34]。但是,关于 ING5 的上游调控机制鲜有研究,并且其在表观遗传修饰层面的研究此前仍是空白。在本实验中,我们证实 m6A 修饰机制中的核心组分之一 METTL3 通过调控 ING5 的表达抑制非小细胞肺癌细胞的增殖能力。并从机制上部分解释了 ING5 在非小细胞肺癌中表达升高的原因,并突出了 METTL3-ING5 轴作为非小细胞肺癌靶向治疗可能的新型分子研究策略。

结合本文的结论,我们进一步的推测:METTL3 可能通过 mRNA m6A 甲基化的多步骤过程提高 ING5 的翻译效率和肿瘤抑制功能;同时,是否存在其他 m6A 修饰系统的成员参与到 ING5 的调控,并对通过调控 ING5 进而影响非小细胞肺癌的发生、发展进程仍是未来有意义的课题讨论方向;此外,我们还认为联合检测 METTL3 和 ING5 表达水平可能有助于预测和指导非小细胞肺癌患者的预后。综上所述,我们发现异常的 METTL3-ING5 轴的表达与非小细胞肺癌恶性肿瘤的发生、发展的高度相关,并为非小细胞肺癌的未来临床研究中应用提供了令人鼓舞的分子与机制基础。

参考文献(References)

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424
- [2] Bokar JA, Shambaugh ME, Polayes D. Purification and cDNA cloning of the AdoMet-binding subunit of the human mRNA (N6-adenosine)-methyltransferase[J]. RNA, 1997, 3(11): 1233-47
- [3] Han X, Wang L, Han Q. Advances in the role of m6A RNA modification in cancer metabolic reprogramming [J]. Cell Biosci, 2020, 10: 117
- [4] Ma Z, Ji J. N6-methyladenosine (m6A) RNA modification in cancer stem cells[J]. Stem Cells, 2020
- [5] Muthusamy S. m6A mRNA methylation: A pleiotropic regulator of cancer[J]. Gene, 2020, 736: 144415
- [6] Zhao W, Qi X, Liu L, et al. Epigenetic Regulation of m6A Modifications in Human Cancer [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 19: 405-412
- [7] Ma S, Chen C, Ji X, et al. The interplay between m6A RNA methylation and noncoding RNA in cancer [J]. J Hematol Oncol, 2019, 12(1): 121
- [8] Doyon Y, Cayrou C, Ullah M, et al. ING tumor suppressor proteins are critical regulators of chromatin acetylation required for genome expression and perpetuation[J]. Mol Cell, 2006, 21(1): 51-64
- [9] Zhang T, Meng J, Liu X, et al. ING5 differentially regulates protein lysine acetylation and promotes p300 autoacetylation [J]. Oncotarget, 2018, 9(2): 1617-1629
- [10] Archambeau J, Blondel A, Pedoux R. Focus-ING on DNA Integrity: Implication of ING Proteins in Cell Cycle Regulation and DNA Repair Modulation[J]. Cancers (Basel), 2019, 12(1)
- [11] Liu N, Wang J, Wang J, et al. ING5 is a Tip60 cofactor that acetylates p53 in response to DNA damage[J]. Cancer Res, 2013, 73(12): 3749-60
- [12] Tang Z, Kang B, Li C, et al. GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis [J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(W1): W556-W560
- [13] Liu J, Lichtenberg T, Hoadley KA, et al. An Integrated TCGA Pan-

- Cancer Clinical Data Resource to Drive High-Quality Survival Outcome Analytics[J]. *Cell*, 2018, 173(2): 400-416.e11
- [14] Peer E, Rechavi G, Dominissini D. Epitranscriptomics: regulation of mRNA metabolism through modifications [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2017, 41: 93-98
- [15] Huang H, Weng H, Chen J. m6A Modification in Coding and Non-coding RNAs: Roles and Therapeutic Implications in Cancer [J]. *Cancer Cell*, 2020, 37(3): 270-288
- [16] Wang X, Zhao BS, Roundtree IA, et al. N (6)-methyladenosine Modulates Messenger RNA Translation Efficiency[J]. *Cell*, 2015, 161(6): 1388-99
- [17] Wang X, Lu Z, Gomez A, et al. N6-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability [J]. *Nature*, 2014, 505(7481): 117-20
- [18] 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
- [19] Zheng G, Dahl JA, 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
- [20] Meyer KD, Patil DP, Zhou J, et al. 5' UTR m (6)A Promotes Cap-Independent Translation[J]. *Cell*, 2015, 163(4): 999-1010
- [21] Roundtree IA, Evans ME, Pan T, et al. Dynamic RNA Modifications in Gene Expression Regulation[J]. *Cell*, 2017, 169(7): 1187-1200
- [22] Huang H, Weng H, Sun W, et al. Recognition of RNA N6-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation[J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(3): 285-295
- [23] Wang T, Kong S, Tao M, et al. The potential role of RNA N6-methyladenosine in Cancer progression [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 88
- [24] Cai X, Wang X, Cao C, et al. HBXIP-elevated methyltransferase METTL3 promotes the progression of breast cancer via inhibiting tumor suppressor let-7g[J]. *Cancer Lett*, 2018, 415: 11-19
- [25] Chen M, Wei L, Law CT, et al. RNA N6-methyladenosine methyltransferase-like 3 promotes liver cancer progression through YTHDF2-dependent posttranscriptional silencing of SOCS2 [J]. *Hepatology*, 2018, 67(6): 2254-2270
- [26] Liu J, Eckert MA, Harada BT, et al. m6A mRNA methylation regulates AKT activity to promote the proliferation and tumorigenicity of endometrial cancer [J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(9): 1074-1083
- [27] Wang S, Chai P, Jia R, et al. Novel insights on m6A RNA methylation in tumorigenesis: a double-edged sword[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 101
- [28] Deng R, Cheng Y, Ye S, et al. m6A methyltransferase METTL3 suppresses colorectal cancer proliferation and migration through p38/ERK pathways[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 4391-4402
- [29] Xiang S, Liang X, Yin S, et al. N6-methyladenosine methyltransferase METTL3 promotes colorectal cancer cell proliferation through enhancing MYC expression [J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(5): 1789-1806
- [30] Li T, Hu PS, Zuo Z, et al. METTL3 facilitates tumor progression via an m6A-IGF2BP2-dependent mechanism in colorectal carcinoma[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 112
- [31] Xin H, Wang C, Chi Y, et al. MicroRNA-196b-5p promotes malignant progression of colorectal cancer by targeting ING5 [J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20: 119
- [32] Gournay M, Paineau M, Archambeau J, et al. Regulat-INGs in tumors and diseases: Focus on ncRNAs[J]. *Cancer Lett*, 2019, 447: 66-74
- [33] Linzen U, Lilischkis R, Pandithage R, et al. ING5 is phosphorylated by CDK2 and controls cell proliferation independently of p53 [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0123736
- [34] Zhao S, Yang XF, Shen DF, et al. The down-regulated ING5 expression in lung cancer: a potential target of gene therapy [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(34): 54596-54615

(上接第 5 页)

- [26] Fugio LB, Coeli-Lacchini FB, Leopoldino AM. Sphingolipids and Mitochondrial Dynamic[J]. *Cells*, 2020, 9(3): 581
- [27] Yang C, Hashimoto M, Lin Q.X.X, et al. Suda T. Sphingosine-1-phosphate signaling modulates terminal erythroid differentiation through the regulation of mitophagy [J]. *Exp. Hematol*, 2019, 72: 47-59
- [28] Chen W, Xiang H, Chen R, et al. S1PR2 antagonist ameliorate high glucose-induced fission and dysfunction of mitochondria in HRGECs via regulating ROCK1[J]. *BMC Nephrol*, 2019, 20: 135
- [29] Kerkhofs M, Bittremieux M, Morciano G, et al. Emerging molecular mechanisms in chemotherapy: Ca (2+) signaling at the mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9: 334
- [30] Pulli I, Lof C, Blom T, et al. Sphingosine kinase 1 overexpression induces MFN2 fragmentation and alters mitochondrial matrix Ca(2+) handling in HeLa cells[J]. *Biochim. Biophys*, 2019, 1866: 1475-1486
- [31] Brand C.S, Tan V.P, Brown J.H, et al. RhoA regulates Drp1 mediated mitochondrial fission through ROCK to protect cardiomyocytes [J]. *Cell Signal*, 2018, 50: 48-57