

Streszczenie rozprawy doktorskiej pt. „Regulacja inwazyjności, apoptozy i metabolizmu komórek glejaka wielopostaciowego przez Regnazę-2”

Regnaza-2 (Reg-2) znana również jako MCPIP2 i ZC3H12B jest enzymem należącym do białek wiążących RNA, który ulega ekspresji przede wszystkim w mózgu. W swej budowie posiada domenę palca cynkowego typu CCCH oraz wysoce konserwatywną domenę PIN o aktywności RNAzowej. Dotychczas opublikowane prace wskazują na udział Reg-2 w negatywnej regulacji stanu zapalnego centralnego układu nerwowego poprzez degradację transkryptów cytokin prozapalnych, takich jak *IL-6* czy *IL-1 β* . Celem niniejszej pracy było zbadanie roli Reg-2 w regulacji procesów związanych z progresją najpowszechniej występujących nowotworów mózgu – glejaków. Skupiono się na analizie wpływu Reg-2 na inwazyjność, odpowiedź na stres, apoptozę, proliferację, i metabolizm komórek linii glejaka wielopostaciowego.

Wyniki uzyskane w niniejszej pracy wskazują, że Reg-2 zmniejsza zdolność komórek glejaka do migracji. Na poziomie molekularnym efekt ten może być spowodowany negatywną regulacją przez Reg-2 poziomu transkryptu metaloproteinazy 2 (MMP2). W komórkach z nadekspresją Reg-2 obniżeniu ulega również poziom białka wydzielanego do pożywki, co przekłada się na niższą aktywność MMP2 badaną za pomocą zymografii żelatynowej. Reg-2 jest również zaangażowana w regulację ilości i/lub składu wydzielanych przez komórki glejaka chemoatraktantów, co odzwierciedla się w liczbie komórek endotelialnych migrujących do pożywki pochodzącej zebranej z komórek z obniżoną ekspresją Reg-2. Prowadzi to do wniosku, że białko to może być zaangażowane w regulację czynników istotnych do indukcji angiogenezy.

Komórki nowotworowe narażone są na wiele czynników indukujących odpowiedź stresową. Ze względu na lokalną hipoksję i intensywny metabolizm często jest to stres oksydacyjny związany z generowaniem reaktywnych form tlenu. Jednym ze sposobów ochrony komórek przed skutkami takiego stresu jest tworzenie granul stresowych (GS). Wśród komórek z nadekspresją Reg-2 zwiększa się odsetek komórek pozbawionych GS, w porównaniu do komórek kontrolnych. Dodatkowo liczba granul w tych komórkach również ulega zmniejszeniu. Analiza Western blot wykazała, że poziom kluczowego składnika GS, białka G3BP1, jest zmniejszony w komórkach z nadekspresją Reg-2. Metodą immunoprecypitacji RNA (RIP) potwierdzono iż Reg-2 bezpośrednio oddziałuje z mRNA *G3BP1*. Tworzenie GS jest jednym ze sposobów na uniknięcie apoptozy. W niniejszej pracy pokazano, że w komórkach z Reg-2 można wykryć sygnały świadczące o indukcji apoptozy. Wykazano

również, że jednym z odpowiedzialnych za to mechanizmów może być bezpośrednie wiązanie przez Reg-2 transkryptu inhibitora apoptozy *BIRC5*. W komórkach linii glejaka z nadekspresją Reg-2 poziom mRNA *BIRC5* jest znacząco obniżony, natomiast w próbkach guzów o wysokim stopniu złośliwości, które mają obniżony poziom mRNA *Reg-2*, poziom mRNA *BIRC5* jest podwyższony. Wyniki uzyskane w niniejszej pracy pokazały również, że Reg-2 jest istotnym czynnikiem regulującym proliferację komórek, ponieważ zarówno nadekspresja tego białka, jak i wyciszenie kodującego go genu wpływała na ten proces.

Zmiany metaboliczne zachodzące w komórkach nowotworowych są sposobem na przystosowanie się do ciągle zmieniających się warunków mikrośrodowiska guza. Mają na celu dostarczenie składników do budowy makromolekuł i sprostanie zapotrzebowaniu energetycznemu intensywnie proliferujących komórek. W badaniach przeprowadzonych w niniejszej pracy wykazano, że zahamowanie glikolizy prowadzi do fosforylacji i degradacji Reg-2. Jednocześnie zaobserwowano wzrost poziomu mRNA *IL-6*, który jest dobrze opisanym substratem dla Reg-2. Co więcej, Reg-2 wpływa na funkcjonalność mitochondriów powodując, że komórki uzyskują mniej energii na drodze fosforylacji oksydacyjnej.

Uzyskane w niniejszej pracy badania wskazują, że Regnaza-2 może działać jako supresor glejaka wielopostaciowego, ponieważ indukuje apoptozę, ogranicza migrację, negatywnie wpływa na proliferację, odpowiedź stresową i metabolizm komórek.