

„Rola genu *METTL3* oraz procesu metylacji RNA w rozwoju płaskonabłonkowego raka głowy i szyi”

Płaskonabłonkowy rak głowy i szyi (HNSCC, ang. *Head and Neck Squamous Cell Carcinoma*) jest szóstym najczęściej występującym nowotworem na świecie. Ze względu na dużą różnorodność genetyczną i histologiczną, patogeneza HNSCC opiera się na wielu złożonych procesach obejmujących akumulację zmian genetycznych i epigenetycznych. Modyfikacje epigenetyczne występujące w HNSCC obejmują metylację DNA, modyfikacje histonów, aktywność niekodujących RNA i jak dotąd najmniej opisaną, metylację RNA. Metylacja RNA jest jedną z modyfikacji epigenetycznych, która polega na dodaniu grupy metylowej do adeniny w pozycji szóstej pierścienia purynowego (N6-metyloadenozyna, m⁶A). Liczne badania wskazują na kluczową rolę metylacji RNA w regulacji transkrypcji RNA, składaniu genów (ang. *splicing*) oraz translacji. Regulacja tych procesów jest wynikiem działania kompleksów wielobiałkowych, które dzielą się na „writers” - enzymy, które dodają grupę metylową do sekwencji nukleotydowej RNA, „erasers” - enzymy, które ją usuwają i „readers” - białka, które rozpoznają chemiczne modyfikacje RNA. Istnieje coraz więcej dowodów na to, że zmiany w procesie metylacji RNA mogą prowadzić do wzrostu i progresji guza, przyczyniać się do inwazji, migracji komórek nowotworowych oraz mogą być zaangażowane w chemiooporność i oporność na promieniowanie.

Celem rozprawy doktorskiej było zbadanie wpływu procesu metylacji RNA oraz metylotransferazy 3 (*METTL3*, ang. *methyltransferaselike 3*) na patogenezę HNSCC. Pierwsza praca składająca się na cykl publikacji obejmuje przegląd literatury i podsumowanie dotychczasowych naukowych doniesień dotyczących zmian w krajobrazie epigenetycznym, które powstają na skutek pojawienia się HNSCC. Celem drugiej pracy było globalne, ilościowe oznaczenie modyfikacji m⁶A i określenie poziomu ekspresji mRNA wybranych genów, związanych z maszyną procesu metylacji m⁶A RNA metylotransferazy (*METTL3*), demetylasy (*FTO*) i białek rozpoznających modyfikację m⁶A (*YTHDF2*, *YTHDC2*) u 45 chorych z HNSCC i w 4 liniach komórkowych (FaDu, Detroit 562, A-253 i SCC-15). Badania wykazały korelację ilości modyfikacji m⁶A w całkowitym RNA z wybranymi genami w tkankach nowotworowych, co wskazuje, że metylacja RNA może być zaangażowana w procesy związane z nowotworzeniem. Ponadto, statystycznie istotne różnice w poziomach mRNA genów *METTL3*, *FTO* i *YTHDC2* w badanych liniach komórkowych, wskazują, że ich ekspresja może się różnić w zależności od lokalizacji guza. Badania przeprowadzone w ramach trzeciej pracy w cyklu publikacji miały na celu określenie znaczenia genu *METTL3* w odpowiedzi komórkowej na cisplatynę w HNSCC. W pracy przeprowadzono funkcjonalne badania z wyciszaniem genu *METTL3* w modelu *in vitro* oraz analizę dystrybucji cyklu komórkowego, apoptozy, ekspresji markerów komórek macierzystych CD44/CD133 i zdolności komórek do tworzenia kolonii po leczeniu cisplatyną. Otrzymane wyniki wskazały, że niedobór *METTL3* może zarówno uwrażliwiać komórki HNSCC na cisplatynę poprzez zatrzymanie cyklu komórkowego, indukcję apoptozy i hamowanie tworzenia kolonii, jak i zwiększać ekspresję markerów nowotworowych komórek macierzystych.

Rozprawa doktorska stanowi spójny ciąg badawczy i w znacznym stopniu przyczynia się do wskazania, że zmiany w procesie metylacji RNA stanowią istotny czynnik biorących udział w patogenezie HNSCC. Uzyskane wyniki stanowią podstawę do identyfikacji nowych biomarkerów molekularnych obecnych u chorych z rakiem głowy i szyi oraz przyczyniają się do lepszego zrozumienia mechanizmów powstawania i rozwoju komórek nowotworowych w obrębie głowy i szyi.

Kamila Ostrowska