

Streszczenie rozprawy doktorskiej
„Rola MCPIP1 w różnicowaniu preadipocytów”
wykonanej w Zakładzie Biochemii Ogólnej WBBIB, UJ
przez
mgr Barbarę Lipert
pod opieką
prof. dr hab. Jolanty Jury

Dobrze poznaną rolą MCPIP1 jest negatywna regulacja procesów zapalnych w komórce. Jako endorybonukleaza, MCPIP1 degraduje niektóre krótko żyjące transkrypty, w tym transkrypty kodujące IL-6, IL-2, IL-12b, c-Rel, Icos, swój własny mRNA, a także liczne pre-miRNA. Do aktywności rybonukleolitycznej MCPIP1 niezbędna jest domena PIN. Jednakże oprócz degradacji RNA, domena PIN pozwala również na wiązanie deubikwitynazy USP10. Z kolei poprzez inną domenę (UBA) MCPIP1 wiąże białka należące do szlaku aktywacji NF- κ B. Pośredniczy w ten sposób w ich deubikwitynacji i obniża aktywność tego ważnego czynnika transkrypcyjnego.

Zdolność do degradacji mRNA, jak i wyciszenia aktywności NF- κ B spowodowały, że MCPIP1 badano również pod kątem różnicowania komórkowego. Udowodniono, że MCPIP1 reguluje procesy neurogenezy, angiogenezy i osteogenezy. Problematiczna była rola MCPIP1 w adipogenezie, tj. w procesie powstawania komórek tłuszczowych.

W niniejszej pracy doktorskiej pokazano, że MCPIP1 jest zaangażowane w adipogenezę, a zebrane wyniki pozwalają wnioskować, że MCPIP1 jest białkiem kontrolującym wczesny etap procesu różnicowania. W szczególności wykazano, że czynniki adipogenne - insulina, IBMX i deksametazon - indukują ekspresję genu *Mcpip1* w preadipocytach linii 3T3-L1. Po indukcji adipogenezy wzrost poziomu mRNA kodującego *Mcpip1* jest tymczasowy, jednak poziom białka rośnie w trakcie różnicowania i w dojrzałych adipocytach osiąga poziom pięciokrotnie wyższy w porównaniu do preadipocytów. Aby zrozumieć rolę *Mcpip1* w przebiegu adipogenezy zbadano preadipocyty z wyciszoną ekspresją *Mcpip1*. Zaobserwowano, że zmniejszonej ekspresji *Mcpip1*

towarzyszy zwiększony poziom ekspresji czynników transkrypcyjnych odpowiadających za różnicowanie - C/ebp β i Ppary. Co ciekawe, zwiększenie poziomu MCPIP1 w preadipocytach wywołane ekspresją egzogenego białka skutkuje obniżeniem poziomu C/ebp β i Ppary oraz zmniejszeniem wydajności adipogenezy. Interesujące jest to, że MCPIP1 wpływa na przebieg różnicowania tylko jeśli do jego ekspresji dochodzi przed inicjacją adipogenezy.

Aby odkryć mechanizm interakcji między MCPIP1 a czynnikami transkrypcyjnymi C/ebp β i Ppary, zbadano adipogenezę w obecności MCPIP1 pozbawionego domeny PIN. Odkryto, że tak zmutowane białko nie moduluje ekspresji C/ebp β . Jakkolwiek, poziom Ppary był w dalszym ciągu obniżony, co wskazuje na odmienne mechanizmy regulacji. Dalej zbadano mechanizm rządzący zależnością między ilością MCPIP1 i C/ebp β . W pierwszej kolejności ustalono, że MCPIP1 nie obniża wydajności transkrypcji C/ebp β , ponieważ ani nie zmniejsza aktywacji czynnika zawiadującego transkrypcją C/ebp β (Creb), ani nie wpływa na wiązanie Creb do DNA. Dalej pokazano, że w obecności MCPIP1 czas półtrwania mRNA kodującego C/EBP β ulega skróceniu w komórkach HepG2 z 2 godzin do 1,2 godziny. Posługując się zestawem reporterowych konstrukatów genetycznych wykazano, że MCPIP1 (ale nie MCPIP1 z nieczynną domeną PIN) obniża ilość białka kodowanego przez transkrypt z przyłączonym 3'UTR transkryptu C/EBP β . Zidentyfikowano również rejon 3'UTR podlegający tej regulacji. Zebrane wyniki pozwalają wnioskować, że MCPIP1 bezpośrednio i negatywnie reguluje ilość mRNA kodującego C/ebp β .

W rozprawie przedstawiono też wyniki analizy poziomu mRNA kodującego MCPIP1 w podskórnej tkance tłuszczowej myszy i człowieka. Porównując poziom ekspresji MCPIP1 między osobnikami otyłymi i o prawidłowej masie pokazano, że w rozrośniętej tkance tłuszczowej ilość mRNA kodującego MCPIP1 jest wyższa. Prawdopodobnym wytłumaczeniem powyższej obserwacji jest obecność stanu zapalnego w tkance tłuszczowej osobników otyłych. Tezę tę popierają obserwacje, że w tkance tłuszczowej otyłych myszy (model *db/db*) poziom mRNA kodującego *Mcpip1* koreluje z poziomem mRNA białka markerowego makrofagów CD14 oraz że stymulacja preadipocytów i adipocytów 3T3-L1 prozapalną cytokiną IL-1 β podnosi poziom mRNA kodującego *Mcpip1*. Co ciekawe jednak, wzrost poziomu mRNA przekłada się na wzrost poziomu białka tylko w preadipocytach.

Opisane w pracy doktorskiej wyniki pozwalają przypuszczać, że obserwowany u otyłych z syndromem metabolicznym stan zapalny tkanki tłuszczowej może skutkować podwyższeniem ekspresji MCPIP1 w komórkach prekursorowych adipocytów. W efekcie dochodzić może do

zahamowania adipogenezy w tkance tłuszczowej i gromadzenia trójglicerydów w komórkach innych narządów. Sytuacja taka prowadzi do rozwoju insulinooporności, cukrzycy typu 2 i chorób serca. Dlatego interesującym podejściem terapeutycznym w chorobach związanych z otyłością wydaje się obniżenie ekspresji MCP1 w komórkach prekursorowych adipocytów.

Praca zawiera wyniki opublikowane w:

Monocyte Chemoattractant Protein-Induced Protein 1 (MCP1) Enhances Angiogenic and Cardiomyogenic Potential of Murine Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells.

Labeledz-Maslowska A, **Lipert B**, Berdecka D, Kedracka-Krok S, Jankowska U, Kamycka E, Sekula M, Madeja Z, Dawn B, Jura J, Zuba-Surma EK.

PLoS One. 2015 Jul 27;10(7):e0133746

