

## **Rola białka MCPIP1 w odpowiedzi keratynocytów na stres**

Białko MCPIP1, kodowane przez gen *ZC3H12A* jest ważnym regulatorem równowagi immunologicznej. Jednym z mechanizmów tej regulacji jest zdolność białka MCPIP1 do degradacji mRNA cytokin prozapalnych, takich jak IL-1 $\beta$  oraz IL-6, co umożliwia obecność domeny PIN oraz palca cynkowego. Drugim mechanizmem regulacji stanu zapalnego przez białko MCPIP1 jest hamowanie aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF $\kappa$ B, który jest kluczowym aktywatorem stanu zapalnego. Białko MCPIP1 degraduje również miRNA oraz RNA pochodzenia wirusowego. Wpływa też na szereg procesów, takich jak apoptoza, cykl komórkowy, angiogeneza czy adipogeneza.

Celem pracy było sprawdzenie roli MCPIP1 w odpowiedzi keratynocytów na stymulację czynnikami stresowymi: UVB i IL-17A oraz charakterystyka jego alternatywnie składanego transkryptu.

Promieniowanie UV stanowi największy środowiskowy karcynogen. Organem najbardziej narażonym na jego działanie jest skóra. Chroniczna ekspozycja skóry na promieniowanie UV powoduje szereg patologicznych zmian, takich jak fotostarzenie, immunosupresja czy nowotworzenie. Pierwszym etapem odpowiedzi komórek skóry na promieniowanie UV jest aktywacja stanu zapalnego. Nieznana jest natomiast rola białka MCPIP1 w regulacji tego stanu. Dlatego jednym z postawionych celów w niniejszej pracy jest zbadanie roli białka MCPIP1 w regulacji odpowiedzi keratynocytów ludzkich na promieniowanie UVB, które jest odpowiedzialne za powstawanie stanu zapalnego w wierzchnich warstwach skóry. Wykazano, że poziom MCPIP1 zmienia się w sposób dynamiczny po naświetlaniu promieniowaniem UVB. Udowodniono, że promieniowanie UVB nie wpływa na stabilność mRNA, ale mocno stabilizuje poziom białka MCPIP1. Stosując szereg inhibitorów farmakologicznych wykazano, że ścieżka aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF $\kappa$ B jest zaangażowana w aktywację białka MCPIP1 pod wpływem promieniowania UVB. Wyciszenie MCPIP1 przy pomocy siRNA skutkuje wzrostem przeżywalności oraz aktywności metabolicznej keratynocytów poddanych działaniu promieniowania UVB. Białko MCPIP1 jest również zaangażowane w regulację stanu zapalnego indukowanego promieniowaniem UVB, na co wskazuje wzrost poziomu transkryptów związanych z odpowiedzią zapalną oraz wzrost poziomu wydzielanych cytokin prozapalnych w keratynocytach z wyciszonym białkiem MCPIP1. Zaobserwowano również,

że zahamowanie ekspresji MCPIP1 wpływa na szereg procesów indukowanych promieniowaniem UVB, takich jak aktywacja kinaz MAP, apoptoza czy regulacja cyklu komórkowego.

Łuszczyca jest chorobą skóry, której cechą charakterystyczną jest podwyższony poziom IL-17A. Badania donoszą, że u pacjentów dotkniętych łuszczycą występuje podwyższony poziom mRNA kodującego białko MCPIP1, który wraca do poziomu podstawowego po zastosowaniu terapii opartej na przeciwciałach anti-IL-17A/IL-17R. Rola białka MCPIP1 w patogenezie tej choroby nie jest dokładnie poznana. Dlatego kolejnym celem niniejszej pracy było przybliżenie roli białka MCPIP1 w komórkach skóry stymulowanych IL-17A. Zaobserwowano, że stymulacja komórek HaCaT przy użyciu IL-17A skutkuje wzrostem MCPIP1 na poziomie mRNA oraz białka. Wykazano, że w aktywację białka MCPIP1 pod wpływem IL-17A zaangażowany jest szlak sygnalizacyjny STAT3. Wyciszenie białka MCPIP1 przy użyciu shRNA powoduje wzrost poziomu mRNA szeregu metaloproteinaz oraz innych transkryptów związanych z łuszczycą.

Gen *ZC3H12A* kodujący białko MCPIP1 jest już dobrze poznany w aspekcie stanu zapalnego. Jednak do tej pory nie ma żadnych doniesień na temat potencjalnych alternatywnych form składania mRNA *ZC3H12A* oraz funkcji jakie mogą one pełnić w komórce. Dlatego ostatnim celem pracy było zidentyfikowanie jednego z przewidywanych wariantów składania mRNA *ZC3H12A* oraz przybliżenie jego funkcji w komórkach linii A431. Pokazano, że alternatywny Wariant 3 podobnie jak pozostałe warianty mRNA *ZC3H12A* występuje na wyższym poziomie w komórkach prawidłowych NHEK niż w komórkach nowotworowych A431, a jego ekspresja jest aktywowana pod wpływem cytokin prozapalnych oraz inhibitora proteasomu, epoksomycyny. W ekspresję Wariantu 3 zaangażowana jest ścieżka mTOR. Nadekspresja Wariantu 3 skutkuje syntezą białka wielkości o blisko połowę mniejszej od podstawowego białka MCPIP1, które prawdopodobnie nie posiada własności RNazowej, ale w przeciwieństwie do białka podstawowego przyspiesza podziały komórek A431, a także podnosi poziom białek związanych z regulacją cyklu komórkowego. Udowodniono również, że białko MCPIP1 degraduje transkrypt swojego alternatywnego wariantu mRNA.

Podsumowując, w niniejszej pracy dowiedziono, że białko MCPIP1 jest ważnym regulatorem stanu zapalnego w komórkach naskórka poddanych działaniu czynników stresowych, takich jak promieniowanie UVB czy IL-17A, jak również po raz pierwszy udowodniono istnienie wcześniej nieznannej, alternatywnej formy mRNA *ZC3H12A*.