

Streszczenie

Komórka nabłonkowa może ulegać molekularnemu przeprogramowaniu do komórki o fenotypie mezenchymalnym (EMT) w procesie określonym jako przejście nabłonkowo-mezenchymalne. W jego przebiegu obserwuje się stopniowe obniżanie ekspresji białek wzmacniających przyleganie do siebie komórek, w tym E-kadheryny, kładyn, okludyn, przy równoczesnym wzroście ekspresji markerów mezenchymalnych, takich jak N-kadheryna, wimentyna, SNAI1 i SNAI2. W konsekwencji dochodzi do zaburzeń oddziaływań w obrębie komórek nabłonkowych, co prowadzi do ich zwiększonej ruchliwości i nabywania przez nie zdolności do migracji. Ma to szczególne znaczenie w przypadku komórek nowotworowych, ponieważ obecnie prowadzone badania dostarczają coraz więcej dowodów na udział EMT w promowaniu metastazy. Przejście nabłonkowo-mezenchymalne może zostać zainicjowane w odpowiedzi na sygnały pochodzące z mikrośrodowiska guza. Są one związane z aktywnością wielu szlaków sygnałowych, w tym TGF- β , WNT, Notch, Hedgehog, integrynowego oraz receptorowych kinaz tyrozynowych, a także cząsteczek miRNA.

Celem pracy było wytypowanie mRNA i miRNA zaangażowanych w EMT różnicujących wycinki endometrium, przyporządkowanie genów różnicujących do zdefiniowanych szlaków sygnałowych uczestniczących w regulacji EMT, oraz sprawdzenie, które z wytypowanych miRNA mogą stanowić potencjalny regulator ekspresji genów związanych ze szlakami sygnałowymi regulującymi EMT, różnicujących wycinki endometrium.

Materiał badany stanowiło 50 wycinków endometrium: 40 z rozpoznaniem rakiem endometrium oraz 10 stanowiących grupę kontrolną. Grupa badana została podzielona w zależności od stopnia histopatologicznego zróżnicowania: G1 – 10, G2 – 20 i G3 – 10 wycinków. Analiza molekularna obejmowała wyznaczenie profilu ekspresji genów kodujących białka zaangażowane w EMT i profilu ekspresji miRNA metodą mikromacierzy ekspresyjnych Affymetrix oraz walidację profilu ekspresji mRNA metodą RT-qPCR. Oceniono również, które z wytypowanych różnicujących miRNA stanowią potencjalny regulator ekspresji genów uczestniczących w procesie EMT.

Największe różnice w aktywności transkrypcyjnej genów uznanych za markery przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego w porównaniu do kontroli występują w raku endometrium G2, co może sugerować, że proces EMT w tym nowotworze zaczyna się w stopniu G2. Profil ekspresji genów związanych z EMT wskazuje, że w jego regulacji

uczestniczy 5 szlaków sygnałowych: TGF- β , integrynowy, WNT, receptorowych kinaz tyrozynowych oraz Notch. Natomiast brak istotnych statystycznie zmian w ekspresji genów związanych ze szlakiem Hedgehog może sugerować, że nie uczestniczy on w procesie EMT w raku endometrium. Obniżenie ekspresji *SMAD3* przy zwiększonej aktywności miR-625, miR-874, miR-10a i miR-200b oraz nadekspresja *SMAD6* przy wyciszeniu miR-134 wskazują na udział cząsteczek miRNA w regulacji ekspresji genów szlaku TGF- β w raku endometrium.

Słowa kluczowe: rak endometrium, metastaza, EMT

Abstract

The epithelial cell may undergo molecular reprogramming into the mesenchymal cell in a process called epithelial-mesenchymal transition (EMT). During EMT, a gradual decrease in expression of proteins enhancing cell adhesion, including E-cadherin, claudins, occludins, is observed, while the expression of mesenchymal markers such as N-cadherin, vimentin, SNAIL and SNAI2 increases. As a consequence, interactions of epithelial cells are disturbed, which leads to their increased mobility and ability to migrate. This is particularly important in the case of cancer cells, as current studies provide more and more evidence of the involvement of EMT in promoting metastasis. Epithelial-mesenchymal transition can be initiated in response to signals from the tumor microenvironment. They are associated with the activity of numerous signaling pathways, including TGF- β , WNT, Notch, Hedgehog, integrins and receptor tyrosine kinases, as well as miRNA molecules.

The aim of the study was to select EMT-related genes and miRNA differentiating endometrial samples, assign differentiating genes to defined signaling pathways involved in EMT regulation, and to determine which of the selected miRNAs could be a potential regulator of expression of genes that differentiate endometrial samples.

The study material consisted of 50 endometrial samples: 40 with diagnosed endometrial cancer and 10 without neoplastic changes (control group). The study group was further divided according to the histological differentiation: G1 - 10, G2 - 20 and G3 - 10 samples. Molecular analysis included the assessment of the expression profile of genes associated with EMT and the expression profile of miRNA using the Affymetrix microarrays, as well as validation of the mRNA expression profile by RT-qPCR. It was also assessed which of the selected differentiating miRNAs are a potential regulator of the EMT-related genes expression.

The largest differences in the transcriptional activity of genes considered as markers of epithelial-mesenchymal transition compared to control occur in G2 endometrial cancer, which may suggest that the EMT process in this tumor begins at grade 2. The expression profile of EMT-related genes indicates that 5 signaling pathways participate in its regulation: TGF- β , integrins, WNT, receptor tyrosine kinases and Notch. However, the lack of statistically significant changes in expression of genes associated with the Hedgehog pathway may suggest that it does not participate in EMT in endometrial cancer. The decrease in *SMAD3* expression with increased activity of miR-625, miR-874, miR-10a and miR-200b, and

overexpression of *SMAD6* with silencing miR-134 indicate the involvement of miRNA molecules in the regulation of gene expression of the TGF- β pathway in endometrial cancer.

Key words: endometrial cancer, metastasis, EMT