

# Icke-kodande RNA

Forskare från Uppsala universitet har nyligen publicerat en artikel i tidskriften *Haematologica* som visar att ett icke proteinkodande RNA, PVT1, kan styra genuttryck och tillväxt av den hematopoietiska tumörformen multipelt myelom. Samma forskargrupp har i tidigare studier visat att en epigenetiskt reglerad gensignatur skiljer tumörcellerna från normala celler, vilken kunde kopplas till en ökad proliferativ kapacitet samt sämre prognos hos patienter med multipelt myelom. I den nya artikeln visar forskarna att PVT1 binder den aktiva komponenten EZH2 i PRC2-proteinkomplexet och fungerar som guide åt komplexet till de gener som ska avaktiveras. Den ökade förståelsen för hur EZH2 och PVT1 agerar i multipelt myelom har öppnat upp nya möjligheter för terapeutisk intervention.

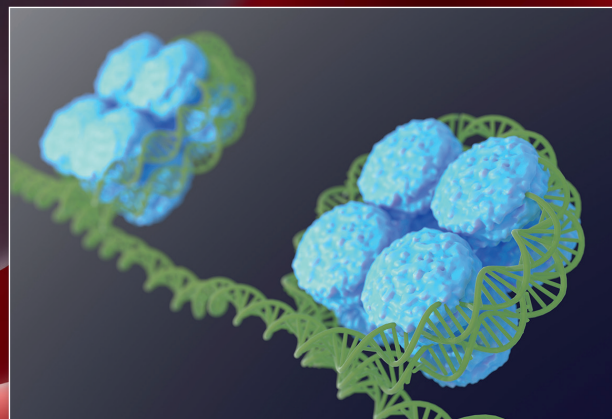
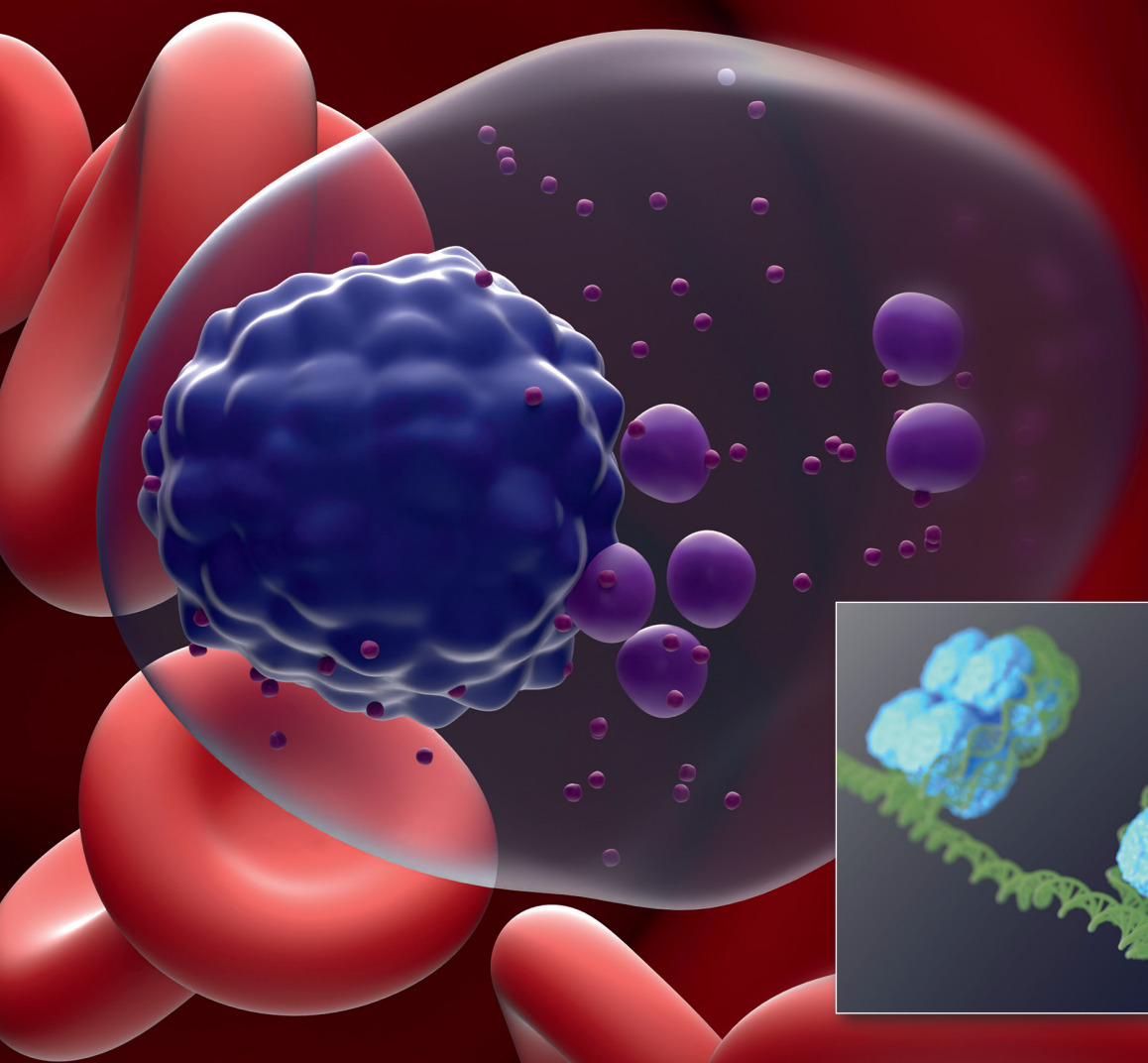
**M**ultipelt myelom är en heterogen hematologisk malignitet som karakteriseras av klonal expansion av maligna plasmaceller inom benmärgen<sup>1</sup>. Tumörformen är den näst vanligaste hematologiska maligniteten och kännetecknas av komplexa genetiska avvikelser, inklusive kromosomala translokationer och somatiska mutationer. De genetiska avvikelserna påverkar de signalvägar som behövs för reglering av cellcykeln, DNA-reparation och epigenetisk modulering<sup>2-4</sup>. Behandlingsstrategier inkluderar högdos-kemoterapi, autolog stamcellstransplantation samt riktade terapier såsom proteasomihämmare och immunomodulatorer. Trots dessa terapeutiska innovationer är sjukdoms återfall och läkemedelsresistens fortfarande betydande utmaningar<sup>5</sup>. Det gör att behandlingen av

multipelt myelom är kliniskt utmanande och nya terapeutiska alternativ är nödvändiga.

Våra tidigare studier har visat att epigenetisk reglering av genuttryck spelar en avgörande roll för patogenes av multipelt myelom. Det inkluderar både avvikande DNA-metylering och onormala mönster av histonmodifieringar<sup>6-12</sup>.

Från ett kliniskt perspektiv har utvecklingen av läkemedel som förändrar epigenetiska mekanismer gjort betydande framsteg. De ingår idag i den arsenal av behandlingsalternativ som står till förfogande för ett flertal cancer typer såsom myelodysplastiskt syndrom, kutant T-cellslymfom och perifera T-cellslymfom<sup>13</sup>. Många studier har visat att behandlingar med dessa läkemedel i kombination med konventionella cytostatika och immunterapi är

# – multifunktionell biologisk schweizisk armékniv med terapeutisk potential



effektivare än läkemedlen var för sig eftersom de tillsammans gör tumörceller mer känsliga för behandling, samt kan överkomma terapiresistens hos patienter.

#### EPIGENETIK – VERKTYG FÖR GENREGLERING

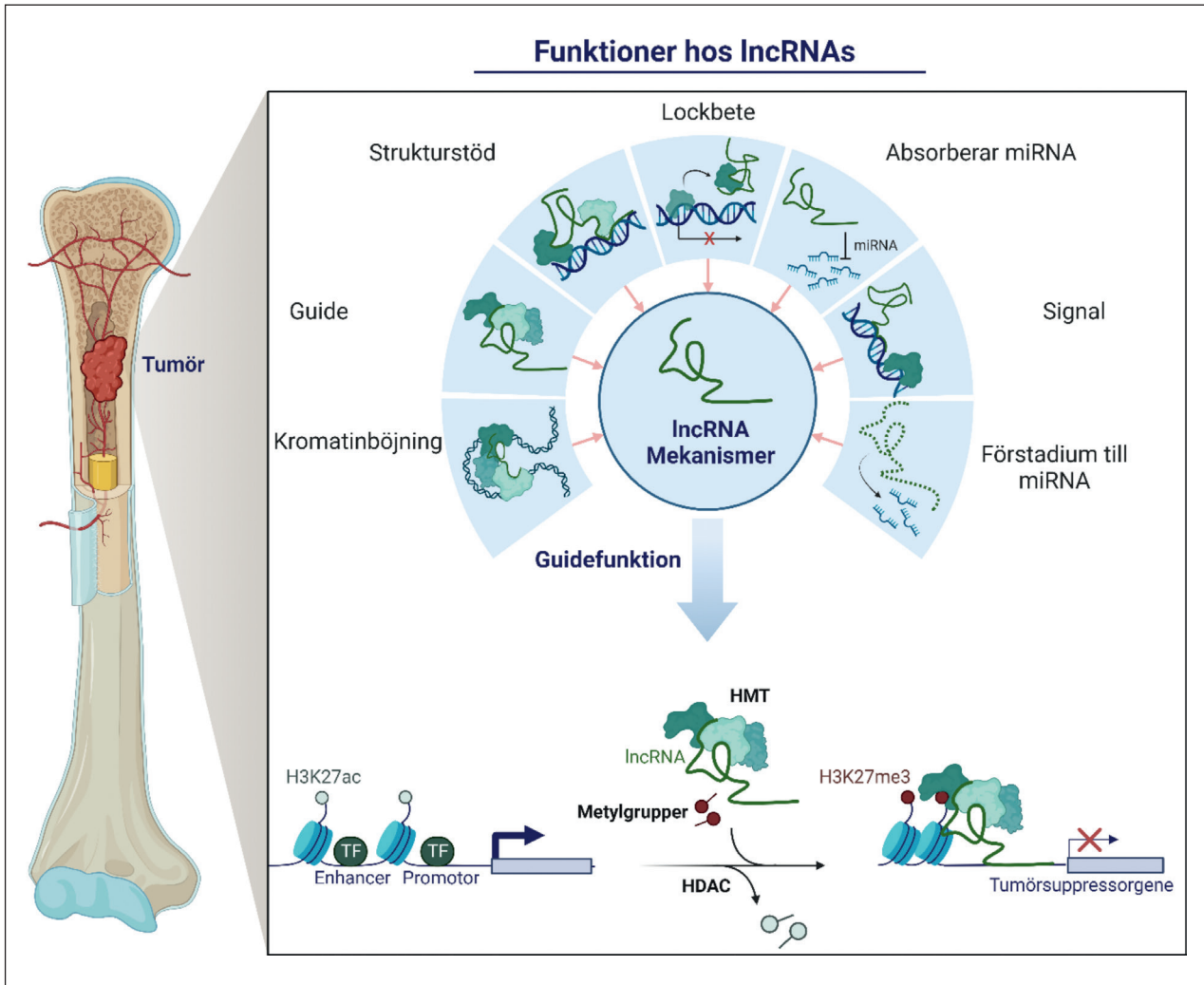
Epigenetik definieras av de förändringar i genuttryck som inte kan härledas till den underliggande DNA-sekvensen. Istället kontrolleras genernas uttryck genom kemiska förändringar hos DNA, via DNA-metylering, histonmodificeringar och påverkan av icke-kodande RNA-molekyler.

För att vårt DNA ska kunna rymmas i det begränsade utrymmet i cellkärnan, och för att organisera och reglera genuttrycket, är DNA tätt lindat runt histoner i den komplexa struktur som utgör kromatin. Histonerna fungerar

som ”trådrullar” där DNA lindas upp i ett återkommande mönster av nukleosomer. Packningen av DNA i kromatin är dynamisk och kan ändras för att reglera genuttrycket. Vid behov kan kromatinet kondenseras eller vecklas ut för att göra specifika genetiska områden mer eller mindre tillgängliga för transkription, vilket påverkar hur gener i dessa områden kan uttryckas. Denna nivå av genreglering är av stor betydelse för cellens överlevnad och differentiering.

Långt icke-kodande RNA (long noncoding RNA, lncRNA) är en grupp RNA-molekyler som inte kodar för proteiner. Trots att de inte översätts till proteiner har lncRNA visat sig vara kritiska för att förstå och studera olika biologiska och sjukdomsrelaterade mekanismer. Omfattande genomsekvensering har avslöjat den intrikata

## ••• cancercellers tillväxt



Figur 1. Illustration av hur lncRNA fungerar och agerar i tumörceller. Bilden är gjord i biorender.com.

regulatoriska potentialen hos lncRNA inom hematologiska maligniteter. Särskilt har det visats att lncRNA direkt kan modulera kromatinets struktur och därigenom påverka genuttryck och sjukdomsutveckling genom interaktion med DNA, RNA och proteiner på ett vävnads- eller kontextspecifikt sätt.

Nya studier har också belyst den komplexa epigenetiska kontrollen av uttrycket av lncRNA i cancer. Det ger en rationell grund för att utforska möjliga terapeutiska implikationer hos lncRNA, men även de epigenetiska mekanismer som styr deras aktivitet. Förändringar av uttrycket av lncRNA har till exempel föreslagits bidra till multipelt myeloms patogenes, sjukdomsutfall för patienter och läkemedelsresistens genom att påverka kritiska vägar som är inblandade i proliferation, apoptos och immunrespons. Ökad kunskap om det komplexa nätverket av lncRNA-medierade molekylära mekanismer kan därför avslöja nya terapeutiska mål och diagnostiska markörer för multipelt myelom.

### PVT1 PÅVERKAR GENUTTRYCKET

*PVT1* (Plasmacytoma Variant Translocation 1) är en lång icke-kodande RNA-molekyl som har uppmärksammats för sin roll i regleringen av genuttryck. Tidigare forskning har visat att *PVT1* är överuttryckt i flera olika cancerformer, in-

klusive multipelt myelom. *PVT1* förefaller påverka genuttrycket genom flera mekanismer. Det kan dels fungera som en miRNA-”sponge”, vilket innebär att det binder till och inaktiverar mikroRNA-molekyler som normalt skulle tysta uttrycket av till exempel onkogener. *PVT1* kan även interagera med andra epigenetiska markörer och modifiera histoner för att öppna upp kromatinstrukturer och därmed öka tillgängligheten för transkriptionsfaktorer och aktiverat genuttryck (Figur 1).

Nyligen har vi i en studie publicerad i tidskriften *Haematologica* kunnat påvisa att *EZH2*, som är den katalytiska komponenten i proteinkomplexet polycomb repressive complex 2 (PRC2), tillsammans med *PVT1* kan interagera och samverka i myelomceller<sup>6</sup>. PRC2 adderar metylgrupper till lysine 27 i histon H3 vilket leder till att kromatinet blir mer kompakt och därmed inhiberar genuttryck. I den nya artikeln kunde vi visa att selektiv igenkänning av specifika DNA-sekvenser kan ske genom att *PVT1* rekryterar *EZH2* och fungerar som guide till de gener som ska göras otillgängliga för transkriptionsfaktorer och därmed inaktivering av genuttryck (Figur 1).

*PVT1* visade sig också kunna kopplas till ett aggressivare sjukdomsförlopp och en minskad överlevnad hos patienter med multipelt myelom, till synes oberoende av tidigare diag-

nostiserade cytogenetiska förändringar. Detta öppnar för möjligheten att använda epigenetiska signaturer för klassificering av multipelt myelom, och i förlängningen leda till nya behandlingsalternativ.

EZH2 kan binda till *PVT1* och bistå rekrytering av komplexet till båda tumörsuppressorgener eller gener som stimulerar cellerna till att genomgå celledöd, vilket leder till att dessa gener tystas genom förändringar i kromatinstrukturen. Denna interaktion leder till en förstärkning av de epigenetiska förändringar som är associerade med myelomutveckling och progression. Insikten i hur EZH2 och *PVT1* agerar i multipelt myelom har öppnat upp nya möjligheter för terapeutisk intervention. Vi undersöker nu olika strategier för att evaluera hur dessa epigenetiska faktorer kan vara användbara som mål för behandling. EZH2-hämmare, som till exempel tazemetostat, har visat sig vara effektiva i behandlingen av vissa cancerformer. Dessa läkemedel är potentiellt användbara för att kontrollera myelomtillväxt genom att hämma EZH2-aktiviteten och därmed aktivera tumörsuppressorgener.

#### PARADIGMSKIFTE FÖR RNA-TERAPIER

RNA-terapi är en innovativ grupp av behandlingsmetoder som utnyttjar olika typer av RNA-molekyler för att behandla sjukdomar. Dessa terapier inkluderar användningen av messenger-RNA (mRNA) som i fallet med Covid-19-vaccinerna, små interfererande RNA (siRNA), antisense-RNA och långt icke-kodande RNA (lncRNA) för att påverka genuttryck, blockera sjukdomsorsakande gener eller stimulera produktionen av proteiner. RNA-terapi har redan revolutionerat behandlingen av olika medicinska tillstånd och belönades 2023 med Nobelpriset i medicin. Det gör denna metod särskilt intressant att också applicera inom andra medicinska områden, inklusive cancer och multipelt myelom. Forskning och utveckling inom detta område pågår aktivt och erbjuder nya möjligheter för målinriktad och personlig medicin.

I Haematologica-publikationen utforskade vi olika metoder för att hämma *PVT1*, inklusive användning av antisense-oligonukleotider för att störa dess funktion. Eftersom multipelt myelom är en komplex sjukdom krävs det mer forskning om nya innovativa lösningar, inklusive RNA-baserade terapier, för att överbrygga kliniska problem så som utveckling av behandlingsresistens och återfall. Forskningen pågår kontinuerligt och med ökad förståelse för epigenetiska mekanismer och deras roll i myelom, kan vi hoppas på bättre behandlingsalternativ och ökad överlevnad för drabbade patienter. Detta är bara början på resan mot att besegra multipelt myelom med ett nytt fokus genom epigenetikens lins.

Publikationen i sin helhet kan nås och läsas på följande länk: <https://haematologica.org/article/view/haematol.2023.282965>

#### REFERENSER

1. Fairfield H, Falank C, Avery L, Reagan MR. Multiple myeloma in the marrow: pathogenesis and treatments. *Ann N Y Acad Sci*. 2016;1364(1):32-51.

2. Kazandjian D. Multiple myeloma epidemiology and survival: A unique malignancy. *Semin Oncol*. 2016;43(6):676-81.

3. Alzrigat M, Parraga AA, Jernberg-Wiklund H. Epigenetics in multiple myeloma: From mechanisms to therapy. *Semin Cancer Biol*. 2018;51:101-15.

4. Morgan GJ, Walker BA, Davies FE. The genetic architecture of multiple myeloma. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(5):335-48.

5. Pawlyn C, Davies FE. Toward personalized treatment in multiple myeloma based on molecular characteristics. *Blood*. 2019;133(7):660-75.

6. Nylund P, Garrido-Zabala B, Parraga AA, Vasquez L, Pyl PT, Harinck GM, et al. PVT1 interacts with polycomb repressive complex 2 to suppress genomic regions with pro-apoptotic and tumour suppressor functions in multiple myeloma. *Haematologica*. 2023.

7. Kalushkova A, Fryknas M, Lemaire M, Fristedt C, Agarwal P, Eriksson M, et al. Polycomb target genes are silenced in multiple myeloma. *PLoS One*. 2010;5(7):e11483.

8. Agarwal P, Alzrigat M, Parraga AA, Enroth S, Singh U, Ungerstedt J, et al. Genome-wide profiling of histone H3 lysine 27 and lysine 4 trimethylation in multiple myeloma reveals the importance of Polycomb gene targeting and highlights EZH2 as a potential therapeutic target. *Oncotarget*. 2016;7(6):6809-23.

9. Alzrigat M, Parraga AA, Agarwal P, Zureigat H, Osterborg A, Nahi H, et al. EZH2 inhibition in multiple myeloma downregulates myeloma associated oncogenes and upregulates microRNAs with potential tumor suppressor functions. *Oncotarget*. 2017;8(6):10213-24.

10. Nylund P, Atienza Parraga A, Haglof J, De Bruyne E, Menu E, Garrido-Zabala B, et al. A distinct metabolic response characterizes sensitivity to EZH2 inhibition in multiple myeloma. *Cell Death Dis*. 2021;12(2):167.

11. Agirre X, Castellano G, Pascual M, Heath S, Kulis M, Segura V, et al. Whole-epigenome analysis in multiple myeloma reveals DNA hypermethylation of B cell-specific enhancers. *Genome Res*. 2015;25(4):478-87.

12. Kalushkova A, Nylund P, Parraga AA, Lennartsson A, Jernberg-Wiklund H. One Omics Approach Does Not Rule Them All: The Metabolome and the Epigenome Join Forces in Haematological Malignancies. *Epigenomes*. 2021;5(4).

13. Bennett RL, Licht JD. Targeting Epigenetics in Cancer. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2018;58:187-207.

PATRICK NYLUND, POST-DOC VID INSTITUTIONEN FÖR IMMUNOLOGI, GENETIK OCH PATOLOGI, UPPSALA UNIVERSITET, PATRICK.NYLUND@IGP.UU.SE



HELENA JERNBERG WIKLUND, PROFESSOR, INSTITUTIONEN FÖR IMMUNOLOGI, GENETIK OCH PATOLOGI, UPPSALA UNIVERSITET, HELENA.JERNBERG\_WIKLUND@IGP.UU.SE

