

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-234

**РОЛЬ М6А-МОДИФИКАЦИЙ РНК В РАЗВИТИИ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ\*****THE ROLE OF M6A RNA MODIFICATIONS IN THE DEVELOPMENT OF HEPATOCELLULAR CARCINOMA**

К. С. Евменов<sup>1,2</sup>, В. В. Володин<sup>1,3</sup>, Н. И. Пономарева<sup>1</sup>, С. А. Брезгин<sup>1,4</sup>, А. С. Тихонов<sup>1,5</sup>,  
И. В. Карандашов<sup>1</sup>, Е. О. Баярова<sup>6</sup>, А. Ю. Житкевич<sup>6</sup>, И. В. Гордейчук<sup>6</sup>,  
В. П. Чуланов<sup>1,7</sup>, Д. С. Костюшев<sup>1,4,8</sup>, А. П. Костюшева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России

<sup>2</sup>Московский физико-технический институт, Долгопрудный

<sup>3</sup>Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва

<sup>4</sup>Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

<sup>5</sup>Российский университет дружбы народов, Москва

<sup>6</sup>Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М. П. Чумакова РАН, Москва

<sup>7</sup>Национальный медицинский исследовательский центр

фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний, Москва

<sup>8</sup>Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

K. S. Evmenov<sup>1,2</sup>, V. V. Volodin<sup>1,3</sup>, N. I. Ponomareva<sup>1</sup>, S. A. Brezgin<sup>1,4</sup>, A. S. Tikhonov<sup>1,5</sup>,  
I. V. Karandashov<sup>1</sup>, E. O. Bayurova<sup>6</sup>, A. Y. Zhitkevich<sup>6</sup>, I. V. Gordeychuk<sup>6</sup>,  
V. P. Chulanov<sup>1,7</sup>, D. S. Kostyushev<sup>1,4,8</sup>, A. P. Kostyusheva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sechenov First Moscow State Medical University

<sup>2</sup>Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny

<sup>3</sup>Engelhardt Institute of Molecular Biology RAS, Moscow

<sup>4</sup>Sirius University of Science and Technology, Sochi

<sup>5</sup>Peoples' Friendship University of Russia, Moscow

<sup>6</sup>Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products RAS, Moscow

<sup>7</sup>National Medical Research Center for Phthisiopulmonology and Infectious Diseases, Moscow

<sup>8</sup>Lomonosov Moscow State University

✉ kevmenov@mail.ru

**Аннотация**

Эпитранскриптомный анализ профилей м6А-метилирования в биопсиях пациентов с хроническими гепатитами В и D показал наличие дифференциального метилирования сайтов м6А в РНК у пациентов на разных стадиях болезни печени. С помощью направленного м6А-метилирования РНК в исследовании *in vitro* продемонстрировано участие отдельных м6А-сайтов в увеличении онкогенности на двух моделях клеток гепатомы человека.

**Abstract**

Epitranscriptomic analysis of M6A-methylation profiles in biopsies of patients with chronic hepatitis B and D showed the presence of differentially methylated M6A sites in RNA in patients at different stages of liver disease. Using targeted m6A RNA methylation, an *in vitro* study demonstrated the involvement of individual sites in increasing cell malignancy in two models of human hepatoma cells.

Метилирование м6А является наиболее распространенной модификацией РНК в эукариотических клетках, частота метилирования составляет ~0,1–0,4 % [1]. Метилирование м6А играет ключевую роль в метаболизме РНК, включая процессы транскрипции, трансляции, деградации и др. Известно, что м6А-метилирование участвует в процессах эмбрионального развития, клеточной дифференцировки, репликации вирусов, а также процессах онкогенеза, опухолевого роста и метастазирования [2].

\* Исследование выполнено при поддержке РФФ (проект № 22-75-10032).

© К. С. Евменов, В. В. Володин, Н. И. Пономарева, С. А. Брезгин, А. С. Тихонов, И. В. Карандашов, Е. О. Баярова, А. Ю. Кондрашова, И. В. Гордейчук, В. П. Чуланов, Д. С. Костюшев, А. П. Костюшева, 2024

Изменения в м6А-метилировании опухолевых клеток может влиять на клеточный метаболизм, поддерживая гомеостаз тканевой среды и формируя благоприятное микроокружение для более эффективного роста. Использование механизмов метаболической адаптации является важной составляющей высокой выживаемости и агрессивности злокачественных опухолей. Кроме того, известно о влиянии м6А-метилирования на различия в ответе пациентов с онкологическими заболеваниями на противоопухолевые препараты [3]. В этой связи определение м6А-сайтов и уровней их метилирования может использоваться для прогнозирования развития и течения опухолевых заболеваний, а также ответа на применяемую терапию [4].

Целью данной работы было изучение профиля м6А-метилирования РНК у пациентов с хроническим гепатитом В (ХГВ) и В+D (ХГВ+D) и установление корреляций м6А-метилирования с прогрессированием болезни печени. Используя метод полнотранскриптомного MeRIP-секвенирования, был проведен анализ транскриптомных и эпитранскриптомных модификаций РНК в образцах биопсий здоровых доноров и пациентов с ХГВ и ХГВ+D на разных стадиях прогрессии заболевания печени (стадии фиброза печени по шкале METAVIR F0-F4). В результате при прогрессии заболевания от F0 до F4 были обнаружены сотни дифференциально экспрессированных генов и сотни дифференциально представленных сайтов м6А-метилирования.

С помощью системы сайт-направленного м6А-метилирования dCas13-METTL было проведено внесение м6А-меток в 95 сайтов РНК человека, дифференциально представленных у изученных пациентов, и определено влияние м6А-метилирования по одиночным сайтам на пролиферативную активность клеток HepG2. В результате было выявлено 15 сайтов, модификация которых приводила к усилению пролиферации клеток, детектируемой с помощью высокопроизводительной микроскопии. Далее определяли влияние 15 идентифицированных сайтов на миграцию клеток гепатомы человека HepG2 и Huh7. Продемонстрировано, что все идентифицированные сайты усиливали миграцию клеток человека, при этом усиление миграции было воспроизводимо на обеих линиях клеток и достигало 2–4-кратных значений.

В результате впервые идентифицированы дифференциально представленные сайты м6А у пациентов с ХГВ и ХГВ+D и показана про-онкогенная роль выявленных сайтов на моделях клеток гепатомы человека HepG2 и Huh7.

#### **Литература**

1. Sun T., Wu R., Ming L. The role of m6A RNA methylation in cancer // *Biomed Pharmacother.* 2019. Vol. 112. P. 108613.
2. Gilbert W. V., Bell T. A., Schaening C. Messenger RNA modifications: Form, distribution, and function // *Science.* 2016. Vol. 352 (6292). P. 1408–1412.
3. Han D., Liu J., Chen C. et al. Anti-tumour immunity controlled through mRNA m6A methylation and YTHDF1 in dendritic cells. *Nature.* 2019. Vol. 566 (7743). P. 270–274.
4. An Y., Duan H. The role of m6A RNA methylation in cancer metabolism // *Mol. Cancer.* 2022. Vol. 21 (1). P. 14.