



63 - EL RNA LARGO NO CODIFICANTE LOC339803 INDUCE LA EXPRESIÓN DE CITOQUINAS INFLAMATORIAS EN EL INTESTINO MEDIANTE UN MECANISMO DEPENDIENTE DE LA METILACIÓN M6A DEL RNA

A. Olazagoitia-Garmendia^{1,2}, H. Rojas-Marquez^{1,2}, M. Sebastián de la Cruz^{1,2}, A. Ochoa¹, I. Santin^{1,2,3}, A. Huerta⁴ y A. Castellanos-Rubio^{1,2,3,5}

¹UPV-EHU. ²Instituto Biocruces, Vizcaya. ³CIBERDEM. ⁴Hospital de Galdakao, Vizcaya. ⁵Ikerbasque, Basque Foundation for Science.

Resumen

Introducción: Los niveles de citoquinas inflamatorias están aumentados en el intestino de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (IBD) y enfermedad celiaca (EC). Generalmente, las citoquinas son secretadas por células inmunes pero cada vez es más evidente la contribución de las células epiteliales en el desarrollo del ambiente proinflamatorio característico de estas enfermedades. Los RNA largos no codificantes (lncRNAs) son RNAs de más de 200 bases que no codifican para proteína. Estos RNAs están implicados en el desarrollo de diferentes patologías inflamatorias y regulan múltiples rutas de la respuesta inmune. El lncRNA LOC339893 está localizado en una región asociada a enfermedad inflamatoria intestinal y enfermedad celiaca. Adicionalmente, la N6- metiladenosina (m6A) es la modificación más frecuente en los lncRNAs, y estudios recientes han demostrado su importancia en la regulación de varios procesos biológicos, como la respuesta inmune y emergiendo como diana terapéutica de interés. Las marcas m6A adyacentes al SNP asociado con inflamación intestinal en el lncRNA LOC339803, lo convierten en un candidato interesante en la patogenia de estas enfermedades.

Métodos: Con el fin de describir el mecanismo por el que LOC339803 regula la respuesta inflamatoria en el intestino se utilizó la línea celular intestinal HCT15. Se llevaron a cabo estudios de sobreexpresión y silenciamiento e inmunoprecipitación de proteínas seguidos de análisis de expresión tanto del lncRNA como de miembros de la maquinaria m6A o la respuesta inflamatoria. Los resultados obtenidos en las líneas celulares se confirmaron en biopsias duodenales de pacientes con IBD y CD e individuos control sin condiciones inflamatorias.

Resultados: Los experimentos en la línea celular indicaron que LOC339803 induce la expresión de citoquinas inflamatorias, IL1b e IL6, mediante un mecanismo dependiente de m6A. El lncRNA con el alelo de riesgo, que está más metilado, interacciona preferencialmente con la proteína YTHDC1 que reconoce los motivos m6A, facilitando la localización de LOC339803 en la cromatina. Así, LOC339803 reprime la expresión del gen COMMD1 mediante la unión de las proteínas HDAC1 y TRIM28 al promotor de COMMD1. Esta represión de COMMD1 induce la ruta NFκB, activando la respuesta inflamatoria y la expresión de citoquinas. Paralelamente, los pacientes de ambas enfermedades presentan una mayor expresión de LOC339803 y citoquinas que los controles.

Además, los individuos con el alelo de riesgo tienen niveles basales más altos de estas citoquinas, lo que les predispondría a desarrollar la enfermedad.

Conclusiones: LOC339803 induce la expresión de citoquinas inflamatorias en células intestinales mediante un mecanismo dependiente de la metilación m6A del RNA. Este mecanismo explica parte de la predisposición genética de la inflamación intestinal. La edición de este RNA o la regulación de su metilación podrían abrir la puerta a terapias alternativas para estas enfermedades.