



IKER  
GAZTE  
NAZIOARTEKO  
IKERKETA EUSKARAZ

## V. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2023ko maiatzaren 17, 18 eta 19a  
Donostia, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:  
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)



Aitortu-PartekatuBerdin 3.0

## OSASUN ZIENTZIAK

**RNA luze ez kodetzaileak  
hesteetako hanturazko  
gaixotasunean**

*Ane Olazagoitia Garmendia,  
Maialen Sebastian de la Cruz,  
Leire Bergara Muguruza,  
Henar Rojas Márquez,  
Alain Huerta Madrigal,  
Izortze Santin Gomez eta  
Ainara Castellanos Rubio*

107-114 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.v.04.13>

ANTOLATZAILEA:



BABESLEAK:



LAGUNTZAILEAK:



## RNA luze ez kodetzaileak hesteetako hanturazko gaixotasunean

Ane Olazagoitia-Garmendia<sup>1,2,3</sup>, Maialen Sebastian-delaCruz<sup>2,3</sup>, Leire Bergara-Muguruza<sup>1</sup>, Henar Rojas-Márquez<sup>2,3</sup>, Alain Huerta<sup>3,4,5</sup>, Izortze Santin<sup>1,3,6</sup>, Ainara Castellanos-Rubio<sup>2,3,6,7</sup>

<sup>1</sup>*Biokimika eta Biologia Molekularra Saila, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV-EHU), Leioa*, <sup>2</sup>*Genetika, Antropologia Fisikoa eta Animalien Fisiologia Saila, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa*, <sup>3</sup>*BioCruces Bizkaia Osasun Ikerketarako Institutua, Barakaldo*, <sup>4</sup>*Medikuntza Saila, Euskal Herruko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa*, <sup>5</sup>*Gastroenterologia Saila, Galdakao-Usansolo Ospitalea, Galdakao* <sup>6</sup>*CIBERDEM, Madril*, <sup>7</sup>*IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbo*.  
ane.olazagoitia@ehu.eus

### Laburpena

Zitokinek eragindako hantura kronikoak gaixotasun konplexu desberdinak garatzeko arriskua areagotzen du, hala nola, hesteetako hanturazko gaixotasuna. Azken urtetako ikerketek hantura geneetan dauden aldaerek m<sup>6</sup>A metilazioan duten parte-hartzea nabarmendu dute. Gainera, RNA luze ez kodetzaileak hanturazko gaixotasunen patogenian parte hartzen dute eta RNA metilazioak haien funtzioan eragin dezake. Hemen hesteetako hanturazko gaixotasunaren garapenean parte hartzen duen LOC339803 RNA luze ez kodetzailearen azterketa funtzionala deskribatzen dugu. Orokorrean, gure emaitzek LOC339803 hesteetako hanturaren bitartekari garrantzitsu gisa aurkezten dute eta RNA luze ez kodetzaile hau hesteetako hanturazko gaixotasuna tratatzeko balizko iturri terapeutiko berri gisa aurkezten dugu.

Hitz gakoak: lncRNA, SNP, m<sup>6</sup>A, hantura, HHG, RNA terapiak

### Abstract

*Cytokine mediated sustained inflammation increases the risk to develop different complex chronic inflammatory diseases, such as inflammatory bowel disease. Recent studies highlighted the involvement of inflammation associated gene variants in m<sup>6</sup>A methylation. Moreover, long noncoding RNAs participate in the pathogenesis of inflammatory disorders and their function can be influenced by differential methylation. Here we describe the functional implication of LOC339803 long noncoding RNA in the development of inflammatory bowel disease. Overall, our results support LOC339803 as an important mediator of intestinal inflammation and we present this long noncoding RNA as a potential novel therapeutic target for the treatment of inflammatory bowel disease.*

*Keywords: lncRNA, SNP, m<sup>6</sup>A, inflammation, IBD, RNA therapies*

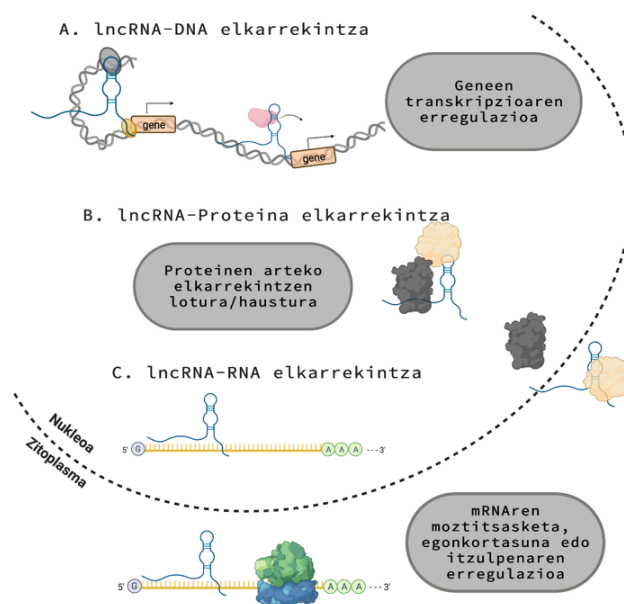
## 1. Sarrera eta motibazioa

Gaur egun, digestio-aparatuari lotutako hainbat hanturazko gaixotasun kroniko ezagunak dira eta hesteetako hanturazko gaixotasuna (HHG) da ohikoenetako bat (Camilleri et al., 2012). Eritasun honek bi gaitz hartzen ditu barnean: ultzeradun kolitisa (UK) eta Crohn gaitza (CG). HHGn, ingurumen-eragileen aurrean (infekzio birikoak, mikrobiotaren disbiosia, agente dietetikoak, etab.) zitokinen erantzun okerrak hantura kronikoa eta ehun osasuntsuen suntsitzea dakar. Hantura iraunkorrak sabeleko mina eta beherakoa eragiten ditu eta hesteetako baita hesteaz kanpoko konplikazio larriak ekar ditzake (Pascual et al., 2014; Rogler et al., 2021). Are gehiago, HHG duten pertsonen minbizia garatzeko arrisku handiagoa dute, batez ere koloneko minbizia (Axelrad et al., 2016; Muthusami et al., 2021; Shah eta Itzkowitz, 2022). HHG tratatzeko hainbat estrategia terapeutiko erabiltzen badira ere, botika mota desberdinak, kirurgia eta bizimodu aldaketak barne, ez dago gaixotasun honentzat sendabiderik. Hortaz, nabarmena da tratamendu eraginkor eta espezifikoen beharra dagoela (Cai et al., 2021).

Ingurumen-eragileez gain, faktore genetikoek ere gaixotasun hauen garapenean zeresan handia dutela identifikatu da. Genome Wide Association Studies (GWAS) eta ImmunoChip ikerketek patologia hauek garatzeko arriskua areagotzen dituzten eremuak identifikatzen lagundu dute. Hala

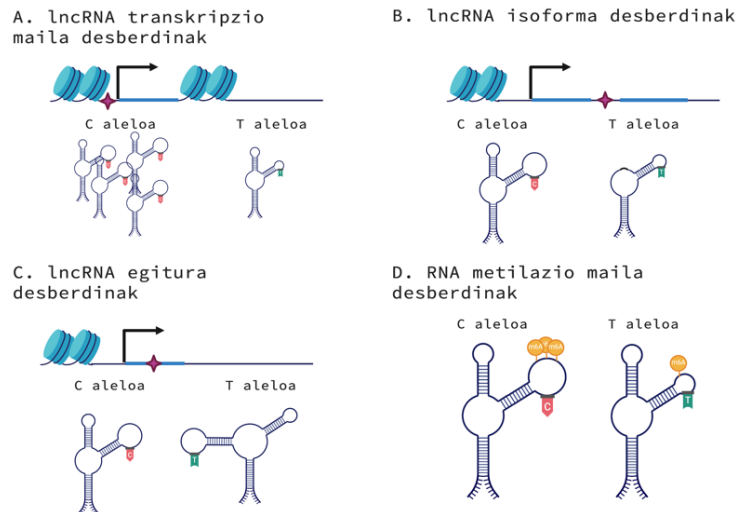
ere, aldaera hauek zein mekanismo biologikotan eragiten duten deskribatzeko lanak mugatua izaten jarraitzen du. Batez ere, asoziatutako aldaera hauek gehienbat eskualde genomiko ez kodetzaileetan kokatzen direlako (Jonkers eta Wijmenga, 2017; Ricaño-Ponce et al., 2016). Azken hamarkadan, RNA sekuentziatzeko tekniken aurrerapenek RNA ez kodetzaile berriak identifikatzen lagundu dute, eta kopuru handi bat RNA luze ez kodetzaile (long noncoding RNA edo lncRNA) familiari dagokio (Castellanos-Rubio eta Bilbao, 2018; Mowel et al., 2018). LncRNAk 200 nukleotido baino luzeagoak diren RNA molekula dira, proteinak kodetzeko potentzialik ez dutenak. Hala ere, funtsezko prozesu zelularretan parte hartzen dute mekanismo desberdinen bidez; DNA, proteina eta beste RNA molekulei lotzeko gai baitira (1. Irudia). Gainera, lncRNAak kanpo estimuluei erantzuteko gai dira modu azkar eta zelula-mota espezifiko batean (Castellanos-Rubio eta Ghosh, 2019; Mowel et al., 2018; Robinson et al., 2020).

**1. irudia.** LncRNAek beste geneak modu desberdinetan erregulatu ditzakete, transkripzioan edo transkripzio osteko aldaketetan parte hartuz. **A)** LncRNA-DNA elkarrekintzak. LncRNAk kromatinara lotu daitezke bere egitura aldatzeko edo lokus espezifikoetan elementu erregulatzaileak erakarritz geneen adierazpena erregulatzeko. **B)** LncRNA-proteina elkarrekintzak. LncRNAk proteina konplexuen eraketa erraztu edo proteina-proteinen arteko elkarrekintzak eten ditzakete nukleoan zein zitoplasman. **C)** LncRNA-RNA elkarrekintzak. LncRNAak mRNAen metabolismoaren hainbat alderdi erregulatzeko gai dira, moztitsasketa, egonkortasuna edo itzulpena.



Interesgarria da hanturarekin lotutako nukleotido bakarreko polimorfismo (Single Nucleotide Polymorphism edo SNP) ugari lncRNA molekuletan kokatzen direla. Jakina da aldaera hauek lncRNA molekulen funtzioan modu desberdinetan eragin dezaketela; adibidez, adierazpen maila erregulatuz (2.A Irudia), lncRNA molekularen isoforma desberdinak bultzatuz (2.B Irudia) edota RNA molekularen egitura sekundarioa aldatuz (2.C Irudia) (Castellanos-Rubio eta Ghosh, 2019). Beste lan batzuek ere nabarmendu dute hanturarekin asoziatutako SNPek N<sup>6</sup>-metiladenosina (m<sup>6</sup>A) RNA aldaketan eragina izan dezaketela (Olazagoitia-Garmendia et al., 2021; Zhang et al., 2020), metilazio mailan eraginez (2.D Irudia). m<sup>6</sup>A metilazioa mRNA eta RNA ez kodetzaileetan dagoen aldaketa kimiko ugariena da eta RNA molekulen metabolismoaren hainbat alderditan parte hartzen du, prozesu zelular askotan zeregin erabakigarria betetzen duelarik (Shulman eta Stern-Ginossar, 2020; Wang et al., 2017; Wei et al., 2017; Winkler et al., 2019). Hala ere, gutxi dakigu m<sup>6</sup>A aldaketen ezaugarri genetikoei eta hauek gaixotasunetan duten zereginari buruz. Hanturarekin lotutako SNPen % 85 baino gehiago kodetzen ez diren eskualdeetan kokatuta daude eta hauen funtzioak ebaluatzeko zailak dira. Horregatik, ikuspegi berriak behar dira SNP ez kodetzaileen funtzio biologikoak argitzeko eta horrela gaixotasun konplexuen patogenesisa hobeto ulertzeko.

**2. irudia.** SNP batek lncRNA molekulen erregulazioan eta funtzioan izan ditzakeen ondorioak. Izar moreek SNPak adierazten dituzte. **(A)** SNP bat lncRNA baten sustatzaile-eskualdean badago lncRNA molekularen transkripzio maila alda dezake, transkripzio-faktoreen lotura-guneak edo kromatinaren irisgarritasuna aldatuz. **(B)** lncRNA bateko SNP introniko batek lncRNA molekularen moztitsasketan eragin dezake, eta ondorioz, isoforma desberdinak era daitezke. **(C)** lncRNA baten sekuentzia exonikoan dagoen SNP batek bere egitura sekundarioa alda dezake. **(D)** m<sup>6</sup>A motibo baten gertu dagoen SNP batek metilazio maila baldintzatu dezake, lncRNA molekularen egitura sekundarioan edota metilasa proteinen loturan eraginez.



## 2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

HHGn kanpo eragileen aurrean zelula immuneak zein epitelialak aktibatu egiten dira eta zitokina eta hantura bitartekariak askatzen dituzte (Pascual et al., 2014; Rogler et al., 2021), baina prozesu hauetan parte hartzen duten mekanismoak ez dira guztiz ezagunak oraindik. Azken urteetako lan batzuek zenbait lncRNA HHGren patogenesisiarekin lotu dituzte (Aklncillar et al., 2021; Elamir et al., 2022; Yarani et al., 2018) eta m<sup>6</sup>A metilazioak HHGren garapenean ere parte hartu dezakeela iradoki dute (Lu et al., 2020; Sebastian-Delacruz et al., 2020; Zhang et al., 2022). Horregatik, hanturarekin lotutako SNPek lncRNA molekularen funtzioan duten papera deszifratzeak gaixotasun konplexu honen patogenia ulertzen lagun dezake. Gainera, aldaera hauen karakterizazio funtzionalaren azterketak m<sup>6</sup>A metilazio-datuak integratuz landuz gero, gaixotasunari lotutako SNP espezifikoaren efektu erregulatuak berriak identifikatzea ekar dezake, eta hain beharrezkoak diren ikuspegi terapeutiko berrien garapenera atea ireki.

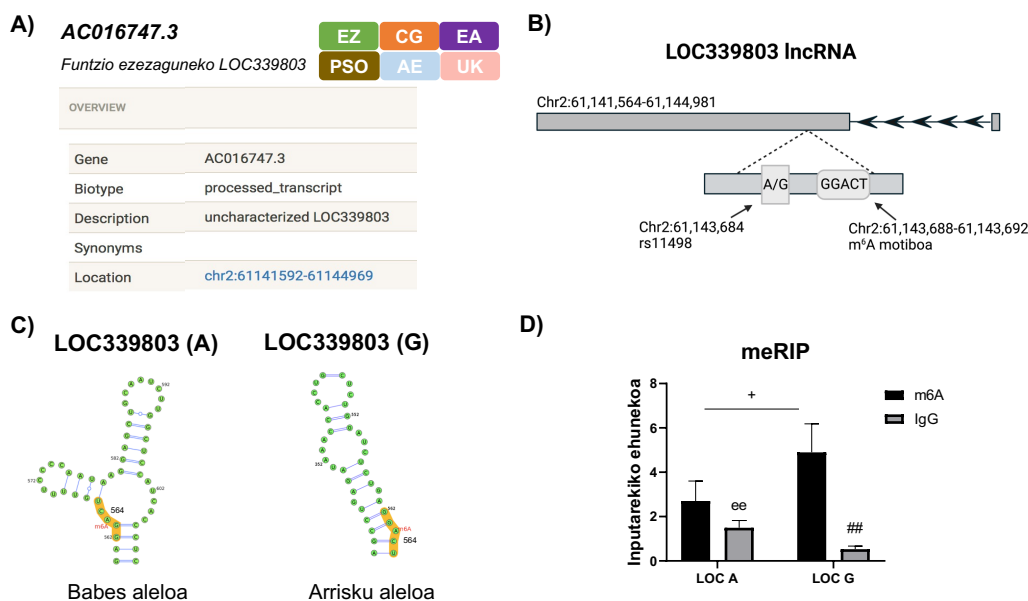
Lan honetan *LOC339803* lncRNA aztertu dugu, orain arte funtzio ezezaguna duena eta 2. kromosomako beso laburreko ImmunoChip eskualdean (2p15) kokatua dagoena. Eskualde hau hainbat hantura-gaitzekin lotuta dago, HHG barne. rs11498 SNPa m<sup>6</sup>A motibo baten ondoan dago *LOC339803*ren exoi batean. Hortaz, lncRNA hau hautagai interesgarria da lncRNA molekularen funtzioan m<sup>6</sup>A metilazio diferentzialak duen eragina aztertzeko hesteetako hantura testuinguruan. Horretarako, HCT-15 hesteetako lerro zelularra erabili dugu, SNP honentzat heterozigotoa dena, eta beraz, genotipoaren menpeko m<sup>6</sup>A metilazio aldaketak aztertzeko aukera ematen duena. Gainera, HHG gaixo eta kontrolen hesteetako biopsiak ere aztertu ditugu geneen adierazpena analizatu eta zelula lerroetan lortutako emaitzak giza laginetan baieztatzeko.

## 3. Ikerketaren muina

### 3.1 rs11498 SNParen genotipoak *LOC339803* lncRNA molekularen metilazio maila eta hantura funtzioa baldintzatzen ditu

HHGri lotutako 2p15 Immunochip eskualdearen barruan rs11498 SNPa dago. Bertan aurkitzen da *LOC339803* (*AC016747.3* izenez ere ezaguna) lncRNA eta eskualde hau hantura-gaitz desberdinei asoziatuta dago, besteak beste, esklerosi anizkoitza (EA), psoriasis (PSO), artritis erreumatoidea (AE) eta HHG, Crohn gaitza eta ultzeradun kolitisa (CG eta UK hurrenez hurren) (3.A Irudia). Zehazki, *LOC339803* lncRNA molekularen exoi batean kokatzen da rs11498 SNPa, m<sup>6</sup>A motibo batetik gertu (GGACT) (3.B Irudia). RNA sekuentzian oinarriturik eta SRAMP “Sequence-based RNA Adenosine Methylation site Predictor” m<sup>6</sup>A guneen iragarlea erabiliz (Zhou et al., 2016), SNParen ondoan dagoen m<sup>6</sup>A motiboak metilatua izateko probabilitate handia duela ikusi genuen. Gainera, RNA egitura sekundarioa SNParen genotipoaren arabera aldatzen dela aurreikusten du, G aleloak egitura irisgarriagoa erakusten duelarik (3.C Irudia). Hortaz, G aleloa duen lncRNA molekularak metilatua izateko aukera handiagoa izan dezake. Iragarpen hauek baieztatzeko, HCT-15 hesteetako lerro zelularra erabili genuen, rs11498 SNParentzat heterozigotoa denez (AG genotipoa), metilazio maila alelo-espezifikoa kuantifikatzeko aukera ematen duelako zelula lagin berdinetik abiatuta. m<sup>6</sup>Aren aurkako antigorputza edo kontrol negatibo bezala IgG antigorputza erabiliz, HCT-15 lerro zelularretik erauzitako RNAREN immunoprezipitazioa burutu genuen; ondorioz, gure lagina metilatuak dauden RNA molekulatan aberastea lortzen da. Gero, RT-qPCR bidez kuantifikazio alelo-espezifikoa egin genuen, eta hala, baieztatu genuen G aleloa, egitura sekundario irisgarriagoa duena (1.C Irudia), metilatua dagoela (3.D irudia).

**3. irudia.** (A) Immunobase datu-basearen arabera (<https://genetics.opentargets.org/immunobase>) *LOC339803*ren (*AC016747.3*) asoziazioa hantura gaixotasun desberdinetara. Eritasun zeliakoa (EZ), Crohn gaitza (CG), esklerosi anizkoitza (EA), psoriasis (PSO), artritis erreumatoidea (AE), ultzeradun kolitisa (UK). (B) BioRenderrekin sortutako *LOC339803*ren kokapen kromosomikoaren irudikapen grafikoa. rs11498 Immunochip SNPa eta ondoan dagoen GGACT m<sup>6</sup>A motiboa zoom bidez handituta. (C) SRAMP online programa erabiliz eskuratutako *LOC339803*ren irudikapen alelo espezifikoa. SNParen ondoan dagoen m<sup>6</sup>A motiboa horiz markatuta. (D) *LOC339803*ren m<sup>6</sup>A metilazio maila alelo espezifikoa RNA immunoprezipitazioaren bidez (methylated RNA immunoprecipitation edo meRIP) HCT-15 zeluletan. Datuak batez bestekoak ± batezbestekoaren errore estandarra (BEE) dira (n=4 esperimentu independente). p-balioa bi norabideko ANOVA probaren bidez. +p<0,1; IgG kontrolarekiko aberastea ee=ez esangarria, ##p<0,01.

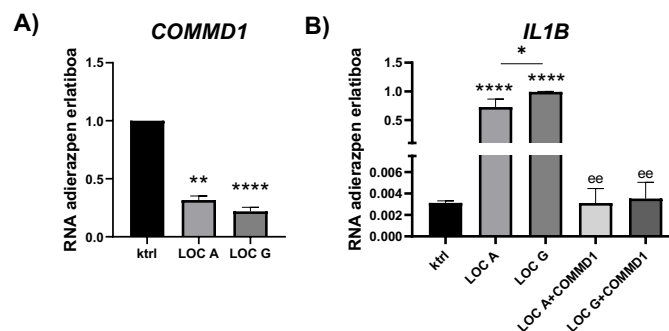


lncRNA molekulek sarritan inguruko geneen transkripzioa erregulatzen dute. Hori dela eta, *LOC339803* inguruan kokatutako eta hesteetako hanturarekin lotutako geneen adierazpena (*REL*, *PUS10*, *AHSA2* eta *COMMD1*) aztertu genuen lncRNA molekularen gainadierazpenaren ondoren. Aztertutako geneen artean, *LOC339803*ren gainadierazpenak *COMMD1*en adierazpena esangarriki gutxitzea dakarrela baieztatu genuen (4.A Irudia). *COMMD1*en errepresioa NFκB aktibazioarekin erlazionatuta dago (Maine eta Burstein, 2007), eta ondorioz, hesteetako hanturazko gaixotasunen

garapenarekin (Fernandez-Jimenez et al., 2014; Liu et al., 2017). NFκBk *IL1B* hanturazko zitokina indutzen du eta HHGren funtsezko eragilea da. Hori dela eta, *LOC339803* bidezko *COMMD1* erregulazioak hantura eragiten duen ala ez argitzeko, *IL1B*ren adierazpena aztertu genuen eszenatoki honetan. *LOC339803*ren gainadierazpenak *IL1B*ren adierazpena areagotzen duela baieztatu genuen (4.B Irudia). Aldi berean, *COMMD1* gainadieraztean (NFκB bidezko hantura inhibitzeko), *IL1B*ren isilaraztea ikusi genuen (4.B Irudia). Emaitza hauek baieztatzen dute *LOC339803*ren indukzioak *IL1B* hantura zitokina emendatzen duela, eta gainera, *COMMD1*en errepresioaren bidez gertatzen dela erregulazio hau.

Bestalde, arrisku aleloaren aurrean (LOC G) *COMMD1*en adierazpen maila jaitsiera nabarmenagoa izan zen (4.A Irudia), eta ondorioz, *IL1B*ren adierazpena esangarriki handiagoa (4.B Irudia). Emaitza hauek erakusten dute arrisku aleloaren (LOC G) metilazio maila altuagoek nolabait *COMMD1* isilaraztea errazten duela, eta azkenean, *IL1B* hantura zitokinaren adierazpena are gehiago handitzea dakar.

**4. irudia.** (A) *COMMD1* RNA adierazpen maila erlatiboa RT-qPCR bidez kuantifikatuta *LOC339803*ren bi gainadierazpen plasmidoekin (LOC A eta LOC G) transfektatutako zeluletan. Datuak batez bestekoak ± BEE dira (n=6 esperimentu independente). p-balioak bi isatseko Student t-testaren bidez. (B) *IL1B* zitokinaren RNA adierazpen maila erlatiboa RT-qPCR bidez kuantifikatuta *LOC339803* bi forma (LOC A eta LOC G) eta *COMMD1* (LOC A + *COMMD1* eta LOC G + *COMMD1*) gainadierazpen plasmidoekin transfektatutako zeluletan. Datuak batez bestekoak ± BEE dira (n=3 esperimentu independente). p balioak norabide bakarreko ANOVA probaren bidez. ee=ez esangarria, \*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*\*p<0,0001.



### 3.2 *LOC339803* adierazpen maila eta ur-beherako hantura geneak aldaratuak daude HHG gaixoetan

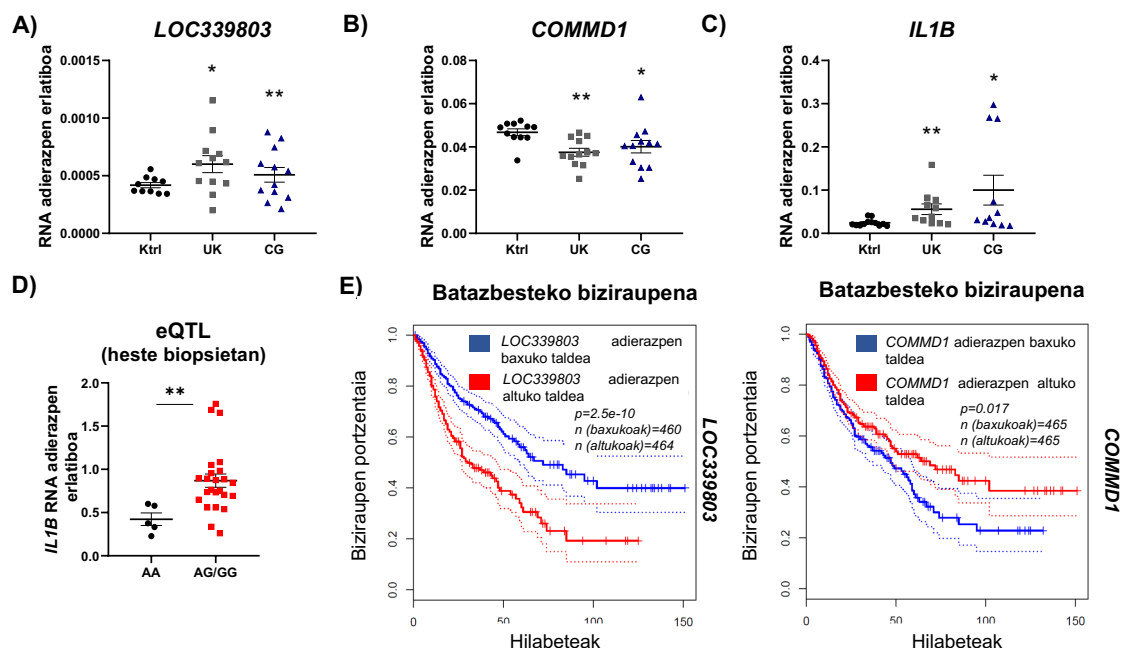
*In vitro* lortutako emaitzek adierazten zuten *LOC339803*ek HHGren patogenesia inplikazioa izan dezakeela. Horregatik, emaitza hauek giza pazienteen laginak erabiliz baieztatu nahi izan genituen. Horretarako, kontrolen eta pazienteen hesteetako biopsiak aztertu ziren HHGren bi azpimotak erabiliz (ultzeradun kolitisa eta Crohn gaitza).

Aurreko emaitzekin bat etorritik, HHG pazienteek *LOC339803* adierazpen maila areagotua eta *COMMD1* adierazpen maila murriztua dituzte (5.A, B Irudia). Gainera, HHG pazienteek *IL1B* adierazpena altuagoa dutela baieztatu genuen (5.C Irudia), hesteetako hantura areagotua seinale gisa. Horrez gain, ikusi genuen *LOC339803*ren arrisku aleloa duten pertsonen (GG homozigoto edota AG heterozigoto genotipoak) hesteetan *IL1B* maila nabarmen altuagoak dituztela (5.D Irudia), *LOC339803*ek HHGn agertzen den hantura kronikoan duen inplikazioa berretsiz. Orora, HHG pazienteetan ditugun emaitzek baieztatzen dute gizabanako horietan dagoen hantura handitzea, neurri batean behintzat, *LOC339803*ek eragindako *IL1B* mailen ondorio dela.

Azkenik, jakina da hantura kronikoak beste gaixotasunak garatzeko arriskua areagotzen duela, HHG pazienteetan hesteetako minbizia kasu. GEPIA “Gene Expression Profiling Interactive Analysis” web orriko (Tang et al., 2017) datuen azterketak *LOC339803* maila altuak dituzten pertsonen batezbesteko biziraupen txikiagoa dutela erakusten dute hesteetako zenbait minbizitan (4.E Irudia). Era berean, *COMMD1* maila baxuek ere gizabanako horien biziraupen orokorra murrizten dute (4.E Irudia). Giza

laginetako emaitza hauek erakusten dute *LOC339803*ren adierazpen maila altuak sortutako hanturak hesteetako minbizi bortitzagoak eragitea bultzatu dezakeela. Hortaz, *LOC339803*k eragindako hanturabidearen erregulazio kontrolatua izatearen garrantzia azpimarratzen dute HHG pairatzen duten gaixoen hanturaren aurka babesteko.

**5. irudia.** (A) *LOC339803*, (B) *COMMD1* eta (C) *IL1B* geneen RNA adierazpen erlatiboa RT-qPCR bidez kuantifikatuta kontrol (Ktrl) eta HHG pazienteetan: ultzeradun kolitisa (UK) eta Crohn gaitza (CG). (D) *IL1B* RNA adierazpen erlatiboa rs11498 SNParen genotipoaren arabera (eQTL), hesteetako laginetan babes aleloa (AA) eta arrisku aleloa (AG+GG) duten gizabanakoak alderatuz. Datuak batez bestekoak  $\pm$  BEE ( $n \geq 5$ ) dira. p-balio guztiak Mann-Whitney testaren bidez. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ . (E) GEPIA web orritik eratorritako batezbesteko biziraupen grafikoak *LOC339803* (ezkerrean) edo *COMMD1* (eskubian) mailen arabera hesteetako minbizi desberdinetan (COAD=Koloneko adenokartzinoma; ESCA=Esofagoko kartzinoma; READ=Ondesteko adenokartzinoma; STAD = Urdaileko adenokartzinoma).



#### 4. Ondorioak

Ikerketa honetan, lncRNA batean dagoen SNParen genotipoak m<sup>6</sup>A metilazio mailak baldintzatzen dituela baieztatu dugu. Gainera, deskribatu dugu nola *COMMD1*en erregulazioaren bitartez *LOC339803*k *IL1B* hantura zitokina gakoaren adierazpena erregulatzeko gaitasuna duen. Horrez gain, HHG duten pazienteetan *LOC339803* adierazpen mailak aldaratuta daudela baieztatu dugu. Azkenik ikusi dugu rs11498 SNParen genotipoak *IL1B* zitokinaren adierazpen-mailetan eragiten duela; eta hortaz, arrisku aleloa duten pertsonek hantura kronikoa garatzeko arriskua handiagoa da.

Orokorrean, gure emaitzek erakusten dute m<sup>6</sup>A metilazioa duen *LOC339803* lncRNAk *IL1B* zitokina areagotzen duela eta hanturarekin lotutako SNP baten ezaugarri funtzionala aurkezten dugu. Orohar, HHGren garapenean duen inplikazioa azaldu dugu eta esku-hartze terapeutiko berriei atea irekitzeko bide berri bat aurkezten dugu.

#### 5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Azkenaldian, RNA molekuletan oinarritutako terapietako interesa areagotzen ari da, batez ere RNA txikietan eta mRNA txertoetan oinarritutakoak. LncRNA molekulen ugaritasuna eta giza gaixotasunetan duten inplikazioa kontuan hartuta, lncRNAak ito terapeutiko interesgarriak dira. Haien adierazpen-profil baxuak eta ehunen espezifitasunak erakargarriak egiten dituzte, dosi baxuak behar bait lirateke gaixotasunak tratatzeko (Mercer et al., 2022). Ikerketa honek

*LOC339803* HHGrako itu terapeutiko gisa aurkezten du, izan ere, *LOC339803*ren isilarazpenak hanturazko erantzuna murrizten lagundu lezake. Hori dela eta, lncRNA molekularen funtzioa hausten duten molekula txikiak edo haien adierazpena murrizten duten oligonukleotidoak (antisense oligonucleotide edo ASO) erabiltzea estrategia onak dirudite lncRNA molekulen bideratutako terapietarako. Dagoeneko martxan dauden lncRNA terapietan oinarritutako entsegu kliniko ezberdinek gure emaitzak indartzen dituzte HHGren tratamendurako hain beharrezkoak diren terapia alternatiboak garatzeko abiapuntu gisa. Gainera, m<sup>6</sup>A aldaketei zuzendutako beste terapia interesgarriak ere HHGren tratamendurako hautagai egokiak izan litezke, m<sup>6</sup>Ari zuzendutako sendagai asko dagoeneko probatzen ari baitira (Deng et al., 2022).

## 6. Erreferentziak

- Aklncellar, S. C., Wu, L., Ng, Q. F., Chua, J. Y. H., Unal, B., Noda, T., Chor, W. H. J., Ikawa, M., & Tergaonkar, V. (2021). NA1L: an evolutionarily conserved lncRNA essential for licensing coordinated activation of p38 and NFκB in colitis. *Gut*, *70*(10), 1857–1871. <https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2020-322980>
- Axelrad, J. E., Lichtiger, S., & Yajnik, V. (2016). Inflammatory bowel disease and cancer: The role of inflammation, immunosuppression, and cancer treatment. *World Journal of Gastroenterology*, *22*(20), 4794. <https://doi.org/10.3748/WJG.V22.I20.4794>
- Cai, Z., Wang, S., & Li, J. (2021). Treatment of Inflammatory Bowel Disease: A Comprehensive Review. *Frontiers in Medicine*, *8*, 765474. <https://doi.org/10.3389/FMED.2021.765474/FULL>
- Camilleri, M., Madsen, K., Spiller, R., van Meerveld, B. G., & Verne, G. N. (2012). Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. *Neurogastroenterology and Motility: The Official Journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, *24*(6), 503–512. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2982.2012.01921.X>
- Castellanos-Rubio, A., & Bilbao, J. R. (2018). Profiling Celiac Disease-Related Transcriptional Changes. In *International Review of Cell and Molecular Biology* (Vol. 336, pp. 149–174). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2017.07.003>
- Castellanos-Rubio, A., & Ghosh, S. (2019). Disease-associated SNPs in inflammation-related lncRNAs. *Frontiers in Immunology*, *10*(MAR), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00420>
- Deng, L. J., Deng, W. Q., Fan, S. R., Chen, M. F., Qi, M., Lyu, W. Y., Qi, Q., Tiwari, A. K., Chen, J. X., Zhang, D. M., & Chen, Z. S. (2022). m6A modification: recent advances, anticancer targeted drug discovery and beyond. In *Molecular Cancer* (Vol. 21, Issue 1). <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01510-2>
- Elamir, A., Shaker, O., Kamal, M., Khalefa, A., Abdelwahed, M., Reheem, F. A. el, Ahmed, T., Hassan, E., & Ayoub, S. (2022). Expression profile of serum lncRNA THRIL and MiR-125b in inflammatory bowel disease. *PloS One*, *17*(10). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0275267>
- Fernandez-jimenez, N., Castellanos-rubio, A., Plaza-izurieta, L., Irastorza, I., Elcoroaristizabal, X., Jauregi-miguel, A., Lopez-euba, T., Tutau, C., De pancorbo, M. M., Vitoria, J. C., & Bilbao, J. R. (2014). Coregulation and modulation of NFκB-related genes in celiac disease: Uncovered aspects of gut mucosal inflammation. *Human Molecular Genetics*. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt520>
- Jonkers, I. H., & Wijmenga, C. (2017). Context-specific effects of genetic variants associated with autoimmune disease. In *Human Molecular Genetics* (Vol. 26, Issue R2). <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx254>
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S. C. (2017). NF-κB signaling in inflammation. In *Signal Transduction and Targeted Therapy* (Vol. 2). <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>
- Lu, T. X., Zheng, Z., Zhang, L., Sun, H. L., Bissonnette, M., Huang, H., & He, C. (2020). A New Model of Spontaneous Colitis in Mice Induced by Deletion of an RNA m6A Methyltransferase Component METTL14 in T Cells. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, *10*(4), 747–761. <https://doi.org/10.1016/J.JCMGH.2020.07.001>
- Maine, G. N., & Burstein, E. (2007). COMMD proteins and the control of the NFκB pathway. In *Cell Cycle* (Vol. 6, Issue 6). <https://doi.org/10.4161/cc.6.6.3989>
- Mercer, T. R., Munro, T., & Mattick, J. S. (2022). The potential of long noncoding RNA therapies. In *Trends in Pharmacological Sciences* (Vol. 43, Issue 4). <https://doi.org/10.1016/j.tips.2022.01.008>
- Mowel, W. K., Kotzin, J. J., McCright, S. J., Neal, V. D., & Henao-Mejia, J. (2018). Control of Immune Cell Homeostasis and Function by lncRNAs. In *Trends in Immunology* (Vol. 39, Issue 1, pp. 55–69). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.08.009>
- Muthusami, S., Ramachandran, I. K., Babu, K. N., Krishnamoorthy, S., Guruswamy, A., Queimado, L., Chaudhuri, G., & Ramachandran, I. (2021). Role of Inflammation in the Development of Colorectal Cancer. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets*, *21*(1), 77–90. <https://doi.org/10.2174/1871530320666200909092908>



- Olazagoitia-Garmendia, A., Zhang, L., Mera, P., Godbout, J. K., Sebastian-DelaCruz, M., Garcia-Santisteban, I., Mendoza, L. M., Huerta, A., Irastorza, I., Bhagat, G., Green, P. H., Herrero, L., Serra, D., Rodriguez, J. A., Verdu, E. F., He, C., Bilbao, J. R., & Castellanos-Rubio, A. (2021). Gluten-induced RNA methylation changes regulate intestinal inflammation via allele-specific XPO1 translation in epithelial cells. *Gut*, *gutjnl-2020-322566*. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-322566>
- Pascual, V., Dieli-Crimi, R., López-Palacios, N., Bodas, A., Medrano, L. M., & Núñez, C. (2014). Inflammatory bowel disease and celiac disease: Overlaps and differences. *World Journal of Gastroenterology : WJG*, *20*(17), 4846. <https://doi.org/10.3748/WJG.V20.I17.4846>
- Ricaño-Ponce, I., Zhernakova, D. V., Deelen, P., Luo, O., Li, X., Isaacs, A., Karjalainen, J., Di Tommaso, J., Borek, Z. A., Zorro, M. M., Gutierrez-Achury, J., Uitterlinden, A. G., Hofman, A., van Meurs, J., Netea, M. G., Jonkers, I. H., Withoff, S., van Duijn, C. M., Li, Y., ... BIOS consortium. (2016). Refined mapping of autoimmune disease associated genetic variants with gene expression suggests an important role for non-coding RNAs. *Journal of Autoimmunity*, *68*, 62–74. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2016.01.002>
- Robinson, E. K., Covarrubias, S., & Carpenter, S. (2020). *The how and why of lncRNA function: An innate immune perspective*. January.
- Rogler, G., Singh, A., Kavanaugh, A., & Rubin, D. T. (2021). Extraintestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: Current Concepts, Treatment, and Implications for Disease Management HHS Public Access. *Gastroenterology*, *161*(4), 1118–1132. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2021.07.042>
- Sebastian-Delacruz, M., Olazagoitia-Garmendia, A., Gonzalez-Moro, I., Santin, I., Garcia-Etxebarria, K., & Castellanos-Rubio, A. (2020). Implication of m6a mrna methylation in susceptibility to inflammatory bowel disease. *Epigenomes*, *4*(3). <https://doi.org/10.3390/epigenomes4030016>
- Shah, S. C., & Itzkowitz, S. H. (2022). Colorectal Cancer in Inflammatory Bowel Disease: Mechanisms and Management. *Gastroenterology*, *162*(3), 715–730.e3. <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2021.10.035>
- Shulman, Z., & Stern-Ginossar, N. (2020). The RNA modification N6-methyladenosine as a novel regulator of the immune system. *Nature Immunology*, *21*(5), 501–512. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-0650-4>
- Tang, Z., Li, C., Kang, B., Gao, G., Li, C., & Zhang, Z. (2017). GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses. *Nucleic Acids Research*, *45*(W1), W98–W102. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKX247>
- Wang, S., Sun, C., Li, J., Zhang, E., Ma, Z., Xu, W., Li, H., Qiu, M., Xu, Y., Xia, W., Xu, L., & Yin, R. (2017). Roles of RNA methylation by means of N6-methyladenosine (m6A) in human cancers. In *Cancer Letters* (Vol. 408). <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.08.030>
- Wei, W., Ji, X., Guo, X., & Ji, S. (2017). Regulatory Role of N6-methyladenosine (m6A) Methylation in RNA Processing and Human Diseases. *Journal of Cellular Biochemistry*, *118*(9). <https://doi.org/10.1002/jcb.25967>
- Winkler, R., Gillis, E., Lasman, L., Safra, M., Geula, S., Soyris, C., Nachshon, A., Tai-Schmiedel, J., Friedman, N., Le-Trilling, V. T. K., Trilling, M., Mandelboim, M., Hanna, J. H., Schwartz, S., & Stern-Ginossar, N. (2019). m6A modification controls the innate immune response to infection by targeting type I interferons. *Nature Immunology*, *20*(2), 173–182. <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0275-z>
- Yarani, R., Mirza, A. H., Kaur, S., & Pociot, F. (2018). The emerging role of lncRNAs in inflammatory bowel disease. *Experimental & Molecular Medicine*, *50*(12), 161. <https://doi.org/10.1038/S12276-018-0188-9>
- Zhang, T., Ding, C., Chen, H., Zhao, J., Chen, Z., Chen, B., Mao, K., Hao, Y., Roulis, M., Xu, H., Kluger, Y., Zou, Q., Ye, Y., Zhan, M., Flavell, R. A., & Li, H. B. (2022). m6A mRNA modification maintains colonic epithelial cell homeostasis via NF-κB-mediated antiapoptotic pathway. *Science Advances*, *8*(12). [https://doi.org/10.1126/SCIADV.ABL5723/SUPPL\\_FILE/SCIADV.ABL5723\\_SM.PDF](https://doi.org/10.1126/SCIADV.ABL5723/SUPPL_FILE/SCIADV.ABL5723_SM.PDF)
- Zhang, Z., Luo, K., Zou, Z., Qiu, M., Tian, J., Sieh, L., Shi, H., Zou, Y., Wang, G., Morrison, J., Zhu, A. C., Qiao, M., Li, Z., Stephens, M., He, X., & He, C. (2020). Genetic analyses support the contribution of mRNA N6-methyladenosine (m6A) modification to human disease heritability. *Nature Genetics*, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41588-020-0644-z>
- Zhou, Y., Zeng, P., Li, Y. H., Zhang, Z., & Cui, Q. (2016). SRAMP: Prediction of mammalian N6-methyladenosine (m6A) sites based on sequence-derived features. *Nucleic Acids Research*, *44*(10). <https://doi.org/10.1093/nar/gkw104>

## 7. Eskerrak eta oharrak

Ikerketa hau hurrengo ikerketa proiektuen bidez finantziatu da: Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades PGC2018-097573-A-I00 (ACR), Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades PID2019-104475GA-I00 (IS), The European Foundation for the Study of Diabetes grant (EFSD)-EFSD/JDRF/Lilly Programme on Type 1 Diabetes Research (IS).