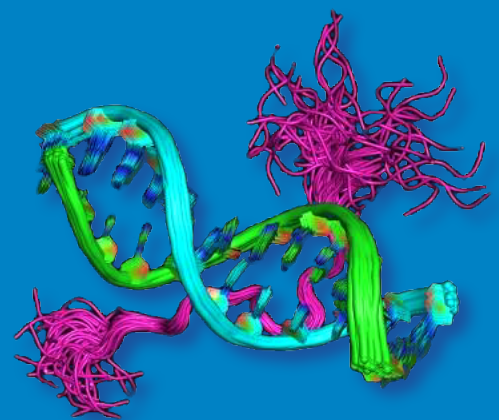


LIAS SAED, EWA OLECHNOWICZ,
EWA BALCERCZAK, MAREK MIROWSKI,
ALEKSANDRA SAŁAGACKA-KUBIAK*

ZNACZENIE BIAŁEK HMGA1, HMGA2 I HMGB1 ORAZ ICH GENÓW W RAKU PŁUCA



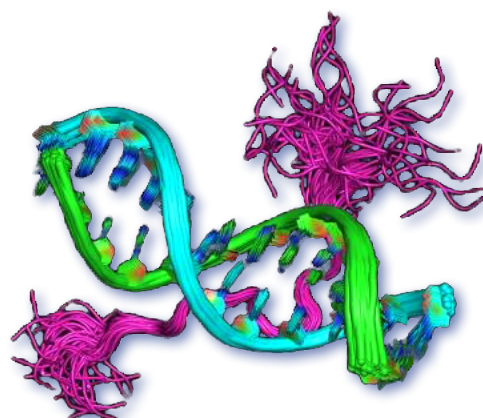
LIAS SAED , EWA OLECHNOWICZ,
EWA BALCERCZAK , MAREK MIROWSKI ,
ALEKSANDRA SAŁAGACKA-KUBIAK* 

ZNACZENIE BIAŁEK HMGA1, HMGA2 I HMGB1 ORAZ ICH GENÓW W RAKU PŁUCA

THE IMPORTANCE OF HMGA1, HMGA2
AND HMGB1 PROTEINS AND THEIR GENES
IN LUNG CANCER

Zakład Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej,
Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej i Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi;
lias.saed@stud.umed.lodz.pl, e_olechnowicz@interia.pl, ewa.balcerczak@umed.lodz.pl,
marek.mirowski@umed.lodz.pl, aleksandra.salagacka@umed.lodz.pl

* e-mail: aleksandra.salagacka@umed.lodz.pl



Seria monografii naukowych dotyczących zagadnień z zakresu dyscyplin nauk farmaceutycznych, nauk medycznych i nauk o zdrowiu.

Wydawnictwo recenzowane i punktowane na zasadach zgodnych z Rozporządzeniem MNiSW z dnia 22 lutego 2019 r. w sprawie ewaluacji jakości działalności naukowej (Dz.U. 2019 poz. 392 z późn. zm.).

RADA NAUKOWA

dr hab. Monika A. Olszewska, prof. uczelni – Redaktor naczelna
prof. dr hab. Monika Łukomska-Szymańska – Zastępca redaktor naczelnej
prof. dr hab. Iwona Cygankiewicz
dr hab. Małgorzata Pikala, prof. uczelni

REDAKTOR PROWADZĄCA

dr hab. Monika A. Olszewska, prof. uczelni

KOREKTA

Magdalena Kokosińska, Anna Sikorska

OPRACOWANIE GRAFICZNE

Tomasz Przybył

ZNACZENIE BIAŁEK HMGA1, HMGA2 I HMGB1 ORAZ ICH GENÓW W RAKU PŁUCA

Łódź 2021

WYDAWNICTWO UNIwersYTETU MEDYCZNEGO W ŁODZI

<http://wydawnictwo.umed.pl/>

[e-mail: editorial@reports.umed.pl](mailto:editorial@reports.umed.pl)

Unikatowy identyfikator Wydawnictwa: 60000

(Komunikat Ministra Edukacji i Nauki z dnia 22 lipca 2021 r. w sprawie wykazu wydawnictw publikujących recenzowane monografie naukowe)

ISBN

ISBN 978-83-961774-4-5

WYDANIE PIERWSZE



© 2021. Pewne prawa zastrzeżone na rzecz autorów. Opublikowane na licencji Creative Commons Uznanie Autorstwa (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.pl>).

Licencjodawca: Wydawnictwo Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Zezwala się na wykorzystanie treści monografii zgodnie z licencją – pod warunkiem zachowania niniejszej informacji licencyjnej oraz wskazania autorów jako właścicieli praw do tekstu.

Streszczenie: Rak płuca należy do najczęściej rozpoznawanych nowotworów złośliwych i odpowiada za największy odsetek zgonów z powodu nowotworów na świecie. Liczne badania dowodzą istotnej roli białek o wysokiej ruchliwości elektroforetycznej (ang. *high mobility group*, HMG) w procesie nowotworzenia w płucach. Białka HMG to grupa niehistonowych białek chromatynowych, zaangażowanych m.in. w regulację procesów transkrypcji, replikacji i naprawy DNA. Wykazano, że istnieje tendencja do wyraźnego wzrostu ekspresji genów *HMG* oraz ilości kodowanych przez nie białek w raku płuca w stosunku do tkanki niezmięnionej nowotworowo. Badania *in vitro* i *in vivo* dostarczają dowodów, że białka te mogą uczestniczyć w procesie transformacji nowotworowej tkanki płucnej, nasilać proliferację, inwazyjność i zdolność do przerzutowania komórek. Poziom ekspresji wybranych genów i białek HMG jest związany z cechami kliniczno-patologicznymi raka płuca, takimi jak obecność przerzutów, stopień zaawansowania klinicznego, stopień zróżnicowania histologicznego, jak również z czasem przeżycia pacjentów. W pracy przedstawiono obecny stan wiedzy na temat ekspresji genów *HMGA1*, *HMGA2* i *HMGB1* i kodowanych przez nie białek w nowotworach płuca oraz jej znaczenia w procesie transformacji nowotworowej w tym narządzie. Zebrano także wyniki dotychczasowych badań nad użytecznością oceny ekspresji w prognozowaniu przebiegu raka płuca i jej ewentualnego wykorzystania w terapii tego nowotworu.

Słowa kluczowe: białka HMG, *HMGA1*, *HMGA2*, *HMGB1*, rak płuca, ekspresja genu, prognoza, terapia

Abstract: Lung cancer is one of the most frequently diagnosed malignant neoplasms accounting for the highest percentage of cancer deaths in the world. Numerous studies prove the significant role high mobility group (HMG) proteins play in the lung carcinogenesis. HMG proteins are a group of non-histone chromatin proteins involved, among others, in regulating the processes of transcription, replication and DNA repair. It has been shown that there is a tendency for a marked increase of the expression of HMG genes and the amount of proteins encoded by them in lung cancer as compared to non-cancerous lung tissue. In vitro and in vivo studies provide evidence that these proteins can participate in the process of neoplastic transformation of lung tissue, increase the proliferation, invasiveness and metastasis of lung cells. The level of expression of selected genes and proteins belonging to the HMG family is associated with the clinical and pathological features of lung cancer, such as the presence of metastases, clinical advancement, degree of histological differentiation, as well as the survival time of patients. The paper presents the current state of knowledge on the expression of HMGA1, HMGA2 and HMGB1 genes and proteins encoded by them in lung tumours and its significance in the process of neoplastic transformation in the lungs. It also includes the results of existing research on the usefulness of expression in the prognosis of the course of lung cancer and its possible use in the therapy of the disease.

Keywords: HMG proteins, HMGA1, HMGA2, HMGB1, lung cancer, gene expression, prognosis, therapy

Spis treści

1. Wprowadzenie	10
2. Gen <i>HMGA1</i> i białko HMGA1.....	12
3. Gen <i>HMGA2</i> i białko HMGA2.....	16
4. Gen <i>HMGB1</i> i białko HMGB1.....	20
5. Podsumowanie	27
Bibliografia.....	29

Wykaz skrótów:

AKT – kinaza białek B

ANG (ang. *angiogenin*) – angiogenina, rybonukleazy z nadrodziny RNaz A

AP1 – czynnik transkrypcyjny

APC (ang. *adenomatous polyposis coli*) – białko kodowane przez gen supresorowy APC

$\alpha\text{v}\beta\text{3}$ – integryna

α -SMA (ang. *α -smooth muscle actin*) – aktyna alfa

BAX (ang. *BCL-2-associatedX protein*) – białko apoptotyczne

BCL-2 (ang. *B-cell lymphoma 2*) – białko apoptotyczne

Beclin1-PI3K-III – kompleks białkowy

CDK2 (ang. *cyklin-dependent-kinase 2*) – kinaza zależna od cyklin 2

CXCR4 (ang. *C-X-C chemokine receptor type 4*) – receptor chemokin CXC, typ 4

CXCL11 (ang. *chemokine receptor ligand 11*) – ligand receptora chemokin CXC, typ 11

c-Myc – czynnik transkrypcyjny kodowany przez protoonkogen MYC

DAMP (ang. *damage-associated molecular pattern*) – struktury molekularne związane z uszkodzeniem, alarminy

DICER1 – gen kodujący endorybonukleazę DICER

EGF (ang. *epidermal growth factor*) – naskórkowy czynnik wzrostu

EGFR (ang. *epidermal growth factor receptor*) – receptor dla naskórkowego czynnika wzrostu

eIF2 α (ang. *eukaryotic Initiation Factor 2 alpha*) – czynnik inicjujący translację

EMT (ang. *epidermal-mesenchymal transition*) – przejście nabłonkowo-mezenchymalne

Erk1/2 (ang. *mitogen-activated protein kinase 3/ mitogen-activated protein kinase 1*) – ścieżka sygnalizacji komórkowej

E2F1 – czynnik transkrypcyjny

FAK (ang. *focal adhesion kinase*) – kinaza ogniskowo-adhezyjna

FOS – czynnik transkrypcyjny

FOXM1 (ang. *forkhead box protein M1*) – czynnik transkrypcyjny

FOXM1/HMGA1/G6PD (ang. *forkhead box protein M1-high mobility group AT-hook 1-G6PD*) – ścieżka regulacji transkrypcyjnej

Fzd2 (ang. *frizzled homolog 2*) – białko mysie, działające antagonistycznie do ścieżki WNT

GADD153 (ang. *growth arrest and DNA damage-inducible protein*) – czynnik transkrypcyjny

Gata6 (ang. *GATA-binding protein 6*) – białko mysie, czynnik transkrypcyjny

GSK3 β (ang. *glycogen synthase kinase 3 beta*) – kinaza syntazy glikogenu 3 beta

GSKIP (ang. *glycogen synthase kinase 3 beta interacting protein*) – białko regulujące GSK3 β

G6PD – dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa

HMG (ang. *high mobility group proteins*) – białka o wysokiej ruchliwości elektroforetycznej

HMGA – rodzina białek HMG kodowanych przez geny HMGA

HMGB – rodzina białek HMG kodowanych przez geny HMGB

HMGB1/RAGE (ang. *high mobility group protein B1 – receptor for advanced glycation end products*) – ścieżka sygnalizacji komórkowej

HMGN – rodzina białek HMG kodowana przez geny HMGN

IL-24 – interleukina 24

IRE1 α – endorybonukleaza

JAK3 – kinaza białkowa
JAK/STAT (ang. *janus kinase-signal transducer and activator of transcription protein*) – ścieżka sygnalizacji komórkowej
JUN – czynnik transkrypcyjny
JUN-B – czynnik transkrypcyjny
KRAS – protoonkogen
let-7 – rodzina cząsteczek mikroRNA
LIN28B (ang. *Lin-28 homolog B*) – gen kodujący białko LIN28B
MAPK (ang. *mitogen-activated protein kinase*) – kinaza aktywowana mitogenami
MAPK/ERK1/2 (ang. *mitogen-activated protein kinase – extracellular signal-regulated kinase*) – ścieżka sygnalizacji komórkowej
MCL-1 (ang. *induced myeloid leukemia cell differentiation protein*) – białko apoptotyczne
MEK/ERK1 – ścieżka sygnalizacji komórkowej MAPK/ERK1/2
miR – mikroRNA
MMP (ang. *matrix metalloproteinase*) – metaloproteinaza macierzy pozakomórkowej
MUC1-C – białko transbłonowe
MYC – protoonkogen, kodujący czynnik transkrypcyjny MYC
MYCN – protoonkogen, kodujący czynnik transkrypcyjny N-MYC
MYCN-LIN28B-LET7-HMGA2-CDKN2 – ścieżka regulacyjna
NAC1 (ang. *nucleus accumbens-associated protein 1*) – czynnik transkrypcyjny
NF-κB (ang. *Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) – czynnik transkrypcyjny
NSCLC (ang. *non-small cell lung cancer*) – niedrobnokomórkowy rak płuca
pAKT – fosforylowane białko AKT
PCNA (ang. *proliferating cell nuclear antigen*) – antygen jądrowy komórek proliferujących
PDGF (ang. *platelet-derived growth factor*) – płytkopochodny czynnik wzrostu
p-ERK – fosforylowana forma ERK
PGF (ang. *placental growth factor*) – łożyskowy czynnik wzrostu
P53 – czynnik transkrypcyjny o właściwościach supresora nowotworowego
P65 – czynnik transkrypcyjny, podjednostka NF-κB
P73 – białko jądrowe
PI3K (ang. *phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase*) – gen fosfatazy fosfatydyloinozytolu 3
PI3K/AKT/mTOR (ang. *phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase-mechanistic target of rapamycin*) – ścieżka sygnalizacji komórkowej
PP4R1 (ang. *protein phosphatase 4 regulatory subunit 1*) – podjednostka regulatorowa 1 fosfatazy białek 4
PPP2R2A (ang. *protein phosphatase, phosphatase A2 subunit B*) – podjednostka B fosfatazy A2
p38/MAPK – ścieżka sygnalizacji komórkowej
RAGE (ang. *receptor for advanced glycation end-products*) – receptor przezbłonowy
RAS/RAF/MEK/ERK – ścieżka sygnalizacji komórkowej MAPK/ERK
RB1 – gen supresorowy
siRNA (ang. *small interfering RNA*) – mały interferujący RNA, krótki interferujący RNA
SIRT1 (ang. *sirtuin 1, silent mating type information regulation 2 homolog 1*) – sirtuina 1

SLUG – czynnik transkrypcyjny, SNAI2
SNAI1 – czynnik transkrypcyjny
SNP (ang. *single nucleotide polymorphism*) – polimorfizm pojedynczego nukleotydu
STAT3 (ang. *signal transducer and activator of transcription 3*) – czynnik transkrypcyjny
TGFβ1 (ang. *transforming growth factor beta 1*) – transformujący czynnik wzrostu beta 1
TGFβ1 /FOXM1/HMGA1/ TGFβ1 – komórkowa oś regulatorowa
TLR4 (ang. *toll-like receptor 4*) – receptor toll-podobny 4
TLR9 (ang. *toll-like receptor 9*) – receptor toll-podobny 9
TNM (ang. *tumour-lymph nodes-metastasis*) – klasyfikacja TNM
TP53 – gen supresorowy
Twist1 (ang. *Twist-related protein 1*) – czynnik transkrypcyjny
UTR (ang. *untranslated region*) – region mRNA nie podlegający translacji
VEGF (ang. *vascular endothelial growth factor*) – czynnik wzrostu śródbłonka naczyniowego
VIM (ang. *vimentin*) – gen kodujący wimentynę
Wnt – mysie glikoproteiny sygnałowe
WNT/β-katenina – ścieżka sygnalizacji komórkowej

1. Wprowadzenie

Według danych opublikowanych na portalu The Global Cancer Observatory rak płuca stanowił 11,4% wszystkich nowotworów złośliwych rozpoznanych na świecie w roku 2020. Tym samym był drugim po raku piersi nowotworem złośliwym pod względem liczby nowo rozpoznanych przypadków. Niemal co piąty zgon (18%) z powodu nowotworu złośliwego na świecie w 2020 roku był spowodowany rakiem płuca. W centralnej i wschodniej Europie choroba ta dotyka ponad cztery razy częściej mężczyzn niż kobiety (odpowiednio 49,0 i 11,6 przypadków na 100 000 mieszkańców). W 2020 r. umieralność w tej części Europy wyniosła 22,7/100 000 i była nieco wyższa niż umieralność na świecie (18/100 000) (The Global Cancer Observatory International Agency for Research on Cancer, 2020).

W Polsce rak płuca nadal pozostaje najczęstszym nowotworem złośliwym (14% zachorowań i 24% zgonów nowotworowych). Według danych zgromadzonych przez Krajowy Rejestr Nowotworów w latach 2014–2016 w Polsce 50% pacjentów z rakiem płuca rozpoczęło leczenie w stadium uogólnionym choroby, 30% w stadium regionalnym, a jedynie 19% w stadium miejscowym. Stąd m.in. rokowania pacjentów z rakiem płuca są gorsze niż chorych na inne często występujące nowotwory. Wśród pacjentów zdiagnozowanych w latach 2014–2016 i obserwowanych do końca 2018 roku 3-letnie wskaźniki przeżyć względnych wynosiły jedynie 17% dla mężczyzn i 24% dla kobiet (Didkowska i in., 2020).

Rozwój raka płuca jest procesem wieloletnim i wieloetapowym. Inicjacja procesu nowotworowego zachodzi między innymi poprzez narażenie organizmu na działanie czynników kancerogennych, głównie tych zawartych w dymie tytoniowym. Rak płuca występował rzadko przed XX wiekiem, a istniejące obecnie światowe zróżnicowanie zachorowalności na ten nowotwór wynika w dużym stopniu z historycznych różnic w rozpowszechnieniu i ograniczeniu palenia tytoniu (Thun i in., 2012). U palacza występuje 10–30-krotnie wyższe ryzyko zachorowania niż u osoby niepalącej. Również bierne palenie zwiększa ryzyko rozwoju tego nowotworu. Zawarte w dymie papierosowym związki chemiczne z grupy policyklicznych węglowodorów aromatycznych (m.in. benzopiren, dwubenzopiren, benzoantracen, metylochryzen i nitronaftalen), jak również aminy aromatyczne i Polon 210 można zaliczyć do grupy związków kancerogennych (Grzelewska-Rzymowska, 2003). Powstają one z nieaktywnych związków o charakterze prokancerogenów na skutek ich metabolizmu (głównie hydroksylacji) przez monoooksygenazy z rodziny cytochromów P-450, zlokalizowane w retikulum endoplazmatycznym komórek płuc. Na przykład benzopiren metabolizowany jest do silnie elektrofilowego diolu epoksydu, łatwo atakującego nukleofilowe miejsca w zasadach DNA. Prowadzi to do tworzenia się adduktów i w konsekwencji do uszkodzeń w łańcuchu kwasu nukleinowego. Zmiany te mogą powodować amplifikację genów lub zapoczątkowywać powstawanie aberracji chromosomowych, co z kolei może prowadzić do transformacji nowotworowej. Rak płuca może być również indukowany na skutek zawodowej ekspozycji na azbest, radon, promieniowanie jonizujące i zanieczyszczenia atmosferyczne oraz niektóre metale: ołów, kadm, arsen, nikiel. Jego rozwojowi mogą także sprzyjać czynniki hormonalne i predyspozycje genetyczne (Marcinak i Kołodziej, 2010).

Do molekularnych czynników transformacji nowotworowej w raku płuca zalicza się geny odpowiedzialne m.in. za kontrolę cyklu komórkowego i różnicowanie się komórek. Należą do nich protoonkogeny (*KRAS*, *MYC*) i geny supresorowe (*RB1*, *TP53*), geny kodujące białka biorące udział w naprawie DNA, geny odpowiedzialne za kodowanie enzymów metabolizujących ksenobiotyki oraz

geny kodujące białka z rodziny naskórkowego czynnika wzrostu (EGF, ang. *epidermal growth factor*). W transformacji nowotworowej raka płuca istotna jest nadekspresja receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR, ang. *epidermal growth factor receptor*). Receptor ten ma aktywność kinazy tyrozynowej, który po połączeniu z EGF ulega dimeryzacji i przekazuje sygnał do podziału komórki, co prowadzi do zwiększania masy nowotworu. Stała stymulacja receptora prowadzi do progresji nowotworu. Na tym etapie dochodzi do aktywacji istotnych czynników stymulujących proces angiogenezy, jak czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF, ang. *vascular endothelial growth factor*) lub łożyskowy czynnik wzrostu (PGF, ang. *placental growth factor*) (Marcinak i Kołodziej, 2010). Powstają nowe naczynia krwionośne i limfatyczne, niezbędne do dostarczania substancji odżywczych rosnącemu nowotworowi. Następuje także wzrost ilości białek enzymatycznych hydrolizujących błony podstawne komórek. Ostatecznie umożliwia to komórkom nowotworowym ich proteolityczne odrywanie od masy guza i formowanie przerzutów.

Białka o wysokiej ruchliwości elektroforetycznej (HMG, ang. *high mobility group proteins*) to duża grupa niehistonowych białek chromosomowych zaangażowanych w procesy transkrypcji, replikacji, rekombinacji i naprawy DNA. Na podstawie obecności w ich budowie charakterystycznych domen funkcjonalnych zostały one podzielone na trzy rodziny: HMGA, HMGB i HMGN. Białka rodziny HMGA [wcześniej HMG-I(Y)] kodowane są przez dwa geny: *HMGA1* (6p21.31) i *HMGA2* (12q14.3). Alternatywne cięcie i składanie transkryptu genu *HMGA1* skutkuje powstaniem białek HMGA1a, HMGA1b i HMGA1c. Gen *HMGA2* koduje białko HMGA2 wykazujące znaczne podobieństwo sekwencji z białkami HMGA1a i HMGA1b. Cechą wspólną białek HMGA jest obecność w ich budowie trzech niezależnych domen (ang. *AT-hook*), które wiążą się z mniejszą bruzdą podwójnej helisy DNA w regionach promotorów i sekwencji wzmacniających transkrypcję genów, bogatych w sekwencje AT. W każdej domenie można wyróżnić sekwencję palindromową prolina-arginina-glicyna-arginina-prolina (P-R-G-R-P) otoczoną poprzez inne dodatnio naładowane reszty aminokwasowe (Balcerczak i in., 2005; Reeves i Beckerbauer, 2001).

Rodzina HMGB (wcześniej HMG-1 i -2) reprezentowana jest przez cztery białka: od HMGB1 do HMGB4. Członkowie tej rodziny charakteryzują się obecnością w swojej budowie dwóch domen wiążących DNA (ang. *HMG-box*, *B-box*) o kształcie przypominającym bumerang, które powstają poprzez fałdowanie trzech helis rozdzielonych polipeptydowymi pętlami. Podobnie jak białka HMGA, mają one zdolność wiązania się do mniejszej bruzdy DNA, lecz interakcja ta nie jest specyficzna względem sekwencji nukleotydowej (Reeves i Adair, 2005).

Do rodziny HMGN (wcześniej HMG-14 i -17) zaliczono dotąd pięć białek oznaczonych od HMGN1 do HMGN5. Każda cząsteczka HMGN posiada trzy domeny funkcjonalne: dwudzielną domenę lokalizacji jądrowej, domenę wiążącą cząsteczki rdzenia nukleosomu i domenę transaktywacji / rozwijania chromatyny. W odróżnieniu od białek HMG z rodzin A i B, które preferencyjnie łączą się z zagiętymi lub odkształconymi fragmentami DNA, białka z rodziny N wiążą się z nukleosomami bez specyficzności względem sekwencji DNA. Osłabiają w ten sposób wiązanie histonów H1 do nukleosomów i przez to wpływają na strukturę chromatyny (Nanduri i in., 2020; Reeves i Adair, 2005).

Białka niehistonowe HMG są nazywane dodatkowymi „czynnikami architektonicznymi”, ponieważ powodują prostowanie, zginanie, rozwijanie bądź tworzenie się pętli DNA w miejscu jego wiązania lub modulują strukturę nukleosomu i chromatyny. Regulują bądź ułatwiają procesy jądrowe zależne od DNA, a tym samym wpływają na fenotypy komórkowe. Koordynują także udział

innych białek w transkrypcji, replikacji i naprawie DNA. Regulują aktywność transkrypcyjną genów uczestniczących w różnicowaniu komórek, cyklu komórkowym, migracji komórek i ich transformacji oraz apoptozie. Uczestniczą także w procesie integracji retrowirusów *in vitro* (Reeves i Beckerbauer, 2001).

Geny *HMGA1* i *HMGA2* ulegają ekspresji podczas embriogenezy, natomiast ich ekspresja jest niska bądź niewykrywalna w dojrzałych, zróżnicowanych tkankach (Vignali i Marracci, 2020). Do powtórnego uaktywnienia tych genów dochodzi podczas procesu nowotworzenia. Nadekspresja genów *HMGA1* i/lub *HMGA2* była stwierdzana m.in. w raku piersi, jelita grubego, jajnika i trzustki. W nowotworach tych białka HMGA uczestniczą w kluczowych dla procesu transformacji szlakach sygnalizacyjnych, jak WNT/ β -katenina, PI3K/AKT czy RAS/RAF/MEK/ERK (Pallante i in., 2015). Ich onkogenne działanie wiąże się ze zdolnością do indukowania czynników transkrypcyjnych E2F1 i AP1, indukowania ekspresji cykliny A, inaktywowania apoptozy zależnej od P53, zaburzenia procesu naprawy DNA, nasilania ekspresji białek prozapalnych czy modulowania ekspresji genów zaangażowanych w proces przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT, ang. *epidermal-mesenchymal transition*) (Fusco i Fedele, 2007). Niemal dla wszystkich nowotworów złośliwych potwierdzono związek nadekspresji genów *HMGA* z wysokim stopniem złośliwości, opornością na chemioterapię, tendencją do przerzutowania i niską przeżywalnością chorych (Pallante i in., 2015).

W odróżnieniu od białek z rodziny HMGA białko HMGB1 jest obecne w niemal wszystkich komórkach organizmów eukariotycznych. Jego funkcje istotnie zależą od jego lokalizacji komórkowej. Występujące w jądrze komórkowym HMGB1 wiąże się do DNA i tworzy kompleksy z białkami jądrowymi, m.in. P53, P73. Stabilizuje strukturę nukleosomów, reguluje ekspresję genów, bierze udział w naprawie DNA. Wydzielane aktywnie za pośrednictwem lizosomów poza komórkę bądź z ulegających nekrozie komórek nowotworowych jest cząsteczką stymulującą aktywność komórek układu odpornościowego. Podwyższone ilości białka HMGB1 w komórkach nowotworowych, jak i we krwi były stwierdzane u chorych na różnego rodzaju nowotwory (Ding i in., 2017; Smolarczyk i in., 2012; Wu i Yang, 2018; Wu i in., 2018a).

W pracy przedstawiono obecny stan wiedzy na temat znaczenia białek *HMGA1*, *HMGA2* i *HMGB1* oraz kodujących je genów w procesie transformacji nowotworowej w raku płuca. Zebrano także wyniki badań nad użytecznością ekspresji wymienionych genów i białek w prognozowaniu przebiegu i terapii tego nowotworu.

2. Gen *HMGA1* i białko *HMGA1*

Nadekspresja genu *HMGA1*, jak i podwyższone poziomy kodowanego przez ten gen białka zostały potwierdzone w wielu różnych liniach komórkowych raka płuca (H1299, SK-MES-1, H460, H358, H125, H82, H661, U-1752) w porównaniu z prawidłowym nabłonkiem oskrzeli (Hillion i in., 2009; Ma i in., 2019). Również większość badanych pierwotnych guzów płuca wykazywała wyższą ekspresję genu *HMGA1* niż prawidłowa tkanka płuc (Barh i in., 2013; Hillion i in., 2009; Ma i in., 2019). Poprzez analizę danych mikromacierzowych dla 60 par pooperacyjnej tkanki niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC, ang. *non-small cell lung cancer*) i przylegającej prawidłowej tkanki płuca zgromadzonych w bazie Gen Expression Omnibus Zhang i wsp. (2015b) wykazali, że ekspresja genu *HMGA1* była istotnie wyższa w tkance zmienionej nowotworowo, a wynik ten potwierdzili w badaniu własnym techniką real-time PCR w próbach pobranych od chorych z NSCLC. Również ilość białka

HMGA1 badana techniką immunohistochemiczną okazała się być istotnie większa w tkance nowotworowej niż prawidłowej.

W raku płaskonabłonkowym płuca metodą porównawczej hybrydyzacji genomowej stwierdzono amplifikację regionu 6p12~p21.1, gdzie położony jest ulegający nadekspresji gen *HMGA1* (Kettunen i in., 2004). Prawdopodobnie wysoka ekspresja genu *HMGA1* jest zjawiskiem powszechnym, niezależnym od typu histologicznego raka płuca. Profilowanie za pomocą mikromacierzy cDNA wykazało, że *HMGA1* jest jednym z genów, które powszechnie ulegają nadekspresji zarówno w raku płaskonabłonkowym, jak i gruczolakoraku płuca (Kettunen i in., 2004; Wikman i in., 2002). Co ciekawe, rearanżacje chromosomowe obejmujące geny *HMGA* były opisywane w łagodnych zmianach nienowotworowych płuca (hamartoma), w których stwierdzano indukcję tych genów (Kayser i in., 2003). Obecność białka HMGA1 w jądrach komórkowych w większości badanych tkanek raka płuca, niezależnie od typu histologicznego, stwierdzili również Sarhadi i wsp. (2006). Korelowała ona pozytywnie z poziomem ekspresji *HMGA1a* i *HMGA1b* w badaniu półilościowym RT-PCR. Ekspresji tej nie stwierdzono natomiast w tkance prawidłowej płuca. Obecność pozytywnie barwiących się komórek zaobserwowano natomiast w nabłonku oskrzeli o cechach hiperplazji, metaplazji i dysplazji, co świadczyć może, że białko HMGA1 bierze udział już we wczesnych etapach procesu nowotworowego. Podwyższoną ekspresję genu *HMGA1* stwierdzono także we krwi chorych z NSCLC, zarówno w raku płaskonabłonkowym, jak i gruczolakoraku – w porównaniu z osobami zdrowymi (Barh i in., 2013).

Dokładna rola genu *HMGA1* w patogenezie raka płuca nie została jeszcze dobrze poznana. Dotychczasowe badania dostarczają dowodów, że gen *HMGA1* może być odpowiedzialny za zaburzenie funkcjonowania kluczowych szlaków sygnałowych, co prowadzi do rozwoju wielu nowotworów, w tym raka płuca (Pallante i in., 2015). Profilowanie RNA techniką mikromacierzy przeprowadzone w komórkach nabłonka oskrzelowego wykazujących ekspresję zmutowanego genu *PI3K* dowiodło, że białko HMGA1 jest elementem zespołu czynników transkrypcyjnych związanych z nieprawidłową sygnalizacją w szlaku PI3K/AKT w raku płuca. Komórki pochodzące z NSCLC (A549, NCI-H460, NCI-H596, NCI-H226, CALU1) z aktywowanym białkiem AKT wykazywały wyższą ekspresję genu *HMGA1* niż komórki z niską aktywnością AKT (NCI-H522, NCI-H23, BEN1). Badacze sugerują, że białko HMGA1 – obok czynników MYC, JUN, JUN-B i FOS – jest jednym z głównych węzłów wspólnej sieci molekularnej, które są pobudzone przez konstytutywną sygnalizację PI3K (Scrima i in., 2012).

Analizy bioinformatyczne wykazały, że *HMGA1* jest jednym z dziesięciu głównych genów należących do sieci wzajemnych oddziaływań miRNA–geny, która może być kluczowa w patogenezie NSCLC. Gen *HMGA1* wchodzi w interakcje m.in. z miR-16-5p i miR-222-3p (Zhou i in., 2020). Wyniki tych badań potwierdziły wcześniejsze obserwacje Zhang i wsp. (2011), którzy wykazali, że białko HMGA1 posiada kilka miejsc wiązania w obrębie promotora miR-222, a łącząc się z nim bezpośrednio w komórkach NSCLC – zwiększa aktywność transkrypcyjną miR-222, zmniejsza aktywność PPP2R2A (ang. *protein phosphatase, phosphatase A2 subunit B*) i w konsekwencji pobudza ścieżkę sygnałową zależną od pAKT. Dodatkowo indukcja ekspresji IL-24, cytokiny o właściwościach supresora nowotworowego, w linii komórkowej raka płuca H1299 była związana z istotnym spadkiem poziomu ekspresji genu *HMGA1*, poziomów miR22-3p i -5p, jak również z towarzyszącym temu wzrostem ilości białka PPP2R2A i zmniejszeniem ilości fosforylowanej formy białka AKT (Panneerselvam i in., 2016).

Analizy *in silico* interakcji miRNA– czynniki transkrypcyjne w NSCLC wykazały obniżone poziomy miRNA o właściwościach supresorów nowotworowych (miR-29a, -16, -125, i let-7), które fizjologicznie mogą obniżać ekspresję genu *HMGA1* (Barh i in., 2013). Dowiedzono także, że gen *HMGA1* pozostaje pod kontrolą miR-4458. Za pomocą danych o ekspresji genów w gruczolakoraku płuca i narzędzi bioinformatycznych *HMGA1* został wytypowany jako potencjalny gen docelowy dla miR-4458, co potwierdzono następnie w badaniach *in vitro*. MiR-4458 hamowało migrację i proces EMT poprzez zmniejszenie ekspresji genu *HMGA1*. Wyciszenie *in vitro* genu *HMGA1* powodowało zmiany w ekspresji białek markerowych dla EMT: E-kadheryny, N-kadheryny, Snail. Ponieważ miR-4458 jest zaangażowane we wspomniane procesy poprzez ścieżkę PI3K/AKT, dostarczyło to również kolejnego, pośredniego dowodu, że białko HMGA1 jest ważnym elementem tego szlaku sygnalizacji w raku płuca (Ma i in., 2019). Analogicznych obserwacji dokonano dla miR-26a w linii H1299, gdzie łączyło się ono bezpośrednio z promotorem genu *HMGA1* i obniżało ekspresję tego genu na poziomie mRNA. W konsekwencji następowało osłabienie migracji, inwazyjności i wzrostu komórek nowotworowych. Poziomy ekspresji genu *HMGA1* i miR-26a korelowały negatywnie w 26 różnych liniach ludzkiego gruczolakoraka płuca (Sekimoto i in., 2017).

Poszukuje się genów docelowych dla białka HMGA1, poprzez które mogłoby ono wywierać swój onkogenny wpływ na komórki. Wykazano, że gen *HMGA1* może spełniać rolę onkogenu kierującego transformacją prawidłowych komórek płuc do fenotypu nowotworowego. Stwierdzono, że w procesie tym następuje zależna od HMGA1 nadekspresja genu *MMP-2* (ang. *matrix metalloproteinase-2*). Zwiększa ona także zdolność do migracji i inwazyjność komórek niezróżnicowanego raka wielkokomórkowego płuca (linia H1299). Co ciekawe, białko HMGA1 wiąże się bezpośrednio do promotora *MMP-2 in vivo* w liniach raka wielkokomórkowego, ale nie w komórkach linii raka płaskonabłonkowego. Zahamowanie zaś ekspresji genu *HMGA1* blokuje niezależny od macierzy zewnątrzkomórkowej wzrost komórek tego nowotworu (Hillion i in., 2009). Lin i Peng (2016) wykazali dodatnią korelację ekspresji białek HMGA1 i SIRT1 w NSCLC – zasugerowali ich możliwe współdziałanie w procesie nowotworzenia poprzez wpływ na transkrypcję zależną od TP53.

Białko HMGA1 może się także przyczyniać do zmniejszenia efektywności terapii raka płuca zarówno za pomocą leków konwencjonalnych, jak i terapii celowanych. Udowodniono, że białko to może współuczestniczyć w tworzeniu oporności na cisplatynę w NSCLC. Wykazano, że aktywacja ścieżki regulacji transkrypcyjnej FOXM1/HMGA1/G6PD (ang. *forkhead box protein M1-high mobility group AT-hook 1-G6PD*) przez transformujący czynnik wzrostu beta 1 (TGFβ1, ang. *transforming growth factor beta 1*) zwiększa ekspresję dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej (G6PD), kluczowego enzymu cyklu pentozofosforanowego. Jednocześnie białko HMGA1 zwrótnie nasila ekspresję TGFβ1, co sugeruje istnienie pozytywnego sprzężenia zwrotnego w osi regulatorowej TGFβ1/FOXM1/HMGA1/TGFβ1. Utrzymuje ono wysoką ekspresję G6PD, przyczyniając się do oporności na cisplatynę (Rongwei Zhang i in., 2019). Istnieją także dowody, że podwyższony poziom fosforylacji HMGA1 przyczynia się do oporności na gefitinib poprzez wpływ na sygnalizację w ścieżce zależnej od EGFR. Wyciszenie ekspresji *HMGA1* w ludzkich komórkach gruczolakoraka płuca wzmacnia efektywność gefitinibu poprzez reaktywowanie sygnalizacji od EGFR lub płytkopochodnego czynnika wzrostu (PDGF, ang. *platelet-derived growth factor*) (Wang i in., 2017).

Blokowanie funkcji białka HMGA1 mogłoby mieć zastosowanie terapeutyczne. Zablockowanie ekspresji genu *HMGA1* za pomocą adenowirusa zawierającego sekwencję tego genu w orientacji

odwrotnej w liniach komórek raka płuca A549 i H1355 spowodowało osłabienie ich proliferacji, ale nie wpłynęło na wzrost komórek prawidłowych, co dowodzi specyficzności i niskiej toksyczności działania tego antysensu (Scala i in., 2000). Wyciszenie genu *HMGA1* za pomocą siRNA w połączeniu z IL-24 powodowało istotny spadek ekspresji AKT i istotnie osłabiło migrację i inwazyjność hodowanych komórek raka płuca. Sugeruje to, że terapia złożona z IL-24 i inhibitora *HMGA1* mogłaby być efektywna w terapii tego nowotworu (Panneerselvam i in., 2016).

Obserwowana nadekspresja genu *HMGA1* i białka HMGA1 w tkankach raka płuca, jak również ich potencjalne zaangażowanie w szlaki sygnałowe kluczowe w rozwoju tego nowotworu uzasadniły poszukiwanie prognostycznego znaczenia tego białka i kodującego go genu. Wyniki badań dotyczące tego zagadnienia opublikowali jako pierwsi Sarhadi i wsp. (2006), którzy wykazali zależność obecności białka HMGA1 w jądrach komórek gruczolakoraka płuca i krótszego czasu przeżycia chorych, choć obecność ta nie wykazywała związku z indeksem proliferacji lub indeksem apoptotycznym komórek nowotworowych. Wysoka ekspresja genu *HMGA1* była związana z krótszym czasem przeżycia chorych z NSCLC także według danych zawartych w bazie Kaplan-Meier Plotter (Ma i in., 2019).

Zhang i wsp. (2015b) w badaniu obejmującym 145 pacjentów z NSCLC wykazali, że wysoka ekspresja białka HMGA1 w tkance nowotworowej była związana z wielkością guza nowotworowego, obecnością przerzutów do węzłów chłonnych i przerzutów odległych oraz z wyższym zaawansowaniem wg klasyfikacji TNM, jak również niskim zróżnicowaniem histologicznym tkanki nowotworowej. W analizie wieloczynnikowej wysoka ekspresja białka HMGA1 okazała się być niezależnym negatywnym czynnikiem prognostycznym i łączyła się z krótszym czasem przeżycia chorych. Uzyskane wyniki sugerują, że białko HMGA1 może istotnie wpływać na proliferację, inwazyjność i zdolność do przerzutowania komórek NSCLC.

W innym retrospektywnym badaniu w grupie 205 pacjentów z NSCLC udowodniono, że zwiększona ilość białka HMGA1 w tkance nowotworowej, stwierdzana za pomocą techniki immunohistochemicznej, wiązała się z krótszym całkowitym czasem przeżycia chorych w porównaniu z pacjentami o małej ilości HMGA1. Jednak wpływ badanego białka na progresję NSCLC jest prawdopodobnie zależny od innych czynników. We wspomnianym badaniu wykazano, że ilość białka HMGA1 w tkance nowotworowej koreluje z ilością FOXM1 i G6PD, z którymi to HMGA1 tworzy wspólną ścieżkę regulacji transkrypcyjnej i które w ten sam sposób wiązały się z TNM i całkowitym czasem przeżycia pacjentów (Zhang i in., 2019).

Nie wszystkie dotychczasowe badania potwierdziły jednak związek ilości białka HMGA1 w tkance nowotworowej z czasem przeżycia pacjentów z rakiem płuca. Takiej zależności nie zanotowali Lin i Peng (2016), mimo że w przeprowadzonym przez nich badaniu obecność białka HMGA1 w próbach tkanek NSCLC wiązała się z niskim zróżnicowaniem histologicznym nowotworu. Badane białko było także wykrywane częściej u mężczyzn i w podtypie raka płaskonabłonkowego w porównaniu z gruczolakorakiem. Poprzez wykorzystanie profilu ekspresji mikroRNA, analizy *in silico* opartej na odwrotnej transkryptomice (ang. *reverse-transcriptomics*) oraz analizę interaktomu. Barh i wsp. (2013) wytypowali siedem czynników transkrypcyjnych, które mogłyby stanowić biomarkery w diagnostyce raka płuca. Jednym z nich był gen *HMGA1*, którego istotną nadekspresję wykazali zarówno w tkance nowotworowej, jak i we krwi pacjentów z NSCLC. Gen *HMGA1* należał też do panelu wytypowanych genów czynników transkrypcyjnych, których ekspresja oceniona w NSCLC pozwoliła na różnicowanie raka drobnokomórkowego i niedrobnokomórkowego.

Łączna analiza danych dotyczących metylacji wysp CpG i danych pochodzących z sekwencjonowania całego transkryptomu w gruczolakoraku płuca wyłoniła dziesięć genów o zmienionym poziomie ekspresji i statusie metylacji, które były istotnie związane z przeżywalnością chorych (He i in., 2018). Do grupy tych genów zaliczony został *HMGA1*, który wykazywał jednocześnie hypometylację i nadekspresję, co dowodzi istotnego wpływu mechanizmów epigenetycznych w regulacji ekspresji *HMGA1* na proces rozwoju gruczolakoraka płuc.

3. Gen *HMGA2* i białko *HMGA2*

Badania na myszach knock-out *Hmga2*/*Hmga2*- dowiodły, że gen *Hmga2* ulega ekspresji podczas rozwoju embrionalnego płuc w tkankach dolnych dróg oddechowych, gdzie jest niezbędny do prawidłowej proliferacji oraz różnicowania komórek nabłonkowych. Knock-out *Hmga2* prowadził do nasilonej sygnalizacji w ścieżce WNT poprzez zwiększenie ilości glikoprotein Wnt2b, Wnt7b i Wnt11 i jednocześnie zmniejszenie ilości białek o działaniu antagonistycznym do ścieżki WNT: Gata6 (ang. *GATA-binding protein 6*) i Fzd2 (ang. *frizzled homolog 2*). Potwierdzono, że białko *Hmga2* bezpośrednio nasila ekspresję genu *Gata6*, a ten następnie zwiększa ekspresję genu *Fzd2* (Singh i in., 2014).

We wczesnych doświadczeniach opartych na technikach hemi-nested RT-PCR i Southern-blot nie wykryto u człowieka ekspresji genu *HMGA2* w prawidłowej tkance płuca ani tkance opłucnej (Barh i in., 2013). Dalsze badania dowiodły jednak, że białko *HMGA2* jest wykrywalne (w rosnącej ilości) w prawidłowym nabłonku oskrzelowym, zmianach o charakterze metaplastji i zmianach dysplastycznych (Sarhadi i in., 2006). Również ekspresja genu *HMGA2* była stwierdzana techniką qRT-PCR w prawidłowej tkance płuc osób zdrowych i chorych z NSCLC (Gao i in., 2017; Meyer i in., 2007).

Wszystkie dotychczasowe badania wskazują, że obecność ekspresji genu *HMGA2* jest zjawiskiem powszechnym w nowotworach płuca i że ekspresja ta jest istotnie wyższa w tkance nowotworowej niż w przylegającej tkance prawidłowej. Takie wyniki uzyskali Gao i wsp. (2017) na skutek analizy danych w bazie *Oncomine* dotyczących ekspresji genów w gruczolakoraku płuca w sześciu różnych grupach pacjentów, co potwierdzili także w badaniu własnym. Ekspresję genu *HMGA2* w badaniu qRT-PCR stwierdzono w nowotworach płuca o różnym typie histologicznym: raku płaskonabłonkowym, gruczolakoraku, raku wielkokomórkowym i raku wielopostaciowym. Była ona wyższa w tkance nowotworowej w porównaniu z prawidłową tkanką płuca. Ekspresja genu *HMGA2* korelowała także z jądrową ekspresją białka *HMGA2* wykrywanego za pomocą techniki immunohistochemicznej (Di Cello i in., 2008; Eide i in., 2016; C. Jiang i in., 2018; Meyer i in., 2007; Sarhadi i in., 2006; Sun i in., 2017; Xu i in., 2016). Stwierdzono także współzależność ilości białek *HMGA1* i 2 (Sarhadi i in., 2006).

Doświadczenia *in vitro* wykazały, że białko *HMGA2* jest czynnikiem niezbędnym do zainicjowania procesu nowotworzenia w płucach. Indukowana nadekspresja genu *HMGA2* prowadziła do uzyskania fenotypu nowotworowego przez komórki prawidłowego nabłonka oskrzelowego (BEAS-2B), tj. zdolności wzrostu niezależnego od zakotwiczenia (ang. *anchorage-independent growth*) i tworzenia kolonii komórkowych. Z drugiej strony zahamowanie ekspresji genu *HMGA2* z wykorzystaniem interferencji RNA zmniejszało ilość białka *HMGA2* i blokowało niezależny od zakotwiczenia wzrost komórek ludzkiego raka niedrobnokomórkowego płuca H1299 (Di Cello i in., 2008).

HMGA2 może nie tylko inicjować proces transformacji nowotworowej, ale także odpowiada za progresję nowotworu. Di Cello i wsp. (2008) wykazali, że ekspresja genu *HMGA2* nie była podwyższona w wolno rosnących rakowiakach płuca w stosunku do tkanki prawidłowej. Obniżenie ekspresji *HMGA2* w większości przypadków rakowiaków płuca w stosunku do prawidłowej tkanki płuca stwierdzili natomiast Di Fazio i wsp. (2017). Knock-down *HMGA2* w komórkach linii H1299 o silnej endogennej ekspresji tego genu prowadził do zmniejszenia zdolności proliferacyjnych, ruchliwości i inwazyjności komórek. Natomiast komórki linii A549 o słabej endogennej ekspresji genu *HMGA2*, transfekowane *HMGA2*, wskazywały zwiększoną proliferację, zdolność do migracji i inwazyjność (Gao i in., 2017). Jądrowa ekspresja białka HMGA2 korelowała pozytywnie z indeksem proliferacyjnym komórek raka płuca wyrażonym ilością markera Ki-67 w badaniu techniką immunohistochemiczną (Sarhadi i in., 2006). Zbieżne wyniki do powyżej przedstawionych uzyskali także Naghizadeh i wsp. (2019) oraz Sun i wsp. (2017), którzy po zablokowaniu *HMGA2* za pomocą specyficznego siRNA obserwowali osłabienie żywotności, zdolności do migracji i inwazyjność komórek linii A549 i/lub H460.

W czasie progresji nowotworu obserwuje się proces EMT, podczas którego zachodzą zmiany morfologiczne w komórkach. Następuje modyfikacja fenotypu nabłonkowego na mezenchymalny, osłabienie powiązań międzykomórkowych, nasilenie oddziaływań komórka-macierz zewnątrzkomórkowa i oddzielanie się komórek od błony podstawnej z towarzyszącymi im charakterystycznymi zmianami molekularnymi, obejmującymi m.in. EGF, PDGF, TGF β , WNT/ β -katenina oraz składniki macierzy zewnątrzkomórkowej (Gos i in., 2009). Wyciszenie genu *HMGA2* w linii H1299 prowadziło do zwiększenia ilości białek związanych z procesem EMT: E-kadheryny oraz zmniejszenia ilości wimentyny i Twist1, bezpośredniego represora E-kadheryny, a transdukcja *HMGA2* w linii A549 dawała przeciwne efekty (Gao i in., 2018). W analogicznym doświadczeniu przeprowadzonym przez Naghizadeh i wsp. (2019) transfekcja siRNA specyficznym dla *HMGA2* komórek linii A549 powodowała nie tylko zależne do dawki obniżenie ekspresji tego genu, ale także zmniejszenie ekspresji genów związanych z EMT: *MMP1* (ang. *matrix metalloproteinase 1*), *CXCR4* (ang. *C-X-C chemokine receptor type 4*), *VIM* (ang. *vimentine*). Udowodniono, że wpływ białka HMGA2 na proces EMT podlega regulacji przez białko PP4R1 (ang. *protein phosphatase 4 regulatory subunit 1*). Wykazano, że PP4R1 nasila ekspresję genu *HMGA2* i zwiększa ilość kodowanego przez niego białka w komórkach raka płuca *in vitro*. Powoduje to aktywację ścieżki sygnalizacji MAPK/ERK, a w konsekwencji zwiększenie ilości N-kadheryny, β -kateniny i wimentyny oraz zmniejszenie ilości E-kadheryny (Wang i in., 2020a). Ekspresja genu *HMGA2* ulega również nasileniu pod wpływem działania angiogeniny (ANG), rybonukleazy z nadrodziny RNaz A. Indukowana ekspresja genu *ANG* przy użyciu wektorów adenowirusowych w linii komórkowej płaskonabłonkowego raka płuca (SK-MES-1) powodowała nasilenie ekspresji genów *MMP-2*, *HMGA2*, *NFKB* i *BCL2*. Przy użyciu immunoprecypitacji chromatyny i testu lucyferazowego wykazano, że białko ANG wiąże się bezpośrednio do promotora genu *HMGA2*, co powoduje nasilenie inwazyjności i zdolności do migracji komórek SK-MES-1 (Xu i in., 2016). Szereg doświadczeń *in vitro* przeprowadzonych na komórkach NSCLC dowiódł, że onkogenne białko transbłonowe MUC1-C aktywuje wraz z NF- κ B (ang. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) transkrypcję genu *LIN28B*. Prowadzi to do zmniejszenia ekspresji mikroRNA *let-7* i zwiększenia ekspresji genu *HMGA2*, a to promuje EMT i nasila zdolność do samoodnowy komórek raka płuca (Alam i in., 2015).

Dla wzrostu komórek nowotworowych kluczowy jest balans między podziałami a apoptozą. Tworzenie kolonii komórkowych przez komórki *in vitro* jest wypadkową nasilenia mitozy i apoptozy. Istnieją dowody, że białko HMGA2 może regulować wzrost nowotworu także poprzez wpływ na proces apoptozy. Wyciszenie genu *HMGA2* w linii komórkowej H1299 powodowało zmniejszenie ilości anty-apoptotycznego białka BCL2 i nasilenie aktywności kaspaz 3 i 9, natomiast transfekcja *HMGA2* dawała przeciwny efekt (Gao i in., 2017).

Dowiedziano, że ekspresja genu *HMGA2* w komórkach raka płuca jest regulowana przez mikroRNA. Zastosowanie narzędzi bioinformatycznych (TargetScan, miRDB, microRNA.org, miRanda, PicTar, RNA22) pozwoliło na wytypowanie kilku mikroRNA, które posiadają komplementarne sekwencje w obrębie regionu 3' nieulegającego translacji (ang. *3' untranslated region*, 3'UTR) mRNA *HMGA2*: miR-33a (Rice i in., 2013), miR-195 (Gao i in., 2017), miR-219 (Sun i in., 2017), miR-363-3p (Jiang i in., 2018a), miR-495 (Sun i in., 2019), miR-498 (Gao i in., 2018), miR-541 (Xu i in., 2018). Bezpośrednie oddziaływanie z *HMGA2* potwierdzono *in vitro* w systemie lucyferazowym w przypadku miR-195, miR-219, miR-363-3p, miR-495, miR-498 i miR-541. Ekspresja genu *HMGA2* korelowała negatywnie z ekspresją miR-219 (Sun i in., 2017) i miR-363-3p (Jiang i in., 2018a) w tkance NSCLC.

Proces nowotworzenia w tkance płuca przebiega z obniżeniem mikroRNA regulujących ekspresję genu *HMGA2*. Stwierdzono, że ekspresja mikroRNA-219, -363-3p, -495, -498, -541 była obniżona w tkance NSCLC w porównaniu z tkanką otaczającą, jak również w komórkach linii wyprowadzonych z tego nowotworu (A549, H460, H1650, H520, SK-MES-1, H23, H522, SPC-A1, H1299, 95D, H226, H1299) w porównaniu z komórkami normalnego nabłonka oskrzelowego. *In vitro* każde ze wspomnianych mikroRNA miało zdolność osłabiania przynajmniej jednej z wymienionych cech komórek raka płuca: potencjału proliferacyjnego, inwazyjności, zdolności do migracji. Dodatkowo miR-498 nasilało zdolność do apoptozy. W przypadku miR-495, -489, i -541 udowodniono, że nadekspresja genu *HMGA2* znosi opisany hamujący wpływ tych mikroRNA. Przeciwnie, wyciszenie genu *HMGA2* w komórkach H522 i A459 dawało taki sam efekt jak nadekspresja miR-363-3p – zmniejszało proliferację i inwazyjność komórek (Gao i in., 2018; Jiang i in., 2018a; Sun i in., 2019; Sun i in., 2017; Xu i in., 2018).

MikroRNA, jako post-transkrypcyjne regulatory syntezy białek, mogą regulować proces translacji bądź wpływać na stabilność mRNA. Wykazano, że nadekspresja miR-195 zmniejszała ekspresję *HMGA2* zarówno na poziomie mRNA, jak i białka w komórkach linii H1299 (Gao i in., 2017). Analogiczne wyniki uzyskano w badaniu oddziaływania miR-541 w liniach SK-MES-1 i H226 (Xu i in., 2018) i miR-495 w linii A549 (Sun i in., 2019). Możliwe jednak, że sposób regulacji jest zależny od rodzaju mikroRNA, zaobserwowano bowiem, że nadekspresja miR-219 w liniach A549 i H460 redukowała poziom białka *HMGA2*, ale nie zmieniała poziomu mRNA *HMGA2* (Sun i in., 2017). Hamowanie procesu translacji *HMGA2* w komórkach raka płuca A549 następuje również pod wpływem *pre-let-7g*, prekursorowej cząsteczki mikroRNA *let-7g* (Park i in., 2010). Należy ona do rodziny mikroRNA *let-7*, dla których w 3'UTR ludzkiego genu *HMGA2* znaleziono siedem miejsc komplementarnych. Opisano chromosomowe translokacje w nowotworach, które prowadzą do produkcji skróconego mRNA *HMGA2*, nieposiadającego tych miejsc komplementarnych. Prowadzą one do zniesienia represji *HMGA2* przez *let-7*, co promuje niezależny do zakotwiczenia wzrost komórek, charakterystyczny dla transformacji nowotworowej (Mayr i in., 2007). W atypowych rakowiakach płuca ekspresja genu *HMGA2* korelowała negatywnie z ekspresją *hsa-let-7f-5p*

mikroRNA, dla którego *HMGA2* jest przewidywanym genem docelowym (Di Fazio i in., 2017). Wykazano, że ektopowa ekspresja *let-7* w komórkach linii raka płuca H1299 zmniejsza ilość mRNA *HMGA2* i białka HMGA2 oraz zdolność do proliferacji tych komórek. To działanie *let-7* polega na destabilizacji mRNA w cytoplazmie. W komórkach H1299, gdzie uzyskano stabilną ekspresję genu *HMGA2* posiadającego otwartą ramkę odczytu, ale bez 3'UTR, transfekcja *let-7* nie spowodowała zmniejszenia ekspresji skróconego mRNA *HMGA2*, ale zmniejszyła ekspresję mRNA *HMGA2* o pełnej długości. Nadekspresja *HMGA2* bez regionu 3'UTR pozwala na zniesienie hamującego wpływu *let-7* na proliferację komórek. Jest to dowodem na to, że w nowotworach płuca może dochodzić do aktywacji onkogenów poprzez translokacje eliminujące 3'UTR, które zawierają miejsce docelowe dla *let-7* (Yong i Dutta, 2007).

Prawdopodobnie związek regulacyjny mikroRNA i genu *HMGA2* jest częścią większej sieci sygnałowej w komórkach raka płuca. W tkankach guza pobranych od pacjentów z NSCLC Eide i wsp. (2016) stwierdzili koekspresję genów *HMGA2*, *MYCN* i *DICER1*. Poziom ekspresji genu *HMGA2* był związany także z poziomami ekspresji kilku mikroRNA z rodziny *let-7*: *-7a*, *-7c*, *-7d*, *-7f*, *-7g*. Badacze zasugerowali istnienie ścieżki regulacyjnej MYCN-LIN28B-LET7-HMGA2-CDKN2 w NSCLC. *Pre-let-7g* posiada zdolność obniżania ekspresji genu *HMGA2*, co powoduje następnie zmniejszenie ilości czynnika transkrypcyjnego E2F1 w jądrach komórek raka płuca linii A549 i ich zdolności do migracji. Dodatkowo wykazano, że wyciszenie genu *HMGA2* w komórkach A549 wiąże się ze zmniejszeniem ilości białka KRAS, innego celu komórkowego *pre-let-7g*. Ponieważ jednoczesne wyciszenie genów *HMGA2* i *KRAS* daje silniejsze zahamowanie migracji komórek w porównaniu z wyciszeniem tych genów pojedynczo, badacze sugerują, że KRAS jest białkiem podległym HMGA2 we wspólnym szlaku sygnalizacji (Park i in., 2010). Doświadczenia przeprowadzone przez Dai i wsp. (2019) dowiodły, że możliwe jest współdziałanie między genami *HMGA2*, *GSKIP* (ang. *glycogen synthase kinase 3 beta interacting protein*) i genem β -kateniny w komórkach NSCLC. W 3'UTR wszystkich tych genów występują miejsca docelowe dla miR-150-5p, które powoduje obniżenie ich ekspresji. W komórkach H1299 jednoczesna ekspresja genów *HMGA2* i genu kodującego β -kateninę bardziej kompletnie znosiła hamujące działanie miR-150-5p na proliferację i inwazyjność komórek niż nadekspresja jednego z tych genów. Dodatkowo skrócenie czasu przeżycia pacjentów z NSCLC było tym większe, im większa liczba spośród tych trzech genów wykazywała nadekspresję w komórkach nowotworowych.

Podobnie jak dla genu *HMGA1* i kodowanego przez niego białka, również w przypadku genu *HMGA2* poszukuje się związku między poziomem jego ekspresji a cechami kliniczno-patologicznymi w grupach chorych z rakiem płuca. Meyer i wsp. (2007) nie stwierdzili zależności między poziomem ekspresji genu *HMGA2* w tkance nowotworowej a typem histologicznym, stopniem zaawansowania wg klasyfikacji TNM czy stopniem złośliwości. Jednakże badanie to przeprowadzono na niewielkiej liczbie przypadków. Inne badania na większych grupach wykazały, że poziom ekspresji genu *HMGA2* i/lub ilość białka HMGA2 są wyższe w raku płaskonabłonkowym niż gruczolakoraku (Eide i in., 2016; Sarhadi i in., 2006), a ilość białka HMGA2 w tkance nowotworowej koreluje pozytywnie ze stopniem złośliwości histologicznej nowotworu (Di Cello i in., 2008).

Poprzez analizę danych zgromadzonych w bazie *Oncomine* Gao i wsp. (2017) stwierdzili, że wysoka ekspresja genu *HMGA2* w tkance nowotworowej była związana z krótszym całkowitym czasem przeżycia pacjentów w pięciu różnych grupach chorych z gruczolakorakiem płuca. Badacze potwierdzili wynik analizy w badaniu własnym. Również Sarhadi i wsp. (2006) stwierdzili zależność

pomiędzy wysoką ekspresją białka HMGA2 w tkance nowotworowej a krótszym czasem przeżycia pacjentów z gruczolakorakiem płuca. Takiego związku nie zanotowano natomiast dla innych podtypów histologicznych raka płuca. Związek *HMGA2* z prawdopodobieństwem przeżycia pacjentów może być zależny od obecności innych czynników. Badania Eide i wsp. (2016) nie potwierdziły, aby poziom ekspresji *HMGA2* w tkankach NSCLC był niezależnym czynnikiem prognostycznym w jednoczynnikowym modelu Coxa. Wykazały natomiast, że jednoczesne występowanie niskiej ekspresji genów *HMGA2* i *MYCN* w tkance NSCLC wiązało się z dłuższym czasem przeżycia pacjentów z NSCLC niż występowanie niskiej ekspresji tylko jednego z tych genów.

4. Gen *HMGB1* i białko *HMGB1*

Wysoka ekspresja *HMGB1* zarówno na poziomie mRNA, jak i białka była stwierdzana w różnych liniach komórkowych NSCLC (A549, SPC-1-1, NCI-2170, SK-MES-1, NCI-H1299) i była istotnie wyższa niż w komórkach ludzkich fibroblastów płodowych WI-38 (Zhang i in., 2015a). W komórkach A549 transfekcja genu *HMGB1* powodowała wzrost ilości białka *HMGB1* zarówno w jądrze komórkowym, cytoplazmie, jak i przestrzeni międzykomórkowej (Liu i in., 2017).

Dotychczas przeprowadzono liczne badania dotyczące występowania i znaczenia ekspresji genu *HMGB1* i kodowanego przez niego białka w tkankach raka płuca. Wyniki większości z nich zostały zebrane i łącznie opracowane w dwóch metaanalizach przez Feng i in. (2016) i Xia i in. (2016). Według obu tych analiz, uwzględniających wyniki oznaczeń metodami ELISA, Western-blot i techniką immunohistochemiczną, ilość białka *HMGB1* w tkance nowotworowej była istotnie wyższa niż w tkance przylegającej niezmienionej nowotworowo, jak i prawidłowej tkance płuca pobranej od osób bez nowotworu. Również ekspresja genu *HMGB1* oznaczana metodą qRT-PCR była istotnie wyższa w tkance nowotworowej w porównaniu z prawidłową tkanką płuca.

Badania wykazały także, że stężenie białka *HMGB1* w surowicy chorych z NSCLC było istotnie wyższe niż w surowicy osób zdrowych (Feng i in., 2016; Xia i in., 2016). Wyższe surowicze stężenie białka *HMGB1* u osób z zaawansowanym NSCLC w porównaniu z osobami zdrowymi stwierdzili także Naumnik i wsp. (2009). Stężenie białka *HMGB1* w surowicy pacjentów z NSCLC było istotnie wyższe niż w surowicy pacjentów z przewlekłą obturacyjną chorobą płuc (Shang i in., 2009), jak i pacjentów z sarkoidozą oraz pozytywnie korelowało z poziomem białka *HMGB1* w popłuczynach oskrzelikowo-pęcherzykowych (Jakubowska i in., 2015). Źródłem zwiększonych stężeń białka *HMGB1* w surowicy są najprawdopodobniej komórki nowotworowe. Myszy, którym podano komórki linii A459 z wyciszonym genem *HMGB1*, posiadały mniejsze surowicze stężenie białka *HMGB1* niż myszy, którym wszczepiono te same komórki niepoddane wyciszaniu (Zheng i in., 2016). Zwiększone stężenie białka *HMGB1* wykryto także w płynie z jamy opłucnowej chorych z NSCLC w porównaniu ze stężeniem tego białka w płynie pobranym od osób z chorobami nienowotworowymi (Ma i in., 2018).

Ekspresja genu *HMGB1* oraz funkcja białka *HMGB1*, jak również skłonność do niektórych schorzeń u poszczególnych osób są uwarunkowane polimorfizmami pojedynczego nukleotydu (SNP, ang. *single nucleotide polymorphism*). Z tego względu poszukiwano zależności między wybranymi SNP genu *HMGB1* a ryzykiem rozwoju raka płuca. Dotychczasowe nieliczne badania w tym zakresie zostały przeprowadzone w chińskiej populacji Han. Stwierdzono, że zarówno heterozygoty CT, jak i osoby posiadające co najmniej jeden allel T dla polimorfizmu rs1045411 (2262C/T) genu *HMGB1* wykazują zmniejszone ryzyko raka płuca o około 40% w porównaniu z homozygotami CC. Polimorfizm ten jest położony w regionie 3' przylegającym do genu *HMGB1* i może wpływać na

poziom jego ekspresji. Analiza danych w bazie Genotype-Tissue Expression Project wykazała istnienie tendencji do zmniejszonego poziomu ekspresji genu *HMGB1* u osób posiadających co najmniej jeden allel T dla rs1045411 w porównaniu z homozygotami CC. Ponadto obecność haplotypu G/T/C złożonego z trzech SNPs *HMGB1* (rs1360485/rs1045411/rs2249825) wiązała się ze zmniejszonym niemal o połowę ryzykiem rozwoju raka względem najczęściej występującego w badanej populacji haplotypu A/C/C. W badaniu tym nie wykazano natomiast związku polimorfizmów SNP rs2249825 (3814C/G), rs1412125 (-1615T/C) i rs1360485 (3'UTR, T/C) z ryzykiem rozwoju raka płuca (Hu i in., 2017).

Przeciwnie wyniki uzyskano w innym badaniu dotyczącym SNPs rs1412125 i rs1360485 w populacji Han, lecz zamieszkującej inny region Chin. Stwierdzono, że u osób posiadających co najmniej jeden allel C dla polimorfizmu rs1412125 wykazano zmniejszone ryzyko raka płuca o około jedną czwartą w porównaniu z homozygotami TT. Podobne wyniki uzyskano także w podgrupie osób niepalących i wśród kobiet, natomiast polimorfizm ten nie wpływał na ryzyko raka płuca ani wśród palaczy, ani wśród mężczyzn. Polimorfizm rs1360485 położony jest w regionie nieulegającym translacji, więc nie zmienia sekwencji białka HMGB1, może natomiast regulować proces transkrypcji genu *HMGB1* bądź innych genów. Allel G rs1360485 wiązał się ze zmniejszeniem ryzyka raka płuca o 17% w odniesieniu do allela A, a genotypy AG i GG ze zmniejszeniem ryzyka o 21% raka płuca wśród kobiet (Jiang i in., 2018c).

W patogenezie raka płuca istotną rolę odgrywają mutacje genu *EGFR*, które mogą prowadzić do stałej aktywacji kodowanego przez ten gen receptora, a w konsekwencji do nasilenia proliferacji i przeżywalności komórek. Dowiedziono, że istnieje genetycznie uwarunkowana skłonność do powstawania tych mutacji. Ponieważ białko HMGB1 uczestniczy w naprawie uszkodzeń DNA powstałych pod wpływem kancerogenów zawartych w dymie papierosowym lub stosowanych chemioterapeutykach, poszukiwano związku między polimorfizmami rs1412125, rs2249825, rs1045411 i rs1360485 *HMGB1* a skłonnością do mutacji *EGFR* u pacjentów z gruczolakorakiem płuca w populacji Tajwanu. W tej grupie osoby palące będące heterozygotami CG rs2249825, CT rs1045411 lub TC rs1360485 wykazywały zmniejszone ryzyko powstania mutacji w genie *EGFR* (odpowiednio o 93%, 88% i 88%) w porównaniu z homozygotami dzikimi dla tych polimorfizmów. SNP rs1360485 nie wiązał się ze zmianą ryzyka powstania mutacji *EGFR*. Dodatkowo stwierdzono negatywną zależność między obecnością genotypu CG oraz obecnością co najmniej jednego allela C (genotypy CG + CC) dla polimorfizmu rs2249825 a obecnością delekcji eksonu 19 *EGFR* (Wu i in., 2019).

Podobnie jak wcześniej opisane białka z rodziny HMGA, również HMGB1 bierze udział w procesie nowotworzenia, wpływając na takie procesy jak cykl komórkowy i proliferacja, inwazja i migracja czy apoptoza. Białko to wywiera jednak swoje onkogenne działanie nie tylko wewnątrz komórek podlegających transformacji, lecz także po uwolnieniu z komórek nekrotycznych. Dotychczasowe wyniki badań dowodzą, że kluczowym i integrującym dla udziału HMGB1 w różnych procesach komórkowych jest czynnik NF- κ B. Wykazano, że nadekspresja miR-449a zmniejsza ilość białka HMGB1 i zapobiega fosforylacji P65 (pNF- κ B) w komórkach A549. Wyindukowana nadekspresja genu *HMGB1* jest w stanie częściowo przywrócić ekspresję białka P65 (Wu i in., 2019a).

Udowodniono, że wyciszenie genu *HMGB1* za pomocą siRNA w komórkach A549 i H1299 powoduje zahamowanie migracji i inwazyjności komórek (Zhang i in., 2013). HMGB1 promuje inwazję i przerzutowanie komórek raka płuca poprzez zwiększanie ekspresji białka MMP-2,

a działanie to wywiera poprzez sygnalizację zależną od NF- κ B. Ilość białka MMP-2 była podwyższona w komórkach A549 i H1299 pod wpływem podawania białka HMGB1, jednak efekt ten był znacznie osłabiony poprzez blokowanie za pomocą siRNA genu *P65* kodującego podjednostkę NF- κ B (Wu i in., 2018c). W innym badaniu stwierdzono, że ekspresja genu *MMP-9* (ale nie *MMP-2*) oraz zdolność do przerzutowania i inwazji były wyższe w komórkach raka płuca A549 i H23, gdzie wyindukowano nadekspresję genu *HMGB1*, lecz efekt ten był znacznie osłabiony poprzez zastosowanie selektywnych inhibitorów PI3K/AKT i NF- κ B. Natomiast wyciszenie genu *HMGB1* w komórkach A549 i H23 za pomocą siRNA wywołało przeciwny efekt – spadek ekspresji genu *MMP-9* i osłabienie przerzutowania tych komórek. Dodatkowo stwierdzono korelację pomiędzy poziomami ekspresji genów *HMGB1* i *MMP-9* w tkance NSCLC (Liu i in., 2010). HMGB1 indukuje migrację komórek NSCLC także poprzez nasilenie ekspresji integryny $\alpha\beta3$, co prowadzi dalej do fosforylacji białka FAK (ang. *focal adhesion kinase*) i nasila ekspresję genów kodujących paksilinę i talinę, jak również aktywuje białka TLR4 (ang. *toll-like receptor 4*) i NF- κ B (Zhu i in., 2016).

Interesujące dane dotyczące zaangażowania HMGB1 w procesy proliferacji, inwazji i migracji komórek przyniosły doświadczenia z zastosowaniem pirogronianu etylu, inhibitora białka HMGB1, który hamuje jego wydzielanie poza komórkę. Stwierdzono, że związek ten hamuje proliferację, inwazję i migrację komórek NSCLC oraz indukuje ich apoptozę. Doświadczenia *in vitro* wykazały, że powodował on też zależne od dawki zmniejszenie ekspresji HMGB1 i jego receptora RAGE zarówno na poziomie mRNA, jak i białka, hamując tym samym ścieżkę sygnalizacji HMGB1/RAGE. Jednocześnie zmniejszał też, na poziomie mRNA, jak i białka, ekspresję PCNA (ang. *proliferating cell nuclear antigen*) i MMP-9 oraz zwiększał ekspresję P53. Zmniejszał także ekspresję białek BCL-2 i MCL-1, a zwiększał ekspresję białka BAX. Wysokie stężenia pirogronianu etylu istotnie zmniejszały aktywację białek NF- κ B i STAT3 poprzez zmniejszenie ilości ich form ufosforylowanych (Liu i in., 2019). Zaangażowanie HMGB1 w proces apoptozy i migracji komórek potwierdzają także badania *in vivo*. U myszy, którym wszczepiono komórki NCI-H157 z nadekspresją miR-520a-3p, zaobserwowano zmniejszenie ekspresji genu *HMGB1* oraz ilości kodowanego przez niego białka z jednoczesnym zmniejszeniem ilości białek MMP-2 i MMP-9, obniżeniem stosunku ilości białek BCL-2/BAX, jak również zwiększeniem ilości białka kaspazy 3 (Lv i in., 2018).

HMGB1 promuje także proces EMT. W tkance NSCLC wykazano jednoczesną, zwiększoną ilość białka HMGB1 i markerów EMT: α -SMA (ang. *α -smooth muscle actin*), wimentyny, β -aktyny. Nadekspresja genu *HMGB1* w komórkach A549 powodowała wzrost, natomiast wyciszenie przez siRNA – spadek ekspresji na poziomie mRNA i białka: α -SMA, wimentyny i β -aktyny. Nadekspresja ta indukowała także reorganizację cytoszkieletu, głównie F-aktyny, która spełnia istotną rolę w procesach migracji i inwazji komórek. Wyciszenie genu *HMGB1* przez siRNA nasilało adhezję międzykomórkową, zmniejszało ilość F-aktyny oraz osłabiało migrację i inwazję komórek. Nadekspresja genu *HMGB1* wpływała na obszar kontaktu między komórkami i promowała wytwarzanie wydłużonych filopodiów o zwiększonej stabilności (wiązki równoległe położonych filamentów aktynowych i innych białek wiążących się z aktyną). Dodatkowo u myszy, którym wszczepiono podskórnice komórki ludzkiego raka płuca A549 z nadekspresją genu *HMGB1*, zaobserwowano nasilenie procesu EMT (Liu i in., 2017).

Wyciszenie przez siRNA genu *HMGB1* w hodowli komórek A459 powodowało istotne zmniejszenie ich proliferacji, żywotności i ruchliwości. Przeciwnie, ektopowa nadekspresja genu *HMGB1* w komórkach H1299 istotnie zwiększała ich żywotność i ruchliwość oraz prowadziła do

aktywacji ścieżki WNT/ β -katenina i promowała proces EMT. Wyciszenie *HMGB1* w komórkach A549 powodowało nadekspresję markera epitelialnego – białka E-kadheryny i zmniejszenie ekspresji markerów mezenchymalnych – białek *SNAI1*, *SLUG* i N-kadheryny. Ponadto wyciszenie *HMGB1* powodowało zmniejszenie ekspresji mRNA i/lub białek c-Myc, cykliny D1, β -kateniny oraz nadekspresję aksyny, *GSK3 β* i *APC*. Porównywalne wyniki uzyskano w komórkach H1299 z ektopową nadekspresją *HMGB1* i jednoczesnym podaniem inhibitora ścieżki WNT, C59 (Wang i in., 2020b). W innym badaniu udowodniono, że *HMGB1* łączy się bezpośrednio z promotorem genu *SNAI1*, pobudzając jego ekspresję (Wu i in., 2020).

Istnieją dowody, że białko *HMGB1* reguluje procesy proliferacji i inwazji komórek raka płuca także poprzez modulację aktywacji ścieżek *ERK1/2* i *p38/MAPK*. Stwierdzono, że egzogenna ekspresja genu *HMGB1* promowała proliferację i inwazyjność komórek A549 (linia z prawidłową formą genu *EGFR*) i nasilała również ekspresję fosforylowanych form *p38* i *ERK1/2* (przy niezmienionej ilości tych białek), a także jądrową ekspresję *NF- κ B*. Podobne wyniki uzyskano w linii *NCI-H1975*, która posiada zmutowany gen *EGFR*, co wskazuje, że ta ścieżka jest aktywowana niezależnie od sygnalizacji *EGFR* (Sun i in., 2013).

Udowodniono również, że w procesach EMT, inwazji i przerzutowania w komórkach raka płuca A549 białko *HMGB1* współdziała z białkiem *NAC1* (ang. *nucleus accumbens associated protein 1*), transkrypcyjnym białkiem inhibitorowym. *NAC1* uczestniczy także w procesie autofagii regulowanej przez białko *HMGB1*. Zaobserwowano, że transfekcja *NAC1* nasilała proliferację komórek, zmniejszała liczbę komórek w fazie G1, a zwiększała w fazie S. Zwiększała także zdolność do inwazji oraz ekspresję *HMGB1*, N-kadheryny, wimentyny, a zmniejszała ekspresję E-kadheryny zarówno na poziomie mRNA, jak i białka, a zastosowanie *shNAC1* dawało przeciwne efekty (Liu i in., 2018).

Komórki eksponowane na czynniki stresowe zewnątrz- bądź wewnątrzkomórkowe uwalniają różnorodne składniki związane ze zniszczeniem (ang. *damage-associated molecular pattern*, DAMPs). Białko *HMGB1* jest jednym z DAMPs, uwalnianych z komórek uszkodzonych i nowotworowych (Wang i in., 2019). Powoduje ono wtedy m.in. nieinfekcyjną odpowiedź zapalną i sprzyja przeżywaniu komórek poprzez łączenie się ze swoim receptorem przezbłonowym *RAGE*. Pozakomórkowo występujące białko *HMGB1* jest kluczowym koefektorem oligonukleotydów CpG w nasilaniu progresji wzrostu i inwazji komórek 95D, które rozpoznają *HMGB1* poprzez receptory *RAGE* i *TLR4*. Stwierdzono, że niemetylowane 20-merowe oligonukleotydy CpG w sposób zależny od dawki stymulowały komórki 95D ludzkiego raka płuca do wydzielania białka *HMGB1*, co nasilało progresję tych komórek. Działanie takie było znoszone w dużej mierze pod wpływem inhibitorów *HMGB1*, takich jak np. pirogronian etylu. Co więcej, białko *HMGB1* nasilało progresję komórek 95D zarówno samodzielnie, jak i synergistycznie z oligonukleotydami CpG. Dowiedziono bowiem, że *HMGB1* wiąże się z oligonukleotydami CpG, lecz dla wywierania ich synergistycznego wpływu niezbędne są receptory *RAGE* i *TLR4*. W komórkach 95D pod wpływem działania białka *HMGB1* dochodziło do wzrostu ilości białek *MMP-2*, *MMP-9* i *CDK2* (ang. *cyklin-dependent kinase 2*). To działanie *HMGB1* było zależne od cząsteczki adaptorowej dla receptora *TLR MyD88*, która wiąże się do fosforylowanego *RAGE* i powoduje przenoszenie sygnału (Wang i in., 2012).

Uwalnianie z komórek DAMPs, w tym *HMGB1*, skutkuje także stresem związanym z retikulum endoplazmatycznym (ang. *endoplasmic reticulum stress*) oraz syntezą reaktywnych form tlenu. Wykazano, że wyciszenie genu *HMGB1* w komórkach A549 za pomocą siRNA promuje apoptozę oraz powoduje produkcję reaktywnych form tlenu, co zmniejsza przeżywalność komórek

nowotworowych. Nasila także ekspresję białka BAX oraz białek markerowych dla stresu związanego z retikulum endoplazmatycznym: p-ERK, eIF2 α , GADD153 i IRE1 α (Tu i in., 2019).

W warunkach hipoksji białko HMGB1 uwalniane z komórek nekrotycznych może stymulować również neoangiogenezę poprzez aktywowanie czynników proangiogennych czy indukcję proliferacji i migracji komórek nabłonkowych (Smolarczyk i in., 2012). Wykazano, że przed leczeniem cytoredukcyjnym stężenie białka HMGB1 w surowicy pacjentów z NSCLC było pozytywnie skorelowane ze stężeniem surwiwiny (inhibitor angiogenezy), a po tym leczeniu negatywnie skorelowane ze stężeniem VEGF (czynnik proangiogeny) (Naumnik i in., 2009).

W komórkach raka płuca białko HMGB1 podlega regulacji poprzez sygnalizację JAK/STAT. Aktywacja tej ścieżki moduluje proces acetylacji białka HMGB1, towarzyszącej jego przejściu z jądra komórkowego do cytoplazmy. Glicyryzyna, związek z grupy triterpenów o działaniu przeciwzapalnym, powodowała zmniejszenie ilości białka HMGB1 w tkance nowotworowej ludzkiego raka płuca w modelu mysim. Jednocześnie stwierdzono, że pod wpływem tego związku następuje zahamowanie fosforylacji białek JAK3 i STAT3 (Wu i in., 2018b).

Podobnie jak geny z rodziny *HMGA* również gen *HMGB1* podlega negatywnej regulacji przez liczne mikroRNA. Analizy bioinformatyczne wykazały, że 3'UTR genu *HMGB1* jest bezpośrednim celem cząsteczek mikroRNA: miR-34c (Tu i in., 2019), miR-142-3p (Chen i in., 2017; Xiao i Liu, 2015), miR181-b (Liu i in., 2016), miR-200c (Liu i in., 2017), miR-218 (Zhang i in., 2013), miR-325-3p (Yao i in., 2015), miR-449a (Wu i in., 2019a). Funkcjonalne znaczenie dla regulacji ekspresji genu *HMGB1* potwierdzono *in vitro* dla miR-34c (Tu i in., 2019), miR-142-3p (Xiao i Liu, 2015), miR181-b Liu i in., 2016), miR-218 (Zhang i in., 2013), miR-325-3p (Yao i in., 2015) i miR-449a (Wu i in., 2019a). Wykazano, że ekspresja miR-142-3p, miR181-b i miR-325-3p była obniżona w tkance NSCLC w porównaniu z prawidłową tkanką płuca (Yun Liu i in., 2016; Xiao i Liu, 2015; Yao i in., 2015), a poziom ekspresji miR-325-3p korelował negatywnie z poziomem ekspresji genu *HMGB1* w tkance NSCLC (Yao i in., 2015).

Ektopowa nadekspresja *in vitro* miR-34c, miR-142-3p, miR-200c, miR-218, miR-325-3p, miR181-b i miR-449a powodowała spadek ekspresji genu *HMGB1* i/lub ilości kodowanego przez niego białka (Liu i in., 2017; Liu i in., 2016; Tu i in., 2019; Wu i in., 2019a; Xiao i Liu, 2015; Yao i in., 2015; Zhang i in., 2013). Dla wybranych mikroRNA wpływających na ekspresję genu *HMGB1* wykazano, że mają zdolność osłabiania proliferacji (miR-142-3p, -325-3p, -449a, -520a-3p), tworzenia kolonii komórkowych (miR-142-3p), inwazyjności (miR-325-3p, -181-b, -449a, -520a-3p) i migracji (miR181-b, -449a, -520a-3p), także nasilania apoptozy (miR-142-3p, -520a-3p) *in vitro* w komórkach raka płuca (Liu i in., 2016; Lv i in., 2018; Wu i in., 2019a; Xiao i Liu, 2015; Yao i in., 2015).

Oporność na chemioterapię jest jedną z przyczyn wciąż niezadowolających wyników leczenia NSCLC. Istnieją dowody, że białko HMGB1 może aktywnie uczestniczyć w odpowiedzi na chemioterapię stosowaną w leczeniu tego nowotworu. Komórki linii A459/DDP wykazujące oporność na cisplatynę posiadały większą ilość białka HMGB1 niż komórki wrażliwe na ten chemioterapeutyk (Zhang i in., 2015a; Zheng i in., 2016). Co więcej, w liniach komórkowych NSCLC A549, SPC-A-1, SK-MES-1 po podaniu adriamycyny, cisplatyny bądź metotreksatu zaobserwowano wzrost zarówno poziomu ekspresji genu *HMGB1*, jak i ilości białka HMGB1 (Zhang i in., 2015a; Zheng i in., 2016). Dowiedziono, że zastosowanie HMGB1 nie ma wpływu ani na żywotność, ani na tworzenie kolonii przez komórki A549. Jednak podanie tego białka do komórek wraz z cisplatyną

powoduje osłabienie jej działania – redukuje negatywny wpływ cisplatyny na żywotność komórek i ich zdolność do tworzenia kolonii (Ma i in., 2018).

Istnieją również dowody, że HMGB1 może wzmacniać proces protekcyjnej autofagii w odpowiedzi na chemioterapię raka płuca. Zaobserwowano, że po ekspozycji komórek gruczolakoraka płuca na docetaksel białko HMGB1 ulegało przemieszczeniu z jąder komórkowych do cytoplazmy, co powodowało nasilenie procesu autofagii, a w konsekwencji zahamowanie apoptozy i oporność na docetaksel. Wyciszenie genu *HMGB1* za pomocą siRNA powodowało przywrócenie wrażliwości na docetaksel badanych komórek zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* (Pan i in., 2014). Zbieżne wyniki uzyskano również w innych badaniach (Zhang i in., 2015a; Zheng i in., 2016). Ekspozycja komórek A549 na cisplatynę zwiększała ilość cytoplazmatycznego i jądrowego białka HMGB1, a jego ilość była wyższa w cytoplazmie niż w jądrze (Zheng i in., 2016). Po zastosowaniu interferującego RNA specyficznego dla genu *HMGB1* w komórkach linii A549/DDP następowało zahamowanie procesu autofagii i nasilenie apoptozy oraz zwiększenie wrażliwości na cisplatynę (Zhang i in., 2015a). Użycie tej samej strategii uwrażliwiało komórki H460 na 5-fluorouracyl, cisplatynę i oksaliplatynę (Zheng i in., 2016). Udowodniono, że w gruczolakoraku płuca białko HMGB1 poprzez aktywację ścieżki sygnalizacyjnej MEK/ERK1/2 ułatwia powstawanie kluczowego dla tworzenia autofagosomów kompleksu białek Beclin-1-PI3K-III (Pan i in., 2014). Za regulację procesu autofagii w komórkach NSCLC odpowiedzialne jest również miR-142-3p o hamującym działaniu wobec genu *HMGB1*. Wspomniane miRNA hamuje proces autofagii wywołanej głodem komórek NSCLC poprzez obniżanie ekspresji genu *HMGB1*, co w konsekwencji aktywuje ścieżkę sygnalizacji PI3K/AKT/mTOR. Nadekspresja miR-142-3p hamuje także proces autofagii wywołanej przez chemioterapeutyki i zwiększa chemowrażliwość komórek NSCLC zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* (Chen i in., 2017).

Z drugiej strony wykazano, że HMGB1 posiada właściwości indukujące odpowiedź przeciwnowotworową komórek układu immunologicznego. Gao i wsp. (2019) udowodnili, że docetaksel powoduje zależną od dawki indukcję ekspresji genu *HMGB1* i kodowanego przez niego białka *in vitro*. Następnie białko to poprzez sygnalizację zależną do NF- κ B indukuje uwalnianie CXCL11 (ang. *chemokine receptor ligand 11*) do mikrośrodowiska guza nowotworowego, co wzmacnia jego infiltrację przez limfocyty T CD8+. W zgodzie z tymi obserwacjami pozostają wyniki badań Haruna i wsp. (2020), którzy stwierdzili istotny wzrost stężenia białka HMGB1 w surowicy pacjentów z NSCLC po podaniu docetakselu. Dodatkowo makrofagi i komórki dendrytyczne pobrane z tkanki NSCLC i stymulowane *ex vivo* przez białko HMGB1 wykazywały zwiększoną ekspresję markera aktywacji CD86.

Po podaniu cisplatyny tworzone są addukty cisplatyna/DNA, których usuwanie pozwala komórkom nowotworowym uniknąć niszczącego działania chemioterapeutyku, a tym samym może wpływać na wyniki chemioterapii. Udowodniono, że w komórkach A549 z funkcjonalnym białkiem P53 naprawa adduktów DNA/cisplatyna jest uwarunkowana współdziałaniem białek HMGB1 i P53. Wykazano bowiem, że wyciszenie genu *HMGB1* nasila proces naprawy DNA, lecz tylko w obecności defektywnego białka P53 (Yusein-Myashkova i in., 2016).

Istnieją przesłanki, że wyniki chemioterapii w raku płuca mogą być determinowane przez polimorfizmy genu *HMGB1*, stanowiące potencjalne biomarkery efektywności chemioterapii opartej na związkach platyny. Wśród chorych na raka płuca w populacji chińskiej, którzy otrzymali co najmniej dwa cykle chemioterapii pierwszej linii opartej na związkach platyny, wykazano zależność

między polimorfizmami rs1412125 i rs2249825 genu *HMGB1* a odpowiedzią na tę chemioterapię. Obecność genotypu TT bądź CT dla rs1412125 wiązała się z ponad trzykrotnie, a obecność genotypu GC lub CC dla rs2249825 z ponad dziesięciokrotnie wyższym ryzykiem braku odpowiedzi na to leczenie (w porównaniu odpowiednio do genotypu CC i GG). Analogiczny wynik dla rs1412125 uzyskano w podgrupie chorych powyżej 55. roku życia (blisko pięciokrotny wzrost ryzyka). Związku z wynikami chemioterapii nie stwierdzono natomiast dla trzeciego badanego polimorfizmu genu *HMGB1* rs1045411 (Wang i in., 2014).

Choć chemioterapia jest szeroko stosowanym podejściem w leczeniu nowotworów, może przyczyniać się do powstawania przerzutów. Powoduje ona m.in. selekcję klonów komórek opornych na chemioterapię lub powstawanie nowych mutacji klonalnych prowadzących do rozprzestrzeniania się nowotworu. Udowodniono, że białko HMGB1 jest czynnikiem niezbędnym do powstawania przerzutów raka płuca indukowanych chemioterapią. Nukleosomy zawierające HMGB1, pochodzące z komórek nowotworowych ulegających apoptozie po chemioterapii, nasilały (w zależności od dawki) inwazyjność i zdolność do przerzutowania komórek nowotworowych. Zwiększenie inwazyjności łączyło się z nasileniem ekspresji genów *MMP-2* i *MMP-9* oraz zwiększeniem ilości kodowanych przez nie białek. Podanie takich nukleosomów myszom przed wszczepieniem im ludzkich komórek raka płuca powodowało nasilenie przerzutowania tego nowotworu *in vivo*, przy zaangażowaniu sygnalizacji zależnej od receptorów TLR4 i TLR9, dla których ligandami są odpowiednio HMGB1 i nukleosomy. U pacjentów poddanych chemioterapii stężenie krążących nukleosomów połączonych z HMGB1 w surowicy było wyższe niż u osób nie poddanych takiemu leczeniu. Wyższe stężenie wspomnianych nukleosomów było też związane z niskim zróżnicowaniem komórek nowotworowych, nasiloną inwazyjnością nowotworu i wyższymi stopniami zaawansowania klinicznego wg klasyfikacji TNM (Wang i in., 2018).

W czasie ostatnich kilkunastu lat przeprowadzono liczne badania, które miały ocenić potencjalną kliniczną użyteczność oznaczania ekspresji genu *HMGB1* bądź białka HMGB1 w tkance raka płuca, surowicy lub popłuczynach oskrzelikowo-pęcherzykowych jako czynnika prognostycznego w NSCLC. Wyniki większości z tych badań zostały zebrane w dwóch metaanalizach (Feng i in., 2016; Xia i in., 2016). Nie wykazano w nich różnic w ekspresji białka HMGB1 między głównymi typami histologicznymi NSCLC – gruczolakorakiem i rakiem płaskonabłonkowym. Obecność białka HMGB1 w tkance nowotworowej różnicowała natomiast przypadki NSCLC z zajęciem węzłów chłonnych i bez przerzutów. Metaanalizę Feng i wsp. (2016) uzupełniono także o dane mikromacierzowe uzyskane z baz Gene Expression Omnibus i ArrayExpress. Na tej podstawie stwierdzono, że poziom ekspresji genu *HMGB1* w tkance nowotworowej jest pozytywnie związany z wielkością guza, obecnością przerzutów do węzłów chłonnych, przerzutów odległych, stopniem zaawansowania klinicznego wg klasyfikacji TNM. Wyższe poziomy tej ekspresji występują istotnie częściej w raku płaskonabłonkowym niż gruczolakoraku płuca. Dalsze analizy danych z The Cancer Genome Atlas wykazały, że nadekspresja genu *HMGB1* jest związana z krótszym całkowitym i wolnym od choroby czasem przeżycia chorych z gruczolakorakiem płuca, nie ma natomiast związku z tymi czasami w przypadkach raka płaskonabłonkowego. Przytoczone powyżej wyniki sugerują, że poziom ekspresji genu *HMGB1* może być obiecującym czynnikiem pozwalającym na prognozowanie przebiegu raka płuca.

Dwa spośród badań zawartych w przedstawionych wcześniej metaanalizach przeprowadzono w populacji polskiej i dotyczyły one prognostycznego znaczenia białka HMGB1 oznaczanego

w surowicy chorych z NSCLC. Naumnik i wsp. (2009) stwierdzili występowanie wyższego surowiczego stężenia białka HMGB1 u osób z zaawansowanym NSCLC (stopień IIIA lub IV wg TNM) w porównaniu z osobami zdrowymi. Stężenie to jednak nie było związane ze stopniem zaawansowania choroby, typem histologicznym nowotworu ani wynikami chemioterapii. Stężenie białka HMGB1 przed operacją nie miało związku z przeżywalnością pacjentów. Analiza przy użyciu krzywych ROC nie wykazała, aby stężenie HMGB1 przed chemioterapią było skutecznym czynnikiem diagnostycznym w różnicowaniu osób chorych z NSCLC i zdrowych.

W drugim badaniu dotyczącym polskiej populacji stwierdzono, że stężenie w surowicy białka HMGB1 było istotnie wyższe u osób z NSCLC niż w surowicy osób zdrowych czy pacjentów z sarkoidozą oraz pozytywnie korelowało ze stężeniem białka HMGB1 w popłuczynach oskrzelikowo-pęcherzykowych. Wiązało się także z wiekiem (wyższe stężenia u osób poniżej 60. roku życia) i było związane z płcią pacjentów NSCLC (wyższe stężenie u mężczyzn). Natomiast wysokie stężenie HMGB1 w popłuczynach oskrzelikowo-pęcherzykowych było związane z obecnością przerzutów odległych. Wysokie stężenia HMGB1 w tym materiale u pacjentów z NSCLC o stopniu zaawansowania IIIB było związane z gorszą przeżywalnością. Stwierdzono także negatywną zależność między stężeniem HMGB1 w surowicy pacjentów nie odpowiadających na terapię i ich przeżywalnością. Istniała natomiast pozytywna korelacja stężeń białek HMGB1 i TGF- β zarówno w surowicy, jak i popłuczynach oskrzelikowo-pęcherzykowych (Jakubowska i in., 2015).

Stężenie HMGB1 w płynie z jamy opłucnej było istotnie wyższe u chorych z gruczolakorakiem niż rakiem płaskonabłonkowym płuca. Nie wykazano natomiast różnic w odniesieniu do płci, wieku czy statusu palenia pacjentów (Ma i in., 2018).

Prognostycznego znaczenia w raku płuca poszukiwano także dla polimorfizmów genu *HMGB1*, które mogłyby zmieniać poziom jego ekspresji, a przez to wpływać na przebieg procesu nowotworzenia. Analiza w podgrupach pacjentów z różnymi typami histologicznymi raka płuca dowiodła, że osoby posiadające co najmniej jeden allel C dla polimorfizmu rs1045411 genu *HMGB1* wykazywały zmniejszone ryzyko gruczolakoraka o około 25% i raka drobnokomórkowego o ok. 40% w porównaniu z homozygotami TT. Udowodniono też, że obecność genotypu AG bądź GG jest związana ze zmniejszeniem o 23% ryzyka wystąpienia gruczolakoraka. Dodatkowo nie wykazano związku między żadnym z dwóch badanych polimorfizmów a czasem przeżycia wśród chorych z rakiem płuca. Również rozkład genotypów dla tych polimorfizmów nie różnił się między podgrupami chorych o różnym zaawansowaniu klinicznym nowotworu (Jiang i in., 2018c).

Dowiedziano, że współwystępowanie mutacji genów *EGFR* i *HMGB1* może mieć związek ze stopniem zróżnicowania histologicznego nowotworu. Wśród chorych ze zmutowanym genem *EGFR* osoby posiadające co najmniej jeden allel C dla rs1360485 *HMGB1* (genotypy TC + CC) wykazywały zwiększone ponad pięciokrotnie ryzyko rozwoju raka płuca o niskim zróżnicowaniu w porównaniu z osobami homozygotycznymi TT. Dodatkowo ten SNP w grupie chorych palaczy z mutacjami genu *EGFR* był związany z podatnością na rozwój raka niskozróżnicowanego (Wu i in., 2019b).

5. Podsumowanie

Badania wykazały, że ekspresja genów *HMGA1*, *HMGA2* i *HMGB1*, jak również ilość kodowanych przez nie białek ulegają zwiększeniu w tkance raka płuca w stosunku do prawidłowych tkanek tego narządu. Wiąże się to z funkcją tych cząsteczek w przebiegu nowotworzenia, ich udziałem w takich procesach jak proliferacja, apoptoza, migracja i przerzutowanie. Znaczna część przeprowadzonych analiz wskazuje na związek poziomu ekspresji genów *HMGA1*, *HMGA2* i *HMGB1*

i ilości kodowanych przez nie białek w tkance raka płuca z cechami kliniczno-patologicznymi, jak obecność przerzutów, stopień zaawansowania klinicznego, stopień zróżnicowania histologicznego, a także z czasem przeżycia pacjentów. Wskazuje to na potencjalną użyteczność oznaczania tych parametrów jako czynników prognostycznych. Dowiedziona rola omawianych białek w odpowiedzi komórek na chemioterapię daje możliwość wykorzystania tych cząsteczek w leczeniu raka płuca.

Finansowanie: Praca była finansowana z środków statutowych Zakładu Biochemii Farmaceutycznej i Diagnostyki Molekularnej (503/3-015-02/503-31-001-19-00).

Podziękowania: Abstrakt graficzny pobrano ze strony Protein Data Bank in Europe <https://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry/pdb/2eze> (dostęp: 26.02.2021). Wykorzystana grafika została opublikowana po raz pierwszy w: Huth J.R., Bewley C.A., Nissen M.S., Evans J.N., Reeves R., Gronenborn A.M., Clore G.M. 1997. The solution structure of an HMG-I(Y)-DNA complex defines a new architectural minor groove binding motif. *Nature Structural Biology* 4, str. 657–65. DOI: [10.1038/nsb0897-657](https://doi.org/10.1038/nsb0897-657).

Bibliografia

- Alam M., Ahmad R., Rajabi H., Kufe D. 2015. MUC1-C induces the LIN28B–LET-7-HMGA2 axis to regulate self-renewal in NSCLC. *Molecular Cancer Research* 13(3), str. 449–460. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-14-0363>
- Balcerczak E., Balcerczak M., Mirowski M. 2005. Białka HMGA i ich geny jako potencjalne biomarkery nowotworowe. *Postępy Biochemii* 51(3), str. 261–269.
- Barh D., Jain N., Tiwari S., Field J.K., Padin-Iruegas E., Ruibal A., López R., Herranz M., Bhattacharya A., Juneja L. i in. 2013. A novel in silico reverse-transcriptomics-based identification and blood-based validation of a panel of sub-type specific biomarkers in lung cancer. *BMC Genomics* 14 (Suppl 6), S5. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-S6-S5>
- Chen Y., Zhou X., Qiao J., Bao A. 2017. MiR-142-3p overexpression increases chemo-sensitivity of NSCLC by inhibiting HMGB1-mediated autophagy. *Cellular Physiology and Biochemistry* 41(4), str. 1370–1382. <https://doi.org/10.1159/000467896>
- Dai F.Q., Li C.R., Fan X.Q., Tan L., Wang R.T., Jin H. 2019. miR-150-5p Inhibits Non-Small-Cell Lung Cancer Metastasis and Recurrence by Targeting HMGA2 and β -Catenin Signaling. *Molecular Therapy – Nucleic Acids* 16, str. 675–685. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.04.017>
- Di Cello F., Hillion J., Hristov A., Wood L.J., Mukherjee M., Schuldenfrei A., Kowalski J., Bhattacharya R., Ashfaq R., Resar L.M.S. 2008. HMGA2 participates in transformation in human lung cancer. *Molecular Cancer Research* 6(5), str. 743–750. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-07-0095>
- Di Fazio P., Maass M., Roth S., Meyer C., Grups J., Rexin P., Bartsch D.K., Kirschbaum A. 2017. Expression of hsa-let-7b-5p, hsa-let-7f-5p, and hsa-miR-222-3p and their putative targets HMGA2 and CDKN1B in typical and atypical carcinoid tumors of the lung. *Tumor Biology* 39(10), str. 1–8. <https://doi.org/10.1177/1010428317728417>
- Didkowska J., Wojciechowska U., Śliwczyński A. 2020. Raport dotyczący stopni zaawansowania, leczenia oraz przeżyć pacjentów chorych na raka płuca zgłoszonych do KRN w latach 2014–2016. Wersja 2, aktualizacja 14.04.2020. *Krajowy Rejestr Nowotworów*, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie. Dostępne online: http://onkologia.org.pl/wp-content/uploads/Rak_pluca_2019.pdf (dostęp: 26.02.2021).
- Ding J., Cui X., Liu Q. 2017. Emerging role of HMGB1 in lung diseases: friend or foe. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 21(6), str. 1046–1057. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13048>
- Eide H.A., Halvorsen A.R., Bjaanæs M.M., Piri H., Holm R., Solberg S., Jørgensen L., Brustugun O.T., Kiserud C.E., Helland Å. 2016. The MYCN-HMGA2-CDKN2A pathway in non-small cell lung carcinoma-differences in histological subtypes. *BMC Cancer* 16(1), str. 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2104-9>
- Feng A., Tu Z., Tin B. 2016. The effect of HMGB1 on the clinicopathological and prognostic features of non-small cell lung cancer. *Oncotarget* 7(15), str. 20507–20519. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7050>
- Fusco A., Fedele M. 2007. Roles of HMGA proteins in cancer. *Nature Reviews Cancer* 7(12), str. 899–910. <https://doi.org/10.1038/nrc2271>
- Gao N., Wang F.X., Wang G., Zhao Q.S. 2018. Targeting the HMGA2 oncogene by miR-498 inhibits non-small cell lung cancer biological behaviors. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 22(6), str. 1693–1699. https://doi.org/10.26355/eurrev_201803_14582
- Gao Q., Wang S., Chen X., Cheng S., Zhang Z., Li F., Huang L., Yang Y., Zhou B., Yue D. i in. 2019. Cancer-cell-secreted CXCL11 promoted CD8 + T cells infiltration through docetaxel-induced-release of HMGB1 in NSCLC. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer* 7(1), str. 1–17. <https://doi.org/10.1186/s40425-019-0511-6>

- Gao X., Dai M., Li Q., Wang Z., Lu Y., Song Z. 2017. HMGA2 regulates lung cancer proliferation and metastasis. *Thoracic Cancer* 8(5), str. 501–510. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.12476>
- Gos M., Miłoszewska J., Przybyszewska M. 2009. Epithelial-mesenchymal transition in cancer progression. *Postępy Biochemii* 55(2), str. 121–128.
- Grzelewska-Rzymowska I. (red.) 2003. *Rak płuca*. Seria.
- Haruna M., Hirata M., Iwahori K., Kanazawa T., Yamamoto Y., Goto K., Kawashima A., Morimoto-Okazawa A., Funaki S., Shintani Y. i in. 2020. Docetaxel Upregulates HMGB1 Levels in Non-small Cell Lung Cancer. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 43(3), str. 399–403. <https://doi.org/10.1248/bpb.b19-00702>
- He W., Ju D., Jie Z., Zhang A., Xing X., Yang Q. 2018. Aberrant CpG-methylation affects genes expression predicting survival in lung adenocarcinoma. *Cancer Medicine* 7(11), str. 5716–5726. <https://doi.org/10.1002/cam4.1834>.
- Hillion J., Wood L.J., Mukherjee M., Bhattacharya R., Di Cello F., Kowalski J., Elbahloul O., Segal J., Poirier J., Rudin C.M. i in. 2009. Upregulation of MMP-2 by HMGA1 promotes transformation in undifferentiated, large-cell lung cancer. *Molecular Cancer Research* 7(11), str. 1803–1812. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-08-0336>
- Hu W., Liu P.Y., Yang Y.C., Chen P.C., Su C.M., Chao C.C., Tang C.H. 2017. Association of HMGB1 gene polymorphisms with lung cancer susceptibility and clinical aspects. *International Journal of Medical Sciences* 14(12), str. 1197–1202. <https://doi.org/10.7150/ijms.20933>
- Jakubowska K., Naumnik W., Niklinska W., Chyczewska E. 2015. Clinical Significance of HMGB-1 and TGF- β Level in Serum and BALF of Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 852, str. 49–58. https://doi.org/10.1007/5584_2015_115
- Jiang C., Cao Y., Lei T., Wang Y., Fu J., Wang Z., Lv Z. 2018a. MicroRNA-363-3p inhibits cell growth and invasion of non-small cell lung cancer by targeting HMGA2. *Molecular Medicine Reports* 17(2), str. 2712–2718. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.8131>
- Jiang M., Li X., Quan X., Li X., Zhou B. 2018c. Single nucleotide polymorphisms in HMGB1 correlate with lung cancer risk in the northeast Chinese han population. *Molecules* 23(4), str. 1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules23040832>
- Kayser K., Dünwald D., Kazmierczak B., Bullerdiek J., Kaltne H., Zick Y., André S., Gabius H.J. 2003. Chromosomal aberrations, profiles of expression of growth-related markers including galectins and environmental hazards in relation to the incidence of chondroid pulmonary hamartomas. *Pathology Research and Practice* 199(9), str. 589–598. <https://doi.org/10.1078/0344-0338-00466>
- Kettunen E., Anttila S., Seppänen J.K., Karjalainen A., Edgren H., Lindström I., Salovaara R., Nissén A.M., Salo J., Mattson K. i in. 2004. Differentially expressed genes in nonsmall cell lung cancer: Expression profiling of cancer-related genes in squamous cell lung cancer. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 149(2), str. 98–106. [https://doi.org/10.1016/S0165-4608\(03\)00300-5](https://doi.org/10.1016/S0165-4608(03)00300-5)
- Lin S.Y., Peng F. 2016. Association of SIRT1 and HMGA1 expression in non-small cell lung cancer. *Oncology Letters* 11(1), str. 782–788. <https://doi.org/10.3892/ol.2015.3914>
- Liu P.L., Liu W.L., Chang J.M., Chen Y.H., Liu Y.P., Kuo H.F., Hsieh C.C., Ding Y.S., Chen W.W., Chong I.W. 2017. MicroRNA-200c inhibits epithelial-mesenchymal transition, invasion, and migration of lung cancer by targeting HMGB1. *PLoS ONE* 12(7), str. 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180844>
- Liu P.L., Tsai J.R., Hwang J.J., Chou S.H., Cheng Y.J., Lin F.Y., Chen Y.L., Hung C.Y., Chen W.C., Chen Y.H. i in. 2010. High-mobility group box 1-mediated matrix metalloproteinase-9 expression in non-small cell lung

- cancer contributes to tumor cell invasiveness. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 43(5), str. 530–538. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2009-0269OC>
- Liu Q., Huo Y., Zheng H., Zhao J., Jia L., Wang P. 2019. Ethyl pyruvate suppresses the growth, invasion and migration and induces the apoptosis of non-small cell lung cancer cells via the HMGB1/RAGE axis and the NF- κ B/STAT3 pathway. *Oncology Reports* 42(2), str. 817–825. <https://doi.org/10.3892/or.2019.7176>
- Liu Yi, Du M., Song Y., Liu H., Xiang S. 2018. NAC1/HMGB1 signaling pathway is associated with epithelial-mesenchymal transition, invasion, and metastasis of lung cancer cell line. *Annals of Clinical and Laboratory Science* 48(5), str. 559–564.
- Liu Yun, Hu X., Xia D., Zhang S. 2016. MicroRNA-181b is downregulated in non-small cell lung cancer and inhibits cell motility by directly targeting HMGB1. *Oncology Letters* 12(5), str. 4181–4186. <https://doi.org/10.3892/ol.2016.5198>
- Lv X., Yao L., Nie Y.Q., Xu X.Y. 2018. MicroRNA-520a-3p suppresses non-small-cell lung carcinoma by inhibition of High Mobility Group Box 1 (HMGB1). *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 22(6), str. 1700–1708. https://doi.org/10.26355/eurev_201803_14583
- Ma Ying, Kang S., Wu X., Han B., Jin Z., Guo Z. 2018. Up-regulated HMGB1 in the pleural effusion of non-small cell lung cancer (NSCLC) patients reduces the chemosensitivity of NSCLC cells. *Tumori* 104(5), str. 338–343. <https://doi.org/10.5301/tj.5000656>
- Ma Yu, Li X., Chen S., Du B., Li Y. 2019. MicroRNA-4458 suppresses migration and epithelial–mesenchymal transition via targeting HMGA1 in non-small-cell lung cancer cells. *Cancer Management and Research* 11, str. 637–649. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S185117>
- Marciniak M., Kołodziej J. (red.) 2010. *Rak płuca*. Termedia.
- Mayr C., Hemann M.T., Bartel D.P. 2007. Disrupting the pairing between let-7 and Hmga2 enhances oncogenic transformation. *Science* 315(5818), str. 1576–1579. <https://doi.org/10.1126/science.1137999>
- Meyer B., Loeschke S., Schultze A., Weigel T., Sandkamp M., Goldmann T., Vollmer E., Bullerdiek J. 2007. HMGA2 Overexpression in Non-Small Cell Lung Cancer. *Molecular Carcinogenesis* 46, str. 503–511. <https://doi.org/10.1002/mc>
- Naghizadeh S., Mansoori B., Mohammadi A., Kafil H.S., Mousavi Z., Sakhinia E., Baradaran B. 2019. Effects of HMGA2 gene downregulation by siRNA on lung carcinoma cell migration in A549 cell lines. *Journal of Cellular Biochemistry* 120(4), str. 5024–5032. <https://doi.org/10.1002/jcb.27778>
- Nanduri R., Furusawa T., Bustin M. 2020. Biological functions of HMGN chromosomal proteins. *International Journal of Molecular Sciences* 21(2), str. 1–27. <https://doi.org/10.3390/ijms21020449>
- Naumnik W., Nilklińska W., Ossolińska M., Chyczewska E. 2009. Serum levels of HMGB1, survivin, and VEGF in patients with advanced non-small cell lung cancer during chemotherapy. *Folia Histochemica et Cytobiologica* 47(4), str. 703–709. <https://doi.org/10.2478/v10042-009-0025-z>
- Pallante P., Sepe R., Puca F., Fusco A. 2015. High mobility group a proteins as tumor markers. *Frontiers of Medicine* 2, str. 1–7. <https://doi.org/10.3389/fmed.2015.00015>
- Pan B., Chen D., Huang J., Wang R., Feng B., Song H., Chen L. 2014. HMGB1-mediated autophagy promotes docetaxel resistance in human lung adenocarcinoma. *Molecular Cancer* 13(1), str. 1–18. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-13-165>
- Panneerselvam J., Srivastava A., Muralidharan R., Wang Q., Zheng W., Zhao L., Chen A., Zhao Y.D., Munshi A., Ramesh R. 2016. IL-24 modulates the high mobility group (HMG) A1/miR222 /AKT signaling in lung cancer cells. *Oncotarget* 7(43), str. 70247–70263. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11838>

- Park S., Minai-Tehrani A., Xu C.X., Chang S.H., Woo M.A., Noh M.S., Lee E.S., Lim H.T., An G.H., Lee K.H. i in. 2010. Suppression of A549 lung cancer cell migration by precursor let-7g microRNA. *Molecular Medicine Reports* 3(6), str. 1007–1013. <https://doi.org/10.3892/mmr.2010.373>
- Reeves R., Adair J.E. 2005. Role of high mobility group (HMG) chromatin proteins in DNA repair. *DNA Repair* 4(8), 926–938. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2005.04.010>
- Reeves R., Beckerbauer L. 2001. *HMGI / Y proteins : flexible regulators of transcription and chromatin structure*. 1519(1–2), str. 13–29. [https://doi.org/10.1016/S0167-4781\(01\)00215-9](https://doi.org/10.1016/S0167-4781(01)00215-9)
- Rice S.J., Lai S.C., Wood L.W., Helsley K.R., Runkle E.A., Winslow M.M., Mu D. 2013. MicroRNA-33a mediates the regulation of high mobility group AT-hook 2 gene (HMGA2) by thyroid transcription factor 1 (TTF-1/NKX2-1). *Journal of Biological Chemistry* 288(23), str. 16348–16360. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.474643>
- Rogalla P., Drechsler K., Schröder-Babo W., Eberhardt K., Bullerdiek J. 1998. HMGIc expression patterns in non-small lung cancer and surrounding tissue. *Anticancer Research* 18(5A), str. 3327–3330.
- Sarhadi V.K., Wikman H., Salmenkivi K., Kuosma E., Sioris T., Salo J., Karjalainen A., Knuutila S., Anttila S. 2006. Increased expression of high mobility group A proteins in lung cancer. *Journal of Pathology* 209(2), str. 206–212. <https://doi.org/10.1002/path.1960>
- Scala S., Portella G., Fedele M., Chiappetta G., Fusco A. 2000. Adenovirus-mediated suppression of HMGI(Y) protein synthesis as potential therapy of human malignant neoplasias. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97(8), str. 4256–4261. <https://doi.org/10.1073/pnas.070029997>
- Scrima M., de Marco C., Fabiani F., Franco R., Pirozzi G., Rocco G., Ravo M., Weisz A., Zoppoli P., Ceccarelli M. i in. 2012. Signaling networks associated with AKT activation in non-small cell lung cancer (NSCLC): New insights on the role of phosphatidylinositol-3 kinase. *PLoS ONE* 7(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030427>
- Sekimoto N., Suzuki A., Suzuki Y., Sugano S. 2017. Expression of miR-26a exhibits a negative correlation with HMGA1 and regulates cancer progression by targeting HMGA1 in lung adenocarcinoma cells. *Molecular Medicine Reports* 15(2), str. 534–542. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.6053>
- Shang G.H., Jia C.Q., Tian H., Xiao W., Li Y., Wang A.H., Dong L., Lin D.J. 2009. Serum high mobility group box protein 1 as a clinical marker for non-small cell lung cancer. *Respiratory Medicine* 103(12), str. 1949–1953. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2009.05.019>
- Singh I., Mehta A., Contreras A., Boettger T., Carro G., Wheeler M., Cabrera-Fuentes H.A., Bellusci S., Seeger W., Braun T. i in. 2014. Hmga2 is required for canonical WNT signaling during lung development. *BMC Biology* 12(1), str. 1–16. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-12-21>
- Smolarczyk R., Cichoń T., Jarosz M., Szala S. 2012. HMGB1--its role in tumor progression and anticancer therapy. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (Online)* 66, str. 913–920. <https://doi.org/10.5604/17322693.1021108>
- Sun J., Qiao Y., Song T., Wang H. 2019. MiR-495 suppresses cell proliferation by directly targeting HMGA2 in lung cancer. *Molecular Medicine Reports* 19(3), str. 1463–1470. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9773>
- Sun K.K., Ji C., Li X., Zhang L., Deng J., Zhong N., Wu X.Y.. 2013. Overexpression of high mobility group protein B1 correlates with the proliferation and metastasis of lung adenocarcinoma cells. *Molecular Medicine Reports* 7(5), str. 1678–1682. <https://doi.org/10.3892/mmr.2013.1362>

- Sun X., Xu M., Liu H., Ming K. 2017. MicroRNA-219 is downregulated in non-small cell lung cancer and inhibits cell growth and metastasis by targeting HMGA2. *Molecular Medicine Reports* 16(3), str. 3557–3564. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7000>
- The Global Cancer Observatory. International Agency for Research on Cancer, W. H. O. 2020. *Lung Cancer – Fact Sheet*. Dostępne online: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/15-Lung-fact-sheet.pdf> (dostęp: 25.02.2021).
- Thun M., Peto R., Boreham J., Lopez A.D. 2012. Stages of the cigarette epidemic on entering its second century. *Tobacco Control* 21(2), str. 96–101. <https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2011-050294>
- Tu L., Long X., Song W., Lv Z., Zeng H., Wang T., Liu X., Dong J., Xu P. 2019. MiR-34c acts as a tumor suppressor in non-small cell lung cancer by inducing endoplasmic reticulum stress through targeting HMGB1. *OncoTargets and Therapy* 12, str. 5729–5739. <https://doi.org/10.2147/OTT.S206932>
- Vignali R., Marracci S. 2020. HMGA genes and proteins in development and evolution. *International Journal of Molecular Sciences* 21(2), str. 1–39. <https://doi.org/10.3390/ijms21020654>
- Wang B., Pan L.Y., Kang N., Shen, X.Y. 2020a. PP4R1 interacts with HMGA2 to promote non-small-cell lung cancer migration and metastasis via activating MAPK/ERK-induced epithelial-mesenchymal transition. *Molecular Carcinogenesis* 59(5), str. 467–477. <https://doi.org/10.1002/mc.23168>
- Wang C., Fei G., Liu Z., Li Q., Xu Z., Ren T. 2012. HMGB1 was a pivotal synergistic effector for CpG oligonucleotide to enhance the progression of human lung cancer cells. *Cancer Biology and Therapy* 13(9), str. 727–736. <https://doi.org/10.4161/cbt.20555>
- Wang K., Shan S., Wang S., Gu X., Zhou X., Ren T. 2018. HMGB1-containing nucleosome mediates chemotherapy-induced metastasis of human lung cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 500(3), str. 758–764. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.04.150>
- Wang M., Gauthier A., Daley L.A., Dial K., Wu J., Woo J., Lin M., Ashby C., Mantell L.L. 2019. The Role of HMGB1, a Nuclear Damage-Associated Molecular Pattern Molecule, in the Pathogenesis of Lung Diseases. *Antioxidants and Redox Signaling* 31(13), str. 954–993. <https://doi.org/10.1089/ars.2019.7818>
- Wang X.H., Zhang S.Y., Shi M., Xu X.P. 2020b. HMGB1 Promotes the Proliferation and Metastasis of Lung Cancer by Activating the Wnt/ β -Catenin Pathway. *Technology in Cancer Research i Treatment* 19, str. 1–8. <https://doi.org/10.1177/1533033820948054>
- Wang Y., Li X.P., Yin J.Y., Zhang Y., He H., Qian C.Y., Chen J., Zheng Y., Smieszkol K., Fu Y.L. et al. 2014. Association of HMGB1 and HMGB2 genetic polymorphisms with lung cancer chemotherapy response. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 41(6), str. 408–415. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.12232>
- Wang Y.T., Pan S.H., Tsai C.F., Kuo T.C., Hsu Y.L., Yen H.Y., Choong W.K., Wu H.Y., Liao Y.C., Hong T.M. et al. 2017. Phosphoproteomics Reveals HMGA1, a CK2 Substrate, as a Drug-Resistant Target in Non-Small Cell Lung Cancer. *Scientific Reports* 7, str. 1–14. <https://doi.org/10.1038/srep44021>
- Wikman H., Kettunen E., Seppänen J.K., Karjalainen A., Hollmén J., Anttila S., Knuutila S. 2002. Identification of differentially expressed genes in pulmonary adenocarcinoma by using cDNA array. *Oncogene* 21(37), str. 5804–5813. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1205726>
- Wu D., Liu J., Chen J., He H., Ma H., Lv X. 2019a. MiR-449a suppresses tumor growth, migration, and invasion in non-small cell lung cancer by targeting a HMGB1-mediated NF- κ B signaling pathway. *Oncology Research*, 27(2), str. 227–235. <https://doi.org/10.3727/096504018X15213089759999>
- Wu L., Yang L. 2018. The function and mechanism of HMGB1 in lung cancer and its potential therapeutic implications. *Oncology Letter* 15(5), str. 6799–6805. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8215>

- Wu X.J., Chen Y.Y., Gong C.C., Pei D.S. 2018. The role of high-mobility group protein box 1 in lung cancer. *Journal of Cellular Biochemistry* 119(8), str. 6354–6365. <https://doi.org/10.1002/jcb.26837>
- Wu X., Chen Y., Guo W., Li T., Dong H., Wang W., Xie M., Ma G., Pei D. 2020. HMGB1 regulates SNAI1 during NSCLC metastasis, both directly, through transcriptional activation, and indirectly, in a RSF1-IT2-dependent manner. *Molecular Oncology* 14(6), str. 1348–1364. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12691>
- Wu X., Wang W., Chen Y., Liu X., Wang J., Qin X., Yuan D., Yu T., Chen G., Mi Y., Mou J., Cui J., Hu A., Yunxiang E., Pei D. 2018b. Glycyrrhizin Suppresses the Growth of Human NSCLC Cell Line HCC827 by Downregulating HMGB1 Level. *BioMed Research International* 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/6916797>
- Wu X., Wang W., Chen Y., Liu X., Wang J., Qin X., Yuan D., Yu T., Chen G., Mi Y. i in. 2018c. High Mobility Group Box Protein 1 Serves as a Potential Prognostic Marker of Lung Cancer and Promotes Its Invasion and Metastasis by Matrix Metalloproteinase-2 in a Nuclear Factor-B-Dependent Manner. *BioMed Research International* 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/3453706>
- Wu Y.L., Chien M.H., Chou Y.E., Chang J.H., Liu T.C., Tsao T.C.Y., Chou M.C., Yang S.F. 2019b. Association of EGFR mutations and HMGB1 genetic polymorphisms in lung adenocarcinoma patients. *Journal of Cancer* 10(13), str. 2907–2914. <https://doi.org/10.7150/jca.31125>
- Xia Q., Xu J., Chen H., Gao Y., Gong F., Hu L., Yang L. 2016. Association between an elevated level of HMGB1 and non-small-cell lung cancer: A meta-analysis and literature review. *OncoTargets and Therapy* 9, str. 3917–3923. <https://doi.org/10.2147/OTT.S104409>
- Xiao P., Liu W.L. 2015. MiR-142-3p functions as a potential tumor suppressor directly targeting HMGB1 in non-small-cell lung carcinoma. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology* 8(9), str. 10800–10807.
- Xu L., Du B., Lu Q.J., Fan X.W., Tang K., Yang L., Liao W.L. 2018. miR-541 suppresses proliferation and invasion of squamous cell lung carcinoma cell lines via directly targeting high-mobility group AT-hook 2. *Cancer Medicine* 7(6), str. 2581–2591. <https://doi.org/10.1002/cam4.1491>
- Xu L., Liao W.L., Lu Q.J., Li C.G., Yuan Y., Xu Z.Y., Huang S.D., Chen H.Z. 2016. ANG Promotes Proliferation and Invasion of the Cell of Lung Squamous Carcinoma by Directly Up-Regulating HMGA2. *Journal of Cancer* 7(7), str. 862–871. <https://doi.org/10.7150/jca.14440>
- Yao S., Zhao T., Jin H. 2015. Expression of MicroRNA-325-3p and its potential functions by targeting HMGB1 in non-small cell lung cancer. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 70(C), str. 72–79. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.01.013>
- Yong S.L., Dutta A. 2007. The tumor suppressor microRNA let-7 represses the HMGA2 oncogene. *Genes and Development* 21(9), str. 1025–1030. <https://doi.org/10.1101/gad.1540407>
- Yusein-Myashkova S., Stoykov I., Gospodinov A., Ugrinova I., Pasheva E. 2016. The repair capacity of lung cancer cell lines A549 and H1299 depends on HMGB1 expression level and the p53 status. *Journal of Biochemistry* 160(1), str. 37–47. <https://doi.org/10.1093/jb/mvw012>
- Zhang C., Ge S., Hu C., Yang N., Zhang J. 2013. MiRNA-218, a new regulator of HMGB1, suppresses cell migration and invasion in non-small cell lung cancer. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* 45(12), str. 1055–1061. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmt109>
- Zhang R., Tao F., Ruan S., Hu M., Hu Y., Fang Z., Mei L., Gong C. 2019. The TGFβ1-FOXO1-HMGA1-TGFβ1 positive feedback loop increases the cisplatin resistance of non-small cell lung cancer by inducing G6PD expression. *American Journal of Translational Research* 11(11), str. 6860–6876.

- Zhang R., Li Y., Wang Z., Chen L., Dong X., Nie X. 2015a. Interference with HMGB1 increases the sensitivity to chemotherapy drugs by inhibiting HMGB1-mediated cell autophagy and inducing cell apoptosis. *Tumor Biology* 36(11), str. 8585–8592. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-3617-6>
- Zhang Y., Ma T., Yang S., Xia M., Xu J., An H., Yang Y., Li S. 2011. High-mobility group A1 proteins enhance the expression of the oncogenic miR-222 in lung cancer cells. *Molecular and Cellular Biochemistry* 357(1-2), str. 363–371. <https://doi.org/10.1007/s11010-011-0907-1>
- Zhang Z., Wang Q., Chen F., Liu J. 2015b. Elevated expression of HMGA1 correlates with the malignant status and prognosis of non-small cell lung cancer. *Tumor Biology* 36(2), str. 1213–1219. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2749-4>
- Zheng H., Chen J.N., Yu X., Jiang P., Yuan L., Shen H.S., Zhao L.H., Chen P.F., Yang M. 2016. HMGB1 Enhances Drug Resistance and Promotes in Vivo Tumor Growth of Lung Cancer Cells. *DNA and Cell Biology* 35(10), str. 622–627. <https://doi.org/10.1089/dna.2016.3360>
- Zhou X., Zhang Z., Liang X. 2020. Regulatory network analysis to reveal important miRNAs and genes in non-small cell lung cancer. *Cell Journal* 21(4), str. 459–466. <https://doi.org/10.22074/cellj.2020.6281>
- Zhu J., Luo J., Li Y., Jia M., Wang Y., Huang Y., Ke S. 2016. HMGB1 induces human non-small cell lung cancer cell motility by activating integrin $\alpha\beta3$ /FAK through TLR4/NF- κ B signaling pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 480(4), str. 522–527. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.10.052>



© 2021 Lias Saed, Ewa Olechnowicz, Ewa Balcerczak, Marek Mirowski, Aleksandra Sałagacka-Kubiak. Opublikowane na licencji Creative Commons Uznanie Autorstwa (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.pl>).

