

Received: 08.01.2020
Accepted: 11.09.2020
Published: 27.04.2021

Dysregulacja poziomu metylotransferaz argininy w patogenezie chorób nowotworowych

Dysregulation of protein argininemethyltransferase in the pathogenesis of cancerpy

Joanna Janisiak, Patrycja Kopytko, Maciej Tarnowski

Katedra i Zakład Fizjologii, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Streszczenie:

Metylacja argininy uznawana jest za jedną z najtrwalszych i najczęściej występujących modyfikacji potranslacyjnych. Reakcja przeniesienia grupy metylowej z S-adenylozometioniny na aminową resztę argininy katalizowana jest przez metylotransferazy argininy (PRMT). W organizmie człowieka znanych jest dziewięć enzymów z rodziny PRMT, nazwanych zgodnie z kolejnością odkrycia PRMT1-PRMT9. Ze względu na produkt katalizowanej reakcji metylotransferazy argininy podzielono na trzy klasy: I, II, III. Produktami ich aktywności są odpowiednio: asymetryczna dimetyloarginina (ADMA), symetryczna dimetyloarginina (SDMA) oraz monometyloarginina (MMA). Powstałe modyfikacje w istotny sposób wpływają na strukturę chromatyny, dzięki czemu mogą pełnić funkcję koaktywatorów i supresorów transkrypcji. Metylacja argininy pełni wiele krytycznych funkcji, niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Uczestniczy m.in. w kontroli transdukcji sygnału, splicingu mRNA oraz reguluje podstawowe procesy komórkowe, takie jak: proliferacja, różnicowanie, migracja i apoptoza. Coraz więcej dowodów wskazuje, że dysregulacja poziomu PRMT może prowadzić do transformacji nowotworowej. Związek między podwyższonym poziomem PRMT a chorobą nowotworową udowodniono m.in. w raku: piersi, jajnika, płuc i jelita grubego. Aktywność metylotransferaz argininy może być regulowana za pomocą małych cząsteczkowych inhibitorów PRMT. Obecnie trzy substancje hamujące aktywność PRMT znajdują się w fazie badań klinicznych i wykazują działanie przeciwnowotworowe wobec nowotworów hematologicznych. Przypuszcza się, że zastosowanie swoistych inhibitorów PRMT może się okazać nowym, skutecznym i bezpiecznym sposobem zwalczania chorób onkologicznych.

Słowa kluczowe:

epigenetyka, PRMT, metylacja, nowotwór, inhibitor PRMT

Summary:

Arginine methylation is considered to be one of the most permanent and one of the most frequent post-translational modifications. The reaction of transferring a methyl group from S-adenosylmethionine to arginine residue is catalyzed by arginine methyltransferase (PRMT). In humans there are nine members of the PRMT family, named in order of discovery of PRMT1- PRMT9. Arginine methyltransferases were divided into three classes: I, II, III, with regard to the product of the catalyzed reaction. The products of their activity are, respectively, the following: asymmetric dimethylarginine (ADMA), symmetrical dimethylarginine (SDMA) and monomethylarginine (MMA). These modifications significantly affect the chromatin functions; therefore, they can act as co-activators or suppressors of the transcription process. Arginine methylation plays a crucial role in many biological processes in a human organism. Among others, it participates in signal transduction control, mRNA splicing and the regulation of basic cellular processes such as proliferation, differentiation, migration and apoptosis. There is increasing evidence that dysregulation of PRMT levels may lead to the cancer transformation of cells. The correlation between increased PRMT level and cancer has been demonstrated in the following: breast, ovary, lung and colorectal cancer. The activity of arginine methyltransferase can be regulated by small molecule PRMT inhibitors.

Keywords:	To date, three substances that inhibit PRMT activity have been evaluated in clinical trials and exhibit anti-tumor activity against hematological cancer. It is believed that the use of specific PRMT inhibitors may become a new, effective and safe treatment of oncological diseases. epigenetics, PRMT, methylation, cancer, PRMT inhibitor
GICID DOI:	01.3001.0014.8521 10.5604/01.3001.0014.8521
Word count:	8 127
Tables:	1
Figures:	1
References:	71

Adres autorki: dr n. med. Joanna Janisiak, Katedra i Zakład Fizjologii, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie; e-mail: joanna.janisiak@gmail.com

Wykaz skrótów: **ADMA** – asymetryczna dimetyloarginina; **AdoMet** – S-adenozylometionina; **AMI-1** – inhibitor metylotransferaz argininy-1; **AML** – ostra białaczka szpikowa; **AR** – receptor androgenowy; **CMML** – przewlekła białaczka mielomonocytoza; **DNA** – kwas deoksyrybonukleinowy; **EGFR** – receptor nabłonkowego czynnika wzrostu; **EMT** – przejście nabłonkowo-mezenchymalne; **ER** – receptor estrogenowy; **HCC** – rak wątrobowo-komórkowy; **HKMT** – metylotransferaza lizyny; **HMT** – metylotransferazy histonowe; **iPRMT** – inhibitor PRMT; **MDS** – zespół mielodysplastyczny; **MMA** – monometyloarginina; **NHL** – chłoniak nieziarniczy; **PgR** – receptor progesteronowy; **PRMT** – metylotransferazy argininy; **PRMT1** – metylotransferaza argininy; **PRMT2** – metylotransferaza argininy 2; **PRMT3** – metylotransferaza argininy 3; **PRMT4** – metylotransferaza argininy 4; **PRMT5** – metylotransferaza argininy 5; **PRMT6** – metylotransferaza argininy 6; **PRMT7** – metylotransferaza argininy 7; **PRMT8** – metylotransferaza argininy 8; **PRMT9** – metylotransferaza argininy 9; **PTM** – modyfikacje potranslacyjne; **QSAR** – ilościowa zależność między strukturą chemiczną a aktywnością; **SAH** – S-adenozylhomocysteina; **SAM** – S-adenozylometionina; **SDMA** – symetryczna dimetyloarginina; **TSA** – trichostatyna A.

WPROWADZENIE

Epigenetyka jest dziedziną biologii molekularnej, badającą dziedziczne zmiany ekspresji genów, których nie można wytłumaczyć zmianami w sekwencji kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA, deoxyribonucleic acid) [62]. Mechanizmy epigenetyczne obejmują metylację nici DNA oraz zmiany biochemiczne reszt aminokwasowych białek histonowych [31]. Do najlepiej poznanych modyfikacji potranslacyjnych (PTM, posttranslational modification) histonów zalicza się: metylację, acetylację, fosforylację, sumoilację, rybozylację oraz deiminację [44]. PTM zachodzące w obrębie białek histonowych umożliwiają tworzenie bardziej skomplikowanych sieci interakcji: białko-białko, białko-DNA, białko-RNA, dzięki czemu nadzorują wiele ważnych procesów biologicznych, takich jak: proliferacja, różnicowanie, migracja i apoptoza komórek. Modyfikacje chemiczne genomu w odróżnieniu od mutacji genetycznych są reakcjami odwracalnymi [1, 18, 32].

Metylacja reszt ogonów histonowych uznawana jest za jedną z najtrwalszych modyfikacji epigenetycznych. Pierwsze informacje o metylacji białek pochodzą z 1960 r., gdy odkryto ε-N-metylolizynę w organizmie *Salmonella Typhimurium*. Wpłynęło to na rozwój epigenetyki i kilka lat później odkryto zjawisko metylacji lizyny, a w 1970 r. zidentyfikowano po raz pierwszy metylowaną argininę [46]. Obecnie znanych jest ponad 60 ludzkich metylotransferaz

histonowych (HMT, histone methyltransferases), wśród których można wyróżnić: metylotransferazy lizyny (HKMT, histone lysine methyltransferase) katalizujące transfer grupy metylowej (-CH₃) z S-adenozylometioniny (SAM, AdoMet, S-Adenosyl methionine) do aminowej reszty lizyny lub metylotransferazy argininy (PRMT, protein arginine methyltransferase), katalizujące reakcję metylacji reszt argininy [39].

W artykule scharakteryzowano rodzinę metylotransferaz argininy, zaburzenia ich poziomu w chorobach nowotworowych oraz próbę blokowania ich aktywności, jako nowym sposobie terapii chorób onkologicznych.

Czym są metylotransferazy argininy i za co odpowiadają w organizmie człowieka?

Metylotransferazy argininy (PRMT) są grupą enzymów epigenetycznych katalizujących przyłączenie grupy metylowej do reszt argininy ogonów histonowych i/lub białek niehistonowych [9]. W organizmie człowieka znanych jest dziewięć różnych metylotransferaz argininy nazwanych zgodnie z kolejnością odkrycia PRMT1-PRMT9. Większość genów kodujących PRMT ulega ekspresji we wszystkich tkankach, wyjątkiem jest gen *PRMT8*, którego ekspresja wykrywana jest wyłącznie w ośrodkowym układzie nerwowym [37]. Ze względu na przebieg reakcji katalizowanej przez PRMT enzymy podzielono na trzy klasy: PRMT

I, PRMT II, PRMT III [6, 9]. Pierwszy etap reakcji we wszystkich klasach PRMT przebiega w ten sam sposób i polega na wytworzeniu monometyloargininy (MMA, monomethylarginine). Następny etap metylacji przebiega odrębnie dla każdej klasy enzymów. Wśród metylotransferaz argininy należących do klasy I są PRMT: 1, 2, 3, 4, 6, 8. Enzymy te katalizują powstanie asymetrycznej dimetylowanej argininy (ADMA, asymmetric dimethylarginine) [53]. Do metylotransferaz argininy klasy II należą: PRMT5 i PRMT9. Enzymy te uczestniczą w powstaniu symetrycznie dimetylowanej argininy (SDMA, symmetric dimethylarginine) [19]. PRMT7 jest jedynym enzymem należącym do metylotransferaz argininy klasy III i katalizuje powstanie monometyloargininy [34].

Reakcja metylacji argininy reszt ogonów histonowych jest ważną modyfikacją epigenetyczną, regulującą strukturalną przebudowę chromatyny i proces transkrypcji [40, 43]. W wyniku aktywności PRMT mogą powstać trzy różne metyloargininy: monometyloarginina (Rme1), symetryczna dimetyloarginina (Rme2s) oraz asymetryczna dimetyloarginina (Rme2a) [1]. Miejsce przyłączenia grupy -CH₃ i powstała podczas reakcji metyloarginina decyduje o kondensacji lub rozluźnieniu chromatyny. Metylacja białek histonowych w pozycjach: H3R2me2s, H4R3me2a, H3R17me2a, H3R26me2a prowadzi do aktywacji transkrypcji, a powstanie H3R2me2s, H3R8me2a, H3R8me2s, H4R3me2s hamuje aktywność transkrypcyjną [43, 66].

Metylacja argininy pełni wiele krytycznych funkcji, niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Uczestniczy m.in. w kontroli transdukcji sygnału, regulacji składania mRNA, a także w utrzymaniu homeostazy glukozy [9]. Ponadto PRMT zawierają wiele substratów niebędących białkami histonowymi. Są one zaangażowane w regulację wielu procesów komórkowych, takich jak: różnicowanie, cykl komórkowy, apoptozę, endocytozę oraz transport RNA [34, 53, 56].

ZABURZENIA POZIOMU METYLOTRANSFERAZ ARGININY W CHOROBY NOWOTWOROWEJ

Prawidłowy wzrost i rozwój komórek tworzących organizm jest możliwy dzięki właściwej regulacji i wzajemnym oddziaływaniom między ścieżkami sygnalizacyjnymi, kontrolującymi podział, różnicowanie oraz śmierć komórek [50]. Reakcja metylacji argininy reguluje poziom ekspresji genów na różnych etapach życia komórek. Nieprawidłowy poziom PRMT może spowodować zmiany aktywności onkogenów i genów supresorowych oraz sprzyjać modyfikacjom wewnątrzkomórkowych szlaków sygnalizacyjnych, promując transformację komórek [47, 71]. W tym rozdziale omówiono w jaki sposób dysregulacja poszczególnych PRMT wpływa na rozwój choroby nowotworowej.

Metylotransferaza argininy 1 (PRMT1) jest najlepiej poznany enzym z rodziny PRMT. PRMT1 katalizuje powstanie około 80% zmian epigenetycznych związanych z metylacją argininy w genomie człowieka [46, 69, 71]. Głównym zadaniem PRMT1 jest regulacja embriogenezy,

kontrola cyklu podziałowego komórek oraz naprawa uszkodzeń DNA [47, 69]. Podwyższony poziom PRMT1 wykryto m.in. w raku: prostaty, płuc, okrężnicy, pęcherza moczowego, białaczce oraz piersi. W wielu przypadkach stężenie enzymu koreluje ze stopniem zaawansowania choroby oraz jest wiarygodnym czynnikiem prognostycznym [3, 17]. PRMT1 może sprzyjać rozwojowi ostrej białaczki szpikowej (AML, acute myeloid leukemia) przez bezpośrednią interakcję z białkami fuzyjnymi AML1-ETO oraz MLL-EEN, katalizując zaburzoną metylację w docelowych loci i zwiększając ekspresję genów powiązanych z potencjałem hematopoetycznym [52]. W raku piersi PRMT1 uczestniczy w asymetrycznej dimetylacji R260 receptora estrogenowego, umożliwiając powstanie kompleksu mErα/Src/PI3K i aktywację kinazy Akt, skutkiem tego jest zwiększona proliferacja, migracja i przeżycie komórek nowotworowych [43, 46]. Hiperproliferaacji komórek raka piersi sprzyja również symetryczna dimetylacja receptora nabłonkowego czynnika wzrostu (EGFR) w pozycjach R198 i R200. Modyfikacja ta zwiększa dimeryzację i aktywację EGFR oraz wykształca oporność na cetuksymab [40, 57]. W wielu typach nowotworów podwyższony poziom PRMT1 powoduje nadmierną proliferację komórek rakowych dzięki aktywacji szlaku sygnałowego Wnt/β-katenina oraz ścieżki NOTCH [66]. Enzym zaburza również proces podziału komórki przez zwiększoną ekspresję genów kodujących cykliny: B1 i D1 oraz obniżenie ekspresji genu *CDKN1* [49]. Coraz więcej dowodów wskazuje, że metylotransferaza argininy 1 zwiększa inwazyjny charakter komórek nowotworowych sprzyjając przejściu nabłonkowo-mezenchymalnemu (EMT, epithelial-mesenchymal transition). Enzym asymetrycznie dimetyluje histon H4R3 w regionie promotorowym genów *ZEB1* oraz *TWIST1*. Zmiana ta obniża ekspresję e-kadheryny i powoduje jej degradację; obniża stężenie β-kateniny oraz zwiększa poziom markerów mezenchymalnych (wimentyny, N-kadheryny, Snail), promując EMT [25, 46, 56]. Podwyższona ekspresja genu *PRMT1* upośledza funkcję genów uczestniczących w naprawie uszkodzeń nici DNA: *TP53*, *BRCA1*, *GADD45G* oraz moduluje aktywność czynnika wiążącego powtórzenia telomerowe 2 (TRF2), regulując długość i stabilność telomerów. Wykazano, że zmniejszenie ekspresji genu *PRMT1* w komórkach nowotworowych zwiększa asocjację TRF2 z telomerami i powoduje ich skracanie [3].

Metylotransferaza argininy 2 (PRMT2) uczestniczy w transaktywacji receptorów jądrowych, takich jak receptor: estrogenowy (ER), progesteronowy (PgR) i androgenowy (AR). Podwyższone stężenie PRMT2 sprzyja więc rozwojowi nowotworów hormonozależnych [46]. Aktywacja receptorów ERα, PgR oraz AR indukuje wzrost i progresję nowotworu, zwiększając tempo kinetyki wzrostu komórek, zaburzając ich cykl podziałowy oraz promując migrację i adhezję [67]. Dysregulacja PRMT2 i jego udział w rozwoju choroby nowotworowej najlepiej przebadano w raku piersi. W warunkach fizjologicznych enzym umiejscawia się w jądrze komórkowym, jednak w tkance nowotworowej dochodzi do jego translokacji i nadmiernego gromadzenia się w cytoplazmie. Zwiększona ekspresja genu *PRMT2* w cytoplazmie komórki koreluje ze wzrostem guza oraz ze stopniem jego inwazyjności [68]. Podwyższona

ilość enzymu w obecności estrogenu zwiększa ekspresję genu *SNAIL* oraz zmniejsza ilość E-kadheryny, promując migrację komórek nowotworowych [51]. Zhong i wsp. dowiedli, że utrata ekspresji genu kodującego metylotransferazę argininy 2 w jądrze sprzyja hiperprolifracji komórek nowotworowych, dzięki zwiększonemu powinowactwu ER α do regionu promotorowego genu *CNND1*. Natomiast ekspresja PRMT2 w jądrze przyczynia się do słabszej proliferacji komórek i do zahamowania aktywności szlaku Akt/GSK-3 β /CNND1 [68, 69]. Podwyższone stężenie PRMT2 zaobserwowano również w przypadku glejaka. Enzym uczestniczy w asymetrycznej dimetylacji histonu 3 przy argininie 8. Modyfikacja ta zwiększa ekspresję genów zaangażowanych w progresję cyklu komórkowego: *CCNA2*, *CNBI*, *CCND1* oraz sprzyja aktywacji onkogennych ścieżek sygnalizacyjnych: duże stężenie PRMT4 korzystnie wpływa na nadmierną proliferację komórek rakowych, głównie poprzez proliferację komórek nowotworowych, uwalnia je na chemio- i radioterapię i obniża ekspresję markerów charakterystycznych dla nowotworowych komórek macierzystych [67].

Metylotransferaza argininy 3 (PRMT3) znajduje się wyłącznie w cytoplazmie, więc enzym bezpośrednio nie wpływa na epigenom [56]. Enzym katalizuje metylację białka rybosomalnego 40s oraz uczestniczy w prawidłowym dojrzewaniu białka rybosomalnego 80s [59]. Dotychczas nie stwierdzono bezpośredniego udziału metylotransferazy argininy 3 w procesie karcynogenezy, jednak podwyższone stężenie enzymu sprzyja wytworzeniu oporności na gemcytabinę w nowotworze trzustki. PRMT3 katalizuje reakcję asymetrycznej dimetylacji hnRNP1 w pozycji R31, powodując zwiększone powinowactwa białka do mRNA ABCG2 (ATP-binding cassette super-family G member 2). Metylacja hnRNP1 za pośrednictwem PRMT3 wzmacnia wiązanie z mRNA ABCG2 i znacząco przedłuża jego stabilność [22].

Metylotransferaza argininy 4 (PRMT4) znana jest również pod nazwą CARM1 (coactivator-associated arginine methyltransferase 1). PRMT4 reguluje wiele podstawowych procesów biologicznych, takich jak: składanie RNA, naprawa DNA, progresja cyklu komórkowego oraz autofagia [57]. Podwyższony poziom PRMT4 działa proonkogenicznie w rakach: piersi, prostaty, płuc oraz nowotworów przewodu pokarmowego [7]. Duże stężenie PRMT4 hamuje proliferację komórek, głównie przez deregulację szlaku β -kateniny [33]. Enzym ten uczestniczy w asymetrycznej dimetylacji białka Rb w pozycji R787, która zaburza funkcję osi Rb/Esf1, upośledza supresorową funkcję białka Rb, a nawet do rozregulowania cyklu komórkowego [35]. PRMT4 specyficznie metyluje BAF155, składową kompleksu przebudowy nukleosomu SWI/SNF. Zmiana ta jest związana ze wzrostem migracji komórek i ich przerzutowaniem. Obecnie asymetryczna dimetylacja BAF155 w pozycji R1064 odgrywa tak istotną rolę w procesie onkogenezy, iż została uznana za niezależny marker prognostyczny nawrotu raka piersi [45, 56]. Enzym może również modyfikować odpowiedź organizmu na stosowane leczenie chemio-terapeutyczne. CARM1 katalizuje przyłączenie grupy metylowej do kompleksu mediatora polimerazy RNA,

podjednostki MED12, zwiększając chemiooporność komórek nowotworowych [15]. Coraz więcej dowodów wskazuje, że obniżone stężenie PRMT4 może również niekorzystnie wpływać na procesy przebiegające w komórce. Obniżone stężenie PRMT4 zaobserwowano w raku wątrobowokomórkowym oraz w nowotworze trzustki. W obydwu przypadkach brak ekspresji genu kodującego PRMT4 skorelowany był ze zwiększonym metabolizmem komórek nowotworowych. CARM1 specyficznie metyluje dwa ważne enzymy metaboliczne: GAPDH w pozycji R234 oraz MDH1 w R248, co zmniejsza lub całkowicie wyłącza ich aktywność. Zaburzenie aktywności enzymów: GAPDH i MDH1 prowadzi do zwiększenia przemian energetycznych zachodzących w komórce, czego konsekwencją jest nadmierna proliferacja komórek nowotworowych [58, 70].

Metylotransferaza argininy 5 (PRMT5) jest enzymem powszechnie występującym we wszystkich tkankach eukariotów. Aktywność PRMT5 jest związana z represją transkrypcji spowodowaną zmianą struktury chromatyny [10, 50]. Poziom PRMT5 ulega podwyższeniu przede wszystkim w raku: płuc, jelita grubego, piersi oraz w czerniaku. Stężenie enzymu w transformowanych komórkach jest związane z ich hiperprolifracją, zaburzeniem cyklu komórkowego oraz zniesieniem programowanej śmierci komórki [2, 61]. W większości przypadków nadekspresja genu kodującego PRMT5 skraca czas przeżycia pacjentów z chorobami nowotworowymi [30]. Na rokowanie chorego może wpływać umiejscowienie komórkowe enzymu. Udowodniono to w przypadku nowotworu gruczołu krokowego. Frakcja jądrowa PRMT5 w komórkach łagodnego raka stercza hamuje proliferację komórek nowotworowych, podczas gdy cytoplazmatyczna go nasila [2, 30]. PRMT5 sprzyja proliferacji komórek nowotworowych przez zwiększenie ekspresji cyklin fazy G1 cyklu komórkowego: D1, D2, E1 [10, 50]. Dzięki symetrycznej dimetylacji histonów H3R8 i H4R3 obniża się ekspresja głównych genów supresorowych: *ST7*, *RB*, *NM23* oraz *TP53* [1, 32, 50]. Zwiększone stężenie frakcji jądrowej enzymu może sprzyjać nadmiernej proliferacji transformowanych komórek przez metylację EGFR w pozycji R1175 i wzmocnieniu sygnalizacji Erk [28, 32]. Ponadto enzym uczestniczy w aktywacji szlaku NF- κ B, celując w podstawowe geny antyapoptyczne, takie jak: *BCL2L1* oraz *IAP-2*, hamując w ten sposób apoptozę komórek nowotworowych i podtrzymując ich proliferację [23]. Metylotransferaza argininy 5 zwiększa ekspresję pluripotencjalnych czynników transkrypcyjnych, dzięki czemu podtrzymuje populację nowotworowych komórek macierzystych i uodparnia je na stosowaną chemioterapię. Zmniejszenie stężenia PRMT5 może mieć podstawowe znaczenie w terapii chorób nowotworowych, gdyż prowadzi do apoptozy zróżnicowanych komórek nowotworowych, a niezróżnicowane komórki rakowe uwalnia na działanie cytostatyków [5, 23].

Metylotransferaza argininy 6 (PRMT6) reguluje procesy jądrowe, takie jak: ekspresja genów i naprawa nici DNA [29]. Zwiększona ekspresja genu kodującego PRMT6 obserwowana jest w wielu tkankach nowotworowych, m.in. w guzach litych: płuc, stercza, piersi oraz wątroby [46, 67]. Podwyższone stężenie PRMT6

Tabela 1. Charakterystyka rodziny metylotransferaz argininy

Enzym	Funkcja fizjologiczna	Nowotwór	Cel molekularny enzymu
PRMT1	– regulacja embriogenezy – kontrola cyklu komórkowego – naprawa uszkodzeń nici DNA	– piersi – płuc – okrężnicy – prostaty – pęcherza – ostra białaczka szpikowa	– białka fuzyjne: AML1-ETO, MLL-EEN; EGFR; ZEB1; receptor estrogenowy CCNB1; CCND1; E-kadheryna; TP53; TWIST1; SNAIL; BRCA1; GADD45G; TFR2 – aktywacja ścieżek sygnalizacyjnych: NOTCH, Wnt/β-kenina
PRMT2	– aktywacja receptorów: estrogenowego, progesteronowego, androgenowego	– piersi – glejak	– SNAIL; e-kadheryna; CCND1; CCNA2, CCNB1; – aktywacja ścieżek sygnalizacyjnych: MAPK, PI3K-AKT, JAK-STAT
PRMT3	– metylacja białka rybosomalnego 40s – regulacja dojrzewania białka rybosomalnego 80s	– trzustki	– hnRNP1
PRMT4 (CARM1)	– składanie RNA – naprawa nici DNA – kontrola cyklu komórkowego – autofagia	– piersi – prostaty – płuc – wątrobowokomórkowy – trzustki	– β-kenina; Rb; BAF155; GAPDH; MDH1
PRMT5	– represja transkrypcji	– płuc – jelita grubego – piersi – czerniak	– CCND1; CCND2; CCNE1; TP53; EGFR; BCL2L1; IAP-2
PRMT6	– naprawa nici DNA – aktywacja receptora estrogenowego	– płuc – stercza – piersi – wątroby	– p21; p27, TSP1, PELP1
PRMT7	– marker komórek pluripotencjalnych – utrzymanie puli komórek satelitarnych	– piersi	– E-kadheryna; TWIST1; SNAIL; ZEB1; ZEB2; MMP-2 MMP-9
PRMT8	– dojrzewanie synaps w ośrodkowym układzie nerwowym	– piersi – szyjki macicy – okrężnicy – trzustki	– Sox2; NANOG; Oct4
PRMT9	– regulacja alternatywnego splicingu – regulacja dojrzewania małych rybonukleoprotein jądrowych	– czerniak – chłoniak – płuc – jąder – wątrobowokomórkowy – trzustki	– Aktywacja ścieżki sygnalizacyjnej PI3K/AKT/GSK-3b/SNAIL

proceeds to asymmetric dimethylation of H3R2 in the region initiating transcription of p21 and p27. Loss of expression of both inhibitors of the cell cycle promotes excessive proliferation of tumor cells and prevents their aging [29, 56]. Methylation of p21 at R156 promotes phosphorylation of threonine 145, promoting cytoplasmic localization of p21. Excessive accumulation of p21 in the cytoplasm of cells acts antiproliferatively and increases their sensitivity to chemotherapy [41]. In many tumors

high levels of PRMT6 increase migration of tumor cells and angiogenesis by inhibiting expression of natural inhibitors of the above-mentioned processes - thrombospondin 1 (TSP1). In breast cancer, PRMT6 interacts with the known proto-oncogene PELP1 and participates in activation of the estrogen receptor. Inhibition of expression of the PRMT6 gene significantly reduces ER activation via the PELP1 intermediate and reduces proliferation of tumor cells and formation of colonies [38].

Metylotransferazę argininy 7 (PRMT7) uważa się za marker komórek pluripotencjalnych [58]. Enzym umożliwia utrzymanie puli mięśniowych komórek satelitarnych, a jego brak opóźnia aktywację różnicowania miogenego i utratę właściwości komórek macierzystych, powodując niezdolność zaangażowania się do naprawy tkanek i defekty regeneracyjne mięśni [59]. Metylotransferaza argininy 7 uczestniczy głównie w progresji choroby nowotworowej przez regulację genów zaangażowanych w przejście nabłonkowo-mezenchymalne [18]. Dotychczasowe badania sugerują, że PRMT7 promuje EMT i przerzutowanie za pośrednictwem e-kadheryny. Autometylacja enzymu w pozycji R531me1 koreluje ze złośliwością raka piersi, a powstała modyfikacja biochemiczna nasila interakcje PRMT7 z czynnikiem transkrypcyjnym YY1, wyszczepiając ekspresję genu kodującego e-kadherynę [16, 56]. Zwiększone stężenie enzymu wiąże się również z podwyższeniem ekspresji genów: *Twist*, *Snail*, *Zeb1*, *Zeb2*, *Mmp-2* i *Mmp-9*, promujących migrację komórek nowotworowych [4].

W warunkach fizjologicznych metylotransferaza argininy 8 (PRMT8) występuje jedynie w ośrodkowym układzie nerwowym [21]. Enzym wykazuje bardzo duże podobieństwo do PRMT1, a sekwencje nukleotydowe obydwu metylotransferaz pokrywają się ze sobą prawie w 80% [20]. Podwyższone stężenie metylotransferazy argininy 8 stwierdza się w nowotworowych komórkach macierzystych, głównie tych wywodzących się z guzów litych szyjki macicy, piersi, okrężnicy oraz tarczycy [36]. Zaobserwowano występowanie korelacji między ekspresją genu kodującego PRMT8 a czasem przeżycia pacjentów w kilku różnych typach nowotworów. Wykazano pozytywny związek między nadekspresją genu *PRMT8* a przewidywanym czasem życia chorych z rakiem piersi i jajnika. Natomiast u pacjentów z rakiem żołądka z dużym stężeniem enzymu w komórkach obserwuje się skrócenie czasu przeżycia do około 2 lat od chwili rozpoznania [21]. Duże stężenie PRMT8 zwiększa proliferację, migrację oraz lekooporność transformowanych komórek. Ponadto enzym może indukować powstawanie nowotworowych komórek macierzystych odpowiedzialnych za powstawanie przerzutów. Asymetryczna dimetylacja białka Sox2 katalizowana przez PRMT8, zmniejsza jego degradację, a to zwiększa zawartość białka i podnosi inne pluripotencjalne czynniki transkrypcyjne, m.in. *Nanog* i *Oct4* [20, 36].

Metylotransferaza argininy 9 (PRMT9) uczestniczy w regulacji alternatywnego splicingu oraz moduluje dojrzewanie małych rybonukleoprotein jądrowych [27]. Podwyższony poziom PRMT9 wykryto w: chłoniaku, czerniaku, raku jąder, raku wątrobowokomórkowym (HCC, hepatocellular carcinoma) oraz w nowotworze trzustki [17]. Niewiele jeszcze wiadomo o roli enzymu w procesie karcynogenezy. Nadekspresja genu kodującego PRMT9 odgrywa istotną rolę w metastazie komórek raka wątrobowokomórkowego, co sprzyja przejściu epitelialno-nabłonkowemu. Duże stężenie enzymu wiąże się ze zwiększonym poziomem markerów mezenchymalnych (wimentyny i fibronektyny). Jiang i wsp. dowiedli, iż ma to związek z aktywacją szlaku PI3K/AKT/GSK-3 β /Snail przez PRMT9, która prowadzi do

stabilizacji białka Snail i jego akumulacji w jądrze, ułatwiając migrację komórek i tworzenie odległych przerzutów [27].

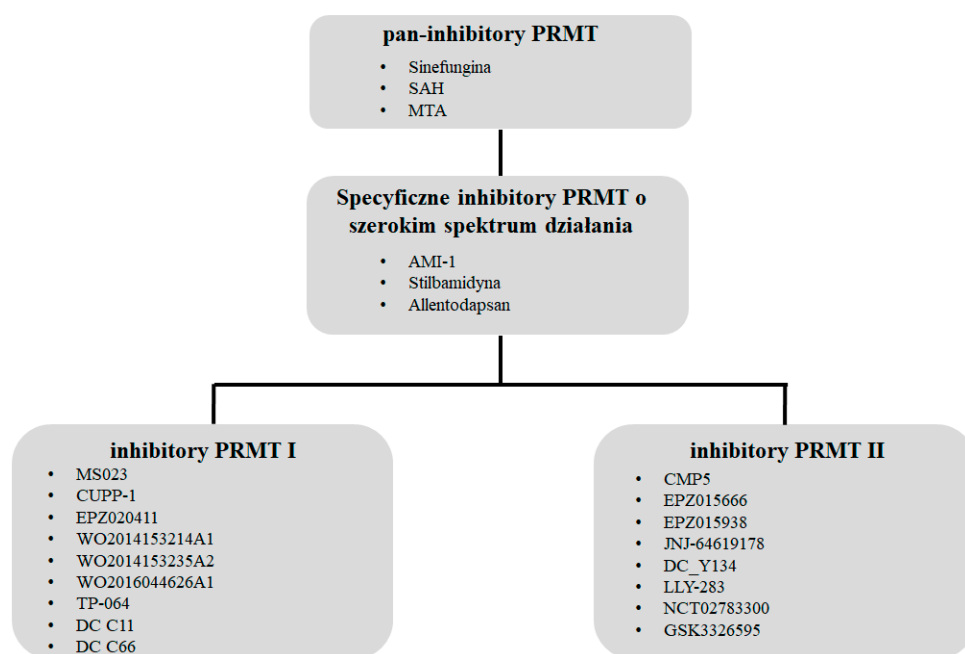
INHIBITORY METYLOTRANSFERAZ ARGININY

Odkrycie związku między podwyższonym poziomem metylotransferaz argininy a rozwojem chorób nowotworowych zapoczątkowało poszukiwania substancji chemicznych, które skutecznie i selektywnie zahamowałyby nadmierną aktywność PRMT i w przyszłości mogłyby się stać bezpieczną, celowaną terapią u pacjentów onkologicznych. Pierwsze inhibitory PRMT (iPRMT, PRMT inhibitors) odkryto w latach 2004/2005 [56]. Obecnie ze względu na sposób działania inhibitory metylotransferaz argininy można podzielić na 5 głównych grup. Inhibitory PRMT klasy I, II i III to substancje wykazujące powinowactwo odpowiednio do: kieszeni wiążącej AdoMet, kieszeni wiążącej substrat lub do obydwu miejsc jednocześnie. Inhibitory klasy IV to substancje selektywnie hamujące PRMT5 przez blokowanie motywu α Y/THW i częściowo kieszeni wiążącej substrat. Natomiast inhibitory klasy V wpływają na dimeryzację metylotransferaz argininy i ich aktywność allosteryczną [54].

Większość substancji hamujących aktywność metylotransferaz argininy to tzw. paninhibitory PRMT, czyli analogi SAM, mające małą selektywność. Substancje te bardzo często wykazują powinowactwo nie tylko do PRMT, lecz również do HKMT [34]. Wspólną cechą inhibitorów naśladujących kofaktor jest to, że działają w niskich stężeniach mikromolowych i mogą wywołać globalny spadek poziomu metylacji w żywym organizmie. Do prostych analogów SAM zalicza się: sinefunginę, SAH oraz MTA [24, 63].

Pierwszą grupą związków swoiście hamujących aktywność metylotransferaz argininy była rodzina inhibitorów AMI (arginine methyltransferase inhibitor), składająca się z 9 członków (AMI-1 – AMI-9). Dalsze badania wykazały, iż jedynie AMI-1 i AMI-8 są swoiste dla PRMT i nie wpływają na aktywność metylotransferaz lizyny [24]. Spośród tych dwóch substancji AMI-1 wykazuje większą aktywność, z tego względu związek ten został mianowany pierwszym selektywnym, małowystępowym inhibitorem PRMT [12, 63]. Ze względu na swoją strukturę AMI-1 wykazuje podobieństwo do peptydyloargininy: mocznik jest podobny do neutralnej grupy guanidynowej, a hydrofobowy układ pierścienia naftalenu ma podobną długość do łańcucha alkilowego argininy [12]. Modele ilościowej zależności między strukturą chemiczną a aktywnością (QSAR quantitative structure-activity relationship) wskazują, iż AMI-1 pozycjonuje się pomiędzy miejscem wiązania SAM i argininy, zatem substancja działa przez blokowanie dostępu obydwu kieszeni enzymu [11, 14]. Początkowo uważano, iż inhibitor jest ukierunkowany jedynie na PRMT klasy I, jednak dalsze eksperymenty udowodniły jego skuteczność również w stosunku do enzymów klasy II [64]. Wkrótce po odkryciu AMI-1 pojawiły się inne swoiste inhibitory PRMT, takie jak: stilbamidyna i allentodapson [15, 61].

Dalsze badania dotyczące iPRMT skoncentrowano na poszukiwaniu związków bardziej specyficznych dla danej



Ryc. 1. Podział inhibitorów PRMT

klasy metylotransferaz argininy bądź ukierunkowanych na konkretne enzymy. Poszukiwanie nowych iPRMT, wśród substancji wykazujących powinowactwo do kieszeni wiążącej substrat, jest najbardziej uzasadnione dlatego, że wszystkie metylotransferazy cechuje to samo miejsce wiązania [59, 61]. Obiecującym podejściem do opracowywania nowych skutecznych inhibitorów PRMT jest wyszukiwanie substancji powodujących modyfikacje substratu w obrębie grupy guanidynowej argininy. Dzięki zastosowaniu sekwencji peptydu flankującego dokonuje się modyfikacji N-końcowych atomów reszt argininy, w celu stworzenia swoistego wiązania pomiędzy nim a członkami rodziny PRMT [55]. Powstałe inhibitory PRMT, bazujące na sekwencji aminokwasowej wykazują duże powinowactwo i dużą selektywność w stosunku do substratu. Jednak substancje te ze względu na dużą zawartość argininy i lizyny w fizjologicznym pH są niestabilne metabolicznie. Związki te mogą być wykorzystywane jako sondy chemiczne do badania funkcji i mechanizmu działania PRMT oraz są modelem dla leków opartych na peptydomimetykach [24].

W grupie inhibitorów metylotransferaz argininy klasy I znajdują się substancje hamujące aktywność wszystkich członków PRMT I, poszczególnych członków tej grupy lub wybiórcze enzymy. Substancją o szerokim zakresie działania jest MS023. Związek ten opracowano z użyciem dwóch wcześniej znanych inhibitorów: CUPP-1 i EPZ020411. MS023 zajmuje miejsce wiązania substratu peptydowego, dzięki czemu skutecznie hamuje asymetryczną dimetylację argininy wszystkich PRMT I z wyjątkiem PRMT6 [13]. Innymi substancjami selektywnie hamującymi aktywność PRMT klasy I są: WO2014153214A1, WO2014153235A2 i WO2016044626A1 [34]. Wśród inhibitorów PRMT I jest duża grupa małowcząsteczkowych substancji ukierunkowana na

zahamowanie aktywności PRMT4. Związki te współzawodniczą z arginina o wiązanie z CARM1, ale nie zakłócają wiązania kofaktora. Substancjami działającymi na tej zasadzie są pochodne pirazolu, benzo[d]imidazol, N-benzylpiperidin-4-amine, pyrole, fenoksybenzamid oraz pochodne fenyloeterowe [48]. Do znanych inhibitorów PRMT4 zalicza się również TP-064, DC C11, DC C66. Związki te w sposób zależny od dawki wykazują działanie przeciwnowotworowe, gdyż hamują proliferację komórek rakowych i zatrzymują ich cykl podziałowy [27, 42].

Inhibitory PRMT klasy II ukierunkowane są głównie na PRMT5, ponieważ enzym ten odpowiada za powstanie większości SDMA w organizmie człowieka. Pierwszy selektywny związek hamujący aktywność PRMT5 - CMP5 odkryto w 2015 r. [42]. Od tego czasu lista znanych inhibitorów metylotransferaz argininy 5 powiększyła się o: EPZ015666, EPZ015938, JNJ-64619178, DC_Y134, LLY-283, NCT02783300, GSK3326595. Wszystkie te substancje sprawdzane są pod kątem właściwości przeciwnowotworowych [56, 61].

Na ryc. 1 przedstawiono podział inhibitorów PRMT ze względu na ich selektywność w stosunku do metylotransferaz argininy.

Obecnie prowadzone są badania, w których podejmowane są próby jednoczesnego zastosowania inhibitorów PRMT klasy I i II w celu uzyskania lepszego działania przeciwnowotworowego. Ponadto inhibitory PRMT łączone są z innymi substancjami wykazującymi aktywność w stosunku do enzymów epigenetycznych. W glejakach o dużej złośliwości połączono inhibitor PRMT5 (CMP5) z substancją hamującą aktywność deacetylazy histonowej – trichostatiną A (TSA, trichostatin A). Wykazano, że PRMT ma lepszą

aktywność na resztach argininy w histonach H4R3 i H3R8, gdy sąsiednie reszty lizyny są acetylowane. Zastosowane leczenie kombinowane okazało się skuteczniejsze i spowodowało znaczną apoptozę komórek glejaka [34].

Przeciwnowotworowe działanie inhibitorów PRMT sprawia, że substancje te w przyszłości mogą się stać lekami epigenetycznymi; trwają badania kliniczne 3 inhibitorów PRMT. GSK3326595 to inhibitor PRMT1 testowany pod kątem doustnego stosowania u pacjentów z nawracającym i/lub opornym na leczenie zespołem mielodysplastycznym (MDS, myelodysplastic syndrome), ostrą białaczką szpikową poprzedzoną zespołem mielodysplastycznym czy przewlekłą białaczką mielomonocytową (CMML, chronic myelomonocytic leukemia). Natomiast GSK3326595 i JNJ-64619178 to inhibitory PRMT5, których skuteczność badana jest w nawracających guzach litych oraz w chłoniaku nieziarnicznym (NHL, non-Hodgkin lymphoma) [8, 26, 34].

PODSUMOWANIE

Metylotransferazy argininy są rodziną enzymów odpowiedzialnych za metylację reszt argininy w ogonach histonowych oraz białkach niehistonowych. Wśród rodziny PRMT wyróżnia się dziewięć enzymów (PRMT1 - PRMT9). Ze względu na przebieg katalizowanej reakcji metylotransferazy argininy podzielono na trzy klasy: I, II i III. Wśród metylotransferaz argininy należących do klasy I są PRMT: 1, 2, 3, 4, 6, 8. Głównym zadaniem tych enzymów jest katalizowanie powstania NG-monometyloargininy i asymetrycznej ω -N^G,N^G-dimetyloargininy. Asymetryczna dimetylacja argininy zwiększa acetylację białek histonowych, a więc enzymy działają jako koaktywatory transkrypcji. Do PRMT II należą: PRMT5 i PRMT9. Ich rola polega na przeniesieniu

grupy metylowej do niezmodyfikowanego atomu azotu guanidynowej monometyloargininy, tworząc białka o symetrycznych resztach dimetylowanych. Enzymy te słabiej poznano, w większości przypadków ich aktywność jest związana z represją transkrypcji. Członkiem metylotransferaz argininy klasy III jest jedynie PRMT7, katalizuje powstanie monometyloargininy.

Metylacja argininy pełni wiele krytycznych funkcji, niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Uczestniczy m.in. w kontroli transdukcji sygnału, regulacji splicingu mRNA oraz kontroluje podstawowe szlaki wewnątrzkomórkowe.

Metylotransferazy argininy w istotny sposób wpływają na aktywność chromatyny, a dysregulacja ich poziomu może sprzyjać rozwojowi stanów patologicznych. Enzymy te działają jako aktywatory lub represory transkrypcji. Zatem mogą wpływać na zaburzenie podstawowych procesów zachodzących w komórkach oraz modulować ich odpowiedź na sygnały pochodzące ze środowiska zewnątrz- i wewnątrzkomórkowego. Udowodniono, iż podwyższone lub obniżone stężenie PRMT sprzyja rozwojowi chorób rozrostowych układu krwiotwórczego oraz guzów litych.

Coraz większe zainteresowanie wzbudza innowacyjna terapia chorób onkologicznych z wykorzystaniem małych cząsteczkowych inhibitorów PRMT. Związki te mogą być ukierunkowane na wszystkie metylotransferazy argininy, na jedną z klas enzymów lub na konkretne PRMT. Obecnie trzy substancje hamujące aktywność PRMT znajdują się w fazie badań klinicznych i być może w niedalekiej przyszłości będą używane w leczeniu pacjentów z chorobami rozrostowymi układu krwiotwórczego.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Alam H., Gu B., Lee M.G.: Histone methylation modifiers in cellular signaling pathways. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2015; 72: 4577–4592
- [2] Amano Y., Matsubara D., Yoshimoto T., Tamura T., Nishino H., Mori Y., Niki T.: Expression of protein arginine methyltransferase-5 in oral squamous cell carcinoma and its significance in epithelial-to-mesenchymal transition. *Pathol. Int.*, 2018; 68: 359–366
- [3] Baldwin R.M., Bejide M., Trinkle-Mulcahy L., Côté J.: Identification of the PRMT1v1 and PRMT1v2 specific interactomes by quantitative mass spectrometry in breast cancer cells. *Proteomics*, 2015; 15: 2187–2197
- [4] Baldwin R.M., Haghandish N., Daneshmand M., Amin S., Paris G., Falls T.J., Bell J.C., Islam S., Côté J.: Protein arginine methyltransferase 7 promotes breast cancer cell invasion through the induction of MMP9 expression. *Oncotarget*, 2015; 6: 3013–3032
- [5] Banasavadi-Siddegowda Y.K., Welker A.M., An M., Yang X., Zhou W., Shi G., Imitola J., Li C., Hsu S., Wang J., Phelps M., Zhang J., Beattie C.E., Baiocchi R., Kaur B.: PRMT5 as a druggable target for glioblastoma therapy. *Neuro Oncol.*, 2018; 20: 753–763
- [6] Bedford M.T.: The family of protein arginine methyltransferases. *The Enzymes*, 2006; 24: 31–50
- [7] Behera A.K., Kumar M., Shanmugam M.K., Bhattacharya A., Rao V.J., Bhat A., Vasudevan M., Gopinath K.S., Mohiyuddin A., Chatterjee A., Sethi G., Kundu T.K.: Functional interplay between YY1 and CARM1 promotes oral carcinogenesis. *Oncotarget*, 2019; 10: 3709–3724
- [8] Brehmer D., Wu T., Mannens G., Beke L., Vinken P., Gaffney D., Sun W., Pande V., Thuring J.W., Millar H., Poggesi I., Somers I., Boeckx A., Parade M., van Heerde E. i wsp.: Abstract DDT02-04: A novel PRMT5 inhibitor with potent in vitro and in vivo activity in preclinical lung cancer models. *Cancer Res.*, 2017; 77: DDT02-04
- [9] Carlson S.M., Gozani O.: Emerging technologies to map the protein methylome. *J. Mol. Biol.* 2014; 426: 3350–3362

- [10] Carr S.M., Roworth A.P., Chan C., La Thangue N.B.: Post-translational control of transcription factors: Methylation ranks highly. *FEBS J.*, 2015; 282: 4450–4465
- [11] Castellano S., Milite C., Ragno R., Simeoni S., Mai A., Limongeli V., Novellino E., Bauer I., Brosh G., Spannhoff A., Cheng D., Bedford M.T., Sbardella G.: Design, synthesis and biological evaluation of carboxy analogues of arginine methyltransferase inhibitor 1 (AMI-1). *ChemMedChem.*, 2010; 5: 398–414
- [12] Cheng D., Yadav N., King R.W., Swanson M.S., Weinstein E.J., Bedford M.T.: Small molecule regulators of protein arginine methyltransferases. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 23892–23899
- [13] Eram M.S., Shen Y., Szewczyk M., Wu H., Senisterra G., Li F., Butler K.V., Kaniskan H.Ü., Speed B.A., Dela Peña C., Dong A., Zeng H., Schapira M., Brown P.J., Arrowsmith C.H. i wsp.: A potent, selective, and cell-active inhibitor of human type I protein arginine methyltransferases. *ACS Chem. Biol.*, 2016; 11: 772–781
- [14] Feng Y., Xie N., Wu J., Yang C., Zheng Y.G.: Inhibitory study of protein arginine methyltransferase 1 using a fluorescent approach. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2009; 379: 567–572
- [15] Fulton M.D., Brown T., Zheng Y.G.: Mechanisms and inhibitors of histone arginine methylation. *Chem. Rec.*, 2018; 18: 1792–1807
- [16] Geng P., Zhang Y., Liu X., Zhang N., Liu Y., Liu X., Lin C., Yan X., Li Z., Wang G., Li Y., Tan J., Liu D.X., Huang B., Lu J.: Automethylation of protein arginine methyltransferase 7 and its impact on breast cancer progression. *FASEB J.*, 2017; 31: 2287–2300
- [17] Hadjikyriacou A., Yang Y., Espejo A., Bedford M.T., Clarke S.G.: Unique features of human protein arginine methyltransferase 9 (PRMT9) and its substrate RNA splicing factor SF3B2. *J. Biol. Chem.*, 2015; 290: 16723–16743
- [18] Haghandish N., Baldwin R.M., Moretti A., Dawit H.T., Adhikary H., Masson J.Y., Mazroui R., Trinkle-Mulcahy L., Côté J.: PRMT7 methylates eukaryotic translation initiation factor 2 α and regulates its role in stress granule formation. *Mol. Biol. Cell*, 2019; 30: 778–793
- [19] Han H.S., Choi D., Choi S., Koo S.H.: Roles of protein arginine methyltransferases in the control of glucose metabolism. *Endocrinol. Metab.*, 2014; 29: 435–440
- [20] Hernandez S., Dominko T.: Novel protein arginine methyltransferase 8 isoform is essential for cell proliferation. *J. Cell Biochem.*, 2016; 117: 2056–2066
- [21] Hernandez S.J., Dolivo D.M., Dominko T.: PRMT8 demonstrates variant-specific expression in cancer cells and correlates with patient survival in breast, ovarian and gastric cancer. *Oncol. Lett.*, 2017; 13: 1938–1989
- [22] Hsu M.C., Pan M.R., Chu P.Y., Tsai Y.L., Tsai C.H., Shan Y.S., Chen L.T., Hung W.C.: Protein arginine methyltransferase 3 enhances chemoresistance in pancreatic cancer by methylating hnRNPA1 to increase ABCG2 expression. *Cancers*, 2018; 11: 8
- [23] Hu G., Wang X., Han Y., Wang P.: Protein arginine methyltransferase 5 promotes bladder cancer growth through inhibiting NF- κ B dependent apoptosis. *EXCLI J.*, 2018; 17: 1157–1166
- [24] Hu H., Qian K., Ho M.C., Zheng Y.G.: Small molecule inhibitors of protein arginine methyltransferases. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2016; 25: 335–358
- [25] Iderzorig T., Kellen J., Osude C., Singh S., Woodman J.A., Garcia C., Puri N.: Comparison of EMT mediated tyrosine kinase inhibitor resistance in NSCLC. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2018; 496: 770–777
- [26] Jahan S., Davie J.R.: Protein arginine methyltransferases (PRMTs): Role in chromatin organization. *Adv. Biol. Regul.*, 2015; 57: 173–184
- [27] Kaniskan H.Ü., Eram M.S., Liu J., Smil D., Martini M.L., Shen Y., Santhakumar V., Brown P.J., Arrowsmith C.H., Vedadi M., Jin J.: Design and synthesis of selective, small molecule inhibitors of coactivator-associated arginine methyltransferase 1 (CARM1). *Med. Chem. Commun.*, 2016; 7: 1793–1796
- [28] Karkhanis V., Hu Y.J., Baiocchi R.A., Imbalzano A.N., Sif S.: Versatility of PRMT5-induced methylation in growth control and development. *Trends. Biochem. Sci.*, 2011; 36: 633–641
- [29] Kleinschmidt M.A., de Graaf P., van Teeffeln H.A., Timmers H.T.: Cell cycle regulation by the PRMT6 arginine methyltransferase through repression of cyclin-dependent kinase inhibitors. *PLoS One*, 2012; 7: e41446
- [30] Lattouf H., Poulard C., Le Romancer M.: PRMT5 prognostic value in cancer. *Oncotarget*, 2019; 10: 3151–3153
- [31] Leipold A., Heß J., Zaoui K.: Das Epigenom. Zielstruktur für innovative Therapiekonzepte beim Kopf- und Halskarzinom. *HNO*, 2015; 63: 786–791
- [32] Li M., An W., Xu L., Lin Y., Su L., Liu X.: The arginine methyl transferase PRMT5 and PRMT1 distinctly regulate the degradation of anti-apoptotic protein CFLARL in human lung cancer cells. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2019; 38: 64
- [33] Li S., Cheng D., Zhu B., Yang Q.: The overexpression of CARM1 promotes human osteosarcoma cell proliferation through the pGSK3 β / β -catenin/cyclinD1 signaling pathway. *Int. J. Biol. Sci.*, 2017; 13: 976–984

- [34] Li X., Wang C., Jiang H., Luo C.: A patent review of arginine methyltransferase inhibitors (2010–2018). *Expert Opin. Ther. Pat.*, 2019; 29: 97–114
- [35] Li Y., Zhu R., Wang W., Fu D., Hou J., Ji S., Chen B., Hu Z., Shao X., Yu X., Zhao Q., Zhang B., Du C., Bu Q., Hu C. i wsp.: Arginine methyltransferase 1 in the nucleus accumens regulates behavioral effects of cocaine. *J. Neurosci.*, 2015; 35: 12890–12902
- [36] Lin H., Wang B., Yu J., Wang J., Li Q., Cao B.: Protein arginine methyl transferase 8 gene enhances the colon cancer stem cell (CSC) function by upregulating the pluripotency transcription factor. *J. Cancer*, 2018; 9: 1394–1402
- [37] Litt M., Qiu Y., Huang S.: Histone arginine methylations: Their roles in chromatin dynamics and transcriptional regulation. *Biosci. Rep.*, 2009; 29: 131–141
- [38] Mann M., Zou Y., Chen Y., Brann D., Vadlamudi R.: PELP1 oncogenic functions involve alternative splicing via PRMT6. *Mol. Oncol.*, 2014; 8: 389–400
- [39] Michalak E.M., Visvader J.E.: Dysregulation of histone methyltransferases in breast cancer – opportunities for new targeted therapies? *Mol. Oncol.*, 2016; 10: 1497–1515
- [40] Nakai K., Xia W., Liao H.W., Saito M., Hung M.C., Yamaguchi H.: The role of PRMT1 in EGFR methylation and signaling in MDA-MB-468 triple-negative breast cancer cells. *Breast Cancer*, 2018; 25: 74–80
- [41] Nakakido M., Deng Z., Suzuki T., Dohmae N., Nakamura Y., Hamamoto R.: PRMT6 increases cytoplasmic localization of p21CDKN1A in cancer cells through arginine methylation and makes more resistant to cytotoxic agents. *Oncotarget*, 2015; 6: 30957–30967
- [42] Nakayama K., Szewczyk M.M., Dela Sena C., Wu H., Dong A., Zeng H., Li F., de Freitas R.F., Eram M.S., Schapira M., Baba Y., Kunitomo M., Cary D.R., Tawada M., Ohashi A. i wsp.: TP-064, a potent and selective small molecule inhibitor of PRMT4 for multiple myeloma. *Oncotarget*, 2018; 9: 18480–18493
- [43] Obianyo O., Causey C.P., Jones J.E., Thompson P.R.: Activity-based protein profiling of protein arginine methyltransferase 1. *ACS Chem. Biol.*, 2011; 6: 1127–1135
- [44] Pawlicka K., Perrigue P., Barciszewski J.: Epigenetyczna kontrola procesów komórkowych. *Nauka*, 2018; 2: 115–128
- [45] Peng C., Wong C.C.: The story of protein arginine methylation: Characterization, regulation, and function. *Expert Rev. Proteomics*, 2017; 14: 157–170
- [46] Poulard C., Corbo L., Le Romancer M.: Protein arginine methylation/demethylation and cancer. *Oncotarget*, 2016; 7: 67532–67550
- [47] Prabhu L., Chen L., Wei H., Demir Ö., Safa A., Zeng L., Amaro R.E., O'Neil B.H., Zhang Z.Y., Lu T.: Development of an AlphaLISA high throughput technique to screen for small molecule inhibitors targeting protein arginine methyltransferases. *Mol. Biosyst.*, 2017; 13: 2509–2520
- [48] Ran T., Li W., Peng B., Xie B., Lu T., Lu S., Liu W.: Virtual screening with a structure-based pharmacophore model to identify small-molecule inhibitors of CARM1. *J. Chem. Inf. Model.*, 2019; 59: 522–534
- [49] Ryu J.W., Kim S.K., Son M.Y., Jeon S.J., Oh J.H., Lim J.H., Cho S., Jung C.R., Hamamoto R., Kim D.S., Cho H.S.: Novel prognostic marker PRMT1 regulates cell growth via downregulation of CDKN1A in HCC. *Oncotarget*, 2017; 8: 115444–115455
- [50] Shailesh H., Zakaria Z.Z., Baiocchi R., Sif S.: Protein arginine methyltransferase 5 (PRMT5) dysregulation in cancer. *Oncotarget*, 2018; 9: 36705–36718
- [51] Shen Y., Zhong J., Liu J., Liu K., Zhao J., Xu T., Zeng T., Li Z., Chen Y., Ding W., Wen G., Zu X., Cao R.: Protein arginine N-methyltransferase 2 reverses tamoxifen resistance in breast cancer cells through suppression of ER-α36. *Oncol. Rep.*, 2018; 39: 2604–2612
- [52] Smith E., Zhou W., Shindiapina P., Sif S., Li C., Baiocchi R.A.: Recent advances in targeting protein arginine methyltransferase enzymes in cancer therapy. *Expert Opin. Ther. Targets*, 2018; 22: 527–545
- [53] Stopa N., Krebs J.E., Shechter D.: The PRMT5 arginine methyl transferase: Many roles in development, cancer and beyond. *Cell Mol. Life. Sci.*, 2015; 72: 2041–2059
- [54] Tewary S.K., Zheng Y.G., Ho M.C.: Protein arginine methyltransferases: Insights into the enzyme structure and mechanism at the atomic level. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2019; 76: 2917–2932
- [55] Vhuiyan M., Thomas D., Hossen F., Frankel A.: Targeting protein arginine N-methyltransferases with peptide-based inhibitors: Opportunities and challenges. *Future Med. Chem.*, 2013; 5: 2199–2206
- [56] Wang S.M., Dowhan D.H., Muscat G.E.: Epigenetic arginine methylation in breast cancer: Emerging therapeutic strategies. *J. Mol. Endocrinol.*, 2019; 62: R223–R237
- [57] Wang W.J., Hsu J.M., Wang Y.N., Lee H.H., Yamaguchi H., Liao H.W., Hung M.C.: An essential role of PRMT1-mediated EGFR methylation in EGFR activation by ribonuclease 5. *Am. J. Cancer Res.*, 2019; 9: 180–185
- [58] Wang Y.P., Zhou W., Wang J., Hung X., Zuo Y., Wang T.S., Gao X., Xu Y.Y., Zou S.W., Liu Y.B., Cheng J.K., Lei Q.Y.: Arginine methylation of MDH1 by CARM1 inhibits glutamine metabolism and suppresses pancreatic cancer. *Mol. Cell*, 2016; 64: 673–687

- [59] Webb L.M., Amici S.A., Jablonski K.A., Savardekar H., Panfil A.R., Li L., Zhou W., Peine K., Karkhanis V., Bachelder E.M., Ainslie K.M., Green P.L., Li C., Baiocchi R.A., Guerau-de-Arellano M.: PRMT5-selective inhibitors suppress inflammatory T cell responses and experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.*, 2017; 198:1439–1451
- [60] Ye F., Zhang W., Ye F., Zhang W., Ye X., Jin J., Lv Z., Luo C.: Identification of selective, cell active inhibitors of protein arginine methyltransferase 5 through structure-based virtual screening and biological assays. *J. Chem. Inf. Model.*, 2018; 58: 1066–1073
- [61] Ye Y., Zhang B., Mao R., Zhang C., Wang Y., Xing J., Liu Y.C., Luo X., Ding H., Yang Y., Zhou B., Jiang H., Chen K., Luo C., Zheng M.: Discovery and optimization of selective inhibitors of protein arginine methyltransferase 5 by docking-based virtual screening. *Org. Biomol. Chem.*, 2017; 15: 3648–3661
- [62] Yost J.M., Korboukh I., Liu F., Gao C., Jin J.: Targets in epigenetics: Inhibiting the methyl writers of the histone code. *Curr. Chem. Genomics*, 2011; 5: 72–84
- [63] Zhang B., Chen X., Ge S., Peng C., Zhang S., Chen X., Liu T., Zhang W.: Arginine methyltransferase inhibitor-1 inhibits sarcoma viability in vitro and in vivo. *Oncol. Lett.*, 2018; 16: 2161–2166
- [64] Zhang B., Zhang S., Zhu L., Chen X., Zhao Y., Chao L., Zhou J., Wang X., Zhang X., Ma N.: Arginine methyltransferase inhibitor 1 inhibits gastric cancer by downregulating eIF4E and targeting PRMT5. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2017; 336: 1–7
- [65] Zhao X., Zhou D., Liu Y., Li C., Zhao X., Li Y., Li W.: Ganoderma lucidum polysaccharide inhibits prostate cancer cell migration via the protein arginine methyltransferase 6 signaling pathway. *Mol. Med. Rep.*, 2018; 17: 147–157
- [66] Zhao Y., Lu Q., Li C., Wang X., Jiang L., Huang L., Wang C., Chen H.: PRMT1 regulates the tumour-initiating properties of esophageal squamous cell carcinoma through histone H4 arginine methylation coupled with transcriptional activation. *Cell Death. Dis.*, 2019; 10: 359
- [67] Zhong J., Cao R.X., Hong T., Yang J., Zu X.Y., Xiao X.H., Liu J.H., Wen G.B.: Identification and expression analysis of a novel transcript of the human PRMT2 gene resulted from alternative polyadenylation in breast cancer. *Gene*, 2011; 487: 1–9
- [68] Zhong J., Cao R.X., Liu J.H., Liu Y.B., Wang J., Liu L.P., Chen Y.J., Yang J., Zhang Q.H., Wu Y., Ding W.J., Hong T., Xiao X.H., Zu X.Y., Wen G.B.: Nuclear loss of protein arginine N-methyltransferase 2 in breast carcinoma is associated with tumor grade and overexpression of cyclin D1 protein. *Oncogene*, 2014; 33: 5546–5558
- [69] Zhong J., Chen Y.J., Chen L., Shen Y.Y., Zhang Q.H., Yang J., Cao R.X., Zu X.Y., Wen G.B.: PRMT2 β , a C-terminal splice variant of PRMT2 β , inhibits the growth of breast cancer cells. *Oncol. Rep.*, 2017, 38: 1303–1311
- [70] Zhong X.Y., Yuan X.M., Xu Y.Y., Yin M., Yan W.W., Zou S.W., Wei L.M., Lu H.J., Wang Y.P., Lei Q.Y.: CARM1 methylates GAPDH to regulate glucose metabolism and is suppressed in liver cancer. *Cell. Rep.*, 2018; 24: 3207–3223
- [71] Zhu K., Jiang C., Tao H., Liu J., Zhang H., Luo C.: Identification of a novel selective small-molecule inhibitor of protein arginine methyltransferase 5 (PRMT5) by virtual screening, resynthesis and biological evaluations. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2018; 28: 1476–1483
-
- Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.