

STRESZCZENIE

Czynnik transkrypcyjny REST (ang. *RE1-silencing transcription factor*) jest kluczowym regulatorem ekspresji genów neuronalnych, odgrywającym rolę w prawidłowym rozwoju mózgu, jak i w patogenezie nowotworów ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Poprzez wiązanie sekwencji RE1 i rekrutację kompleksów represyjnych uczestniczy w epigenetycznym wyciszaniu genów, kontrolując procesy neurogenezy i różnicowania komórkowego. W nowotworach OUN REST wykazuje działanie zależne od kontekstu, najczęściej pełniąc funkcję onkogenu. Deregulacja jego ekspresji sprzyja procesom pronowotworowym, takim jak utrzymanie właściwości komórek macierzystych nowotworu, hamowanie różnicowania, proliferacja i wzrost inwazyjności, angiogeneza, adaptacja do warunków niedotlenienia czy kształtowanie mikrośrodowiska guza. Coraz więcej danych wskazuje na jego potencjał jako biomarkera oraz celu terapeutycznego, co czyni REST obiecującym elementem strategii leczenia nowotworów OUN.

CZYNNIK TRANSKRYPCYJNY REST

Czynnik transkrypcyjny wyciszający RE1 (REST, ang. *RE1-Silencing Transcription factor*) po raz pierwszy opisano w 1995 roku, jako represor genów specyficznych dla neuronów w komórkach nie neuronalnych [1]. REST, znany również jako NRSF (ang. *Neuron-Restrictive Silencer Factor*) odgrywa kluczową rolę w różnicowaniu i funkcjonowaniu neuronów, oraz związanych z nimi patologiami. REST pełni również istotne funkcje w nowotworzeniu, przy czym w zależności od stanu komórki może być czynnikiem promującym lub hamującym proces nowotworzenia [2].

STRUKTURA BIAŁKA REST

REST jest białkiem o masie około 116 kDa, zbudowanym z 1097 aminokwasów [3]. Jego struktura molekularna obejmuje centralną domenę wiążącą DNA (DBD, ang. *DNA-Binding Domain*) oraz dwie domeny represorowe zlokalizowane przy N- i C-końcu białka [4, 5]. Domena wiążąca DNA składa się z ośmiu niekanonicznych palców cynkowych typu Cys₂-His₂, numerowanych od 1 do 8 w kierunku od N- do C-końca [2]. Każdy z palców cynkowych oddziałuje zwykle z trzema nukleotydami DNA, jednak analizy funkcjonalne wskazują na zróżnicowane znaczenie poszczególnych motywów w procesie wiązania DNA [2, 4, 5].

Wykazano, że delecja w obrębie trzeciego lub piątego palca cynkowego całkowicie znosi zdolność białka REST do wiązania DNA. Ponadto pojedyncza mutacja w siódmym palcu cynkowym istotnie osłabia siłę oddziaływania z DNA, natomiast pojedyncze mutacje w obrębie szóstego lub ósmego palca cynkowego wywierają znacznie mniejszy wpływ. Dodatkowo, jednoczesne mutacje w dowolnych dwóch z tych palców eliminują wiązanie DNA [6]. Zaobserwowano, że region obejmujący palce cynkowe 2-5 odgrywa istotną rolę w kierowaniu białka do jądra komórkowego. Usunięcie palca cynkowego 5 uniemożliwia transport REST do jądra, natomiast mutacje w palcach 2, 4 lub 5 nie eliminują całkowicie lokalizacji jądrowej białka. Z kolei jednoczesna mutacja w palcach cynkowych 2 i 3 prowadzi do lokalizacji białka w obrębie otoczki jądrowej, a mutacja w palcu 3, samodzielnie lub w połączeniu z mutacją w palcu 4 lub 5, powoduje charakterystyczną punktową dystrybucję białka w jądrze. Wyniki te sugerują, że w regionie obejmującym palce cynkowe 2-5 znajdują się sekwencje sygnałowe odpowiedzialne za kierowanie białka do jądra, jego transport przez pory jądrowe oraz uwalnianie z maszynerii transportowej [2, 7].

W kontekście struktury białka REST należy również wspomnieć o wariacie REST4. Jest to krótsza forma białka REST pozbawiona C-końca, zachowująca tylko część oryginalnej struktury. Powstaje w wyniku wstawienia dodatkowej sekwencji podczas splicingu, co skutkuje wprowadzeniem przedwczesnego ko-

mgr inż. Zuzanna Bieńkowska¹,

mgr Maciej Ołdak^{2,3},

dr Marta Maleszewska¹✉

¹Zakład Fizjologii Zwierząt, Instytut Zoologii Doświadczalnej, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa

²Pracownia Sekwencjonowania, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego, PAN, Warszawa

³Szkoła Doktorska Medycyny Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź-Polesie

<https://doi.org/10.18388/t9qmjg04>

✉ Autor korespondencyjny:
marta.maleszewska@uw.edu.pl

Słowa kluczowe: glejak, rdzeniak zarodkowy, komórki macierzyste, mikrośrodowisko, cel terapeutyczny

Finansowanie: Niniejsze badania zostały sfinansowane w całości przez Narodowe Centrum Nauki z projektu OPUS 27 2024/53/B/NZ2/03781. W celu zapewnienia otwartego dostępu autor zastosował licencję CC-BY do wszelkich wersji Author Accepted Manuscript (AAM) powstałych w ramach niniejszego zgłoszenia

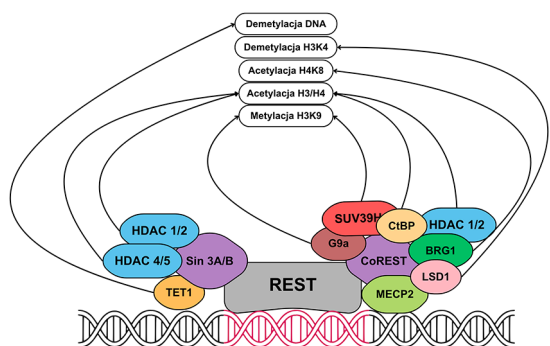
donu stop [8]. W swojej budowie zawiera tylko 5 palców cynkowych i wykazuje słabszą siłę wiązania do DNA [7].

MECHANIZM DZIAŁANIA REST

Dwa główne kompleksy korepresyjne rekrutowane przez REST, które na dalszych etapach umożliwiają przyłączenie czynników o bardziej wyspecjalizowanych funkcjach regulacyjnych, to kompleksy Sin3 oraz CoREST [9]. Kompleks CoREST oddziałuje z C-kończącą domeną represorową REST, natomiast kompleks Sin3 (zawierający Sin3A lub Sin3B) wiąże się z N-kończącą domeną represorową tego białka [9, 10] (Rycina 1).

Sin3A lub Sin3B wiąże się z deacetylazami histonowymi (HDAC, ang. *Histone Deacetylases*), takimi jak HDAC1/2, HDAC4/5 [4]. HDAC usuwają grupy acetylowe z histonów - białek, wokół których w jądrze komórkowym nawinięty jest DNA, wraz z którym tworzą chromatynę. Acetylacja histonów prowadzi do rozluźnienia struktury chromatyny czyniąc ją dostępną dla czynników transkrypcyjnych. Z kolei deacetylacja (usunięcie acetylacji) histonów prowadzi do kondensacji chromatyny, co uniemożliwia czynnikom transkrypcyjnym dostęp do promotorów genów docelowych powodując blokadę ich transkrypcji. W badaniach na drożdżach wykazano zaś, że Sin3 rekrutuje demetylazę DNA Tet1 do domeny PAH1, przez co może brać udział w aktywacji transkrypcji [4, 10]. Poza HDAC i Tet1 do kompleksu Sin3 dołączają także inne białka adaptorowe, jednak ich funkcja nie jest dokładnie poznana [10, 11].

CoREST pełni funkcję platformy dla innych białek remodelujących chromatynę, takich jak HDAC1/2, metylotransferaza histonowa G9a, demetylaza histonowa specyficzna dla lizyny 1A (LSD1), heterochromatynowe białko 1 (HP1), metylotransferaza histonowo-lizynowa SUV39H1 oraz białko MeCP2 [2, 12]. HDAC katalizują deacetylację histonów H3 i H4, co może sprzyjać dalszym modyfikacjom epigenetycznym, w tym metylacji lizyny 9 histonu H3 (H3K9) przez G9a lub SUV39H1 [13]. Metylacja H3K9 tworzy miejsca wiązania dla HP1, co prowadzi do kondensacji chromatyny i hamowania transkrypcji [2, 12, 13].



Rycina 1. REST oddziałuje z dwoma kompleksami represyjnymi. Poprzez domenę DBD REST wiąże się do DNA w motywie RE1 (ang. *repressor element 1*), a następnie reguluje transkrypcję genów poprzez rekrutację kompleksów wielobiałkowych Sin3A/B (wiążący się z domeną N-kończącą białka - po lewej) oraz CoREST (wiążący się z domeną C-kończącą białka - po prawej) [2, 4].

REST oddziałuje również z podjednostkami kompleksu mediatorowego, takimi jak MED19/MED26 oraz MED12, które uczestniczą w regulacji transkrypcji [14]. Dodatkowo, LSD1 usuwa metylację H3K4 obecną w chromatynie potencjalnie aktywnej transkrypcyjnie, natomiast enzym remodelujący chromatynę BRG1 zwiększa acetylację H4K8, co stabilizuje oddziaływanie REST z chromatyną. CtBP w warunkach podwyższonego NADH, uczestniczy w kompleksach korepresyjnych (m.in. z HDAC), prowadząc do deacetylacji histonów i wyciszenia transkrypcji [15, 16]. W niektórych genach, szczególnie podczas różnicowania neuronów, kompleks CoREST poprzez interakcje z MeCP2, może również wiązać się z metylovanym DNA i hamować ekspresję genów w sposób niezależny od REST [9, 17].

Mechanizm działania REST jest zatem wieloetapowy; czynnik ten pełni rolę platformy dla maszynarii epigenetycznej, uczestnicząc tym samym w stabilnym i dziedzicznym wyciszaniu genów neuronalnych w komórkach macierzystych oraz tkankach nieneuronalnych.

ROLA REST W DZIAŁANIU UKŁADU NERWOWEGO

Neurogeneza

Embryonalne komórki macierzyste wykazują wysoką ekspresję REST, co początkowo sugerowało, że czynnik ten jest niezbędny do utrzymania pluripotencji [1]. Jednak w kolejnych badaniach wykazano, że jego brak nie wpływa na zdolność komórek do różnicowania [18, 19]. Utrzymanie potencjału macierzystego po usunięciu REST wskazuje, że jego główną funkcją w tych komórkach jest hamowanie ekspresji genów neuronalnych [20].

W trakcie różnicowania embrionalnych komórek macierzystych w neuronalne komórki progenitorowe obserwuje się spadek ekspresji REST [17]. Czynnik ten reguluje zarówno przejście komórek macierzystych w progenitory, jak i różnicowanie progenitorów w dojrzałe neurony, kontrolując ekspresję genów w trakcie różnicowania linii neuronalnej [21, 22].

W komórkach pozbawionych REST obserwowano opóźnione obniżenie ekspresji genów związanych z pluripotencją po indukcji różnicowania neuronów. Jednocześnie pojawiała się przedwczesna fala aktywacji i represji genów progenitorowych neuronalnych oraz utrzymująca się ekspresja genów neuronalnych [23].

Choć początkowo uważano REST za głównego regulatora neurogenezy, badania wykazały, że nie jest on jedynym czynnikiem determinującym ten proces [23]. Pełni on raczej rolę węzła regulacyjnego, koordynując różne etapy rozwoju neuronalnego, w tym przejście komórek pluripotentnych w progenitorowe, ich proliferację oraz różnicowanie w dojrzałe neurony [20]. Udział białka REST w różnicowaniu neuronów oraz komórek glejowych podsumowano na Rycinie 2.

Podsumowując, REST nie jest kluczowym czynnikiem warunkującym utrzymanie pluripotencji ani samą zdolność do różnicowania komórek macierzystych, lecz pełni istotną funkcję regulatora ekspresji genów neuronalnych. Dział

degeneracyjnych, co podkreśla jego znaczenie w utrzymaniu prawidłowego funkcjonowania układu nerwowego.

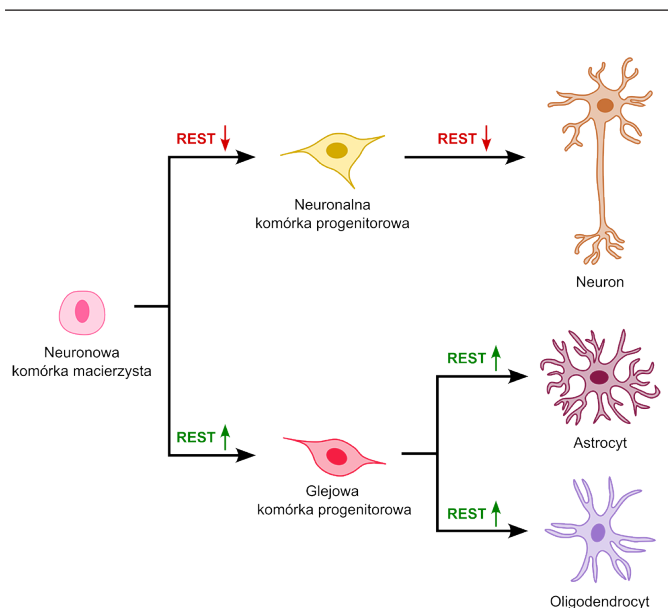
NOWOTWORY OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO

Nowotwory ośrodkowego układu nerwowego (OUN) obejmują guzy rozwijające się w obrębie mózgu i rdzenia kręgowego, czyli struktur stanowiących zasadniczą, centralną część układu nerwowego [26]. W Polsce rocznie rozpoznaje się około 2700 nowych przypadków nowotworów mózgu, z czego około 2400 stanowią nowotwory złośliwe [27]. Obserwowany w ostatnich dekadach wzrost zapadalności na nowotwory OUN wynika w dużej mierze z postępu diagnostycznego: dynamicznego rozwoju technik obrazowych oraz - przede wszystkim - nowoczesnych metod biologii molekularnej [28]. Choć statystycznie należą one do rzadkich jednostek onkologicznych, ich znaczenie kliniczne jest nieproporcjonalnie duże w grupie chorób nowotworowych. Wynika to przede wszystkim z wysokiego wskaźnika śmiertelności oraz ciężkich, często nieodwracalnych następstw neurologicznych, które istotnie obniżają jakość życia pacjentów [26, 29]. Mimo stosowania agresywnych strategii terapeutycznych, wiele typów guzów OUN wciąż pozostaje nieuleczalnych, co stanowi jedno z największych wyzwań współczesnej neuroonkologii [30]. Szczególnie dramatyczny obraz wyłania się z danych pediatrycznych - nowotwory OUN stanowią obecnie najczęstszą przyczynę zgonów z powodu chorób nowotworowych u dzieci w wieku do 14 lat oraz drugą w grupie młodych dorosłych (15-39 lat) [31].

Do niedawna klasyfikacja nowotworów OUN opierała się głównie na ocenie histologicznej, wspieranej badaniami immunohistochemicznymi i ultrastrukturalnymi. Obecnie kluczowe znaczenie diagnostyczne zyskały markery molekularne [32]. Istotnym momentem tej zmiany było opublikowanie w 2021 roku piątej edycji klasyfikacji nowotworów mózgu przez Światową Organizację Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*), która uzależnia ostateczne rozpoznanie wielu jednostek od wyników badań genetycznych. Dzięki lepszemu zrozumieniu patogenezy molekularnej obecny system pozwala na wyróżnienie ponad 100 odrębnych typów nowotworów OUN, obejmujących zarówno guzy występujące u dorosłych, jak i u dzieci [33]. W ujęciu klinicznym nowotwory te dzieli się na pierwotne, powstające bezpośrednio w obrębie OUN oraz wtórne, stanowiące przerzuty z innych lokalizacji. W grupie pierwotnych guzów OUN najczęściej diagnozowanymi nowotworami złośliwymi są glejaki [31, 34].

GLEJAKI

Glejaki odpowiadają za około 22% pierwotnych nowotworów mózgu i innych struktur OUN, stanowiąc jednocześnie aż 80% zmian o charakterze złośliwym. Tym samym są one główną przyczyną śmiertelności w tej grupie chorób [31]. Za najbardziej prawdopodobne komórki pochodzenia (ang. *Cells Of Origin*) glejaków uznaje się prekursorzy linii oligodendroglialnej oraz neuronowe progenitorowe komórki macierzyste [34]. Kluczową rolę w procesie onkogenezy glejaka odgrywają komórki o cechach macierzystych (GSCs,



Rycina 2. REST kontroluje proces neurogenezy i różnicowania komórkowego poprzez hamowanie ekspresji genów neuronalnych w komórkach linii nieneuronalnej.

jako „strażnik” programów neuronalnych w komórkach macierzystych oraz koordynator kolejnych etapów neurogenezy, zapewniając właściwą sekwencję aktywacji i wyciszenia genów podczas przejścia od komórek macierzystych do dojrzałych neuronów.

REST w dojrzałych neuronach

W dojrzałych neuronach REST pełni funkcję regulacyjną. Wyniki badań eksperymentalnych ukazują jego kluczową rolę w regulacji rozwoju i funkcjonowaniu synaps. REST kontroluje ekspresję genów kodujących receptory neuroprzebieżników, kanały jonowe oraz białka struktur synaps, będąc jednym z regulatorów funkcji synaptycznej w dojrzałym układzie nerwowym [22].

Co więcej, w badaniach *in vitro* oraz w modelach zwierzęcych wykazano, że w fizjologicznie starzejących się neuronach dochodzi do wzrostu ekspresji REST, który wycisza ekspresję genów związanych z indukcją śmierci komórkowej, a także promuje ekspresję genów odpowiedzialnych za odpowiedź na stres oksydacyjny i toksyczność β -amyloidu [24]. Potwierdzeniem jego roli w funkcjonowaniu dojrzałych neuronów mogą być obserwacje poczynione w badaniach dotyczących chorób neurodegeneracyjnych. Wyniki tych badań wskazują na korelację obniżonej ekspresji REST z nasileniem procesu neurodegeneracji, co może wskazywać, na jego kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy w neuronach [22, 24, 25].

Podsumowując, w dojrzałych neuronach REST pełni funkcję ważnego regulatora homeostazy komórkowej i aktywności synaptycznej. Kontroluje ekspresję genów kluczowych dla funkcji synaps, a w warunkach starzenia działa protekcyjnie, ograniczając procesy prowadzące do śmierci komórki i wspierając odpowiedź na stres. Spadek jego aktywności wiąże się natomiast z nasileniem procesów neuro-

ang. *Glioma Stem Cells*), które znajdują się na szczycie hierarchii komórkowej guza. To właśnie te komórki odpowiadają za generowanie zróżnicowanej i rozległej puli komórek nowotworowych glejaka, choć mechanizmy leżące u podstaw tego procesu pozostają wciąż słabo poznane [35-37].

Zgodnie z najnowszą edycją klasyfikacji WHO, glejaki kategoryzuje się w czterostopniowej skali złośliwości (1-4), w której stopień 1. oznacza najniższą, a stopień 4. najwyższą złośliwość kliniczną. Podstawowy podział kliniczny rozróżnia guzy o wzroście ograniczonym, charakteryzujące się zwartą strukturą oraz glejaki rozlane, które wykazują wysoką zdolność naciekania otaczającej tkanki mózgowej (Rycina 3). W ramach tej systematyki glejaki są również rozdzielone na guzy osób dorosłych oraz pediatryczne (Rycina 3). Rozróżnienie to wynika z faktu, że nowotwory te charakteryzują się odmiennymi profilami molekularnymi oraz wykazują istotne różnice w przebiegu klinicznym [32]. Należy jednak podkreślić, że pomimo formalnego podziału glejaków na typ dorosły i pediatryczny, ich rozkład wiekowy w praktyce klinicznej częściowo się nakłada. Nowotwory o profilu molekularnym typowym dla wieku dziecięcego są niekiedy diagnozowane u pacjentów dorosłych, podczas gdy postaci charakterystyczne dla dorosłych mogą sporadycznie występować u dzieci [38].

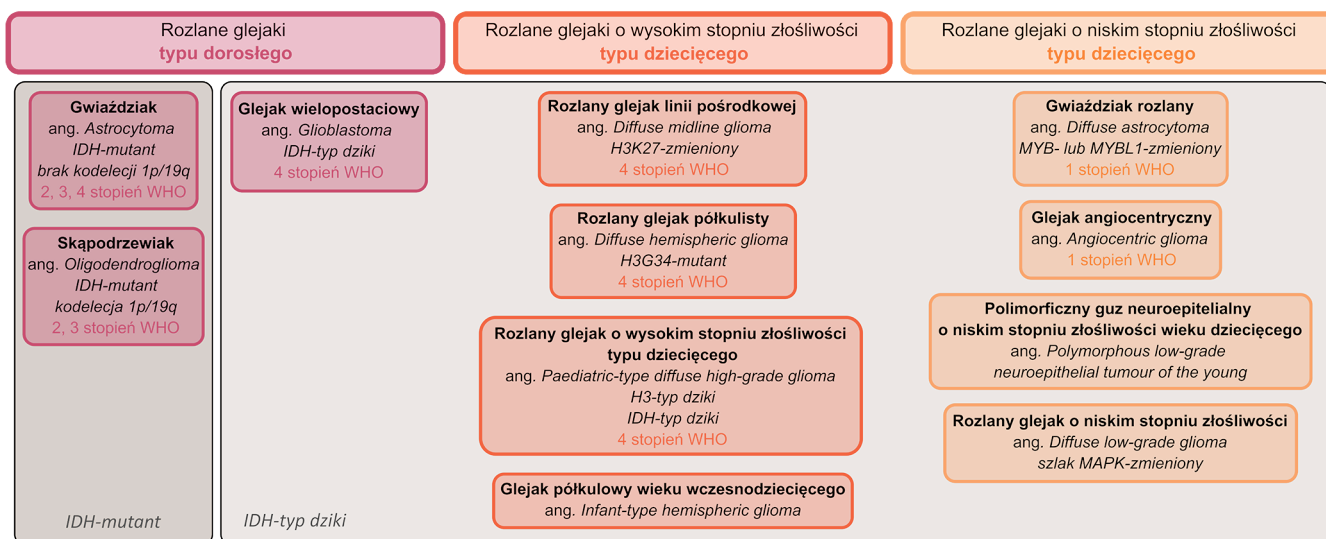
Do grupy glejaków o najwyższym stopniu złośliwości (HGGs, ang. *High-Grade Gliomas*) należą postaci typowe dla dorosłych - glejak wielopostaciowy, posiadający prawidłową formę genu *IDH* (GBM, ang. *Glioblastoma, IDH-wildtype*) oraz gwiaździak, *IDH*-mutant (ang. *Astrocytoma, IDH-mutant*), a także wybrane rozlane glejaki typu dziecięcego [32].

Glejak wielopostaciowy

Najbardziej agresywną jednostką chorobową wśród pierwotnych guzów mózgu jest GBM [39]. Nowotwór ten charakteryzuje się obecnością istotnych zmian molekularnych, takich jak amplifikacja genu receptora naskórkowego czynnika wzrostu (*EGFR*), mutacja promotora *TERT* czy charakterystyczne aberracje chromosomowe, w tym trisomia

chromosomu 7 i monosomia chromosomu 10 (+7/-10) [40]. Ponadto, GBM został podzielony przez Verhaaka i współautorów na cztery podtypy: proneuralny, mezenchymalny, klasyczny oraz neuronalny [41]. Podtyp klasyczny charakteryzuje się mutacją bądź amplifikacją genu *EGFR* oraz homozygotyczną delecją *CDKN2A*. Zazwyczaj wiąże się on z agresywnym przebiegiem choroby i złymi rokowaniami pacjentów. Podtyp mezenchymalny charakteryzuje profil ekspresji typowych markerów mezenchymalnych, takich jak *CHI3L1* i *MET*, oraz powszechne zmiany w genie *NF1*. Ten podtyp wykazuje tendencję do słabej odpowiedzi na radioterapię, co przekłada się na gorsze wyniki leczenia. Podtyp proneuralny cechuje się punktowymi mutacjami w genie *IDH1* i alteracjami genu *PDGFRA*, jednak zgodnie z klasyfikacją WHO z 2021 roku, nowotwory te nie są już klasyfikowane jako GBM, lecz jako gwiaździaki o 4. stopniu złośliwości [32]. Choć w pierwotnej klasyfikacji wyróżniono także podtyp neuronalny, późniejsze badania wykazały, że jego odrębność wynikała z zanieczyszczenia próbek guza komórkami prawidłowymi [42].

GBM występuje głównie u osób starszych (powyżej 65. roku życia), przy czym statystycznie częściej dotyka mężczyzn [43]. Mimo wdrożenia standardowego protokołu leczenia - obejmującego radykalną resekcję chirurgiczną, radioterapię oraz chemioterapię z użyciem temozolomidu - rokowania pacjentów pozostają skrajnie niekorzystne [44, 45]. Mediana przeżycia pacjentów jest silnie determinowana przez wiek: u osób młodszych wynosi ona średnio 19 miesięcy, podczas gdy w populacji geriatrycznej drastycznie spada do zaledwie 4 miesięcy [46]. Najnowsze dane epidemiologiczne wskazują, że pięcioletni względny wskaźnik przeżycia (RS, ang. *Relative Survival*) w populacji ogólnej wynosi zaledwie 7% [31]. Tak niska skuteczność leczenia wynika z nałożenia się kilku czynników, wśród których kluczowe znaczenie mają: naciekający charakter wzrostu guza uniemożliwiający pełną resekcję, wysoka oporność na chemioterapię oraz znaczna heterogenność molekularna, objawiająca się obecnością zróżnicowanych subpopulacji komórek w obrębie jednego guza [47].



Rycina 3. Podział rozlanych glejaków zgodnie z wytycznymi 5. edycji klasyfikacji nowotworów OUN WHO z 2021 roku.

Kluczową rolę w agresywnym przebiegu GBM odgrywają nowotworowe komórki macierzyste GSC. Zgodnie z tą teorią, w obrębie guza istnieje subpopulacja komórek zdolnych do samoodnowy i różnicowania, która odpowiada za inicjację guza, oporność na terapię oraz nieuniknione nawroty [48]. Populacja komórek w GBM tworzy niezwykle dynamiczną i zróżnicowaną sieć. W przeciwieństwie do prawidłowej tkanki nerwowej, w której komórki występują w ściśle zdefiniowanych stanach (jak neurony czy astrocycy), w GBM obserwujemy raczej ich funkcjonalne odpowiedniki. Wyróżnia się stany przypominające prekursorów neuronalne (NPC-like, ang. *Neural Progenitor Cell-like*), prekursorów oligodendrocytów (OPC-like, *Oligodendrocyte Progenitor Cell-like*) oraz komórki astrocytopodobne (Astro-like, ang. *Astrocyte-like*) i podobne do mezenchymalnych (Mes-like, ang. *Mesenchymal-like*). Co szczególnie istotne z punktu widzenia klinicznego, komórki te posiadają zdolność do dynamicznych przejść między wymienionymi stanami [49, 50]. Ta wewnętrzna plastyczność nowotworu stanowi dodatkowy poziom złożoności, umożliwiając komórkom guza błyskawiczną adaptację do stresu terapeutycznego i zmieniających się warunków mikrośrodowiska [51].

Gwiaździki

Do grupy glejaków typu dorosłego należą również gwiaździki (ang. *Astrocytoma*), które w zależności od cech histologicznych i molekularnych mogą wykazywać różny stopień złośliwości (2-4) [32]. Gwiaździki definiowane są jako nowotwory wywodzące się z linii astrocytarnej [52]. Kluczową cechą odróżniającą je od GBM jest obecność mutacji w genie *IDH* (*IDH-mutant*), co zazwyczaj wiąże się z korzystniejszym przebiegiem klinicznym oraz lepszym rokowaniem dla pacjenta [53]. Obok mutacji *IDH* kluczowymi markerami dla gwiaździków są zmiany w genach *ATRX* oraz *TP53* [32].

W porównaniu z GBM, gwiaździki *IDH-mutant* charakteryzują się bardziej uporządkowaną, względnie konserwatywną strukturą oraz mniejszą heterogennością wewnątrz guza. W ich architekturze komórkowej dominuje tzw. hierarchia trójdzielna. Składa się na nią niewielka populacja komórek o cechach progenitorowych oraz dwie główne linie różnicowania: w stronę fenotypu astrocytopodobnego oraz oligodendrocytopodobnego [54].

Glejaki o niskim stopniu złośliwości

Glejaki o niskim stopniu złośliwości obejmują nowotwory sklasyfikowane jako stopień 1. i 2. według WHO [32]. Należy jednak zaznaczyć, że ich przebieg kliniczny jest skrajnie odmienny: guzy 1. stopnia są zazwyczaj dobrze odgraniczone i często możliwe do całkowitego wyleczenia operacyjnego, podczas gdy guzy 2. stopnia mają zwykle charakter rozlany [34]. Te ostatnie wykazują nieuchronną tendencję do transformacji złośliwej w glejaki o wysokim stopniu złośliwości [55].

Współcześnie w literaturze naukowej coraz częściej stosuje się również termin: rozlane glejaki o niższym stopniu złośliwości (LGGs, ang. *Lower-Grade Diffuse Gliomas*). Poję-

cie to odnosi się do rozlanych glejaków 2. i 3. stopnia, które łączy obecność mutacji w genie *IDH*. Do tej grupy należą dwie główne jednostki chorobowe: gwiaździk *IDH-mutant* (*Astrocytoma, IDH-mutant*) oraz skąpodrzewiak *IDH-mutant* z kodelecją 1p/19q (*Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted*) [34, 56].

Pediatryczne glejaki o wysokim stopniu złośliwości

Pediatryczne glejaki o wysokim stopniu złośliwości (pHGGs, ang. *pediatric High-Grade Gliomas*) pozostają stosunkowo słabo poznaną grupą nowotworów, co wynika przede wszystkim z ich rzadkiego występowania – stanowią one jedynie ułamek pierwotnych złośliwych guzów mózgu u dzieci [57].

Szczególnie agresywną postacią pHGG jest rozlany naciekający glejak mostu (DIPG, ang. *Diffuse Intrinsic Pontine Glioma*), tzw. guz pnia. Schorzenie to wiąże się ze skrajnie niepomyślnym rokowaniem – mediana przeżycia wynosi około 10 miesięcy od momentu postawienia diagnozy, co klasyfikuje DIPG jako jeden z najbardziej śmiertelnych nowotworów wieku dziecięcego [34] (Rycina 3).

Pediatryczne glejaki o niskim stopniu złośliwości

Pediatryczne glejaki o niskim stopniu złośliwości (pLGGs, ang. *pediatric Low-Grade Gliomas*) stanowią heterogenną grupę nowotworów sklasyfikowanych jako stopień 1. i 2. według WHO [32]. Stanowią one najczęstszą grupę nowotworów OUN u dzieci, odpowiadając za 30-40% wszystkich zachorowań w tej populacji [31].

W przeciwieństwie do glejaków LGG, które rozwijają się głównie w obrębie półkul mózgu i niemal nieuchronnie ulegają transformacji złośliwej, pLGGs mogą lokalizować się w dowolnej części OUN i niezwykle rzadko ulegają progresji do wyższych stopni złośliwości [58, 59]. Podstawą leczenia u wielu pacjentów pozostaje radykalna resekcja chirurgiczna. W przypadkach, w których całkowite usunięcie guza jest możliwe, pozwala ono na uzyskanie doskonałych wyników w zakresie długotrwałego przeżycia wolnego od nawrotu choroby [60, 61].

Pod względem molekularnym pLGGs charakteryzują się niemal powszechną, aberracyjną aktywacją szlaku RAS/MAPK [62]. Głównym przedstawicielem tej grupy nowotworów jest gwiaździk włosowatokomórkowy (ang. *Pilocytic Astrocytoma*), którego charakterystyczną cechą jest występowanie różnych wariantów genu *BRAF*, w tym najczęstszej fuzji *KIAA1549:BRAF* oraz mutacji punktowych [31, 32, 63, 64].

Choć glejaki stanowią jedną z najliczniejszych grup wśród pierwotnych nowotworów mózgu, to ich złośliwe warianty dominują głównie u pacjentów dorosłych [31]. W onkologii dziecięcej ciężar diagnostyczny przesuwają się w stronę nowotworów zarodkowych, takich jak rdzeniak zarodkowy, który stanowi główną przyczynę zachorowalności na złośliwe guzy OUN u najmłodszych [65, 66].

Rdzeniak zarodkowy (MB, ang. *medulloblastoma*) to nowotwór mózdzku 4. stopnia złośliwości, wywodzący się z prymitywnych komórek neuroektodermalnych [67]. Termin *medulloblastoma* wprowadzili w latach 20. XX wieku Percival Bailey oraz Harvey Cushing [68]. Nazwa jednostki pochodzi od łacińskiego słowa *medulla* (rdzeń) oraz greckiego *blastos* (zarodek), co odzwierciedla niedojrzały i słabo zróżnicowany charakter komórek budujących guz [69]. W obrazie mikroskopowym są one widoczne jako populacja charakterystycznych „małych, okrągłych, niebieskich komórek” [67].

MB występuje przede wszystkim w wieku rozwojowym - z częstością około 10 przypadków na milion dzieci - podczas gdy u dorosłych rozpoznawana jest rzadko (około 0,54 przypadku na milion) [70]. Szczyt zapadalności przypada na dwa przedziały wiekowe: między 3. a 4. oraz między 8. a 10. rokiem życia [71]. Co istotne, rdzeniaki u dzieci i dorosłych wykazują odmienne profile molekularne; guzy u pacjentów pediatrycznych zazwyczaj charakteryzują się mniejszą liczbą mutacji punktowych w porównaniu z nowotworami występującymi u dorosłych [32, 71].

Kluczowe dla współczesnego rozpoznania MB jest potwierdzenie aktywacji określonego szlaku sygnałowego odpowiedzialnego za kontrolę wzrostu i podziałów komórkowych lub zidentyfikowanie charakterystycznego wzorca metylacji DNA [72]. Zgodnie z klasyfikacją WHO, MB dzieli się molekularnie na cztery główne grupy: aktywowaną szlakiem WNT, aktywowaną szlakiem SHH (z uwzględnieniem statusu genu *TP53*) oraz grupy 3 i 4, które określane są zbiorczo jako non-WNT/non-SHH. Najważniejsze cechy charakteryzujące poszczególne grupy podsumowano w Rycinie 4 [32].

WNT

MB wywodzące się ze szlaku WNT wykazują najkorzystniejsze rokowania spośród wszystkich czterech podtypów molekularnych, osiągając blisko 100% wskaźnik 5-letniego przeżycia, przy medianie wieku zapadalności wynoszącej 11 lat [31, 77, 78]. Szlak ten w warunkach fizjologicznych moduluje proliferację, przeżywalność oraz determinuje losy komórek, natomiast zmiany nowotworowe prowadzą do jego patologicznej, konstytutywnej aktywacji [74, 79]. Cechą charakterystyczną tego podtypu rdzeniaka jest obecność mutacji w genie *CTNNB1* oraz monosomia chromosomu 6 [74]. Ze względu na tak pomyślne rokowania, współczesne badania kliniczne (tzw. *de-escalation trials*) skupiają się na redukcji intensywności radioterapii i chemioterapii u tych pacjentów, aby zminimalizować odległe skutki uboczne przy jednoczesnym zachowaniu pełnej wyleczalności [80, 81].

SHH

Podtyp SHH występuje u około 25-30% pacjentów z MB. Charakteryzuje się on unikalnym, bimodalnym rozkładem wiekowym, tzn. występuje najliczniej w grupie niemowląt oraz u osób dorosłych [74, 77, 82, 83]. Jest to podgrupa szczególnie silnie powiązana z zespołami predyspozycji genetycznych, takimi jak zespół Li-Fraumeni, zespół Gorlina, zespół Turcota oraz określone podtypy niedokrwistości Fanconiego [84, 85]. Najistotniejszym czynnikiem prognostycznym w obrębie podtypu SHH jest status genu *TP53*. Obecność mutacji w tym genie wiąże się z bardzo niekorzystnym rokowaniem, o czym świadczy 41% wskaźnik pięcioletniego przeżycia całkowitego, w porównaniu do 81% u pacjentów z podtypem SHH bez wspomnianej mutacji [86].

Grupa 3 i 4

Grupy 3 i 4 stanowią łącznie większość przypadków MB i są określane wspólnym mianem podtypów non-WNT/non-SHH, ze względu na brak wyraźnej aktywacji tych dwóch klasycznych szlaków sygnałowych [72].

Grupa 3 jest uznawana za najbardziej agresywny wariant kliniczny, występujący niemal wyłącznie u niemowląt i dzieci, często charakteryzujący się przerzutami już w momencie diagnozy [87-89]. Molekularnie definiuje ją przede wszystkim amplifikacja onkogenu *MYC*, która jest silnie skorelowana z najgorszymi rokowaniami [90].

Grupa 4, stanowiąca około 40% wszystkich przypadków, jest największą, a zarazem najmniej poznaną podgrupą molekularną MB. Wiąże się ona z rokowaniem pośrednim (zblizonym do podtypu SHH) i występuje we wszystkich grupach wiekowych, przy czym szczyt zapadalności przypada na wiek 5-15 lat [74, 91]. Do negatywnych czynników

Podgrupa	WNT	SHH	GRUPA 3	GRUPA 4
Częstość występowania	9-10%	28-30%	19-25%	35-43%
Grupa wiekowa				
5-letni wskaźnik przeżycia	>95%	>40%	<50%	50-85%
Przerzuty	Rzadkie	Mało powszechne	Bardzo częste	Częste
Typ histologiczny	Klasyczny, rzadziej wielkomórkowy/anaplastyczny	Desmoplastyczny, klasyczny, wielkomórkowy/anaplastyczny	Klasyczny, wielkomórkowy/anaplastyczny	Klasyczny, wielkomórkowy/anaplastyczny
Alteracje genetyczne	Mutacje <i>CTNNB1</i> , <i>DDX3X</i> , <i>SMARCA4</i> , <i>TP53</i>	Mutacje <i>PTCH1</i> , <i>SMO</i> , <i>SUFU</i> , <i>TP53</i> Amplifikacje <i>GLI2</i> , <i>MYCN</i>	Aktywacje <i>GLI1</i> , <i>GFL1B</i> Amplifikacje <i>OTX-2</i> Mutacja <i>SMARCA4</i>	Mutacja <i>KDM6A</i> Duplikacja <i>SNCAIP</i> Amplifikacje <i>CDK6</i> , <i>MYCN</i>
Aberracje cytogenetyczne	Monosomia 6	Nabycie 3q, 9p Utrata 9q, 10q, 17p	i17q Nabycie 1q, 7, 18 Utrata 8, 10q, 11, 16q	i17q Nabycie 7q, 18q Utrata 8p, 11p, X

Rycina 4. Podgrupy molekularne rdzeniaka zarodkowego na podstawie danych z następujących źródeł [73-77].

prognostycznych w tej grupie należą wczesny wiek rozpoznania (niemowlęctwo) oraz choroba przerzutowa. Z kolei do cech związanych z korzystniejszym rokowaniem należą utrata chromosomu 11 oraz obecność dodatkowej kopii chromosomu 17 [92].

REST W GLEJAKACH

Zrozumienie mechanizmów molekularnych determinujących złośliwość nowotworów OUN jest niezbędne dla rozwoju spersonalizowanych strategii terapeutycznych. W ostatnich latach wzrasta liczba publikacji dokumentujących złożoną rolę czynnika REST w onkogenezie [93-97]. Wykazuje on dualistyczny charakter, działając jako supresor

[98-100] lub onkogen [101-103], w zależności od kontekstu tkankowego. W nowotworach pochodzenia nieneuronalnego, zwłaszcza wywodzących się z nabłonka, jak na przykład rak piersi i rak płuc, REST często pełni funkcję supresora nowotworu. Natomiast w guzach układu nerwowego, omawianych w niniejszej pracy, zazwyczaj wykazuje działanie onkogenne [104]. Mechanizmy działania REST w glejaku i MB opisane poniżej podsumowano w Tabeli 1.

KORELACJA REST ZE STOPNIEM ZŁOŚLIWOŚCI GLEJAKA I ROKOWANIEM PACJENTÓW

Współczesne analizy molekularne – zarówno kliniczne, jak i bioinformatyczne – jednoznacznie wskazują na klu-

Tabela 1. Porównanie mechanizmów działania REST w glejaku i rdzeniaku zarodkowym.

Procesy regulowane przez REST	Mechanizm zachodzący w glejaku	Mechanizm zachodzący w rdzeniaku
Tożsamość komórkowa	Wysoka ekspresja REST koreluje z markerami macierzystości (SOX2). Represja miR-124 i miR-203 blokuje różnicowanie i utrzymuje komórki GSC w stanie nieodróżnionym.	REST utrzymuje komórki progenitorowe zewnętrznej warstwy ziarnistej w stanie proliferacji. Koekspresja z onkogenem Myc jest wystarczająca do indukcji guza. Wyciszenie genów z motywem RE1 blokuje dojrzewanie neuronalne.
Represja miRNA	REST epigenetycznie wycisza miR-124 (najliczniejszy miRNA w OUN) oraz miR-203, co utrzymuje proliferację GSC. Przywrócenie miR-124 obniża poziom fosfataz SCP1 i PTPN12 i indukuje różnicowanie.	Brak bezpośrednich danych o regulacji miRNA przez REST w MB. Represja odbywa się głównie przez kompleksy Sin3/CoREST na poziomie chromatyny.
Mechanizmy epigenetyczne	Represja genów neuronalnych przez deacetylację histonów za pośrednictwem HDAC z kompleksów CoREST i Sin3.	Poza deacetylacją przez HDAC1/2; metylacja H3K9me2 przez G9a oraz demetylacja H3K4 przez LSD1. REST poprzez G9a zagęszcza chromatynę na promotorze PTCH1, znosząc hamowanie szlaku SHH.
Hamowanie neurogenezy	REST blokuje ekspresję markerów synaptycznych (CPLX1, SYN1, SNAP25, DLG4, GABRG2). Spadek REST koreluje ze wzrostem β 3-tubuliny i L1CAM. Czynniki KAISO współdziała z REST w represji genów neuronalnych w glejakach IDH-mut.	Wyciszenie REST prowadzi do wzrostu ekspresji genów związanych z egzocytozą, uwalnianiem neuroprzebieżników i migracją glejową – wskazując, że REST utrzymuje fenotyp MB bliski nieodróżnionym komórce progenitorowej.
Regulacja proliferacji	REST koreluje z markerem Ki67; reguluje punkty kontrolne G1/S i G2/M oraz szlaki EIF2 i PKA. Wyciszenie REST powoduje zatrzymanie cyklu w G1 bez indukcji apoptozy. Efekt proliferacyjny zależy od modelu (wyraźny w GBM, niejednoznaczny w DIPG).	REST hamuje deubikwitylazę USP37 przez co zwiększa się degradacja inhibitora CDK p27 co prowadzi do odblokowania fazy G1/S i utrzymania proliferacji. Utrata REST istotnie hamuje wzrost guzów wewnątrzczaszkowych <i>in vivo</i> .
Inwazyjność	REST koreluje z aktywnością szlaków PI3K/AKT i Wnt/Ca ²⁺ . Reguluje DRD2 (receptor D2), wpływając na inwazję i apoptozę. W IDH-mut reguluje geny ECM. Korelacja z podtypem mezenchymalnym GBM i EMT. Regulacja GGCT zniża zahamowanie migracji.	Brak bezpośrednich danych o wpływie REST na inwazyjność.
Angiogeneza	W DIPG: wyciszenie REST ogranicza unaczynienie przez zahamowanie sekrecji GREM-1 co prowadzi do obniżenia sygnalizacji VEGFR2 i AKT w komórkach śródbłonka.	REST stymuluje wydzielanie VEGF i PGF (przez VEGFR1) oraz indukuje czynnik ETS1 i VEGFR1. Równolegle: hiperaktywacja AKT podnosi HIF1 α i VEGF, tworząc dwutorowy efekt proangiogeny.
Mikrośrodowisko guza	Wysoka ekspresja REST koreluje z infiltracją komórek odpornościowych i ekspresją genów punktów kontrolnych PD-1, PD-L1, CTLA-4, sugerując modulację odpowiedzi immunologicznej w guzie.	Brak bezpośrednich danych o wpływie REST na mikrośrodowisko guza.
Hipoksja i autofagia	Brak bezpośrednich danych o wpływie REST na hipoksję i autofagię.	REST obniża poziom VHL stabilizując HIF1 α i aktywując autofagię. Niska ekspresja VHL przy wysokiej REST → najgorsze rokowanie. Komórki z nadekspresją REST wykazują większą wrażliwość na inhibitory autofagii (bafilomycyna A1, hydroksychlorochina).
Rokowanie kliniczne	Wysoka ekspresja REST koreluje z podtypem mezenchymalnym (opornym na leczenie) i przejściem EMT. Wyciszenie REST znacząco wydłuża przeżycie myszy w modelach ortotopowych.	Wysoka ekspresja REST jest niezależnym negatywnym czynnikiem prognostycznym. W podgrupie SHH (najgorsze rokowanie) REST koreluje z progresją. Koekspresja REST+LSD1+USP7 identyfikuje podgrupę SHH z najgorszymi wynikami klinicznymi.

czowy udział czynnika REST w patogenezie i progresji glejaków. Choć wczesne badania przesiewowe na materiale tkankowym sugerowały niską lub zbliżoną do fizjologicznej ekspresję tego genu w guzach mózgu, aktualne dane rewidują ten pogląd [105]. Zintegrowane analizy bioinformatyczne oraz badania molekularne na materiale tkankowym wykazały, że wzrost ekspresji genu *REST* ściśle koreluje z wyższym stopniem złośliwości według klasyfikacji WHO, przy czym najwyższą ekspresję odnotowuje się w najbardziej agresywnym podtypie glejaka - GBM [93, 106, 107]. Podobną nadekspresję tego czynnika zaobserwowano w DIPG, szczególnie w przypadkach wykazujących mutację H3K27M [108].

Wysoki poziom REST jest powszechnie uznawany za niekorzystny czynnik prognostyczny dla pacjentów zarówno w glejakach o niższym, jak i wysokim stopniu złośliwości (Rycina 5) [94, 102, 106, 109-111]. Warto również zaznaczyć, że w przeciwieństwie do formy pełnowymiarowej, skrócona izoforma REST4 nie wykazuje istotnego związku z charakterystyką kliniczną chorych [111]. Ponadto, najnowsze dane wskazują, że rola kliniczna czynnika REST jest ściśle uzależniona od kontekstu genetycznego i statusu mutacyjnego genu *IDH*. W glejakach LGG z mutacją *IDH* wysoka ekspresja genu *REST* istotnie pogarsza rokowania. Zależność ta jednak zanika w agresywnych nowotworach DIPG i GBM (*IDH*-typ dziki), gdzie nadekspresja *REST* nie wpływa

na przeżycie [112] (Rycina 4) lub paradoksalnie, wiąże się z korzystniejszymi wynikami klinicznymi [93].

ROLA REST W UTRZYMYWANIU MACIERZYSTOŚCI KOMÓREK

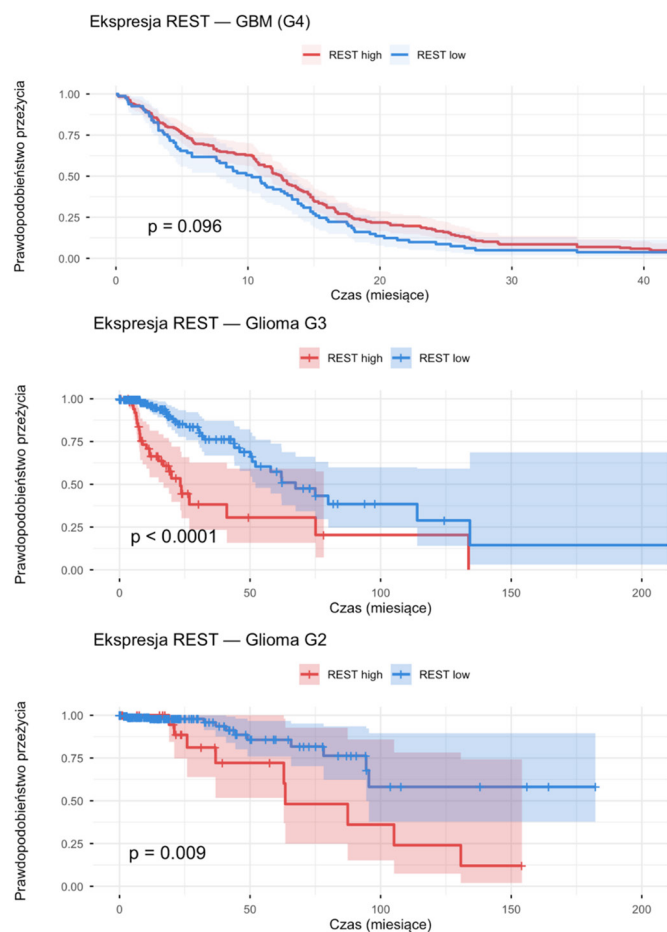
Rola czynnika REST w patogenezie GBM przejawia się przede wszystkim w jego kluczowym wpływie na utrzymywanie stanu macierzystości komórek [102, 113]. Mimo że komórki GSC izolowane z tkanek od pacjentów wykazują zróżnicowany poziom ekspresji tego czynnika, jego wysoka ekspresja ściśle koreluje z ekspresją fundamentalnych markerów macierzystości, takich jak *SOX2* [102]. Ponadto wykazano, że eksperymentalne obniżenie poziomu białka REST drastycznie redukuje zdolność tych komórek do samoodnowy *in vitro*, co sugeruje, że czynnik ten jest niezbędny do podtrzymywania ich właściwości nowotworowych [109].

Represja miRNA

Jednym z głównych mechanizmów, za pomocą których REST promuje utrzymanie macierzystości komórek, jest epigenetyczna represja specyficznych mikroRNA, zwłaszcza miR-124 [106, 111, 114-117]. Cząsteczka ta jest najliczniej występującym mikroRNA w OUN i stanowi niezbędny element kontroli neurogenezy, odpowiadając za indukowanie różnicowania neuronalnego komórek macierzystych oraz utrzymanie dojrzałego fenotypu neuronów [118-120]. Zarówno analizy przeprowadzone w układach *in vitro*, jak i badania na modelach ksenograficznych *in vivo* potwierdziły, że nadekspresja miR-124 istotnie ogranicza potencjał migracyjny, inwazyjność oraz potencjał nowotworowy komórek glejaka [121-123]. Efekt ten jest determinowany m.in. przez indukcję zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G1 oraz represję czynnika transkrypcyjnego *SNAI2* [122, 123]. Obniżony poziom miR-124 w GBM, wynikający z aktywności REST, utrzymuje komórki w stanie macierzystym i sprzyja ich intensywnej proliferacji [109, 111, 114, 115]. W badaniach z wykorzystaniem ortotopowych modeli ksenograficznych potwierdzono, że stabilne wyciszenie genu *REST* przywraca ekspresję miR-124, prowadząc do obniżenia poziomu białek fosfataz *SCP1* i *PTPN12* oraz inicjacji programów różnicowania [109]. Dalsze analizy *in vivo* wykazały, że wewnątrzczaszkowe wszczepienie myszom komórek ze stabilnie obniżoną ekspresją *REST* skutkuje znacznym wydłużeniem ich przeżycia. Ten efekt terapeutyczny jest jednak zniesiony, gdy w transplantowanych komórkach jednocześnie wycisza się miR-124 lub miR-203. Dowodzi to, że wymienione mikroRNA pełnią funkcję kluczowych supresorów nowotworowych, a ich represja za pośrednictwem REST pełni kluczową rolę w progresji guza [115].

Hamowanie neurogenezy

Wpływ REST na zachowanie fenotypu macierzystego komórek nie ogranicza się jednak wyłącznie do regulacji mikroRNA. REST aktywnie hamuje neurogenezę w glejakach poprzez blokowanie ekspresji genów odpowiedzialnych za różnicowanie neuronów [93, 109, 111, 124, 125]. Wyciszenie genu *REST* prowadzi do nadekspresji kluczowych markerów synaptycznych, takich jak *CPLX1*, *SYN1* oraz *SNAP25*



Rycina 5. Poziom ekspresji REST a długość życia pacjentów z glejakiem w zależności od stopnia złośliwości nowotworu. Opracowanie własne na podstawie danych ze zbioru The Cancer Genome Atlas: <https://portal.gdc.cancer.gov/projects/TCGA-GBM>; <https://portal.gdc.cancer.gov/projects/TCGA-LGG>

w komórkach DIPG, a także dodatkowo *DLG4* i *GABRG2* w komórkach linii GBM [112]. Analizy transkryptomyczne wskazują, że geny, których ekspresja wzrasta po wyciszeniu REST, są zaangażowane w szlaki związane z uwalnianiem cząsteczek sygnałowych, egzocytozą regulowaną jonami wapnia oraz migracją komórek glejowych [93]. Ponadto, spadek poziomu białka REST koreluje bezpośrednio ze wzrostem poziomu kluczowych dla neuronów białek strukturalnych i adhezyjnych, β 3-tubuliny oraz L1CAM [124, 126, 127]. W glejakiach IDH-mut obecność innego czynnika transkrypcyjnego - KAISO - wiąże się z represją genów regulowanych przez REST, w tym wspomnianego L1CAM, genów kanałów potasowych i połączeń szczelinowych. Wskazuje to na nowy rodzaj interakcji między tymi czynnikami, która odgrywa istotną rolę w hamowaniu różnicowania neuronalnego komórek nowotworowych [93].

Promowanie proliferacji

Wysoka ekspresja REST odgrywa również kluczową rolę w stymulacji proliferacji komórek glejaka, co znajduje potwierdzenie w jego istotnej korelacji z poziomem markera podziałów Ki67 w materiale od pacjentów [128, 129]. Zjawisko to współwystępuje z mutacjami w genie *TP53*, co prowadzi do zaburzenia ekspresji licznych genów odpowiedzialnych za zatrzymanie cyklu komórkowego, indukcję apoptozy oraz różnicowanie komórek macierzystych nadzorowanych przez białko p53 [129-131]. REST reguluje cykl komórkowy na poziomie punktów kontrolnych G1/S [132] oraz G2/M [111], a także poprzez regulację szlaków EIF2 i PKA [111, 133, 134]. W komórkach GBM wyciszenie REST indukuje zatrzymanie cyklu w fazie G1, co nie jest jednak sprzężone z indukcją śmierci komórkowej poprzez aktywację kaskady apoptotycznej. Potwierdza to jego kluczową rolę w podtrzymywaniu żywotności komórek [132].

Co istotne, wpływ REST na kinetykę podziałów jest ściśle zależny od kontekstu komórkowego i modelu badawczego. W linii komórkowej GBM REST wyraźnie wzmaga proliferację, zaś w przypadku linii wywodzącej się z glejaka DIPG wyniki pozostają niejednoznaczne [112]. Niektóre doniesienia nie wykazują wpływu REST na tempo podziałów komórek DIPG [112], podczas gdy inne wskazują, że jego utrata istotnie hamuje wzrost tych komórek *in vitro* oraz formowanie guzów wewnątrzczaszkowych w mysim modelu *in vivo* [108].

ZWIĘKSZANIE INWAZYJNOŚCI GUZA

Poza regulacją podziałów i żywotności komórek, czynnik REST wpływa na inwazyjność glejaków [93, 102]. Analizy bioinformatyczne potwierdzają, że aktywność REST silnie koreluje z ekspresją genów ścieżek sygnalizacyjnych PI3K/AKT oraz Wnt/Ca²⁺, które są niezbędne dla przeżycia i ekspansji komórek nowotworowych [111, 135, 136]. Z kolei analizy biochemiczne oraz badania *in vivo* na modelach mysich wykazały, że REST reguluje ekspresję *DRD2* (receptor dopaminergiczny D2), który moduluje proces inwazji i apoptozy w GBM [137]. Jednocześnie, szczególnie w komórkach IDH-mut, czynnik ten reguluje geny odpowiedzialne za organizację macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM), co bezpośrednio wskazuje na wysoki potencjał ko-

mórek do naciekania tkanek [93]. Pośredni udział REST w regulacji migracji zaobserwowano również w kontekście regulacji ekspresji genu *GGCT* (gamma-glutamylcyklotransferaza), gdzie nadekspresja *REST* znosi zahamowanie migracji obserwowane w wyniku wyciszenia tego enzymu [97].

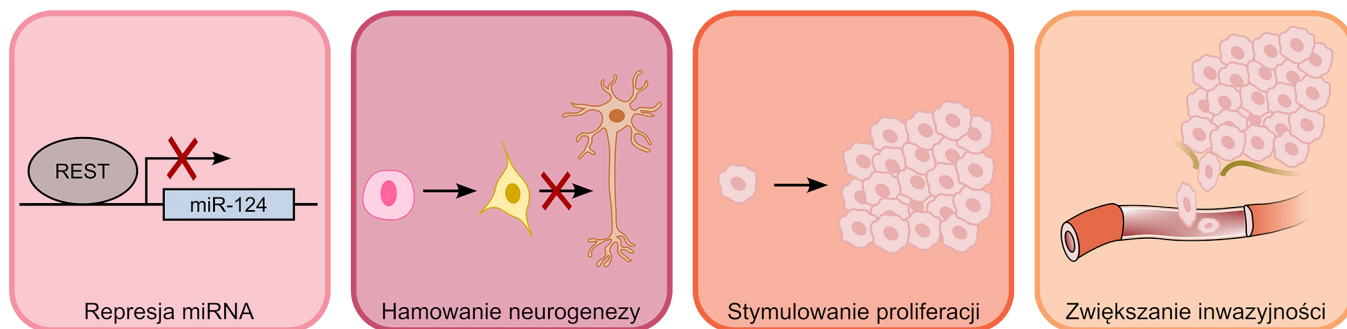
Z perspektywy klinicznej wysoka aktywność REST wiąże się z podtypem mezenchymalnym GBM, charakteryzującym się wyjątkową opornością na leczenie [111, 138]. Zależność tę potwierdza silna korelacja między wysoką aktywnością REST a potencjałem do przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT, ang. *Epithelial-Mesenchymal Transition*) [111]. Przejście EMT jest procesem, w którym komórki nabłonkowe tracą polarność oraz adhezję międzykomórkową i ulegają przekształceniu w fenotyp mezenchymalny, definiowany przez zwiększony potencjał migracyjny oraz podwyższoną oporność na czynniki genotoksyczne [139, 140]. Może to sugerować, że REST w glejakiach pełni rolę regulatora procesów odróżnicowania i inwazyjności. Dodatkowo, komórki GSC o wysokim poziomie ekspresji *REST* wykazują większą zdolność do tworzenia sfer nowotworowych w porównaniu z komórkami GSC o niższym poziomie *REST* [102]. Jednakże wpływ REST na dynamikę inwazji może być uwarunkowany specyficznym tłem genetycznym i modelem badawczym, na co wskazują rozbieżne wyniki obserwowane w badaniach *in vitro* w modelu linii komórkowej U87 [93, 132].

WPLYW NA MIKROŚRODOWISKO GUZA

Wpływ REST, poza samą biologią komórek nowotworowych, obejmuje również kształtowanie mikrośrodowiska guza. Analiza bioinformatyczna danych od pacjentów wykazała, że wysoka ekspresja tego genu koreluje ze stopniem infiltracji komórek układu odpornościowego oraz ekspresją markerów punktów kontrolnych, takich jak *PD-1*, *PD-L1* oraz *CTLA-4*. Sugeruje to potencjalny udział białka REST w regulacji aktywności komórek odpornościowych w guzie, co wymaga dalszej weryfikacji [94].

Czynnik REST odgrywa również kluczową rolę w stymulowaniu angiogenezy, co jest szczególnie istotne w rozwoju glejaków pediatrycznych typu DIPG. W mysim modelu wykazano, że wyciszenie *REST* drastycznie ogranicza unaczynienie guza poprzez zahamowanie sekrecji Gremliny-1 (GREM-1) - proangiogennego ligandu, który aktywuje receptor czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGFR2) [108, 141]. *In vitro* wykazano, że proces ten prowadzi do wygaszenia wewnątrzkomórkowej sygnalizacji AKT w komórkach śródbłonna, która jest niezbędna do ich przeżycia, stabilizacji i formowania nowych naczyń krwionośnych [108, 142].

Podsumowując, REST w glejakiach pełni wielowymiarową funkcję, wpływając na kluczowe procesy determinujące złośliwość nowotworu (Rycina 6). Jego wysoka ekspresja sprzyja utrzymaniu fenotypu komórek macierzystych, hamuje różnicowanie neuronalne, stymuluje proliferację oraz zwiększa inwazyjność guza. Mechanizmy te obejmują m.in. hamowanie ekspresji mikroRNA, regulację cyklu komórkowego oraz modulację szlaków sygnałowych i regulację



Rycina 6. Kluczowe procesy determinujące rozwój glijaka regulowane przez REST.

aktywności komórek układu odpornościowego w obrębie nowotworu. Choć znaczenie kliniczne REST zależy od kontekstu molekularnego, w większości przypadków jego nadekspresja wiąże się z bardziej agresywnym przebiegiem choroby, co czyni go istotnym potencjalnym celem terapeutycznym.

REST W RDZENIAKU ZARODKOWYM

W MB, najczęstszym złośliwym pediatrycznym guzie mózgu, deregulacja REST została powiązana z utrzymaniem komórek progenitorowych, zwiększoną proliferacją czy opornością na leczenie.

KORELACJA REST ZE STOPNIEM ZŁOŚLIWOŚCI MB I ROKOWANIEM PACJENTÓW

Pierwsze doniesienia sugerujące onkogenne właściwości REST w rozwoju MB dotyczyły poziomu jego ekspresji, który był znacznie wyższy w komórkach ludzkich linii MB niż w przypadku komórek progenitorowych i zróżnicowanych neuronów [101]. Dalsze badania potwierdziły obserwacje o nadekspresji tego czynnika transkrypcyjnego w komórkach guza [143]. Wyniki jednoznacznie wskazały, że wysoka ekspresja REST nie jest przypadkowa w tkance nowotworu i stanowi swoistą cechę dla niedojrzałego i nieodróżnicowanego fenotypu MB [101, 143].

Związek między wysokim poziomem ekspresji REST a niekorzystnym rokowaniem potwierdzono w badaniach kohortowych. Stratyfikacja guzów na grupy w zależności od prezentowanego poziomu ekspresji REST wykazała wysoki poziom ekspresji tego czynnika transkrypcyjnego jako niezależny i negatywny czynnik prognostyczny w MB [144].

Szczegółowa charakterystyka poziomu ekspresji REST w poszczególnych podgrupach molekularnych MB wykazała, że jego ekspresja jest wyższa w podgrupie SHH, cechującej się najgorszym rokowaniem [145]. Dodatkowo, w podtypie SHH REST wykazuje silną korelację z progresją guza i rozsiewem podpajęczynówkowym. Późniejsze badanie doprecyzowuje tę obserwację poprzez wykazanie, że koekspresja REST, LSD1 i USP7 identyfikują podgrupę SHH z najgorszymi wynikami klinicznymi [146].

Badania dotyczące skróconej izoformy REST4 nie wykazały istotnych powiązań z żadną z analizowanych cech klinicznych i histologicznych w MB. Ta obserwacja wskazuje,

że prognostyczne i onkogenne znaczenie REST w MB jest zależne wyłącznie od pełnej formy białka [144].

ROLA REST W REGULACJI RÓŻNICOWANIA

MB wywodzi się z komórek progenitorowych zewnętrznej warstwy ziarnistej w mózdzku [147]. W prawidłowych warunkach komórki te ulegają intensywnym podziałom, a następnie różnicują w neurony. W MB ten proces jest zaburzony, nadekspresja REST blokuje różnicowanie i podtrzymuje stan wysokiej proliferacji komórek [144].

Badanie *in vivo* polegające na koekspresji transgenu REST i onkogenu Myc w mysich komórkach macierzystych pochodzących z zewnętrznej warstwy ziarnistej wykazało, że ta koekspresja jest wystarczająca do indukcji guzów w lokalizacji mózdkowej. Co ważne, indukcji guzów nie zaobserwowano przy indukcji REST lub Myc osobno co odzwierciedla wzorec obserwowany w ludzkich MB [148].

REST, poprzez kompleksy Sin3 i CoREST, hamuje ekspresję genów neuronalnych zawierających motyw RE1 [2]. W komórkach MB wyciszenie REST prowadzi do wzrostu ekspresji czynników związanych z egzocytozą, uwalnianiem neuroprzekazników i migracją głąwową. Wyniki te wskazują, że REST utrzymuje fenotyp MB w stanie bliskim nieodróżnicowanej komórce progenitorowej poprzez wyciszenie szlaków dojrzewania neuronalnego [149].

Epigenetyczny mechanizm represji zależnej od REST w MB obejmuje poza deacetylacją histonów przez HDAC1/2 również metylację H3K9 zależną od G9a oraz demetylację H3K4 przez LSD1 [150]. REST poprzez interakcje z G9a indukuje metylację H3K9me2, która oddziałuje na promotor genu kodującego receptor SHH - PTCH1. Zagęszczenie chromatyny wycisza ekspresję PTCH1 i znosi hamowanie szlaku SHH w warunkach niedoboru liganda co skutkuje utrzymaniem proliferacji komórki [145].

W komórkach MB REST reguluje również cykl komórkowy poprzez hamowanie deubikwitylasy USP37, której funkcją jest stabilizacja inhibitora podziałów komórkowych CDKp27. Obniżona ekspresja USP37 prowadzi do przyspieszonej degradacji p27, co podtrzymuje proliferację poprzez odblokowanie fazy G1/S [151].

WPŁYW REST NA MIKROŚRODOWISKO GUZA I ANGIOGENEZĘ

REST, podobnie jak w przypadku glejaków, oprócz samych komórek nowotworowych, aktywnie kształtuje mikrośrodowisko guza, w tym jego unaczynienie. REST promuje angiogenezę poprzez dwie uzupełniające się ścieżki. Po pierwsze, ekspresja REST prowadzi do wydzielania czynników proangiogennych czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (VEGF) i łożyskowego czynnika wzrostu (PGF), które poprzez receptor VEGFR1 na komórkach śródbłonka stymulują ich proliferację i tworzenie naczyń. Po drugie REST indukuje ekspresję czynnika transkrypcyjnego ETS1 oraz VEGFR1, co pozwala na tworzenie sieci naczyniowej guza *de novo* [95].

Równoległą ścieżką wspierającą angiogenezę stanowi hiperaktywacja AKT zależna od REST. Wykazano, że podwyższona aktywność AKT w komórkach MB z wysoką ekspresją REST, stymuluje sekrecję VEGF i podwyższa ekspresję czynnika indukowanego hipoksją 1-alfa (HIF1 α). W ten sposób REST wpływa na szlak HIF1 α -VEGF dwutorowo: bezpośrednio przez VEGF i pośrednio przez AKT, co tłumaczy wyraźny efekt proangiogeny obserwowany w modelach zwierzęcych. Sugeruje to, że REST jest nie tylko wewnątrzkomórkowym regulatorem proliferacji i różnicowania, lecz także przebudowuje mikrośrodowisko guza na sprzyjające wzrostowi, poprzez zwiększoną dostępność tlenu i składników odżywczych, ale także wpływa na penetrację chemioterapeutyków do guza [95, 143].

REST A HIPOKSJA I AUTOFAGIA

Wzajemne powiązanie REST z hipoksją i autofagią jest jednym z najnowszych odkryć dotyczących roli tego czynnika transkrypcyjnego w biologii MB. Badania wykazują, że szlaki autofagii, obejmujące lizosomalną degradację uszkodzonych białek i organelli, są znamienne wzbogacenie w ludzkich guzach MB w porównaniu z prawidłowym mózgiem, przy czym wzbogacenie to jest silnie skorelowane z poziomem ekspresji REST [149].

Mechanizm regulacji autofagii przez REST przebiega przez oś VHL-HIF1 α [149]. Czynniki supresorowy Von Hippel-Lindau (VHL) pełni funkcję kluczowego składnika kompleksu E3 ligazy ubikwytynującej HIF1 α i kieruje je na ścieżkę proteasomalnej degradacji [152]. REST obniża poziom białka VHL, co prowadzi do zmniejszenia ubikwytynacji HIF1 α i jego stabilizacji – zamiast cytoplazmatycznej degradacji, HIF1 α ulega translokacji do jądra komórkowego, gdzie aktywuje transkrypcję genów promujących formowanie autofagosomów [149]. Opisany mechanizm stanowi uzasadnienie dla obserwowanej korelacji między wysoką ekspresją REST a podwyższonym stężeniem markerów autofagii.

Istotność funkcjonowania mechanizmów autofagii zależnej od REST jest widoczna w analizie przeżycia pacjentów. Guzy charakteryzujące się wysoką ekspre-

sją REST i niską ekspresją VHL były związane z najgorszym rokowaniem spośród analizowanych podtypów. Jednocześnie wysoka koeskspresja REST i VHL wiązała się z istotnie korzystniejszymi wynikami klinicznymi [149].

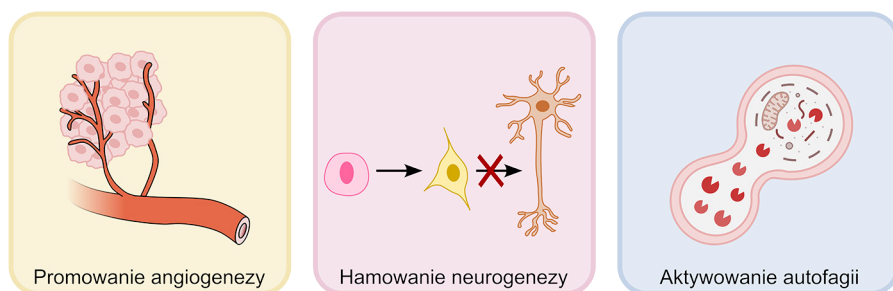
Proces autofagii pozwala komórkom MB na przeżycie w warunkach niedoboru składników odżywczych i ogólnego stresu metabolicznego, charakterystycznego dla mikrośrodowiska rosnącego guza. Zgodnie z tym mechanizmem, komórki MB z nadekspresją REST wykazywały znamienne większą wrażliwość na farmakologiczne inhibitory autofagii – bafilomycynę A1 i hydroksychlorochinę – w porównaniu z komórkami o niskiej ekspresji REST [146, 149].

Podsumowując, w MB REST pełni wyraźne onkogenne funkcje, sprzyjając utrzymaniu niedojrzałego fenotypu komórek, rozwojowi unaczynienia oraz autofagii (Rycina 7). Jego wysoka ekspresja koreluje z niekorzystnym rokowaniem, szczególnie w podgrupie SHH, i odzwierciedla zaburzenie równowagi między proliferacją a różnicowaniem. Mechanistycznie REST działa poprzez epigenetyczne wyciszenie genów neuronalnych, regulację cyklu komórkowego oraz modulację kluczowych szlaków sygnałowych. Dodatkowo wpływa na mikrośrodowisko guza, promując angiogenezę oraz adaptację do warunków stresowych poprzez regulację osi hipoksja-autofagia. Czyni to z niego istotny element patogenezy MB oraz potencjalny cel terapeutyczny.

REST JAKO CEL TERAPEUTYCZNY

REST coraz częściej postrzegany jest jako wskaźnik - biomarker, który może pomóc identyfikować określone podtypy nowotworów, przewidywać rokowanie dla pacjenta, a także odpowiednio dobierać strategię leczenia [103]. Wykazano, że guzy o wysokiej aktywności REST charakteryzują się specyficznymi sygnaturami transkrypcyjnymi oraz odmiennymi profilami odpowiedzi na leki [103, 107], co sugeruje, że stratyfikacja oparta na REST może wspierać bardziej spersonalizowane podejścia terapeutyczne. Co więcej, celowanie w mechanizmy regulowane przez REST może pomagać w przełamywaniu oporności na leczenie [94].

Narastająca liczba danych łączących REST z nowotworem w obrębie OUN sprawiła, że białko to stało się obiecującym potencjalnym celem terapeutycznym. W wielu nowotworach OUN, w tym w GBM oraz MB, nieprawidłowo podwyższony poziom REST sprzyja utrzymaniu guza, podtrzymując populacje samoodnawiających się komórek o potencjale inicjowania nowotworu oraz zapobiegając ich



Rycina 7. Kluczowe procesy, regulowane przez REST, determinujące rozwój rdzenia zarodkowego.

różnicowaniu, a jego wyciszenie hamuje samoodnawianie i zdolność inicjowania guza [109]. Poza kontrolą różnicowania i proliferacji, REST reguluje wiele procesów biologicznych kluczowych dla progresji nowotworu, takich jak inwazyjność komórek, angiogeneza, apoptoza, autofagia oraz interakcje z mikrośrodowiskiem i komórkami układu odpornościowego. Interwencje genetyczne i farmakologiczne ograniczające aktywność REST mogą zatem hamować wzrost i inwazję guza [94, 95, 108, 143, 149]. Równolegle rozwijane są eksperymentalne leki i strategie, które bezpośrednio lub pośrednio celują w działanie REST – od małych cząsteczek przyspieszających jego rozpad, przez nanocząstki dostarczające materiał wyciszający gen *REST*, po związki naturalne uruchamiające specyficzne formy śmierci komórki nowotworowej – co pokazuje, że to białko może być nie tylko biomarkerem, ale również celem terapii.

Wzrost guza w niektórych podtypach może zależeć od utrzymującej się aktywności REST, a wyciszenie jego ekspresji istotnie obniża zdolność samoodnawiania i potencjał inicjowania guza przez komórki glejaka wielopostaciowego. Można to osiągnąć poprzez zastosowanie małych cząsteczek RNA hamujących ekspresję genów (siRNA) skierowanych na REST, dostarczanych za pomocą nanocząstek Fe_3O_4 powlekanych polietylenoiminą (PEI). Tak dostarczone siRNA skutecznie wycisza REST, ograniczając żywotność i migrację komórek GBM [153]. Niedawno opracowano także drobnocząsteczkowy związek ukierunkowany na REST; cząsteczka GR-28 indukuje degradację REST poprzez kowalencyjne hamowanie fosfatazy SCP1. SCP1 defosforyluje REST, stabilizując jego poziom w komórkach. Hamowanie aktywności SCP1 powoduje derepresję genów tłumionych przez REST i śmierć komórek w glejaku zależnym od REST [154]. Naturalny związek erianina, izolowany z orchidei, zaburza funkcję REST, co prowadzi do degradacji eksportera żelaza SLC40A1 i w efekcie do ferroptozy, programowanej śmierci komórki zależnej od żelaza, w komórkach glejako- wych opornych na temozolomid [155].

Kolejną strategią terapeutyczną jest celowanie w szlaki, które współdziałają z REST lub przekazują efekty jego działania. Wyciszenie nadrzędnego regulatora białka REST, czynnika GGCT, hamuje proliferację i inwazję glejaka głównie poprzez obniżenie poziomu REST, co wskazuje na oś GGCT-REST jako punkt uchwytu terapeutycznego [97]. Wyciszenie genów neuronalnych przez REST następuje m.in. poprzez rekrutację HDAC1/2. Inhibitory HDAC mogą więc posłużyć do przeciwdziałania zależnemu od REST wyciszeniu transkrypcji [144, 156]. Ponadto aktywność REST powiązано z wrażliwością komórek nowotworowych na różne terapie celowane, w tym inhibitory szlaków sygnałowych IGF1R, VEGFR oraz ABL [107].

REST może również kształtować krajobraz immunologiczny glejaków. Analizy transkryptomiczne wskazują, że poziom REST koreluje z naciekiem komórek układu odpornościowego, markerami immunologicznymi oraz ekspresją genów punktów kontroli odpowiedzi immunologicznej *PD-1*, *PD-L1* i *CTLA-4*, co sugeruje, że REST przyczynia się do tworzenia immunosupresyjnego środowiska nowotworu. Modulowanie aktywności REST może zatem nie tylko wywoływać bezpośredni efekt przeciwnowotworowy, ale

również przeprogramowywać interakcje nowotwór–układ odpornościowy, potencjalnie wzmacniając odpowiedź na immunoterapię [94], co jednak wymaga eksperymentalnego potwierdzenia.

PODSUMOWANIE

Narastająca liczba danych podkreśla centralną rolę REST w wielu procesach onkogennych, takich jak unaczynienie, regulacja epigenetyczna, deregulacja metabolizmu i modulacja odpowiedzi immunologicznej. Koncepcja terapeutycznego ukierunkowania na REST pozostaje obecnie na etapie badań eksperymentalnych. Choć wyniki tych analiz wskazują na potencjał REST jako cel terapeutyczny, dalsze badania nad molekularnymi mechanizmami regulacji jego ekspresji, regulowanymi przez REST ścieżkami sygnałowymi oraz interakcjami z innymi szlakami onkogennymi będą kluczowe dla przełożenia tych obserwacji na skuteczne strategie terapeutyczne w praktyce klinicznej.

PIŚMIENNICTWO

1. Schoenherr CJ, Anderson DJ (1995) The neuron-restrictive silencer factor (NRSF): a coordinate repressor of multiple neuron-specific genes. *Science* 267: 1360-1363
2. Jin L, Liu Y, Wu Y, Huang Y, Zhang D (2023) REST Is Not Resting: REST/NRSF in Health and Disease. *Biomolecules* 13: 1452
3. Veverka P, Brom T, Janovič T, Stojaspal M, Pinkas M, Nováček, Hofr C (2023) Electron microscopy reveals toroidal shape of master neuronal cell differentiator REST - RE1-silencing transcription factor. *Comput Struct Biotechnol J* 21: 731-741
4. Eva TA, Shenoy A, Gupta VB, Palanivel V, Salkar A, Nasab SN, Chitranshi N, Mirzaei M, You Y, Graham SL, Basavarajappa D, Gupta V (2025) The Dynamic Roles of Repressor Element 1-Silencing Transcription Factor (REST): A Double-Edged Sword in Neural Health and Disease. *Mol Neurobiol* 63: 46
5. Zhang Y, Hu W, Shen J, Tong X, Yang Z, Shen Z, Lan W, Wu H, Cao C (2011) Cysteine 397 plays important roles in the folding of the neuron-restricted silencer factor/RE1-silencing transcription factor. *Biochem Biophys Res Commun* 414: 309-314
6. Lee JH, Shimojo M, Chai YG, Hersh LB (2000) Studies on the interaction of REST4 with the cholinergic repressor element-1/neuron restrictive silencer element. *Brain Res Mol Brain Res* 80: 88-98
7. Shimojo M, Lee JH, Hersh LB (2001) Role of zinc finger domains of the transcription factor neuron-restrictive silencer factor/repressor element-1 silencing transcription factor in DNA binding and nuclear localization. *J Biol Chem* 276: 13121-13126
8. Magin A, Lietz M, Cibelli G, Thiel G (2002) RE-1 silencing transcription factor-4 (REST4) is neither a transcriptional repressor nor a de-repressor. *Neurochem Int* 40: 195-202
9. Qureshi IA, Gokhan S, Mehler MF (2010) REST and CoREST are transcriptional and epigenetic regulators of seminal neural fate decisions. *Cell Cycle* 9: 4477-4486
10. Grzenda A, Lomberk G, Zhang JS, Urrutia R (2009) Sin3: master scaffold and transcriptional corepressor. *Biochim Biophys Acta* 1789: 443-450
11. Ooi L, Wood IC (2007) Chromatin crosstalk in development and disease: lessons from REST. *Nat Rev Genet* 8: 544-554
12. Ballas N, Mandel G (2005) The many faces of REST oversee epigenetic programming of neuronal genes. *Curr Opin Neurobiol* 15: 500-506
13. Shi Y, Lan F, Matson C, Mulligan P, Whetstone JR, Cole PA, Casero RA (2004) Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1. *Cell* 119: 941-953
14. Ding N, Tomomori-Sato C, Sato S, Conaway RC, Conaway JW, Boyer TG (2009) MED19 and MED26 are synergistic functional targets of

- the RE1 silencing transcription factor in epigenetic silencing of neuronal gene expression. *J Biol Chem* 284: 2648-2656
15. Garriga-Canut M, Schoenike B, Qazi R, Bergendahl K, Daley TJ, Pfender RM, Morrison JF, Ockuly J, Stafstrom C, Sutula T, Roopra A (2006) 2-Deoxy-D-glucose reduces epilepsy progression by NRSF-CtBP-dependent metabolic regulation of chromatin structure. *Nat Neurosci* 9: 1382-1387
 16. Zhang Q, Piston DW, Goodman RH (2002) Regulation of corepressor function by nuclear NADH. *Science* 295: 1895-1897
 17. Ballas N, Grunseich C, Lu DD, Speh JC, Mandel G (2005) REST and its corepressors mediate plasticity of neuronal gene chromatin throughout neurogenesis. *Cell* 121: 645-657
 18. Buckley NJ, Johnson R, Sun YM, Stanton LW (2009) Is REST a regulator of pluripotency? *Nature* 457: E5-E6
 19. Jørgensen HF, Chen ZF, Merckenschlager M, Fisher AG (2009) Is REST required for ESC pluripotency? *Nature* 457: E4-E5
 20. Thiel G, Ekici M, Rössler OG (2015) RE-1 silencing transcription factor (REST): a regulator of neuronal development and neuronal/endocrine function. *Cell Tissue Res* 359: 99-109
 21. Ekici M, Keim A, Rössler OG, Hohl M, Thiel G (2012) Chromatin structure and expression of the AMPA receptor subunit Glur2 in human glioma cells: major regulatory role of REST and Sp1. *J Cell Biochem* 113: 528-543
 22. Gao Z, Ure K, Ding P, Nashaat M, Yuan L, Ma J, Hammer RE, Hsieh J (2011) The master negative regulator REST/NRSF controls adult neurogenesis by restraining the neurogenic program in quiescent stem cells. *J Neurosci* 31: 9772-9786
 23. Soldati C, Bithell A, Johnston C, Wong KY, Teng SW, Beglopoulos V, Stanton LW, Buckley NJ (2012) Repressor element 1 silencing transcription factor couples loss of pluripotency with neural induction and neural differentiation. *Stem Cells* 30: 425-434
 24. Lu T, Aron L, Zullo J, Pan Y, Kim H, Chen Y, Yang TH, Kim, HM, Drake D, Liu XS, Bennett DA, Colaiacovo MP, Yanker BA (2014) REST and stress resistance in ageing and Alzheimer's disease. *Nature* 507: 448-454
 25. Hwang JY, Zukin RS (2018) REST, a master transcriptional regulator in neurodegenerative disease. *Curr Opin Neurobiol* 48: 193-200
 26. Packer RJ, MacDonald T, Vezina G (2008) Central nervous system tumors. *Pediatr Clin North Am* 55: 121-145
 27. Didkowska J, Wojciechowska U, Dziedzic T, Sulkowska U (2025) Nowotwory złośliwe mózgu – analiza epidemiologiczna. *Narodowy Instytut Onkologii, Warszawa*
 28. Filho AM, Znaor A, Sunguc C, Zahwe M, Marcos-Gragera R, Figueroa JD, Bray F (2025) Cancers of the brain and central nervous system: global patterns and trends in incidence. *J Neurooncol* 172: 567-578
 29. Ostrom QT, Francis SS, Barnholtz-Sloan JS (2021) Epidemiology of Brain and Other CNS Tumors. *Curr Neurol Neurosci Rep* 21: 68
 30. Fares J, Davis ZB, Rechberger JS, Toll SA, Schwartz JD, Daniels DJ, Miller JS, Khatua S (2023) Advances in NK cell therapy for brain tumors. *NPJ Precis Oncol* 7: 17
 31. Price M, Ballard CAP, Benedetti JR, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS, Ostrom QT (2025) CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2018-2022. *Neuro Oncol* 27 (Suppl 4): iv1-iv66
 32. Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, Hawkins C, Ng HK, Pfister SM, Reifenberger G, Soffietti R, von Deimling A, Ellison DW (2021) The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro Oncol* 23: 1231-1251
 33. Horbinski C, Berger T, Packer RJ, Wen PY (2022) Clinical implications of the 2021 edition of the WHO classification of central nervous system tumours. *Nat Rev Neurol* 18: 515-529
 34. Weller M, Wen PY, Chang SM, Dirven L, Lim M, Monje M, Reifenberger G (2024) Glioma. *Nat Rev Dis Primers* 10: 33
 35. Park DM, Rich JN (2009) Biology of glioma cancer stem cells. *Mol Cells* 28: 7-12
 36. Azzarelli R, Simons BD, Philpott A (2018) The developmental origin of brain tumours: a cellular and molecular framework. *Development* 145: dev162693
 37. He J, Yan X, Hu S (2025) Glioma stem cells: drivers of tumor progression and recurrence. *Stem Cell Res Ther* 16: 293
 38. Komori T (2021) The molecular framework of pediatric-type diffuse gliomas: shifting toward the revision of the WHO classification of tumors of the central nervous system. *Brain Tumor Pathol* 38: 1-3
 39. Xu C, Hou P, Li X, Xiao M, Zhang Z, Li Z, Xu J, Liu G, Tan Y, Fang C (2024) Comprehensive understanding of glioblastoma molecular phenotypes: classification, characteristics, and transition. *Cancer Biol Med* 21: 363-381
 40. Singh S, Dey D, Barik D, Mohapatra I, Kim S, Sharma M, Prasad S, Wang P, Singh A, Singh G (2025) Glioblastoma at the crossroads: current understanding and future therapeutic horizons. *Signal Transduct Target Ther* 10: 213
 41. Verhaak RG, Hoadley KA, Purdom E, Wang V, Qi Y, Wilkerson MD, Miller CR, Ding L, Golub T, Mesirov JP, Alexe G, Lawrence M, O'Kelly M, Tamayo P, Weir BA, Gabriel S, Winckler W, Gupta S, Jakkula L, Feiler HS, Hodgson JG, James CD, Sarkaria JN, Brennan C, Kahn A, Spellman PT, Wilson RK, Speed TP, Gray JW, Meyerson M, Getz G, Perou CM, Hayes DN (2010) Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. *Cancer Cell* 17: 98-110
 42. Sidaway P (2017) CNS cancer: Glioblastoma subtypes revisited. *Nat Rev Clin Oncol* 14: 587
 43. Forjaz G, Barnholtz-Sloan JS, Kruchko C, Siegel R, Negoita S, Ostrom QT, Dickie L, Ruhl J, Van Dyke A, Patil N, Cioffi G, Miller KD, Waite K, Mariotto AB (2021) An updated histology recode for the analysis of primary malignant and nonmalignant brain and other central nervous system tumors in the Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. *Neurooncol Adv* 3: vdaa175
 44. Biserova K, Jakovlevs A, Uljanovs R, Strumfa I (2021) Cancer Stem Cells: Significance in Origin, Pathogenesis and Treatment of Glioblastoma. *Cells* 10: 621
 45. Yalamarty SSK, Filipczak N, Li X, Subhan MA, Parveen F, Ataide JA, Rajmalani BA, Torchilin VP (2023) Mechanisms of Resistance and Current Treatment Options for Glioblastoma Multiforme (GBM). *Cancers (Basel)* 15: 2116
 46. AlSamhori JF, Khan M, Hamed BM, Saleem MA, Shahid F, Rath S, Nabi W, Aziz N, Shahnawaz M, Basharat A, Ahmad S (2025) Understanding glioblastoma survival: A SEER-based study of demographics and treatment. *J Clin Oncol* 43 (Suppl 16): e14027
 47. Uddin MS, Mamun AA, Alghamdi BS, Tewari D, Jeandet P, Sarwar MS, Ashraf GM (2022) Epigenetics of glioblastoma multiforme: From molecular mechanisms to therapeutic approaches. *Semin Cancer Biol* 83: 100-120
 48. Ahmed AU, Auffinger B, Lesniak MS (2013) Understanding glioma stem cells: rationale, clinical relevance and therapeutic strategies. *Expert Rev Neurother* 13: 545-555
 49. Neftel C, Laffy J, Filbin MG, Hara T, Shore ME, Rahme GJ, Richman AR, Silverbush D, Shaw ML, Hebert CM, Dewitt J, Gritsch S, Perez EM, Gonzalez Castro LN, Lan X, Druck N, Rodman C, Dionne D, Kaplan A, Bertalan MS, Small J, Pelton K, Becker S, Bonal D, Nguyen Q, Servis RL, Fung JM, Mylvaganam R, Mayr L, Gojo J, Haberler C, Geyeregger R, Czech T, Slavic I, Nahed BV, Curry WT, Carter BS, Wakimoto H, Brastianos PK, Batchelor TT, Stemmer-Rachamimov A, Martinez-Lage M, Frosch MP, Stamenkovic I, Riggi N, Rheinbay E, Monje M, Rozenblatt-Rosen O, Cahill DP, Patel AP, Hunter T, Verma IM, Ligon KL, Louis DN, Regev A, Bernstein BE, Tirosh I, Suva ML (2019) An Integrative Model of Cellular States, Plasticity, and Genetics for Glioblastoma. *Cell* 178: 835-849
 50. Couturier CP, Ayyadhury S, Le PU, Nadaf J, Monlong J, Riva G, Al-lache R, Baig S, Yan X, Bourgey M, Lee C, Wang YCD, Yong VW, Guiot MC, Najafabadi H, Mistic B, Antel J, Bourque G, Ragoussis J, Petrecca K (2020) Single-cell RNA-seq reveals that glioblastoma recapitulates a normal neurodevelopmental hierarchy. *Nat Commun* 11: 3406

51. Yabo YA, Niclou SP, Golebiewska A (2022) Cancer cell heterogeneity and plasticity: A paradigm shift in glioblastoma. *Neuro Oncol* 24: 669-682
52. Arabestani A, Ai A, Jalali H (2021) A Histopathology Model of Astrocytoma: A Review. *Sys Rev Pharm* 13(2): 229-234
53. Barthel L, Hadamitzky M, Dammann P, Schedlowski M, Sure U, Thakur BK, Hetze S (2022) Glioma: molecular signature and crossroads with tumor microenvironment. *Cancer Metastasis Rev* 41: 53-75
54. Tirosch I, Venteicher AS, Hebert C, Escalante LE, Patel AP, Yizhak K, Fisher JM, Rodman C, Mount C, Filbin MG, Neftel C, Desai N, Nyman J, Izar B, Luo CC, Francis JM, Patel AA, Onozato ML, Riggi N, Livak KJ, Gennert D, Satija R, Nahed BV, Curry WT, Martuza RL, Mylvaganam R, Iafrate AJ, Froesch MP, Golub TR, Rivera MN, Getz G, Rozenblatt-Rosen O, Cahil DP, Monje M, Bernstein BE, Louis DN, Regev A, Suva ML (2016) Single-cell RNA-seq supports a developmental hierarchy in human oligodendroglioma. *Nature* 539: 309-313
55. Norman S, Juthani RG, Magge R (2022) Foundations of the Diagnosis and Management of Low-Grade Gliomas. *World Neurosurg* 166: 306-312
56. Toader C, Eva L, Costea D, Corlatescu AD, Covache-Busuioc RA, Bratu BG, Glavan LA, Costin HP, Popa AA, Ciurea AV (2023) Low-Grade Gliomas: Histological Subtypes, Molecular Mechanisms, and Treatment Strategies. *Brain Sci* 13: 1652
57. Aggarwal P, Luo W, Pehlivan KC, Hoang H, Rajappa P, Cripe TP, Cassady KA, Lee DA, Cairo MS (2022) Pediatric versus adult high grade glioma: Immunotherapeutic and genomic considerations. *Front Immunol* 13: 1038096
58. Broniscer A, Baker SJ, West AN, Fraser MM, Proko E, Kocak M, Kocak M, Dalton J, Zambetti GP, Ellison DW, Kun LE, Gajjar A, Gilbertson RJ, Fuller CE (2007) Clinical and molecular characteristics of malignant transformation of low-grade glioma in children. *J Clin Oncol* 25: 682-689
59. Mistry M, Zhukova N, Merico D, Rakopoulos P, Krishnatry R, Shago M, Stavropoulos J, Alon N, Pole JD, Ray PN, Navickiene V, Mangere J, Remke M, Buczkowicz P, Ramaswamy V, Stucklin AG, Li M, Young EJ, Zhang C, Castelo-Branco P, Bakry D, Laughlin S, Shlien A, Chan J, Ligon KL, Rutka JT, Dirks PB, Taylor MD, Greenberg M, Malkin D, Huang A, Bouffet E, Hawkins CE, Tabori U (2015) BRAF mutation and CDKN2A deletion define a clinically distinct subgroup of childhood secondary high-grade glioma. *J Clin Oncol* 33: 1015-1022
60. Dodgshun AJ, Maixner WJ, Hansford JR, Sullivan MJ (2016) Low rates of recurrence and slow progression of pediatric pilocytic astrocytoma after gross-total resection: justification for reducing surveillance imaging. *J Neurosurg Pediatr* 17: 569-572
61. Wisoff JH, Sanford RA, Heier LA, Spoto R, Burger PC, Yates AJ, Holmes EJ, Kin LE (2011) Primary neurosurgery for pediatric low-grade gliomas: a prospective multi-institutional study from the Children's Oncology Group. *Neurosurgery* 68: 1548-1554
62. Ryall S, Zapotocky M, Fukuoka K, Nobre L, Guerreiro Stucklin A, Bennett J, Siddaway R, Li C, Pajovic S, Arnoldo A, Kowalski PE, Johnson M, Sheth J, Lassaletta A, Tatevossian RG, Orisme W, Qadoumi I, Surrey LF, Li MM, Waanders AJ, Gilheeny S, Rosenblum M, Bale T, Tsang DS, Laperriere N, Kulkarni A, Ibrahim GM, Drake J, Dirks P, Taylor MD, Rutka JT, Laughlin S, Shroff M, Hazrati LN, D'Arcy C, Ramaswamy V, Bartels U, Huang A, Bouffet E, Karajannis MA, Santi M, Ellison DW, Tabori U, Hawkins C. (2020) Integrated Molecular and Clinical Analysis of 1,000 Pediatric Low-Grade Gliomas. *Cancer Cell* 37: 569-583
63. Jones DT, Kocialkowski S, Liu L, Pearson DM, Ichimura K, Collins VP (2009) Oncogenic RAF1 rearrangement and a novel BRAF mutation as alternatives to KIAA1549:BRAF fusion in activating the MAPK pathway in pilocytic astrocytoma. *Oncogene* 28: 2119-2123
64. Pfister S, Janzarik WG, Remke M, Ernst A, Werft W, Becker N, Toedt G, Wittmann A, Kratz C, Olbrich H, Ahmadi R, Thieme B, Joos S, Radlwimmer B, Kulozik A, Pietsch T, Herold-Mende C, Gnekow A, Reifenberger G, Korshunov A, Scheurlen W, Omran H, Lichter P. (2008) BRAF gene duplication constitutes a mechanism of MAPK pathway activation in low-grade astrocytomas. *J Clin Invest* 118: 1739-1749
65. Yang W, Cai Y, Chen J, Yang P, Ying Z, Liang Y, Ling M, Zhu K, Sun H, Ji Y, Peng X, Zhang N, Ma W, Ge M (2023) Epidemiological characteristics, clinical presentations, and prognoses of pediatric brain tumors: Experiences of national center for children's health. *Front Oncol* 13: 1067858
66. Kumar LP, Deepa SF, Moinca I, Suresh P, Naidu KV (2015) Medulloblastoma: A common pediatric tumor: Prognostic factors and predictors of outcome. *Asian J Neurosurg* 10: 50
67. Ronsley R, Cole B, Ketterl T, Wright J, Ermoian R, Hoffman LM, Margol AS, Leary SES (2024) Pediatric Central Nervous System Embryonal Tumors: Presentation, Diagnosis, Therapeutic Strategies, and Survivorship - A Review. *Pediatr Neurol* 161: 237-246
68. Bailey P, Cushing HW (1925) Medulloblastoma cerebelli: a common type of midcerebellar glioma of childhood. *J Nerv Ment Dis* 14: 192-224
69. Cotter JA, Judkins AR (2022) Evaluation and Diagnosis of Central Nervous System Embryonal Tumors (Non-Medulloblastoma). *Pediatr Dev Pathol* 25: 34-45
70. Poggi A, Reggiani F, Azevedo HS, Raffaghello L, Pereira RC (2025) Medulloblastoma: biology and immunotherapy. *Front Immunol* 16: 1602930
71. Millard NE, De Braganca KC (2016) Medulloblastoma. *J Child Neurol* 31: 1341-1353
72. Cotter JA, Hawkins C (2022) Medulloblastoma: WHO 2021 and Beyond. *Pediatr Dev Pathol* 25: 23-33
73. Cavalli F, Remke M, Rampasek L, Peacock J, Shih D, Luu B, Garzia L, Torchia J, Nor C, Morrissy A, Agnihotri S, Thompson Y, Kuzan-Fischer C, Farooq H, Isaev K, Daniels C, Cho B, Kim S, Wang K, Lee J, Grajkowska W, Perek-Polnik M, Vasiljevic A, Faure-Conte C, Jouvet A, Giannini C, Rao A, Li K, Ng H, Eberhart C, Pollack I, Hamilton R, Gillespie G, Olson J, Leary S, Weiss W, Lach B, Chambless L, Thompson R, Cooper M, Vibhakar R, Hauser P, van Veelen M, Kros J, French P, Ra Y, Kumabe T, López-Aguilar E, Zitterbart K, Sterba J, Finocchiaro G, Massimino M, Van Meir E, Osuka S, Shofuda T, Klekner A, Zollo M, Leonard J, Rubin J, Jabado N, Albrecht S, Mora J, Van Meter T, Jung S, Moore A, Hallahan A, Chan J, Tirapelli D, Carlotti C, Fouladi M, Pimentel J, Faria C, Saad A, Massimi L, Liao L, Wheeler H, Nakamura H, Elbaba S, Perezpeña-Diazconti M, Ponce de León F, Robinson S, Zapotocky M, Lassaletta A, Huang A, Hawkins C, Tabori U, Bouffet E, Bartels U, Dirks P, Rutka J, Bader G, Reimand J, Goldenberg A, Ramaswamy V, Taylor M (2017) Intertumoral Heterogeneity within Medulloblastoma Subgroups. *Cancer Cell* 31(6): 737-754
74. Northcott PA, Korshunov A, Witt H, Hielscher T, Eberhart CG, Mack S, Bouffet E, Clifford SC, Hawkins CE, French P, Rutka JT, Pfister S, Taylor MD (2011) Medulloblastoma comprises four distinct molecular variants. *J Clin Oncol* 29: 1408-1414
75. Ray S, Chaturvedi N, Bhakat K, Rizzino A, Mahapatra S (2021) Subgroup-Specific Diagnostic, Prognostic, and Predictive Markers Influencing Pediatric Medulloblastoma Treatment. *Diagnostics (Basel)*: 12(1)
76. Northcott P, Buchhalter I, Morrissy A, Hovestadt V, Weischenfeldt J, Ehrenberger T, Gröbner S, Segura-Wang M, Zichner T, Rudneva V, Warnatz H, Sidiropoulos N, Phillips A, Schumacher S, Kleinheinz K, Waszak S, Erkek S, Jones D, Worst B, Kool M, Zapotocky M, Jäger N, Chavez L, Hutter B, Bieg M, Paramasivam N, Heinold M, Gu Z, Ishaque N, Jäger-Schmidt C, Imbusch C, Jugold A, Hübschmann D, Risch T, Amstislavskiy V, Rodriguez Gonzalez F, Weber U, Wolf S, Robinson G, Zhou X, Wu G, Finkelstein D, Liu Y, Cavalli F, Luu B, Ramaswamy V, Wu X, Koster J, Ryzhova M, Cho Y, Pomeroy S, Herold-Mende C, Schuhmann M, Ebinger M, Liao L, Mora J, McLendon R, Jabado N, Kumabe T, Chuah E, Ma Y, Moore R, Mungall A, Mungall K, Thiessen N, Tse K, Wong T, Jones S, Witt O, Milde T, Von Deimling A, Capper D, Korshunov A, Yaspo M, Kriwacki R, Gajjar A, Zhang J, Beroukhi R, Fraenkel E, Korbel J, Brors B, Schlesner M, Eils R, Marra M, Pfister S, Taylor M, Lichter P (2017) The whole-genome landscape of medulloblastoma subtypes. *Nature* 547(7663): 311-317

77. Taylor M, Northcott P, Korshunov A, Remke M, Cho Y, Clifford S, Eberhart C, Parsons D, Rutkowski S, Gajjar A, Ellison D, Lichter P, Gilbertson R, Pomeroy S, Kool M, Pfister S (2012) Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. *Acta Neuropathol* 123: 465-472
78. Gajjar A, Robinson GW, Smith KS, Lin T, Merchant TE, Chintagumpala M, Mahajan A, Su J, Bouffet E, Bartels U, Schechter T, Hassall T, Robertson T, Nicholls W, Gururangan S, Schroeder K, Sullivan M, Wheeler G, Hansford JR, Kellie SJ, McCowage G, Cohn R, Fisher MJ, Krasin MJ, Stewart CF, Broniscer A, Buchhalter I, Tatevossian RG, Orr BA, Neale G, Klimo P Jr, Boop F, Srinivasan A, Pfister SM, Gilbertson RJ, Onar-Thomas A, Ellison DW, Northcott PA (2021) Outcomes by Clinical and Molecular Features in Children With Medulloblastoma Treated With Risk-Adapted Therapy: Results of an International Phase III Trial (SJMB03). *J Clin Oncol* 39: 822-835.74
79. Moon RT (2005) Wnt/beta-catenin pathway. *Sci STKE* 2005: cm1
80. Henrich N, Marra CA, Gastonguay L, Mabbott D, Malkin D, Fryer C, Bouffet E, Taylor MD, Hukin J, Scantlebury N, Lynd L (2014) De-escalation of therapy for pediatric medulloblastoma: trade-offs between quality of life and survival. *Pediatr Blood Cancer* 61: 1300-1304
81. Mynarek M, Milde T, Padovani L, Janssens GO, Kwicien R, Mosseri V, Clifford S.C., Doz F, Rutkowski S (2021) SIOP PNET5 MB Trial: History and Concept of a Molecularly Stratified Clinical Trial of Risk-Adapted Therapies for Standard-Risk Medulloblastoma. *Cancers (Basel)* 13: 6035
82. Kool M, Koster J, Bunt J, Hasselt NE, Lakeman A, van Sluis P, Troost D, Schouten-van Meeteren N, Caron HN, Cloos J, Mrcić A, Ylstra B, Grajkowska W, Hartmann W, Pietsch T, Ellison D, Clifford SC, Versteeg R (2008) Integrated genomics identifies five medulloblastoma subtypes with distinct genetic profiles, pathway signatures and clinicopathological features. *PLoS One* 3: e3088
83. AbdelBaki MS, Boué DR, Finlay JL, Kieran MW (2018) Desmoplastic nodular medulloblastoma in young children: a management dilemma. *Neuro Oncol* 20: 1026-1033
84. Smith MJ, Beetz C, Williams SG, Bhaskar SS, O'Sullivan J, Anderson B, Daly SB, Urquhart JE, Bholah Z, Oudit D, Cheesman E, Kelsey A, McCabe MG, Newman WG, Evans DGR (2014) Germline mutations in *SUFU* cause Gorlin syndrome-associated childhood medulloblastoma and redefine the risk associated with *PTCH1* mutations. *J Clin Oncol* 32: 4155-4161
85. Carta R, Del Baldo G, Miele E, Po A, Mersini Besharat Z, Nazio F, Colafati GS, Piccirilli E, Agolini E, Rinelli M, Lodi M, Cacchione A, Carai A, Boccutto L, Ferretti E, Locatelli F, Mastronuzzi A (2020) Cancer Predisposition Syndromes and Medulloblastoma in the Molecular Era. *Front Oncol* 10: 566822
86. Zhukova N, Ramaswamy V, Remke M, Pfaff E, Shih DJH, Martin DC, Castelo-Branco P, Baskin B, Ray PN, Bouffet E, von Bueren AO, Jones DTW, Northcott PA, Kool M, Sturm D, Pugh TJ, Pomeroy SL, Cho YJ, Pietsch T, Gessi M, Rutkowski S, Bogner L, Klekner A, Cho BK, Kim SK, Wang KC, Eberhart CG, Fevre-Montange M, Fouladi M, French PJ, Kros JM, Grajkowska WA, Gupta N, Weiss WA, Hauser P, Jabado N, Jouvett A, Jung S, Kumabe T, Lach B, Leonard JR, Rubin JB, Liau LM, Massimi L, Pollack IF, Ra YS, Van Meir EG, Zitterbart K, Schüller U, Hill RM, Lindsey JC, Schwalbe EC, Bailey S, Ellison DW, Hawkins C, Malkin D, Clifford SC, Korshunov A, Pfister SM, Taylor MD, Tabori U (2013) Subgroup-specific prognostic implications of TP53 mutation in medulloblastoma. *J Clin Oncol* 31: 2927-2935
87. Cho YJ, Tsherniak A, Tamayo P, Santagata S, Ligon A, Greulich H, Berhoukim R, Amani V, Goumnerova L, Eberhart CG, Lau CC, Olson JM, Gilbertson RJ, Gajjar A, Delattre O, Kool M, Ligon KL, Meyerson M, Mesirov JP, Pomeroy SL (2011) Integrative genomic analysis of medulloblastoma identifies a molecular subgroup that drives poor clinical outcome. *J Clin Oncol* 29: 1424-1430
88. Juraschka K, Taylor MD (2019) Medulloblastoma in the age of molecular subgroups: a review. *J Neurosurg Pediatr* 24: 353-363
89. Northcott PA, Dubuc AM, Pfister S, Taylor MD (2012) Molecular subgroups of medulloblastoma. *Expert Rev Neurother* 12: 871-884
90. Shrestha S, Morcavallo A, Gorrini C, Chesler L (2021) Biological Role of MYCN in Medulloblastoma: Novel Therapeutic Opportunities and Challenges Ahead. *Front Oncol* 11: 694320
91. Northcott PA, Jones DTW, Kool M, Robinson GW, Gilbertson RJ, Cho YJ, Pomeroy SL, Korshunov A, Lichter P, Taylor MD, Pfister SM (2012) Medulloblastomas: the end of the beginning. *Nat Rev Cancer* 12: 818-834
92. Waszak SM, Northcott PA, Buchhalter I, Robinson GW, Sutter C, Groebner S, Grund KB, Brugières L, Jones DTW, Pajtler KW, Morrissy AS, Kool M, Sturm D, Chavez L, Ernst A, Brabetz S, Hain M, Zichner T, Segura-Wang M, Weischenfeldt J, Rausch T, Mardin BR, Zhou X, Baciu C, Lawerenz C, Chan JA, Varlet P, Guerrini-Rousseau L, Fuhs DW, Grajkowska W, Hauser P, Jabado N, Ra YS, Zitterbart K, Shringarpure SS, De La Vega FM, Bustamante CD, Ng HK, Perry A, MacDonald TJ, Driever PH, Bendel AE, Bowers DC, McCowage G, Fleischhack G, Eggen T, Wesenberg F, Feychting M, Lanngner B, Schütz J, Johansen C, Andersen TV, Rössli M, Kuehni CE, Grotzer M, Kjaerheim K, Monoranu CM, Archer TC, Pomeroy SL, Redmond S, Frank S, Sumerauer D, Scheurlen W, Ryzhova MV, Milde T, Kratz CP, Samuel D, Zhang J, Solomon DA, Marra MA, Eils R, Bartram CR, von Hoff K, Rutkowski S, Ramaswamy V, Gilbertson RJ, Korshunov A, Taylor MD, Malkin D, Gajjar A, Korbel JO, Pfister SM (2018) Spectrum and prevalence of genetic predisposition in medulloblastoma: a retrospective genetic study and prospective validation in a clinical trial cohort. *Lancet Oncol* 19: 785-798
93. Perycz M, Dabrowski MJ, Jardanowska-Kotuniak M, Roura AJ, Gielniewski B, Stepniak K, Dramiński M, Ciecchomska IA, Kaminska B, Wojtas B (2024) Comprehensive analysis of the REST transcription factor regulatory networks in IDH mutant and IDH wild-type glioma cell lines and tumors. *Acta Neuropathol Commun* 12: 72
94. Wang G, Yang X, Qi M, Li M, Dong M, Xu R, Zhang C (2023) Systematic analysis identifies REST as an oncogenic and immunological biomarker in glioma. *Sci Rep* 13: 3023
95. Shaik S, Maegawa S, Haltom AR, Wang F, Xiao X, Dobson T, Sharma A, Yang Y, Swaminathan J, Kundra V, Li XN, Schadler K, Harmanci A, Xu L, Gopalakrishnan V (2021) REST promotes ETS1-dependent vascular growth in medulloblastoma. *Mol Oncol* 15: 1486-1506
96. Buffolo F, Petrosino V, Albin M, Moschetta M, Carlini F, Floss T, Kerlero de Rosbo N, Cesca F, Rocchi A, Uccelli A, Benfenati F (2021) Neuroinflammation induces synaptic scaling through IL-1 β -mediated activation of the transcriptional repressor REST/NRSF. *Cell Death Dis* 12: 180
97. Shen SH, Chen SF, Guo JF, Wang ZX (2024) The GGCT and REST positive feedback loop promotes tumor growth in Glioma. *Transl Oncol* 49: 102083
98. Westbrook TF, Martin ES, Schlabach MR, Leng Y, Liang AC, Feng B, Zhao JJ, Roberts TM, Mandel G, Hannon GJ, Depinho RA, Chin L, Elledge SJ (2005) A genetic screen for candidate tumor suppressors identifies REST. *Cell* 121: 837-848
99. Westbrook TF, Hu G, Ang XL, Mulligan P, Pavlova NN, Liang A, Leng Y, Maehr R, Shi Y, Harper JW, Elledge SJ (2008) SCF β -TRCP controls oncogenic transformation and neural differentiation through REST degradation. *Nature* 452: 370-374
100. Guardavaccaro D, Frescas D, Dorrello NV, Peschiaroli A, Multani AS, Cardozo T, Lasorella A, Iavarone A, Chang S, Hernandez E, Pagano M (2008) Control of chromosome stability by the beta-TrCP-REST-Mad2 axis. *Nature* 452: 365-369
101. Lawinger P, Venugopal R, Guo ZS, Immaneni A, Sengupta D, Lu W, Rastelli L, Carneiro AMD, Levin V, Fuller GN, Echelard Y, Majumder S (2000) The neuronal repressor REST/NRSF is an essential regulator in medulloblastoma cells. *Nat Med* 6: 826-831
102. Kamal MM, Sathyan P, Singh SK, Zinn PO, Marisetty AL, Liang S, Gumin J, El-Mesallamy HO, Suki D, Colman H, Fuller GN, Lang FF, Majumder S (2012) REST regulates oncogenic properties of glioblastoma stem cells. *Stem Cells* 30: 405-414
103. Liang J, Tong P, Zhao W, Li Y, Zhang L, Xia Y, Yu Yanbing (2014) The REST gene signature predicts drug sensitivity in neuroblastoma cell lines and is significantly associated with neuroblastoma tumor stage. *Int J Mol Sci* 15: 11220-11233

104. Negrini S, Prada I, D'Alessandro R, Meldolesi J (2013) REST: an oncogene or a tumor suppressor? *Trends Cell Biol* 23: 289-295
105. Blom T, Tynninen O, Puputti M, Halonen M, Paetau A, Haapasalo H, Tanner M, Nupponen NN (2006) Molecular genetic analysis of the REST/NRSF gene in nervous system tumors. *Acta Neuropathol* 112: 483-490
106. Zhang Y, Wang Q, Wang Z, Zhang C, Xu X, Xu J, Ren H, Shao X, Zhen X, Zhang L, Yu Y (2021) Comprehensive Analysis of REST/NRSF Gene in Glioma and Its ceRNA Network Identification. *Front Med (Lausanne)* 8: 739624
107. Ren H, Gao Z, Wu N, Zeng L, Tang X, Chen X, Liu Z, Zhang W, Wang L, Li Z (2015) Expression of REST4 in human gliomas in vivo and influence of pioglitazone on REST in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 463: 504-509
108. Shaik S, Kennis B, Maegawa S, Schadler K, Yang Y, Callegari K, Lulla RR, Goldman S, Nazarian J, Rajaram V, Fangusaro J, Gopalakrishnan V (2018) REST upregulates gremlin to modulate diffuse intrinsic pontine glioma vasculature. *Oncotarget* 9: 5233-5250
109. Conti L, Crisafulli L, Caldera V, Tortoreto M, Brillì E, Conforti P, Zunino F, Magrassi L, Schiffer D, Cattaneo E (2012) REST controls self-renewal and tumorigenic competence of human glioblastoma cells. *PLoS One* 7: e38486
110. Wagoner MP, Roopra A (2012) A REST derived gene signature stratifies glioblastomas into chemotherapy resistant and responsive disease. *BMC Genomics* 13: 686
111. Liang J, Meng Q, Zhao W, Tong P, Li P, Zhao Y, Zhao X, Li H (2016) An expression based REST signature predicts patient survival and therapeutic response for glioblastoma multiforme. *Sci Rep* 6: 34556
112. Waters E, Pucci P, Rahman R, Yatsyshyna AP, Porter H, Hirst M, Gromnicova R, Kraev I, Mongiardini V, Grimaldi B, Golding J, Fillmore HL, Györfy B, Gangadharannambiar P, Velanis CN, Heath CJ, Crea F (2024) REST-dependent glioma progression occurs independently of the repression of the long non-coding RNA H1A1A. *PLoS One* 19: e0312237
113. Zhang P, Lathia JD, Flavahan WA, Rich JN, Mattson MP (2009) Squelching glioblastoma stem cells by targeting REST for proteasomal degradation. *Trends Neurosci* 32: 559-565
114. Tivnan A, Zhao J, Johns TG, Day BW, Stringer BW, Boyd AW, Tiwari S, Giles KM, Teo C, McDonald KL (2014) The tumor suppressor microRNA, miR-124a, is regulated by epigenetic silencing and by the transcriptional factor, REST in glioblastoma. *Tumour Biol* 35: 1459-1465
115. Marisetty AL, Singh SK, Nguyen TN, Coarfa C, Liu B, Majumder S (2017) REST represses miR-124 and miR-203 to regulate distinct oncogenic properties of glioblastoma stem cells. *Neuro Oncol* 19: 514-523
116. Conaco C, Otto S, Han JJ, Mandel G (2006) Reciprocal actions of REST and a microRNA promote neuronal identity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 2422-2427
117. Gebhardt ML, Reuter S, Mrowka R, Andrade-Navarro MA (2014) Similarity in targets with REST points to neural and glioblastoma related miRNAs. *Nucleic Acids Res* 42: 5436-5446
118. Krichevsky AM, Sonntag KC, Isacson O, Kosik KS (2006) Specific microRNAs modulate embryonic stem cell-derived neurogenesis. *Stem Cells* 24: 857-864
119. Makeyev EV, Zhang J, Carrasco MA, Maniatis T (2007) The MicroRNA miR-124 promotes neuronal differentiation by triggering brain-specific alternative pre-mRNA splicing. *Mol Cell* 27: 435-448
120. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, Meyer J, Lendeckel W, Tuschl T (2002) Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Curr Biol* 12: 735-739
121. Fowler A, Thomson D, Giles K, Maleki S, Mreich E, Wheeler H, Ledman P, Biggs M, Cook R, Little N, Robinson B, McDonald K (2011) miR-124a is frequently down-regulated in glioblastoma and is involved in migration and invasion. *Eur J Cancer* 47: 953-963
122. Silber J, Lim DA, Petritsch C, Persson AI, Maunakea AK, Yu M, Vandenberg SR, Ginzinger DG, James CD, Costello JF, Bergers G, Weiss WA, Alvarez-Buylla A, Hodgson JG (2008) miR-124 and miR-137 inhibit proliferation of glioblastoma multiforme cells and induce differentiation of brain tumor stem cells. *BMC Med* 6: 14
123. Xia H, Cheung WKC, Ng SS, Jiang X, Jiang S, Sze J, Leung GKK, Lu G, Chan DTM, Bian XW, Kung HFM, Poon WS, Lin MC (2012) Loss of brain-enriched miR-124 microRNA enhances stem-like traits and invasiveness of glioma cells. *J Biol Chem* 287: 9962-9971
124. Bai Y, Lathia JD, Zhang P, Flavahan W, Rich JN, Mattson MP (2014) Molecular targeting of TRF2 suppresses the growth and tumorigenesis of glioblastoma stem cells. *Glia* 62: 1687-1698
125. Horiuchi M, Itoh T, Pleasure DE, Tomooka Y (2005) Multipotency of FBD-103a, a neural progenitor cell line from the p53-deficient mouse. *Brain Res* 1066: 24-36
126. Pusey MA, Pace K, Fascelli M, Linser PJ, Steindler DA, Galileo DS (2019) Ectopic expression of L1CAM ectodomain alters differentiation and motility, but not proliferation, of human neural progenitor cells. *Int J Dev Neurosci* 78: 49-64
127. Person F, Wilczak W, Hube-Magg C, Burdelski C, Möller-Koop CM, Simon R, Noriega M, Sauter G, Steurer S, Burdak-Rothkamm S, Jacobsen F (2017) Prevalence of β III-tubulin (TUBB3) expression in human normal tissues and cancers. *Tumour Biol* 39: 1010428317712166
128. Şahin S, Işık Gönül İ, Çakır A, Seçkin S, Uluoğlu Ö (2016) Clinicopathological Significance of the Proliferation Markers Ki67, RacGAP1, and Topoisomerase 2 Alpha in Breast Cancer. *Int J Surg Pathol* 24: 607-613
129. Li C, Zou H, Wang Z, Tang X, Fan X, Zhang K, Liu J, Li Z (2018) REST, not REST4, is a risk factor associated with radiotherapy plus chemotherapy efficacy in glioma. *Drug Des Devel Ther* 12: 1363-1371
130. Zhang Y, Dube C, Gibert M Jr, Cruickshanks N, Wang B, Coughlan M, Yang Y, Setiady I, Deveau C, Saoud K, Grello C, Oxford M, Yuan F, Abounader R (2018) The p53 Pathway in Glioblastoma. *Cancers (Basel)* 10: 297
131. Eizenberg O, Faber-Elman A, Gottlieb E, Oren M, Rotter V, Schwartz M (1996) p53 plays a regulatory role in differentiation and apoptosis of central nervous system-associated cells. *Mol Cell Biol* 16: 5178-5185
132. Zhang D, Li Y, Wang R, Shi P, Kan Z, Pang X (2016) Inhibition of REST Suppresses Proliferation and Migration in Glioblastoma Cells. *Int J Mol Sci* 17: 755
133. Hinnebusch AG (2014) The scanning mechanism of eukaryotic translation initiation. *Annu Rev Biochem* 83: 779-812
134. Vermeulen K, Berneman ZN, Van Bockstaele DR (2003) Cell cycle and apoptosis. *Cell Prolif* 36: 165-175
135. Manning BD, Cantley LC (2007) AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell* 129: 1261-1274
136. Komiya Y, Habas R (2008) Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis* 4: 68-75
137. Marisetty AL, Lu L, Veo BL, Liu B, Coarfa C, Kamal MM, Kassem DH, Irshad K, Lu Y, Gumin J, Henry V, Paulucci-Holthauzen A, Rao G, Baladandayuthapani V, Lang FF, Fuller GN, Majumder S (2019) REST-DRD2 mechanism impacts glioblastoma stem cell-mediated tumorigenesis. *Neuro Oncol* 21: 775-785
138. Mao P, Joshi K, Li J, Kim SH, Li P, Santana-Santos L, Luthra S, Chandran UR, Benos PV, Smith L, Wang M, Hu B, Cheng SY, Sobol RW, Nakano I (2013) Mesenchymal glioma stem cells are maintained by activated glycolytic metabolism involving aldehyde dehydrogenase 1A3. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 8644-8649
139. Iwadata Y (2016) Epithelial-mesenchymal transition in glioblastoma progression. *Oncol Lett* 11: 1615-1620
140. Ribatti D, Tamma R, Annese T (2020) Epithelial-Mesenchymal Transition in Cancer: A Historical Overview. *Transl Oncol* 13: 100773
141. Zhu D, Zhao D, Wang N, Cai F, Jiang M, Zheng Z (2023) Current status and prospects of GREM1 research in cancer (Review). *Mol Clin Oncol* 19: 69
142. Vasudevan KM, Garraway LA (2010) AKT signaling in physiology and disease. *Curr Top Microbiol Immunol* 347: 105-133
143. Fuller GN, Su X, Price RE, Cohen ZR, Lang FF, Sawaya R, Majumder S (2005) Many human medulloblastoma tumors overexpress re-

- pressor element-1 silencing transcription (REST)/neuron-restrictive silencer factor, which can be functionally countered by REST-VP16. *Mol Cancer Ther* 4: 343-349
144. Taylor P, Fangusaro J, Rajaram V, Goldman S, Helenowski IB, MacDonald T, Hasselblatt M, Riedemann L, Laureano A, Cooper L, Gopalakrishnan V. (2012) REST is a novel prognostic factor and therapeutic target for medulloblastoma. *Mol Cancer Ther* 11: 1713-1723
 145. Dobson THW, Tao RH, Swaminathan J, Maegawa S, Shaik S, Bravo-Alegria J, Sharma A, Kennis B, Yang Y, Callegari K, Haltom AR, Taylor P, Kogiso M, Qi L, Khatua S, Goldman S, Lulla RR, Fangusaro J, MacDonald TJ, Li XN, Hawkins C, Rajaram V, Gopalakrishnan V. (2019) Transcriptional repressor REST drives lineage stage-specific chromatin compaction at Ptch1 and increases AKT activation in a mouse model of medulloblastoma. *Sci Signal* 12: eaan8680
 146. Callegari K, Maegawa S, Bravo-Alegria J, Gopalakrishnan V (2018) Pharmacological inhibition of LSD1 activity blocks REST-dependent medulloblastoma cell migration. *Cell Commun Signal* 16: 60
 147. Wang J, Wechsler-Reya RJ (2014) The role of stem cells and progenitors in the genesis of medulloblastoma. *Exp Neurol* 260: 69-73
 148. Su X, Gopalakrishnan V, Stearns D, Aldape K, Lang FF, Fuller G, Snyder E, Eberhart CG, Majumder S (2006) Abnormal expression of REST/NRSF and Myc in neural stem/progenitor cells causes cerebellar tumors by blocking neuronal differentiation. *Mol Cell Biol* 26: 1666-1678
 149. Singh A, Cheng D, Swaminathan J, Yang Y, Zheng Y, Gordon N, Gopalakrishnan V (2024) REST-dependent downregulation of von Hippel-Lindau tumor suppressor promotes autophagy in SHH-medulloblastoma. *Sci Rep* 14: 13596
 150. Yi J, Wu J (2018) Epigenetic regulation in medulloblastoma. *Mol Cell Neurosci* 87: 65-76
 151. Zhao X, Dou W, He L, Liang S, Tie J, Liu C, Li T, Lu Y, Mo P, Shi Y, Wu K, Nie Y, Fan D (2013) MicroRNA-7 functions as an anti-metastatic microRNA in gastric cancer by targeting insulin-like growth factor-1 receptor. *Oncogene* 32: 1363-1372
 152. Kamura T, Sato S, Iwai K, Czyzyk-Krzeska M, Conaway RC, Conaway JW (2000) Activation of HIF1alpha ubiquitination by a reconstituted von Hippel-Lindau (VHL) tumor suppressor complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 10430-10435
 153. Wang R, Degirmenci V, Xin H, Li Y, Wang L, Chen J, Hu X, Zhang D (2018) PEI-Coated Fe₃O₄ Nanoparticles Enable Efficient Delivery of Therapeutic siRNA Targeting REST into Glioblastoma Cells. *Int J Mol Sci* 19: 2230
 154. Panina SB, Schweer JV, Zhang Q, Raina G, Hardtke HA, Kim S, Yang W, Siegel D, Zhang YJ (2024) Targeting of REST with rationally-designed small molecule compounds exhibits synergetic therapeutic potential in human glioblastoma cells. *BMC Biol* 22: 83
 155. Mansuer M, Zhou L, Wang C, Gao L, Jiang Y (2024) Erianin induces ferroptosis in GSCs via REST/LRSAM1 mediated SLC40A1 ubiquitination to overcome TMZ resistance. *Cell Death Dis* 15: 522
 156. Alshawli AS, Wurdak H, Wood IC, Ladbury JE (2020) Histone deacetylase inhibitors induce medulloblastoma cell death independent of HDACs recruited in REST repression complexes. *Mol Genet Genomic Med* 8: e1429

REST in central nervous system tumors

Zuzanna Bieńkowska¹, Maciej Ołdak^{2,3}, Marta Maleszewska^{1,✉}

¹Department of Animal Physiology, Institute of Experimental Zoology, Faculty of Biology, University of Warsaw, Warsaw, Poland; ²Laboratory of Sequencing, Nencki Institute of Experimental Biology, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland; ³Doctoral School of Molecular Medicine, Medical University of Lodz, Lodz-Polesie, Poland

✉Corresponding author: marta.maleszewska@uw.edu.pl

Keywords: glioma, medulloblastoma, stem cells, microenvironment, therapeutic target

The transcription factor REST (RE1-silencing transcription factor) is a key regulator of neuronal gene expression, playing a role in normal brain development and in the pathogenesis of central nervous system (CNS) tumors. By binding RE1 sequences and recruiting repressive complexes, it participates in epigenetic gene silencing, controlling the processes of neurogenesis and cellular differentiation. In CNS tumors, REST exhibits context-dependent effects, most often acting as an oncogene. Deregulation of its expression promotes pro-tumor processes, such as maintaining tumor stem cell properties, inhibiting differentiation, proliferation and increased invasiveness, angiogenesis, adaptation to hypoxia, and shaping the tumor microenvironment. Accumulating evidence indicates its potential as a biomarker and therapeutic target, making REST a promising element of treatment strategies for CNS tumors.

