

STRESZCZENIE:

MikroRNA (miRNA) to krótkie, niekodujące, jednoniciowe cząsteczki RNA, które regulują ekspresję genów na poziomie potranskrypcyjnym poprzez wiązanie się do mRNA. MiRNA wpływają na szereg procesów biologicznych takich jak: proliferacja, różnicowanie, angiogeneza, migracja czy apoptoza. Badania udowodniły udział miRNA w rozwoju chorób nowotworowych; od etapu inicjacji do powstawania przerzutów. Szerokie spektrum genów regulowanych przez miRNA w przebiegu choroby nowotworowej pozwoliło na wyróżnienie wśród nich miRNA supresorowych oraz miRNA onkogennych (tzw. onkomirów). Detekcja wybranych miRNA oraz monitorowanie zmian w profilu ich ekspresji mogą pomóc we wczesnym wykrywaniu komórek nowotworowych, a także służyć jako czynnik rokowniczy przebiegu choroby lub leczenia. Zdefiniowanie w komórkach nowotworowych genów docelowych dla „rozregulowanych” miRNA oraz opracowanie metod ich selektywnego wyciszenia jest obiecującą strategią terapeutyczną. W niniejszej pracy omówiona została dotychczasowa wiedza na temat możliwości zastosowania miRNA jako markera diagnostycznego oraz potencjalnego celu w nowoczesnych terapiach przeciwnowotworowych.

WPROWADZENIE

MikroRNA (miRNA) to zachowana w ewolucji grupa niewielkich jednoniciowych cząsteczek RNA biorących udział w regulowaniu ekspresji wielu genów. U człowieka cząsteczka miRNA ma najczęściej długość 22 nukleotydów, choć opisywane są cząsteczki o długości od 19-25 nukleotydów [1]. MiRNA kontrolują procesy biologiczne takie jak: podziały komórkowe, różnicowanie komórek, angiogeneza, migracja, apoptoza czy onkogeneza [2,3,4,5]. Geny kodujące miRNA zlokalizowane są w intronach lub egzonach genów kodujących białka oraz w obszarach międzygenowych, często w regionach o dużej niestabilności. Charakteryzuje je brak możliwości kodowania informacji o białkach. Pierwszy gen kodujący mikroRNA (*lin-4*) - zidentyfikowano u *Caenorhabditis elegans* w 1993 roku. Badacze dowiedli, iż gen *lin-4* pełni istotną funkcję w kontroli postembryonalnych faz rozwojowych *C. elegans*, regulując poziom białka LIN-14 na poszczególnych etapach rozwoju larwalnego. Badania te wykazały, iż transkrypty *lin-4* posiadały od 22 do 61 nukleotydów, nie kodowały białka i, co ciekawe zawierały sekwencje komplementarne do powtarzalnego fragmentu sekwencji w nieulegającym translacji regionie 3' (UTR) mRNA [6]. Odkrycie cząsteczek miRNA, będących endogennymi regulatorami ekspresji genów, zapoczątkowało szereg badań dotyczących ich roli zarówno w warunkach fizjologicznych jak i patologicznych, ze szczególnym uwzględnieniem procesu nowotworzenia.

BIOGENEZA miRNA

Powstawanie miRNA to proces złożony, rozpoczynający się w jądrze komórkowym a kończący w cytoplazmie. Geny kodujące miRNA zlokalizowane w obszarach międzygenowych występują jako pojedyncze (z własnym promotorem) lub jako grupy genów ze wspólnym promotorem. Geny miRNA zlokalizowane w intronach są transkrybowane z wykorzystaniem promotora „genu gospodarza” i podlegają splicingowi [7]. W ścieżce kanonicznej, geny miRNA z własnym promotorem, podobnie jak geny kodujące białka, są transkrybowane przez polimerazę RNA II tworząc pierwotny transkrypt zwany pri-miRNA (ang. *primary miRNA*) [7]. Transkrypt ten zawiera czapeczkę (cap) 7-metyloguanozynową na końcu 5' oraz ogon poli (A) na końcu 3'. W kolejnych etapach cząsteczka pri-miRNA, jest rozpoznawana przez kompleks (tzw. mikroprocesor) złożony z rybonukleazy Drosha (RNaza III) i białka wiążącego RNA, DGCR8 (ang. *DiGeorge syndrome critical region 8*). Następnie pri-miRNA jest przycinany w celu uwolnienia fragmentu o strukturze „spinki do włosów” nazywanym pre-miRNA (ang. *precursor miRNA*), który jest aktywnie transportowany do cytoplazmy przez eksportynę-5, która współpracuje z guanozynotrifosfatą Ran (RanGTP) [8,9]. Kompleks pre-miRNA/Eksportyna5/RanGTP uwalnia pre-miRNA w wyniku

mgr Anna Alwani✉,

dr hab. Monika Baj-Krzyworzeka

Zakład Immunologii Klinicznej, Katedra Immunologii Klinicznej i Transplantologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, ul. Wielicka 265, 30-663 Kraków

https://doi.org/10.18388/pb.2021_390

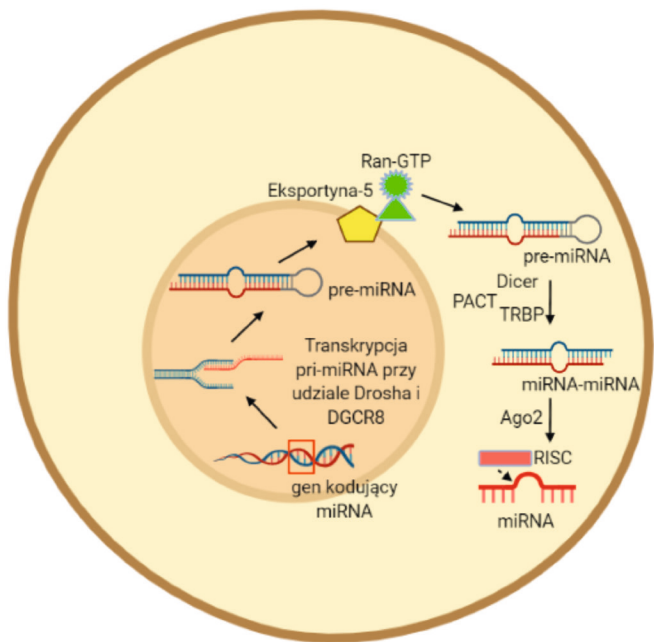
✉ autor korespondujący: monika.baj-krzyworzeka@uj.edu.pl

Słowa kluczowe: mikroRNA, nowotwór, onkomiry, terapia

Wykaz skrótów: amiRNA - antagomiry; ang. *antagomirs*; AMOs - oligonukleotydy anty-miRNA; ang. *anti-miRNA oligonucleotides*; CAGRs - regiony genomowe związane z nowotworem ang. *cancer associated genomic regions*; DGCR8 - białko wiążące RNA; podjednostka kompleksu mikroprocesora, ang. *DiGeorge syndrome critical region 8*; Ldbr RNA- enzym usuwający rozgałęzienia RNA; ang. *lariat debranching enzyme*; LNA - tzw. usztywnione kwasy nukleinowe (oligonukleotydy posiadające dodatkowe wiązanie w reszcie cukrowej pomiędzy tlenem 2', a węglem 4'), ang. *locked-nucleic-acid*; miRNA - mikroRNA; MREs - miejsca odpowiedzi na miRNA; ang. *miRNA response elements*; MTg-AMOs - antysensowne oligodeoksyrybonukleotydy; ang. *multiple-target anti-miRNA antisense oligodeoxyribonucleotides*; PACT - białkowy aktywator kinazy białkowej indukowanej RNA, ang. *protein activator of protein kinase R*; pre-miRNA - prekursorowe miRNA; ang. *precursor miRNA*; pri-miRNA - pierwotny transkrypt miRNA; ang. *primary miRNA*; RISC - kompleks wyciszający; ang. *RNA induced silencing complex*; TRBP - białko wiążące struktury TAR RNA HIV - 1; ang. *HIV-1 transactivating response RNA - binding protein*; UTR- region nie podlegający translacji; ang. *untranslated regions*

Informacja o finansowaniu - projekt NCN 2019/33/B/NZ5/00647

Ryc. 1 i Ryc. 2 zostały wykonane przy użyciu programu BioRender.



Rycina 1. Biogeneza miRNA (ścieżka kanoniczna).

hydrolizy RanGTP do RanGDP; reakcji katalizowanej przez GTPazę, RanGAP [10]. Energia uzyskana w wyniku hydrolizy GTP umożliwia transport pre-miRNA do cytoplazmy. Pre-miRNA jest następnie przetwarzane w cytoplazmie przy udziale endonukleazy Dicer (RNAzy III) w wyniku czego dochodzi do powstania dupleksu komplementarnych cząsteczek miRNA o długości około 22 nukleotydów. Po odcięciu pętli, z cząsteczki prekursorowej pre-miRNA mogą powstać dwie cząsteczki miRNA-X, gdzie X oznacza numer identyfikacyjny miRNA. Stosowane nazewnictwo wskazuje na ramię (nić) pre-miRNA, z którego powstała cząsteczka miRNA, i tak miR-X-3p oznacza cząsteczkę powstającą z ramienia 3', a miR-X-5p z ramienia 5' pre-miRNA [11]. W rzadkich przypadkach, gdy jedna nić jest wiodąca (tzn. taka z której zdecydowanie częściej powstaje miRNA) oznacza się ją jako miR-X. Druga nić, nazywana pasażerską (miR-X*), w większości przypadków ulega degradacji [9]. Enzym Dicer jest wspomagany przez dwa białka o podobnej strukturze TRBP (ang. *HIV-1 transactivating response RNA-binding protein*) oraz PACT (ang. *protein activator of protein kinase R*), które go stabilizują i ułatwiają przekazanie dupleksu miRNA do białka Argonaute (Ago) [12]. Następnie dwuniciowa cząsteczka miRNA włączana jest do kompleksu RISC (ang. *RNA induced silencing complex*). RISC rozpoznaje nić wiodącą, która staje się dojrzałym miRNA (Ryc. 1).

Ścieżka niekanoniczna powstawania miRNA, w przeciwieństwie do kanonicznej, nie wymaga obecności kompleksu Drosha i DGCR8 do wytworzenia pre-miRNA [13]. Jednym z przykładów tworzenia miRNA drogą niekanoniczną są mirtrony, których geny są zlokalizowane w intronach. Powstawanie pre-miRNA mirtronów jest związane z wycinaniem intronów (splicing), a oddzielane od mRNA przy udziale enzymu Ldbr (ang. *lariat debranching enzyme*). Kolejno, powstała struktura eksportowana jest do cytoplazmy przez eksportynę-5, a następnie rozpoznawana i cięta przez kompleks Dicer w rezultacie formując postać dojrza-

łego miRNA [13, 14]. Ciekawym przykładem miRNA, które może powstawać zarówno na drodze kanonicznej jak i niekanonicznej jest miR-451 [15].

MECHANIZMY REGULACJI POTRANSKRYPCYJNEJ PRZEZ miRNA

Dojrzałe cząsteczki miRNA włączone do efektorowego kompleksu RISC (miRISC, ang. *RISC with incorporated miRNA*) są zdolne do przyłączania się do docelowego mRNA. W dojrzałej cząsteczce miRNA, na końcu 5' znajduje się konserwatywna sekwencja o długości 7 nukleotydów (najczęściej pomiędzy nukleotydem 2 i 8 licząc od końca 5' miRNA) nazywana regionem „seed” (ang. *seed region*). Połączenie regionu „seed” cząsteczki miRNA i tzw. miejsca odpowiedzi na miRNA (ang. *miRNA response elements, MREs*) zlokalizowanego w obrębie 3'(UTR) docelowego mRNA prowadzi do degradacji transkrypcji lub zahamowania translacji [16]. Pełna komplementarność cząsteczki miRNA z MRE, niezwykle rzadka w komórkach zwierzęcych (a dominująca u roślin), prowadzi do endonukleolitycznej degradacji transkrypcji przez Ago2, białka należącego do rodziny białek Argonaute [12]. Degradacja mRNA może zachodzić od końca 3' do 5' (dzięki aktywności katalitycznego kompleksu egzozomu) lub od końca 5' do 3' (katalizowana przez egzozonukleazę Xrn1p) [12]. Efektem jest obniżenie poziomu konkretnego, degradowanego transkrypcji oraz syntezy białka, które koduje.

Większość interakcji miRNA-MRE występujących w komórkach zwierzęcych zachodzi przy niepełnej komplementarności ich sekwencji (np. występuje niepełna komplementarność w obrębie regionu „seed” i kompensacyjna komplementarność poza tym regionem). Brak pełnej komplementarności miRNA-MRE uniemożliwia endonukleolityczną aktywację Ago, ale nie wpływa na zdolność do hamowania translacji (przy współdziałaniu białka GW182). Zahamowanie translacji może zajść na etapie inicjacji lub elongacji. Związanie miRISC z docelowym transkrypcji uniemożliwia bowiem przyłączenie się czynnika inicjacji transkrypcji (eIF4e) do czapeczki 5', co w konsekwencji powoduje zależną od RISC deadenylację ogona poli(A) transkrypcji. Innym opisanym mechanizmem represji translacji przez miRNA jest uniemożliwienie łączenia się podjednostek rybosomu na docelowym mRNA, dotyczy to przyłączenia podjednostki 60S do obecnej na transkrypcji podjednostki 40S [17]. Związanie kompleksu miRISC uniemożliwia również cyrkularyzację mRNA, co skutkuje obniżeniem wydajności translacji. MiRNA pośrednio wpływa na przedwczesne oddysocjowanie rybosomu, co może powodować gromadzenie transkrypcji w ciałkach P (ang. *P-bodies*). W przypadku sekwestracji transkrypcji w ciałkach P zazwyczaj nie obserwuje się obniżenia poziomu transkrypcji w komórce [17]. Należy nadmienić, że w wyjątkowych przypadkach związanie miRNA może prowadzić do aktywacji translacji docelowego transkrypcji [18].

ROLA miRNA W ONKOGENEZIE

MiRNA regulują ekspresję około 60% genów człowieka [15,19]. Co ciekawe, jedna cząsteczka miRNA (u człowieka do 2019 roku opisano ok. 2300 różnych miRNA [20]) może

Tabela 1. Przykładowe supresorowe miRNA [29,30].

| miRNA | nowotwór | mRNA podlegające regulacji |
|------------|----------------------------------|---|
| miR-340 | wątroby, piersi | ROCK1, MET |
| let-7a | piersi, płuc | KRAS, EGFR, HMGA2, MYC |
| miR-145 | prostaty, trzustki, pęcherza | ROCK1, STAT3, FOXO1 |
| miR-29b | piersi, płuc | ADAM12-L |
| miR-34a | prostaty | SIRT1, Notch, |
| miR-495 | prostaty, piersi | Act, m-TOR, JAM-A, |
| miR-29b | piersi, żołądka | Akt3 i KDM2A |
| miR-15a-16 | jajnika, prostaty, piersi, NSCLC | Bmi-1, CCDN1, BCL2, WNT3A, CCNE1, Synuclein-Y, Cripto |

przyłączać się do wielu docelowych mRNA. Z kolei jedna cząsteczka mRNA może być zahamowana przez różne miRNA. Skutek oddziaływania z docelowymi cząsteczkami mRNA zależy od komplementarności wiązania oraz poziomu ekspresji miRNA lub mRNA [19]. Wykazano, że zaburzenia ekspresji miRNA jakościowe (np. brak ekspresji konkretnego miRNA lub ekspresja miRNA do tej pory nieobecnego w tej tkance) lub ilościowe (wzrost lub obniżenie ekspresji wybranych miRNA) występują w przebiegu licznych chorób, w tym nowotworów [21].

U podłoża zaburzeń ekspresji miRNA w komórkach nowotworowych leży często lokalizacja kodujących je genów. Nierzadko są one umiejscowione w regionach niestabilnych genetycznie, miejscach kruchych lub związanych z rozwojem nowotworu (ang. *cancer associated genomic regions, CAGRs*), co często powoduje ich delecję, skutkującą brakiem ekspresji miRNA. Przez wiele lat sądzono, że ekspresja miRNA w komórkach nowotworowych jest przede wszystkim obniżona. Dopiero porównanie profilu miRNA tkanek prawidłowych i zmienionych nowotworowo wykazało znaczną nadekspresję niektórych miRNA [22].

W zależności od funkcji jaką pełnią miRNA w rozwoju nowotworów klasyfikuje się je jako: miRNA supresorowe (hamujące ekspresję onkogenów lub genów indukujących apoptozę) oraz miRNA onkogenne (aktywujące onkogenezę lub hamujące ekspresję genów supresorowych) [23]. Należy podkreślić, że klasyfikacja ta jest znacznym uproszczeniem, gdyż w przypadku wielu miRNA (np. miR-155, miR-125b) skutek ich aktywności zależy od sumarycznej aktywności regulowanych genów [23].

Obniżona ekspresja lub brak ekspresji miRNA supresorowych powoduje zwiększoną ekspresję genów ważnych dla progresji nowotworu; w tym białek antyapoptotycznych czy czynników transkrypcyjnych. W 2017 roku po raz pierwszy opisano obniżoną ekspresję cząsteczek miR-15 i miR-16 w komórkach przewlekłej białaczki limfocytowej (CCL), co prowadziło do zahamowania procesu apoptozy (miR-15 i miR-16 regulują ekspresję antyapoptotycznego BCL-2), a tym samym przyczyniało się do niekontrolowanej proliferacji komórek białaczkowych [23]. Obniżona ekspresja cząsteczki miR-146a regulującej ekspresję czynnika transkrypcyjnego NFκB w komórkach raka żołądka koreluje ze wzrostem guzów [23]. W modelu *in vitro* raka jelita grubego wykazano spadek ekspresji miR-143, którego genem docelowym jest m.in. onkogen Raf1 [24]. Istotną rolę

Tabela 2. Przykładowe onkogenne miRNA [29,30].

| miRNA | nowotwór | mRNA podlegające regulacji |
|-------------|--|--|
| miR-21 | piersi, płuc, jelita grubego, trzustki, żołądka, wątroby | PTEN, PDCD4, RECK, TPM1, Bcl-2 |
| miR-17-92 | jelita grubego, żołądka, płuc | MYCN, ATM, FXR, EGR2, MXD1, PIAS3, SOCS6, HIF-1a |
| miR-106b/93 | piersi | PTEN (PI3K/ Akt), Rbl2 |
| miR-182 | płuc | Rsu1, Mtss1, Pai1, Timp1 |
| miR-130a | żołądka | CRMP4 |
| miR-335 | jajnika | Rb1, Bcl-w |
| miR-155 | jelita grubego, piersi, trzustki | RAD51, VHL, SOCS1 |
| miR-221/222 | żołądka, prostaty, | p27, PTEN |
| miR-10b | piersi, pęcherza, trzustki, płuc | HOXD10, KLF4, TIP30, E-cadherin |

w regulacji ekspresji miRNA supresorowych w komórkach nowotworowych odgrywa proces metylacji DNA [25] np. hipermetylacja promotorów miRNA (let-7, miR-34, miR-342, miR345, miR-9, miR-129, miR-137) prowadzi do redukcji ich ekspresji i rozwoju raka jelita grubego. Obniżona ekspresja miR-143 w komórkach raka jelita grubego powoduje wzrost aktywność DNA metylotransferazy 3A (DNMT3A) i zwiększoną proliferację komórek nowotworowych [26]. Warto podkreślić, że ekspresja miRNA z jednej strony jest zależna od metylacji DNA, a z drugiej, może wpływać na aktywności regulatorów epigenetycznych takich jak metylotransferazy DNA czy deacetylazy histonowe. Powyżej przedstawiono przykłady miRNA supresorowych wraz z potencjalnymi genami docelowymi (Tab. 1).

W komórkach raka jelita grubego częściej obserwuje się zwiększoną ekspresję wybranych miRNA, co oznacza, że częściej mają one charakter onkogeny [27]. Zwiększona ekspresja miRNA może wynikać z amplifikacji genów kodujących miRNA, ale także ze sprawniejszej biogenezy, konstytutywnej aktywności ich promotorów, czy większej stabilności cząsteczek miRNA [21]. Zwiększona ekspresja miRNA prowadzi do represji licznych genów o działaniu supresorowym. Przykładem jest „oncomiR-1” czyli klaster 6 miRNA (miR-17-92; miR-17, miR-18, miR-19a, miR-20, miR-19b, oraz miR-92), który hamuje ekspresję genu supresorowego Rbl2 [23]. Onkogenne miRNA np. miR-24, miR-31, miR-21 zwiększają potencjał proliferacyjny komórek poprzez wyciszenie inhibitorów CDK (cyclin dependent kinases) [23,28]. W tabeli 2 przedstawiono przykłady onkogennych miRNA oraz regulowanych przez nie genów.

ZASTOSOWANIE mikroRNA W DIAGNOSTYCE NOWOTWORÓW

MiRNA są postrzegane jako potencjalne markery chorób nowotworowych. Po pierwsze, cząsteczki miRNA są łatwo dostępne do badania gdyż są obecne we wszystkich płynach ustrojowych. Po drugie, duża stabilność biologiczna miRNA ułatwia ich detekcję. Po trzecie, miRNA regulują wszystkie etapy rozwoju nowotworu, a w wielu przypadkach wykazują ekspresję tkankowo specyficzną. Szczeg-

Tabela 3. Wykaz miRNA rozważanych jako markery chorób nowotworowych

| miRNA | nowotwór | referencje |
|--------------------------|--|---------------|
| miR-92, miR-21, miR-106a | jelita grubego | [31] |
| miR-21 | płuc, piersi, trzustki, języka, żołądka itp. | [32,35,42,43] |
| miR-183, miR-182, miR-96 | płuc | [44] |
| miR-210 | piersi | [45] |
| miR-410, miR-645 | jajnika | [46] |
| miR-141, miR-375 | prostaty | [47] |

gólnie istotne klinicznie wydaje się zastosowanie miRNA jako biomarkerów prognostycznych oraz predykcyjnych w trakcie leczenia. Przykładowo, podwyższona ekspresja miR-21 (krążącego we krwi) ma silny związek z predyspozycją do rozwoju raka jelita grubego [31], płuc [32,33], piersi [34] czy trzustki [35]. Ekspresja miRNA w chemioopornych komórkach nowotworu może różnić się od ekspresji w komórkach, które wykazują wrażliwość na chemioterapię [36] np. w przypadku raka jelita grubego wzrost ekspresji miR-21 koreluje z opornością na terapię fluorouracylem poprzez obniżenie ekspresji białka naprawczego MSH2 [37]. W badaniach *in vitro* wykazano, iż podwyższona ekspresja miR-140, miR-215, miR-224, miR20a sprzyja rozwojowi chemiooporności na fluorouracyl, metotreksat, oksaliplatynę czy tenipozyd w komórkach raka jelita grubego [38-41]. W tabeli 3 zestawiono dotychczas opisane miRNA rozważane jako biomarkery nowotworowe.

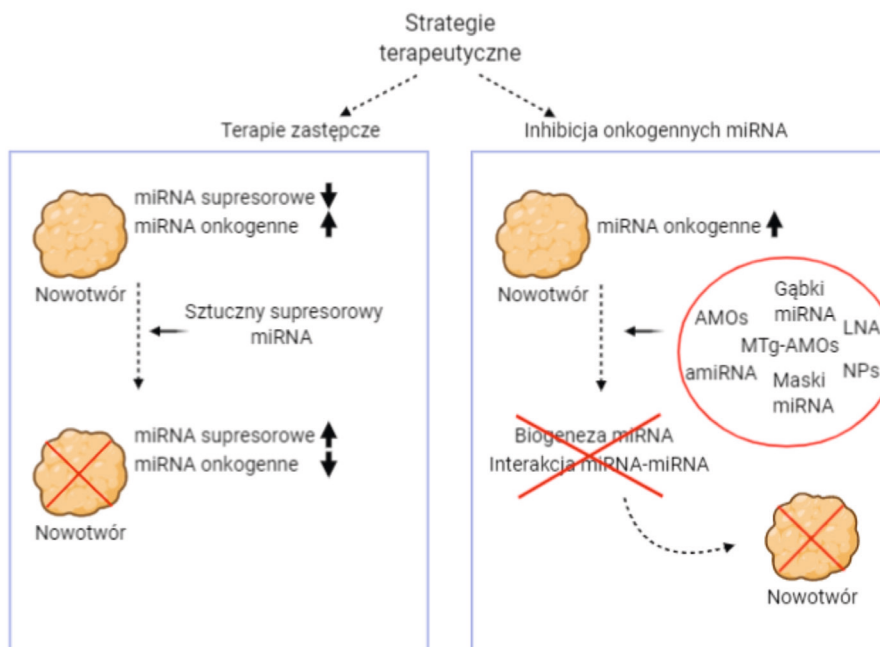
Do tej pory opracowano dwa testy wspierające diagnostykę chorób nowotworowych w oparciu o profil miRNA. Jednym z nich jest test ThyraMIR, który poprzez ocenę ekspresji 10 różnych miRNA (miR-223-3p, miR-146b-5p, miR-146b, miR-375, miR-31-5p, miR-551b, miR-155-5p, miR-204-

5p, miR-138-1-3p, miR-29b-1-5p) pozwala na rozróżnienie typu raka tarczycy [48]. Innym przykładem jest predykcyjny test diagnostyczny (z certyfikatem IVD) miRpredX-31-3p stosowany u pacjentów z rakiem jelita grubego bez mutacji w genie K-RAS. Ocena ekspresji miR-31-3p wykonywana jest w skrawkach histopatologicznych z guzów jelita grubego. Niska ekspresja miR-31-3p prognozuje większą skuteczność kliniczną stosowania terapii anty-EGFR vs tradycyjnej chemioterapii. [49].

TERAPIA PRZECIWNOWOTWOROWA Z WYKORZYSTANIEM miRNA

Nowe strategie leczenia nowotworów coraz częściej biorą pod uwagę terapię z wykorzystaniem miRNA, które są szansą na przywrócenie prawidłowej ekspresji miRNA i genów przez nie regulowanych.

Opracowano dwie strategie terapeutyczne wykorzystujące miRNA, które potencjalnie umożliwiają zahamowanie rozwoju nowotworu. Pierwsza opiera się o wykorzystanie tzw. "terapii zastępczych", natomiast druga związana jest z hamowaniem onkogennych miRNA [50,51] (Ryc. 2). "Terapie zastępcze" polegają na przywróceniu ekspresji miRNA supresorowych, których ekspresja w komórkach nowotworowych jest zahamowana [52,53]. W tym przypadku sztucznie syntetyzowane cząsteczki miRNA supresorowych powinny prowadzić do zahamowania ekspresji genów sprzyjających rozwojowi nowotworów (onkogenów) [54]. Strategia importu egzogennych miRNA może odgrywać rolę w leczeniu nowotworów na drodze hamowania proliferacji lub indukcji apoptozy komórek nowotworowych (Ryc.2) [55,56]. Przykładem terapii zastępczej jest przywrócenie ekspresji miR-34a w przypadku różnych typów nowotworów (np. płuc, jelita grubego, trzustki), co prowadziło do zahamowania rozwoju guza oraz indukowanie programowanej śmierci



Rycina 2. Schematyczne zestawienie strategii przeciwnowotworowych wykorzystujących miRNA.

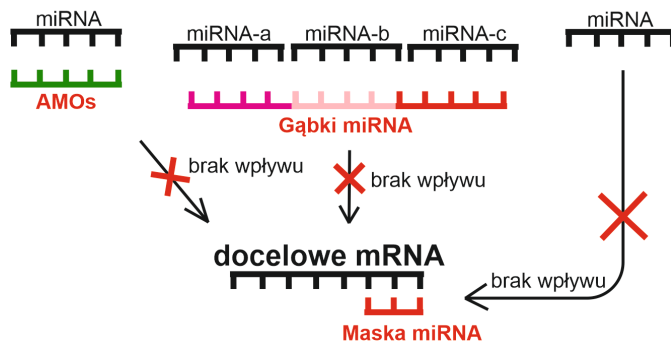
ci komórek poprzez regulację Notch 1, HMGA2 czy Bcl-2 [57].

Wartym przytoczenia jest przykład zastosowania syntetycznej cząsteczki miRNA let-7a w leczeniu nowotworu krtani. Wprowadzenie let-7a do komórek nowotworowych przywróciło prawidłową regulację ekspresji RAS i c-MYC i ograniczyło proliferację komórek nowotworowych [58]. Podobny wynik zastosowania sztucznych miRNA z rodziny let-7 zaobserwowano w przypadku raka wątrobowo-komórkowego, gdzie zahamowana została proliferacja i migracja komórek nowotworowych [59]. Również w przypadku raka jelita grubego syntetyk miRNA let-7 przyczyniał się do zwiększenia apoptozy komórek rakowych [60]. Równoczesna nadekspresja wprowadzonych cząsteczek let-7 i miR-34a hamowała progresję nowotworu płuc [61]. Co więcej, wprowadzenie cząsteczek miR-29b do komórek raka piersi lub żołądka, pozwalało na zredukowanie wzrostu nowotworu w warunkach *in vitro* i *in vivo* (model myszy), poprzez wpływanie na szlaki Akt3 i KDM2A [62,63]. Wprowadzenie miR-34a do komórek raka piersi przywraca prawidłową ekspresję białka supresorowego p53 poprzez regulację funkcji czynnika transkrypcyjnego Fra-1 [64]. Innym przykładem są cząsteczki: miR-15a i miR-16-1, których dysregulacja umożliwia rozwój nowotworów prostaty i trzustki poprzez wpływanie na szlaki sygnałowe związane z CCND1 (cyklina D1), WNT3A i BCL2. WNT3A należy do szlaku Wnt/beta-kateninowego, który odpowiedzialny jest za adhezję komórek i promowanie ekspresji onkogenów takich jak c-Myc i CCND1. BCL-2 jest odpowiedzialny za zahamowanie apoptozy. Reekspresja, czyli przywrócenie prawidłowej ekspresji miR-15a doprowadziła do zmniejszenia żywotności komórek nowotworowych w badaniach *in vitro*. [65].

Hamowanie działania onkogennych miRNA polega na wprowadzeniu do komórek nowotworowych cząsteczek naśladujących miRNA. Wykorzystywane są różne warianty cząsteczek hamujących takie jak np: oligonukleotydy anti-miRNA (ang. *anti-miRNA oligonucleotides*; AMOs, [66]), antysensowne oligonukleotydy wykorzystujące „uszywnione” kwasy nukleinowe (ang. *locked-nucleic-acid antisense oligonucleotides*; LNA; [67]), gąbki miRNA (ang. *miRNA sponges*; [68]), maski miRNA (ang. *miRNA masks*), antagomiry (ang. *antagomirs*; amiRNA) oraz antysensowne oligodeoksyrybonukleotydy (ang. *multiple-target anti-miRNA antisense oligodeoxyribonucleotides*; MTg-AMOs; [69]), które hamują biogenezę miRNA lub interakcje miRNA onkogenego z mRNA docelowym.

Przykładowo, syntetyczna cząsteczka miRNA (AMOs/amiRNA) w postaci oligonukleotydu RNA o długości 21-23 nukleotydów dopasowuje się komplementarnie (jako antysens) do docelowego miRNA, przez co zahamowuje biogenezę miRNA onkogenego lub uniemożliwia jego wiązanie do mRNA [70]. AMOs/amiRNA powodują powstawanie dupleksów miRNA lub degradację miRNA. W technologii LNA, prowadzącej również do degradacji docelowych miRNA stosuje się zmodyfikowane oligonukleotydy, w których pierścien rybozy jest „zablokowany” przez mostek metylenowy łączący atom 2'-O i atom 4'-C. Wprowadzona modyfikacja powoduje uszywnienie rybozy w konformacji

Przykłady inhibicji onkogennych miRNA



Rycina 3. Schematyczne zestawienie przykładowych strategii inhibicji onkogennych miRNA.

C3' endo co znacząco poprawia trwałość powstających heterodupleksów [71,72]. Strategia MTg-AMOs wykorzystuje równocześnie kilka rodzajów syntetycznych cząsteczek miRNA do zahamowania ekspresji różnych miRNA jednocześnie. W modelu *in vitro* raka żołądka zastosowano MTg-AMOs, które hamowały ekspresję miR-21, miR-106a i miR-221, co skutkowało zahamowaniem proliferacji i migracji komórek nowotworowych [73; Ryc. 3].

Gąbki miRNA (ang. *miRNA sponges*) to transkrypty zawierające miejsca naśladujące sekwencje znajdujące się w mRNA komplementarnym do docelowego miRNA. Zastosowanie gąbek miRNA umożliwia redukcję liczby wolnych miRNA (jednego lub wielu rodzajów) poprzez ich związanie do gąbki. Prowadzi to do zwiększenia ekspresji mRNA hamowanych przez „zatrzymane” miRNA. Przykładowo inhibicja miR-9 (która w przypadku raka piersi charakteryzuje się nadekspresją), poprzez wykorzystanie gąbek miRNA (naśladujących mRNA dla kadheryny-1) spowodowała ograniczenie przerzutowania [73,74; Ryc.3.]. Funkcjonalne działanie masek miRNA opiera się z kolei o inhibicję interakcji cząsteczki miRNA ze specyficznym mRNA poprzez kompetycyjne wiązanie wprowadzanego sztucznego miRNA do końca 3' mRNA. Związanie sztucznego miRNA prowadzi do zahamowania ekspresji mRNA [75; Ryc.3.].

Ograniczeniem możliwości wykorzystania terapeutycznego cząsteczek miRNA jest brak skutecznych metod dostarczania syntetycznych miRNA np. do środowiska guza. Chemicznie syntetyzowane miRNA mogą być wprowadzane do komórek nowotworowych poprzez różne typy transporterów np.: liposomy, nanonośniki, przy pomocy odczynników wspomagających transfekcję lub poprzez elektroporację [76,77]. W celu opracowania skutecznego sposobu dostarczania syntetycznych wariantów miRNA należy skupić się na tym, aby były one chronione przed wczesną degradacją w krwiobiegu, docierały bezpośrednio do komórek docelowych i nie wywoływały odpowiedzi immunologicznej [78,79]. Chemiczna modyfikacja oligonukleotydów miRNA prowadzi do zwiększonej stabilności takich cząsteczek i zapobiega ich degradacji przez nukleazy w krążeniu. Przykładowo, dodanie grupy metylowej lub metoksyetylowej do grupy 2'-OH (w rybozy) lub zamiana

grupy 2'-OH na atom fluoru w resztach rybozy prowadzi do zwiększenia stabilności i powinowactwa wiązania anty-miR do docelowego miRNA, co wydłuża czas działania w narządach takich jak wątroba, płuca czy nerki [80].

Wyróżnia się tzw. lokalne oraz ogólnoustrojowe dostarczanie syntetycznych miRNA. Lokalny transport miRNA polegający na podaniu cząsteczek miRNA do guza może skutkować supresją genów docelowych przy zachowaniu obniżonej toksyczności. Metoda ta jest bardziej skuteczna w porównaniu do dostarczania syntetycznych miRNA drogą ogólnoustrojową. Jednak miejscowy transport miRNA ogranicza się do łatwo dostępnych nowotworów litych takich jak np. rak piersi czy szyjki macicy. Miejscowe zastosowanie syntetycznego miR-145, wywoływało efekt przeciwnowotworowy również w mysich modelach raka okrężnicy [81]. Próby polegające na dostarczaniu syntetycznego let-7 (let-7g) z użyciem polimerowego nośnika w mysim modelu raka płuc spowodowały redukcję guza płuc o 60–70% [82]. Badania pokazały, iż obie drogi dostarczania (dożylna i bezpośrednio do guza) syntetycznych wariantów miRNA (let-7a) prowadziło do zmniejszenia wielkości guza w mysim modelu niedrobnokomórkowego raka płuca [82]. Innym przykładem testowanych metod jest podawanie donosowo wektora lentiwirusowego z ekspresją let-7a w modelu ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuca, co skutkowało zahamowaniem wzrostu guzów płuc zależnych od KRAS.

Wszystkie przedstawione wyżej strategie dają nadzieję na skuteczniejszą walkę z nowotworami, jednakże warto zwrócić uwagę na wiążące się z nimi wątpliwości. Po pierwsze, badanie jednej, wybranej cząsteczki miRNA jest w większości przypadków niewystarczające, gdyż zmiany zachodzące w komórkach nowotworowych są zależne od ekspresji różnych miRNA o plejotropowym działaniu. Po drugie, dostarczanie *in vivo* sztucznych miRNA stanowi wyzwanie i nie zaproponowano do tej pory jednej, skutecznej metody ich transportu do tkanki docelowej (specyficzna droga dostarczania) [83]. Po trzecie wątpliwości budzi zastosowanie nośników syntetycznych miRNA, ze względu na możliwość ich degradacji w krwi i potencjalną toksyczność [84, 85, 86] oraz trwałość skutków terapii.

PIŚMIENNICTWO

- Lee LW, Zhang S, Etheridge A, Ma L, Martin D, Galas D, Wang K (2010) Complexity of the microRNA repertoire revealed by next-generation sequencing. *RNA* 16(11): 2170-2180
- Herranz H, Cohen SM (2010) MicroRNAs and gene regulatory networks: managing the impact of noise in biological systems. *Genes Dev* 24(13): 1339-1344
- Liu F, Bruce JP, Hui AB, Shi W, Perez-Ordóñez B i inni (2015) Identification of a microRNA signature associated with risk of distant metastasis in nasopharyngeal carcinoma. *Radiother Oncol* 115: 190
- Esquela-Kerscher A, Slack FJ (2006) Oncomirs – microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 6(4): 259-269
- Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA (2007) MicroRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol* 302(1): 1-12
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V (1993) The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 75(5): 843-854
- Czech B, Hannon GJ (2011) Small RNA sorting: matchmaking for Argonautes. *Nat Rev Genet* 12: 19-31
- Bartel DP (2004) MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 116(2): 281-297
- Lin S, Gregory RI (2015) MicroRNA biogenesis pathway in cancer. *Nat Rev Cancer* 15: 321-333
- Wang X, Xu X, Ma Z, Huo Y, Xiao Z, Li Y, Wang Y (2011) Dynamic mechanisms for pre-miRNA binding and export by Exportin-5. *RNA* 17(8): 1511-1528
- Ambros V (2003) A uniform system for microRNA annotation. *RNA* 9(3): 277-279
- MacFarlane LA, Murphy PR (2010) MicroRNA: Biogenesis, Function and Role in Cancer. *Curr Gen* 11(7): 537-561
- Ruby JG, Jan CH, Bartel DP (2007) Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. *Nature* 448(7149): 83-6
- Okamura K, Hagen JW, Duan H, Tyler DM, Lai EC (2007) The mirtron pathway generates microRNA-class regulatory RNAs in *Drosophila*. *Cell* 130(1): 89-100
- Pan X, Wang R, Wang ZX (2013) The Potential Role of miR-451 in Cancer Diagnosis, Prognosis and Therapy. *Mol Cancer Ther* 12(7): 1153-1162
- Iorio MV, Croce CM (2012) Causes and consequences of microRNA dysregulation. *Cancer J* 18(3): 215-222
- Wahid F, Shehzad A, Khan T, Kim YY (2010) MicroRNAs: Synthesis, mechanism, function, and recent clinical trials. *BBA – Mol Cell Res* 1803(11): 1231-1243
- Vasudevan S, Steitz JA (2007) AU-Rich-Element-Mediated Upregulation of Translation by FXR1 and Argonaute 2. *Cell* 128(6): 1105-1118
- Bartel DP (2009) MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 136(2): 215-233
- Alles J, Fehlmann T, Fischer U, Backes C, Galata V, Minet M i inni (2019) An estimate of the total number of true human miRNAs. *Nucleic Acids Res* 47(7): 3353-3364
- Budzyński M, Grenda A, Filip AA (2014) Cząsteczki mikroRNA jako istotny składnik mechanizmów regulacji ekspresji genów związanych z nowotworami. *J Oncol* 64(1): 48-60
- Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A i inni (2006) A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci* 103: 2257-2261
- Chen Y, Fu LL, Wen X, Liu B, Huang J i inni (2014) Oncogenic and tumor suppressive roles of microRNAs in apoptosis and autophagy. *Apoptosis* 19(8): 1177-1189
- Michael MZ, O' Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ (2003) Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res* 1(12): 882-891
- Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J i inni (2005) MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 435(7043): 834-838
- Ng EK, Tsang WP, Ng SS, Jin HC, Yu J i inni (2009) MicroRNA-143 targets DNA methyltransferases 3A in colorectal cancer. *Br J Cancer* 101(4): 699-706
- Luo X, Burwinkel B, Tao S, Brenner H (2011) MicroRNA signatures: novel biomarker for colorectal cancer? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 20(7): 1272-6
- Frixa T, Donzelli S, Blandino G (2015) Oncogenic MicroRNAs: Key Players in Malignant Transformation. *Cancers* 7(4): 2466-2485
- Mollaei H, Safaralizadeh R, Rostami Z (2019) MicroRNA replacement therapy in cancer. *J Cell Physiol* 234(8): 12369-12384
- Tessitore A, Ciccirelli G, Mastroiaco V, Del Vecchio F, Capece D i inni (2016) Therapeutic Use of MicroRNAs in Cancer. *Anticancer Agents Med Chem* 16: 7-19
- Schetter AJ, Okayama H, Harris CC (2012) The role of microRNAs in colorectal cancer. *Cancer J* 18(3): 244-252
- Markou A, Tsaroucha EG, Kaklamanis L, Fotinou M, Georgoulas V, Lianidou ES (2008) Prognostic value of mature microRNA-21 and microRNA-205 overexpression in non-small cell lung cancer by quantitative real-time RT-PCR. *Clin Chem* 54(10): 1696-1704

33. Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, Seike M, Kumamoto K i inni (2006) Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell* 9(3): 189-198
34. Yan LX, Huang XF, Shao Q, Huang MY, Deng L i inni (2008) MicroRNA miR-21 overexpression in human breast cancer is associated with advanced clinical stage, lymph node metastasis and patient poor prognosis. *RNA* 14(11): 2348-1360
35. Dillhoff M, Liu J, Frankel W, Croce C, Bloomston M (2008) MicroRNA-21 is overexpressed in pancreatic cancer and a potential predictor of survival. *J Gastrointest Surg* 12(12): 2171-2176
36. Ma J, Dong C, Ji C (2010) MicroRNA and drug resistance. *Cancer Gene Ther* 17: 523-531
37. Valeri N, Gasparini P, Braconi C, Paone A, Lovat F i inni (2010) MicroRNA-21 induces resistance to 5-fluorouracil by down-regulating human DNA MutS homolog 2 (hMSH2). *Proc Natl Acad Sci* 107(49): 21098-21103
38. Song B, Wang Y, Xi Y, Kudo K, Bruheim S i inni (2009) Mechanism of chemoresistance mediated by miR-140 in human osteosarcoma and colon cancer cells. *Oncogene* 28(46): 4065-4074
39. Song B, Wang Y, Titmus MA, Botchkina G, Formentini A i inni (2010) Molecular mechanism of chemoresistance by miR-215 in osteosarcoma and colon cancer cells. *Mol Cancer* 9: 96
40. Mencia N, Selga E, Noé V, Ciudad CJ (2011) Underexpression of miR-224 in methotrexate resistant human colon cancer cells. *Biochem Pharmacol* 82(11): 1572-1582
41. Chai H, Liu M, Tian R, Li X, Tang H (2011) MiR-20a targets BNP2 and contributes chemotherapeutic resistance in colorectal adenocarcinoma SW480 and SW620 cell lines. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 43(3): 217-225
42. Li J, Huang H, Sun L, Yang M, Pan C i inni (2009) MiR-21 indicates poor prognosis in tongue squamous cell carcinomas as an apoptosis inhibitor. *Clin Cancer Res* 15(12): 3998-4008
43. Jiang J, Zheng X, Xu X, Zhou Q, Yan H i inni (2011) Prognostic significance of miR-181b and miR-21 in gastric cancer patients treated with S-1/Oxaliplatin or Doxifluridine/Oxaliplatin. *PLoS One* 6(8): e23271
44. Zhu W, Liu X, He J, Chen D, Hunag Y, Zhang YK (2011) Overexpression of members of the microRNA-183 family is a risk factor for lung cancer: a case control study. *BMC Cancer* 11(1): 393
45. Rothé F, Ignatiadis M, Chaboteaux C, Haibe-Kains B, Kheddoumi N i inni (2011) Global microRNA expression profiling identifies MiR-210 associated with tumor proliferation, invasion and poor clinical outcome in breast cancer. *PLoS ONE* 6(6): e20980
46. Zhang JX, Song W, Chen ZH, Wei JH, Liao YJ i inni (2013) Prognostic and predictive value of a microRNA signature in stage II colon cancer: a microRNA expression analysis. *The Lancet Oncol* 14(13): 1295-1306
47. Brase JC, Johannes M, Schlomm T, Falth M, Haese A i inni (2011) Circulating miRNAs are correlated with tumor progression in prostate cancer. *Int J Cancer* 128(3): 608-616
48. Tribolet L, Kerr E, Cowled C, Bean AGD, Stewart CR i inni (2020) MicroRNA Biomarkers for Infectious Diseases: From Basic Research to Biosensing. *Front Microbiol* 11: 1197
49. Beltran-Garcia J, Osca-Verdegel R, Mena-Molla S, Garcia-Gimenes JL (2019) Epigenetic IVD Tests for Personalized Precision Medicine in Cancer. *Front Genet* 10: 621
50. Ebert MS, Sharp PA (2010) MicroRNA sponges: Progress and possibilities. *RNA* 16: 2043-2050
51. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK i inni (2008) Circulating micro-RNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci* 105(30): 10513-10518
52. Barger JF, Nana-Sinkam SP (2015) MicroRNA as tools and therapeutics in lung cancer. *Respir Med* 109(7): 803-812
53. Henry JC, Azevedo-Pouly ACP, Schmittgen TD (2011) MicroRNA replacement therapy for cancer. *Pharm Res* 28(12): 3030-3042
54. An Z, Ren J, Yang G, Zhang W, Yu C (2015) MicroRNA let-7: Regulation, single nucleotide polymorphism, and therapy in lung cancer. *J Cancer Res Ther* 11(5): 1
55. Mendell JT (2008) MiRiad roles for the miR-17-92 cluster in development and disease. *Cell* 133(2): 217-222
56. Ota A, Tagawa H, Karnan S, Tsuzuki S, Karpas A i inni (2004). Identification and characterization of a novel gene, C13orf25, as a target for 13q31-q32 amplification in malignant lymphoma. *Cancer Res* 64(9): 3087-3095
57. Ji Q, Hao X, Meng Y, Zhang M, DeSano J, Fan D, Xu L (2008) Restoration of tumor suppressor miR-34 inhibits human p53-mutant gastric cancer tumorspheres. *BMC Cancer* 8(1): 266
58. Long X-B, Sun G-B, Hu S, Liang G-T, Wang N, Zhang XH, Liu Z (2009) Let-7a microRNA functions as a potential tumor suppressor in human laryngeal cancer. *Oncol Rep* 22(5): 1189-1195
59. Wu W, Liu S, Liang Y, Zhou Z, Liu X (2017) MiR-7 inhibits progression of hepatocarcinoma by targeting KLF-4 and promises a novel diagnostic biomarker. *Cancer Cell Int* 17(1): 31
60. Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T (2006) Let-7 microRNA functions as a potential growth suppressor in human colon cancer cells. *Biol Pharm Bull* 29(5): 903-906
61. Stahlhut C, Slack FJ (2015) Combinatorial action of microRNAs let-7 and miR-34 effectively synergizes with erlotinib to suppress non-small cell lung cancer cell proliferation. *Cell Cycle* 14(13): 2171-2180
62. Li Y, Cai B, Shen L, Dong Y, Lu Q i inni (2017) MiRNA-29b suppresses tumor growth through simultaneously inhibiting angiogenesis and tumorigenesis by targeting Akt3. *Cancer Lett* 397: 111-119
63. Kong Y, Zou S, Yang F, Xu X, Bu W, Jia J, Liu Z (2016) RUNX3-mediated up-regulation of miR-29b suppresses the proliferation and migration of gastric cancer cells by targeting KDM2A. *Cancer Lett* 381(1): 138-148
64. Yang S, Li Y, Gao J, Zhang T, Li S i inni (2013) MicroRNA-34 suppresses breast cancer invasion and metastasis by directly targeting Fra-1. *Oncogene* 32(36): 4294-4303
65. Zhang XJ, Ye H, Zeng CW, He B, Zhang H, Chen YQ (2010) Dysregulation of miR-15a and miR-214 in human pancreatic cancer. *J Hematol Oncol* 3(1): 46
66. Amodeo V, Bazan V, Fanale D, Insalaco L, Caruso S i inni (2013) Effects of anti-miR-182 on TSP-1 expression in human colon cancer cells: There is a sense in antisense? *Expert Opin Ther Targets* 17(11): 1249-1261
67. Nedaeinia R, Sharifi M, Avan A, Kazemi M, Rafiee L, Ghayour - Mobarhan M, Salehi R (2016) Locked nucleic acid anti-miR-21 inhibits cell growth and invasive behaviors of a colorectal adenocarcinoma cell line: LNA-anti-miR as a novel approach. *Cancer Gene Ther* 23(8): 246-253
68. Ebert MS, Sharp PA (2010) MicroRNA sponges: Progress and possibilities. *RNA* 16: 2043-2050
69. Esau CC (2008) Inhibition of microRNA with antisense oligonucleotides. *Methods* 44(1): 55-60
70. Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R, Rajeev KG, Tuschl T, Manoharan M, Stoffel M (2005) Silencing of microRNAs *in vivo* with 'antagomirs'. *Nature* 438 (7068): 685-689
71. Shah MY, Ferrajoli A, Sood AK, Lopez-Berestein G, Calin GA (2016) MicroRNA Therapeutics in Cancer - An Emerging Concept. *EBioMedicine* 12: 34-42
72. Pasternak A., Kierzek R. Modyfikowane nukleotydy jako narzędzia molekularne służące do kontrolowanej zmiany właściwości fizykochemicznych RNA i DNA. *Na pograniczu chemii i biologii*. 2007. Tom XVIII, 41-87.
73. Xu L, Dai W-Q, Xu X-F, Wang F, He L, Guo C-Y (2012) Effects of Multiple-target anti-microRNA antisense oligodeoxyribonucleotides on proliferation and migration of gastric cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 13(7): 3203-3207
74. Ma L, Young J, Prabhala H, Pan E, Mestdagh P i inni (2010) MiR-9, a MYC/MYCN - activated microRNA, regulates E-cadherin and cancer metastasis. *Nat Cell Biol* 12(3): 247-256
75. Xiao J, Yang B, Lin H, Lu Y, Luo X, Wang Z (2007) Novel approaches for gene-specific interference via manipulating actions of microRNAs: examination on the pacemaker channel genes HCN2 and HCN4. *J Cell Physiol* 212: 285-292

76. Schwarz DS, Hutvagner G, Du T, Xu Z, Aronin N, Zamore PD (2003) Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex. *Cell* 115(2): 199-208
77. Terasawa K, Shimizu K, Tsujimoto G (2011) Synthetic pre-miRNA-based shRNA as potent RNAi triggers. *J Nucleic Acids*: 1-6
78. Aagaard L, Rossi JJ (2007) RNAi therapeutics: principles, prospects and challenges. *Adv Drug Deliv Rev* 59(2-3): 75-86
79. Wang X, Yu B, Ren W, Mo X, Zhou C *in* *in* (2013) Enhanced hepatic delivery of siRNA and microRNA using oleic acid based lipid nanoparticle formulations. *J Control Release* 172(3): 690-698
80. Davis S, Lollo B, Freier S, Esau C (2006) Improved targeting of miRNA with antisense oligonucleotides. *Nucleic Acids Res* 34(8): 2294-2304
81. Ibrahim AF, Weirauch U, Thomas M, Grünweller A, Hartmann RK, Aigner A (2011) MicroRNA replacement therapy for miR-145 and miR-33a is efficacious in a model of colon carcinoma. *Cancer Res* 71: 5214-5224
82. Medina PP, Wiggins JF, Ruffino L, Kelnar K, Omotola M *in* *in* (2010) Regression of murine lung tumors by the let-7 microRNA. *Oncogene* 29(11): 1580-1587
83. Choi KY, Silvestre OF, Huang XL, Hida N, Liu G *in* *in* (2014) A nanoparticle formula for delivering siRNA or miRNAs to tumor cells in cell culture and *in vivo*. *Nat Protoc* 9(8): 1900-1915
84. Ling H (2016) Non-coding RNAs: Therapeutic strategies and delivery systems. *Adv Exp Med* 937: 229-237
85. Behlke MA (2008) Chemical modification of siRNAs for *in vivo* use. *Oligonucleotides* 18(4): 305-320
86. Lundin KE, Højland T, Hansen BR, Persson R, Bramsen JB, Kjems J, Smith CE (2013). Biological activity and biotechnological aspects of locked nucleic acids. *Adv Genet* 82: 47-107

miRNAs – targets in cancer therapy

Anna Alwani[✉], Monika Baj-Krzyworzeka

Department of Clinical Immunology, Collegium Medicum, Jagiellonian University in Kraków

[✉]Corresponding author: monika.baj-krzyworzeka@uj.edu.pl

Key words: microRNA, cancer, oncomirs, therapies.

SUMMARY

MicroRNAs (miRNAs) are small single-stranded molecules of RNA which regulate the expression of different genes on a posttranscriptional level through binding to mRNA. miRNA regulate a number of biological processes such as: proliferation, differentiation, angiogenesis, migration, apoptosis or oncogenesis. Many studies have proved involvement of miRNA in cancer progression from its initial stage to metastasis. Wide range of genes regulated by miRNA in the course of the cancer disease allowed to distinguish two classes of miRNA: suppressors and oncomirs. Monitoring the changes in expression profile of chosen miRNA could help in early identification of cancer cells and serve as a prediction factor of the disease or treatment. Defining target genes of deregulated miRNA in cancer cells and developing methods of their selective silencing is a promising therapeutic strategy. This paper presents selected studies focused on the use of miRNA as a diagnostic marker and a potential target of modern cancer therapies.

