

# Rola wybranych microRNA w procesie neoplazmatycznym

## The role of selected microRNAs in the neoplastic process

JUSTYNA ŚWISTEK<sup>1/\*</sup>, JOANNA KWECIEŃ<sup>2/\*</sup>, KATARZYNA STARSKA<sup>3/</sup>

<sup>1/</sup> Oddział Laryngologiczny, Wojewódzki Specjalistyczny Szpital im. M. Pirogowa w Łodzi

<sup>2/</sup> Oddział Laryngologiczny, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. Marii Skłodowskiej-Curie w Zgierzu

<sup>3/</sup> I Katedra i Klinika Otolaryngologii i Laryngologii Onkologicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Praca prezentuje rolę wybranych cząsteczek microRNA (miRNA) i ich udział w mechanizmach wewnątrzkomórkowych determinujących zjawisko kancerogenezy i progresję zmian nowotworowych. Koncentruje się na problematyce związanej z rolą miRNA jako onkogenów lub genów supresorowych. Autorzy dokonują przeglądu najnowszego piśmiennictwa dotyczącego znaczenia wybranych microRNA w procesie neoplazmatycznym, w tym rakach regionu głowy i szyi.

**Słowa kluczowe:** *microRNA (miRNA), kancerogeneza, onkogeny, geny supresorowe*

The work presents the role of selected microRNA molecules (miRNA) and their participation in intracellular mechanisms determining the phenomenon of carcinogenesis and the progression of neoplastic changes. It focuses on the problems related to the role of miRNA as oncogenes or suppressor genes. The authors review the latest literature on the importance of selected microRNAs in the neoplastic process, including cancers of the head and neck region.

**Key words:** *microRNA molecules (miRNA), carcinogenesis, oncogenes, suppressor genes*

© Otolaryngologia 2017, 16(3): 81-87

www.mediton.pl/orl



Adres do korespondencji / Address for correspondence

Prof. dr hab. med. Katarzyna Starska

I Katedra i Klinika Otolaryngologii i Laryngologii Onkologicznej UM w Łodzi

ul. Kopcińskiego 22, 90-153 Łódź

tel./fax. 42 6785785; e-mail: katarzyna.starska@umed.lodz.pl

MikroRNA (miRNA) należą do krótkich, regulatorowych cząsteczek RNA (srRNA) [1-6]. Są to małe, niekodujące nici RNA, składające się z 20-23 nukleotydów, które regulują ekspresję genów na poziomie potranskrypcyjnym i stanowią najliczniejszą grupę wśród srRNA [1-4]. Po raz pierwszy zostały opisane w 1993 roku [2]. W ludzkim genomie kodowanych jest około 2000 miRNA, ale nie wszystkie zostały dotychczas opisane i dokładnie scharakteryzowane [1, 2]. Regulują one funkcję około 30% genów u człowieka, przy czym jedna cząsteczka miRNA może być odpowiedzialna za regulację nawet 200 genów [1, 2, 6]. Pierwsze badanie dotyczące microRNA w raku głowy i szyi zostało opublikowane w 2005 roku [7].

Dla właściwego określenia cząsteczki mikroRNA w fachowym nazewnictwie stosuje się przedrostek miR oraz nadaje numer identyfikacyjny (np. miR-21, miR-155).

MiRNA mają kluczowy udział w wielu mechanizmach wewnątrzkomórkowych m.in. różnicowaniu komórek macierzystych układu krwiotwórczego, różnicowaniu komórek mięśni szkieletowych, egzo-cytozie, apoptozie, regulacji sekrecji insuliny i embriogenezie, jak również w procesie kancerogenezy i progresji zmian w nowotworach o różnym pochodzeniu u człowieka [1-6]. Pierwsze badania naukowe dotyczyły analizy miRNA w przebiegu przewlekłej białaczki limfocytarnej B (PBL-B) i wskazały na rolę tych cząsteczek jako kluczowych regulatorów zarówno genów supresorowych, jak i onkogenów [1, 2, 6]. Co więcej, same miRNA mogą pełnić takie role w procesie nowotworzenia [1, 2, 4-6].

\* – równy udział autorów w przygotowaniu pracy

Liczne badania wskazują na występowanie „specyfiki” ekspresji określonych miRNA, nie tylko typowych dla poszczególnych tkanek organizmu, ale także charakterystycznych dla konkretnych nowotworów różnego pochodzenia [2, 4]. Mówi się zatem o tzw. profilu miRNA dla poszczególnych typów guzów nowotworowych, który określa ich charakterystykę i pośrednio może wskazywać na cechy kliniczno-patologiczne zmian, na przykład stopień zróżnicowania guza, zdolność do angiogenezy, proliferacji i migracji komórek nowotworowych [2, 5]. W wielu doniesieniach naukowych wskazuje się także na korelację między ryzykiem kancerogenezy, progresją zmian oraz występowaniem wznów nowotworu, a ekspresją i profilem miRNA [2-4, 6, 8]. Poszukuje się także roli różnych rodzajów miRNA jako narzędzia pomocnego w określaniu marginesów chirurgicznych po leczeniu operacyjnym, lub markerów przerzutów węzłowych czy wskaźników diagnostycznych [2, 9-13]. Ciekawym obszarem badań pozostaje także związek ekspresji miRNA z odpowiedzią na określoną terapię przeciwnowotworową, warunkowaną poziomem określonych miRNA [5, 14-19].

Co istotne, cząsteczki microRNA wykazują, ważną z klinicznego punktu widzenia, dużą stabilność w analizowanym materiale, nie tylko tkankowym pochodzącym z utkania guza i węzłów chłonnych, ale także w płynach ustrojowych (surowicy krwi, ślinie, moczu i płynie owodniowym) [2, 20]. Sprawia to, że metoda pobrania materiału nie musi być obciążająca i inwazyjna dla chorego, a materiał do badań łatwy do pozyskania. Obecność miRNA w surowicy krwi zaobserwowano w nowotworach hematologicznych, ale także w guzach litych różnego pochodzenia, co mogłoby być drogą do łatwej i wczesnej diagnostyki stopnia rozwoju procesu neoplazmatycznego [2]. Opisuje się także rolę miRNA krążących w płynach ustrojowych, jako cząsteczek sygnałowych aktywujących receptory komórkowe, co potwierdza również inne zadania miRNA w mechanizmach wewnątrzkomórkowych, nie tylko regulację genów na poziomie potranskrypcyjnym [2]. MiRNA mogą funkcjonować w komórce nowotworowej jako onkogeny lub geny supresorowe. Zwykle występują w określonych kombinacjach dla poszczególnych nowotworów, a nadekspresja niektórych miRNA jest ściśle powiązana z supresją innych i zwykle prezentuje się odwrotnie niż w tkance nienowotworowej i jest uwarunkowana pochodzeniem guza [2]. Na przykład miR-221 i miR-222 pełnią rolę genów supresorowych w przypadku białaczki erytroblastycznej, ale funkcjonują jako onkogeny w niektórych nowotworach litych [2].

## MicroRNA jako onkogeny (oncomiRs)

Liczne doniesienia wskazują, że onkogenna funkcja miRNA polega na zaburzeniu regulacji lub zahamowaniu wewnątrzkomórkowych szlaków prowadzących do nasilenia zjawisk apoptozy, proliferacji i różnicowania komórek guza, jak też dysregulacji antynowotworowych mechanizmów obronnych [2-4, 6]. W badaniach nad rolą miRNA w różnych nowotworach, potwierdzono występowanie wyraźnej nadekspresji niektórych z nich w materiale tkankowym pobieranym ze zmian nowotworowych, w porównaniu z ekspresją w tkance nienowotworowej [6, 9, 10, 13]. Nadekspresja miRNA może być spowodowana amplifikacją, demetylacją wysp CpG w rejonie promotorowym genu oraz nieprawidłowym działaniem czynników transkrypcyjnych [21, 22]. Analizy *in vitro* pozwoliły potwierdzić tezę o onkogennej roli licznych miRNA, na przykład miR-21, miR-155, miR-221/222, będących jednymi z lepiej poznanych microRNA o potencjale onkogenym m.in. w raku piersi, płuc, jelita grubego, szyjki macicy oraz nowotworach głowy i szyi [2, 3].

### miR-21

MiR-21 jest przykładem jednego z pierwszych microRNA opisanych u człowieka, którego onkogenne właściwości zostały potwierdzone w badaniach nad kancerogenezą i rozwojem wielu nowotworów u człowieka [2, 23]. Mechanizm onkogenego działania miR-21 polega m.in. na hamowaniu ekspresji genu PDCD4 (ang. *Programmed Cell Death Protein 4*), którego produktem jest jądrowe białko uczestniczące w programowanej śmierci (apoptozie) proliferujących komórek guza [23-26]. Zmienioną ekspresję genu PDCD4 opisano w limfocytach T oraz komórkach NK, co potwierdza jego rolę w negatywnej regulacji procesów obrony przeciwnowotworowej organizmu. Innym genem docelowym dla działania miR-21 jest gen PTEN (ang. *Phosphatase and Tensin Homolog*), funkcjonujący jako gen supresorowy. Białkowy produkt PTEN o właściwościach fosfatazy zaangażowany jest w regulację cyklu komórkowego i prowadzi do zahamowania podziałów komórkowych i inicjacji apoptozy komórek guza [22]. Nadekspresję miR-21 potwierdzono m.in. w raku piersi (supresja miR-21 hamowała wzrost guza), raku prostaty (nadekspresję miR-21 hamowała apoptozę, nasilała migrację i inwazyjność komórek nowotworowych), glioblastomie (regulacja licznych szlaków wewnątrzkomórkowych, w tym związanych z aktywnością p53 i TGF- $\beta$ ), raku płuc (supresja genu PDCD4) oraz nowotworach głowy i szyi [2]. W tych ostatnich stwierdzono związek między nadekspresją miR-21 a zmniejszeniem odsetka

5-letnich przeżyć pacjentów, obecnością przerzutów węzłowych oraz stopniem zróżnicowania komórek nowotworowych [9-11, 27]. Obiecujące pod względem klinicznym są także wyniki badań i metaanaliz dotyczące roli cząsteczek miR-21 krążących w surowicy krwi jako markera prognostycznego w chorobie nowotworowej. Badacze wskazują na występowanie korelacji między zmniejszeniem ekspresji miR-21 u pacjentów po zabiegach operacyjnych a lepszą prognozą [28]. Roli miRNA poszukuje się także w procesach inicjacji nowotworowej w tym w zmianach przednowotworowych. Badania potwierdzają wpływ m.in. miR-21, miR-345 i miR-181b w złośliwej transformacji zmian o charakterze leukoplakii błon śluzowych jamy ustnej [29, 30]. MiR-21 miałby być odpowiedzialny za nadmierne mitozy komórek nabłonka [30].

### miR-155

Ekspresja miR-155 została potwierdzona w większości złośliwych guzów litych u człowieka, m.in. w raku piersi, raku szyjki macicy, gruczolakoraku trzustki, raku tarczycy, raku jelita grubego i raku płuc [2]. Badania naukowe wskazują, że miR-155 może być markerem gorszej prognozy u pacjentów z chorobą nowotworową [2]. Na przykład, w raku piersi sugeruje się możliwą indukcję procesu neoplazmatycznego w przypadku współistniejącego stanu zapalnego, właśnie za pośrednictwem cząsteczki miR-155 i aktywowanego przez niego genu SOCS1 (ang. *Suppressor of Cytokine Signaling*), odpowiedzialnego za supresję wydzielania i inhibicję aktywności cytokin o działaniu antyneoplazmatycznym [2]. Także, udowodnione oddziaływanie miR-155 na funkcję genu FOXP3a (ang. *Forkhead Box P3*), związanego z różnicowaniem i regulacją aktywności komórek immunokompetentnych, może determinować przeżycie komórek w odpowiedzi na zastosowaną chemioterapię [2]. Szczególną rolę i znaczenie kliniczne miR-155 można zaobserwować w nowotworach pochodzenia hematologicznego [2]. Podwyższoną ekspresję miR-155 potwierdziły liczne badania przeprowadzone w chłoniakach B-komórkowych, w tym chłoniaka Hodgkina i w niektórych typach chłoniaków nieziarnicznych [2]. Ostatnie analizy wskazują także na nadekspresję miR-155 w komórkach szpiku kostnego u pacjentów z ostrą białaczką szpikową [2].

Patologiczna aktywność cząsteczki miR-155 była także opisywana w nowotworach regionu głowy i szyi, w tym w raku jamy ustnej i części nosowej gardła, gdzie zanotowano jego nadmierną ekspresję korelującą z nasileniem nałogu zucia tytoniu [2, 31].

### miR-222/221

W wielu nowotworach litych potwierdzono nadekspresję miR-221/222, m.in. w raku wątrobowo-komórkowym, raku piersi, raku tarczycy i czerniaku [2]. Udowodniono, że aktywność cząsteczki miR-121/122 sprzyja zjawisku przemiany nabłonkowo (epitelialno)-mezenchymalnej (EMT, ang. *Epithelial-Mesenchymal Transition Phenomenon*) [2]. W przeprowadzonych badaniach podwyższony poziom ekspresji miR-221 i miR-222 był związany z nadmierną proliferacją, migracją i zaburzeniami regulacji apoptozy w komórkach guza nowotworowego [2]. Wykazano, ponadto że zahamowanie ekspresji opisywanych miRNA w komórkach guza powodowało nasilenie apoptozy i niszczenie komórek nowotworowych [2]. Wyniki badań zdają się być zatem obiecujące w kontekście zastosowania w terapii celowanej. Badania sugerują także rolę miR-121/122 w modyfikacji zjawiska angiogenezy, co potwierdzono w przypadku nowotworów wątroby [2]. Obecności zwiększonego poziomu wykrywanych cząsteczek miR-221/222 w kale pacjentów z rakiem jelita grubego, otwiera także drogę do klinicznego wykorzystania oznaczania poziomu miR221/222 we wczesnej, nieinwazyjnej diagnostyce tego typu guza [32].

Należy także podkreślić rolę miR-221/222 w nowotworach regionu głowy i szyi, gdzie wykazano istotny związek między nadekspresją cząsteczek miR-221 i miR-222 a szybkim wzrostem i większą inwazyjnością guza w raku jamy ustnej [33]. Oznaczanie poziomu ekspresji miR-222/221 w surowicy krwi u chorych wydaje się być także obiecującym markerem diagnostycznym oraz wskaźnikiem skuteczności leczenia [34]. Dowodzą tego badania przeprowadzone u pacjentów z rakiem krtani zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego, u których stwierdzano znacząco podwyższone wartości miR-222/221, obniżające się po radykalnym leczeniu chirurgicznym [34].

### MicroRNA jako geny supresorowe

Delecje, całkowity lub częściowy brak ekspresji czynników regulujących proces transkrypcji oraz zmiany epigenetyczne m.in. metylacja wysp CpG w promotorze genu, mogą powodować zmniejszenie poziomu ekspresji supresorowych cząsteczek miRNA [21, 22]. Badania naukowe wykazują, że geny dla mikroRNA o aktywności supresorowej często zlokalizowane są w miejscach łamliwych chromosomów lub w ich pobliżu [35, 36]. Brak funkcji supresorowych miRNA może prowadzić do zwiększonej ekspresji czynników onkogennych i tym samym przyczyniać się wzmożonej aktywności

wewnątrzkomórkowych mechanizmów determinujących nasilenie proliferacji, wzrostu i inwazyjności komórek nowotworowych, aktywację angiogenezy oraz zahamowanie zjawiska apoptozy [21, 37].

Pierwszymi opisanymi microRNA posiadającymi funkcję genów supresorowych były cząsteczki miR-15a i miR-16-1, których geny kodujące zlokalizowane są w chromosomie 13, w obszarze często ulegającym delecji, u chorych z przewlekłą białaczką szpikową [38, 39]. Badacze potwierdzili, że miR-15a i miR-16a są negatywnymi regulatorami genu BCL-2 (ang. *B-cell Lymphoma 2*), kodującego antyapoptotyczne białko BCL-2, którego nadekspresja przyczynia się do zwiększonej oporności limfocytów białaczkowych na apoptozę [40]. Co więcej, wykazano, że profil ich ekspresji definiuje przebieg kliniczny B-CLL. Podobne obserwacje zanotowano w raku płuca dla jednego z lepiej scharakteryzowanych supresorowych microRNA Let-7, negatywnego regulatora proto-onkogenów RAS i MYC, które pełnią kluczową rolę w progresji cyklu komórkowego i proliferacji [41, 42].

### miR-138

Jednym z przykładów miRNA o właściwościach supresorowych w nowotworach regionu głowy i szyi jest miR-138, którego zmniejszona ekspresja była opisywana w utkaniu nowotworowym raka krtani [43, 44]. Zmniejszenie poziomu miR-138 istotnie wiązało się z mniejszym zróżnicowaniem komórek guza, większym ryzykiem wystąpienia przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych, jak i wyższym zaawansowaniem stadium klinicznego rozwoju raka [44]. Eksperymentalne przywrócenie ekspresji genu miR-138 hamowało proliferację komórek nowotworowych poprzez hamowanie szlaków wewnątrzkomórkowych związanych z aktywnością kinaz PI3/AKT, promujących podziały, wzrost i przeżycie komórek guza oraz angiogenezę, jak też działanie cząsteczki EZH2 (ang. *Enhancer of Zeste Homolog 2*), odpowiedzialnej za integrację chromosomów [43]. Podobne obserwacje potwierdzające występowanie obniżonego poziomu ekspresji miR-138 opisywane są w płaskonabłonkowym raku jamy ustnej [45]. Badania sugerują, że supresorowe działanie miR-138 w tym typie nowotworu odbywa się poprzez regulację ekspresji genu ISG15 (ang. *Interferon-Stimulated Gene 15*), co może prowadzić do hamowania proliferacji, migracji i inwazji linii komórkowych raka jamy ustnej [46]. Innym przykładem analiz, mogą być badania ekspresji miR-138 oznaczanego zarówno w tkankach jak i w surowicy krwi w płaskonabłonkowym raku przełyku. Wyniki wskazują, że obniżony poziom aktywności miR-138 koreluje z niekorzystnymi parametrami klinicznymi tj. wyż-

szym stopniem rozległości miejscowej nowotworu pT, obecnością przerzutów do węzłów chłonnych oraz skróceniem pięcioletniego czasu przeżycia chorych [47]. Niska ekspresja miR-138 obserwowana w raku wątroby i raku żołądka także istotnie wiązała się z wyższym zaawansowaniem klinicznym zmian nowotworowych oraz ryzykiem wystąpienia przerzutów węzłowych [48-50]. Nadekspresja miR-138 w tych nowotworach przyczyniała się do hamowania proliferacji komórek guza poprzez wpływ na aktywność genu SIRT1 (ang. *Sirtuin 1, NAD-dependent deacetylase sirtuin-1*), będącego negatywnym regulatorem cząsteczki p65NF-κB oraz zmniejszonej aktywności czynnika transkrypcyjnego SOX4 w komórkach guza [49, 50].

### miR-34

MiR-34 jest przykładem cząsteczki RNA, która także wykazuje działanie supresorowe [51, 52]. Badania naukowe dowodzą, że aktywność miR-34 zwiększa ekspresję białka p53 co przyczynia się do zahamowania cyklu komórkowego i indukcji apoptozy [53]. Ciekawe obserwacje dotyczące roli miR-34 w chorobie nowotworowej dostarczyły badania poziomu ekspresji miR-34 w komórkach raka prostaty i raka płuc [54, 55]. Wykazano, że ekspresja miR-34 jest istotnie mniejsza w utkaniu guza w porównaniu do nienowotworowych komórek płuc i prostaty [55, 56]. Co więcej, doświadczenia przeprowadzone w warunkach *in vitro* dowiodły, że wprowadzenie genu miR-34 do komórek raka płuc i prostaty powodowało zahamowanie wzrostu guza [57]. Inne badania na mysim modelu guza płuca potwierdziły rolę miR-34 nie tylko w inhibicji wzrostu komórek nowotworowych, ale również jego znaczenie w wydłużaniu ich przeżycia, a także wpływu na zmniejszenia ilości ognisk przerzutowych [58]. Podobne obserwacje zanotowano w badaniach nad rakiem krtani, w których potwierdzono, że obniżona ekspresja miR-34 koreluje istotnie z krótszym czasem przeżycia pacjentów i jest ważnym biomarkere-rem zwiększonego ryzyka nawrotów choroby [21].

### miR-206

MiR-206 jest klasyfikowany również jako gen o działaniu supresorowym w procesie kancerogenezy [59, 60]. Liczne badania naukowe wskazują, że poziom ekspresji miR-206 jest najczęściej obniżony w nowotworach różnego pochodzenia, m.in. w raku nerki, raku wątroby i nowotworach regionu głowy i szyi, w tym w raku krtani, raku części nosowej gardła i jamy ustnej [61-65]. Co istotne, niezależnie od rodzaju histopatologicznego zmian nowotworowych, najniższą ekspresję miR-206 opisywano w guzach charakteryzujących się bardziej

zaawansowanym stopniem inwazyjności klinicznej zmian nowotworowych, niskim zróżnicowaniem komórkowym oraz większym potencjale przerzutowania do regionalnych węzłów chłonnych [64]. Zmniejszona ekspresja miR-206 była także istotnie związana z krótszym czasem przeżycia chorych [63]. Co ciekawe, doświadczalnie przywrócona aktywność miR-206 w komórkach raka krtani przyczyniała się do odzyskania działania przeciwnowotworowego badanego miRNA [66]. W przeprowadzonych analizach badawczych stwierdzono, że transfekcja miR-206 do komórek guza zmniejszała ekspresję czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego VEGF (ang. *Vascular Endothelial Growth Factor*) oraz hamowała wewnątrzkomórkowe mechanizmy prowadzące do proliferacji, migracji i inwazyjności komórek nowotworu [66]. Udowodniono także, że miR-206 uwrażliwia komórki raka części nosowej gardła na zastosowaną radioterapię, poprzez wpływ na funkcję insulinopodobnego czynnika wzrostu IGF1 (ang. *Insulin-like Growth Factor 1*) [65]. Innym dyskutowanym mechanizmem supresorowym działania miR-206 w przebiegu onkogenezy jest aktywacja kinazy związanej z cykliną G, GAK (ang. *Cyclin G-associated Kinase*), głównego regulatora proliferacji, migracji i zwiększonej inwazyjności komórek guza w mechanizmie zależnym od kluczowego supresorowego białka p53 [61].

## Podsumowanie

Pomimo postępów w chirurgii onkologicznej i zastosowaniu nowoczesnych metod chemioradioterapii w nowotworach głowy i szyi osiągnięto niewielką poprawę wskaźników przeżycia chorych, co wskazuje na pilną potrzebę znalezienia nowych biomarkerów kancerogenezy i progresji zmian nowotworowych, które pozwoliłyby na wprowadzenie innowacyjnych i skutecznych klinicznie algorytmów

terapeutycznych, szczególnie w przypadku wznów procesu nowotworowego oraz występowania przerzutów węzłowych.

W tym kontekście miRNA, pełniąc rolę genów regulacyjnych onkogenezy stanowią grupę obiecujących potencjalnych wskaźników molekularnych, które mogłyby być wykorzystane jako czynne modyfikatory odpowiedzi w nowoczesnych terapiach przeciwnowotworowych. Zmiany w profilu ekspresji wybranych miRNA mogłyby dostarczać informacji o czułości nowotworów różnego pochodzenia na planowaną terapię jeszcze przed rozpoczęciem leczenia („przewidywanie odpowiedzi”) lub stanowić praktyczne narzędzie kontroli powodzenia leczenia [44]. Przykładem wykorzystania microRNA w chorobie nowotworowej mogą być podejmowane próby *in vitro* zastosowania syntetycznych cząsteczek miRNA komplementarnych do mRNA określonego genu (powodujących „wyciszenie”/hamowanie onkogenów lub nasilenie ekspresji genów supresorowych) oraz wykorzystanie tzw. antagomirów, czyli syntetycznych oligonukleotydów komplementarnych i w ten sposób blokujących określone miRNA poprzez przyłączenie się do nich, zanim te zdążą przyłączyć się do mRNA [7, 67].

Nowoczesne metody inżynierii genetycznej ukierunkowane na wykorzystanie cząsteczek microRNA otwierają zatem drogę do terapii celowanej, nie tylko ukierunkowanej na leczenie określonych typów nowotworów, ale także prowadzą do indywidualnego doboru terapii dla konkretnego chorego. Zanim to jednak nastąpi onkologię kliniczną czeka wiele wyzwań takich jak jednoznaczna identyfikacja wzorów miRNA dla określonych typów nowotworów czy wskazanie kluczowych punktów kontrolnych i mechanizmów działania miRNA oraz ostateczne zdefiniowanie ich roli w rozwoju procesów neoplazmatycznych.

## Piśmiennictwo

1. Hukowska-Szematowicz B, Deptuła W. Biologiczna rola mikroRNA – nowe dane. *Post Biol Komórki* 2010; 37(3): 585-97.
2. Di Leva G, Garofalo M, Croce C. microRNAs in cancer. *Annu Rev Pathology* 2014; 9: 287-314.
3. Huang T, Alvarez A, Hu B, Cheng SY. Noncoding RNAs in cancer and cancer stem cells. *Chin J Cancer* 2013; 32(11): 582-93.
4. Wang D, QiuCh, Zhang H, Wang J, Cui Q, Yin Y. Human mikroRNA oncogens and tumor suppressors show significantly different biological patterns: from functions to targets. *PLoS ONE* 2010; 5(9): e13067.
5. Mansoori B, Mohammadi A, Shirjang S, Baradaran B. Micro-RNAs: The new potential biomarkers in cancer diagnosis, prognosis and cancer therapy. *Cell Mol Biol* 2015; 61(5): 1-10.
6. Zhong X, Coukos Z, Zhang L. miRNAs in Human Cancer. *Methods Mol Biol* 2012; 822: 295-306.
7. Khawar MB, Fatima N, Abbasi MH, Mehmood R, Suqaina SK, Sheikh N. Head and Neck Cancer: Epidemiology and role of MicroRNAs. (in) *Diagnosis and Management of Head and Neck Cancer*. Akarlan Z. (ed) 2017; Chapter 2: 5-35.
8. Childs G, Fazzari M, Kung G, Kawachi N, Brandwein-Gensler M, McLemore M, et al. Low-level expression of microRNAs let-7d and MIR- 205 are prognostic markers of head and neck squamous cell carcinoma. *Am J Pathol* 2009; 174(3): 736-45.
9. Yu S, Wu Y, Liu Y, Deng H, Shen Z, Xiao B, Guo J. miR-21, miR-106b and miR-375 as novel potential biomarkers for laryngeal squamous cell carcinoma. *Curr Pharm Biotechnol* 2014; 15(5): 503-8.

10. Wang J, Zhou Y, Lu J, Sun Y, Xiao H, Liu M, Tian L. Combined detection of serum exosomal miR-21 and HOTAIR as diagnostic and prognostic biomarkers for laryngeal squamous cell carcinoma. *Med Oncol* 2014; 31(9): 148.
11. Ou H, Li Y, Kang M. Activation of miR-21 by STAT3 induces proliferation and suppresses apoptosis in nasopharyngeal carcinoma by targeting PTEN gene. *PLoS One* 2014; 9(11): e109929.
12. de Carvalho AC, Scapulatempo-Neto C, Maia DC, Evangelista AF, Morini MA, Carvalho AL, et al. Accuracy of mikroRNA as markers for the detection of lymph node metastases in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *BMC Med* 2015; 13: 108.
13. Lamperska KM, Kozłowski P, Kolenda T, Teresiak A, Blizniak R, Przybyla W, et al. Unpredictable changes of selected miRNA in expression profile of HNSCC. *Cancer Biomark* 2016; 16(1): 55-64.
14. Zhang H, Hu B, Wang Z, Zhang F, Wei H, Li L. miR-181c contributes to cisplatin resistance in non-small cell lung cancer cells by targeting Wnt inhibition factor 1. *Cancer Chemother Pharmacol* 2017; 80(5): 973-84.
15. Bourguignon LY, Earle C, Wong G, Spevak CC, Krueger K. Stem cell marker (Nanog) and Stat-3 signaling promote MicroRNA-21 expression and chemoresistance in hyaluronan/CD44-activated head and neck squamous cell carcinoma cells. *Oncogene* 2012; 31(2): 149-60.
16. Zheng G, Li N, Jia X, Peng C, Luo L, Deng Y, et al. MYCN-mediated miR-21 overexpression enhances chemoresistance via targeting CADM1 in tongue cancer. *J Mol Med (Berl)* 2016; 94(10): 1129-41.
17. Dai Y, Xie CH, Neis JP, Fan CY, Vural E, Spring PM. MicroRNA expression profiles of head and neck squamous cell carcinoma with docetaxel-induced multidrug resistance. *Head Neck* 2011; 33(6): 786-91.
18. Zheng Y, Lv X, Wang X, Wang B, Shao X, Huang Y, et al. MiR-181b promotes chemo resistance in breast cancer by regulating Bim expression. *Oncol Rep* 2016; 35(2): 683-90.
19. Wang X, Li Q, Jin H, Zou H, Xia W, Dai N, et al. miR-424 acts as a tumor radiosensitizer by targeting aprataxin in cervical cancer. *Oncotarget* 2016; 7(47): 77508-15.
20. Zeng MS. Noncoding RNAs in cancer diagnosis. *Adv Exp Med Biol* 2016; 927: 391-427.
21. Xin Y, Zheng L. The role of MicroRNAs expression in laryngeal cancer. *Oncotarget* 2015; 6(27): 23297-305.
22. Lopez-Serra P, Esteller M. DNA methylation-associated silencing of tumor-suppressor microRNAs in cancer. *Oncogene* 2012; 31(13): 1609-22.
23. Pfeffer S, Yang CH, Pfeffer LM. The role of miR-21 in cancer. *Drug Dev Res* 2015; 76(6): 270-7.
24. Zhang X, Gee H, Rose B, Lee CS, Clark J, Elliott M, et al. Regulation of the tumour suppressor PDCD4 by miR-449 and miR-21 in oropharyngeal cancers. *BMC Cancer* 2016; 16: 86.
25. Yang Y, Meng H, Peng Q, Yang X, Gan R, Zhao L, et al. Downregulation of mikroRNA-21 expression restrains non-small cell lung cancer cell proliferation and migration through upregulation of programmed cell death 4. *Cancer Gene Ther* 2015; 22(1): 23-9.
26. Sun Z, Li S, Kaufman AM, Albers AE. miR-21 increases the programmed cell death 4 gene – regulated cell proliferation in head and neck squamous carcinoma cell lines. *Oncol Rep* 2014; 32(5): 2283-9.
27. Avissar M, McClean MD, Kelsey KT, Marsit CJ. MicroRNA expression in head and neck cancer associates with alcohol consumption and survival. *Carcinogenesis* 2009; 30(12): 2059-63.
28. Hsu CM, Lin PM, Wang YM, Chen ZJ, Lin SF, Yang MY. Circulating miRNA is a novel marker for head and Neck squamous cell carcinoma. *Tumor Biol* 2012; 33(6): 1933-42.
29. Cervigne NK, Reis PP, Machado J, Sadikovic B, Bradley G, Galloni NN, et al. Identification of mikroRNA signature associated with progression of leukoplakia to oral carcinoma. *Hum Mol Genet* 2009; 18(24): 4818-29.
30. Brito JA, Gomes CC, Guimarães AL, Campos K, Gomez RS. Relationship between mikroRNA expression levels and histopathological features of dysplasia in oral leukoplakia. *J Oral Pathol Med* 2014; 43(3): 211-6.
31. Manikandan M, Deva Magendhra Rao AK, Rajkumar KS, Rajaraman R, Munirajan AK. Altered levels of miR-21, miR-125b-2\*, miR-138, miR-155, miR-184, and miR-205 in oral squamous cell carcinoma and association with clinicopathological characteristics. *J Oral Pathol Med* 2015; 44(10): 792-800.
32. Yau TO, Wu CW, Dong Y, Tang CM, Ng SS, Chan FK, et al. microRNA-221 and microRNA-18a identification in stool as potential biomarkers for the non-invasive diagnosis of colorectal carcinoma. *Br J Cancer* 2014; 111(9): 1765-71.
33. Zhou L, Jiang F, Chen X, Liu Z, Ouyang Y, Zhao W, et al. Downregulation of miR-221/222 by a microRNA sponge promotes apoptosis in oral squamous cell carcinoma cells through upregulation of PTEN. *Oncol Lett* 2016; 12(6): 4419-26.
34. Yilmaz SS, Guzel E, Karatas OF, Yilmaz M, Creighton CJ, Ozen M. MiR-221 as a pre- and postoperative plasma biomarker for larynx cancer patients. *Laryngoscope* 2015; 125(12): E377-81.
35. Ma L. MicroRNA and metastasis. *Adv Cancer Res* 2016; 132: 165-207.
36. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, et al. Human microRNAs are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(9): 2999-3004.
37. Lynam-Lennon N, Maher SG, Reynolds JV. The roles of microRNA in cancer and apoptosis. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2009; 84(1): 55-71.
38. Pekarsky Y, Croce CM. Role of miR-15/16 in CLL. *Cell Death Differ* 2015; 22(1): 6-11.
39. Iorio MV, Croce CM. MicroRNA dysregulation in cancer: diagnostic, monitoring and therapeutics. A comprehensive review. *Embo Mol Med* 2012; 4: 143-59.
40. Pekarsky Y, Balatti V, Croce CM. BCL2 and miR-15/16: from gene discovery to treatment. *Cell Death Differ* 2018; 25(1): 21-6.
41. Balzeau J, Menezes MR, Cao S, Hagan JP. The LIN28/let-7 Pathway in Cancer. *Front Genet* 2017; 8: 31.
42. Slack FJ. MicroRNAs regulate expression of oncogenes. *Clin Chem* 2013; 59(1): 325-6.
43. Si F, Sun J, Wang C. MicroRNA-138 suppresses cell proliferation in laryngeal squamous cell carcinoma via inhibiting EZH2 and PI3K/AKT signaling. *Exp Ther Med* 2017; 14(3): 1967-74.

44. Lubov J, Maschietto M, Ibrahim I, Mlynarek A, Hier M, Kowalski LP, et al. Meta-analysis of microRNAs expression in head and neck cancer: uncovering association with outcome and mechanisms. *Oncotarget* 2017; 8(33): 55511-24.
45. Xu R, Zeng G, Gao J, Ren Y, Zhang Z, Zhang Q, et al. miR-138 suppresses the proliferation of oral squamous cell carcinoma cells by targeting Yes-associated protein 1. *Oncol Rep* 2015; 34(4): 2171-8.
46. Zhang Q, He Y, Nie M, Cai W. Roles of miR-138 and ISG15 in oral squamous cell carcinoma. *Exp Ther Med* 2017; 14(3): 2329-34.
47. Zheng S, Zhang X, Wang X, Li J. Downregulation of miR-138 predicts poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Biomark* 2017; 20(1): 49-54.
48. Liu Y, Zhang W, Liu K, Liu S, Ji B, Wang Y. miR-138 suppresses cell proliferation and invasion by inhibiting SOX9 in hepatocellular carcinoma. *Am J Transl Res* 2016; 8(5): 2159-68.
49. Luo J, Chen P, Xie W, Wu F. MicroRNA-138 inhibits cell proliferation in hepatocellular carcinoma by targeting Sirt1. *Oncol Rep* 2017; 38(2): 1067-74.
50. Pang L, Li B, Zheng B, Niu L, Ge L. miR-138 inhibits gastric cancer growth by suppressing SOX4. *Oncol Rep* 2017; 38(2): 1295-302.
51. Engkvist ME, Stratford EW, Lorenz S, Meza-Zepeda LA, Myklebost O, Munthe E. Analysis of the mir-34 family functions in breast cancer reveals annotation error of miR-34b. *Sci Rep* 2017; 7(1): 9655.
52. Nadal E, Chen G, Gallegos M, Lin L, Ferrer-Torres D, Truini A, et al. Epigenetic inactivation of microRNA-34b/c predicts poor disease-free survival in early stage lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2013; 19(24): 6842-52.
53. Hermeking H. The miR-34 family in cancer and apoptosis. *Cell Death Differ* 2010; 17(2): 193-9.
54. Cheng CY, Hwanq CL, Corney DC, Flesken-Nikitin A, Jiang L, Öner GM, et al. miR-34 cooperates with p53 in suppression of prostate cancer by joint regulation of stem cell compartment. *Cell Rep* 2014; 6(6): 1000-7.
55. Zhao K, Cheng J, Chen B, Liu Q, Xu D, Zhang Y. Circulating microRNA-34 family low expression correlates with poor prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *J Thorac Dis* 2017; 9(10): 3735-46.
56. Fang LL, Sun BF, Huang LR, Yuan HB, Zhang S, Chen J, et al. Potent inhibition of miR-34b on migration and invasion in metastatic prostate cancer cell by regulating the TGF- $\beta$  pathway. *Int J Mol Sci* 2017; 18(12): 2762.
57. Tanaka N, Toyooka S, Soh J, Kubo T, Yamamoto H, Maki Y, et al. Frequent methylation and oncogenic role of microRNA-34b/c in small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 2012; 76(1): 32-8.
58. Kasinski AL, Slack FJ. miRNA-34 prevents cancer initiation and progression in a therapeutically resistant K-ras and p53-induced mouse of lung adenocarcinoma. *Cancer Res* 2012; 72(21): 5576-87.
59. Huang B, Zhai W, Hu G, Huang C, Xie T, Zhang J, et al. MicroRNA-206 acts as a tumor suppressor in bladder cancer via targeting YRDC. *Am J Transl Res* 2016; 8(11): 4705-15.
60. Xiao H, Xiao W, Cao J, Li H, Guan W, Guo X, et al. miR-206 functions as novel cell cycle regulator and tumor suppressor in clear-cell renal cell carcinoma. *Cancer Lett* 2016; 374(1): 107-16.
61. Wei C, Wang S, Ye ZQ, Chen ZQ. miR-206 inhibits renal cell cancer growth by targeting GAK. *Med Sci* 2016; 36(6): 852-8.
62. Yunqiao L, Vanke H, Jun X, Tangmeng G. MicroRNA-206 down-regulated in hepatocellular carcinoma, suppresses cell proliferation and promotes apoptosis. *Hepatogastroenterology* 2014; 61(133): 1302-7.
63. Lin F, Yao L, Xiao J, Liu DF, Ni Z. miR-206 functions as tumor suppressor and directly targets K-ras in human oral squamous cell carcinoma. *Onco Targets Ther* 2014; 7: 1583-91.
64. Yu WF, Wang HM, Lu BC, Zhang GZ, Ma HM, Wu ZY. miR-206 inhibits human laryngeal squamous cell carcinoma cell growth by regulation of cyclinD2. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; 19(14): 2697-702.
65. Wang T, Dong XM, Zhang FL, Zhang JR. miR-206 enhances nasopharyngeal carcinoma radiosensitivity by targeting IGF1. *Kaohsiung J MedSci* 2017; 33(9): 427-32.
66. Zhang T, Liu M, Wang C, Lin C, Sun Y, Jin D. Down-regulation of miR-206 promotes proliferation and invasion of laryngeal cancer by regulating VEGF expression. *Anticancer Res* 2011; 31(11): 3859-63.
67. Courthod G, Franco P, Palermo L, Pisconti S, Numico G. The role of microRNA in head and neck cancer: current knowledge and perspectives. *Molecules* 2014; 19: 5704-16.