مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۵، شماره ۴، زمستان ۹۴، صفحات ۲۴۹ تا ۲۵۶

Review Article

lncRNAها: راهکاری نو در درمان سرطان

محمدرضا نوری دلوئی[۱]، یگانه اسحق‌خانی[۲]

[۱] استاد، دکترای ژنتیک مولکولی پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۲] دانشجوی دکترای تخصصی ژنتیک پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

lncRNAها (long non-coding RNAs)، رونوشت‌های غیر کد کننده‌ی پروتئین با طول بلندتر از ۲۰۰ نوکلئوتید هستند که از طریق ساختار مولکولی ویژه‌ی خود، با سایر مولکول‌ها در میان‌کنش بوده و از این طریق بر شماری از فرایندهای مهم سلولی تاثیرگذار هستند. بررسی کارکردهای lncRNA در مسیرهای متنوع سلولی، به نحو گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. این مولکول‌ها به شکل طبیعی در انواع سلول‌ها بیان می‌شوند، اما بیان کاهش‌یافته یا افزایش‌یافته آن‌ها در انواعی از بیماری‌ها به ویژه سرطان گزارش شده است. مقاله‌های چاپ شده از سوی نگارندگان طی دو فصل گذشته، به معرفی lncRNAها و نقش‌های تعیین کننده آن‌ها در فرایندهای آغازین تومورزایی، توسعه تومور و آپوپتوز پرداخته‌اند. اهمیت lncRNAها در پیدایش سرطان تا جایی است که اندازه‌گیری مقادیر برخی lncRNAها به طور ویژه می‌تواند کمک شایانی به امر تشخیص یا پیش‌آگهی سرطان‌های مربوطه نماید. افزون بر این، روش‌های درمانی جدیدی بر پایه مهار یا توسعه کارکرد lncRNAها در سلول‌های سرطانی، به منظور بهبود وضعیت بیماری ابداع شده‌اند، اگرچه که هنوز در سطح پژوهشی مطرح هستند. مقاله مروری حاضر، با استفاده از جدیدترین منابع معتبر، چگونگی رویکرد این روش‌ها و اساس مولکولی آن‌ها را مورد بررسی و بحث قرار داده است.

واژگان کلیدی: *long non-coding RNAs، سرطان، تومورزایی، درمان.*

مقدمه

مولکول‌های lncRNA که کارکردشان به ساختار مولکولی منحصر به فرد آن‌ها وابسته است، نقش‌های مهمی در تنظیم بیان ژن در سطوح متفاوت اپی‌ژنتیکی، رونویسی و پس از رونویسی ایفا می‌کنند. این مولکول‌ها قادر به میان‌کنش با دیگر مولکول‌های زیستی مانند DNA، RNA و پروتئین هستند و نقش تعیین‌کننده‌ای در پیش‌برد فعالیت‌های فیزیولوژیکی سلول‌های طبیعی دارند. فعال‌سازی عامل‌های رونویسی، چارچوب‌گذاری تجمع پروتئین‌های همکار، تنظیم پردازش متناوب، هدایت مجموعه‌های ریبونوکلئوپروتئینی، ترمیم DNAی آسیب‌دیده، تغییر حالت کروماتین، تسهیل فرایند نقش‌گذاری، حفظ حالت چندتوانی و کنترل آمد و شد بین هسته و سیتوپلاسم، از جمله رویکردهای مهم اجرا شونده توسط lncRNAها به شمار می‌آیند. بنابراین، این مولکول‌ها در تعیین سرنوشت سلول نقش بسیار کلیدی ایفا می‌کنند و اختلال در هر یک از این رویکردها می‌تواند زمینه‌ساز اصلی فرایند تغییرشکل به حالت بدخیمی و پیدایش سرطان باشد. نتایج حاصل از پژوهش‌های گذشته، نمایان‌گر وجود اختلال در بیان شماری از lncRNAهای ویژه سرطان‌های متفاوت هستند. توانایی عظیم lncRNAها در تنظیم کارکردهای زیستی متعدد، و دانستن این واقعیت که تنظیم آن‌ها می‌تواند در تومورها دستخوش اختلال شود، آن‌ها را به نامزدهای جذابی برای درمان سرطان تبدیل کرده است (۲،۱). در واقع، کنترل کارکرد lncRNAها در مسیر درمان، خواه به عنوان هدف درمانی (در وضعیت بیان افزایش یافته)، خواه به عنوان دارو (در وضعیت بیان کاهش یافته یا به طور کامل از بین

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی، دکتر محمدرضا نوری دلوئی (**email**: nooridaloii@sina.tums.ac.ir)
تاریخ دریافت مقاله: ۹۴/۴/۱۶
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۴/۶/۲۳

رفته)، می‌تواند کمک شایانی به توسعه درمان سرطان نماید. این شیوه‌های درمانی به شکل ویژه بافت و ویژه شخص بیمار، مورد استفاده قرار می‌گیرند، و بنابراین کاربرد آن‌ها با اجتناب از آسیب‌رسی به بافت‌های سالم همراه است (۳). این مقاله در ادامه به معرفی شماری از این شیوه‌های درمانی و توصیف کارکرد مولکولی آن‌ها می‌پردازد.

الف. کاربرد lncRNAها به عنوان اهداف درمانی

یکی از بزرگ‌ترین چالش‌های درمان سرطان، طراحی داروهایی است که بتوانند به طور بالقوه سلول‌های توموری را نابود کنند و سلول‌های تغییرنیافته طبیعی را برجای بگذارند. یک راه برای رسیدن به این مقصود، هدف‌گیری مولکول‌های هدایت کننده تشکیل یا توسعه تومور است که در زمان واحد، تنها در بافت‌های سرطانی و نه در بافت‌های طبیعی بیان می‌شوند. lncRNAها نامزدهای بسیار خوبی برای این روش هستند، زیرا به طور ویژه و اختصاصی بافت در سلول‌های توموری بیان می‌شوند. چند راهکار برای هدف‌گیری چنین lncRNAهایی وجود دارد، به‌نحوی که می‌توان جایگاه ژنومی lncRNA، و یا رونوشت RNA آن را در هر دو ساختار اولیه و ثانویه مورد هدف قرار داد (۴، ۵).

هدف‌گیری جایگاه ژنومی lncRNA

ادغام عناصر ناپایدار کننده RNA ای (RNA destabilizing elements یا RDEs) راهی برای مهار کارکرد lncRNA، با واسطه هدف گیری جایگاه ژنومی آن است (۶) (شکل ۱.a). ادغام RDEها به درون ژنوم، دارای تاثیرات مشابه خاموش سازی (knock out-like) بر روی کارکرد ژن است، مانند توالی‌های نشانه پلیA که توالی‌های پایین‌دست خود را خاموش می‌کنند. این شیوه می‌تواند به ویژه برای هدف‌گیری lncRNAهای هسته‌ای مفید باشد، و از این روست که به طور موفق برای کاهش بیان MALAT1 مورد استفاده قرار گرفته است (۷). افزون بر این، ادغام RDEها می‌تواند برای خاموش سازی ژن‌های کاذبی که در سطح RNA بسیار شبیه ژن‌های والدی‌شان هستند، اما در جایگاه ژنومی متفاوتی قرار دارند، مفید باشد (۳).

پژوهش‌های گسترده نشان داده‌اند که عناصر تنظیمی کنترل کننده بیان lncRNA می‌توانند برای استفاده در درمان ضدسرطان مورد هدف قرار بگیرند. برای نمونه، H19 یک lncRNA با ویژگی‌های آنکوژنی است که سطوح آن در بازه وسیعی از تومورها افزایش می‌یابد. پلاسمید DNA ای BC-819 شامل توالی‌های تنظیمی H19 می‌باشد که در آن پروموتر H19، بیان توکسین A دیفتری (DT-A) را هدایت می‌کند. این پلاسمید به عنوان یک عامل درمانی هدف‌مند با کارایی و امنیت بالا در مطالعات مرحله ۱ و ۲ سرطان پانکراس مورد تایید قرار گرفته است، و به نحو جالب‌توجهی دیده شده است که بدون اندک تاثیری بر روی عملکرد سلول‌های طبیعی، رشد سلول‌های توموری را کاهش می‌دهد. تزریق BC-819 به درون تومور، به طور موفقیت آمیزی در بیماران مبتلا به سرطان‌های مثانه، تخمدان و پانکراس، با هدف کاهش اندازه‌ی تومور انجام شده است (۹،۸). یک ناقل مشابه نیز برای درمان سرطان مثانه در نمونه‌های حیوانی مورد استفاده قرار گرفته و با مهار موثر رشد تومور همراه بوده است (۱۰). از این رو به نظر می‌رسد که در آینده نه چندان دور، چنین ناقلینی می‌توانند از کاربردهای بالینی وسیعی برخوردار بوده و جایگزین‌های مناسبی برای شیوه‌های درمانی کنونی باشند.

هدف‌گیری ساختار اولیه lncRNA

بیان lncRNAهای ویژه سرطان می‌تواند با هدف‌گیری ساختار اولیه RNA (یعنی در سطح توالی آن) کاهش یابد. این روش، مبتنی بر استفاده از RNAهای مداخله‌گر کوتاه، اولیگونوکلئوتیدهای آنتی سنس، ریبوزیم‌ها و DNAzymeها است.

RNAهای مداخله‌گر کوتاه (Short interfering RNAs یا siRNAs) که مولکول‌های RNA کوچک با طول حدود ۲۰ نوکلئوتید هستند، طوری طراحی می‌شوند که در چارچوب رویکرد RNA interference به طور کامل به محل دقیق نوکلئوتیدهای هدف خود متصل شوند. بنابراین استفاده از آنها تضمین کننده درجه بالایی از ویژگی بوده، و این اتصال در نهایت به تخریب lncRNA منجر می‌شود (۱۳-۱۱). (شکل ۱.b). هدف‌گیری lncRNAهای ویژه‌ای که بیان آن‌ها در سلول‌های سرطانی افزایش می‌یابد، می‌تواند به بهبود علایم کمک کند، چنان چه اخیرا غیرفعال‌سازی HOTAIR برای کمک به درمان سرطان اندومتر پیشنهاد شده است (۱۴). افزون بر این، برخی مطالعات نیز نشان داده‌اند که کاهش سطوح بیان MALAT1 به واسطه siRNAها می‌تواند بر توانایی مهاجرت و تکثیر سلول‌های سرطانی آدنوکارسینومای ریوی و سرطان گردن رحم در محیط کشت، تاثیر منفی بگذارد (۱۶،۱۵). در مورد غیرفعال‌سازی ژن‌های کاذب، باید توجه داشت که توالی‌های هدف siRNA با دقت ویژه‌ای بر

روی RNA ژن کاذب انتخاب شوند، به‌نحوی که از تجزیه ناخواسته RNAی ژن والدی اجتناب به عمل آید (۱۷).

Davis و همکارانش دریافتند که مصرف سیستمیک داروهای مبتنی بر siRNA، با هدف‌گیری ویژه‌ی رونوشت‌های lncRNA هدف همراه بوده، و موجب تثبیت مکانی تومور، و کاهش بیان mRNA ژن هدف آن و پروتئین مربوطه می‌شود (۱۸). شماری از کارآزمایی‌های بالینی، با هدف ارزیابی کامل‌تر امنیت و کارایی درمان‌های مبتنی بر RNAi در بیماران مبتلا به طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله سرطان، انجام شده و با نتایج دلخواهی همراه بوده است (۱۹).

داروهای مبتنی بر siRNA که برای درمان سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرند، می‌توانند به شکل ترکیباتی از چند siRNA متفاوت تهیه شوند، زیرا رخداد سرطان و به‌ویژه فرایندهای توسعه بدخیمی و نامیرایی سلول‌های سرطانی، معمولا نتیجه کمبود یا تقویت کارکرد شمار متعددی از ژن‌ها است. بر اساس انگشت‌نگاری مولکولی هر تومور، ترکیبات siRNA ای متفاوتی از میان داروخانه siRNA ای که متشکل از صدها RNA گوناگون است، قابل انتخاب هستند (۲۰). هم‌چنین، مولکول‌های miRNA سرکوب‌گر تومور که روش‌های ارسالی مشابه با siRNAها به درون سلول دارند، می‌توانند رویکرد موثری جهت دستکاری شبکه‌های بزرگی از ژن‌ها را فراهم آورند و موجب مهار تکثیر تومور یا رخداد متاستاز، و یا القای پدیده تمایز شوند (۲۲-۲۰).

روش دیگر برای هدف‌گیری ساختار اول lncRNAها، استفاده از اولیگونوکلئوتیدهای آنتی‌سنس (Antisense Oligonucleotides یا ASOs) است (شکل b.۱). ASOها، مولکول‌های DNA یا RNA تک رشته‌ای هستند که طول آنها بین ۵۰ تا ۸۰ نوکلئوتید است (۲۳). آن‌ها معمولا کوچک‌تر از siRNAهای دو رشته ای بوده، و بنابراین راحت‌تر به درون هسته که مکان وجود اغلب lncRNAها است، وارد می‌شوند (۲۴،۱۴). هم‌چنین در مقایسه با siRNAها، پاسخ‌های پیش-التهابی کمتری را القا می‌کنند که این امر بیان‌گر سمیت کم‌تر آن‌ها نسبت به siRNAها است (۲۷-۲۵).

مولکول‌های ASO که RNAهای کدکننده را هدف قرار می‌دهند، به نحو موفقیت‌آمیزی برای درمان چند بیماری مورد آزمون قرار گرفته‌اند. آزمون‌های in vitro و in vivo نشان داده‌اند که مولکول‌های ASO ضد MALAT1 می‌توانند بیان آن را کاهش دهند، و موجب کاهش متاستاز سرطان ریه شوند (۳۰-۲۸). بنابراین تصور این که این مولکول‌ها می‌توانند برای درمان بیماران مبتلا به سرطان ریه مورد استفاده قرار بگیرند، ممکن و خوشایند به نظر می‌رسد. همان گونه که در مورد siRNAها گفته شد، باید توجه داشت که ASOهای علیه RNA ژن‌های کاذب، باید به دقت و به نحوی طراحی شوند که از غیرفعال شدن RNA ژن‌های والدی اجتناب شود (۳).

تجزیه ساختار اول lncRNA نیز می‌تواند با استفاده از ریبوزیم‌ها که مولکول‌های RNA با فعالیت کاتالیزی هستند، حاصل شود (۳۱). ریبوزیم‌های سرچکشی (Hammerhead ribozymes)، دارای یک حلقه مرکزی احاطه شده با دو بازو هستند و قادرند RNA را در نواحی ویژه برش دهند (۳۲) (شکل b.۱). آن‌ها از هر دو بازوی ۲۰ نوکلئوتیدی خود برای اتصال به مولکول‌های هدف خود استفاده می‌کنند، و بنابراین نسبت به مولکول‌های siRNA که روی هم رفته حدود ۲۰ نوکلئوتید هستند، با ویژگی بیش‌تری نسبت به مولکول هدف خود عمل می‌کنند. این ویژگی، در هدف‌گیری RNA ژن‌های کاذبی که شباهت بسیار زیادی با ژن‌های والدی خود دارند، سودمند است. افزون بر این، ریبوزیم‌ها بر خلاف همکاری siRNAها با پروتئین‌های خانواده Ago برای عملکرد خود نیازی به همکاری با پروتئین‌ها ندارند. ریبوزیم‌های Anti-VEGFR-1/2 که البته برای تجزیه RNAهای کدکننده در درمان سرطان کولورکتال در الگوهای حیوانی مورد آزمون قرار گرفتند، کارکرد مطلوبی را نمایش گذاشته، و در سرطان کبد نیز موجب مهار قابل توجه متاستاز شده‌اند (۳۳). هدف‌گیری lncRNAها نیز می‌تواند به طور موفق با استفاده از یک شیوه مشابه انجام پذیرد (۳).

دیگر عامل‌های هدف‌گیری کننده lncRNAها، DNAzymeها هستند. DNAzymeها مولکول‌های DNA تک رشته‌ای هستند که قادر به برش توالی‌های مکمل خود می‌باشند. این مولکول‌ها با تقلید از ساختار ریبوزیم‌های RNA ای که به صورت طبیعی موجود هستند، به طور مهندسی شده و به شیوه‌ی مصنوعی تولید شده‌اند. کارایی بالقوه درمانی DNAzymeها در درمان بیماری‌های مرتبط با ماهیچه و مغز به اثبات رسیده است (۳۴).

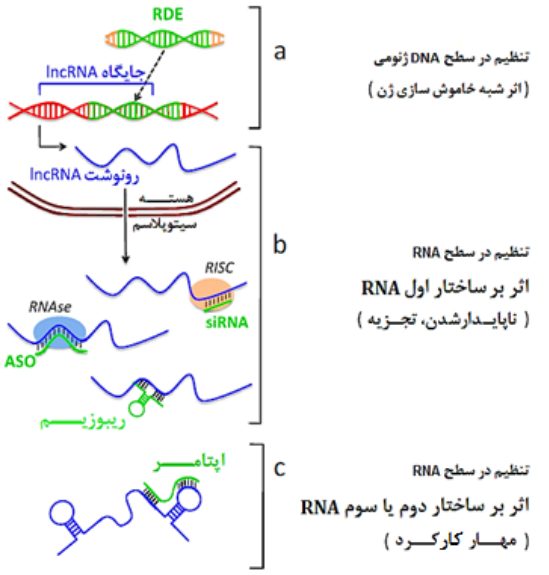
هدف‌گیری ساختار دوم/ و یا سوم lncRNA توسط اپتامرها

siRNA، ASO، و ریبوزیم، هر سه قادر به هدف‌گیری ساختار اول lncRNA هستند، زیرا ساختار دوم lncRNA از اتصال، و بنابراین عملکرد آن‌ها ممانعت به عمل می‌آورد. اما رده‌ای از مولکول‌های نوکلئوتیدی یا پروتئینی تحت عنوان "اپتامرها"، که خود با تشکیل ساختار سوم به مولکول‌های هدف پروتئین

یا RNA متصل می‌شوند، با چنین مشکلاتی مواجه نبوده و قادرند که ساختار دوم و سوم lncRNA را هدف قرار دهند (۳۶،۳۵،۱۳،۱۲) (شکل ۱. c). اصول اتصال اپتامرها به مولکول هدف، مشابه اتصال آنتی‌بادی به مولکول هدف است، که در نهایت می‌تواند موجب مهار کارکرد پروتئین یا RNA شود. در مقایسه با siRNA که تنها به یک سری نواحی خاص از ساختار اول lncRNA متصل می‌شود، توانایی اپتامرها در اتصال به ساختارهای اول، دوم، و سوم lncRNAها، نشان دهنده ویژگی بسیار بالای آن‌ها در اتصال به lncRNA است (۳۷). مزیت دیگر اپتامرها این است که آن‌ها می‌توانند به راحتی توسط روش SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) تولید شوند (۳۸، ۳۹)، اما معمولا برای تایید و کسب اطمینان از عملکرد siRNAها، انجام چند مرحله آزمایشات آزمون و خطا ضروری است. هم‌چنین، به منظور افزایش پایداری و نیمه عمر، و نیز کاهش پاسخ‌های التهابی القا شونده، می‌توان اپتامرها را دستخوش تغییرات شیمیایی کرد. تاکنون اپتامرهایی که به اهداف پروتئینی متصل می‌شوند، برای درمان بیماری‌های گوناگون مورد استفاده قرار گرفته‌اند. برای نمونه، اپتامر ضد عامل رشد اندوتلیال رگی (VEGF) برای درمان استحاله لکه زرد وابسته به سن، در سال ۲۰۰۴ مورد تایید سازمان غذا و دارو قرار گرفت (۴۰). اکنون نیز کارآزمایی‌های بالینی زیادی به کمک اپتامرها، در زمینه درمان سرطان ریه، لوسمی میلوئیدی حاد، و کارسینوم کلیوی در حال انجام است (۴۱).

ب. کاربرد LncRNAها به عنوان دارو

فقدان LncRNAهای ویژه می‌تواند به‌واسطه وارد کردن دوباره آن‌ها به شکل دارو به درون سلول (درمان با جایگزینی) جبران شود (شکل ۲.a). در واقع، با توجه به این‌که می‌دانیم یک lncRNA، یک ژن کاذب، و یا یک circRNA می‌تواند به عنوان یک اسفنج برای جذب ریزRNAها یا پروتئین‌های متصل شونده به RNA عمل کند، استفاده از توالی و ساخت آن‌ها به منظور اتصال به ریزRNAها می‌تواند موجب ایجاد دوباره یک شبکه تنظیمی شود که در سرطان از بین رفته است. افزون بر این، از آن جا که lncRNAها اغلب با کارکرد چند ریزRNA یا پروتئین متصل شونده به RNA در ارتباط هستند، ورود دوباره آن‌ها به سلول می‌تواند بر بسیاری از مسیرهای متفاوت در یک زمان تاثیر بگذارد و یا آن را به حالت طبیعی برگرداند. در این صورت، یک lncRNA منفرد، مانند یک داروی چند منظوره عمل می‌کند و از تاثیر چند دارو به شکل هم‌زمان تقلید می‌کند. به عبارت کلی‌تر، استفاده از یک مولکول طبیعی مانند lncRNA، برای درمان بیماری‌هایی هم‌چون سرطان دارای مزیت بوده، و تقلیدی از وضعیت فیزیولوژیکی طبیعی درونی را برای فرد به وجود می آورد. در چنین وضعیتی، همه واکنش‌های ممکن شناخته شده یا ناشناخته درون سلولی می‌توانند بدون هیچ تغییری انجام شوند (۳).



شکل ۱. هدف‌گیری درمانی lncRNAها در سرطان. lncRNAها می‌توانند در سطح ژنومی، با ادغام توالی‌های RDE به درون جایگاه رمز کننده lncRNA مورد هدف قرار بگیرند (a). در سطح RNA، در قالب ساختار اول خود، توسط مولکول‌های siRNA، ASO یا ریبوزیم‌ها مورد هدف قرار می‌گیرند؛ و در قالب ساختار دوم یا سوم خود، مورد هدف اپتامرها قرار می‌گیرند. *مارپیچ قرمز* نشان‌دهنده DNA ژنومی، *مارپیچ سبز* نشان‌دهنده توالی‌های RDE، و *مارپیچ نارنجی* نشان‌دهنده توالی‌های اطراف RDEها است که با توالی‌های موجود در جایگاه lncRNA هومولوگ بوده، و به درج RDEها به درون DNA کمک می‌کند. خطوط ارغوانی، غشای هسته؛ خطوط آبی، lncRNAها؛ خطوط سبز، مولکول‌های هدف‌گیری کننده lncRNA؛ و بیضی‌های آبی و صورتی، پروتئین‌ها یا مجموعه‌های پروتئینی متصل شونده به lncRNA ها را نشان می‌دهند (۳).

Yang و همکارانش در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که دو lncRNA با نام‌های PRNCR1 (Prostate Cancer Associated Non-Coding RNA 1) و PCGEM1 (یا Prostate-specific transcript 1)، به نحو موثری با گیرنده آندروژن که به شیوه وابسته لیگاند قادر به اتصال به نواحی تقویت‌گر (Enhancer) از رشته‌ی DNA است، برهم‌کنش

کرده و تشکیل حلقه بین نواحی تقویت‌گر متصل به گیرنده آندروژن و توالی‌های پروموتر ژن‌های پاسخ دهنده به آندروژن را تسهیل می‌کند. به نحو جالب توجهی، افزایش بیان PRNCR1 و PCGEM1 در سلول‌های سرطانی پروستات، با فعال‌سازی افزایش‌یافته و غیروابسته به لیگاند گیرنده آندروژن و افزایش تکثیر سلولی همراه است (۴۲). افزون بر این، در مورد PCGEM1 دیده شده که این lncRNA به صورت یک کمک-فعال‌کننده و به طور مستقیم به عامل آنکوژنی c-Myc متصل می‌شود، توانایی transactivation آن را افزایش می‌دهد و فراخوانی آن را به سمت جایگاه‌های هدف بر روی کروماتین تقویت می‌کند (۴۳). با توجه به دانش موجود در مورد کارکرد PRNCR1 و PCGEM1، می‌توان هر دوی این lncRNAها را به عنوان اهداف درمانی در سرطان‌های پیشرفته پروستات پیشنهاد کرد.

هم‌چنین، دو lncRNA پاسخ دهنده به آندروژن، شامل CBR3-AS1 و CTBP1-AS، به طور غیرمستقیم بیان گیرنده آندروژن و ژن‌های پایین‌دست را تنظیم می‌کنند. CBR3-AS1 یکی از سه lncRNAهایی است که به شکل آنتی‌سنس از روی ژن کربونیل‌ردوکتاز ۳ (CBR3) رونویسی می‌شود. بیان CBR3-AS1 به طور چشم‌گیر در تومورهای اولیه و سلول‌های سرطانی پروستات، در مقایسه با با بافت‌های طبیعی افزایش می‌یابد، و خاموش شدن بیان آن به کاهش بیان گیرنده آندروژن منجر می‌شود و با کاهش تکثیر سلولی و القای آپوپتوز همراه است. بنابراین CBR3-AS1 نیز می‌تواند یک هدف درمانی جدید در سرطان پروستات باشد (۴۴).

UCA1 (Urothelial Cancer Associated 1) نیز یک lncRNA است که در سلول‌های سرطانی مثانه، اثر مهارکنندگی بر آپوپتوز القا شده با cisplastin دارد، و تومورزایی را در in vivo ارتقا می‌دهد. از این رو UCA1 نیز می‌تواند به عنوان یک هدف درمانی جدید برای درمان سرطان مثانه به کار رود (۴۴).

محدودیت کاربرد LncRNAها به عنوان دارو

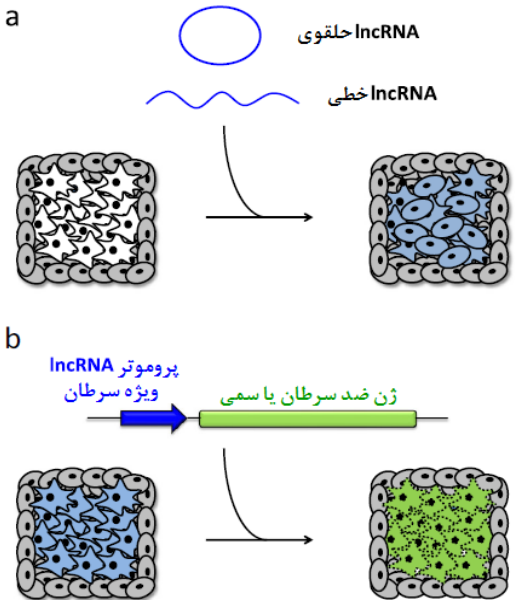
برخلاف مزایای آشکار کاربرد LncRNAها به عنوان دارو، درمان جایگزینی lncRNA با محدودیت‌ها و چالش‌هایی مانند مشکلات ارسال و ناپایداری RNA نیز همراه است. آنزیم‌های ریبونوکلئاز (RNase) موجود در جریان خون می‌توانند موجب تجزیه RNA شوند، و توانایی درمانی داروهای بر پایه RNA را کاهش دهند. به منظور افزایش مقاومت به RNase، نوکلئوتیدهای RNA می‌توانند به طور شیمیایی تغییر داده شوند. اما چنین تغییراتی می‌تواند موجب اختلال در کارکرد آن‌ها شود، و یا ویژگی آن‌ها را تغییر دهد. افزون بر تغییرات شیمیایی، روش‌های دیگری برای افزایش پایداری lncRNA وجود دارد. یک روش، جاسازی کردن lncRNA در RNAهای حلقوی (Circular RNAs) است که در مقایسه با RNA معمولی، مقاومت بیشتری نسبت به RNase دارد (۴۶،۴۵). circRNAها خود رده ای از lncRNAها هستند که کارکرد آن‌ها در ارتباط نزدیک با ریزRNAها است. این مولکول‌ها برای اولین بار در سال ۱۹۹۳ در بیضه موش بالغ مشاهده شدند (۴۷)، و سیاهه اسامی تعداد زیادی از آن‌ها در چند داده‌پایگاه مانند StarBase v2.0 (۴۸ و ۴۹) و circ2traits (۵۰) به صورت کاتالوگ‌هایی در دسترس قرار گرفته است. پژوهش‌های گزارش شده در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که تنوع بسیار زیادی از RNAهای حلقوی به عنوان فراورده‌های جانبی در فرایند پردازش mRNA ایجاد می‌شوند (۴۵). این توالی‌های ریبونوکلئیکی به هضم آنزیمی توسط اگزونوکلئازها و نیز تخریب به‌واسطه ریزRNAها مقاوم‌تر هستند (۴۶). بنابراین، به منظور انتقال موثر lncRNAها، از circRNAها به عنوان "ناقلین lncRNA" استفاده می‌شود. سازه مورد نظر باید در کمترین اندازه ممکن ساخته شود، به نحوی که تنها موتیف‌هایی از lncRNA که برای فعالیت‌های زیستی آن بسیار ضروری هستند، در درون circRNA ناقل وارد شوند. تفکر آرمانی آن است که چند موتیف غیر کدکننده متعلق به lncRNAهای متفاوت را که در سرطان دچار تغییر شده‌اند، در درون یک circRNA واحد به یکدیگر ملحق کرده، و آن را به عنوان یک داروی ترکیبی بسیار موثرتر مورد استفاده قرار داد (۳).

ژن lncRNAهای ویژه یک نوع سرطان را نیز می‌توان در بافت مورد نظر القا و بیان کرد (شکل b.۲). چنان چه گفته شد، بسیاری از lncRNA به طور ویژه در تومورها بیان می‌شوند و در بافت‌های طبیعی حضور ندارند. نواحی تنظیمی چنین lncRNAهایی را می‌توان برای هدایت بیان ویژه تومور ژن‌های درمانی ضدسرطان یا سمی مورد استفاده قرار داد (۳).

جمع بندی

lncRNAها، اجزای قابل توجهی از مجموعه عامل‌های زمینه‌ساز ژنتیکی سرطان هستند که ضمن بر هم‌کنش با سایر عامل‌ها، نقش‌های تعیین کننده‌ای در کنترل رشد، تقسیم و تمایز سلول ایفا می‌کنند. جایگاه این مولکول‌ها در آسیب‌شناسی سرطان و نقش آن‌ها به عنوان اجزای مهم در فرایند توموزایی به اثبات رسیده است. دستکاری تنظیم بیان و

کارکرد این مولکول‌ها می‌تواند نقش کلیدی در درمان عارضه سرطان داشته باشد.



شکل ۲. کاربرد lncRNAها به عنوان داروهایی در درمان سرطان را نشان می‌دهد. **a**) کمبود یک lncRNA که بیانش در سرطان کاهش یافته و یا به کلی از بین رفته است، می‌تواند با استفاده از توالی‌های RNA خطی (linear lncRNA) و یا حلقوی (circular lncRNA) جبران شود. **b**) سلول‌های سرطانی با بیان یک lncRNA ویژه را می‌توان با قرار دادن یک ژن سمی یا ضدسرطان تحت کنترل پروموتر آن lncRNA، هدف‌گیری کرد؛ طوری که موجب توقف رشد سلول‌های سرطانی و یا مرگ آن‌ها شود. *سلول‌های بیضی شکل*: سلول‌های طبیعی، *سلول‌های دارای شکل نامنظم*: سلول‌های سرطانی، و *دایره‌های مشکی*: هسته‌ی سلول را نشان می‌دهند (۳).

در این زمینه، مطالعات متعددی با استفاده از راهکارهای متفاوت انجام گرفته است، اگرچه که با وجود همه این پژوهش‌ها، هنوز پرسش‌های بسیاری در این باره وجود دارد که پاسخ آن را باید در پژوهش‌های تکمیلی آینده خواند. افزون بر این، شناسایی lncRNAهای جدید با استفاده از روش‌های توالی‌یابی نسل دوم (next generation sequencing= NGS) و رده‌بندی آن‌ها در ادامه، راه را برای تمرکز بهتر بر روی این مولکول‌ها و انتخاب نامزدهای lncRNAای کلیدی‌تر و باارزش‌تر برای درمان سرطان، هموار می‌نماید. هم‌چنین، از آن جا که ساختار این مولکول‌ها از اهمیت چشم‌گیری در ایفای کارکرد آن‌ها برخوردار است، مطالعه‌ی ساختار این مولکول‌ها با روش‌های بیوانفورماتیکی مدرن می‌تواند به هدف‌گیری موثرتر آن‌ها کمک شایانی بنماید. با گذشت زمان، هر روز کارکردهای جدیدتری برای مولکول‌های lncRNA گزارش می‌شود. این امر چشم‌اندازهای وسیعی را به سوی کاربرد این مولکول‌ها در ایجاد فرصت‌های درمانی جدید، ایجاد می‌کند. امید بر آن است که با پیشرفت روش‌های بیوتکنولوژی به موازات انجام مطالعات پایه‌ای تر در این زمینه، بتوان به راهکارهای درمانی مبتنی بر lncRNA با ویژگی بیش‌تر و سمیت کم‌تر دست یافت؛ تا آن‌جا که این مولکول‌ها با امنیت هر چه تمام‌تر، به طور موفقیت‌آمیز مورد استفاده واقع شوند و روز به روز استفاده بالینی بیش‌تر و موثرتری پیدا کنند.

REFERENCES

1. Noori-Daloii MR, Eshaghkhani Y. lncRNAs: significance and function mechanisms. The Journal of Medical Science of Azad Islamic University 2015; 25: 79-94. [In Persian]
2. Noori-Daloii MR, Eshaghkhani Y. lncRNAs roles in cancer occurrence. The Journal of Medical Science of Azad Islamic University 2015; 25: 163-182. [In Persian]
3. Vitiello M, Tuccoli A, Poliseno L. Long non-coding RNAs in cancer: implications for personalized therapy. Cell Oncol (Dordr) 2015;38:17-28.
4. Scaiewicz V, Sorin V, Fellig Y, Birman T, Mizrahi A, Galula J, et al. Use of H19 gene regulatory sequences in DNA-based therapy for pancreatic cancer. J Oncol 2010; 2010:178174.
5. Mourtada-Maarabouni M, Pickard MR, Hedge VL, Farzaneh F, Williams GT. GAS5, a non-protein-coding RNA, controls apoptosis and is downregulated in breast cancer. Oncogene 2009; 28: 195–208.
6. Gutschner T, Baas M, Diederichs S. Noncoding RNA gene silencing through genomic integration of RNA destabilizing elements using zinc finger nucleases. Genome Res 2011; 21: 1944–54.
7. Miller JC, Holmes MC, Wang J, Guschin DY, Lee YL, Rupniewski I, et al. An improved zinc-finger nuclease architecture for highly specific genome editing. Nat Biotechnol 2007; 25: 778–85.
8. Hanna N, Ohana P, Konikoff FM, Leichtmann G, Hubert A, Appelbaum L, et al. Phase 1/2a, dose-escalation, safety, pharmacokinetic and preliminary efficacy study of intratumoral administration of BC-819 in patients with unresectable pancreatic cancer. Cancer Gene Ther 2012; 19: 374–81.

9. Smaldone MC, Davies BJ. BC-819, a plasmid comprising the H19 gene regulatory sequences and diphtheria toxin A, for the potential targeted therapy of cancers. Curr Opin Mol Ther 2010; 12: 607–16.

10. Amit D, Hochberg A. Development of targeted therapy for bladder cancer mediated by a double promoter plasmid expressing diphtheria toxin under the control of H19 and IGF2-P4 regulatory sequences. J Transl Med 2010; 8:134.

11. Pereira TC, Lopes-Cendes I. Emerging RNA-based drugs: siRNAs, microRNAs and derivates. Cent Nerv Syst Agents Med Chem. 2012; 12: 217–32.

12. Noori-Daloii MR, ed. Emery ′s elements of medical genetics. 6th ed. Tehran, Iran: Jame-e-negar and Salemi Publishing; 2012. [In Persian]

13. Noori-Daloii MR. Medical molecular genetics in the third millennium. Tehran, Iran: Samer publishing; 2012. [In Persian]

14. Huang J, Ke P, Guo L, Wang W, Tan H, Liang Y, et al. Lentivirus-mediated RNA interference targeting the long noncoding RNA HOTAIR inhibits proliferation and invasion of endometrial carcinoma cells in vitro and in vivo. Int J Gynecol Cancer 2014; 24: 635–42.

15. Guo F, Li Y, Liu Y, Wang J, Li G. Inhibition of metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1 in CaSki human cervical cancer cells suppresses cell proliferation and invasion. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai) 2010; 42: 224–29.

16. Tano K, Mizuno R, Okada T, Rakwal R, Shibato J, Masuo Y, Ijiri K, Akimitsu N. MALAT-1 enhances cell motility of lung adenocarcinoma cells by influencing the expression of motility-related genes. FEBS Lett 2010; 584: 4575–80.

17. Poliseno L, Salmena L, Zhang J, Carver B, Haveman WJ, Pandolfi PP . A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. Nature 2010; 465: 1033–38.

18. Davis ME, Zuckerman JE, Choi CH, Seligson D, Tolcher A, Alabi CA, et al. Evidence of RNAi in humans from systemically administered siRNA via targeted nanoparticles. Nature 2010; 464: 1067–70.

19. Castanotto D, Rossi JJ. The promises and pitfalls of RNA-interference-based therapeutics. Nature 2009; 457: 426–33.

20. Lieberman J, Slack F, Pandolfi PP. Noncoding RNAs and Cancer. Cell 2013; 153.

21. Noori-Daloii MR, Nejatizadeh A. MicroRNA in disease and health: diagnostic and therapeutic potentials. In: Kang C, Ed. Gene ttherapy- development and future perspectives. USA: InThec; 2011. P. 93-120.

22. Noori-Daloii MR, Alvandi E. Micro RNA: little but mysterious, and its use: a review article. The Journal of Faculty of Medicine, TUMS 2006;64: 5-19. [In Persian]

23. Crooke ST, Ed. Antisense drug technology: principles, strategies, and applications. New York: CRC Press; 2001.

24. Horwich MD, Zamore PD. Design and delivery of antisense oligonucleotides to block microRNA function in cultured drosophila and human cells. Nat Protoc 2008; 3: 1537–49.

25. Feldherr CM, Akin D. Signal-mediated nuclear transport in proliferating and growth-arrested BALB/c 3T3 cells. Cell Biol 1990; 111: 1–8.

26. Jones NR, Pegues MA, McCrory MA, Singleton W, Bethune C, BakerBF, et al. A selective inhibitor of human C-reactive protein translation is efficacious in vitro and in C-reactive protein transgenic mice and humans. Mol Ther Nucleic Acids 2012; 1: e52.

27. Robbins M, Judge A, MacLachlan I. siRNA and innate immunity. Oligonucleotides 2009; 19: 89–102.

28. Lee RG, Crosby J, Baker BF, Graham MJ, Crooke RM. Long noncoding RNA MALAT1 controls cell cycle progression by regulating the expression of oncogenic transcription factor B-MYB. Cardiovasc Transl Res 2013; 6: 969–80.

29. Tripathi V, Shen Z, Chakraborty A, Giri S, Freier SM, Wu X, et al. Long noncoding RNA MALAT1 controls cell cycle progression by regulating the expression of oncogenic transcription factor B-MYB. PLoS Genet 2013; 9: e1003368.

30. Sheridan C. Proof of concept for next-generation nanoparticle drugs in humans. Nat Biotechnol 2012; 30: 471–73.

31. Uhlenbeck OC. A small catalytic oligoribonucleotide. Nature 1987; 328: 596–600.

32. Beigelman L, McSwiggen JA, Draper KG, Gonzalez C, Jensen K, Karpeisky AM, et al. Chemical modification of hammerhead ribozymes. Biol Chem 1995; 270: 25702–708.

33. Pavco PA, Bouhana KS, Gallegos AM, Agrawal A, Blanchard KS, Grimm SL, et al. Antitumor and antimetastatic activity of ribozymes targeting the messenger RNA of vascular endothelial growth factor receptors. Clin Cancer Res 2000; 6: 2094–103.

34. Mastroyiannopoulos NP, Uney JB, Phylactou LA. The application of ribozymes and DNAzymes in muscle and brain. Molecules 2010;15: 5460–72.

35. Noori-Daloii MR, Ghofrani M. Nanotechnology in laboratory diagnosis and molecular medicine: The importance and outlook, a review article. J Nanotech 2008; 6: 596-608. [In Persian]

36. Noori-Daloii MR, Ghofrani M. Aptamer technology, a new method in molecular medicine, diagnosis and treatment, areview article. J Nanotech 2000; 7: 357-62. [In Persian]

37. Darfeuille F, Reigadas S, Hansen JB, Orum H, Di Primo C, Toulme JJ. Aptamers targeted to an RNA hairpin show improved specificity compared to that of complementary oligonucleotides. Biochemistry 2006; 45: 12076–82.

38. Ellington AD, Szostak JW. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands. Nature 1990; 346: 818–22.

39. Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. Science 1990; 249: 505–10.

40. Ng EWM, Adamis AP. Anti-VEGF Aptamer (pegaptanib) therapy for ocular vascular diseases. Ann N Y Acad Sci 2006; 1082: 151–71.

41. Sundaram P, Kurniawan H, Byrne ME, Wower J. Therapeutic RNA aptamers in clinical trials. Eur J Pharm Sci 2013; 48: 259–71.

42. Yang L, Lin C, Jin C, Yang JC, Tanasa B, Li W, et al. lncRNA-dependent mechanisms of androgen-receptor-regulated gene activation programs. Nature 2013; 500: 598–602.

43. Hung CL, Wang LY, Yu YL, Chen HW, Srivastava S, Petrovics G, et al. A long noncoding RNA connects c-Myc to tumor metabolism. Proc Natl Acad Sci U S A 2014;111:18697-702.

44. Cui Z, Ren S, Lu J, Wang F, Xu W, Sun Y, et al. The prostate cancer-up-regulated long noncoding RNA PlncRNA-1 modulates apoptosis and proliferation through reciprocal regulation of androgen receptor. Urol Oncol 2013; 31: 1117–23.

45. Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, Bramsen JB, Finsen B, Damgaard CK,et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. Nature 2013; 495: 384–88.

46. Hansen TB, Wiklund ED, Bramsen JB, Villadsen SB, Statham AL, Clark SJ, et al. miRNA-dependent gene silencing involving Ago2-mediated cleavage of a circular antisense RNA. EMBO J 2011; 30: 4414–22.

47. Capel B, Swain A, Nicolis S, Hacker A, Walter M, Koopman P, et al. Circular transcripts of the testis-determining gene Sry in adult mouse testis. Cell 1993; 73: 1019–30.

48. Li JH, Liu S, Zhou H, Qu LH, Yang JH. starBase v2.0: decoding miRNA-ceRNA, miRNA-ncRNA and protein–RNA interaction networks from large-scale CLIP-Seq data. Nucleic Acids Res 2014; 42: D92–97.

49. Yang JH, Li JH, Shao P, Zhou H, Chen YQ, Qu LH. starBase: a database for exploring microRNA–mRNA interaction maps from Argonaute CLIP-Seq and Degradome-Seq data. Nucleic Acids Res 2011; 39: D202–209.

50. Ghosal S, Das S, Sen R, Basak P, Chakrabarti J. Circ2Traits: a comprehensive database for circular RNA potentially associated with disease and traits. Front Genet 2013; 4: 283.